



**3-AMİNO-1-HETARİLFLOREN/FLORENON VE TÜREVLERİNİN
SENTEZİ, FOTOFİZİKSEL ÖZELLİKLERİNİN VE ÇİFT SARMAL/G4-
DNA'YA KARŞI ETKİLEŞİM MEKANİZMALARININ SPEKTROSKOPİK
YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

Halil DUYAR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2019

Halil DUYAR tarafından hazırlanan “3-AMİNO-1-HETARİLFLOREN/FLORENON VE TÜREVLERİNİN SENTEZİ, FOTOFİZİKSEL ÖZELLİKLERİNİN VE ÇİFT SARMAL/G4-DNA’YA KARŞI ETKİLEŞİM MEKANİZMALARININ SPEKTROSKOPİK YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Zeynel SEFEROĞLU

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Başkan: Prof. Dr. Hülya ŞENÖZ

Kimya Ana Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Doç. Dr. Ebru AKTAN

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi: 28/06/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Halil DUYAR

28/06/2019

3-AMİNO-1-HETARİLFLOREN/FLORENON VE TÜREVLERİNİN SENTEZİ,
FOTOFİZİKSEL ÖZELLİKLERİNİN VE ÇİFT SARMAL/G4-DNA'YA KARŞI
ETKİLEŞİM MEKANİZMALARININ SPEKTROSKOPİK YÖNTEMLERLE

BELİRLENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Halil DUYAR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2019

ÖZET

Önemli fotofiziksel özelliklere sahip floren/florenon temelli bileşiklerin çift sarmal ve G4-DNA'ya karşı ilgilerinin olduğu bilinmektedir. Bundan dolayı son yıllarda floren/florenon ana iskeletini içeren yeni bileşiklerin sentezi fonksiyonel boyar madde konusunda çalışan organik kimyacıların ilgisini çekmektedir. Bu doğrultuda tez kapsamında, 3-Amino-1-hetaril-2,6-disiyano temelli bileşiklerin desiyanyasyonu sonucu 4 adet 3-Amino-1-hetarilfloren ve alkillenmiş türevlerinin sentezi literatüre kazandırılmıştır. Desiyanyasyon tepkimesi sonucunda hedef ürünlerin yanında elde edilen alkillenmiş ürünler çeşitli çözücü karışımları kullanılarak kolon kromatografisi yöntemiyle birbirlerinden ve hedef ürünlerden ayrılmış ve yapıları FT-IR (ATR), ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HR-MS ve X-ışını kristallografisi yöntemleriyle karakterize edilmiştir. Seçilen bazı bileşiklerin fotofiziksel özellikleri farklı polariteye sahip çözücüler (ACN, MeOH, DCM ve PhMe) içerisinde incelenmiş, kuantum verimleri, molar absorpsiyon katsayıları ve Stokes kaymaları belirlenmiştir. Ayrıca, 3-Amino-1-(2-, 3-, 4-piridil)floren ve florenon bileşiklerinin katyonik ve amit türevlerinin çift sarmal DNA ve G4-DNA ile kovalent olmayan etkileşim mekanizmalarının ve ilgilerinin belirlenmesi çalışmaları için Ultraviyole-Görünür Bölge (UV-GB), floresan spektroskopisi (FL), termal bozunma ve guanince zengin dizilimler ile etkileşim çalışmaları için Floresans Rezonans Enerji Transferi (FRET) deneyleri yapılmıştır. Bileşiklerin her iki DNA çeşidiyle etkileşim çalışmaları sonuçlarından yararlanılarak bağlanma sabiti, seçiciliği, bağlanma türü ve bağlanma ilgisi belirlenmeye çalışılmıştır. Katyonik amit türevi floren bileşiğinin guanince zengin F21T ve 22AG kodlu oligonükleotidler ile etkileştiği görülmüş ve T_m değerinde kayda değer bir artışa (6,2 °C) sebep olmuştur.

Bilim Kodu : 20114

Anahtar Kelimeler : Floren/florenon, 3-Amino-1-hetaril-2,6-disiyanofloren, 3-Amino-1-hetarilfloren, 3-Amino-1-hetarilflorenon, Fotofiziksel özellikler, UV-GB, Çift sarmal DNA, G4-DNA, Termal bozunma, FRET.

Sayfa Adedi : 168

Danışman : Prof. Dr. Zeynel SEFEROĞLU

THE SYNTHESIS OF 3-AMINO-1-HETARYLFLUORENE/FLUORENONE AND
DERIVATIVES, SPECTROSCOPIC DETERMINATION OF PHOTOPHYSICAL
PROPERTIES AND INTERACTION MECHANISMS FOR DOUBLE HELIX/G4-DNA

(M. Sc. Thesis)

Halil DUYAR

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2019

ABSTRACT

It is known that fluorene/fluorenone-based compounds with important photophysical properties have double helix and G4-DNA affinity. Therefore, in recent years, the synthesis of new compounds containing the main skeleton of fluorene/fluorenone has attracted the attention of organic chemists working on functional dyestuffs. In this context, the synthesis of 4 piece of 3-Amino-1-hetarylfluorene and alkylated derivatives was acquired in the literature as a result of the decyanation of 3-Amino-1-hetaryl-2,6-dicyano based compounds within the scope of the thesis. The alkylated products obtained by the decyanation reaction as well as main products were separated from each other and the main products using various solvent mixtures and their structures were characterized by from each other by column chromatography using various solvent mixtures and characterized by FT-IR (ATR), ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HR-MS and X-ray crystallography methods. The photophysical properties of some selected compounds were investigated in solvents with different polarity (ACN, MeOH, DCM and PhMe), quantum yields, molar absorption coefficients and Stokes shifts were determined. Furthermore, in order to determine the interaction mechanisms and interests of the cationic and amide derivatives of 3-amino-1-(2-, 3-, 4-pyridyl) compounds with double helix DNA and G4-DNA, Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) experiments were conducted for interaction studies with Ultraviolet-visible region (UV-GB), fluorescence spectroscopy (FL), thermal degradation and guanine-rich sequences. Binding constant, selectivity, binding type and binding affinity were determined by using the results of interaction studies of the compounds with both DNA types. The cationic amide derivatives have been observed to interact with guanine-rich F21T and 22AG coded oligonucleotides and have resulted in a significant increase in TM value (6.2 °C).

Science Code : 20114

Key Words : Fluorene/fluorenone, 3-Amino-1-hetaryl-2,6-dicyanofluorene, 3-Amino-1-hetarylfluorene, 3-Amino-1-hetarylfluorenone, Photophysical properties, UV-GB, Double helix DNA, G4-DNA, Thermal denaturation, FRET

Page Number : 168

Supervisor : Prof. Dr. Zeynel SEFEROĞLU

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasını yapabilmem için gerekli tüm olanakları sağlayan, derin bilgi ve tecrübesiyle beni her zaman destekleyen ve akademik hayata adım atmama vesile olan değerli hocam Sayın Prof.Dr. Zeynel SEFEROĞLU'na en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince yardımını hiç esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Ergin YALÇIN'a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tüm Gazi Üniversitesi Kimya Bölümü öğretim üyelerine, yıllardır aynı laboratuvarı paylaştığım pek kıymetli arkadaşlarım Tuğçe AKSUNGUR, Emine ÇATAL, Deniz ÇAKMAZ, Dr. Ebru GÜLŞEN, Dr. Burcu AYDINER, Ergin KELEŞ'e ve değerli dostum Onur Doğu GÜMÜŞ'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın önemli bir kısmı olan biyomoleküllerle etkileşim konularında öncülük eden ve laboratuvar imkânlarından faydalanmamı sağlayan Siegen Üniversitesi Kimya bölümünden Prof. Dr. Heiko IHMELS ve çalışma grubuna çok teşekkür ederim.

113Z704 nolu 1001 araştırma projesi ile desteklenmemi sağlayan TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Hep yanımda olan ve varlığından güç aldığım fekadar eşim Ezel'e, çok büyük desteğiyle yazdığım bu tez için teşekkür ederim.

Bütün yaşantım boyunca maddi ve manevi hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, bana her türlü konuda destek olan canım annem Hülya DUYAR ve babam Tevfik DUYAR'a ne kadar teşekkür etsem azdır.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xx
1. GİRİŞ.....	1
2. DEOKSİRİBONÜKLEİK ASİT (DNA)	5
2.1. DNA Arka Planı: Nasıl ve Neden DNA'yı Hedef Alıyoruz?	5
2.2. Çift Sarmal DNA ve Keşfinin Gizli Tarihi	6
2.3. G-quadruplex Deoksiribonükleik Asit (G4-DNA).....	9
2.3.1. G4-DNA'nın biyolojik aktivitesi: telomer ve telomeraz	11
2.4. Ligand-G4-DNA (quadruplex) Etkileşimleri	11
2.5. Ligand-G4-DNA Etkileşimlerini Değerlendirmek İçin Yöntemler	13
2.5.1. UV-GB absorpsiyon spektroskopisi	14
2.5.2. Fotometrik ve florimetrik spektroskopisi	16
2.5.3. İzotermal kalorimetri (ITC)	16
2.5.4. Dairesel dikroizm (CD) spektroskopisi.....	16
2.5.5. Kütle spektrometresi	17
2.5.6. NMR spektroskopisi	18
2.5.7. Floresans rezonans enerji transferi (FRET) analizi.....	19

	Sayfa
3. DESİYANİZASYON TEPKİMESİ	21
3.1. Desiyanizasyon Sırasında Gerçekleşen Beklenmeyen Alkillenmiş Ürünler.....	23
3.1.1. Desiyanizasyon reaksiyonuna çözücü etkisi	23
3.2. Çift Sarmal ve G4-DNA ile Etkileşen Floren ve Florenon Türevleri.....	24
4. ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
4.1. Materyal ve Yöntem.....	31
4.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	31
4.2. Kullanılan Cihazlar	31
4.2.1. Karakterizasyon için kullanılan cihazlar	31
4.2.2. DNA-ligand etkileşim mekanizmalarının belirlenmesi çalışmaları için kullanılan cihazlar ve uygulanan metod.....	32
4.3. Yöntem.....	33
4.3.1. DNA/RNA tampon çözeltilerinin hazırlanması	33
4.3.2. DNA stok çözeltilerinin hazırlanması	33
4.3.3. Scatchard eşitliği	34
5. DENEYSEL KISIM.....	35
5.1. 3-Amino-1-(hetaril)-2,4-disiyanofloren bileşiklerinin sentezi (I-IV)	35
5.2. Desiyanizasyon reaksiyonu ile 3-Amino-1-(2-, 3-, 4-piridil, 2-tiyenil) floren bileşiklerinin sentezi.....	36
5.3. 3-Amino-1-(2,3,4-piridil, 2-tiyenil)floren bileşiklerinin sentezi.....	37
5.3.1. 3-Amino-1-(2-tiyenil)-9H-floren (1) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	38
5.3.2. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren (2) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	39
5.3.3. 3-Amino-1-(3-piridil)-9H-floren (3) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	40

5.3.4. 3-Amino-1-(2-piridil)-9H-floren (4) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	40
5.4. 3-Amino-1-(2,3,4-piridil, 2-tiyenil)floren bileşiklerinin sentezi.....	41
5.4.1. 3-Amino-9-metil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (5) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	42
5.4.2. 3-Amino-9-etil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (6) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	44
5.4.3. 3-Amino-N-etil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (7) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	45
5.4.4. 3-Amino-9-propil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (8) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	46
5.4.5. 3-Amino-9-metil-1-(4-piridil)-9H-floren (9) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	48
5.4.6. 3-Amino-N,9-dimetil-1-(4-piridil)-9H-floren (10) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	49
5.4.7. 3-Amino-9-etil-1-(4-piridil)-9H-floren (11) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	50
5.4.8. 3-Amino-N-etil-1-(4-piridil)-9H-floren (12) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	51
5.4.9. 3-Amino-N,9-dietil-1-(4-piridil)-9H-floren (13) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	52
5.4.10. 3-Amino-9-propil-1-(4-piridil)-9H-floren (14) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	53
5.4.11. 3-Amino-N-propil-1-(4-piridil)-9H-floren (15) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	54
5.4.12. 3-Amino-N,9-dipropil-1-(4-piridil)-9H-floren (16) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması.....	55
5.4.13. 3-Amino-9-propil-1-(3-piridil)-9H-floren (17) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	57
5.4.14. 3-Amino-N,9-dipropil-1-(3-piridil)-9H-floren (18) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması.....	57

Sayfa

5.4.15. 3-Amino-9-etil-1-(2-piridil)-9H-floren (19) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	59
5.5. 3-Amino-1-(4-piridil)-9-florenon (20) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması	60
5.6. 3-(3-(alkilamino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (21-25) sentezi	62
5.6.1. 3-(3-(Pirolidino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (22) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi	63
5.6.2. 3-(3-(piperidino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (23) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi	64
5.6.3. 3-(3-(morfolino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (24) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi	65
5.6.4. 3-(3-(N-Metilpiperazino)propanamido)-1-(4-piridil)- 9H-floren (25) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi	65
5.7. Desiyanyasyon Sonrası Metilleme Reaksiyonları ile Kuarterner Amonyum Tuzlarının Eldesi	66
5.7.1. 3-Amino-1-(4-N-metilpiridinyum)-9H-floren (26) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi	67
5.7.2. 3-Amino-1-(4-N-metilpiridinyum)-9-okso-floren (27) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi	68
5.7.3. 3-(3-(piperidino)propanamido)-1-(4-N-metilpiridinyumil)- 9H-floren iyodür (28) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi	69
6. TARTIŞMALAR	71
7. SEÇİLEN BAZI BİLEŞİKLERİN FARKLI DNA TÜRLERİ İLE ETKİLEŞİM ÇALIŞMALARI	77
7.1. FRET Deneyleri	77
7.2. Bileşik 26, 27 ve 28'in ct-DNA ile Spektrofotometrik Titrasyonu.....	80
7.3. Bileşik 26, 27 ve 28'in ct-DNA ve 22AG ile Spektroflorimetrik Titrasyonu.....	82
7.4. G4-FID Deneyleri	83
7.5. Seçilen Bileşiklerin (2, 3, 4, 6, 9, 11 ve 13) Fotofiziksel Özellikleri.....	84

8. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	93
KAYNAKLAR	99
EKLER.....	105
EK-1. Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, HR-MS spektrumları	106
EK-1. Bileşik 12 – 20'nin FT-IR, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, HR-MS spektrumları.....	133
EK-1. Bileşik 12 – 20'nin FT-IR, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, HR-MS spektrumları.....	151
ÖZGEÇMİŞ	167

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 5.1. Tez kapsamında desiyanizasyon tepkimelerinde kullanılan 3-Amino-1-(hetaril)- 2,4-disiyanofloren bileşiklerinin molekül yapıları	35
Çizelge 5.2. Desiyanizasyon tepkimesinin optimizasyonu için uygulanan reaksiyon koşulları [59-62].....	36
Çizelge 5.3. Desiyanizasyon reaksiyonu sonucu elde edilen hedef bileşiklerin verimleri.....	37
Çizelge 5.4. 1 ve 5-8 bileşiklerinin saflaştırmalarıyla ilgili detaylar	42
Çizelge 5.5. 2 ve 9-16 bileşiklerinin saflaştırmalarıyla ilgili detaylar	47
Çizelge 5.6. 3 ve 17,18 bileşiklerinin saflaştırmalarıyla ilgili detaylar	56
Çizelge 5.7. 4 ve 19 bileşiklerinin saflaştırmalarıyla ilgili detaylar	59
Çizelge 7.1. Sentezlenen katyonik floren/florenon türevleri	77
Çizelge 7.2. Bileşik 28'in F21T ile FRET sonuçları	78
Çizelge 7.3. Bileşik 2'ye ait fotofiziksel özellikler.....	85
Çizelge 7.4. Bileşik 3'e ait fotofiziksel özellikler.....	86
Çizelge 7.5. Bileşik 4'e ait fotofiziksel özellikler.....	87
Çizelge 7.6. Bileşik 6'ya ait fotofiziksel özellikler.....	88
Çizelge 7.7. Bileşik 9'a ait fotofiziksel özellikler.....	89
Çizelge 7.8. Bileşik 11'e ait fotofiziksel özellikler.....	90
Çizelge 7.9. Bileşik 13'e ait fotofiziksel özellikler.....	91

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Tez kapsamında sentezlenen 3-amino-1-(hetaril)- floren/florenon türevleri.....	3
Şekil 2.1. DNA ile etkileşen ve ticari olarak satılan bazı ilaçlar	6
Şekil 2.2. 51 no'lu röntgen filmi.....	7
Şekil 2.3. DNA'yı oluşturan bazlar ve fosfat-şeker omurgası ve β formu	8
Şekil 2.4. A) A-DNA; B) B-DNA; C) Z-DNA yapılarıdır. Şeker-fosfat omurgasındaki atomlar kırmızı ve yeşil renkte, bazlar pembe ve mavi renkte, fosfor siyah renkte simgelemektedir.....	8
Şekil 2.5. G4-DNA yapısı. A: G-dörtlüsü, B: paralel quadrupleks oluşumu.....	9
Şekil 2.6. G-dörtlüsü düzenlenmesi. Oluk bölgelerine sin ve anti konformasyon kaynaklı farklılıklar.....	10
Şekil 2.7. G4-DNA'da farklı olası konformasyonların temsili A: antiparalel B: paralel C: melez-1, D: melez-2 ve E: 2-tetrad antiparalel [23]	10
Şekil 2.8. DNA-Ligand etkileşimlerinin şematik gösterimi. A: interkalasyon; B: oluk bağlanma; C: omurga ile ilişkilendirme (veya dört katlılıkta döngü); D: π -istiflenen üstteki π -yüzeyinde (sadece G4-DNA'da).....	12
Şekil 2.9. G4-DNA'yı kararlı kılan bazı ligandlar.....	13
Şekil 2.10. Etidyum bromür bileşiğinin DNA ile etkileşiminin UV-GB spektrumunda gözlenmesi	15
Şekil 2.11. EtBzMe ligandının CD spektroskopisi kullanılarak (A): 1-6 eşdeğer (B): 10-25 eşdeğer ligand, r: EtBzMe / G4 oranı [50].....	17
Şekil 2.12. Azatrux (içindekiler) arasında 1/1 ve 2/1 oranında oluşan bir kompleksin ESI-MS spektrumu [51].....	18
Şekil 2.13. TMPyP4 ve quadrupleks arasında oluşturulan bir kompleksin karşılaştırmalı yapısal çalışmaları: (A) X-ışını kırınım spektroskopisi kullanılarak elde edilen yapı (B) TMPyP4 ile c-myc quadrupleks, NMR spektroskopisi ile elde edilen yapı	19
Şekil 2.14. Verici olarak FAM (F) ve alıcı olarak TAMRA (T) kullanılarak FRET analizinin şematik gösterimi. (A) donörden alıcıya alıcıya enerji aktarımı , (B) dörtlü kaynağın erimesinden sonra enerji transferi olmaz.....	20

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. 5-Amino-m-terfenil türevli bileşiklerin sentezi	21
Şekil 3.2. Biaril türevli bileşiklerin desiyanyasyon reaksiyonu.....	22
Şekil 3.3. 3,5-Di(tiyofen-2-il)anilin bileşiğinin sentezi	22
Şekil 3.4. Floren halkasının 9 konumunun disproporsiyonlanma ile alkillenmesi üzerine önerilen mekanizma	24
Şekil 3.5. Ticari olarak satılan 2,7-bis[2-(dietilamino)etoksi]-9-florenon dihidroklorür (tiloron dihidroklorür) bileşiği	25
Şekil 3.6. 2,7-bis-[(dialkilamino)-asetilamino]-9-florenon bileşikleri	26
Şekil 3.7. DNA'ya interkalasyon ile bağlanan 4-karboksamid-9-florenon bileşikleri ...	26
Şekil 3.8. Tübülün proteini bağlayıcısı 2,7-disüstitüye florenon türevleri	27
Şekil 3.9. Aday florenon karboksamit G-quadrupleks bileşikleri.....	27
Şekil 3.10. Küçük oluk bağlayıcı 2,7-bis-2-aminoimidazolinyum-9H-floren	28
Şekil 3.11. Floren iskeletine sahip solvatokromik özellik gösteren 7-dietilamino- 9,9-dimetil- 9H-floren-2-karbaldehit	28
Şekil 3.12. Desiyanyasyon reaksiyonu sonrası oluşan hedef ve alkillenmiş ürünlerin şematik gösterimi	30
Şekil 5.1. Tez kapsamında desiyanyasyon tepkimelerinde kullanılan 3-Amino-1-(hetaril)-2,4-disiyanyofloren bileşiklerinin sentez şeması [76]	35
Şekil 5.2. Desiyanyasyon tepkimesi	38
Şekil 5.3. 3-Amino-1-(2-tiyenil)-9H-floren (1) bileşiğinin yapısı.....	38
Şekil 5.4. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren (2) bileşiğinin yapısı	39
Şekil 5.5. 3-Amino-1-(3-piridil)-9H-floren (3) bileşiğinin yapısı	40
Şekil 5.6. 3-Amino-1-(2-piridil)-9H-floren (4) bileşiğinin yapısı	41
Şekil 5.7. I numaralı bileşiğin birincil alkollerle (sırasıyla metanol, etanol ve propanol) yapılan desiyanyasyon reaksiyonu sonucu elde edilen ürünler	42
Şekil 5.8. 3-Amino-1-(2-tiyenil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin metanol ile desiyanyasyon reaksiyonu.....	43
Şekil 5.9. 3-Amino-9-metil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (5) bileşiğinin yapısı	43

Şekil	Sayfa
Şekil 5.10. 3-Amino-1-(2-tiyenil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin etanol ile desiyанизasyon reaksiyonu.....	44
Şekil 5.11. 3-Amino-9-etil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (6) bileşiğinin yapısı	44
Şekil 5.12. 3-Amino-N-etil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (7) bileşiğinin yapısı	45
Şekil 5.13. 3-Amino-1-(2-tiyenil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin propanol ile desiyанизasyon reaksiyonu.....	46
Şekil 5.14. 3-Amino-9-propil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (8) bileşiğinin yapısı.....	46
Şekil 5.15. II numaralı bileşiğin birincil alkollerle (sırasıyla metanol, etanol ve propanol) yapılan desiyанизasyon reaksiyonu sonucu elde edilen ürünler.	47
Şekil 5.16. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin metanol ile desiyанизasyon reaksiyonu.....	48
Şekil 5.17. 3-Amino-9-metil-1-(4-piridil)-9H-floren (9) bileşiğinin yapısı	48
Şekil 5.18. 3-Amino-N,9-dimetil-1-(4-piridil)-9H-floren (10) bileşiğinin yapısı	49
Şekil 5.19. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin etanol ile desiyанизasyon reaksiyonu.....	50
Şekil 5.20. 3-Amino-9-etil-1-(4-piridil)-9H-floren (11) bileşiğinin yapısı	50
Şekil 5.21. 3-Amino-N-etil-1-(4-piridil)-9H-floren (12) bileşiğinin yapısı.....	51
Şekil 5.22. 3-Amino-N,9-dietil-1-(4-piridil)-9H-floren (13) bileşiğinin yapısı	52
Şekil 5.23. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin propanol ile desiyанизasyon reaksiyonu.....	53
Şekil 5.24. 3-Amino-9-propil-1-(4-piridil)-9H-floren (14) bileşiğinin yapısı	53
Şekil 5.25. 3-Amino-N-propil-1-(4-piridil)-9H-floren (15) bileşiğinin yapısı	54
Şekil 5.26. 3-Amino-N,9-dipropil-1-(4-piridil)-9H-floren (16) bileşiğinin yapısı	55
Şekil 5.27. III numaralı bileşiğin birincil alkollerle (sırasıyla metanol, etanol ve propanol) yapılan desiyанизasyon reaksiyonu sonucu elde edilen ürünler..	56
Şekil 5.28. 3-Amino-1-(3-piridil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin propanol ile desiyанизasyon reaksiyonu.....	56
Şekil 5.29. 3-Amino-9-propil-1-(3-piridil)-9H-floren (17) bileşiğinin yapısı	57

Şekil	Sayfa
Şekil 5.30. 3-Amino-N,9-dipropil-1-(3-piridil)-9H-floren (18) bileşiğinin yapısı	58
Şekil 5.31. IV numaralı bileşiğin birincil alkollerle (sırasıyla metanol, etanol ve propanol) yapılan desiyanizasyon reaksiyonu sonucu elde edilen ürünler ...	59
Şekil 5.32. 3-Amino-1-(2-piridil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin propanol ile desiyanizasyon reaksiyonu.....	59
Şekil 5.33. 3-Amino-9-etil-1-(2-piridil)-9H-floren (19) bileşiğinin yapısı	60
Şekil 5.34. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren bileşiğinin yükseltgenme reaksiyonu.....	61
Şekil 5.35. 3-Amino-1-(4-piridil)-9-florenon (20) bileşiğinin yapısı	61
Şekil 5.36. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren bileşiğinin açılme (1) ve amin bazları (2) ile yerdeğiştirme tepkimeleri.....	62
Şekil 5.37. 3-(3-(kloro)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (21) bileşiğinin yapısı ...	63
Şekil 5.38. 3-(3-(Pirolidino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (22) bileşiğinin yapısı	64
Şekil 5.39. 3-(3-(piperidino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (23) bileşiğinin yapısı	65
Şekil 5.40. 3-(3-(morfolino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (24) bileşiğinin yapısı	65
Şekil 5.41. 3-(3-(N-Metilpiperazino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (25) bileşiğinin yapısı	66
Şekil 5.42. Kuarternler amonyum tuzlarının sentezi.....	68
Şekil 5.43. 3-Amino-1-(4-N-metilpiridinyum)-9H-floren (26) bileşiğinin yapısı.....	68
Şekil 5.44. 3-Amino-1-(4-N-metilpiridinyum)-9-okso-floren (27) bileşiğinin yapısı....	69
Şekil 5.45. 3-(3-(piperidino)propanamido)-1-(4-N-metilpiridinyumil)-9H-floren iyodür (28) bileşiğinin yapısı	70
Şekil 6.1. Bileşik 11'in numaralandırılmış yapısı	71
Şekil 6.2. Bileşik 11'in ¹ H-NMR spektrumu	72
Şekil 6.3. Bileşik 11'in ¹ H- ¹ H COSY NMR Spektrumu	73
Şekil 6.4. Bileşik 11'in (R, S) enantiyomerlerinin istiflenmesi	74

Şekil	Sayfa
Şekil 6.5. Bileşik 11'in asimetrik birimdeki iki enantiyomer molekülü	74
Şekil 6.6. Bileşik 11'in istifleme motifi, eksen boyunca aşağı bakacak şekilde birim hücre ile istiflenir. Orta sıra tamamen (R)-enantiyomerlerden, üst ve alt sıralar (S)-enantiyomerlerden oluşur. Yer değiştirme elipsoitleri %40 olasılık seviyesinde çizildi	75
Şekil 6.7. Floren halkasının NH ₂ ve 9 konumuna alkil gruplarının takılması üzerine önerilen mekanizma	76
Şekil 7.1. Bileşik 26'nın artan mol oranlarında KCl-LiCl-sodyum-kakodilat-tamponu -(10 mM K ⁺ , pH=7,2); λ _{uya} . = 470 nm içerisinde G-dörtlüsüne F21T (0,2 µM) eklenmesine bağlı olarak F21T'nin erime eğrisindeki değişim. 515 nm'de 20 °C ile 90 °C arasında normalize edilmiş floresans yoğunluğu. r=0, 1,25; 2,5; 5 ([bileşik]/ [polinükleotid]).....	78
Şekil 7.2. Bileşik 27'nin bileşiklerinin artan mol oranlarında KCl-LiCl-sodyum-kakodilat tamponu-(10 mM K ⁺ , pH=7,2); λ _{uya} . = 470 nm içerisinde G-dörtlüsüne F21T (0,2 µM) eklenmesine bağlı olarak F21T'nin erime eğrisindeki değişim. 515 nm'de 20 °C ile 90 °C arasında normalize edilmiş floresans yoğunluğu. r=0, 1,25; 2,5; 5 ([bileşik]/[polinükleotid]).	79
Şekil 7.3. Bileşik 28'nin bileşiklerinin artan mol oranlarında KCl-LiCl-sodyum-kakodilat - tamponu-(10 mM K ⁺ , pH=7,2); λ _{uya} . = 470 nm içerisinde G-dörtlüsüne F21T (0,2 µM) eklenmesine bağlı olarak F21T'nin erime eğrisindeki değişim. 515 nm'de 20 °C ile 90 °C arasında normalize edilmiş floresans yoğunluğu. r=0, 1,25; 2,5; 5 ([bileşik]/ [polinükleotid]).	79
Şekil 7.4. a) Bileşik 26'nın (c= 5,0x10 ⁻⁵ M) artan ct-DNA (1,81x10 ⁻⁶ — 2,65x10 ⁻⁴)M) ile titre edildikten sonra UV-GB spektrumundaki değişimler b) ct-DNA'nın bir fonksiyonu olarak λ _{max} . = 315 nm iken spektroskopik değişiklikleri. (pH 7,0, sodyum kakodilat tamponu, I = 0,05).....	80
Şekil 7.5. a) Bileşik 27'nin (c= 5,0x10 ⁻⁵ M) artan ct-DNA (1,81x10 ⁻⁶ — 1,14x10 ⁻⁴)M) ile titre edildikten sonra UV-GB spektrumundaki değişimler b) ct-DNA'nın bir fonksiyonu olarak λ _{max} . = 355 nm iken spektroskopik değişiklikleri. (pH 7,0, sodyum kakodilat tamponu, I = 0,05 M)	81
Şekil 7.6. a) Bileşik 28'in (c= 5,0x10 ⁻⁵ M) artan ct-DNA (1,81x10 ⁻⁶ — 2,65x10 ⁻⁴ M) ile titre edildikten sonra UV-GB spektrumundaki değişimler b) ct-DNA'nın bir fonksiyonu olarak λ _{max} . = 310 nm iken spektroskopik değişiklikleri. (pH 7,0, sodyum kakodilat tamponu, I = 0,05 M)	81
Şekil 7.7. (a) Bileşik 26'nın floresans spektrumundaki değişimler. (λ _{uya} . = 320 nm, c=5x10 ⁻⁵ M) üzerine ct-DNA'nın ilavesi ile (c= 1,86x10 ⁻⁶ M— 2,35x10 ⁻⁴ M); (b) (a) Bileşik 27'nin floresans spektrumundaki değişimler. (λ _{uya} . = 450 nm, c=5x10 ⁻⁵ M) üzerine ct-DNA'nın ilavesi ile (c= 1,86x10 ⁻⁶ M— 2,35x10 ⁻⁴ M)	82

Şekil	Sayfa
Şekil 7.8. (a) Bileşik 28'in floresans spektrumundaki değişimler. ($\lambda_{\text{luya.}} = 315 \text{ nm}$, $c=5 \times 10^{-5} \text{ M}$) üzerine ct-DNA'nın ilavesi ile ($c= 6,60 \times 10^{-6} - 1,00 \times 10^{-4} \text{ M}$); (b) Bileşiğin $\lambda = 517 \text{ nm}$ 'de artan $c(\text{ct-DNA})$ miktarı ile floresans şiddetindeki değişimi. (pH 7,0, sodyum kakodilat tamponu, $I = 0,05 \text{ M}$)....	82
Şekil 7.9. (a) Bileşik 28'in floresans spektrumundaki değişimler. ($\lambda_{\text{luya.}} = 315 \text{ nm}$, $c=5 \times 10^{-5} \text{ M}$) üzerine 22AG oligonükleotid ilavesi ile ($c= 6,60 \times 10^{-6} - 1,00 \times 10^{-4} \text{ M}$)	83
Şekil 7.10. Bileşik 2'ye ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) spektrumları	85
Şekil 7.11. Bileşik 3'e ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) spektrumları	86
Şekil 7.12. Bileşik 4'e ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) spektrumları	87
Şekil 7.13. Bileşik 6'ya ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) spektrumları	88
Şekil 7.14. Bileşik 9'a ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) spektrumları	89
Şekil 7.15. Bileşik 11'e ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) sepektrumları.	90
Şekil 7.16. Bileşik 13'e ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) sepektrumları	91
Şekil 8.1. 3-Amino-1-hetaril-floren sentezine ait desiyанизasyon tepkimesi	93
Şekil 8.2. Desiyанизasyon tepkimesi için önerilen mekanizma.....	94
Şekil 8.3. Desiyанизasyon reaksiyonu sonrası oluşan hedef ve alkillenmiş ürünlerin şematik gösterimi	95
Şekil 8.4. Bileşik 11'in fotofiziksel özelliklerinin özet gösterimi 1	96
Şekil 8.5. Bileşik 28'in bileşiklerinin artan mol oranlarında KCl-LiCl-sodyum-kakodilat - tamponu-(10 mM K^+ , pH=7,2); $\lambda_{\text{luya.}} = 470 \text{ nm}$ içerisinde G-dörtlüsüne F21T (0,2 μM) eklenmesine bağlı olarak F21T'nin erime eğrisindeki değişim. 515 nm'de 20 °C ila 90 °C arasında normalize edilmiş floresans yoğunluğu. $r=0, 1,25; 2,5; 5$ ([bileşik]/ [polinükleotid]). .	97

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 7.1. 2 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uy.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe).....	85
Resim 7.2. 3 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uy.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe).....	86
Resim 7.3. 4 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uy.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe).....	87
Resim 7.4. 6 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uy.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe).....	88
Resim 7.5. 9 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uy.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe)	89
Resim 7.6. 11 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uy.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe)	90
Resim 7.7. 13 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uy.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe).....	91

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

dm³	Desimetreküp
E.N.	Erime noktası
Hz	Hertz
o.s.	Oda sıcaklığı
sa	Saat
°C	Derece celsius

Kısaltmalar

Açıklamalar

ADA	Akseptör-donör-akseptör
APT	Attached Proton Test
b	Birli, tekli
bü	Bozuk üçlü
CD	Dairesel dikroizm
DNA	Deoksiribonükleik Asit
d	Dörtlü
ESI	Elektronsprey iyonlaşması
EtBr	Etidyum bromür
FRET	Floresans Rezonans Enerji Transferi
FT	Fourier dönüşüm
G4-DNA	G-quadrupleks DNA
i	İkili
ii	İkilinin ikilisi
ICD	İndüklenmiş dairesel dikroizm
IR	Kızılötesi spektroskopisi
ITC	İzotermal titrasyon kalorimetresi

Kısaltmalar**Açıklamalar**

K_b	Bağlanma sabiti
KOB	Küçük oluk bağlayıcılar
LD	Lineer dikroizm
MALDI	Matriks destekli lazer desorpsiyon iyonizasyonu
MW	Mikrodalga
NaOEt	Sodyum etoksit
NOE	Nükleer overhauser etki
RNA	Ribonükleik Asit
TO	Tiyazol turuncusu (thiazole orange)
ü	Üçlü
1B	Bir boyutlu
2B	İki boyutlu
XRD	X-ışınları kırınım analizi

1. GİRİŞ

Floren, malzeme bilimi ve teknolojisinde çeşitli alanlarda uygulamalara sahip, özellikle organik ışık yayan diyotlar (OLED), iletken polimerik malzemeler, optoelektronik cihazların geliştirilmesi üzerine pek çok araştırmaların yapıldığı organik floresan bir bileşiktir [1]. Ayrıca, floren temelli bileşikler kemosensör, antiviral ajan ve sıtmayı önlemede ilaç olarak kullanılırlar. Aminofloren ve türevleri, kanser araştırmalarında kullanılmaktadır [2]. Deoksiribonükleik asit (DNA), tüm organizmaların ve bunun yanında bazı virüslerin genetik bilgilerinin kodlandığı, saklandığı ve taşındığı, anti paralel bir şekilde birbirini tamamlayan iki sarmal zincirden oluşmuş bir biyomoleküldür [3]. DNA ilk defa, 1869 yılında Friedrich Miescher adında İsviçreli bir doktor tarafından Almanya'nın Tübingen kasabasında yaralı askerlerin irine batmış bandajlarından saflaştırılmıştır [4]. 1953 yılında James Dewey Watson ve Francis Crick tarafından DNA'nın çift sarmal yapısının aydınlatılması bilim dünyasında bir dönüm noktası olmuştur ve bu buluş 1962 yılında tıp alanında Nobel ödülüne layık görülmüştür [5]. DNA'nın yapısının aydınlatılması ve biyolojik süreçlerdeki önemi kanser gibi pek çok hastalığın tanı ve tedavisinde DNA'yı hedef alan, DNA ile etkileşebilecek küçük moleküllerin tasarımı ve sentezini beraberinde getirmiştir. Kemoterapi ilaçlarının çift sarmal DNA ile etkileşiminin en büyük dezavantajı seçici olmamalarıdır. Bu sebeple, özellikle kanser tedavisinde daha seçici ve etkin bileşiklerin sentezi önemli araştırma konusu olmuştur. İlk olarak 1962 yılında G-quadruplex DNA'nın (G4-DNA) yapısı hakkında bir araştırma yayınlanmıştır [6]. Bunu takiben yapılan çalışmalarda G4-DNA'ya bağlanan proteinler belirlenip [7,8] bu proteinlerin dörtlü yapıların oluşumunu teşvik ettiği saptanmıştır [9-11]. G4-DNA yapısı kromozomların uçlarında yer alan telomerlerin ve onkogenlerin yapısında bulunmaktadır. Telomeraz enzimi kanser ile yakından ilgilidir. Bu enzim kanserli hücrelerin yaklaşık %90'ında aktif olmasına rağmen, sağlıklı hücrelerde etkinliği çok azdır. Telomerlerin uçlarında yer alan G4-DNA yapılarının telomerlerin uzamasını engellediği kanıtlanmıştır. Bundan dolayı, daha seçici bir anti-kanser ilacı olarak sunulan G4-DNA'yı kararlı kılan küçük organik moleküllerin sentezi ve uygulamaları hız kazanmıştır.

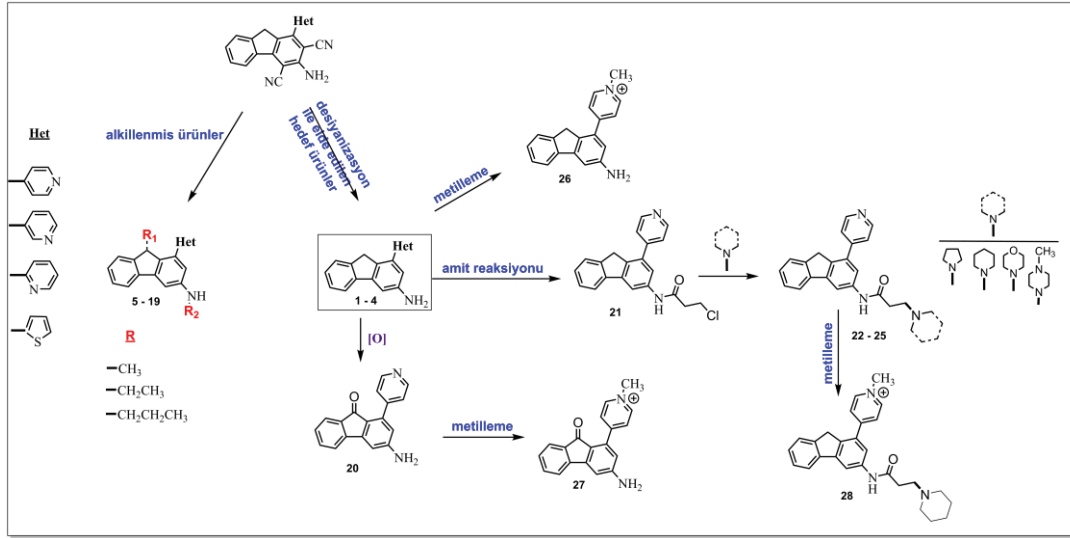
Tezin birinci kısmında ilk olarak siyano gruplarının uzaklaştırılmasıyla oluşan aminofloren/florenon ve türevlerinden DNA'ya karşı etkin yeni bileşiklerin elde edilmesi hedeflenmiştir. Bu doğrultuda, 3-Amino-1-hetari-2,6-disiyano temelli bileşiklerin bazik

ortamda farklı yapıdaki alkol/NaOH içeren bazik çözeltiler içerisinde yüksek sıcaklık ve basınç ortamında desiyonizasyonu sonucu 4 adet 3-Amino-1-hetarilflorene ve 15 adet alkillenmiş türevinin sentezi literatüre kazandırılmıştır (Şekil 1.1). Ayrıca, tez kapsamında 3-Amino-1-(4-piridil)-9*H*-florene (Bileşik 2) den yola çıkılarak 3-Amino-1-(4-piridil)florene, 5 adet amit türevi ve 3 adet katyonik florene/florene türevi bileşik sentezlenmiştir.

Tez kapsamında toplam 28 adet bileşik sentezlenmiştir ve hedef ürünlerin yanında elde edilen alkillenmiş florene türevleri birbirlerinden çeşitli çözücü karışımları kullanılarak kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılmıştır. Sentezlenen tüm bileşikler FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HR-MS ve X-ışını kristalografisi yöntemleriyle karakterize edilmiştir.

Tezin ikinci kısmında, elde edilen hedef ve alkillenmiş ürünlerin bazılarının fotofiziksel özellikleri farklı polariteye sahip çözücüler (ACN, MeOH, DCM ve PhMe) içerisinde incelenmiş, kuantum verimleri, molar absorpsiyon katsayıları ve Stokes kaymaları belirlenmiştir.

Tezin son kısmında, 3-Amino-1-(4-piridil)-9*H*-florene ve florene bileşiklerinin katyonik ve amit türevlerinin çift sarmal DNA ve G4-DNA ile kovalent olmayan etkileşim mekanizmalarının ve ilgilerinin belirlenmesi çalışmaları için Ultraviyole-Görünür Bölge (UV-GB), floresans spektroskopisi (FL), termal bozunma ve guanin zengin dizilimler ile etkileşim çalışmaları için FRET deneyleri yapılmıştır. Bileşiklerin her iki DNA çeşidiyle etkileşim çalışmaları sonuçlarından yararlanılarak bağlanma sabiti, seçiciliği, bağlanma türü ve ilgisi belirlenmeye çalışılmıştır.



Şekil 1.1. Tez kapsamında sentezlenen 3-amino-1-(hetaril)-florene/florenon türevleri

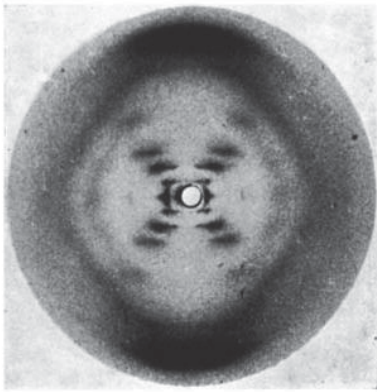
2. DEOKSİRİBONÜKLEİK ASİT (DNA)

2.1. DNA Arka Planı: Nasıl ve Neden DNA'yı Hedef Alıyoruz?

Arya ve arkadaşları neomycin üzerine yapmış oldukları çalışmada küçük molekül ve proteinlerin DNA'nın küçük ve büyük oluklarına bağlanmak üzere kimyasal olarak uyarlanabildiklerini göstermişlerdir [12]. Ligand ile DNA arasında yeterince güçlü etkileşimler oluşturulabiliyorsa, bu şu anlama gelmektedir: DNA'nın kendi arasında varolan hidrojen bağları, elektrostatik ve Van der Waals etkileşimlerinin engellenmesi ile ligandın çift sarmal DNA ile etkileşimi sonucu oluşan kararlı yapı sayesinde DNA sarmalında genişleme ve küçük yapısal değişimler olur. Ligandın DNA'ya bağlanması ile DNA'nın yapısında hücre gereksinimlerine uygun olmayacak şekilde (enzimin bölünme ve yeniden katılma aktivitesinin engellenmesi ve topoizomeraaz enziminin DNA-hasar verici ajanlara dönüştürülmesi) topolojik veya konformasyonel kaymalar olmaktadır. Bu nedenle, yukarıda vurgulandığı gibi DNA hücresel sistemlerde biyokimyasal süreçleri düzenlediği için antikanser ilaçların birincil hücre içi hedefidir. DNA'da bir diziyi hedefleyerek DNA replikasyonunun durdurulması, bulaşıcı veya kanser gibi hastalıkları, proteinleri veya RNA'yı hedeflediklerinden daha spesifik olarak tedavi edilebileceğinden, DNA ilaç için çekici bir hedef olmuştur.

Ticari olarak satılan DNA'yı hedef alan ilaçlar pentamidin (a), berenil (b) ve trabektaindir (c). Bu bileşikler büyük veya küçük oluklarda DNA'ya bağlanarak, interkalatör olarak baz çiftleri arasına girerek veya DNA oluklarında alkilleyici ajan olarak hücrelerde çift sarmal DNA'yı hedeflemişlerdir.

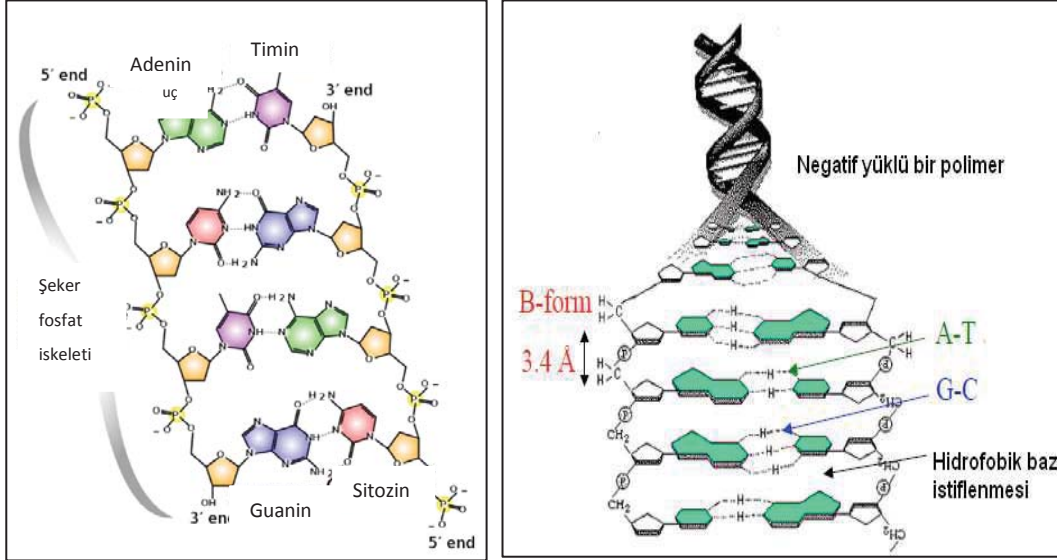
bir puzzle gibi taşlar yerine oturmaya başlıyordu. X-ışınlarıyla yapmış olduğu çalışmalar ile tanınan ve bu keşif serüvenin tek bilim kadını olan Rosalind Franklin, DNA'nın yapısını çözmek için X-ışınlarını kullanıyordu. Önce DNA moleküllerinin birbirlerine paralel olarak dizilmelerini sağlıyor, daha sonra onları X-ışınlarına maruz bırakıyordu. X-ışınları DNA moleküllerine çarpıp geri dönerek, geride adeta molekülün bir gölgesini oluşturunuyordu. Franklin'in yapmış olduğu çalışmalar keşifte önemli bir noktaya gelmişti. Bilim tarihine "51 no'lu röntgen filmi" olarak geçen Franklin'in X-ışınlarından elde ettiği görüntüyü hocası Wilkins Franklin'in haberi olmadan Watson ve Crick ikilisine gösterir. Öte yandan DNA keşfinde Watson ve Crick'de yoğun bir çalışma içindedir ve bu görüntü adeta düşündükleri modelin bir ispatı olmuştur. Tüm bu olayların sonucunda, Watson ve Crick Nature dergisinin Nisan 1953 sayısında DNA'nın iki zincirden oluşan yapısını açıklayan ve tek bir sayfadan oluşan makalelerini yayımlamışlardır.



Şekil 2.2. 51 no'lu röntgen filmi

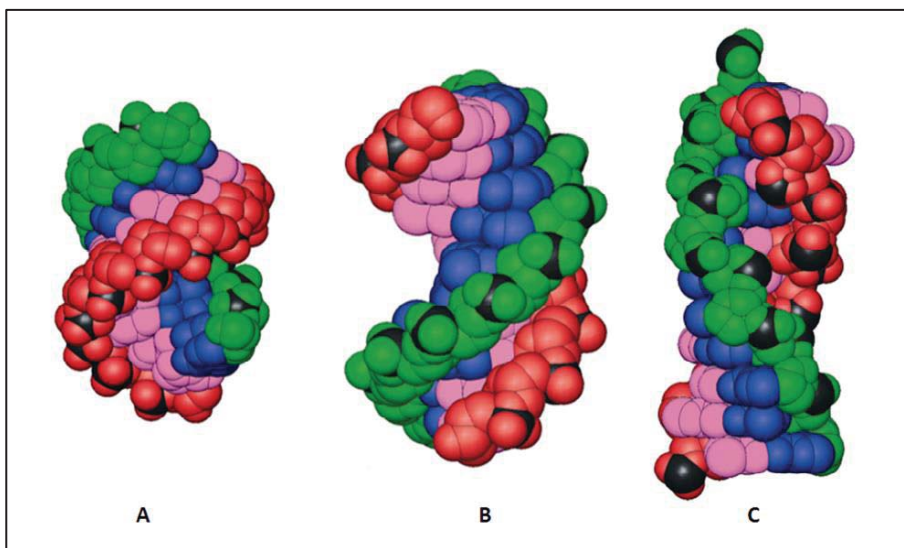
DNA, nükleotid alt birimlerinden oluşan iki uzun polinükleotid zincirine sahiptir ve bu nükleotid birimleri; 5 karbonlu bir deoksiriboz şekeri, fosfat grubu ve azot içeren bazlardır [13]. DNA yapısında yer alan bazlar kimyasal yapılarına göre iki sınıfa ayrılırlar. Purin türevleri olan adenin (A) ve guanin (G), pirimidin türevleri olan sitozin (C) ve timin (T) dir. Nükleotidler birbirlerine şeker ve fosfat omurgası ile kovalent bağlarla bağlıdır [3]. DNA yapısında yer alan bazlardan pürinler pirimidinlerle hidrojen bağı oluştururlar. Adenin ile timin arasında iki hidrojen bağı oluşurken, sitozin ile guanin arasında üç hidrojen bağı oluşur. Bunlar haricinde DNA çift sarmal yapısını kararlı kılan diğer etkileşimler; hidrofobik etki ile π - π etkileşimleridir. DNA molekülünde sarmal yapıdaki tam bir dönüş 34 Angstrom (Å) uzunluğundadır. Her bir baz çifti ile onu izleyen baz çifti arasında ise 3,4 Å'luk bir mesafe vardır. DNA fosfat iskeleti negatif yüklüdür ve Na^+ ya da Mg^{2+} katyonları ile

elektrostatik olarak etkileşerek istenmeyen fosfat-fosfat itmelerini azaltır. Karşıt yüklerdeki bu elektrostatik etkileşim DNA'nın konformasyonunun kararlı olmasına yardımcı olur [14].



Şekil 2.3. DNA'yı oluşturan bazlar ve fosfat-şeker omurgası ve β formu

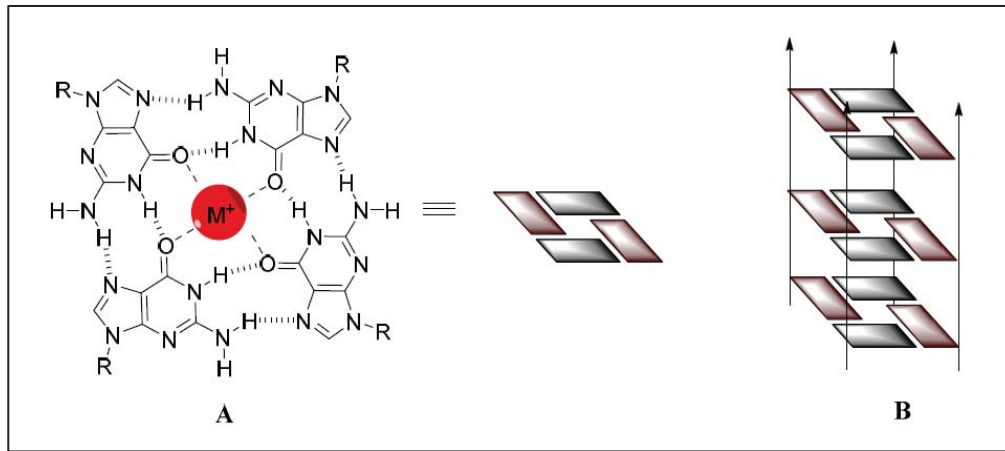
Çift zincir DNA'nın sarmal yapısı üç ana formda bulunur; A-DNA ve B-DNA sağa doğru dönerken (sağ sarmal), Z-DNA sola doğru dönen (sol sarmal) formdadır (Şekil 2.4). Biyolojik sistemlerde DNA'nın en yaygın biçimi B-DNA'dır; A ve Z-DNA kristalografik olarak gözlemlenir ve daha sınırlı biyolojik uygulamaya sahiptir [3].



Şekil 2.4. A) A-DNA; B) B-DNA; C) Z-DNA yapılarıdır. Şeker-fosfat omurgasındaki atomlar kırmızı ve yeşil renkte, bazlar pembe ve mavi renkte, fosfor siyah renkte simgelenmektedir [15]

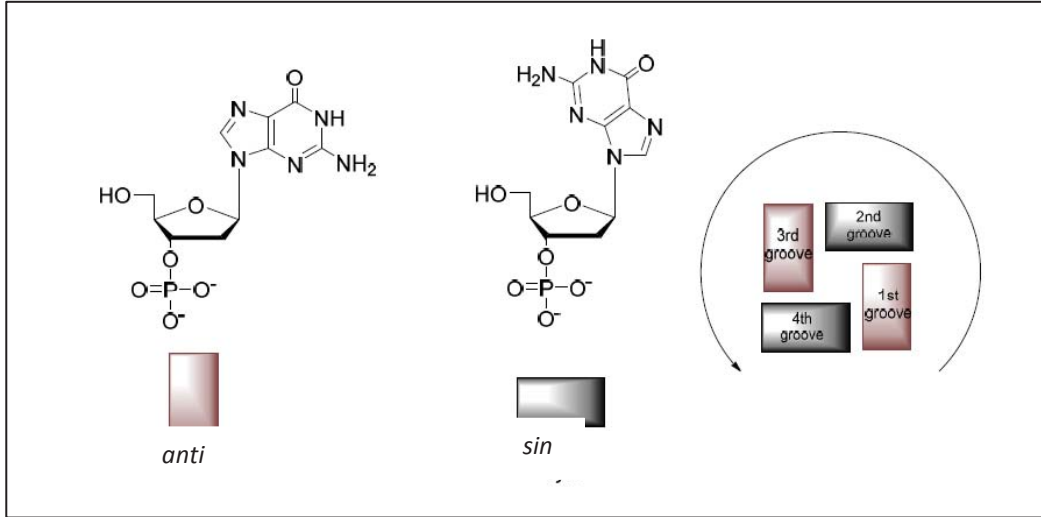
2.3. G-quadrupleks Deoksiribonükleik Asit (G4-DNA)

Telomerler, ökaryotik kromozomların DNA ve protein içeren terminal (uç) bölgeleridir ve guanince zengin (TTAGGG) tekrarlar içerir [15]. Telomeraz enzimi, telomer sentezinden sorumludur [16]. 1930'lu yıllardan bu yana, telomer kavramı bilinmektedir. DNA'nın telomerik kısmı çeşitli işlevlere sahiptir; kromozonların terminal bölgelerinin korunması, hücre yaşlanmasını önleme, kanser tedavisinde belirleyici rol oynama bunlardan birkaçıdır [17]. Kanser vakalarında, hücrenin telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi incelendiğinde kanserli hücrelerde telomeraz enziminin fazla sentezlendiği, iyi huylu tümörlerde telomeraz aktivitesinin olmadığı görülmüştür. Bu sebeple, telomeraz inhibitörü ilaçlar telomerlere karşı etkili ajanlar olarak önerilmektedir [16]. 1988 yılında, telomerde bulunan guanince zengin, Hoogsten hidrojen bağları ile birbirine bağlı halde bulunan ve birbiri üzerine istiflenmiş dört-zincirli DNA yapıları oluşturma kabiliyeti tanımlanmış ve bu yapılar G4-DNA olarak adlandırılmıştır (Şekil 2.5) [18].



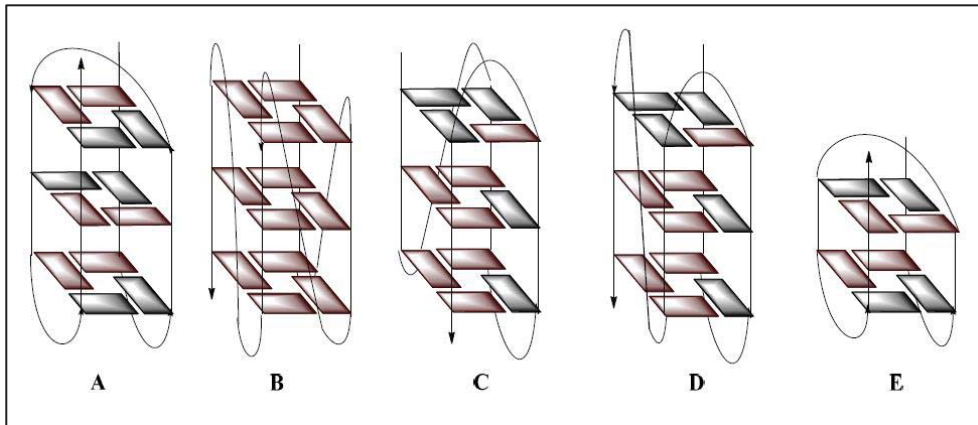
Şekil 2.5. G4-DNA yapısı. A: G-dörtlüsü, B: paralel quadrupleks oluşumu

Guanin bazlarındaki glikozidik bağ açısına bağlı olarak bazın (nükleotidin) anti veya sin konformasyonları mümkündür (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. G-dörtlüsü düzenlenmesi. Oluk bölgelerine sin ve anti konformasyon kaynaklı farklılıklar

G4-DNA yapıları iki, dört veya tek bir iplikçikten oluşabilir [19]. Bu karmaşık yapılar oldukça polimorfiktir [20]. Bu konformasyonların bir sonucu olarak, G4-DNA, paralel veya antiparalel olmak üzere iki farklı düzenlenme sergilemektedir. G4-DNA'daki dört guanin iplikçisindeki baz anti-konformasyona sahipse, paralel yönelimlidir ve omurgalar arasında eşit büyüklükte oluklarla C_4 simetrisine sahiptir. Öte yandan, eğer bir sarmal sin-konformasyonlu guanin bazı içeriyorsa, G4-DNA formları antiparalel yönlendirmeden dolayı farklı boyutlara sahiptir (Şekil 2.6). Sonuç olarak, eğer birinci guanin bazı anti ve ikincisi sin konformasyonuna sahip ise, oluk geniş olacak ve iki bazın aynı konformasyona sahip olması halinde orta büyüklükte bir oluk oluşacaktır. Dizilim, anti-konformasyon ile başlarsa nispeten daha dar oluk olacaktır [21,22].



Şekil 2.7. G4-DNA'da farklı olası konformasyonların temsili A: antiparalel B: paralel C: melez-1, D: melez-2 ve E: 2-tetrad antiparalel [23]

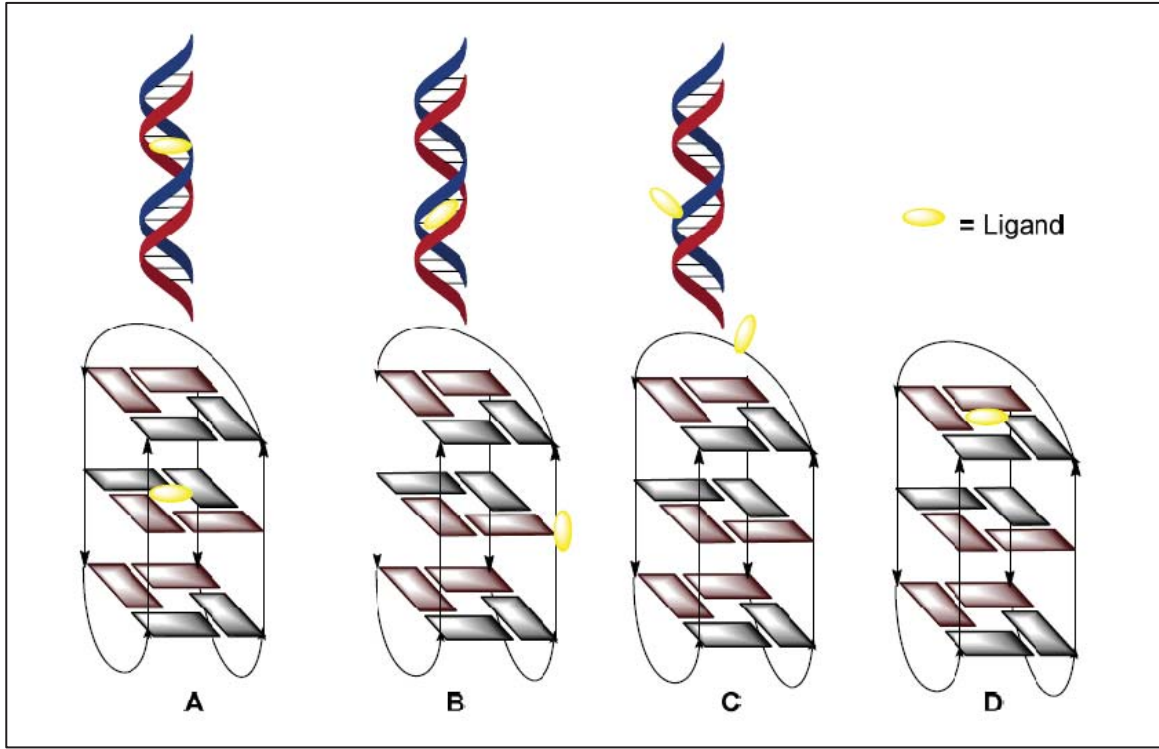
2.3.1. G4-DNA'nın biyolojik aktivitesi: telomer ve telomeraz

Ökaryotik hücreler, tamir eden (onarılan) enzimlerin DNA'daki kırılmalarını ve kromozomların sonunu ayırt etmesini sağlamak için kromozomların sonunda telomerleri üretirler [24]. Genel olarak, yinelenen sekans, diğer nükleotidler ile arasına girerek GGG'nin tekrarlarına sahiptir. İnsanlarda telomerler, d(GGGTTA) dizisinin yinelenen birimlerinden oluşur. Bu sekans, binlerce çift sarmallı nükleotid üzerinde tekrarlanır. Telomerlerin sonunda, DNA'nın 5' ucundaki replikasyonunu engelleyen 1-200 nükleotidler ile daha küçük bir çıkıntı yapan tek sarmallı dizi oluşur. Böylece telomerlerin uzunluğu her hücre döngüsüyle birlikte kısalmaya ve yaşlanmaya, sonrasında da hücre ölümüne yol açar [25,26]. Telomeraz aktivitesi vücut hücrelerinde görülmezken kanserli hücrelerde %85-90 aktiftir [27]. Telomerler fizyolojik koşullar altında karışık paralel ve antiparalel katlanma sergilemektedir [28,29]. Bununla birlikte, in vitro ortamda telomerlerin kullanılan katyona bağlı olarak farklı katlanma şekilleri vardır. Na^+ çözeltisinde, dörtlüler aynı yönde iki döngü içeren antiparalel yapıdadır ve diğer döngü çapraz olarak düzenlenmiştir [30]. Öte yandan, telomerler, çift zincir ters döngüler oluşturan üç döngü ile K^+ iyonları içeren sulu çözeltide paralel yapıları göstermektedir [31]. Yeni yapılan bir çalışmada, diğer quadruplexler ile birlikte telomerler, bir dörtlü seçici antikor ile görselleştirilmiştir. Dörtlülerin, ligandların hücre döngüsünü yakalaması ve kesmesi için bir hedef olabilecek hücre döngüsüne duyarlı olduğu gösterilmiştir [32].

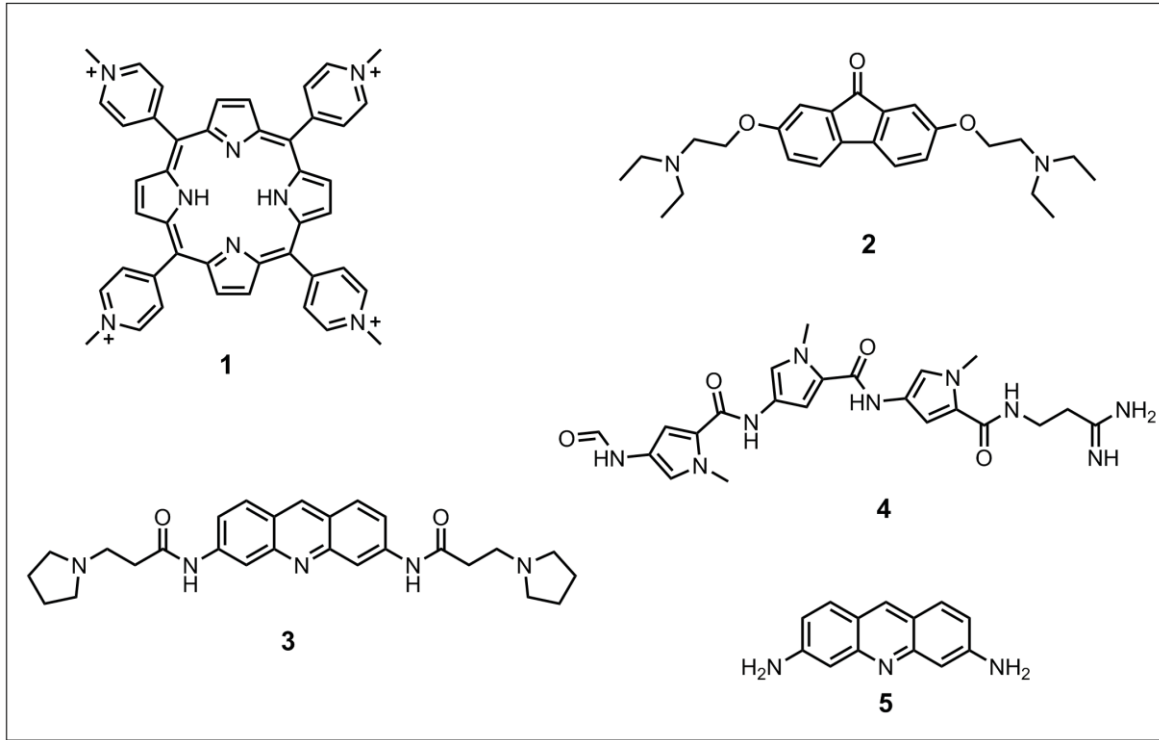
2.4. Ligand-G4-DNA (quadruplex) Etkileşimleri

1960'da, küçük aromatik moleküllerin, nükleik asitleri tanıma ve DNA'ya interkalasyon yapma kabiliyetine sahip olduğu bulundu [33]. G4-DNA yapısının, ligandların bir araya getirilmesi için birkaç bağlama bölgesine sahip olduğu belirlendi (Şekil 2.8). DNA interkalatörü olarak keşfedilen ilk molekül, akridin türevi olan proflavindir (1) (Şekil 2.9). [33]. Diğer DNA-interkalatörler fenantridinyum türevi etidyum bromür ve doksorubisin antrakinon ailesindendir [3]. Ek olarak, bisbenzimidazol türevleri ya da yapısal olarak ilişkili olan distamisin A (4) ve Berenil gibi küçük esnek moleküller, tercihen DNA oluklarıyla ilişkilidir [3,34]. İnterkalasyon dörtlü ligand etkileşimlerinde yaygın bağlanma modu olmamasına rağmen, porfirin türevinin de (1) G4-DNA'ya interkalasyon ile bağlandığı gösterilmiştir. Florenon halkası içeren en yaygın kullanıma sahip ilaçlardan biri tiloron ismiyle bilinen 2,7- bis[2-(dietilamino)etoksi]-9-florenon'dur (2). Düşük molekül ağırlığına

sahiptir ve DNA'ya interkalasyon ile bağlandığı bilinmektedir. Bununla birlikte, ilaç-interkalasyon etkileşimi enerji olarak tercih edilmez, çünkü quadruplekslerin istifini açmasını ve sarmalın gevşemesini gerektirir [35]. Dahası, terminal π -istifleme, katyonları dört katlı halde dengeler ve katyonların G4-DNA içinde düzenli kalmalarını sağlar [36]. Bununla birlikte, akridin türevi (3) için çift bağlanma modunu göstermektedir. Terminal π -istifleme yanında DNA'ya oluk bağlanma söz konusudur [36,37]. Guanin bazlarını birleştiren döngüler, ligandlar için ek bağlanma alanları sağlar (Şekil 2.8C) [38]. Buna ek olarak, oluk bağlanmasının polipirol türevi (4) için bağlanma modu olduğu bildirilmiştir [39,40].



Şekil 2.8. DNA-Ligand etkileşimlerinin şematik gösterimi. A: interkalasyon; B: oluk bağlanma; C: omurga ile ilişkilendirme (veya dört katlılıkta döngü); D: π -istifleme en üstteki π -yüzeyinde (sadece G4-DNA'da).



Şekil 2.9. G4-DNA'yı kararlı kılan bazı ligandlar.

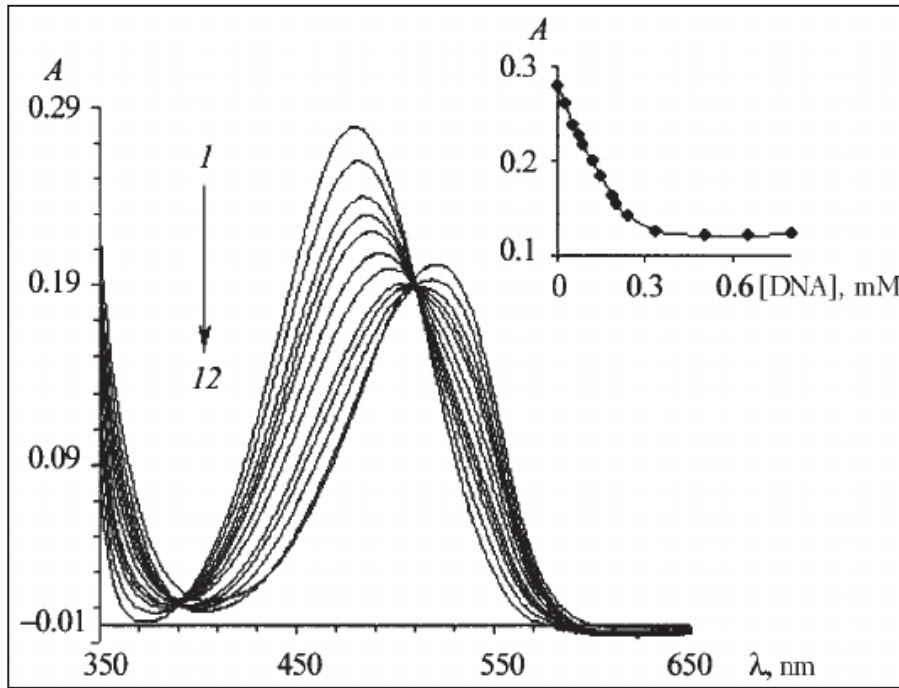
2.5. Ligand–G4-DNA Etkileşimlerini Değerlendirmek İçin Yöntemler

Doğal veya sentetik bileşiklerin G4-DNA ile etkileşimlerini incelemek için çok çeşitli teknikler kullanılmıştır. Bu yöntemler, ligand afinitesi gibi özellikleri değerlendirmek için kullanılan basit yöntemlerden, yapı-aktivite ilişkisi çalışmaları için kinetik, termodinamik, stokiyometrik ve konformasyonel verilerin elde edilmesinde kullanılan daha gelişmiş yöntemlere kadar çeşitlilik gösterir. G4-DNA'ya seçicilik gösterebilecek ligand tasarımındaki ana zorluk, ligandın quadruplex DNA yapıları için dubleks DNA'ya kıyasla seçici olmasını sağlamaktır ve bu etkileşimleri araştırmak için kullanılan biyofiziksel ve biyokimyasal yöntemler, dubleksler üzerindeki dörtlü ligandlar için ligand seçiciliğini tespit edebilmeli ve ölçebilmelidir. Dörtlü yapılarda yüksek derecede yapısal polimorfizm nedeniyle, ligandın bağlanma yerlerini ve bunun etkileşim şeklini belirlemek önemlidir. Her tekniğin kendine özgü avantaj ve dezavantajları vardır ve G4-DNA-ligand etkileşimleri hakkında tam bilgi edinmek için genellikle birden fazla yönteme ihtiyaç duyulur.

2.5.1. UV-GB absorpsiyon spektroskopisi

DNA ile kompleks oluşumu üzerine, ligand molekülü çözelti içindeki kompleks oluşturmamış moleküldekinden farklı bir ortamda konumlandırılmıştır. Ligandlar, özellikle organik boyar maddeler gibi solvatokromik bileşikler, genellikle kompleks ve kompleks oluşturmayan formlarında farklı absorpsiyon özelliklerine sahiptir [41]. Bu nedenle, DNA'nın bir ligand ile etkileşiminden sonra absorpsiyon maksimumu daha uzun dalga boyuna kayar (batokromik veya kırmızıya kayma) ve genellikle absorbansında bir azalma (hipokromik etki) meydana gelir. Bu özellikler, ligandın DNA ile bağlanma özelliklerini araştırmada kullanılabilir. Uygulamada DNA ile birleşme işlemi şöyle gözlemlenebilmektedir: Hazırlanan bir ligand çözeltisine DNA çözeltisinin belirli miktarlarda ve giderek artan oranlarda ilave edildiği bir spektrofotometrik titrasyonla izlenir. Her bir DNA-ligand oranındaki absorpsiyon spektrumları belirlenir ve üst üste bindirilir [41,42].

Spektrofotometrik titrasyonun takibi sırasında izobestik noktalar gözlenirse, yapılan titrasyondan daha fazla bilgi alınabilir. Titrasyon sırasında her bir absorpsiyon spektrumunun, belirli bir dalga boyunda aynı absorbansa sahip olduğu, yani üst üste gelen tüm absorpsiyon spektrumlarının kesiştiği bir nokta olduğunda, izobestik bir nokta belirir. Bu tür izobestik noktalar, her bir absorpsiyon spektrumunun neredeyse sadece iki farklı absorbe edici türden (örneğin, kompleks ve kompleks oluşturmamış ligand) oluştuğunu ortaya koymaktadır. Her bağlanma modunun farklı absorpsiyon özellikleri ile sonuçlanması muhtemel olduğundan, izobestik bir nokta, esas olarak DNA ile ligand arasında belirli bir bağlanma modunun meydana geldiğini gösterir.



Şekil 2.10. Etidyum bromür bileşiğinin DNA ile etkileşiminin UV-GB spektrumunda gözlenmesi

Spektrofotometrik titrasyonlardan elde edilen veriler, ligand-DNA arasındaki ilişki sabitini belirlemek için de kullanılabilir. Böylece, belirli bir dalga boyunda absorbans verilerinden, bağlı (c_b) ve serbest (c) ligand türlerinin konsantrasyonları hesaplanabilir. Bu verilerin analizi genellikle, bağlanma sabiti K ve bağlanma yeri büyüklüğü n 'nin değerlerine erişmek için McGhee ve von Hippel'in bağlanma metodu kullanılarak gerçekleştirilir [43].

Spektrofotometrik titrasyonlar, ligandların bağlanma bölgesi boyutlarının tespitinde kullanılan birkaç yöntemden biridir, çünkü geniş bir ligand-DNA oranları aralığında gerçekleştirilir. Fakat, ne yazık ki, fotometrik titrasyonların tripleks veya G4-DNA yapıları ile gerçekleştirilen çalışmalar için elverişsiz kılınan yönü, büyük miktarlarda DNA gerekliliğidir. Bu problem, bir dereceye kadar mikro veya yarı-mikro spektrofotometrik hücrelerin kullanımı ile aşılabılır. Diğer bir dezavantaj, deneysel verilerin çok sayıdaki parametrik modele uydurulması sırasında ortaya çıkan büyük hatalara olan eğilimdir. Sonuç olarak, bağlanma parametrelerinin güvenilir değerlerini elde etmek için spektrofotometrik titrasyonlar birkaç kez yapılmalıdır. Yukarıda bahsedilen nedenlerden dolayı, spektrofotometrik titrasyonlar potansiyel ligandların yüksek verimli taraması için pek uygun değildir.

2.5.2. Fotometrik ve florimetrik spektroskopi

DNA ve bir ligandın kompleks oluşumu sırasında, spesifik olarak ilgili ligand-DNA karışımının karakteristik absorpsiyon ve emisyon spektrumlarıyla spektroskopi ile incelenebilen bir termodinamik denge oluşturulur. Bu nedenle fotometrik ve florimetrik titrasyonlar kompleksleşme davranışı hakkında bilgi sağlayabilir. DNA'nın konsantrasyonuna karşı sabit bir dalga boyundaki ligandın absorpsiyon veya emisyon yoğunluğunun çiziminden, bağlanma afinitesi hakkında bilgi sağlayan bağlanma eşsıcaklık eğrisi elde edilir [44]. İzobestik bir noktanın oluşması genellikle sadece bir bağlanma modunun olduğunu gösterir [45].

2.5.3. İzotermal kalorimetri (ITC)

DNA bağlanması, Gibbs serbest enerjisinin bileşenleri olan entalpi ve entropiye bağlıdır. İzotermal kalorimetri, kalori seviyesinde bağlanmada absorplanan (endotermik bağlanma) veya salınan (ekzotermik bağlanma) sıcaklığı ölçer. Farklı bileşiklerin termodinamikleri incelendiğinde, hangi faktörlerin dubleks DNA'ya bağlanmaya karşı G4-DNA'yı tercih ettiğini belirlemek için analiz edilebilir [46]. Entalpi ve bağlanma sabitleri, ligand bir DNA çözeltisine eklendiğinde ısı değişiminin ölçülmesinden belirlenir ve aşağıdaki denklemler,

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

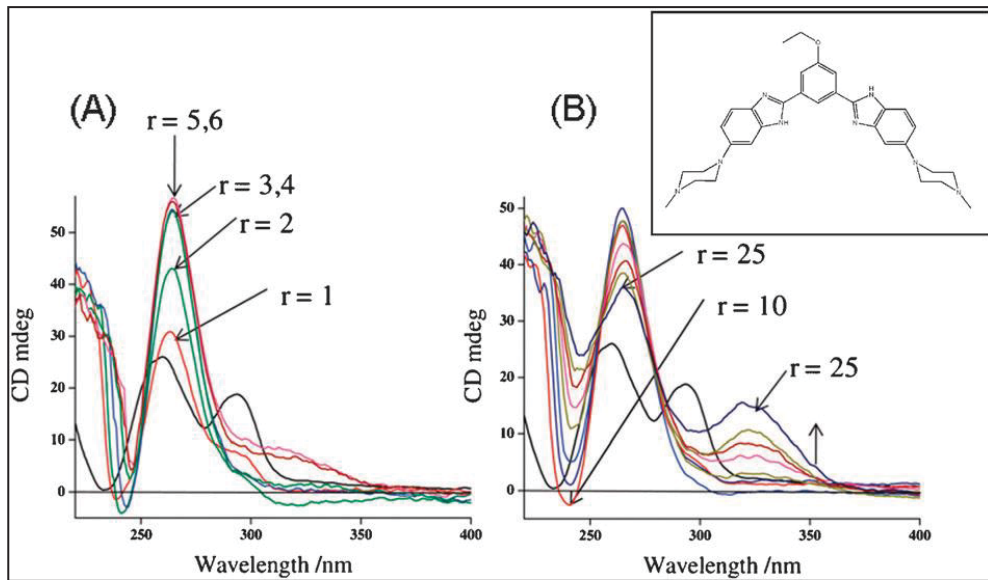
$$\Delta G = -RT\ln K$$

entropi ve Gibbs serbest enerjisini hesaplamak için kullanılır.

2.5.4 Dairesel dikroizm (CD) spektroskopisi

Ligand-DNA etkileşimlerinin saptanması için bir başka spektroskopik ölçüm yöntemi Dairesel dikroizm (CD) spektroskopisidir. CD spektroskopisi, analitin küçük konsantrasyonları (10 μ M) için bile hassas bir yöntemdir [47]. Bu yöntem ile dairesel polarize ışık ile kiral moleküller arasındaki etkileşimler incelenmektedir. DNA'yı incelemek için, DNA-baz adsorpsiyonu, yani 180-300 nm aralığında dalga boyları kullanılır. DNA yapılarının karmaşıklığı nedeniyle, CD spektroskopisi DNA çalışmalarında ampirik

(deneme-yanılma) yöntem olarak kullanılır [48]. Aynı zamanda, akiral ligandlar CD aktivitesi göstermez. Bununla birlikte, bir ligand DNA'ya bağlandığında ligandın ve DNA bazlarının geçiş dipol momentleri arasında dejeneratif olmayan birleşme oluşur ve ligandın absorbans bölgesinde bir indüklenmiş CD (ICD) sinyali oluşturur. Ligandın ICD sinyallerinin fazı, iki dipol momentin göreceli yönelimine bağlı olduğundan, ligand-DNA komplekslerinin CD spektrumundan bağlanma tarzı hakkında bilgi elde edilebilir [49]. Dolayısıyla, örneğin dipol moment, baz çiftlerinin dipol momentine dik olduğu için, DNA birleştiricileri negatif veya pozitif ICD sinyallerine sahipken, oluk bağlayıcıları hemen hemen daima pozitif ICD sinyalleri oluşturur. Temelde oluk bağlayıcıları, interkalatörlere kıyasla iki misli kadar yoğunlukta ICD sinyali gösterir [49].

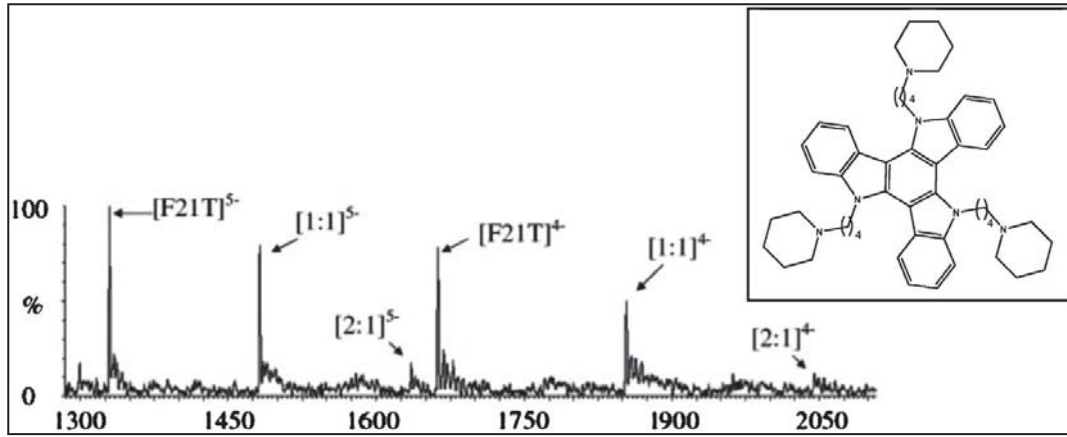


Şekil 2.11. EtBzMe ligandının CD spektroskopisi kullanılarak (A): 1-6 eşdeğer (B): 10-25 eşdeğer ligand, r: EtBzMe / G4 oranı [50]

2.5.5. Kütle spektrometresi

Elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi (ESI-MS) kovalent olmayan etkileşimleri incelemek için kullanılan başka bir yaygın tekniktir. Küçük organik moleküller ve dörtlü nükleik asitler arasındaki etkileşimleri incelemek için kullanılmıştır. ESI-MS çalışmaları gaz fazında gerçekleştirilir, ancak elde edilen kalitatif sonuçlar çözelti içindeki etkileşim davranışları ile tutarlıdır. Çalışma için az miktarda bileşik gereklidir.

Son çalışmalar, bağlanma sabiti ve oluşan komplekslerin stokiyometrisinin elde edilmesinde kütle spektrometrisinin etkinliğini göstermiştir. Örneğin, Ginnari ve arkadaşları bir triazatruxene türevinin, insan telomerik dizisi tarafından oluşturulan bir dördümlü motif ile etkileşimi üzerinde çalışmıştır. Kütle spektroskopisini kullanarak yaptıkları çalışmada 1/1 ve 2/1 oranında triazatruxene/G4-DNA komplekslerinin oluşumunu göstermişlerdir (Şekil 2.12.).



Şekil 2.12. Azatrux (içindekiler) arasında 1/1 ve 2/1 oranında oluşan bir kompleksin ESI-MS spektrumu [51]

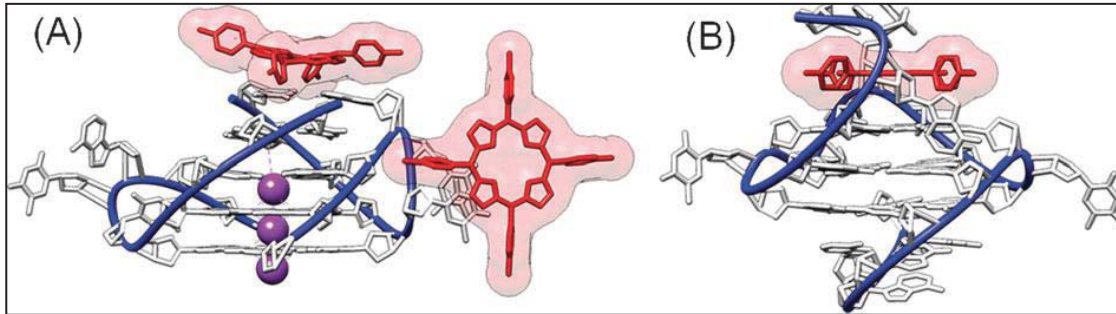
Collie ve arkadaşları ise son zamanlarda, bu tekniğin bilinen DNA ve RNA quadruplexlerinin; akridin, BRACO-19 ve naftalen türevleri ile etkileşimlerinin araştırılmasında avantaj olduğunu göstermiştir [52].

2.5.6. NMR spektroskopisi

Nükleer manyetik rezonans (NMR), nükleik asitlerin etkileşimlerini ve bağlanma şekillerini araştırmak için önemli bir araç haline gelmiştir. Çözelti halinde veriler alınır, bu da etkileşimin dinamiklerini araştırmada önemlidir. G4-DNA-ligand etkileşiminde NMR, esas olarak, ligandlardan kaynaklanan sinyaller ile temas alanını belirlemek için nükleik aside atfedilebilen sinyaller arasındaki korelasyonu belirlemek için kullanılır. Bahsedilen bu bağlamda, NOESY kullanımı esastır.

G4-DNA-ligand etkileşiminde NMR yönteminin ilk kullanıldığı çalışma 1998 yılında Federoff ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir [53]. Bu çalışmada perilen türevi olan

ve PIPER olarak bilinen bileşik kullanılmıştır. 2005 yılına gelindiğinde ise, Phan ve arkadaşları porfirin türevi olan ve TMPyP4 olarak bilinen bileşik ile c-myc quadrupleks arasında oluşan bir kompleksin yapısını bildirmişlerdir [54]. TMPyP4 NMR verileri ile X-ray verilerinde anlamlı bir farklılık olduğu daha sonra yapılan çalışmada gösterilmiştir [55].



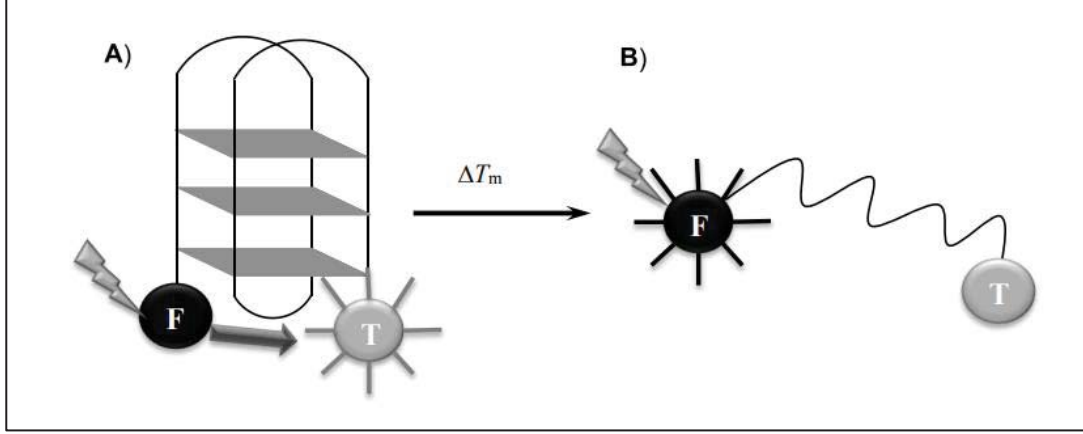
Şekil 2.13. TMPyP4 ve quadrupleks arasında oluşturulan bir kompleksin karşılaştırmalı yapısal çalışmaları: (A) X-ışını kırınım spektroskopisi kullanılarak elde edilen yapı (B) TMPyP4 ile c-myc quadrupleks, NMR spektroskopisi ile elde edilen yapı.

NMR ile yapı tayini, çözelti içerisinde kararlı türler oluşturan sekansa dayanır. Bununla birlikte, çoklu türlerin varlığı (çeşitli G-dörtlü grupların topolojileri nedeniyle) yapısal çalışmaları sınırlayabilir. Bu zorluk, çözelti içinde sadece tek bir tür oluşturan, orijinal dörtlü dizinin değiştirilmiş veya değiştirilmiş dizileri kullanılarak çözülebilir.

2.5.7. Floresans rezonans enerji transferi (FRET) analizi

FRET prensibi, uyarılmış haldeki bir donörden enerjinin, birbirine yakın (<10 nm) bir alıcıya aktarılmasına bağlıdır [56]. Dörtlülerin iki ucu boyalarla etiketlenir. 5'-uç, bir verici boya olan floresan (FAM) ile etiketlenir ve 3'-uç, alıcı olarak işlev gören tetramiltrolamin (TAMRA) ile etiketlenir. Dörtlüler katlandığında, iki boyanın yakınında bulunur. Böylece, FAM ışıkla uyarılmış olduğunda; enerji TAMRA'ya aktarılır ve bunun sonucunda floresan elde edilir (Şekil 2.14A). Bununla birlikte, dörtlülerin termal denatürasyonu; iki boyanın arasındaki mesafe artar ve enerji transferi artık mümkün olmaz (Şekil 2.14B). Bu nedenle, vericinin floresans yoğunluğu azalırken verici boyanın floresans yoğunluğu artar. Genellikle erime sıcaklığı, vericinin floresans yoğunluğunun izlenmesinden daha fazla hassas olduğu için vericinin floresans yoğunluğunun (FAM) sıcaklığın artmasıyla izlenmesiyle saptanır

[57]. FRET analizi, dörtlülerin stabilizasyonunu ve aynı zamanda iki zincirli DNA üzerindeki dörtlülere karşı ligantların seçiciliğini ölçmek için kullanılabilir [58].



Şekil 2.14. Verici olarak FAM (F) ve alıcı olarak TAMRA (T) kullanılarak FRET analizinin şematik gösterimi. (A) donörden alıcıya alıcıya enerji aktarımı, (B) dörtlü kaynağın erimesinden sonra enerji transferi olmaz.

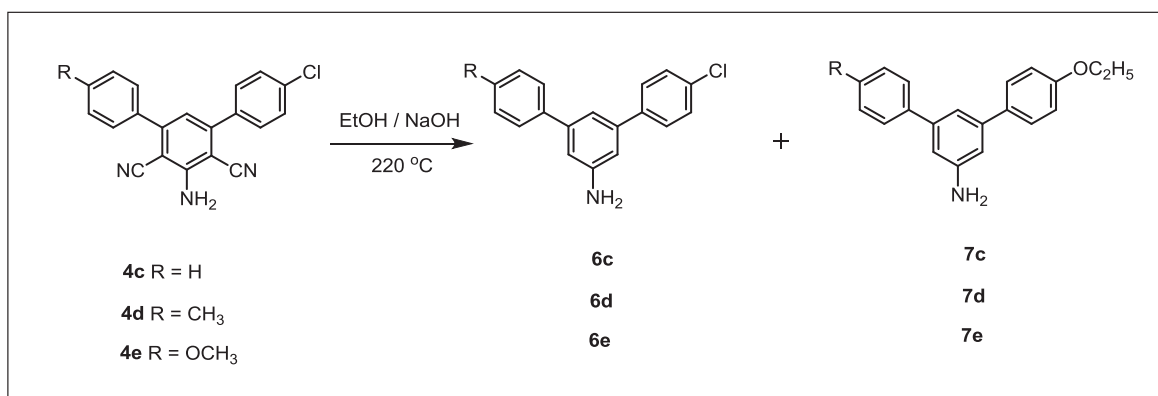
3. DESİYANİZASYON TEPKİMESİ

Tez kapsamındaki en önemli sentez tepkimeleri desiyанизasyon basamaklarıdır ve bu tez kapsamında 3-Amino-1-(hetaril)-2,4-disiyano-floren temelli bileşiklerin desiyанизasyon tepkimeleri yapılacak ve literatüre kazandırılacaktır.

Literatürde desiyанизasyon tepkimesi ile ilgili yapılan farklı çalışmalar disiyanoanilin bileşikleri için mevcuttur [59-62]. Ancak 3-Amino-1-(hetaril)-2,4-disiyano-floren halkası içeren bileşikler için desiyанизasyon tepkimesi daha önce gerçekleştirilmemiştir. Tepkime koşulları sıcaklık, zaman, basınç, bileşik-baz miktarı oranı ve özellikle çözücü gibi parametrelere bağlıdır. Bu nedenle her bir parametrenin değiştirilmesiyle reaksiyon ürünlerinde ve bu ürünlerin verimlerinde farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 5.3. de bu tür parametreleri kapsayan optimizasyon çalışması yapılmıştır.

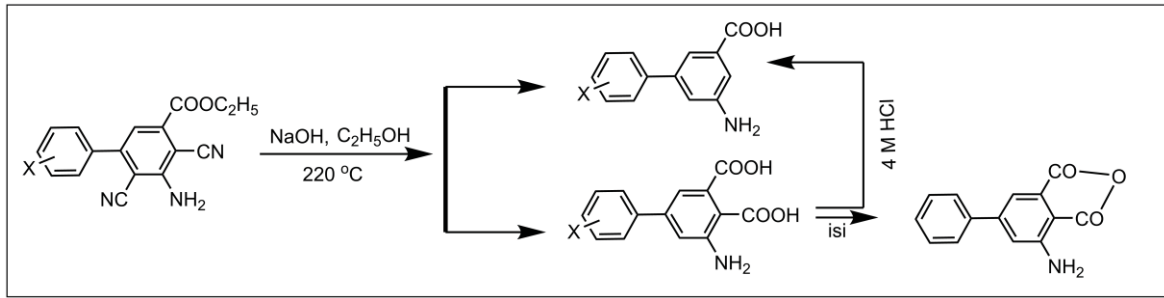
Başka yollarla sentezlenmesi zor olan (nitro süstitüye florenler veya katalitik indirgenme vb.) aminofloren ve alkilenmiş ürünlerin kolay bir yöntem üzerinden elde edilmeleri için çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca ürünlerin oluşumu için bir mekanizma önerilmiştir (Şekil 8.2).

Desiyанизasyon reaksiyonu ile ilgili olarak, 1985 yılında Sepiol ve Milart 5-amino-4,6-disiyano-m-terfenil bileşiğini etanol içerisinde sodyum hidroksit varlığında 220 °C’da ve 5 saat süreyle 250 mL’lik otoklavda siyano gruplarının eliminasyonu ile 5-amino-m-terfenil ve 3,5-diarilaminobenzen bileşiklerini elde etmişlerdir (Şekil 3.1) [59].



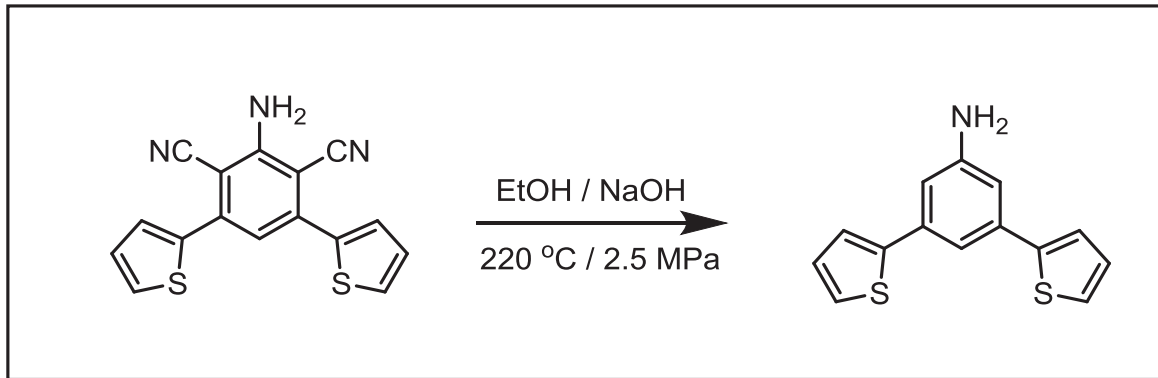
Şekil 3.1. 5-Amino-m-terfenil türevli bileşiklerin sentezi

Sepiol ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada, bifenil türevli disiyanooanilin bileşiğinin desiyanizasyonu için etanol içerisinde sodyum hidroksit varlığında 220 °C’da ve 2 saat süreyle 250 mL’lik otoklavda kaynatarak siyano gruplarının eliminasyonu beklenirken sürpriz bir şekilde bir tane siyano grubu yerine karboksilik asitin kaldığını ve bir adet anhidrit türevi bileşiği izole edip karakterize etmişlerdir. Bu çalışmada sunulan mekanizma, tezde önerdiğimiz mekanizmayı destekler niteliktedir (Şekil 3.2) [60].



Şekil 3.2. Biaril türevli bileşiklerin desiyanizasyon reaksiyonu

Grubumuz tarafından yapılan bir çalışmada ise, 2,6-disiyanoo-3,5-di(tiyofen-2-il)anilin bileşiğini etanol içerisinde sodyum hidroksit varlığında 250 mL’lik otoklavda 220 °C’da 4 saat süreyle yaklaşık 2,5 MPa basınç altında siyano gruplarının eliminasyonu ile 3,5-di(tiyofen-2-il)anilin bileşiğinin sentezi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3) [62].



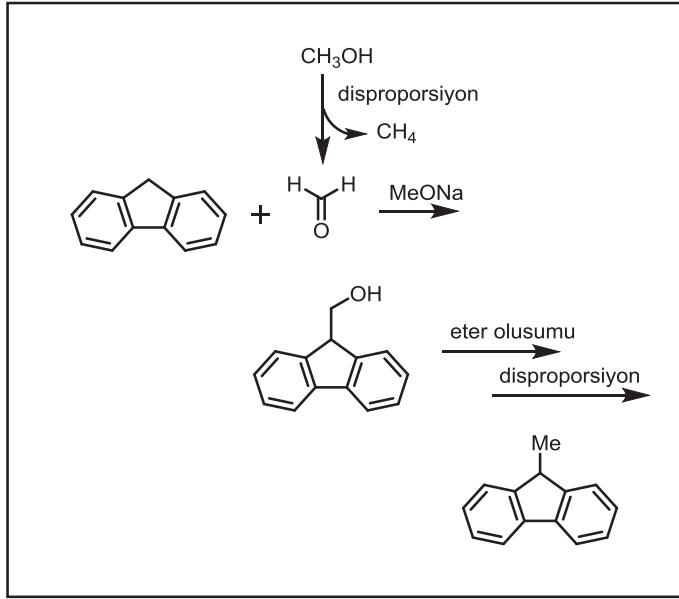
Şekil 3.3. 3,5-Di(tiyofen-2-il)anilin bileşiğinin sentezi

3.1. Desiyanizasyon Sırasında Gerçekleşen Beklenmeyen Alkillenmiş Ürünler

3.1.1. Desiyanizasyon reaksiyonuna çözücü etkisi

Tez çalışmalarının önemli bir kısmını oluşturan desiyanizasyon tepkimesinin verimini arttırma arayışları kapsamında reaksiyonda çözücü değişikliğine gidilmiştir. Bu tepkimede etanol yerine metanol, propanol gibi alkoller kullanıldığında yan ürün olarak floren halkasının 9 konumundaki karbon atomu ile 3 konumundaki N atomuna alkoldeki –R grubuna bağlı olarak alkil grupları bağlanmaktadır. Bu durum tepkimenin (Şekil 8.3)’de gösterilen mekanizma üzerinden yürüyebileceğini ve reaktörün metal içeriğinde Ni, Fe, Cr olması nedeniyle yan reaksiyon tepkimelerini katalizleyebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca desiyanizasyon sonunda reaktör kabında biriken az miktardaki metal artıkları bu savı güçlendirmektedir. Çözücü değişikliğine bağlı olarak ve verimin düşmesine sebep olan alkillenmiş ürünler için önerilen sentez mekanizmaları (Bölüm 5.2)’de gösterilmiştir.

Ayrıca, bu spesifik reaksiyonda ayrıntılı yol açık ve belirgin olmasa da, Hideyuki TAGAYA ve arkadaşlarının diarilmetan türevlerinin reaktivitesi üzerine yapmış oldukları çalışmada florenin 450 °C’da 5 saat süreyle reaksiyonu sonucunda şaşırtıcı bir şekilde 9-metilfloren elde edildiğini bildirmişlerdir [63]. Floren’in 9 konumundaki karbon atomunun alkoldeki –R grubuna bağlı olarak alkil grupları bağlanması için önerilebilecek diğer bir mekanizma ise, alkolün disproporsiyonuyla meydana gelen aldehit ile oluşan floren anyonunun nükleofilik katılması sonucu oluşan alkolün ardından eter oluşumu ve disproporsiyonlanma ile birlikte 9-alkil ürününün oluşumudur (Şekil 3.4).

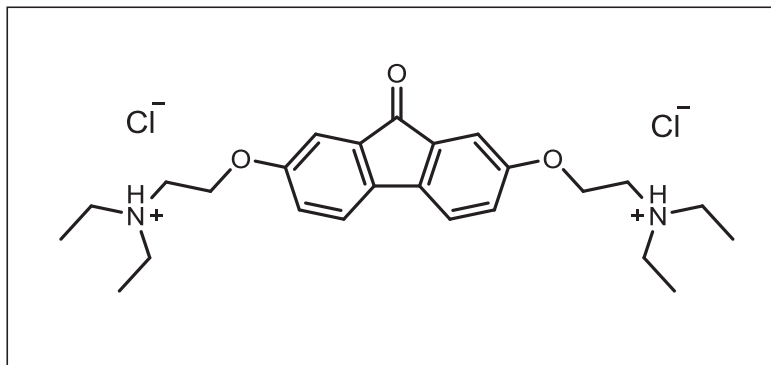


Şekil 3.4. Floren halkasının 9 konumunun disproporsiyonlanma ile alkillenmesi üzerine önerilen mekanizma

3.2. Çift Sarmal ve G4-DNA ile Etkileşen Floren ve Florenon Türevleri

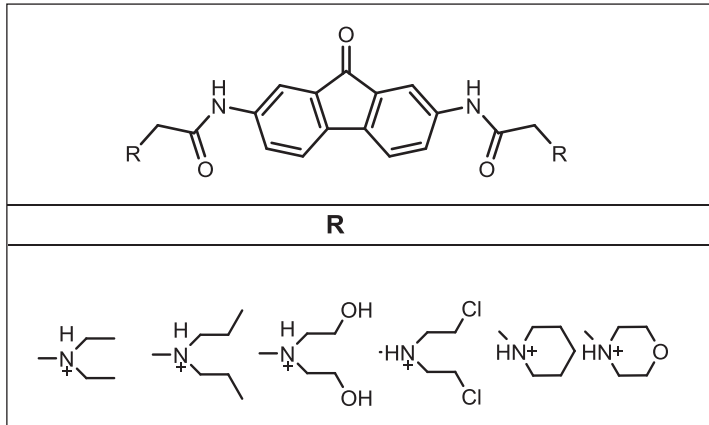
DNA, insan yaşamında hayati bir öneme sahiptir ve DNA ile küçük moleküllerin etkileşimi üzerine yapılan çalışmaların yeni ilaç moleküllerinin tasarlanmasında önemi büyüktür [64]. DNA, hücresel sistemlerde var olan biyokimyasal süreçleri düzenlediği için antikanser ilaçların birincil hücre içi hedefidir. Elbette ki ilaçların tasarımında DNA'dan daha kolay bir hedef olan RNA ve proteinler de göz önünde bulundurulmuştur. Bu nedenle DNA etkileşiminin incelendiği birçok çalışmada RNA ile olan etkileşimlerinin üzerinde durulmuştur. Çoğu kemoterapik ligand, hücresel replikasyondaki baskın rolü yüzünden DNA'ya bağlanarak veya DNA'yı keserek tümör hücrelerini etkisiz hale getirirler [65]. Bu nedenle, bir ilaç özellikle DNA'ya bağlanacak şekilde tasarlanmalıdır. İlaçların DNA'ya bağlanması, DNA'nın transkripsiyonu ve replikasyonunu inhibe ederek (DNA bükülmesi, DNA sarmalının tek veya çift dizisinin kırılması, DNA hasarı vb.) DNA'da yapısal ve konformasyonel değişikliklere neden olur. DNA'ya kovalent olmayan etkileşimlerle bağlanan moleküller ya interkelyasyon (araya ekleme) ya da groove (dış yüzeyde çentik oluşturma) yolu ile DNA'ya bağlanmaktadır. Bunun dışında DNA'nın yüzeyinde elektrostatik çekimler nedeniyle kümelenen moleküller de mevcuttur.

Lipinski'nin 5 kuralı olarak bilinen ve ilaç tasarımının optimizasyonu sürecinde önem taşıyan kurallarından birine göre, ilaç potansiyeli taşıyan bileşiklerin molekül ağırlığı 500 g/mol'ün altında olmalıdır [66]. Kemoterapi ve antiviral ilaç olarak kullanılan Florenon halkasına sahip tiloron ismiyle de bilinen 2,7-bis[2-(dietilamino)etoksi]-9-florenon (Şekil 3.5) bileşiği göreceli düşük molekül ağırlığına (410,55 g/mol) sahiptir ve DNA'ya interkalasyon ile bağlanır. Ancak bileşiğin yan etkileri sebebiyle kullanım alanı sınırlandırılmıştır [67].



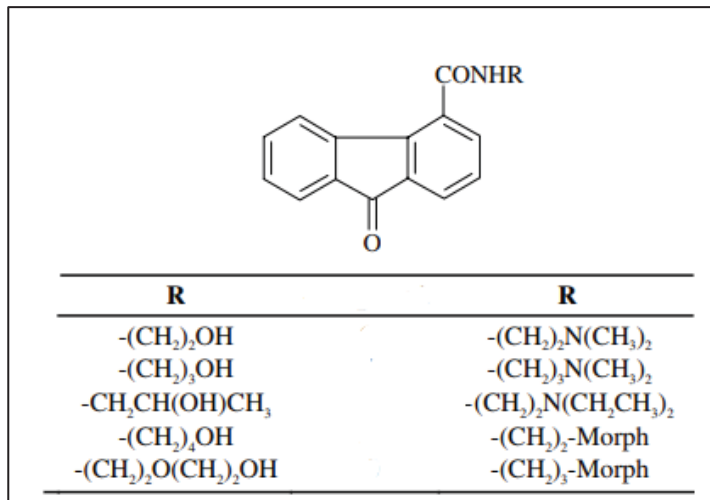
Şekil 3.5. Ticari olarak satılan 2,7-bis[2-(dietilamino)etoksi]-9-florenon dihidroklorür (tiloron dihidroklorür) bileşiği

Tiloron bileşiğinin ilaç olarak kullanımıyla beraber floren ve florenon iskeletine sahip bileşiklerin araştırmaları hız kazanmıştır. Tiloron'un yan etkileri sebebiyle kullanımının sınırlandırılması üzerine tiloron ile benzer etkiye sahip olabilecek ve DNA'ya bağlanabilecek bileşikler arayışına girilmiş ve florenon iskeletine sahip fakat tiloron'da yer alan etoksi gruplarının yerine asetilamino grubunun var olduğu bileşikler sentezlenmiştir. DNA ile etkileşim çalışmaları incelendiğinde ise tiloron'a benzer sonuçlar elde edilmiştir. (Şekil 3.6) [68]. Başka bir çalışmada ise yine benzer bileşiklerin kanser hücrelerinin büyümesi üzerine etkisi ile birlikte Topoizomeraz-I enzim aktivitesi incelenmiş ve bazı bileşiklerin antikanser ilacı olarak aday olabileceği belirtilmiştir [69].



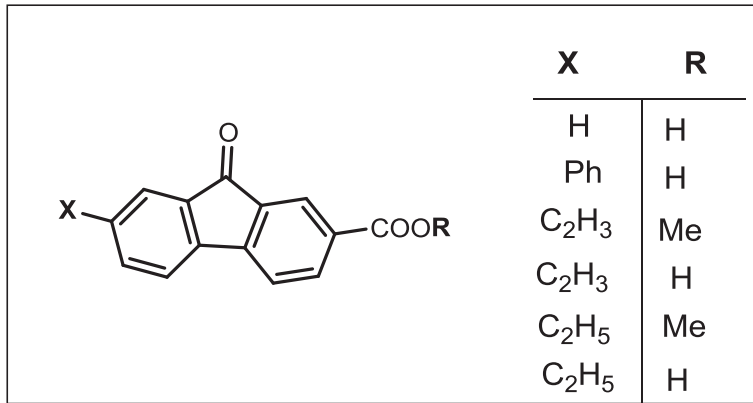
Şekil 3.6. 2,7-bis-[(dialkylamino)-asetilamino]-9-florenon bileşikleri

Ana iskelet olarak florenon halkasının kullanıldığı benzer bir çalışmada 4-karboksamid-9-florenon bileşikleri sentezlenmiş ve DNA'ya interkalasyonla bağlandığı belirtilmiştir (Şekil 3.8). Aynı çalışma da antitümör ve antiviral etkisinin de olduğu öne sürülmüştür [70].



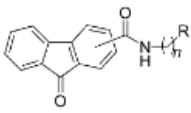
Şekil 3.7. DNA'ya interkalasyon ile bağlanan 4-karboksamid-9-florenon bileşikleri

Hedef olarak tübülün protein bağlayıcısı olarak sentezlenen 2,7-disüstitüye-9-florenon bileşiklerinin çeşitli spektroskopik metodlar kullanılarak yapılan çalışmalarında antikanser etkisi için olumlu sonuçlar verdiği belirtilmiştir (Şekil 3.9) [71].



Şekil 3.8. Tübülün proteini bağlayıcısı 2,7-disüstitüye florenon türevleri

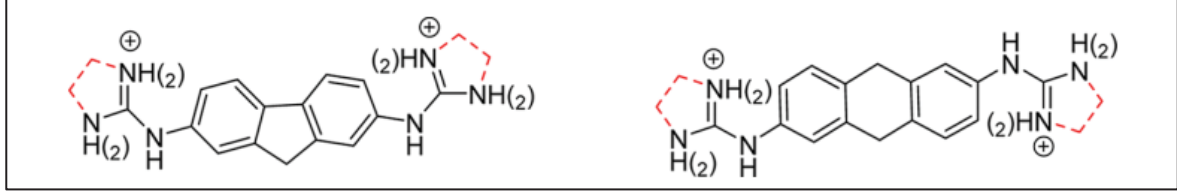
Florenon türevli bileşiklerin G4-DNA ile ligand etkileşim potansiyellerinin incelenmesi üzerine yapılan bir araştırmada ise, 2- ve 4-konumundan amit türevlerinin sentezlenmesi ve uç alkil amin olarak amin bazlarının seçiciliğinin karşılaştırılmasıyla, en seçici olarak morfolin türevli bileşiklerin DNA dizimleri yanında guanince zengin dizilimlere de seçici olarak bağlandığı spektroskopik metodlarla kanıtlanmıştır. Sentezlenen bu bileşiklerin aynı çalışmada kanserli hücrelere karşı potansiyelleri de incelenmiş ve özellikle akciğer kanseri hücrelerine olan duyarlılığı $45 \pm 3,9 \mu\text{M}$ ve cilt kanseri hücreleri için IC_{50} değeri $72,2 \pm 4,6 \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur [72].



Bileşik	n	R	Pozisyon
1	2		4
2	3		4
3	2		2
4	3		2
5 ^[a]	2		4
6 ^[a]	3		4
7 ^[a]	2		2
8 ^[a]	3		2
9	0		2

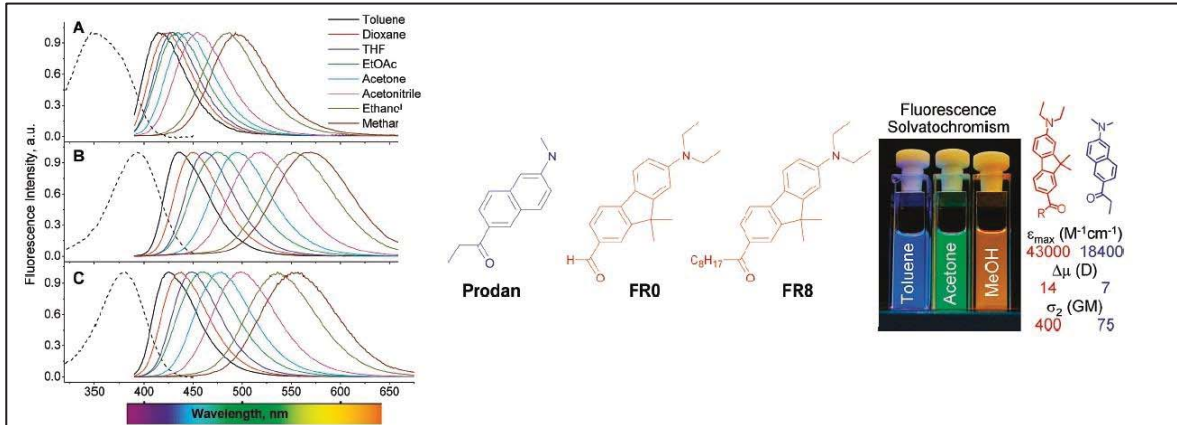
Şekil 3.9. Aday florenon karboksamit G-quadrupleks bileşikleri

Floren halkasına sahip küçük oluk bağlayıcı (KOB) moleküller de son yıllarda sentezlenmiş olup, floren ile florenon halkalarının DNA ile etkileşim sonuçları karşılaştırılmıştır [73,74].



Şekil 3.10. Küçük oluk bağlayıcı 2,7-bis-2-aminoimidazolinyum-9H-floren

İyi solvatokromik özelliklere sahip organik bileşiklerden biri olan naftalin iskeleti içeren Prodan'ın konjugasyonunu uzatarak daha iyi bir etkiye sahip olması amaçlanan bir araştırmada floren iskeleti kullanılmıştır [75].



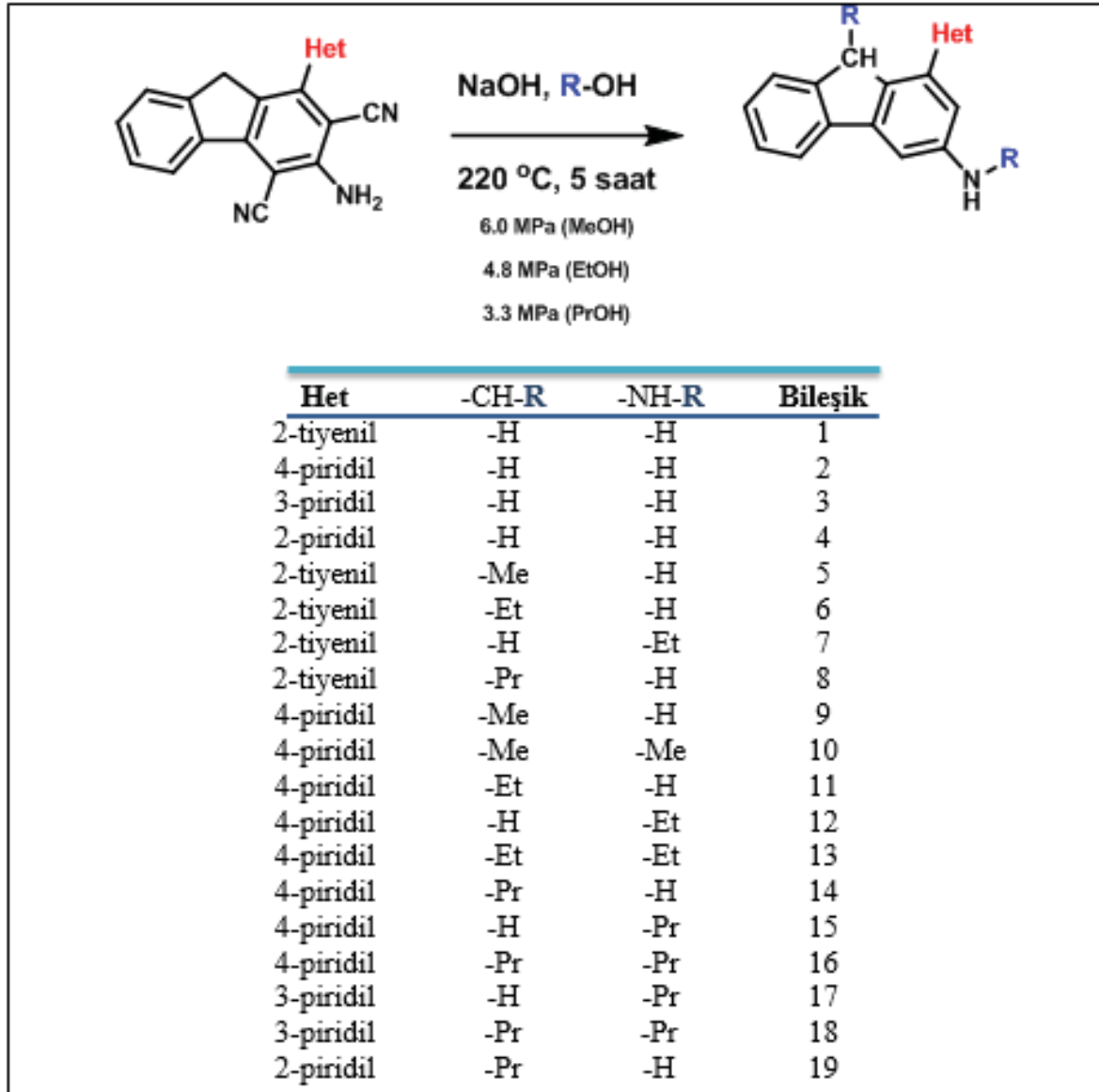
Şekil 3.11. Floren iskeletine sahip solvatokromik özellik gösteren 7-dietilamino-9,9-dimetil-9H-floren-2-karbaldehit

Yapılan çalışmalarda 2 ve 7 konumundaki kuvvetli elektron verici (dietil amino) ve alıcı (karbonil) grupları taşıyan floren türevlerinin, Prodan'dan daha iyi fotofiziksel özelliklere sahip olduğu vurgulanmıştır. Biyolojik uygulama açısından solvatokromik prob ve etiketleme ajanı olarak öngörülmüştür.

Çalışmanın Amacı

Son yıllarda organik kimya ve malzeme kimyası alanında çalışan birçok araştırmacı çabalarını yeni malzemelerin gelişimi konusuna harcamaktadır. Floren temelli floresan organik boyarmaddeler özellikle optik ve fotonik sistemlerde uygulama alanları bulurken florenon temelli bileşikler genellikle medikal kimya alanında kullanılmaktadırlar. Literatürde 2-Aminofloren/florenon ve türevleri yer almaktadır, fakat 3-Aminofloren/florenon ve türevleri literatürde bulunmamaktadır.

Bu çalışmada ilk olarak, 3-Amino-1-hetaril-2,6-disiyanofloren temelli bileşiklerin desiyanyasyonu ile literatürde olmayan ve ilk defa sentezi gerçekleştirilecek olan 3-Amino-1-hetarilfloren temelli bileşiklerin seçimli olarak sentezi hedeflenmiştir. Sentez çalışmasında, 3-Amino-1-(2-tiyenil)-2,6-disiyanofloren kullanılıp reaksiyon koşulları optimize edilerek en uygun koşulların belirlenmesi amaçlanmıştır. Sentez aşamasında hedef ürünlerin yanında oluşması muhtemel alkillenmiş ürünlerin kolon kromatografisi tekniği kullanılarak hedef ürünlerden ayrılması ve yapılarının karakterize edilmesi de hedeflenmiştir.



Şekil 3.12. Desmanizasyon reaksiyonu sonrası oluşan hedef ve alkillenmiş ürünlerin şematik gösterimi

Tez çalışmasının ikinci bölümünde sentezlenen bazı 3-Amino-1-(2-, 3-, 4-piridil ve 2-tiyenil)florenerin ve alkillenmiş türevlerinin fotofiziksel özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmanın son kısmında ise, 3-Amino-1-(4-piridil)florener ve florenon bileşiklerinin kationik ve amit türevlerinin çift sarmal DNA ve G4-DNA ile kovalent olmayan etkileşim mekanizmalarını ve ilgilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

4. ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Materyal ve Yöntem

4.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Piridin-2-karbaldehit, piridin-3-karbaldehit, piridin-4-karbaldehit, malononitril, metil iyodür, asetonitril, etanol, metanol, toluen, *N,N*-dimetilformamit, tetrahidrofuran, diklorometan, trietilamin, piridin, piperidin, pirolidin, morfolin, *N,N*-dimetilpiperazin, asetik asit, sodyum hidrür, DMSO-*d*₆, DMSO, DMF, kloroform Sigma-Aldrich ve Merck firmalarından satın alınmıştır.

Organik bazlar kullanılmadan önce destile edilmiştir. Aynı şekilde dimetilformamit (DMF) ve diklorometan (DCM) CaH₂, tetrahidrofuran (THF) ise benzofenon varlığında metalik sodyum üzerinden N₂ atmosferi varlığında destile edilmiştir. Diğer kimyasallar ilave bir saflaştırma işlemi yapılmadan doğrudan kullanılmıştır. Reaksiyonları takip etmek amacıyla kullanılan İTK (İnce tabaka kromatografisi) tabakaları silica gel 60 F254 koduyla yine Sigma-Aldrich firmasından alınmıştır.

Etkileşim çalışmalarında kullanılan guanine zengin ve 5' ve 3' ucu etiketlenmiş oligonükleotid F21T (florescein-G₃T₂AG₃-T₂AG₃T₂AG₃-tetrametilrodamin), 22AG d(AG₃T₂AG₃T₂-AG₃T₂AG₃) Almanya kökenli Metabion firmasından temin edilmiştir. Satın alınan oligonükleotidlerin ilave saflaştırma işlemi yapılmadan stok çözeltileri hazırlanmıştır (Bölüm 4.3).

4.2. Kullanılan Cihazlar

4.2.1. Karakterizasyon için kullanılan cihazlar

¹H-NMR spektrumları Bruker Ultrashield 300 MHz spektrofotometresi ile alındı.

¹³C-APT ve NMR spektrumları Bruker Ultrashield 75 MHz spektrofotometresi ile alındı.

FT-IR (ATR) spektrumları (ν cm⁻¹) doğrudan bileşiğin katı numunesi kullanılarak The Thermo Scientific Nicolet iS 5 cihazı ile alındı.

Sentezlenen bileşiklerin erime noktaları Elektrotermal IA9200 erime noktası cihazında ölçüldü.

Sentezlenen bileşiklerin kütle spektrumları Waters LCT Premier XE (TOF-MS) ve Apilent 5973 Network Kütle Seçici dedektör cihazında alındı (EI, 70 eV).

Sentezlenen bileşiğin X-ışını kırınımı Rigaku R-AXIS RAPID-S Difraktometresi ile alındı ($\lambda = 0,71073$ Å, T=294 K).

4.2.2. DNA-ligand etkileşim mekanizmalarının belirlenmesi çalışmaları için kullanılan cihazlar ve uygulanan metod

Bileşiklerin, UV-Görünür bölge, termal denatürasyon (ayrışma) ve floresans spektrumları UV Cary Bio 100 spektrofotometresi ile alındı.

Titration sırasında cihaz ayarları, aralık = 260-600 nm; Slit: ex.: 5 nm; em.:5 nm; tarama kontrol= orta, PMT detektör voltajı=orta olarak ayarlanmıştır. DNA-ligand etkileşimlerinin belirlenmesi için yapılan florimetrik titrasyonlar ile FRET(Fourier Rezonans Energy Transfer) deneyleri Varian Cary Eclipse spektrofotometresi kullanılarak yapılmıştır. DNA-ligand etkileşimlerinin belirlenmesi için yapılan CD titrasyon deneyleri Jasco J815 ve Chirascan (Applied Photophysics) spektrofotometreleri ile yapılmıştır. Deney sırasında kullanılan cihaz parametreleri $\lambda_{\text{max}} = 260-600$ nm; Band genişliği: 1 nm, Cevap süresi: 1:30 saniye $v=200$ nm / min; akümülyasyon: 3) 1000 μL 'lik kuvet ve 22AG oligonükleotidi için 500 μL kullanılmıştır. Tüm ölçümler cihaza bağlı termostatla 20 °C sıcaklıkta olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Guanince zengin dizilime sahip 22AG kodlu oligonükleotid ile yapılan titrasyon deneyleri hariç bütün titrasyon deneylerinde 1 cm ışın yolu uzunluğunda kuvarz kuvetler kullanılmıştır. 22AG guanince zengin oligonükleotid ile yapılan titrasyonda ise 1 mm ışın yolu uzunluğunda Almanya kökenli Hellma Analytics kuvetleri kullanılmıştır.

4.3. Yöntem

4.3.1. DNA/RNA tampon çözeltilerinin hazırlanması

Tampon Çözelti Sodyum kakodilat'ın hazırlanması

Sığır DNA'sı (çift sarmal), stok çözeltisinin hazırlanmasında sodyum kakodilat tamponu kullanılmıştır. Bu tampon çözeltinin hazırlanma adımları;

4280 mg $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 100 mL destile suda çözülür. (0,2 M Sodyum kakodilat çözeltisi) Hazırlanan çözeltinin 62,5 mL sine, 15,75 mL 0,1 M HCl çözeltisi ilave edilir ve 250'lik balon jojede 250 mL çizgisine kadar destile su ile çözelti seyreltilir. pH metre ile tam olarak pH'ın 7,0 olduğu kontrol edilir.

FRET deneyleri için sodyum kakodilat çözeltisi

Bileşiklerin G4 DNA'yı kararlı kılma etkisi floresein ve tetrametilrodamin ile etiketlenmiş F21T oligonükleotidi kullanarak yapılmıştır. F21T oligonükleotidin çözeltisi için içeriği ve derişimi farklı ikinci bir sodyum kakodilat çözeltisi hazırlanmıştır. Bu tampon çözeltinin (10 mM $\text{Na}(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 10 mM KCl, 90 mM LiCl; pH 7,2-7,3; 100 mL), hazırlanma adımları; 381,5 mg LiCl, 74,56 mg KCl, 214,03 mg $\text{Na}(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ tartılır, bir miktar ultra saf suda çözüldükten sonra 100 mL'lik balon jojede 100 mL çizgisine kadar seyreltilir. Daha sonra aynı çözeltinin pH'ı 7,2-7,3'e gelecek şekilde HCl ile ayarlama yapılır.

4.3.2. DNA stok çözeltilerinin hazırlanması

Çift Sarmal DNA çözeltisinin hazırlanması

Hazır alınan ve yaklaşık %42 dG–dC baz çifti içeren sığır DNA'sının 10 mg'ı 0,8 mL 50 mM pH:7 sodyum kakodilat tamponunda çözülür ve 1 gece buzdolabında (+8 °C) bekletilir. Ultrasonik karıştırıcıda karıştırılan DNA, Millipor filtreden (gözenek çapı 0,45 µM) geçirilir. Daha sonra kesin DNA konsantrasyonu UV cihazı ile 260 nm ye ayarlanmış ve molar absorpsiyon katsayısı $6600 \text{ dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ kullanılarak hesaplanmıştır. Sığır DNA'sı (çift sarmal), stok çözeltisi hazırlanmasından sonra -20 °C'da muhafaza edilir.

F21T ve 22AG guanince zengin oligonükleotidlerin stok çözeltilerinin hazırlanması

Mol miktarı satın alınan firmaca belirtilen 22AG kodlu katı oligonükleotid üzerine oligonükleotid konsantrasyonu $C_{(22AG)}$ 200 μ M olacak şekilde potasyum fosfat tamponu eklenir. Aynı şekilde mol miktarı satın alınan firmaca belirtilen F21T kodlu guanince zengin katı oligonükleotid üzerine, oligonükleotid konsantrasyonu ($C_{(F21T)}$) 50 μ M olacak şekilde sodyum kakodilat çözeltisi ilave edilir. Karışım 98 °C'a ısıtılarak bu sıcaklıkta 10 dakika tutulur. Sonra oda sıcaklığına kadar kendi halinde soğumaya bırakılan oligonükleotid -15 °C'da saklanır.

4.3.3. Scatchard eşitliği

DNA-bileşik etkileşim çalışmalarında elde edilen değerler kullanılarak bileşiklerin DNA'ya bağlanma sabiti (K_b), bağlanma oranı(n) Scatchard eşitliği vasıtasıyla bulunmuştur. Buna göre;

$$cK = (n \cdot C_{DNA} + C_{Ligand} + 1/K - ((n \cdot C_{DNA} + C_{Ligand} + 1/K)^2 - 4 \cdot n \cdot C_{DNA} \cdot C_{Ligand})^{0.5}) / 2; \quad (7.1)$$

$$A(\text{absorbans}) \text{ veya } I(\text{floresans}) = Eps_{Kompleks} \cdot cK + Eps_{Ligand} \cdot (C_{Ligand} - cK) + Eps_{DNA} \cdot (n \cdot C_{DNA} - cK) \quad (7.2)$$

$K_b = \log K$ değerinden, n ise formülden bulunabilir.

A_o : Spektrofotometrik titrasyon başlangıcında okunan absorbans değeri

A_s : Spektrofotometrik titrasyon sonunda okunan absorbans değeri

I_o : Florimetrik titrasyon başlangıcında okunan floresans şiddeti değeri

I_s : Florimetrik titrasyon sonunda okunan floresans şiddeti değeri

C_{DNA} : DNA konsantrasyonu

C_{Ligand} : Ligand konsantrasyonu

$C_{Ligandson}$: Titrasyon sonunda okunan değer

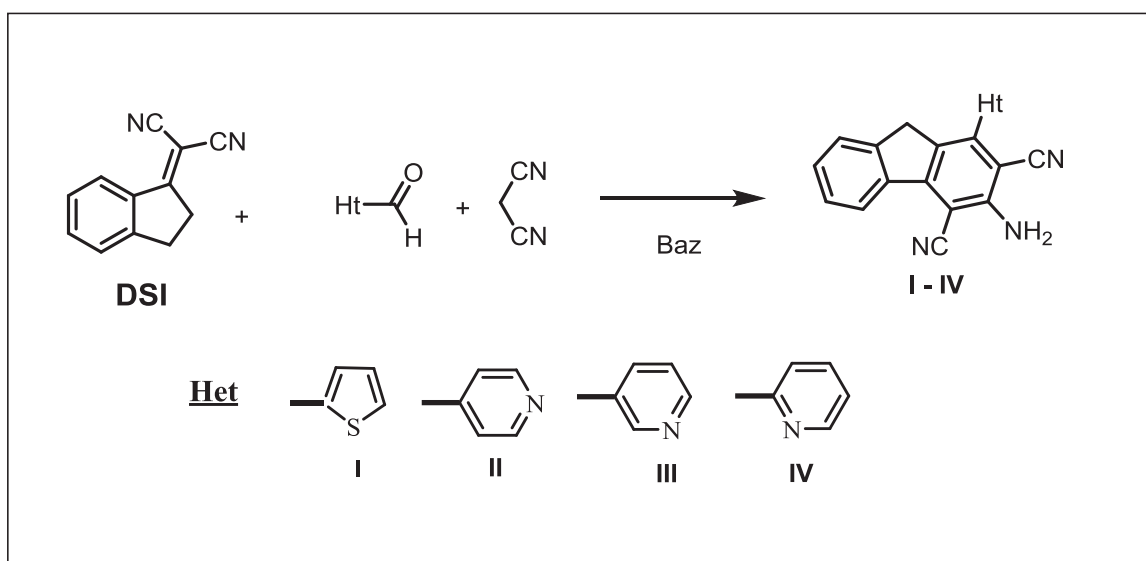
n: Bileşiğin bağlanma oranı (bağlanan bileşik/DNA fosfat grupları)

$Eps_{Kompleks}$: A_s veya I_s titrasyon sonunda okunan değer/ $C_{Ligandson}$ (titrasyon sonunda ortamdaki ligand konsantrasyonu)

5. DENEYSEL KISIM

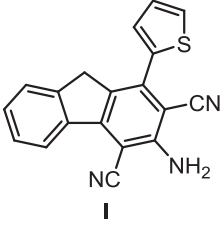
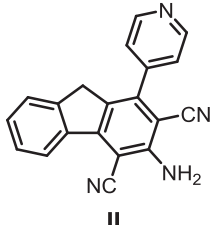
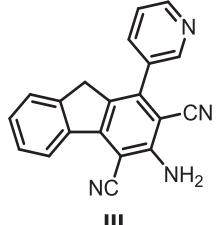
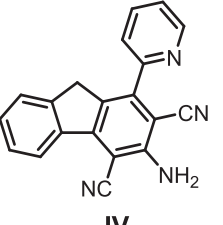
5.1. 3-Amino-1-(hetaril)-2,4-disiyanofloren bileşiklerinin sentezi (I-IV)

Desiyanizasyon tepkimesinde giriş bileşiği olarak kullanılan 3-Amino-1-(hetaril)-2,4-disiyanofloren bileşiklerinin sentezi, (I-IV) (Şekil 5.1) verim ve erime noktalarına (Çizelge 5.1) ilişkin veriler daha önce literatürde mevcuttur [76,77]. Tez kapsamında kullanılan bu bileşiklerin sentezi literatüre göre yapılmıştır.



Şekil 5.1. Tez kapsamında desiyanizasyon tepkimelerinde kullanılan 3-Amino-1-(hetaril)-2,4-disiyanofloren bileşiklerinin sentez şeması [76]

Çizelge 5.1. Tez kapsamında desiyanizasyon tepkimelerinde kullanılan 3-Amino-1-(hetaril)-2,4-disiyanofloren bileşiklerinin molekül yapıları

Bileşik				
Verim / %	85	87	90	82
E.N./ °C	303-304	340-340	334-336	317-319

5.2. Desiyanizasyon reaksiyonu ile 3-Amino-1-(2-, 3-, 4-piridil, 2-tiyenil) floren bileşiklerinin sentezi

Bölüm 3.1. de bahsedildiği üzere, tepkime koşulları sıcaklık, zaman, basınç, bileşik-baz miktarı oranı ve özellikle çözücü gibi parametrelere bağlıdır. Bu nedenle her bir parametrenin değiştirilmesiyle reaksiyon ürünlerinde ve bu ürünlerin verimlerinde farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 5.2. de bu tür parametreleri kapsayan optimizasyon çalışma koşulları görülmektedir.

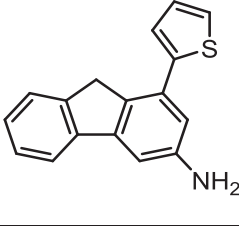
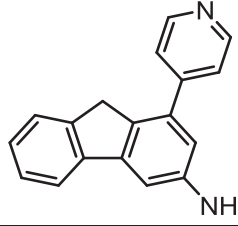
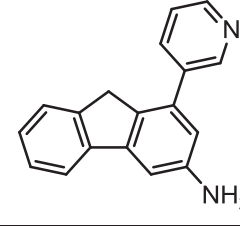
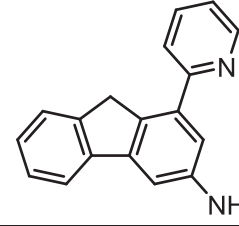
Çizelge 5.2. Desiyanizasyon tepkimesinin optimizasyonu için uygulanan reaksiyon koşulları [59-62]

Çözücü (Etanol) Hacmi (mL)	Mol Oranı 3-Amino-1-(2-tiyenil)-2,4-disiyanofloren (I):NaOH (mmol)	Sıcaklık / Zaman °C/ saat
72 mL	1,5: 10	220 °C / 5sa
72 mL	1,5: 12, 5	220 °C / 5sa
72 mL	1,5: 15	220 °C / 5sa
72 mL	1,5 : 25	220 °C / 5sa
72 mL	1,5 : 25	220 °C / 3sa
72 mL	1,5 : 25	220 °C / 5sa
72 mL	1,5 : 25 (KOH)	220 °C / 5sa
72 mL	1,5 : 25 (CsOH)	220 °C / 5sa
72 mL	1,5: 25	200 °C /5sa
72 mL	1,5: 25	240 °C /5sa
100 mL	1,5: 25	220 °C /5sa
100 mL	1,5: 12,5	220 °C /5sa
100 mL	1,5: 25	240 °C /5sa
100 mL	1,5: 25	200 °C /5sa

Optimizasyon çalışmaları 3-Amino-1-(2-tiyenil)-2,4-disiyanofloren bileşiğiyle yapılmıştır. Bu bileşiğin seçilme sebebi, tiyofenin piridine göre rezonans kararlılık enerjisinin daha yüksek olması ve halkayı daha kararlı kılması sebebiyle reaksiyon esnasında olası parçalanmalara ve yan tepkimelere karşı reaksiyonu olumsuz etkilememesidir. Desiyanizasyon reaksiyonunda en yüksek verim tiyofen halkasının olduğu disiyanooanilin

bileşiğiyle elde edilmiştir. %40 verimle gerçekleşen bu reaksiyon, piridin içeren yapılarla gerçekleştirilen reaksiyonlarda elde edilen verimlere göre %8-11 daha yüksektir. (Çizelge 5.3)

Çizelge 5.3. Desiyanizasyon reaksiyonu sonucu elde edilen hedef bileşiklerin verimleri

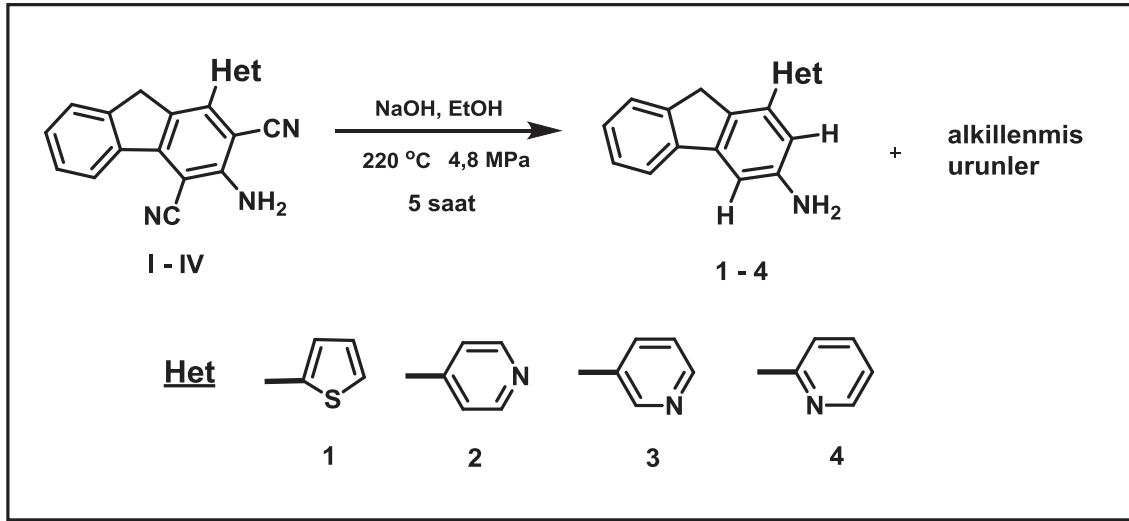
BİLEŞİK				
VERİM (%)	40	11	8	6

5.3. 3-Amino-1-(2,3,4-piridil, 2-tiyenil)floren bileşiklerinin sentezi

Desiyanizasyon reaksiyonu için genel yöntem

1,5 mmol 3-amino-1-(2,3,4-piridil, 2-tiyenil)-2,4-disiyano-floren bileşiği, 1,0 g NaOH ve 72 mL birincil alkol (metanol, etanol ve n-propanol) 300 mL kapasiteli paslanmaz çelik reaktöre konur. Reaksiyon karışımı 220 °C’da 5 saat süreyle ısıtılır. Reaksiyon sonunda elde edilen çözeltiden çözücü uzaklaştırılır ve üzerine su ilave edilerek çöken katıdan uygun çözücü karışımı ile kolon kromatografisinden hedef ve alkilenmiş ürünler elde edilir (Şekil 5.2)

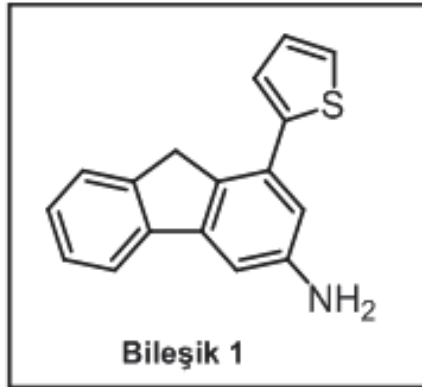
Reaksiyonda basınç parametresi de kullanılan alkolün buhar basıncına göre değişkenlik göstermektedir. Metanol kullanıldığında 6,0 MPa, etanol’de 4,8 MPa ve propanol kullanıldığında ise 3,3 MPa’da sabitlenmektedir.



Şekil 5.2. Desilyanizasyon tepkimesi

5.3.1. 3-Amino-1-(2-tiyenil)-9H-floren (1) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlar kullanılarak diklorometan-n-hekzan 4:1 karışımından kolon kromatografisi kullanılarak hedef ürün ve kullanılan alkole bağlı olarak alkillenmiş ürünler ayrılır [76].



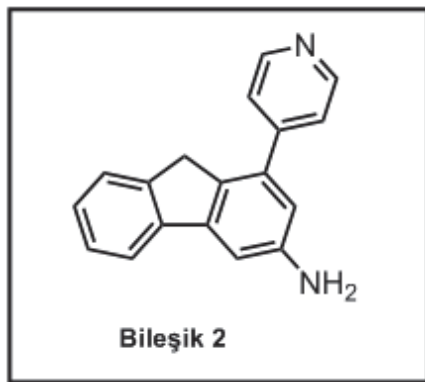
Şekil 5.3. 3-Amino-1-(2-tiyenil)-9H-floren (1) bileşiğinin yapısı

Açık sarı renkli ürün elde edilir. E.N: 168-170 °C (verim: %40) FT-IR (cm⁻¹): 3423, 3304 (NH₂), 3050 (aromatik C-H), , 2885 (alifatik C-H), 1607, 1573, (C=C) (EK-1 Şekil 1.1) ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7,73 (i, J = 7,4 Hz, 1H); 7,55 (i, J = 7,2 Hz, 1H); 7,43-7,27 (ç, 3H); 7,15 (ii, J = 5,1; 3,6 Hz, 1H); 7,12 (i, J = 2,1 Hz, 1H); 6,94 (J = 2,1 Hz, 1H); 4,07 (b, 2H); 3,80 (b, 2H) (EK-1 Şekil 1.2) ¹³C-APT (DMSO-d₆, 75 MHz): δ 149,0; 148,1; 144,1; 143,5; 143,4; 141,5; 136,3; 131,3; 128,5; 127,3; 127,1; 125,7; 125,5; 120,0; 119,8; 112,5;

105,4; 105,2; 37,9. (EK-1 Şekil 1.3) HRMS (ESI, CH₃CN, m/z) (C₁₇H₁₄NS) [M+H]⁺ bileşiği için beklenen 264,0847; bulunan 264,0838 (EK-1 Şekil 1.4) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.3.2. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren (2) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlar kullanılarak etil asetat-n-hekzan 2,5:1 (%2-3 metanol) karışımından kolon kromatografisi kullanılarak hedef ürün ve kullanılan alkole bağlı olarak alkillenmiş ürünler ayrılır.

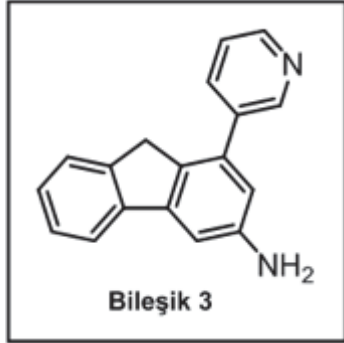


Şekil 5.4. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren (2) bileşiğinin yapısı

Beyaz renkli ürün elde edilir. E.N: 139-141 °C (verim: %11) FT-IR (cm⁻¹): 3309, 3180 (NH₂), 3048 (aromatik C-H), 2980, 2890 (alifatik C-H), 1610, 1595 (C=C) (EK-1 Şekil 1.5) ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8,65 (i, *J* = 5,50 Hz, 2H), 7,75 (i, *J* = 7,43 Hz, 1H), 7,65 (i, *J* = 5,54 Hz, 2H), 7,50 (i, *J* = 7,22 Hz, 1H), 7,35 (ç, 1H), 7,30 (ç, 1H), 7,15 (i, *J* = 1,35 Hz, 1H), 6,70 (i, *J* = 1,35 Hz, 1H), 5,25 (t, 2H), 3,85 (t, 2H) (EK-1 Şekil 1.6) ¹³C-APT (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 150,3; 149,2; 148,9; 144,2; 143,3; 141,5; 136,3; 128,4; 127,1; 125,4; 123,4; 120,0; 113,7; 105,6; 35,9. (EK-1 Şekil 1.7) HRMS (ESI, CH₃CN, m/z) C₁₈H₁₅N₂ [M+H]⁺ bileşiği için beklenen 259,1235; bulunan 259,1239 (EK-1 Şekil 1.8) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.3.3. 3-Amino-1-(3-piridil)-9H-floren (3) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlar kullanılarak etil asetat-n-hekzan 2,5:1 (%2-3 metanol) karışımından kolon kromatografisi kullanılarak hedef ürün ve kullanılan alkole bağlı olarak alkilenmiş ürünler ayrılır.

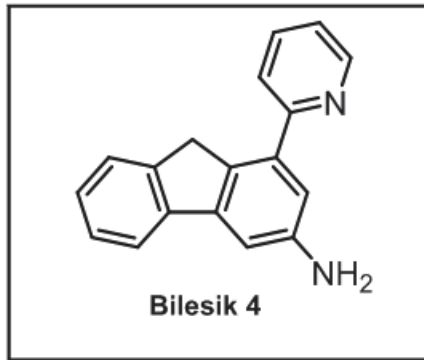


Şekil 5.5. 3-Amino-1-(3-piridil)-9H-floren (3) bileşiğinin yapısı

Beyaz renkli ürün elde edilir. E.N: 142-150 °C, (verim: %8) FT-IR (cm^{-1}): 3314, 3191 (NH_2), 3060 (aromatik C-H), 2924 (alifatik C-H), 1600, 1499 ($\text{C}=\text{C}$) (EK-1 Şekil 1.9) ^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz): δ 8,80 (b, 1H), 8,59 (ii, $J = 4,8 \text{ Hz}$, 1,5 Hz, 1H), 8,11 – 7,96 (ç, 1H), 7,75 (i, $J = 7,3 \text{ Hz}$, 1H), 7,50 (ii, $J = 7,7 \text{ Hz}$, 4,9 Hz, 3H), 7,32 (ç, 3H), 7,13 (i, $J = 1,9 \text{ Hz}$, 1H), 6,65 (i, $J = 1,9 \text{ Hz}$, 1H), 5,25 (b, 3H), 3,84 (b, 2H). (EK-1 Şekil 1.10) ^{13}C -APT ($\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz): δ 150,3; 149,1; 148,7; 144,2; 143,1; 141,6; 137,0; 128,7; 127,7; 127,0; 125,4; 123,4; 120,4; 114,1; 105,4; 95,7; 35,8. (EK-1 Şekil 1.11) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 259,1235; bulunan 259,1233 (EK-1 Şekil 1.12) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.3.4. 3-Amino-1-(2-piridil)-9H-floren (4) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlar kullanılarak etil asetat-n-hekzan 2,5:1 (%2-3 metanol) karışımından kolon kromatografisi kullanılarak hedef ürün ve kullanılan alkole bağlı olarak alkilenmiş ürünler ayrılır.



Şekil 5.6. 3-Amino-1-(2-piridil)-9H-floren (4) bileşiğinin yapısı

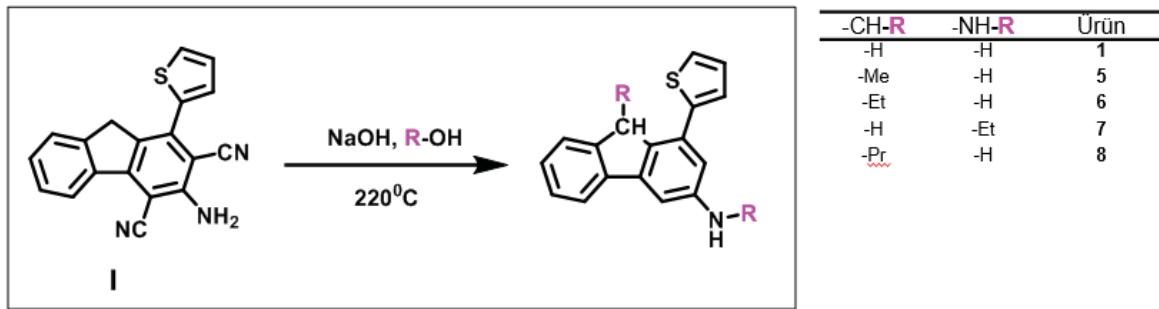
Beyaz renkli ürün elde edilir. E.N: 138-140 °C (verim: %6) FT-IR (cm^{-1}): 3326, 3207 (NH_2), 3048 (aromatik C-H), 2924 (alifatik C-H), 1642, 1586(C=C) (EK-1 Şekil 1.13) ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 8,75 – 8,68 (ç, 1H), 7,96 – 7,86 (ç, 2H), 7,82 (ii, $J = 7,0$ Hz, 1,0 Hz, 2H), 7,75 (i, $J = 7,2$ Hz, 2H), 7,55 (i, $J = 7,3$ Hz, 2H), 7,43 – 7,24 (ç, 5H), 7,15 (i, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,06 (ü, $J = 3,2$ Hz, 1H), 5,22 (b, 3H), 4,04 (b, 3H). (EK-1 Şekil 1.14) ^{13}C -APT (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 158,0; 149,1; 148,3; 144,0; 142,7; 141,0; 136,8; 136,7; 128,6; 126,7; 126,5; 124,8, 122,2; 122,1; 119,4; 113,4; 105,7; 36,7. (EK-1 Şekil 1.15) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 259,1235; bulunan 259,1237 (EK-1 Şekil 1.16) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.4. Desiyanyasyon Reaksiyonuna Çözücü Etkisi ve Oluşan Alkillenmiş Ürünler

Desiyanyasyon reaksiyonlarıyla ilgili literatüre bakıldığında çözücü olarak etanol tercih edildiği görülmektedir. Tez çalışmasında etanol kullanılarak yapılan reaksiyonlarda hedef ürün elde edilmiştir fakat verimini arttırma arayışları kapsamında reaksiyonda çözücü değişikliklerine gidilmiştir. Etanol yerine metanol ve propanol ile de çalışılmış ve floren halkasının 9 konumundaki karbon atomu ile 3 konumundaki N atomuna alkoldeki –R grubuna bağlı olarak alkil gruplarının bağlandığı saptanmıştır. Bu beklenmeyen alkillenme ürünleri için bir mekanizma önerisinde bulunulmuştur. Bu durum tepkimenin (Şekil 8.3)’de gösterilen mekanizma üzerinden yürüyebileceğini ve reaktörün metal içeriğinde Ni, Fe, Cr olması nedeniyle alkillenme reaksiyonlarını katalizleyebileceğini düşündürmektedir.

Aşağıda sırasıyla Şekil 5.1 deki çıkış bileşikleri kullanılarak üç farklı alkolde (etanol, metanol ve propanol) gerçekleştirilen reaksiyonlar sonucu elde edilen alkillenme ürünlerine ait bilgiler ve yapılarının aydınlatılmalarına ait karakterizasyonları verilmektedir.

I numaralı çıkış bileşiğiyle yapılan desiyalizasyon tepkimelerinin genel gösterimi Şekil 5.7’de yer almaktadır.



Şekil 5.7. I numaralı bileşiğin birincil alkollerle (sırasıyla metanol, etanol ve propanol) yapılan desiyalizasyon reaksiyonu sonucu elde edilen ürünler

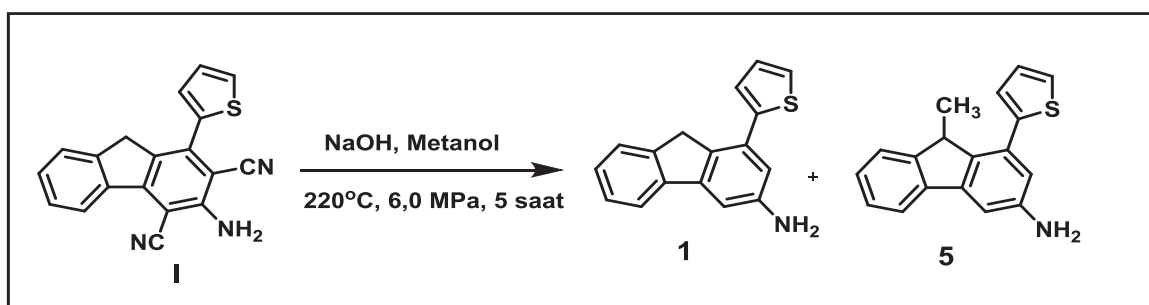
Alkilenmiş ürünler olan 1 ve 5-8 bileşiklerinin sentez ve saflaştırma detayları Çizelge 5.4 te verilmiştir.

Çizelge 5.4. 1 ve 5-8 bileşiklerinin saflaştırmalarıyla ilgili detaylar

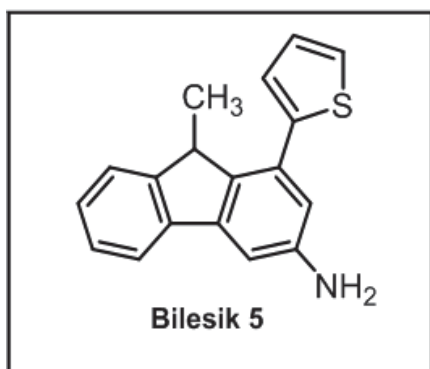
Çözücü	Kolon Kromatografisi	Kristallendirme	Ürünler
Metanol	EtOAc : <i>n</i> -hekzan; 1:2.5	Dietil eter-petrol eteri	1,5
Etanol	DCM : <i>n</i> -hekzan; 4:1	EtOAc : <i>n</i> -hekzan	1,6,7
Propanol	EtOAc : <i>n</i> -hekzan; 1:2.5	Dietil eter-petrol eteri	1,8

5.4.1. 3-Amino-9-metil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (5) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak metanol kullanılarak bileşik 1'in sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (5) etil asetat-n-hekzan 1:2,5 karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır (Şekil 5.8.).



Şekil 5.8. 3-Amino-1-(2-tiyenil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin metanol ile desiyenizasyon reaksiyonu



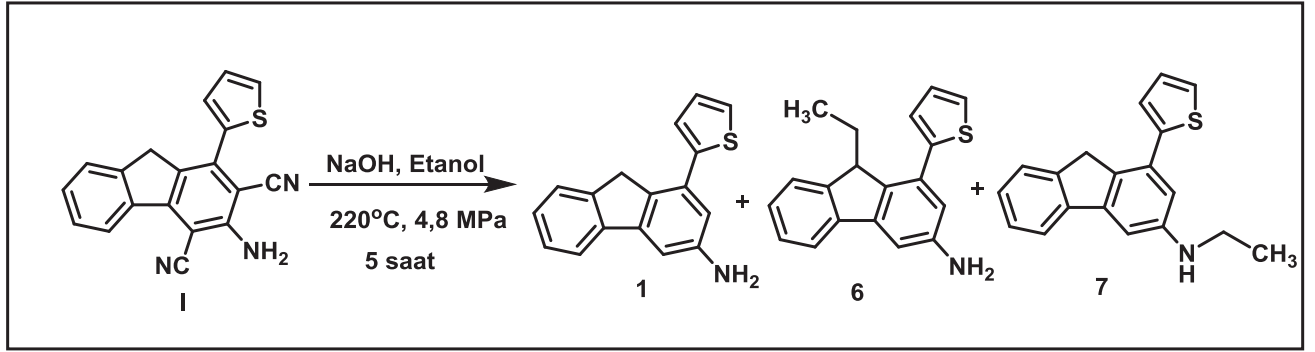
Şekil 5.9. 3-Amino-9-metil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (5) bileşiğinin yapısı

Kahverengi renkli ürün elde edilir. E.N: 116–118 °C (verim: %22) FT-IR (cm⁻¹): 3418, 3294 (NH₂), 3195, 3069 (aromatik C-H), 2951, 2863 (alifatik C-H), 1608, 1572 (C=C) (EK-1 Şekil 1.17) ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 7,72 – 7,66 (ç, 1H), 7,59 (ii, *J* = 5,1 Hz, 1,0 Hz, 1H), 7,51 (i, *J* = 6,9 Hz, 1H), 7,39 (ii, *J* = 3,5 Hz, 1,0 Hz, 1H), 7,31 (ç, 2H), 7,18 (ii, *J* = 5,1 Hz, 3,5 Hz, 1H), 7,01 (i, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,66 (i, *J* = 2,0 Hz, 1H), 5,24 (b, 2H), 4,33 (ç, *J* = 7,0 Hz, 1H), 1,07 (i, *J* = 7,1 Hz, 3H). (EK-1 Şekil 1.18) ¹³C-APT (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 149,6; 148,4; 142,4; 141,8; 139,7; 133,1; 131,4; 127,8; 126,9; 126,8; 125,4; 125,3; 123,9; 119,4; 113,8; 104,7, 41,1, 17,4. (EK-1 Şekil 1.19) HRMS (ESI, CH₃CN, *m/z*) C₁₈H₁₆NS

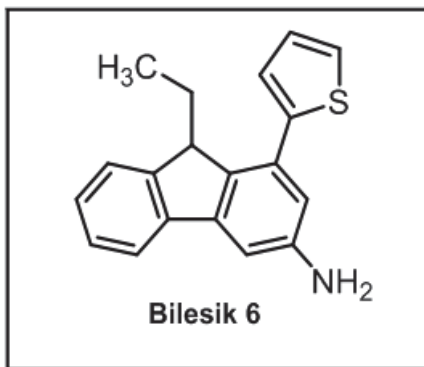
$[M+H]^+$ bileşiği için beklenen 278,1003; bulunan 278,1003 (EK-1 Şekil 1.20) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.4.2. 3-Amino-9-etil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (6) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak etanol kullanılarak bileşik 1'in sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (6) diklorometan-n-hekzan 4:1 karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün etil asetat-n-hekzan çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır (Şekil 5.10.).



Şekil 5.10. 3-Amino-1-(2-tiyenil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin etanol ile desiyanyasyon reaksiyonu



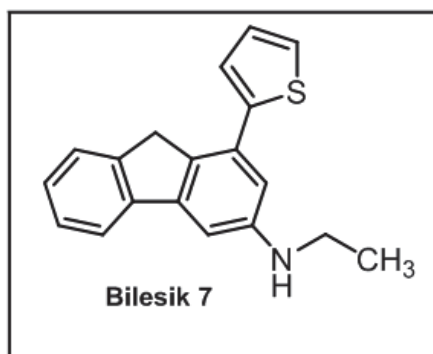
Şekil 5.11. 3-Amino-9-etil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (6) bileşiğinin yapısı

Bej renkli ürün elde edilir. E.N: 165–167 °C (verim: %24) FT-IR (cm^{-1}): 3420, 3292(NH_2), 3197 (aromatik C-H), 2956, 2925, 2867 (alifatik C-H), 1608, 1493 ($\text{C}=\text{C}$) (EK-1 Şekil 1.21) ^1H -NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7,69 (i, $J = 6,6$ Hz, 1H), 7,48 (i, $J = 7,0$ Hz, 1H), 7,42 – 7,29

(ç, 3H), 7,13 (ii, $J = 5,1$ Hz, 3,5 Hz, 1H), 7,09 (i, $J = 2,1$ Hz, 1H), 6,76 (i, $J = 2,1$ Hz, 1H), 4,42 (ii, $J = 6,0$ Hz, 3,6 Hz, 1H), 3,78 (b, 3H), 1,91 (ç, 2H), 0,34 (ü, $J = 7,4$ Hz, 4H). (EK-1 Şekil 1.22) ^{13}C -APT (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 148,4; 147,6; 142,7; 142,5; 140,9; 131,4; 130,8; 127,7; 126,7; 126,7; 125,4; 125,2; 123,9; 119,3; 113,9; 104,6; 46,6; 22,8; 8,4. (EK-1 Şekil 1.23) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{NS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 292,1160; bulunan 292,1161 (EK-1 Şekil 1.24) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.4.3. 3-Amino-*N*-etil-1-(2-tiyenil)-9*H*-florein (7) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

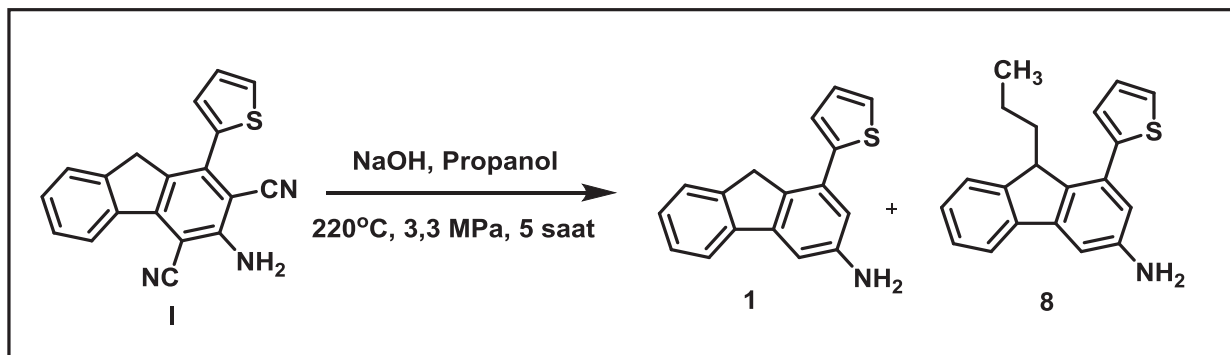
5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak etanol kullanılarak bileşik 1'in sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (7) diklorometan-*n*-hekzan 4:1 karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün etil asetat-*n*-hekzan çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır (Şekil 5.10.).



Şekil 5.12. 3-Amino-*N*-etil-1-(2-tiyenil)-9*H*-florein (7) bileşiğinin yapısı

Kahverengi renkli ürün elde edilir. E.N: 93–95 °C (verim: %10) FT-IR (cm^{-1}): 3379 (NH), 3062 (aromatik C-H), 2958, 2869 (alifatik C-H), 1612, 1574 (C=C) (EK-1 Şekil 1.25) ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 7,82 (i, $J = 7,1$ Hz, 1H), 7,64 – 7,50 (ç, 3H), 7,42 – 7,25 (ç, 3H), 7,20 (ii, $J = 5,1$ Hz, 3,6 Hz, 1H), 7,08 (i, $J = 2,0$ Hz, 1H), 6,84 (i, $J = 2,0$ Hz, 1H), 5,71 (ü, $J = 5,4$ Hz, 1H), 3,97 (b, 2H), 3,25 – 3,11 (ç, 3H), 1,23 (ü, $J = 7,1$ Hz, 4H). (EK-1 Şekil 1.26) ^{13}C -APT (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 149,5; 144,0; 143,5; 141,6; 131,3; 128,4; 127,1; 125,8; 125,6; 120,2; 111,1; 102,9; 57,9; 14,9. (EK-1 Şekil 1.27) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{NS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 292,1160; bulunan 292,1146 (EK-1 Şekil 1.28)

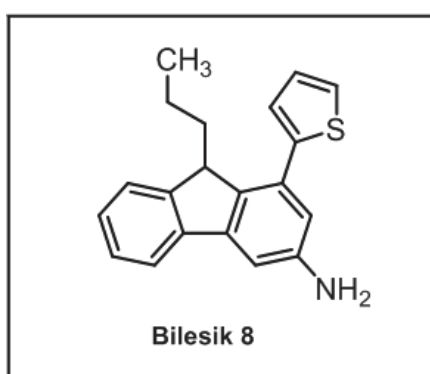
Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.



Şekil 5.13. 3-Amino-1-(2-tiyenil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin propanol ile desiyанизasyon reaksiyonu

5.4.4. 3-Amino-9-propil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (8) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak propanol kullanılarak bileşik 1'in sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (8) etil asetat-n-hekzan 1:2,5 karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır.

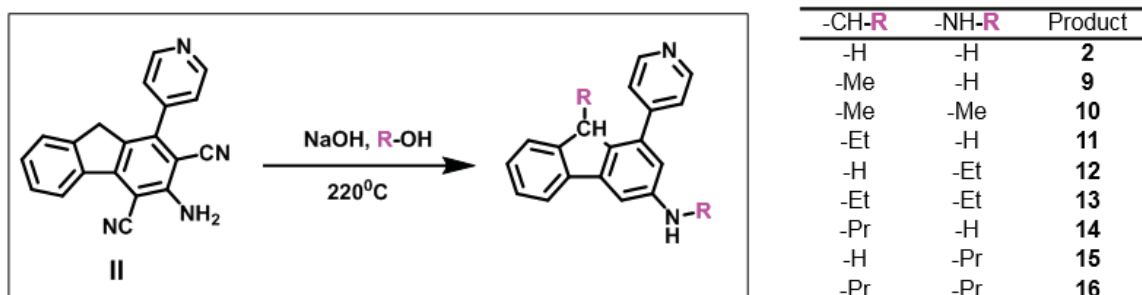


Şekil 5.14. 3-Amino-9-propil-1-(2-tiyenil)-9H-floren (8) bileşiğinin yapısı

Kahverengi renkli ürün elde edilir. E.N: 128–130 °C (verim: %16) FT-IR (cm⁻¹): 3420, 3295(NH₂), 3197 (aromatik C-H), 2956, 2921, 2854 (alifatik C-H), 1608, 1493 (C=C) (EK-1 Şekil 1.29) ¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 7,67 (i, J = 7,2 Hz, 1H), 7,59 (i, J = 5,1 Hz, 1H), 7,49 (i, J = 7,1 Hz, 1H), 7,38 – 7,23 (ç, 3H), 7,19 – 7,13 (ç, 1H), 6,99 (i, J = 1,9 Hz,

1H), 6,63 (i, $J = 1,9$ Hz, 1H), 5,22 (b, 2H), 4,44 – 4,31 (ç, 1H), 1,74 (i, $J = 3,5$ Hz, 1H), 1,45 – 1,31 (ç, 1H), 1,24 (b, 1H), 0,93 (i, $J = 6,6$ Hz, 1H), 0,84 (i, $J = 6,2$ Hz, 1H), 0,67 (i, $J = 7,2$ Hz, 2H), 0,50 (ü, $J = 7,1$ Hz, 2H). (EK-1 Şekil 1.30) ^{13}C -APT (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 149,5; 144,0; 143,5; 141,6; 131,3; 128,4; 127,1; 125,8; 125,6; 120,2; 111,1; 102,9; 57,9; 14,9. (EK-1 Şekil 1.31) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{NS}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 306,1316; bulunan 306,1303 (EK-1 Şekil 1.32) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

II numaralı çıkış bileşiğiyle yapılan desiyanizasyon tepkimelerinin genel gösterimi ve oluşan ürünler Şekil 5.15. de verilmiştir.



Şekil 5.15. II numaralı bileşiğin birincil alkollerle (sırasıyla metanol, etanol ve propanol) yapılan desiyanizasyon reaksiyonu sonucu elde edilen ürünler.

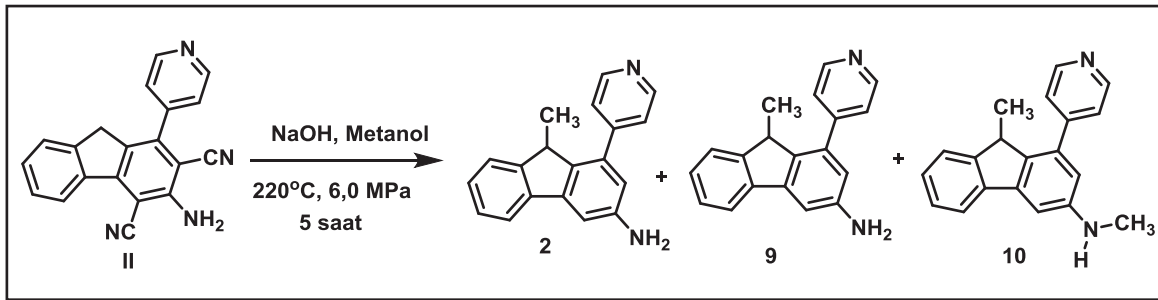
Alkilenmiş ürünler olan 2 ve 9-16 bileşiklerinin sentez ve saflaştırma detayları Çizelge 5.2 de verilmiştir.

Çizelge 5.5. 2 ve 9-16 bileşiklerinin saflaştırmalarıyla ilgili detaylar

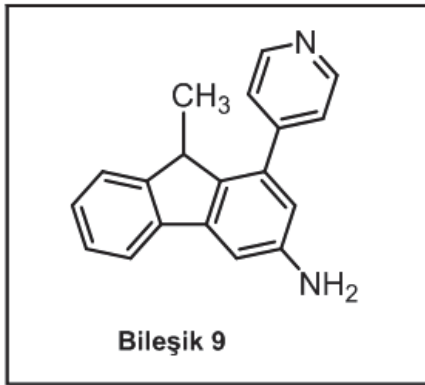
Çözücü	Kolon Kromatografisi	Kristallendirme	Ürünler
Metanol	EtOAc : <i>n</i> -hekzan; 2.5 : 1 (%2.3 metanol)	Dietil eter-petrol eteri	2,9,10
Etanol	EtOAc : <i>n</i> -hekzan; 2.5 : 1 (%2.3 metanol)	EtOAc : <i>n</i> -hekzan	2,11,12,13
Propanol	EtOAc : <i>n</i> -hekzan; 2.5 : 1 (%2.3 metanol)	Dietil eter-petrol eteri	2,14,15,16

5.4.5. 3-Amino-9-metil-1-(4-piridil)-9H-floren (9) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak metanol kullanılarak bileşik 2'nin sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (9) etil asetat-n-hekzan 2,5:1 (%2-3 metanol) karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır (Şekil 5.16.).



Şekil 5.16. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin metanol ile desiyonizasyon reaksiyonu



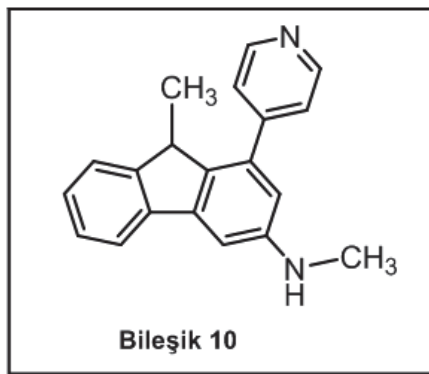
Şekil 5.17. 3-Amino-9-metil-1-(4-piridil)-9H-floren (9) bileşiğinin yapısı

Beyaz renkli ürün elde edilmiştir. E.N: 156-157 °C (verim: %8) FT-IR (cm⁻¹): 3450, 3358(NH₂), 3055 (aromatik C-H), 2964, 2926 (alifatik C-H), 1602, 1449 (C=C) (EK-1 Şekil 1.33) ¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 8,66 (ii, *J* = 4,4 Hz, 1,6 Hz, 1H), 7,80 (i, *J* = 6,6 Hz, 1H), 7,62 (ii, *J* = 4,4 Hz, 1,6 Hz, 1H), 7,49 (i, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,41 – 7,23 (ç, 2H), 6,50 (i, *J* = 2,1 Hz, 1H), 5,23 (b, 2H), 4,36 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 0,90 (i, *J* = 7,2 Hz, 2H). (EK-1 Şekil 1.34) ¹³C-APT (DMSO-d₆, 75 MHz): δ 150,4; 150,1; 149,3, 149,1; 142,3; 141,2; 140,2; 139,6; 136,7; 135,9; 133,7; 132,7; 127,4; 127,3; 124,4; 123,5; 120,0; 114,3; 105,7; 18,1.

(EK-1 Şekil 1.35) HRMS (ESI, CH₃CN, m/z) C₁₉H₁₇N₂ [M+H]⁺ bileşiği için beklenen 273,1392; bulunan 273,1399 (EK-1 Şekil 1.36) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

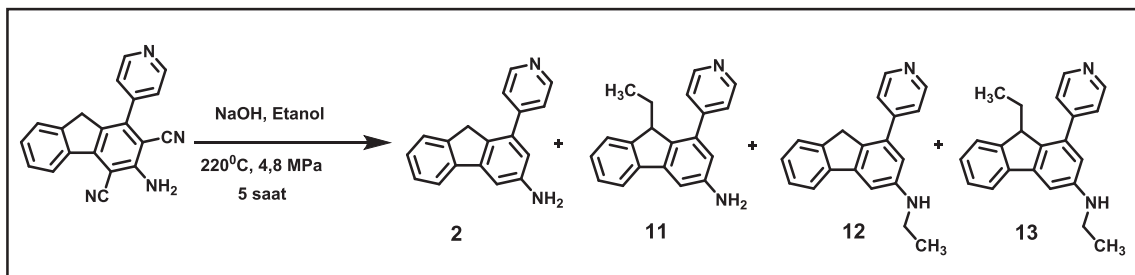
5.4.6. 3-Amino-*N*,9-dimetil-1-(4-piridil)-9*H*-florein (10) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak metanol kullanılarak bileşik 2'nin sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (10) etil asetat-n-hekzan 2,5:1 (%2-3 metanol) karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır.



Şekil 5.18. 3-Amino-*N*,9-dimetil-1-(4-piridil)-9*H*-florein (10) bileşiğinin yapısı

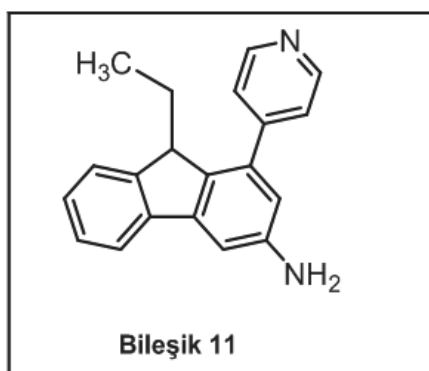
Beyaz renkli ürün elde edilir. E.N: 122-125 °C (verim : %6) FT-IR (cm⁻¹): 3408 (NH), 3052 (aromatik C-H), 2967, 2925, 2866 (alifatik C-H), 1598 (C=C) (EK-1 Şekil 1.37) ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8,66 (ii, *J* = 4,4 Hz, 1,6 Hz, 1H), 7,80 (i, *J* = 6,6 Hz, 1H), 7,62 (ii, *J* = 4,4 Hz, 1,6 Hz, 1H), 7,49 (i, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,41 – 7,23 (ç, 2H), 6,50 (i, *J* = 2,1 Hz, 1H), 5,83 (i, *J* = 5,1 Hz, 1H), 4,36 (i, *J* = 7,2 Hz, 1H), 2,79 (i, *J* = 5,1 Hz, 2H), 0,90 (i, *J* = 7,2 Hz, 2H). (EK-1 Şekil 1.38) ¹³C-APT (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 150,4; 150,1; 149,3; 149,1; 142,3; 141,2; 140,2; 139,6; 136,7; 135,9; 133,7; 132,7; 127,4; 127,3; 124,4; 123,5; 120,0; 114,3; 105,7; 18,1. (EK-1 Şekil 1.39) HRMS (ESI, CH₃CN, m/z) C₂₀H₁₉N₂ [M+H]⁺ bileşiği için beklenen 287,1548; bulunan 287,1562 (EK-1 Şekil 1.40) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.



Şekil 5.19. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin etanol ile desilyanizasyon reaksiyonu

5.4.7. 3-Amino-9-etil-1-(4-piridil)-9H-floren (11) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak etanol kullanılarak bileşik 2'nin sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (11) etil asetat-n-hekzan 2,5:1 (%2-3 metanol) karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır.



Şekil 5.20. 3-Amino-9-etil-1-(4-piridil)-9H-floren (11) bileşiğinin yapısı

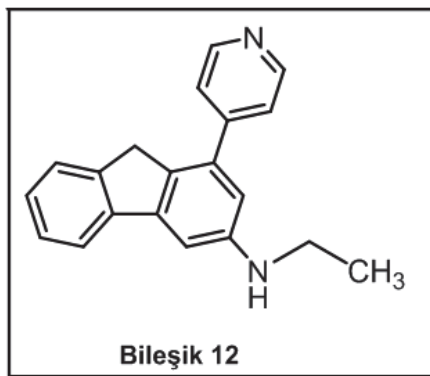
Sarı renkli ürün elde edilir. E.N: 156 °C (verim: %12) FT-IR (cm⁻¹): 3429, 3338 (NH₂), 3139 (aromatik C-H), 2959, 2927, 2869 (alifatik C-H), 1635, 1599 (C=C) (EK-1 Şekil 1.41) ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8,65 (ii, *J* = 4,5 Hz, 1,5 Hz, 2H), 7,70 (i, *J* = 6,9 Hz, 1H), 7,59 (ii, *J* = 4,4 Hz, 1,6 Hz, 2H), 7,47 (i, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,39 – 7,21 (ç, 2H), 7,09 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,55 (i, *J* = 2,0 Hz, 1H), 5,26 (b, 2H), 4,43 (ii, *J* = 5,4 Hz, 3,5 Hz, 1H), 1,74 (ç, 1H), 1,42 – 1,06 (ç, 2H), 0,10 (ü, *J* = 7,3 Hz, 3H). (EK-1 Şekil 1.42) ¹³C-APT (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 150,3; 149,5; 149,1; 148,0; 143,2; 141,4; 136,9; 132,0; 131,2; 127,3; 127,2; 124,4; 123,4; 119,8; 114,3; 105,6; 46,4; 23,4; 8,4. (EK-1 Şekil 1.43) HRMS (ESI, CH₃CN,

m/z) C₂₀H₁₉N₂ [M+H]⁺ bileşiği için beklenen 287,1548; bulunan 287,1535 (EK-1 Şekil 1.44) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

Ayrıca Bileşik 11'e ait COSY, NOSY, HMQC, HMBC verileri de ekte yer almaktadır. (EK-1 Şekil 1.45 – 1.48) Tartışma bölümünde (Bölüm 6) ayrıntılı olarak karakterizasyon sonuçları tartışılmıştır.

5.4.8. 3-Amino-*N*-etil-1-(4-piridil)-9*H*-florein (12) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak etanol kullanılarak bileşik 2'nin sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (12) etil asetat-n-hekzan 2,5:1 (%2-3 metanol) karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır.



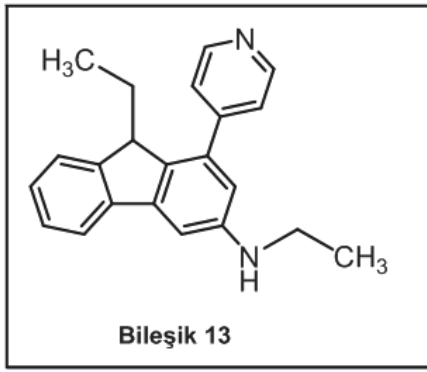
Şekil 5.21. 3-Amino-*N*-etil-1-(4-piridil)-9*H*-florein (12) bileşiğinin yapısı

Açık sarı ürün elde edilir. E.N: 111 °C (verim: %7) FT-IR (cm⁻¹): 3292 (NH), 3019 (aromatik C-H), 2958 (alifatik C-H), 1546,1500 (C=C) (EK-2 Şekil 2.1). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8,66 (ii, *J* = 4,5 Hz, 1,6 Hz, 2H), 7,83 (i, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,65 (ii, *J* = 4,5 Hz, 1,6 Hz, 2H), 7,52 (i, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,43 – 7,21 (ç, 2H), 7,16 (ii, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,66 (i, *J* = 2,0 Hz, 1H), 5,73 (ü, *J* = 5,4 Hz, 1H), 3,89 (b, 1H), 3,22 – 3,10 (ç, 2H), 1,22 (ü, *J* = 7,1 Hz, 2H). (EK-2 Şekil 2.2). ¹³C-APT (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 150,33; 149,69; 148,94; 144,22; 143,36; 141,62; 136,26; 128,18; 127,11; 127,04; 125,36; 123,49; 120,21; 112,23; 103,71; 38,13; 35,85; 14,91. (EK-2 Şekil 2.3). HRMS (ESI, CH₃CN, m/z) C₂₀H₁₉N₂ [M+H]⁺ bileşiği

için beklenen 287,1548; bulunan 287,1538 (EK-2 Şekil 2.4) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

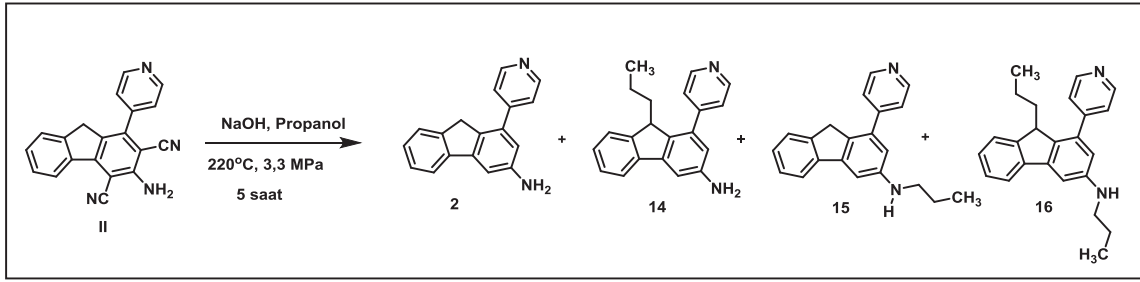
5.4.9. 3-Amino-*N*,9-dietil-1-(4-piridil)-9*H*-florein (13) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak etanol kullanılarak bileşik 2'nin sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (13) etil asetat-*n*-hekzan 2.5:1 (%2-3 metanol) karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır.



Şekil 5.22. 3-Amino-*N*,9-dietil-1-(4-piridil)-9*H*-florein (13) bileşiğinin yapısı

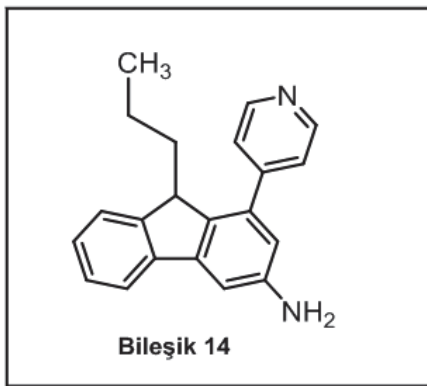
Açık sarı ürün elde edilir. E.N: 120 °C (verim: %6) FT-IR (cm⁻¹): 3268 (NH), 3029 (aromatik C-H), 2962, 2934 (alifatik C-H), 1542, 1500 (C=C) (EK-2 Şekil 2.5) ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8,65 (i, *J* = 5,9 Hz, 2H), 7,78 (i, *J* = 6,9 Hz, 1H), 7,61 (ii, *J* = 4,5 Hz, 1,5 Hz, 2H), 7,47 (i, *J* = 7,0 Hz, 1H), 7,40 – 7,23 (ç, 2H), 7,08 (i, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,51 (i, *J* = 2,0 Hz, 1H), 5,72 (ü, *J* = 5,3 Hz, 1H), 4,50 – 4,37 (ç, 1H), 3,22 – 3,09 (ç, 2H), 1,75 (iii, *J* = 13,9 Hz, 7,3 Hz, 3,5 Hz, 1H), 1,22 (ü, *J* = 7,1 Hz, 3H), 0,10 (ü, *J* = 7,3 Hz, 2H). (EK-2 Şekil 2.6) ¹³C-APT (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ 150,3; 149,5; 148,0; 143,3; 141,5; 136,8; 130,9; 127,3; 127,2; 124,4; 123,4; 120,0; 112,8; 103,2; 46,4; 45,3; 38,1; 23,4; 14,9; 8,4. (EK-2 Şekil 2.7) HRMS (ESI, CH₃CN, *m/z*) C₂₂H₂₃N₂ [M+H]⁺ bileşiği için beklenen 315,1861; bulunan 315,1855 (EK-2 Şekil 2.8) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.



Şekil 5.23. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin propanol ile desilyanizasyon reaksiyonu

5.4.10. 3-Amino-9-propil-1-(4-piridil)-9H-floren (14) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak propanol kullanılarak bileşik 2'nin sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (14) etil asetat-n-hekzan 2,5:1 (%2-3 metanol) karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır.



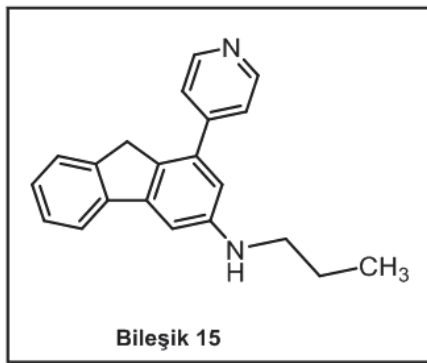
Şekil 5.24. 3-Amino-9-propil-1-(4-piridil)-9H-floren (14) bileşiğinin yapısı

Açık sarı ürün elde edilir. E.N: 142-144 °C (verim: %17) FT-IR (cm⁻¹): 3426 – 3203 (NH₂), 3053 (aromatik C-H), 2942 (alifatik C-H), 1548,1488 (C=C) (EK-2 Şekil 2.9) ¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 8,65 (i, J = 4,7 Hz, 1H), 7,69 (i, J = 7,3 Hz, 1H), 7,58 (i, J = 4,7 Hz, 1H), 7,47 (i, J = 7,2 Hz, 1H), 7,31 (ç, 2H), 7,07 (b, 1H), 6,53 (b, 1H), 5,26 (b, 1H), 4,41 (b, 1H), 1,62 (i, J = 3,8 Hz, 1H), 1,24 – 1,05 (ç, 1H), 0,63 – 0,50 (ç, 1H), 0,42 (ü, J = 6,9 Hz, 3H). (EK-2 Şekil 2.10) ¹³C-APT (DMSO-d₆, 75 MHz): δ 150,3; 149,5; 149,0; 148,4; 142,9; 141,1; 136,8; 131,8; 127,2; 127,2; 124,4; 123,4; 119,9; 114,2; 105,6; 45,5; 32,9; 17,5; 14,4. (EK-2 Şekil 2.11) HRMS (ESI, CH₃CN, m/z) C₂₂H₂₃N₂ [M+H]⁺ bileşiği için beklenen

301,1704; bulunan 301,1703 (EK-2 Şekil 2.12) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.4.11. 3-Amino-N-propil-1-(4-piridil)-9H-floren (15) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak propanol kullanılarak bileşik 2'nin sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (15) etil asetat-n-hekzan 2,5:1 (%2-3 metanol) karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır.

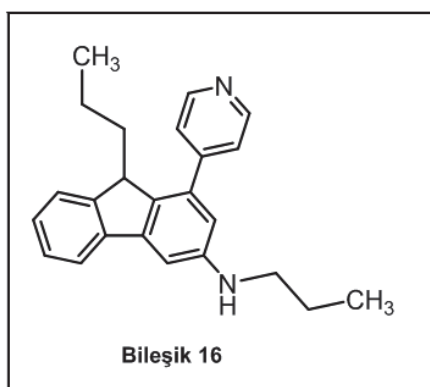


Şekil 5.25. 3-Amino-N-propil-1-(4-piridil)-9H-floren (15) bileşiğinin yapısı

Açık sarı ürün elde edilir. E.N: 148-152 °C. (verim: % 7) FT-IR (cm⁻¹): 3292 (NH), 3019 (aromatik C-H), 2958, 2850 (alifatik C-H), 1546, 1500 (C=C) (EK-2 Şekil 2.13) ¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz): δ 8,65 (i, J = 4,7 Hz, 2H), 7,69 (i, J = 7,3 Hz, 1H), 7,58 (i, J = 4,7 Hz, 2H), 7,47 (i, J = 7,2 Hz, 1H), 7,31 (ç, 2H), 7,07 (b, 1H), 6,73 (b, 1H), 5,76 (ü, 1H), 3,98 (b, 2H), 3,04 (ç, 1H), 1,62 (ç, 2H), 1,02 (ü, 2H). (EK-2 Şekil 2.14) ¹³C-APT (DMSO-d₆, 75 MHz): δ 150,3; 149,8; 149,0; 144,2; 143,4; 141,6; 136,2; 128,0; 127,1; 127,0; 125,4; 123,5; 120,2; 112,2; 103,6; 45,5; 35,8; 22,4; 12,2. (EK-2 Şekil 2.15) HRMS (ESI, CH₃CN, m/z) C₂₁H₂₀N₂ [M+H]⁺ bileşiği için beklenen 301,1704; bulunan 301,1703 (EK-2 Şekil 2.16) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.4.12. 3-Amino-*N*,9-dipropil-1-(4-piridil)-9*H*-florene (16) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

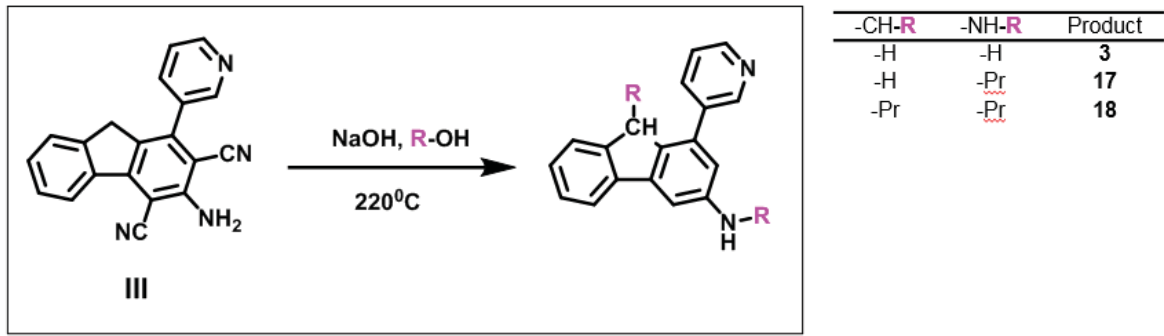
5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak propanol kullanılarak bileşik 2'nin sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (16) etil asetat-n-hekzan 2,5:1 (%2-3 metanol) karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla yeniden kristallendirilir.



Şekil 5.26. 3-Amino-*N*,9-dipropil-1-(4-piridil)-9*H*-florene (16) bileşiğinin yapısı

Açık kahverengi ürün elde edilir. E.N: 178–180 °C. (verim: %9) FT-IR (cm⁻¹): 3268(NH), 3029 (aromatik C-H), 2962, 2934, 2826 (alifatik C-H), 1596, 1542, 1479 (C=C) (EK-2 Şekil 2.17) ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8,65 (i, *J* = 4,4 Hz, 2H), 7,78 (i, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,63 – 7,54 (ç, 2H), 7,47 (i, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,31 (ç, 2H), 7,08 (b, 1H), 6,51 (b, 1H), 5,76 (ç, 1H), 4,41 (m, 1H), 3,09 (ii, *J* = 12,7 Hz, 6,3 Hz, 1H), 1,62 (ii, *J* = 14,2 Hz, 7,2 Hz, 2H), 1,26 – 1,05 (ç, 1H), 0,98 (ç, 6H), 0,65 – 0,49 (ç, 6H), 0,41 (ç, 6H). (EK-2 Şekil 2.18) ¹³C-APT (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 150,4; 149,6; 149,5; 143,7; 141,2; 136,6; 131,6; 127,3; 127,4; 124,4; 123,8; 120,1; 112,8; 103,5; 45,5; 33,0; 22,4; 17,5; 14,4; 12,2. (EK-2 Şekil 2.19) HRMS (ESI, CH₃CN, *m/z*) C₂₄H₂₆N₂ [M+H]⁺ bileşiği için beklenen 343,2174; bulunan 343,2176 (EK-2 Şekil 2.20) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

III numaralı çıkış bileşiğiyle yapılan desiyonizasyon tepkimelerinin genel gösterimi Şekil 5.27. de verilmiştir.

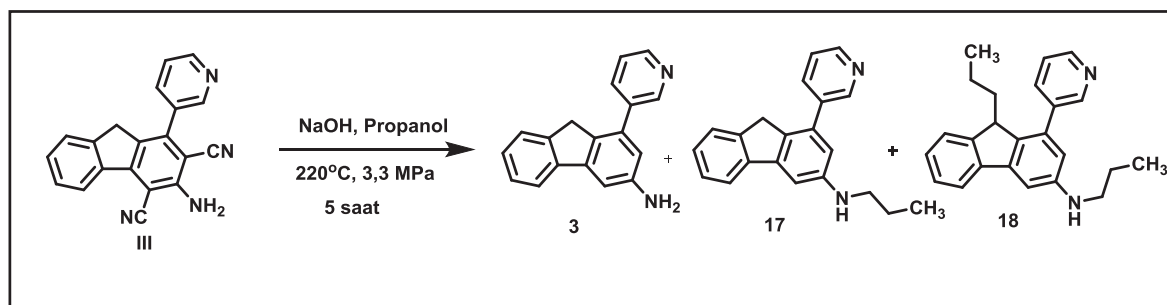


Şekil 5.27. III numaralı bileşiğin birincil alkollerle (sırasıyla metanol, etanol ve propanol) yapılan desilyanizasyon reaksiyonu sonucu elde edilen ürünler

3 ve 17,18 bileşiklerinin sentez ve saflaştırma detayları Çizelge 5.6. da verilmiştir.

Çizelge 5.6. 3 ve 17,18 bileşiklerinin saflaştırmalarıyla ilgili detaylar

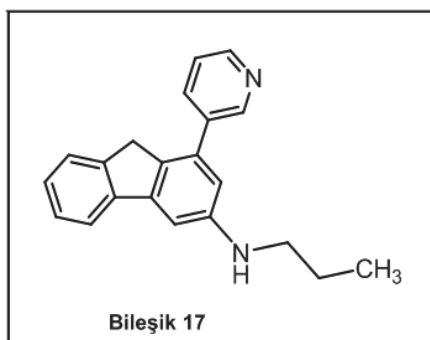
Çözücü	Kolon Kromatografisi	Kristallendirme	Ürünler
Metanol	EtOAc : <i>n</i> -hekzan; 2.5 : 1	Dietil eter-petrol eteri	3
Etanol	EtOAc : <i>n</i> -hekzan; 2.5 : 1 (%2.3 metanol)	Dietil eter-petrol eteri	3
Propanol	EtOAc : <i>n</i> -hekzan; 2.5 : 1	Dietil eter-petrol eteri	3,17,18



Şekil 5.28. 3-Amino-1-(3-piridil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin propanol ile desilyanizasyon reaksiyonu

5.4.13. 3-Amino-9-propil-1-(3-piridil)-9H-floren (17) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak propanol kullanılarak bileşik 3'ün sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (17) etil asetat-n-heksan. 2,5:1 (%2-3 metanol) karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır.



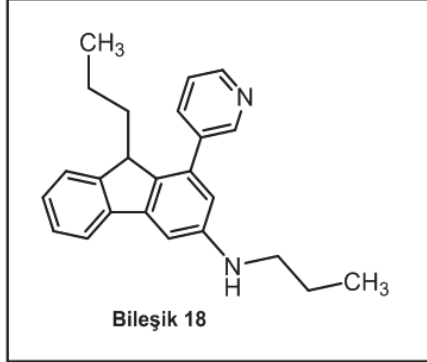
Şekil 5.29. 3-Amino-9-propil-1-(3-piridil)-9H-floren (17) bileşiğinin yapısı

Beyaz renkli ürün elde edilir. E.N: 119–121 °C. (verim: %11) FT-IR (cm^{-1}): 3302 (NH), 3049 (aromatik C-H), 2963, 2929, 2870, 2820 (alifatik C-H), 1609, 1496 (C=C) (EK-2 Şekil 2.21) $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 8,82 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 8,60 (dd, $J = 4,7$ Hz, 1,4 Hz, 1H), 8,11 – 8,00 (ç, 1H), 7,83 (i, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,51 (ii, $J = 7,7$ Hz, 4,7 Hz, 2H), 7,32 (ç, 2H), 7,13 (i, $J = 1,9$ Hz, 1H), 6,63 (i, $J = 1,9$ Hz, 1H), 5,75 (b, 1H), 3,85 (b, 2H), 3,11 (b, 2H), 1,63 (ii, $J = 14,4$ Hz, 7,2 Hz, 2H), 0,99 (ü, $J = 7,4$ Hz, 3H). (EK-2 Şekil 2.22) $^{13}\text{C-APT}$ (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 149,3; 148,7; 148,2; 143,8; 142,7; 141,3; 136,6; 135,5; 135,1; 127,8; 126,5; 124,6; 119,7; 112,1; 102,5; 45,0; 35,3; 22,0; 11,8. (EK-2 Şekil 2.23) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 301,1705; bulunan 301,1694. (EK-2 Şekil 2.24) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.4.14. 3-Amino-N,9-dipropil-1-(3-piridil)-9H-floren (18) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak propanol kullanılarak bileşik 3'ün sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (18) etil asetat-n-hekzan 2,5:1 (%2-3 metanol)

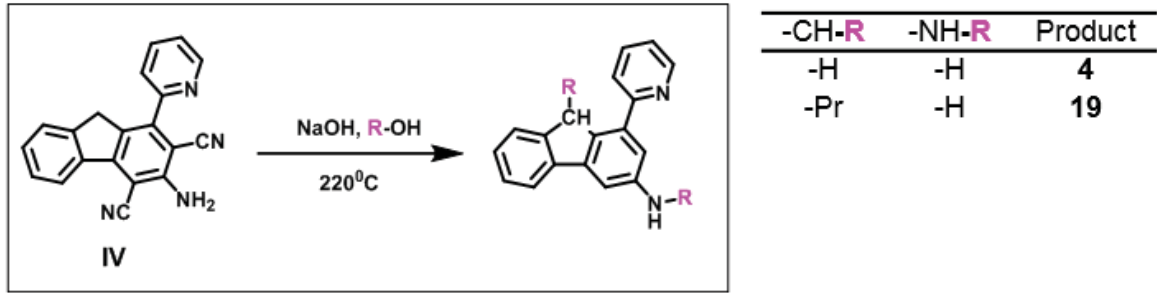
karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır.



Şekil 5.30. 3-Amino-N,9-dipropil-1-(3-piridil)-9*H*-florene (18) bileşiğinin yapısı

Açık sarı renkli ürün elde edilir. E.N: 142–144 °C. (verim: %11) FT-IR (cm⁻¹): 3302 (NH), 3049 (aromatik C-H), 2963, 2929, 2870, 2820 (alifatik C-H), 1609, 1496 (C=C) (EK-2 Şekil 2.25) ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8,75 (i, *J* = 1,8 Hz, 1H), 8,61 (ii, *J* = 4,8 Hz, 1,5 Hz, 1H), 8,04 – 7,94 (ç, 1H), 7,77 (i, *J* = 7,0 Hz, 1H), 7,54 – 7,43 (ç, 2H), 7,37 – 7,23 (ç, 2H), 7,06 (i, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,50 (i, *J* = 2,0 Hz, 1H), 5,73 (ü, *J* = 5,2 Hz, 1H), 4,36 (ii, *J* = 6,0 Hz, 3,3 Hz, 1H), 3,09 (ç, 2H), 1,62 (ç, 4H), 0,99 (ç, 2H), 0,40 (ç, 2H). (EK-2 Şekil 2.26) ¹³C-APT (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 149,1; 148,5; 148,2; 148,0; 142,4; 140,9; 137,0; 135,5; 135,4; 131,3; 126,7; 123,7; 123,5; 119,5; 112,7; 102,2; 45,1; 45,0; 32,4; 22,0; 16,9; 13,9; 11,8. (EK-2 Şekil 2.27) HRMS (ESI, CH₃CN, *m/z*) C₂₄H₂₇N₂ [M+H]⁺ bileşiği için beklenen 343,2174; bulunan 343,2165. (EK-2 Şekil 2.28) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

IV numaraları çıkış bileşiğiyle yapılan desiyonizasyon tepkimelerinin genel gösterimi Şekil 5.31. de verilmiştir.

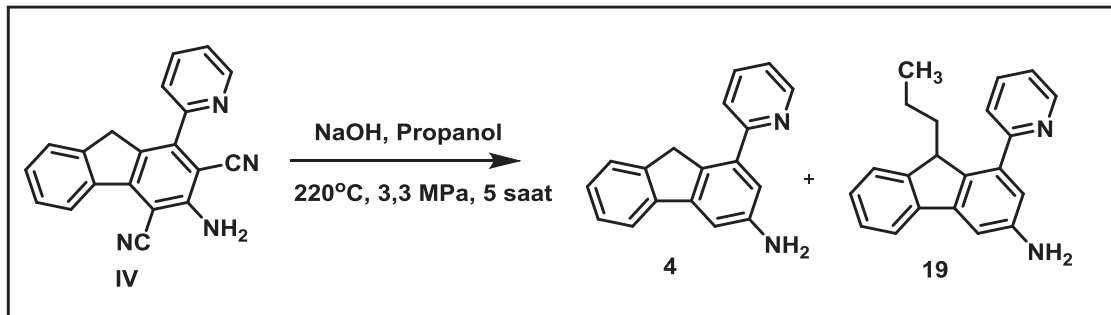


Şekil 5.31. IV numaralı bileşiğin birincil alkollerle (sırasıyla metanol, etanol ve propanol) yapılan desilyanizasyon reaksiyonu sonucu elde edilen ürünler

Çizelge 5.7. 4 ve 19 bileşiklerinin saflaştırmalarıyla ilgili detaylar

Çözücü	Kolon Kromatografisi	Kristallendirme	Ürünler
Metanol	EtOAc : <i>n</i> -hekzan; 1:1.5	Dietil eter-petrol eteri	4
Etanol	EtOAc : <i>n</i> -hekzan; 1:1.5	Dietil eter-petrol eteri	4
Propanol	EtOAc : <i>n</i> -hekzan; 1:1.5	Dietil eter-petrol eteri	4,19

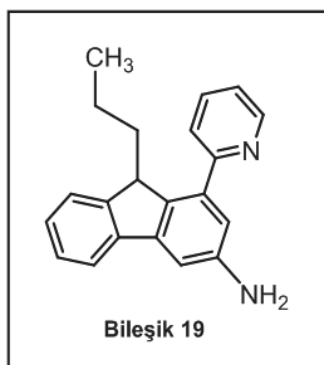
Çizelge 5.3. de detayları verilen ilgili alkillenmiş ürünlerin detayları ve yapı analizleri aşağıda yer almaktadır.



Şekil 5.32. 3-Amino-1-(2-piridil)-9H-floren-2,4-dikarbonitril bileşiğinin propanol ile desilyanizasyon reaksiyonu

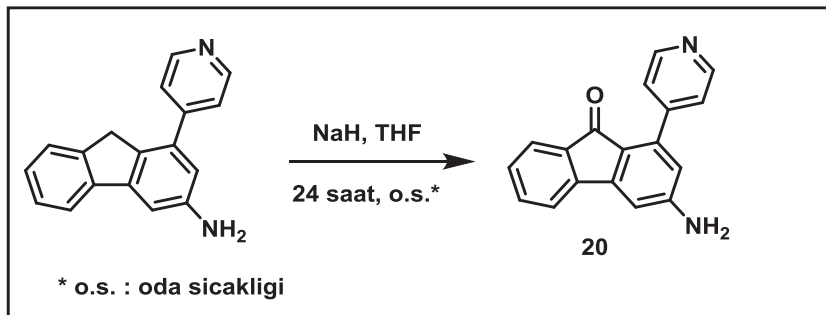
5.4.15. 3-Amino-9-etil-1-(2-piridil)-9H-floren (19) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

5.1'deki deneysel şartlara göre çözücü olarak propanol kullanılarak bileşik 4'ün sentezi sırasında oluşan alkillenmiş üründe (19) etil asetat-n-hekzan 1:1,5 karışımından kolon kromatografisi yöntemiyle ayrılır. Elde edilen ürün dietil eter-petrol eteri çözücü karışımıyla kristallendirilerek saflaştırılır.



Şekil 5.33. 3-Amino-9-etil-1-(2-piridil)-9H-floren (19) bileşiğinin yapısı

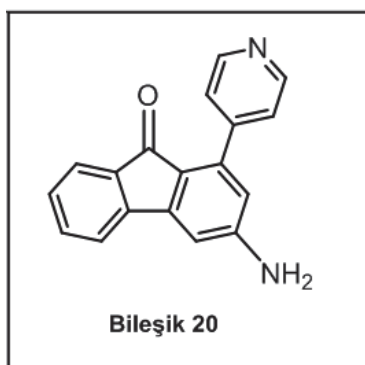
Açık sarı renkli ürün elde edilir. E.N: 148–150 °C (verim: %10) FT-IR (cm⁻¹): 3429, 3302 (NH₂), 3052 (aromatik C-H), 2956, 2866 (alifatik C-H), 1609, 1583 (C=C) (EK-2 Şekil 2.29) ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz): δ 8,68 (i, *J* = 4,1 Hz, 1H), 7,90 (ü, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,69 (i, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,48 (i, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,32 (ç, 3H), 7,06 (b, 1H), 6,77 (b, 1H), 5,19 (b, 2H), 4,55 (b, 3H), 1,36 – 1,22 (ç, 2H), 0,87 (ü, *J* = 7,0 Hz, 2H), 0,43 (ü, *J* = 7,0 Hz, 3H). (EK-2 Şekil 2.30) ¹³C-APT (DMSO-*d*₆, 75 MHz): δ 158,9; 149,1; 148,3; 148,1; 142,2; 137,6; 136,7; 132,5; 126,6; 123,9; 122,6; 122,1; 120,3; 119,2; 114,2; 105,1; 104,0; 45,5; 33,2; 31,1; 30,7; 29,8; 17,4; 14,0. (EK-2 Şekil 2.31) HRMS (ESI, CH₃CN, *m/z*) C₂₁H₂₁N₂ [M+H]⁺ bileşiği için beklenen 301,1705; bulunan 301,1699. (EK-2 Şekil 2.32) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.



Şekil 5.34. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren bileşiğinin yükseltgenme reaksiyonu

5.5. 3-Amino-1-(4-piridil)-9-florenon (20) bileşiğinin sentezi ve yapısının aydınlatılması

1 mmol 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren bileşiği (0,258 g) 10 mL THF içerisinde çözülür. Reaksiyon karışımı buz banyosunun içerisine konularak deney ortamı 0 °C'a getirilir. 1×10^{-3} mol NaH (0,0240 g) yavaş yavaş ilave edilir ve karışım oda koşullarında karıştırılır. Reaksiyon İTK ile izlenerek 24 saat sonra sonlandırılır. Çözücü çekilerek, kalan katı yaklaşık 100 mL su ile karıştırılarak seyreltik HCl ile pH'ı 7'ye getirilir. Çözücü süzülerek elde edilen katı sıcak metanol ile kristallendirilir. E.N: 199-200 °C (verim: %60)

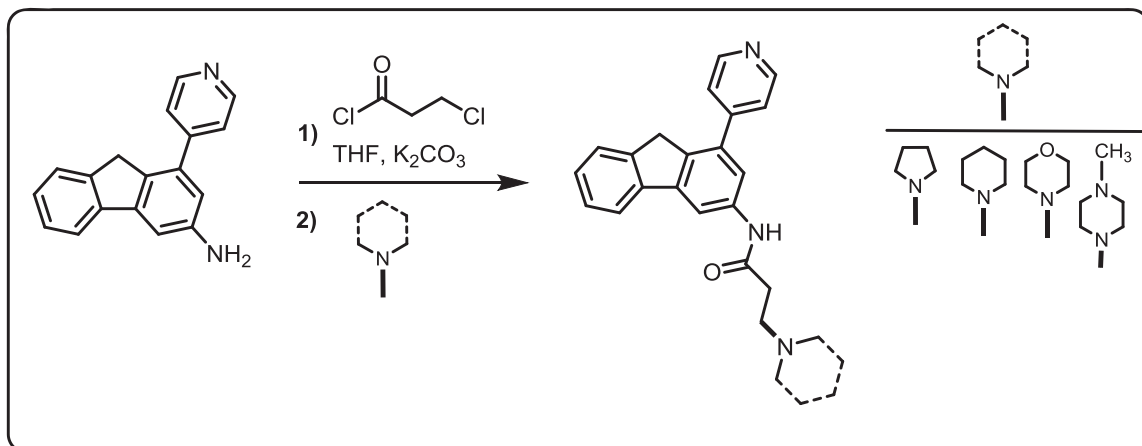


Şekil 5.35. 3-Amino-1-(4-piridil)-9-florenon (20) bileşiğinin yapısı

Kırmızı renkli ürün elde edilir. E.N: 199-200 °C (verim: %60) FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3357, 3214 (NH_2), 2921 (aromatik C-H), 1678 (C=O), 1543, 1493 (C=C) (EK-2 Şekil 2.33) ^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz): δ 8,61 (i, $J = 5,4$ Hz, 1H), 7,67 – 7,29 (ç, 3H), 6,93 (i, $J = 1,9$ Hz, 1H), 6,65 (b, 1H), 6,32 (i, $J = 1,9$ Hz, 1H). (EK-2 Şekil 2.34) ^{13}C -APT ($\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz): δ 155,8; 149,5; 142,3; 141,4; 136,1; 134,1; 129,8; 124,1; 123,0; 120,4; 113,9; 105,8. (EK-2 Şekil 2.35) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 273,1028; bulunan 273,1018. (EK-2 Şekil 2.36) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü

kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

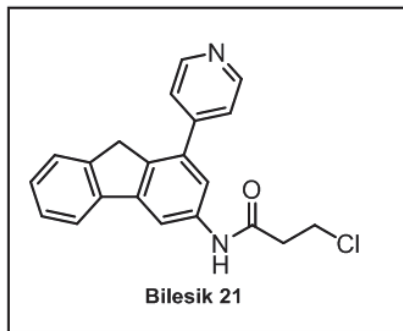
5.6. 3-(3-(alkilamino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (21-25) sentezi



Şekil 5.36. 3-Amino-1-(4-piridil)-9H-floren bileşiğinin açılme (1) ve amin bazları (2) ile yerdeğiştirme tepkimeleri

Reaksiyon 1: 3-(3-(kloro)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (21) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi

100 mL'lik bir balon içine konulan 1×10^{-3} mol bileşik 2 ve 3 (0,2583 g) üzerine 10 mL THF ve 1×10^{-3} mol K₂CO₃ (0,1382 g) eklenerek reaksiyon karışımı buz banyosunun içerisine konularak deney ortamı 0 °C'a getirilir. Üzerine damla damla 0,1 mL 3-kloropropiyonil klorür (3-CPC) ilave edildiğinde reaksiyon karışımında çökme gözlenir. Karışımın 15 dakika 0 °C'da karıştırıldıktan sonra, oda koşullarına gelmesi sağlanır. Reaksiyon İTK ile takip edilerek 2 saat sonra sonlandırılır. Çözücü çekilerek, kalan katı su ve petrol eteri ile yıkanır ve aseton ile kristallendirilerek bileşik 21 saf olarak elde edilir.



Şekil 5.37. 3-(3-(kloro)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (21) bileşiğinin yapısı

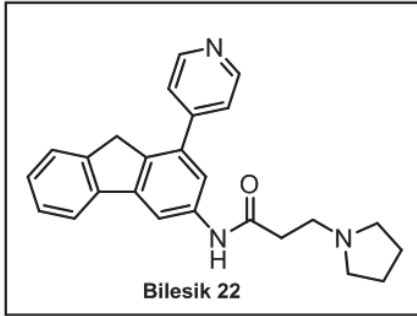
Kristallendirilmeden sonra beyaz renkli katı elde edilir. E.N: 294-295 °C (verim: % 92) FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3489 (NH), 3011 (aromatik C-H), 2901 (alifatik C-H), 1675 (C=O), 1598 (C=C) (EK-3 Şekil 3.1) ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 10,34 (b, 1H) 8,71 (i, J = 5,9 Hz, 2H), 8,23 (i, J = 1,7 Hz, 1H), 7,85 (i, J = 7,1 Hz, 1H), 7,68 (ii, J = 7,7 Hz, 3,9 Hz, 3H), 7,59 (i, J = 7,2 Hz, 1H), 7,39 (iü, J = 21,4 Hz, 7,4 Hz, 3H), 4,04 (b, 2H), 3,93 (ü, J = 6,2 Hz, 2H), 2,89 (ü, J = 6,2 Hz, 2H). (EK-3 Şekil 3.2) ^{13}C -APT (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 168,7; 163,9; 150,5; 148,0; 144,0; 143,0; 140,8; 139,5; 136,2; 136,0; 132,4; 127,8; 125,6; 123,6; 120,8; 118,7; 111,6; 41,2; 36,3. (EK-3 Şekil 3.3) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{OCl}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 349,1108; bulunan 349,1094 (EK-3 Şekil 3.4) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

Reaksiyon 2: Bileşik 22-25 için genel sentez yöntemi

Reaksiyon 1'den elde edilen ürün $5,0 \times 10^{-4}$ mol (0,174 g) üzerine taze destile edilmiş 15 mL THF ve $1,67 \times 10^{-3}$ mmol uygun alkilamin (164 μL piperidin, 259 μL 1-metilpiperazin, 219 μL morfolin, 210 μL pirolidin) eklenerek karışım geri soğutucu altında İTK ile izlenerek karıştırılır. Yaklaşık 24 saat sonunda sonlandırılır. Reaksiyon soğuduktan sonra üzerine yaklaşık 10 mL dietil eter eklenir. Çöken katı süzülür ve kurutulur. Kurutulan katı etil asetat:petrol eteri (1:1) karışımı ile yıkanır. Uygun çözücünden kristallendirilir.

5.6.1. 3-(3-(Pirolidino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (22) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi

Reaksiyon 2’de verilen genel sentez yöntemine göre 3-(3-(kloro)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren üzerine taze destile edilmiş pirolidin kullanılarak geri soğutucu altında elde edilen katı, etanol:su (80:20 v:v) karışımından kristallendirilmiştir.

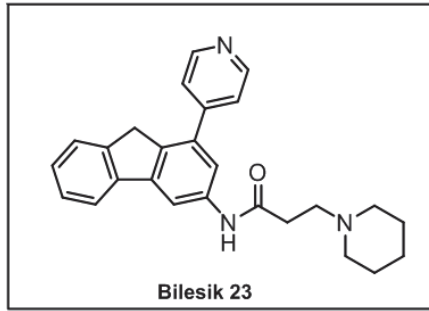


Şekil 5.38. 3-(3-(Pirolidino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (22) bileşiğinin yapısı

Açık sarı renkli katı elde edilir. E.N: 115 °C (verim: % 62) FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3355 (NH), 3212 (aromatik C-H), 2922 (alifatik C-H), 1678 (C=O), 1590, 1509 (C=C) (EK-3 Şekil 3.5) ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 10,33 (b, 1H), 8,71 (i, $J = 5,9$ Hz, 2H), 8,23 (i, $J = 1,7$ Hz, 1H), 7,85 (i, $J = 7,1$ Hz, 1H), 7,68 (ii, $J = 7,7$ Hz, 3,9 Hz, 1H), 7,59 (i, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,50 – 7,26 (ç, 3H), 4,04 (b, 2H), 3,93 (ü, $J = 6,2$ Hz, 2H), 2,89 (ü, $J = 6,2$ Hz, 2H). (EK-3 Şekil 3.6) ^{13}C -APT (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 170,9; 150,5; 144,0; 142,9; 139,7; 127,7; 127,4; 125,6; 124,2; 123,5; 120,3; 118,4; 111,2; 53,9; 52,0; 53,9; 36,7; 36,3; 23,6. (EK-3 Şekil 3.7) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 384,2076; bulunan 384,2060. (EK-3 Şekil 3.8) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.6.2. 3-(3-(piperidino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (23) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi

Reaksiyon 2’de verilen genel sentez yöntemine göre 3-(3-(kloro)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren üzerine taze destile edilmiş piperidin kullanılarak oda koşullarında elde edilen katı, etanol:su (80:20 v:v) karışımından kristallendirilmiştir.

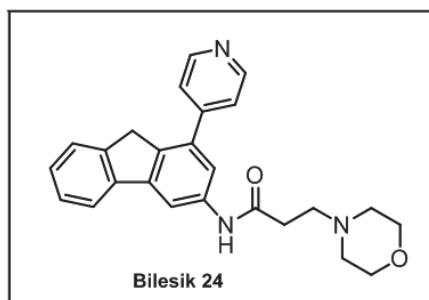


Şekil 5.39. 3-(3-(piperidino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (23) bileşiğinin yapısı

Beyaz renkli katı elde edilir. E.N: 170-172 °C (verim: % 54) FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3337 (NH), 2948 (aromatik C-H), 2840 (alifatik C-H), 1671 (C=O), 1561, 1500 (C=C) (EK-3 Şekil 3.9) ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 10,36 (b, 1H), 8,70 (i, $J = 6,0$ Hz, 2H), 8,20 (i, $J = 1,6$ Hz, 1H), 7,84 (i, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,73 – 7,51 (ç, 4H), 7,49 – 7,29 (ç, 2H), 4,03 (b, 2H), 2,67 – 2,33 (ç, 6H), 1,45 (ç, 8H) (EK-3 Şekil 3.10) ^{13}C -APT (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 170,8; 150,5; 144,0; 144,0; 142,9; 139,7; 136,1; 127,7; 127,4; 125,6; 123,5; 120,3; 118,4; 111,3; 54,6; 53,2; 47,2; 44,0; 36,3; 34,2; 31,9; 25,2; 24,2; 22,6; 21,2. (EK-3 Şekil 3.11) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 398,2232; bulunan 398,2221. (EK-3 Şekil 3.12) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.6.3. 3-(3-(morfolino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (24) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi

Reaksiyon 2’de verilen genel sentez yöntemine göre 3-(3-(kloro)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren üzerine taze destile edilmiş morfolin kullanılarak geri soğutucu altında elde edilen katı, metanolden kristallendirilmiştir.

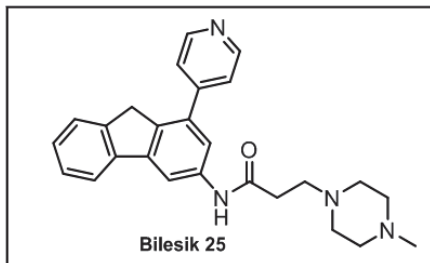


Şekil 5.40. 3-(3-(morfolino)propanamido)-1-(4-piridil)-9H-floren (24) bileşiğinin yapısı

Açık sarı renkli katı elde edildi. E.N: 176 °C (verim: % 56) FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3366 (NH), 2916 (aromatik C-H), 2816 (alifatik C-H), 1674 (C=O), 1573, 1503 (C=C) (EK-3 Şekil 3.13) ^1H -NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 10,92 (b, 1H), 8,72 (ii, $J = 4,5$ Hz, 1,6 Hz, 2H), 8,11 (i, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,83 (i, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,64 – 7,28 (ç, 6H), 3,89 (ç, 6H), 2,97 – 2,65 (ç, 4H), 1,67 (b, 2H) (EK-3 Şekil 3.14) ^{13}C -APT (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 170,4; 150,2; 148,4; 143,6; 143,4; 140,9; 138,5; 136,5; 136,1; 127,4; 126,9; 124,9; 123,2; 120,3; 118,1; 111,4; 67,1, 54,2; 52,9; 36,4; 32,3. (EK-3 Şekil 3.15) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 400,2025; bulunan 400,2012. (EK-3 Şekil 3.16) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.6.4. 3-(3-(*N*-Metilpiperazino)propanamido)-1-(4-piridil)-9*H*-florein (25) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi

Reaksiyon 2’de verilen genel sentez yöntemine göre 3-(3-(kloro)propanamido)-1-(4-piridil)-9*H*-florein üzerine destile edilmiş *N*-Metilpiperazin kullanılarak geri soğutucu altında elde edilen katı, etanolden (%95) kristallendirilmiştir.



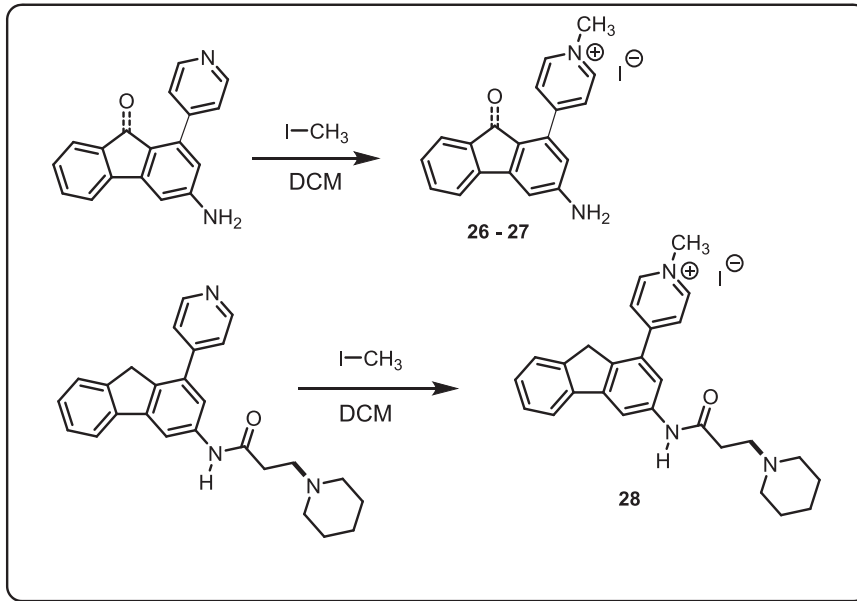
Şekil 5.41. 3-(3-(*N*-Metilpiperazino)propanamido)-1-(4-piridil)-9*H*-florein (25) bileşiğinin yapısı

Bej renkli katı elde edildi. E.N: 148-150 °C (verim: % 61) FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3391 (NH), 2934 (aromatik C-H), 2811 (alifatik C-H), 1670 (C=O), 1542, 1498 (C=C) (EK-3 Şekil 3.17) ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 10,42 (b, 1H), 8,71 (i, $J = 5,7$ Hz, 4H), 8,23 (b, 1H), 7,83 (i, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,68 (i, $J = 5,7$ Hz, 3H), 7,58 (i, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,51 – 7,20 (ç, $J = 21,2$ Hz, 7,2 Hz, 3H), 4,03 (b, 2H), 3,08 – 2,96 (ç, 4H), 2,68 (ü, $J = 6,7$ Hz, 3H), 2,52 (ç, 8H), 2,21 (ç, 7H). (EK-3 Şekil 3.18) ^{13}C -APT (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 170,8; 150,5; 148,0; 143,0; 140,9; 140,9; 139,7; 136,1; 127,7; 127,4; 125,6; 123,5; 120,3; 120,3; 118,3; 111,3; 95,7; 54,7; 54,0; 52,2; 51,8; 45,9; 43,2; 36,3; 34,6. (EK-3 Şekil 3.19) HRMS (ESI,

CH_3CN , m/z) $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 413,2341; bulunan 413,2332. (EK-3 Şekil 3.20) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.7. Desiyanizasyon Sonrası Metilleme Reaksiyonları ile Kuarterner Amonyum Tuzlarının Eldesi

Tez önerisinde belirtilen ve desiyonizasyon reaksiyonu sonucu elde edilen bazı ara ürün ve son ürünler metillenerek suda çözünür katyonik bileşiklere dönüştürülmüştür. Böylece tezde ilk basamaktan itibaren her sentez basamağında örnek bileşik/ligand'ın DNA'ya olan ilgileri belirlenebilmiştir. Bu sayede yapı-etki mekanizması yorumlanabilmiştir. Piridin türevlerinden elde edilecek katyonik heterohalkaların iyon-dipol etkileşimi ile DNA'nın döngüleri (loop) ve olukları (groove) ile etkileşmesi hedeflenmiştir. Katyonik türlerin varlığı ile ligandların DNA'daki negatif yüklü fosfodiester bağlarıyla etkileşiminin arttıracakı düşünülmektedir. Literatür özetinde de bahsedildiği üzere, amino grubu üzerinden türevlendirmelerle alkilamino bazlarının varlığı ct-DNA'ya oranla G4-DNA'ya ilgiyi arttırdığı bilinmektedir. Tez kapsamında da amino gruplarının türevlendirilmeyen iki katyonik ligand (26-27) ile G4-DNA ile etkileşeceğini beklediğimiz amino grubu üzerinden türevlendirdiğimiz katyonik ligand (28) karşılaştırmasını yapabilmek için tezin son basamağı olan kuarterner amonyum tuzlarının sentez koşulları ve yapı analizleri aşağıda verilmektedir.



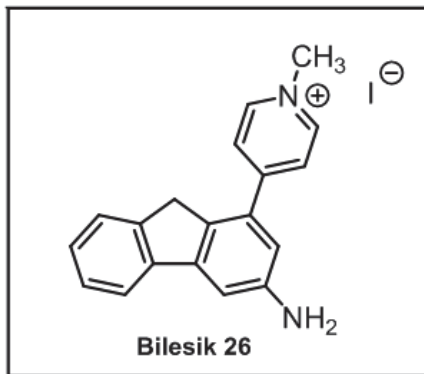
Şekil 5.42. Kuarterner amonyum tuzlarının sentezi

Kuarterner amonyum tuzlarının eldesi için genel sentez yöntemi

1 mmol giriş bileşiği 10 mL CH_2Cl_2 içerisinde çözülür. Üzerine 8 mmol (420 uL) metil iyodür damla damla eklenir. Reaksiyon İTK ile takip edilerek oda koşullarında karışması sağlanır. Çöken katı süzülür ve teknik metanolden kristallendirilir.

5.7.1. 3-Amino-1-(4-*N*-metilpiridinyum)-9*H*-florein (26) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi

Giriş bileşiği 3-Amino-1-(4-piridil)-9*H*-florein kullanılarak yukarıdaki sentez yöntemine göre bileşik 26 elde edilmiştir.

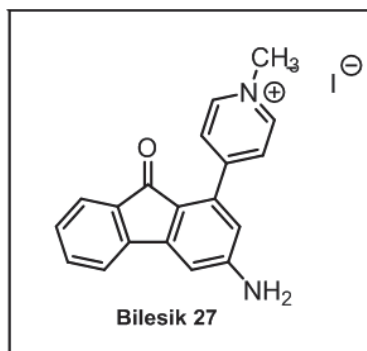


Şekil 5.43. 3-Amino-1-(4-*N*-metilpiridinyum)-9*H*-florein (26) bileşiğinin yapısı

Sarı renkli katı elde edilir. E.N: 266 – 267 °C (verim: % 97) FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3282, 3187 (NH_2), 3037 (aromatik C-H), 1505, 1490 ($\text{C}=\text{C}$) (EK-3 Şekil 3.21) ^1H -NMR ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz): δ 9,02 (i, $J = 6,5$ Hz, 1H), 8,39 (i, $J = 6,6$ Hz, 1H), 7,80 (i, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,56 (i, $J = 7,1$ Hz, 1H), 7,48 – 7,22 (ç, 2H), 6,84 (i, $J = 1,6$ Hz, 1H), 5,49 (b, 1H), 4,38 (b, 1H), 4,00 (b, 1H). (EK-3 Şekil 3.22) ^{13}C -APT ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz): δ 156,8; 150,3; 149,6; 149,8; 145,8; 144,0; 140,1; 133,2; 129,0; 127,6; 127,3; 126,6; 125,3; 123,4; 120,3; 113,6; 108,1; 47,7; 35,8. (EK-3 Şekil 3.23) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 273,1392; bulunan 273,1397. (EK-3 Şekil 3.24) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.7.2. 3-Amino-1-(4-*N*-metilpiridinyum)-9-okso-floren (27) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi

Giriş bileşiği 3-Amino-1-(4-piridil)-9-okso-floren kullanılarak yukarıdaki sentez yöntemine göre bileşik 27 elde edilmiştir.



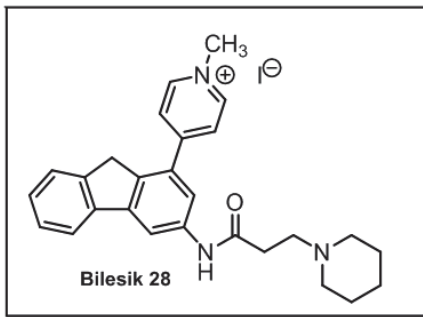
Şekil 5.44. 3-Amino-1-(4-*N*-metilpiridinyum)-9-okso-floren (27) bileşiğinin yapısı

Kırmızı renkli katı elde edilir. E.N: 295–296 °C (verim: %72) FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3399, 3282 (NH_2), 3075 (aromatik C-H), 1676 ($\text{C}=\text{O}$), 1555, 1503 ($\text{C}=\text{C}$) (EK-3 Şekil 3.25) ^1H -NMR ($\text{DMSO-}d_6$, 300 MHz): δ 8,61 (i, $J = 5,4$ Hz, 1H), 7,67 – 7,29 (ç, 3H), 6,93 (i, $J = 1,9$ Hz, 1H), 6,65 (b, 1H), 6,32 (i, $J = 1,9$ Hz, 1H). (EK-3 Şekil 3.26) ^{13}C -APT ($\text{DMSO-}d_6$, 75 MHz): δ 189,7; 156,0; 154,2; 148,5; 145,3; 142,1; 137,7; 135,8; 134,5; 130,2; 127,9; 123,2; 120,8; 116,8; 113,8; 112,9; 107,1; 48,0. (EK-3 Şekil 3.27) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 287,1184; bulunan 287,1175. (EK-3 Şekil 3.28)

Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

5.7.3. 3-(3-(piperidino)propanamido)-1-(4-*N*-metilpiridinyumil)-9*H*-florein iyodür (28) bileşiğinin sentezi ve yapı analizi

Giriş bileşiği 3-(3-(piperidino)propanamido)-1-(4-piridil)-9*H*-florein kullanılarak yukarıdaki sentez yöntemine göre bileşik 28 elde edilmiştir.

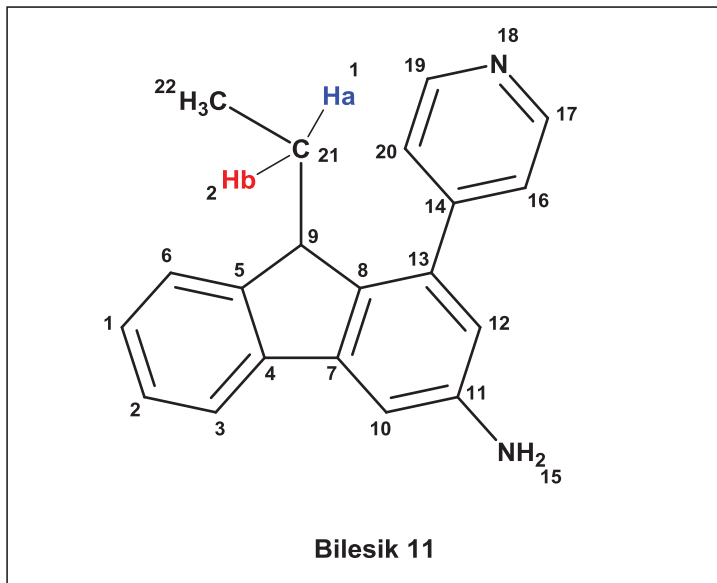


Şekil 5.45. 3-(3-(piperidino)propanamido)-1-(4-*N*-metilpiridinyumil)-9*H*-florein iyodür (28) bileşiğinin yapısı

Sarı renkli ürün elde edilir. E.N: 232 °C (verim: %57) FT-IR (KBr, ν_{maks} , cm^{-1}): 3500 (NH), 3164, 3004 (aromatik C-H), 2936 (alifatik C-H), 1695 (C=O), 1544, 1515 (C=C) (EK-3 Şekil 3.29) ^1H -NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz): δ 10,65 (b, 1H), 9,49 (b, 1H), 9,10 (i, $J = 6,7$ Hz, 2H), 8,43 (i, $J = 6,8$ Hz, 2H), 8,30 (i, $J = 1,6$ Hz, 1H), 7,88 (ü, $J = 5,0$ Hz, 2H), 7,63 (i, $J = 7,0$ Hz, 1H), 7,54 – 7,32 (ç, 3H), 4,41 (b, 3H), 4,15 (b, 2H), 3,01 (ç, 7H), 1,77 – 1,43 (ç, 7H). (EK-3 Şekil 3.30) ^{13}C -APT (DMSO- d_6 , 75 MHz): δ 155,3; 145,7; 143,3; 143,2; 139,7; 139,1; 136,4; 132,7; 127,8; 127,2; 126,4; 125,1; 120,1; 118,3; 112,8; 52,3; 51,7; 47,4; 38,8; 35,7; 30,6; 22,5; 22,2. (EK-3 Şekil 3.31) HRMS (ESI, CH_3CN , m/z) $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ bileşiği için beklenen 412,2389; bulunan 412,2376. (EK-3 Şekil 3.32) Bileşiğin yüksek çözünürlüklü kütle spektrumundan elde edilen kütle doğrulaması düşünülen bileşik yapısını desteklemektedir.

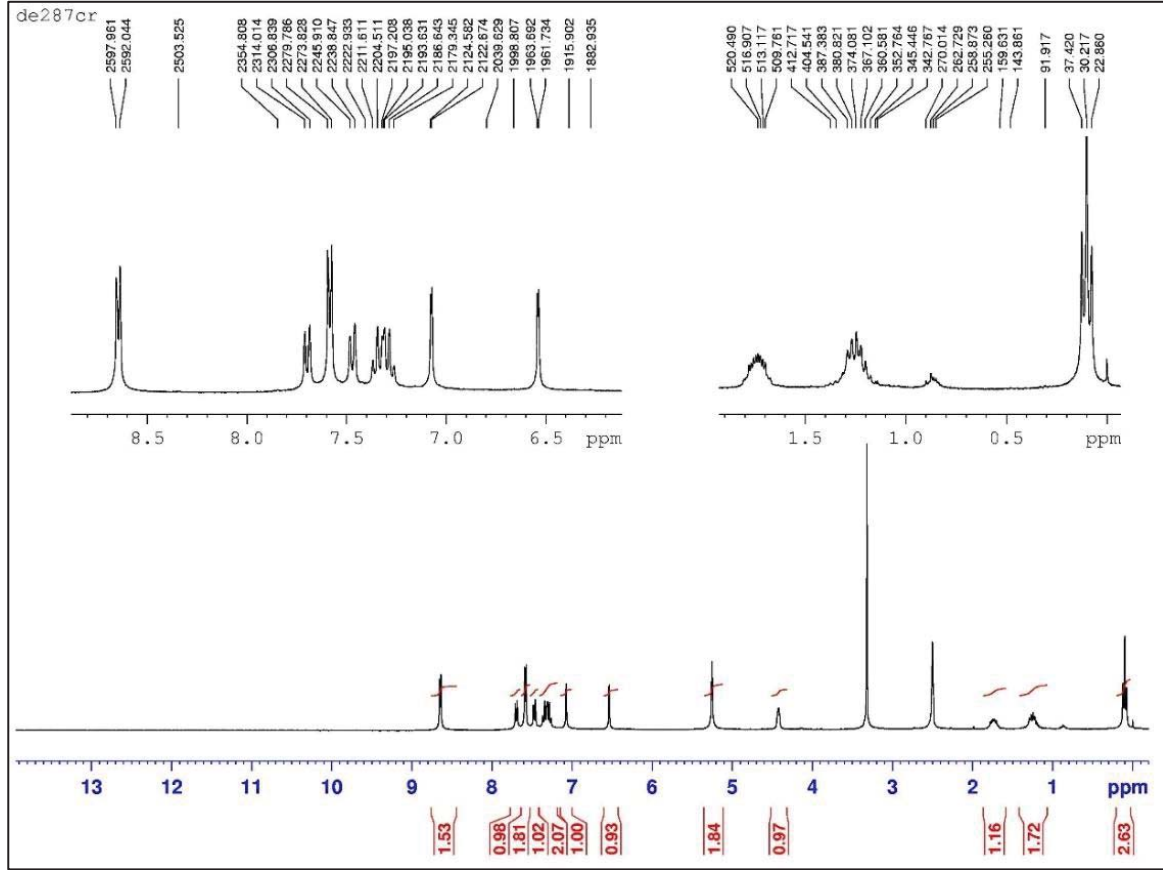
6. TARTIŞMALAR

Bu bölümde, tez kapsamında beklenmeyen ürünler olarak sunduğumuz alkillenmiş ürünler arasında yer alan bileşik 11'in ayrıntılı karakterizasyonu verilecektir. Ayrıca, bu beklenmeyen ürünlerin hangi mekanizma üzerinden gerçekleşebileceğine dair önerilen mekanizma tartışılacaktır.



Şekil 6.1. Bileşik 11'in numaralandırılmış yapısı

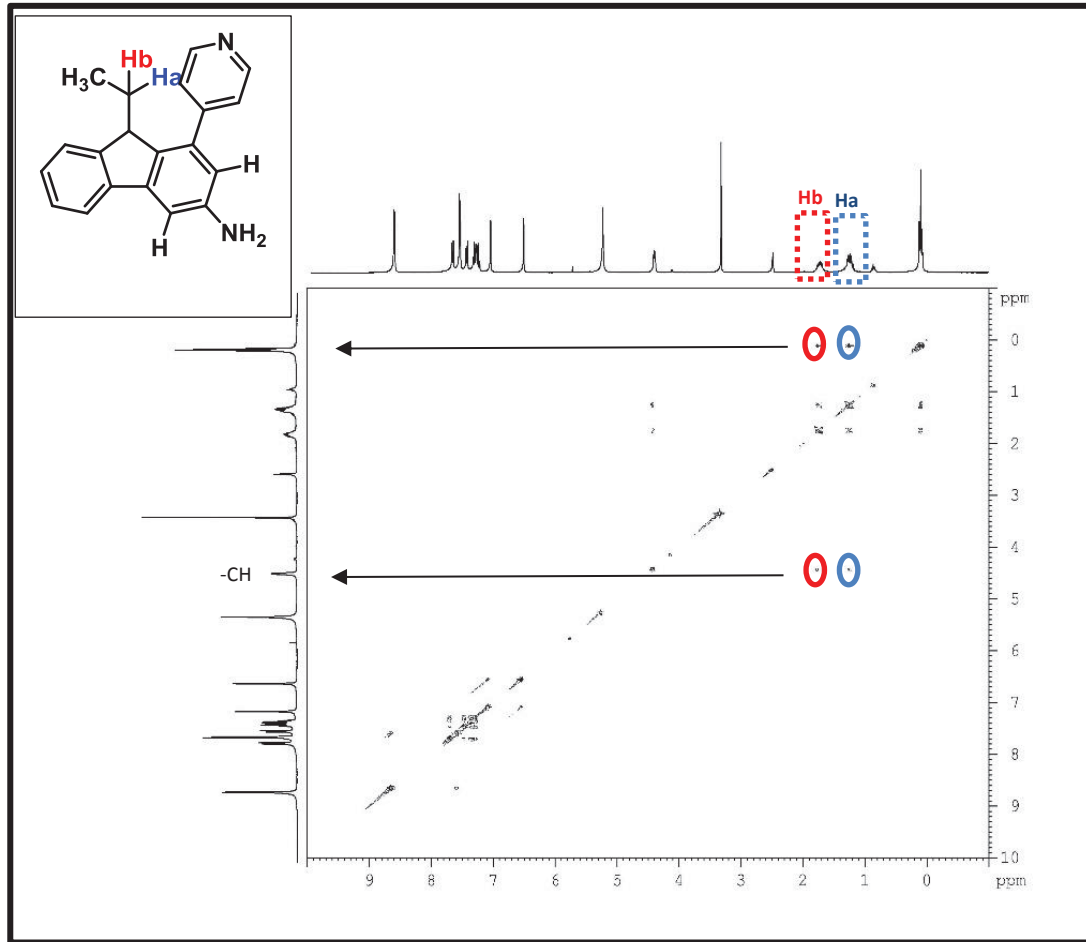
Bileşiğin FT-IR spektrumunda 3429 ve 3338 cm^{-1} deki orta şiddetli bandlar bileşikteki serbest NH_2 gerilme titreşimlerine, 3139 cm^{-1} deki band aromatik $\text{C}=\text{C}-\text{H}$ gerilme titreşimine, 2959 , 2927 ve 2869 cm^{-1} deki zayıf bandlar alifatik $\text{C}-\text{H}$ gerilme titreşimlerine, 1635 , 1599 cm^{-1} deki bandlar aromatik halka $\text{C}=\text{C}$ gerilme titreşimlerine, 1310 cm^{-1} zayıf band tiyofen halkasındaki $\text{C}=\text{C}$ gerilme titreşimlerine aittir (EK-1 Şekil 1.41).



Şekil 6.2. Bileşik 11'in ^1H -NMR spektrumu

Bileşiğin $\text{DMSO}-d_6$ içinde alınan ^1H -NMR spektrumunda 8,65 ppm'de ($J = 5,92$ Hz) çıkan ikili pik piridin halkasının 2 konumundaki (17 ve 19 no'lu) karbon atomlarına bağlı iki hidrojene, 7,70 ppm'de çıkan ikilinin ikilisi floren halkasının 3 konumundaki karbona bağlı hidrojene, 7,60 ppm'de çıkan ikili pik piridin halkasının 3 konumundaki (16 ve 20 no'lu) karbonlara bağlı iki hidrojene, 7,50 ppm'deki ($J = 5,96$ Hz) ikili pik floren halkasının 6 konumundaki karbona bağlı hidrojene, 7,25-7,40 ppm'deki çıkan çoklu pikler floren halkasının 1, 2 ve 6 konumundaki karbonlara bağlı üç hidrojene, 7,15 ppm'de görülen ($J = 1,91$ Hz) ikili pik floren halkasının 10 konumunda yer alan karbona bağlı hidrojene, 6,55 ppm'de ($J = 1,96$ Hz) görülen ikili pik floren halkasının 12 konumundaki karbona bağlı hidrojene, 5,25 ppm'de görülen tekli pik floren halkasının 11 konumundaki karbona bağlı NH_2 hidrojenlerine, 4,40 ppm'de görülen üçlü pik floren halkasının 9 konumundaki CH_2 hidrojenlerine, 1,70 ve 1,30 ppm'deki çoklu pikler Ha ve Hb ile simgelenen hidrojenlere, 0,1 ppm'de görülen üçlü pik floren halkasının 9 konumundan bağlı olan etil grubunun uç metil hidrojenlerine aittir.

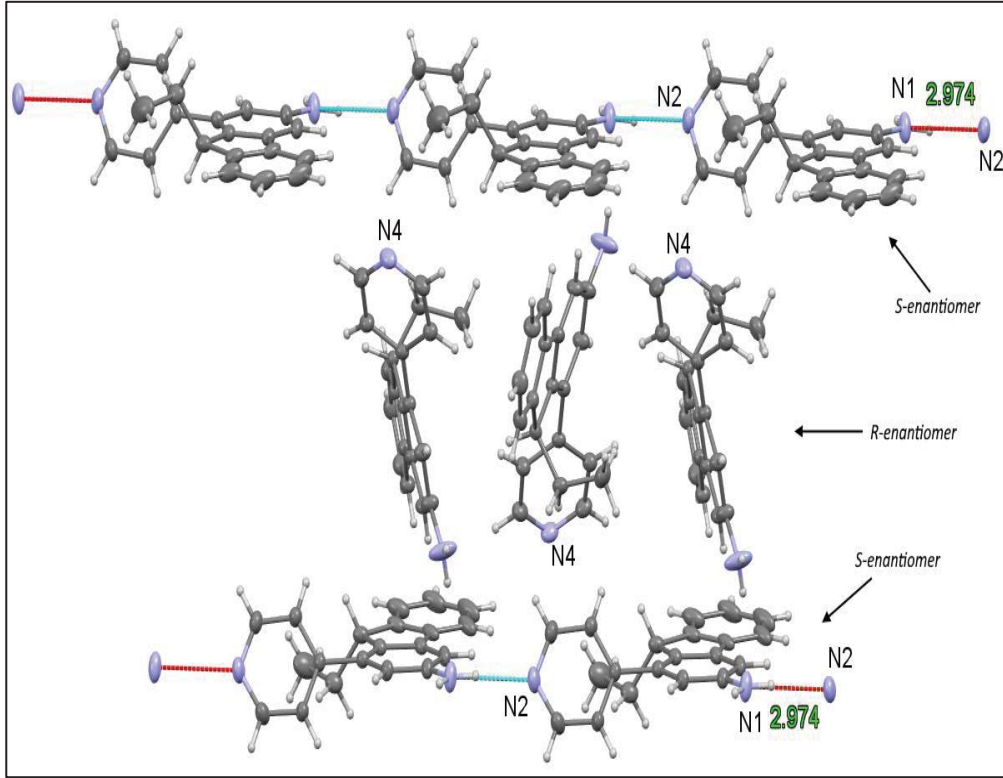
Bileşik 2 ile (etil bağlanmayan hali) karşılaştırıldığında NH_2 ile florenin 9 konumundaki CH_2 integralleri 1:1 oranında çıkarken, yukarıda gösterilen bileşik 11'de NH_2 ile CH_2 arasındaki integral 2:1 olarak görülmektedir. Bu durum, florenin 9 konumundan bir bağlanma olduğunu göstermektedir. ^1H - ^1H etkileşimlerini görebilmek için COSY spektrumları da alınmıştır.



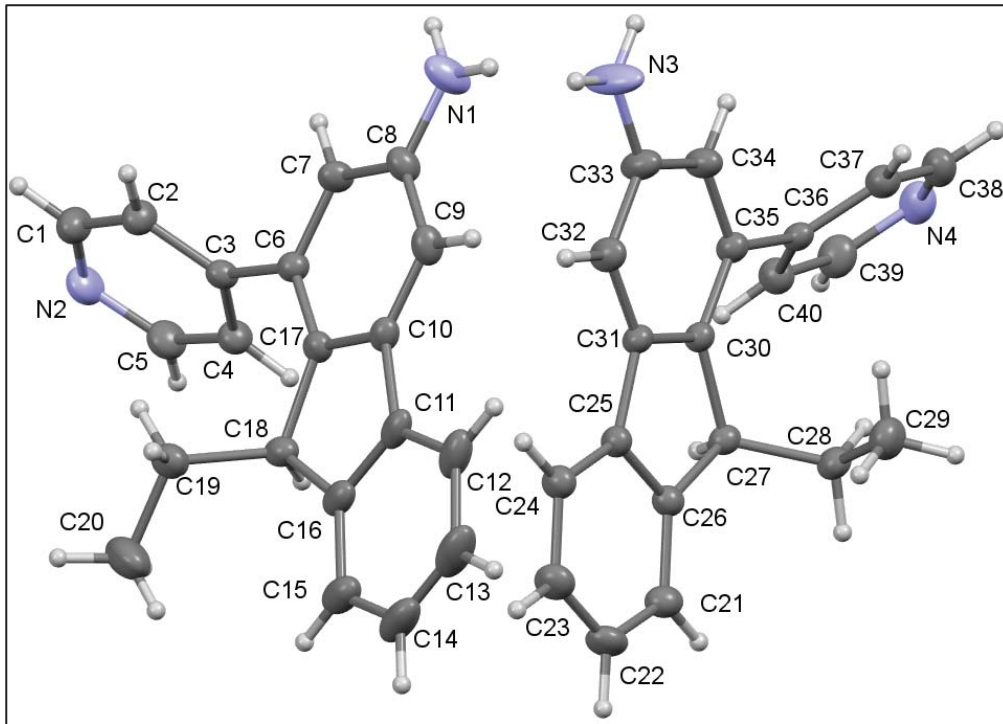
Şekil 6.3. Bileşik 11'in ^1H - ^1H COSY NMR Spektrumu

Şekil 6.3 de gösterildiği gibi etkileşimler florenin 9 konumunda bağlı bulunan etil grubuna işaret etmektedir. Kırmızı ve mavi renkle işaretlenen Ha ve Hb protonlarının hem $-\text{CH}$ ile hem de $-\text{CH}_3$ ile etkileşimi şekilde ayrıntılı çizimiyle gösterilmektedir.

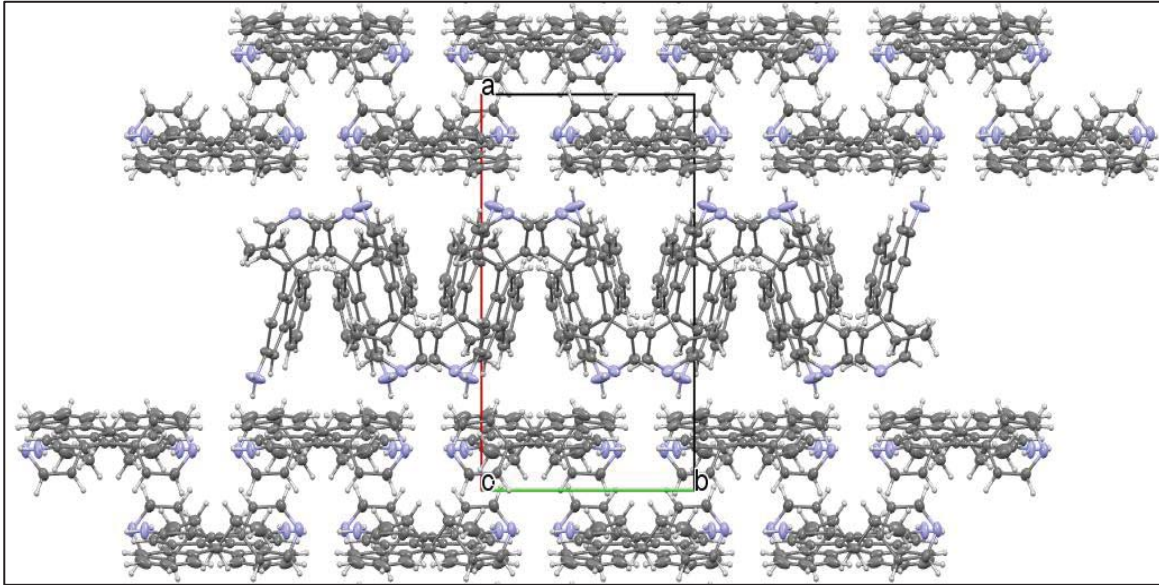
Bileşik 11'e ait XRD (X-ışınları kırınım analiz) analizleri de incelendiğinde floren halkasının 9 konumunda bağlı bulunan $-\text{CH}$ grubunun asimetrik karbon olmasından dolayı hem R hem de S istiflenmeleri mevcuttur.



Şekil 6.4. Bileşik 11'in (R, S) enantiyomerlerinin istiflenmesi

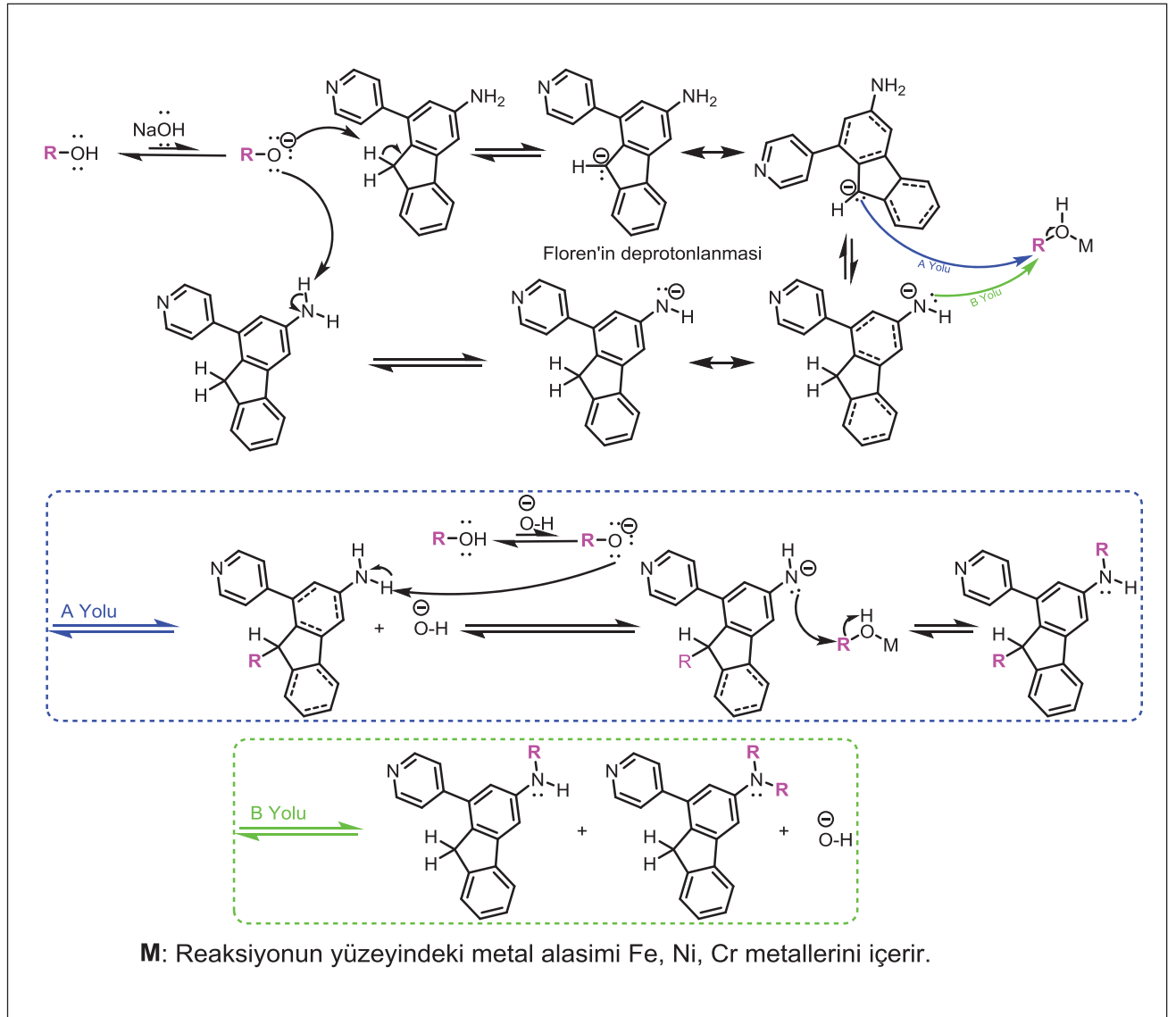


Şekil 6.5. Bileşik 11'in asimetric birimdeki iki enantiyomer molekülü.



Şekil 6.6. Bileşik 11'in istifleme motifi, eksen boyunca aşağı bakacak şekilde birim hücre ile istiflenir. Orta sıra tamamen (R)-enantiyomerlerden, üst ve alt sıralar (S)-enantiyomerlerden oluşur. Yer değiştirme elipsoitleri %40 olasılık seviyesinde çizildi

Desiyанизasyon reaksiyonu, birincil alkollerin (metanol, etanol ve propanol) ile sodyum hidroksit varlığında paslanmaz çelik bir kapta (sırasıyla 6,0 MPa, 4,8 MPa, 3,3 MPa) 220 °C'da 5 saat ısıtılarak gerçekleştirildi. Sıradışı bir şekilde, 1-Hetaril-3-aminofloren'den türetilen alkillenmiş bileşikler, şiddetli reaksiyon koşulları nedeniyle floren halkalarının 9-C ve 3-N pozisyonuna nükleofilik süstitüsyon yoluyla elde edildi. Eliminasyon reaksiyonunda kullanılan alkolün R alkil grubuna bağlı olarak, floren halkasının buna göre alkilendiği, çelik kabın içeriğinde bulunan Fe, Ni Cr gibi metallerin bu reaksiyonu katalizlediği ve oluşan ürünler için olası mekanizma (Şekil 6.6) önerilmiştir.

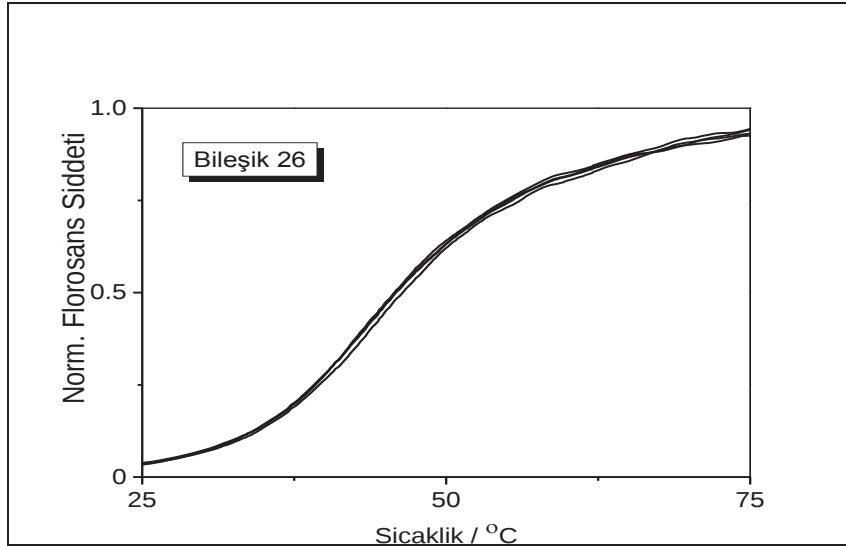


Şekil 6.7. Floren halkasının NH_2 ve 9 konumuna alkil gruplarının takılması üzerine önerilen mekanizma

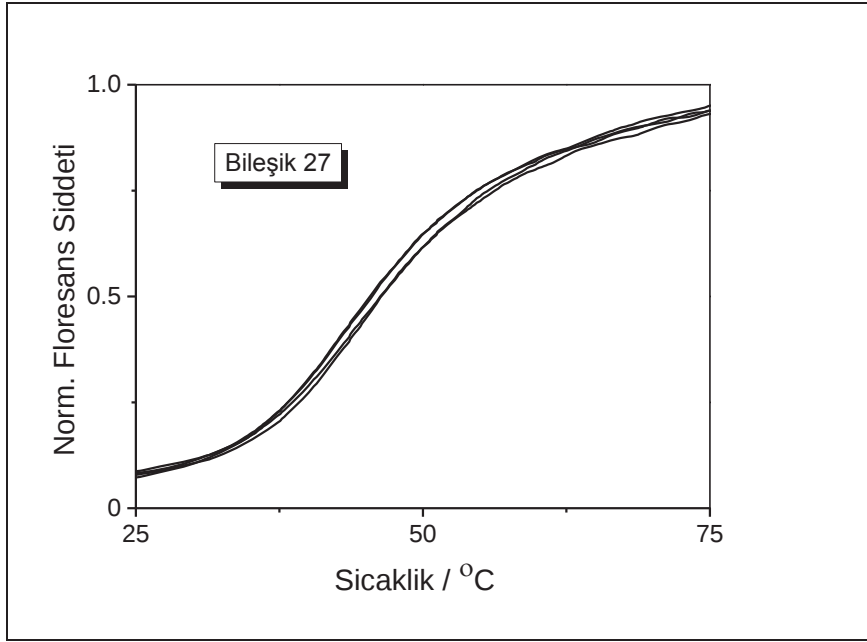
dörtlüsünü kararlı kılma özelliğine sahip olamazken nihai ürün olan bileşik 28 G-dörtlüsünü kararlı kılmış ve F21T oligonükleotidin T_m değerinde artışa sebep olmuştur (Çizelge 7.2, Şekil 7.3).

Çizelge 7.2. Bileşik 28'nin F21T ile FRET sonuçları

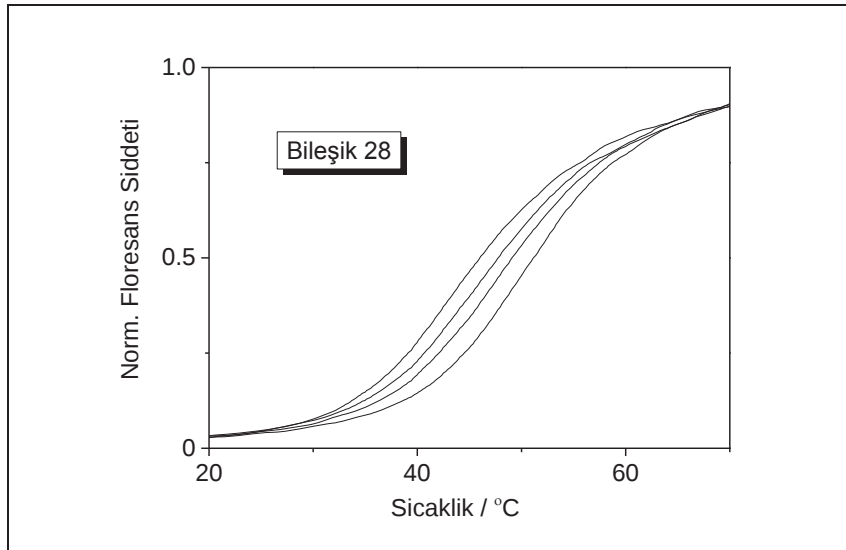
		$\Delta T_m/^\circ\text{C}$		
LDO		1.25	2.5	5.0
Bileşik	28	2.1	3.7	6.2



Şekil 7.1. Bileşik 26'nın artan mol oranlarında KCl-LiCl-sodyum-kakodilat-tamponu-(10 mM K⁺, pH=7,2); λ_{uyı}= 470 nm içerisinde G-dörtlüsüne F21T (0,2 μM) eklenmesine bağlı olarak F21T'nin erime eğrisindeki değişim. 515 nm'de 20 °C ila 90 °C arasında normalize edilmiş floresans yoğunluğu. r=0, 1,25; 2,5; 5 ([bileşik]/ [polinükleotid]).



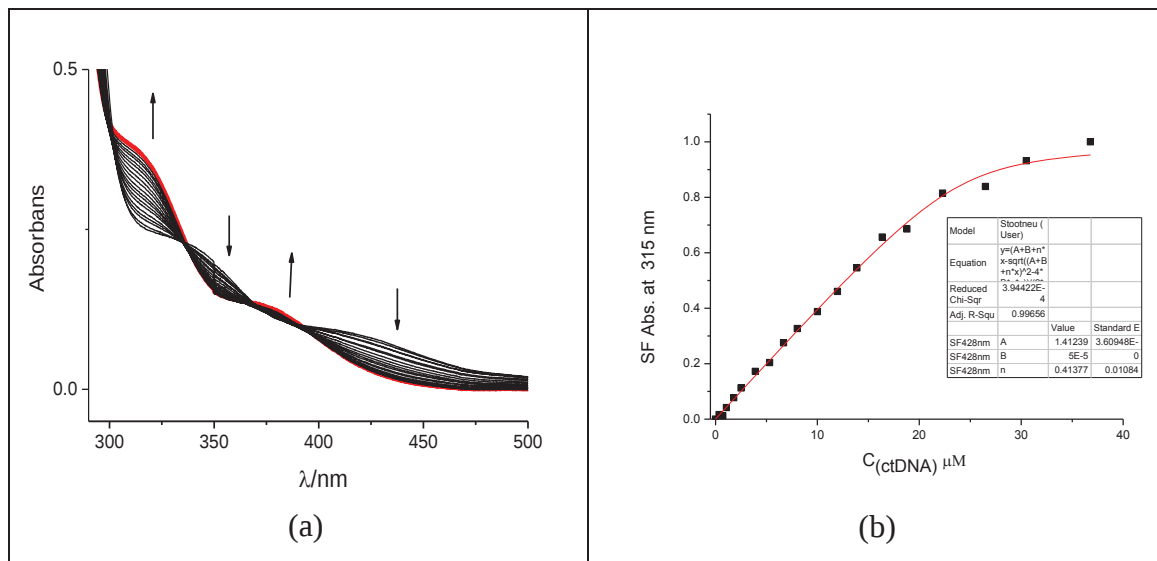
Şekil 7.2. Bileşik 27'nin bileşiklerinin artan mol oranlarında KCl-LiCl-sodyum-kakodilat tamponu-(10 mM K^+ , pH=7,2); $\lambda_{\text{uyg.}} = 470$ nm içerisinde G-dörtlüsüne F21T (0,2 μ M) eklenmesine bağlı olarak F21T'nin erime eğrisindeki değişim. 515 nm'de 20 °C ila 90 °C arasında normalize edilmiş floresans yoğunluğu. $r=0, 1,25; 2,5; 5$ ([bileşik]/[polinükleotid])



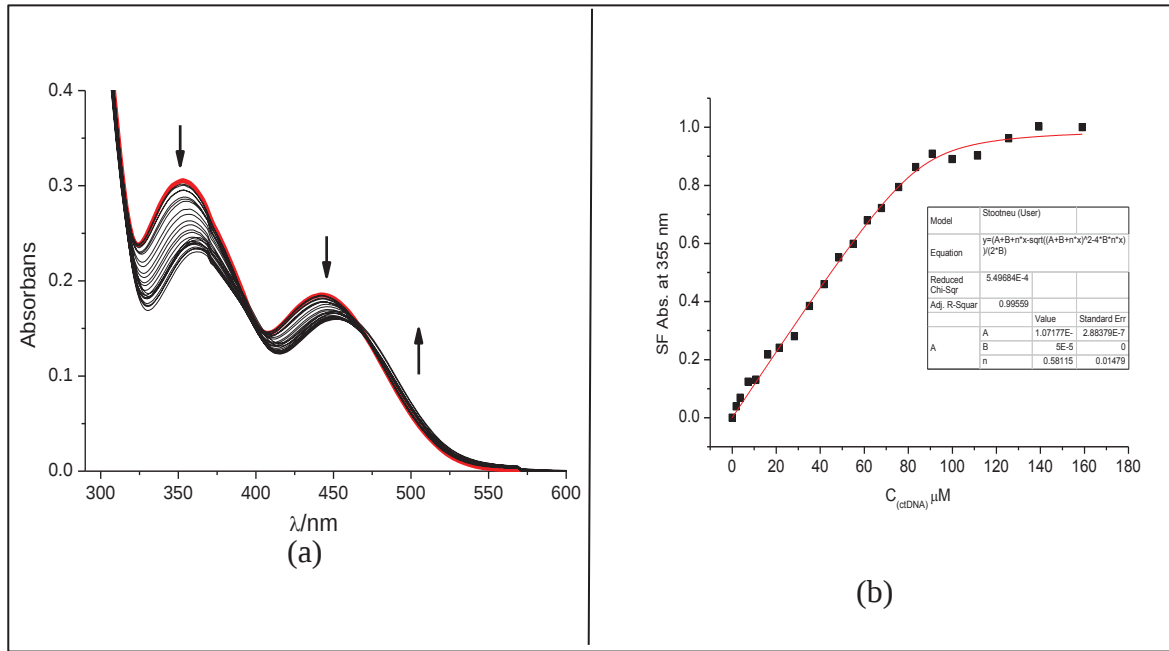
Şekil 7.3. Bileşik 28'nin bileşiklerinin artan mol oranlarında KCl-LiCl-sodyum-kakodilat - tamponu-(10 mM K^+ , pH=7,2); $\lambda_{\text{uyg.}} = 470$ nm içerisinde G-dörtlüsüne F21T (0,2 μ M) eklenmesine bağlı olarak F21T'nin erime eğrisindeki değişim. 515 nm'de 20 °C ila 90 °C arasında normalize edilmiş floresans yoğunluğu. $r=0, 1,25; 2,5; 5$ ([bileşik]/ [polinükleotid]).

7.2. Bileşik 26, 27 ve 28'in ct-DNA ile Spektrofotometrik Titrasyonu

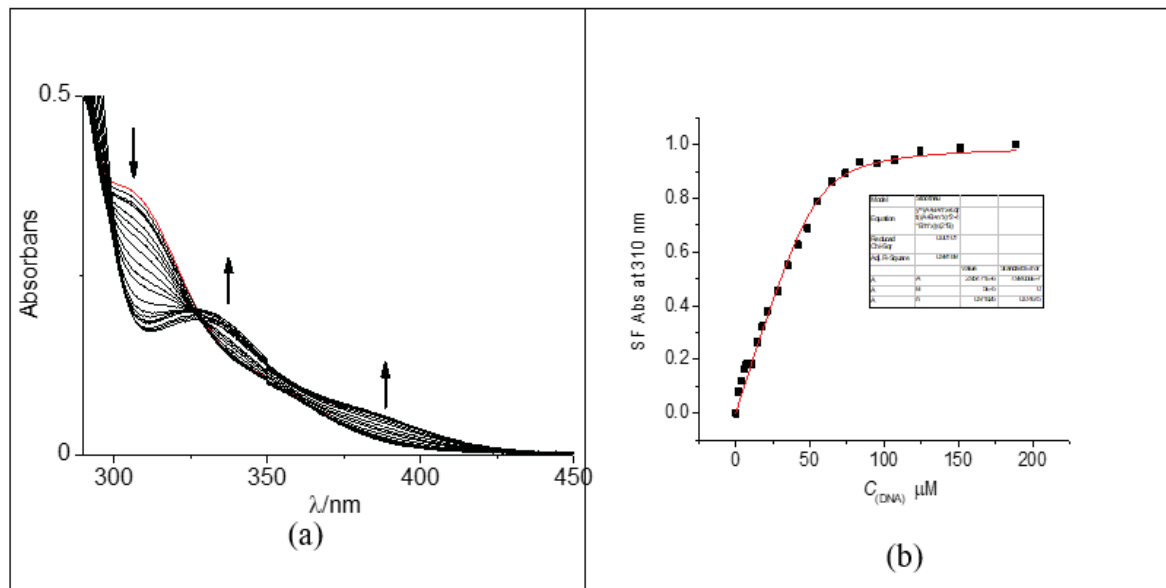
Desiyanyasyon sonrası sentezlenen bileşiklerden bileşik 27 ct-DNA ile titrasyonunda kırmızı alana kayma ile beraber azalan bir absorpsiyon spektrumu vermesine rağmen bileşik 26'nın titrasyonunda farklı dalgalıboylarında 3 düğüm noktası gözlemlenmiştir (Şekil 7.4-7.6).



Şekil 7.4. a) Bileşik 26'nın ($c = 5,0 \times 10^{-5}$ M) artan ct-DNA ($1,81 \times 10^{-6}$ – $2,65 \times 10^{-4}$ M) ile titre edildikten sonra UV-GB spektrumundaki değişimler b) ct-DNA'nın bir fonksiyonu olarak $\lambda_{\max} = 315$ nm iken spektroskopik değişiklikleri. (pH 7,0, sodyum kakodilat tamponu, $I = 0,05$)



Şekil 7.5. a) Bileşik 27'nin ($c = 5,0 \times 10^{-5}$ M) artan ct-DNA ($1,81 \times 10^{-6}$ — $1,14 \times 10^{-4}$ M) ile titre edildikten sonra UV-GB spektrumundaki değişimler b) ct-DNA'nın bir fonksiyonu olarak $\lambda_{max} = 355$ nm iken spektroskopik değişiklikleri. (pH 7,0, sodyum kakodilat tamponu, I = 0,05 M)



Şekil 7.6. a) Bileşik 28'in ($c = 5,0 \times 10^{-5}$ M) artan ct-DNA ($1,81 \times 10^{-6}$ — $2,65 \times 10^{-4}$ M) ile titre edildikten sonra UV-GB spektrumundaki değişimler b) ct-DNA'nın bir fonksiyonu olarak $\lambda_{max} = 310$ nm iken spektroskopik değişiklikleri. (pH 7,0, sodyum kakodilat tamponu, I = 0,05 M)

7.4. G4-FID Deneyleri

Bileşiklerin floresansının az olması nedeniyle bileşiklerin G4-DNA'ya ilgisi çalışmaları FID deneyleri ile tiyazol orange (TO) varlığında yapılmıştır.

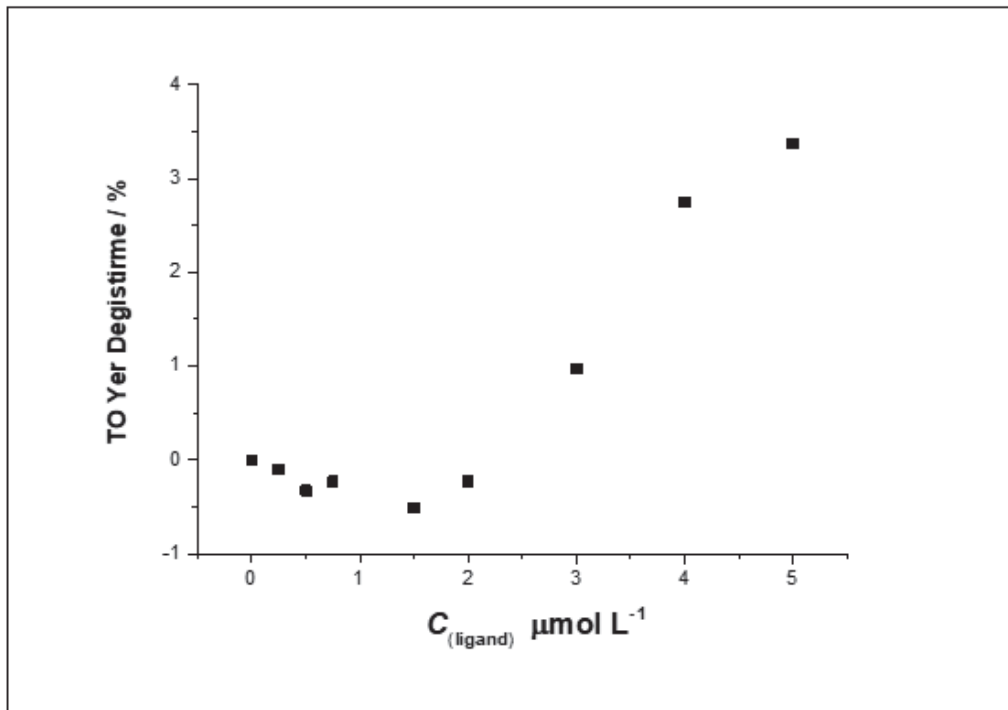
Bunun için;

$c(\text{TO}) = 50 \mu\text{M}$ TO KCl-Sodyumkakodilat çözeltisinde,

$c(22\text{AG}) = 20 \mu\text{M}$ KCl-Sodyumkakodilat KCl-Nakakodilat çözeltisinde,

$c(\text{Bil.28}) = 50 \mu\text{M}$ bileşik KCl-Sodyumkakodilat stok çözeltileri hazırlanır.

1 mL'lik küvete 10 μL TO + 12,5 μL 22AG + 977,5 μL tampon(KCl-sodyumkakodilat) eklenir. Sonra Bileşik 28 ile titre edilerek 510-750 nm aralığı taranır [79].



Şekil 7.9. (a) Bileşik 28'in floresans spektrumundaki değişimler. ($\lambda_{\text{uyg.}} = 315 \text{ nm}$, $c = 5 \times 10^{-5} \text{ M}$) üzerine 22AG oligonükleotid ilavesi ile ($c = 6,60 \times 10^{-6} - 1,00 \times 10^{-4} \text{ M}$)

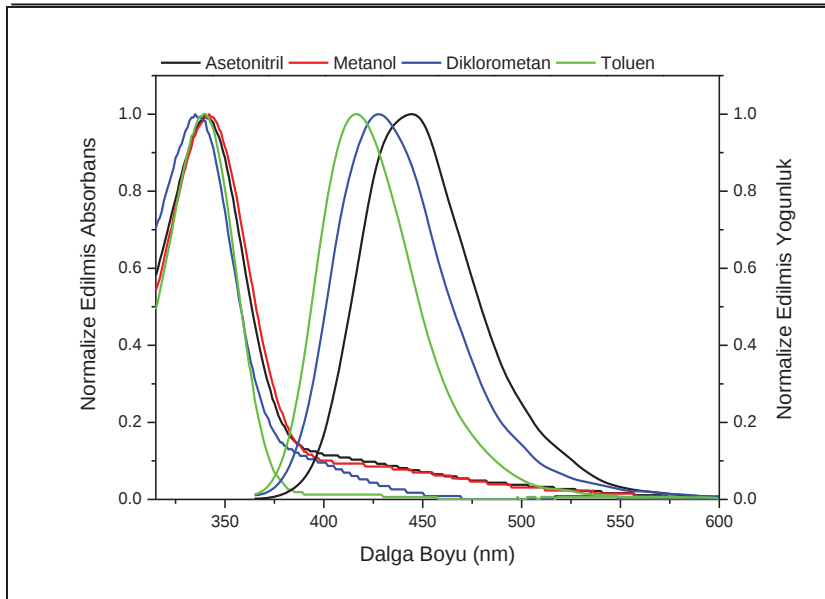
Bileşiklerin TO'dan G4-DNA'ya daha iyi bağlanmadığı için %50 TO yer değiştirme oranı hesaplanamamıştır ve sürekli artan noktalar görülmektedir.

7.5. Seçilen Bileşiklerin (2, 3, 4, 6, 9, 11 ve 13) Fotofiziksel Özellikleri

Desiyanyasyon tepkimesi sonrasında elde edilen yan ürünlerin, floren temelli organik boyar maddeler olarak değerlendirilip, kuvvetli absorpsiyon verdikleri (genellikle UV-bölgede) ve incelenen birçok çözücünde yoğun emisyon bantları sayesinde iyi optik özellikler sergiledikleri bilinmektedir [1].

Tez kapsamında, seçilen floren bileşiklerinin, farklı polaritelere sahip dört çözücünde fotofiziksel özellikleri çalışılmış ve el tipi UV ışığı altında ($\lambda_{\text{uyg.}} = 365 \text{ nm}$) parlak mavi florensans verdiği gözlemlenmiştir. Çalışılan bileşikler için absorpsiyon ve emisyon maksimumları sırasıyla, 334-351 nm ve 402-459 nm aralıklarında belirlenmiştir. Bileşiklerin kuantum verimleri Kumarin 153'ün ($\Phi_F=0,38$, Etanol içinde) referans olarak kullanılmasıyla tüm çözücülerde belirlenmiştir. Polar protik çözücü olan MeOH içerisinde kuantum verimleri oldukça düşük çıkarken, polaritesi en düşük olan toluen de en yüksek çıkmıştır. Moleküler yapı ile kuantum verimleri arasında düzgün bir korelasyon gözlenmezken en yüksek kuantum verimi değeri bileşik 3 için toluen içerisinde $\Phi_F=0,52$ olarak belirlenmiştir.

Özelliklerine bağlı olarak, sentezlenen boyar maddeler biyolojik etiketleme için floresan prob ve OLED uygulamalarında mavi ışık yayıcı olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir.

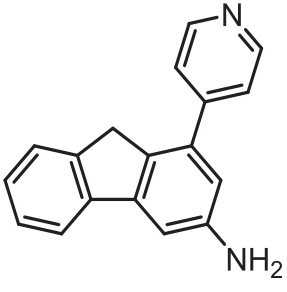


Şekil 7.10. Bileşik 2'ye ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) spektrumları

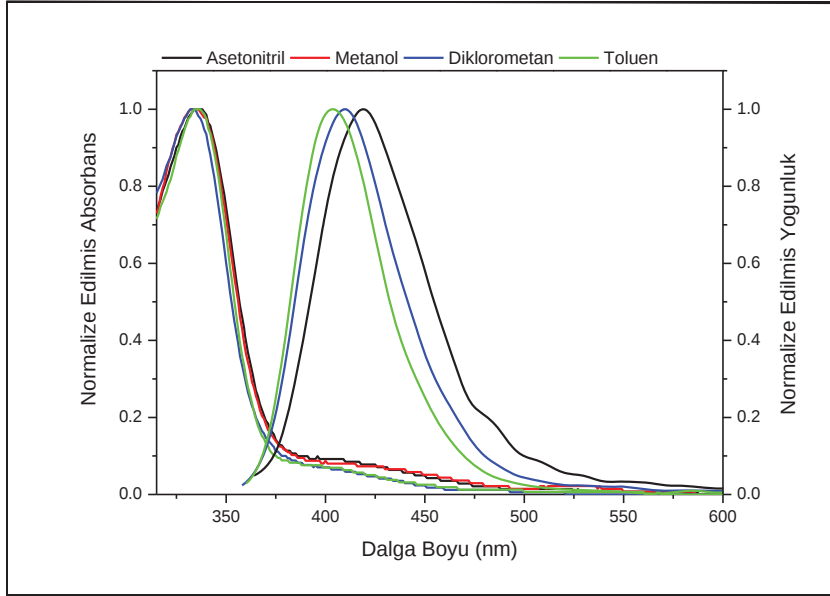


Resim 7.1. 2 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uya}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe)

Çizelge 7.3. Bileşik 2'ye ait fotofiziksel özellikler

	$\lambda_{\text{abs-max}}$ (nm)	$\lambda_{\text{fl-max}}$ (nm)	Φ_F^a	ϵ	Stokes kayması (nm)
ACN	340	444,4	0,35	6292,8	+104,4
MeOH	343	439,6	0,00	5294,2	+96,6
DCM	340	427,6	0,37	4901,7	+87,6
PhMe	339	416,4	0,44	6623,3	+77,4

a: Referans Kumarin 153'ün kuantum verimi, Φ_F , 0,38'dir (Etanol içinde).

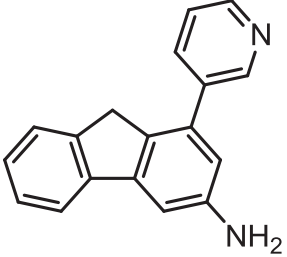


Şekil 7.11. Bileşik 3'e ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) spektrumları

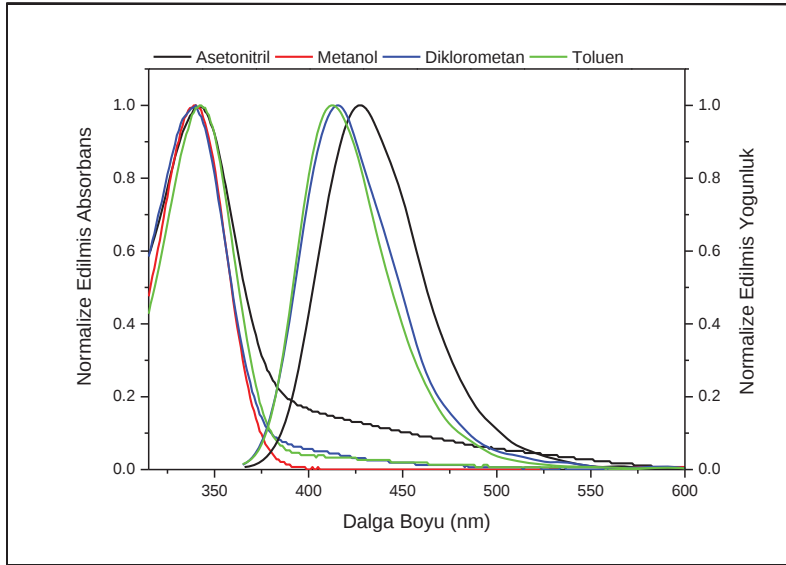


Resim 7.2. 3 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uyg.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe)

Çizelge 7.4. Bileşik 3'e ait fotofiziksel özellikler

	$\lambda_{\text{abs-max}}$ (nm)	$\lambda_{\text{fl-max}}$ (nm)	Φ_F^a	ϵ	Stokes kayması (nm)
ACN	339	418,6	0,12	5720,6	+79,6
MeOH	333	427,4	0,01	5535,4	+94,4
DCM	334	409,8	0,37	7443,6	+75,8
PhMe	334	403,6	0,52	6211,4	+69,6

a: Referans Kumarin 153'ün kuantum verimi, Φ_F , 0,38'dir (Etanol içinde).

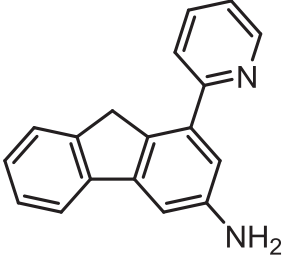


Şekil 7.12. Bileşik 4'e ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) spektrumları

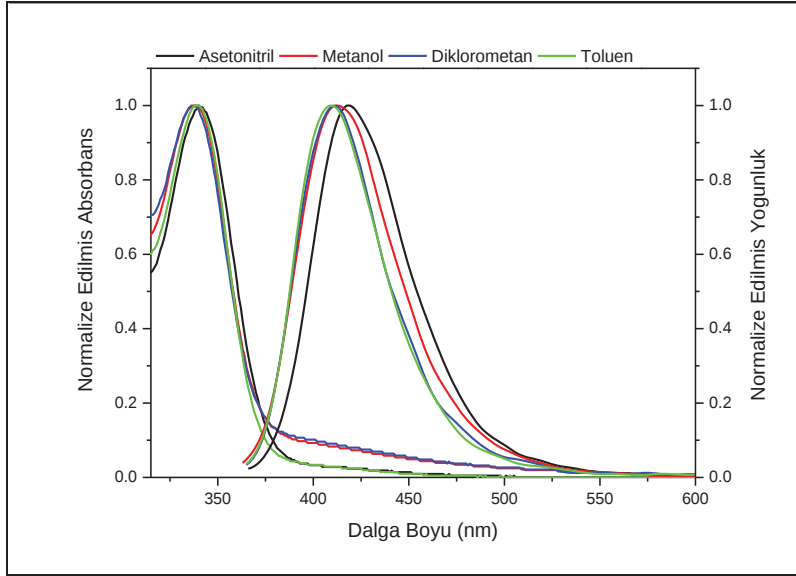


Resim 7.3. 4 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uyu.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe)

Çizelge 7.5. Bileşik 4'e ait fotofiziksel özellikler

	$\lambda_{\text{abs-max}}$ (nm)	$\lambda_{\text{fl-max}}$ (nm)	$\Phi_{\text{F}}^{\text{a}}$	ϵ	Stokes kayması (nm)
ACN	340	427,4	0,33	5002,9	+87,4
MeOH	340	417,2	0,01	6170,0	+77,2
DCM	340	415,6	0,37	6293,8	+75,6
PhMe	340	412,6	0,40	5986,2	+72,6

a: Referans Kumarin 153'ün kuantum verimi, Φ_{F} , 0,38'dir (Etanol içinde)

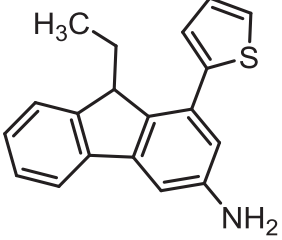


Şekil 7.13. Bileşik 6'ya ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) spektrumları

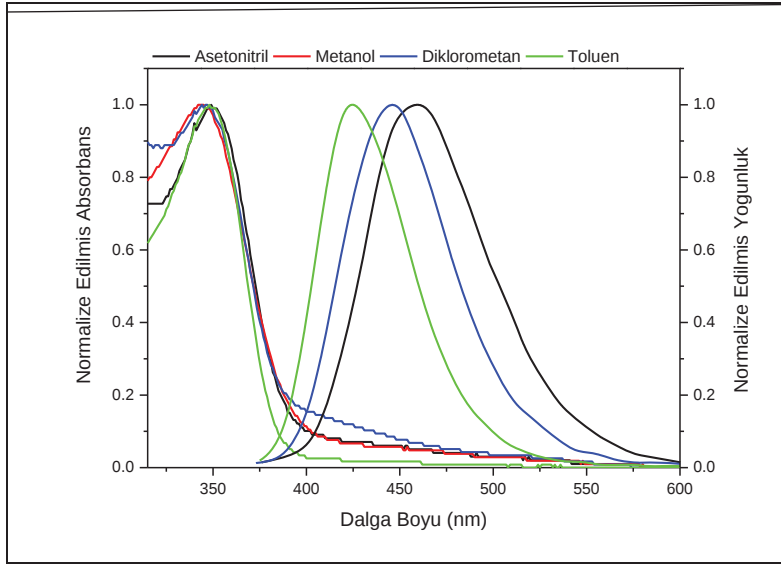


Resim 7.4. 6 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uyg.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe)

Çizelge 7.6. Bileşik 6'ya ait fotofiziksel özellikler

	$\lambda_{\text{abs-max}}$ (nm)	$\lambda_{\text{fl-max}}$ (nm)	Φ_{F}^a	ϵ	Stokes kayması (nm)
ACN	340	418,4	0,21	8671,1	+78,4
MeOH	338	412,4	0,20	8424,2	+74,4
DCM	340	411,2	0,34	6599,5	+71,2
PhMe	340	409,4	0,31	8466,1	+69,4

a: Referans Kumarin 153'ün kuantum verimi, Φ_{F} , 0,38'dir (Etanol içinde).

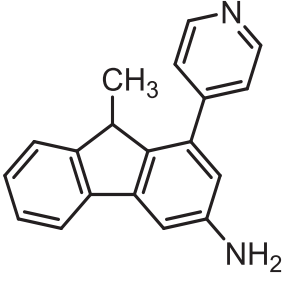


Şekil 7.14. Bileşik 9'a ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) spektrumları

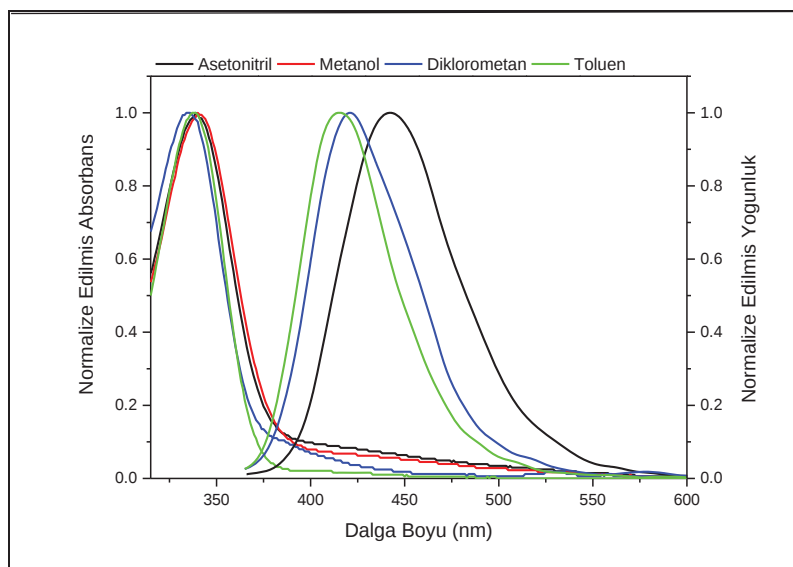


Resim 7.5. 9 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uya.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe)

Çizelge 7.7. Bileşik 9'a ait fotofiziksel özellikler

	$\lambda_{\text{abs-max}}$ (nm)	$\lambda_{\text{fl-max}}$ (nm)	$\Phi_{\text{F}}^{\text{a}}$	ϵ	Stokes kayması (nm)
ACN	350	459,4	0,26	4018,0	+109,4
MeOH	340	405,8	0,00	4059,6	+65,8
DCM	348	446,0	0,32	4447,6	+98
PhMe	347	424,6	0,41	4428,3	+77,6

a: Referans Kumarin 153'in kuantum verimi, Φ_{F} , 0,38'dir (Etanol içinde).

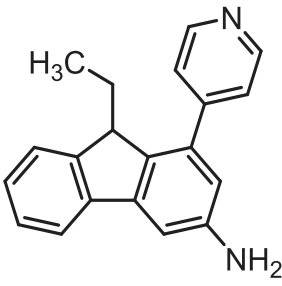


Şekil 7.15. Bileşik 11'e ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) sepektrumları

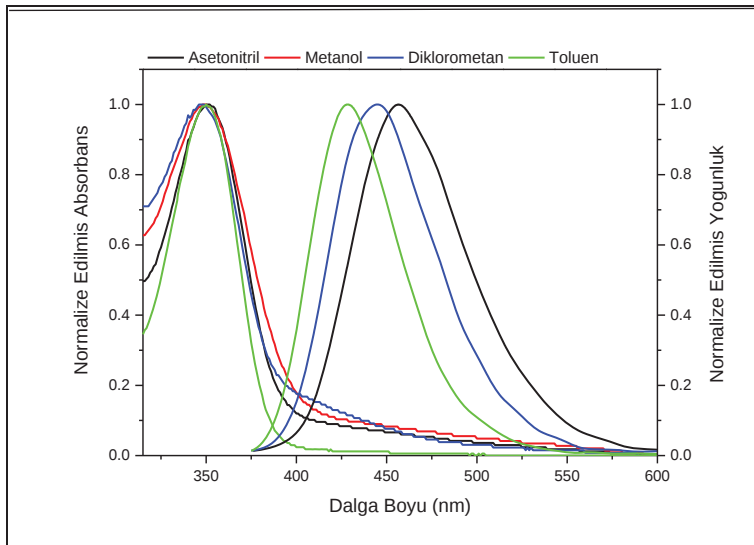


Resim 7.6. 11 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uyg.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe)

Çizelge 7.8. Bileşik 11'e ait fotofiziksel özellikler

	$\lambda_{\text{abs-max}}$ (nm)	$\lambda_{\text{fl-max}}$ (nm)	$\Phi_{\text{F}}^{\text{a}}$	ϵ	Stokes kayması (nm)
ACN	340	442,4	0,33	7278,6	+102,4
MeOH	340	435,6	0,00	6788,1	+95,6
DCM	335	432,4	0,12	6578,4	+97,4
PhMe	339	415,4	0,42	8015,4	+76,4

a: Referans Kumarin 153'ün kuantum verimi, Φ_{F} , 0,38'dir (Etanol içinde).

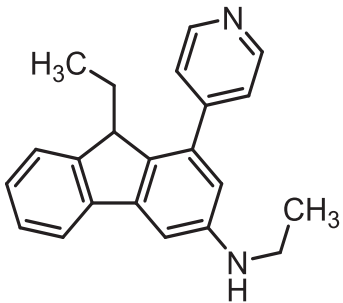


Şekil 7.16. Bileşik 13'e ($c = 25 \mu\text{M}$) ait farklı çözücülerdeki absorpsiyon (solda) ve emisyon (sağda) sepektrumları



Resim 7.7. 13 ($c = 1000 \mu\text{M}$) bileşiğinin farklı çözücüler içindeki gün ışığında (sol) ve UV ışığı ($\lambda_{\text{uyg.}} = 365 \text{ nm}$) altında (sağ) alınan fotoğrafları (soldan sağa sırasıyla, ACN, MeOH, DCM, PhMe)

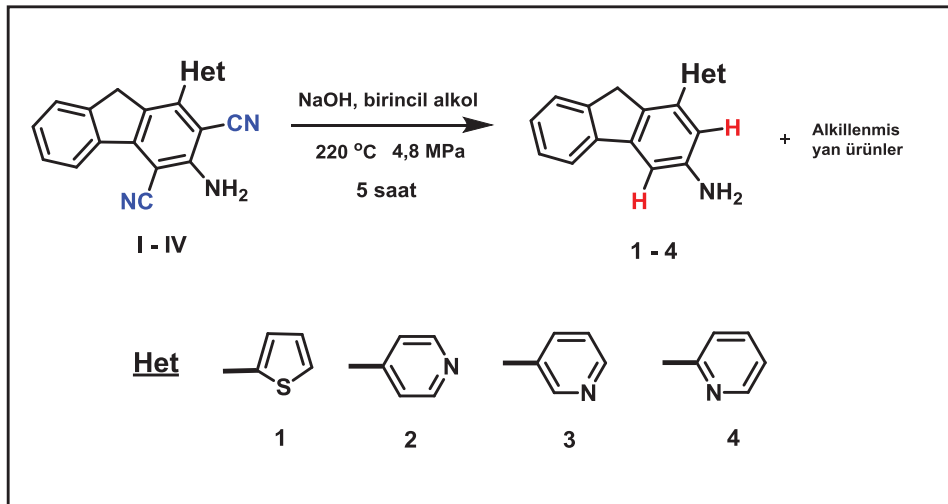
Çizelge 7.9. Bileşik 13'e ait fotofiziksel özellikler

	$\lambda_{\text{abs-max}}$ (nm)	$\lambda_{\text{fl-max}}$ (nm)	Φ_F^a	ϵ	Stokes kayması (nm)
ACN	351	459,4	0,27	5822,6	+108,4
MeOH	350	405,8	0,00	4961,9	+55,8
DCM	349	446,0	0,31	4919,3	+97
PhMe	350	424,6	0,39	7256,5	+74,6

a: Referans Kumarin 153'ün kuantum verimi, Φ_F , 0,38'dir (Etanol içinde)

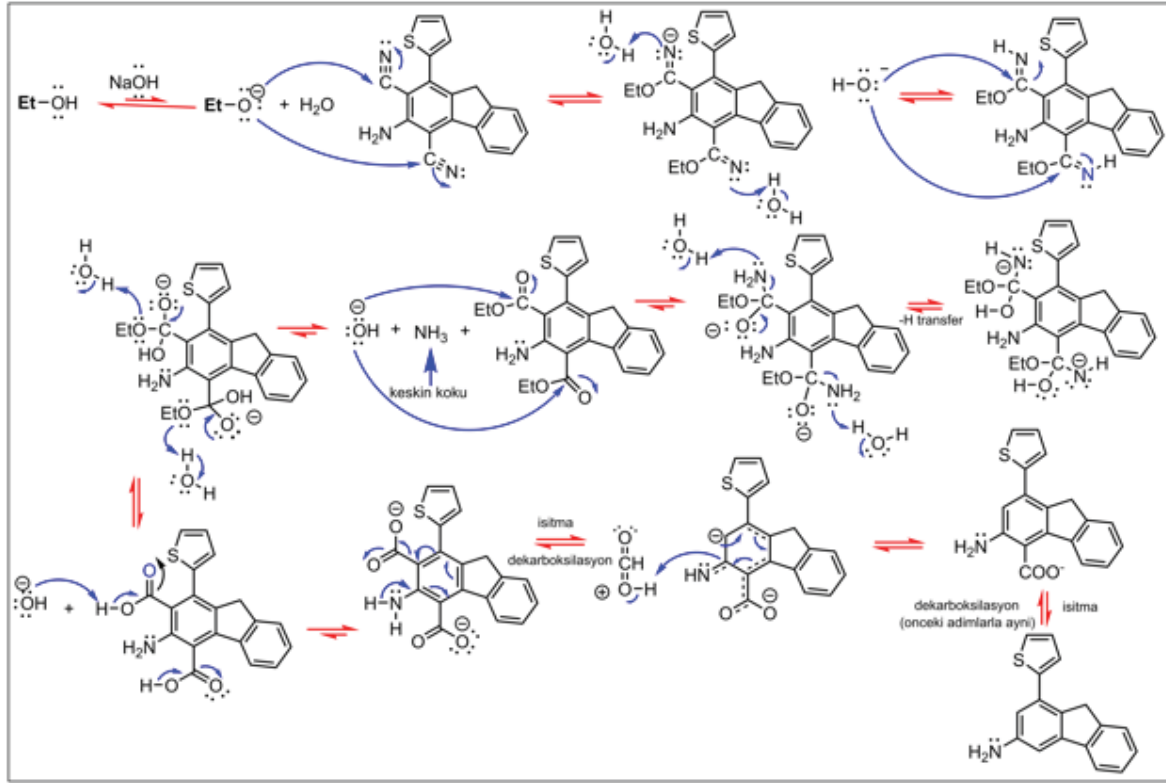
8. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Birçok sistem için (biyolojik, optik, elektronik vb.) çok önemli çıkış molekülü olabilme potansiyeline sahip 3-Amino-1-hetaril-floren/florenon ve türevlerinin sentezi literatürde ilk olarak bu tez kapsamında gerçekleştirilmiştir. (Şekil 8.1.)



Şekil 8.1. 3-Amino-1-hetaril-floren sentezine ait desiyanoizasyon tepkimesi

Literatürde, disiyanonilinin temelli bileşiklerin çeşitli desiyanoizasyon tepkimesi çalışmaları mevcuttur [48-51]. Ancak, disiyanonilinin iskeleti içeren floren temelli bileşiklerin desiyanoizasyon tepkimesi daha önce yapılmamıştır. Bu tepkimeye ilişkin mekanizma Şekil 8.2. de görülmektedir.

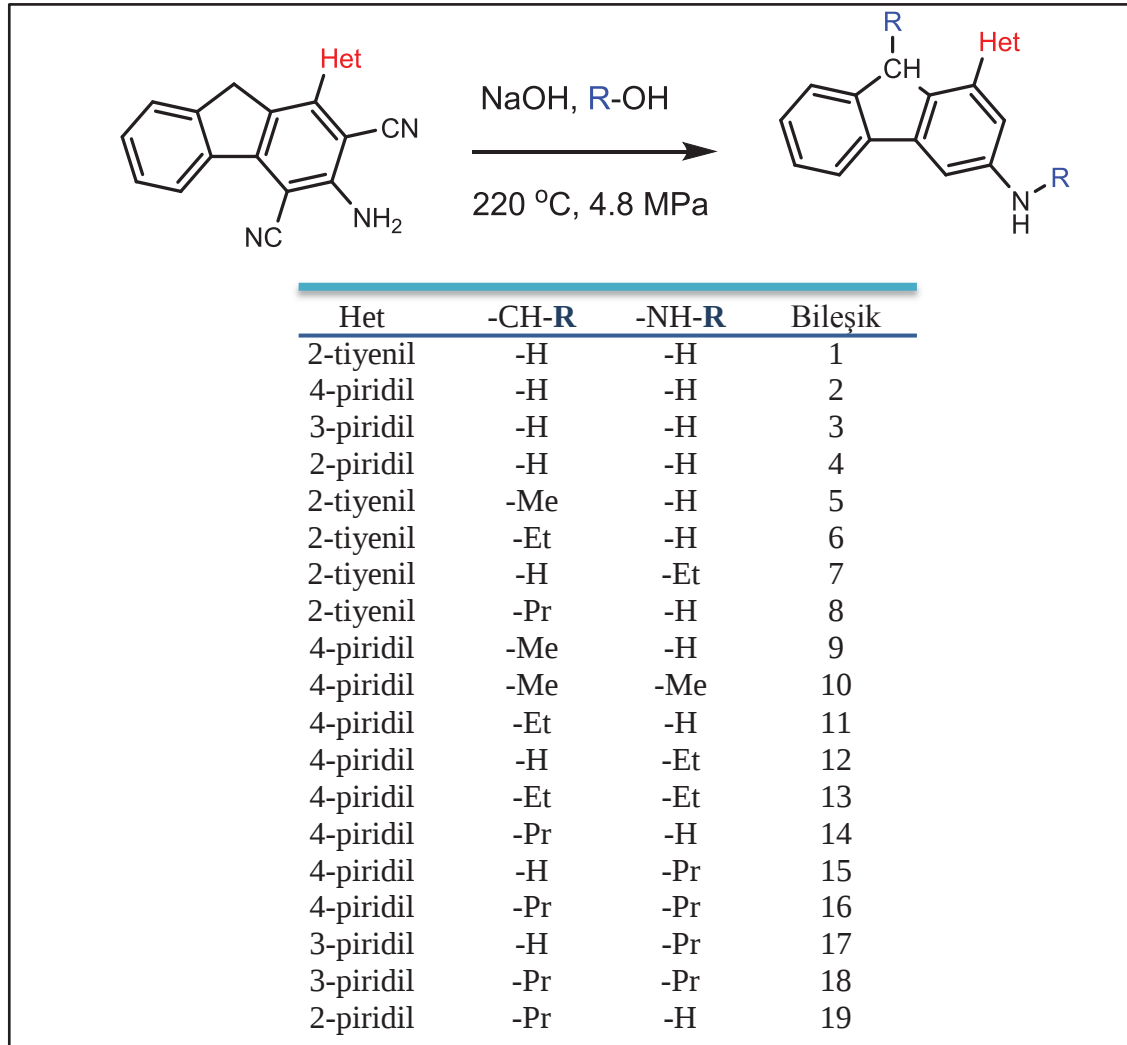


Şekil 8.2. Desiyanizasyon tepkimesi için önerilen mekanizma

Desiyanizasyon tepkimesinin koşulları sıcaklık, zaman, basınç, bileşik-baz miktarı oranı ve özellikle çözücü gibi parametrelere bağlıdır. Bu nedenle her bir parametrenin değiştirilmesiyle reaksiyon ürünlerinde ve bu ürünlerin verimlerinde farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 5.3. de bu tür parametreleri kapsayan optimizasyon çalışması verileri verilmiştir. Yapılan bu çalışma, ileride floren/florenon halkasıyla yapılacak desiyanizasyon tepkimeleri için öncü olacaktır.

Desiyanizasyon reaksiyonu, birincil alkol (metanol, etanol ve propanol) ile sodyum hidroksit varlığında paslanmaz çelik bir kaptan (sırasıyla 6,0 MPa, 4,8 MPa, 3,3 MPa) 220 °C'da 5 saat ısıtılarak gerçekleştirilmiştir. Beklenmedik bir şekilde, floren halkasının 9 konumundaki karbon atomu ile 3 konumundaki N atomuna alkoldeki -R grubuna bağlı olarak alkil gruplarının bağlandığı saptanmıştır. Bu beklenmeyen alkillenme ürünleri için bir mekanizma önerisinde bulunulmuştur. Bu durum tepkimenin (Şekil 6.6) da gösterilen mekanizma üzerinden yürüyebileceğini ve reaktörün metal içeriğinde Ni, Fe, Cr olması nedeniyle alkillenme reaksiyonlarını katalizleyebileceğini düşündürmektedir. Çözücü değişimi elde edilen alkillenmiş ürün sayısını ve hedef ürünün verimini çok az değiştirmiştir

(hedef ürünlerde %2 oranında artış sağlanmıştır). Fakat propanol kullanıldığında hedef ürünler alkillenmiş ürünlerden daha kolay ayrılıp izole edilebilmiştir.

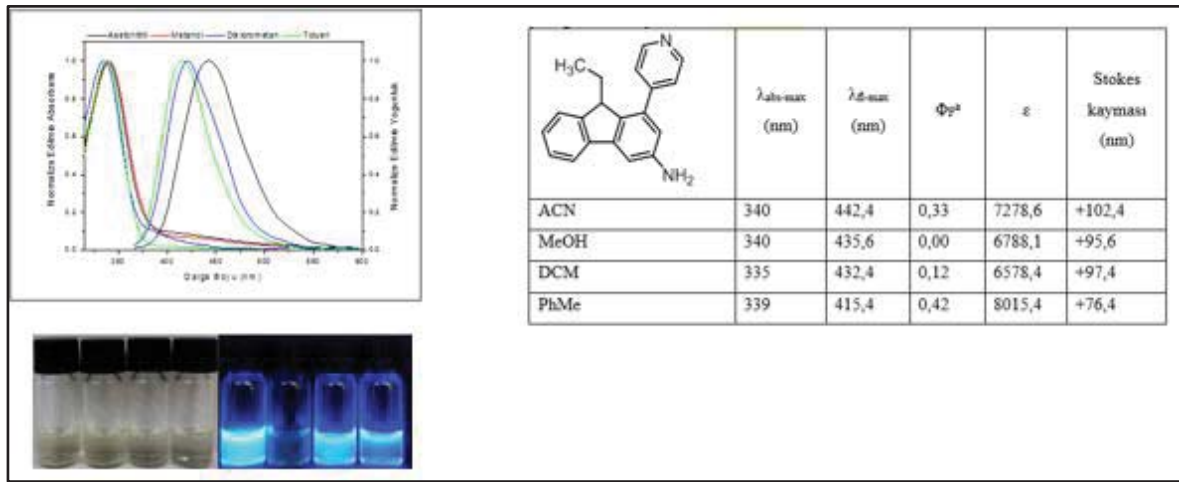


Şekil 8.3. Desilyanizasyon reaksiyonu sonrası oluşan hedef ve alkillenmiş ürünlerin şematik gösterimi

Oluşan bu alkillenmiş ürünlerde, floren türevli organik boyar maddelerin farklı birçok çözücünde mavi ışık yayan kuvvetli absorpsiyon (genellikle UV bölgesinde) ve kuvvetli emisyon bantları ile iyi derecede optik özellikleri sergiledikleri bilinmektedir. [1]

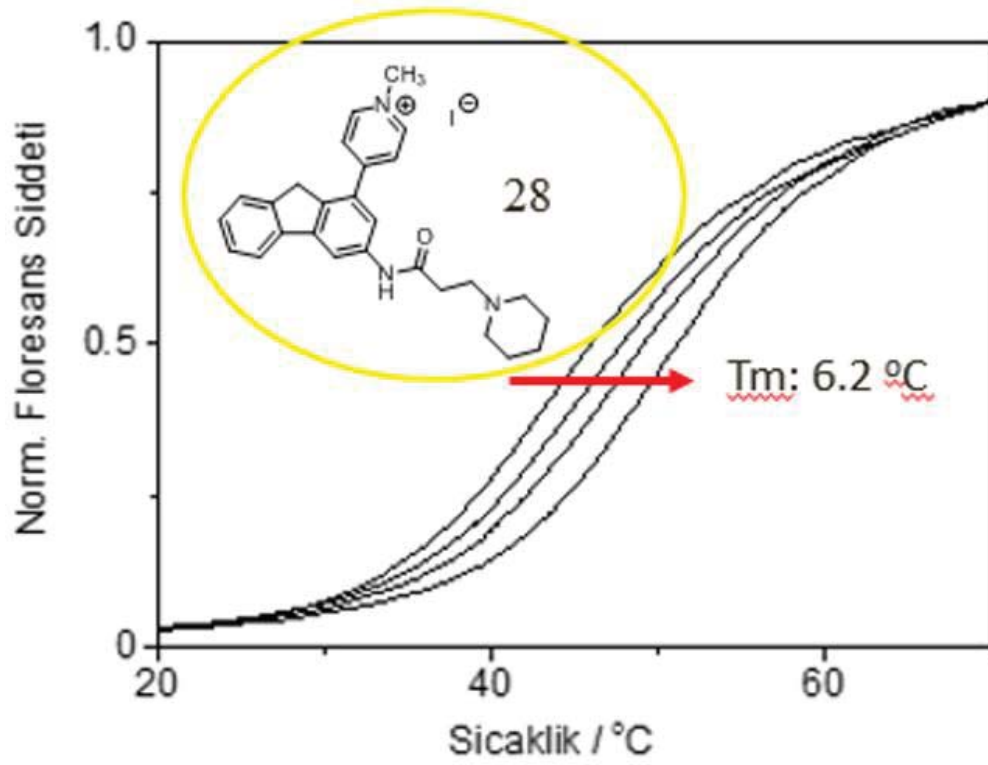
Farklı alkil gruplarının farklı hetaril gruplarına bağlı olarak seçtiğimiz 7 farklı floren türevinin dört farklı polariteye sahip çözücü içerisinde fotofiziksel özellikleri belirlenmiştir. El tipi UV ışığı altında ($\lambda_{\text{uyg.}} = 365 \text{ nm}$) parlak mavi florensans verdiği gözlemlenmiştir (Şekil 8.5) Çalışılan bileşikler için absorpsiyon ve emisyon maksimumları sırasıyla, 334-

351 nm ve 402-459 nm aralıklarında belirlenmiştir. Bileşiklerin kuantum verimleri Kumarin 153'ün ($\Phi_F=0,38$, Etanol içinde) referans olarak kullanılmasıyla tüm çözücülerde belirlenmiştir. Polar protik çözücü olan MeOH içerisinde kuantum verimleri oldukça düşük çıkarken, polaritesi en düşük olan toluen de en yüksek çıkmıştır. Moleküler yapı ile kuantum verimleri arasında düzgün bir korelasyon gözlenmezken en yüksek kuantum verimi değeri bileşik 3 için toluen içerisinde $\Phi_F=0,52$ olarak belirlenmiştir. Elde edilen fotofiziksel özelliklere göre sentezlenen boyar maddeler biyolojik etiketleme için bir floresan prob ve OLED uygulamalarında mavi ışık yayıcı olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptir.



Şekil 8.4. Bileşik 11'in fotofiziksel özelliklerinin özet gösterimi

Sunulan tezin etkileşim çalışmaları kısmında, G4-DNA ve çift sarmal DNA'ya seçicilik gösterebilecek floren/florenon temelli yeni ligandlar sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin (26, 27, 28) yapısında bulunan katyonik piridinyum halkası ve alkilamino uç sübstitüentleri, G4-DNA'nın dış yüzeyinde bulunan fosfodiester bağları ile iyon-dipol etkileşimlerini arttırması hedeflenmiştir. Bileşik 26, 27 ve 28 karşılaştırıldığında beklenildiği gibi sadece 28'in (1-N-metilpiridinyum-3-(3-(alkilamino)propanamido-9H-floren iyodür) guanince zengin F21T ve 22AG kodlu oligonükleotidler ile etkileştiği görülmüş ve Tm değerinde kayda değer bir artışa (6,2 °C) sebep olmuştur. (Çizelge 7.2.)



Şekil 8.5. Bileşik 28'in bileşiklerinin artan mol oranlarında KCl-LiCl-sodyum-kakodilat - tamponu-(10 mM K⁺, pH=7,2); $\lambda_{\text{uyg.}} = 470 \text{ nm}$ içerisinde G-dörtlüsüne F21T (0,2 μM) eklenmesine bağlı olarak F21T'nin erime eğrisindeki değişim. 515 nm'de 20 °C ila 90 °C arasında normalize edilmiş floresans yoğunluğu. r=0, 1,25; 2,5; 5 ([bileşik]/ [polinükleotid])

KAYNAKLAR

1. Xu, Z., Li, J., Wu, Y., Sun, Z., Luo, L., Hu, Z. and Zhang, X. (2016). Design, synthesis, and evaluation of potent Wnt signaling inhibitors featuring a fused 3-ring system. *European journal of medicinal chemistry*, 108, 154-165.
2. Kriek, E. (1992). Fifty years of research on N-acetyl-2-aminofluorene, one of the most versatile compounds in experimental cancer research. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 118(7), 481-489.
3. Hannon, M. J. (2007). Supramolecular DNA recognition. *Chemical Society Reviews*, 36(2), 280-295.
4. Ridley, Matt. (2007). *Genom - Bir Türün Yirmi Üç Bölümlük Otobiyoğrafisi*. (Çev. Mehmet Doğan, Nivart Taşçı). İstanbul: Boğaziçi Üniversitesi Yayınevi. (Eserin orijinali 1999'da yayımlandı).
5. Watson, J. D. and Crick, F. (1953). A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(737-738), 3.
6. Gellert, M., Lipsett, M. N. and Davies, D. R. (1962). Helix formation by guanylic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 48(12), 2013.
7. Erlitzki, R. and Fry, M. (1997). Sequence-specific binding protein of single-stranded and unimolecular quadruplex telomeric DNA from rat hepatocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 272(25), 15881-15890.
8. Dempsey, L. A., Sun, H., Hanakahi, L. A. and Maizels, N. (1999). G4 DNA binding by LR1 and its subunits, nucleolin and hnRNP D, A role for GG pairing in immunoglobulin switch recombination. *Journal of Biological Chemistry*, 274(2), 1066-1071.
9. Giraldo, R., Suzuki, M., Chapman, L. and Rhodes, D. (1994). Promotion of parallel DNA quadruplexes by a yeast telomere binding protein: a circular dichroism study. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(16), 7658-7662.
10. Fang, G. and Cech, T. R. (1993). The β subunit of Oxytricha telomere-binding protein promotes G-quartet formation by telomeric DNA. *Cell*, 74(5), 875-885.
11. Fang, G. and Cech, T. R. (1993). Characterization of a G-quartet formation reaction promoted by the beta.-subunit of the Oxytricha telomere-binding protein. *Biochemistry*, 32(43), 11646-11657.
12. Arya, D. P. and Willis, B. (2003). Reaching into the Major Groove of B-DNA: Synthesis and Nucleic Acid Binding of a Neomycin- Hoechst 33258 Conjugate. *Journal of the American Chemical Society*, 125(41), 12398-12399.
13. Berg, J. M. Tymoczko, J. L. and Stryer, L. (2001). *Nucleotide Biosynthesis*, 704-707.

14. Saenger, W. (1984). Forces stabilizing associations between bases: hydrogen bonding and base stacking. *In Principles of nucleic acid structure*, Springer, New York, NY. 116-158
15. Egli, M., Flavell, A., Pyle, A. M., Allen, S., Fisher, J., Haq, S. I. and Wilson, W. D. (2006). *Nucleic acids in chemistry and biology*. Royal Society of Chemistry.
16. Blackburn, E. H. (2001). Switching and signaling at the telomere. *Cell*, 106(6), 661-673.
17. Counter, C. M., Ailion, A. A., LeFeuvre, C. E., Stewart, N. G., Greider, C. W., Harley, C. B. and Bacchetti, S. (1992). Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *The EMBO journal*, 11(5), 1921-1929.
18. Sun, D., Thompson, B., Cathers, B. E., Salazar, M., Kerwin, S. M., Trent, J. O., Jenkins, T. C., Neidle S. and Hurley, L. H. (1997). Inhibition of human telomerase by a G-quadruplex-interactive compound. *Journal of medicinal chemistry*, 40(14), 2113-2116.
19. Aboul-Ela, F., Murchie, A. I. and Lilley, D. M. (1992). NMR study of parallel-stranded tetraplex formation by the hexadeoxynucleotide d (TG4T). *Nature*, 360 (6401), 280.
20. Brooks, T. A., Kendrick, S. and Hurley, L. (2010). Making sense of G-quadruplex and i-motif functions in oncogene promoters. *The FEBS journal*, 277 (17), 3459-3469.
21. Huppert, J. L. (2008). Four-stranded nucleic acids: structure, function and targeting of G-quadruplexes. *Chemical Society Reviews*, 37(7), 1375-1384.
22. Webba da Silva, M. (2007). Geometric formalism for DNA quadruplex folding. *Chemistry—A European Journal*, 13(35), 9738-9745.
23. Gomez, D. E., Armando, R. G., Farina, H. G., Menna, P. L., Cerrudo, C. S., Ghiringhelli, P. D. and Alonso, D. F. (2012). Telomere structure and telomerase in health and disease. *International journal of oncology*, 41(5), 1561-1569.
24. Sessler, J. L., Sathiosatham, M., Doerr, K., Lynch, V. and Abboud, K. A. (2000). AG-Quartet Formed in the Absence of a Templating Metal Cation: A New 8-(N, N-dimethylaniline) guanosine Derivative. *Angewandte Chemie International Edition*, 39(7), 1300-1303.
25. Zakian, V. A. (1995). Telomeres: beginning to understand the end. *Science*, 270(5242), 1601-1607.
26. Oganessian, L. and Bryan, T. M. (2007). Physiological relevance of telomeric G-quadruplex formation: a potential drug target. *Bioessays*, 29(2), 155-165.
27. Patel, D. J. Phan, A. T., and Kuryavyi, V. (2007). Human telomere, oncogenic promoter and 5'-UTR G-quadruplexes: diverse higher order DNA and RNA targets for cancer therapeutics. *Nucleic acids research*, 35(22), 7429-7455.
28. Kypr, J. Kejnovská, I., Renčiuk, D., and Vorlíčková, M. (2009). Circular dichroism and conformational polymorphism of DNA. *Nucleic acids research*, 37(6), 1713-1725.

29. Vorlíčková, M., Kejnovská, I., Sagi, J., Renčiuk, D., Bednářová, K., Motlová, J. and Kypr, J. (2012). Circular dichroism and guanine quadruplexes. *Methods*, 57(1), 64-75.
30. Wang, Y. and Patel, D. J. (1993). Solution structure of the human telomeric repeat d [AG₃ (T₂AG₃)₃] G-tetraplex. *Structure*, 1(4), 263-282.
31. Parkinson, G. N., Lee, M. P. and Neidle, S. (2002). Crystal structure of parallel quadruplexes from human telomeric DNA. *Nature*, 417(6891), 876.
32. Biffi, G., Tannahill, D., McCafferty, J. and Balasubramanian, S. (2013). Quantitative visualization of DNA G-quadruplex structures in human cells. *Nature chemistry*, 5(3), 182.
33. Lerman, L. S. (1961). Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *Journal of molecular biology*, 3(1), 18-IN14.
34. Latt, S. A. and Stetten, G. (1976). Spectral studies on 33258 Hoechst and related bisbenzimidazole dyes useful for fluorescent detection of deoxyribonucleic acid synthesis. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 24(1), 24-33.
35. Clark, G. R., Pytel, P. D., Squire, C. J. and Neidle, S. (2003). Structure of the first parallel DNA quadruplex-drug complex. *Journal of the American Chemical Society*, 125(14), 4066-4067.
36. Davis, J. T. (2004). G-quartets 40 years later: from 5'-GMP to molecular biology and supramolecular chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*, 43(6), 668-698.
37. Haider, S. M., Parkinson, G. N. and Neidle, S. (2003). Structure of a G-quadruplex–ligand complex. *Journal of molecular biology*, 326(1), 117-125.
38. Mergny, J. L., Mailliet, P., Lavelle, F., Riou, J. F., Laoui, A. and Hélène, C. (1999). The development of telomerase inhibitors: the G-quartet approach. *Anti-cancer drug design*, 14(4), 327-339.
39. Cosconati, S., Marinelli, L., Trotta, R., Virno, A., De Tito, S., Romagnoli, R. and Mayol, L. (2010). Structural and conformational requisites in DNA quadruplex groove binding: another piece to the puzzle. *Journal of the American Chemical Society*, 132(18), 6425-6433.
40. Martino, L., Virno, A., Pagano, B., Virgilio, A., Di Micco, S., Galeone, A. and Randazzo, A. (2007). Structural and thermodynamic studies of the interaction of distamycin A with the parallel quadruplex structure [d (TGGGGT)]₄. *Journal of the American Chemical Society*, 129(51), 16048-16056.
41. Schmuck, C. and Wennemers, H. (2004). *Highlights in bioorganic chemistry*. Weinheim: Wiley-VCH.
42. Bjornsti, M. A. and Osheroff, N. (Eds.). (2001). *DNA Topoisomerase Protocols: Enzymology and Drugs*. Humana Press.

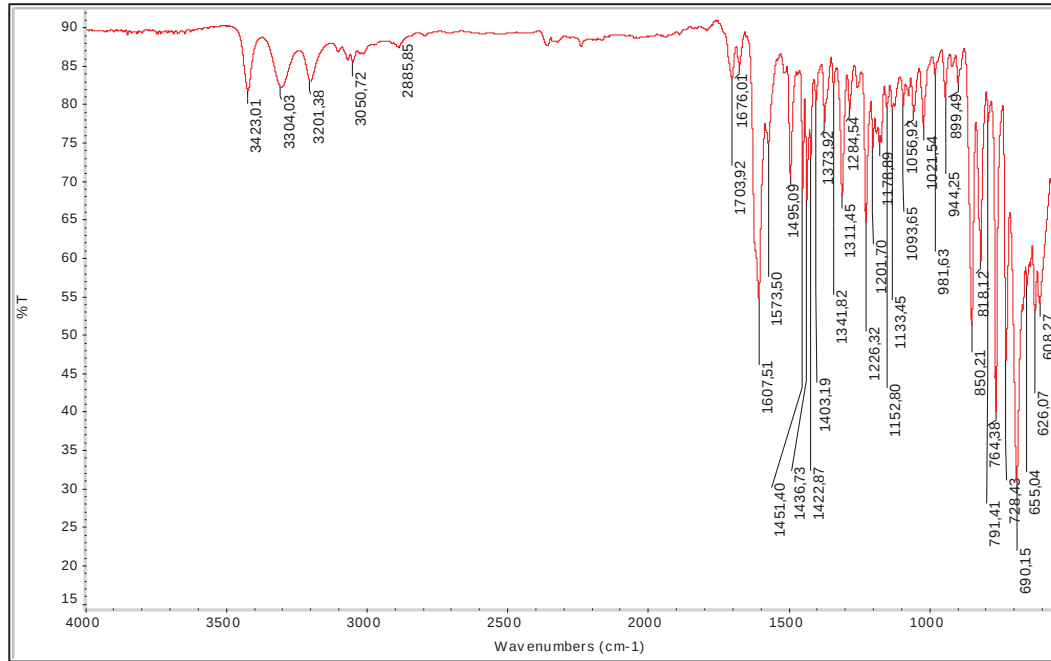
43. McGhee, J. D. and von Hippel, P. H. (1974). Theoretical aspects of DNA-protein interactions: co-operative and non-co-operative binding of large ligands to a one-dimensional homogeneous lattice. *Journal of molecular biology*, 86(2), 469-489.
44. Stootman, F. H., Fisher, D. M., Rodger, A. and Aldrich-Wright, J. R. (2006). Improved curve fitting procedures to determine equilibrium binding constants. *Analyst*, 131(10), 1145-1151.
45. Jaumot, J. and Gargallo, R. (2012). Experimental methods for studying the interactions between G-quadruplex structures and ligands. *Current pharmaceutical design*, 18(14), 1900-1916.
46. Pagano, B. Mattia, C. A. and Giancola, C. (2009). Applications of isothermal titration calorimetry in biophysical studies of G-quadruplexes. *International journal of molecular sciences*, 10(7), 2935-2957.
47. Paramasivan, S. Rujan, I. and Bolton, P. H. (2007). Circular dichroism of quadruplex DNAs: applications to structure, cation effects and ligand binding. *Methods*, 43(4), 324-331.
48. Masiero, S. Trotta, R., Pieraccini, S., De Tito, S., Perone, R., Randazzo, A., and Spada, G. P. (2010). A non-empirical chromophoric interpretation of CD spectra of DNA G-quadruplex structures. *Organic & biomolecular chemistry*, 8(12), 2683-2692.
49. Allenmark, S. (2003). Induced circular dichroism by chiral molecular interaction. *Chirality: The Pharmacological, Biological, and Chemical Consequences of Molecular Asymmetry*, 15(5), 409-422.
50. Jain, A. K., Reddy, V. V., Paul, A. and Bhattacharya, S. (2009). Synthesis and evaluation of a novel class of G-quadruplex-stabilizing small molecules based on the 1, 3-phenylene-bis (piperazinyl benzimidazole) system. *Biochemistry*, 48(45), 10693-10704.
51. Ginnari-Satriani, L., Casagrande, V., Bianco, A., Ortaggi, G. and Franceschin, M. (2009). A hydrophilic three side-chained triazatruxene as a new strong and selective G-quadruplex ligand. *Organic & biomolecular chemistry*, 7(12), 2513-2516.
52. Collie, G., Reszka, A. P., Haider, S. M., Gabelica, V., Parkinson, G. N. and Neidle, S. (2009). Selectivity in small molecule binding to human telomeric RNA and DNA quadruplexes. *Chemical Communications*, (48), 7482-7484.
53. Fedoroff, O. Y., Salazar, M., Han, H., Chemeris, V. V., Kerwin, S. M. and Hurley, L. H. (1998). NMR-based model of a telomerase-inhibiting compound bound to G-quadruplex DNA. *Biochemistry*, 37(36), 12367-12374.
54. Phan, A. T., Kuryavyi, V., Gaw, H. Y. and Patel, D. J. (2005). Small-molecule interaction with a five-guanine-tract G-quadruplex structure from the human MYC promoter. *Nature chemical biology*, 1(3), 167.
55. Parkinson, G. N., Ghosh, R. and Neidle, S. (2007). Structural basis for binding of porphyrin to human telomeres. *Biochemistry*, 46(9), 2390-2397.

56. Huppert, J. L. (2008). Four-stranded nucleic acids: structure, function and targeting of G-quadruplexes. *Chemical Society Reviews*, 37(7), 1375-1384.
57. De Cian, A., Guittat, L., Kaiser, M., Saccà, B., Amrane, S., Bourdoncle, A. and Mergny, J. L. (2007). Fluorescence-based melting assays for studying quadruplex ligands. *Methods*, 42(2), 183-195.
58. Ihmels, H. and Thomas, L. (2013). Light up G-quadruplex DNA with a [2.2. 2] heptamethinecyanine dye. *Organic & biomolecular chemistry*, 11(3), 480-487.
59. Sepioł, J. and Milart, P. (1985). Elimination of the nitrile group from o-aminonitriles—IV: A new and efficient synthesis of 3, 5-diarylamino benzenes from arylidenemalonodinitriles and 1-arylethylidenemalonodinitriles. *Tetrahedron*, 41(22), 5261-5265.
60. Milart, P. and Sepioł, J. (1990). New synthesis of substituted biphenyls, biaryls, and terphenyls from arylidenemalonodinitriles, ethyl pyruvate, and malonodinitrile. *Tetrahedron Letters*, 31(19), 2735-2738.
61. Keshwal, B. S., Rajguru, D. and Acharya, A. D. (2016). DBU As A Novel and Highly Efficient Catalyst for The Synthesis of 3, 5-Disubstituted-2, 6-dicyanoanilines Under Conventional and Microwave Conditions. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, 35(1), 37-42.
62. Yalçın, E., Kutlu, Y. C., Korkmaz, V., Şahin, E. and Seferoğlu, Z. (2015). 2,6-Dicyanoaniline based donor-acceptor compounds: the facile synthesis of fluorescent 3, 5-diaryl/hetaryl-2,6-dicyanoanilines. *ARKIVOC: Online Journal of Organic Chemistry*.
63. Hatano, B., Kubo, D. and Tagaya, H. (2006). Study on the reactivity of diarylmethane derivatives in supercritical alcohols media: Reduction of diarylmethanols and diaryl ketones to diarylmethanes using supercritical 2-propanol. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 54(9), 1304-1307.
64. Calladine, C. R. and Drew, H. (1997). *Understanding DNA: the molecule and how it works*. Academic press.
65. Tabassum, S., Ahmad, M., Afzal, M., Zaki, M. and Bharadwaj, P. K. (2014). Synthesis and structure elucidation of a copper (II) Schiff-base complex: in vitro DNA binding, pBR322 plasmid cleavage and HSA binding studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, (140), 321-331.
66. Lipinski, C. A. (2004). Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(4), 337-341.
67. Alcaro, S., Arena, A., Di Bella, R., Neri, S., Ottanà, R., Ortuso, F. and Vigorita, M. G. (2004). 9-Fluorenon-4-carboxamides: synthesis, conformational analysis, anti-HSV-2, and immunomodulatory evaluation. Note II. *Arkivoc*, 334, 348.
68. Bischoff, G., Gromann, U., Lindau, S., Skölziger, R., Witkowski, W., Bohley, C. and Hoffmann, S. (2000). A structure-function study of nucleic acid-fluorenone complexes. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 18(2), 199-208.

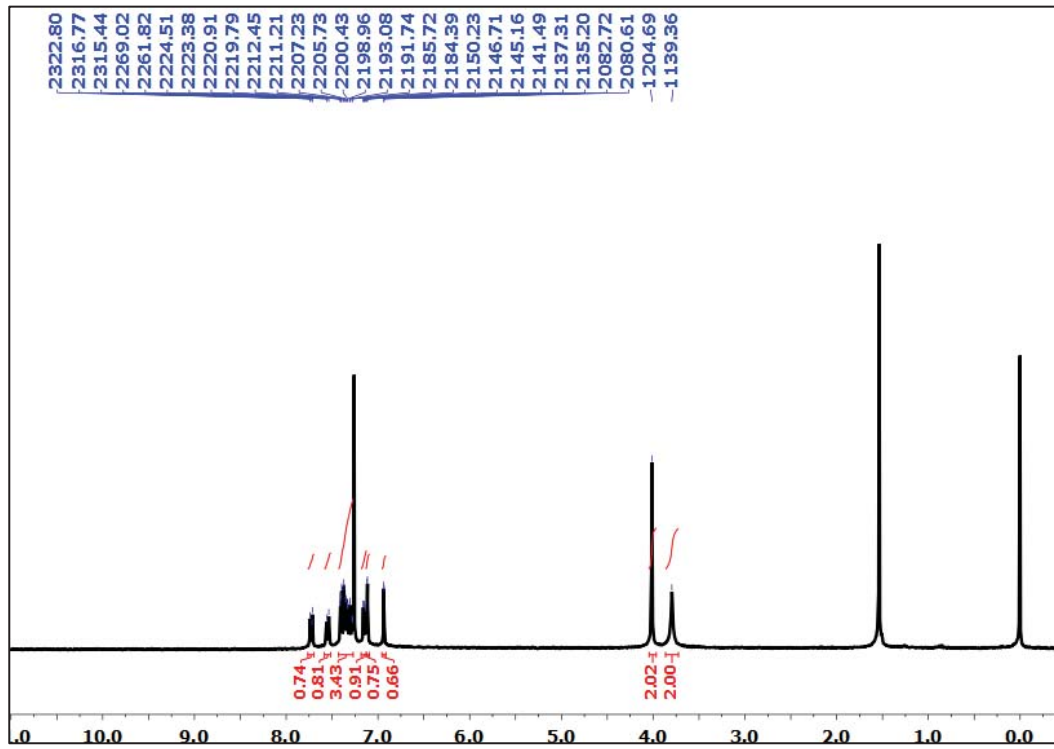
69. Lee, C. C., Chang, D. M., Huang, K. F., Chen, C. L., Chen, T. C., Lo, Y. and Huang, H. S. (2013). Design, synthesis and antiproliferative evaluation of fluorenone analogs with DNA topoisomerase I inhibitory properties. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 21(22), 7125-7133.
70. Alcaro, S., Artese, A., Iley, J. N., Maccari, R., Missailidis, S., Ortuso, F. and Vigorita, M. G. (2007). Tetraplex DNA specific ligands based on the fluorenone-carboxamide scaffold. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 17(9), 2509-2514.
71. Calogero, F., Borrelli, S., Speciale, G., Christodoulou, M. S., Cartelli, D., Ballinari, D. and Cappelletti, G. (2013). 9-Fluorenone-2-Carboxylic Acid as a Scaffold for Tubulin Interacting Compounds. *ChemPlusChem*, 78(7), 663-669.
72. Alcaro, S., Artese, A., Iley, J. N., Missailidis, S., Ortuso, F., Parrotta, L. and Vigorita, M. G. (2010). Rational Design, Synthesis, Biophysical and Antiproliferative Evaluation of Fluorenone Derivatives with DNA G-Quadruplex Binding Properties. *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery*, 5(4), 575-583.
73. Nagle, P. S., McKeever, C., Rodriguez, F., Nguyen, B., Wilson, W. D. and Rozas, I. (2014). Unexpected DNA affinity and sequence selectivity through core rigidity in guanidinium-based minor groove binders. *Journal of medicinal chemistry*, 57(18), 7663-7672.
74. Arafa, R. K., Brun, R., Wenzler, T., Tanious, F. A., Wilson, W. D., Stephens, C. E. and Boykin, D. W. (2005). Synthesis, DNA affinity, and antiprotozoal activity of fused ring dicationic compounds and their prodrugs. *Journal of medicinal chemistry*, 48(17), 5480-5488.
75. Kucherak, O. A., Didier, P., Mély, Y. and Klymchenko, A. S. (2010). Fluorene analogues of prodan with superior fluorescence brightness and solvatochromism. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 1(3), 616-620.
76. Yalçın, E. (2016). *Bir seri yeni fleron/florenon temelli bileşiklerin sentezi, karakterizasyonu, farklı DNA, RNA ve sentetik oligonükleotidlerle etkileşimlerinin spektroskopik yöntemlerle incelenmesi*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
77. Yalçın, E., Matković, M., Jukić, M., Obrovac, L. G., Piantanida, I. and Seferoğlu, Z. (2018). Novel fluorene/fluorenone DNA and RNA binders as efficient non-toxic ds-RNA selective fluorescent probes. *Tetrahedron*, 74(5), 535-543.
78. Largy, E., Hamon, F. and Teulade-Fichou, M. P. (2011). Development of a high-throughput G4-FID assay for screening and evaluation of small molecules binding quadruplex nucleic acid structures. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 400(10), 3419-3427.

EKLER

EK-1. Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HR-MS spektrumları

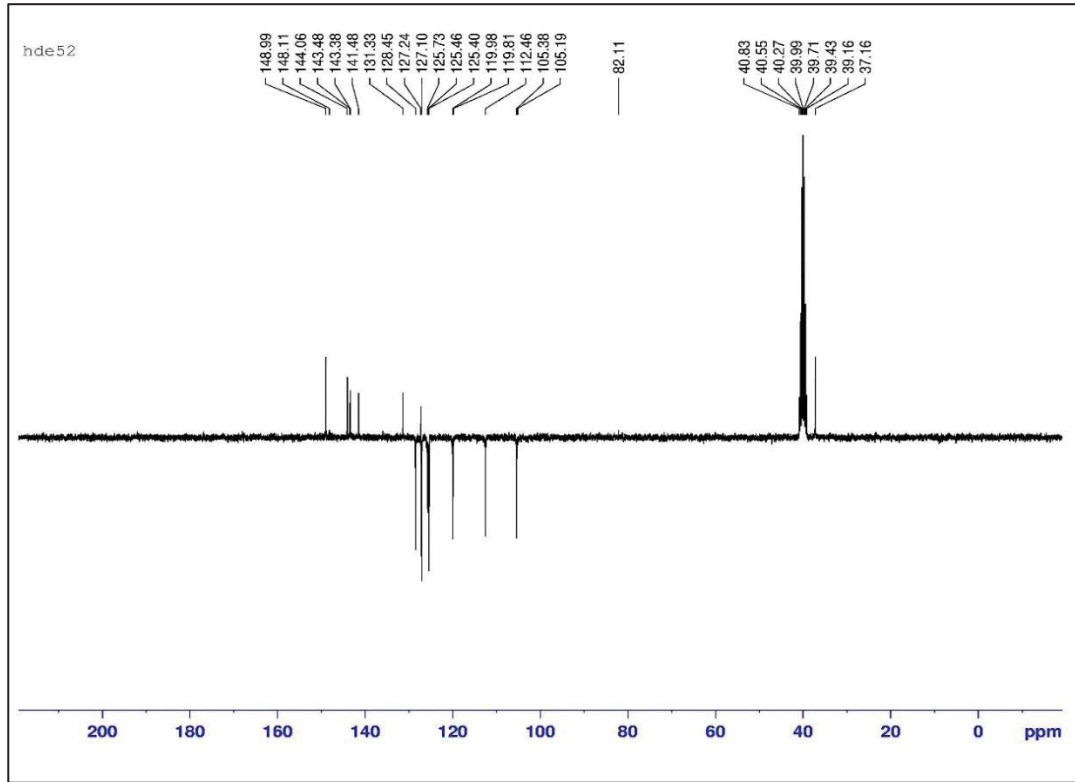


Şekil 1.1. Bileşik 1'in FT-IR spektrumu

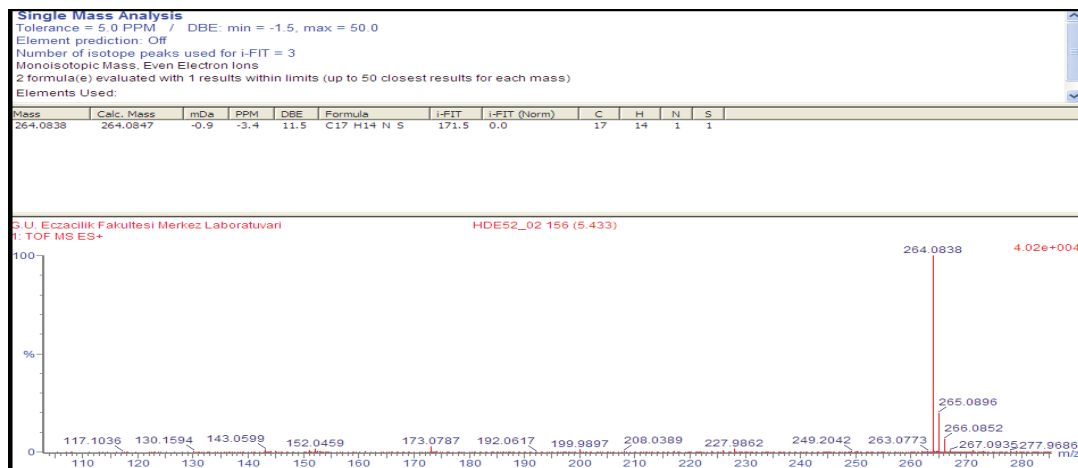


Şekil 1.2. Bileşik 1'in ^1H -NMR spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HR-MS spektrumları

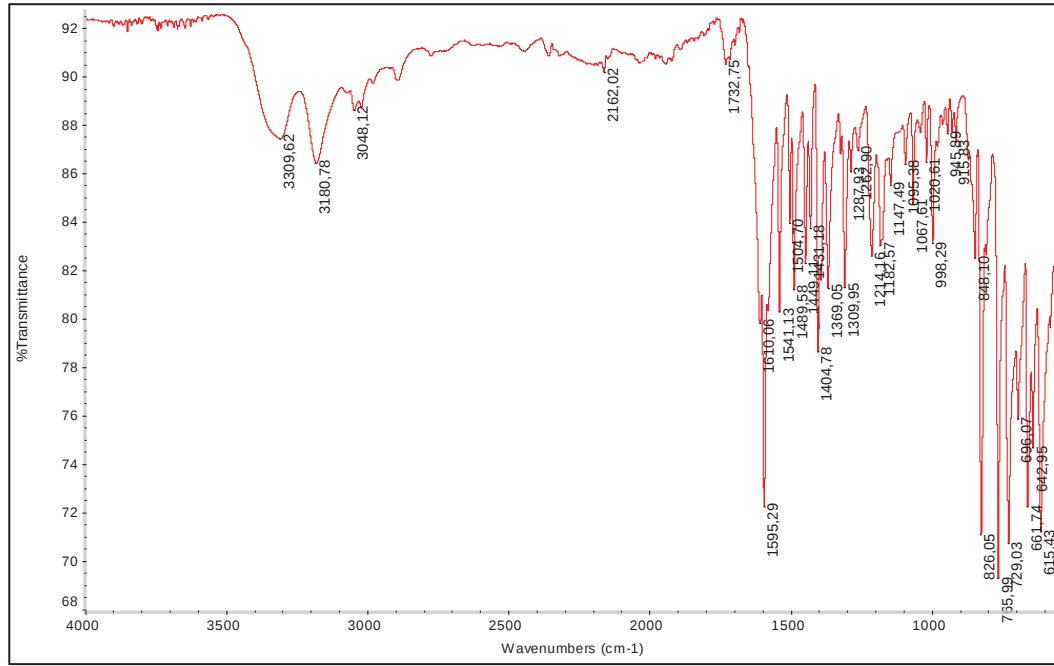


Şekil 1.3. Bileşik 1'in APT spektrumu

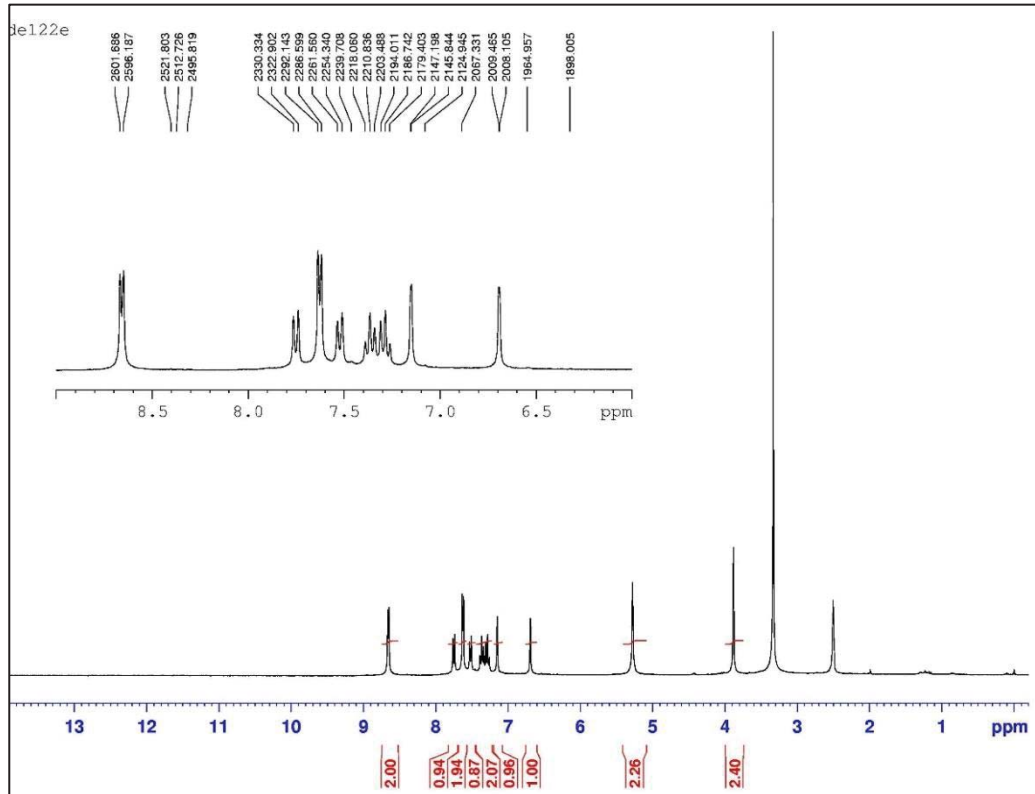


Şekil 1.4. Bileşik 1'in HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-1 (devam). Bileşik 1- 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

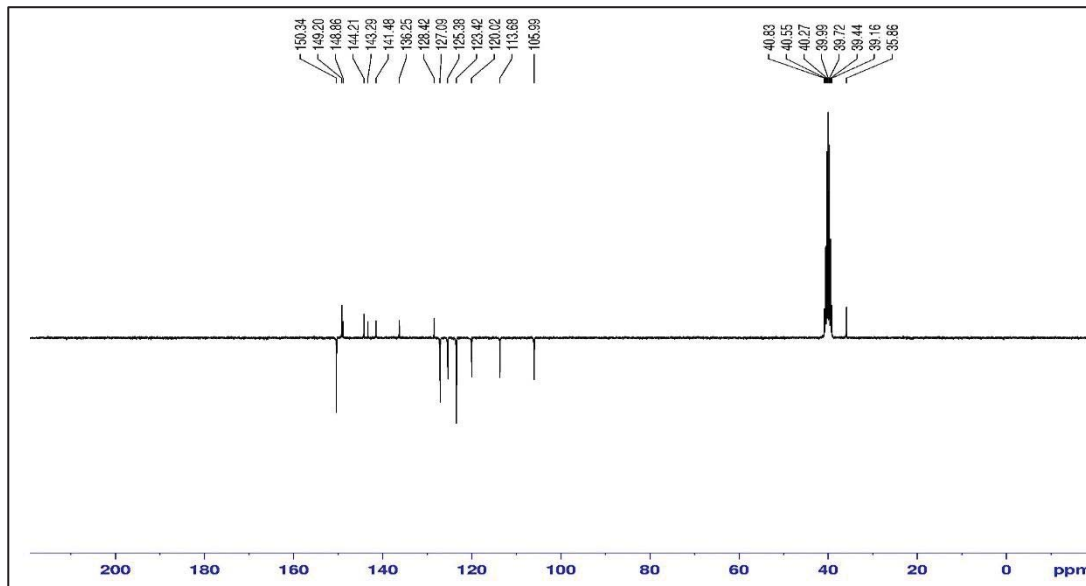


Şekil 1.5. Bileşik 2'nin FT-IR spektrumu

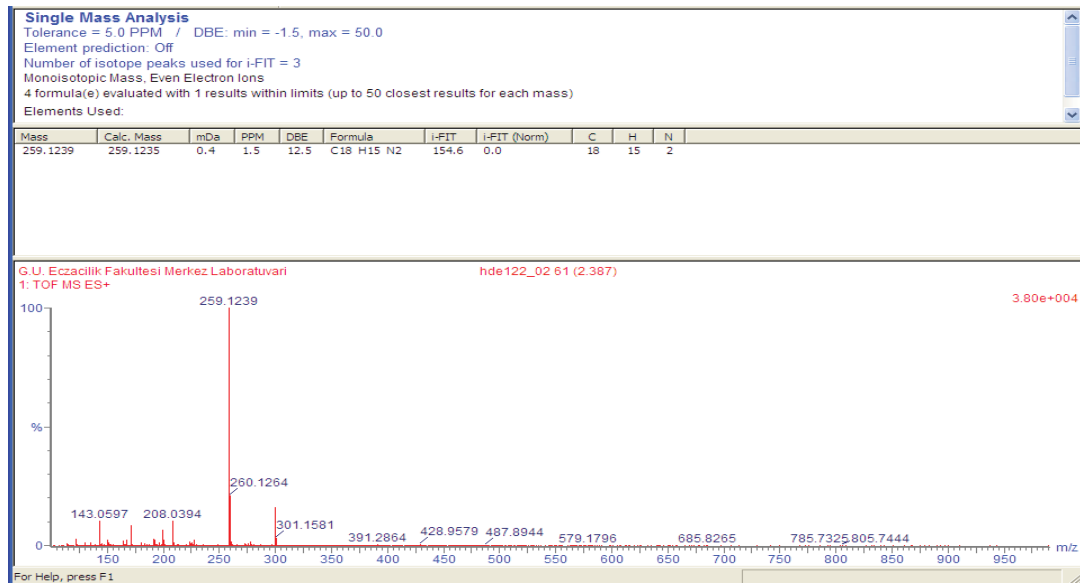


Şekil 1.6. Bileşik 2'nin ^1H -NMR spektrumu.

EK-1 (devam). Bileşik 1- 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

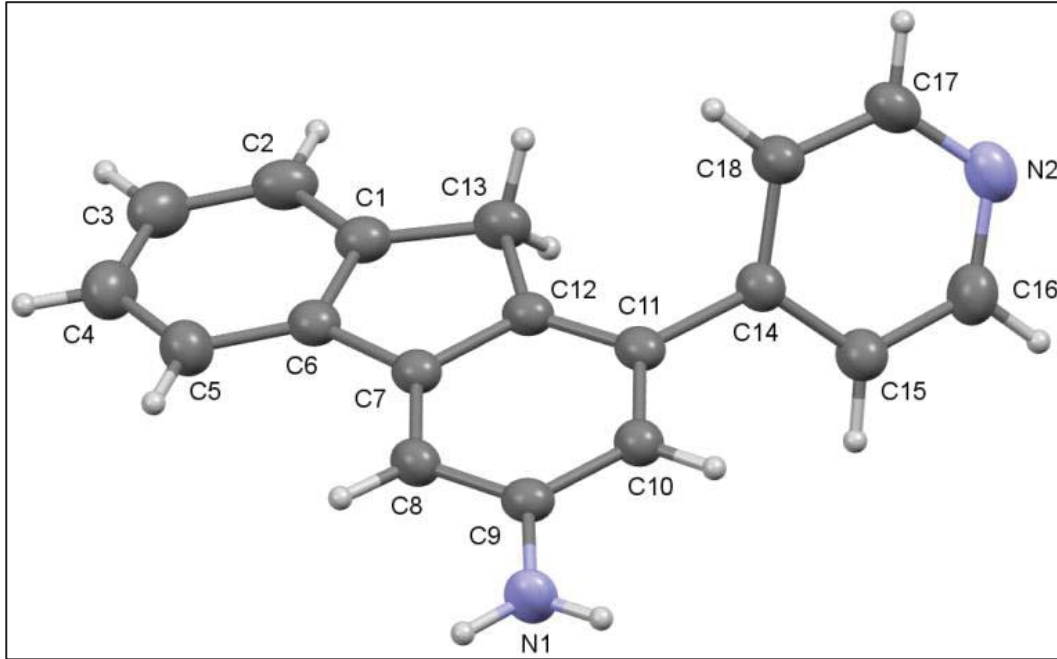


Şekil 1.7. Bileşik 2'nin APT spektrumu

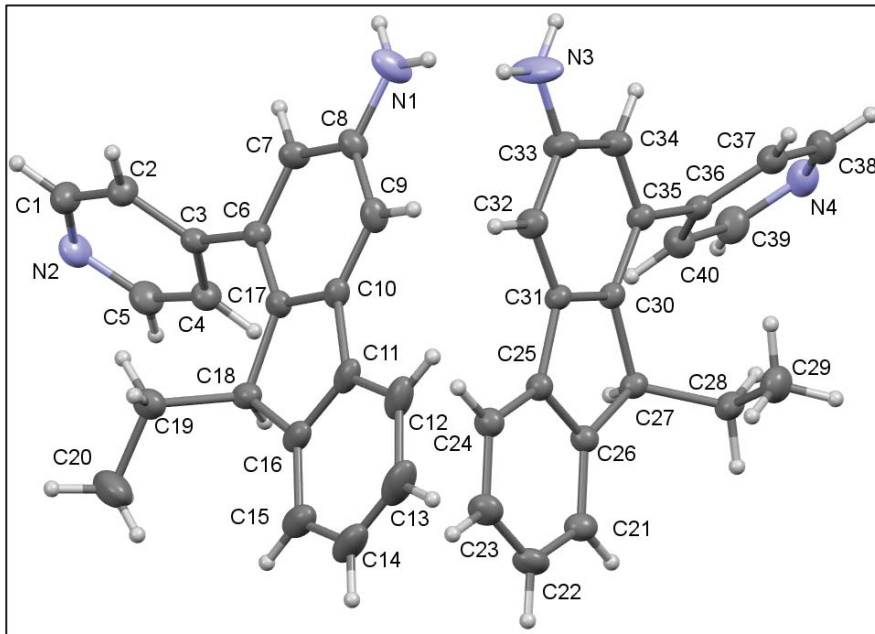


Şekil 1.8. Bileşik 2'nin HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-1 (devam). Bileşik 1- 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

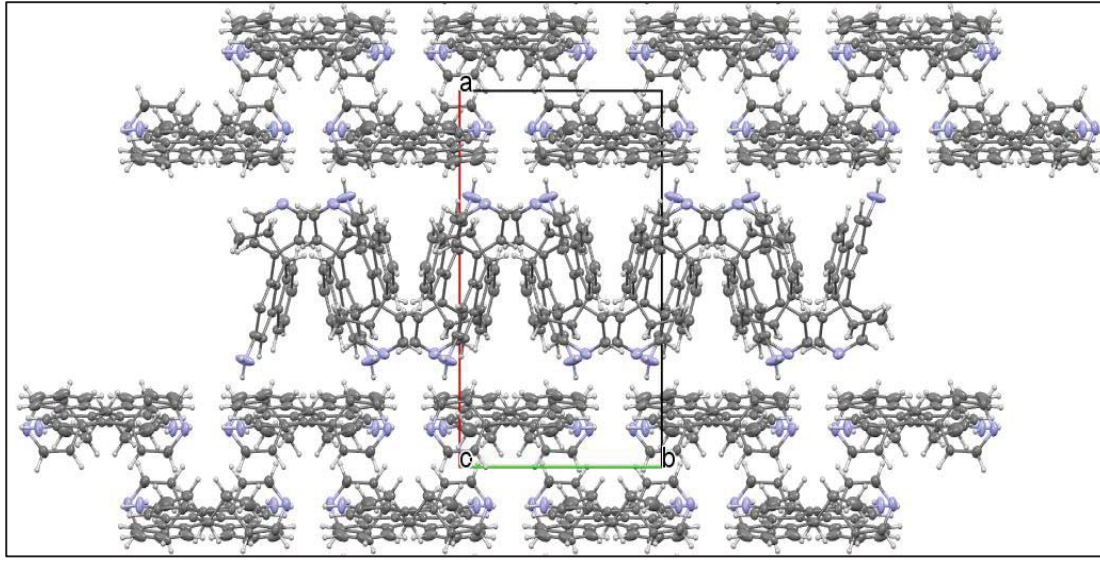


Şekil 1.9. 2 bileşiğinin tek kristal X-ışınları kırınım tekniğiyle çözülmüş yapısı. Yer değiştirme elipsoitleri %40 olasılık seviyesinde çizildi.



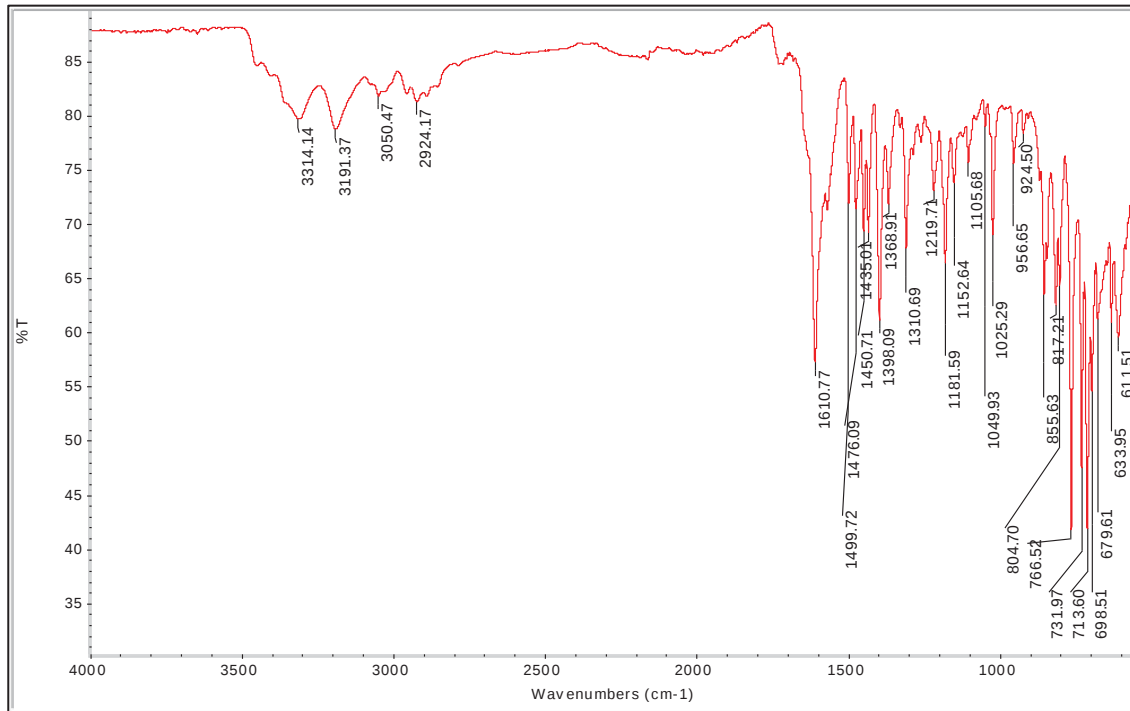
(a)

EK-1 (devam). Bileşik 1- 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları



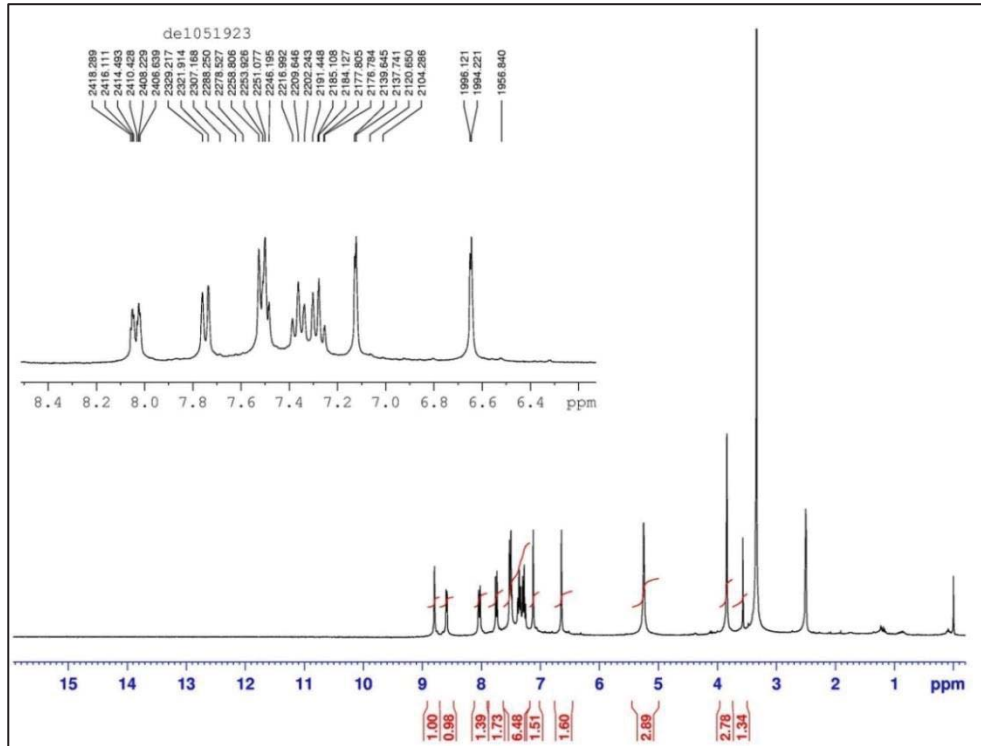
(b)

Şekil 1.10. 2 bileşiğine ait (a) Asimetrik ünite de iki enantiyomer molekülü. (b) 9 eksenli boyunca görüntülenenen birim hücre ile yapının istiflenme modeli. Orta sıra tamamen (R)-enantiyomerlerden ve üst ve alt sıralar (S)-enantiyomerlerden oluşur. Yer değiştirme elipsoitleri %0 olasılık seviyesinde çizildi.

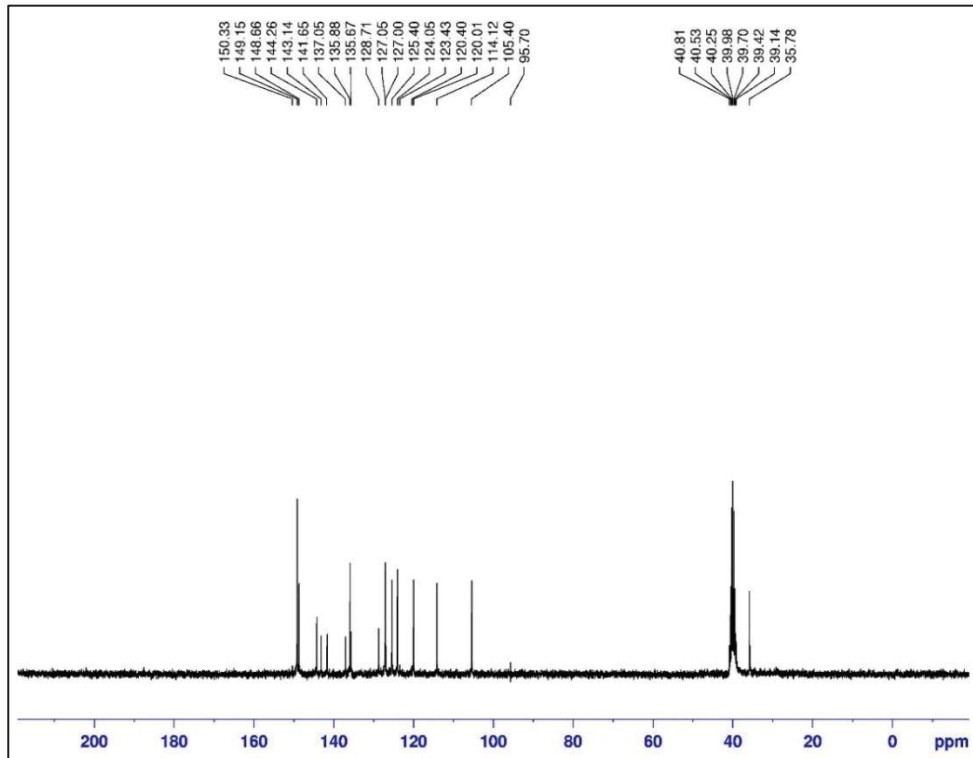


Şekil 1.11. Bileşik 3'ün FT-IR spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

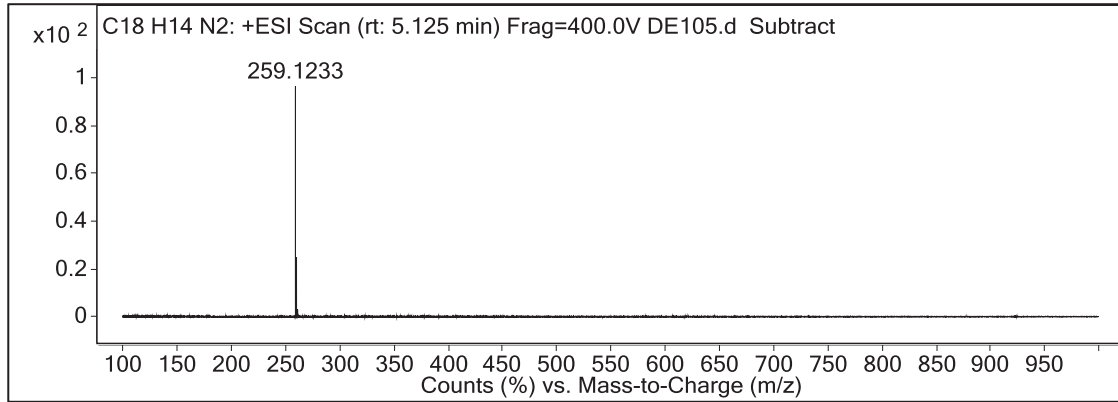


Şekil 1.12. Bileşik 3'ün ^1H -NMR spektrumu

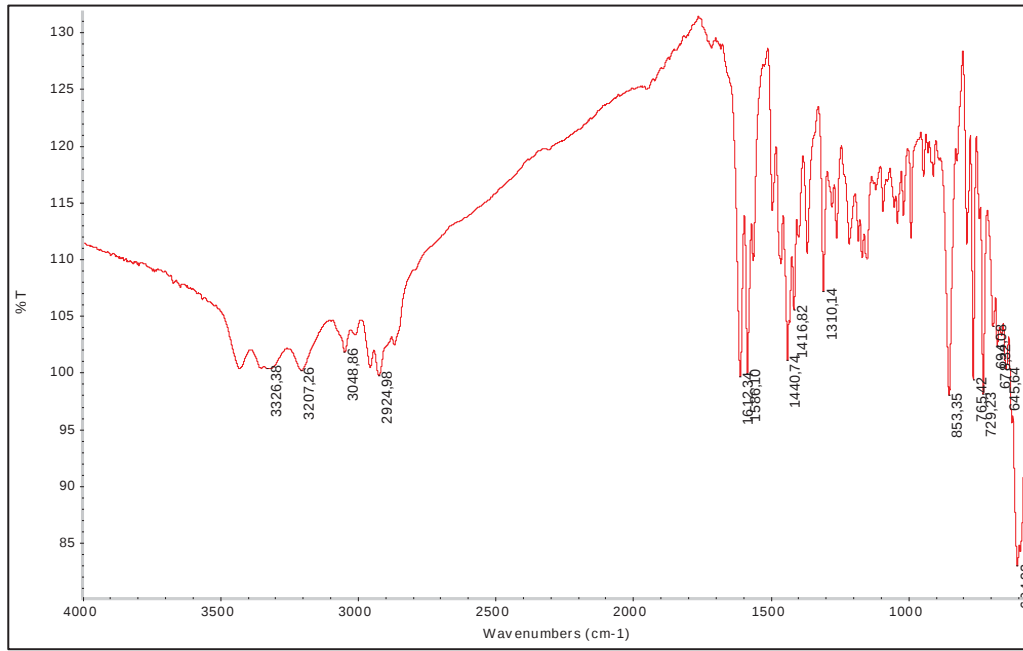


Şekil 1.13. Bileşik 3'ün ^{13}C -APT spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

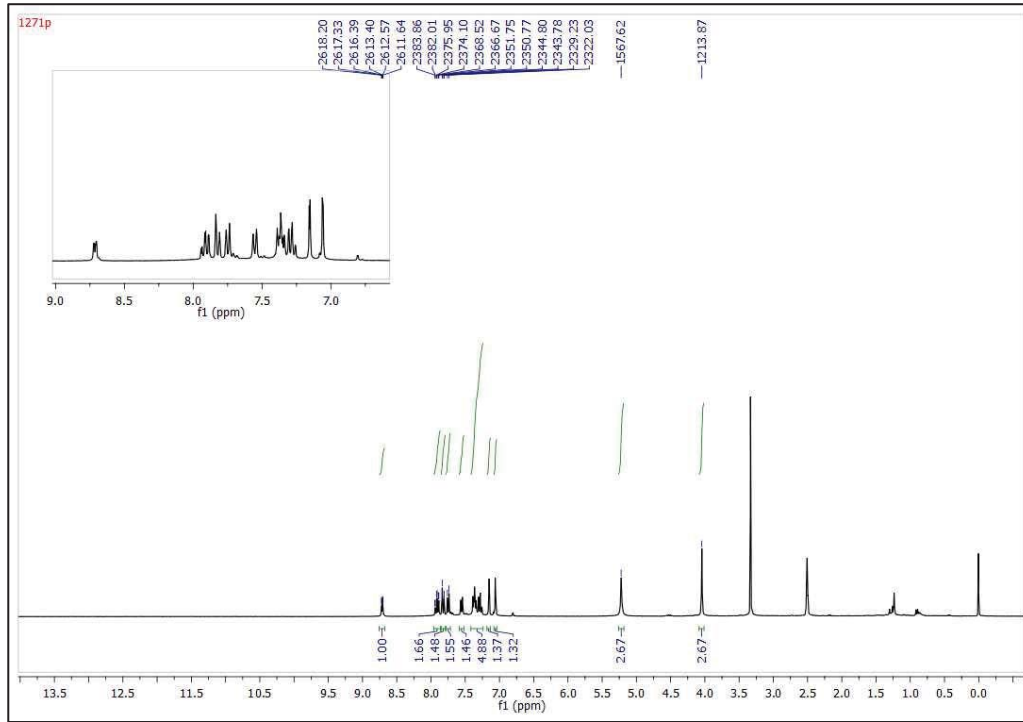


Şekil 1.14. Bileşik 3'ün HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

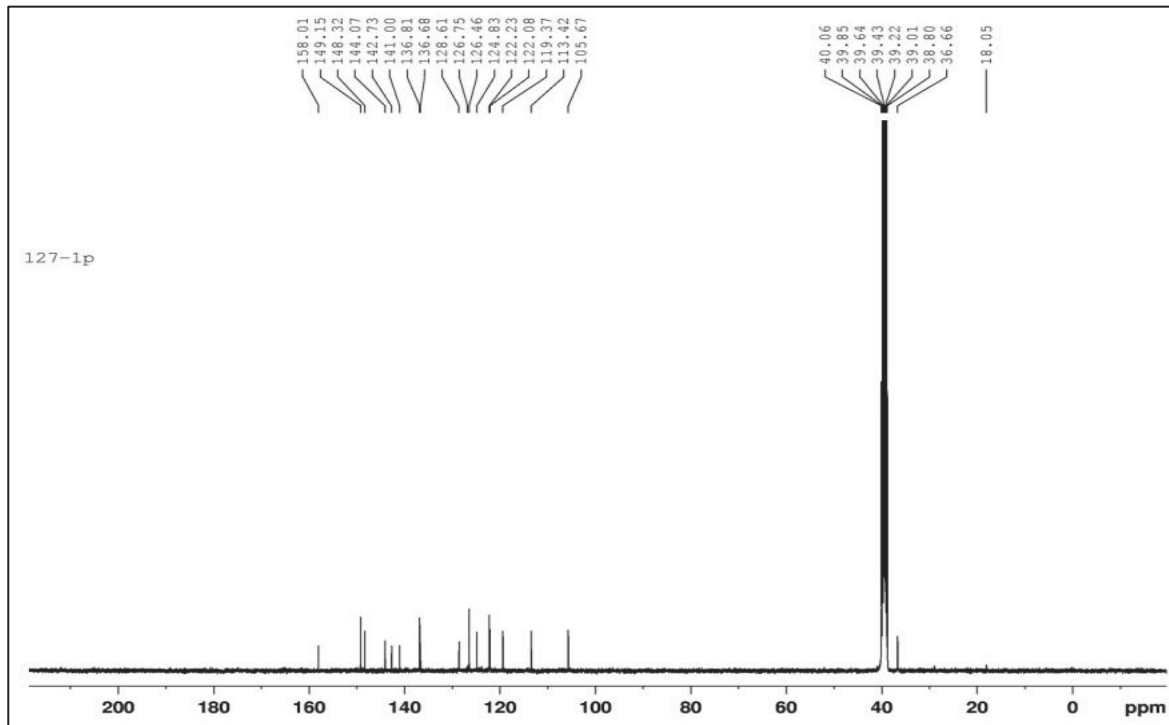


Şekil 1.15. Bileşik 4'ün FT-IR spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

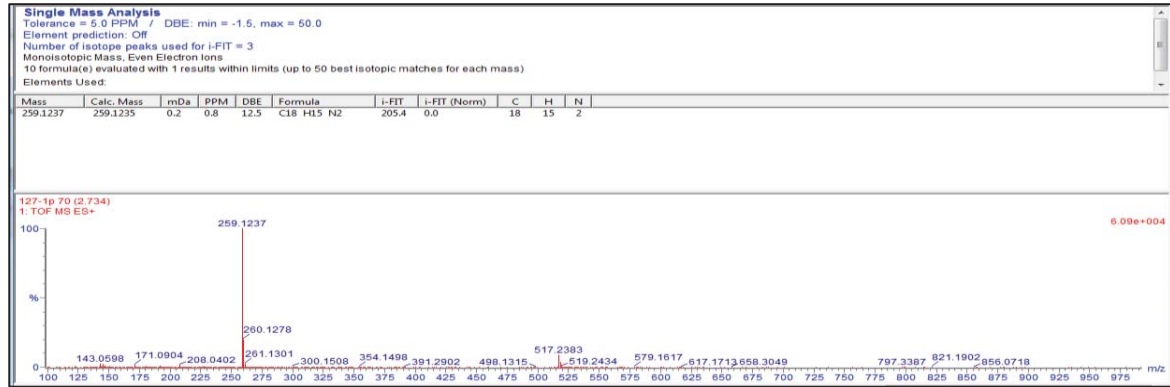


Şekil 1.16. Bileşik 4'ün ^1H -NMR spektrumu

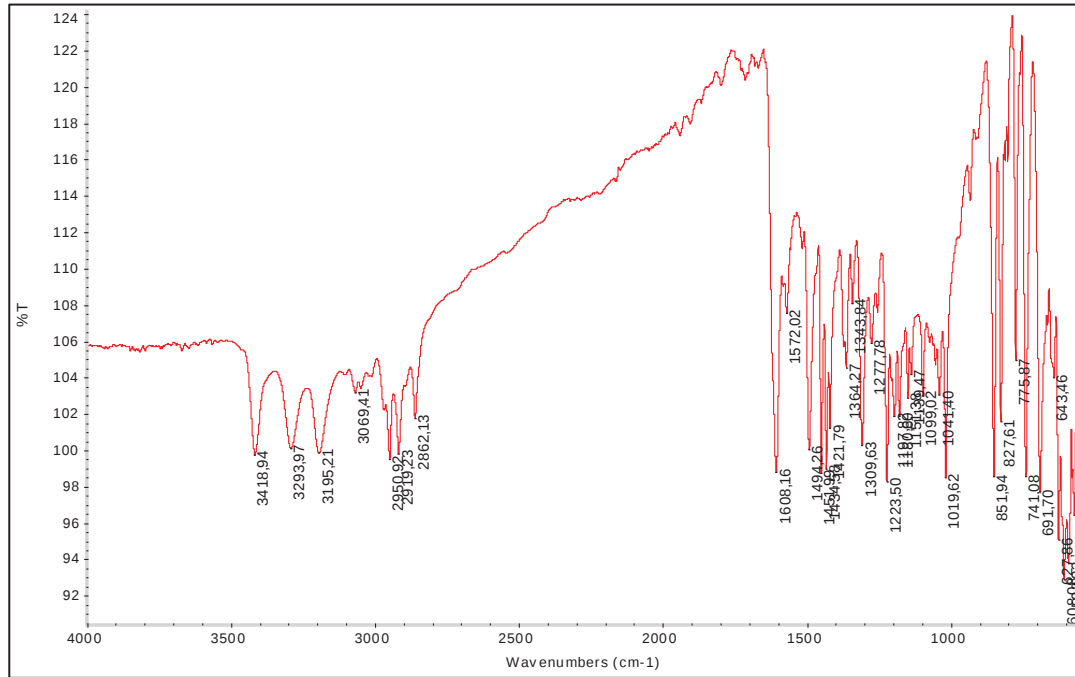


Şekil 1.17. Bileşik 4'ün ^{13}C -APT spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

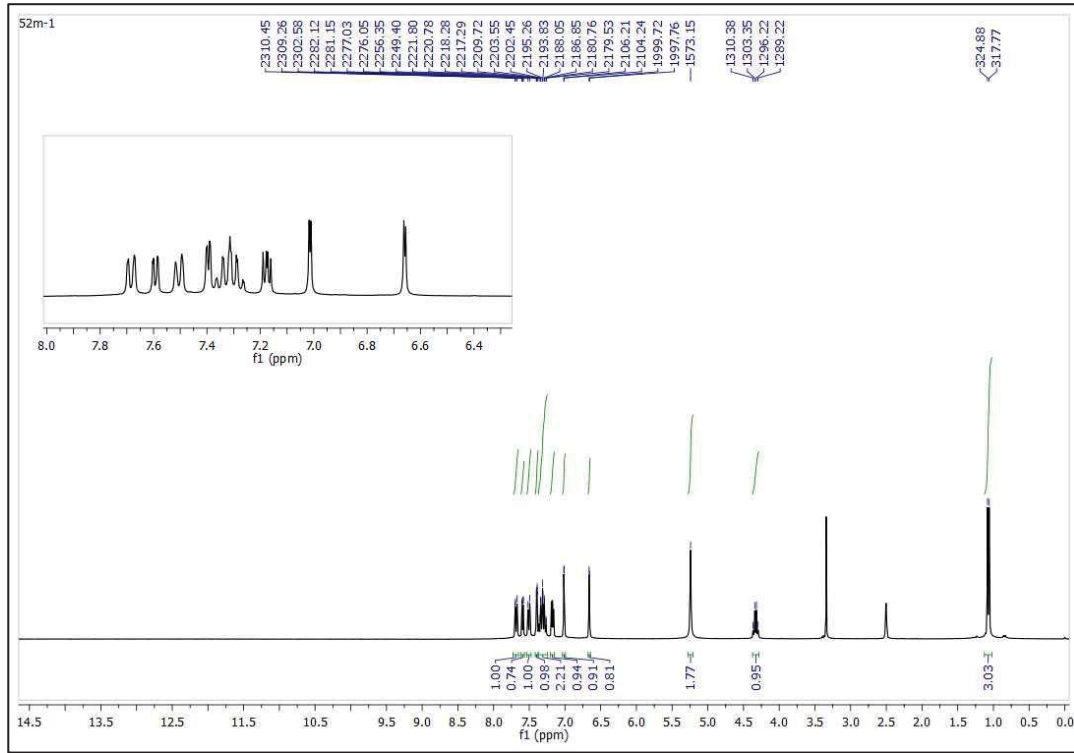


Şekil 1.18. Bileşik 4'ün HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

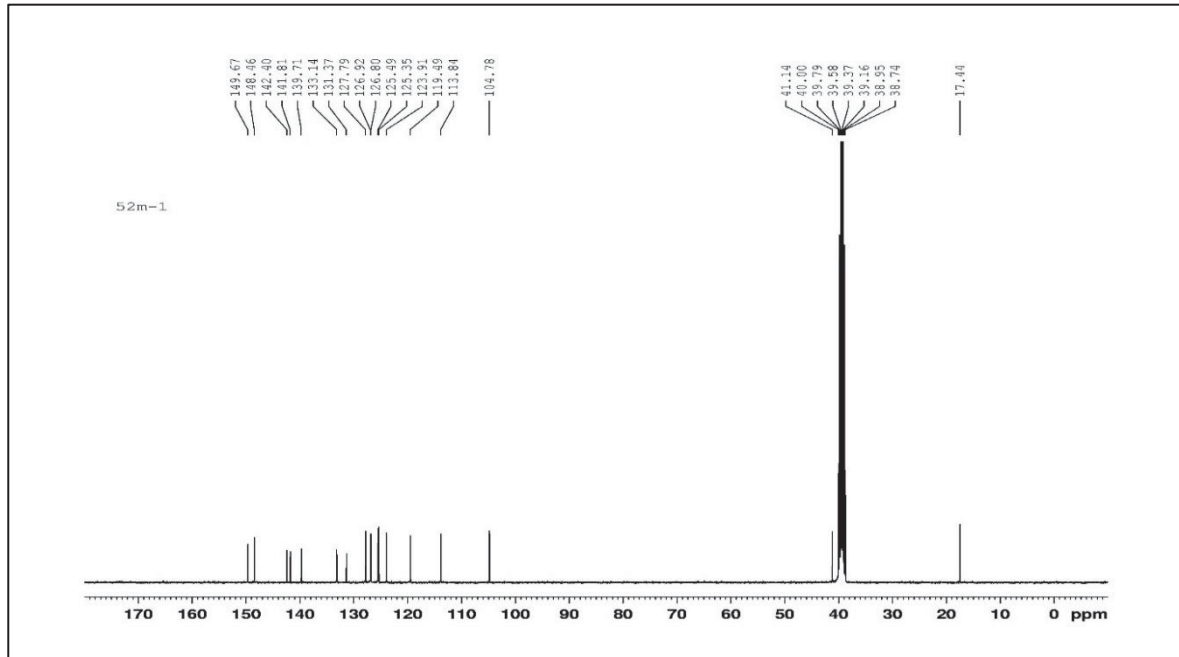


Şekil 1.19. Bileşik 5'in FT-IR spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

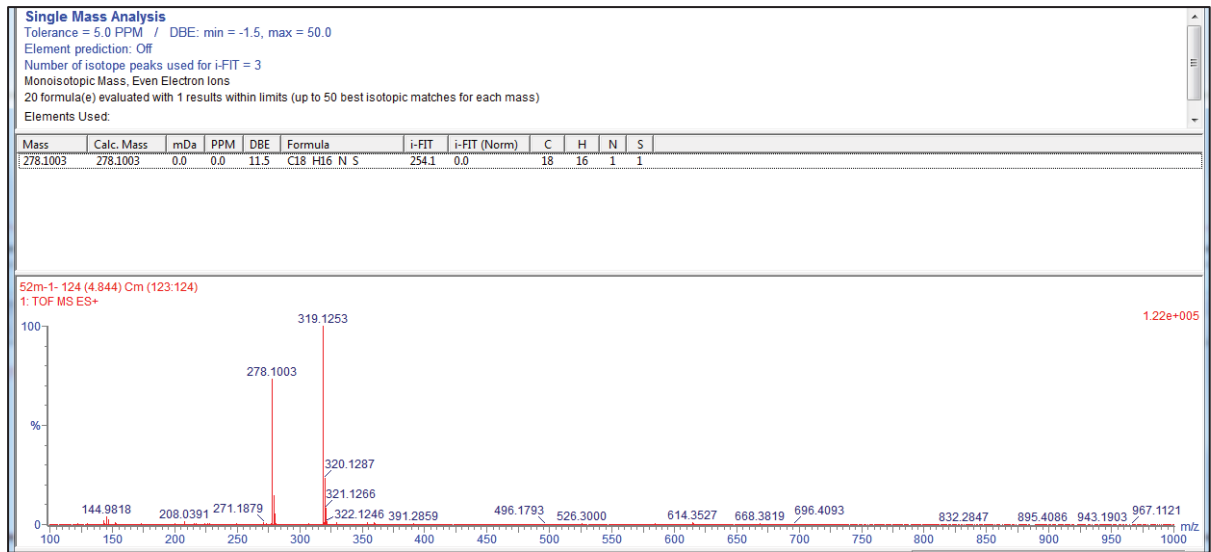


Şekil 1.20. Bileşik 5'in ^1H -NMR spektrumu

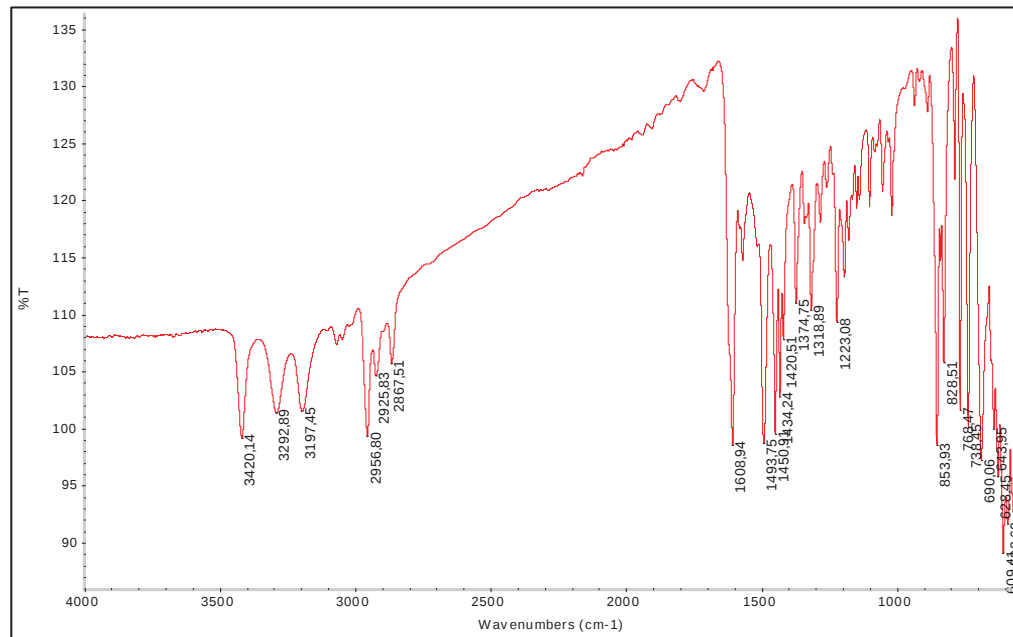


Şekil 1.21. Bileşik 5'in ^{13}C -APT spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

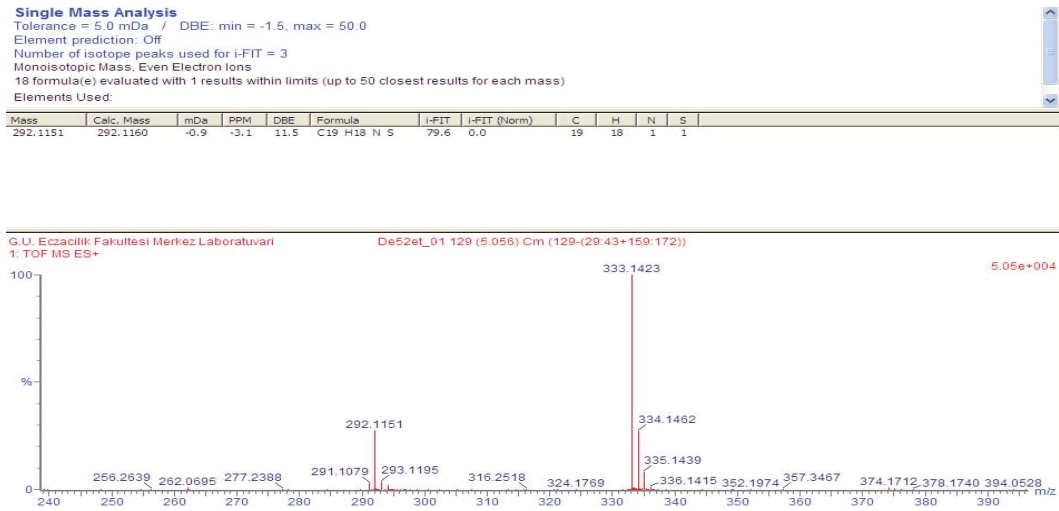


Şekil 1.22. Bileşik 5'in HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

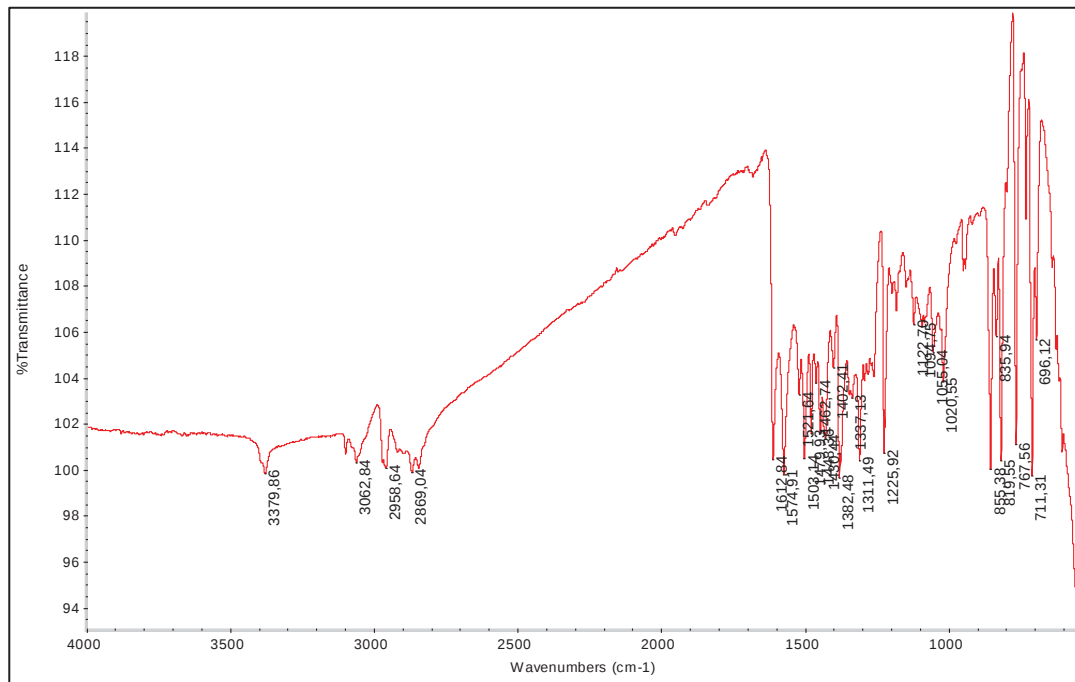


Şekil 1.23. Bileşik 6'nın FT-IR spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

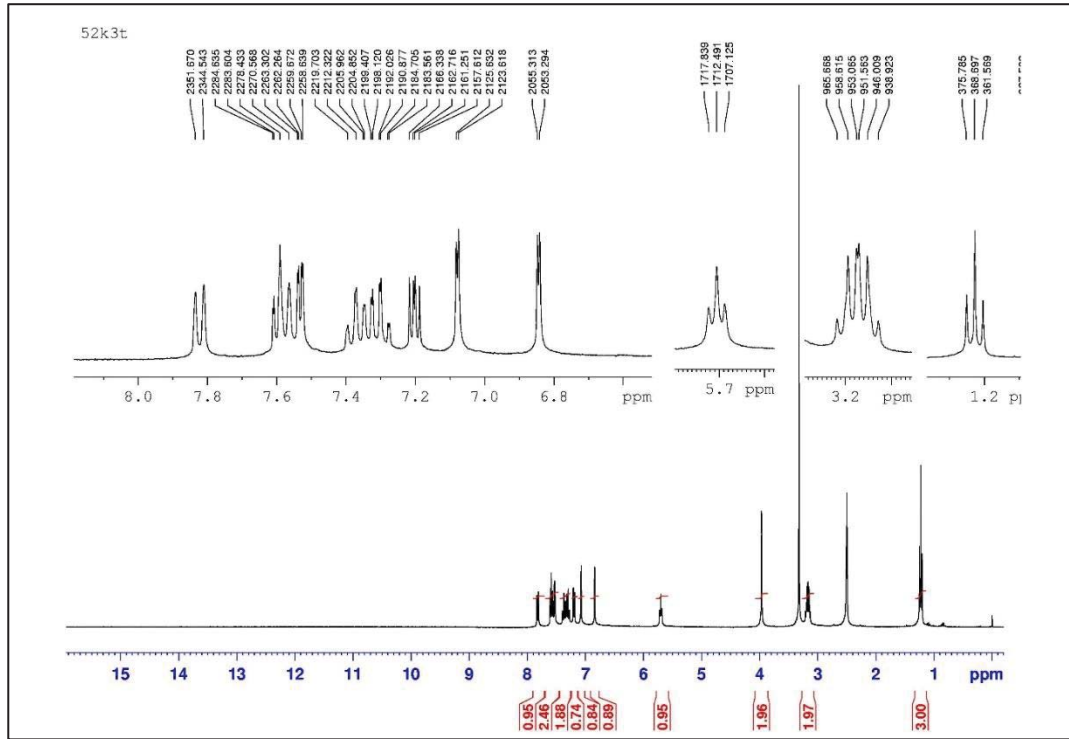


Şekil 1.26. Bileşik 6'nın HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

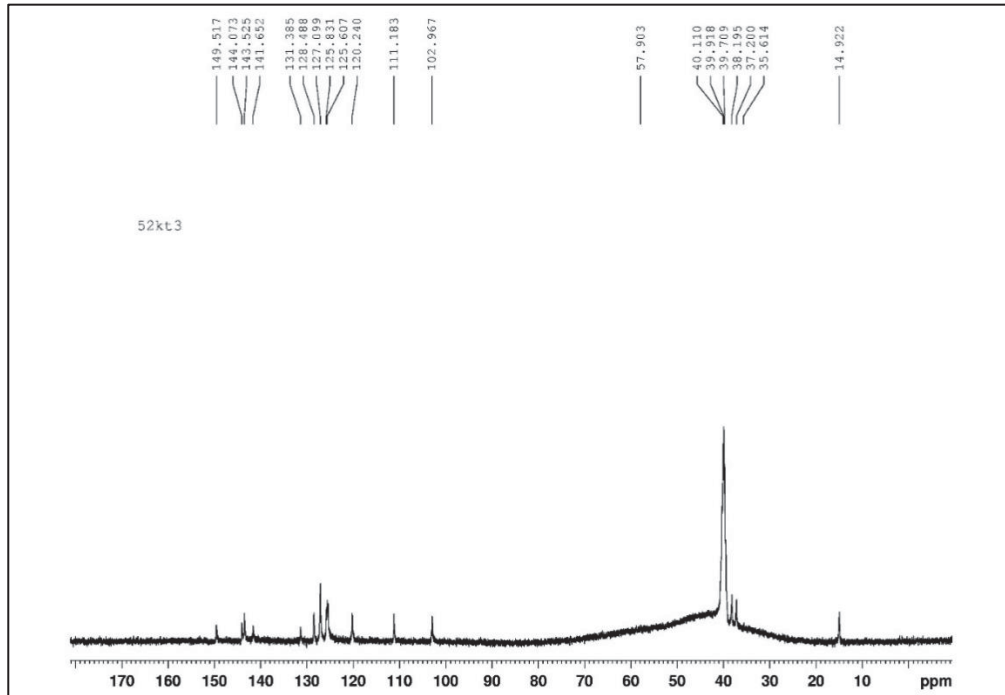


Şekil 1.27. Bileşik 7'nin FT-IR spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

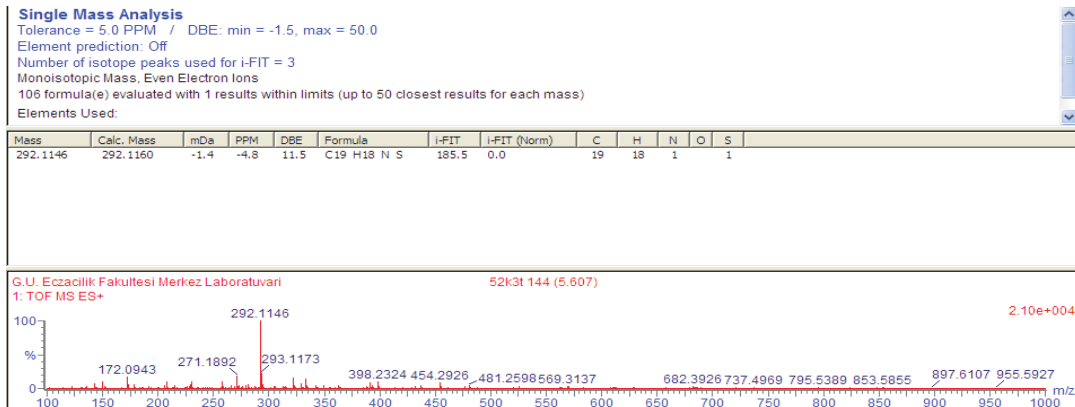


Şekil 1.28. Bileşik 7'nin ^1H -NMR spektrumu

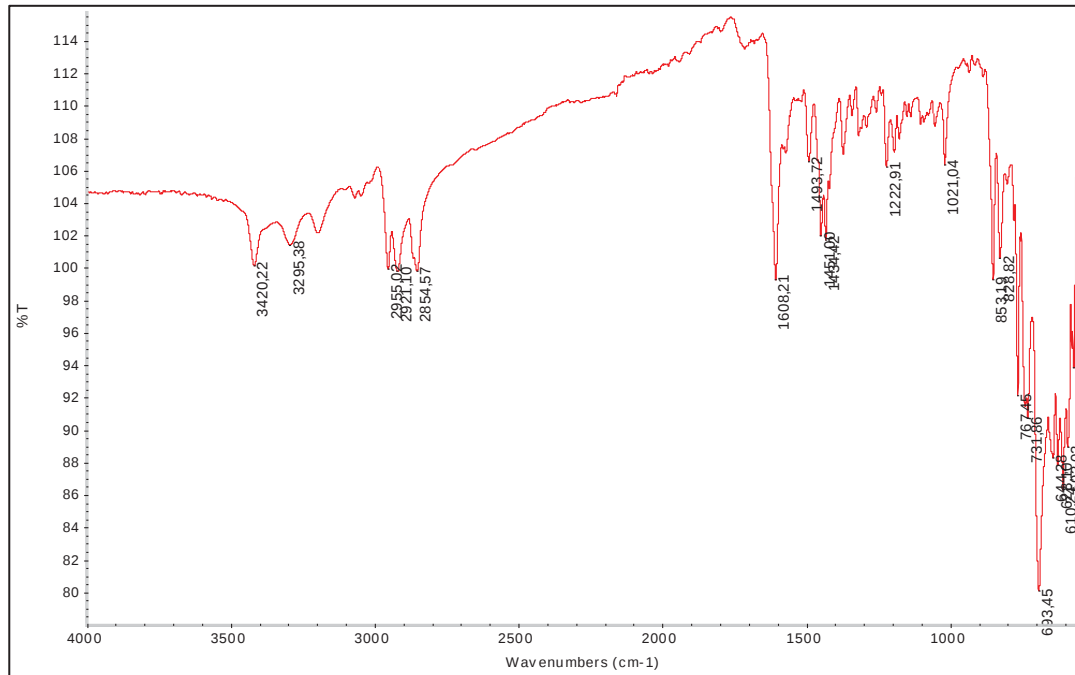


Şekil 1.29. Bileşik 7'nin ^{13}C -APT spektrumu

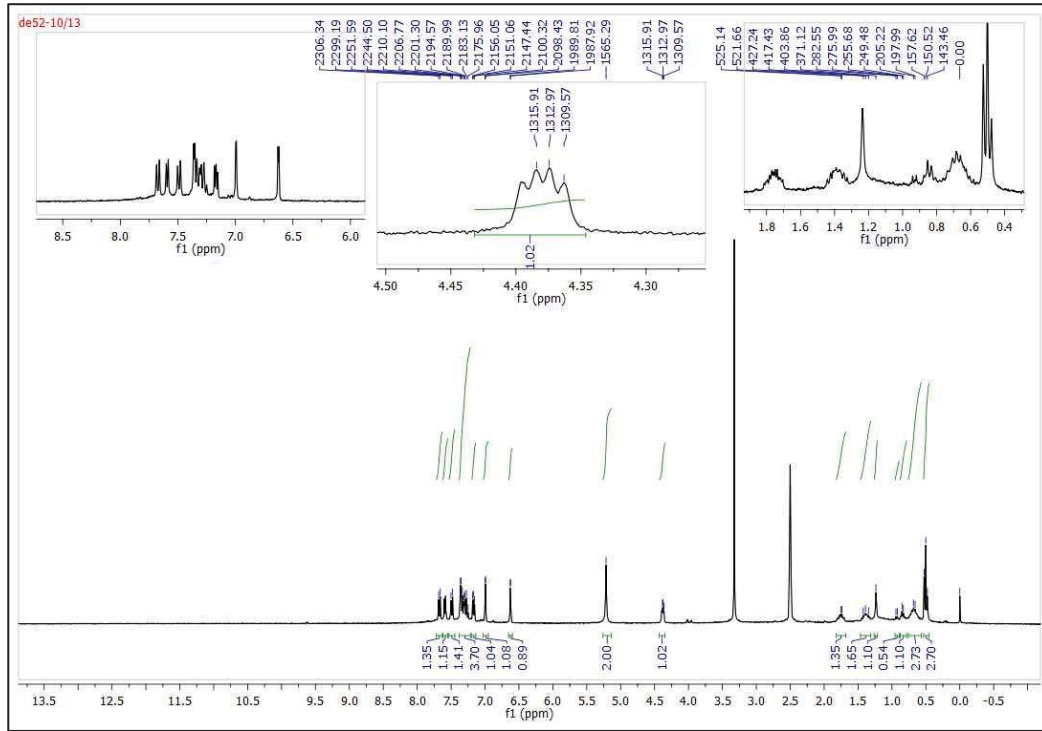
EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları



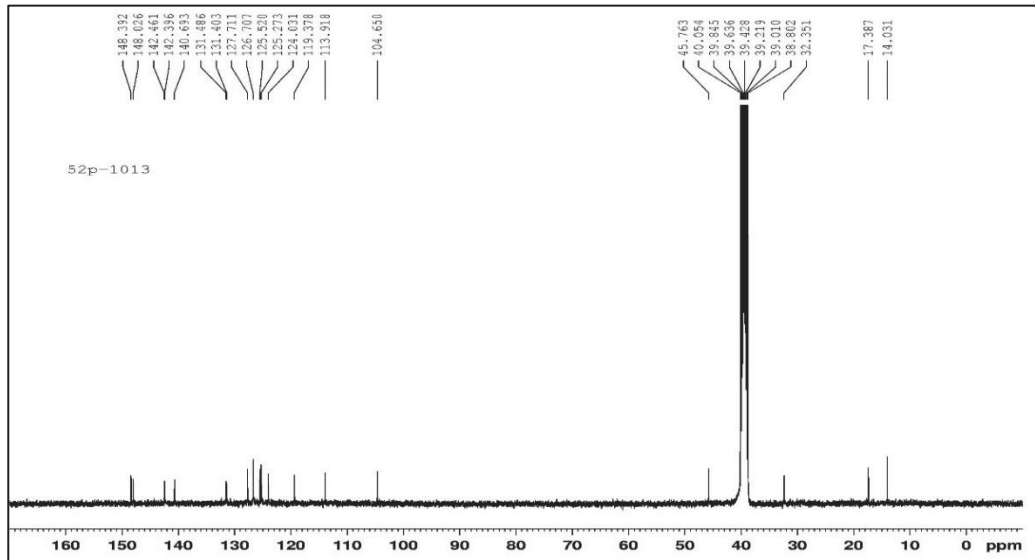
Şekil 1.30. Bileşik 7'nin HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması



EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

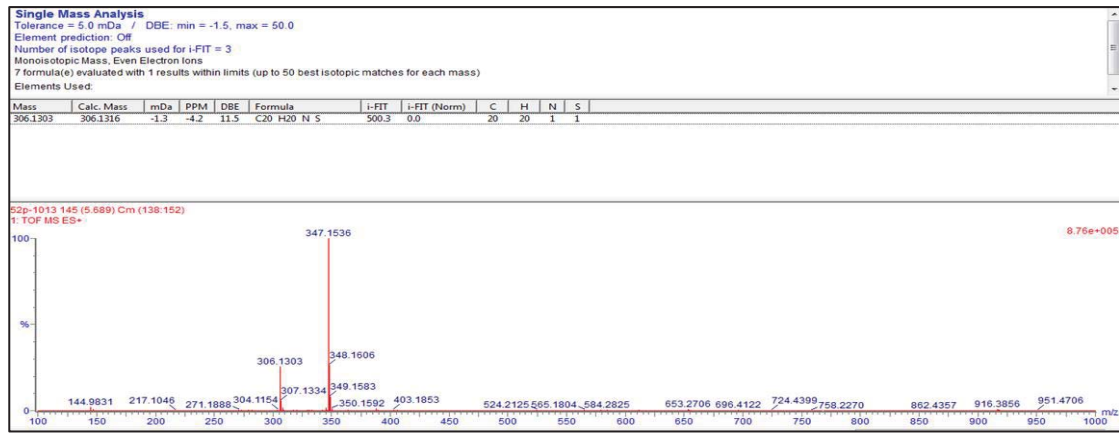


Şekil 1.32. Bileşik 8'in ^1H -NMR spektrumu

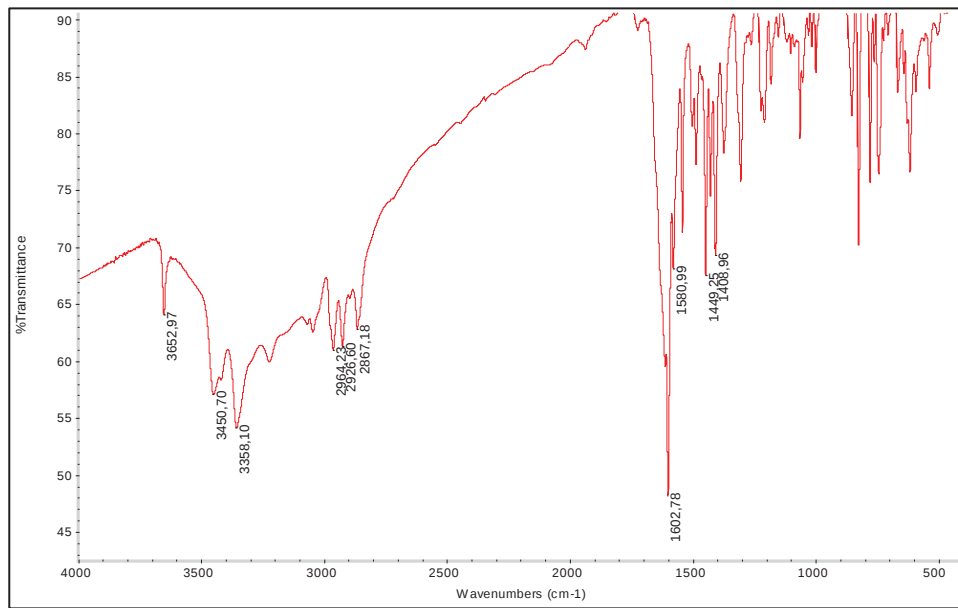


Şekil 1.33. Bileşik 8'in ^{13}C -APT spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

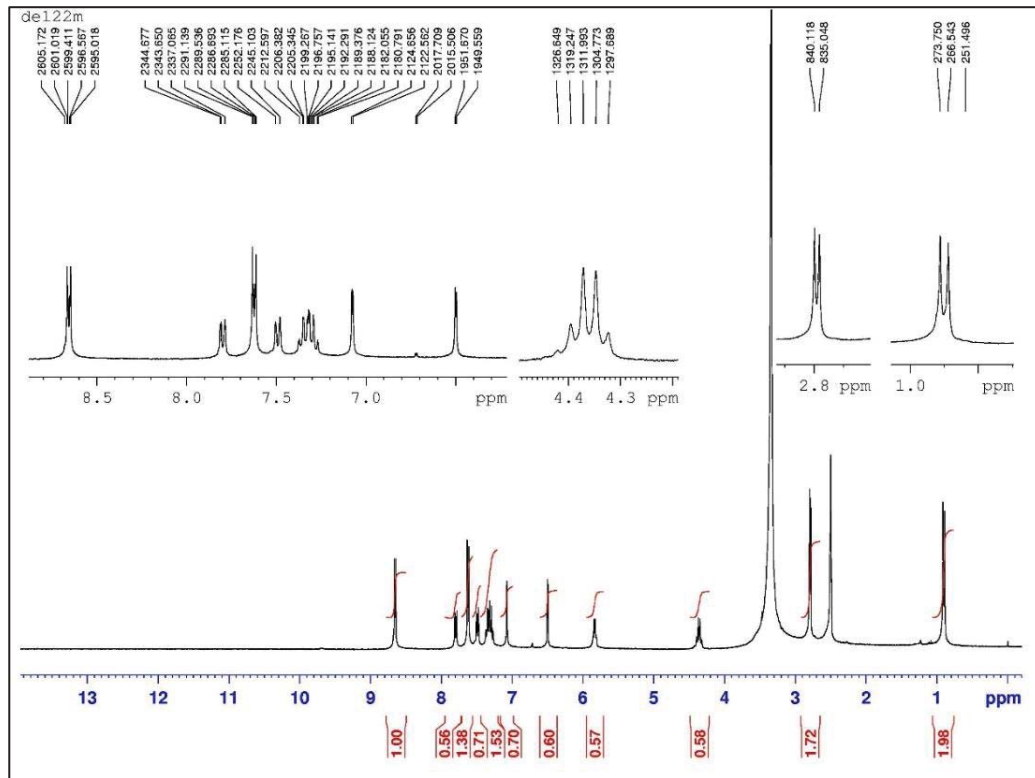


Şekil 1.34. Bileşik 8'in HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

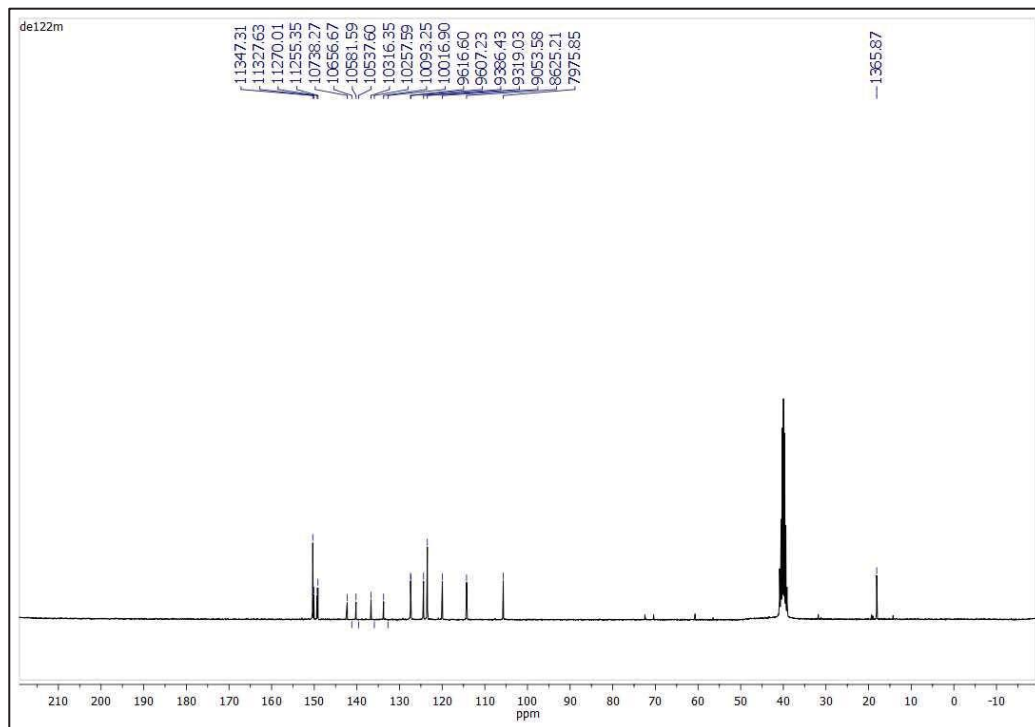


Şekil 1.35. Bileşik 9'un FT-IR spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

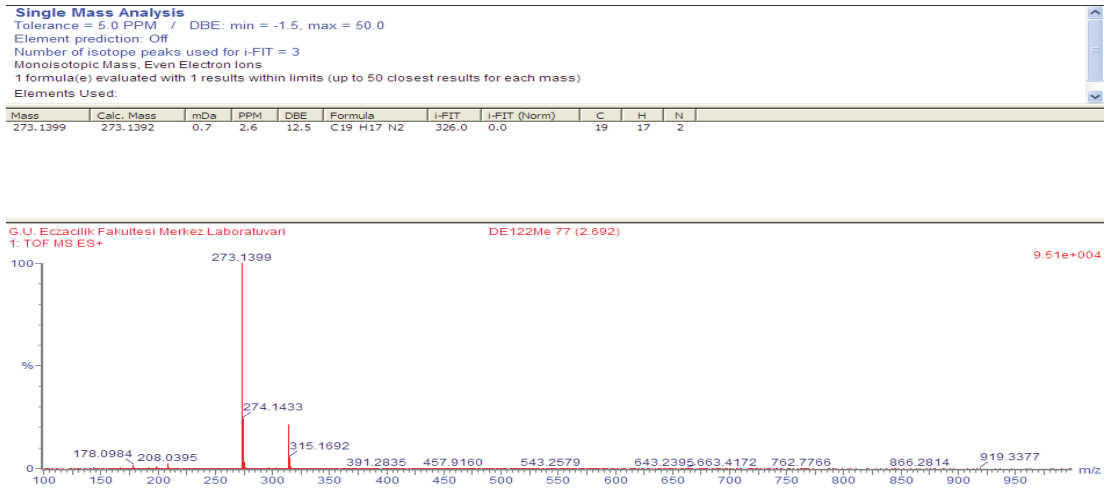


Şekil 1.36. Bileşik 9'un ^1H -NMR spektrumu

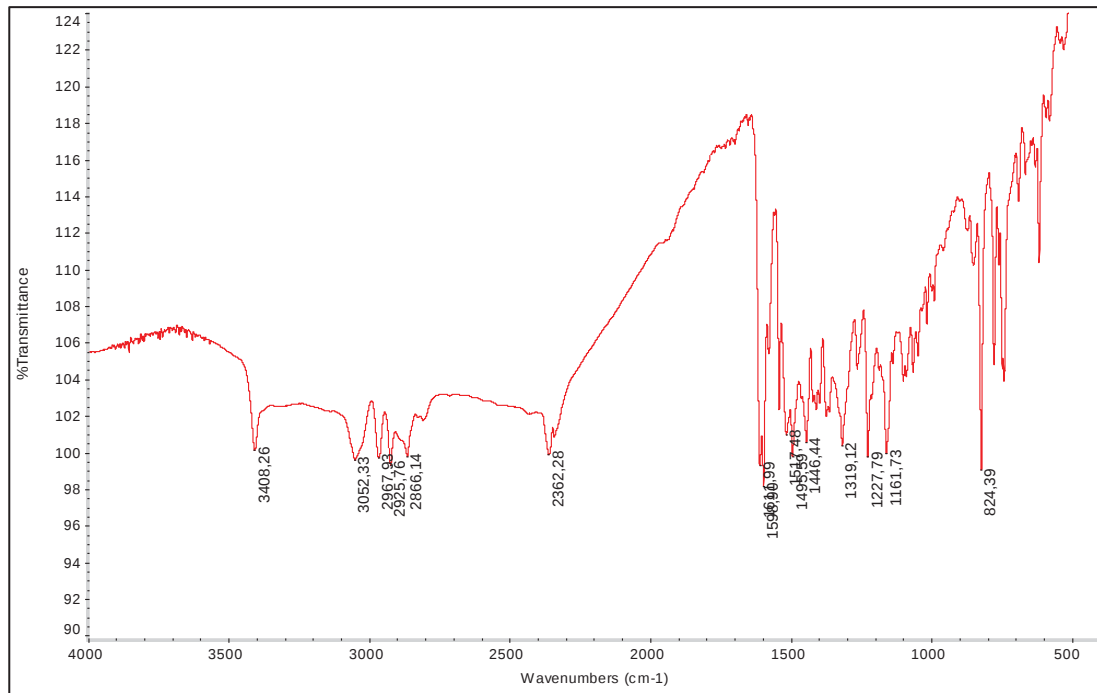


Şekil 1.37. Bileşik 9'un ^{13}C -APT spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

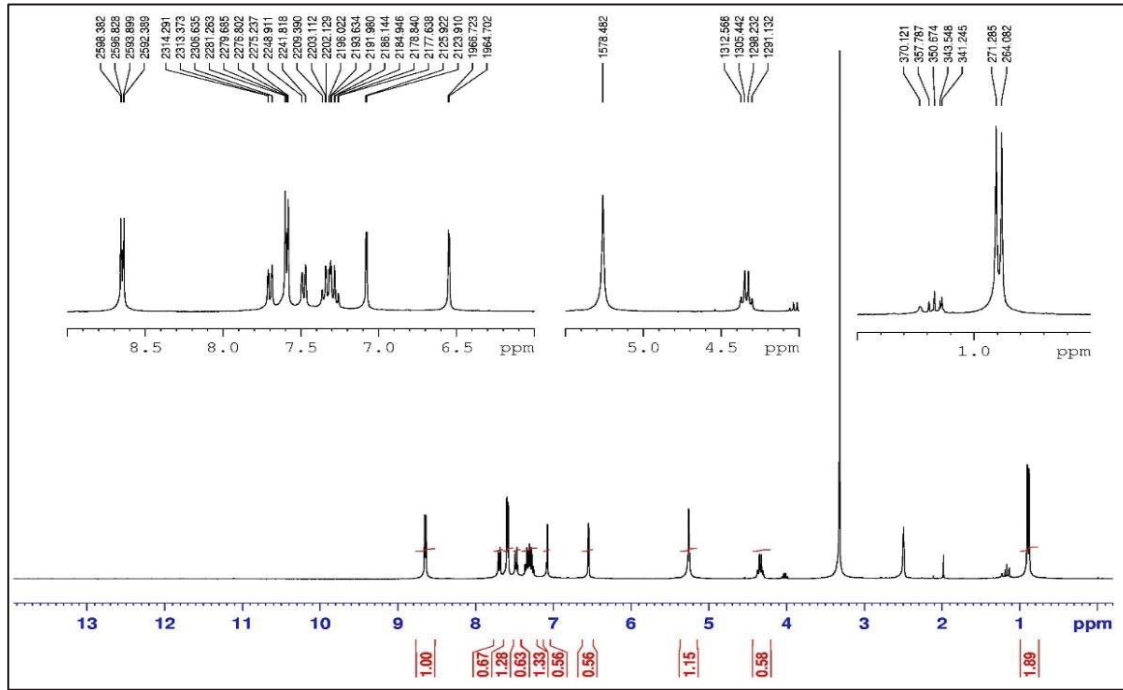


Şekil 1.38. Bileşik 9'un HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

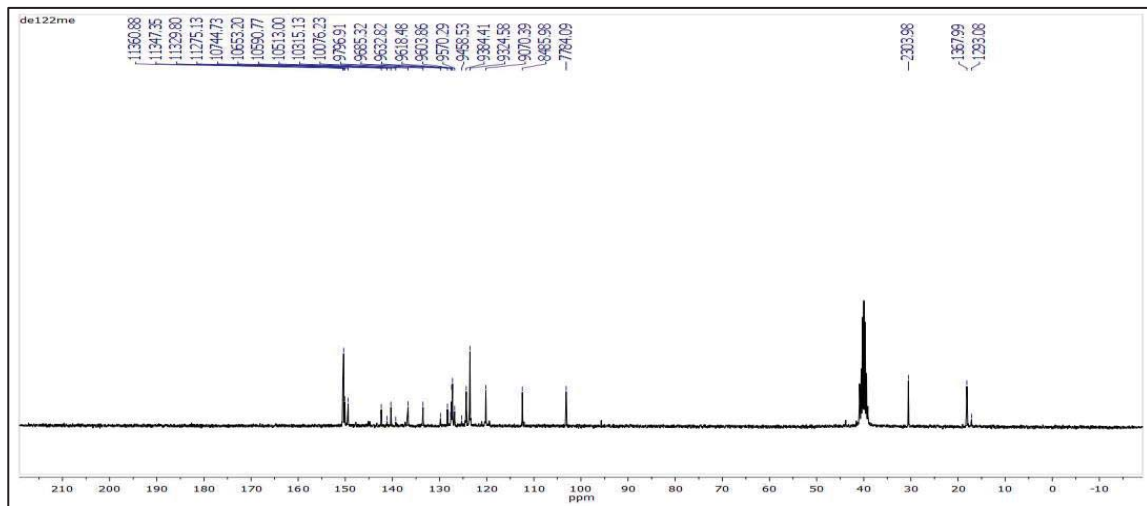


Şekil 1.39. Bileşik 10'un FT-IR spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

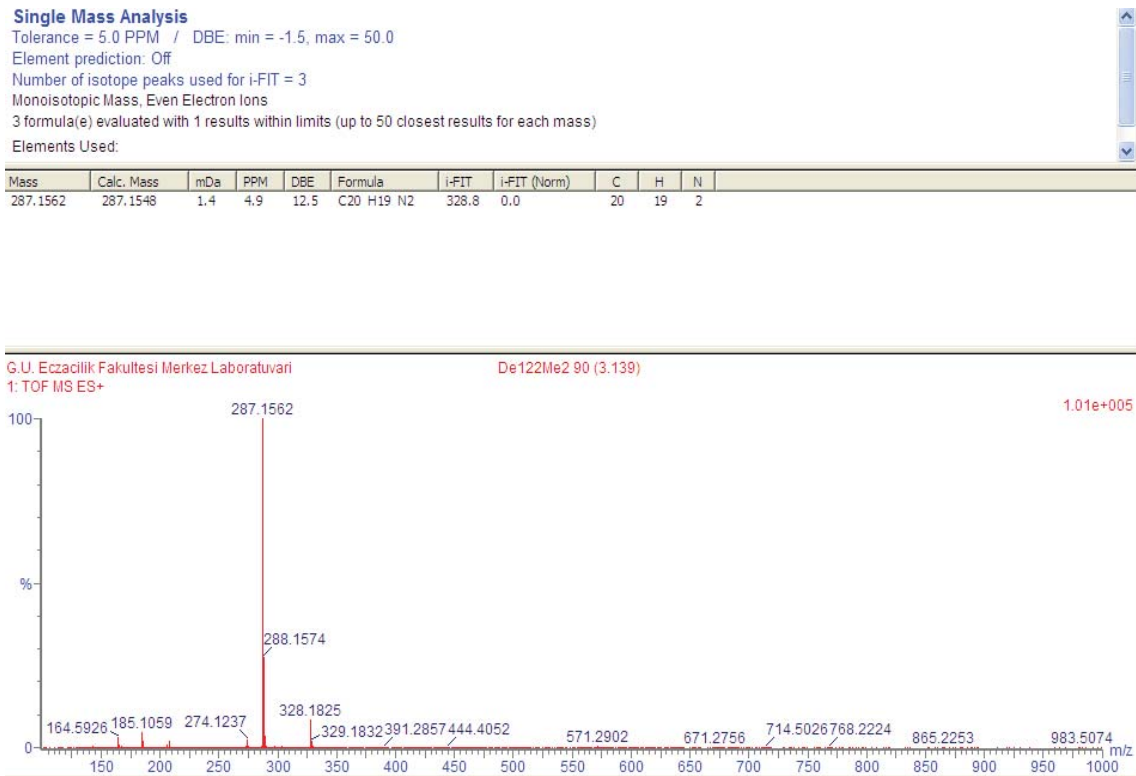


Şekil 1.40. Bileşik 10'un ^1H -NMR spektrumu

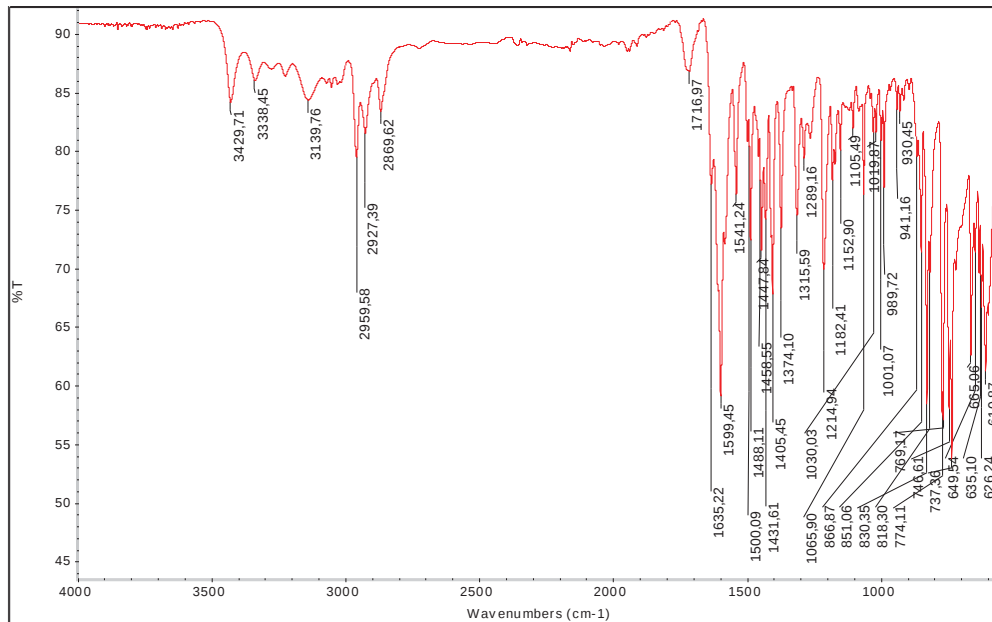


Şekil 1.41. Bileşik 10'un ^{13}C -APT spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-APT, HR-MS spektrumları

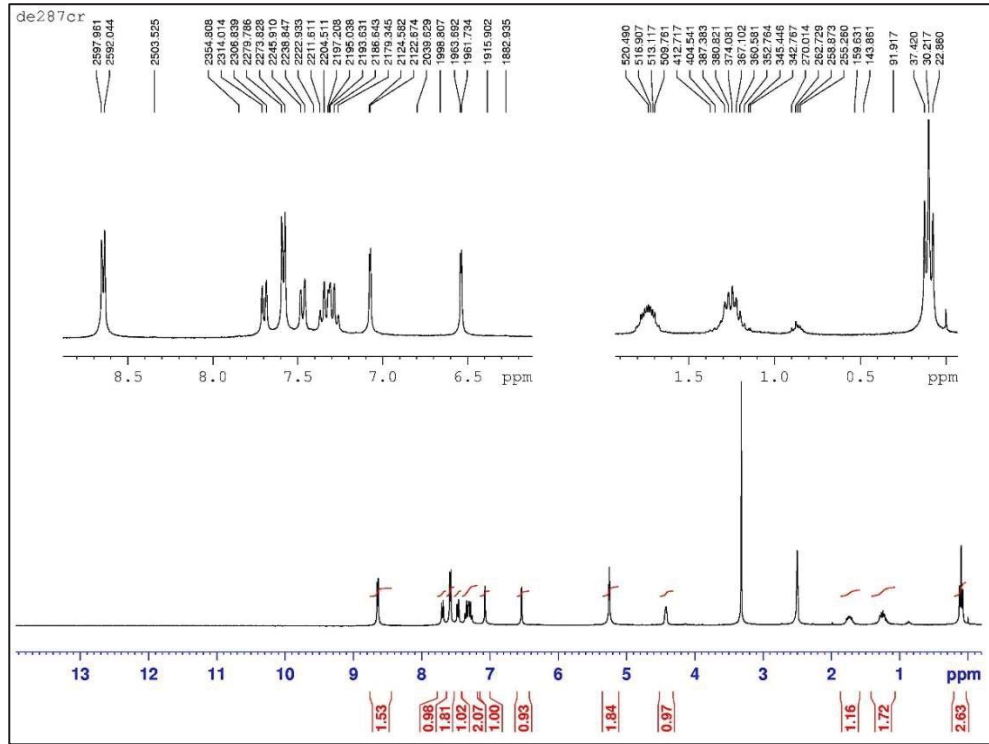


Şekil 1.42. Bileşik 10'un HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

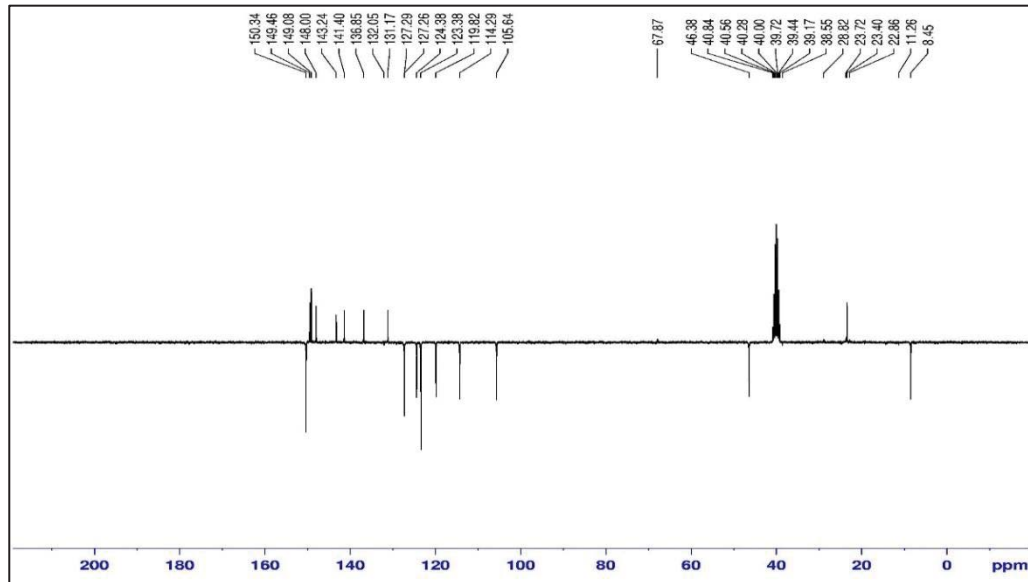


Şekil 1.43. Bileşik 11'in FT-IR spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

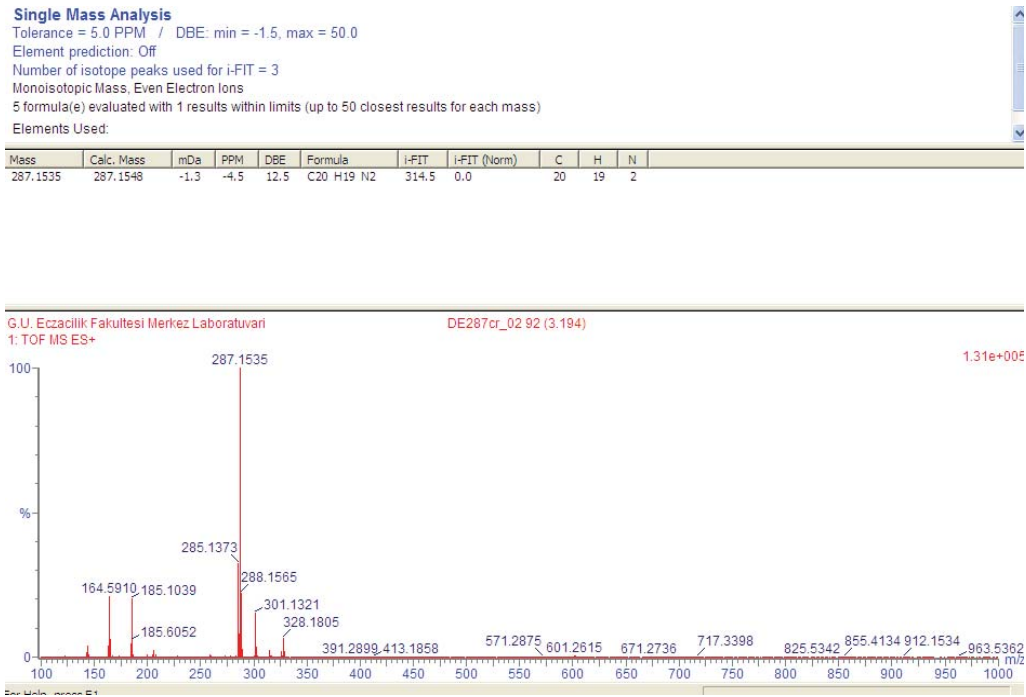


Şekil 1.44. Bileşik 11'in ^1H -NMR spektrumu

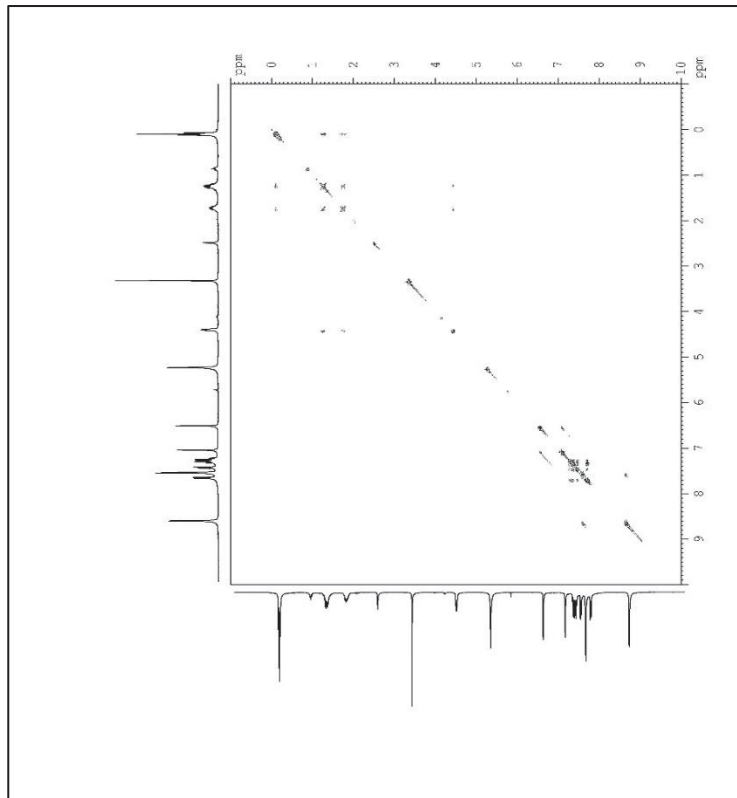


Şekil 1.45. Bileşik 11'in ^{13}C -APT spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

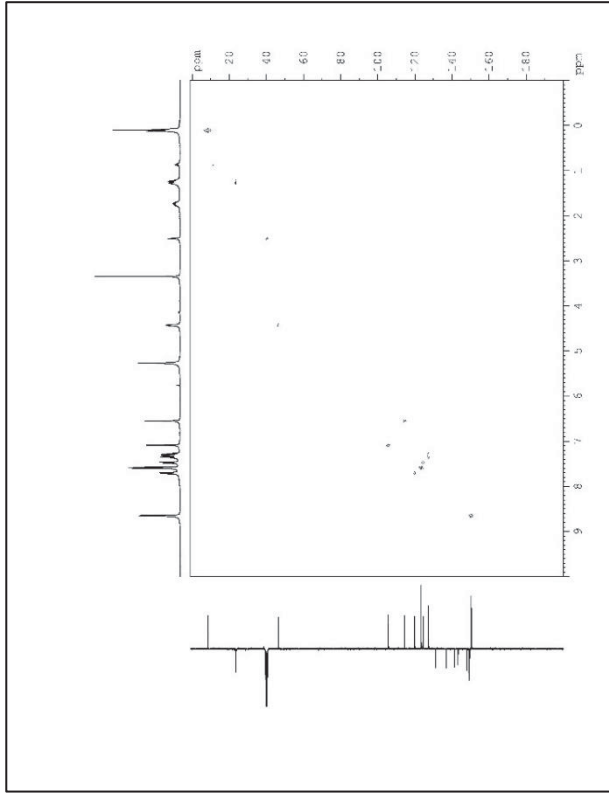


Şekil 1.46. Bileşik 11'in HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

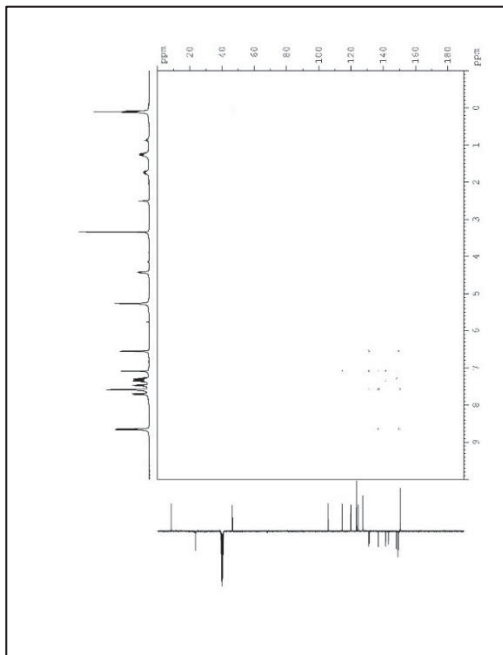


Şekil 1.47. Bileşik 11'in ^1H - ^1H COSY spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

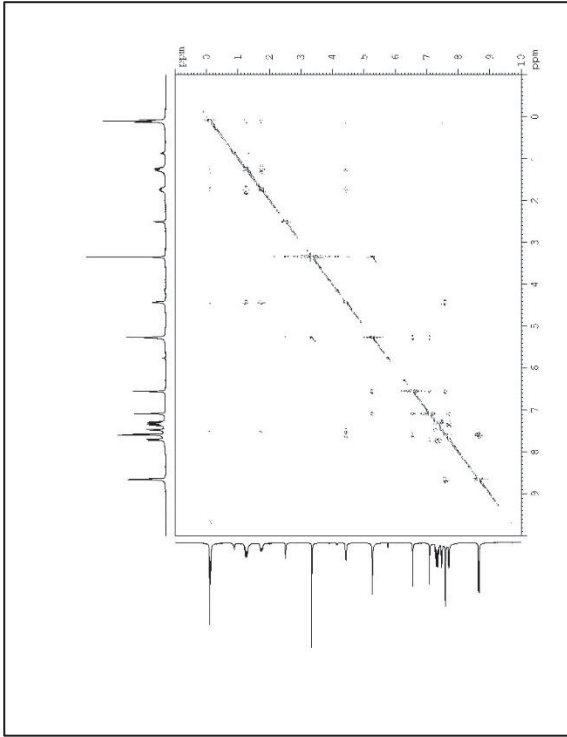


Şekil 1.48. Bileşik 11'in ^1H - ^{13}C HMQC spektrumu

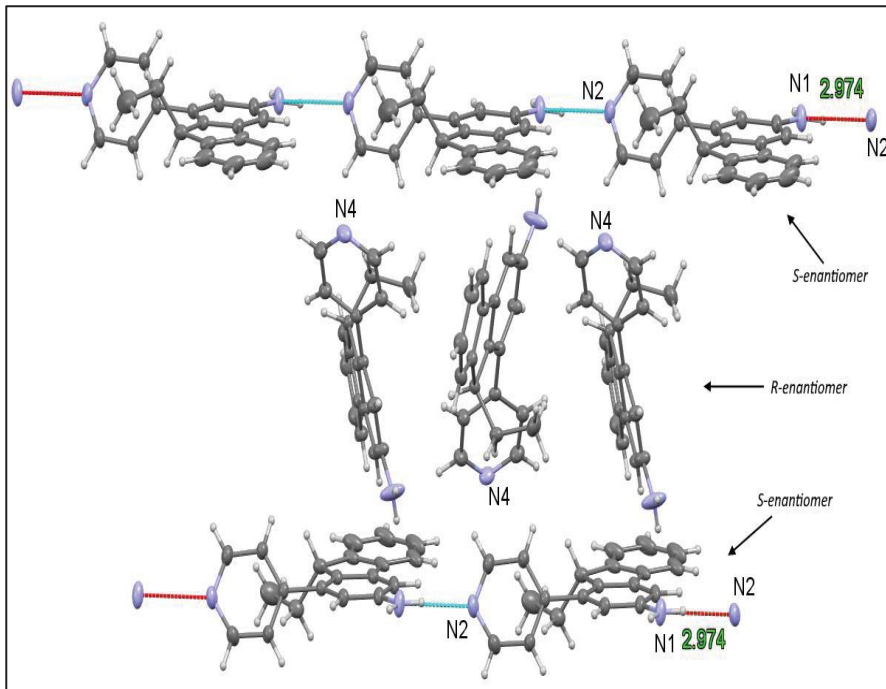


Şekil 1.49. Bileşik 11'in ^1H - ^{13}C HMBC spektrumu

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

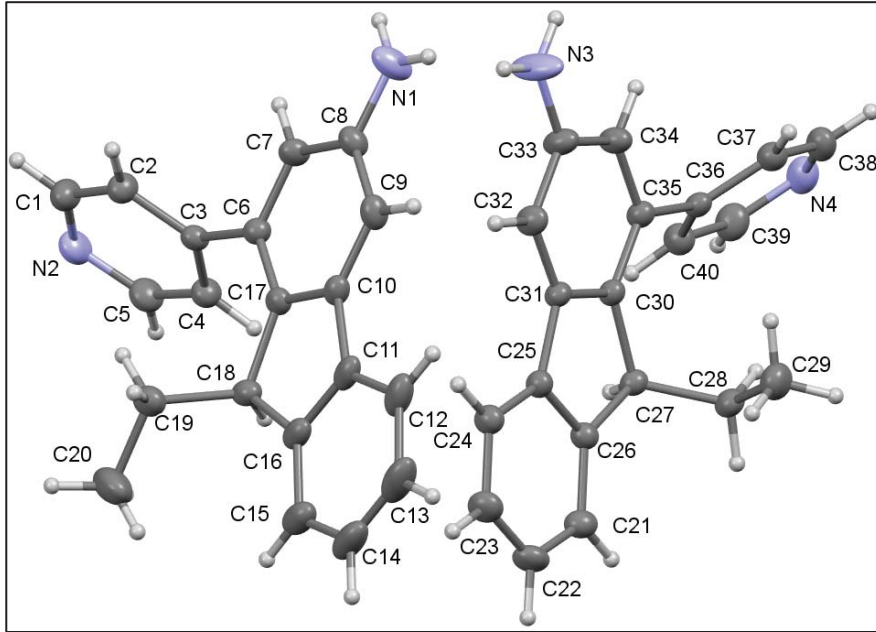


Şekil 1.50. Bileşik 11'in NOSY spektrumu

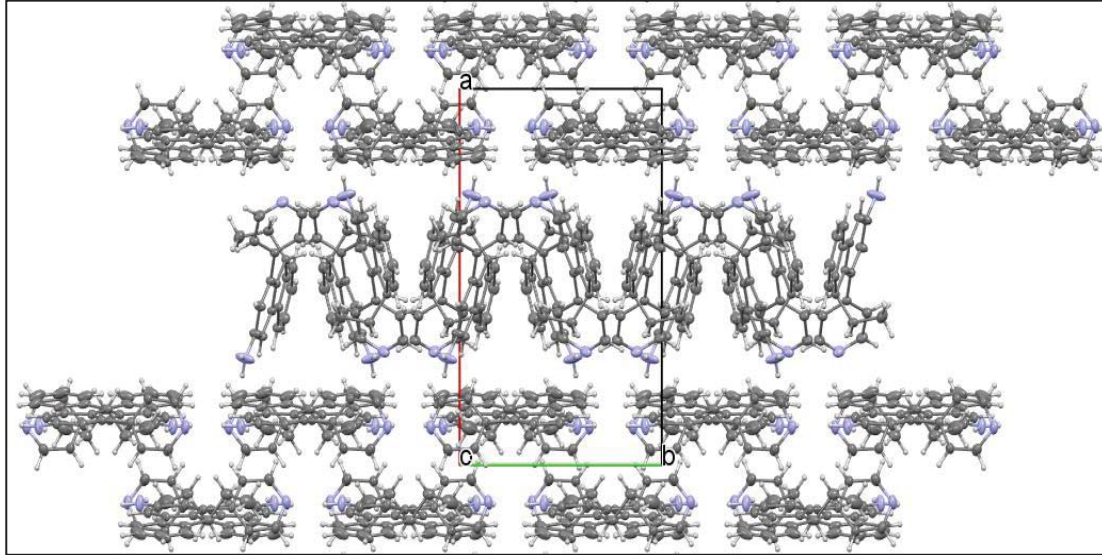


Şekil 1.51. 11 bileşiğini (R, S) enantiyomerlerinin istiflenmesi

EK-1 (devam). Bileşik 1 - 11'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

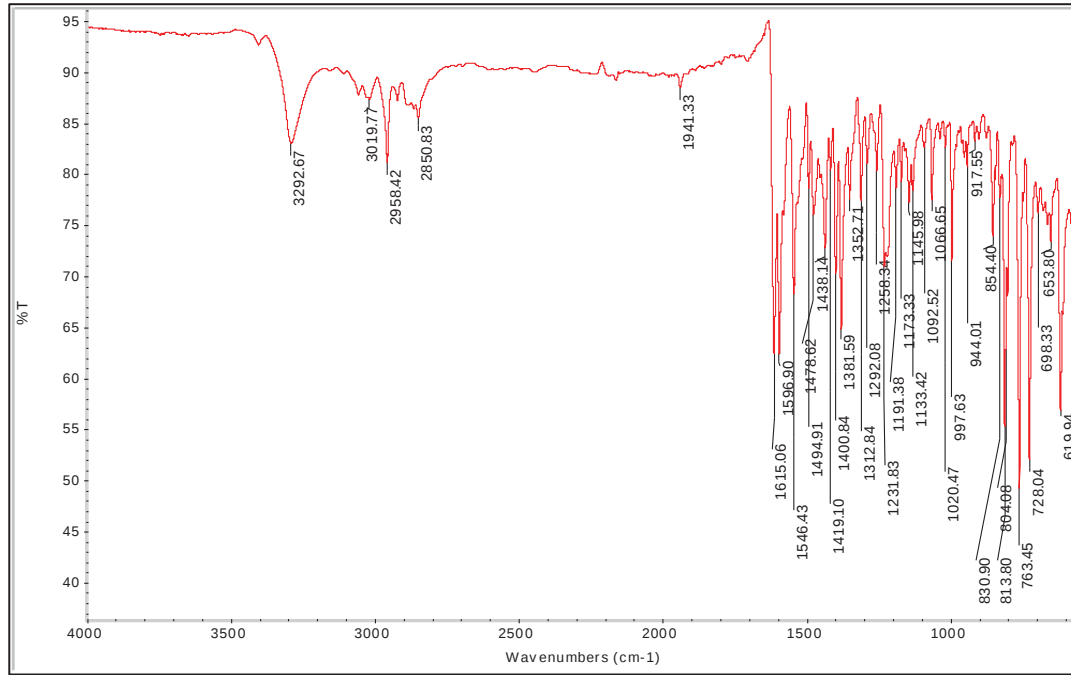


Şekil 1.52. 11 bileşiğini asimetrik birimdeki iki enantiyomer molekülü

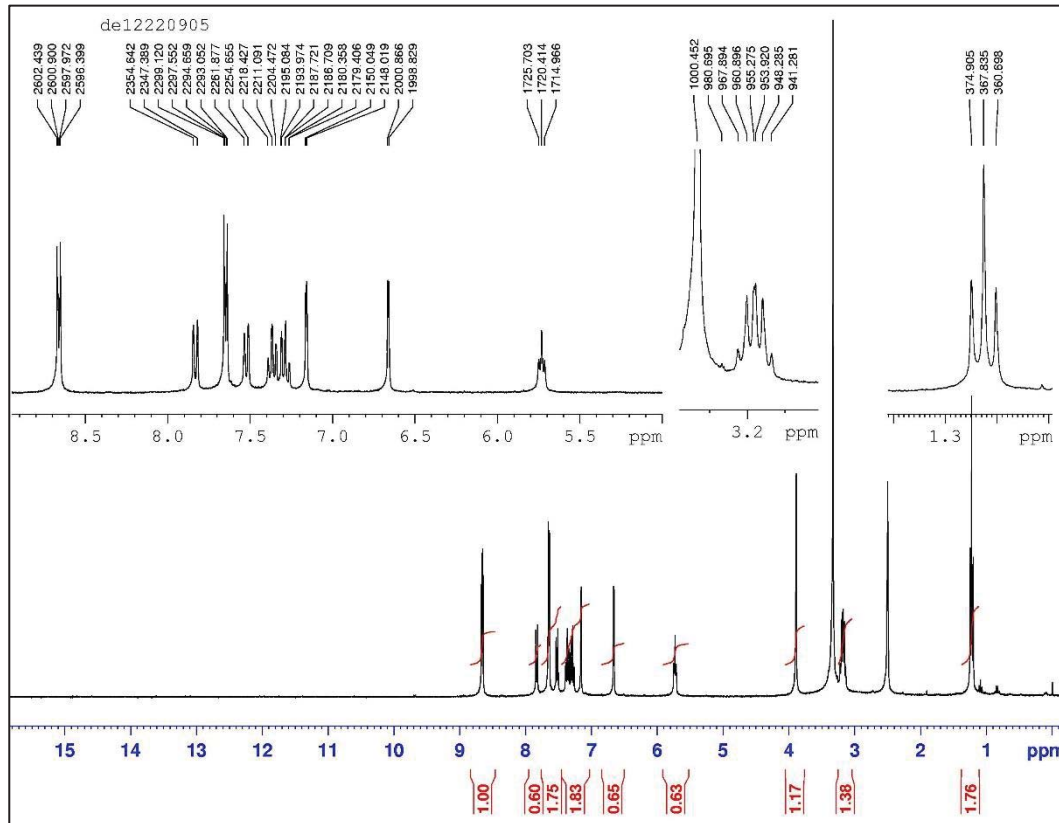


Şekil 1.53. 11 yapısının istifleme motifi, eksen boyunca aşağı bakacak şekilde birim hücre ile istiflenir. Orta sıra tamamen (R)-enantiyomerlerden, üst ve alt sıralar (S)-enantiyomerlerden oluşur. Yer değiştirme elipsoitleri%40 olasılık seviyesinde çizildi.

EK-2. Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

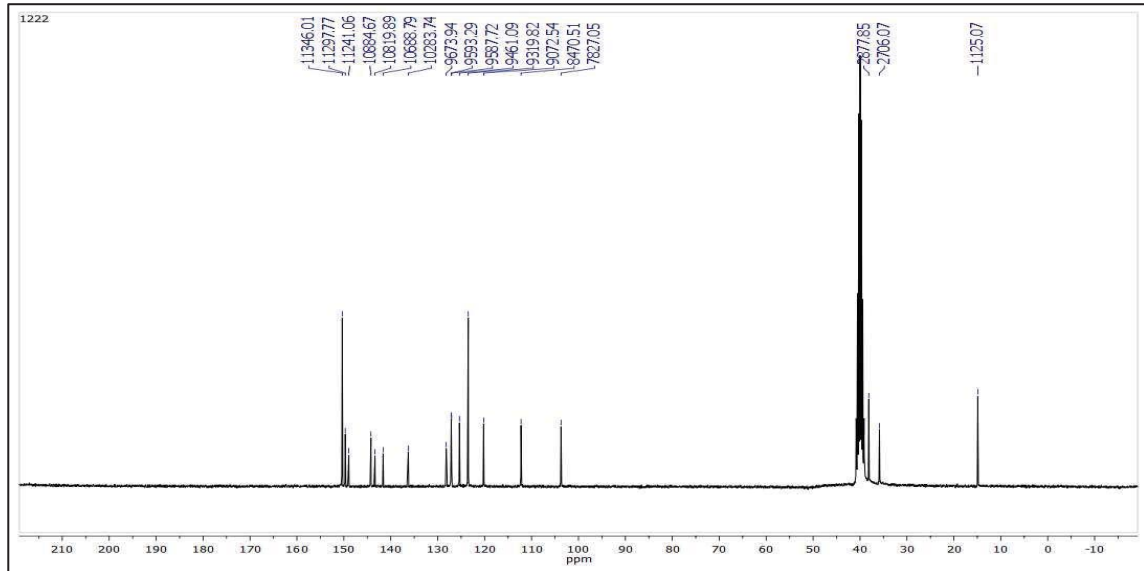


Şekil 2.1. Bileşik 12'nin FT-IR spektrumu

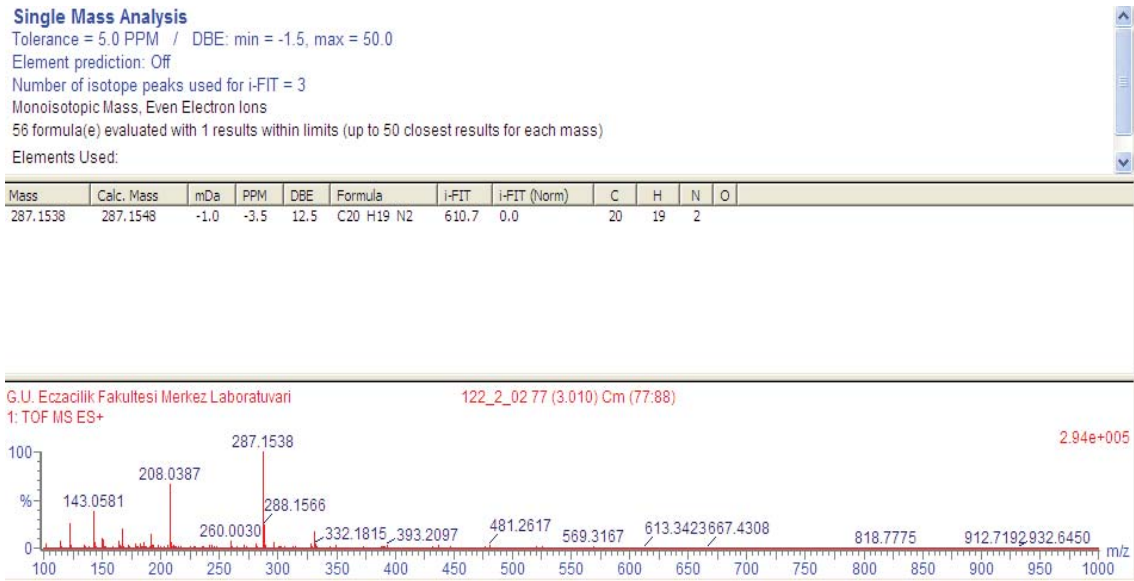


Şekil 2.2. Bileşik 12'nin ^1H -NMR spektrumu

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

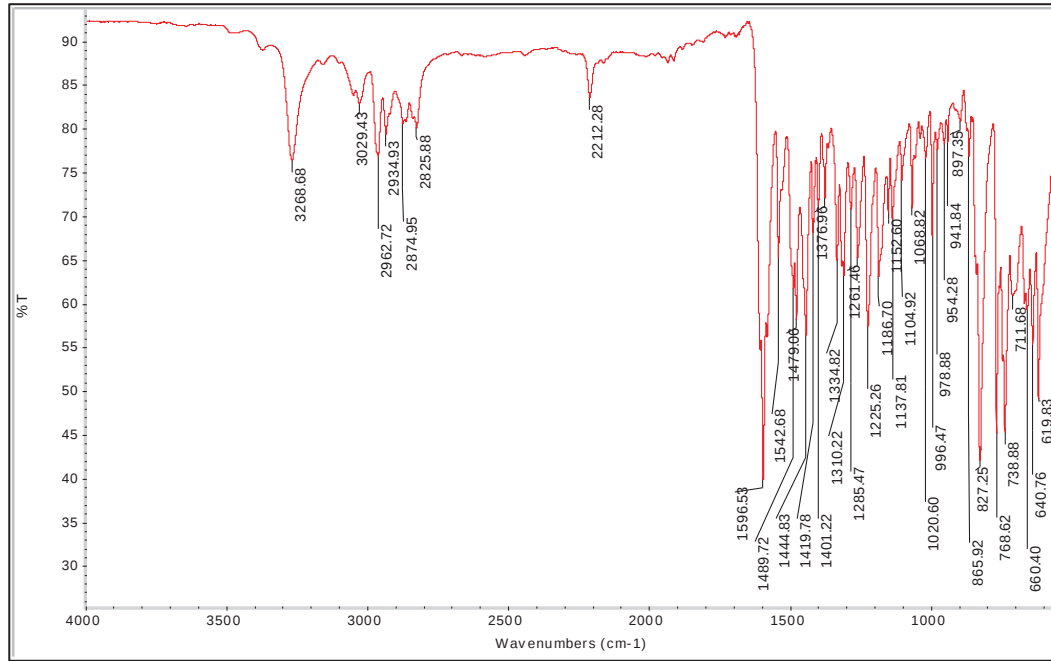


Şekil 2.3. Bileşik 12'nin ^{13}C -APT spektrumu

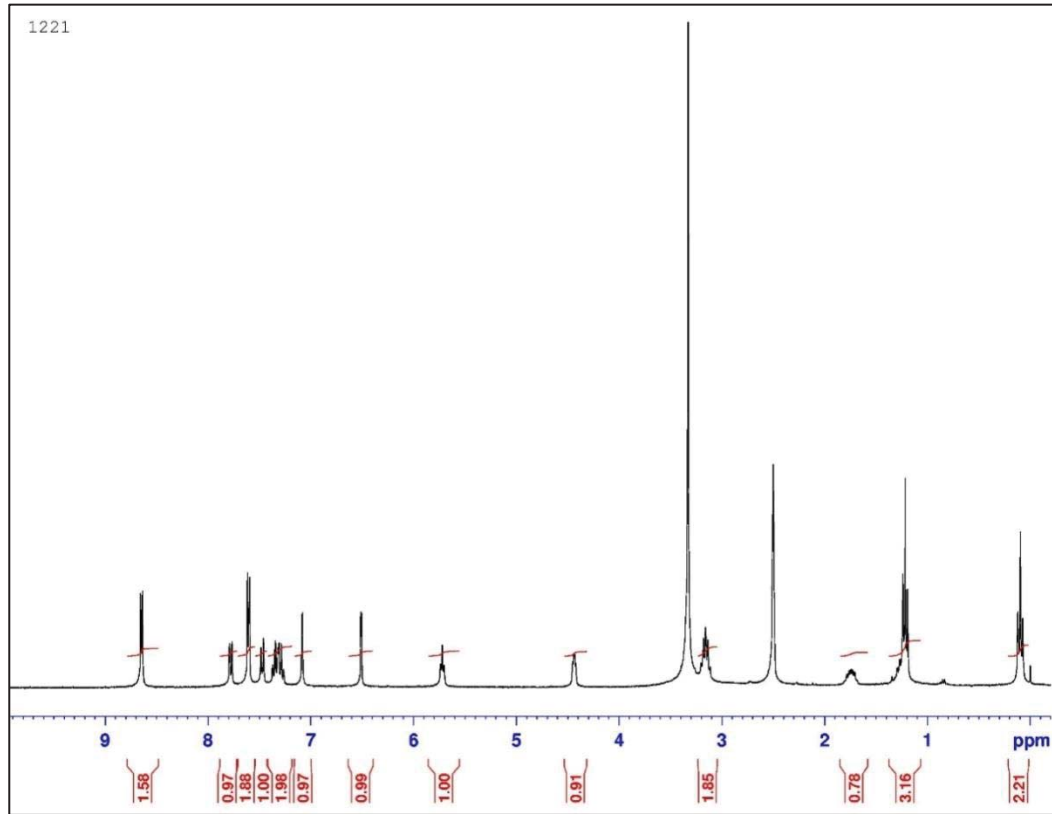


Şekil 2.4. Bileşik 12'nin HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

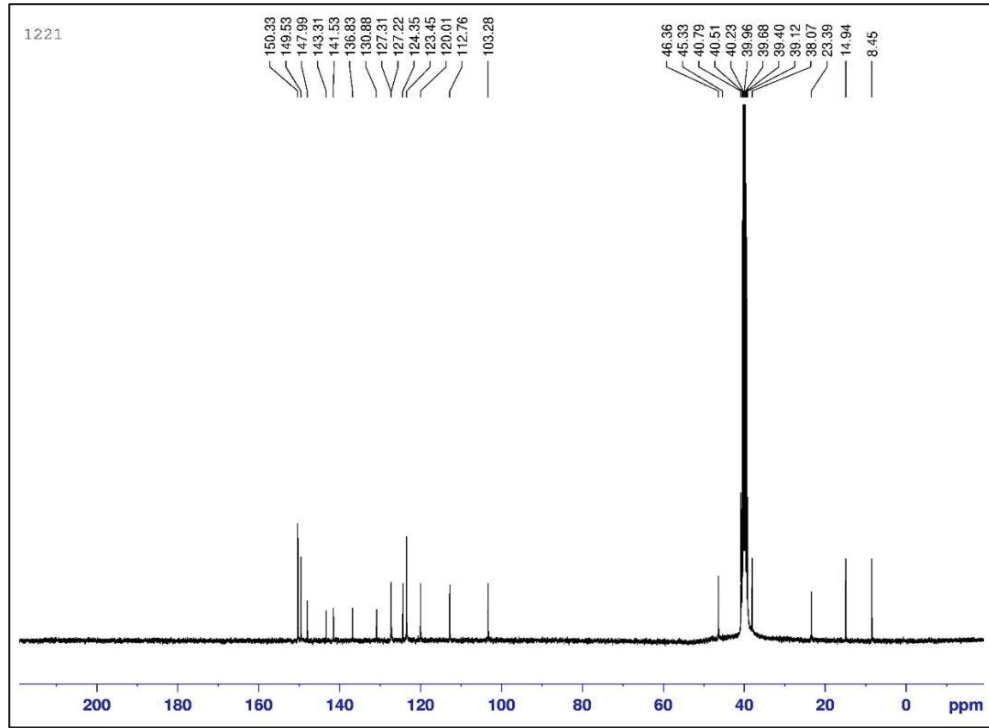


Şekil 2.5. Bileşik 13'ün FT-IR spektrumu

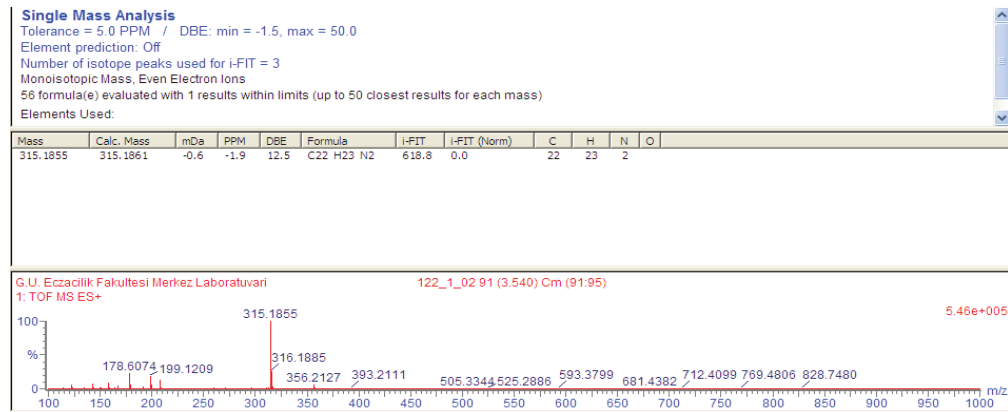


Şekil 2.6. Bileşik 13'ün ^1H -NMR spektrumu.

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

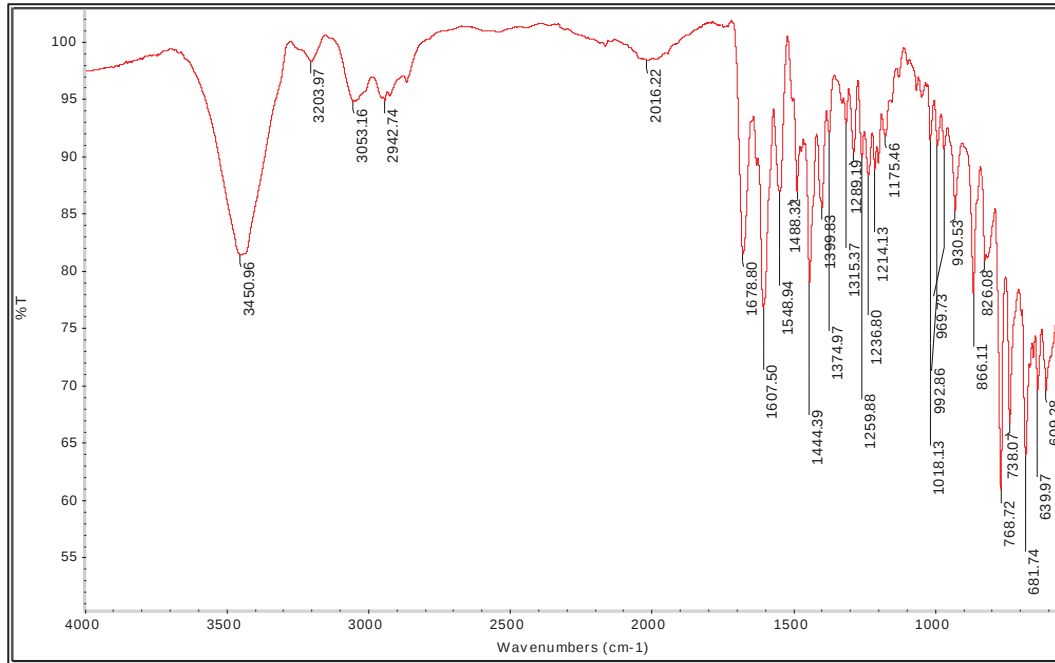


Şekil 2.7. Bileşik 13'ün ^{13}C -APT spektrumu

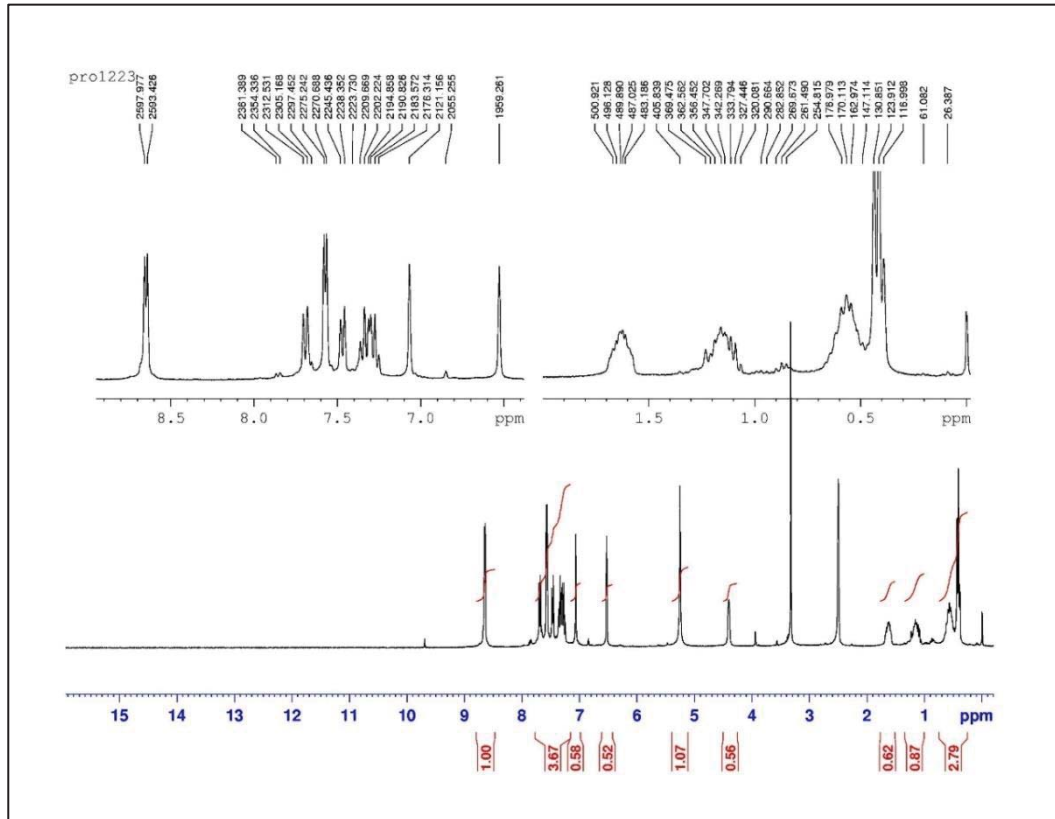


Şekil 2.8. Bileşik 13'ün HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-2. (devam).Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

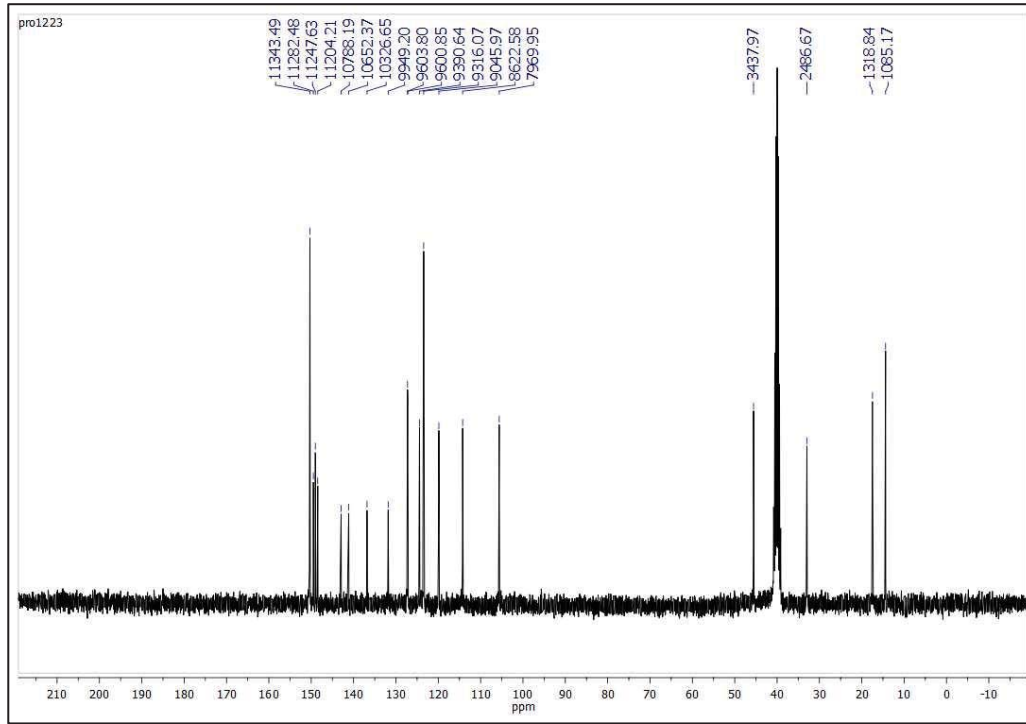


Şekil 2.9. Bileşik 14'ün FT-IR spektrumu

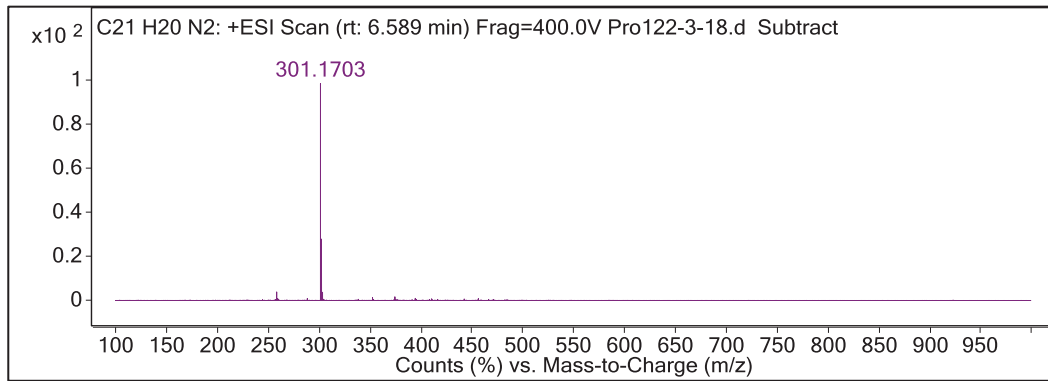


Şekil 2.10. Bileşik 14'ün ^1H -NMR spektrumu.

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

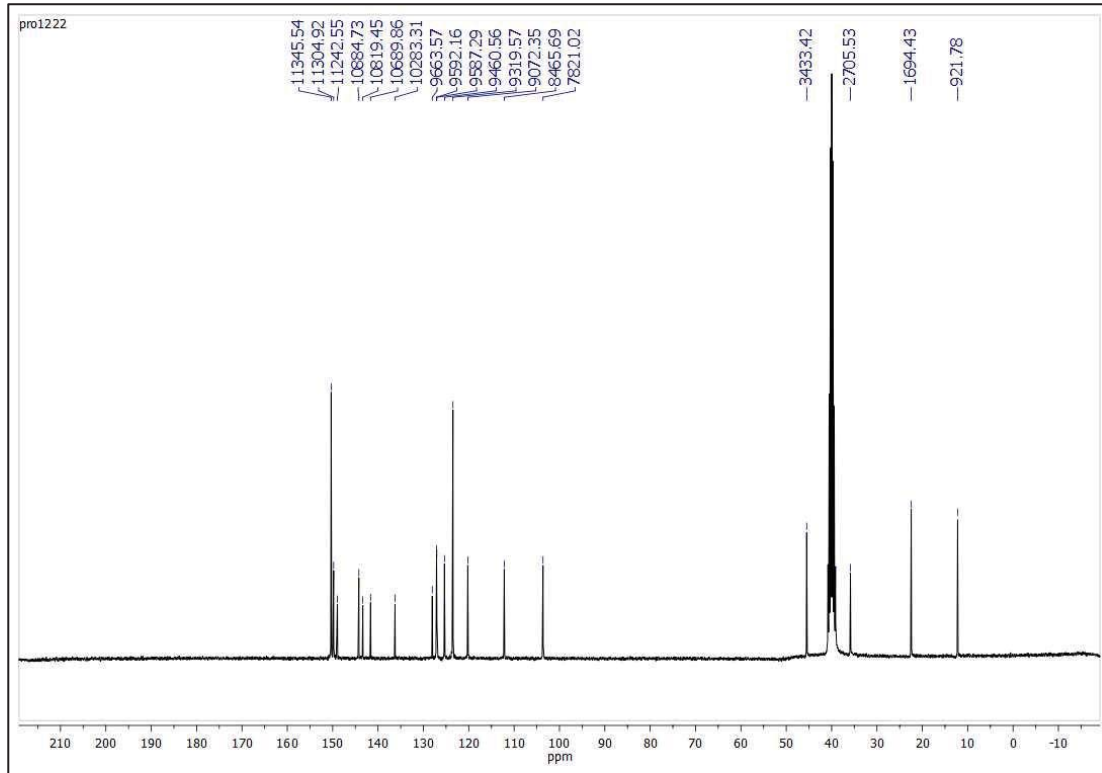


Şekil 2.11. Bileşik 14'ün ^{13}C -APT spektrumu

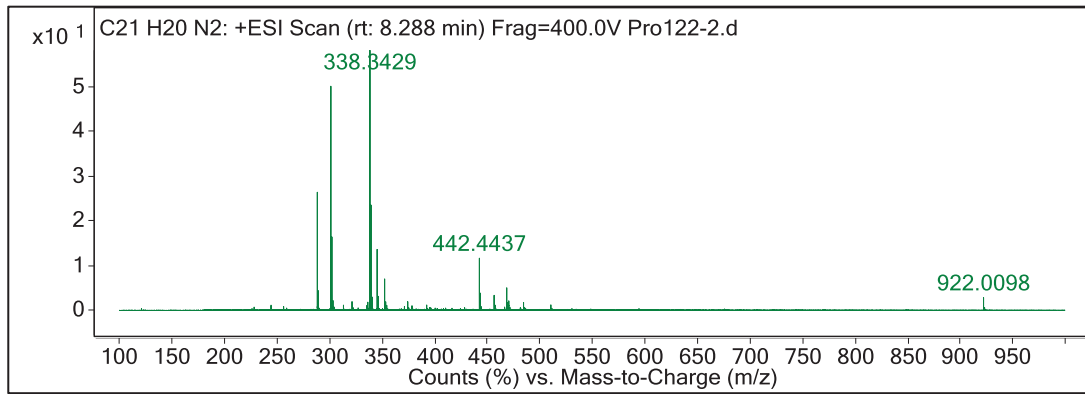


Şekil 2.12. Bileşik 14'ün HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

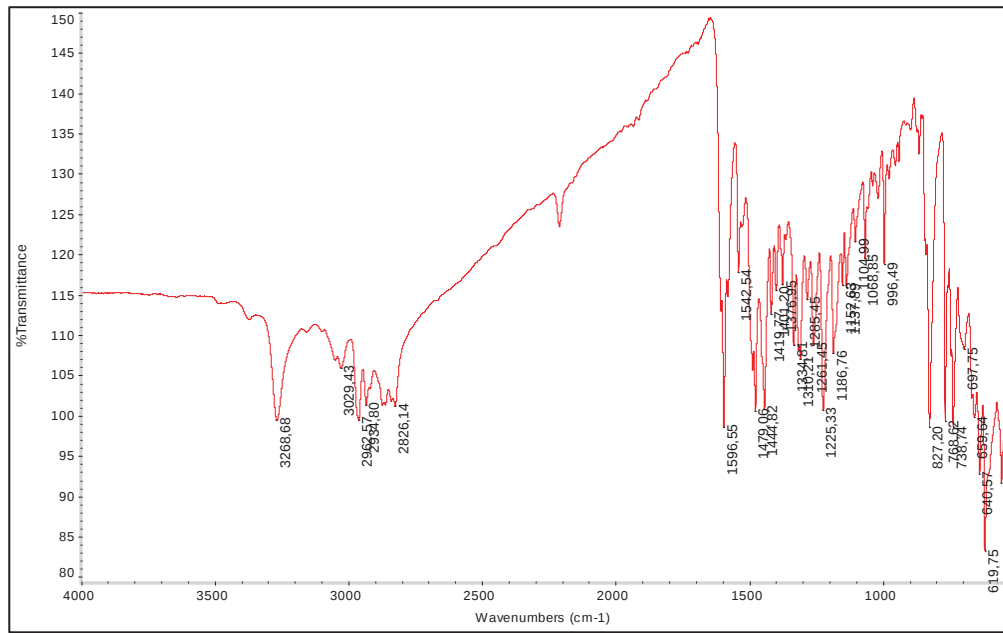


Şekil 2.15. Bileşik 15'in ^{13}C -APT spektrumu

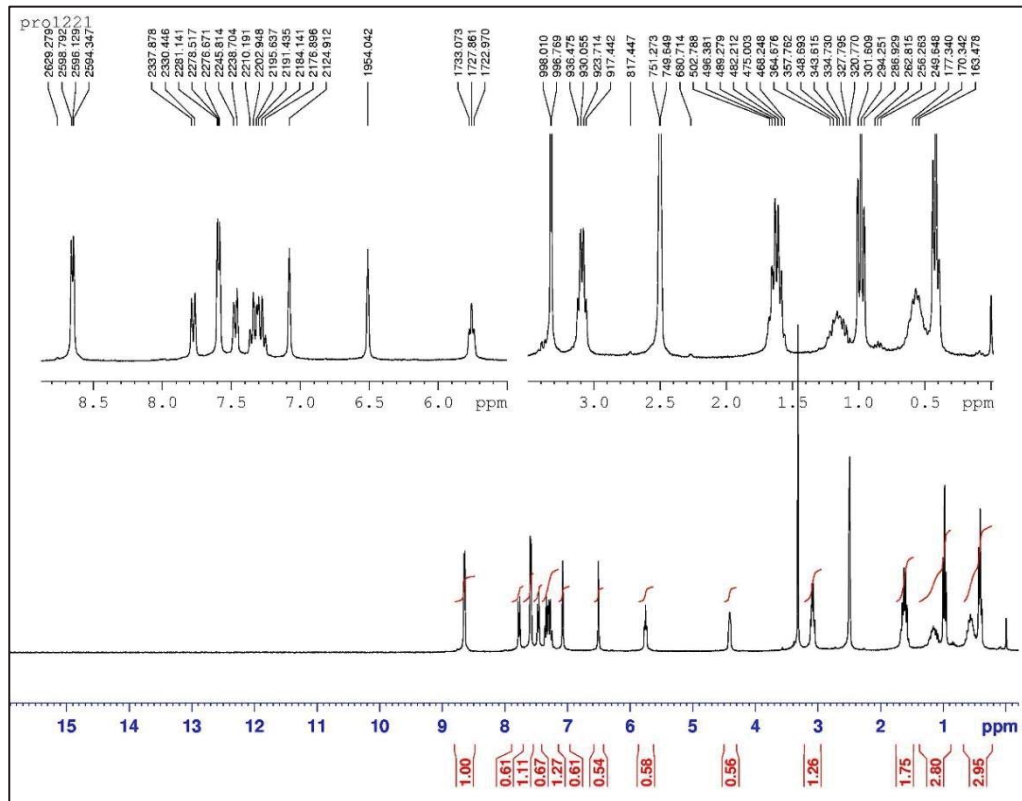


Şekil 2.16. Bileşik 15'in HR-MS spektrumu ve kütle spektrumu

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

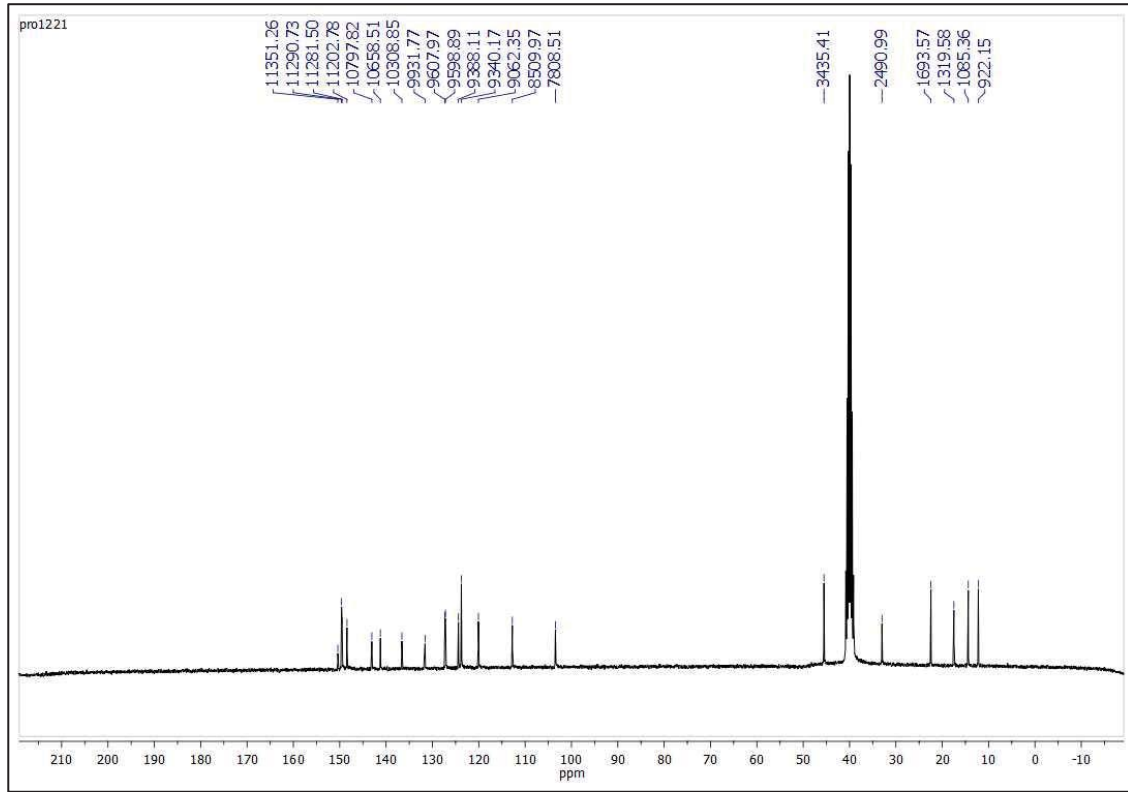


Şekil 2.17. Bileşik 16'nın FT-IR spektrumu

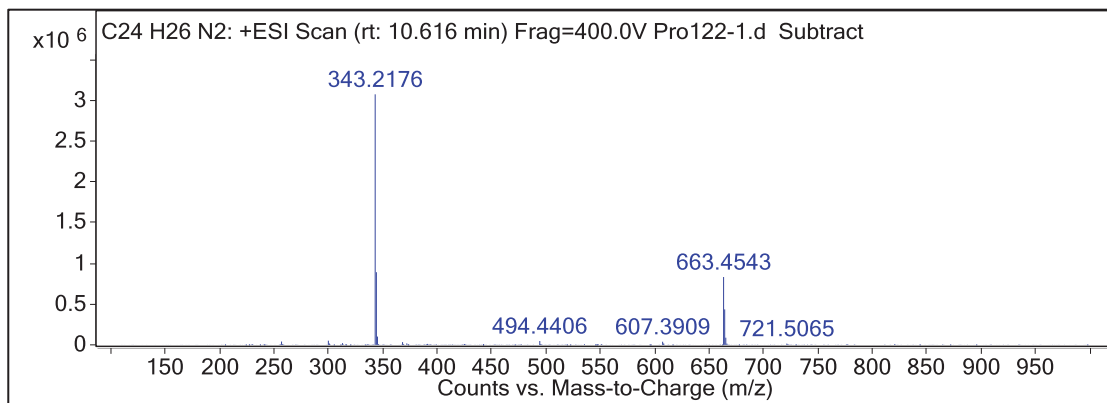


Şekil 2.18. Bileşik 16'nın ^1H -NMR spektrumu

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

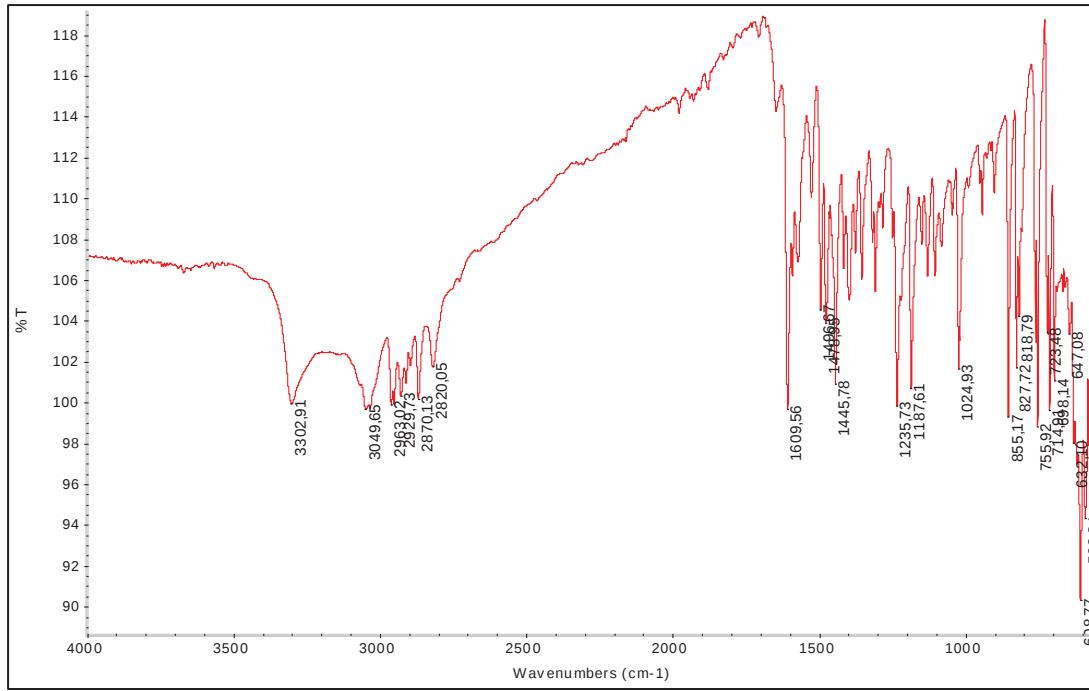


Şekil 2.19. Bileşik 16'nın ^{13}C -APT spektrumu

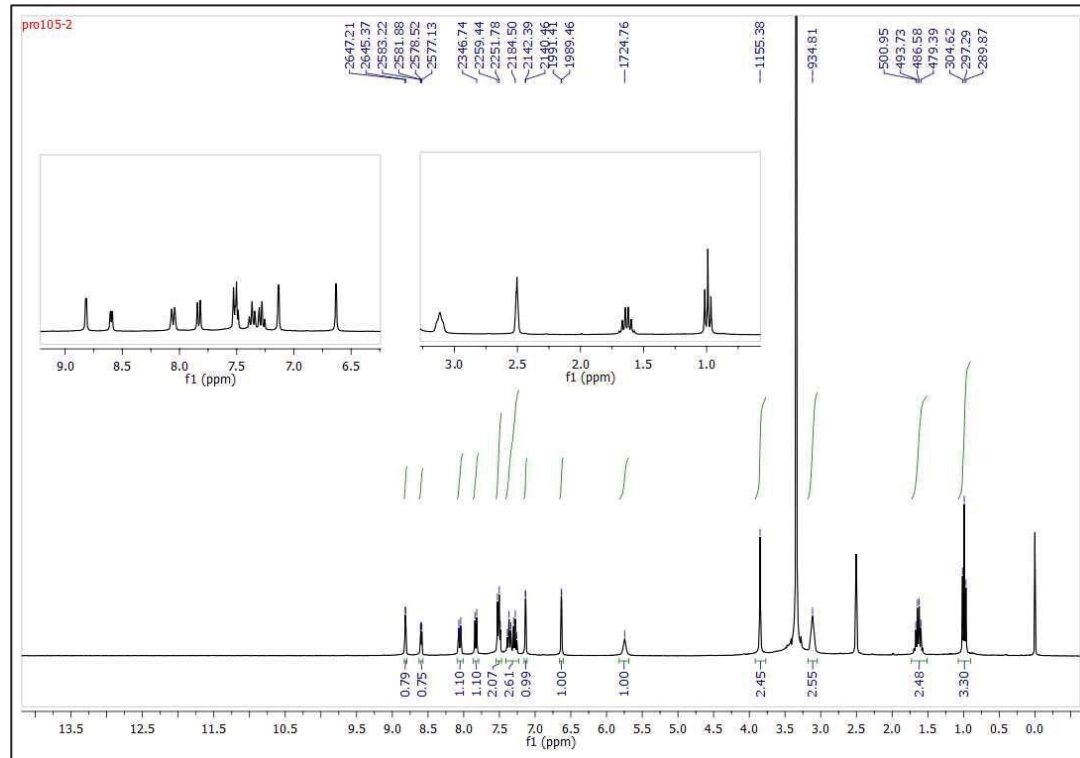


Şekil 2.20. Bileşik 16'nın HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

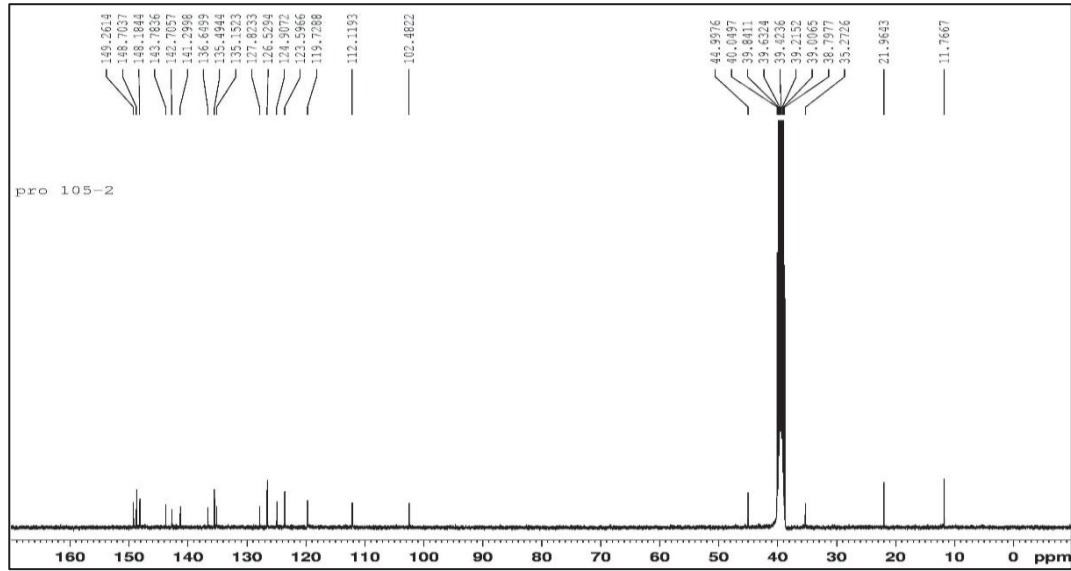


Şekil 2.21. Bileşik 17'nin FT-IR spektrumu

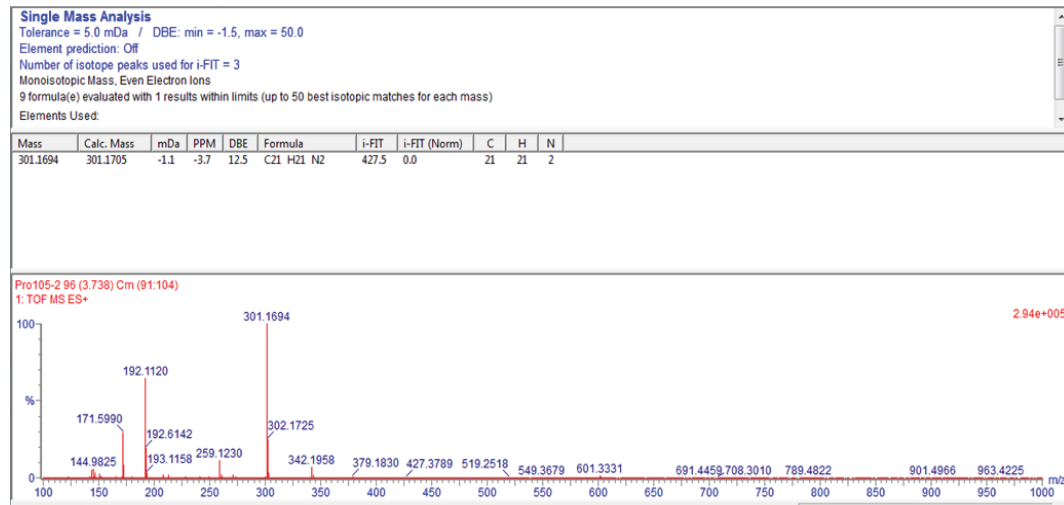


Şekil 2.22. Bileşik 17'nin ^1H -NMR spektrumu

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

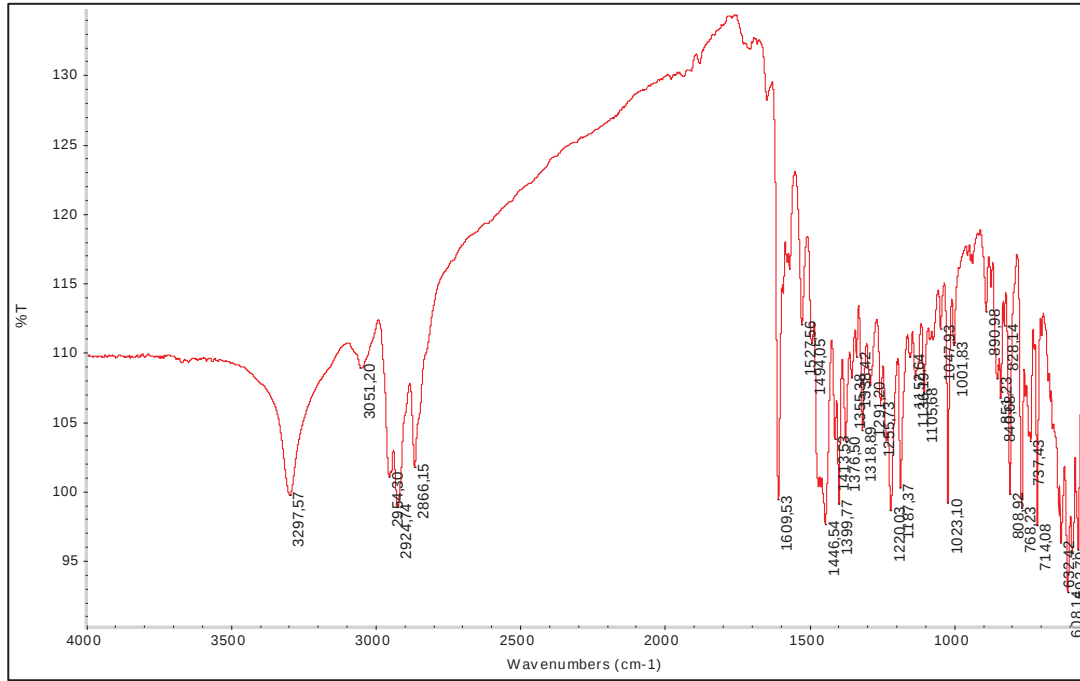


Şekil 2.23. Bileşik 17'nin ^{13}C -APT spektrumu

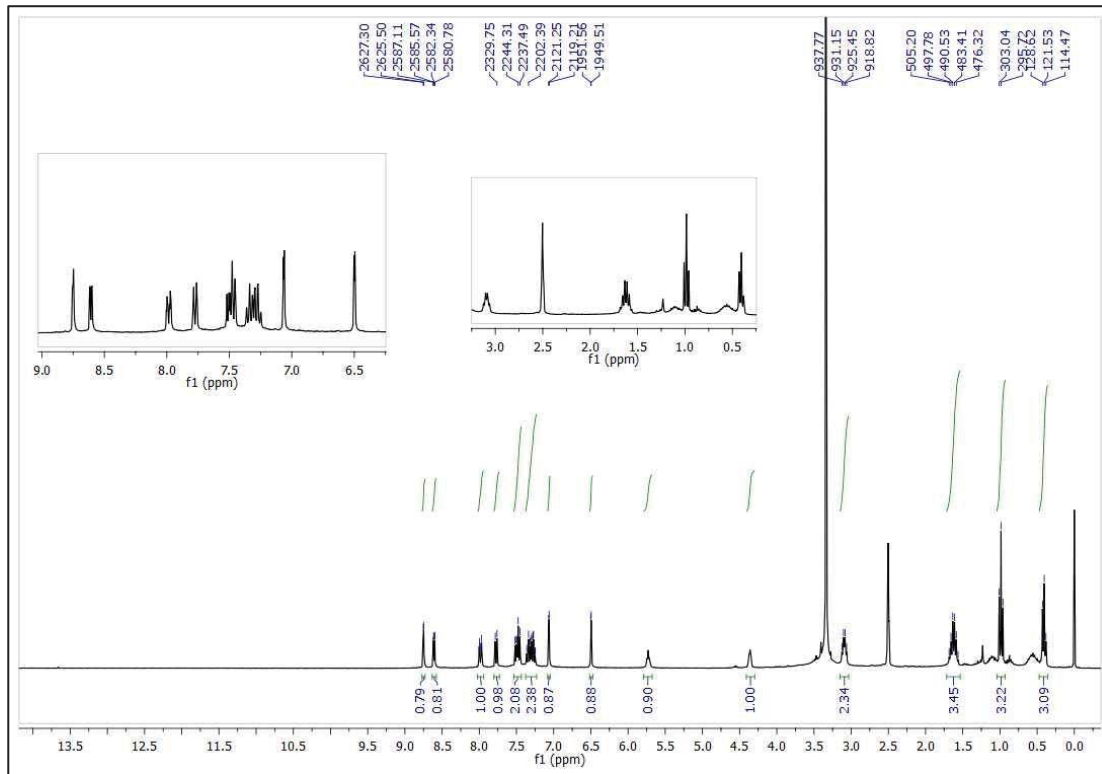


Şekil 2.24. Bileşik 17'nin HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

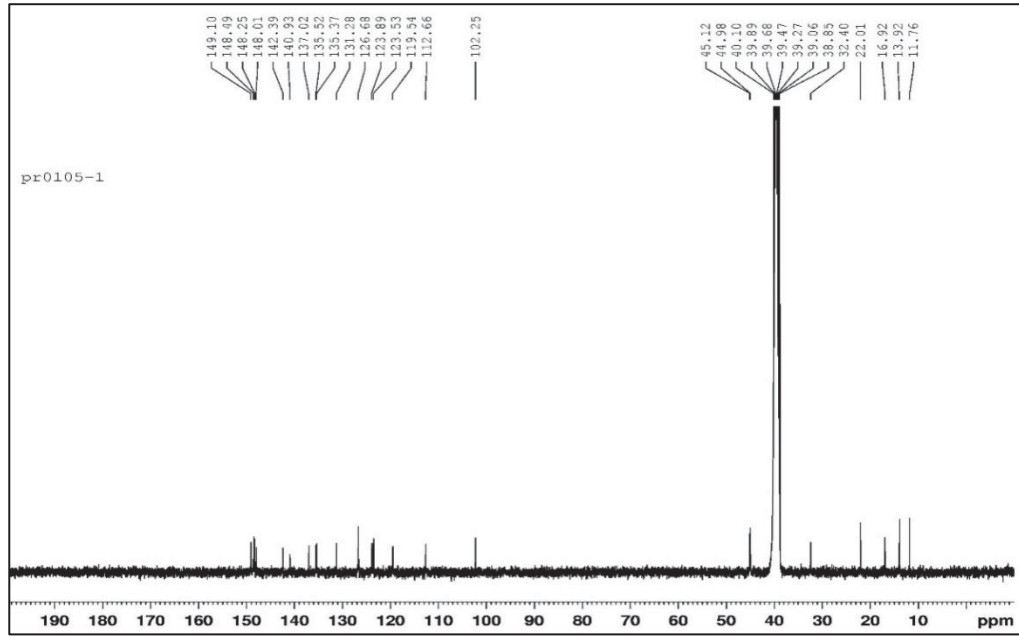


Şekil 2.25. Bileşik 18'in FT-IR spektrumu

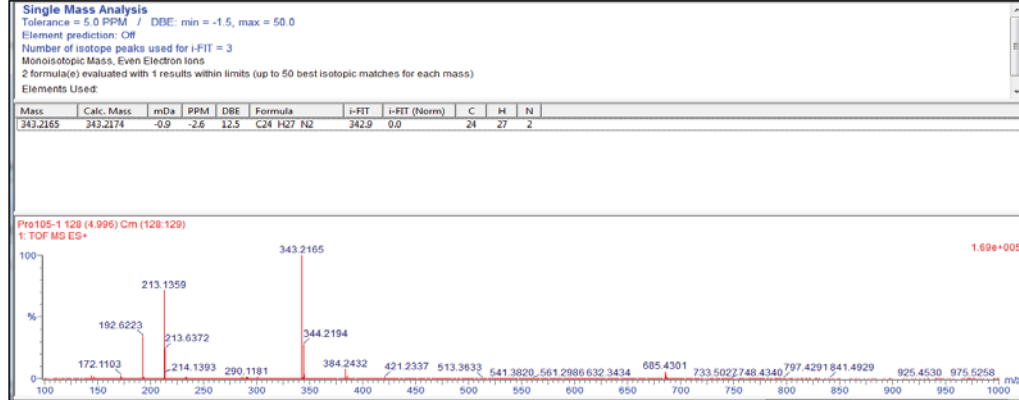


Şekil 2.26. Bileşik 18'in ^1H -NMR spektrumu

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

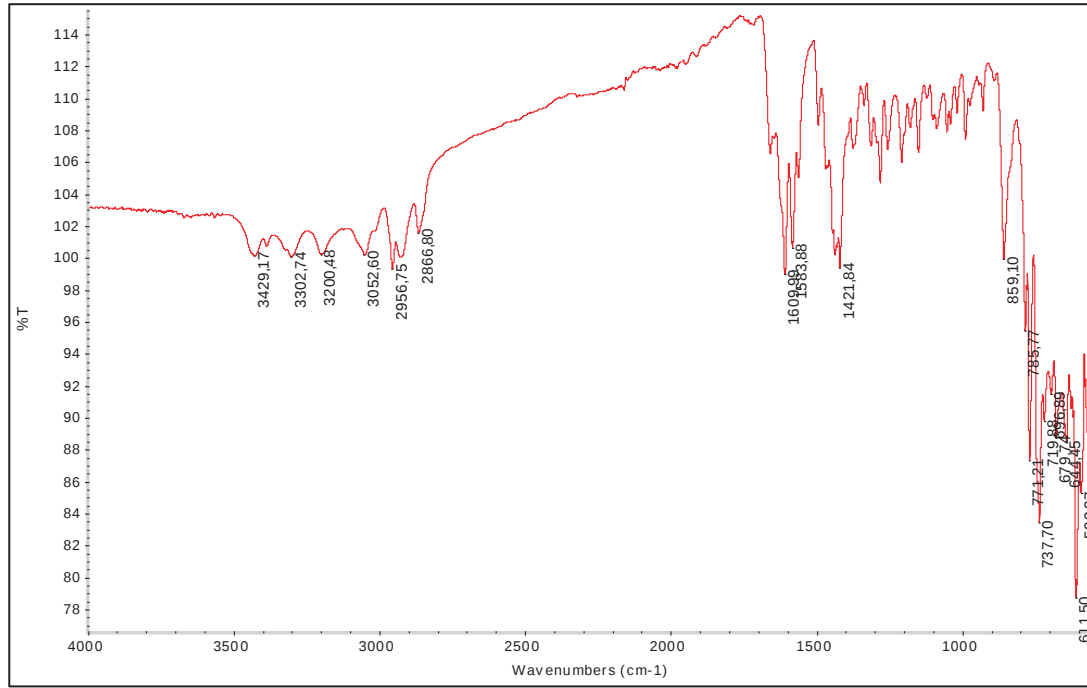


Şekil 2.27. Bileşik 18'in ^{13}C -APT spektrumu

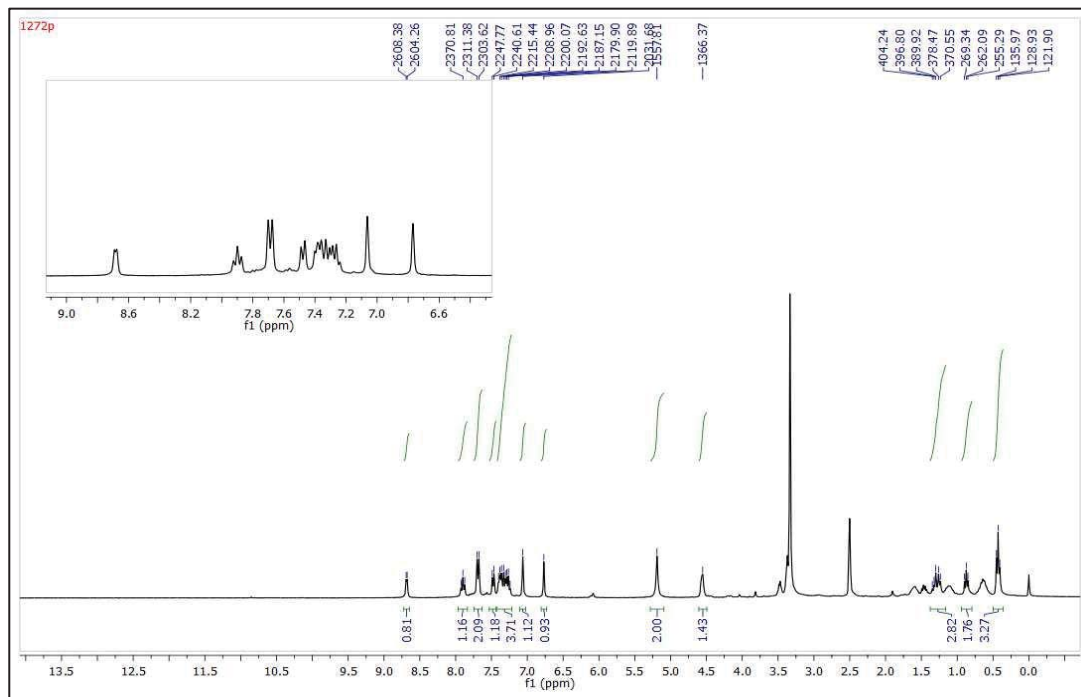


Şekil 2.28. Bileşik 18'in HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

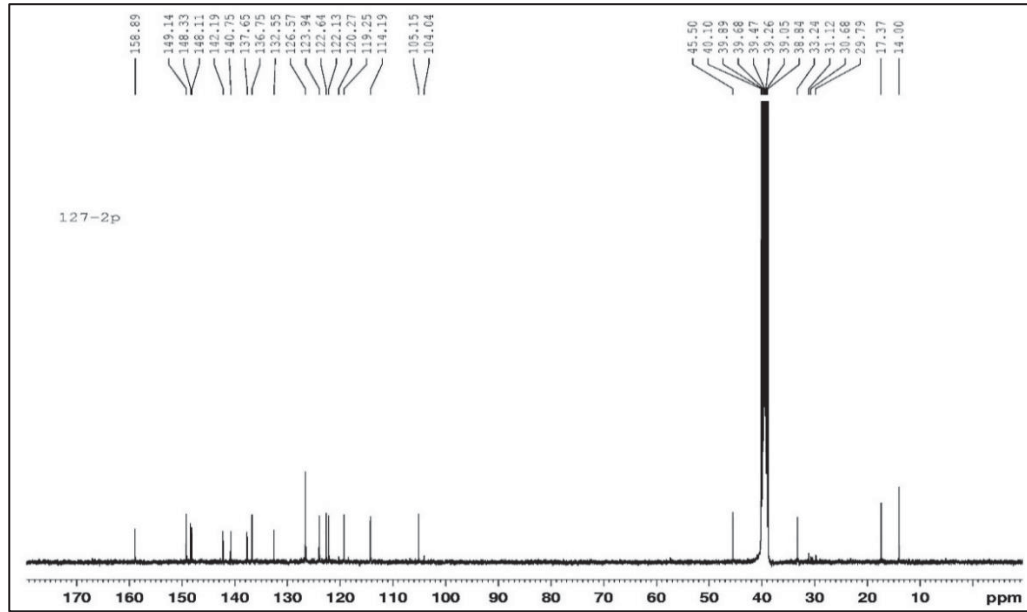


Şekil 2.29. Bileşik 19'un FT-IR spektrumu

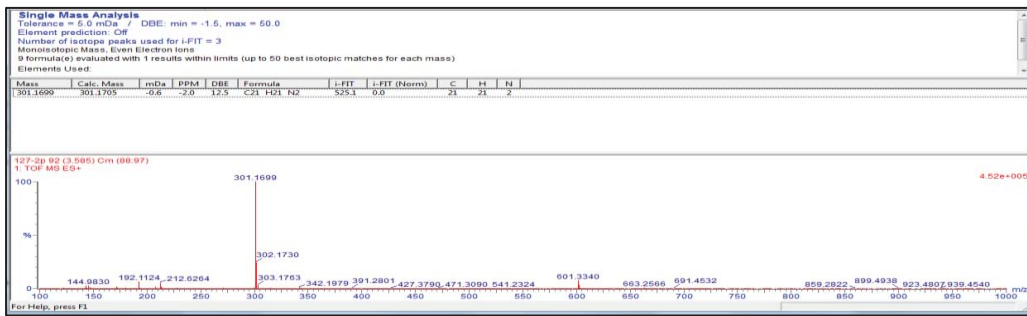


Şekil 2.30. Bileşik 19'un ^1H -NMR spektrumu.

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

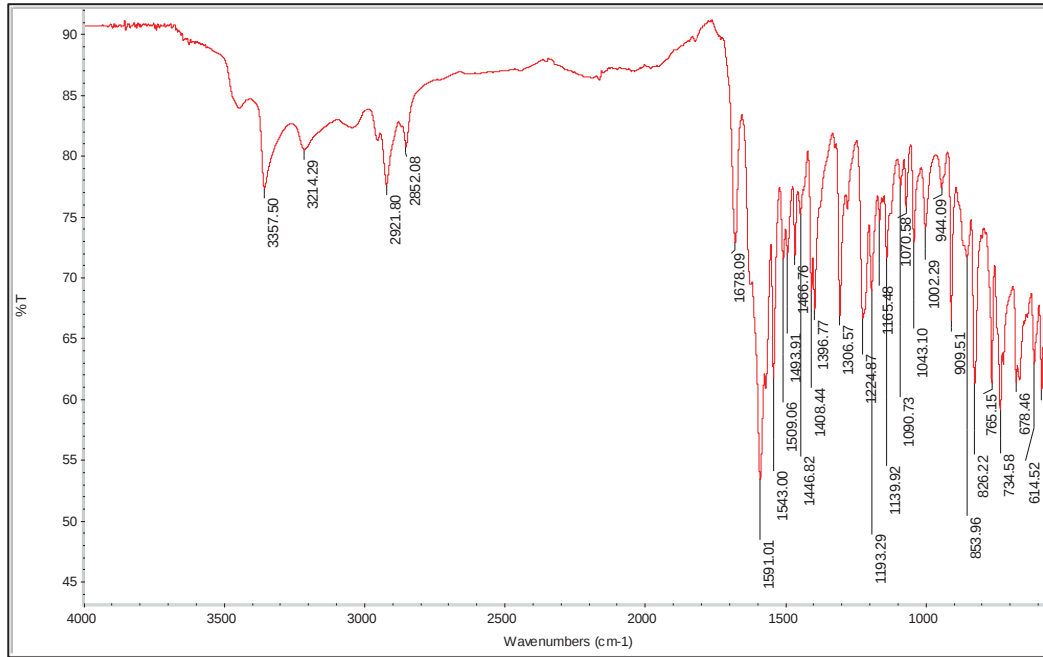


Şekil 2.31. Bileşik 19'un ^{13}C -APT spektrumu

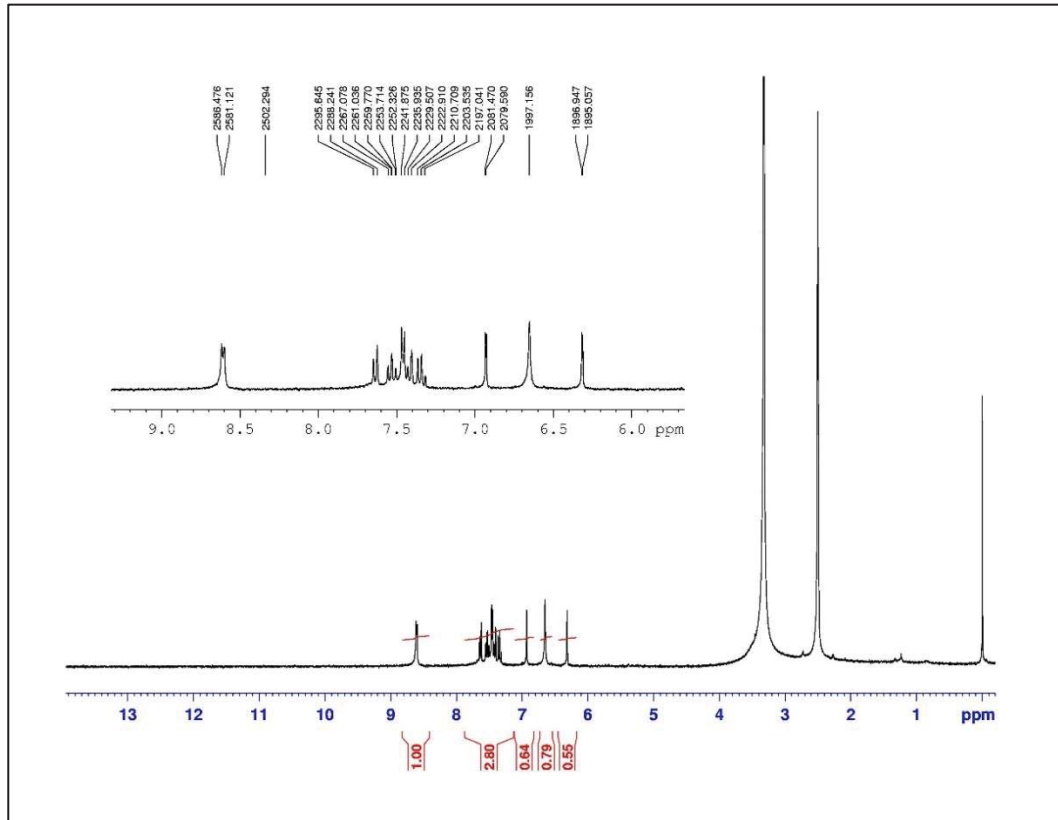


Şekil 2.32. Bileşik 19'un HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

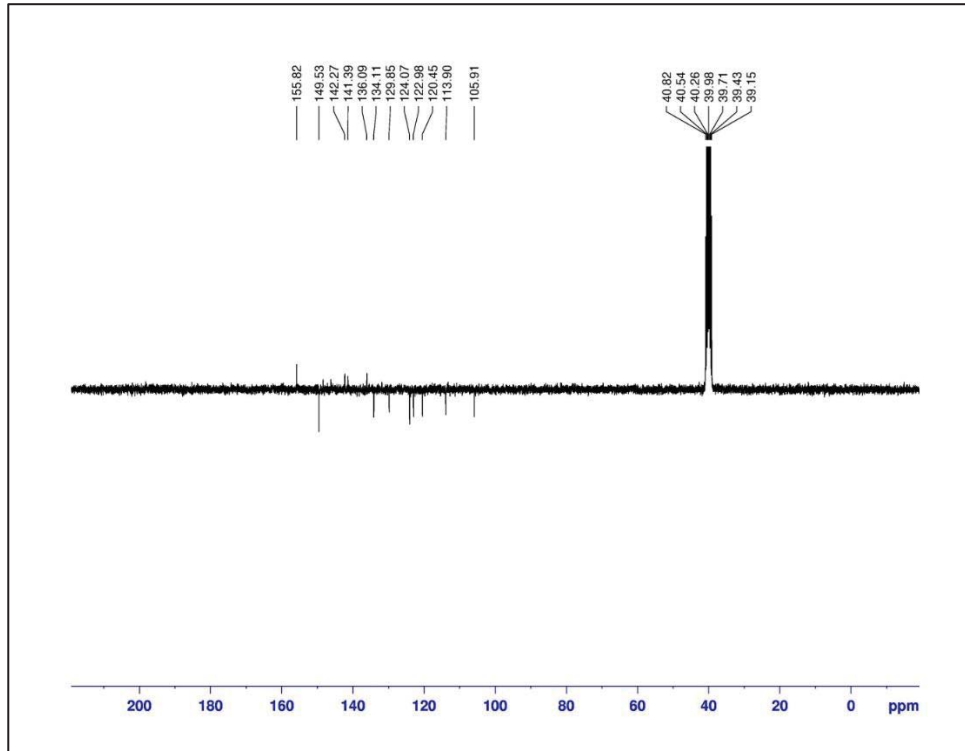


Şekil 2.33. Bileşik 20'nin FT-IR spektrumu

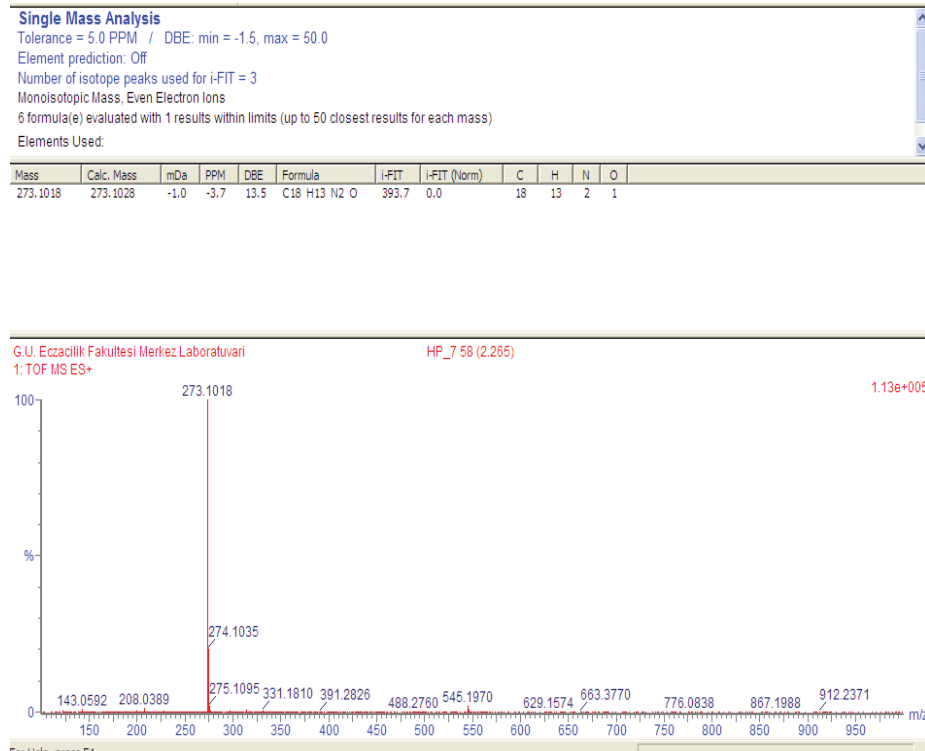


Şekil 2.34. Bileşik 20'nin ^1H -NMR spektrumu

EK-2. (devam). Bileşik 12- 20'nin FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

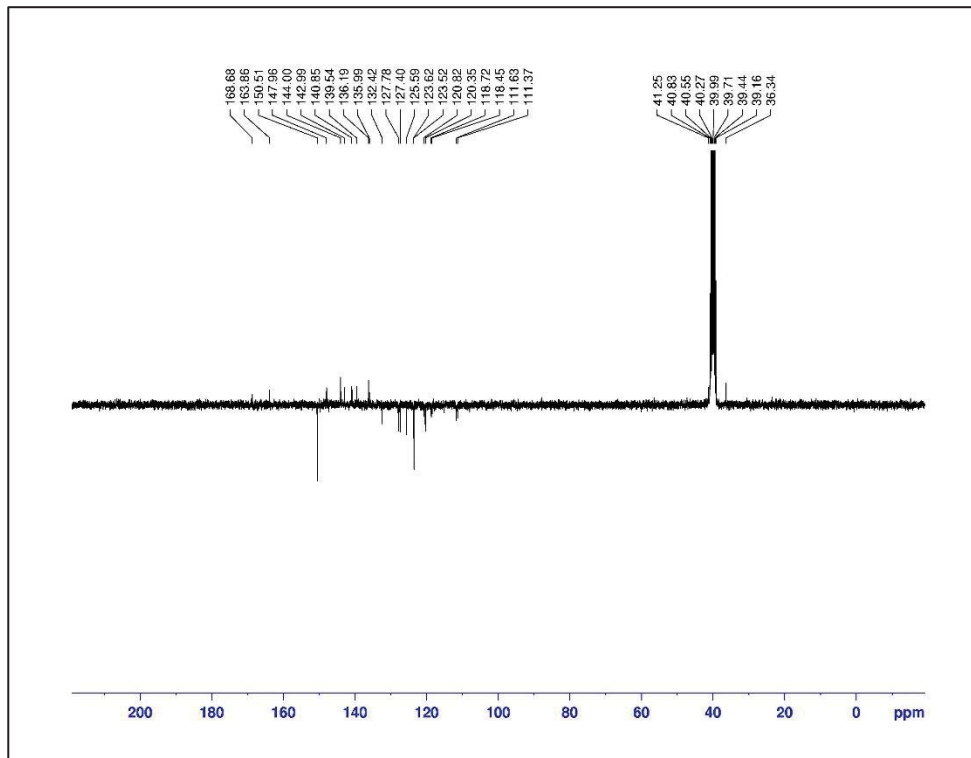


Şekil 2.35. Bileşik 20'nin ^{13}C -APT spektrumu

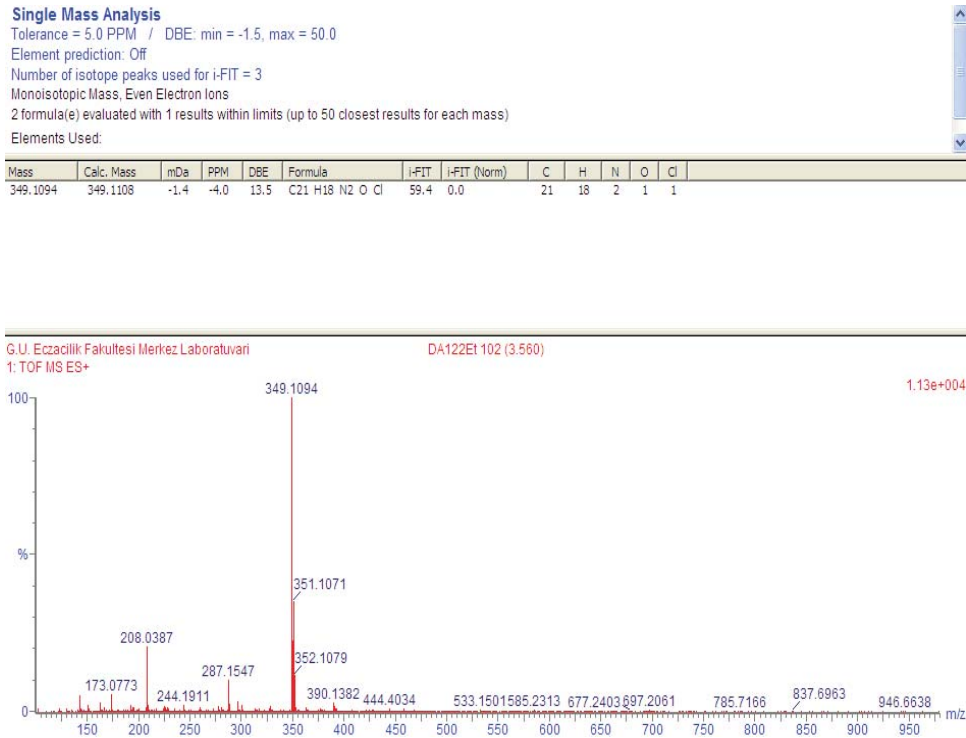


Şekil 2.36. Bileşik 20'nin HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

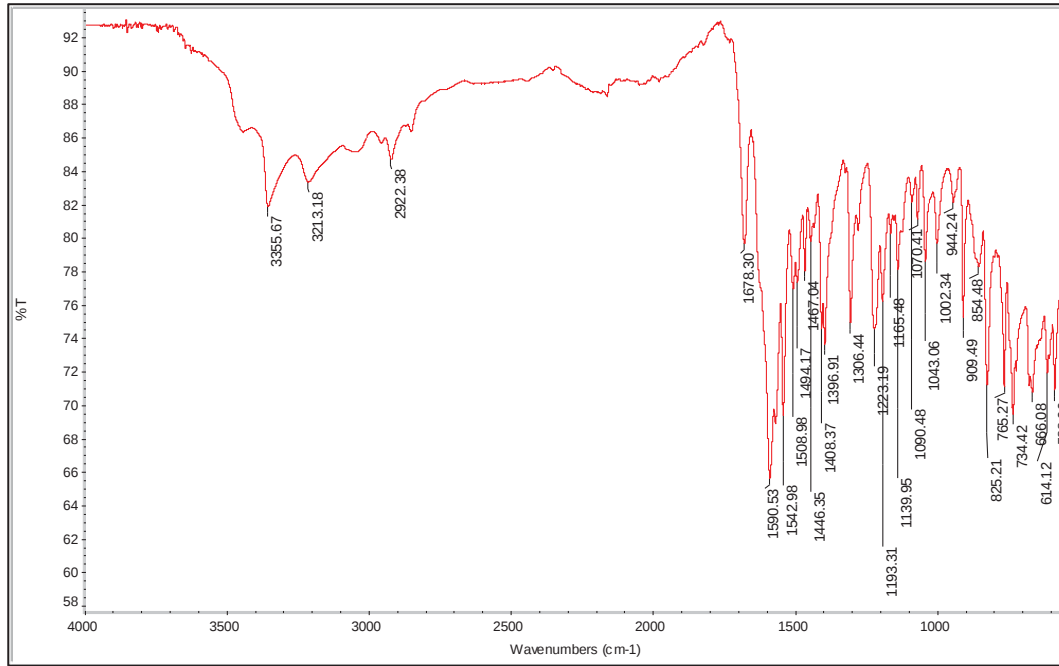


Şekil 3.3. Bileşik 21'in ^{13}C -APT spektrumu

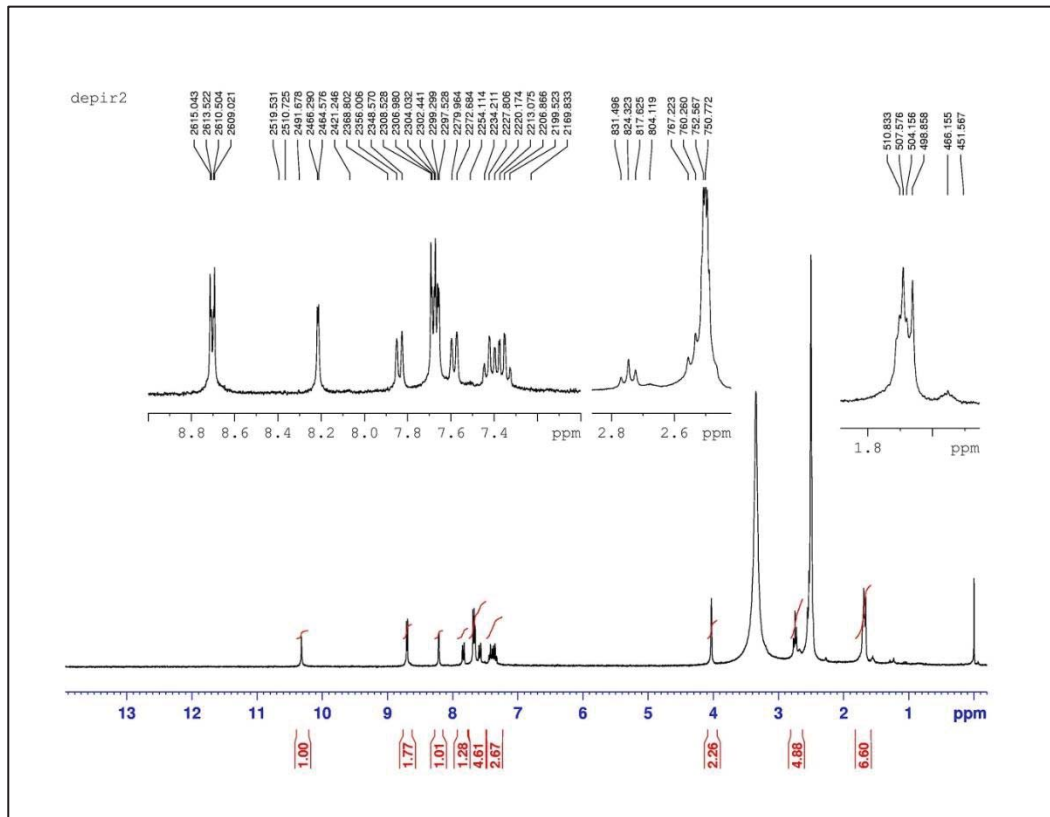


Şekil 3.4. Bileşik 21'in HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

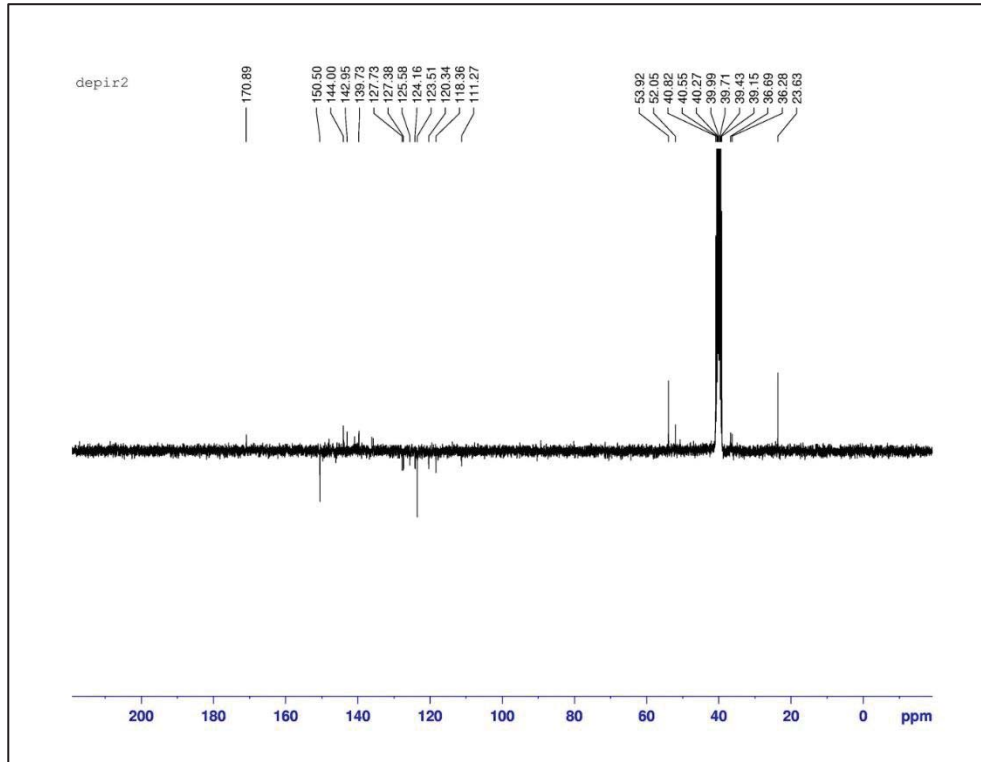


Şekil 3.5. Bileşik 22'nin FT-IR spektrumu

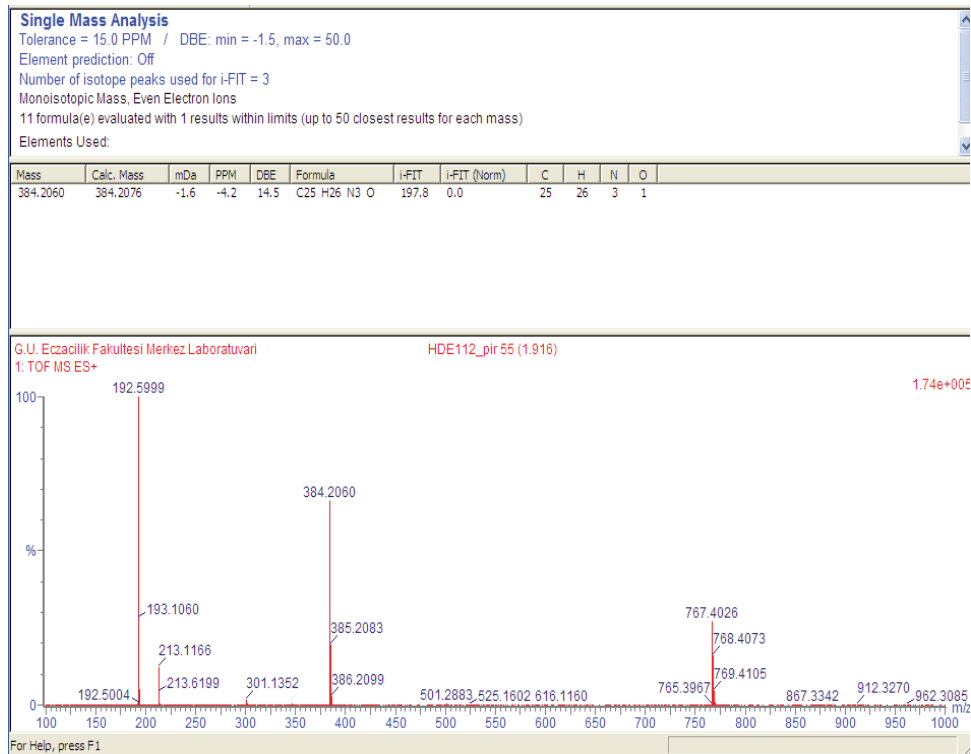


Şekil 3.6. (devam). Bileşik 22'nin ^1H -NMR spektrumu.

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

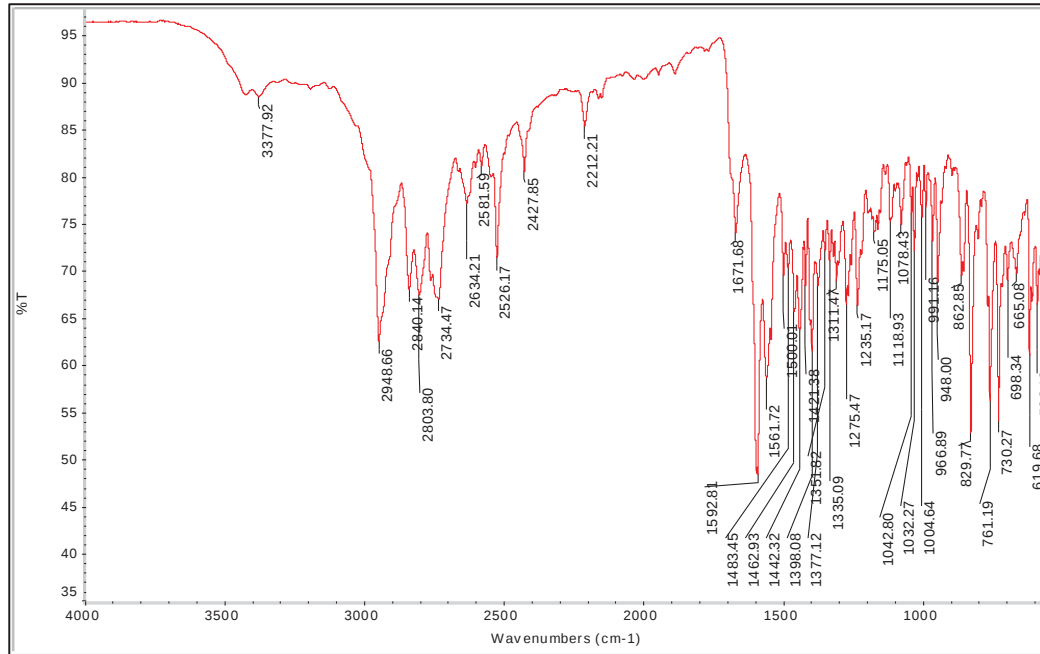


Şekil 3.7. Bileşik 22'nin ^{13}C -APT spektrumu

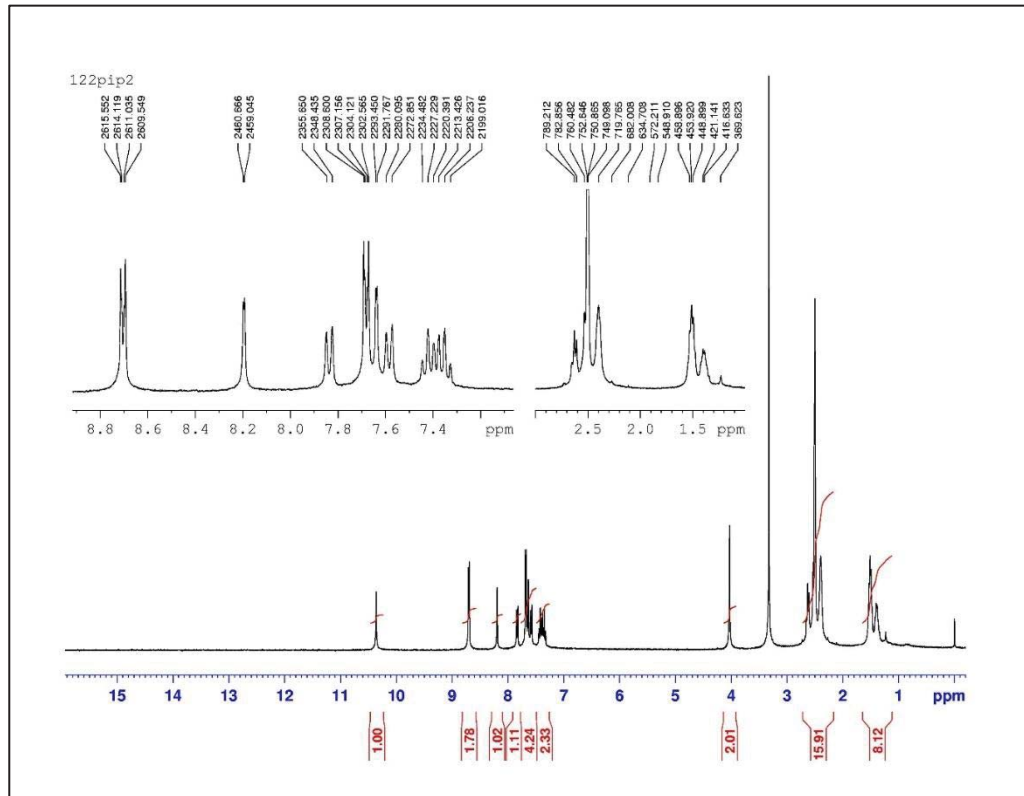


Şekil 3.8. Bileşik 22'nin HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

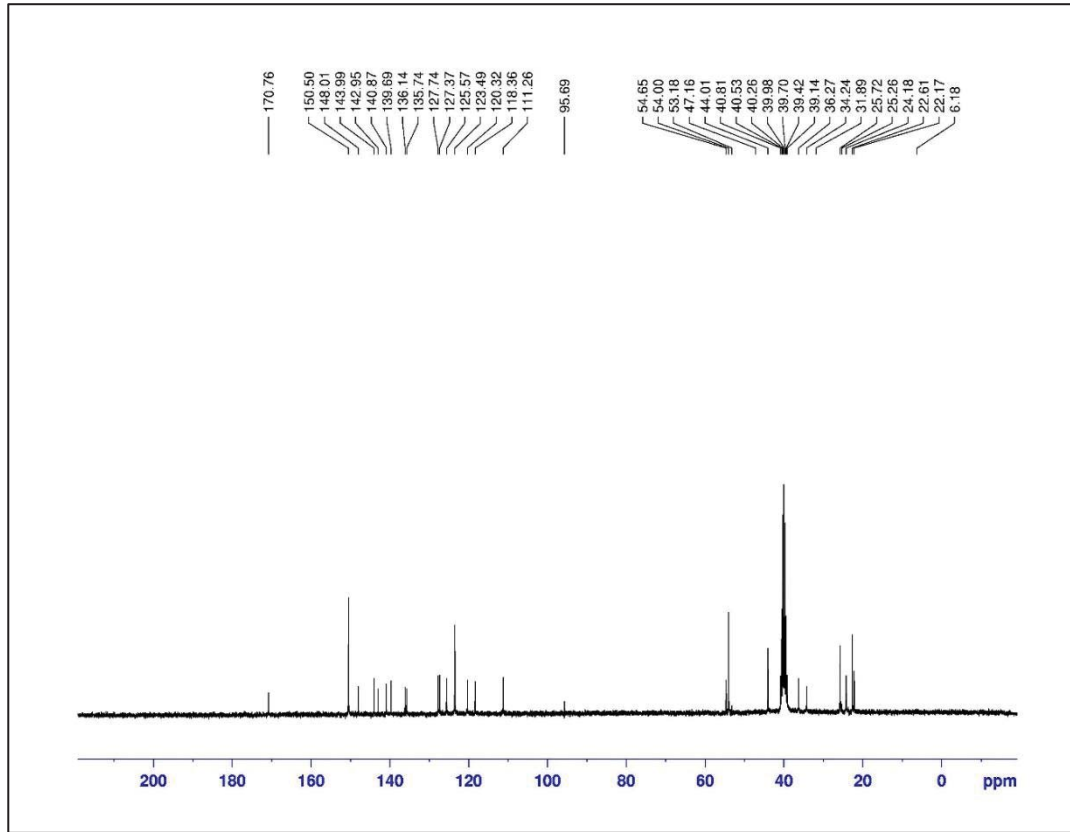


Şekil 3.9. Bileşik 23'ün FT-IR spektrumu

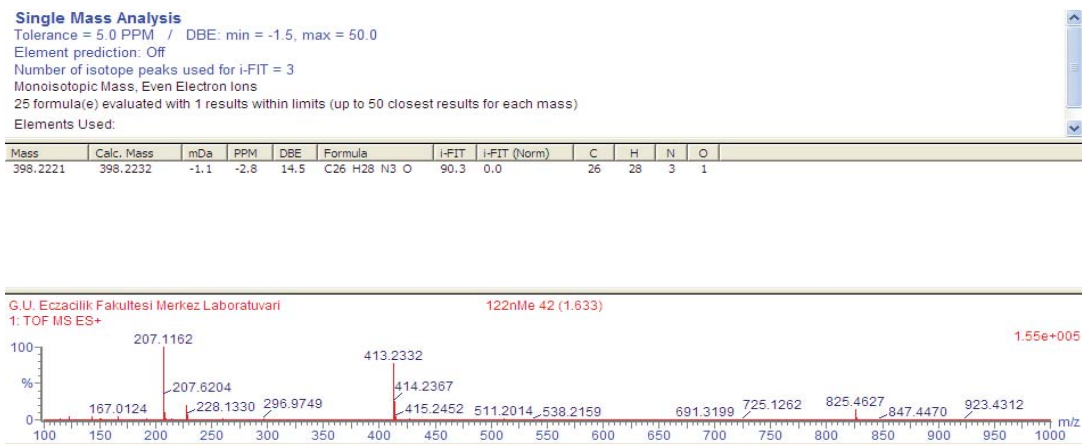


Şekil 3.10. Bileşik 23'ün ^1H -NMR spektrumu.

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

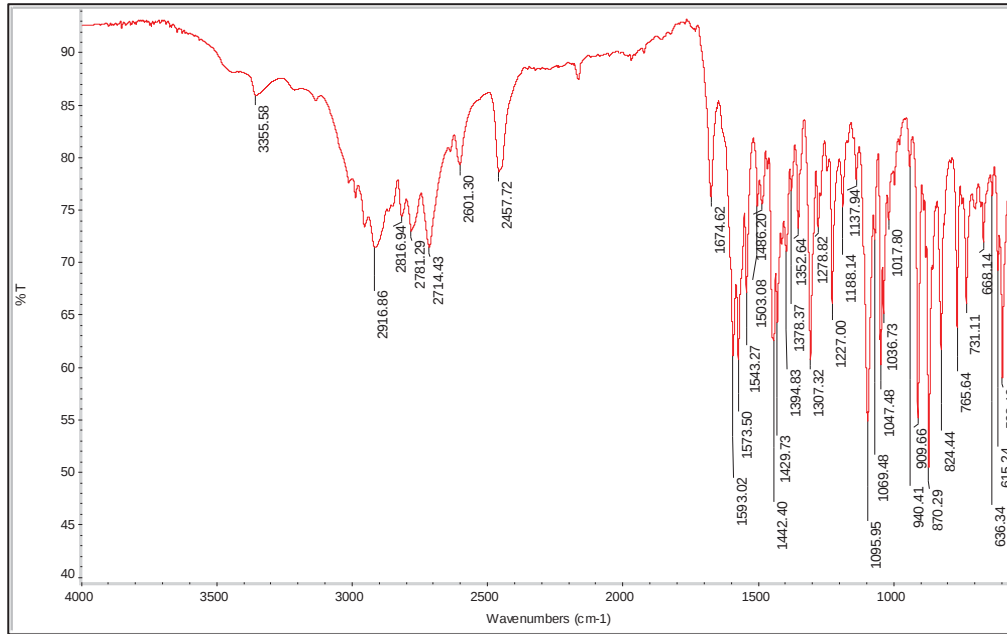


Şekil 3.11. Bileşik 23'ün ^{13}C -APT spektrumu

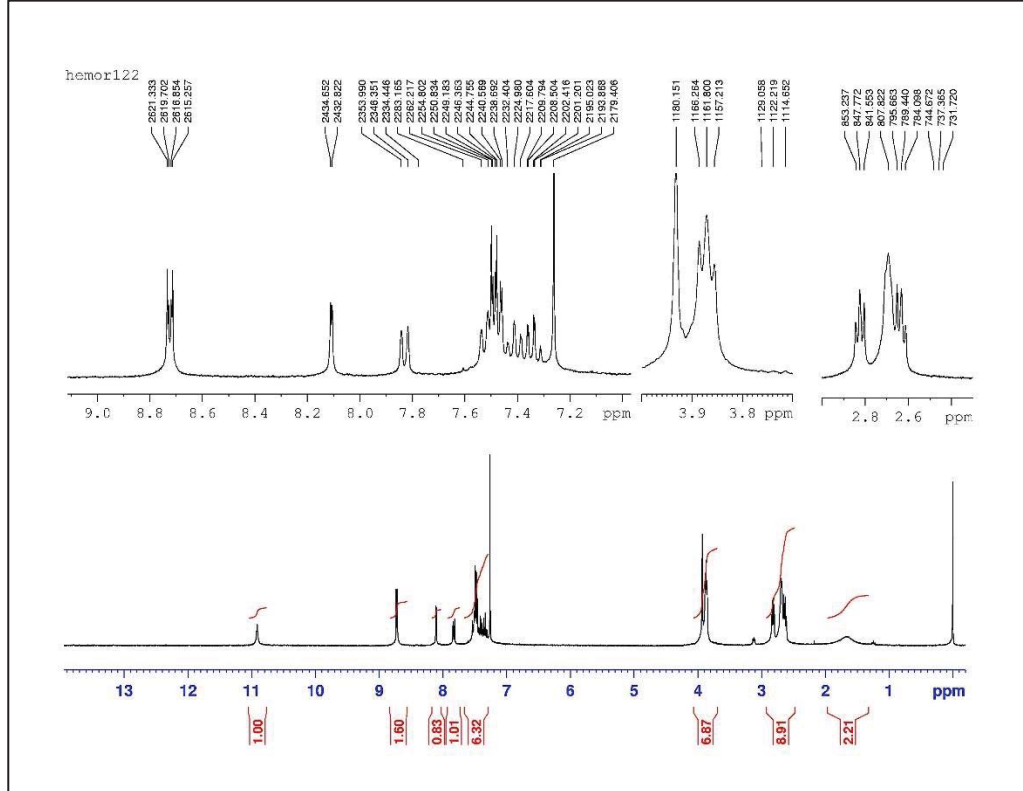


Şekil 3.12. Bileşik 23'ün HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

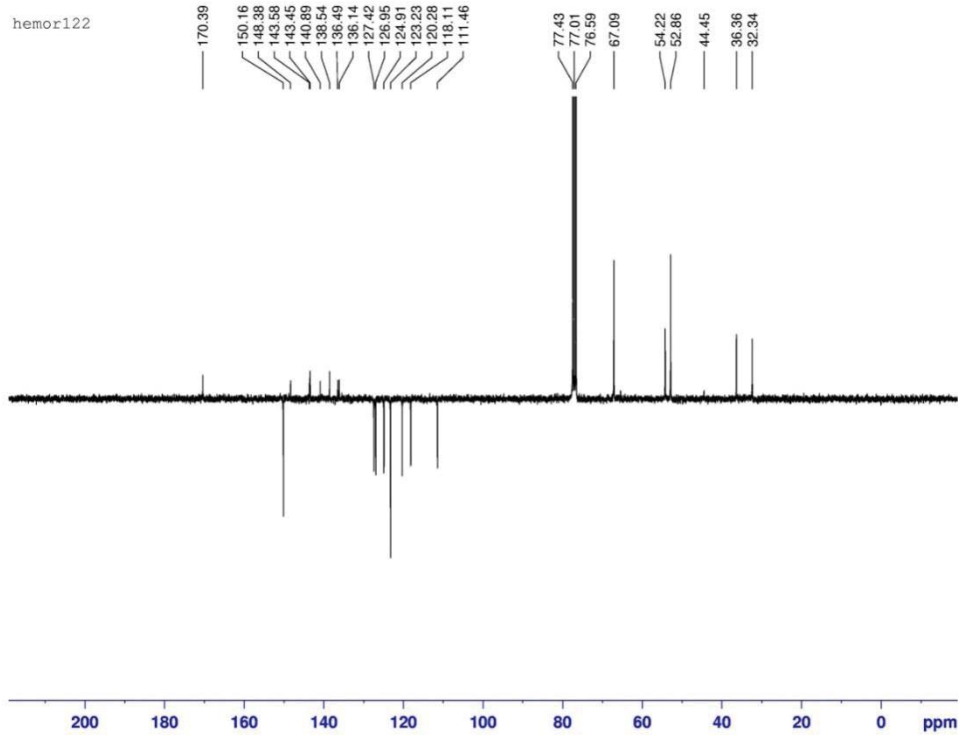


Şekil 3.13. Bileşik 24'ün FT-IR spektrumu



Şekil 3.14. Bileşik 24'ün ^1H -NMR spektrumu.

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları



Şekil 3.15. Bileşik 24'ün ^{13}C -APT spektrumu

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

51 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)

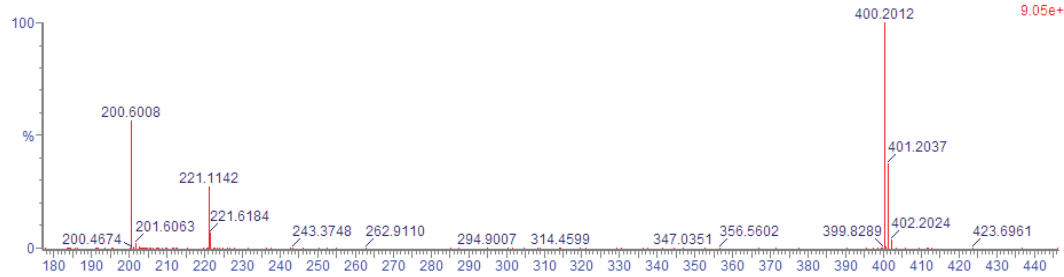
Elements Used:

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT (Norm)	C	H	N	O	190Pt	192Pt	194Pt	195Pt	196Pt	198Pt
400.2012	400.2025	-1.3	-3.2	14.5	C ₂₅ H ₂₆ N ₃ O ₂	32.3	0.0	25	26	3	2						

G.U. Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı

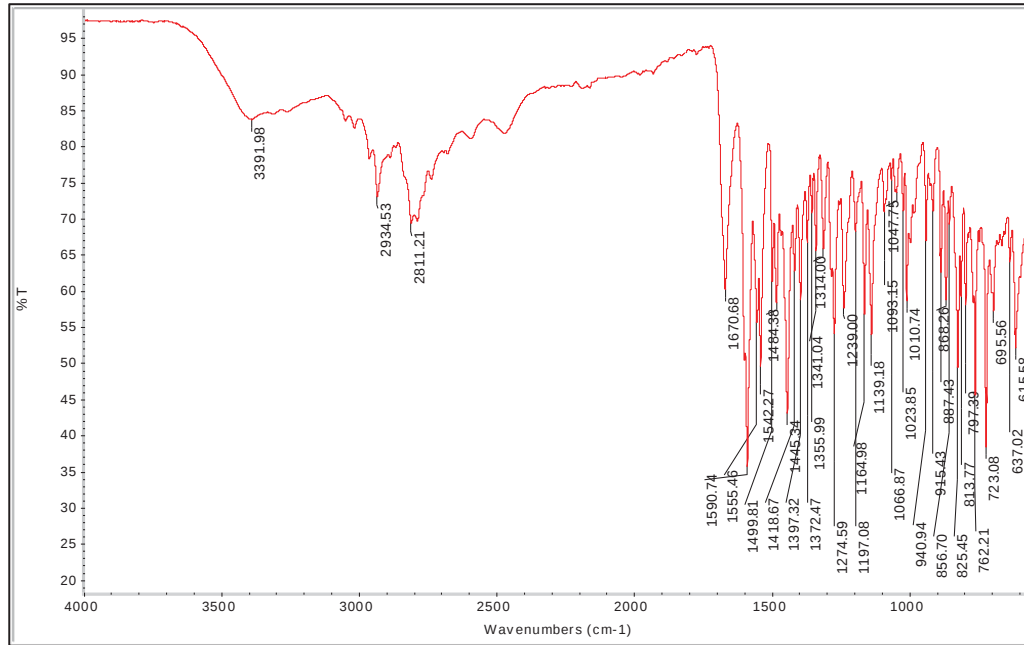
Hde122mor_02 57 (2.002) Cm (57-(9:17+177:198))

1: TOF MS ES+

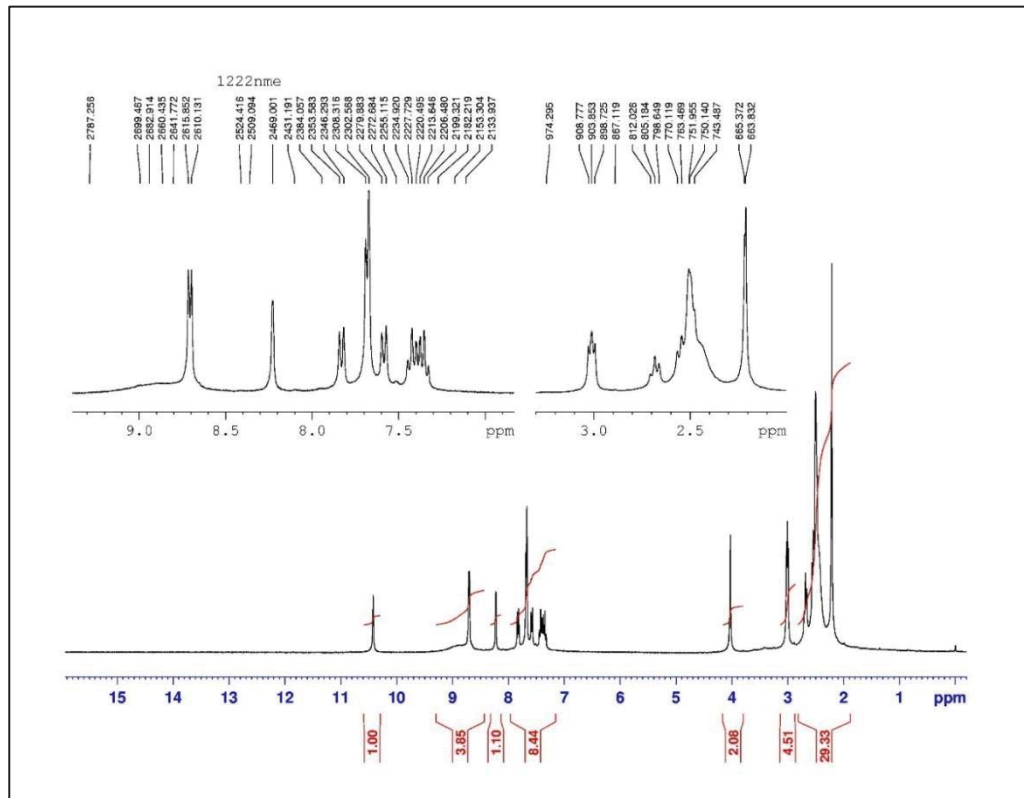


Şekil 3.16. Bileşik 24'ün HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

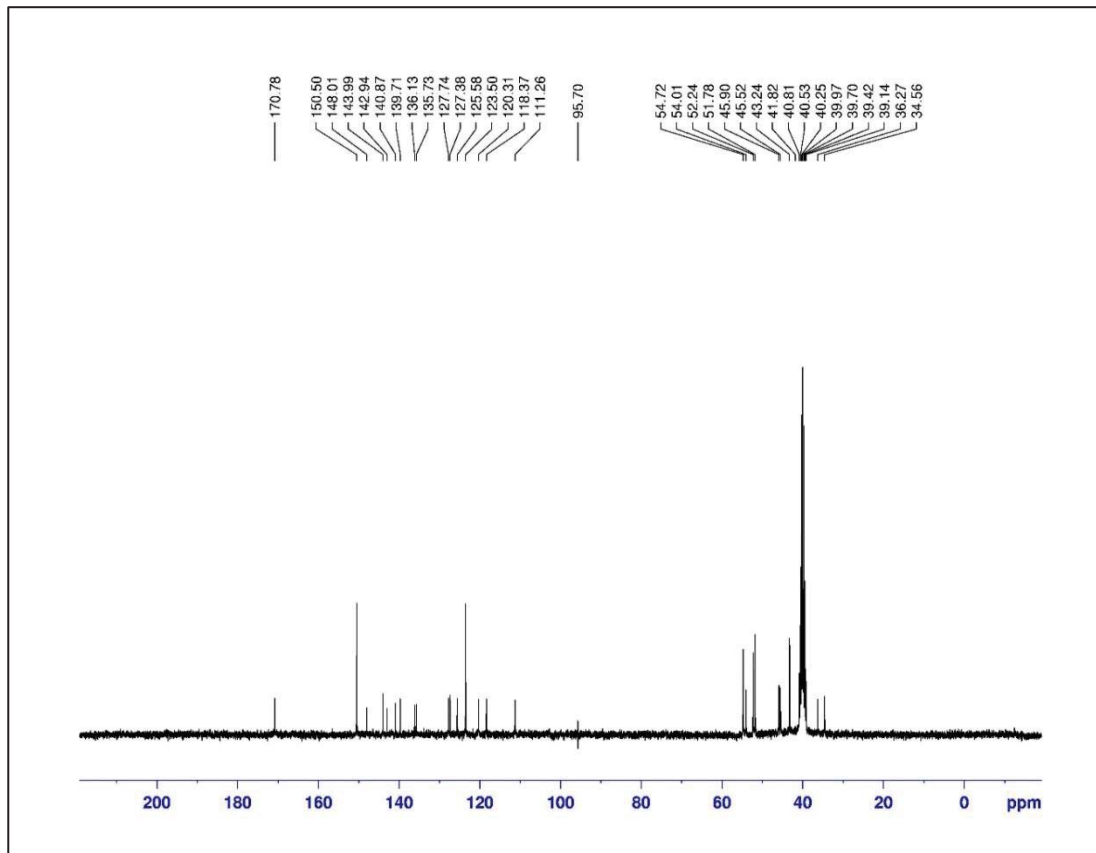


Şekil 3.17. Bileşik 25'in FT-IR spektrumu

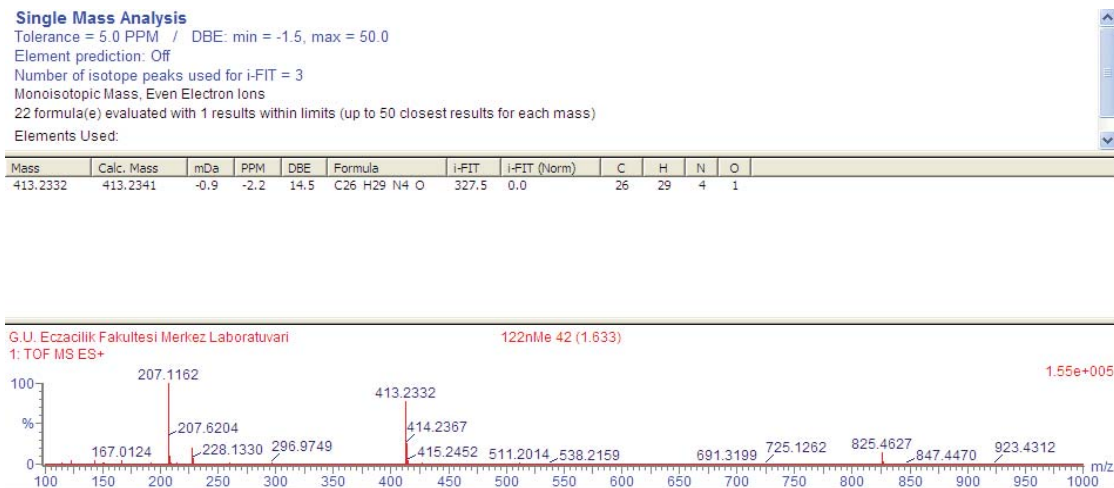


Şekil 3.18. Bileşik 25'in ^1H -NMR spektrumu.

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

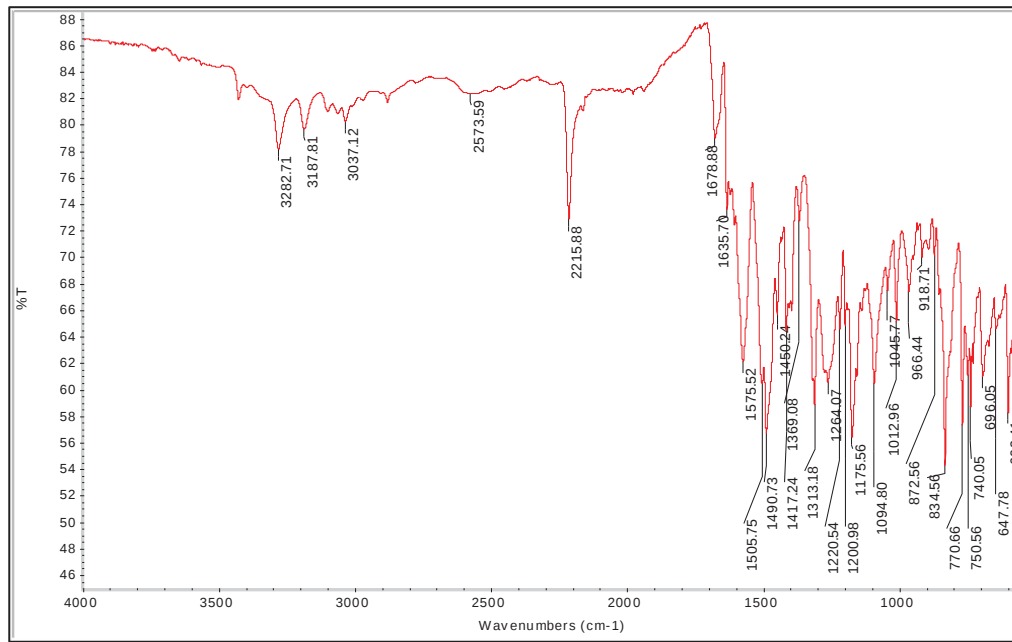


Şekil 3.19. Bileşik 25'in ^{13}C -APT spektrumu

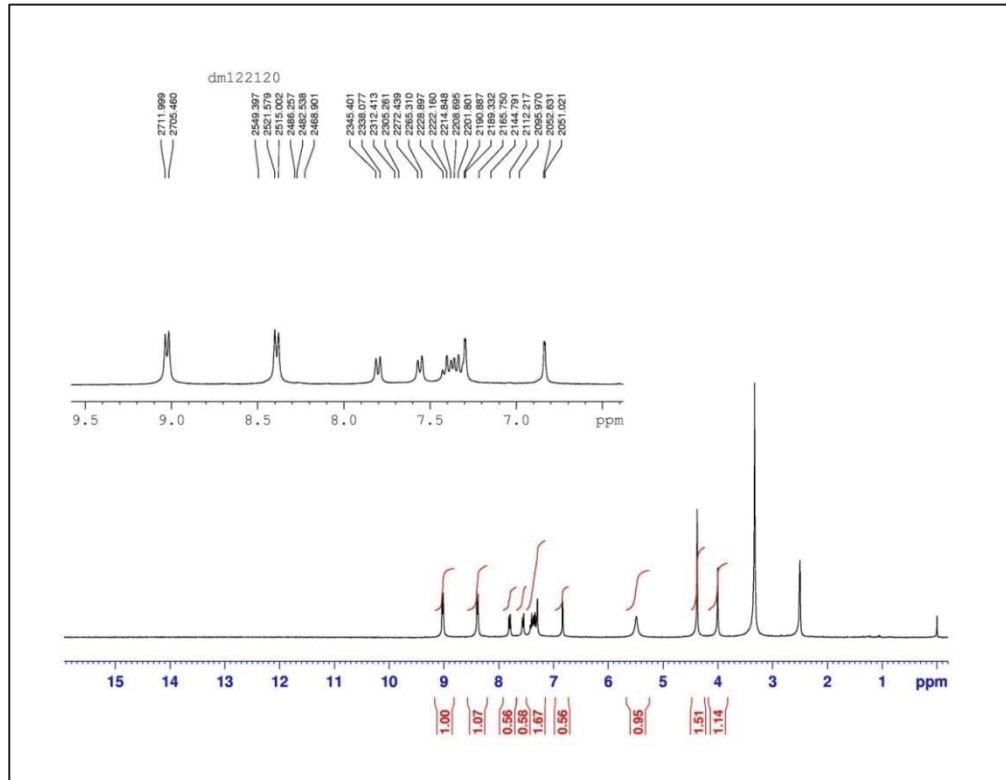


Şekil 3.20. Bileşik 25'in HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

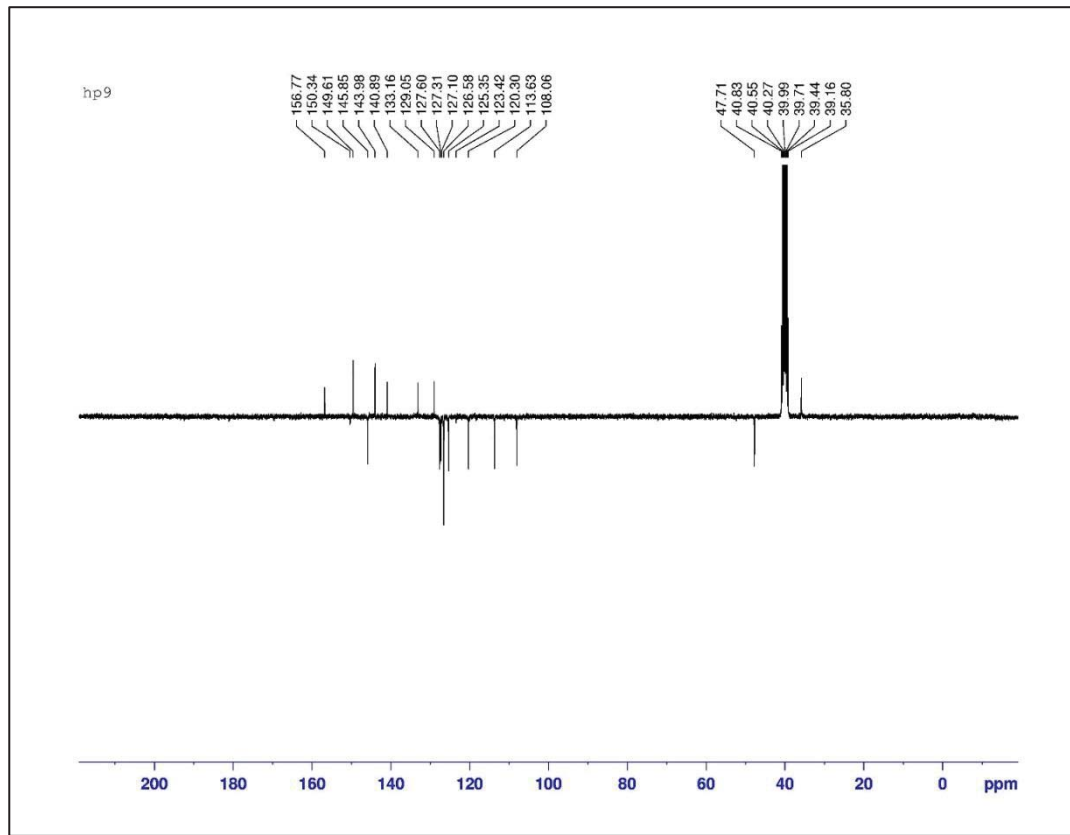


Şekil 3.21. Bileşik 26'nın FT-IR spektrumu

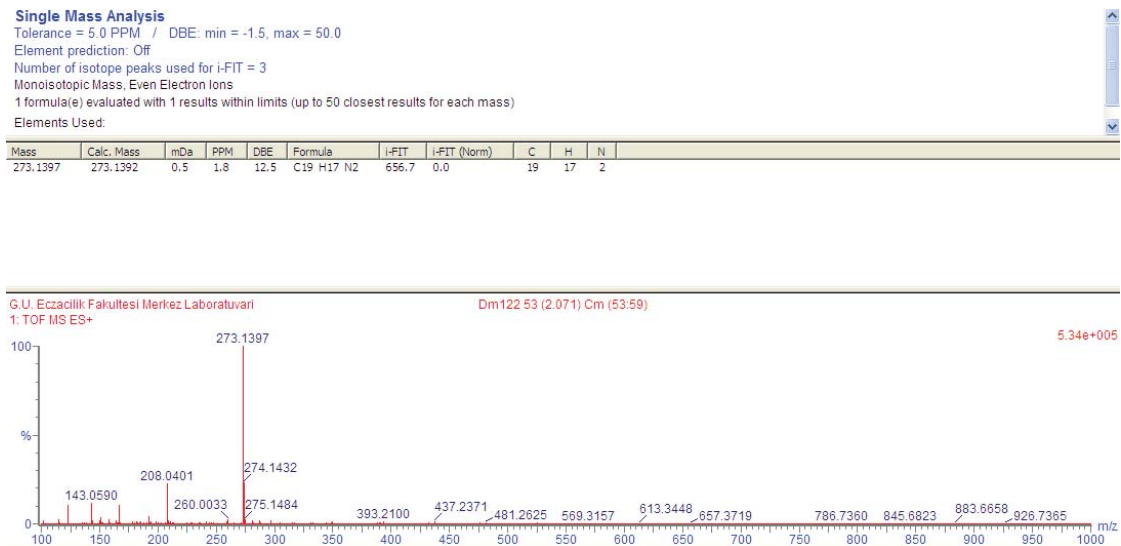


Şekil 3.22. Bileşik 26'nın ^1H -NMR spektrumu.

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

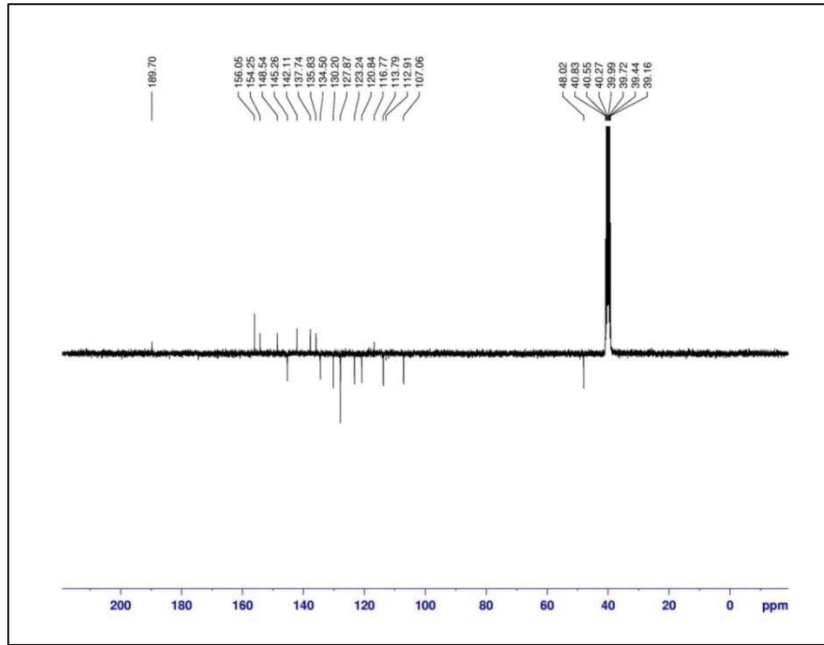


Şekil 3.23. Bileşik 26'nın ^{13}C -APT spektrumu

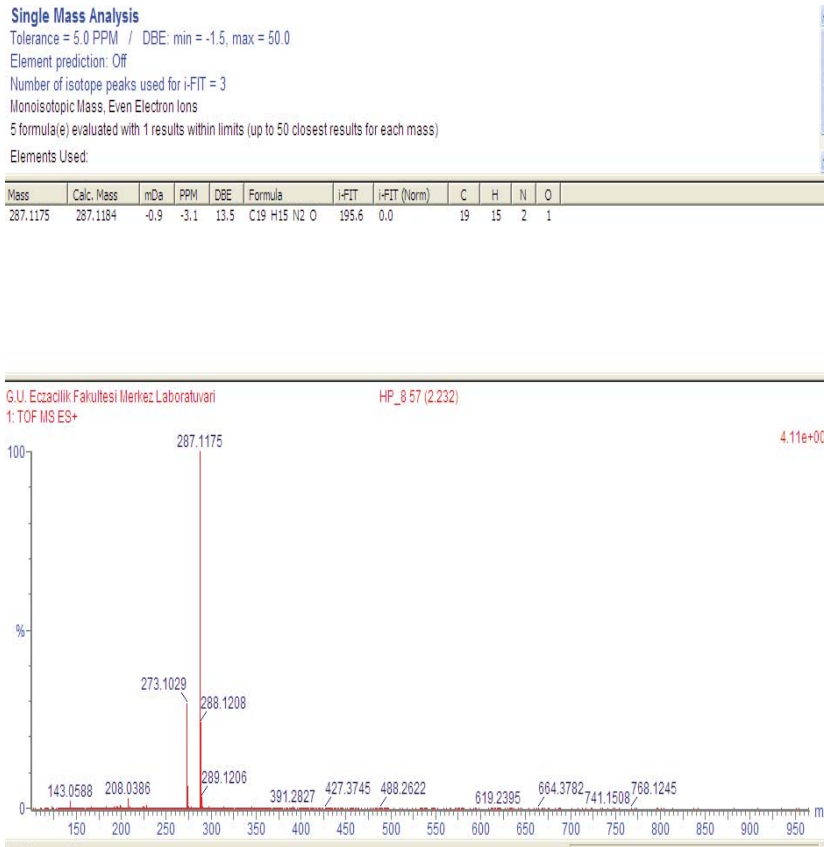


Şekil 3.24. Bileşik 26'nın HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

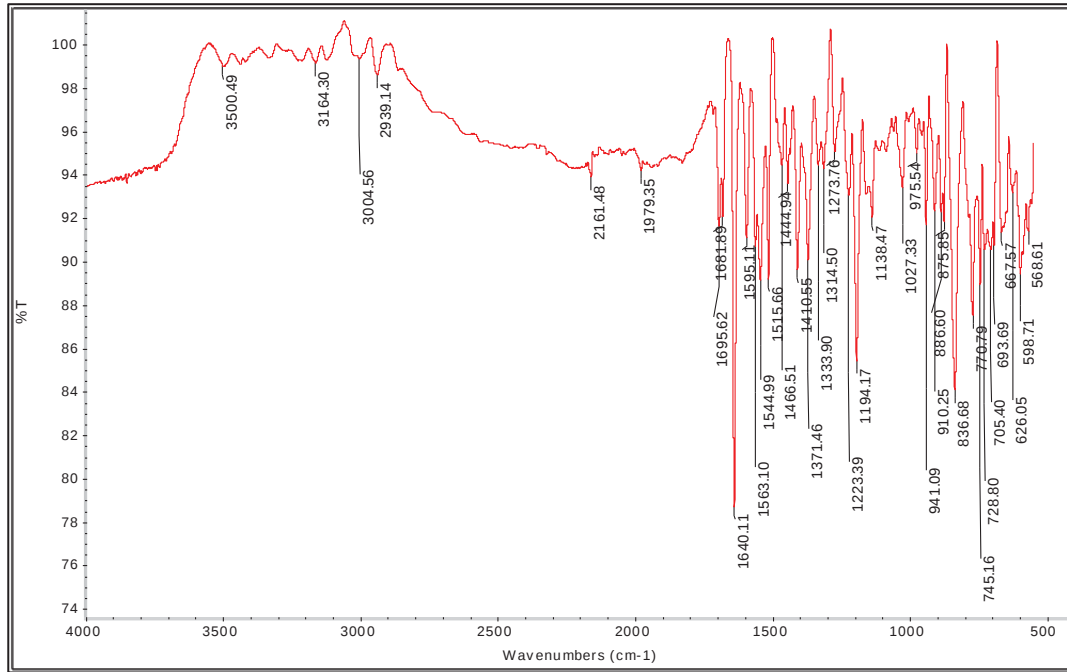


Şekil 3.27. Bileşik 27'nin ^{13}C -APT spektrumu

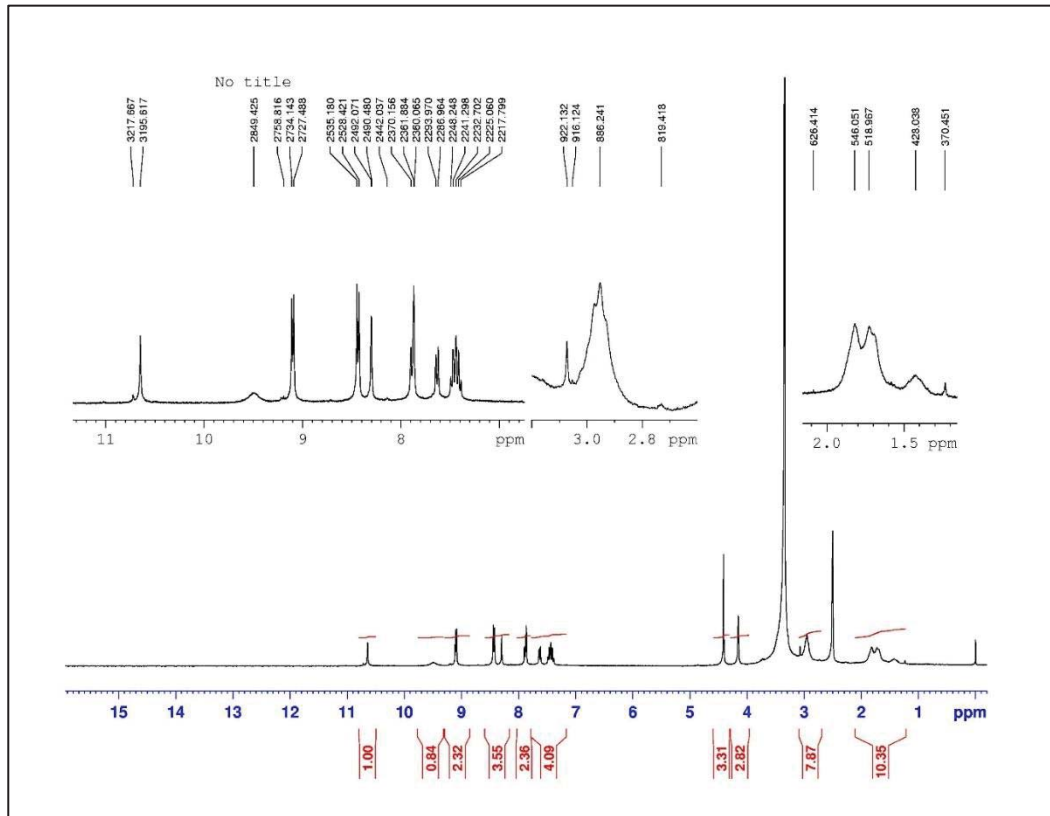


Şekil 3.28. Bileşik 27'nin HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları

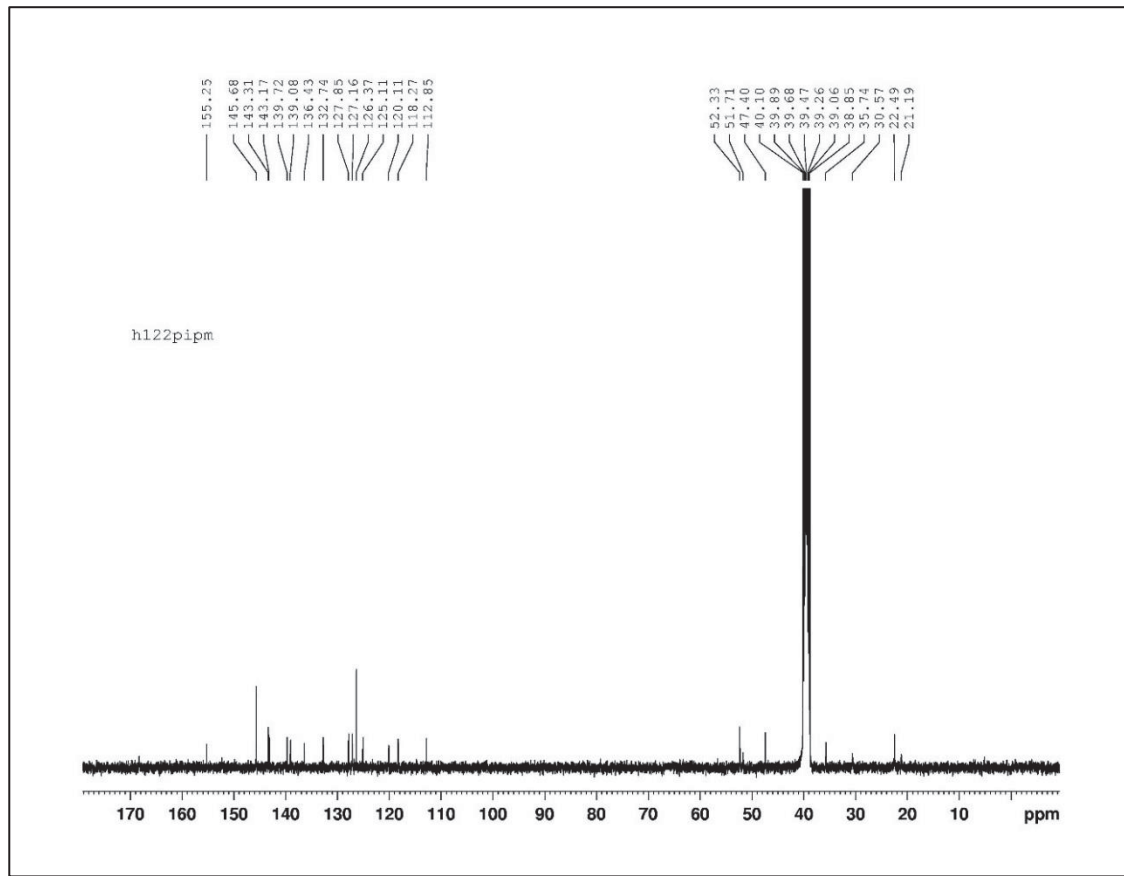


Şekil 3.29. Bileşik 28'in FT-IR spektrumu



Şekil 3.30. Bileşik 28'in ^1H -NMR spektrumu

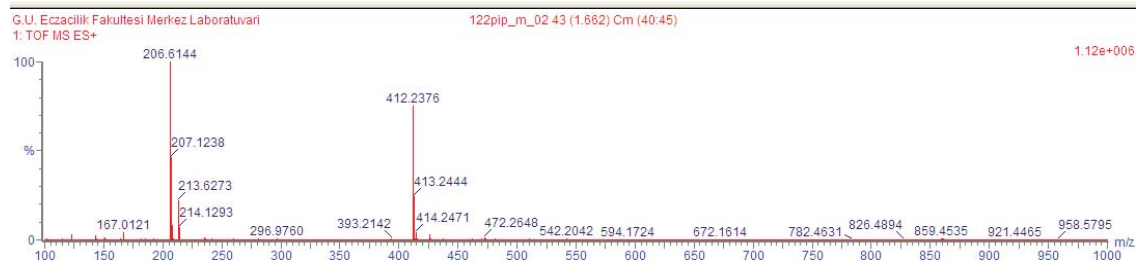
EK-3. (devam). Bileşik 21 - 28'in FT-IR, ^1H -NMR, ^{13}C -APT, HR-MS spektrumları



Şekil 3.31. Bileşik 28'in ^{13}C -APT spektrumu

Single Mass Analysis
Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0
Element prediction: Off
Number of isotope peaks used for i-FIT = 3
Monoisotopic Mass, Even Electron Ions
7 formula(e) evaluated with 1 results within limits (up to 50 closest results for each mass)
Elements Used:

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT (Norm)	C	H	N	O
412.2376	412.2389	-1.3	-3.2	14.5	C ₂₇ H ₃₀ N ₃ O	591.2	0.0	27	30	3	1



Şekil 3.32. Bileşik 28'in HR-MS spektrumu ve kütle doğrulaması

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : DUYAR, Halil
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 13.05.1990, İzmir
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0(262)605 3121
 e-mail : halilduyar@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi/Kimya Bölümü	Devam Ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi/Kimya Bölümü	2014
Lise	Eşrefpaşa Anadolu Lisesi	2008

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2018 - Halen	Gebze Teknik Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
2014 – 2018	Gazi Üniversitesi	Proje Asistanı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Elmacı, G., Duyar, H., Aydın, B., Seferoğlu, N., Naziri, M. A., Şahin, E., Seferoğlu, Z. (2018). The syntheses, molecular structure analyses and DFT studies on new benzil monohydrazone based Schiff bases., *Journal of Molecular Structure*, 1162, 37-44.

Yalçın, E., Duyar, H., İhmels H., Seferoğlu, Z. (2018). Spectroscopic studies on the interactions of 5-ethyl-6-phenyl-3, 8-bis ((3-aminoalkyl) propanamido) phenanthridin-5-ium derivatives with G-quadruplex DNA. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 160;196, 432-438.

Elmacı, G., Duyar, H., Aydın, B., Yahaya, I., Seferoğlu, N., Şahin, E., Seferoğlu, Z. (2019). Novel benzildihydrazone based Schiff bases: Syntheses, characterization, thermal properties, theoretical DFT calculations and biological activity studies. *Journal of Molecular Structure*, 1184, 271-280.

Yalçın, E., Duyar, H., Çakmaz D., Şahin E., Seferoğlu, Z. (2019). The synthesis of blue emitting 3-Amino-1-hetarylfluorenes and their unprecedented alkylated derivatives. *Tetrahedron*, 130464.

Hobiler

Yüzme, Spor



GAZİ GELECEKTİR..