

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

**KUMARİN SÜBSTİTÜE SİKLOTRİFOSFAZEN
BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ VE ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

**YAKUP EKER
DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**GEBZE
2018**

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KUMARİN SÜBSTİTÜE
SİKLOTRİFOSFAZEN BİLEŞİKLERİNİN
SENTEZİ VE ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ

YAKUP EKER
DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
PROF. DR. GÖNÜL YENİLMEZ ÇİFTÇİ

GEBZE
2018

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

**SYNTHESIS OF COUMARIN SUBSTITUED
CYCLOTRIPHOSHAZENES AND
INVESTIGATION OF THEIR PROPERTIES**

YAKUP EKER

**A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

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

GEBZE

2018



GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 03/01/2018 tarih ve 2018/02 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 26/01/2018 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Yakup EKER'in tez çalışması Kimya Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI)

:Prof. Dr. Gönül YENİLMEZ ÇİFTÇİ

ÜYE :

Prof. Dr. Adem KILIÇ

ÜYE :

Prof. Dr. Hakan DAL

ÜYE :

Prof. Dr. Mahmut DURMUŞ

ÜYE :

Doç. Dr. Tuba YILDIRIM

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

ÖZET

Siklofosfazenler, tekrar eden $[N=PX_2]$ birimlerini içeren inorganik heterohalkalı bileşiklerdir. Kumarinler ise 1,2-benzopirandan türemiş bileşiklerdir. Siklofosfazenler ve kumarinler farklı reaktiflerle yeni türde ve özellikle bileşiklerin sentezlenmesine olanak sağlamaları bakımından oldukça fazla araştırmanın yapıldığı bileşik sınıfları arasında yer almaktadır.

İlaç geliştirme sürecinde, kaynakların etkili, verimli kullanılmasını sağlayacak yeni teknolojilere olan ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Son yıllarda biyosensörler, kanser araştırmalarında; tümörün mikro ortamda izlenmesi, tümör-ilaç etkileşiminin karakterizasyonu, kanserin doğru tespiti gibi uygulamalarda son derece hassas, hızlı ve güvenilir olarak kullanılmaktadırlar. MiSens cihazı, mikro akışkan sistemini kullanan bir biyosensör cihazıdır. Cihazın sinyal dönüştürücü kısmı elektrokimyasal esaslı, biyoaktif tabaka kısmı ise DNA ve Enzim temelli çalışmaktadır. MiSens biyosensör cihazı; laboratuvarında sentezlenmiş olan kimyasal bileşiklerin, DNA ile etkileşim düzeylerinin belirlenmesine olanak sağlayacak bir ön tarama cihazıdır.

Bu çalışmada, difonksiyonlu aromatik reaktifler olan 1,1'-metilen-di-2-naftol ve 2,2'-dihidroksifenilmetan ile trimerin ayrı ayrı reaksiyonundan mono-spiro ve di-spiro yapıdaki başlangıç maddeleri elde edildi (1-8). Elde edilen bu bileşikler ile 4-hidroksikumarin, 4-hidroksi-6-metilkumarin ve 4-hidroksi-6,7-dimetilkumarin bileşiklerinin ayrı ayrı reaksiyonları gerçekleştirildi (9-16). Sentezlenen ve izole edilen tüm ürünler (1-16) uygun yöntemlerle saflaştırıldıktan sonra ürünlerin yapıları kütle (MALDI-TOF), ^{31}P , 1H NMR spektroskopisi ve tek kristal X-ışını kırınımı tekniği (1, 2, 4, 6, 7) ile aydınlatıldı. Sentezleri gerçekleştirilen siklofosfazen bileşiklerinin fotofiziksel özelliklerini araştırmak için UV-Vis ve floresans spektrofotometresi cihazları kullanıldı. Ayrıca sentezlenen bileşiklerin MiSens biyosensör cihazında DNA etkileşim analizleri gerçekleştirildi.

Anahtar Kelimeler: Siklofosfazen, Kumarin, MiSens biyosensör cihazı, DNA Etkileşim Analizi, 1,1'-Metilen-di-2-naftol, 2,2'-dihidroksi-difenilmetan.

SUMMARY

Cyclophosphazenes are inorganic heterocyclic compounds containing repeating $[N=PX_2]$ units. The coumarins are 1,2-benzopyran-derived compounds. Cyclophosphazenes and coumarins allow the synthesis of new species and specific compounds with different reagents so that they are among the compound classes which much research has been done.

In the drug development process, the need for new technologies to provide efficient and effective of resources is increasing day by day. In recent years, biosensors have been used in cancer research; especially such as monitoring of the tumor in micro environment, characterization of tumor-drug interaction, accurate detection of cancer in applications very precisely, quickly and reliable in applications. The MiSens device is a biosensor device that uses the microfluidic system. The transducer part of the device is based on electrochemically, bioactive layer is based on DNA and Enzyme. MiSens biosensor device; is a pre-screening device that allows determining the levels of interaction of chemical compounds synthesized in the laboratory with DNA.

In this work, the reaction of the trimer with 1,1'-methylene-di-2-naphthol and 2,2'-dihydroxyphenylmethane, which are difunctional aromatic reagents were carried out and synthesized compounds which monospiro and dispiro (1-8). In this work synthesized compounds with 4-hydroxycoumarin, 4-hydroxy-6-methylcoumarin and 4-hydroxy-6,7-dimethylcoumarin compounds were performed reactions and separately (9-16). All synthesized and isolated products (1-16) were purified by suitable methods. The structures of all synthesized compounds were identified by 1H , ^{31}P NMR and mass (MALDI-TOF) spectroscopy techniques and single crystal X-ray measurements (1, 2, 4, 6, 7) obtained from suitable crystals. The UV-Vis and fluorescence spectroscopies were used to investigate the photophysical and fluorescence properties of these cyclophosphazene compounds. Besides, DNA interaction analyzes of the synthesized compounds were performed on the MiSens biosensor device.

Keywords: Cyclophosphazene, Coumarin, MiSens Biosensor Device, DNA Interaction Analysis, 1,1'-methylenedi-2-naphthol, 2,2'-Dihydroxydiphenylmethane

TEŞEKKÜR

Doktora tez konumu öneren, ders aşamasından tezimin tamamlanmasına kadar her aşamada, bilgi ve tecrübesini paylaştan, anlayış, hoşgörü, sabır ve gülyüzünü hiç eksik etmeyen, akademisyen kimliğinin yanında insani yönünü de her daim örnek aldığım çok değerli danışman hocam Prof.Dr.Gönül YENİLMEZ ÇİFTÇİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince ilgi ve alaka gösteren sayın Prof.Dr.Adem KILIÇ ve tez izleme komitesindeki değerli hocalarıma, tez izleme komitemde yer alırken emekli olması nedeniyle ayrılmak durumunda kalan değerli hocam Prof.Dr.Mustafa BULUT'A, GTÜ Kimya Bölümü öğretim üyelerine, analizleri gerçekleştiren uzman arkadaşlarıma, Doktora öğrenimimin başından sonuna kadar her aşamada yanımda olan, bilgi ve tecrübesini esirgemeyen değerli arkadaşım Uzman Dr. Elif ŞENKUYTU'ya teşekkür ederim.

MiSens cihazını kullanmamıza imkan sağlayan Dr. Yıldız ULUDAĞ, Dr. Aylin ERSOY ve tüm TÜBİTAK BİLGEM ekibine, cihazda analizleri gerçekleştirme esnasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Zehra ÖLÇER'e teşekkür ederim.

Doktora öğrenimim boyunca, gerekli durumlarda izin almam konusunda desteklerini esirgemeyen Milli Eğitim Bakanlığı'na bağlı saygıdeğer idareci arkadaşlarıma, kimi zaman iş yükümü paylaşan değerli öğretmen arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Beni yetiştirmek için büyük çaba ve özveri gösteren, en zor zamanlarımda bile yanımda olan, uzun soluklu doktora çalışmam süresince her daim desteklerini hissettiğim ailemin tüm fertlerine özellikle de biricik anneme en derin minnet ve şükranlarımı sunarım.

BAP-2015-A-07 ve BAP-2017-A102-16 No'lu projelere sağlamış olduğu maddi destek nedeniyle GTÜ'ye ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	4
2.1. Fosfazenler	4
2.2. Fosfazenlerin Geometrik ve Elektronik Yapıları	5
2.2.1. Düz Zincirli Fosfazenler	5
2.2.2. Halkalı Fosfazenler	6
2.3. Fosfazenlerin Stereokimyası	8
2.4. Fosfazenlerin Alkoksitler ve Fenoksitler ile Reaksiyonları	9
2.5. Alkoliz ve Fenoliz Reaksiyonlarını Etkileyen Faktörler	10
2.5.1. Nükleofil Cinsi	10
2.5.2. Sübstituentlerin Etkisi	10
2.5.3. Çözücü Etkisi	11
2.5.4. Fosfazen Halkası ya da Zincir Büyüklüğünün Etkisi	11
2.5.5. Baz Etkisi	11
2.6. Alkoliz ve Fenoliz Reaksiyonlarının Mekanizması	12
2.7. Fosfazenlerin Difonksiyonlu Alkoller ile Reaksiyonları	15
2.8. Fosfazen Türevlerinin Uygulama Alanları	15
2.9. Kumarinler	18
2.10. Kumarin Sentezinde Kullanılan Yöntemler	20
2.10.1. Von Pechmann Kondenzasyonu ile Kumarin Sentezi	20
2.10.2. Perkin Kondenzasyonu ile Kumarin Sentezi	20
2.10.3. Knoevenagel Kondenzasyonu ile Kumarin Sentezi	21

2.11. Kumarin Türevlerinin Uygulama Alanları	21
2.12. Sensörler	24
2.13. Kimyasal Sensörler	24
2.14. Elektrokimyasal Sensörler	26
2.14.1. Potansiyometrik Sensörler	27
2.14.2. Amperometrik Sensörler	27
2.14.3. Kondüktometrik Sensörler	28
2.15. Biyosensörler	29
2.15.1. Biyosensörlerin Tanımı ve Tarihçesi	29
2.15.2. Biyosensörlerin Kullanım Alanları	30
2.15.3. Biyosensörlerde Aranılan Özellikler	31
2.15.4. Biyosensörlerin Sınıflandırılması	32
2.15.5. Enzim Temelli Biyosensörler	33
2.15.6. Doku Temelli Biyosensörler	34
2.15.7. DNA Temelli Biyosensörler	34
2.15.8. Mikrobiyal Temelli Biyosensörler	35
2.15.9. Antikor/Antijen Temelli Biyosensörler	35
2.15.10. Mikroakışkan Teknolojisi	35
2.16. MiSens Cihazı	36
2.16.1. MiSens Cihazının Çalışma Prensibi	36
2.16.2. Sensör Çipin Hazırlanması	37
2.16.3. NeutrAvidine İmmobilizasyonu	38
2.16.4. Capture (Yakalayıcı Prob)	38
2.16.5. Kontrol Hibridize Hedef Prob	39
2.16.6. Enzim ve NeutrAvidin Modifiye Edilmiş Au Nanoparçacık	41
2.16.7. HRP Enzimi ile TMB Arasında Gerçekleşen Tepkimenin Mekanizması	42
2.16.8. Çip Rejenerasyonu	43
2.17. Ultraviyole-Görünür Alan (UV-Vis) ve Spektroskopisi	44
2.18. Floresans Spektroskopisi	46
3. KONU İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	49
3.1. Hekzaklorosiklotrifofazen ile 2,2'-Dihidroksibifenil ve 1,1'-Bi-2-Naftol Reaksiyonları	49

3.2. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile Kumarinlerin Reaksiyonları	51
3.3. MiSens Cihazı ve Biyosensör Çalışmaları	52
4. MATERYAL VE YÖNTEM	55
4.1. Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Maddeler	55
4.2. Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Cihazlar	56
5. DENEYSEL BÖLÜM	57
5.1. Genel İşlemler	57
5.1.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen (Trimer)'in saflaştırılması	57
5.1.2. TLC incelemeleri için ninhidrin çözeltisinin hazırlanması	57
5.2. Deneyler	58
5.2.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2'-Dihidroksi-difenilmetan'ın Reaksiyonu	58
5.2.2. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 1,1'-metilen-di-2-naftol'un Reaksiyonu	59
5.2.3. Bileşik 2 ile 4-Hidroksi Kumarin'in Reaksiyonu	61
5.2.4. Bileşik 4 ile 4-Hidroksi Kumarin'in Reaksiyonu	61
5.2.5. Bileşik 6 ile 4-Hidroksi Kumarin'in Reaksiyonu	62
5.2.6. Bileşik 7 ile 4-Hidroksi Kumarin'in Reaksiyonu	63
5.2.7. Bileşik 6 ile 4-Hidroksi-6-Metil Kumarin'in Reaksiyonu	64
5.2.8. Bileşik 7 ile 4-Hidroksi-6-Metil Kumarin'in Reaksiyonu	65
5.2.9. Bileşik 6 ile 4-Hidroksi-6,7-Dimetil Kumarin'in Reaksiyonu	65
5.2.10. Bileşik 7 ile 4-Hidroksi-6,7-Dimetil Kumarin'in Reaksiyonu	66
5.3. Misens Cihazında DNA Etkileşim İncelemelerinin Yapılması	67
5.3.1. DNA Etkileşim İncelemesi Yapılacak Olan Maddelerin Hazırlanması	67
5.3.2. MiSens Cihazında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	69
5.3.2.1. CV Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	69
5.3.2.2. NA(NeutrAvidin) İmmobilizasyonu Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	69
5.3.2.3. DNA İmmobilizasyonu Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	71
5.3.2.4. Hibrid DNA İmmobilizasyonu Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	71
5.3.3. MiSens Cihazının Hazırlanması	72

5.3.3.1. CV Protokolü	73
5.3.3.2. NeutrAvidin İmmobilizasyonu Protokolü	73
5.3.3.3. DNA İmmobilizasyonu Protokolü	73
5.3.3.4. Hibrit DNA İmmobilizasyonu Protokolü	74
5.3.3.5. Hibrit DNA + Kimyasal İmmobilizasyonu Protokolü	74
6. DENEYSEL VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	76
6.1. Bileşik 1, 2, 3, 4 ve 5'e Ait Yapı Analizi	78
6.2. Bileşik 6, 7 ve 8'e Ait Yapı Analizi	86
6.3. Bileşik 9'a Ait Yapı Analizi	94
6.4. Bileşik 10'a Ait Yapı Analizi	96
6.5. Bileşik 11'e Ait Yapı Analizi	98
6.6. Bileşik 12'ye Ait Yapı Analizi	101
6.7. Bileşik 13'e Ait Yapı Analizi	104
6.8. Bileşik 14'e Ait Yapı Analizi	106
6.9. Bileşik 15'e Ait Yapı Analizi	108
6.10. Bileşik 16'ya Ait Yapı Analizi	112
6.11. Sentezlenen Bileşiklerin X-ray Analiz Sonuçları	115
7. FOTOFİZİKSEL ÖZELLİKLERİN İNCELENMESİ	120
7.1. Bileşik 1, 2 ve 4'e Ait Floresans Spektrumları	123
7.2. Bileşik 6'ya Ait Floresans Spektrumu	123
7.3. Bileşik 7'ye Ait Floresans Spektrumu	124
7.4. Bileşik 8'e Ait Floresans Spektrumu	125
7.5. Bileşik 9'a Ait Floresans Spektrumu	126
7.6. Bileşik 10'a Ait Floresans Spektrumu	126
7.7. Bileşik 11'e Ait Floresans Spektrumu	127
7.8. Bileşik 12'ye Ait Floresans Spektrumu	128
7.9. Bileşik 13'e Ait Floresans Spektrumu	128
7.10. Bileşik 14'e Ait Floresans Spektrumu	129
7.11. Bileşik 15'e Ait Floresans Spektrumu	130
7.12. Bileşik 16'ya Ait Floresans Spektrumu	130
8. DNA ETKİLEŞİMLERİNİN İNCELENMESİ	132
8.1. Bileşik 2 ve 9'un DNA Etkileşiminin İncelenmesi	132
8.2. Bileşik 4 ve 10'un DNA Etkileşiminin İncelenmesi	133

8.3. Bileşik 6 ve 11'in DNA Etkileşiminin İncelenmesi	133
8.4. Bileşik 7 ve 12'nin DNA Etkileşiminin İncelenmesi	134
8.5. Bileşik 6 ve 13'ün DNA Etkileşiminin İncelenmesi	135
8.6. Bileşik 7 ve 14'ün DNA Etkileşiminin İncelenmesi	136
8.7. Bileşik 6 ve 15'in DNA Etkileşiminin İncelenmesi	137
8.8. Bileşik 7 ve 16'nın DNA Etkileşiminin İncelenmesi	138
9. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	140
KAYNAKLAR	144
ÖZGEÇMİŞ	156
EKLER	157



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler ve Açıklamalar

Kisaltmalar

^1H	: Hidrojen atomunun kütle numarası 1 olan izotopu.
^{31}P	: Fosfor atomunun kütle numarası 31 olan izotopu.
CDCl_3	: Dötörokloroform.
DCM	: Diklorometan.
DMSO	: Dimetilsülfoksit.
MALDI-TOF	: Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi.
NMR	: Nükleer Magnetik Rezonans.
THF	: Tetrahidrofuran.
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi.
TMS	: Tetrametilsilan.
NA	: NeutrAvidin.
HRP	: Horse Radish Peroxidase.
TMB	: 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin.
Au-Np	: Altın Nanopartikül.
SAB	: T.C. Sağlık Bakanlığı

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
1.1: Fosfazen bileşikleri: a) trimer, b) tetramer.	2
2.1: a) Halkalı yapıdaki trimer, b) Halkalı yapıdaki tetramer, c) Polimer.	5
2.2: Siklotrifosfazenin tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile çözülmüş yapısı.	6
2.3: Trimerdeki fosforun d_{xz} ve d_{yz} orbitallerinin azotun p_z orbitali ile örtüşmesi.	7
2.4: Hekzaklorosiklotrifosfazenin stereokimyası.	8
2.5: a) Trimer'de geminal yer değiştirme, b) Trimer'de geminal olmayan yer değiştirme.	9
2.6: Fosfazenlerin alkoller ve sodyum alkolatlarla reaksiyonları.	10
2.7: Halka düzleminde fosfor üzerine bir yan grubun saldırması.	13
2.8: Trigonal bipiramidal ara hal oluşumu için bir geri saldırı mekanizması.	14
2.9: a) OR- grubunun aksiyel bağlanması, b) Fosforda beş-üyel halkalı spiro- ariloksisifosfazenler üzerine olan nükleofilik saldırı sırasındaki beş üyeli halkanın aksiyel ve ekvatoryel pozisyonları.	14
2.10: a) Trimerin spiro yapısı, b) Ansa yapısı, c) Açık zincir yapısı, d) Köprülü yapısı.	15
2.11: a) Kumarinin, b) Kromononun Kimyasal Yapısı ve IUPAC Numaralandırma sistemi.	18
2.12: Bael Meyvesi, Tonka Fasulyesi ve Yaban Mersini.	18
2.13: Von Pechmann Kondenzasyonu ile Kumarin Sentezi.	20
2.14: Perkin Kondenzasyonu ile Kumarin Sentezi.	21
2.15: Knoevenagel Kondenzasyonu ile Kumarin Sentezi.	21
2.16: Kumarinlerin Uygulama Alanları.	22
2.17: Boya duyarlılığı incelenen kumarin türevlerinin molekül yapıları.	22
2.18: Sentezlenen kumarin türevlerinin kimyasal yapıları.	23
2.19: Kimyasal Sensörlerin Genel Yapısı.	25
2.20: Kimyasal Sensörlerin sınıflandırılması.	26
2.21: a. DC Sensör, b. AC Sensör.	28
2.22: Biyosensör Bileşenlerinin Şematik Gösterimi.	30
2.23: Biyosensörlerin Sınıflandırılmasının Şematik Gösterimi.	33

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.24: MiSens Biosensor Cihazı ve Bioçip.	36
2.25: MiSens Biosensor Cihazı Çalışma Esasları.	37
2.26: Sensör Çip.	37
2.27: Neutrovidine İmmobilizasyonunun Şematik Gösterimi.	38
2.28: Çipin Yakalayıcı DNA ile Etkileşiminin Şematik Gösterimi.	39
2.29: Hedef DNA ile Algılayıcı DNA'nın Hibridize Edilişinin Şematik Gösterimi.	40
2.30: Hibridize DNA ile Yakalayıcı DNA'lı Çipin Etkileşiminin Şematik Gösterimi.	40
2.31: NeutrAvidin, HRP Enzimi ile Modifiye Edilmiş Au-Np ve TMB ile cihazdan yüksek sinyal alınmasının şematik Gösterimi.	41
2.32: HRP Enzimi ve TMB Arasındaki Etkileşimin Şematik Gösterimi.	42
2.33: Elektromanyetik Spektrum.	44
2.34: Jablonski Diyagramı.	46
2.35: Elektronun singlet ve triplet hali.	47
5.1: Trimerin 2,2'-dihidrosidifenilmetan ile reaksiyonu.	59
5.2: Trimerin 1,1'-metilendi-2-naftol ile reaksiyonu.	60
5.3: Bileşik 2 ile 4-Hidroksi Kumarinin reaksiyonu.	61
5.4: Bileşik 4 ile 4-Hidroksi Kumarinin reaksiyonu.	62
5.5: Bileşik 6 ile 4-Hidroksi Kumarinin reaksiyonu.	62
5.6: Bileşik 7 ile 4-Hidroksi Kumarinin reaksiyonu.	63
5.7: Bileşik 6 ile 4-Hidroksi-6-Metil Kumarinin reaksiyonu.	64
5.8: Bileşik 7 ile 4-Hidroksi-6-Metil Kumarinin reaksiyonu.	65
5.9: Bileşik 6 ile 4-Hidroksi-6,7-Dimetil Kumarinin Reaksiyonu.	66
5.10: Bileşik 7 ile 4-Hidroksi-6,7-Dimetil Kumarinin Reaksiyonu.	67
5.11: MiCont Programı ve MiSens Cihazında Yürütülen Protokoller.	72
6.1: Bileşik 1, 2, 3, 4 ve 5'in yapısı.	76
6.2: a) Bileşik 1'e ait proton ile eşleşmemiş ³¹ P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ³¹ P NMR spektrumu.	77
6.3: a) Bileşik 1'e ait ¹ H NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ¹ H NMR spektrumu.	77
6.4: Bileşik 1'in tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile çözülmüş yapısı.	78

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
6.5: a) Bileşik 2'ye ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.	79
6.6: a) Bileşik 2'ye ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	79
6.7: Bileşik 2'nin tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile çözülmüş yapısı.	80
6.8: a) Bileşik 3'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.	81
6.9: a) Bileşik 3'e ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	81
6.10: a) Bileşik 4'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.	82
6.11: a) Bileşik 4'e ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	83
6.12: Bileşik 4'ün tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile çözülmüş yapısı.	84
6.13: Bileşik 5'e ait (a) Proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, (b) MALDI-TOF spektrumu.	84
6.14: Bileşik 6, 7 ve 8'in yapısı.	87
6.15: a) Bileşik 6'ya ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.	87
6.16: a) Bileşik 6'ya ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	88
6.17: Bileşik 6'nın tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile çözülmüş yapısı.	89
6.18: a) Bileşik 7'ye ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.	90
6.19: a) Bileşik 7'ye ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	90
6.20: Bileşik 7'nin tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile çözülmüş yapısı.	91
6.21: a) Bileşik 8'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.	93
6.22: a) Bileşik 8'e ait ^1H NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	93

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
6.23: Bileşik 9'un yapısı.	94
6.24: a) Bileşik 9'a ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.	95
6.25: a) Bileşik 9'a ait ^1H NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	96
6.26: Bileşik 10'un yapısı.	96
6.27: a) Bileşik 10'a ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.	97
6.28: a) Bileşik 10'a ait ^1H NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	98
6.29: Bileşik 11'in yapısı.	98
6.30: a) Bileşik 11'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.	99
6.31: a) Bileşik 11'e ait ^1H NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	100
6.32: Bileşik 12'nin yapısı.	101
6.33: a) Bileşik 12'ye ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^{31}P NMR Spektrumu.	101
6.34: a) Bileşik 12'ye ait ^1H NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	102
6.35: Bileşik 13'ün yapısı.	104
6.36: a) Bileşik 13'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^{31}P NMR Spektrumu.	104
6.37: a) Bileşik 13'e ait ^1H NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu.	105
6.38: Bileşik 14'ün yapısı.	106
6.39: a) Bileşik 14'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^{31}P NMR Spektrumu.	107
6.40: a) Bileşik 14'e ait ^1H NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ^1H NMR Spektrumu.	107
6.41: Bileşik 15'in yapısı.	108

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
6.42: a) Bileşik 15'e ait proton ile eşleşmemiş ³¹ P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	109
6.43: a) Bileşik 15'e ait ¹ H NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumu.	110
6.44: Bileşik 16'nın yapısı.	112
6.45: a) Bileşik 16'ya ait proton ile eşleşmemiş ³¹ P NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ³¹ P NMR Spektrumu.	112
6.46: a) Bileşik 16'ya ait ¹ H NMR spektrumu, b) Genişletilmiş ¹ H NMR Spektrumu.	113
7.1: Bileşik 1, 2 ve 4'e Ait Floresans Emisyon Spektrumu.	123
7.2: Bileşik 6'ya Ait Floresans Emisyon Spektrumu.	124
7.3: Bileşik 7'ye Ait Floresans Emisyon Spektrumu.	124
7.4: Bileşik 8'e Ait Floresans Emisyon Spektrumu.	125
7.5: Bileşik 9'a Ait Floresans Emisyon Spektrumu.	126
7.6: Bileşik 10'a Ait Floresans Emisyon Spektrumu.	127
7.7: Bileşik 11'e Ait Floresans Emisyon Spektrumu.	127
7.8: Bileşik 12'ye Ait Floresans Emisyon Spektrumu.	128
7.9: Bileşik 13'e Ait Floresans Emisyon Spektrumu.	129
7.10: Bileşik 14'e Ait Floresans Emisyon Spektrumu.	129
7.11: Bileşik 15'e Ait Floresans Emisyon Spektrumu.	130
7.12: Bileşik 16'ya Ait Floresans Emisyon Spektrumu.	130
8.1: Bileşik 2 ve 9'a Ait Misens Cihazı DNA Etkileşim Analizi.	132
8.2: Bileşik 4 ve 10'a Ait Misens Cihazı DNA Etkileşim Analizi.	133
8.3: Bileşik 6 ve 11'e Ait Misens Cihazı DNA Etkileşim Analizi.	134
8.4: Bileşik 7 ve 12'ye Ait Misens Cihazı DNA Etkileşim Analizi.	135
8.5: Bileşik 6 ve 13'e Ait Misens Cihazı DNA Etkileşim Analizi.	136
8.6: Bileşik 7 ve 14'e Ait Misens Cihazı DNA Etkileşim Analizi.	137
8.7: Bileşik 6 ve 15'e Ait Misens Cihazı DNA Etkileşim Analizi.	138
8.8: Bileşik 7 ve 16'ya Ait Misens Cihazı DNA Etkileşim Analizi.	139
9.1: Bileşik 13 ve 14'ün floresans emisyon spektrumu.	141
9.2: Bileşik 2, 4, 6, 7, 9, 10, 11 ve 12'nin DNA Etkileşim Analizleri.	142
9.3: Bileşik 6, 7, 13, 14, 15 ve 16'nın DNA etkileşim analizleri.	143

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Doğal Kumarin Türleri ve Farmakolojik özellikleri.	19
4.1: Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler.	55
4.2: DNA Etkileşim Analizi İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler.	56
4.3: Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Cihazlar.	56
5.1: DNA Etkileşim İncelemede Kullanılan Kimyasal Bileşiklerin Miktarları.	68
6.1: Bileşiklerin (1-5) IR spektrumu verileri.	85
6.2: Bileşiklerin (1-5) kütle sonuçları.	86
6.3: Bileşiklerin (6-8) kütle sonuçları.	92
6.4: Bileşiklerin (6-8) IR spektrumu verileri.	92
6.5: Bileşiklerin (9-12) kütle sonuçları.	100
6.6: Bileşiklerin (9-12) IR spektrumu verileri.	103
6.7: Bileşik 13'ün kütle sonucu.	106
6.8: Bileşik 14'ün kütle sonucu.	108
6.9: Bileşik 15'in kütle sonucu.	109
6.10: Bileşiklerin (13-16) IR spektrumu verileri.	111
6.11: 16 Bileşiğinin kütle sonucu.	114
6.12: Bileşik 1'e ait kristalografik veriler.	115
6.13: Bileşik 2'ye ait kristalografik veriler.	116
6.14: Bileşik 4'e ait kristalografik veriler.	117
6.15: Bileşik 6'ya ait kristalografik veriler.	118
6.16: Bileşik 7'ye ait kristalografik veriler.	119
7.1: Siklotrifosfazen türevlerinin UV-Visible Absorbsiyon Pikleri.	120

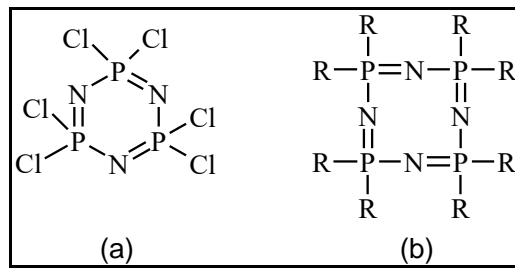
1.GİRİŞ

Bilim ve teknolojide yaşanan gelişmelere bağlı olarak, insanoğlunun yaşamını kolaylaştırıcı unsurlara her geçen gün bir yenisi eklenmektedir. Bununla birlikte, insan sağlığının korunmasına, hastalıkların önlenmesine ve tedavi edilmesine yönelik çalışmaların tarihi insanlık tarihi kadar eskidir. Çağımızın en ciddi hastalıklarından birisi, hiç şüphesiz kanserdir. Kanser, her yıl milyonlarca insanı etkileyen yıkıcı bir hastalıktır. Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü, 2024 yılında 19 milyondan fazla insanın kanser hastalığı ile mücadele ederek yaşamını devam ettirmek zorunda kalacağını öngörmektedir [1]. T.C. Sağlık Bakanlığına bağlı Halk Sağlığı Kurumu Kanser Daire Başkanlığının GLOBOCAN 2012 sitesinden derlediği dünya kanser istatistik verilerine göre, 2012 yılında kanser vakalarına bağlı olarak dünyada toplam 8.2 milyon ölüm gerçekleşmiştir. Bu şekilde kanser artış hızının devam etmesi ve tedbir alınmaması durumunda 2025 yılında 10 milyonun üzerinde insanın kansere bağlı olarak yaşamını yitireceği söylenebilir [2]. Buradan anlaşılacağı üzere, yeni ilaçların keşfedilmesi ve insanlığın kullanımına sunulması son derece önemlidir. Yeni ilaçların keşfedilmesi, oldukça uzun zaman alan ve çok ciddi ekonomik kaynak gerektiren bir uğraştır. Amerika Birleşik Devletleri, FDA (Gıda ve İlaç Dairesi) kayıtlarına göre, laboratuvaradaki ilaç olmaya aday 1000 bileşikten sadece bir tanesi klinik çalışmalara girebilmektedir. Klinik çalışmaya giren beş ilaç adayından ise sadece bir tanesi tedavi uygulamaları için onaylanmaktadır [3]. Bir ilacın geliştirilebilmesi için, 15 yıllık zaman dilimi ve yaklaşık olarak 802 milyon dolarlık bir maliyet gerekmektedir [4]. İlaç geliştirme süreci, ilaç etken maddenin keşfi, klinik öncesi testleri ve klinik araştırmaları içermektedir. Klinik öncesi testler, ilaç adayı bileşiğin *in-vitro* ve *in-vivo* testlerindeki performansını içerir. Bu aşamada, klinik uygulamalara geçilmeden önce, aday bileşiğin potansiyel yan etkileri ve sitotoksik özellikleri incelenir [5]. Karmaşık, uzun süreli ve maliyetli olan, ilaç geliştirme süreci değerlendirildiğinde; potansiyel ilaç adayı olabilecek bileşiklerin hızlı, verimli, etkin ve ekonomik olarak ön taramadan geçirilmesine olanak sağlayacak yeni yöntemlere ihtiyaç duyulduğu anlaşılmaktadır [6-7]. Son yıllarda biyosensörler, kanser araştırmalarında; tümörün mikro ortamda izlenmesi, tümör-ilaç etkileşiminin karakterizasyonu, kanserin doğru tespiti gibi uygulamalarda son derece hassas, hızlı

ve güvenilir olarak kullanılmaktadırlar. Bilindiği üzere, geleneksel kanser tarama ve tanımlama yöntemleri, biyopsi alınarak mikroskopik boyama ve tanımlama işlemlerine dayanmaktadır. Bu yöntemlerin uygulamalarında karşılaşılan güçlükler, yeni alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulmasına neden olmaktadır. Mikro akışkan sistemi ile çalışan biyosensörlerin popülaritesinin gittikçe arttığı görülmektedir [1]. MiSens cihazı, mikro akışkan sistemini kullanan bir biyosensör cihazıdır. Cihazın sinyal dönüştürücü kısmı elektrokimyasal esaslı, biyoaktif tabaka kısmı ise DNA ve Enzim temelli çalışmaktadır. MiSens biyosensör cihazı; laboratuvarında sentezlenmiş olan kimyasal bileşiklerin, DNA ile etkileşim düzeylerinin belirlenmesine olanak sağlayacak bir ön tarama cihazıdır. DNA etkileşim analizi sonucu elde edilen veriler ışığında, potansiyel ilaç adayı olabilecek bileşiklerin hızlı ve ekonomik olarak belirlenebilmesi mümkündür. Yeni nesil biyosensör sınıfında yer alan MiSens biyosensör cihazının, bu alandaki ciddi bir boşluğu dolduracağı düşünülmektedir.

Siklofosfazenler, tekrar eden $[N=PX_2]$ birimlerini içeren inorganik heterohalkalı bileşiklerdir. Bu bileşik sınıfı arasında klorofosfazenler, $N_3P_3Cl_6$ (trimer) ve $N_4P_4Cl_8$ (tetramer), oldukça fazla çalışılmaktadır (Şekil 1.1). Geleneksel olarak siklofosfazenler kimyası, iki ana tema üzerinde yoğunlaşmıştır:

- Halojenosiklofosfazenlerin nükleofilik substitüsyon reaksiyonları.
- $N_3P_3Cl_6$ 'nın lineer polidiklorofosfazen $[N=PCl_2]_n$ 'e halka-açılma polimerizasyonu. Bu iki ana tema dışında siklofosfazenlerin, koordinasyon bileşiklerinde ve organometalik kimyada ligant olarak kullanılabilmeleri de araştırmacıların ilgisini çekmektedir [8].



Şekil 1.1: Fosfazen bileşikleri: a) trimer, b) tetramer.

Kumarin bileşikleri 1,2-benzopirandan türemiş bileşiklerdir. Kumarinler, Tonka fasulyesi, Bael meyvesi, Yaban mersini gibi birçok farklı bitkiden izole

edilebilmelerinin yanı sıra laboratuvar ortamında da sentezlenebilmektedirler. Literatür incelendiğinde, kumarin bileşikleri ile ilgili oldukça fazla çalışmanın gerçekleştirildiği görülmektedir. Kumarin bileşiklerinin kullanım alanlarına, kemoterapik ajan, nikotin bağımlılığı tedavisi, gıda katkı maddeleri, esans yapımı, biyolojik aktif madde gibi oldukça fazla örnek verilebilir. Bunlara ek olarak kumarin bileşiklerinin ilaç yapımında veya ilaç etken madde olarak kullanılabilme potansiyelleri oldukça yüksektir. Antioksidan, antikoagulan, antitümör vb. alanlarda etkili özellikler sergilemeleri nedeniyle kumarinler, birçok bilim insanının ilgisini çekmektedir [9].

Bu çalışmada, kumarin sübstitue siklotrifosfazen bileşiklerinin sentezi, sentezlenen bileşiklerin yapılarının aydınlatılması ve MiSens Biyosensör cihazı ile DNA etkileşim analizlerinin yapılarak biyolojik aktivite özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada, kumarin bileşikleri farmakolojik olarak önemli kimyasal yapılardan birisi olmaları nedeniyle seçilmiştir. Bilindiği üzere, siklotrifosfazen bileşikleri yapıya bağlanan gruplara göre farklı özellikler sergileyebilmektedir.

Tez kapsamında, heksaklorosiklotrifosfazen (trimer) ile difonksiyonlu reaktifler olan 2,2'-dihidroksidifenilmetan ve 1,1'-metilendi-2-naftol'un reaksiyonları ayrı ayrı gerçekleştirildi. Trimer ile 2,2'-dihidroksidifenilmetan'ın reaksiyonundan 1-5 bileşikleri; 1,1'-metilendi-2-naftol ile reaksiyonundan ise 6-8 Bileşikleri elde edildi. 2, 4, 6, 7 Bileşikleri ile 4-hidroksikumarin'in reaksiyonundan 9, 10, 11 ve 12 Bileşikleri elde edildi. Benzer şekilde 6, 7 Bileşiklerinin 4-hidroksi-6-metil kumarin ve 4-hidroksi-6,7-dimetilkumarin ile ayrı ayrı reaksiyonlarından 13, 14, 15 ve 16 Bileşikleri elde edildi.

Reaksiyonlar sonucu oluşan ürünlere (1-16) uygun ayırma ve saflaştırma işlemleri uygulandıktan sonra, ürünlerin yapıları kütle (MALDI-TOF), ³¹P, ¹H-NMR spektroskopisi ile aydınlatıldı. 1, 2, 4, 6 ve 7 bileşiklerinin yapıları tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile de aydınlatıldı. Daha sonra, tez kapsamında sentezlenen kumarin sübstitue siklotrifosfazen bileşiklerinin floresans özellikleri incelendi ve DNA etkileşim analizleri de yapılarak DNA'ya bağlanma özellikleri araştırıldı.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Fosfazenler

Fosfazen bileşiklerinin literatüre ilk kez girişi; 1834 yılında Liebig ve Wöhler'in çalışmaları sayesinde olmuştur. Her iki bilim insanı da fosforpentaklorür ile amonyağın reaksiyonunun sonucunda kararlı, beyaz kristal bir bileşik elde edildiği sonucuna ulaşmıştır [10]. 1850 yılında Gerhardt ve Laurent önerilen formülün yanlış olduğunu, ampirik formülün NPCl_2 olduğunu ifade etmişlerdir. 1864 yılında Gladstone, Holmes ve Wichelhnus saflaştırılmış ürünün buhar yoğunluğunu ölçmüş ve molekül formülünü $\text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_6$ olarak belirlemiştir [11-12]. Stokes'un, 1899'da heksaklorosiklotrifosfazen'in halkalı yapısını önermesiyle fosfazen kimyasının temelleri oluşmuştur [13]. 1800'lü yılların ortalarında fosfazen bileşikleri keşfedilmiş olsa da; yaklaşık 100 yıl sonra deneysel ve spektroskopi alanındaki gelişmelere bağlı olarak bu alandaki çalışmalar hız kazanmıştır.

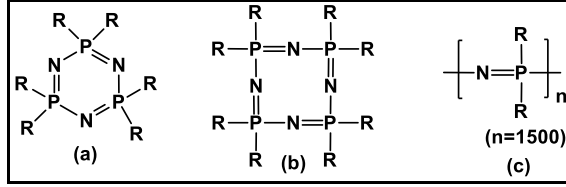
Fosfazenler; 3 değerlikli azot, 5 değerlikli fosfor atomlarının $-\text{[N=PR}_2\text{]}-$ birimleri şeklinde tekrarından oluşan ve anorganik kimyada en çok çalışılan bileşik sınıflarından birisidir [14]. Yapıda bulunan $-\text{R}$ süstitüentinin her ikisi de fosfor atomları üzerinde bulunmaktadır. Fosfazenler $\text{P}=\text{N}$ çifte bağı bulundurduklarından dolayı anorganik karakter taşırlar.

1900'lü yılların başından itibaren klorofosfazenlerin sentezleri için birçok metod geliştirilmiş ve geliştirilen yöntemler bugün bile, bu maddelerin ticari üretiminin temeli olarak kullanılmaktadır (2.1).



Bu reaksiyon sonucunda oluşan ürünler, genel olarak halkalı ve lineer fosfazenlerin karışımıdır. Halkalı fosfazenler; $(\text{NPCl}_2)_3$ (% 37), $(\text{NPCl}_2)_4$ (% 28) ve $(\text{NPCl}_2)_n$ (% 35)'dir. Lineer polimerik maddeler, organik solventlerde (eter vb.) çözünmemelerinden dolayı, halkalı bileşiklerden kolayca ayrıştırılabilirler [15].

Halkalı yapıdaki trimer (Şekil 2.1a), halkalı yapıdaki tetramer (Şekil 2.1b), ve yüksek molekül ağırlıklı polimerler (Şekil 2.1c), (R= halojen, alkil, ariloksi vb.) en fazla çalışma alanı bulunan fosfazen bileşikleri arasında yer almaktadır.



Şekil 2.1: a) Halkalı yapıdaki trimer, b) Halkalı yapıdaki tetramer, c) Polimer.

Halkalı yapıda bulunan trimer, tetramer ve birçok fosfazen bileşiği beyaz renkli kristal katı formundadır ve organik solventlerde çözünür. Yüksek molekül ağırlığına sahip düz zincirli polimerler, elastomerik veya termoplastik özellik gösterirler. Bu türevlerin büyük çoğunluğu atmosferik oksijene ve neme karşı kararlı yapıdadırlar [16].

Günümüzde; fosfazenler, süstitüsyona olanaklı olmaları ve süstitüe edilen grubun yapısına göre farklı özellikler sergilemeleri nedeniyle popüler çalışma alanlarından birisi olmuşlardır. Fosfazen türevi bileşikler, yapıda bulunan anorganik, organik ve organometalik gruplara bağlı olarak farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olabilmektedir. Bu özellikleri, fosfazen bileşiklerinin önemli teknolojik ve medikal uygulamalarda kullanılabilmelerine imkan sağlamaktadır [17].

2.2. Fosfazenlerin Geometrik ve Elektronik Yapıları

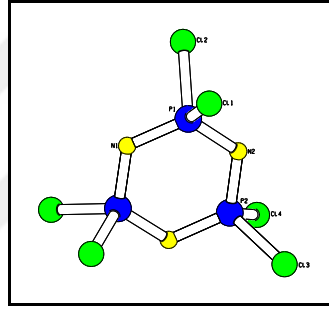
2.2.1. Düz Zincirli Fosfazenler

Düz zincirli fosfazen moleküllerinin genel formülleri $R_3P=NR'$ şeklindedir. Yapıda bulunan fosfor ve azot atomları ardışık olarak yerleşmişlerdir. Fosfor atomları sp^3 hibritleşmesi yaparken azot atomları sp^2 hibritleşmesi yapar. Fosfor atomları, hibrit orbitallerinde bulunan elektronlardan dört tanesini diğer atomlar ile sigma bağı yapmak için kullanır. Diğer bir elektron ise 3d orbitallerinde kalır. sp^2 hibritleşmesi yapan azot atomu hibrit orbitallerinde bulunan elektronlardan 2 tanesini

fosfor atomları ile sigma bağı yapmak üzere kullanır. Hibrit orbitalleri üzerinde bulunan ortaklanmamış bir çift elektronu vardır. Diğer tek elektronu ise p_z orbitalinde bulundurmaktadır. Fosfor atomunun d orbitallerindeki bir elektron ile Azot atomunun p_z orbitalindeki bir elektron örtüşerek π bağlarını oluşturmaktadır [18].

2.2.2. Halkalı Fosfazenler

Fosfazenin ilk X-ışını kırınımı incelemesi 1936 yılında Meyer, Lotmar ve Pankow tarafından yapılmıştır [19]. 1943’de Brockway ve Bright trimerin yapısını yeniden incelediğinde [20], yapıda azot ve fosfor atomlarının birbirini takip ettiğini, yapının benzen halkasına benzer altı üyeli olduğunu, halka düzleminde ve her bir fosfor atomuna iki klor atomunun bağlı olduğunu açıklamışlardır(Şekil 2.2).

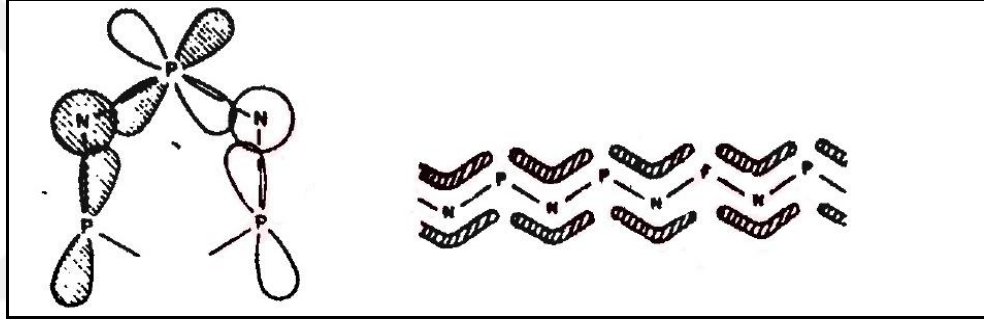


Şekil 2.2: Siklotrifosfazenin tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile çözülmüş yapısı.

Önerilen yapılar ve toplanan veriler halkada çoklu P-N bağlarının bulunduğunu desteklemektedir. Halkadaki fosfor atomları yaklaşık tetrahedral yapıdadır ve P-N bağ uzunlukları birbirine eşittir. P-N bağ uzunlukları normal tekli bağa göre 20 pm daha kısadır ve yaklaşık olarak $1,58 \text{ \AA}$ dur. N-P-N atomları arasındaki bağ açısı $118,8^\circ$, P-N-P atomları arasındaki bağ açısı $120,9^\circ$ iken ve Cl-P-Cl atomları arasındaki dış bağ açısı ise $101,8^\circ$ dir. Fosfor atomlarına bağlanan grupların elektronegatiflikleri arttıkça bu bağ uzunlukları kısalmır. Fosfor atomlarına farklı atomlar ya da grupların bağlı olması durumunda, halkada farklı uzunlukta P-N bağlarına ve düzlemsellikten sapmış halka yapısına rastlanabilir [21].

Trimer, erime noktası 114,6 °C, kaynama noktası 256 °C, yoğunluğu 1,98 g/cm³ olan beyaz kristal yapıda bir bileşiktir. Petrol eteri ve hekzan gibi çözücülerde kristallenen trimer, rombik kristal yapıdadır. Belirli sıcaklık ve basınçta (55 °C, 0,1 mm Hg) süblimleşebilmektedir. Trimer, nemsiz hava ortamında kararludur ve çözelti ortamında su bulunması durumunda hidroliz olmaktadır.

Trimerin elektronik yapısını açıklamak üzere farklı teoriler öne sürülmüş olsa da; 1960 yılında Dewar, Lucken ve Whitehead tarafından öne sürülen ve ada modeli olarak da bilinen model uzun yıllar kabul görmüştür. $d\pi-p\pi$ modeli olarak da adlandırılan bu modele göre; Fosfor atomuna ait d_{xz} ve d_{yz} orbitallerinin her bir çifti azot atomunun p_z orbitali ile etkin bir şekilde etkileşerek 3 merkezli π -bağlı P-N-P sistemini oluşturur (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: Trimerdeki fosforun d_{xz} ve d_{yz} orbitallerinin azotun p_z orbitali ile örtüşmesi.

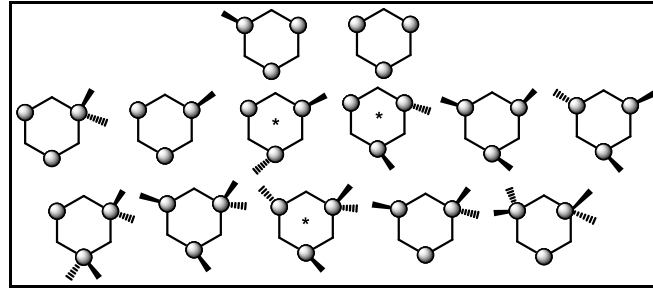
Dewar ve arkadaşları tarafından yapılan hesaplamalar teoriyi kuvvetlendirmiş ve uzun bir süre kabul görmüştür [22].

2005 yılında Chaplin, Harrison ve Dyson tarafından yapılan başka bir çalışmada; o güne kadar düşünülenin aksine d orbitallerinin bağa katkısının çok fazla olmadığı belirtilmiştir. Çalışmada; farklı programlar kullanılarak bazı siklotrifosfazen bileşiklerinin ve fosfor atomu içeren bileşiklerin bağ uzunlukları ve delokalizasyon göstergeleri incelenmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda bu moleküllerin sahip olduğu en düşük enerjili geometrik yapılar açıklanmıştır. Bu çalışma kapsamında; P atomundan N atomuna doğru yük transferi gerçekleşirken, P-N bağının genellikle iyonik karakter taşıdığı, P-X (X=Cl, F) bağının ise genellikle kovalent karakter taşıdığı belirtilmiştir. Ölçümlerin ve hesaplamaların yapılmasında doğal bağ orbitalleri ve elektron yoğunluğu analizleri kullanılmıştır. Analiz sonuçları,

P-N bağı oluşumuna negatif hiperkonjugasyonun katkısının önemli olmasının yanında P-N bağının iyonik bağ karakteri taşıdığını desteklemiştir. Fosfazen halkasına sadece elektron çekici grupların (-F, -Cl, -OC₂C₆H₄ vb.) bağlı olması durumunda yapılan ölçümler, siklotrifosfazen halkasında delokalizasyonun varlığını desteklemiştir. Bu nedenle, trimer halkasının anorganik benzen halkası adayı olabileceği ifade edilmiştir [23].

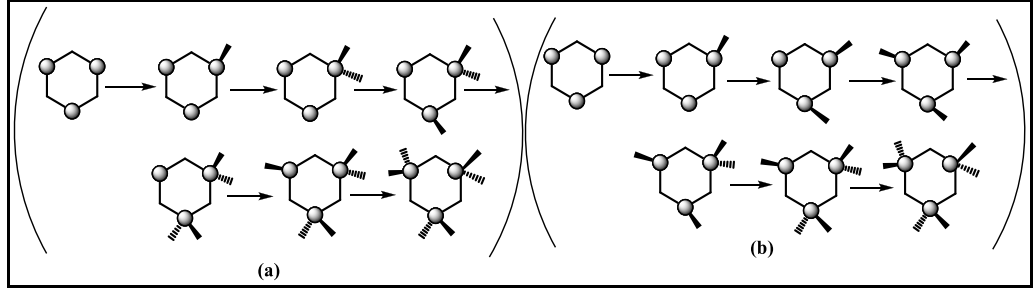
2.3. Fosfazenlerin Stereokimyası

Klor atomlarının ikinci bir süstitüent ile yerdeğiştirmesi durumunda trimer halkasının mümkün olabilen izomerleri Şekil 2.4'de görölmektedir. Fosfor atomlarının nokta ile gösterildiği trimerin yapısı hegzagonal olarak görölmektedir. Yapının daha kolay anlaşılabilmesi için klor atomları gösterilmemiştir. Trimere ikinci süstitüentin katılması durumunda, ikinci süstitüentin konumları düz veya noktalı çizgi ile belirtilmiştir. Yıldız işareti bulunan yapılarda, simetri elemanları bulunmazken, optik izomerliğin mümkün olduğu görölmektedir. *Cis-trans* izomerleri ve izomerleşme durumları birbirinden ayırt edilebilir [24].



Şekil 2.4: Hezazklorosiklotrifosfazenin stereokimyası.

Trimerde klor atomlarının yer değişimini gösteren iki farklı reaksiyon mekanizması vardır. Bu farklılık, birinci süstitüsyondan sonra bir klor atomu içeren fosforda meydana gelmesi (geminal değişme) (Şekil 2.5a) veya iki klor atomu içeren fosforda (geminal olmayan değişme) meydana gelmesine bağlıdır (Şekil 2.5b) [25].



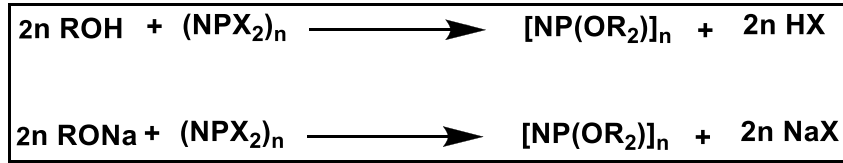
Şekil 2.5: a) Trimer'de geminal yer değiştirme, b) Trimer'de geminal olmayan yer değiştirme.

Trimerin reaksiyon mekanizmasının ilerleyişinin polarlığa ve sterik etkilere bağlı olduğu düşünülür. Her iki yer değiştirme mekanizması da mümkündür, fakat birinci yer değiştirme yolu daha baskındır. Klorun polar etkisi olduğunda ve benzer gruplar yer değiştirdiğinde, yer değiştirme pozisyonu bağlı büyüklüğe bağlıdır. Eğer yer değiştiren grup klordan daha küçük ise; geminal yer değiştirme meydana gelir. Fakat yer değiştiren grup klordan daha büyük ise, yer değiştirme farklı fosfor atomunda (geminal olmayan) meydana gelebilir. Yer değiştiren grup benzer büyüklükte olduğunda, bağlandığı fosfor atomuna yüksek elektron yoğunluğu sağlar ve sonuç olarak aynı fosfor atomuna nükleofilik saldırı olamadığı için, geminal olmayan yer değiştirme tercih edilebilir. Eğer, fosfordaki elektron yoğunluğu, yer değiştiren grup tarafından azaltılırsa, o zaman aynı fosfor atomunda yani geminal yer değiştirme meydana gelebilir.

4. Fosfazenlerin Alkoksitler ve Fenoksitler ile Reaksiyonları

Fosfazenlerin hidroksil grubu içeren nükleofiller (alkol, fenol vb.) ile reaksiyonları, reaksiyon esnasında çok az yan ürün oluşması ve ürünlerin kolay saflaştırılarak izole edilebilmeleri nedeniyle fosfazen kimyasında popüler olarak tercih edilen reaksiyon türlerindedir. Alkoksi ve ariloksi fosfazenler; fosfazenlerin organik bir solvent içerisinde, (i) alkol veya fenollerin piridin, trietilamin gibi tuz tutucu varlığında etkileştirilmesi ile, (ii) alkol veya fenollerin sodyum tuzları ile etkileştirilmesinden sentezlenebilmektedir [26]. Reaksiyonlar genel olarak aşağıda

gösterildiği gibi formüle edilir (Şekil 2.6). Bu yöntemle sentezlenmiş olan birçok fosfazen türevi literatürde göze çarpmaktadır [15].



Şekil 2.6: Fosfazenlerin alkoller ve sodyum alkolatlarla reaksiyonları.

2.5. Alkoliz ve Fenoliz Reaksiyonlarını Etkileyen Faktörler

2.5.1. Nükleofil Cinsi

Alkoksi gruplarında dallanmanın bulunmaması, dallanmanın bulunduğu alkoksi gruplarına ve fenoksi gruplarına göre reaksiyonu kolaylaştırıcı etki yaratır. Örneğin, trimer, tetramer veya poli(dikloro)fosfazen ile metoksit, etoksit ve *n*-propoksit çok kolay reaksiyon verirken, fenoksit ile oldukça etkin şartlarda reaksiyon verir. Bununla beraber eğer stokiyometri doğru seçilirse ve reaksiyon şartları ılımlı olursa kısmi sübstiüe türevler hazırlanabilmektedir. Nükleofilin sterik büyüklüğü halojenin yer değiştirmesinde etkilidir.

2.5.2. Sübstitüentlerin Etkisi

Sübstiüe olmuş grupların türü, alkoliz ve fenoliz reaksiyonları üzerinde farklı etkiler yaratır. Örneğin, *geminal*-N₃P₃Cl₄Ph₂ ve *geminal*-N₃P₃Cl₂Ph₄ bileşikleri, metoksit, etoksit ve *n*-propoksit ile reaksiyonları incelendiğinde; sübstitüsyon derecesinin N₃P₃Cl₆ (trimer)'de en yüksek olduğu, N₃P₃Cl₂Ph₄'de ise en düşük olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, fenil gruplarının komşu fosfor atomlarının reaksiyon verme gücünü azalttığını desteklemektedir [26].

2.5.3. Çözücü Etkisi

Bu tür süstitüsyon reaksiyonlarında birçok susuz çözücü kullanılabilir. Bunlar, dietileter, dioksan, benzen, toluen, ksilen, tetrahidrofuran, piridin vb. veya süstitüsyon için kullanılan alkolün fazlası da olabilir. Fosfor-halojen bağlarının hidroliz olmaması için oldukça kuru ortam gereklidir. Bu açıdan özellikle tetrahidrofuran, dioksan gibi hidrofilik çözücülerin kullanılması durumunda çözücüler iyice kurutulmalıdır. Çözücülerin seçimindeki diğer önemli noktalar çözücünün polaritesi ve ortamdaki sodyum tuzlarının çözünürlüğüdür. Genellikle çözücünün alkoksit veya ariloksiti çözmesi ve oluşan tuzları çözmemesi istenir. Eterler bu amaç için uygun çözücülerdir. Ayrıca çözücünün polaritesi de reaksiyon hızı ve mekanizması üzerinde etkilidir. Bu etki reaksiyona göre değişir. Fakat polar çözücüler alkoksit veya ariloksit iyonlarının iyonlaşmasını kolaylaştırdığı için reaksiyon hızını artırır. Süstitüsyon derecesi dimetilformamit> diglim> tetrahidrofuran> benzen> dietileter şeklinde azalmaktadır. Bu eğilim Na⁺ iyonunun beklenen solvasyon azalması ile paralellik gösterir.

2.5.4. Fosfazen Halkası ya da Zincir Büyüklüğünün Etkisi

Trimer, tetramer, diğer oligomerler ve polimerlerin, süstitüentlerle olan reaksiyon yatkınlıkları incelendiğinde, trimerin süstitüentlerle olan reaksiyonlarının en fazla olduğu görülür. Örnek vermek gerekirse, trimer ile katekolün bazik ortamda reaksiyonundan spiro siklotrifosfazen bileşiği kolay elde edilebilirken, tetramer kullanıldığında daha zor şartlarda izole edilebilmiş, polimerin reaksiyonu gerçekleştirildiğinde ise parçalanmanın olduğu ifade edilmiştir [15].

2.5.5. Baz Etkisi

Reaksiyonların büyük çoğunluğunda bir baz veya sodyum tuzu, alkol yada fenol ile bir klorofosfazen etkileşime girmeden önce ortamda bulunmalıdır. Yalnızca yüksek sıcaklıklarda çapraz bağlı polifosfazenlerin oluştuğu reaksiyonlarda bir baz bulunmaz. Alkol, fenol veya tiyollerin sodyum tuzları eter veya tetrahidrofuran

solventleri ile hazırlanan çözeltilerine metalik sodyum ilave edilerek hazırlanabilmektedir. Kuvvetli asidik yapıdaki alkol veya fenoller kullanıldığında, tuz oluşumunu kolaylaştırmak için potasyum hidrosit veya sodyum hidroksit gibi bazlar kullanılabilir. Fakat bu yöntem yan reaksiyonların gerçekleştiği reaksiyonlar için pek uygun değildir. Bu durumda en uygun koşullar, tuz tutucu olarak sodyum karbonat, piridin ve trietilamin kullanılarak oluşturulabilmektedir.

2.6. Alkoliz ve Fenoliz Reaksiyonlarının Mekanizması

Alkoliz veya fenoliz reaksiyonlarının mekanizmaları, hidroliz, aminoliz ve bozunma reaksiyon mekanizmaları ile benzerlik göstermektedir. Bu mekanizmalar ile ilgili bazı deneysel bulgular aşağıda verilmiştir.

Bir halofosfazen ile alkol veya fenol arasında herhangi bir bazın bulunmadığı direkt reaksiyon yavaş gerçekleşir ve reaksiyon sonucunda süstitüe fosfazenden çok, yan ürünler veya bozunma ürünleri oluşur. Alkol veya fenol ile birlikte kuvvetli bir bazın bulunduğu reaksiyonlar ise hızlıdır. Bu durum reaksiyon sırasında reaktif türlerin alkoksit veya ariloksitlerin olduğunu gösterir. Reaktif türün EtONa değil, EtO⁻ olduğu, N₃P₃Cl₆ ve N₃P₃Cl₄(OBU)₂'nin sodyum etoksit ile reaksiyonlarının kinetik incelenmesi sırasında tespit edilmiştir [15], [21]. Etoksit iyonuna iyonlaşma polar çözücülerde daha hızlı olmakta ve bu da süstitüsyon hızını artırmaktadır.

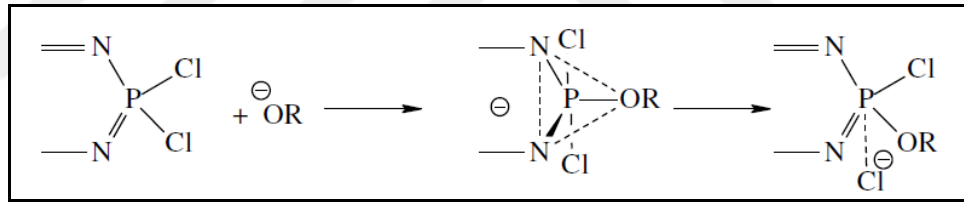
Süstitüsyonun derecesi ve mekanizması, nükleofilin sterik karakterine de bağlıdır. Dallanmış türlerin süstitüsyonu zor gerçekleşir. Bu yüzden fenoksitlerin süstitüsyonu genellikle geminal olmayan yoldan gerçekleşir.

Fenoksit ve bazı alkoksitlerde fosfora elektron verilmesi ile Cl-P-OR biriminin aktifliğinin, Cl-P-Cl biriminin aktifliğinin altına düşmesi sonucu geminal olmayan değişim mekanizmasının gözlenmesi mümkündür. Polarografik deneylerin sonuçlarından bu etkinin fenil gruplarının rezonans etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir [27]. Bununla beraber oksijen üzerindeki eşleşmemiş elektronların fosfora doğru verilmesi de mümkündür.

Alkiltiyolat iyonlarının elektronegatiflikleri klor gruplarına göre düşük olmasına rağmen daha çok geminal olmayan süstitüsyon verir. Bu davranış, Cl-P-SR gruplarının Cl-P-Cl gruplarından daha fazla kutuplanabilir olmasına bağlıdır.

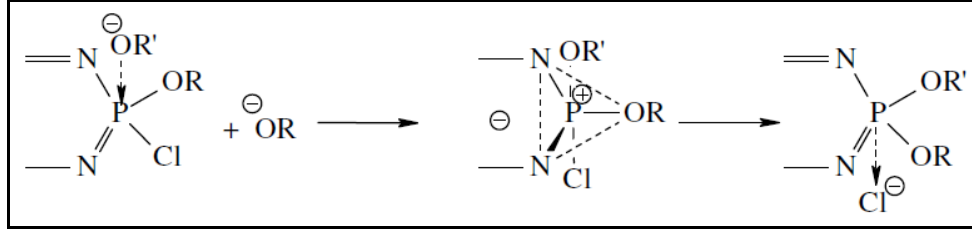
Difonksiyonlu gruplar ile spiro siklofosfazenlerin oluşumunda geminal halkalaşma, fosforda beş, altı veya yedi üyeli halkalar olduğu zaman kolayca olur. Bu durum geminal sübstitüsyonda sterik etkiler hariç, elektronik etkilerin bulunmadığını gösterir.

Hekzaklorosiklotrifosfazen'de klorlar bir alkil oksit olan bütoksit iyonu ile yer değiştirdiğinde, reaksiyon hızı $(\text{NPCl}_2)_3 > \text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_5(\text{OBU}) > \text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_4(\text{OBU})_2 > \text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_3(\text{OBU})_3$ sırasında azalırken, aktivasyon enerjileri sırasıyla 10.0, 11.3, 14.5 ve 17.2 kcal/mol şeklinde artar. Hızdaki bu azalma, bütoksit gruplarından halkaya elektron verilmesinin bir sonucu ise, S_N^1 tipi mekanizma olanaksızlaşır. Çünkü elektron sunulması P-Cl bağının iyonlaşmasını zorlaştırır ve bunun sonucu hız azalır. Eğer reaksiyon S_N^2 tipi bir mekanizma üzerinden yürürse geçiş haline ulaşmak için iki yol vardır. Birinci yol Şekil 2.7'de görüldüğü gibi halka düzlemindeki fosfor atomu üzerine nükleofilin saldırısını içerir. Söz konusu konfigürasyonun çevrilmesi ayrılan grubun karakterine bağlıdır. Bütoksit iyonu için aktivasyon entropisinin düşük olması mekanizmanın bu tip olduğuna kanıt olarak gösterilir.



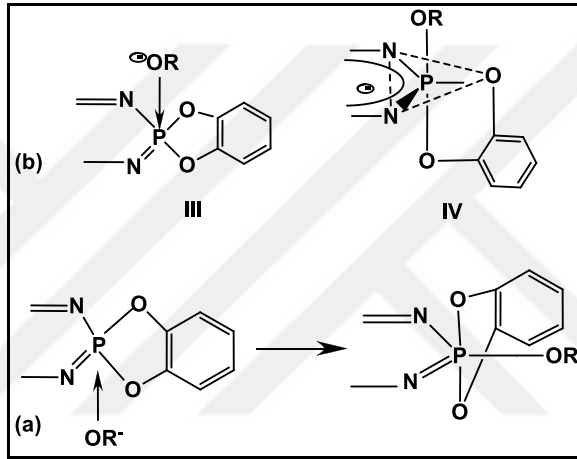
Şekil 2.7: Halka düzleminde fosfor üzerine bir yan grubun saldırması.

İkinci ve daha mantıklı diğer yol ise, trigonal bipramidal geçiş haline arkadan bir saldırı ile inversiyonun gerçekleşmesidir (Şekil 2.8). Bu tip bir mekanizmanın geçerli olduğuna delil olarak; OH^- ya da MeO^- gibi nükleofiller ile spirosiklik ariloksi fosfazenlerin reaksiyonları verilebilir.



Şekil 2.8: Trigonal bipiramidal ara hal oluşumu için bir geri saldırı mekanizması.

RO⁻ tarafından fosfor atomuna yapılan saldırı sonucu, iki P-O-Ph birimi aksiyal pozisyonlara geçer ve böylece yan saldırı mekanizması engellenir (Şekil 2.9a).



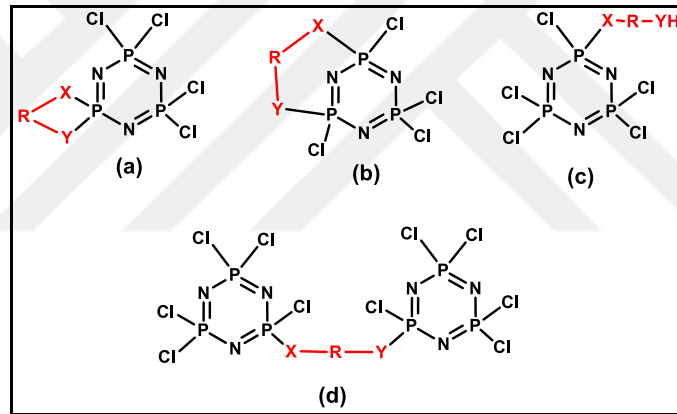
Şekil 2.9: a) OR⁻ grubunun aksiyel bağlanması, b) Fosforda beş-üyelı halkalı Spiro-ariloksifosfazenler üzerine olan nükleofilik saldırı sırasındaki beş üyelı halkanın aksiyel ve ekvatoryel pozisyonları.

HO⁻ ve RO⁻ tarafından beş üyelı halkalı spiro-ariloksifosfazenler üzerine yapılan nükleofilik saldırı, yedi üyelı halkalar bulunduran veya fosforda iki bağımsız sübtütient içeren moleküller üzerine olan saldırıdan daha hızlıdır. Bu durum beş üyelı halkanın aksiyel ve ekvatoryal pozisyonlarda bulunabilmesinin kolaylığını gösterir (Şekil 2.9b). Böylece O-P-O bağı yaklaşık 90-95° olur. Bundan dolayı geçiş halinin enerjisi, fosforu da içeren beş üyelı halkanın varlığı ile düşer ve reaksiyon hızı artar. RO⁻ tarafından yapılan saldırının, OH⁻ tarafından yapılan bir saldırı ile aynı yolu izlediği düşünülür. Yani bir S_N² mekanizmasıdır. OH⁻ ve RO⁻ arasındaki farklar R grubunun yüksek polarizlenebilme özelliği olduğu zaman ortaya çıkar.

2.7. Fosfazenlerin Difonksiyonlu Alkoller ile Reaksiyonları

Temel olarak difonksiyonlu reaktifler fosfazenler ile dört tip ürün (Şekil 2.10) verirler [28].

- Spiro: Bağlanan grubun her iki ucu da aynı fosfor atomuna bağlanır.
- Ansa: Bağlanan grubun her iki ucu da aynı molekülde farklı fosfor atomlarına bağlanır.
- Açık zincir yapısı: Fosfor atomu üzerinde yalnızca bir grup bağlanır, bağlanan grubun diğer ucu ise serbest kalır
- Köprülü: Bağlanan grubun her iki ucuda farklı moleküllerde bulunan birer fosfor atomlarına bağlanmış haldedir.



Şekil 2.10: a) Trimerin spiro yapısı, b) Ansa yapısı, c) Açık zincir yapısı, d) Köprülü yapısı.

Difonksiyonlu reaktif ile siklotrifosfazenlerin reaksiyonunda reaktifin türüne göre enantiyomerik saflıkta siklotrifosfazen türevleri elde edilebilmektedir. Elde edilen ürünler kullanılarak siklolineer yapıda polimerler elde edilmiştir. Elde edilen polimerlerin özellikleri incelenmiştir [29].

2.8. Fosfazen Türevlerinin Uygulama Alanları

Metal içeren siklofosfazen bileşiklerinde bulunan geçiş metali iyonları yapıya farklı özellikler kazandırabilmektedir. Bu nedenle araştırmacıların ilgisini çekmekte-

dir. Son yıllarda, polimerik metal fosfazen materyallerin elektro iletken, katalitik substratlar, doğrusal olmayan optik malzemeler ve anti kanserojen ajanlar gibi potansiyel uygulamaları keşfedilmiştir [30]. Dispirobino ve dispiroansa spermin türevi siklotrifosfazen bileşiklerinin, *in-vitro* ortamında insan kolon kanseri ve epidermoid kanseri hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir. Ayrıca antimikrobiyal etkilerinin de incelendiği çalışmada; olumlu sonuç gösteren türevlerin sentezlendiği belirtilmiştir [31]. Siwy ve çalışma arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada; 1,3-(oksitetraetilenoksi)siklotrifosfazen türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen 11 adet molekülün *in-vitro* ortamında antiproliferatif (çoğalma önleyici) etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda; hücre deneyleri için, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, mesane kanseri ve lösemi kanser hücreleri kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda bazı türevlerin anlamlı sonuçlar sergilediği görülmüştür [32]. 2014 yılında yürütülen başka bir çalışmada; siklotrifosfazen çekirdeğinden 6 kollu tiyosemikarbazon türevi siklotrifosfazenler sentezlenmiştir. Sentezlenen 7 adet siklotrifosfazen türevinin *in-vitro* ortamında meme kanseri ve yumurtalık kanserine karşı antiproliferatif (çoğalma önleyici) etkileri incelenmiştir. Çalışmada; halojen bağlı tiyosemikarbazon türevlerinin diğer türevlerden daha yüksek etki gösterdiği belirtilmiştir [33]. Benzer şekilde literatürde siklotrifosfazen bileşiklerinin, kemik oluşumunu destekleyen [34], biyomedikal uygulamaları [35-36], antitüberküloz ve antibakteriyel [37], biyolojik aktif [38] ve biyobozunur materyaller [39] ile ilgili çalışmaları bulunmaktadır.

Ağır metallerin optik yöntemlerle belirlenmesi son yıllarda oldukça popüler araştırma konuları arasında yer almaktadır. Bunun başlıca sebepleri arasında: atomik absorpsiyon, ICP gibi metodlardan daha ekonomik olması, yüksek seçicilik ve hassasiyete sahip olması sayılabilir. Literatürde Cu^{+2} , Fe^{+3} , Zn^{+2} , Hg^{+2} iyonları gibi ağır metallerin tespitine yönelik floresans sensör çalışmalarına rastlanmaktadır. Çiftçi ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yürütülen çalışmada; difenol ve dianilin grubu içeren floreniliden köprülü Siklotrifosfazen bileşikleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonlarına karşı floresans kemosensör özellik gösterdiği rapor edilmiştir [40]. 2014 yılında yapılan başka bir çalışmada klik reaksiyonu ile sentezlenmiş olan siklotrifosfazen türevi bileşiğin Fe^{+3} iyonuna karşı diğer anyon ve katyonların varlığında yüksek seçicilikte floresans sensör özellik sergilediği belirtilmiştir [41].

Son yıllarda yaşanan bilimsel gelişmeler ve teknolojik araç-gereçler incelendiğinde; sıvı kristal özellik gösteren yeni moleküllerin bulunmasına yönelik çalışmalar göze çarpmaktadır. Sıvı kristal özellik gösteren maddeler; hesap makineleri, otomobil panelleri, bilgisayarlar vb. elektronik eşyalarda kullanılmaktadır. Literatürde fosfazen bileşiklerinin sıvı kristal özellikleri ile ilgili çalışmalar yer almaktadır [42-45].

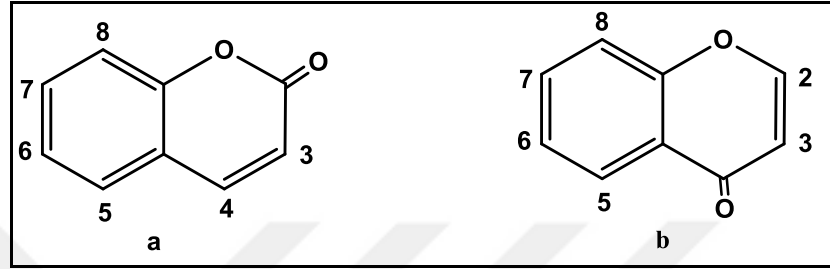
Dendrimerler; malzeme bilimi, nanoteknoloji, biyoloji ve ilaç bilimi gibi alanlarda kullanılabilme potansiyeli olan bileşiklerdir. Fosfazen bileşiklerinin dendrimer sentezinde kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır [46-48]. Brahmi ve çalışma arkadaşları tarafından 2013 yılında yapılan bir çalışmada; dendrimer fosfazen bileşiklerinin ve bakır komplekslerinin epidermal karsinoma ve lösemiye karşı anti-kanserojen aktivite gösterdiği belirtilmiştir [49].

Edward ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, halojen içermeyen fosfor temelli monomerler sentezlenmiştir. Sentezlenen monomerler, DAEP (Di (allilamino) etil Fosfat), DADMPA (Di(allilamino)dimetilfosforamid) ve HACTP (Hekza (allilamino) siklotrifosfazen) pamuklu zemin üzerine kaplanmıştır. Üç monomerde dikey yanma testine tabi tutulmuştur. Elde edilen sonuçlar, sentezlenen monomerlerin oldukça etkili alev geciktirici özellik sergilediğini göstermektedir. Araştırmacılar, sonuçları TGA analizi ile de desteklemişlerdir [50]. Literatürde, Siklotrifosfazen bileşiklerinin alev geciktirici özellikleri ile başka çalışmalarda bulunmaktadır [51-53].

Schrögel ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada, fosfazen bileşiklerinin OLED (Organic Light Emission Diod) olarak kullanılabilirlikleri incelenmiştir. Çalışmada, düşük molekül ağırlıklı halkalı bileşikler ile siklotrifosfazen türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşikler, fenoksi ve fenil gruplarının siklotrifosfazen halkasına sübtitüe edilmesi ile elde edilmiştir. Çalışmada, fenil sübtitüe siklotrifosfazen türevlerinin, fenoksi sübtitüe siklotrifosfazen türevlerine göre çok daha iyi sonuçlar verdiği belirtilmiştir. Çalışmanın sonucunda, fosfazen bileşiklerinin, mavi fosforesans organik ışık yayan diyotlar için ana malzeme olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir [54]. Fosfazen bileşiklerinin OLED potansiyeli sergileyen türevlerinin sentezlendiği başka çalışmalar da bulunmaktadır [55-56].

2.9. Kumarinler

Piran halkası ile benzen halkasının koordinasyonu sonucu oluşan ve benzopiranlar olarak bilinen heterosiklik bileşiklerdir. Benzopiranlar piran halkasında bulunan ikili bağın ve karbonil grubunun yerine göre kumarinler (benzo- α -piranlar) ve kromonlar (benzo- γ -piranlar) olarak tanımlanır [57].



Şekil 2.11: a) Kumarinin, b) Kromononun kimyasal yapısı ve IUPAC numaralandırma sistemi

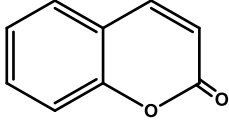
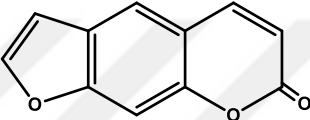
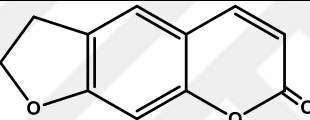
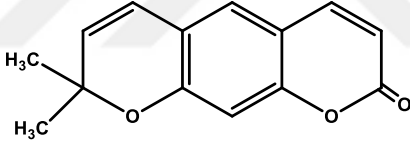
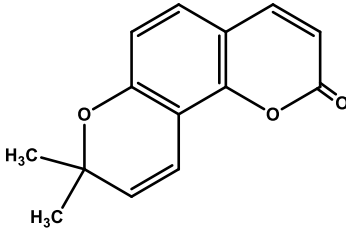
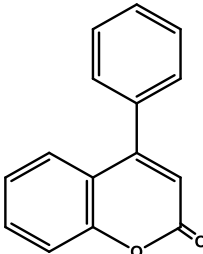
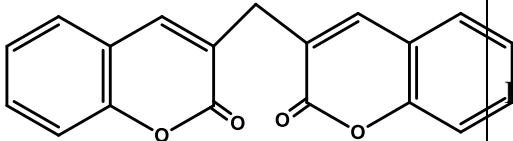
Kumarin adı Fransızca bir terim olarak; Tonka Fasulyesi'nin latince ismi olan "Coumarou", "Coumarouna Adorata" tohumlarından gelmektedir ve doğal olarak ilk kez 1820 yılında izole edilmiştir. Tatlı ve hoş bir kokusu olması sebebiyle 1882'den beri parfümlerde kullanılmıştır [58]. Kumarinlerin doğal olarak bulunduğu bitkilere Bael Meyveleri [59], Yaban Mersini [60] ve Tonka Fasulyesi [61] örnek verilebilir.



Şekil 2.12: Bael Meyvesi, Tonka Fasulyesi ve Yaban Mersini.

Doğal kumarinler; bileşiklerin kimyasal yapılarına göre temel olarak 6 kısma ayrılabilir [62]. Bu bileşiklerin genel kimyasal yapıları, türleri ve farmakolojik etkileri Tablo 2.1’de görülmektedir.

Tablo 2.1: Doğal kumarin türleri ve farmakolojik özellikleri.

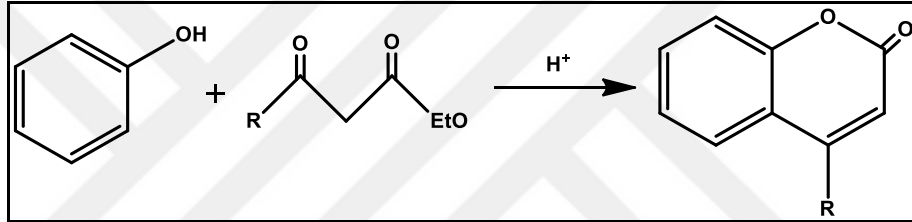
No	Kumarin türü	Genel kimyasal yapı	Farmakolojik etki
1	Basit kumarinler		Antiinflamatuvar [63]
2	Furano kumarinler		Fotoduyarlı kimyasal [64]
3	Dihidrofurano kumarinler		Antibakteriyel [65]
4a	Doğrusal tipte pirano kumarinler		Antimikrobiyal ve anti-oksidan aktivite [66]
4b	Açısal tipte pirano kumarinler		Antiviral [67]
5	Fenil kumarinler		Antidepresan [68]
6	Biyokumarinler		Biyolojik aktif [69]

2.10. Kumarin Sentezinde Kullanılan Yöntemler

Kumarin ilk kez 1868 yılında sentezlenmiştir. Kumarin bileşikleri genel olarak Von Pechmann [70], Perkin [71], Knoevenagel [72], Reformatsky [73], Wittig [74] reaksiyonları olarak adlandırılan yöntemlerle sentezlenmektedir. Bunların içerisinde en fazla Von Pechmann, Perkin ve Knoevenagel reaksiyonları kullanılmaktadır.

2.10.1. Von Pechmann Kondenzasyonu ile Kumarin Sentezi

Von Pechmann kondenzasyonu kumarin ve türevlerinin sentezlenmesinde yaygın olarak kullanılan reaksiyon türlerindedir (Şekil 2.13).

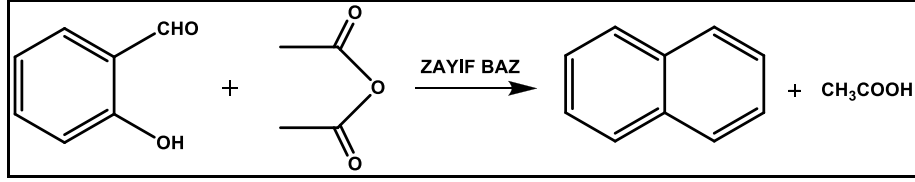


Şekil 2.13: Von Pechmann Kondenzasyonu ile Kumarin Sentezi.

Bu reaksiyon; fenol ile β -ketoester'in asit katalizörü eşliğinde tepkimesi sonucu gerçekleşir. Reaksiyonda H₂SO₄, P₂O₅, FeCl₃, AlCl₃, ZnCl₂ vb asitleri kullanılabilir [70].

2.10.2. Perkin Kondenzasyonu ile Kumarin Sentezi

1868 yılında Perkin tarafından geliştirilmiş bir reaksiyondur. Perkin; salisilaldehitin sodyum tuzu ile asetik anhidritin reaksiyonundan kumarin sentezlemeyi başarmıştır. Perkin'in reaksiyonunda sodyum veya potasyum asetat, trietilamin gibi zayıf bazlar kullanılmaktadır (Şekil 2.14).

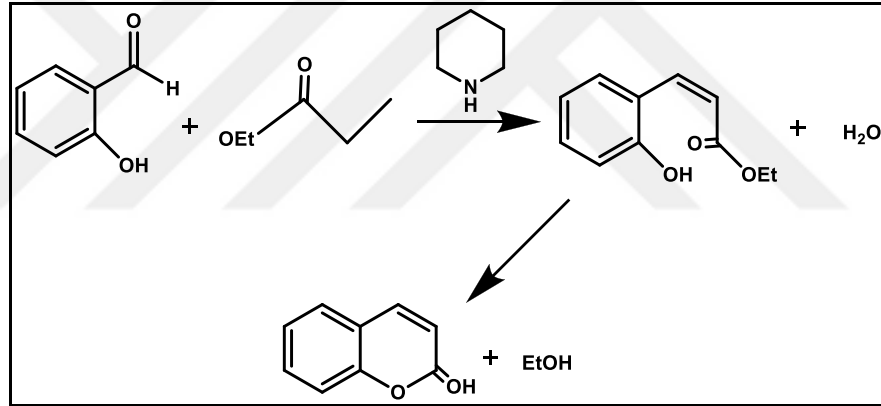


Şekil 2.14: Perkin Kondenzasyonu ile Kumarin Sentezi

2.10.3. Knoevenagel Kondenzasyonu ile Kumarin Sentezi

Bu reaksiyon iki basamakta gerçekleşir:

- o-hidroksi benzaldehit ile etil propiyanatın kondenzasyonu sonucu suyun ayrılması. Burada zayıf baz olarak sekonder amin olan piperidin kullanılır.
- Molekül içinde gerçekleşen ikinci bir kondenzasyon sonucu etanol eliminasyonu ve halka kapanması şeklinde reaksiyonun tamamlanması (Şekil 2.15).



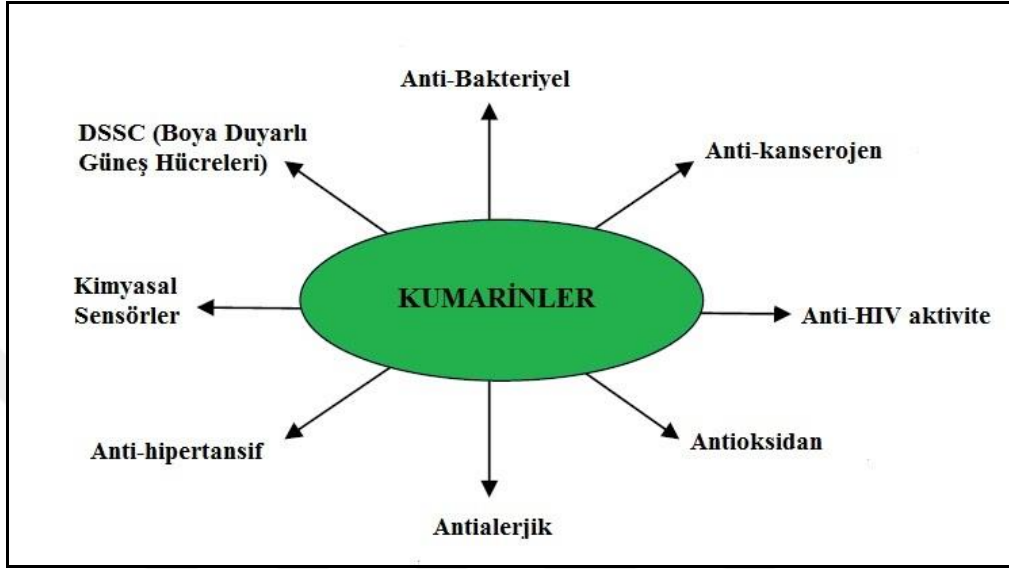
Şekil 2.15: Knoevenagel Kondenzasyonu ile Kumarin Sentezi.

2.11. Kumarin Türevlerinin Uygulama Alanları

Kumarin Türevleri yapıda bulunan gruplara bağlı olarak farklı özellikler gösterebilmektedir. Bu nedenle oldukça geniş çalışma alanı bulunan bileşiklerdir (Şekil 2.16).

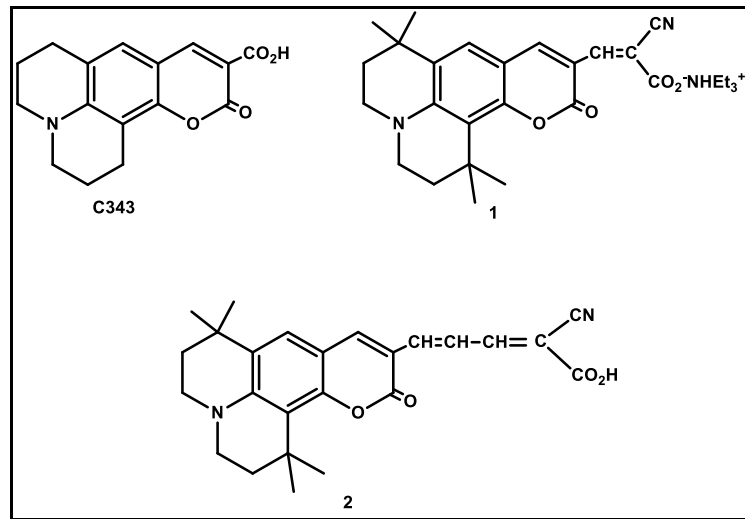
Son teknoloji güneş pilleri olarak bilinen DSSC (Boya Duyarlı Güneş Hücreleri) 1991 yılında Michael Gratzel tarafından bulunmuştur. Boya duyarlı güneş hücrelerinin, inorganik güneş hücrelerine göre; daha düşük maliyetli olması, geniş yüzeylere uygulanabilir olması ve kullanılan malzemeye göre pilin esneklik

kazanabilmesi gibi avantajları bulunmaktadır [75]. Organik boya temelli güneş hücrelerinde (DSSC) çok çeşitli sınıfa ait boyalar kullanılmaktadır. Porfirinler, ftalosiyeninler, polipiridiller, kumarinler, indolinler, trifenilaminler, konjüge polimerler, perilenler bu sınıflar içinde yer almaktadır [76].



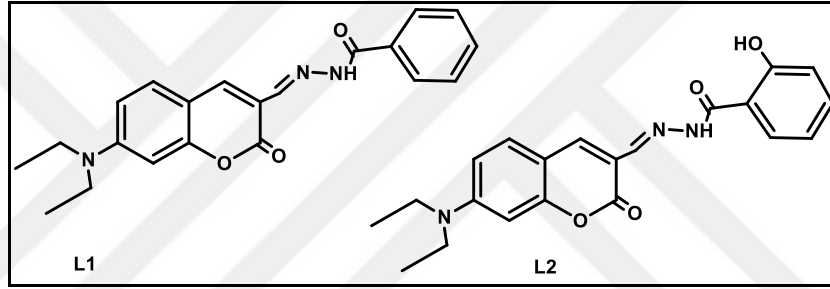
Şekil 2.16: Kumarinlerin uygulama alanları.

Hara ve arkadaşları tarafından 2001 yılında yapılan bir çalışmada; kumarin türevleri sentezlenmiş ve sentezi gerçekleştirilmiş olan kumarinlerin boya duyarlı güneş hücre olarak kullanılabilirliği incelenmiştir.



Şekil 2.17: Boya duyarlılığı incelenen kumarin türevlerinin molekül yapıları.

Çalışmada; C343 olarak bilinen kumarin boyasına karşı, sentezlenen kumarinlerin en yüksek güneş hücre performansları incelenmiştir. Sonuç olarak 2 numaralı kumarinin maksimum verim gösterdiği bulunmuştur (Şekil 2.17) [77]. 2003 yılında yapılan bir çalışmada; 4-hidroksikumarin türevi bileşiklerin sentezi ve sentezlenen bileşiklerin farmakolojik etkileri incelenmiştir. Sentezi gerçekleştirilen moleküllerin içerisinde kumarin türevi olan warfarin'e karşı daha düşük akut toksisite sergileyen ve daha yüksek antikoagülent özellik gösteren türevler keşfedilmiştir [78]. Huang ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yapılan çalışmada ise; benzoilhidrazin birimi içeren kumarin türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen kumarin türevlerinden L1'in çok kuvvetli luminesans gösterdiği bulunmuştur (Kuantum verimleri L1 için $\Phi = 0.289$, L2 için $\Phi = 0.062$).



Şekil 2.18: Sentezlenen kumarin türevlerinin kimyasal yapıları.

Çalışmanın devamında; L1 türevinin Cu^{+2} iyonuna karşı yüksek duyarlılıkta ve seçicilikte floresans kemosensör özellik gösterdiği belirtilmiştir (Şekil 2.18). Cu^{+2} iyonu ile kompleks oluşumu ve bağlanma mekanizmasını açıklamak için Job plot ve DFT hesaplamalarını kullanmışlardır. Ayrıca L1 molekülünün yaşayan hücreler içerisinde Cu^{+2} iyonunun biyolojik görüntülenmesi üzerine çalışma yaparak kuvvetli floresans görüntü verdiği bulunmuştur [79]. Yenilmez Çiftçi ve arkadaşları tarafından 2015 yılında yapılan bir çalışmada; siklotrifosfazen ve siklotetrafosfazen bileşikleriyle 3-[2-(diethylamino)etil]-7-hidroksi-4-metilkumarin bileşiğinin ayrı ayrı reaksiyonundan yeni kumarin türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin dimetil sülfoksit ve 1,3-propansülfat ile ayrı ayrı reaksiyonları sonucu kuaterner kation ve zwitter iyon elde edilmiştir. Sentezlenen kumarin türevlerinin birçok organik çözücüde çözüldüğü, zwitter iyon ve kuaterner kation kumarin türevlerinin ise suda çok iyi çözüldükleri belirtilmiştir. Çalışmanın devamında; kumarin

türevlerinin sulu ortamda, Fe^{+3} iyonuna karşı floresans kemosensör olarak yüksek seçicilik gösterdiği bulunmuştur [80]. 2016 yılında yürütülen başka bir çalışmada; sentezlenen kumarin türevlerinin, insan kolon kanseri, prostat kanseri, karaciğer kanseri gibi kanser türleri üzerindeki etkileri *in-vitro* ortamında incelenmiştir. Ayrıca moleküllerin antioksidan etkileri de araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda kumarin türevlerinin anlamlı sonuçlar sergilediği görülmüştür. Benzokumarin içeren türevlerin diğerlerinden daha yüksek antioksidan özellik gösterdiği belirtilmiştir [81].

2.12. Sensörler

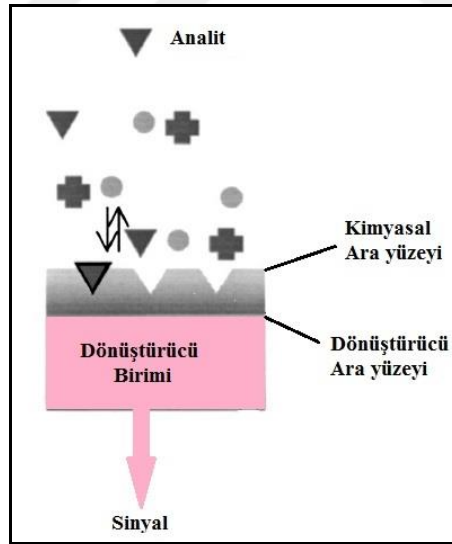
Sensörler, birçok alandaki uygulamaları ile gündelik yaşamımızı kolaylaştıran araçlardır. Kelime olarak yabancı kökenli olmasına rağmen, dilimize olduğu gibi yerleşmiştir. Sensör; duyarlı aktif bir materyal ve oluşan elektriksel sinyali dönüştürücü birimlerden oluşan araçlar için yapılan genel bir tanımdır. Sensörlerde bulunan bu iki önemli bileşenin rolü; bir reaksiyondaki değişimi veya belirli bir örneğin bileşeninin konsantrasyon analizine kadar değişebilen birçok alanda; verileri anlamlı bir sinyale dönüştürmektir. Sensörler, çok geniş olarak sınıflandırılabilirlerine karşın yaygın olarak kimyasal sensörler ve biyosensörler olmak üzere 2 kategoriye ayrılabilir [82].

2.13. Kimyasal Sensörler

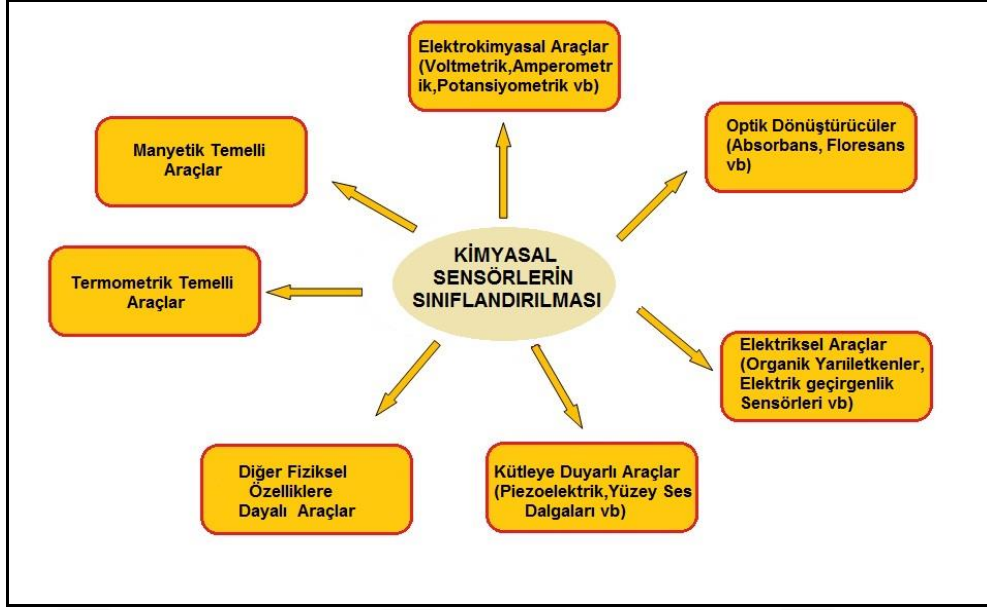
Sensörler üzerine yapılan araştırmaların artması ve çok çeşitli yöntemlerin geliştirilmesine bağlı olarak, sensörlerin tanımlanması ve sınıflandırılması zaruri bir ihtiyaç haline gelmiştir. Bu nedenle; kimyasal sensörler ile ilgili 1991 yılında IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) tarafından bir çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmada yapılan tanıma göre, *Kimyasal Sensör*: kimyasal bir bilgiyi, gözlenebilir veya ölçülebilir bir birime dönüştüren araçlardır. Kimyasal sensörlerde; reseptör kısmı ve sinyal dönüştürücü (transducer) kısımları bulunmaktadır. Bazı sensörlerde ise ayırıcı kısım da bulunabilmektedir (Membran vb.) [83]. Sensörün yapısında bulunan reseptör kısmında kimyasal bilgi, sinyal dönüştürücü tarafından ölçülebilen bir enerji biçimine dönüştürülür. Kimyasal sensörlerin reseptör

kısımları çeşitli prensiplere göre çalışabilir. Bunlar; fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal olabilir. Biyokimyasal olanları biyosensör olarak da adlandırılmaktadır. Sensörün sinyal dönüştürücü kısmında ise; sinyaller son yıllarda genellikle elektriksel araçlar ile alınmaktadır. Bu sinyaller, akım, voltaj veya direnç şeklinde ölçülebilmektedir [84].

Kimyasal sensörlerin oldukça yaygın ve geniş bir kullanım alanına sahip olduğu bilinmektedir. Bunların başında; kritik bakım, güvenlik, endüstriyel hijyen, proses kontrolü, insan konfor kontrolleri, emisyon izleme, otomotiv, klinik teşhis, ev güvenlik alarmları gelmektedir. Hatta son dönemlerde milli güvenlik alanında da kullanıldığı belirtilmektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde; kimyasal sensörlerin ekonomik ve sosyal açıdan faydalarının bulunduğu sonucuna ulaşılmaktadır [85]. Kimyasal sensörlerin genel yapısı Şekil 2.19’da görülmektedir. Bilgisayar, Mikroelektronik alanındaki gelişmeler ve yeni analiz cihazlarının geliştirilmesi; kimya alanında yeni sensörlerin tasarlanabilmesine imkan sağlamaktadır. Kimyasal sensörler, sinyal dönüştürücü biriminin çalışma prensibine göre sınıflandırılabilir (Şekil 2.20) [86].



Şekil 2.19: Kimyasal sensörlerin genel yapısı.



Şekil 2.20: Kimyasal sensörlerin sınıflandırılması.

Kimyasal sensörler, Şekil 2.20’de görüldüğü üzere oldukça geniş bir pencerede sınıflandırılabilmesine rağmen literatürde yapılmış olan çalışmalar incelendiğinde, elektrokimyasal esaslı sensörlerin oldukça popüler olduğu söylenebilir.

2.14. Elektrokimyasal Sensörler

Analitik kimyada kaydedilen gelişmeler; kimyasal sensörler içerisinde elektrokimyasal esaslı olan sensörlerin diğerlerine göre daha hızlı büyüyen ve kullanılan sınıfta yer aldığını göstermektedir. Elektrokimyasal sensörlerin tercih edilme nedenleri arasında; gözle görülür etkin sonuç vermeleri, deneysel uygulamalarının basit olmaları ve düşük maliyetli olmaları gibi özellikleri önemli yer tutmaktadır. Uygulama alanları arasında ticari alanlar, klinik, endüstri, çevre ve tarımsal analizler gibi oldukça geniş bir pencere bulunmaktadır. Elektrokimyasal sensörler temelde potansiyometrik, amperometrik ve kondüktometrik olmak üzere üç kısımda incelenebilirler [86].

2.14.1. Potansiyometrik Sensörler

Potansiyometrik sensörler; basit olmaları, maliyetlerinin düşük olması gibi nedenlerden dolayı 1930'ların başında bu yana kullanılmaktadırlar. Potansiyometrik sensörler üç temel esasa göre incelenebilirler. Bunlar; iyon seçici elektrotlar, kaplama tel elektrotlar ve alan etkili transistörlerdir.

İyon seçici elektrot hücresi; iki elektrot, arada membran ve iki elektrodun içinde bulunduğu çözeltiden oluşmaktadır. Burada elektrotlardan birisi referans elektrot, diğeri ise çalışan elektrottur. Referans elektrodun potansiyeli sabitken, hücre potansiyelinde gözlenen farklılık çözünmüş olan iyondan kaynaklanmaktadır. Bu sistemde kullanılan membran türleri cam, sıvı veya katı olabilir [87].

Kaplama tel elektrotlar (Coated-wire-electrodes); 1970'lerin ortalarında Freiser tarafından uygulanmıştır. Klasik kaplama tel elektrot tasarımında; iletken doğrudan uygun iyon-seçici polimer membran ile (genellikle polivinil klorür, polibenzil klorür veya poliakrilik asit) kaplanarak elektrot sistemi oluşturulması esastır. Burada oluşturulan elektrot sistemi elektrolit konsantrasyonuna duyarlıdır. Bu hücrenin özellikle, farklı türde analitlerin *in-vitro* ve *in-vivo* biyomedikal uygulamaları ve klinik görüntüleme gibi faydalı uygulamalarının bulunduğu belirtilmiştir [88].

Alan Etkili Transistörler (Field Effect Transistor), yüksek giriş empedansı ve düşük çıkış empedansı sergileyen katı hal aygıtları olmaları nedeniyle, iyon algılama zarındaki şarj artışının izlenebilmesi mümkün olmaktadır. Mikro elektronik çipleri imal etmek için kullanılan teknolojiye, küçük multisensörlü çoklu kapıların hazırlanması, *in-vivo* ortamdaki analitlerin küçük boyutlarına rağmen eşzamanlı birden fazla iyonu algılamak için büyük katkı sağlamaktadırlar [86].

2.14.2. Amperometrik Sensörler

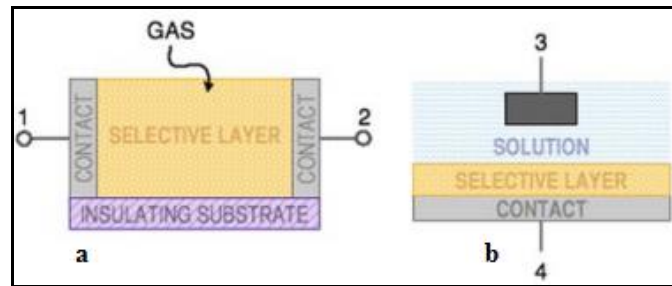
Amperometrik esaslı ölçüm; bir çözelti içindeki iyonların elektrik akımındaki değişim sayesinde belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Amperometrik sensörler; ölçülen parametre ile doğru orantılı akım üretmektedirler. Örneğin; amperometrik ölçüm prensibi ile çalışan çözünmüş oksijen sensörü, kurşun anot ve gümüş katot elektrotlarından oluşmaktadır. Sensör haznesi ise; ölçülecek numuneden gümüş katot

ile temas halinde olan gaz geçirgen bir membran ile ayrılmış ve içerisine alkali elektrolit çözeltisi doldurulmuştur. Ölçülecek numune içerisindeki oksijen gazı membrandan difüzyon yolu ile geçerek gümüş katotta indirgenir ve çözeltide hidroksil iyonları açığa çıkar. Bu esnada kurşun anotta oksidasyon reaksiyonu sonucu çözeltiye kurşun iyonlarını verir. Kurşun anot ve gümüş katot düşük direnç ölçen bir devre ile birbirine bağlıdır. Bu devrede oluşturulan akım, numunenin çözünmüş oksijen doyuma noktası ile orantılıdır. Sensör ömrü, mevcut kurşun ile orantılıdır. Kurşunun tükenmesi, sensör ömrünün de sona ermesi demektir. Normal uygulamalarda sensör ömrü, uygulama koşullarına bağlı olarak 6-12 ay arasında değişmektedir [84].

2.14.3. Kondüktometrik Sensörler

Kondüktometrik sensörleri, iletkenlik esaslı çalışan sensörlerdir. İletkenlik birimi Siemens'dir. İletkenlik sensörleri genellikle iki kutuplu cihazlardır. Bu sensörler yaygın olarak işlevlerini açıkça ifade eden "chemiresistors" olarak adlandırılırlar. Bu sensörlerin imalatı kolay olmasına rağmen, onların çalışma mekanizmalarının ve elde edilen sonuçların yorumlanması kolay değildir. Bununla birlikte, farklı konfigürasyonlarda tasarlanabilen devre şemaları ile farklı sensörler tasarlanabilmektedir (Şekil 2.21).

Şekil 2.21: a) da görülen Kondüktometrik sensör türünde; numune örneği, yanal konfigürasyonda düzenlenmiş seçici tabaka ile etkileşime girer. Bu tür iletkenlik sensörlerinde ölçüm DC (Doğru Akım) modunda yapılır. Çünkü iletken numuneler, chemiresistors'lerin direncini kısıtlatığından, bunların uygulama alanı gaz fazında veya iletken olmayan sıvılardadır.



Şekil 2.21: a) DC Sensör, b) AC Sensör.

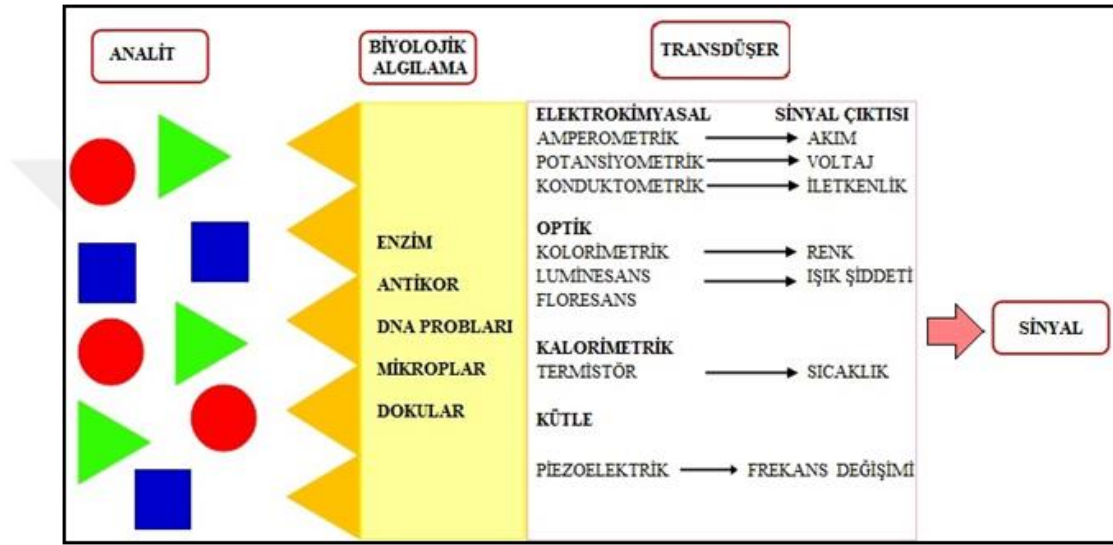
Bir diğerk tür ise; düzenli bir elektrokimyasal hücreye karşılık gelmektedir ve empedans, seçici tabaka ve iyonik iletken numune arasındaki arayüze dik olarak ölçülmektedir. Ölçümler, çoğunlukla AC modunda periyodik olarak değişen uyarma sinyali ile gerçekleştirilir (Şekil 2.21.b) [89].

2.15. Biyosensörler

2.15.1. Biyosensörlerin Tanımı ve Tarihçesi

1956 yılında, Clark ve Lyons tarafından oksijen elektrodunun keşfi, yeni bir çalışma alanının ortaya çıkmasını sağlamıştır. Biyosensör kavramının ilk kez ortaya atıldığı bu çalışma ile Clark ve Lyons; oksido-indirgeyici enzimi, bir platin elektrodun yanında membran sandviç içerisinde tutarak; ölçülen oksijen konsantrasyonundaki azalmanın glikoz konsantrasyonu ile orantılı olduğunu ifade etmişlerdir [90]. IUPAC tarafından yapılan tanıma göre; biyosensör; spesifik biyokimyasal olayların (enzim, doku, immüno sistemler veya diğerk hücre sel olaylar gibi) kullanılarak kimyasal bileşiklere karşı verilen biyolojik tepkilerin elektriksel, termal veya optik sinyaller aracılığıyla ölçülebilmesini sağlayan araçlardır [91]. Tipik olarak bir biyosensör, biyoaktif veya biyolojik algılama materyali ve sinyal dönüştürücü birimlerinden oluşmaktadır. Biyoalgılama materyali, sinyal dönüştürücü birime tespit edilebilir sinyal gönderir. Sinyal dönüştürücü kısım ise aldığı sinyali fizikokimyasal olarak ölçülebilir ve gözlenebilir sinyal elde edilebilmesine imkan sağlamalıdır. Biyosensörde kullanılan sinyal dönüştürücü birimi elektrokimyasal, optik, piezoelektrik, termal veya manyetik olabilir. Biyosensörün yapısında bulunan biyoalgılama materyali ile sinyal dönüştürücü kısmının bağlanması için etkin sabitleme tekniğine ihtiyaç bulunmaktadır. Biyosensör teknolojisi; biyoteknolojik gelişmelerle birlikte, çoğu biyokimyasal reaksiyonun optik ve elektronik teknolojisinin sinyal işleme ve iletme kabiliyetlerinin yükselmesi ile hızlı bir değişim ve gelişim içerisine girmiştir. Bilim insanlarının ve mühendislerin farklı bilgi ve birikimlerini ortaya koyması, biyosensör kimya ve biyokimya, fizik, biyoloji, bilgisayar ve mühendislik gibi yeni çoklu disiplin alanlarında büyük çaplı yenilikçi biyosensörlerin geliştirilebilmesine imkân sağlamaktadır [92]. Biyosensör bileşenleri

şematik olarak Şekil 2.22’de görülmektedir. Şekilde görüldüğü üzere biyosensörlerin yapısında bulunan biyolojik algılama materyalinin analitle ilişkisi anahtar-kilit şeklindedir. İncelenecek olan analite uyumlu biyolojik algılama materyalinin tasarlanması oldukça önemlidir. Ayrıca biyolojik algılama materyali ile sinyal dönüştürücü arasında güçlü bir etkileşim sağlanmış olmalıdır. Sinyal dönüştürücü ile biyolojik algılama materyalinin immobilizasyonunda kullanılan yöntemler arasında, Çapraz bağlanma, tutuklama, adsorbsiyon, kovalent bağlanma sayılabilir [93].



Şekil 2.22: Biyosensör bileşenlerinin şematik gösterimi.

2.15.2. Biyosensörlerin Kullanım Alanları

Literatür incelendiğinde biyosensörlerin yaygın olarak kullanıldığı alanların bulunduğu görülmektedir. Biyosensörler düşük maliyetleri, hızlı yanıt vermeleri nedeniyle sağlık, çevresel izleme ve biyolojik analizler gibi pek çok alanda kullanılmaktadırlar [94].

Zehra Ölçer ve arkadaşları tarafından 2015 yılında; siyanobakterilerin belirlenmesine yönelik bir çalışma yapılmıştır. Bilindiği üzere temiz su kaynaklarında bulunması durumunda toksik etki göstererek potansiyel sağlık riski oluşturan siyano bakterilerin belirlenmesi oldukça önemlidir. Çalışmada; yeni nesil mikroakışkan ve nanopartikül temelli amperometrik biyosensör kullanılmıştır. Biyosensörün yapısında dizini belli DNA prob ile elde edilen amperometrik sinyal ile siyanobakteri eklenmesiyle elde edilen amperometrik sinyalin karşılaştırılması

sonucunda biyosensörün hızlı ve duyarlı bir şekilde sonuç verdiği rapor edilmiştir [95]. Ayrıca tıbbi çalışmalara endeksli araştırmalar literatürde yoğun olarak görülmektedir. Bunlar arasında DNA deformasyonunun ve onarımının [96-97], yüksek verimli genotoksisite testinin [98], nükleik asit ve proteinler arasındaki spesifik etkileşimin klinik kanser hastalıkları için kanser belirteci olarak kullanılabilirliğinin [99] incelendiği çalışmalar da yer almaktadır. Farklı disiplinlerin bir araya gelmesi ile çeşitlendirilerek daha üstün özellikte biyosensörlerin tasarlanabilmesi mümkündür. Grafen molekülünün bilindiği üzere; yakıt hücrelerinde kullanılabilirliği, yüksek yüzey alanı kapasitesi, mükemmel termal iletkenliği gibi birçok olumlu özelliği bulunmaktadır. Shao ve arkadaşları tarafından 2010 yılında yayımlanan review çalışmasında grafen temelli enzim biyosensörlerinden glukoz biyosensörlerinin geliştirildiğine dair literatürde çok sayıda yayının bulunduğu belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada; DNA biyosensörlerinin ve ağır metal iyonlarından Pb^{+2} ve Cd^{+2} için grafen temelli elektrokimyasal sensörleri ile ilgili anlamlı sonuçlar ifade eden yayınların bulunduğu belirtilmiştir [100]. Biyosensörlerin diğer kullanım alanlarından birisi de endüstriyel atık suların analizi, çevre koruma ve su kirliliğinin tespitine yöneliktir. Biswas ve arkadaşları tarafından 2017 yılında yayımlanan bir review çalışmada, içme sularındaki toksik etkisi yüksek krom elementinin belirlenmesi için elektrokimyasal biyosensörlerin kullanılabileceği rapor edilmiştir [101]. Benzer şekilde başka bir çalışmada bakır iyonlarının belirlenmesine yönelik biyosensör kullanılmıştır. Biyosensörün değişen bakır konsantrasyonuna karşı renk değişimi gösterdiği ifade edilmiştir. Sensörün, analitik metodlar veya diğer biyosensörler ile karşılaştırıldığında spesifik ekipman gerekliliğinin olmaması, hızlı belirlemeye imkan sağlaması gibi üstünlüklerinin olduğu rapor edilmiştir [102]. Bunların yanında literatürde biyosensörlerin, antibiyotik miktar tayini [103], gıda alerjenlerinden süt proteini tespiti [104], zirai ilaçlardan organofosfatların [105] ve tavukçuluk sektöründe antibiyotiklerin belirlenmesi [106], gaz toksisitesinin belirlenmesi [107] yönünde uygulamaları da bulunmaktadır.

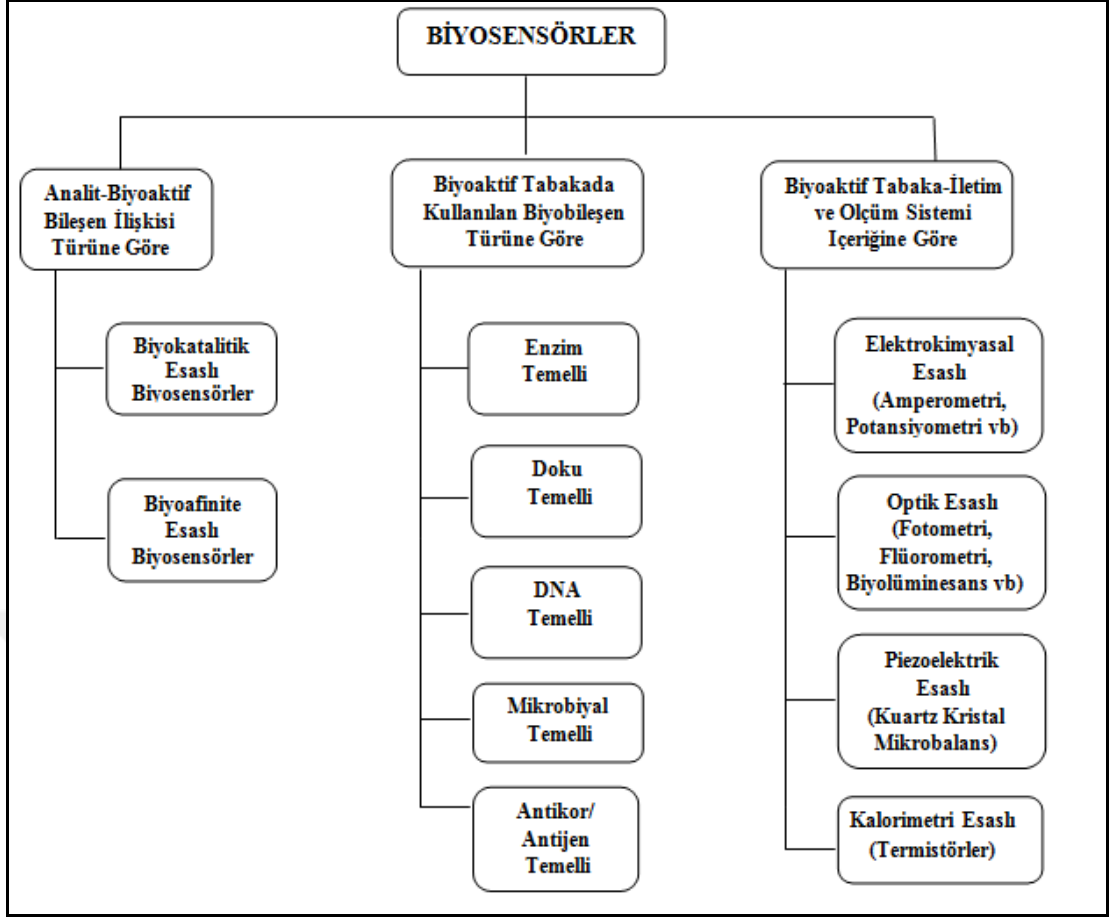
2.15.3. Biyosensörlerde Aranılan Özellikler

Biyosensörlerin niteliğinin göstergesi olan belli başlı kriterler aşağıda verilmiştir.

- Duyarlılık: Cihazın analit değişimine karşı verdiği tepkinin de değişebilmesidir.
- Seçimlilik: Cihazın ölçülmek istenen analite karşı özgün olması, farklı analitlere tepki vermemesi ve yanlış sonuç vermemesidir.
- Ölçüm Aralığı: Cihazın ölçüm yapabildiği analit derişimi aralığıdır.
- Ölçüm Süresi: Bir tür cihazın ölçüm hızının göstergesidir.
- Tutarlılık: Cihazın farklı zamanlarda aynı sonuçları verebilme yeteneğinin göstergesidir.
- Ölçüm Sınırı: Cihazın ölçüm yapabildiği en düşük analit derişimini ifade eder.
- Ömrü: Cihazın performansında azalma görülmeden ölçüm yapabildiği süreyi ifade eder.
- Kararlılık: Belirli bir süre içerisinde cihazın duyarlılığındaki değişimleri dikkate alan bir kalite unsurudur [93].

2.15.4. Biyosensörlerin Sınıflandırılması

Son yıllarda yaşanan bilimsel gelişmeler eşliğinde her geçen gün yeni çalışmalar ortaya çıkmaktadır. Biyosensör alanında; yeni araştırmalar ile birlikte çok farklı çalışma mekanizmalarına sahip sensörlerin bulunduğu literatürde görülmektedir. Bu sensörlerin sınıflandırılmasında farklılıklar bulunmasına rağmen, genel anlamda Şekil 2.23’de verildiği gibi sınıflandırılmaktadırlar [93].



Şekil 2.23: Biyosensörlerin sınıflandırılmasının şematik gösterimi.

2.15.5. Enzim Temelli Biyosensörler

Enzim temelli biyosensörler; normal olarak bilinen bir biyosensörün yapısında bulunan tüm bileşenleri içerirler. Ancak biyoalgılayıcı katmanda kullanılan biyomolekül enzimlerdir. 1962 yılında Clark ve Lyons tarafından geliştirilmiş olan glukoz sensörü de glikoz oksidaz enzimi ile çalışmaktaydı. Bu çalışmanın akabinde farklı çalışma grupları tarafından değişik varyasyonlarda ve farklı enzimler kullanılarak yeni biyosensörlerin tasarlanabilmesinin önü açılmıştır [108]. Enzim temelli biyosensörler yaşamımızda yaygın olarak kullanılmaktadır. Başlıca uygulama alanları arasında kandaki glukoz seviyesinin izlenmesi, hastalarda üre seviyesinin belirlenmesi, endüstride gıda işleme ve fermente gıdalarda glukoz miktarının belirlenmesi vb. yer almaktadır. Son dönemlerde geliştirilen enzim temelli biyosensörlerde nanomateryaller oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Biyosensörlerde

tipik olarak kullanılan nanomateryaller arasında ZnO, altın, karbon nanotüp yer almaktadır. Enzimin biyosensöre immobilizasyon işleminde kullanılan metodlar; Adsorpsiyon, tuzaklama, kovalent bağlanma, çapraz bağlama'dır [109].

2.15.6. Doku Temelli Biyosensörler

Bu tür biyosensörlerde biyoalgılama materyali olarak bitki ve hayvan kaynaklarından alınan doku materyalleri kullanılmaktadır. İlk doku esaslı sensör, Rechnitz tarafından arginin tespitinde kullanılmıştır. Doku esaslı biyosensörler, enzim biyosensörlere oranla daha yüksek seviyede kararlılık gösterme kabiliyetine sahiptir. Ancak genellikle daha uzun tespit süresine ihtiyaç duymaktadırlar ve daha fazla belirginliğe sahip değildirler. Enzim inhibitörleri, aktivatörler ve kararlı hale getiren etken maddeler, doku esaslı biyosensörlerin seçiciliği geliştirmek ve ömrünü uzatmak için kullanılmaktadır [92].

2.15.7. DNA Temelli Biyosensörler

Son yıllarda nükleik asitler, biyosensörler ve biyoanalitik analizler gibi oldukça geniş bir alanda sergiledikleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik aktivite özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır. Bu tür biyosensörlerde, biyoalgılama materyali olarak DNA prob kullanılmaktadır. Nükleik asit biyosensörleri diğerlerine göre spesifik yanıt alma konusunda daha ucuz, hızlı ve basit olmaları nedeniyle yoğun ilgi görmektedir [110]. DNA biyosensörlerinde kullanılan DNA, genellikle tek sarmallı ve tamamlayıcı tek sarmallı moleküllerin melezleşmesine izin veren DNA moleküllerinden oluşur. Trandüser düzeyi değiştirilmek suretiyle farklı DNA biyosensörleri tasarlanabilmektedir. Burada trandüser yüzey üzerine DNA'nın immobilizasyonu biyosensörün performansı üzerinde oldukça önemlidir. Çünkü yüzeydeki modifikasyon tekniği algılama teknolojisi ile uyumlu olmalıdır. Biyosensörün katı yüzeyine DNA'nın ilave edilmesi ile ilgili farklı teknikler geliştirilmiştir. Bunlara; altın elektrotlar üzerinde kendinden birleşen tabaka, elektrot yüzeyinde biyotin-avidin etkileşimi vasıtasıyla bağlanan biyotinlenmiş DNA problemleri örnek verilebilir [111].

2.15.8. Mikrobiyal Temelli Biyosensörler

Mikrobiyal biyosensörler hızlı gelişen çalışma alanlarında birisidir. Literatür incelendiğinde, 2005 yılından itibaren oldukça fazla sayıda çalışmanın yapıldığı görülmektedir. Mikrobiyal biyosensörler sinyal dönüştürücü kısımlarına göre, genel olarak elektrokimyasal ve optik mikrobiyal biyosensörler olmak üzere iki kısımda sınıflandırılabilir. Çevresel uygulamalar için son yıllarda geliştirilmiş Mikrobiyal biyosensörlerin ticarileştirildiği görülmektedir. Örneğin, atıksularda biyokimyasal oksijen gerekliliğinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Geleneksel yöntemlerle 5 gün süren belirleme teknikleri yerine, mikrobiyal biyosensörlerin kullanılması durumunda 3-5 dakika gibi oldukça kısa sürede ve etkili olarak test yapılması mümkün olmaktadır [92],[112].

2.15.9. Antikor/Antijen Temelli Biyosensörler

Biyoalgılama materyali olarak antikorların kullanıldığı biyosensörler antikor temelli biyosensörler ya da immünosensörler olarak da adlandırılırlar. Vücuda giren yabancı organizmalara (virüs, bakteri vb) veya onların protein ürünlerine karşı bağışıklık sistemi hücreleri tarafından üretilen protein yapılı maddelere antikor denir. Antikorlar ve antijenler arasında özgül etkileşim olduğundan immünosensörler ile son derece özgül ve duyarlı analizler yapılabilir. Antikorlar uygun transdüşerler ile etkileştirilerek hormon, ilaç, virüs, bakteri ve çevresel kirletici olan diğer moleküllerin, pestisitlerin, biyomedikal maddelerin tayini için immünosensörler geliştirilebilmektedir [93].

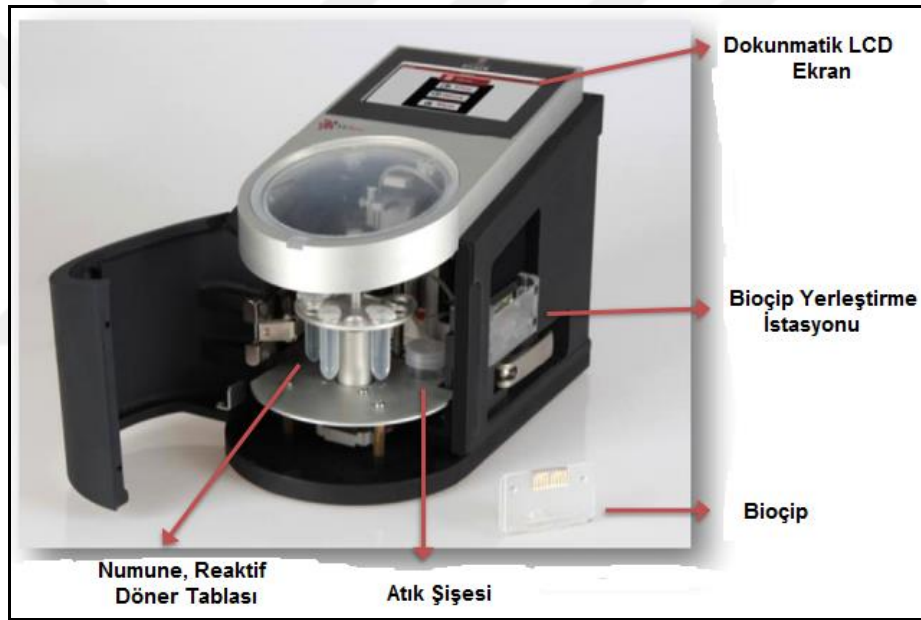
2.15.10. Mikroakışkan Teknolojisi

Mikroakışkan teknolojisi, gıda güvenliği de dahil olmak üzere birçok disiplindeki analitlerin tespiti için kullanılabilen, gittikçe popüler ve kullanışlı olan bir teknolojidir. Mikroakışkan teknolojisinin; küçük numune boyutlarıyla çalışabilme, daha az reaktif sarfiyatı ve hızlı algılama gibi avantajları bulunmaktadır. Ek olarak mikroakışkan teknolojisinin, POC (Point-of-Care) yani hasta başı

teşhislerin gerçekleştirilebilmesine olanak vermesi gibi faydaları bulunmaktadır. Yeni mikroakışkan teknolojisi kağıt bazlı çiplere doğru kaymaktadır. Bu çiplerde örnek ön işleme gerekliliği bulunmamaktadır [106], [113-114].

2.16. Misens Cihazı

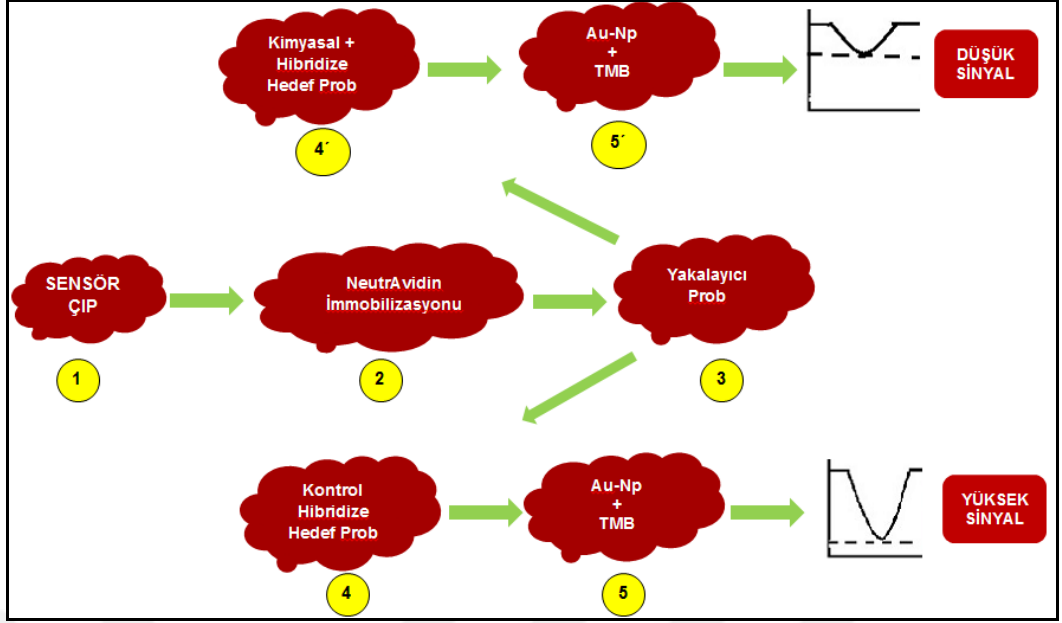
Tez çalışması kapsamında, yeni kumarin substitue siklotrifosfazen bileşikler sentezlenerek özellikleri incelenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin DNA etkileşim analizleri, Tübitak-BİLGEM’de Uludağ ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan yeni nesil Biosensör cihazı (Şekil 2.24) ile gerçekleştirilmiştir [115-118].



Şekil 2.24: MiSens Biosensör Cihazı ve Bioçip

2.16.1. Misens Cihazının Çalışma Prensibi

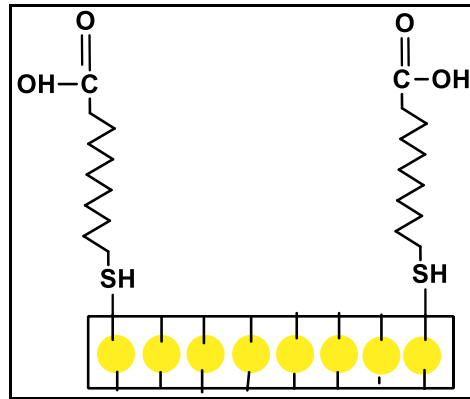
Misens cihazı elektrokimyasal sensörler sınıfında yer almaktadır. Cihazın çalışma esaslarının şematik gösterimi Şekil 2.25’de görülmektedir.



Şekil 2.25: MiSens biosensor cihazı çalışma esasları.

2.16.2. Sensör Çipin Hazırlanması

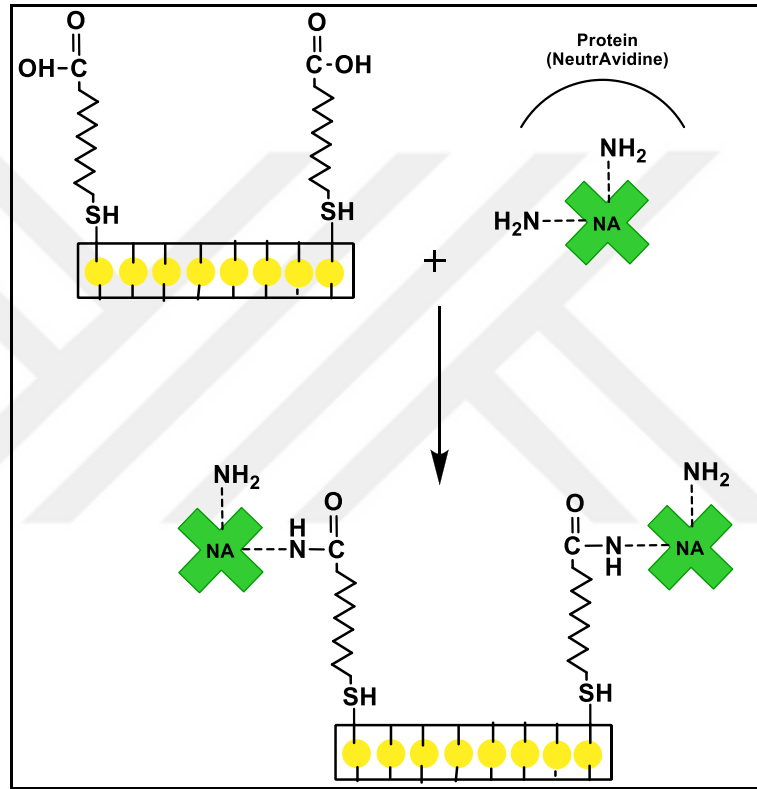
Altın kaplanmış elektrotların yüzeyi; merkaptto undekanoik asit çözeltisinde bırakılmak suretiyle şekilde görüldüğü üzere merkaptto undekanoik asitin –SH ucundan bağlanarak kaplanmaktadır. Bu işlemin sonunda elektrotların üzerinde –COOH grubunun açıkta kaldığı görülmektedir. Çipler bu haliyle hazır olarak temin edilmektedir (Şekil 2.26).



Şekil 2.26: Sensör Çip.

2.16.3. NeutrAvidine İmmobilizasyonu




NeutrAvidine (NA) proteini çipin üzerinden akışkan sistemde geçirildiğinde; elektrotların ucundaki $-COOH$ grupları ile neutrAvidine'nin yapısında bulunan $-NH_2$ grupları karbodiimit reaksiyonu gerçekleştirilerek bağlanır ve neutrAvidine'in immobilizasyonu tamamlanır (Şekil 2.27). Bu işlemten sonra cihazda çipin üzerinden tampon çözelti (yıkama) geçirilerek çip yıkanır [95].



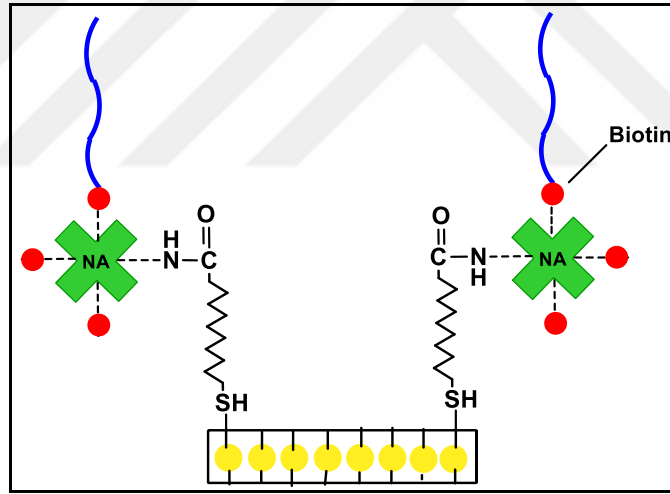
Şekil 2.27: NeutrAvidine immobilizasyonunun şematik gösterimi.

2.16.4. Capture (Yakalayıcı) Prob

Bu aşamada 3 çeşit DNA kullanılmaktadır. Bunlardan ilki capture (yakalayıcı) DNA'dır. Bu DNA'lar birbirini tanıyan nükleotidler dizini şeklindedir. Capture (yakalayıcı) ve Detection (algılayıcı) problemlerin ucu biotin etiketlidir [119].

- Capture (yakalayıcı) Prob : 
- Target (hedef) Prob : 
- Detection (algılayıcı) Prob : 

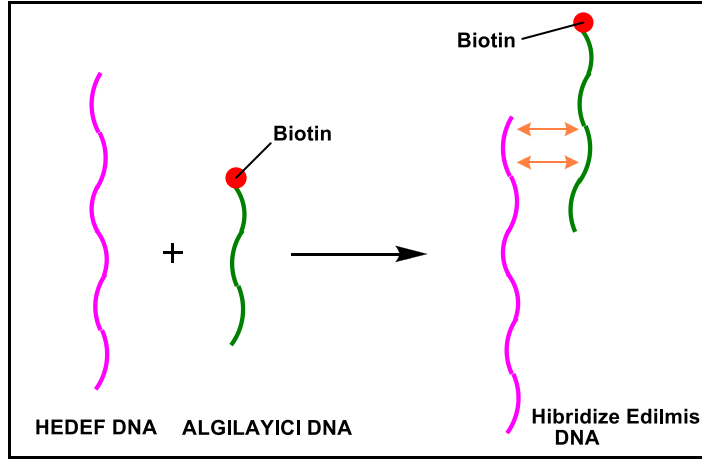
Çip üzerinden yakalayıcı DNA geçirildiğinde neutrAvidine, yakalayıcı DNA'nın ucundaki biotini tanır ve bağlanır (biotine karşı çok yüksek bir afiniteye sahiptir). Çip aşağıdaki şekle dönüşür (Şekil 2.28). Daha sonra serbest biotin, çip üzerine gönderilerek NeutrAvidin'ler üzerindeki boş kalan biotin bağlanma bölgelerinin kapatılması sağlanır. Bu işlemin sonucunda artık çipin üzerinde DNA kaplanmış şekildedir. Çipe yakalayıcı DNA bağlandıktan sonra her yeni kimyasal denemesinde çip tekrar bu hale getirilir. Bunun içinde HCl yıkama protokolü uygulanmaktadır.



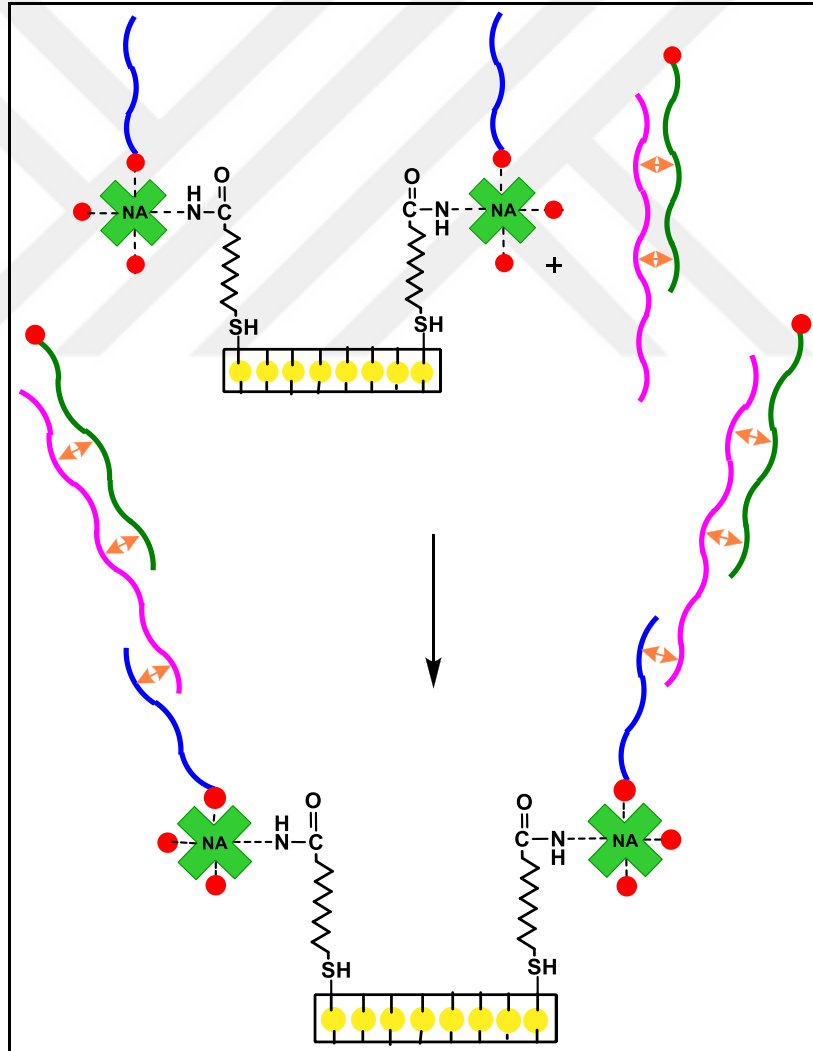
Şekil 2.28: Çipin yakalayıcı DNA ile etkileşiminin şematik gösterimi.

2.16.5. Kontrol Hibridize Hedef Prob

Bu işlemden önce bir Eppendorf tüp içerisinde hedef DNA ile algılayıcı DNA birbirine hibridize edilir (Şekil 2.29). Hibridize edilen DNA'nın açıkta kalan ucu (biotinsiz) yakalayıcı DNA'nın eşlenik kısmıdır. Bu kısım, hibridize olmuş DNA çipe verildiğinde yakalayıcı DNA'yı tanıyarak çipe bağlanacak olan kısım (Şekil 2.30).



Şekil 2.29: Hedef DNA ile algılayıcı DNA'nın hibridize edilmişin şematik gösterimi.

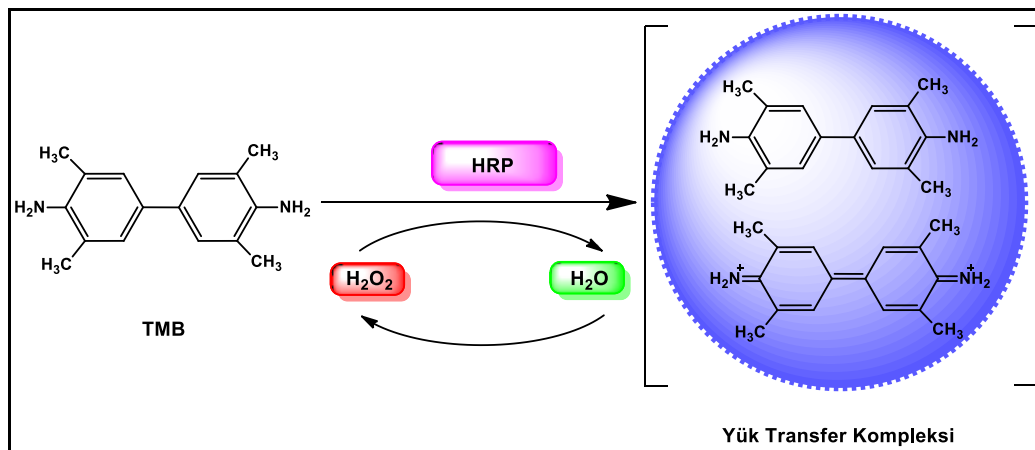


Şekil 2.30: Hibridize DNA ile yakalayıcı DNA'lı Çipin Etkileşiminin Şematik Gösterimi.

Altın-Np üzerinde neutrAvidin (NA) ve HRP enzimi bulunur. Çipin biotin uçlu hibrid DNA'sı Au-Np'un neutrAvidin kısmını (NA) tanır ve bağlanır. Sistemden Au-Np geçirildiğinde neutrAvidin kısmından nanopartikül çipe bağlanır. Bu işlemten sonra ortamdaki substrat çözeltisi TMB (3,3',5,5' tetrametil benzidin) geçirildiğinde Au-Np bağlanmış DNA'lı çipin Au-Np üzerindeki HRP enzimi TMB ile yükseltgenme/indirgenme reaksiyonu verir ve cihazdan mavi renkli çözeltinin çıktığı gözlenir. Bu esnada amperometrik ölçüm yapan cihaz yüksek sinyal verir (Şekil 2.31).

2.16.7. HRP Enzimi ile TMB Arasında Gerçekleşen Tepkimenin Mekanizması

TMB'nin peroksitli ortamda HRP'ye maruz bırakılması sonucu $-NH_2$ uçlarından yükseltgenme peroksit üzerinden ise indirgenme reaksiyonu gerçekleşmektedir. Bu reaksiyon sonucu ortaya çıkan yük transfer kompleksi 652 nm dalga boyunda absorpsiyon veren mavi renkli bir komplekstir [121]. Bu kompleks oluşumuna bağlı olarak cihazın mikro akışkan sisteminden mavi renkli sıvı çıkışı gözlenir. ELISA veya benzeri sistemlerde TMB ve HRP reaksiyonunun yol açtığı renk değişimi ölçülürken, aynı reaksiyon sırasında ortaya çıkan elektronların neden olduğu akım değişikliğinin ölçülmesi ile biyosensör cihazı sinyal vermektedir. Cihazda; amperometrik ölçüm yaparak sinyal verir (Şekil 2.32).



Şekil 2.32: HRP Enzimi ve TMB Arasındaki Etkileşimin Şematik Gösterimi.

2.16.8. Çip Rejenerasyonu

Cihazdan sensör çip hazırlanarak yüksek sinyal alındıktan sonra cihazda HCl yıkama protokolü çalıştırılarak çip üzerindeki hibridize DNA+Au-Np temizlenerek çip tekrar yakalayıcı DNA'lı hale getirilir. Bu işlem, çip üzerinden yaklaşık 2 dakika HCl (0.1 M) geçirilerek yapılır. Çipin, yakalayıcı DNA'lı şekle getirilmesinin amacı, dışarıda kimyasalla muamele edilmiş hibridize DNA'nın yeniden çipe gönderilerek testlerin tekrar tekrar yapılabilmesinin sağlanmasıdır. Bunun için hibrid DNA dış ortamda yeniden hazırlanır.

$$\bullet \text{ Hibrid DNA} + \text{Kimyasal} + \text{Buffer (Tris-T)} \quad \text{Toplam Hacim} \quad (2.2)$$

$$\bullet 10^{-8} \text{ M } 25\mu\text{L} + \text{Değişen konsant.} + \text{Değişen Hacim } (\mu\text{L}) \quad 225 \mu\text{L} \quad (2.3)$$

Karışım 15 dakika bekletildikten sonra yakalayıcı DNA'lı çipin üzerinden geçirilerek çipe bağlanması beklenir.

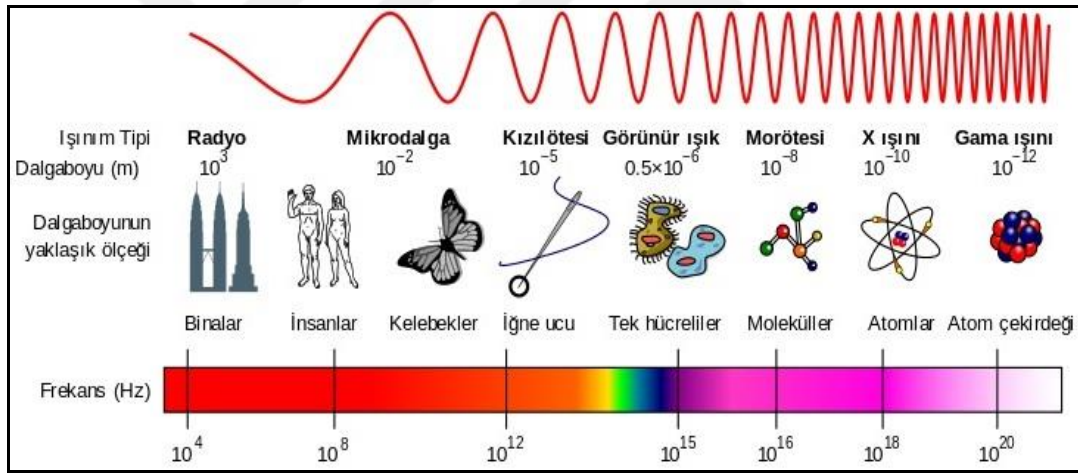
Eğer kimyasal etkisiyle hibrid DNA'nın yapısında bozulma söz konusuysa (yani kimyasal DNA'ya etki ediyorsa) hibrid DNA, yakalayıcı DNA'ya bağlanmadan sistemden akıp gidecektir. Protokolün devamında Au-Np geçirildiğinde, Au-Np üzerinde bulunan neutrAvidin proteini, ortamda bağlı hibrid DNA olmadığı için sensör çipe bağlanmayacak ve sistemden akıp gidecektir. Devamında geçen TMB' de ortamda bağlanmış bir Au-Np olmadığı için (bu şartlarda) sistemden akıp gidecek, herhangi bir reaksiyon olmayacak ve sistem sinyal vermeyecektir. Bu durum; kimyasalın DNA yapısında bozulmaya neden olması halinde beklenen protokoldür.

% 100 Etkide cihazdan hiç sinyal gelmesi beklenmez. Fakat cihazdan elde edilen sinyallerin değerleri okunur. Kimyasalın hibrid DNA'ya etkisini tespit etmek için % oran kurulur: İlk aşamada hazırlanıp alınan (kimyasalsız hibrid DNA'lı) sinyallerin akım değeri kaydedilir. İkinci aşamada hazırlanıp alınan (kimyasallı hibrid DNA'lı) sinyallerin akım değeri de kaydedilir. Kimyasalsız hibrid DNA'lı çipin verdiği değerler 100 kabul edilerek ikinci aşamada kimyasallı hibrid DNA'lı çipten kaydedilen değerler ile oranlanarak bir % değer bulunur. Bu % değerler kimyasalın hibrid DNA'yı bozmadan bıraktığı değerlerdir. Yani geriye kalan hibrid DNA değerleridir. Dolayısıyla kimyasalın DNA'ya etkisinin belirlenmesi için; bu değerler

100'den çıkarılarak bir değer elde edilir. Elde edilen bu değer kimyasalın DNA'ya % olarak ne kadar etki ettiğini belirler.

2.17. Ultraviyole-Görünür Alan (UV-Vis) ve Spektroskopisi

Dalga boyları 100-800 nm arası olan ışınların kullanıldığı spektroskopidir. 100-400 nm arasındaki dalga boyuna sahip ışınlar ultraviyole (morötesi), 400-800 nm arasındaki dalga boyuna sahip ışınlar ise spektrumun görünür bölgesine karşılık gelmektedir. Bu bölgeye düşen ışınların enerjileri 40-300 kkal/mol arasındadır. Bu büyüklükteki enerji molekülün temel hal orbitallerindeki elektronların uyarılmasına yani uyarılmış hal orbitallerine geçmesine neden olur. Bu olay elektronik geçiş olarak tanımlanmaktadır. Elektromanyetik spektrum Şekil 2.33'de görülmektedir. Spektrumda görünür bölgenin oldukça küçük bir alanda yer aldığı anlaşılmaktadır.



Şekil 2.33: Elektromanyetik Spektrum.

UV-Görünür bölge ışınlarının bir molekül veya çok atomlu iyonlar tarafından absorpsiyonu ile molekülün bağ elektronları veya değerlik elektronları temel düzeyden daha yüksek enerji düzeyli bir orbitale geçer ve uyarılmış molekül (M^*) oluşur.



Uyarılmış molekül 10^{-8} - 10^{-9} s gibi kısa bir sürede tekrar temel hale döner ve bu duruma durulma adı verilir. Temel duruma dönüş ışımsız yolla (çarpışma vb.) veya

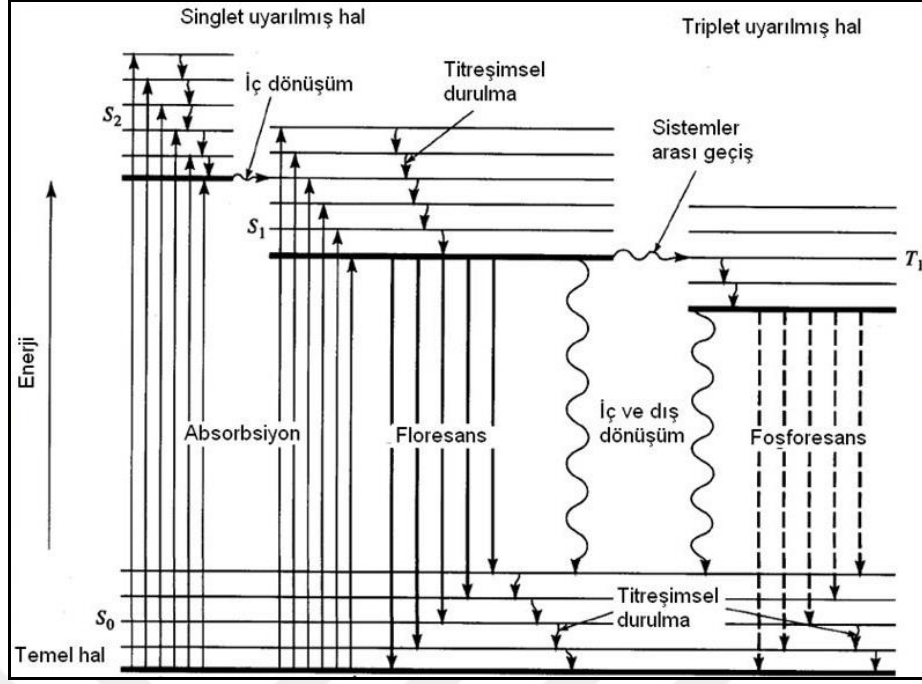
ışıklı yolla (floresans veya fosforesans) olabilir. Durulmaya uğrayan tür, çevresinde hafif bir sıcaklık artışına neden olur.



Bir molekülün elektronlarının yüksek enerjili düzeylere uyarılmasında absorplanan veya uyarılmış molekülün temel düzeye dönüşü sırasında yayılan ışık enerjileri, elektromanyetik spektrumun ultraviyole veya görünür bölgesi sınırları içindedir. Moleküler spektrum, elektronik düzeyler arasındaki geçişlere ek olarak dönme ve titreşim düzeylerinde de geçişleri içerir. Çünkü elektronik düzeyler arasında titreşim, titreşim düzeyleri arasında da dönme düzeyleri bulunur. Bunun sonucunda şekil 2.34'de görüldüğü gibi bir elektron S_0 elektronik düzeyinden S_1 elektronik düzeyine geçtiğinde titreşim düzeyleri ve dönme düzeylerinde geçişler olur. Bir molekülün toplam enerjisi, E , aşağıda verildiği gibi ifade edilir.

$$E = E_{\text{elektronik}} + E_{\text{titreşim}} + E_{\text{dönme}} \quad (2.6)$$

Burada $E_{\text{elektronik}}$ molekülün dış orbitallerindeki elektronlara ilişkin enerji, $E_{\text{titreşim}}$ atomlar arası titreşimlere ilişkin enerji ve $E_{\text{dönme}}$ molekülün ağırlık merkezi etrafında dönmesine ilişkin enerjidir. Bu nedenle moleküllerin spektrumları, çok sayıda yakın dalga boylu fakat ayrı ayrı çizgilerden oluşan bir bant spektrumu olarak gözlenir. Ayrıca atom spektrumlarına oranla daha karmaşıktır [122].

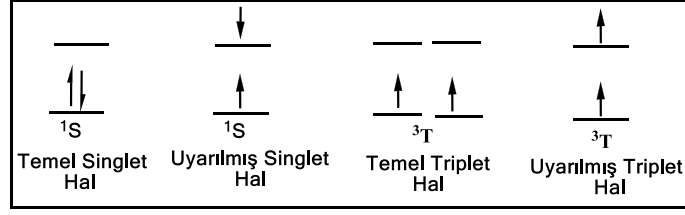


Şekil 2.34: Jablonski Diyagramı.

2.18. Floresans Spektroskopisi

Uyarılmış bir atom veya molekül kararsızdır. Kararsız halde bulunan atom veya molekül fazla enerjisini atarak kararlı hale dönmek ister. Kararsız halde bulunan kimyasal tür fazla enerjisinin tümünü veya bir kısmını ışık şeklinde yayarak temel hale dönebilmektedir. Bu esnada ışık saçılması gözlenebilir. Bu olaya genel olarak lüminesans denir. Moleküler lüminesans spektroskopisi genel olarak; floresans, fosforesans ve kemilüminesans olarak 3 kısımda incelenir.

Pauli dışarılama ilkesine göre; bir atomda 4 kuantum sayısı da aynı olan iki elektron bulunamaz. Bu ilkeye göre; her orbitalde en fazla iki elektron bulunabilir ve bu elektronların spinleri de ters olmak zorundadır. Atom veya molekülün elektronları orbitallere spinleri ters olarak yerleşmiş ise bu hale singlet hal, atom veya molekülün bir çift elektronundan bir tanesinin bir üst enerji seviyesinde bulunması durumunda singlet veya triplet hal meydana gelir. Uyarılma ile elektronun spininin zıt ve daha üst enerji seviyesinde bulunması durumuna uyarılmış singlet hali denir. Uyarılmış elektronun spininin aynı ve üst enerji seviyesinde bulunması durumuna ise uyarılmış triplet hali denir (Şekil 2.35).



Şekil 2.35: Elektronun singlet ve triplet hali.

Uyarılmış moleküllerin elektronları tekrar temel enerji seviyelerine değişik yollardan dönebilirler. Bunlar iç dönüşüm, dış dönüşüm, sistemler arası geçiş, floresans ve fosforesanstır.

- İç Dönüşüm

Bu olayda, molekülün ışın yaymadan bulunduğu enerji seviyesinden daha düşük elektronik enerji seviyesine inmesi durumu gerçekleşir.

- Dış Dönüşüm

Uyarılmış bir elektronik halde sönmelenme olayı, uyarılmış molekülden çözücü veya diğer çözünenlere enerji aktarılması şeklinde de gerçekleşebilir. Bu olaylar genel olarak dış dönüşüm ile sönmelenme olarak adlandırılır. Dış dönüşüm için delil; çözücünün floresans şiddeti üzerindeki güçlü etkisidir. Ayrıca tanecikler arasındaki çarpışma sayısını azaltan koşullar (düşük sıcaklık, yüksek viskozite vb gibi) genellikle floresansı azaltmaktadır.

- Sistemler arası geçiş

Sistemler arası geçiş, uyarılmış bir elektronun spinin ters döndüğü bir olaydır. İç dönüşümde olduğu gibi, eğer iki halin titreşim seviyeleri örtüşürse bu geçişin gerçekleşme olasılığı artabilir. Sistemler arası geçiş iyot veya brom gibi ağır atomları içeren moleküllerde yaygın olarak görülür.

- Floresans ve Fosforesans

Toplam elektronik spin değişmemek üzere uyarılmış atomun temel hale dönerken yaptığı ışımaya floresans denir. Floresans ve fosforesans olayları uyarılmanın fotonların absorpsiyonu ile gerçekleşmesi bakımından benzer özellik

gösterirler. Bu nedenle bu iki olay fotolüminesans olarak ifade edilir. Aralarındaki fark ise; floresansta uyarılmış singlet sistemden temel haldeki singlete geçiş sözkonusu iken, fosforesansta uyarılmış singletten uyarılmış triplete geçiş durumu gerçekleşmektedir. Bununla birlikte çok sık olarak, moleküler floresans veya fosforesans bantları rezonans çizgisinden daha uzun dalga boylarında merkezlenmiş olarak bulunur. Bu uzun dalga boylarına veya düşük enerjilere kayma stokes kayması olarak ifade edilir [123-124].



3. KONU İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

3.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2'-Dihidroksibifenil ve 1,1'-Bi-2-Naftol'ün Reaksiyonları

Carriedo ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada; heksaklorosiklotrifosfazen ile 2,2'-dioksobifenil grupları içeren yüksek molekül ağırlıklı yeni tür polimerler hazırlanmıştır. Çalışmada; heksaklorosiklotrifosfazen ile 2,2'-dihidroksibifenil'in reaksiyonu aseton/ K_2CO_3 varlığında geri soğutucu altında ısıtılarak ve oda sıcaklığında yürütülmüştür. Ayrıca çalışmada; reaktif oranına bağlı olarak monospiro, dispiro ve trispiro ürünlerin verimlerinde değişimler görüldüğü belirtilmiştir. Polimerlerin Tg değerlerinin, siklotrifosfazen halkasına bağlı gruplara göre değişiklik gösterdiği anlaşılmıştır. Yapıda -CN grubu bulunduğunda Tg değeri 73 °C, -COMe grubu bulunduğunda ise Tg değeri 54 °C olarak bulunmuştur [125]. Ainscough ve arkadaşları tarafından yürütülen başka bir çalışmada; oktaklorosiklotetrafosfazen ile 2,2'-bifenolün reaksiyonu sonucunda elde edilen ürünlerin elektrokimyasal özellikleri incelenerek konformasyonel esneklikleri açıklanmış ve DFT hesaplamaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçların 2,2'-dioksobifenil substitue siklotetrafosfazenlerin aromatik halkalar arasında (π - π veya π -H) etkileşimlerinin mikrokristalin etki üreteceği ifade edilmiştir [126]. Chandrasekhar ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yapılan bir çalışmada; heksaklorosiklotrifosfazen ile 2,2'-dihidroksibifenil'in K_2CO_3 /Aseton varlığında reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen monospiro ve dispiro yapıdaki ürünler ile 1-pirenil, 9-antrasenil, 9-fenantiril ve 7-(N,N'-Dietilamino)-3-kumarinil grupları ile reaksiyonları yürütülmüştür. Elde edilen ürünlerin karakterizasyonları tamamlanmış ve floresans özellikleri incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda elde edilen ürünlerin sulu ortama yakın fiziksel koşullarda (HEPES Buffer: (v) 9/1 H₂O/DMSO) mükemmel floresans özellik sergiledikleri belirtilmiştir [127]. Chandrasekhar ve Narayanan tarafından 2013 yılında yayımlanan bir başka çalışmada ise; monospiro ve dispiro yapıdaki 2,2'-dioksobifenil substitue siklotrifosfazenler ile 3-hidroksipiridil ve 4-hidroksipiridil'in reaksiyonları geri soğutucu altında ısıtılarak K_2CO_3 /Aseton varlığında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünler ile $AgNO_3$, $CuCl_2$, $ZnCl_2$ ve $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ tuzları kullanılarak siklotrifosfazen metal kompleksleri

elde edilmiştir. Elde edilen ürünlerin yapıları ayrıntılı olarak ele alınmış, termal analizleri yapılmıştır. Ayrıca gümüş kompleksten parçacık boyutu 2-13 nm aralığında değişen ebatlarda gümüş nanopartikül elde edilmiştir. Ortalama tanecik boyutunun 7.6 nm olduğu ve nanopartikülün, gümüş kompleksin 30 dakika izopropanol içerisinde bekletilmek suretiyle hazırlandığı belirtilmiştir [128]. Görgülü ve arkadaşları tarafından 2015 yılında yapılan bir çalışmada; heksaklorosiklotrifosfazen ile 2,2'-dihidroksibifenil'in K_2CO_3 /Aseton varlığında reaksiyonu sonucu dispiro yapıdaki bis-fenoksi substitue siklotrifosfazen türevi elde edilmiştir. Elde edilen bu ürün ile K_2CO_3 /Aseton varlığında 8 adet kalkon grubu içeren bileşiğin reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen siklotrifosfazen türevlerinin insan meme kanseri ve prostat kanseri hücrelerine karşı *in-vitro* aktiviteleri incelenmiştir. *İn-vitro* deneylerinde sentezlenen bileşiklerin 5 farklı konsantrasyonu çalışılmıştır (1, 5, 25, 50, 100 μM). Sentezlenen bileşiklerin yüksek antitümör aktivite özelliği sergilediği rapor edilmiştir [129].

Brandt ve arkadaşları tarafından heksaklorosiklotrifosfazen ile 2,2'-dihidroksi 1,1'-binaftil ve tetraetilen glikol'ün reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Çalışmada termodinamik ve supramoleküler etkinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla; reaksiyon şartları değiştirilerek çalışma sürdürülmüştür. İlk önce bis naftol ile daha sonra da tetra etilen glikol ile reaksiyon gerçekleştirilmiştir. İkinci aşamada ise önce tetraetilen glikol ile daha sonra bisnaftol ile reaksiyon yürütülmüş ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. İlk önce bis naftol ile gerçekleştirilen reaksiyonda mono ve bis-1,3-ansa [oksi(tetraetilenoksi)-monospiro(binaftalendioksi)] siklotrifosfazenler, ürün olarak elde edilmiştir. İlk önce tetraetilen glikol ile yürütülen reaksiyonda ise iki tür seçici ansa izomer elde edilmiştir. Bu seçici izomerler içerisinde ana olarak geminal izomer elde edilirken daha düşük oranda trans non-geminal izomer elde edildiği belirtilmiştir [130]. Kumar ve Swamy tarafından farklı yıllarda yürütülen çalışmalarda heksaklorosiklotrifosfazen ile 1,1'-bi-2-naftol ile reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonucunda farklı ansimetrik bis-, ve tris-spirosiklik siklotrifosfazenler sentezlenmiştir. Çalışmalarda elde edilen ürünlerin spektral ve kiral özellikleri incelenmiştir [131-132].

Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2'-dihidroksidifenilmetan ve 1,1'-metilendi-2-naftol'ün reaksiyonları ilk kez tez çalışması kapsamında yapılmıştır. 2016 yılında tez çalışması kapsamında yapılan yayında; heksaklorosiklotrifosfazen ile 2,2'-

dihidroksidifenilmetan ve 1,1'-metilen-di-2-naftol'ün reaksiyonları ayrı ayrı THF/NaH varlığında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen siklotrifosfazen türevlerinin yapıları uygun spektroskopi yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Sentezlenen siklotrifosfazen türevlerinin floresans özellikleri incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda trispiro yapıdaki naftoksi substitue siklotrifosfazen türevinin diğer türevlere göre daha yüksek floresans emisyon verdiği rapor edilmiştir [133].

3.2. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile Kumarinlerin Reaksiyonları

Son yıllarda literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde, kumarin bileşiklerinin popüler çalışma alanları arasında yer aldığı görülmektedir. Bunun nedenleri arasında kumarin bileşiklerinin farklı özellikler sergilemeleri gösterilebilir. Kumarin bileşikleri antienflamatuvar [63], fotoduyarlı kimyasal [64], antidepresan [68], biyolojik aktif [69], kemosensör [134-135] özellikler sergileyebilmektedir.

Kumarin substitüe siklotrifosfazen bileşiklerinin literatüre kazandırılması, ilk kez grubumuz tarafından gerçekleştirilmiştir. Yenilmez Çiftçi ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yapılan bir çalışmada; heksaklorosiklotrifosfazen ile 3,3'-metilen-bis-(4-hidroksikumarin)'in NaH/THF varlığında reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonucunda monospiro, dispiro ve trispiro yapıda dikumarol substitüe siklotrifosfazen türevleri sentezlenmiştir. Bu çalışma ile kumarin substitüe siklotrifosfazen türevi bileşikler literatürde yer almaya başlamıştır. Sentezlenen bileşiklerin yapıları uygun spektroskopik yöntemler yardımıyla aydınlatılmıştır [136]. 2015 yılında yürütülen bir başka çalışmada ise; heksaklorosiklotrifosfazen ve oktaklorosiklotetrafosfazen ile 3-[2-(diethylamino)etil]-7-hidroksi-4-metilkumarin'in reaksiyonu ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünlerin dimetil sülfat ve 1,3-propansülfat ile reaksiyonları sonucu kuaternize katyon ve zwitter iyonik türevleri elde edilmiştir. Yapıları uygun spektroskopik verilerle desteklenmiş olan yeni kumarin substitue siklotrifosfazen türevlerinin floresans özellikleri incelenmiştir. Çalışmada; kuaterner iyon ve zwitter iyonik bileşiklerin suda çok iyi çözüldükleri belirtilmiştir. Ayrıca türevlerin sulu ortamda Fe^{+3} iyonuna karşı yüksek seçicilikte floresans kemosensör özellik gösterdiği rapor edilmiştir [80]. Tez çalışması kapsamında ilk kez fenoksi ve naftoksi substitue mono spiro ve dispiro yapıdaki

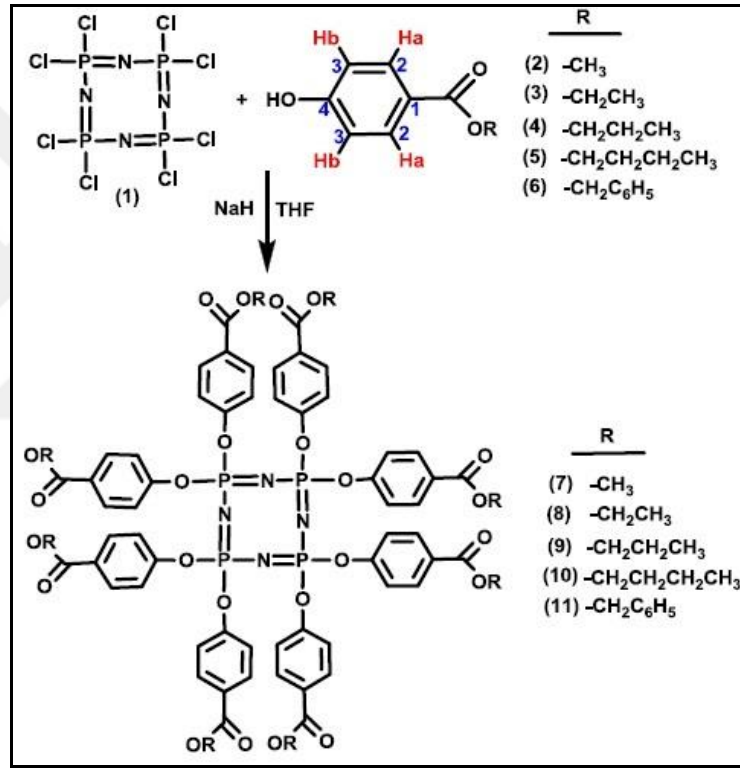
siklotrifosfazen türevi bileşikler ile 4-hidroksikumarin'in reaksiyonu ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmasının bir bölümünü kapsayan monospiro ve dispiro yapıdaki fenoksi ve naftoksi substitue siklotrifosfazenler ile 4-hidroksi kumarinin reaksiyonları NaH/THF varlığında gerçekleştirilmiştir. Grubumuz tarafından 2017 yılında yayımlanmış olan çalışmada; 4-hidroksikumarin substitue siklotrifosfazen türevi bileşiklerinin sentez, karakterizasyon ve floresans özellikleri incelenmiştir [137].

Tez çalışmasında; naftoksi substitue monospiro ve dispiro yapıdaki siklotrifosfazenler ile 4-hidroksi-6-metilkumarin ve 4-hidroksi-6,7-dimetilkumarin'in ayrı ayrı reaksiyonları ilk kez yapılmıştır.

3.3. MiSens Cihazı ve Biyosensör Çalışmaları

2014 yılında Uludağ ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; Bisfenol A tayininde, elektrokimyasal analiz yöntemi farklı değişkenlerle incelenmiştir. Bu çalışma ile araştırmacılar farklı uygulamalarda kullanılacak sensör araçların geliştirilmesini amaçladıklarını vurgulamışlardır. Çalışmada; sinyal dönüştürücü yüzeyi için 3 tür elektrot tasarlanmıştır. Tasarlanan elektrotlar farklı boyutlarda Au elektrotlardan (1.5, 2, 3 ve 4 mm) ve referans elektrotlardan oluşmaktadır. Elektrokimyasal analiz kısmında ise siklik voltmetri ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Siklik voltmetri ölçümleri için, 1 M KCl içerisinde 1 mM potasyum ferrosiyandır solüsyonu kullanılmıştır. Bisfenol A tayininde HRP (Horse Radish Peroxidase) enzimi kullanılmıştır. HRP enzimi ve Bisfenol A tayininde belirleme limitleri sırasıyla 12.5 ng/mL, 10 ng/mL olarak elde edilmiştir. Çalışmanın sonucunda; taşınabilir, hızlı, hassas ve düşük maliyetli çevresel izleme, gıda kalitesi vb. gibi alanlarda kullanılacak bir sensör geliştirilmiştir [115]. Ölçer ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada; buğdayda bulunan mitotoksinlerin hızlı ve hassas bir şekilde belirlenmesi için mikroakışkan REF (Real-time Electrochemical Profiling) temelli sensör kullanmışlardır. Çalışmada; mitotoksinlerin belirlenmesinde kullanılan gaz kromatografisi, kütle spektrofotometresi, sıvı kromatografisi veya ELİSA tip yöntemleri gibi pahalı ekipmanlara ihtiyaç duyulmayan alternatif bir sensör tasarlanması hedeflenmiştir. ELİSA ve REF metodlarının her ikisinde HRP (Horse Radish Peroxidase) enzimi ve TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidin) substratının

kullanıldığı çalışmada belirtilmiştir. Çalışmanın sonucunda sensörün hızlı ve etkili olduğu rapor edilmiştir [116]. Yenilmez Çiftçi ve arkadaşları tarafından 2016 yılında yapılan bir çalışmada; paraben substitue siklotrifosfazen türevi bileşiklerinin DNA etkileşim analizleri yeni otomatik biyosensör ile incelenmiştir. Çalışmada; MiSens biyosensör cihazı kullanılmış ve tanımlanmıştır. Ayrıca oktaklorosiklotetrafosfazen ile metil paraben, etil paraben, propil paraben, bütül paraben ve benzil parabenin THF/NaH varlığında reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonucunda tamamen substitue siklotetrafosfazen türevleri elde edilerek karakterize edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Parabenler ile Siklotetrafosfazenin Reaksiyonu.

Elde edilen paraben substitue siklotetrafosfazenlerin MiSens biyosensör cihazında ve *in-vitro* deneyleri sonucunda propil paraben ve benzil paraben substitue siklotetrafosfazenlerde en yüksek DNA hasarı tespit edilmiştir. DNA hasarı propil paraben substitue siklotetrafosfazende % 65 iken, benzil paraben substitue siklotetrafosfazende % 80 olarak rapor edilmiştir. Çalışmanın sonucunda; araştırmacılar MiSens biyosensör cihazının, potansiyel ilaç adayı olabilme ihtimali en güçlü olan bileşiklerin tespit edilebilmesine ve ön tarama testlerinin yapılabilmesine

imkan sağlaması bakımından oldukça etkili, hassas, duyarlı bir biyosensör cihazı olduğunu ifade etmişlerdir [117]. Aynı grup tarafından 2017 yılında yapılan başka bir çalışmada; heksaklorosiklotrifosfazen ile paraben türevleri (metil paraben, etil paraben, propil paraben, bütil paraben ve benzil paraben) reaksiyonları ayrı ayrı tamamlanmıştır. Elde edilen türevlerin MiSens biyosensör cihazı ile DNA etkileşim analizleri gerçekleştirilerek, antikanser ajanı olabilme potansiyeline sahip bileşiklerin tespitine yönelik araştırma yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda; etil paraben ve benzil paraben substitue siklotrifosfazen türevlerinde oldukça yüksek düzeyde etkileşim görüldüğü belirtilmiştir. Sonuçların, bu türevlerin potansiyel antikanser ajanı adayı olabileceğini desteklediği rapor edilmiştir [118].



4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Maddeler

Tez kapsamında gerçekleştirilen sentez, sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin ayrılması ve saflaştırılmasında kullanılan kimyasal maddeler Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1: Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Kimyasal Maddeler.

Adı	Üretici Firma	Katalog No	Özellik
Fosfonitrilik klorür (trimer)	Fluka Ltd.	79562	Sentez için, ≥ 98.0 %
2,2'-Dihidroksidifenilmetan	TCI	2467-02-9	Sentez için, ≥ 99.0 %
1,1'-Metilendi-2-naftol	TCI	1096-84-0	Sentez için, ≥ 95.0 %
4-Hidroksikumarin	Alfa Aesar	1076-38-6	Sentez için, ≥ 98.0 %
4-Hidroksi-6-metilkumarin	Sigma Aldrich	13252-83-0	Sentez için, ≥ 98.0 %
4-Hidroksi-6,7-dimetil kumarin	Santa Cruz Biotechnology	55004-77-8	Sentez için, ≥ 98.0 %
Sezyum Karbonat	Sigma Aldrich	534-17-8	Sentez için, ≥ 99.0 %
Kloroform	Merck Ltd.	822265	Sentez için, > 99.0 %
Tetrahidrofuran	Merck Ltd.	822306	Sentez için, > 99.0 %
Diklorometan	Merck Ltd.	106049	Ekstra saf, ≥ 99.0 %
Etil asetat	Fluka Ltd.	45780	Ekstra saf, > 99.0 %
<i>n</i> -Hekzan	Merck Ltd.	104368	Ekstra saf, ≥ 95.0 %
Silikajel	Merck Ltd.	107734	0.063-0.200 mm
Silikajel	Merck Ltd.	109385	0.040-0.063 mm
Sodyum hidrür	Merck Ltd.	814552	Sentez için, 60 %
Ninhidrin	Fluka Ltd.	33437	Analiz için, 99.0 %
Asetik asit	Merck Ltd.	100056	Ekstra saf, 100%
<i>n</i> -Bütanol	Merck Ltd.	822262	Sentez için, > 99.0 %
Dötero kloroform	Merck Ltd.	134200	NMR Analizi için, 99.0 %
Dötero tetrahidrofuran	Merck Ltd.	134200	NMR Analizi için, 99.0 %

MiSens biyosensör cihazında DNA etkileşim analizi çalışmalarında kullanılan kimyasal maddeler Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2: DNA Etkileşim Analizi İşlemlerinde Kullanılan Kimyasal Maddeler.

Adı	Üretici Firma	Katalog No	Özellik
Potasyum Hekzasiyano Ferrat (III)	Sigma	244023	Analiz için, $\geq 99.0\%$
EDC	Sigma	25952-53-8	Analiz için, $\geq 99.0\%$
NHC	Sigma	130672	Analiz için, $\geq 98.0\%$
NA	Thermofisher	31000	Analiz için
BSA	Sigma	A2153	Analiz için, $\geq 96.0\%$
Etanol Amin	Sigma	398136	Analiz için, $\geq 99.0\%$
Biotin	Sigma	B4639	Analiz için, $\geq 99.0\%$
Glisin	Sigma	244023	Analiz için, $\geq 99.0\%$

4.2. Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Cihazlar

Tez kapsamında sentezi gerçekleştirilen maddelerin yapılarının aydınlatılmasında ve özelliklerinin incelenmesinde kullanılan cihazlar Tablo 4.3’ de görülmektedir.

Tablo 4.3: Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Cihazlar.

Adı	Modeli	Bulunduğu Yer
NMR Spektrometresi	Varian 500 MHz	GTÜ
Kütle Spektrometresi	Bruker Microflex LT MALDI-TOF MS	GTÜ
Rotary Evaporatör	Heidolph	GTÜ
X-Işını Difraktometresi	Bruker Smart Apex II Quazar	GTÜ
UV-Visible Spektrofotometresi	Schimadzu 2001 UVPc	GTÜ
Floresans Spektrofotometresi	Varian Cary Eclipse	GTÜ
Mi-Sense Cihazı	Elektrokimyasal Biyosensör	GTÜ

5. DENEYSEL BÖLÜM

5.1. Genel İşlemler

Başlangıç maddelerinin elde edilmesi için gerçekleştirilen reaksiyonlar, kullanılan maddelerin havada bulunan istenmeyen etkenler (oksijen, nem vb) ile etkileşimlerini önlemek amacı ile inert ortam (Argon) atmosferinde gerçekleştirildi. Kumarin substitue siklotrifosfazenlerin sentezi ise geri soğutucu varlığında ısıtılarak gerçekleştirildi. Elde edilen bileşikler ince tabaka kromatografisi ve kolon kromatografisi tekniklerinden faydalanılarak ayrıldılar ve uygun yöntemler kullanılarak saflaştırıldılar.

Bileşiklerin ^{31}P NMR ölçümlerinde çözücü olarak CDCl_3 ve dış standart olarak % 85 H_3PO_4 kullanıldı. ^1H NMR ölçümlerinde ise çözücü olarak CDCl_3 ve iç standart olarak TMS kullanıldı.

5.1.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen (Trimer)'in Saflaştırılması

Hekzaklorosiklotrifosfazen (Trimer), hekszanda fraksiyonlu kristallendirme yöntemiyle kristallendirildi. Saflaştırma işlemi tamamlandıktan sonra reaksiyonlarda kullanıldı.

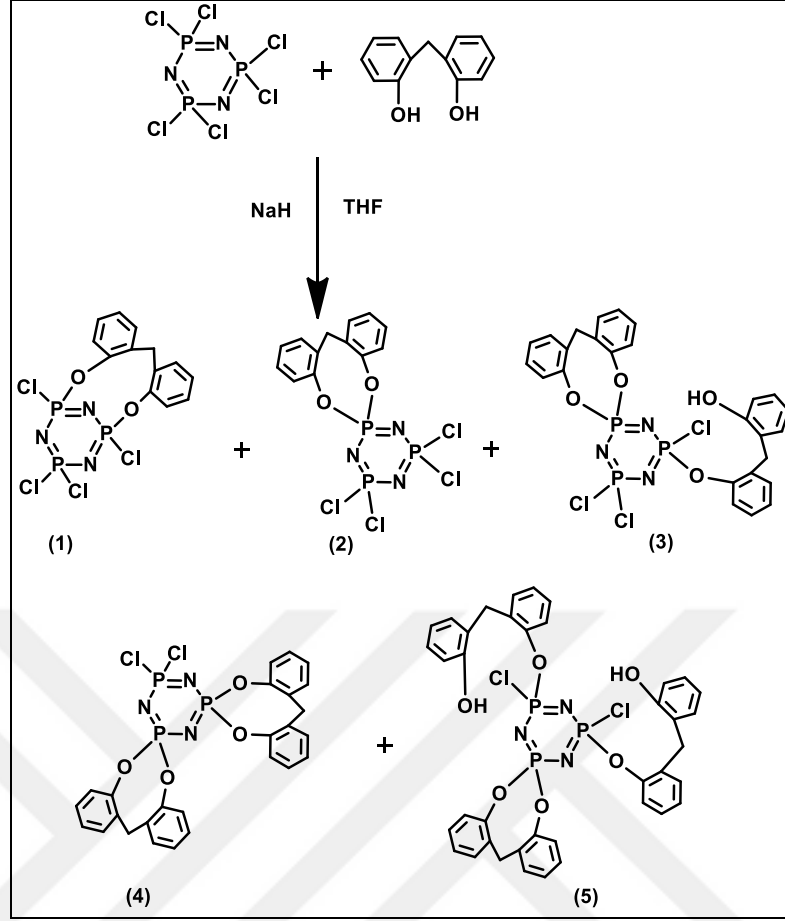
5.1.2. TLC İncelemeleri İçin Ninhidrin Çözeltisinin Hazırlanması

n-Bütanol (100 mL) ve asetik asitten (5 mL) oluşan çözücü karışımı hazırlandı. Ninhidrin (0.3 g), bu çözücü karışımı içerisinde ilave edilerek oda sıcaklığında magnetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözünme tamamlandıktan sonra hazır bekletildi.

5.2. Deneyler

5.2.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 2,2'-dihidroksidifenilmetan'ın Reaksiyonu

250 mL'lik üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonuna 25 mL kuru tetrahidrofuranda çözülmüş heksaklorosiklotrifosfazen (trimer) (0.87 g, 2.50 mmol) ilave edildi. Daha sonra argon atmosferinde 15 mL kuru tetrahidrofuran içindeki NaH (0.23 g, 5.75 mmol) ortama ilave edildi. Reaksiyon ortamı buz banyosu kullanılarak -5 °C'ye kadar soğutuldu. Bu işlemin ardından, reaksiyon ortamına 10 mL THF içerisinde çözülmüş halde bulunan 2,2'-dihidroksidifenilmetan (1 g, 4.99 mmol) çözeltisi damlatma hunisi kullanılarak 20 dakika boyunca damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı, TLC ile takip edildi. Magnetik karıştırıcı kullanılarak 5 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Reaksiyon sonunda ortamda bulunan NaCl tuzlarının, polimerik bileşiklerin ve çözünmeyen diğer türlerin uzaklaştırılması amacıyla reaksiyon karışımı G4 filtreden süzüldü. Süzüntüde çözücü olarak bulunan THF, döner buharlaştırıcıda kontrollü vakum uygulanarak ortamdan uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımı, bileşenlerine ayrılması amacıyla *n*-hekzan-THF (5:2) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla, silikajel (230-400 mesh, 110 g.) dolgululu kolonda (3.5, 90 cm) ürün **1** (Rf=0.82), ürün **2** (Rf=0.70), ürün **3** (Rf=0.33), ürün **4** (Rf=0.43), ürün **5** (Rf=0.11) izole edildi (Şekil 5.1). İzole edilen ürün **1**; *n*-hekzan: DCM: Petrol Eteri (2:3:1) çözücü sisteminde, ürün **2**; *n*-hekzan: DCM (1:1) çözücü sisteminde, ürün **4** ise *n*-hekzan: DCM (4:1.5) çözücü sisteminde kristallendirildi. Beyaz renkli kristal olan ürün **1** (0.17 g, 0.36 mmol), % 14 verimle, (e.n:130 °C); beyaz renkli kristal ürün **2** (0.15 g, 0.31 mmol), % 12 verimle, (e.n:113 °C), yağimsı ürün **3** (0.18 g, 0.28 mmol), % 11 verimle, beyaz renkli kristal ürün **4** (0.51 g, 0.84 mmol), % 33 verimle, (e.n:228 °C), yağimsı ürün **5** (0.16 g, 0.20 mmol), % 8 verimle, cis-trans izomer karışımı olarak elde edildi.

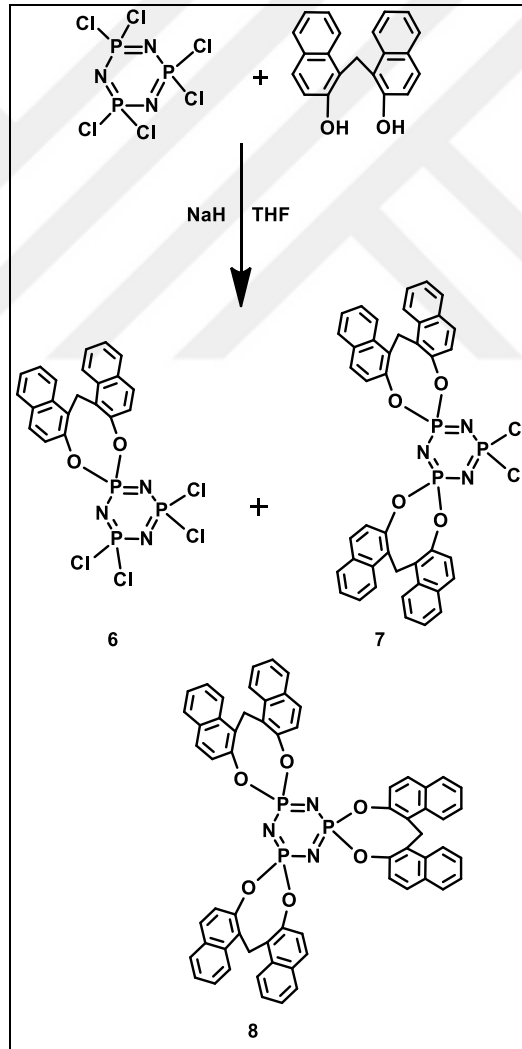


Şekil 5.1: Trimerin 2,2'-dihidrosidifenilmetan ile reaksiyonu.

5.2.2. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile 1,1'-metilendi-2-naftol'un Reaksiyonu

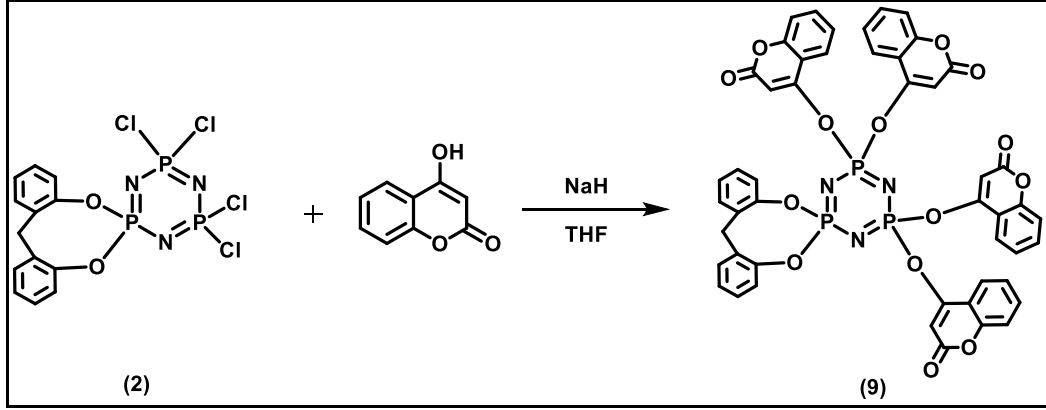
250 mL'lik üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonuna 30 mL kuru tetrahidrofuranda çözülmüş hekzaklorosiklotrifosfazen (trimer) (1 g, 2.87 mmol) ilave edildi. Daha sonra argon atmosferinde 15 mL kuru tetrahidrofuran içindeki NaH (0.23 g, 5.75 mmol) ortama ilave edildi. Reaksiyon ortamı buz banyosu kullanılarak $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutuldu. Bu işlemin ardından, reaksiyon ortamına 10 mL THF içerisinde çözülmüş halde bulunan 1,1'-metilendi-2-naftol (1.73 g, 5.75 mmol) çözeltisi damlatma hunisi kullanılarak 20 dakika boyunca damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı, TLC ile takip edildi. Magnetik karıştırıcı kullanılarak 5 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Reaksiyon sonunda ortamda bulunan NaCl tuzlarının, uzaklaştırılması amacıyla reaksiyon karışımı G4 filtreden süzüldü. Süzüntüde çözücü olarak bulunan THF, döner buharlaştırıcıda kontrollü vakum uygulanarak ortamdan

uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımı, bileşenlerine ayrılması amacıyla *n*-hekzan-DCM (1:1) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla, silikajel (230-400 mesh, 110 g.) dolgulu kolonda (3.5, 90 cm) üç ürün izole edildi. İzole edilen ürünlerin R_f değerleri ürün **6** için ($R_f=0.69$), ürün **7** için ($R_f=0.37$), ürün **8** için ($R_f=0.19$) olarak belirlendi. Ürün **6** *n*-hekzan-DCM (1:1) çözücü sisteminde kristallendirildi. Ürün **7** ise *n*-hekzan-DCM (5:2) çözücü sisteminde kristallendirildi. Beyaz renkli kristal olan ürün **6** (0.34 g, 0.59 mmol), % 20 verimle, (e.n:215 °C); *n*-hekzan-DCM (1:1) çözücü sisteminde kristallendirildi. Beyaz renkli kristal ürün **7** (0.84 g, 1.04 mmol), (e.n>290°C), % 36 verimle elde edildi. İzole edilen beyaz katı ürün **8** (0.70 g, 0.68 mmol), (e.n:290 °C), % 24 verimle elde edildi (Şekil 5.2).



Şekil 5.2: Trimerin 1,1'-metilendi-2-naftol ile reaksiyonu.

5.2.3. Bileşik 2 ile 4-hidroksi Kumarin'in Reaksiyonu

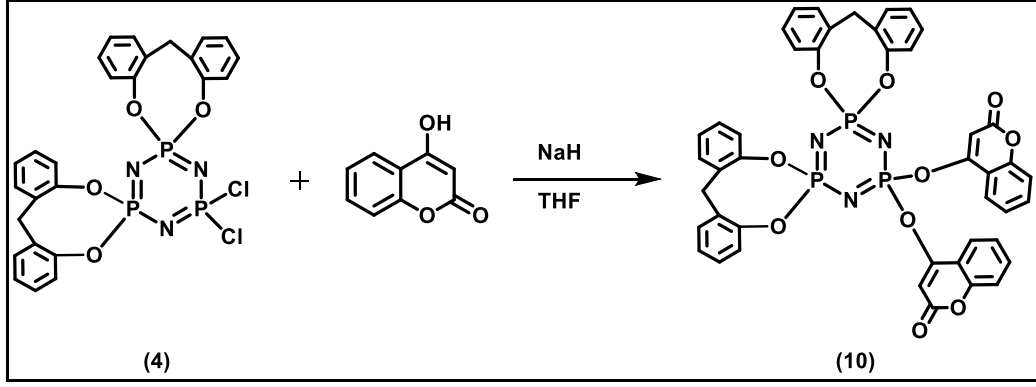


Şekil 5.3: Bileşik 2 ile 4-hidroksi kumarinin reaksiyonu.

Monospiro-[1,1'-metilen-bis(fenilen-2-oksi)]-tetraklorosiklotrifosfazen **2**, (70 mg, 0.147 mmol), reaksiyon balonunda 10 ml kuru THF içerisinde çözüldü. Reaksiyon ortamına 24.12 mg NaH ilave edildi. 4-hidroksi kumarin (97,97 mg, 0.603 mmol) 20 ml kuru THF içerisinde çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi ve geri soğutucu altında ısıtıldı. Reaksiyon karışımı, TLC ile takip edildi. Magnetik karıştırıcı kullanılarak 7 gün geri soğutucu altında ısıtıldı. Reaksiyon sonunda ortamda bulunan NaCl tuzlarının, uzaklaştırılması amacıyla reaksiyon karışımı G4 filtreden süzüldü. Süzüntüde çözücü olarak bulunan THF, döner buharlaştırıcıda kontrollü vakum uygulanarak ortamdaki uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımı, bileşenlerine ayrılması amacıyla *n*-hekzan-THF (1:2) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla, silikajel (230-400 mesh, 110 g.) dolgululu kolonda (3.5, 90 cm) bileşik **9** (R_f=0.77) izole edildi. İzole edilen ürün **9** 45 mg, 0.046 mmol, % 31 verimle elde edildi.

5.2.4. Bileşik 4 ile 4-hidroksi Kumarin'in Reaksiyonu

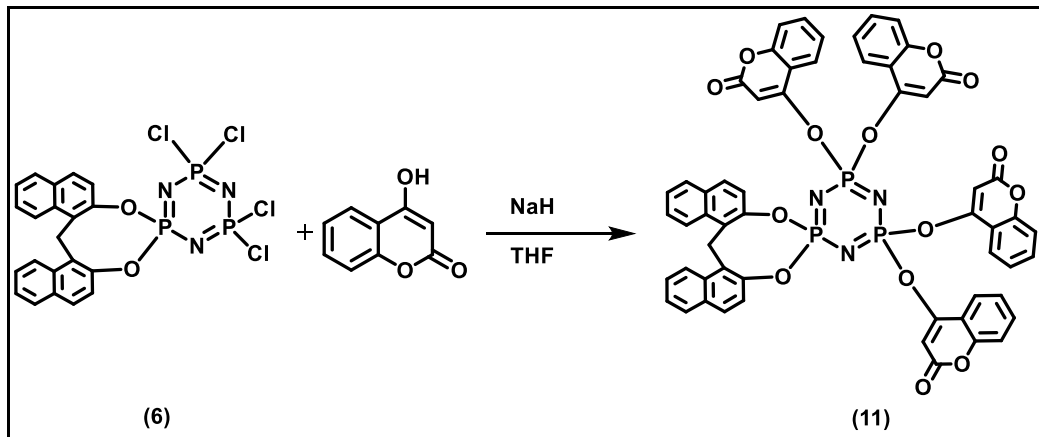
Dispiro-[1,1'-metilen-bis(fenilen-2-oksi)]-diklorosiklotrifosfazen **4** (70 mg, 0.116 mmol), reaksiyon balonunda 15 ml kuru THF içerisinde çözüldü. Reaksiyon ortamına 15 ml kuru THF içinde çözülmüş NaH (9.30 mg, 0.232 mmol) ilave edildi. 4-hidroksi kumarin (40 mg, 0.232 mmol) 20 ml kuru THF içerisinde çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi ve geri soğutucu altında ısıtıldı.



Şekil 5.4: Bileşik 4 ile 4-hidroksi kumarinin reaksiyonu.

Reaksiyon karışımı, TLC ile takip edildi. Magnetik karıştırıcı kullanılarak 7 gün geri soğutucu altında ısıtıldı. Reaksiyon sonunda ortamda bulunan NaCl tuzlarının, uzaklaştırılması amacıyla reaksiyon karışımı G4 filtreden süzüldü. Süzüntüde çözücü olarak bulunan THF, döner buharlaştırıcıda kontrollü vakum uygulanarak ortamdaki uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımı, bileşenlerine ayrılması amacıyla *n*-hekzan-THF (1:1) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla, silikajel (230-400 mesh, 110 g.) dolgulu kolonda (3.5, 90 cm) bileşik 10 ($R_f=0.63$) izole edildi. İzole edilen ürün 10 38 mg, 0.044 mmol, % 38 verimle elde edildi.

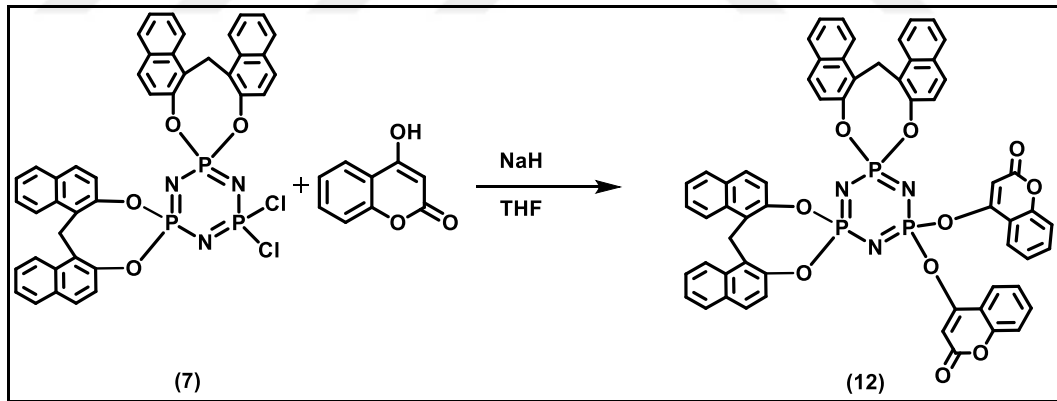
5.2.5. Bileşik 6 ile 4-hidroksi Kumarin'in Reaksiyonu



Şekil 5.5: Bileşik 6 ile 4-hidroksi kumarinin reaksiyonu.

Monospiro-[1,1'-metilen-bis(naftalen-2-oksi)]-tetraklorosiklotrifosfazen **6** (200 mg, 0.348 mmol), reaksiyon balonunda 20 ml kuru THF içerisinde çözüldü. Reaksiyon ortamına 30 ml kuru THF içerisinde çözülmüş olan (57.2 mg, 1.43 mmol) NaH ilave edildi. 4-hidroksi kumarin (231.19 mg, 1.43 mmol) 40 ml kuru THF içerisinde çözülerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi ve geri soğutucu altında ısıtıldı. Reaksiyon karışımı, TLC ile takip edildi. Magnetik karıştırıcı ile karıştırılarak 7 gün geri soğutucu altında ısıtıldı. Reaksiyon sonunda ortamda bulunan NaCl tuzlarının, uzaklaştırılması amacıyla reaksiyon karışımı G4 filtreden süzüldü. Süzüntüde çözücü olarak bulunan THF, döner buharlaştırıcıda kontrollü vakum uygulanarak ortamdan uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımı, bileşenlerine ayrılması amacıyla *n*-hekzan-THF (1:3) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla, silikajel (230-400 mesh, 110 g.) dolgulu kolonda (3.5, 90 cm) bileşik (11) (Rf=0.18) izole edildi. İzole edilen ürün **11** (140 mg, 0.13 mmol) % 37 verimle elde edildi.

5.2.6. Bileşik 7 ile 4-hidroksi Kumarin'in Reaksiyonu

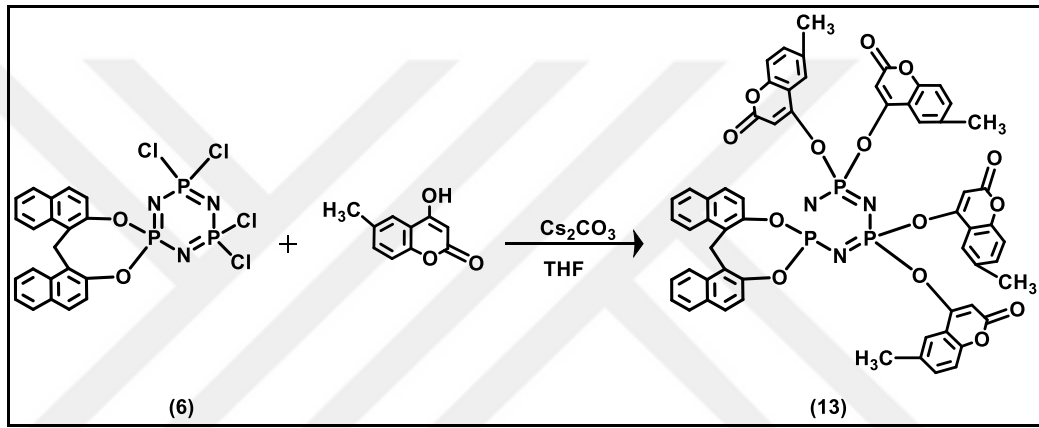


Şekil 5.6: Bileşik 7 ile 4-hidroksi kumarinin reaksiyonu.

Dispiro-[1,1'-metilen-bis(naftalen-2-oksi)]-diklorosiklotrifosfazen **7** (100 mg, 0.125 mmol), reaksiyon balonunda 15 ml kuru THF içerisinde çözüldü. Reaksiyon ortamına 15 ml kuru THF içerisinde çözülmüş (10.5 mg, 0.26 mmol) NaH ilave edildi. 4-hidroksi kumarin (41 mg, 0.25 mmol) 20 ml kuru THF içerisinde çözülerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi ve geri soğutucu altında ısıtıldı. Reaksiyon karışımı, TLC ile takip edildi. Magnetik karıştırıcı ile karıştırılarak 7 gün

geri soğutucu altında ısıtıldı. Reaksiyon sonunda ortamda bulunan NaCl tuzlarının, uzaklaştırılması amacıyla reaksiyon karışımı G4 filtreden süzüldü. Süzüntüde çözücü olarak bulunan THF, döner buharlaştırıcıda kontrollü vakum uygulanarak ortamdan uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımı, bileşenlerine ayrılması amacıyla *n*-hekzan-THF (1:1) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla, silikajel (230-400 mesh, 110 g.) dolgulu kolonda (3.5, 90 cm) bileşik (12) ($R_f=0.61$) izole edildi. İzole edilen ürün **12** (53 mg, 0.05 mmol) % 40 verimle elde edildi.

5.2.7. Bileşik 6 ile 4-hidroksi-6-metil Kumarin'in Reaksiyonu

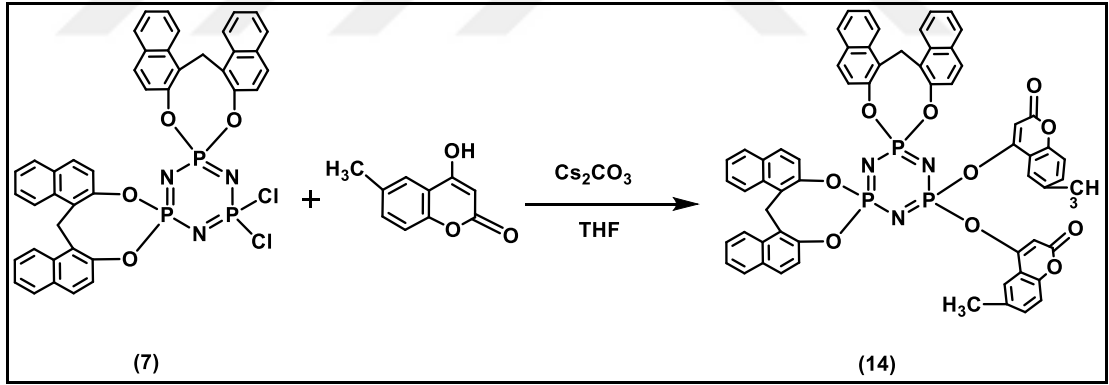


Şekil 5.7: Bileşik **6** ile 4-hidroksi-6-metil kumarinin reaksiyonu.

Monospiro-[1,1'-metilen-bis(naftalen-2-oksi)]-tetraklorosiklotrifosfazen **6** (143 mg, 0.249 mmol), reaksiyon balonunda 20 ml kuru THF içerisinde çözüldü. Reaksiyon ortamına (331.18 mg, 1.02 mmol) Cs_2CO_3 ilave edildi. 4-hidroksi 6-metilkumarin (179.60 mg, 1.02 mmol) 20 ml kuru THF içerisinde çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edildi ve geri soğutucu altında ısıtıldı. Reaksiyon karışımı, TLC ile takip edildi. Magnetik karıştırıcı ile karıştırılarak 7 gün geri soğutucu altında ısıtıldı. Reaksiyon sonunda ortamda bulunan CsCl tuzlarının, uzaklaştırılması amacıyla reaksiyon karışımı G4 filtreden süzüldü. Süzüntüde çözücü olarak bulunan THF, döner buharlaştırıcıda kontrollü vakum uygulanarak ortamdan uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımı, bileşenlerine ayrılması amacıyla *n*-hekzan-THF (1:1) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla, silikajel (230-400 mesh, 110 g.) dolgulu kolonda (3.5, 90 cm) bileşik (13) ($R_f=0.52$) izole edildi. İzole edilen ürün **13** (90 mg, 0.079 mmol) % 32 verimle elde edildi.

5.2.8. Bileşik 7 ile 4-hidroksi-6-metil Kumarin'in Reaksiyonu

Dispiro-[1,1'-metilen-bis(naftalen-2-oksi)]-diklorosiklotrifosfazen **7** (100 mg, 0.125 mmol), reaksiyon balonunda 20 ml kuru THF içerisinde çözüldü. Reaksiyon ortamına (85.31 mg, 0.263 mmol) Cs₂CO₃ ilave edildi. 4-hidroksi 6-metilkumarin (46 mg, 0.262 mmol) 20 ml kuru THF içerisinde çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edilerek geri soğutucu altında ısıtıldı. Magnetik karıştırıcı ile karıştırılarak 4 gün döndürüldü. Reaksiyon karışımı, TLC ile takip edildi. Reaksiyon sonunda ortamda bulunan CsCl tuzlarının, uzaklaştırılması amacıyla reaksiyon karışımı G4 filtreden süzüldü. Süzüntüde çözücü olarak bulunan THF, döner buharlaştırıcıda kontrollü vakum uygulanarak ortamdaki uzaklaştırıldı. Kalan reaksiyon karışımı, bileşenlerine ayrılması amacıyla *n*-hekzan-THF (5:4) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla, silikajel (230-400 mesh, 110 g.) dolgululu kolonda (3.5, 90 cm) bileşik **14** (R_f=0.43) izole edildi. İzole edilen ürün **14** (58 mg, 0.054 mmol) % 43 verimle elde edildi.

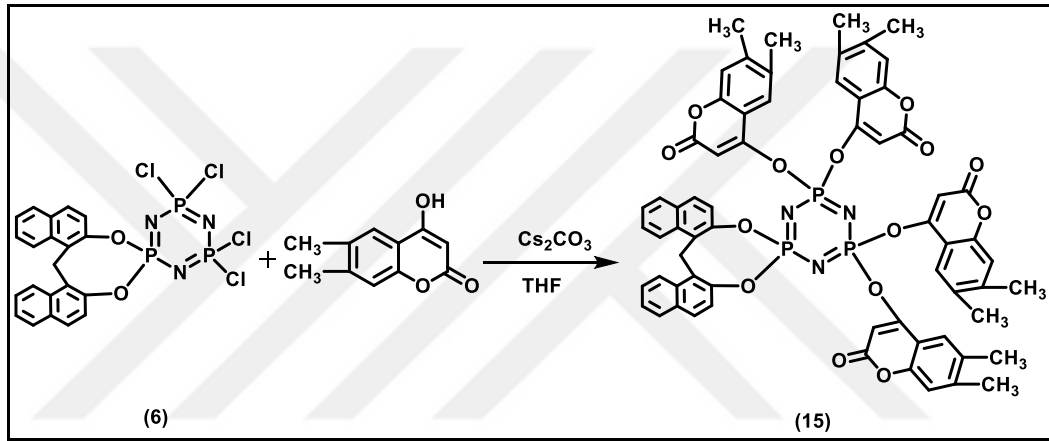


Şekil 5.8: Bileşik 7 ile 4-hidroksi-6-metil kumarinin reaksiyonu.

5.2.9. Bileşik 6 ile 4-hidroksi-6,7-dimetil Kumarin'in Reaksiyonu

Monospiro-[1,1'-metilen-bis(naftalen-2-oksi)]-tetraklorosiklotrifosfazen **6** (150 mg, 0.269 mmol), reaksiyon balonunda 20 ml kuru THF içerisinde çözüldü. Reaksiyon ortamına (357.78 mg, 1.10 mmol) Cs₂CO₃ ilave edildi. 4-hidroksi 6,7-dimetilkumarin (229.63 mg, 1.10 mmol) 20 ml kuru THF içerisinde çözümlenerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edilerek geri soğutucu altında ısıtıldı.

Magnetik karıştırıcı ile kullanılarak 5 gün karıştırıldı. Reaksiyon karışımı, TLC ile takip edildi. Reaksiyon sonunda ortamda bulunan CsCl tuzlarının, polimerik bileşiklerin ve çözünmeyen diğer türlerin uzaklaştırılması amacıyla reaksiyon karışımı G4 filtreden süzüldü. Süzüntüde çözücü olarak bulunan THF, döner buharlaştırıcıda kontrollü vakum uygulanarak ortamdan uzaklaştırıldı. Süzüntünün çözücüsü (THF), kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımıyla uzaklaştırıldı. G4 filtre üstünde kalan katılar THF ve DCM'de yıkandı ve hekzanla çöktürüldü. Bileşik **15** ($R_f = 0.56$) izole edildi. İzole edilen ürün **15** (104 mg, 0.087 mmol) % 34 verimle elde edildi.

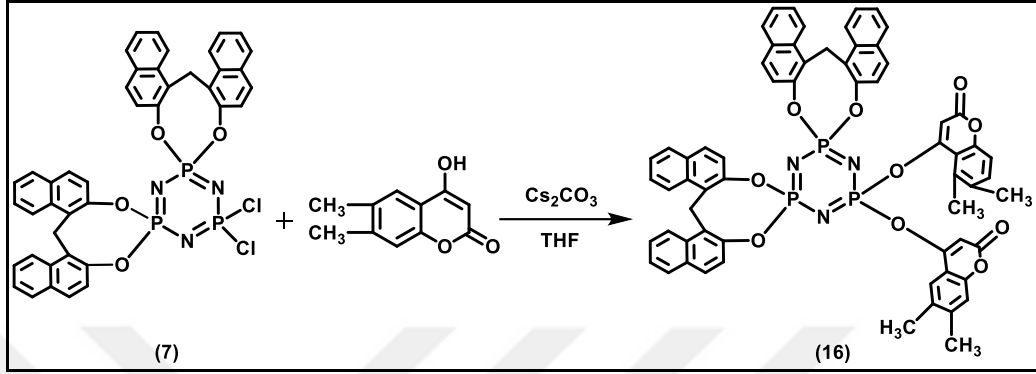


Şekil 5.9: Bileşik **6** ile 4-hidroksi-6,7-dimetil kumarinin reaksiyonu.

5.2.10. Bileşik **7** ile 4-hidroksi-6,7-dimetil Kumarin'in Reaksiyonu

Dispiro-[1,1'-metilen-bis(naftalen-2-oksi)]-diklorosiklotrifosfazen **7** (100 mg, 0.125 mmol), reaksiyon balonunda 20 ml kuru THF içerisinde çözüldü. Reaksiyon ortamına (85.31 mg, 0.263 mmol) Cs_2CO_3 ilave edildi. 4-hidroksi 6,7-dimetilkumarin (49.83 mg, 0.262 mmol) 20 ml kuru THF içerisinde çözülerek reaksiyon ortamına damla damla ilave edilerek geri soğutucu altında ısıtıldı. Magnetik karıştırıcı kullanılarak 4 gün karıştırıldı. Reaksiyon karışımı, TLC ile takip edildi. Reaksiyon sonunda ortamda bulunan CsCl tuzlarının, uzaklaştırılması amacıyla reaksiyon karışımı G4 filtreden süzüldü. Süzüntüde çözücü olarak bulunan THF, döner buharlaştırıcıda kontrollü vakum uygulanarak ortamdan uzaklaştırıldı. Ürün **16** (45 mg, 0.040 mmol) % 46 verimle elde edildi. Kalan reaksiyon karışımı,

bileşenlerine ayrılması amacıyla n-hekzan-THF (1:1) çözücü sisteminin yürütücü faz olarak kullanılmasıyla, silikajel (230-400 mesh, 110 g.) dolgululu kolonda (3.5, 90 cm) bileşik **16** (Rf=0.50) izole edildi. İzole edilen ürün **16** (45 mg, 0.040 mmol, % 46 verimle elde edildi.



Şekil 5.10: Bileşik 7 ile 4-hidroksi-6,7-dimetil kumarinin reaksiyonu.

5.3. MiSens Cihazı'nda DNA Etkileşim İncelemelerinin Yapılması

5.3.1. DNA Etkileşim İncelemesi Yapılacak Olan Maddelerin Hazırlanması

MiSens cihazında ölçüm işlemleri için sentezlenen kimyasal bileşiklerin DMSO (Dimetil Sülfoksit) çözücüsü içerisinde 2×10^{-3} mM'lık çözeltileri hazırlandı. Bu hazırlanan çözeltilerin içerisinden uygun oranlarda alınarak istenilen derişime seyreltme yapıldı. Çözeltiler hazırlanırken alınacak olan kimyasal bileşiklerin miktarları Eşitlik 5.1 ve Eşitlik 5.2' de verilen formüllere göre hesaplandı. Kimyasal bileşiklerin seyreltilmesi işlemi ise Eşitlik 5.3'te verilen formüle göre yapılmıştır.

$$M = \frac{n}{V} \quad (5.1)$$

$$\text{1 ml çözücü için gereken miktar} = \frac{m}{MA} \times \frac{1000 \text{ (mL)}}{1 \text{ (mL)}} \quad (5.2)$$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2 \quad (5.3)$$

DNA etkileşim incelemesi yapılacak olan kimyasal bileşiklerin deneylerde kullanılan miktarları Tablo 5.1’ de verilmiştir.

Tablo 5.1: DNA etkileşim incelemesinde kullanılan kimyasal bileşiklerin miktarları.

Bileşik No	Molekül ağırlığı (g/mol)	Konsantrasyon	Miktar	Çalışılan konsantrasyon
2	474.97	2×10^{-3} mM	0.95 mg	50 mM, 100 mM, 200 mM
4	602.28	2×10^{-3} mM	1.21 mg	50 mM, 100 mM, 200 mM
6	575.09	2×10^{-3} mM	1.15 mg	50 mM, 100 mM, 200 mM
7	802.52	2×10^{-3} mM	1.61 mg	50 mM, 100 mM, 200 mM
9	977.70	2×10^{-3} mM	1.96 mg	50 mM, 100 mM, 200 mM
10	853.11	2×10^{-3} mM	1.71 mg	50 mM, 100 mM, 200 mM
11	1077.81	2×10^{-3} mM	2.16 mg	50 mM, 100 mM, 200 mM
12	1053.88	2×10^{-3} mM	2.11 mg	50 mM, 100 mM, 200 mM
13	1135.94	2×10^{-3} mM	2.27 mg	12.5 mM, 25 mM, 50 mM
14	1081.93	2×10^{-3} mM	2.16 mg	12.5 mM, 25 mM, 50 mM
15	1190.03	2×10^{-3} mM	2.38 mg	12.5 mM, 25 mM, 50 mM
16	1109.99	2×10^{-3} mM	2.22 mg	12.5 mM, 25 mM, 50 mM

5.3.2. MiSens Cihazında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

5.3.2.1 CV Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- Potasyum Ferrosiyanat Çözeltisinin Hazırlanması

MiSens cihazında CV protokolü uygulanırken potasyum ferrosiyanat çözeltisi kullanılır. 4,89 mg potasyum ferrosiyanat tartılarak 15 mL (1 M) KCl çözeltisi içerisinde çözülür. Bu işlemin sonucunda 1 mM konsantrasyonunda potasyum ferrosiyanat çözeltisi elde edilmiş olur. Hazırlanan çözeltinin oda sıcaklığında saklanması ve ölçümlerden önce taze hazırlanması daha uygundur.

5.3.2.2. NA (NeutrAvidin) İmmobilizasyonu Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- EDC ve NHS çözeltilerinin hazırlanması

460 mg NHS (N-Hidroksisüksinimid) tartılarak 40 ml saf su içerisinde çözülür. Bu işlemin sonucunda 0.1 M'lık çözelti elde edilir. 1.534 g EDC [1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid hidroklorür] tartılarak 20 ml saf su içerisinde çözülür. Bu işlemin sonucunda 0.4 M'lık çözelti elde edilir. Hazırlanan her iki çözeltide hızlı bir şekilde hazırlanmalı ve ayrı ayrı 200 µL'lik miktarlarda alınarak tüpler içerisine koyularak -20 °C sıcaklıkta saklanmalıdır. Cihazda ihtiyaç duyulan kadar miktar 1:1 oranında EDC/NHS karıştırılarak hazırlanır. Kullanılan çözeltilerden arta kalan atık olur. Tekrar dondurularak kullanılması mümkün değildir.

- NA (NeutrAvidin) Çözeltisinin Hazırlanması

1 mg katı NeutrAvidin tartılarak 1000 µL saf suda çözülür. Hazırlanan çözeltiden 20 µL'lik miktarlarda alınarak tüplere konular ve -20 °C sıcaklıkta saklanır. Cihazda kullanılmadan önce: 20 µL alınır ve üzerine 380 µL PBS (Fosfat Buffer) ilave edilerek konsantrasyon 50 µg /mL' ye düşürülür. İhtiyaç duyulan kadar miktar cihaza yerleştirilir. Fazlası tekrar kullanılmaz.

- Buffer Wash (Fosfat Buffer Solution) Çözeltisinin Hazırlanması

Hazır olarak alınan tabletlerden 1 adet 200 ml saf suda çözülür. Bu işlemin sonucunda 10 mM derişiminde pH: 7.4 olan çözelti elde edilir. İhtiyaç fazlası çözelti +4 °C sıcaklıkta saklanır.

- BSA Çözeltisinin Hazırlanması

BSA (Bovin Serum Albumin) 50 mg tartılır ve 5 ml saf suda çözülür. Elde edilen çözeltiden 200 µL'lik miktarda alınarak tüplere konulur. Bu çözelti -20 °C sıcaklıkta saklanır. Cihazda kullanılmadan önce iki kez seyreltme yapılır. 1.seyreltme: Örnekten 100 µL alınarak 900 µL saf su ilave edilir. Bu işlemin sonucunda 1 mg/ml derişim hazırlanmış olur. Bu çözelti +4 °C sıcaklıkta saklanır. 2.seyreltme: Son hazırlanan çözeltiden 100 µL alınarak 900 µL saf su ilave edilerek konsantrasyon 100 µg/ml seviyesine getirilir. Cihazda, hazırlanan son çözelti kullanılır ve artan çözelti +4 °C sıcaklıkta saklanabilir. Ancak bekleme süresinin 1 haftayı geçmemesine dikkat edilmelidir.

- Etanol Amin Çözeltisinin Hazırlanması

Ticari olarak satın alınan etanol amin yoğunluğu 1.012 g/ml olan bir sıvıdır. Bu sıvıdan 3.12 ml alınarak saf suyla 50 ml'ye tamamlanır. Birkaç damla derişik HCl ilave edilerek pH metre kontrolü ile pH 8.5'e ayarlanır. Bu işlemin sonucunda 1 M'lik Etanol Amin çözeltisi elde edilir. Bu çözelti +4 °C sıcaklıkta saklanır. İhtiyaç duyulan miktarda kullanılır.

- Tris Buffer (Tris buffer+EDTA+NaCl, pH 7.0) Çözeltisinin Hazırlanması

1.21 gram Tris 500 ml saf su içerisinde çözülür. Bu işlemde sonra 0.186 g EDTA ilave edilerek çözülür. Bu işlemin ardından 4.38 gram NaCl ilave edilerek çözülür. Çözelti 20 mM Tris, 1 mM EDTA, 150 mM NaCl içermektedir. Çözeltinin pH' sı 7 dir. Hazırlanan çözelti +4 °C sıcaklıkta saklanır. İhtiyaç kadar kullanılır.

5.3.2.3. DNA İmmobilizasyonu Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- DNA Çözeltilerinin Hazırlanması

DNA çözeltileri satın alınan firmadan verilen prosedüre göre hazırlanır. Satın alınan katı Capture (yakalayıcı) DNA örneğine uygun miktarda tris buffer ilavesi ile 10^{-5} M'lık çözelti hazırlanır ve stoklanır. Çözeltiler -20 °C sıcaklıkta saklanır. Cihazda bu konsantrasyonda kullanılır. Hibrid DNA hazırlanırken; target (hedef) /detection(algılayıcı) DNA'lar hacimce sırasıyla (1:2) oranında karıştırılarak 55 °C'de 15 dakika inkübe edilir. Bu işlemin ardından hibrid DNA'nın konsantrasyonu 10^{-6} M olur. Hibrid DNA Çözeltileri $+4$ °C sıcaklıkta saklanır.

- Biotin çözeltisinin hazırlanması

0.061g biotin tartılır ve tris buffer ile 25ml'ye tamamlanır. Bu işlemin ardından NaOH kullanılarak pH:7.6'ya ayarlanır. Elde edilen çözeltinin konsantrasyonu 10 mM'dır. Çözelti $+4$ °C sıcaklıkta saklanır.

5.3.2.4. Hibrid DNA İmmobilizasyonu Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- HRP (Horse Redish Peroxidase) Çözeltisinin Hazırlanması

20 mg HRP 2 ml saf su içerisinde çözülür. Elde edilen çözülden 50 µL lik miktarlarda alınarak apendorf tüp içerisine konularak -20 °C sıcaklıkta saklanır.

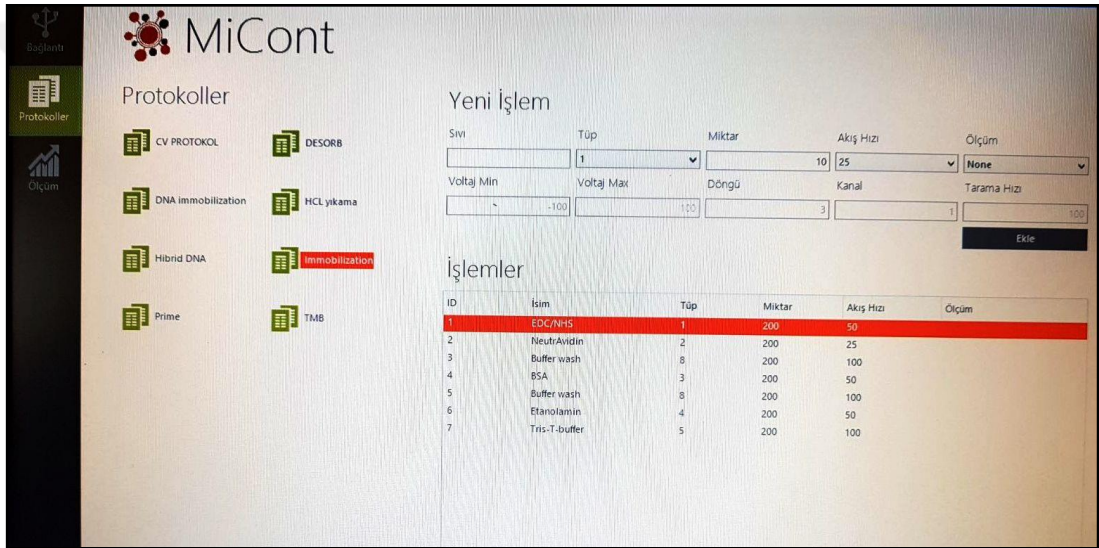
- Au-Np (Altın Nanopartikül) Hazırlanması

15 nm boyutunda Au tanecikleri içeren nanopartikül çözeltisinden 1000 µL alınarak apendorf tüp içerisine konulur. Aynı bir apendorf tüp içerisinde 2 µL HRP [1mg/mL (suda)] +1 µL NA 1mg/mL (suda)] karıştırıcıda 45 dakika inkübe edilir. Bu işlemden sonra çözelti Altın nanopartikül çözeltisine ilave edilir. Elde edilen son çözelti $+4$ °C sıcaklıkta 30 dakika 8000 rpm'de santrifüj edilir. Bu işlemin sonucunda

üstteki süzöntü atılır. Altta kalan katı ekstrakta 33 µL 10 mg/ml BSA eklenerek karıştırılır. En son olarak 70 µL Tris Buffer ilave edilir.

5.3.3. MiSens Cihazının Hazırlanması

MiSens cihazı arkasında bulunan açma/kapama düğmesi ile açılır. Bilgisayar üzerinden, cihazın çalıştırılması ve uygulanacak protokollerin yürütülmesi amacıyla MiCont programı açılır. Program ara yüzünün ve yürütülecek protokollerin bilgisayar görüntüsü Şekil 5.11’ de gösterilmiştir.



Şekil 5.11: MiCont programı ve MiSens cihazında yürütülen protokoller.

Cihazın ölçüme hazırlanması için uygulanması gereken protokoller aşağıda verilmiştir.

- CV protokolü
- NeutrAvidin immobilizasyonu protokolü
- DNA immobilizasyonu protokolü
- Hibrit DNA immobilizasyonu protokolü
- HCl yıkama protokolü
- Hibrit DNA + kimyasal molekül protokolü

5.3.3.1. CV Protokolü

CV protokolünde MiSens cihazında kullanılan sensör çip yüzeyinin ölçümler için uygunluğu kontrol edilir. Bu amaçla 1 M KCl içerisinde hazırlanan 1 mM potasyum ferrosiyanat çözeltisi kullanılır.

5.3.3.2. NeutrAvidin İmmobilizasyonu Protokolü

Bu protokolde sensör çip ile NeutrAvidin arasındaki karbodiimit reaksiyonunun gerçekleştirilmesi hedeflenir. NeutrAvidin immobilizasyonunun ayrıntılı şematik gösterimi Şekil 2.27 'de verilmiştir (2. Bölüm s. 37). Bu amaçla cihazda yürütülecek işlemler ve işlem süreleri aşağıda sırasıyla verilmiştir.

- EDC/NHS 200 µL/ 50 µL/dakika (4 dakika)
- NeutrAvidin 200 µL/ 50 µL/dakika (4 dakika)
- Buffer Wash (PBS) 200 µL/ 100 µL/dakika (2 dakika)
- BSA 200 µL/ 50 µL/dakika (4 dakika)
- Buffer Wash (PBS) 200 µL/ 100 µL/dakika (2 dakika)
- Etanol Amin 200 µL/ 50 µL/dakika (4 dakika)
- Tris Buffer 200 µL/ 100 µL/dakika (2 dakika)

5.3.3.3. DNA İmmobilizasyonu Protokolü

Bu protokolle NeutrAvidine immobilize edilmiş sensör çipe DNA'nın neutrAvidin üzerinden bağlanması amaçlanmaktadır. DNA immobilizasyonunun ayrıntılı şematik gösterimi Şekil 2.28 'de verilmiştir (2. Bölüm s. 38). Bu amaçla cihaz üzerinde yürütülen işlemler ve işlem süreleri aşağıda sırasıyla verilmiştir.

- Capture Prob 150 µL/ 25 µL/dakika (6 dakika)
- Buffer Wash (TRIS) 200 µL/ 100 µL/dakika (2 dakika)
- Biotin 200 µL/ 50 µL/dakika (4 dakika)
- Buffer Wash (TRIS) 200 µL/ 100 µL/dakika (2 dakika)

5.3.3.4. Hibrit DNA İmmobilizasyonu Protokolü

Bu protokol ile dışarıda hibridize edilmiş olan DNA'nın çipe bağlanması sağlanır. Bu işlemin ardından cihazdan Au-Np (Altın nanopartikül) geçirilerek çip yüzeyine neutrAvidin üzerinden bağlanır. Sistemden TMB (3,3',5',5'-tetra metil benzidin) geçirilmesi ile cihazdan yüksek sinyal alınmaya başlanır (2. Bölüm s. 40). Cihazdan yüksek sinyal alındıktan sonra HCl yıkama protokolü yapılır. Bu aşamada yapılan işlemler ve işlem süreleri aşağıda sırasıyla verilmiştir.

• Hibrit DNA	200 µL/ 50 µL/dakika	(4 dakika)
• Buffer Wash	200 µL/ 100 µL/dakika	(2 dakika)
• Au-Np	200 µL/ 50 µL/dakika	(4 dakika)
• Buffer Wash	200 µL/ 100 µL/dakika	(2 dakika)
• TMB	200 µL/ 50 µL/dakika	(4 dakika)
• Buffer Wash	400 µL/ 100 µL/dakika	(4 dakika)
• HCl	150 µL/ 100 µL/dakika	(1.5 dakika)
• Buffer Wash	100 µL/ 100 µL/dakika	(1 dakika)
• HCl	100 µL/ 100 µL/dakika	(1 dakika)
• Buffer Wash	100 µL/ 100 µL/dakika	(1 dakika)

5.3.3.5. Hibrit DNA + Kimyasal İmmobilizasyonu Protokolü

Bu protokol ile dışarıda hibridize edilmiş olan DNA ile DNA etkileşimi incelenecek olan molekül karıştırılır ve 15 dakika beklenir. Bu işlemde sonra bir önceki protokolün aynısı DNA+ Kimyasal molekül için gerçekleştirilir ve cihazdan daha düşük sinyal gelmesi beklenir. Gelen sinyalin düşüklüğüne paralel olarak kimyasal molekülün DNA Etkileşiminin o oranda yüksek olduğu sonucuna ulaşılır. Bu aşamada yapılan işlemler ve işlem süreleri aşağıda sırasıyla verilmiştir.

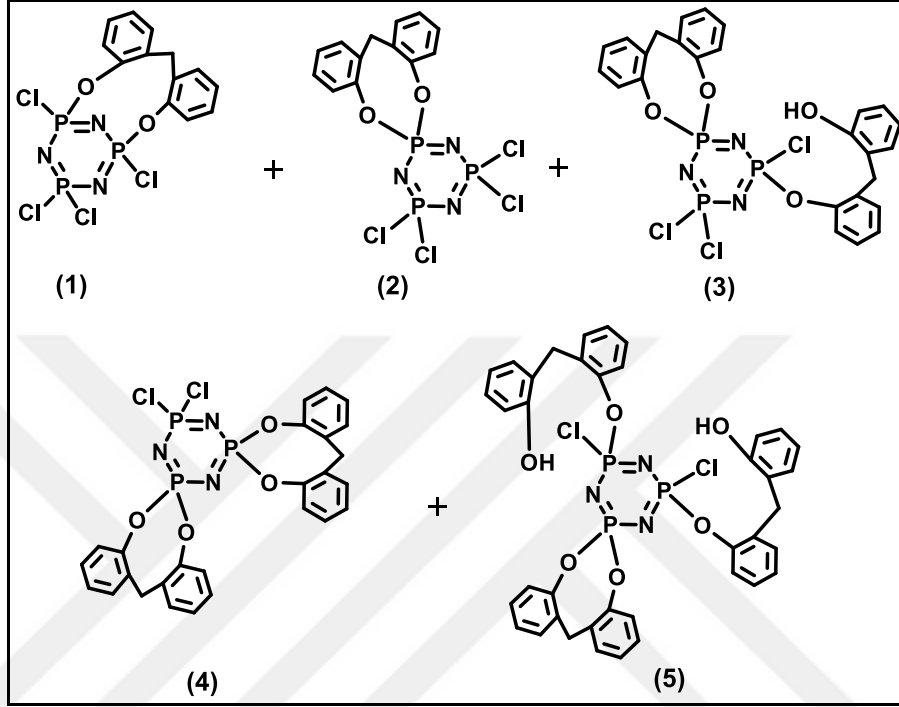
• Hibrit DNA+Kimyasal	200 µL/ 50 µL/dakika	(4 dakika)
• Buffer Wash	200 µL/ 100 µL/dakika	(2 dakika)

- Au-Np 200 μ L/ 50 μ L/dakika (4 dakika)
- Buffer Wash 200 μ L/ 100 μ L/dakika (2 dakika)
- TMB 200 μ L/ 50 μ L/dakika (4 dakika)
- Buffer Wash 400 μ L/ 100 μ L/dakika (4 dakika)
- HCl 150 μ L/ 100 μ L/dakika (1.5 dakika)
- Buffer Wash 100 μ L/ 100 μ L/dakika (1 dakika)
- HCl 100 μ L/ 100 μ L/dakika (1 dakika)
- Buffer Wash 100 μ L/ 100 μ L/dakika (1 dakika)



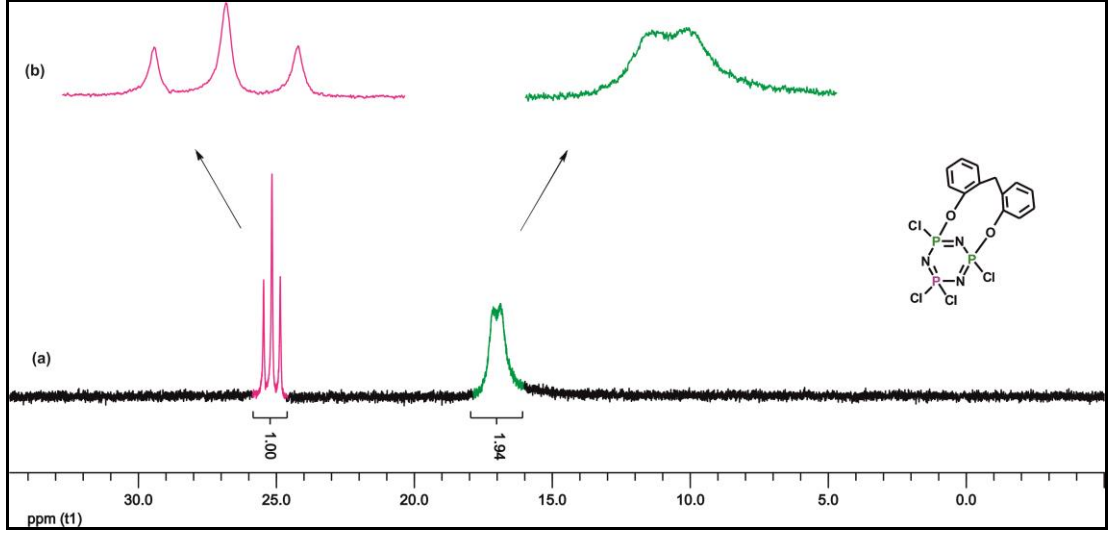
6. DENEYSEL VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

6.1. Bileşik 1, 2, 3, 4 ve 5'e Ait Yapı Analizi

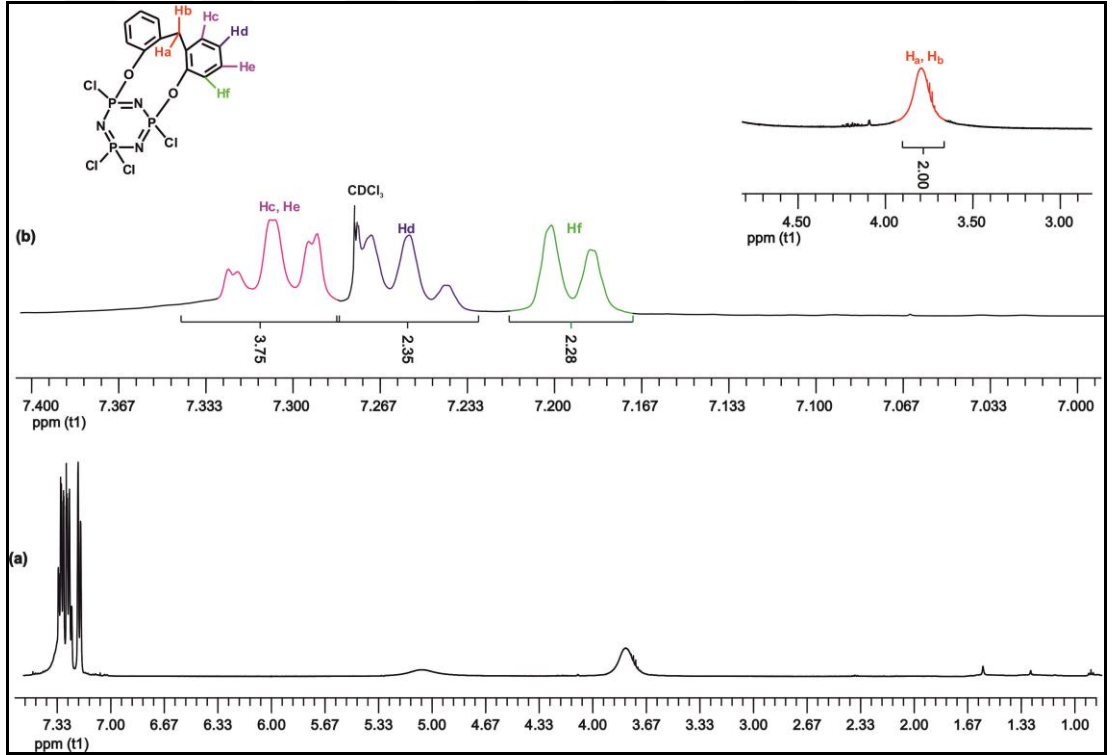


Şekil 6.1: Bileşik 1, 2, 3, 4 ve 5'in yapısı.

Bileşik 1-5'in yapıları Şekil 6.1'de görülmektedir. Bileşiklerin (1-5) proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumları (dış referans H_3PO_4 , CDCl_3 , 298°K) alınmıştır. Bileşik 1'in proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (298°K) AX_2 spin sistemindedir. $\delta=25.2$ ppm' de $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik görülmektedir. Bu pik $[\text{P}(\text{OCl})]$ gruplarındaki fosfor atomundan dolayı üçe ($^2J_{\text{PNP}}=60.96$ Hz) yarılmıştır. $\delta=16.9$ ppm' de görülen pik ise $[\text{POCl}]$ gruplarındaki fosfor atomlarına aittir ($^2J_{\text{PNP}}=60.96$ Hz). Spektrum, 1 nolu bileşiğin cis/trans izomer karışımı olduğunu göstermektedir. Bu spektruma ait integral değerleri 1.00:1.94 olup 1:2 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.2).



Şekil 6.2: a) Bileşik 1'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.

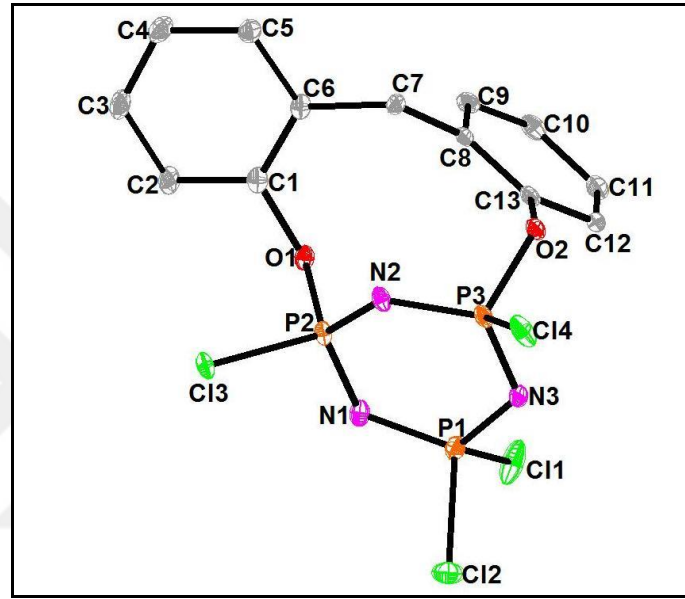


Şekil 6.3: a) Bileşik 1'e ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

Bileşik 1'in ^1H NMR spektrumunda (iç referans TMS, CDCl_3 , 298°K), $\delta=7.28\text{-}7.32$ ppm aralığındaki çoklu pikler H_c ve H_e protonlarına ait olup komşu karbonlarda bulunan protonlardan dolayı çoklu yarılmış olarak görülmektedir. $\delta=7.26$ ppm'deki çoklu pikler ise H_d protonlarına aittir. $\delta=7.19$ ppm'deki pik H_f protonlarına ait olup

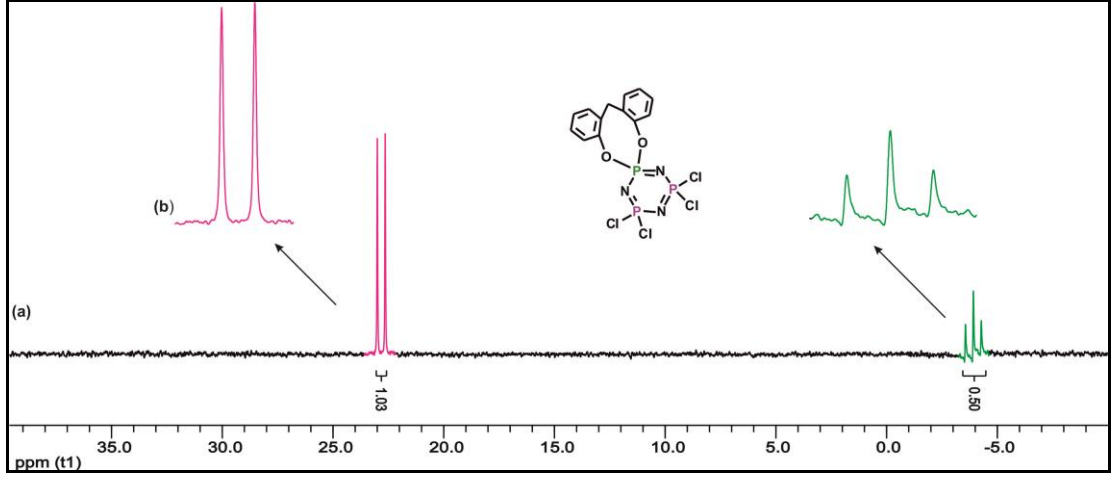
komşu karbondaki protondan dolayı ikiye ($^3J_{HH} = 7.47$ Hz) yarılmıştır. $\delta = 3.78$ ppm'deki singlet pik H_a ve H_b protonlarına aittir. İntegral değerleri de sırasıyla 3.75: 2.35: 2.28: 2.00 olup 4, 2, 2, 2 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.3).

Bileşik 1'in yapısı, tek kristal X-ışını kırınım tekniği ile de incelendi. 2,2'-dihidroksi difenilmetan'ın trimer halkasına iki fosfor atomu üzerinden bağlandığı gözlemlendi. Bu da, önerilen yapıyı desteklemektedir (Şekil 6.4).

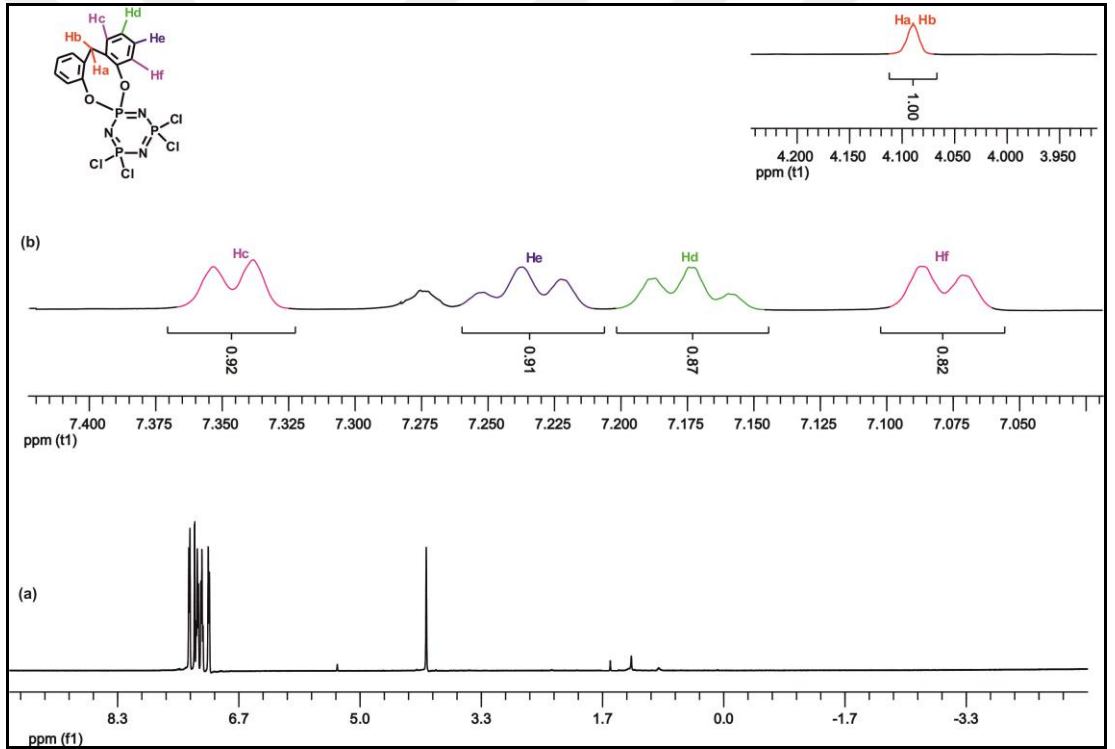


Şekil 6.4: Bileşik 1'in tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile çözülmüş yapısı.

Bileşik 2'nin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (298°K) A_2X spin sistemindedir. $\delta = 22.8$ ppm' de $[\text{PCl}_2]$ gruplarındaki fosfor atomlarına ait ikili pik görülmektedir ve bu pik $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye ($^2J_{\text{PNP}} = 72.08$ Hz) yarılmıştır. $\delta = -3.9$ ppm' de görülen üçlü pik ise $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomuna ait olup $[\text{PCl}_2]$ grubunda bulunan fosfor atomundan dolayı üçe ($^2J_{\text{PNP}} = 72.08$ Hz) yarılmıştır. Bu spektruma ait integral değerleri 1.03:0.50 olup 2:1 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.5).



Şekil 6.5: a) Bileşik 2'ye ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.

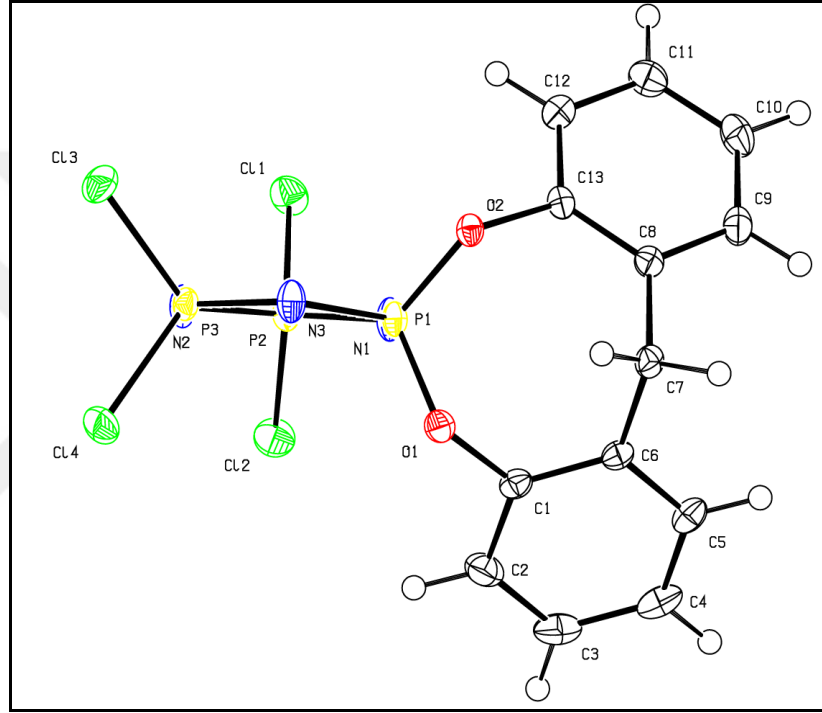


Şekil 6.6: a) Bileşik 2'ye ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

2 Bileşiğinin ^1H NMR spektrumunda, $\delta=7.34$ ppm'deki ikili pik H_c protonuna ait olup komşu karbondaki bulunan H_d protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hc-Hd}} = 7.47$ Hz) yarılmıştır. $\delta=7.23$ ppm'deki üçlü pik H_e protonuna ait olup komşu karbon protonları ile eşleşerek üçe ($^3J_{\text{He-Hd}} = 7.29$ Hz, $^3J_{\text{He-Hf}} = 7.88$ Hz) yarılmıştır. Benzer şekilde $\delta=7.17$ ppm'deki üçlü pik H_d protonuna ait olup komşu karbon protonları ile

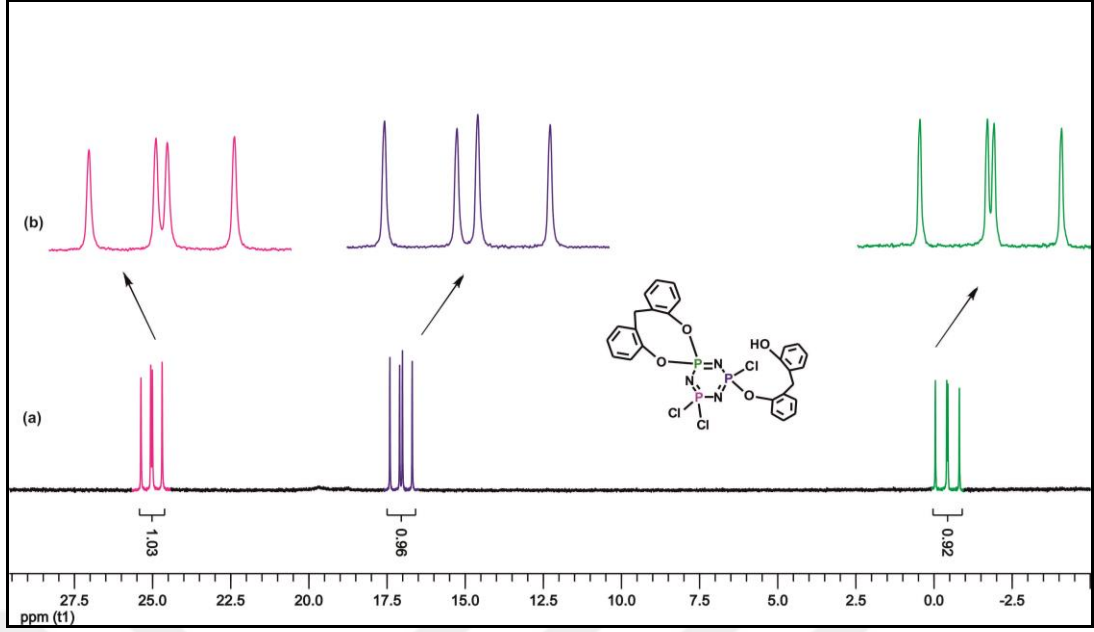
eşleşerek üçe ($^3J_{\text{Hd-He}} = 7.29$ Hz, $^3J_{\text{He-Hf}} = 7.88$ Hz) yarılmıştır. $\delta = 7.07$ ppm'deki ikili pik H_f protonuna aittir. $\delta = 4.08$ ppm'deki tekli pik H_a , H_b protonlarına aittir. İntegral değerleri de sırasıyla 0.92: 0.91: 0.87: 0.82: 1.00 olup 2, 2, 2, 2, 2 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.6).

2 Bileşiğinin yapısı, tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile de incelendi (Şekil 6.7). 2,2'-dihidroksi difenilmetan'ın trimer halkasına aynı fosfor atomu üzerinden bağlandığı gözlemlendi. Bu da, önerilen monospiro yapıyı desteklemektedir.

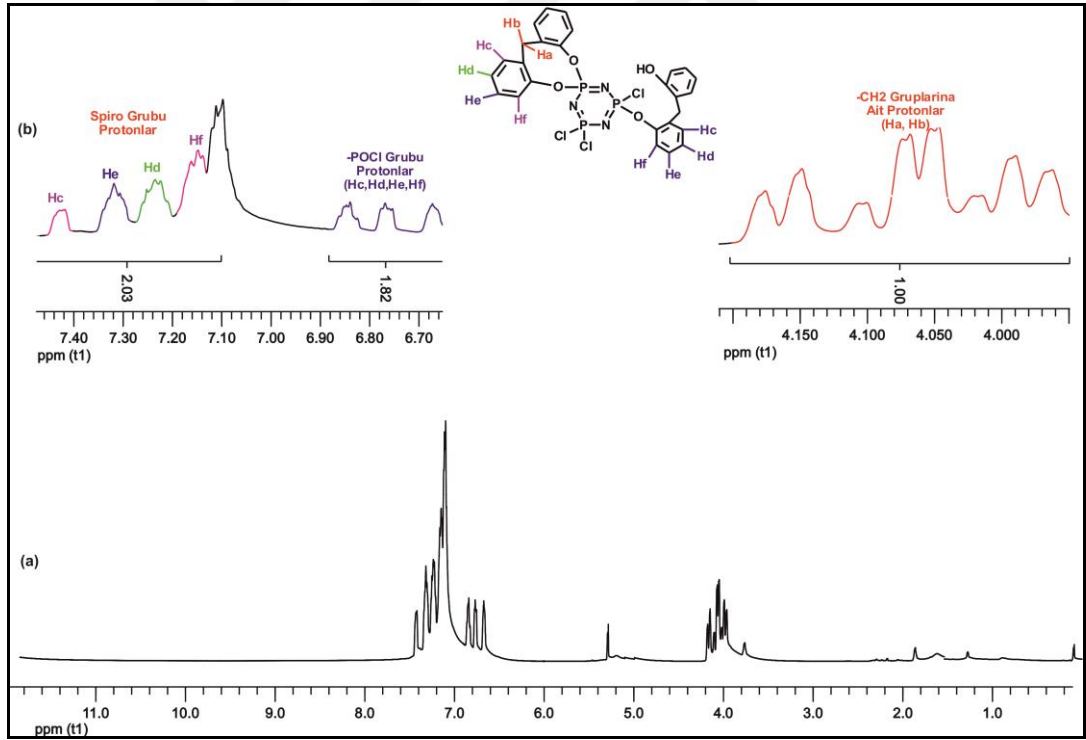


Şekil 6.7: Bileşik 2'nin tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile çözülmüş yapısı.

3 Bileşiğinin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu AMX spin sistemindedir. $\delta = 25.01$ ppm' de görülen pikler $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomuna ait olup komşu fosfor atomlarından dolayı dörde ($J_1 = 63.11$ Hz, $J_2 = 73.81$ Hz) yarılmıştır. $\delta = 17.09$ ppm'de ise $[\text{PClO}]$ grubundaki fosfor atomuna ait olan pikler ($J_1 = 63.11$ Hz, $J_2 = 81.24$ Hz); benzer şekilde $\delta = -0.43$ ppm' de gözlenen pikler $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomuna ($J_1 = 73.81$ Hz, $J_2 = 81.23$ Hz) aittir (Şekil 6.8).



Şekil 6.8: a) Bileşik 3'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.

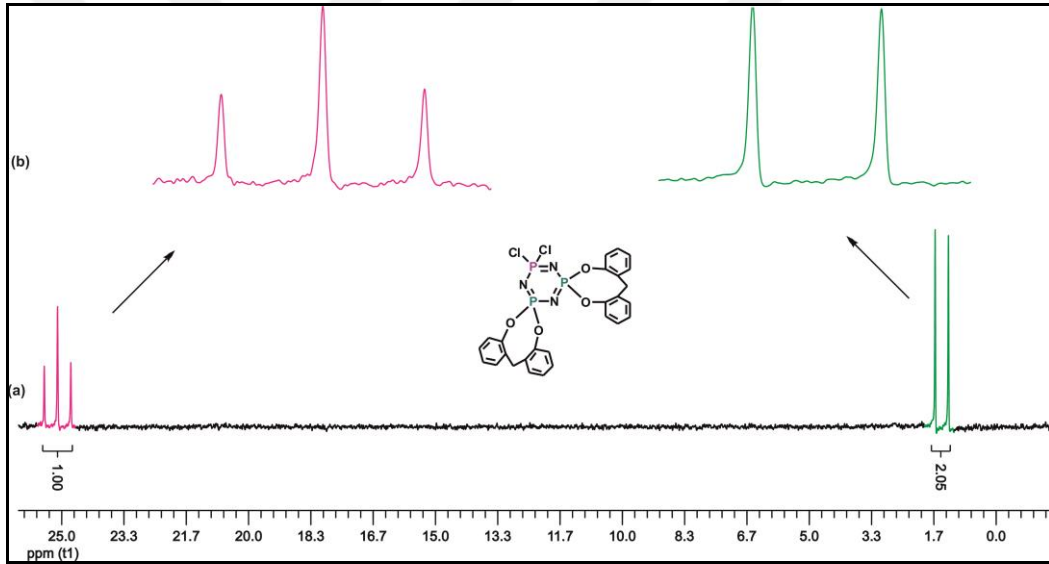


Şekil 6.9: a) Bileşik 3'e ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

3 Bileşiğinin ^1H NMR spektrumunda, $\delta=7.42$ ppm-7.15 ppm arasındaki pikler $-\text{PO}_2$ spiro gruplarındaki protonlar'a aittir. $\delta=4.05$ ppm de görülen dörtlü pik $-\text{PO}_2$

gubundaki metilen protonlarına ait piklerdir. –POCl grubunda bulunan protonlara ait olan pikler $\delta=6.88$ ppm- 6.65 ppm aralığında görülmektedir. –POCl grubundaki metilen protonlarına ait olan pikler $\delta= 4.20$ ppm–3.94 ppm aralığında yer almaktadır. $\delta= 5.10$ ppm’de görülen singlet pik ise –OH protonuna aittir (Şekil 6.9).

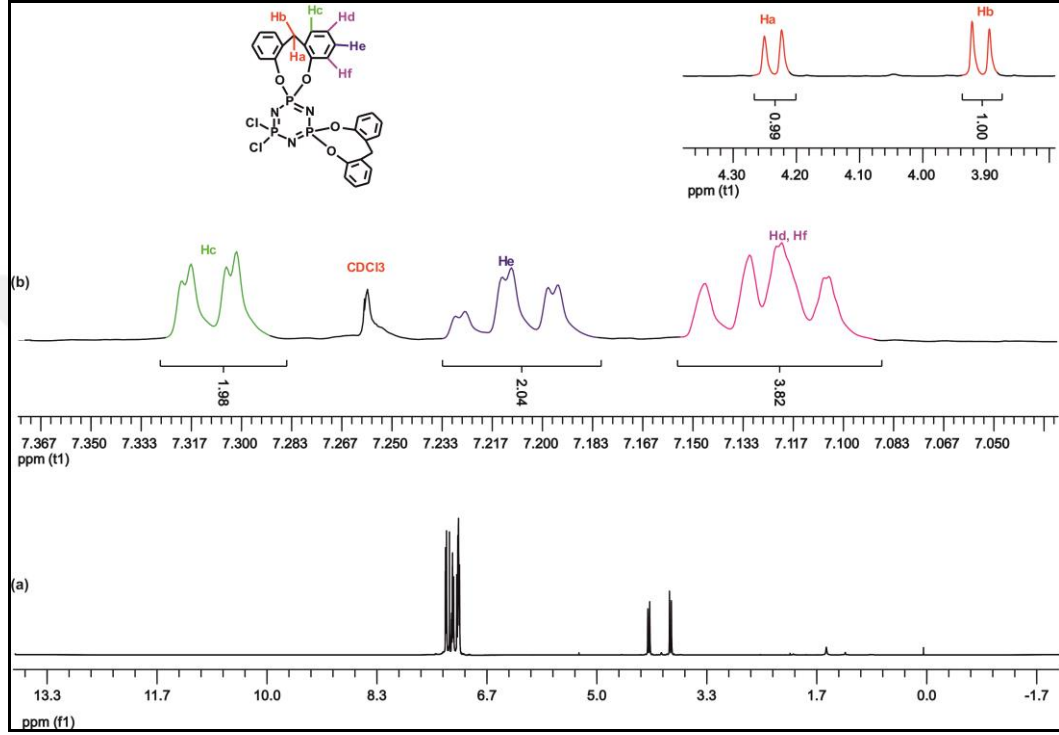
4 Bileşiğinin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (298°K) AX_2 spin sistemindedir. $\delta=25.1$ ppm’ de $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik görülmektedir. Bu pik $[\text{PO}_2]$ gruplarındaki fosfor atomundan dolayı üçe ($^2J_{\text{PNP}}=71.86$ Hz) yarılmıştır. $\delta= 1.45$ ppm’ de görülen pik ise $[\text{PO}_2]$ gruplarındaki fosfor atomlarına ait olup $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye ayrılmıştır. Bu spektruma ait integral değerleri 1.00:2.05 olup 1:2 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.10).



Şekil 6.10: a) Bileşik 4’e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.
b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.

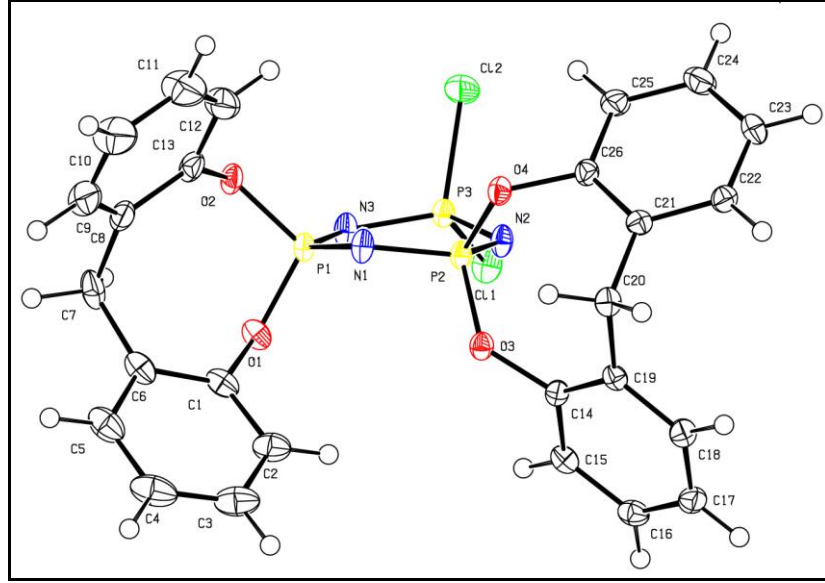
4 Bileşiğinin ^1H NMR spektrumunda, $\delta=7.30$ ppm’deki dubletin dubleti pik H_c protonuna ait olup komşu karbonlarda bulunan H_d ve H_e protonundan dolayı dubletin dubleti olarak ($^3J_{\text{Hc-Hd}}=7.48$ Hz, $^4J_{\text{Hc-He}}=1.58$ Hz) yarılmıştır. $\delta=7.21$ ppm’deki tripletin dubleti olarak görülen pik H_e protonuna ait olup komşu karbon protonları ile eşleşerek üçe ardından meta karbon atomundaki H_c protonu ile eşleşerek ikiye yarılmıştır. ($^3J_{\text{He-Hd}}=7.72$ Hz, $^3J_{\text{He-Hf}}=7.89$ Hz, $^4J_{\text{Hc-He}}=1.58$ Hz). $\delta=7.13$ ppm’deki üçlü pik H_d protonuna ait olup komşu karbon protonları ile eşleşerek üçe ($^3J_{\text{Hd-He}}$

=7.72 Hz, $^3J_{Hd-Hc}$ =7.48 Hz) yarılmıştır. δ =7.11 ppm'deki ikili pik H_f protonuna aittir ($^3J_{Hf-He}$ =7.48 Hz). δ =4.23 ppm'deki dublet pik H_a ($^3J_{Ha-Hb}$ =13.62 Hz), δ =3.90 ppm'deki dublet pik ise H_b protonlarına aittir ($^3J_{Hb-Ha}$ =13.62 Hz). İntegral değerleri de sırasıyla 1.98: 2.04: 3.82: 0.99: 1.00 olup 4, 4, 8, 2, 2 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.11).

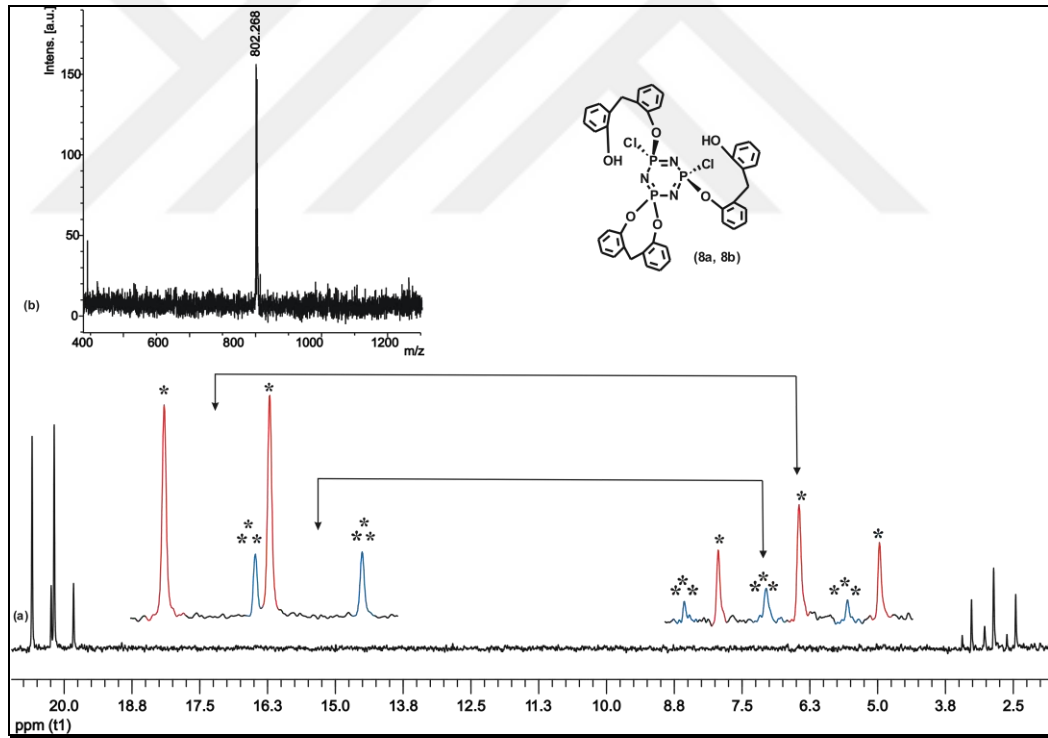


Şekil 6.11: a) Bileşik 4'e ait 1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş 1H NMR spektrumu.

4 Bileşiğinin yapısı, tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile de incelendi (Şekil 6.12). 2,2'-dihidroksidifenilmetan'ın trimer halkasına iki fosfor atomu üzerinden dispiro yapıda bağlandığı gözlemlendi. Bu da, önerilen yapıyı desteklemektedir.



Şekil 6.12: Bileşik 4'ün tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile çözülmüş yapısı.



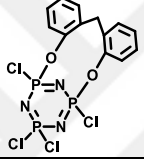
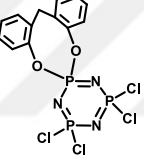
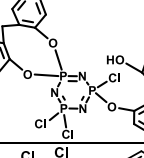
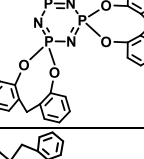
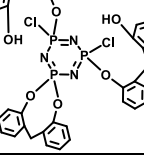
Şekil 6.13: Bileşik 5'e ait a) Proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, b) MALDI-TOF spektrumu.

5 Bileşiğinin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumunda cis/trans izomer karışımı A_2X tipi bir spektrum görülmektedir. Spektrumda $-\text{POCl}$ grubuna ait P atomları ikili pik olarak rezonansa gelmiştir. Bu fosfor atomlarına ait pikler $\delta=20.40$

ppm ve $\delta=20.03$ ppm'de gözlenmiştir. $-\text{PO}_2$ grubundaki P atomuna ait üçlü pikler $\delta=3.01$ ppm ve $\delta=2.86$ ppm'de görülmektedir ($^2J_{\text{P}_1\text{-P}_2} = 82.15$ Hz, 83.41 Hz) (Şekil 6.13 a). 5 Bileşiğinin MALDI-TOF ile alınmış olan kütle spektrumunda moleküler iyon piki $m/z = 802$ 'de görülmektedir. Bulunan değer hesaplanan değer ile (801) uyum içerisinde (Şekil 6.13 b).

1, 2, 3, 4 ve 5 numaralı bileşiklere ait IR spektrumu verileri ise Tablo 6.1'de görülmektedir.

Tablo 6.1: Bileşiklerin (1-5) IR spektrumu verileri (ν cm^{-1}).

B. No	Açık Formül	$\nu_{(\text{C-H})\text{aro}}$	ν_{CH_2}	$\nu_{(\text{C=C})\text{aro}}$	$\nu_{\text{P-N}}$	$\nu_{\text{P-O}}$	ν_{OH}
1		3065	2923	1575	1159	1095	-
2		3067	2927	1484	1153	1099	-
3		3063	2921	1580	1150, 1196	1104	3413, 3564
4		3061	2943	1580	1161	1102	-
5		2956	2925	1583	1150, 1198	1101	3633, 3365

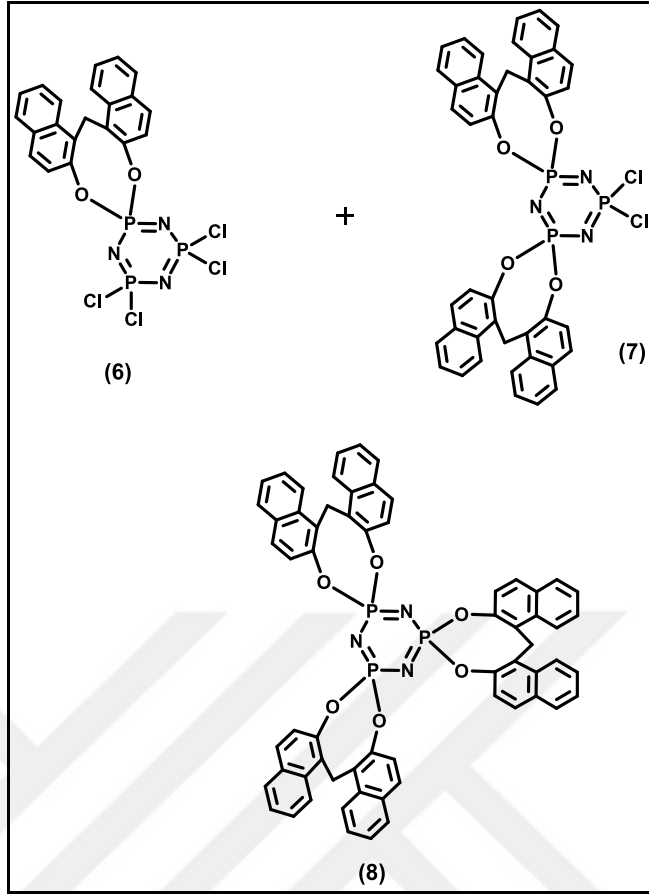
Bileşiklerin (1-5) kütle spektrumu sonuçları Tablo 6.2'de verilmiştir.

Tablo 6.2: Bileşiklerin (1-5) kütle sonuçları.

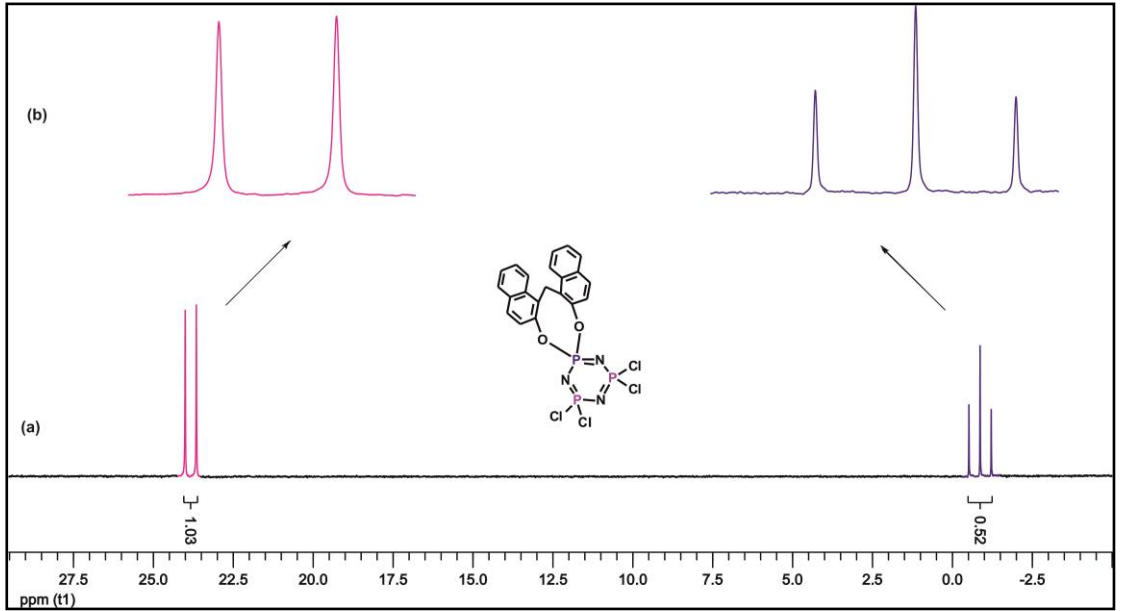
B. No	Kapalı Formül	Kütle	
		M	[M+H] ⁺
1	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₄ N ₃ O ₂ P ₃	475	476
2	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₄ N ₃ O ₂ P ₃	475	476
3	C ₂₆ H ₂₁ Cl ₃ N ₃ O ₄ P ₃	637	638
4	C ₂₆ H ₂₀ Cl ₂ N ₃ O ₄ P ₃	601	602
5	C ₃₉ H ₃₂ Cl ₂ N ₃ O ₆ P ₃	801	802

6.2. Bileşik 6, 7 ve 8'e Ait Yapı Analizi

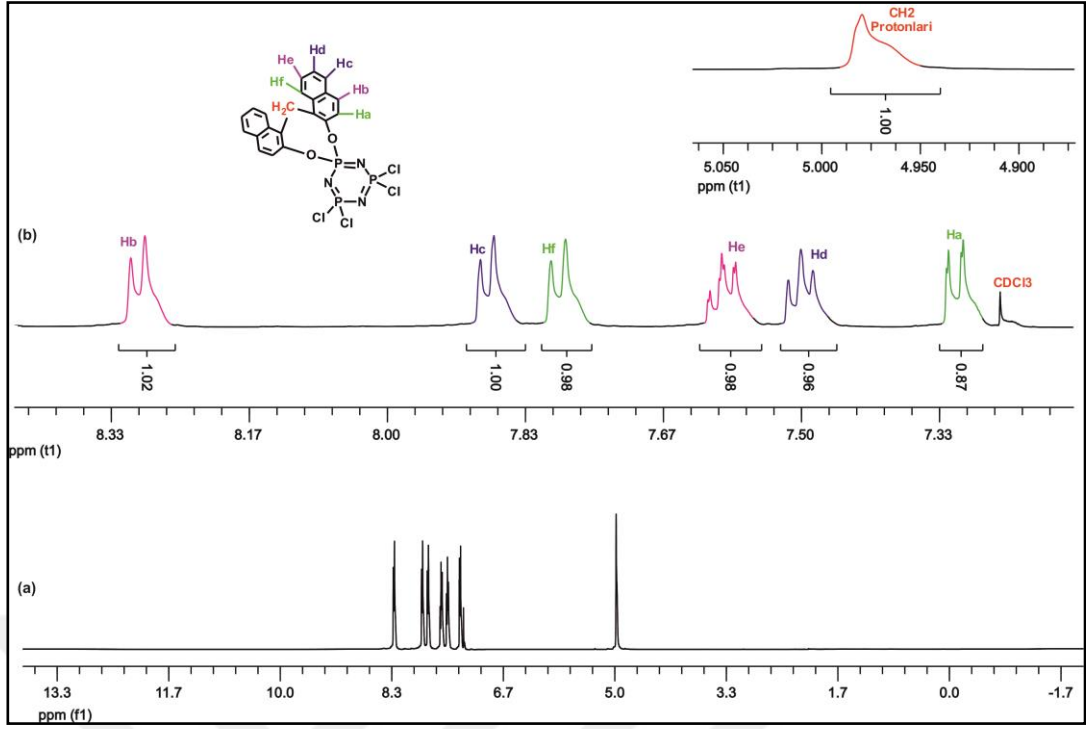
Bileşik 6-8'in yapıları Şekil 6.14'de görülmektedir. 6, 7 ve 8 Bileşiklerinin proton ile eşleşmemiş ³¹P NMR spektrumları (dış referans H₃PO₄, CDCl₃, 298°K) alınmıştır. 6 Bileşiğinin proton ile eşleşmemiş ³¹P NMR spektrumu (298°K) A₂X spin sistemindedir. δ=23.8 ppm' de [PCl₂] gruplarındaki fosfor atomlarına ait ikili pik görülmektedir ve bu pik [P(O₂)] grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye (²J_{PNP}=70.50 Hz) yarılmıştır. δ=-0.9 ppm' de görülen üçlü pik ise [P(O₂)] grubundaki fosfor atomuna ait olup [PCl₂] gruplarında bulunan fosfor atomlarından dolayı üçe (²J_{PNP}=70.50 Hz) yarılmıştır. Bu spektruma ait integral değerleri 1.03:0.52 olup 2:1 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.15).



Şekil 6.14: Bileşik 6, 7 ve 8'in yapısı.

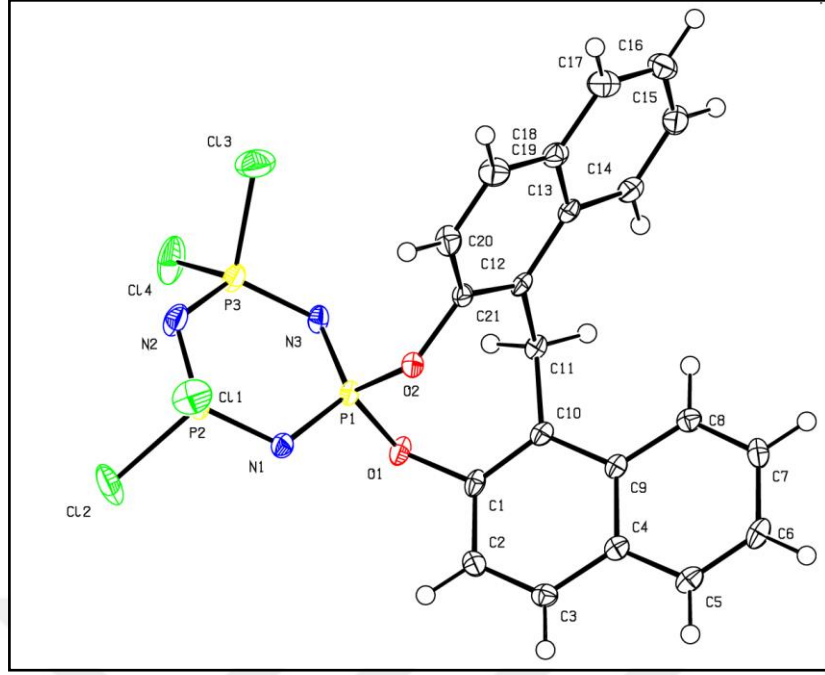


Şekil 6.15: a) Bileşik 6'ya ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.



Şekil 6.16: a) Bileşik 6'ya ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

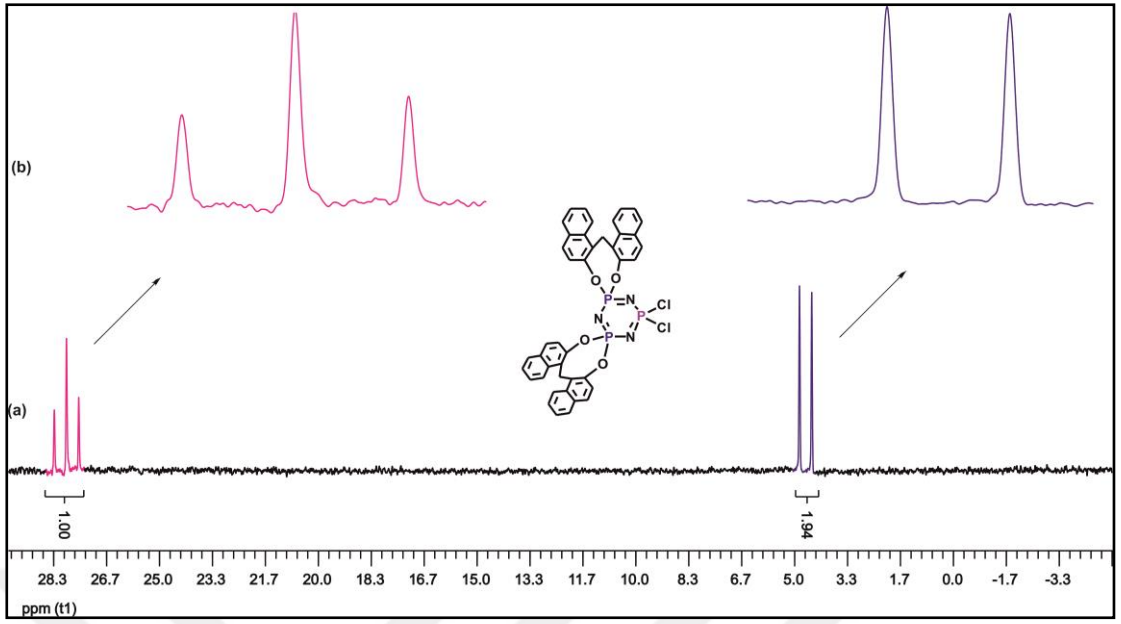
6 Bileşiğinin ^1H NMR spektrumunda, $\delta=8.29$ ppm'deki dublet pik H_b protonuna ait olup komşu karbondan bulunan H_a protonundan dolayı dublet olarak ($^3J_{\text{H}_b-\text{H}_a}=8.68$ Hz) yarılmıştır. $\delta=7.87$ ppm'de gözlenen dublet pik H_c protonuna ait olup H_c protonu H_d protonu ile eşleşerek ikiye yarılmıştır. ($^3J_{\text{H}_c-\text{H}_d}=8.09$ Hz). $\delta=7.79$ ppm'deki dublet pik H_f protonuna ait olup komşu karbondan bulunan H_e protonundan dolayı dublet olarak ($^3J_{\text{H}_f-\text{H}_e}=8.71$ Hz) yarılmıştır. $\delta=7.59$ ppm'de gözlenen tripletin dubleti pik H_e protonuna ait olup H_e protonu H_f ve H_d protonları ile eşleşerek tripletin dubleti olarak yarılmıştır. ($^3J_{\text{H}_e-\text{H}_f}=8.71$ Hz, $^3J_{\text{H}_e-\text{H}_d}=7.32$ Hz). $\delta=7.49$ ppm'de gözlenen triplet pik H_d protonuna ait olup; H_c ve H_e protonlarından dolayı üçe yarılmıştır. ($^3J_{\text{H}_d-\text{H}_e}=7.32$ Hz, $^3J_{\text{H}_d-\text{H}_c}=8.09$ Hz). $\delta=7.31$ ppm'deki dublet pik H_a protonuna ait olup komşu karbondan bulunan H_b protonundan dolayı dublet olarak ($^3J_{\text{H}_a-\text{H}_b}=8.68$ Hz) yarılmıştır. $\delta=4.89$ ppm'deki singlet pik $-\text{CH}_2$ protonuna aittir. İntegral değerleri de sırasıyla 1.02: 1.00: 0.98: 0.98: 0.96: 0.87: 1.00 olup 2, 2, 2, 2, 2, 2, 2 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.16).



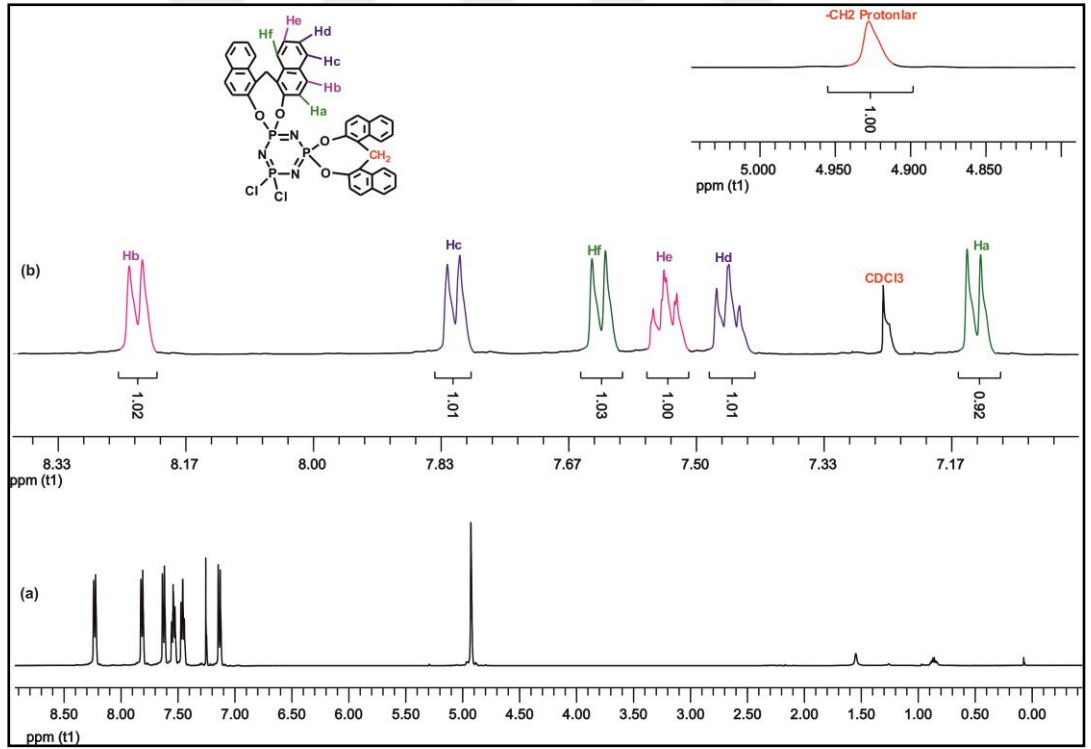
Şekil 6.17: Bileşik 6'nın tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile çözülmüş yapısı.

6 Bileşiğinin yapısı, tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile de incelendi (Şekil 6.17). 2,2'-dihidroksi dinaftilmetan'ın trimer halkasına aynı fosfor atomu üzerinden bağlandığı gözlemlendi. Bu da, önerilen monospiro yapıyı desteklemektedir.

7 Bileşiğinin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu, (298°K) AX_2 spin sistemindedir. $\delta=27.93$ ppm' de $[\text{PCl}_2]$ gruplarındaki fosfor atomlarına ait üçlü pik görülmektedir ve bu pik $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomundan dolayı üçe ($^2J_{\text{PNP}}=77.80$ Hz) yarılmıştır. $\delta= 4.65$ ppm' de görülen ikili pik ise $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomuna ait olup $[\text{PCl}_2]$ gruplarında bulunan fosfor atomlarından dolayı ikiye ($^2J_{\text{PNP}}=77.80$ Hz) yarılmıştır. Bu spektruma ait integral değerleri 1.00: 1.94 olup 1:2 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.18).



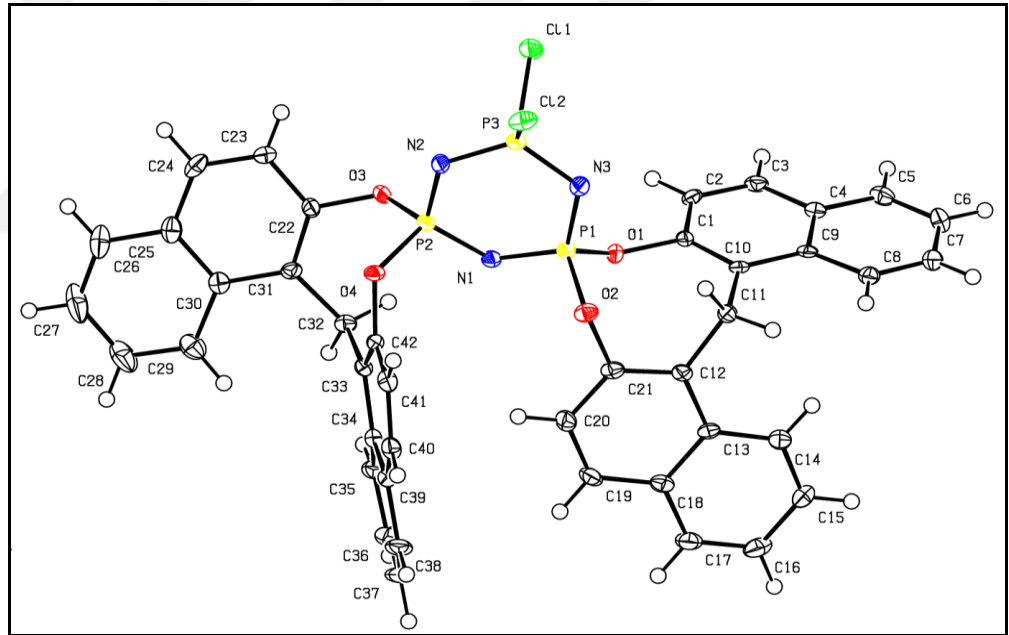
Şekil 6.18: a) Bileşik 7'ye ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.



Şekil 6.19: a) Bileşik 7'ye ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

7 Bileşiğinin ^1H NMR spektrumunda, $\delta=8.23$ ppm'deki dublet pik H_b protonuna ait olup komşu karbondan bulunan H_a protonundan dolayı dublet olarak

($^3J_{H_b-H_a} = 8.52$ Hz) yarılmıştır. $\delta=7.81$ ppm'de gözlenen dublet pik H_c protonuna ait olup H_c protonu H_d protonu ile eşleşerek ikiye yarılmıştır. ($^3J_{H_c-H_d} = 8.11$ Hz). $\delta=7.62$ ppm'deki dublet pik H_f protonuna ait olup komşu karbonda bulunan H_e protonundan dolayı dublet olarak ($^3J_{H_f-H_e} = 8.81$ Hz) yarılmıştır. $\delta=7.54$ ppm'de gözlenen tripletin dubleti pik H_e protonuna ait olup H_e protonu H_f ve H_d protonları ile eşleşerek tripletin dubleti olarak yarılmıştır. ($^3J_{H_e-H_f} = 8.81$ Hz, $^3J_{H_e-H_d} = 7.44$ Hz). $\delta=7.45$ ppm'de gözlenen triplet pik H_d protonuna ait olup; H_c ve H_e protonlarından dolayı üçe yarılmıştır. ($^3J_{H_d-H_e} = 7.44$ Hz, $^3J_{H_d-H_c} = 8.11$ Hz). $\delta=7.13$ ppm'deki dublet pik H_a protonuna ait olup komşu karbonda bulunan H_b protonundan dolayı dublet olarak ($^3J_{H_a-H_b} = 8.65$ Hz) yarılmıştır. $\delta=4.92$ ppm'deki singlet pik $-CH_2$ protonuna aittir. İntegral değerleri de sırasıyla 1.02: 1.01: 1.03: 1.00:1.01: 0.92: 1.00 olup 4, 4, 4, 4, 4, 4, 4 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.19).



Şekil 6.20: Bileşik 7'nin tek kristal X-ışını kırınımı tekniği ile çözülmüş yapısı.

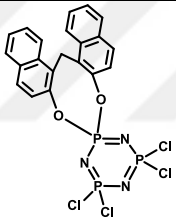
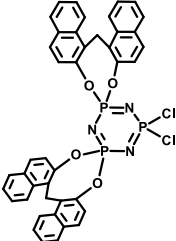
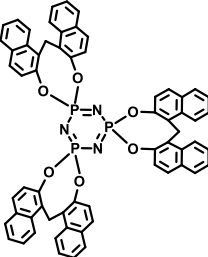
7 Bileşiğinin yapısı, tek kristal X-ışını kırınım tekniği ile de incelendi. 1,1'-metilendi-2-naftol'ün trimer halkasına dispiro şeklinde bağlandığı gözlemlendi. Bu da, önerilen yapıyı desteklemektedir (Şekil 6.20). 6, 7 ve 8 numaralı bileşiklere ait kütle sonuçları Tablo 6.3'de verilmiştir.

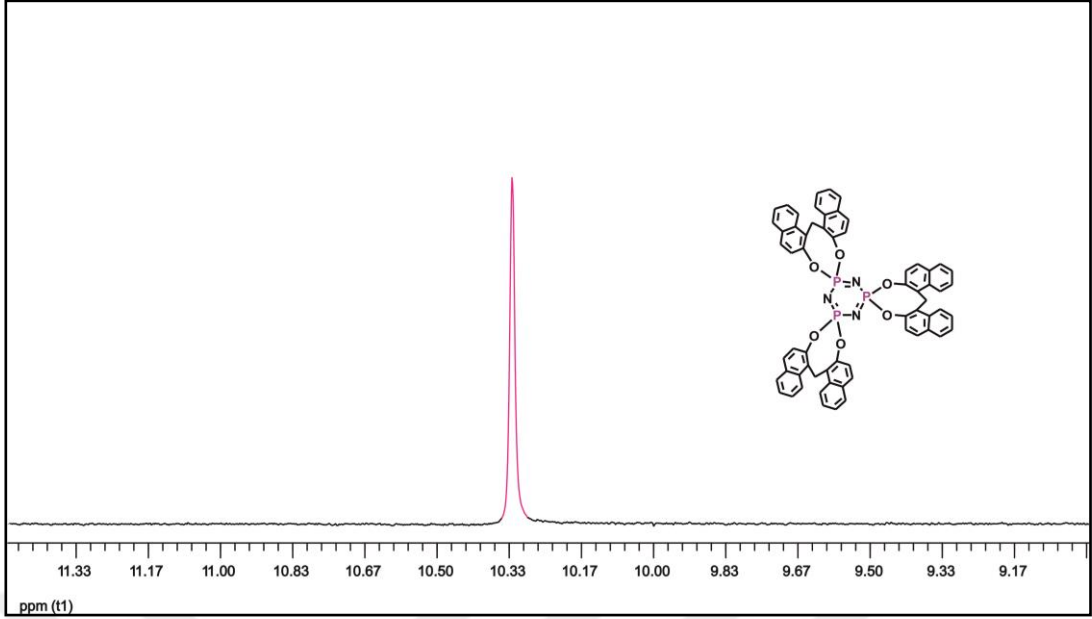
Tablo 6.3: Bileşiklerin (6-8) kütle sonuçları.

B. No	Kapalı Formül	Kütle	
		M	[M+H] ⁺
6	C ₂₁ H ₁₄ Cl ₄ N ₃ O ₂ P ₃	575	576
7	C ₄₂ H ₂₈ Cl ₂ N ₃ O ₄ P ₃	802	803
8	C ₆₃ H ₄₂ N ₃ O ₆ P ₃	1029	1030

6, 7 ve 8 numaralı bileşiklere ait IR spektrumu verileri ise Tablo 6.4'de görülmektedir.

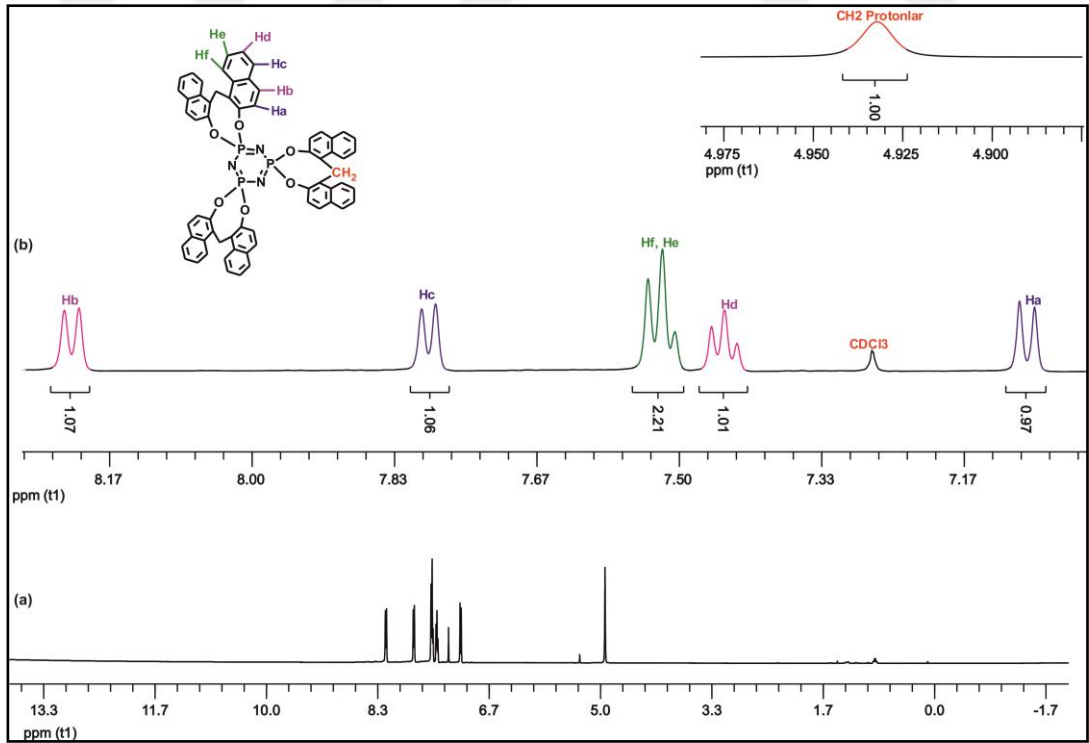
Tablo 6.4: Bileşiklerin (6-8) IR spektrumu verileri (ν cm⁻¹).

B. No	Açık Formül	$\nu_{(C-H)aro}$	$\nu_{(C=C)aro}$	ν_{P-N}	ν_{P-O}
6		3061	1596	1158,1177	1056
7		3067	1595	1155,1188	1051
8		3058	1596,1623	1153,1183	1053



Şekil 6.21: Bileşik **8**'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

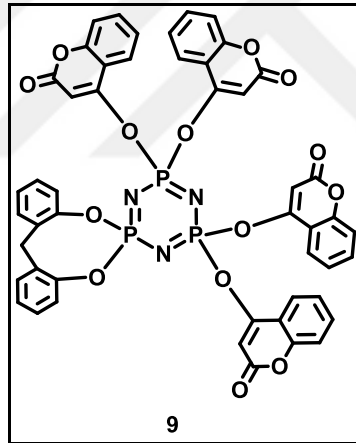
8 bileşiğinin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (298°K) A_3 spin sistemindedir. $\delta=10.32$ ppm' de $[\text{PO}_2]$ grubundaki fosfor atomuna ait singlet pik görülmektedir(Şekil 6.21).



Şekil 6.22: a) Bileşik **8**'e ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

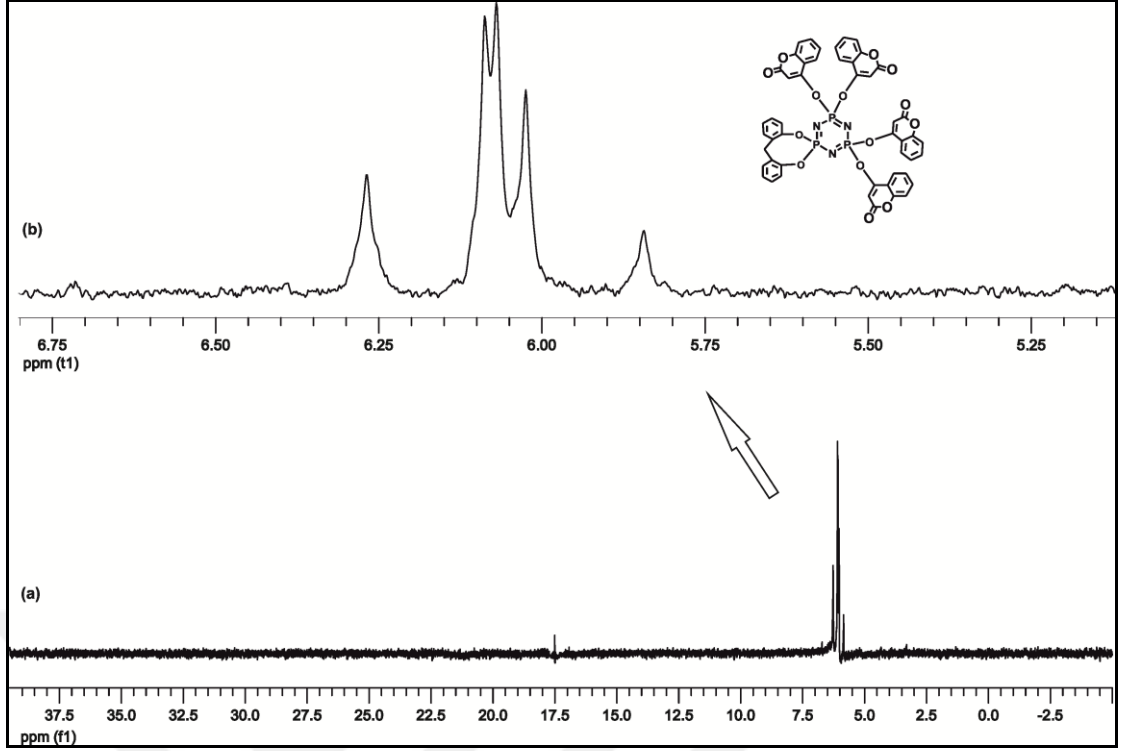
8 Bileşiğinin ^1H NMR spektrumunda, $\delta=8.21$ ppm'deki dublet pik H_b protonuna ait olup komşu karbonda bulunan H_a protonundan dolayı dublet olarak ($^3\text{J}_{\text{H}_b-\text{H}_a}=8.66$ Hz) yarılmıştır. $\delta=7.79$ ppm'de gözlenen dublet pik H_c protonuna ait olup H_c protonu H_d protonu ile eşleşerek ikiye yarılmıştır. ($^3\text{J}_{\text{H}_c-\text{H}_d}=8.08$ Hz). $\delta=7.54$ - 7.49 ppm aralığında gözlenen çoklu pikler H_f ve H_e protonlarına aittir. $\delta=7.44$ ppm'de gözlenen triplet pik H_d protonuna ait olup H_d protonu H_e ve H_c protonları ile eşleşerek triplet olarak yarılmıştır. ($^3\text{J}_{\text{H}_d-\text{H}_e}=7.44$ Hz, $^3\text{J}_{\text{H}_d-\text{H}_c}=8.08$ Hz). $\delta=7.09$ ppm'de gözlenen dublet pik H_a protonuna ait olup; H_b protonundan dolayı dublete yarılmıştır. ($^3\text{J}_{\text{H}_a-\text{H}_b}=8.66$ Hz). $\delta=4.93$ ppm'deki singlet pik $-\text{CH}_2$ protonlarına aittir. İntegral değerleri de sırasıyla 1.07: 1.06: 2.21: 1.01:0.97: 1.00 olup 6, 6, 12, 6, 6, 6 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.22).

6.3. Bileşik 9'a Ait Yapı Analizi



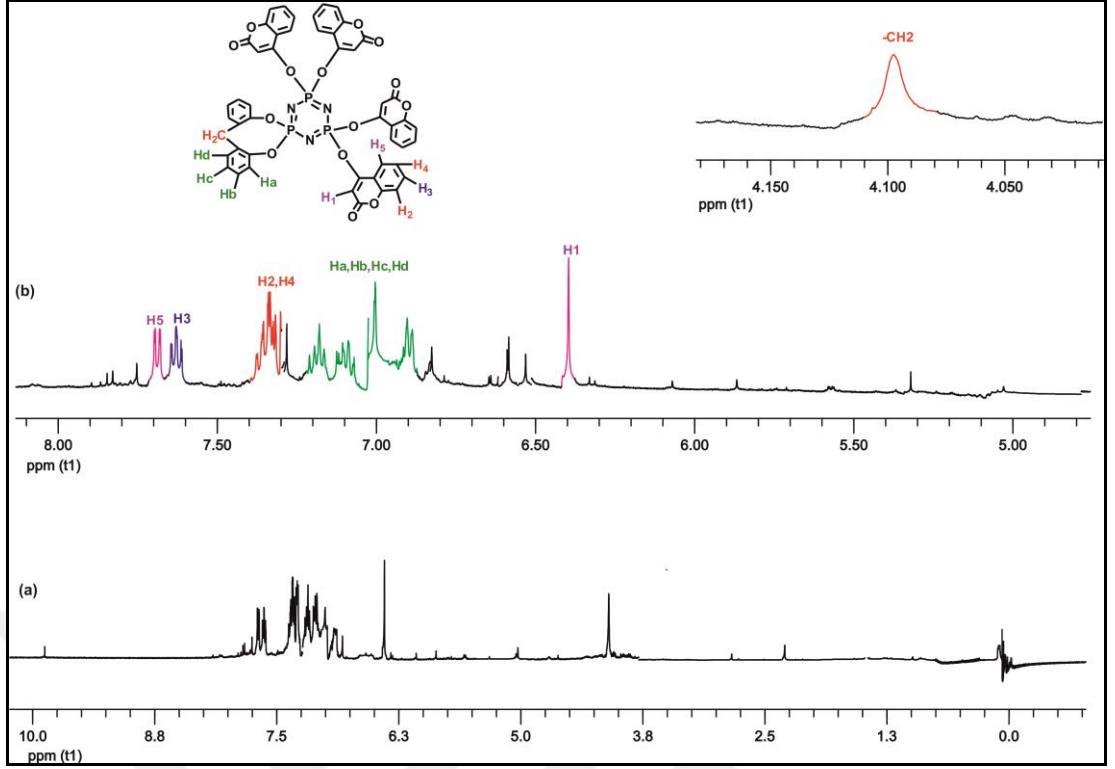
Şekil 6.23: Bileşik 9'un yapısı.

9 Bileşiğinin yapısı Şekil 6.23'de görülmektedir. Bileşik 9'un proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (298°K) A_2B spin sistemindedir. $\delta=6.07$ ppm' de görülen pikler kumarinlerin bağlı bulunduğu $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomlarına aittir. $\delta=5.96$ ppm' de görülen pikler ise fenoksi grubunun bağlı bulunduğu $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomuna aittir ($\text{J}_{\text{AB}}=37.83$ Hz) (Şekil 6.24).



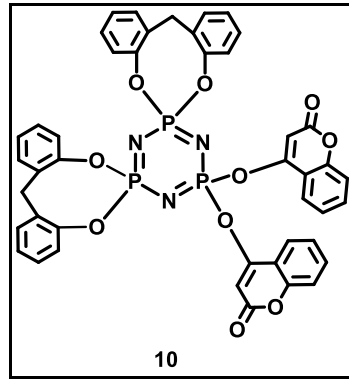
Şekil 6.24: a) Bileşik 9'a ait proton ile eşleşmemiş ³¹P NMR spektrumu.
b) Genişletilmiş ³¹P NMR spektrumu.

Bileşik 9'un ¹H NMR spektrumunda, $\delta=7.68$ ppm'deki dublet pik H₅ protonuna ait olup komşu karbondan bulunan H₄ protonundan dolayı dublet olarak ($^3J_{H_5-H_4} = 7.90$ Hz) yarılmıştır. $\delta=7.62$ ppm'de gözlenen çoklu pik H₃ protonuna ait olup komşu karbon atomlarına bağlı bulunan protonlar ile eşleşerek rezonansa gelmiştir. $\delta=7.39-7.30$ ppm aralığında gözlenen çoklu pikler ise H₂ ve H₄ protonlarına aittir. $\delta=7.20-6.90$ ppm'de H_a, H_b, H_c ve H_d protonlarına ait olan çoklu pikler görülmektedir. $\delta=6.41$ ppm'de gözlenen singlet pik H₁ protonuna aittir. $\delta=4.10$ ppm'deki singlet pik ise -CH₂ protonlarına aittir (Şekil 6.25).



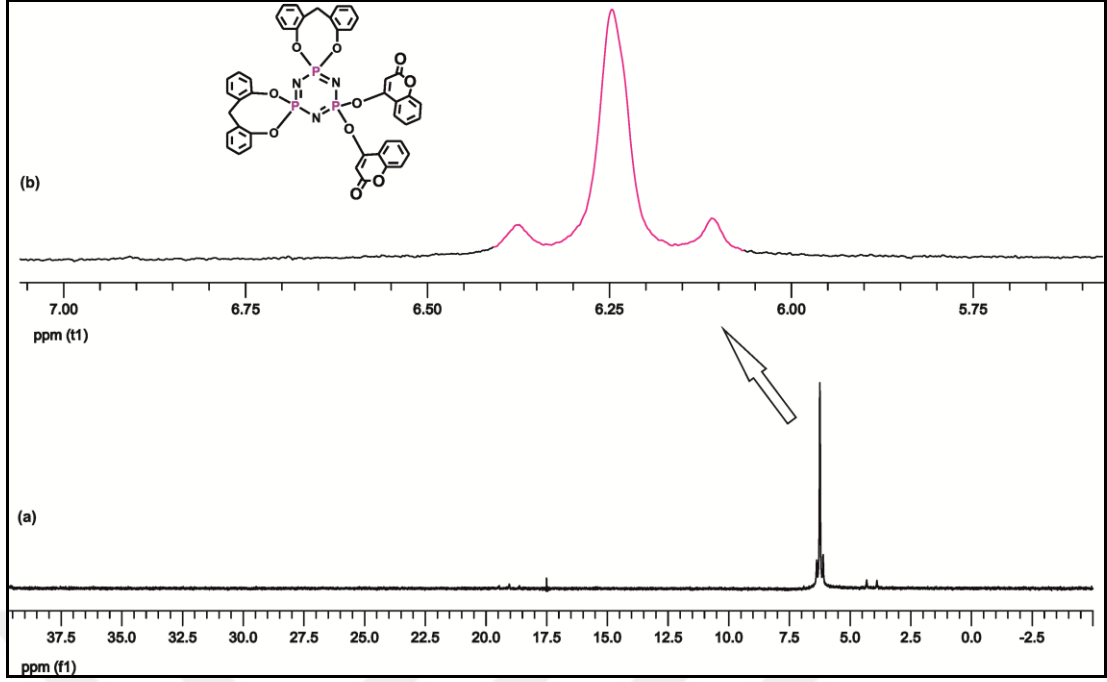
Şekil 6.25: a) Bileşik 9'a ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

6.4. Bileşik 10'a Ait Yapı Analizi



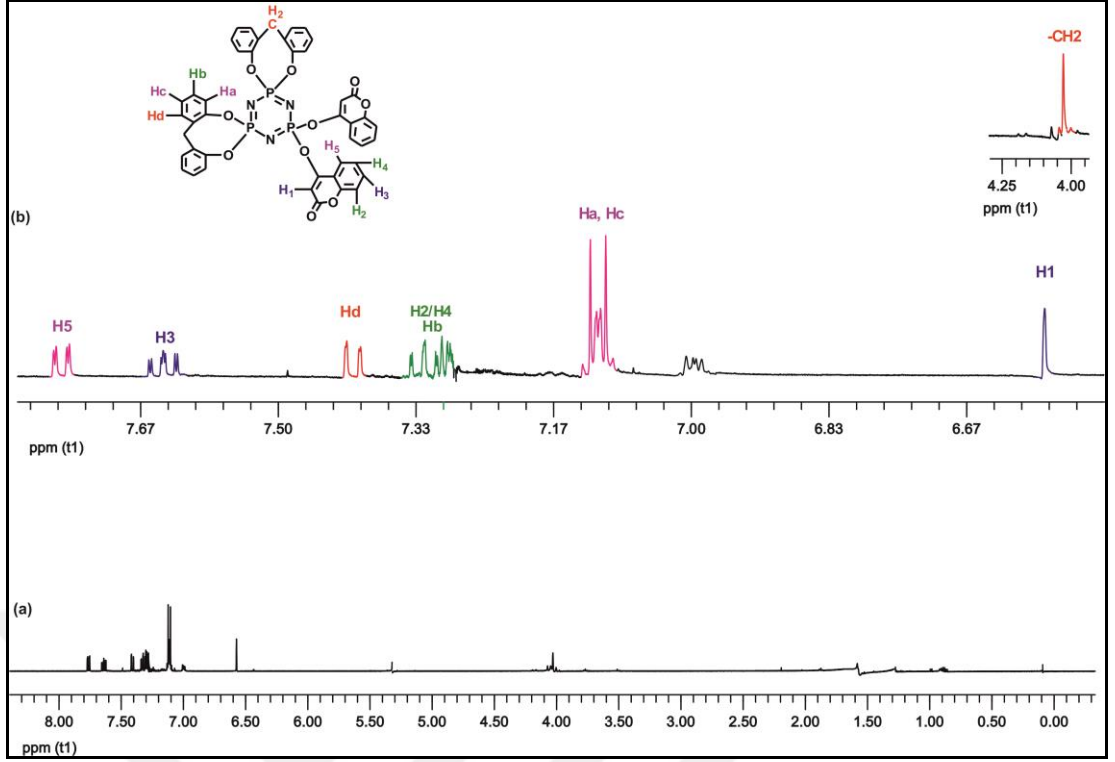
Şekil 6.26: Bileşik 10'un yapısı.

10 Bileşiğinin yapısı Şekil 6.26'da görülmektedir. (10) Bileşiğinin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu A_3 'e yakın AB_2 spin sistemindedir. $\delta=6.2$ ppm' de $[\text{PO}_2]$ gruplarına ait pikler görülmektedir (Şekil 6.27).



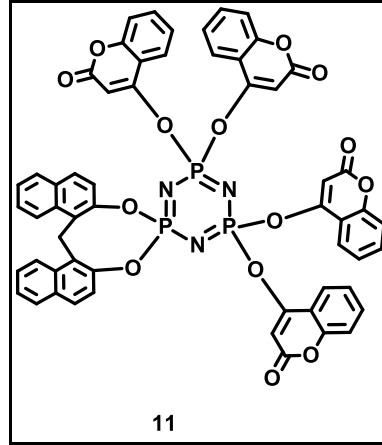
Şekil 6.27 a) Bileşik **10**'a ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.
b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik **10**'a ait ^1H NMR spektrumunda, $\delta=7.76$ ppm'deki dublet pik H_5 protonuna ait olup komşu karbondaki bulunan H_4 protonundan dolayı dublet olarak ($^3J_{\text{H}_5-\text{H}_4} = 7.96$ Hz) yarılmıştır. $\delta=7.64$ ppm'de gözlenen çoklu pik H_3 protonuna ait olup komşu karbon atomlarına bağlı bulunan protonlar ile eşleşerek rezonansa gelmiştir. $\delta=7.40$ ppm'de gözlenen pik ise H_d protonuna aittir. Komşu karbondaki bulunan H_c protonundan dolayı dublet pik olarak görülmektedir ($^3J_{\text{H}_d-\text{H}_c} = 8.36$ Hz). $\delta=7.34-7.29$ ppm'de H_2 , H_4 , ve H_b protonlarına ait olan çoklu pikler görülmektedir. $\delta=7.13-7.09$ ppm'de gözlenen çoklu pikler ise H_a ve H_c protonlarına aittir. $\delta=6.57$ ppm'deki singlet pik ise H_1 protonuna aittir. $\delta=4.05$ ppm'deki singlet pik ise $-\text{CH}_2$ protonlarına aittir (Şekil 6.28).



Şekil 6.28 a) Bileşik 10'a ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

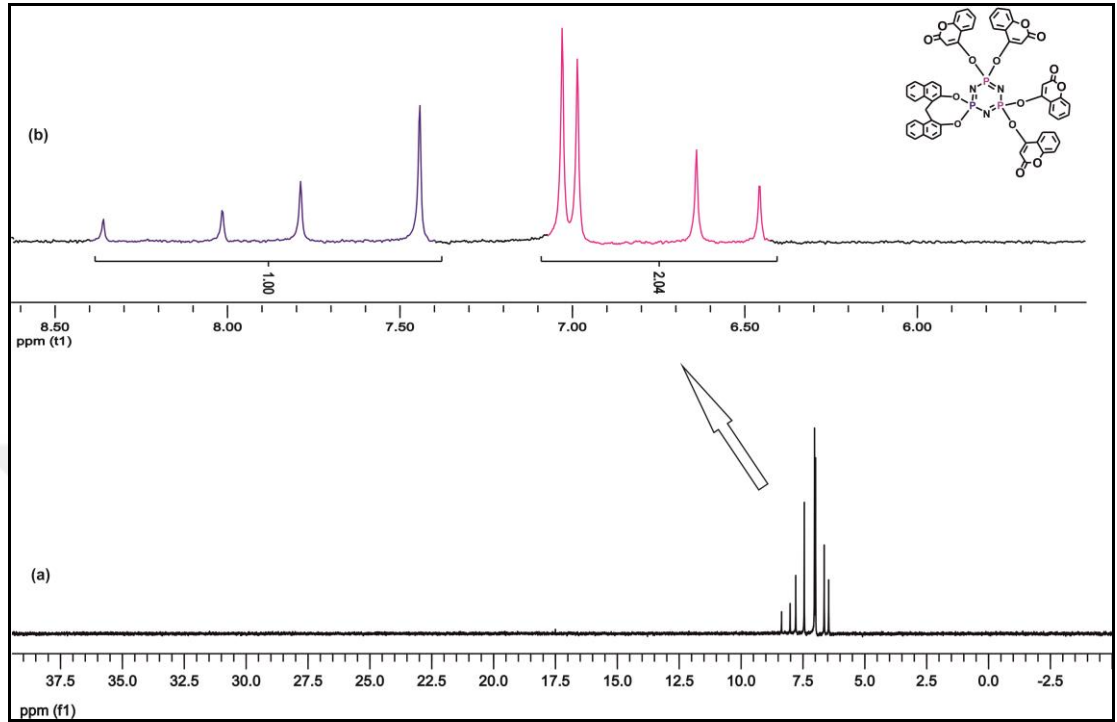
6.5. Bileşik 11'e Ait Yapı Analizi



Şekil 6.29: Bileşik 11'in yapısı.

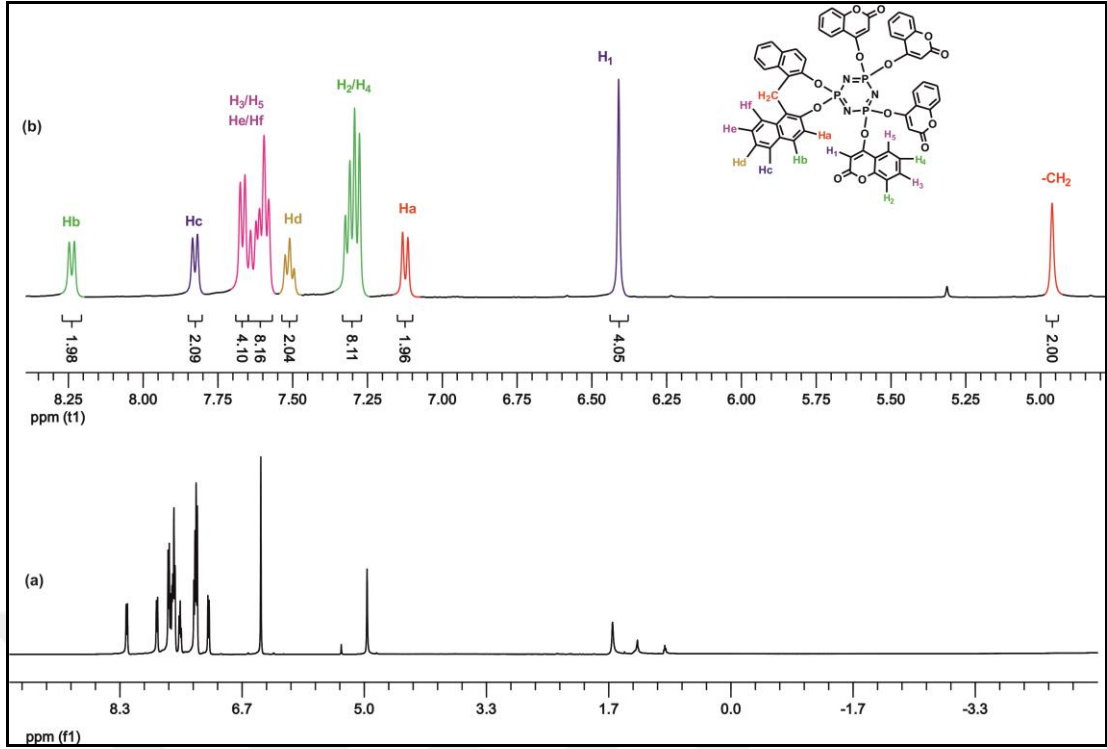
11 Bileşiğinin yapısı Şekil 6.29'da görülmektedir. Bileşik 11'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (298°K) AB_2 spin sistemindedir. $\delta=7.79$ ppm' de naftoksi gruplarının bağlandığı fosfor atomlarındaki $[\text{PO}_2]$ gruplarına ait pikler görülmektedir $\delta=6.83$ ppm' de görülen pikler ise kumarinlerin bağlı bulunduğu

[P(O₂)] grubundaki fosfor atomuna aittir ($J_{AB} = 97.545$ Hz). Bu spektruma ait integral değerleri 1:2.04 olup 1:2 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.30).



Şekil 6.30: a) Bileşik **11**'e ait proton ile eşleşmemiş ³¹P NMR spektrumu.
b) Genişletilmiş ³¹P NMR spektrumu.

Bileşik **11**'e ait ¹H NMR spektrumunda, $\delta=8.29$ ppm'deki dublet pik H_b protonuna ait olup komşu karbonda bulunan H_a protonundan dolayı dublet olarak ($^3J_{Hb-Ha} = 8.80$ Hz) yarılmıştır. $\delta=7.82$ ppm'de gözlenen dublet pik H_c protonuna ait olup komşu karbon atomunda bulunan H_d protonu ile eşleşerek rezonansa gelmiştir ($^3J_{Hc-Hd} = 8.03$ Hz). $\delta=7.69-7.57$ ppm'de gözlenen çoklu pikler H₃, H₅, H_e ve H_f protonlarına aittir. $\delta=7.51$ ppm'de gözlenen triplet pik H_d protonuna ait olup komşu karbon atomlarında bulunan H_e ve H_c protonları ile eşleşerek rezonansa gelmiştir ($^3J_{Hd-He} = 7.40$ Hz, $^3J_{Hd-Hc} = 8.03$ Hz). $\delta=7.33-7.26$ ppm'de H₂, H₄ protonlarına ait olan çoklu pikler görülmektedir. $\delta=7.12$ ppm'de gözlenen ikili pik ise H_a protonuna aittir. Komşu karbonda bulunan H_b protonundan dolayı ikili pik olarak görülmektedir ($^3J_{Ha-Hb} = 8.80$ Hz). $\delta=6.41$ ppm'deki singlet pik ise H₁ protonuna aittir. $\delta=4.96$ ppm'deki singlet pik ise -CH₂ protonlarına aittir. İntegral değerleri de sırasıyla 1.98: 2.09: 12.26: 2.04: 8.11: 1.96: 4.05: 2.00 olup 2, 2, 12, 2, 8, 2: 4, 2 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.31).



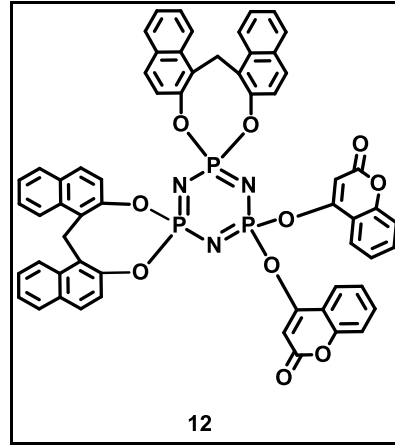
Şekil 6.31: a) Bileşik **11**'e ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

Bileşik **9-12**'nin kütle sonuçları Tablo 6.5'de verilmiştir.

Tablo 6.5: Bileşiklerin (**9-12**) kütle sonuçları.

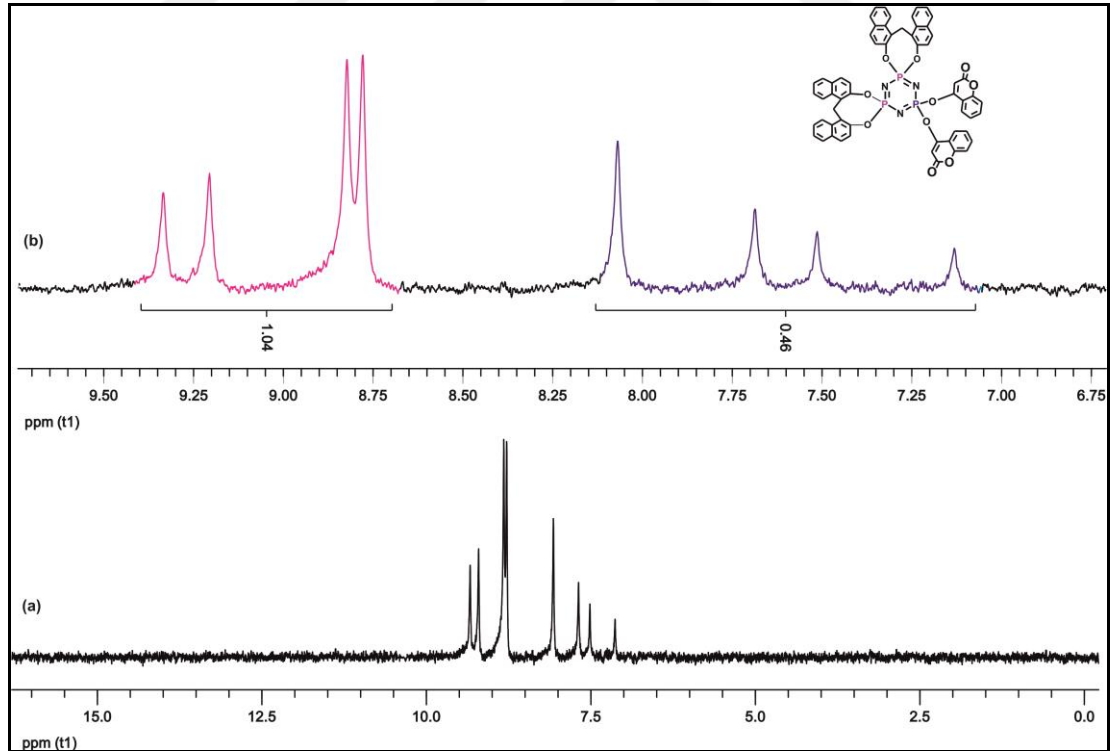
B. No	Kapalı Formül	Kütle	
		M	$[\text{M}+\text{H}]^+$
9	$\text{C}_{49}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_{14}\text{P}_3$	M	$[\text{M}+\text{H}]^+$
		977	978
10	$\text{C}_{44}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{P}_3$	853	854
11	$\text{C}_{57}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_{14}\text{P}_3$	1077	1078
12	$\text{C}_{60}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{P}_3$	M	$[\text{M}]^+$
		1053	1054

6.6. Bileşik 12'ye Ait Yapı Analizi



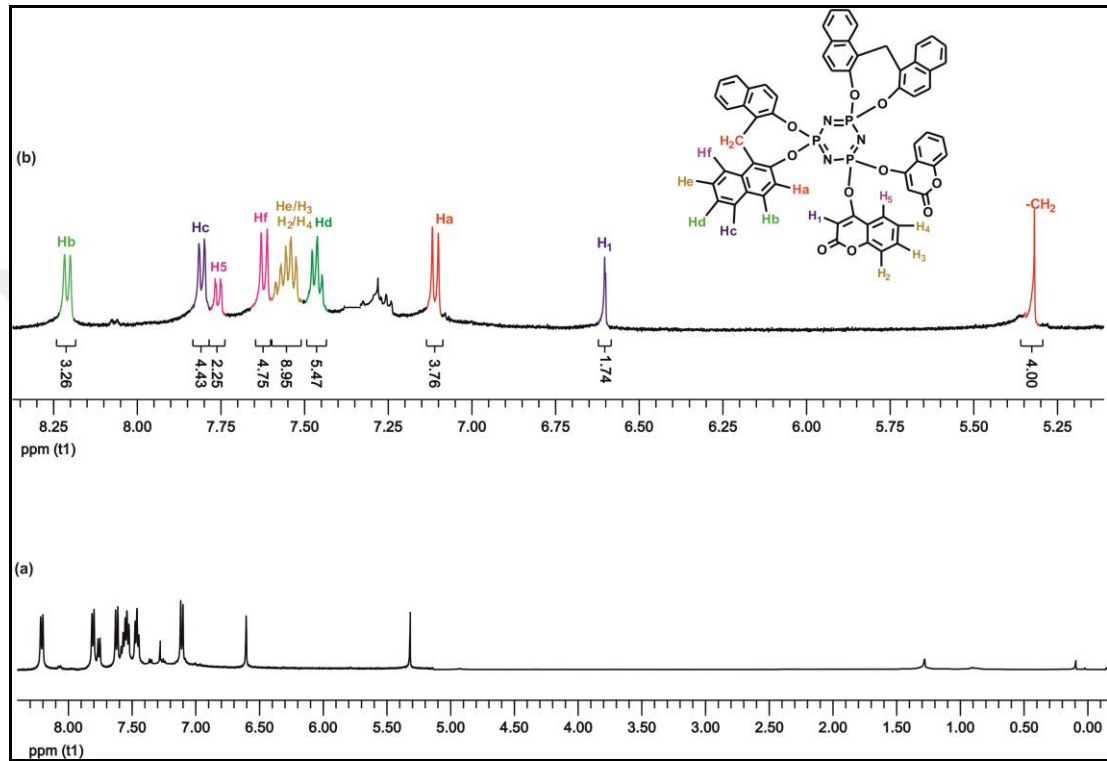
Şekil 6.32: Bileşik 12'nin yapısı.

Bileşik 12'nin yapısı Şekil 6.32'de görülmektedir. Bileşik 12'nin proton ile eşleşmemiş ³¹P NMR spektrumu (298°K) A₂B spin sistemindedir.



Şekil 6.33: a) Bileşik 12'ye ait proton ile eşleşmemiş ³¹P NMR spektrumu.
b) Genişletilmiş ³¹P NMR spektrumu.

$\delta=8.82$ ppm' de naftoksi gruplarının bağlandığı fosfor atomlarındaki $[PO_2]$ gruplarına ait pikler görülmektedir. $\delta=7.79$ ppm' de görülen pikler ise kumarinlerin bağlı bulunduğu $[P(O_2)]$ grubundaki fosfor atomuna aittir ($J_{AB} = 97.545$ Hz). Bu spektruma ait integral değerleri 1.04:0.46 olup 2:1 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.33).



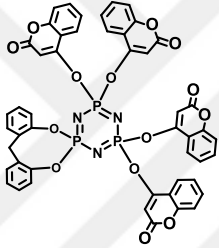
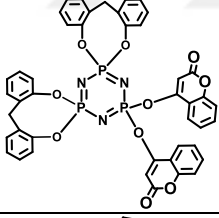
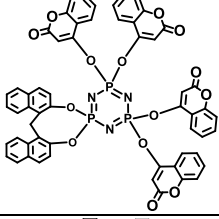
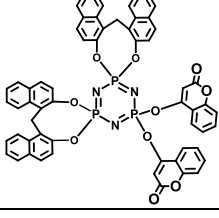
Şekil 6.34: a) Bileşik **12** 'ye ait 1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş 1H NMR spektrumu.

Bileşik **12**'nin 1H NMR spektrumunda, $\delta=8.20$ ppm'deki dublet pik H_b protonuna ait olup komşu karbondaki bulunan H_a protonundan dolayı dublet olarak ($^3J_{H_b-H_a} = 8.83$ Hz) yarılmıştır. $\delta=7.80$ ppm'de gözlenen dublet pik H_c protonuna ait olup komşu karbon atomunda bulunan H_d protonu ile eşleşerek rezonansa gelmiştir ($^3J_{H_c-H_d} = 8.05$ Hz). $\delta=7.75$ ppm'de gözlenen ikili pik H_5 protonuna aittir. Komşu karbondaki bulunan H_4 protonuyla eşleşerek ikiye yarılmıştır ($^3J_{H_5-H_4} = 7.99$ Hz). $\delta=7.62$ ppm'de gözlenen dublet pik ise H_f protonuna ait olup komşu karbon atomlarında bulunan H_e protonu ile eşleşerek rezonansa gelmiştir ($^3J_{H_f-H_e} = 8.87$ Hz). $\delta=7.59-7.51$ ppm'de H_e, H_2, H_3, H_4 protonlarına ait olan çoklu pikler görülmektedir. $\delta=7.47$ ppm'de gözlenen üçlü pik ise H_d protonuna aittir. Komşu karbonlarda

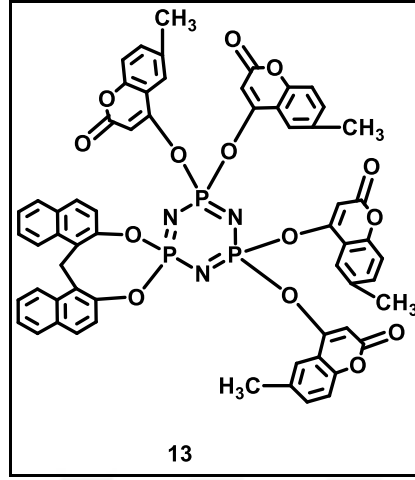
bulunan H_c ve H_e protonları ile eşleşerek üçe yarılmıştır ($^3J_{Hd-He} = 7.80$ Hz, $^3J_{Hd-Hc} = 8.05$ Hz). $\delta = 7.10$ ppm'deki dublet pik ise H_a protonuna aittir. Komşu karbonda bulunan H_b protonundan dolayı ikiye yarılmıştır ($^3J_{Ha-Hb} = 8.83$ Hz). $\delta = 6.60$ ppm'deki singlet pik H₁ protonuna, $\delta = 5.31$ ppm'deki singlet pik ise -CH₂ protonlarına aittir. İntegral değerleri de sırasıyla 3.26: 4.43: 2.25: 4.75: 8.95: 5.47: 3.76: 1.74: 4.00 olup 4, 4, 2, 4, 10, 4: 4, 2, 4 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.34).

Bileşiklerin (9-12) IR spektrumu verileri ise Tablo 6.6'da görülmektedir.

Tablo 6.6: Bileşik 9-12'nin IR spektrumu verileri (ν cm⁻¹).

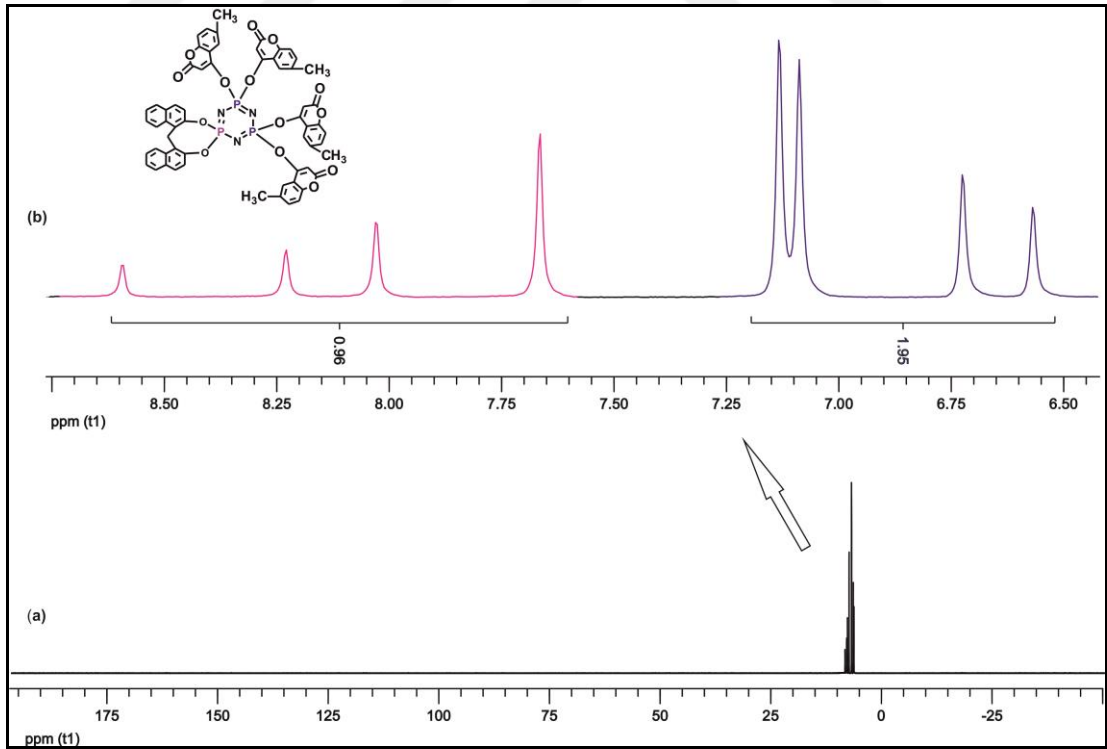
B. No	Açık Formül	ν (CH ₂)	ν (C=O)	ν (C-C) _{aro}	ν (P-N)	ν (P-O)
9		2961	1731	1629	1258	1084, 1011
10		2922	1724	1625, 1606	1275	1091, 1035
11		2921	1726	1606	1189	1089
12		2921, 2851	1726	1607	1185, 1153	1053

6.7. Bileşik 13'e Ait Yapı Analizi



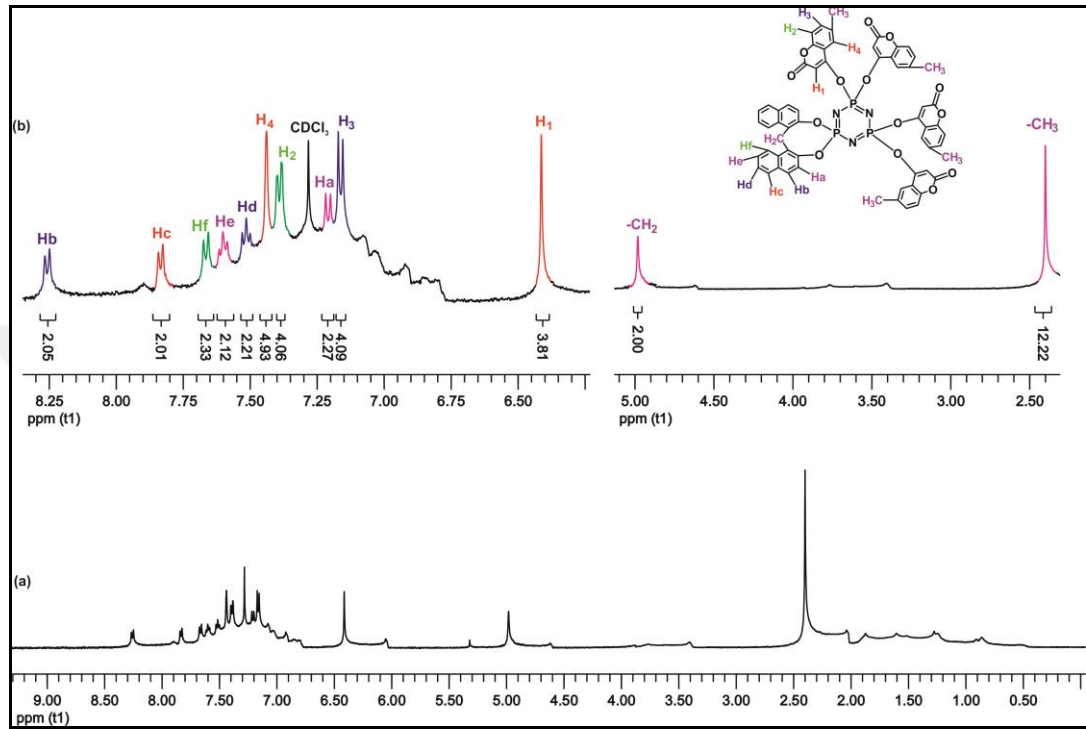
Şekil 6.35: Bileşik 13'ün yapısı.

Bileşik 13'ün yapısı Şekil 6.35'de görülmektedir. Bileşik 13'ün proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (298°K) AB₂ spin sistemindedir.



Şekil 6.36 a) Bileşik 13'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.
b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.

$\delta=8.03$ ppm’ de naftoksi grubunun bağlandığı fosfor atomundaki $[PO_2]$ grubuna ait pikler görülmektedir. $\delta=6.93$ ppm’ de görülen pikler ise kumarinlerin bağlı bulunduğu $[P(O_2)]$ grubundaki fosfor atomuna aittir ($J_{AB} = 97.62$ Hz). Bu spektruma ait integral değerleri 0.96:1.95 olup 1:2 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.36).



Şekil 6.37: a) Bileşik **13**'e ait 1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş 1H NMR spektrumu.

Bileşik **13**'ün 1H NMR spektrumunda, $\delta=8.25$ ppm'deki dublet pik H_b protonuna ait olup komşu karbondaki bulunan H_a protonundan dolayı dublet olarak yarılmıştır ($^3J_{H_b-H_a} = 8.54$ Hz). $\delta=7.83$ ppm'de gözlenen dublet pik H_c protonuna ait olup komşu karbon atomunda bulunan H_d protonu ile eşleşerek rezonansa gelmiştir ($^3J_{H_c-H_d} = 7.63$ Hz). $\delta=7.66$ ppm'de gözlenen ikili pik H_f protonuna aittir. Komşu karbondaki bulunan H_e protonuyla eşleşerek ikiye yarılmıştır ($^3J_{H_f-H_e} = 8.21$ Hz). $\delta=7.60$ ppm'de gözlenen triplet pik ise H_e protonuna ait olup komşu karbon atomlarında bulunan H_f ve H_d protonları ile eşleşerek rezonansa gelmiştir ($^3J_{H_e-H_f} = 8.21$ Hz, $^3J_{H_e-H_d} = 7.05$ Hz). $\delta=7.51$ ppm'de H_d protonuna ait olan triplet pik görülmektedir ($^3J_{H_d-H_c} = 7.63$ Hz, $^3J_{H_d-H_e} = 7.05$ Hz). $\delta=7.44$ ppm'de gözlenen singlet pik H_4 protonuna aittir. $\delta=7.39$ ppm'de gözlenen ikili pik ise H_2 protonuna aittir ($^3J_{H_2-H_3} = 8.38$ Hz). H_a

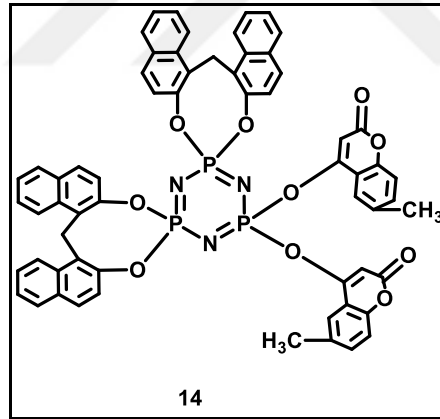
protonuna ait olan ikili pik ise 7.20 ppm'de görülmektedir ($^3J_{\text{Ha-Hb}} = 8.54$ Hz). $\delta = 7.16$ ppm'de H_3 protonuna ait olan ikili pik görülmektedir. H_2 protonundan dolayı ikiye yarılmıştır ($^3J_{\text{H}_3\text{-H}_2} = 8.38$ Hz). $\delta = 6.41$ ppm, $\delta = 4.98$ ppm ve $\delta = 2.40$ ppm'de görülen singlet pikler ise sırasıyla H_1 , $-\text{CH}_2$ ve $-\text{CH}_3$ protonlarına aittir. İntegral değerleri de sırasıyla 2.05, 2.01, 2.33, 2.12, 2.21, 4.93: 4.06: 2.27, 4.09, 3.81, 2.00, 12.22 olup 2, 2, 2, 2, 4, 4, 2, 4, 4, 2, 12 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.37).

Bileşik **13**'e ait kütle sonuçları Tablo 6.7'de verilmiştir.

Tablo 6.7: Bileşik **13**'ün kütle sonucu.

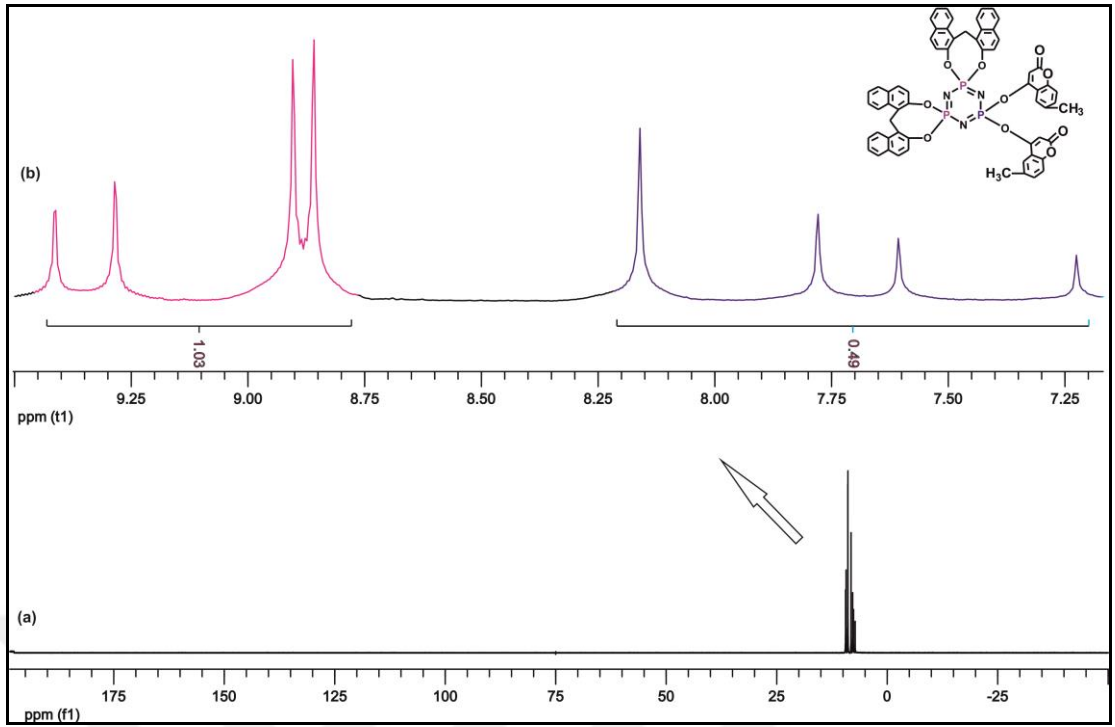
B. No	Kapalı Formül	Kütle	
		M	$[\text{M}]^+$
13	$\text{C}_{62}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_{14}\text{P}_3$	1135	1135

6.8. Bileşik 14'e Ait Yapı Analizi

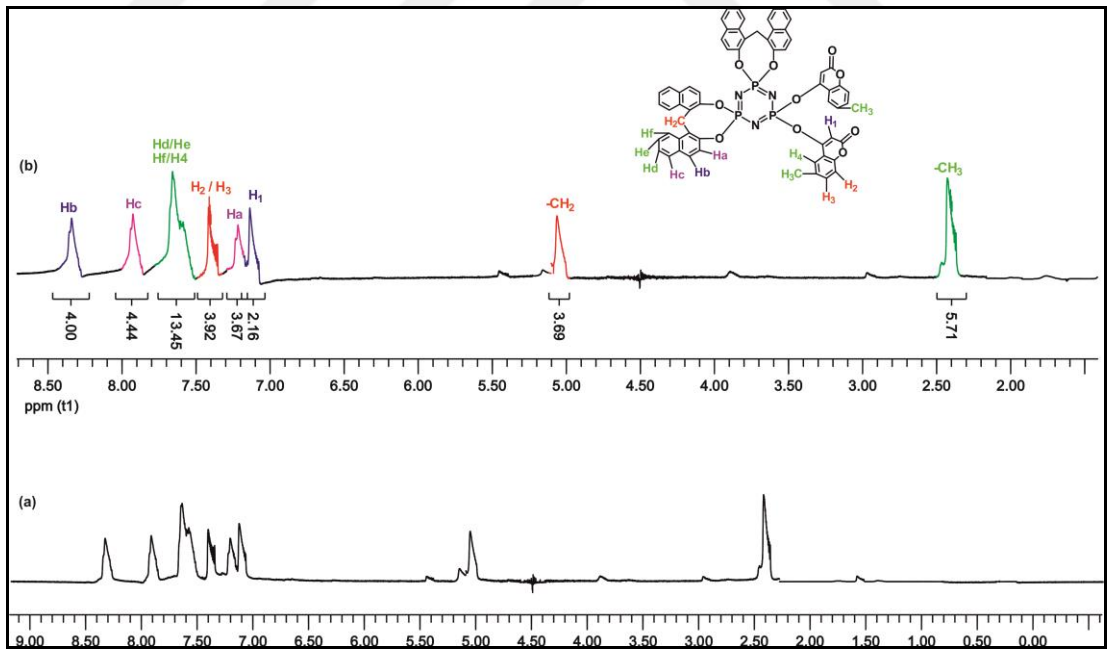


Şekil 6.38: Bileşik **14**'ün yapısı.

Bileşik **14**'ün yapısı Şekil 6.38'da görülmektedir. Bileşik **14**'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (298°K) A_2B spin sistemindedir. $\delta = 8.91$ ppm' de naftoksi gruplarının bağlandığı fosfor atomlarındaki $[\text{PO}_2]$ gruplarına ait pikler görülmektedir. $\delta = 7.89$ ppm' de görülen pikler ise kumarinin bağlı bulunduğu $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomuna aittir ($J_{\text{AB}} = 74.71$ Hz). Bu spektruma ait integral değerleri 1.03:0.49 olup 2:1 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.39).



Şekil 6.39 a) Bileşik **14**'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.



Şekil 6.40: a) Bileşik **14**'e ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

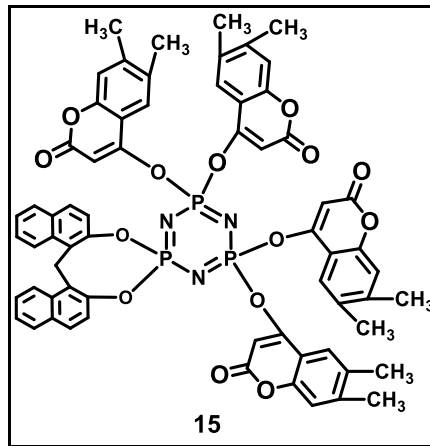
Bileşik **14**'ün ^1H NMR spektrumunda, $\delta=8.35$ ppm'deki dublet pik H_b protonuna ait olup komşu karbonda bulunan H_a protonundan dolayı dublet olarak yarılmıştır. $\delta=7.93$ ppm'de gözlenen dublet pik H_c protonuna ait olup komşu karbon atomunda bulunan H_d protonu ile eşleşerek rezonansa gelmiştir. $\delta=7.63$ ppm'de gözlenen çoklu pik grubu H_d , H_e , H_f ve H_4 protonlarına aittir. $\delta=7.40$ ppm'de ise H_2 ve H_3 protonlarına ait olan pikler görülmektedir. $\delta=7.22$ ppm'de H_a protonuna ait olan dublet pik görülmektedir. Komşu karbonda bulunan H_b protonuyla eşleşerek ikiye yarılmıştır. $\delta=7.14$ ppm'de gözlenen singlet pik ise H_1 protonuna aittir. $\delta=5.04$ ppm'de ve $\delta=2.41$ ppm'de görülen singlet pikler sırasıyla $-\text{CH}_2$ ve $-\text{CH}_3$ protonlarına aittir. İntegral değerleri de sırasıyla 4.00, 4.44, 13.45, 3.92, 3.67, 2.16, 3.69, 5.71 olup 4, 4, 14, 4, 4, 2, 4, 6, protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.40).

Bileşik **14**'ün kütle sonuçları Tablo 6.8'de verilmiştir.

Tablo 6.8: Bileşik **14**'ün kütle sonucu.

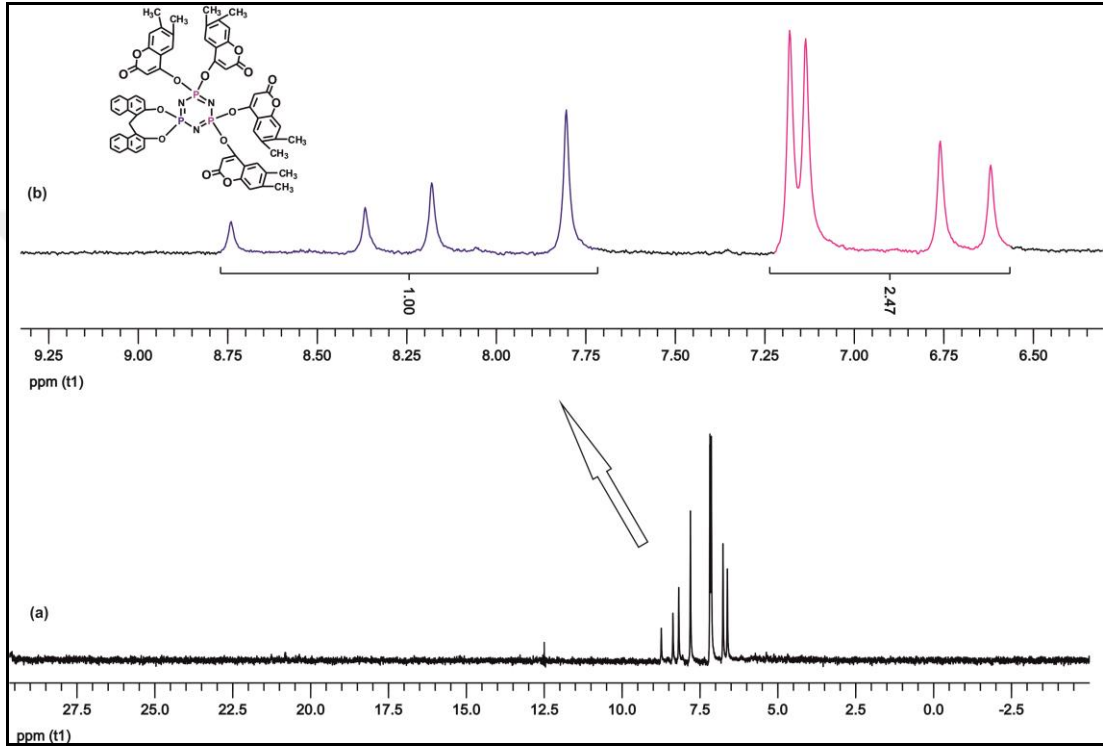
B. No	Kapalı Formül	Kütle	
		M	$[\text{M}]^+$
14	$\text{C}_{62}\text{H}_{42}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{P}_3$	1081	1081

6.9. Bileşik 15'e Ait Yapı Analizi



Şekil 6.41: Bileşik **15**'in yapısı.

Bileşik **15**'in yapısı Şekil 6.41'de görülmektedir. Bileşik **15**'in proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (298°K) AB_2 spin sistemindedir. $\delta=8.18$ ppm' de naftoksi gruplarının bağlandığı fosfor atomlarındaki $[\text{PO}_2]$ gruplarına ait pikler görülmektedir $\delta=6.97$ ppm' de görülen pikler ise kumarinin bağlı bulunduğu $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomuna aittir ($J_{\text{AB}} = 97.95$ Hz). Bu spektruma ait integral değerleri 1.0:2.47 olup 1:2 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.42).

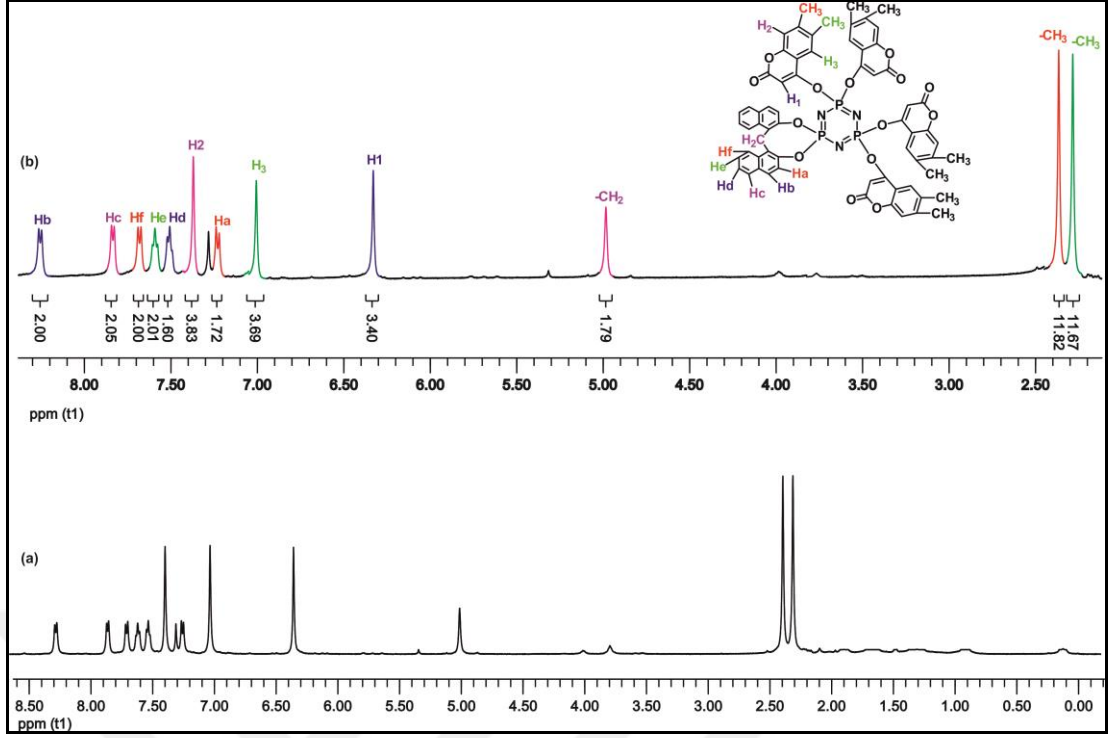


Şekil 6.42 a) Bileşik **15**'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.
b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik **15**'in kütle sonuçları Tablo 6.9'da verilmiştir.

Tablo 6.9: Bileşik **15**'in kütle sonucu.

B. No	Kapalı Formül	Kütle	
		M	$[\text{M}+\text{H}]^+$
15	$\text{C}_{65}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_{14}\text{P}_3$	1190	1191



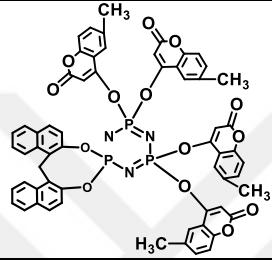
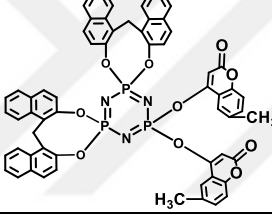
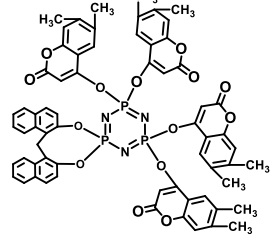
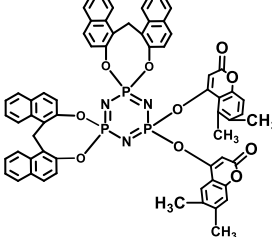
Şekil 6.43: a) Bileşik **15** 'e ait ^1H NMR spektrumu. b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

Bileşik **15**'in ^1H NMR spektrumunda, $\delta=8.25$ ppm'deki dublet pik H_b protonuna ait olup komşu karbondan bulunan H_a protonundan dolayı dublet olarak ($^3J_{\text{Hb-Ha}}=8.35$ Hz) yarılmıştır. $\delta=7.83$ ppm'de gözlenen dublet pik H_c protonuna ait olup komşu karbon atomunda bulunan H_d protonu ile eşleşerek rezonansa gelmiştir ($^3J_{\text{Hc-Hd}}=7.78$ Hz). $\delta=7.68$ ppm'de gözlenen ikili pik H_f protonuna aittir. Komşu karbondan bulunan H_e protonuyla eşleşerek ikiye yarılmıştır ($^3J_{\text{Hf-He}}=8.70$ Hz). $\delta=7.58$ ppm'de gözlenen üçlü pik ise H_e protonuna ait olup komşu karbon atomlarında bulunan H_f ve H_d protonları ile eşleşerek rezonansa gelmiştir ($^3J_{\text{He-Hf}}=8.70$ Hz, $^3J_{\text{He-Hd}}=7.40$ Hz). $\delta=7.50$ ppm'de H_d protonuna ait olan üçlü pik görülmektedir. H_d protonu ise komşu karbon atomlarında bulunan H_e ve H_c protonları ile eşleşerek üçe yarılmıştır ($^3J_{\text{Hd-Hc}}=7.78$ Hz, $^3J_{\text{Hd-He}}=7.40$ Hz). $\delta=7.36$ ppm'de gözlenen singlet pik ise H₂ protonuna aittir. $\delta=7.22$ ppm'de gözlenen ikili pik ise H_a protonuna aittir ve komşu karbondan bulunan H_b protonu ile eşleşerek rezonansa gelmiştir ($^3J_{\text{Ha-Hb}}=8.35$ Hz). $\delta=7.05$ ppm, $\delta=6.32$ ppm ve $\delta=4.98$ ppm'de görülen singlet pikler sırasıyla H₃, H₁ ve -CH₂ protonlarına aittir. Spektrum incelendiğinde -CH₃ protonlarının farklı olduğu görülmektedir. H₂ protonuna komşu -CH₃ protonlarının $\delta=2.36$ ppm'de,

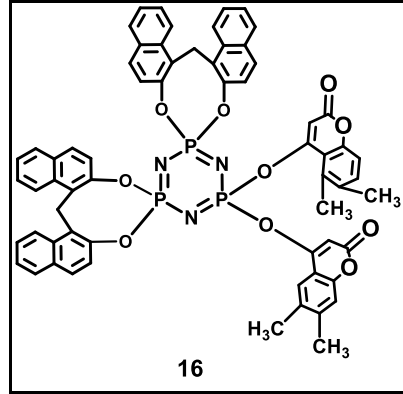
H₃ protonuna komşu –CH₃ protonlarının ise $\delta=2.28$ ppm’de rezonansa geldiği sonucuna varılabilir. İntegral değerleri de sırasıyla 2.00, 2.05, 2.00, 2.01, 1.60, 3.83, 1.72, 3.69, 3.40, 1.79, 11.82, 11.67 olup 2, 2, 2, 2, 2, 4, 2, 4, 4, 2, 12, 12 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.43).

Bileşik **13-16**’nın IR spektrumu verileri ise Tablo 6.10’da görülmektedir.

Tablo 6.10: Bileşiklerin (**13-16**) IR spektrumu verileri (ν cm⁻¹).

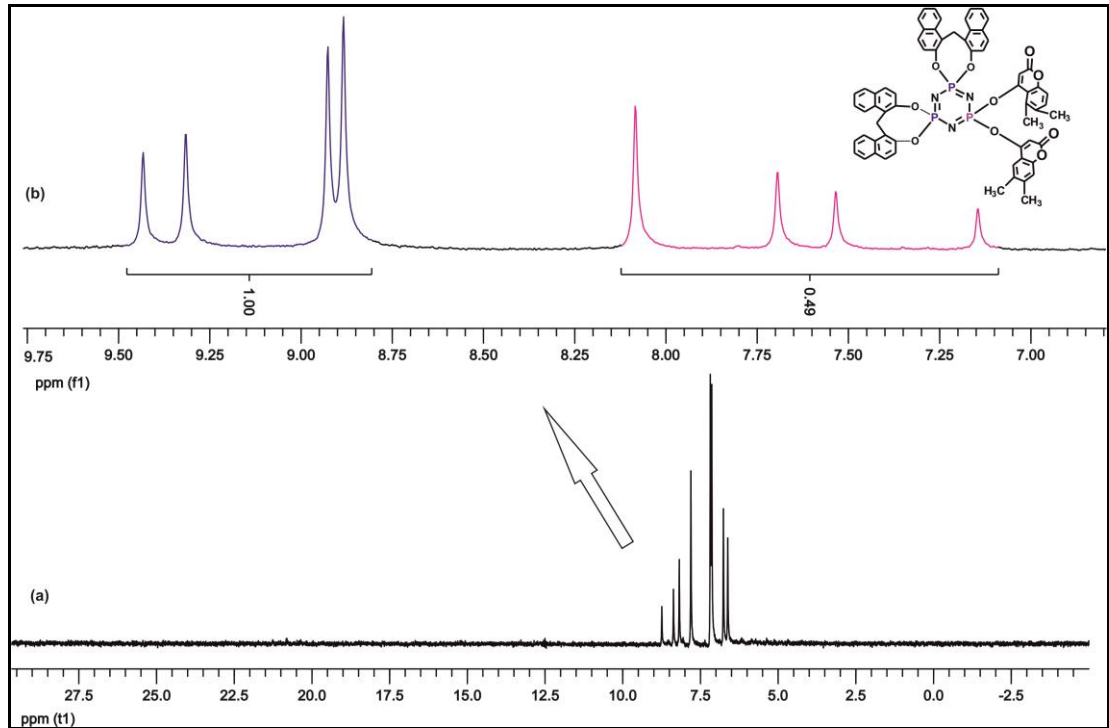
B. No	Açık Formül	ν (CH ₂)	ν (C=O)	ν (C-C)aro	ν (P-N)	ν (P-O)
13		2925	1722	1631	1276, 1262	1057
14		2917	1724	1675, 1629	1274, 1253	1052
15		2920	1718	1627	1210, 1183	1058, 1013
16		2920, 2851	1713	1627, 1596	1184, 1138	1052

6.10. Bileşik 16'ya Ait Yapı Analizi



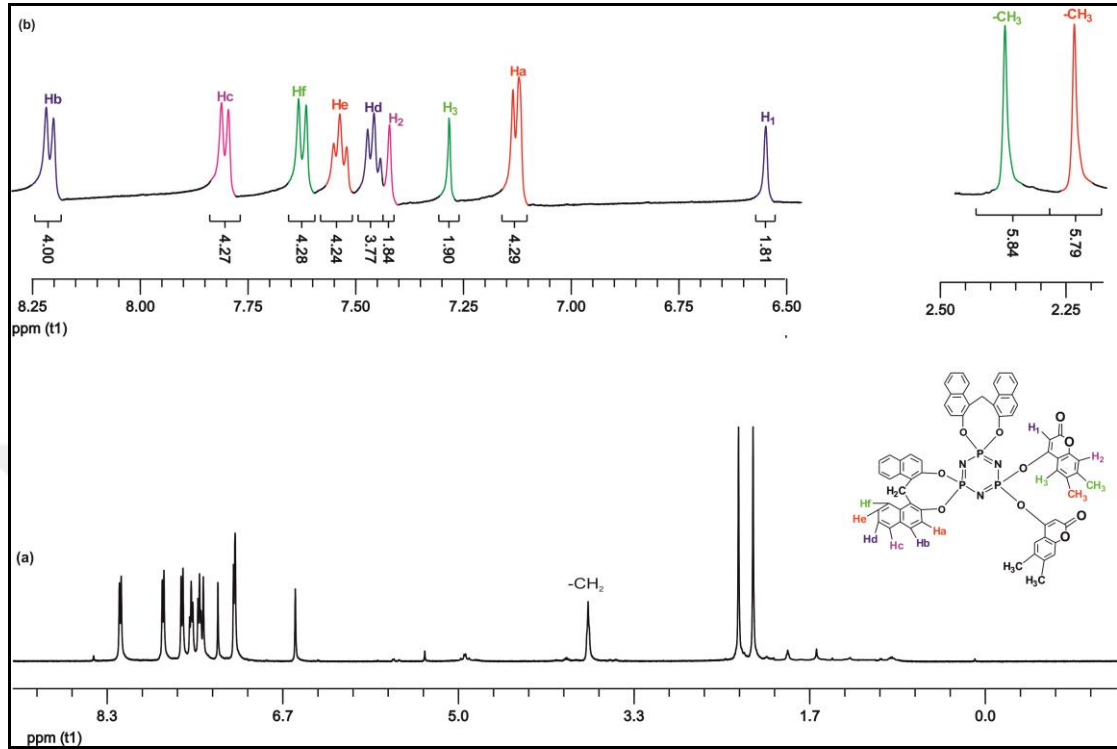
Şekil 6.44: Bileşik 16'nın yapısı.

Bileşik 16'nın yapısı Şekil 6.44'de görülmektedir. Bileşik 16'nın proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (298°K) A_2B spin sistemindedir. $\delta=8.93$ ppm' de naftoksi gruplarının bağlandığı fosfor atomlarındaki $[\text{PO}_2]$ gruplarına ait pikler görülmektedir. $\delta=7.81$ ppm' de görülen pikler ise kumarinlerin bağlı bulunduğu $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomuna aittir ($J_{AB} = 74.03$ Hz).



Şekil 6.45: a) Bileşik 16 'ya ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.
b) Genişletilmiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bu spektruma ait integral değerleri 1.0:0.49 olup 2:1 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.45).



Şekil 6.46: a) Bileşik 16'ya ait ¹H NMR spektrumu.
b) Genişletilmiş ¹H NMR spektrumu.

Bileşik 16'nın ¹H NMR spektrumunda, $\delta=8.22$ ppm'deki dublet pik H_b protonuna ait olup komşu karbondaki bulunan H_a protonundan dolayı dublet olarak yarılmıştır ($^3J_{H_b-H_a} = 8.25$ Hz). $\delta=7.81$ ppm'de gözlenen dublet pik H_c protonuna ait olup komşu karbon atomunda bulunan H_d protonu ile eşleşerek rezonansa gelmiştir ($^3J_{H_c-H_d} = 8.04$ Hz). $\delta=7.63$ ppm'de gözlenen ikili pik H_f protonuna aittir. Komşu karbondaki bulunan H_e protonuyla eşleşerek ikiye yarılmıştır. $\delta=7.54$ ppm'de gözlenen üçlü pik ise H_e protonuna ait olup komşu karbon atomlarında bulunan H_f ve H_d protonları ile eşleşerek rezonansa gelmiştir. $\delta=7.46$ ppm'de H_d protonuna ait olan üçlü pik görülmektedir. H_d protonu H_e ve H_c protonları ile eşleşmek suretiyle üçe yarılmıştır. $\delta=7.42$ ppm ve $\delta=7.28$ ppm de gözlenen tekli pikler sırasıyla H₂ ve H₃ protonlarına aittir. $\delta=7.13$ ppm'de görülen ikili pik ise H_a protonuna aittir. H_a protonu, H_b protonu ile eşleşerek ikiye yarılmıştır ($^3J_{H_a-H_b} = 8.25$ Hz). $\delta=6.55$ ppm ve $\delta=3.77$ ppm de gözlenen tekli pikler sırasıyla H₁ ve -CH₂ protonlarına aittir. Spektrum

incelendiğinde $-CH_3$ protonlarının ayrı ayrı rezonansa geldiği anlaşılmaktadır. Bu piklerden $\delta=2.34$ ppm'de görülen singlet pikin H_2 protonuna komşu $-CH_3$ protonlarına ait olduğu, $\delta=2.20$ ppm'de görülen singlet pikin ise H_3 protonuna komşu $-CH_3$ protonlarına ait olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 6.46). İntegral değerleri de sırasıyla 4.00, 4.27, 4.28, 4.24, 3.77, 1.84, 1.90, 4.29, 1.81, 3.73, 5.84, 5.79 olup 4, 4, 4, 4, 4, 2, 2, 4, 2, 4, 6, 6 protona karşılık gelmektedir.

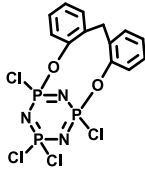
Bileşik **16**'nın kütle sonuçları Tablo 6.11'de verilmiştir.

Tablo 6.11: Bileşik **16**'nın kütle sonucu.

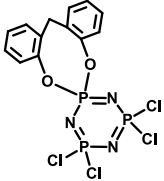
B. No	Kapalı Formül	Kütle	
		M	$[M+H]^+$
16	$C_{64}H_{46}N_3O_{10}P_3$	1109	1110

6.11. Sentezlenen Bileşiklerin x-Ray Analiz Sonuçları

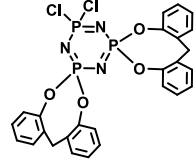
Tablo 6.12: Bileşik 1'e ait kristalografik veriler.

Bileşik	1
Kapalı Formül	$C_{13}H_{10}Cl_4N_3O_2P_3$
Açık Formül	
Molekül Ağırlığı	474.95
Sıcaklık(K)	120(2)
Kristal Sistemi	Monoclinic
Uzay Grubu	P21/c
a (Å)	10.9659(17)
b (Å)	20.118(3)
c (Å)	8.5001(13)
β (°)	95.530(3)°
Hacim (Å ³)	1866.5(5)
Z	4
Yoğunluk (calc, Mg/m ³)	1.690
Absorption coeff. (mm ⁻¹)	0.905
F(000)	952
θ_{max} (°)	25.03
Reflections collected	10333
Independent reflections	3278
R _{int} (merging R value)	0.0339
Parameters	226
R ($F^2 > 2\sigma F^2$)	0.0317
wR (all data)	0.1016
Goodness-of-fit on F^2	1.138

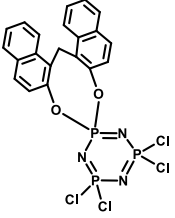
Tablo 6.13: Bileşik 2'ye ait kristalografik veriler.

Bileşik	2
Kapalı Formül	$C_{13}H_{10}Cl_4N_3O_2P_3$
Açık Formül	
Molekül Ağırlığı	474.95
Sıcaklık(K)	120(2)
Kristal Sistemi	Monoclinic
Uzay Grubu	$C2/c$
a (Å)	22.3662(4)
b (Å)	8.61640(10)
c (Å)	19.7578(3)
β (°)	91.8530(8)
Hacim (Å ³)	3805.66(10)
Z	8
Yoğunluk (calc, Mg/m ³)	1.658
Absorption coeff. (mm ⁻¹)	0.887
F(000)	1904
θ_{max} (°)	28.28
Reflections collected	20630
Independent reflections	4672
R _{int} (merging R value)	0.0277
Parameters	226
R ($F^2 > 2\sigma F^2$)	0.0279
wR (all data)	0.0723
Goodness-of-fit on F^2	1.036

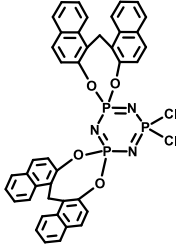
Tablo 6.14: Bileşik 4'e ait kristalografik veriler.

Bileşik	4
Kapalı Formül	$C_{26}H_{20}Cl_2N_3O_4P_3$
Açık Formül	
Molekül Ağırlığı	602.26
Sıcaklık(K)	120(2)
Kristal Sistemi	Monoclinic
Uzay Grubu	$C2/c$
a (Å)	27.8690(5)
b (Å)	10.4142(2)
c (Å)	18.0750(3)
β (°)	98.7210(10)
Hacim (Å ³)	5185.32(16)
Z	8
Yoğunluk (calc, Mg/m ³)	1.543
Absorption coeff. (mm ⁻¹)	0.476
F(000)	2464
θ_{max} (°)	28.31
Reflections collected	46741
Independent reflections	6434
R _{int} (merging R value)	0.0554
Parameters	343
R ($F^2 > 2\sigma F^2$)	0.0343
wR (all data)	0.0880
Goodness-of-fit on F^2	1.022

Tablo 6.15: Bileşik 6'ya ait kristalografik veriler.

Bileşik	6
Kapalı Formül	$C_{21}H_{14}Cl_4N_3O_2P_3$
Açık Formül	
Molekül Ağırlığı	575.06
Sıcaklık(K)	120(2)
Kristal Sistemi	Monoclinic
Uzay Grubu	P21/n
a (Å)	15.8141(3)
b (Å)	7.7878(2)
c (Å)	19.2451(3)
β (°)	94.8740(10)
Hacim (Å ³)	2361.60(8)
Z	4
Yoğunluk (calc, Mg/m ³)	1.617
Absorption coeff. (mm ⁻¹)	0.731
F(000)	1160
θ_{max} (°)	25.02
Reflections collected	15643
Independent reflections	4171
R _{int} (merging R value)	0.0374
Parameters	298
R ($F^2 > 2\sigma F^2$)	0.0313
wR (all data)	0.0796
Goodness-of-fit on F^2	1.040

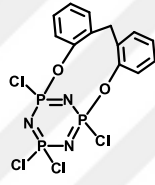
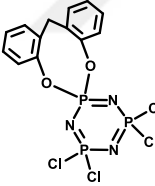
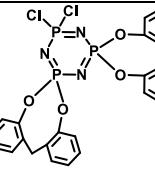
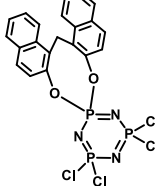
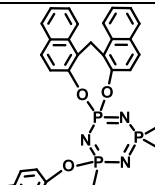
Tablo 6.16: Bileşik 7'ye ait kristalografik veriler.

Bileşik	7
Kapalı Formül	$C_{42}H_{28}Cl_2N_3O_4P_3$
Açık Formül	
Molekül Ağırlığı	802.48
Sıcaklık(K)	120(2)
Kristal Sistemi	Monoclinic
Uzay Grubu	P21/c
a (Å)	13.8166(4)
b (Å)	23.6049(7)
c (Å)	11.1516(4)
β (°)	101.0850(17)
Hacim (Å ³)	3569.1(2)
Z	4
Yoğunluk (calc, Mg/m ³)	1.493
Absorption coeff. (mm ⁻¹)	0.367
F(000)	1648
θ_{max} (°)	25.02
Reflections collected	22768
Independent reflections	6293
R _{int} (merging R value)	0.0804
Parameters	487
R ($F^2 > 2\sigma F^2$)	0.0457
wR (all data)	0.1124
Goodness-of-fit on F^2	1.024

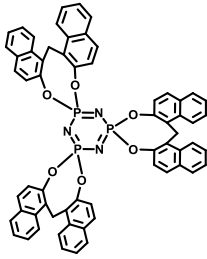
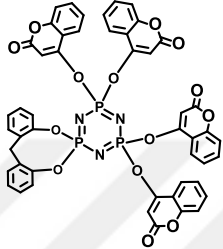
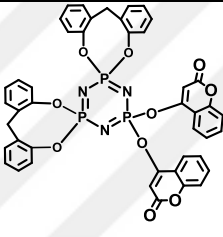
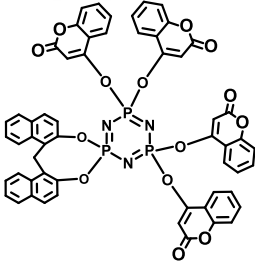
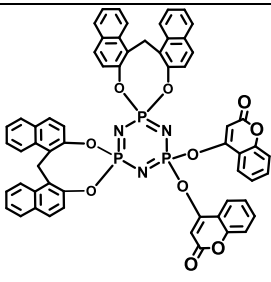
7. FOTOFİZİKSEL ÖZELLİKLERİN İNCELENMESİ

Sentezlenen siklotrifosfazen türevi bileşiklerin fotofiziksel özelliklerinin incelenmesi amacıyla UV-Visible ve Floresans Spektrofotometresi cihazları kullanıldı. Sentezlenen bileşiklerin spektrumları, tetrahidrofuran çözücüsünde farklı konsantrasyonlarda kaydedildi. Sentezlenen bileşiklerin tetrahidrofuran içerisinde soğurma (absorpsiyon) ve floresans spektrumları incelendi. Bileşikler için UV-Visible Spektrofotometresi cihazında gözlenen absorpsiyon pikleri Tablo 7.1’ de verildi.

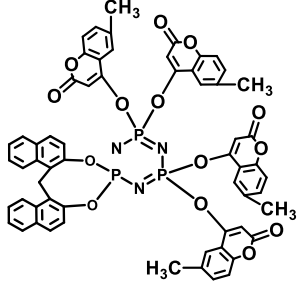
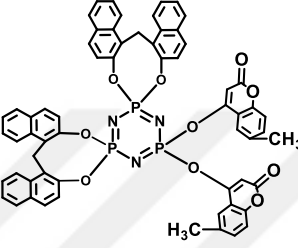
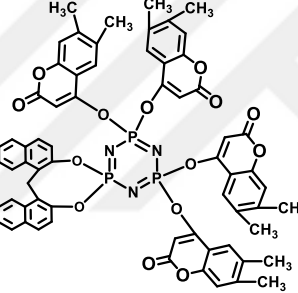
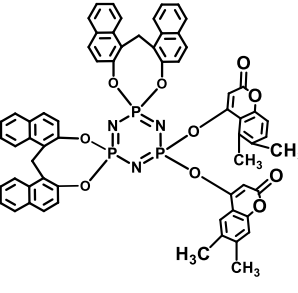
Tablo 7.1: Siklotrifosfazen türevlerinin UV-Visible absorpsiyon pikleri.

Sıra No	Bileşik No	Bileşik	Gözlenen absorpsiyon pikleri
1	1		220 nm, 260 nm
2	2		222 nm, 261 nm
3	4		217 nm, 264 nm
4	6		221 nm, 283 nm
5	7		214 nm, 227 nm, 283 nm, 291 nm, 313 nm

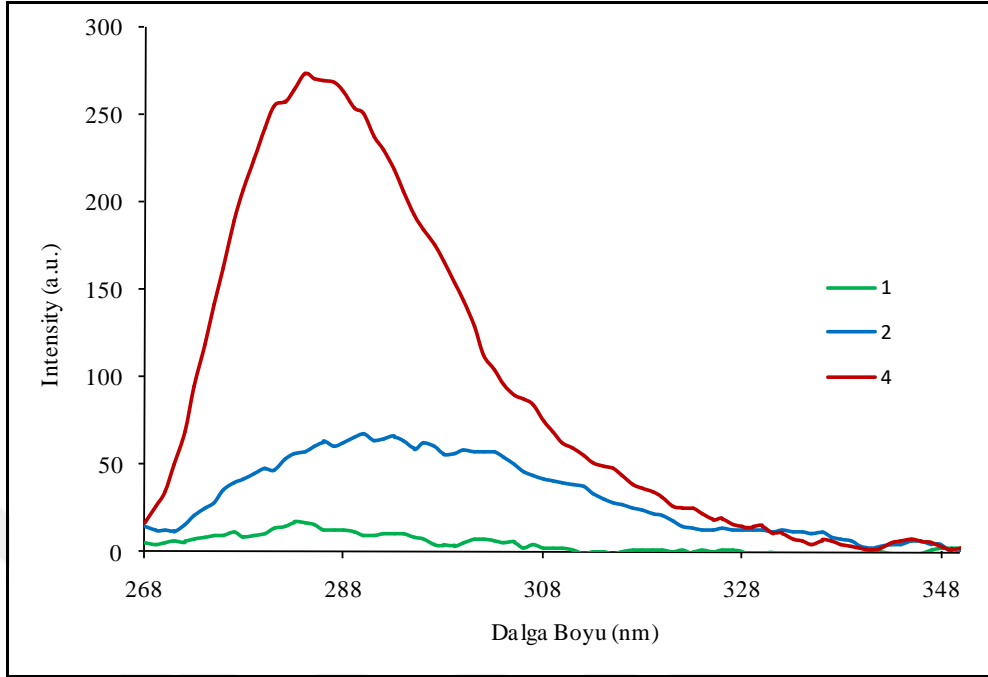
Tablo 7.1: Devam

Sıra No	Bileşik No	Bileşik	Gözlenen absorpsiyon pikleri
6	8		208 nm, 217 nm, 232 nm, 261 nm, 292 nm, 320 nm
7	9		250 nm, 275 nm, 315 nm
8	10		268 nm, 295 nm, 315 nm
9	11		270 nm, 295 nm, 312 nm
10	12		275 nm, 285 nm, 320 nm

Tablo 7.1: Devam

Sıra No	Bileşik No	Bileşik	Gözlenen absorpsiyon pikleri
11	13		270 nm, 290 nm, 320 nm
12	14		275 nm, 290 nm, 325 nm
13	15		218 nm, 275 nm, 320 nm
14	16		220 nm, 275 nm, 325 nm

7.1. Bileşik 1, 2 ve 4'e Ait Floresans Spektrumları

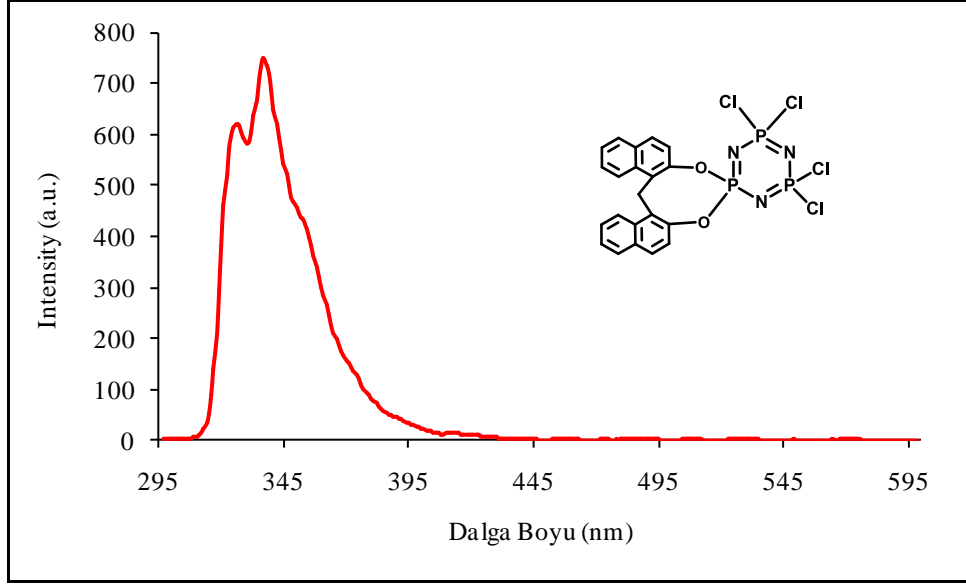


Şekil 7.1: Bileşik 1, 2 ve 4'e ait floresans emisyon spektrumu.

Bileşik 1, 2 ve 4'ün THF içerisindeki 1×10^{-4} M lık çözeltilerinin 265 nm de uyarılması ile elde edilen floresans emisyon spektrumunda emisyon maksimum değeri 284 nm olarak bulundu (Şekil 7.1). Spektrum incelendiğinde; Fenoksi sübstitue siklotrifosfazen türevleri içerisinde dispiro yapıdaki Bileşik 4'ün floresans emisyon şiddetinde belirgin bir artış görülmektedir.

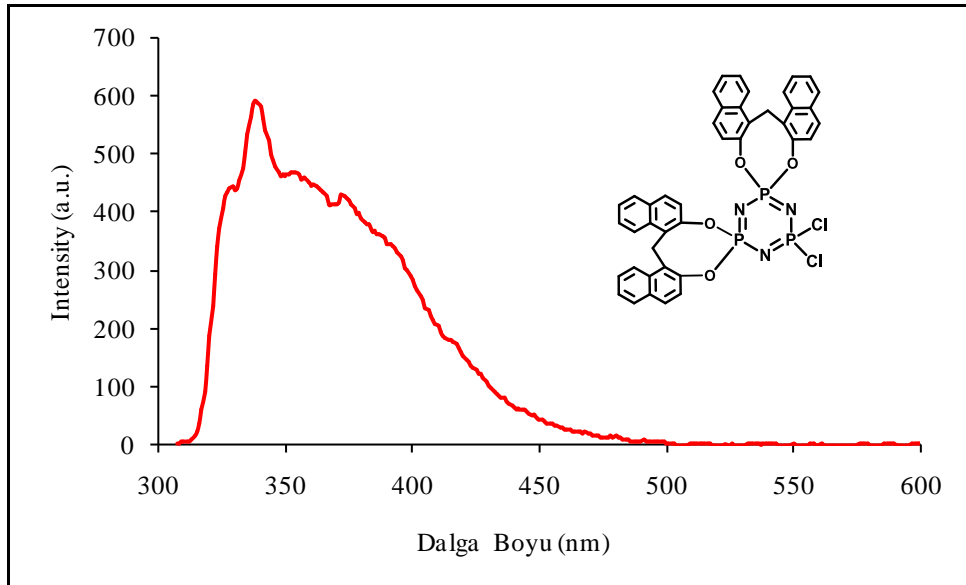
7.2. Bileşik 6'ya Ait Floresans Spektrumu

Bileşik 6'nın THF içerisindeki 1×10^{-4} M lık çözeltisinin 285 nm de uyarılması ile elde edilen floresans emisyon spektrumunda emisyon maksimum değeri 327 nm ve 337 nm olarak bulundu (Şekil 7.2).



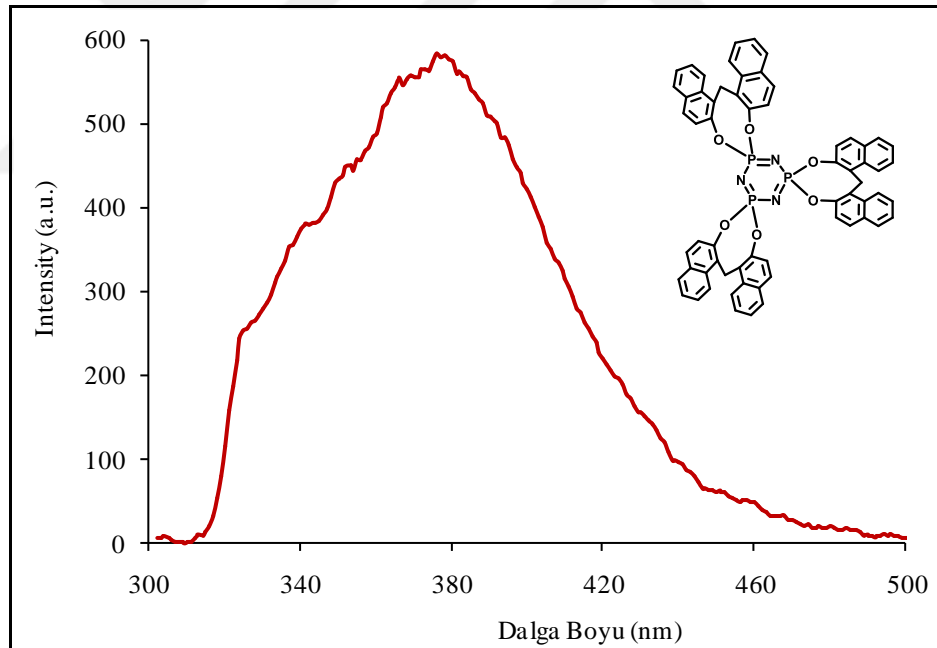
7.3. Bileşik 7'ye Ait Floresans Spektrumu

Bileşik 7'nin THF içerisindeki 1×10^{-4} M lık çözeltisinin 295 nm de uyarılması ile elde edilen floresans emisyon spektrumunda emisyon maksimum değeri 337 nm olarak bulundu (Şekil 7.3).



7.4. Bileşik 8'e Ait Floresans Spektrumu

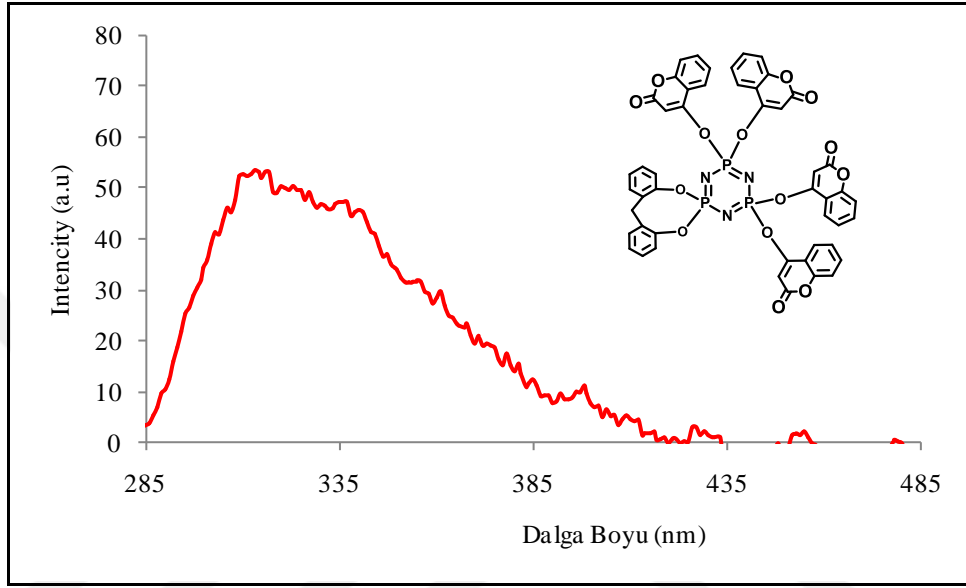
Bileşik 8'in THF içerisindeki 1×10^{-5} M lık çözeltisinin 295 nm de uyarılması ile elde edilen floresans emisyon spektrumunda emisyon maksimum değeri 323 nm, 340 nm ve 390 nm olarak gözlemlendi (Şekil 7.4). Trispiro yapıdaki naftoksi substitue siklotrifosfazen türevinin naftoksi gruplarında bulunan aromatik yapıdaki çift bağların arasında görülen kovalent olmayan π - π etkileşimleri sonucunda yapıda floresans emisyon şiddetinin arttığı görülmektedir. Bunun yanında naftol grupları arasında gözlenen bu etkileşimler monomer/excimer olarak tanımlanmıştır [138]. Excimer olayı nedeniyle trispiro yapıdaki bileşik 8'in emisyon spektrumunda 390 nm' de pik görülmektedir. Excimer olayının naftoksi substitue siklotrifosfazenler veya yoğun konsantrasyondaki poliaromatik hidrokarbonlarda görüldüğü literatürde bildirilmiştir [139].



Şekil 7.4: Bileşik 8'e ait floresans emisyon spektrumu.

7.5. Bileşik 9'a Ait Floresans Spektrumu

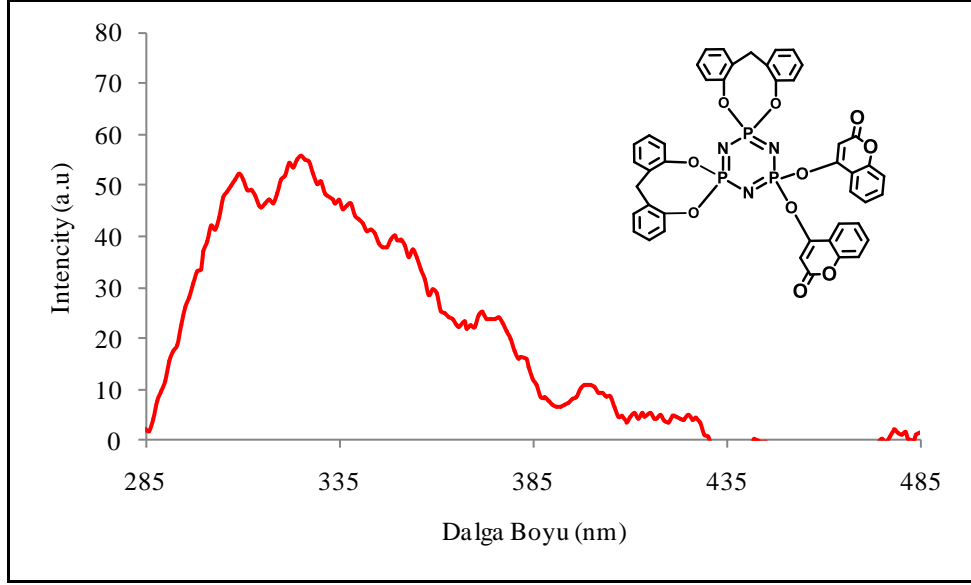
Bileşik 9'un THF içerisindeki 1×10^{-5} M lık çözeltisinin 270 nm de uyarılması ile elde edilen floresans emisyon spektrumunda emisyon maksimum değeri 313 nm olarak bulundu (Şekil 7.5).



Şekil 7.5: Bileşik 9'a ait floresans emisyon spektrumu.

7.6. Bileşik 10'a Ait Floresans Spektrumu

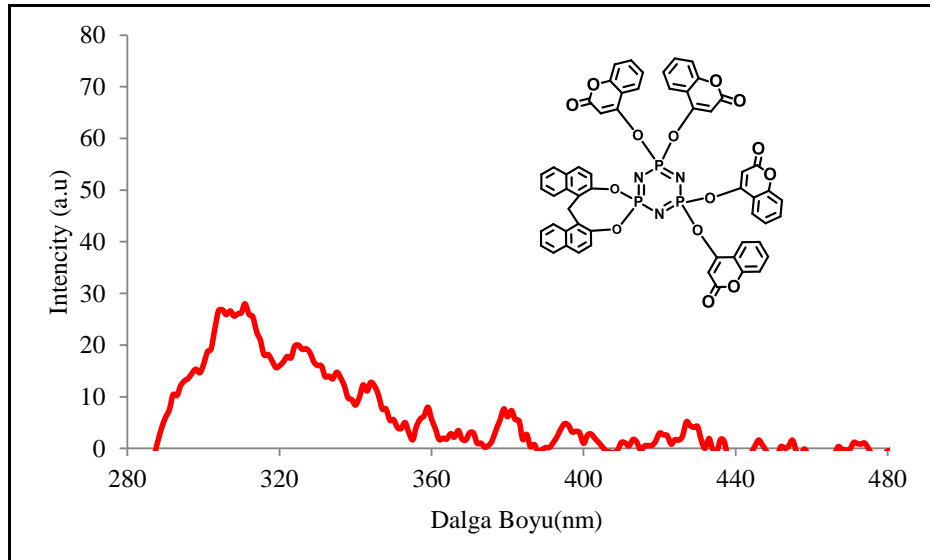
Bileşik 10'un THF içerisindeki 1×10^{-5} M lık çözeltisinin 270 nm de uyarılması ile elde edilen floresans emisyon spektrumunda emisyon maksimum değeri 325 nm olarak bulundu (Şekil 7.6).



Şekil 7.6: Bileşik 10'a ait floresans emisyon spektrumu.

7.7. Bileşik 11'e Ait Floresans Spektrumu

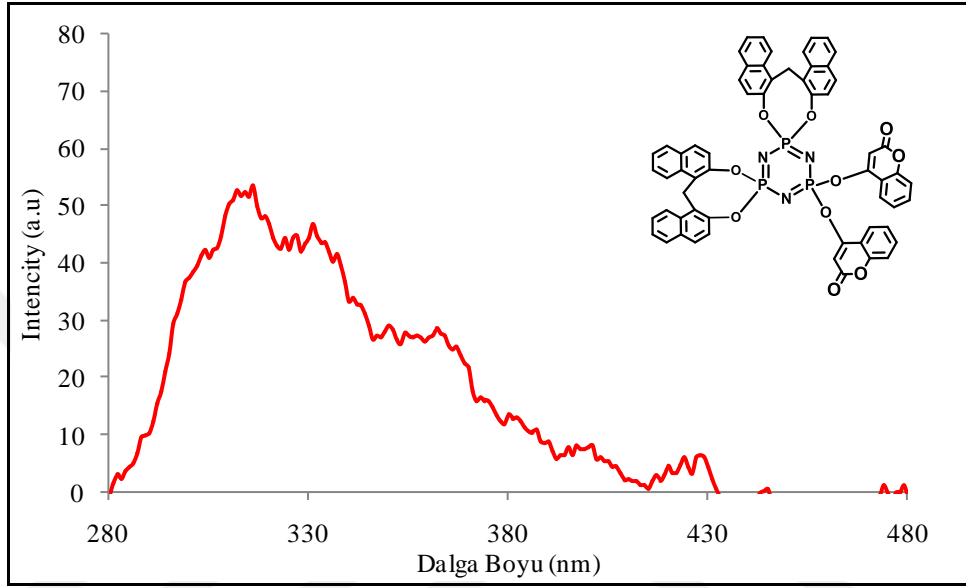
Bileşik 11'in THF içerisindeki 1×10^{-5} M lık çözeltisinin 270 nm de uyarılması ile elde edilen floresans emisyon spektrumunda emisyon maksimum değeri 310 nm olarak bulundu (Şekil 7.7).



Şekil 7.7: Bileşik 11'e ait floresans emisyon spektrumu.

7.8. Bileşik 12'ye Ait Floresans Spektrumu

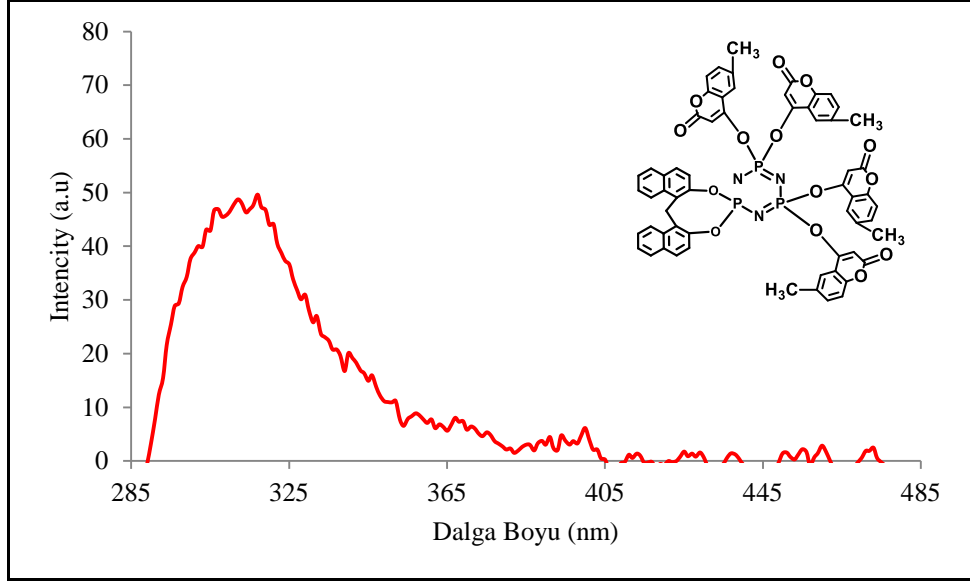
Bileşik 12'nin THF içerisindeki 1×10^{-5} M lık çözeltisinin 270 nm de uyarılması ile elde edilen floresans emisyon spektrumunda emisyon maksimum değeri 320 nm olarak bulundu (Şekil 7.8).



Şekil 7.8: Bileşik 12'ye ait floresans emisyon spektrumu.

7.9. Bileşik 13'e Ait Floresans Spektrumu

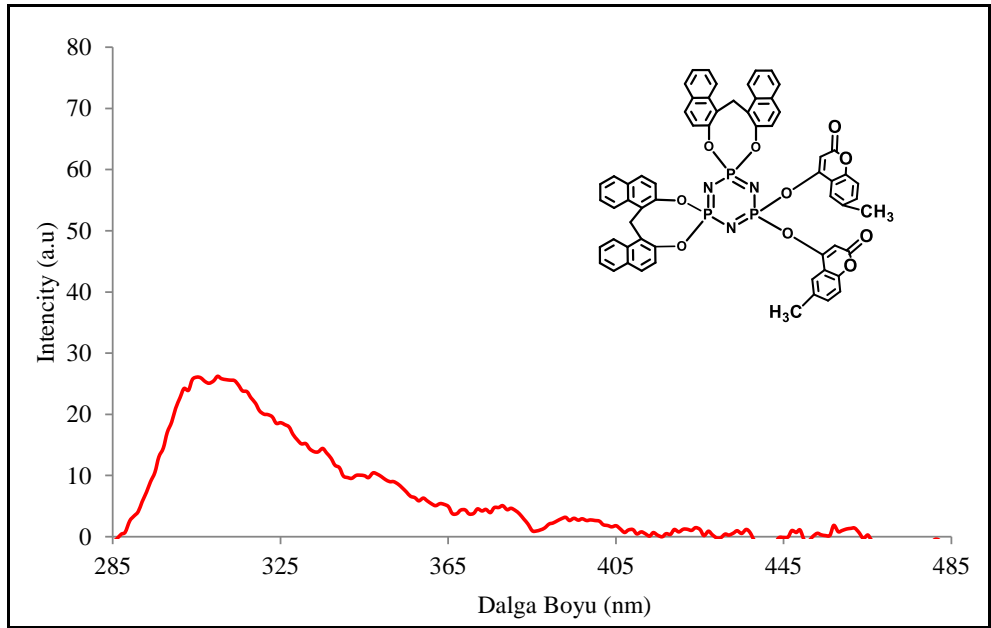
Bileşik 13'ün THF içerisindeki 1×10^{-5} M lık çözeltisinin 270 nm de uyarılması ile elde edilen floresans emisyon spektrumunda emisyon maksimum değeri 317 nm olarak bulundu (Şekil 7.9).



Şekil 7.9: Bileşik 13'e ait floresans emisyon spektrumu.

7.10. Bileşik 14'e Ait Floresans Spektrumu

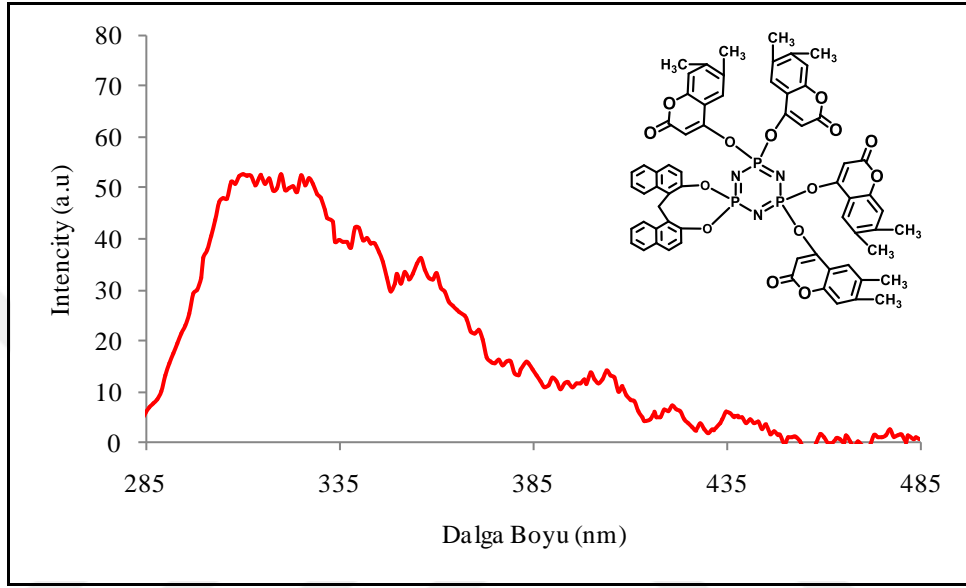
Bileşik 14'ün THF içerisindeki 1×10^{-5} M lık çözeltisinin 270 nm de uyarılması ile elde edilen floresans emisyon spektrumunda emisyon maksimum değeri 305 nm olarak bulundu (Şekil 7.10).



Şekil 7.10: Bileşik 14'e ait floresans emisyon spektrumu.

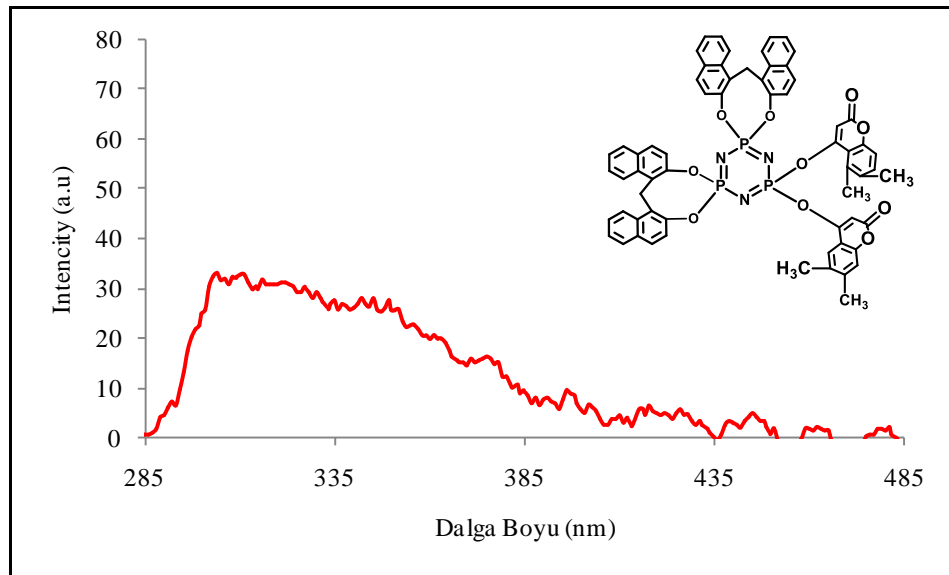
7.11. Bileşik 15'e Ait Floresans Spektrumu

Bileşik **15**'in THF içerisindeki 1×10^{-5} M lık çözeltisinin 270 nm de uyarılması ile elde edilen floresans emisyon spektrumunda emisyon maksimum değeri 310 nm olarak bulundu (Şekil 7.11).



Şekil 7.11: Bileşik **15**'e ait floresans emisyon spektrumu.

7.12. Bileşik 16'ya Ait Floresans Spektrumu



Şekil 7.12: Bileşik **16**'ya ait floresans emisyon spektrumu.

Bileşik **16**'nın THF içerisindeki 1×10^{-5} M lık çözeltisinin 270 nm de uyarılması ile elde edilen floresans emisyon spektrumunda emisyon maksimum değeri 310 nm olarak bulundu (Şekil 7.12).

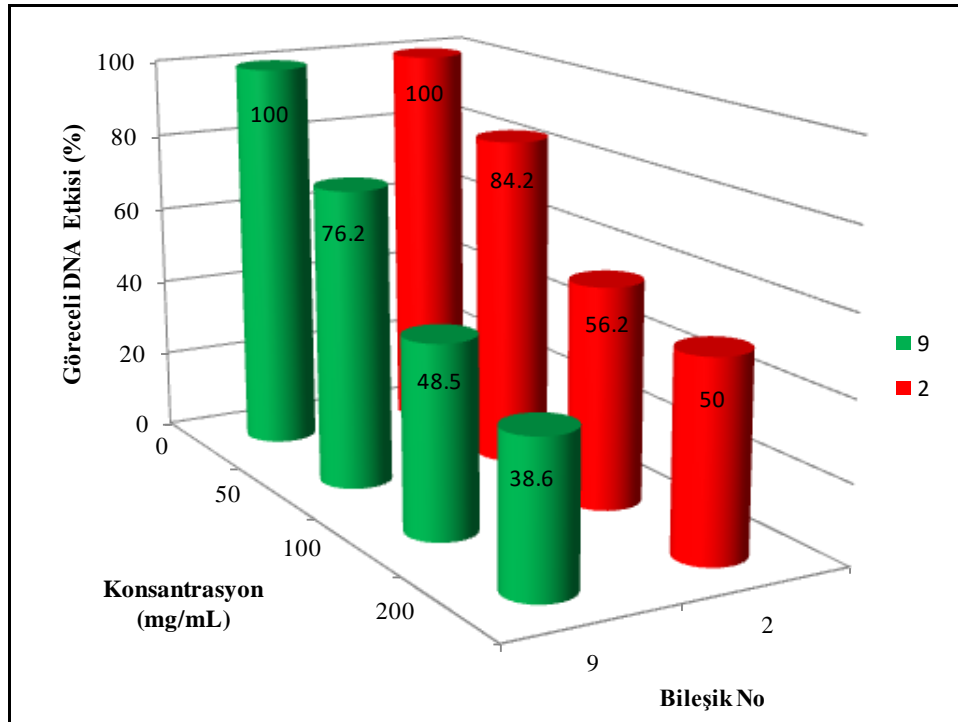


8. DNA ETKİLEŞİMLERİNİN İNCELENMESİ

Tez kapsamında, sentezlenen siklotrifosfazen türevi bileşiklerin DNA etkileşim incelemeleri, MiSens biyosensör cihazında yapıldı. DNA etkileşim incelemeleri, bileşiklerin DMSO (Dimetilsülfoksit) çözücüsünde farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanarak yapıldı.

8.1. Bileşik 2 ve 9'un DNA Etkileşiminin İncelenmesi

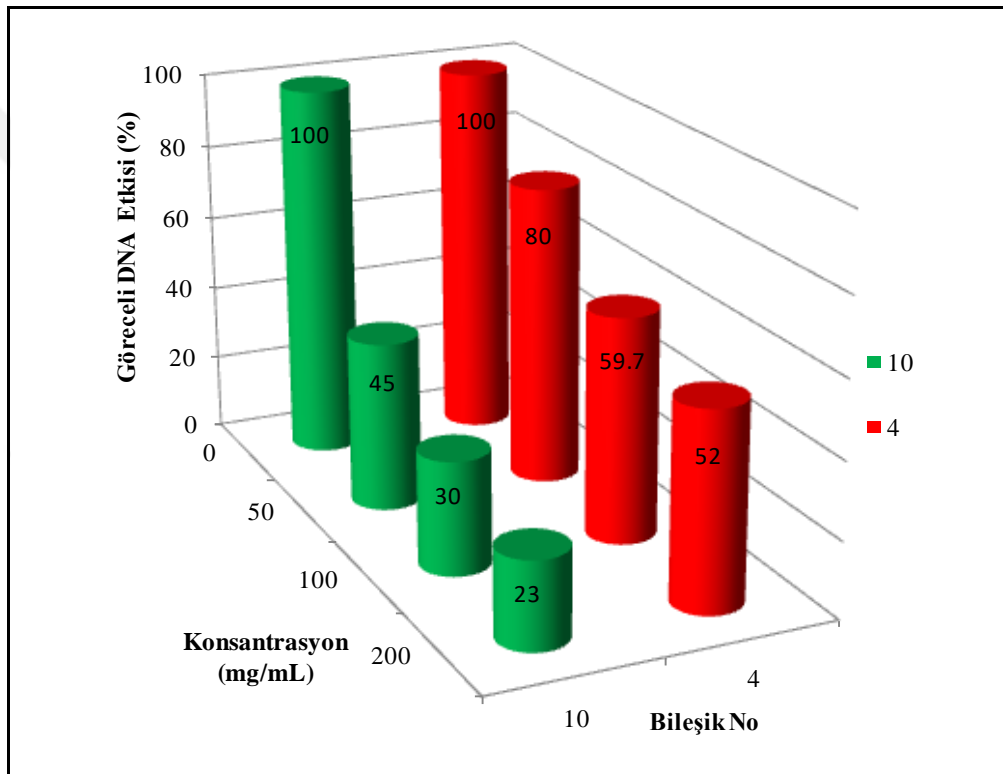
Hibrit DNA ile, kimyasal bileşik olmadan alınan ölçümler 100 olarak kabul edilmektedir. Bileşik 2 ve 9'un her biri ile ayrı ayrı DMSO çözücüsü içerisinde 50, 100 ve 200 mM'lık konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlandı. 2 nolu başlangıç maddesinin 200 mM derişimde DNA etkileşim yüzdesi % 50 olarak hesaplandı. 9 nolu 4-hidroksikumarin süstitüe siklotrifosfazen bileşğinin ise 200 mM derişimde DNA etkileşim yüzdesi % 61.4'tür. 2 nolu başlangıç maddesine 4-hidroksikumarin süstitüe edilmesinin DNA ile etkileşim yüzdesini arttırdığı açıkça görölmektedir (Şekil 8.1).



Şekil 8.1: Bileşik 2 ve 9'a ait MiSens cihazı DNA etkileşim analizi.

8.2. Bileşik 4 ve 10'un DNA Etkileşiminin İncelenmesi

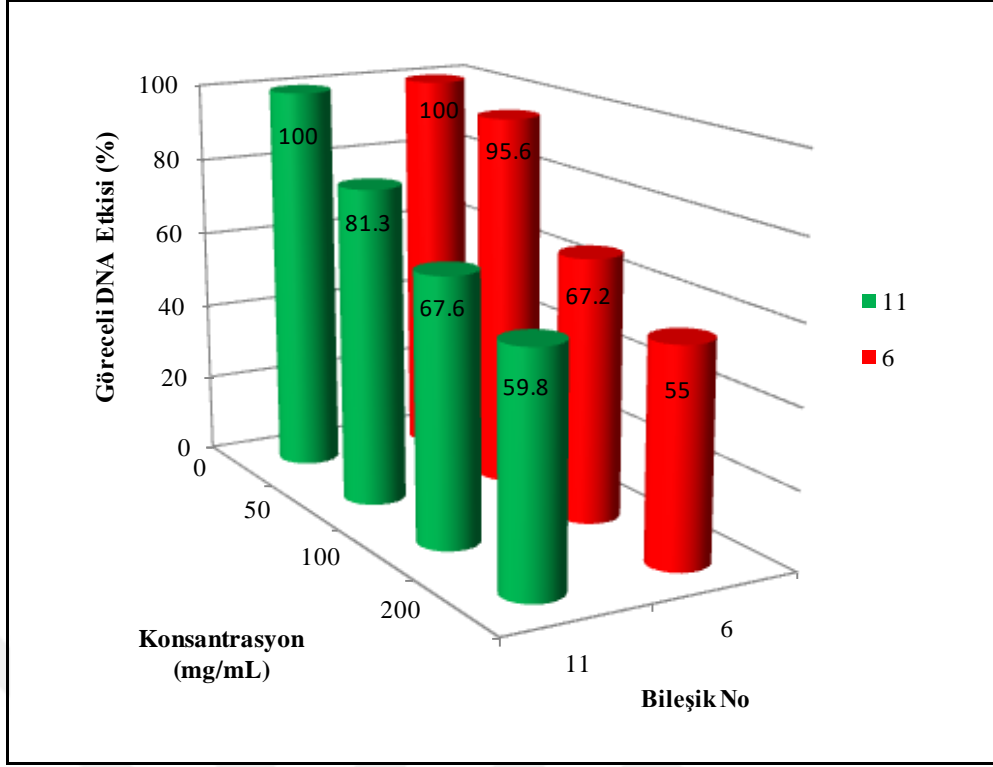
Bileşik 4 ve 10'un MiSens cihazında gerçekleştirilen DNA etkileşim analizi sonuçları incelendiğinde, 4 ve 10 nolu bileşikler ile alınan ölçümlerde en yüksek etkileşim yüzdesi 200 mM konsantrasyonda görüldü. 4 nolu bileşik için DNA etkileşim yüzdesi % 48 iken, 10 nolu bileşik için % 77 olarak bulundu. Buradan 4 nolu başlangıç maddesine 4-hidroksikumarin süstitüe edilmesi sonucunda DNA etkileşiminde % 29 oranında bir artış gerçekleştiği anlaşılmaktadır (Şekil 8.2).



Şekil 8.2: Bileşik 4 ve 10'a ait MiSens cihazı DNA etkileşim analizi.

8.3. Bileşik 6 ve 11'in DNA Etkileşiminin İncelenmesi

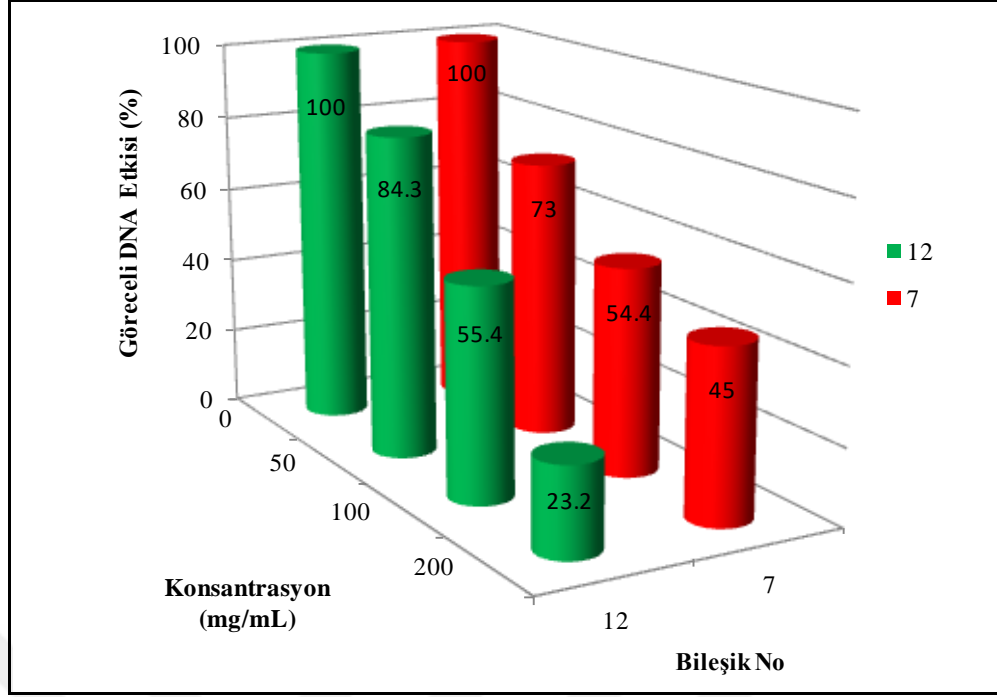
Bileşik 6 ve 11'in DNA etkileşim incelenmesi sonuçları 200 mM konsantrasyon için sırasıyla % 45 ve % 40.2 olarak bulundu. Sonuçlar incelendiğinde, 6 nolu bileşiğe 4-hidroksikumarin süstitüe edilmesinin DNA etkileşim yüzdesinde anlamlı bir artışa neden olmadığı görüldü (Şekil 8.3).



Şekil 8.3: Bileşik 6 ve 11'e ait MiSens cihazı DNA etkileşim analizi.

8.4. Bileşik 7 ve 12'nin DNA Etkileşiminin İncelenmesi

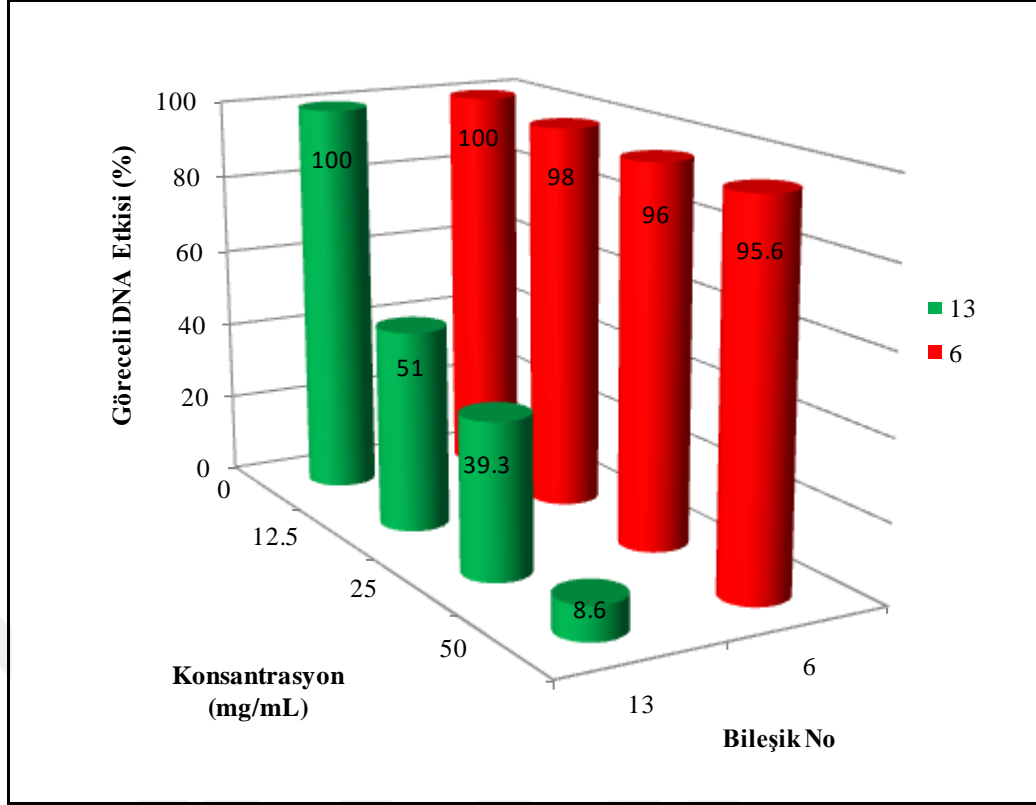
Bileşik 7 ve 12'nin DNA etkileşim analizi sonuçlarında, konsantrasyon artışına bağlı olarak DNA etkileşim yüzdesinin arttığı anlaşıldı. Göreceli DNA etkisi, her iki bileşik için 200 mM konsantrasyonda en yüksek seviyede gerçekleşti. 7 nolu bileşik için DNA etkileşim yüzdesi % 55 iken 12 nolu bileşik için ise % 76.8 olarak hesaplandı. 7 nolu bileşiğe 4-hidroksikumarin süstitüe edilmesi sonucunda DNA etkileşiminde % 21.8 oranında artış gözlemlendi (Şekil 8.4).



Şekil 8.4: Bileşik 7 ve 12'ye ait MiSens cihazı DNA etkileşim analizi.

8.5. Bileşik 6 ve 13'ün DNA Etkileşiminin İncelenmesi

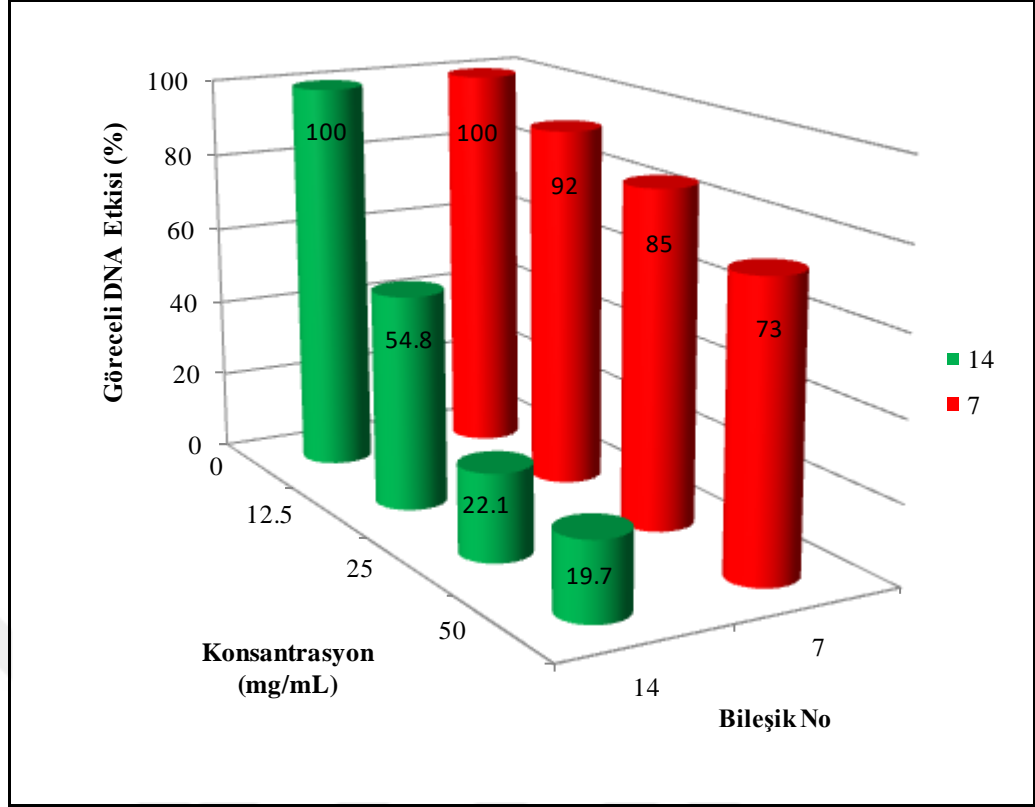
Bileşik 6 ve 13'ün DNA etkileşim analizleri, çözünürlük problemi nedeniyle düşük konsantrasyonlarda (12.5 mM, 25 mM ve 50 mM) incelendi. 6 nolu başlangıç maddesinin DNA etkileşim analizi sonuçlarında anlamlı bir değer görülmemesine rağmen 13 nolu bileşik için % 91.4 gibi oldukça yüksek bir değer elde edildi. Buradan 6 nolu başlangıç maddesine 4-hidroksi-6-metilkumarin süstitüe edilmesinin, DNA etkileşimini yüksek oranda arttırdığı anlaşılmaktadır (Şekil 8.5).



Şekil 8.5: Bileşik 6 ve 13'e ait MiSens cihazı DNA etkileşim analizi.

8.6. Bileşik 7 ve 14'ün DNA Etkileşiminin İncelenmesi

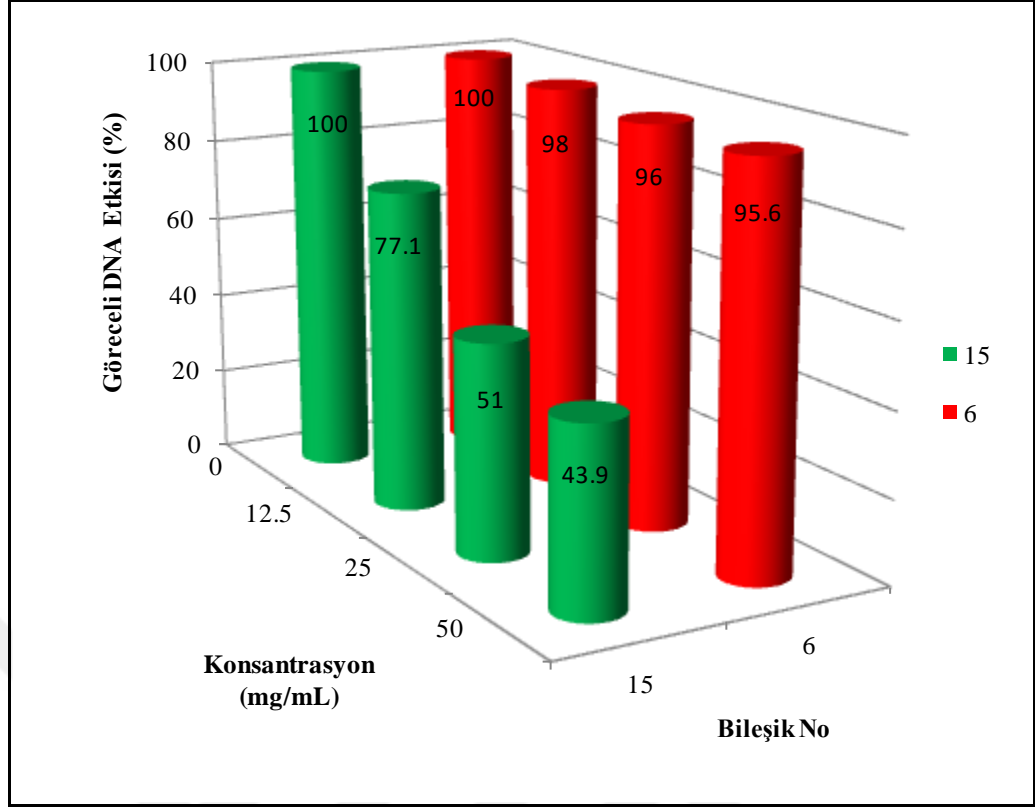
Bileşik 7 ve 14'e ait DNA etkileşim analizi sonuçları 50 mM konsantrasyon için sırasıyla % 27 ve % 80.3 olarak bulundu. Buradan 7 nolu bileşiğe 4-hidroksi-6-metilkumarin süstitüe edilmesi sonucu DNA etkileşim analizinde % 53.3 oranında bir artış gerçekleştiği anlaşıldı (Şekil 8.6).



Şekil 8.6: Bileşik 7 ve 14'e ait MiSens cihazı DNA etkileşim analizi.

8.7. Bileşik 6 ve 15'in DNA Etkileşiminin İncelenmesi

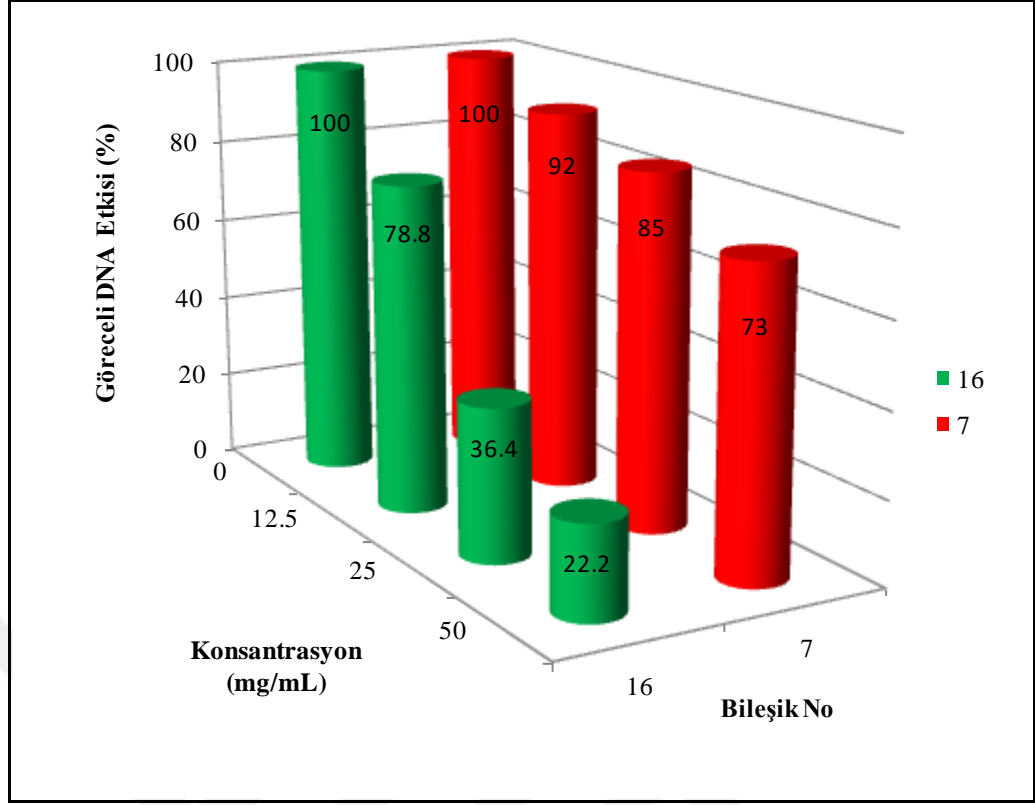
Bileşik 6 ve 15'e ait DNA etkileşim analizi sonuçlarında 6 nolu başlangıç maddesi için anlamlı bir sonuç gözlenmedi. 6 ve 15 nolu bileşikler için 50 mM konsantrasyonda DNA etkileşim analizleri sırasıyla % 4.4 ve % 56.1 olarak hesaplandı. Sonuçlar değerlendirildiğinde, 6 nolu başlangıç maddesine 4-hidroksi-6,7-dimetilkumarin süstitüe edilmesi durumunda, DNA etkileşim analizinde % 51.7 oranında bir artış görüldü (Şekil 8.7).



Şekil 8.7: Bileşik 6 ve 15'e ait MiSens cihazı DNA etkileşim analizi.

8.8. Bileşik 7 ve 16'nın DNA Etkileşiminin İncelenmesi

Bileşik 7 ve 16'nın DNA etkileşim analizi sonuçları incelendiğinde 50 mM konsantrasyonda 7 bileşiği için % 27, 16 bileşiği için % 77.8 oranında DNA etkileşimi hesaplandı. 7 bileşiğine 4-hidroksi-6,7-dimetilkumarin süstitüe edildiğinde DNA etkileşiminde % 50.8 oranında artış görüldü (Şekil 8.8).



Şekil 8.8: Bileşik 7 ve 16'ya ait MiSens cihazı DNA etkileşim analizi.

9. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Siklofosfazenler, farklı nükleofillerle yeni türde ve özellikle bileşiklerin sentezlenmesine olanak sağlaması bakımından oldukça fazla araştırmanın yapıldığı bileşik sınıfları arasında yer almaktadır. Aromatik reaktiflerle siklofosfazenlerin reaksiyonu sonucu floresans özellik gösteren bileşikler elde edilebilmektedir. Bu bileşiklerin floresans sensör, biyosensör, metal sensör gibi birçok özellik sergilediği bilinmektedir. Kumarin bileşikleri ise, benzopiranlar olarak bilinen heterosiklik bileşiklerdir. Kumarin türevleri, yapılarında bulunan gruplara bağlı olarak çok farklı özellik sergileyebilmeleri nedeniyle, birçok araştırmacının ilgisini çeken kimyasal bileşiklerdir.

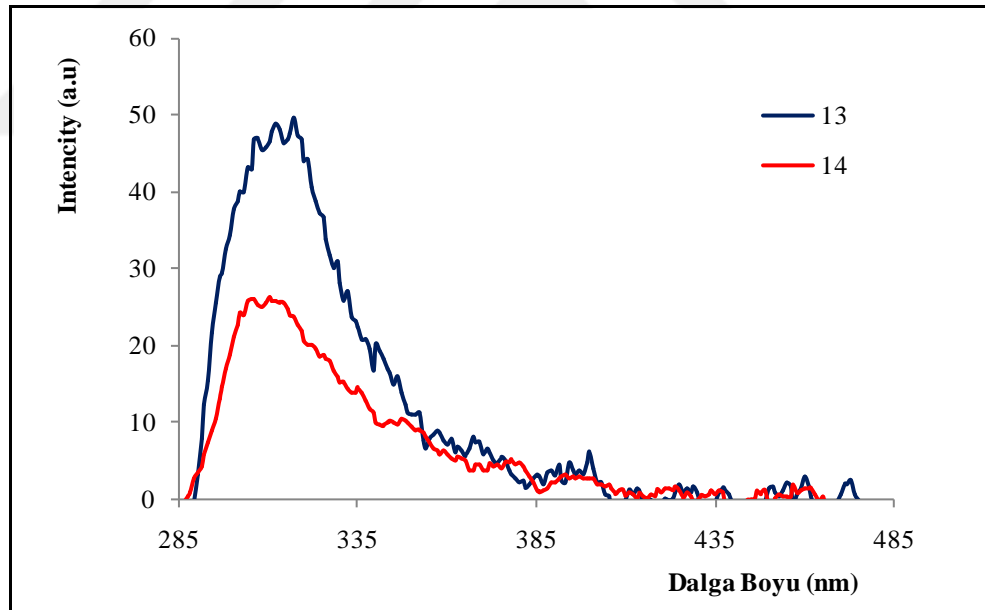
Bu çalışmada, difonksiyonlu aromatik reaktifler olan 1,1'-metilen-di-2-naftol ve 2,2'-dihidroksifenilmetan ile trimerin ayrı ayrı reaksiyonundan mono-spiro ve di-spiro yapıdaki başlangıç maddeleri elde edildi (**1-8**). Elde edilen bu bileşikler ile 4-hidroksikumarin, 4-hidroksi-6-metilkumarin ve 4-hidroksi-6,7-dimetilkumarin bileşiklerinin ayrı ayrı reaksiyonları gerçekleştirildi (**9-16**). Sentezlenen ve izole edilen tüm ürünler (**1-16**) uygun yöntemlerle saflaştırıldıktan sonra ürünlerin yapıları kütle (MALDI-TOF), ^{31}P , ^1H NMR spektroskopisi ve tek kristal X-ışını kırınımı tekniği (**1, 2, 4, 6, 7**) ile aydınlatıldı. Sentezleri gerçekleştirilen siklotrifosfazen bileşiklerinin fotofiziksel özelliklerini araştırmak için UV-Vis ve floresans spektrofotometresi kullanıldı. Bileşiklerin, tetrahidrofuran içerisinde soğurma (absorbsiyon) ve floresans spektrumları incelendi.

Sentezlenen siklotrifosfazen bileşiklerinin tetrahidrofuran içerisinde uygun konsantrasyonlarda (1×10^{-4} M – 1×10^{-6} M aralığında) soğurma(absorpsiyon) spektrumları incelendiğinde genel olarak bileşiklerin 220, 240, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320 nm'lerde soğurma bantlarının olduğu belirlendi.

Bileşiklerin tetrahidrofuran içerisinde uygun konsantrasyonlarda (1×10^{-4} M – 1×10^{-5} M aralığında) floresans emisyon spektrumları incelendi. Bileşiklerin emisyon spektrumlarında genel olarak 284-390 nm aralığında değişen değerlerde emisyon bantları görüldü. Başlangıç maddelerinin floresans emisyon spektrumları değerlendirildiğinde, naftoksi grubu içeren siklotrifosfazenlerin fenoksi grubu içeren siklotrifosfazen türevlerinden daha yüksek emisyon şiddetine sahip olduğu görüldü.

Naftoksi sübstiue siklotrifosfazen türevlerinde trispiro yapıdaki bileşik 8'in naftoksi gruplarında bulunan aromatik yapıdaki çift bağların arasında görülen kovalent olmayan π - π etkileşimleri sonucunda yapıda floresans emisyon şiddetinin arttığı anlaşılmaktadır. Bunun yanında naftol grupları arasında gözlenen bu etkileşimler monomer/excimer olarak tanımlanmıştır [138]. Excimer olayı nedeniyle trispiro yapıdaki bileşik 8 için 390 nm' de pik görülmektedir. Excimer olayının naftoksi sübstiue siklotrifosfazenler veya yoğun konsantrasyondaki poliaromatik hidrokarbonlarda görüldüğü literatürde bildirilmiştir [139].

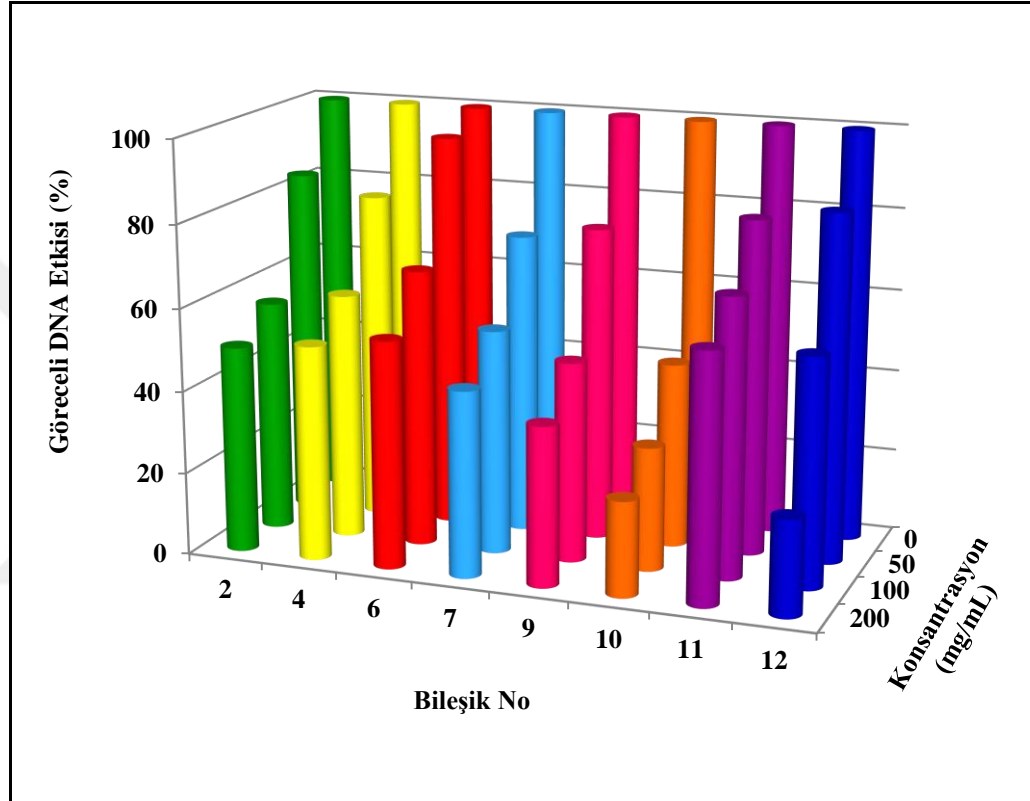
Kumarin sübstiue siklotrifosfazen bileşiklerinde floresans emisyon şiddetinin başlangıç maddelerinden daha düşük olduğu görüldü. 4-Hidroksi-6-metilkumarin sübstiue siklotrifosfazen bileşiklerinin (**13,14**) floresans emisyon spektrumunda, 4 adet kumarin grubu içeren bileşik **13**'ün floresans emisyon şiddetinin 2 adet kumarin grubu içeren bileşik **14**'ün floresans emisyon şiddetinden daha yüksek olduğu görüldü (Şekil 9.1).



9.1: Bileşik **13** ve **14**'ün floresans emisyon spektrumu.

4-Hidroksikumarin sübstiue siklotrifosfazenler (**9, 10, 11** ve **12**) ile başlangıç maddelerinin (**2, 4, 6** ve **7**) MiSens biyosensör cihazında gerçekleştirilen DNA etkileşim analizi sonuçları incelendiğinde, bütün bileşiklerin DNA etkileşim oranının 200 mM konsantrasyonda en yüksek seviyeye ulaştığı görülmektedir. Başlangıç maddeleri içerisinde en yüksek DNA etkileşim oranı **7** nolu bileşikte % 55 olarak

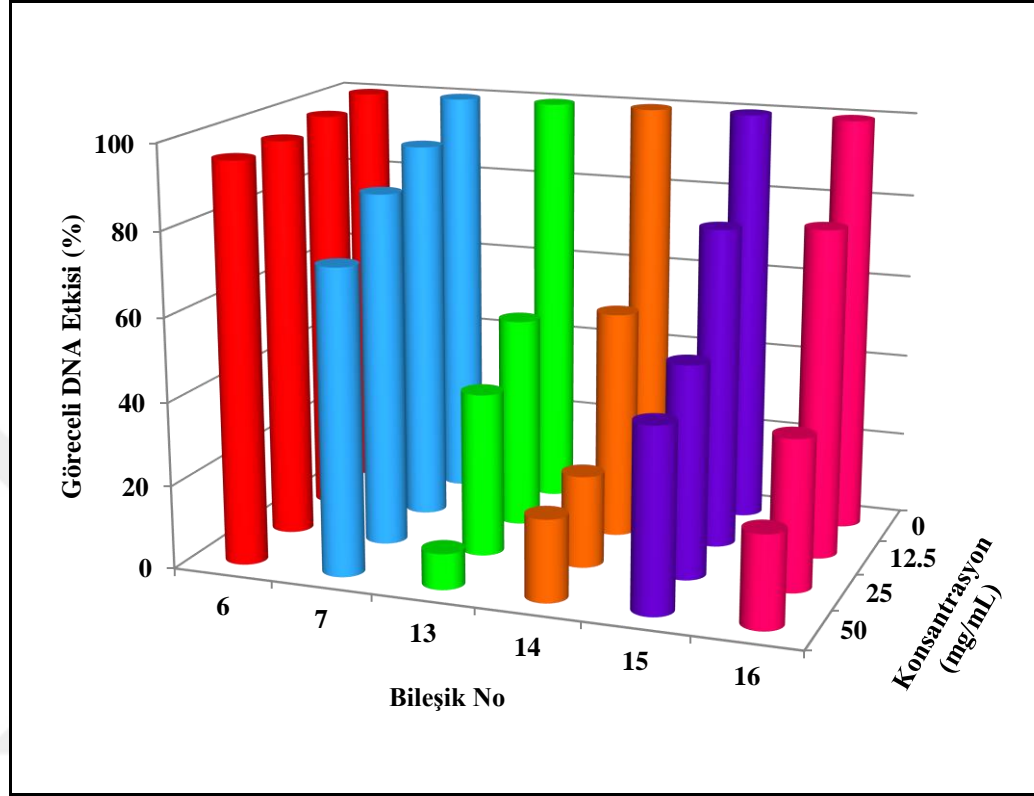
hesaplandı. Başlangıç maddelerine 4-hidroksikumarin sübtitüe edildiğinde DNA etkileşim oranının tüm bileşiklerde (9, 10, 11 ve 12) daha yüksek oranda gerçekleştiği görüldü. 4-Hidroksikumarin sübtitüe siklotrifosfazenler içerisinde 10 ve 12 nolu bileşiklerde en yüksek oranda DNA etkileşimi hesaplandı. 10 ve 12 bileşiklerine ait DNA etkileşim oranları sırasıyla %77, % 76.8 olarak bulundu (Şekil 9.2).



9.2: Bileşik 2, 4, 6, 7, 9, 10, 11 ve 12'nin DNA Etkileşim Analizleri.

4-Hidroksi-6-metilkumarin sübtitüe siklotrifosfazenler (13, 14) ve 4-hidroksi-6,7-dimetilkumarin sübtitüe siklotrifosfazenler (15, 16) ile başlangıç maddelerinin (6,7) MiSens biyosensör cihazında gerçekleştirilen DNA etkileşim analizi sonuçları Şekil 9.3'de görülmektedir. Kumarin sübtitüe siklotrifosfazenlerin çözünürlük problemi nedeniyle DNA etkileşim analizleri düşük konsantrasyonlarda (12.5 mM, 25 mM ve 50 mM) incelendi. Sonuçlar değerlendirildiğinde, başlangıç maddelerinin bu konsantrasyonlarda DNA etkileşim oranlarının çok düşük olduğu görülmesine rağmen, kumarin sübtitüe siklotrifosfazenlerin oldukça yüksek DNA etkileşimi gösterdiği anlaşıldı. 4-hidroksi-6-metilkumarin sübtitüe siklotrifosfazenler içerisinde

bileşik **13** için DNA etkileşim oranı % 91.4, 4-hidroksi-6,7-dimetilkumarin süstitüe siklotrifosfazenler içerisinde bileşik **16** için DNA etkileşim oranı ise % 77.8 olarak hesaplandı (Şekil 9.3).



9.3: Bileşik **6**, **7**, **13**, **14**, **15** ve **16**'nın DNA etkileşim analizleri.

Uzun ve zahmetli bir süreç gerektiren ilaç geliştirme aşamasında, aday bileşiklerin tespiti için hızlı, ekonomik ve duyarlı ön tarama testlerinin gerçekleştirilebileceği cihazlar her geçen gün önem kazanmaktadır. Bu bağlamda, tez çalışması kapsamında sentezlenen bileşiklerin, MiSens biyosensör cihazında ön tarama çalışmaları gerçekleştirildi. 4-Hidroksi-6-metil kumarin süstitüe siklotrifosfazen türevlerinin düşük konsantrasyonlarda dahi yüksek DNA etkileşimi gösterdiği belirlendi. Bu sayede yüksek DNA etkileşimi gösteren bileşiklerin, bir sonraki biyolojik aktivite çalışmaları kapsamında *in-vitro* ve *in-vivo* deneyleri için aday bileşikler olabileceği tespit edildi.

Tez çalışmasından elde edilen sonuçların bir bölümü Journal of Molecular Structure [133] ve Inorganica Chimica Acta [137] dergilerinde yayınlandı.

KAYNAKLAR

- [1] Valente K. P., Khetani S., Kolachi A. R., Nezhad A., Suleman A., Akbari M., (2017), "Microfluidic Technologies for anticancer drug studies", *Drug Discovery Today*, 22,(11), 1654-1670.
- [2] SAB (2017), T.C.Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kansere Daire Başkanlığı, Dünya Kansere İstatistikleri.
- [3] Büyükçelik A., Demirkazık A., (2008), "Medikal Araştırmalarda Denek Seçiminde Dikkat Edilecek Noktalar ve Sıkça Karşılaşılan Hatalar", *İyi Klinik Uygulamalar Dergisi*, 19, 20-25.
- [4] Khan I. U., Serra C. A., Anton N., Vandamme T., (2013), "Microfluidics: A Focus on improved cancer targeted drug delivery systems", *Journal of Controlled Release*, 172, (3), 1065-1074.
- [5] Nyga A., Cheema U., Loizidou M., (2011), "3D Tumour models: novel in vitro approaches to cancer studies", *Journal of Cell Communication Signaling*, 5, 239-248.
- [6] Wu M. H., Huang S. B., Lee G. B., (2010), "Microfluidic cell culture systems for drug research", *Lab Chip*, 10, 939-956.
- [7] Zheng X. T., Yu L., Li P., Dong H., Wang Y., Liu Y., Li C. M., (2013), "On-chip investigation of cell-drug interactions", *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65, (11-12), 1556-1574.
- [8] Chandrasekhar V., Thilagar P., Pandian B. M., (2007), "Cyclophosphazene-based multi-site coordination ligands", *Coordination Chemistry Reviews*, 251, 1045-1074.
- [9] Bourgaud F., Hehn A., Larbat R., Doerper S., Gontiner E., Kellner S., Matern U., (2006), "Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes", *Phytochemistry Reviews*, 5, 293-308.
- [10] Liebig J., (1834), "Justus Liebig's", *Annalen Der Chemie*, 11, 139-150.
- [11] Gladstone J. H., F. R. S., Holmes J. D., (1864), "On Chlorophosphuret of Nitrogen, and its Products of Decomposition", *Journal of the Chemical Society*, 17, 225-237.
- [12] Wichelhaus H., (1870), "Ueber Chlorphosphorstickstoff", *Chem. Ber.*, 163-166.
- [13] Padcock N. L., (1964), "Phosphonitrilic Derivatives and Related Compounds", *Q. Rev. Chem. Soc.*, 18, 168-210.

- [14] Erdener Çıralı D., Dayan O., Özdemir N., Hacıoğlu N., (2015), "A new phosphazene derivative, spiro- $N_3P_3[(O_2C_{12}H_8)_2(OC_6H_6N-3)_2]$, and its Ru(II) complex: Syntheses, crystal structure, catalytic activity and antimicrobial activity studies", *Polyhedron*, 88, 170-175.
- [15] Allcock, H.R., (1972), "Recent Advances in Phosphazene (Phosphonitrilic) Chemistry", *Chemical Reviews*, 72, 315-356.
- [16] Gleria M., De Jaeger R., (2001), "Aspect of Phosphazene Research, Journal of Inorganic and Organometallic Polymers, 11, 1-45.
- [17] Asmafiliz N., Kılıç Z., Öztürk A., Hökelek T., Koç L. Y., Açık L., Kısa Ö., Albay A., Üstündağ Z., 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", *Inorg. Chem.*, 48, 10102-10116.
- [18] Allen C.W., (1994), "Linear, cyclic and polymeric phosphazenes", *Coordination Chemistry Reviews*, 130, 137-173.
- [19] Meyer K. H., Lotmar W., Pankow G. W., (1936), "Sur Le Chlorure de polyphosphonitrile, caoutchouc inorganique", *Helv. Chim. Acta.*, 19, 930-948.
- [20] Brockway L. O., Bright M. W., (1943), "The Structure of the Trimer of Phosphonitrile Chloride, $N_3P_3Cl_6$ ", *J. Am. Chem. Soc.*, 65 (8), 1551-1554.
- [21] Allen C. W., (1991), "Regio - and Stereochemical Control in Substitution Reactions of Cyclophosphazenes", *Chem. Rev.*, (91), 119-135.
- [22] Dewar M. J. S., Lucken E. A. C., Whitehead M. A., (1960), "The structure of the Phosphonitrilic Halides", *Journal of the Chemical Society.*, 2423-2429.
- [23] Chaplin A. B., Harrison J. A., Dyson P. J., (2005), "Revisiting the Electronic Structure of Phosphazenes", *Inorganic Chemistry*, 44, 8407-8417.
- [24] Shaw R. A., Fitzsimmons B. W., Smith B. C., (1962), "The Phosphazenes (Phosphonitrilic Compounds)", *Chemical Reviews*, 62, 247-281.
- [25] Ray S. K., Shaw R. A., (1961), "Phosphorus – Nitrogen Compounds. Part I. Alkylamino- and Dialkylamino- derivatives of cyclotriphosphazatriene", *Journal of the Chemical Society*, 872-878.
- [26] Fitzsimmons B. W., Shaw R. A., (1964), "Phosphorus - Nitrogen Compounds. Part VII. Alkoxy and Aryloxy- cyclophosphazenes.", *Journal of the Chemical Society*, 1735-1741.

- [27] Allcock H. R., Walsh E. J., (1971), "Phosphonitrilic Compounds. X. Synthesis of Spirophosphazenes with five-, six-, and seven- membered Exocyclic Rings at Phosphorus", *Inorganic Chemistry*, 10 (8), 1643-1647.
- [28] Allcock H. R., (1963), "New Reactions of Phosphonitrilic chloride Trimer. Substitution and Cleavage Reactions with Catechol and Triethylamine" *Journal of the American Chemical Society*., 85, 4050-4051.
- [29] Dez I., Mitjaville L. J., Grützmacher H., Gramlich V., Jaeger d. R., (1999), "Syntheses of Chiral Cyclotriphosphazenes and Their Use in Cycloliner Polymers", *Eur. J. Inorg. Chem.*, 1673-1684.
- [30] Uslu A., Yeşilot S., (2015), "Chiral configurations in cyclophosphazene Chemistry" *Coordination Chemistry Reviews*, 291, 28-67.
- [31] Yıldırım T., Bilgin K., Çiftçi G. Y., Eçik T. E., 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.
- [32] Siwy M., Sek D., Kaczmarczyk B., Wietrzyk J., Nasulewicz A., Opolski A., (2007), "Synthesis and In Vitro Antiproliferative Activity of New 1,3-(Oxytet Raethylenoxy)-cyclotriphosphazene Derivatives", *Anticancer Research*, 27, 1553-1558.
- [33] Machakanur S. S., Patil B. R., Naik, G. N., Bakale R. P., Bligh S. W., Gudasi K. B., (2014), "Synthesis, characterization and antiproliferative activity of hexa Arm star shaped thiosemicarbazones derived from cyclotriphosphazene core", *Inorganica Chimica Acta*, 421, 459-464.
- [34] Weikel A. L., Owens S. G., Morozowich N. L., Deng M., Nair L. S., Laurencin C. T., Allcock H. R., (2010), "Miscibility of choline-substitued polyphosphazenes with PLGA and osteoblast activity on resulting blends", *Biomaterials*, 31, 8507-8515.
- [35] Greish Y. E., Bender J. D., Lakshmi S., Brown P. W., Allcock H. R., Laurencin C. T., (2005), "Low temperature formation of hydroxyapatite-poly (alkyloxybenzoate)phosphazene composites for biomedical applications", *Biomaterials*, 26, 1-9.
- [36] Nair L. S., Bhattacharyya S., Bender J. D., Greish Y. E., Brown P. W., Allcock H. R., Laurencin C. T., (2004), "Fabrication and Optimization of Methyl Phenoxy substituted polyphosphazene nanofibers for biomedical applications", *Biomacromolecules*, 5, 2212-2220.

- [37] Elmas G., Okumuş A., Koç L. Y., Soltanzade H., Kılıç Z., Hökelek T., Dal H., Açık L., Üstündağ Z., Dündar D., Yavuz M., (2014), “Phosphorus - nitrogen Compounds. Part 29. Syntheses, crystal structures, spektroskopik and stereogenic properties, electrochemical investigations, antituberculosis, antimicrobial and cytotoxic activities and DNA interactions of ansa-spiro-ansa cyclotetra phosphazenes”, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 87, 662-676.
- [38] Işıklan M., Asmafiliz N., Özalp E. E., İlter E. E., Kılıç Z., Coşut B., Yeşilot S., Kılıç A., Öztürk A., Hökelek T., Bilir Koç L.Y., Açık L., Akyüz E., (2010), “Phosphorus - Nitrogen Compounds. 21. Syntheses, Structural Investigations, Biological Activities, and DNA Interactions of new N/O Spirocyclic Phosphazene Derivatives. The NMR Behaviours of chiral Phosphazenes with stereogenic Centers upon the addition of chiral solvating agents”, 49, 7057-7071.
- [39] Baillergeon A. L., Mequaint K., (2014), “Biodegradable Polyphosphazene Biomaterials for Tissue Engineering and Delivery of Therapeutics”, *BioMed Research International*, 1-16.
- [40] Yenilmez Çiftçi G., Şenkuytu E., Durmuş M., Yuksel F., Kılıç A., (2013), “Fluorenylidene bridged cyclotriphosphazenes: ‘turn-off’ fluorescence probe for Cu^{+2} and Cu^{+3} ions”, *Dalton Transactions*, 42, 14916-14926.
- [41] Kağıt R., Yıldırım M., Ozay Ö., Yeşilot S., Ozay H., (2014), “Phosphazene Based Multicentered Naked-Eye Fluorescent Sensor with Selectivity for Fe^{+3} Ions”, *Inorganic Chemistry*, 53, 2144-2151.
- [42] Barbera J., Bardaji M., Jimenez J., Laguna A., Martinez M. P., Oriol L., Serrano J. L., Zaragoza I., (2005), “Columnar Mesomorphic Organizations in cyclotriphosphazenes”, *Journal of American Chemical Society*, 127, 8994-9002.
- [43] Barbera J., Jimenez J., Laguna A., Oriol L., Perez S., Serrano J. L., (2006), “Cyclotriphosphazene as a Dendritic Core for the preparation of columnar Supramolecular liquid crystals”, *Chem. Mater.*, 18, 5437-5445.
- [44] Moriya K., Masuda T., Suzuki T., Yano S., Kajivara M., (1998), “Liquid Crystalline Phase Transition in Hexakis (4-(N-(4'-alkoxyphenyl)iminomethyl) phenoxy)cyclotriphosphazene”, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, 318, 267-277.
- [45] Moriya K., Suzuki T., Yano S., Miyajima S., (2001), “ ^{31}P and ^{13}C NMR Studies of a Liquid - Crystalline Cyclotriphosphazene Derivative: Orientational Characteristic and Contrasting Shielding Anisotropies for Inorganic and Organic Moieties”, *J. Phys. Chem. B*, 105, 7920-7927.
- [46] Franc G., Mazeret S., Turrin C. O., Vendier L., Duhayon C., Caminade A. M., Majoral J. P., (2007), “Synthesis and Properties of Dendrimers Possessing the Same Fluorophore(s) Located Either Peripherally or Off-Center”, *Journal of Organic Chemistry*, 72, 8707-8715.

- [47] Pinto L. F., Riguera R., Megia E. F., (2013), "Stepwise Filtering of the Internal Layers of Dendrimers by Transverse- Relaxation-Edited NMR", *Journal of American Chemical Society.*, 135, 11513-11516.
- [48] Badetti E., Lloveras V., Wurst K., Sebastian R. M., Caminade A. M., Majoral J. P., Veciana J., Gancedo J. V., (2013), "Synthesis and Structural Characterization of a Dendrimer Model Compound Based on a Cyclotriphosphazene Core with TEMPO Radicals as Substituents", *Organic Letters.*, 15 (14), 3490-3493.
- [49] Brahmi N. B., Kazzouli S. E., Mignani M. S., Essassi E. M., Aubert G., Laurent R., Caminade A. M., Bousmina M. M., Cresteil T., Majoral J. P., (2013), "Original Multivalent Copper (II)- Conjugated Phosphorus Dendrimers and Corresponding Mononuclear Copper (II) Complexes With Antitumoral Activities", *Molecular Pharmaceutics*, 10, 1459-1464.
- [50] Edwards B., Rudolf S., Hauser P., El-Shafei A., (2015), "Preparation, Polymerization, and Performance Evaluation of Halogen-Free Radiation Curable Flame Retardant Monomers for Cotton Substrates", *Industrial Engineering. Chemistry Research.*, 54, 577-584.
- [51] Mao Z., Li J., Pan F., Zeng X., Linping Z., Zhong Y., Sui X., (2015), "High-Temperature Auto-Cross-Linking Cyclophosphazene: Synthesis and Application in flame retardance and antidripping poly(ethylene terephthalate)", *Industrial Engineering. Chemistry Research.*, 54, 3788-3799.
- [52] Sun J., Yu Z., Wang X., Wu D., (2014), "Synthesis and Performance of cyclo-Matrix polyphosphazene derived from trispiro-cyclotriphosphazene as a halogen free nonflammable material", *ACS Sustainable Chemistry Engineering.*, 2, 231-238.
- [53] Huang W. K., Yeh J. T., Chen K. J., Chen K. N., (2001), "Flame Reterdation Improvement of Aqueous-Based Polyurethane with Aziridinyl Phosphazene Curing System", *Journal of Applied Polymer Science*, 79, 662-673.
- [54] Schrögel P., Hoping M., Kowalsky W., Hunze A., Wagenblast G., Lennartz C., Strohriegl P., (2011), "Phosphazene-Based Host Materials for the Use in Blue Phosphorescent Organic Light- Emitting Diodes", *Chemistry of Materials.*, 23, 4947-4953.
- [55] Xu J., Toh C. L., Ke K. L., Li J. J., Cho M. C., Lu X., Tan E. W., He C., (2008) "Thermally Stable Blue-Light-Emitting Hybrid Organic-Inorganic Polymers Derived from Cyclotriphosphazene", *Macromolecules*, 41, 9624-9636.
- [56] Rao M. R., Bolligarla R., Butcher J. R., Ravikanth M., (2010), "Hexa Boron-Di Pyrromethene cyclotriphosphazenes: synthesis, crystal structure and Photophysical Properties", *Inorganic. Chemistry.*, 49, 10606-10616.

- [57] Sethna S. M., Shah M. N., (1945), "The Chemistry of Coumarins", *Chemical Reviews.*, 36 (1), 1-62.
- [58] Matos J. M., Santana L., Uriarte E., Abreu O. A., Molina E., Yordi E. G., (2015) "Coumarins-An Important Class of Phytochemicals", *Phytochemicals-Isolation Characterisation and Role in Human Health*, Chapter 5, 113-139.
- [59] Sharma P. C., Bhatia V., Bansal N., Sharma A., (2007), "A Review on Bael Tree", *Natural Product Radiance*, 62, 171-178.
- [60] Concenço R. G. I. F., Stringheta P. C., Ramos A. M., Oliveira I.H.T., (2014), "Blueberry: Functional Traits and Obtention of Bioactive Compounds", *American Journal of Plant Sciences*, 5, 2633-2645.
- [61] Oliveros-Bastidas A., Demuner A. J., Barbosa . C. L., (2013), "Chemical Characterization by GC-MS and phytotoxic potential of non-polar and polar fractions of seeds of *Dioteryx odorata* from Venezuelan Regions", *Quim. Nova*, 36 (4), 502-506.
- [62] Venugopala K. N., Rashmi V., Odhaw B., (2013), "Review on Natural Coumarin Lead Compounds for Their Pharmacological Activity", *BioMed Research International*.1-14.
- [63] Piller N. B., (1975), "A Comparison of the Effectiveness of Some Anti-Inflammatory Drugs On Thermal Oedema", *British Journal of Experimental Pathology.*, 56, 554-560.
- [64] Laskin J. D., Lee E., Yurkow E. J., Laskin D. L., Gallo M. A., (1985), "A possible mechanism of psoralen phototoxicity not involving direct interaction with DNA", *Cell Biology*, 82, 6158-6162.
- [65] Chakthong S., Weaaryee P., Puangphet P., Mahabusarakam W., Plodpai P., Voravuthikunchai S. P., Kanjana - Opas A., (2012), "Alkaloid and coumarins From the green fruits of *Aegle Marmelos*", *Phytochemistry*, 75, 108-113.
- [66] Basile A., Sorbo S., Spadaro V., Bruno M., Maggio A., Faraone N., Rosselli S., (2009), "Antimicrobial and Antioxidant Activities of Coumarins from the Root Of *Ferulago Campestris* (Apiaceae)", *Molecules*, 14, 939-952.
- [67] McKee T. C., Fuller R. W., Covington C. D., Cardellina J. H., Gulakowski R.J. Krepps B. L., McMahon J. B., Boyd M. R., (1996), "New Pyranocoumarins Isolated from *Calophyllum Lanigerum* and *Calophyllum Teysmannii*", *Journal of Natural Products.*, 59, 754-758.
- [68] Sashidhara K. V., Kumar A., Chatterjee M., Rao K. B., Singh S., Verma A. K., Palit G., (2011), "Discovery and Synthesis of novel 3-phenylcoumarin derivatives as antidepressant agents", *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters*, 21 (7), 1937-1941.

- [69] Han J., Sun L., Chu Y., Li Z., Huang D., Zhu X., Qian H., Huang W., (2013), "Design, Synthesis and Biological Activity of Novel Dicoumarol Glucagon-Like Peptide 1 Conjugates", *Journal of Medicinal Chemistry*, 56, 9955-9968.
- [70] Maheswara M., Siddaiah V., Damu V. L. G., Rao Y. K., Rao C. V., (2006), "A solvent-free synthesis of coumarins via Pechman Condensation using heterogeneous catalyst", *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 255, 49-52.
- [71] Perkin W. H., (1868), "Perkin on the Hydride of Aceto-Salicyl", *Journal of the Chemical Society*, 21, 181-186.
- [72] Armstrong V., Soto O., Valderrama J. A., Tapia R., (1988), "Synthesis of 3-Carboxycoumarins from o-methoxybenzylidene Meldrum's Acid Derivatives" *Synthetic Communications*, 18 (7), 717-725.
- [73] Dittmer D. C., Li Q., Avilov D. V., (2005), "Synthesis of Coumarins, 4-hydroxycoumarins and 4-hydroxyquinolinones by Tellurium-Triggered Cyclizations", *Journal of Organic Chemistry*, 70, 4682-4686.
- [74] Upadhyay P. K., Kumar P., (2009), "A novel synthesis of coumarins employing triphenyl(α -carboxymethylene)-phosphorane imidazolide as a C-2 synthon", *Tetrahedron Letters*, 50, 236-238.
- [75] Web 1, (2013), <http://shodhganga.inflibnet.ac.in/handle/10603/10522>, (Erişim Tarihi: 02/04/2017).
- [76] Web 2, (2017), <http://w3.gazi.edu.tr/~znseferoglu/research/dssc-tr.pdf>, (Erişim Tarihi: 02/04/2017).
- [77] Hara K., Sayama K., Ohga Y., Shinpo A., Suga S., Arakawa H., (2001), "A Coumarin – derivative dye sensitized nanocrystalline TiO₂ solar cell having a High solar – energy conversion efficiency up to 5.6 %", *Chemical Communications*, 569-570.
- [78] Manolov İ., Danchev D. N., (2003), "Synthesis and Pharmacological Investigations of Some 4-Hydroxycoumarin Derivatives", *Arch. Pharm. Med. Chem.*, 336, 83-94.
- [79] Huang L., Cheng J., Xie K., Xi P., Hou F., Li Z., Xie G., Shi Y., Liu H., Bai D., Zeng Z., (2011), "Cu⁺²-selective fluorescent chemosensor based on coumarin and its application in bioimaging", *Dalton Transactions*, 40, 10815-10817.
- [80] Yenilmez Çiftçi G., Şenkuytu E., Bulut M., Durmuş M., (2015), "Novel Coumarin Substitued Water Soluble Cyclophosphazenes as Turn-Off Type Fluorescence Chemosensors for Detection of Fe⁺³ ions in Aqueous Media", *J. Fluoresc*, 25 (6), 1819-1830.

- [81] Salem M. A. I., Marzouk M. I., El-Kazak A. M., (2016), "Synthesis and Characterization of some new coumarins with in Vitro Antitumor and Antioxidant Activity and High Protective Effects against DNA Damage", *Molecules*, 21, 249
- [82] Yogeswaran U, Chen S. M., (2008), "A Review on the Electrochemical Sensors and Biosensors Composed of Nanowires as Sensing Material", *Sensors* 8, 290-313.
- [83] Hulanicki A., Glab S., Ingman F., (1991), "Chemical Sensors Definitions and Classification", *Pure&Applied Chemistry*, 63, (9), 1247-1250.
- [84] Web 3, (2017), <http://www.otomasyondergisi.com.tr/arsiv/yazi/amperometrik-sensor-ile-cozummus-oksijen-olcumu>, (Erişim Tarihi: 07/04/2017).
- [85] Stetter J. R., Penrose W. R., Yao S., (2003), "Sensors, Chemical Sensors, Electrochemical Sensors and ECS", *Journal of The Electrochemical Society*, 150 (2), S11-S16.
- [86] Stradiotto N. R., Yamanaka H., Zanoni M. V. B., (2003), "Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry", *Journal of the Brazillian Society.*, 14, (2), 159-173.
- [87] Covington A., (1981), "Ion-Selective Electrodes", *Chemistry Cassette*, 1-17.
- [88] Freiser H., (1986), "Coated Wire Ion-Selective Electrodes", *Journal of the Chemical Society., Faraday Trans.1.*, (82), 1217-1221.
- [89] Janata J., (2009), *Principles of Chemical Sensors*, Chapter 8, Conductometric Sensors, 241-266.
- [90] Zhao W. W., Xu J. J., Chen H. Y., (2017), "Photoelectrochemical Enzymatic Biosensors", *Biosensors and Bioelectronics*, 92, 294-304.
- [91] Rasooly A., (2005), "Biosensor Technologies", *Methods*, 37, (1), 1-3.
- [92] Yanbin L., (2006), "Biyosensors", *Handbook of Agricultural Engineering Volume VI Information Technology*, Section 2.3, 60-102.
- [93] Kökbaş U., Kayrın L., Tuli A., (2013), "Biyosensörler ve Tıpta Kullanım Alanları", *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 22, (4), 499-513.
- [94] Kimmel D. W., LeBlanc G., Meschievitz M. E., Cliffel D. E., (2012), "Electrochemical Sensors and Biosensors", *Analytical Chemistry*, 84, 685-707.

- [95] Ölçer Z., Esen E., Ersoy A., Budak S., Kaya D. S., Gök Y., Barut S., Üstek D. Uludağ Y., (2015), “Microfluidics and nanoparticles based Amperometric Biosensor for the detection of cyanobacteria (Planktothrix agardhii NIVA-CIYA 116) DNA”, *Biosensors and Bioelectronics*, 70, 426-432.
- [96] Fojta M., Danhel A., Havran L., Vyskocil V., (2016), “Recent Progress in Electrochemical sensors and assays for DNA damage and repair”, *Trends in Analytical Chemistry*, 79, 160-167.
- [97] Chiba J., Aoki S., Yamamoto J., Iwai S., Inouye M., (2014), “Deformable Nature of Various Damaged DNA Duplexes estimated by an electrochemical Analysis on electrodes”, *Chem. Commun.*, 50, 11126-11128.
- [98] Fox J. T., Sakamuru S., Huang R., Teneva N., Simmons S. O., Xia M., Tice R. R., Austin P. C., Myung K., (2012), “High-Throughput Genotoxicity assay identifies antioxidants as inducers of DNA damage response and cell death”, *PNAS*, 109, (14), 5423-5428.
- [99] Ma X., Truong P. L., Anh N. H., Sim S. J., (2015), “Single Gold Nanoplasmonic Sensor for clinical cancer diagnosis based on specific interaction between nucleic acids and protein”, *Biosensors and Bioelectronics*, 67, 59-65.
- [100] Shao Y., Wang J., Wu H., Liu J., Aksay A. İ., Lin Y., (2010), “Graphene Based Electrochemical Sensors and Biosensors: A Review”, *Electroanalysis*, 22, (10), 1027-1036.
- [101] Biswas P., Karn K. A., Kale G. P., Balasubramanian P., (2017), “Biosensor For Detection chromium in potable water: A Review”, *Biosensors and Bioelectronics*, 94, 589-604.
- [102] Vopalenska I., Vachova L., Palkova Z., (2015), “New Biosensor for detection of copper ions in water based on immobilized genetically modified yeast cells”, *Biosensors and Bioelectronics*, 72, 160-167.
- [103] Lan L., Yao Y., Ping J., Ying Y., (2017), “Recent Advances in Nanomaterial-Based Biosensors for Antibiotics Detection”, *Biosensors and Bioelectronics*, 91, 504-514.
- [104] Eissa S., Zourob M., (2017), “In Vitro Selection of DNA aptamers targeting β -lactoglobulin and their integration in graphene-based biosensor for the detection of milk allergen”, *Biosensors and Bioelectronics*, 91, 169-174.
- [105] Song D., Li Y., Lu X., Sun M., Liu H., Yu G., Gao F., (2017), “Palladium-copper nanowires-based biosensor for the ultrasensitive detection of organo-Phosphate pesticides”, *Analytica Chimica Acta*, 982, 168-175.
- [106] Mungroo A. N., Neethirajan S., (2014), “Biosensors for the Detection of Antibiotics in Poultry Industry- A Review”, *Biosensors*, 4, 472-493.

- [107] Gil G. C., Mitchell R. J., Chang S. T., Gu M. B., (2000), "A Biosensor for the Detection of gas toxicity using a recombinant bioluminescent bacterium", *Biosensors and Bioelectronics*, 15, 23-30.
- [108] Newman J. D., Setford S. J., (2006), "Enzymatic Biosensors", *Molecular Biotechnology*, 32, 249-268.
- [109] Zhao Z., Jiang H., (2010), "Enzyme-Based Electrochemical Biosensors", *Biosensors*, 1-22.
- [110] Kavita V., (2017), "DNA Biosensors- A Review", *Journal of Bioengineering & Biomedical Science*, 7, (2), 222.
- [111] Cagnin S., Caraballo M., Guiducci C., Martini P., Ross M., Santana M., Danley D., West T., Lanfranchi G., (2009), "Overview of Electrochemical DNA Biosensors: New Approaches to Detect the Expression of Life", *Sensors*, 9, 3122-3148.
- [112] Su L., Jia W., Hou C., Lei Y., (2011), "Microbial Biosensors: A Review", *Biosensors and Bioelectronics*, 26, 1788-1799.
- [113] Choi S., Goryll M., Sin L. Y. M., Wong P. K., Chae J., (2011), "Microfluids-Based Biosensors toward point-of-care detection of nucleic acids and proteins", *Microfluid Nanofluid*, 10, 231-247.
- [114] Mross S., Pierrat S., Zimmermann T., Kraft M., (2015), "Microfluids enzymatic biosensing systems: A review", *Biosensors and Bioelectronics*, 70, 376-391.
- [115] Uludağ Y., Ölçer Z., Sağıroğlu M. S., (2014), "Design and Characterisation Of a thin-film electrode array with shared reference/counter electrodes for Electrochemical detection", *Biosensors and Bioelectronics*, 57, 85-90.
- [116] Ölçer Z., Esen E., Muhammad T., Ersoy A., Budak S., Uludağ Y., (2014), "Fast and Sensitive detection of mycotoxins in wheat using microfluids based Real-Time Electrochemical Profiling", *Biosensors and Bioelectronics*, 62, 163-169.
- [117] Yenilmez Çiftçi G., Şenkuytu E., İncir S. E., Yüksel F., Ölçer Z., Yıldırım T., Kılıç A., Uludağ Y., (2016), "First Paraben Substituted cyclotetraphosphazene Compounds and DNA interaction analysis with a new automated biosensor", *Biosensors and Bioelectronics*, 80, 331-338.
- [118] Yenilmez Çiftçi G., Şenkuytu E., İncir S. E., Eçik E. T., Zorlu Y., Ölçer Z., Uludağ Y., (2017), "Characterization of paraben substituted cyclotriphospazenes, and a DNA interaction study with a real-time electrochemical profiling based biosensor", *Microchim Acta*, 184, 7, 2307-2315.

- [119] Grieshaber D., Mackenzie R., Vörös J., Reimhult E., (2008), “ Electrochemical Biosensors- Sensor Principles and Architectures”, *Sensors*, 8, 1400-1458.
- [120] Rasheed P. A., Sandhyarani N., (2017), “Electrochemical DNA sensors based on the use of gold nanoparticles: a review on recent developments”, *Microchim Acta*, 184, 981-1000.
- [121] Josephy P. D., Eling T., Mason R. P., (1982), “The horseradish peroxidase-catalyzed oxidation of 3,5,3',5'-tetramethylbenzidine. Free radical and charge-transfer complex intermediates”, *J.Biol.Chem.*, 257, 3669-3675.
- [122] Gülcan M., (2012), “Anorganik Kimyada Spektroskopik yöntemler”, 1-97.
- [123] Web 4, (2017), http://www.kimyaegitimi.org/sites/default/files/kimyaegitimi_ogrenci_deneyleri/maddelerin_isik_sacmasi.pdf, (Erişim Tarihi: 22/08/2017).
- [124] Elmer P., (2000), *An Introduction to Fluorescence Spectroscopy*, 1-36.
- [125] Carriedo A. G., Catuxo L. F., Alonso F. J. G., Gomez-Elipe P., Gonzalez A., (1996), “ Preparation of a New Type of Phosphazene High Polymers Containing 2,2'-Dioxybiphenyl Groups”, *Macromolecules*, 29, 5320-5325.
- [126] Ainscough E. W., Brodie A. M., Chaplin A. B., Derwahl A., Harrison J. A., Otter C. A., (2007), “Conformational Flexibility in 2,2'- Dioxybiphenyl-Chloro – cyclotetraphosphazenes and its Relevance to Polyphosphazene Analogues”, *Inorganic Chemistry*, 46, 2575-2583.
- [127] Chandrasekhar V., Pandey M. D., Das B., Mahanti B., Gopal K., Azhakar R., (2011), “ Synthesis, structure and photo-physical properties of phosphorus-Supported fluorescent probes”, *Tetrahedron*, 67, 6917-6926.
- [128] Chandrasekhar V., Narayanan S. R., (2013), “Metalation Studies of 3-and 4-Pyridyloxy- cyclophosphazenes: metallamacrocycles to coordination polymers”, *Dalton Trans.*, 42, 6619-6632.
- [129] Görgülü A. O., Koran K., Özen F., Tekin S., Sandal S., (2015), “Synthesis, Structural characterization and anti-carcinogenic activity of new cyclotriphosphazenes containing dioxybiphenyl and chalcone groups”, *Journal of Molecular Structure*, 1087, 1-10.
- [130] Brandt K., Czomperlik-P. I., Siwy M., Kupka T., Shaw R. A., Davies D. B., Hursthouse M. B., Sykara G. D., (1997), “Thermodynamic vs Supramolecular Effects in the Regiocontrol of the formation of new Cyclotriphosphazene-Containing Chiral Ligands with 1,1'-Binaphthyl Units: Spiro vs Ansa Substitution at the N₃P₃ Ring”, *J. Am. Chem. Soc.*, 119, 12432-12440.
- [131] Kumar N. S., Swamy K. C. K., (2004), “Synthesis and Structures of unsymmetrical bis- and tris-cyclotriphosphazenes”, *Polyhedron*, 23, 979-985.

- [132] Kumar N. N. B., Swamy K. C. K., (2008), "Single Diastereomers of Unsymmetrical Tris-Spirocyclic Cyclotriphosphazenes Based on 1,1'-Bi-2-Naphthol-Synthesis and Structures", *Chirality*, 20, 781-789.
- [133] Yenilmez Çiftçi G., Eker Y., Şenkuytu E., Yüksel F., (2016), "Structural and Fluorescence properties of the 2,2'-methylenediphenoxy and 1,1'-methylenedi-2-Naphthoxy cyclotriphosphazene derivatives", *Journal of Molecular Structure*, 1117, 164-172.
- [134] Su Z., Chen K., Guo Y., Qi H., Yang X. F., Zhao M., (2010), "A Coumarin-Based Fluorescent Chemosensor for Zn^{+2} in Aqueous Ethanol Media", *J. Fluoresc*, 20, 851-856.
- [135] Yao J., Dou W., Qin W., Liu W., (2009), "A new coumarin-based chemosensor for Fe^{+3} in water", *Inorganic Chemistry Communications*, 12, 116-118.
- [136] Yenilmez Çiftçi G., Eçik T. E., Bulut M., Yüksel F., Kılıç A., Durmuş M., (2013), "Synthesis and characterization of dicoumarol substituted cyclotriphosphazenes", *Inorganica Chimica Acta*, 398, 106-112.
- [137] Şenkuytu E., Eker Y., Yenilmez Çiftçi G., (2017), "4-Hydroxycoumarin Functionalized cyclotriphosphazenes: Synthesis, characterization and fluorescence Properties", *Inorganica Chimica Acta*, 459, 45-50.
- [138] Bandoli G., Casellato U., Gleria M., Grassi A., Montoneri E., Pappalardo G.C., (1989), "Solid State Structure of 2,2,4,4,6,6-Hexa(β -naphthyl-oxo)cyclophosphazatriene and Dipole Moments of Hexa(aryloxo)cyclophosphazatrienes", *Journal of Chemical Sciences*, 44, (5), 575-581.
- [139] Coşut B., Yeşilot S., (2012) "Synthesis, thermal and photophysical properties of Naphthoxycyclotriphosphazeny-substituted dendrimeric cyclic phosphazenes", *Polyhedron*, 35, 101-107.

ÖZGEÇMİŞ

Yakup EKER 24.08.1978 yılında Kocaeli’de doğdu. 2000 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fatih Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü’nden mezun oldu. 2003 yılında Milli Eğitim Bakanlığı’nda öğretmen olarak göreve başladı. 2007 yılında Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimini tamamladı. 2011 yılında Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda Prof.Dr. Gönül YENİLMEZ ÇİFTÇİ’nin danışmanlığında doktora öğrenimine başladı. Milli Eğitim Bakanlığı’na bağlı olarak Türkiye’nin farklı bölgelerinde görev yaptı. 2016 yılı Ekim ayında Gürcistan/ Batum’da bulunan Batum Türk Okulu’na görevlendirildi. Halen görevine devam etmektedir. Doktora ve yüksek lisans öğrenimi süresince Gebze Teknik Üniversitesi ve Bülent Ecevit Üniversitesi tarafından desteklenen bilimsel araştırma projelerinde görev yaptı.

EKLER

Ek A: Tez Çalışması Kapsamında Yapılan Yayınlar

Yenilmez Çiftçi G., Eker Y., Şenkuytu E., Yuksel F., (2016), " Structural and fluorescence properties of the 2,2'-methylenediphenoxy and 1,1'-methylenedi-2-naphthoxy cyclotriphosphazene derivatives", Journal of Molecular Structure, 1117, 164–172.

Şenkuytu E., Eker Y., Yenilmez Çiftçi G., (2017). "4-Hydroxycoumarin functionalized cyclotriphosphazenes: Synthesis, characterization and fluorescence properties", Inorganic Chimica Acta, 459, 45-50.

