

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FERROSENÖL TİYOFEN TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Faruk USLU

ŞUBAT 2012

Kimya Anabilim Dalında Faruk USLU tarafından hazırlanan FERROSENOİL TİYOFEN TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Zeki ÖKTEM
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Doç. Dr. Mustafa TOMBUL
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Adnan BULUT

Doç. Dr. Mustafa TOMBUL

Doç. Dr. Mustafa TÜRK

...../...../.....

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Doç. Dr. Erdem Kamil YILDIRIM
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Canım Ablama,

ÖZET

FERROSENOİL TİYOFEN TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

USLU, Faruk

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Mustafa TOMBUL

Şubat 2012, 72 Sayfa

Bu tezde, Ferrosenoiltiyofen türevlerinin sentezi ve biyolojik aktiviteleri çalışılmıştır. Ferrosenin tiyofenil türevleri Friedel-Crafts açılme reaksiyonları ile etilalüminyumklorür, EtAlCl_2 , katalizörü kullanılarak sentezlenmiştir. İzole verimler %43 ile %80 aralığında elde edilmiştir. Sentezlenen ürünlerin saflaştırılmaları kolon kromatografisi ile yapıldıktan sonra spektroskopik yöntemlerle (^1H NMR, ^{13}C NMR ve FT-IR) yapıları aydınlatılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktivite çalışmalarında WST-1 metodu ile sitotoksiteleri ve ikili boyama metodu ile apoptozun ve nekrozun belirlenmesi çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında IV Numaralı bileşiğin yüksek derecede antikanserojen etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Ferrosen, Biyolojik Aktivite, Tiyofen, Friedel-Crafts, Antikanserojen

ABSTRACT

THE SYNTHESSES OF FERROCENOYL THIOPENE DERIVATIVES AND INVESTIGATION OF THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES

USLU, Faruk

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry, M.Sc. Thesis

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Mustafa TOMBUL

February 2012, 72 Pages

In this thesis the syntheses and biological activity of ferrocenoyl thiophene derivatives have been studied. The derivatives of ferrocenoyl thiophene were synthesised by Friedel-Crafts acylation reactions utilizing ethylaluminiumchloride, EtAlCl_2 , as catalyst. Isolated yields were obtained in the range between %43 and %80. After purification with flash column chromatography, the synthesised products were characterized by spectroscopic methods (^1H NMR, ^{13}C NMR and FT-IR). Biological activity studies conducted on synthesised compounds, WST-1 method have been used for the determination of cytotoxicities and also binary staining method have been used for the determination of apoptosis and necrosis. On the basis of the results obtained so far, compound IV was found to be having the highest anti-cancerogenic effect.

Keywords: Ferrocene, Biological Activity, Thiophene, Friedel-Crafts,
Anti-cancerogenic

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması sırasında eşsiz bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, çalışma boyunca karşılaştığım problemlerin çözümünde, maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen, çalışmanın sonuçlanmasında gayretleri çok fazla olan danışman hocam saygıdeğer Doç. Dr. Mustafa TOMBUL' a sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren, bilimsel çalışma yöntemini öğreten, tezimin başlangıcından sonuna kadar büyük bir sabır, fedakârlık ve emekle tezimde bana destek olan, hakkını hiçbir şekilde ödeyemeyeceğim çok kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Adnan BULUT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sentezlenen bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin incelenmesinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Mustafa TÜRK hocam'a en kalbi duygularıyla teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince bana emeği çok fazla geçen ayrıca her an yanımda olan çok değerli arkadaşım Büşra UÇAR'a sonsuz teşekkür ederim.

Döküman taramasında yardımlarını fazlasıyla gördüğüm arkadaşlarım Aykut BAYKARA, Ünal AKSU ve kuzenim Ayşe YAŞAR'a ne kadar teşekkür etsem azdır.

Her türlü desteğini hayatımın hiçbir aşamasında bırakmayan aileme de çalışmamın sonuçlanmasında gösterdikleri emekler için minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR	x
1.GİRİŞ	1
1.1. Ferrosen	1
1.1.1. Ferrosenin Kimyasal Yapısı.....	2
1.1.2. Ferrosen Sentezi.....	7
1.1.3. Ferrosenin Reaksiyonları	8
1.1.4. Ferrosenin Uygulama Alanları.....	10
1.1.5. Ferrosenin Biyolojik Aktivitesi	10
1.2. Heterohalkalı Aromatik Bileşikler	14
1.3. Tiyofen	17
1.3.1. Tiyofenin Kimyasal Yapısı.....	18
1.3.2. Tiyofenin Elde Edilişi.....	18
1.3.3. Tiyofen Türevlerinin Elde Edilişi	19
1.3.4. Tiyofenin Reaksiyonları	19
1.3.4.1. Proton Bağlanması	19
1.3.4.2. Tiyofenin Halojenlenmesi.....	20
1.3.4.3. Tiyofenin Nitrolanması	21
1.3.4.4. Tiyofenin Sülfolanması.....	21
1.3.4.5. Tiyofenin Açillenmesi.....	22

1.3.4.6. Tiyofenin Alkillemeesi	23
1.3.4.7. Tiyofenin Formaldehit ve Asetonla Asit Katalizli Reaksiyonları.....	23
1.3.4.8. Tiyofenin Klormetilleme Reaksiyonu	24
1.3.4.9. Mannich Reaksiyonu.....	24
1.3.4.10. Diğer Reaksiyonlar.....	24
1.3.5. Tiyofenin Kullanım Alanları	25
1.3.6. Tiyofenin Biyolojik Aktivitesi.....	25
1.4. Friedel-Crafts Alkillemeesi ve Aillemeesi.....	25
1.4.1. Elektrofilik Aromatik Yerdeğiştirme Reaksiyonları.....	26
1.4.2. Friedel-Crafts Alkillemeesi	26
1.4.3. Friedel-Crafts Aillemeesi.....	28
1.4.4. Ferrosen'in Friedel-Crafts Aillemeesi	31
1.5. Biyolojik Aktivitenin İncelenmesinde Kullanılan Testler	31
1.5.1. Sitotoksisite Testleri	31
1.5.2. WST-1 Testi.....	33
1.5.3. Apoptoz.....	34
1.5.4. Nekroz.....	35
1.5.5. Apoptozisin ve Nekrozun Saptanmasında Kullanılan Yöntemler	35
1.5.5.1. Kaspazlar.....	35
1.5.5.2. Floresan Mikroskopisi	36
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	37
2.1. Ferrosenin Tiyofenoil İle Aillemeesi Genel Metodu.....	38
2.2. Ferrosen Bileşiklerinin Genel İndirgenme Metodu.....	38
2.3. Biyolojik Aktivite İncelenme Metodu.....	38
2.3.1. HeLa Hücrelerinin Kültürde Çoğaltılması.....	38
2.3.2. WST-1 Metodu ile Sitotoksisitenin Tespiti	39
2.3.3. İkili Boyama Metodu ile Apoptozun ve Nekrozun Belirlenmesi	39

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	41
3.1. Sentezlenen Ferrosenoil Tiyofen Türevlerinin Spektroskopik Analiz Sonuçları	42
3.2. Biyolojik Aktivite Sonuçları	44
3.2.1. Toksisite Sonuçları	44
3.2.2. Apoptotik ve Nekrotik Etkisi.....	45
4. SONUÇ	48
KAYNAKLAR	49
EKLER	58
EK 1. I Numaralı Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu	59
EK 2. I Numaralı Bileşiğin FT-IR Spektrumu.....	60
EK 3. II Numaralı Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu	61
EK 4. II Numaralı Bileşiğin FT-IR Spektrumu	62
EK 5. III Numaralı Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu.....	63
EK 6. III Numaralı Bileşiğin ¹³ C NMR Spektrumu.....	64
EK 7. III Numaralı Bileşiğin FT-IR Spektrumu	65
EK 8. IV Numaralı Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu	66
EK 9. IV Numaralı Bileşiğin FT-IR Spektrumu.....	67
EK 10. V Numaralı Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu.....	68
EK 11. V Numaralı Bileşiğin FT-IR Spektrumu	69
EK 12. VI Numaralı Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu	70
EK 13. VI Numaralı Bileşiğin ¹³ C NMR Spektrumu	71
EK 14. VI Numaralı Bileşiğin FT-IR Spektrumu.....	72

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1. 1. Ferrosenin Şekli	1
1. 2. Siklopentadienil Anyonu.....	3
1. 3. Siklopentadienil Halkasının Metale Bağlanması	3
1. 4. Siklopentadienin Grignard Bileşiği	4
1. 5. Demirin d_{yz} Orbitali İle Uygun Simetrik Grup Orbitali Arasındaki Etkileşim	4
1. 6. Ferrosenin Molekül Orbital Enerji Düzeyleri	5
1. 7. Ferrosenin Sentez Tepkimelerinden Biri	8
1. 8. Ferrosenin Organik Reaksiyonları	9
1. 9. Ferrosenin Elektrofilik Yerdeğiştirme Mekanizmaları	9
1. 10. Ferrosenin Civalanma Mekanizması.....	11
1. 11. Ferrosenyum Tuzlarının Bazı Örnekleri	12
1. 12. Ferrosenil Türevlerinin Bazı Biyoaktif Bileşikleri	14
1. 13. Bazı Aromatik Bileşiklerin Kekule Yapıları.....	15
1. 14. Piridinin Stilize Edilmiş p Orbitaleri	15
1. 15. Piyrolün Stilize Edilmiş p Orbitaleri.....	16
1. 16. Furan ve Tiyofenin Stilize Edilmiş p Orbitaleri.....	17
1. 17. Tiyofenin Yapısı.....	17
1. 18. Tiyofen Sentezi Tepkimeleri.....	18
1. 19. 1,4-dikarbonil Bileşiğinden Tiyofen Türevi Eldesi	19
1. 20. 1,2-dikarbonil ve α,α - Aktif Metilenli Tiyooeterden Tiyofen Türevi Eldesi.....	19
1. 21. Tiyofenin Halojenlenme Reaksiyonları	20
1. 22. Tiyofenin Nitrolanması	21
1. 23. 2-Nitrotiyofenin HNO_3 ile Nitrolanması.....	21
1. 24. Tiyofenin Sülfolanması.....	22
1. 25. Tiyofenin Açılması.....	22
1. 26. Tiyofenin AlCl_3 Varlığında Açılması	23
1. 27. Tiyofen Formaldehit Polimeri Eldesi.....	23
1. 28. Tiyofenin Aseton Varlığında Tepkimesi.....	23
1. 29. Tiyofenin Mannich Reaksiyonu	24

1. 30. Elektrofilik Aromatik Yer Değiştirme Reaksiyonları	26
1. 31. Friedel-Crafts Alkillemesi Genel Eşitliği	26
1. 32. Kloroetan ile Benzenin Friedel-Crafts Alkillemesi.....	27
1. 33. Birincil Haloalkanlar ile Friedel-Crafts Alkilleme Mekanizması.....	27
1. 34. Asetil ve Benzoil Grupları	28
1. 35. Benzen ile Asetil Klorürün Friedel-Crafts Açılleme Tepkimesi	28
1. 36. Asetikasitin Tiyonüklörür ile Etkileştirilmesi.....	29
1. 37. Benzoik Asitin Fosforpentaklorür ile Etkileştirilmesi	29
1. 38. Karboksilik Asit Anhidritleri Kullanılarak Yapılan Friedel – Crafts Açıllemesi	29
1. 39. Benzenin Friedel-Crafts Açıllemesi Mekanizması	30
1. 40. Ferrosenin Friedel - Crafts Açıllemesi.....	31
1. 41. Apoptoza Uğramış Hücresler	34
1. 42. Nekroza Uğramış Hücresler	35
3. 1. Ferrosenin Açıllemesinin Genel Tepkimesi.....	41
3. 2. Sentezlenen Ferrosen Tiyofen Türevleri.....	42
3. 3. Ferrosen Bileşiklerinin HeLa Hücreslerine Toksik Etkisi.....	44
3. 4. HeLa Hücreslerinin Floresan Mikroskop Fotoğrafları	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

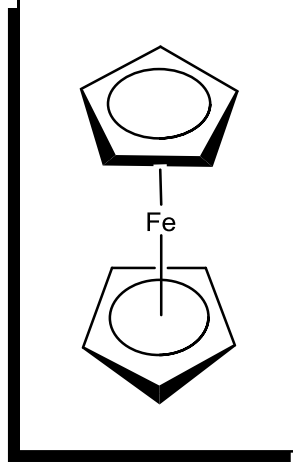
<u>ÇİZELGE</u>	<u>Sayfa</u>
1. 1. Ferrosen, Kobaltosen ve Nikelosen İçin Karşılaştırmalı Veriler	6
1. 2. Sentezlenen Ferrosen Açılleme Türevlerinin Verimleri	41
1. 3. Sentezlenen Ferrosen Alkol Türevlerinin Verimleri.....	41
1. 4. Sentezlenen Ferrosen Türevlerinin Farklı Konsantrasyonda HeLa Kanser Hücrelerine Karşı % Apoptotik Etkisi	45
1. 5. Sentezlenen Ferrosen Türevlerinin Farklı Konsantrasyonda HeLa Kanser Hücrelerine Karşı % Nekrotik etkisi.....	46

KISALTMALAR

NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
IR	: Kızıl Ötesi Spektroskopisi
σ	: Sigma
<i>Cp</i>	: Siklopentadienil
V	: Volt
η	: Hapto
Et ₂ O	: Dietileter
HOMO	: Dolu en yüksek enerjili molekül orbital
LUMO	: Boş en düşük enerjili molekül orbital
ΔH	: Bağ ayrışma enerjisi
B12	: Kobalamin olarak da bilinen <i>B12</i> vitamini
Dum	: Dumanlı
\emptyset	: Fenil
Me	: Metil
δ	: Kimyasal kayma
Ar	: Aromatik Grup
X	: Halojen
İnvitro	: Laboratuvar ortamında ya da yapay koşullarda
İnvivo	: Canlı ortamda ya da yaşayan koşullarda
THF	: Tetrahidrofuran
DCM	: Diklorometan
nm	: Nanometre
mL	: Mililitre
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi

1.GİRİŞ

1.1. Ferrosen



Şekil 1. 1. Ferrosenin Şekli

1950'lerin başlarında Ferrosenin, $Fe(C_5H_5)_2$ yapısının [1] ve karakterizasyonun keşfi, d bloğu metal karbon bağlarına olan ilgiyi arttırmış ve bu gelişmeler organometalik kimyanın hâlihazırda yapılan çalışmalarını da beraberinde getirmiştir [2-3].

1950 yılından önce de birkaç d bloğu organometali sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Bunlardan ilki 1827 yılında W.C Zeise tarafından sentezlenen platin(II) nin bir etilen kompleksidir [4]. 1890'larda ise Ludwig Mond ve çalışma arkadaşları ilk metal karbonili olan, *tetrakarbonilnikelat(2)* kompleksini sentezlediler. Ancak, bu tür komplekslerin yapılarını, kimyasal metotlarla anlamak, 1950'lerde, sıvı ve katı haldeki bileşik yapılarını çözmekte NMR ve tek kristal X-ışınları kırınımı yöntemleri kullanılana kadar çok zordu.

Ferrosen bileşiği, ilk olarak 1951 yılında iki bağımsız araştırma grubu; Kealy ile Pauson [2] ve Miller ile arkadaşları tarafından sentezlendi [5] ve beklenenin dışında kararlı bulundu. Yapısı ve bağlanması geleneksel bağlanma tanımlarına meydan okumuştur. Bu araştırmalar, molekülde oluşan bağların $C-Fe$ σ -bağlarının ve iyonik etkileşimlerin sonucu olduğu olasılığını engellemiştir. Ertesi yıl, ferrosenin doğru yapısı tekrar iki bağımsız araştırmacı grup tarafından bulunmuştur. Bütün karbon

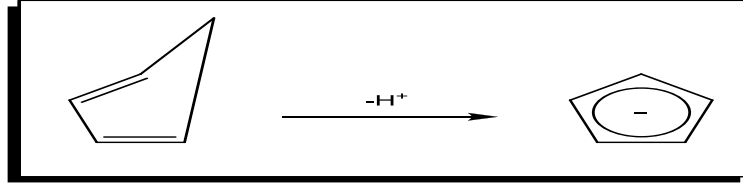
atomları elektronik olarak aynı olduklarından ve IR spektrumunda sadece bir *C-H* bağı görüldüğünden, Wilkinson bütün karbon atomlarının demir atomuyla yaptığı bağı eşit katkıda bulunduğu sonucuna varmıştır [6]. Pfab ve Fischer, X-ışınları kırınımı çalışmaları sonucunda, merkez demir atomunun iki siklopentadienil halkaları arasında kaldığı, sandviç yapısını kabul etmiştir [7]. Bileşiğin aromatikliği, alüminyum triklorür ile Friedel-Crafts açilleme tepkimesi ile (ferrosen tepkimede benzenden 3×10^6 kat daha hızlı tepki verir) elektrofilik aromatik yer değiştirme reaksiyonlarını gerçekleştiren Woodward tarafından kabul edilmiştir [8]. Ferrosen'in iki siklopentadienil (*Cp*) halkası, çakışık (D_{5h}), çapraz (D_{5d}) veya kısmen dönmüş (D_5) biçimi olarak iki uç noktaya yönelebilir. Fe-*Cp* ekseninin dönme enerjisi çok küçüktür (yaklaşık olarak 4 kJ mol^{-1}) ve ferrosenin temel hal yapıları bu konformasyonlardan biri olabilir.

1973 yılında Ernst O. Fisher ve Geoffrey Wilkinson tarafından önerilen sandviç yapı [9-10] kimya dalında organometalik kimya alanında yaptıkları çalışmalardan dolayı Nobel ödülüne [11] layık görülmesi dünya çapındaki araştırma gruplarının organometalik kimya alanında çalışmalar sürdürmesinde hızlı bir artış yaşanmasına sebep olmuştur.

Ferrosen, erime noktası $174 \text{ }^\circ\text{C}$ olan portakal renginde bir katıdır [12]. Oldukça kararlı bir bileşiktir. $100 \text{ }^\circ\text{C}$ de süblime edilebilir ve $400 \text{ }^\circ\text{C}$ ye kadar ısıtıldığında bozunmaz. Ferrosen çoğu organik çözücülerde çözünebilir, fakat suda çözünmez. $470 \text{ }^\circ\text{C}$ 'ye kadar kararlıdır ve özellikle asitlerin varlığında kolayca okside olur (örneğin %90 etanol/ $\text{HClO}_4/\text{NaClO}_4$ ortamında ölçülen redoks potansiyeli, normal hidrojen elektrotta $-0,56 \text{ V}$ tur). Okside olmuş yapısı ferrosenyum katyonudur ($(\text{C}_5\text{H}_5)_2\text{Fe}^+$). Bu çözelti halinde belirgin mavi renge dönüşür ve paramagnetik yapısından dolayı düşük kararlılıkta olmasına neden olur. Bazı basit tuzları su içinde çözünebildiği gibi (örneğin halojenürler, sülfat v.s.) bazı anyonlarla çöktürülebilir (triiodür, hekzaflorofosfat, pikrat v.s). Elektron çekici gruplar ferrosen çekirdeğinin oksitlenmesini engeller [13].

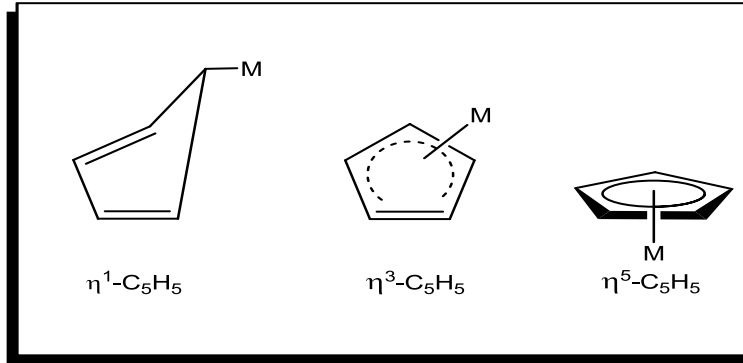
1.1.1. Ferrosenin Kimyasal Yapısı

Siklopentadienil molekülünde metilen protonlarından birinin molekülden uzaklaştırılmasıyla siklopentadienil anyonu elde edilir [14].



Şekil 1. 2. Siklopentadienil Anyonu [14]

Bu anyonik beşli halka, geçiş metallerine koordine olarak son derece önemli olan siklopentadienil metal bileşiklerini oluşturur. Siklopentadienil halkası metale η^1 , η^3 ve η^5 ligandı olarak bağlanabilir [15].



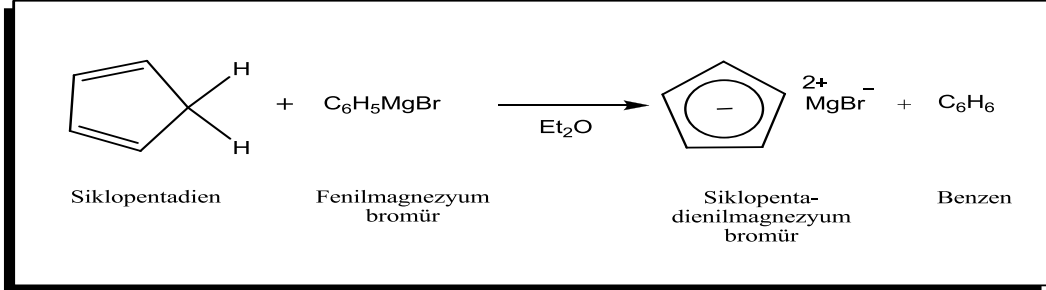
Şekil 1. 3. Siklopentadienil Halkasının Metale Bağlanması

İlk siklopentadienil kompleksi olan Ferrosenin keşfi, organometaller kimyasının gelişmesinde ve diğer π -bağlı organik ligant içeren bileşiklerin araştırılmasında önemli bir dönüm noktası olmuştur. Sübstitüe siklopentadienil türevleri de $C_5(CH_3)_5$ ve $C_5(\text{benzil})_5$ gibi ligant olarak bilinmektedir.

$\eta^1-C_5H_5$ ligandı normal bir metal alkil bileşiği oluşturmaktadır ve bu bileşiklerin özellikleri daha önce incelenen metal alkillerinkine benzememektedir. $\eta^3-C_5H_5$ kompleksleri ise pek fazla bilinmemekle birlikte yapı ve özellikleri bakımından haptο üç alil komplekslerinkine benzemektedir. $\eta^5-C_5H_5$ ligandı kısaca C_p olarak gösterilir [16].

Siklopentadien, Fenilmagnezyum bromürle tepkimeye girerek siklopentadien'in Grignard bileşiğini verir[1]. Bu tepkime beklenmeyen bir tepkime değil, basit bir

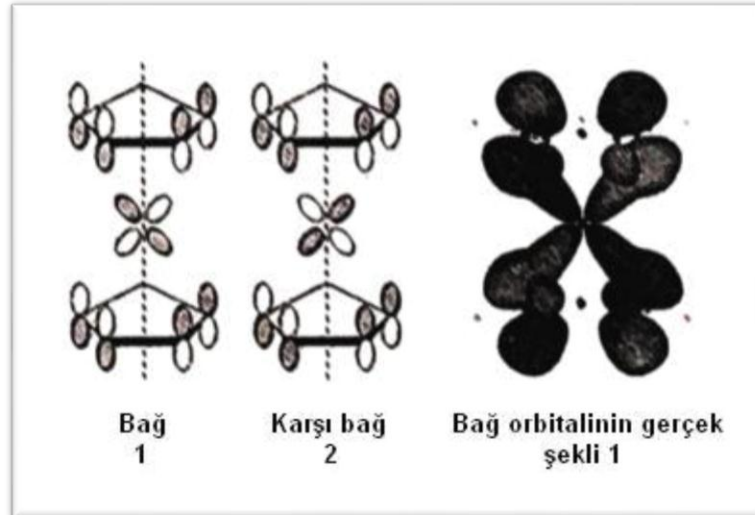
asit-baz tepkimesidir. Siklopentadienin metilen hidrojen atomları benzenin hidrojen atomlarından çok daha asidiktir (siklopentadienil iyonunun aromatik oluşundan dolayı) ve bu yüzden tepkime ürün yönündedir.



Şekil 1. 4. Siklopentadienin Grignard Bileşiği [17]

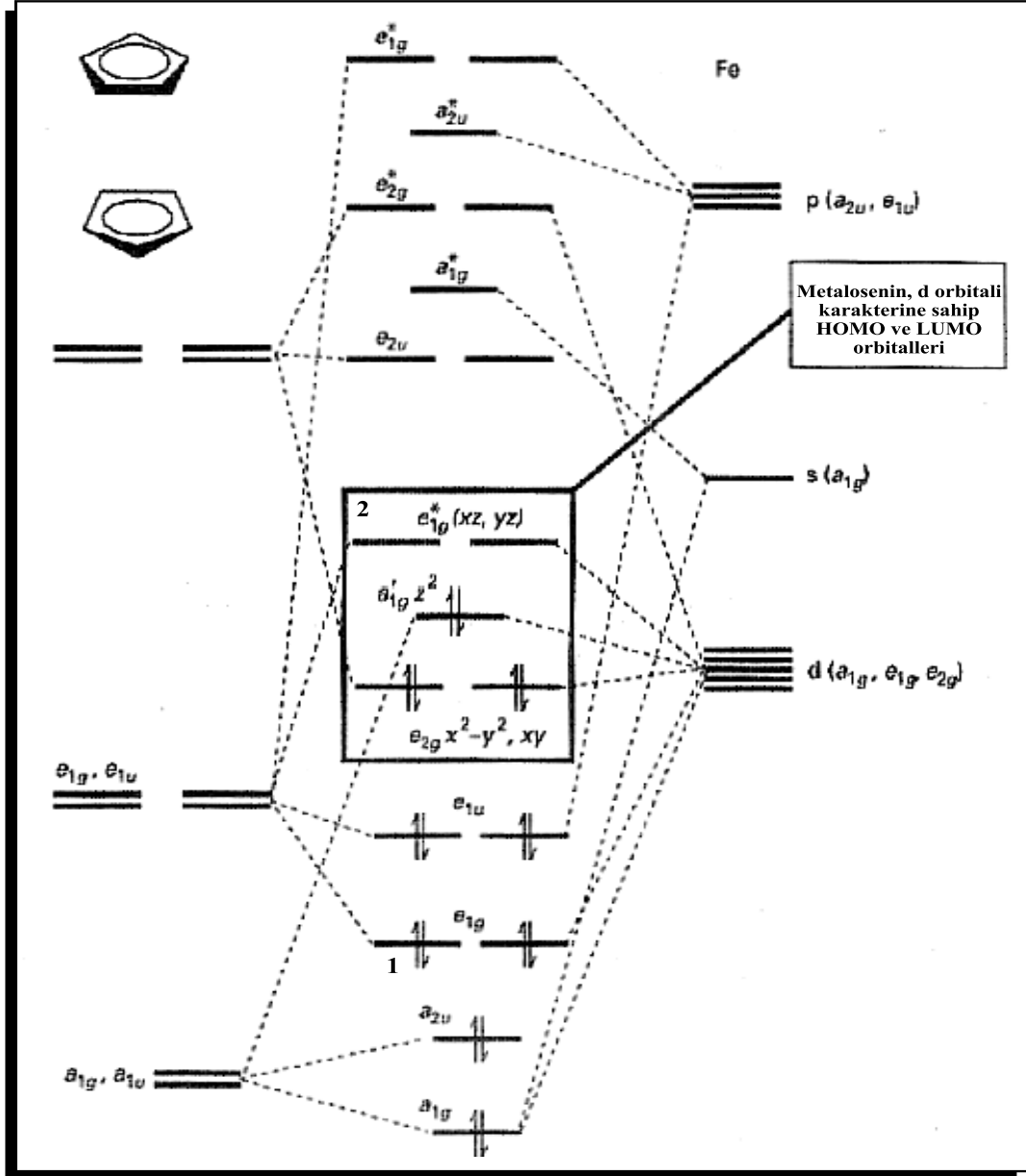
Ferrosenin molekül orbital diyagramını oluşturmak için, grup orbitalleri ile *Fe* üzerindeki uygun simetrlili *s*, *p* ve *d* orbitalleri eşleştirilmelidir.

Aşağıda demirin d_{yz} orbitali ile uygun simetrlili grup orbitali arasındaki etkileşim görülmektedir (Şekil 1.5). Bu grup orbitali 1-düğümlü grup orbitallerinden biridir. Bu etkileşim sonunda bir bağ ve bir karşı bağ molekül orbitalleri meydana gelir.



Şekil 1. 5. Demirin d_{yz} Orbitali İle Uygun Simetrlili Grup Orbitali Arasındaki Etkileşim [18]

Ferrosenin molekül orbital diyagramı Şekil 1.6 da gösterilmiştir. Şekil 1.5 deki resimde, metalin d_{yz} orbitalinin etkileşmesi ile oluşan bağ orbitali, Şekil 1.6 da 1 ile belirtilmiştir ve bir elektron çifti içerir; karşı bağ orbitali ise 2 ile belirtilmiştir ve boştur. Meydana gelen metal-ligant etkileşim türleri Şekil 1.6'daki molekül orbitalleri ile eşleştirilerek doğrulanabilir.



Şekil 1. 6. Ferrosenin Molekül Orbital Enerji Düzeyleri

Ferrosen orbitallerinin ilginç bir yanı, büyük oranda d orbitali karakterine sahip

olmalarınıdır. Şekil 1.6 da çerçeve içinde gösterilmiş olan *HOMO* ve *LUMO* orbitallerinde *d* orbitali karakterine sahiptir. Büyük oranda d_{xy} ve $d_{x^2-y^2}$ karakterine sahip olan bu molekül orbitalleri, zayıf bağ orbitalleridir ve doludur. Bir sonraki orbital, büyük oranda d_z^2 karakterine sahiptir, aslında bağ yapmayan orbitaldir ve doludur. Bundan sonraki iki orbital, başlıca d_{xz} ve d_{yz} karakterine sahiptir ve boştur [19-20].

Ferrosenin bağlanması şöyle özetlenebilir. $\eta^5-C_5H_5$ ligantlarının dolu orbitalleri, demir ile etkileşerek kararlı hale gelmişlerdir. Metal ile bağ etkileşmesi yapan 0-düğümlü ve 1-düğümlü grup orbitallerinin enerjilerindeki düşmeye özellikle dikkat edilmelidir. Oluşan molekül orbitalleri ağırlıklı olarak ligant karakterlidir (bu orbitaller enerjili sırasına göre d_z^2 ve s ; p_z ; d_{yz} ; d_{xz} ; p_x ve p_y orbitalleri olarak işaretlenmiştir)

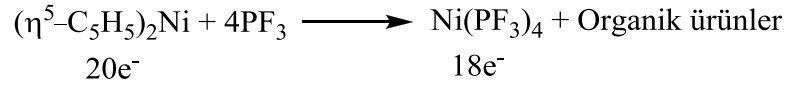
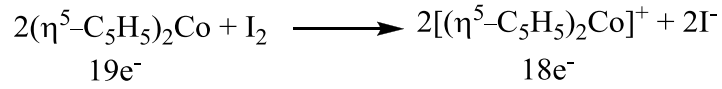
Sonraki en yüksek enerjili orbitaller, büyük oranda demirin *d* orbitallerinden türemiştir. d^6 demir(II) iyonunda bu orbitaller 6 elektron tarafından doldurulur; bu molekül orbitalleri (d_z^2 den oluşmuş molekül orbitali hariç) daha az ligant karakterine sahiptir. d_z^2 şeklinde işaretlenmiş molekül orbitali hemen hemen hiç ligant karakteri içermez; çünkü koni şeklindeki düğüm yüzeyine sahip bu orbital, doğrudan grup orbitallerinin loblarına doğru yönelir. Bu nedenle çok zayıf örtüşme meydana gelir; aslında demir üzerine yayılmış bağ yapmayan molekül orbitalini oluşturur.

Ferrosenin demir atomu 18 değerlik elektronu taşır ve dolayısıyla koordinasyon bakımından doymuştur. Ferrosenin her bir siklopentadienil (*Cp*) ligandı demire 6 elektron verdiği için, demirin değerlik elektronları sayısı 18'dir ve 18 elektron kuralına uyar [21].

Çizelge 1. 1. Ferrosen, Kobaltosen ve Nikelosen İçin Karşılaştırmalı Veriler

Kompleks	Elektron Sayısı	<i>M-C</i> Uzunluğu (pm)	$M^{2+} - C_5H_5^-$ ayrışması için ΔH kJ/mol
$(\eta^5-C_5H_5)_2Fe$	18	206.4	1470
$(\eta^5-C_5H_5)_2Co$	19	211.9	1400
$(\eta^5-C_5H_5)_2Ni$	20	219.6	1320

Bir metal atomuna bir veya iki tane *Cp* grubu bağlanabilmektedir. İki tane *Cp* halkası içeren $M-(\eta^5-C_5H_5)$ genel formülü ile gösterilen bileşikler metalosenler olarak adlandırılır. Metalosenlerin 19. ve 20. elektronları karşıbağ orbitallerinde yer alır (bunlar büyük oranda d_{yz} ve d_{xz} karakterine sahiptir); sonuçta metal-ligant bağı uzar ve metal-ligant bağı ayrışma enerjisi ΔH azalır. Bu durum Ferrosenin, kobaltosen ve nikelosenden çok daha fazla kimyasal kararlılığa sahip olduğunu gösterir. Kobaltosen ve nikelosenin pek çok kimyasal tepkimesi, 18- elektronlu ürünlerinin elde edilme eğilimine göre açıklanmıştır. Örneğin, Ferrosen, iyot ile tepkime vermez ve siklopentadienil ligantının yer değiştirme tepkimelerini çok nadiren verir. Buna karşılık, kobaltosen ve nikelosen aşağıdaki tepkimelere girerek, 18- elektronlu ürünleri verir.

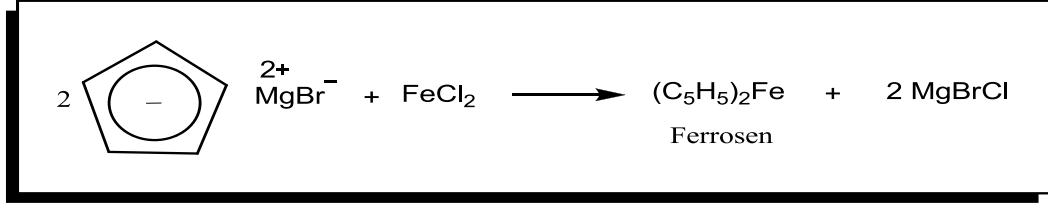


Kobaltisinyum, hidrür iyonu ile tepkimeye girerek 18- elektronlu nötr sandviç bileşiği oluşturur, burada siklopentadienil ligantlarından biri $\eta^4-C_5H_6$ 'ya dönüşmüştür.

Ferrosenin kimyasal olarak inert olduğu düşünülmemelidir. Ferrosen, çok çeşitli tepkimeler verir, bazıları siklopentadienil halkası üzerinde gerçekleşir. Örneğin Şekil 1.9 da gösterilen elektrofilik yer değiştirme tepkimesi, benzen ve türevlerinin tepkimelerine benzer. Genel olarak, ferrosenin elektrofilik aromatik yer değiştirme tepkimeleri, benzeninkinden çok daha hızlıdır, bu durum ferrosen halkalarındaki elektron yoğunluğunun daha fazla olduğunu gösterir [22].

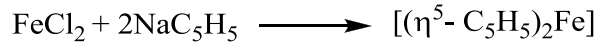
1.1.2. Ferrosen Sentezi

Siklopentadienin Grignard bileşiği demir(II) klorürle etkileştirildiğinde ferroseni verecek bir tepkime oluşur



Şekil 1. 7. Ferrosenin Sentez Tepkimelerinden Biri

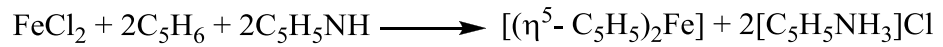
Ferrosen'in hazırlanışında genellikle üç farklı sentetik yoldan biri kullanılmaktadır. Bunların ilki, disiklopentadien'in kırılmasını içerir (tersine Diels-Alder reaksiyonu). Bunu zayıf asidik siklopentadien'in alkali metal ile deprotonasyonu (bir molekülden hidrojen iyonlarının ayrıştırılması) izler. Demir(II)klorür ile işleme girer ve ferrosen elde edilir.



İkinci metot ise metal buharı sentezi olarak bilinir; ürünler yüksek sıcaklıklara kadar ısıtılır ve hep birlikte soğuk bir yüzeye bırakılırlar:

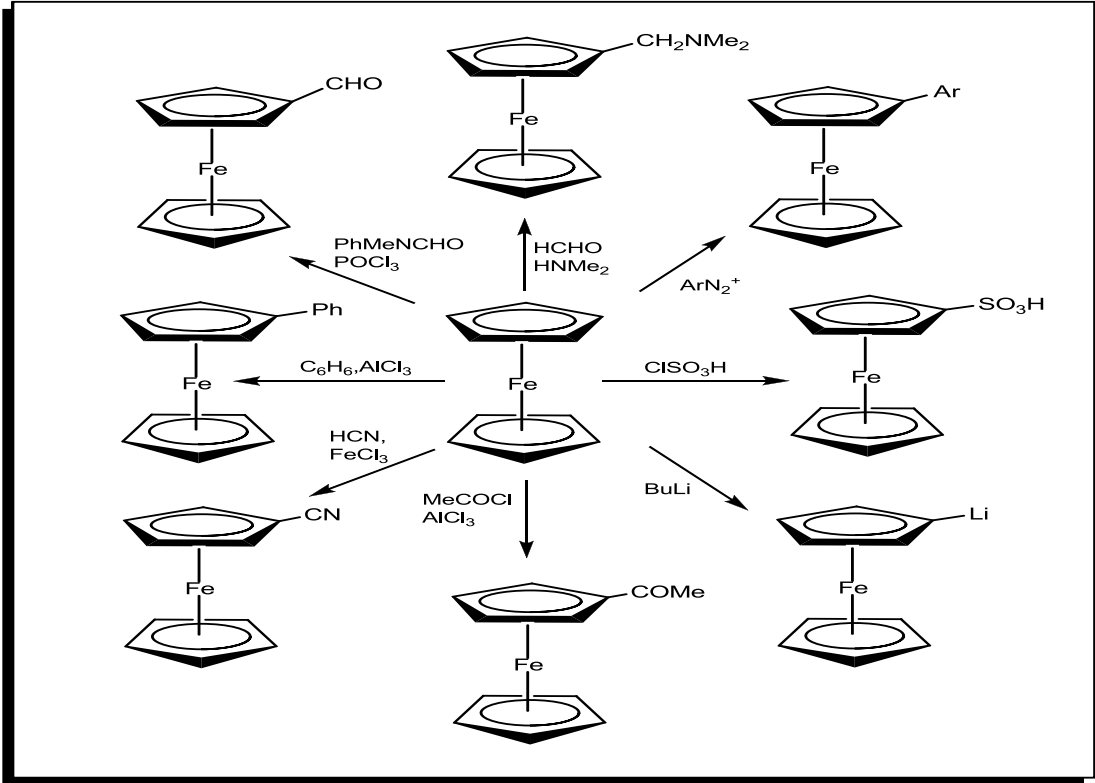


Ayrıca, siklopentadienil anyonunu doğal ortamında oluşturan yardımcı baz kullanılması yoluyla da hazırlanabilir.



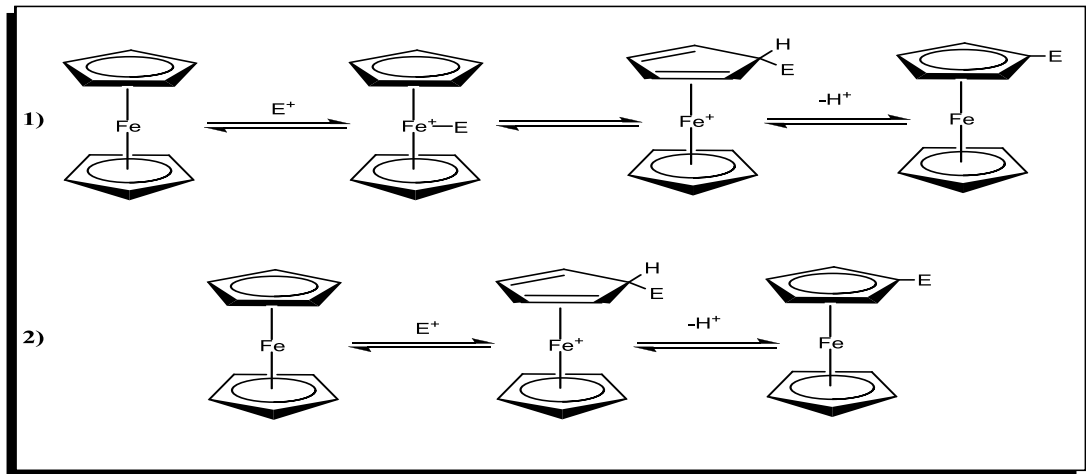
1.1.3. Ferrosenin Reaksiyonları

Ferrosen, yapısında iki tane nötral 5-elektronlu C_5H_5 ligandı içinde delokalize olmuş 6 π elektron bulundurmaktadır [22], bu yüzden ferrosen elektrofilik yer değiştirmelere benzenden daha çok yatkındır [23].



Şekil 1. 8. Ferrosenin Organik Reaksiyonları [24]

Ferrosenil grubu en güçlü elektron veren grup olarak bilinir (aminoferrosin anilin'den 20 kat daha baziktir). Ferrosenin elektrofilik yer değiştirmeleriyle ilgili iki ana mekanizma Şekil 1.9 da gösterilmiştir,



Şekil 1. 9. Ferrosenin Elektrofilik Yerdeğiştirme Mekanizmaları [25]

1.1.4. Ferrosenin Uygulama Alanları

Ferrosen, günümüzde birçok alanda tercih edilen organometalik bir bileşiktir. Petrol endüstrisinde yoğun olarak yakıt katkısı olarak kullanılır. Savunma sanayinde, roket yakıtlarında yanma hızı katalizörü olarak kullanılmaktadır [26], yanma hızını 1 ila 4 katına ulaştırır, çıkış borularındaki sıcaklığın azalmasına yarar ve ısı ışımaları gibi durumlar söz konusu olmaz. Çevreye herhangi bir olumsuz geri dönüşümü olmaz. Fuel oil'in günümüz koşullarında yoğun tercihi olmasında Ferrosen'in önemli katkısı bulunmaktadır. Otomotiv sanayinde, dizel oil, fuel oil, ağır ve hafif yağlarda kullanıldığında duman çıkışını önler, enerjiyi korur ve hava kirliliğini azaltır. Dizel yağa % 0,1 ferrosen ilave edildiğinde yağ sarfiyatını %10-14, duman çıkışını %30-70 azaltır ve % 10 daha fazla güçlendirir [27]. Metalürji ve malzeme mühendisliğinde, karbon nanotüplerin hazırlanmasında katalizör olarak yer alır [28]. Koruyucu ve düzenleyici olarak da kullanılır. Polimerin yumuşama noktasını, sıcaklığa dayanıklılığını, plastik ve selülozik özelliğini artırır. Polipropen, poliester gibi polimerik malzemelerin ultraviyole ışınlarına karşı dayanıklılığını artırır. Işıklandırma hassasiyetinde olan malzemelerde kullanılır. Film üzerinde gümüş ile yer değiştirir. Geniş ölçekli devre tahtalarının yapımında kullanılır, 4 kat daha fazla ışık hassasiyeti vardır, doğrulama hassasiyetini artırır, basit bir teknolojiye sahiptir ve kirliliği azaltır. Foto hassasiyet katalizörü olduğu için foto kimyasal plastik filmlerin çözünmesini artırır, beyaz kirlenmeyi azaltır. Tarım alanında gübre yapımında kullanılır. Kaliteli karbonil selüloz yapımında kullanılır. Biyokimyasal ve analitik madde olarak da kullanılır. Biyolojik ve tıbbi amaçlarda da çok sık kullanılır, anti kanser, antibiyotik ve kan toniği gibi ilaçların ve biyosensörlerin yapımında kendisini gösterir [29].

1.1.5. Ferrosenin Biyolojik Aktivitesi

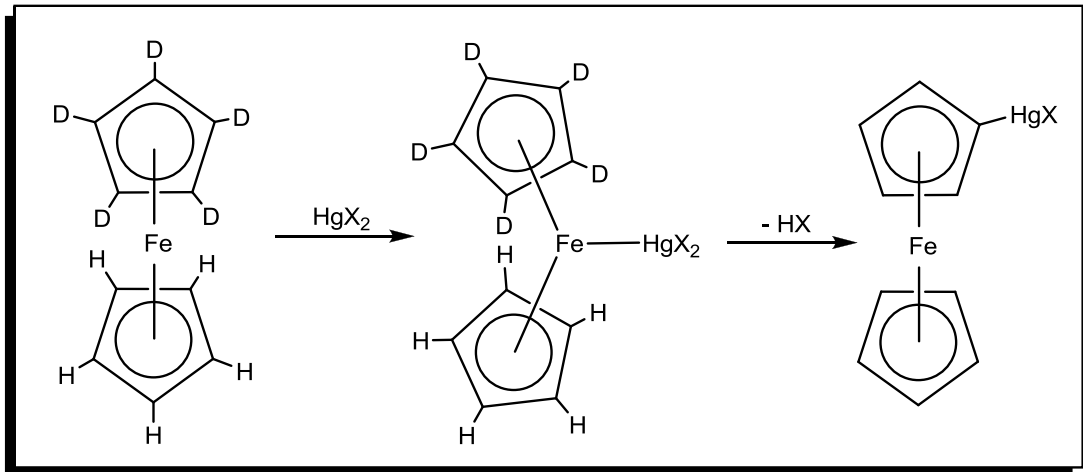
Organometalik kimya, bir yönüyle organik kimya ve anorganik kimyanın birleşimidir ve bu bileşimden çok önemli organik sentezler ortaya çıkmıştır [30]. Ferrosenin keşfinden sonra, organometalik kimyada başlayan hızlı gelişim süreci, Zeigler tarafından bulunan başka bir sürpriz keşifle (organometalik bileşikler üzerindeki çalışmasıyla yeni polimerleşme tepkimeleri) devam etmiştir [31,32].

"Biyorganometalik kimya" terimi sadece 1985 yılında Gérard Jaouen [33,34] tarafından tanıtıldı. Bugün ise, biyorganometalik kimya, beş ana etki alanı içeren önemli bir dal olup etki alanları ise

- (1) Organometalik terapötikler
- (2) Toksikoloji ve çevre,
- (3) Sulu ortamlarda moleküler tanıma,
- (4) Enzimler, proteinler ve peptidler,
- (5) Biyomoleküllerin izlenmesi için ilaç [35] (sensör olarak) dır.

Organometalik kimyanın önemi tüm canlı organizmaların varlığı ile fark edilebilir. En iyi bilinen doğal organometalik kompleksler, B12 vitamininin bazı türevleri, kobalt atomu içeren bir porfirin, bir hidrojen alıcısı olarak koenzim görevi yapar ve çeşitli metabolizma faaliyetleri yürütür. En önemli işlevi belki de gen kopyalanmasında koenzim olarak fonksiyon göstermesidir.

Ferrosen'e, metalosenlerin bir prototipi diyebiliriz. Ferrosenil türevlerinin; biyoloji, malzeme bilimi ve bilimin çeşitli alanlarında çok sayıda kullanım alanı vardır [36]. Friedel-Crafts alkilleme ve açillemesi ile Vilsmeier formillemesi ve civalamasına uğrar [37].

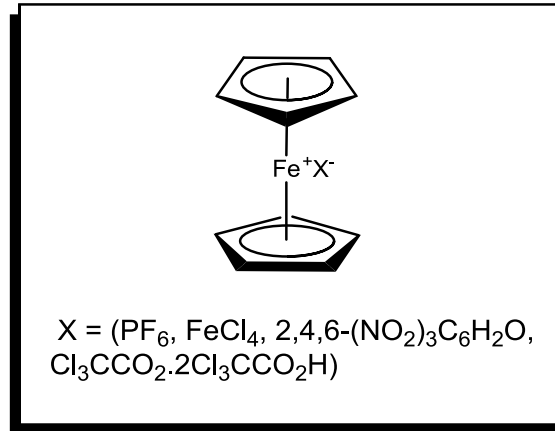


Şekil 1. 10. Ferrosenin Civalanma Mekanizması [38]

Asimetrik sübstütient içeren ferrosen türevleri asimetrik hidrojenasyon katalizörleri için ligandlar olarak kullanılır [39].

Ferrosen içeren maddeler biyoorganometalik kimyanın yükselişyle biyolojik aktiviteye sahip moleküllerin yeni bir kaynağı olarak dikkatleri çekmektedir. Özellikle göğüs kanseri hücrelerine karşı etkisi görülen ferrosen sübstitue tamoksifen analoglarının (ferrosifenlerin) ve anti-sıtma ajanları olarak bilinen ferrosen-klorokinin türevlerinin sentezi bu alandaki önemli başarılarıdır.

Ferrosenyum bileşikleri, tümörlü hücre büyümesinin inhibisyonunda önemli bir rol oynamaktadır. Ferrosen suda çözünmez, çözülebildiği düşünülse bile herhangi bir biyolojik aktivite göstermez. Literatürde bu sorunun üstesinden gelmek için bazı yöntemler önerilmiştir. Bunlardan biri, ferrosen kısmının organik bir tortu halinde tuz bileşimini elde etmektir. Diğer bir yöntem ise, merkezi demir atomunun oksidasyon yoluyla tuz formunu elde etmektir. Aşağıdaki şekilde gösterilen ferrisenyum tuzları tümör sayısınca anti tümör etki gösterirler [40-41].

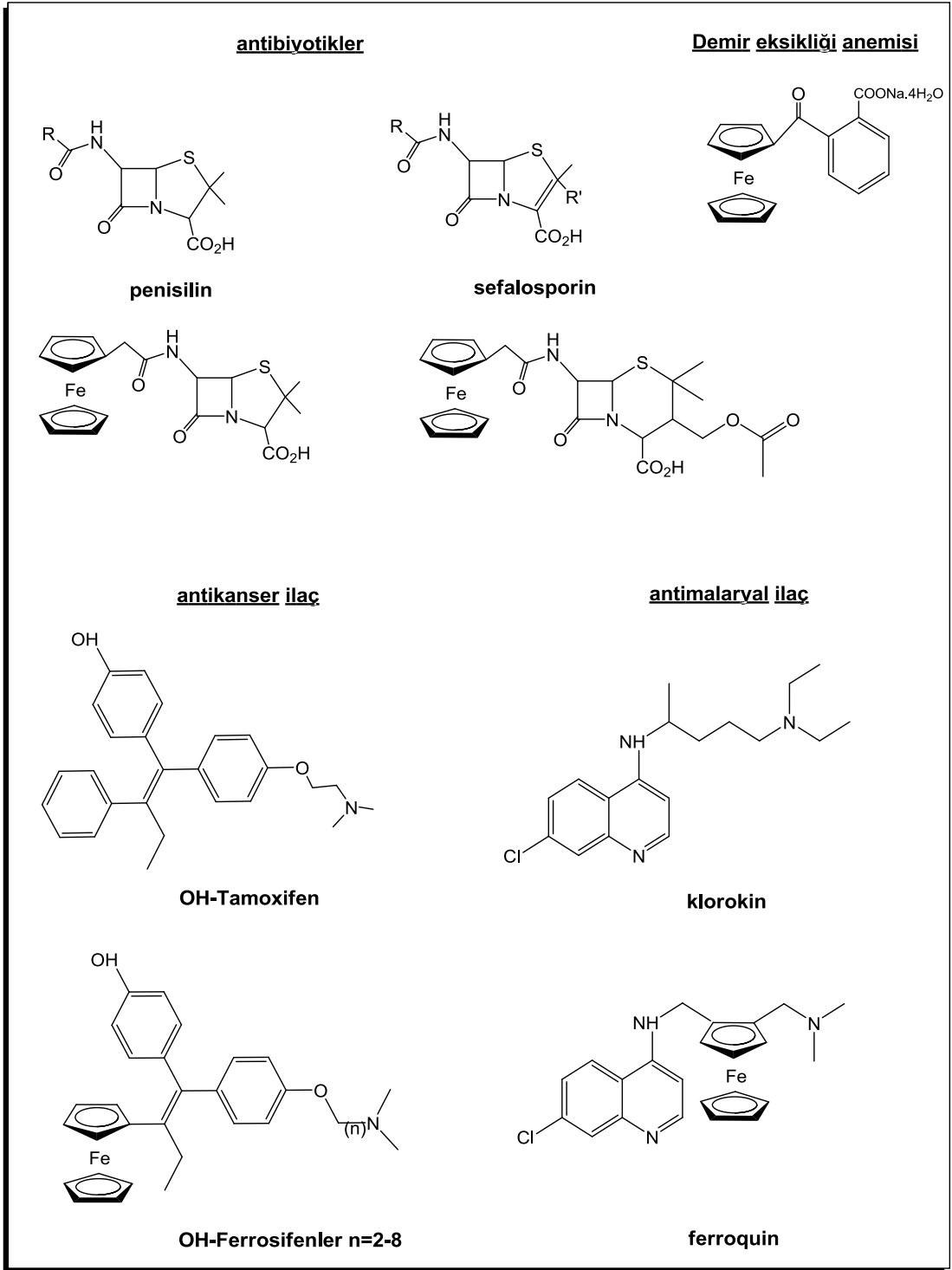


Şekil 1.11. Ferrosenyum Tuzlarının Bazı Örnekleri [42]

Ferrosenyum tuzlarının suda çözünebilmesine rağmen tümörlere gösterdiği inhibitör etki suda çözünmesiyle alakalı değil, antitümör aktivitesi ferrosen kısmın merkezi demir atomunun oksidasyon durumuyla bağlantılı olduğunu göstermiştir [43]. Ferrosenin anti tümör etkisi, B-16 melanomanın akciğer metaztası taşıyan farelerde görülmüş ve bağışıklık sisteminin uyarılması ferrosenin antitümör etkisi arayıcılığı ile olduğu öne sürülmüştür. Maksimum anti tümör etkisinin 0.05 – 0.2 mg / kg dozda

elde edildiği, düşük veya yüksek dozlarda etkili olmadığı tespit edilmiştir. Ferrosenin bazı bağışıklık uyarıcı maddeler üzerinde tedavi edici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [44]. Biyolojik ortamda, Ferrosenin gosterdiği biyolojik kararlılıktan dolayı birçok biyoaktif bileşikler sentezlenmiştir. 1970'li yıllarda Edwards ve arkadaşları penisiline karşı dirençli aktif bakteriler için ferrosenil antibiyotik sentezlemişlerdir [45-46]. Ferrosen türevleri üzerinde yapılan *In vivo* toksikoloji çalışmalarında, karaciğer ilgili sorunlara rağmen, toksisitesi düşük seviyelerde açıklanmıştır. Eski SSCB de demir eksikliği anemi tedavisi için geliştirilen, o-karboksibenzoil ferrosenin bir sodyum tuzu diş eti hastalıkları için reçete edilmiştir [47].

Tamoksifen meme kanserinin önlenmesinde ve tedavisinde kullanılan bir ilaçtır [48]. Tamoxifen çok zayıf bir östrojen olmasına rağmen, tüm hücreleri göğüs hücrelerini etkilediği şekilde etkilemez. Tamoxifen'in vücudumuzda ki çalışma mekanizması özetlenecek olursa; göğüs hücrelerinde seçici olarak büyü ve bölün mesajını bloke ederek kanser hücrelerinin oluşmasını veya gelişmesini engeller. OH-Tamoksifen *in vivo* tamoksifenin aktif metabolitidir (canlılarda çeşitli tepkimeler sırasında ortaya çıkan ve normal olarak vücutta birikmeyerek başka bileşiklere dönüşen kimyasal bileşikler). Laboratuvar ortamında OH-Tamoxifendeki fenil grubun ferrosenil grup ile yer değiştirilmesi, hidroksiferrosifen serisi türevlerin oluşmasıyla sonuçlandığı ve *in vitro* ortamdaki tüm hücre dizilerinde etkili olduğu görülmüştür [49-50]. 1997 yılında Brocard ve arkadaşları tarafından organik biyoaktif bileşiklerin yapısını değiştirip klorokin in ferrosenil analogundan ferroquin üretmek için bir fikir üretilmiştir [51]. Klorokin, sıtma parazitlerine karşı kullanıldığı bilinen bir ilaçtır ve sıtma parazitine karşı dirençli bu tür ilaçlar giderek artmaktadır [52]. Brocard ve arkadaşları bir ferrosenil grubunu klorokin yan zinciri içine eklediklerinde, oluşan bileşik ferroquin'in farelerde çok daha güvenli ve etkili olduğunun yansira nonpastel mutajenik olduğunuda rapor etmişlerdir [53]. Ferroquin, sadece klorokine duyarlı bakterilere karşı aktif değil, aynı zamanda klorokin dirençli suşlar karşısında da etkilidir. Ferrosen kullanılarak türetilmiş bazı ilaçların kimyasal yapısı şekil 1.12 de gösterilmiştir.

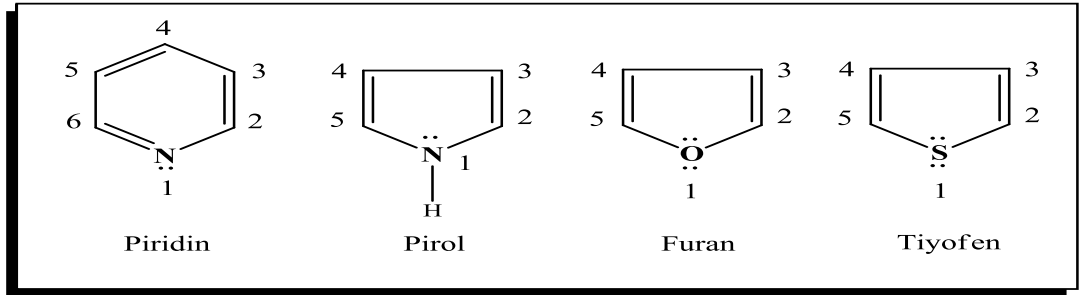


Şekil 1. 12. Ferrosenil Türevlerinin Bazı Biyoaktif Bileşikleri [42]

1.2. Heterohalkalı Aromatik Bileşikler

Karbon atomları, halkalı moleküllerin hepsinde halka üzerindedir ve böyle bileşiklere karbosiklik adı verilir. Gerek doğadan ve gerekse sentetik olarak elde

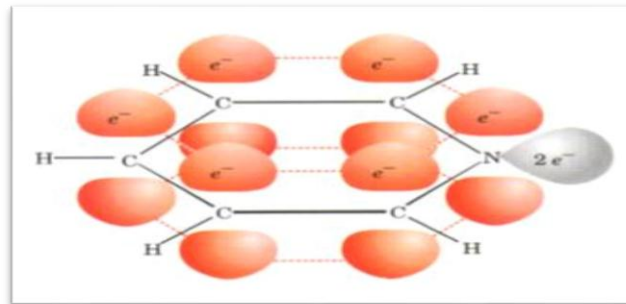
edilen öyle bileşikler vardır ki, halka atomlarından bir ya da birkaçı karbondan başka atomlardır. Böyle halkalara da heterosiklik adı verilir. Heterosiklik halkalarda genellikle N, O ve S atomları bulunur ve halkalar değişik büyüklükte olabilirler [54]. Heterohalkalı bileşikler doğada çok yaygın bir şekilde bulunmakta olup biyolojik ve farmakolojik aktivitelerinin yüksek olması nedeniyle araştırmacılar tarafından oldukça fazla ilgi görmektedirler. Son yıllarda yapılan araştırmalar sonucunda halka üyesi olarak kükürt, azot ve oksijen atomu içeren tiyazolidinon bileşiklerinin pek çoğunun biyolojik aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir [55]. Heterohalkalı bileşiklerden önemli olan dört tanesinin kekule yapıları Şekil 1.13 de verilmiştir. Bu dört bileşiğin hepsi aromatikdir.



Şekil 1. 13. Bazı Aromatik Bileşiklerin Kekule Yapıları [56]

Bu yapılar incelendiğinde piridinin yapısının elektronik olarak benzene; pirol, furan ve tiyofenin yapılarının ise siklopentadienil anyonuna benzediği görülür.

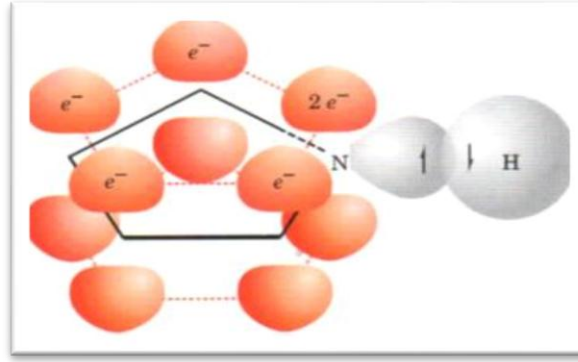
Piridin ve pirol moleküllerindeki azot atomları sp^2 melezleşmesine sahiptir. Piridine (Şekil 1.14) sp^2 melezleşmiş azot atomu, bağ elektronlarından birini π sistemine verir.



Şekil 1.14. Piridinin Stilize Edilmiş p Orbitalleri

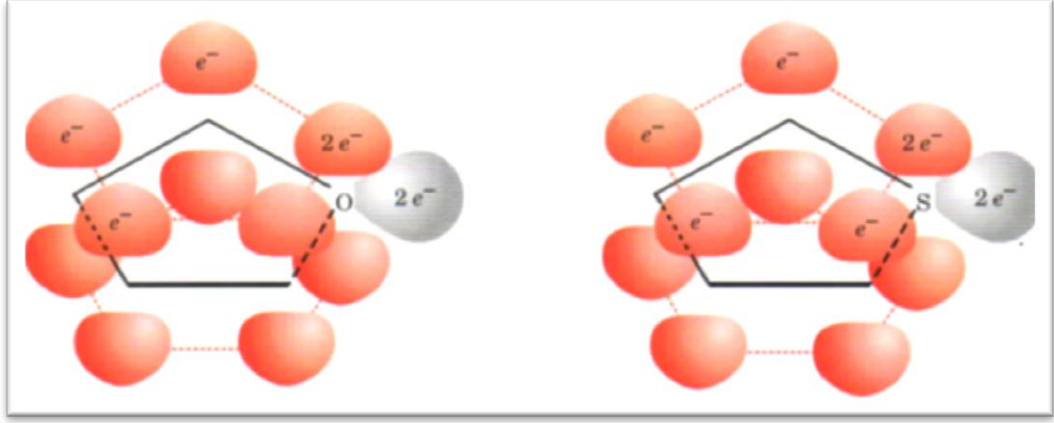
Bu elektron ve beş karbon atomunun her birisinden gelen birer elektron piridinin elektron sayısını benzende olduğu gibi altıya tamamlar. Piridinde azot atomu üzerindeki ortaklaşmamış iki elektron, halkadaki atomlarla aynı düzlemde bulunan sp^2 orbitalindedir. Bu sp^2 orbitali halkadaki p orbitalleriyle örtüşmez. Azot atomunun ortaklaşmamış elektron çifti π sisteminin bir parçası değildir ve bu elektronlar piridine zayıf baz özelliği kazandırır.

Pirolde (Şekil 1.15) elektronlar farklı şekilde düzenlenmiştir. Pirol halkasının karbon atomları dört elektronla katkıda bulunduğu için sp^2 melezlenmiş azot atomu üzerindeki iki elektronun da katkısıyla aromatik altı elektronlu yapıya ulaşılır. Bu elektronlar aromatik yapının bir parçası olduğu için, proton almada kullanılmaz. Bu bakımdan, sulu çözeltilerde pirol yeterli derecede bazik özellik göstermez.



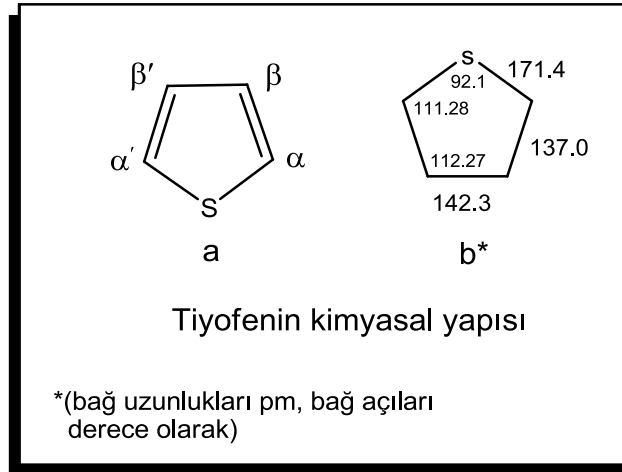
Şekil 1.15. Pirolün Stilize Edilmiş p Orbitalleri

Furan ve tiyofen yapısal olarak pirole çok benzerler. Furanda oksijen atomu, tiyofende kükürt atomu sp^2 hibritleşmesine sahiptir. Her iki bileşikte de heteroatomun p orbitali, iki elektronunu π sistemine verir. Furan ve tiyofende, oksijen ve kükürt atomları ortaklaşmamış birer elektron çiftlerini π sistemine ortogonal konumda olan sp^2 orbitalinde bulundururlar [57] (Şekil 1.16).



Şekil 1.16. Furan ve Tiyofenin Stilize Edilmiş p Orbitalleri

1.3. Tiyofen



Şekil 1.17. Tiyofenin Yapısı

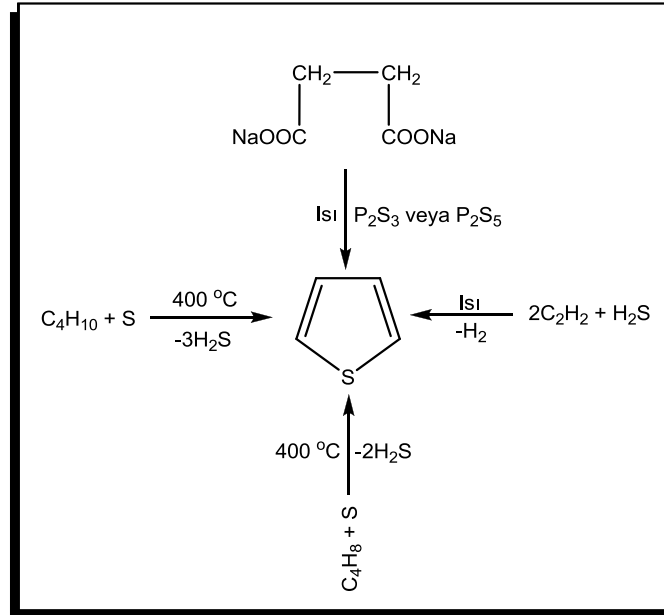
Tiyofen, renksiz, suda çözünmeyen, erime noktası $-38\text{ }^{\circ}\text{C}$, kaynama noktası $84\text{ }^{\circ}\text{C}$ olan benzen kokusunda bir sıvıdır. Taş kömürü katranında ve ham petrolde bulunur. Fraksiyonlu damıtmada benzen fraksiyonuna geçer ve saflaştırılmış teknik benzende bulunur. Teknik benzende bulunan tiyofen damıtma yoluyla benzenden ayrılamaz, ayrılması için soğukta derişik sülfürik asitle karıştırılır, kısa bir süre bekletilir ve sülfürik asitli faz ayrılır. Sülfürik asit tiyofen varlığında maviye döner. Benzen bu koşullarda sülfolanamaz, tiyofen ise sülfolanarak benzen fazına geçer [58].

1.3.1. Tiyofenin Kimyasal Yapısı

Tiyofen halka atomları furan da olduğu gibi eş düzlemseldir. Kükürdün daha büyük bir atom yarıçapına sahip olması heteroatom ve α -C atomların arasındaki bağ uzunluğunun furan'a oranla 35,2 pm daha uzun olmasına neden olur. Tiyofenin deneysel rezonans enerji değeri yaklaşık 120 kJ mol^{-1} dir. Tiyofenin aromatiklikliği benzenden daha az, furandan daha büyüktür. Furandaki sp^2 hibritleşmiş oksijen yerine sp^2 hibritleşmiş kükürt atomu alınarak furan ile benzer özellikler gösterir. Bazik özellik göstermeyen tiyofen, asitlere karşı pirol ve furandan daha az reaktivite gösterir. Tiyofen elektrofilik reaktifler ile reaksiyonları tercih eder.

1.3.2. Tiyofenin Elde Edilişi

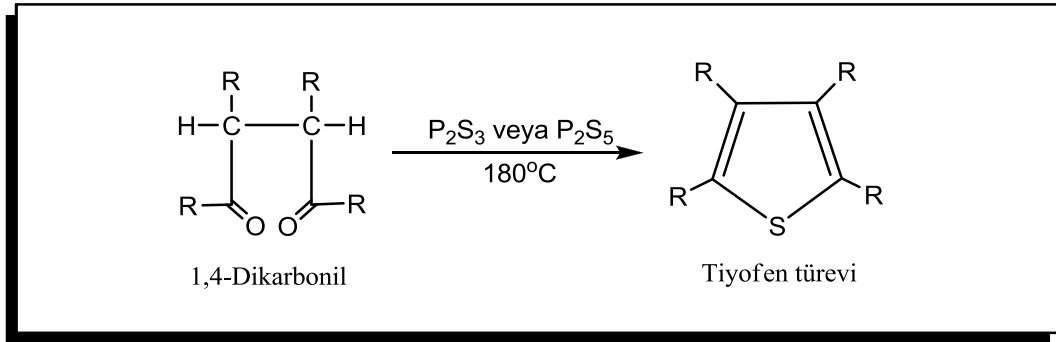
Tiyofen elde etmek için, alkanların, alkenlerin ve asetilenlerin, kükürt ya da H_2S ile yüksek sıcaklıklarda ısıtılmasını kapsayan birçok endüstriyel yöntem vardır. Laboratuvar koşullarında elde etmek için, katı sodyum süksinat, katı fosfortrisülfür veya pentasülfür ile ısıtılır.



Şekil 1.18. Tiyofen Sentezi Tepkimeleri

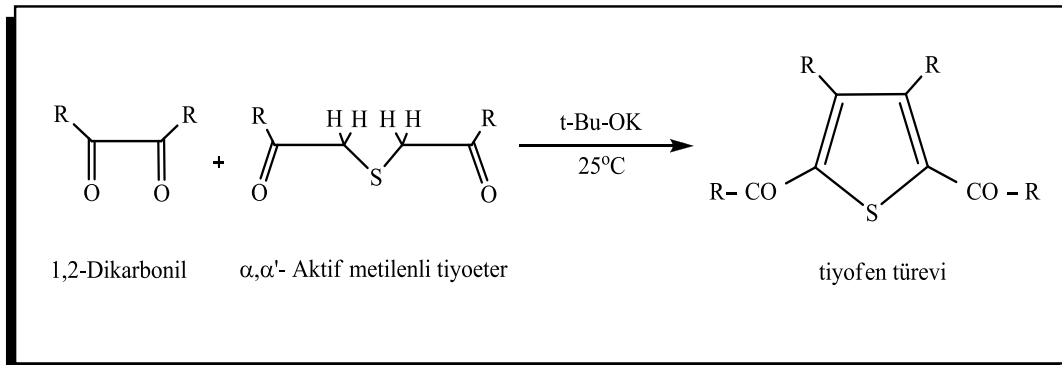
1.3.3. Tiyofen Türevlerinin Elde Edilişi

1,4-dikarbonil bileşikleri fosfor trisülfür veya fosforpentasülfür ile ısıtıldığında, veya 1,2-dikarbonil bileşikleri kükürde komşu aktif metilen grupları taşıyan bileşiklerle uygun bir baz beraberinde ısıtılarak elde edilir.



Şekil 1.19. 1,4-dikarbonil Bileşiğinden Tiyofen Türevi Eldesi

ya da



Şekil 1. 20. 1,2-dikarbonil ve α, α' - Aktif Metilenli Tiyoterden Tiyofen Türevi Eldesi

1.3.4. Tiyofenin Reaksiyonları

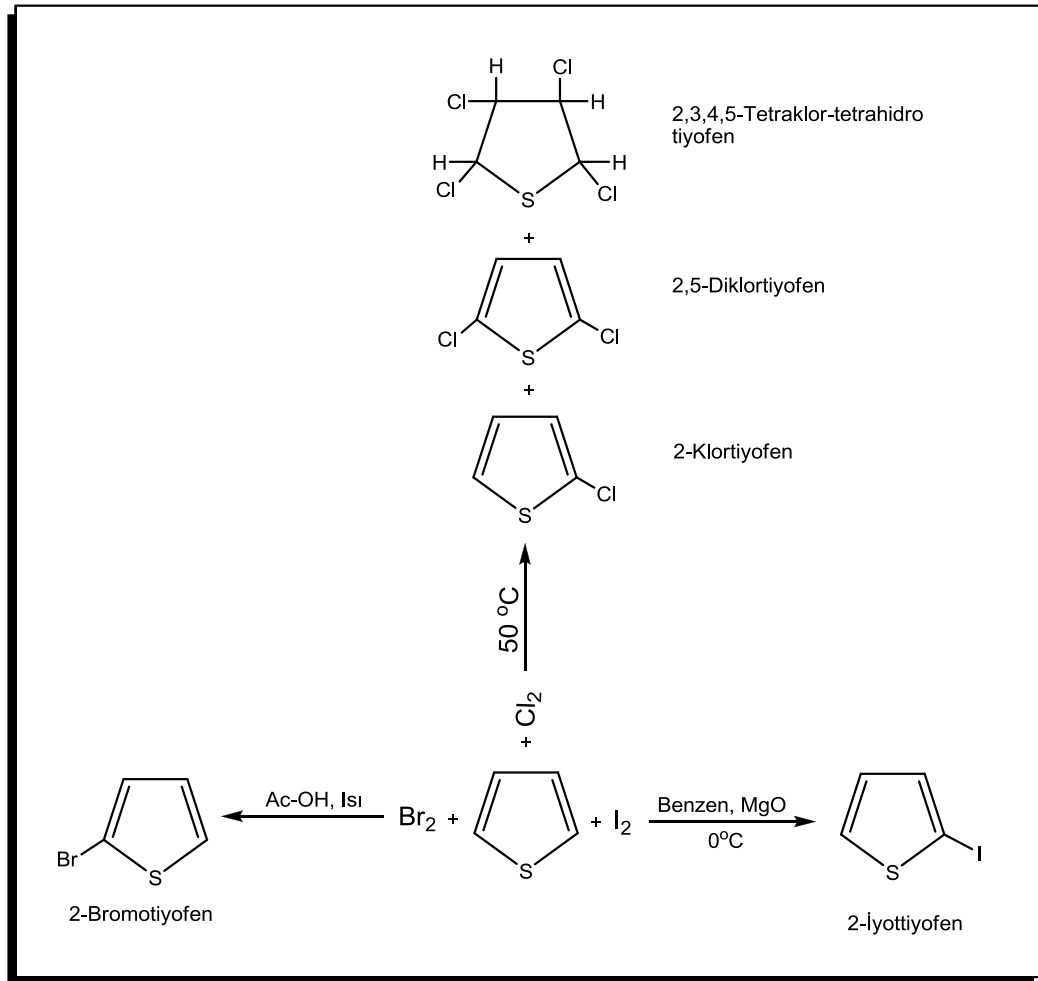
1.3.4.1. Proton Bağlanması

Tiyofen, pirol ve furandan çok daha zayıf bir bazdır, ancak güçlü ve derişik asitlerle proton bağlayabilir. Proton bağlandığında oluşan katyonlardan çok daha karardır. 1H- protonlanmış türü oluşmaz. Protonlanma hızı da buna göredir. Tiyofenin β -protonlanma hızı (3H- oluşması) yaklaşık olarak benzenin protonlanma hızına eşittir.

α - protonlanması ise (2H- oluşması) yaklaşık 1000 kat daha hızlıdır. Tiyofen seyreltik asitlerle proton bağlamadığı için, böyle ortamlarda organik bileşiklerin proton bağlama yeteneklerini incelemek için benzen çözücü olarak kullanılabilir.

Tiyofen susuz fosforik asitle etkileştiğinde, yalıtılabilen bir trimer verir (pirolde olduğu gibi polimerleşmez). Burada 2H- protonlanmış türün etkin olduğu rapor edilmiştir.

1.3.4.2. Tiyofenin Halojenlenmesi



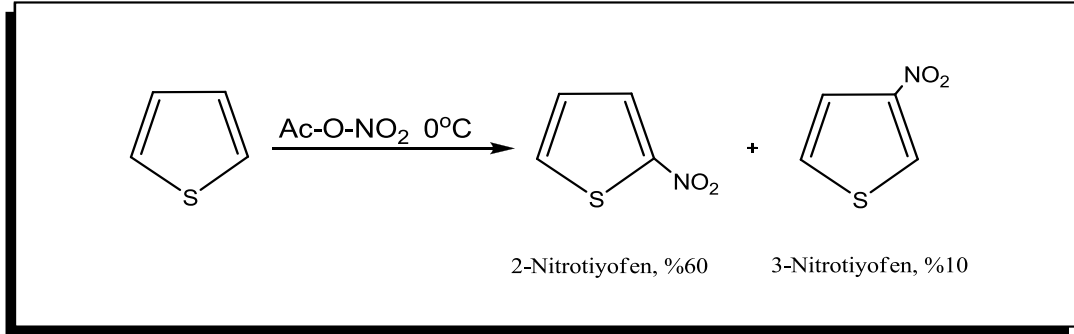
Şekil 1.21. Tiyofenin Halojenlenme Reaksiyonları

Tiyofen benzenden daha kolay halojenlenir; klor ile katalizöre gerek kalmadan 2-klor; 2,5-diklortiyofen ve klor katılma ürünü olan tetraklortetrahidrojeniyofen

karışımı meydana gelir. Asetik asitte çözülmüş brom ile 2-bromtiyofen; benzende çözülmüş iyot ile MgO beraberinde 2-iyot tiyofen meydana gelir.

1.3.4.3. Tiyofenin Nitrolanması

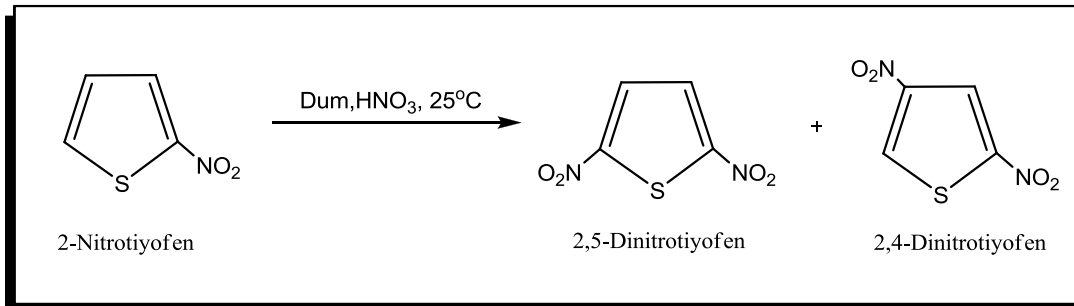
Tiyofen nitrik asit/sülfürik asit, hatta daha ılıman bir nitrolama aracı olan nitrik asit/asetik asitin karışımları ile dahi belirli bir indüksiyon süresinden sonra çok şiddetli reaksiyon verir hatta patlama olur. Bunun nedeni eser miktarda meydana gelen NO ile başlatılan oto-katalitik bir reaksiyon olduğu sanılmaktadır. 5-10 kat seyreltilmiş nitrik asit/aset anhidridi karışımları ile (asetil nitrat üzerinden) ılıman bir şekilde nitrolanabilir ve 2-nitro, 3-nitro; 2,4-dinitro, 2,5-dinitro- tiyofenler sentezlenebilir.



Şekil 1.22. Tiyofenin Nitrolanması

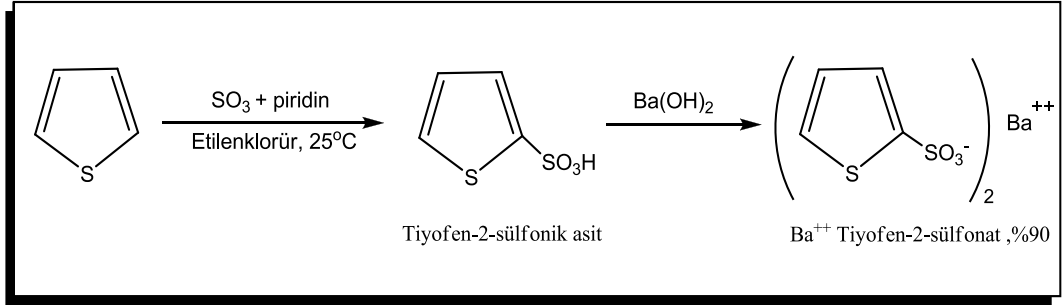
1.3.4.4. Tiyofenin Sülfolanması

Sülfürik asitle oda sıcaklığında kolaylıkla meydana gelir ve taş kömürü katranından elde edilen teknik benzenin içerdiği tiyofenden arıtılması için yararlanır. Tiyofenin



Şekil 1.23. 2-Nitrotiyofenin HNO₃ ile Nitrolanması

yüksek bir verimle sülfolanması, etilenklorürde çözülmüş kükürttrioksit ve piridin ile oda sıcaklığında olur. Oluşan tiyofen-2-sülfonik asit baryum tuzuna dönüştürülerek yalıtılabilir. Bu reaksiyonda, tiyofen-3-sülfonik asit çok az bir miktarda oluşur

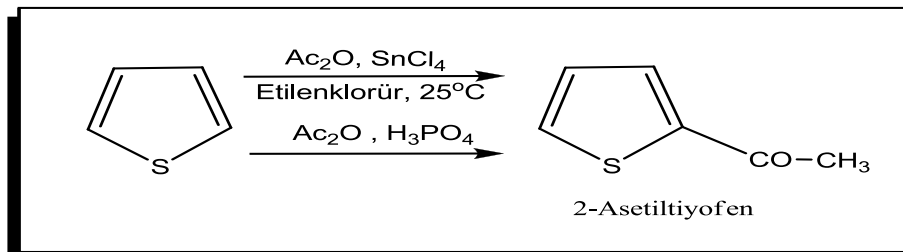


Şekil 1.24. Tiyofenin Sülfolanması

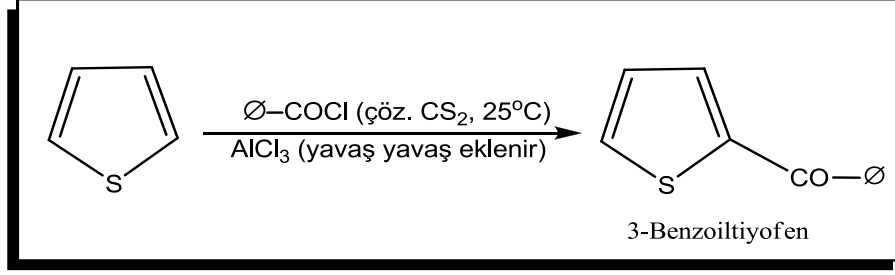
Tiyofen, klorosülfonik asitle sıcakta 2 yerinde klorosülfolanabilir; bu reaksiyonda verim ancak %40 dolayındadır. Tiyofen sülfoklorür sülfonamid, hidrazit, ester gibi türevlerin hazırlanmasında kullanılabilir.

1.3.4.5. Tiyofenin Açılmesi

Tiyofen, çözücü olarak etilenklorür içinde asetanhidrit ve SnCl₄ ile oda sıcaklığında asetillendiğinde başlıca 2-asetiltiyofen meydana gelir. 3-asetiltiyofen %1 den daha az oluşur. Tiyofen reçineleşeceği için susuz AlCl₃ genelde iyi sonuç vermez. Bunu önlemek için asit klorürü veya anhidridi, tiyofende çözülür ve susuz AlCl₃ yavaş yavaş eklenir. Asit anhidritleri durumunda, fosforik asit elektrofilik katalizör olarak kullanılabilir. Bu reaksiyonlarda 2-açiltiyofen oluşur.



Şekil 1.25. Tiyofenin Açılmesi



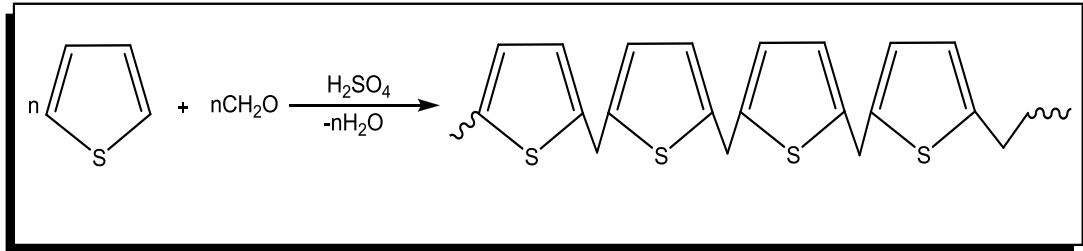
Şekil 1.26. Tiyofenin AlCl₃ Varlığında Açılmesi

1.3.4.6. Tiyofenin Alkilenmesi

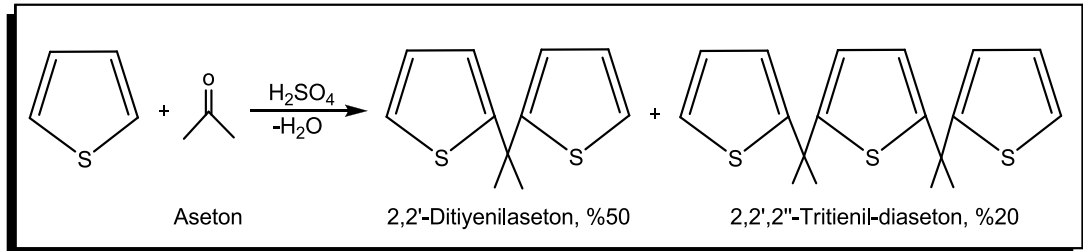
Tiyofenin alkilenmesi oldukça hızlı yürür. α-, β-, mono-, di-, tri-, ve tetraalkil tiyofenler ve polimerler oluşur. Kontrolü güç olan bu reaksiyon sentez bakımından elverişli değildir.

1.3.4.7. Tiyofenin Formaldehit ve Asetonla Asit Katalizli Reaksiyonları

Formaldehit, sülfürik asitli ortamda tiyofenle metilen köprüleri ile bağlanmış bir tiyofen polimeri verir. Aynı koşullarda aseton ise dimer ve trimer verir.



Şekil 1.27. Tiyofen Formaldehit Polimeri Eldesi



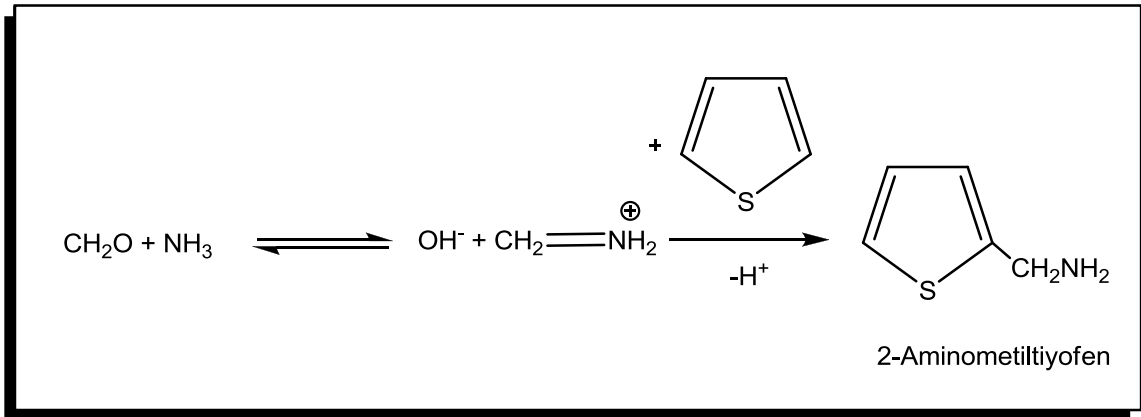
Şekil 1. 28. Tiyofenin Aseton Varlığında Tepkimesi

1.3.4.8. Tiyofenin Klormetilleme Reaksiyonu

Tiyofen 1 eşdeğer klormetilleme karışımı ile (%37 formaldehit ve HCl gazı ile doymuş derişik hidroklorik asit) 0°C de, 2-klormetiltiyofen (% 40) ve 2,2'-ditiyenilmetan (%40) bileşiklerini oluşturur. Klormetilleme karışımı aşırı alınır ve oda sıcaklığında bekletilirse 2,5-diklorometiltiyofen meydana gelir.

1.3.4.9. Mannich Reaksiyonu

Formaldehit ve NH₃ ile tiyofen, Mannich reaksiyonunu vererek 2-Aminometiltiyofen elde edilir.



Şekil 1. 29. Tiyofenin Mannich Reaksiyonu

1.3.4.10. Diğer Reaksiyonlar

Tiyofene yükseltgenlerin etkisi incelendiğinde, tiyofen halkası, seyreltik nitrik asit gibi orta yağnlıktaki yükseltgenlere dayanır. Daha güçlü yükseltgenlerle maleik asit, okzalik asit gibi ürünlere parçalanır. Hidrojen peroksit ve perasitler süstitüent taşımayan sade tiyofen halkasını parçalar ama alkil grubunu taşıyan tiyofen perasitlerle sülfona kadar yükseltgenebilir.

Tiyofen kolay civalanır. HgCl₂ ile oda sıcaklığında 2-civaklorotiyofen, sıcak ortamda 2,5-diklorcivatiyofen; civa asetat ile sıcak ortamda ise 2,3,4,5-tetracivaasetattiyofen meydana gelir.

Tiyofenin indirgenmesi güçtür. Metal-asit çifti gibi asitli ortamlarda veya NaH, Na gibi bazik koşullarda indirgenemez. Kükürt, katalizörü zehirleyeceği için, katalitik olarak indirgenmeside olanaksızdır. Sadece, alkollü sodyum/sıvı amonyak sisteminde indirgenebilir. Hemen hemen eşit oranda 2,3-dihidrotiyofen ve 2,5-dihidrotiyofen meydana gelir [59].

1.3.5. Tiyofenin Kullanım Alanları

Tiyofen ve türevleri, molekül ve polimer olarak teknolojiye yoğun olarak kullanılmaktadır. Birçok teknik cihazda, elektrokatalizde, moleküler elektronik aletlerin fabrikasyonunda, katı hal bataryalarda, kimyasal yollardan değiştirilmiş elektrotlarda, biyosensörlerde, ilaç sanayisinde uygulama alanları vardır. Teknolojide yaygın olarak kullanıldıklarından dolayı bu moleküller son zamanlarda birçok teorik ve deneysel çalışmalara konu olmuştur [60].

1.3.6. Tiyofenin Biyolojik Aktivitesi

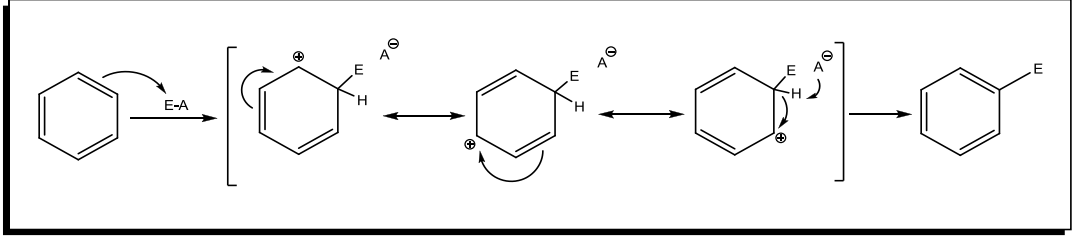
Günümüzde, canlı metabolizmasında direnç kazanan çeşitli virüs ve bakterilerin etkilerini azaltmak, mümkünse yok etmek için yeni ilaçlara ve bunu takiben yeni sentezlere ihtiyaç duyulmaktadır. Kükürt içeren bileşiklerin antibakteriyel [61], antialerjik [62] ve kemoterapetik [63] gibi etkiye sahip olduğu bilindiğinden, bu tür ligantların ve komplekslerin sentezi üzerine çalışmaların oldukça yaygın olduğu görülmektedir. Gewalt ve arkadaşlarının, primer amin olan 2-aminotiyofen türevlerinin hazırlanmasına yönelik çalışmaları sayesinde [64] biyolojik aktivite özelliği gösterebilen, yeni bileşiklerin sentezlenmesine önemli katkı sağladığı görülmektedir [61-65].

1.4. Friedel-Crafts Alkillemesi ve Açillemesi

1877 yılında Charles Friedel ve James M. Crafts alkil benzenlerinin (ArR) ve açil benzenlerin (ArCOR) hazırlanması için yeni yöntemler buldular. Bu tepkimeler Friedel-Crafts alkilleme ve açilleme tepkimeleri olarak bilinir.

1.4.1. Elektrofilik Aromatik Yerdeğiştirme Reaksiyonları

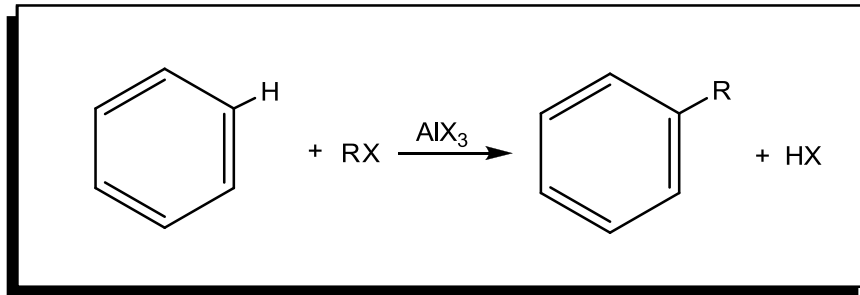
Aromatik bileşikler yapılarındaki π -elektronları nedeniyle nükleofilik özellik taşırlar ve kendilerine özgü aromatik elektrofilik yer değiştirme reaksiyonu gerçekleştirirler. Aromatik elektrofilik katılma gerçekleştirirken aromatik halkanın π elektronları, bir elektrofile saldırır. Bu arada benzen halkasında oluşan pozitif yük, rezonans yoluyla halkada dolaşır. Halkadan bir hidrojen kopmasıyla molekül, tekrar aromatik kararlılık kazanır. Benzen halkasının halojenlenme, nitrolama, sülfonlama, alkilleme, açilleme reaksiyonları aromatik elektrofilik yer değiştirme reaksiyonu ile gerçekleşir [66].



şekil 1. 30. Elektrofilik Aromatik Yer Değiştirme Reaksiyonları

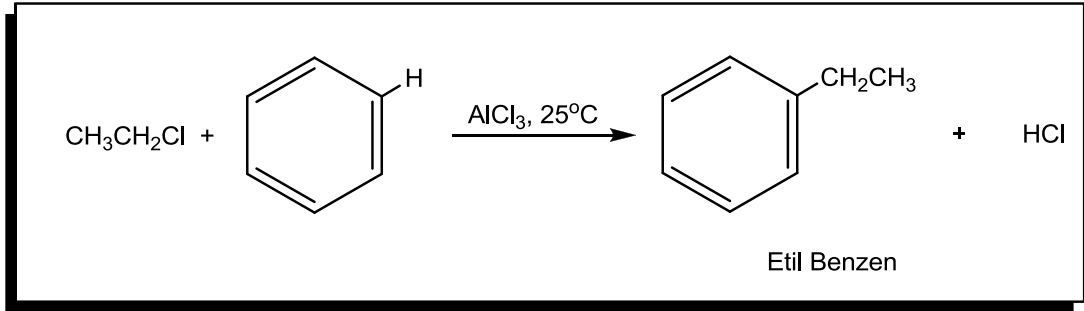
1.4.2. Friedel-Crafts Alkillemesi

Haloalkanların bir alimünyum halojenür varlığında benzenle tepkimeye girdiğinde, meydana gelen ürünlerin alkil benzen ve hidrojen halojenür olduğunu keşfeden Friedel ve Crafts, diğer Lewis asit katalizörleri varlığında da gerçekleştirilebilen bu tepkimeye, benzenin Friedel-Crafts alkillemesi adını verdiler. Friedel – Crafts alkillemesi için genel eşitlik aşağıdaki gibidir.



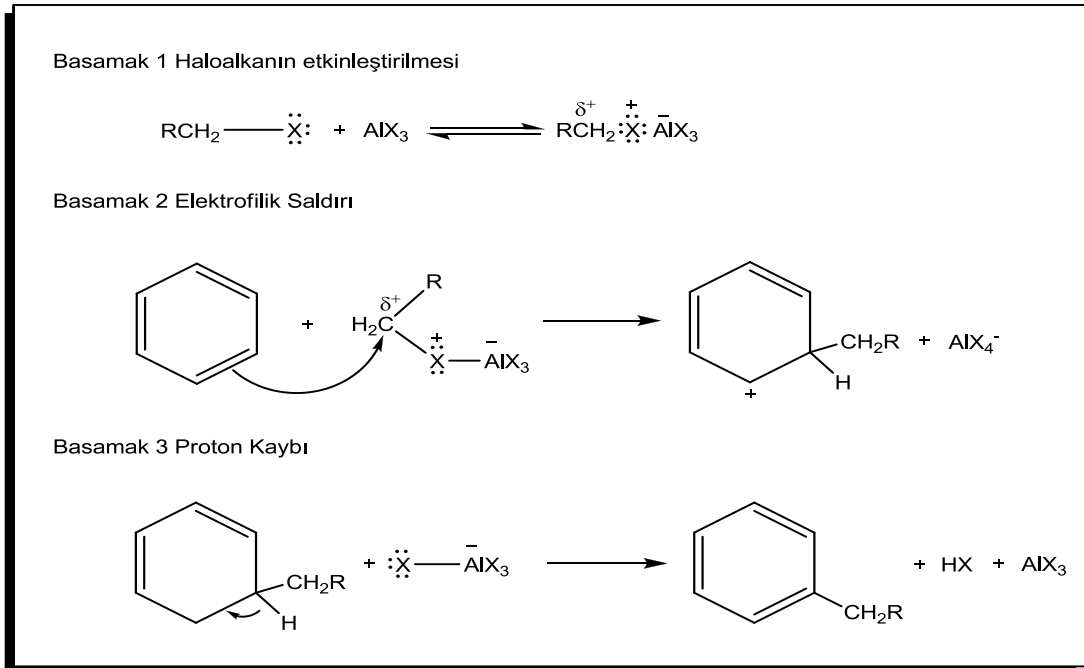
şekil 1.31. Friedel-Crafts Alkillemesi Genel Eşitliği

Haloalkanın etkinliği, C-X bağının polarlığına bağlı olarak, $RI < RBr < RCl < RF$ sırasına göre artar. Tipik Lewis asitleri, BF_3 , $SbCl_3$, $FeCl_3$, $AlCl_3$ ve $AlBr_3$ dür.



Şekil 1.32. Kloroetan ile Benzenin Friedel-Crafts Alkillemesi

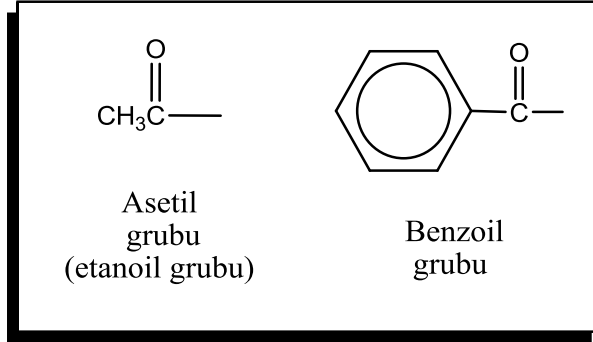
Elektrofilik aromatik halojenlenme tepkimelerinde gördüğümüz halojenlerin etkinleştirilmesine benzer şekilde, Lewis asidi birincil halojenürlerde haloalkana bağlanır ve alkil karbonunu etkinleştirerek tepkimenin başlamasını sağlar. Böyle bir bağlanma, halojeni taşıyan karbon atomu üzerinde kısmi pozitif bir yüke neden olurlar ki, bu onu daha güçlü bir elektrofil haline getirir. Benzen halkasına saldırıyı proton kaybı izler ve beklenen ürün oluşur [67].



Şekil 1. 33. Birincil Haloalkanlar ile Friedel-Crafts Alkilleme Mekanizması

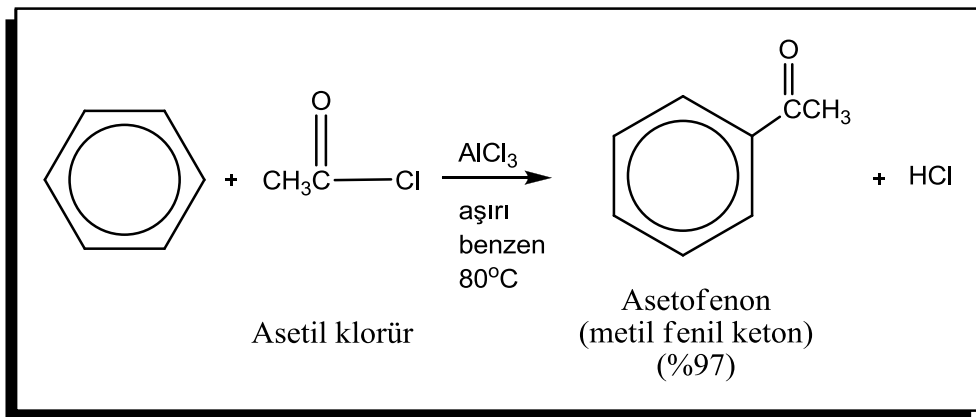
1.4.3. Friedel-Crafts Açılması

$\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ \text{RC} - \end{array}$ grubuna açıl grubu denir ve açıl grubunun bir bileşiğe bağlanması açılme tepkimesi olarak bilinir. İki uygun açıl grubu, asetil ve benzoil grubudur.



Şekil 1.34. Asetil ve Benzoil Grupları

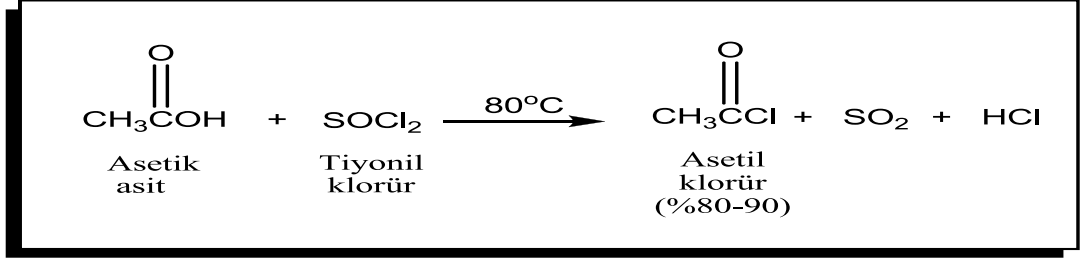
Friedel – Crafts açılme tepkimesi, aromatik bir halkaya bir açıl grubunun bağlanmasının etkili bir yoludur. Tepkime genellikle aromatik bileşiğin bir açıl halojenür ile etkileştirilmesiyle yapılır. Aromatik bileşiğin etkinliği yüksek olmadıkça, tepkime en azından bir eşdeğer Lewis asidi (AlCl₃ gibi) ilavesini gerektirir. Tepkime ürünü bir aril ketondur.



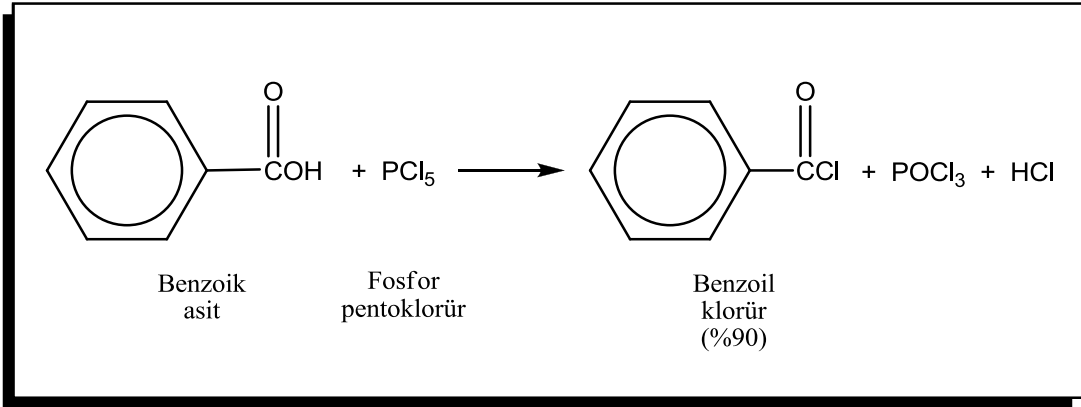
Şekil 1.35. Benzen ve Asetilklorürün Friedel-Crafts Açılme Tepkimesi

Asit klorürler olarak da bilinen açıl klorürler, karboksilik asitlerin tiyonil klorür

(SOCl₂) veya fosfor pentaklorür (PCl₅) ile etkileştirilmesi ile kolaylıkla sentezlenirler.

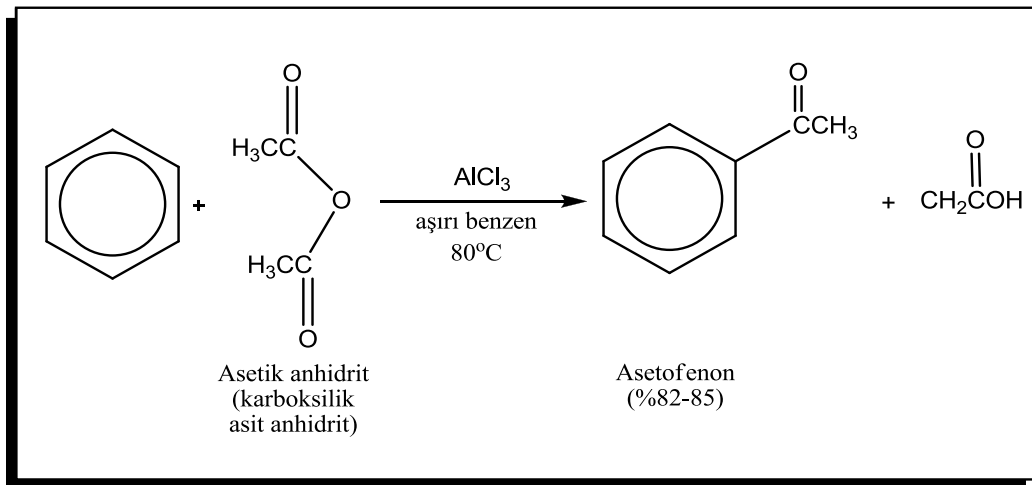


Şekil 1.36. Asetikasitin Tiyonülklorür ile Etkileştirilmesi



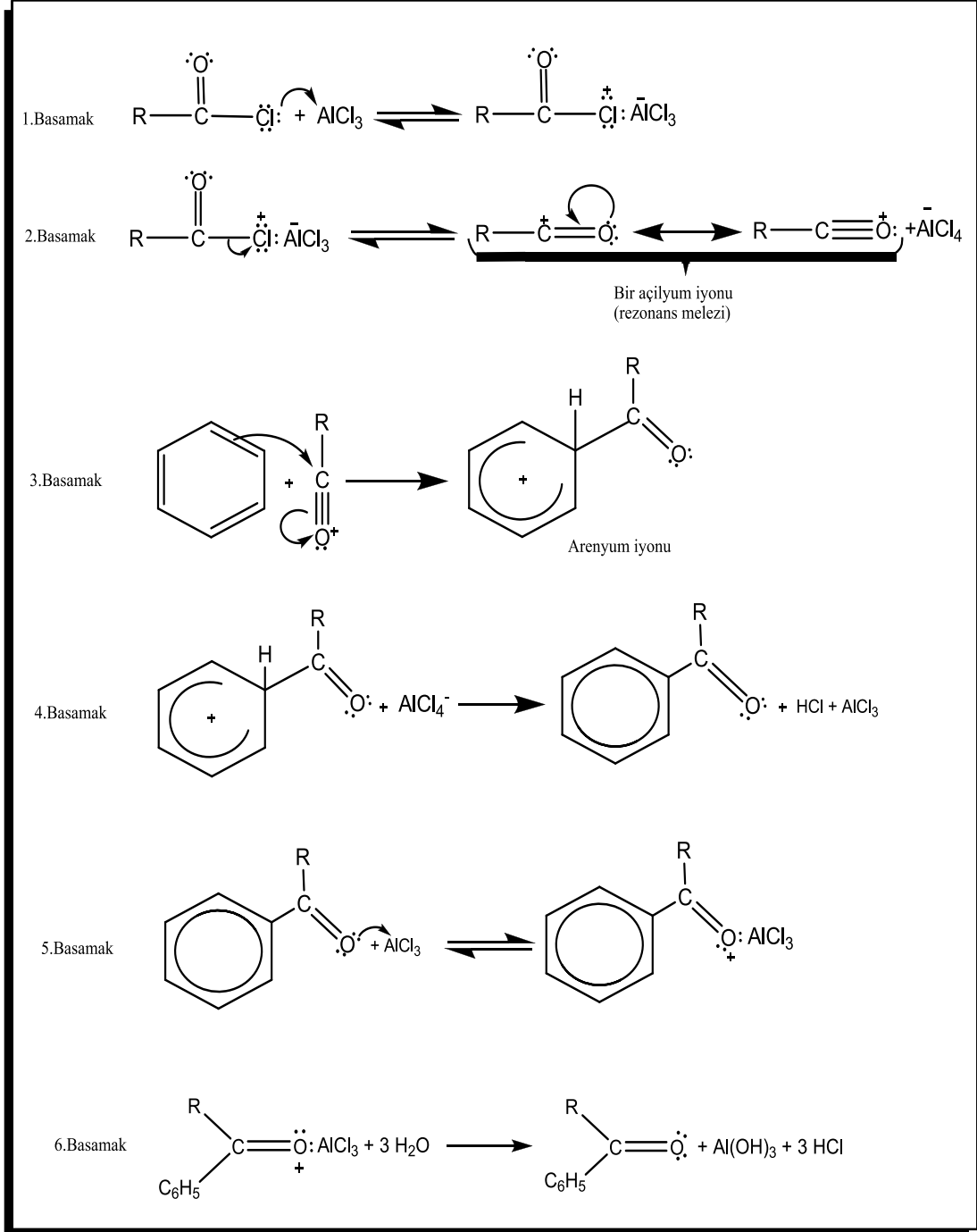
Şekil 1.37. Benzoik Asitin Fosforpentaklorür ile Etkileştirilmesi

Friedel – Crafts açillemeleri, karboksilik asit anhidritleri kullanılarak da yapılabilir.



Şekil 1.38. Karboksilik Asit Anhidritleri Kullanılarak Yapılan Friedel – Crafts Açilleme

Pek çok Friedel – Crafts açillemesinde elektrofİL, açilyum iyonudur ve açil halojenürden aşağıdaki verilen mekanizmayla oluşur.

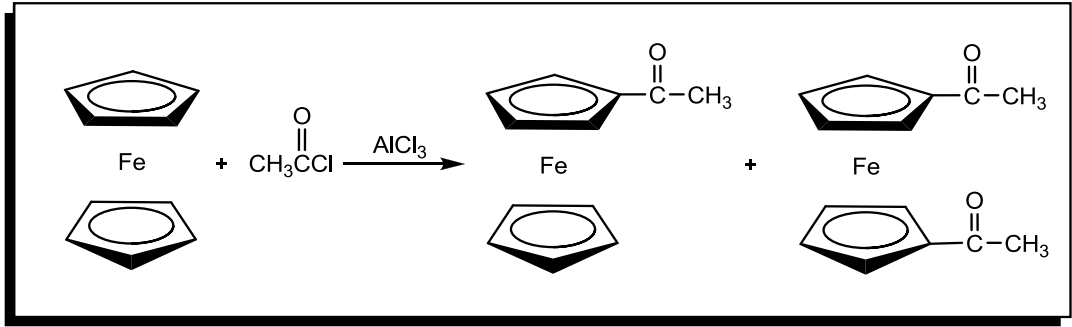


Şekil 1.39. Benzenin Friedel – Crafts Açillemesi Mekanizması

Son basamakta, alüminyum klorür (bir Lewis asidi) keton (bir Lewis bazı) ile bir kompleks oluşturur. Tepkime tamamlandıktan sonra, kompleksin su ile etkileştirilmesi ketonu verir [57].

1.4.4. Ferrosenin Friedel-Crafts Açillemesi

Birçok Lewis asidi benzenin Friedel-Crafts açillemesinde olduğu gibi ferrosenin Friedel-Crafts açillemesinde de kullanılır.



Şekil 1.40. Ferrosenin Friedel - Crafts Açillemesi

1.5. Biyolojik Aktivitenin İncelenmesinde Kullanılan Testler

1.5.1. Sitotoksosite Testleri

Toksik olduğu tahmin edilen maddelerin, uygun hücre kültürü ile inkübe (kuluçka) edilerek, kültürde bulunan hücrelerin büyüme oranı ve morfolojisi, biyosentez membran bütünlüğü, genetik yapısı ve enzim aktivitesi üzerindeki etkilerinin pozitif ve negatif kontrol gruplarıyla kıyaslayarak değerlendirildiği testlerdir [68-69].

Sitotoksosite testleri vücutla temas halinde ya da implante olarak kullanılan biyometaryallerin veya yapay organların biyolojik uyumluluğunun değerlendirilmesi için bir hayli önemlidir. Bu testler potansiyel ve mevcut biyomateryallerin biyoyuumluluğunun değerlendirilmesinde başlangıç fazını teşkil eder [70].

Bu testlerin amacı, test sürecinin erken kısmında güvenli, uygun ve tekrarlanabilir bir yöntem olarak rol almak ve hücresel fonksiyonlar üzerinde hücre ölümü ve diğer negatif etkileri belirlemektir [71].

Sitotoksosite genel olarak biyomateryallerden ortama salınan maddelerle ilgilenmektedir. Bu maddeler sıklıkla değişen düzeyde hücrel toksisiteden sorumlu olan, metabolik dengeyi değiştiren ya da daha ciddi toksisiteye neden olan düşük moleköl ağırlıklı katı maddeleridir [72-73].

Biyolojik olarak yıkıma uğrayan sistemler varlığında vücut sıvılarının hareketiyle materyallerin yıkımına neden olan enzimlerin, çalışması gereken en önemli özellik olduğu belirtilir [73].

Sitotoksosite testlerinde test edilen sistemin morfolojisi materyalin performansını yüksek derecede etkiler. Daha büyük bir yüzey alanı degradasyon oranının artmasına ve sonuç da ortama salınan ve reaksiyona giren ürünlerin artarak Sitotoksosite oranının değişmesine neden olmaktadır [74].

Sitotoksosite analizlerinde genellikle memeli hücre kültürleri tercih edilmesinin sebebi, insanlarda ve hayvanlarda hastalıkların ve ölümün gelişiminde sorumluluğu bulunan birincil derecede reaksiyonlar sonucunda oluşan metabolitlerdir [75].

Sitotoksosite araştırmalarında kullanılacak yöntemin seçimi, biyolojik olarak değerlendirilmek için verilerin uygunluğuna, testin yapılma rasyonelliğine ve test materyalinin özelliklerine bağlı olarak değişiklikler gösterir. Dolaylı ve doğrudan temas olarak iki metot geliştirilmiştir. Dolaylı metot tekniği genel olarak iki şekilde yapılır. Birinci yöntemde materyal ve hücre tabakası arasında agar gibi bir difüzyon bariyer oluşturularak hücreler materyallerden ayrılır. İkinci yöntemde ise hücre tabakası üzerine materyalin küçük bir örneği konularak yapılır ki, bu yöntem en çok tercih edilenidir. Doğrudan metot ise genellikle test edilecek materyalin üzerine hücre süspansiyonu eklenerek hücreler materyalle doğrudan temas haline getirilir [76].

Sitotoksosite testlerinde invitro (laboratuvar ortam) test yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin en önemli avantajı çok fazla sayıda olan mevcut ve potansiyel biyometeryal ve modifikasyonları için yapılan testlerin deneysel koşullarda standardize edilebilmesi, tekrarlanabilir olması, hızlı olması ve maliyetinin düşük olmasıdır.

İnvitro yöntemler aynı zamanda hayvan deneylerinin azaltılması yönündeki toplum isteklerini de sağlamaktadır. Ayrıca bu testlerin çok hassas olması, potansiyel olarak sitotoksik materyallerin, test işleminin erken safhalarında, araştırmacılar tarafından tanımlanabilmesine imkân sağlar [75].

İnvitro sitotoksosite testleri hassasiyet bakımından invivo intrakutanöz irritasyon ve akut sistemik toksisite testlerinden daha üstündür. Bunun nedeni invitro testlerde sadece hedef hücreye yönelik araştırmaların yapılabilmesidir. İnvitro testler ileri teknoloji sayesinde metabolizma değişkenlerini, dağılmayı ve absorpsiyonu azaltarak istenilen hücreye istenilen düzeyde toksik substansın iletilebilmesini mümkün kılmaktadır [71].

İn vitro sitotoksosite testlerinin en önemli dezavantajı, özellikle insanlara uygulanacak biyomateryallerin daha kompleks bir mekanizma ile karşılaştığında oluşabilecek toksisitesinin öngörülememesidir [77]. İn vitro testlerinin bir diğer dezavantajı materyalin toksik etkisi hakkında genel bilgi vermesidir.

Materyallerin klinik olarak kullanılmasından önce sitotoksisite testlerinin belirlenmesi için üretim aşamasında bazı testlerden geçmesi gerekir [78]. Toksik madde varlığında hücre canlılığının belirlenmesinde Neutral Red (NR) ve MTT (tetrazolyum tuz redüksiyon) deneyleri sık kullanılan yöntemlerdir [79].

1.5.2. WST-1 Testi

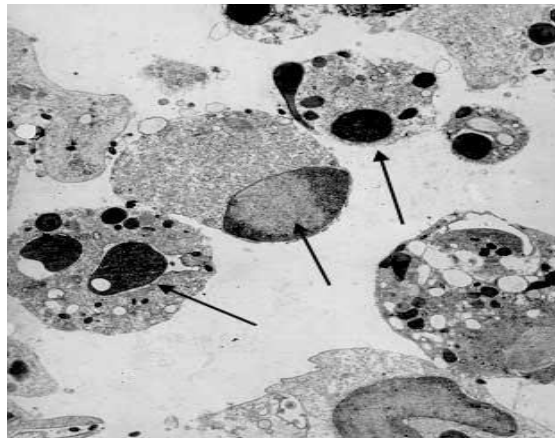
Sitotoksik ve sitotastik bileşiklerin analizinde, hücre büyümesine engel olan antikor ve fizyolojik ortamların değerlendirilmesinde kullanılan bir testtir. Bu testte WST-1 tetrazolyum tuzu yalnızca canlı hücrelerde aktif hale gelen ve mitokondrial respiratuar zincirde yer alan süksinat-tetrazolyum redüktaz ile suda çözünen formazon boyasına dönüştürülür. Bu testte mitokondrial dehidrogenazın toplam aktivitesi canlı hücre sayısının artmasıyla yükselir. Enzim aktivitesinde ki artış, kültür ortamındaki metabolik olarak aktif halde olan hücrelerin sayısı ile direkt olarak ilişkili olarak formazon boyasının üretiminde ve miktarındaki artışa neden olmaktadır [80-81].

1.5.3. Apoptoz

Kanser, çevresel etmenlerden kaynaklanarak oluşan genetik hasarların birikimiyle canlı hücrenin engellenemeyen kötü huylu olarak çoğalmasıdır (Şekil 1.41) . Doğal ya da yapay kimyasal maddeler, iyonize radyasyon, fiziksel etkenler ve virüsler kansere neden olan nedenler olarak bilinmektedir. Bu etkenler, genetik mutasyonlara ve DNA hasarlarına yol açmaktadırlar. DNA'sı hasar görmüş hücreler, organizmanın zarar görmemesi için programlanmış hücre ölüm mekanizmasını (apoptoz) uyarılmaktadırlar.

Programlanmış hücre ölümü olarak da adlandırılmakta olan apoptozun metabolik olayların devamlılığı için gerekli olan yaşamsal sinyaller yerine komşu hücrelerden ölüm sinyali aldığı veya hücresel hasarın yeterince onarılamadığı durumlarda uyarıldığı ve bu mekanizmanın genler tarafından düzenlendiği görülmüştür [82-83].

Apoptoz için sinyal alındıktan sonra hücre içinde birçok biyokimyasal ve morfolojik değişim gözlenmektedir. Hücre küçülmeye başlar, hücre iskeleti dağılır, çekirdek zarının yer yer eridiği gözlenir. Çekirdek DNA'sı ise parçalara ayrılmaktadır [84-85]. Apoptotik hücre sayısı kişinin ya da organizmanın sağlıklı ya da hasta oluşunu belirlediğinden, apoptozun fonksiyonel mekanizmaları hücrede denge unsurudur [86]. Dengenin olumsuz yönde bozulması; Alzheimer ve Parkinson gibi hastalıklardan ülseratif kolitler, AIDS gibi kronik hastalıklara hatta immünolojik (bağışıklık) hastalıklarına bile neden olabilmektedir [87-88].

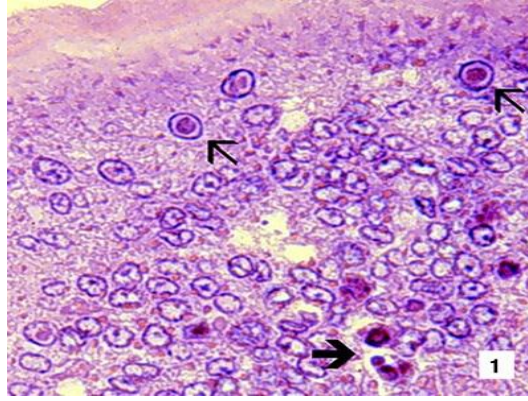


Şekil 1. 41. Apoptoza Uğramış Hücreler

1.5.4. Nekroz

Patolojik olaylar sonucu oluşan hücre ölüm şeklidir. Hücre hasarını gerçekleştiren travma, hücre kanlanması, oksijenlenmenin bozulması, enfeksiyon gibi etkenler sonucu gerçekleşir. Organeller şişer, hücre sınırları düzensiz hale gelir bunların sonucunda hücrenin bütünlüğü kimyasal ve yapısal olarak bozulur (Şekil 1.42).

Enflamasyon (iltihaplanma) ise nekrozun en belirgin özelliğidir. Dört tip nekroz çeşidi olup, hepsi farklı histomorfolojik bulgular içermektedir [89].



Şekil 1.42. Nekroza Uğramış Hücreler

1.5.5. Apoptozisin ve Nekrozun Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

1.5.5.1.Kaspazlar

Apoptozisi belirlemek için geliştirilmiş bir yöntemdir. 90'lı yılların ortalarında apoptotik hücrelerde kaspazların aktif hale geldiği tespit edilmiştir [90].

Kaspazlar nükleeraminleri keserek çekirdeğin parçalanmasına yol açmaktadır. Hücre iskeleti proteinlerini keserek hücre iskeletinin tahribine, hücre zarının tomurcuklanmasına ve hücre parçalanmasına neden olmaktadır [91].

1.5.5.2. Floresan Mikroskopi

Floresan mikroskopi, floresan içerikli maddelerin kullanılmasıyla yapılan bir boyama şeklidir. Örneğin, Hoechst boyası, DAPI '4,6-diamidin-2-fenilindol' , propidyum iyodür, akridin orange, etidyum bromür, FITC (floreson izosiyanat) gibi.

Floresan boyalar DNA'ya bağlanabilme özelliklerinden dolayı hücrenin kromatitini, yani hücrenin çekirdeğini görünür hale gelebilir.

Hücre kültürü çalışmalarında canlı hücre ile cansız hücrenin ayırımına olanak sağlarlar. Canlı ve ölü hücre ayırımını yapabilmek için, canlı veya ölü hücrelerinin bütününe boyayabilen bir boya (örn. Hoechst boya) ile sadece ölü hücreleri boyayabilen bir başka boya (örn. Propidium iyodür) birlikte kullanılır. Bu yöntemle hücrelerin ölü ya da canlı olduğu anlaşılabilir fakat ölü hücrelerin nekroz ya da apoptozla ölüp ölmediklerinin farkı hematoksilen boyamada olduğu gibi çekirdeğin morfolojisine bakılarak anlaşılır. Kromatin kondensasyonu veya nükleus fragmentasyonu olan hücreler apoptotik hücreler oldukları anlaşılır [92].

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Sentezlenen ürünlerin karakterizasyonu ^1H NMR, ^{13}C NMR ve FT-IR spektroskopik metotlar ile yapılmıştır. NMR için 400 MHz'lik NMR cihazları (Bruker Ultrashield Superconducting 400 MHz sıvı NMR cihazıdır) kullanılmıştır. Heteroaril bileşikleri Aldrich firmasından temin edilmiştir. Sentez ürünlerinin saflaştırma işlemleri flaş kolon kromatografisiyle silika jel 60 da (Merck, 230–400 mesh ASTM) yapıldı. Reaksiyonların durumu 250 μm Silica Gel 60 F254 (UV-aktif) plakalarıyla yapıldı ve 254 nm'de UV lambası ile İTK'lere bakıldı. Çözgenler düşük basınç ve düşük sıcaklıkta altında dönerli buharlaştırıcı ile uçuruldu. EtAlCl_2 (1.1 M toluen içinde), LiAlH_4 ve açıl halojenürler Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Diklorometan (CH_2Cl_2) CaH_2 üzerinden azot ortamında destillenerek kurutulmuştur. Tetrahidrofuran (THF) ise sodyum benzofenon ile yine azot atmosferinde destillenerek kurutulmuştur. Diğer çözgenler aksi belirtilmedikleri sürece kurutulmadan doğrudan olarak kullanılmışlardır.

Biyolojik aktivite incelenmesinde ise, Sodyum bikarbonat (Sigma, ABD), Etil alkol (Sigma, ABD), Tripan mavisi (Sigma, ABD), FBS (Fötal sığır serumu, Serva, İsrail), Dulbeccos Modified Eagles Medium (DMEM, BD., USA), Tripsin/10 mM EDTA (Etilendiamintetraasetat) (Sigma, ABD), PBS (fosfat buffer saline) (Sigma, ABD), Etüv (Ultralab U-120), Santrifüj (Ultralab), Manyetik karıştırıcı (Şimşek Labortechnik), otomatik cell counter (invitrogen, USA), Laminar akış kabin (klas II Laminar Flow Cabinet, Labor ildam, Türkiye), UV sterilatör (Philips), Karbondioksitli etüv (Nüve, Türkiye), invert mikroskop (Leica, İsveç), Hemasitometre (Bürker hemositometre, Almanya), 96 gözlü hücre kültür kabı (BD, USA), Hücre kültürü flaskları (BD, USA), 0,2 μm filtreler (Sartorius), Santrifüj tüpleri (Nunc, Almanya), HeLa hücre hattı (Human sevix cancer cell line) (Şap Enstitüsü, Ankara), Mikropipetler (Scaltec, Almanya), Pipetler (Costar steripipette, ABD), Petri kapları (Orange Scientific). Çeşitli cam malzeme ve çeşitli plastik malzeme analitik düzeyde kullanılmıştır.

2.1. Ferrosenin Tiyofenoil İle Açılması Genel Metodu

0.005 mol (460 mg) ferrosen çift boyunlu balona alınıp 20 mL DCM içinde oda sıcaklığında çözüldü. Balon buz banyosu üzerine yerleştirilip, N₂ gazına bağlanıp 10 dk. bekletildi. 0,25 mL (0.005 mol) 2-Tiyofenoil klorür eklendi. 2.5 mL (0.005 mol) EtAlCl₂ damla damla eklendi. 20 dk. karıştırıldıktan sonra 25 mL saf su ile hidrolize edildi. CH₂Cl₂ fazı su fazından üç kez ekstraksiyon (3x25) yapılarak ayırma hunisi ile ayrıldı. Organik faz susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. CH₂Cl₂ dönerli buharlaştırıcı ile uçuruldu. Kolondan (10:1, Hekzan: Etilasetat sistemi ile) yürütüldü. 230 mg madde izole edildi. Ürün ¹H NMR, ¹³C NMR ve FT-IR Spektroskopisi ile karakterize edildi.

2.2. Ferrosen Bileşiklerinin Genel İndirgenme Metodu

Ferrosenin açılma bileşiği (0.00144 mol) kurutulmuş THF (10 mL) içinde oda sıcaklığında azot gazı altında çözüldü. Karışmakta olan çözelti 0 °C dereceye getirildi ve 10 dk. bekletildi. Üzerine yavaş yavaş (0.00158 mol) LiAlH₄ eklendi. 5 dk. bekletildikten sonra çözeltinin kırmızı renginin sarı renge dönüştüğü görüldü. Yarım saat sonra saf su (20 mL) ile hidrolize edildi. 3 defa CH₂Cl₂ ile ekstraksiyon yapıp CH₂Cl₂ fazı alınıp susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Düşük basınç altında konsantre hale getirildi. Flash kolon ve uygun etilasetat-hekzan (4:1) sisteminde saflaştırıldı. Ürün ¹H NMR, ¹³C NMR ve FT-IR Spektroskopisi ile karakterize edildi.

2.3. Biyolojik Aktivite İncelenme Metodu

2.3.1. HeLa Hücrelerinin Kültürde Çoğaltılması

HeLa hücreleri ŞAP enstitüsünden (Ankara, Türkiye) temin edilmiştir. HeLa hücreleri, %1 penisilin-streptomisin, % 10 FCS içeren DMEM-F12 (L- glutamin içermeyen) besiyerinde, 25'lik flasklarda %5 CO₂ atmosferinde, 37 °C'de, karbondioksit inkübatöründe inkübe edildi. Yeterli hücre sayısına ulaşıncaya kadar her iki günde hücrelerin besi ortamları taze besi yeri ile değiştirildi. Dördüncü günde Tripsin-etda kullanılarak pasajlama yapıldı. Dördüncü günün sonunda hücreler hemositometre ile sayılarak toksisite, apoptoz ve nekroz deneylerinde kullanılabilir sayıya ulaşmış olup olmadığı kontrol edildi.

2.3.2. WST-1 Metodu ile Sitotoksitenin Tespiti

Bileşik I, Bileşik III, Bileşik IV, Bileşik V ve Bileşik VI'nın HeLa kanser hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi WST-1 metodu ile tespit edilmiştir.

İlk aşamada HeLa kanser hücrelerinin 96 well platelere her bir kuyucuğa 5×10^3 hücre düşecek şekilde ekimi yapılmıştır. Well platelerdeki hücreler belirli bir sayıya ulaştığında bileşiklerin her birinden 12.5, 25, 50 ve 100 $\mu\text{g/mL}$ aynı miktarda ve üç kez tekrarlı hücrelere uygulanarak 48 saat inkübe edilmiştir. Kontrol grubu olarak sadece medium hücrelere uygulanmıştır. 48 saat sonunda her kuyucuğa 15 μL WST-1 çözeltisi ilave edilmiştir. 37 °C'de 4 saat inkübasyondan sonra hücre yaşayabilirliğinin tespiti için 96 kuyucuklu platelerin absorbans yoğunluk değerleri ELİSA plate okuyucuda 420-480 nm'de okunmuştur. WST-1 toksisite testinde yaşayan hücreler sarı renk oluştururken, ölü hücrelerde renk oluşumu gözlenmez.

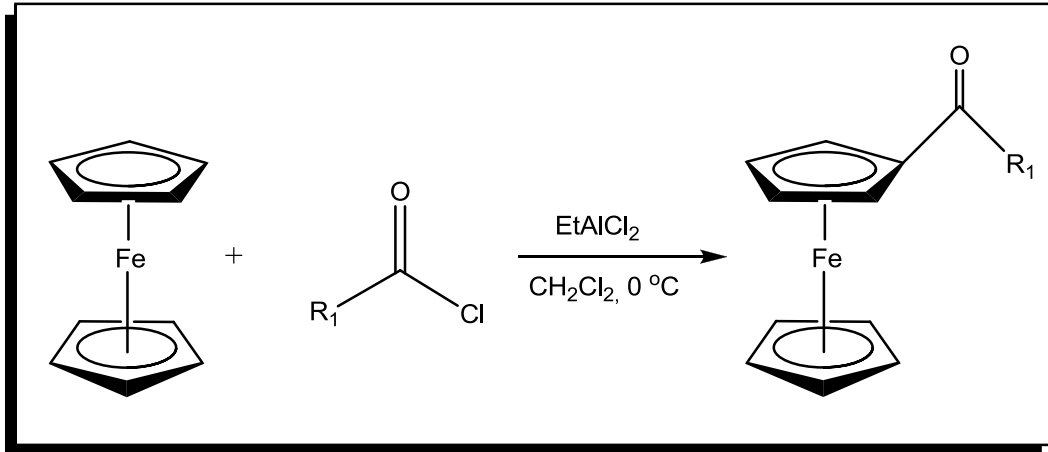
2.3.3. İkili Boyama Metodu ile Apoptozun ve Nekrozun Belirlenmesi

Farklı oranlarda Bileşik I, Bileşik III, Bileşik IV, Bileşik V ve Bileşik VI ile HeLa hücreleri 48 saat süre ile etkileştirilmiş ve kanser hücreleri falkon tüplere toplanarak hücreler santrifüj edilir. Süpernatantı atılır ve üzerlerine ikili boyama solüsyonu (RNase (2 $\mu\text{L/mL}$)), hoechst 33342 (2 $\mu\text{L/mL}$), propidium iyodide (2 $\mu\text{L/mL}$) 10^6 hücreye 100 μL solüsyon konuldu ve 20 dk. etüvde inkübe edildi. Lam üzerine damlatıldıktan sonra lamelle kapatılıp ve floresan mikroskopta DAPI filtresi kullanılarak apoptoza uğramış ve FITC (480-520 nm dalga boyunda) nekroza uğramış hücrelerin değerlendirilmesi yapılmıştır. Değerlendirme Floresan mikroskopta (Leica DMI70, Almanya) 10 farklı alan (yaklaşık 1000 hücre) sayılarak ortalaması alınıp ve Apoptotik indeks yüzde (%) olarak ifade edilmiştir. Değerlendirmede normal apoptotik olmayan hücrelerin çekirdekleri sönük mavi, çekirdekte DNA dağılmamış, hücrede veziküller oluşmamış olarak görülmektedir. Apoptoza girmiş hücre çekirdekleri ise normal hücre çekirdeklerine göre çok parlak, çekirdek homojenliği kaybolmuş, çekirdek kenarları düzgün değil ve DNA parçalanmış parlak mavi görünümündedir. Kültür kabında yüzeye tutunan hücreler kaldırılmadan yukarıda belirtilen floresan boyama solüsyonu 100 μL /kuyucuk hücrelere uygulanarak da inceleme

yapılmıştır. İkili boyama sonucunda normal ve apoptoza girmiş hücrelerin çekirdekleri Hoechst 33342 floresan boyası ile boyanmıştır.

İkili boyamada kullanılan diğer boya propodium iyodid (PI) ise nekroza uğramış hücreleri göstermek amacı ile kullanılmıştır. PI floresan boyası normal de canlı ve hücre zarlarında hasar olmayan hücelere giremez ve bu hücreler PI ile boyanmazlar. Fakat hücre nekroza uğradığında veya hücre zarı hasar gördüğünde hücre içerisine girer ve çekirdeği kırmızıya boyar. Floresan ışık (FITC veya kırmızı floresan ışık) altında bakıldığında nekroza uğrayan hücrelerin çekirdekleri kırmızı renkte görülen hücrelerin yüzdesi hesaplanarak nekrotik hücreler belirlenmiştir [93-94-95].

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA



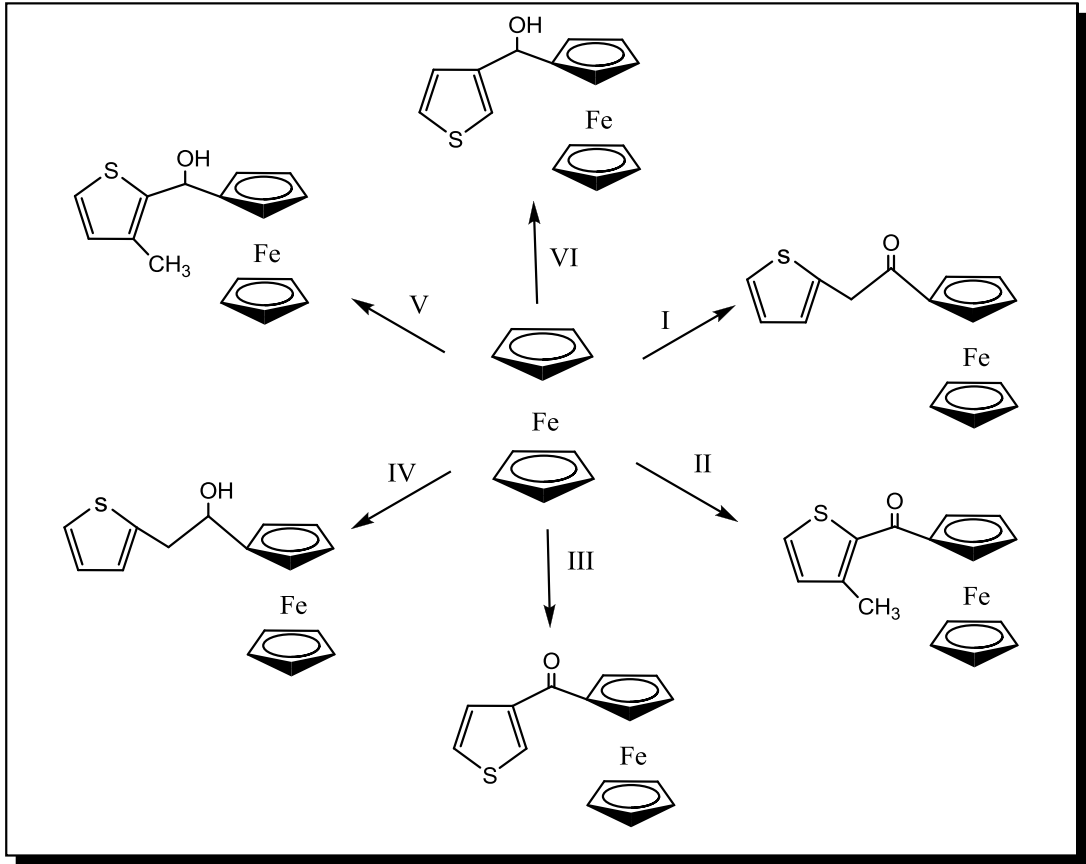
Şekil 3. 1. Ferrosenin açılmesinin genel tepkimesi

Çizelge 1. 2. Sentezlenen Ferrosen Açılme Türevlerinin Verimleri

	R	R ₁	Verim
Bileşik I	Ferrosen	2-Tiyofenasetil klorür	%65
Bileşik II	Ferrosen	3-metiltiyofen-2-karbonil klorür	%80
Bileşik III	Ferrosen	Tiyofen-3-karbonil klorür	%64

Çizelge 1. 3. Sentezlenen Ferrosen Alkol Türevlerinin Verimleri

	R	R ₁	Verim
Bileşik IV	Ferrosen	2-Tiyofenasetil klorür	%75
Bileşik V	Ferrosen	3-metiltiyofen-2-karbonil klorür	%78
Bileşik VI	Ferrosen	Tiyofen-3-karbonil klorür	%43



Şekil 3. 2. Sentezlenen Ferrosen Tiyofen Türevleri

3.1. Sentezlenen Ferrosenoil Tiyofen Türevlerinin Spektroskopik Analiz Sonuçları

I numaralı bileşiğin ^1H NMR spektrumu incelendiğinde mono-süstitue ferrosene ait sinyaller 4.1, 4.5 ve 4.9 ppm'de tekli (singlet) olarak görülmektedir. Tiyofene ait sinyaller ise sırasıyla 6.9, 7.3 ve 7.35 ppm' de ortaya çıkmıştır. Tiyofene bağlı metilen grubunun sinyali ise 1.4 ppm'de görülmüştür. Bileşiğin FT-IR spektrumu incelendiğinde klasik C-C, C-H bandlarına ilave olarak karbonil grubunun karakteristik bandı 1655 cm^{-1} 'de görülmüştür.

II numaralı bileşiğin ^1H NMR spektrumu incelendiğinde mono-süstitue ferrosene ait sinyaller 4.2, 4.5 ve 4.9 ppm'de tespit edilmiştir. Tiyofene bağlı metil grubu 2.4 ppm'de tekli olarak görülmüştür. Tiyofen grubuna ait sinyaller ise sırasıyla 6.8 ve 7.3

ppm'de ikili (dublet) olarak belirlemiştir. Bileşiğin FT-IR spektrumunda karbonil grubuna ait karakteristik band 1611 cm^{-1} 'de görülmüştür.

III numaralı bileşiğin ^1H NMR spektrumunda mono-süstitue ferrosen sinyalleri 4.1, 4.5 ve 4.9 ppm'de; tiyofene ait sinyaller dublet olarak 7.2, 7.6 ve 8.1 ppm'de rezonans olmuşlardır. 1.2 ve 2.0 ppm'de görülen sinyallerin safsızlıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında ferrosenin karbonlarının beklenildiği üzere 70-72 ppm aralığında görüldüğü tespit edilirken tiyofene ait sinyallerin gücü zayıf geldiği için gözükmemiştir. Karbonil grubuna ait karakteristik band ise FT-IR spektrumunda 1609 cm^{-1} 'de keskin bir bant olarak tespit edilmiştir.

IV numaralı indirgeme ürününe ait ^1H NMR spektrumu incelendiğinde mono-süstitue ferrosene ait sinyaller 4.0-4.5 ppm arasında dağılmıştır. Tiyofen grubuna bağlı metilen grubundaki hidrojenler 2.1 ppm'de dublet olarak ortaya çıkmıştır. Alkol grubuna bağlı olan karbon üzerindeki hidrojen oksijenin elektronegatif etkisinden dolayı 3.2 ppm gibi aşağı alana kaymıştır. Tiyofene ait aromatik hidrojenler ise 6.6, 6.8 ve 7.1 ppm'de ikili (dublet) olarak gözükmemektedir.

V numaralı indirgeme ürününe ait bileşiğin ^1H NMR spektrumunda fazla safsızlıklar olduğundan dolayı yapısı tam olarak karakterize edilememesine rağmen beklenen sinyaller gözükmemektedir. Başlangıç bileşiğinin (Bileşik II) FT-IR spektrumunda yer alan keskin karbonil bandının ürün olarak sentezlenen alkol türevinde olmaması indirgenme reaksiyonun tamamlandığını ispatlamaktadır. 3434 cm^{-1} 'de görülen geniş yayvan bant hidroksi grubunun varlığına ait kuvvetli bir delildir.

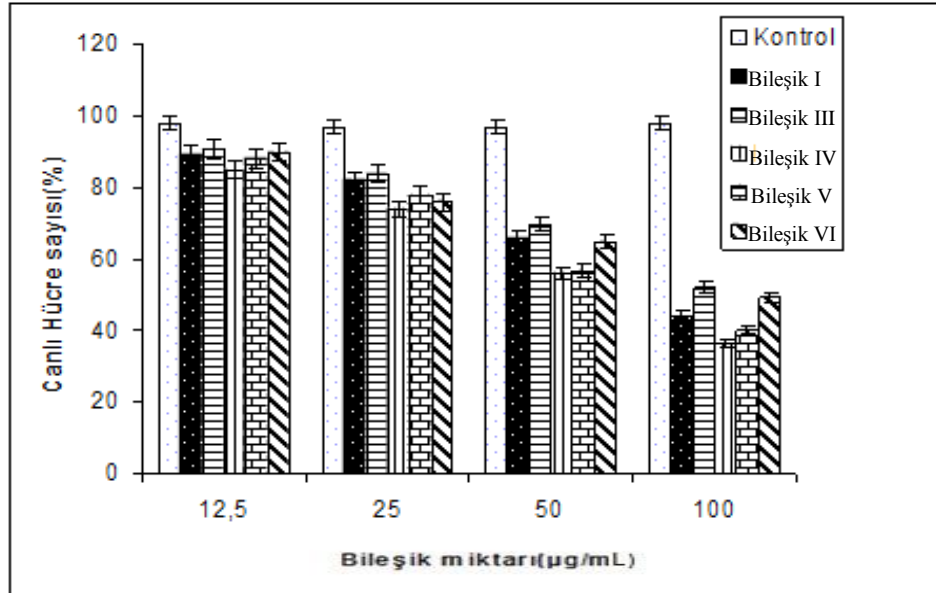
VI numaralı indirgeme ürününe ait bileşiğin ^1H NMR spektrumunda ortaya çıkan sinyaller beklenen integral değerlerine sahiptirler. Tiyofene ait aromatik karakteristik sinyaller 6.9, 7.1 ve 7.3 ppm'de dublet olarak tespit edilmiştir. Ferrosenin aromatik hidrojenleri ise 4.1-4.3 ppm aralığında görülmüştür. Alkol grubunun hidrojeni 5.4 ppm'de sinyal verirken alkol grubunun bağlı olduğu karbona bağlı hidrojen ise 2.25 ppm'de görülmektedir. Bileşiğe ait ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde 66, 67, ve 68 ppm'de ferrosen karbonları; tiyofen grubuna ait karbonlar ise 119, 124 ve 125 ppm'de; alkol karbonu ise 64 ppm'de belirlenmiştir. Karbonil grubunun karakteristik

keskin bandının FT-IR spektrumunda görülememesi ve karakteristik hidroksil bandının 3337 cm^{-1} 'de görülmesi bu varsayımı doğrulamaktadır.

3.2. Biyolojik Aktivite Sonuçları

3.2.1. Toksikite Sonuçları

Yapılan toksisite çalışmasına göre, Ferrosen bileşiklerinin düşük konsantrasyonda bile toksik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Toksikite sonuçları Şekil 3.3'de verilmiştir. Şekil 3.3 deki verilere göre bileşiklerden bileşik IV'ün $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda hücrelerin $\%44\pm3$, bileşik V'in $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda hücrelerin $\%37\pm3$ 'öldürdüğü gözlenmiştir. Bileşik I, Bileşik III ve Bileşik VI ise diğerlerine oranla daha düşük toksisteye sahip olduğu gözlenmiştir. Bileşik konsantrasyonunun artırılması toksisitenin artmasına neden olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda bileşik IV'ün $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda HeLa hücrelerinin $\%64\pm3$ oranda öldürerek en fazla toksik etkiye sahip olan bileşik olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3. 3. Ferrosen bileşiklerinin HeLa Hücrelerine Toksik Etkisi

3.2.2. Apoptotik ve Nekrotik Etkisi

Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; bileşiklerin farklı konsantrasyonların hepsinde apoptotik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Apoptotik indeks sonuçları Çizelge 1.4 ve apoptotik hücrelerin floresan mikroskop fotoğrafları Şekil 3.4 te verilmiştir. Tabloya bakıldığında bileşiklerin apoptotik etkilerinin birbirine yakın olduğu görülmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda apoptotik etkinin yüksek olduğu, düşük konsantrasyonda ise apoptotik etkinin azaldığı tesbit edilmiştir. Özellikle 100 µg/mL konsantrasyonda en yüksek oranda bileşik III HeLa hücrelerinin % 41±3, bileşik VI ise %42±3 apotozuna neden olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda (Şekil 3.4.A) hücre morfolojisinde değişiklik yok iken, hücre çekirdekleri homojen ve mat renkte görülürken Ferrosen bileşikleri ile etkileştirilmiş (Şekil 3.4.B) apoptoza girmiş hücrelerin çekirdekleri parlak mavi ve parçalanmış (okların ucundaki) görülmektedirler.

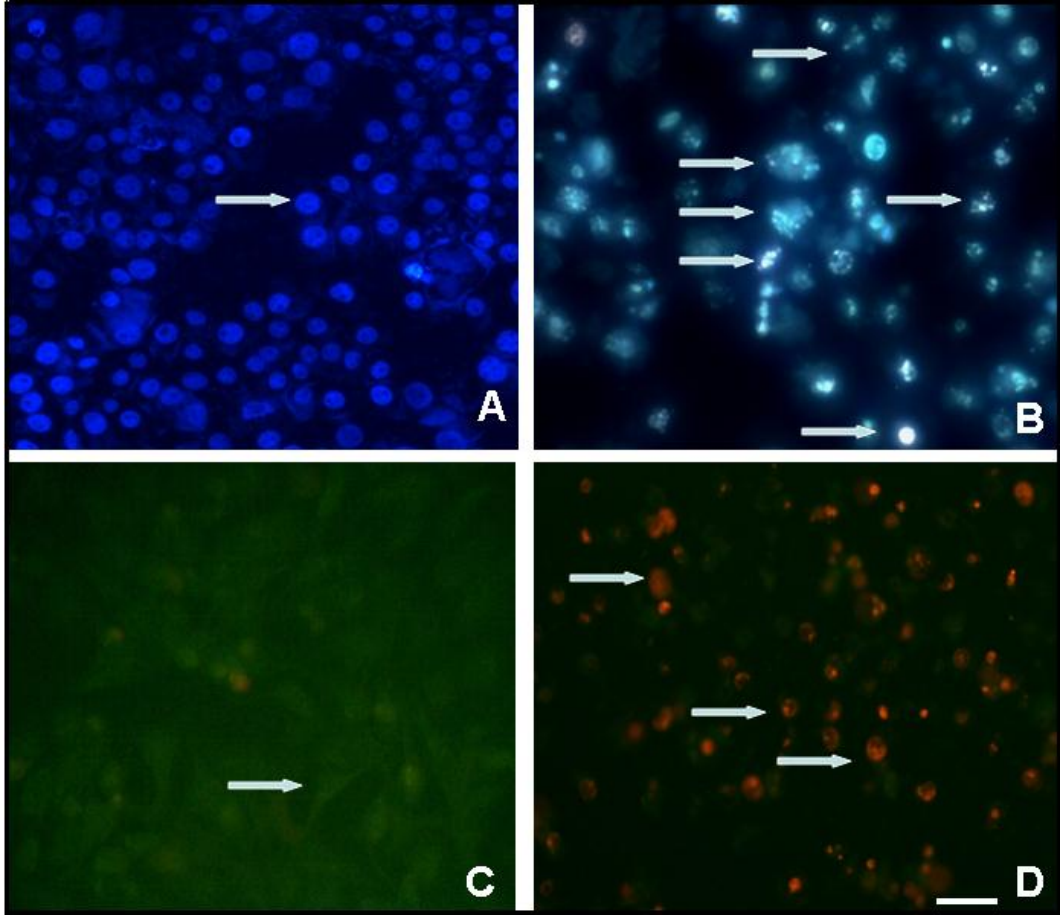
Çizelge 1. 4. Sentezlenen Ferrosen Türevlerinin Farklı Konsantrasyonda HeLa Kanser Hücrelerine Karşı % Apototik Etkisi

Bileşik miktarı(µg/mL)	Bileşik I	Bileşik III	Bileşik IV	Bileşik V	Bileşik VI
0	1±1	2±1	1±1	3±1	2±1
12.5	11±2	14±2	16±1	14±1	16±1
25	18±3	23±2	27±3	19±2	21±2
50	29±3	37±3	33±3	26±3	28±3
100	34±3	41±2	39±2	38±2	42±2

Nekrotik indeks sonuçlarına bakıldığında ise sonuçlar toksisite sonuçları ile yakın elde edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 1.5 de nekrotik hücrelerin fotoğrafları ise Şekil 3.4 de verilmiştir. Tabloya bakıldığında en yüksek, bileşik IV'ün 100 µg/mL konsantrasyonunda %58±3 oranında nekroz görülürken, düşük konsantrasyonlarda bu etkinin giderek azaldığı gözlenmiştir. Diğer bileşiklerin nekrotik indeksleri nispeten daha düşük elde edilmiştir. Şekil 3.4 C'de (kontrol grubu) nekroza uğramış hücreler görünmez iken, şekil 3.4.D'de propodium iyodid ile nekroza uğramış (ok ucu) hücrelerin çekirdekleri kırmızı renkte görünmektedir.

Çizelge 1. 5. Sentezlenen Ferrosen Türevlerinin Farklı Konsantrasyonda HeLa Kanser Hücrelerine Karşı % Nekrotik Etkisi

Bileşik miktarı(µg/mL)	Bileşik I	Bileşik III	Bileşik IV	Bileşik V	Bileşik VI
0	1±1	3±1	2±1	3±1	3±1
12.5	7±2	4±2	12±1	8±1	5±1
25	18±3	12±2	19±2	20±2	13±2
50	31±2	28±2	32±3	36±3	22±2
100	46±2	43±2	58±2	45±2	33±2



Şekil 3. 4. HeLa Hücrelerinin Floresan Mikroskop fotoğrafları

A) Ferrosen bileşikleri ile etkileştirilmemiş HeLa hücrelerinin (kontrol grubu) floresan mikroskobu fotoğrafı.

B) 100 µg/mL Bileşik IV ile etkileştirilmiş HeLa hücrelerinin floresan mikroskobu fotoğrafı (oklar apoptotik hücre çekirdeklerini göstermektedir).

C) Kontrol grubunun floresan mikroskop fotoğrafı (yeşil görünen hücreler nekrotik olmayan hücreleri göstermektedir)

D) 100 µg/mL Bileşik IV ile etkileştirilmiş HeLa hücrelerinin floresan mikroskobu fotoğrafı (oklar nekrotik hücrelerin kırmızıya boyanmış çekirdeklerini gösterir). Fotoğraflar 200 kere büyütülerek çekilmiştir. Bar 65 µm mesafeyi gösterir.

4. SONUÇ

Bu tez ile biyolojik aktiviteye sahip Ferrosenoil Tiyofen türevleri orta verimle (izole verimler) sentezlenmiştir. Sentezlerinde metot olarak Friedel-Crafts açilleme reaksiyonu kullanılmıştır. Katalizör olarak bir alkil Lewis asiti olan etilalüminyum klorür'ün (EtAlCl_2) kullanılması çalışmaya ayrıca bir orijinallik kazandırmaktadır. Sentezlenen bileşikler spektroskopik yöntemlerle (^1H NMR, ^{13}C NMR ve FT-IR) karakterize edilmiştir. Sentezlenen Ferrosenoil Tiyofen türevlerinin anti-kanser aktiviteye sahip oldukları yapılan bir dizi biyolojik çalışmalar ile (toksisite, apoptotik ve nekrotik etkileri) tespit edilmiştir. Özellikle IV numaralı bileşiğin yüksek anti-kanser etkiye sahip olduğu Şekil 3.3 ve Çizelge 1.4 ile Çizelge 1.5 de görülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Kealy, T.J., Pauson, P.L., A New Type of Organo-Iron Compound. *Nature*. 168 (4285): 1039, 1951.
- [2] Blaser, H.U., Spindler, F., Enantioselective catalysis for agrochemicals: the case history of the Dual Magnum herbicide. *Chimia*. 51, 297, 1997.
- [3] Imwinkelried, R., Catalytic Asymmetric Hydrogenation in the Manufacture of d-Biotin and Dextromethorphan. *Chimia*. 51, 300, 1997.
- [4] Zeise, W.C., Von der Wirkung zwischen Platinchlorid und Alkohol, und von den dabei entstehenden neuen Substanzen. *Pogg. Ann. Phys. Chem.*, 21, 497-541, 1831.
- [5] Millers, S.A., Tebboth, J.A., Tremaine, J.F., Dicyclopentadienyliron. *J. Chem. Soc.* 114, 632–635, 1952.
- [6] Wilkinson, G., The Preparation and Some Properties of the Cobalticinium Salts. *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 6148-6149, 1952.
- [7] Cotton, F.A., Wilkinson, G., Advanced Inorganic Chemistry. *Wiley, New York, 1988*.
- [8] Tongi, A., Hayashi, T., Ferrocenes. VCH, Wienheim, 1993.
- [9] Wilkenson, G., Rosenblum, M., Whiting, M.C., Woodward, R.B., The Structure of Iron Bis-Cyclopentadienyl. *J. Am. Chem. Soc.*, 74, 2123-2126, 1952.
- [10] Fischer, Von, E.O., Pfab, W., Cyclopentadien-Metallkomplexe, ein neuer typ metallorganischer Verbindungen. *Zeitschrift fur Naturforschung*. 7, 377, 1952.
- [11] Anonim, Nobelprize.org, The Official Web Site of the Nobel Prize http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1973/ (Erişim tarihi 13/01/2012)
- [12] Kotz, P.T., Chemistry & Chemical Reactivity. 1052. Cengage Learning EMEA, Belmont USA, 2008.

- [13] A. İnce, Ferrosen Bulunduran Bazı Tiyofosfanat Türevlerinin Elektrokimyasal Davranışları ve Yüzey Adsorpsiyonlarının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Konya, 2008.
- [14] Tunalı, N.K., Özkar, S., Anorganik Kimya. 369-370. Gazi Kitabevi, Ankara, 2005.
- [15] Cox, P.A., Instant Notes Inorganic Chemistry. 239. Bios Scientific Publishers Taylor&Francis Group, 2004.
- [16] Yamamoto, A., Organotransition Metal Chemistry: Fundamental Concepts and Applications. 105. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1986.
- [17] Kalsi, P.S., Organic Reactions And Their Mechanisms. 269. New Age International, Ludhiana, 2000.
- [18] Spessard, G.O., Miessler, G.L., Organometallic Chemistry. 93. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 1997.
- [19] Giordan, J.C., Moore, J.H., Tossell, J.A., Anion states of organometallic molecules and their ligands. *Acc. Chem. Res.*, 19, 281-286, 1986.
- [20] Rühl, E., Hitchcock, A.P., Carbon K-shell Excitation of Metallocenes. *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 5069, 1989.
- [21] Housecroft, E.C., Sharpe, G.A., Inorganic Chemistry. 731. Pearson Education Limited, Second edition, Essex, 2005.
- [22] Miessler, L.G., Tarr, D.A., İnorganik Kimya. 452-457. Palme Yayıncılık, Ankara, 2002.
- [23] Elschenbroich, C.H., Salzer, A., Organometallics, A Concise Introduction. 328. VCH Publishers Inc., New York, 1992.
- [24] N. Brenna, The Synthesis, Characterisation, and Application of Novel N-Ferrocenoyl Peptide Derivatives. Doktora Tezi. Dublin City University, Dublin, 2010.

- [25] Rosenblum, M., Abbate, F.W., The Problem of Metal Atom Participation in Electrophilic Substitution Reactions of the Iron Group Metallocenes. *J. Am. Chem. Soc.* 88 (18): 4178–4184, 1966.
- [26]Yeniova, H., Kompozit Yakıtlarda Polimerizasyon Kinetiğine Katkı Maddelerinin Etkisi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara, 2003.
- [27] S. Gemici, Dikarbonil Doymamış Ferrosen Türevleri Sentezi. Yüksek Lisans Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2005.
- [28] Parshotam, H., The use of ferrocene and camphor for the synthesis of carbon nanotubes using Catalytic Chemical Vapor Deposition. Magister Technologiae in Chemistry. University of Johannesburg, Johannesburg, 2007.
- [29] S. M. Çelebi, Poli(Vinilferrosenyum)- Destekli Elektro katalizörlerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu. Doktora tezi. Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2008.
- [30] Coates, G.E., *Organo-Metallic Compounds*. John Wiley & Sons, Inc.,1960.
- [31] Hart, H., Hart, D.J., Craine, L.E., *Organic Chemistry*. Houghton Mifflin Company, New York, 1995.
- [32] Elschenbroich, C., Salzer, A., *Organometallics*. VCH Publishers Inc., NewYork, 1992.
- [33] Jaouen, G., Vessières, A., Transition Metal Carbonyl Oestrogen Receptor Assay. *Pure Appl. Chem.* 57, 1865-1874, 1985.
- [34] Top, S., Jaouen, G., Vessieres, A., Abjean, J.P., Davoust, D., Rodger C.A., Sayer, B.G., McGlinchey, M.J., Chromium tricarbonyl complexes of estradiol derivatives: differentiation of alpha and beta diastereoisomers using 1- and 2-dimensional NMR spectroscopy at 500 MHz. *Organometallics.* 4, 2143-2150, 1985.
- [35] Jaouen, G., Top, S., Vessières, A., *Bioorganometallics*. Wiley-VCH: Weinheim, 2006.

- [36] Tang, L.F., Jia, W.L., Wang, Z.H., Chai, J.F., Wang, J.T., Synthesis, structures and electrochemical properties of Group 6 metal carbonyl complexes containing ferrocenylpyrazole ligands. *J. Organomet. Chem.* 637, 209-215, 2001.
- [37] Little, W.F., Scott, A., Comprehensive Organometallic Chemistry. Academic Press, New York, 1963.
- [38] Sharma, R.K., Inorganic Reaction Mechanisms. 267. Discovery Publishing House, New Delhi, 2007.
- [39] Collmann, J.P., Hegedus, L.S., Principle and Application of Organotransition Metal Chemistry. Oxford Univ. Press, Oxford, 1980.
- [40] Kopf-maier, P., Kopf, H., Neuse, E.W., Ferricenium complexes: a new type of water-soluble antitumor agent. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 108, 336-340, 1984.
- [41] Georgopoulou, A.S., Mingos, D.M.P., White, A.J.P., Williams, D.J., Horrocks, B.R., Houlton, A., Bifunctional ferrocene derivatives for molecular recognition of DNA duplexes. *J. Chem. Soc.-Dalton Trans.* 17, 2969-2974, 2000.
- [42] M. Görmen, Synthesis of ferrocenophane derivatives and evaluation of their antiproliferative activity against breast and prostate cancer cells. Doktora tezi, De l'université de Pierre et Marie Curie, Paris, 2010.
- [43] Osella, D., Ferrali, M., Zanello, P., Laschi, F., Fontani, M., Nervi, C., Cavigliolo, G., On the mechanism of the antitumor activity of ferrocenium derivatives. *Inorg. Chim. Acta.* 306, 42-48, 2000.
- [44] Kovjazin, R., Eldar, T., Patya, M., Vanichkin, A., Lander, M., Novogrodsky, A., Ferrocene-induced lymphocyte activation and anti-tumor activity is mediated by redox-sensitive signaling. *Faseb J.* 17, 467-469, 2003.
- [45] Edwards, E. I., Epton, R., Marr, G., 1,1'-Ferrocenyldiacetic Acid Anhydride and its Use in the preparation of heteroannularly substituted ferrocenyl-penicillins and -cephalosporins. *J. Organomet. Chem.* 122, 49-53, 1976.

- [46] Edwards, E.I., Epton, R., Marr, G., Organometallic derivatives of penicillins and cephalosporins a new class of semi-synthetic antibiotics. *J. Organomet. Chem.* 85, 23-25, 1975.
- [47] Gasser, G., Ott, I., Metzler-Nolte, N., Organometallic Anticancer Compounds. *J. Med. Chem.* 54, 3–25, 2011.
- [48] Ünal, G., Ünal, H., Fibrokistik meme hastalığı ve tedavisi. 1982-1993 yılları arasında tedavi edilen 1853 olgunun retrospektif analizi. *Meme Hastalıkları Dergisi.* 1, 85-94, 1994.
- [49] Top, S., Dauer, B., Vaissermann, J., Jaouen, G., Facile route to ferrocifen, 1-[4-(2-dimethylaminoethoxy)]-1-(phenyl-2-ferrocenyl-but-1-ene), first organometallic analogue of tamoxifen, by the McMurry reaction. *J. Organomet. Chem.* 541, 355-361, 1997.
- [50] Jaouen, G., Top, S., Vessières, A., Alberto, R., New paradigms for synthetic pathways inspired by bioorganometallic chemistry. *J. Organomet. Chem.* 600, 23-36, 2000.
- [51] Domarle, O., Blampain, G., Agnani, H., Nzadiyabi, T., Lebibi, J., Brocard, J., Maciejewski, L., Biot, C., Georges, A.J., Millet, P., In Vitro antimalarial activity of a new organometallic analogue : ferrocene-chloroquine. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42, 540-544, 1998.
- [52] WHO *Wkly Epidemiol. Rep.* 1996, 17., 25., 37.
- [53] Atteke, C., Ndong, J.M., Aubouy, A., Maciejewski, L., Brocard, J., Lebibi, J., Deloron, P., In vitro susceptibility to a new antimalarial organometallic analogue, ferroquine, of Plasmodium falciparum isolates from the Haut-Ogooué region of Gabon. *J. Antimicrob. Chemother.*, 51 (4): 1021-1024, 2003.
- [54] Petrucci, H.R., Harwood, S.W., Herring F.G., Genel Kimya İlkeler ve Modern Uygulamalar. 1087. Palme yayıncılık, Ankara, 2002.
- [55] E. Kirpi, Heterohalkalı Makromoleküler Bileşik Sentezi. Doktora Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2007.

- [56] Jolue, J.A., Mills, K., Heterocyclic Chemistry. 1-3. John Wiley and Sons Inc., United Kingdom, 2010.
- [57] Solomons, G.W.T., Fryhle, C.B., Organik Kimya. 642-643. Litaratür Yayıncılık, İstanbul, 2002.
- [58] İkizler, A., Heterohalkalı Bileşikler. 178-182. KTÜ Yayın no: 84, Trabzon, 1984.
- [59] Tüzün, C., Organik Kimya. 528-532. Palme Yayın Dağıtım, Ankara, 1996.
- [60] F. Dadakdeniz, Halotiyofen Moleküllerinin Elektronik ve Çizgisel Olmayan Optik Özelliklerinin Teorik İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Ankara, 2007.
- [61] Altundaş, A., Sarı, N., Çolak, N., Öğütcü, H., Synthesis and biological activity of new cycloalkylthiophene-Schiff bases and their Cr(III) and Zn(II) complexes. *Med. Chem. Res.* 19 (6): 576-588, 2010.
- [62] Temple, D.L., Yevich, J.P., Covington, R.R., Hanning, C.A., Seidehamel, R.J., Mackey, H.K., Bartek, M.J., Synthesis of 3,4-dihydro-4-oxothieno[2,3-d]pyrimidine-2-carboxylates, a new series of orally active antiallergy agents. *J. Med. Chem.* 22 (5): 505-510, 1979.
- [63] Eger, K., Grieb, G., Spätling, S., Synthesis of pyrrolo[2,3-d]pyrimidine ribosides and their potential in chemotherapeutics. *J. Heterocycl. Chem.* 27, 2069-2075, 1990.
- [64] Li, J.J., Name Reactions. A Collection of Detailed Mechanisms and Synthetic Applications. 254. Springer, Wallingford, United States of America, 2009.
- [65] Puterová, Z., Krutošiková, A., Véghc, D., Gewald reaction: synthesis, properties and applications of substituted 2-aminothiophenes. *Arkivoc.* 209-246, 2010.
- [66] Odabaşoğlu, M., Organik Kimya Aromatik Bileşikler. 46-48. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Yayın no: 119, Samsun, 2005.
- [67] Vollhardt, P., Schore, N., Organik Kimya Yapı ve İşlev. 708-711. Palme Yayıncılık, Ankara, 2011.

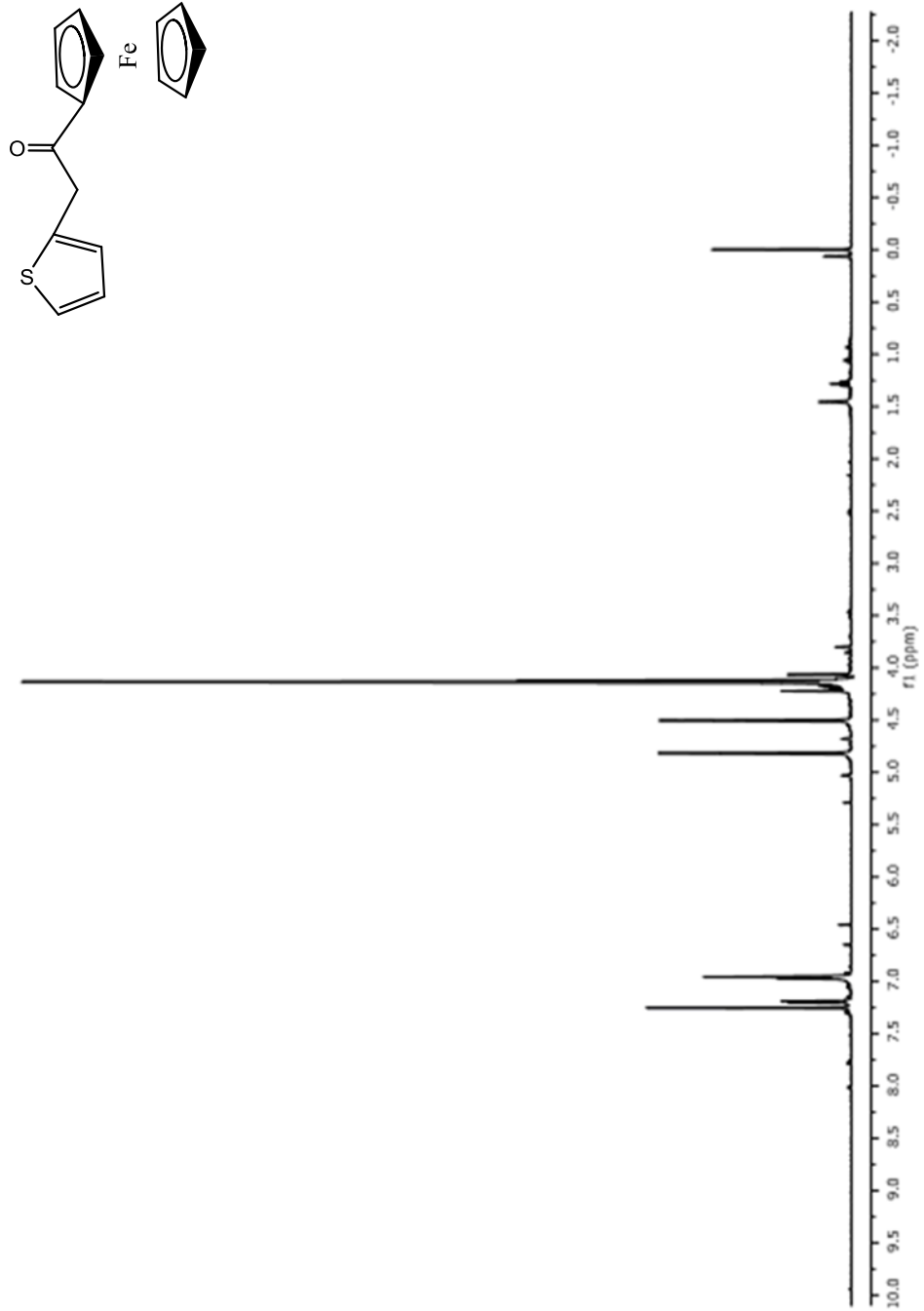
- [68] ISO Document, Biological Compatibility of Medical Devices, Part 5: Tests for Cytotoxicity, In Vitro Methods, International Organisation of Standardisation, Geneva, 1997.
- [69] ISO Document, Biological Evaluation of Medical Devices, International Organisation of Standardisation, Geneva, 1997.
- [70] Reis, R.L., Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. CRC Press LLC, Florida, 339-349, 2005.
- [71] Pizzoferrato, A., Vespucci A., Ciapetti, G., Stea, S., Biocompatibility Testing of Prosthetic Implant Materials by Cell-cultures. *Biometaterials*, 6, 345-346, 1985.
- [72] Tateishi, T., Round-robin Test for Standardisation of Biocompatibility Test Procedure by Cell-culture Method. *Adv. Biomater.*, 10, 89, 1992.
- [73] Wake, M.C., Gerecht, P.D., Mikos, L., Effect of Biodegradable Polymer Particles on Rat Marrow-derived Stromal Osteoblasts In vitro. *Biometaterials*. 19, 1254-1255, 1998.
- [74] N. İlbars, Yeni Nesil Metal Desteksiz Seramikler ve Yapıştırılmasında Kullanılan Resin Simanların Biyouyumluluğunun Değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Ankara, 2007.
- [75] Butler, M., Animal Cell Culture And Technology, BIOS Scientific Publishers, New York, 2004.
- [76] Pizzoferrato, A., Ciapetti, G., Stea, S., Cenni, E., Arciola, C.R., Granchi, D., Savarino, L., Cell Culture Methods for Testing Biocompatibility. *Clin. Mater.*, 15, 173, 1994.
- [77] Wataha, C.J., Principles of Biocompatibility for Dental Practitioners. *J. Prosthet. Dent.*, 86, 203-9, 2001.
- [78] Murray, P.E., Lumley, P.J., Ross, H.F., Smith, A.J., Tooth slice organ culture for cytotoxicity assesment of dental materials. *Biomaterials*, 21, 1711–1721, 2000.

- [79] Fotakis, G., Timbrell, J.A., In vitro cytotoxicity assays: Comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicology Letters*. 160, 171-177, 2006.
- [80] Kathy, D.M., Berridge, V.M., Tan, A.S., The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays That Use Tetrazolium Salts. *Biochemica*. 4, 14-19, 1996.
- [81] Goodwin, J.C., Marshall, J.N., Holt, J.S., A Critical Assessment of the Use of Microculture Tetrazolium Assays to Measure Cell Growth and Function, Review. *Growth Regulation*. 5, 69-84, 1995.
- [82] Raff, M.C., Social Controls on Cell Survival and Cell Death. *Nature*, 400, 356-397, 1992.
- [83] Golstein, P., Ojcius, D.M., Young, J.D.E., Cell Death Mechanisms and Immune System. *Immunol Rev*. 121, 29-65, 1991.
- [84] Güleş, Ö., Eren, Ü., Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi. 2, 73-78, 2008.
- [85] Squier, M.K., Miller, A.C., Malkinson, A.M., Cohen, J.J., Calpain Activation in Apoptosis. *J. Cell physiol*. 159 (2): 229-237, 1994.
- [86] Thompson, E.B., Apoptosis and steroid hormones. *Mol Endocrinol*. 8, 665-73, 1994.
- [87] Saikumar, P., Dong, Z., Mikhailov, V., Denton, M., Weinberg, J.M., Venkatachalam, M.A., Apoptosis definition, mechanism and relevance to disease. *Am. J. Med*. 107, 489-506, 1999.
- [88] Carson, D.A., Ribeiro, J.M., Apoptosis and disease. *Lancet*. 341, 1251-1254, 1993.
- [89] Apoptosis ve Nekroz,
<http://www.genbilim.com/contact/view/1959/32/> (Erişim Tarihi: 29.12.2011)
- [90] Akşit, H., Bildik, A., Apoptosis. *Yıldız Teknik Üniv. Vet. Fak. Derg*. 19 (1): 55-63, 2008.

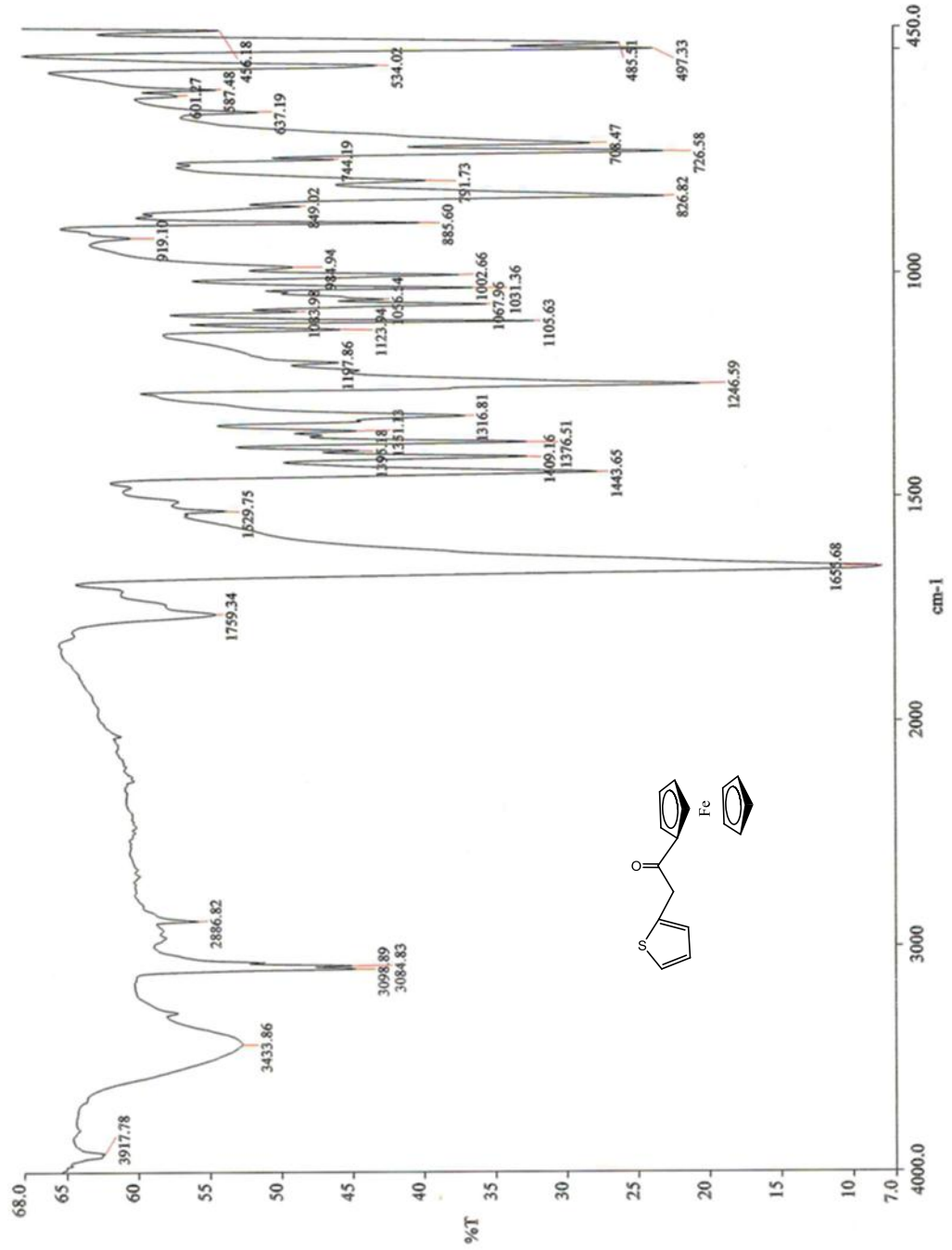
- [91] D.K. Polat, Retinitis Pigmentosa'lı Hastalarda Bazı Enflamasyon ve Oksidatif Stres Belirteçlerinin Değişimi. Bilim Uzmanlığı Tezi. Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma H., İstanbul, 2008.
- [92] İ. Yılmaz, Erişkin Ratlarda Deneysel Varikozel Oluşturulması Sonrası Testislerde Germ Hücrelerinde Apoptozis Düzeylerinin Yükselmesi ve Yükselmiş Olan Apoptozisin Varikoselektomi Sonrası Gerileme Düzeyi ve Süresinin Tunel Yöntemi ile Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği, İstanbul, 2005.
- [93] Uluğ, M., Türk, M., Oğuztüzün, S., Menemen Y., Kahraman, G., Apoptotic and necrotic effects of carboxylated quercetin/polyethylenimine complex on HeLa cells. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 5 (7): 894 – 902. 2011.
- [94] Kılıçay, E., Demirbilek, M., Türk, M., Güven, E., Hazer, B., Denkbaş E.B., Preparation and characterization of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBHHX) based nanoparticles for targeted cancer therapy. *European Journal of Pharmaceutical Science*. 44 (3): 310-320, 2011.
- [95] Türk, M., Kaya, B., Menemen, Y., Oğuztüzün, S., Apoptotic and necrotic effects of plant extracts belonging to the genus *Alchemilla* L. species on HeLa cells in vitro. *Journal of Medicinal plants research*. 5 (18): 4566-4571, 2011.

EKLER

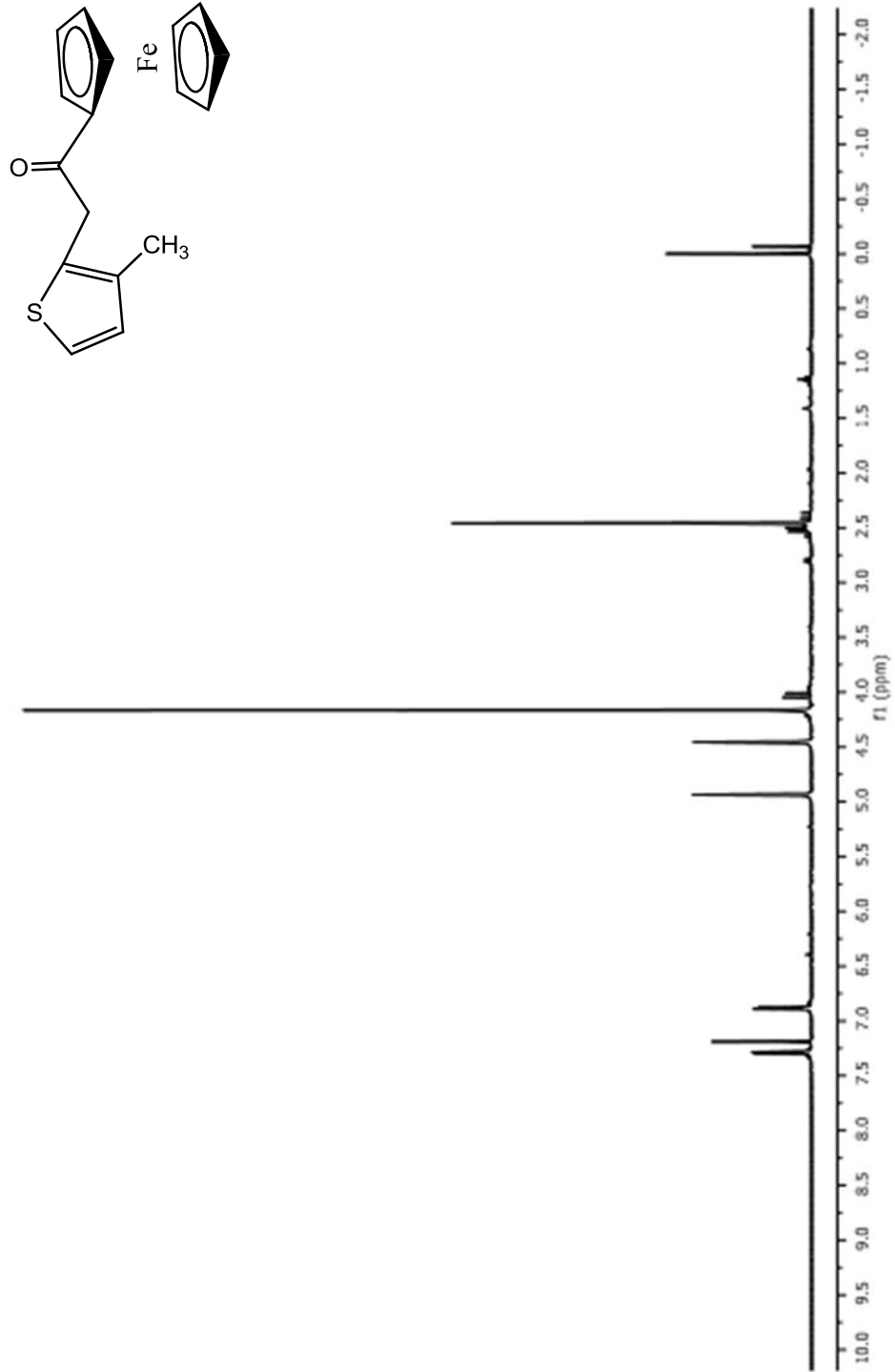
EK 1. I NUMARALI BİLEŞİĞİN ¹H NMR SPEKTRUMU



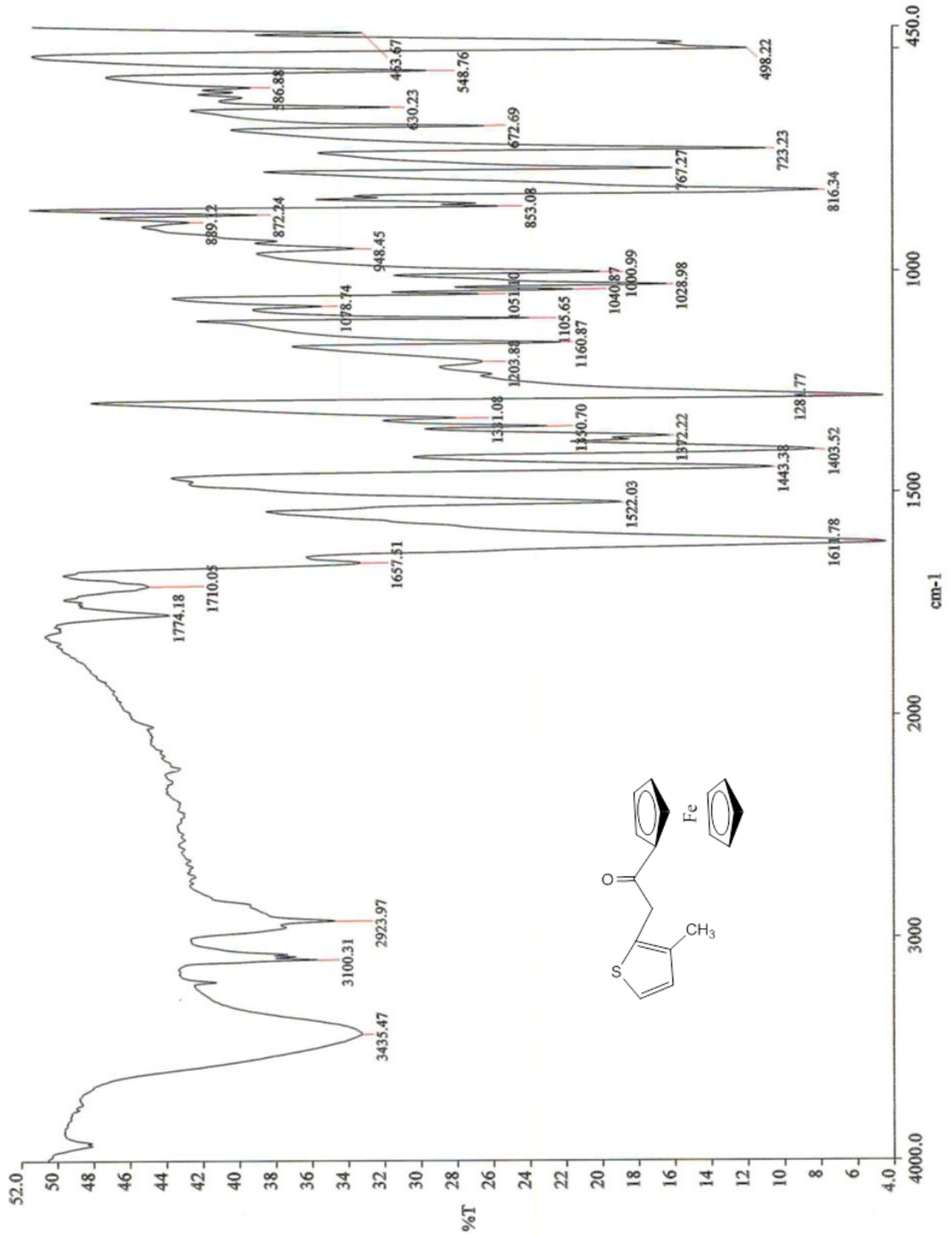
EK 2. I NUMARALI BİLEŞİĞİN FT-IR SPEKTRUMU



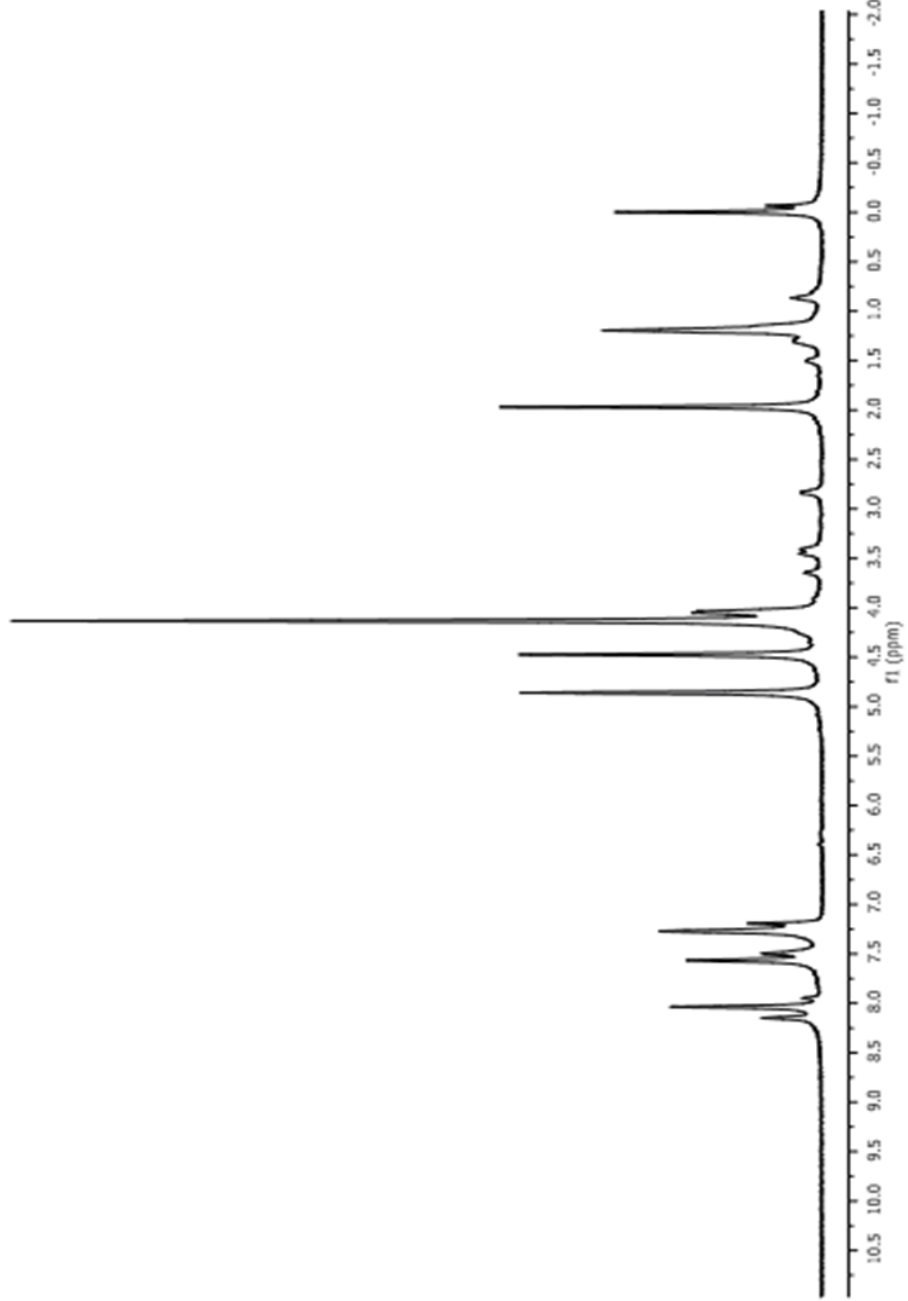
EK 3. II NUMARALI BİLEŞİĞİN ¹H NMR SPEKTRUMU



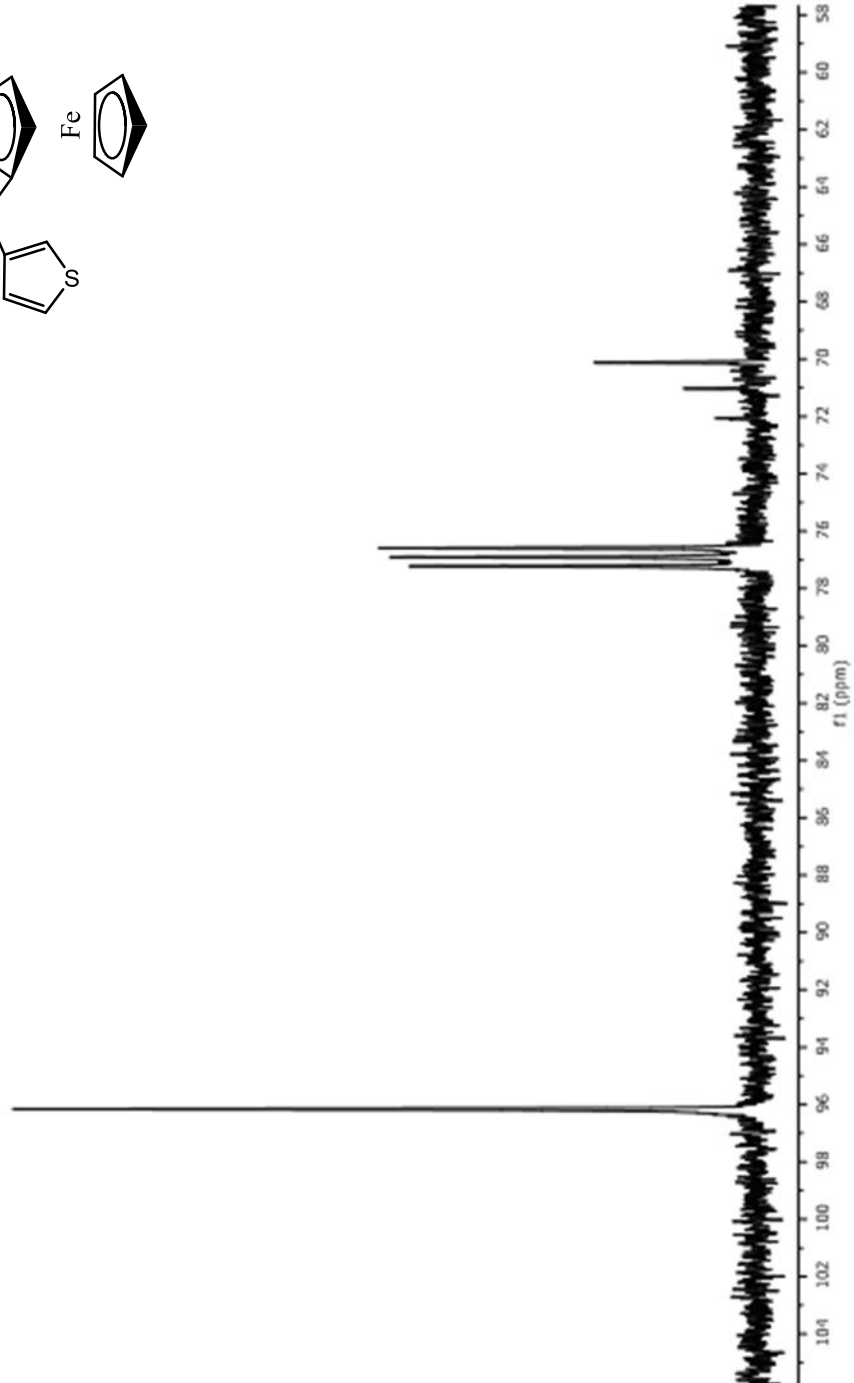
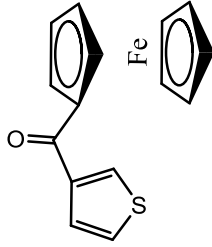
EK 4. II NUMARALI BİLEŞİĞİN FT-IR SPEKTRUMU



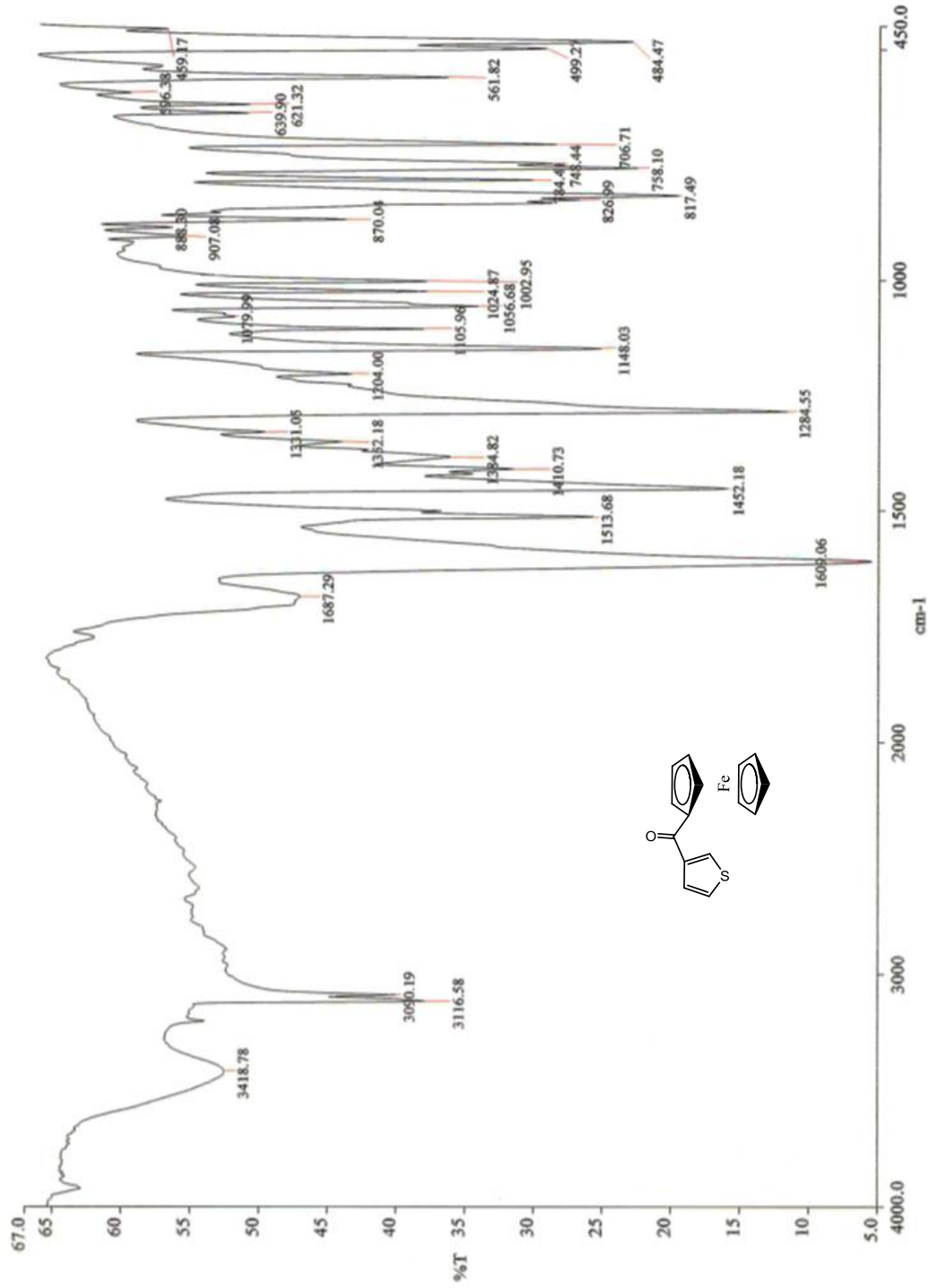
EK 5. III NUMARALI BİLEŞİĞİN ^1H NMR SPEKTRUMU



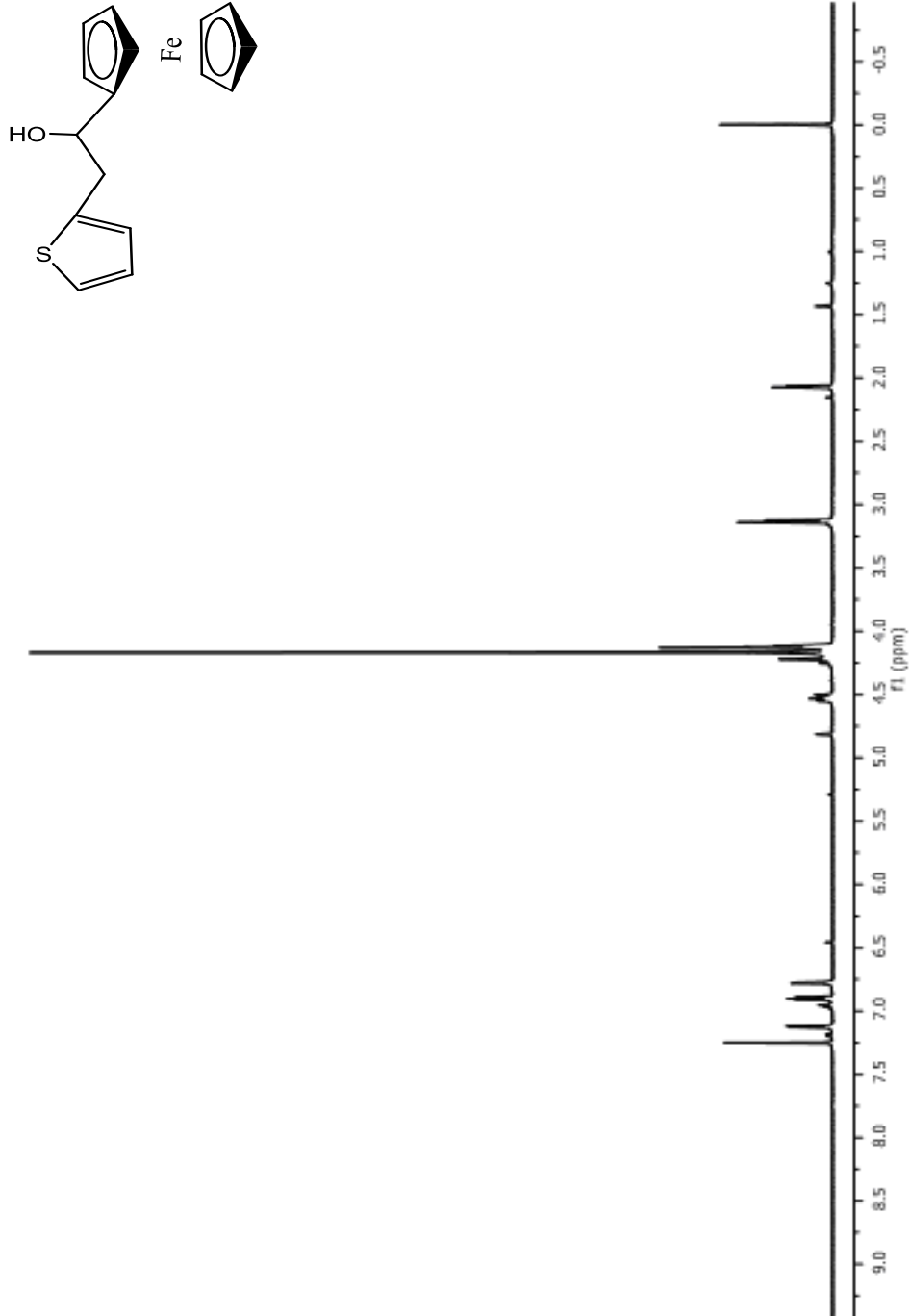
EK 6. III NUMARALI BİLEŞİĞİN ^{13}C NMR SPEKTRUMU



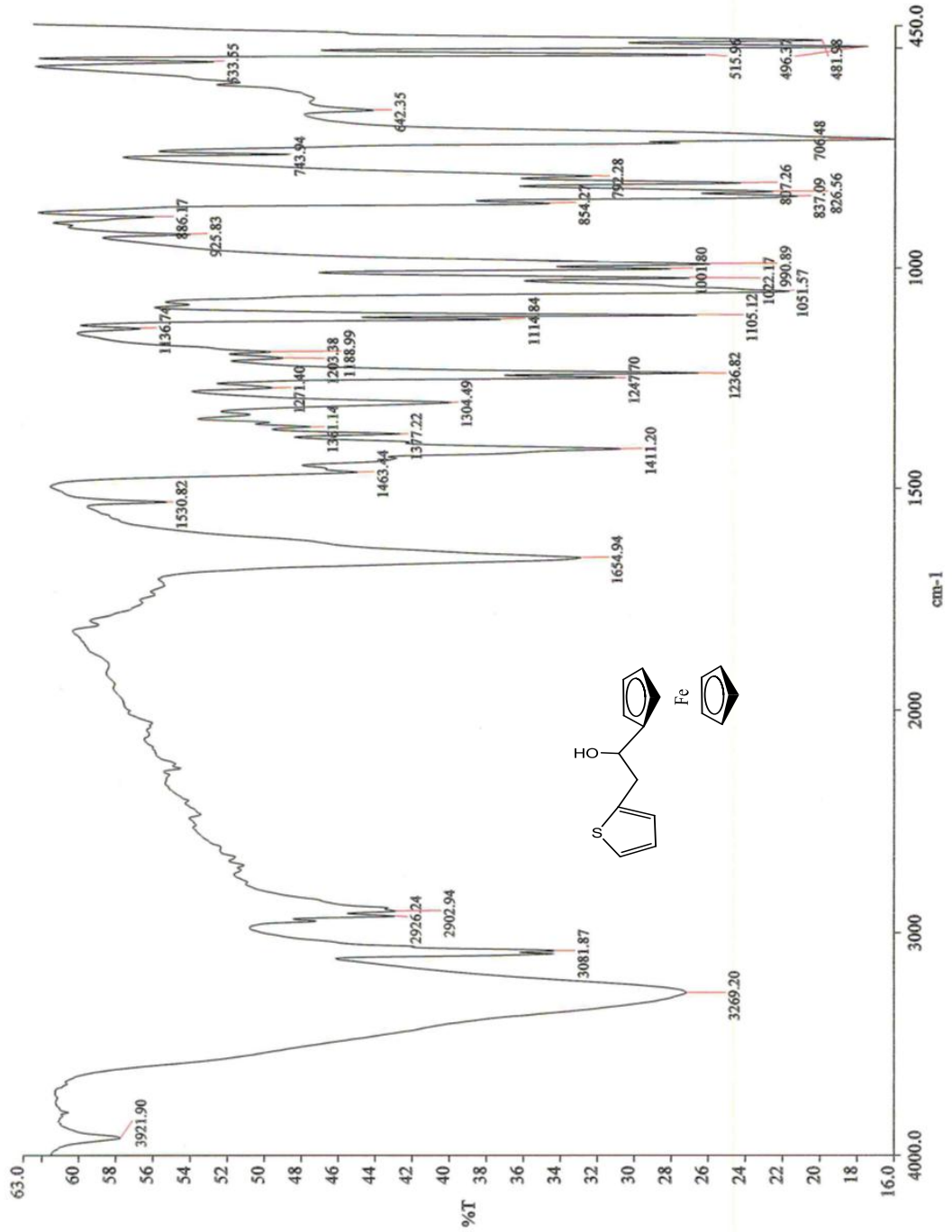
EK 7. III NUMARALI BİLEŞİĞİN FT-IR SPEKTRUMU



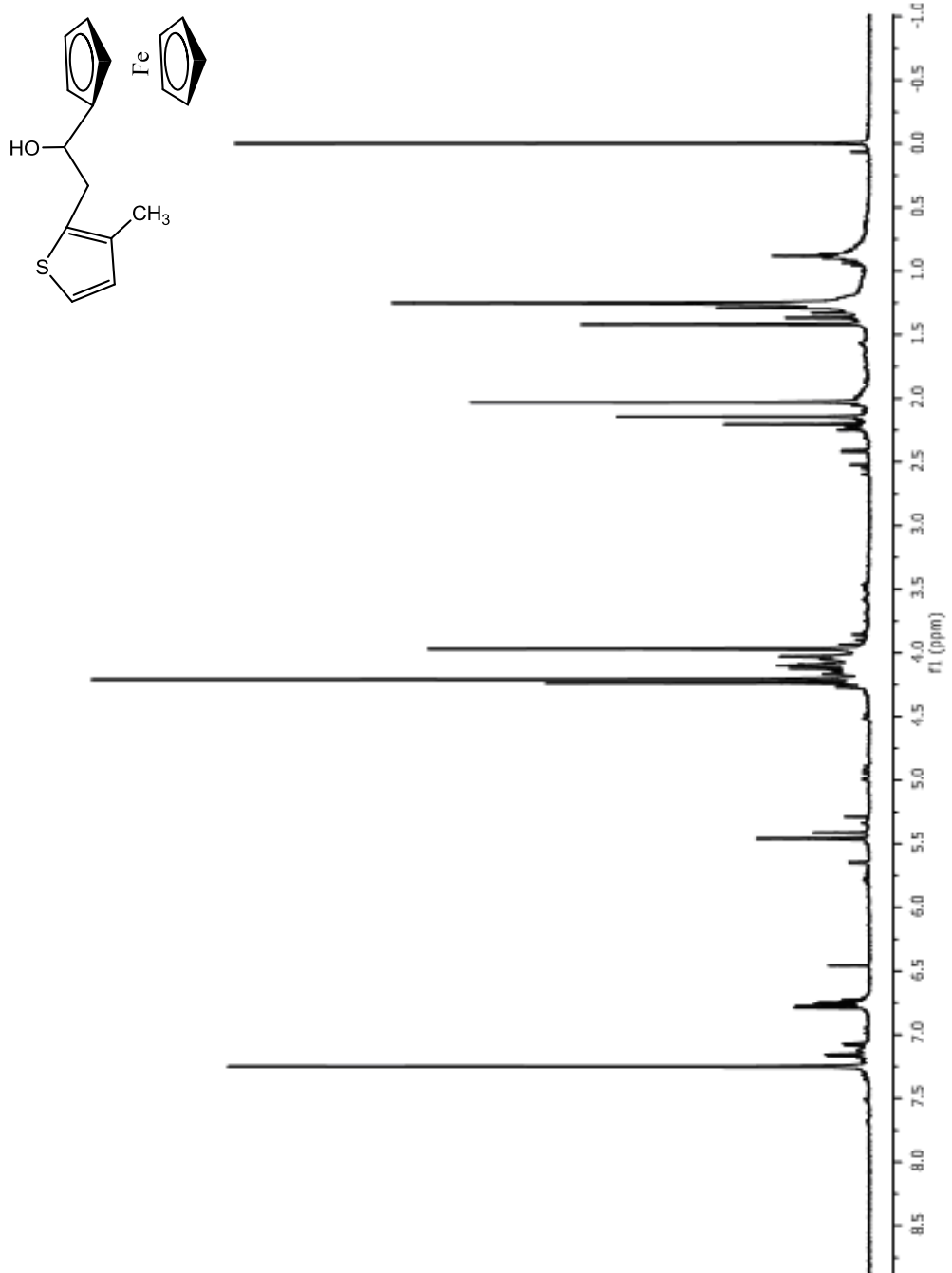
EK 8. IV NUMARALI BİLEŞİĞİN ^1H NMR SPEKTRUMU



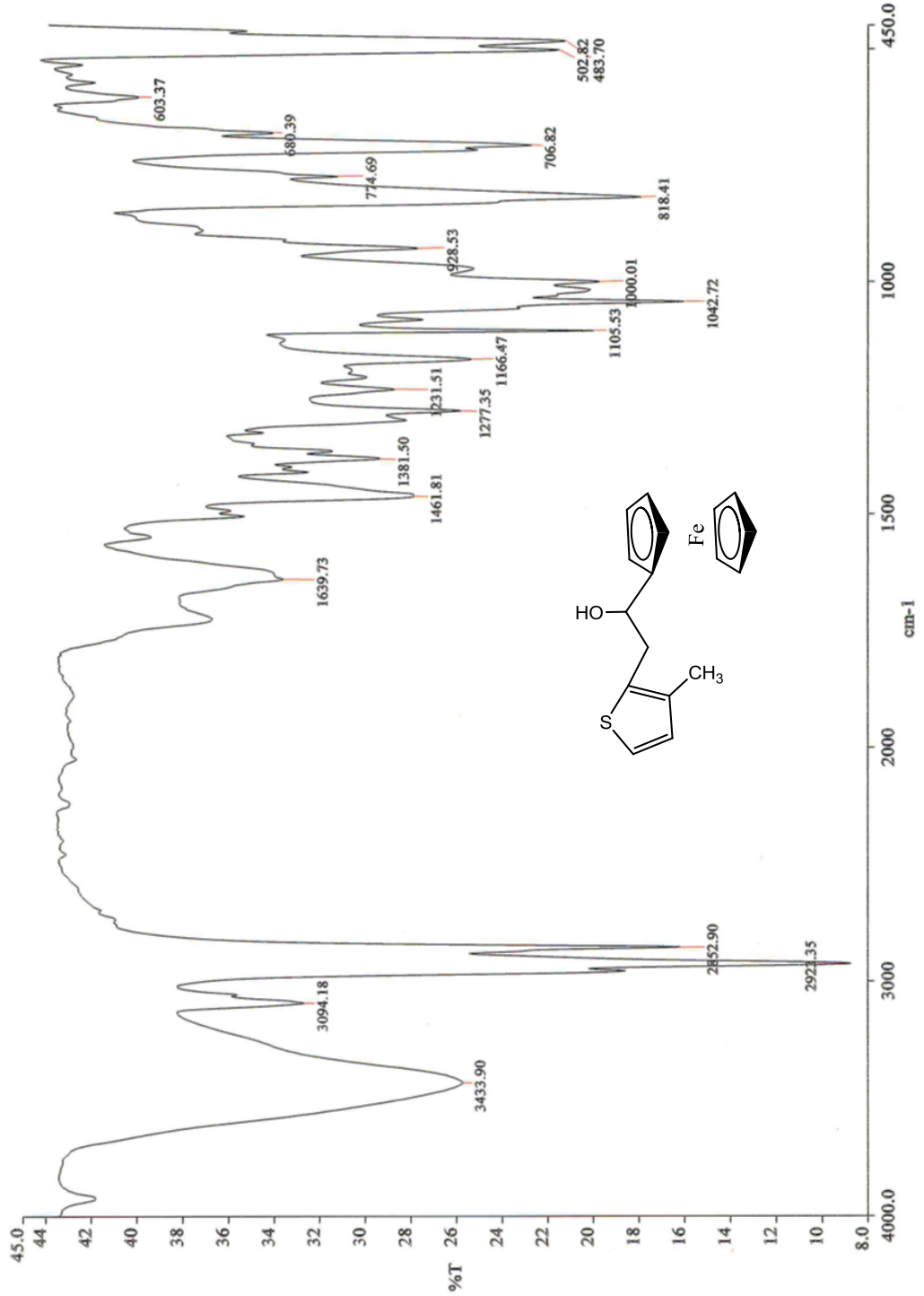
EK 9. IV NUMARALI BİLEŞİĞİN FT-IR SPEKTRUMU



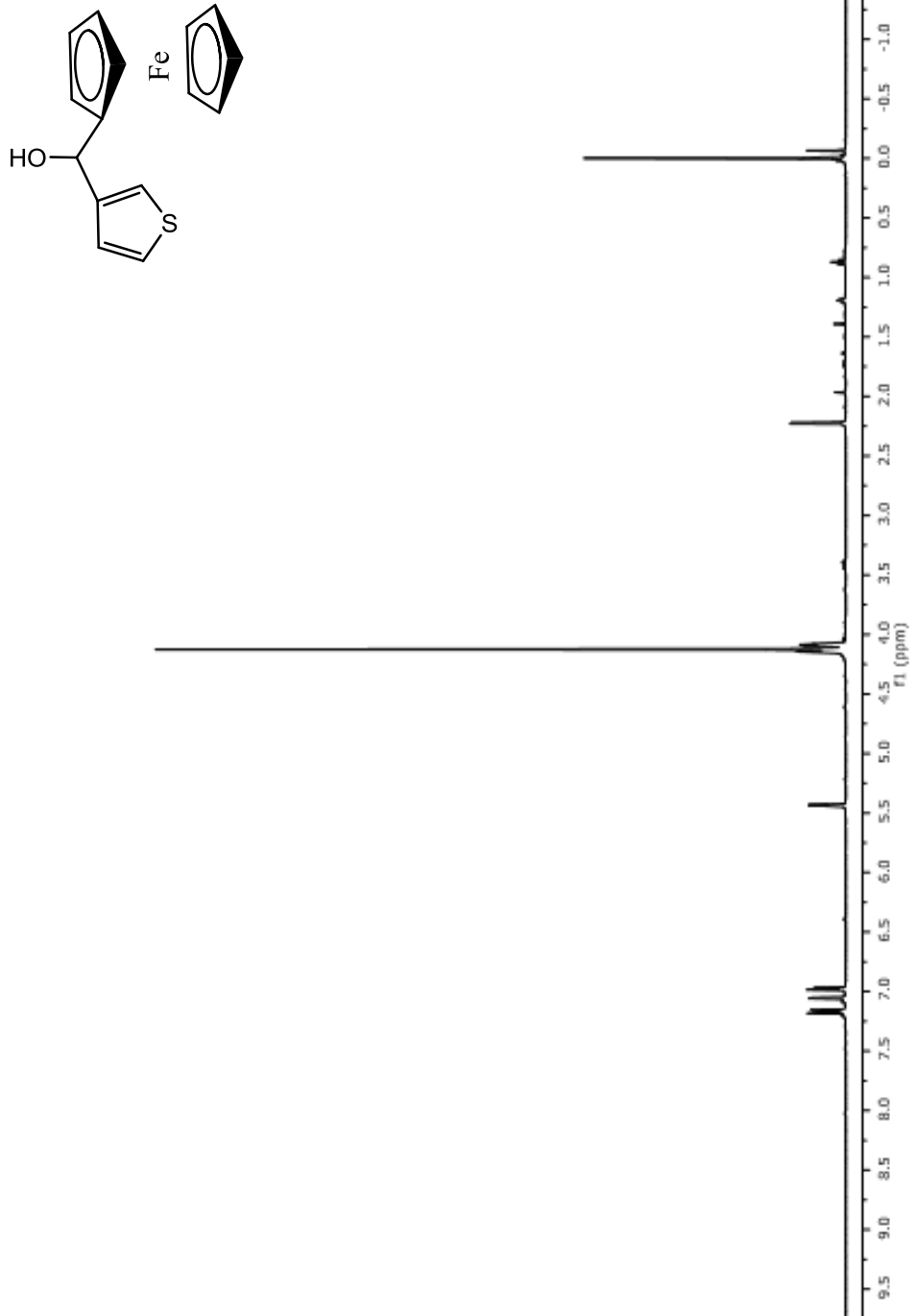
EK 10. V NUMARALI BİLEŞİĞİN ¹H NMR SPEKTRUMU



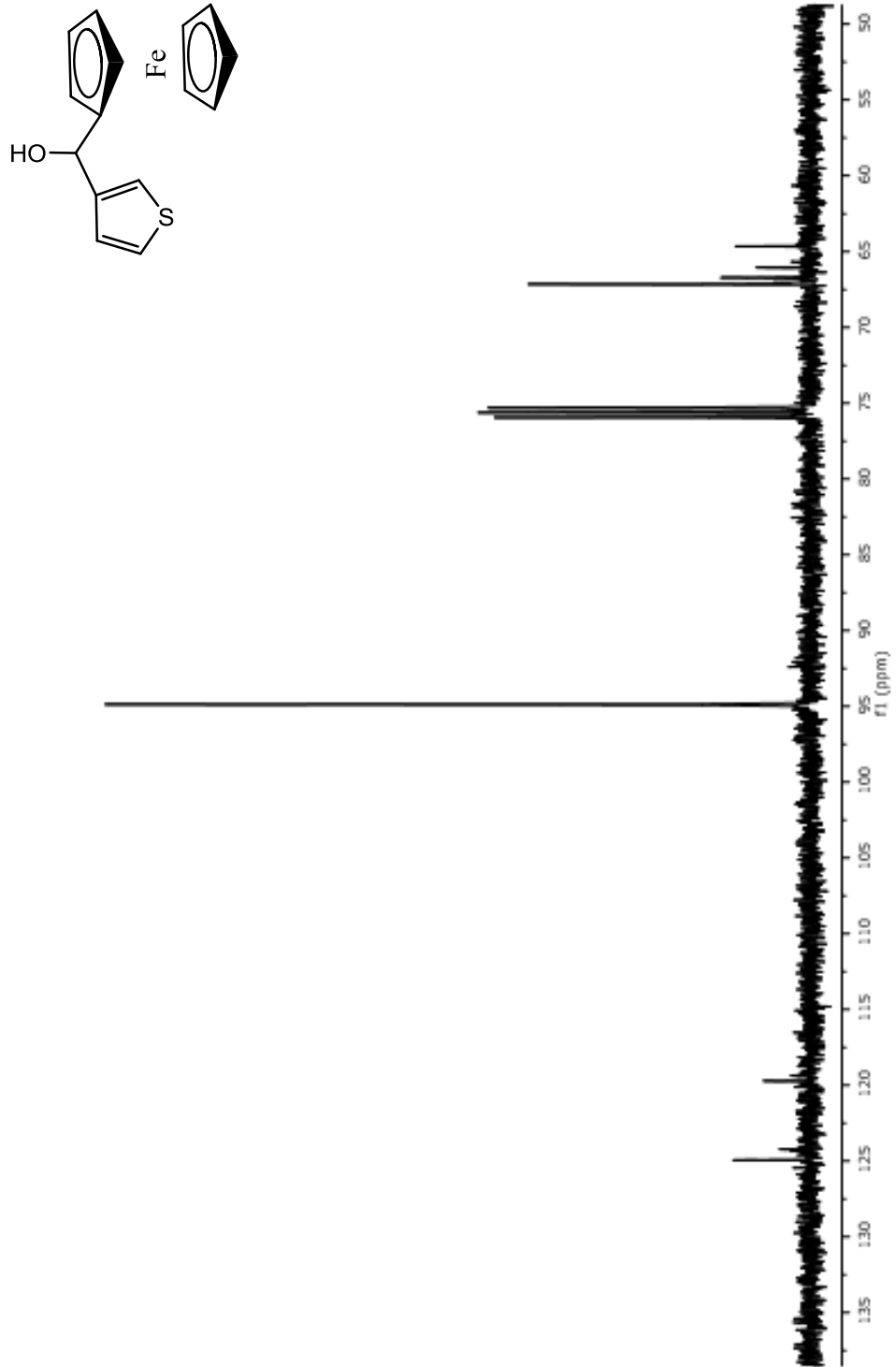
EK 11. V NUMARALI BİLEŞİĞİN FT-IR SPEKTRUMU



EK 12. VI NUMARALI BİLEŞİĞİN ¹H NMR SPEKTRUMU



EK 13. VI NUMARALI BİLEŞİĞİN ^{13}C NMR SPEKTRUMU



EK 14. VI NUMARALI BİLEŞİĞİN FT-IR SPEKTRUMU

