

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FERROSENÖL FURAN TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Büşra UÇAR

ŞUBAT 2012

Kimya Anabilim Dalında Büşra Uçar tarafından hazırlanan FERROSENOİL FURAN TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. ZEKİ 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. Sevil ÇETİNKAYA

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

Aileme,

ÖZET

FERROSENOİL FURAN TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

UÇAR, Büşra

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Mustafa TOMBUL

Şubat 2012, 69 Sayfa

Bu tezde Ferrosenin Furan türevlerinin sentezi Friedel-Crafts açılme tepkimesi ile yapılmıştır. Beş adet Ferrosenoil Furan türevi sentezlenmiş ve yapıları spektroskopik yöntemler (^1H NMR, ^{13}C NMR ve FT-IR) ile karakterize edilmiştir. Bu bileşiklerin sentezinde katalizör olarak etilalüminyumklorür, (EtAlCl_2) ilk defa denenmiştir. Sentezlenen ürünlere ait verimler incelendiğinde katalizörün iyi çalıştığı görülmüştür. Ferrosenoil Furan keton türevlerinin bazılarının kanser hücrelerine karşı sitotoksik, apoptotik ve nekrotik etkiye sahip olduğu in vitro testler ile belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler : Ferrosen, Furan, Friedel-Crafts, Metalosen,
Anti-Kanser.

ABSTRACT

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

UÇAR, Büşra

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry, M.Sc. Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mustafa TOMBUL

February 2012, 69 Pages

In this thesis the syntheses of ferrocenoyl furan derivatives through Friedel-Crafts acylation reaction have been performed. Five original ferrocenoyl furan derivatives have been synthesised and their structures have been characterised with spectroscopic methods (^1H NMR, ^{13}C NMR ve FT-IR). Ethylaluminumchloride, (EtAlCl_2), as catalyst has been employed for the first time during the syntheses of these compounds. When examining the yields of the synthesised products, catalyst was found to be work well. It has been determined by in vitro tests that some of the Ferrocenoyl furan kethone derivatives against cancer cells possesses apoptotic, necrotic and cytotoxic effects.

Keywords : Ferrocene, Furan, Friedel-Crafts, Metallocene,
Anti-Cancer.

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması esnasında hiçbir yardımını, bilgisini esirgemeyen, danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Mustafa Tombul'a, tez ve deneysel çalışmalarım esnasında, bilimsel konularda daima yardımını gördüğüm değerli hocam Sayın Doç. Dr. Adnan Bulut'a, biyolojik aktivite testlerinde bilgi ve deneyimleriyle yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Mustafa Türk'e, çalışmalarım esnasında bilgisini esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Sevil Çetinkaya'ya, teşekkürlerimi sunarım.

Tüm yaşamım boyunca maddi ve manevi fedakarlıklarıyla, her türlü desteğini yanımda hissettiğim değerli aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Metalosenler	2
1.2. Ferrosenin Genel Özellikleri	4
1.3. Ferrosenin Yapısı	4
1.4. Ferrosenin Sentezlenme Yöntemleri	5
1.5. Ferrosenin Kullanım Alanları	6
1.6. Heterohalkalı Bileşikler.....	6
1.7. Aromatik Ketonlar.....	7
1.7.1. Ketonların Fiziksel Özellikleri.....	8
1.7.2. Aromatik Ketonların Elde Edilişleri	9
1.8. Furan.....	10
1.8.1. Furanın Elde Edilmesi	11
1.8.2. Furanın Reaksiyonları.....	13
1.8.2.1. Elektrofilik Yer Değiştirme Reaksiyonları	13
1.8.2.2. Feist-Benary Yöntemi	13
1.8.2.3. Proton Bağlanması	14
1.8.2.4. Halojenlenme Reaksiyonları	15
1.8.2.5. Nitrolama	15

1.8.2.6. Friedel-Crafts Açılması.....	16
1.8.2.7. Furanın Metallenmesi	16
1.8.2.8. Yükseltgenme ve İndirgenme Reaksiyonları	17
1.8.2.9. Nükleofilik Reaktiflerle Reaksiyonlar	18
1.8.2.10. Furanın Diels-Alder Reaksiyonu	18
1.8.2.11. Halka Açılma Reaksiyonları	19
1.9. Friedel-Crafts Reaksiyonları.....	20
1.9.1. Friedel - Crafts Reaksiyonlarında Kullanılan Katalizörler	20
1.9.2. Friedel – Crafts Reaksiyon Sistemlerinin İncelenmesi.....	21
1.9.3. Friedel – Crafts Açılma Reaksiyonu.....	22
1.10. Ferrosenin Friedel-Crafts Tepkimesi.....	24
1.11. Ferrosenin Türevlendirilmesi	26
1.12. Furanın Biyolojik Aktivitesi.....	27
1.13. Ferrosenin Biyolojik Aktivitesi	27
1.14. Biyolojik Aktivite İncelenmesinde Kullanılan Testler.....	30
1.14.1. Sitotoksikite Testleri	30
1.14.2. WST-1 Testi.....	31
1.14.3. Apoptoz.....	31
1.14.4. Nekroz.....	32
1.15. Apoptozisin ve Nekrozun Saptanmasında Kullanılan Yöntemler.....	33
1.15.1. Kaspazlar	33
1.15.2. Floresan Mikroskopi	33
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	35
2.1. Ferrosenin Heteroaril Bileşikleri ile Açılmasının Genel Metodu.....	36
2.2. Ferrosen Açılma Bileşiklerinin Genel İndirgenme Metodu	37
2.3. Biyolojik Aktivite İncelenme Metodları	38
2.3.1. HeLa Hücrelerinin Kültürde Çoğaltılması	38

2.3.2. WST-1 Metodu ile Sitotoksitesinin Tespiti	38
2.3.3. İkili Boyama Metodu ile Apoptozun ve Nekrozun Belirlenmesi	38
3.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	40
3.1. Sentezlenen Ferrosen Türevlerinin Spektroskopik Analiz Sonuçları.....	41
3.2. Biyolojik Aktivite Sonuçları	42
3.2.1. Toksikite Sonuçları	42
3.2.2. Apoptotik ve Nekrotik Etkisi	43
4. SONUÇ.....	46
KAYNAKLAR	47
EKLER.....	57
Ek 1. I Numaralı Bileşiğin ¹ H NMR Spektrumu	58
Ek 2. I Numaralı Bileşiğin FT-IR spektrumu	59
Ek 3. II Numaralı Bileşiğin ¹ H NMR spektrumu.....	60
Ek 4. II Numaralı Bileşiğin FT-IR spektrumu.....	61
Ek 5. III Numaralı Bileşiğin ¹ H NMR spektumu.....	62
Ek 6. III Numaralı Bileşiğin ¹³ C NMR spektrumu	63
Ek 7. III Numaralı Bileşiğin FT-IR spektrumu.....	64
Ek 8. IV Numaralı Bileşiğin ¹ H NMR spektumu	65
Ek 9. IV Numaralı Bileşiğin ¹³ C NMR spektrumu.....	66
Ek 10. IV Numaralı Bileşiğin FT-IR spektrumu	67
Ek 11. V Numaralı Bileşiğin ¹ H NMR spektumu.....	68
Ek 12. V Numaralı Bileşiğin FT-IR spektrumu.....	69

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Ferrosen.....	1
1.2. Kobaltosenin sentez tepkimesi.....	2
1.3. Ferrosenin Friedel-Crafts açilleme tepkimesi.....	3
1.4. Ferrosende demir-karbon bağları.....	5
1.5. Alisiklik ve aromatik bileşiklerden bazıları.....	7
1.6. Bazı aromatik ketonlar.....	8
1.7. Ketonlarda karbonil grubu.....	8
1.8. Asit klorür ile açil katyon oluşumu.....	9
1.9. Asit anhidrit ile açil katyon oluşumu.....	9
1.10. Aromatik keton oluşumu.....	10
1.11. Aromatik halkanın açilleme tepkimesi.....	10
1.12. Furanda 2p orbitalleri ve aromatik π - sistemi.....	11
1.13. Furan sentezleri.....	12
1.14. Çeşitli Furan türevleri.....	12
1.15. Bazı Furan türevlerinden Furan oluşumu.....	13
1.16. Furanın elektrofilik yer değiştirme tepkimesi.....	13
1.17. Furan türevinin Feist-Benary yöntemiyle sentezi.....	14
1.18. Furanın protonlanması.....	14
1.19. Furanın halojenlenmesi.....	15
1.20. Furanın nitrolama reaksiyonu.....	15
1.21. Furanın Friedel-Crafts reaksiyonu.....	16
1.22. Furanın metallenmesi reaksiyonu.....	16
1.23. Furandan peroksit eldesi.....	17
1.24. Furanın yükseltgenmesi.....	17
1.25. Tetrahidrofuran eldesi.....	18
1.26. Nitrofuranın nükleofilik reaktifle reaksiyonu.....	18
1.27. Furanın Diels-Alder reaksiyonu.....	19
1.28. Furanın halka açılması.....	19

1.29. Lewis asit-baz reaksiyonu	20
1.30. Friedel-Crafts açilleme reaksiyonu	22
1.31. Friedel-Crafts açilleme mekanizması.....	23
1.32. Aromatik halkanın açilleme reaksiyonu	24
1.33. Ferrosenin Friedel-Crafts reaksiyonu.....	25
1.34. Ferrosenin silika destekli Friedel-Crafts reaksiyonu	25
1.35. Asetil Ferrosen	26
1.36. Çeşitli Ferrosen türevlerinin eldesi	26
1.37. Ferrosen içeren bazı alkollerin sentezi.....	27
1.38. Konjuge Ferrosenil Penisilinler	28
1.39. Ferrosenyum tetra floro borat tuzu.....	29
1.40. Ferrosenyum tri iyodat	29
1.41. Ferrosenil Tamoxifen ve Tamoxifen.....	30
1.42. Elektron mikroskobu altında apoptotik bir hücre.....	32
1.43. Hoechst boyası	34
2.1. Ferrosen açillemesinin genel tepkimesi	36
2.2. Ferrosen açilleme bileşiğinin genel indirgeme tepkimesi.....	37
3.1. Sentezlenen Ferrosen Furan bileşikleri	40
3.2. Ferrosen açilleme bileşiklerinin HeLa hücrelerine toksik etkisi.....	43
3.3. HeLa hücrelerinin floresan mikroskop fotoğrafları	45

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

Sayfa

1.1. Birinci sıra geçiş elementlerinin metalosenlerine ait bazı özellikler	3
1.2. Sentezlenen Ferrosen açilleme türevlerinin verimleri.....	40
1.3. Sentezlenen Ferrosen alkol türevlerinin verimleri	41
1.4. Ferrosen açilleme bileşiklerinin farklı konsantrasyonda HeLa kanser hücrelerine karşı % apoptotik etkisi.....	44
1.5. Ferrosen açilleme bileşiklerinin farklı konsantrasyonda HeLa kanser hücrelerine karşı % nekrotik etkisi.....	44

KISALTMALAR

- IR** : Kırmızı Ötesi
NMR : Nükleer Magnetik Rezonans
DCM : Diklorometan
LiAlH₄ : Lityum Alüminyum Hidrür
THF : Tetrahidrofüran
TMS : Tetrametilsilan
Cp : Siklopentadienil
 δ : Kimyasal kayma
TLC : İnce Tabaka Kromatografisi
DMF : Dimetilformamit
 σ : Sigma
MO : Moleküler orbital
Ar : Aromatik grup

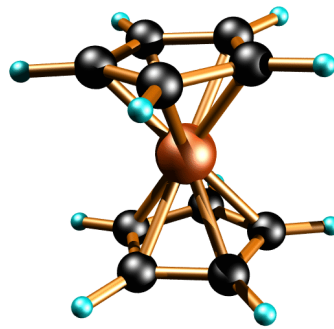
1. GİRİŞ

En az bir metal-karbon bağı içeren bileşikler konu alan organometalik kimya 20. yüzyılının ikinci yarısında yeni bir bilim dalı olarak ortaya çıkmıştır. Ferrosenin keşfi organometalik kimya tarihi için bir dönüm noktası olmuştur [1].

Bu organometalik bileşik hala çeşitli endüstriyel uygulamalarda büyük ilgiyle ilham olarak ortaya çıkmaktadır. Ferrosen, sandviç kompleks yapıları olarak nitelenen organometalik bileşiklerin ilk örneğidir. Ferrosenin bulunuşundan sonra benzer metalosenler de bulunmuştur. Ferrosenin dışındaki metalosen bileşikler çok kararlı aromatik bileşikler değildirler. Asite, baza ve neme karşı hassas bileşiklerdir. Bu yüzden bu bileşiklerin yeni türevlerinin üzerine pek fazla çalışılmamıştır.

Ferrosenin metalosenlere kıyasla kararlı ve etkileyici yapısı, tersinir redoks kabiliyeti ve demir merkezinden dolayı elektrokimyasal olarak çalışabilme olanağı gibi avantajlarıyla birçok alanda ilgiyi üzerinde toplamıştır.

Ferrosen termal olarak kararlılığı sayesinde metal karbon bağı koparmadan, siklopentadienil grupları üzerinden birçok reaksiyon gerçekleşir. Bu avantaj da ferrosenin türevlerinin sayısını gün geçtikçe artırmaktadır. Ayrıca son zamanlarda, özellikle katalizörler, organik sentez ve yeni materyaller alanında ferrosen kimyasıyla ilgili büyük gelişmeler yaşanmıştır



Şekil 1.1. Ferrosen

1.1. Metalosenler

Bir metal atomuna bir veya iki tane siklopentadienil (Cp) bağlanabilmektedir. 2 Cp halkasını içeren $M-(\eta^5-C_5H_5)_2$ formülüne sahip bileşikler genel olarak metalosenler olarak adlandırılır [2]. Metalosenlerde metal atomu, birbirine paralel olan iki Cp halkası arasında bulunmaktadır ve metal atomu her iki halkaya eşit uzaklıkta bulunmaktadır. Bu yapının sandviç benzetilmesinden dolayı sandviç bileşikleri olarak da isimlendirilirler.

Sandviç bileşikleri Co, Ni, Cr, Ti, V ve diğer metallere hazırlanabilir. Örneğin; Nikolesen, rutesen, kobaltosen. Çözeltide Cp halkasının metal-ligant bağ ekseninde hızlı bir şekilde döndüğü NMR spektrumlarından anlaşılmaktadır. Çünkü kompleksin geri kısmından bağımsız olarak Cp halkası 1H ve ^{13}C NMR spektrumlarında yalnızca birer pik gözlenmektedir. Katı halden elde edilen yapı analiz sonuçları iki Cp halkasının birbirine göre çapraz olduğu sonucunu çıkarmaktadır.

Metalosenler, metalin tuzu ile siklopentadienilsodyumun tepkimesinden elde edilir.



Şekil 1.2. Kobaltosenin Sentez Tepkimesi

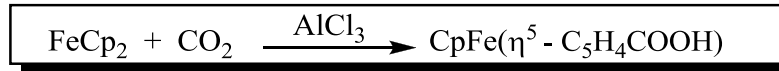
Çizelge 1.1.'de birinci sıra geçiş elementlerinin metalosenlerine ait bazı özellikleri verilmiştir. Bu özelliklere göre Ferrosenin en kararlı metalosen olduğu anlaşılmaktadır. Fe^{+2} iyonunun altı değerlik elektronuna ek olarak, her bir Cp^- anyonundan altı elektron katkı da bulunarak ve toplam değerlik elektronlarının sayısı onsekiz olmaktadır. Buna karşılık Kobaltosen ise ondokuz elektron sahip olduğu için kararlı bir yapıda bulunmamaktadır ve kolaylıkla yükseltgenerek kararlı halde olan $[Co(\eta^5-C_5H_5)_2]^+$ katyonuna dönüşmektedir [3].

Ferrosen dışında bütün metalosenler paramanyetiktir. Yani metalosenler de çiftlenmemiş elektronlar bulunmaktadır. Bu, metalin d orbitalleri ile siklopentadienil halkalarının π orbitalleri arasındaki etkileşim dikkate alınarak MO enerji düzeyi diyagramı çizildiğinde kolaylıkla görülebilir.

Çizelge 1.1. Birinci sıra geçiş elementlerinin metalosenlerine ait bazı özellikler

Metalosen	Değerlik Elektron sayısı	M-C bağ Uzunluğu (pm)	Renk	Erime Nok.	Magnetik Moment (BM)	Oksitlenmeye Karşı Kararlılık
TiCp ₂	14	-	Koyu Yeşil	200	-	Çok kararsız
VCp ₂	15	228	Mor	167	3.84	Havaya duyarlı
CrCp ₂	16	217	Bordo	173	3.20	Havaya duyarlı
MnCp ₂	17	211	Kahve	173	5.86	Havaya duyarlı
FeCp ₂	18	206	Turuncu	173	0	Kararlı
CoCp ₂	19	212	Koyu mor	174	1.73	Havaya duyarlı
NiCp ₂	20	220	Koyu yeşil	173	2.86	Az kararlı

Metalosenlerdeki siklopentadien halkasının C-C bağ kuvveti, benzendekine çok yakındır. Bu nedenle metalosenlerin aromatiklerin bilinen tepkimelerini vermesi beklenmektedir. Ancak metalosenlerin çoğu, benzenin tepkime koşullarında kararlı yapıda bulunamadığından, bu tepkimeleri bilinmemektedir. Kararlı olan Ferrosenin Friedel-Crafts açillenmesi, sülfolanması ve butil lityum ile metalasyonu bilinen tepkimelerine örnektir. Özellikle Ferrosenin karbondioksit ile Friedel-Crafts açillenmesi benzeninkinden çok daha hızlı yürümektedir [4].



Şekil 1.3. Ferrosenin Friedel-Crafts Açilleme Tepkimesi

1.2. Ferrosenin Genel Özellikleri

Ferrosen sarı renkli kararlı bir organometalik bileşiktir. Ferrosen veya Ferrosenin iyonik formları havada süblimleşerek turuncu renkli iğne kristaller verir. Erime noktası 173-174 °C, kaynama noktası 249 °C'dir. Suda çözünmez, organik çözücülerde kolayca çözünür [5]. Suda çözünmediğinden, tuz özelliği göstermez. Moleküler yapılıdır. Sahip olduğu siklopentadienil halkaları nedeniyle aromatikdir. Ferrosen oda sıcaklığında monoklinik, 164 K den daha düşük sıcaklıklarda triklinik ve 110 K den daha düşük sıcaklıklarda ise ortorombik formda kristallenir [6].

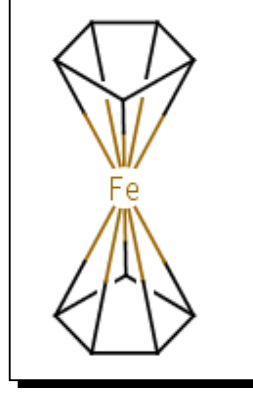
Fe(II)'nin yarı dolu d orbitallerinden dolayı, Ferrosen türevleri genelde kırmızı ve turuncumsu bir renktedir.

1.3. Ferrosenin Yapısı

Ferrosen'in eşsiz sandviç yapısı 1954'de X-ışınları kırınımı ile yapılan çalışmalarca tespit edilmiştir [7]. Bu yapı elektron kırınımı ile de desteklenmektedir [8,9]. Daha sonra dünyanın hemen hemen birçok yerinde Ferrosenle ilgili birçok çalışma yapılarak oldukça önemli aşamalar kaydedilmiştir. Ferrosenin sandviç yapısını öneren 1974 yılında Ernst Fisher ve Geoffrey Wilkinson'a [10,11] bu alandaki başarılarından dolayı Nobel ödülü verilmiştir [12]. $Fe(C_5H_5)_2$ bis(siklopentadienil)demir kompleksi iki tane η^5 -siklopentadienil (Cp) ligandına bağlı +2 yükseltgenme basamağında olan bir adet demir atomundan oluşmaktadır. Elektronların bir çifti her iki halka ile bağ oluşturmakta ve bu bağ belli bir karbon atomu ile Fe atomu arasında değil, demir ile halka arasında delokalize olmuş bir bağ şeklindedir. Bu bağa Wilkinson sandviç, diğerleri ise Ferrosen bağı adını vermişlerdir. Ferrosen adı bis(siklopentadienil)demirin aromatikliğini vurgulamak için Woodward tarafından verilmiştir [13]. Kealy ve Pauson, C_5H_5MgBr ile $FeCl_3$ arasında meydana gelen reaksiyon sonucunda elde edilen bileşikteki iki metal-karbon σ bağı olduğunu düşünmüşlerdir.

Ferrosende halka aralığı 332 pm iken demir karbon bağı ise 204 pm' dir [14]. Metalin bütün karbon atomlarına uzaklığı yaklaşık olarak aynıdır. Ferrosen de metal-ligand bağı diğer metalosenlere kıyasla en kısadır. ΔH bağ ayrıştırma enerjisi 1470 kJ/mol'dür [15]. Metalosenler arasında bağ ayrıştırma enerjisi en büyük

bileşiktir. Ferrosen 18 elektron kuralına uymaktadır. $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5^-$ anyonu 6 elektron vericidir. İki halkada toplam 12 elektron ile etkileşime katılır. Demir(II) d^6 yapısındadır ve 6 elektron ile etkileşime katılır. Toplam da 18 elektrona ulaşır ve bileşik 18 elektron kuralına uyar. Ferrosen metalosenler serisinde 18 elektron kuralına uyan en kararlı üyesidir [16].



Şekil 1.4. Ferrosende Demir-Karbon Bağları

1.4. Ferrosenin Sentezlenme Yöntemleri

Ferrosen birçok tepkime yöntemiyle sentezlenebilmektedir. Bunlardan bazıları;

1. Susuz dietil eter ortamında FeCl_3 tuzu ile $\text{C}_5\text{H}_5\text{MgBr}$ Grignard reaktifinin tepkimesi ile
2. Demir metali ile siklopentadienin doğrudan termal tepkimesi ile
3. Demir oksit ile siklopentadienin krom oksit içinde etkileşmesi
4. Sodyum siklopentadienin, demir klorür tepkimesi ile
5. Demir asetilaseton-dipiridin kompleksi ile siklopentadienin tepkimesi ile,
6. Fe(II) klorür ile C_5H_6 arasındaki tepkimesi sonucunda elde edilebilmektedir.

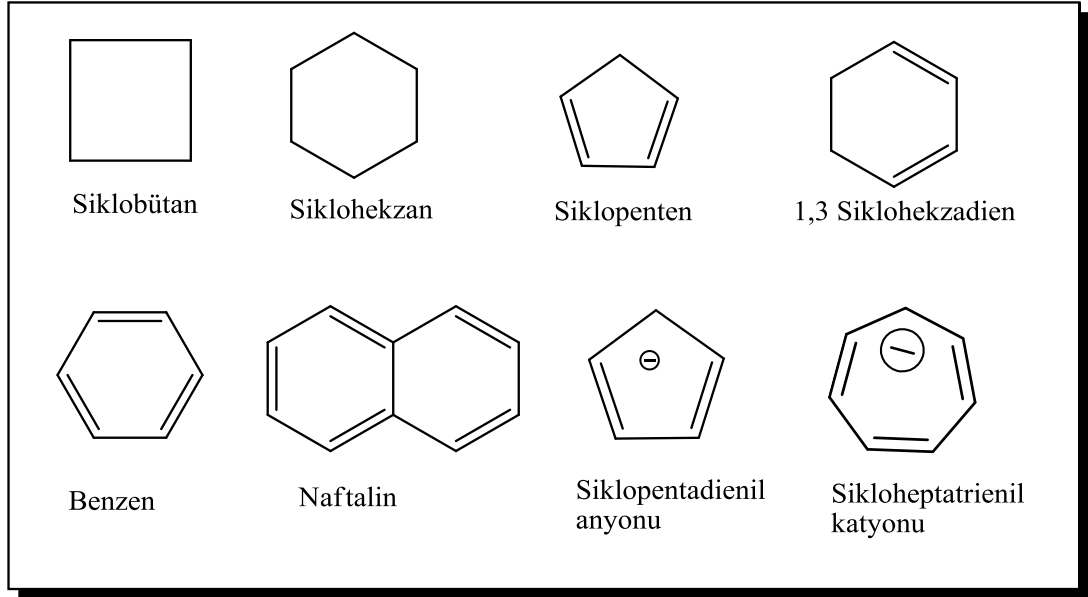
1.5. Ferrosenin Kullanım Alanları

Ferrosen bir çok ilginç özellikleri ile yeni malzeme sentezlerinde kullanılmaktadır [17]. Bunlardan bazılarını aşağıda değinilmiştir.

1. Moleküler magnetlerde [18],
2. Non-lineer optik malzemelerde [19],
3. Biyokimyasal uygulamalarda (Anti kanser, antibiyotik ve kan toniği gibi ilaçların yapımında) [20],
4. Elektrokimyada [21],
5. Sıvı kristallerde [22],
6. Moleküler sensörlerde [23],
7. Asimetrik sentezlerde [24],
8. Gübre yapımında [25],
9. Karbonil selüloz yapımında [25],
10. Analitik kimyada [26],
11. Polimerik malzemelerin dayanıklılığını artırmada [25],
12. Supramoleküller kimyada [27],
13. Roket yakıtlarında yanma hızı katalizörü olarak kullanım alanları bulunmaktadır [28].

1.6. Heterohalkalı Bileşikler

Halkalı yapıdaki organik bileşiklerde halkayı oluşturan atomların tümü karbon atomlarından oluşuyorsa, bu bileşikler “Karbosiklik” veya “Homosiklik” bileşikler olarak tanımlanmaktadır [29]. Karbosiklik bileşikler ise kendi aralarında “Aromatik (ya da Homoaromatik)” ve “Alisiklik” olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Bunlardan alisiklik bileşiklerin kimyası (örneğin, siklobütan, sikloheksan, siklopenten ve 1,3-sikloheksadien) birçok bakımlardan alifatik homologlarının kimyası ile benzerlik göstermekteyken, aromatik bileşiklerin (örneğin; benzen, naftalen, siklopentadienil anyonu ve sikloheptatrienil katyonu içeren bileşikler) kimyası farklı prensipler içermektedir.



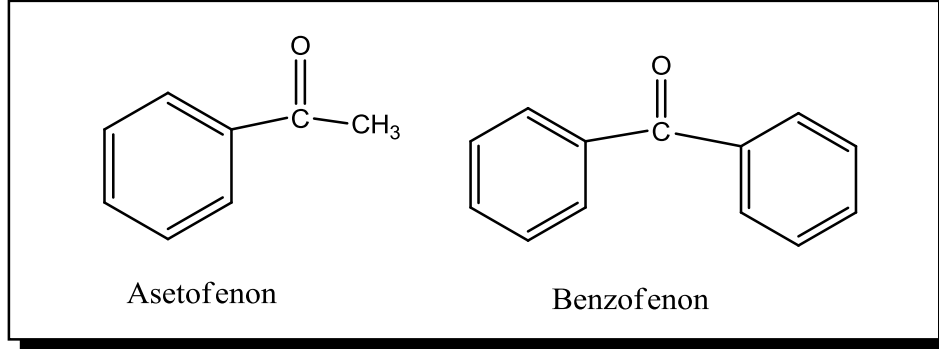
Şekil 1.5. Alisiklik ve Aromatik Bileşiklerden Bazıları

Karbosiklik bileşikler gibi iki ana grup altında toplanabilen “Heterosiklik (Heterohalkalı)” bileşikler de halkalı yapıdadırlar. Ancak bunlarda halkayı oluşturan atomlar karbon atomları ile heteroatomlardan oluşmaktadır. Bu heteroatomlar başlıca oksijen, kükürt, azot, bor, arsenik, fosfor, silisyum, selen ve tellur’dur. Heterohalkalı bileşiklerin bir grubu doymuş heterohalkaları içerirler. Heterohalkalı bileşiklerin diğer grubu ise çok daha önemlidir. Bu gruptaki bileşikler çoğu kez “Heteroaromatik” bileşikler adı altında toplanırlar.

1.7. Aromatik Ketonlar

Aromatik ketonlar, karbonil grubuna aromatik bir veya iki grubun bağlı bulunduğu bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Genel gösterimi: $Ar-CO-R$ veya $Ar-CO-Ar_2$ ’dir. Örnek olarak asetofenon (metil-fenil-keton) ve benzofenon (difenil keton) verilebilir. Birçok kullanım alanına sahiptirler. Ayrıca çeşitli bileşiklerin sentezlerinde, ara bileşik vazifesi görürler. Aromatik ketonlar “Aril Alkil Keton“ veya “Diaril Keton“ şeklinde adlandırılabilirler. Aynı zamanda “fenon“ son eki kullanılarak da adlandırılabilirler.

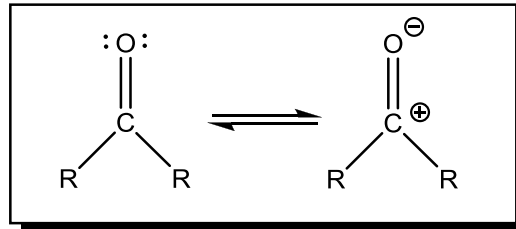
Açilofenonlar: karbonil grubunun bir yanında fenil grubu, diğer yanında herhangi bir grup olan aromatik ketonların genel adı 'açilofenon'dur. Örneğin; asetofenon, benzofenon, propiyofenon gibi.



Şekil 1.6. Bazı Aromatik Ketonlar

1.7.1. Ketonların Fiziksel Özellikleri

Ketonların karbonil grubunda, sp^2 hibritleşmesi yapmış bir karbon atomu ve buna bir σ ve birde π bağı ile bağlı oksijen atomu bulunmaktadır. Karbonil karbonunun sigma bağları aynı düzlem üzerinde bulunmaktadır. Bağ açıları ise yaklaşık olarak 120° dir. Karbonil grubu polardır. Bağ elektronları, elektronegatif oksijene doğru daha çok çekilmektedir. Karbonil grubu oksijeninde iki çift ortaklanmamış değerlik elektronu bulunmaktadır. Bu yapısal düzlemsellik, bağ, polarite ve ortaklanmamış elektronlar karbonil grubunun etkinliğine ve özelliklerine katkıda bulundurmaktadır [30].



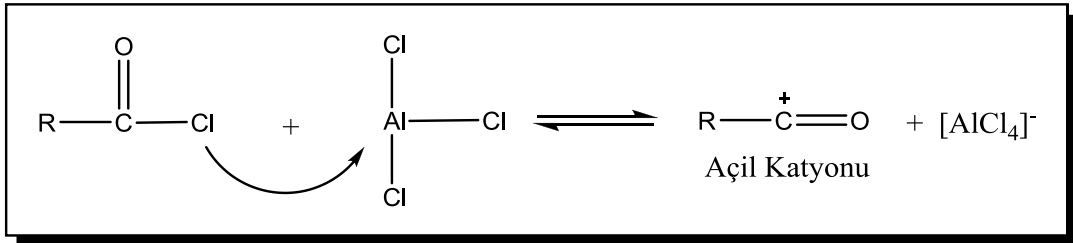
Şekil 1.7. Ketonlarda karbonil grubu

1.7.2. Aromatik Ketonların Elde Edilişleri

Aromatik ketonlar, laboratuvar ortamında birçok yöntemle elde edilebilmektedir. Ancak bunların içinden çok daha elverişli olup tercih edilen yöntem ise Friedel-Crafts açilleme yöntemidir.

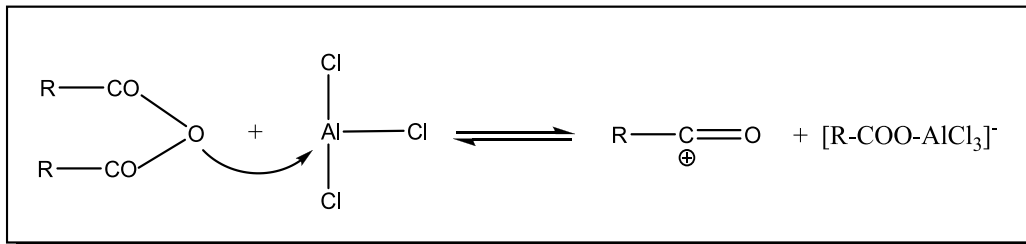
Bu yöntemde aromatik hidrokarbon (veya bunun bir türevi), susuz AlCl_3 beraberinde (veya bir Lewis elektrofilik katalizörleri ile) bir asit klorürü veya bir asit anhidridi ile reaksiyona sokulur.

Asit klorürü ile açil katyonunun oluşum tepkimesi aşağıdaki gibidir.

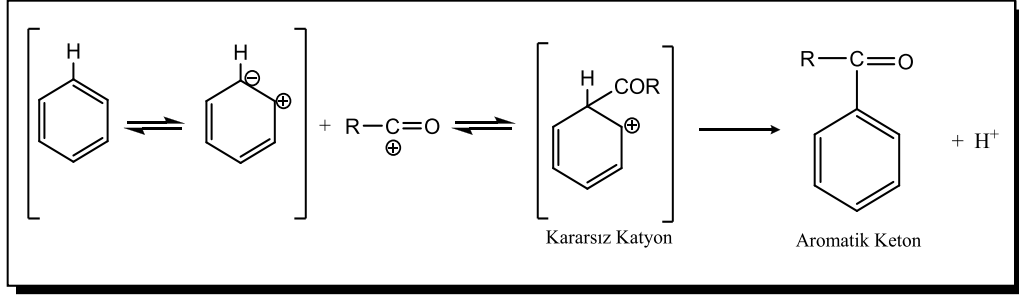


Şekil 1.8. Asit klorür ile açil katyon oluşumu

Asit anhidriti ile susuz AlCl_3 ' den de açil katyonu meydana gelir.

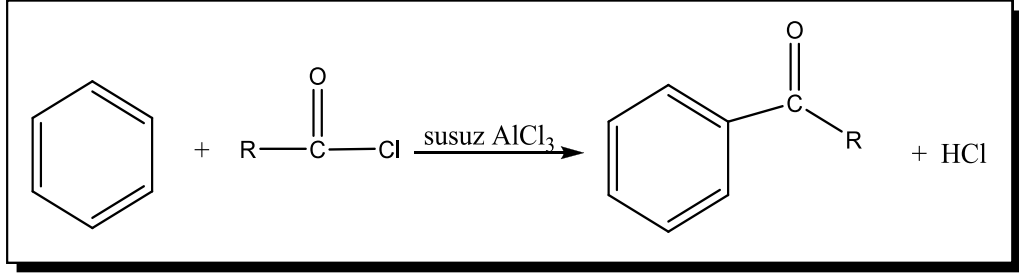


Şekil 1.9. Asit anhidrit ile açil katyon oluşumu



Şekil 1.10. Aromatik keton oluşumu

Aromatik halkanın açılmesi tepkimesi aşağıda gösterilmektedir. $(R-CO)^+$ grubu elektron çekici bir grup olduğundan halkanın etkinliğini azaltıcı yönde etkisi vardır. Bundan dolayı sadece bir tane açıl grubu bağlanabilmektedir [31].



Şekil 1.11. Aromatik halkanın açilleme tepkimesi

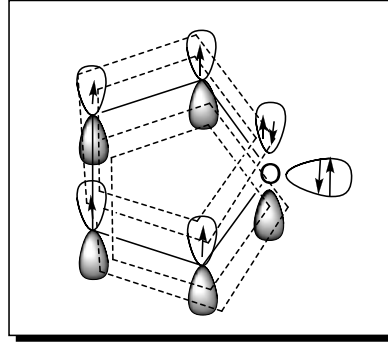
1.8. Furan

Furan, (C_4H_4O), yanma kimyası, termokimyanın yanı sıra bazı ilginç yönleriyle büyük ilgi çekmiştir. C-H bağ gücü alışılmışın dışında yüksek hesaplanmaktadır [32,33]. Furan, kaynama noktası $32^{\circ}C$ olan, uçucu ve hoş kokulu bir sıvıdır, suda az çözünmektedir. Organik çözücülerde ise iyi çözünmektedir.

Çam odununun kuru damıtılmasıyla elde edilmektedir. Furan, derişik HCl ile ıslatılmış çam odunuyla yeşil bir renk vermektedir. Furan türevleri hayvansal organizmada bulunmazken, bitkilerde ise çok az rastlanır. Terpen sınıfından olan perillen ise buna bir örnektir.

Furfural ve bundan elde edilen tetrahidrofuran (THF) gibi kimi furan türevleri önemlidir. Nitrofuran türevleri bakterisit ilaç olarak kullanılırlar. Örneğin; nitrofurazon (5-nitro-2-furalaldehit semikarbazon) [34].

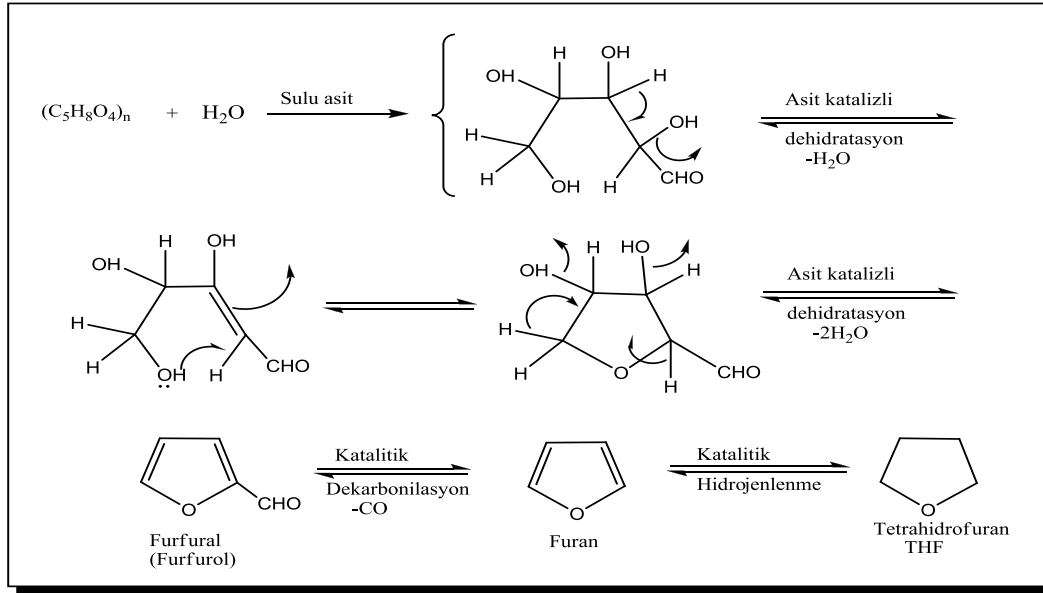
Beş üyeli halkaların aromatik olabilmesi için halka atomlarından birinin π -sistemine vereceği iki elektron olması gerekmektedir. Furan heteroatom olan oksijenin sp^2 hibritleşmesi sonucu serbest elektron çiftlerinden birini halkayla paylaşır ve 6π elektron sistemine sahip olan aromatik özellik kazanır. Bu özelliğinden dolayı furan, aromatik bir bileşiktir. Furan yapısı itibariyle aromatik bir bileşik olmasına karşın davranış itibariyle antiaromatik bileşiklere benzemektedir. Bunun sebebi ise, oksijenin elektronegatifliğinin yüksek olması, elektron konjugasyonunu azaltıcı yönde etki yapmaktadır. Bu özelliğinden dolayı furan, çok rahat radikalik, dipolar, diels alder tipi katılmalarda çok yaygın olarak tercih edilmektedir.



Şekil 1.12. Furanda 2p orbitalleri ve aromatik π - sistemi

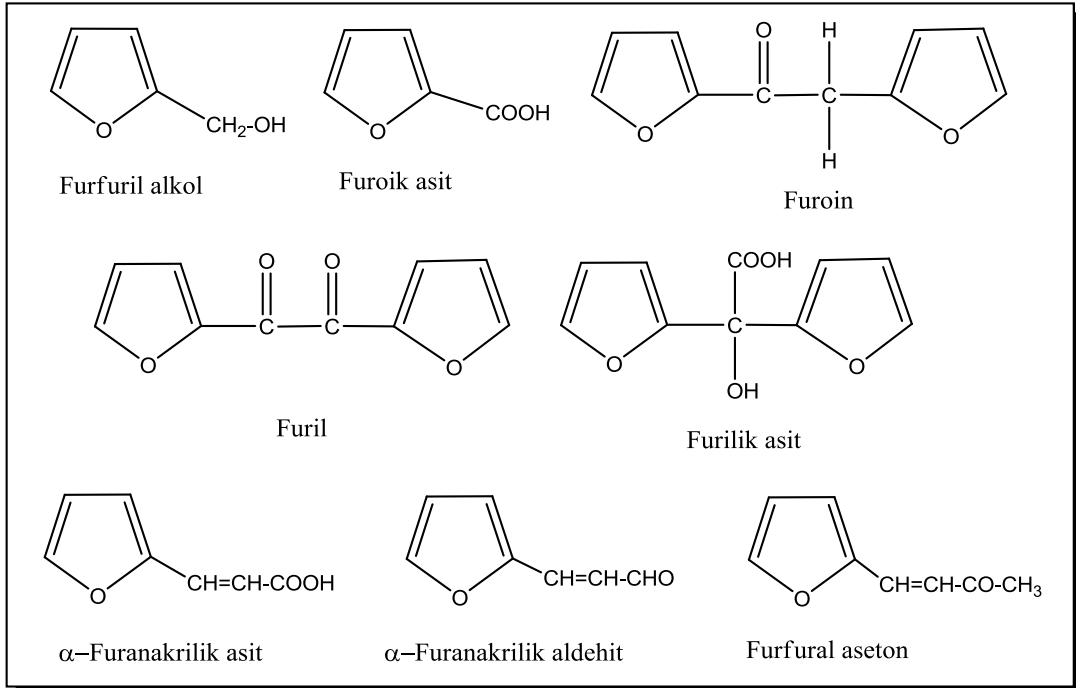
1.8.1. Furanın Elde Edilmesi

Furan, havada kararsız olduğundan katalitik hidrojenlenme ile THF simgesi ile gösterilen tetrahidrofurana dönüşmektedir. THF kararlı, çözme gücü yüksek halkalı bir eterdir. Grignard reaksiyonlarında ise genellikle dietil eter tercih edilmektedir.

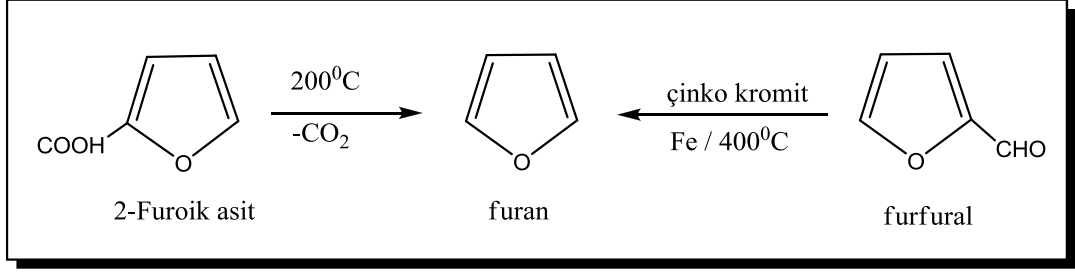


Şekil 1.13. Furan sentezleri

Bazı furan türevleri aşağıda gösterilmektedir.



Şekil 1.14. Çeşitli furan türevleri

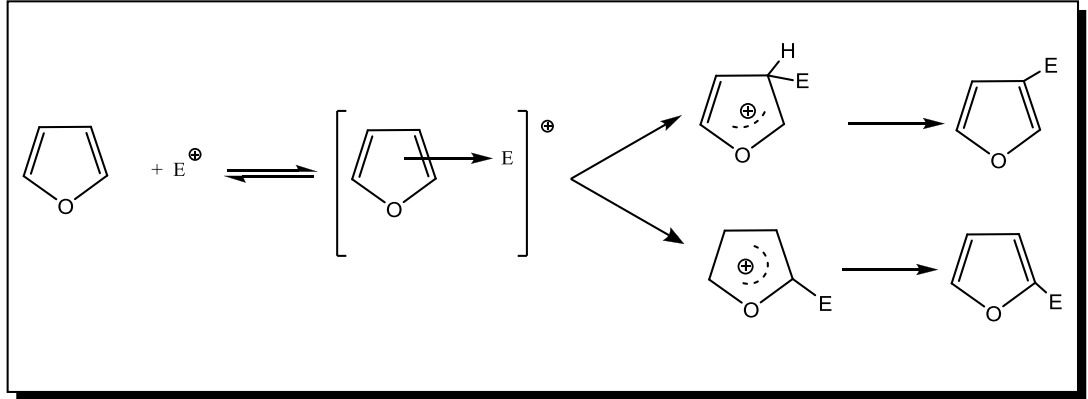


Şekil 1.15. Bazı furan türevlerinden furan oluşumu

1.8.2. Furanın Reaksiyonları

1.8.2.1. Elektrofilik Yer Değiştirme Reaksiyonları

Furan halkasında elektrofil sübtitüsyon benzen halkasındakinden daha hızlı yer değiştirme verir. Bunun nedeni; furanın rezonans enerjisinin benzenden daha küçük olması ve furanın elektrofilik sübtitüsyon reaksiyonları benzenin katılma-ayrılma mekanizmasına benzer olmasından kaynaklanmaktadır.

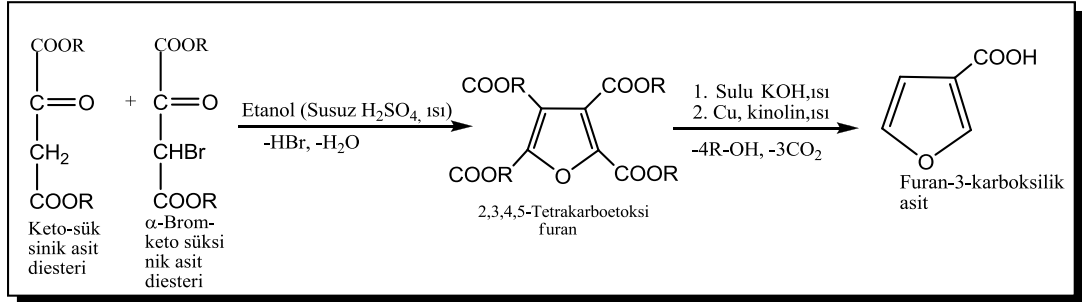


Şekil 1.16. Furanın elektrofilik yer değiştirme tepkimesi

1.8.2.2. Feist-Benary Yöntemi

Bu yöntemde α -halo-keton veya α -halo-ester ile β -ketoester arasında halka kapanarak furan türevi elde edilebilir.

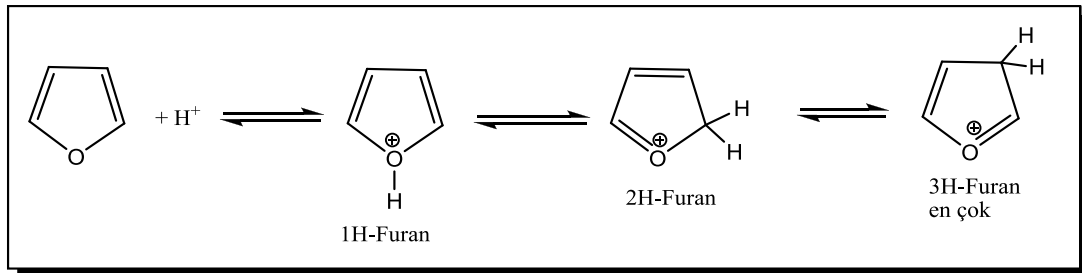
Reaksiyon denklemini aşağıda gösterilmektedir.



Şekil 1.17. Furan türevinin Feist-Benary yöntemiyle sentezi

1.8.2.3. Proton Bağlanması

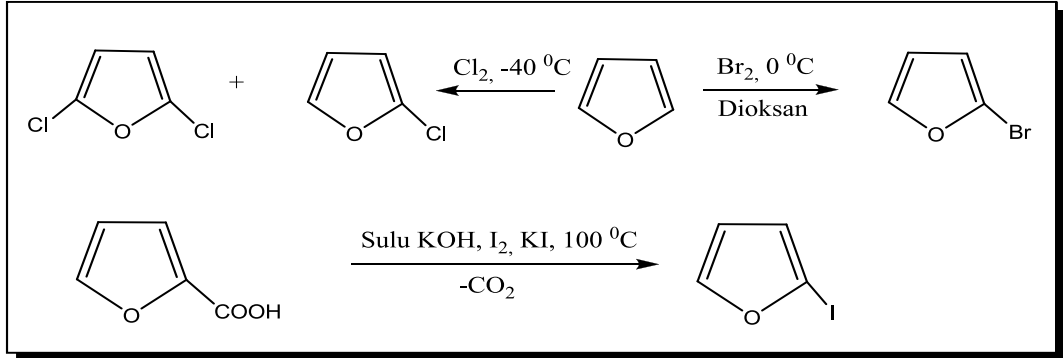
Proton, furanın 1, 2 ve 3 konumlarına bağlanabilir. Pozitif yük hepsinde oksijen üzerinde bulunmaktadır. Bunlardan 3H-furan dengede en çok bulunanıdır. 2H-furan daha az bulunmaktadır. 1H-furan ise eser miktardadır. Furan halkasının asitlere karşı kararsız olduğu bilinmektedir. Örneğin derişik asitlerle etkileştiğinde hemen halka açılıp, polimerler meydana gelmektedir. Seyreltik asitlere karşı ise daha kararludur. Örneğin %5 lik HCl çözeltisinde proton açılması yanında furan dimeri, trimeri, tetrameri ve polimerleri de oluşur. Bunlardan tetramer biraz kararludur ve yalıtılabilir. Hepsinin oluşmasında ise 3H-furan etkindir.



Şekil 1.18. Furanın protonlanması

1.8.2.4. Halojenlenme Reaksiyonları

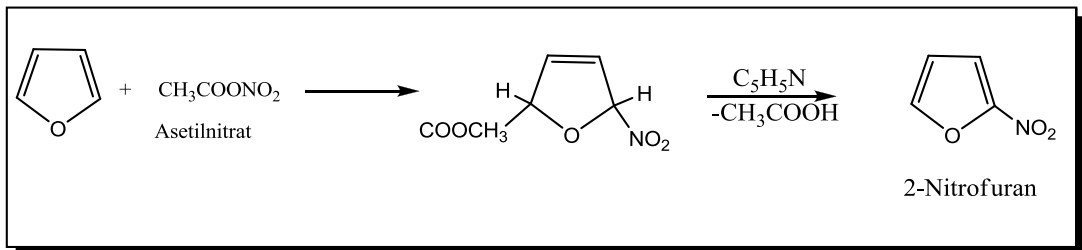
Furan kloro karşı çok daha etkindir. Bu nedenle de reaksiyonların düşük sıcaklıkta yapılması gerekmektedir. Örneğin klor ile $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 2-klor furan ile 2,5-diklor furan meydana gelir. Brom, dioksanlı çözeltide $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 2-brom furan verir. Fakat iyot ile doğrudan tepkime gerçekleşmez. 2-iyot furan dolaylı bir şekilde elde edilebilir.



Şekil 1.19. Furanın halojenlenmesi

1.8.2.5. Nitrolama

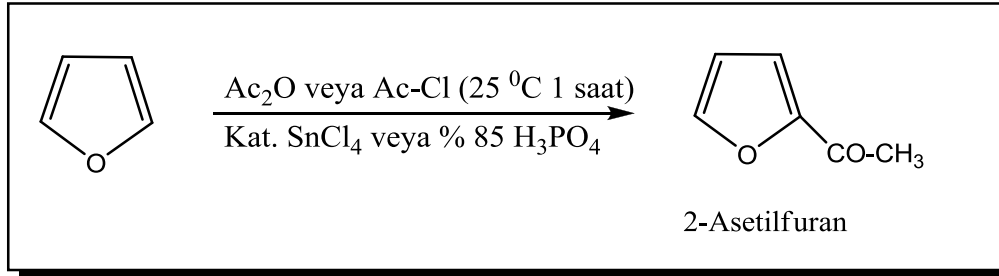
Furan derişik H_2SO_4 ve kuvvetli asitlerin birçoğu ile bozunduğu için nitrolama reaktifi olarak asetilnitrat kullanılır. Düşük sıcaklıkta (-5 , $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$) yapılan nitrolamada önce bir katılma ürünü elde edilir. Bu ürün ile piridin'in reaksiyonundan 2-nitrofuran elde edilir.



Şekil 1.20. Furanın nitrolama reaksiyonu

1.8.2.6. Friedel-Crafts Açılması

Asit klorürleri ve anhidritleriyle gerçekleştirilebilir. Ancak katalizör olarak AlCl_3 kullanılamaz bunun yerine SnCl_4 , ZnCl_2 , I_2 , fosforik asit kullanılabilir. Reaksiyon aşağıdaki gibi gerçekleşmektedir.

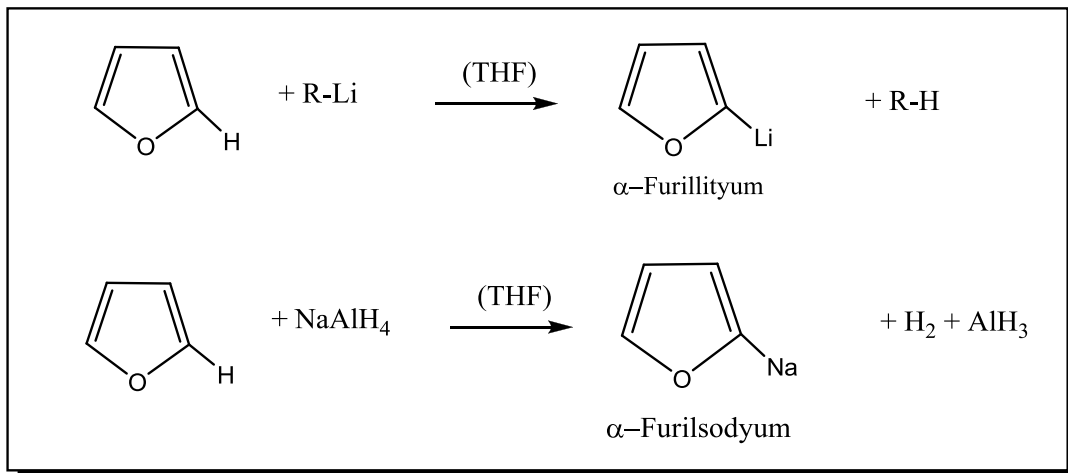


Şekil 1.21. Furanın Friedel-Crafts reaksiyonu

Friedel-Crafts açılma reaksiyonunda olumlu sonuçlar alınırken, Friedel-Crafts alkilendirmesinde furan için iyi sonuçlar alınmaz. Kataliz etkisiyle, kısmen polimerizasyona ve kısmen de polialkil türevlerinin oluşumuna yol açar.

1.8.2.7. Furanın Metallenmesi

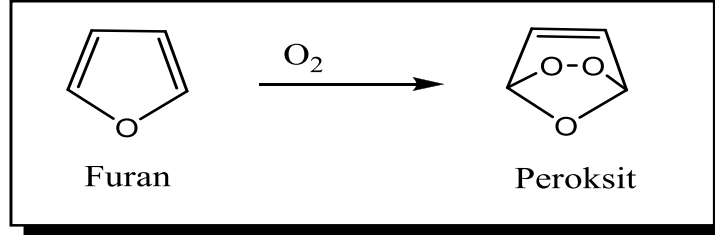
Furan alkilyumlar ve NaAlH_4 ile α -yerinde metillenebilir. Bu reaksiyonlarda Na, K, LiAlH_4 ve R-MgX etkin değildir.



Şekil 1.22. Furanın metallenmesi reaksiyonu

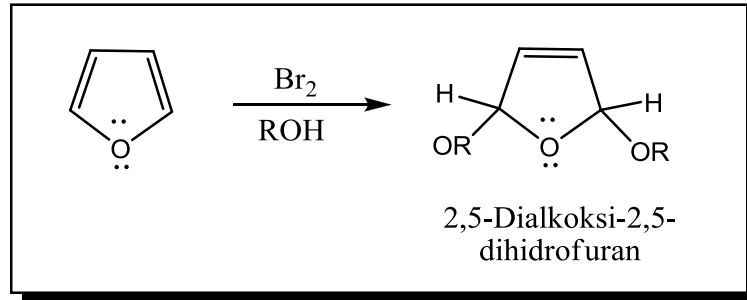
1.8.2.8. Yükseltgenme ve İndirgenme Reaksiyonları

Furanlar kolaylıkla yükseltgenebilen bileşiklerdir. Oksidanların birçoğu ile tamamen parçalanma gösterirler. Furan hava ya da O_2 etkisiyle bir peroksiti halinde izole edilebilir.



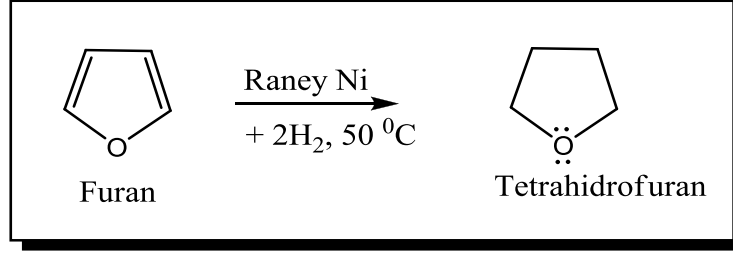
Şekil 1.23. Furandan peroksit eldesi

Furanın, Br_2 ile alkollü ortamda yükseltgenmesi ile 2,5-dialkoksi-2,5-dihidrofuran oluşumu gözlenir.



Şekil 1.24. Furanın yükseltgenmesi

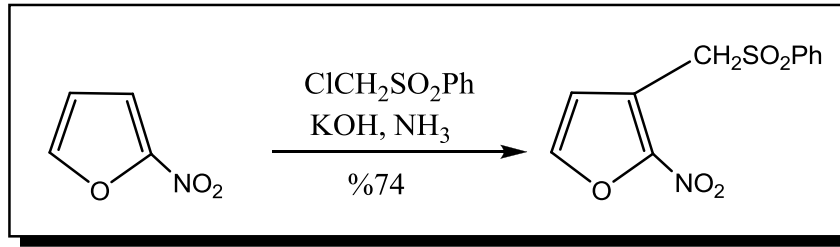
Furan'ın Raney Nikeli ile katalitik olarak indirgenmesinde önemli bir çözücü (örneğin; hidroborasyon'larda, aril magnezyum halojenürler'in hazırlanmasında, $LiAlH_4$ ile indirgenmelerde) olarak kullanılan tetrahidrofuran elde edilir [35].



Şekil 1.25. Tetrahidrofur eldeşi

1.8.2.9. Nükleofilik Reaktiflerle Reaksiyonlar

Basit furanlar, nükleofilik katılma ve yerdeğıştirme reaksiyonları vermezler. Nitro süstitüelleri benzen kimyasında olduğu gibi halojenin yerdeğışimini aktive eder

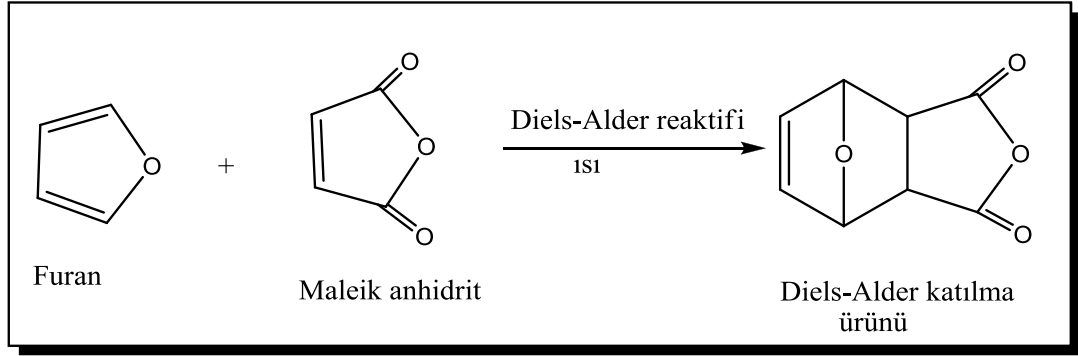


Şekil 1.26. Nitrofuranın nükleofilik reaktifle reaksiyonu

1.8.2.10. Furanın Diels-Alder Reaksiyonu

Furan davranış itibariyle antiaromatiklere benzemesinden dolayı, furan halkasıyla çok rahat süstitüsyon, radikalik katılma, dipolar katılma ve Diels-Alder tipi katılmalar oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır [36].

Furanın aromatik rezonans enerjisinin düşük olmasından dolayı, halkasındaki çift bağ biraz dien karaktere sahiptir ve diofenillerle Diels-Alder reaksiyonu verebilir. Ancak, akrolein ya da metilakrilat gibi biraz daha az reaktif dienofiller ile furan, arasında reaksiyon gerçekleşmemektedir. Bu reaktiflerin furan halkası ile Diels-Alder reaksiyonunu verebilmeleri için, furan halkasının örneğın; -OCH₃ gibi bir süstitüent ile aktifleştirilmiş olması gerekmektedir. Aşağıda furanın maleik anhidritle verdiği reaksiyon gösterilmektedir.

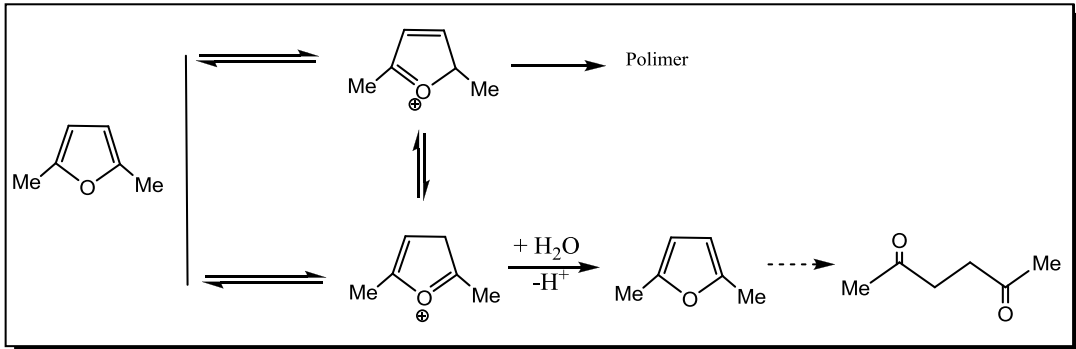


Şekil 1.27. Furanın Diels-Alder reaksiyonu

Benzofuranlar, Diels-Alder reaksiyonunu vermezler. Buna karşılık, izobenzofuranların ise benzen halkasının kararlılığını azaltıcı yönde etkisi vardır. Bu nedenle de izobenzofuranlar da Diels-Alder reaksiyonu gerçekleşmektedir [37].

1.8.2.11. Halka Açılma Reaksiyonları

Furanlar iki pozisyonda protonlanmaktadır.



Şekil 1.28. Furanın halka açılması

Suyun nükleofilik atağı, protonlanmış furanın 2 pozisyonunda gerçekleşmektedir.

1.9. Friedel– Crafts Reaksiyonları

Alüminyum klorür, aromatik ve alifatik bileşikler arasındaki reaksiyonlarda katalizör olarak görev yapmaktadır. Substitüsyon, katılma ve polimerizasyon gibi reaksiyonlarda çok sık kullanılmaktadır. Bu reaksiyonların birçoğu kimyacılar tarafından Friedel-Crafts tipi reaksiyonlar olarak sınıflandırılmış olup herhangi bir reaksiyonda susuz alüminyum klorür katalitik etki gösteriyorsa bu reaksiyon Friedel-Crafts reaksiyonu olarak adlandırılır.

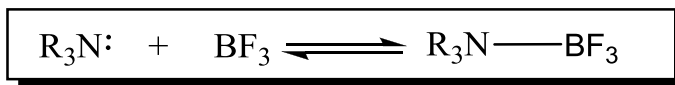
Günümüzde Friedel-Crafts tipi reaksiyonlar denince Lewis asit tipi asidik halojenürler (ya da ko-katalizörlü) veya proton asitlerin katalitik etkisi altında süstitüsyon, izomerizasyon, eliminasyon, kriting, polimerizasyon ya da katılma reaksiyonlarının meydana gelmesi anlaşılır.

Friedel-Crafts reaksiyonları arenlerin C-C bağı oluşturduğu önemli bir organik sentezdir [38]. Ayrıca Friedel-Crafts reaksiyonları sadece C-C bağı oluşumu ile sınırlı kalmamaktadır. Ayrıca C-O, C-N, C-S, C-Cl, C-P, C-B vb. birçok bağı tipi oluşabilir.

1.9.1. Friedel-Crafts Reaksiyonlarında Kullanılan Katalizörler

Friedel-Crafts reaksiyonlarında katalizör olarak kullanılan FeCl_3 ve AlCl_3 birer Lewis asidi gibi davranmaktadırlar. Yani metal atomları, tam dolu olmayan değerlik tabakalarını tam dolu hale getirmek için klordan ve alkil yada açil klorürden bir çift elektron alırlar [39].

G.H. Lewis 1923 yılında asitleri, elektron çifti alan maddeler; bazıları da elektron çifti veren maddeler olarak tanımlamıştır. Bu tanıma göre bir maddenin Lewis asidi olabilmesi için, merkez atomu üzerinde doğrudan veya dolaylı olarak orbital boşluğu olması gerekir. Lewis sistemine göre karakteristik asit-baz reaksiyonuna örnek olarak trialkilamin ile bor triflorür arasındaki reaksiyon verilebilir.



Şekil 1.29. Lewis asit-baz reaksiyonu

Friedel ve Crafts, kendi adları ile anılan reaksiyonlarda, alüminyum klorür yerine demir(III)klorür, çinko(II)klorür ve sodyum alüminyum klorür gibi metal halojenürlerinin de kullanılabileceğini belirlediler. Ayrıca alüminyum bromür ve iyodürün de, klorlandırılmış alifatik bileşiklerle aromatik hidrokarbonlar arasındaki reaksiyonlarda, katalizör etkisinin olduğunu belirlediler. Magnezyum, kobalt, bakır, civa ve antimon klorürlerinin katalizör olarak etkilerinin olmadığını, bununla beraber daha sonraları benzen ve benzil klorür arasındaki hızlı ilerleyen kondenzasyonlarda alüminyum klorür yerine çinko, demir ve kobalt klorürlerin kullanılabileceğini gösterdiler.

Friedel-Crafts katalizörleri, benzeni alkilleme gücüne göre aşağıdaki gibi sıralanır.



Friedel-Crafts reaksiyonlarında izomerleşmeyi en aza indirmek için aktifliği az olan katalizörler tercih edilmektedir. Bu katalizörlerden en pratik olanı ise Al_2Cl_6 'dır. Bu bileşik susuz saklanamayacak kadar etkin bir bileşiktir. Süblimleştirilerek saflaştırılmaktadır.

Son zamanlarda çeşitli heterojen katalizler Friedel-Crafts reaksiyonlarında kullanılmıştır. Örneğin; Fe/montmorillonite [40], Zn/montmorillonite [41], silika ve MCM-41 [42], $\text{MgGa}_2\text{O}_4/\text{MgO}$ [43], Fe/zeolit [44], Al/MCM-41 [45], Fe/grafit [46], Ga/MCM-41 [47].

1.9.2. Friedel –Crafts Reaksiyon Sistemlerinin İncelenmesi

İdeal koşullar altında, bir Friedel-Crafts reaksiyon karışımı aşağıdaki bileşenleri içerir:

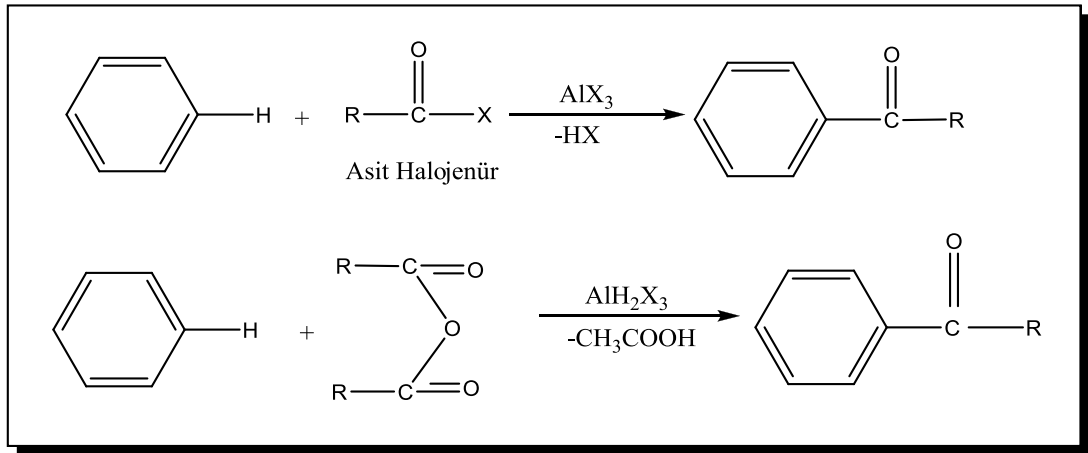
- 1) Madde substitue olmalıdır.
- 2) Substituent olarak bir reaktif kullanılmalıdır. Bu bir olefin, alkil halojenürler, alkol, asit, halojenür ya da anhidrid tercih edilebilir.
- 3) Bir Lewis asit tipi asidik halojenür ya da Bronsted-Lowry tipi proton asit olarak bir katalizör ortamda bulunmalıdır.
- 4) Substrat ya da reaktifin aşırısını uzaklaştırabilecek bir çözücü gerekmektedir. Genellikle CS_2 , CCl_4 gibi çözücüler kullanılır. Ayrıca nitrobenzen ya da nitrometan da tercih edilebilir.

5) Reaksiyonda substitue ürün oluşmalıdır. (alkillenmiş ya da açillenmiş)

6) X kısmı katalizörden gelen konjuge HX asidinden oluşmalıdır [48].

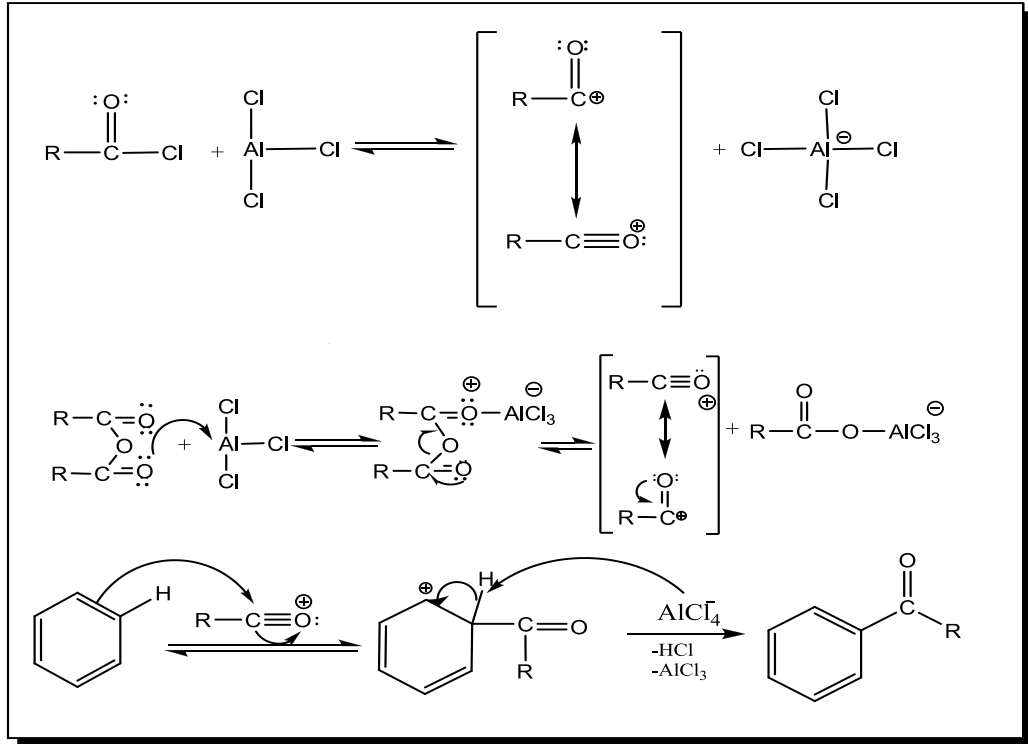
1.9.3. Friedel – Crafts Açılleme Reaksiyonu

Friedel-Crafts açılleme reaksiyonları laboratuvar ve endüstriyel çalışmalarda büyük önem taşımaktadır [49]. Aromatik ketonların elde ediliş yöntemleri arasında en elverişli yöntemdir. Bu yöntemde aromatik hidrokarbon (veya bunun bir türevi), susuz $AlCl_3$ beraberinde (veya bir Lewis elektrofilik katalizörleri ile) bir asit halojenürü veya bir asit anhidridi ile reaksiyona sokulur.



Şekil 1.30. Friedel-Crafts açılleme reaksiyonu

Friedel-Crafts açılleme reaksiyonunda katalizör miktarı oldukça önemlidir. Çünkü $AlCl_3$ oluşan fenon ile oksonyum-tuz kompleksi oluşabilir ve ortamda katalizör görevi görece $AlCl_3$ kalmayabilir. Bu yüzden, açılleme reaksiyonunda ortama eşdeğerinden biraz daha fazla $AlCl_3$ ilave etmek gerekmektedir. Reaksiyonda $AlCl_3$ açıl klorür ya da asit anhidridiyle etkileşerek açıl katyon oluşturur. Oluşan açıl katyona nükleofil olarak saldıran aromatik π -sistemi ve açıl katyonu halkaya bağlar. Eğer açılleme asit anhidridiyle yapılacaksa katalizörün miktarı tam olmalı ki, hem oluşan fenon, hem de ayrılan karboksilli asit ile kompleks oluşturmaya yettiği gibi katalizör görevi görece kadar da artmalıdır.

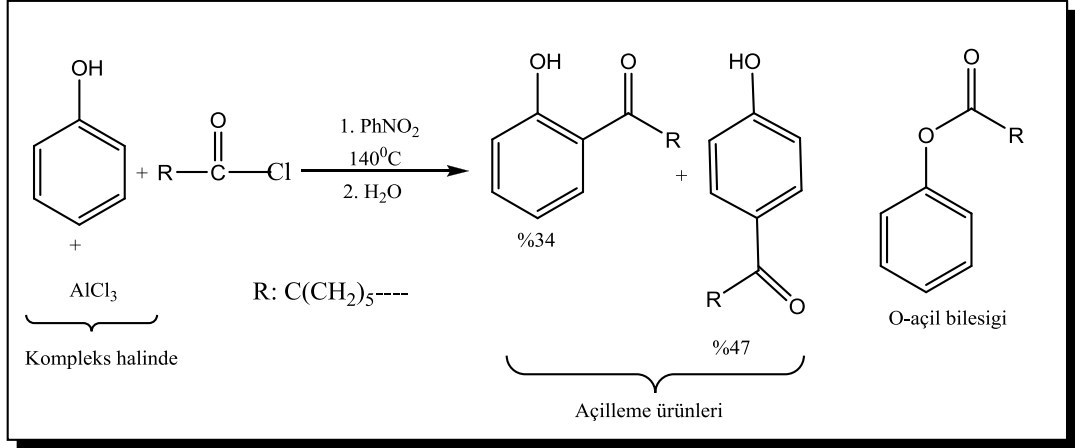


Şekil 1.31. Friedel-Crafts açılleme mekanizması

Açıl katyonunun aromatik halkaya katılmasıyla oluşan aril katyon aromatik özellik taşımayan yüksek enerjili bir ara üründür. Reaksiyon ortamında bulunan $AlCl_4^-$ ya da $Cl_3Al-OOCCH_3^-$ açıl katyonunun bulunduğu karbondaki protona baz olarak saldırır ve aromatik özelliğe sahip olan fenon meydana gelir.

Friedel-Crafts açılleme reaksiyonları, alkilleme reaksiyonlarına göre daha geniş bir uygulama alanına sahiptir. Friedel-Crafts alkillemesinde karşılaşılan polialkilleme ve karbokasyon çevrilmesi sorunları da Friedel-Crafts açıllemesinde görülmez [50]. Reaksiyonda en çok kullanılan asit klorürler yanında, asit florürler, asit bromürler ve asit iyodürler de kullanılabilir. Kullanılan asit halojenürün aktifliği halojen atomuna bağlıdır. Daima doğru olmamakla birlikte, asit halojenürlerin aktiflikleri halojen atomunun ayrılma kolaylığına göre yani $I > Br > Cl > F$ şeklinde değişir. Açılleyici olarak kullanılan asit halojenür ve asit anhidridler yanında ketenler ve karboksilli asitler de kullanılabilir. Reaksiyonda en çok kullanılan katalizör $AlCl_3$ olmakla birlikte alkilleme reaksiyonunda kullanılan katalizörler burada da kullanılabilir. Benzen ve benzenden daha aktif aromatik halkaların verdiği Friedel-Crafts açılleme

reaksiyonu halojenli benzenler de verir fakat bunların reaksiyonlarında verim miktarı düşüktür. Aromatik halkada –OH ve –NH₂ gruplarının olması bu bileşiklerin aromatik halkalarını çok daha aktif hale getirir fakat, reaksiyondan O-açıl ve N-açıl bileşikleri ve AlCl₃---O (veya N) kompleksleri oluştuğundan bu bileşiklerin açılmasından iyi sonuç alınmamaktadır.



Şekil 1.32. Aromatik halkanın açılme reaksiyonu

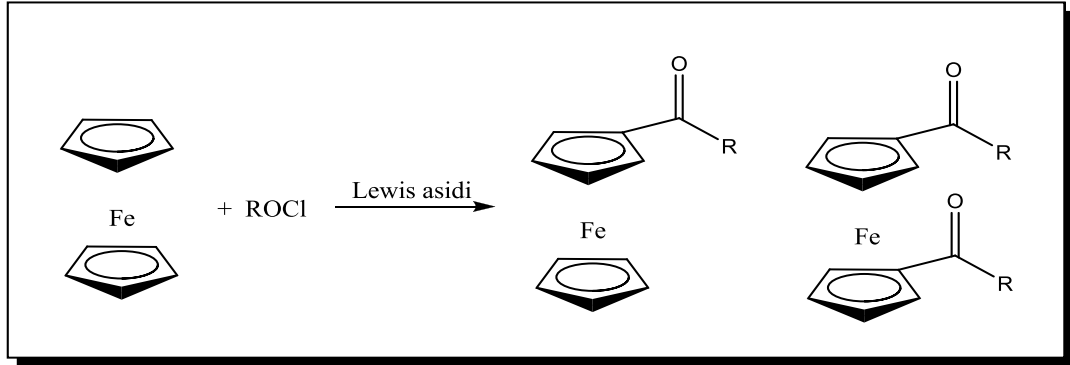
Aromatik halkaya bir grup bağlı ise açıl grubu p- konumuna bağlanmayı tercih eder. Çünkü hacimli açıl grubunun o- konumuna bağlanması sterik olarak engellenmektedir.

1.10. Ferrosenin Friedel-Crafts Tepkimesi

Son zamanlarda potansiyel endüstriyel uygulamalar için sentezlenen ferrosenlerin içinde ferrosenoil birimi ortak gruptur. Ferrosenoil birimini molekül içine yerleştirmenin iki genel yöntemi vardır. Biri ferrosenin asit halojenürleri ve alüminyumtriklorür ile Friedel-Crafts açılasyonu metodu [51], diğeri ferrosenoilklorürün nükleofilik reaktiflerle reaksiyonu metodudur. Friedel-Crafts açılasyonu ferrosen kimyasında kullanılan ilk reaksiyonlardan birisidir [52]. Ferrosenoil halojenürlerin özellikle ferrosenoile denk olan ferrosenoil klorürün kullanımı yaygınlaşmıştır. Fe(II) iyonlarından aldığı elektron desteği ile ferrosen

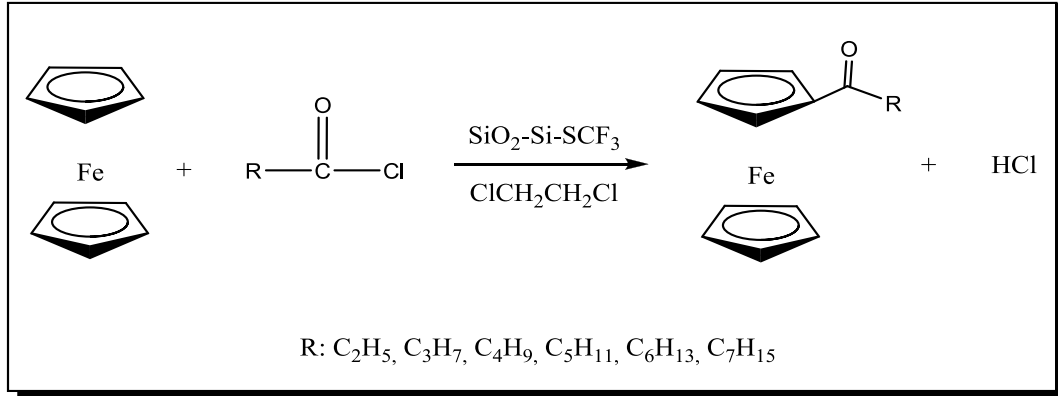
benzen halkasına göre elektronca daha zengindir ve bu da ona aromatik katılma tepkimelerine kolayca girmelerini sağlar.

Ferrosenin Friedel-Crafts açilleme oranı benzene oranla 60 kat daha hızlıdır. Ferrosenin Friedel-Craft tepkimesinde benzen de olduğu gibi birçok Lewis asit katalizörü kullanılmıştır [53].



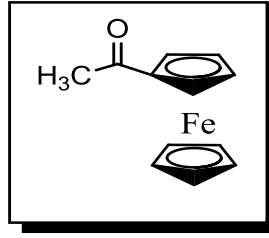
Şekil 1.33. Ferrosenin Friedel-Crafts reaksiyonu

Ferrosenin, Friedel-Crafts açilleme reaksiyonlarında katı, silika destekli politriflorometansülfosilokzan ($\text{SiO}_2\text{-Si-SCF}_3$) katalizör olarak da kullanılmıştır.



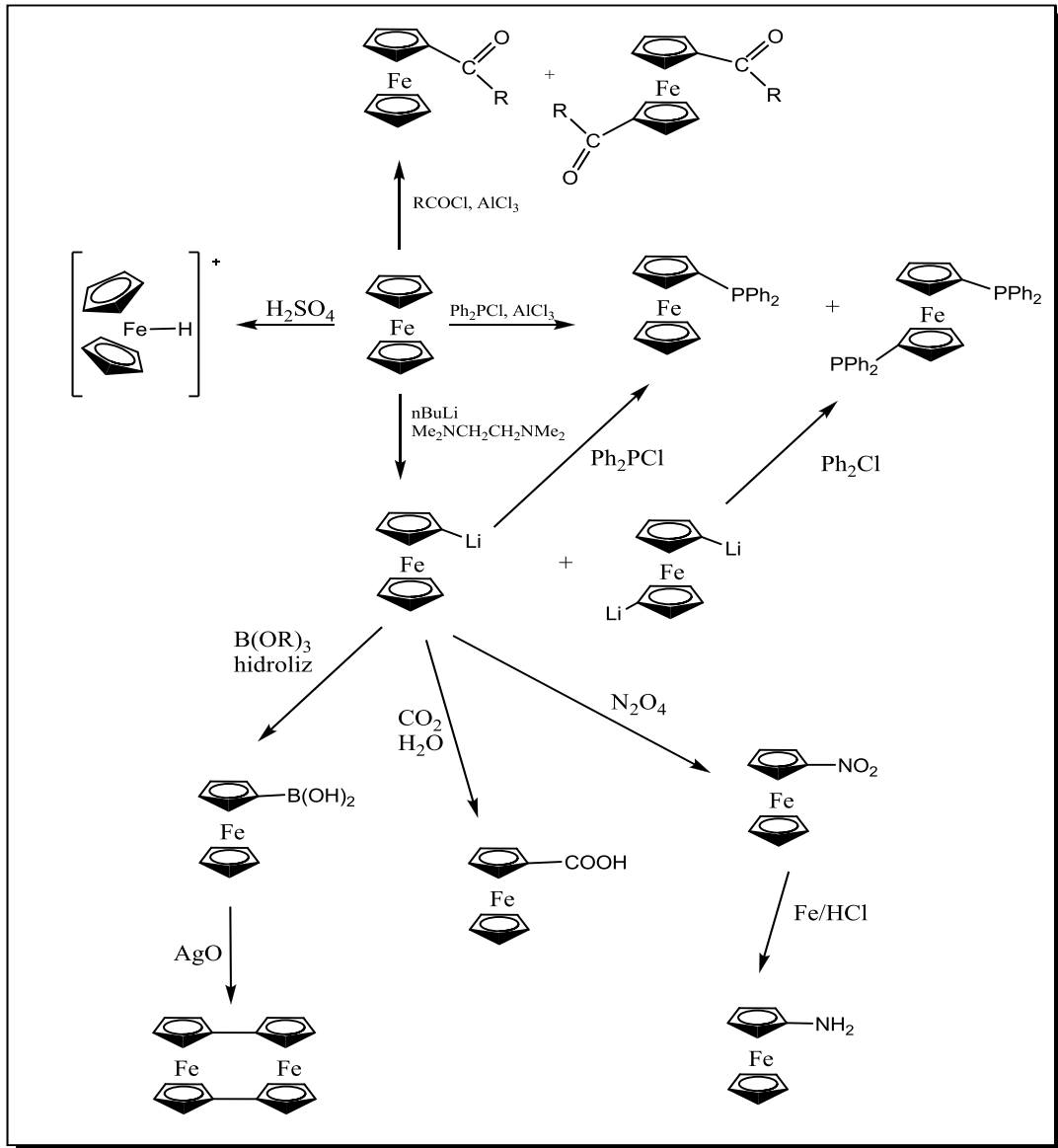
Şekil 1.34. Ferrosenin silika destekli Friedel-Crafts reaksiyonu

Asetil Ferrosenin (Şekil 1.35.), erime noktası $85\text{-}86\text{ }^\circ\text{C}$ iken kaynama noktası ise $228.08\text{ }^\circ\text{C}$ 'dir. Asetil ferrosen ve ferrosen ayrı renkli olmalarından dolayı kolon kromatografisinde kolayca birbirinden ayrılırlar [54].

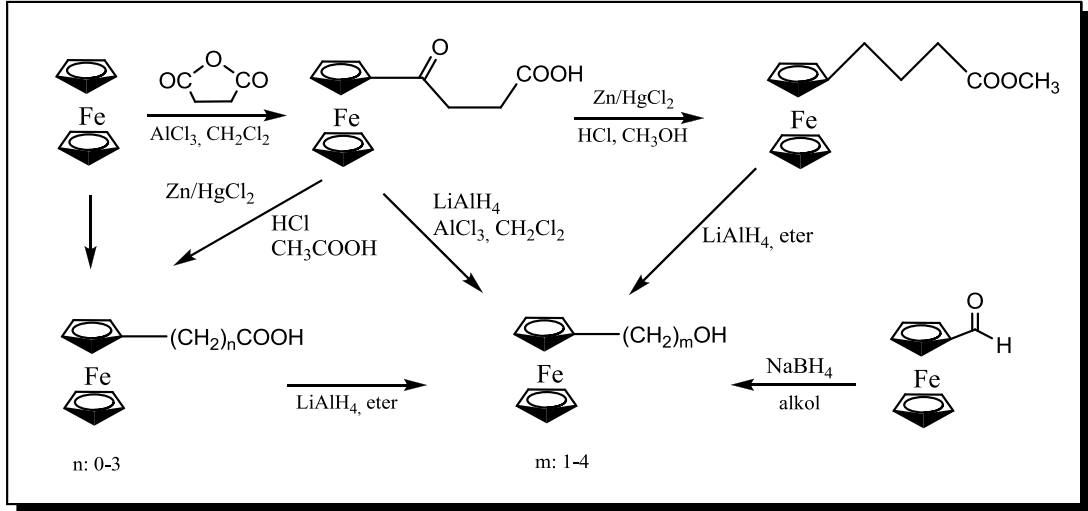


Şekil 1.35. Asetil Ferrosen

1.11. FERROSENİN TÜREVLENDİRİLMESİ



Şekil 1.36. Çeşitli Ferrosen türevlerinin eldesi



Şekil 1.37. Ferrosen içeren bazı alkollerin sentezi [55]

1.12. Furanın Biyolojik Aktivitesi

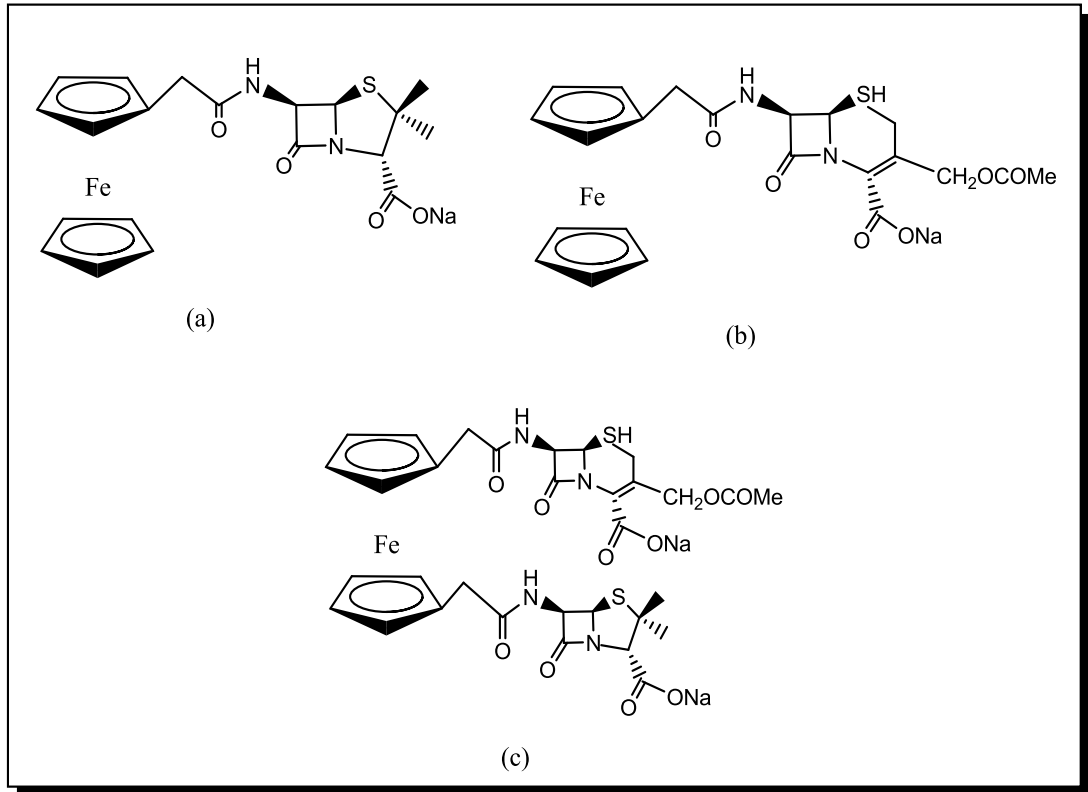
Birçok doğal ürünün ve biyolojik aktif bileşiğin temel yapısında furan türevlerinin bulunması sentetik ve biyolojik olarak büyük bir öneme sahiptir. Furan türevi bileşiklere hayvansal organizmalarda rastlanmamaktadır. Furanlar; farmasötik kimya, antibakteriyel amaçla [56], böcek öldürücü [57], antifungal [58], antiviral [59], gıda katkısı ve fotokromik moleküllerin sentezinde, geniş uygulama alanı bulmaktadır. Bu bileşiklerin sentezi ve reaksiyonlarına organik kimyada çok sık rastlanmaktadır. Sentetik ara ürün olarak yararlarının yanı sıra, bu bileşikler üzerinde elektronik ve ilaç sektörü adına araştırmalar yapılmaktadır. Buna ek olarak bazı furan türevleri RNA virüsünün potansiyel tedavisinde kullanılmaktadır [60].

1.13. Ferrosenin Biyolojik Aktivitesi

Son yıllarda yapılan araştırmalara göre Ferrosenin antitümör aktivite göstermesinden sonra Ferrosen grubu içeren biyoaktif yapılar büyük önem kazanmıştır. Bu nedenle Ferrosen grubu içeren bileşiklerin de antitümör ve antibiyotik etkileri de artmaktadır. Daha etkili antitümör maddelerin sentezlenmesi kanser hastalıklarının tedavisinde umutları önemli ölçüde artırmaktadır. Ferrosenin suda çözünen türevleri anti kanser ilacı olarak kullanılabilir [61]. Ayrıca Ferrosen yaygın olarak güvenli metalosen

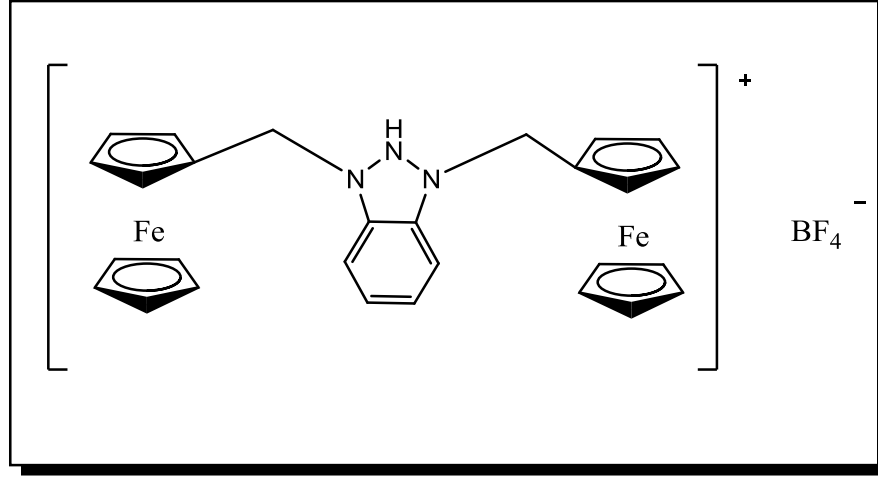
olarak kabul edilir. Ferrosen ve bazı türevlerinin kronik toksite testleri güvenliği bir çok memeli (köpekler, sıçanlar, maymunlar, fareler) üzerinde göreceli olarak kanıtlanmıştır [62-64].

1970 yılında, E. I. Edward'ın araştırma grubu tarafından bir dizi sentezlenen antibiyotik konjuge Ferrosenil penisilin şunlardır: Ferrosenil penisilin (a), Ferrocenyl-cephalosporin (b) ve Ferrocenyl-hybrid of penisilin ve cephalosporin (c) (Şekil 1.38.) [65-67].

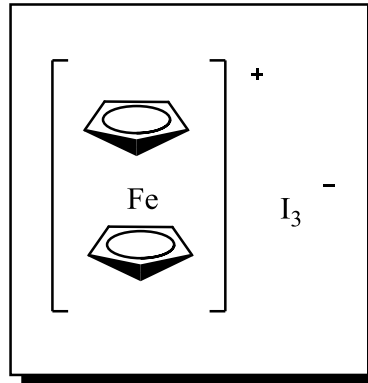


Şekil 1.38. Konjuge Ferrosenil Penisilinler

Antikanser ajanları olarak, iyi aktivite gösteren bazı Ferrosen türevleri [68] aşağıda verilmektedir.



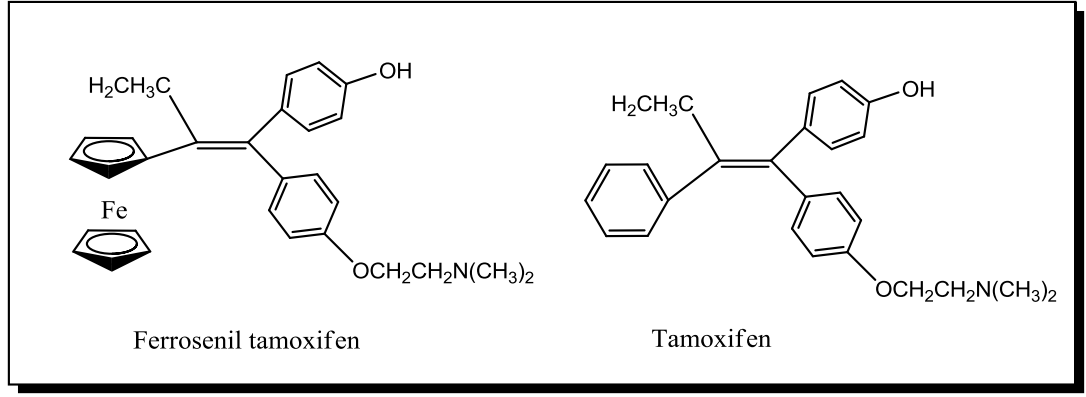
Şekil 1.39. Ferrosenyum tetra floro borat tuzu



Şekil 1.40. Ferrosenyum tri iyodat

Bazı Ferrosenyum tuzları antikanser aktivite gösterir ve deneysel bir ilaç olan Tamoxifen bir Ferrosenil türevi olduğu bildirilmiştir [69]. Sitotoksik madde, kanserli hücreleri öldüren yada fonksiyonunu durduran maddedir. Ferrosenyum iyonun sitotoksik olduğu bilinmektedir [70].

Tamoxifen henüz hem erken ve ileri ER + (östrojen reseptörü pozitif) ön-ve post-menopozal kadınların meme kanseri tedavisi için kullanılmaktadır [71]. Ayrıca, erkek meme kanseri için en sık görülen hormon tedavisidir.



Şekil 1.41. Ferrosenil Tamoxifen ve Tamoxifen

Ferrosifen (Ferrosenil Tamoksifen), Tamoksifenin eksikliklerini aşmak girişimiyle bir anti-tümör ajan olarak sentezlendi [72].

1.14. BİYOLOJİK AKTİVİTE İNCELENMESİNDE KULLANILAN TESTLER

1.14.1. Sitotoksite Testleri

Sitotoksik etki, hücre yapısı ya da fonksiyonunda hasar oluşturan kimyasal bileşiğin, sıklıkla bölünmekte olan hücreleri seçici olarak ortadan kaldırmak için kullanılan antineoplastik ilaçları tanımlamak için çoğunlukla kullanılmaktadır.

Hücre kültürü kanser araştırmaları (in-vitro), sitotoksite deneylerinde sıkça kullanılmaktadır [73]. Materyallerin klinik kullanımından önce sitotoksitelerinin incelenmesi amacıyla üretim aşamasında bazı testlerden geçmesi gerekmektedir [74]. Neutral Red (NR) ve MTT (tetrazolyum tuz redüksiyon) deneyleri monolayer (tek tabanlı) kültürlerde sitotoksite ölçümleri ya da toksik madde varlığında hücre canlılığının belirlenmesinde sık kullanılan yöntemlerdir [75].

Biyomateryaller uygulandıkları bölgedeki hücreler üzerinde bazı etkiler meydana getirirler [76]. Bunlar;

1. Hücrelerin membran yapısında oluşturdukları bozukluklar (Geçirgenliğin artması).

2. Hücrelerin kromozom yapısında oluşturdukları etkiler (mutajenite, sitotoksisite, östrogenesite, nörotoksisite)
3. Hücrelerin metabolik faaliyetlerinde meydana getirdikleri bozukluklardır.

İn vitro sitotoksisite testlerinin hedefi, materyalin vücut dokuları üzerine veya içine uygulandığında, dokunun gösterdiği reaksiyonların, laboratuvar ortamında incelenmesidir. Materyallerin ilk olarak laboratuvar şartlarında test edilmeden hayvanlar üzerinde denenmesi, hem zaman alıcı hem de pahalı bir yoldur [77]. Ayrıca etik olup olmadığı da tartışma konusudur [78]. İnsanlar ve hayvanlarda ölüm ve hastalıkların ilerlemesine birincil derecede reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan metabolitler neden olduğu için sitotoksisite testlerinde genellikle memeli hücre kültürleri tercih edilmektedir.

İnvitro testlerinin bir olumsuz tarafı materyalin toksik etkisi hakkında genel bilgi vermemesidir [79].

1.14.2. WST-1 Testi

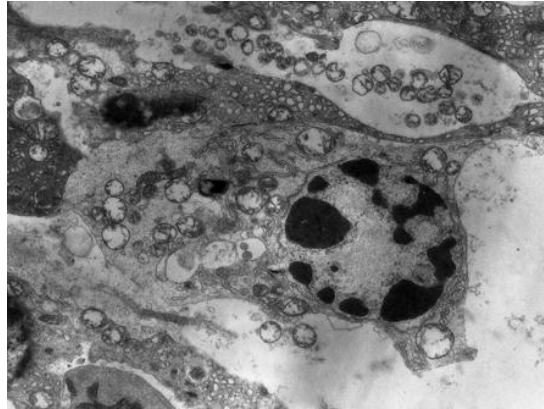
Sitotoksik bileşiklerin analizinde ve hücre büyümesine engel olan antikör ve fizyolojik ortamın değerlendirilmesinde kullanılır. WST-1'de tetrazolyum tuzu, yalnızca canlı hücrelerde aktif hale gelen suda çözünebilen formazan boyasına dönüştürülmektedir. Enzim aktivitesinin artması, kültür ortamındaki metabolik olarak aktif hücre sayısı ile doğrudan ilişkili olarak formazan boyasının miktarındaki artışa sebep olmaktadır [80-81].

1.14.3. Apoptoz

Apoptoz terimi ilk olarak 1972 de J.F.K. Kerr tarafından [82] nekrozdan [83] farklı olarak gerçekleşen diğer bir ölüm şekli için tanımlanmıştır ve fizyolojik hücre ölümünü ifade etmektedir. Eski bir Yunan terimi olan apoptoz, kelime anlamı olarak yaprakların ağaçtan doğal olarak düşmesi anlamındadır. Bugün de bu terimin kullanımı fizyolojik nedenlerden kaynaklanan hücre ölümünü anlatır.

Programlanmış hücre ölümü olarak da bilinen apoptozun metabolik olayların devam etmesi 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 [84-85].

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 [86-87]. Apoptotik hücre sayısı kişinin ya da organizmanın sağlıklı ya da hasta oluşunu belirlediğinden, apoptozun fonksiyonel mekanizmaları hücrede denge unsurudur [88]. Dengenin olumsuz yönde bozulması; Alzheimer ve Parkinson gibi hastalıklardan ülseratif kolitler, AIDS gibi kronik hastalıklara hatta immünolojik (bağışıklık) hastalıklarına bile neden olabilmektedir [89-90].



Şekil 1.42. Elektron mikroskobu altında apoptotik bir hücre [91]

1.14.4. Nekroz

1970'lere kadar bilinen tek hücre ölümü nekrozdu. Bu yüzden hücre ölümü fizyolojik olmayan zararlı bir olay gibi gözüküyordu. Fakat insanda ve diğer çok hücreli organizmaların dokularında hücre ölümü, ne her zaman anormal, ne de her zaman zararlıdır [92].

Bir veya daha fazla sayıda hücrenin, dokunun ya da organın geri dönüşemez şekilde hasar görmesi sonucu görülen patolojik ölümdür. Örneğin; bir yanık durumunda aşırı

ısıya maruz kalan vücut parçası nekroza uğrayıp cansız doku haline gelebilir. Diğer sebepler; yaralanma, enfeksiyon, kanser, zehirlenme olabilir.

Nekrozda, organellerin parçalanması, şişme, zar zedelenmesi, hücre kanlanması gibi olaylar gerçekleşir. Enflamasyon (iltihaplanma), nekrozun en belirgin özelliklerindedir.

1.15. Apoptozisin ve Nekrozun Saptanmasında Kullanılan Yöntemler

1.15.1. Kaspazlar

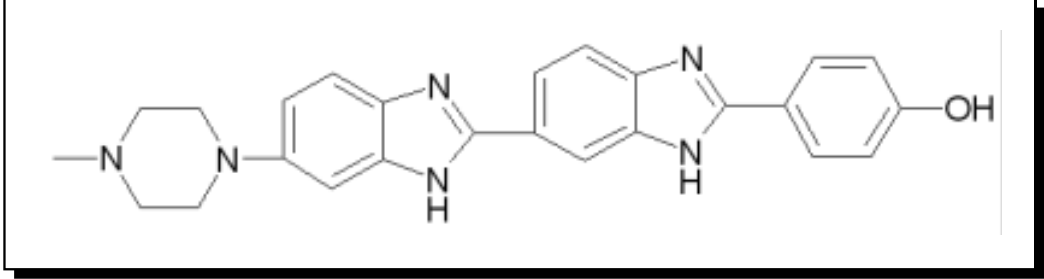
Apoptozisi belirlemek için geliştirilmiş yöntemlerden birisidir. 90'lı yıllarının ortalarında apoptotik hücrelerde kaspazların aktifleştiği saptanmıştır [93]. Kaspazlar programlanmış hücre ölümünün en sondaki etkeni veya cellatıdır. 100 kadar farklı proteini keserek apoptoza neden olurlar. Kaspazlar nükleeraminleri keserek çekirdeğin parçalanmasına yol açar. Hücre iskeleti proteinlerini keserek hücre iskeletinin tahribine, hücre zarının tomurcuklanmasına ve hücre parçalanmasına neden olurlar [94].

1.15.2. Floresan Mikroskopi

Floresan mikroskopi, floresan içerikli maddelerin kullanılmasıyla yapılan bir boyama metodudur. Örneğin: Hoechst boyası, DAPI “4,6-diamidin-2-fenilindol” , propidyum iyodür, akridin orange, etidyum bromür, FITC “floreson izosiyanat”.

Floresan boyalar, hücrenin DNA'sına bağlanabildiklerinden çekirdeği görünür pozisyona getirirler. Hücre kültürü çalışmalarında canlı hücre ile yaşayan hücrenin ayırımına olanak sağlarlar. Canlı ve ölü hücre ayırımını yapmak için ise canlı (örn; Hoechst boyası) veya tüm ölü hücreleri (örn; propidium iyodür) boyayabilen bir başka boya tercih edilmelidir. Bu şekilde boyanan hücreler bir floresan mikroskopu ile tanınabilirler. Bu yöntemle hücrelerin ölü ya da canlı olduğu anlaşılabilir fakat ölü hücrelerin apoptozisle veya nekrozisle ölüp ölmediklerinin ayırımı hematoksilen boyamadaki gibi nükleus morfolojisine bakılarak yapılabilir. [95]

Hoechst boyaları insan ve diğer hayvanlarda sperm ayırımı için de kullanılırlar [96-97].



Şekil 1.43. Hoechst boyası

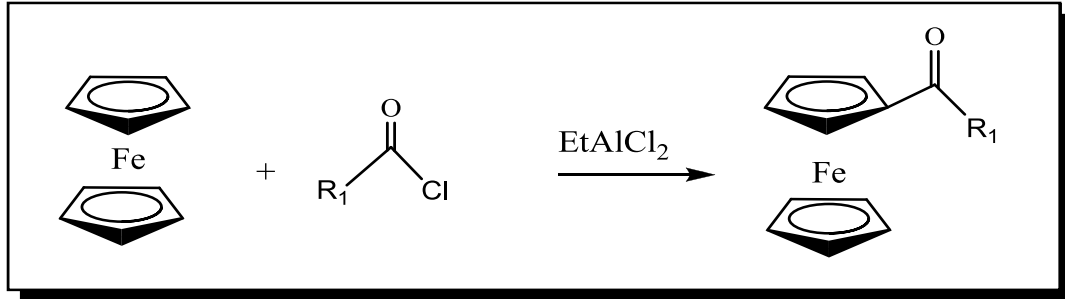
2. MATERYAL VE YÖNTEM

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 cihazı) kullanılmıştır. 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 TLC'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 Heteroaril Bileşikleri ile Açillemesinin Genel Metodu

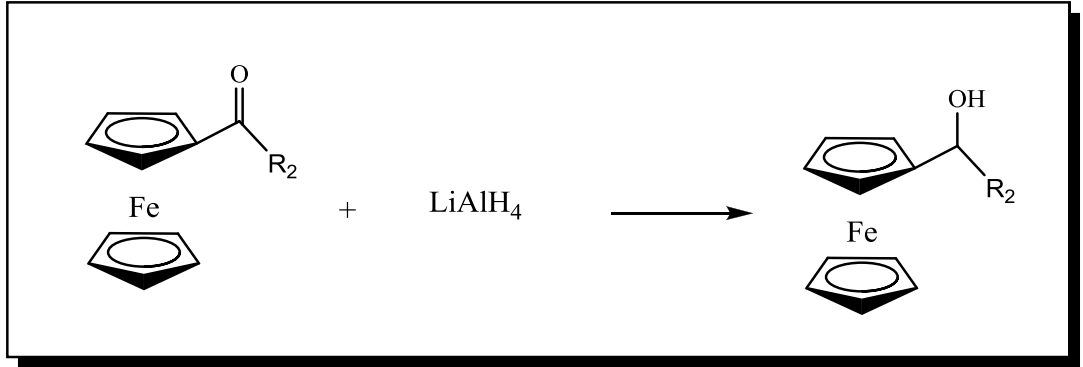
0.005 mol (460 mg) Ferrosen çift boyunlu balona alınıp 20 ml DCM içinde oda sıcaklığında çözüldü. Balon buz banyosu üzerine yerleştirilip, N₂ gazına bağlanıp 10 dk bekletildi. 0,25 ml (0.005 mol) 2-Furoil klorür eklendi. 2.5 ml (0.005 mol) EtAlCl₂ damla damla eklendi. 20 dk karıştırıldıktan sonra 25 ml saf su ile hidrolize edildi. CH₂Cl₂ fazı su fazından 3 defa ekstraksiyon yapılarak (3×25) ayırma hunisi ile ayrıldı. Organik faz susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Düşük basınç altında konsantre haline getirildi. 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. Verim %31 olarak hesaplandı.



Şekil 2.1. Ferrosenin açillemesinin genel tepkimesi

2.2. Ferrosen Açılleme Bileşiklerinin Genel İndirgenme Metodu

Ferrosenin açılleme bileşiği (0.00075 mol) kurutulmuş THF (10 mL) içinde oda sıcaklığında azot gazı altında çözüldü. Karışmakta olan çözelti 0 °C dereceye getirildi ve 10 dk beklenildi. Üzerine yavaş yavaş LiAlH₄ (0.000825 mol) 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.



Şekil 2.2. Ferrosen açılleme bileşiğinin genel indirgeme tepkimesi

2.3. Biyolojik Aktivite İncelenme Metodları

2.3.1. HeLa Hücrelerinin Kültürde Çoğaltılması

HeLa hücreleri ŞAP enstitüsünden (Ankara, Türkiye) temin edilmiştir. HeLa hücreleri, %1 penesilin-steptomisin, %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 kullanılabilirlik sayısına ulaşıp ulaşılmadığı kontrol edildi.

2.3.2. WST-1 Metodu ile Sitotoksitenin Tespiti

Bileşik I, bileşik II, bileşik III, bileşik IV ve bileşik V, 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 yapıldı, Wel platelerdeki hücreler belirli bir sayıya ulaştığında ise bileşiklerin her birinden 12.5, 25, 50 ve 100 µg/mL aynı miktarda ve üç kez tekrarlı hücrelere uygulanarak 48 saat inkübe edildi. Kontrol grubu olarak sadece medium hücrelere uygulandı. 48 saat sonunda her kuyucuğa 15 µL WST-1 çözeltisi ilave edildi. 37 °C'de 4 saat inkübasyondan sonra hücre yaşayabilirliğinin tespiti için 96 kuyucuklu platelerin absorbans yoğunluk değerleri ELİSA plate okuyucuda 420-480 nm'de okundu. WST-1 toksisite testinde yaşayan hücreler sarı renk oluştururken, ölü hücrelerde renk oluşumu gözlenmemiştir.

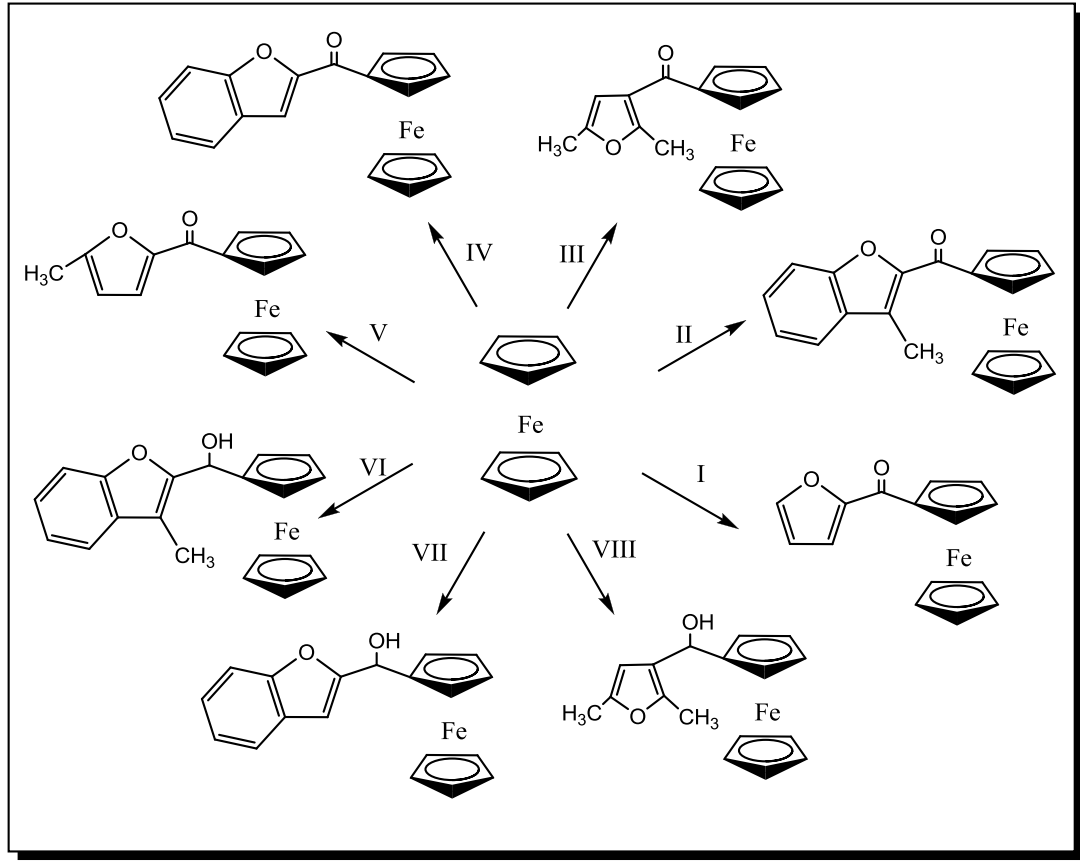
2.3.3. İkili Boyama Metodu ile Apoptozun ve Nekrozun Belirlenmesi

Farklı oranlarda, bileşik I, bileşik II, bileşik III, bileşik IV, bileşik V ile HeLa hücreleri 48 saat süre ile etkileştirilmiş ve kanser hücreleri falkon tüplere toplanarak hücreler santrifüj edildi. Süpernatantı atılıp ve üzerlerine ikili boyama solüsyonu (RNase(2 µL/mL), Hoechst 33342 (2 µL/mL), propidium iodide (2 µL/mL) 10^6

hücreye 100 µL solüsyon konuldu ve 20 dakika 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 yapıldı. Değerlendirme Floresan mikroskopta (Leica DMI70, Almanya) 10 farklı alan (yaklaşık 1000 hücre) sayılarak ortalaması alınıp ve apoptotik indeks yüzde (%) olarak ifade edildi. Değerlendirmede normal apoptotik olmayan hücreler 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 yapıldı. 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 hücrelere giremez ve bu hücreler PI ile boyanmazlar. Fakat hücre nekroza uğradığında veya hücre zarı hasar gördüğünde hücre içerisine girer ve çekirdeği kırmızıya boyamaktadır. Floresan ışık (FITC veya kırmızı floresan ışık) altında bakıldığında nekroza uğrayan hücrelerin çekirdekleri kırmızı renkte görülen hücrelerin yüzdesi hesaplanarak nekrotik hücreler belirlenmiştir [98-100].

3.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA



Şekil 3.1. Sentezlenen Ferrosen Furan bileşikleri

Çizelge 1. 2. Sentezlenen Ferrosen açılme türevlerinin verimleri

Sentezlenen Madde	R	R ₁	Verim
Bileşik I	Ferrosen	2-Furoil klorür	%31
Bileşik II	Ferrosen	3-metil benzofuran-2-karbonil klorür	%47
Bileşik III	Ferrosen	2,5-dimetil furan-3-karbonil klorür	%39
Bileşik IV	Ferrosen	1-benzofuran-2-karbonil klorür	%34
Bileşik V	Ferrosen	5-metil furan-2-karbonil klorür	%44

Çizelge 1. 3. Sentezlenen Ferrosen alkol türevlerinin verimleri

Sentezlenen Madde	R	R ₁	Verim
Bileşik VI	Ferrosen	3-metil benzofuran-2-karbonil klorür	% 19
Bileşik VII	Ferrosen	1-benzofuran-2-karbonil klorür	% 55
Bileşik VIII	Ferrosen	2,5-dimetil furan-3-karbonil klorür	% 57

3.1. Sentezlenen Ferrosen Türevlerinin Spektroskopik Analiz Sonuçları

I numaralı bileşiğin ¹H NMR spektrumu incelendiğinde mono-süstitüe Ferrosene ait sinyallerin üç tane tekli olarak 4.1, 4.5 ve 5.1 ppm'de görülmüştür. Furana ait sinyallerin ise çok bariz bir şekilde beklenildiği bölge olan 6.5-7.6 ppm arasında üç tane singlet (6.5, 7.2. ve 7.6 ppm) sinyal olarak belirlenmiştir. Bileşik I'in FT-IR spektrumunda klasik C-C, C-H bandları ile birlikte 1622 cm⁻¹ de karbonil grubuna ait keskin band görülmüştür.

II numaralı bileşiğin ¹H NMR spektrumunda ise mono-süstitüe Ferrosene ait sinyaller 4.1, 4.5 ve 5.25 ppm'de tespit edilmiştir. Metil grubuna ait sinyal 2.5 ppm de görülmüştür. Aromatik sinyallerin ise 7.2-7.7 aralığında olduğu belirlenmiştir. FT-IR spektrumunda yapıda beklenen karbonil grubuna ait bandın 1624 cm⁻¹ de olduğu görülmüştür.

III numaralı bileşiğin ¹H NMR spektrumunda mono-süstitüe ferrosene ait özellikli sinyaller 4.1, 4.5 ve 4.9 ppm'de tespit edilmiştir. Furan grubuna bağlı iki metil grubunun sinyallerinin ise 2.3 ve 2.5 ppm'de olduğu belirlenmiştir. Furan grubuna ait olan aromatik Hidrojen sinyali 6.4 ppm de görülmüştür. Bileşiğin ¹³C NMR spektrumunda ise metil grubuna ait sinyallerin sırasıyla 13 ve 14 ppm de olduğu; Ferrosenin karbonlarına ait sinyallerin 67-72 ppm aralığında görüldüğü; Furan grubuna ait karbonların sinyallerinin 107 ve 122 ppm de tesbit edildiği; son olarak karbonil grubunun 149 ppm de sinyal verdiği belirlenmiştir. FT-IR spektrumunda ise

beklenen karbonil grubuna ait bandın 1621 cm^{-1} de olduğu görülmüştür. Ayrıca aromatik ve alifatik bağların titreşimleri parmak izi bölgesinde tespit edilmiştir.

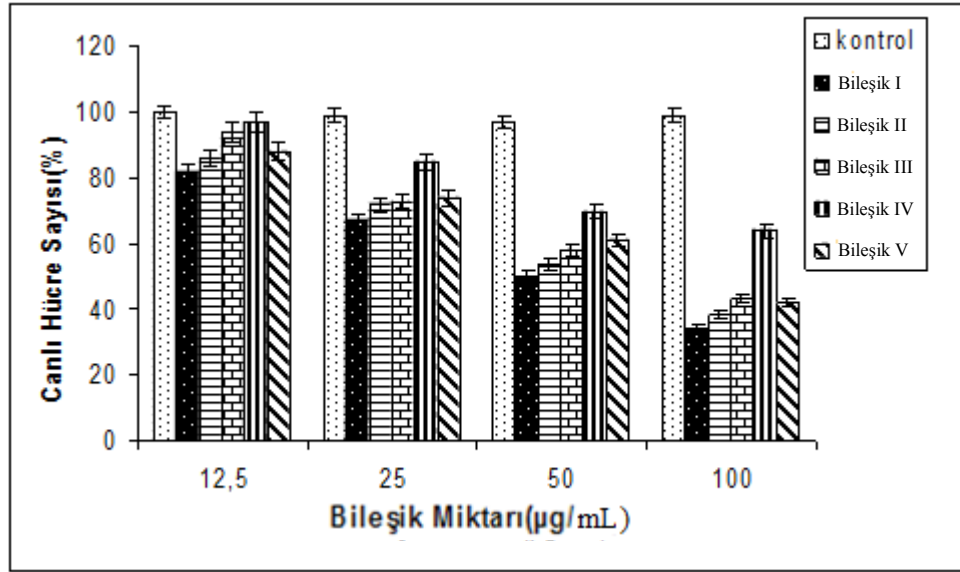
IV numaralı bileşiğin ^1H NMR spektrumunda mono-süstitüe Ferrosen sinyallerinin 4.1, 4.6 ve 5.1 ppm de olduğu görülmüştür. Furan ve Benzen grubuna ait aromatik hidrojenlerin beklendiği gibi aromatik bölgede (7.2 -7.7 ppm) çoklu sinyal (multiplet) olarak gözlenmiştir. Bileşiğin ^{13}C NMR spektrumu incelendiğinde Furan ve Benzen grubuna ait aromatik karbonların 115, 124, 125, 127, 129, 132, 148 ppm de; karbonil grubunun 158 ppm de; Ferrosene ait karbonların sinyallerinin ise 70-75 ppm aralığında dağıldığı tespit edilmiştir. FT-IR spektrumunda ise karbonil grubuna ait bandın 1784 cm^{-1} de olduğu görülmüştür.

V numaralı bileşiğin ^1H NMR spektrumunda mono-süstitüe Ferrosen sinyallerinin 4.1-5.1 ppm aralığında üç tekli (singlet) olduğu olduğu; Furan grubuna bağlı metil grubunun tekli olarak 2.3 ppm de tespit edildiği; furan grubunun hidrojenleri ise 6.2 ve 7.3 ppm de singlet olarak belirlediği görülmüştür. Bileşiğe ait FT-IR spektrumunda karbonil grubunun 1687 cm^{-1} de olduğu görülmüştür.

3.2. Biyolojik Aktivite Sonuçları

3.2.1. Toksikite Sonuçları

Yapılan toksisite çalışmasına göre, Ferrosen açilleme bileşiklerinin düşük konsantrasyonda düşük toksik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Toksikite sonuçları Şekil 3.2.'de verilmiştir. Şekil 3.2.'deki verilere göre bileşiklerden bileşik I, $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ konsantrasyona hücrelerin $\%50\pm 3$, bileşik 2, $50\text{ }\mu\text{g/mL}$ konsantrasyona hücrelerin $\%46\pm 3$ öldürdüğü gözlenmiştir. Bileşik III, bileşik IV ve bileşik V ise diğerlerine oranla daha düşük toksisiteye sahip olduğu gözlenmiştir. Bileşik konsantrasyonunun artırılması toksisitenin artmasına neden olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda bileşik I'in $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda HeLa hücrelerinin $\%66\pm 3$ oranında öldürerek en fazla toksik etkiye sahip olan bileşik olarak tesbit edilmiştir. Bileşik IV ise en yüksek konsantrasyonda bile toksisitesi tolere edilebilecek toksisiteye sahiptir.



Şekil 3.2. Ferrosen açılme bileşiklerinin HeLa hücrelerine toksik etkisi

3.2.2. Apoptotik ve Nekrotik Etkisi

Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; bileşiklerin farklı konsantrasyonların hepsinin apoptotik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Apoptotik indeks sonuçları Çizelge 1.4. ve apoptotik hücrelerin floresan mikroskop fotoğrafları Şekil 3.2.'te verilmiştir. Tabloya bakıldığında bileşiklerin apoptotik etkilerinin birbirine yakın ve yüksek apoptotik etkiye neden olduğu görülmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda bileşik II'nin apoptotik etkisi yüksek, düşük konsantrasyonda ise apoptotik etkinin azaldığı tesbit edilmiştir. Diğer bileşiklerde ise 100 µg/mL konsantrasyondaki apoptotik etki, 50 µg/mL konsantrasyondaki apoptotik etkiden daha düşük elde edilmiştir. Buna sebep olarak bileşiklerin yüksek konsantrasyondaki nekrotik etkisinin veya toksik etkisinin daha fazla olması gösterilebilir. Özellikle 50 µg/mL konsantrasyonda en yüksek oranda bileşik III, HeLa hücrelerinin % 63±3, 100 µg/mL konsantrasyonda bileşik II ise %52±3 apoptozuna neden olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda (Şekil 3.3.a) hücre çekirdek morfolojisinde değişiklik yok iken, hücre çekirdekleri homojen ve mat renkte görülür iken Ferrosen açılme bileşikleri ile etkileştirilmiş (Çizelge 1.4.) apoptoza girmiş hücrelerin çekirdekleri parlak mavi ve parçalanmış (okların ucundaki) görünmektedirler.

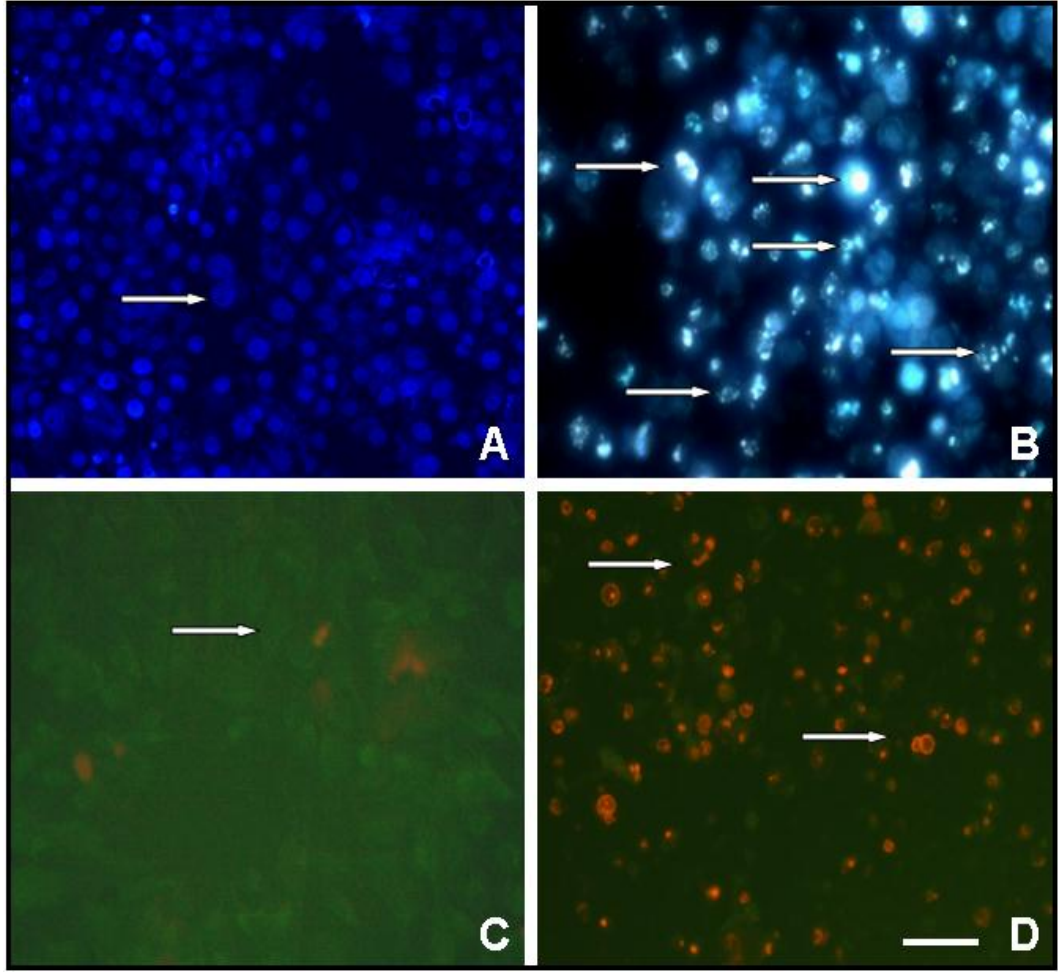
Çizelge 1.4. Ferrosen açilleme bileşiklerinin farklı konsantrasyonda HeLa kanser hücrelerine karşı % apoptotik etkisi

Bileşik miktarı($\mu\text{g/mL}$)	Bileşik I	Bileşik II	Bileşik III	Bileşik IV	Bileşik V
0	3 \pm 1	2 \pm 1	1 \pm 1	2 \pm 1	1 \pm 1
12.5	26 \pm 1	22 \pm 1	32 \pm 2	16 \pm 1	8 \pm 1
25	44 \pm 3	36 \pm 2	51 \pm 3	28 \pm 2	17 \pm 1
50	48 \pm 3	44 \pm 3	63 \pm 4	37 \pm 2	24 \pm 2
100	36 \pm 2	50 \pm 3	42 \pm 2	26 \pm 2	32 \pm 2

Nekrotik indeks sonuçlarına bakıldığında ise elde edilen toksisite sonuçları ile yakın sonuçlar elde edilmiştir. Nekrotik sonuçlar Çizelge 1.5.'de, nekrotik hücrelerin fotoğrafları ise şekil 3.3'de verilmiştir. Çizelgeye bakıldığında en yüksek I numaralı bileşiğinin 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonunda %52 \pm 3 oranında nekroz görülürken, düşük konsantrasyonlarda bu etkinin giderek azaldığı gözlenmiştir. Diğer bileşiklerin nekrotik indeksleri nispeten daha düşük elde edilmiştir. Şekil 3.3. c de (kontrol grubu) nekroza uğramış hücreler görünmez iken, şekil 3.3. d'de propodium iyodid ile nekroza uğramış (ok ucu) hücrelerin çekirdekleri kırmızı renkte görünmektedir.

Çizelge 1.5. Ferrosen açilleme bileşiklerinin farklı konsantrasyonda HeLa kanser hücrelerine karşı % nekrotik etkisi

Bileşik miktarı ($\mu\text{g/mL}$)	Bileşik I	Bileşik II	Bileşik III	Bileşik IV	Bileşik V
0	2 \pm 1	1 \pm 1	2 \pm 1	2 \pm 1	2 \pm 1
12.5	12 \pm 1	9 \pm 1	5 \pm 2	4 \pm 1	7 \pm 1
25	25 \pm 1	17 \pm 1	13 \pm 1	13 \pm 1	14 \pm 1
50	39 \pm 2	27 \pm 2	25 \pm 2	21 \pm 2	29 \pm 2
100	52 \pm 4	46 \pm 3	42 \pm 3	32 \pm 2	45 \pm 3



Şekil 3.3. HeLa hücrelerinin floresan mikroskop fotoğrafları

Şekil 3.3. HeLa hücrelerinin floresan mikroskop fotoğrafları. A) Ferrosen açılme bileşikleri ile etkileştirilmemiş HeLa hücrelerinin (kontrol grubu) floresan mikroskobu fotoğrafı, B) 100 µg/mL Bileşik III 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 III 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 tezde ferrosen açilleme reaksiyonlarında ilk defa katalizör olarak etilalüminyum klorür kullanılarak ferrosenoil furan türevleri sentezlenmiştir.
- İzole verimlerin orta düzeyde olduğu görülmüştür.
- Sentezlenen furan ve ferrosen türevi bileşiklerin biyolojik aktiviteleri incelenmiş, bazılarının kanser hücrelerine karşı sitotoksik, apoptotik ve nekrotik etkiye sahip olduğu in vitro testler ile belirlenmiştir.
- Ayrıca sentezlenen türevlerin indirgenme reaksiyonları yapılmıştır. NaBH_4 ile yapılan indirgemeler gerçekleşmezken LiAlH_4 ile yapılan indirgemeler gerçekleşmiştir fakat safsızlıklar nedeniyle bu çalışmaya dahil edilmemiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Kealy, T.J., Pauson, P.L., A New Type of Organo-Iron Compound. 1039–1040. Nature, London, 1951.
- [2] Shriver, D.F., Atkins, P.W., Langford, C.H., Inorganic Chemistry, Oxford Univ., America, 1994.
- [3] Crabtree, R.H., The Organometallic Chemistry of the Transition Metals. 151-152. John Wiley and Sons Inc., Canada, 2005.
- [4] Tunalı, N.K., Özkar, S., Anorganik Kimya. Gazi Kitabevi, Ankara, 2005.
- [5] Coates, G.E., Organo-Metallic Compounds. John Wiley & Sons Inc., New York, 1956.
- [6] Elschenbroich C.H., Salzer, A., Organometallics. 322. A Concise Introduction, VCH Publishers Inc., New York, 1992.
- [7] Pauson, P.L., Ferrocene-How it All Began. *J. Organomet. Chem.* 3-6, 637-639, 2001.
- [8] Bohn, R.K., Haaland, A., On the Molecular Structure of Ferrocene, $\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_5)_2$. *J. Organomet. Chem.* 5, 470-476, 1966.
- [9] Haaland, A., Nilsson, J.E., The Determination of Barriers to Internal Rotation by Means of Electron Diffraction Ferrocene and Ruthenocene. *Acta Chem. Scan.* 22, 2653, 1968.
- [10] Wilkinson, G., Rosenblum, M., Whiting, M.C., Woodward, R.B., The Structure of Iron bis-cyclopentadienyl. *J. Am. Chem. Soc.* 74, 2125-2126, 1952.
- [11] Fischer, Von, E.O., Pfab, W., Cyclopentadien-Metallkomplexe, ein neuer typ metallorganischer. Verbindungen. *Z. Naturforsch.* 7, 377, 1952.
- [12] Wilkenson, G., Rosenblum, M., Whiting, M.C., Woodward, R.B., The Structure of Iron Bis-Cyclopentadienyl. *J. Am. Chem. Soc.* 74, 2123, 1952.
- [13] Rochow, E.G., Hurd, D.T., Lewis, R.N., The Chemistry of Organometallic Compounds. John Wiley & Sons Inc., New York, 1957.

- [14] N. Behera, Synthesis and Characterization of Ferrocene Containing Organometallic Compounds. Yüksek Lisans Tezi. National Institute of Technology, Orissa, 2005.
- [15] Miessler, G.L., Tarr, A.D., İnorganik Kimya. 457. Ed: N. Karacan, P. Gürkan. Palme Yayıncılık, Ankara, 2002.
- [16] Torres, J.C., Pilli, R.A., Vargas, M.D., Violante, F.A., Garden, S.J., Pinto, A.C., Synthesis of 1-ferrocenyl-2-aryl(heteroaryl)acetylenes and 2-ferrocenylindole Derivatives Via the Sonogashira–Heck–Cassar reaction. *Tetrahedron*. 58, 4487, 2002.
- [17] Gmelin Handbook of Inorganic and Organometallic Chemistry, *Fe Organic Compounds*. 8th ed., vol. A10, Springer, Berlin, 1991.
- [18] Miller, J.S., Epstein, A.J., Organic and Organometallic Molecular Magnetic Materials – Design Magnets. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 34, 385, 1994.
- [19] Williams, D.R., Metal, Ligands and Cancer. *Chem. Rev.*, 72, 203-213, 1972.
- [20] Pais, G.C., Zhang, X.C., Marchand, C., Neamati, N., Cowansage, K., Svarovskaia, E.S., Pathak, V.K., Tang, Y., Nicklaus, M., Pommier, Y., and Burke, T.R., Structure Activity of 3-aryl-1,3 diketo-Containing Compounds as HIV-1 Integrase Inhibitors. *J. Med. Chem.* 45, 3184-3194, 2002.
- [21] Togni, A., Hayashi, T., Ferrocenes: Homogeneous Catalysis, Organic Synthesis, Materials Sciences. 105-142. VCH : Weinheim, Germany, 1995.
- [22] Coles, H.J., Meyer, S., Lehmann, P., Deschenaux, R., Juaslin, I., First Ferrocene-Containing Low Molar Mass Organosiloxane Liquid-Crystalline Material. *J. Mater. Chem.* 9, 1085-1090, 1999.
- [23] Beer, P.D., Smith, D.K., Anion Binding and Recognition by Inorganic Based Receptors. *Prog. Inorg. Chem.* 46, 1-96, 1997.
- [24] Du, H.F., Ding, K.L., Meng, J.B., Solid-State Asymmetric Reduction of (*S*)-1, 1'-Bi-2-naphthol-Acetylferrocene Molecular Compound with Sodium Borohydride. *Chin. J. Chem.* 19, 716-718, 2001.

- [25] S. Gemici, Dikarbonil Doymamış Ferrosen Türevleri sentezi. Yüksek Lisans Tezi. Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2005.
- [26] Gérard, J., Siden, T., Anne, V., Leclercq, G., Michael, J.M., The First Organometallic Selective Estrogen Receptor Modulators (SERMs) and Their Relevance to Breast Cancer. *Curr. Med. Chem.* 11, 2505-2517, 2004.
- [27] Kaifer, A.E., Mendoza J.D., Comprehensive Supramolecular Chemistry. vol. 1 701. Oxford, Elsevier, 1996.
- [28] S. Açıklın, Synthesis of Ferrocenyl Quinones and Ferrocenyl Based Burning, Rate Catalysts. Yüksek Lisans Tezi. Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Ankara, 2003.
- [29] Herring, F.G., Harwood, S.W., Petrucci, H.R., Genel Kimya II. 1087. Ed: S. Aksoy, T. Uyar. Palme Yayıncılık, Ankara, 2002.
- [30] F. Arabalı, 4-(Alkilaminoisonitrosoasetil)bifenil Türevleri ve Bunların Metal Komplekslerinin Sentezi ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 2004.
- [31] Silver, S.L., Lowy, A., Friedel-Crafts Type Reactions on Biphenyl. *J. Am. Chem. Soc.* 56, 2429, 1934.
- [32] Sendt, K., Bacskay, G.B., Mackie, J.C., Pyrolysis of Furan: Ab Initio Quantum Chemical and Kinetic Modeling Studies. *J. Phys. Chem. A.* 104, 1861, 2000.
- [33] Sebbar, N., Bozzelli J.W., Bockhorn, H., Enthalpy of Formation and Bond Energies on Unsaturated Oxygenated Hydrocarbons Using G3MP2B3 Calculation Methods. *Int. J. Chem. Kinet.* 37, 633-648, 2005.
- [34] Tüzün, C., Organik Kimya. 522-529. Ankara Üniversitesi, Ankara, 2006.
- [35] İkizler, A., Heterohalkalı Bileşikler. 1-7, 159-177. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, 1996.
- [36] Anisimov, B.N., Obynochnyı, A.A., Prostakov N.S., Catalytic Method of Synthesis of 2,4-Diphenylfuran. 112-124. P. Lumumba University, Moskov, Russia, 1991.

- [37] Amal, H., *Organik Farmasötik Kimya*. 77-83. İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 1951.
- [38] Olah, G.A., Kishnamurti, R., Prakash, G.K.S., Trost, B. M., Fleming, I., In *Comprehensive Organic Synthesis*. 293-339. Eds.; Pergamon Press: Oxford, Vol 3, 1991.
- [39] Hart, H., Craine, L.E., Hart, J.D., Hadad, C.M., *Organik Kimya*. 213. Ed: T. Uyar ve R. İnom. Palme Yayıncılık, Ankara, 2011.
- [40] Choudary, B.M., Rao, B.P., Chowdari, N.S., Kantam, M.L., Fe³⁺-Montmorillonite: A Bifunctional Catalyst for one Pot Friedel–Crafts Alkylation of Arenes with Alcohols. *Catal. Commun.* 3, 363, 2002.
- [41] Choudhary, V.R., Mantri, K., Thermal Activation of a Clayzic Catalyst Useful for Friedel–Crafts Reactions: HCl Evolved with Creation of Active Sites in Different Thermal Treatments to ZnCl₂/Mont-K10. *Catal. Lett.* 81, 163-168, 2002.
- [42] Corma, A., Garcia, H., Moussaif, A., Sabater, M.J., Zhiber, R.A., Redouane, Chiral Copper(II) Bisoxazoline Covalently Anchored to Silica and Mesoporous MCM-41 as a Heterogeneous Catalyst for the Enantioselective Friedel–Crafts Hydroxyalkylation. *Chem. Commun.* 1058, 2002.
- [43] Choudhary, V.R., Jana, S.K., Narkhede, V.S., Friedel–Crafts Type Alkylation of Benzene and Other Aromatic Compounds Using MgGa₂O₄ (spinel)–MgO Based Catalysts. *Catal. Commun.* 2, 331, 2001.
- [44] Bidart, A.M.F., Borges, A.P.S., Nogueira, L., Lachter, E.R., Mota, C.J.A., Iron-Exchanged Zeolite as Effective Catalysts for Friedel-Crafts Alkylation with Alkyl Halides. *Catal Lett.* 75, 155-157, 2001.
- [45] Hamdan, H., Kim, A.B., Muhid, M.N.M., 25-P-12-Catalytic Activity of Secondary Aluminated Mesoporous Molecular Sieve ALMCM-41 in the Friedel-Crafts Reaction of Bulky Aromatic Compounds. *Stud. Surf. Sci. Catal.* 135, 282, 2001.
- [46] Nagai, M.T., Yoda, Omi, S., Kodomari, M., Iron-Containing Graphite as a Friedel-Crafts Alkylation Catalyst. *J. Catal.* 201, 105-112, 2001.

- [47] Okumura, K., Nishigaki, K., Niwa, M., Prominent Catalytic Activity of Ga-containing MCM-41 in the Friedel–Crafts Alkylation. *Microporous Mesoporous Mater.* 44–45, 509-516, 2001.
- [48] Olah, G.A., *Friedel-Crafts Chemistry*. John Wiley & Sons Inc., New York, 1973.
- [49] Franck, H.G., Stadelhofer, J.W., *Industrial Aromatic Chemistry*. Springer-Verlag, Berlin, 1988.
- [50] Vollhardt, P., Schore, N., *Organik Kimya Yapı ve İşlev*. 714-717. Ed: T. Uyar ve F. S. Düz. Palme Yayıncılık, Ankara, 2011.
- [51] Kupchik, E.J., Kiesel, R.J., Reactions of Triphenyltin Hydride with Certain Acid Chlorides and Carboxylic Acids. *J. Organomet. Chem.* 31 (2): 456-461. 1966.
- [52] Woodward, R.B., Rosenblum, M., Whiting, M.C., a New Aromatic System. *J. Am. Chem. Soc.*, 74 (13): 3458-3459, 1952.
- [53] Crawford, W., Turbitt, T.D., Watts, W.E., Bridged Ferrocenes : XIII. Friedel—Crafts Reactions of Ferrocene and Alkylferrocenes with α,β - Unsaturated Acid Chlorides. *J. Organomet. Chem.* 105, 3, 341, 1976.
- [54] Fieser, L.F., Williamson, K.L., *Organic Experiments*. 363-364. D. C. Heath and Company, Lexington, 1992.
- [55] Davis, W.L., Shago, R.F., Langner, E.H.G., Swarts, J.C., Synthesis and Electrochemical Properties of a Series of Ferrocene-Containing Alcohols. *Polyhedron*. 24, 1611–1616, 2005.
- [56] Bakker, J., Gommers, F.J., Nieuwenhuis, I., Wynberg, H., Photoactivation of the Nematocidal Compound Alpha-Terthienyl from Roots of Marigolds (*tagetes* species) Possible Singlet Oxygen Role. *J. Biol. Chem.* 254, 1841-1844, 1979.
- [57] Iyengar, S., Arnason, J.T., Philogene, B.J.R., Murand, P., Werstink, N.H., Timmins, G., Toxicokinetics of the Phototoxic Allelochemical Alpha-terthienyl in 3 Herbivorous Lepidoptera. *Pestic. Biochem. Phys.* 29, 1-9, 1987.

- [58] Chan, G.F.Q., Towers, G.H.N., Mitchell, J.C., Ultravioletmediated Antibiotic Activity of Thiophene Compounds of Tagetes. *Phytochemistry*. 14, 2295-2296, 1975.
- [59] Hudson, J.B., Graham, E.A., Miki, N., Towers, G.H.N., Hudson, L.L., Rossi, R., Carpita, A., Neri, D., Photoactive Antiviral and Cytotoxic Activities of Synthetic Thiophenes and Their Acetylenic Derivatives. *Chemosphere* 19, 1329-1343, 1989.
- [60] B. Atasoy, S. Karaböcek, 3,4-Disubstitüe Furanların Yeni Bir Yöntemle sentezi. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi, Ankara, 1993.
- [61] Neuse, E.W., Meirim, M.G., Blom, N.F., Metallocene-Containing Platinum Complexes as Potential Antitumor Agents. 1. Dichloro(1,6-diferrocenyl-2,5-diazahexane)platinum(II) and cis-dichlorobis(1-ferrocenylethylamine)platinum(II). *J. Organomet.chem.* 7 , 2562, 1988.
- [62] Yeary, R.A., Chronic Toxicity of Dicyclopentadienyl Iron (ferrocene) in Dogs. *Toxicol Appl. Pharmacol.* 15, 666–676, 1969.
- [63] Leung, H.W., Hallesy, D.W., Shott L.D., Murray, F.J., Paustenbach, D.J., Toxicological Evaluation of Substituted Dicyclopentadienyliron (ferrocene) Compounds. *Toxicol. Lett.* 38, 103–108, 1987.
- [64] Nikula, K.J., Sun, J.D., Barr, E.B., Bechtold W.E., Haley, P.J., Benson, J.M., Eidson, A.F., Burt, D.G., Dahl, A.R., Henderson, R.F., Chang, I.Y., Mauderly, J.L., Dieter, M.P., Hobbs, C.H., Thirteen-Week Repeated Inhalation Exposure of F344/N rats and B6C3F1 Mice to Ferrocene. *Fund. Appl. Toxicol.* 21, 127–139, 1993.
- [65] 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.
- [66] 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.
- [67] Edwards, E.I., Epton, R., Marr, G., The Synthesis and Reactions of Homonuclear Ferrocene Acid Anhydrides and Their Use in the Preparation of Ferrocenylpenicillins and Cephalosporins. *J. Organomet. Chem.* 168, 259–272, 1979.

- [68] Koepf-Maier, P., Koepf, H., Non-Platinum Group Metal Antitumor Agents. History, Current Status and Perspectives. *Chem. Rev.* 87, 1137, 1987.
- [69] Top, S., Vessières, A., Leclercq, G., Quivy, J., Tang, J., Vaissermann, J., Huché M., and Jaouen, G., Synthesis, Biochemical Properties and Molecular Modelling Studies of Organometallic Specific Estrogen Receptor Modulators (SERMs), the Ferrocifens and Hydroxyferrocifens: Evidence for an Antiproliferative Effect of Hydroxyferrocifens on both Hormone-Dependent and Hormone-Independent Breast Cancer Cell Lines. *Chem. Eur. J.* 9 (21): 5223–36, 2003.
- [70] Neuse, E.W., *Macromolecular*. 127–138. vol: 172, Wiley, Symposia, 2001.
- [71] Jordan, V.C., Fourteenth Gaddum Memorial Lecture. A current View of Tamoxifen or the Treatment and Prevention of Breast Cancer. *Br. J. Pharmacol.* 110 (2): 507–17, 1993.
- [72] Gielen, M., Tiekink, R.T.E., *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents the Use of Metals in Medicine*. 183-184. Wiley, England, 2005.
- [73] B. Barutca, Bazı Bitki Ekstrelerinden Memeli Hücre Kültürlerinde Sitotoksik Aktivitilerinin In Vitro Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 2006.
- [74] 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.
- [75] 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. *Toxicol Lett.* 160, 171-177, 2006.
- [76] Araki, K., Suda, H., Barbosa, S.V., Spangberg LSW Reduced Cytotoxicity at a Root Canal Sealer Through Eugenol Substitution. *J. Endodon.* 19, 554–557, 1993.
- [77] M. Kuşdemir, Farklı Dentin Bağlayıcı Ajanların Dentin Bariyer Testi Kullanılarak L 929 Hücreleri Üzerine Sitotoksik etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi, Konya, 2007.

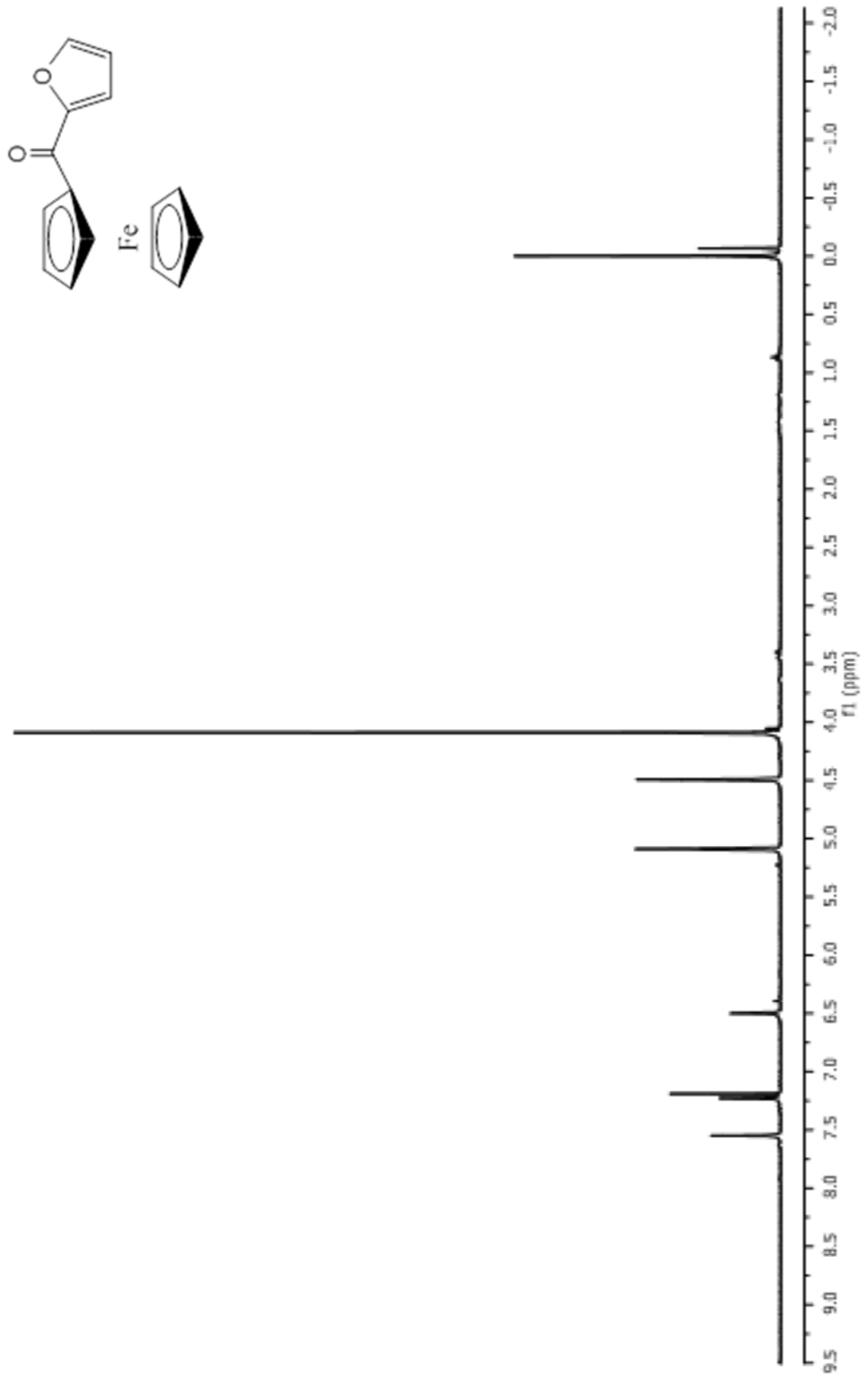
- [78] Hanks, C.T., Wataha, J.C., Sun, Z., In Vitro Models of Biocompatibility A review. *Dent. Mater.* 12, 186–193, 1996.
- [79] Butler, M., Animal Cell Culture and Technology. 2nd Ed., BIOS Scientific Publishers, New York, 2004.
- [80] Marshall, N.J., Goodwin, C.J., Holt, S.J., A Critical Assessment of the Use of Microculture Tetrazolium Assays to Measure Cell Growth and Function. Review *Growth Regulation.* 5, 69–84, 1995.
- [81] N. İlbars, Yeni Nesil Metal Desteksiz Seramikler ve Yapıştırılmasında Kullanılan Rezin Simanların Biyouyumluluğunun Değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Ankara, 2007.
- [82] Kerr, J.F., Wyllie, A.H., Currie, A.R., Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*; 26 (4): 239-57, 1972.
- [83] Searle, J., Kerr, J.F., Bishop, C.J., Necrosis and apoptosis distinct modes death with fundamentally different significance. *Pathol Annu.* 17, 229-259, 1982.
- [84] Raff, M.C., Social Controls on Cell Survival and Cell Death. *Nature.* 356-397, 400, 1992.
- [85] Golstein, P., Ojcius, D.M., Young, J.D.E., Cell Death Mechanisms and Immuno System. *Immunol Rev.*, 121, 29-65, 1991.
- [86] Cohen, J.J., Programmed Cell Death and Apoptosis in Lymphocyte Development and Function. *American college of physicians.* 103: 99-101, 1993.
- [87] Squier, M.K., Miller, A.C., Malkinson, A.M., Cohen, J.J., Calpain Activation in Apoptosis. *J. Cell physiol.*, 159 (2): 229-237, 1994.
- [88] Thompson, E.B., Apoptosis and Steroid Hormones. *Mol Endocrinol.* 8, 665-73, 1994.
- [89] 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.

- [90] Carson, D.A., Ribeiro, J.M., Apoptosis and Disease. *Lancet*. 341, 1251-1254, 1993.
- [91] Ortuğ, C., Özbek, E., Ultrastructure Changes of Rat Olfactory Mucosa Following Exposure to Cigarette Smoke. *Ann Anat*. 183, 131, 2001.
- [92] Altunkaynak, B.Z., Özbek, E., Programlanmış Hücre Ölümü: Apoptoz Nedir. *Tıp Araştırmaları Dergisi*. 6 (2): 93 -104, 2008.
- [93] Akşit, H., Bildik, A., Apoptozis. *Yıldız Teknik Üniv., Vet. Fak. Derg.* 19(1): 55-63, 2008.
- [94] 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.
- [95] Ashwood-Smith, M.J., Safety of human sperm selection by flow cytometry. 757–759. Oxford University, 1994.
- [96] Parrilla, I., Vázquez, J., Hoechst, M., 33342 Stain and u.v. Laser Exposure Do Not Induce Genotoxic Effects in Flow-Sorted Boar Spermatozoa. *Reproduction*. 128 (5): 615–621, 2004
- [97] Yılmaz, İ., 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.
- [98] 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.
- [99] 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. *J. Pharm. Sci.*, 44, 3, 310-320, 2011.

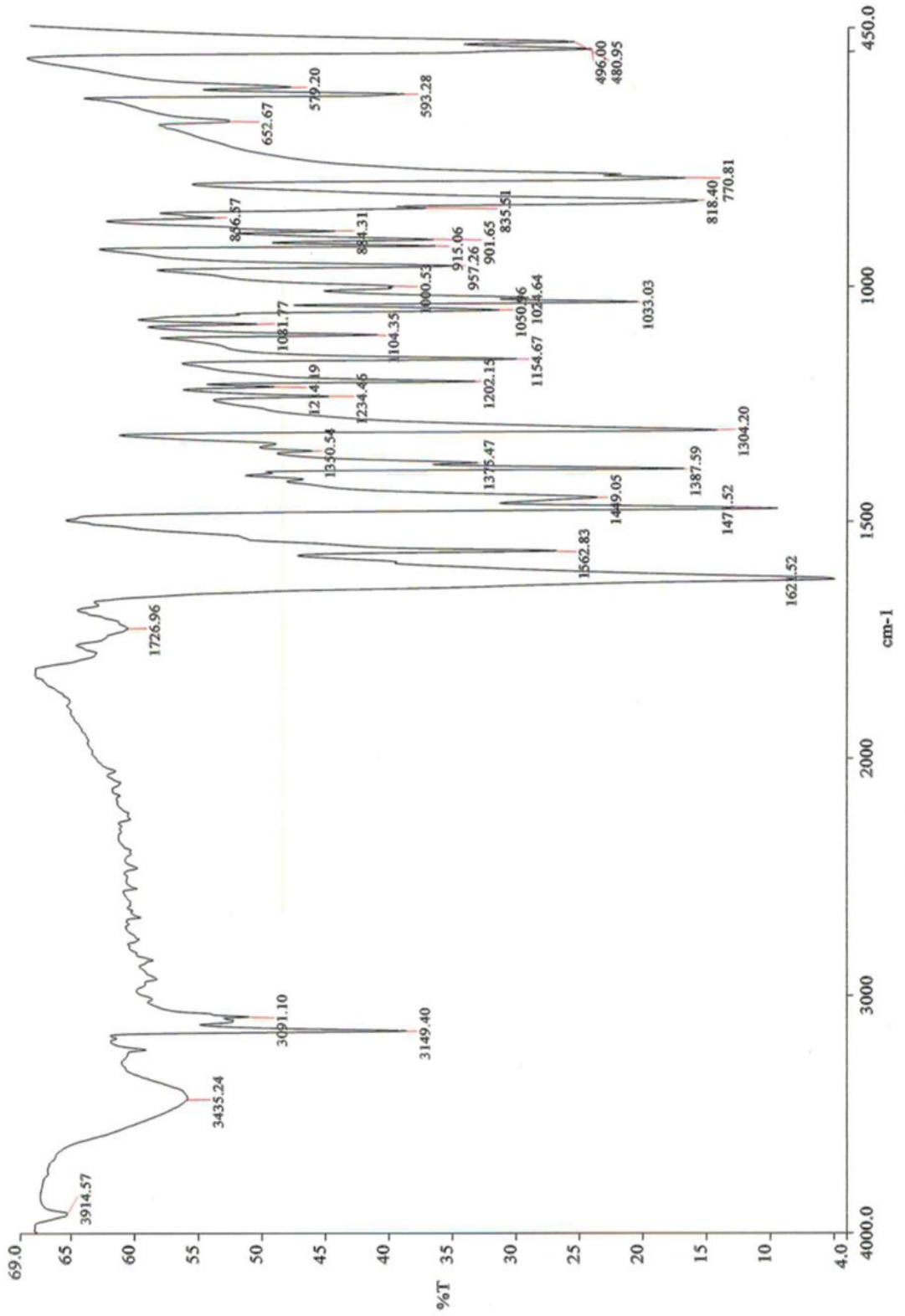
[100] Türk, M., Kaya, B., Menemen, Y., Oğuztüzün, S., Apoptotic and necrotic effects of plant extracts belonging to the genus *Alchemilla* L. species on HeLa cells in vitro. *Journal of Medicinal plants research*. 5 (18): 4566-4571, 2011.

EKLER

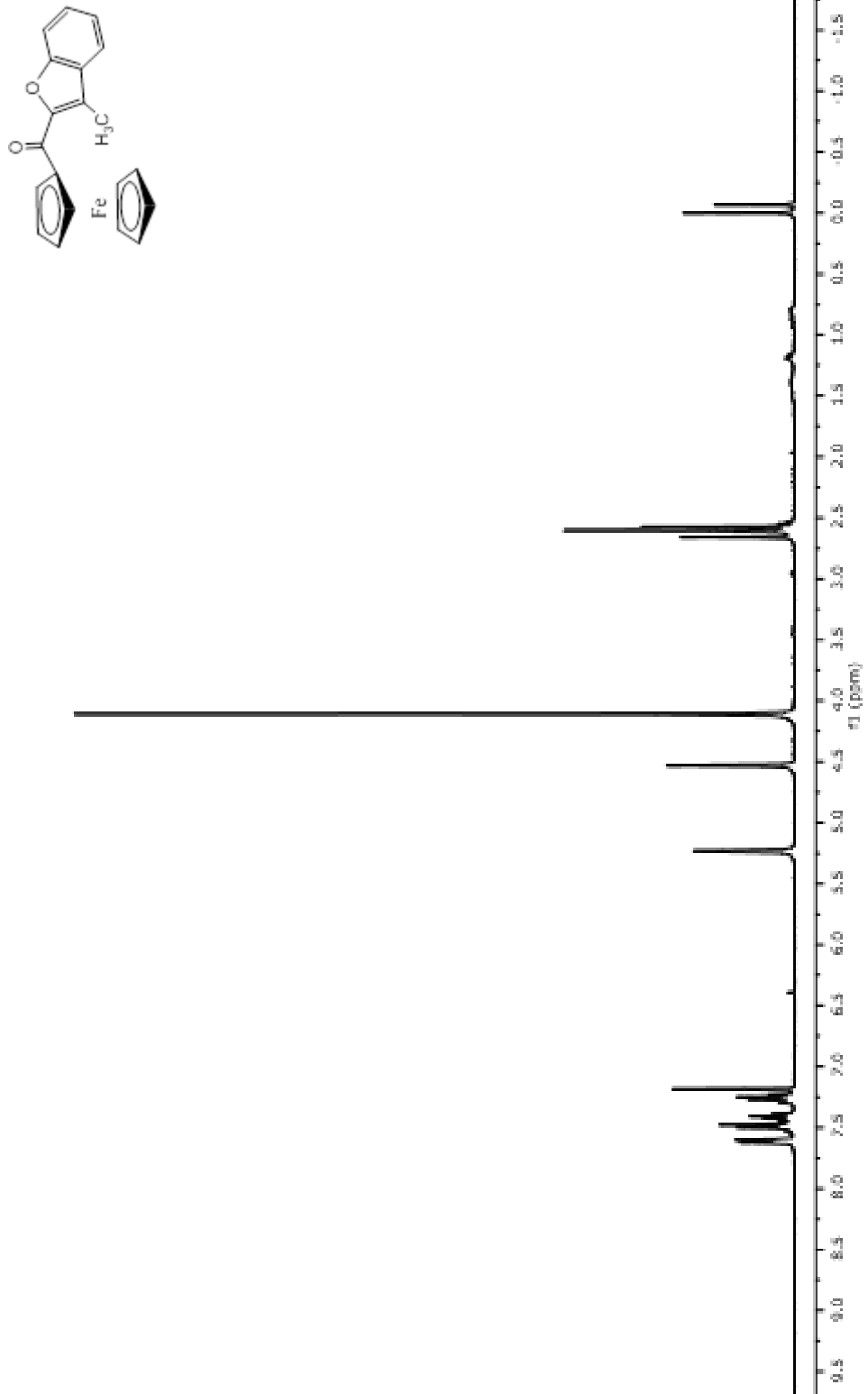
EK 1. I NUMARALI BİLEŞİĞİN ^1H NMR SPEKTRUMU



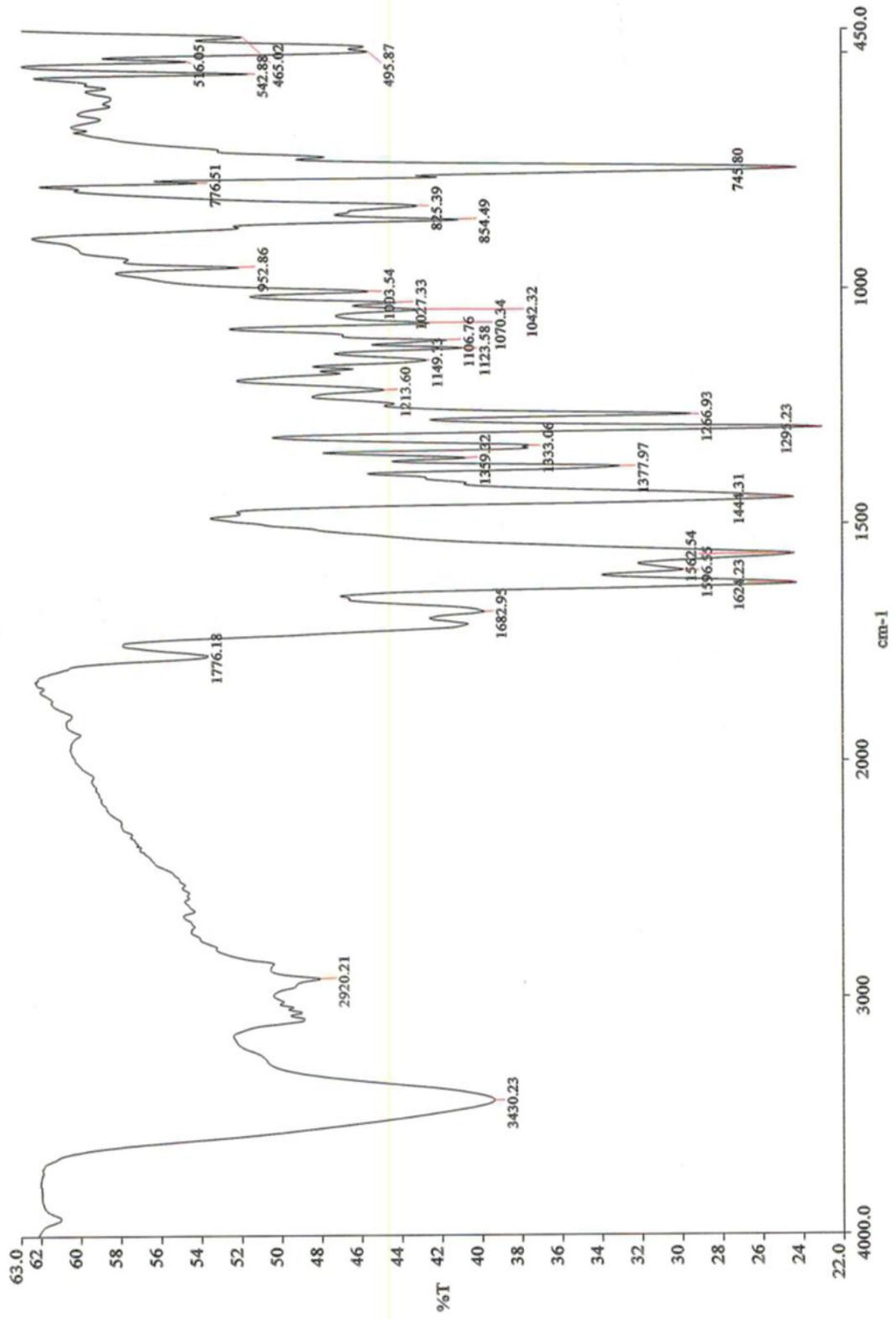
EK 2. I NUMARALI BİLEŞİĞİN FT-IR SPEKTRUMU



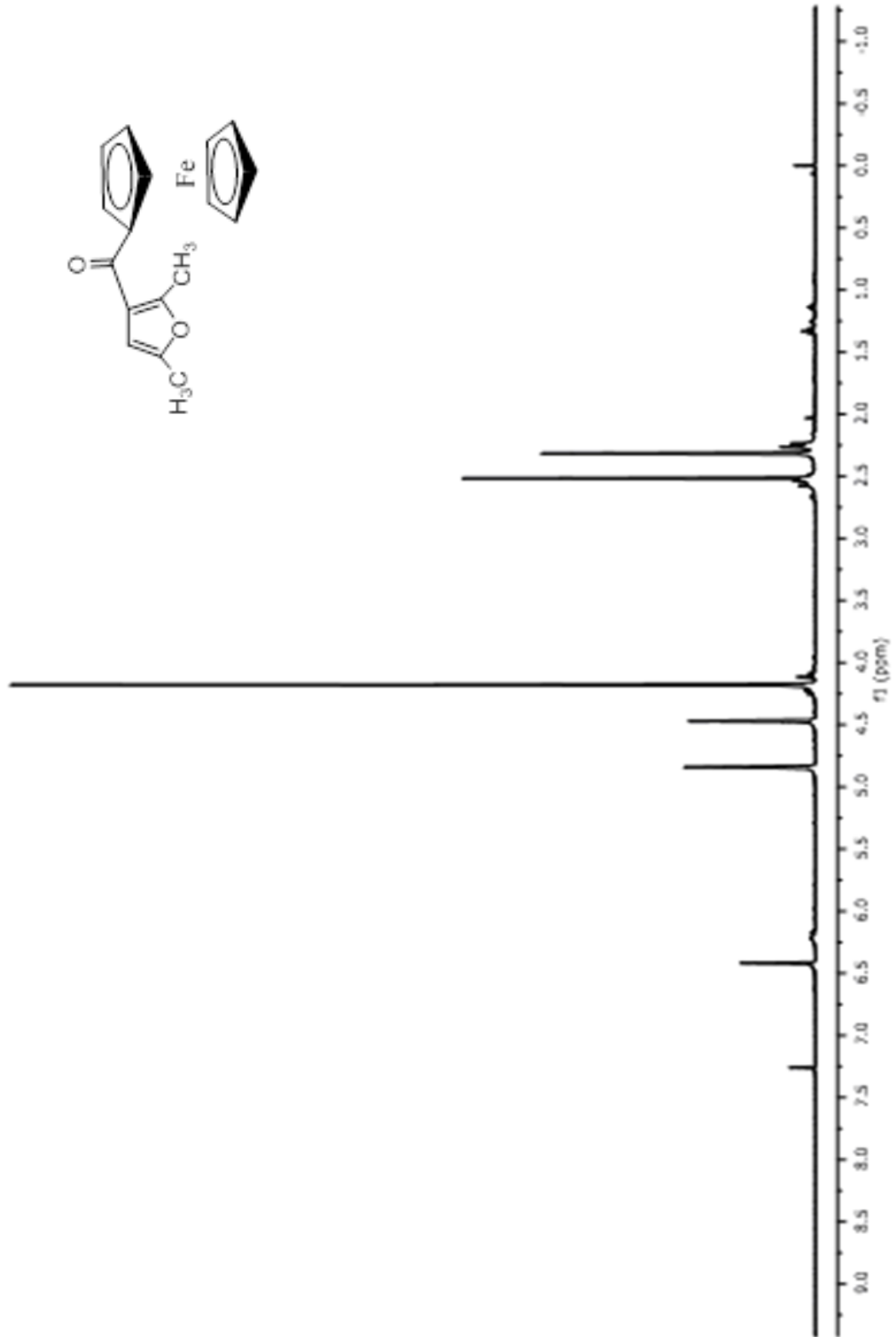
EK 3. II NUMARALI BİLEŞİĞİN ¹H NMR SPEKTRUMU



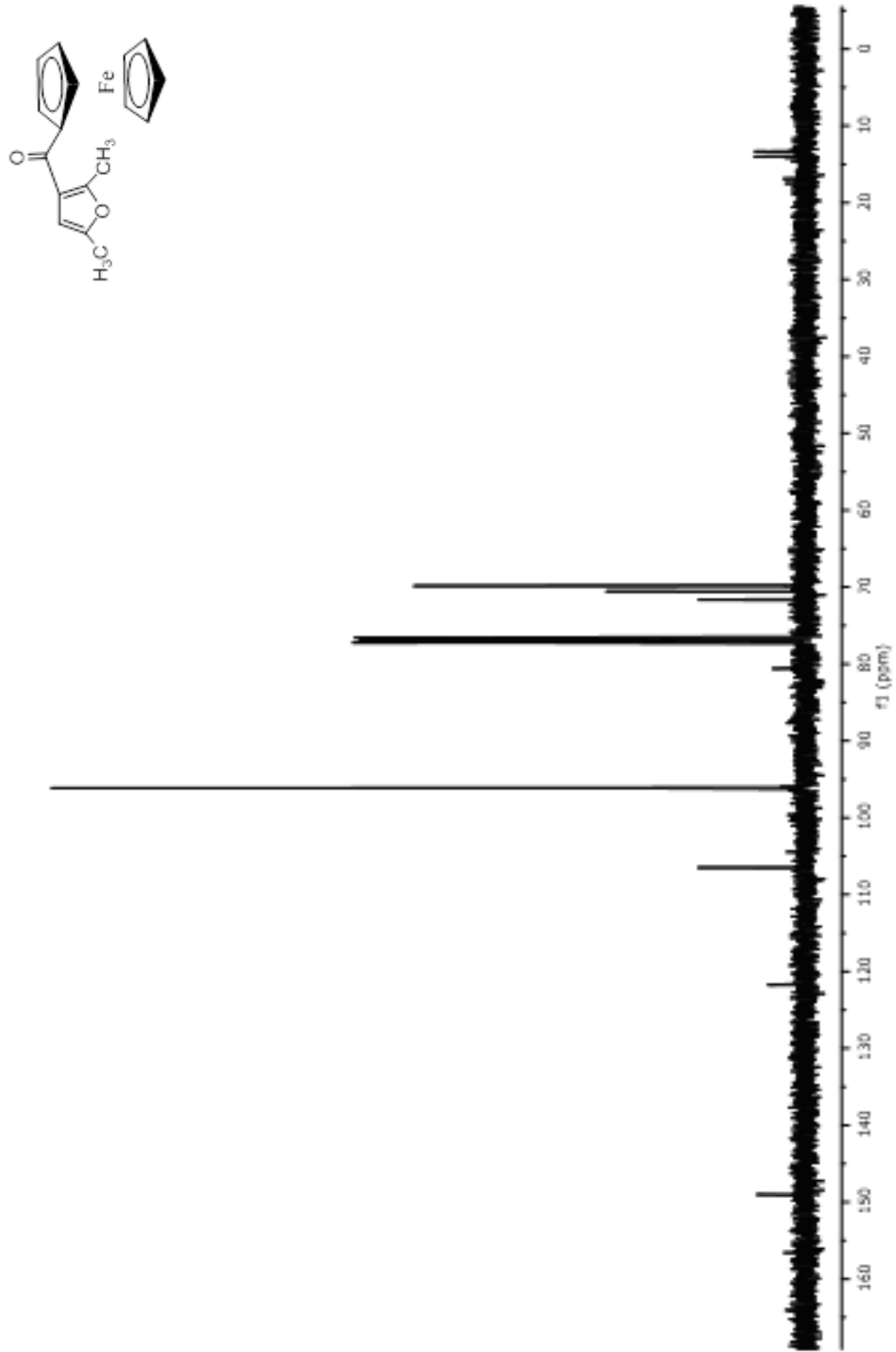
EK 4. II NUMARALI BİLEŞİĞİN FT-IR SPEKTRUMU



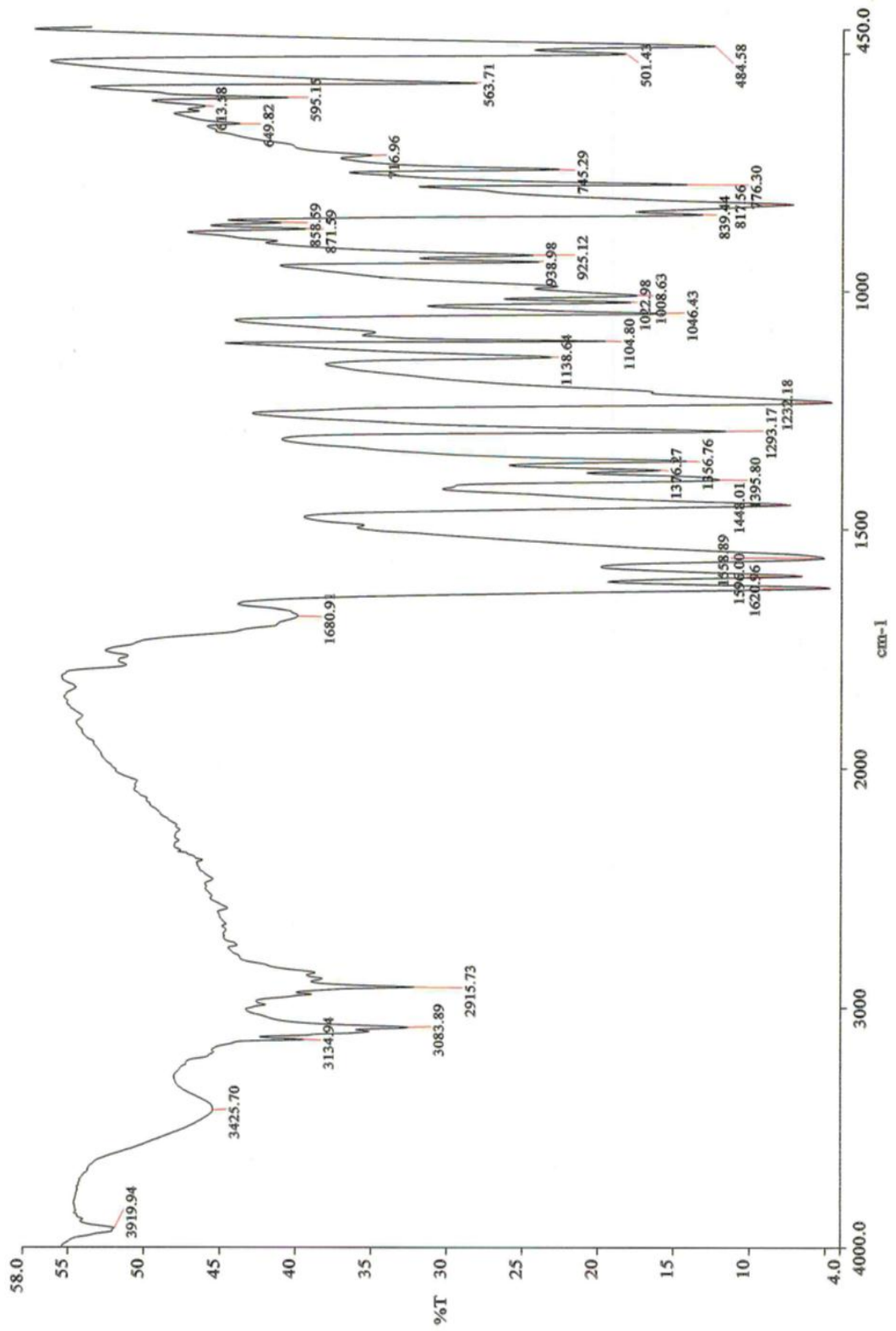
EK 5. III NUMARALI BİLEŞİĞİN ¹H NMR SPEKTRUMU



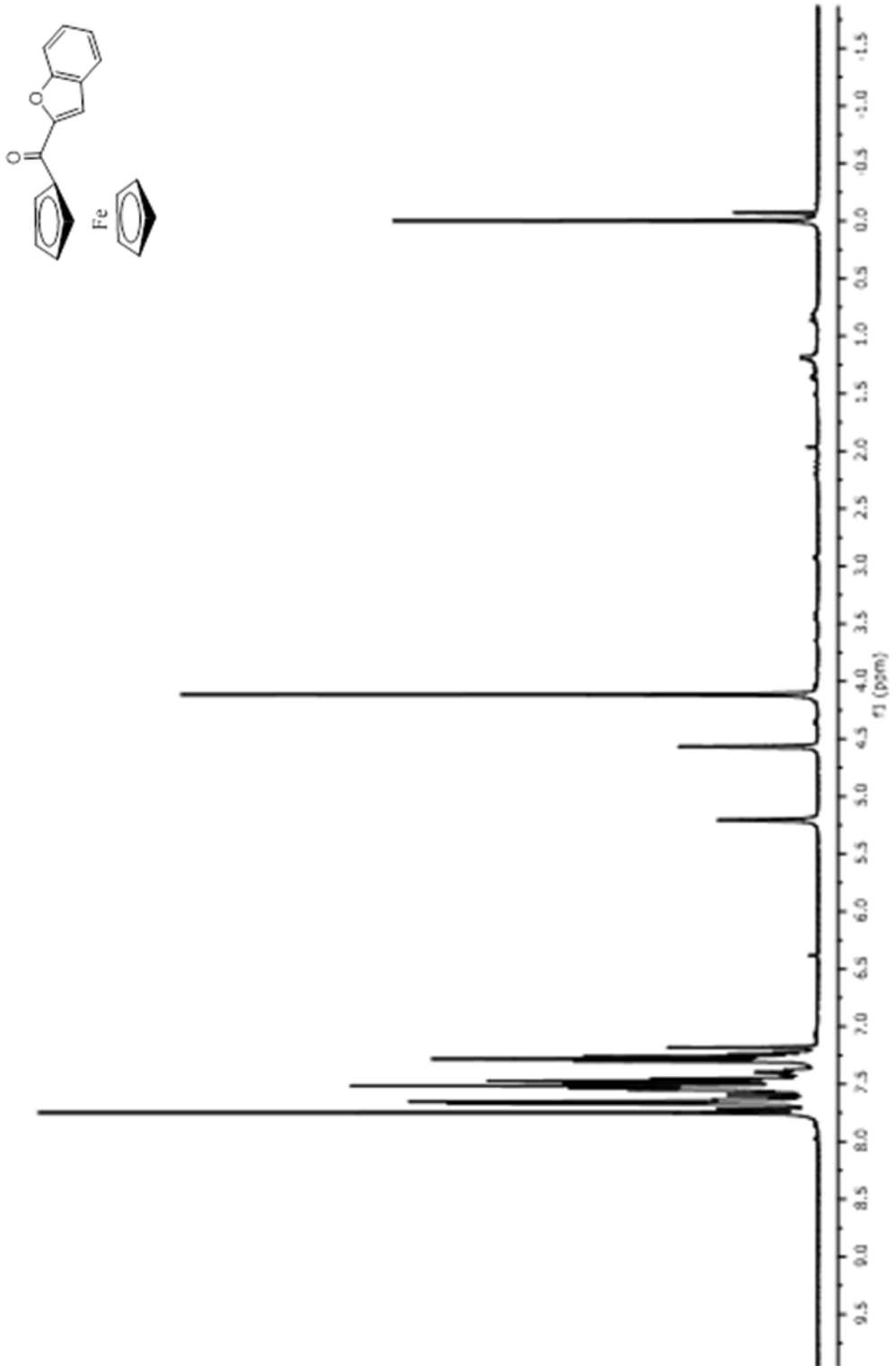
EK 6. III NUMARALI BİLEŞİĞİN ¹³C NMR SPEKTRUMU



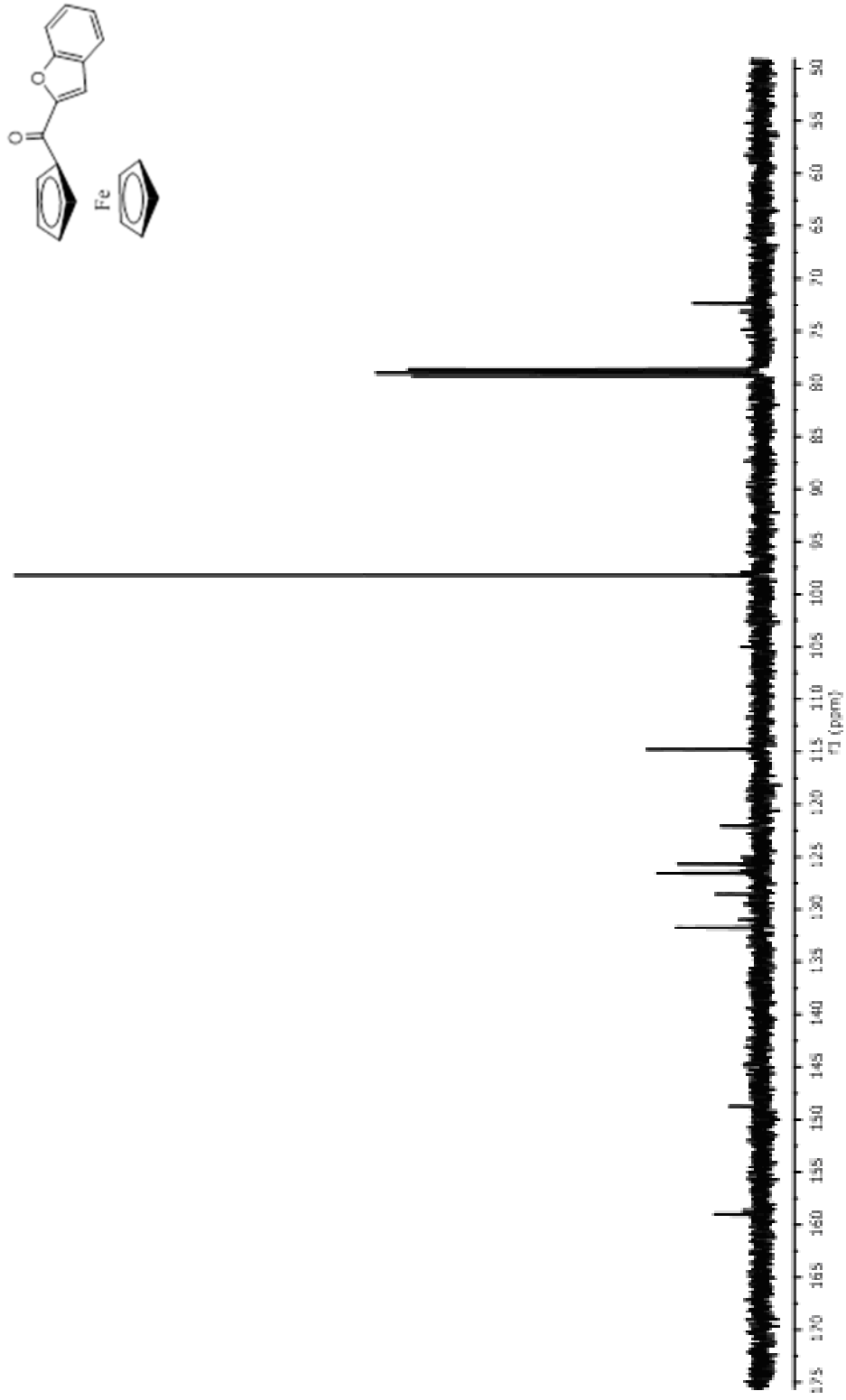
EK 7. III NUMARALI BİLEŞİĞİN FT-IR SPEKTRUMU



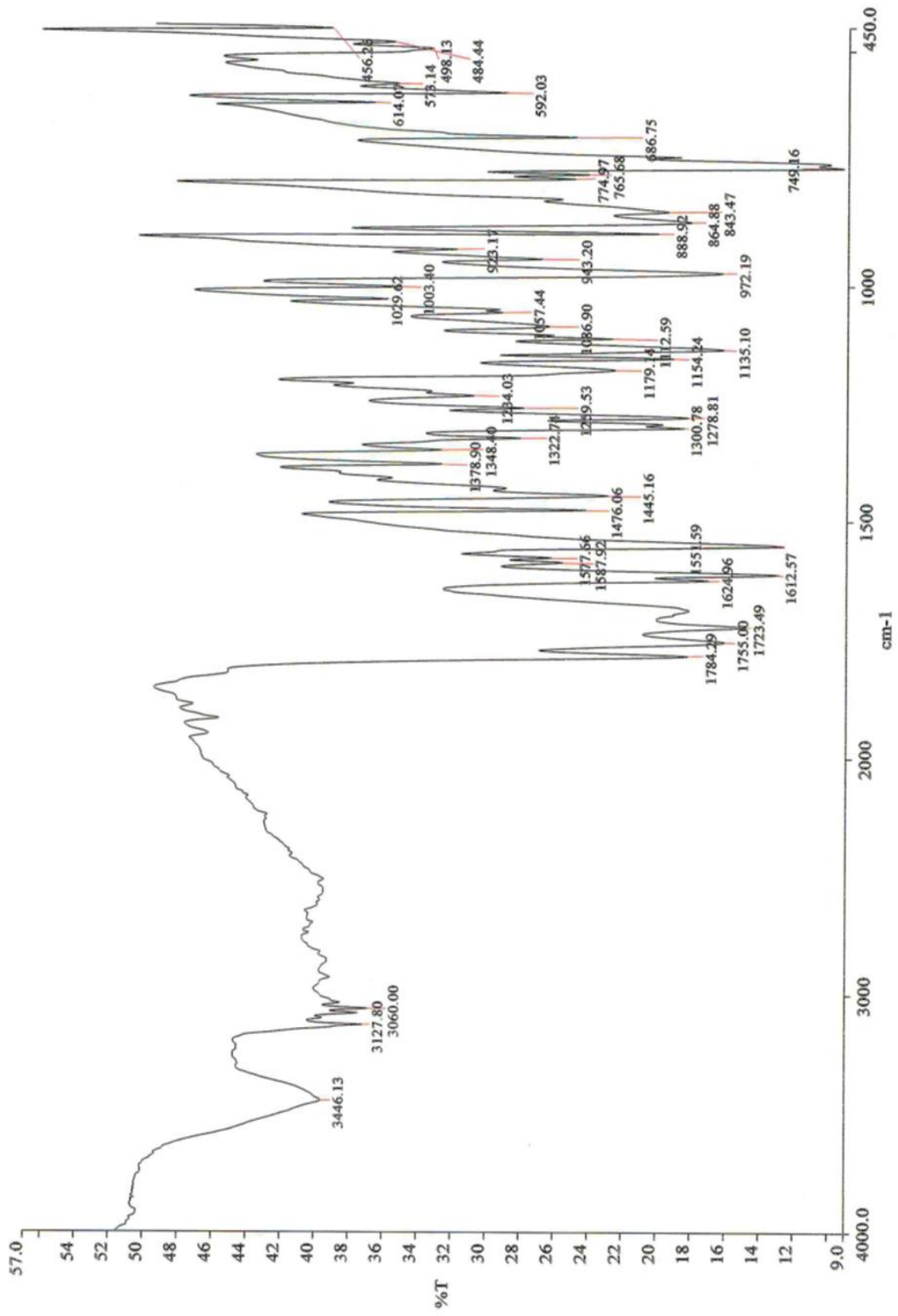
EK 8. IV NUMARALI BİLEŞİĞİN ¹H NMR SPEKTRUMU



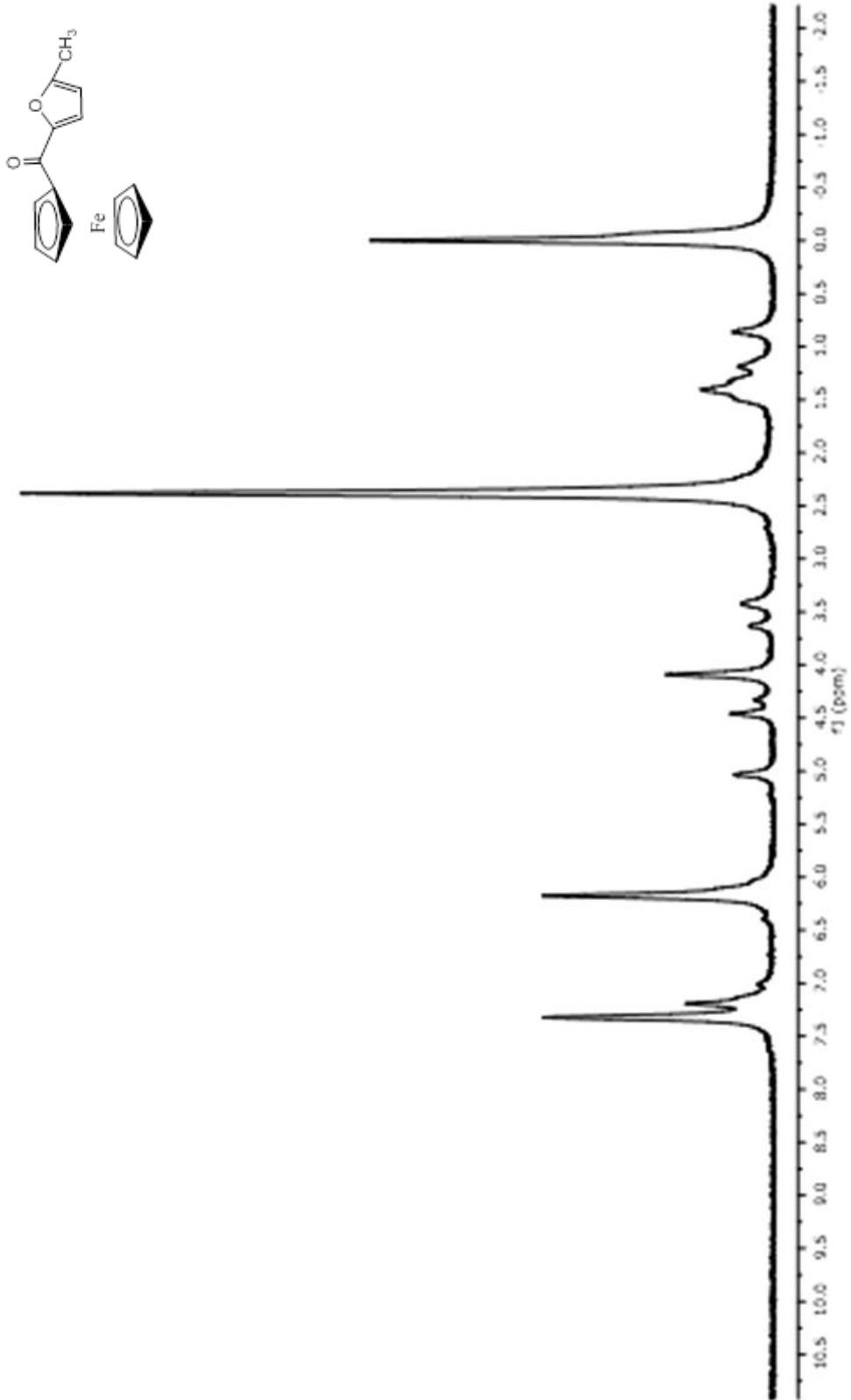
EK 9. IV NUMARALI BİLEŞİĞİN ^{13}C NMR SPEKTRUMU



EK 10. IV NUMARALI BİLEŞİĞİN FT-IR SPEKTRUMU



EK 11. V NUMARALI BİLEŞİĞİN ¹H NMR SPEKTRUMU



EK 12. V NUMARALI BİLEŞİĞİN FT-IR SPEKTRUMU

