

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PARABEN SÜBSTİTÜE MONO-, DİSPIRO 2,2'-BİFENOKSİ
TÜREVİ SİKLOTRİFOSFAZEN BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ
DNA ETKİLEŞİM ÇALIŞMALARI

NADİDE AKBAŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

GEBZE

2019

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PARABEN SUBSTITUE MONO-, DİSPİRO
2,2’-BİFENOKSİ TÜREVİ
SİKLOTRİFOSFAZEN BİLEŞİKLERİNİN
SENTEZİ DNA ETKİLEŞİM ÇALIŞMALARI

NADİDE AKBAŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
PROF. DR. GÖNÜL YENİLMEZ ÇİFTÇİ
II. DANIŞMANI
DR. ELİF ŞENKUYTU

GEBZE
2019

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

**THE SYNTHESIS AND DNA INTERACTION
STUDIES OF PARABEN SUBSTITUTED MONO-,
DISPIRO 2,2'-BIPHENOXY DERIVATED
CYCLOTROPHOSPHAZENE COMPOUNDS**

NADİDE AKBAŞ
A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

THESIS SUPERVISOR
PROF. DR. GÖNÜL YENİLMEZ ÇİFTÇİ
II. THESIS SUPERVISOR
DR. ELİF ŞENKUYTU

GEBZE
2019

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 19/06/2019 tarih ve 2019/27 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 01/07/2019 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Nadide AKBAŞ'ın tez çalışması Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : Prof. Dr. Gönül YENİLMEZ ÇİFTÇİ

ÜYE

: Prof. Dr. Selen Bilge KOÇAK

ÜYE

: Dr. Öğr. Üyesi Zehra ÖLÇER

[Handwritten signatures of the jury members]

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

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

ÖZET

Siklofosfazenler, $-N=PX_2-$ gruplarının tekrar ettiği inorganik hetero halkalı bileşiklerdir. Siklofosfazenlerdeki halojen gruplarının yer değiştirme tepkimelerine uygun olması bilim insanlarının bu bileşiklerle birçok çalışma yapmasına imkân sağlamıştır. Parabenler ise birçok kullanım alanına sahip para-hidroksibenzoik asit türevleridir. Antifungal ve antibakteriyel özellikleri, geniş pH aralığında kararlı olabilmeleri gibi özellikleri parabenlere önem kazandırmıştır. Ticari olarak kullanımlarının yaygın olması parabenler üzerine yapılan çalışmaları artırmıştır. Biyosensörler sağlık, tarım, gıda ve savunma sanayi gibi çeşitli alanlarda kullanıcılara hızlı, hassas ve ekonomik analizler yapma imkânı sağlayarak gelişen teknolojiler arasına girmiştir.

Bu çalışmada heksaklorosiklotrifosfazen halkası ile 2,2'-bifenol bileşiğinin tepkimesinden monospiro ve dispiro yapıdaki başlangıç bileşikleri (I ve II) elde edildi. Bu bileşiklerin (I-II) sırasıyla metil, etil, propil, bütıl ve benzil paraben bileşikleriyle reaksiyonları gerçekleştirildi. Sentezlenen ve uygun yöntemlerle saflaştırılan bütün bileşiklerin (I-XII) yapısı kütle (MALDI-TOF), ^{31}P ve ^1H NMR, FT-IR spektroskopisi ve uygun kristal elde edilen bileşikler için tek kristal X-ışını kırınımı tekniği (III) ile aydınlatıldı. Sentezlenen bileşiklerin MiSens elektrokimyasal DNA biyosensör cihazında DNA analizleri gerçekleştirildi.

Anahtar Kelimeler: Siklotrifosfazen, Paraben, MiSens Biyosensör Cihazı, DNA Etkileşim Analizi, 2,2'-bifenol.

SUMMARY

Cyclophosphazenes are inorganic hetero-ring compounds in which the $-N=PX_2-$ groups are repeated. The fact that halogen groups in cyclophosphazenes are suitable for displacement reactions has allowed scientists to carry out a number of studies with these compounds. Parabens are para-hydroxybenzoic acid derivatives with many uses. Their antifungal and antibacterial properties, their stability over a wide pH range, have given parabens an important place. The widespread use of commercial products has increased the number of studies on parabens. Biosensors have become one of the developing technologies by enabling users to perform fast, sensitive and economic analyzes in various fields such as health, agriculture, food and defense industry.

In this study, monospiro and dispiro starting compounds (I and II) were obtained from the reaction of hexachlorocyclotriphosphazene ring and 2,2'-bisphenol compound. Reactions of these compounds (I-II) with methyl, ethyl, propyl, butyl and benzyl paraben compounds were performed respectively. The structure of all compounds (I-XII) synthesized and purified by appropriate methods was elucidated by mass (MALDI-TOF), ^{31}P and ^1H NMR, FT-IR spectroscopy and single crystal X-ray diffraction technique (III) for the compounds obtained. DNA analysis of the synthesized compounds was performed on MiSens electrochemical DNA biosensor device.

Key Words: Cyclotriphosphazene, Paraben, MiSens Biosensor Device, DNA Interaction Analysis, 2,2'-Bisphenol.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim sürecinde bilgi, hoşgörü, sabrını benden esirgemeyen pozitif bakış açısı, tecrübesi, güler yüzü ile öğrenme isteğimi kamçılayan, hem akademik çalışmalarıyla hem de manevi değerleriyle feyzaldığım çok değerli hocam Prof. Dr. Gönül YENİLMEZ ÇİFTÇİ'ye saygı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneylerim ve çalışmalarım ile yakından ilgili, azmine, çalışkanlığına, iş disiplinine, duyarlılığına hayran olduğum, cevapsız sorularıma ışık olan saygı değer Öğretim Görevlisi Dr. Elif ŞENKUYTU'ya teşekkür ederim.

Araştırmamız esnasında MiSens biyosensör cihazını bizlerle buluşturan Doç. Dr. Yıldız ULUDAĞ, Dr. Aylin ERSOY, TÜBİTAK-BİLGEM ve cihazdaki analizleri yaparken yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Zehra ÖLÇER'e teşekkür ederim.

Deneyimlerini bizlerle paylaşan Doç. Dr. Esra TANRIVERDİ EÇİK'e; GTÜ Kimya Bölümü öğretim üyelerine, analizlerimizi yapan uzmanlara, deneylerim sürecinde beni yalnız bırakmayan, her daim yardımcı ve öğrenim sürecimin en güzel kazanımı olan değerli arkadaşım proje asistanı Nagihan BAYIK'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca yanımda olan, desteklerini ve ilgilerini hep hissettiğim fedakâr anneme ve kardeşime minnet ve şükranlarımı sunarım. Yüksek lisans sürecimde gösterdiği anlayış, verdiği sevgi, destek ve güven ile zorlukları daha kolay aşmamı sağlayan biricik eşim Mustafa AKBAŞ'a en derin sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

BAP-2017-A105-35 nolu projeye sağladığı maddi destekten için GTÜ'ye ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xviii
1.GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	2
2.1. Fosfazenler	2
2.2. Fosfazenlerin Geometrik ve Elektronik Yapıları	3
2.2.1. Halkalı Fosfazenler	3
2.3. Fosfazenlerin Stereokimyası	4
2.4. Fosfazenlerin Hidroksil Grubu İçeren Nükleofiller ile Reaksiyonları	5
2.5. Fosfazenlerin Alkoliz ve Fenoliz Reaksiyonlarını Etkileyen Faktörler	8
2.5.1. Nükleofil Türü	8
2.5.2. Sübstitüentlerin Etkisi	8
2.5.3. Çözücü Etkisi	9
2.5.4. Fosfazen Halkası ya da Zincir Büyüklüğünün Etkisi	9
2.5.5. Baz Etkisi	9
2.6. Fosfazen Türevlerinin Uygulama Alanları	9
2.7. Parabenler	10
2.8. Paraben Sentezinde Kullanılan Yöntemler	11
2.9. Paraben Türevlerinin Uygulama Alanları	12
2.10. Sensörler	13
2.11. Kimyasal Sensörler	13
2.12. Biyosensörler	14
2.12.1. Biyosensörlerin Tanımı ve Tarihçesi	14
2.12.2. Biyosensörlerin Kullanım Alanları	15
2.12.3. Biyosensörlerde Aranılan Özellikler	15

2.12.4. Biyosensörlerin Sınıflandırılması	16
2.13. Elektrokimyasal Sensörler	18
2.13.1. Elektrokimyasal DNA Biyosensörleri	19
2.14. Altın Nanoparçacık	20
2.15. Biyosensör Cihazı Çalışma Prensibi	21
2.15.1. Sensör Çipin Hazırlanması	22
2.15.2. NeutrAvidin İmmobilizasyonu	23
2.15.3. Yakalayıcı(Capture) Prob	24
2.15.4. Kontrol Hibridize Hedef Prob	25
2.15.5. Enzim ve NeutrAvidin Modifiye Edilmiş Altın Nanoparçacık	26
2.15.6. HRP Enzimi ile TMB Arasında Gerçekleşen Tepkimenin Mekanizması	27
2.15.7. Çip Rejenerasyonu	27
3. KONU İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR	29
3.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile Paraben Bileşiklerinin Tepkimeleri	29
3.2. MiSens Biyosensör Cihazı ile İlgili Yapılan Çalışmalar	29
4. MATERYAL VE YÖNTEM	31
4.1. Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Maddeler	31
4.2. Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Cihazlar	32
5. DENEYSEL BÖLÜM	33
5.1. Genel İşlemler	33
5.1.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen(Trimer)' in Saflaştırılması	33
5.1.2. TLC İncelemeleri İçin Ninhidrin Çözeltilisinin Hazırlanması	33
5.2. Deneyler	34
5.2.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen (Trimer) İle 2,2'-Bifenol (1:2 mol) Reaksiyonu	34
5.2.2. Hekzaklorosiklotrifosfazen(Trimer) İle 2,2'-Bifenol (1:3 mol) Reaksiyonu	35
5.2.3. Mono spiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(I) Bileşiği İle Metil Paraben (1:5 mol) Reaksiyonu	36
5.2.4. Mono spiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(I) Bileşiği İle Etil Paraben (1:5 mol) Reaksiyonu	37

5.2.5. Mono spiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(I) Bileşigi İle Propil Paraben (1:5 mol) Reaksiyonu	38
5.2.6. Mono spiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(I) Bileşigi İle Bütil Paraben (1:5 mol) Reaksiyonu	39
5.2.7. Mono spiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(I) Bileşigi İle Benzil Paraben (1:4,2 mol) Reaksiyonu	40
5.2.8. Dispiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(II) Bileşigi İle Metil Paraben (1:2,2 mol) Reaksiyonu	41
5.2.9. Dispiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(II) Bileşigi İle Etil Paraben (1:2,2 mol) Reaksiyonu	42
5.2.10. Dispiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(II) Bileşigi İle Propil Paraben (1:2,2 mol) Reaksiyonu	43
5.2.11. Dispiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(II) Bileşigi İle Bütil Paraben (1:2,2 mol) Reaksiyonu	44
5.2.12. Dispiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(II) Bileşigi İle Benzil Paraben (1:2,2 mol) Reaksiyonu	45
6.DENEYSEL VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	46
6.1. Bileşik I'e Ait Yapı Analizi	46
6.2. Bileşik II'ye Ait Yapı Analizi	49
6.3. Bileşik III'e Ait Yapı Analizi	53
6.4. Bileşik IV'e Ait Yapı Analizi	59
6.5. Bileşik V'e Ait Yapı Analizi	62
6.6. Bileşik VI'ya Ait Yapı Analizi	66
6.7. Bileşik VII'ye Ait Yapı Analizi	70
6.8. Bileşik VIII'e Ait Yapı Analizi	74
6.9. Bileşik IX'a Ait Yapı Analizi	78
6.10. Bileşik X'a Ait Yapı Analizi	82
6.11. Bileşik XI'e Ait Yapı Analizi	86
6.12. Bileşik XII'ye Ait Yapı Analizi	90
7. DNA ETKİLEŞİMLERİNİN İNCELENMESİ	95
7.1. MiSens Biyosensör Cihazında Kimyasal ile DNA Etkileşim Çalışması	95
7.2. MiSens Biyosensör Cihazı İçin Gerekli Çözeltilerin Hazırlanması	96

7.2.1. DNA ile Etkileşimi İncelenecek Maddelerin Çözeltilerinin Hazırlanması	96
7.2.2. MiSens Cihazında Kullanılacak Stok Çözeltilerin Hazırlanması	97
7.2.2.1. CV Protokolünde Kullanılan Çözeltinin Hazırlanması	97
7.2.2.2. NA(NeutrAvidin) İmmobilizasyonu Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	98
7.2.2.3. DNA İmmobilizasyonu Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	99
7.2.2.4. Hibrit DNA İmmobilizasyonu Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	99
7.3. MiSens Cihazının Çalışma Protokolleri	100
7.3.1. CV Protokolü	101
7.3.2. NeutrAvidin İmmobilizasyonu Protokolü	101
7.3.3. DNA Bağlanma Protokolü	102
7.3.4. Hibrit DNA Bağlanma Protokolü	102
7.3.5. Hibrit DNA + Bileşik Protokolü	103
7.4. Sentezlenen Bileşiklerin DNA Etkileşiminin İncelenmesi	103
7.4.1. Bileşik I ve II'nin DNA Etkileşiminin İncelenmesi	103
7.4.2. Bileşik I ve III'ün DNA Etkileşiminin İncelenmesi	104
7.4.3. Bileşik I ve IV'ün DNA Etkileşiminin İncelenmesi	105
7.4.4. Bileşik I ve V'in DNA Etkileşiminin İncelenmesi	106
7.4.5. Bileşik I ve VI'nın DNA Etkileşiminin İncelenmesi	107
7.4.6. Bileşik I ve VII'nin DNA Etkileşiminin İncelenmesi	108
7.4.7. Bileşik II ve VIII'in DNA Etkileşiminin İncelenmesi	109
7.4.8. Bileşik II ve IX'un DNA Etkileşiminin İncelenmesi	110
7.4.9. Bileşik II ve X'un DNA Etkileşiminin İncelenmesi	111
7.4.10. Bileşik II ve XI'in DNA Etkileşiminin İncelenmesi	112
7.4.11. Bileşik II ve XII'nin DNA Etkileşiminin İncelenmesi	113
8. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	114
KAYNAKLAR	122
ÖZGEÇMİŞ	129
EKLER	130

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve</u>	<u>Açıklamalar</u>
<u>Kısaltmalar</u>	
^1H	: Hidrojen atomunun kütle numarası 1 olan izotopu.
^{31}P	: Fosfor atomunun kütle numarası 31 olan izotopu.
CDCl_3	: Dötörökloroform.
DCM	: Diklorometan.
DMSO	: Dimetilsülfoksit.
H_3PO_4	: Fosforik Asit.
MALDI-TOF	: Matriks ile Desteklenmiş Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Zamanı Kütle Spektrometresi.
NaH	: Sodyum Hidrür.
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans.
THF	: Tetrahidrofuran.
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi.
TMS	: Tetrametilsilan.
NA	: NeutrAvidin.
HRP	: Horse Radish Peroxidase.
TMB	: 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin.
Au-Np	: Altın Nanoparçacık.
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi(Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
CSA	: Kiral çözücü ajanı.
CSR	: Kiral kaydırma reaktifi.
TDK	: Türk Dil Kurumu.
IUPAC	: International Union of Pure and Applied Chemistry
GOD	: Glikoz Oksidaz.
GDO	: Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar.
SPR	: Surface Plasmon Resonance- Yüzey Plazmon Rezonans.
REP	: Real-Time Electrochemical Profiling.
MUDA	: Merkapto undekanoik asit.
BSA	: Bovin Serum Albumin.

NHS : N-Hidroksi suksinimid.
EDC : 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimidhidroklorür.
PBS : Fosfat Tampon Çözeltisi.

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Halkalı fosfazen sentezi.	2
2.2: a) Düz zincirli b) Trimer c) Tetramer d) Polimerik fosfazen yapıları.	3
2.3: Halkalı fosfazenlerden trimerin rezonans formülü.	4
2.4: Trimerin üç boyutlu yapısı.	5
2.5: a) Trimerin geminal yerdeğiştirmesi b) Trimerin geminal olmayan(non-geminal) yerdeğiştirmesi.	6
2.6: Trimerin a) spiro b) ansa c) açık zincir d) köprülü(bino) yapısı.	7
2.7: Fosfazenlerin a) Alkollerle b) Sodyum alkolatlarla reaksiyonları.	7
2.8: Bisfenol ve heksaklorosiklotrifosfazenin tepkimesi.	8
2.9: (1) Paraben molekülünün genel formülü, (2) Metil paraben(4-hidroksi metil ester benzoik asit), (3) Etil Paraben(4-hidroksi etil ester benzoik asit), (4) Propil paraben(4-hidroksi propil ester benzoik asit), (5) Bütil Paraben(4-hidroksi bütil ester benzoik asit), (6) Benzil Paraben(4-hidroksi benzil ester benzoik asit).	11
2.10: a) Paraben sentezi, (b) Phukan ve arkadaşlarının paraben yöntemi, (c) Hosangadi ve arkadaşlarının paraben sentez yöntemi	12
2.11: Biyosensörlerin algılayıcı kısımlarında kullanılan biyomolekül türüne göre sınıflandırılması.	17
2.12: Çevirici sistemlerine göre biyosensörlerin sınıflandırılması.	18
2.13: MiSens biyosensör cihazı çalışma sistemi.	22
2.14: Sensör çip.	23
2.15: Tetramer NeutrAvidin molekülünün üç boyutlu yapısı.	23
2.16: Karbodiimit Reaksiyonu.	24
2.17: NeutrAvidin immobilizasyonunun çip yüzeyindeki gösterimi.	24
2.18: NA kaplı yüzeye tutunan yakalayıcı (capture) prob DNA'nın şematik gösterimi.	25

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.19: Hibridize olan hedef ve algılayıcı DNA'nın yakalayıcı DNA ile etkileşiminin şematik gösterimi.	25
2.20: NeutrAvidin ve HRP enzimi ile modifiye edilmiş Au-Np üzerindeki NA-Biotin etkileşiminin şematik gösterimi.	26
2.21: TMB reaksiyonunun şematik gösterimi.	27
2.22: Yıkama protokolü ile rejenere edilmiş çip.	28
5.1: Trimer ile 2,2'-Bifenol Reaksiyonu.	34
5.2: Trimer ile 2,2'-Bifenol Reaksiyonu.	35
5.3: Bileşik (I) ile metil paraben'in reaksiyonu.	36
5.4: Bileşik (I) ile etil paraben'in reaksiyonu.	37
5.5: Bileşik (I) ile propil paraben'in reaksiyonu.	38
5.6: Bileşik (I) ile bütül paraben'in reaksiyonu.	39
5.7: Bileşik (I) ile benzil paraben'in reaksiyonu.	40
5.8: Bileşik (II) ile metil paraben'in reaksiyonu.	41
5.9: Bileşik (II) ile etil paraben'in reaksiyonu.	42
5.10: Bileşik (II) ile propil paraben'in reaksiyonu.	43
5.11: Bileşik (II) ile bütül paraben'in reaksiyonu.	44
5.12: Bileşik (II) ile benzil paraben'in reaksiyonu.	45
6.1: Bileşik (I)'in Yapısı.	46
6.2: Bileşik (I)'in MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.	46
6.3: Bileşik (I)'e ait proton ile eşleşmemiş ³¹ P NMR spektrumu.	47
6.4: a) Bileşik (I)'e ait ¹ H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ¹ H NMR spektrumu.	48
6.5: Bileşik (I)'e ait FT-IR spektrumu.	49
6.6: Bileşik (II)'nin Yapısı.	49
6.7: Bileşik (II)'nin MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.	50
6.8: Bileşik (II)'ye ait proton ile eşleşmemiş ³¹ P NMR spektrumu.	51
6.9: a) Bileşik (II)'ye ait ¹ H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ¹ H NMR spektrumu.	52
6.10: Bileşik (II)'ye ait FT-IR spektrumu.	53
6.11: Bileşik (III)'ün Yapısı.	53
6.12: Bileşik (III)'ün MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.	54
6.13: Bileşik (III)'e ait proton ile eşleşmemiş ³¹ P NMR spektrumu.	55

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
6.14: a) Bileşik (II)'ye ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	56
6.15: Bileşik (III)'e ait FT-IR spektrumu.	57
6.16: Bileşik (III)'ün Tek Kristal X-Işını Kırınımı Tekniği ile Çözülmüş Yapısı.	57
6.17: Bileşik (IV)'ün Yapısı.	59
6.18: Bileşik (IV)'ün MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.	59
6.19: Bileşik (IV)'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.	60
6.20: a) Bileşik (IV)'e ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	61
6.21: Bileşik (IV)'e ait FT-IR spektrumu.	62
6.22: Bileşik (V)'in Yapısı.	62
6.23: Bileşik (V)'in MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.	63
6.24: Bileşik (V)'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.	64
6.25: a) Bileşik (V)'e ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	65
6.26: Bileşik (V)'e ait FT-IR spektrumu.	66
6.27: Bileşik (VI)'nin Yapısı.	66
6.28: Bileşik (VI)'nin MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.	67
6.29: Bileşik (VI)'ya ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.	68
6.30: a) Bileşik (VI)'ya ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	69
6.31: Bileşik (VI)'ya ait FT-IR spektrumu.	70
6.32: Bileşik (VII)'nin Yapısı.	70
6.33: Bileşik (VII)'nin MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.	71
6.34: Bileşik (VII)'ye ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.	72
6.35: a) Bileşik (VII)'ye ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	73
6.36: Bileşik (VII)'ye ait FT-IR spektrumu.	74
6.37: Bileşik (VIII)'in Yapısı.	74

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
6.38: Bileşik (VIII)'in MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.	75
6.39: Bileşik (VIII)'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.	76
6.40: a) Bileşik (VIII)'e ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	77
6.41: Bileşik (VIII)'e ait FT-IR spektrumu.	78
6.42: Bileşik (IX)'un Yapısı.	78
6.43: Bileşik (IX)'un MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu	79
6.44: Bileşik (IX)'a ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.	80
6.45: a) Bileşik (IX)'a ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	81
6.46: Bileşik (IX)'a ait FT-IR spektrumu.	82
6.47: Bileşik (X)'un Yapısı.	82
6.48: Bileşik (X)'un MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.	83
6.49: Bileşik (X)'a ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.	84
6.50: a) Bileşik (X)'a ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	85
6.51: Bileşik (X)'a ait FT-IR spektrumu.	86
6.52: Bileşik (XI)'in Yapısı.	86
6.53: Bileşik (XI)'in MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.	87
6.54: Bileşik (XI)'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.	88
6.55: a) Bileşik (XI)'e ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	89
6.56: Bileşik (XI)'e ait FT-IR spektrumu.	90
6.57: Bileşik (XII)'nin Yapısı.	90
6.58: Bileşik (XII)'nin MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.	91
6.59: Bileşik (XII)'ye ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.	92
6.60: a) Bileşik (XII)'ye ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.	93

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
6.61: Bileşik (XII)'ye ait FT-IR spektrumu.	94
7.1: MiCont programı arayüzü.	100
7.2: MiCont programı CV protokolü.	101
7.3: Bileşik I ve II'nin karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.	103
7.4: Bileşik I ve III'ün karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.	104
7.5: Bileşik I ve IV'ün karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.	105
7.6: Bileşik I ve V'in karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.	106
7.7: Bileşik I ve VI'nın karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.	107
7.8: Bileşik I ve VII'nin karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.	108
7.9: Bileşik II ve VIII'in karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.	109
7.10: Bileşik II ve IX'un karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.	110
7.11: Bileşik II ve X'un karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.	111
7.12: Bileşik II ve XI'un karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.	112
7.13: Bileşik II ve XII'nin karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.	113
8.1: Bileşik I, III, IV, V, VI, VII' nın DNA Etkileşim Analizleri.	117
8.2: Bileşik I, III, IV, V, VI, VII'nın DNA ile Etkileşen Oranları (C=25 µM)	118
8.3: Bileşik I ve II'nin DNA Etkileşim Analizleri.	118
8.4: Bileşik II, VIII, IX, X, XI, XII'nin DNA Etkileşim Analizleri.	119
8.5: Bileşik II, VIII, IX, X, XI, XII'nin DNA ile Etkileşen Oranları (C=25 µM).	120

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa</u>
1.1: Genotoksisite Testleri ve MiSens Karşılaştırması.	22
4.1: Tez çalışmasındaki deneylerde kullanılan kimyasal maddeler.	31
4.2: DNA etkileşim çalışmalarında kullanılan kimyasal maddeler.	32
4.3: Laboratuvar deneylerinde kullanılan cihazlar.	32
6.1: Bileşik III'ün kristallografik verileri.	58
7.1: DNA ile etkileşimleri araştırılan bileşiklerin 1 mL çözücünde çözünen miktarı ve çalışılan konsantrasyonu.(Stok konsantrasyonu 2 µM)	97
8.1: Sentezlenen Bileşiklerin ³¹ P NMR ve Kütle spektrum verileri.	115
8.2: Sentezlenen bileşiklerin karakteristik IR spektrum verileri (ν _{max} cm ⁻¹).	116

1.GİRİŞ

Fosfazenler, yapılarında fosfor ve azot atomları bulunduran bileşiklerdir. Bu bileşikler düz zincirli veya halkalı yapılarda olabildikleri gibi yapılarında tekrarlanan $-N=PX_2-$ grupları bulundurur ve bu grubun tekrarlanma sayısına bağlı olarak da küçük moleküllerden polimerik yapılara kadar birçok bileşik oluştururlar [1].

Halkalı fosfazenlerin fosfor atomunun üzerindeki halojenlerin, farklı yan gruplar ile süstitüsyon tepkimeleri vermeleri sonucunda çeşitli özelliklerde bileşiklerin elde edilebilmesi bilim insanlarının ilgilerini fosfazen halkalarına yöneltmiştir [2]. Çalışmaların daha çok halkalı fosfazenlerden olan heksaklorosiklotrifosfazen (trimer, $N_3P_3Cl_6$) ve oktaklorosiklotetrafosfazen (tetramer, $N_4P_4Cl_8$) bileşiklerinin çeşitli süstitüe gruplar sayesinde kazandıkları özelliklerin incelenmesi ve yapılarının aydınlatılması üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Fosfazenlerin kazandığı bu özellikler endüstriyel, askeri ve tıbbi alanlarda kullanımlarını yaygınlaştırmıştır.

Siklofosfazenlerin şarj edilebilir bataryalar [3-5], sentetik kemik ve membranlar [6], antibakteriyel reaktifler [7] olarak kullanımları bilinmektedir. Yapılan biyolojik aktivite çalışmaları bazı aminofosfazenlerin antikarsinojen ve antibakteriyel [8] özelliklerinin yanında HIV virüsüne karşı da etkin olduğunu göstermektedir [9].

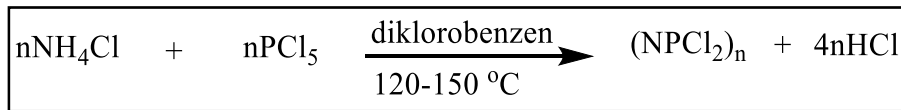
Bu çalışmada, yeni tip paraben türevi siklotrifosfazen bileşikleri elde edilmiş ve elde edilen bileşiklerin yapısal özellikleri ile DNA etkileşimleri sonucu oluşan biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Tez çalışması kapsamında, ilk olarak 2,2'-bifenol bileşiğinin heksaklorosiklotrifosfazen ile reaksiyonu sonucunda monospiro ve dispiro siklotrifosfazen bileşikleri elde edilmiştir. Monospiro ve dispiro siklotrifosfazen bileşikleri elde edildikten sonra paraben türevi olan bileşikler (metil/etil/bütil/propil/benzil paraben), yer değiştirme tepkimesiyle siklotrifosfazen halkasına bağlanmıştır. Elde edilen bileşiklerin yapısı kütle spektrometresi, FT-IR, ^1H ve ^{31}P NMR spektroskopisi verilerinden faydalanılarak aydınlatılmıştır. Ayrıca kristal formları elde edilen bileşiklerin tek kristal X-ışını kırınımı ölçümü çalışmalarından elde edilen veriler ile de yapıları doğrulanmıştır. Sentezlenen bileşiklerin elektrokimyasal tabanlı biyosensör cihazı ile DNA etkileşimleri incelenmiş ve biyolojik aktiviteleri hakkında bilgi sahibi olunmuştur. Biyosensör cihazı ile sentezlenen moleküllerin ilaç adayı olabilme olanakları daha hızlı ve ekonomik olarak tespit edilebilmektedir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Fosfazenler

İlk fosfazen bileşiği 1834 yılında Liebig ve Wöhler tarafından amonyumklorür ve forforpentaklorür tepkimesinden elde edilen heksaklorosiklotrifosfazen[trimer, $(\text{NPCl}_2)_3$] bileşiğidir. Kristallendirilen bu kararlı bileşiğin yapısı açıklanamamıştır; fakat ilk bulunan bileşik olduğu için fosfazen kimyası alanında en çok çalışma yapılan bileşik olmuştur. 1844'te Gerhardt ve Laurent yapıyı (NPCl_2) olarak açıklamış ve daha sonra Gladstone, Holmes ve Wichelhaus molekül formülünü $(\text{NPCl}_2)_3$ olarak bulmuştur. 1895 yılından sonraki çalışmalarda H.N. Stokes, heksaklorosiklotrifosfazen için halkalı yapı önermiş ve $(\text{NPCl}_2)_n$ ($n=4,5,6,7$) bileşiklerini sentezlemiş ve bileşiklerin ısıtıldığında polimerleştiğini gözlemiştir [10].

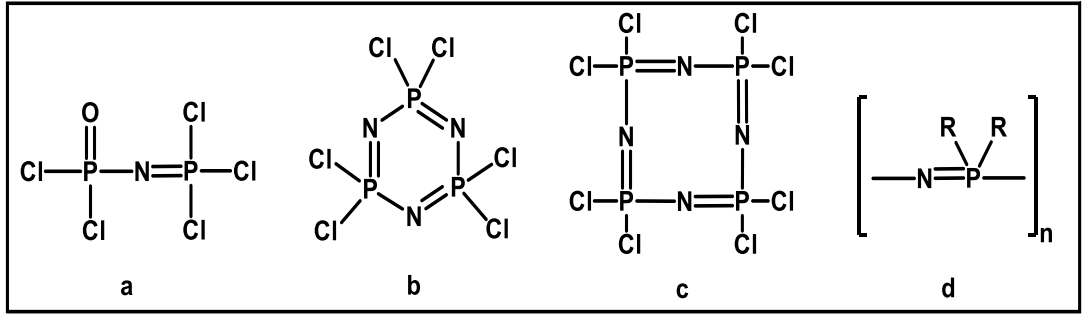
1924 yılında Schenck ve Römer, günümüzde de kullanılan yöntemle amonyumklorür ve fosforpentaklorürden çıkarak yüksek verimle halkalı $(\text{NPCl}_2)_3$ ve $(\text{NPCl}_2)_4$ bileşiklerini elde etmişlerdir [11] (Şekil 2.1). Bu bileşiklerin yapısı 1936 yılında X-ışını kristalografisi yardımıyla Meyer ve arkadaşları tarafından aydınlatılmıştır [12]. Brockway ve Bright 1943 yılında elektron-difraksiyon metoduyla heksaklorosiklotrifosfazen üzerine çalışmışlardır [13]. 1959 yılında ise infrared ve raman spektroskopisi teknikleri ile bu bileşikler üzerine çalışmalar devam etmiştir [14].



Şekil 2.1: Halkalı fosfazen sentezi.

1965 yılında Allcock ve Kugel tarafından ilk polifosfazen bileşiklerinin sentezlenmesi ile fosfazen polimerleri konusundaki çalışmalar hız kazanmıştır [15]. Sonraki yıllarda fosfazenlerin hidroliz, polimerleşme ve yer değiştirme (süstitüsyon) tepkimelerinin yanısıra bu bileşiklerin kullanım alanlarına yönelik çalışmalar artarak devam etmiştir.

Fosfazenler düz zincirli(lineer), halkalı(siklo) ve polimerik olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: a) Düz zincirli b) Trimer c) Tetramer d) Polimerik fosfazen yapıları.

2.2. Fosfazenlerin Geometrik ve Elektronik Yapısı

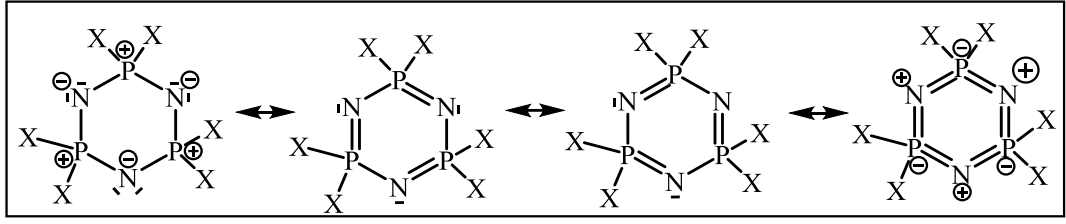
Fosfazen bileşiklerindeki bağlarla ilgili bazı bilgiler şöyledir

- Halkalı ve zincirli moleküller çok kararlıdır,
- $[PN]_n$ halkalarındaki bütün P-N uzunlukları $(PNX_2)_n$ bileşiklerinde eşittir,
- P-N bağ uzunlukları ($\sim 1.58 \text{ \AA}$), doymuş fosfazen bileşiklerinden ($\sim 1.77 \text{ \AA}$) daha kısadır,
- Halkalı fosfazenlerdeki azot atomu ortaklanmamış elektronları ile zayıf Lewis bazı olarak davranabilir,
- P-N-P açısı ($120-150^\circ$) olmakla beraber, N-P-N açısı ($120 \pm 2^\circ$) olup genelde sabittir,
- Fosfazenlerin reaksiyonu genellikle fosfor atomu üzerinden gerçekleşen nükleofilik ataklara dayanır ve sonucunda sübstituentlerden birini çıkarır [16].

2.2.1. Halkalı Fosfazenler

Halkalı fosfazenlerin genel formülü $(NPX_2)_n$ (X: F, Cl, Br; $n=3-12$) dir. Halkalı fosfazenlerin en bilineni $-P=N-$ biriminin üç kez tekrar ettiği heksaklorosiklotrifosfazen (Şekil 2.2.b) ve $-P=N-$ biriminin dört kez tekrar ettiği oktaklorosiklotetrafosfazendir (Şekil 2.2.c).

Halkalı fosfazenler, rezonans sonucu oluşan elektron delokalizasyonu sebebiyle düz zincirli fosfazenlere göre daha kararlıdır [17, 18]. Ayrıca azot atomlarında sp^2 ve fosfor atomlarında sp^3 hibritleşmesi görülmektedir. Azot ve fosfor arasındaki π bağları, azot üzerine polarizlenmiştir.



Şekil 2.3: Halkalı fosfazenlerden trimerin rezonans formülü.

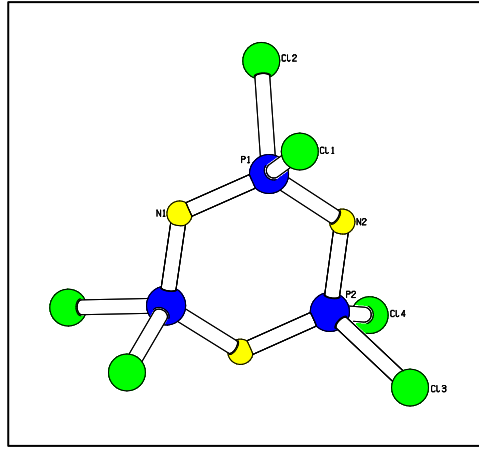
Fosfazen halkasının π -elektron paylaşımı, benzen halkasının π -elektron paylaşımından farklıdır. Benzen halkasında elektronlar birbirlerine yakın olmakla beraber komşu atomlar üzerindedir ve aynı atomlar arasında paylaşılır; sonuçta paylaşım eşittir. Fosfazen halkasındaki P-N bağının iyonik karakteri daha fazladır ve bu sebeple elektron paylaşımı eşit olmaz. π -Bağı, azot üzerinde kalan bir elektron ile fosfor atomu üzerindeki bir elektronun örtüşmesi sonucu oluşmaktadır. Fosfazen halkasındaki fosfor-azot bağları beklenenden kısadır. Düzlemsel halkalı yapıda bağ açısı $\sim 121^\circ$ dir [19].

2.3. Fosfazenlerin Stereokimyası

Fosfozen bileşiklerinde fosfor atomunun karbona benzer olarak dört koordinasyonlu olması karbon gibi optikçe aktif olabileceği düşüncesini akla getirmiştir. Nitekim kiral özellik gösterdikleri 1962 yılındaki çalışmada belirtilmiştir [2]. Fosfazenlerin stereojenik özelliği sadece fosfor atomundan kaynaklanmayabilir; fosfor atomuna bağlanan grupların içerdiği kiral merkezler de stereojenik olabilir [20].

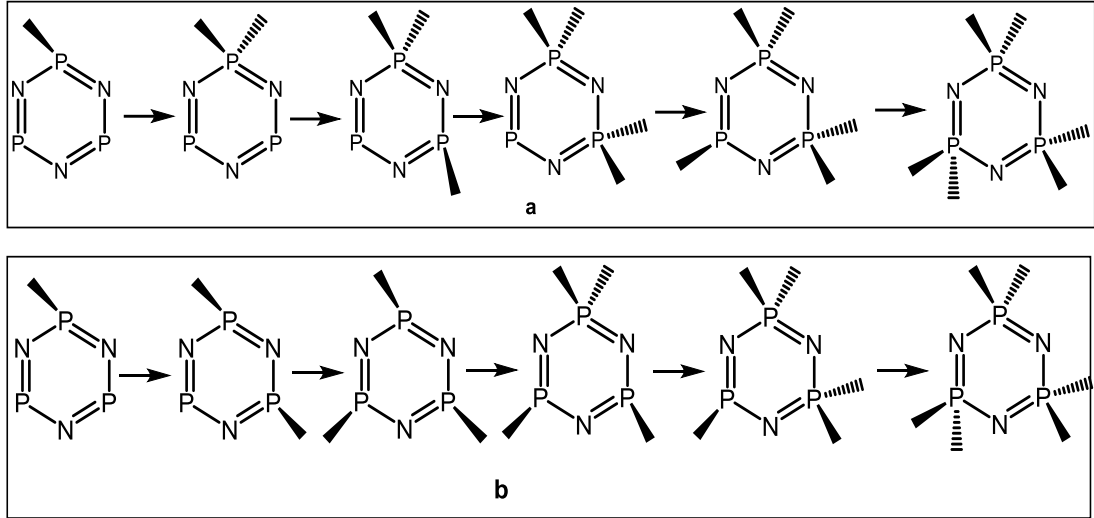
Stereojenik fosfor atomuna sahip bileşikler, P-kiral adını almaktadır. Hekzaklorosiklotrifosfazene simetrik olmayan bir süstitüent spiro düzlemde bağlanırsa, bileşikte bir kiral merkez oluşur. Halkalı fosfazenlerde iki eş kiral merkez varsa bileşik mezo (RS-SR) ve rasemik (RR-SS) olarak iki diastereoizomer yapı oluşturur.

Halkalı fosfazenlerin kiral yapısı, kiral kolonlar yardımıyla kiral HPLC ve kiral çözücü ajanı (CSA) veya kiral kaydırma reaktifi (CSR) eklenmesiyle ^{31}P -NMR spektroskopisi veya X-ışını kristallografi verileri yardımıyla aydınlatılabilmektedir [21].



Şekil 2.4: Trimerin üç boyutlu yapısı.

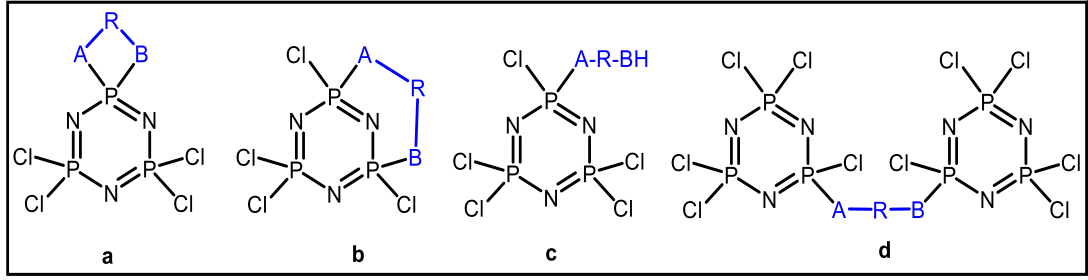
Hekzaklorosiklotrifosfazenin(trimer) üç boyutlu yapısı Şekil 2.4'te [22] gösterilmiştir. Trimerdeki klor atomlarının herhangi bir sübstitüent ile yer değiştirme tepkimeleri iki mekanizma üzerinden yürümektedir. Bunlardan biri olan geminal yer değiştirme, sübstitüentin klor atomları ile ilk ve ikinci yer değiştirmesi aynı fosfor atomu üzerinden, üçüncü ve dördüncü yer değiştirmesi diğer fosfor atomu üzerinden ve son olarak beşinci ve altıncı yer değiştirmesi son fosfor atomu üzerinden gerçekleşir (Şekil 2.5.a). Geminal olmayan-nongeminal yer değiştirmede ise halkaya bağlanacak sübstitüentler sırasıyla farklı fosfor atomlarına bağlanarak devam etmektedir (Şekil 2.5.b).



Şekil 2.5: a) Trimerin geminal yerdeğiştirmesi b) Trimerin geminal olmayan(non-geminal) yerdeğiştirmesi.

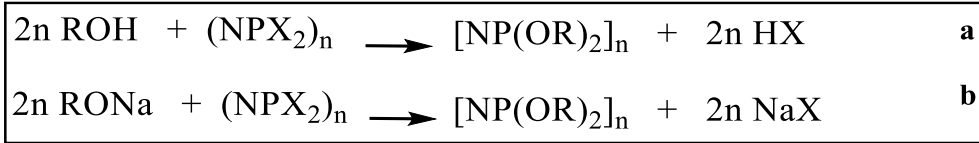
2.4. Fosfazenlerin Hidroksil Grubu İçeren Nükleofiller ile Reaksiyonu

Yapısında monofonksiyonlu gruplar bulunduran nükleofiller ile trimerin tepkimesi sonucu oluşan ürünler, kullanılan sitokiyometrik oranlara göre farklılık gösterir. Nükleofilin oranına göre çeşitli süstitüe ürünler ve süstitüent sayısına göre geminal ve non-geminal bağlanmalar görülebilir. Trimerin alifatik veya aromatik dioller, aminoalkoller gibi difonksiyonlu gruplar bulunduran nükleofiller ile reaksiyonu sonucunda oluşması beklenen ürünler spiro, ansa, açık zincir, köprülü(bino) yapısına sahiptir (Şekil 2.6). Spiro yapısı süstitüe grubun her iki ucunun da aynı fosfor atomuna bağlanması ve ansa yapısı bağlanan grubun uçlarının aynı moleküldeki farklı fosfor atomlarına bağlanması sonucu oluşur. Açık zincir yapı, moleküldeki fosfor atomuna yalnızca bir grubun bağlanması ve grubun diğer ucunun serbest kalması ile ve köprülü (bino) yapı ise bağlanan grubun her iki ucunun da farklı iki moleküldeki fosfor atomlarına bağlanması ile oluşur.



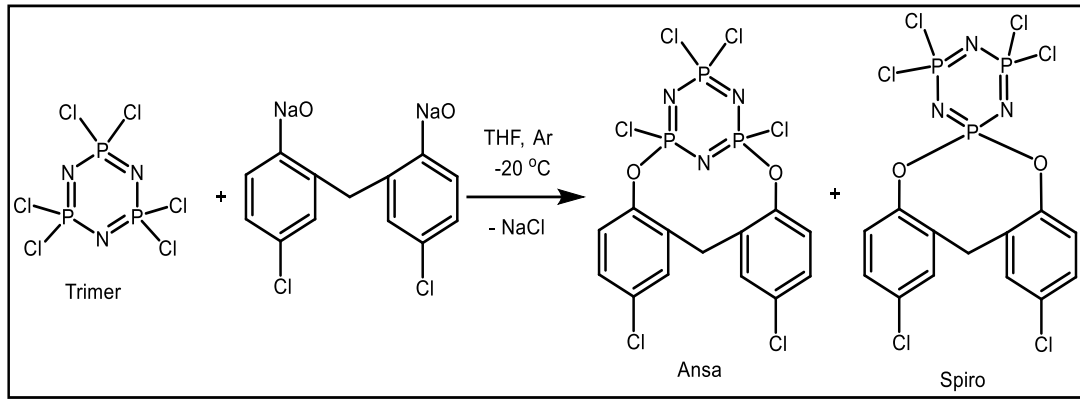
Şekil 2.6: Trimerin a) spiro b) ansa c) açık zincir d) köprülü(bino) yapısı.

Fosfazenlerin alkol ve fenollerle olan reaksiyonları ‘Alkoliz ve Fenoliz Reaksiyonları’ olarak isimlendirilir. Hidroksil grubu içeren alkol ve fenol gibi nükleofillerin fosfazenlerle reaksiyonu sonucu yan ürünler az oluşmakta ve oluşan ürünler kolayca saflaştırılabilmektedir. Bu avantajlar sayesinde bu reaksiyonlar fosfazen kimyasında sıkça tercih edilmektedir. Fenoller ve alkollerle gerçekleştirilen süstitüsyon reaksiyonları nongeminal yol izlerken, tiyoller ile geminal yol üzerinden gerçekleşmektedir [23]. Fosfazenlerin alkollerle ve sodyum alkolatlarla verdiği tepkimeler Şekil 2.7’de gösterilmiştir.



Şekil 2.7: Fosfazenlerin a) Alkollerle b) Sodyum alkolatlarla reaksiyonları.

Literatürde, fosfazenlerin alkol ve fenollerle olan çalışmalarına sıklıkla rastlanılmaktadır. Örneğin yapılan bir çalışmada, bisfenol ile heksaklorosiklotrifosfazenin kısmi yer değiştirme tepkimeleri incelenmiş ve sentezlenen bileşikler, X- ışınları kristallografisi ile analiz edilmiştir [24]. Oluşan ürünler spiro ve ansa olarak gözlenmiştir (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: Bisfenol ve heksaklorosiklotrifosfazenin tepkimesi.

Benzer şekilde 2,2'- metilendifenoksi ile heksaklorosiklotrifosfazenin tepkimesi ile spiro ve ansa türevleri sentezlenmiş ve yapıları incelenmiştir [25].

2.5. Fosfazenlerin Alkoliz ve Fenoliz Reaksiyonlarına Etki Eden Faktörler

2.5.1. Nükleofil Türü

Süstitüe edilecek gruplarda dallanmanın olmaması, dallanmış gruplara oranla daha kolay reaksiyon sağlar. Tepkimeye girecek nükleofilik grubun büyüklüğü sterik etkiler ortaya çıkarır ve bu da halojenin yer değiştirme hızına ve derecesine etki eder.

2.5.2. Süstitüentin Etkisi

Halka üzerindeki süstitüentlerin etkisi $N_3P_3Cl_6$ (trimer), $N_3P_3Cl_4Ph_2$ ve $N_3P_3Cl_2Ph_4$ bileşiklerinin alkoliz tepkimeleri ile incelenmiştir. Metoksit, etoksit, n-propoksit ve izopropoksit iyonları nükleofil olarak kullanılmış ve $(NPCl_2)_3 > N_3P_3Cl_4Ph_2 > N_3P_3Cl_2Ph_4$ sırasında klor atomlarının bahsi geçen nükleofiller ile yer değiştirmesinin zorlaştığı ve azaldığı gözlenmiştir. Fenil gruplarının bileşikte çoğalması, nükleofillerle olan yer değiştirme reaksiyonunu zorlaştıracığı açıktır [26].

2.5.3. Çözücünün Etkisi

Bu tepkimelerde fosfor-halojen bağının hidroliz olmaması için susuz çözücüler seçilmelidir. Bu amaçla dietileter, benzen, toluen, ksilen, pridin gibi çözücüler kullanılabilir ancak tetrahidrofuran, dioksan gibi çözücüler kullanılacaksa bu çözücülerin kuru olmasına özen gösterilmelidir. Bu tepkimelerde çözücünün polaritesi ve ortamdaki sodyum tuzlarının çözünürlüğü de etkindir. Çözücünün ortamda oluşan tuzları çözmemesi ancak alkoksit veya ariloksiti çözmesi istenir. Çözücünün polarlığı her reaksiyona ayrı şekilde etki etse de polar çözücüler alkoksit ve ariloksitin iyonlaşmasını kolaylaştırdığı için reaksiyon hızını arttırmaktadır. Bazı çözücülerde süstitüsyon derecesi, dimetilformamit > diglim > tetrahidrofuran > benzen > dietileter şeklindedir.

2.5.4. Fosfazen Halkası ya da Zincir Büyüklüğünün Etkisi

Trimer, tetramer, diğer oligomerler ve polimerler arasında yer değıştirme reaksiyonlarını en kolay veren bileşik trimerdir. Trimerin yer değıştirme tepkimeleri, birçok alkoksit ve fenoksitte 25 °C’de ve on iki saatten az sürede gerçekleşirken, poli(dikloro)fosfazende 70-80 °C’de en az on altı saatte tamamlanabilmektedir. Daha büyük hacimli grupların tepkimelerinde ise bu şartların daha ağır olması gerekir.

2.5.5. Baz Etkisi

Alkol ya da fenollerin bir klorofosfazen ile tepkimeleri sırasında ortamda genellikle bir baz veya sodyum tuzu bulunmaktadır. Sodyum tuzları kullanılarak yapılan alkoksit veya ariloksit tepkimeleri hızlı ve kolay gerçekleşmekte ve reaksiyonda sodyum klorür tuzu oluşmaktadır. Bu tuzlar kolayca reaksiyon ortamından uzaklaştırılabilmektedir.

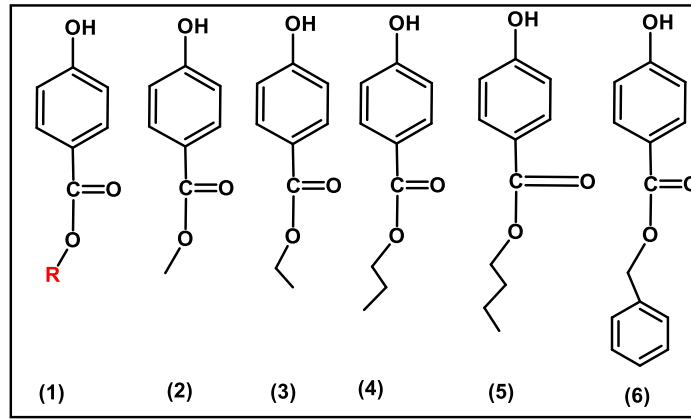
2.6. Fosfazen Türevlerinin Uygulama Alanı

Literatür incelendiğinde fosfazen bileşiklerinin pek çok farklı alanda kullanıldığı görülmektedir. Lineer poli[bis(trifloroetoksifosfazen)] bileşığının 20-100°C arasında He, Xe, O₂, N₂, CO₂, CH₄ gazları üzerinde geçirgenliği ve difüzyonları incelenmiş ve özellikle CO₂ için yüksek geçirgenlik gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca oksijen gazı ve

nem için polimer filmlerinin sensör özellikte olduğu bulunmuştur [27]. Bazı halkalı fosfazen bileşiklerinin ışığı soğuran elektrolüminesans cihazlar ve yanmayı geciktirici malzemeler olarak kullanılabileceği belirlenmiştir [28]. Polifosfazenler, sentetik kemik yapımında [29, 30], elektronik malzemelerde, ısıya dayanıklı materyallerde, enerji üretimi ve enerji depolanmasında kullanılmaktadır [31]. Bazı süstitüe fosfazen bileşiklerinin bakteri ve mayalara karşı aktif olduğu [8, 32, 33], farklı nükleofiller ile süstitüe ferrosenilfosfazenlerin tüberküloza karşı önemli aktivite gösterdiği [34], çeşitli gruplarla süstitüe fosfazenlerin rahim ağzı kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösterdiği bulunmuştur [35].

2.7. Parabenler

Parabenler, para-hidroksibenzoikasit veya 4-hidroksibenzoikasitin ve türevlerinin literatürde kısaltılmış genel ismidir. Uçucu olmadıkları gibi kokusuz ve renksizdirler. Gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinde antibakteriyel ve antifungal özellikleri sayesinde koruyucu etki sağlayarak ürünlerin raf ömrünü uzatırlar. Geniş antimikrobiyal etki spektrumlarının olması, kullanımlarının güvenli olması, diğer birçok koruyucu maddeye oranla daha az tahriş edici olmaları, geniş pH aralığı içerisinde kararlı kalabilmeleri ve daha az oranda hassasiyete yol açmaları parabenleri ideal koruyucu yapmıştır [36]. Parabenlerin ester gruplarındaki karbon sayısı arttıkça sudaki çözünürlükleri azalmaktadır.

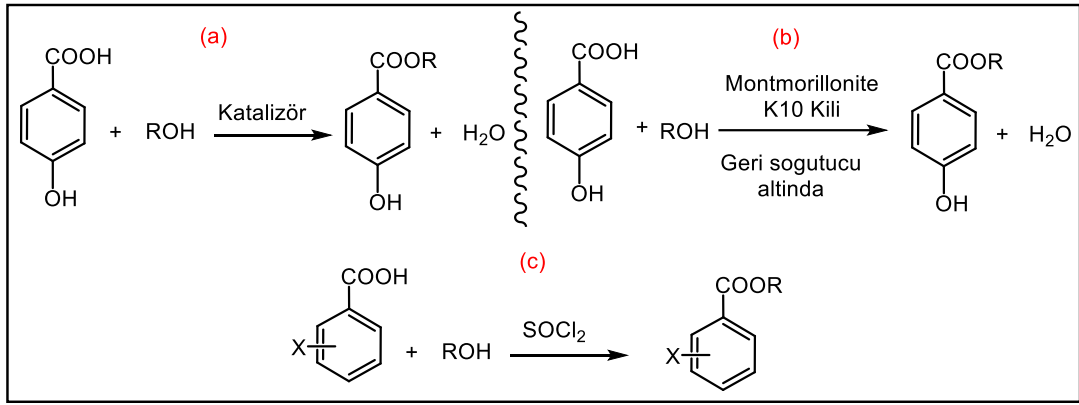


Şekil 2.9: (1) Paraben molekülünün genel formülü, (2) Metil paraben(4-hidroksi metil ester benzoik asit), (3) Etil paraben(4-hidroksi etil ester benzoik asit), (4) Propil paraben(4-hidroksi propil ester benzoik asit), (5) Bütil paraben(4-hidroksi bütil ester benzoik asit), (6) Benzil paraben(4-hidroksi benzil ester benzoik asit).

2.8. Paraben Sentezinde Kullanılan Yöntemler

Paraben sentezine yönelik birçok yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları bu bölümde yer alacaktır.

Ticari olarak kullanılan parabenler mikrodalga ışıması altında *p*-hidroksibenzaldehit ve alkolün ZnCl₂ katalizörlüğünde esterleşmesi(Fischer esterleşmesi) sonucu elde edilmektedir [Şekil 2.10:(a)] [37]. Phukan ve ark. montmorillonite K10 kilini homojen katalizör olarak kullanıp metil, etil ve propil parabenleri bu gruplara karşılık gelen alkoller ve *p*-hidroksi benzoik asit ile esterleşme tepkimesi sonucu sentezlemiştir[Şekil 2.10:(b)] [38]. Hosangadi ve ark. çeşitli fonksiyonel gruplarla uyumlu bir sentez yöntemi geliştirmiş ve çeşitli aromatik karboksilli asitlerin alkollerle tiyonil klorür varlığında gerçekleştirilen tepkimeler yüksek verimlerde ester oluşumuyla sonuçlanmıştır [Şekil 2.10:(c)] [39].



Şekil 2.10: (a) Paraben sentezi, (b) Phukan ve arkadaşlarının paraben sentez yöntemi, (c) Hosangadi ve arkadaşlarının paraben sentez yöntemi.

2.9. Paraben Türevlerinin Uygulama Alanları

Parabenlerin, paraben genel adı altında birçok türevi bulunmaktadır ve çeşitli alanlarda kullanılmaktadırlar (Şekil 2.9). Parabenlerin kullanım alanlarından bazıları

- Gıda endüstrisinde: Reçeller, mayonez, ketçap, meyve suları, dondurulmuş gıdalar, salata sosları vb.
- İlaç sanayinde: Krem, merhem, lokal aneztezik ilaçlar, antibiyotikler, kulak-burun damlaları, bandajlar, vitaminler, diüretikler, bazı kemoterapötik ajanlar vb.
- Kozmetik endüstrisinde: Deodorantlar, nemlendirici losyonlar, diş macunları, pudra, fondöten, makyaj temizleyiciler, çeşitli diş temizleyicileri, şampuanlar, oje vb.

Parabenler tek olarak veya diğer paraben türevlerinden biriyle beraber ortak kullanılabilir. Metil parabenin gıdalarda %0.1 oranında kullanılması güvenli kabul edilmektedir. Ayrıca metil paraben besin ambalajlarında antimikotik(mantar oluşumunu engelleyen) olarak da kullanılmaktadır [40].

Matthews ve ark.(1956) tarafından yapılan bir çalışmada, fare, sıçan ve köpekler üzerinde parabenlerin akut ve kronik toksisite deneyleri yapılmış, çok düşük oranda toksisite gösterdiği ve gıdalarda güvenli bir şekilde kullanılabileceği belirtilmiştir [41]. Yapılan başka bir çalışmada ise, bütün parabenlerin östrojenik aktiviteye sahip olduğu ancak bu aktivitenin doğal bir östrojen olan 17β-estradiolun aktivitesinden 1000-1000000 kat daha düşük olduğu gözlenmiştir [42]. 2008 yılında F.A. Andersen

tarafından yapılan bir çalışmada, Çin hamster yumurtalık hücrelerinde etil paraben ve metil paraben bileşiklerinin etkisiyle kromozomal sapmaların arttığı ancak mutajen bir etki olmadığı ayrıca parabenlerin alerjik bünyeye sahip bireyler dışındaki kişilere herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı ifade edilmiştir [43]. 2012 yılında Aubert ve ark. tarafından Sprague-Dawley sıçanları ile çalışmış ve metil, propil ve bütill parabenin deri, deri altı ve ağız gibi çeşitli yollarla organizmaya alındığında canlılar üzerinde zararlı etki verecek oranda plazmada birikmediği, çok iyi emilim gösterdiği ve tamamen zararsız metabolitlere ayrıldığı bildirilmiştir [44]. Bu çalışmaların yanı sıra bazı paraben türevlerinin de çilek, arpa, mango, siyah üzüm, havuç, soğan gibi bitkilerde var olduğu belirtilmiştir [45].

2.10. Sensörler

‘Sensör’ sözcüğü yabancı kökenli bir kelime olup dilimize de aynı şekliyle yerleşmiştir. Türk Dil Kurumu (TDK) tarafından ‘duyarga’ olarak türkçeleştirilen bu kelime ‘algılayıcı’ anlamında da kullanılmaktadır. Kimyaya özelleştirerek bir tanım yapılacak olursa sensör, bir örnek karışımından istenilen analitin doğrudan ölçümü amacıyla kullanılan ve bu analitin algılanması sonucu oluşan elektriksel sinyali dönüştürücü birimlerden oluşan bir dedektördür. Bir sensörde genel olarak üç yapı vardır. Bunlar; algılayıcı bölüm, dönüştürücü(transducer) bölüm ve elektronik bölümdür. Bu bölümler, kimyasal reaksiyonlarda çok önemli roller üstlenmektedir. Algılayıcı bölüm reaksiyondaki değişim için veya değişen madde konsantrasyonunun analizi için kullanılırken; dönüştürücü bölüm bu değişimlerin hepsini anlamlı veriler haline getirerek kullanıcıya sunar. Bölümlerinin çok çeşitli olması sensörlerin de çok fazla türünün olmasına sebep olur. Sensörler, çok geniş bir sınıflandırılma alanına sahiptir [46].

2.11. Kimyasal Sensörler

Kimyasal sensörlerin bilim insanları tarafından çok yaygın kullanımı bu cihazlara IUPAC tarafından bir tanım getirilmesi ihtiyacını doğurmuştur. Bu tanım: ‘kimyasal bir bilgiyi, gözlenebilir veya ölçülebilir bir birime dönüştüren araçlardır’ şeklindedir [47]. Kimyasal bileşiklere ya da iyonlara seçici ve tersinir şekilde cevap veren ve derişime bağımlı elektriksel sinyaller oluşturan küçültülmüş cihazlara ise

elektrokimyasal sensörler denir. Bu sensörlerde algılanan yapılar biyolojik maddeler ise çok genel anlamda ‘biyosensör’ olarak adlandırılır. Kimyasal sensörler milli güvenlik alanından endüstriyel sağlık, emisyon izleme, otomotiv, klinik teşhis, insan konfor kontrolleri gibi çok geniş alanda kullanılmaktadır ve bu da sosyoekonomik açıdan fayda sağlamaktadır [48]. Bilgisayar ve mikroçip teknolojilerinin gelişmesi kimyasal sensörlerdeki ‘dönüştürücü’ bölümünün de gelişmesine katkı sağlamakta ve bu sensörler dönüştürücü birimlerinin çalışma sistemine göre de sınıflandırılabilir [49].

2.12. Biyosensörler

2.12.1. Biyosensörlerin Tanımı ve Tarihçesi

Biyosensörlerin tarihi 1950 li yıllarda L.C. Clark’ın Cincinnati Hastanesinde (Ohio, ABD) ameliyat esnasında kandaki oksijen miktarını bir elektrot yardımı ile izlemesiyle başlamıştır. 1962 yılında ise Clark ve Lyons glukoz oksidaz (GOD) enzimini oksijen elektrotu ile kombine ederek kandaki glukoz seviyesini ölçmeyi başarmışlardır [50]. Onlarca yıl sonra IUPAC biyosensörleri ‘spesifik biyokimyasal olaylar (enzim, doku, immüno sistemler veya diğer hücrel olaylar gibi) kullanılarak kimyasal bileşiklere karşı verilen biyolojik tepkilerin elektriksel, termal veya optik sinyaller aracılığıyla ölçülebilmesini sağlayan araçlar’ şeklinde tanımlamıştır [51]. Her ne kadar aradan uzun bir zaman geçmiş olsa da günümüzde hala en çok kullanılan sensörler glukoz analizi için kullanılanlardır [52-56]. Tipik bir biyosensör, algılanması istenen biyoaktif madde, biyoaktif maddeyi algılayacak biyoalgılama materyali ve bu algının sonucunu kullanıcıya gönderecek sinyal dönüştürücü kısımlardan oluşmaktadır. Sinyal dönüştürücüler (transducerler) reseptörlerin (algılayıcıların) biyolojik reaksiyonunu ölçülebilir bir sinyale dönüştürürler. Dönüştürücü birimleri elektrokimyasal, optik, piezoelektrik, termal veya manyetik olabilir. Biyoalgılama materyali ile analit arasında anahtar-kilit ilişkisi mevcuttur. Bu nedenle istenilen analite uygun biyolojik algılama materyali seçmek çok önemlidir. Ayrıca dönüştürücü ile biyolojik algılama materyali arasında da güçlü bir etkileşim sağlanmalıdır. Dönüştürücüye biyolojik algılama materyalinin tutunmasında kullanılan yöntemler arasında tutuklama, çapraz bağlama, adsorbsiyon ve kovalent bağlama bulunur [57].

2.12.2. Biyosensörlerin Kullanım Alanları

Biyosensörler tıpta, diabetes hastalığının teşhisi için kan ve idrarda glikoz tayini yapan glikoz oksidaz elektrodu içeren sensörler şeklinde kullanılır. Üre, kreatinin elektrotlar ile kas gücünü ölçen laktat elektrotlar da mevcuttur. Gıda üretimi ve analizinde, glikoz ve amino asit, organik asit, üre, alkol tayinlerinde enzim temelli biyosensörler sıklıkla kullanılmaktadır. Pestisit, toksik madde, alerjen süt proteininin tespitinde [58] ve gıdadaki yabancı madde analizlerinde de biyosensörlerin kullanımına rastlanmaktadır. Tarımda organofosfatların tayini/tespiti ve patojen tespitinde biyosensörlerden yararlanılır [59]. Hava, su ve toprakta bulunan yüksek seviyedeki kirlilik durumunda potansiyel analitlerin varlığı biyosensör kullanımı için uygun bir alandır. Tarım alanındaki pestisit, mikotoksin gibi toksik analizlerde biyosensörler işlevseldir [60]. Ayrıca askeri uygulamalar, toksik gaz analizi, proses kontrolü, savunma sanayi, ilaç analizi ve ilaç etki mekanizması, maden işletmelerinde zehirli gaz analizlerinde biyosensörler kullanılmaktadır [61]. Biyoreportörler yardımıyla petrol sızıntıları, zehirli atıklar ve yeraltı sularındaki uranyum miktarı, içme sularını kirlüten mikroorganizmaların derişimi belirlenebilmektedir [62].

2.12.3. Biyosensörlerde Aranılan Özellikler

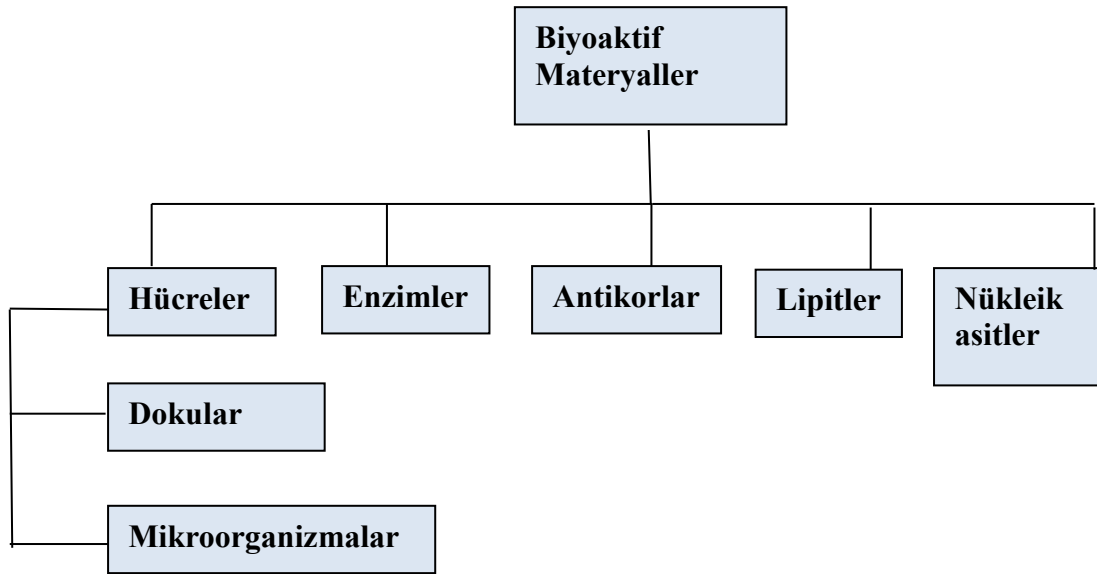
- Seçimlilik: İdeal bir biyosensör için en önemli özelliklerden biridir. Biyosensörün ölçülmesi istenen analite karşı seçici olması anlamına gelir.
- Kullanım Ömrü: Bir biyosensörün kullanım ömrünün olabildiğince uzun olması beklenir. Biyosensörün kullanım ömrünü kısıtlayan temel etken biyolojik çeviricinin aktivitesidir.
- Tekrarlanabilirlik: Biyosensörde farklı zamanlarda aynı koşullar altında arka arkaya yapılan ölçümlerde birbirine çok yakın sonuç vermesini ifade eder. Yüksek tekrarlanabilirliğe sahip olması bir biyosensörün avantajıdır.
- Kararlılık (Stabilite): Biyosensörün yapısında kullanılan fiziksel materyalin dayanıklılığının bir ölçüsüdür. İdeal bir biyosensörde elektrot stabilitesinin yüksek olması istenir. Kararlılık; pH, ısı, nem, ortamdaki oksijen derişimi gibi çeşitli parametrelerden de etkilenmektedir.
- Duyarlılık: Biyosensörün çok küçük miktardaki analit değişimlerine karşı gösterdiği algılama kapasitesidir.

- **Tayin Sınırı:** Biyosensörde belirli bir güven düzeyinde analitin tayin edilebilecek en düşük miktar sınırıdır.
- **Ölçüm Aralığı:** Biyosensör cihazında yapılan uygulamalar sonucu alınan akım-derişim eğrilerinin doğrusal (lineer) olması istenir. Ayrıca bu aralık ne kadar genişse biyosensör için o kadar iyidir.
- **Yanıt zamanı:** Biyosensörlerin ölçüm sonucunu kullanıcıya cevap olarak gösterme hızı elde edilen akım-zaman eğrileri ile anlaşılabilir. İdeal biyosensörlerde yanıt zamanının hızlı olması beklenir.
- **Geriye Dönme Zamanı:** Amperometrik ölçüm alınan biyosensörlerde birinci numuneden sonra ne kadar kısa sürede ikinci numuneden ölçüm alınabiliyorsa geriye dönme zamanı o kadardır. İdeal biyosensörlerde geriye dönme zamanının olabildiğinde kısa olması istenir.
- **Basitlik ve Ucuzluk:** İdeal biyosensör kullanıcı dostu ve kolay kullanımlı, maliyeti mümkün olduğu kadar düşük olmalıdır.
- **Küçültülebilirlik ve Sterilize Edilebilirlik:** Biyosensörlerin küçültülmesi günümüzde lab-on-a-chip akımının bir gereksinimidir. Ayrıca biyosensörün yapısındaki biyolojik materyalin fiziksel olarak dayanıklılığı sterilizasyon için önem taşır. İyi bir biyosensör olabildiğince küçük ve kolayca sterilize edilebilir olmalıdır [63].
- **Kalibrasyon Gereksinimi:** İdeal bir biyosensörden istenen özellik kalibrasyona ihtiyaç duyulmaması ya da olabildiğince az kalibre edilme ihtiyacı duyulmasıdır. Ancak pratikte biyosensörler kullanıcılar tarafından sıklıkla kalibre edilmektedir [64].

2.12.4. Biyosensörlerin Sınıflandırılması

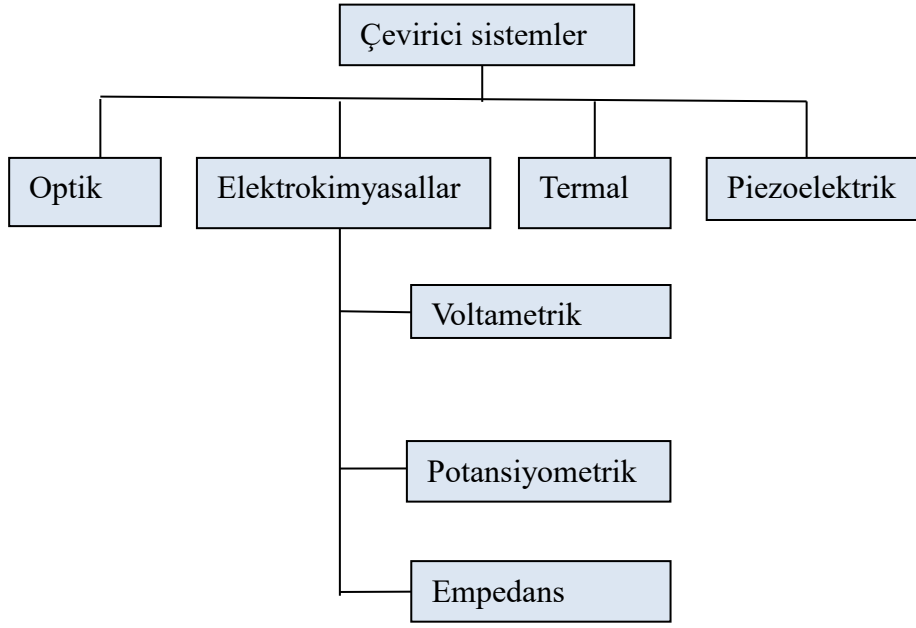
Biyosensör alanındaki her yeni araştırma ile biyosensörlerin sınırları biraz daha genişlemektedir. Bu durum biyosensörlerin sınıflandırılmasını daha da zorlaştırmaktadır. Biyosensörlerin birbirinden farklı çok çeşitli sınıflandırmaları bulunmaktadır. Biyosensörler tanınacak biyolojik materyal, tanıyıcı kısım ve dönüştürücü (transducer) kısımlarından oluşmaktadır ve bu üç grubun da farklılıklar göstermesi sonucu sayısız kombinasyonda sınıflandırma yapılabilmektedir.

Algılama kısımlarına göre biyosensörler; bu kısımlar biyosensör sistemlerinin tayin edilmesi istenen maddeye karşı en fazla seçiciliğe sahip ve onunla tersinir olarak etkileşime giren biyomoleküler kısımlardır. Bu bölüm biyosensörün kendisine özel olan hedef molekülü tanıması ve etkileşime girmesini sağlar. Enzimler, antikorlar, nükleik asitler en çok kullanılan kimyasal reseptörlerdir (Şekil 2.11). Ayrıca mikroorganizmalar, organeller, doku kesitleri, biyolojik membranlar içine yerleştirilmiş kimyasal reseptörler de sensörlerde algılayıcı biyomoleküller olarak kullanılmaktadır.



Şekil 2.11: Biyosensörlerin algılayıcı kısımlarında kullanılan biyomolekül türüne göre sınıflandırılması.

Dönüştürücü (transducer) kısımlarına göre biyosensörler; hedef analit ile algılayıcı kısım arasındaki etkileşimi okunabilir bir birim olarak kullanıcıya sunan kısım çeviricidir. Çeviriciler(transducer) potansiyel, akım, ışık şiddeti, kütle ya da ısıdaki değişimlere karşı hassastır. Biyosensörlerin çeviricileri (transducer) elektrokimyasal (voltametrik, potansiyometrik, kondüktometrik, alan etkili- ISFET, chem- FET), optik (Surface plazmon resonance-SPR, floresans, yansıma, luminesans, kırılma indeksi), elektriksel (yüzey etkinliği-MOS, elektrik iletkenliği), termal (reaksiyon ısısı, adsorbsiyon ısısı), kütle duyarlı (piezoelektrik), manyetik (paramanyetik) sistemlere dayalı olarak çalışabilir (Şekil 2.12).



Şekil 2.12: Çevirici sistemlerine göre biyosensörlerin sınıflandırılması.

2.13. Elektrokimyasal Sensörler

Elektrokimyasal sensörler, gerçekleşen bir biyotkileşim sırasında reaksiyonda oluşan elektrokimyasal olarak ölçülebilir akımı (amperometri), ölçülebilir yük topluluğunu veya potansiyel(potansiyometri) değişimlerini veya elektrotlar arasındaki ortamda iletkenlik değişimlerini(kondüktometri) algılar [65]. Bu tipteki biyosensörler, bulanık ortamlarda dahi çalışır ve hassas ölçüm almakla beraber kullanıcılar için ufak boyutlarda üretilmeye uygundur.

Ölçüm alınacak elektrokimyasal özelliğe göre elektrokimyasal sensörler üç gruba ayrılır: kondüktometrik, potansiyometrik ve amperometrik biyosensörler [66].

Potansiyometrik biyosensörler, ihmal edilebilir akım altında, elektrokimyasal hücredeki potansiyelin ölçülmesine dayanarak çalışır. Elektrotların yüzeyinde seçici bağlanma ile oluşan yük topluluğunu tayin eder [67]. Potansiyometrik sensörler üçe ayrılarak incelenir: İyon seçici elektrotlar, kaplama tel elektrotlar, alan etkili transistörler.

Amperometrik biyosensörler, elektrokimyasal olarak gerçekleşen tepkimede reaktiflerin indirgenme ve yükseltgenmesi ile oluşan akım değişimlerini ölçen sensörlerdir. Ölçüm esnasında çalışma elektroduna (referans elektrota) sabit bir potansiyel verilir ve potansiyel direkt istenilen değere getirilebilir ve oluşan akım

ölçülür ya da potansiyel istenilen değerde sabit bırakılır. Bu teknik diğerlerinden daha fazla seçicidir çünkü indirgenme-yükseltgenme tepkimesi sırasında uygulanan potansiyel analitin türüne özgüdür.

Kondüktometrik sensörler, iletkenlik temeline dayanarak çalışır. Biyokimyasal reaksiyonun olduğu çözeltide tepkimeyle beraber oluşan elektriksel iletkenlikteki değişimi tayin eden sensörlerdir [68].

2.13.1. Elektrokimyasal DNA Biyosensörleri

Analizi yapılacak maddeyi tanıyacak kısımda algılayıcı biyomolekül olarak DNA'nın kullanıldığı elektrokimyasal biyosensörlerdir. DNA biyosensörleri toksik madde analizlerinde, bazı kalıtsal hastalıkların teşhisinde, genetiği değiştirilmiş organizmaların (GDO) tayininde, klinik araştırmalarda, mutasyon analizlerinde, ilaç etki mekanizmalarının aydınlatılmasında, çevre ve adli tıp ile ilgili araştırmalarda geniş bir kullanım alanına sahiptir [69]. Elektrokimyasal DNA biyosensörleri ile yapılan analizler genellikle sensörün algılayıcı kısmı ile analizi yapılacak örnek arasında gerçekleşen etkileşim sonucu meydana gelen akım veya potansiyeldeki değişimin kullanıcıya ulaşması prensibine dayanır.

Madde-DNA etkileşiminin sonucunda biyosensördeki çeviricinin(transducer) türüne göre elde edilen madde sinyali veya DNA'daki elektroaktif bir bazın sinyalindeki azalma veya artmaya bağlı olarak elektrokimyasal ölçüm alınır. Bazı ilaç moleküllerinin geliştirilen yeni yöntemlerle DNA etkileşiminin tayin edilmesi ya da ilaç olmaya aday moleküllerin DNA ile etkileşimlerinin yeni nesil DNA biyosensörleri ile daha kısa sürede tespit edilmesi yeni ilaç tasarımları için büyük önem taşımaktadır [70].

DNA biyosensör tasarımlarına, bazı maddelerin DNA ile interkalasyonu (DNA çift sarmalı arasında düzlemsel maddenin yerleşmesi) veya seçimli bağlanma sonucu bir ürünün meydana gelmesi ve bu ürüne özel bir elektrokimyasal yöntemin bulunması gibi yöntemler yön vermiştir [71]. Bir maddenin ya da metabolitin DNA ile etkileşiminin kısa sürede ve doğru bir şekilde tespiti, kanser teşhisi ve kanser için üretilen antikanser ilaçların hızlı bir şekilde araştırılıp taramadan geçirilmesi için büyük önem taşımaktadır. Yüzeyde hibridizasyon ile ideal bir elektrokimyasal DNA biyosensörü üç aşamada tasarlanır. Birinci aşama prob tutturulması

(immobilizasyonu), ikinci aşama hedef dizi ile hibridizasyon ve son aşama işaretli ve işaretsiz tekniklerin kullanımına dayanan tayindir.

DNA'nın redoks tepkimesi çok yüksek pozitif ve negatif potansiyellerde görülür, ayrıca tersinmez bir tepkimedir. Bu durumlar, DNA molekülüne ait akım ölçümünü zorlaştırır. Bu nedenle daha düşük potansiyellerde tersinir elektrot reaksiyonları verebilen elektroaktif DNA problemlerinin oluşturulmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Hazırlanan probun yüzeye düzgün olarak tutturulması önemli bir basamaktır. Bu sırada spesifik olmayan bağlanmaların önüne geçilmesi alınan sinyalin yanlış olarak yorumlanmaması için gereklidir. Probon yüzeye immobilizasyonu için, tutunma kimyasının kararlı olması, problemlerin bağlanma sonunda işlevsel olması, biyomoleküllerin uygun bir yönelim ve yapılandırma ile immobilize olması [72] gerekir. DNA elektrot yüzeyine kovalent bağlanma, adsorpsiyon, elektrostatik bağlanma yolları ile bağlanabilir.

Adsorpsiyon yoluyla bağlanma; en basit yöntemlerdendir, belirlenen kısa DNA dizisi (prob) içeren hedef analitin elektrota teması sonucu immobilizasyondur. Bunlara örnek olarak, avidin tutturulmuş bir yüzeye biotinli oligonükleotidlerin bağlanması, polimerik matrikslerle bağlanma, kovalent ajanlarla yüzeye kovalent bağ ile bağlanma verilebilir [73].

Elektrostatik yolla bağlanma; elektrot yüzeyini pozitif yükleyerek negatif bir fosfat omurgasına sahip DNA'nın elektriksel çekim gücü sayesinde yüzeye bağlanmasının sağlanmasıdır [74].

Kovalent bağlanma; karbodiimit reaksiyonu ve silan kimyası yardımı ile DNA dizileri elektrot yüzeyine kovalent olarak tutturulmaktadır. Bu yolla prob elektrot yüzeyine tutturulduktan sonra kovalent ajanlar ve bağlama kimyasalları kullanılarak ajanlarla yüzeye amino grubu işaretli prob güçlü bir şekilde bağlanır [75].

2.14. Altın Nanoparçacık

Nanoteknolojideki gelişmeler elektrokimyası ve dolayısıyla da biyosensör teknolojisini yakından etkilemiştir. Nanoteknoloji, genel olarak nano boyuttaki atomların veya moleküllerin ayrılması, birleştirilmesi, işlenmesi veya bozunmasıdır. Maddeler nano boyutlarda farklı özelliklere sahip olur. Nanoparçacıklar geniş yüzey alanına sahip olduğundan ve nano boyutta istenilen fiziksel ve kimyasal özelliklere

sahip olduğundan(elektron transferini kolaylaştırır) elektrotlarda ve biyosensörlerde kullanılır [76].

Altın, indiyum, çinko, kadmiyum veya kurşun ve diğer maddelerin kovalent yolla (genellikle tiol ile) DNA problemlerine eklenmesi DNA algılanmasında sinyalin gücünü artırıcı etki yaratması sebebiyle kullanılmaktadır. Tiol (-SH) içeren grupların altına kovalent olarak bağlanması ve streptavidin-biotin etkileşimi oligonükleotitler ve antikorlar gibi biyolojik materyallerin nanoparçacıklar üzerine immobilizasyonu için en çok tercih edilen yöntemlerdir. Streptavidin kaplı altın nanopartiküllerle(Au-Np) modifiye edilen grafit epoksi kompozit elektrotlarının, biotin işaretli DNA analizinde kullanılmasında Bonanni vd. (2008) streptavidin ile biotin arasındaki etkileşimden yararlanmışlardır [77].

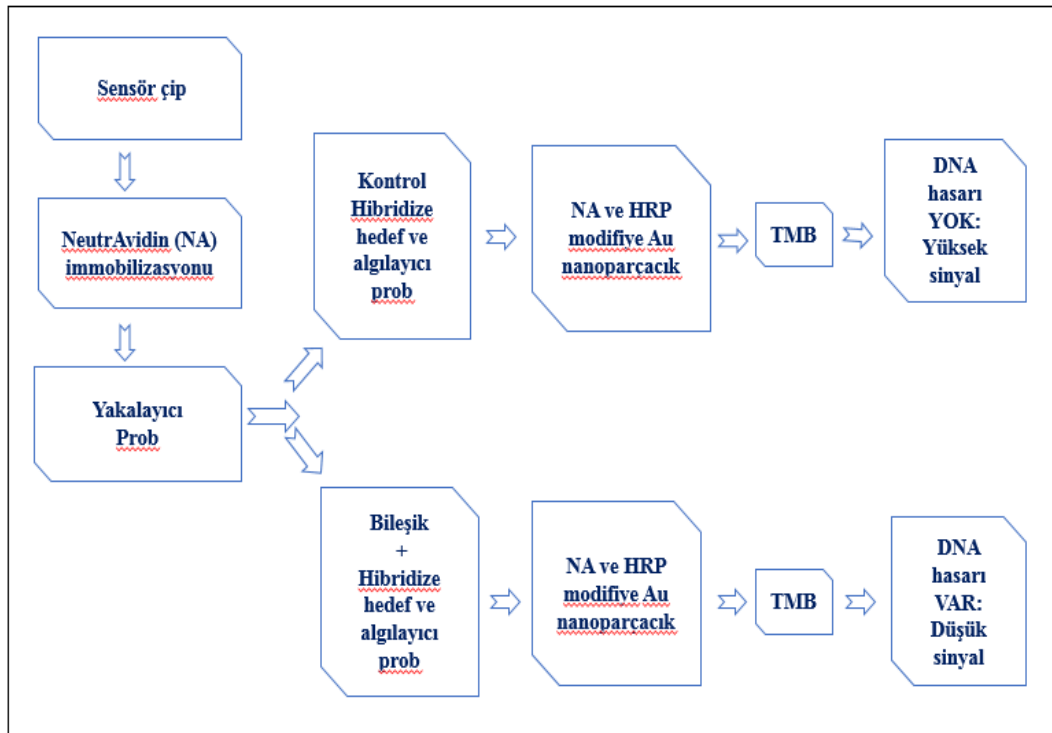
Au-Np'ler çözelti ortamında gerekli kimyasal tepkimelerle üretilebilir. Büyük hacim/yüzey oranı, analiti biriktirme yetenekleri, iyi elektriksel iletkenlikleri, elektrokatalitik aktiviteleri altın nanoparçacıklara önemli roller yükler. Altın nanoparçacıklar, redoks proteinlerine uygun mikroçevre sağlar ve doğrudan elektron transferine olanak tanır. Bu özellikler, enzimlerin kullanıldığı biyosensörlerde çok önemlidir. Au-Np'lerin farklı nano boyutlarda sentezlenmesi hassas ölçümlerin oluşmasını sağlayan optik özellikleri de beraberinde getirir. Bu da Au-Np'lerin SPR (Surface Plazmon Resonance-Yüzey Plazmon Rezonans) biyosensörlerinde de kullanımını sağlar [77].

2.15. Biyosensör Cihazı Çalışma Prensibi

MiSens Tübitak-BİLGEM tarafından geliştirilen [78-81] elektrokimyasal amperometrik DNA sensör sınıflandırmasına dâhil olan yeni nesil bir biyosensör cihazıdır. MiSens biyosensör cihazı kolay otomatik kullanımı, ekonomik çipi ile geniş bir analit aralığında uygulama fırsatı sunabilen hızlı ve yüksek duyarlılıklı bir sensör cihazıdır. ELISA gibi geleneksel immunoassay testleri 2-3 saat sürerken MiSens sayesinde bu süre hızlı analiz süresi ile dakika boyutuna kadar düşmüştür. MiSens ile ilaç olmaya aday moleküllerin DNA etkileşimleri ve DNA hasarına neden olan kimyasallar hızlı bir şekilde tespit edilebilir[82]. MiSens Real-Time Electrochemical Profiling (REP™) (gerçek zamanlı ölçüm yapan) bir sensör olmasının yanı sıra geleneksel genotoksisite testleriyle arasındaki karşılaştırma Tablo 1.1'de verilmiştir. MiSens biyosensör cihazının çalışma sistemi kısaca Şekil 2.13'te gösterilmiştir.

Tablo 1.1: Genotoksisite testleri ve MiSens karşılaştırması.

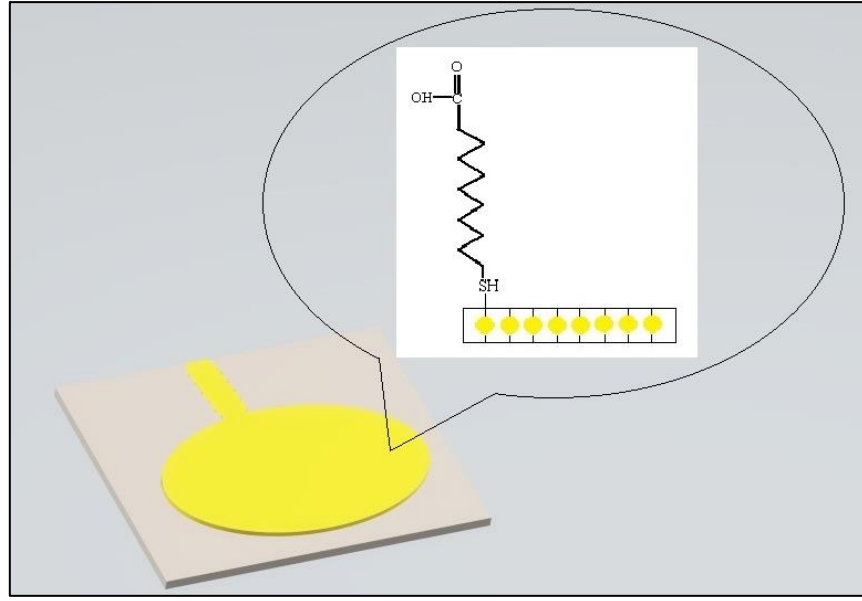
Geleneksel Yöntemler	MiSens
Pahalı	Ucuz
Zaman Alıcı	Hızlı
Zahmetli	Otomatik
Kalitatif	Kantitatif
Tarama testlerine uygun	Tarama testlerine uygun değil



Şekil 2.13: MiSens biyosensör cihazının çalışma sistemi.

2.15.1. Sensör Çipin Hazırlanması

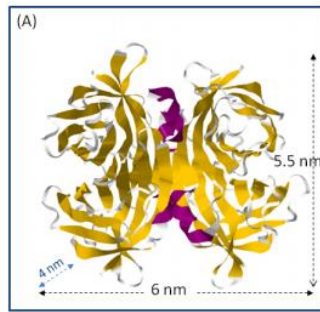
Altın kaplanmış yüzeyi ile çipler bir gece merkaptoundekanoik asit(MUDA) çözeltisinde bekletilerek asitin –SH kısımlarından çip yüzeyine tutunması sağlanır. Bu sayede merkaptoundekanoik asitin –COOH uçları açıkta kalır (Şekil 2.14). Çipler bu şekilde hazır olarak alınmaktadır. Çip yüzeyinde birden fazla elektrot bulunmaktadır ve bu elektrotların her biri için ayrı ölçümler alınır. Bu ölçümler içerisinde yapılan optimizasyon ile ideal ölçüm grafiği elde edilir.



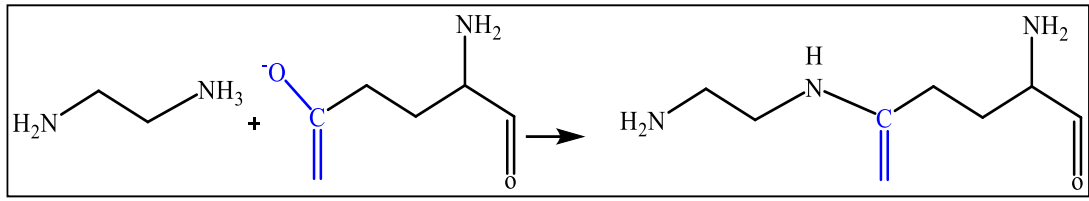
Şekil 2.14: Sensör çip.

2.15.2. NeutrAvidin İmmobilizasyonu

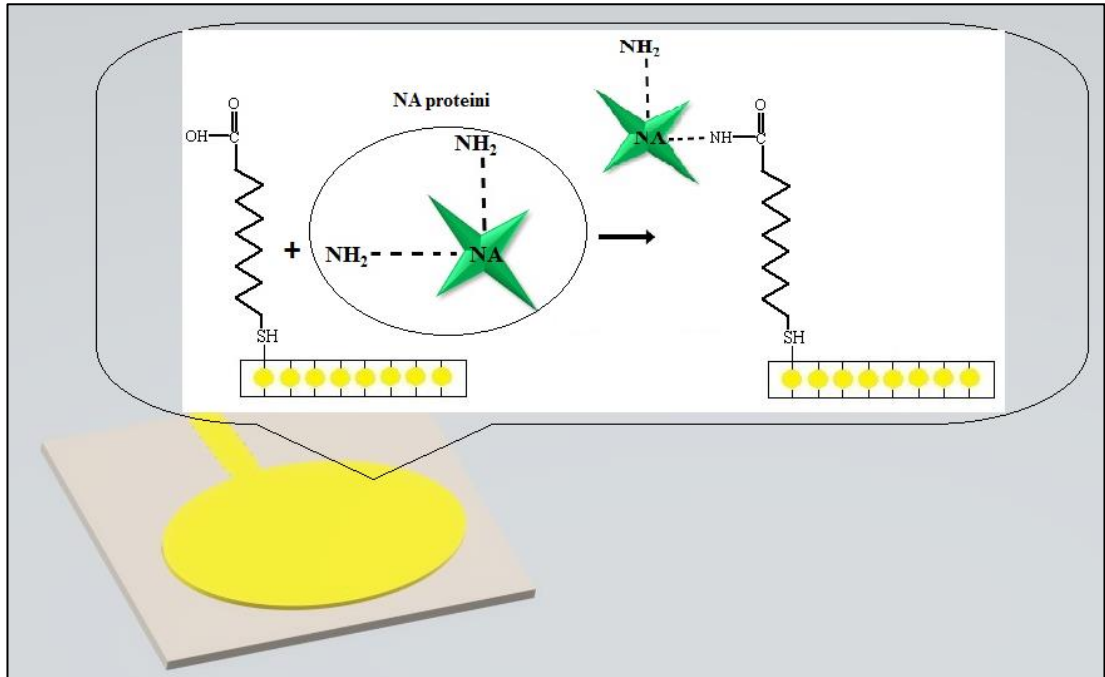
Akışkan sistemle çipin üzerinden geçirilen NeutrAvidin (Şekil 2.15) [85] proteininin -NH_2 grupları ve elektrotların yüzeyinde tutunmuş merkaptto undekanoik asite ait -COOH uçları ile karbodiimit reaksiyonunu (Şekil 2.16) gerçekleştirir [83]. Böylece neutravidine immobilizasyonu gerçekleşir (Şekil 2.17). Bu işlem bittikten sonra cihaza verilen komut ile çipin üzerinden tampon çözelti (yıkama çözeltisi) geçirilerek çip yıkanır [84].



Şekil 2.15: Tetramer NeutrAvidin molekülünün üç boyutlu yapısı.



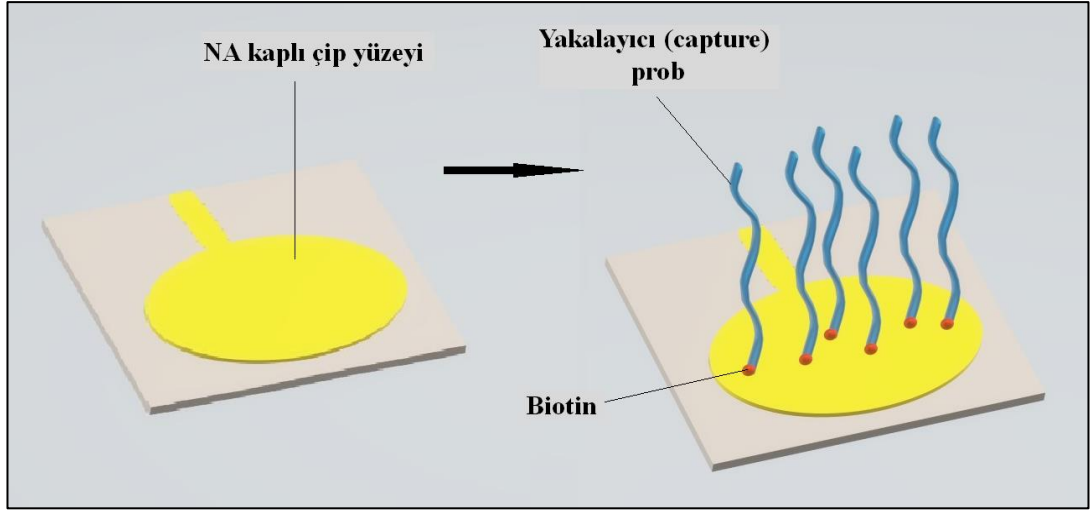
Şekil 2.16: Karbodiimit reaksiyonu.



Şekil 2.17: NeutrAvidin immobilizasyonunun çip yüzeyindeki gösterimi.

2.15.3. Yakalayıcı (Capture) Prob

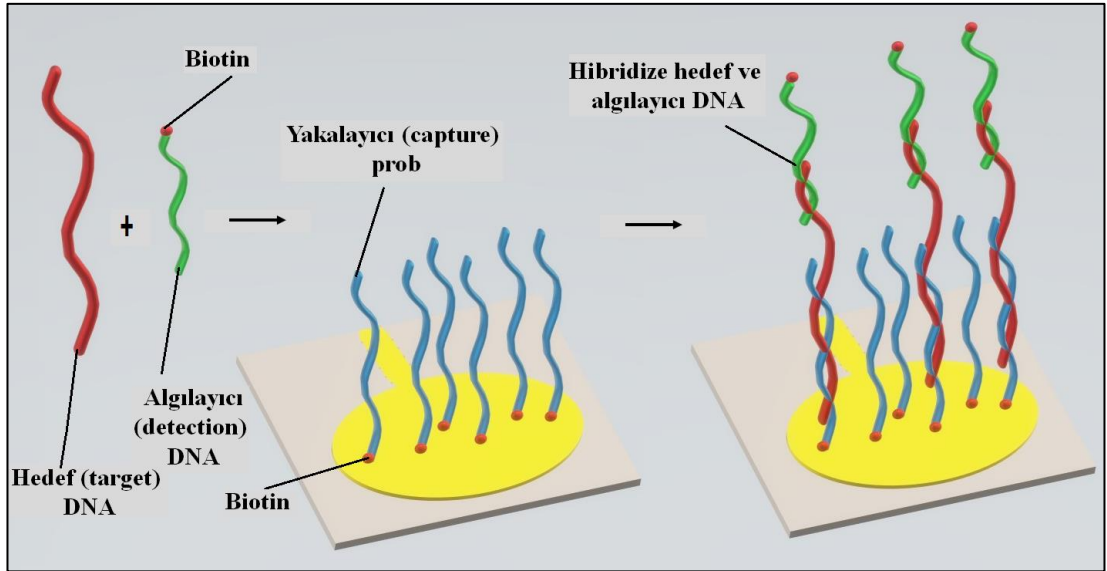
Birbirini tanıyan DNA dizini, Capture DNA (yakalayıcı prob), detection DNA (algılayıcı prob) ve target DNA (hedef prob) olmak üzere 3 adet DNA şeklindedir. Yakalayıcı prob ve algılayıcı probun uçları biotin ile işaretlenmiştir. Buradaki amaç NeutrAvidine'in biotine olan ilgisi ile birbirlerini tanımlarını sağlamaktır [86]. Çip üzerinden geçirilen yakalayıcı prob DNA'nın ucundaki biotin, neutravidine'i tanıır ve ona bağlanır. Şekil 2.18'de çip yüzeyi NeutrAvidin ile kaplıdır ve bu yüzeye yakalayıcı prob tutunmuştur. Bu aşama sonunda çipin yüzeyi DNA ile kaplanmış olur ve daha sonra her yeni kimyasal denemesinde çip kullanılırken HCl yıkama protokolü uygulanır.



Şekil 2.18: NA kaplı yüzeye tutunan yakalayıcı (capture) prob DNA'nın şematik gösterimi.

2.15.4. Kontrol Hibridize Hedef Prob

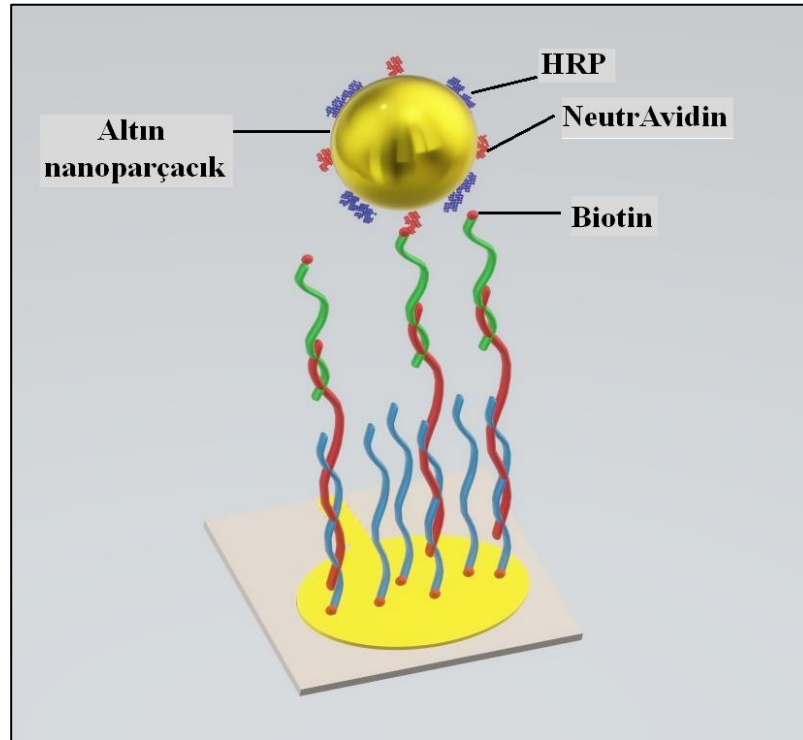
İlk olarak bir tüp içerisinde algılayıcı DNA ve hedef DNA'nın hibridize olması sağlanır. Hibridizasyon işleminden sonra açıkta kalan DNA kısmı yakalayıcı DNA'nın eşlenik kısmıdır. Böylece hibridize DNA çipe gönderildiğinde yakalayıcı DNA'yı tanıyarak çipe bağlanır (Şekil 2.19).



Şekil 2.19: Hibridize olan hedef ve algılayıcı DNA'nın yakalayıcı DNA ile etkileşiminin şematik gösterimi.

2.15.5. Enzim ve NeutrAvidin Modifiye Edilmiş Au-Np

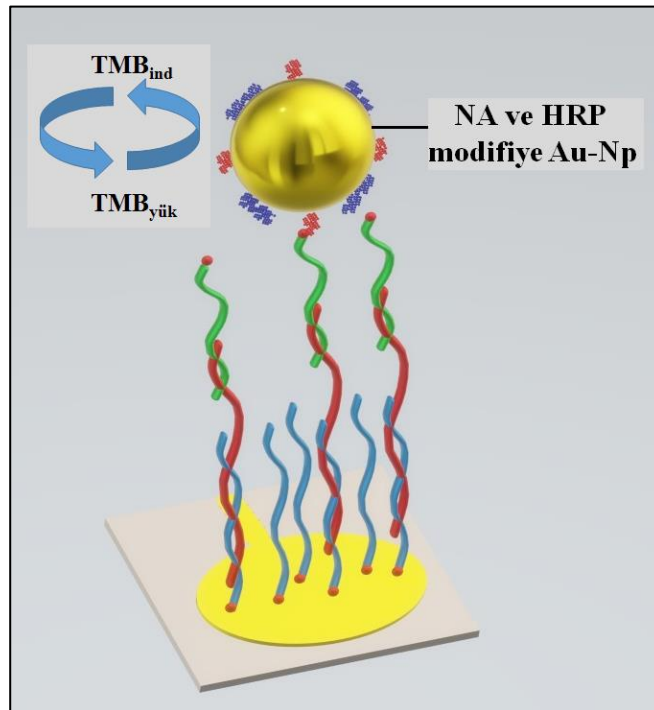
Au-Np'ların çeşitli amaçlarla elektrokimyasal DNA sensörlerinde sıkça kullanıldığı görülmektedir. Au-Np, NeutrAvidin(NA) ve HRP enzimi dış ortamda ayrı bir tüpte karıştırılmaktadır. Altın nanoparçacıkların yüzeyi HRP ve NA ile kaplanır. Au-Np üzerindeki NA'ları çipin biotin işaretli hibrid DNA kısımları tanır ve bu kısımlardan birbirlerine bağlanır (Şekil 2.20). Çipin yüzeyinden Au-Np geçirildikçe çip yüzeyindeki biotinli hibrit DNA Au-Np'nin NA kısımları ile bağlanır. Bu aşamaların ardından ortamdan TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidin) substrat çözeltisi geçirildiğinde çip yüzeyine bağlı Au-Np üzerindeki HRP ile TMB arasında indirgenme/yükseltgenme reaksiyonu gerçekleşir. Sonuç olarak oluşan sıvı mavi renklidir. TMB'nin çeşitli yükseltgenme basamaklarında farklı renkler gösterdiği çalışmalar da gözlenmiştir. Bu reaksiyon sırasında meydana gelen amperometrik değişimi ölçen cihaz ise yüksek sinyal verir [87].



Şekil 2.20: NeutrAvidin ve HRP enzimi ile modifiye edilmiş Au-Np üzerindeki NA –Biotin etkileşiminin şematik gösterimi.

2.15.6. HRP Enzimi ile TMB Arasında Gerçekleşen Tepkimenin Mekanizması

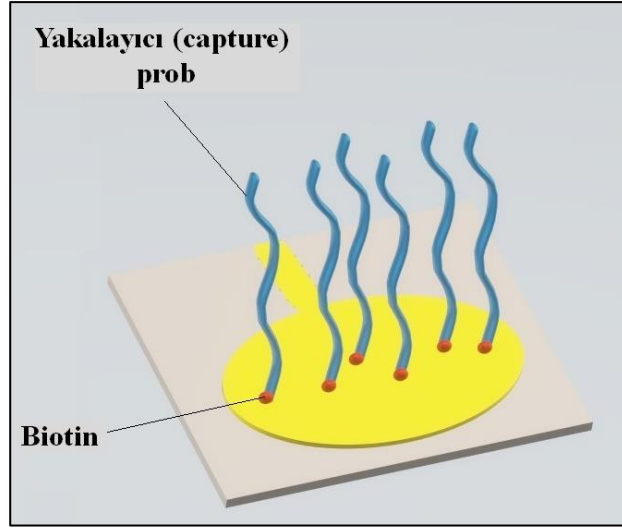
Peroksitli ortamda TMB, HRP enzimi ile yük transfer kompleksi oluşturur ve bu kompleks 652 nm dalga boyunda absorpsiyonu olan mavi renkli bir yapıdır (Şekil 2.21). Reaksiyon TMB nin $-NH_2$ uçlarında yükseltgenme ve peroksit üzerinden de indirgenmenin olması sonucu gerçekleşir [88]. İşlem sonrası cihazdan mavi renkli atık çıkışı ile de bu işlem gözlenebilmektedir. Tepkime sonrası oluşan renk değişimi ölçülebildiği gibi cihaz amperometrik ölçüm yaparak tepkime sırasında ortaya çıkan elektronların meydana getirdiği akım değişikliğini ölçüp sinyal vermektedir.



Şekil 2.21: TMB reaksiyonunun şematik gösterimi.

2.15.7. Çip Rejenerasyonu

Au-Np kaplı olarak hazır gelen çipler yukarıdaki işlemlerde kullanıldıktan sonra yeniden MUDA+ NA+ yakalayıcı DNA(capture prob) tutunmuş haline getirilir. Bunun için 0.1 M HCl çözeltisi yaklaşık 2 dakika boyunca sistemden geçirilir. Bu işlemle çipin yakalayıcı DNA'lı hale getirilmesindeki amaç herhangi bir kimyasal ile muamele edilmiş DNA ile cihazda yeniden işlem yapabilmektir.



Şekil 2.22: Yıkama protokolü ile rejenere edilmiş çip.

3. KONU İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

3.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen ile Paraben Bileşiklerinin Tepkimesi

Son yıllarda literatürde paraben bileşikleri ile ilgili çalışmalara daha sık rastlanmaktadır. Bu bileşikler, kullanım alanlarının yaygınlaşması sonucu bilim insanlarının dikkatini çekmiş ve canlı organizmalar üzerindeki etkileri daha dikkatli incelenmiştir.

Paraben süstitüe hekzaklorosiklotrifosfazen bileşikleri ilk defa 2016 yılında Yenilmez Çiftçi ve ark. tarafından literatüre kazandırılmıştır. Metil, etil, propil, bütıl ve benzil paraben bileşikleri siklotetrafosfazen (tetramer) bileşiğine süstitüe edilmiş ve propil ve benzil paraben süstitüe siklotetrafosfazen bileşiklerinin DNA ile yüksek oranda etkileştiği bulunmuştur [81]. 2017 yılında ise aynı grup paraben bileşiklerini hekzaklorosiklotrifosfazen bileşiğine süstitüe etmiş, etil ve benzil paraben süstitüe hekzaklorosiklotrifosfazen bileşiklerinin DNA ile yüksek oranda etkileştiğini belirlemiştir [80]. 2018 yılında floreniliden çift köprülü siklotrifosfazen bileşiğine paraben türevleri süstitüe edilmiş, bütıl ve benzil paraben süstitüe floreniliden çift köprülü siklotrifosfazen bileşiklerinin yüksek oranda DNA etkileşimi gözlenmiştir [89]. Tüm bu çalışmalarda MiSens biyosensör cihazı kullanılarak sentezlenen bileşiklerin DNA'ya etki oranı bulunmuştur.

Tez çalışması kapsamında 2,2'-bifenol bileşiği hekzaklorosiklotrifosfazen bileşiğine mono ve dispiro konumlarında bağlanmış ve oluşan bileşiklere metil, etil, propil, bütıl ve benzil paraben bileşikleri süstitüe edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin DNA ile etkileşim oranı, MiSens elektrokimyasal DNA biyosensör cihazı kullanılarak tayin edilmiştir.

3.2. MiSens Biyosensör Cihazı ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Uludağ ve arkadaşları 2014 yılında bisfenol A'nın elektrokimyasal yöntemlerle analizini farklı değişkenler eşliğinde incelemiştir. Bu çalışma ile araştırmacıların çeşitli amaçlarla kullanabilecekleri sensör araçlarının geliştirilmesi hedeflenmiştir. Çalışmada sinyal dönüşümü için üç farklı elektrot tasarlanmış ve farklı boyutlarda altın elektrot (1.5 mm, 2 mm, 3mm ve 4 mm) ve referans elektrodu oluşturulmuştur.

Elektrokimyasal analiz kısmında siklik voltametri(Cyclic voltammetry) ölçümleri alınmış ve ölçümler sırasında 1 M KCl içinde 1mM potasyum ferrosiyaniür çözeltisi kullanılmıştır. Bisfenol A tayin belirleme limiti sırasıyla 12.5 ng/mL, 10 ng/mL olarak bulunmuştur. Plastik ve polimer sektörünün vazgeçilmezi bisfenol A için taşınabilir, düşük maliyetli, hızlı ve hassas bir sensör geliştirilmiştir [79, 90]. Gıda sektöründe ve çevre analizlerinde kullanılabilecektir. Ölçer ve arkadaşlarının bir çalışmasında buğdaydaki mitotoksinler mikroakışkan REF(Real-time Electrochemical Profiling) temelli sensör kullanılarak hızlı ve hassas bir şekilde belirlenmiştir. Mitotoksinler ELISA, sıvı kromatografisi (Liquid Chromatography), kütle spektroskopisi (Mass spectroscopy), gaz kromatografisi (gas chromatography) gibi pahalı yöntemlerle tespit edilirken çalışmada bu yöntemlere alternatif ve daha ekonomik bir sensör tasarlanmıştır. Sonuç olarak sensör hızlı ve etkili bir şekilde çalışmıştır [78]. Aynı grup bir yıl sonra temiz suları toksik hale getiren siyanobakterilerin belirlenmesine yönelik bir çalışma yapmıştır. Deneylerde yeni nesil mikroakışkan ve nanoparçacık temelli amperometrik ölçüm veren biyosensör kullanılmıştır. Dizini bilinen bir DNA prob ile siyanobakterilerin etkileşimi sonucu oluşan amperometrik değer ile sadece DNA probun amperometrik değerleri karşılaştırılarak biyosensörün etkili ve hızlı çalıştığı gözlenmiştir [84], DNA ile etkileşim gösteren bileşiklerin analizi yapılmıştır [80, 81]. Elde edilen sonuçlar, MiSens biyosensör cihazında DNA ile etkileşim gösteren bileşiklerin antikanser ajanı olabilecek potansiyelde olduğunu göstermiştir. İlaç adayı olma potansiyeline sahip bu moleküllerin MiSens biyosensör cihazı ile hızlı, ekonomik ve hassas bir şekilde tayininin gelecekte antikanser ilaçların tespitinde ve ön tarama testlerinde kullanılarak insanlığa çok faydalı bir katkı sunacağı düşünülmektedir.

4. MATERİYAL VE YÖNTEM

4.1. Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Maddeler

Tez çalışmasında yapılan deneylerde sentezlenen bileşiklerin sentezlenmesi ve ayrılıp saflaştırılmasında kullanılan kimyasal maddeler Tablo 4.1’de verilmiştir. DNA etkileşim analizleri için kullanılan kimyasal maddeler ise Tablo 4.2’de sunulmuştur.

Tablo 4.1: Tez çalışmasında deneysel aşamalarda kullanılan kimyasal maddeler.

Adı	Üretici Firma	Katalog No	Özellik
Fosfonitrilik klorür(trimer)	Fluka Ltd.	79562	Sentez için, $\geq 98.0\%$
Tetrahidrofuran	Merck Ltd.	822306	Sentez için, $> 99.0 \%$
Diklorometan	Merck Ltd.	106049	Ekstra saf, $\geq 99.0 \%$
Etil asetat	Fluka Ltd.	45780	Ekstra saf, $> 99.0 \%$
<i>n</i> -Hekzan	Merck Ltd.	104368	Ekstra saf, $\geq 95.0 \%$
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 %
Dötero kloroform	Merck Ltd.	134200	NMR Analizi için, 99 %
Metil paraben	Alfa Aesar Ltd.	99-76-3	Sentez için, > 99.0
Etil paraben	Alfa Aesar Ltd.	120-47-8	Sentez için, > 99.0
Propil paraben	Alfa Aesar Ltd.	94-13-3	Sentez için, > 99.0
Bütil paraben	Alfa Aesar Ltd.	94-26-8	Sentez için, > 99.0
Benzil paraben	Sigma-Aldrich Ltd.	94-18-8	Sentez için, $> 99.0 \%$
<i>n</i> -Bütanol	Merck Ltd.	822262	Sentez için, $> 99.0 \%$
2-2’-Bifenol	Sigma-Aldrich Ltd.	1806-29-7	Sentez için, $> 99.0 \%$

Tablo 4.2: DNA etkileşim çalışmalarında kullanılan kimyasal maddeler.

Adı	Üretici Firma	Katalog No	Özellik
BSA	Sigma	A2153	Analiz için, ≥ 96.0 %
Etanol amin	Sigma	398136	Analiz için, ≥ 99.0 %
Biotin	Sigma	B4639	Analiz için, ≥ 99.0 %
Glisin	Sigma	244023	Analiz için, ≥ 99.0 %
NHC	Sigma	130672	Analiz için, ≥ 98.0 %
NA	Thermofisher	31000	Analiz için
EDC	Sigma	25952-53-8	Analiz için, ≥ 99.0 %
Potasyum Hekzasiyano Ferrit (III)	Sigma	244023	Analiz için, ≥ 99.0 %
Oligonükleotit Dizisi	TIB Molbiol		

4.2. Laboratuvar Çalışmalarında Kullanılan Cihazlar

Tez çalışmasında yapılan deneylerde sentezlenen bileşiklerin yapılarının analiz edilmesi ve özelliklerinin incelenmesinde kullanılan cihazlar Tablo 4.3'te verilmiştir.

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
X-Işını Difraktometresi	Bruker Smart Apex II Quazar	GTÜ
Infrared Spektrofotometresi	Bio-Rad FTS 175C	GTÜ
Biyosensör Cihazı	Elektrokimyasal Biyosensör	GTÜ

5. DENEYSEL BÖLÜM

5.1. Genel İşlemler

Yapılan bütün tepkimeler, kimyasalların havadaki oksijen, nem ve istenmeyen maddelerle etkileşmemeleri amacı ile kuru argon (inert ortam) atmosferinde gerçekleştirildi. Sentezlenen bileşiklerin reaksiyonları ince tabaka kromatografisi (Thin Layer Chromatography) ile izlendi ve sonlandırıldı, kolon kromatografisi yöntemi ile de ayırma ve saflaştırma işlemleri yapıldı.

Sentezlenen bütün bileşiklerin ^{31}P ve ^1H NMR ölçümlerinde CDCl_3 çözücü olarak kullanıldı.

5.1.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen (Trimer)'in Saflaştırılması

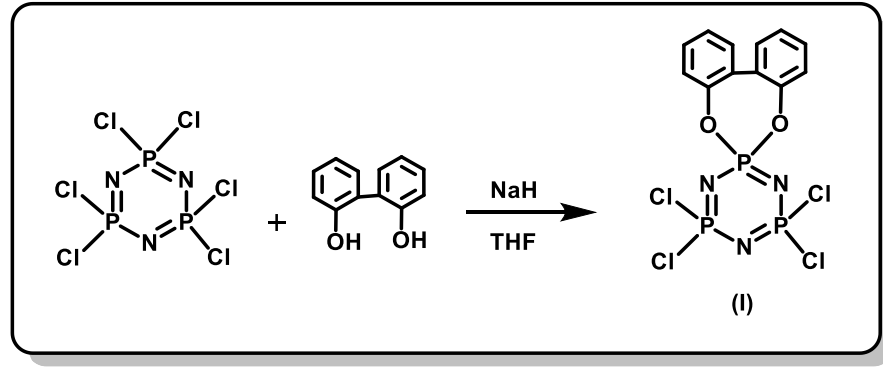
Hekzaklorosiklotrifosfazen (trimer), hekzanda fraksiyonlu kristallendirme metodu ile kristallendirildi. Saflaştırıldıktan sonra deneylerde kullanıldı.

5.1.2. TLC İncelemeleri İçin Ninhidrin Çözeltilisinin Hazırlanması

n-Bütanol (100 mL) ve asetik asit (5 mL) çözeltisi hazırlandı ve ninhidrin (0.3 gram) bu karışıma ilave edildi. Oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı yardımı ile çözünme tamamlandı ve deneylerde bu şekilde kullanıldı.

5.2. Deneyler

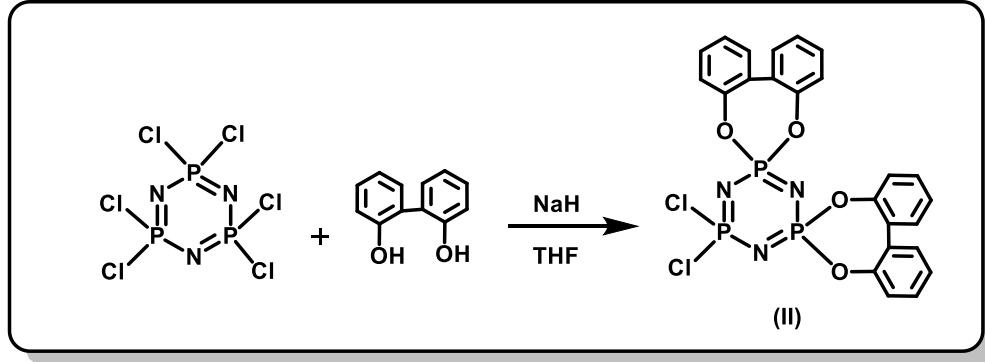
5.2.1. Hekzaklorosiklotrifosfazen (Trimer) İle 2,2'-Bifenol'ün (1:2) Reaksiyonu



Şekil 5.1: Trimer ile 2,2'-Bifenol reaksiyonu.

150 mL kuru THF'de ve argon atmosferinde hekzasiklotrifosfazen (trimer) (3 gram, 8.62 mmol) 250 mL'lik üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonunda çözüldü. Reaksiyon balonuna 30 mL kuru THF içindeki NaH (0.6896 gram, 28.7 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı -5 °C' ye kadar buz banyosu yardımı ile soğutuldu. 50 mL THF içinde çözülmüş 2,2'-bifenol (3.213 gram, 17.25 mmol) çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damlatıldı. Reaksiyon karışımı 2 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve bu süreçte TLC (Thin Layer Chromatography) ile kontrol edildi. İki saat sonunda reaksiyon sonlandırıldı ve karışım G4 filtreden süzülerek NaCl tuzu ayrıldı. Çözeltinin süzüntüsüne kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımı ile THF'in ortamdan ayrılması sağlandı. Geriye kalan reaksiyon karışımı *n*-hekzan:diklorometan (1:1) çözücü sistemi yürütücü faz olarak kullanılarak silikajel (230-400 mesh, 110 gram) dolgulu kolonda (3.5 g, 90 cm) izole edildi. Mono spiro 2,2'-bifenoksi süstitüe siklotrifosfazen(I) ($R_f=0.635$) katı olarak (1.6 g, 3.47 mmol) % 40 verimle elde edildi (Şekil 5.1).

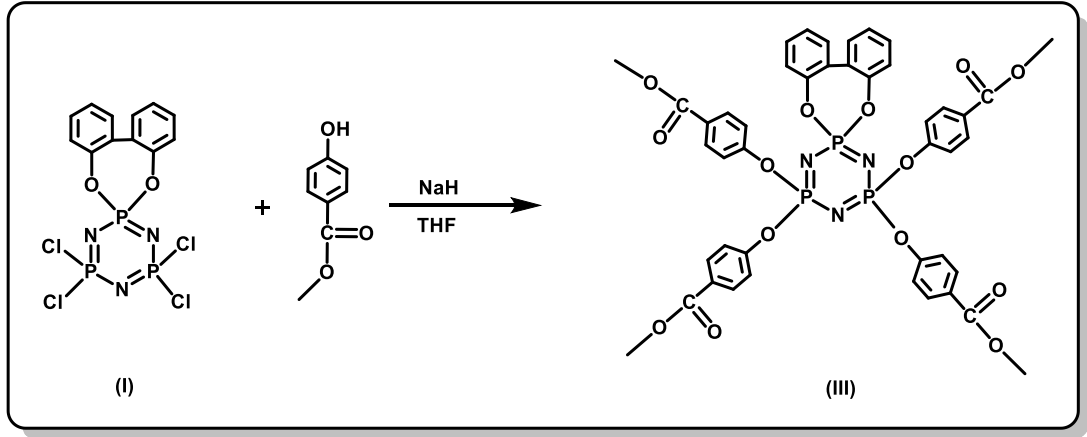
5.2.2. Hekzaklorosiklotrifosfazen(Trimer) İle 2,2'-Bifenol'ün (1:3) Reaksiyonu



Şekil 5.2: Trimer ile 2,2'-Bifenol reaksiyonu.

150 mL kuru THF' de ve argon atmosferinde hekzasiklotrifosfazen (trimer) (3 gram, 8.62 mmol) 250 mL lik üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonunda çözüldü. Reaksiyon balonuna 30 mL kuru THF içindeki NaH (1.04 gram, 43.3 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı -5 °C'ye kadar buz banyosu yardımı ile soğutuldu. 50 mL THF içinde çözülmüş 2,2'-bifenol (4.82 gram, 0.26 mmol) çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damlatıldı. Reaksiyon karışımı 5 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve bu süreçte TLC ile kontrol edildi. İki saat sonunda reaksiyon sonlandırıldı ve karışım G4 filtreden süzülerek NaCl tuzu ayrıldı. Çözeltinin süzüntüsüne kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımı ile THF'in ortamdan ayrılması sağlandı. Geriye kalan reaksiyon karışımı *n*-hekzan:diklorometan (1.5:1) çözücü sistemi yürütücü faz olarak kullanılarak silikajel (230-400 mesh, 110 gram) dolgulu kolonda (3.5 g, 90 cm) izole edildi. Dispiro 2,2'-bifenoksi süstitüe siklotrifosfazen(II) (R_f= 0.286) yağimsı olarak (1.8 g, 3.13 mmol) % 36 verimle elde edildi (Şekil 5.2).

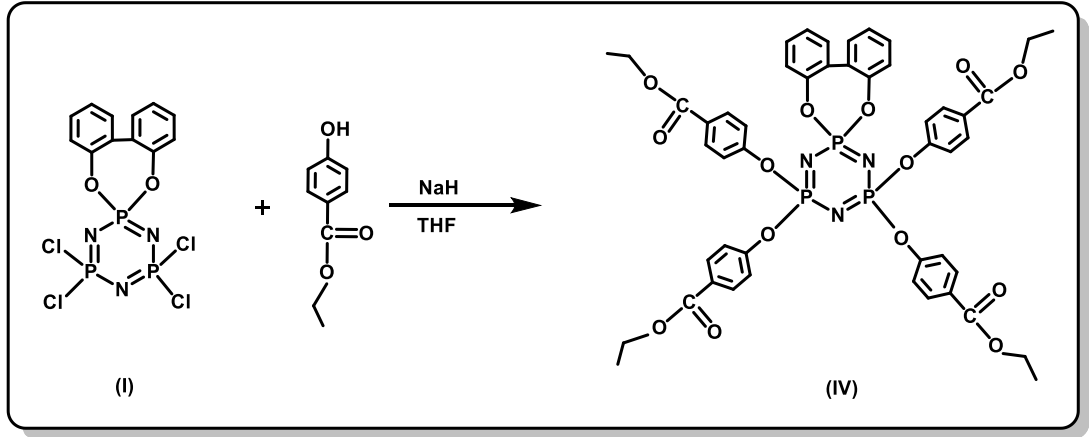
5.2.3. Mono spiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(I) Bileşiği İle Metil Paraben'in (1:5) Reaksiyonu



Şekil 5.3: Bileşik (I) ile metil paraben'in reaksiyonu.

150 mL kuru THF'de ve argon atmosferinde mono spiro 2,2'-bifenoksi Siklotrifosfazen(I) (0.3 gram, 0.65 mmol) 250 mL üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonunda çözüldü. Reaksiyon balonuna 30 mL kuru THF içindeki NaH (0.13 gram, 5.4 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı -5 °C'ye kadar buz banyosu yardımı ile soğutuldu. 50 mL THF içinde çözülmüş metil paraben (0.4919 gram, 3.25 mmol) çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damlatıldı. Reaksiyon karışımı 2 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve bu süreçte TLC ile kontrol edildi. İki saat sonunda reaksiyon sonlandırıldı ve karışım G4 filtreden süzülerek NaCl tuzu ayrıldı. Çözeltinin süzüntüsüne kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımı ile THF'in ortamdan ayrılması sağlandı. Geriye kalan reaksiyon karışımı *n*-hekzan:THF (2:1) çözücü sistemi yürütücü faz olarak kullanılarak silikajel (230-400 mesh, 110 gram) dolgu kolonda (3.5 g, 90 cm) izole edildi. Metil paraben süstitüe mono spiro siklotrifosfazen(III) ($R_f = 0.266$) yağimsı olarak (0.41 g, 0.44 mmol) % 68 verimle elde edildi (Şekil 5.3).

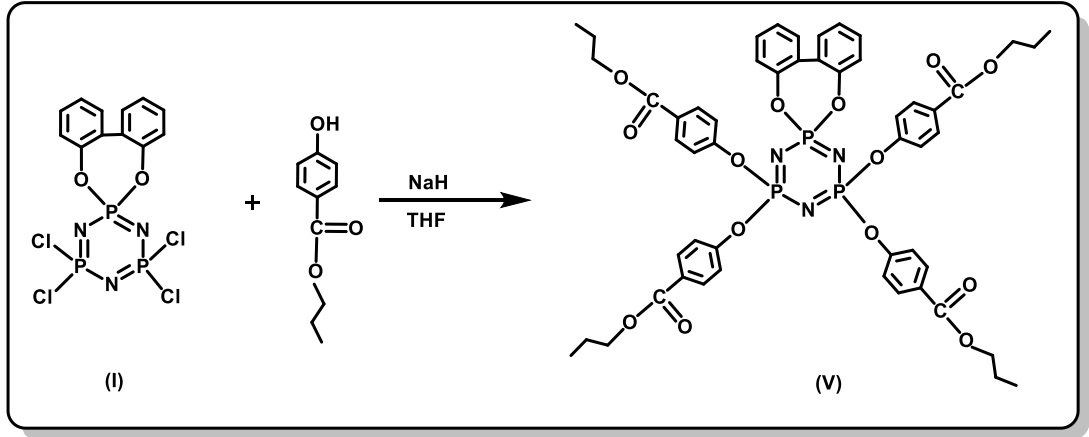
5.2.4. Mono spiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(I) Bileşiği İle Etil Paraben'in (1:5) Reaksiyonu



Şekil 5.4: Bileşik (I) ile etil paraben reaksiyonu.

150 mL kuru THF'de ve argon atmosferinde mono spiro 2,2'-bifenoksi siklotrifosfazen(I) (0.3 gram, 0.65 mmol) 250 mL üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonunda çözüldü. Reaksiyon balonuna 30 mL kuru THF içindeki NaH (0.13 gram, 5.4 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı -5 °C'ye kadar buz banyosu yardımı ile soğutuldu. 50 mL THF içinde çözülmüş etil paraben (0.543 gram, 3.25 mmol) çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damlatıldı. Reaksiyon karışımı 4 gün boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve bu süreçte TLC ile kontrol edildi. İki saat sonunda reaksiyon sonlandırıldı ve karışım G4 filtreden süzülerek NaCl tuzu ayrıldı. Çözeltinin süzüntüsüne kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımı ile THF'in ortamdan ayrılması sağlandı. Geriye kalan reaksiyon karışımı *n*-hekzan:tetrahidrofuran (3:1) çözücü sistemi yürütücü faz olarak kullanılarak silikajel (230-400 mesh, 110 gram) dolgu kolonda (3.5, 90 cm) izole edildi. Etil paraben süstitüe mono spiro siklotrifosfazen(IV) ($R_f = 0.3$) yağimsı olarak (0.51 g, 0.52 mmol) %80 verimle elde edildi (Şekil 5.4).

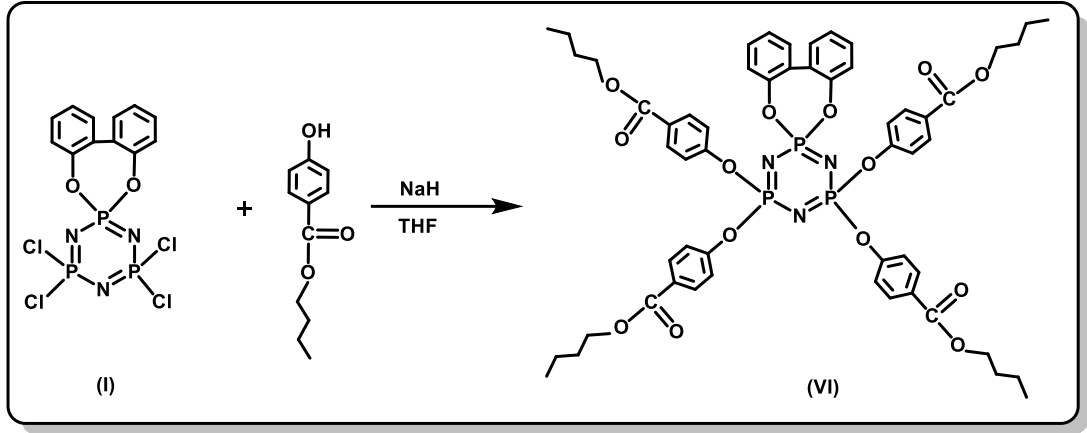
5.2.5. Mono spiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(I) Bileşiğı İle Propil Paraben'in (1:5) Reaksiyonu



Şekil 5.5: Bileşik (I) ile propil paraben reaksiyonu.

150 mL kuru THF'de ve argon atmosferinde mono spiro 2,2'-bifenoksi Siklotrifosfazen(I) (0.3 gram, 0.65 mmol) 250 mL üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonunda çözüldü. Reaksiyon balonuna 30 mL kuru THF içindeki NaH (0.13 gram, 5.4 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı -5 °C'ye kadar buz banyosu yardımı ile soğutuldu. 50 mL THF içinde çözülmüş propil paraben (0.543 gram, 3.25 mmol) çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damlatıldı. Reaksiyon karışımı 5 gün boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve bu süreçte TLC ile kontrol edildi. İki saat sonunda reaksiyon sonlandırıldı ve karışım G4 filtreden süzülerek NaCl tuzu ayrıldı. Çözeltinin süzüntüsüne kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımı ile THF'in ortamdan ayrılması sağlandı. Geriye kalan reaksiyon karışımı *n*-hekzan:etil asetat (2:1) çözücü sistemi yürütücü faz olarak kullanılarak silikajel (230-400 mesh, 110 gram) dolgu kolonda (3.5 g, 90 cm) izole edildi. Propil paraben süstitüe mono spiro siklotrifosfazen(V) ($R_f=0.4$) yağimsı olarak (0.48 g, 0.46 mmol) %71 verimle elde edildi (Şekil 5.5).

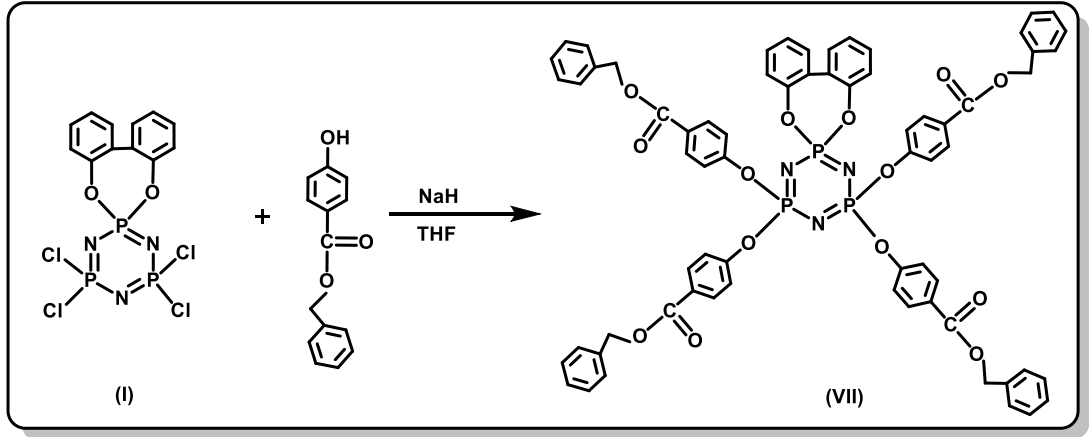
5.2.6. Mono spiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(I) Bileşiği İle Bütil Paraben'in (1:5) Reaksiyonu



Şekil 5.6: Bileşik (I) ile bütil paraben'in reaksiyonu.

150 mL kuru THF'de ve argon atmosferinde mono spiro 2,2'-bifenoksi siklotrifosfazen(I) (0.3 gram, 0.65 mmol) 250 mL üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonunda çözüldü. Reaksiyon balonuna 30 mL kuru THF içindeki NaH (0.13 gram, 5.4 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı -5 °C'ye kadar buz banyosu yardımı ile soğutuldu. 50 mL THF içinde çözülmüş bütil paraben (3.213 gram, 17.25 mmol) çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damlatıldı. Reaksiyon karışımı 2 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve bu süreçte TLC ile kontrol edildi. İki saat sonunda reaksiyon sonlandırıldı ve karışım G4 filtreden süzülerek NaCl tuzu ayrıldı. Çözeltinin süzüntüsüne kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımı ile THF'in ortamdan ayrılması sağlandı. Geriye kalan reaksiyon karışımı *n*-hekzan:diklorometan (1:1) çözücü sistemi yürütücü faz olarak kullanılarak silikajel (230-400 mesh, 110 gram) dolgulı kolonda (3.5 g, 90 cm) izole edildi. Bütil paraben süstitüe mono spiro siklotrifosfazen(VI) ($R_f = 0.8$) yağimsı olarak (0.55 g, 0.50 mmol) %77 verimle elde edildi (Şekil 5.6).

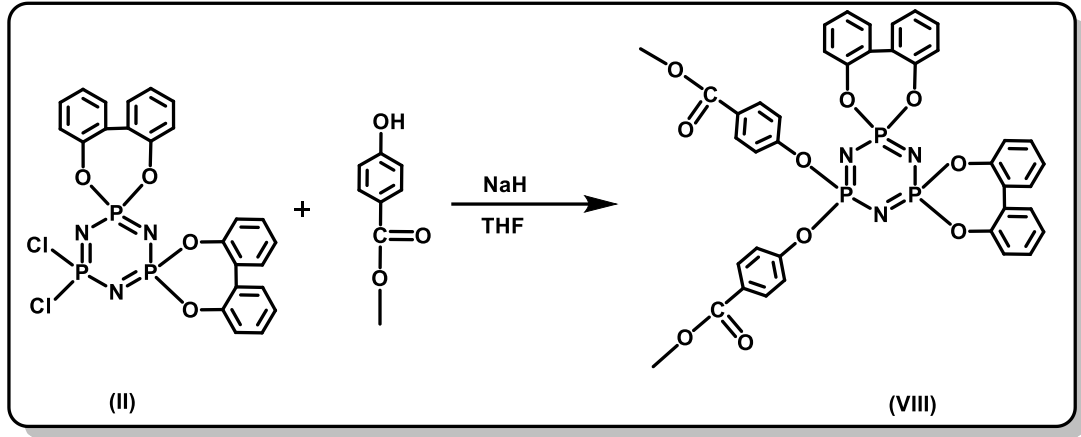
5.2.7. Mono spiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(I) Bileşiğı İle Benzil Paraben'in (1:4.2) Reaksiyonu



Şekil 5.7: Bileşik (I) ile benzil paraben reaksiyonu.

150 mL kuru THF'de ve argon atmosferinde mono spiro 2,2'-bifenoksi siklotrifosfazen(I) (3 gram, 8.62 mmol) 250 mL üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonunda çözüldü. Reaksiyon balonuna 30 mL kuru THF içindeki NaH (0.6896 gram, 28.7 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı -5 °C'ye kadar buz banyosu yardımı ile soğutuldu. 50 mL THF içinde çözülmüş benzil paraben (3.213 gram, 17.25 mmol) çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damlatıldı. Reaksiyon karışımı 2 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve bu süreçte TLC ile kontrol edildi. İki saat sonunda reaksiyon sonlandırıldı ve karışım G4 filtreden süzülerek NaCl tuzu ayrıldı. Çözeltinin süzüntüsüne kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımı ile THF'in ortamdan ayrılması sağlandı. Geriye kalan reaksiyon karışımı *n*-hekzan:diklorometan (1:1) çözücü sistemi yürütücü faz olarak kullanılarak silikajel (230-400 mesh, 110 gram) dolgulı kolonda (3.5 g, 90 cm) izole edildi. Benzil paraben süstitüe mono spiro siklotrifosfazen(VII) ($R_f = 0.88$) yağimsı olarak (0.6 g, 0.50 mmol) %75 verimle elde edildi (Şekil 5.7).

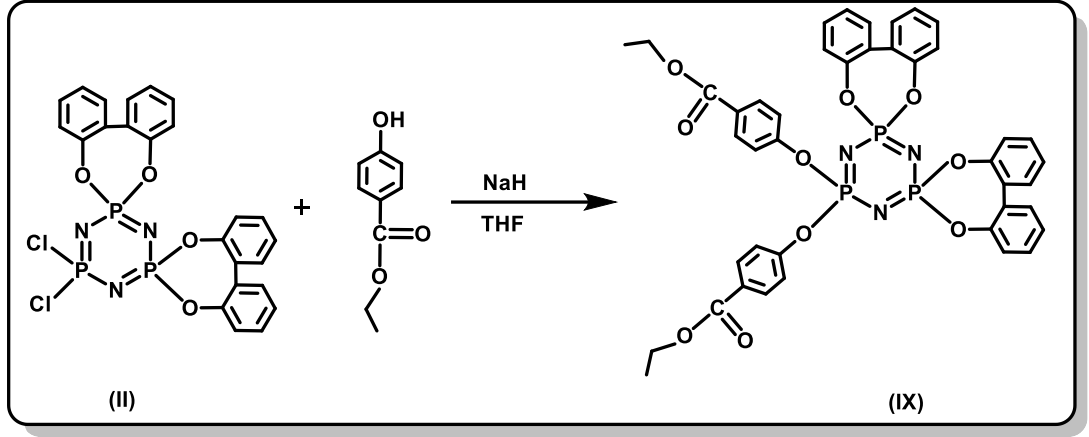
5.2.8. Dispiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(II) Bileşiği İle Metil Paraben'in (1:2.2) Reaksiyonu



Şekil 5.8: Bileşik (II) ile metil paraben'in reaksiyonu.

150 mL kuru THF'de ve argon atmosferinde dispiro 2,2'-bifenoksi siklotrifosfazen (0.3 gram, 0.52 mmol) 250 mL üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonunda çözüldü. Reaksiyon balonuna 30 mL kuru THF içindeki NaH (0.046 gram, 1.15 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı -5 °C'ye kadar buz banyosu yardımı ile soğutuldu. 50 mL THF içinde çözülmüş metil paraben (0.175 gram, 1.15 mmol) çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damlatıldı. Reaksiyon karışımı 3 gün boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve bu süreçte TLC ile kontrol edildi. Üç gün sonunda reaksiyon sonlandırıldı ve karışım G4 filtreden süzülerek NaCl tuzu ayrıldı. Çözeltinin süzüntüsüne kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımı ile THF'in ortamdan ayrılması sağlandı. Geriye kalan reaksiyon karışımı *n*-hekzan:etil asetat (3:1) çözücü sistemi yürütücü faz olarak kullanılarak silikajel (230-400 mesh, 110 gram) dolgu kolonda (3.5 g, 90 cm) izole edildi. Metil paraben süstitüe dispiro siklotrifosfazen(VIII) (R_f= 0.545) yağimsı olarak (0.28 g, 0.34 mmol) %66 verimle elde edildi (Şekil 5.8).

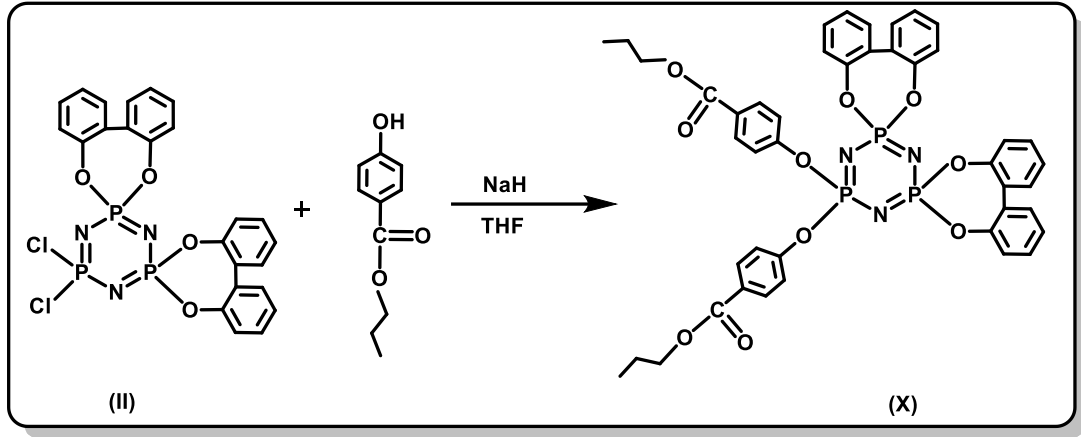
5.2.9. Dispiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(II) Bileşiği İle Etil Paraben'in (1:2.2) Reaksiyonu



Şekil 5.9: Bileşik (II) ile etil paraben'in reaksiyonu.

150 mL kuru THF'de ve argon atmosferinde dispiro 2,2'-bifenoksi siklotrifosfazen (0.3 gram, 0.52 mmol) 250 mL üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonunda çözüldü. Reaksiyon balonuna 30 mL kuru THF içindeki NaH (0.046 gram, 1.15 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı -5 °C'ye kadar buz banyosu yardımı ile soğutuldu. 50 mL THF içinde çözülmüş etil paraben (0.191 gram, 1.15 mmol) çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damlatıldı. Reaksiyon karışımı 3 gün boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve bu süreçte TLC ile kontrol edildi. Üç gün sonunda reaksiyon sonlandırıldı ve karışım G4 filtreden süzülerek NaCl tuzu ayrıldı. Çözeltinin süzüntüsüne kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımı ile THF'in ortamdan ayrılması sağlandı. Geriye kalan reaksiyon karışımı *n*-hekzan:THF (2:1) çözücü sistemi yürütücü faz olarak kullanılarak silikajel (230-400 mesh, 110 gram) dolgulu kolonda (3.5 g, 90 cm) izole edildi. Etil paraben süstitüe dispiro siklotrifosfazen(IX) ($R_f=0.51$) yağimsı olarak (0.33 g, 0.40 mmol) %75 verimle elde edildi (Şekil 5.9).

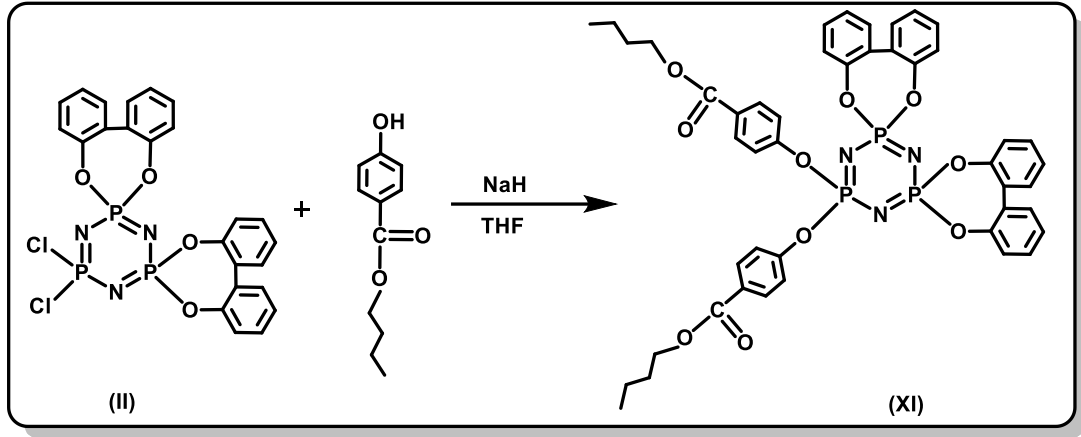
5.2.10. Dispiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(II) Bileşiğı İle Propil Paraben'in (1:2.2) Reaksiyonu



Şekil 5.10: Bileşik (II) ile propil paraben'in reaksiyonu.

150 mL kuru THF'de ve argon atmosferinde dispiro 2,2'-bifenoksi siklotrifosfazen (0.3 gram, 0.52 mmol) 250 mL üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonunda çözüldü. Reaksiyon balonuna 30 mL kuru THF içindeki NaH (0.046 gram, 1.15 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı -5 °C'ye kadar buz banyosu yardımı ile soğutuldu. 50 mL THF içinde çözülmüş propil paraben (0.21 gram, 1.15 mmol) çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damlatıldı. Reaksiyon karışımı 2 gün boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve bu süreçte TLC ile kontrol edildi. İki gün sonunda reaksiyon sonlandırıldı ve karışım G4 filtreden süzülerek NaCl tuzu ayrıldı. Çözeltinin süzüntüsüne kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımı ile THF'in ortamdan ayrılması sağlandı. Geriye kalan reaksiyon karışımı *n*-hekzan:THF (4:1) çözücü sistemi yürütücü faz olarak kullanılarak silikajel (230-400 mesh, 110 gram) dolgu kolonda (3.5 , 90 cm) izole edildi. Propil paraben süstitüe dispiro siklotrifosfazen(X) (R_f=0.367) yağimsı olarak (0.35 g, 0.40 mmol) %77 verimle elde edildi (Şekil 5.10).

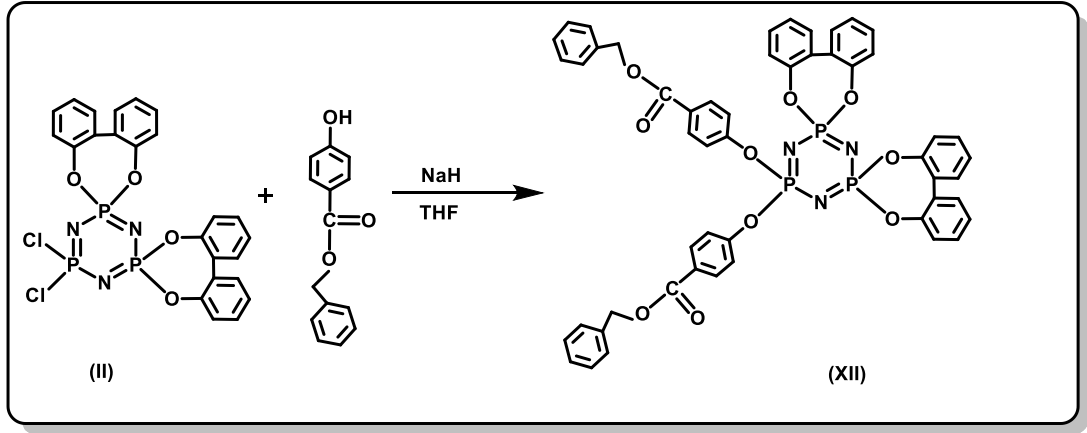
5.2.11. Dispiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(II) Bileşiği İle Bütıl Paraben'in (1:2.2 mol) Reaksiyonu



Şekil 5.11: Bileşik (II) ile bütıl paraben'in reaksiyonu.

150 mL kuru THF'de ve argon atmosferinde dispiro 2,2'-bifenoksi siklotrifosfazen (0.3 gram, 0.52 mmol) 250 mL üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonunda çözüldü. Reaksiyon balonuna 30 mL kuru THF içindeki NaH (0.046 gram, 1.15 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı -5 °C'ye kadar buz banyosu yardımı ile soğutuldu. 50 mL THF içinde çözülmüş bütıl paraben (0.223 gram, 1.15 mmol) çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damlatıldı. Reaksiyon karışımı 3 gün boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve bu süreçte TLC ile kontrol edildi. Üç gün sonunda reaksiyon sonlandırıldı ve karışım G4 filtreden süzülerek NaCl tuzu ayrıldı. Çözeltinin süzüntüsüne kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımı ile THF'in ortamdan ayrılması sağlandı. Geriye kalan reaksiyon karışımı *n*-hekzan:THF (4:1) çözücü sistemi yürütücü faz olarak kullanılarak silikajel (230-400 mesh, 110 gram) dolgu kolonda (3.5 g, 90 cm) izole edildi. Bütıl paraben süstitüe dispiro siklotrifosfazen (**XI**) ($R_f = 0.412$) yağimsı olarak (0.40 g, 0.44 mmol) %86 verimle elde edildi (Şekil 5.11).

5.2.12. Dispiro 2,2'-Bifenoksi Siklotrifosfazen(II) Bileşiği İle Benzil Paraben'in (1:2.2 mol) Reaksiyonu

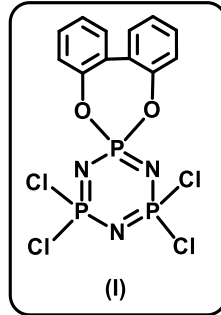


Şekil 5.12: Bileşik (II) ile benzil paraben'in reaksiyonu.

150 mL kuru THF'de ve argon atmosferinde dispiro 2,2'- bifenoksi siklotrifosfazen (0.3 gram, 0.52 mmol) 250 mL üç boyunlu yuvarlak dipli reaksiyon balonunda çözüldü. Reaksiyon balonuna 30 mL kuru THF içindeki NaH (0.046 gram, 1.15 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı -5 °C'ye kadar buz banyosu yardımı ile soğutuldu. 50 mL THF içinde çözülmüş benzil paraben (0.262 gram, 1.15 mmol) çözeltisi damlatma hunisi yardımıyla reaksiyon ortamına damlatıldı. Reaksiyon karışımı 2 gün boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve bu süreçte TLC ile kontrol edildi. İki gün sonunda reaksiyon sonlandırıldı ve karışım G4 filtreden süzülerek NaCl tuzu ayrıldı. Çözeltinin süzüntüsüne kısmen vakum uygulanarak döner buharlaştırıcı yardımı ile THF'in ortamdan ayrılması sağlandı. Geriye kalan reaksiyon karışımı *n*-hekzan:THF (4:1) çözücü sistemi yürütücü faz olarak kullanılarak silikajel (230-400 mesh, 110 gram) dolgulu kolonda (3.5 g, 90 cm) izole edildi. Benzil paraben süstitüe dispiro siklotrifosfazen(XII) (R_f=0.283) yağımsı olarak (0.47 g, 0.50 mmol) %75 verimle elde edildi (Şekil 5.12).

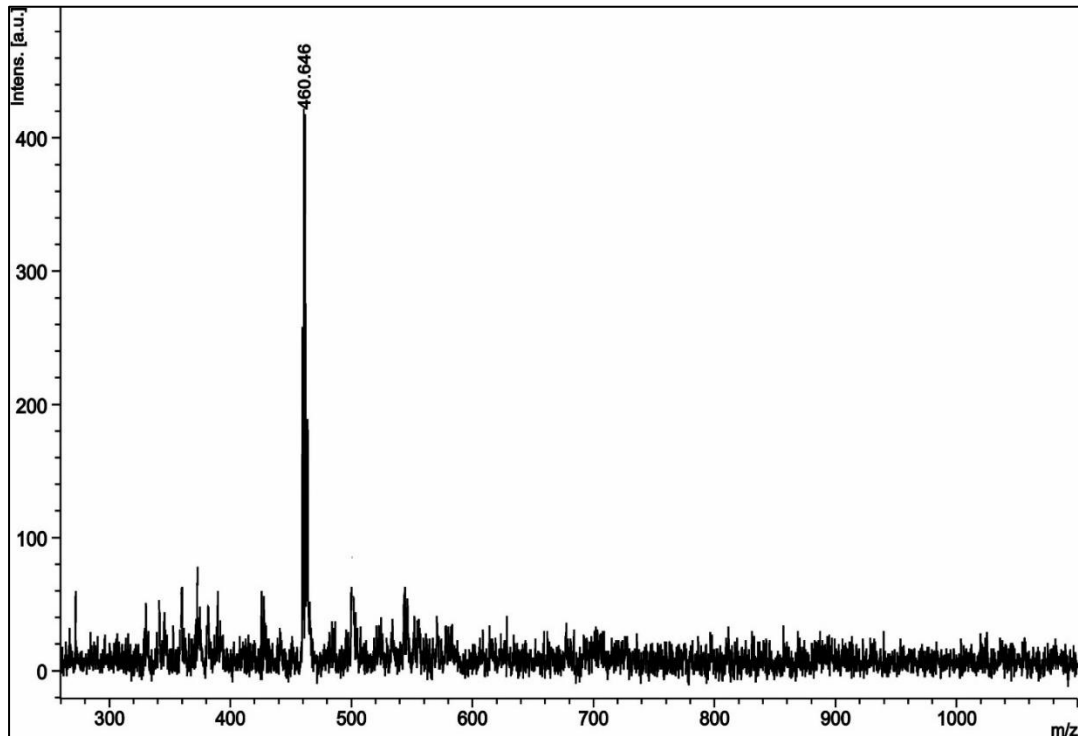
6.DENEYSEL VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

6.1. Bileşik I'e Ait Yapı Analizi



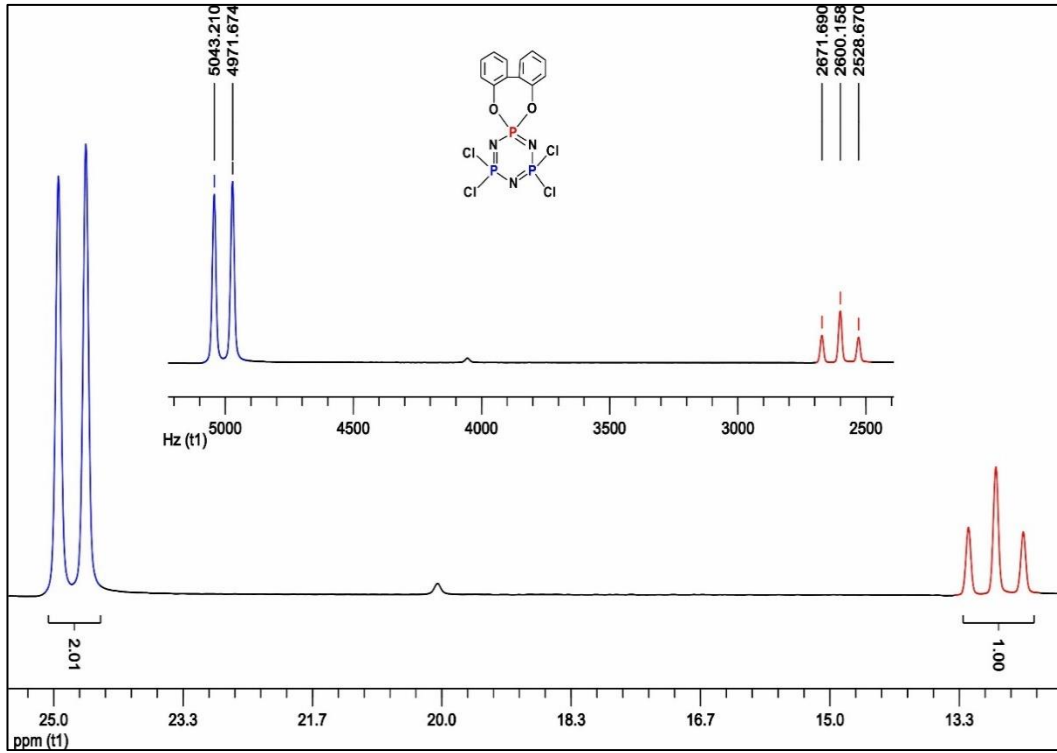
Şekil 6.1: Bileşik (I)'in Yapısı.

Bileşik (I)'in kütle spektrumu Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI-TOF) tekniği ile alındı ve moleküler iyon piki 460.64 m/z (%100) olarak görüldü ve sonucun beklenen değer ile (460.94) uyum içinde olduğu belirlendi (Şekil 6.2).



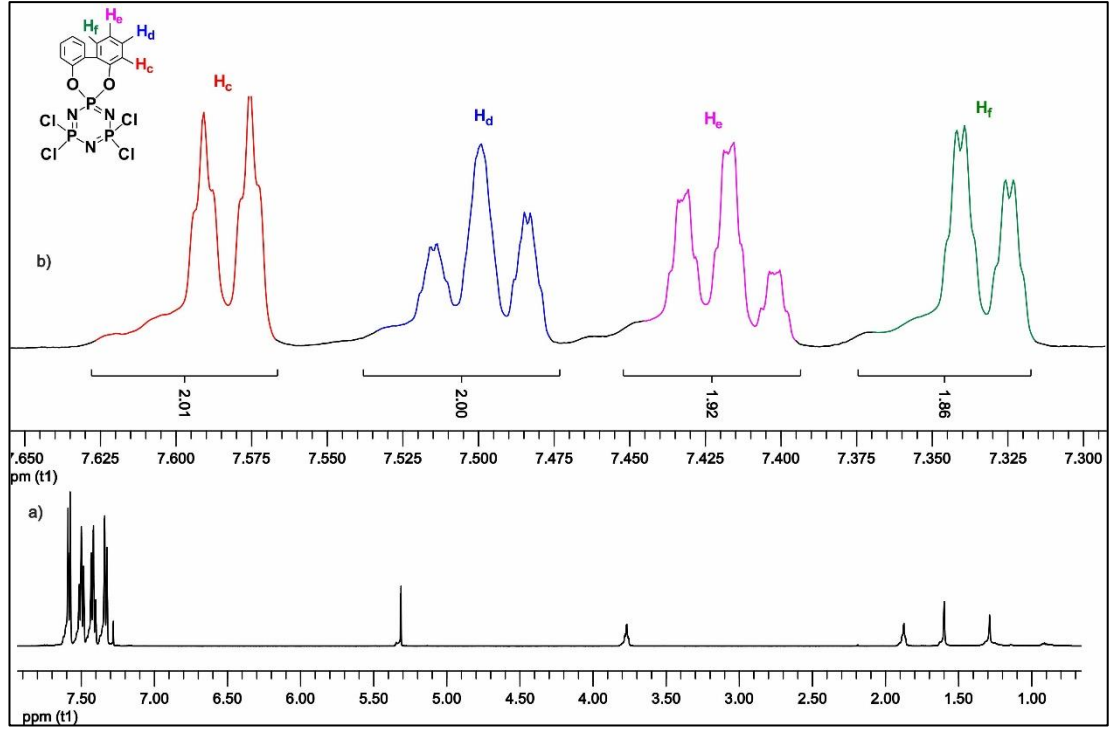
Şekil 6.2: Bileşik (I)'in MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.

Bileşik (I)'in yapısı Şekil 6.1'de görülmektedir. Bileşiğin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (CDCl_3 , 298 K) alındı. Bileşik (I)'in proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu A_2X spin sistemindedir. $\delta=24.75$ ppm'de $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomlarına ait ikili pik görülmektedir. Bu pik spiro $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye ($^2J_{\text{PNP}}=71.56$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=12.85$ ppm'de görülen pik ise spiro $[\text{P}(\text{O})_2]$ grubundaki fosfor atomuna aittir. Bu pik $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomlarından dolayı üçe yarılmaktadır ($^2J_{\text{PNP}}=71.56$ Hz). Bu spektruma ait integrasyon değerleri 2.01:1.00 olup 2:1 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.3).



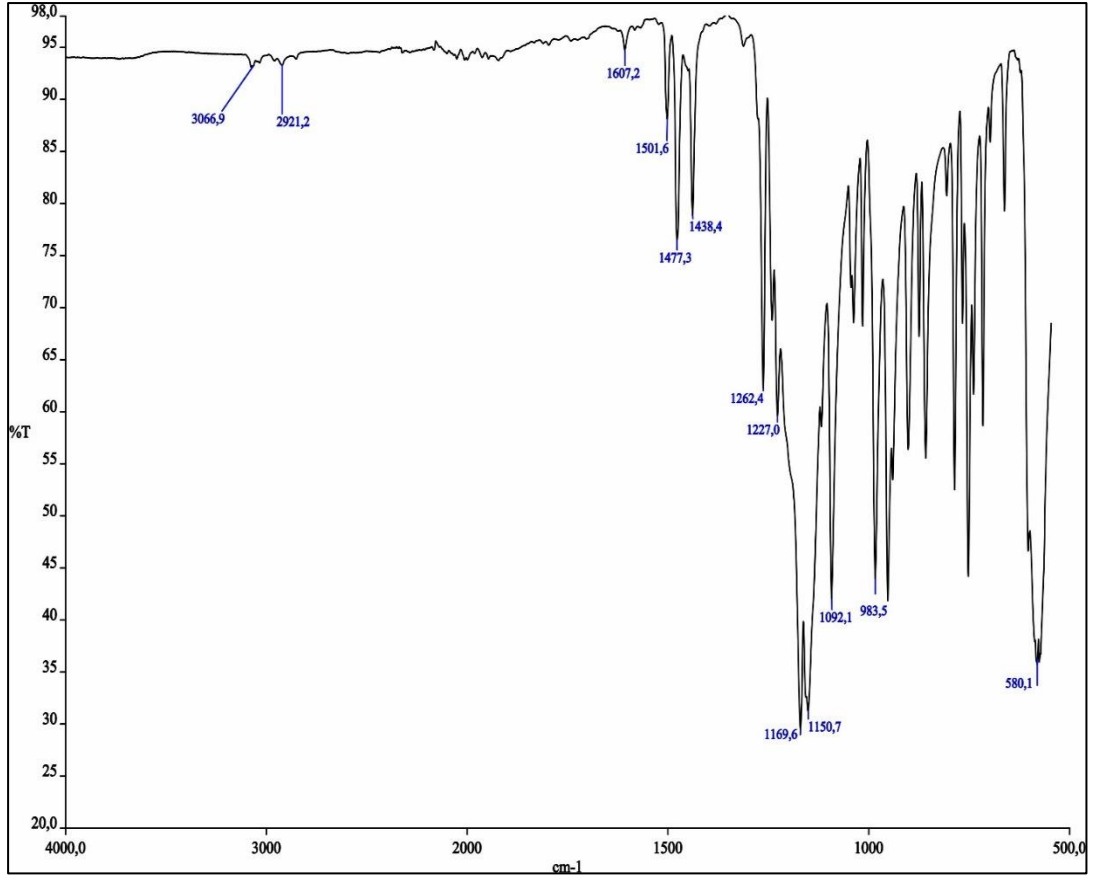
Şekil 6.3: Bileşik (I)'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik (I)'in ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 298 K) $\delta=7.34$ - 7.59 ppm arasındaki çoklu pikler sırayla H_c , H_d , H_e ve H_f protonlarına aittir. $\delta=7.50$ ppm'de H_d komşu karbonlarda bulunan protonlar H_e ve H_c 'den dolayı üçe ($^3J_{\text{Hd-Hc}}=8.31$ Hz) ve $\delta=7.42$ ppm'de H_e komşu karbonlarda bulunan protonlar H_d ve H_f 'den dolayı üçe ($^3J_{\text{He-Hd}}=7.53$ Hz), $\delta=7.59$ ppm'deki H_c , H_d protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hc-Hd}}=7.45$ Hz) ve $\delta=7.34$ ppm'deki H_f protonu H_e protonu sebebiyle ikiye ($^3J_{\text{He-Hf}}=8.06$ Hz) yarılmaktadır. İntegral değerleri H_c , H_d , H_e , H_f sırasıyla 2.01:2.00:1.92:1.86 olup 2:2:2:2 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.4).



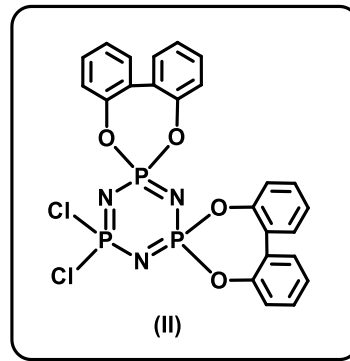
Şekil 6.4: a) Bileşik (I)'e ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

Bileşik (I)'in FT-IR spektrumunda (ν_{max}); 3066.9-2921.2 cm^{-1} 'de aromatik C-H bağının asimetrik ve simetrik gerilme titreşimleri; 1501.6 cm^{-1} 'de aromatik C=C iskelet gerilmeleri; 1262.4 cm^{-1} 'de P-O gerilmesi; 1169.6 cm^{-1} 'de P=N gerilmeleri; 580.1 cm^{-1} 'de fosfazen halkasının karakteristik P-Cl gerilmesi görülmektedir (Şekil 6.5).



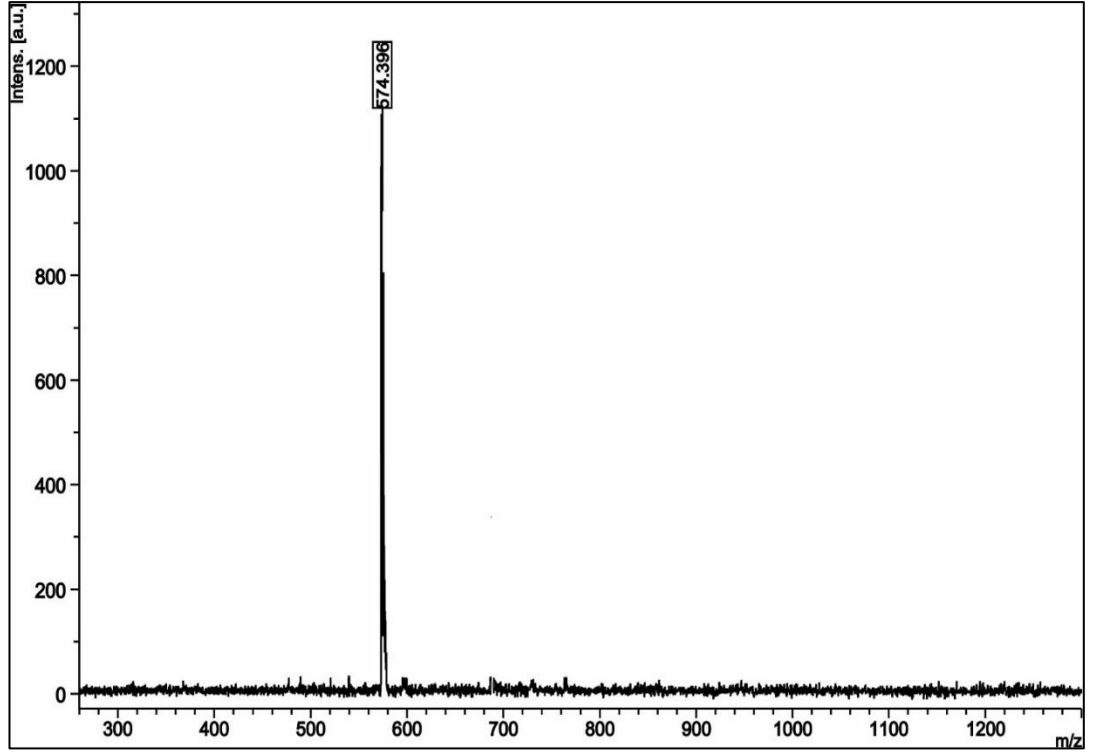
Şekil 6.5: Bileşik (I)'e ait FT-IR spektrumu.

6.2. Bileşik II'ye Ait Yapı Analizi



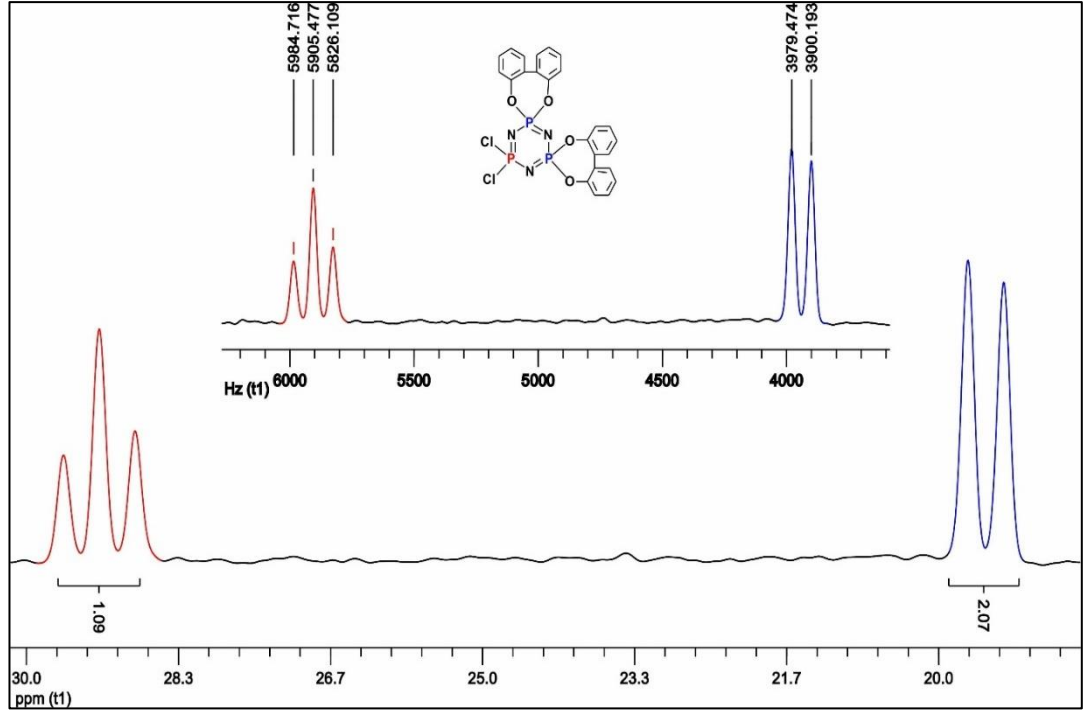
Şekil 6.6: Bileşik (II)'nin Yapısı.

Bileşik (II)'nin kütle spektrumu Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI-TOF) tekniği ile alındı ve moleküler iyon piki 574.39 m/z (%100) olarak görüldü ve sonucun beklenen değer ile (574.23) uyum içinde olduğu belirlendi (Şekil 6.7).



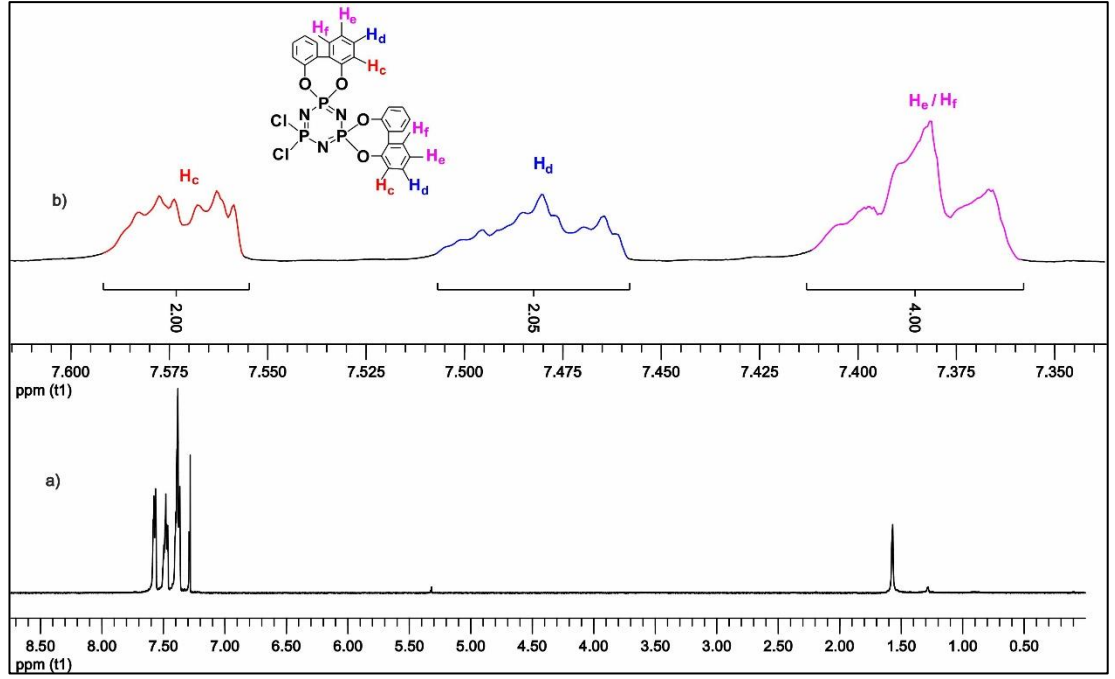
Şekil 6.7: Bileşik (II)'nin MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.

Bileşik (II)'nin yapısı Şekil 6.6'da görülmektedir. Bileşiğin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (CDCl_3 , 298 K) alındı. Bileşik (II)'nin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu AX_2 spin sistemindedir. $\delta=29.18$ ppm'de $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik görülmektedir. Bu pik spiro $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomundan dolayı üçe ($^2J_{\text{PNP}} = 79.41$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=19.47$ ppm'de görülen pik ise spiro $[\text{P}(\text{O}_2)]$ grubundaki fosfor atomlarına aittir. Bu pik $[\text{PCl}_2]$ grubundaki fosfor atomlarından dolayı ikiye yarılmaktadır ($^2J_{\text{PNP}}=79.41$ Hz). Bu spektruma ait integrasyon değerleri 1.09:2.07 olup 1:2 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.8).



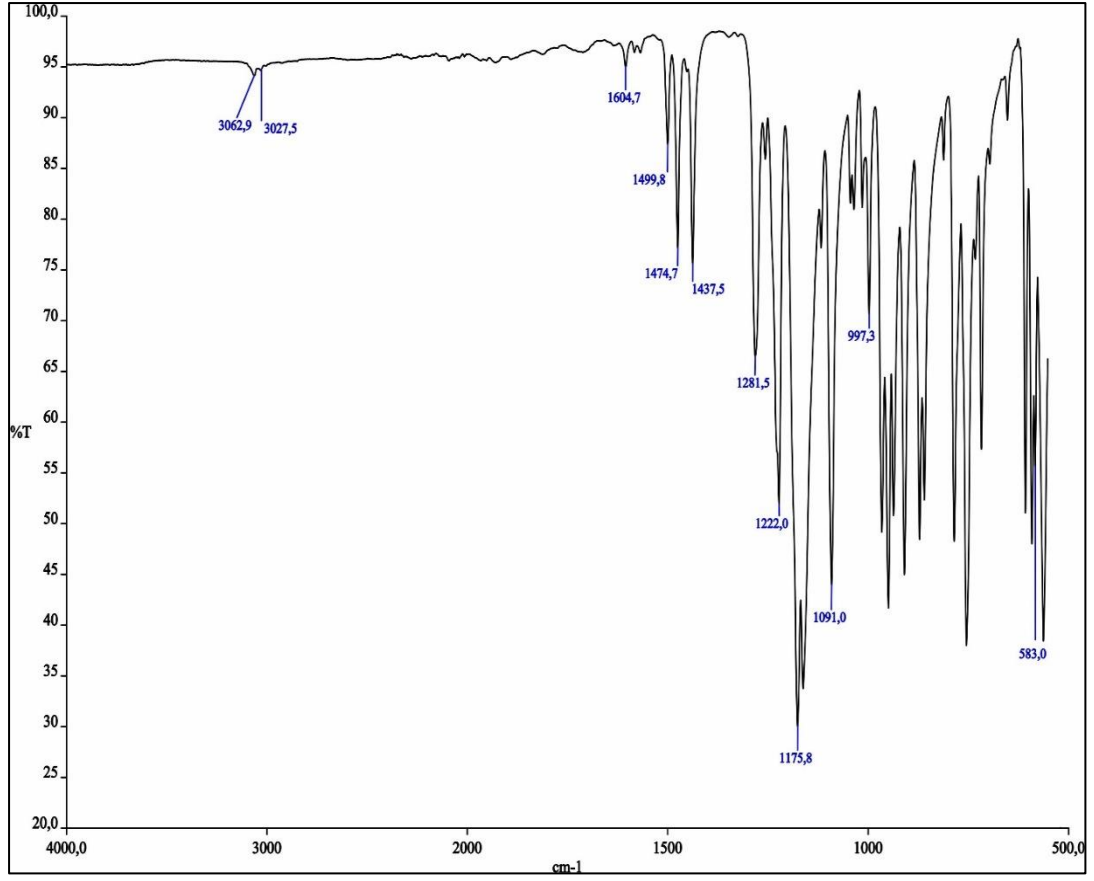
Şekil 6.8: Bileşik (II)'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik (I)'nin ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 298 K) $\delta = 7.38\text{--}7.54$ ppm arasındaki çoklu pikler sırayla H_c , H_d , H_e ve H_f protonlarına aittir. $\delta = 7.48$ ppm'de H_d komşu karbonlarda bulunan protonlar H_e ve H_c 'dan dolayı üçe ($^3J_{\text{H}_d\text{-H}_c} = 7.55$ Hz) yarılmaktadır. $\delta = 7.54$ ppm'deki H_c , H_d protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{H}_c\text{-H}_d} = 7.31$ Hz) yarılmaktadır. H_f ve H_e protonlarının kimyasal kayma değerleri birbirlerine çok yakın olduğundan $\delta = 7.38$ ppm'de üst üste çoklu pikler vermektedir; bu yüzden H_f ve H_e protonlarının integral değerleri beraber alınarak hesaplanmıştır. İntegral değerleri H_c , H_d , $\text{H}_e\text{-H}_f$ sırasıyla 2.00:2.05:4.00 olup 2:2:4 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.9).



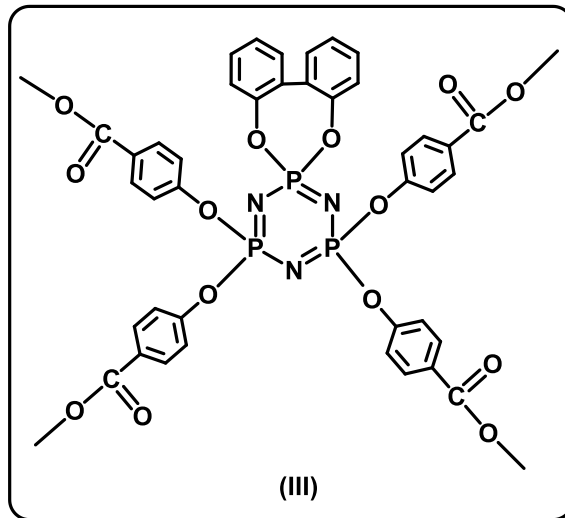
Şekil 6.9: a) Bileşik (II)'ye ait ¹H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ¹H NMR spektrumu.

Bileşik (II)'nin FT-IR spektrumunda ($\nu_{\max.}$); 3062.9-3027.5 cm⁻¹'de aromatik C-H bağının gerilme titreşimleri; 1499.8 cm⁻¹'de aromatik C=C iskelet gerilmeleri; 1281.5 cm⁻¹'de P-O gerilmesi [91]; 1175.8 cm⁻¹'de P=N gerilmeleri; 583.0 cm⁻¹'de fosfazen halkasının karakteristik P-Cl gerilmesi görülmektedir (Şekil 6.10).



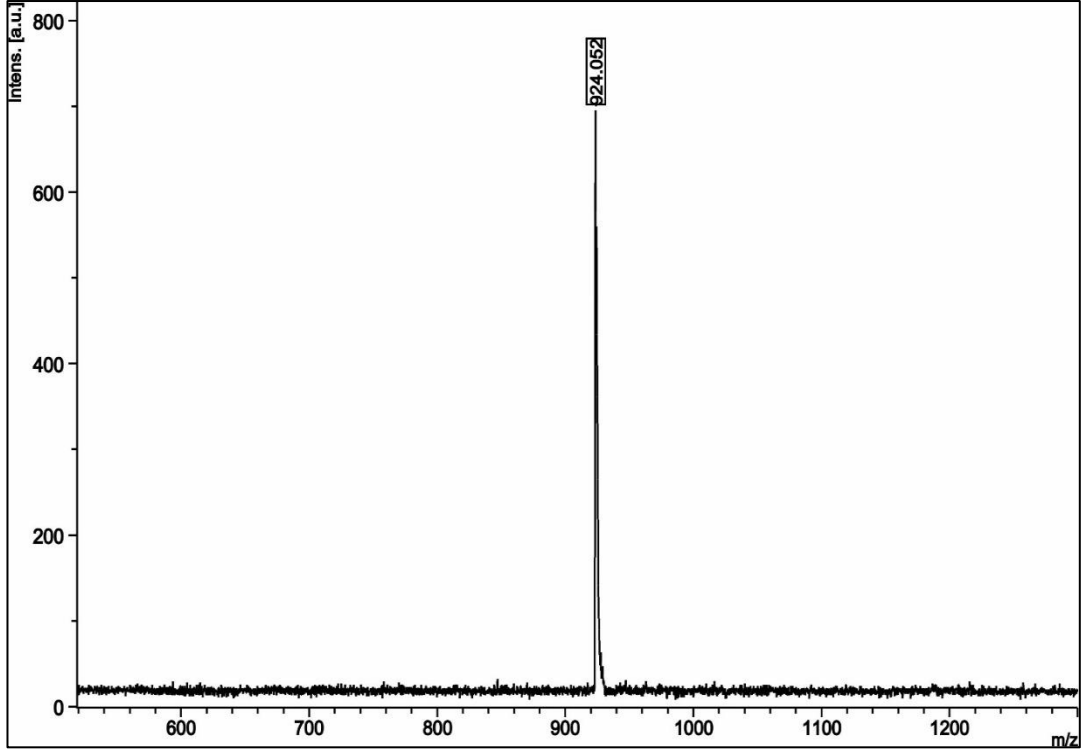
Şekil 6.10: Bileşik (II)'ye ait FT-IR spektrumu.

6.3. Bileşik III'e Ait Yapı Analizi



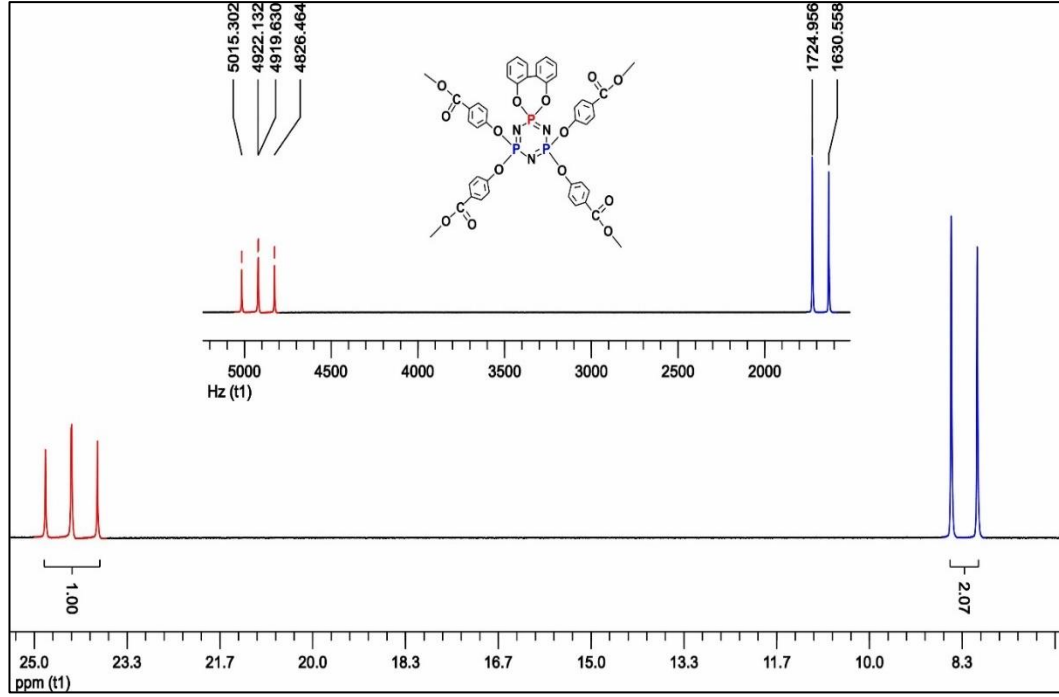
Şekil 6.11: Bileşik (III)'ün Yapısı.

Bileşik (III)'ün kütle spektrumu Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI-TOF) tekniği ile alındı ve moleküler iyon piki 924.05 m/z (%100) olarak görüldü ve sonucun beklenen değer ile (923.69) uyum içinde olduğu belirlendi (Şekil 6.12).



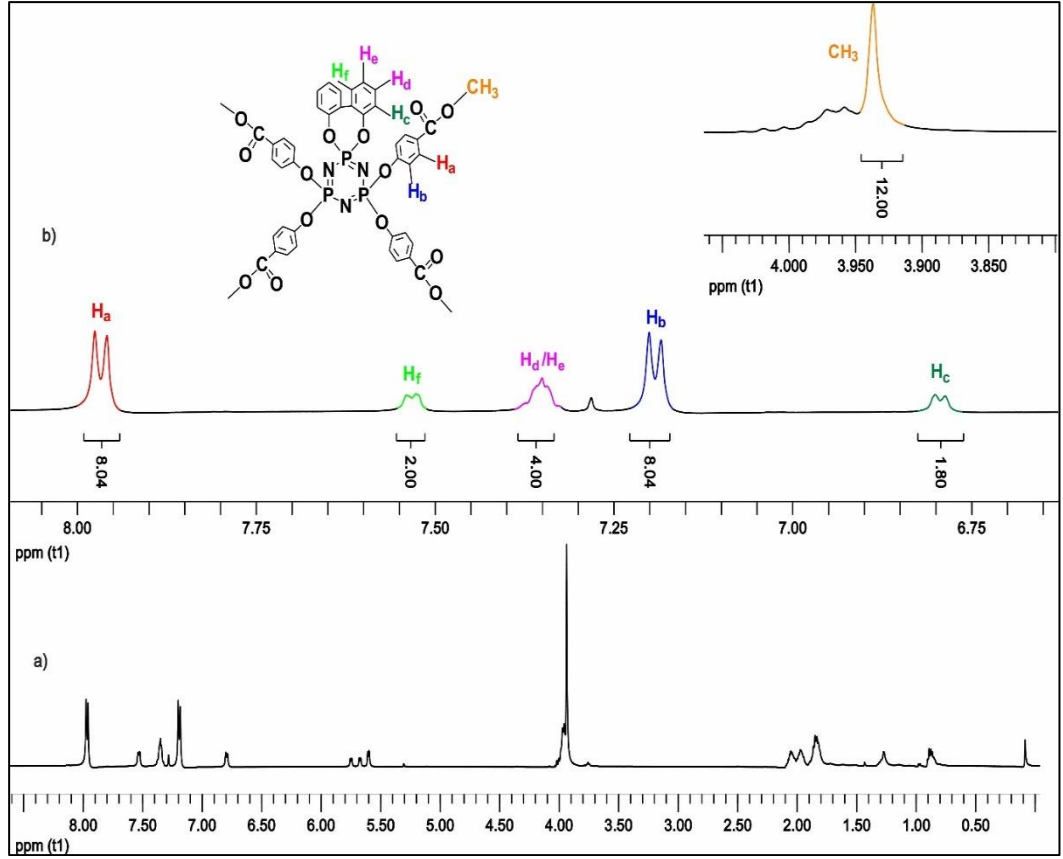
Şekil 6.12: Bileşik (III)'ün MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.

Bileşik (III)'ün yapısı Şekil 6.11'de görülmektedir. Bileşiğin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (CDCl_3 , 298 K) alındı. Bileşik (III)'ün proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu AX_2 spin sistemindedir. $\delta=24.32$ ppm'de spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik görülmektedir. Bu pik [P(R₂)] grubundaki fosfor atomlarından dolayı üçe ($^2J_{\text{PNP}}=93.67$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=8.28$ ppm'de görülen pik ise [PR₂] grubundaki fosfor atomlarına aittir. Bu pik spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye yarılmaktadır ($^2J_{\text{PNP}}=93.67$ Hz). Bu spektruma ait integrasyon değerleri 1.00:2.07 olup 1:2 fosfora karşılık gelir (Şekil 6.13).



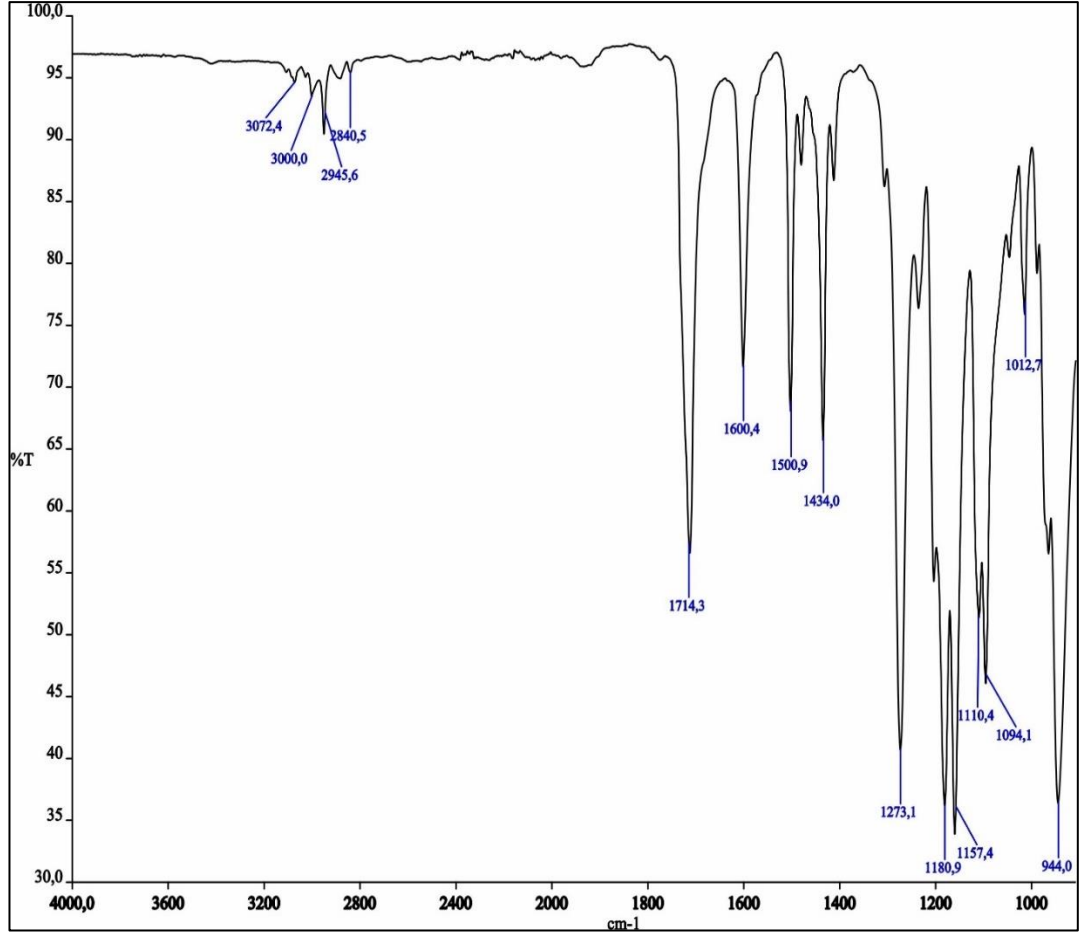
Şekil 6.13: Bileşik III'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik (III)'ün ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 298 K) $\delta=6.79\text{-}7.96$ ppm arasındaki çoklu pikler H_a , H_b , H_c , H_d , H_e ve H_f protonlarına aittir. $\delta=7.96$ ppm'de H_a komşu karbonda bulunan H_b protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hb-Ha}}=8.45$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.18$ ppm'deki H_b , H_a protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Ha-Hb}}=8.39$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=6.79$ ppm'deki H_c protonu H_d protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hc-Hd}}=6.91$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.53$ ppm'deki H_f protonu H_e protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hf-He}}=7.64$ Hz) yarılmaktadır. Sübstitüe grupların metil ($-\text{CH}_3$) protonları ise $\delta=3.93$ ppm'de tekli pik vermektedir. H_d ve H_e protonlarının kimyasal kayma değerleri birbirlerine çok yakın olduğundan $\delta=7.34$ ppm'de üst üste çoklu pik vermiştir; bu yüzden H_d ve H_e protonlarının integral değerleri beraber alınarak hesaplanmıştır. İntegral değerleri H_a , H_b , H_c , $\text{H}_d\text{-H}_e$, H_f , ($-\text{CH}_3$) sırasıyla 8.04:8.04:1.80:4.00:2.0:12.00 olup 8:8:2:4:2:12 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.14).



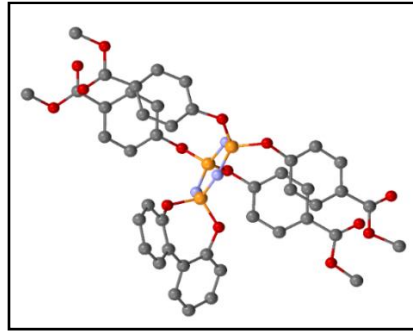
Şekil 6.14: a) Bileşik (III)'e ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

Bileşik (III)'ün FT-IR spektrumunda ($\nu_{\text{max.}}$); 3072.4-3000.0 cm^{-1} 'de aromatik C-H bağının simetrik ve asimetrik gerilmeleri; 2945.6-2840.5 cm^{-1} 'de alifatik C-H titreşimleri; 1714.3 cm^{-1} 'de süstitüe metil paraben grubuna ait C=O gerilmeleri; 1600.4 cm^{-1} 'de süstitüe paraben gruplarının C=O gerilmeleri; 1500.9 cm^{-1} 'de aromatik C=C iskelet gerilmeleri; 1273.1 cm^{-1} 'de P-O gerilmesi [91]; 1180.9 cm^{-1} 'de P=N gerilmeleri görülmektedir (Şekil 6.15).



Şekil 6.15: Bileşik (III)'e ait FT-IR spektrumu.

Bileşik (III)'ün yapısı, tek kristal X-ışını kırınımı yöntemiyle de incelendi. 2,2'-Bisfenol halkasının siklotrifosfazen halkasına monospiro konumunda bağlandığı ve trimer halkasının diğer fosfor atomları ile metil parabenin tamamen süstitüe olduğu görüldü. X-ışını kırınımı sonucu elde edilen veriler ve bileşiğe ait yapısal özellikler Tablo 6.1'de verildi (Şekil 6.16).

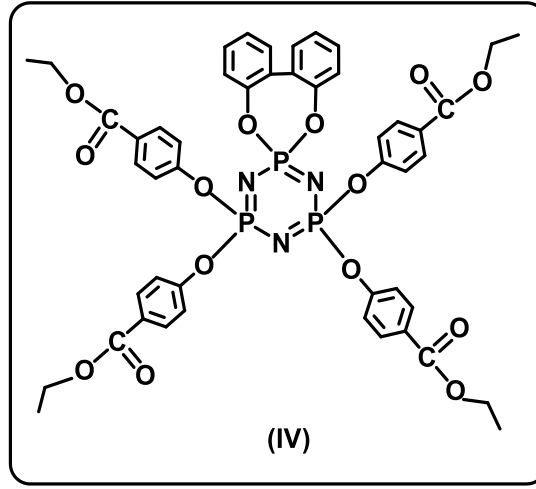


Şekil 6.16: Bileşik (III)'ün Tek Kristal X-İşını Kırınımı Tekniği ile Çözülmüş Yapısı.

Tablo 6.1: Bileşik III'ün kristallografik verileri.

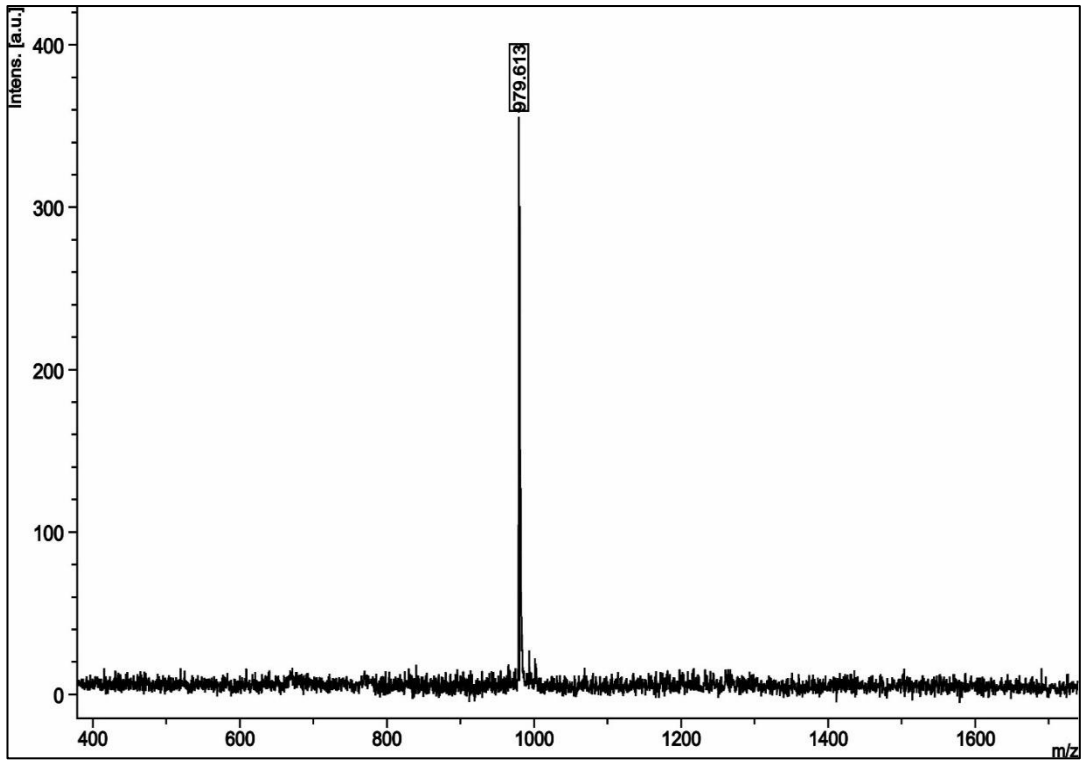
Bileşik	3
Kapalı Formül	$C_{44}H_{36}N_3O_{14}P_3$
Kristal Sistemi	Monoklinik
Uzay Grubu	P-1 21/c1
a (Å)	8.6660(5)
b (Å)	22.8807(13)
c (Å)	21.5107(11)
α (°)	90
β (°)	90.322(3)
γ (°)	90
Hacim(Å³)	4265.2(4)
Z	4
Yoğunluk(calc,Mg/m³)	1.438
F(000)	1912
θ_{max} (°)	26.73
Reflections collected	31652
R_{int} (merging R value)	0.0431
Parametreler	592
R (F² > 2σF²)	0.0408
wR (all data)	0.1022
Goodness-of-fit on F²	1.030

6.4. Bileşik IV'e Ait Yapı Analizi



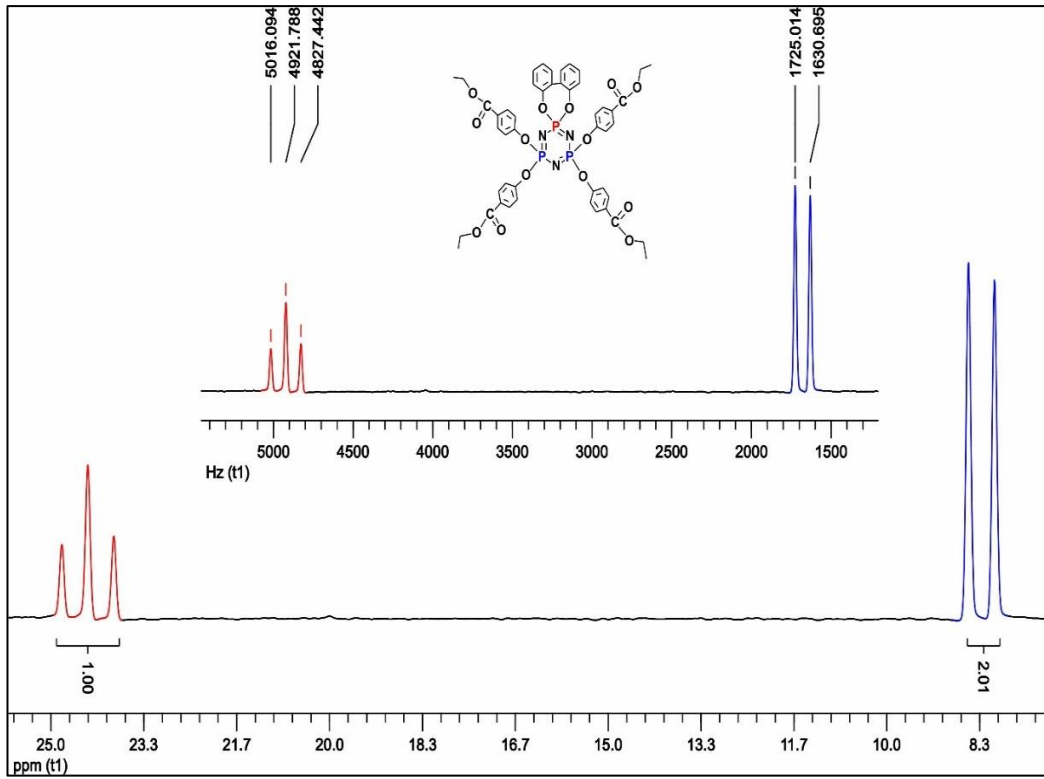
Şekil 6.17: Bileşik (IV)'ün Yapısı.

Bileşik (IV)'ün kütle spektrumu Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI-TOF) tekniği ile alındı ve moleküler iyon piki 979.61 m/z (%100) olarak görüldü ve sonucun beklenen değer ile (979.81) uyum içinde olduğu belirlendi (Şekil 6.18).



Şekil 6.18: Bileşik (IV)'ün MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.

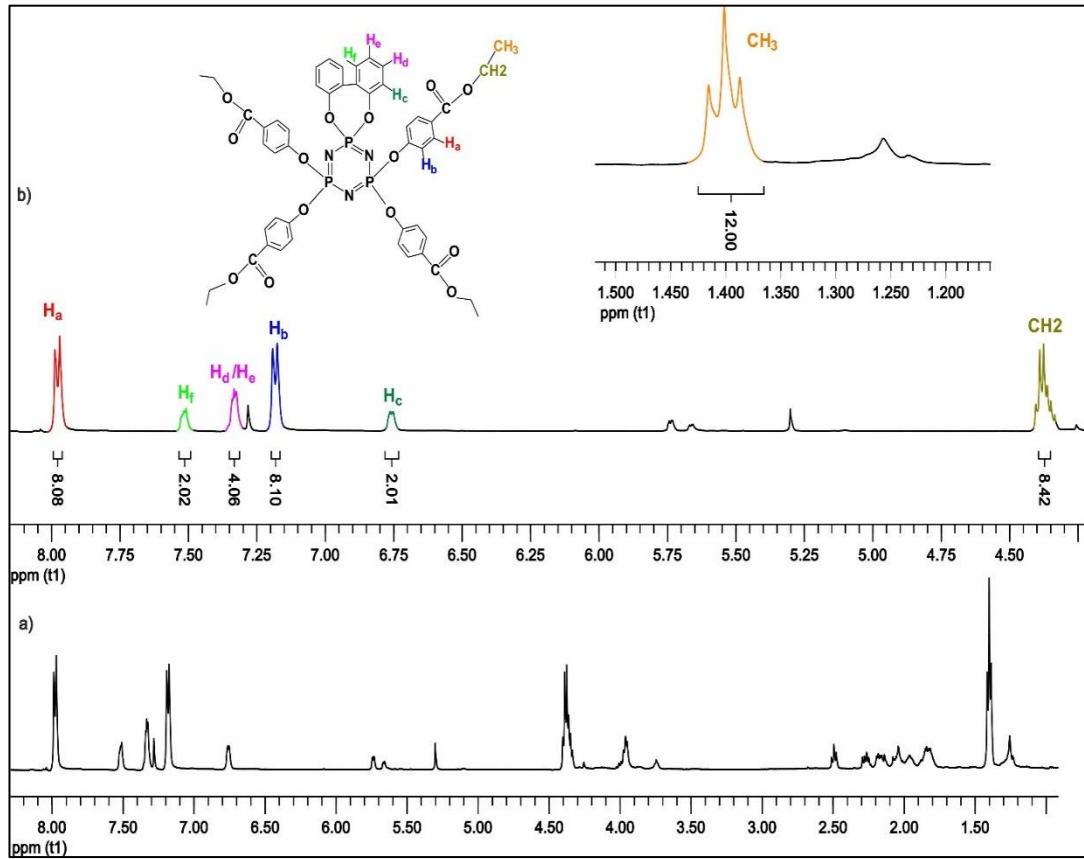
Bileşik (IV)'ün yapısı Şekil 6.17'de görülmektedir. Bileşiğin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (CDCl_3 , 298 K) alındı. Bileşik IV'ün proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu AX_2 spin sistemindedir. $\delta=24.33$ ppm'de spiro[$\text{P}(\text{O}_2)$] grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik görülmektedir. Bu pik [$\text{P}(\text{R}_2)$] grubundaki fosfor atomlarından dolayı üçe ($^2J_{\text{PNP}}=94.31$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=8.29$ ppm'de görülen pik ise [PR_2] grubundaki fosfor atomlarına aittir. Bu pik spiro[$\text{P}(\text{O}_2)$] grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye yarılmaktadır ($^2J_{\text{PNP}}=94.31$ Hz). Bu spektruma ait integrasyon değerleri 1.00:2.01 olup 1:2 fosfora karşılık gelir (Şekil 6.19).



Şekil 6.19: Bileşik (IV)'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

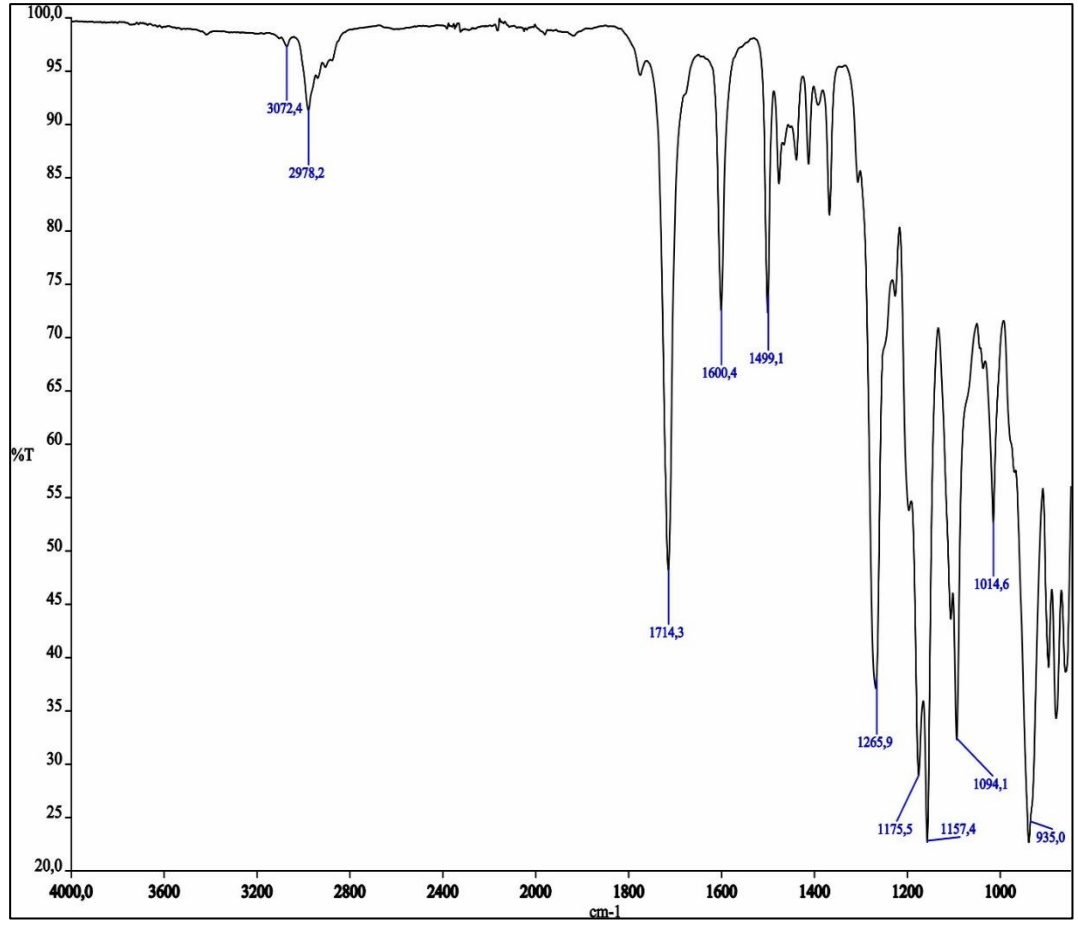
Bileşik (IV)'ün ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 298 K) $\delta=6.75$ - 7.97 ppm arasındaki çoklu pikler sırayla H_a , H_b , H_c , H_d , H_e ve H_f protonlarına aittir. $\delta=7.97$ ppm'de H_a komşu karbonda bulunan H_b protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hb-Ha}}=8.56$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.18$ ppm'deki H_b , H_a protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Ha-Hb}}=8.40$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=6.75$ ppm'deki H_c protonu H_d protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hc-Hd}}=4.88$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.51$ ppm'deki H_f protonu H_e protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hf-He}}=3.80$ Hz) yarılmaktadır. Sübstitüe etil grubunun ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=4.37$ ppm'de

çoklu pik verirken (-CH₃) protonları $\delta=1.39$ ppm’de (-CH₂) protonlarından dolayı üçlü pik vermiştir ($^3J_{H-H}=7.09$ Hz). H_d ve H_e protonlarının kimyasal kayma değerleri birbirlerine çok yakın olduğundan $\delta=7.33$ ppm’de üst üste çoklu pikler vermiştir; bu yüzden H_d ve H_e protonlarının integral değerleri beraber alınarak hesaplanmıştır. İntegral değerleri H_a, H_b, H_c, H_d-H_e, H_f, (-CH₂), (-CH₃) sırasıyla 8.08:8.10:2.01:4.06:2.02:8.42:12.00 olup 8:8:2:4:2:8:12 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.20).



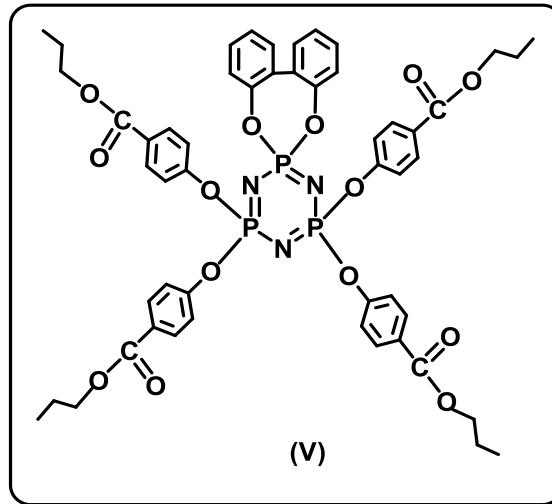
Şekil 6.20: a) Bileşik (IV)’e ait ¹H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ¹H NMR spektrumu.

Bileşik (IV)’ün FT-IR spektrumunda (ν_{max}); 3072.4 cm⁻¹’de aromatik C-H bağının gerilmeleri; 2978.2 cm⁻¹’de alifatik C-H titreşimleri; 1714.3 cm⁻¹’de sübstitüe etil paraben grubuna ait aromatik C=O gerilmeleri; 1600.4 cm⁻¹’de sübstitüe etil paraben grubuna ait alifatik C=O gerilmeleri; 1499.1 cm⁻¹’de aromatik C=C iskelet gerilmeleri; 1265.9 cm⁻¹’de P-O gerilmesi [91]; 1157.4 cm⁻¹’de P=N gerilmeleri görülmektedir (Şekil 6.21).



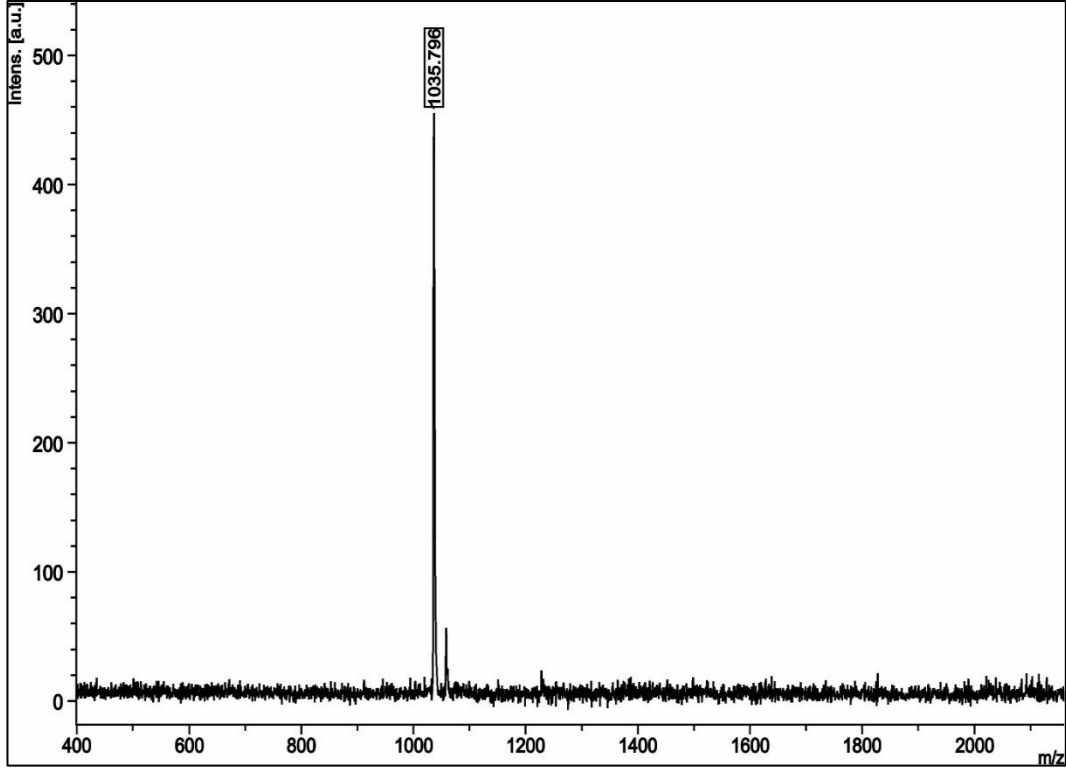
Şekil 6.21: Bileşik (IV)'e ait FT-IR spektrumu.

6.5. Bileşik V'e Ait Yapı Analizi



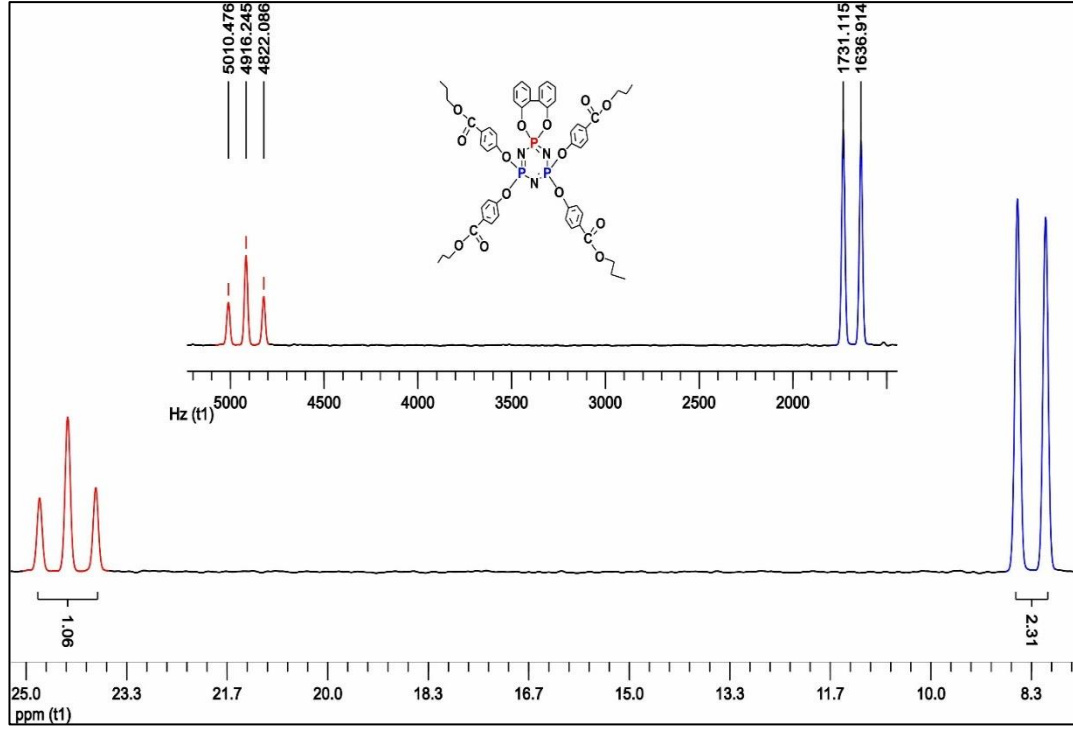
Şekil 6.22: Bileşik (V)'in Yapısı.

Bileşik (V)'in kütle spektrumu Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI-TOF) tekniği ile alındı ve moleküler iyon piki 1035.79 m/z (%100) olarak görüldü ve sonucun beklenen değer ile (1035.92) uyum içinde olduğu belirlendi (Şekil 6.23).



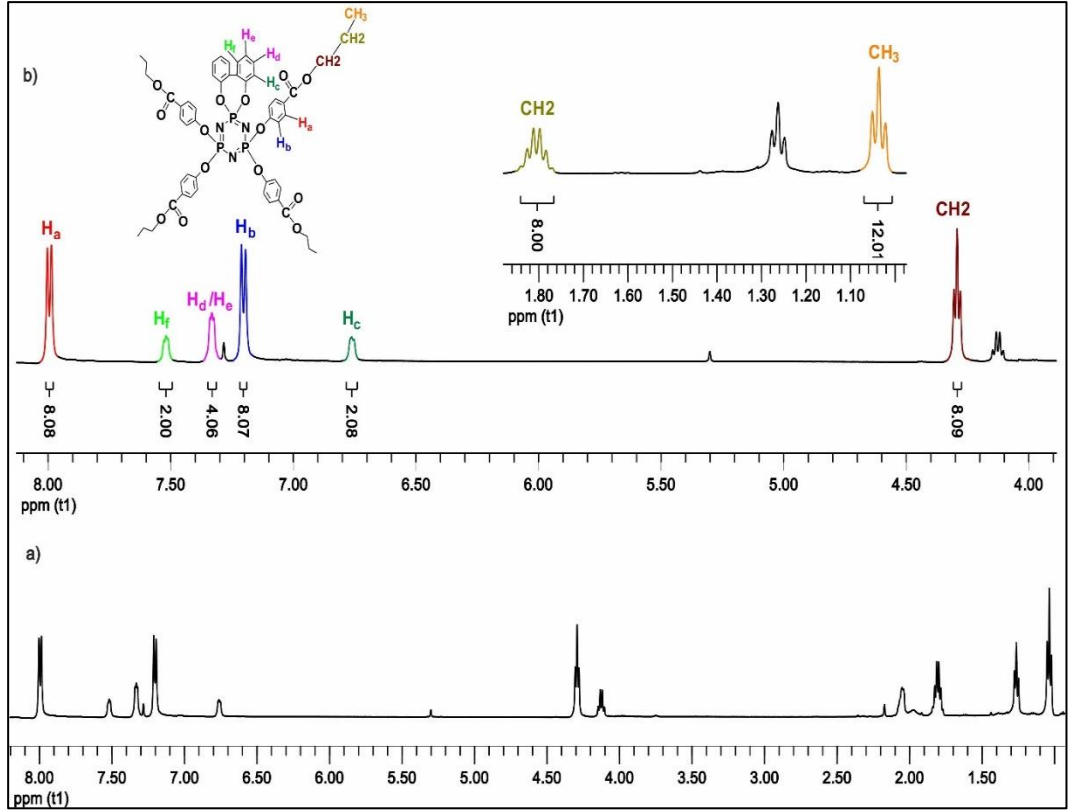
Şekil 6.23: Bileşik (V)'in MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.

Bileşik (V)'in yapısı Şekil 6.22'de görülmektedir. Bileşiğin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (CDCl_3 , 298 K) alındı. Bileşik (V)'in proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu AX_2 spin sistemindedir. $\delta=24.29$ ppm'de spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik görülmektedir. Bu pik [P(R₂)] grubundaki fosfor atomlarından dolayı üçe ($^2J_{\text{PNP}}=94.20$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=8.32$ ppm'de görülen pik ise [PR₂] grubundaki fosfor atomlarına aittir. Bu pik spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye yarılmaktadır ($^2J_{\text{PNP}}=94.20$ Hz). Bu spektruma ait integrasyon değerleri 1.06:2.31 olup 1:2 fosfora karşılık gelir (Şekil 6.24).



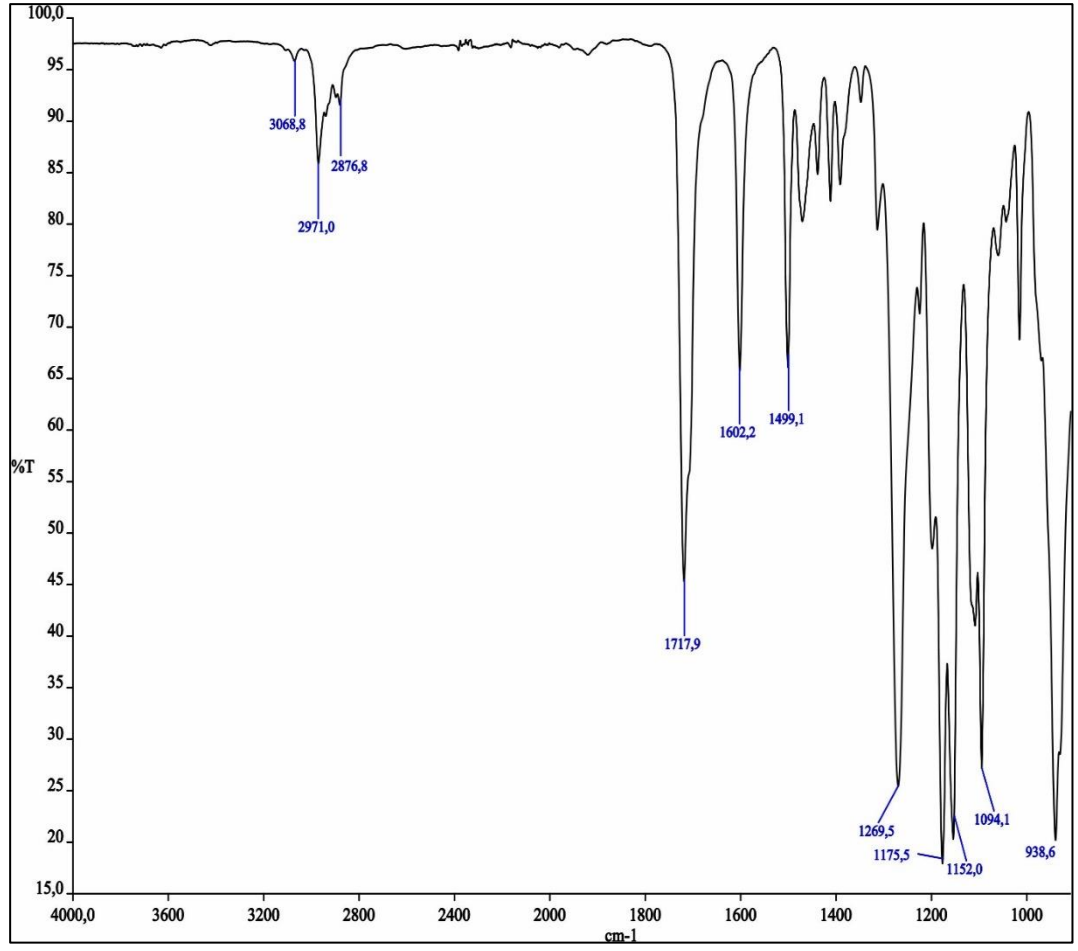
Şekil 6.24: Bileşik (V)'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik (V)'in ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 298 K) $\delta=6.75\text{-}7.99$ ppm arasındaki çoklu pikler H_a , H_b , H_c , H_d , H_e , H_f protonlarına aittir. $\delta=7.99$ ppm'de H_a komşu karbondaki bulunan H_b protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{H}_b\text{-H}_a}=8.08$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.20$ ppm'deki H_b , H_a protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{H}_a\text{-H}_b}=8.15$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=6.75$ ppm'deki H_c protonu H_d protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{H}_c\text{-H}_d}=6.13$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.51$ ppm'deki H_f protonu H_e protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{H}_f\text{-H}_e}=6.81$ Hz) yarılmaktadır. Sübstitüe propil grubunun oksijene komşu ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=4.29$ ppm'de ona komşu ($-\text{CH}_2$) protonları sebebiyle üçlü pik verir ($^3J_{\text{H-H}}=6.52$ Hz). ($-\text{CH}_3$)'e komşu ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=1.80$ ppm'de ($-\text{CH}_2$) ve ($-\text{CH}_3$) protonlarından dolayı çoklu pik vermiştir. $\delta=1.03$ ppm'deki ($-\text{CH}_3$) protonları komşu ($-\text{CH}_2$) protonları sebebiyle üçlü pik vermiştir ($^3J_{\text{H-H}}=7.31$ Hz). H_d ve H_e protonlarının kimyasal kayma değerleri birbirlerine çok yakın olduğundan $\delta=7.33$ ppm'de üst üste pik vermiştir; bu yüzden H_d ve H_e protonlarının integral değerleri beraber alınarak hesaplanmıştır. İntegral değerleri H_a , H_b , H_c , $\text{H}_d\text{-H}_e$, H_f , ($-\text{CH}_2$), ($-\text{CH}_2$), ($-\text{CH}_3$) sırasıyla 8.08:8.07:2.08:4.06:2.00:8.09:8.00:12.01 olup 8:8:2:4:2:8:8:12 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.25).



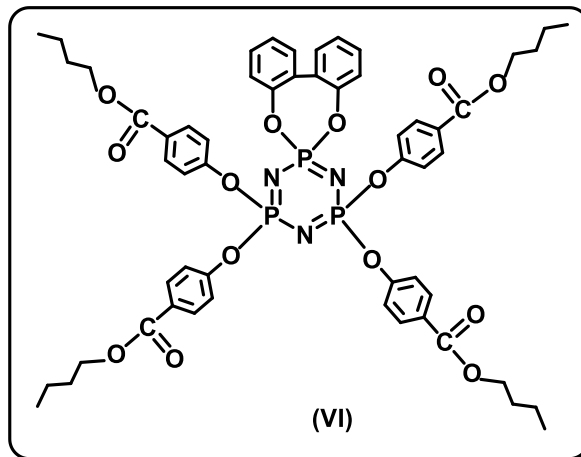
Şekil 6.25: a) Bileşik (V)'e ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

Bileşik (V)'in FT-IR spektrumunda ($\nu_{\text{max.}}$); 3068.8-2971.0 cm^{-1} 'de aromatik C-H bağının simetrik ve asimetrik gerilmeleri; 2876.8 cm^{-1} 'de alifatik C-H titreşimleri; 1717.9 cm^{-1} 'de sübstitüe propil paraben grubuna ait aromatik C=O gerilmeleri; 1602.2 cm^{-1} 'de sübstitüe propil paraben grubuna ait alifatik C=O gerilmeleri; 1499.1 cm^{-1} 'de aromatik C=C iskelet gerilmeleri; 1269.5 cm^{-1} 'de P-O gerilmesi [91]; 1175.5 cm^{-1} 'de P=N gerilmeleri görülmektedir (Şekil 6.26).



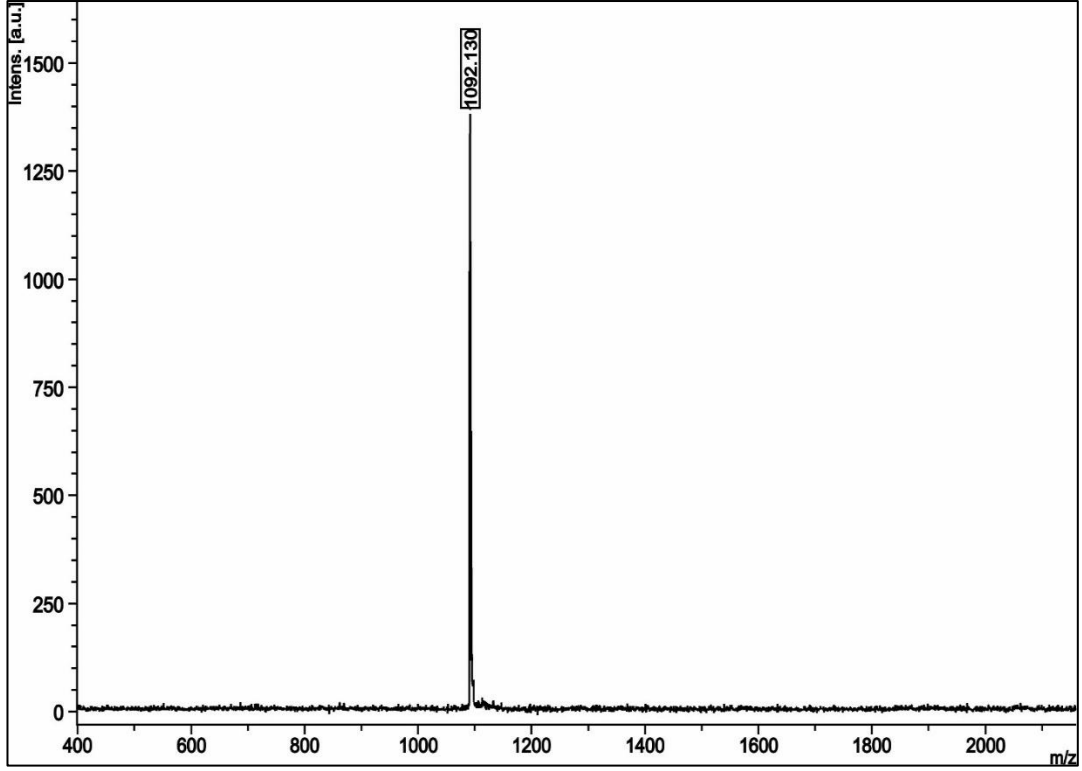
Şekil 6.26: Bileşik (V)'e ait FT-IR spektrumu.

6.6. Bileşik VI'ya Ait Yapı Analizi



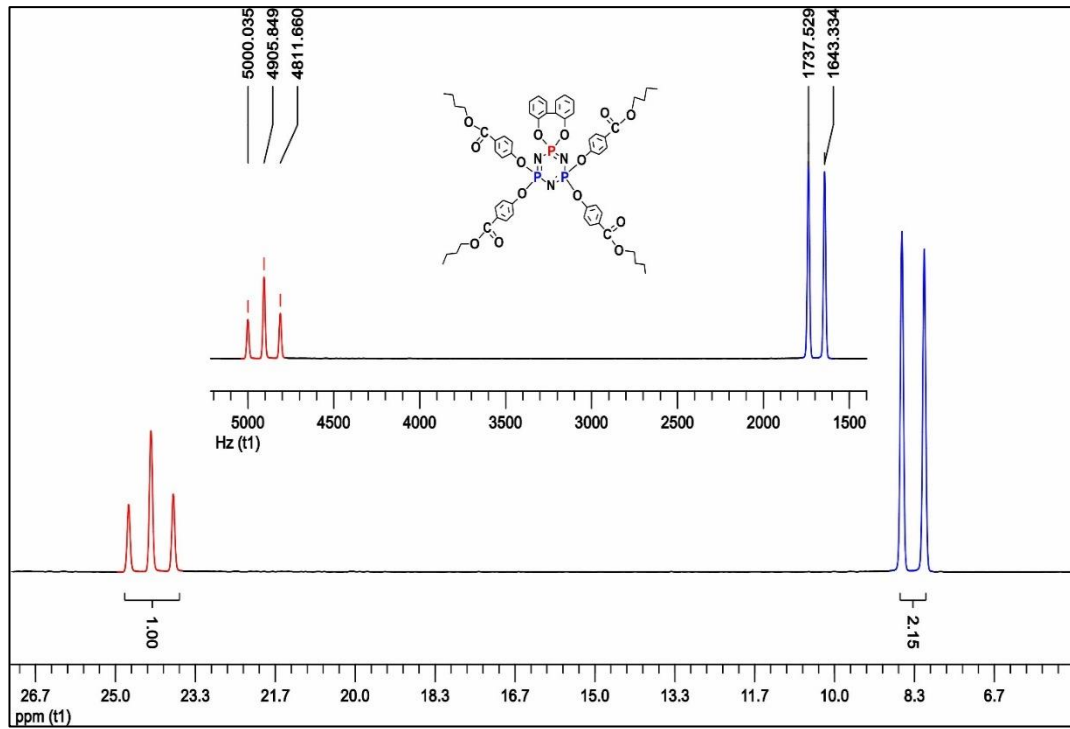
Şekil 6.27: Bileşik (VI)'nın Yapısı.

Bileşik (VI)'nın kütle spektrumu Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI-TOF) tekniği ile alındı ve moleküler iyon piki 1092.13 m/z (%100) olarak görüldü ve sonucun beklenen değer ile (1092.13) uyum içinde olduğu belirlendi (Şekil 6.28).



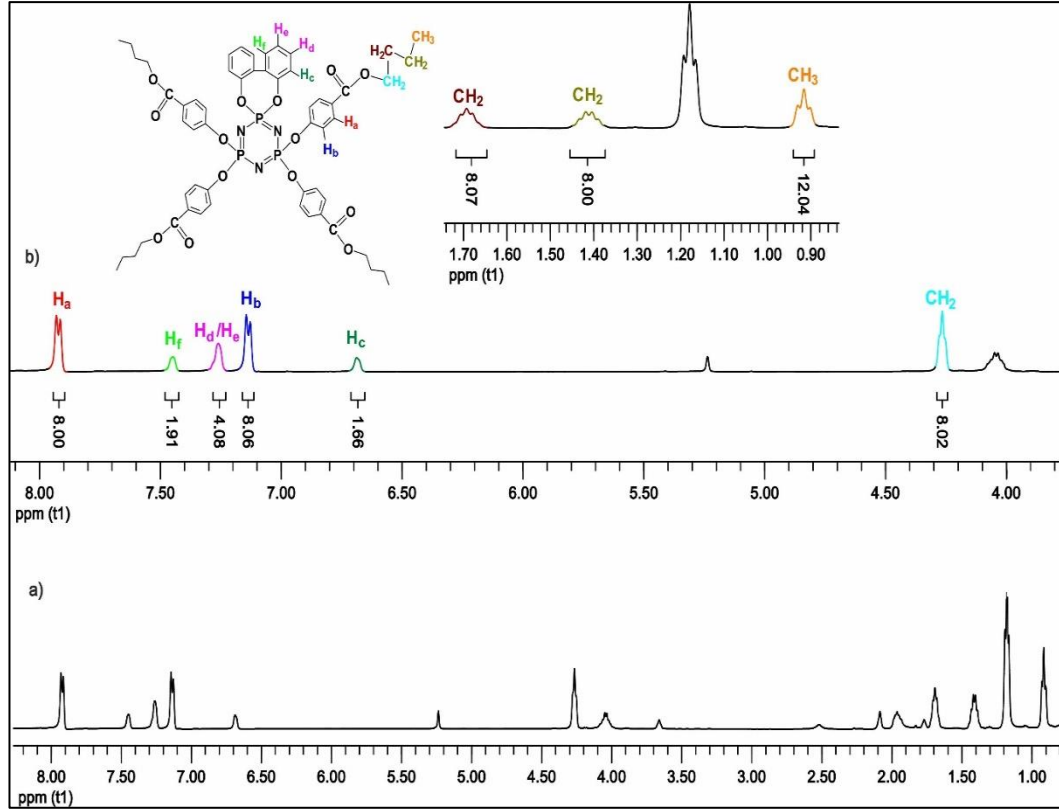
Şekil 6.28: Bileşik (VI)'nın MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.

Bileşik (VI)'nın yapısı Şekil 6.27'de görülmektedir. Bileşiğin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (CDCl_3 , 298 K) alındı. Bileşik (VI)'nın proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu AX_2 spin sistemindedir. $\delta=24.25$ ppm'de spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik görülmektedir. Bu pik [P(R₂)] grubundaki fosfor atomlarından dolayı üçe ($^2J_{\text{PNP}}=95.13$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=8.36$ ppm'de görülen pik ise [PR₂] grubundaki fosfor atomlarına aittir. Bu pik spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye yarılmaktadır ($^2J_{\text{PNP}}=95.13$ Hz). Bu spektruma ait integrasyon değerleri 1.00:2.15 olup 1:2 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.29).



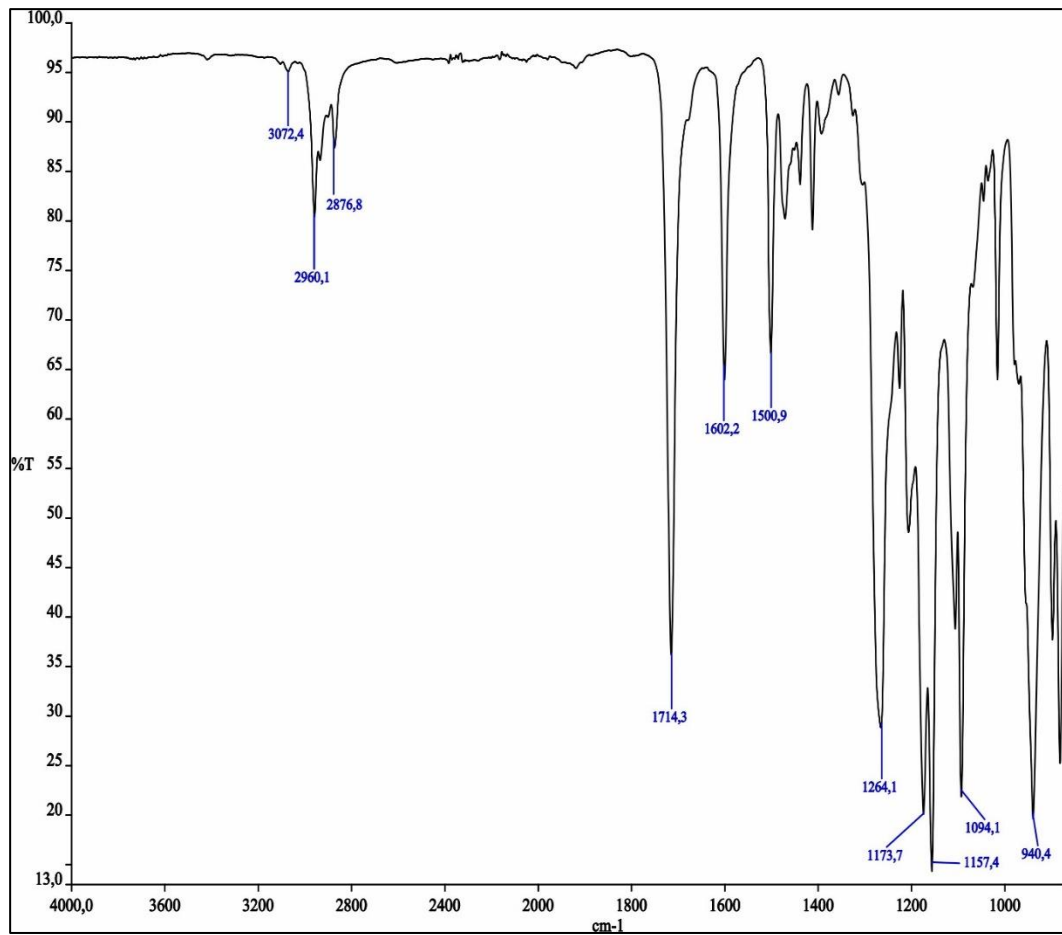
Şekil 6.29: Bileşik (VI)'ya ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik (VI)'nın ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 298 K) $\delta=6.68\text{-}7.92$ ppm arasındaki çoklu pikler H_a , H_b , H_c , H_d , H_e , H_f protonlarına aittir. $\delta=7.92$ ppm'de H_a komşu karbondan bulunan H_b protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hb-Ha}}=7.96$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.13$ ppm'deki H_b , H_a protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Ha-Hb}}=8.08$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=6.68$ ppm'deki H_c protonu H_d protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hc-Hd}}=6.73$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.45$ ppm'deki H_f protonu görülmektedir. Sübstitüe bütill grubunun oksijene komşu ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=4.26$ ppm'de ona komşu ($-\text{CH}_2$) protonları sebebiyle üçlü pik verir ($^3J_{\text{H-H}}=6.52$ Hz). Sırasıyla oksijene komşu ($-\text{CH}_2$)'ye komşu ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=1.68$ ppm'de ve ($-\text{CH}_3$)'e komşu ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=1.41$ ppm'de çoklu pikler vermektedir. ($-\text{CH}_3$) protonları ise komşu ($-\text{CH}_2$) protonları sebebiyle $\delta=0.95$ ppm'de üçlü pik vermektedir ($^3J_{\text{H-H}}=7.36$ Hz). H_d ve H_e protonlarının kimyasal kayma değerleri birbirlerine çok yakın olduğundan $\delta=7.26$ ppm'de üst üste pik vermiştir; bu yüzden H_d ve H_e protonlarının integral değerleri beraber alınarak hesaplanmıştır. İntegral değerleri H_a , H_b , H_c , $\text{H}_d\text{-H}_e$, H_f , ($-\text{CH}_2$), ($-\text{CH}_2$), ($-\text{CH}_2$), ($-\text{CH}_3$) sırasıyla 8.00:8.06:1.66:4.08:1.91:8.02:8.07:8.00:12.04 olup 8:8:2:4:2:8:8:8:12 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.30).

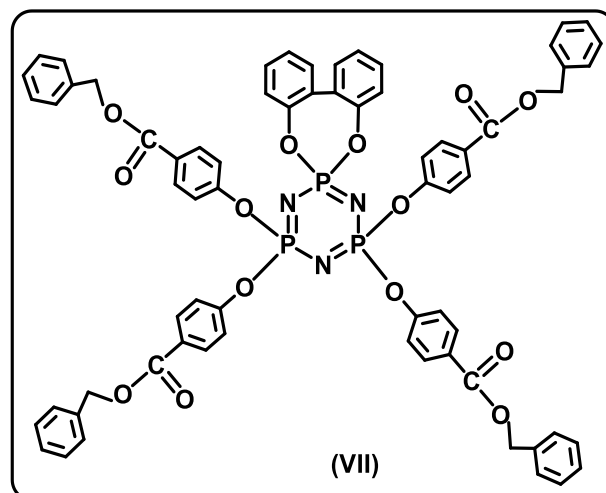


Şekil 6.30: a) Bileşik (VI)'ya ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

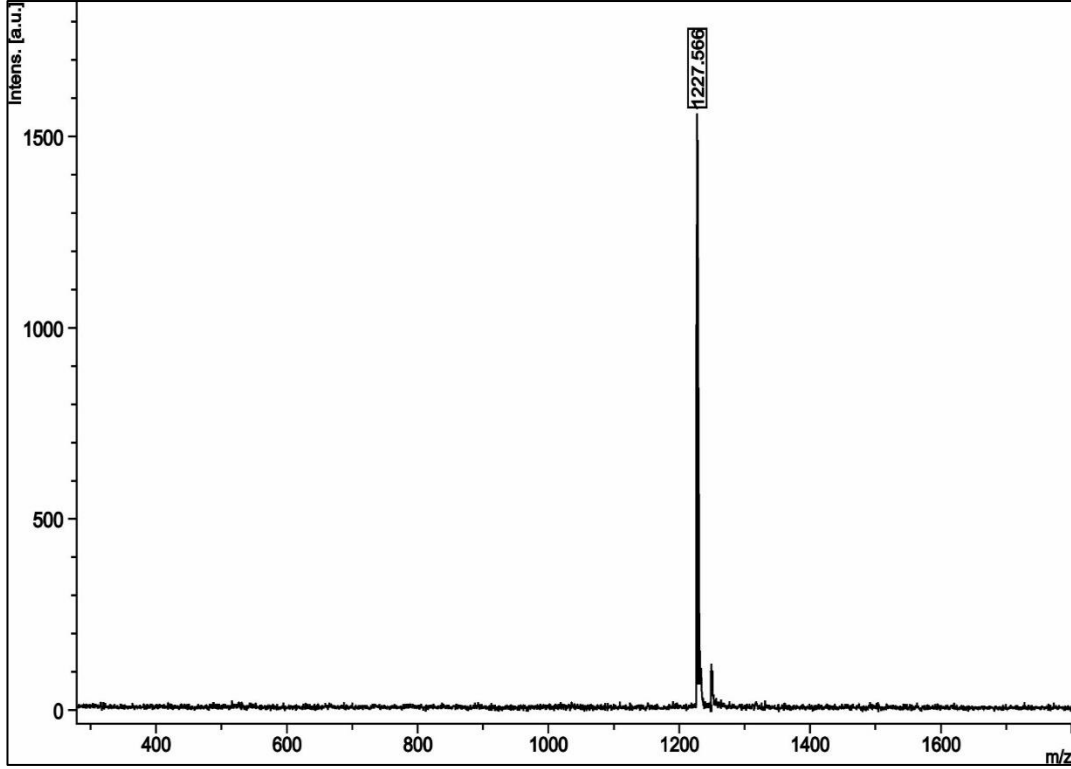
Bileşik (VI)'nın FT-IR spektrumunda (ν_{max}); $3072.4\text{--}2960.1\text{ cm}^{-1}$ 'de aromatik C-H bağının simetrik ve asimetrik gerilmeleri; 2876.8 cm^{-1} 'de alifatik C-H titreşimleri; 1714.3 cm^{-1} 'de sübstitüe bütıl paraben grubuna ait aromatik C=O gerilmeleri; 1602.2 cm^{-1} 'de sübstitüe bütıl paraben grubuna ait alifatik C=O gerilmeleri; 1500.9 cm^{-1} 'de aromatik C=C iskelet gerilmeleri; 1264.1 cm^{-1} 'de P-O gerilmesi [91]; 1157.4 cm^{-1} 'de P=N gerilmeleri görülmektedir (Şekil 6.31).



6.7. Bileşik VII'ye Ait Yapı Analizi

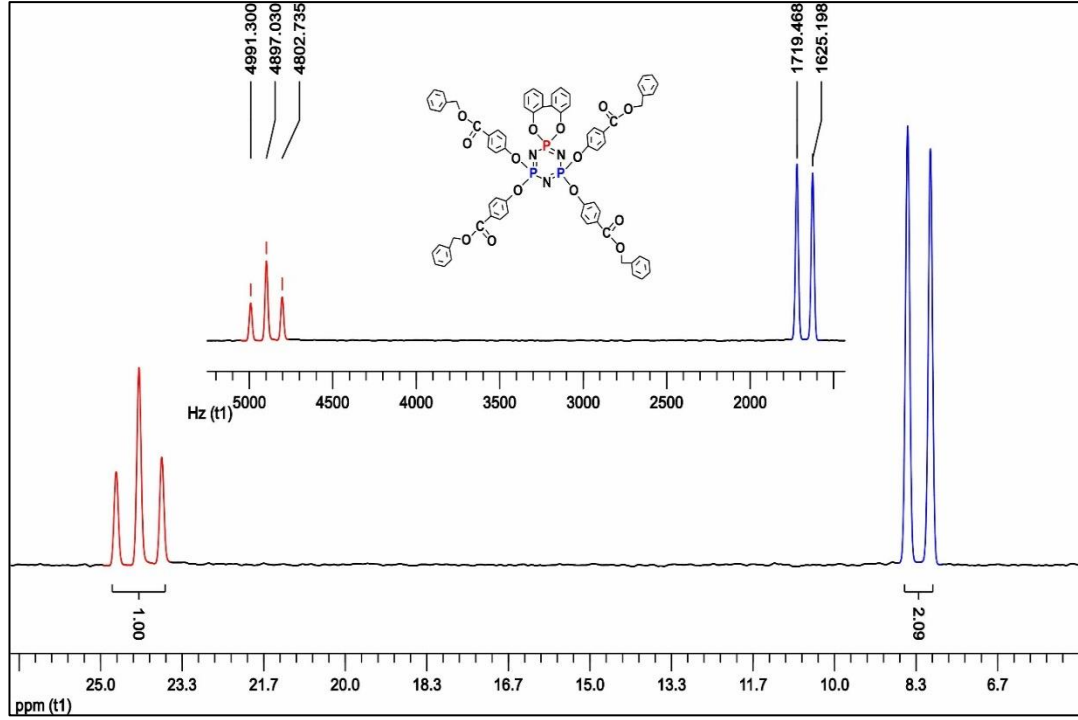


Bileşik (VII)'nin kütle spektrumu Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI-TOF) tekniği ile alındı ve moleküler iyon piki 1227.56 m/z (%100) olarak görüldü ve sonucun beklenen değer ile (1228.08) uyum içinde olduğu belirlendi (Şekil 6.33).



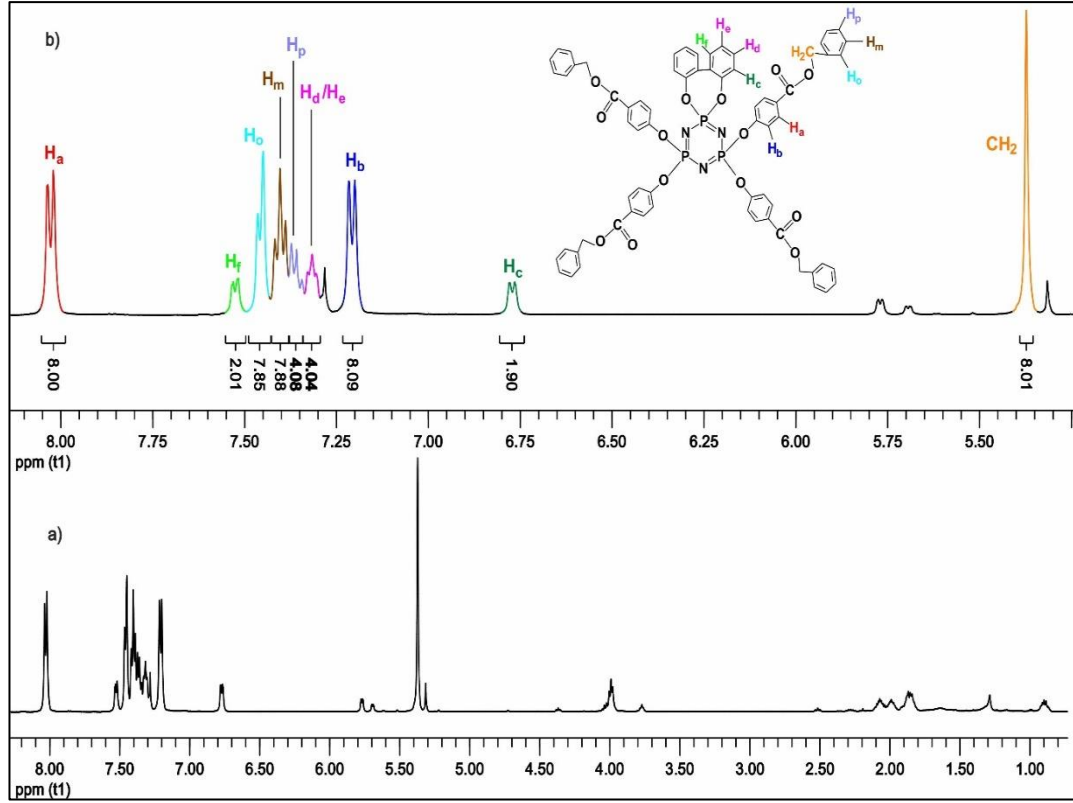
Şekil 6.33: Bileşik (VII)'nin MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.

Bileşik (VII)'nin yapısı Şekil 6.32'de görülmektedir. Bileşiğin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (CDCl_3 , 298 K) alınmıştır. Bileşik (VII)'nin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu AX_2 spin sistemindedir. $\delta=24.21$ ppm'de spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomuna ait üçlü pik görülmektedir. Bu pik [P(R₂)] grubundaki fosfor atomlarından dolayı üçe ($^2J_{\text{PNP}} = 93.25$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=8.26$ ppm'de görülen pik ise [PR₂] grubundaki fosfor atomlarına aittir. Bu pik spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye yarılmaktadır ($^2J_{\text{PNP}}=93.25$ Hz). Bu spektruma ait integrasyon değerleri 1.00:2.09 olup 1:2 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.34).



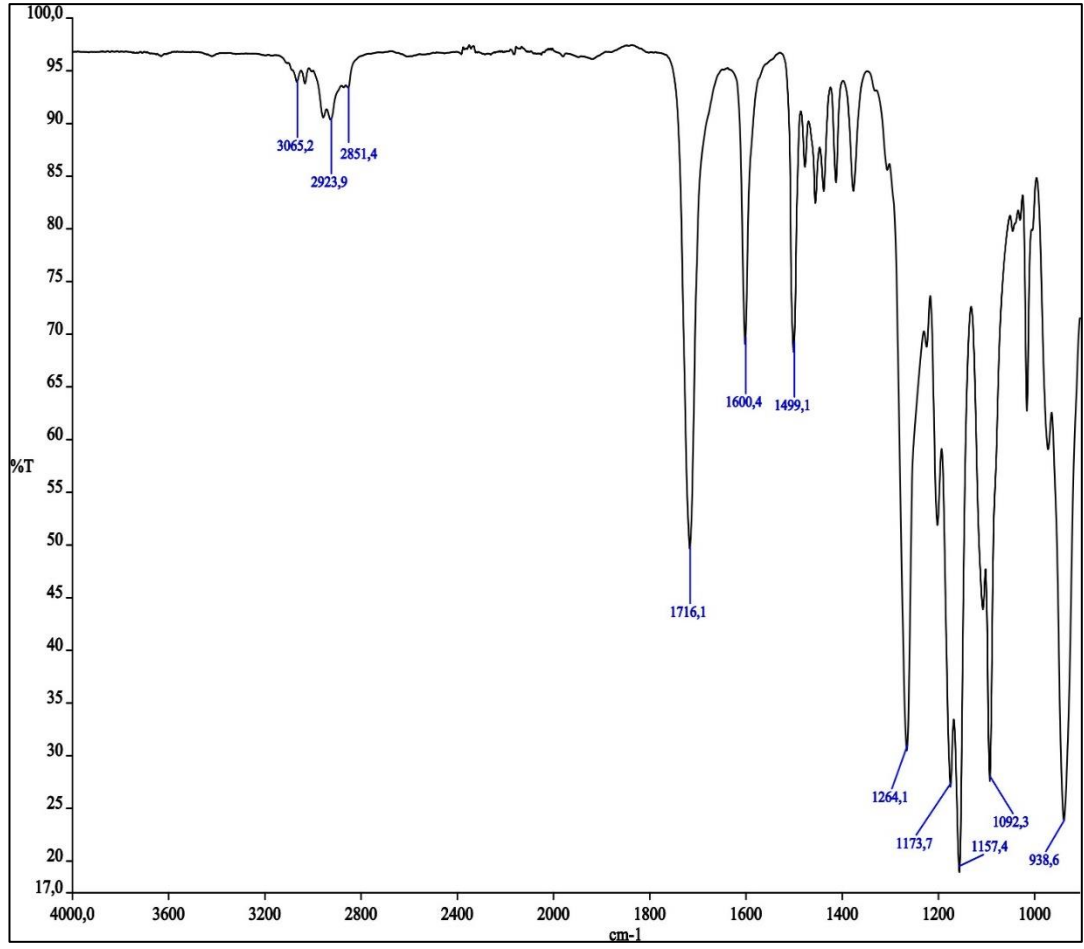
Şekil 6.34: Bileşik (VII)'ye ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik (VII)'nin ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 298 K) $\delta=6.77$ -8.02 ppm arasındaki çoklu pikler H_a , H_b , H_c , H_d , H_e , H_f , H_o , H_m , H_p protonlarına aittir. $\delta=8.02$ ppm'de H_a komşu karbonda bulunan H_b protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hb-Ha}}=8.47$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.20$ ppm'deki H_b , H_a protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Ha-Hb}}=8.11$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=6.77$ ppm'deki H_c protonu H_d protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hc-Hd}}=7.25$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.52$ ppm'deki H_f protonu H_e protonu sebebiyle ikiye ($^3J_{\text{Hf-He}}=6.85$ Hz) yarılmaktadır. Sübstitüe benzil grubunun oksijene komşu ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=5.37$ ppm'de tek pik verir. Sübstitüe benzil grubunun aromatik halkasındaki orto (H_o) protonları $\delta=7.45$ ppm'de, meta (H_m) protonları $\delta=7.40$ ppm'de çoklu pik vermektedir. H_p , H_d ve H_e protonlarının kimyasal kayma değerleri birbirlerine çok yakın olduğundan $\delta=7.31$ ppm'de üst üste pik vermiştir; bu yüzden H_d ve H_e protonlarının integral değerleri beraber alınarak hesaplanmıştır. İntegral değerleri H_a , H_b , H_c , H_p - H_d - H_e , H_f , H_o , H_m , , ($-\text{CH}_2$) protonları sırasıyla 8.00:8.09:1.90:12.01:2.01:7.85:7.88:4.08 olup 8:8:2:4:2:8:8:4:8 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.35).



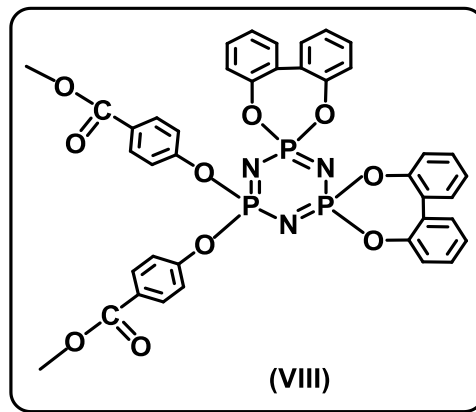
Şekil 6.35: a) Bileşik (VII)'ye ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

Bileşik (VII)'nin FT-IR spektrumunda ($\nu_{\text{max.}}$); 3065.2-2923.9 cm^{-1} 'de aromatik C-H bağının simetrik ve asimetrik gerilmeleri; 2851.4 cm^{-1} 'de alifatik C-H titreşimleri; 1716.1 cm^{-1} 'de sübstitüe benzil paraben grubuna ait aromatik C=O gerilmeleri; 1600.4 cm^{-1} 'de sübstitüe benzil paraben grubuna ait alifatik C=O gerilmeleri; 1499.1 cm^{-1} 'de aromatik C=C iskelet gerilmeleri; 1264.1 cm^{-1} 'de P-O gerilmesi [91]; 1157.4 cm^{-1} 'de P=N gerilmeleri görülmektedir (Şekil 6.36).



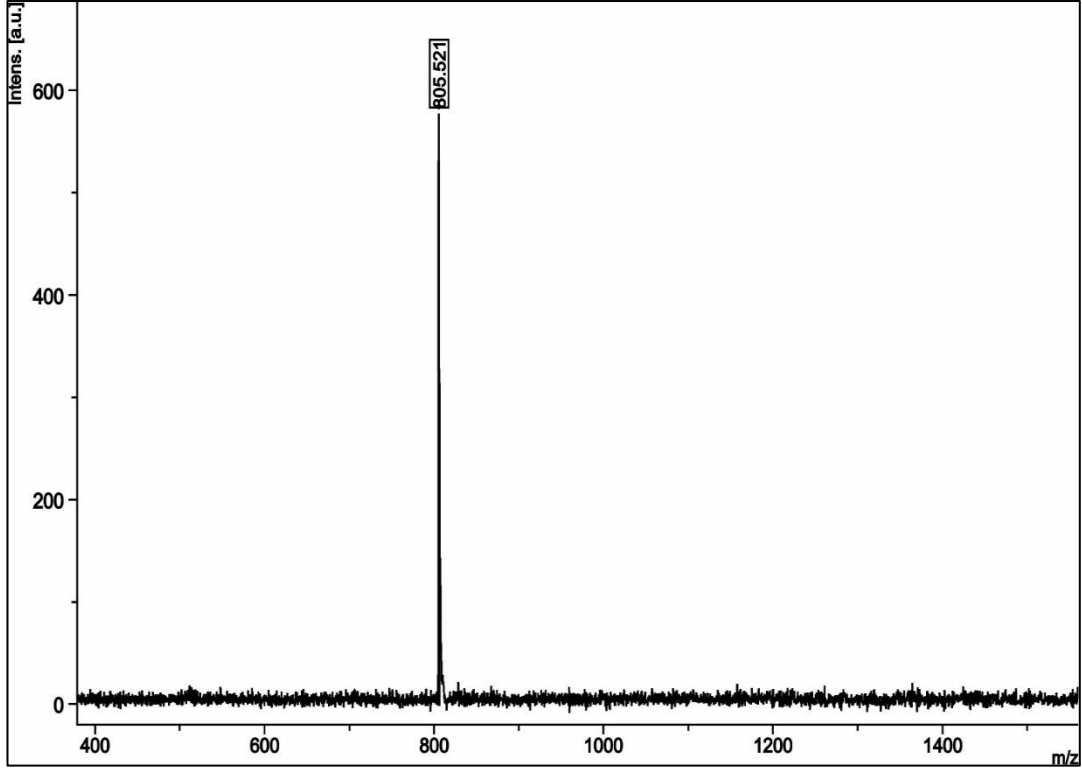
Şekil 6.36: Bileşik (VII)'ye ait FT-IR spektrumu.

6.8. Bileşik VIII'e Ait Yapı Analizi



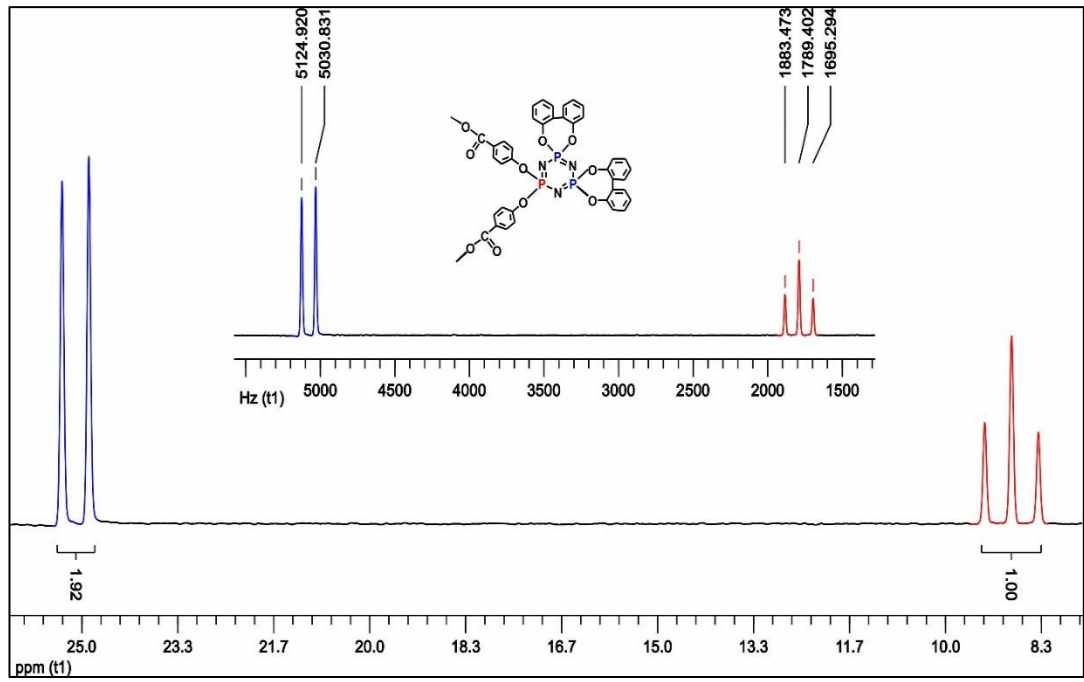
Şekil 6.37: Bileşik (VIII)'in Yapısı.

Bileşik (VIII)'in kütle spektrumu Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI-TOF) tekniği ile alındı ve moleküler iyon piki 805.52 m/z (%100) olarak görüldü ve sonucun beklenen değer ile (805.61) uyum içinde olduğu belirlendi (Şekil 6.38).



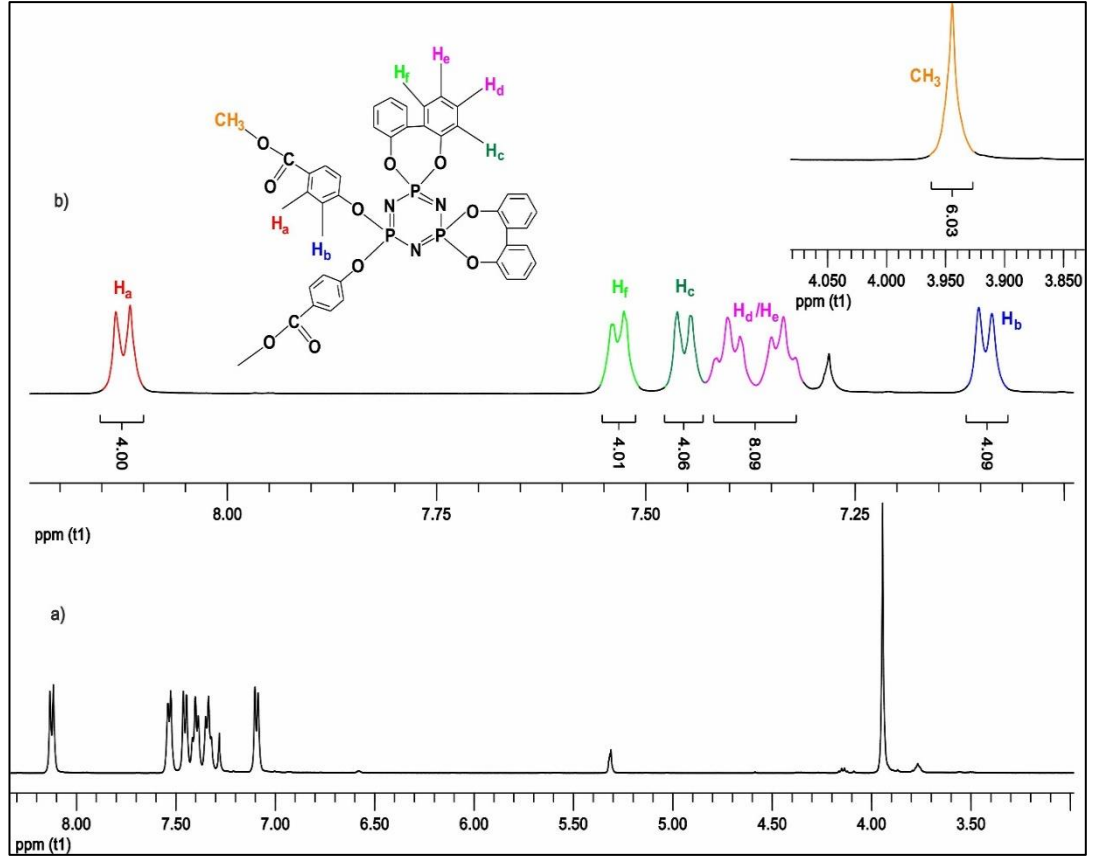
Şekil 6.38: Bileşik (VIII)'in MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.

Bileşik (VIII)'in yapısı Şekil 6.37'de görülmektedir. Bileşiğin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (CDCl_3 , 298 K) alındı. Bileşik (VIII)'in proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu A_2X spin sistemindedir. $\delta=25.10$ ppm'de spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomlarına ait ikili pik görülmektedir. Bu pik [P(R₂)] grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye ($^2J_{\text{PNP}}=94.09$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=8.84$ ppm'de görülen pik ise [PR₂] grubundaki fosfor atomuna aittir. Bu pik spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomlarından dolayı üçe yarılmaktadır ($^2J_{\text{PNP}}=94.09$ Hz). Bu spektruma ait integrasyon değerleri 1.92:1.00 olup 2:1 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.39).



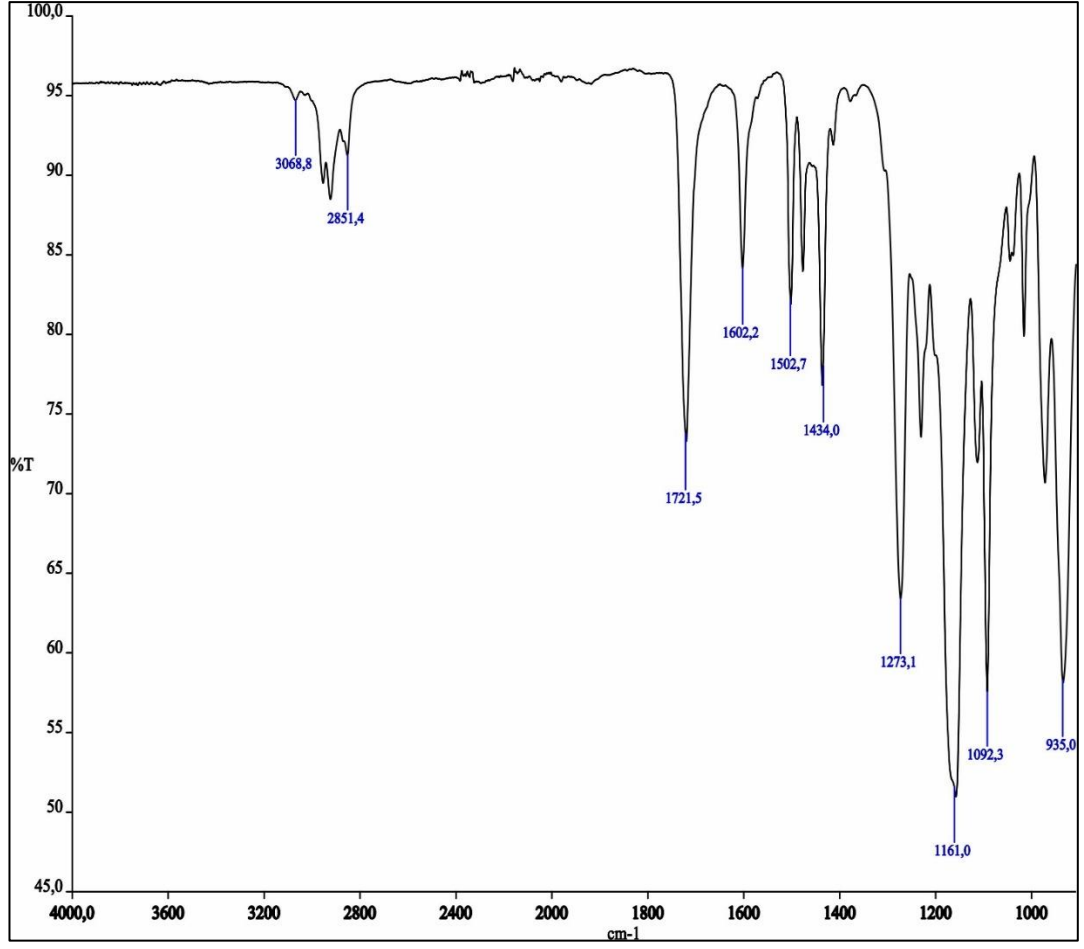
Şekil 6.39: Bileşik (VIII)'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik (VIII)'e ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 298 K) $\delta=7.09$ - 8.12 ppm arasındaki çoklu pikler H_a , H_b , H_c , H_d , H_e , H_f protonlarına aittir. $\delta=8.12$ ppm'de H_a komşu karbonda bulunan H_b protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hb-Ha}}=8.52$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.09$ ppm'deki H_b , H_a protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Ha-Hb}}=7.81$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.53$ ppm'deki H_f protonu H_e protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hf-He}}=7.39$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.46$ ppm'deki H_c protonu H_d protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hc-Hd}}=8.34$ Hz) yarılmaktadır. Sübstitüe grupların metil ($-\text{CH}_3$) protonları ise $\delta=3.94$ ppm'de tekli pik vermiştir. H_d ve H_e protonlarının kimyasal kayma değerleri birbirlerine çok yakın olduğundan $\delta=7.36$ ppm'de üst üste çoklu pik vermiştir; bu yüzden H_d ve H_e protonlarının integral değerleri beraber alınarak hesaplanmıştır. İntegral değerleri H_a , H_b , H_c , H_d - H_e , H_f , ($-\text{CH}_3$) sırasıyla 4.00:4.09:4.01:8.09:4.06:6.03 olup 4:4:4:8:4:6 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.40).



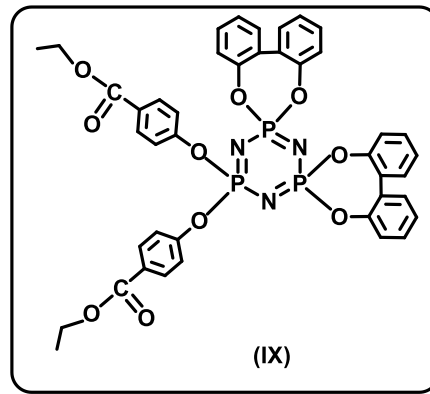
Şekil 6.40: a) Bileşik (VIII)'e ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

Bileşik (VIII)'in FT-IR spektrumunda (ν_{max}); 3068.8 cm^{-1} 'de aromatik C-H bağının gerilmeleri; 2851.4 cm^{-1} 'de alifatik C-H titreşimleri; 1721.5 cm^{-1} 'de sübstitüe metil paraben grubuna ait aromatik C=O gerilmeleri; 1602.2 cm^{-1} 'de sübstitüe metil paraben grubuna ait alifatik C=O gerilmeleri; 1502.7 cm^{-1} 'de aromatik C=C iskelet gerilmeleri; 1273.1 cm^{-1} 'de P-O gerilmesi [91]; 1161.0 cm^{-1} 'de P=N gerilmeleri görülmektedir (Şekil 6.41).



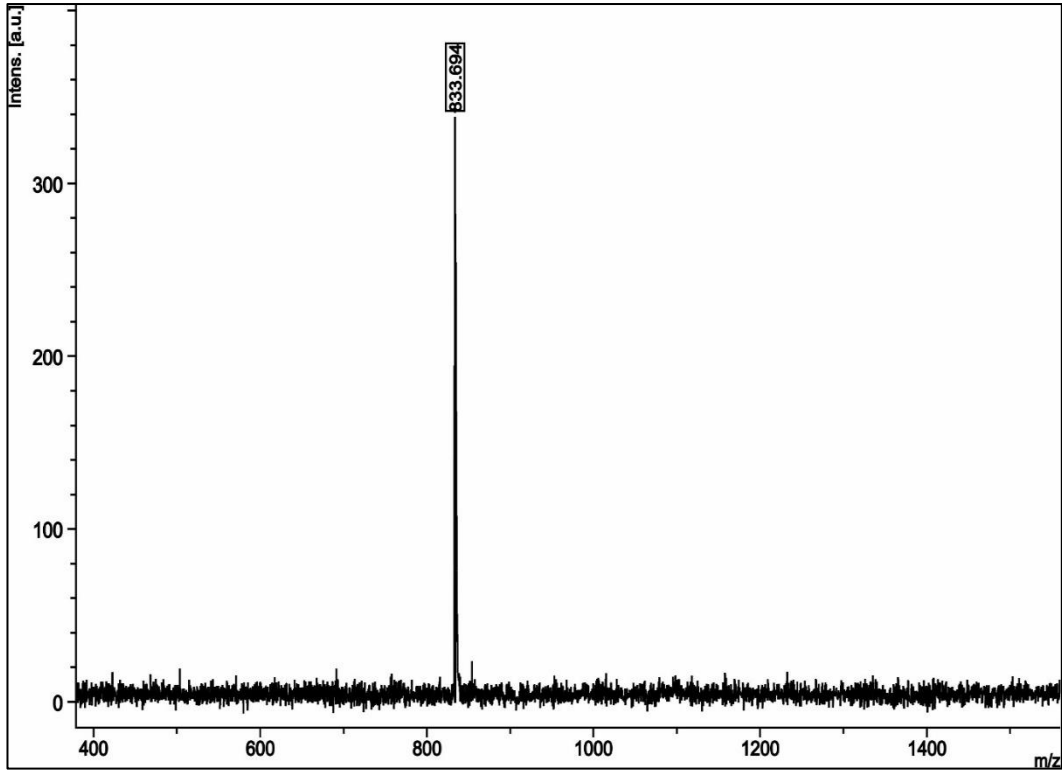
Şekil 6.41: Bileşik (VIII)'e ait FT-IR spektrumu.

6.9. Bileşik IX'a Ait Yapı Analizi



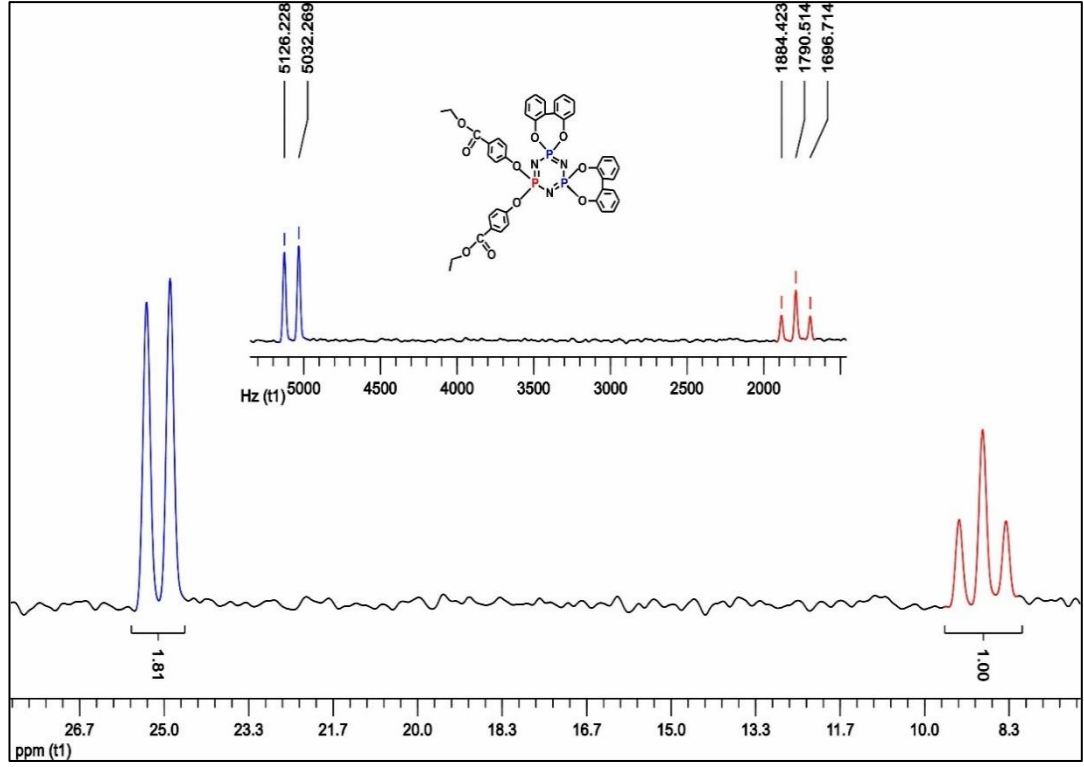
Şekil 6.42: Bileşik (IX)'un Yapısı.

Bileşik (IX)'un kütle spektrumu Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI-TOF) tekniği ile alındı ve moleküler iyon piki 833.69 m/z (%100) olarak görüldü ve sonucun beklenen değer ile (833.43) uyum içinde olduğu belirlendi (Şekil 6.43).



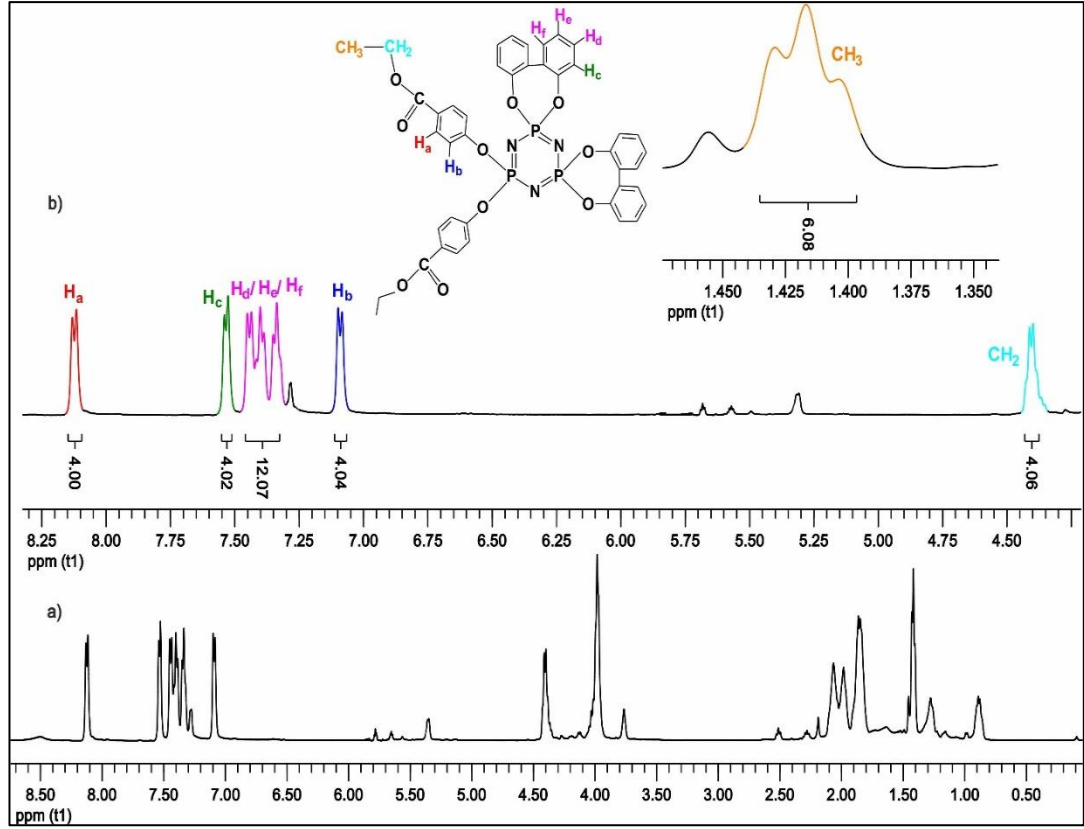
Şekil 6.43: Bileşik (IX)'un MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.

Bileşik (IX)'un yapısı Şekil 6.42'de görülmektedir. Bileşiğin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (CDCl_3 , 298 K) alındı. Bileşik (IX)'un proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu A_2X spin sistemindedir. $\delta=25.10$ ppm'de spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomlarına ait ikili pik görülmektedir. Bu pik [P(R₂)] grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye ($^2J_{\text{PNP}}=94.06$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=8.84$ ppm'de görülen pik ise [PR₂] grubundaki fosfor atomuna aittir. Bu pik spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomlarından dolayı üçe yarılmaktadır ($^2J_{\text{PNP}}=94.06$ Hz). Bu spektruma ait integrasyon değerleri 1.81:1.00 olup 2:1 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.44).



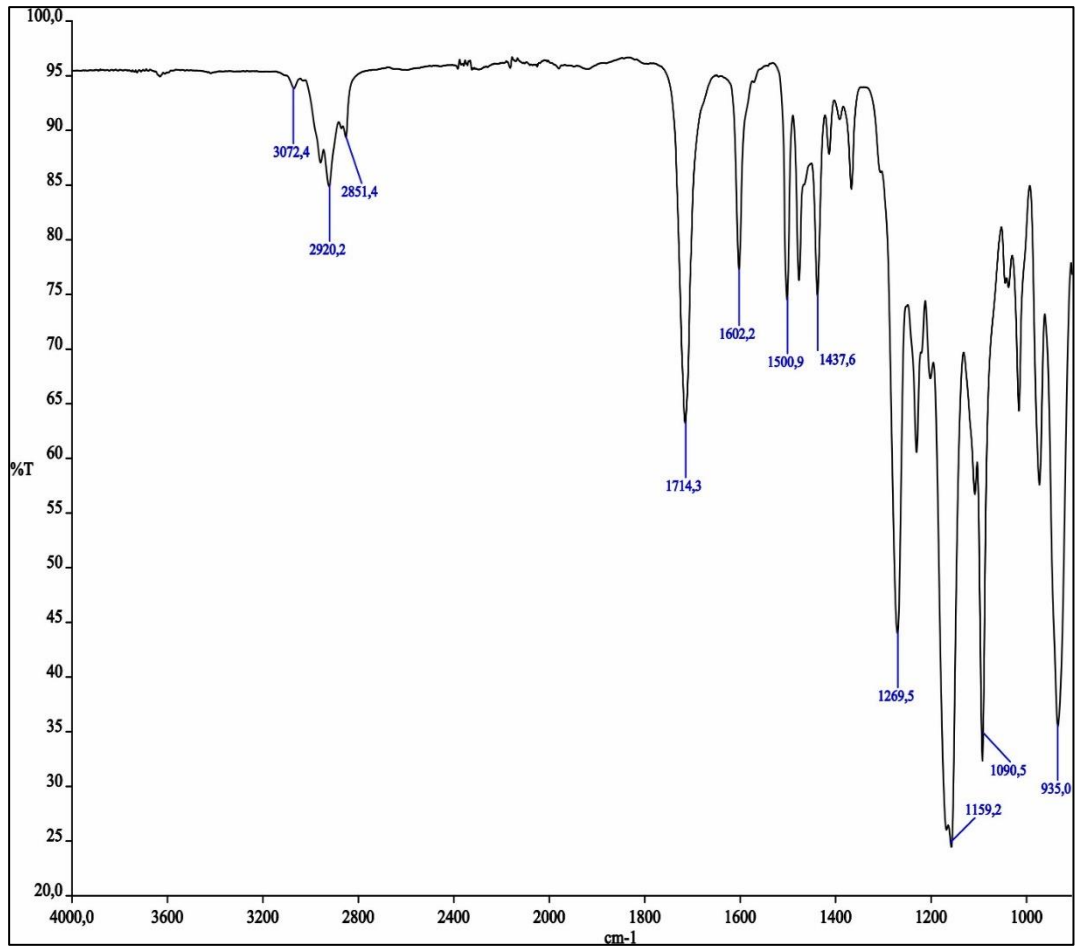
Şekil 6.44: Bileşik (IX)'a ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik (IX)'un ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 298 K) $\delta=7.08$ - 8.12 ppm arasındaki çoklu pikler H_a , H_b , H_c , H_d , H_e , H_f protonlarına aittir. $\delta=8.12$ ppm'de H_a komşu karbonda bulunan H_b protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hb-Ha}}=7.76$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.08$ ppm'deki H_b , H_a protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Ha-Hb}}=7.42$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.53$ ppm'deki H_c protonu H_d protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hc-Hd}}=6.99$ Hz) yarılmaktadır. Sübstitüe etil grubunun ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=4.39$ ppm'de çoklu pik verirken ($-\text{CH}_3$) protonları $\delta=1.41$ ppm'de ($-\text{CH}_2$) protonlarından dolayı üçlü pik vermiştir ($^3J_{\text{H-H}}=6.48$ Hz). H_d , H_e , H_f protonlarının kimyasal kayma değerleri birbirlerine çok yakın olduğundan $\delta=7.39$ ppm'de üst üste çoklu pik vermiştir; bu yüzden H_d , H_e , H_f protonlarının integral değerleri beraber alınarak hesaplanmıştır. İntegral değerleri H_a , H_b , H_c , H_d - H_e - H_f , ($-\text{CH}_2$), ($-\text{CH}_3$) sırasıyla 4.00:4.04:4.02:12.07:4.06:6.08 olup 4:4:4:12:4:6 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.45).



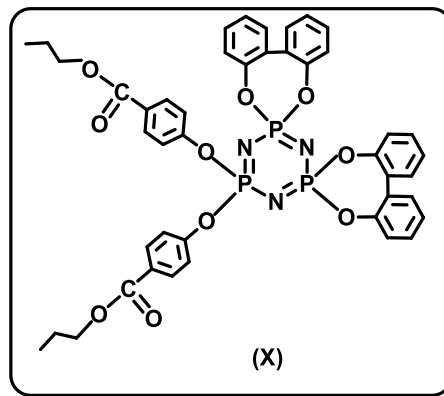
Şekil 6.45: a) Bileşik (IX)'a ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

Bileşik (IX)'un FT-IR spektrumunda (ν_{max} .); 3072.4-2920.2 cm^{-1} 'de aromatik C-H bağının simetrik ve asimetrik gerilmeleri; 2851.4 cm^{-1} 'de alifatik C-H titreşimleri; 1714.3 cm^{-1} 'de süstitüe etil paraben grubuna ait aromatik C=O gerilmeleri; 1602.2 cm^{-1} 'de süstitüe etil paraben grubuna ait alifatik C=O gerilmeleri; 1500.9 cm^{-1} 'de aromatik C=C iskelet gerilmeleri; 1269.5 cm^{-1} 'de P-O gerilmesi [91]; 1159.2 cm^{-1} 'de P=N gerilmeleri görülmektedir (Şekil 6.46).



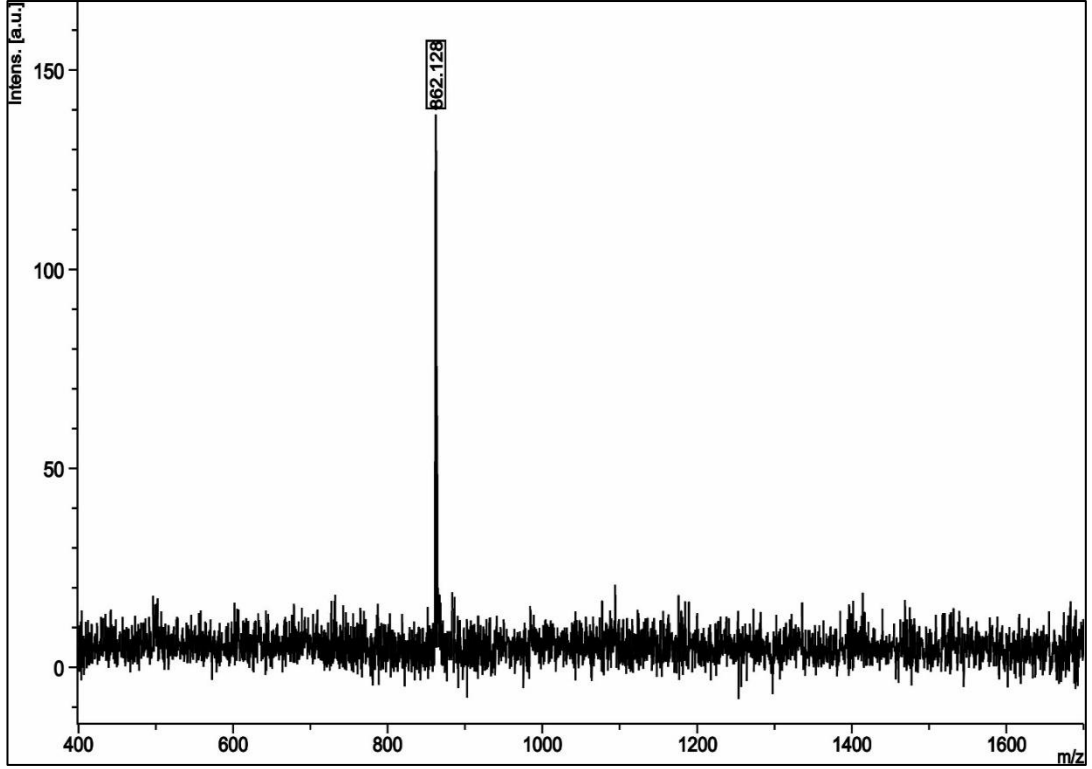
Şekil 6.46: Bileşik (IX)'a ait FT-IR spektrumu.

6.10. Bileşik X'a Ait Yapı Analizi



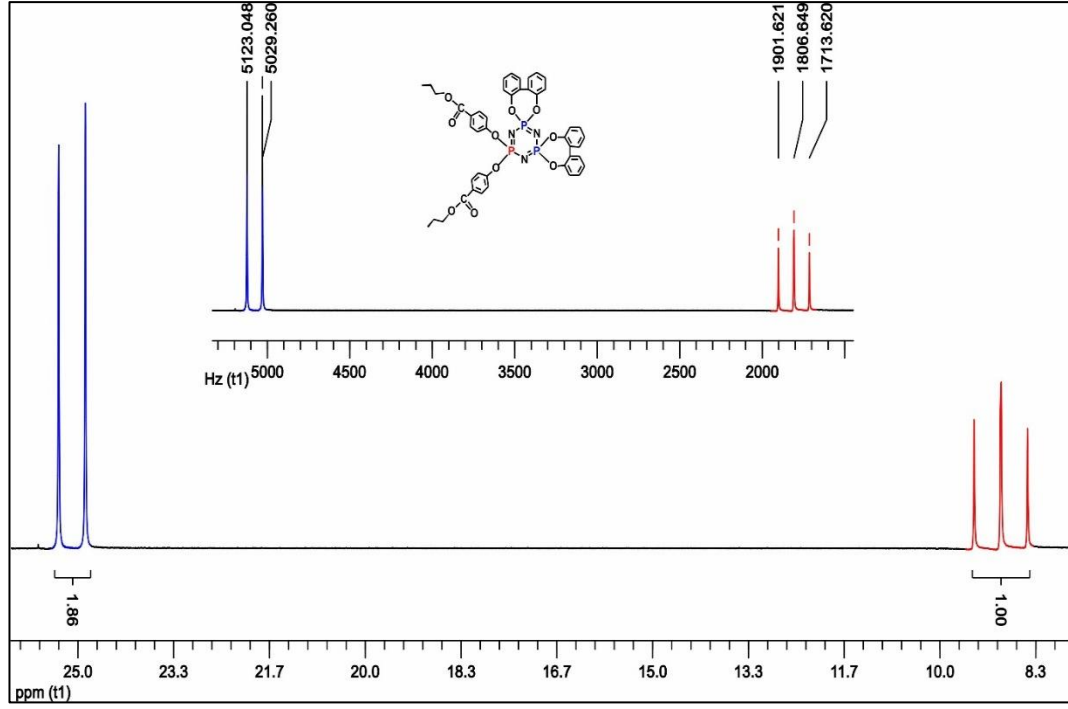
Şekil 6.47: Bileşik (X)'un Yapısı.

Bileşik (X)'un kütle spektrumu Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI-TOF) tekniği ile alındı ve moleküler iyon piki 862.12 m/z (%100) olarak görüldü ve sonucun beklenen değer ile (861.74) uyum içinde olduğu belirlendi (Şekil 6.48).



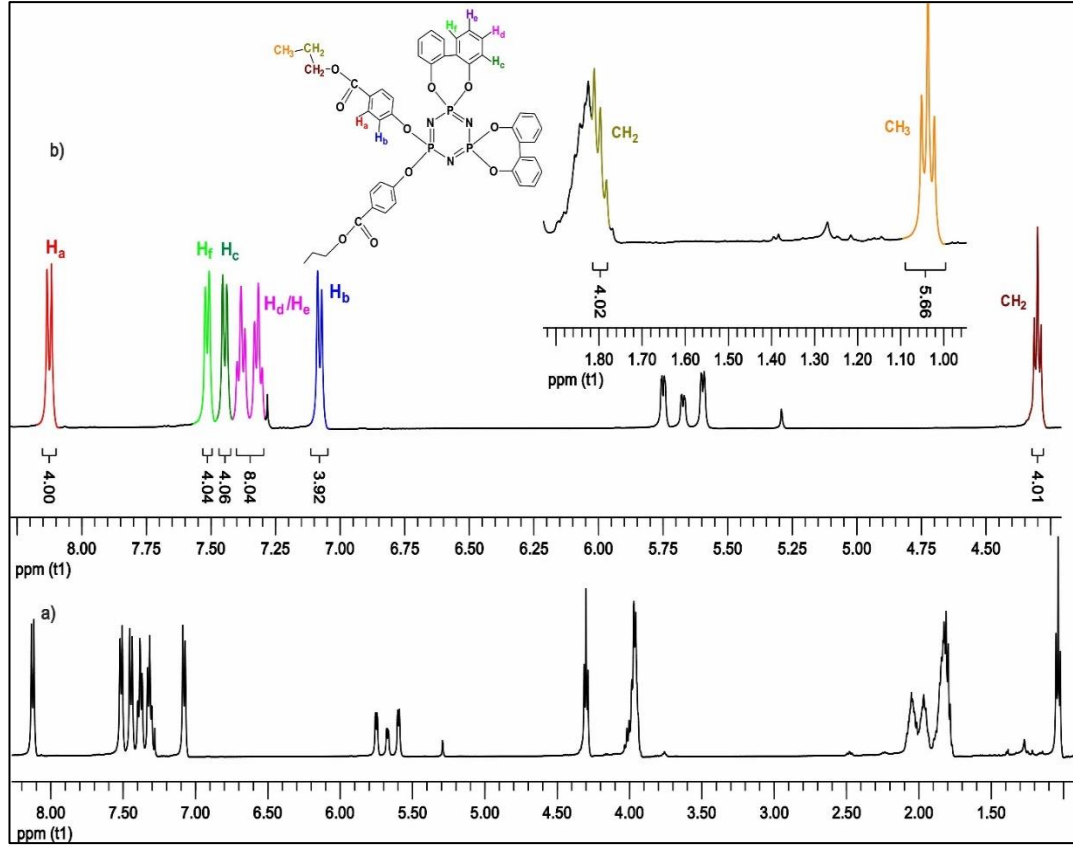
Şekil 6.48: Bileşik (X)'un MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.

Bileşik (X)'un yapısı Şekil 6.47'de görülmektedir. Bileşiğin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (CDCl_3 , 298 K) alındı. Bileşik (X)'un proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu A_2X spin sistemindedir. $\delta=25.10$ ppm'de spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomlarına ait ikili pik görülmektedir. Bu pik [P(R₂)] grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye ($^2J_{\text{PNP}}=93.72$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=8.93$ ppm'de görülen pik ise [PR₂] grubundaki fosfor atomuna aittir. Bu pik spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomlarından dolayı üçe yarılmaktadır ($^2J_{\text{PNP}}=93.72$ Hz). Bu spektruma ait integrasyon değerleri 1.86:1.00 olup 2:1 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.49).



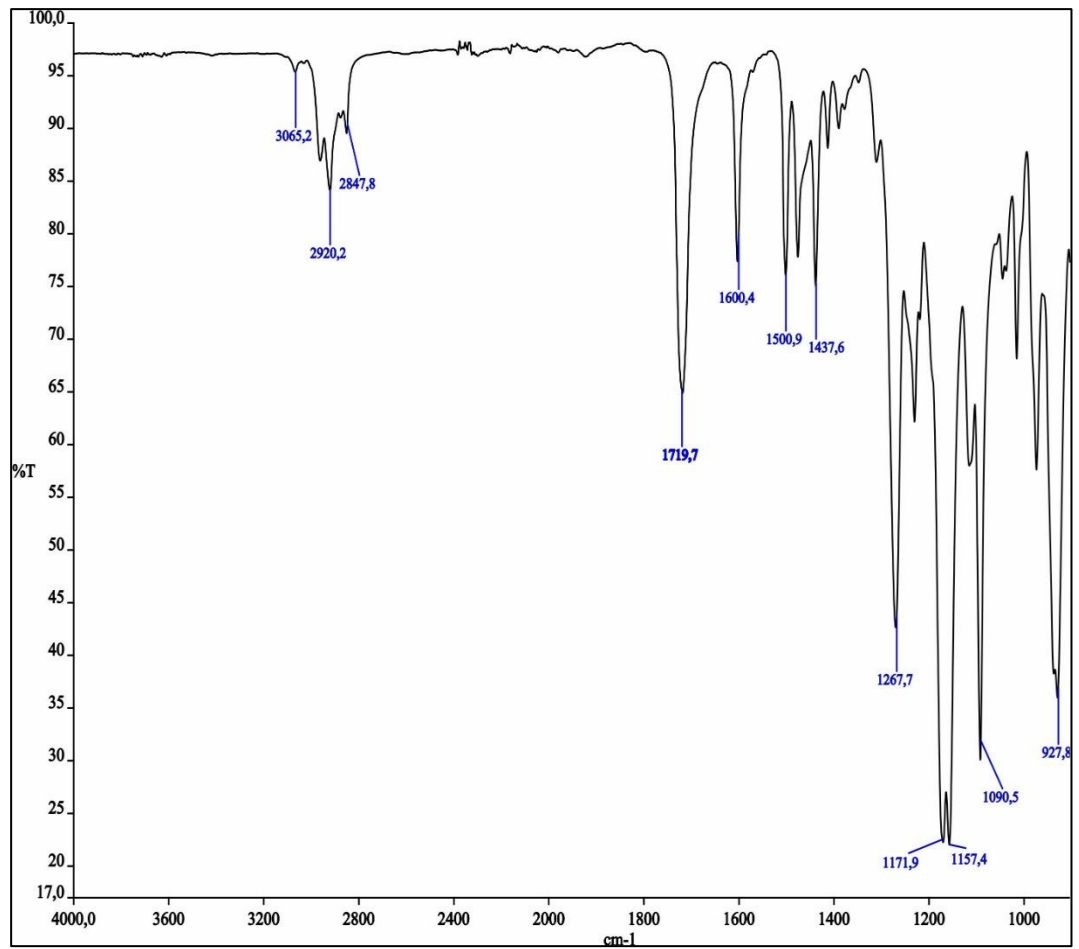
Şekil 6.49: Bileşik (X)'a ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik (X)'un ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 298 K) $\delta=7.07$ - 8.12 ppm arasındaki çoklu pikler H_a , H_b , H_c , H_d , H_e , H_f protonlarına aittir. $\delta=8.12$ ppm'de H_a komşu karbonda bulunan H_b protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hb-Ha}}=8.52$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.07$ ppm'deki H_b , H_a protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Ha-Hb}}=7.89$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.51$ ppm'deki H_f protonu H_e protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hf-He}}=7.49$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.44$ ppm'deki H_c protonu H_d protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hc-Hd}}=7.66$ Hz) yarılmaktadır. Sübstitüe propil grubunun oksijene komşu ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=4.29$ ppm'de ona komşu ($-\text{CH}_2$) protonları sebebiyle üçlü pik verir ($^3J_{\text{H-H}}=6.63$ Hz). ($-\text{CH}_3$)'e komşu ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=1.79$ ppm'de ($-\text{CH}_2$) ve ($-\text{CH}_3$) protonlarından dolayı çoklu pik vermiştir. $\delta=1.03$ ppm'deki ($-\text{CH}_3$) protonları komşu ($-\text{CH}_2$) protonları sebebiyle üçlü pik vermiştir ($^3J_{\text{H-H}}=7.41$ Hz). H_d ve H_e protonlarının kimyasal kayma değerleri birbirlerine çok yakın olduğundan $\delta=7.35$ ppm'de üst üste pik vermiştir; bu yüzden H_d ve H_e protonlarının integral değerleri beraber alınarak hesaplanmıştır. Integral değerleri H_a , H_b , H_c , H_d - H_e , H_f , ($-\text{CH}_2$), ($-\text{CH}_2$), ($-\text{CH}_3$) sırasıyla 4.00:3.92:4.04:8.04:4.06:4.01:4.02:5.66 olup 4:4:4:8:4:4:4:6 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.50).



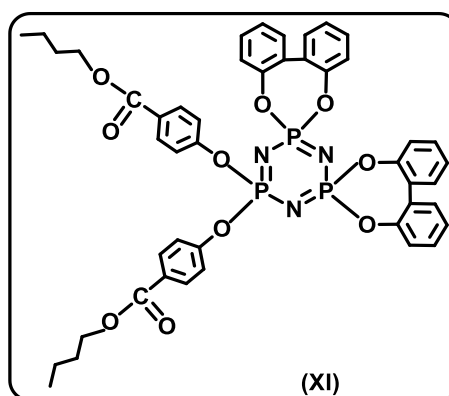
Şekil 6.50: a) Bileşik (X)'a ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

Bileşik (X)'un FT-IR spektrumunda (ν_{max}); $3065.2\text{--}2920.2\text{ cm}^{-1}$ 'de aromatik C-H bağının simetrik ve asimetrik gerilmeleri; 2847.8 cm^{-1} 'de alifatik C-H titreşimleri; 1719.7 cm^{-1} 'de sübstitüe propil paraben grubuna ait aromatik C=O gerilmeleri; 1600.4 cm^{-1} 'de sübstitüe propil paraben grubuna ait alifatik C=O gerilmeleri; 1500.9 cm^{-1} 'de aromatik C=C iskelet gerilmeleri; 1267.7 cm^{-1} 'de P-O gerilmesi [91]; 1157.4 cm^{-1} 'de P=N gerilmeleri görülmektedir (Şekil 6.51).



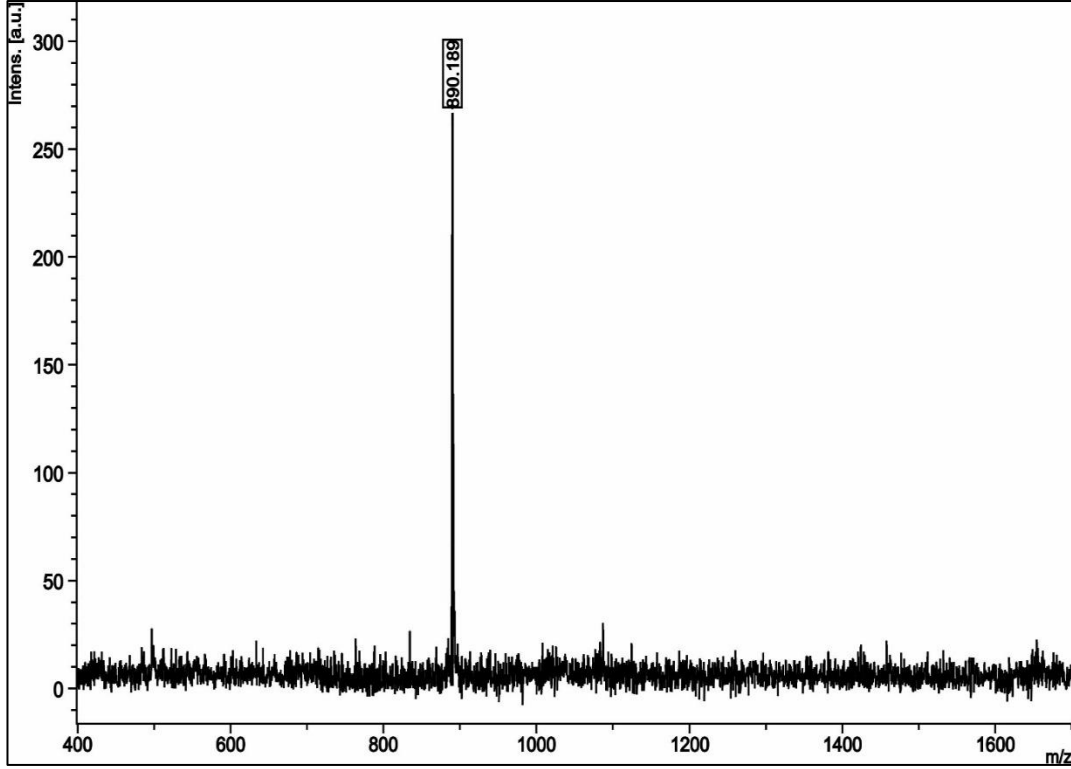
Şekil 6.51: Bileşik (X)'a ait FT-IR spektrumu.

6.11. Bileşik XI'e Ait Yapı Analizi



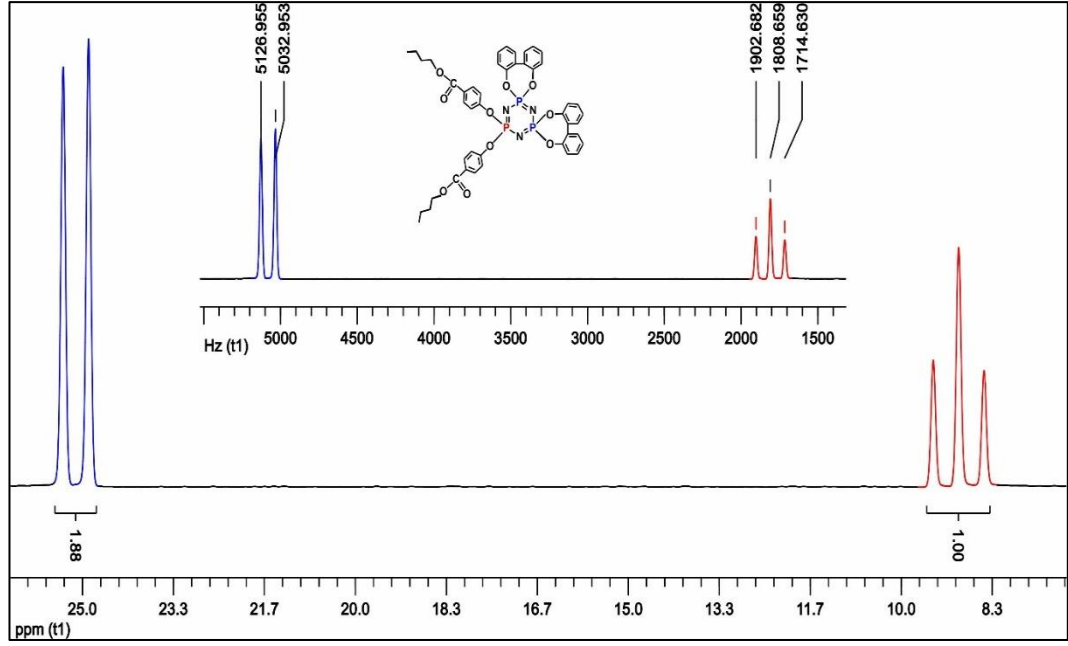
Şekil 6.52: Bileşik (XI)'in Yapısı.

Bileşik (XI)'in kütle spektrumu Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI-TOF) tekniği ile alındı ve moleküler iyon piki 890.18 m/z (%100) olarak görüldü ve sonucun beklenen değer ile (889.75) uyum içinde olduğu belirlendi (Şekil 6.53).



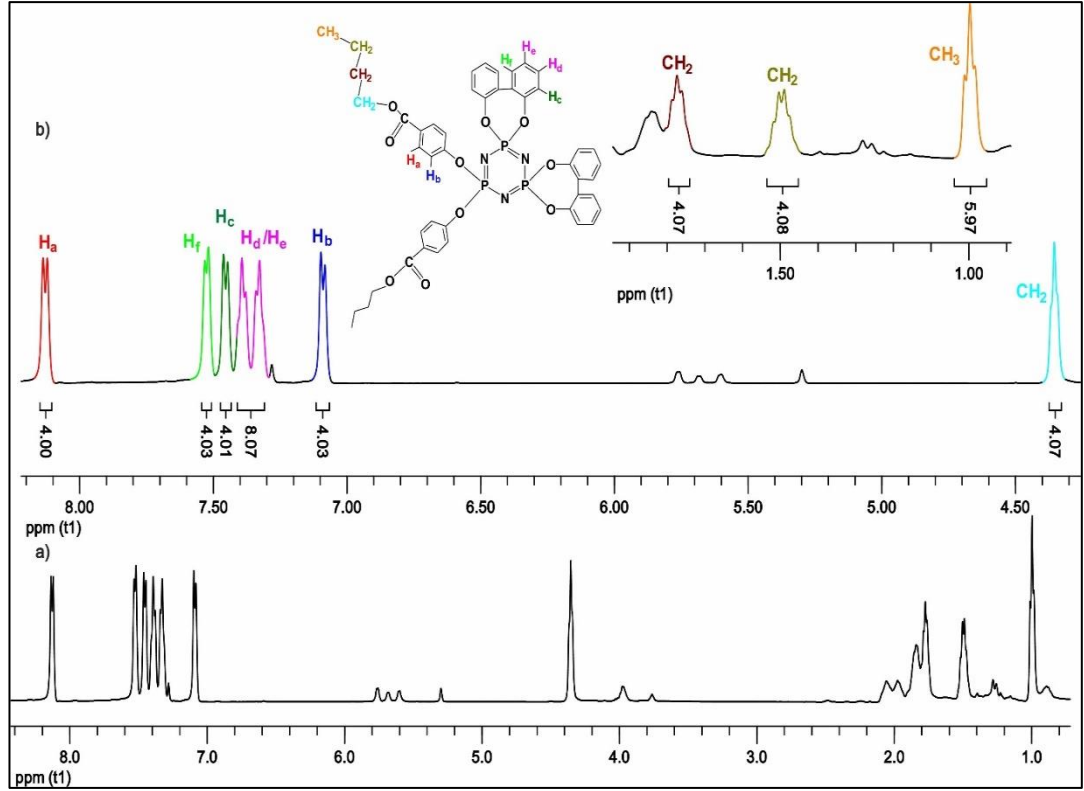
Şekil 6.53: Bileşik (XI)'in MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.

Bileşik (XI)'in yapısı Şekil 6.52'de görülmektedir. Bileşiğin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (CDCl_3 , 298 K) alındı. Bileşik (XI)'in proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu A_2X spin sistemindedir. $\delta=25.11$ ppm'de spiro[$\text{P}(\text{O}_2)$] grubundaki fosfor atomlarına ait ikili pik görülmektedir. Bu pik [$\text{P}(\text{R}_2)$] grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye ($^2J_{\text{PNP}}=94.01$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=8.93$ ppm'de görülen pik ise [PR_2] grubundaki fosfor atomuna aittir. Bu pik spiro[PO_2] grubundaki fosfor atomlarından dolayı üçe yarılmaktadır ($^2J_{\text{PNP}}=94.01$ Hz). Bu spektruma ait integrasyon değerleri 1.88:1.00 olup 2:1 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.54).



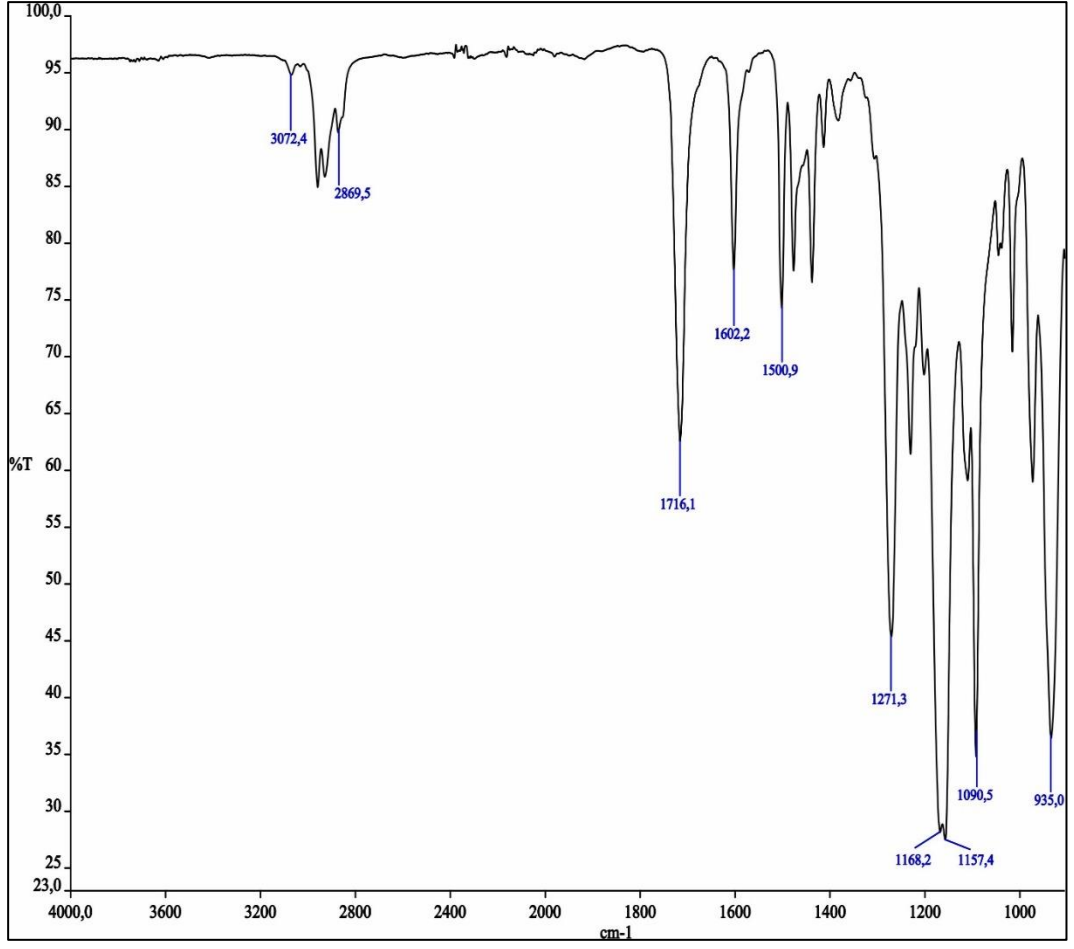
Şekil 6.54: Bileşik (XI)'e ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik (XI)'in ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 298 K) $\delta=7.08\text{-}8.12$ ppm arasındaki çoklu pikler H_a , H_b , H_c , H_d , H_e , H_f protonlarına aittir. $\delta=8.12$ ppm'de H_a komşu karbonda bulunan H_b protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hb-Ha}}=8.30$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.08$ ppm'deki H_b , H_a protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Ha-Hb}}=7.85$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.52$ ppm'deki H_f protonu H_e protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{Hf-He}}=7.54$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.45$ ppm'deki H_c protonu H_d protonundan dolayı ikiye yarılmaktadır ($^3J_{\text{Hc-Hd}}=8.56$ Hz). Sübstitüe bütıl grubunun oksijene komşu ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=4.35$ ppm'de ona komşu ($-\text{CH}_2$) protonları sebebiyle üçlü pik verir ($^3J_{\text{H-H}}=6.57$ Hz). Sırasıyla oksijene komşu ($-\text{CH}_2$)'ye komşu ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=1.76$ ppm'de ve ($-\text{CH}_3$)'e komşu ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=1.50$ ppm'de çoklu pikler vermektedir. ($-\text{CH}_3$) protonları ise komşu ($-\text{CH}_2$) protonları sebebiyle $\delta=0.99$ ppm'de üçlü pik vermektedir ($^3J_{\text{HH}}=7.37$ Hz). H_d ve H_e protonlarının kimyasal kayma değerleri birbirlerine çok yakın olduğundan $\delta=7.35$ ppm'de üst üste pik vermiştir; bu yüzden H_d ve H_e protonlarının integral değerleri beraber alınarak hesaplanmıştır. İntegral değerleri H_a , H_b , H_c , $\text{H}_d\text{-H}_e$, H_f , ($-\text{CH}_2$), ($-\text{CH}_2$), ($-\text{CH}_2$), ($-\text{CH}_3$) sırasıyla 4.00:4.03:8.07:4.07:4.01:4.07:4.07:4.08:5.97 olup 4:4:4:8:4:4:4:4:6 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.55).



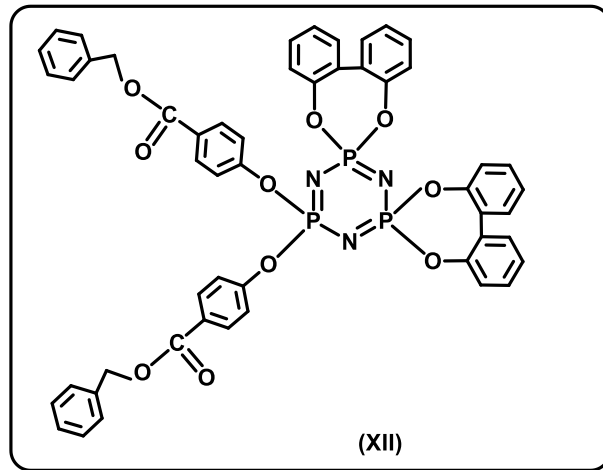
Şekil 6.55: a) Bileşik (XI)'e ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

Bileşik (XI)'in FT-IR spektrumunda (ν_{max}); 3072.4 cm^{-1} 'de aromatik C-H bağının gerilmeleri; 2869.5 cm^{-1} 'de alifatik C-H titreşimleri; 1716.1 cm^{-1} 'de sübstitüe bütıl paraben grubuna ait aromatik C=O gerilmeleri; 1602.2 cm^{-1} 'de sübstitüe bütıl paraben grubuna ait alifatik C=O gerilmeleri; 1500.9 cm^{-1} 'de aromatik C=C iskelet gerilmeleri; 1271.3 cm^{-1} 'de P-O gerilmesi [91]; 1157.4 cm^{-1} 'de P=N gerilmeleri görülmektedir (Şekil 6.56).



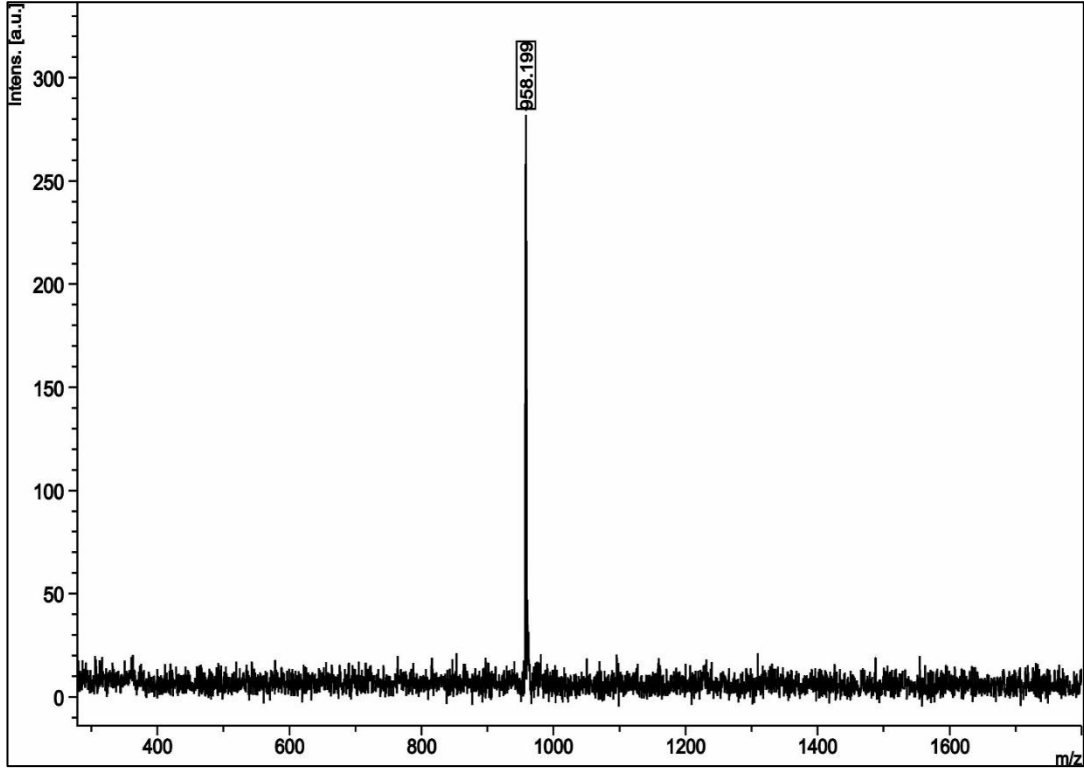
Şekil 6.56: Bileşik (XI)'e ait FT-IR spektrumu.

6.12. Bileşik XII'ye Ait Yapı Analizi



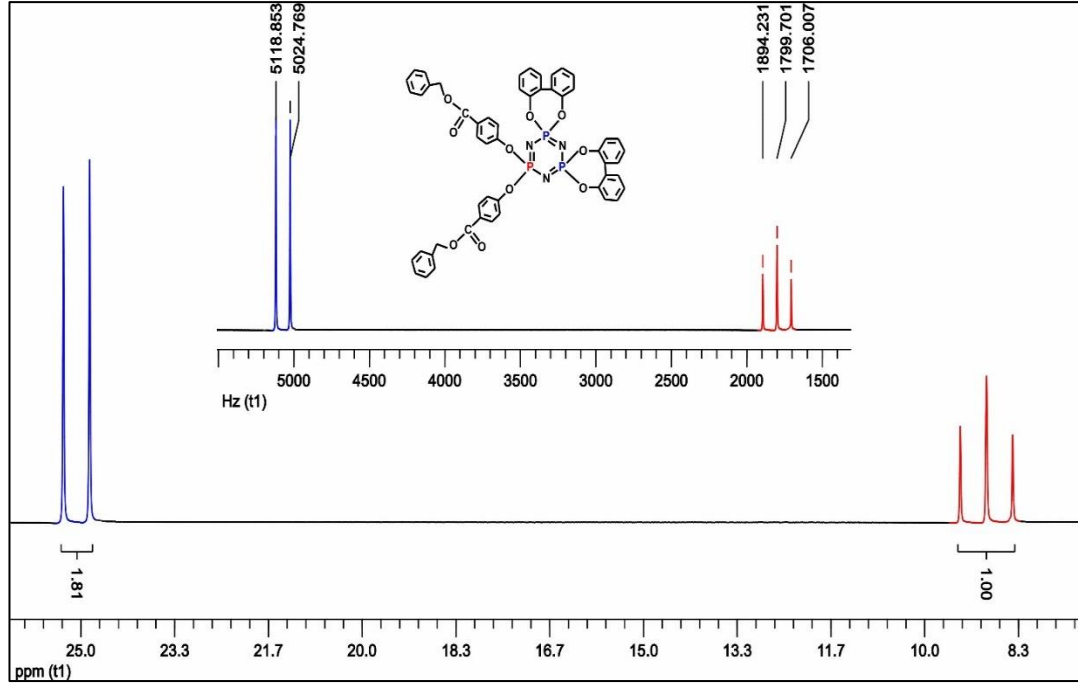
Şekil 6.57: Bileşik (XII)'nin Yapısı.

Bileşik (XII)'nin kütle spektrumu Matriks Yardımlı Lazer Desorpsiyon/İyonlaşma (MALDI-TOF) tekniği ile alındı ve moleküler iyon piki 958.19 m/z (%100) olarak görüldü ve sonucun beklenen değer ile (957.80) uyum içinde olduğu belirlendi (Şekil 6.58).



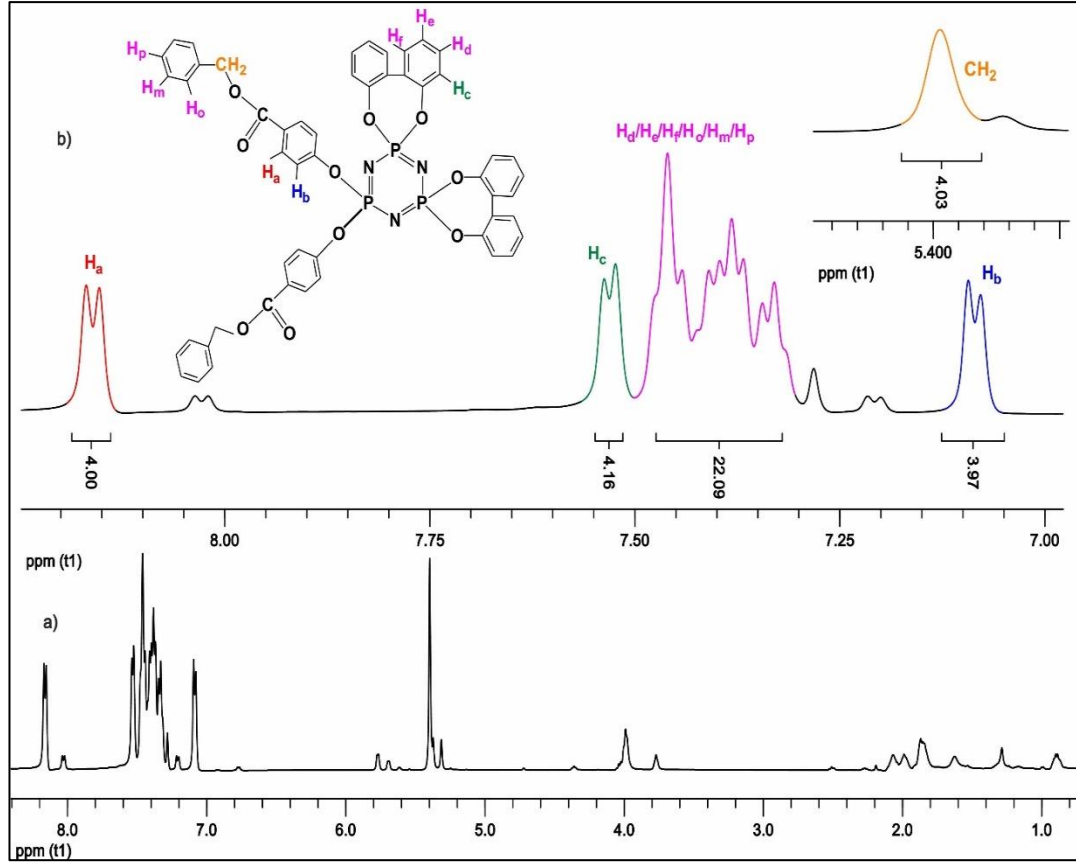
Şekil 6.58: Bileşik (XII)'nin MALDI-TOF tekniği ile alınmış kütle spektrumu.

Bileşik (XII)'nin yapısı Şekil 6.57'de görülmektedir. Bileşiğin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu (CDCl_3 , 298 K) alındı. Bileşik (XII)'nin proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu A_2X spin sistemindedir. $\delta=25.07$ ppm'de spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomlarına ait ikili pik görülmektedir. Bu pik [P(R₂)] grubundaki fosfor atomundan dolayı ikiye ($^2J_{\text{PNP}}=94.08$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=8.89$ ppm'de görülen pik ise [PR₂] grubundaki fosfor atomuna aittir. Bu pik spiro[P(O₂)] grubundaki fosfor atomlarından dolayı üçe yarılmaktadır ($^2J_{\text{PNP}}=94.08$ Hz). Bu spektruma ait integrasyon değerleri 1.81:1.00 olup 2:1 fosfora karşılık gelmektedir (Şekil 6.59).



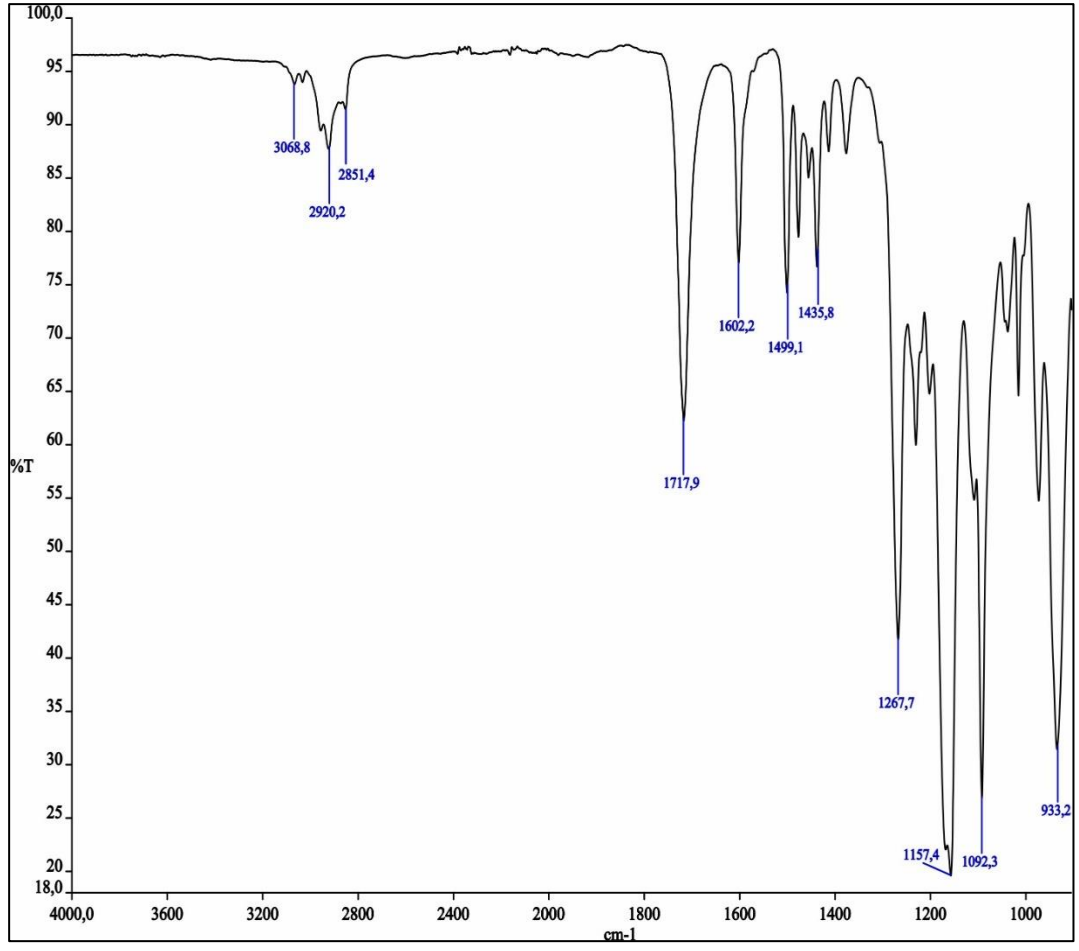
Şekil 6.59: Bileşik (XII)'ye ait proton ile eşleşmemiş ^{31}P NMR spektrumu.

Bileşik (XII)'nin ^1H NMR spektrumunda (CDCl_3 , 298 K) $\delta=7.08\text{-}8.15$ ppm arasındaki çoklu pikler H_a , H_b , H_c , H_d , H_e , H_f , H_o , H_m , H_p protonlarına aittir. $\delta=8.15$ ppm'de H_a komşu karbonda bulunan H_b protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{H}_b\text{-H}_a}=8.58$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.08$ ppm'deki H_b , H_a protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{H}_a\text{-H}_b}=7.82$ Hz) yarılmaktadır. $\delta=7.52$ ppm'deki H_c protonu H_d protonundan dolayı ikiye ($^3J_{\text{H}_c\text{-H}_d}=6.31$ Hz) yarılmaktadır. Sübstitüe benzil grubunun oksijene komşu ($-\text{CH}_2$) protonları $\delta=5.39$ ppm'de tek pik verir. Sübstitüe benzil grubunun aromatik halkasındaki orto (H_o), meta (H_m), para (H_p) protonları ve H_d , H_e , H_f protonlarının kimyasal kayma değerleri birbirlerine çok yakın olduğundan $\delta=7.39$ ppm'de üst üste pik vermiştir; bu yüzden orto (H_o), meta (H_m), para (H_p) protonları ve H_d , H_e , H_f protonlarının integral değerleri beraber alınarak hesaplanmıştır. Integral değerleri H_a , H_b , H_c , $\text{H}_d\text{-H}_e\text{-H}_f\text{-H}_o\text{-H}_m\text{-H}_p$, ($-\text{CH}_2$) protonları sırasıyla 4.00:3.97:4.16:22.09:4.03 olup 4:4:4:22:4 protona karşılık gelmektedir (Şekil 6.60).



Şekil 6.60: a) Bileşik (XII)'ye ait ^1H NMR spektrumu b) Genişletilmiş ^1H NMR spektrumu.

Bileşik (XII)'nin FT-IR spektrumunda ($\nu_{\text{max.}}$); $3068.8\text{--}2920.2\text{ cm}^{-1}$ 'de aromatik C-H bağının simetrik ve asimetrik gerilmeleri; 2851.4 cm^{-1} 'de alifatik C-H titreşimleri; 1717.9 cm^{-1} 'de süstitüe benzil paraben grubuna ait aromatik C=O gerilmeleri; 1602.2 cm^{-1} 'de süstitüe benzil paraben grubuna ait alifatik C=O gerilmeleri; 1499.1 cm^{-1} 'de aromatik C=C iskelet gerilmeleri; 1267.7 cm^{-1} 'de P-O gerilmesi [91]; 1157.4 cm^{-1} 'de P=N gerilmeleri görülmektedir (Şekil 6.61).



Şekil 6.61: Bileşik (XII)'ye ait FT-IR spektrumu.

7. DNA ETKİLEŞİMLERİNİN İNCELENMESİ

7.1. MiSens Biyosensör Cihazında Sentezlenen Bileşikler ile DNA Etkileşim Çalışmaları

Cihazın çalışma sistemi bölüm 2.12’de anlatıldı. Bu bölümde, herhangi bir bileşiğin DNA ile etkileşiminin cihazda nasıl tayin edileceği ile ilgili bilgiler verilecektir.

İlk olarak dış ortamda daha önceden hazırlanmış hibridize DNA, DNA ile etkileşiminin araştırılacağı bileşik ve tampon çözelti (Buffer Tris-T) karıştırılır. Hazırlanan karışım 15 dakika bekletildikten sonra cihaza gönderilir ve çipin üzerindeki yakalayıcı DNA ile çipe bağlanması beklenir. Eğer bileşik DNA ile etkileşime girdiyse değişen DNA ile eşleniği olan yakalayıcı DNA birbirini tanıyamayacağı için hibrit DNA sistemden akıp gider. Sonrasında işlemlere devam ederken cihaza verilen Au-Np ve üzerinde bulunan NA da ortamda hibridize DNA olmadığı için çipe bağlanamayacak ve sistemden akıp gidecektir. Son olarak TMB, reaksiyon vereceği Au-Np’e bağlı bir HRP olmayacağı için sistemden çıkacaktır. Bu durumda herhangi bir reaksiyon olmayacağı için sistem hiçbir sinyal vermeyecektir ya da sistemden düşük sinyal alınacaktır.

Eğer bileşik DNA üzerinde %100 etkiye sahipse, cihazdan hiçbir sinyal gelmesi beklenmez; ancak buna rağmen cihazdan bazı sinyaller okunabilir. Bu yüzden bileşiğin DNA’ya etkisi, başlangıç durumu ile son durum arasında bir yüzdelik oran kurularak belirlenir. Oranın hesaplanması için ilk önce bileşiksiz hibrit DNA cihazdan geçirilerek sistemdeki akım değeri kaydedilir. İkinci olarak kimyasal ile etkileştirilen DNA karışımı cihaza gönderilerek alınan sinyaller kaydedilir. Bileşiksiz hibrit DNA’lı karışım ile alınan sinyal değeri 100 kabul edilerek bileşik ile etkileştirilmiş DNA’lı sistemden alınan değerler arasında yüzdelik oran bulunur. Bu yüzdelik değer, bileşiğin DNA’ya etki etmeden bıraktığı kısmın sinyal oranıdır. Bileşiğin DNA’ya etki oranını bulabilmek için yüzdelik değerler 100 den çıkarılır, böylece elde edilen sonuç bileşiğin DNA’ya etki etme oranını verir.

7.2. MiSens Biyosensör Cihazı İçin Gerekli Çözeltilerin Hazırlanması

7.2.1. DNA ile Etkileşimi İncelenecek Bileşiklerin Çözeltilerinin Hazırlanması

Cihazda ölçüm alınabilmesi için incelenecek bileşiğin uygun bir çözücünde çözülmesi şarttır. MiSens cihazında DNA etkileşimleri araştırılacak olan bileşikler DMSO’da 2 µM derişimde olacak şekilde çözülür. Hazırlanan bu çözeltiden istenilen oranlarda seyreltme yapılarak ölçümler alınır. Çözeltilerin hazırlanmasında Eşitlik (1.1), Eşitlik (1.2) ve Eşitlik (1.3)’deki formüller kullanılır.

$$M = \frac{n}{V} \quad (7.1)$$

$$1\text{mL çözücü için gereken miktar} = \frac{m \times 1000(\text{mL})}{\text{Mol kütlesi}} \quad (7.2)$$

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2 \quad (7.3)$$

DNA etkileşimi incelenecek bileşiklerin miktarı ve çalışılan konsantrasyonları Tablo 7.1’de verilmiştir.

Tablo 7.1. DNA ile etkileşimi araştırılan bileşiklerin 1 mL çözücünde çözünen miktarı ve çalışılan konsantrasyonu. (Stok konsantrasyonu 2 μ M)

Bileşik No	Molekül ağırlığı (g/mol)	Miktar (mg)	Çalışılan konsantrasyon (μ M)
1	460.94	0.92	12.5, 25
2	574.23	1.14	12.5, 25
3	923.69	1.84	12.5, 25
4	979.81	1.95	12.5, 25
5	1035.92	2.07	12.5, 25
6	1092.13	2.18	12.5, 25
7	1228.08	2.45	12.5, 25
8	805.61	1.61	12.5, 25
9	833.43	1.66	12.5, 25
10	861.74	1.72	12.5, 25
11	889.75	1.78	12.5, 25
12	957.80	1.91	12.5, 25

7.2.2. MiSens Cihazında Kullanılacak Stok Çözeltilerin Hazırlanması

7.2.2.1. CV Protokolünde Kullanılan Çözeltinin Hazırlanması

- Potasyum Ferrosiyanat Çözeltisinin Hazırlanması

MiSens biyosensör cihazında ilk olarak CV alınarak cihazın çipi üzerindeki elektrotların çalışmaları kontrol edilir. 1 mM derişimde potasyum ferrosiyanat çözeltisi hazırlamak için 4.89 mg potasyum ferrosiyanat 15 mL (1 M) KCl çözeltisinde çözülür. Bu çözeltinin işlemlerden hemen önce taze olarak hazırlanması daha uygundur.

7.2.2.2.NA(NeutrAvidin) İmmobilizasyonu Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- EDC ve NHS çözeltilerinin hazırlanması

0.1 M'lık NHS çözeltisi hazırlamak için 460 mg NHS (N-hidroksi suksinimid) 40 mL saf suda çözülür. 0.4 M'lık EDC [1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid hidroklorür] çözeltisi elde etmek için ise 1.534 g EDC 20 mL saf suda çözülür. Her iki çözelti de hızlı bir şekilde hazırlanmalı ve sonra her biri 200 µL içerecek şekilde eppendorflara aktarılır ve -20 °C'de saklanır. Cihaz kullanımı sırasında ihtiyaç duyulduğunda 1:1 oranında EDC/NHS karıştırılarak kullanılır. Kullanılmadan kalan çözelti atıktır, tekrar dondurularak kullanılmaz.

- NA (NeutrAvidin) Çözeltisinin Hazırlanması

1 mg katı NeutrAvidin 1000 µL saf suda çözülür. Bu şekilde hazırlanan çözeltiden 20 µL'lik miktarlar ayrı ayrı tüplere konulur ve -20 °C'de saklanır. Cihazda kullanılacak çözelti hazırlanırken bu karışımdan 20 µL alınır ve 380 µL PBS (Fosfat Tampon Çözeltisi) ile karıştırılarak derişimi 50 µg/mL ye düşürülür. Cihaza ihtiyaç kadar çözelti konulur ve fazla kalan karışım yeniden kullanılmaz.

- Yıkama Tampon Çözeltisinin (PBS) Hazırlanması

Ticari olarak hazır alınan fosfat tabletinden 1 adet 200 mL saf suda çözülür ve sonuçta 10 mM konsantrasyonunda pH 7.4 olan bir çözelti oluşur. Çözelti +4 °C'de saklanır.

- BSA(Bovin Serum Albumin) Çözeltisinin Hazırlanması

50 mg BSA 5 mL saf suda çözülerek elde edilen çözeltiden 200 µL'lik miktarlar alınarak tüplere eşit olarak konulur. Stok çözeltiler -20 °C'de saklanır. Bu çözeltiden cihazda kullanılmadan önce iki seyreltme yapılması gerekir.

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 çözelti +4 °C'de saklanabilir. Ancak bekleme süresinin 1 haftayı geçmemesine dikkat edilmelidir.

- Etanol Amin Çözeltisinin Hazırlanması

Hazır satın alınan etanol amin sıvısının yoğunluğu 1.012 g/mL'dir. Hazır etanol aminin 3.12 mL'si 50 mL ye saf su ile tamamlanır ve derişik HCl den birkaç damla damlatılarak pH metre yardımıyla pH 8.5 olarak ayarlanır. Sonuçta 1 M'lık etanol amin çözeltisi oluşur. Bu çözelti ihtiyaç miktarınca kullanılır ve +4 °C'de saklanır.

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

500 mL saf suda 1.21 gram Tris çözüldükten sonra 0.186 gram EDTA ve 4.38 gram NaCl eklenerek çözülür ve pH 7'ye ayarlanır. Oluşan bu çözelti 20 mM Tris, 1 mM EDTA, 150 mM NaCl içerir. Karışım +4 °C'de saklanır ve ihtiyaç duyulduğu kadar kullanılır.

7.2.2.3. DNA İmmobilizasyonu Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- DNA Çözeltilerinin Hazırlanması

DNA çözeltileri ticari firmaların verdiği prosedürler doğrultusunda hazırlanmaktadır. Ticari olarak satın alınmış capture(yakalayıcı) DNA'ya yeterli miktarda tris buffer eklenerek 10^{-5} M'lık çözelti hazırlanır ve depolanır, MiSens biyosensör cihazında da bu konsantrasyonda kullanılır. Bu çözelti -20 °C'de saklanır. Target (hedef) DNA/detection (yakalayıcı) DNA ile sırasıyla hacimce 1:2 oranında karıştırılarak 55 °C'de 15 dakika inkübe edilir ve bu şekilde hibrit DNA hazırlanır. Konsantrasyonu 10^{-6} M olan bu hibrit DNA çözeltisi +4 °C'de muhafaza edilir.

- Biotin çözeltisinin hazırlanması

0.061 g biotin tris buffer ile 25 mL'ye tamamlanır böylece derişimi 10 mM olur ve sonrasında NaOH yardımıyla pH'ı 7.6 olarak ayarlanır. Bu çözelti +4 °C'de saklanır.

7.2.2.4. Hibrit DNA İmmobilizasyonu Protokolünde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

- HRP (Horse Redish Peroxidase) Çözeltisinin Hazırlanması

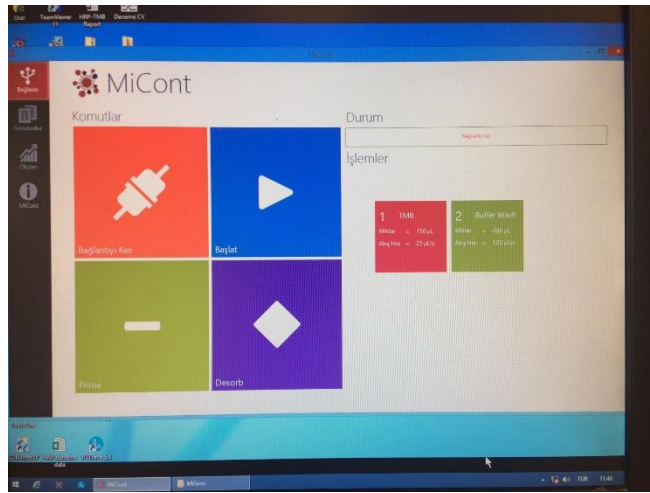
2 mL saf suda 20 mg HRP (Horse Redish Peroxidase) çözülür ve hazırlanan çözeltiden 50 µL lik miktarlarda tüp içerisine konularak çözelti -20 °C'de saklanır.

- Au-Np (Altın Nanopartikül) Hazırlanması

15 nm boyutlarında altın parçacıklar içeren çözeltiden 1000 μL 'lik tüplere konulur. Ayrı bir tüpte 2 μL HRP [1mg/mL (suda)] +1 μL NA 1mg/mL (suda)] karıştırılır ve Au-Np'ler ile 45 dakika inkübasyona bırakılır. Elde edilen bu çözelti +4 $^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika 8000 rpm'de santrifüj edilir. Santrifüj sonunda üstteki süzöntü alınır. Süzöntü alındıktan sonra kalan katı ekstrakta 33 μL 10 mg/ml BSA eklenerek karıştırılır ve son olarak 70 μL Tris Buffer eklenir.

7.3. MiSens Cihazının Çalışma Protokolleri

Cihaz açma/kapama tuşu ile açılır. Cihazın çalışması ve uygulanacak protokollerin komutları cihazda yüklü olan MiCont programı ile kontrol edilir.



Şekil 7.1: MiCont programı arayüzü.

Cihaz ile çalışma protokolleri sırası ile şu şekildedir

- CV protokolü
- NeutrAvidin immobilizasyonu protokolü
- DNA immobilizasyonu protokolü
- Hibrit DNA immobilizasyonu protokolü
- HCl yıkama protokolü
- Hibrit DNA + Bileşik protokolü
- Amperometrik ölçüm protokolü

7.3.1. CV Protokolü



Şekil 7.2: MiCont programı CV protokolü.

Cihaz açıldığında ilk olarak CV alınmasının sebebi, cihazın çiplerindeki elektrotların yüzeyini kontrol etmektir. Bunun için de 1 M KCl içinde hazırlanan 1 mM Potasyum Ferrosiyanat çözeltisi kullanılır.

7.3.2. NeutrAvidin İmmobilizasyonu Protokolü

Bu aşamada hedeflenen, sensör çip üzerindeki merkaptoundekanoik asit (MUDA) ile NA arasındaki karbodiimit reaksiyonu yoluyla NA'nın bağlanmasını sağlamaktır. Bunun için aşağıdaki işlemler sırası ile cihazın ara yüzü olan MiCont programına komut olarak verilir ve gerçekleştirilir.

• 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)

7.3.3. DNA Bağlanma Protokolü

NeutrAvidin immobilize edilmiş çipe DNA'nın bağlanabilmesi için bu protokol gereklidir. Bunun için cihaza aşağıdaki komutlar sırasıyla verilir.

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

7.3.4. Hibrit DNA Bağlanma Protokolü

Dışarıda hibridize edilmiş DNA'nın çip yüzeyine bağlanması için aşağıdaki işlemler yapılır. Bu işlemde sonra sistemden Au-Np geçirilerek sensör çipin yüzeyine Au-Np üzerindeki NeutrAvidin yoluyla bağlanması sağlanır. Ardından sistemden TMB geçirilir ve oluşan indirgenme/yükseltgenme tepkimesi sonucu cihazdan yüksek sinyal alınır. Sistemden alınan sinyalin ardından HCl yıkama protokolü uygulanır. Bu protokoldeki işlemler ve süreleri aşağıdaki gibidir.

• 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)

Bu işlemlerden sonra amperometrik ölçüm yapılır.

• Buffer Wash	400 µL/ 100 µL/dakika	(4 dakika)
---------------	-----------------------	------------

Bu işlemlerden sonra yıkama protokolü uygulanır.

• 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)

7.3.5. Hibrit DNA + Bileşik Protokolü

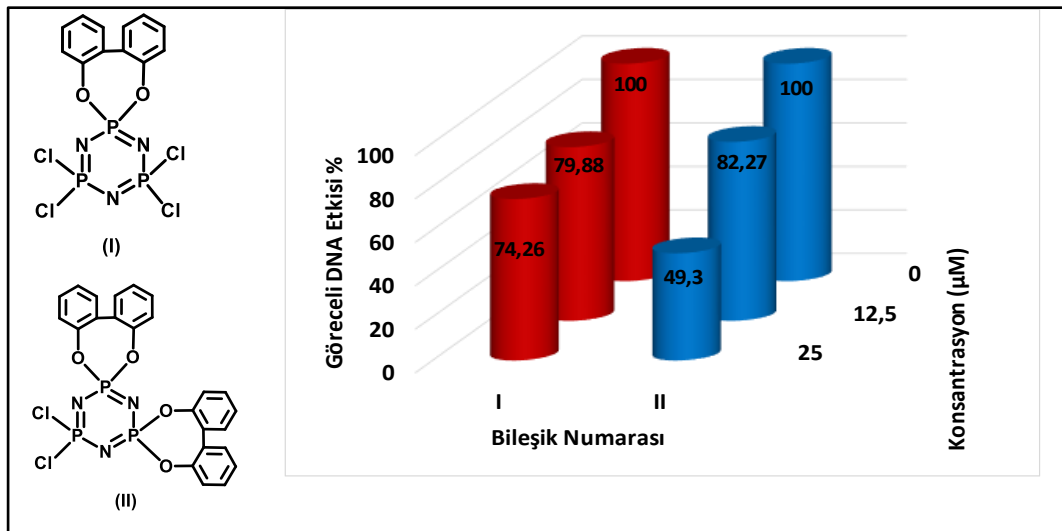
Hibridize DNA ve DNA ile etkileşimi incelenecek kimyasal karıştırılır ve 15 dakika beklenir. Yıkama protokolü uygulanan sensör çipe hibrit DNA bağlama işlemi bölüm 7.3.4'teki protokoller uygulanarak yapılır. Gelen sinyalin düşüklüğüne bağlı olarak kurulan oran ile DNA ve bileşiğin etkileşiminin olduğu sonucuna varılır.

7.4. Sentezlenen Bileşiklerin DNA Etkileşiminin İncelenmesi

Sentezlenen bileşiklerin DNA etkileşimleri, DMSO'da çeşitli derişimlerde çözeltileri hazırlanarak MiSens biyosensör cihazında ilgili protokol uygulanarak gerçekleştirildi.

7.4.1. Bileşik I ve II'nin DNA Etkileşiminin İncelenmesi

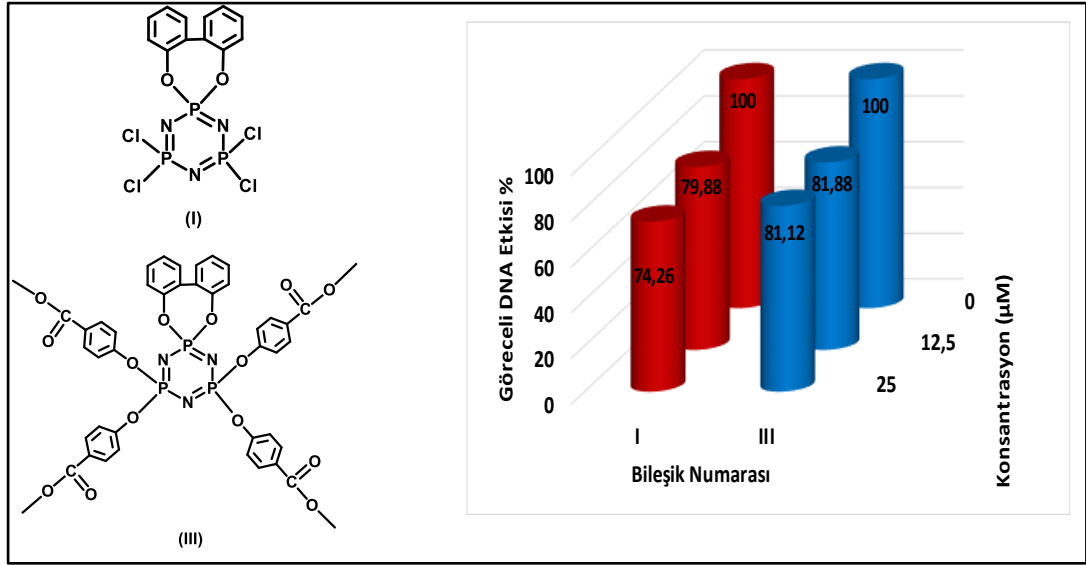
Başlangıç maddeleri olarak sentezlenen ve paraben türevi bileşiklerin süstitüe edilmesiyle DNA üzerine etkileri incelenen I ve II numaralı bileşikler için ayrı ayrı DMSO ile 12.5 μM ve 25 μM 'lık derişimlerde çözeltiler hazırlandı. Hibrit DNA ile herhangi bir bileşiğin etkileşimi olmadan alınan ölçümlerde DNA'ya etki eden bir bileşik olmadığı için (konsantrasyon 0 μM) bütün DNA aktif olarak varlığına devam edecektir ve böylece Şekil 7.3'te görüldüğü gibi %100 sinyal alınacaktır. Şekil 7.3'ten de anlaşılacağı gibi I ve II numaralı bileşiklerin 25 μM 'lık çözeltilerinin DNA üzerine etkisi sırasıyla %25.74 ve %50.70'tir.



Şekil 7.3: Bileşik I ve II'nin karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.

7.4.2. Bileşik I ve III'ün DNA Etkileşiminin İncelenmesi

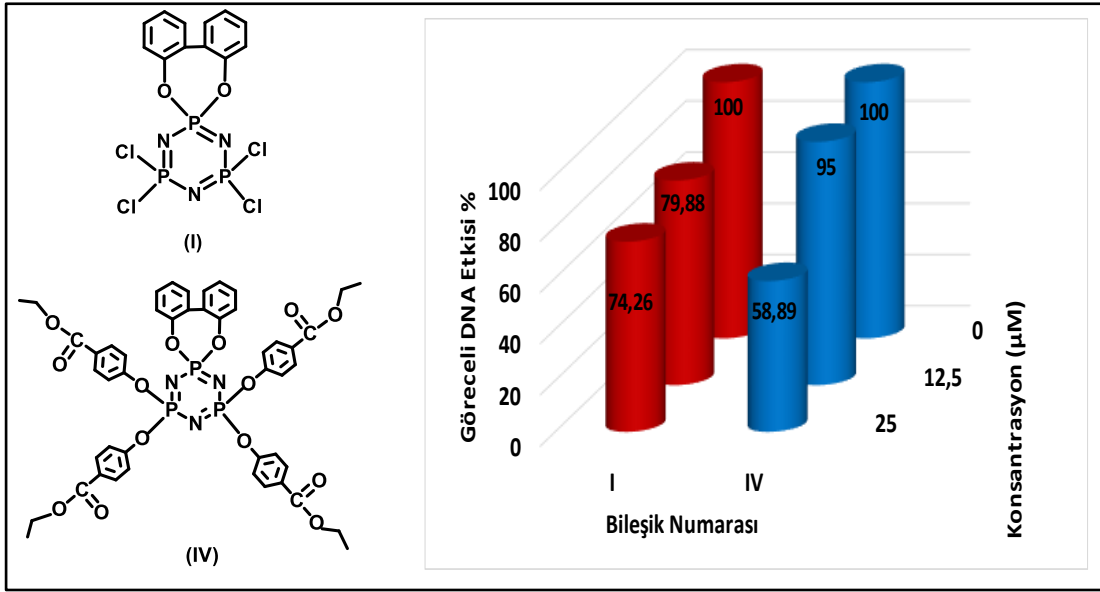
Bileşik I ve III'ün her biri için DMSO'da 12.5 μ M ve 25 μ M'luk derişimlerde çözeltileri hazırlandı. Şekil 7.4'de görüldüğü gibi bileşik I'in 25 μ M'luk derişimli çözeltilisi DNA'ya %25.74 oranında etki etmiştir. Aynı bileşiğe metil paraben bileşiğinin süstitüe edilmesi ile elde edilen bileşik III'ün 25 μ M'luk çözeltilisinin DNA etki yüzdesi ise %18.88'dir. Metil paraben grubunun süstitüe edilmesi ile bileşiğin DNA etkisinin azaldığı anlaşılmaktadır.



Şekil 7.4: Bileşik I ve III'ün karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.

7.4.3. Bileşik I ve IV'ün DNA Etkileşiminin İncelenmesi

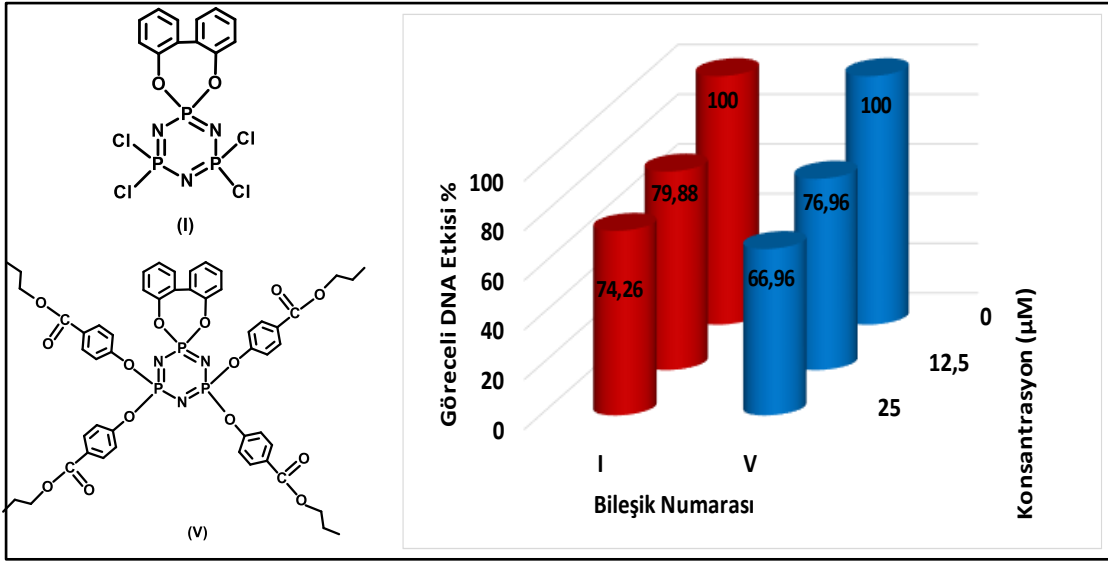
Bileşik I ve IV'ün her biri için DMSO'da 12.5 μM ve 25 μM 'lık derişimlerde çözeltileri hazırlandı. Şekil 7.5'te görüldüğü gibi sentezlenen I numaralı bileşiğin 25 μM 'lık derişimli çözeltisi DNA'ya %25.74 oranında etki etmiştir. Aynı bileşiğe etil paraben bileşiğinin süstitüe edilmesi ile elde edilen IV numaralı bileşiğin 25 μM 'lık çözeltisinin DNA etki yüzdesi ise %41.11'dir. Etil paraben grubunun süstitüe edilmesi ile bileşiğin DNA etkisinin arttığı görülmektedir.



Şekil 7.5: Bileşik I ve IV'ün karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.

7.4.4. Bileşik I ve V'in DNA Etkileşiminin İncelenmesi

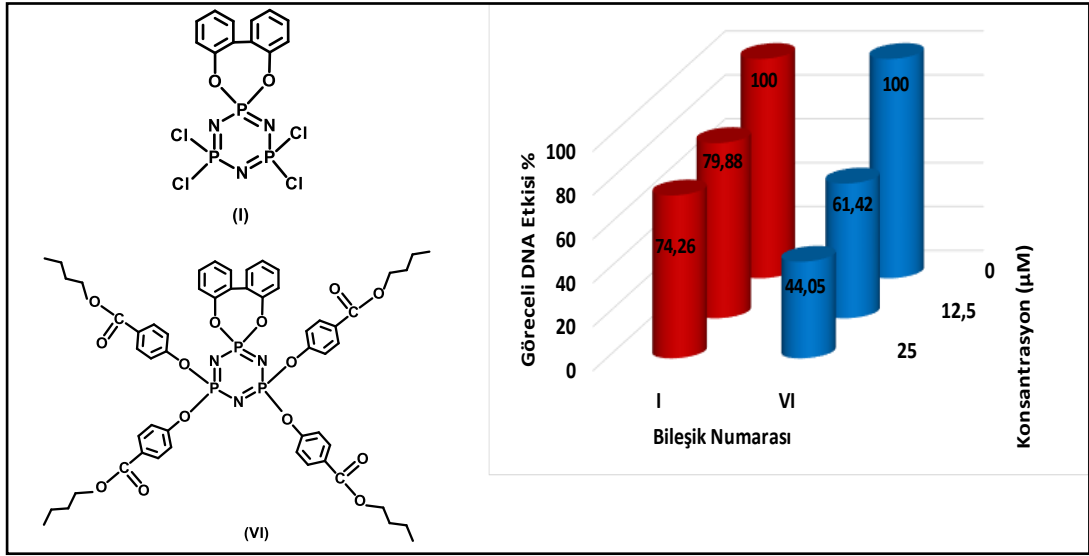
Bileşik I ve V'in her biri için DMSO'da 12.5 μM ve 25 μM 'lık derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Şekil 7.6'da görüldüğü gibi sentezlenen I numaralı bileşiğin 25 μM 'lık derişimli çözeltisi DNA'ya %25.74 oranında etki etmiştir. Aynı bileşiğe propil paraben bileşiğinin sübtitüe edilmesi ile elde edilen V numaralı bileşiğin 25 μM 'lık çözeltisinin DNA etki yüzdesi ise %33.04'dür. Propil paraben grubunun sübtitüe edilmesi ile bileşiğin DNA etkisinin arttığı görülmektedir.



Şekil 7.6: Bileşik I ve V'in karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.

7.4.5. Bileşik I ve VI'nın DNA Etkileşiminin İncelenmesi

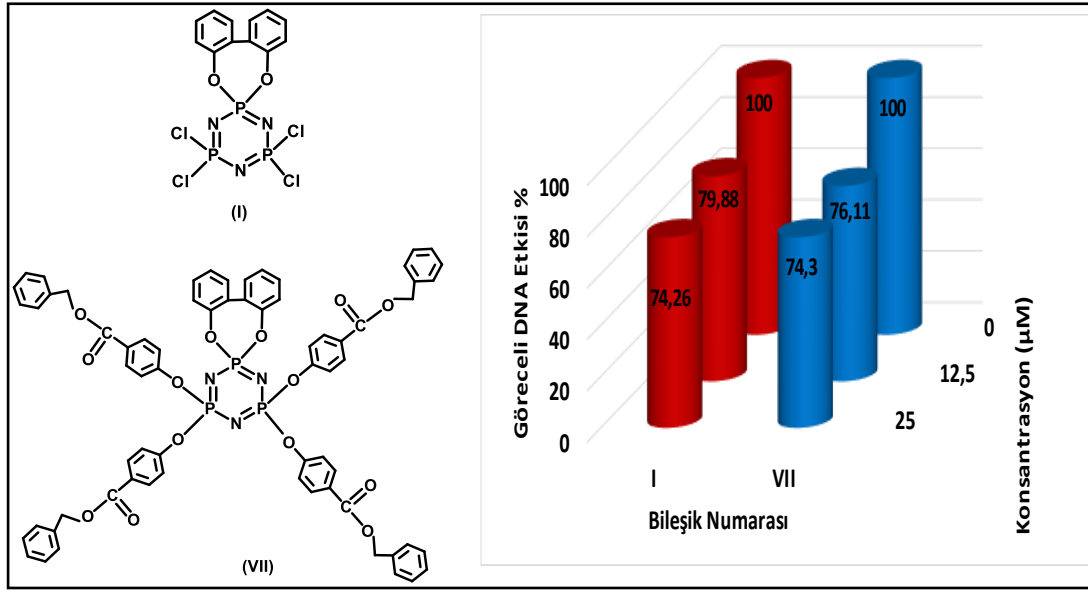
Bileşik I ve VI'nın her biri için DMSO'da 12.5 μM ve 25 μM 'lık derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Şekil 7.7'de görüldüğü gibi sentezlenen I numaralı bileşiğin 25 μM 'lık derişimli çözeltisi DNA'ya %25.74 oranında etki etmiştir. Aynı bileşiğe bütül paraben bileşiğinin süstitüe edilmesi ile elde edilen bileşik VI'nın 25 μM 'lık çözeltisinin DNA etki yüzdesi ise %55.95'dür. Propil paraben grubunun süstitüe edilmesi ile bileşiğin DNA etkisinin yaklaşık iki kat oranında arttığı görülmektedir.



Şekil 7.7: Bileşik I ve VI'nın karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.

7.4.6. Bileşik I ve VII'nin DNA Etkileşiminin İncelenmesi

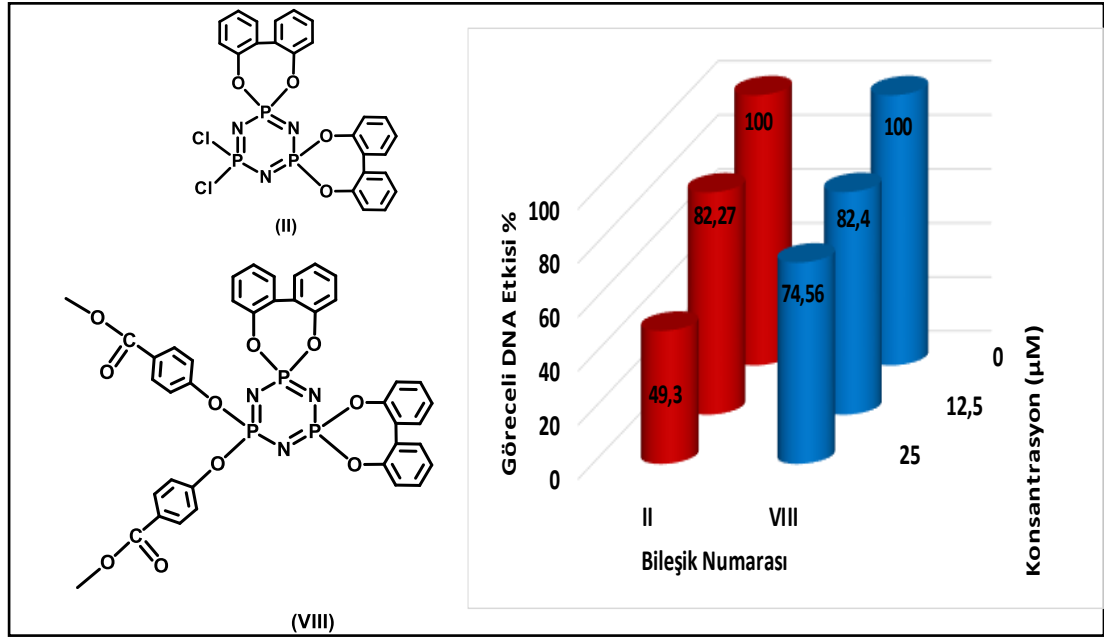
Bileşik I ve VII'nin her biri için DMSO'da 12.5 μM ve 25 μM 'lık derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Şekil 7.8'de görüldüğü gibi sentezlenen I numaralı bileşiğin 25 μM 'lık derişimli çözeltisi DNA'ya %25.74 oranında etki etmiştir. Aynı bileşiğe benzil paraben bileşiğinin süstitüe edilmesi ile elde edilen VII numaralı bileşiğin 25 μM 'lık çözeltisinin DNA etki yüzdesi ise %25.7'dir. Benzil paraben grubunun süstitüe edilmesi ile bileşiğin DNA etkisinin değişmediği görülmektedir.



Şekil 7.8: Bileşik I ve VII'nin karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.

7.4.7. Bileşik II ve VIII'in DNA Etkileşiminin İncelenmesi

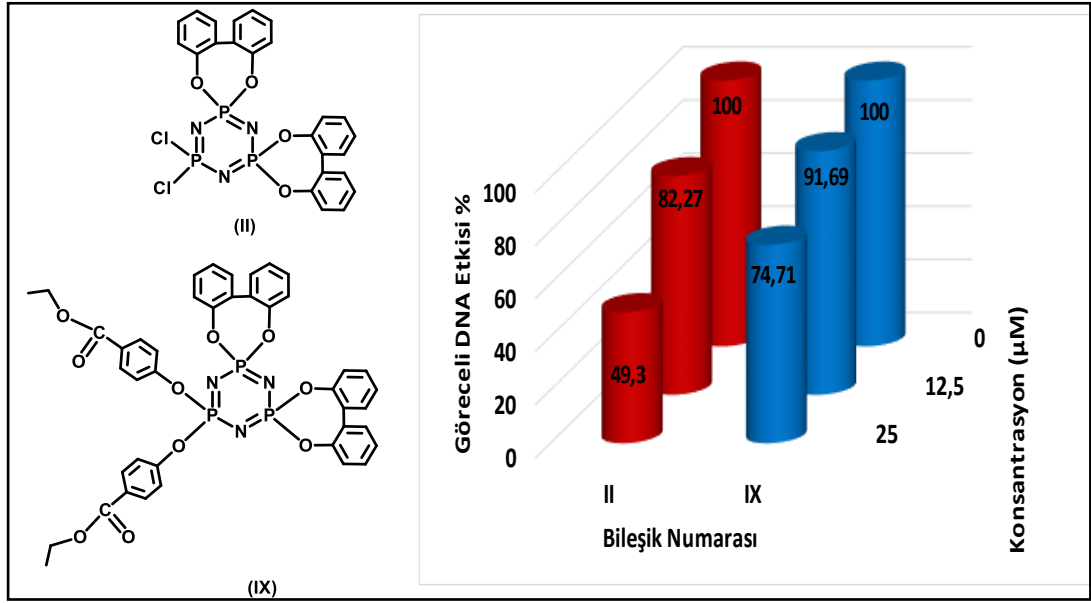
Bileşik II ve VIII'in her biri için DMSO'da 12.5 μ M ve 25 μ M'luk derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Şekil 7.9'da görüldüğü gibi sentezlenen bileşik II'nin 25 μ M'luk çözeltisi DNA'ya %50.70 oranında etki etmiştir. Aynı bileşiğe metil paraben bileşiğinin süstitüe edilmesi ile elde edilen VIII numaralı bileşiğin 25 μ M'luk çözeltisinin DNA etki yüzdesi ise %25.44'dür. Metil paraben grubunun süstitüe edilmesi ile bileşiğin DNA etkisinin azaldığı anlaşılmaktadır.



Şekil 7.9: Bileşik II ve VIII'in karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.

7.4.8. Bileşik II ve IX'un DNA Etkileşiminin İncelenmesi

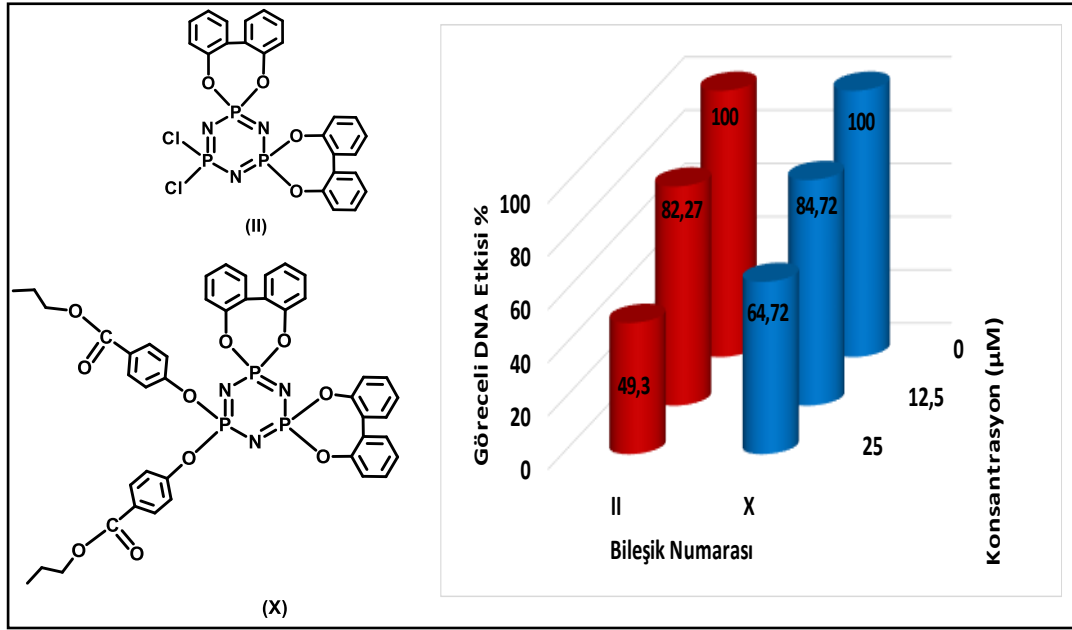
Bileşik II ve IX'un her biri için DMSO'da 12.5 μM ve 25 μM 'lık derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Şekil 7.10'da görüldüğü gibi bileşik II'nin 25 μM 'lık çözeltisi DNA'ya %50.70 oranında etki etmiştir. Aynı bileşiğe etil paraben bileşiğinin sübstitüe edilmesi ile elde edilen IX numaralı bileşiğin 25 μM 'lık çözeltisinin DNA etki yüzdesi ise %25.29'dür. Etil paraben grubunun sübstitüe edilmesi ile bileşiğin DNA'ya etkisinin yaklaşık iki kat azaldığı anlaşılmaktadır.



Şekil 7.10: Bileşik II ve IX'un karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.

7.4.9. Bileşik II ve X'un DNA Etkileşiminin İncelenmesi

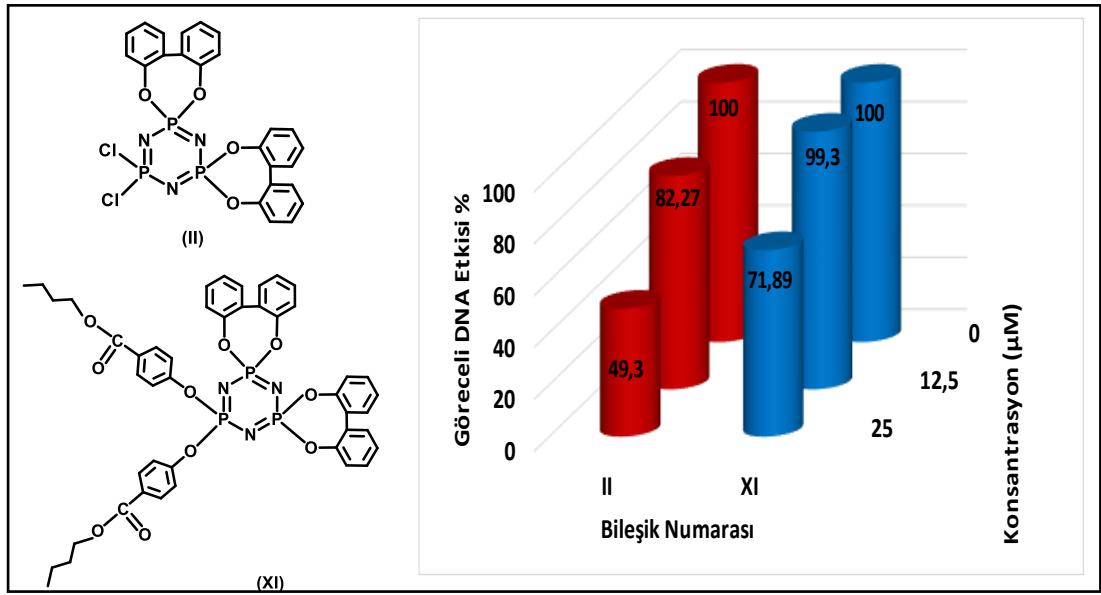
Bileşik II ve X'un her biri için DMSO'da 12.5 μM ve 25 μM 'lık derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Şekil 7.11'de görüldüğü gibi bileşik II'nin 25 μM 'lık çözeltisi DNA'ya %50.70 oranında etki etmiştir. Aynı bileşiğe propil paraben bileşiğinin süstitüe edilmesi ile elde edilen X numaralı bileşiğin 25 μM 'lık çözeltisinin DNA etki yüzdesi ise %35.28'dir. Propil paraben grubunun süstitüe edilmesi ile bileşiğin DNA'ya etkisinin azaldığı anlaşılmaktadır.



Şekil 7.11: Bileşik II ve X'un karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.

7.4.10. Bileşik II ve XI'in DNA Etkileşiminin İncelenmesi

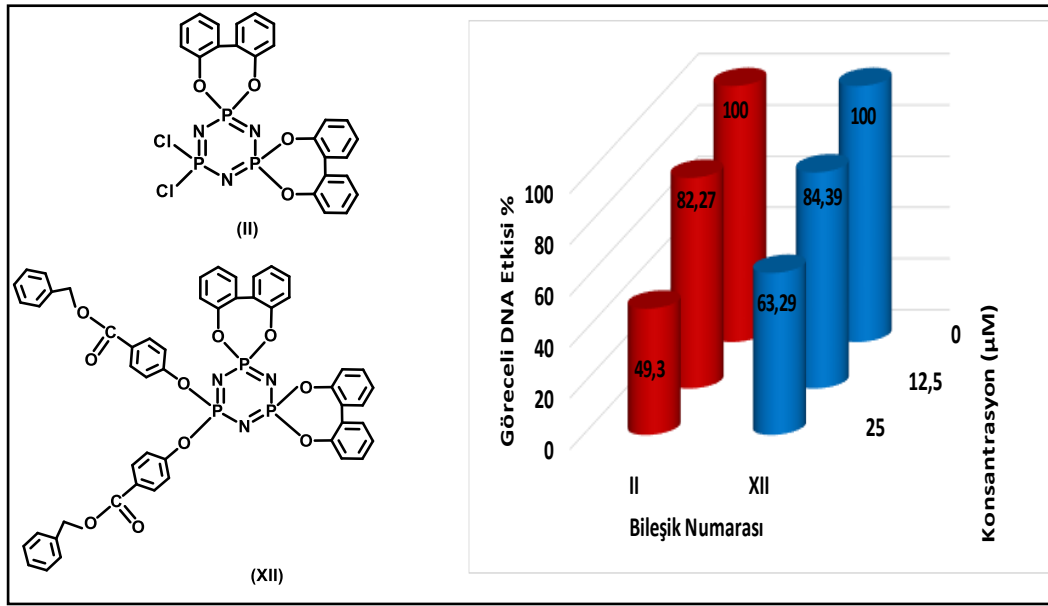
Bileşik II ve XI'in her biri için DMSO'da 12.5 μ M ve 25 μ M'luk derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Şekil 7.12'de görüldüğü gibi bileşik II'nin 25 μ M'luk derişimli çözeltilisi DNA'ya %50.70 oranında etki etmiştir. Aynı bileşiğe bütıl paraben bileşiğinin sübstitüe edilmesi ile elde edilen XI numaralı bileşiğın 25 μ M'luk çözeltilisinin DNA etki yüzdesi ise %28.11'dir. Bütıl paraben grubunun sübstitüe edilmesi ile bileşiğın DNA'ya etkisinin yaklaşık iki kat azaldığı anlaşılmaktadır.



Şekil 7.12: Bileşik II ve XI'un karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.

7.4.11. Bileşik II ve XII'nin DNA Etkileşiminin İncelenmesi

Bileşik II ve XII'nin her biri için DMSO'da 12.5 μM ve 25 μM 'lık derişimlerde çözeltileri hazırlanmıştır. Şekil 7.13'de görüldüğü gibi bileşik II'nin 25 μM 'lık derişimli çözeltisi DNA'ya %50.70 oranında etki etmiştir. Aynı bileşiğe benzil paraben bileşiğinin süstitüe edilmesi ile elde edilen XII numaralı bileşiğin 25 μM 'lık çözeltisinin DNA etki yüzdesi ise %36.71'dir. Benzil paraben grubunun süstitüe edilmesi ile bileşiğin DNA'ya etkisini belirgin oranda azaldığı anlaşılmaktadır.



Şekil 7.13: Bileşik II ve XII'nin karşılaştırmalı DNA etkileşim analizi.

8. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Siklotrifosfazenlerin yapılarındaki klorların çeşitli gruplarla yer değiştirme tepkimesi sonucu farklı özelliklerdeki bileşikler sentezlenebilmektedir. Araştırmacılar bu tepkimeleri, uygulama alanları ve bilimsel önemi sayesinde siklotrifosfazenler hakkında birçok çalışma yapmıştır. Benzer olarak paraben bileşikleri de gıda, ilaç, kozmetik endüstrisinde yaygın kullanıma sahip olduğundan araştırmacıların, dikkatini çeken bileşiklerdir.

Bu tez çalışmasında 2,2'-bifenol bileşiği heksaklorosiklotrifosfazen halkasına mono spiro ve di spiro konumlarında bağlanılarak başlangıç bileşikleri (**I** ve **II**) elde edildi. Elde edilen bileşiklerin ayrı ayrı metil paraben, etil paraben, propil paraben, bütül paraben ve benzil paraben ile tepkimeleri gerçekleştirildi. Bu tepkimeler sonucu elde edilen ürünler (**III-XII**) izole edilerek saflaştırıldı ve bileşiklerin yapısı kütle (MALDI-TOF), ^{31}P ve ^1H NMR, FT-IR spektroskopisi ve tek kristal X-ışını kırınımı tekniği (**III**) ile aydınlatıldı. Genellikle aynı grupların bağlandığı fosfor atomları eşdeğerdir ve eş kimyasal kayma değerlerine sahiptir. Mono spiro konumda 2,2'-bifenol grubunun bağlı olduğu bileşiklerin spin sistemi AX_2 iken di spiro konumda 2,2'-bifenol grubunun bağlı olduğu bileşiklerin spin sistemi A_2X 'dir. Bütün bileşiklerin deneysel olarak bulunan kütle spektrumu verileri, beklenen kütle spektrum verileri ile uyum içindedir ve önerilen yapıları desteklemektedir (Tablo 8.1).

Tablo 8.1: Sentezlenen Bileşiklerin ^{31}P NMR ve Kütle spektrum verileri.

Bileşik No	δ (^{31}P NMR)[ppm]			Spin Sistemi	$^2\text{J}(\text{PP})$ [Hz]	$[\text{M}+\text{H}]^+ / [\text{M}]$
	$\text{P}(\text{O}_{\text{spi}})_{\text{ro}})_2$	PR_2	$\text{P}(\text{Cl})_2$		$^2\text{J}_{\text{AX}}$	
1	12.85	-	24.75	A_2X	71.56	460.64
2	19.47	-	29.18	AX_2	79.41	574.39
3	24.32	8.28	-	AX_2	93.67	924.05
4	24.33	8.29	-	AX_2	94.31	979.61
5	24.29	8.32	-	AX_2	94.20	1035.79
6	24.25	8.36	-	AX_2	95.13	1092.13
7	24.21	8.26	-	AX_2	93.25	1227.56
8	25.10	8.84	-	A_2X	94.09	805.52
9	25.10	8.84	-	A_2X	94.06	833.69
10	25.10	8.93	-	A_2X	93.72	862.12
11	25.11	8.93	-	A_2X	94.01	890.18
12	25.07	8.89	-	A_2X	94.08	958.19

Başlangıç bileşikleri olan 2,2'-bifenoksi sübstitüe mono spiro (**I**) ve di spiro siklotrifosfazen (**II**) bileşiklerine paraben bileşikleri sübstitüe edildikten sonra oksijene bağlı fosfor atomlarının kimyasal kayma değeri önemli bir artış gösterirken paraben gruplarının bağlandığı fosfor atomlarının kimyasal kayma değerlerinde belirgin bir artış gözlenmemiştir. Başlangıç bileşikleri **I** ve **II**'ye bağlı 2,2'-bifenoksi gruplarının protonlarının ^1H NMR spektrumunda kimyasal kayma değerleri 7.3-7.6 ppm arasındadır.

Bileşik **I** ve **II**'ye metil, etil, propil, bütül ve benzil paraben bağlandıktan sonra elde edilen yeni bileşiklerin ^1H NMR spektrumları incelendiğinde, aromatik protonların 7.35-7.45 ppm aralığında, $-\text{OCH}_2$ protonların 3.9-5.4 ppm aralığında ve genel olarak alifatik protonların 0.95-4.5 ppm aralıklarında pik verdiği görülmektedir.

Halkalı ve polimerik fosfazenlerin karakteristik olarak, $1200\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ aralığında kuvvetli asimetrik P-N-P ve $700\text{-}950\text{ cm}^{-1}$ aralığında kuvvetli simetrik P-N-P gerilmeleri literatürde bilinmektedir [91]. Bu sebeple bileşiklerin FT-IR

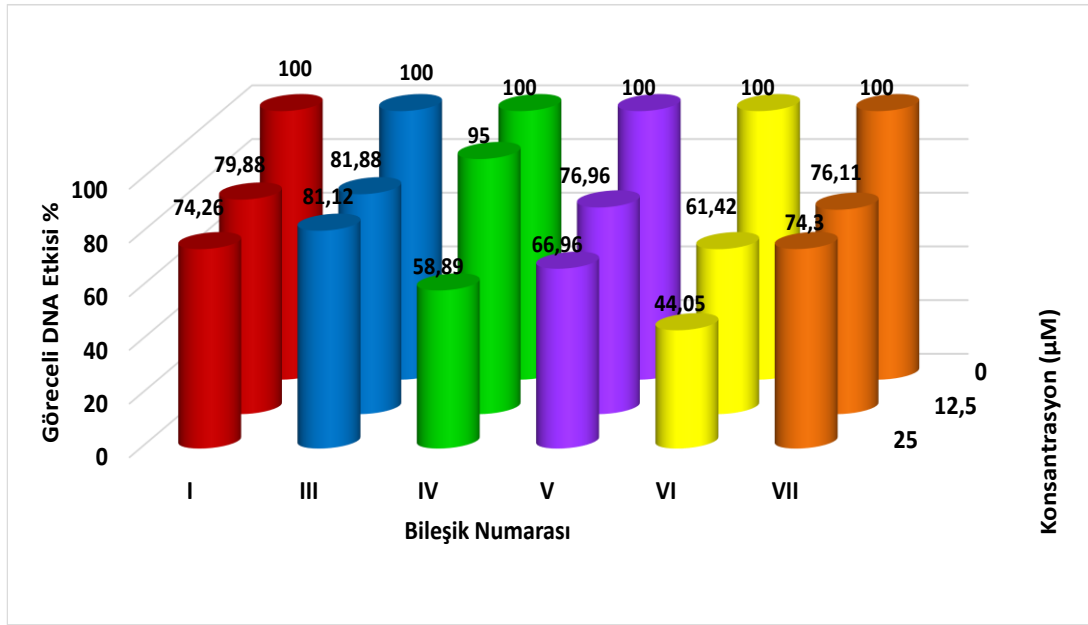
spektrumları yorumlanırken 1200-1400 bölgesi özellikle incelendi. Bileşik **I** ve **II** de P-Cl bağları bulunmaktadır ve klorun elektronegatifliğinin yüksek olması sebebiyle P-N-P titreşim frekans değerleri de artmaktadır [10]. 2850-2950 cm^{-1} aralığında alifatik C-H gerilmeleri, 1710-1720 cm^{-1} aralığında sübstitüe olan paraben gruplarının C=O gerilmeleri, 1500-1600 cm^{-1} aralığında sübstitüe olan 2,2-bifenoksi grupları ve paraben gruplarının aromatik C=C gerilmeleri, 1260-1280 cm^{-1} aralığında P-O bağ gerilmesi, 1150-1230 cm^{-1} aralığında fosfazen halkasının karakteristik P=N gerilmesi [10], 500-600 cm^{-1} aralığında fosfazen halkasına özgü P-Cl bağ gerilmeleri görülmektedir [91]. Sentezlenen bileşiklerin karakteristik FT-IR spektrum verileri Tablo 8.2’de görülmektedir.

Tablo 8.2: Sentezlenen bileşiklerin karakteristik IR spektrum verileri (ν_{max} cm^{-1}).

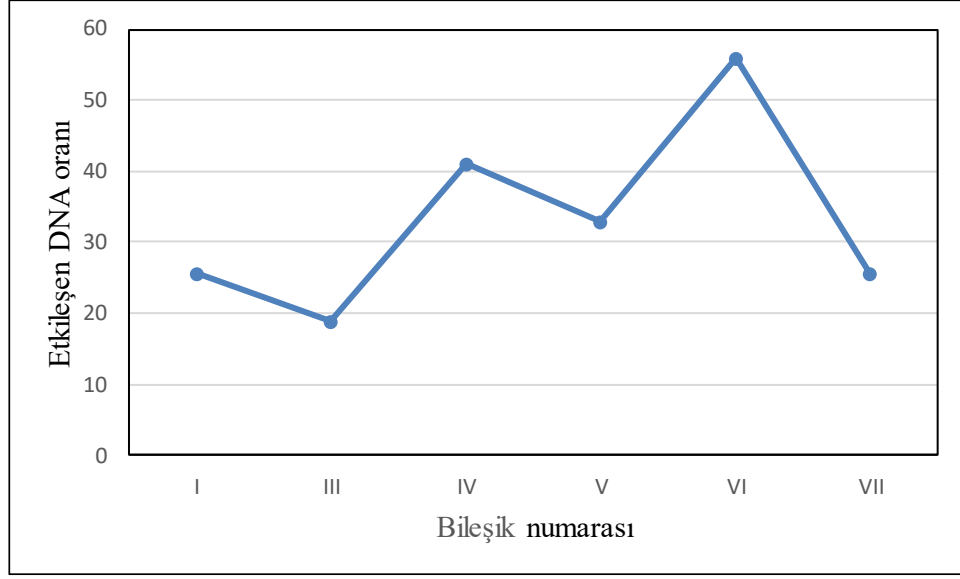
Bileşik No	$\nu_{\text{C-H}}$ Aromatik	$\nu_{\text{C-H}}$ Alifatik	$\nu_{\text{C=O}}$ Aromatik	$\nu_{\text{C=O}}$ Alifatik	$\nu_{\text{C=C}}$ Aromatik	$\nu_{\text{P-O}}$	$\nu_{\text{P=N}}$	$\nu_{\text{P-Cl}}$
I	3066.9-2921.2	-	-		1501.6	1262.4	1169.6	580.1
II	3062.9-3027.5	-	-		1499.8	1281.5	1175.8	583.0
III	3072.4-3000.0	2945.6-2840.5	1714.3	1600.4	1500.9	1273.1	1180.9	-
IV	3072.4	2978.2	1714.3	1600.4	1499.1	1265.9	1157.4	-
V	3068.8-2971.0	2876.8	1717.9	1602.2	1499.1	1269.5	1175.5	-
VI	3072.4-2960.1	2876.8	1714.3	1602.2	1500.9	1264.1	1157.4	-
VII	3065.2-2923.9	2851.4	1716.1	1600.4	1499.1	1264.1	1157.4	-
VIII	3068.8	2851.4	1721.5	1602.2	1502.7	1273.1	1161.0	-
IX	3072.4-2920.2	2851.4	1714.3	1602.2	1500.9	1269.5	1159.2	-
X	3065.2-2920.2	2847.8	1719.7	1600.4	1500.9	1267.7	1157.4	-
XI	3072.4	2869.5	1716.1	1602.2	1500.9	1271.3	1157.4	-
XII	3068.8-2920.2	2851.4	1717.9	1602.2	1499.1	1267.7	1157.4	-

Paraben sübstitüe mono spiro ve di spiro siklotrifosfazen (**III-XII**) bileşikleri ile başlangıç bileşikleri (**I** ve **II**), 12.5 μM ve 25 μM derişimlerde, MiSens elektrokimyasal DNA biyosensör cihazında DNA ile etkileşim analizleri yapıldı. Bu analizlere göre DNA ile etkileşen bütün bileşiklerin 25 μM derişimlerinde en iyi sonuçları verdiği saptandı. Sonuçlar incelendiğinde paraben sübstitüe mono spiro 2,2’-bifenoksi siklotrifosfazen bileşikleri içinde başlangıç bileşiği (**I**)’e oranla en yüksek

DNA etkileşimini %55.95 oranıyla **VI** numaralı bütıl paraben sübstıtüe edılmış bıleşığın verdığı bulundu. şekıl 8.1’de 12.5 μM ve 25 μM konsantrasyonlardakı bıleşıklerin DNA etkileşımı sonucu etkileşıme gırmeden kalan DNA oranları verıldı. 0 μM konsantrasyonda DNA’nın etkileşıme gırebıleceğı bır bıleşık olmadığı için analiz sonucunda %100 sinyal alınmaktadır. 25 μM konsantrasyonunda etkileşıme gıren DNA oranları ise şekıl 8.2’de gösterıldı ve grafıkten de anlaşılacağı üzere en yüksek oranda DNA etkileşımının **VI** numaralı bütıl paraben sübstıtüe 2,2’-bıfenoksi mono spiro siklotrıfosfazen bıleşığıne ait olduğu görüldü.

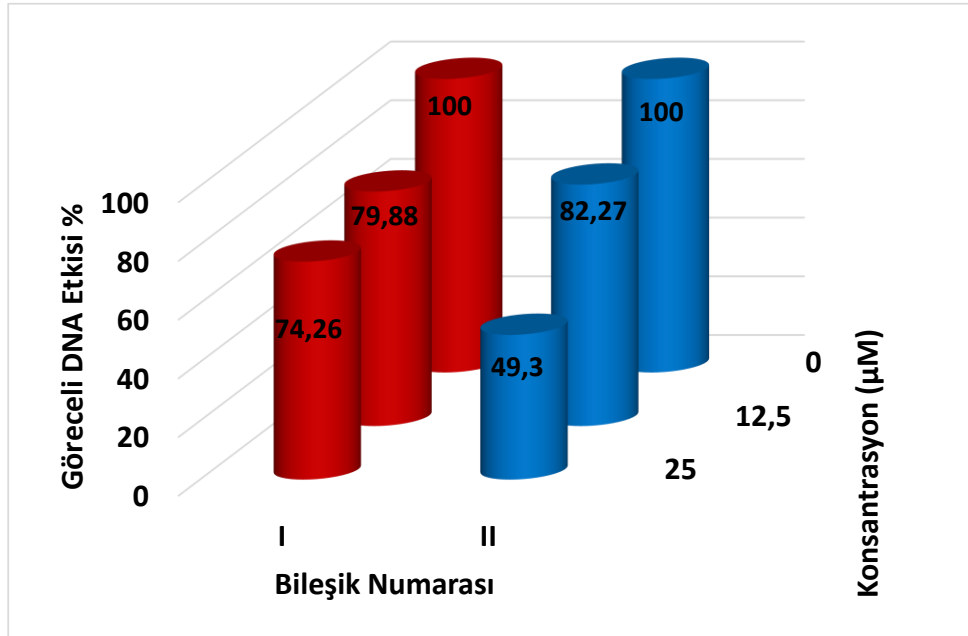


şekıl 8.1: Bıleşık I, III, IV, V, VI, VII’ nın DNA Etkileşım Analızlerı.



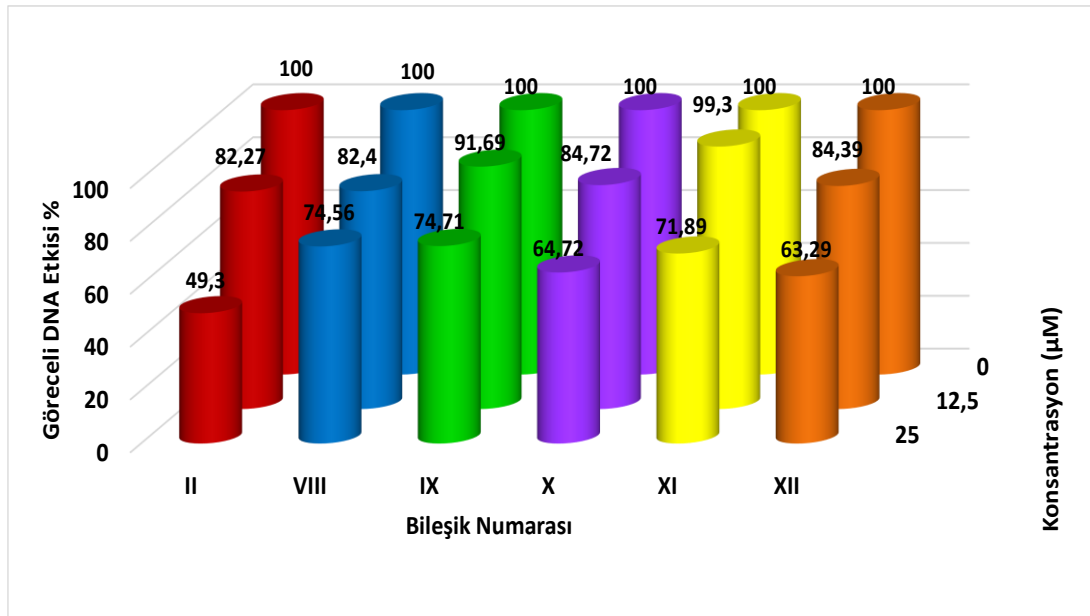
Şekil 8.2: Bileşik I, III, IV, V, VI, VII'nin DNA ile Etkileşen Oranları(C=25 μ M).

Ayrıca başlangıç bileşikler olan I ve II numaralı mono ve dispiro konumda 2,2'-bifenoksi süstitüe siklotrifosfazen bileşiklerinin DNA etkileşim oranlarına bakılırsa 25 μ M derişimde II numaralı bileşiğin daha yüksek oranda DNA ile etkileşimde olduğu anlaşılmaktadır (Şekil 8.3).

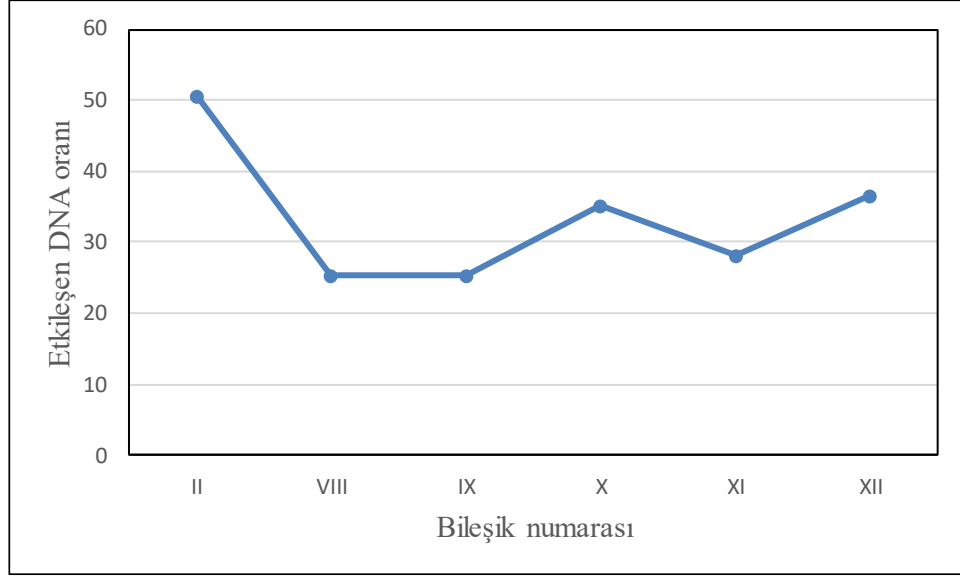


Şekil 8.3: Bileşik I ve II'nin DNA Etkileşim Analizleri.

Paraben sübstitüe 2,2'-bifenoksi dispiro siklotrifosfazen bileşiklerinin 12.5 µM ve 25 µM derişimlerdeki çözeltilerinin DNA ile etkileşim sonuçları Şekil 8.4'te gösterildi. Şekil 8.4 incelendiğinde, başlangıç bileşiğine paraben bileşikleri sübstitüe edildiğinde DNA'ya olan etkinin, başlangıç bileşiği olan dispiro siklotrifosfazen bileşiğine (II) göre azaldığı görüldü. Şekil 8.5'te 25 µM derişiminde bileşiklerin etkileştikleri DNA oranları verildi ve başlangıç bileşiğine oranla DNA'ya etki oranı oldukça düşük gözlemlendi. Bu düşüşe rağmen bileşikler arasında DNA'ya en çok etki eden bileşiğin %36.71 oranla **XII** numaralı benzil paraben sübstitüe edilmiş bileşik olduğu görülmektedir.



Şekil 8.4: Bileşik II, VIII, IX, X, XI, XII'nin DNA Etkileşim Analizleri.



Şekil 8.5: Bileşik II, VIII, IX, X, XI, XII'nin DNA ile Etkileşen Oranları(C=25 μ M).

Başlangıç bileşikleri olan **I** ve **II** için bileşik (I)'in DNA etkileşim oranı 12.5 μ M daha yüksek iken bileşik (II)'nin 25 μ M derişimde DNA ile etkileşim oranı daha yüksektir. Paraben sübstitüe 2,2'-bifenoksi monospiro fosfazen bileşikleri içerisinde en yüksek DNA etkileşim oranı 12.5 μ M ve 25 μ M'lık her iki derişimde de bütıl paraben sübstitüe edilmiş bileşik **VI**'ya aittir. Paraben sübstitüe 2,2'-bifenoksi dispiro fosfazen bileşikleri içerisinde en yüksek DNA etkileşim oranı 25 μ M derişimde benzil paraben sübstitüe edilmiş bileşik **XII**'ye aittir; 12.5 μ M'lık derişimde ise metil paraben sübstitüe edilmiş bileşik **VIII**'e aittir. Literatürde paraben türevleri sübstitüe edilerek sentezlenmiş fosfazen bileşiklerine bakıldığında tamamen paraben sübstitüe floreniliden çift köprülü siklotrifosfazen bileşiğinde bütıl ve benzil paraben sübstitüe edilmiş bileşiklerin yüksek DNA etkileşimine sahip olduğu görölmüştür [89]. Deney sonuçlarına göre bütıl paraben sübstitüe 2,2'-bifenoksi mono spiro siklotrifosfazen (**VI**) ve benzil paraben sübstitüe 2,2'-bifenoksi di spiro siklotrifosfazen (**XII**) bileşiklerinin DNA ile yüksek oranda etkileşim göstermeleri literatür ile uyumludur.

Tez kapsamında, literatürde bulunmayan on yeni bileşik sentezlenmiş ve kütle, FT-IR, ^{31}P NMR, ^1H NMR spektroskopisi ile karakterizasyonları yapılmıştır. İlaç geliştirme aşamaları zorlu ve zaman alıcı bir süreç gerektirir. İlaç aday moleküllerin bulunması için daha hızlı, ekonomik ve hassas ön tarama testleri yapabilen cihazların geliştirilmesi bu anlamda büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla sentezlenen bileşiklerin MiSens biyosensör cihazı ile DNA etkileşim ön tarama testleri yapılmıştır. Sonuçta bütıl ve benzil paraben ile sübstitüe edilmiş başlangıç bileşikleri yüksek

oranda DNA ile etkileşim göstermiştir. Sonuç olarak yüksek DNA etkileşimi gösteren bileşiklerin gelecekteki in vivo çalışmalar için potansiyel aktif bileşikler olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Allcock H.R., R.G.H., Whittle R.R., (1983), "Chromium, Molybdenum and Tungsten Chlorophosphazenes Molecular Structures of $N_3P_3Cl_5[Cr(CO)_3(n-C_5H_5)]$ and $N_3P_3Cl_4(C_5H_5)[Mo(CO)_3(n-C_5H_5)]^{1,2}$ ", Journal of American Chemistry, 106, 5561-5567.
- [2] Shaw R.A., Fitzsimmon B.W., Smith B.C., (1962), "The Phosphazenes (Phosphonitrilic Compounds)", Chem. Rews., 242-281.
- [3] Morford R.V., K.E.C., Hofmann M.A., Baldwin R., Allcock H.R., (2000), "A fire-resistant organophosphorus gel polymer electrolyte additive for use in rechargeable lithium batteries", Solid State Ionics., 171-177.
- [4] Conner D.A., W.D.T., Chang Y., Allcock H.R., (2007), "Influence of Terminal Phenyl Groups on the Side Chains of Phosphazene Polymers: Structure-Property Relationships and Polymer Electrolyte Behavior", Macromolecules., 322-328.
- [5] Klein R.J., W.D.T., Weikel A.L., Allcock H.R. Runt J., (2007), "Counterion Effects on Ion Mobility and Mobile Ion Concentration of Doped Polyphosphazene Ionomers", Macromolecules., 3990-3995.
- [6] Greish Y.E., B.J.D., Lakshmi S., Brown P.W., Allcock H.R., Laurencin C.T. (2005), "Low temperature formation of hydroxyapatite-poly(alkyl oxybenzoate) phosphazene composites for biomedical applications", Biomaterials., 1-9.
- [7] Yılmaz Ö., A.F., Öztürk A.İ., Vanli N.S., Kirbağ S., Arslan M., (2002), "Antimicrobial and biological effects of N-diphenylphosphoryl-P-triphenylmonophosphazene-II and di(o-tolyl)-phosphoryl-P-tri(o-tolyl)monophosphazene-III on bacterial and yeast cells", Bioorganic Chemistry, 303-314.
- [8] Konar V., Yılmaz Ö., Öztürk A.İ., Kırbağ S., Arslan M., (2000), "Antimicrobial and Biological Effects of Bomphos and Phomphos and Bacterial and Yeast Cells", Bioorg. Chem., 214 - 225.
- [9] Brandt K., J.Z., (1985), "New Monospirocyclic Tetrakis(Aziridinyl) Cyclotriphosphazene Derivatives As Potential Antitumor Drugs", Makromolecule Chemistry Suppl., 169-174.
- [10] Allcock H.R., (1972), "Phosphorous- Nitrogen Compounds", NewYork- London: Academic Press.
- [11] Schenk R.a.,R. G., (1924), "Über die Phosphornitrilchloride und ihre Umsetzungen", Chem. Ber., 1343-1355.
- [12] Meyer K.H., Lotmar W., Pankow G.W., (1936), "Sur le chlorure de polyphosphornitrile, caoutchouc, in inorganique", Helv. Chim. Acta., 930-948.

- [13] Brockway L., O. B.W.M., (1943), "The structure of the trimer of phosphonitrile chloride, $P_3N_3Cl_6$ ", J.Am.Chem.Soc, 65:1551-1554.
- [14] Bartell L.S.a.H., R.C., (1959), "Electron diffraction study of the structure of phosphine", J. Chem. Phys., 31:449.
- [15] Allcock H.R.a.K., R.L., (1965), "Synthesis of polymeric alkoxy and aryloxy phosphonitriles", J. Am. Chem. Soc., 87:4216-4217.
- [16] Luana V., Pendas A.M., Costales A., Carriedo G., Garcia-Alonso, (2001), "F.J., J. "Phys. Chem. A. , 105: 5280-5291.
- [17] Dewar M.J.S., L.E.A.C.v.W., M.A., (1960), "The Structure of Phosphonitrilic Halides", J. Am. Chem. Soc., 2423-2429.
- [18] W. A.C., (1991), "Regio and Stereochemical Control in Substitution Reactions of Cyclophosphazenes", Chem. Rev., 119-135.
- [19] Helmmerrick Lucken E.A.C., (1969), "In''Structure and Bonding'', Berlin and New York: Springer Verlag.
- [20] Vicente V., Fruchier A., Cristau, H.J., (2003), "Determination of ^{31}P , ^{31}P coupling constants in cyclotriphosphazenes and their influence on ^1H and ^{13}C NMR spectra of phosphorus substituents.", Magn. Reson. Chem., 183–192.
- [21] Ün Ş.Ş., Uslu A., Yeşilot S., Ün İ., Çoşut B., Yüksel F., Kılıç A., (2011), "The investigation of stereogenic properties of cyclotriphosphazene derivatives with two different chiral centres", Polyhedron, 1587–1594.
- [22] Eçik E.T., (2010), "N3P3[NH(CH2)3O]Cl4 ve N3P3[NH(CH2)3NMe]Cl4 Bileşiklerinin Mono Ve Difonksiyonlu Reaktiflerle Reaksiyonlarında NH-Cis Etkisinin İncelenmesi", Doktora Tezi, Gebze Teknik Üniversitesi.
- [23] Erdener D., (2011), "Anilino Ve Fenoksi Fosfazen Türevlerinin Sentezi, Yapılarının Spektroskopik Yöntemlerle İncelenmesi", Doktora Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi.
- [24] Yıldız M., E.D., Unver H., İskeleli N.O., (2005), "Synthesis and Characterization of Phenoxyposphazenes. Structure of 2,2-[2,2'-methyleylenebis(4-chlorophenoxy)]- 4,4,6,6-tetrachlorocyclo 2[5,4[5,6[5-triphosphazatriene (spiro)", J. Mol. Struct., 753:165-172.
- [25] Yenilmez Çiftçi G., E.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.
- [26] Shaw R.A., (1976), "The Reactions of Halogenocyclophosphazenes with Nitrogenous Bases.", Birkbeck College, University Of London.

- [27] Zerbi G., Sbervegliere G., Gallazi M.C., Faglai G., Anchisini R., (1996), "Polyphosphazene membrane as a very sensitive resistive and capacitive humidity sensor", Int. Meeting on Chem. Sensors.
- [28] Çoşut B., Hacıvelioğlu F., Durmuş M., Kılıç A., Yeşilot S., (2009), "The synthesis, thermal and photophysical properties of phenoxycyclotriphosphazeny-substituted cyclic and polymeric phosphazenes", Polyhedron., 2510 - 2516.
- [29] Nair L., Bhattacharyya S., Bender J.D., Greish Y.E., Brown P.W., Allcock H. R., Laurencin C.T., (2004), "Fabrication and optimization of methylphenoxy substituted polyphosphazene nanofibers for biomedical applications", Biomacromolecules., 2212 - 2220.
- [30] Greish Y.E., Bender J.D., Lakshmi S., Brown P.W., Allcock H.R., Laurencin, C.T., (2005), "Low temperature formation of hydroxyapatite-poly(alkyl oxybenzoate)phosphazene composites for biomedical applications", Biomaterials., 1 - 9.
- [31] Rao M.R., Gayatri G., Kumar A., Sastry G.N., Ravikanth M., (2009), "Cyclophosphazene ring as a platform for multiporphyrin assemblies", Chem. Eur., 3488 - 3496.
- [32] Öztürk A.İ., Yılmaz Ö., Kırbağ S., Arslan M. , (2000), "Antimicrobial and biological effects of ipemphos and amphos on bacterial and yeast strains", Cell Biochem. Funct., 117 - 126.
- [33] Yılmaz Ö., Aslan F., Öztürk A.İ., Vanlı N.S., Kırbağ S., Arslan M., (2002), "Antimicrobial and biological effects of N-diphenylphosphoryl-P-triphenylmonophosphazene- II and di(o-tolyl)-phosphoryl-P-tri(o-tolyl) monophosphazene-III on bacterial and yeast cells", Bioorg. Chem., 303 -314.
- [34] 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., 10102 - 10116.
- [35] Akbaş H., Okumuş A., Kılıç Z., Hökelek T., Süzen Y., Koç Y., Açık L., Çelik Z. B., (2013), "Phosphorus–nitrogen compounds part 27. Syntheses, structural characterizations, antimicrobial and cytotoxic activities, and DNA interactions of new phosphazenes bearing secondary amino and pendant (4-fluorobenzyl)spiro groups", Eur. J. Med. Chem., 70: 294 - 307.
- [36] Neves E.R., Schäfer S., Phillips A., Canejo J., Macedo M.F., (2009), "Antifungal effect of different methyl and propyl paraben mixtures on the treatment of paper biodeterioration", International Biodeterioration & Biodegradation., 267-272.

- [37] Liao X., G.S.V.R., V. A. Yaylayanb, (2002), "A novel way to prepare n-butylparaben under microwave irradiation", *Tetrahedron Letters.*, 45-48.
- [38] Phukan P., P.R., Hazaraki M. K., (2007), "Synthesis of parabens using montmorillonite K10 clay as catalyst: A green protocol", *Indian Journal of Chemical Technology*, 14:104-106.
- [39] Hosangadi B.D., D.R.H., (1996), "An efficient General Method for Esterification of Aromatic Carboxylic Acids", *Tetrahedron Letters.*, 6375-6378.
- [40] Harvey P.W., (2004), "Significance of the detection of esters of phydroxybenzoic acid (parabens) in human breast tumours", *Journal of Applied Toxicology*, 24(1): 1-4.
- [41] Matthews C., Davidson J., Baver E., Morrison J. L., Richardson A. P., (1956), "p-hydroxybenzoic acid esters as preservatives. II. Acute and chronic toxicity in dogs, rats and mice", *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 45:260-267.
- [42] Van Meewen J.A., Van Son O., Piersma A. H., de Jong P.C., Van Den Berg M., (2008), "Aromatase Inhibiting and combined estrogenic effects of other additives in cosmetics", *Toxicology and Applied Pharmacology.*, 372-382
- [43] Andersen F.A., (2008), "Final amended report on the safety assessment of methylparaben, ethylparaben, propylparaben, isopropylparaben, butylparaben, isobutylparaben, and benzylparaben as used in cosmetic products", *International Journal of Toxicology*, 27: 1-82.
- [44] Aubert N., Ameller T., Legrant I. J., (2012), "Systemic exposure to paraben: pharmacokinetics, tissue distribution, excretion balance and plasma metabolites of [14C]-methyl-propyl- and butylparaben in rats after oral, topical or subcutaneous administration", *Food and Chemical Toxicology.*, 445-454.
- [45] Viitanen P.V., Devine A.L., Khan M.S., Deuel D.L., Van Dyk, D.E., Daniel, H., (2004), "Metabolic engineering of the chloroplast genome using the *E. coli* *ubiC* gene reveals that chorismate is a readily abundant plant precursor for phydroxybenzoic acid biosynthesis", *Plant Physiology.*, 4048-4060.
- [46] U. Yogeswaran, S.M.C., (2008), "A Review on the Electrochemical Sensors and Biosensors Composed of Nanowires as Sensing", *Material in Sensors*, 290-313.
- [47] K. Cammam, U.L., A. Rohen, J. Sander, H. Wilken, B. Winter, (1991), "Chemical sensors and biosensors-principles and applications", *Angew. Chem. Int. De. Engl.*, 516-539.
- [48] J.R. Setter, W.R.P., S. Yao, (2003), "Sensors, Chemical Sensors, Electrochemical Sensors and ECS", *Journal of The Electrochemical Society*, 150(2):S11-S16.

- [49] N.R. Stradiotto, H.Y., M.V.B. Zanoni, (2003), "Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry", Journal of Brazilian Society, 14(2): 159-173.
- [50] W. Zhao, J.X., H.Y. Chen, (2017), "Photoelectrochemical Enzymatic Biosensors", Biosensors and Bioelectronics., 294-301.
- [51] A.Rasooly, (2005), "Biosensor Technologies, in Methods", 1-3.
- [52] Cin I., (2007), "Elektrokimyasal Genosensör ile DNA Dizi Tayini", Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ege Üniversitesi: İzmir.
- [53] Coulet P.R., (1991), "Biosensor principles and applications in What is a Biosensors?", P.R.C. L.J. Blum, M. Dekker, Editor. NewYork., 1-6.
- [54] Hall, E.A.H., (1990), "Biosensors in context in Biosensors", Open University Press: İngiltere., 3-30.
- [55] Kissinger, P.T., (2005), "Biosensors a Perspective, Biosensors & Bioelectronics". 2512-2516.
- [56] Wilson E.K., (1998), "Instant DNA Detection", Chem. & Eng. News. 76-47.
- [57] Kökbaş U., L.K., Tuli A., (2013), "Biyosensörler ve Tıpta Kullanım Alanları", Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 499-513.
- [58] S.Eissa, M.Z., (2017), "In vitro Selection of DNA aptamers targeting B-lactoglobulin and their integration in graphene-based biosensor for the detection of milk allergen", Biosensors and Bioelectronics, 169-174.
- [59] D. Song, Y.L., X. Lu, M. Sun, H. Liu, G. Yu, F. Gao, (2017), "Palladium-copper nanowires-based biosensor for the ultrasensitive detection of organophosphate pesticides", Analytica Chimica Acta, 168-175.
- [60] G. Chiti, G.M., M. Macsini, (2001), "Electrochemical DNA biosensor for environmental monitoring", Analytica Chimica Acta., 155.
- [61] F. Lucarelli, I.P., G. Marazza M. Nascini, (2002), "Electrochemical DNA biosensor as a screening tool for the detection of toxicants in water and waste water samples", Talanta., 949-957.
- [62] Taşkiran, A., (2007), "Karbon nanotüp (CNT) temelli karbon pasta elektrotların ksantin biyosensöründe transducer olarak kullanımı", Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi.
- [63] Yalçın G., (2007), "Bazı Kimyasal Maddelerin DNA İle Etkileşmesinin Biyosensör İle Algılanması", Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi
- [64] ÖNER M.M., (2013), "Biyomoleküllerin Elektrokimyasal Biyosensörler ile Algılanması", Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ege Üniversitesi.

- [65] D. Grieshaber, R.M., J. Vörös, E. Reimhult, (2008), "Electrochemical Biosensors-Sensor Principles and Architectures", Sensors., 1400-1458.
- [66] A. Chaubey, B.D.M., (2002), "Mediated Biosensors in Biosensors and Bioelectronics", 441-456.
- [67] D.A. Skoog, F.J.H., S.R. Crouch, (2007), "Principles of Instrumental Analysis", Sixth Edition ed. Belmont: Thomson Brooks/Cole Publishing
- [68] Janata, J., (2009), "Principle of Chemical Sensors", Vol. Conductometric Sensors.
- [69] Topkaya S.N., (2013), "Nükleik aside dayalı elektrokimyasal biyosensörler ile hibridizasyon algılanmasına ait yöntemlerin geliştirilmesi ve uygulanması", Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi,
- [70] Jelen F., Erdem A., Palecek E. , (2002), "Cyclic voltammetry of echinomycin and its interaction with double-stranded and single-stranded DNA adsorbed at the electrode.", Bioelectrochemistry, 165-167.
- [71] Erdem M.M., (2010), "Elektrokimyasal Dna Sensörü İçin Nanomalzemelere Dayalı Elektrot Materyallerinin Geliştirilmesi Ve Uygulamaları", Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi.
- [72] Shitani M., S.S., Akutsu N., Takagi H., Suzuki H., Nojima M., Yamamoto H., Tokino T., Hirata K., Imai K., Toyota M., Shinomura Y., (2012), "Genome-wide analysis of DNA methylation identifies novel cancer-related genes in hepatocellular carcinoma", Tumour Biol., 1307.
- [73] Marrazza G., Chianella I., Mascini M., (1999), "Disposable DNA electrochemical sensor for hybridization detection", Biosens Bioelectron., 43-51.
- [74] Karadeniz H., G.B., Sahinci F., Erdem A., Kaya G. I., Unver N., Kivcak B., Ozsoz M. , (2003), "Disposable electrochemical biosensor for the detection of the interaction between DNA and lycorine based on guanine and adenine signals", J Pharm Biomed Anal., 295-302.
- [75] Morris K. V., C.S.W., Jacobsen S. E., Looney D. J., (2004), "Small interfering RNA-induced transcriptional gene silencing in human cells", Science, 1289-92.
- [76] Çubukçu M., (2008), "Nanokompozitler Ve Elektrokimyasal Biyosensör Uygulamaları", Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi.
- [77] Azmi Telefoncu, A.K., (2013), "Biyosensör Tasarımı ve Uygulamalarındaki Son Gelişmeler". İzmir, Ege Üniversitesi Basım Evi.
- [78] Olcer Z., (2014), "Fast and sensitive detection of mycotoxins in wheat using microfluidics based Real-time Electrochemical Profiling", Biosens Bioelectron., 163-9.

- [79] Uludag Y., Z. Olcer, M.S. Sagiroglu, (2014), "Design and characterisation of a thin-film electrode array with shared reference/counter electrodes for electrochemical detection", *Biosens Bioelectron.*, 85-90.
- [80] G. Yenilmez Çiftçi, E.Ş., S.E. İncir, E. T. Eçik, Y. Zorlu, Z. Ölçer, Y. Uludağ (2017), "Characterization of paraben substituted cyclotriphosphazenes and a DNA interaction study with a real-time electrochemical profiling based biosensor", *Microchimica Acta*.
- [81] Gönül Yenilmez Çiftçi, E.Ş., S.E. İncir, F. Yüksel, Z. Ölçer, T. Yıldırım, A. Kılıç, Y. Uludağ, (2016), "First Paraben Substitued Cyclotetraphosphazene compounds and DNA interaction analysis with a new automated biosensor", *Biosensor and Bioelectronics.*, 331-338.
- [82] Uludag Y., (2016), "Lab-on-a-chip based biosensor for the real-time detection of aflatoxin", *Talanta*, 160: 381-388.
- [83] Naoki Nakajima, Y.İ., (1994), "Mechanism of Amide Formation by Carbodiimide for Bioconjugation in Aqueous Media", *Bioconjugate Chem.*, 123-130.
- [84] Z. Ölçer, E.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*, 426-432.
- [85] Tanaka M., "Lateral Correlation and Diffusion of Membrane-Associated Proteins on Biological Membrane Surfaces", *Fine-Structures*.
- [86] Grieshaber D., M.R., Vörös J., Reimhult E., (2008), "Electrochemical Biosensors-Sensor Principles and Architectures", *Sensors.*, 1400-1458.
- [87] Eker Y., (2018), "Kumarin substitüe siklotrifosfazen bileşiklerinin sentezi ve özelliklerinin incelenmesi", *Doktora Tezi, Gebze Teknik Üniversitesi*.
- [88] Josephy P. D., E.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.*, 3669-3675.
- [89] Şenkuytu E., Y.T., Ölçer Z., Uludağ Y., Yenilmez Çiftçi G., (2018), "DNA interaction analysis of fluorenylidene double bridged cyclotriphosphazene derivatives", *İnorganica Chimica Acta.*,219-226.
- [90] Y.Uludağ, Z.Ö., C.Doğan, T. Muhammad,Z.Altıntaş, (2019), "Rapid and on-site electrochemical detection of bisphenol A and arsenic in drinking water using a novel electrode array", *Turkish Journal of Chemistry*, 43: 239-250.
- [91] Menendez J.R., C.G.A., Garcia-Alonso F. J., Clavijo E., Nazri M., Aroca R., (1999), "Vibrational Spectra of Cyclic Phosphazenes", *Journal of Raman Spectroscopy*, 30:1121-1125.

ÖZGEÇMİŞ

Nadide AKBAŞ 07.07.1987 yılında Kırşehir’de doğdu. 2009 yılında Dokuz Eylül Üniversitesi Buca Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü’nden mezun oldu. 2011 yılında Milli Eğitim Bakanlığı’nda öğretmen olarak göreve başladı. 2016 yılında Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda Prof.Dr. Gönül YENİLMEZ ÇİFTÇİ ve Dr. Elif ŞENKUYTU danışmanlıklarında yüksek lisans öğrenimine başladı. Türkiye’nin çeşitli bölgelerinde çalışmakla beraber halen Milli Eğitim Bakanlığı’ndaki görevine devam etmektedir.

EKLER

Ek A: Tez Çalışması Kapsamında Yapılan Uluslararası Bildiriler

AKBAŞ N., (2018), “Structural Properties and Characterisation of Paraben Substituted Dispiro Cyclotriphosphazenes”, 1st International Euroasian Conference on Biological and Chemical Science, Ankara, Türkiye, 26-27 Nisan.

AKBAŞ N., (2018), “Paraben Substituted Dispiro Cyclotriphosphazenes DNA Interactions and Structural Properties”, 1st International Euroasian Conference on Biological and Chemical Science, Ankara, Türkiye, 26-27 Nisan.

AKBAŞ N., (2019), “Paraben Substituted Dispiro/Monospiro Cyclotriphosphazenes: Structural Properties, Synthesis and DNA Interactions”, 21st JCF Fröhjahrssymposium and 2nd European Young Chemists’ Meeting, Bremen, Germany, 20-23 March.

Ek B: Bileşik III’e Ait Tek Kristal X-Işınları Kırınımı Ölçümünden Elde Edilen Veriler

Table B1.1. Sample and crystal data for III.

Identification code	17gtu174_BP17ES_03_A
Chemical formula	C ₄₄ H ₃₆ N ₃ O ₁₄ P ₃
Formula weight	923.67 g/mol
Temperature	296(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal size	0.132 x 0.279 x 0.424 mm
Crystal habit	clear colourless block
Crystal system	monoclinic
Space group	P 1 21/c 1
Unit cell dimensions	a = 8.6660(5) Å α = 90° b = 22.8807(13) Å β = 90.322(3)° c = 21.5107(11) Å γ = 90°
Volume	4265.2(4) Å ³
Z	4
Density (calculated)	1.438 g/cm ³
Absorption coefficient	0.213 mm ⁻¹
F(000)	1912

Table B1.2. Data collection and structure refinement for III.

Theta range for data collection	2.95 to 25.00°
Index ranges	-10≤h≤10, -27≤k≤24, -25≤l≤25
Reflections collected	31652
Independent reflections	7383 [R(int) = 0.0431]
Coverage of independent reflections	98.1%
Absorption correction	multi-scan
Max. and min. transmission	0.9700 and 0.8600
Structure solution technique	direct methods
Structure solution program	SHELXTL V6.14 (Bruker AXS)
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Refinement program	SHELXTL V6.14 (Bruker AXS)
Function minimized	$\Sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2$
Data / restraints / parameters	7383 / 36 / 592
Goodness-of-fit on F²	1.030
$\Delta/\sigma_{\max}$	0.001
Final R indices	5805 data; R1 = 0.0550, wR2 = 0.1401 I>2σ(I) all data R1 = 0.0723, wR2 = 0.1492
Weighting scheme	w=1/[σ ² (F _o ²)+(0.0701P) ² +3.9599P] where P=(F _o ² +2F _c ²)/3
Largest diff. peak and hole	0.651 and -0.653 eÅ ⁻³
R.M.S. deviation from mean	0.055 eÅ ⁻³

Table B1.3. Atomic coordinates and equivalent isotropic atomic displacement parameters ($\text{\AA}^2$) for III.

	x/a	y/b	z/c	U(eq)
C1	0.8889(3)	0.70409(12)	0.65857(12)	0.0375(7)
C2	0.0326(4)	0.67814(14)	0.65742(15)	0.0511(8)
C3	0.1191(4)	0.68088(17)	0.60378(17)	0.0620(10)
C4	0.0616(4)	0.70972(17)	0.55262(16)	0.0584(9)
C5	0.9200(4)	0.73626(15)	0.55474(14)	0.0480(8)
C6	0.8290(3)	0.73431(12)	0.60788(12)	0.0366(7)
C7	0.6742(3)	0.76161(12)	0.60800(12)	0.0368(7)
C8	0.5828(4)	0.76234(15)	0.55414(14)	0.0484(8)
C9	0.4402(4)	0.78879(17)	0.55286(16)	0.0582(9)
C10	0.3836(4)	0.81489(16)	0.60485(16)	0.0570(9)
C11	0.4703(4)	0.81553(14)	0.65881(14)	0.0475(8)
C12	0.6135(3)	0.78951(12)	0.65969(12)	0.0365(6)
C13	0.6532(3)	0.60724(12)	0.88579(14)	0.0401(7)
C14	0.7431(4)	0.59279(14)	0.93566(15)	0.0501(8)
C15	0.8284(4)	0.54230(14)	0.93402(15)	0.0520(8)
C16	0.8254(4)	0.50680(13)	0.88224(14)	0.0435(7)
C17	0.7353(4)	0.52277(15)	0.83166(15)	0.0527(8)
C18	0.6474(4)	0.57310(14)	0.83332(15)	0.0509(8)
C19	0.9209(4)	0.45297(15)	0.88319(16)	0.0510(8)
C20	0.0115(5)	0.37275(19)	0.8263(2)	0.0826(13)
C21	0.0941(3)	0.68479(13)	0.89104(13)	0.0398(7)
C22	0.1243(4)	0.65306(14)	0.94331(14)	0.0481(8)
C23	0.1916(4)	0.59869(14)	0.93828(15)	0.0512(8)
C24	0.2246(4)	0.57568(14)	0.88061(15)	0.0473(8)
C25	0.1927(4)	0.60888(16)	0.82844(16)	0.0610(10)
C26	0.1294(4)	0.66372(16)	0.83336(15)	0.0583(9)
C27	0.2962(4)	0.51728(15)	0.87331(18)	0.0561(9)
C28	0.4358(5)	0.44241(17)	0.9223(2)	0.0835(13)
C29	0.3918(3)	0.80326(13)	0.88176(14)	0.0398(7)
C30	0.3278(4)	0.81901(15)	0.82603(14)	0.0530(8)
C31	0.2657(4)	0.87387(16)	0.82002(15)	0.0574(9)
C32	0.2642(4)	0.91221(15)	0.86947(16)	0.0529(8)
C33	0.3309(5)	0.89496(16)	0.92472(17)	0.0687(11)
C34	0.3942(5)	0.84042(15)	0.93115(16)	0.0600(10)
C35	0.1903(5)	0.97065(18)	0.8654(2)	0.0696(11)
C36	0.0369(8)	0.0328(3)	0.8039(3)	0.143(3)
C37	0.8310(4)	0.88095(13)	0.89003(14)	0.0449(7)

Table B1.3. Atomic coordinates and equivalent isotropic atomic displacement parameters ($\text{\AA}^2$) for III'ün devamı.

	x/a	y/b	z/c	U(eq)
C38	0.7722(5)	0.89912(17)	0.83476(17)	0.0719(12)
C39	0.6890(6)	0.95022(19)	0.8324(2)	0.0837(13)
C40	0.6649(6)	0.98296(17)	0.8846(2)	0.0838(12)
C41	0.7198(7)	0.96271(19)	0.9392(2)	0.1002(17)
C42	0.8051(6)	0.91190(17)	0.94283(18)	0.0824(14)
C43	0.5815(9)	0.0384(3)	0.8847(4)	0.1285(14)
C44A	0.4720(14)	0.1151(4)	0.8350(5)	0.124(3)
C44B	0.4243(18)	0.1138(5)	0.9065(7)	0.123(3)
N1	0.6041(3)	0.72023(10)	0.79344(10)	0.0386(6)
N2	0.8908(3)	0.76668(10)	0.79708(10)	0.0368(6)
N3	0.7405(3)	0.74370(11)	0.90229(11)	0.0406(6)
O2	0.7964(2)	0.69411(8)	0.71111(8)	0.0412(5)
O3	0.7061(2)	0.79648(8)	0.71295(8)	0.0385(5)
O4	0.0407(2)	0.74188(9)	0.89913(9)	0.0443(5)
O5	0.9268(2)	0.83211(9)	0.89558(9)	0.0464(5)
O6	0.4412(2)	0.74568(9)	0.89154(10)	0.0464(5)
O7	0.5540(2)	0.65550(9)	0.89057(10)	0.0456(5)
O8	0.1813(5)	0.00290(15)	0.90811(18)	0.1278(15)
O9	0.1223(4)	0.97976(15)	0.81164(15)	0.1034(11)
O10	0.2973(4)	0.49035(12)	0.82558(14)	0.0833(9)
O11	0.3627(3)	0.49905(10)	0.92544(12)	0.0653(7)
O12	0.9081(3)	0.42199(11)	0.83161(12)	0.0679(7)
O13	0.0012(4)	0.43816(13)	0.92570(13)	0.0830(9)
O14	0.5400(6)	0.05569(19)	0.8314(2)	0.1549(15)
O15	0.5500(6)	0.06648(17)	0.9280(2)	0.1446(15)
P1	0.74886(9)	0.74407(3)	0.75780(3)	0.0331(2)
P2	0.88896(9)	0.76915(3)	0.87019(3)	0.0347(2)
P3	0.59603(9)	0.71837(3)	0.86645(3)	0.0350(2)

*U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

Table B1.4. Bond lengths (Å) for III.

C1-C2	1.380(4)	C1-C6	1.389(4)
C1-O2	1.408(3)	C2-C3	1.381(5)
C2-H2	0.93	C3-C4	1.375(5)
C3-H3	0.93	C4-C5	1.370(5)
C4-H4	0.93	C5-C6	1.393(4)
C5-H5	0.93	C6-C7	1.480(4)
C7-C12	1.388(4)	C7-C8	1.400(4)
C8-C9	1.376(5)	C8-H8	0.93
C9-C10	1.362(5)	C9-H9	0.93
C10-C11	1.379(4)	C10-H10	0.93
C11-C12	1.377(4)	C11-H11	0.93
C12-O3	1.404(3)	C13-C14	1.363(4)
C13-C18	1.373(4)	C13-O7	1.404(3)
C14-C15	1.372(5)	C14-H14	0.93
C15-C16	1.379(4)	C15-H15	0.93
C16-C17	1.384(4)	C16-C19	1.484(4)
C17-C18	1.381(5)	C17-H17	0.93
C18-H18	0.93	C19-O13	1.194(4)
C19-O12	1.321(4)	C20-O12	1.444(4)
C20-H20A	0.96	C20-H20B	0.96
C20-H20C	0.96	C21-C22	1.363(4)
C21-C26	1.367(4)	C21-O4	1.397(3)
C22-C23	1.378(4)	C22-H22	0.93
C23-C24	1.379(4)	C23-H23	0.93
C24-C25	1.382(5)	C24-C27	1.482(5)
C25-C26	1.374(5)	C25-H25	0.93
C26-H26	0.93	C27-O10	1.197(4)
C27-O11	1.325(4)	C28-O11	1.444(4)
C28-H28A	0.96	C28-H28B	0.96
C28-H28C	0.96	C29-C34	1.361(4)
C29-C30	1.367(4)	C29-O6	1.401(3)
C30-C31	1.372(5)	C30-H30	0.93
C31-C32	1.379(5)	C31-H31	0.93
C32-C33	1.376(5)	C32-C35	1.485(5)
C33-C34	1.370(5)	C33-H33	0.93
C34-H34	0.93	C35-O8	1.181(5)
C35-O9	1.312(5)	C36-O9	1.431(5)
C36-H36A	0.96	C36-H36B	0.96
C36-H36C	0.96	C37-C38	1.356(5)

Table B1.4. Bond lengths (Å) for III' ün devamı.

C37-C42	1.358(5)	C37-O5	1.397(4)
C38-C39	1.375(5)	C38-H38	0.93
C39-C40	1.367(6)	C39-H39	0.93
C40-C41	1.348(6)	C40-C43	1.460(6)
C41-C42	1.380(6)	C41-H41	0.93
C42-H42	0.93	C43-O15	1.166(7)
C43-O14	1.264(7)	C44A-O14	1.484(8)
C44A-H44A	0.96	C44A-H44B	0.96
C44A-H44C	0.96	C44B-O15	1.603(11)
C44B-H44D	0.96	C44B-H44E	0.96
C44B-H44F	0.96	N1-P1	1.572(2)
N1-P3	1.573(2)	N2-P2	1.574(2)
N2-P1	1.576(2)	N3-P2	1.575(3)
N3-P3	1.577(2)	O2-P1	1.578(2)
O3-P1	1.5819(19)	O4-P2	1.580(2)
O5-P2	1.575(2)	O6-P3	1.578(2)
O7-P3	1.573(2)		

Table B1.5. Bond angles (°) for III.

C2-C1-C6	122.2(3)	C2-C1-O2	117.5(3)
C6-C1-O2	119.9(3)	C1-C2-C3	119.3(3)
C1-C2-H2	120.3	C3-C2-H2	120.3
C4-C3-C2	119.6(3)	C4-C3-H3	120.2
C2-C3-H3	120.2	C5-C4-C3	120.5(3)
C5-C4-H4	119.8	C3-C4-H4	119.8
C4-C5-C6	121.6(3)	C4-C5-H5	119.2
C6-C5-H5	119.2	C1-C6-C5	116.7(3)
C1-C6-C7	122.9(3)	C5-C6-C7	120.4(3)
C12-C7-C8	116.3(3)	C12-C7-C6	122.9(2)
C8-C7-C6	120.8(3)	C9-C8-C7	121.7(3)
C9-C8-H8	119.1	C7-C8-H8	119.1
C10-C9-C8	120.3(3)	C10-C9-H9	119.9
C8-C9-H9	119.9	C9-C10-C11	119.9(3)
C9-C10-H10	120.0	C11-C10-H10	120.0
C12-C11-C10	119.6(3)	C12-C11-H11	120.2
C10-C11-H11	120.2	C11-C12-C7	122.2(3)
C11-C12-O3	118.2(3)	C7-C12-O3	119.3(3)
C14-C13-C18	121.8(3)	C14-C13-O7	118.7(3)
C18-C13-O7	119.2(3)	C13-C14-C15	119.3(3)

Table B1.5. Bond angles (°) for III' ün devamı.

C13-C14-H14	120.3	C15-C14-H14	120.3
C14-C15-C16	120.6(3)	C14-C15-H15	119.7
C16-C15-H15	119.7	C15-C16-C17	119.2(3)
C15-C16-C19	118.0(3)	C17-C16-C19	122.8(3)
C18-C17-C16	120.5(3)	C18-C17-H17	119.7
C16-C17-H17	119.7	C13-C18-C17	118.6(3)
C13-C18-H18	120.7	C17-C18-H18	120.7
O13-C19-O12	122.5(3)	O13-C19-C16	124.6(3)
O12-C19-C16	112.9(3)	O12-C20-H20A	109.5
O12-C20-H20B	109.5	H20A-C20-H20B	109.5
O12-C20-H20C	109.5	H20A-C20-H20C	109.5
H20B-C20-H20C	109.5	C22-C21-C26	121.2(3)
C22-C21-O4	117.2(3)	C26-C21-O4	121.2(3)
C21-C22-C23	119.7(3)	C21-C22-H22	120.1
C23-C22-H22	120.1	C22-C23-C24	120.3(3)
C22-C23-H23	119.8	C24-C23-H23	119.8
C23-C24-C25	118.6(3)	C23-C24-C27	121.9(3)
C25-C24-C27	119.5(3)	C26-C25-C24	121.2(3)
C26-C25-H25	119.4	C24-C25-H25	119.4
C21-C26-C25	118.9(3)	C21-C26-H26	120.5
C25-C26-H26	120.5	O10-C27-O11	123.9(3)
O10-C27-C24	124.1(4)	O11-C27-C24	112.0(3)
O11-C28-H28A	109.5	O11-C28-H28B	109.5
H28A-C28-H28B	109.5	O11-C28-H28C	109.5
H28A-C28-H28C	109.5	H28B-C28-H28C	109.5
C34-C29-C30	121.6(3)	C34-C29-O6	117.9(3)
C30-C29-O6	120.1(3)	C29-C30-C31	118.8(3)
C29-C30-H30	120.6	C31-C30-H30	120.6
C30-C31-C32	121.0(3)	C30-C31-H31	119.5
C32-C31-H31	119.5	C33-C32-C31	118.6(3)
C33-C32-C35	119.2(3)	C31-C32-C35	122.2(3)
C34-C33-C32	121.0(3)	C34-C33-H33	119.5
C32-C33-H33	119.5	C29-C34-C33	119.1(3)
C29-C34-H34	120.5	C33-C34-H34	120.5
O8-C35-O9	123.7(4)	O8-C35-C32	123.2(4)
O9-C35-C32	112.7(4)	O9-C36-H36A	109.5
O9-C36-H36B	109.5	H36A-C36-H36B	109.5
O9-C36-H36C	109.5	H36A-C36-H36C	109.5
H36B-C36-H36C	109.5	C38-C37-C42	120.7(3)

Table B1.5. Bond angles (°) for III' ün devamı.

C38-C37-O5	122.7(3)	C42-C37-O5	116.5(3)
C37-C38-C39	119.2(4)	C37-C38-H38	120.4
C39-C38-H38	120.4	C40-C39-C38	121.2(4)
C40-C39-H39	119.4	C38-C39-H39	119.4
C41-C40-C39	118.3(4)	C41-C40-C43	118.0(5)
C39-C40-C43	123.8(5)	C40-C41-C42	121.7(4)
C40-C41-H41	119.2	C42-C41-H41	119.2
C37-C42-C41	118.9(4)	C37-C42-H42	120.6
C41-C42-H42	120.6	O15-C43-O14	119.1(5)
O15-C43-C40	126.7(7)	O14-C43-C40	114.1(6)
O14-C44A-H44A	109.5	O14-C44A-H44B	109.5
H44A-C44A-H44B	109.5	O14-C44A-H44C	109.5
H44A-C44A-H44C	109.5	H44B-C44A-H44C	109.5
O15-C44B-H44D	109.5	O15-C44B-H44E	109.5
H44D-C44B-H44E	109.5	O15-C44B-H44F	109.5
H44D-C44B-H44F	109.5	H44E-C44B-H44F	109.5
P1-N1-P3	122.45(15)	P2-N2-P1	122.39(15)
P2-N3-P3	124.73(15)	C1-O2-P1	123.05(17)
C12-O3-P1	122.86(17)	C21-O4-P2	126.58(17)
C37-O5-P2	125.42(19)	C29-O6-P3	125.52(18)
C13-O7-P3	123.52(18)	C35-O9-C36	117.8(4)
C27-O11-C28	115.6(3)	C19-O12-C20	115.8(3)
C43-O14-C44A	110.4(6)	C43-O15-C44B	107.6(7)
N1-P1-N2	118.36(12)	N1-P1-O2	105.73(12)
N2-P1-O2	111.93(13)	N1-P1-O3	112.06(13)
N2-P1-O3	104.94(11)	O2-P1-O3	102.83(10)
N2-P2-O5	112.10(12)	N2-P2-N3	115.95(13)
O5-P2-N3	110.81(13)	N2-P2-O4	111.51(13)
O5-P2-O4	93.06(11)	N3-P2-O4	111.16(13)
O7-P3-N1	111.46(12)	O7-P3-N3	111.09(13)
N1-P3-N3	116.00(13)	O7-P3-O6	92.89(11)
N1-P3-O6	111.92(13)	N3-P3-O6	111.19(13)

Table B1.6. Torsion angles (°) for III.

C6-C1-C2-C3	-1.6(5)	O2-C1-C2-C3	172.2(3)
C1-C2-C3-C4	0.5(5)	C2-C3-C4-C5	0.8(6)
C3-C4-C5-C6	-1.0(5)	C2-C1-C6-C5	1.3(4)
O2-C1-C6-C5	-172.3(2)	C2-C1-C6-C7	179.0(3)
O2-C1-C6-C7	5.4(4)	C4-C5-C6-C1	0.0(5)
C4-C5-C6-C7	-177.8(3)	C1-C6-C7-C12	38.3(4)
C5-C6-C7-C12	-144.1(3)	C1-C6-C7-C8	-144.1(3)
C5-C6-C7-C8	33.5(4)	C12-C7-C8-C9	-0.6(5)
C6-C7-C8-C9	-178.3(3)	C7-C8-C9-C10	-0.4(5)
C8-C9-C10-C11	0.9(6)	C9-C10-C11-C12	-0.2(5)
C10-C11-C12-C7	-0.9(5)	C10-C11-C12-O3	173.0(3)
C8-C7-C12-C11	1.3(4)	C6-C7-C12-C11	178.9(3)
C8-C7-C12-O3	-172.6(3)	C6-C7-C12-O3	5.1(4)
C18-C13-C14-C15	-1.1(5)	O7-C13-C14-C15	173.2(3)
C13-C14-C15-C16	0.9(5)	C14-C15-C16-C17	0.2(5)
C14-C15-C16-C19	179.7(3)	C15-C16-C17-C18	-1.1(5)
C19-C16-C17-C18	179.5(3)	C14-C13-C18-C17	0.2(5)
O7-C13-C18-C17	-174.1(3)	C16-C17-C18-C13	0.9(5)
C15-C16-C19-O13	-0.3(5)	C17-C16-C19-O13	179.2(4)
C15-C16-C19-O12	179.3(3)	C17-C16-C19-O12	-1.2(5)
C26-C21-C22-C23	-0.1(5)	O4-C21-C22-C23	-173.6(3)
C21-C22-C23-C24	-1.7(5)	C22-C23-C24-C25	1.7(5)
C22-C23-C24-C27	-179.7(3)	C23-C24-C25-C26	0.0(5)
C27-C24-C25-C26	-178.6(3)	C22-C21-C26-C25	1.7(5)
O4-C21-C26-C25	175.0(3)	C24-C25-C26-C21	-1.7(6)
C23-C24-C27-O10	163.5(4)	C25-C24-C27-O10	-17.9(6)
C23-C24-C27-O11	-18.3(5)	C25-C24-C27-O11	160.3(3)
C34-C29-C30-C31	0.5(5)	O6-C29-C30-C31	173.2(3)
C29-C30-C31-C32	-1.5(6)	C30-C31-C32-C33	2.0(6)
C30-C31-C32-C35	-176.6(4)	C31-C32-C33-C34	-1.5(6)
C35-C32-C33-C34	177.1(4)	C30-C29-C34-C33	-0.1(6)
O6-C29-C34-C33	-172.9(3)	C32-C33-C34-C29	0.6(6)
C33-C32-C35-O8	-2.4(7)	C31-C32-C35-O8	176.2(5)
C33-C32-C35-O9	-175.6(4)	C31-C32-C35-O9	3.0(6)
C42-C37-C38-C39	1.7(7)	O5-C37-C38-C39	-174.8(4)
C37-C38-C39-C40	0.1(7)	C38-C39-C40-C41	-2.6(8)
C38-C39-C40-C43	178.1(6)	C39-C40-C41-C42	3.3(9)
C43-C40-C41-C42	-177.3(6)	C38-C37-C42-C41	-1.0(7)
O5-C37-C42-C41	175.7(4)	C40-C41-C42-C37	-1.6(8)

Table B1.6. Torsion angles (°) for III'ün devamı.

C41-C40-C43-O15	-4.0(11)	C39-C40-C43-O15	175.3(7)
C41-C40-C43-O14	176.9(6)	C39-C40-C43-O14	-3.7(10)
C2-C1-O2-P1	114.6(3)	C6-C1-O2-P1	-71.5(3)
C11-C12-O3-P1	112.9(3)	C7-C12-O3-P1	-73.0(3)
C22-C21-O4-P2	-125.9(3)	C26-C21-O4-P2	60.5(4)
C38-C37-O5-P2	-52.9(4)	C42-C37-O5-P2	130.5(3)
C34-C29-O6-P3	-109.0(3)	C30-C29-O6-P3	78.1(4)
C14-C13-O7-P3	96.6(3)	C18-C13-O7-P3	-89.0(3)
O8-C35-O9-C36	2.2(8)	C32-C35-O9-C36	175.3(4)
O10-C27-O11-C28	-1.6(5)	C24-C27-O11-C28	-179.8(3)
O13-C19-O12-C20	-7.4(5)	C16-C19-O12-C20	173.0(3)
O15-C43-O14-C44A	7.2(12)	C40-C43-O14-C44A	-173.7(7)
O14-C43-O15-C44B	13.0(11)	C40-C43-O15-C44B	-166.0(9)
P3-N1-P1-N2	0.2(2)	P3-N1-P1-O2	126.54(17)
P3-N1-P1-O3	-122.16(17)	P2-N2-P1-N1	-3.2(2)
P2-N2-P1-O2	-126.51(16)	P2-N2-P1-O3	122.68(17)
C1-O2-P1-N1	160.3(2)	C1-O2-P1-N2	-69.5(2)
C1-O2-P1-O3	42.7(2)	C12-O3-P1-N1	-67.4(2)
C12-O3-P1-N2	162.9(2)	C12-O3-P1-O2	45.7(2)
P1-N2-P2-O5	-124.71(17)	P1-N2-P2-N3	3.9(2)
P1-N2-P2-O4	132.47(17)	C37-O5-P2-N2	69.4(3)
C37-O5-P2-N3	-61.9(3)	C37-O5-P2-O4	-175.9(2)
P3-N3-P2-N2	-1.8(3)	P3-N3-P2-O5	127.42(18)
P3-N3-P2-O4	-130.56(18)	C21-O4-P2-N2	-59.3(3)
C21-O4-P2-O5	-174.5(2)	C21-O4-P2-N3	71.8(3)
C13-O7-P3-N1	68.5(3)	C13-O7-P3-N3	-62.5(3)
C13-O7-P3-O6	-176.6(2)	P1-N1-P3-O7	-126.69(17)
P1-N1-P3-N3	1.8(2)	P1-N1-P3-O6	130.80(17)
P2-N3-P3-O7	127.73(18)	P2-N3-P3-N1	-0.9(3)
P2-N3-P3-O6	-130.30(18)	C29-O6-P3-O7	-174.6(2)
C29-O6-P3-N1	-60.1(3)	C29-O6-P3-N3	71.5(3)

Table B1.7. Anisotropic atomic displacement parameters ($\text{\AA}^2$) for III.

	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
C1	0.0484(18)	0.0336(15)	0.0306(14)	-0.0051(11)	0.0048(13)	-0.0060(13)
C2	0.061(2)	0.0476(19)	0.0452(18)	-0.0009(14)	- 0.0001(16)	0.0072(16)
C3	0.050(2)	0.075(3)	0.061(2)	-0.0042(19)	0.0101(18)	0.0104(18)
C4	0.053(2)	0.077(3)	0.0446(19)	0.0015(17)	0.0145(16)	-0.0003(18)
C5	0.0471(19)	0.064(2)	0.0333(16)	0.0019(14)	0.0056(14)	-0.0073(16)
C6	0.0414(17)	0.0402(16)	0.0282(14)	-0.0035(11)	0.0011(12)	-0.0119(13)
C7	0.0406(17)	0.0413(16)	0.0285(14)	0.0002(12)	0.0020(12)	-0.0120(13)
C8	0.0477(19)	0.066(2)	0.0314(16)	-0.0087(14)	- 0.0031(14)	-0.0074(16)
C9	0.048(2)	0.082(3)	0.0436(19)	-0.0054(17)	- 0.0135(16)	-0.0030(18)
C10	0.047(2)	0.070(2)	0.054(2)	0.0023(17)	- 0.0030(16)	0.0050(17)
C11	0.054(2)	0.0485(18)	0.0406(17)	-0.0002(14)	0.0077(15)	0.0009(15)
C12	0.0455(17)	0.0360(15)	0.0280(14)	0.0031(11)	- 0.0012(12)	-0.0087(13)
C13	0.0423(17)	0.0351(15)	0.0430(16)	0.0089(13)	0.0084(14)	-0.0040(13)
C14	0.063(2)	0.0451(18)	0.0427(17)	-0.0016(14)	- 0.0006(16)	-0.0008(16)
C15	0.058(2)	0.0517(19)	0.0463(18)	0.0035(15)	- 0.0082(16)	0.0014(16)
C16	0.0414(17)	0.0446(17)	0.0447(17)	0.0058(14)	0.0045(14)	-0.0002(13)
C17	0.062(2)	0.053(2)	0.0431(18)	-0.0034(15)	0.0011(16)	0.0087(16)
C18	0.057(2)	0.055(2)	0.0406(17)	0.0052(15)	- 0.0028(15)	0.0068(16)
C19	0.052(2)	0.053(2)	0.0480(19)	0.0062(16)	0.0050(16)	0.0055(16)
C20	0.087(3)	0.078(3)	0.083(3)	-0.012(2)	0.003(2)	0.040(2)
C21	0.0353(16)	0.0427(16)	0.0413(16)	-0.0040(13)	- 0.0059(13)	-0.0006(13)
C22	0.052(2)	0.0537(19)	0.0382(16)	-0.0034(14)	0.0021(14)	0.0036(15)
C23	0.053(2)	0.0504(19)	0.0496(19)	0.0074(15)	0.0008(16)	0.0040(15)
C24	0.0399(17)	0.0475(18)	0.0544(19)	-0.0056(15)	- 0.0018(15)	0.0000(14)
C25	0.072(2)	0.066(2)	0.0458(19)	-0.0163(17)	- 0.0088(18)	0.0140(19)
C26	0.073(2)	0.062(2)	0.0396(18)	-0.0060(15)	- 0.0107(17)	0.0172(18)
C27	0.047(2)	0.049(2)	0.072(2)	-0.0060(18)	0.0029(18)	0.0011(15)
C28	0.079(3)	0.056(2)	0.116(4)	0.014(2)	0.018(3)	0.019(2)
C29	0.0368(16)	0.0409(16)	0.0417(16)	0.0067(13)	0.0088(13)	0.0018(13)
C30	0.067(2)	0.054(2)	0.0378(17)	-0.0052(14)	0.0014(16)	0.0094(17)
C31	0.070(2)	0.065(2)	0.0373(17)	0.0036(16)	- 0.0024(16)	0.0171(18)

Table B1.7. Anisotropic atomic displacement parameters ($\text{\AA}^2$) for III'ün devamı.

	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
C32	0.055(2)	0.0505(19)	0.054(2)	0.0061(16)	0.0029(16)	0.0064(16)
C33	0.093(3)	0.058(2)	0.054(2)	-0.0133(17)	-0.017(2)	0.014(2)
C34	0.081(3)	0.056(2)	0.0432(18)	-0.0003(16)	-0.0143(18)	0.0126(19)
C35	0.077(3)	0.056(2)	0.077(3)	0.008(2)	0.004(2)	0.018(2)
C36	0.144(6)	0.105(4)	0.181(6)	0.048(4)	0.026(5)	0.067(4)
C37	0.0525(19)	0.0327(16)	0.0496(18)	-0.0057(13)	0.0019(15)	-0.0029(14)
C38	0.109(3)	0.056(2)	0.051(2)	-0.0066(17)	-0.006(2)	0.023(2)
C39	0.110(4)	0.063(3)	0.077(3)	0.013(2)	-0.004(3)	0.027(2)
C40	0.103(3)	0.046(2)	0.103(3)	0.007(2)	0.035(3)	0.022(2)
C41	0.164(5)	0.058(3)	0.079(3)	-0.011(2)	0.031(3)	0.033(3)
C42	0.138(4)	0.056(2)	0.052(2)	-0.0092(18)	0.002(2)	0.019(3)
C43	0.171(3)	0.075(2)	0.140(3)	0.020(2)	0.044(3)	0.052(2)
C44A	0.172(6)	0.084(5)	0.116(5)	-0.002(4)	-0.024(5)	0.081(5)
C44B	0.167(7)	0.069(5)	0.132(6)	-0.011(5)	0.009(6)	0.073(5)
N1	0.0404(14)	0.0435(14)	0.0319(12)	0.0005(10)	0.0008(11)	-0.0089(11)
N2	0.0398(14)	0.0399(13)	0.0309(12)	0.0018(10)	0.0052(10)	-0.0071(10)
N3	0.0484(16)	0.0489(15)	0.0246(12)	0.0007(10)	0.0048(11)	-0.0058(12)
O2	0.0621(14)	0.0312(10)	0.0305(10)	-0.0007(8)	0.0096(9)	-0.0038(9)
O3	0.0583(13)	0.0315(10)	0.0256(9)	0.0002(8)	-0.0035(9)	-0.0042(9)
O4	0.0488(13)	0.0417(11)	0.0424(12)	-0.0061(9)	-0.0115(10)	0.0032(9)
O5	0.0532(13)	0.0374(11)	0.0485(12)	-0.0080(9)	-0.0086(10)	-0.0005(10)
O6	0.0448(12)	0.0421(12)	0.0525(13)	0.0100(10)	0.0153(10)	0.0058(9)
O7	0.0461(12)	0.0391(11)	0.0516(13)	0.0112(9)	0.0154(10)	0.0007(9)
O8	0.192(4)	0.076(2)	0.114(3)	-0.032(2)	-0.027(3)	0.061(3)
O9	0.123(3)	0.094(2)	0.093(2)	0.0266(18)	0.009(2)	0.058(2)
O10	0.102(2)	0.0641(17)	0.084(2)	-0.0241(15)	-0.0039(17)	0.0171(16)
O11	0.0653(16)	0.0515(14)	0.0792(18)	0.0039(12)	0.0027(14)	0.0132(12)
O12	0.0761(18)	0.0646(16)	0.0629(16)	-0.0080(13)	-0.0049(13)	0.0274(13)
O13	0.098(2)	0.086(2)	0.0655(17)	0.0019(15)	-0.0168(16)	0.0405(17)
O14	0.212(4)	0.109(3)	0.145(3)	0.012(2)	0.030(3)	0.090(3)
O15	0.194(3)	0.084(2)	0.156(3)	0.005(2)	0.046(3)	0.070(2)
P1	0.0436(4)	0.0307(4)	0.0250(4)	0.0002(3)	0.0021(3)	-0.0048(3)
P2	0.0406(4)	0.0342(4)	0.0294(4)	-0.0016(3)	-0.0018(3)	-0.0022(3)
P3	0.0396(4)	0.0344(4)	0.0311(4)	0.0043(3)	0.0064(3)	-0.0011(3)

*The anisotropic atomic displacement factor exponent takes the form: $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12}]$

Table B1.8. Hydrogen atomic coordinates and isotropic atomic displacement parameters ($\text{\AA}^2$) for III.

	x/a	y/b	z/c	U(eq)
H2	1.0708	0.6590	0.6924	0.061
H3	1.2158	0.6633	0.6023	0.074
H4	1.1191	0.7112	0.5163	0.07
H5	0.8838	0.7561	0.5198	0.058
H8	0.6194	0.7445	0.5183	0.058
H9	0.3823	0.7888	0.5163	0.07
H10	0.2866	0.8323	0.6040	0.068
H11	0.4322	0.8334	0.6944	0.057
H14	0.7465	0.6169	0.9704	0.06
H15	0.8889	0.5319	0.9681	0.062
H17	0.7340	0.4994	0.7963	0.063
H18	0.5857	0.5836	0.7996	0.061
H20A	1.1163	0.3863	0.8274	0.124
H20B	0.9923	0.3528	0.7878	0.124
H20C	0.9946	0.3464	0.8603	0.124
H22	1.0997	0.6680	0.9822	0.058
H23	1.2147	0.5774	0.9740	0.061
H25	1.2144	0.5938	0.7893	0.073
H26	1.1109	0.6861	0.7980	0.07
H28A	1.3591	0.4130	0.9144	0.125
H28B	1.4867	0.4343	0.9611	0.125
H28C	1.5102	0.4423	0.8894	0.125
H30	0.3263	0.7930	0.7928	0.064
H31	0.2239	0.8854	0.7820	0.069
H33	0.3330	0.9207	0.9582	0.082
H34	0.4382	0.8290	0.9687	0.072
H36A	-0.0250	1.0396	0.8400	0.215
H36B	-0.0288	1.0296	0.7679	0.215
H36C	0.1071	1.0648	0.7984	0.215
H38	0.7879	0.8773	0.7989	0.086
H39	0.6483	0.9627	0.7945	0.1
H41	0.6996	0.9835	0.9754	0.12
H42	0.8443	0.8991	0.9808	0.099
H44A	0.3671	1.1140	0.8206	0.186
H44B	0.5304	1.1414	0.8096	0.186
H44C	0.4747	1.1284	0.8774	0.186
H44D	0.4582	1.1521	0.9185	0.184
H44E	0.3274	1.1054	0.9259	0.184
H44F	0.4121	1.1122	0.8621	0.184

Table B1.9. Hydrogen bond distances (Å) and angles (°) for III.

	Donor-H	Acceptor-H	Donor Acceptor	Angle
C26-H26...N2	0.93	2.65	3.228(4)	120.7
C38-H38...N2	0.93	2.68	3.302(4)	124.7
C44A-H44A...O2	0.96	2.41	3.105(8)	128.7