T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI HETEROSİKLİK GRUPLAR İÇEREN KALİKSARENLERİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Şeyda Çiğdem ÖZKAN

DOKTORA TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Aralık-2018
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

DOKTORA TEZİ

BAZI HETEROSİKLİK GRUPLAR İÇEREN KALİKSARENLERİN SENTEZİ VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Şeyda Çiğdem ÖZKAN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Aydan YILMAZ

2018, 227 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Aydan YILMAZ
Prof. Dr. İsmail ÖZMEN
Prof. Dr. Mustafa TABAKCI
Prof. Dr. S. Beniz GÜNDÜZ
Doç. Dr. Nalan ÖZDEMİR

Bu tez çalışmasında, heterosiklik gruplar içeren bazı *p-ter*-bütilkaliks[4]aren türevleri sentezlenmiş ve sonrasında sentezlenen bileşiklerin bakteriyel (pBR322 plazmit DNA) ve ökaryotik DNA'ya (CT-DNA) karşı etkileri incelenmiştir. Sentez için gerçekleştirilen ilk şemada, başlangıç bileşiği *p-ter*-bütilkaliks[4]aren (1) sentezlenip sırasıyla dimetoksi (2) ve dialdehit (3) türevine dönüştürüldükten sonra, *o*-fenilendiamin ve onun bazı türevleriyle gerçekleştirilen reaksiyonlar sonucunda *p*-benzimidazol türevli kaliksarenler (4-7) elde edildi. İkinci şemada, *N*-sübstitüe benzimidazol bileşikleri sentezlenerek (8, 9) farklı yapıda *p*-benzimidazol türevli kaliksarenler (10 ve 11) ve 2-aminotiyofenol kullanılarak benzotiyazol gruplu kaliksaren türevi (12) elde edildi. Üçüncü sentez şemasının birinci kısmında, fenolik oksijene bağlı benzimidazol türevli kaliksaren bileşikleri sentezlemek amacıyla, benzimidazol bileşikleri (17-20) bir seri reaksiyonla sentezlendi ve daha sonra bileşik 2 ile reaksiyona sokularak O-benzimidazol türevli kaliksaren bileşikleri (21-24) elde edildi. Bu şemanın ikinci kısmında ise kaliksarenin farklı yapıdaki benzimidazol türevleri (25-27) sentezlendi. Dördüncü ve beşinci sentez şemasında ise, sırasıyla piridin gruplu iki farklı bileşik (31 ve 32) ve kinolin türevli mono yapısındaki kaliksaren bileşiği (34) sentezlendi. Son olarak altıncı sentez şeması içerisinde, Click reaksiyonu vasıtasıyla triazol türevli kaliksaren bileşiği (37) elde edildi. Sentezlenen tüm bileşiklerin yapıları FTIR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, NOESY, HETCOR analizleri, MALDI-TOF kütle spektroskopisi, elementel analiz ve diğer basit teknikler ile (erime noktası vs.) aydınlatıldı.

Sentezlenen bileşiklerin pBR322 plazmit DNA ile agaroz jel elektroforez metodu kullanılarak DNA cleavage etkileri incelendi. Ayrıca, CT-DNA'ya karşı etkileri floresans ve UV-Vis. spektrofotometresi kullanılarak araştırıldı. Floresans spektrometresinde ölçülen floresans şiddetlerinden, etkili olan bazı bileşikler için bağlanma (K_b) ve söndürme (quenching) sabitleri (K_{sv}) sabitleri hesaplandı. Ayrıca, EtBr ile yarışmalı bağlanma deneyleri yapılarak söndürme sabitleri (K_{sv}) hesaplandı.

Anahtar Kelimeler: DNA-etkileşimi, Heterosiklik Grup, Kaliksaren, Plazmit DNA, Sığır Timus DNA.

ABSTRACT

Ph.D THESIS

SYNTHESIS OF THE CALIXARENES CONTAINING OF SOME HETEROCYCLIC GROUPS AND INVESTIGATION OF THE BIOLOGICAL PROPERTIES

Şeyda Çiğdem ÖZKAN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE / DOCTOR OF PHILOSOPHY

Advisor: Prof. Dr. Aydan YILMAZ

2018, 227 Pages

Jury
Prof. Dr. Aydan YILMAZ
Prof. Dr. İsmail ÖZMEN
Prof. Dr. Mustafa TABAKCI
Prof. Dr. S. Beniz GÜNDÜZ
Assoc. Prof. Dr. Nalan ÖZDEMİR

In this thesis, some of the *p-ter*-butylcalix[4]arene derivatives containing heterocyclic groups were synthesized and their effects were investigated against bacterial (pBR322 plasmid DNA) and eukaryotic DNA (calf thymus DNA). In the first scheme performed for synthesis, firstly the starting compound *p-ter*-butylcalix[4]arene (1) synthesized according to the literature after that this compound converted to dimethoxy (2) and dialdehyde (3) derivatives. The obtained dialdehyde derivative of calixarene (3) was reacted with *o*-phenylenediamine and some of its derivatives and *p*-benzimidazole-derivatived calixarenes (4-7) were obtained. In the second scheme, *p*-benzimidazole-derivatived calixarenes (10 and 11) which have different structures and benzothiazole-derived calixarene (12) were synthesized. In the first part of the third synthesis scheme, benzimidazole compounds (17-20) were synthesized by a series reaction and then this compunds reacted with compound 2, finally O-benzimidazole-derived calixarene compounds (21-24) were obtained. In the second part of this scheme, different benzimidazole derivatives (25-27) were also synthesized. In the fourth and fifth synthesis scheme, two different compounds (31 and 32) with pyridine groups and the calixarene compound (34) in the quinoline-derived mono structure were synthesized, respectively. Finally, in the sixth synthesis scheme, triazole derived calixarene compound (37) was obtained by Click reaction. The structures of all synthesized compounds were elucidated by FTIR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, NOESY, HETCOR analysis, MALDI-TOF mass spectroscopy, elemental analysis and other simple techniques (melting point, etc.).

DNA cleavage effects of synthesized compounds were investigated using pBR322 plasmid DNA by agarose gel electrophoresis method. In addition, the effects against CT-DNA were investigated using fluorescence and UV-Vis. spectrometry. Binding constants (K_b) and quenching constants (K_{sv}) were calculated for some compounds which were effective in fluorescence spectrometry. Finally, competitive binding experiments with EtBr were performed and it was determined quenching constants (K_{sv}).

Keywords: Calf Thymus DNA, Calixarene, DNA-interaction, Heterocyclic Group, Plasmid DNA.

ÖNSÖZ

Bu çalışma Fen Fakültesi Kimya bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Aydan YILMAZ'ın danışmanlığında hazırlanarak Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne doktora tezi olarak sunulmuştur. Bu çalışma aynı zamanda S. Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından FBE 17201115 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

Tez konumun seçiminde, hazırlanmasında ve yürütülmesinde bana destek veren, beni yönlendiren ve her konuda yardımlarını hiç eksik etmeyen saygı değer hocam Prof. Dr. Aydan YILMAZ' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarımın yarısını gerçekleştirdiğim Gebze Teknik Üniversitesi Temel Bilimler Fakültesi Kimya bölümüne teşekkürü bir borç bilirim. Özellikle Biyokimya Araştırma laboratuvarlarında çalışan hocalarıma ve arkadaşlarıma göstermiş oldukları yakınlık ve destekleri için çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca bana manevi destek sağlayan arkadaşlarıma çok teşekkür ederim. Özellikle yakın arkadaşlığı ve desteği için biyolog Tülin BURHANOĞLU'na özel bir teşekkür sunmak isterim.

Son olarak, tez çalışmalarım boyunca benden maddi-manevi hiçbir desteğini esirgemeyen, yüreklendiren, pes ettiğimde elimden tutan ve attığım her adımda arkamda olan çok değerli aileme "iyikilerimsiniz" diyerek kucak dolusu sevgilerimi ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Şeyda Çiğdem ÖZKAN
KONYA-2018

"Zorluklar başarının değerini artıran süslerdir…
Moliere"

Sevgili Aileme…

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**

ABSTRACT ..... **ii**

ÖNSÖZ ..... **iii**

İÇİNDEKİLER ..... **v**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **viii**

1. GİRİŞ **1**

1.1. Kaliksarenler 1
1.2. Kaliksarenlerin İsimlendirilmesi 3
1.3. Kaliksarenlerin Yapısal Özellikleri 4
1.4. Kaliksarenlerin Bazı Fiziksel Özellikleri 7
1.5. Kaliks[n]arenlerin Sentezi 9
1.6. Kaliksarenlerin Fonksiyonlandırılması 14
1.6.1. Kaliksarenlerin fenolik -OH üzerinden fonksiyonlandırılması 15
1.6.2. Kaliksarenlerin *p*-pozisyonlarından fonksiyonlandırılması 15
1.7. Kaliksarenlerin Kullanım Alanları 16
1.7.1. Enantiomerlerin ayrılmasında kaliksarenlerin kullanılması 16
1.7.2. Enzim mimik katalizörleri olarak kaliksarenlerin kullanımı 19
1.7.3. Molekül / iyon taşıyıcı olarak kaliksarenlerin kullanımı 23
1.7.4. Sensör (iyon selektif elektrot, ISE), membran/film ve nanofiber yapımında kaliksarenlerin kullanımı 30
1.7.5. Sabit faz olarak kromatografide kaliksarenlerin kullanılması 39
1.7.6. Kataliz reaksiyonlarında kaliksarenlerin katalizör olarak kullanılması 43
1.7.7. Biyolojik uygulamalarda kaliksarenlerin kullanımı 45
1.8. DNA ve Genel İşlevi 56
1.9. DNA'nın kimyasal yapısı 57
1.10. DNA Türleri 59
1.11. DNA Hasarları 60

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **62**

3. MATERYAL VE YÖNTEM **82**

3.1. Enstrümental Teknikler ve Kullanılan Kimyasallar 82
3.2. Sentezler 82
3.2.1. 5,11,17,23-Tetra- ter-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1) 82
3.2.2. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-26,28-dimetoksikaliks[4]aren-25,27-diol (2) 83
3.2.3. 3.2.3 5,17,Di-*ter*-bütil-11,23-diformil-26,28-dimetoksikaliks[4]aren-25,27-diol (3) 84
3.2.4. Bileşik 3 ile *o*-fenilendiaminin reaksiyonu (4) 84
3.2.5. Bileşik 3 ile 4-metil-*o*-fenilendiaminin reaksiyonu (5) 85
3.2.6. Bileşik 3 ile 4-nitro-*o*-fenilendiaminin reaksiyonu (6) 86
3.2.7. Bileşik 3 ile 4-kloro-*o*-fenilendiaminin reaksiyonu (7) 87

3.2.8. N-(benzil)-*o*-fenilendiaminin sentezi (8) 88
3.2.9. N-(4-nitrobenzil)-*o*-fenilendiaminin sentezi (9) 88
3.2.10. Bileşik 3 ile N-benzil-*o*-fenilendiaminin reaksiyonu (10) 89
3.2.11. Bileşik 3 ile N-*p*-nitrobenzil-*o*-fenilendiaminin reaksiyonu (11) 90
3.2.12. Bileşik 3 ile 2-Aminotiyofenolün reaksiyonu (12) 90
3.2.13. *N*-Metil-2-hidroksimetilbenzimidazol türevlerinin sentezi (13-16)..... 91
3.2.14. 1-Metil-2-Klorometilbenzimidazol türevlerinin sentezi (17-20) 93
3.2.15. Benzimidazol türevlerinin bileşik 2 ile reaksiyonu (21-24)..... 95
3.2.16. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-bis[(1-metilbenzimidazol-2-il)metoksi]-26,28-dimetoksikaliks[4]aren (25)..... 99
3.2.17. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1) ile 1-metil-2-klorometilbenzimidazol'ün (17) reaksiyonu (26 ve 27) 100
3.2.18. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-26,28-Bis[benzoiloksi]kaliks[4]aren-25,27-diol(28) 102
3.2.19. 5,17, Di-*ter*-bütil-26,28-Bis[benzoiloksi]kaliks[4]aren-25,27-diol (29) 103
3.2.20. 5,17-Di-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (30) 104
3.2.21. 5,17-Di-*ter*-bütil-11,23-bis[(bis-(2-piridilmetil)amino)metil)]-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (31) 104
3.2.22. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-bis[(2-kloropiridin-5-il)metoksi]-26,28 dihidroksikaliks[4]aren (32) 105
3.2.23. 8-Hidroksi-2-kinolinkarboksihidrazon (33) 106
3.2.24. 5,17-Di-*ter*-bütil-11-karbaldehit-23-[((8-hidroksikinolin-2-il)metilen)hidrazino)metil]-25,27-diol-26,28-dimetoksikaliks[4]aren (34) 107
3.2.25. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-Bis[3-bromopropoksi]kaliks[4]aren-26,28-diol (35) 108
3.2.26. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-Bis[3-azidoopropoksi]kaliks[4]aren-26,28-diol (36) 108
3.2.27. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-Bis[3-azidoopropoksi]kaliks[4]aren-26,28-diol (36) ile 2-etinil pirenin etkileştirilmesi (37)..... 109
3.3. DNA Çalışmaları..... 110
3.3.1. pBR322 plazmit DNA Çalışmaları 110
3.3.2. CT-DNA Çalışmaları 111

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA..... 112

4.1. Kaliksaren Bazlı Bileşiklerin Sentezi..... 112
4.2. pBR322 Plazmit DNA Çalışmaları 121
4.3. CT-DNA Çalışmaları 134
4.3.1. Bileşiklerin CT-DNA ile etkileşimlerinin UV-Vis. spektroskopisinde incelenmesi 135
4.3.2. Bileşiklerin CT-DNA ile etkileşimlerinin floresans spektroskopisinde incelenmesi 140
4.3.3. EtBr varlığında gerçekleştirilen yarışmalı bağlanma deneyleri..... 145

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 154

5.1 Sonuçlar 154
5.2 Öneriler 156

KAYNAKLAR 157

EKLER 169

ÖZGEÇMİŞ 214

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Å	: Angström
CH_3I	: Metil iyodür
$CDCl_3$	: Dötero kloroform
DMSO-d_6	: Dötero dimetilsülfoksit
g	: Gram
Hz	: Hertz
J	: Eşleşme sabiti
K_2CO_3	: Potasyum karbonat
KI	: Potasyum iyodür
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mmol	: Milimol
nm	: Nanometre
nM	: Nanomolar
NaCl	: Sodyum klorür
NaH	: Sodyum hidrür
NaI	: Sodyum iyodür
pm	: Pikometre
µL = uL	: Mikrolitre
µM = uM	: Mikromolar

Kısaltmalar

^{13}C NMR	: Karbon Nükleer Manyetik Rezonans
CT-DNA	: Calf Thymus DNA
DMF	: N,N-Dimetilformamit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
E.n.	: Erime Noktası
EtBr	: Etidiyum bromür
FTIR	: Fourier Transform İnfrared Spektroskopi
HMTA	: Hekzametilen tetraamin
^{1}H NMR	: Hidrojen Nükleer Manyetik Rezonans
HETCOR	: Heteronuclear Correlation
IUPAC	: International Union of Pure and Applied Chemistry
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
MALDI-TOF	: Matrix Asisted Laser Desorption İonisation Time of Flight
NOESY	: Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
TFA	: Trifloroasetik asit
THF	: Tetrahidrofuran
Tris-HCl	: Tris hidroklorür
UV-Vis.	: Ultraviyole Visible Spektroskopi

1. GİRİŞ

Son yıllarda yaşanan bilimsel ve teknolojik gelişmeler, her sektörde olduğu gibi kimya alanında da önemli değişimleri beraberinde getirmiştir. Bu değişimlerden bazıları organik ve inorganik sentez, biyokimya ve biyoteknoloji gibi dallarda gerçekleşmiştir. 20. yüzyılın sonlarında kaliksarenlerin ortaya çıkışı ve büyük bir hızla kullanım alanları üzerine yapılan çalışmalarla birlikte kaliksarenler; supramoleküler kimyada farklı ve önemli bir çalışma alanı oluşturmuştur. Kaliksarenler, sepet görümündeki yapısal özellikleri sebebiyle bilim insanlarının ilgisini üzerine çekmiştir. Sensör ve ekstraktant olabilme özellikleri halen araştırılmaktadır. Bununla birlikte son yıllarda biyolojik özellikleri, üzerine eğilinen konulardan biri olmuştur.

Bu tez çalışmasında heterosiklik yapıda bazı kaliksaren bileşikleri sentezlenerek plazmit ve hayvansal DNA ile etkileşimleri çeşitli metotlar kullanılarak incelenmiştir.

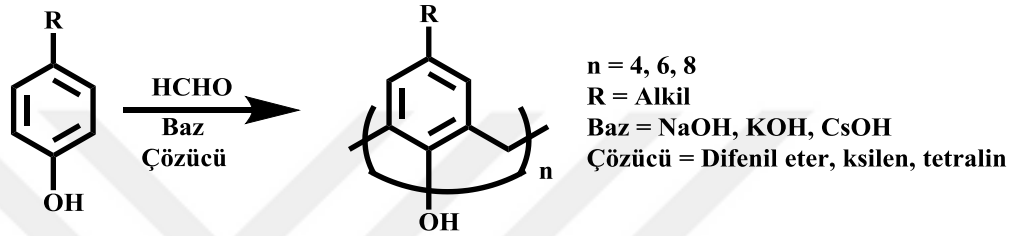
1.1. Kaliksarenler

Kaliksarenler, *para*-sübstitüe fenollerle formaldehitin kondenzasyon reaksiyonu sonucu sentezlenen siklik oligomerlerdir (Gutsche, 1989).

Kaliksarenlerin ismi 1970'lerde C. David Gutsche tarafından tanıtılmıştır. Bu bileşiklerin üç boyutlu şekilleri bir sepeti andırmaktadır (Gutsche ve Muthukrisnan, 1978). "Kaliks (Calix)" sözcüğü vazo benzeri anlamına gelir, çünkü şekil olarak gözlenen benzerlik, özellikle de tetramer şeklini kase benzeri bir konformasyona dönüştürür. Gutsche, *p*-alkilfenollerin formaldehit ile reaksiyonunun çeşitli halka boyutlarında bileşikler verdiğini göstermiştir (Gutsche, 1989) (Gutsche ve Muthukrisnan, 1978) (Gutsche, 1998).

Bu tür tepkimeler daha önceki yıllarda da tanımlanmıştır. 1872 yılında Adolph von Bayer, fenol-formaldehit kimyasının temelini atmıştır. İlk kez, aldehitlerin ve fenollerin asit-katalizli bir reaksiyonla "çimento benzeri bir madde" oluşturduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte, elde ettiği ürünü saf bir şekilde ayıramamış ve karakterize edememiştir. 1907'de Leo Baekeland, “Bakelit” diye adlandırdığı reçineli bir malzemenin yapımı için kullanılan sentetik prosedür üzerine bir patent hazırlamıştır ve bunu daha sonraki yıllarda yayınlamıştır (Baekeland, 1909). İşlem için fenol-formaldehit kimyasını kullanmış ve sentetik plastiklerin ilk büyük ölçekli üretimini

oluşturmuştur. Bu çalışma fenol-formaldehit kimyasına çok dikkat çekmiştir. 1944 yılında Zinke ve arkadaşları, bir bazın varlığında formaldehitle *p-ter*-bütilfenolün muamele edilmesiyle siklik tetramerler olduğu varsayılan yüksek erime noktasına sahip bileşikler elde ettiklerini bildirmişlerdir (Zinke ve ark., 1944). 1955 yılında Cornforth ve arkadaşları, olduğunu düşündükleri muhtemel iki ürünü izole etmeyi başarmışlar; *p-ter*-bütilfenolün ve *p-ter*-oktilfenolün formaldehit ile baz içeren reaksiyonlarının her birinden siklik tetramerik yapılara sahip moleküller oluştuğunu tespit etmişlerdir (Cornforth ve ark., 1955).

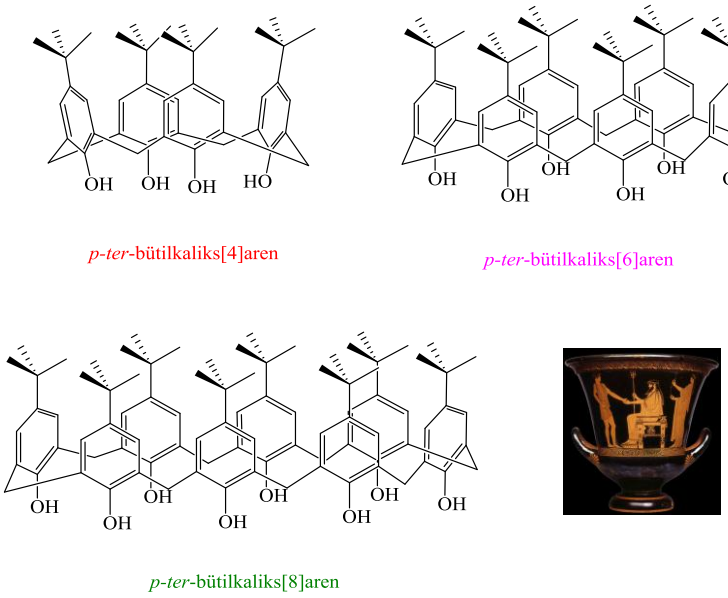


Şekil 1.1. Baz katalizi ile kaliks[n]aren türevlerinin sentezi

Kısa süre sonra, 'Petrolite Company' isimli bir şirkette çalışan bilim insanları *p-ter*-bütilfenol ve formaldehidin bazla katalize edilmiş reaksiyonundan elde edilen bir oksialkillenmiş ürünü elde ettiler. Bu ürünü bir yağ emülsiyon önleyici olarak ticarileştirdiler ve "Petrolite Prosedürü" adı verilen siklik fenol-formaldehit oligomerleri sentezlemek için kullandıkları bu yöntemlerin patentlerini aldılar (Gutsche, 2008).

Gutsche, 1970'lerin sonunda baz katalizi ile elde edilen ürünleri bildirmiş; *p*-sübstitüe fenollerin formaldehitle kondenzasyonu ve bu reaksiyonlardan siklik tetramer, siklik hekzamer ve siklik oktamer olarak oluşan bir karışımın üç bileşenini izole etmeyi başarmıştır (Muthukrishnan ve Gutsche, 1979) (Gutsche, 1989) (Gutsche, 1998).

1980'lerde siklik tetramer (*p-ter*-bütilkaliks[4]aren), siklik hekzamer (*p-ter*-bütilkaliks[6]aren) ve siklik oktamer (*p-ter*-bütilkaliks[8]aren) sentezi için prosedürler geliştirilmiştir. Her bir yapı tek adımda ve iyi verimlerle elde edilebilmektedir (Gutsche ve Iqbal, 1990) (Gutsche ve ark., 1990) (Munch ve Gutsche, 1990) (Şekil 1.2). Günümüzde halen sentezi en çok gerçekleştirilen kaliksaren bileşikleri, majör yani ana kaliksarenler olarak adlandırılan kaliks[4, 6 ve 8]arenlerdir (Şekil 1.2).

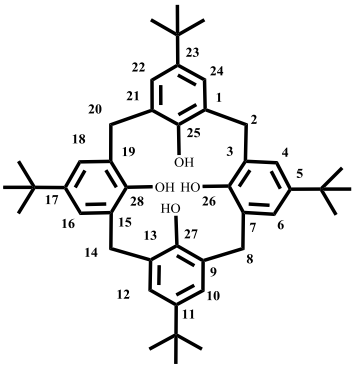


Şekil 1.2. Kaliksaren türevleri ve tetramer kaliksarenin benzediği kupa şekli

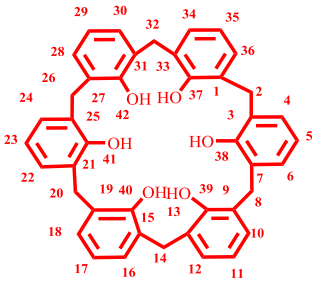
1.2. Kaliksarenlerin İsimlendirilmesi

Bu makrosiklikleri tanımlamak için "kaliks[n]aren" adını öneren kişi David Gutsche olmuştur (Gutsche ve Muthukrisnan, 1978). Ön ek 'calix', koni biçimindeki siklik tetramer şeklinin bir Yunan vazosuna benzerliğinden yola çıkılarak seçilmiştir. Bir kaliks[n]aren tanımlanırken, köşeli parantez içindeki sayı, döngüsel dizideki fenolik birimlerin sayısını gösterir (n= 3,4,5,6,7,8 vs). Yıllar boyunca bu makrosikliklere daha az çekici diğer isimler de verilmiştir. Ziegler döngüsel tetramerleri, "Mehrkernmethylene-phenol-verbindunge"; Hayers ve Hunter, "halkalı tetramerik novolak"; Cornforth ise daha sistematik bir isim seçmiştir: "1:8:15:22-tetrahidroksi-4:11:18:25-tetra-*m*-benzilen" (Zinke ve ark., 1944) (Cornforth ve ark., 1955) (Hayes ve Hunter, 1958). Kaliks[n]arenlerin adlandırılması başlangıçta *Chemical Abstracts* ve IUPAC tarafından kabul edilemez olarak düşünülmesine rağmen, sonunda resmi statüye ulaşmıştır (Gardiner, 2016). Kaliks[4]arenin temel yapısının numaralandırılması, daha büyük kaliks[n]aren türevleri için uzatılmış bir numaralandırma sistemi kullanılarak isimlendirilmelerine olanak sağlamaktadır.

Bu isimlendirmenin bire bir uygulanması ile ortaya çıkan karmaşık isimler yerine genellikle pratikte kısaltmalar kullanılır. Örneğin, tüm para konumlarına tek bir grubun bağlandığı 5,11,17,23-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren daha basit bir şekilde *para-ter*-bütilkaliks[4]aren olarak ifade edilir (Şekil 1.3).



5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksi-kaliks[4]aren
veya
p-*ter*-Bütilkaliks[4]aren

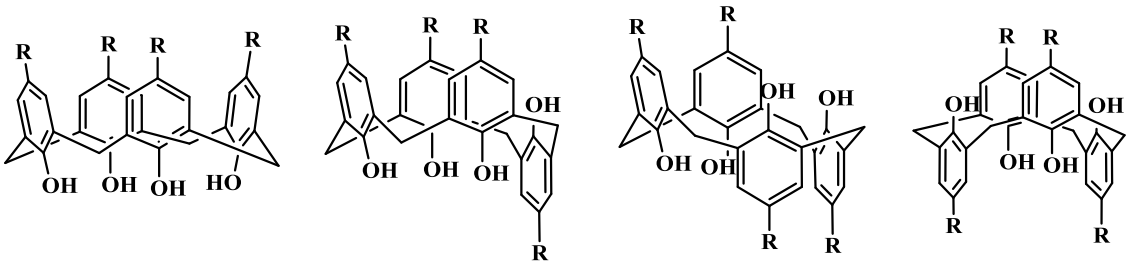


Kaliks[6]aren-37,38,39,40,41,42-tetrahidroksi
veya
Kaliks[6]aren

Şekil 1.3. Kaliksarenlerin isimlendirilmesi

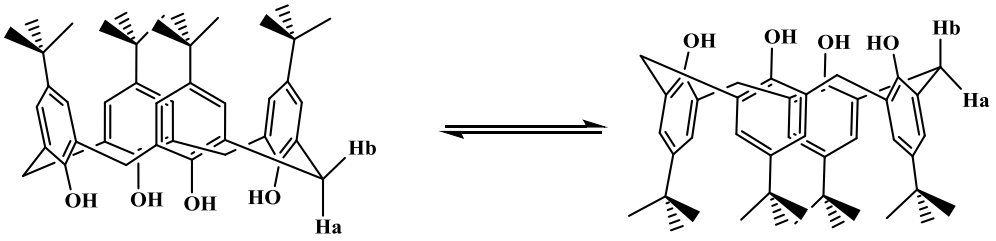
1.3. Kaliksarenlerin Yapısal Özellikleri

Oda sıcaklığında bir çözelti içinde kaliks[4]arenlerin serbest hidroksil grupları konformasyon olarak hareketlidir ve dört uygun konformasyonda bulunabilirler. Bu konformasyonlar, ilk olarak 1950'lerde Cornforth tarafından açıklanmıştır. Cornforth, Ziegler'in uyguladığı reaksiyon şartları altında *p*-*ter*-bütilfenol ve formaldehit reaksiyonundan izole ettiği iki ürünün birbirinden konformasyonel olarak farklı olduğunu açıklamıştır. 1970'lerde yapılan değişken sıcaklık ^{1}H NMR çalışmalarına göre, inversiyonun önündeki engelin, başlangıçta moleküler modeller temelinde varsayıldığı kadar büyük olmadığı ortaya çıkmıştır ki bu da Cornforth'un orjinal analizinin yanlış olması gerektiğini öne sürmüştür. *p*-*ter*-bütilkaliks[4]arenin, metilen protonlarından ortaya çıkan iki dubletin kaynaşma sıcaklığı hesaplandığında, $CDCl_3$ içinde 60°C'de yaklaşık olarak 150 s^{-1} ($\Delta G‡$=15.7 Kcal mol^{-1})'de konformasyonel inversiyona uğradığı görülmüştür (Gutsche ve Bauer, 1985) (Kaemmerer ve ark., 1972). Cornforth tarafından belirlenen bu uyuşmalar; metilen grupları tarafından tanımlanan ortalama düzleme göre yukarı doğru (u) veya aşağıya (d) çıkıntı yapan aril gruplarının sayısı, daha sonra Gutsche tarafından 'koni' (u,u,u,u), 'kısmi koni' (u,u,u,d), '1,2-karşılıklı' (u,u,d,d) ve '1,3-karşılıklı' (u,d,u,d) olarak adlandırılmıştır (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Kaliks[4]arenlerin konformasyonları

Bu dört olası konformasyondan çözelti içinde tercih edilen konidir, çünkü lower rimdeki (alt kenar) hidroksil grupları arasında kuvvetli moleküller arası hidrojen bağı bulunur (Andreetti ve ark., 1979). Koni (u,u,u,u) *p-ter*-bütilkaliks[4]aren ve onun ters çevrilmiş ayna görüntüsü koni konformeri (d,d,d,d) arasındaki interkonversiyon oda sıcaklığında yavaş olmasına rağmen mümkündür ve bir "oksijen→halka" (oxygen-through-the-annulus) tipi yoluyla meydana geldiği varsayılır. Bu sürecin uygun bir yolla (dairesel hidrojen bağının korunmasını sağlayarak) gerçekleşebileceği ileri sürülmüştür (Harada ve ark., 1994), fakat hesaplama çalışmaları, "kırık zincir yolu" (broken chain pathway) olarak adlandırılan olayın daha etkili olduğunu göstermiştir (Thondorf ve ark., 1995) (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Koni ve dönüşmüş koni konformerleri arasındaki interkonversiyon

$CDCl_3$ içinde *p-ter*-bütilkaliks[4]aren 60°C ve üzerine ısıtıldığı zaman, eşdeğer olmayan geminal metilen protonlarından (yani H_a ve H_b) kaynaklanan dublet çiftleri (J= 13 Hz) iki koni konformeri arasındaki hızlı değişimin sonucunda keskin bir singlete dönüşür (Şekil 1.5). Bu interkonversiyon oda sıcaklığında yavaş olsa da, belirli bir uygulama için verilen kaliks[4]arenin konformasyonunu kilitlemek/sabitlemek önemlidir. Bu, lower rimde üç veya daha fazla sayıda bir karbon zinciri ile eterleştirme veya esterleştirme yoluyla kolayca sağlanabilir. Elde edilen türevler, yüksek

sıcaklıklarda bile uyumludurlar, çünkü böyle bir zincir, halkadan geçememektedir (Gutsche ve Levine, 1982). Belirli bir alkilleme reaksiyonunda üretilen kesin konformasyon(lar), eklenen gruplara bağlıdır. Örneğin, tetra-hidroksikaliks[4]arenin allil eteri kısmi koni konformasyonunda kilitlenirken, propil eter türevi koni biçiminde kilitlenir (Gutsche ve ark., 1983).

X-ışını kristalografisi, alkillenmiş bir kaliks[4]arenin konformasyonunu karakterize etmek için en kesin sonuçları sağlarken, daha basit ve erişilebilir bir seçenek sunan ^{1}H ve ^{13}C NMR spektrumlarıdır. En çok karşılaşılan konformasyonların ^{1}H NMR spektrumları incelendiğinde, metilen protonları için karakteristik yarılma modelleri ortaya çıkmıştır. Koni konformasyonunda, C_{4v} simetrisine sahip bir koni kaliks[4]arenin metilen köprü protonları, $\Delta\delta$ değeri (yüksek ve düşük alan çiftleri arasındaki kimyasal kayma farkı) yaklaşık olarak 0.9±0.2 ppm olan bir çift dublet halinde oluşmaktadır. Tersine, D_{2d} simetrisindeki 1,3-karşılıklı konformasyondaki bir kaliks[4]aren için $\Delta\delta$ değeri sıfır olur ve dublet çifti yerine keskin bir singlet gözlenir. Kısmi koni ve 1,2-karşılıklı konformasyonlarda yarılma modelleri daha karmaşık hale gelir, ancak hâlâ karakteristiktir.

Benzer şekilde, de Mendoza ve arkadaşları, metilen köprüleri için ^{13}C NMR rezonansının aynı zamanda, kaliks[4]arenlerin konformasyonları hakkında yararlı bilgiler sağladığını göstermiştir (Jaime ve ark., 1991). Metilen köprülerinin her iki tarafında fenolik gruplar olduğunda (örneğin koni konformasyonunda) syn ^{13}C NMR rezonansı yaklaşık δ 31 ppm'de gerçekleşirken, anti oldukları zaman ise (örneğin 1,3-karşılıklı konformasyonda) yaklaşık δ 37 ppm'de gerçekleşir. Bu gözlem, her iki koni ve 1,3-karşılıklı konformasyondaki metilen köprüleri için benzer ^{1}H NMR sinyallerine neden olan sübstitüe kaliks[4]arenleri karakterize etmek için oldukça yararlı bir araç sağlar. Bu spektral özellikler Çizelge 1.1'de özetlenmiştir. Ayrıca *para* köşesinde tersiyer bütil grupları bulunduran kaliks[4]arenlerin konformasyonlarının belirlenmesinde, *ter*-bütil gruplarının ^{1}H NMR spektroskopisinde farklı şekillerde yarılma gerçekleştirmelerinden de yararlanılmaktadır. Bu gruplar, koni, 1,2-karşılıklı ve 1,3-karşılıklı konformasyonlarda singlet pik olarak sinyal verirken, kısmi koni konformasyonunda triplet pik olarak açığa çıkarlar.

Çizelge 1.1. Kaliks[4]arenlerin metilen köprülerinin dört olası konformasyonda gösterdiği karakteristik ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR verileri

Konformasyon	**Ar-CH_2-Ar protonlarının ^{1}H NMR çeşitliliği**	**Ar-CH_2-Ar karbonlarının ^{13}C NMR kimyasal kayma değerleri**
Koni	Bir çift dublet	Yaklaşık 31 ppm syn-oryantasyonu
Kısmi koni	İki çift dublet (1:1 oranı) veya bir çift dublet ve bir singlet (1:1 oranı)	Yaklaşık 31 ppm syn-oryantasyonu Yaklaşık 37 ppm anti-oryantasyonu
1,2-Karşılıklı	Bir çift dublet ve bir singlet (1:1 oranı)	Yaklaşık 31 ppm syn-oryantasyonu Yaklaşık 37 ppm anti-oryantasyonu
1,3-Karşılıklı	Bir singlet	Yaklaşık 37 ppm anti-oryantasyonu

Daha büyük kaliks[n]arenlere geçilirken, olası uyumların sayısı da hızla artar. Örneğin, kaliks[4] ve [5]arenin her ikisinin de sadece dört tane gerçek yukarı/aşağı konformeri olmasına rağmen, kaliks[6]arenin sekiz, kaliks[8]arenin ise on altı adet konformeri bulunur.

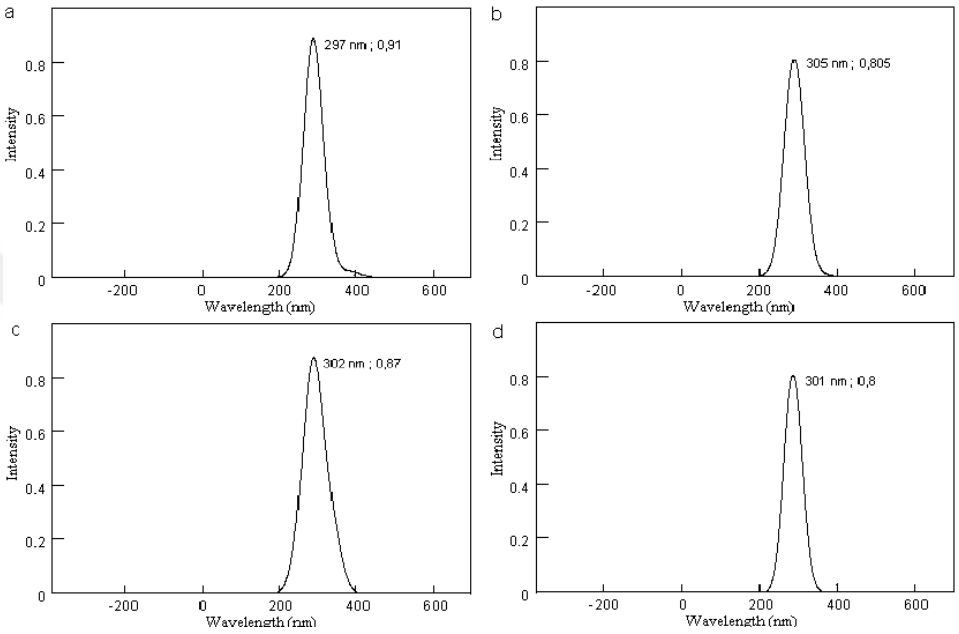
1.4. Kaliksarenlerin Bazı Fiziksel Özellikleri

Kaliksarenlerin saflıklarının anlaşılmasında uygulanan ilk analizlerden biri, erime noktasının ölçümüdür. Kaliksarenlerin çoğunun erime noktası $300^{o}C$'nin üzerindedir. Bununla birlikte, sübstitüent gruplarında veya izomerik farklılıkların olması durumunda erime noktalarında büyük ve radikal farklılıklar görülmektedir. Bu farklılıklar çözünürlüklerini de değiştirmektedir.

Kaliksarenler ham yani türevlendirilmemiş halde, hidrofobik aromatik yapılarından dolayı suda çözünmezler. Organik çözücülerde ise belirli oranlarda çözünürler ki, bu özellikleri saflaştırılmaları ve karakterizasyonlarında büyük öneme sahiptir. Kloroform, piridin, karbondisülfür, dimetil formamit ve dimetil sülfoksit gibi organik çözücülerde makul oranlarda çözünürler. Türevlendirilmeleri ile farklı çözünürlük özellikleri kazanırlar. Örneğin, iyonik grupların bağlanmasıyla suda çözünür hale getirilebilirler.

Kaliksarenlerin spektral özellikleri, ultraviyole visible (UV-Vis.), infrared (IR), florimetri, nükleer manyetik rezonans (NMR), X-Ray kristalografisi ve kütle spektrometresi (MS) kullanılarak incelenebilmektedir. Her bir teknik, kaliksarenlerin yapısı ve diğer özellikleri hakkında önemli bilgiler sağlar.

UV-Vis. spektroskopisinde kaliksarenler, yaklaşık olarak 280 ve 288 nm'de bir çift absorpsiyon bandı verirler. Ancak, hem farklı yapıdaki kaliksarenler hem de aynı kaliksarenlerin farklı konformasyonları için bu dalga boylarında kaymalar gerçekleşebilir. Örneğin, kaliks[4]arenin dört farklı konformeri için hesapsal olarak elde edilen spektrumlar az da olsa farklılık göstermiştir (Sudrajat ve Armunanto, 2008) (Şekil 1.6).

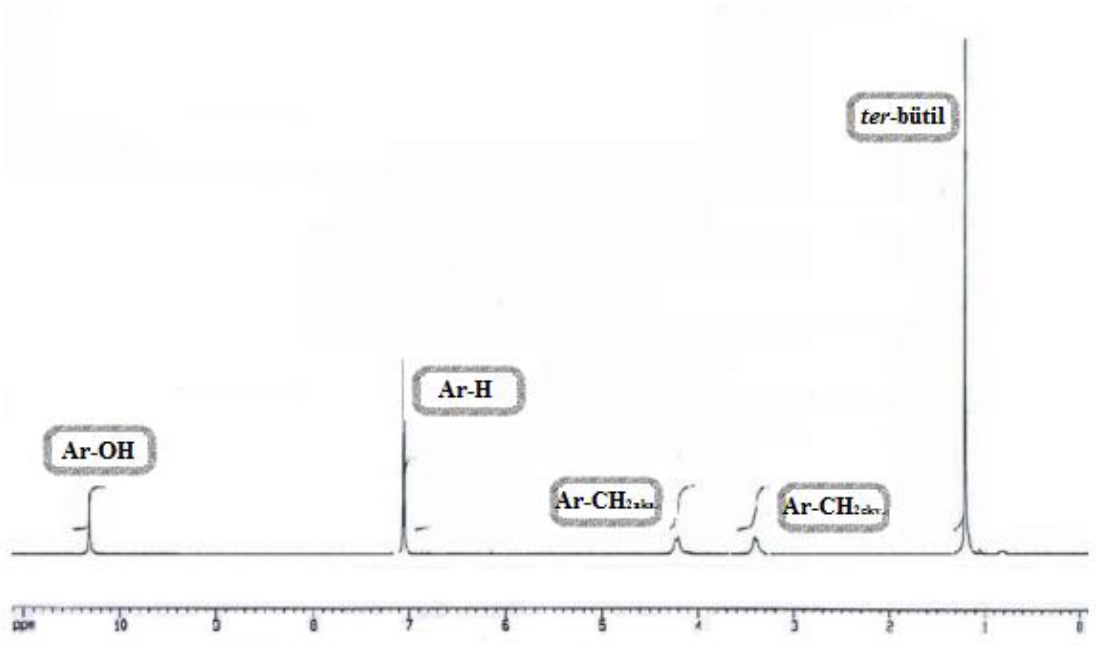


Şekil 1.6. Kaliks[4]arenlerin dört farklı konformasyonundan hesapsal olarak elde edilen UV-Vis. spektrumları a) koni, b) 1,3-karşılıklı, c)kısmi koni, d) 1,2-karşılıklı (Sudrajat ve Armunanto, 2008)

Kaliksarenlerin IR spektrumunda, molekülün boyutuna bağlı olarak değişen ve yaklaşık olarak 3150 cm^{-1}-3300 cm^{-1} arasında gözlenen düşük frekanslı fenolik OH grubuna ait titreşim bandı yer almaktadır. Bu bant, lower rimde yer alan hidroksil grupları arasındaki moleküller arası, çok güçlü bir hidrojen bağının oluşumundan kaynaklanır. Bu hidrojen bağı, majör kaliksarenlerde güçlü iken küçük kaliksarenlerde daha zayıftır.

Kaliksarenlerin yapılarının ve konformasyonlarının belirlenmesinde NMR spektrometresi çok kullanılmaktadır. Yapılan analizler, moleküller simetrik olduğu için çok karmaşık değildir. Kaliksarenlerin boyutuna bağlı olarak, fenolik hidroksil gruplarına ait hidrojenlerin kimyasal kayma değeri 8-10 ppm aralığında değişkenlik gösterir. Fenil halkaları arasındaki metilen köprüsü hidrojenlerine ait kimyasal kayma değerleri ise konformasyona göre değişir ve 3.5-5.0 ppm arasındadır. Örneğin,

kaliks[4]aren'in ^{1}H NMR spektrumunda, biri 3.2 ppm diğeri 4.9 ppm'de oluşan bir çift dublet görülür (Şekil 1.7).



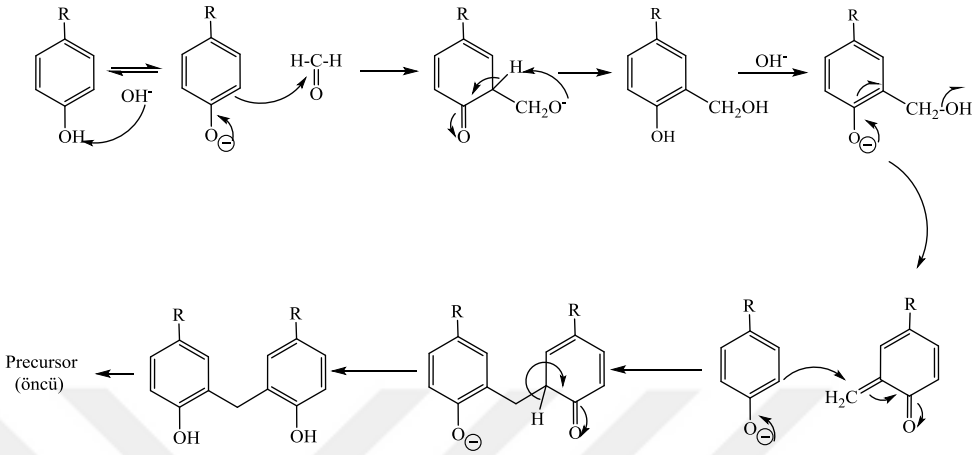
Şekil 1.7. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]arenin ^{1}H NMR spektrumu (koni konformasyonunda)

X-ray kristalografisi, bir kaliksarenin yapısına dair kesin kanıtları ortaya çıkarmaktadır (Andreetti ve ark., 1981). Kütle spektrometresi kaliksarenlerin molekül kütlelerinin tespitinde başarılı olarak kullanılmaktadır.

1.5. Kaliks[n]arenlerin Sentezi

Gutsche tarafından ana kaliks[n]arenlerin (n= 4, 6 ve 8) tekrarlanabilir olarak elde edilmesini sağlayan prosedürler, tepkime koşullarının ayrıntılı bir çalışması yapılarak -özellikle her bir aşamada mevcut olan bazın miktarı ve tipi bakımından- gerçekleştirilmiştir. Kaliks[4]aren için optimize edilen sentez reaksiyonunda, *p-ter*-bütilfenol sulu formaldehit ve *ter*-bütil fenole göre 0.045 eşdeğerde karşılık gelen bir miktardaki sodyum hidroksit ile ısıtılır. 120°C'de 1 ila 2 saat süreyle ısıtıldıktan sonra, karışım "öncü" (precursor) olarak adlandırılan viskoz bir kütleye genişler (Şekil 1.8), bu kütle daha sonra 4 saat süreyle geri soğutucu altında difenil eter içinde ısıtılır (Kwang ve Gutsche, 1982). Bu "öncünün"(precursor) analitik HPLC analizi, Vocanson ve

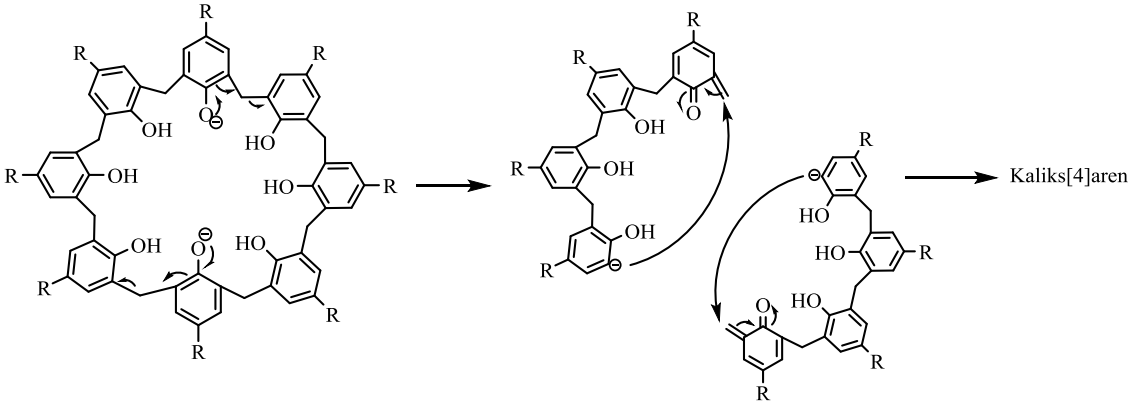
çalışma arkadaşı tarafından rapor edilmiş ve oligomerizasyonun çeşitli basamaklarında en az 36 dibenzil eter- ve difenilmetan-tipi bileşiğin oluştuğu tespit edilmiştir (Vocanson ve Lamartine, 1996).



Şekil 1.8. *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin sentezinde gerçekleşen ilk basamağın mekanizması (R:Bu^t)

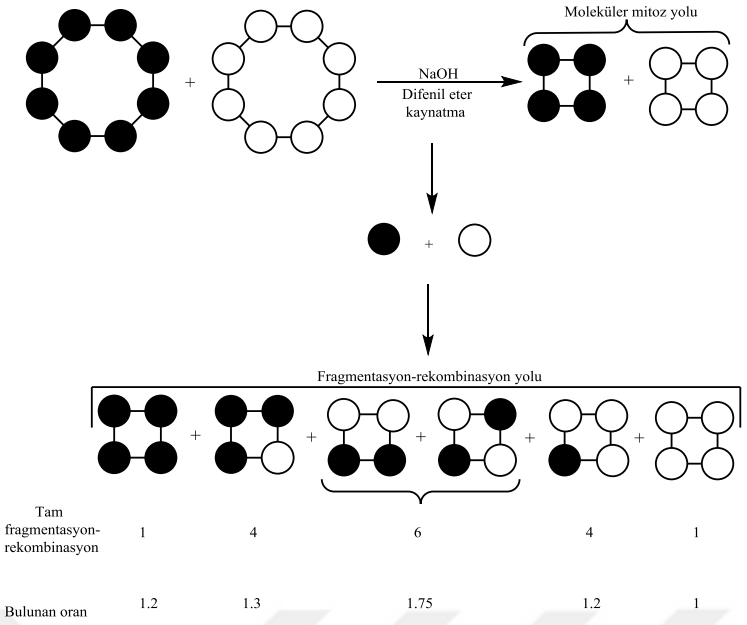
Lineer tetramerlerin oluştuğu reaksiyonun ikinci basamağında, bu "öncü" bileşiklerin siklik tetramerlere dönüştüğü kabul edilir. Kaliks[8]aren için geliştirilen protokolle benzer bir analiz gerçekleştirilmiş ve karşılık gelen doğrusal oktamerlerin hiçbiri gözlenmemiştir. Siklik oktamer durumunda, suyun ve/veya formaldehitin çıkmasıyla yoğunlaşan iki lineer tetramerin birleşmesinden kaliks[8]arenin oluştuğu düşünülmektedir (Vocanson ve Lamartine, 1996) (Gutsche, 1983a).

"Öncü" karışımındaki bazı bileşenlerin, birbirleriyle dengede olabileceğine dair kanıtlar vardır, çünkü ürün dağılımlarının, reaksiyon koşullarına gerçek başlangıç malzemelerinden daha fazla bağımlı olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, her iki *p-ter*-bütilkaliks[6] ve [8]arenin, *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin sentezi için geliştirilen koşullar altında (yani geri akış yapan difenil eter içinde 0.01 eşdeğer sodyum hidroksit ile muamele) reaksiyona sokulduğunda yüksek verimlerde (≥%75) *p-ter*-bütilkaliks[4]arene dönüştürülebileceği bulunmuştur. Bu olay, termodinamik kontrol ürününün (*p-ter*-bütilkaliks[4]aren) kinetik kontrol ürünlerinden (*p-ter*-bütilkaliks[6] ve [8]aren) oluştuğu şeklinde yorumlanmıştır. *p-ter*-bütilkaliks[8]arenin ortaya çıktığı mekanizma, literatürde bazı tartışmalara konu olmuştur. Gutsche ve meslektaşları, daha küçük kaliksarenin bir çeşit moleküller arası "moleküler mitoz"dan kaynaklandığını gösteren bir mekanizma önermişlerdir (Gutsche ve ark., 1999) (Gutsche, 2008) (Şekil 1.9).



Şekil 1.9. Gutsche tarafından öne sürülen "moleküler mitoz" mekanizması

Bu hipotezi test etmek amacıyla Gutsche, tamamen döteryumlanmış ve tamamen protonlanmış bir *p-ter*-bütilkaliks[8]arenin 1:1'lik bir karışımının, protonlanmış ve döteryumlanmış bir *p-ter*-bütilkaliks[4]aren karışımına dönüştürüleceği bir döteryum etiketleme çalışması tasarlamıştır. Yapılan çalışmada döteryumlanmış *p-ter*-bütilkaliks[8]aren ve protonlanmış analoğunun 1:1'lik karışımı, etiketlenmiş ve etiketlenmemiş materyallerin bir karışımı olarak *p-ter*-bütilkaliks[4]arene dönüştürülmüştür. Reversiyon reaksiyonunda, "moleküler mitoz" yolunun tam olarak meydana gelmesi halinde, 1:1 oranda döteryumlanmış ve protonlanmış kaliks[4]arenler karışımı beklenecektir. Bununla birlikte, fragmentasyon-rekombinasyon yolunun operasyonel olması halinde, hem döterolanmış hem de protonlanmış rezidüleri içeren bir kaliks[4]aren karışımı ortaya çıkacaktır. Hızlı atom bombardıman kütle spektrometresi (FAB-MS) ile yapılan ürün dağılımının analizi karışık kaliks[4]arenlerin varlığını göstermiştir, ancak fragmentasyon-rekombinasyon yolunun tamamı için beklenen oran elde edilmemiştir (Şekil 1.10).



Şema 1.10. Gutsche'nin döteryum çapraz geçiş çalışmasında gözlemlenen ürün dağılımı

Bu sonuçlar Gutsche tarafından, fragmentasyon-rekombinasyonun daha küçük kaliks[4]arenin oluşumunda ana yol olduğu ve "moleküler mitoz" yolu ile birlikte başlangıçta tahmin edilenden daha az bir role sahip olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Bir kaliks[8]arenin fragmentasyon-rekombinasyona uğrayan her üç durumunda 'moleküler mitoza' maruz kalması halinde, beklenen ürün oranının gözlemlenen oranla uyumlu olarak 1.0: 1.1: 1.64: 1.1: 1.0 olması gerektiği önerilmiştir. Ancak, "moleküler mitoz" yolunun tamamen protonlanmış ve döteryumlanmış kaliks[4]areni oluşturduktan sonra fragmentasyon-rekombinasyonun meydana gelmesi de mümkündür ya da 2+2 veya 3+1 siklizasyonları dikkate alınırsa, moleküler mitoz gerekmeden muhtemel dağılımlar gerçekleşmiş olabilir. Bu yüzden, olayların kesin akışına dair belirsizlikler bulunmaktadır.

p-ter-Bütilkaliks[6]aren için optimize edilen sentezde, *p-ter*-bütilkaliks[4]aren için optimize edilmiş reaksiyona kıyasla baz miktarında 10 katlık bir artış gereklidir. Buna ek olarak, potasyum ve rubidyum hidroksitlerin (sırasıyla atomik yarıçap 2.35 ve 2.5 Å), siklik hekzamerin oluşumunda daha yüksek verimler sağladığı bulunmuştur. Özellikle RbOH kullanıldığında hekzamer verimi en yüksek değere ulaşmıştır çünkü, kullanılan bazın katyon çapı kaliks[6]arenin boşluk çapına yakındır (Gutsche ve ark., 1990). Burada, bir "template etki"nin (kalıp/şablon etkisi) oluştuğu önerilmiştir. Buradan yola çıkılarak, halkalı tetramer ve oktamer sentezlenirken kullanılan bazın

katalitik miktarda, halkalı hekzamer elde edilirken ise stokiyometrik oranda alınması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Bununla birlikte, *p-ter*-bütilkaliks[6]arenin sentez yolunun, *p-ter*-bütilkaliks[4] ve [8]arenlerden daha az anlaşılır olduğu kabul edilmektedir ve bir dizi olasılık önerilmiştir. Bunlar; bir doğrusal (lineer) hekzamerin doğrudan çevrimlenmesi, bir çift hidrojen bağlı doğrusal trimerin siklizasyonu ve siklik oktamer ile başlayan bir fragmentasyon-rekombinasyon sürecidir (Gardiner, 2016).

Ürünler oldukça düşük verimlerde (yani %11-20) olmasına ve bunlara dahil olan sentezlerden sonra elde edilebilmesine rağmen, "minör kaliks[n]arenler" (n= 5 ve 7 gibi) olarak adlandırılan türevler için optimize edilmiş sentezler de geliştirilmiştir. Ana (majör) kaliks[n]arenlerle karşılaştırıldığında, tek sayılı kaliks[n]arenlerin daha düşük verimlerde oluşması, fenolik birimler arasında mevcut olan molekül içi hidrojen bağlarının daha zayıf olmasına bağlanarak açıklanmıştır (Stewart ve Gutsche, 1993) (Vocanson ve ark., 1995). Uzun yıllar boyunca bu üç majör (n= 4, 6 ve 8) ve iki minör kaliks[n]arenin (n= 5 ve 7), kaliksarenler ailesinin tek üyeleri olduğu düşünülmüştür. Ancak, daha sonra Gutsche ve arkadaşları tarafından kaliks[n]arenlerin asitle katalize edilen sentezi üzerine yapılan çalışmalar, dizilerin n sayısını 9'dan (siklik nonamer) 20'ye kadar (siklik eikozamer) uzatmıştır (Stewart ve Gutsche, 1999). Yapılan çalışmada, *ter*-bütilfenol kloroform içinde, s-trioksan ve *p*-toluensülfonik asit ile ısıtılarak, reaksiyon karışımının konsantrasyonuna bağlı olarak değişen bir ürün dağılımı ile bir kaliks[n]aren (n= 4'ten 20'ye kadar) karışımı elde edilebilmiştir (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2. Son reaksiyon karışımının HPLC kromatogramında yer alan pik alanından elde edilen kaliks[n]aren bileşimleri (Stewart ve Gutsche, 1999)

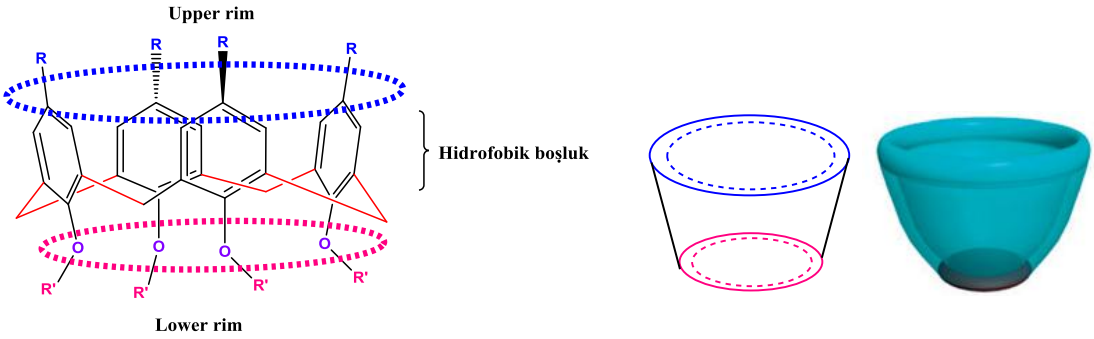
Reak. kons. %w/v	**Son reaksiyon karışımındaki *p-ter*-bütilkaliks[n]arenlerin yüzdesi (n=4-20)**													
	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]	[13]	[14]	[15]	[16]	[17-20]
1	13.9	8.8	19.3	21.1	19.9	8.6	3.7	1.7	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	5.1	3.7	14.3	23.6	26.2	12.8	5.0	2.9	1.3	1.3	1.1	0.3	0.2	0.0
10	2.5	1.8	10.2	25.0	23.4	13.8	7.0	4.8	3.4	2.8	2.2	1.0	0.5	0.8
20	1.5	1.2	7.5	25.2	22.5	13.6	7.8	5.8	4.3	3.4	2.8	1.8	1.1	1.0
30	1.2	1.0	6.5	23.9	22.2	13.1	7.2	5.7	4.3	3.6	3.3	2.4	1.9	2.7
40	0.9	0.7	4.9	23.7	21.8	12.5	6.9	5.7	4.9	41	4.2	2.5	1.9	4.5
50	0.8	0.7	4.3	22.3	19.9	11.8	6.9	6.3	5.1	4.9	4.7	3.7	2.9	5.1
60	0.7	0.6	3.9	21.9	19.3	11.8	7.1	6.1	5.1	4.8	4.3	3.4	2.2	8.1
75	0.6	0.5	3.6	19.9	17.6	11.0	6.8	5.9	5.1	5.1	5.0	3.7	2.8	11.5

Her ne kadar n≥9 olan tek başına bir kaliks[n]arenin sentezini ayrıntılı bir şekilde açıklayan makale olmasa da, Bew grubu *p-ter*-bütilkaliks[n]arenlerin Lewis asidi ile katalizlenen sentezinden, *p-ter*-bütilkaliks[9]areni preparatif HPLC kullanarak yüksek saflıkta (≥%95) ve orta verimde (%30) ayırmayı başarmıştır (Bew ve Sharma, 2007). Bew ve ark., *p-ter*-bütilfenolün s-trioksan (1.1 eşdeğer) ve kalay(IV) klorür (1 eşdeğer) ile diklormetan içerisinde oda sıcaklığında 15 saat reaksiyona sokulması sonucunda *p-ter*-bütilkaliks[8]aren (%55) ve *p-ter*-bütilkaliks[9]aren (%30) ile birlikte küçük miktarlarda (yani %15) lineer oligomerler ve daha küçük kaliks[n]arenleri (n= 4-7 gibi) elde etmişlerdir. Bu protokol, Gutsche'nin orjinal sentezini geliştirmiş ve bu tür kaliksarenler üzerine yapılabilecek çalışmaların başlatılmasına da ışık tutmuştur.

1.6. Kaliksarenlerin Fonksiyonlandırılması

Kaliksaren molekülleri, üzerinde alkil, hidrojen veya herhangi bir başka sübstitüent R grubunun bulunduğu geniş bir upper rim ve metal iyonu koordinasyonuna elverişli çeşitli donör grupların (OR') bağlandığı bir lower rime sahiptir. Ana molekül olarak bir kaliksarenin önemli ve yegâne özelliği, aril birimlerinden oluşan π-elektronları açısından zengin bir hidrofobik boşluğun, lower rimdeki OR' sübstitüentleri tarafından oluşturulan polar bir boşluk ile birlikte bulunmasıdır. En yaygın kaliks[4]aren, kaliks[6]aren ve kaliks[8]aren için tahmini aromatik boşluk boyutları sırasıyla 300 pm, 760 pm ve 1170 pm'dir (Gutsche, 1998).

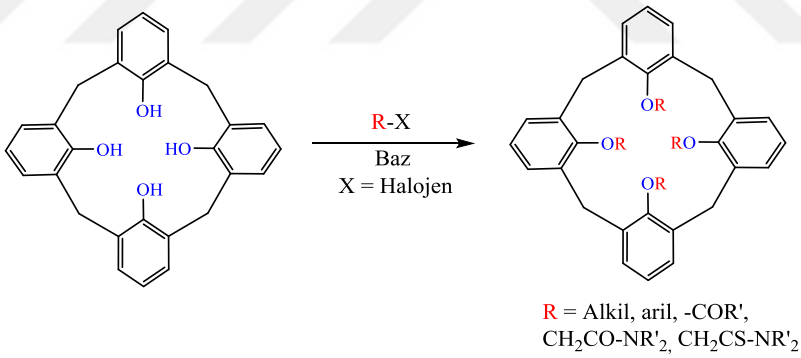
Kullanılacak uygulamaya yönelik kaliksarenler elde etmek amacıyla, kaliksarenlerin upper rim (fenil halkasının para konumundan) veya lower rim (fenolik oksijen) üzerinden değişik fonksiyonel gruplarla türevlendirilmesi yapılmaktadır (Şekil 1.11).



Şekil 1.11. Kaliks[4]arenin üç boyutlu görüntüsü ve sepet şeklinin gösterimleri (Liu ve Guo, 2012)

1.6.1. Kaliksarenlerin fenolik -OH üzerinden fonksiyonlandırılması

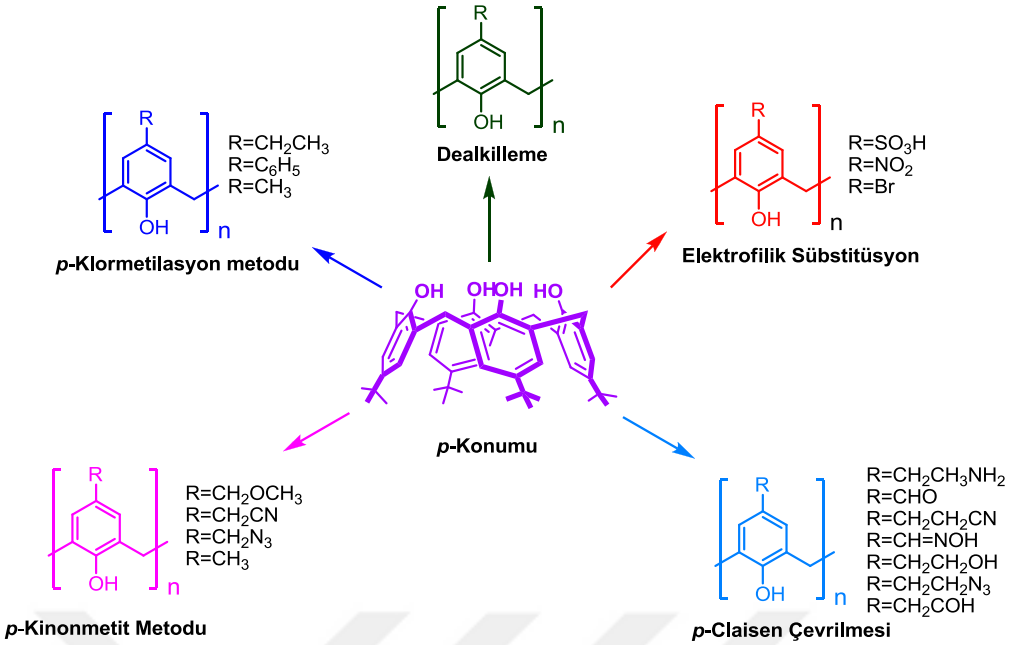
Bu fonksiyonlandırma tipi, O-alkilleme, O-arilleme, O-açilleme, O-amitleme ve O-tiyoamitleme reaksiyonlarını içerir (Şekil 1.12). Yaygın olarak esterleşme ve eterleşme reaksiyonları kullanılır. Bu reaksiyonlarda kullanılan baza ve çözücüye bağlı olarak, kaliksarenlerin mono-, 1,2-di-, 1,3-di-, tri- veya tetra-türevleri seçici bir şekilde sentezlenebilmektedir. Örneğin; kaliksarenlerin mono eter veya ester türevleri CH_3CN çözücü ortamında K_2CO_3 veya DMF çözücü ortamında CsF gibi zayıf bazlar ve uygun reaktifler kullanılarak oluşturulur (Groenen ve ark., 1991). Aseton veya asetonitril ortamında Na_2CO_3 veya K_2CO_3 gibi bazlar kullanılarak 1,3-difonksiyonlu kaliksarenler, DMF/THF ortamında NaH gibi güçlü bazlar kullanılarak 1,2-difonksiyonlu kaliksarenler ve DMF ortamında $Ba(OH)_2$ kullanılarak trifonksiyonlu kaliks[4]aren türevleri sentezlenebilir (Janssen ve ark., 1993). Tetrafonksiyonlu kaliksaren türevleri sentezlenirken aseton veya asetonitril ortamında baz olarak NaOH kullanılırsa koni konformasyon, K_2CO_3 veya Cs_2CO_3 kullanılırsa kısmi koni ve 1,3-karşılıklı konformasyonda ürünler elde edilir (Shinkai ve ark., 1990).



Şekil 1.12. Kaliks[4]arenin hidroksil gruplarından fonksiyonlandırılması

1.6.2. Kaliksarenlerin *p*-pozisyonlarından fonksiyonlandırılması

Giriş kısmında sözü edildiği gibi, kaliksarenler sentezlenirken yüksek verimde elde edilmelerinden dolayı *p-ter*-bütil gruplu kaliksarenlerin sentezi tercih edilmektedir. Kaliksarenin fenil halkalarına bağlı *ter*-bütil grupları $AlCl_3$/toluen ortamında kolayca giderilebilir (dealkilleme) ve böylelikle kaliksarenlerin fenolik gruplarının *p*-pozisyonuna birçok fonksiyonel grup bağlanabilir (Şekil 1.13).



Şekil 1.13. *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin *p*-pozisyonundan fonksiyonlandırılması

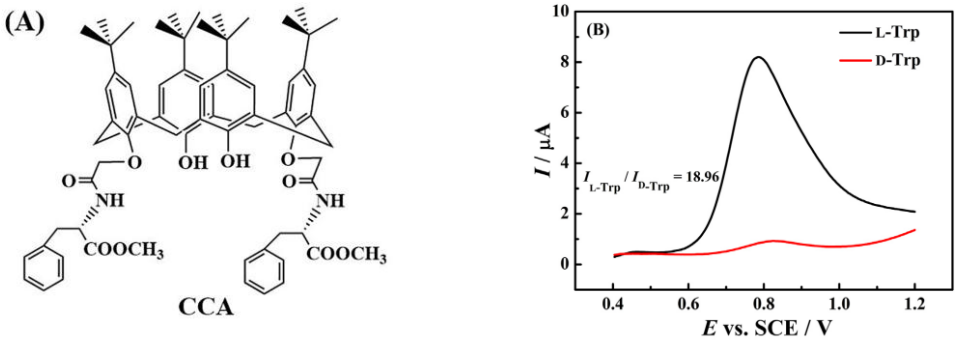
1.7. Kaliksarenlerin Kullanım Alanları

1.7.1. Enantiomerlerin ayrılmasında kaliksarenlerin kullanılması

Farmakolojide üretilen ve insanların kullanımına sunulan ilaçların çoğunun etken maddesi kiral moleküllerdir ve bunlar yüzde yüz enantiomerik saflıktadır. Kiral bir molekülün enantiomerlerinden birisi, örneğin *R*-formu vücuda fizyolojik olarak fayda yönünde etki edebildiği gibi *S*-formu etkili olmayabilir veya ciddi zararlar verebilir. Bu sebeple biyolojik sistemlerde kullanılabilcek ilaçlar arasındaki kiral tanınma çok önemlidir. İnsan sağlığı söz konusu olduğu için ilaçların sentezi ve etkilerinin incelenmesi üzerindeki çalışmaların pek çoğu kiral ayırmalar üzerine kurulmuştur. Kiral moleküller kendileri gibi kiralitesi olan asimetrik host yani konak moleküller ile kompleks yapabilirler. Bu amaçla kiral gruplar taşıyan kaliksaren molekülleri enantiomerlerin ayrılmasında oldukça fazla kullanılmaktadır.

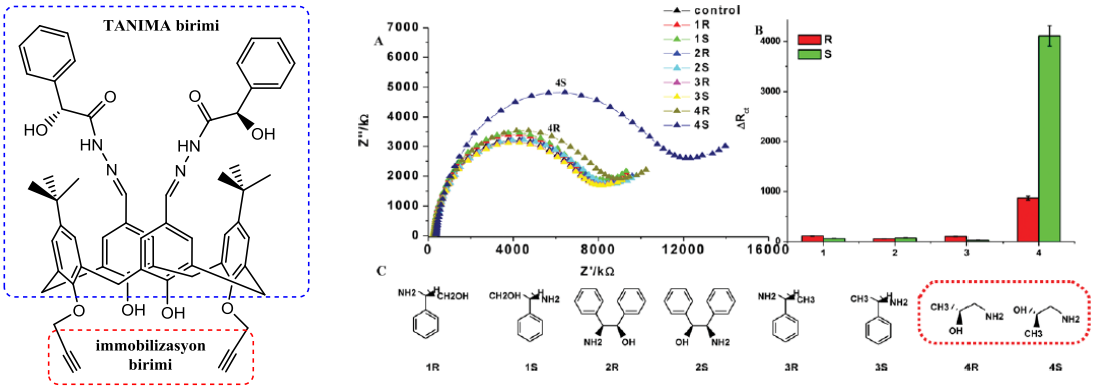
Yang ve arkadaşları (2018), setil-trimetilamonyum bromürü (CTAB), iyon-dipol etkileşimleri yoluyla kiral kaliks[4]arene(CCA) bağlamış ve daha sonra kendiliğinden toplanmış CCA-CTAB'den elektrokimyasal bir kiral ara-yüz (interface) oluşturmuşlardır. Elde ettikleri bu ara-yüz ile triptofan (Trp) izomerlerinin çok etkin bir şekilde tanınmasını sağlamışlardır. Ek olarak, elde edilen elektrokimyasal kiral arayüz,

Trp izomerlerinin rasemik bir karışımında *L*- ve *D*-Trp'nin hassasiyet seviyelerini analiz etmek için kullanılmıştır (Yang ve ark., 2018) (Şekil 1.14).



Şekil 1.14. (A) Sentezlenen kiral kaliks[4]aren bileşiği, (B) CCA-CTAB/GCE ile birleştirilen triptofan izomerlerinin (*L*- ve *D*-Trp) seçicilikle ayrıldığı diferansiyel pulse voltammogramı (GCE: Cam karbon elektrot)

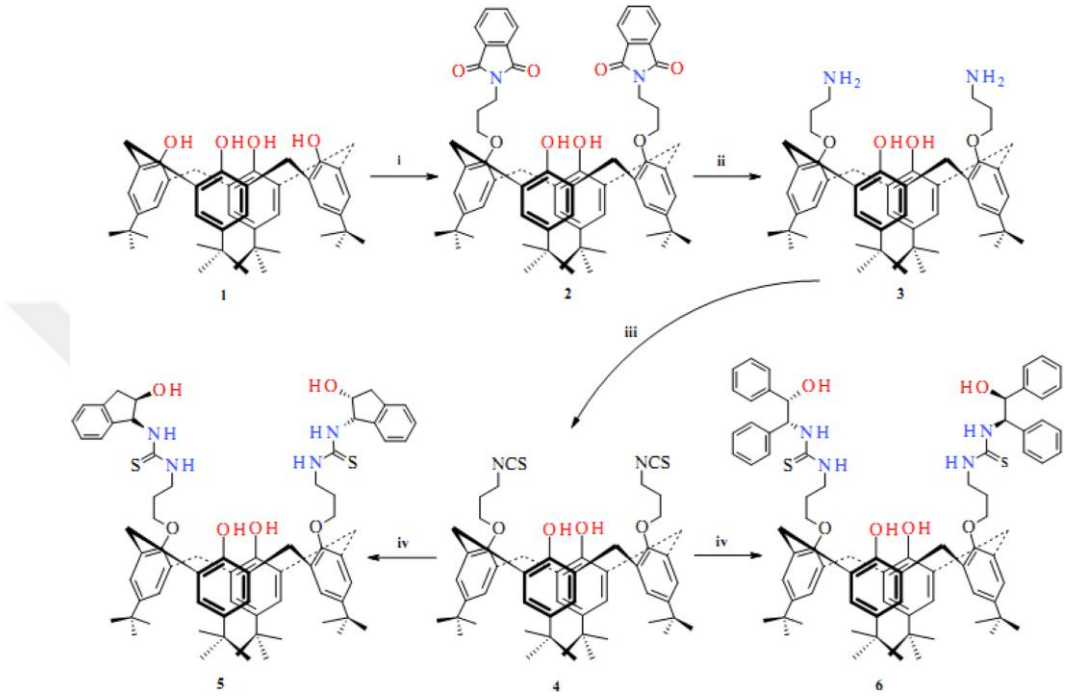
Mao ve arkadaşları (2015), amino propanol enantiyomerleri için etkin bir kiral ayırma sistemini *R*-mandelik asit türevli kaliks[4]areni grafene Click reaksiyonu ile bağlayarak oluşturmuşlardır. Fonksiyonel açıdan pek çok avantaj sağlayan bu yapı, bir serum örneğinde nano molar seviyesinde bir tespit limitine ulaşmış ve amino propanol enantiyomerlerinin tanınmasına karşı son derece yüksek hassasiyet ve seçicilik göstermiştir (Mao ve ark., 2015) (Şekil 1.15).



Şekil 1.15. Enantiomerleri ayırmada kullanılan kaliks[4]aren türevi ve çeşitli amino propanol türevlerinin seçicilikle ayrıldığı GC elektrotunda $Fe(CV)_6^{3-/4-}$ iç direnç cevap grafik/tablo şekilleri

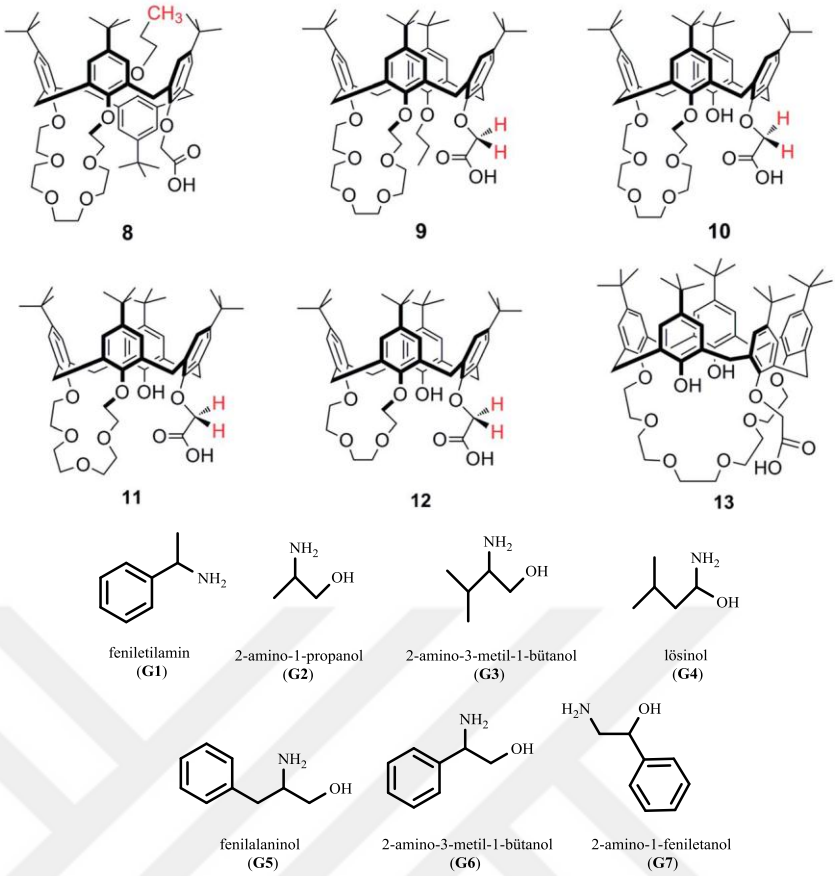
Bozkurt ve arkadaşları (2016), yeni kiral kaliks[4]aren tiyoüre türevlerinin sentezini gerçekleştirerek elde ettikleri kiral reseptörlerin enantioselektifliğini UV-Vis spektroskopisi kullanarak araştırmışlardır (Şekil 1.16). Tüm kiral kaliks[4]aren türevleri, α-hidroksi izovalerik asit, mandelik asit, 2-kloromandelik asit ve N-Boc-

alanin enantiomerlerine karşı belli bir kiral tanıma sergilemiştir. Hidrojen bağlama bölgelerine ve aromatik gruplara sahip olan reseptörler, önemli ölçüde daha yüksek stereoseçimlilik göstermiştir. Sentezlenen kaliks[4]aren 2-hidroksi-1,2-difenileter tiyoüre türevinin, 25°C'de 2-kloromandelik asit için enantiyomerik ayırt etme özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Bozkurt ve ark., 2016).



Şekil 1.16. Kiral kaliks[4]aren tiyoüre bileşiklerinin sentez şeması

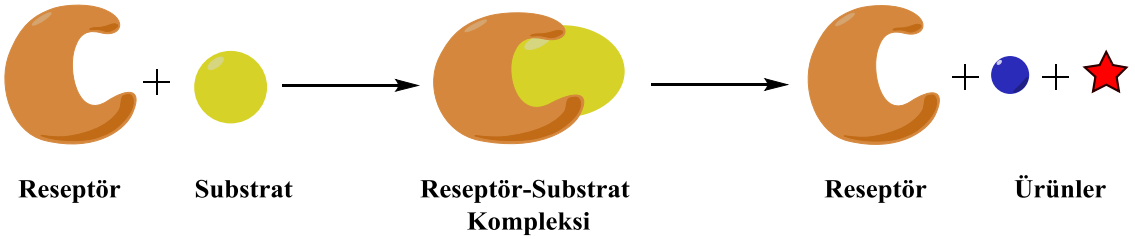
Yang ve arkadaşları (2014), çeşitli, doğal olarak kiral yapıda olan kaliks-crown karboksilik asitlerin kiral aminoalkollere karşı kiral tanıma kabiliyetini değerlendirmek için çalışmalar yapmışlardır. ^{1}H NMR titrasyon deneyleri, her biri bir fenolik hidroksil grubuna sahip olan, doğal olarak kiral kaliks-crown karboksilik asitlerin, tamamen alkillenmiş kaliksaren türevlerine üstün bir kiral tanıma kabiliyetine sahip olduğunu göstermiştir. Özellikle, kiral kaliks[4]crown-6 karboksilik asit türevli bileşiğin (10 nolu) 2-amino-3-metil-1-butanol (G3) ve 2-amino-2-feniletanol (G6)'ya karşı önemli enantioseçicilik göstermiştir. Job grafikleri, bu bileşik ve G3/G6'nın her iki enantiyomerinin 1:1 anlık kompleksler oluşturduğunu doğrulamış ve DFT hesaplamaları da konak-konuk komplekslerinde çoklu hidrojen bağlarının varlığını ortaya çıkarmıştır (Yang ve ark., 2014) (Şekil 1.17).



Şekil 1.17. Yapısı gereği kiral özellikte olan sentezlenmiş kaliks[4]aren bileşikleri ve kiral seçicilik çalışmaları yapılan aminoalkoller

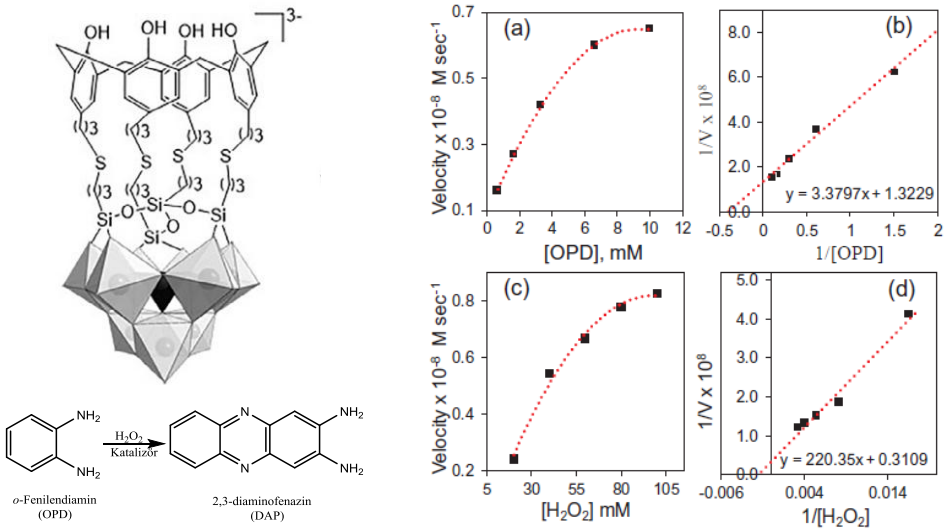
1.7.2. Enzim mimik katalizörleri olarak kaliksarenlerin kullanımı

Gutsche tarafından 1970'lerde ileriye sürülen bir fikirden yola çıkılarak, yapılacak uygun bir fonksiyonlandırmayla kaliksarenler, potansiyel enzim mimik veya kompleksleşme özelliği kazanabilmektedir (Gutsche, 1983b). Enzim mimik yapısının temeli, enzimlerin aktif bölgesine benzer olan kaliksaren bazlı sentetik bir model oluşturmaya dayanmaktadır. Bu modelde enzim, diğer fonksiyonel gruplarla beraber bağlanan substratlar için bir boşluk meydana getirir ve böylece substratlarla gerçekleşen etkileşim, katalitik olarak substratların ürünlere dönüşmesini sağlamış olur (Şekil 1.18) (Breslow, 1995).



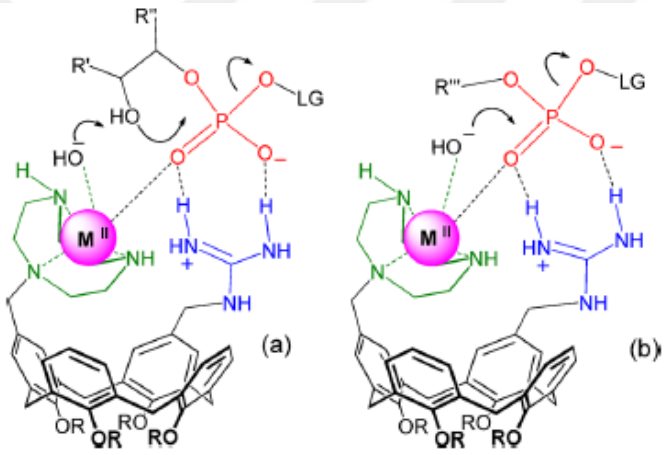
Şekil 1.18. Fonksiyonlaştırılmış kaliksarenler üzerinde enzim modellerinin şematik gösterimi

Narkhede ve arkadaşları (2018), kovalent bağlı trilakunary fosfotungstat ve kaliksaren konjugat (POM-Kaliks hibrit) bazlı bir inorganik-organik hibriti, basit Click kimyası kullanarak sentezlemiştir. Oluşturulan POM-Kaliks hibrit, model substrat olarak kullanılan *o*-fenilendiaminin oksidasyonu için peroksidaz benzeri bir aktivite göstermiştir. Kullanılan POM-Kaliks hibrit yapının aktivitesi, basit POM ile görülenden % 170 daha büyük olmuş ve bu, kovalent olarak bağlanmış kaliksaren konjügatıyla hidrofobik karakterin eklenmesine bağlanmıştır. Kinetik çalışmalardan, Michaelis sabitleri K_m ve V_{max}'ın sırasıyla 2.55 mM ve 0.756×10^{-8} M.s^{-1} olduğu tespit edilmiştir. POM-Kaliks hibridinin, hidrojen peroksit ile etkileştirildiğinde %OH radikallerinin oluşumunu kolaylaştırdığı ve sonuç olarak substratın oksidasyonu ile sonuçlandığı gözlenmiştir. POM-Kaliks hibrit, geniş bir pH aralığında mükemmel bir enzim benzeri aktivite sergilemiş, bu da fizyolojik koşullarda biyo-uygulamalara olanak tanıyacağını düşündürmüştür (Narkhede ve ark., 2018) (Şekil 1.19).



Şekil 1.19. Oluşturulan POM-Kaliks hibriti ile enzim aktivitesinin ölçüldüğü reaksiyon ve bu reaksiyonlardan elde edilen Steady-State kinetik grafikleri (a ve c) ve Michaelis-Menten denklemiyle enzim kinetik parametrelerinin hesaplandığı lineer formdaki kinetik grafikleri (b ve d)

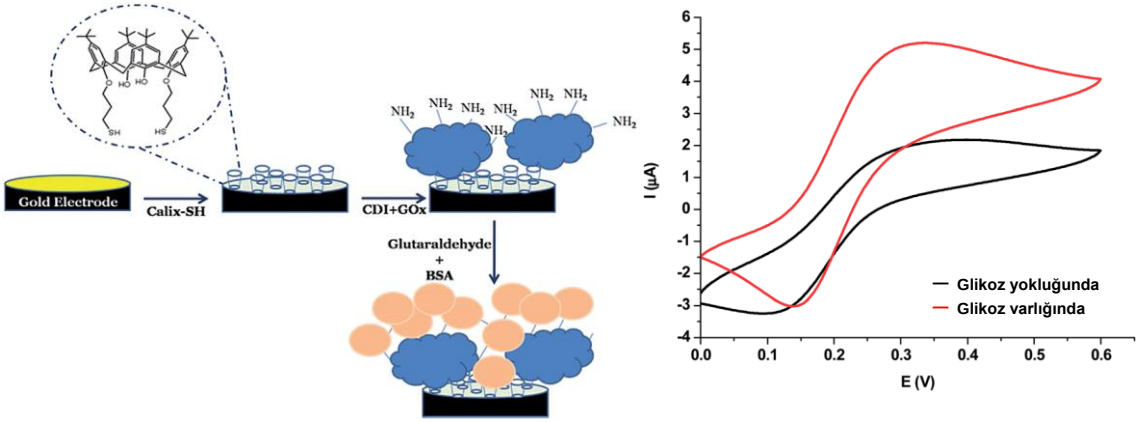
Salvio ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları bir çalışmada, 1,2-vijinal kaliks[4]arene guanidin gruplarını bağladıktan sonra merkezine bir metal iyonu (Cu^{2+} ve Zn^{2+}) yerleştirerek oluşturdukları yapay fosfodiesterazın katalitik aktivitesini, 2-hidroksipropil *p*-nitrofenil fosfat (HPNP) ve dört tane diribonükleosit 3′,5′-monofosfat RNA modelinin transesterifikasyonunda incelemişlerdir (Şekil 1.20). Ayrıca DNA modeli olarak bis(*p*-nitrofenil) fosfatın (BNPP) kırılmasındaki etkiler de incelenmiştir ve hem Zn^{2+} hem de Cu^{2+} komplekslerinin, her iki durumda da iyi katalitik etkinlik sergilediği gösterilmiştir. Elde edilen veriler, 0.5 mM katalizör konsantrasyonunda en iyi katalizör−substrat kombinasyonları için hız oranlarının, HPNP için 3.6×10^5 kat, BNPP için 1.1×10^6 kat ve diribonükleosit monofosfatlar için 1.3×10^6 ila 1.3×10^7 kat aralığında olduğunu göstermiştir (Salvio ve ark., 2016).



Şekil 1.20. RNA modellerinin transesterifikasyonu ve DNA modelinin hidrolizi için önerilen mekanizma (a ve b)

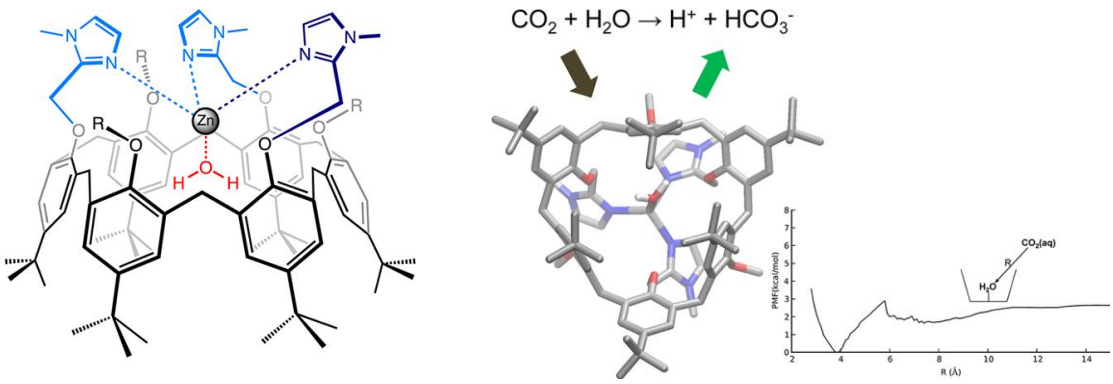
Demirkol ve arkadaşları (2014), amperometrik bir glikoz oksidaz (GOx) biyosensörünü, immobilizasyon matriksi olarak kaliksarenleri kullanarak elde etmişlerdir. Öncelikle, tiyol içeren kaliksarenler (Kaliks-SH) sentezlenmiş, daha sonra altın yüzey üzerinde Kaliks-SH'nin kendiliğinden bir araya getirilmiş mono-katmanları (SAM'lar) oluşturulmuş ve 1,10-karbonildiimidazol (CDI) kullanılarak Kaliks-SH'nin hidroksil grupları aktive edilmiştir. Kaliks-SH modifiye yüzeylerin biyosensör olarak kullanılabilirliğini test etmek için, model biyolojik bileşen olarak glikoz oksidaz kullanılmıştır. Hazırlık ve çalışma koşullarının optimizasyonundan sonra, elde edilen sonuçlar Kaliks-SH/GOx biyosensörünün 25 saniye tepki süresi ile glikoz için 0.1-1.0

mM (LOD: 0.015 mM) aralığındaki bir lineer orana sahip olduğunu göstermiştir (Demirkol ve ark., 2014) (Şekil 1.21).



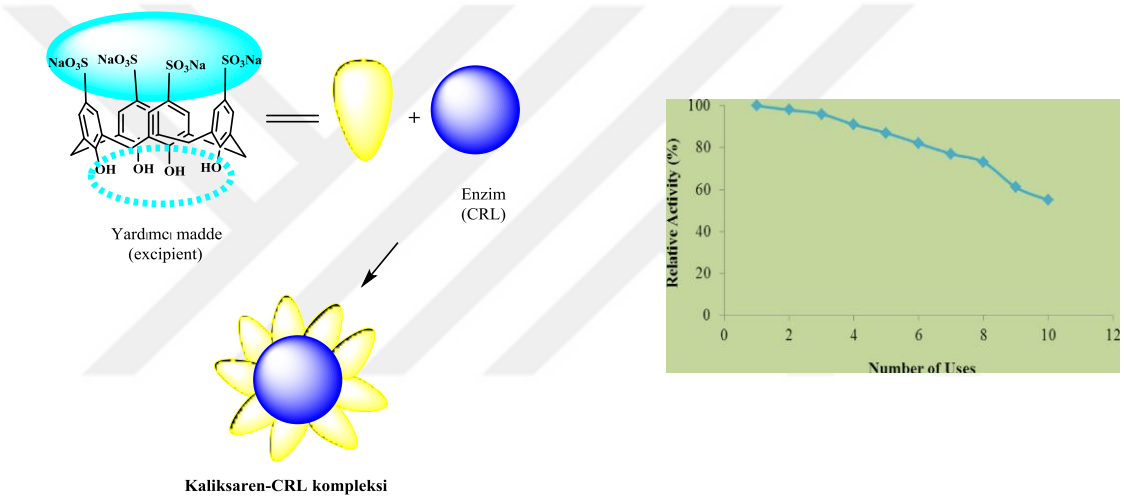
Şekil 1.21. Kaliks-SH/GOx biyosensörünün sentez şeması ve glikoz varlığında/yokluğunda elde edilen siklik voltametri (CV) grafiği

Koziol ve arkadaşları (2013), karbon dioksidin su ile katalizlenmesinde kullanmak amacıyla bir biyomimetik model olarak, supramoleküler tris(imidazolil)kaliks[6]aren-Zn^{2+}-H_2O kompleksini sentezlemişler ve moleküler dinamik (MD) simülasyonları ile kuantum-mekanik hesaplamaları kullanarak karbonik anhidraz biyomimetiği olup olmadığını incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlar, Zn-bağlı kaliks[6]aren yapısının, hem çözeltiden tercihen CO_2'yi kapsülleme hem de reaktif türlerin boşluğun içinde konumsal olarak sabitlenmesi açısından CO_2 hidrasyon katalizi için potansiyel sentetik biyomimetik olabileceğini göstermiştir (Koziol ve ark., 2013) (Şekil 1.22).



Şekil 1.22. Tris(imidazolil)kaliks[6]aren-Zn^{2+}-H_2O kompleksi ve karbonik anhidraz biyomimetiği olarak sonuç verdiği potansiyel-ortalama-kuvvet (PMF) hesaplamalarıyla elde edilen grafik

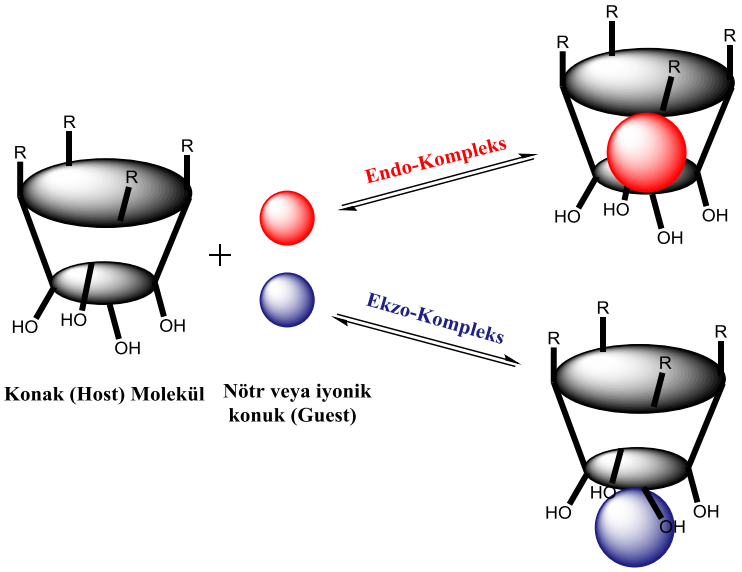
Veesar ve arkadaşları 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada, suda çözünebilir kaliks[4]aren türevinden ve *Candida rugosa* lipazdan (CRL) yardımcı-CRL kompleksini oluşturmuş ve sterik ve difüzyon sınırlamalarından bağımsız olarak yeniden kullanılabilir bir enzim formu olduğunu tespit etmişlerdir (Şekil 1.23). Yardımcı-CRL, Tris-HCI tamponu içinde 50 mM *p*-nitrofenil palmitatın (*p*-NPP) geniş bir sıcaklık aralığında, yani 30-80°C'de hidrolizini gerçekleştirmiş ve karıştırılmış koşullar altında bile kararlı kalarak aktivitesinde kayıp olmamış, birçok kez tekrar kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Sonuç olarak, yardımcı-CRL, yeniden kullanılabilirliği açısından *p*-NPP'nin hidrolizi için serbest CRL'den daha aktif bulunmuştur (Veesar ve ark., 2013) (Şekil 1.23).



Şekil 1.23. Kaliksaren-CRL kompleksinin oluşum şeması ve enzimsel aktivitenin uzun süre korunduğunu gösteren stabilite grafiği

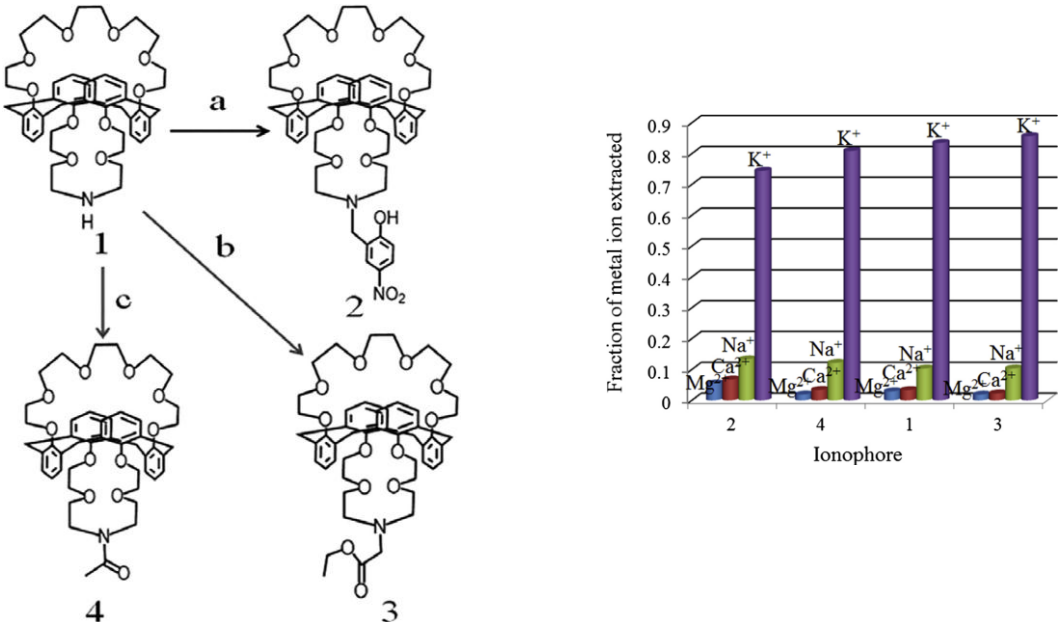
1.7.3. Molekül / iyon taşıyıcı olarak kaliksarenlerin kullanımı

Kaliksarenler, yapıları farklı konuk moleküllerin yerleşebileceği boşluklara sahip olduğundan, hem katı fazda hem de çözeltide katyon, anyon ve nötral bileşiklerle kompleks yapabilme özelliğine sahiptir. Bu nedenle molekül ve iyon taşıyıcı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Asfari ve ark., 2001). Şekil 1.24'de bu bileşiklerin *endo*- ve *ekzo*-tipindeki kompleksleri görülmektedir.



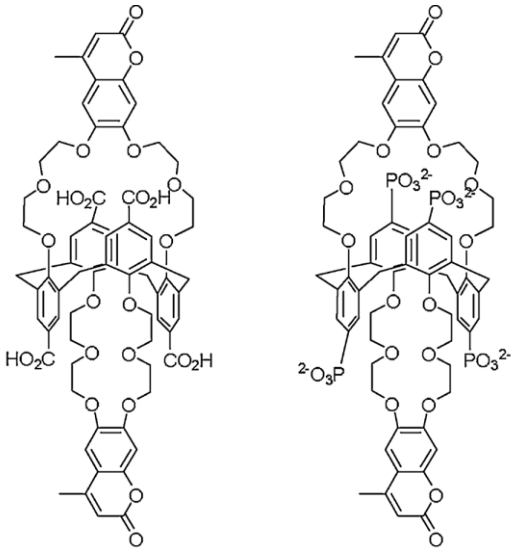
Şekil 1.24. Kaliks[4]sarenlerin çeşitli konuklarla oluşturduğu kompleks yapılar

Ramakrishna ve arkadaşları (2015), farklı sübstitüentler içeren crown yapısında kaliks[4]aren molekülleri sentezleyerek çeşitli alkali ve toprak alkali metal iyonlarına (Li^+, Na^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+} ve Sr^{2+}) karşı bağlanma özelliklerini incelemişlerdir (Şekil 1.25). Sentezlenen iyonoforlar K^+ iyonuna karşı çok yüksek bir seçicilik göstermiştir (Ramakrishna ve ark., 2015).



Şekil 1.25. Sentezlenen crown yapısında kaliks[4]aren iyonoforları (1-4) ve çeşitli metal iyonlarıyla yapılan ekstraksiyon sonuçlarından elde edilen bar grafiği

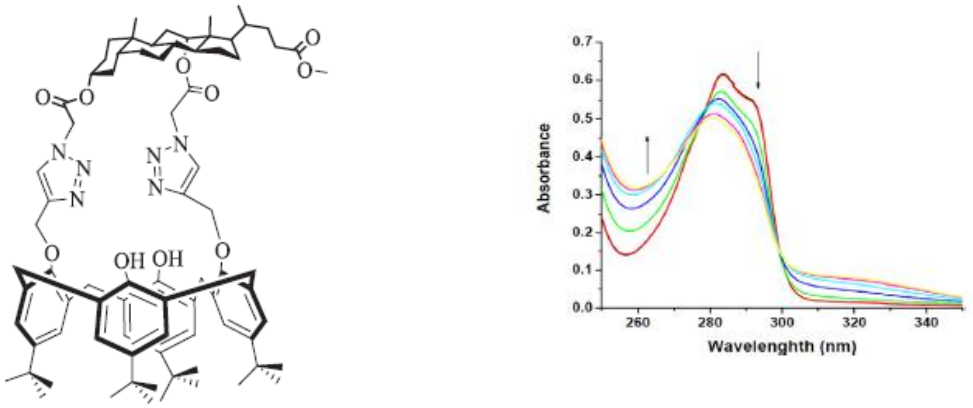
Pham ve arkadaşları (2018), kumarin üniteleri bağlı kaliks[4]aren bis(crown-6) yapısında iki yeni floresans kemosensör sentezleyerek sudaki sezyum iyonunun analizinde kullanmışlardır (Şekil 1.26). Sensörlerin fotofiziksel ve kompleksleşme özellikleri absorpsiyon ve floresans spektroskopileri ile DFT hesaplamaları yapılarak incelendiğinde, her iki ligantın da potansiyel olarak araya girebilme özelliğinde olan katyonlar arasında (Na^+, Li^+, K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}) sadece Cs^+ iyonuna karşı mükemmel bir seçicilik gösterdiği gözlenmiştir (Pham ve ark., 2018) (Şekil 1.26).



Bileşik 1 Bileşik 2

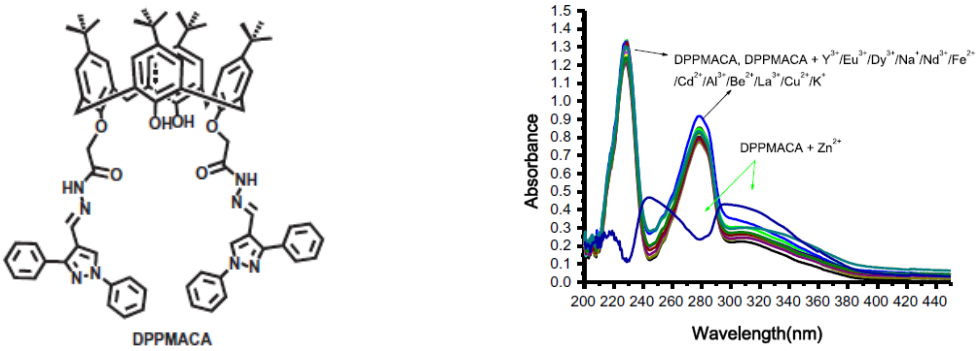
Şekil 1.26. Cs^+ iyonu ile kompleksleşme davranışı incelenen kaliks[4]aren türevleri

Jaiswal ve arkadaşları (2017), safra asiti ve kaliks[4]arenden oluşan yeni bir hibrit makrosiklik reseptör sentezleyerek metal tanıma özelliklerini incelemişlerdir (Şekil 1.27). Reseptör asetonitril içinde Hg^{2+} ile 1:1 stokiyometrik oranda kompleksleşme yaparak, bu iyona karşı oldukça yüksek bir afinite göstermiştir (Jaiswal ve ark., 2017).



Şekil 1.27. Sentezlenen triazol yapısındaki kaliks[4]aren bileşiği ve Hg^{2+} eklenerek kaydedilen UV-Vis. spektrumu

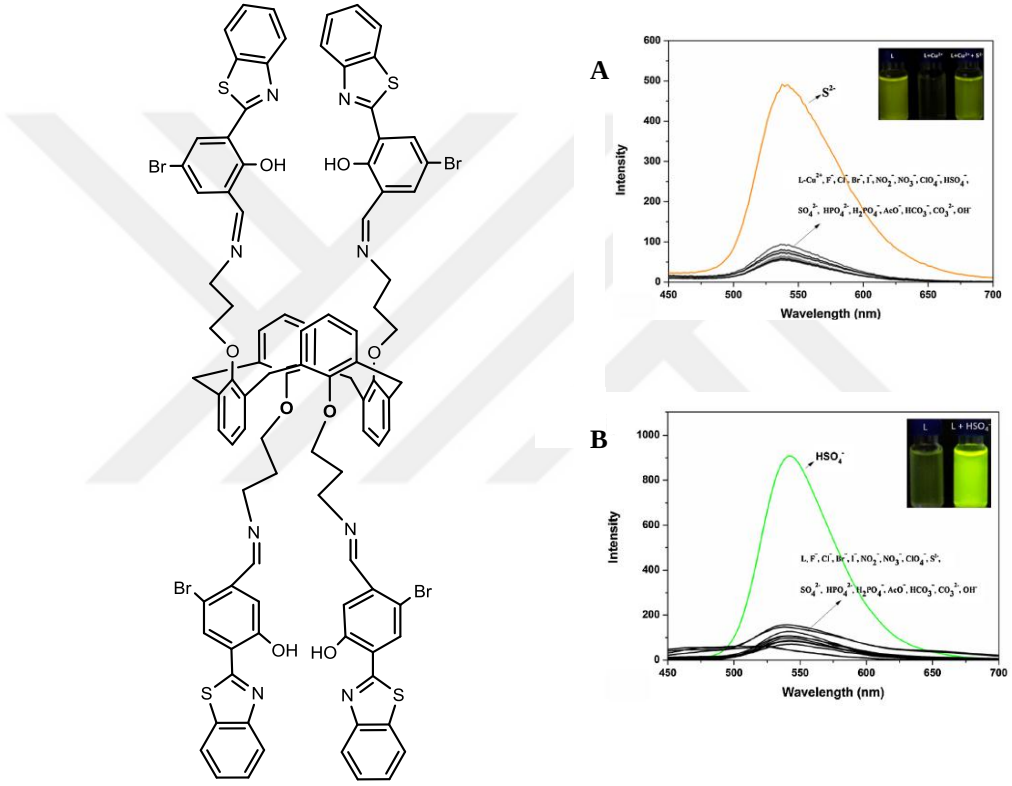
Mohan ve grubu (2018), bis-(1,3-difenil-pirazolilmetilenasetohidrazit)kaliks[4]aren (DPPMACA) molekülünü sentezleyerek bazı katyonlara karşı bağlanma yeteneklerini incelemişlerdir (Şekil 1.28). Reseptör seçici olarak Zn^{2+} ile etkileşime girmiş, UV-Vis. spektroskopisiyle yapılan deneylerden molekülün maksimum dalga boyunun batokromik etkiye uğrayarak 14 nm kaydığı belirlenmiştir. 1:1 stokiyometri oluşturduğu belirlenen reseptör-Zn^{2+} kompleksinin bağlanma sabiti de 6.438×10^{3} M^{-1} olarak bulunmuştur. Ek olarak bilgisayarlı çalışmalar; docking, moleküler dinamik simülasyonlar, yoğunluk işlem teorisi (DFT) ve zaman bağımlı yoğunluk işlem teorisi (TD-DFT) gerçekleştirilerek oluşan kompleksin detaylı özellikleri incelenmiştir (Mohan ve ark., 2018).



Şekil 1.28. Zn^{+2} iyonu ile etkileşime giren kaliksaren bileşiği ve çeşitli katyonlarla yapılan ekstraksiyon çalışmasından elde edilen UV-Vis. spektrumları

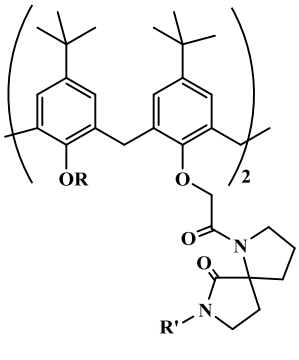
Erdemir ve arkadaşları (2016), benzotiyazol birimleri içeren 1,3-karşılıklı konformasyonda kaliks[4]aren türevi sentezleyerek karakterizasyonunu, ^{1}H NMR, ^{13}C

NMR, APT, NOESY, FTIR, elementel analiz ve UV-Vis. spektroskopisi teknikleri ile gerçekleştirmiştir. Bu molekülün katyon ve anyon bağlama yeteneği, çeşitli katyon ve anyonlar varlığında incelenmiş ve aşırı Cu^{2+} varlığında "on-off" tipi floresans cevabın oluştuğu belirlenmiştir. Cu^{2+} moleküle bağlandığı zaman oluşan kompleks kullanılan pek çok anyon arasından sadece sülfit iyonuna karşı yüksek bir hassasiyet göstermiş, "off-on" tipi floresans cevabın oluştuğu belirlenmiştir. Ayrıca molekül, 542 nm'de 10 kat floresan artışıyla birlikte gerçekleşen hidroliz reaksiyonu vasıtasıyla HSO_4^- iyonuna karşı özel bir cevap vermiştir (Erdemir ve ark., 2016) (Şekil 1.29).

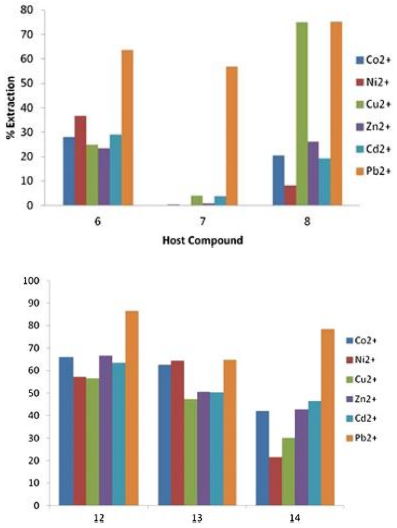


Şekil 1.29. Benzotiyazol türevli kaliks[4]aren bileşiği ve Cu^{2+} varlığında sülfit iyonuna (A), kendi başınayken HSO_4^- iyonuna (B) karşı gösterdiği "off-on" tipi floresans cevap

Ward ve arkadaşları (2015), prolin türevli spirolaktam grupları içeren kaliks[4]aren bileşiklerini sentezleyerek, çeşitli toksik ağır metal iyonlarıyla bağlanma özelliklerini incelemiştir (Şekil 1.30). Elde edilen sonuçlara göre, bileşiklerin tamamının toksik ağır metal iyonlarıyla iyi bir bağlanma gerçekleştirdiği belirlenmiştir (Ward ve ark., 2015).

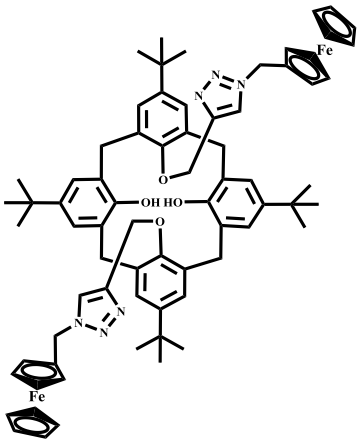


R = H, R' = $-CH_2CO_2CH_3$ (6)
$-CH_2CH=CH_2$ (7)
$-CH_2$-Ph (8)
R=Me, R' = $-CH_2CO_2CH_3$ (12)
$-CH_2CH=CH_2$ (13)
$-CH_2$-Ph (14)

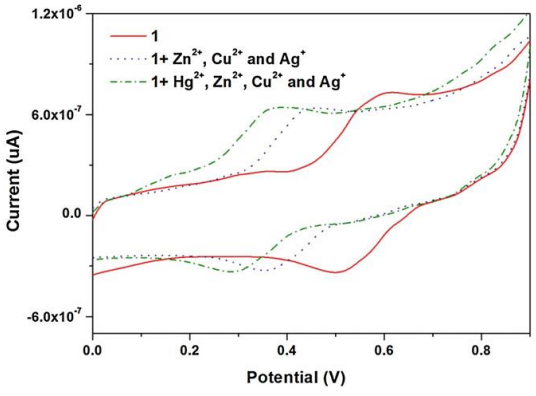


Şekil 1.30. Spirolaktam türevli kaliks[4]aren bileşikleri ve çeşitli ağır metal iyonlarıyla gerçekleştirilen pikrat ekstraksiyonu sonuçları

Saravanan ve arkadaşları (2017), yeni bir sınıf *p-ter*-bütilkaliks[4]aren içeren triazolil ferrosen konjugatlarını, Click reaksiyonunu kullanarak iyi bir verimle sentezlemiştir (Şekil 1.31). UV-Vis. spektrumunda emilim yoğunluğu, dendrimer oluşumunu arttırmış, ancak λ_{max} sentezlenen tüm dendrimerler için neredeyse sabit kalmıştır. Sentezlenen kaliksaren yapısındaki konjüge edilmiş ferrosenil dendrimerlerin Zn^{2+}, Cu^{2+} ve Ag^{+} varlığında, en düşük $2x10^{-5}$ M konsantrasyonda bile toksik Hg^{2+} iyonuna karşı afinite gösterdiği, siklik voltametri (CV) ve NMR titrasyon çalışmaları ile ortaya çıkmıştır (Saravanan ve ark., 2017).

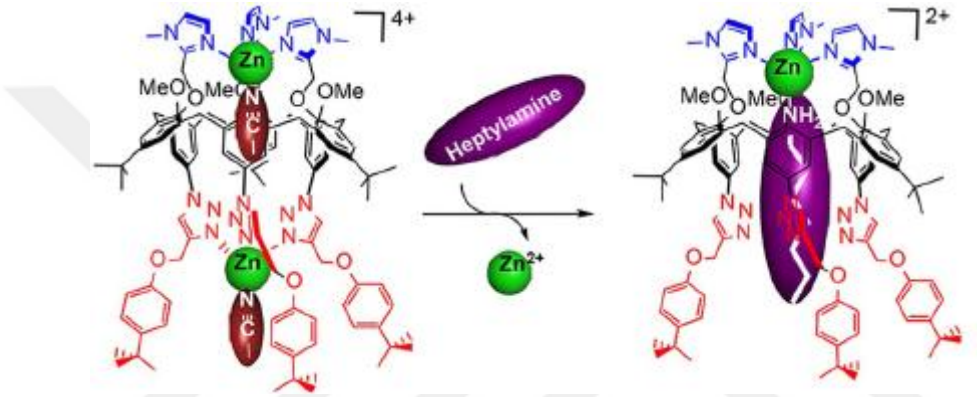


1



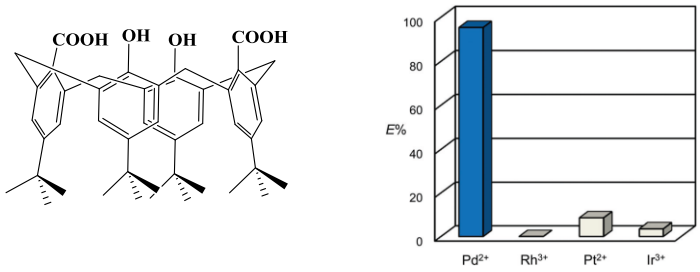
Şekil 1.31. Hg^{2+} iyonuna karşı yüksek bir afinite gösteren *p-ter*-bütilkaliks[4]arenli triazolil ferrosen bileşiklerinden biri ve bu bileşiğin çeşitli katyonlar varlığında Hg^{2+} iyonuna karşı afinite gösterdiği CV grafiği

Remy ve arkadaşları (2017), lower rimde üç imidazol kolu ve upper rimde üç kinolin floroforu bağlı bir kaliks[6]aren türevi sentezlemiş ve karakterize etmişlerdir. Zn^{2+} iyonunun eklenmesiyle birlikte iki aşamalı bir koordinasyon dizilimi gözlenmiştir. İlk Zn^{2+} merkezi, tris-imidazol küçük kenar bölgesine bağlanmış ve sadece floresanın küçük bir pertürbasyonuna yol açmıştır. Bunun tersine, Zn^{2+} iyonunun kinolin floroforları ile doğrudan etkileşimi sonucunda, ikinci Zn^{2+} merkezinin, geniş kenara bağlanması üzerine büyük bir batokromik kayma gözlemlenmiştir. Bu sistem birincil aminler için floresans sinyal oluşturararak seçici bir reseptör gibi davranmıştır (Remy ve ark., 2017) (Şekil 1.32).



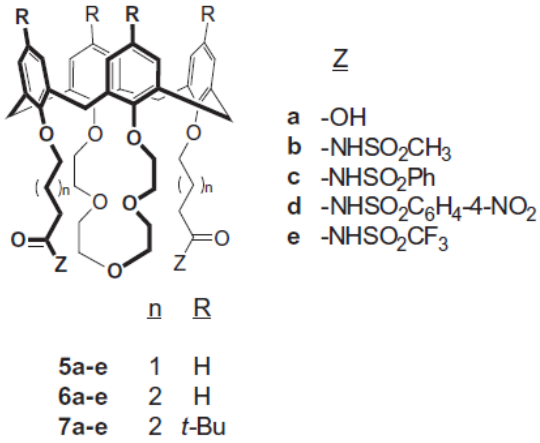
Şekil 1.32. Zn^{2+} iyonları içeren kaliks[6]aren kompleksinin heptil aminle oluşturduğu kompleksleşme modeli

Morohashi ve arkadaşları (2017), *p-ter*-bütilkaliks[4]aren dikarboksilik asit bileşiğini kullanarak çeşitli metal iyonlarına (Co^{2+}, Ni^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+}, Rh^{3+}, Pd^{2+}, Cd^{2+}, Ir^{3+}, Pt^{2+}, Au^{3+}) karşı bağlanma özelliklerini incelemiştir (Şekil 1.33). Bileşiğin Pd^{2+} iyonuna karşı yüksek bir seçicilik gösterdiği ortaya çıkmış ve oluşan kompleksin 2:2 (M/L) oranda oluştuğu X-ışını yapısal analizinden belirlenmiştir (Morohashi ve ark., 2017).



Şekil 1.33. Pd^{2+} iyonuna karşı yüksek bir afinite gösteren *p-ter*-bütilkaliks[4]aren bileşiği ve çeşitli metal iyonlarıyla yapılan ekstraksiyon yüzdeleri

Kang ve arkadaşları (2016), *p*-H-kaliks[4]aren-1,3-crown-5 ve *p-ter*-bütilkaliks[4]aren-1,3-crown-5 yapısında ligantlar sentezleyip yapılarını aydınlattıktan sonra çeşitli katyonlara karşı bağlanma özelliklerini ekstraksiyon metodu ile incelemişlerdir (Şekil 1.34). Elde edilen sonuçlar bileşiklerin tamamının Hg^{2+} iyonuyla iyi derecede kompleksleştiğini, sadece *p-ter*-bütil gruplu bileşiklerin ise Ba^{2+} iyonuna karşı iyi bir ekstraktant olduğunu göstermiştir (Kang ve ark., 2016).

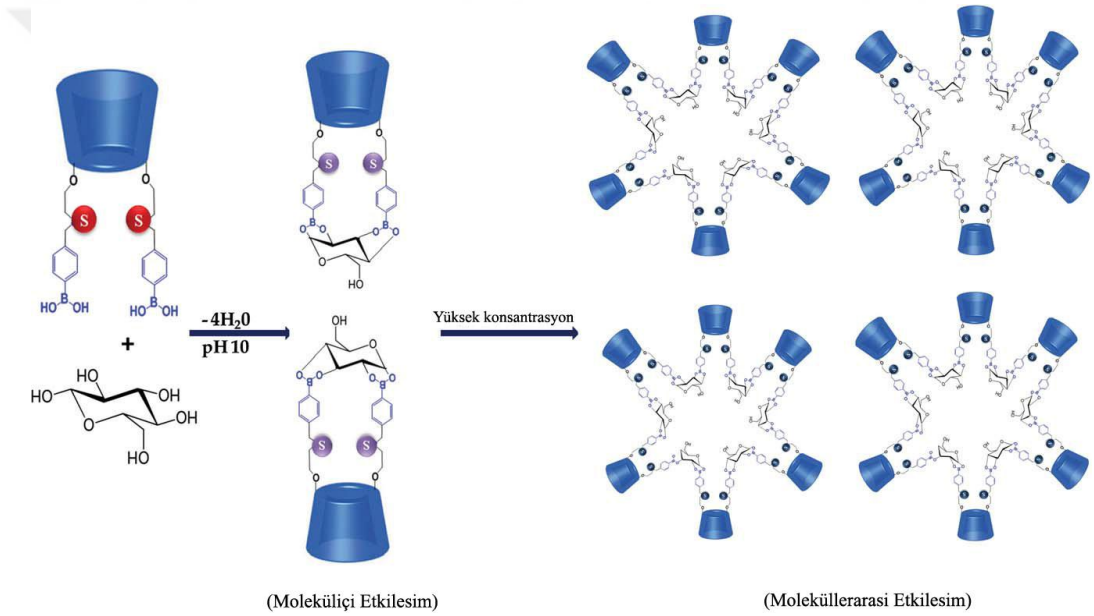


Şekil 1.34. Metallerle ekstraksiyon çalışmaları yapılan sentezlenmiş kaliksaren türevleri

1.7.4. Sensör (iyon selektif elektrot, ISE), membran/film ve nanofiber yapımında kaliksarenlerin kullanımı

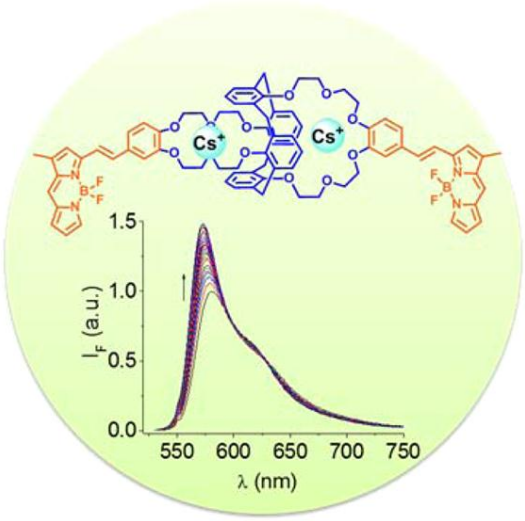
1990'lı yıllardan itibaren literatüre, kaliks[n]aren moleküllerinin çeşitli katyonlara, anyonlara ve nötral moleküllere karşı sensör gibi davranma özelliklerinin incelendiği pek çok çalışma kazandırılmıştır. Bununla birlikte membran ve film oluşturabilme özellikleri de araştırılan diğer özelliklerinden olmuştur. *p*-Pozisyonunda veya fenolik oksijende hidrofilik sübstitüent bulunduran kaliksaren türevlerinin sulu fazda tabaka oluşturabilme özellikleri bulunmaktadır. Bu tür bileşikler çapraz-bağlanma reaksiyonları sonucu tek ve çok tabakalı olarak kararlı hale getirilip (Markowitz ve ark., 1988) (Markowitz ve ark., 1989) Langmuir-Blodgett tekniği kullanılarak uygun taşıyıcılara dönüştürülebilmektedir (Brake ve ark., 1993) (Conner ve ark., 1993a; Conner ve ark., 1993b) Ayrıca, kaliksaren çok tabakalı polimerik taşıyıcı materyallere dönüştürülüp membranlar elde edilmektedir. Bu membranların gaz geçirgenliği, moleküler gözeneklerine göre ayarlanabilmektedir (Dedek ve ark., 1994).

Pandya ve arkadaşları (2013), kaliks[4]aren/fenil boronik asit (CX-PBA) içeren fonksiyonel altın nanopartikülleri (AuNPs) sentezleyerek glikozun kolorimetrik tespiti için yeni, basit ve enzimatik olmayan bir yaklaşım geliştirmişlerdir (Şekil 1.35). Bu moleküler reseptör, diol içeren bileşikleri tersine çevrilebilir şekilde bağlayabilme özelliğinden dolayı glikozu seçici olarak tanıma özelliği göstermiştir. Elde edilen nanopartikülün glikozu bağlama yeteneği transmisyon elektron mikroskobu (TEM), dinamik ışık saçılımı (DLS), UV-Vis., FTIR, ESI-MS ve ^{1}H NMR spektrometresi kullanılarak karakterize edilmiştir. Biyosensör, insan kan serumu numunelerindeki glikozu tespit etmek için başarılı bir şekilde uygulanmış ve sonuçlar otomatik bir analizör ile karşılaştırılmıştır (Pandya ve ark., 2013).



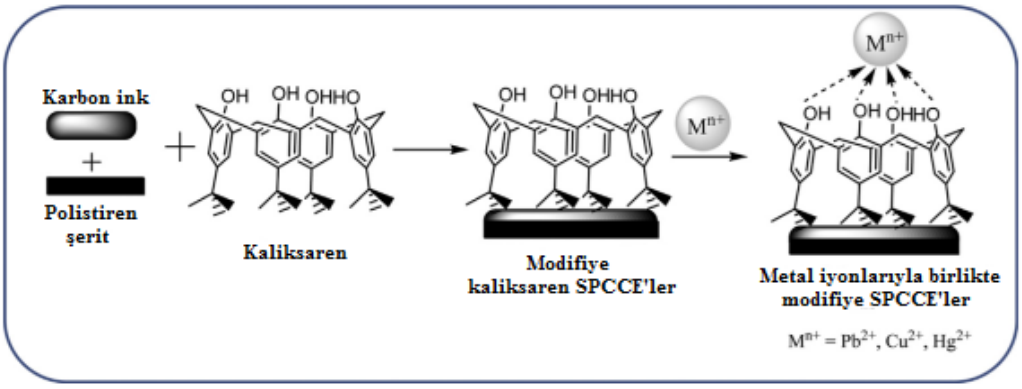
Şekil 1.35. *p*SC$_4$BA-AuNPs ve glikoz arasındaki spesifik molekül içi veya moleküller arası etkileşime bağlı olarak pano-segregasyon yoluyla *p*SC4BA ile modifiye edilmiş AuNP'lerin glikoza bağlanmasının şematik gösterimi

Depauw ve arkadaşları (2015), sinyalizasyon birimi olarak bir kaliks[4]aren biscrown-6 eter ve sinyalleşme birimi olarak BODIPY türevi içeren yeni floresan moleküler sensörler sentezlemiş ve fotofiziksel özelliklerini araştırmışlardır. Bu sensörlerin, potasyum ve sezyum katyonları ile kompleksleşme özelliklerini, hem kararlı durum hem de zaman çözümlü floresans yöntemlerini kullanarak incelemişlerdir (Depauw ve ark., 2015) (Şekil 1.36).



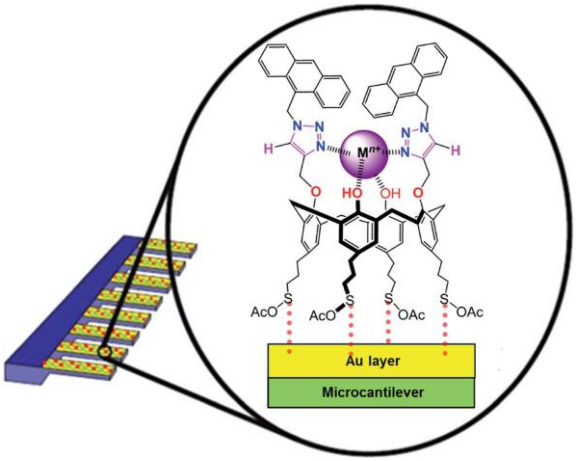
Şekil 1.36. Sentezlenen BODIPY türevli floresans kaliksaren molekülünün Cs^+ ile oluşturduğu kompleks ve Cs^+ ilavesiyle floresans şiddetin artışını gösteren emisyon spektrumu

Adarakatti ve arkadaşları (2017), kaliksaren yığınlarıyla modifiye edilmiş screen-printed elektrotlarını (SPCCE) tasarlayıp ürettikten sonra bu elektrotları çevresel numuneler içinde bulunan toksik metal iyonlardan Pb^{2+}, Cu^{2+} ve Hg^{2+} iyonlarının eşzamanlı ölçümü için tek kullanımlık elektrokimyasal sensörler olarak kullanmışlardır (Adarakatti ve ark., 2017) (Şekil 1.37).



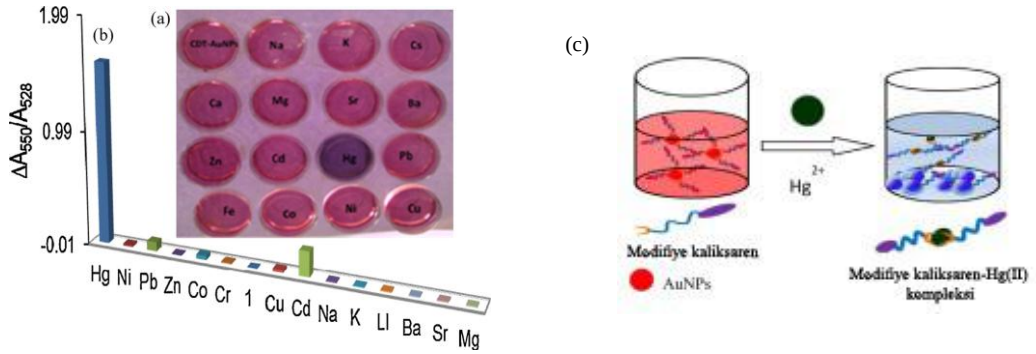
Şekil 1.37. Toksik metal iyonlarının tespitinde kullanılan SPCCE'nin oluşturulması ve yüzeyinde bulunan kaliksaren ile metal iyonlarının bağlanma ve kompleksleştirme biçiminin şematik temsili

Alodhayb ve arkadaşları (2016), triazolil bağlı antrasenil ve 3-propiltiyoasetat gruplarıyla fonksiyonelleştirilmiş, çift-modlu bir kaliks[4]aren sentezlemiş ve bu yeni kaliks[4]areni, çok-dizili bir mikro-cisim aletinde Au üzerine bağlayarak etkili bir SAM (self-assembly monolayer/kendi kendini monte eden tek tabaka) oluşturmuştur (Şekil 1.38). Elde edilen SAM, düşük Hg^{2+} konsantrasyonlarında bile, duyarlı bir reseptör olarak işlev göstermiştir (Alodhayb ve ark., 2016).



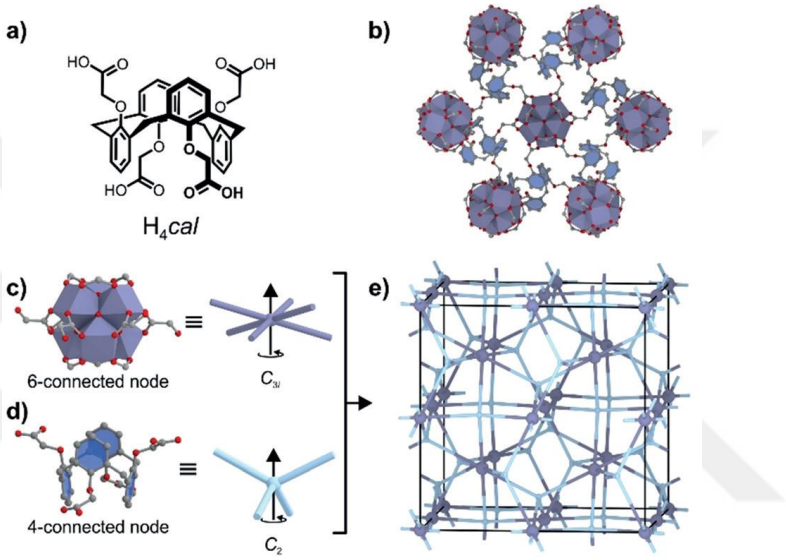
Şekil 1.38. Kaliks[4]aren türeviyle oluşturulan mikro-dizinin şematik gösterimi ve metal iyonuyla etkileşme modeli

Maity ve arkadaşları (2014), ditiyokarbamat türevli kaliksaren ile fonksiyonlandırılmış suda çözünür altın nanoparçacıklarını hazırlamışlar ve bu malzemenin sulu ortamda metal iyonları için kolorimetrik sensör olarak uygulanması için kolay bir yol rapor etmişlerdir (Şekil 1.39). Bu malzeme, sulu ortamda çok sayıda metal iyonunun varlığında Hg^{2+} iyonunu çıplak gözle algılanabilen keskin bir renk değişikliğiyle seçici olarak tespit etmiştir. Kullanılan diğer metal iyonlarından anlamlı bir etkileşimin olmadığı gözlenmiştir. Optimum koşullar altında, Hg^{2+} için, 40 ppb tespit limiti ile 0.2 µM-100 µM konsantrasyon aralığında dinamik bir cevap gözlenmiştir. Pratik uygulamalar için, bu yeni malzeme içme suyundaki Hg^{2+} iyonunun tespiti için başarıyla test edilmiştir (Maity ve ark., 2014) (Şekil 1.39).



Şekil 1.39. (a) DTCC-AuNP'lerin çeşitli metal iyonları varlığında çekilen fotografik görüntüleri (b) Çeşitli metal iyonlarının eklenmesinden sonra DTCC-AuNP'lerin UV-Vis. spektral değişikliklerinden elde edilen çubuk diyagramı (c) DTCC-AuNP'lerin Hg^{2+} eklendikten sonra gözlenen renk değişiminin görselleştirilmiş hali

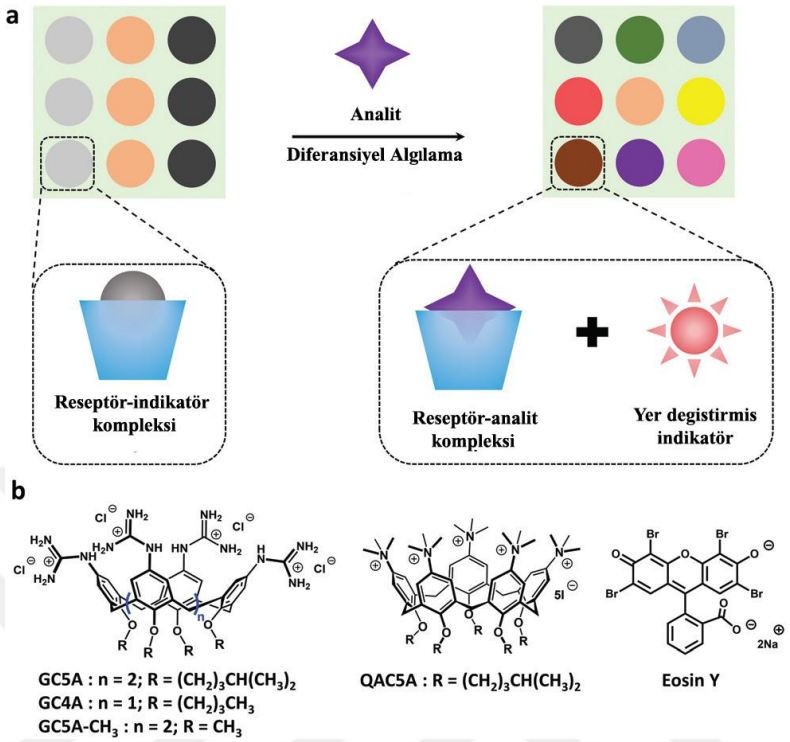
Schulz ve ark. (2018), 1,3-karşılıklı-25,26,27,28-tetrakis[(karboksi)metoksi] kaliks[4]aren içeren zirkonyum kompleksini sentezleyerek, tek kristalli X ışını kırınımı ile karakterize etmişlerdir. Elde edilen metal-organik yapıyı (MOF), NO_2'nin görsel tespiti ve kapsüllenmesi için kullanmışlardır. Yüksek derecede seçici kompleks, UV-Vis. ve IR spektroskopisi ile analiz edilmiş ve malzemenin stabilitesi, toz X ışını kırınımı ve ^{1}H NMR spektroskopisi ile doğrulanmıştır. Kompleks, ev yapımı bir sensör hücresinde sensör malzemesi olarak kullanılmış ve NO_2 için yüksek hassasiyet gösterdiği belirlenmiştir (Schulz ve ark., 2018) (Şekil 1.40).



Şekil 1.40. (a) Çalışmada kullanılan kaliksaren molekülü (b) Yeni MOF'un kristal yapısının bir kısmı $[Zr_6O_4(OH)_4(FA)_6]_2^-$-(*cal*)$_3$ FA:Format (c ve d) IBU (İnorganik oluşum birimi) ve bağlayıcının yapısal temsili (karanlık mavi polihedra: Zr; kırmızı: oksijen; gri: karbon) ve onların bağlantı düğümleri ile gösterilen sadeleştirilmiş hali (e) MOF'un temel topolojisi

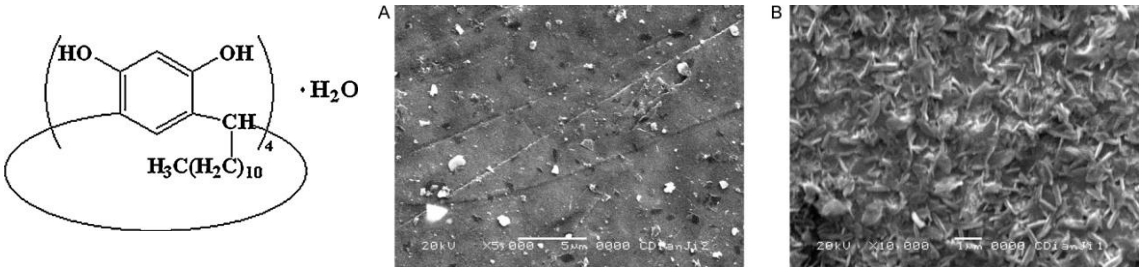
Zheng ve arkadaşları (2018), glikozaminoglikanları (GAG'lar) optik yöntemlerle ayırma zorluğundan yola çıkarak, yeni bir floresan yer değiştirme algılama dizisi tasarlamışlardır. Algılayıcı dizi, dört adet pozitif grup içeren kaliksaren türevinin reseptör olarak davrandığı ve raportör boya olarak eozin Y'nin olduğu dört raportör çiftinden oluşturulmuştur. Kaliksarenlerin kompleksleşmesi, boyanın floresansını söndürmekte ve böylece analitlerin yarışmalı olarak kompleksleşmesi, floresan rejenerasyonuna yol açarak, switch-on algılamasına sebep olmaktadır. Dört raportör çiftinin glikozaminoglikanlara doğru hareket etmesiyle indikatör yer değiştirmiş ve her bir GAG için farklı bir floresan cevap oluşmuştur. Daha sonra gerçekleştirilen

kemometrik analiz, GAG'ların floresan seçiciliğini iyi bir şekilde sergilemiştir (Zheng ve ark., 2018) (Şekil 1.41).



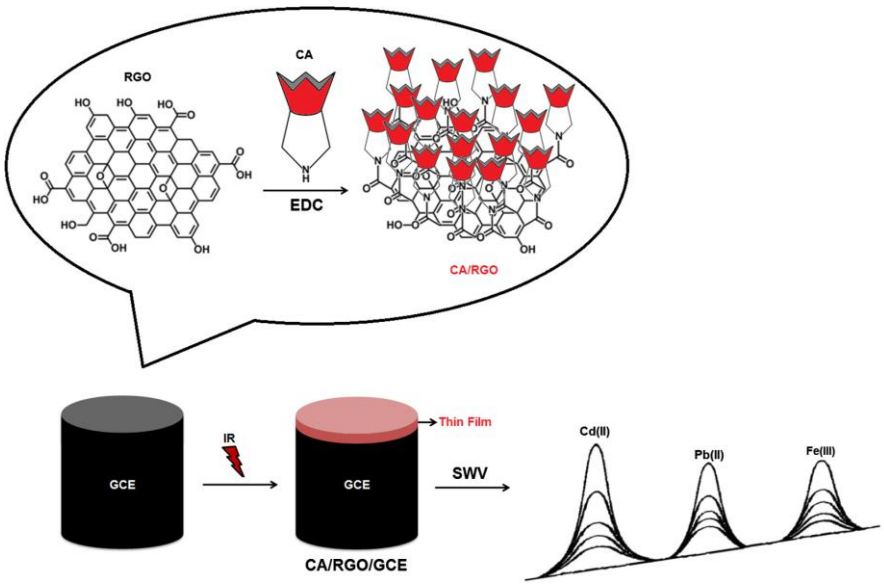
Şekil 1.41. (a) Çoklu reseptör çiftleri kullanılarak IDA (indikatör yer değiştirme analizi) stratejisinin ve diferansiyel algılamanın özet şekli (b) Kullanılan kaliksaren konakçıların ve raportör boyası eozin Y'nin (EY) kimyasal yapıları

Wang ve arkadaşları (2013), serotonine afinitesi olan seçici bir elektrokimyasal sensörü, moleküler reseptör C-undesilkaliks[4]rezorsinaren filmini, elektron transferi güçlendiricisi cam karbon elektrota (ön işleme tabi tutulmuş) (GCE) entegre ederek oluşturmuşlardır. Modifiye elektrotta serotoninin elektrokimyasal davranışı, pH 7.0 fosfat tamponu çözeltilerinde siklik voltametri (CV), kare dalga voltametri ve kronokarometri ile incelenmiştir. Çıplak GCE ile karşılaştırıldığında, önerilen entegre sensör serotoninin katalitik oksidasyonunda geliştirilmiş analitik performans özellikte olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, potansiyellerin farkı nedeniyle, modifiye elektrot, dopamin, epinefrin, askorbik asit ve folik asit girişiminden de mükemmel şekilde korunmuştur (Wang ve ark., 2013) (Şekil 1.42.).



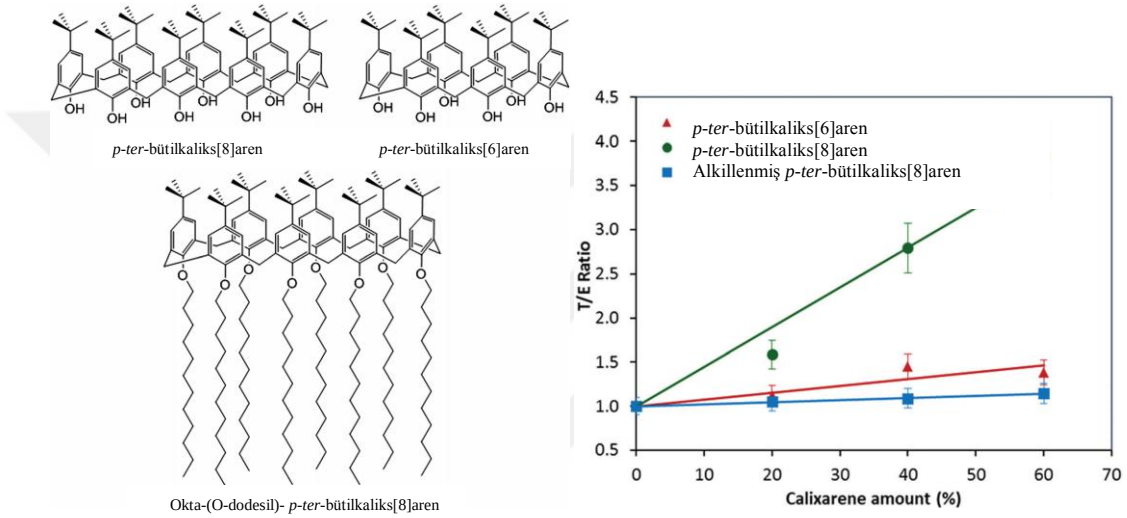
Şekil 1.42. Sensör yapımında kullanılan C-undesilkaliks[4]rezorsinaren (CUCR) molekülü ve cam karbon elektrotun CUCR filmi kullanılmadan (A), CUCR filmi ile (B) elde edilen SEM görüntüleri

Göde ve arkadaşları (2017), indirgenmiş grafen oksiti, fonksiyonel kaliksaren ile modifiye ettikten sonra cam karbon elektrot (GCE) üzerinde ince bir film oluşturarak elde ettikleri nanokompozit yapıyı (CA/RGO), sulu çözelti içinde çeşitli metal iyonlarının, Fe^{3+}, Cd^{2+} ve Pb^{2+} eşzamanlı voltametrik tespiti için kullanmıştır. Bu nanokompozit yapının yüzeyini karakterize ettikten sonra elektrokimyasal özelliklerini taramalı elektron mikroskobu (SEM), kızılötesi spektroskopi (IR), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), atomik kuvvet mikroskopisi (AFM), Raman spektroskopisi ve elektrokimyasal içdirenç spektroskopisi (EIS) kullanarak incelemişlerdir. CA/RGO yapısı, elektrokimyasal cevapların hassasiyetini ve ağır metallerin ayrılmasını önemli ölçüde artırmıştır. Fe^{3+}, Cd^{2+} ve Pb^{2+} iyonlarının elektrokimyasal oksidasyonu kare dalga voltametri (SWV) ile tespit edilmiştir (Göde ve ark., 2017) (Şekil 1.43).



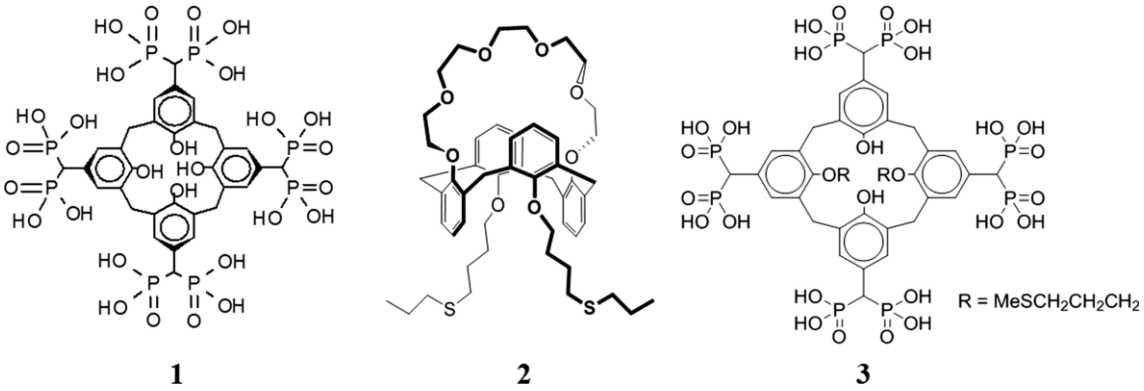
Şekil 1.43. Fe^{3+}, Cd^{2+} ve Pb^{2+} iyonlarının elektrokimyasal olarak tespit edildiği GCE/CA/RGO nanokompozit yapının oluşum şeması

Heath ve arkadaşları (2017), kaliksaren poliizobütilen (PIB) kompozit filmlerini bir solvent döküm yöntemi kullanarak sentezlemiş ve IR spektroskopisi kullanarak yapısal ve hidrokarbon sorpsiyon özelliklerini araştırmışlardır (Şekil 1.44). Poliizobütilen içindeki kaliksaren türünün ve miktarının değişmesinin, filmin hidrokarbon sorpsiyon mekanizması üzerinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Toluen ve etilbenzen kullanıldığı zaman, polimer filmlerin moleküler seçiciliğinin, kaliksaren tipi ve konsantrasyonu ayarlanarak, uyarlanabildiği gösterilmiştir (Heath ve ark., 2017).



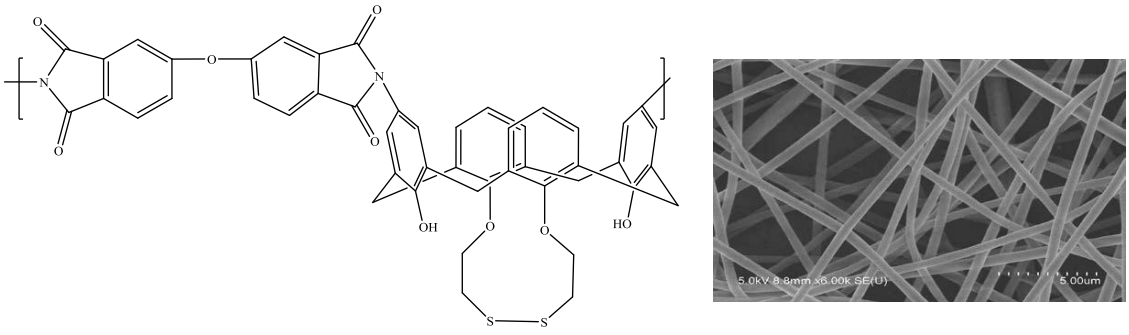
Şekil 1.44. PIB filminde kullanılan kaliksaren türevleri ve bunların miktarlarının bir fonksiyonu olarak hidrokarbon seçicilik grafiği (T/E oranı: toluen tepkisinin etilbenzen tepkisine oranı)

Soldatkin ve arkadaşları (2018), arjinin tespiti için kaliksaren-esaslı kondüktometrik kemosensör oluşturmuşlardır (Şekil 1.45). Geliştirilen kemosensörün temel analitik özellikleri belirlenmiş (arginin duyarlılığı 37.5 μS/mM, arginin saptama limiti 5 μM, lineer aralık 0.005-150 μM, cevap süresi 150 s) ve arjinin tespiti için analiz edilmiştir. Kaliksaren bazlı kemosensörün arjininine seçiciliğinin yanı sıra diğer amino asitlerle karşılaştırıldığında arjinin ile kaliksaren kompleksleşmesinin seçiciliği araştırılmıştır (Soldatkin ve ark., 2018).



Şekil 1.45. Arjinine karşı yüksek bir afinite gösteren kaliks[4]aren türevleri

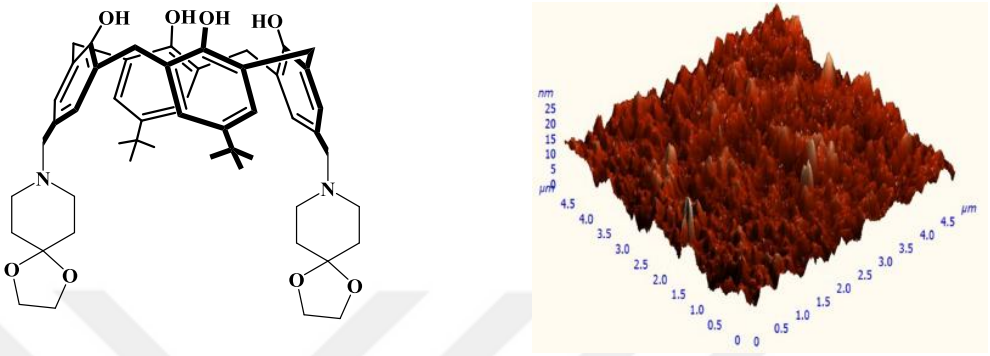
Tao ve arkadaşları (2018), kaliksarenlerin ağır metal iyonlarına karşı adsorpsiyon seçiciliğini kullanmak için, kaliksarenle fonksiyonlandırılmış poliimit (Kaliks-PI) fiberleri/lifleri üç ana sentez prosedürü ile hazırlamışlardır. İlk aşamada, amitleşme yolu ile kaliksaren-poliamit asit (Kaliks-PAA) eğirme solüsyonu hazırlanmış, daha sonra Kaliks-PAA fiberleri elektroeğirme ile oluşturulmuş ve son olarak elde edilen Kaliks-PAA fiberleri üzerinde termal imidizasyon yoluyla Kaliks-PI lifleri hazırlanmıştır (Şekil 1.46). Kaliks-PI lifleri FTIR, taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve termogravimetrik analiz ile karakterize edilmiştir. Bu fiberlerin, psödo ikinci derece adsorpsiyon kinetiği modeline ve Freundlich adsorpsiyon izotermal modeline uygun olarak Pb^{2+} üzerinde seçici bir adsorpsiyon gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 1.46) (Tao ve ark., 2018).



Şekil 1.46. Çalışmada kullanılan kaliksaren-poliamit türevi ve nanofiberine ait SEM görüntüsü

Kaya ve arkadaşları (2016), yaptıkları çalışmada krom kaplama banyo suyundan Cr^{6+} iyonunun uzaklaştırılması için kaliksaren bazlı polimer katkılı bir membran hazırlamışlardır (Şekil 1.47). Hazırlanan polimer içeren membran, Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi, atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ve temas açısı

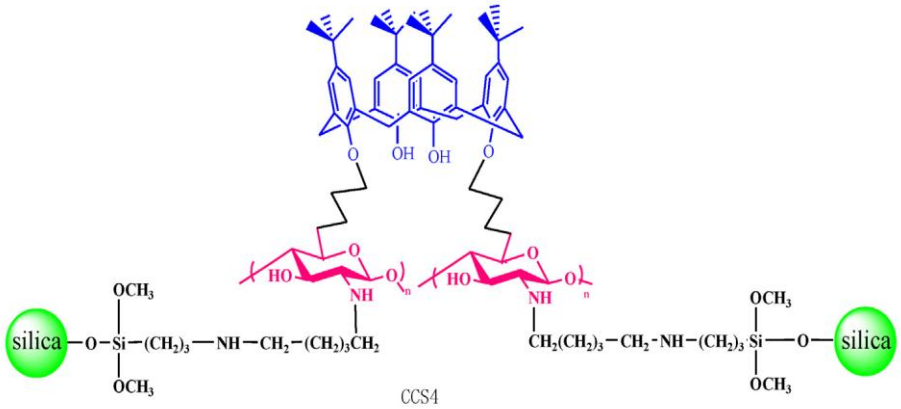
ölçümleri kullanılarak karakterize edilmiştir. Bu membranı kullandıklarında Cr^{+6} taşıma etkinliğinin yaklaşık olarak %97.69 olduğunu tespit etmişlerdir. Elde edilen deneysel sonuçlar hazırlanan polimer katkılı membranın (PIM) endüstriyel atık sulardan Cr^{6+} iyonunun uzaklaştırılmasında etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir (Kaya ve ark., 2016) .



Şekil 1.47. Polimer içeren membranın yapımında kullanılan kaliksaren türevi ve membranın bir plastikleştirici eklendiğinde alınan AFM görüntüsü

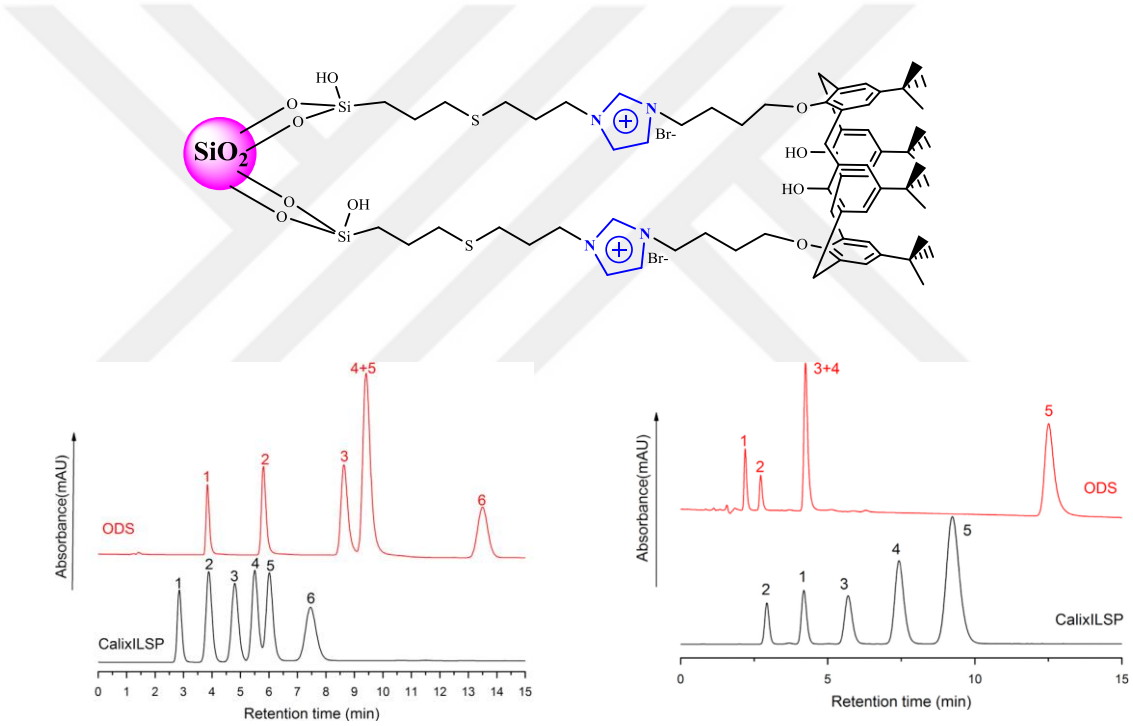
1.7.5. Sabit faz olarak kromatografide kaliksarenlerin kullanılması

Lu ve arkadaşları (2014), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) için yeni bir kaliks[4]aren türevli kitosan bağlı sabit faz (CCS4) sentezlemiş ve karakterize etmişlerdir (Şekil 1.49). Kromatografik performans ve tutma mekanizması, tek fazlı benzenler, fenoller ve nükleositler dahil olmak üzere farklı çözünen problarla ODS'ye (ticari bir kolon) göre ters fazlı modda değerlendirilmiştir. Sonuçlar, CCS4 durağan fazının çözünen maddelerle, hidrofobik, hidrofilik, π-π gibi etkileşimleri içeren çeşitli etkileşimler sağlayabileceğini göstermiştir (Lu ve ark., 2014).



Şekil 1.49. Sabit faz olarak kullanılan silika yüzeye bağlı kitosanlı kaliksaren türevi

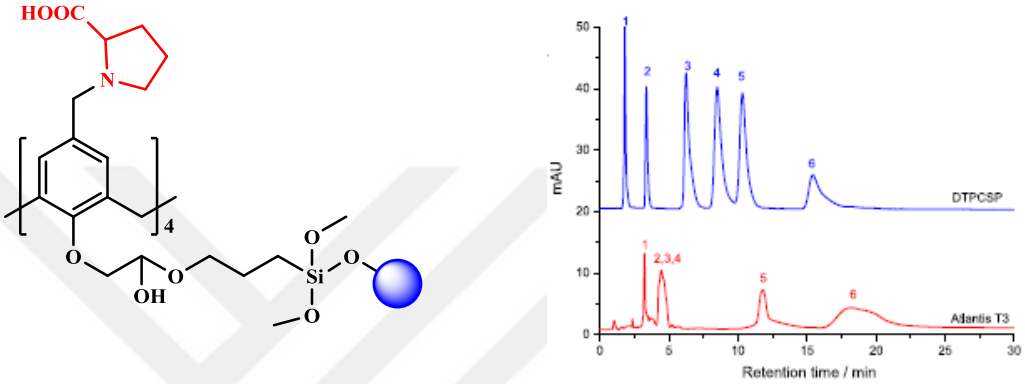
Hu ve arkadaşları (2016), silika materyali ile fonksiyonelleştirilmiş yeni bir kaliksaren iyonik sıvısını, kaliksaren monomerini hazırladıktan sonra merkaptopropil içeren modifiye silikajel üzerine immobilize ederek sentezlemişlerdir (Şekil 1.50). Elde edilen malzeme, IR, elementel analiz ve termogravimetrik analiz ile karakterize edilmiştir. Ters faz sıvı kromatografisinde, bu yeni sabit faz, alkil benzenler, poliaromatik hidrokarbonlar ve fenollerin ayrılmasında spesifik bir kromatografik performans göstermiştir. Mevcut olan polar fonksiyonel gruplarından dolayı, hidrofilik etkileşim kromatografisinde de kullanılabileceği tespit edilen malzeme, altı adet nükleosit ve dört adet ginsenosit molekülünü iyi bir şekilde ayırmıştır. Ayrıca anyonların da anyon değişim modunda kolon üzerinde ayrımı gerçekleştirilmiştir (Hu ve ark., 2016).



Şekil 1.50. (a) Sabit faz olarak kullanılan silika üzerine bağlı kaliksaren malzemesi (b) Çeşitli alkil benzenlerin ayırımının gerçekleştiğini gösteren kromatogram 1:Benzen 2:Toluen 3:*o*-Ksilen 4:*p*-Ksilen 5:*m*-Ksilen 6:Propilbenzen, ODS:Ticari kolon (c) Çeşitli fenollerin ayırımının gerçekleştiğini gösteren kromatogram 1:1,3,5-trihidroksibenzen, 2:*p*-dihidroksibenzen, 3:*m*-hidroksibenzen, 4:*o*-dihidroksibenzen, 5:fenol

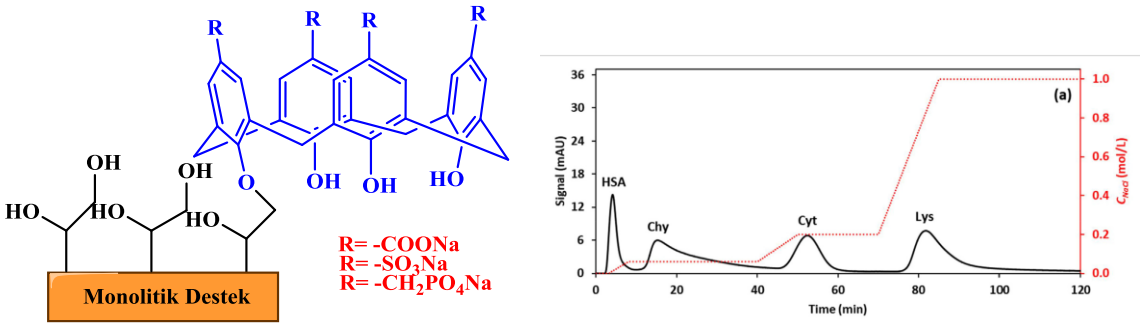
Zhang ve arkadaşları (2019), tetra-prolin fonksiyonel gruplu kaliks[4]aren bağlı bir sabit faz (DTPCSP) hazırlamış ve FTIR spektrumları, element analizi, katı hal ^{13}C NMR, SEM, EDS ve termogravimetrik analiz ile karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir (Şekil 1.51). Geliştirilen sabit fazın kromatografik performansı ve tutma mekanizması, hidrofilik etkileşim modunda doğrulanmış ve fenoller, nükleositler

ve sülfonamitler dahil çeşitli hidrofilik veya hidrofobik bileşikler kullanılarak ticari bir kolon ile karşılaştırılmıştır. Kullanılan durağan/sabit faz, geleneksel kaliksaren fazlarından daha iyi bir seçicilik sergilemiştir ve DTPCSP kolonu üzerindeki fenollerin tutunma davranışları, kontrast olarak ODS (ticari bir kolon türü)'nin kullanıldığı kuantum kimyası hesaplamaları yapılarak açıklanmıştır. Tüm sonuçlar, gelişmiş DTPCSP durağan fazının, kompleks hidrofilik numuneleri eşzamanlı olarak yüksek seçicilik ile ayırmada faydalı olabileceğini göstermiştir (Zhang ve ark., 2019).



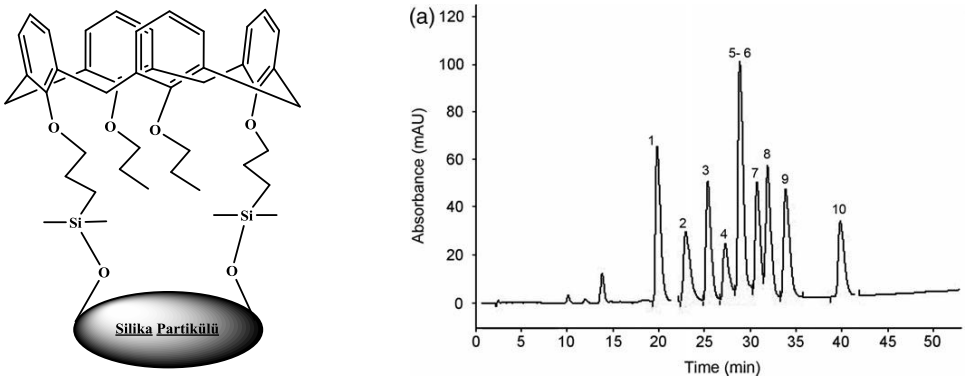
Şekil 1.51. Sabit faz olarak kullanılan kaliksaren türevli malzeme ve çeşitli nükleositlerin ayırımının gerçekleştiğini gösteren kromatogram 1:4,6-dikloropirimidin, 2:urasil, 3:2-amino-6-kloropurin, 4:2-aminoadenozin, 5:asiklovir, 6:6-kloropurin ribozit, Atlantis T3:Ticari kolon

Güven ve arkadaşları (2018), yeni katyon değiştirici monolitik sabit faz olarak, üç farklı kaliksaren türevini (tetrakarboksilatkaliks[4]aren, tetrasülfonatkaliks[4]aren ve tetrafosfonatkaliks[4]aren) bir monolitik kriyojel desteği üzerine immobilize ederek hazırlamış ve preparatif protein kromatografisinde kullanmıştır (Şekil 1.52). Toplanan monolitler FTIR spektroskopisi, izoelektrik nokta ölçümleri, titrimetrik analizler ve Mercury intrusion porozimetresi gibi çeşitli tekniklerle karakterize edilmiştir. Proteinlerin alıkonması/ayrılması, bazı model proteinler (yani lizozim, sitokrom c ve α-kimotripsinojen A, insan serum albümini ve miyoglobin) kullanılarak araştırılmış ve modifiye edicinin (yani NaCl) konsantrasyonu ve pH'nın etkisi, izokritik ve gradient elüsyon koşulları altında kapsamlı bir şekilde analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, literatürdeki diğer fonksiyonlandırılmış kriyojellere kıyasla kaliksarenle immobilize edilmiş kriyojellerin, daha yüksek protein adsorpsiyon kapasitelerinin olduğunu göstermiştir (Güven ve ark., 2018).



Şekil 1.52. Monolitik sabit faz olarak kullanılan kaliksaren türevli kriyojeller ve fosforik asit grubu içeren kriyojel türevinin kullanılmasıyla çeşitli proteinlerin ayırımının gerçekleştiğini gösteren kromatogram HSA:İnsan serum albümin, Chy:α-Kimotripsinojen A, Cyt:Sitokrom-c, Lys:Lizozim

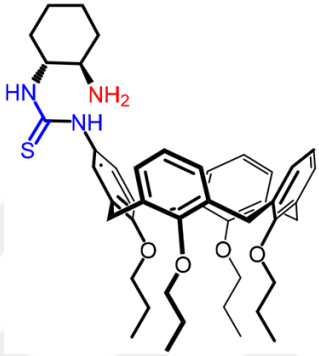
Zadmard ve ark. (2015), kaliks[4]aren türevlerine dayalı silika jel sabit fazlarının sentezini, 25,27-dipropoksi-26,28-bis-[3-propiloksimetilsililoksi]kaliks[4]aren türevini sentezledikten sonra klorotrimetilsilan ile silika üzerinde immobilize ederek gerçekleştirmişlerdir (Şekil 1.53). Sabit fazlar elementel analiz, IR ve termal analiz ile karakterize edilmiş ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile amino asit türevlerinin ayrılması için kullanılmıştır. Sonuçlar, durağan fazın bir ters faz hapsedicisi/paketleyicisi gibi davrandığını göstermiştir. Ayrıştırma işleminde boyut dışlama, elektron-π, π–π ve hidrofobik etkileşimlerin meydana geldiği düşünülmüştür (Zadmard ve ark., 2015).



Şekil 1.53. Sabit faz olarak kullanılan kaliksaren türevli silika jel yapısı ve bu yapının kullanılmasıyla, çeşitli aminoasitlerin ayrıldığını gösteren kromatogram 1-10: Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc- Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Ph-OH ve Fmoc-Tyr(tBu)-OH

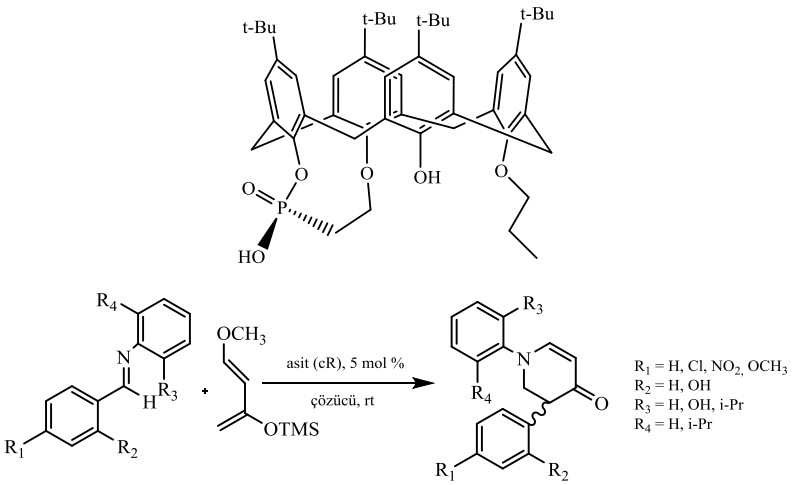
1.7.6. Kataliz reaksiyonlarında kaliksarenlerin katalizör olarak kullanılması

De Simone ve arkadaşları (2018), (*R*,*R*)-1,2-siklohekzandiamin iskeleti üzerine monte edilen tiyoüre türevli bir kaliks[4]aren molekülü sentezleyerek bu molekülün enantiyoselektif Michael reaksiyonlarındaki katalitik yeteneklerini araştırmışlardır (Şekil 1.54). Reaksiyonların, iyi ve yüksek enantio-seçicilikte olduğunu ve solventsiz koşullar altında kolaylıkla ilerlediğini tespit etmişlerdir (De Simone ve ark., 2018).



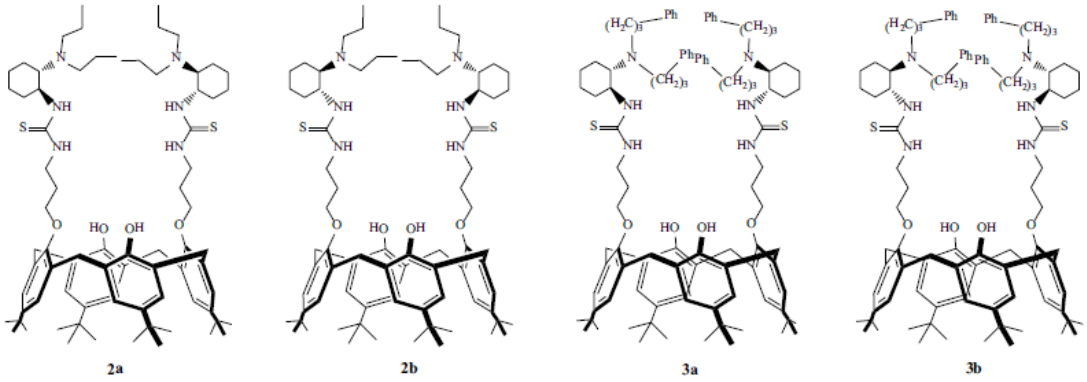
Şekil 1.54. Katalizör olarak kullanılan tiyoüre türevli kaliksaren bileşiği

Karpus ve arkadaşları (2018), enantiyometrik saflıkta kiral kaliks[4]aren fosfonik asit türevini (*cR*, *pR*) sentezlemiş ve bu Brönsted asidini aza-Diels−Alder reaksiyonunda katalizör olarak kullanmıştır (Şekil 1.54). Sentezlenen *R*-formundaki kiral molekülün iyi bir katalitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Karpus ve ark., 2018).



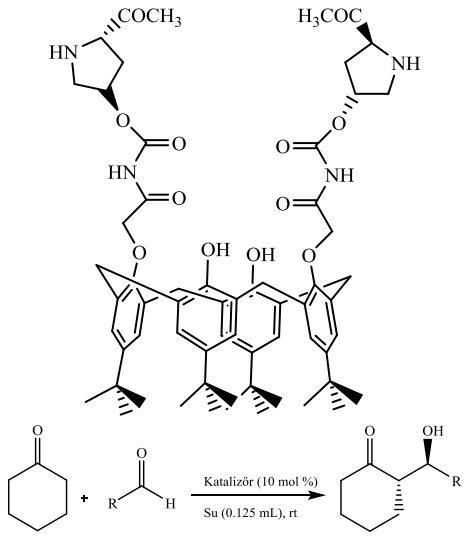
Şekil 1.54. Katalizör olarak kullanılan fosfonik asit türevli kaliksaren bileşiği ve katalizlediği reaksiyon

Genç ve arkadaşları (2018), tiyoüre türevli kaliks[4]aren bileşikleri sentezleyerek asetil aseton ile çeşitli olefinlerin oda sıcaklığında gerçekleşen asimetrik Michael katılma reaksiyonlarında katalizör olarak etkinliklerini incelemiştir (Şekil 1.55). Elde edilen sonuçlar, ürünlerin oldukça iyi verimlerde ve mükemmel enantio-seçicilikte oluştuğunu göstermiştir (Genç ve Sırıt, 2018).



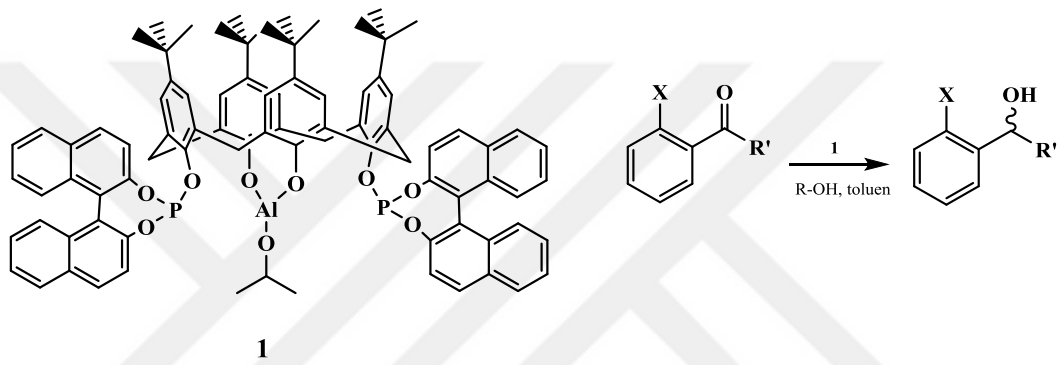
Şekil 1.55. Asimetrik Michael katılma reaksiyonlarında kullanılan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren bileşikleri

Yılmaz ve grubu (Aktaş ve ark., 2016), bir seri, suyla uyumlu prolin türevli kaliksaren bileşikleri sentezleyerek aldol reaksiyonunda katalizör olarak etkinliğini incelemiştir (Şekil 1.56). Optimize edilen reaksiyon şartları altında, elde edilen ürünlerin iyi verimlerde, yüksek enantio-seçicilikle ve yüksek dia-stereoseçicilikle oluştuğu belirlenmiştir.



Şekil 1.56. Katalizör olarak kullanılan prolin türevli kaliksaren bileşiği ve katalizlediği aldol reaksiyonu

Nandi ve arkadaşları (2014), kiral Al^{3+}-kaliksaren komplekslerini oluşturarak, bu komplekslerin indirgeyici olarak kiral ve akiral ikincil alkollerin kullanıldığı asimetrik Meerwein−Ponndorf−Verley (MPV) indirgeme reaksiyonu için katalizör olarak etkisini incelemiştir (Şekil 1.57). En enantiyoselektif katalizör, %99'luk bir enantiyoselektif fazlalığa ulaşan, eksenel olarak yeni kiral, kemerli-yarı küresel kaliks[4]aren fosfit ligandı olmuştur. Sonuçlar, lower riminde sübstitüent bulunan rijit kaliks[4]aren moleküllerinin önemini vurgulamakta ve asimetrik hidrür transferini arttırmak için bir alt kenarlı kiral cebin ve Lewis-bazı özelliğindeki fosforlu çiftlerin olası bir rolüne işaret etmektedir (Nandi ve ark., 2014).

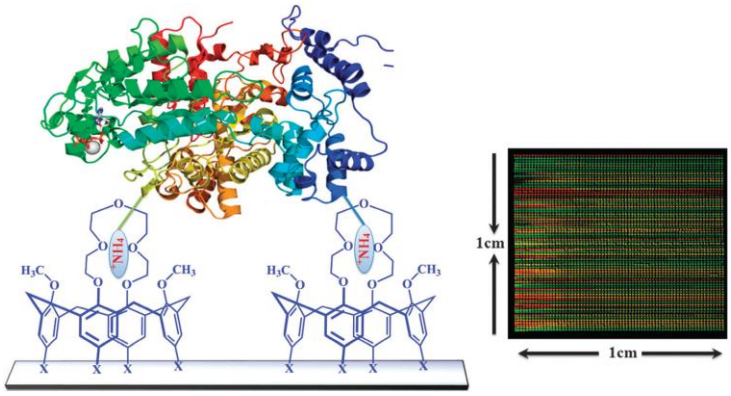


Şekil 1.57. Katalizör olarak kullanılan kiral Al^{3+}-kaliksaren kompleksi ve katalizlediği reaksiyon

1.7.7. Biyolojik uygulamalarda kaliksarenlerin kullanımı

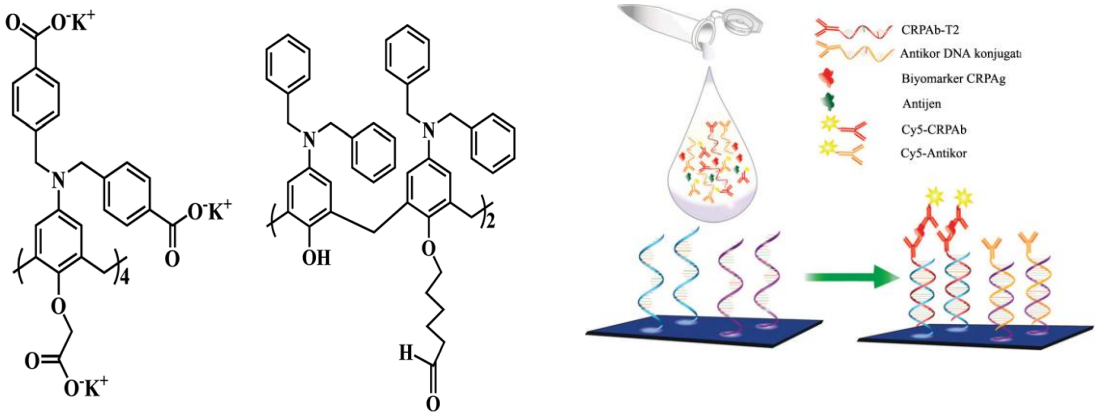
Kaliksarenlerin kullanım alanlarına son 20 yılda biyolojik çalışmalar da eklenmiştir. Bunlar; antimikrobiyal, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitüberküloz, antikanser vb. etkilerinin incelenmesi, DNA molekülü üzerindeki etkilerinin araştırılması, DNA çip ve sensör teknolojisinde kullanımı, biyoteknolojik uygulamalarda kullanımı vb. olarak sayılabilir.

Kim ve grubu (2003), kaliks[4]crown-5 türevlerini amin bağlı cam slide yüzeylerine bağlayarak bir kendinden montajlı tek tabaka yapmışlar ve daha sonra proteinleri bu yüzeye immobilize etmişlerdir (Şekil 1.58). Protein mikro-çipi olarak dizayn edilen bu yapı mükemmel bir etkinlik göstererek tümör biyobelirteci PSA (prostat spesifik antijen) kadar düşük miktardaki (1-10 fg/mL) tümör proteinlerine karşı hassasiyet göstermiştir (Lee ve ark., 2003).



Şekil 1.58. Kaliks[4]crown-5 türeviyle oluşturulan protein mikro-çipi

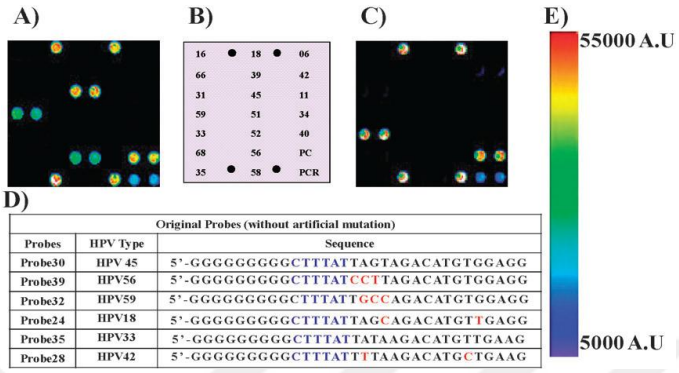
Song ve arkadaşları (2011), DNA-destekli algılama yöntemi (DAGON) adını verdikleri metodu kullanarak 9G DNA çiplerini elde etmişler ve biyomarkerları sub-pikogram seviyesinde tespit etmeyi başarmışlardır (Şekil 1.59). 9G DNA çipleri, oligonükleotid içindeki 9 adet ardışık guanin alt biriminin, aminokaliks[4]areninin derin hidrofobik boşluğu tarafından moleküler olarak tanınması esasına dayanmaktadır. DAGON metotunda, Cy5-işaretli (sistein-5*) sekonder antikorların antikor-DNA konjugatı ve hedef antijenden oluşan biyomoleküler kompleksleri solüsyonda oluşturduktan sonra çip yüzeyinde önceden tahmin edilen özelleşmiş belli merkezlere yönlendirerek (guide) oda sıcaklığında hibridizasyonlarını gerçekleştirmişlerdir (Song ve ark., 2011) (Şekil 1.59).



Şekil 1.59. 9G DNA çiplerini oluşturmada kullanılan aminokaliks[4]aren türevleri ve DNA-destekli algılama yöntemi (DAGON) metotu

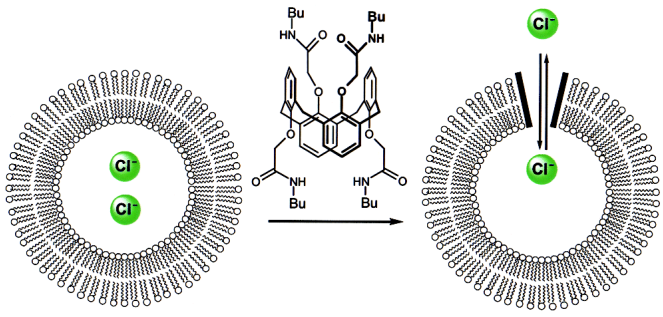
Nimse ve arkadaşları (2011), HPV 9G DNA çiplerinin üretimini ve bunların gerçek zamanlı uygulamalarını klinik örneklerde insan papilloma virüsünün (HPV)

tespiti ve ayırımı için rapor etmiştir (Şekil 1.60). Çipin verimliliği, sinyal-arka plan oranı (SBR) açısından belirlemiştir ve ticari HPV DNA çiplerine göre 50 kat daha üstün olduğu gözlenmiştir, ayrıca 25°C'de %100 hedefe özgü hibridizasyon gerçekleştirmiştir (Nimse ve ark., 2011).



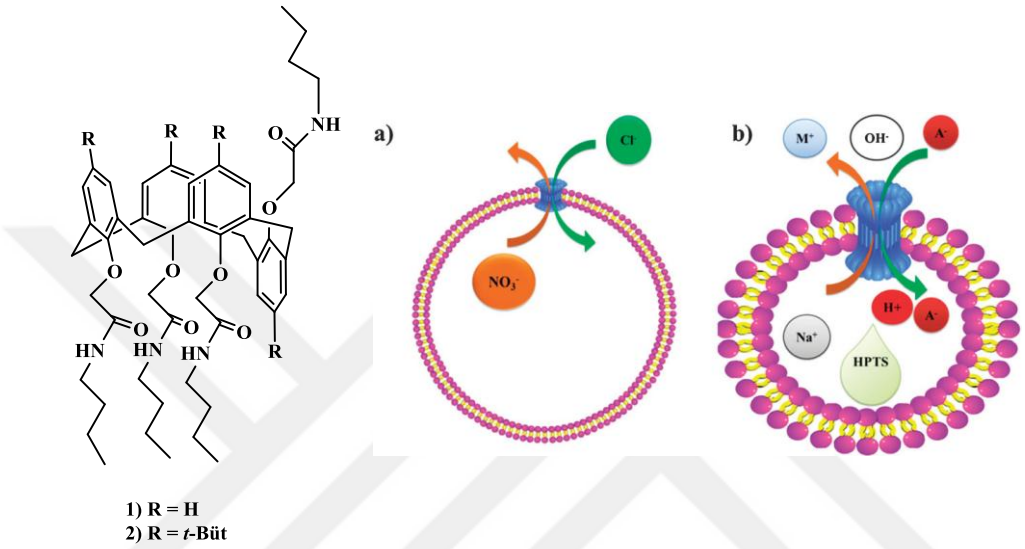
Şekil 1.60. (A) HPV45/Cy5 etiketli PCR ürünüyle immobilize probların (Prob23–Prob41) hibridizasyonundan sonra oluşan floresans görüntüsü (B) Pre-HPV 9G DNA çiplerini elde etmek için probların (Prob23–Prob41) hareketsizleştirildiği şema (C) HPV33'ün Cy5 etiketli PCR ürünü ile immobilize probların (Prob23–Prob41) hibridizasyonundan sonra oluşan floresans görüntüsü (D) Probların sekanslarını gösteren tablo (E) Floresan renk skalası

Davis ve grubu (Sidorov ve ark., 2002), yapay iyon kanalı geliştirme düşüncesinden yola çıkarak sentezledikleri kaliks[4]aren bileşiğinin lipozomlarda, düzlemsel lipit çift-tabakalarında ve HEK-293 hücrelerindeki (insan embriyonik böbrek 293 hücresi) iyon taşıma aktivitesini incelemişlerdir (Şekil 1.61). ^{1}H NMR ve X-ray kristalografisi verileriyle desteklenen deneylerin sonucunda, çift katmanlı membranlarda iyon geçişinin gerçekleştiğini, pozitif yük potansiyelli hücre membranları boyunca iyon geçişine ortam sağladığını, bir Cl^- gradienti sağlayarak lipozomların içerisinde pH'yı değiştirdiğini ve Cl^-/SO_4^{2-} geçişini önemli derecede seçici olarak gerçekleştirdiğini tespit etmişlerdir (Şekil 1.61).



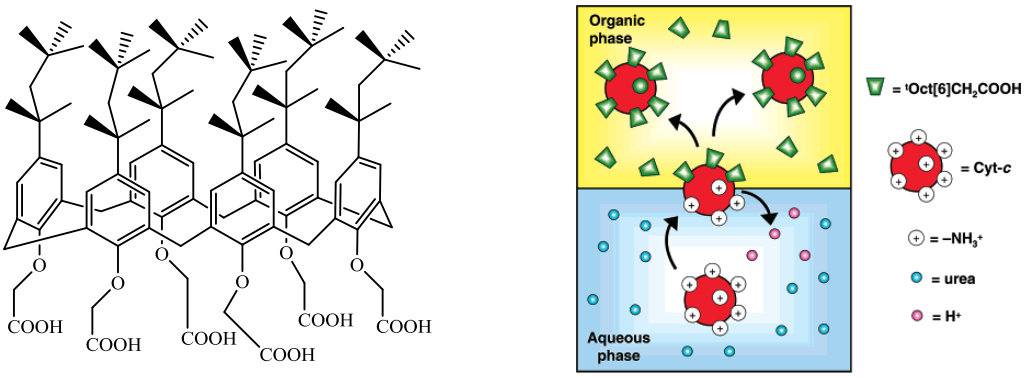
Şekil 1.61. Kaliksaren bileşiği kullanılarak hücre membranında oluşturulan iyon kanalı

Davis ve grubu (Seganish ve ark., 2006), transmembran Cl^- geçişini kontrol etmek amacıyla **1** ve **2** nolu kaliks[4]aren türevlerini sentezlemişler ve yaptıkları çalışmalar sonucunda **1** nolu bileşiğin geçişi sağladığını, **2**'nin ise bu geçişi inhibe ettiğini görmüşlerdir (Şekil 1.62). Sebep olarak, bu iki bileşiğin membran üzerinde inaktif heteroagregatlar oluşturduğunu belirterek dengenin aktif yapılardan uzaklaşarak, kaydığını tespit etmişlerdir.



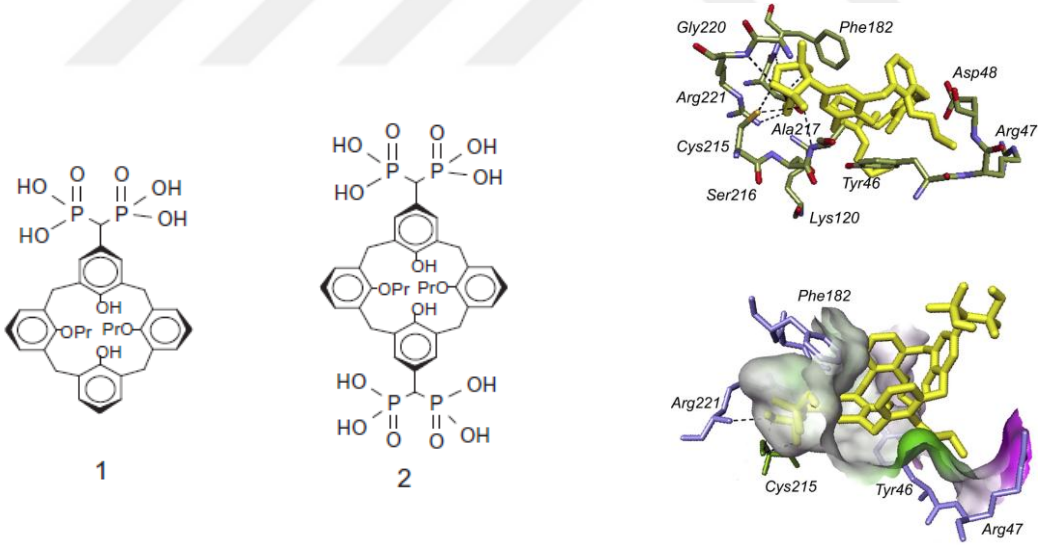
Şekil 1.62. Sentezlenen kaliksaren türevleri ve (a) 1'in aracılık ettiği transmembran anyon transportu, (b) 1'in aracılık ettiği anyonların taşınmasının şematik temsili

Shimojo ve arkadaşları (2007), bir kaliksaren türevini kullanarak sıvı-sıvı transfer tekniği aracılığıyla bir proteinin tekrar katlanmasındaki etkisini incelemişlerdir. Kalik[6]arenasetik asit türevi ve üre ile denatüre edilmiş sitokrom-c bir yağ-su arayüzünde kompleks oluşturmuş ve bu ara yüzey, 8 M sulu üre çözeltisinden organik bir faza proton-değişim mekanizmasıyla proteinin kantitatif transferini sağlamıştır (Şekil 1.63). Denatüre sitokrom c, denatüranttan tamamen ayrılmış ve protein-protein etkileşimleriyle oluşan agregatlardan oluşan diğer denatüre sitokrom c moleküllerinden izole edilmiştir. Organik fazdan sitokrom c'nin geri kazanımı, uygun miktarda 1-bütanol kullanılarak asidik koşullar altında gerçekleştirilmiştir. UV-Vis., CD ve floresan spektroskopik karakterizasyonları, sitokromun denaturant içermeyen bir sulu çözeltiye transfer edilmesiyle doğal yapısını geri kazandığını göstermiştir. Tekrar-katlanan sitokrom c'nin indirgenme kinetiği askorbik asit kullanılarak tespit edilmiş ve proteinin doğal aktivitesinin yaklaşık olarak %72'sini kazandığı bulunmuştur (Shimojo ve ark., 2007) (Şekil 1.63).



Şekil 1.63. Çalışmada kullanılan kaliksaren türevi ve bu molekülün varlığında, denatüre Cyt c'nin sulu üre çözeltisinden organik faza ekstraksiyonunun şematik gösterimi

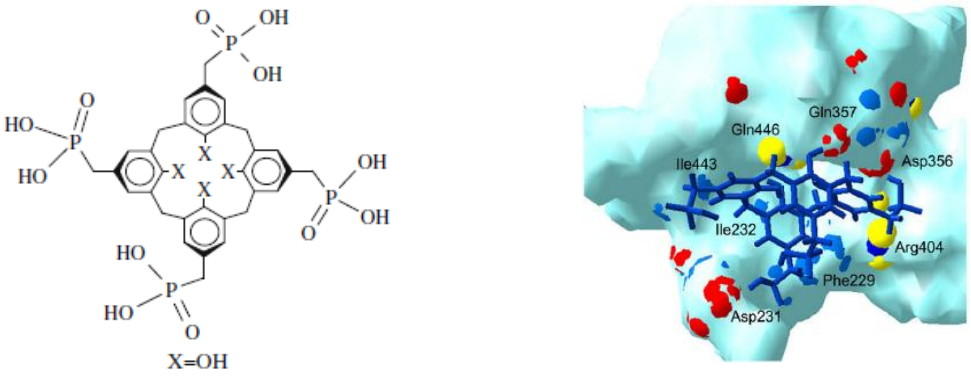
Trush ve arkadaşları (2013), fosforik asit grubu içeren fonksiyonel kaliks[4]arenleri sentezleyerek protein tirozin fosfataz 1B (PTB1B) (Protein tirozin fosfatazlar, proteinlerdeki fosfotirozinin defosforilasyonunu katalizleyen sinyal transdüksiyon enzimleridir) ile etkileşimlerini incelemişlerdir (Şekil 1.64). Enzimin inhibisyonuyla sonuçlanan bu deney, her iki bileşiğin de enzimin aktif bölgesinde yer alan çeşitli aminoasit rezidüleriyle etkileştiği olası bir modelle (docking çalışmasıyla) açıklanmıştır (Trush ve ark., 2013) (Şekil 1.64).



Şekil 1.64. Çalışmada kullanılan fosforik asitli kaliksaren türevleri ve bu bileşiklerin PTB1B enziminin aktif bölgesinde yer alan çeşitli aminoasit rezidüleriyle etkileştiği olası bağlanma modeli

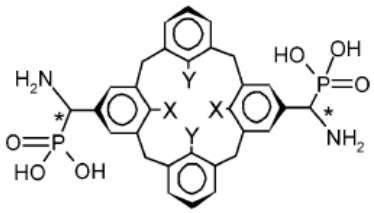
Vovk ve arkadaşları (2010), *Yersinia* PTP'yi (YopH olarak adlandırılan PTP, patojenik bir bakteri olan *Yersinia*'nın membran proteinlerinde bulunur ve bu bakteri gastrointestinal sendromlardan hıyarcıklı vebaya kadar pek çok hastalığa sebep olmaktadır) inhibe eden bir seri bileşik sentezlemeyi başarmışlardır. Elde edilen

sonuçlar, fosforillenmiş kaliks[4]aren türevlerinin *Yersinia* PTP için yarışmalı bir inhibitör olduğunu göstermiştir (Vovk ve ark., 2010) (Şekil 1.65).



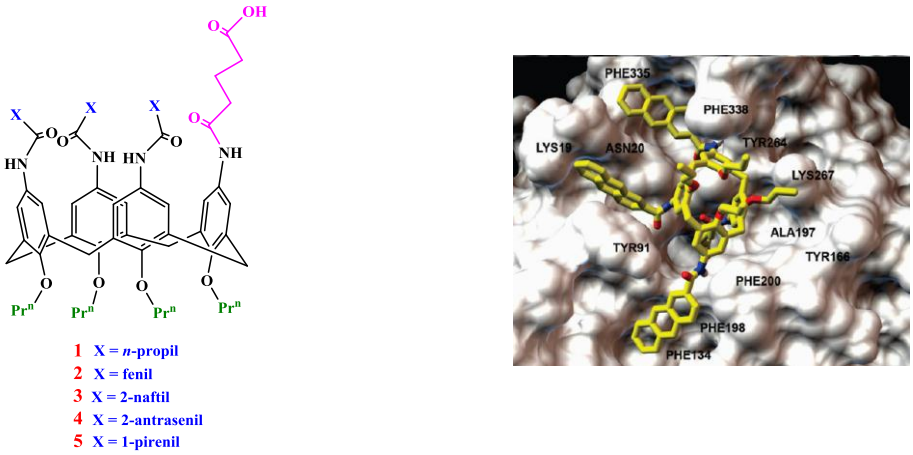
Şekil 1.65. Çalışmada kullanılan fosforik asitli kaliksaren türevlerinden biri ve bunun *Yersinia* PTP enziminin aktif bölgesinde yer alan çeşitli aminoasit rezidüleriyle etkileştiği olası bağlanma modeli

Cherenok ve arkadaşları (2006), kiral özellikte α-aminofosfonik asit türevli kaliks[4]aren bileşikleri sentezlemiş ve bu bileşiklerin domuz böbrek alkali fosfataz enzimine karşı inhibitör aktivitelerini incelemişlerdir. Bulunan sonuçlar, α-karbon atomlarının mutlak konfigürasyonuna önemli ölçüde bağlı olan bir inhibisyonun etkili olduğunu göstermiştir (Cherenok ve ark., 2006) (Şekil 1.66).



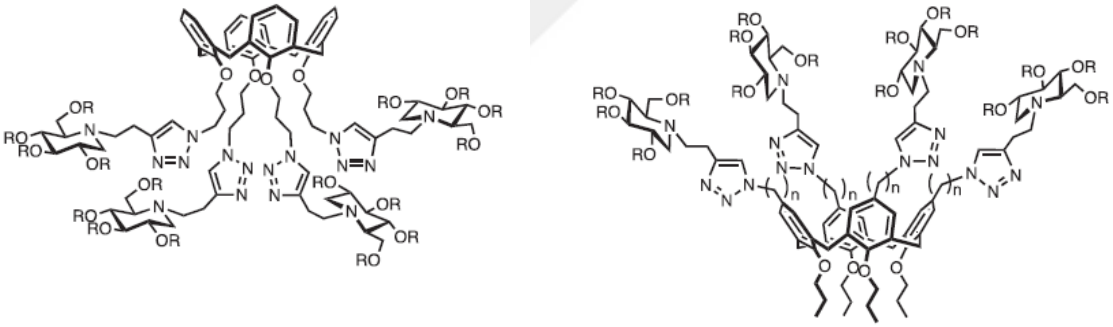
Şekil 1.66. Çalışmada kullanılan kiral kaliksaren türevleri

Chini ve arkadaşları (2010), alkil- ve aril-amidokaliks[4]aren türevlerini sentezleyerek, potansiyel histon deasetilaz inhibitörleri (HDAC) olarak özelliklerini incelemişlerdir (Şekil 1.67). Çalışmalar yapılmadan önce teorik hesaplamalar yapılmış ve hesaplanan inhibisyon sabitlerinin (K_i) değerlerine göre, alkil veya arilamido türevli bileşikler sentezlenip test edilmiştir. Deneysel sonuçlar ile teorik tahminler arasında kalitatif bir uyum elde edilmiş ve uygun şekilde sübstitüe edilmiş arilamidokaliks[4]arenlerin aktif birer HDAC olduğu doğrulanmıştır (Chini ve ark., 2010) (Şekil 1.67).



Şekil 1.67. Çalışmada kullanılan kaliksaren türevleri ve 4 nolu bileşiğin Histon deasetilaz (HDA) enziminin aktif bölgesinde yer alan çeşitli aminoasit rezidüleriyle etkileştiği olası bağlanma modeli

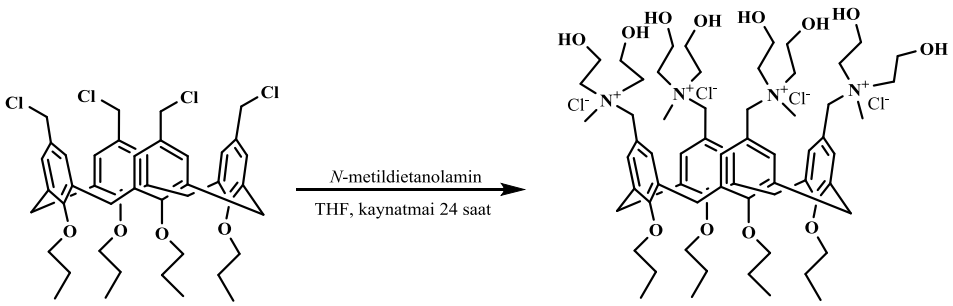
Marra ve arkadaşları (2014), 1-deoksinojirimisin ünitesini taşıyan kaliksaren-iminoşeker türevlerini sentezleyerek, glukosidaz enzimine karşı inhibitör aktivitelerini değerlendirmişlerdir (Marra ve ark., 2014) (Şekil 1.68).



Şekil 1.68. Çalışmada kullanılan iminoşeker gruplu kaliksaren türevleri

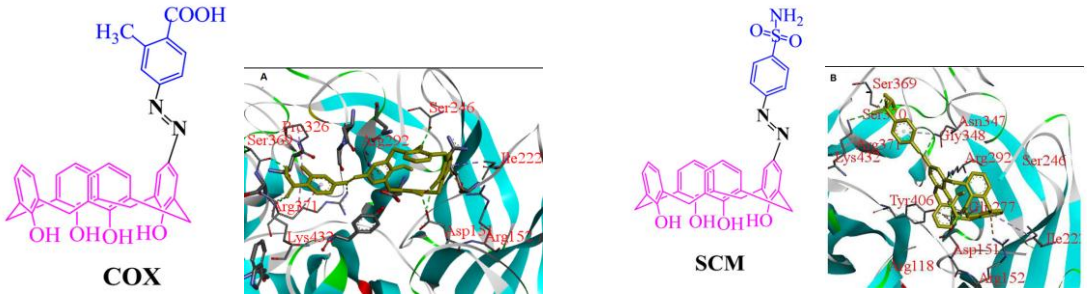
Consoli ve arkadaşları 2018 yılında yaptıkları bir çalışmada, kaliks[4]aren üzerine kümelenmiş ve dairesel olarak düzenlenmiş dört adet N-metildietanol amonyum grubu taşıyan yeni bir polikatyonik makrosiklik bileşiği tasarlayarak sentezlemişlerdir (Şekil 1.69). Bileşiğin (2) tek başına veya bilinen antibiyotiklerle (ofloksasin, kloramfenikol veya tetrasiklin) kombinasyonu halinde *in vitro* aktivitesi, *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538 ve metisiline dirençli izolat), *S. epidermidis* (ATCC 35984 ve metisiline dirençli izolat) ve *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027 ve antibiyotiğe dirençli izolat) suşlarına karşı değerlendirilmiştir. Kaliks[4]aren türevi

(2), ATCC ve metisiline dirençli Gram pozitif *Staphylococci*'ye karşı belirgin bir antibakteriyel aktivite göstermiş, suda tetrasiklinin stabilitesini arttırmış ve antibiyotiklerle kombinasyon halinde, Gram negatif *P. aeruginosa*'ya karşı ilave bir etki ile antibiyotik etkinliğini arttırmıştır (Consoli ve ark., 2018) (Şekil 1.69).



Şekil 1.69. Çalışmada kullanılan polikatyonik kaliksaren türevinin sentez şeması

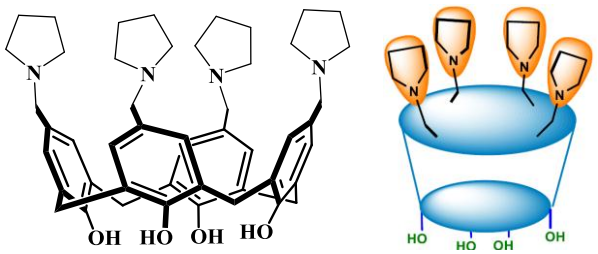
Ali ve arkadaşları (2018), bazı azo bazlı kaliks[4]aren türevleri sentezleyip karakterize ettikten sonra antibakteriyel ve antiviral potansiyellerini incelemiştir. Sülfonilamit, sülfoguanidin ve 2-metil-4-aminobenzoik asit içeren mono azo ürünleri, bakteriyel suşlara karşı iyi aktivite göstermiştir. Minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri 0.97 ila 62.5 μg/mL arasında değişmiştir. Ayrıca, tasarlanan bileşiklerin iki bakteri ve bir viral (nöraminidaz) reseptör ile etkileşimlerini görmek için moleküler docking çalışması gerçekleştirilmiştir (Ali ve ark., 2018) (Şekil 1.70).



Şekil 1.70. Çalışmada sentezlenen ve etkinlik gösteren mono azo türevli kaliksaren bileşikleri ve nöraminidaz reseptörü (PDB ID:3TI6) ile etkileşmelerini gösteren moleküler docking görselleri

Muneer ve arkadaşları (2017), pirolidin türevli kaliksaren bileşiği sentezleyerek antibakteriyel ve antifungal çalışmalarını gerçekleştirmiştir (Şekil 1.71). Bakteriyel suşlar 1.17–2.34 mg/mL aralığında minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri göstermiştir; fungal suşlar 0.58-2.34 mg/mL aralığında MIC değerleri göstermiştir.

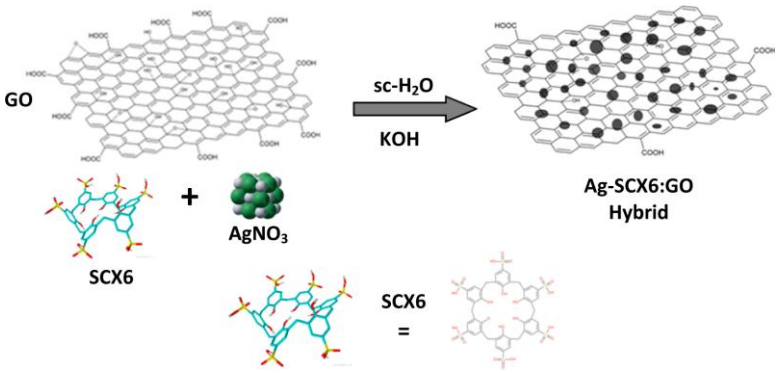
Bileşiğin *A. niger* için mükemmel antifungal etkiye sahip olduğu ve *S. viridans* için 0.58-1.17 mg/mL MIC değerlerine ulaşan bir antibakteriyel etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Bileşiğin SAR (yapı-aktivite ilişkisi) çalışması, muhtemelen kaliks[4]arene ait fenil halkalarındaki pirolidin gruplarına bağlı olarak gösterilen önemli bir antimikrobiyal aktivite olduğunu ortaya koymuştur (Muneer ve ark., 2017).



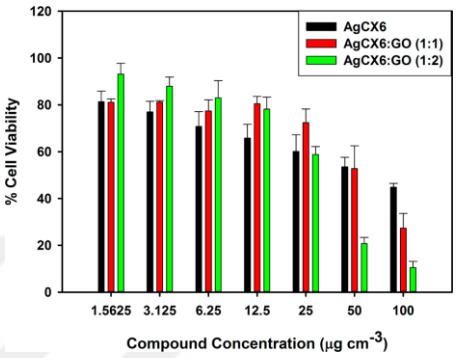
Microorganism strain	Concentration (mg/mL)								MIC value (mg/mL)
	0.58	1.17	2.3	4.7	9.4	18.7	37.5	75	
Bacterial strain	Zones of inhibition (mm)								
G +ve bacteria	*S. aureus*	–	–	17	19	21	25	27	28	2.3
	S. viridans	–	16	17	19	25	25	28	31	1.17
G -ve bacteria	*E. coli*	–	–	13	15	19	20	23	24	2.3
Fungi	*A. niger*	16	19	20	22	27	29	31	32	0.58
	A. flavus	–	15	16	18	21	21	23	26	1.17
	C.albicans	–	–	13	14	17	19	19	20	2.3
Control (DMSO)[†]		–ve	–ve	–ve	–ve	ve	–ve	–ve	–ve	–

Şekil 1.71. Çalışmada kullanılan kaliksaren türevi ve bakteri ve mantarlarla yapılan çalışmalardan elde edilen zon çapları ve MIC değerleri

Kellici ve arkadaşları (2016), *p*-hekzasülfonik asit kaliks[6]aren (SCX6) ile Ag−grafen nanokompozitlerini sentezleyerek antibakteriyel ve sitotoksik özelliklerini incelemiştir (Şekil 1.72). Malzemeler, transmisyon elektron mikroskobu (TEM), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), Raman spektroskopisi, UV-Vis. spektrofotometresi, FTIR ve X-ışını toz kırınımı (XRD) dahil bir dizi teknik kullanılarak karakterize edilmiştir. Nanokompozitler, *E. coli* (Gram-negatif) ve *S. aureus* (Gram-pozitif) bakterilerine karşı yüksek aktivite ve düşük sitotoksisite göstermiştir (Kellici ve ark., 2016).

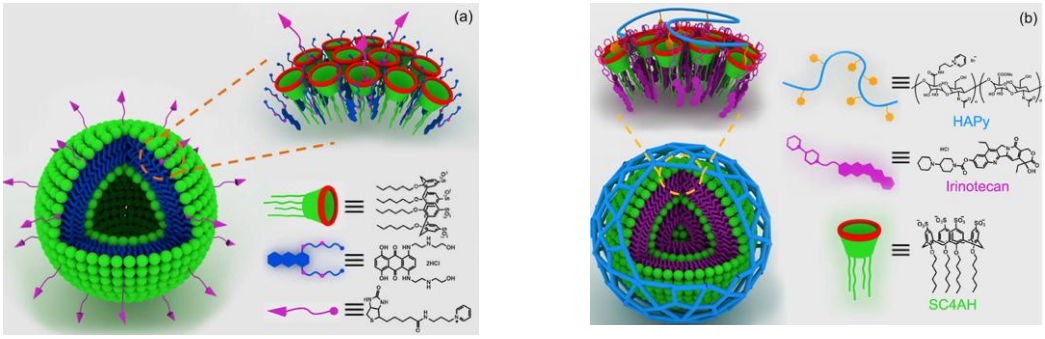


Bileşik	*S. aureus* MIC ($\mu g\ mL^{-1}$)	*E. coli* MIC ($\mu g\ mL^{-1}$)
Ag-SCX6	5.6	2.5
Ag-SCX6:GO (1:1)	2.5	0.7
Ag-SCX6:GO (1:2)	1.4	0.35
Kanamycin	2.8	5.6
Ampicillin	0.1	5.6



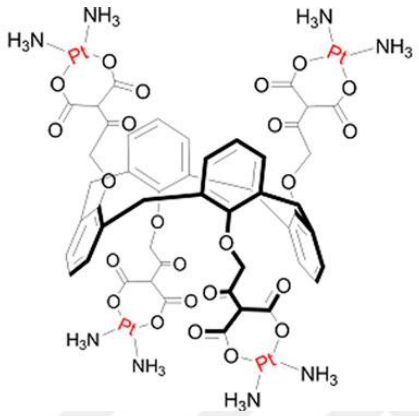
Şekil 1.72. Nanokompozitlerin sentez şeması ve antibakteriyel ve sitotoksisite çalışmalarından elde edilen sonuçlar

Wang ve arkadaşları (2015), makrosiklik ampifillerin katyonik ilaçlarla çok işlevli bir platforma doğrudan gömüldüğü ve yüzeyinin, konakçı-konuk tanıma yoluyla hedeflenen ligandlarla daha fazla süslendiği yeni bir süper moleküler strateji olarak ‘‘ilaç şaperon” modelini tasarlamışlardır (Şekil 1.73). İlaç şaperon stratejisini doğrulamak için yapılan hücre deneylerinde, serbest ilaçların antikanser aktivitelerinin, ampifilik şaperon ile birleştirme ve daha fazla fonksiyonelleştirilen hedefleme ligandı sayesinde belirgin bir şekilde arttığı gözlenmiştir (Wang ve ark., 2015).



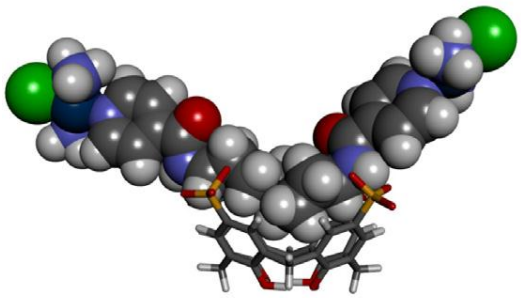
Şekil 1.73. Farklı hedef ligandlar için oluşturulan “ilaç şaperon” modellerinin şematik gösterimi

Pur ve arkadaşı (2014), potansiyel bir antikanser maddesi olarak Pt^{2+} merkezli kaliksaren kompleksini sentezlemiştir (Şekil 1.74). Kolorimetrik sitotoksisite testleri, üç farklı insan karsinoma (küçük hücreli olmayan akciğer, hepatoselüler ve göğüs kanseri) hücre hatlarına karşı karboplatin aktivitesinin güçlendiğini göstermiş ve akciğer kanseri hücre hattına karşı en sitotoksik olduğu (IC_{50}=2.6 µM) belirlenmiştir (Pur ve Dilmaghani, 2014).



Şekil 1.74. Sentezlenen kaliksaren-cis-platin kompleksi

Brown ve arkadaşları (2012), *para*-sülfonatokaliks[4]aren ile dinükleer platin kompleksi sentezleyerek yapılarını, ^{1}H NMR spektroskopisi ve moleküler modelleme ile incelemiştir (Şekil 1.75). Dinükleer platin kompleksleri, model antikanser ilaçları olduğundan, insan yumurtalık karsinoma hücre hatlarında (A2780 ve A2780cp70) *in vitro* olarak etkisi araştırılmıştır (Brown ve ark., 2012).

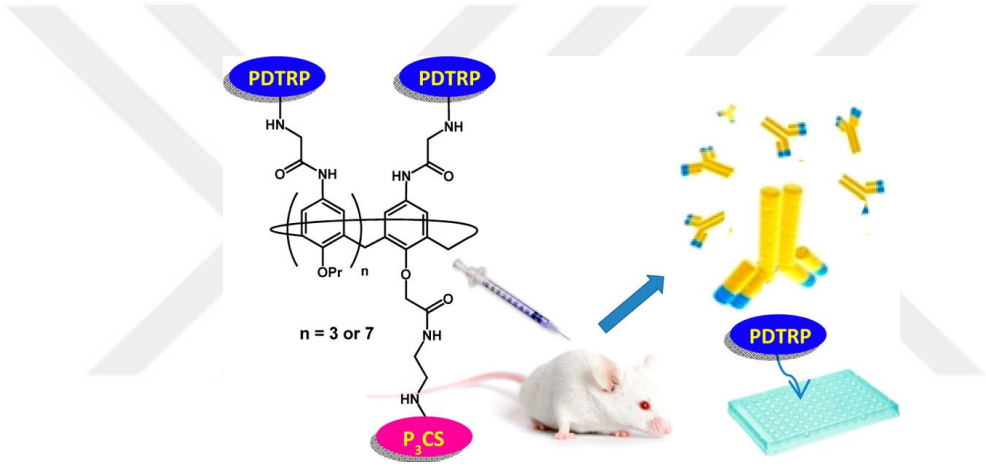


Metal complex	IC_{50} (µM)		Rf
	A2780	A2780cp70	
Cisplatin	0.22 ± 0.03	3.82 ± 0.21	17.4
sCX[4][a]	>1500	1500	n/a
1	0.029 ± 0.012	4.94 ± 0.09	170
1–sCX[4]	0.030 ± 0.004	12.41 ± 1.08	414
2	0.041 ± 0.005	2.72 ± 0.77	66
2–sCX[4]	0.026 ± 0.004	3.75 ± 0.50	144
3	0.028 ± 0.011	2.84 ± 0.15	101
3–sCX[4]	0.052 ± 0.018	0.576 ± 0.025	11.1

Şekil 1.75. Sentezlenmiş kaliksaren-dinükleer platin kompleksinin minimalize edilmiş enerji modeli ve antikanser çalışmasından elde edilen IC_{50} değerleri

Geraci ve arkadaşları (2013), iki yeni antikanser self-adjuvan aşı adayı üretmek için iki immünodominant B-hücresi epitopu PDTRP MUC1 çekirdek sekansını, TLR2

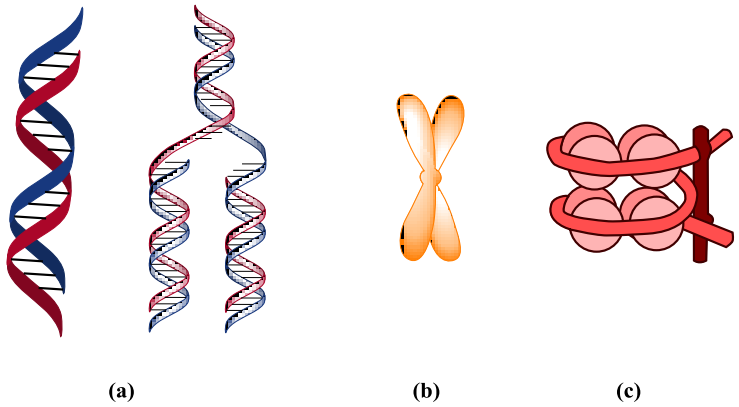
ligandını ihtiva eden kaliks[4,8]aren platformlarıyla birleştirerek, elde edilen sentetik yapıların immünojenikliğini, farelere *in vivo* aşılama yaparak araştırmıştır (Şekil 1.76). ELISA testi, aşı adaylarının anti MUC1 IgG antikor üretimini uyardığını ancak hiçbir katkısının olmadığını bununla birlikte benzer bir monovalent ile karşılaştırıldığında çok değerlikli bir etkinin gözlemlendiğini kanıtlamıştır. Peptit kısımlarında PDTRP bulunmayan sekiz ve dört çekirdekli yapılar, farelerde anti MUC1 IgG antikoru üretimini göstermemiştir. Sentezlenmiş yapılar tarafından indüklenen antikorlar, MCF7 tümör hücreleri üzerinde bulunan MUC1 yapılarını tanıyabilmiştir. Sonuçlar, kaliksarenlerin, immünoterapötik antikanser ajanları olarak umut vaat eden çok bileşenli self-adjuvan aşı yapıları oluşturmak için uygun platformlar olduğunu göstermiştir (Geraci ve ark., 2013).



Şekil 1.76. Kaliksarenlerle oluşturulan sentetik self-adjuvan aşı oluşturma modelinin şematik gösterimi

1.8. DNA ve Genel İşlevi

DNA yani deoksiribonükleik asit, tüm organizmaların (bazı virüsler hariç) canlılık işlevleri ve biyolojik gelişmeleri için elzem olan genetik kodları taşıyan bir nükleik asit türüdür (Şekil 1.77a). Yaşamın anahtarı olarak adlandırılan DNA'nın başlıca rolü, içerdiği genetik bilgileri uzun süreli saklayarak nesilden nesile aktarmasıdır. Bu genetik bilgileri, protein ve RNA gibi hücrenin diğer bileşenlerini inşa etmek için kullanır. DNA'nın böyle bilgileri içeren anlamlı kısımlarına "gen" adı verilir. Bununla birlikte, bazı DNA dizilerinin kromozomların şeklini belirlemek gibi yapısal işlevleri vardır, diğerleri ise bu genetik bilginin ne şekilde (hangi hücrelerde, hangi şartlarda) kullanılacağının düzenlenmesine yararlar (Vikipedi, 2018).



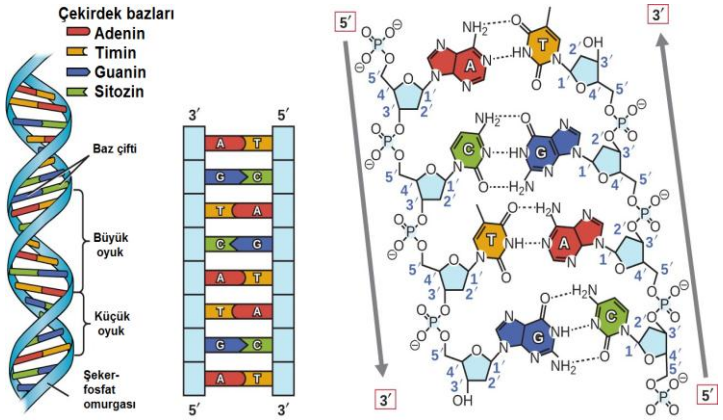
Şekil 1.77. (a) DNA'nın yapısal şekli, **(b)** Kromozom, **(c)** Nükleozom (DNA+histon proteinleri)

DNA'daki bilgi, DNA'ya benzer yapıya sahip başka bir nükleik asit olan RNA'ya kopyalanır (transkripsiyon). Daha sonra, RNA'dan alınan bilgiler, genetik kod aracılığıyla okununca amino asit dizileri belirlenerek protein sentezi (translasyon) gerçekleşir.

DNA hücrelerin içinde kromozom olarak adlandırılan yapılarda bulunur (Şekil 1.77b). Hücre bölünmesinden önce kromozomlar eşlenir, bu sırada DNA replikasyonu yani ikileşmesi gerçekleşir. DNA, ökaryotik canlılarda (hayvan, bitki, mantar ve protistalar) hücre çekirdeği içinde bulunurken, prokaryotik canlılarda (bakteri ve alglerde) hücre sitoplazmasında yer alır. Kromozomlarda bulunan kromatin proteinleri (histonlar gibi) DNA'yı sıkıştırıp düzenlerler (Şekil 1.77c). Bu sıkışık yapılar DNA ile diğer proteinler arasındaki etkileşimleri düzenleyerek DNA'nın hangi kısımlarının okunacağını da kontrol eder (Vikipedi, 2018).

1.9. DNA'nın kimyasal yapısı

Kimyasal olarak DNA, şeker, fosfat ve çekirdek bazı olarak bilinen birimleri içeren iki uzun polimer zincirinden oluşur. Bu polimerlerin omurgasını, fosfo diester bağları ile birbirine bağlanmış şeker ve fosfat grupları oluşturur. Polimer zincirleri, iki iplik halinde ve birbirlerine ters yönde uzanırlar. Her bir şeker grubuna çekirdek bazlarından (yani, adenin, guanin, timin ve sitozin) biri bağlıdır (Şekil 1.78). DNA'nın bir ipliğindeki bir baz tipi, öbür iplikteki tek bir baz tipi ile [A=T (Adenin=Timin) ve G≡C (Guanin≡Sitozin) şeklinde] hidrojen bağı kurarak çift iplikli yapıyı meydana getirir. Çift iplik bu şekilde kararlı halde tutulur. Ayrıca hidrofobik etki ve π istiflenmesi de kararlılığı sağlamaktadır (Ponnuswamy ve Gromiha, 1994).



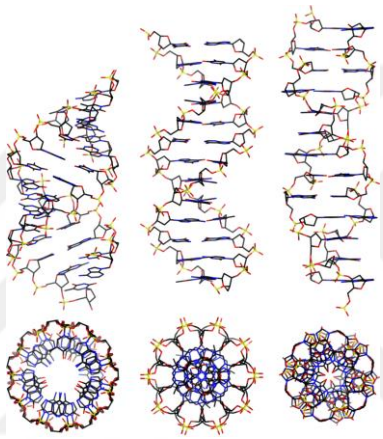
Şekil 1.78. Çift iplikli DNA'nın yapısal özellikleri (DNA, 2018)

DNA zinciri 22 ila 26 Å arası (2.2-2.6 nm) bir genişliktedir, bir nükleotit birimi 3.3 Å (0.33 nm) uzunluğundadır (Mandelkern ve ark., 1981). Sarmal yapıyı oluşturan iplikçiklerin aralarındaki boşluklar takip edildiğinde iki tane hayali boşluk veya oyuk bulunduğu gözlenmiştir. Bu oyuklar baz çiftlerine bitişiktir ve birbirlerinin tam karşısında olmadıkları için büyüklükleri aynı değildir. Bunlardan büyük oyuk (majör oyuk) olarak adlandırılanı 22 Å genişliğinde, küçük (minör) oyuk ise 12 Å genişliğindedir (Wing ve ark., 1980). Küçük oyuğun darlığı nedeniyle büyük oyuktan bazların kenarlarına erişmek daha kolaydır. Bu nedenle, DNA'daki belli baz dizilerine bağlanan, transkripsiyon faktörü gibi proteinler büyük oyuktan bazların kenarlarına temas ederler (Pabo ve Sauer, 1984).

DNA'nın çift ipliği, süper burulma (supercoiling) tabir edilen olayın sonucunda bir halat gibi burulabilir. "Gevşek" halinde DNA'daki bir iplik, her 10.5 baz çiftinde bir, çift sarmalın ekseni etrafında bir tam dönüş yapar. Ama eğer DNA burulursa iplikler daha sıkı veya daha gevşek sarılı olabilirler (Benham ve Mielke, 2005). Eğer DNA sarmalı sarılma yönünde burulursa buna "pozitif süperburulma" denir ve bazlar birbirlerine daha sıkı şekilde tutunurlar. Eğer ters yönde burulursa DNA, buna "negatif süperburulma" denir ve bazlar birbirlerinden daha kolay ayrışırlar. Doğadaki çoğu DNA molekülü az derecede negatif süper burguludur, bundan topoizomeraz adlı enzimler sorumludur (Champoux, 2001). Bu enzimlerin bir işlevi transkripsiyon ve DNA ikileşmesi gibi süreçler sırasında DNA ipliklerine etki eden burulmayı bertaraf etmektir (Wang, 2002).

1.10. DNA Türleri

DNA'nın konformasyonlarının değişmesiyle oluşan çeşitli formları/biçimleri mevcuttur (Ghosh ve Bansal, 2003). Ancak, canlılarda sadece A-DNA, B-DNA ve Z-DNA gözlemlenmiştir (Şekil 1.79). DNA'nın hangi formu aldığı DNA dizisine, süperburulmanın yönü ve miktarına, bazlardaki kimyasal değişimlere ve çözeltinin özelliklerine (metal iyonu ve poliamin konsantrasyonu gibi) bağlıdır (Basu ve ark., 1988). Bu üç formdan yukarıda bahsedilen "B" formu, hücrelerin mevcut şartlarında en sık görülenidir (Leslie ve ark., 1980).



Şekil 1.79. DNA'nın A, B ve Z formlarının gösterimleri (Alıntılama, 2018)

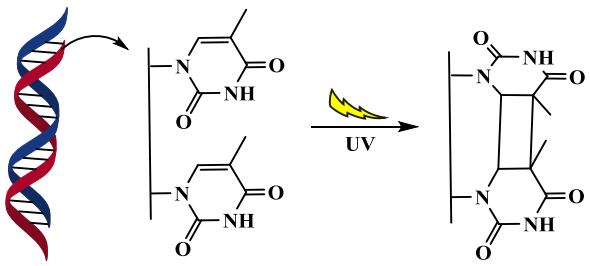
B formuyla kıyaslandığında, DNA'nın A formu daha geniş bir sarmaldır, küçük oluğu daha geniş ve sığ yani derin değilken, büyük oluğu daha dar ve derindir. A formundaki nükleik asitler, fizyolojik olmayan şartlarda, suyunu kaybetmiş DNA örneklerinde görülür, hücre içinde ise DNA ve RNA ipliklerinin birbirine sarılmasından oluşan karma (hibrit) eşleşmelerde ve ayrıca bazı enzim-DNA komplekslerinde oluşabilmektedir (Wahl ve Sundaralingam, 1997) (Lu ve ark., 2000). Metilleme ile kimyasal değişime uğrayan DNA parçaları daha büyük biçimsel değişiklik gösterip Z formunu alabilirler. Bu durumda iplikler sarmal ekseni etrafında dönerek sol elli bir spiral oluşturur, bu daha yaygın olan B formununkinin tersi yöndedir (Rothenburg ve ark., 2001). Bu sıra dışı yapıların, Z-DNA bağlayıcı proteinler tarafından tanındığı bilinmektedir ve transkripsiyon kontrolü ile ilişkili olduğu sanılmaktadır (Oh ve ark., 2002).

Çizelge 1.3. DNA'nın A, B ve Z formlarının özelliklerinin kıyaslanması

	B-Form	A-Form	Z-Form
Sarmal Yönü	Sağ el	Sağ el	Sol el
Dönüş başına düşen baz çifti	10.5	11	12
Baz çifti başına sarmalın yükselişi	3.4 Å	2.6 Å	3.7 Å
Baz çifti başına dönme (rotasyon)	+36°	+33°	-30°
Sarmal Çapı	~20 Å	~26 Å	~18 Å

1.11. DNA Hasarları

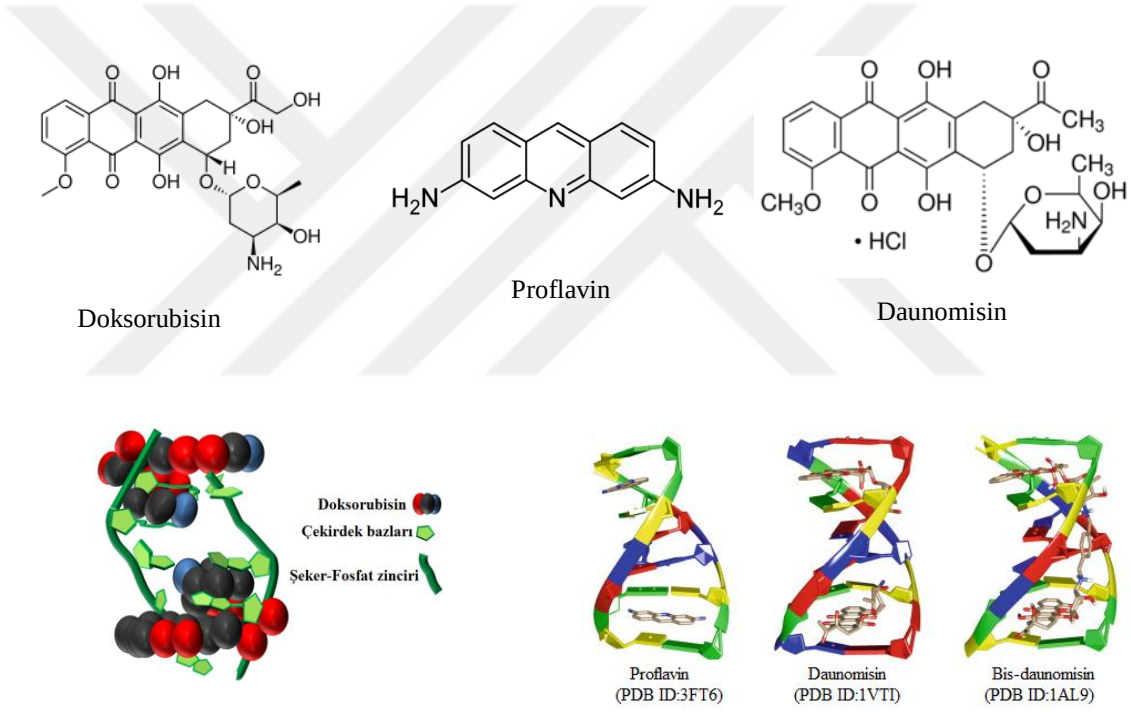
DNA çeşitli mutajenler tarafından farklı ve çok çeşitli şekillerde hasara uğrayabilir, bunun sonucunda DNA dizisi değişebilir. DNA'da mutasyon yapan başlıca mutajenler, yükseltgen (oksitleyici) maddeler, alkilleyici maddeler ve yüksek enerjili elektromanyetik ışınlar (UV ve X ışınları gibi) olarak sayılabilir. DNA'da meydana gelen hasarın tipi mutajenin yapısına bağlıdır. Örneğin, mor ötesi (UV) ışık timin dimerleri oluşturarak DNA'ya hasar verir (Şekil 1.80) (Douki ve ark., 2003). Buna karşın, serbest radikaller veya hidrojen peroksit gibi yükseltgen maddeler baz değişimi (özellikle guanozin) ve iki ipliğin de kırılması gibi farklı türden hasar oluşturabilirler (Cadet ve ark., 1999). Her bir insan hücresinde günde 500 baz yükseltgeyicilerden dolayı zarar görür (Shigenaga ve ark., 1989) (Cathcart ve ark., 1984). Bu yükseltgeyici hasarlardan en zararlısı çift zincirli kırılmalardır, çünkü bunların onarımı zordur, bunlar DNA dizilerinde noktasal mutasyonlara, insersiyonlara ve delesyonlara ve ayrıca kromozomal translokasyonlara yol açabilirler (Valerie ve Povirk, 2003).



Şekil 1.80. UV ışınlarının etkisiyle timin dimerinin oluşumu

Çoğu mutajen, iki baz çifti arasındaki boşluğa girer, buna "interkalasyon" denir. Çoğu interkalatörler aromatik ve düzlemsel moleküllerdir, bunlara örnek olarak

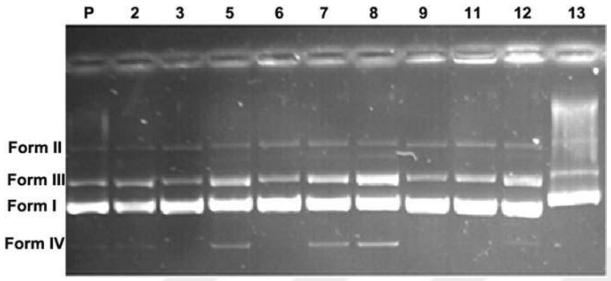
etidiyum bromür, daunomisin (daunorubisin), doksorubisin ve proflavin vb. sayılabilir (Şekil 1.81). Bir interkalatörün iki baz çifti arasına girebilmesi için bunların arasının açılması, bunun olabilmesi için de DNA sarmalının normalin aksi yönde burularak gevşemesi gerekir (Şekil 1.81). Bunlar olunca transkripsiyon ve DNA replikasyonu engellenir ve bu yüzden zehirlenme ve mutasyonlar meydana gelir. Bu sebeple DNA interkalatörleri çoğunlukla kanserojendir, bunların en iyi bilinen örnekleri benzopiren diol epoksit, akridin türevleri, aflatoksin ve etidyum bromürdür (Ferguson ve Denny, 1991) (Jeffrey, 1985) (Stephens ve ark., 2000). Bununla birlikte, DNA transkripsiyonuna engel olma özelliklerinden dolayı bu toksinler aynı zamanda hızla büyüyen kanser hücrelerini engellemek amacıyla kemoterapide de kullanılmaktadırlar (Braña ve ark., 2001).



Şekil 1.81. DNA'yla interkalasyon yapan bazı moleküllerin kimyasal yapıları ve DNA'ya bağlanma şekilleri (Vikipedi, 2018) (Mukherjee ve Sasikala, 2013)

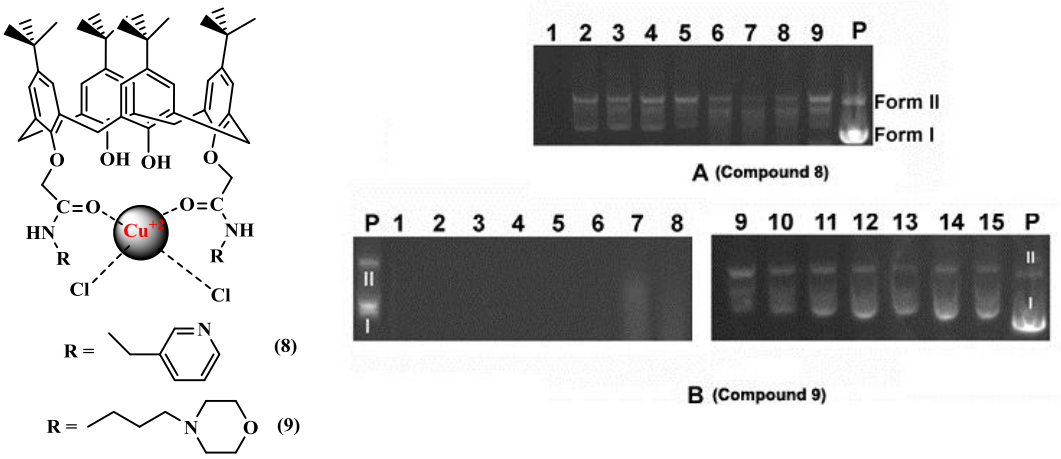
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Yılmaz ve arkadaşları (Özkan ve ark., 2014), *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin di ve mono amit türevlerini sentezledikten sonra pBR322 plazmit DNA'sına karşı DNA cleavage özelliklerini incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlar, özellikle mono-amit türevli kaliksarenlerin daha etkili olduklarını göstermiştir (Şekil 2.1).



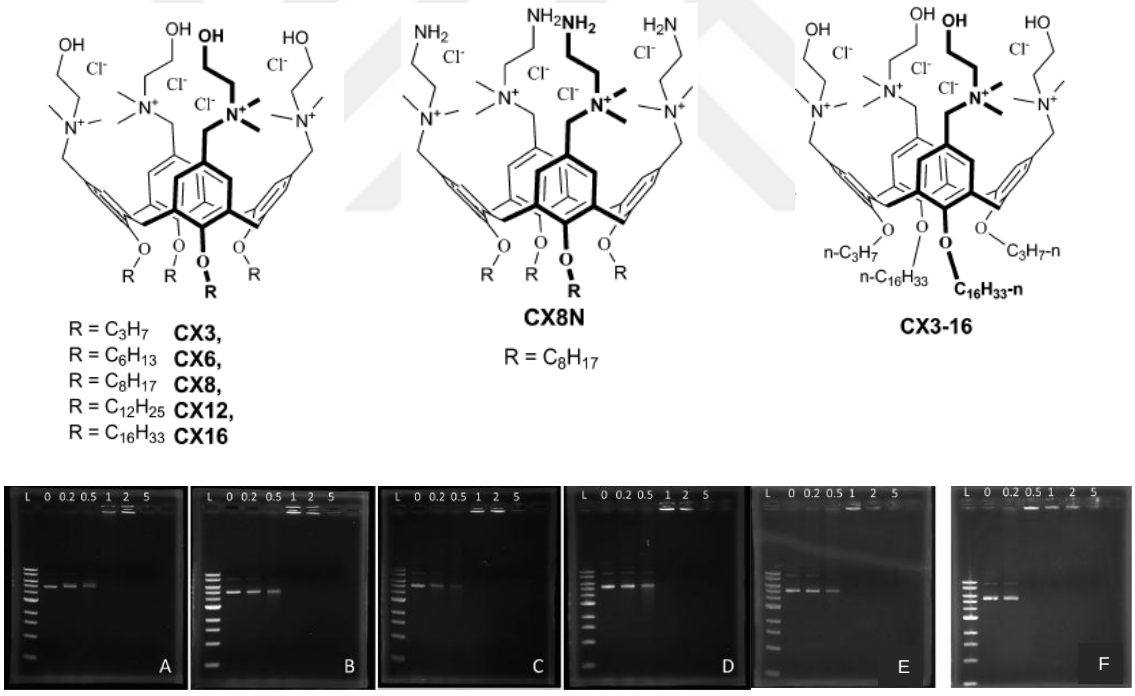
Şekil 2.1. Mono ve diamit türevli *p*-ter-bütilkaliks[4]aren bileşiklerinin pBR322 plazmit DNA'sıyla muamele edildikten sonraki elektroforez görüntüsü

Yılmaz ve arkadaşları (Özkan ve ark., 2015), *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin di amit türevlerini elde ettikten sonra bu bileşiklerden morfolin ve piridin gruplarını içeren ligantların yüksek bağlanma özelliklerinden yola çıkarak Cu^{2+}-komplekslerini sentezlemişlerdir. Elde edilen Cu^{2+} kompleklerinin yapıları UV.Vis., IR, AAS ve EPR teknikleriyle aydınlatılmıştır. Sentezlenen ligantların ve komplekslerin antimikrobiyal ve DNA cleavage özelliklerini incelemişlerdir. Sonuçlar Cu^{2+} kompleklerinin pBR322 plazmit DNA'sına karşı oldukça etkin olduğunu ligantların ise çok az etkinlik gösterdiğini kanıtlamıştır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Etkinliği yüksek olan diamit türevli *p*-ter-bütilkaliks[4]aren bileşiklerinin Cu^{2+} kompleksleri ve DNA' yla yürütüldüğü elektroforez görüntüleri

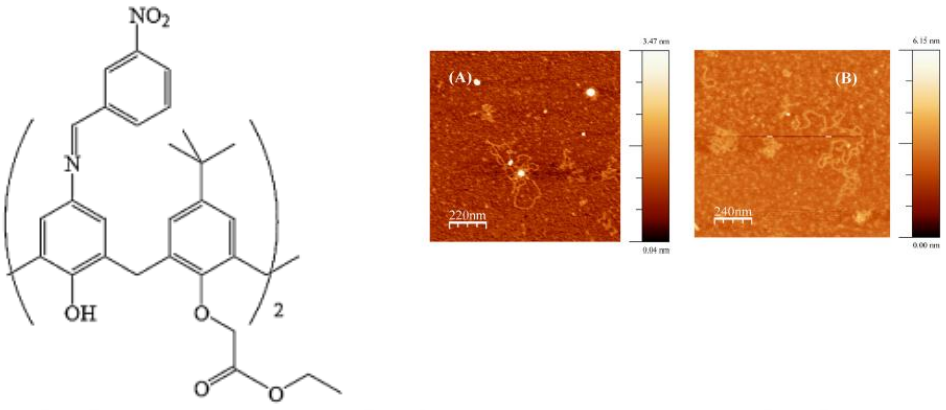
Rodik ve arkadaşları (2015), bir seri ampifilik kaliks[4]aren türevi sentezlemiş ve bunların misel oluşturma yeteneklerini ve özelliklerini, DNA etkileşimlerini, DNA komplekslerinin özelliklerini, transfeksiyon etkinliklerini ve sitoksisitelerini incelemiştir (Şekil 2.3). Self-assembly yani kendiliğinden miseller oluşturdukları ve uzun zincirli alkil gruplarına sahip bileşiklerin lipofilik özelliklerinin daha iyi olduğu görülmüştür. Tüm bileşikler pDNA ile N/P oranı 1 olduğunda tamamen DNA'ya bağlanmışlar ve bu oran 2 ve üstüne çıktığında ise DNA'yı tamamıyla yoğunlaştırmışlardır. HeLa hücreleriyle yapılan transfeksiyon çalışmalarının sonucuna göre, 12 karbonlu dodesil grubu taşıyan kaliksaren türevi oldukça yüksek bir etkinlik göstermiştir. Bu bileşik her deneyde yardımcı olarak kullanılan lipitin yokluğunda da etkinlik göstererek farklılık oluşturmuştur. Sitotoksisite çalışmaları da uzun zincirli kaliksaren türevlerinin (CX12 ve CX3-16) daha az etki gösterdiğini göstermiş, uzun vadede bu bileşiklerin yeni yapay virüsler olarak dizayn edilebileceği düşüncesini oluşturmuştur (Rodik ve ark., 2015).



Şekil 2.3. Sentezlenmiş katyonik kaliksarenler ve bunların pDNA **(**pCMV–eGFP plazmiti) ile belli oranlarda (N/P) oluşturulan komplekslerinin elektroforez görüntüleri (sırasıyla A-F:CX6, CX8, CX12, CX3-16, CX8N pH=7.4 ve CX8N pH=5.0)

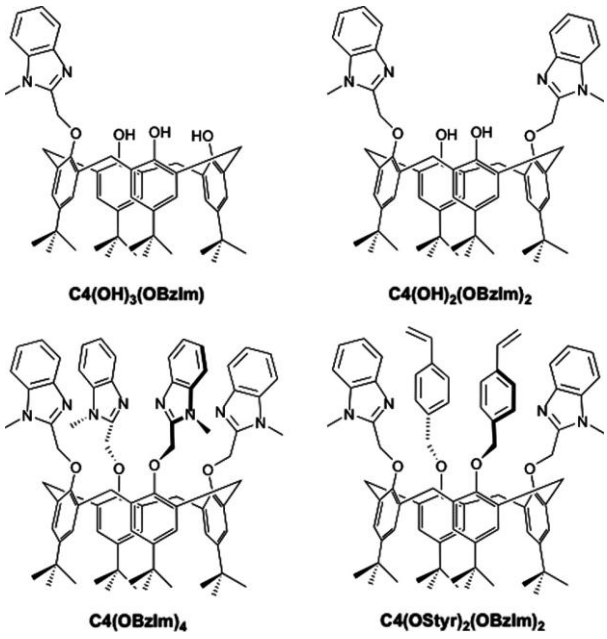
Ostos ve ark. (2015), dinitro-diester kaliks[4]aren türevinin CT-DNA ile etkileşimini çeşitli teknikler kullanarak gerçekleştirmiştir (Şekil 2.4). DNA'nın yoğuşmasını, yani kompakt bir durumdan daha geniş bir konformasyona geçmesini,

çözelti içindeki kaliksaren moleküllerinin istiflenmesinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir (Ostos ve ark., 2015).



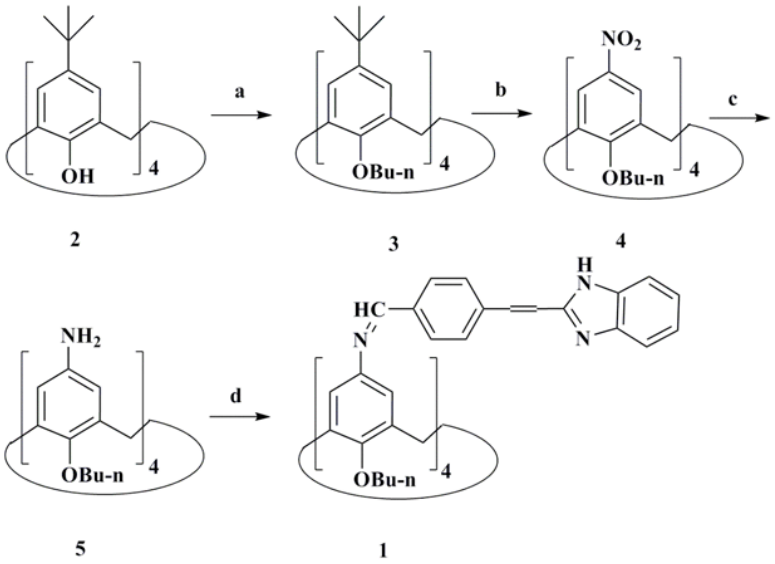
Şekil 2.4. Etkinliği yüksek olan dinitro-diester türevli *p-ter*-bütilkaliks[4]aren bileşiği ve bu bileşiğin CT-DNA'yı yoğuşturduğu SEM görüntüleri

Cante-Mota ve arkadaşları (2013), *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin benzimidazol bileşiklerini mono, di, tetra şeklinde ve stirenle polimerleştirerek sentezlemişler ve bu bileşiklerin $CuCl_2.2H_2O$ ile Cu^{2+}-komplekslerini elde etmişlerdir. Sentezlenen ligantların ve komplekslerin X-Ray kristalografisi ile moleküler yapılarını aydınlatmışlardır (Cante-Mota ve ark., 2013) (Şekil 2.5).



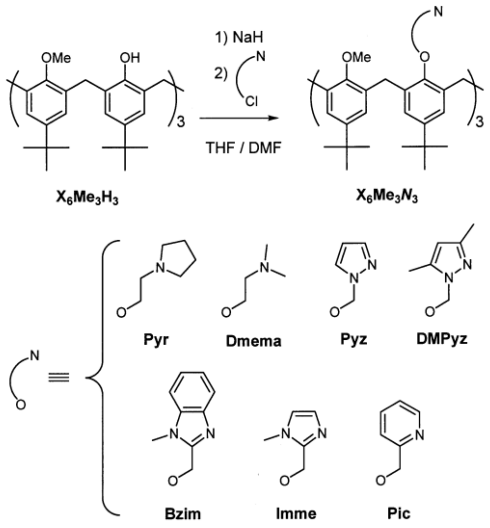
Şekil 2.5. Sentezlenen *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin benzimidazol türevleri

Wang ve arkadaşları (2009), kaliks[4]arenin yeni bir floresans bileşiğini, benzimidazol gruplarıyla fonksiyonlandırarak, Schiff bazı türevi halinde koni konformasyonunda sentezlemişlerdir. Yapı analizi ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, IR ve MS teknikleriyle yapılan bileşiğin, Fe^{3+} ve Cr^{3+} iyonlarına karşı özel bir afinitesinin olduğu UV-Vis. ve floresans spektroskopisi ile tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2009) (Şekil 2.6).



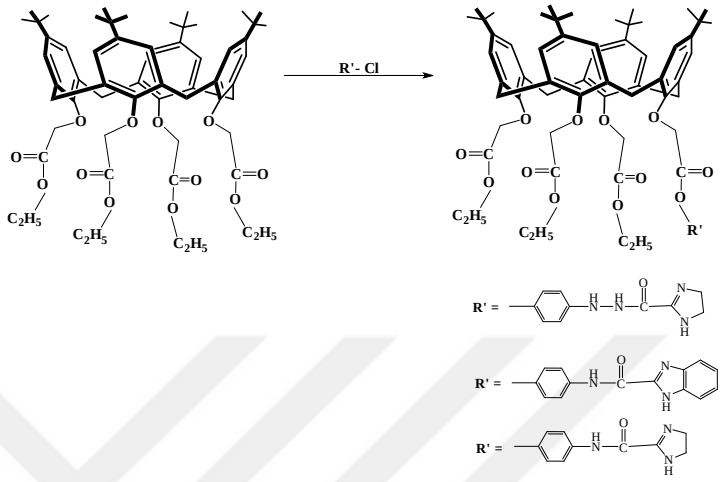
Şekil 2.6. Fe^{3+} ve Cr^{3+} iyonlarına karşı özel bir ilgi gösteren *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin benzimidazol grubu içeren Schiff baz bileşiğinin sentezlenme aşamaları

Reinaud ve grubu (2001), üç dişli N-ligantlar olacak şekilde tersiyer aminler, pirazoller ve benzimidazolleri içeren kaliks[6]aren bileşiklerini sentezlemişler ve daha sonra kararlı çinko komplekslerini oluşturararak biomimetik özelliklerini incelemişlerdir (Sènèque ve ark., 2001) (Şekil 2.7).



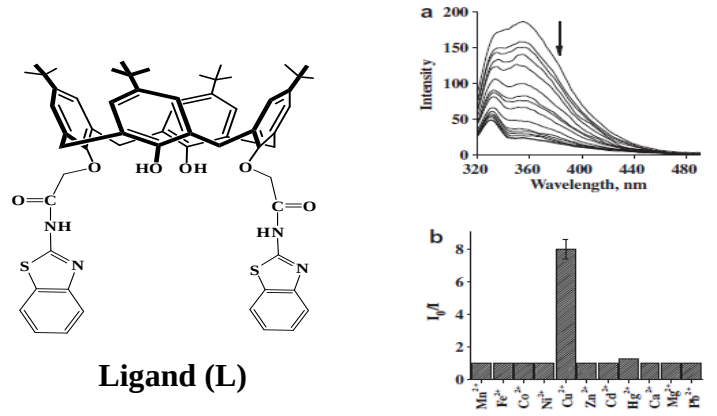
Şekil 2.7. Sentezlenen N-ligantlar şeklindeki kaliks[6]aren bileşikleri

Sharma ve arkadaşları (2002), 25,26,27-tris(etoksikarbonilmetoksi)-28-(sübstitüe oksikarbonilmetoksi)kaliks[4]aren yapısında imidazol ve benzimidazol türevlerini sentezlemişler ve yapı karakterizasyonunu ^{1}H NMR, IR ve elementel analiz teknikleriyle gerçekleştirmişlerdir (Sharma ve ark., 2002) (Şekil 2.8).



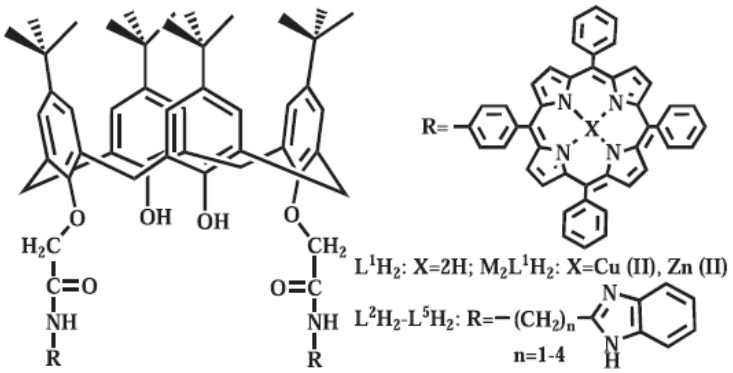
Şekil 2.8. Sentezlenen imidazol ve benzimidazol türevli kaliksaren bileşikleri

Rao ve grubu (2010), *p-ter*-bütilkaliks[4]areni benzotiyazol ile etkileştirerek amit yapısında 1,3-di-fonksiyonlu yeni bir floresan sensör sentezlemişlerdir. Bu reseptör molekül, 2+ değerlikli çeşitli iyonlar arasında Cu^{2+} iyonuna karşı floresansı söndürücü yönde bir özellik göstermiş ve Cu^{2+} ile 1:1 kompleks oluşturduğu elektronik absorbsiyon ve ESI-MS teknikleri kullanılarak açığa çıkarılmıştır. Cu^{2+}-kompleksi iyodür anyonunun meydana getirdiği renk değişimiyle tanınmıştır (Joseph ve ark., 2010) (Şekil 2.9).



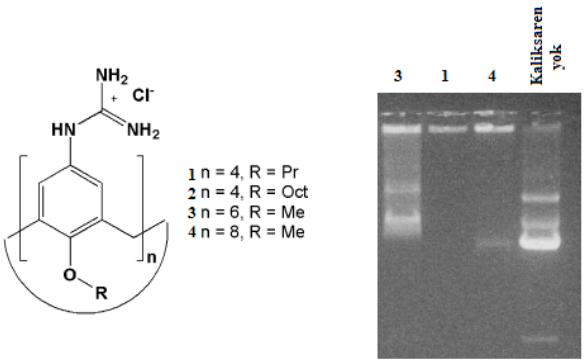
Şekil 2.9. Benzotiyazin gruplu kaliksaren ve onun çeşitli metal iyonlarıyla yapılan floresans spektrumlarından elde edilen grafikleri

Snurnikova ve arkadaşları (2011), porfirin ve benzimidazol halkalarıyla modifiye edilmiş 1,3-disübstitüe *p-ter*-bütilkaliks[4]aren bileşiklerini ligant olarak kullanarak lantanit kompleksleri sentezlemişler ve hem komplekslerin hem de ligantların spektral-lüminesans özellikler üzerindeki etkilerini incelemişlerdir (Snurnikova ve ark., 2011) (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Sentezlenen di amit türevli kaliks[4]aren bileşikleri

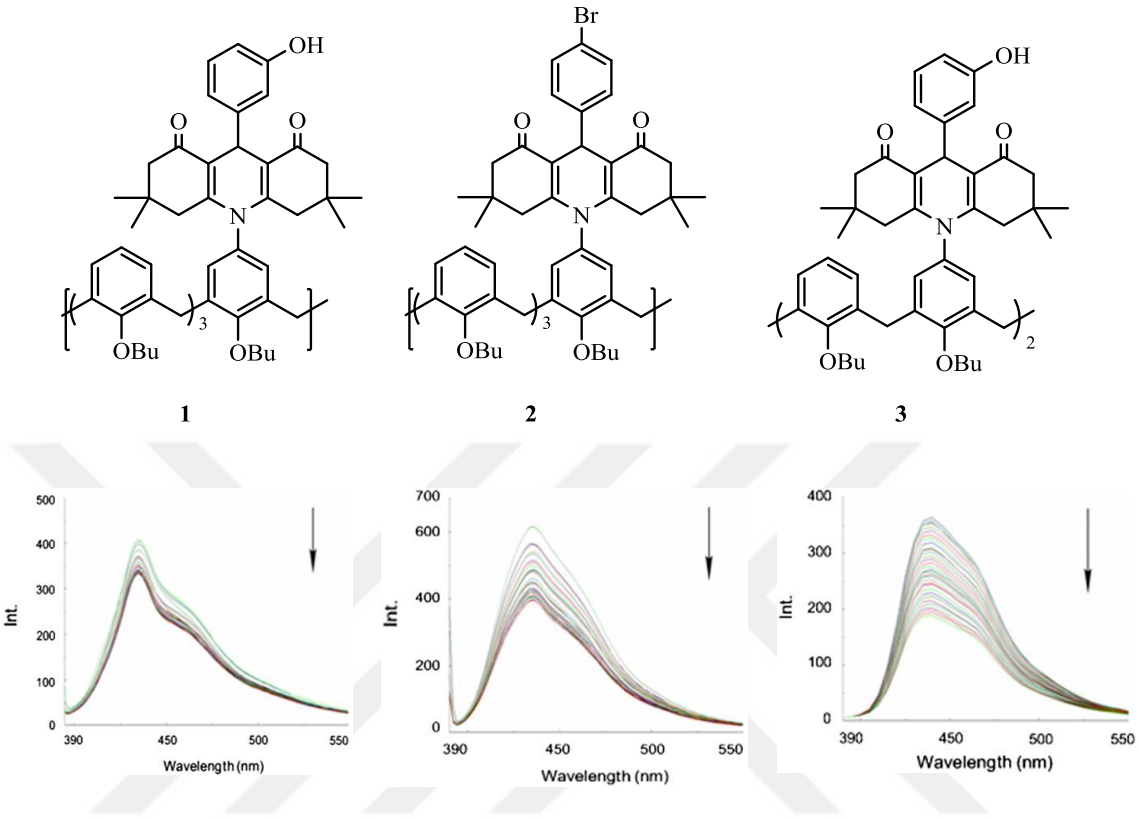
Ungaro ve grubu, *N*,*N*'-di(*ter*-bütoksikarbonil)tiyoüre ile O-alkillenmiş *p*-aminokaliks[n]arenlerin (n= 4,6,8) suda çözünen yeni kaliks[n]guanidinyum türevlerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin plazmit DNA'sı üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bu bileşiklerden şekilde gösterilen 1 nolu bileşiğin, 25 μM ve daha yüksek konsantrasyonlarda DNA'yı yok ettiği elektroforez görüntüsünden yorumlanmıştır (Dudic ve ark., 2004) (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. Kaliks[n]guanidinyum türevleri ve plazmit pEGFP DNA'sına etkilerinin gözlendiği agaroz jel elektroforez görüntüsü

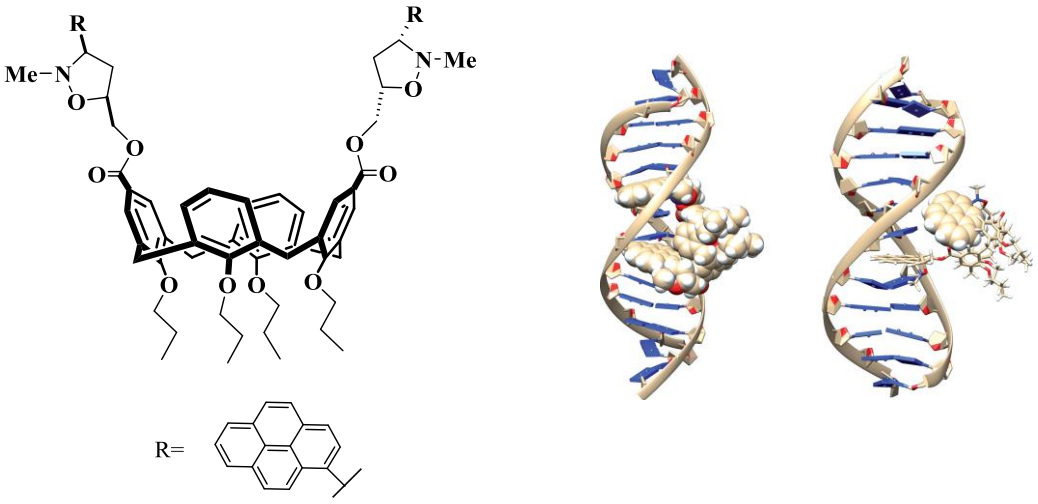
Mirza-Aghayan ve arkadaşları (2014), yeni akridin-kaliks[4]aren türevleri sentezlemişler ve bu bileşiklerin CT-DNA'yla etkileşimlerini floresans titrasyonuyla

incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlar, bu bileşiklerin CT-DNA'sına karşı iyi bir afiniteye sahip olduğunu göstermiştir (Mirza-Aghayan ve ark., 2014) (Şekil 2.12).



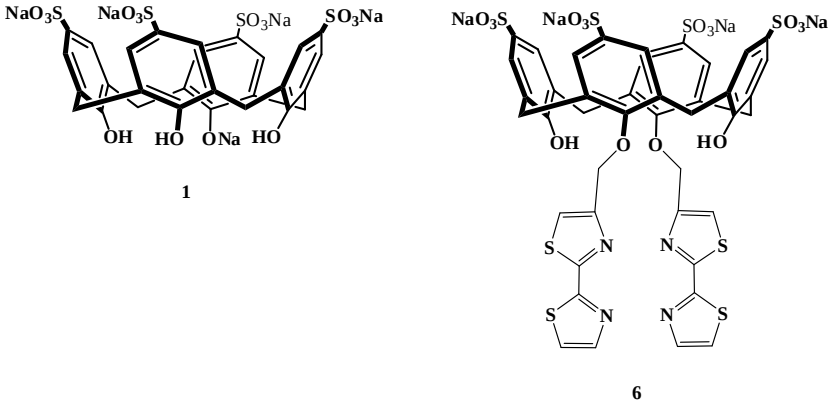
Şekil 2.12. Akridin-kaliks[4]aren türevli bileşikler ve onların CT-DNA eklenmesiyle floresans şiddetlerindeki düşüşü gösteren floresans spektrumları (soldan sağa sırasıyla:1-3)

Rescifina ve arkadaşları (2014), polisiklik aromatik hidrokarbonlar içeren yeni kaliks[4]aren konjugatlarını, başlangıç bileşiği olarak kaliksarenin upper riminden bağlanmış karboksilik asit türevinin asit klorüre dönüştürülmesinden sonra trans- veya cis-prenilizoksazodinil alkol türevleriyle siklokatılma reaksiyonu gerçekleştirerek sentezlemişler ve daha sonra tüm bileşiklerin *in vitro* sitotoksik aktivitelerini üç ayrı insan tümör hücre hatlarıyla incelemişlerdir. En etkili sonuç olarak 95 nM' lık bir IC_{50} değerine ulaşmışlar ve ek olarak da sentezlenen bileşiklerin farklı biyolojik aktivitelerini docking ve dairesel dikroizm (CD) çalışmalarıyla değerlendirmişlerdir (Rescifina ve ark., 2014) (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. Sentezlenen bileşiklerden birinin molekül şekli ve bu bileşiğin DNA'nın büyük oyuğuna bağlanma şeklinin temasal olarak gösterimi

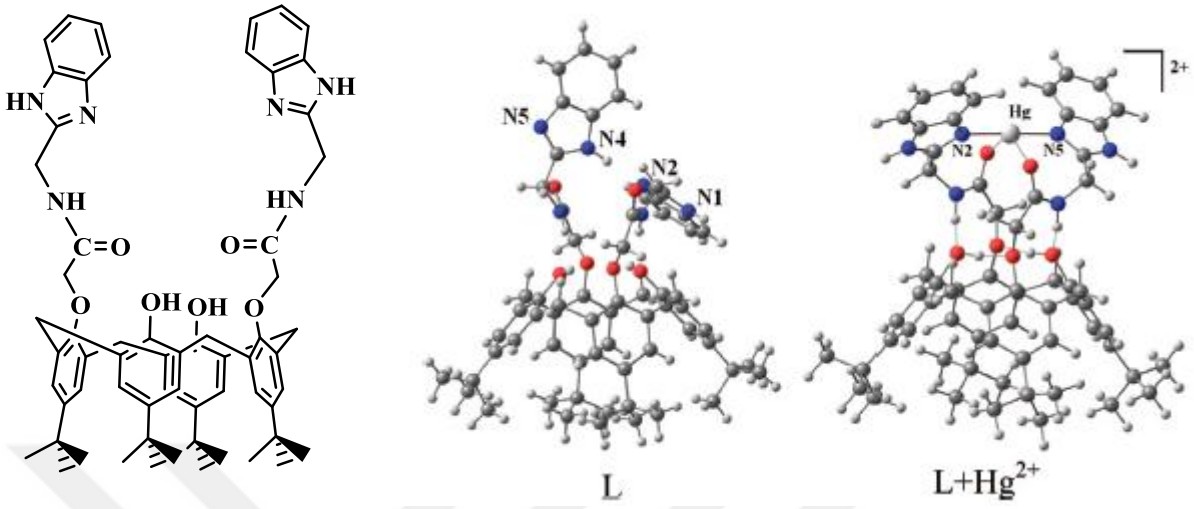
Mourer ve arkadaşları (2010), 9 adet farklı yapıda (sülfonat, karboksilat ve fosfat) anyonik, suda çözünebilen kaliksaren türevini sentezledikten sonra anti-HIV ajanı olarak özelliklerini incelemişlerdir. Bileşiklerin çoğu 10-50 µM konsantrasyon aralığında antiviral etki göstermişler; onlardan biri olan sülfonat bileşiklerinin virüsün tropizmi ne olursa olsun, mikro molar konsantrasyon seviyesinde aktivite gösterdiği gözlenmiştir (Mourer ve ark., 2010) (Şekil 2.14).



Şekil 2.14. Antiviral etkinlikleri yüksek olan sülfonat türevli kaliksaren bileşikleri

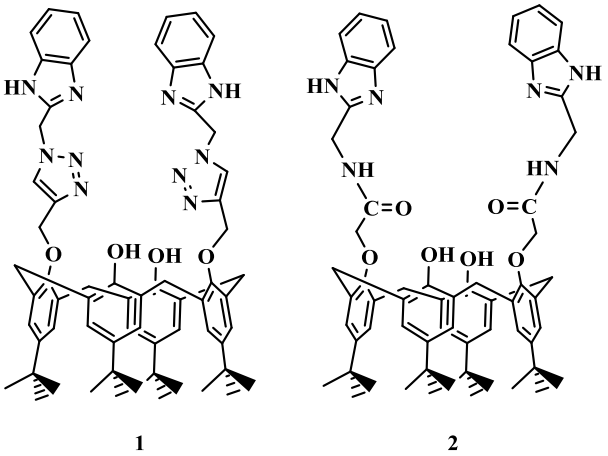
Rao ve grubu 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada, *p-ter*-bütilkaliks[4]arenin di-amit yapısında benzimidazol türevini sentezlemişlerdir. Bu reseptör molekül sulu asetonitril ortamında, 2+ değerlikli çeşitli iyonlar arasında yapılan deneylerde Hg^{2+} iyonuna karşı bir afinite göstermiş ve Hg^{2+} ile 1:1 kompleks oluşturduğu stokiyometrik olarak ortaya çıkarılmıştır. ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, ESI-MS, absorbsiyon, floresans yarı-

ömür ölçümleri, TEM, SEM ve AFM teknikleri kullanılarak kompleksin oluşumuyla ilgili tüm ispatlar yapılmıştır (Joseph ve ark., 2008) (Şekil 2.15).



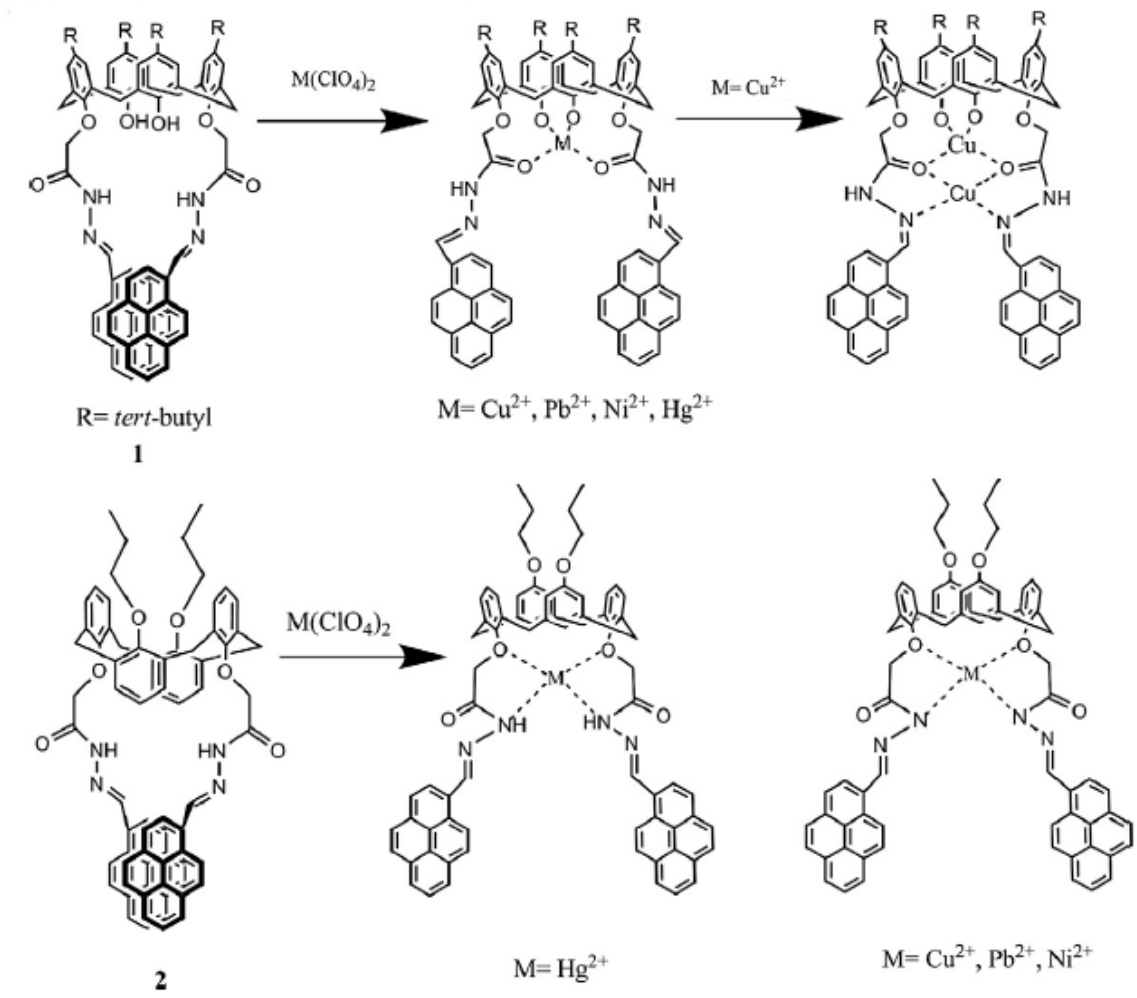
Şekil 2.15. Benzimidazol türevli kaliksaren bileşiği ve Hg^{2+} ile kompleks oluşumunun ORTEP diyagramı ile gösterimi

Rao ve grubu yaptıkları bir diğer çalışmada (2012), benzimidazol grupları içeren triazol yapısında *p-ter*-bütilkaliks[4]aren türevlerini sentezleyerek yapılarını aydınlatmışlardır. Sentezlenen triazol yapısındaki kaliksaren bileşiğinin seçimli ve hassas olarak Cu^{2+}'ya karşı floresans sensör özelliği olduğu ortaya çıkarılmıştır (Pathak ve ark., 2012) (Şekil 2.16).



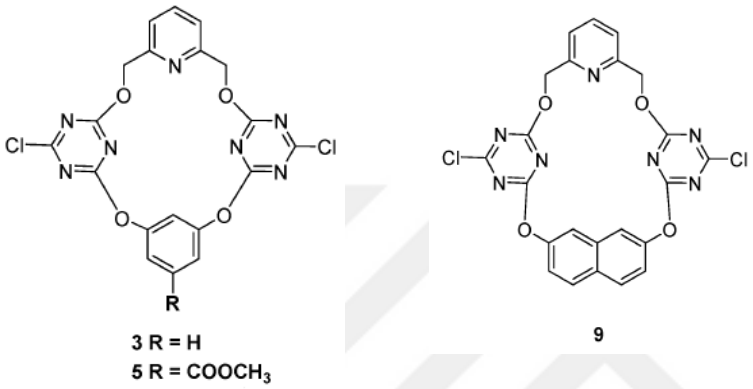
Şekil 2.16. Benzimidazol türevli kaliksaren bileşikleri

Maity ve arkadaşları (2011), moleküler sensör amaçlı, koni ve 1,3-karşılıklı konformasyonlarında florofor olarak piren halkalarını içeren kaliks[4]aren türevleri sentezlemişler ve daha sonra çeşitli katyon ve anyonlara karşı bağlanma yeteneklerini floresans spektroskopisiyle incelemişlerdir. Elde edilen bulgular, bileşiklerin 515 nm civarında güçlü bir excimer emisyonu verdiğini ve katyonlardan Cu^{2+}, Pb^{2+}, Ni^{2+} ve Hg^{2+} ile kompleksleşmelerin olduğunu, anyonlardan ise sadece F^- ile bağlanmanın gerçekleştiğini göstermiştir. Ek olarak farklı çözücü ortamlarındaki davranışlar da incelenmiş; asetonitril-kloroform ortamında Cu^{2+}, Pb^{2+}, Ni^{2+} ve Hg^{2+} ile kompleksleşmelerin olduğunu, tetrahidrofuran-su ortamında ise yalnızca Cu^{2+} ile bir kompleksleşmenin olduğunu gözlemişlerdir (Maity ve ark., 2011) (Şekil 2.17).



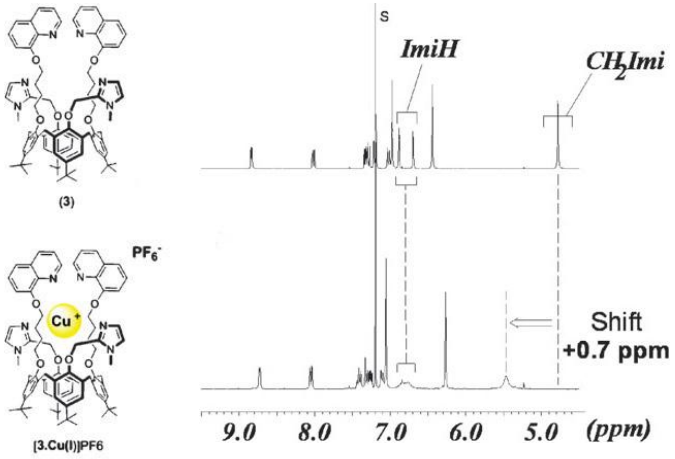
Şekil 2.17. Sentezlenen moleküler sensör özelliğindeki bileşiklerin Cu^{2+}, Pb^{2+}, Ni^{2+} ve Hg^{2+} ile oluşturduğu olası kompleksleşme modelleri

Rajavelu ve arkadaşı (2015), oksijen köprüleriyle fonksiyonlandırılmış kaliks[2]aren[2]triazin molekülleri sentezlemiş, yapılarını aydınlattıktan sonra fotofiziksel, elektrokimyasal, docking destekli antibakteriyel ve CT-DNA'sına karşı bağlanma özelliklerini incelemişlerdir (Şekil 2.18). DNA çalışmalarında viskozite ölçümleri, UV-Vis. ve dairesel dikroizm (CD) çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar bileşik **3**, **5** ve **9**'un etkili olduğunu göstermiştir (Rajavelu ve Rajakumar, 2015).



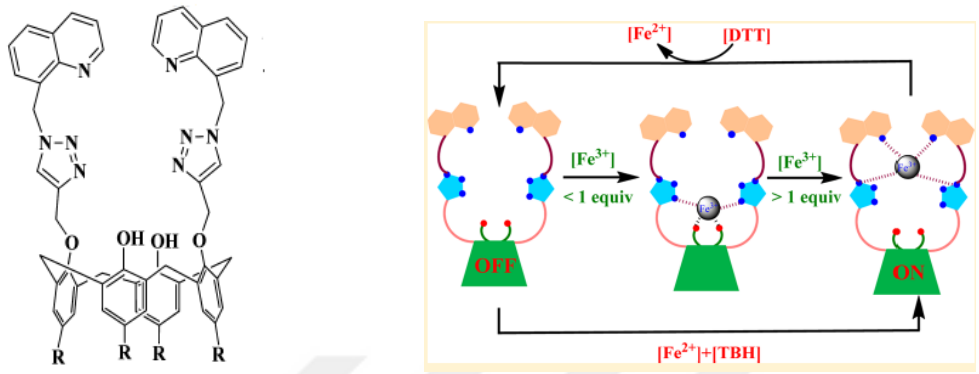
Şekil 2.18. CT-DNA üzerinde etkinlik gösteren okzakaliksaren türevleri

Darbost ve arkadaşları (2009), hem imidazol hem de kinolin gruplarına sahip bir kaliksaren türevini sentezleyerek, yeni bir bakır redoks moleküler şalter oluşturmayı başarmıştır. Bir elektrokimyasal giriş tarafından tetiklenen ligantların değişimiyle, hem redoks formlarının beklenmedik uzun ömürlü kararlılığı hem de hızlı geri dönüşümlü bir döngü gözlenmiştir (Darbost ve ark., 2009) (Şekil 2.19).



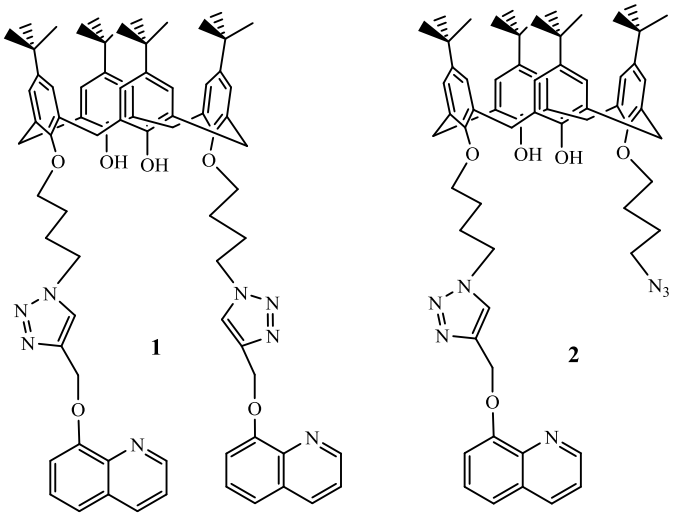
Şekil 2.19. Sentezlenen ligant ve Cu^{+} kompleksinin ^{1}H NMR spektrumlarının kısmi gösterimi

Pathak ve arkadaşları (2013), kinolin ve piridin grupları içeren triazol yapısında *p-ter*-bütilkaliks[4]aren türevlerini sentezleyerek yapılarını aydınlatmışlardır. Kinolin gruplu kaliksaren bileşiğinin seçimli ve hassas olarak Fe^{3+} ile floresans turn-on reseptör özelliği olduğu ortaya çıkarılmıştır (Pathak ve ark., 2013) (Şekil 2.20).



Şekil 2.20. Kinolin türevli kaliksaren bileşiğinin molekül şekli ve Fe^{3+} ile floresans turn off-turn on reseptör özelliğinin şematik gösterimi

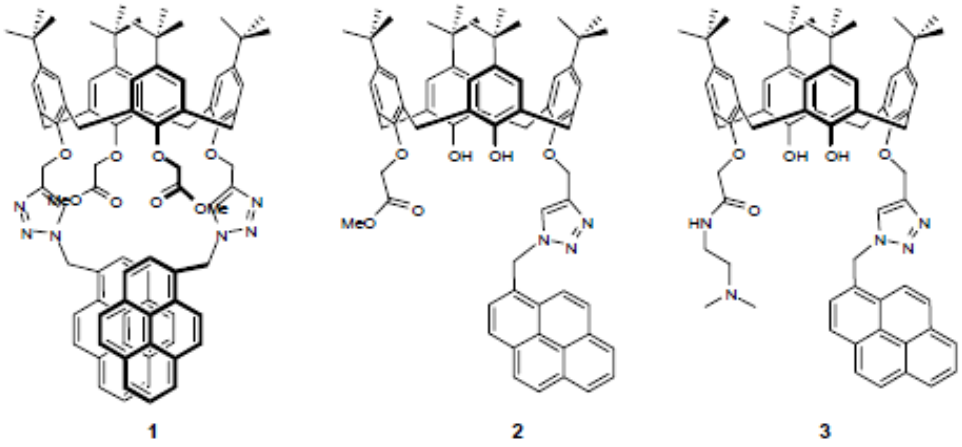
Tian ve arkadaşları (2010), 8-oksikinolin alt birimleri içeren triazol yapısında *p-ter*-bütilkaliks[4]aren türevlerini Click reaksiyonuyla sentezlemişler ve çeşitli metal katyonları ile sensör özelliklerini incelemişlerdir (Şekil 2.21). **1** nolu bileşiğin düşük pH'da Hg^{2+} ile floresans sönümleme yaptığını göstermişlerdir (Tian ve ark., 2010).



Şekil 2.21. Kinolin türevli kaliksaren bileşiklerinin kimyasal şekilleri

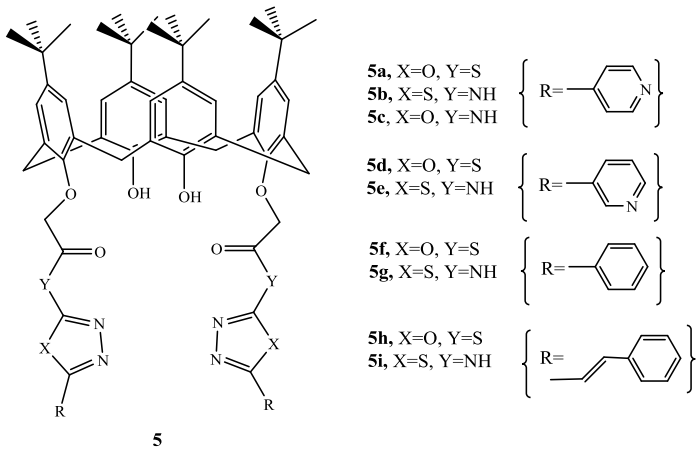
Kim ve arkadaşları (2010), piren grubu bağlı triazol yapısında fonksiyonel *p-ter*-bütilkaliks[4]aren türevlerini bir seri reaksiyonla Click kimyasını kullanarak sentezlemiş ve yapılarını karakterize etmişlerdir. Elde edilen bileşiklerin çeşitli

anyonlara (F^-, Cl^-, Br^-, I^-, CH_3COO^-, OH^-, HSO_4^-, $H_2PO_4^-$) karşı floresans sensör olabilme özelliklerini incelemişlerdir. Sonuç olarak, **1** nolu bileşiğin I^- iyonuna karşı yüksek afiniteye sahip olduğu ortaya çıkmıştır (Kim ve ark., 2010) (Şekil 2.22).



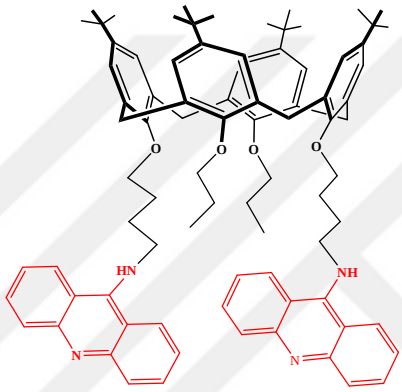
Şekil 2.22. Piren türevli kaliksaren bileşiklerinin molekül şekilleri

Patel ve arkadaşları, 1,3,4-okzadiazol ve tiyadiazol fonksiyonel gruplu kaliks[4]aren bileşikleri sentezlemişler ve yapılarını FTIR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR ve FAB-MS teknikleriyle karakterize etmişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin antioksidant, antibakteriyel, antifungal ve anti-tüberküloz etkilerini kapsayan bir biyolojik aktivite çalışması gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, bileşiklerin pek çoğunun standart ilaçlara göre daha etkili olduklarını göstermiştir (Patel ve ark., 2012) (Şekil 2.23).



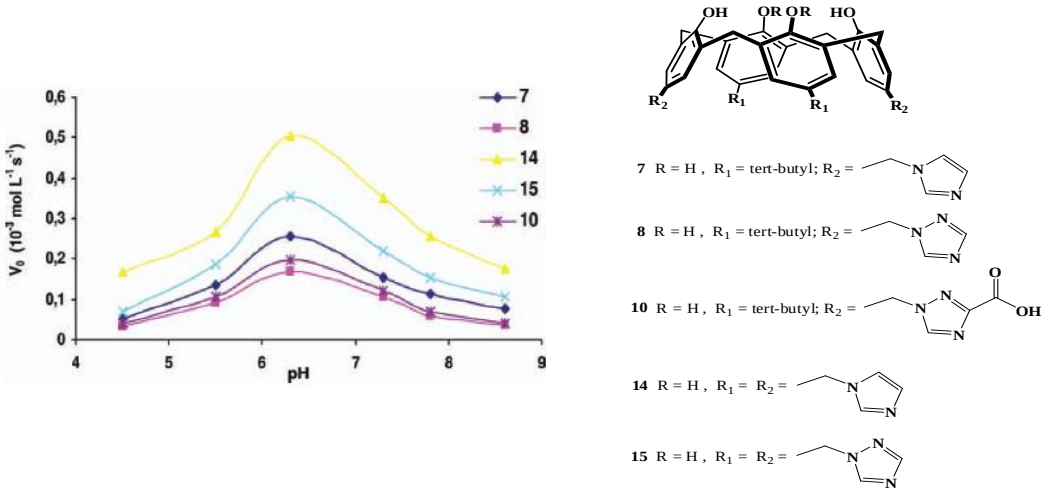
Şekil 2.23. Biyolojik etkinlik gösteren 1,3,4-okzadiazol ve tiyadiazol türevli kaliksarenler

Kivlehan ve arkadaşları (2010), akridin türevli bir kaliks[4]aren molekülü sentezleyerek birbiriyle karışmayan iki elektrolit yüzey (ITIES) arasındaki davranışlarını incelemişlerdir. Moleküler modelleme çalışmaları, akridin molekülünün protonlanmasından kaynaklanan net pozitif yük bölgelerinin olduğunu ve onunla tutarlı anyonik iyonofor olarak işlev gören bir yapının bulunduğunu göstermiştir. Organik fazdaki bu bileşiğin varlığı sulu fazdaki elektrolit iyonlarının transferini kolaylaştırmış olduğu görülmüştür. Buraya çift iplikli DNA'nın ilavesi ile sulu fazdaki elektrolit anyonların geçişi azalmış çünkü ITIES'deki akridin molekülü DNA'ya bağlanmış olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, ITIES'le elektrokimyasal olarak DNA hibritleşmesinin belirlenebileceği ortaya çıkmıştır (Kivlehan ve ark., 2010) (Şekil 2.24).



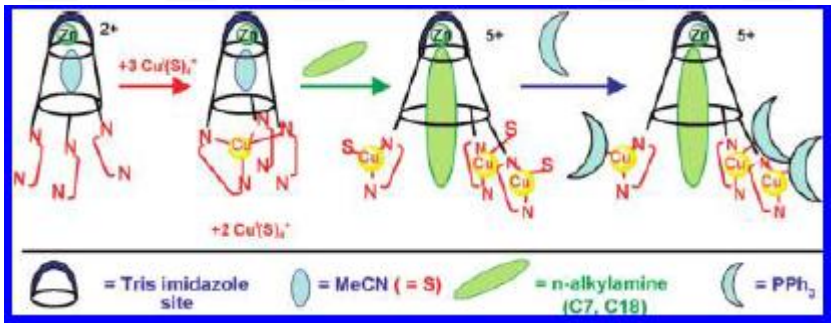
Şekil 2.24. DNA hibritleşmesinde kullanılan akridin-kaliks[4]aren bileşiği

Tabakcı ve arkadaşları (2012), bir seri imidazol ve triazol grupları içeren monomerik ve polimerik kaliks[4]aren türevleri sentezlemişler ve bunların, *p*-nitrofenil asetat molekülünün hidrolizi reaksiyonundaki enzim etkinliğini Michaelis-Menten kinetikleriyle kıyaslayarak incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlar, sentezlenen monomerik ve polimerik kaliksarenlerin her ikisinin de açil transferaz mimikleri olarak kullanılabileceğini göstermiştir (Tabakcı ve ark., 2012) (Şekil 2.25).



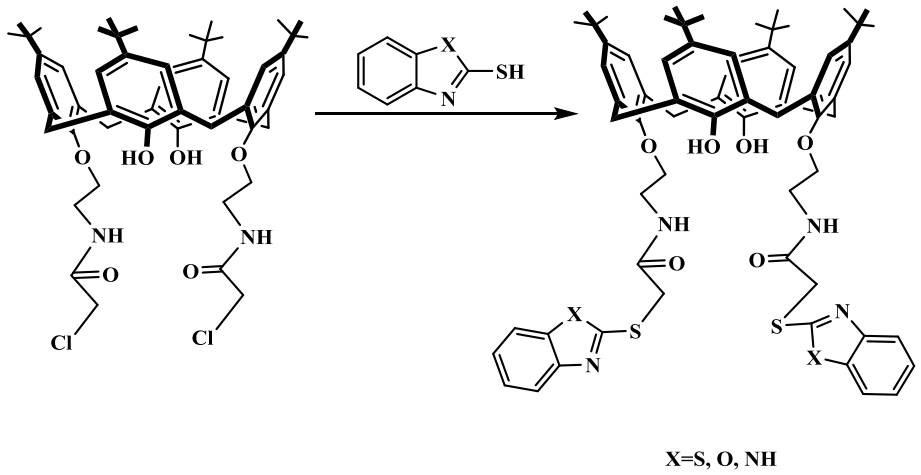
Şekil 2.25. Enzim-mimik çalışmalarında etkinlik gösteren monomerik kaliksaren bileşikleri ve *p*-nitrofenil asetatın hidrolizinde katalizledikleri pH profilleri

Rebilly ve arkadaşları (2012), kaliks[6]aren iskeletinin üzerine üç dişli şelat özelliğindeki imidazol moleküllerini bağladıktan sonra heteropolitopik ligandlar haline dönüştürmüşlerdir. Elde ettikleri molekülleri Zn^{2+} ve Cu^{+} ile kompleksleştirmişler ve oluşan komplekslerin bağlanma şekilleri üzerine çalışmalar yapmışlardır (Rebilly ve ark., 2012) (Şekil 2.26).



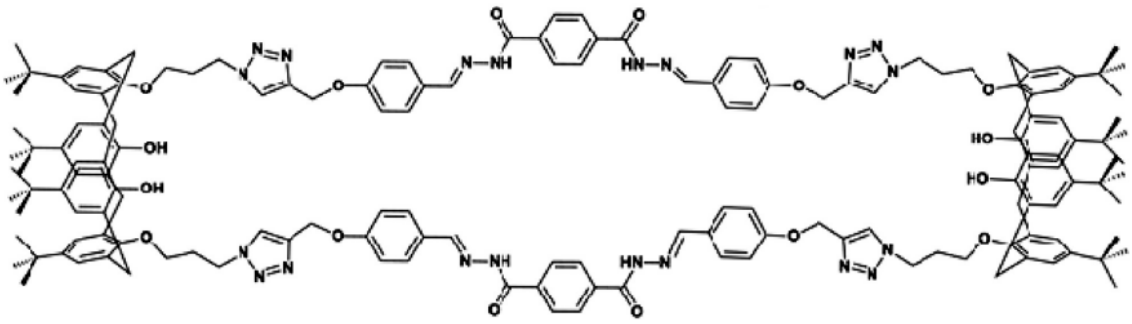
Şekil 2.26. Sentezlenen kaliksaren bileşiklerinin Zn^{2+} ile kompleksleşme modelleri

Saitz ve arkadaşları (2008), bir seri yeni, benzotiyazol, benzoksazol ve benzimidazol grupları içeren 2-merkapto heterosiklik yapısında 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütil-25,27-bis[2-(kloroasetamido)etoksi]-26,28-di-hidroksikaliks[4]aren bileşikleri sentezlemişler ve karakterizasyon işlemini IR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, MS ve elementel analiz teknikleriyle gerçekleştirmişlerdir (Saitz ve ark., 2008) (Şekil 2.27).



Şekil 2.27. Sentezlenen benzotiyazol, benzoksazol ve benzimidazol fonksiyonel gruplu kaliksaren bileşikleri

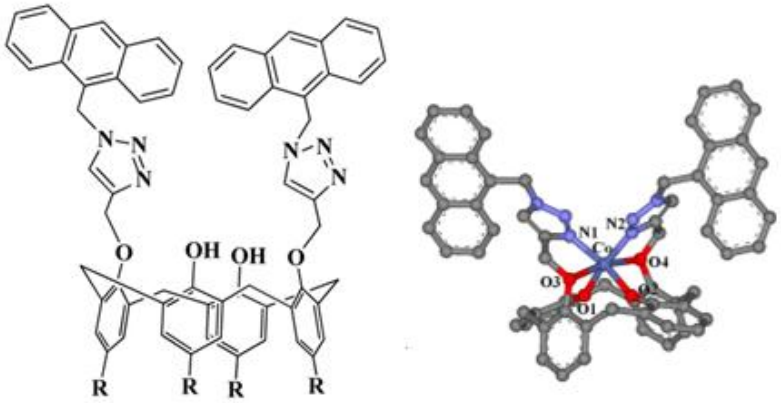
Khan ve arkadaşları (2016), yeni bir floresans bis-kaliks[4]aren makro molekülünü bir seri reaksiyonla sentezlemiş ve yapısını EI-MS, MALDI-TOF-MS, ESI-MS, ^{1}H NMR,^{13}C NMR, 2D NMR ve X-ray kristalografisi ile aydınlatmışlardır (Şekil 2.28). Makrosiklik molekülün çeşitli metal katyonlarıyla yapılan (Cu^{2+}, Ca^{2+}, Ba^{2+}, Ag^{+}, Zn^{2+}, Ti^{4+},Cd^{2+}, Hg^{2+}, Pb^{2+}, In^{3+}, La^{3+}, Cr^{3+}, Ni^{2+}, Sb^{3+}, V^{5+}, Fe^{3+}, Co^{2+}, Sn^{2+}, Sn^{2+} ve Tl^{+}) etkileşme deneylerinden seçimli olarak Cu^{2+} katyonuna bağlandığını tespit etmişlerdir. İçme suyu örneklerinden alınan numunelerle yapılan deney sonucunda Cu^{2+}'nın tespit edilme sınırının literatürdekinden (~20 μM) çok daha düşük olarak 40 nM olduğu bulunmuştur. Ayrıca molekülün, canlı hücrelerdeki Cu^{2+} iyonunun tespitinde de kullanılabileceği ispatlanmıştır (Khan ve ark., 2016).



Şekil 2.28. Sentezlenen makrosiklik bis-kaliks[4]aren molekülü

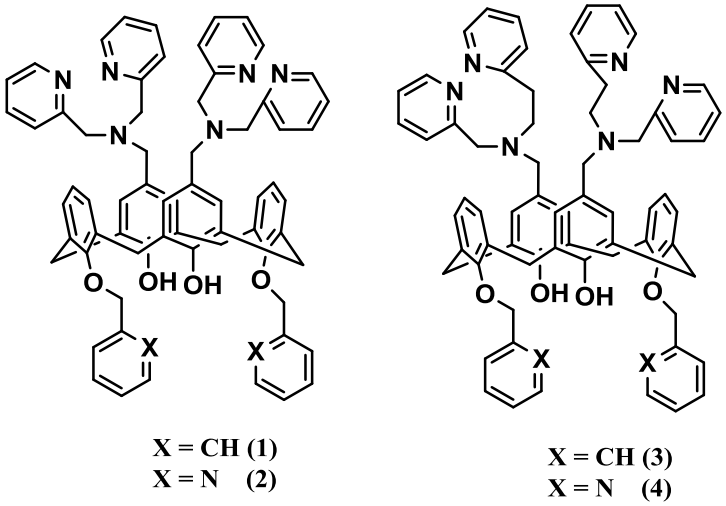
Rao ve grubu (2013), antrasen bağlı triazol yapısındaki 1,3-dikonjuge-kaliks[4]aren bileşiği sentezleyerek yapısını XRD ve diğer tekniklerle analiz etmişlerdir

(Şekil 2.29). Molekülün çeşitli biyolojik katyonlarla yapılan etkileşimleri floresans ve UV-Vis. spektrofotometrik teknikleri ile incelenmiştir. Bileşiğin Co^{2+} iyonuna karşı afinitesi olduğu ve 55 ppb konsantrasyonda Co^{2+} iyonunu tespit edebildiği belirlenmiştir (Mummidivarapu ve ark., 2013).



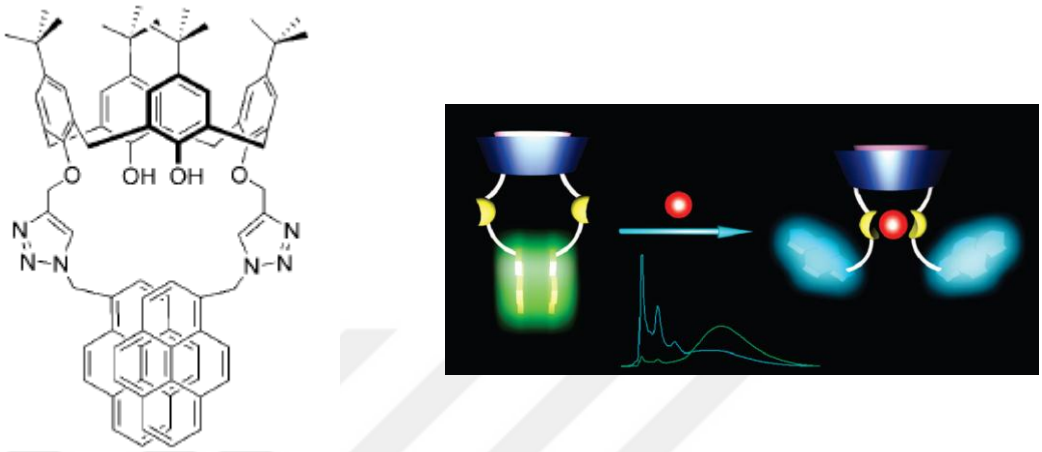
Şekil 2.29. Sentezlenen antrasen-triazol türevli kaliks[4]aren molekülü ve Co^{2+} ile oluşturduğu kompleksin modeli

O'Toole ve arkadaşları (2013), aromatik gruplar içeren amin türevli kaliksarenler sentezleyerek onların bir çözelti içinde kendi kendine dönüşebilme/oluşum yeteneklerini incelemişlerdir. Bu kendi içindeki dönüşümün, molekülde hem baştan uca hem de baştan başa meydana geldiğini NOSY deneyleriyle ispatlamışlardır (O'Toole ve ark., 2013) (Şekil 2.30).



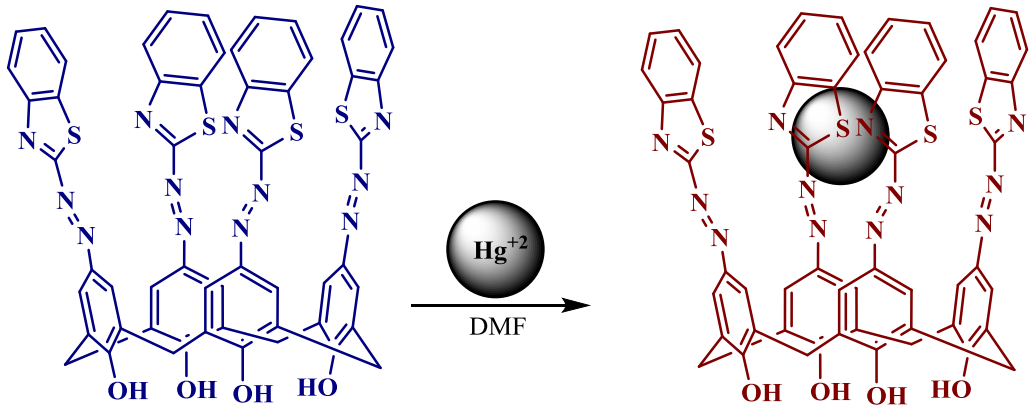
Şekil 2.30. Sentezlenen piridin ve benzil türevli kaliks[4]aren molekülleri

Park ve arkadaşları (2008), kaliksaren bazlı yeni bir floresans kemosensör olan triazol yapısında bir molekül sentezleyerek bu molekülün çeşitli metal katyonlarıyla yapılan deneylerden Co^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarına karşı yüksek bir afinitesi olduğunu tespit etmişlerdir (Park ve ark., 2008) (Şekil 2.31).



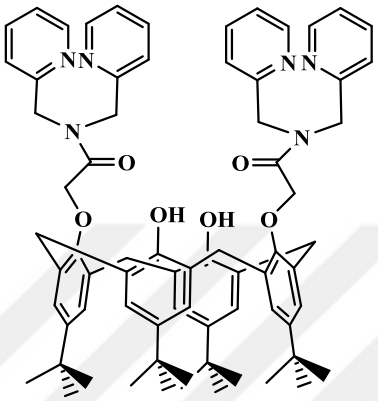
Şekil 2.31. Sentezlenen piren türevli kaliks[4]aren molekülü ve Co^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarıyla oluşturduğu kompleksleşme modelinin şemasal gösterimi

Bingöl ve arkadaşları (2010), azo yapısında benzotiyazol grupları içeren kaliks[4]aren bileşiği sentezleyerek çeşitli ağır metal iyonlarına karşı bağlanma ve sensörleşme özelliklerini incelemişlerdir (Şekil 2.32). Elde edilen sonuçlar, bileşiğin Hg^{2+} iyonuna karşı yüksek seçicilikte kromojenik kemosensör özellikte olduğunu ortaya çıkarmıştır (Bingöl ve ark., 2010).



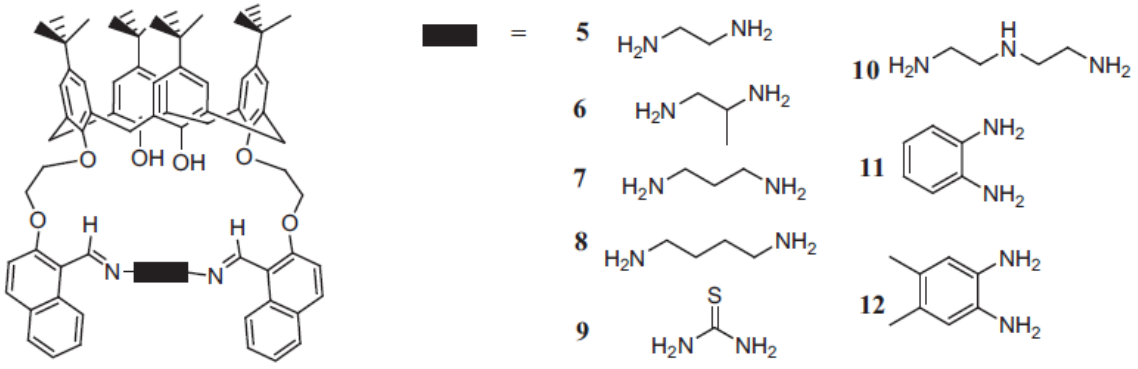
Şekil 2.32. Sentezlenen tetra-benzotiyazol türevli kaliksaren bileşiğinin Hg^{2+} ile olası bağlanma modeli

Rao ve grubu (2009), 1,3-di{bis(2-pikolil)} amit türevli kaliks[4]aren bileşiği sentezleyip biyolojik olarak önemli çeşitli metal katyonlarına karşı (Ag^{+}, Na^{+}, K^{+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Mn^{2+}, Fe^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+} ve Zn^{2+}) bağlanma özelliklerini incelemiştir (Şekil 2.33). Ag^{+} iyonuna karşı yüksek bir bağlanma özelliği gösterip potansiyel sensör olan bileşiğin, sistein amino asitine karşı da ikincil bir sensör özelliği gösterdiği belirlenmiştir (Joseph ve ark., 2009).



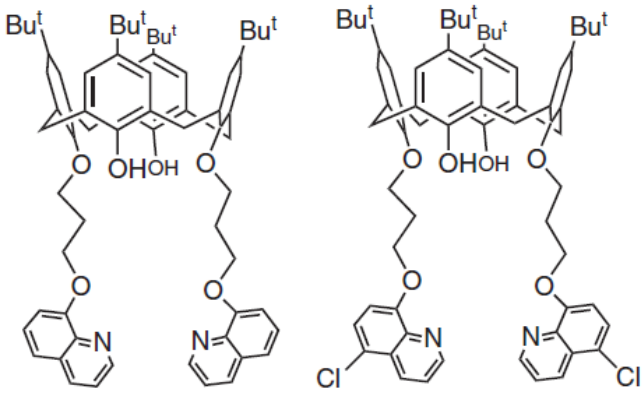
Şekil 2.33. Sentezlenen diamit türevli kaliks[4]aren bileşiği

Khadra ve arkadaşları (2015), naftil grupları içeren Schiff bazı yapısında kaliks[4]aren bileşikleri sentezleyip yapılarını aydınlattıktan sonra [60] fulleren (C_{60}) ile kompleksleştirmiştir. Elde edilen komplekslerin HIV-proteaz enzimine karşı inhibisyon özellikleri incelenmiştir (Khadra ve ark., 2015) (Şekil 2.34).



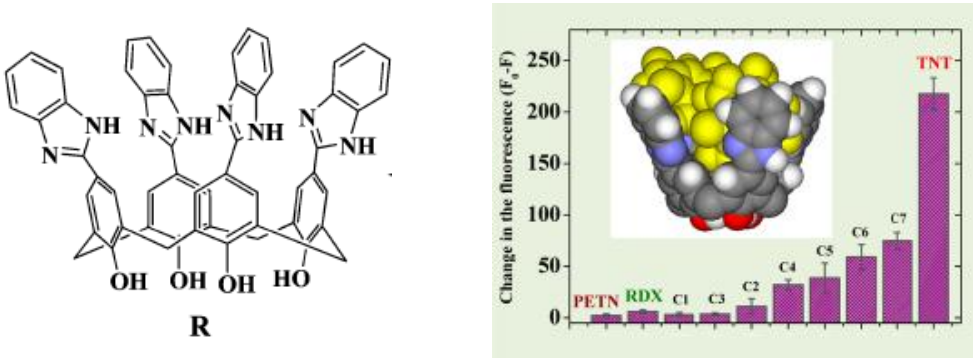
Şekil 2.34. Sentezlenen Schiff bazı türevli kaliks[4]aren bileşikleri

Soares Jr. ve arkadaşları (2014), 5-kloro-8-oksikinolinpropoksikaliks[4]aren ve 8-oksikinolinpropoksikaliks[4]aren bileşiklerini sentezledikten sonra bunların, sitotoksik özelliklerini ve fungal aktivitelerini *in vitro* ve *in vivo* ortamda incelemişlerdir (Soares Jr. ve ark., 2014) (Şekil 2.35).



Şekil 2.35. Sentezlenen kinolin türevli kaliks[4]aren bileşikleri

Kandpal ve ark. (2013), tetrabenzimidazol türevli yeni bir kaliks[4]aren türevi sentezlemişler ve bu molekülün çeşitli patlayıcıları içeren çözeltide TNT'ye (trinitrotoluen) karşı iyi bir afinitesi olduğunu tespit etmişlerdir. Molekülün farklı nitro patlayıcı analitleri ile oluşturduğu kimyasal etkileşimler, floresans spektrofotometresi ve moleküler dinamik (MD) yaklaşımı ile çalışılmış ve MD sonuçları molekül-TNT kompleksleşmesinin 1:3 olduğunu, floresans spektroskopisi ise yüksek seçiciliğin gerçekleştiğini göstermiştir (Kandpal ve ark., 2013) (Şekil 2.36).



Şekil 2.36. Sentezlenen tetrabenzimidazol türevli kaliks[4]aren molekülü ve çeşitli patlayıcılarla verdiği floresans değişim grafiği ve TNT ile yaptığı kompleksleşme modelinin uzaysal gösterimi

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Enstrümental Teknikler ve Kullanılan Kimyasallar

^{1}H NMR, ^{13}C NMR, NOESY ve HETCOR spektrumları $CDCl_3$ ve DMSO-d_6 içinde 500 MHz Varian 6105 ve 500 MHz Varian Inova spektrometreleri ile alındı. NMR spektrumunda kimyasal kayma değerleri (δ) ppm cinsinden belirtildi. FTIR spektrumları Perkin Elmer 100 FTIR spektrofotometresinden alındı. Kütle spektrumları Bruker microflex LT MALDI-TOF kütle spektrometresinden sağlandı. UV-Vis. ölçümlerinde Schimadzu UV 1800 kullanıldı. Floresans spektrumları için Perkin Elmer LS 55 Florimetre kullanıldı. Erime noktaları Büchi B-540 marka erime noktası tayin cihazı ile tespit edildi. Elementel analiz tayinleri, Leco CHNS-932 cihazı ile yapıldı. Tüm sulu çözeltiler, Millipore Milli-Q Plus su saflaştırma cihazıyla saflaştırılan saf su veya ultra saf su ile hazırlandı. Tampon çözeltilerin pH ayarlamasında Thermo ve InoLab pH metreleri kullanıldı. Analitik TLC'ler silika jel tabakasıyla (SiO_2, Merck 60 F254) kaplanmış alüminyum plakalar kullanılarak yapıldı. Kolon kromotografisi çalışmalarında silika jel 60 (Merck, tanecik büyüklüğü 0.040-0.063 mm, 230-240 mesh) kullanıldı. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler, Merck, Sigma ve Fluka firmalarından analitik saflıkta temin edildi. DNA deneylerinde kullanılan pBR322 plazmit DNA ve restriksiyon enzimleri (BamHI ve HindIII) Thermo-Fischer Scientific, calf tymus DNA ise Sigma firmasından tedarik edildi.

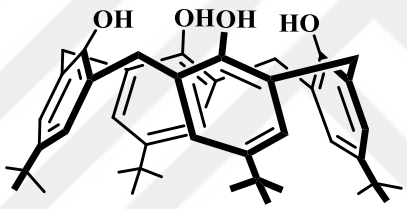
3.2. Sentezler

Bu çalışmada yer alan bileşiklerden bazıları literatürdeki metotlara göre bazıları ise daha önceki metotların düzenlenmesiyle hazırlanmıştır.

3.2.1. 5,11,17,23-Tetra- ter-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1)

1 litrelik bir balona, 100 g (0.665 mol) *p-ter*-bütilfenol, 62.3 mL (0.83 mol) %37'lik formaldehit ve 1.2 g (0.03 mol) NaOH alınır. Reaksiyon karışımı mantolu bir ısıtıcıya alındıktan sonra sıcaklık 110-120^{o}C da sabit tutularak ksilol cihazı takılı bir geri soğutucu sisteminde azot gazı altında 1.5-2 saat ısıtılır. Bu esnada reaksiyon karışımı viskoz bir halden önce turuncu renge daha sonra katı sarı renkli bir kütleye

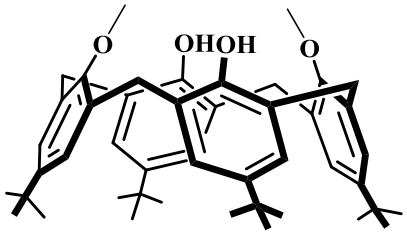
dönüşür. Bu noktada karışım oda sıcaklığına kadar soğutulur ve 800-1000 mL difenil eter ile süspanse edilip 1 saat oda sıcaklığında karıştırılır, azot girişi ve bir ksilol cihazı takılır, balon ısıtılarak suyun ortamdan uzaklaştırılması ve karışımın berraklaşması sağlanır. Su çıkışı tamamlandığında karışım bir geri soğutucu takılarak 1.5-2 saat kaynatılır. Daha sonra reaksiyon karışımı oda sıcaklığına soğutulur, 1 litre etil asetat ile muamele edilerek 1 saat karıştırılır ve sonra da çökmenin tamamlanması beklenir. Oluşan beyazımsı çökelek süzülüp iki kez 100 mL etil asetatla, bir kez 200 mL asetik asitle ve en son su ile yıkanır. Kurutulan 66.5 g (%62) ham ürün toluenden yeniden kristallendirilerek 61.6 g parlak, beyaz kristal yapıda, erime noktası 344 ^{o}C (lit: 344-346 ^{o}C) (Gutsche ve Iqbal, 1990) olan **1** elde edilir. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 1.20 (s, 36H, Bu^t), 3.45 (d, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.25 (d, 4H, $ArCH_2Ar$), 7.05 (s, 8H, ArH), 10.35 (s, 4H, OH). Anal. Hesapl. $C_{44}H_{56}O_4$: C, 81.44; H, 8.69%. Bulunan: C, 81.75; H, 8.51%.



(1)

3.2.2. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-26,28-dimetoksikaliks[4]aren-25,27-diol (2)

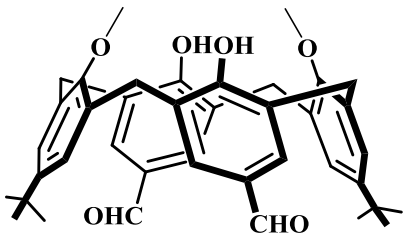
5 g (7.71 mmol) **1** nolu bileşik, 220 mL asetonitrilde oda sıcaklığında çözülür. Karışıma 4.2 g (30 mmol) K_2CO_3 ilave edildikten sonra 30 dk geri soğutucu altında reflux edilir. Soğutulan karışıma 1 mL (15.7 mmol) CH_3I ilave edilir. Karışım 72 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Daha sonra K_2CO_3 süzülerek alınır. Kalan çözücü vakum altında uzaklaştırılır. Madde diklormetan/metanol içerisinde kristallendirilir. Vakumda kurutulur. Ürün: 3.10 g (%59). E.n.:250^{o}C (Collins ve ark., 1991) ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 0.99 (s, 18H, Bu^t), 1.35 (s, 18H, Bu^t), 3.35 (d, *J*= 13.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.01 (s, 6H, OCH_3), 4.35 (d, *J*=13.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 6.82 (s, 4H, ArH), 7.11 (s, 4H, ArH), 7.65 (s, 2H, OH) Anal. Hesaplanan: $C_{46}H_{60}O_4$: C, 81.65; H, 8.87%. Bulunan: C, 81,12; H, 8,21%.



(2)

3.2.3. 3.2.3 5,17,Di-*ter*-bütil-11,23-diformil-26,28-dimetoksikaliks[4]aren-25,27-diol (3)

1 g (1.48 mmol) **2** nolu bileşik, 8.5 g HMTA ilave edilerek 60 mL TFA içerisinde 5 gün geri soğutucu altında kaynatılır. Soğutulan karışım asitli suda çöktürülür. Kloroform ile ekstraksiyon yapılır. Çözücü evoparatörde uçurulur. Oluşan katı madde, vakum altında kurutulur. Ürün: 0.65 g (%71). (Sap ve ark., 2012) E.n.:310-314^{o}C. FTIR: 1680 cm^{-1}(C=O). ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 0.88 (s, 18H, Bu^{t}), 3.42 (d, J= 13.3 Hz, 4H, ArCH$_2$Ar), 3.90 (s, 6H, OCH$_3$), 4.18 (d, J= 13.3 Hz, 4H, ArCH$_2$Ar), 6.75 (s, 4H, ArH), 7.57 (s, 4H, ArH), 7.54 (s, 2H, OH), 9.72 (s, 2H, CHO). Anal. Hesaplanan: $C_{38}H_{42}O_6$: C, 73.19; H, 6.74%. Bulunan: C, 72.56; H, 6.38%.

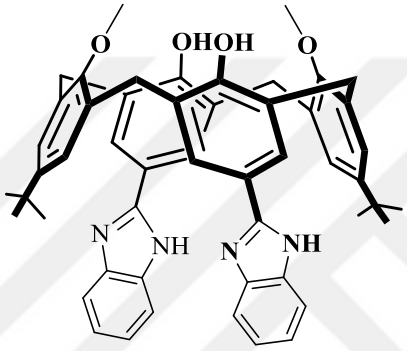


(3)

3.2.4. Bileşik 3 ile *o*-fenilendiaminin reaksiyonu (4)

0.62 g (1 mmol) bileşik **3** ve 1.08 g (10 mmol) *o*-fenilendiamin tartılır. Üzerine 0.83 g (5 mmol) KI eklenir. 50 mL DMF eklenerek yaklaşık 3 saat laboratuvar tipi mikrodalga cihazında kaynatılır veya 2 dk evsel mikrodalga fırında tutulup sonrasında 48 saat 80^{o}C'de geri soğutucu altında ısıtılır. Soğutulan karışıma 50 mL etilasetat ve su eklenir. Ayırma hunisine alınan karışımın çalkalanıp ayrılması beklenir. Ara yüzeyde

oluşan madde ayrılarak alınır ve etanolden saflaştırılır. Bileşik **4** %35 verimle elde edildi. (Metot:(Mao ve ark., 2010)) E.n.: 284-286^{o}C. FTIR: 1620 cm^{-1} (C=N) . ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 1.05 (s, 18H, Bu^{t}), 3.57 (d, *J*= 13.1 Hz, 4H, ArCH$_2$Ar), 3.94 (s, 6H, OCH$_3$), 4.24 (d, *J*= 13.1 Hz, 4H, ArCH$_2$Ar), 7.12 (bs, 8H, Kaliks. ArH, Benzim. ArH), 7.54 (dd, *J*= 7.04 Hz, 4H, Benzim. ArH), 8.05 (s, 4H, Kaliks. ArH), 8.74 (s, 2H, OH), 12.54 (s, 2H, Benzim. NH). ^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ ppm 155, 153.2, 152.2, 151.7, 150.5, 147.7, 132.4, 130.7, 128.8, 127.5, 126.4, 123.7, 121.9, 121.6, 117.7, 64.0, 34.5, 31.6, 31.5. MALDI-TOF MS: (CHNO= 796.4 *m/z*) 796.12 [M^{+}]. Anal. Hesaplanan: C$_{52}$H$_{52}$N$_4$O$_4$: C, 78.36; H, 6.58; N, 7.03 %. Bulunan: C, 78.0; H, 6.8; N, 7.1%.

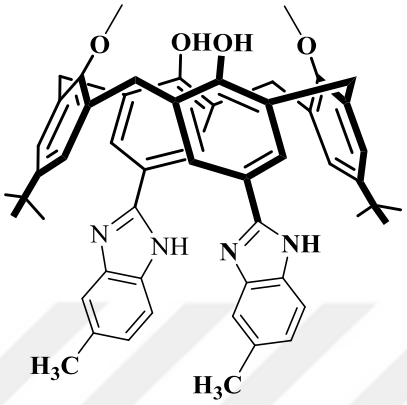


(4)

3.2.5. Bileşik 3 ile 4-metil-*o*-fenilendiaminin reaksiyonu (5)

0.5 g (0.805 mmol) dialdehit bileşiği (3), 0.21 g (1.691 mmol) 4-metil-*o*-fenilendiamin tartılır. Üzerine 0.28 g (1.691 mmol) KI eklenir. 50 mL DMF eklenerek yaklaşık 1-2 dk evsel mikrodalga cihazında tutulur. Daha sonra normal geri soğutucu altında 80^{o}C'de 96 saat ısıtılır. İTK ve FTIR ile izlenen reaksiyonun bittiğine dair kanaat getirilince soğutulur. Soğutulan karışıma 50 mL etilasetat ve su eklenir. Ayırma hunisine alınan karışımın çalkalanıp ayrılması beklenir. Etil asetat fazı ayrılarak alınır, $CaCl_2$ ile kurutulur, çözücü uzaklaştırılır ve etanolle yıkanır. Bileşik **5** %45 verimle elde edildi. E.n.: 259-261^{o}C. FTIR: 1664, 1628 cm^{-1}(C=N). ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 1.08 (s, 18H, Bu^{t}), 2.46 (s, 6H, ArCH$_3$), 3.60 (d, *J*= 12.8 Hz, 4H, ArCH$_2$Ar), 3.97 (s, 6H, OCH$_3$), 4.28 (d, *J*= 12.8 Hz, 4H, ArCH$_2$Ar), 6.99 (d, *J*= 8.2 Hz, 2H, Benzim. ArH), 7.15 (s, 4H, Kaliks. ArH), 7.35 (s, 2H, Benzim. ArH), 7.44 (d, *J*= 8.2 Hz, 2H, Benzim. ArH), 7.77-8.19 (m, 5H, Kaliks. ArH, OH), 8.77 (s, 1H, OH), 12.8 (bs, 2H, Benzim. NH). ^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ ppm 154.9, 151.8, 151.7, 147.7,

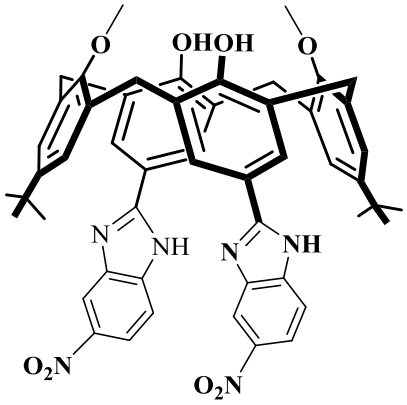
132.4, 132.1, 131.3, 130.8, 129.3, 128.8, 127.4, 126.5, 126.4, 123.5, 121.5, 64, 34.5, 31.5, 31.4, 21.8. MALDI-TOF MS: (CHNO= 824.43 *m/z*) 824.07 [M^+]. Anal. Hesaplanan: $C_{54}H_{56}N_4O_4$: C, 78.6; H, 6.84; N, 6.79 %. Bulunan: C, 77.6; H, 7.2; N, 6.5%.



(5)

3.2.6. Bileşik 3 ile 4-nitro-*o*-fenilendiaminin reaksiyonu (6)

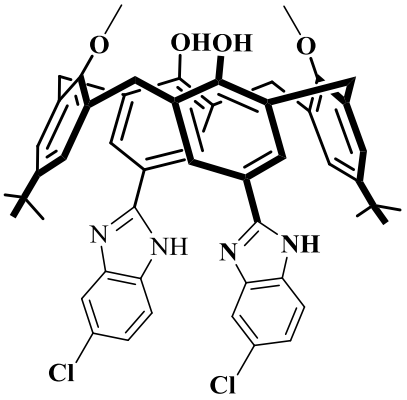
0.5 g (0.805 mmol) dialdehit bileşiği (3), 0.26 g (1.691 mmol) 4-nitro-*o*-fenilendiamin tartılır. Üzerine 0.28 g (1.691 mmol) KI eklenir. 50 mL DMF eklenerek yaklaşık 1-2 dk evsel mikrodalga cihazında tutulur. Daha sonra normal geri soğutucu altında 80^{o}C'de 72 saat ısıtılır. İTK ve FTIR ile izlenen reaksiyonun bittiğine dair kanaat getirilince, karışım soğutulur. Soğutulan karışıma 50 mL etilasetat ve su eklenir. Ayırma hunisine alınan karışımın çalkalanıp ayrılması beklenir. Etil asetat fazı ayrılarak alınır, $CaCl_2$ ile kurutulur, çözücü uzaklaştırılır ve etanolle yıkanır. Bileşik **6** %25 verimle elde edildi. E.n.: 275-277^{o}C. FTIR: 1624 cm^{-1}(C=N), 1521 cm^{-1} (NO_2). ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 1.09 (bs, 18H, Bu^t), 3.60 (d, *J*= 13.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.96 (bs, 6H, OCH_3), 4.26 (d, *J*= 13.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 6.64-6.81 (m, 4H, Kaliks. ArH), 7.07-7.37 (m, 4H, Kaliks. ArH), 7.85-7.93 (m, 4H, Benzim. ArH), 8.04-8.21 (bs, 2H, Benzim. ArH), 8.59 (s, 1H, OH), 9.04 (s, 1H, OH), 13.32 (s, 2H, Benzim. NH). ^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ ppm 159.6, 156.6, 151.6, 151.3, 147.9, 147.7, 136.5, 135.0, 132.8, 130.5, 129.2, 128.3, 126.5, 124.2, 112.8, 64, 34, 31.5, 31.3. MALDI-TOF MS: (CHNO= 886.37 *m/z*) 886.60 [M^+]. Anal. Hesaplanan: $C_{52}H_{50}N_4O_4$: C, 70.4; H, 5.68; N, 9.47 %. Bulunan: C, 70.6; H, 6.2; N, 9.5 %.



(6)

3.2.7. Bileşik 3 ile 4-kloro-*o*-fenilendiaminin reaksiyonu (7)

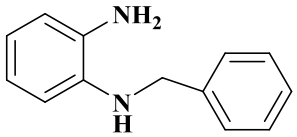
0.5 g (0.805 mmol) dialdehit bileşiği (3), 0.24 g (1.691 mmol) 4-kloro-*o*-fenilendiamin tartılır. Üzerine 0.28 g (1.691 mmol) KI eklenir. 50 mL DMF eklenerek yaklaşık 1-2 dk evsel mikrodalga cihazında tutulur. Daha sonra normal geri soğutucu altında 80^{o}C'de 24-48 saat arasında ısıtılır. İTK ve FTIR ile izlenen reaksiyonun bittiğine dair kanaat getirilince, karışım soğutulur. Soğutulan karışıma 50 mL etilasetat ve su eklenir. Ayırma hunisine alınan karışımın çalkalanıp ayrılması beklenir. Etil asetat fazı ayrılarak alınır, $CaCl_2$ ile kurutulur, çözücü uzaklaştırılır ve etanolle yıkanır. Bileşik **7** % 40 verimle elde edildi. E.n.:>300^{o}C (Bozunma). FTIR: 1664, 1621 cm^{-1}(C=N) . ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 1.07 (s, 18H, Bu^{t}), 3.61 (d, *J*= 12.8 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.97 (s, 6H, OCH_3), 4.27 (d, *J*= 12.8 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 7.07-7.29 (overlapped, 6H, Kaliks. ArH), 7.43-7.72 (m, 4H, Kaliks. ArH, Benzim. ArH), 8.05 (s, 4H, Benzim. ArH), 8.81 (s, 2H, OH), 12.76 (s, 2H, Benzim. NH). ^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ ppm 155.3, 147.7, 145.4, 142.7, 135.1, 134.8, 132.3, 132.1, 128.8, 128, 127.7, 126.5, 125.3, 124.7, 118.1, 64.0, 34.5, 31.6, 31.5. MALDI-TOF MS: (CHClNO= 864.32 *m/z*) 864.578 [M^{+}]. Anal. Hesaplanan: $C_{52}H_{50}Cl_2N_4O_4$: C, 72.1; H, 5.82; N, 6.47 %. Bulunan: C, 71.6; H, 6.2; N, 5.9%.



(7)

3.2.8. N-(benzil)-*o*-fenilendiaminin sentezi (8)

13 g (120 mmol) *o*-fenilendiamin tartılır ve 400 mL metanolde çözülür. İçine damla damla, 2.73 mL (23 mmol) benzil bromürün 300 mL metanoldeki çözeltisi eklenir. Oda sıcaklığında 4 saat kadar karıştırılır. Daha sonra 3-4 saat kaynatılır. Çözücü uzaklaştırılır, ham ürün etanolden kristallendirilir. %55 verimle elde edildi (Ticari ürün). FTIR: 3385, 3350 cm^{-1}(NH, NH_2). ^1H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 3.44 (bs, 4H, NH_2, CH_2), 6.73-8.86(m, 10H, NH, ArH).

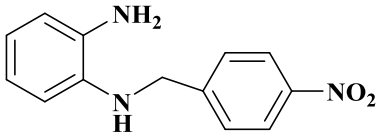


(8)

3.2.9. N-(4-nitrobenzil)-*o*-fenilendiaminin sentezi (9)

13 g (120 mmol) *o*-fenilendiamin tartılır ve 400 mL metanolde çözülür. İçine damla damla, 5 g (23 mmol) 4-nitrobenzil bromürün 300 mL metanoldeki çözeltisi eklenir. Oda sıcaklığında 4 saat kadar karıştırılır. Çöken ürün süzülerek alnır ve etanolden kristallendirilir. Bileşik %65 verimle elde edildi (Sparke ve ark., 2010). FTIR: 3400, 3354, 3335 cm^{-1}(N-H, NH_2), 1506 cm^{-1}(NO_2) . ^1H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 3.34 (s,

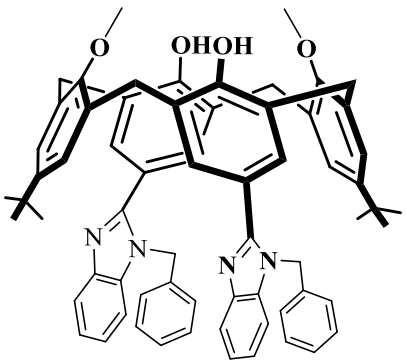
2H, NH_2), 4.38 (s, 2H, CH_2-N), 5.91 (s, 1H, NH), 6.39 (d, *J*= 7.1 Hz, 1H, Ar-H), 6.39 (m, 5H, Ar-H), 8.0 (d, *J*= 8.6 Hz, 2H, Ar-H).



(9)

3.2.10. Bileşik 3 ile N-benzil-*o*-fenilendiaminin reaksiyonu (10)

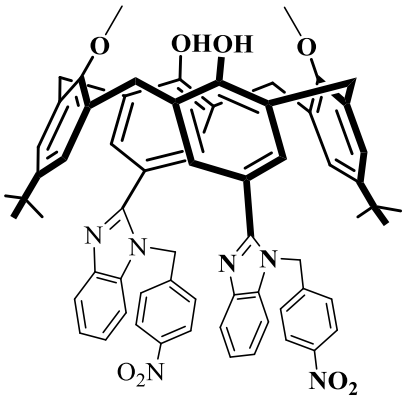
0.5 g (0.805 mmol) dialdehit bileşiği (3), 0.34 g (1.691 mmol) N-benzil-*o*-fenilendiamin tartılır. Üzerine 0.28 g (1.691 mmol) KI eklenir. 50 mL DMF eklenerek yaklaşık 1-2 dk evsel mikrodalga cihazında tutulur. Daha sonra normal geri soğutucu altında 80^{o}C'de 96 saat ısıtılır. İTK ve FTIR ile izlenen reaksiyonun bittiğine dair kanaat getirilince, karışım soğutulur. Soğutulan karışıma 50 mL etilasetat ve su eklenir. Ayırma hunisine alınan karışımın çalkalanıp ayrılması beklenir. Etil asetat fazı ayrılarak alınır, $CaCl_2$ ile kurutulur, çözücü uzaklaştırılır ve etanolden saflaştırılır. Bileşik **10** %35 verimle elde edildi. E.n.: 190-192^{o}C. FTIR: 1624 cm^{-1}(C=N). ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 1.08 (s, 18H, Bu^{t}), 3.61 (d, *J*= 13.5 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.95 (bs, 6H, OCH_3), 4.10-4.45 (m, 4H, $ArCH_2Ar$), 5.31 (s, 4H, NCH_2), 6.73-7.37 (m, 12H, Kaliks. ArH, ArH), 7.37-7.78 (m, 6H, Kaliks. ArH, ArH), 7.79-8.17 (m, 5H, ArH), 8.18-8.45 (m, 2H, ArH), 8.55 (s, 1H, ArH), 8.82 (s, 2H, ArOH). MALDI-TOF MS: (CHNO= 976.49 *m/z*) 976.04 [M^{+}]. Anal. Hesaplanan: $C_{66}H_{64}N_4O_4$: C, 81.1; H, 6.60; N, 5.73 %. Bulunan: C, 80.6; H, 6.8; N, 5.6%.



(10)

3.2.11. Bileşik 3 ile N-*p*-nitrobenzil-*o*-fenilendiaminin reaksiyonu (11)

0.5 g (0.805 mmol) dialdehit bileşiği (3), 0.41 g (1.691 mmol) N-benzil-*o*-fenilendiamin tartılır. Üzerine 0.28 g (1.691 mmol) KI eklenir. 50 mL DMF eklenerek yaklaşık 1-2 dk evsel mikrodalga cihazında tutulur. Daha sonra normal geri soğutucu altında 80^{o}C'de 96 saat ısıtılır. İTK ve FTIR ile izlenen reaksiyonun bittiğine dair kanaat getirilince, karışım soğutulur. Soğutulan karışıma 50 mL etilasetat ve su eklenir. Ayırma hunisine alınan karışımın çalkalanıp ayrılması beklenir. Etil asetat fazı ayrılarak alınır, $CaCl_2$ ile kurutulur, çözücü uzaklaştırılır ve etanolle saflaştırılır. Bileşik **11** %45 verimle elde edildi. E.n.: 259-262^{o}C. FTIR: 1624 cm^{-1}(C=N), 1519 cm^{-1}(NO_2). ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 0.96 (s, 18H, Bu^{t}), 3.51 (d, *J*= 13.0 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.91 (bs, 6H, OCH_3), 4.18 (d, *J*= 13.0 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 5.71 (s, 4H, N-CH_2), 6.89 (m, 2H, Kaliks. ArH), 7.03-7.50 (m, 11H, Kaliks. ArH, ArH), 7.50-7.89 (m, 6H, ArH), 7.97-8.06 (m, 1H, ArH), 8.16 (d, *J* = 8.61 Hz, 4H, ArH), 8.30-8.47 (m, 1H, ArOH), 8.55-8.77 (m, 1H, ArOH). ^{13}C NMR (DMSO-d_6): δ ppm 159.2, 154.9, 154.1, 151.6, 147.3, 145.3, 143.2, 136, 132.2, 131.3, 130.8, 129.9, 128.9, 127.8, 126.4, 124.4, 122.7, 119.5, 111.2, 63.9, 47.7, 34.3, 34.1, 31.3. MALDI-TOF MS: (CHNO= 1066.46 *m/z*) 1066.05 [M^{+}]. Anal. Hesaplanan: $C_{66}H_{62}N_6O_8$: C, 74.3; H, 5.86; N, 7.87 %. Bulunan: C, 74.6; H, 6.0; N, 7.7%.

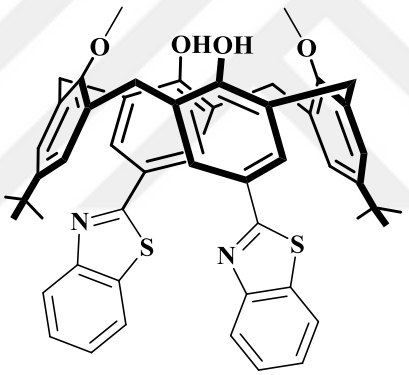


(11)

3.2.12. Bileşik 3 ile 2-Aminotiyofenolün reaksiyonu (12)

0.62 g (1 mmol) bileşik **3** tartılır ve üzerine 1.068 mL (10 mmol) 2-aminotiyofenol ve 0.83 g (5 mmol) KI eklenir. 50 mL DMF eklenerek 2-3 saat laboratuvar tipi mikrodalga cihazında kaynatılır. Soğutulan karışıma 50 mL etilasetat ve

su eklenir. Ayırma hunisine alınan karışımın çalkalanıp ayrılması beklenir. Etil asetat fazı ayrılarak alınır, $MgSO_4$ ile kurutulur, çözücü uzaklaştırılır ve sıcak etanolden saflaştırılır. Bileşik **12** %55 verimle elde edildi. E.n.: 258-262^oC FTIR: 1658 cm^{-1}(C=N), 1373 cm^{-1}(C-S). ^1H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 0.99 (s, 18H, Bu^t), 3.57 (d, *J*= 13.3 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.03 (s, 6H, OCH_3), 4.36 (d, *J*= 13.3 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 6.60 (bs, 1H, Kaliks. ArH), 6.72 (bs, 1H, Kaliks. ArH), 6.84(s, 1H, Kaliks. ArH), 6.94 (s, 2H, Kaliks. ArH), 7.18 (d, *J*= 6.5 Hz, 2H, Tiyazol ArH), 7.35 (t, *J*= 6.5 Hz, 2H, Tiyazol ArH), 7.48 (t, *J*= 6.5 Hz, 2H, Tiyazol ArH), 7.69 (s, 1H, Kaliks. ArH), 7.82-7.90 (m, 4H, Kaliks. ArH, ArOH), 8.04- 8.08 (m, 2H, Tiyazol ArH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ ppm 156.2, 154.3, 151.3, 148.6, 148, 137, 136.8, 134.8, 131.6, 129.1, 127.8, 125.9, 122.5, 121.4, 118.3, 63.6, 34.1, 31.2, 31.1. MALDI-TOF MS: (CHNOS= 830.32 *m/z*) 830.70 [M^+]. Anal. Hesaplanan: $C_{52}H_{50}N_2O_4S_2$: C, 75.15; H, 6.06; N, 3.37; S, 7.72 %. Bulunan: C, 74.8; H, 6.2; N, 3.4; S, 7.80 %.



(12)

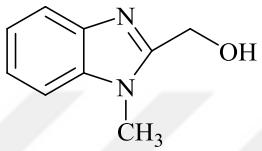
3.2.13. *N*-Metil-2-hidroksimetilbenzimidazol türevlerinin sentezi (13-16)

0.02 mol benzimidazol bileşiği (1H-2-hidroksimetilbenzimidazol, 1H-2-hidroksimetil-5-metilbenzimidazol, 1H-2-hidroksimetil-5-nitrobenzimidazol veya 1H-2-hidroksimetil-5-klorobenzimidazol) 30 mL DMF'de çözülür. Bir buz banyosu içerisinde sıcaklık 0^{o}C'de tutularak karışım içine 0.022 mol NaH ilave edilir ve 1 saat karıştırılır. Bu süre sonunda karışım buz banyosundan çıkarılarak 0.024 mol CH_3I ilave edilir ve 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Daha sonra içerisine su ilave edilir ve çöken ham ürün süzülerek alınır. Çökme olmazsa diklormetan ile sulu karışım ekstrakte edilir, $MgSO_4$

ile organik faz kurutulur ve çözücünün tamamı vakum altında uzaklaştırılır. Etanolden kristallendirilir [Metot: (Luo ve ark., 2011)].

3.2.13.1. 1-Metil-2-hidroksimetilbenzimidazol (13)

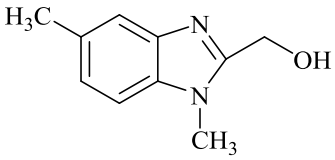
Verim: %52. E.n.:140-144^{o}C. ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 3.77 (s, 3H, CH_3), 4.68 (s, 2H, CH_2), 5.57 (t, J= 6.5Hz, 1H, OH), 7.0-7.35 (m, 2H, ArH), 7.37-7.68 (m, 2H, ArH). Anal. Hesaplanan: $C_9H_{10}N_2O$: C, 66.65; H, 6.21; N, 17.77 %. Bulunan: C, 65.28; H, 6.28; N, 17.14%.



(13)

3.2.13.2. 1-Metil-2-hidroksimetil-5-metilbenzimidazol (14)

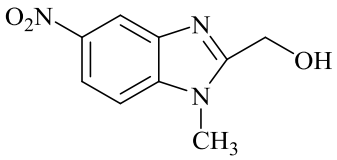
Verim: %45. E.n.:159-162^{o}C. ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 2.31-2.77 (m, 3H, $ArCH_3$), 3.65-4.24 (m, 3H, CH_3), 4.63-4.90 (m, 2H, CH_2), 5.38-5.78 (m, 1H, OH), 6.95-7.18 (m, 1H, ArH), 7.27-8.10 (m, 2H, ArH). Anal. Hesaplanan: $C_{10}H_{12}N_2O$: C, 68.16; H, 6.86; N, 15.90 %. Bulunan: C, 65.78; H, 6.32; N, 16.14%.



(14)

3.2.13.3. 1-Metil-2-hidroksimetil-5-nitrobenzimidazol (15)

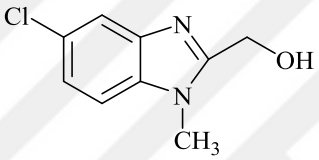
Verim: %51. E.n.:185-189^{o}C. ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 3.80-3.93 (m, 3H, CH_3), 4.75 (d, J= 5.5Hz, 2H, CH_2), 5.75 (t, J= 6.0Hz, 1H, OH), 7.68-7.77 (m, 1H, ArH), 8.01-8.15 (m, 1H, ArH), 8.41-8.55 (m, 1H, ArH). Anal. Hesaplanan: $C_9H_9N_3O_3$: C, 52.17; H, 4.38; N, 20.28 %. Bulunan: C, 53.28; H, 4.22; N, 20.14%.



(15)

3.2.13.4. 1-Metil-2-hidroksimetil-5-klorobenzimidazol (16)

Verim: %48. E.n.:150-155°C. ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 3.76-4.00 (m, 3H, CH_3), 4.70-4.90 (m, 2H, CH_2), 5.56-5.80 (m, 1H, OH), 7.20-7.48 (m, 1H, ArH), 7.50-7.80 (m, 2H, ArH). Anal. Hesaplanan: $C_9H_9ClN_2O$: C, 54.97; H, 4.61; Cl,18.03; N, 14.25 %. Bulunan: C, 55.28; H, 4.30; Cl, 17.75; N, 14.14%.



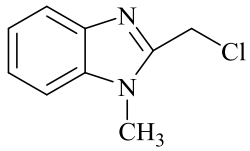
(16)

3.2.14. 1-Metil-2-Klorometilbenzimidazol türevlerinin sentezi (17-20)

0.02 mol benzimidazol bileşiği (13-16) tartılır, üzerine 0.2 mol tiyonil klorür ilave edilerek çözülür. 12 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Bu süre sonunda fazla tiyonil klorür vakum altında uzaklaştırılır. Geride kalan katıya su ilave edilir, çöken ürün su ile yıkanarak (veya sulu NH_3 çözeltisi) asitliği tamamen giderildikten sonra süzülür ve kurutulur.

3.2.14.1. 1-Metil-2-Klorometilbenzimidazol (17)

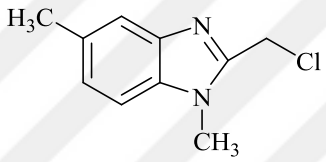
Verim: %77 (Ticari ürün). ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 3.84 (s, 3H, CH_3), 5.06 (s, 2H, CH_2), 7.13-7.37 (m, 2H, ArH), 7.45-7.78 (m, 2H, ArH). Anal. Hesaplanan: $C_9H_9ClN_2$: C, 59.84; H, 5.02; Cl:19.63; N, 15.51 %. Bulunan: C, 60.28; H, 5.28; N, 15.14%.



(17)

3.2.14.2. 1-Metil-2-Klorometil-5-metilbenzimidazol (18)

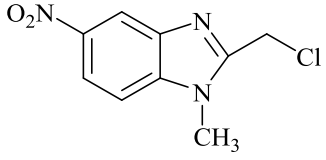
Verim: %65. E.n.:105-106°C. ^{1}H NMR($CDCl_3$): δ ppm 2.50 (s, 3H, $ArCH_3$), 3.76 (s, 3H, NCH_3), 4.90 (s, 2H, CH_2), 7.03-7.23 (m, 2H, ArH), 7.32-7.53 (m, 1H, ArH). Anal. Hesaplanan: $C_{10}H_{11}ClN_2$: C, 61.70; H, 5.70; Cl, 18.21; N, 14.39 %. Bulunan: C, 61.85; H, 5.32; Cl, 18.38; N, 14.14%.



(18)

3.2.14.3. 1-Metil-2-Klorometil-5-nitrobenzimidazol (19)

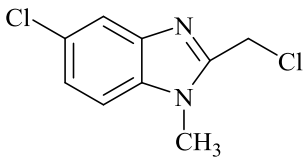
Verim: %71. E.n.:181-183°C. ^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ ppm 3.92 (s, 3H, CH_3), 5.12 (s, 2H, CH_2), 7.79 (d, *J*= 9.1 Hz, 1H, ArH), 8.18 (dd, *J* = 2.0Hz, 1H, ArH), 8.49 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, ArH). Anal. Hesaplanan: $C_9H_8ClN_3O_2$: C, 47.91; H, 3.57; Cl, 15.71; N, 18.62 %. Bulunan: C, 47.70; H,3.32; Cl, 15.38; N, 18.34%.



(19)

3.2.14.4. 1-Metil-2-Klorometil-5-klorobenzimidazol (20)

Verim: %68. E.n.:130-134°C. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 3.89 (s, 3H, CH_3), 4.85 (s, 2H, CH_2), 7.23-7.35 (m, 2H, ArH), 7.75 (s, 1H, ArH). Anal. Hesaplanan: $C_9H_8Cl_2N_2$: C, 50.26; H, 3.75; Cl, 32.97; N, 13.02%. Bulunan: C, 50.46; H, 3.42; Cl, 32.42; N, 13.13%.



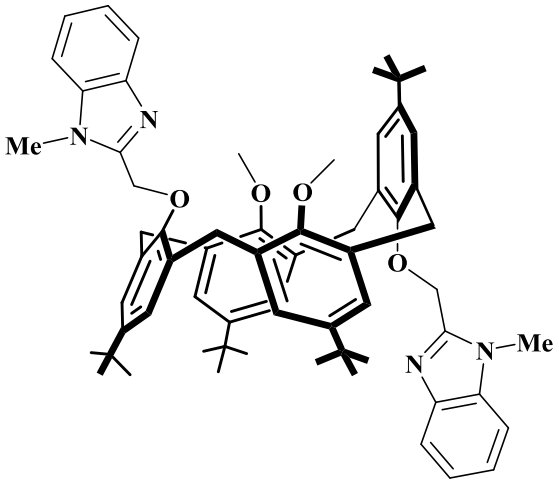
(20)

3.2.15. Benzimidazol türevlerinin bileşik 2 ile reaksiyonu (21-24)

0.5 g (0.74 mmol) **2** nolu bileşik DMF (50 mL) içerisinde çözülür. Üzerine 0.06 g NaH ilave edilir ve 1 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Bu süre sonunda 1.63 mmol benzimidazol türevi (17-20) ve 0.23 g NaI ilave edilir. 72 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Reaksiyon İTK ile izlenir. Bu sürenin sonunda reaksiyon karışımına su ilave edilir, oluşan katı süzülür. Ham ürün etanolden saflaştırılır.

3.2.15.1. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-bis[(1-metilbenzimidazol-2-il)-metoksi]-26,28-dimetoksikaliks[4]aren (21)

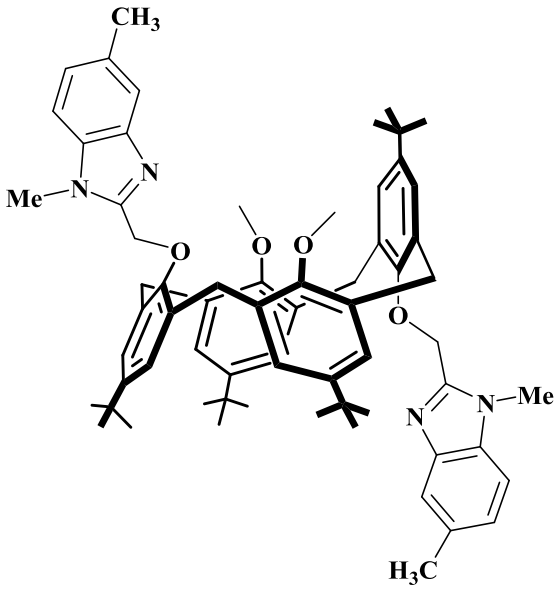
Bileşik **21** %70 verimle elde edildi. E.n.: 280-283^{o}C. FTIR: 1621 cm^{-1}(C=N). ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 0.45-1.51 (overlapped, 36H, Bu^t), 2.69-4.42 (overlapped, 20 H, $ArCH_2Ar$, NCH_3, OCH_3), 5.06 (s, 4H, OCH_2), 6.43 (bs, 2H, Kaliks. ArH), 7.04 (bs, 4H, Kaliks. ArH), 7.31 (bs, 8H, Benzim. ArH, Kaliks. ArH), 7.80 (d, *J*= 6.7 Hz, 2H, Benzim. ArH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ ppm 155.5, 153.3, 150.6, 148.3, 148.2, 145.5, 145.4, 145.3, 145.2, 142.4, 142.3, 135.8, 135.4, 135.1, 132.2, 127.9, 126.5, 125.5, 125.3, 124.6, 124.4, 123.1, 123, 122.4, 120.4, 109.5, 67.9, 67.5, 67.3, 37.6, 34, 33.7, 31.7, 31.6, 31.5, 31.3, 31.2, 30, 29.7. MALDI-TOF MS: (CHNO= 964.59 *m/z*) 984.51 [$M+H_2O+2H^+$]. Anal. Hesaplanan: $C_{64}H_{76}N_4O_4$: C, 79.6; H, 7,9; N, 5.8%. Bulunan: C, 78.9; H, 7.7; N, 6.0%.



(21)

3.2.15.2. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-bis[(1,5-dimetilbenzimidazol-2-il)metoksi]-26,28-dimetoksikaliks[4]aren (22)

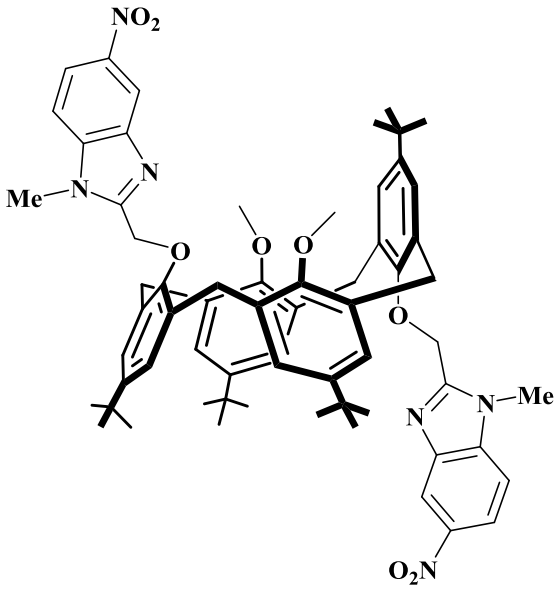
Bileşik **22** kısmi koni konformasyonunda %20 verimle elde edildi. E.n: 240-244^{o}C. FTIR: 1624 cm^{-1}(C=N). ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 0.55-1.49 (overlapped, 36H, Bu^{t}), 2.44 (s, 6H, $ArCH_3$), 2.69-4.11 (overlapped, 20 H, $ArCH_2Ar$, NCH_3, OCH_3), 4.96 (s, 4H, OCH_2), 6.44 (s, 3H, Kaliks. ArH), 6.86-7.27 (m, 9H, Kaliks. ArH, Benzim. Ar-H), 7.58 (d, *J*= 7.7Hz, 2H, Benzim. ArH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ ppm 155.6, 153.5, 150, 145.4, 144.8, 143.4, 142.7, 140.6, 136.1, 135.6, 135.5, 135.4, 135.3, 135.2, 134.4, 133, 132.2, 132.1, 132, 131.9, 127.9, 124.6, 124.4, 122.8, 119.8, 109.4, 67.9, 67.5, 67.4, 37.4, 34, 33.6, 31.9, 31.8, 31.7, 31.6, 31.5, 31.2, 29.9, 29.7, 21.9. MALDI-TOF MS: (CHNO= 992.62 *m/z*) 1012.827 [$M+H_2O+2H^{+}$]. Anal. Hesaplanan: $C_{66}H_{80}N_4O_4$: C, 79.8; H, 8.12; N, 5.64%. Bulunan: C, 78.6; H, 8.2; N, 5.7%.



(22)

3.2.15.3. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-bis[(1-metil-5-nitrobenzimidazol-2-il)metoksi]-26,28-dimetoksikaliks[4]aren (23)

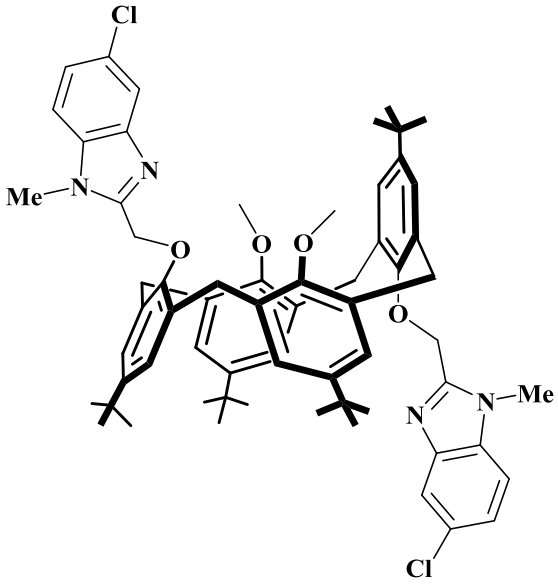
Bileşik **23** kolon kromatografisi ile 1:2 aseton/n-hekzan çözücü sisteminden saflaştırıldı. Kısmi koni konformasyonunda %65 verimle elde edildi. E.n: 183-186^{o}C . FTIR: 1620 cm^{-1}(C=N), 1523 cm^{-1}(NO_2). ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 0.38-1.49 (overlapped, 36H, Bu^{t}), 2.37-4.32 (overlapped, 20 H, $ArCH_2Ar$, NCH_3, OCH_3), 5.04 (s, 4H, OCH_2), 6.34 (s, 2H, Kaliks. ArH), 6.94 (s, 6H, Kaliks. ArH) 7.33(d, *J*= 6.7 Hz, 1H, Benzim. ArH), 7.79 (d, *J*= 6.7 Hz, 1H, Benzim. ArH), 8.14-8.24 (overlapped, 3H, Benzim. ArH), 8.64(s, 1H, Benzim. ArH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ ppm 155.6, 153.3, 150.6, 148.3, 147.3, 145.5, 145.1, 144.6, 142.5, 142.4, 137, 135.8, 135.4, 132.2, 130.4, 129.5, 128, 127.6, 126.5, 125.5, 124.8, 123.2, 122.4, 120.3, 117.3, 109.3, 67.6, 67.5, 67.4, 37.6, 34.1, 34, 33.9, 33.7, 31.6, 31.5, 31.3, 31.2, 30. MALDI-TOF MS: (CHNO= 1054.56 *m/z*) 1073.92 [M+H_2O+H^{+}]. Anal. Hesaplanan: $C_{64}H_{74}N_6O_8$: C, 72.8; H, 7.1; N, 7.9%. Bulunan: C, 73.3; H, 7.2; N, 7.5%.



(23)

3.2.15.4. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-bis[(1-metil-5-klorobenzimidazol-2-il)metoksi]-26,28-dimetoksikaliks[4]aren (24)

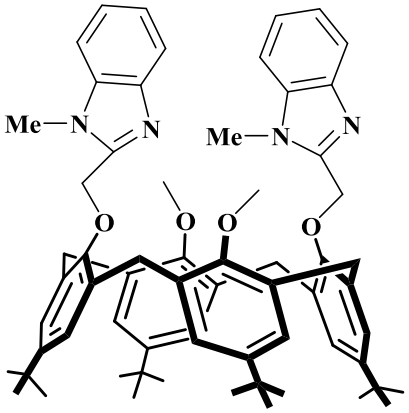
Bileşik **24** kısmi koni konformasyonunda %70 verimle elde edildi. E.n.: 231-233^{o}C. FTIR: 1618 cm^{-1}(C=N). ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 0.50-1.49 (overlapped, 36H, Bu^{t}), 2.64-4.28 (overlapped, 20 H, $ArCH_2Ar$, NCH_3, OCH_3), 4.97 (s, 4H, OCH_2), 6.33 (s, 3H, Kaliks. ArH), 6.95 (s, 5H, Kaliks. ArH), 7.09-7.32 (m, 4H, Benzim. ArH), 7.63 (d, *J*= 7.7 Hz, 1H, Benzim. ArH), 7.70 (s, 1H, Benzim. ArH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ ppm 155.5, 153.2, 151.7, 151.3, 145.6, 145.5, 145.4, 143.2, 143.1, 141.1, 136.5, 135.4, 134.5, 132.1, 128.9, 128, 126.6, 125.5, 124.6, 123.6, 123.1, 121.2, 120, 110.3, 109.7, 67.3, 67.2, 67.1, 37.6, 34.1, 34, 33.7, 33.5, 31.6, 31.5, 31.3, 30.2, 30.1. MALDI-TOF MS: (CHClNO= 1032.51 *m/z*) 1052.34 [$M+H_2O+2H^{+}$]. Anal. Hesaplanan: $C_{64}H_{74}Cl_2N_4O_4$: C, 74.3; H, 7.16; N, 5.4%. Bulunan: C, 73.5; H, 7.2; N, 6.3%.



(24)

3.2.16. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-bis[(1-metilbenzimidazol-2-il)metoksi]-26,28-dimetoksikaliks[4]aren (25)

0.5 g (0.74 mmol) **2** nolu bileşik DMF (50 mL) içerisinde çözülür. Üzerine 0.06 g NaH ilave edilir ve 1 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Bu süre sonunda 1.63 mmol benzimidazol türevi (17) ve 0.23 g NaI ilave edilir. 24 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Reaksiyon İTK ile izlenir. Bu sürenin sonunda reaksiyon karışımına su ilave edilir, oluşan katı süzülür. Ham ürün kloroform/etanol sisteminden kristallendirilir. Bileşik **25** %50 verimle elde edildi. E.n: 242-245^{o}C. FTIR: 1618 cm^{-1}(C=N) . ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 0.32 (s, 18H, Bu^t), 1.29 (s, 18H, Bu^t), 3.34 (d, *J*= 13.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.61-3.73 (m, 6H, NCH_3), 3.93 (s, 6H, OCH_3), 4.28 (d, *J*= 13.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 5.05 (s, 4H, OCH_2), 6.74 (s, 2H, Kaliks. ArH), 6.99-7.08 (m, 6H, Kaliks ArH), 7.23-7.36 (m, 6H, Kaliks ArH, Benzim. ArH), 7.79 (d, *J*= 7.2 Hz, 2H, Benzim. ArH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ ppm 153.5, 151.1, 150.5, 146.8, 142.5, 141.5, 135.9, 132.2, 127.9, 125.5, 125, 123, 122.2, 120.3, 109.5, 63.5, 60.6, 33.8, 31.7, 31.4, 31, 30.7, 30. MALDI-TOF MS: (CHNO= 964.59 *m/z*) 984.22 [$M+H_2O+2H^+$]. Anal. Hesaplanan: $C_{64}H_{76}N_4O_4$: C, 79.6; H, 7,9; N, 5.8%. Bulunan: C, 78.9; H, 7.7; N, 6.0%.



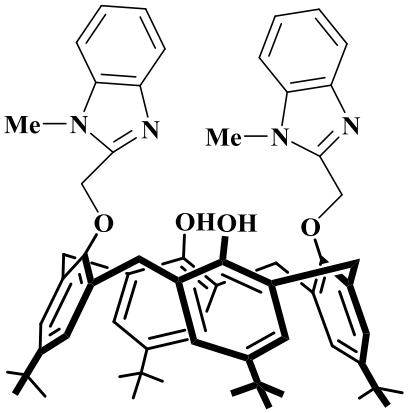
(25)

3.2.17. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (1) ile 1-metil-2-klorometilbenzimidazol'ün (17) reaksiyonu (26 ve 27)

0.5 g (0.77 mmol) **1** nolu bileşik, 1.07 g K_2CO_3 (7.70 mmol) 10 mL asetonitril içinde azot atmosferinde bir saat karıştırılır. Bu süre sonunda 0.305 g (1.69 mmol) bileşik **17** ve 5 mg KI ilave edilir ve ısıtılarak şiddetli bir şekilde 24 saat süreyle karıştırılır. Reaksiyon İTK ile izlenir. Bu sürenin sonunda reaksiyon karışımı süzülür, vakumda konsantre edilir. Oluşan katıya 3'er mL diklormetan ve metanol eklenir. Yavaş evaporasyonla ürünler elde edilir ve süzülerek alınır, etanolden saflaştırılır (Cante-Mota ve ark., 2013).

3.2.17.1. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-bis[(1-metilbenzimidazol-2-il)metoksi]-26,28-dihidroksikaliks[4]aren (26)

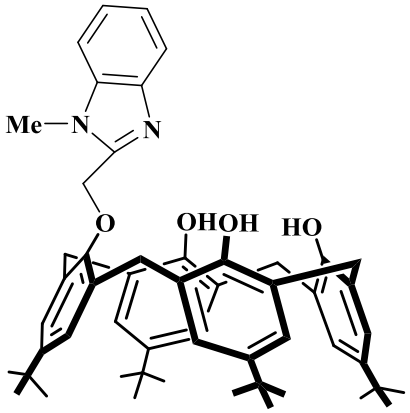
Bileşik **26** %30 verimle elde edildi. E.n: 249-251^{o}C. FTIR: 3437, 3049, 1592, 1480 cm^{-1}. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 0.94 (s, 18H, Bu^t), 1.30 (s, 18H, Bu^t), 3.29 (d, *J*= 13.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.87 (s, 6H, NCH_3), 4.23 (d, *J*= 13.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 5.26 (s, 4H, OCH_2), 6.75 (s, 4H, ArH), 7.03 (s, 4H, ArH), 7.25 (d, *J*= 7.8 Hz, 2H, Benzim. ArH), 7.37-7.45 (m, 4H, Benzim. ArH), 7.81 (d, *J*= 7.8 Hz, 2H, Benzim. ArH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ ppm 150.5, 149.7, 149.4, 147.8, 142.2, 142.0, 136.2, 132.4, 127.6, 125.9, 125.2, 123.5, 122.6, 120.5, 109.9, 70.7, 34.1, 30.4, 34.0, 31.8, 31.1. Anal. Hesaplanan: $C_{64}H_{76}N_4O_4$: C, 77.95; H, 7.81; N, 5.86%. Bulunan: C, 78.1; H, 7.65; N, 5.8%.



(26)

3.2.17.2. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25-[(1-metilbenzimidazol-2-il]metoksi)-26,27,28-trihidroksikaliks[4]aren (27)

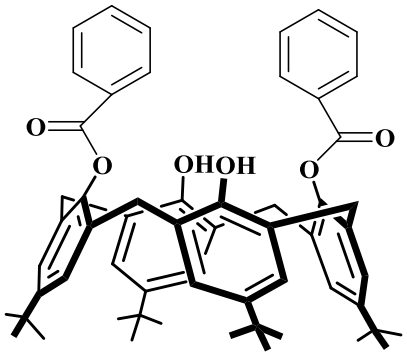
Bileşik **27** %50 verimle elde edildi. E.n: 138–140^{o}C. FTIR: 3537, 3395, 1600, 1482 cm^{-1}. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 1.19 (18H, s, Bu^t), 1.20 (9H, s, Bu^t), 1.22 (9H, s, Bu^t), 3.41 (2H, d, *J*= 13.2 Hz, $ArCH_2Ar$), 3.42 (2H, d, *J*= 13.5 Hz, $ArCH_2Ar$), 4.08 (3H, s, NCH_3), 4.13 (2H, d, *J*= 14.1 Hz, $ArCH_2Ar$), 4.40 (2H, d, *J*= 12.9 Hz, $ArCH_2Ar$), 5.47 (2H, s, OCH_2), 6.96 (2H, s, ArH), 7.03 (4H, s, ArH), 7.09 (2H, s, ArH), 7.32 (2H, m, Benzim. ArH), 7.5 (1H, d, *J*= 7.8 Hz, Benzim. ArH), 7.79 (1H, d, *J*= 7.8 Hz, Benzim. ArH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ ppm 151.4, 150.7, 148.9, 147.8, 146.9, 145.2, 144.6, 143.8, 142.5, 136.7, 134.3, 128.6, 128.4, 128.1, 126.9, 126.2, 125.8, 123.8, 120.3, 110.4, 70.5, 34.7, 34.3, 32.9, 32.8, 31.7, 31.5, 30.7. Anal. Hesaplanan: $C_{64}H_{76}N_4O_4$: C, 77.62; H, 8.23; N, 3.42%. Bulunan: C, 77.62; H, 8.23; N, 3.42%.



(27)

3.2.18. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-26,28-Bis[benzoiloksi]kaliks[4]aren-25,27-diol(28)

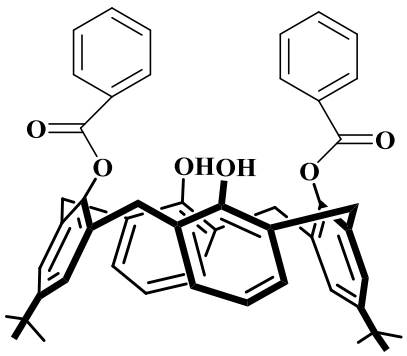
5 g (7.7 mmol) *p-ter*-bütilkaliks[4]aren (1), 2.33g (17 mmol) potasyum karbonat ve 250 mL asetonitril 80^{o}C'da 30 dakika karıştırılır. Daha sonra 1.8 mL (15.4 mmol) benzoil klorür karıştırılarak damlalar halinde ilave edilir ve 4 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Soğutulan karışım içerisinden çözücü evoparatörde kuruluğa kadar destillenir. Geriye kalan kısım 100 mL diklormetan içerisine alınır ve 3x50 mL su ile yıkanır, sodyum sülfat üzerinden kurutulur ve daha sonra da 40 mL kalana kadar evoparatörde konsantre edilir. Oluşan ürün içerisine 300 mL metanol ilave edilir ve vakum altında konsantre hale getirilir. 5.6 g (%85) verimle beyaz toz madde elde edilir. (Dalbavie ve ark., 2000) E.n.: 320-330^{o}C (bozunma). FTIR: 1730 cm^{-1}(C=O). ^{1}H NMR($CDCl_3$): δ ppm 1.01 (s, 18H, Bu^t), 1.15 (s, 18H, Bu^t), 3.49 (d, *J*= 14.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.97 (d, *J*= 14.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 6.91 (s, 4H, ArH), 7.02 (s, 4H, ArH), 7.49 (t, *J*= 7.4 Hz, 4H, C_6H_5), 7.70 (t, *J*= 7.4 Hz, 2H, C_6H_5), 8.33 (d, *J*= 7.1 Hz, 4H, C_6H_5). Anal. Hesaplanan: $C_{58}H_{64}O_6$: C, 81.2 ; H, 7.5%. Bulunan: C, 81.0 ; H, 7.7%.



(28)

3.2.19. 5,17, Di-*ter*-bütil-26,28-Bis[benzoiloksi]kaliks[4]aren-25,27-diol (29)

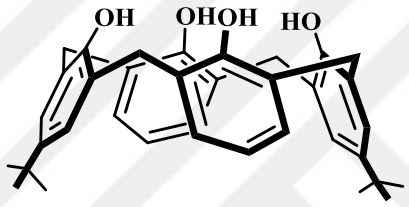
6 g (7 mmol) **28** nolu bileşik, 4.7 g (35 mmol) alüminyum klorür ve 300 mL toluen renk kırmızı olana kadar karıştırılarak ısıtılır. Daha sonra 2 saat oda sıcaklığında karıştırılan karışım üzerine 100 mL su ilave edilir. Oluşan emülsiyon 30 dakika daha karıştırılır. Toluen fazı 3x100 mL su ile yıkanır, sonra da organik faz kuruluğa kadar evoparatörde destillenir. Sarı ürün 50 mL diklormetan ve 250 mL etanol içerisine alınıp 100 mL ye kadar konsantre edilir. Ürün: 3.9 g (%75) beyaz toz madde. (Dalbavie ve ark., 2000) E.n.: 320^{o}C (bozunma). FTIR: 1730 cm^{-1}(C=O). ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 1.02 (s, 18H, Bu^{t}), 3.55 (d, *J*=14.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.82 (d, *J*=14.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 6.59 (t, *J*= 7.4 Hz, 2H, ArH), 6.93 (d, *J*= 7.4 Hz, 4H, ArH), 7.00 (s, 4H, ArH), 7.52 (t, *J*= 7.7 Hz, 4H, C_6H_5), 7.72 (t, *J*= 7.4 Hz, 2H, C_6H_5), 8.22 (d, *J*= 7.0 Hz, 4H, C_6H_5). Anal. Hesaplanan: $C_{50}H_{48}O_6$: C, 80.6; H, 6.5%. Bulunan: C, 80.7; H, 6.7%.



(29)

3.2.20. 5,17-Di-*ter*-bütil-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (30)

4.2 g (5.6 mmol) **29** nolu bileşik, 8 g (200 mmol) sodyum hidroksit, 120 mL etanol ve 40 mL su 12 saat karıştırılarak geri soğutucu altında kaynatılır. Daha sonra soğutulan karışım hidroklorik asit ile asitlendirilir (pH=5-6). Oluşan beyaz ürün süzülür, diklormetan ile çözülür ve metanolden çöktürülür. Ürün: 2.7g (%90). (Dalbavie ve ark., 2000) E.n.: 300^{o}C. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 1.20 (s, 18H, Bu^t), 3.42 (d, *J*=14.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.19 (d, *J*=14.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 6.69 (t, *J*= 7.7 Hz, 2H, ArH), 7.00 (d, *J*= 7.7 Hz, 4H, ArH), 7.07 (s, 4H, ArH), 10.29 (s, 4H, ArOH). Anal. Hesaplanan: $C_{36}H_{40}O_4$: C, 72.28; H, 6.87%. Bulunan: C, 72.35; H, 6.97%.

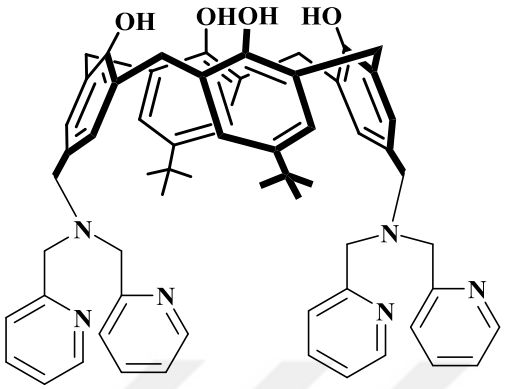


(30)

3.2.21. 5,17-Di-*ter*-bütil-11,23-bis[(bis-(2-piridilmetil)amino)metil)]-25,26,27,28-tetrahidroksikaliks[4]aren (31)

2 g (3.68 mmol) **30** nolu bileşik, 50 ml THF ve 20 ml DMF içinde oda sıcaklığında çözülür. Karışıma 2.13 mL asetik asit, 0.25 mL formaldehit ve 1.0 mL (9.2 mmol) bis-(2-aminometilpiridil) ilave edilir, oda sıcaklığında 24 saat karıştırılır. Daha sonra çözücü vakum altında uzaklaştırılır. Kalıntıya 100 mL su ilave edilir, dietil eterle ektraksiyon yapılır. Su fazında çöken madde süzülür. Vakumda kurutulur. %40 verimle elde edilir. E.n.: 214-217^{o}C. FTIR: 3165, 2953, 2870, 1675, 1590, 1567 cm^{-1}. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 1.16 (s, 18H, Bu^t), 3.36 (bs, 8H, $ArCH_2Ar$, NCH_2), 3.74 (s, 8H, NCH_2), 4.23 (d, *J*= 13.1 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 6.81 (s, 4H, Kaliks. ArH), 6.94 (s, 4H, Kaliks. ArH), 7.05 (t, *J*= 6.1 Hz, 4H, Pir. ArH), 7.42 (d, *J*= 7.6 Hz, 4H, Pir. ArH), 7.54 (t, *J*= 7.6 Hz, 4H, Pir. ArH), 8.50 (s, 4H, Pir. ArH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ ppm 159.5, 148.8, 147.4, 146.7, 144.5, 136.2, 129.3, 129.1, 128.3, 127.5, 125.8, 122.7, 121.8, 60.6, 60.3, 58.1, 34,

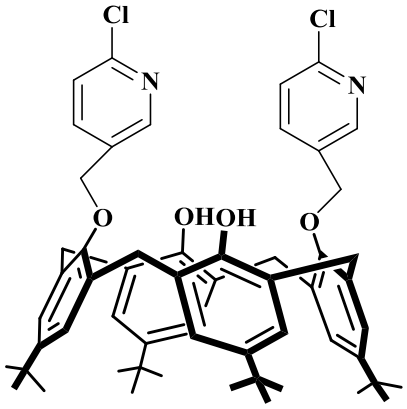
32.2, 31.4. MALDI-TOF MS: (CHNO= 958.51 *m/z*) 958.54 [M^+]. Anal. Hesaplanan: $C_{62}H_{66}N_6O_4$: C, 73.41; H, 6.94, N, 8.76%. Bulunan: C, 74.13; H, 7.0; N, 8.68%.



(31)

3.2.22. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-bis[(2-kloropiridin-5-il)metoksi]-26,28 dihidroksikaliks[4]aren (32)

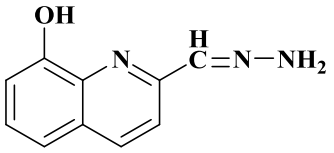
3.64 g (5.6 mmol) **1** nolu bileşik, 1.66 g (12 mmol) K_2CO_3 250 ml asetonitrilde 1.5 saat kaynatılır. Daha sonra soğutulan karışıma 2 g (12 mmol) 2-kloro-5-(klorometil)piridin ve 1.8 g NaI (12 mmol) eklenir ve 72 saat kaynatılır. İTK ile takip edilen reaksiyon sonlandırılır. Çözücüsü uçurulur, diklormetan/su ile 5 kere ekstrakte edilir. Organik faz ayrılır, $MgSO_4.7H_2O$ ile kurutulur ve çözücü uzaklaştırılır. Oluşan ham ürün aseton-etanol karışımından kristallendirilir. Ürün %65 verimle elde edilir. E.n.: 211-214^oC. ^1H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 0.72 (s, 18H, Bu^t), 1.09 (s, 18H, Bu^t), 3.09 (d, *J*= 13.0 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.95 (d, *J*= 13.0 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.84 (s, 4H, OCH_2), 6.58 (s, 2H, Kaliks. ArH), 6.70 (s, 2H, Kaliks. ArH), 6.84 (s, 4H, Kaliks. ArH), 7.04 (s, 2H, ArOH), 7.22 (d, 2H, *J*= 8.0 Hz, Pir. ArH), 7.86 (d, *J*= 8.0 Hz, 2H, Pir. ArH), 8.32 (s, 2H, Pir. ArH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ ppm 151.4, 150.4, 149.1, 148.5, 147.6, 141.9, 138.1, 132.2, 131.6, 127.5, 125.8, 125.1, 124.7, 74.5, 33.9, 31.7, 31.4, 30.9, 29.7. MALDI-TOF MS: (CHClNO= 898.42 *m/z*) 899.13 [M+H]. Anal. Hesaplanan: $C_{56}H_{64}Cl_2N_2O_4$: C, 74.73; H, 7.17, N, 3.11%. Bulunan: C, 74.61; H, 7.11; N, 3.05%.



(32)

3.2.23. 8-Hidroksi-2-kinolinkarboksihidrazon (33)

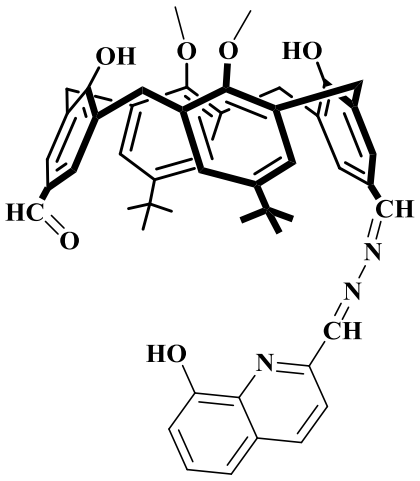
0.5 g (2.9 mmol) 8-hidroksi-2-kinolinkarboksaldehit tartılıp 10 mL etanolde çözülür. İçine 40 μL derişik asetik asit eklenir. Bir süre karıştırılır ve sonrasında 0.154 mL hidrazin hidrat (3.17 mmol) damla damla ilave edilir. Bir dakika içinde çökme gerçekleşir. Bir müddet karıştırılan karışım süzülür. Çökelti bol miktarda etanol ile çözülür ve kristallendirilir (Ticari ürün). ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 5.93 (s, 2H, NH_2), 7.18 (d, *J*= 7.18 Hz, 1H, ArH), 7.24-7.37 (m, 2H ArH), 7.38-7.50 (m, 1H, Pir. ArH), 7.92-8.04 (m, 2H, Pir. ArH, CH=N), 8.11 (d, *J*= 8.73 Hz, 1H, ArOH). Anal. Hesaplanan: $C_{10}H_9N_3O$: C, 64.16; H, 4.85, N, 22.45%. Bulunan: C, 64.0; H, 4.9; N, 22.5%.



(33)

3.2.24. 5,17-Di-*ter*-bütil-11-karbaldehit-23-[((8-hidroksikinolin-2-il)metilen)hidrazino)metil]-25,27-diol-26,28-dimetoksikaliks[4]aren (34)

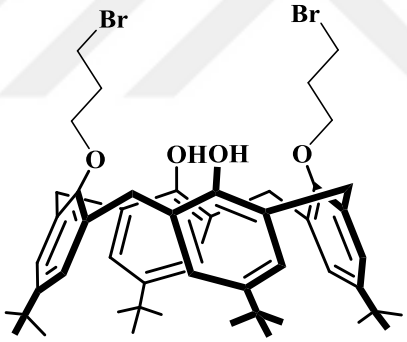
0.1 g (0.16 mmol) dialdehit bileşiği (bileşik 3) tartılıp 20 mL THF ve 20 mL metanol içine alınır. 0.045 g (0.24 mmol) 8-hidroksikinolinkarboksihidrazon (33) eklenir. 72 saat kaynatılır. Bu süre sonunda soğutulan karışımın çözücüsü uzaklaştırılır. Diklormetan/su sistemiyle üç sefer ekstrakte edilir. Çözücü uzaklaştırılır. Kalan yağımsı kısım kloroform/etanol çözücü sisteminden kristallendirilir, %60 verimle elde edilir. E.n.: 200-204^{o}C. FTIR: 1680, 1658, 1656, 1624 cm^{-1}. ^{1}H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 0.88 (s, 18H, Bu^{t}), 3.42 (d, *J*= 13.2 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.92 (s, 6H OCH_3), 4.22 (d, *J*= 13.2 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 6.67-6.81 (m, 4H, Kaliks. ArH), 7.07-7.21 (m, 2H, Kaliks. ArH), 7.23-7.31 (d, *J*= 9.43 Hz, 1H, Kin. Ar-H), 7.36-7.46 (m, 1H, Kin. CH=N), 7.49-7.67 (m, 4H, Kin. ArH, Kaliks. ArH), 7.88-8.38 (m, 4H, Kin. ArH, Kaliks. ArOH), 8.44-8.64 (m, 1H, Kaliks. CH=N), 8.69-8.83 (m, 1H, Kin. ArOH), 9.77 (s, 1H, CHO). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ ppm 191.1, 163.9, 161.9, 160.5, 159.2, 157, 156.9, 152.7, 151.5, 150.9, 148.1, 147.9, 138, 136.6, 136.4, 131.4, 131.1, 129.6, 128.9, 126.0, 124.8, 119.4, 117.9, 110.5, 63.6, 34.0, 31.2, 31.1, 31. MALDI-TOF MS: (CHNO: 789.38 *m/z*) 790.2 [M+H]. Anal. Hesaplanan: $C_{50}H_{51}N_3O_6$: C, 76.0; H, 6.5; N, 5.32%. Bulunan: C, 75.6; H, 6.8; N, 5.2%.



(34)

3.2.25. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-Bis[3-bromopropoksi]kaliks[4]aren-26,28-diol (35)

6.49 g (10 mmol) *p-ter*-bütilkaliks[4]aren (1) 180 mL asetonitrilde çözülür ve 1.38 g (10 mmol) K_2CO_3 ilave edilir ve oda sıcaklığında bir saat karıştırılır. İçerisine 5.1 mL (50 mmol) 1,3-dibrompropan eklenir ve 72 saat kaynatılır. Bu süre sonunda çözücü uzaklaştırılır ve 75 mL diklormetanda çözülür. 25 mL 3 M HCl ve 25 mL 0.5 M HCl ile ekstrakte edilir. Asitliği su ile giderildikten sonra çözücüsü uzaklaştırılan karışım diklormetanda çözülür ve metanol eklenir. Buzdolabında bekletilir. Oluşan katı ürün süzülerek saflaştırılır, %70 verimle elde edilir (Li ve ark., 1999). E.n.: 288-290^oC ^1H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 0.99 (s, 18H, Bu^t), 1.20 (s, 18H, Bu^t), 2.5 (m, $CH_2CH_2CH_2$, 4H), 3.34 (d, *J*= 12.9 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.98 (t, *J*= 6.6 Hz, 4H, OCH_2), 4.03 (t, *J*= 5.7 Hz, 4H, NCH_2), 4.09 (t, *J*= 5.4 Hz, 4H, $BrCH_2$), 4.26 (d, *J*= 12.9 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 6.85 (s, 4H, Ar-H), 7.03 (s, 4H, ArH), 7.61 (s, 2H, ArOH). Anal. Hesaplanan: $C_{50}H_{66}Br_2O_4$: C, 67.41; H, 7.47 %. Bulunan: C, 68.3; H, 7.68%.

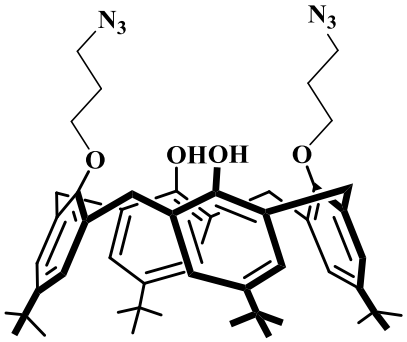


(35)

3.2.26. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-Bis[3-azidoopropoksi]kaliks[4]aren-26,28-diol (36)

60 mg (0.92 mmol) sodyum azit, 5 mL DMF'de çözünmüş 300 mg (0.36 mmol) bileşik **35**'e eklenir ve 60^oC'de 24 saat karıştırılır. İTK ve FTIR ile takip edilen reaksiyon sonlandırılır. Su ile çöktürülen ürün tuzlu suyla yıkanır ve kurutulur (Khan ve ark., 2016). E.n.: 233-234^oC. FTIR: 2095 cm^{-1}(N_3^+). ^1H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 0.99 (s, 18H, Bu^t), 1.20 (s, 18H, Bu^t), 2.25 (m, 4H, $CH_2CH_2CH_2$), 3.35 (d, *J*= 12.9 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 3.88 (t, *J*= 6.6 Hz, 4H, OCH_2), 4.03 (t, *J*= 5.7 Hz, 4H, NCH_2), 4.24 (d, *J*=

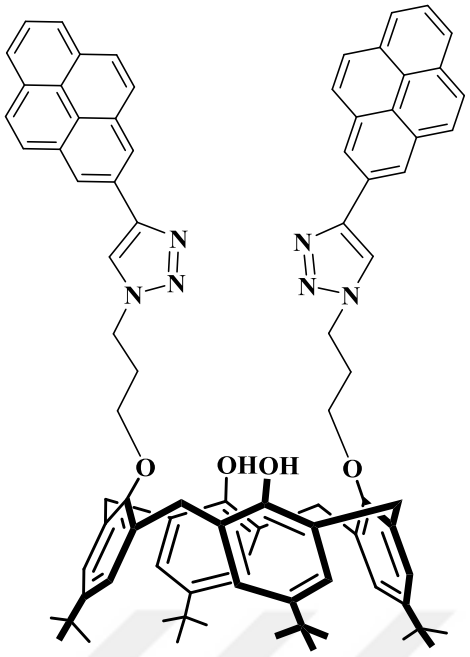
12.9 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 7.05 (s, 4H, ArH), 7.25 (s, 4H, ArH), 7.52 (s, 2H, OH). Anal. Hesaplanan: $C_{50}H_{66}N_6O_4$: C,73.68; H, 8.16; N,10.31%. Bulunan: C,73.52, H, 8.23; N,10.37%.



(36)

3.2.27. 5,11,17,23-Tetra-*ter*-bütil-25,27-Bis[3-azidoopropoksi]kaliks[4]aren-26,28-diol (36) ile 2-etinil pirenin etkileştirilmesi (37)

100 mg (0.1226 mmol) dipropilazido kaliks[4]aren (36), 12.6 mg (0.05 ekivalent) $CuSO_4$, 25 mg sodyum askorbat (0.2 ekivalent) ve 70.71 mg (2.0 ekivalent) 2-etinil piren, 5 mL DMF'de çözülür ve 80^oC'de 72 saat karıştırılır. İTK ve FTIR ile takip edilen reaksiyon azit grubunun kaybolmasıyla sonlandırılır. Su ile çöktürülen ham ürün suyla iyice yıkanır ve kurutulur. Etanolden kristallendirilerek %40 verimle elde edildi. E.n.: 222-224^oC. FTIR: 1603, 1595, 1535, 1484, 1459 cm^{-1}. ^1H NMR ($CDCl_3$): δ ppm 1.00 (s, 18H, Bu^t), 1.35 (s, 18H, Bu^t), 2.75 (p, *J*= 6.14 Hz, 4H $CH_2\underline{CH_2}CH_2$), 3.44 (d, *J*= 13.2 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 4.16 (t, *J*= 5.81 Hz, 4H, OCH_2), 4.33 (d, *J*= 13.2 Hz, 4H, $ArCH_2Ar$), 5.01 (t, *J*= 7.03 Hz, 4H, NCH_2), 6.88 (s, 4H, Kaliks ArH,), 7.15 (s, 4H, Kaliks ArH), 7.60 (s, 2H, Triazol H), 7.80 (d, *J*= 9.30 Hz, 2H, Piren ArH), 7.86-7.98 (m, 8H, Piren ArH), 8.01 (d, *J*= 7.32 Hz, 2H, Piren ArH), 8.05-8.11 (m, 4H, Piren ArH), 8.14 (s, 2H, OH), 8.57 (d, *J* = 9.30 Hz, 2H, Piren ArH). ^{13}C NMR ($CDCl_3$): δ ppm 150.5, 149.4, 147.5, 147.3, 142.2, 132.4, 131.2, 131, 130.7, 128.2, 128, 127.7, 127.6, 127.1, 125.8, 125.4, 125.1, 124.9, 124.7, 124.5, 123.7, 72.4, 47.1, 34, 33.9, 31.9, 31.7, 31, 30.8. MALDI-TOF MS: (CHNO= 1266.67 *m/z*) 1267.27 [M+H]. Anal. Hesaplanan: $C_{86}H_{86}N_6O_4$: C, 81.48; H, 6.84; N, 6.63%. Bulunan: C, 82.12, H, 6.61; N, 6.5%.



(37)

3.3. DNA Çalışmaları

3.3.1. pBR322 plazmit DNA Çalışmaları

Bu çalışmalar için her malzeme ve hazırlanan tampon çözeltiler kullanımdan önce otoklavlandı ve steril olarak kullanıldı. pBR322 plazmit DNA, 10 mM Tris-HCl ve 1 mM EDTA pH 7.4 olarak hazırlanan tampon çözeltiyle 0.5 μg/mL plazmit DNA solüsyonu olacak şekilde hazırlandı. Bileşikler 10,000 uM olarak DMF içinde stok olarak hazırlandı, yarı yarıya seyreltilme işlemlerinde (5000, 2500, 1250, 625 uM) hem DMF hem de DNA için hazırlanan tampon çözelti kullanıldı. Hazırlanan stok DNA çözeltisinden her bir madde için (30 uL'lik örnekler) 0.5 μg/mL plazmit DNA içerecek şekilde alınarak 24 saat 37^{o}C'de bir su banyosu içinde karanlıkta inkübe edildi. Bu süre sonunda her bir örnekten 10 uL'lik örnekler alınarak 3 uL boya ile karıştırıldı ve %1'lik agaroz jele (1XTAE ile hazırlandı) yüklenerek 60 V'da 2 veya 3 saat süreyle 1XTAE tamponunda elektroforezde yürütüldü. Bu süre sonunda jel çıkartılıp 0.5 mg/mL (100 uM) EtBr çözeltisinden 10 uL eklenerek 30 dakika çalkalandı ve bu süre sonunda UV lambası altında jellerin görüntüleri kaydedildi. Kesim enzimleriyle yapılan deneylerde BamHI ve HindIII enzimlerinin her ikisi için de 8'er uL bir gece inkübe edilen

örneklerden alındı. Bu örneklere 1 ünite enzim (0.1 uL) ve tamponundan (1 uL) eklendi ve bir saat 37^{o}C'de bir sıcak su banyosunda inkübe edildi. Bu süre sonunda örnekler sıcak su banyosundan çıkartılıp hemen bir buz banyosuna aktarılarak kesim sonlandırıldı. Yukarıda belirtilen aynı işlemler yapıldı ve görüntüler kaydedildi.

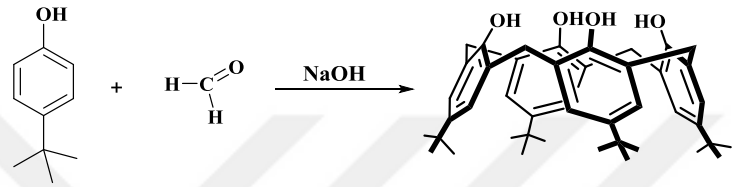
3.3.2. CT-DNA Çalışmaları

CT-DNA 10 mM Tris-HCl+50 mM NaCl pH 7.2 tampon çözeltisiyle çözüldü. +4^{o}C'de 1-2 gün gibi bir süre tutularak dengeye gelmesi için bekletildi. Bu süre sonunda DNA alındı, 260 nm ve 280 nm'deki absorbansları ölçülerek, DNA'nın serbest şekline yeterli olarak dönüştüğünü gösteren A_{260}/A_{280} oranının 1.8-1.9 arasında olduğu değere göre bir stok çözelti olarak hazırlandı. 260 nm'deki absorbansı dikkate alınarak 6600 M^{-1} cm^{-1} olan ε (Molar absorbsiyon katsayısı) değeri ile konsantrasyonu belirlendi. Bileşikler 0.125 mM'lık stok çözeltiler halinde DMF'de çözülerek hazırlandı. Ölçüm yapılan çözeltideki DMF oranı %2 olarak tutuldu. Daha düşük oranlarda maddeler çöktüğü için bu oran kullanıldı. Son hacim 3 mL olacak şekilde tampon çözelti (10 mM Tris-HCl+50 mM NaCl pH 7.2) kullanılarak hacimler tamamlandı. Hazırlanan örnekler oda sıcaklığında ve karanlıkta 24 saat süreyle (sadece bileşik 37 bir saat tutuldu) inkübe edildi. Floresans spektrofotometresindeki ölçümler 3 mL'lik küvette yapıldı. UV-Vis. spektrofotometresindeki ölçümler floresans spektroskopisinde ölçümü alınan örneklerin aynısı kullanılarak yapıldı. EtBr ile yapılan çalışmalarda EtBr aynı tampon çözeltiyle çözülerek, her ölçüm için taze olarak hazırlanıp kullanıldı. EtBr ile hazırlanan örnekler, 3 saat süreyle oda sıcaklığında ve karanlıkta tutularak inkübe edildi.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

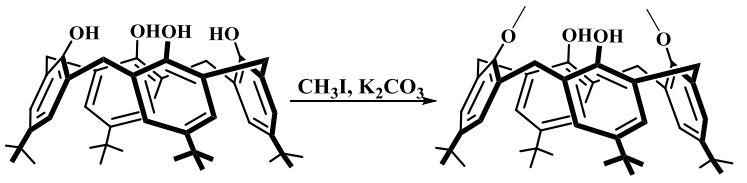
4.1. Kaliksaren Bazlı Bileşiklerin Sentezi

Bu tez çalışmasının amacı, biyolojik olarak etkinlik gösterebilecek, farklı heterosiklik gruplar içeren, yeni *p-ter*-bütilkaliks[4]aren türevlerini sentezlemektir. Bu amaçla, öncelikle temel bileşik olan 5,11,17,23-tetra-*ter*-bütilkaliks[4]aren (1) literatürdeki (Gutsche ve Iqbal, 1990) metot uygulanarak sentezlendi.

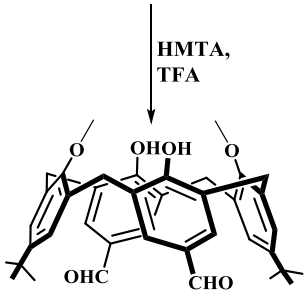


(1)

Kaliksarenin *p*-pozisyonundan benzimidazol türevlerini sentezlemek amacıyla ilk olarak **1** nolu bileşik ile yaklaşık 1:2 eşdeğer oranında metil iyodür reaksiyona sokularak **2** nolu bileşik sentezlendi. Sonrasında, kaliksarenin *p*-dialdehit türevini oluşturmak üzere bileşik **2**, hekzametilentetraamin ve trifloroasetik asit ile etkileştirilerek dealkilleme ve formilleme reaksiyonlarının gerçekleştiği tek bir deneyle **3** nolu bileşik %71 verimle elde edildi. Bu bileşiğin FTIR spektrumunda 1680 cm^{-1} de aldehit karboniline ait bant gözlenirken, ^1H NMR spektrumunda aldehit protonları 9.72 ppm'de gözlenmiştir.

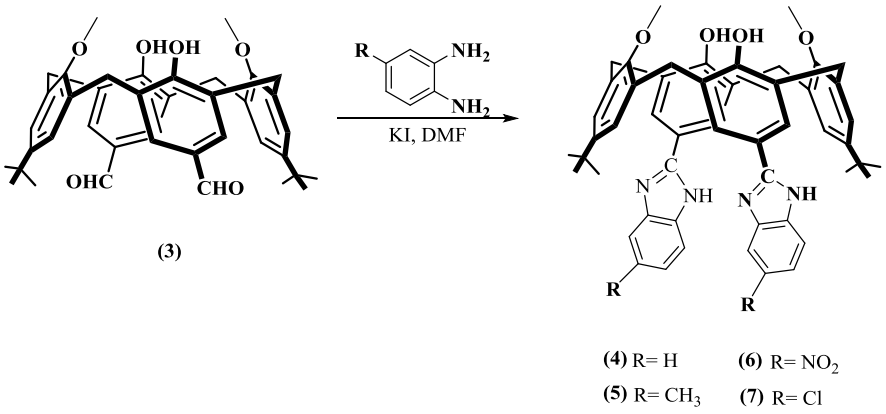


(1) **(2)**



(3)

Şema 1



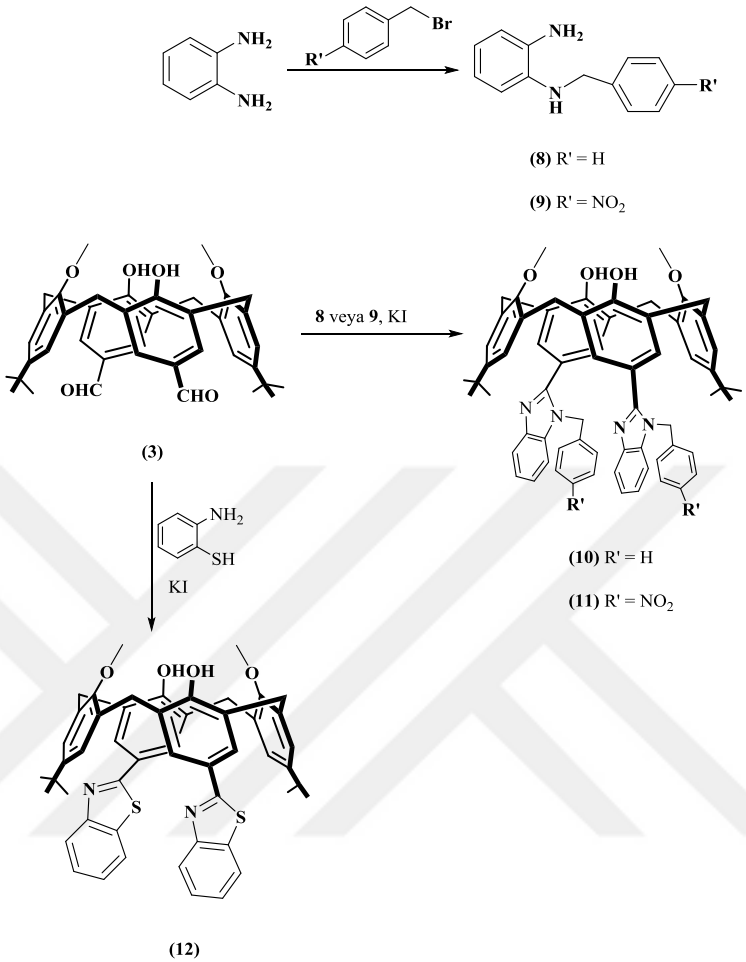
(3)

(4) R= H **(6)** R= NO_2

(5) R= CH_3 **(7)** R= Cl

Elde edilen dialdehit türevli kaliks[4]arenden farklı benzimidazol bileşiklerinin sentezlenmesi amacıyla bu bileşik sırasıyla *o*-fenilendiamin, 4-metil-*o*-fenilendiamin, 4-nitro-*o*-fenilendiamin ve 4-kloro-*o*-fenilendiamin ile ayrı ayrı DMF ortamında KI varlığında, önce evsel mikrodalga fırında daha sonra ise geri soğutucu altında karıştırılarak kaynatıldı. Reaksiyon İTK ile takip edildi. Saflaştırma işleminden sonra FTIR spektrumunda aldehit karboniline ait 1680 cm^{-1} deki pikin tamamen kaybolduğu ve benzimidazol grubuna ait piklerin (yaklaşık olarak 1660 ve 1620 cm^{-1}) oluştuğu gözlendi. Ayrıca ^{1}H NMR ile benzimidazol grubuna ait –NH protonları tespit edildi. Bileşik **4** için 12.54 ppm, Bileşik **5** için 12.8 ppm, Bileşik **6** için 13.3 ppm ve Bileşik **7** için 12.76 ppm'de –NH protonları rezonans olmuştur. Elde edilen bileşiklerin koni konformasyonunda oldukları da yine ^{1}H NMR ile tespit edilmiş ve $ArCH_2Ar$ protonlarına dair şu sonuçlar elde edilmiştir: Bileşik **4**, 3.57 ppm ve 4.24 ppm'de bir çift dublet, *J*= 13.1 Hz; bileşik **5**, 3.6 ppm ve 4.28 ppm'de bir çift dublet, *J*= 12.8 Hz; bileşik **6**, 3.6 ppm ve 4.26 ppm'de bir çift dublet, *J*= 13.1 Hz; bileşik **7**, 3.61 ppm ve 4.27 ppm'de bir çift dublet, *J*= 12.8 Hz. Ek olarak, sentezlenen bileşiklerin karakterizasyonları ^{13}C NMR, NOESY, HETCOR ve MALDI-TOF MS analizleri ile desteklenmiştir.

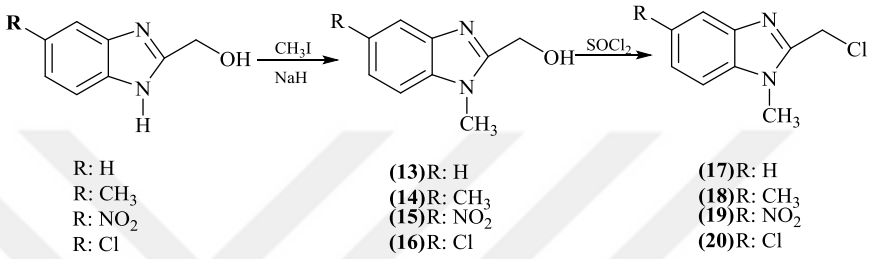
Şema 2



Tez çalışmasının ikinci şemasında farklı yapıda benzimidazol türevleri elde edebilmek amacıyla *o*-fenilendiamin bileşiği benzil bromür ve *p*-nitrobenzil bromür ile etkileştirilerek *N*-sübstitüe *o*-fenilendiamin molekülleri (8 ve 9) sentezlenmiş ve yapı analizleri FTIR ve ^{1}H NMR kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen bu bileşikler Şema 1'deki gibi dialdehit türevli kaliksarenle tepkimeye sokularak bileşik **10** ve **11** elde edilmiştir. Bileşiklerin oluştuğu FTIR analizinde aldehit grubunun pikinin kaybolup benzimidazol imin pikinin oluşması ve ^{1}H NMR spektrumlarından anlaşılmıştır. Bileşiklerin koni konformasyonuna sahip oldukları yine ^{1}H NMR analizinden belirlenmiştir. ArCH_2Ar protonları bileşik **10** için 3.61 ppm'de bir çift dublet (*J*= 13.5 Hz) ve 4.10-4.45 ppm'de multiplet, bileşik **11** için ise 3.51 ppm ve 4.58 ppm'de bir çift dublet (*J*= 13.2 Hz) olarak açığa çıkmıştır. Bu şemada benzimidazol bileşiklerinden farklı olarak kaliksarenin benzotiyazol bileşiği de sentezlenmiştir. **3** nolu bileşik ile 2-aminotiyofenolün KI varlığında sentez tipi mikrodalga cihazında 3 saat kaynatılması

sonucu bileşik **12** elde edildi. Yapı analizi FTIR ve ^{1}H NMR ile gerçekleştirildi. FTIR spektrumunda aldehit grubunun verdiği C=O piki kaybolurken, 1658 cm^{-1} de C=N bandı ortaya çıkmıştır. ^{1}H NMR spektrumunda $ArCH_2Ar$ protonları 3.57 ppm ve 4.36 ppm'de bir çift dublet (*J*= 13.3 Hz) olarak açığa çıkmışlardır. Bileşikler için ^{13}C NMR, NOESY, HETCOR ve MALDI-TOF MS analizleri gerçekleştirilerek yapılar aydınlatılmıştır.

Şema 3



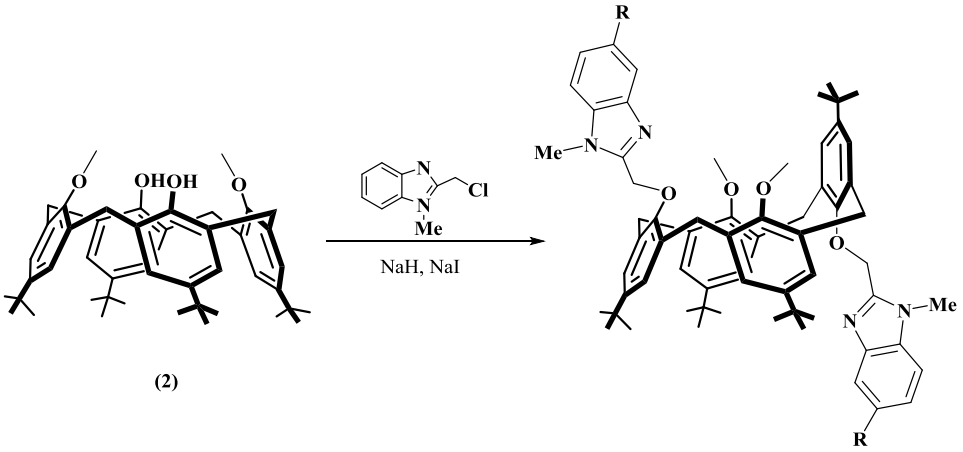
R: H
R: CH_3
R: NO_2
R: Cl

(13)R: H
(14)R: CH_3
(15)R: NO_2
(16)R: Cl

(17)R: H
(18)R: CH_3
(19)R: NO_2
(20)R: Cl

Kaliksarenin fenolik oksijenine bağlı benzimidazol türevlerini sentezlemek amacıyla, benzimidazol bileşikleri bir seri reaksiyonla sentezlendi. Öncelikle 1H-2-hidroksimetilbenzimidazol ve onun 5-pozisyonundan sübstütie türevleri (1H-2-hidroksimetil-5-metilbenzimidazol, 1H-2-hidroksimetil-5-nitrobenzimidazol ve 1H-2-hidroksimetil-5-klorobenzimidazol) ticari olarak temin edildi. Temin edilen benzimidazol türevlerinin metilleme reaksiyonu vasıtasıyla imidazol -NH uçlarına metil grupları bağlanarak bileşikler (13-16) (Şema 3). Bunun akabinde ise kaliksarenin fenolik oksijenine bağlayabilmek amacıyla alkolik uçları tiyonil klorür ile gerçekleştirilen klorlama reaksiyonuyla klora dönüştürüldü (17-20) (Şema 3). Sentezlenen tüm bileşiklerin yapıları FTIR ve ^{1}H NMR analizi ile gerçekleştirildi. ^{1}H NMR spektrumları Ekler bölümünde verilmiştir.

Şema 3-A

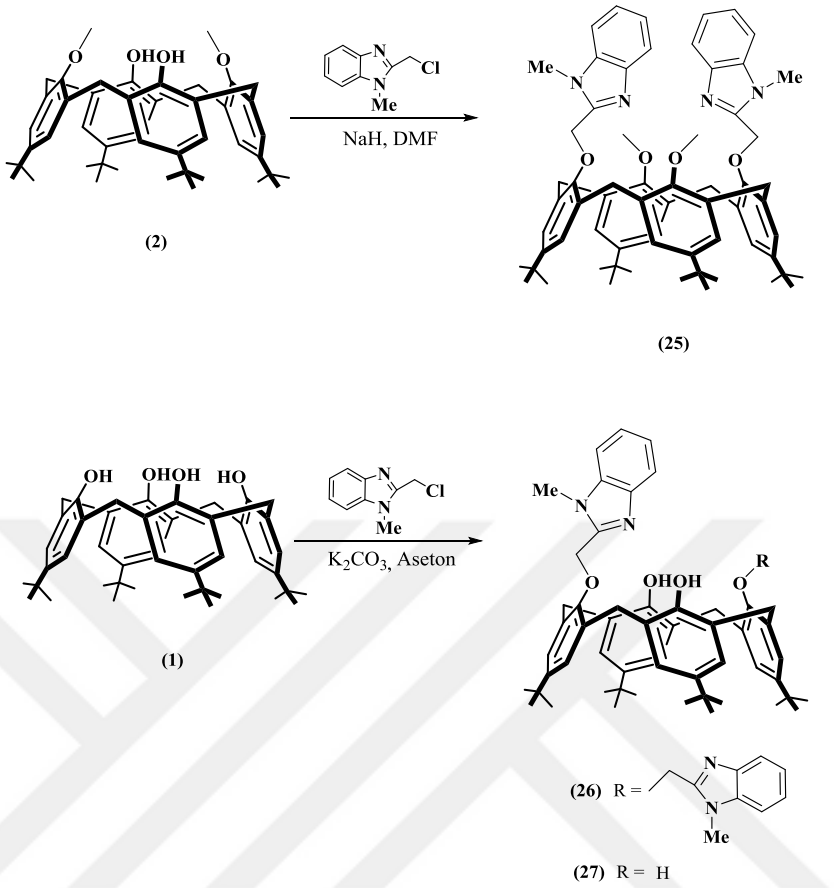


(2)

(21) R: H
(22) R: CH_3
(23) R: NO_2
(24) R: Cl

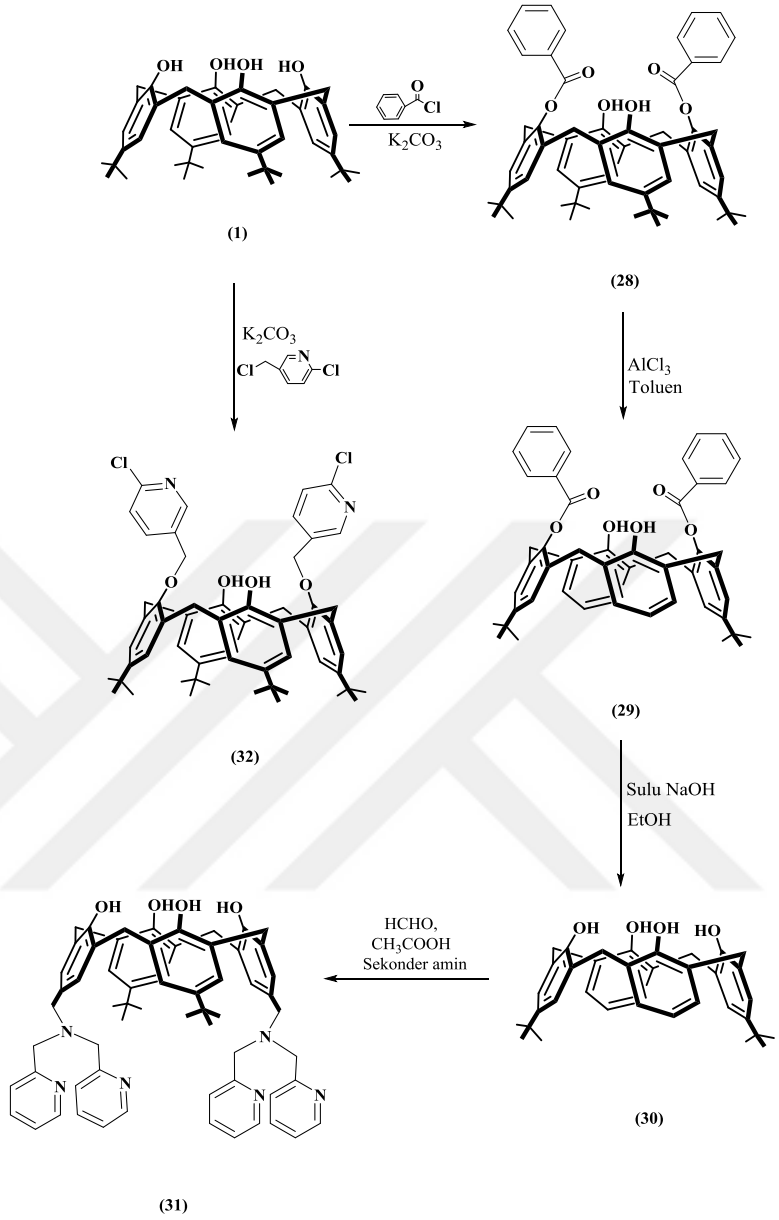
Sentezlenen benzimidazol bileşikleri (17-20), bileşik **2** ile NaH ve NaI'ün varlığında DMF içerisinde reaksiyona sokularak **21**-**24** nolu bileşikler elde edildi (Şema 3-A). Beklenen koni konformasyonun aksine kısmi koni konformasyonunda oluşan bileşiklerin analizi ^{1}H NMR ile gerçekleştirildi. Kısmi koni konformasyonuna özgü tersiyer bütil protonlarına ait triplet gibi gözüken üç adet singlet şeklindeki piklerin ve iki çift dublet bir singlet veya bir çift dublet bir singlet şeklinde pikler veren $ArCH_2Ar$ protonlarının gözlenmesi bu konformasyonun oluştuğunu gösteren yapısal kanıtlardır. **21** nolu bileşik için 0.45 ppm-1.51 ppm aralığında, **22** nolu bileşik için 0.55 ppm-1.49 ppm aralığında, **23** nolu bileşik için 0.38 ppm-1.48 ppm aralığında ve **24** nolu bileşik için ise 0.50 ppm-1.49 ppm aralığında üç adet singlet pik şeklinde tersiyer bütil gruplarına ait 36 adet hidrojen protonu gözlenmiştir. Tüm bileşiklerin $ArCH_2Ar$ protonları yaklaşık olarak 2.6 ppm ve 4.3 ppm aralığında $-NCH_3$ ve $-OCH_3$ protonlarıyla birlikte geniş bir aralığın içinde kalmışlardır. ^{13}C NMR sonucuyla bileşiklerin yapıları teyit edilmiştir. Dört bileşik için de kısmi koni konformasyonuna özgü 31 ppm ve 37 ppm'de $ArCH_2Ar$ karbonlarına ait pikler gözlenmiştir. NOESY, HETCOR ve MALDI-TOF MS analizleri gerçekleştirilerek bileşiklerin yapıları tamamıyla aydınlatılmıştır.

Şema 3-B



Şema 3'ün devamı olarak Şema 3-B alt şemasında bileşik **2**, **17** nolu bileşik olan benzimidazol türevi ile reaksiyona sokularak bileşik **25** elde edilmiştir. Ayrı bir reaksiyonda ise başlangıç bileşiği **1** yine, **17** nolu bileşik olan benzimidazol türevi ile tepkimeye sokularak **26** ve **27** nolu bileşikler elde edilmiştir. Bileşik **25** NaH ve NaI kullanılarak koni konformasyonunda sentezlenmiştir. FTIR ve ^{1}H NMR spektrumları bileşiğin oluştuğuna dair kanıtlar sunmuştur. FTIR spektrumunda 1618 cm^{-1} de benzimidazol imin grubunun bandı görülmüştür. ^{1}H NMR spektrumunda ise 7.13 ppm, 7.18 ppm ve 7.23 ppm'de singlet, ayrıca 7.74 ppm'de dublet (*J*= 7.2 Hz) şeklinde benzimidazol grubundaki aromatik protonlar gözlenmiştir. Bununla birlikte 3.27 ppm ve 4.22 ppm'de açığa çıkan bir çift dublet pik (*J*= 13.1 Hz) koni konformasyonunun oluştuğunu göstermiştir. Bileşik **1** ile gerçekleştirilen reaksiyon ise literatürdeki yol (Cante-Mota ve ark., 2013) izlenerek yapılmıştır. Mono- ve di- şeklinde iki ürün (26 ve 27 nolu) elde edilmiştir. Her iki ürün de FTIR ve ^{1}H NMR spektrumları kullanılarak analiz edilmiştir.

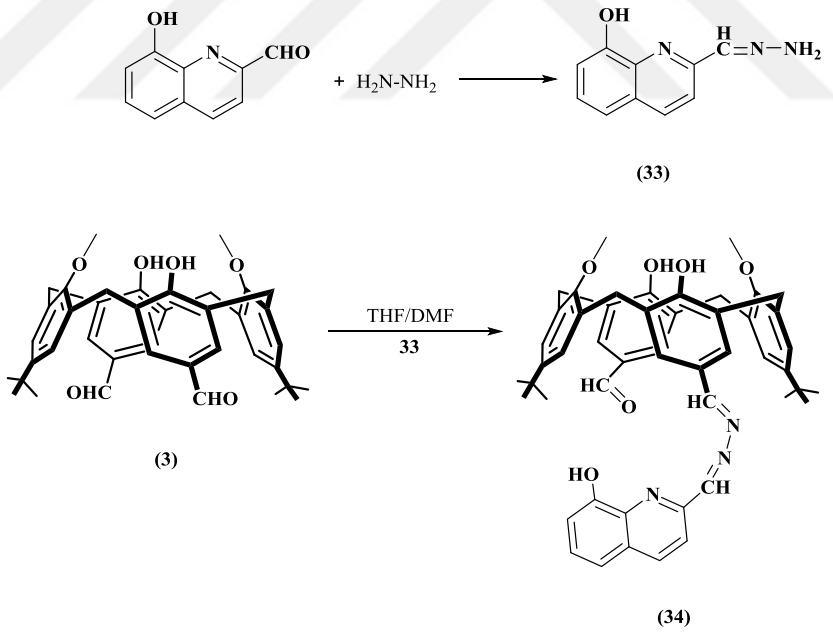
Şema 4



Şema 4'de farklı heterosiklik yapıda kaliks[4]aren sentezlemek için izlenen reaksiyon yolu gösterilmiştir. Başlangıç bileşiği olan *p-ter*-bütilkaliks[4]aren (1) literatürdeki yol izlenerek öncelikle dibenzoil türevine dönüştürülmüş (28), bunun akabinde $AlCl_3$ kullanılarak dealkilleme reaksiyonu (29) gerçekleştirilmiştir. Son olarak bazik ortamdaki hidroliz reaksiyonu yapılarak di-*ter*-bütil grubu içeren kaliks[4]aren bileşiği (30) elde edilerek Mannich reaksiyonu için hazır hale getirilmiştir. Sekonder amin olarak bis-(2-piridilmetil)amin kullanılarak Mannich reaksiyonunun elzem reaktifleri formaldehit ve asetik asit ile gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda bileşik **31** %40 verimle elde edilmiştir. Bu bileşiğin ^1H NMR spektrumunda, 7.05 ppm, 7.29-7.71

ppm aralığında ve 8.50 ppm'de piridil gruplarına ait aromatik protonların oluşması piridil gruplarının bağlandığını, 3.36 ppm'de broud singlet pikin içinde kalan ve 4.23 ppm'de dublet (*J*= 13.1 Hz) bir pikin gözlenmesi de bileşiğin koni konformasyonunda oluştuğunu göstermiştir. Diğer taraftan piridil gruplu farklı bir bileşik sentezlemek amacıyla bileşik **1**, 2-kloro-5-(klorometil)piridin ile 1:2.2 eşdeğer oranında, K_2CO_3'ün baz, KI'nın katalizör olarak kullanıldığı reaksiyon ortamında bileşik **32** elde edilmiştir. Bu bileşiğin kaydedilen ^{1}H NMR spektrumunda 4.84 ppm'de -OCH_2 gruplarına ait singlet pik ve koni konformasyonunun oluştuğunu gösteren 3.09 ppm ve 3.95 ppm'de $ArCH_2Ar$ protonlarına ait dublet (*J*= 13.0 Hz) pikler gözlenmiştir. Ayrıca, piridil gruplarına ait aromatik hidrojenlerin 7.22 ppm ve 7.86 ppm'de dublet (*J*= 8.0 Hz) iki adet pik ve 8.57 ppm'de singlet bir pik olarak gözlenmesi bileşiğin sentezlendiğini göstermiştir. Her iki bileşiğin ^{13}C NMR, NOESY, HETCOR ve MALDI-TOF MS analizleri gerçekleştirilerek yapıları tamamıyla aydınlatılmıştır.

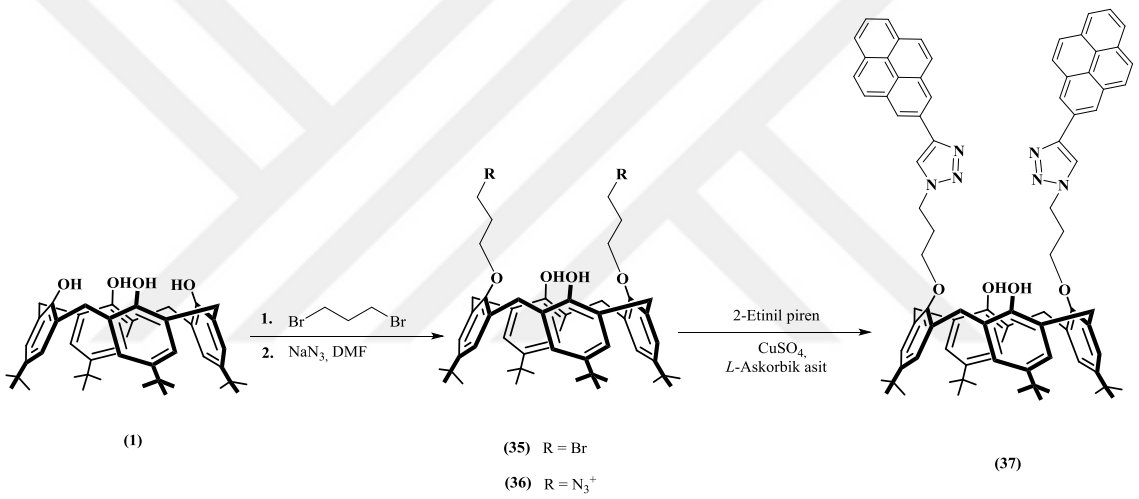
Şema 5



Kinolin bileşikleri ve yapılarında kinolin grupları ihtiva eden moleküller tıpta ve eczacılıkta tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Bu amaçla, tez çalışması içinde kinolin türevli kaliksaren molekülü sentezleyebilmek için ilk olarak hidrazinle 8-hidroksikinolin karboksaldehit bileşiği reaksiyona sokularak hidrazon türevine (33) dönüştürülmüştür (Şema 5). Daha sonra elde edilen hidrazon molekülü ile bileşik **3**

reaksiyona sokularak Schiff bazı yapısında bileşik **34** %60 verimle elde edilmiştir. Mono yapısında oluşan bileşiğin ilk yapı karakterizasyonu FTIR ve ^{1}H NMR ile yapılmıştır. FTIR spektrumunda 1680 cm^{-1} de aldehit karbonil piki ve 1656 cm^{-1} ve 1658 cm^{-1} de Schiff bazı grubuna ait imin pikleri görülmüştür. ^{1}H NMR spektrumunda 9.77 ppm'de aldehit protonu, 8.69-8.83 ppm aralığında kinolin grubundaki fenolik hidroksil protonu, 8.44-8.64 ppm aralığında multiplet halde kaliksaren halkasına bağlı imin protonu ve 7.36-7.46 ppm aralığında kinolin halkasına bağlı diğer Schiff bazı protonu gözlenmiştir. Bu bileşiğin ^{13}C NMR sonucunda, 191.1 ppm'de aldehit grubunun karbonu, 163.9 ppm ve 161.9 ppm'de ise Schiff bazı imin gruplarının karbonları rezonans olmuştur.

Şema 6



(1)

(35) R = Br

(36) R = N_3^+

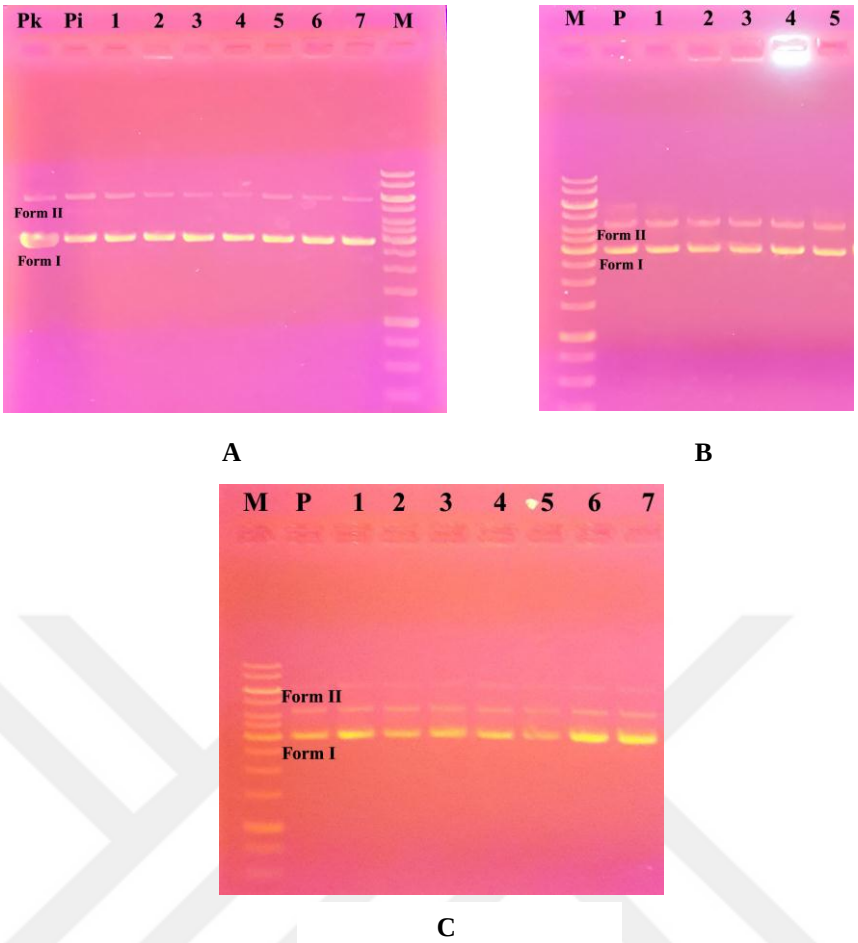
(37)

Tez içeriğinde yer alan sentez şemalarının sonuncusunda, farklı bir heterosiklik yapıda olup farmakolojik aktiviteye sahip olabilecek kaliksaren türevinin sentez akışı görülmektedir (Şema 6). Triazol yapısında bileşiğin sentezi için öncelikle dibrom yapısında bileşik **35**, 1,3-dibromopropan ile K_2CO_3 kullanılarak sentezlendi. Daha sonra literatürdeki yol izlenerek, 1:2.5 eşdeğer oranında sodyum azit kullanılarak DMF içinde diazit türevli bileşik **36**'nın oluştuğu FTIR spektrumunda açığa çıkan 2095 cm^{-1} deki azit grubuna ait (N≡N) banttan anlaşıldı. Bileşik **36**, $CuSO_4$ ve *L*-Askorbik asit varlığında 2-etinil piren ile reaksiyona sokularak triazol yapısında bileşik **37** sentezlendi. Triazol bileşiğinin oluştuğu FTIR spektrumunda azit grubuna ait 2095 cm^{-1}'deki bandın kaybolması ve ^{1}H NMR spektrumunda triazol halkasındaki hidrojenlere ait 7.60 ppm'de singlet pikin görülmesi ile anlaşılmıştır. Ayrıca ^{1}H NMR spektrumunda 5.01 ppm'de triplet (*J*= 7.0 Hz) NCH_2 grubuna ait dört adet protonun

(azit bileşiğinde δ 4.03 ppm'de gözlenir) varlığı piren grubunun bağlandığını, 4.33 ppm ve 3.44 ppm'de bir çift dublet (*J*= 13.2 Hz) dört adet protonun bulunması da yapının koni konformasyonunda oluştuğunu göstermiştir. Bu bileşiğin ^{13}C NMR spektrumunda piren grubuna ait aromatik karbon atomları 124 ppm, 125 ppm, 127 ppm ve 128 ppm'lerde gözlenmiştir. Ayrıca, 130 ppm ve 140 ppm civarında triazol halkasındaki -C=CH karbonuna ait piklerin gözlenmesi bileşiğin oluştuğunu doğrulamıştır. Karakterizasyon analizleri NOESY, HETCOR ve MALDI-TOF MS ile desteklenmiştir.

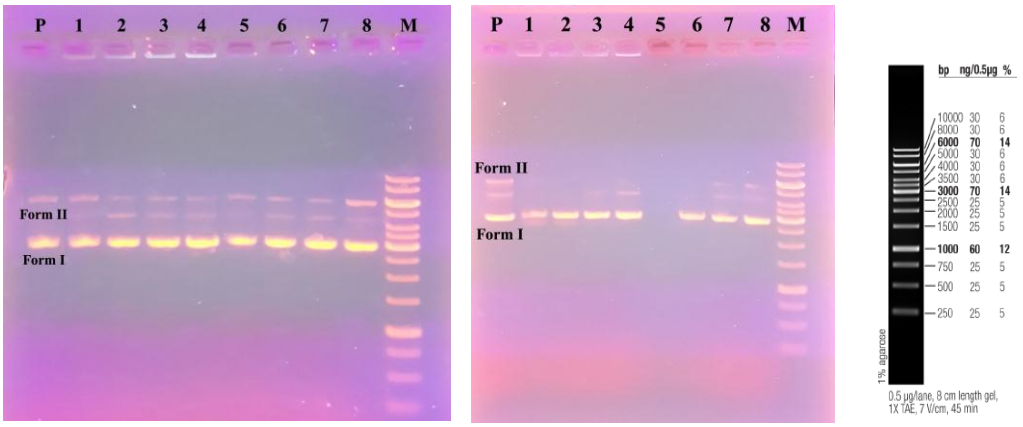
4.2. pBR322 Plazmit DNA Çalışmaları

Plazmit DNA'lar, bakteri hücresinin içinde bulunan ve bakterinin kromozom DNA'sından ayrı olarak kendisini kopyalayabilen koruyucu DNA parçalarıdır. Bakteriler herhangi bir dış etkene (çeşitli kimyasallar) maruz kaldıklarında bu DNA'larını kullanarak kendilerini koruma altına alırlar. Bazı plazmit türleri, genlerinde birkaç tane antibiyotik direnç geni taşıyabilmektedir. Dolayısıyla bu genlerden kodlanan proteinler (enzimler), kullanılan antibiyotiği inaktive edebilmekte veya bunların hücreye girişini engelleyebilmektedir. Bu sebeple, plazmit DNA'lara hasar verebilen veya onları parçalayabilen moleküller bakterilerin çoğalmasını engelleyerek ölmelerine sebep olmaktadır. Tüm bu sebeplerden dolayı, bu tez çalışmasında pBR322 plazmit DNA kullanılarak, sentezlenen moleküllerin bu DNA üzerindeki etkinlikleri araştırılmıştır. Bunun için, ilk olarak düşük bir konsantrasyonda (625 μM) bileşiklerin çözeltileri hazırlanmış ve pBR322 plazmit DNA ile etkileşimleri incelenmiştir. Şekil 4.1'de yer alan elektroforez görüntülerine göre, bu konsantrasyonda bileşiklerin hemen hemen hepsi DNA üzerinde pek bir etkinlik göstermemiştir.



Şekil 4.1. Bileşiklerin (625 µM) pBR322 plazmit DNA ile etkileşim görüntüleri (A) P_k:İnkübe edilmemiş/stok plazmit, P_i:İnkübe edilmiş/sadece plazmit, 1:DMF kontrol (%12.5), 2: Bileşik **4**, 3: Bileşik **7**, 4: Bileşik **5**, 5: Bileşik **6**, 6: Bileşik **11**, 7: Bileşik **10**, M: DNA marker; (B) P: Sadece plazmit, M: DNA marker, 1:DMF kontrol (%12.5), 2: Bileşik **31**, 3: Bileşik **32**, 4: Bileşik **37**, 5: Bileşik **34**; (C) P: İnkübe edilmiş plazmit, M: DNA marker, 1: Bileşik **21**, 2: Bileşik **23**, 3: Bileşik **24**, 4: Bileşik **22**, 5: Bileşik **25**, 6: Bileşik **26**, 7: Bileşik **27**

625 µM'lık konsantrasyonda hiçbir bileşikte etki görülmediği için daha yüksek konsantrasyonlara geçiş yapılmış ve deneyler tekrar dizayn edilmiştir. 1250 µM' dan 10,000 µM'a kadar artan konsantrasyonlarda yapılan deney sonuçlarından elde edilen görüntüler kaydedilmiştir.

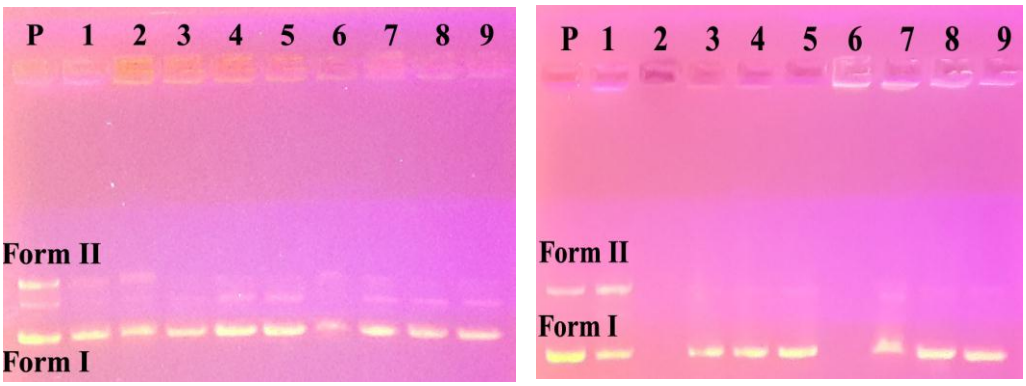


A **B** **C**

Şekil 4.2. Bileşiklerin pBR322 plazmit DNA ile etkileşmiş görüntüleri P:Sadece plazmit DNA, Marker: DNA belirteci (A) Bileşik **4**, 1→4: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; 5→8: DMF %100, %50, %25 ve %12.5; (B) Bileşik **7**, 1→4: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM, Bileşik **5**, 5→8: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; (C) Standart DNA marker

Farklı konsantrasyonlardaki bileşik örneklerinin içeriğinde yer alan DMF'nin pBR322 plazmit DNA'ya etkisinin olup olmadığını anlamak için, aynı oranlarda alınarak kontrol amacıyla plazmit DNA ile inkübasyonu aynı şartlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre çözücünün plazmit üstündeki etkisi yok denecek kadar azdır (Şekil 4.2A)

Şekil 4.2A'da görülen elektroforegrama göre, **4** nolu bileşik, çalışılan tüm konsantrasyonlarda plazmit DNA'ya etki etmemiştir. Şekil 4.2B'de yer alan görüntüde, **7** nolu bileşik ilk üç konsantrasyonda plazmit DNA'nın kendisinde var olan Form II (açık halkasal form) yapısını tamamen ortadan kaldırmıştır. Bununla birlikte Form I (süper coil/yumak yapı) yapısı varlığını korumuştur. Aynı görüntüde, jelin sağ tarafında yer alan **5** nolu bileşikte ise en yüksek konsantrasyon olan 10,000 µM'da plazmit DNA'nın tüm bantları (Form I ve Form II) ortadan kalkarken, daha seyreltik konsantrasyonlarda Form I yapısı oluşmuş, Form II yapısı ise çok silik olarak yani düşük yoğunlukta gözlenmiştir.



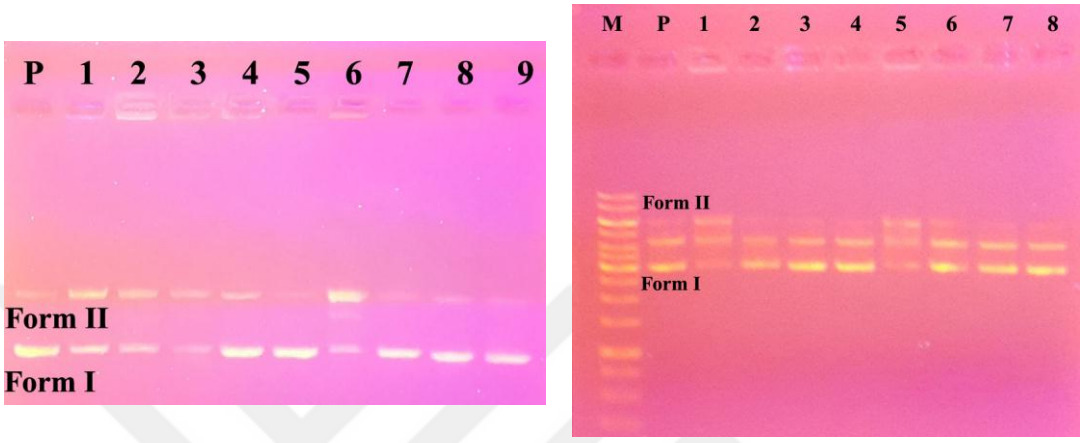
A **B**

Şekil 4.3. Bileşik-pBR322 plazmit DNA'sının etkileştiği elektroforez görüntüsü (A) P: Plazmit DNA, 1: DMF kontrol (%100), Bileşik **6**, 2→5: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; Bileşik **11**, 6→9: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; (B) P: Plazmit DNA, 1: DMF kontrol (%100), Bileşik **10**, 2→5: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; Bileşik **31**, 6→9: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM

Şekil 4.3A görüntüsünde sol tarafta **6** nolu bileşiğin pBR322 plazmit DNA'sıyla etkileşim görüntüsü yer almaktadır. Buna göre, bileşiğin tüm konsantrasyonlarında Form I yapısının (süper coil/yumak yapı) molekül ağırlığının arttığını gösteren daha yukarıda bir bant gözlenmiştir. Kontrol amacıyla kullanılan %100 DMF örneğinde de benzer bir durum gözlenmiştir ancak daha aşağıda, Form I'e daha yakın bir bant oluşmuştur. Buradan, **6** nolu bileşiğin Form I yapısının mobilitesini ve yoğunluğunu azalttığını söyleyebiliriz. Şekil 4.3A görüntüsünün sağ tarafında **11** nolu bileşiğin pBR322 plazmit DNA'yla etkileşim sonucu gözlenmektedir. Buna göre, en yüksek konsantrasyonda Form I yapısı yok denecek kadar az kalmış, Form II (açık halkasal form) ise tamamen ortadan kalkmıştır. Daha düşük konsantrasyonlarda ise Form I bandı daha yukarıda da olsa gözlenmiştir.

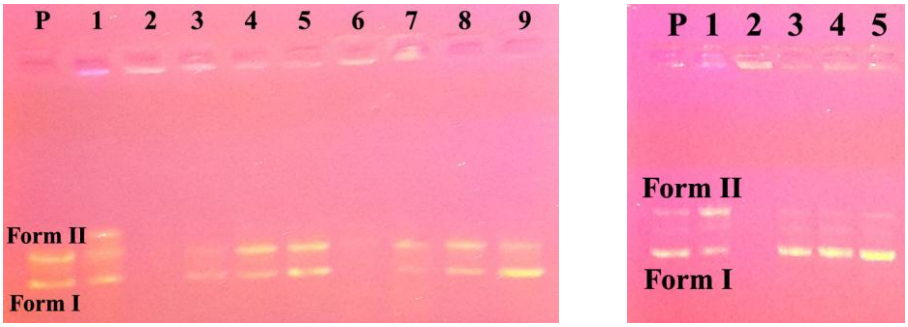
Şekil 4.3B'de yer alan elektroforegramın sol tarafında, **10** nolu bileşiğin plazmit DNA'yla etkileşim görüntüsü yer almaktadır. Buna göre, en yüksek konsantrasyonda (10,000 µM) plazmit DNA'nın tüm bantları (Form I ve Form II) yok olmuştur. Bileşik bu konsantrasyonda, plazmit DNA üzerinde cleavage yani parçalama/koparma etkisi göstermiştir (Özkan ve ark., 2015). Daha düşük konsantrasyonlarda Form I yapısı gözlenmiştir. Buna karşılık Form II yapısı ise gözlenmemiştir. Aynı şeklin sağ tarafında ise **31** nolu bileşiğin plazmit DNA ile etkileşim görüntüsü görülmektedir. Burada en yüksek konsantrasyonda plazmit DNA'ya ait bantlar tamamen ortadan kalkmıştır. Bu sonuçtan yola çıkılarak bileşiğin plazmit DNA'yı gözle tespit edilemeyecek kadar küçük parçalara böldüğü söylenebilir. **10** nolu bileşikle gerçekleşen aynı etki burada da

söz konusudur. 5000 µM konsantrasyonda Form I yapısı daha yukarıda ve daha düşük yoğunlukta gözlenmiştir. Daha düşük konsantrasyonlarda (2500 µM ve 1250 µM) plazmit DNA'nın Form I yapısının oluştuğu görülürken Form II yapısı ise gözlenmemiştir. Burada kontrol amaçlı olarak çözücü yine denenmiş ve DNA'ya etkisinin olmadığı ortaya çıkmıştır (Şekil 4.3A).



Şekil 4.4. Bileşik-pBR322 plazmit DNA'sının etkileştiği elektroforez görüntüsü (A) P: Plazmit DNA, 1: DMF kontrol, Bileşik **21**, 2→5: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; Bileşik **23**, 6→9: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; (B) P: Plazmit DNA, Bileşik **24**, 1→4: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; Bileşik **22,** 5→8:, 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM

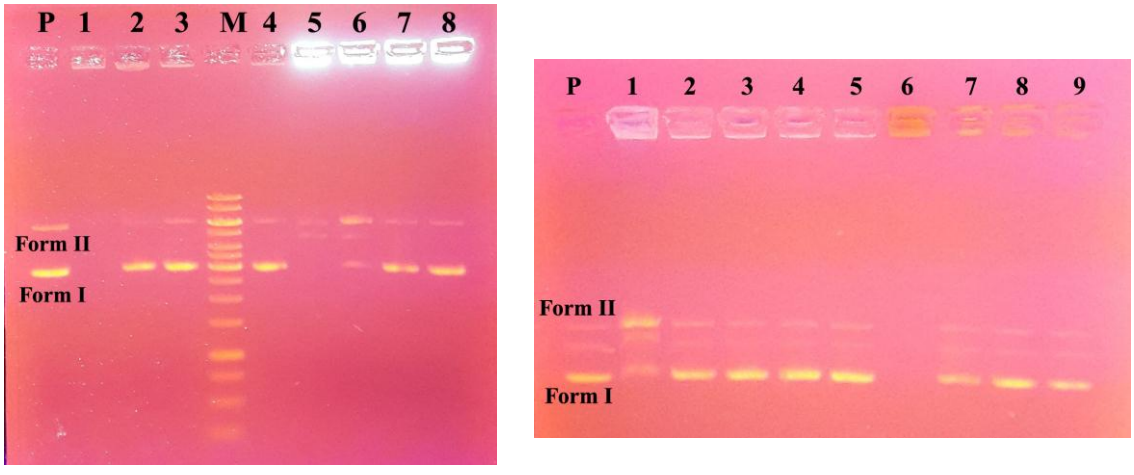
Şekil 4.4A'da yer alan elektroforez görüntüsünün sol tarafında **21** nolu bileşik ile plazmit DNA'nın etkileşimi görülmektedir. Bileşiğin tüm konsantrasyonlarında kontrol olarak kullanılan DMF ile benzer bir etki gözlenmiştir. Şekil 4.4A'nın sağ tarafında yer alan **23** nolu bileşik ile pBR322 plazmit DNA'nın etkileşim görüntüsüne bakıldığında, en yüksek konsantrasyonda Form II yapısının yoğunluğunun oldukça arttığı buna karşılık Form I yapısının ise neredeyse kaybolduğu görülmektedir. Daha düşük konsantrasyonlarda ise kontrole yakın bantlar gözlenmiştir. Şekil 4.4B görüntüsünün sol tarafında **24** nolu bileşik, sağ tarafında ise **22** nolu bileşik ile plazmit DNA'nın etkileşim elektroforegramları yer almaktadır. Her iki bileşiğin de 10,000 µM'lık konsantrasyonunda DNA'nın Form II yapısının yoğunluğu artmıştır. Daha düşük konsantrasyonlarda kontrole yakın bir yapıya dönüşmüşlerdir.



A **B**

Şekil 4.5. Bileşik-pBR322 plazmit DNA'sının etkileştiği elektroforez görüntüsü P: Plazmit DNA, 1: DMF kontrol (A) Bileşik **25**, 2→5: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; Bileşik **26**, 6→9: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; (B) Bileşik **27**, 2→5: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM

Şekil 4.5A'da yer alan elektroforez görüntüsünün sol tarafında **25** nolu bileşik ile plazmit DNA'nın etkileşimi görülmektedir. En yüksek konsantrasyonda (10,000 µM) plazmit DNA'nın tüm bantları yok olmuştur. 5000 µM konsantrasyonda ise Form I ve Form II yapısı çok düşük yoğunlukta gözlenmiştir. Daha düşük konsantrasyonlarda ise kontrole benzer bir görüntü elde edilmiştir. Şekil 4.5A'nın sağ tarafında **26** nolu bileşik ile pBR322 plazmit DNA'nın etkileşim görüntüsüne bakılarak, bileşik **25** ile çok benzeyen bir sonuç olduğu söylenebilir. Şekil 4.5B görüntüsünde **27** nolu bileşik ile plazmit DNA'nın etkileşim elektroforegramı yer almaktadır. Bileşiğin 10,000 µM konsantrasyonda plazmit DNA'nın tüm bantları yok olmuştur. Daha düşük konsantrasyonlarda gittikçe kontrole yakın bir yapıya dönüşmüştür.



A **B**

Şekil 4.6. Bileşik-pBR322 plazmit DNA'sının etkileştiği elektroforez görüntüleri (A) P: Plazmit DNA, Bileşik **32**, 1→4: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; Bileşik **37**, 5→8: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; (B) P: Plazmit DNA, Bileşik **12**, 1→5: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM, 625 µM ; Bileşik **34**, 6→9: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM

Şekil 4.6A'da yer alan elektroforegramın sol tarafında, **32** nolu bileşiğin plazmit DNA'yla etkileşim görüntüsü görülmektedir. Buna göre, en yüksek konsantrasyonda (10,000 μM) plazmit DNA'nın tüm bantları ortadan kalkmıştır. Daha düşük konsantrasyonlarda ise Form I yapısının mobilitesinin azaldığı gözlenmiştir. Bununla birlikte Form II yapısı ise 2500 μM ve 1250 μM'da ortaya çıkmıştır. Aynı şeklin sağ tarafında ise **37** nolu bileşiğin plazmit DNA ile etkileşim görüntüsü görülmektedir. 10,000 μM'da plazmit DNA'nın Form I yapısı tamamen yok olmuş, bununla birlikte Form II yapısı silik olarak gözlenmiş ve hemen altında Form III (lineer form) yapısı oluşmuştur. 5000 μM konsantrasyonda Form I yapısı düşük yoğunlukta ve Form II yapısı daha yüksek yoğunlukta gözlenmiştir. Ayrıca Form III (lineer yapı) yapı yine gözlenmiştir. Daha düşük konsantrasyonlarda (2500 μM ve 1250 μM) plazmit DNA'nın kendine özgü bantları oluşmuştur.

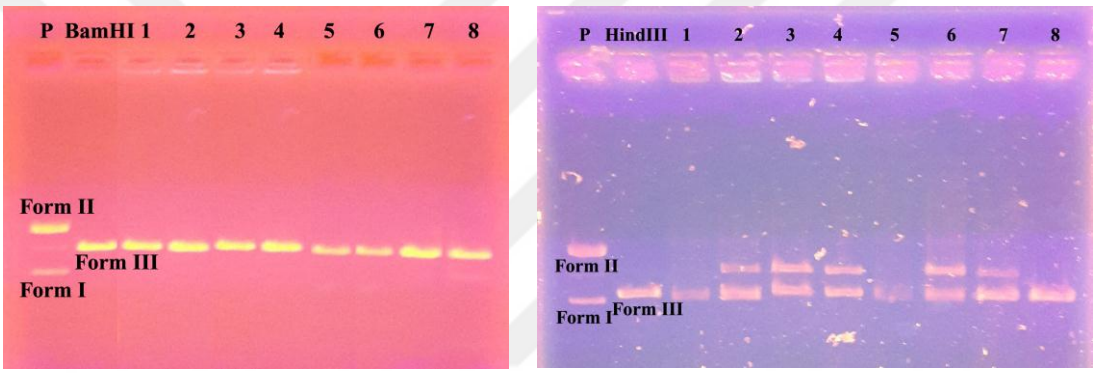
Şekil 4.6B'de yer alan elektroforez görüntüsünün sol tarafında **12** nolu bileşik ile plazmit DNA'nın etkileşim sonucu gözlenmektedir. En yüksek konsantrasyonda plazmit DNA'nın süper coil olan Form I yapısının hem yoğunluğu hem de mobilitesi azalmıştır. Buna karşılık, açık halkasal yapı olan Form II yapısının yoğunluğu artış göstermiştir. Bileşik plazmit DNA'nın açık halkasal yapısını artırmıştır. Daha düşük konsantrasyonlarda bantlar kontrol plazmitindeki gibi ortaya çıkmıştır. Şekil 4.6B'nin sağ tarafında yer alan **34** nolu bileşiğin plazmit DNA ile etkileşim görüntüsünde, en yüksek konsantrasyonda tüm bantların kaybolduğu gözlenmiştir. Daha düşük konsantrasyonlarda kontrol olarak kullanılan plazmitin görüntüsüne çok yakın görüntüler gözlenmiştir.

Çizelge 4.1. pBR322 plazmit DNA üzerinde etkinlik gösteren bileşikler

Bileşik No	Konsantrasyon	pBR322 plazmit DNA üzerindeki etkinlik
5	10,000 μM	Tüm bantları parçalama (DNA cleavage)
10	10,000 μM	Tüm bantları parçalama (DNA cleavage)
25	10,000 μM	Tüm bantları parçalama (DNA cleavage)
26	10,000 μM	Tüm bantları parçalama (DNA cleavage)
27	10,000 μM	Tüm bantları parçalama (DNA cleavage)
31	10,000 μM	Tüm bantları parçalama (DNA cleavage)
32	10,000 μM	Tüm bantları parçalama (DNA cleavage)
34	10,000 μM	Tüm bantları parçalama (DNA cleavage)
37	10,000 μM	Tüm bantları parçalama (DNA cleavage)

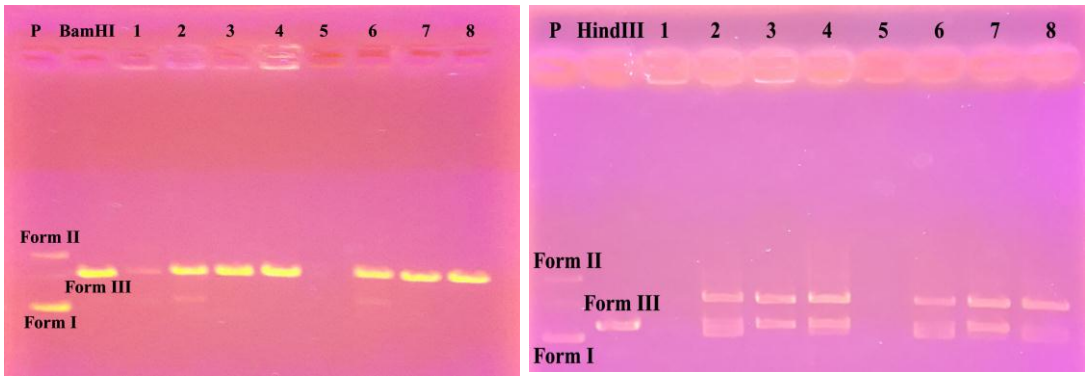
Elde edilen sonuçlara göre plazmit DNA üzerinde en etkili olan bileşiklerin listesi Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Sentezlenen heterosiklik yapıdaki *p-ter*-bütilkaliks[4]aren türevlerinin plazmit DNA üzerindeki baz çiftlerinden hangisine veya hangilerine ilgi gösterdiğini belirlemek adına, bu tez çalışmasında BamHI ve HindIII restriksiyon enzimleri kullanılmıştır. Bu enzimler kullanılarak bileşik-pBR322 plazmit DNA eklentilerinin restriksiyon endonükleaz analizleri gerçekleştirilmiştir. BamHI ve HindIII'ün DNA'yı kesme şifreleri sırasıyla şu şekildedir: 5'-G/GATCC-3' ve 5'-A/AGCTT-3'. Kesim işleminin sonucunda Form I ve Form II DNA yapıları, lineer yapıdaki Form III DNA'ya dönüşmektedir.



Şekil 4.7. Bileşik-pBR322 plazmit DNA karışımının BamHI (A) ve HindIII (B) enzimleriyle etkileştirildikten sonra elde edilen elektroforez görüntüleri P: Plazmit DNA, (A) 1→4: DMF %100, %50, %25, %12.5; Bileşik **4**, 5→8: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; (B) 1→4: DMF %100, %50; %25, %12.5; Bileşik **4**, 5→8: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM

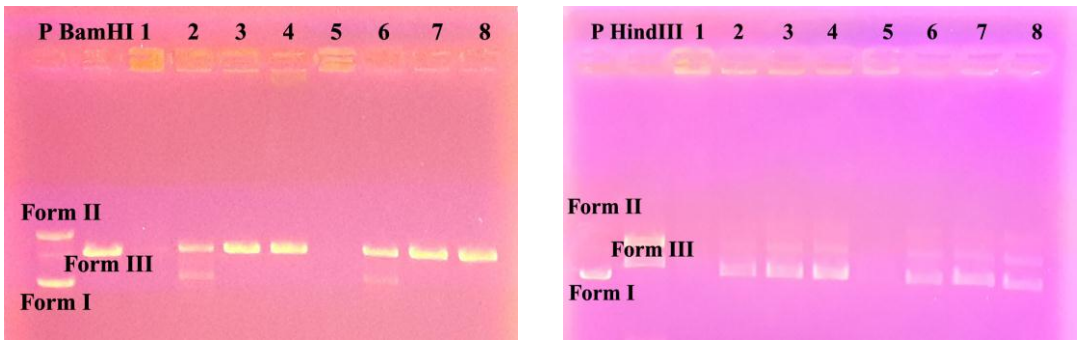
Şekil 4.7A görüntüsünde BamHI enzimiyle yapılan deney sonuçları görülmektedir. Şeklin sağ tarafında **4** nolu bileşiğin tüm konsantrasyonlarda BamHI enziminin kesim yaptığı görülmüştür. Aynı şeklin sol tarafında kontrol olarak yapılan çözücü örneklerinin oluşturduğu elektroforegramlar gözlenmektedir. Buna göre en yüksek DMF oranlarında enzimin kesim yaptığı görülmüştür. Şekil 4.7B görüntüsünde ise HindIII kesiminin jel görüntüsü yer almaktadır. Şeklin sağ tarafında **4** nolu bileşiğin tüm konsantrasyonlarında enzim kesim yapmıştır. Sol tarafta, çözücünün kullanıldığı örneklerde de enzimin kesim yaptığı gözlenmiştir.



A **B**

Şekil 4.8. Bileşik-pBR322 plazmit DNA karışımının BamHI (A) ve HindIII (B) enzimleriyle etkileştirildikten sonra elde edilen elektroforez görüntüleri P: Plazmit DNA, Bileşik **7**, 1→4: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; Bileşik **5**, 5→8: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM

Şekil 4.8A görüntüsünün sol tarafında **7** nolu bileşiğin ilk yüksek konsantrasyonunda plazmit DNA'nın neredeyse gözükmediği ve lineer Form III yapısının çok az oluştuğu, daha düşük konsantrasyonlarda ise BamHI enziminin kesim yaptığı görülmüştür. Aynı şeklin sağ tarafında **5** nolu bileşiğin ilk yüksek konsantrasyonunda plazmit DNA'nın gözükmediği, daha düşük konsantrasyonlarda ise BamHI enziminin kesim yaptığı görülmüştür. Şekil 4.7B görüntüsünde ise HindIII kesiminin jel görüntüsü yer almaktadır. Şekle bakıldığında, hem **7** nolu hem de **5** nolu bileşiğin en yüksek konsantrasyonlarında plazmit DNA'nın olmadığı, bileşiklerin daha düşük konsantrasyonlarında ise enzimin kesim yaptığı görülmektedir.

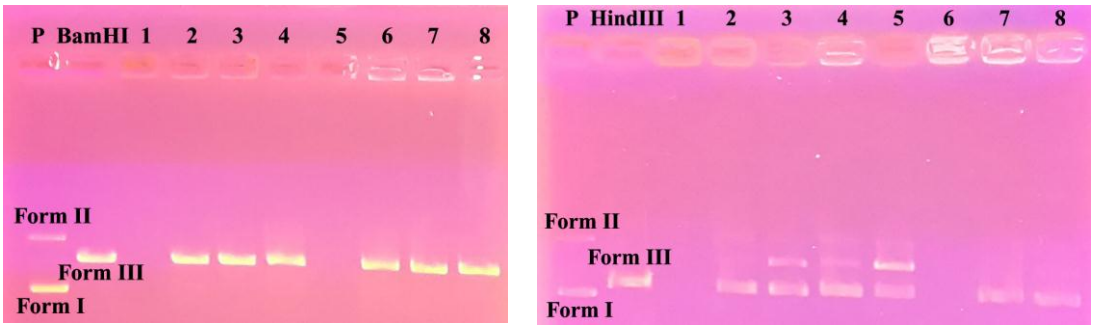


A **B**

Şekil 4.9. Bileşik-pBR322 plazmit DNA karışımının BamHI (A) ve HindIII (B) enzimleriyle etkileştirildikten sonra elde edilen elektroforez görüntüleri P: Plazmit DNA, Bileşik **6**, 1→4: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; Bileşik **11**, 5→8: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM

Şekil 4.9A görüntüsünde bileşik **6** ve bileşik **11**'in her ikisinde de ilk yüksek konsantrasyonda plazmit DNA'nın gözükmediği, daha düşük konsantrasyonlarda ise BamHI enziminin kesim yaptığı görülmüştür. Aynı şeklin B görüntüsünde yer alan

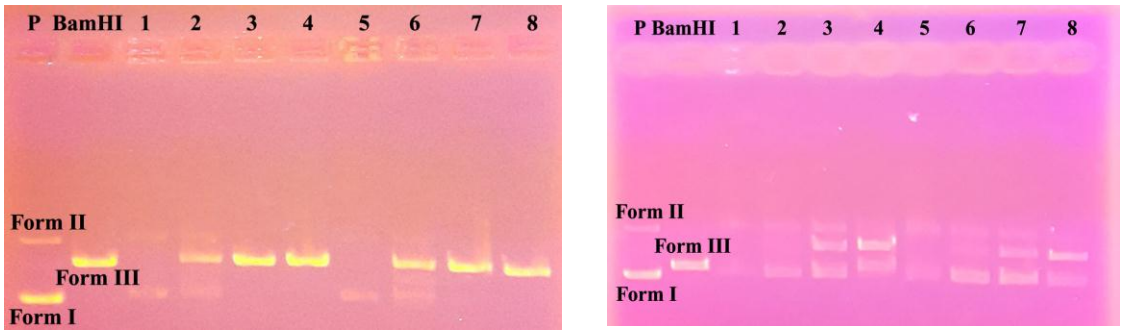
HindIII enzimi kesim görüntüsünde ise, hem **6** nolu hem de **11** nolu bileşiğin en yüksek konsantrasyonlarında plazmit DNA'nın tüm bantlarının olmadığı görülürken, bileşiklerin daha düşük konsantrasyonlarında enzimin kısmen de olsa kesim yaptığı görülmüştür.



A **B**

Şekil 4.10. Bileşik-pBR322 plazmit DNA karışımının BamHI (A) ve HindIII (B) enzimleriyle etkileştirildikten sonra elde edilen elektroforez görüntüleri P: Plazmit DNA, Bileşik **10**, 1→4: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; Bileşik **31**, 5→8: 5000 µM, 10,000 µM, 2500 µM, 1250 µM

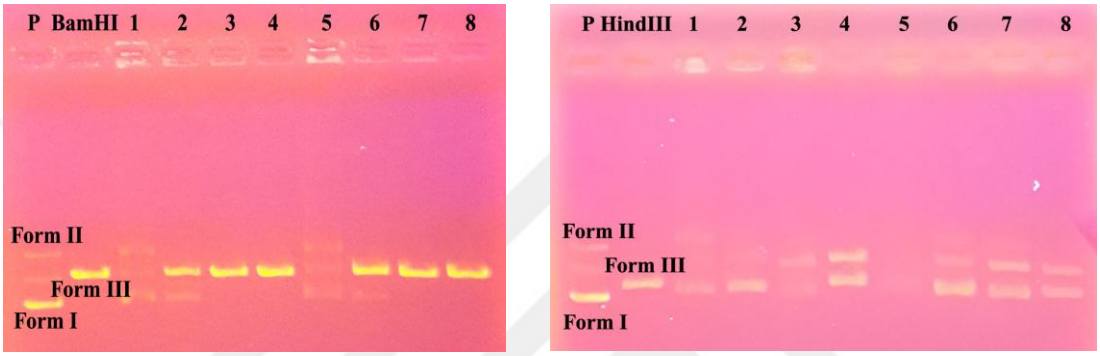
Şekil 4.10A görüntüsünde bileşik **10** ve bileşik **31**'in BamHI enzimi ile yapılmış deney sonucu yer almaktadır. Her iki bileşiğin de ilk yüksek konsantrasyonunda plazmit DNA'nın kendine özgü bantlarının olmadığı, daha düşük konsantrasyonlarda ise BamHI enziminin kesim yaptığı görülmüştür. Aynı şeklin B görüntüsünde yer alan HindIII enzimi kesim görüntüsünde de aynı şekilde, hem **10** nolu hem de **31** nolu bileşiğin en yüksek konsantrasyonlarında plazmit DNA'nın bantlarının olmadığı ve bileşiklerin daha düşük konsantrasyonlarında enzimin kesim yaptığı, Form III yapısının oluştuğu görülmektedir.



A **B**

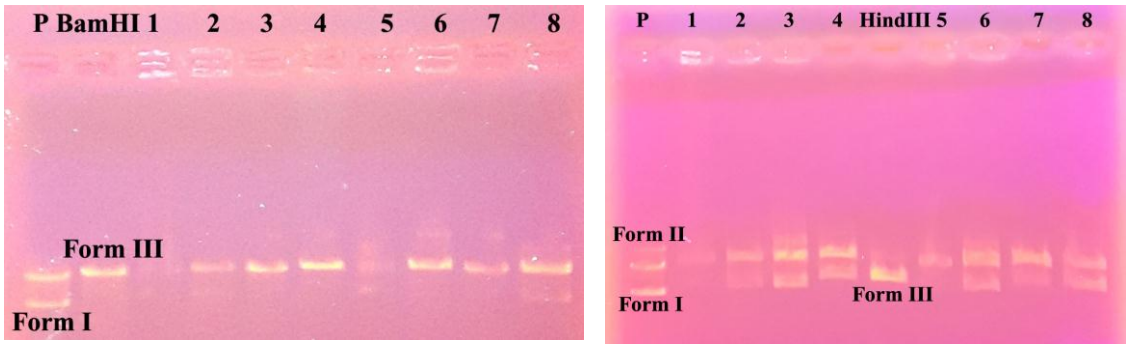
Şekil 4.11. Bileşik-pBR322 plazmit DNA karışımının BamHI (A) ve HindIII (B) enzimleriyle etkileştirildikten sonra elde edilen elektroforez görüntüleri P: Plazmit DNA, Bileşik **21**, 1→4: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; Bileşik **23**, 5→8: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM

Bileşik **21** ve **23**'ün BamHI kesim enzimiyle yapılan deney sonucuna göre, en yüksek konsantrasyonda (10,000 μM) plazmit DNA'nın çok düşük yoğunlukta da olsa Form I yapısının korunduğu yani enzimin kesim yapmadığı görülmüştür (Şekil 4.11A). Daha düşük konsantrasyonlarda ise kesimin gerçekleştiği, oluşan lineer yapıyı gösteren Form III bandından anlaşılmıştır. Bileşiklerin HindIII kesim enzimiyle yapılan deney sonuçları da BamHI ile benzerdir. En yüksek konsantrasyonda plazmit DNA yapıları çok silik yani düşük yoğunlukta gözlenirken, daha düşük konsantrasyonlarda kesimin gerçekleştiği söylenebilir (Şekil 4.11B).



Şekil 4.12. Bileşik-pBR322 plazmit DNA karışımının BamHI (A) ve HindIII (B) enzimleriyle etkileştirildikten sonra elde edilen elektroforez görüntüleri P: Plazmit DNA, Bileşik **24**, 1→4: 10,000 μM, 5000 μM, 2500 μM, 1250 μM; Bileşik **22**, 5→8: 10,000 μM, 5000 μM, 2500 μM, 1250 μM

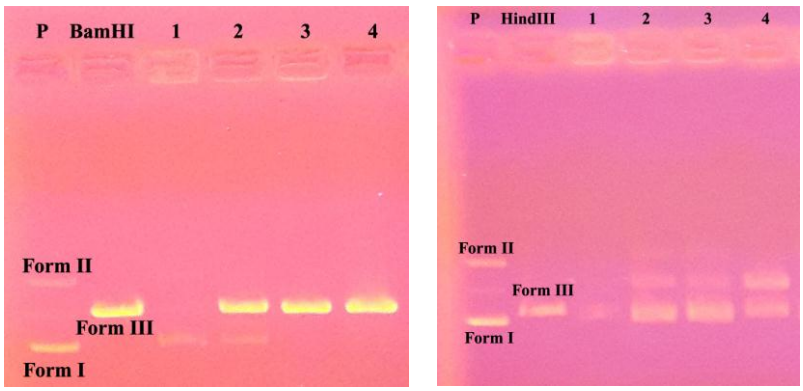
Bileşik **24** ve **22**'nin BamHI kesim enzimiyle yapılan deney sonucuna göre, en yüksek konsantrasyonda (10,000 μM) plazmit DNA'nın kendine özgü bantları çok düşük yoğunlukta gözükmektedir ancak DNA yapısı büyük ölçüde kaybolmuştur (Şekil 4.12A). Daha düşük konsantrasyonlarda ise enzimin kesimi gerçekleştirdiği görülmüştür. **24** nolu bileşiğin HindIII kesim enzimiyle yapılan deney sonucuna göre, tüm konsantrasyonlarda kesim gerçekleşmiştir. **22** nolu bileşiğin en yüksek konsantrasyonunda plazmit DNA görülmemiş, daha düşük konsantrasyonlarda HindIII enziminin kesimi gerçekleştirdiği gözlenmiştir (Şekil 4.12B).



A **B**

Şekil 4.13. Bileşik-pBR322 plazmit DNA karışımının BamHI (A) ve HindIII (B) enzimleriyle etkileştirildikten sonra elde edilen elektroforez görüntüleri P: Plazmit DNA, Bileşik **25**, 1→4: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; Bileşik **26**, 5→8: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM

Bileşik **25** ve **26**'nın BamHI kesim enzimiyle yapılan deney sonucuna göre, diğer bileşiklerle benzer şekilde en yüksek konsantrasyonda (10,000 µM) plazmit DNA'nın bantlarının görülmediği, azalan diğer konsantrasyonlarda ise kesimin gerçekleştiği söylenebilir (Şekil 4.13A). Bileşiklerin HindIII kesim enzimiyle yapılan deney sonucuna göre ise, **25** nolu bileşiğin en yüksek konsantrasyonunda plazmit DNA'nın kendine özgü bantlarının oluşmadığı, daha düşük konsantrasyonlarda ise enzimin kesimi gerçekleştirdiği söylenebilir (Şekil 4.13 B). **26** nolu bileşiğin tüm konsantrasyonlarında enzimin DNA'yı kestiği gözlenmiştir (Şekil 4.13B).

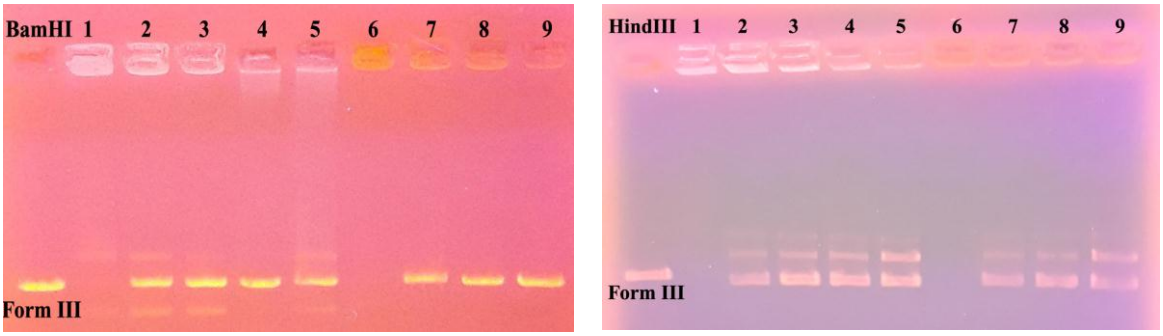


A **B**

Şekil 4.14. Bileşik-pBR322 plazmit DNA karışımının BamHI (A) ve HindIII (B) enzimleriyle etkileştirildikten sonra elde edilen elektroforez görüntüleri P: Plazmit DNA, Bileşik **27**, 1→4: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM

Şekil 4.14A görüntüsünde bileşik **27**'nin ilk yüksek konsantrasyonda plazmit DNA'nın gözükmediği, daha düşük konsantrasyonlarda ise BamHI enziminin kesim yaptığı görülmüştür. Aynı şeklin B görüntüsünde yer alan HindIII enzimi kesim

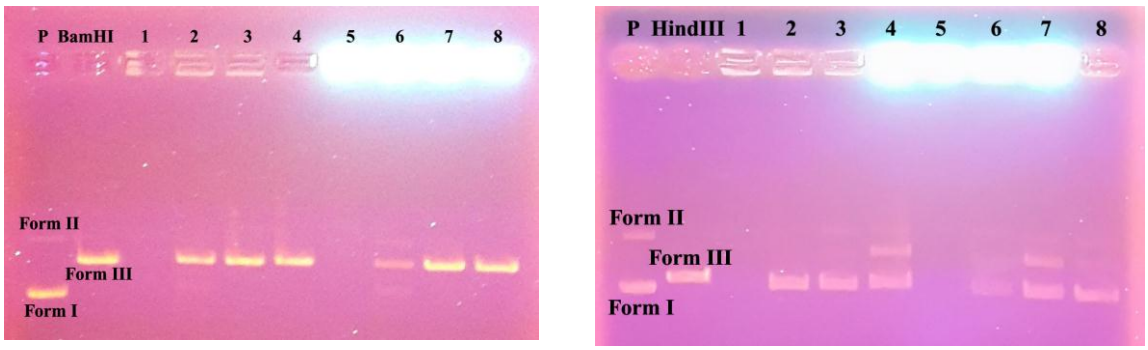
görüntüsünde ise, **27** nolu bileşiğin tüm konsantrasyonlarında kesim gerçekleşmiştir (Şekil 4.14B).



A **B**

Şekil 4.15. Bileşik-pBR322 plazmit DNA karışımının BamHI (A) ve HindIII (B) enzimleriyle etkileştirildikten sonra elde edilen elektroforez görüntüleri P: Plazmit DNA, 1→5: Bileşik **12**, 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM, 625 µM; 6→9: Bileşik **34**, 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM.

Şekil 4.15A görüntüsünde bileşik **12** ve bileşik **34**'ün her ikisinde de ilk yüksek konsantrasyonda plazmit DNA'nın gözükmediği, daha düşük konsantrasyonlarda ise BamHI enziminin kesim yaptığı görülmüştür. Aynı şeklin B görüntüsünde yer alan HindIII enzimi kesim görüntüsünde ise, hem **12** nolu hem de **34** nolu bileşiğin en yüksek konsantrasyonlarında plazmit DNA'nın olmadığı görülürken, bileşiklerin daha düşük konsantrasyonlarında ise enzimin kesim yaptığı gözlenmiştir.



A **B**

Şekil 4.16. Bileşik-pBR322 plazmit DNA karışımının BamHI (A) ve HindIII (B) enzimleriyle etkileştirildikten sonra elde edilen elektroforez görüntüleri P: Plazmit DNA, Bileşik **32**, 1→4: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM; Bileşik **37**, 5→8: 10,000 µM, 5000 µM, 2500 µM, 1250 µM.

Bileşik **32** ve bileşik **37**'nin BamHI enzimi ile yapılmış deney sonucu Şekil 4.16A görüntüsünde yer almaktadır. Her iki bileşiğin de ilk yüksek konsantrasyonunda plazmit DNA'nın olmadığı, daha düşük konsantrasyonlarda ise BamHI enziminin kesim

yaptığı görülmüştür. Aynı şeklin B görüntüsünde yer alan HindIII enzimi kesim görüntüsünde ise, **32** ve **37** nolu bileşiklerin en yüksek konsantrasyonunda plazmit DNA'nın olmadığı görülürken, bileşiklerin daha düşük konsantrasyonlarında enzimin kesim yaptığı, Form III yapısının oluştuğu görülmektedir. (Şekil 4.16B).

Elde edilen sonuçlara göre, bileşiklerin hepsi için enzimler kesim işlemlerini gerçekleştirmiştir. Bu yüzden bileşiklerin kullanılan enzimlerin bağlanma bölgelerine ilgi göstermedikleri düşünülmüştür. Literatürde de buna benzer sonuçlar yer almaktadır (Özkan ve ark., 2015).

4.3. CT-DNA Çalışmaları

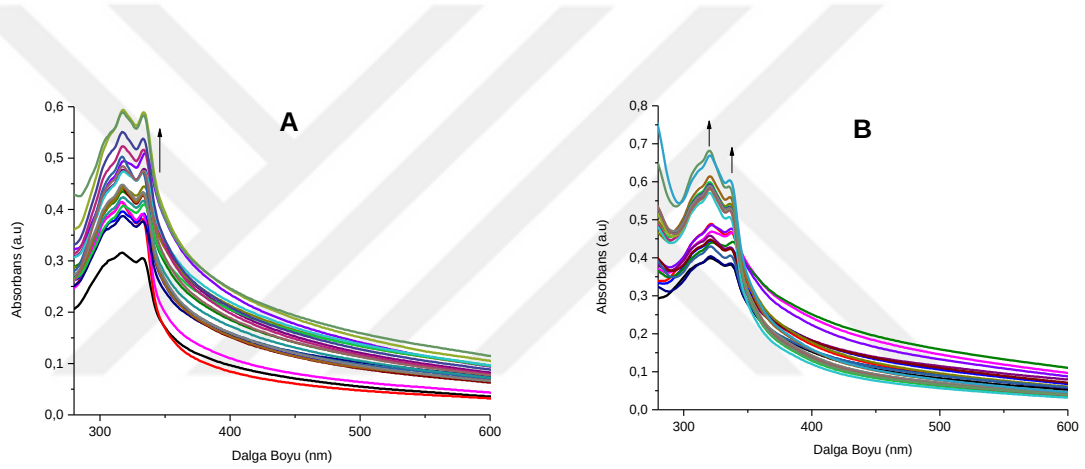
Tez çalışmaları içinde, sentezlenen bileşiklerin ökaryotik bir DNA olan CT-DNA'yla etkileşimleri incelenmiştir. CT-DNA, insan DNA'sına çok benzeyen bir DNA türüdür ve kolaylıkla sığırlardan izole edilebilmektedir. Bu özelliğiyle temini de ekonomiktir. Antikanser çalışmalarında insan DNA'sının kullanımına geçilmeden önce ön çalışma olarak etkinliğin belirlenmesi açısından bu DNA türü çok kullanılmaktadır.

CT-DNA'nın kararlılığı spektroskopik ölçümler (UV-Vis., florimetri, CD ve CV gibi) ile kolaylıkla takip edilebilmektedir. Ortamda DNA ile etkileşime giren herhangi bir molekül veya madde olması durumunda bu ölçümlerde farklılıklar oluşur. Örneğin, UV-Vis. spektrofotometresinde bileşiklerin λ_{max} absorbsiyonundaki veya CT-DNA'nın λ_{max} absorbsiyonundaki değişimler takip edilerek DNA üzerinde oluşan etkiler gözlenebilmektedir. Benzer şekilde floresans spektroskopisinde, bileşiklerin emisyonlarındaki değişimler takip edilerek DNA ile etkileşimin veya bağlanmanın olup olmadığı tespit edilebilmektedir.

Bu çalışmalar için öncelikle, UV-Vis. ve floresans spektrofotometrelerinde bileşiklerin yalnız başlarına iken spektrumları kaydedilmiştir. Daha sonra deneyin türüne göre ya DNA konsantrasyonu artırılarak ya da bileşiklerin konsantrasyonları artırılarak ölçümler kaydedilmiş ve elde edilen sonuçlar yorumlanmıştır.

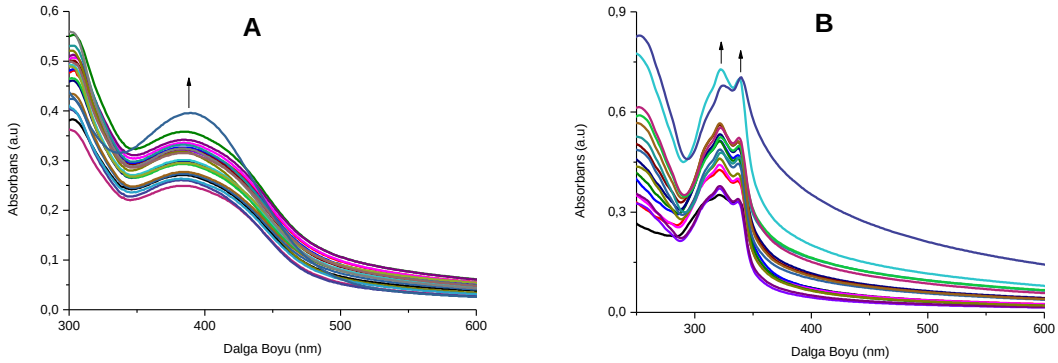
4.3.1. Bileşiklerin CT-DNA ile etkileşimlerinin UV-Vis. spektroskopisinde incelenmesi

UV-Vis. spektrofotometresi kullanılarak bileşiklerin absorbsiyon spektrumları 200-800 nm dalga boyu aralığında ölçülmüştür. Bileşiklerin konsantrasyonu 25 µM'da sabit tutulmuş, 0'dan başlayarak 2.5 µM'lık bir artış olacak şekilde 50 µM'a kadar ve ayrıca 75 µM ve 100 µM'lık konsantrasyonlarda ilave edilen CT-DNA ile birlikte bileşiklerin absorbsiyon spektrumlarındaki değişikler kaydedilmiştir. Bileşiklerin maksimum absorbans verdiği dalga boylarındaki değişimler takip edilmiştir. CT-DNA'nın yalnız başına iken maksimum absorbans verdiği dalga boyları olan 260 nm ve 280 nm'de bileşiklerden hiçbiri absorbans vermemiştir.



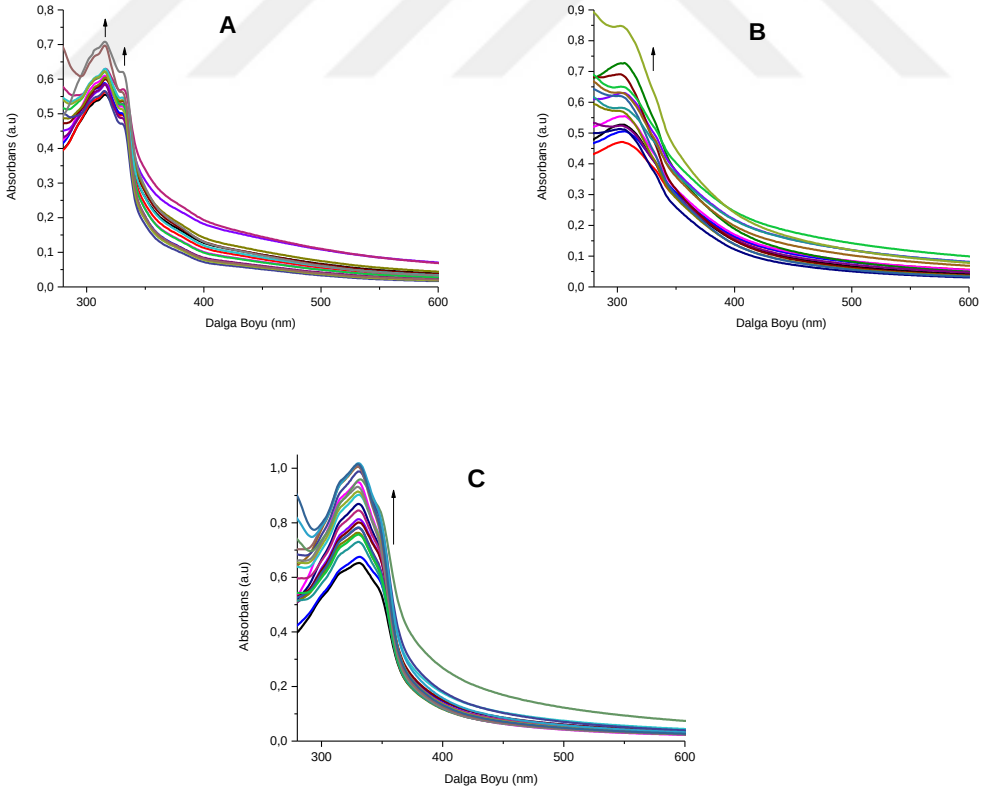
Şekil 4.17. Bileşiklerin artan konsantrasyonlardaki (0-100 µM) CT-DNA ile elde edilen UV-Vis. spektrumları **A**: Bileşik **4**, **B**: Bileşik **5**

Bileşik **4** ve bileşik **5**'in CT-DNA ilaveleriyle elde edilen spektrumları Şekil 4.17'de görülmektedir. Bileşik **4**'ün 318 nm ve 333 nm'deki (A), Bileşik **5**'in 317 nm ve 320 nm'deki absorbansları (B) artış göstermiştir. Bu sonuçlar bileşik **4** ve bileşik **5**'in CT-DNA'yla bir etkileşim içerisine girdiğini göstermiştir.



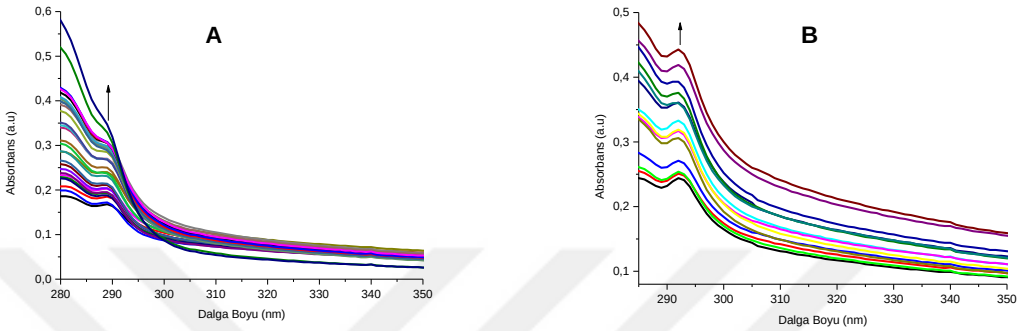
Şekil 4.18. Bileşiklerin artan konsantrasyonlardaki (0-100 µM) CT-DNA ile elde edilen UV-Vis. spektrumları **A**: Bileşik **6**, **B**: Bileşik **7**

Bileşik **6** ve bileşik **7** için elde edilen spektrumlar Şekil 4.18'de görülmektedir. Bileşik **6**'nın 396 nm'deki absorbansında az da olsa artış gözlenmiştir. Bileşik **7**'nin ise 322 nm ve 338 nm'deki absorbansları düzenli bir şekilde artış göstermiştir. Bu sonuçlara göre, bileşik **6** ve bileşik **7**'nin CT-DNA'yla bir etkileşim içerisine girdiğini söylemek mümkündür.



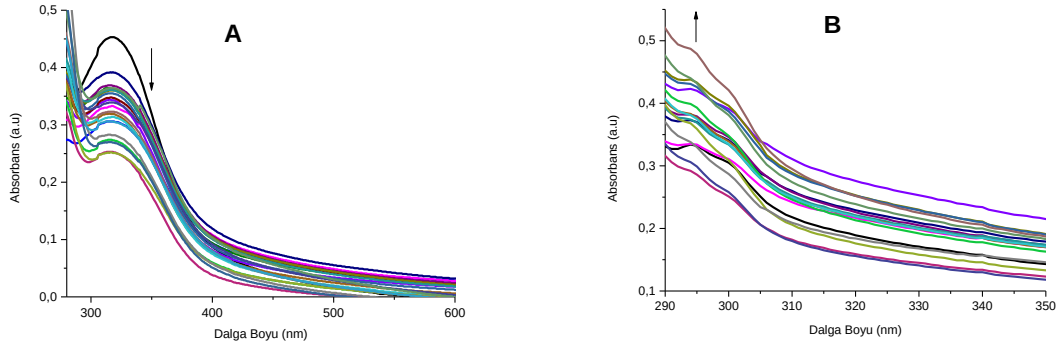
Şekil 4.19. Bileşiklerin artan konsantrasyonlardaki (0-100 µM) CT-DNA ile elde edilen UV-Vis. spektrumları **A**: Bileşik **10**, **B**: Bileşik **11**, **C**:Bileşik **12**

Şekil 4.19'da bileşik **10** (A), bileşik **11** (B) ve bileşik **12**'nin (C) DNA eklenmesiyle elde edilen absorbsiyon spektrumları görülmektedir. Bileşik **10**'un 316 nm ve 330 nm'deki, bileşik **11**'in 304 nm'deki absorbansları gelişigüzel sayılabilecek şekilde, bileşik **12**'nin 330 nm'deki absorbansı ise düzenli bir şekilde artış göstermiştir. Elde edilen bu sonuçlar bileşik **10**, **11** ve **12**'nin CT-DNA'yla etkileştiğini göstermiştir.



Şekil 4.20. Bileşiklerin artan konsantrasyonlardaki (0-100 µM) CT-DNA ile elde edilen UV-Vis. spektrumları **A**: Bileşik **21**, **B**: Bileşik **22**

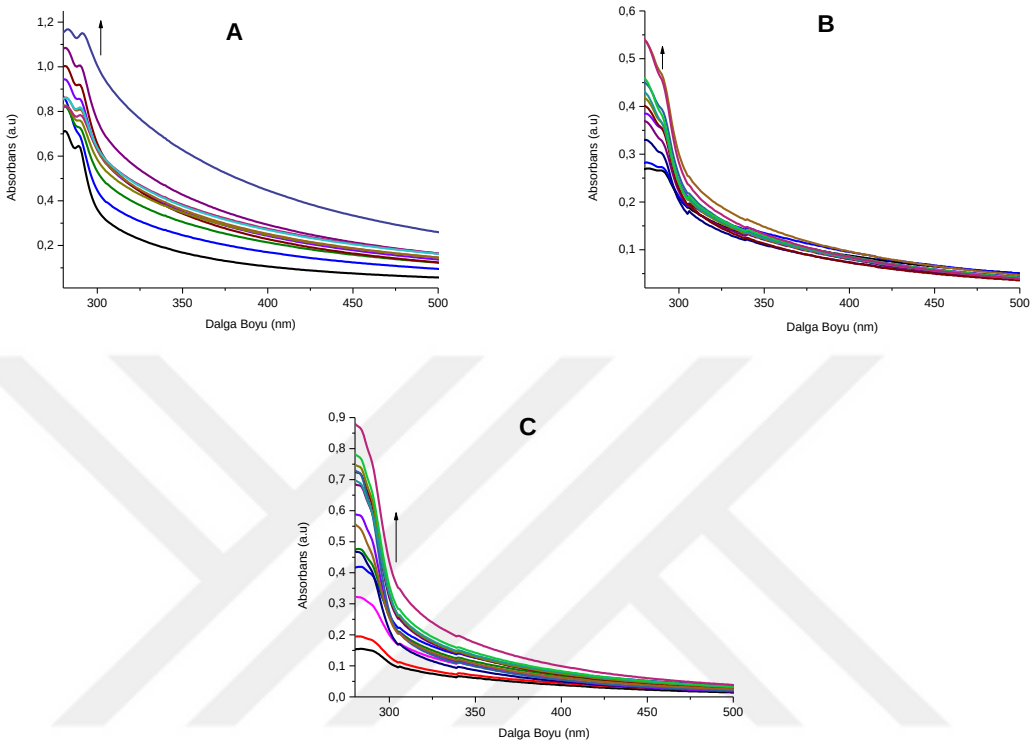
Bileşik **21** ve bileşik **22**'nin artan DNA konsantrasyonuyla elde edilen absorbsiyon spektrumları Şekil 4.20'de görülmektedir. Her iki bileşiğin de DNA ile çok az bir etkileşimin olduğu düşünülmektedir. Spektrumlarda gözlenen hafif artış DNA derişiminin artmasıyla DNA pikindeki artıştan kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.21. Bileşiklerin artan konsantrasyonlardaki (0-100 µM) CT-DNA ile elde edilen UV-Vis. spektrumları **A**: Bileşik **23**, **B**: Bileşik **24**

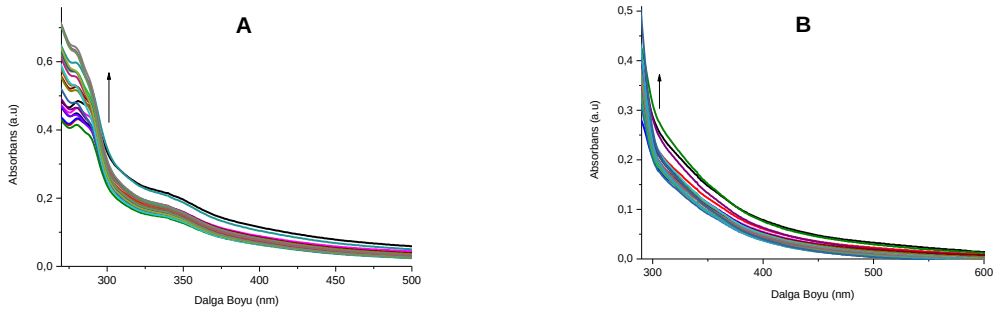
Şekil 4.21'de bileşik **23** (A), ve bileşik **24**'ün (B) DNA eklenmesiyle elde edilen absorbsiyon spektrumları görülmektedir. Bileşik **23**'de diğer bileşiklerden farklı olarak DNA konsantrasyonun artışıyla 318 nm'deki absorbans şiddetinde düşüş gözlenmiştir.

Bununla birlikte bileşik **24**'ün DNA ile çok az bir etkileşime girdiği düşünülmektedir. Spektrumlarda gözlenen hafif artış DNA derişiminin artmasıyla DNA pikindeki artıştan kaynaklanmaktadır.



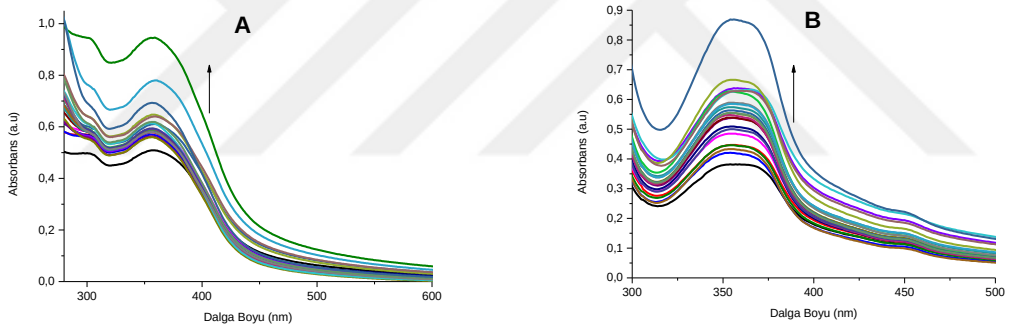
Şekil 4.22. Bileşiklerin artan konsantrasyonlardaki (0-100 μM) CT-DNA ile elde edilen UV-Vis. spektrumları **A**: Bileşik **25**, **B**: Bileşik **26**, **C**:Bileşik **27**

Şekil 4.22'de bileşik **25** (A), bileşik **26** (B) ve bileşik **27**'nin (C) DNA eklenmesiyle elde edilen absorbsiyon spektrumları görülmektedir. Spektrumlar dikkatli icelendiğinde üç bileşiğin de DNA ile çok az bir etkileşime girdiği düşünülmüştür. Spektrumlarda gözlenen hafif artışlar DNA derişiminin artmasıyla DNA pikinde gerçekleşen artıştan kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.23. Bileşiklerin artan konsantrasyonlardaki (0-100 µM) CT-DNA ile elde edilen UV-Vis. spektrumları **A**: Bileşik **31**, **B**: Bileşik **32**

Bileşik **31** ve bileşik **32**'nin artan DNA konsantrasyonuyla elde edilen absorbsiyon spektrumları Şekil 4.23'te görülmektedir. Burada da daha önceki bileşiklerle benzer şekilde, bileşiklerin DNA ile çok az bir etkileşime girdiği söylenebilir ancak bileşiklerin kendi absorbanslarının da artmış olması mümkündür.



Şekil 4.24. Bileşiklerin artan konsantrasyonlardaki (0-100 µM) CT-DNA ile elde edilen UV-Vis. spektrumları **A**: Bileşik **34**, **B**: Bileşik **37**

Bileşik **34** ve bileşik **37**'nin artan DNA konsantrasyonuyla elde edilen absorbsiyon spektrumları Şekil 4.24'te görülmektedir. Bileşik **34**'ün 357 nm'deki, bileşik **37**'nin 360 nm'deki absorbansları düzenli bir şekilde artış göstermiştir. Tüm bileşikler arasında DNA ilavesiyle, elektronik absorbsiyonunda en fazla ve düzenli artış gözlenen **37** nolu bileşik olmuştur (Şekil 4.24B).

4.3.2. Bileşiklerin CT-DNA ile etkileşimlerinin floresans spektroskopisinde incelenmesi

Sentezlenen bileşiklerden **4**, **5**, **7**, **10-12**, **31**, **34** ve **37** nolu bileşikler floresans özellik göstermiştir, diğer bileşiklerin floresans şiddetleri ya çok düşük ya da yok sayılabilecek şekilde gözlenmiştir. Bu sebeple CT-DNA eklenmesiyle floresans şiddetlerin takip edilmesi deneyleri sadece emisyon spektrumu veren bileşikler için gerçekleştirilmiştir.

Bileşiklerin konsantrasyonu 25 μM'da sabit tutulmuş, 0'dan başlanarak 2.5 μM'lık bir artış olacak şekilde 50 μM'a kadar ve ayrıca 75 μM ve 100 μM'lık konsantrasyonlarda ilave edilen CT-DNA ile birlikte bileşiklerin emisyon spektrumlarındaki değişikler kaydedilmiştir. Emisyon şiddetlerinin çok yüksek olması sebebiyle, bileşik **4** ve **7** için 10 μM ve bileşik **37** için ise 0.5 μM'lık konsantrasyonda çalışılmıştır. İlaveten **37** nolu bileşiğin inkübasyon süresi bir saat olarak gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin emisyon spektrumlarında azalma veya artış olması durumunda bileşiklerin DNA'yla etkileşime girdiği veya DNA'ya bağlandığı sonucuna ulaşılmıştır. Oluşan etkiler dikkate alınarak yapılan hesapsal işlemler sonucunda bileşiklerin DNA'ya bağlanma sabitleri veya söndürme sabitleri hesaplanmıştır (Chowdhury ve ark., 2014).

Söndürme deneylerinin bağlanma sabiti açısından kantitatif tahmini, aşağıdaki Stern-Volmer eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır:

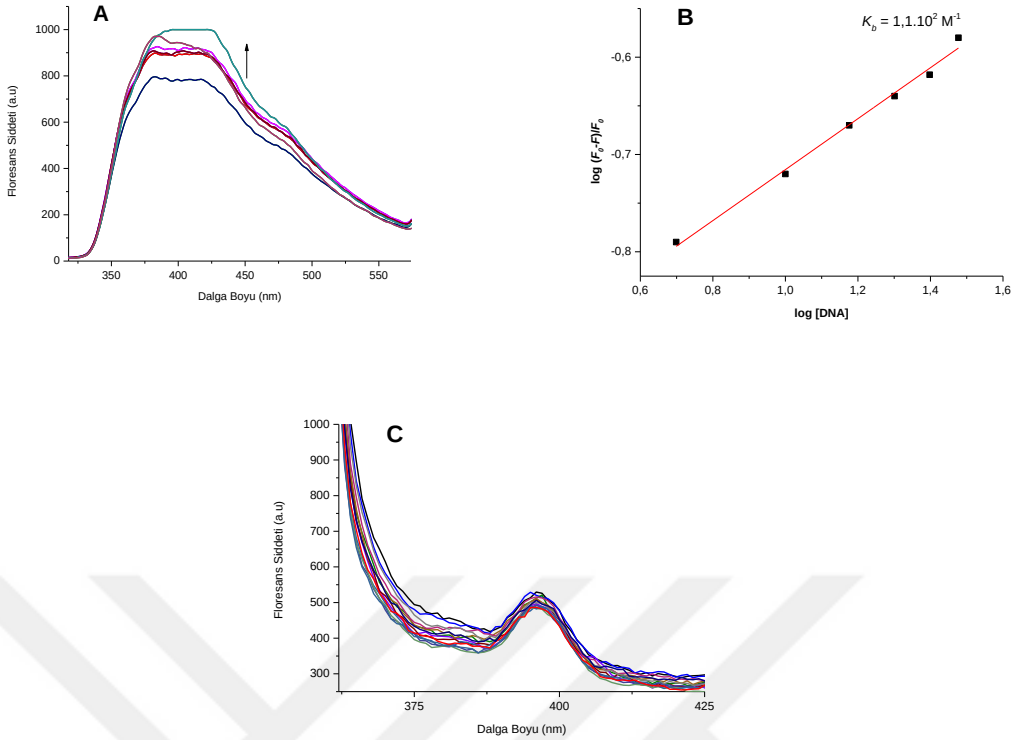
$$\boldsymbol{F_0/F = 1 + K_{sv}\,[Q]}$$

F_0 ve F, bileşiklerin sırasıyla, DNA yokluğunda ve varlığında ölçülen floresans şiddeti, K_{sv}, lineer Stern-Volmer söndürme sabiti, [Q] ise DNA'nın konsantrasyonudur.

Emisyon şiddetlerindeki artıştan bileşiklerin DNA'ya bağlanma sabitlerinin hesaplanması için bir diğer Stern-Volmer eşitliği kullanılmıştır:

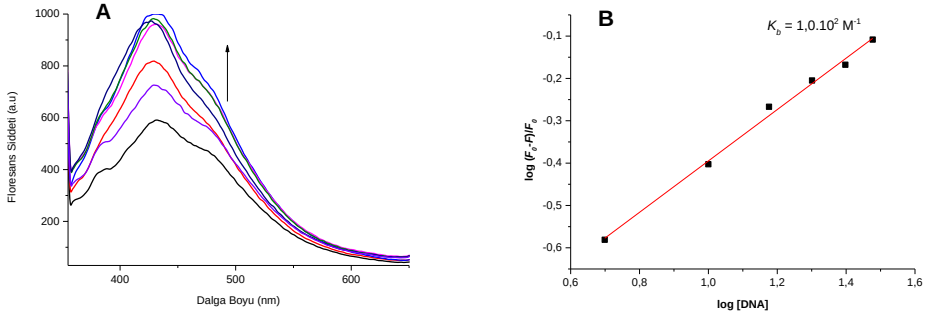
$$\boldsymbol{\log (F_0\text{-}F)/F_0 = \log K_b + n \log [DNA]}$$

F_0 ve F sırasıyla, DNA yokluğunda ve varlığında bileşiklerin vermiş oldukları floresans şiddetleridir. K_b bağlanma sabiti, n bağlanılan yerin sayısı ve [DNA] CT-DNA'nın konsantrasyonudur.



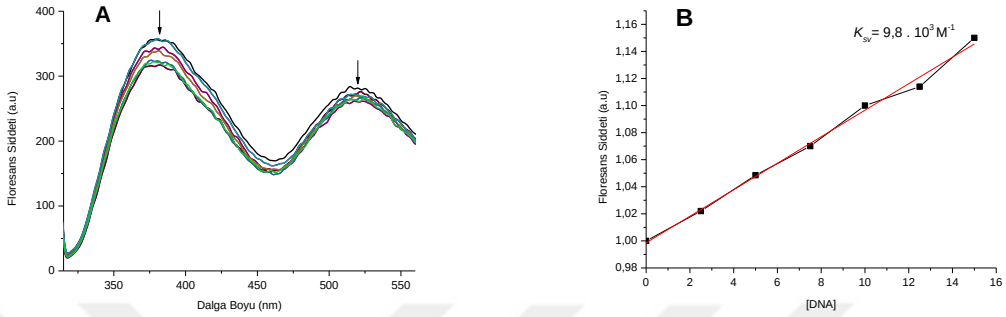
Şekil 4.25. 4 ve **5** nolu bileşiğin artan konsantrasyonlarda (0-100 µM) CT-DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumları (sırasıyla, A ve C), K_b sabitinin hesaplandığı lineer grafik (B)

Bileşik **4** için 330 nm uyarma dalga boyu kullanılarak elde edilen emisyon spektrumuna göre artan DNA konsantrasyonuyla bileşiğin 401 nm'deki emisyon şiddetinde artış gözlenmiştir (Şekil 4.25A). Buradan elde edilen lineer grafikten hesaplanan K_b sabiti 1.1×10^2 M^{-1} bulunmuştur (Şekil 4.25B). Bileşik **5** için 350 nm uyarma dalga boyu kullanılarak elde edilen floresans spektrumuna göre, DNA konsantrasyonunun artmasıyla bileşiğin floresans şiddetinde herhangi bir değişim olmamıştır (Şekil 4.25C).



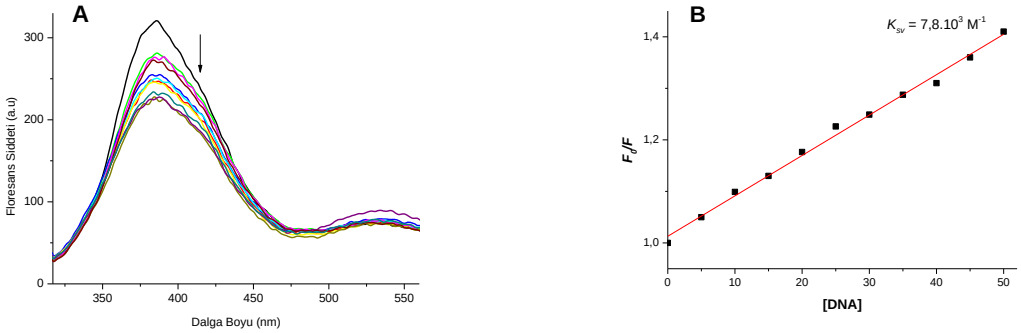
Şekil 4.26. 7 nolu bileşiğin artan konsantrasyonlarda (0-100 µM) CT-DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumları (A), K_b sabitinin hesaplandığı lineer grafik (B)

Bileşik **7** için 340 nm uyarma dalga boyu kullanılarak elde edilen emisyon spektrumuna göre artan DNA konsantrasyonuyla bileşiğin 431 nm'deki emisyon şiddetinde artış gözlenmiştir (Şekil 4.26). Buradan elde edilen lineer grafikten hesaplanan K_b sabiti 1.0×10^2 M^{-1} bulunmuştur.



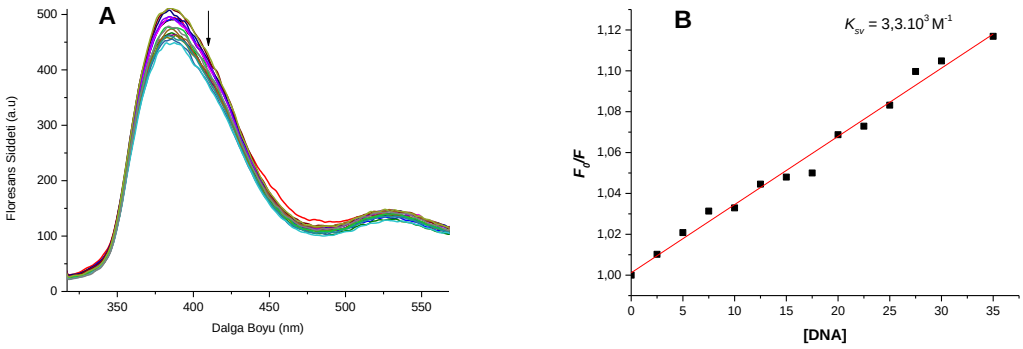
Şekil 4.27. 10 nolu bileşiğin artan konsantrasyonlarda (0-100 µM) CT-DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumları (A), K_{sv} sabitinin hesaplandığı lineer grafik (B)

Bileşik **10** için 300 nm'de uyarma dalga boyu kullanılarak elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.27A'da gösterilmiştir. DNA eklenmesiyle floresans şiddetinde az da olsa düşüş gözlenmiştir. 381 nm'deki emisyon piklerinden yola çıkılarak hesaplanan söndürme sabiti K_{sv} 9.8×10^3 M^{-1} bulunmuştur (Şekil 4.27B).



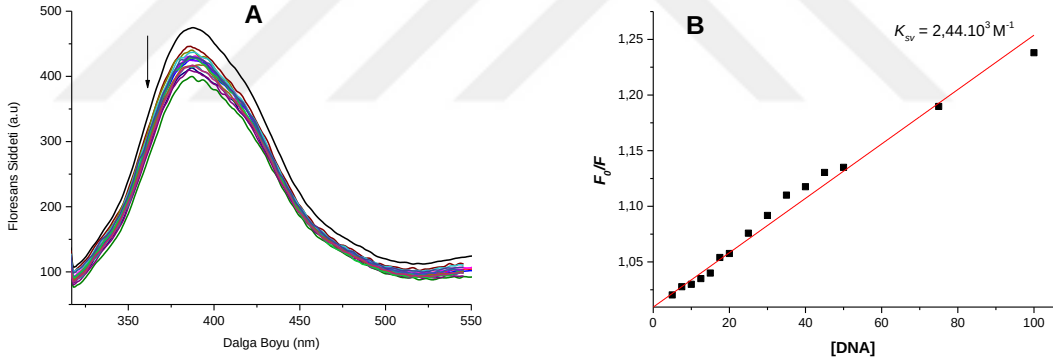
Şekil 4.28. 11 nolu bileşiğin artan konsantrasyonlarda (0-100 µM) CT-DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumları (A), K_{sv} sabitinin hesaplandığı lineer grafik (B)

Bileşik **11** için 300 nm'de uyarma dalga boyu kullanılarak elde edilen floresans spektrumları Şekil 4.28A'da gösterilmiştir. DNA eklenmesiyle floresans şiddetinde az da olsa düşüş gözlenmiştir. 386 nm'deki emisyon piklerinden yola çıkılarak hesaplanan söndürme sabiti K_{sv} 7.8×10^3 M^{-1} bulunmuştur (Şekil 4.28B).



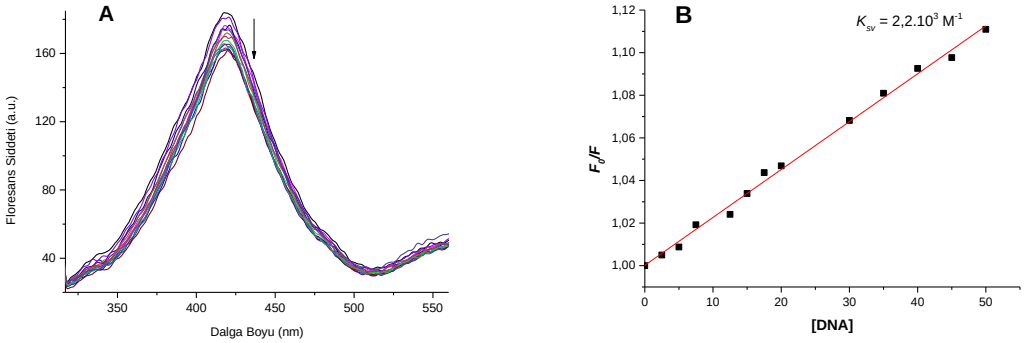
Şekil 4.29. 12 nolu bileşiğin artan konsantrasyonlarda (0-100 µM) CT-DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumları (A), K_{sv} sabitinin hesaplandığı lineer grafik (B)

Şekil 4.29'da bileşik **12** için 300 nm uyarma dalga boyunda elde edilen floresans spektrumları gösterilmiştir. DNA konsantrasyonunun artmasıyla bileşiğin 384nm'deki emisyon bandı düzenli bir azalış göstermiştir (Şekil 4.29A). Stern-Volmer eşitliği kullanılarak hesaplanan söndürme sabiti K_{sv} 3.3×10^3 M^{-1} bulunmuştur (Şekil 4.29 B).



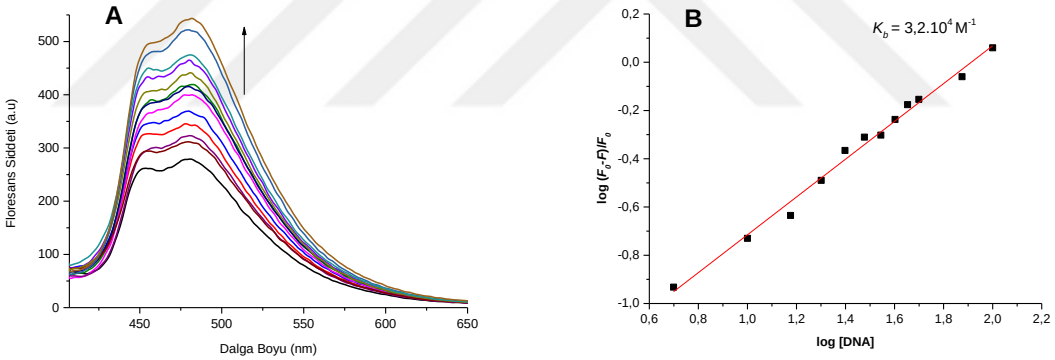
Şekil 4.30. 31 nolu bileşiğin artan konsantrasyonlarda (0-100 µM) CT-DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumları (A), K_{sv} sabitinin hesaplandığı lineer grafik (B)

Bileşik **31** için 300 nm uyarma dalga boyu kullanılarak elde edilen floresans spektrumuna göre, DNA konsantrasyonunun artmasıyla bileşiğin floresans şiddetinde düşüş meydana gelmiştir (Şekil 4.30A). 388 nm'deki emisyon bandındaki azalma dikkate alınarak Stern-Volmer eşitliğiyle hesaplanan söndürme sabiti K_{sv} 2.44×10^3 M^{-1} bulunmuştur.



Şekil 4.31. 34 nolu bileşiğin artan konsantrasyonlarda (0-100 µM) CT-DNA eklenmesiyle elde edilen floresans spektrumları (A), K_{sv} sabitinin hesaplandığı lineer grafik (B)

Bileşik **34** için 350 nm'de uyarma dalga boyu kullanılarak elde edilen floresans spektrumundan, DNA eklenmesiyle 419 nm'deki floresans şiddetinde az da olsa düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.31A). Stern-Volmer eşitliğiyle hesaplanan söndürme sabiti K_{sv} sabiti 2.2×10^3 M^{-1} bulunmuştur (Şekil 4.31B).



Şekil 4.32. Bileşik **37**'nin artan konsantrasyonlarda (0-100 µM) CT-DNA eklenmesinden sonra elde edilen emisyon spektrumları (A), K_b sabitinin hesaplandığı lineer grafik (B)

Bileşik **37** için 390 nm'de uyarma dalga boyu kullanılarak elde edilen floresans spektrumundan, DNA eklenmesiyle bileşiğin emisyon şiddetinde düzenli bir artış gözlenmiştir (Şekil 4.32A). Buradan yola çıkılarak Stern-Volmer eşitliğinin kullanılmasıyla çizilen lineer grafikten K_b bağlanma sabiti 3.2×10^4 M^{-1} bulunmuştur. Diğer bileşiklerden farklı olarak bu bileşik bir saat süreyle inkübe edilmiştir ve elde edilen sonuç, bu bileşiğin bir interkalatör gibi davrandığını göstermiştir.

Yapılan deney sonuçlarına göre bazı bileşiklerin floresans şiddetleri CT-DNA ilavesi ile artış gösterirken bazılarınınki ise düşmüştür. Hesaplanan sabitler Çizelge

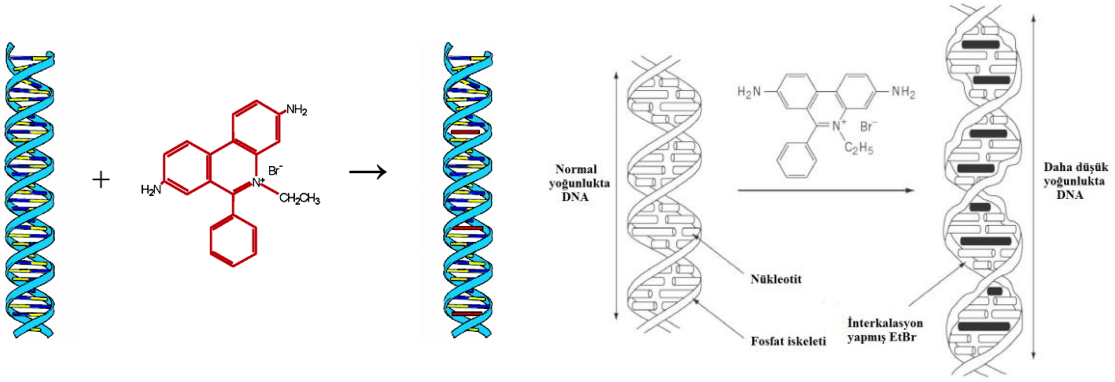
4.2'de verilmiştir. Sönümlenmeye uğrayan bileşiklerden DNA'ya en çok bağlanma yapan **10** ve **11** nolu bileşik olmuştur. Emisyon şiddetinde artış gözlenen bileşiklerden ise DNA ile en çok bağlanma yapanı **37** nolu bileşik olmuştur.

Çizelge 4.2. DNA ile etkileşime giren bileşiklerin hesaplanan K_{sv} ve K_b sabitleri (M^{-1}) ve R^2 değerleri

Bileşik No	K_{sv} Sabiti	K_b Sabiti	R^2
4	-	1.1×10^2	0.997
7	-	1.0×10^2	0.985
10	9.8×10^3	-	0.993
11	7.8×10^3		0.993
12	3.3×10^3	-	0.989
31	2.44×10^3	-	0.988
34	2.2×10^3	-	0.995
37	-	3.2×10^4	0.989

4.3.3. EtBr varlığında gerçekleştirilen yarışmalı bağlanma deneyleri

Bileşiklerin CT-DNA ile etkileşime girip girmediklerini anlamanın deneysel yöntemlerinden biri de EtBr kullanarak EtBr-DNA kompleksinin floresans şiddetini takip etmektir. EtBr sahip olduğu düzlemsel yapısından ötürü en hassas floresan problardan birisidir ve DNA'ya interkalatif mod ile bağlanır (Şekil 4.31). EtBr'nin yalnız başına çözelti içinde floresans spektrumu alındığı zaman, yaklaşık 600 nm'de bir emisyon piki gözlenir ve bunun şiddeti çözücü etkisinden dolayı oldukça düşüktür. CT-DNA eklendiğinde EtBr, DNA'ya interkalasyonla bağlandığı için floresans şiddeti oldukça yükselir. Buradan yola çıkılarak ortamda DNA'ya bağlanan bir madde varsa EtBr-DNA kompleksinin floresans şiddeti düşüş gösterir. Oluşan bu düşüşten yola çıkılarak maddenin DNA'ya bağlanma sabiti ve sayısı hesaplanabilir.



Şekil 4.33. EtBr'ün DNA üzerine bağlanmasını gösteren model (Benevides ve Thomas, 2005) (http://what-when-how.com/molecular-biology/ethidium-bromide-molecular-biology)

Bu deneyler için 20 µM CT-DNA'ya 2 µM EtBr eklenerek CT-DNA/EtBr kompleksi oluşturulmuştur. Daha sonra bileşik çözeltileri 2.5 µM'dan başlanarak konsantrasyonlar 2.5 µM artacak şekilde 35 µM'a kadar ulaşan miktarlarda CT-DNA/EtBr solüsyonlarına eklenmiş ve 3 saat inkübe edilmiştir. Her bir deneyde 480 nm uyarma dalga boyu kullanılarak 500-750 nm arasında emisyon spektrumları alınmıştır.

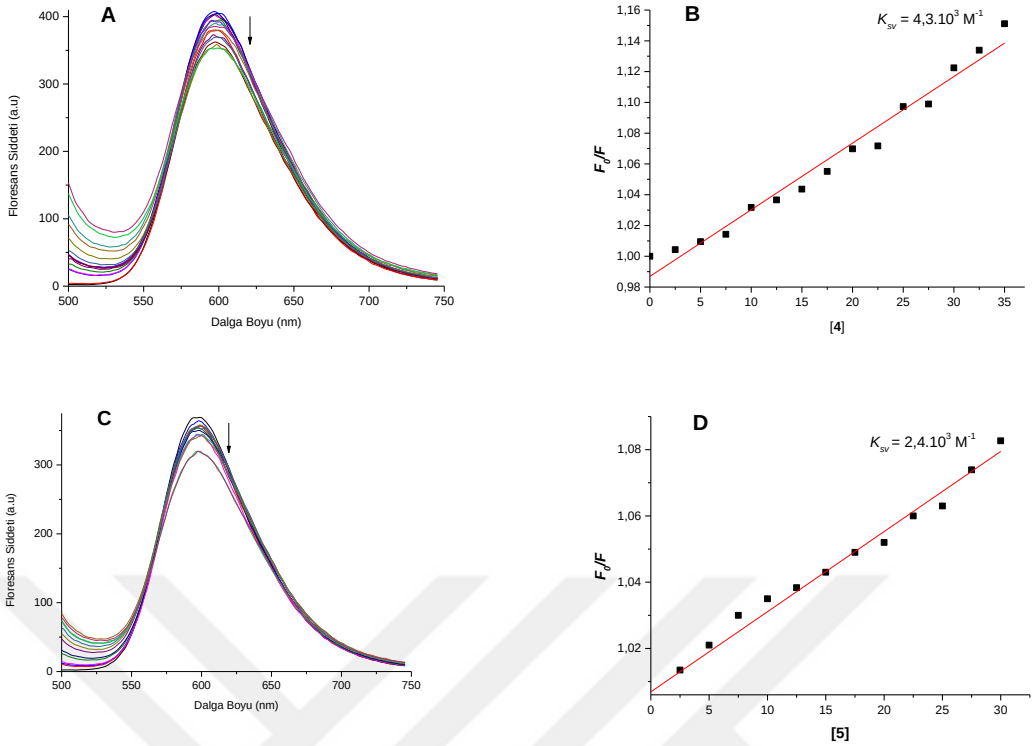
Elde edilen emisyon spektrumlarında maksimum emisyonun meydana geldiği yaklaşık olarak 600 nm'deki şiddetler dikkate alınmış ve aşağıda yer alan Stern-Volmer eşitliği kullanılarak gerekli hesaplamalar yapılmıştır (Lakowicz ve Weber, 1973):

$$F_0/F = 1 + K_{sv}\,[Q]$$

F_0 ve F, CT-DNA/EtBr kompleksinin sırasıyla, bileşiklerin yokluğunda ve varlığında ölçülen floresans şiddetleri, K_{sv}, lineer Stern-Volmer söndürme sabiti, [Q] ise bileşiklerin konsantrasyonudur.

4 nolu bileşiğin EtBr ile yapılan deney sonucuna göre, bileşiğin artan konsantrasyonuyla EtBr-DNA kompleksinin emisyonu azalmıştır (Şekil 4.34A). Buradan bileşiğin CT-DNA'ya bağlanarak EtBr'ün bağlanmasını engellediğini söyleyebiliriz. Stern-Volmer eşitliği kullanılarak hesaplanan K_{sv} sabiti, 4.3×10^3 M^{-1} olarak bulunmuştur (Şekil 4.34B).

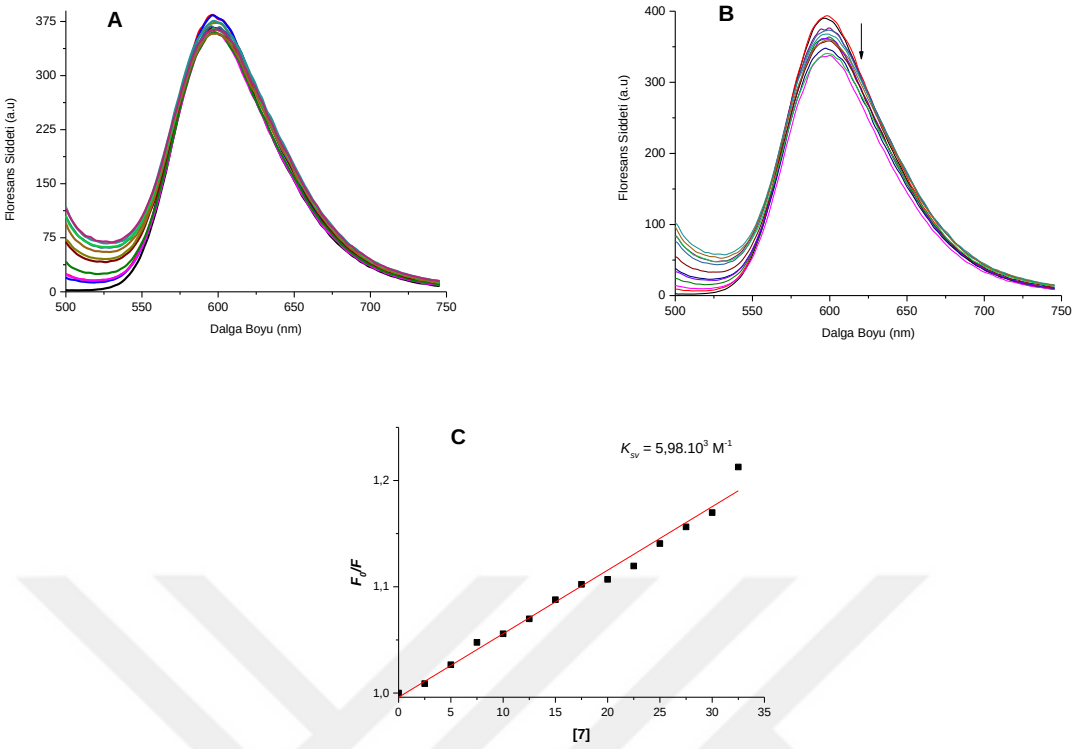
5 nolu bileşikle yapılan deney sonucundan bileşiğin EtBr-DNA kompleksinin emisyonunda çok az bir düşüşün olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.34 C). Buradan bileşiğin CT-DNA'ya kısmen bir bağlanma yaptığı söylenebilir. Stern-Volmer eşitliği kullanılarak hesaplanan K_{sv} sabiti, $2{,}4\times10^3$ M^{-1}olarak bulunmuştur (Şekil 4.34D).



Şekil 4.34. Bileşik **4** ve **5**'in EtBr ile yapılan deneysel çalışmadan elde edilen emisyon spektrumları (A ve C) ve K_{sv} sabitlerinin hesaplandığı grafikler (B ve D)

6 nolu bileşiğin EtBr-DNA ile etkileşiminden elde edilen floresans grafiğinden, bileşiğin EtBr-DNA kompleksinin emisyonunda herhangi bir değişim yapmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.35A).

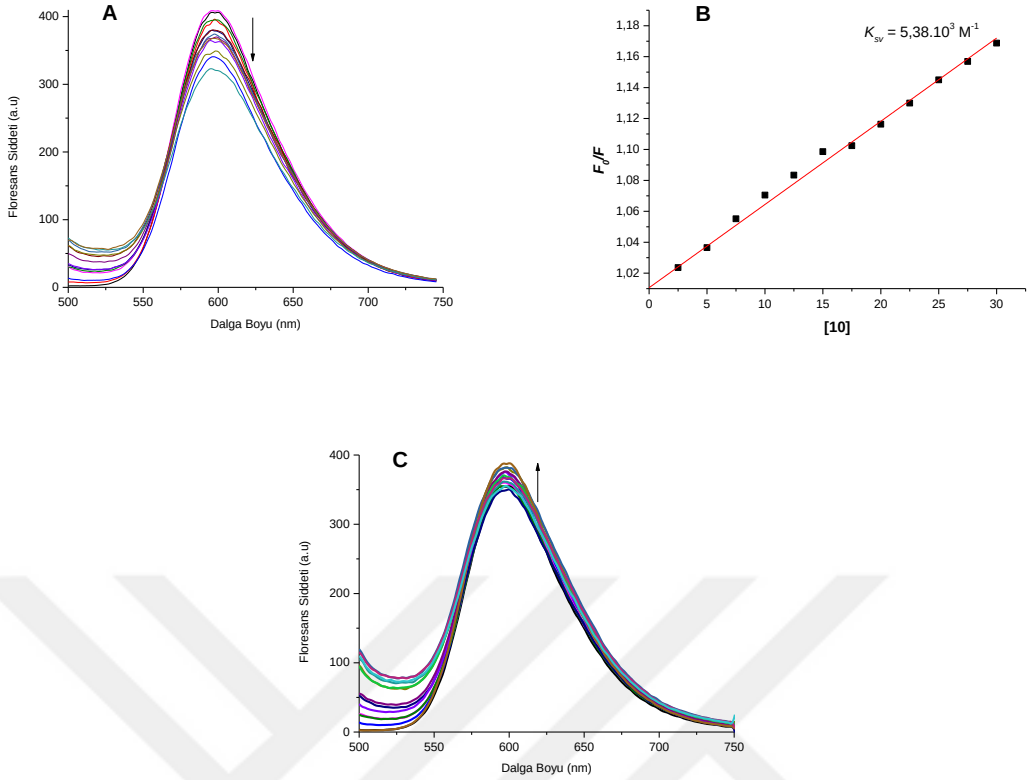
7 nolu bileşiğin EtBr ile yapılan deney sonucuna göre, bileşiğin artan konsantrasyonuyla EtBr-DNA kompleksinin emisyonu azalmıştır (Şekil 4.35B). Buradan bileşiğin CT-DNA'ya bağlanarak EtBr'ün bağlanmasını engellediğini söyleyebiliriz. Stern-Volmer eşitliği kullanılarak hesaplanan K_{sv} sabiti, 5.98×10^3 M^{-1} olarak bulunmuştur (Şekil 4.35C).



Şekil 4.35. Bileşik **6** ve **7**'nin EtBr ile yapılan deneysel çalışmadan elde edilen emisyon spektrumları (A ve B) ve K_{sv} sabitinin hesaplandığı grafik (C)

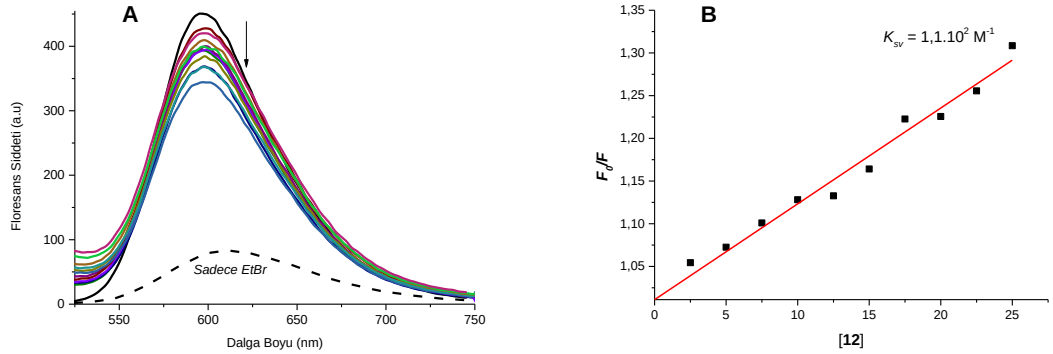
10 nolu bileşiğin EtBr ile yapılan deney sonucuna göre, bileşiğin artan konsantrasyonuyla EtBr-DNA kompleksinin emisyonu azalmıştır (Şekil 4.36A). Buradan bileşiğin CT-DNA'ya bağlanarak EtBr'ün bağlanmasını engellediğini söyleyebiliriz. Stern-Volmer eşitliği kullanılarak hesaplanan K_{sv} sabiti, 5.38×10^3 M^{-1} olarak bulunmuştur (Şekil 4.36B).

11 nolu bileşiğin yapılan deney sonucuna göre, bileşiğin artan konsantrasyonuyla EtBr-DNA kompleksinin emisyonu, diğer sonuçların aksine artmıştır (Şekil 4.36B). Buradan bileşiğin CT-DNA'ya bağlanarak EtBr'ün bağlanmasını artırdığını veya bileşiğin kendisinin de DNA'ya bağlanarak artışa sebep olduğu sonucu çıkarılmıştır. Ters bir etki söz konusu olduğu için K_{sv} sabiti hesaplanamamıştır.

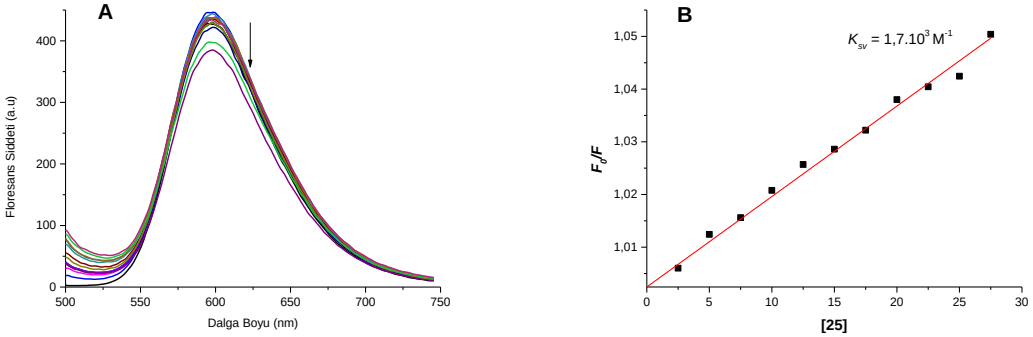


Şekil 4.36. Bileşik **10** ve **11**'in EtBr ile yapılan deneysel çalışmadan elde edilen emisyon spektrumları (A ve C) ve K_{sv} sabitinin hesaplandığı grafik (B)

12 nolu bileşik ile yapılan deney sonucuna göre, bileşiğin artan konsantrasyonuyla EtBr-DNA kompleksinin emisyonu azalış göstermiştir (Şekil 4.37A). Buradan bileşiğin CT-DNA'ya bağlanarak EtBr'ün bağlanmasını engellediğini söyleyebiliriz. Stern-Volmer eşitliği kullanılarak hesaplanan K_{sv} sabiti, 1.1×10^2 M^{-1} olarak bulunmuştur (Şekil 4.37B).

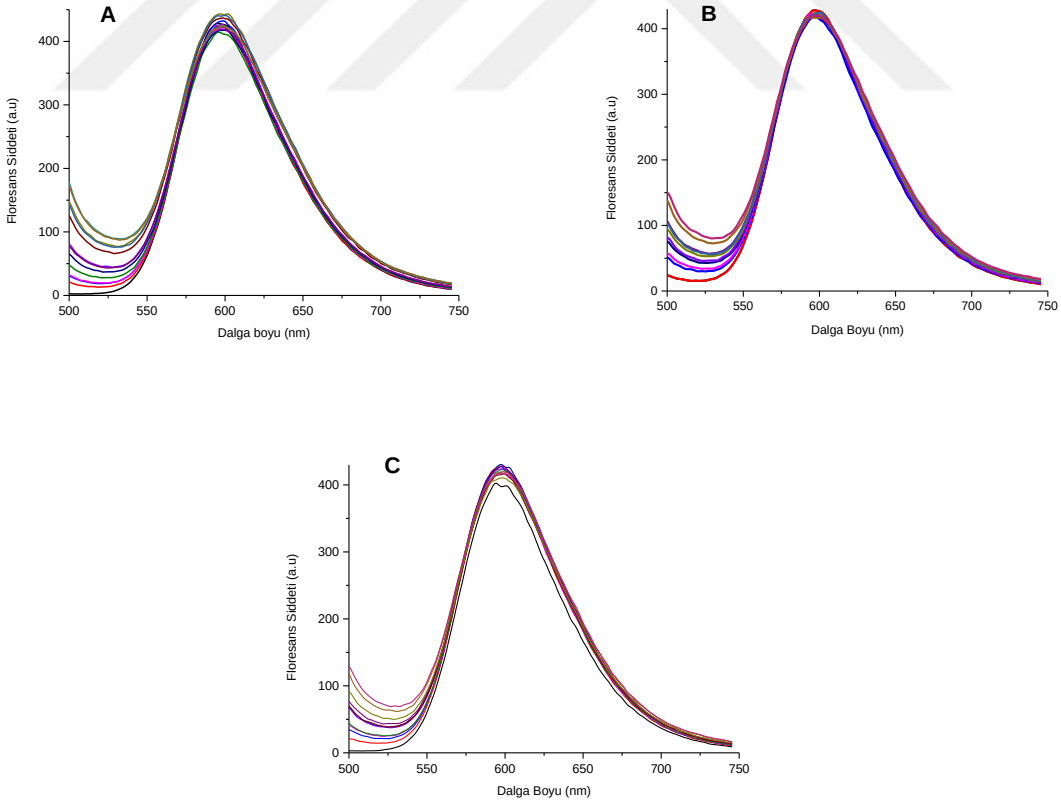


Şekil 4.37. Bileşik **12**'nin EtBr ile yapılan deneysel çalışmadan elde edilen emisyon spektrumu (A) ve K_{sv} sabitinin hesaplandığı grafik (B)



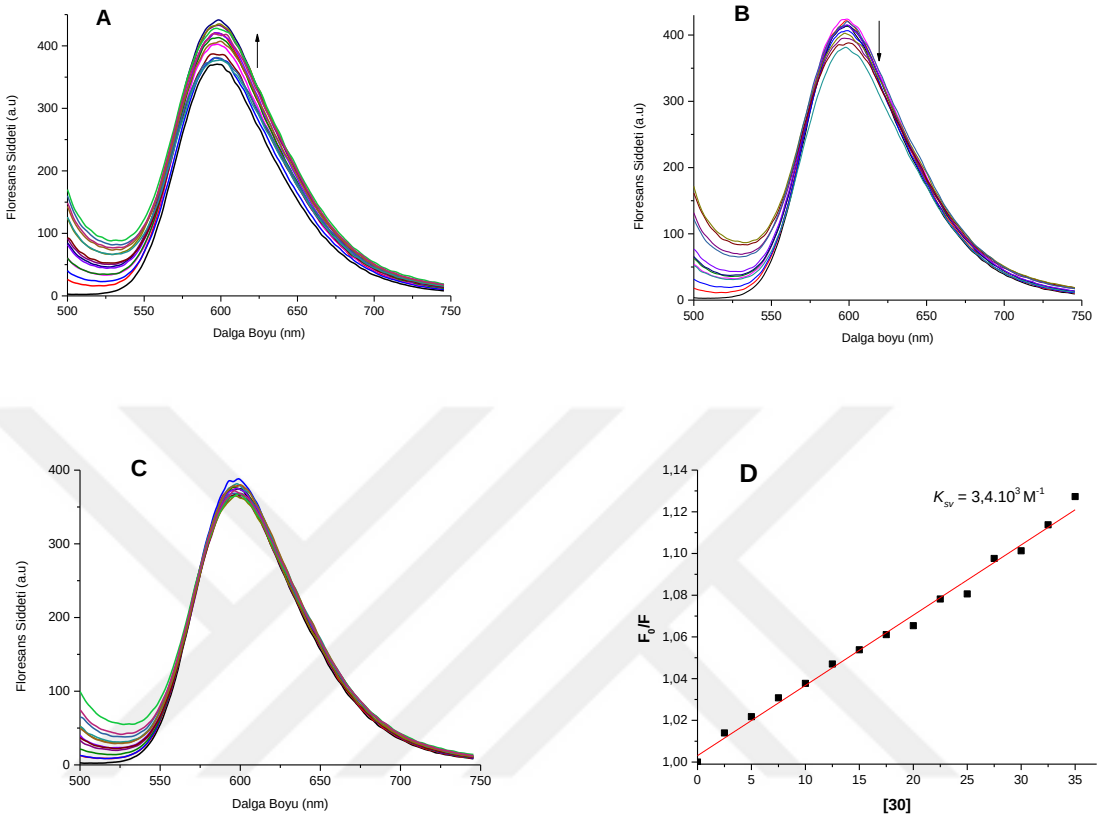
Şekil 4.38. Bileşik **21**'in EtBr ile yapılan deneysel çalışmadan elde edilen emisyon spektrumu (A) ve K_{sv} sabitinin hesaplandığı grafik (B)

21 nolu bileşik ile yapılan deney sonucu, bileşik konsantrasyonun artmasıyla EtBr-DNA kompleksinin emisyonunda başlangıçta yavaş, daha sonra ise hızlı bir düşüşün olduğunu göstermiştir (Şekil 4.38A). Bu sonuç, bileşiğin düşük konsantrasyonlarda DNA'ya az bağlandığını yüksek konsantrasyonlarda ise daha çok bağlandığını göstermiştir. Hesaplanan K_{sv} sabiti ise 1.7×10^3 M^{-1} bulunmuştur (Şekil 4.38B).



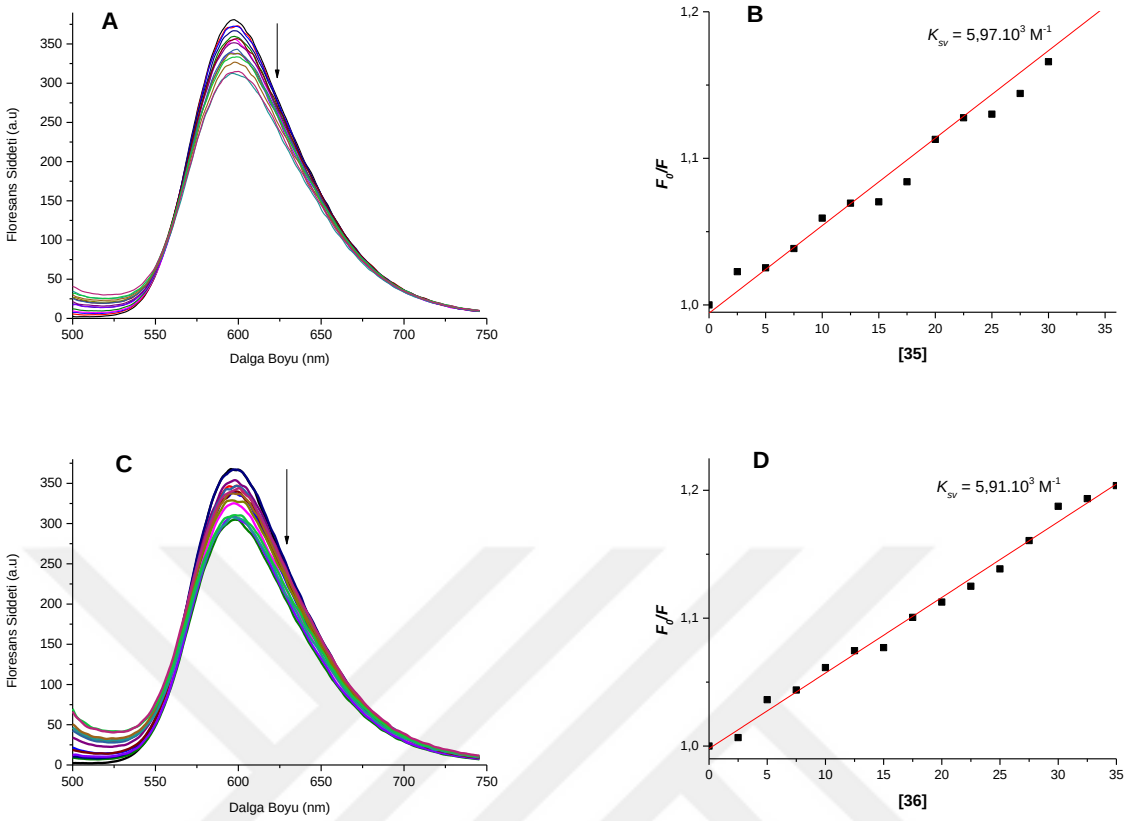
Şekil 4.39. Bileşik **22-24**'in EtBr ile yapılan deneysel çalışmalardan elde edilen emisyon spektrumları (A-C)

22-24 nolu bileşiklerle yapılan deney sonuçlarına göre, bileşiklerin artan konsantrasyonuyla EtBr-DNA kompleksinin emisyonunda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (Şekil 4.39A-B-C).



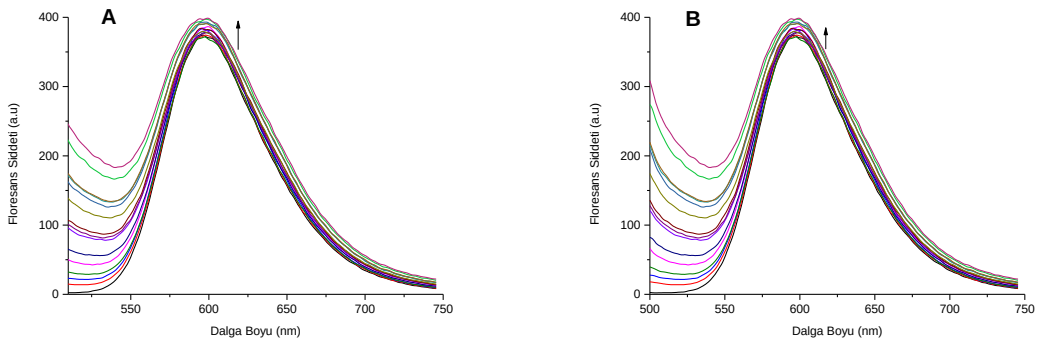
Şekil 4.40. Bileşik **25**-**27**'nin EtBr ile yapılan deneysel çalışmadan elde edilen emisyon spektrumları (A-C) ve **26** nolu bileşiğin emisyon spekrumundan yola çıkılarak K_{sv} sabitinin hesaplandığı grafik (D)

25-27 nolu bileşiklerle yapılan deneylerden farklı sonuçlar elde edilmiştir. **25** nolu bileşik EtBr-DNA kompleksinin emisyonunu yükseltmiştir (Şekil 4.40A). **26** nolu bileşik sönümleme özelliği göstermiştir (Şekil 4.40B). Hesaplanan K_{sv} sabiti 3.4×10^3 M^{-1} bulunmuştur (Şekil 4.40D). **27** nolu bileşik ise konsantrasyonu artırılmasına rağmen EtBr-DNA kompleksinin emisyonunda herhangi bir değişiklik gerçekleştirmemiştir (Şekil 4.40C).



Şekil 4.41. Bileşik **31** ve **32**'nın EtBr ile yapılan deneysel çalışmadan elde edilen emisyon spektrumları (A ve C) ve K_{sv} sabitlerinin hesaplandığı grafikler (B ve D)

31 ve **32** nolu bileşiklerin EtBr ile yapılan deney sonucuna göre, bileşiklerin artan konsantrasyonuyla EtBr-DNA kompleksinin emisyonu azalmıştır (Şekil 4.41A ve 4.41C). Buradan bileşiklerin CT-DNA'ya bağlanarak EtBr'ün bağlanmasını engellediği sonucuna ulaşılmıştır. Stern-Volmer eşitliği kullanılarak hesaplanan K_{sv} sabiti, bileşik **31** için 5.97×10^3 M^{-1}, bileşik **32** için ise 5.91×10^3 M^{-1} olarak bulunmuştur (Şekil 4.41B ve 4.41D).



Şekil 4.42. Bileşik **34** (A) ve **37**'nin (B) EtBr ile yapılan deneysel çalışmadan elde edilen emisyon spektrumları

34 ve **37** nolu bileşiklerin EtBr-DNA kompleksine etkisi, sönümleme yerine floresans şiddeti az miktarda da olsa arttırma şeklinde gözlenmiştir (Şekil 4.42). Buradan bileşiklerin CT-DNA'ya bağlanarak EtBr'ün bağlanmasını artırdığı veya bileşiklerin kendisinin de DNA'ya bağlanarak emisyon şiddetinde artışa sebep olduğu sonucu çıkarılmıştır. Ters bir etki söz konusu olduğu için K_{sv} sabitleri hesaplanamamıştır.

Çizelge 4.3. EtBr ile yapılan yerdeğiştirme deneylerinden bileşikler için hesaplanan K_{sv} sabitleri (M^{-1}) ve R^2 değerleri

Bileşik No	K_{sv} Sabiti (M^{-1})	R^2
4	4.3×10^3	0.989
5	2.4×10^3	0.987
7	5.98×10^3	0.989
10	5.8×10^3	0.997
12	1.1×10^2	0.988
21	1.7×10^3	0.989
26	3.4×10^3	0.993
31	5.97×10^3	0.988
32	5.91×10^3	0.996

Sonuç olarak, EtBr ile gerçekleştilen yarışmalı bağlanma deneylerinden sırasıyla **7**, **10**, **31** ve **32** nolu bileşiklerin en yüksek söndürme sabitine sahip oldukları gözlendi (Çizelge 4.3). Bu bileşikler, CT-DNA ile büyük olasılıkla interkalatif olarak bağlanma yaptıkları için EtBr'ün DNA'ya bağlanmasını önledikleri düşünülmüştür.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

- Bu çalışmada farklı yapıda heterosiklik gruplar içeren *p-ter*-bütilkaliks[4]aren türevleri sentezlenmiş ve karakterizasyonları FTIR, ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, NOESY, HETCOR, MALDI-TOF MS ve elementel analiz ile gerçekleştirilmiştir.
- Sentezlenen bileşiklerden **21**-**24** nolu bileşikler kısmi koni konformasyonunda, diğerleri ise koni konformasyonunda elde edilmiştir.
- Konformasyonların tespiti ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR ile gerçekleştirilmiştir.
- Elde edilen bileşiklerin pBR322 plazmit DNA ile yapılan etkileşim çalışmalarından **5**, **10**, **25**-**27**, **31**, **32**, **34** ve **37** nolu bileşiklerin en yüksek konsantrasyonda (10 mM) plazmit DNA'yı tamamen parçaladıkları yani DNA cleavage etkisi görülmüştür.
- Diğer bileşikler ise plazmit DNA'ya farklı şekillerde etki etmişlerdir.
- Sentezlenen bileşiklerin Guanin-Guanin(G-G) veya Adenin-Adenin (A-A) bölgelerine ilgi gösterip göstermediklerini belirlemek için BamHI ve HindIII enzimleriyle bileşik-pBR322 plazmit DNA eklentilerinin restriksiyon endonükleaz analizi gerçekleştirilmiştir.
- CT-DNA ile yapılan etkileşim çalışmalarında UV-Vis. ve Floresans spektroskopisi kullanılmıştır.
- Absorpsiyon çalışmalarında bileşiklerin çoğunda DNA konsantrasyonunun artışı ile birlikte absorbsiyonlarında artışlar gözlenmiştir.
- Floresans spektrumları **4**, **5**, **7**, **10**, **12**, **31**, **34** ve **37** nolu bileşikler için kaydedildi, diğer bileşiklerin floresans şiddetleri ya çok düşük ya da yok sayılabilecek şekilde gözlendi.
- Floresans emisyon ölçümlerinde **10**-**12**, **31** ve **34** nolu bileşikler sönümlemeye uğrarken, **4**, **7** ve **37** nolu bileşiklerin emisyon şiddetlerinde artış gözlenmiştir.
- Sönümlenmeye uğrayan bileşiklerden en yüksek K_{sv} sabitine sahip **10** ve **11** nolu bileşikler olmuştur.

- Emisyon şiddetinde artış gözlenen bileşiklerden en yüksek bağlanma sabitine sahip olan **37** nolu bileşiktir. Bu bileşiğin yapısında yer alan piren halkasının interkalasyonla DNA'ya bağlanarak etkinlik gösterdiği düşünülmüştür.
- EtBr ile yapılan yarışmalı yer değiştirme deneylerinde, **4**, **5**, **7**, **10**, **12**, **21**, **26**, **31** ve **32** nolu bileşikler için sönümleme gözlenmiş ve her biri için K_{sv} söndürme sabitleri hesaplanmıştır.
- Sonuç olarak bu çalışmada sentezlenen bileşiklerden bazıları bakteriyel plazmit DNA'ya bazıları ise CT-DNA'ya ve bir kısmı da her iki DNA türüne karşı etkinlik göstermiştir.
- Yapısında aromatik gruplar bulunduran (interkalatör benzeri) ve DNA'nın çekirdek bazları arasında mevcut olan hidrojen bağlarını bozabilecek elektron çifti ve/veya hidrojen içeren hetero gruplu kaliksaren molekülleri teorikte beklenenle benzer şekilde hem plazmit hem de CT-DNA'ya farklı şekillerde etki etmişlerdir.

5.2 Öneriler

Çağımızda büyük bir problem olan ve gün geçtikçe daha da korkutucu hale gelen antibiyotik direnci, yani, bakterilerin kullanılan antibiyotiklere karşı oluşturdukları direnç yüzünden yeni ve etkili ilaçların geliştirilmesi elzem ve önemli bir hale gelmiştir. Bu sebeple, antibakteriyel özellik gösteren yeni bileşiklerin tasarlanması ve sentezlenmesi bilim insanlarının yoğun çalıştığı konulardan biri olmuştur. Bu amaçla, bu tez çalışmasında bakterilerin koruyucu DNA'sı olan plazmit DNA'yı parçalayabilecek ve/veya DNA'ya hasar verebilecek kaliks[4]aren bileşikleri sentezlenmiş ve bunlardan bazılarının etkili olduğu gözlenmiştir.

Yine aynı şekilde, günümüzün en büyük sağlık sorunlarından biri olan kanser hastalığını tamamen tedavi edici bir ilacın bulunmaması yeni ve etkin moleküllerin sentezini gerekli kılmıştır. Bu amaçla bu tez çalışmasında, insan DNA'sına çok benzeyen bir ökaryotik DNA olan CT-DNA seçilerek gerçekleştirilen UV-Vis. ve florimetrik spektroskopik çalışmalarda, sentezlenen bileşiklerden bazılarının etkili olduğu görüldü. Bu sonuçlar, kanserli hücrelerden izole edilen DNA çeşitleriyle yapılabilecek daha sonraki çalışmalar için yol gösterici olacaktır. Esas hedef, sitotoksik özelliği olmayan ancak kanserli hücre DNA'sını parçalayabilme özelliğine sahip moleküller sentezlemektir. Bu amaçla, bu tez çalışması içerisinde sentezlenmiş olan moleküllerin normal hücre ile gerçekleştirilecek sitotoksisite çalışmaları da bu hedefin gerçekleştirilebilmesinde önemli bir basamak oluşturacaktır.

KAYNAKLAR

Adarakatti, P. S., Foster, C. W., Banks, C. E., Kumar N. S., A. ve Malingappa, P., 2017, Calixarene bulk modified screen-printed electrodes (SPCCEs) as aone-shot disposable sensor for the simultaneous detection of lead(II), copper(II) and mercury(II) ions: Application to environmental samples, *Sensors and Actuators A*, 267, 517–525.

Aktaş, M., Uyanık, A., Eymur, S. ve Yılmaz, M., 2016, *L*-proline derivatives based on a calix[4]arene scaffold as chiral organocatalysts for the direct asymmetric aldol reaction in water, *Supramolecular Chemistry*, 28 (5-6), 351-359.

Ali, Y., Bunnori, N. M., Susanti, D., Alhassan, A. M. ve Hamid, S. A., 2018, Synthesis, *in-vitro* and *in silico* studies of azo-based calix[4]arenes as antibacterial agent and neuraminidase inhibitor: A new look into an old scaffold, *Frontiers in Chemistry*, 6 (210), 1-10.

Alıntılama, 2018, Erişim Adresi: https://bio.libretexts.org/TextMaps/Genetics/Book%3A_Working_with_Molecular_Genetics_(Hardison)/Unit_I%3A_Genes%2C_Nucleic_Acids%2C_Genomes_and_Chromosomes/2%3A_Structures_of_Nucleic_Acids/2.5%3A_B-Form%2C_A-Form%2C_and_Z-Form_of_DNA: [23.10.2018].

Alodhayb, A., Braim, A. N. M., Beaulieu, L. Y., Valluru, G., Rahman, S., Oraby, A. K. ve Georghiou, P. E., 2016, Metal ion binding properties of a bimodal triazolyl-functionalized calix[4]arene on a multi-array microcantilever system. Synthesis, fluorescence and DFT computation studies, *RSC Advances*, 6, 4387–4396.

Andreetti, G. D., Ungaro, R. ve Pochini, A., 1979, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1005–1007.

Andreetti, G. D., Ungaro, R. ve Pochini, A., 1981, X-Ray crystal and molecular structure of the *p-t*-butylphenol-formaldehyde cyclic octamer cyclo{octa[(5-t-butyl-2-acetoxy-1,3 phenylene)methylene]}, *Journal of the Chemical Society Chemical Communications*, 11, 533-534.

Asfari, Z., Böhmer, V., Harrowfield, M. M. ve Vicens, J., 2001, Calixarenes 2001, *Kluwer, Dordrecht*, Academic Publishers, p.

Baekeland, L. H., 1909, The synthesis, constitution, and uses of Bakelite, *J. Ind. Eng. Chem.*, 1, 149-161.

Basu, H., Feuerstein, B., Zarling, D., Shafer, R. ve Marton, L., 1988, Recognition of Z-RNA and Z-DNA determinants by polyamines in solution: experimental and theoretical studies, *J Biomol. Struct. Dyn.*, 6 (2), 299–309. .

Benevides, J. M. ve Thomas, G. J., 2005, Local Conformational Changes Induced in B-DNA by Ethidium Intercalation, *Biochemistry*, 44 (8), 2993–2999.

Benham, C. ve Mielke, S., 2005, DNA mechanics, *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 7, 21–53.

Bew, S. P. ve Sharma, S. V., 2007, An expedient one-pot synthesis of *para-tert*-butylcalix[8]- and [9]arene, *Chemical Communications*, 9, 975–977.

Bingöl, H., Kocabaş, E., Zor, E. ve Coşkun, A., 2010, A novel benzothiazole based azocalix[4]arene as a highly selective chromogenic chemosensor for Hg^{2+} ion: A rapid test application in aqueous environment, *Talanta*, 82 1538–1542.

Bozkurt, S., Türkmen, M. B. ve Soykan, M., 2016, Synthesis of new chiral calix[4]arene thiourea derivatives for enantiomeric recognition of carboxylate anions, *J Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 84, 35-41.

Brake, M., Böhmer, V., Krämer, P., Vogt, W. ve Wortmann, R., 1993, O-Alkylated P-Nitrocalix[4]arenes, Syntheses, LB-Monolayers and NLO-Properties, *Supramolecular Chemistry*, 2, 65-70.

Braña, M., Cacho, M., Gradillas, A., de Pascual-Teresa, B. ve Ramos, A., 2001, Intercalators as anticancer drugs, *Curr. Pharm. Des.*, 7 (17), 1745-1780.

Breslow, R., 1995, Biomimetic chemistry and artificial enzymes, *Acc. Chem. Res.*, 28, 146-153.

Brown, S. D., Plumb, J. A., Johnston, B. F. ve Wheate, N. J., 2012, Folding of dinuclear platinum anticancer complexes within the cavity of *para*-sulphonatocalix[4]arene, *Inorganica Chimica Acta*, 393, 182–186.

Cadet, J., Delatour, T., Douki, T., Gasparutto, D., Pouget, J., Ravanat, J. ve Sauvaigo, S., 1999, Hydroxyl radicals and DNA base damage, *Mutat Res.*, 424 (1-2), 9-21.

Cante-Mota, I., Moreno-Alcántar, G., Flores-Alamo, M. ve Castillo, I., 2013, Benzimidazole-derived calix[4]arenes with polymerizable styrene groups and their Cu(II) complexes, *Inorganica Chimica Acta*, 407, 11–18.

Cathcart, R., Schwiers, E., Saul, R. ve Ames, B., 1984, Thymine glycol and thymidine glycol in human and rat urine: A possible assay for oxidative DNA damage, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81 (18), 5633-5637.

Champoux, J., 2001, DNA topoisomerases: Structure, function, and mechanism, *Annu. Rev. Biochem.*, 70, 369–413. .

Cherenok, S., Vovk, A., Muravyova, I., Shivanyuk, A., Kukhar, V., Lipkowski, J. ve Kalchenko, V., 2006, Calix[4]arene α-aminophosphonic acids: Asymmetric synthesis and enantioselective inhibition of an alkaline phosphatase, *Organic Letters*, 8 (4), 549-552.

Chini, M. G., Terracciano, S., Riccio, R., Ciao, R., Bifulco, G., Gaeta, C., Troisi, F. ve Neri, P., 2010, Conformationally locked calixarene-based Histone Deacetylase inhibitors, *Organic Letters*, 12 (23), 5382-5385.

Chowdhury, N., Gangopadhyay, M., Karthik, S., Singh, P. N. D., Baidya, M. ve Ghosh, S. K., 2014, Synthesis, photochemistry, DNA cleavage/binding and cytotoxic properties of fluorescent quinoxaline and quinoline hydroperoxides, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 130, 188-198.

Collins, E. M., McKervey, M. A., Madigan, E., Moran, M. B., Owens, M., Ferguson, G. ve Harris, S. J., 1991, Chemically modified calix[4]arenes. Regioselective synthesis of 1,3-(distal) derivatives and related compounds. X-ray crystal structure of a diphenol-dinitrile, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 12, 3137-3142.

Conner, M., Janout, V., Kudelka, I., Dedek, P., Zhu, J. ve Regen, S. L., 1993a, Perforated Monolayers-Fabrication of Calix[6]arene-Based Composite Membranes that Function as Molecular-Sieves, *Langmuir*, 9, 2389-2397.

Conner, M., Janout, V. ve Regen, S. L., 1993b, Molecular-Sieving by A Perforated Langmuir-Blodgett-Film, *Journal of American Chemistry Society*, 115, 1178-1180.

Consoli, G. M. L., Granata, G., Picciotto, R., Blanco, A. R., Geraci, C., Marino, A. ve Nostro, A., 2018, Design, synthesis and antibacterial evaluation of a polycationic calix[4]arene derivative alone and in combination with antibiotics, *Med. Chem. Commun.*, 9, 160–164.

Cornforth, J. W., D'Arcy Hart, P., Nicholls, G. A., Rees, R. J. W. ve Stock, J. A. B., 1955, *J. Pharmacology. Chem.*, 10, 73-86.

Dalbavie, J.-O., Regnouf-de-Vains, J.-B., Lamartine, R., Lecocq, S. ve Perrin, M., 2000, Complexation of Cobalt(II) at the Upper Rim of Two New

Calix[4]arene/Bipyridine-Based Podands, *Europan Journal of Inorgic Chemistry*, 683-691.

Darbost, U., Penin, V., Jeanneau, E., Fe´lix, C., Vocanson, F., Bucher, C., Royal, G. ve Bonnamour, I., 2009, A calixarene-based copper-centered redox switch as a data storage prototype, *Chem. Commun.*, 6774-6776.

De Simone, N. A., Meninno, S., Talotta, C., Gaeta, C. ve Neri, P., 2018, Solvent-Free enantioselective Michael reactions catalyzed by a calixarene-based primary amine thiourea, *Journal of Organic Chemistry*, 83, 10318-10325.

Dedek, P., Webber, A. S., Janout, V., Hendel, R. A. ve Regen, S. L., 1994, Probıng The Pore Structure of Calix[n]arene-Based Langmuir-Blodgett-Film By Gas Permeation Selectivity, *Langmuir*, 10, 3943.

Demirkol, D. O., Yıldız, H. B., Sayin, S. ve Yilmaz, M., 2014, Enzyme immobilization in biosensor constructions: Self-assembled monolayers of calixarenes containing thiols, *RSC Advances*, 4, 19900-19907.

Depauw, A., Kumar, N., Ha-Thi, M.-H. ve Leray, I., 2015, Calixarene-based fluorescent sensors for cesium cations containing Bodipy fluorophore, *J. Phys. Chem.*, 119, 6065−6073.

DNA, 2018, Erişim Adresi, https://courses.lumenlearning.com/microbiology/chapter/structure-and-function-of-dna/ [Ziyaret Tarihi: 26.11.2018].

Douki, T., Reynaud-Angelin, A., Cadet, J. ve Sage, E., 2003, Bipyrimidine photoproducts rather than oxidative lesions are the main type of DNA damage involved in the genotoxic effect of solar UVA radiation, *Biochemistry*, 42 (30), 9221-9226.

Dudic, M., Colombo, A., Sansone, F., Casnati, A., Donofrio, G. ve Ungaro, R., 2004, A general synthesis of water soluble upper rim calix[n]arene guanidinium derivatives which bind to plasmid DNA, *Tetrahedron*, 60, 11613–11618.

Erdemir, S., Tabakcı, B. ve Tabakcı, M., 2016, A highly selective fluorescent sensor based on calix[4]arene appended benzothiazole units for Cu^{2+}, $S^{2-}$and HSO_4^- ions in aqueous solution, *Sensors and Actuators B*, 228, 109-116.

Ferguson, L. ve Denny, W., 1991, The genetic toxicology of acridines, *Mutat Res.*, 258 (2), 123-160.

Gardiner, W. H., 2016, Investigations into the synthesis of upper-rim functionalised calix[4]arenes and their applications, Doktora Tezi, *University of East Anglia, School of Chemistry*, Norwich

Genç, H. N. ve Sırıt, A., 2018, Novel and highly efficient bifunctional calixarene thiourea derivatives as organocatalysts for eneantioselective Micheal reaction of nitroolefins with diketones, *J Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 90, 39-49.

Geraci, C., Consoli, G. M. L., Granata, G., Galante, E., Palmigiano, A., Pappalardo, M., Di Puma, S. D. ve Spadaro, A., 2013, First self-adjuvant multicomponent potential vaccine candidates by tethering of four or eight MUC1 antigenic immunodominant PDTRP units on a calixarene platform: Synthesis and biological evaluation, *Bioconjugate Chem.*, 24, 1710-1720.

Ghosh, A. ve Bansal, M., 2003, A glossary of DNA structures from A to Z, *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.*, 59, 620-626.

Göde, C., Yola, M. L., Yılmaz, A., Atar, N. ve Wang, S., 2017, A novel electrochemical sensor based on calixarene functionalized reduced graphene oxide: Application to simultaneous determination of Fe(III), Cd(II) and Pb(II) ions, *Journal of Colloid and Interface Science*, 508, 525–531.

Groenen, L. C., Ruel, B. H. M., Casnati, A., Timmerman, P., Verboom, W., Harkema, S., Pochini, A., Ungaro R. ve Reinhoudt, D. N., 1991, Syn-1,2-dialkylated calix[4]arenes-general intermadiates in the NaH/DMF tetraalkylation of calix[4]arenes, *Tetrahedron Letters*, 32, 2675-2678.

Gutsche, C. ve Levine, J., 1982, Calixarenes. 6. Synthesis of a functionalizable calix[4]arene in a conformationally rigid cone conformation, *J. Am. Chem. Soc.*, 104 (9), 2652–2653.

Gutsche, C. D. ve Muthukrisnan, R., 1978, Calixarenes. 1. Analysis of the product mixtures produced by the base-catalyzed condensation of formaldehyde with *para*-substituted phenols, *J. Org. Chem.*, 43, 4905-4906.

Gutsche, C. D., 1983a, Calixarenes, *Accounts of Chemical Research*, 16 (5), 161–170.

Gutsche, C. D., 1983b, Calixarenes, *Accounts of Chemical Research*, 16 (5), 161-170.

Gutsche, C. D., 1989, Calixarenes. Monographs in Supramolecular Chemistry, *The Royal Society of Chemistry: Cambridge*, 1.

Gutsche, C. D., Dhawan, B., Leonis, M. ve Stewart, D., 1990, *p-tert*-Butylcalix[6]arene, *Organic Syntheses*, 68, 238-242. .

Gutsche, C. D. ve Iqbal, M., 1990, *p-tert*-Butylcalix[4]arene, *Org. Synth.*, 68, 234-237.

Gutsche, C. D., 1998, Calixarenes Revisited. Monographs in Supramolecular Chemistry, *The Royal Society of Chemistry: Cambridge*.

Gutsche, C. D., Jr, D. E. J. ve Stewart, D. R., 1999, Pathways for the reversion of *p-tert*-Butylcalix[8]arene to *p-tert*-Butylcalix[4]arene, 64, 3747–3750.

Gutsche, C. D., 2008, Calixarenes an Introduction. Monographs in Supramolecular Chemistry, *RSC Publishing: Cambridge, 2nd ed.*

Gutsche, D. C., Dhawan, B., Levine, J. A., Hyun No, K. ve Bauer, L. J., 1983, Calixarenes 9 : Conformational isomers of the ethers and esters of calix[4]arenes, *Tetrahedron*, 39, 409–426.

Gutsche, D. D. ve Bauer, L. J., 1985, *J. Am. Chem. Soc.*, 107, 6059–6063.

Güven, İ., Gezici, O., Bayrakçı, M. ve Morbidelli, M., 2018, Calixarene-immobilized monolithic cryogels for preparative protein chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1558, 59-68.

Harada, T., Ohseto, F. ve Shinkai, S., 1994, *Tetrahedron*, 50, 13377–13394.

Hayes, B. T. ve Hunter, R. F., 1958, *J. Appl. Chem.*, 8, 743–748.

Heath, C., Pejcic, B. ve Myers, M., 2017, Calixarene–polymer hybrid film for selective detection of hydrocarbons in water, *New J. Chem.*, 41, 6195—6202.

http://what-when-how.com/molecular-biology/ethidium-bromide-molecular-biology, Erişim adresi: http://what-when-how.com/molecular-biology/ethidium-bromide-molecular-biology/03.10.2018 17:38): [3.10.2018].

Hu, K., Zhang, W., Yang, H., Cui, Y., Zhang, J., Zhao, W., Yu, A. ve Zhang, S., 2016, Calixarene ionic liquid modified silicagel: A novel stationary phase for mixed-mode chromatography, *Talanta*, 152, 392-400.

Jaime, C., De Mendoza, J., Prados, P., Nieto, P. M. ve Sanchez, C., 1991, C-13 NMR chemical-shifts - A single rule to determine the conformation of calix[4]arenes, *Journal of Organic Chemistry*, 56, 3372–3376.

Jaiswal, M. K., Muwal, P. K., Pandey, S. ve Pandey, P. S., 2017, A novel hybrid macrocyclic receptor based on bile acid and calix[4]arene frameworks for metal ion recognition, *Tetrahedron Letters*, 58, 2153–2156.

Janssen, R. G., Verboom, W., Reinhoudt, D. N., Casnati, A., Freriks, M., Pochini, A., Ugozzoli, F., Ungaro, R., Nieto, P. M., Carramolino, M., Cuevas, F., Prados, P. ve de Mendoza, J., 1993, Procedures for the selective alkylation of calix[6]arenes at the lower rim, *Synthesis-Stuttgart*, 4, 380-386.

Jeffrey, A., 1985, DNA modification by chemical carcinogens, *Pharmacol. Ther.*, 28 (2), 237-272.

Joseph, R., Ramanujam, B., Acharya, A., Khutia, A. ve Rao, C. P., 2008, Experimental and computational studies of selective recognition of Hg^{2+} by amide linked lower rim 1,3-dibenzimidazole derivative of calix[4]arene: Species characterization in solution and that in the isolated complex, including the delineation of the nanostructures, *Journal of Organic Chemistry*, 73, 5745–5758.

Joseph, R., Ramanujam, B., Acharya, A. ve Rao, C. P., 2009, Fluorescence switch-on sensor for Cu^{2+} by an amide linked lower rim 1,3-bis(2-picolyl)amine derivative of calix[4]arene in aqueous methanol, *Tetrahedron Letters*, 50 2735–2739.

Joseph, R., Chinta, J. P. ve Rao, C. P., 2010, Benzothiazole appended lower rim 1,3-di-amido-derivative of calix[4]arene: Synthesis, structure, receptor properties towards Cu^{2+}, iodide recognition and computational modeling, *Inorganica Chimica Acta*, 363, 2833–2839.

Kaemmerer, H., Happel, G. ve Caesar, F., 1972, *Makromol. Chemie*, 162, 179–197.

Kandpal, M., Bandela, A. K., Hinge, V. K., Rao, V. R. ve Rao, C. P., 2013, Fluorescence and piezoresistive cantilever sensing of trinitrotoluene by an upper-rim tetrabenzimidazole conjugate of calix[4]arene and delineation of the features of the complex by molecular dynamics, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 5, 13448−13456.

Kang, D. E., Lee, E. K. ve Bartsch, R. A., 2016, Cone di-ionisable calix[4]arene-1,3-crown-5 ligands with elongated pendant side arms: Synthesis and metal ion extraction, *Supramolecular Chemistry*, 28 (5-6), 551-556.

Karpus, A., Yesypenko, O., Boiko, V., Daran, J.-C., Voitenko, Z., Kalchenko, V. ve Manoury, E., 2018, Synthesis of an enantiomerically pure inherently chiral calix[4]arene phosphonic acid and its evaluation as an organocatalyst, *Journal of Organic Chemistry*, 83, 1146-1153.

Kaya, A., Onac, C., Alpoguz, H. K., Yilmaz, A. ve Atar, N., 2016, Removal of Cr(VI) through calixarene based polymer inclusion membrane from chrome plating bath water, *Chemical Engineering Journal*, 283, 141–149.

Kellici, S., Acord, J., Vaughn, A., Power, N. P., Morgan, D. J., Heil, T., Facq, S. P. ve Lampronti, G. I., 2016, Calixarene assisted rapid synthesis of silver-graphene nanocomposites with enhanced antibacterial activity, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 8, 19038−19046.

Khadra, K. A., Mizyed, S., Marji, D., Haddad, S. F., Ashram, M. ve Foudeh, A., 2015, Synthesis of novel *p-tert*-butylcalix[4]arene Schiff bases and their complexes with C60, potential HIV-Protease inhibitors, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* (136), 1869–1874.

Khan, B., Shah, M. R., Ahmed, D., Rabnawaz, M., Anis, I., Afridi, S., Makhmoor, T. ve Tahir, M. N., 2016, Synthesis, characterization and Cu^{2+} triggered selective fluorescencequenching of Bis-calix[4]arene tetra-triazole macrocycle, *Journal of Hazardous Materials*, 309, 97–106.

Kim, J. S., Park, S. Y., Kim, S. H., Thuéry, P., Souane, R., Matthews, S. E. ve Vicens, J., 2010, A pyrenyl-appended triazole-based calix[4]arene as a fluorescent sensor for iodide ion, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 31 (3), 624-629.

Kivlehan, F., Lefoix, M., Moynihan, H. A., Thompson, D., Ogurtsov, V. I., Herzog, G. ve W. M., D., 2010, Interaction of acridine-calix[4]arene with DNA at the electrified liquid/liquid interface, *Electrochimica Acta*, 55, 3348–3354.

Koziol, L., Essiz, Ş. G., Wong, S. E., Lau, E. Y., Valdez, C. A., Satcher, J. H., Aines, R. D. ve Lightstone, F. C., 2013, Computational analysis of a Zn-bound tris(imidazolyl) calix[6]arene aqua complex: Toward incorporating second-coordination sphere effects into carbonic anhydrase biomimetics, *J. Chem. Theory Comput.*, 9, 1320-1327.

Kwang, H. N. ve Gutsche, C. D., 1982, Calixarenes. 8. Short, stepwise synthesis of *p*-phenylcalix[4]arene and *p*-phenyl-*p*-tert-butylcalix[4]arene and derived products, *The Journal of Organic Chemistry*, 47, 2713–2719.

Lakowicz, J. R. ve Weber, G., 1973, Quenching of fluorescence by oxygen. Probe for structural fluctuations in macromolecules, *Biochemistry*, 12, 4161–4170.

Lee, Y., Lee, E. K., Cho, Y. W., Matsui, T., Kang, I.-C., Kim, T. ve Han, M. H., 2003, *Proteomics*, 3, 2289–2304.

Leslie, A. G., Arnott, S., Chandrasekaran, R. ve Ratliff, R. L., 1980, Polymorphism of DNA double helices, *J. Mol. Biol.*, 143 (1), 49–72.

Li, Z.-T., Ji, G.-Z., Zhao, C.-X., Yuan, S.-D., Ding, H., Huang, C., Du, A.-L. ve Wei, M., 1999, Self-assembling calix[4]arene [2]catenanes. Preorganization, conformation, selectivity, and efficiency, *Journal of Organic Chemistry*, 64, 3572-3584.

Liu, Y. ve Guo, D.-S., 2012, Calixarene-based supramolecular polymerization in solution, *Chem. Soc. Rev.*, 41, 5907-5921.

Lu, J., Zhang, W., Zhang, Y., Zhao, W., Hu, K., Yu, A., Liu, P., Wu, Y. ve Zhang, S., 2014, A new stationary phase for high performance liquid chromatography: Calix[4]arene derivatized chitosan bonded silica, *Journal of Chromatography A*, 1350, 61-67.

Lu, X. J., Shakked, Z. ve Olson, W. K., 2000, A-form conformational motifs in ligand-bound DNA structures, *J. Mol. Biol.*, 300 (4), 819-840.

Luo, Y., Xiao, F., Qian, S., Lu, W. ve Yang, B., 2011, Synthesis and *in vitro* cytotoxic evaluation of some thiazolylbenzimidazole derivatives, *Europan Journal of Medicinal Chemistry*, 46, 417-422.

Maity, D., Chakraborty, A., Gunupuru, R. ve Paul, P., 2011, Calix[4]arene based molecular sensors with pyrene as fluoregenic unit: Effect of solvent in ion selectivity and colorimetric detection of fluoride, *Inorganica Chimica Acta*, 372, 126–135.

Maity, D., Kumara, A., Gunupurua, R. ve Paul, P., 2014, Colorimetric detection of mercury(II) in aqueous media with high selectivity using calixarene functionalized gold nanoparticles, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 455, 122–128.

Mandelkern, M., Elias, J., Eden, D. ve Crothers, D., 1981, The dimensions of DNA in solution, *Journal of Molecular Biology*, 152 (1), 153-161.

Mao, X., Zhao, H., Luo, L., Tian, D. ve Li, H., 2015, Highly sensitive chiral recognition of amino propanol in serum with *R*-mandelic acid-linked calix[4]arene modified graphene, *J Mater. Chem.*, 3, 1325-1329.

Mao, Z., Wang, Z., Li, J., Song, X. ve Luo, Y., 2010, Rapid and cheap synthesis of benzimidazoles via intermittent microwave promotion: A simple and potential industrial application of air as oxidant, *Synthetic Communications*, 40, 1963–1977.

Markowitz, M. A., Bielski, R. ve Regen, S. L., 1988, Perforated Monolayers - Porous and Cohesive Monolayers From Mercurated Calix[6]arenes, *Journal of American Chemistry Society*, 110, 7545-7546.

Markowitz, M. A., Janout, V., Castner, D. G. ve Regen, S. L., 1989, Perforated Monolayers Design and Synthesis of Porous and Cohesive Monolayers fom Mercurated Calix[n]arenes, *Journal of American Chemistry Society*, 11, 8192-8200.

Marra, A., Zelli, R., D'Orazio, G., La Ferla, B. ve Dondoni, A., 2014, Synthesis and glycosidase inhibition properties of triazole-linked calixarene iminosugar clusters, *Tetrahedron*, 70, 9387-9393.

Mirza-Aghayan, M., Yarmohammadi, M., Zadmard, R. ve Boukherroub, R., 2014, A convenient and efficient one-pot method for the synthesis of novel acridine-calix[4]arene derivatives as new DNA binding agents via multicomponent reaction, *Supramolecular Chemistry*, 26 (5-6), 442–449.

Mohan, B., Modi, K., Bhatia, P., Sharma, H. K., Mishra, D., Jain, V. K. ve Arora, L. S., 2018, An ionic receptor for Zn^{2+} metal ion using synthesised bis-formylpyrazole calix[4]arene and its computational study, *Supramolecular Chemistry*, 30 (7), 589-599.

Morohashi, N., Iijima, S., Akasaka K. ve T., H., 2017, Selective extraction of Pd(II) by *p-tert*-butylcalix[4]arenedicarboxylic acid, *New J. Chem.*, 41, 2231—2234.

Mourer, M., Psychogios, N., Laumond, G., Aubertin, A.-M. ve Regnouf-de-Vains, J.-B., 2010, Synthesis and anti-HIV evaluation of water-soluble calixarene-based bithiazolyl podands, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18, 36-45.

Mukherjee, A. ve Sasikala, W. D., 2013, Drug–DNA Intercalation: From discovery to the molecular mechanism, *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 92, 1-62.

Mummidivarapu, V. V. S., Hinge, V. K., Tabbasum, K., Gonnade, R. G. ve Rao, C. P., 2013, Triazole-linked anthracenyl-appended calix[4]arene conjugate as receptor for Co(II): Synthesis, spectroscopy, microscopy, and computational studies, *Journal of Organic Chemistry*, 78, 3570−3576.

Munch, J. H. ve Gutsche, C. D., 1990, *p-tert*-Butylcalix[8]arene, *Org. Synth.*, 68, 243-246.

Muneer, S., Memon, S., Pahnwar, Q. K., Bhatti, A. A. ve Khokhar, T. S., 2017, Synthesis and investigation of antimicrobial properties of pyrrolidine appended calix[4]arene, *Journal of Analytical Science and Technology*, 8 (3), 1-6.

Muthukrishnan, R. ve Gutsche, C. D., 1979, Calixarenes. 3. Preparation of the 2,4-dinitrophenyl and camphorsulfonyl derivatives of the calix[8]arene from *p-tert*-butylphenol", *J. Org. Chem.*, 44, 3962-3964. .

Nandi, P., Solovyov, A., Okrut, A. ve Katz, A., 2014, Al^{III}-Calix[4]arene catalysts for asymmetric Meerwein-Ponndorf-Verley reduction, *ACS Catalysis*, 4, 2492-2495.

Narkhede, N., Uttam, B. ve Rao, C. P., 2018, Inorganic-organic covalent hybrid of polyoxometalate-calixarene: Synthesis, characterization and enzyme mimetic activity, *Inorganica Chimica Acta*, 483, 337-342.

Nimse, S. B., Song, K.-S., Kim, J., Ta, V.-T., Nguyena, V.-T. ve Kim, T., 2011, A generalized probe selection method for DNA chips, *Chem. Commun.*, 47, 12444–12446.

O'Toole, L., McGinley, J. ve Creaven, B. S., 2013, Self-assembly of calix[4]arene amine derivatives, *Tetrahedron*, 69 7220-7226.

Oh, D., Kim, Y. ve Rich, A., 2002, Z-DNA-binding proteins can act as potent effectors of gene expression in vivo, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99 (26), 16666–16671.

Ostos, F. J., Lebron, J. A., Moyá, M. L., Deasy, M. ve López-Cornejo, P., 2015, Binding of DNA by a dinitro-diester calix[4]arene: Denaturation and condensation of DNA *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 127, 65–72.

Özkan, Ş. Ç., Yılmaz, A. ve Özmen, İ., 2014, Synthesis of new calix[4]arene amide derivatives and investigation of their DNA cleavage activity, *Supramolecular Chemistry*, 26, 25-31.

Özkan, Ş. Ç., Yılmaz, A., Arslan, E., Açık, L., Sayın, Ü. ve Gülbahçe Mutlu, E., 2015, Novel copper(II) complexes of *p-tert*-butylcalix[4]arene diamide derivatives: Synthesis, Antimicrobial and DNA cleavage activities, *Supramolecular Chemistry*, 27, 255-267.

Pabo, C. ve Sauer, R., 1984, Protein-DNA recognition, *Annu. Rev. Biochem.*, 53.

Pandya, A., Sutariya, P. G. ve Menon, S. K., 2013, A non enzymatic glucose biosensor based on an ultrasensitive calix[4]arene functionalized boronic acid gold nanoprobe for sensing in human blood serum, *Analyst*, 138, 2483–2490.

Park, S. Y., Yoon, J. H., Hong, C. S., Souane, R., Kim, J. S., Matthews, S. E. ve Vicens, J., 2008, A Pyrenyl-Appended Triazole-Based Calix[4]arene as a Fluorescent Sensor for Cd2+ and Zn2+, *Journal of Organic Chemistry*, 73, 8212–8218.

Patel, M. B., Modi, N. R., Ravalb, J. P. ve Menon, S. K., 2012, Calix[4]arene based 1,3,4-oxadiazole and thiadiazole derivatives: Design, synthesis, and biological evaluation, *Organic & Biomolecular Chemistry*, 10, 1785–1794.

Pathak, R. K., Hinge, V. K., Mondala, P. ve Rao, C. P., 2012, Ratiometric fluorescence off-on-off sensor for Cu^{2+} in aqueous buffer by a lower rim triazole linked benzimidazole conjugate of calix[4]arene, *Dalton Trans.*, 41, 10652–10660.

Pathak, R. K., Dessingou, J., Hinge, V. K., Thawari, A. G., Basu, S. K. ve Rao, C. P., 2013, Quinoline driven fluorescence turn on 1,3-bis-calix[4]arene conjugate-based receptor to discriminate Fe^{3+} from Fe^{2+}, *Analytical Chemistry*, 85, 3707−3714.

Pham, X. Q., Jonusauskaite, L., Depauw, A., Kumar, N., Lefevrea, J. P., Perrierc, A., Ha-Thia, M.-H. ve I., L., 2018, New water-soluble fluorescent sensors based on calix[4]arene biscrown-6 for selective detection of cesium, *Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry*, 364, 355–362.

Ponnuswamy, P. ve Gromiha, M., 1994, On the conformational stability of oligonucleotide duplexes and tRNA molecules, *Journal of Theoretical Biology*, 169 (4), 419-432.

Pur, F. N. ve Dilmaghani, K. A., 2014, Calixplatin: Novel potential anticancer agent based on the platinum complex with functionalized calixarene, *Journal of Coordination Chemistry*, 67 (3), 440–448.

Rajavelu, K. ve Rajakumar, P., 2015, Synthesis and photophysical, electrochemical, antibacterial, and DNA binding studies of triazinocalix[2]arenes, *Journal of Materials Chemistry B*, 3, 3340—3350.

Ramakrishna, V., Suresh, E., Borich, V. P., Bhatt, A., K., ve Paul, P., 2015, Synthesis, crystal structures and competitive binding property of a family of calix[4]arene-biscrown-5/6 and their application in extraction of alkali metal ions from sea bittern, *Polyhedron*, 101, 65-77.

Rebilly, J.-N., Bistri, O., Colasson, B. ve Reinaud, O., 2012, Supramolecular control of hetero-multinuclear polytopic binding of metal ions (Zn^{II}, Cu^{I}) at a single calix[6]arene-based scaffold, *Inorganic Chemistry*, 51, 5965−5974.

Remy, C., Guyon, H., Rebilly, J.-N., Leray, I. ve Reinaud, O., 2017, Selective fluorimetric detection of primary alkyl amines by a calix[6]arene funnel complex, *Chem. Eur. J.*, 23, 8669 –8677.

Rescifina, A., Zagni, C., Mineo, P. G., Giofrè, S. V., Chiacchio, U., Tommasone, S., Talotta, C., Gaeta, C. ve Neri, P., 2014, DNA Recognition with Polycyclic-Aromatic-Hydrocarbon-Presenting Calixarene Conjugates *Europan Journal of Organic Chemistry*, 34, 7605–7613.

Rodik, R. V., Anthony, A.-S., Kalchenko, V. I., Me´lya, Y. ve Klymchenko, A. S., 2015, Cationic amphiphilic calixarenes to compact DNA into small nanoparticles for gene delivery, *New J. Chem.*, 39, 1654—1664.

Rothenburg, S., Koch-Nolte, F. ve Haag, F., 2001, DNA methylation and Z-DNA formation as mediators of quantitative differences in the expression of alleles, *Immunol Rev.*, 184, 286-298.

Saitz, C., Fuente, J. D. L., Jullian, C., Pessoa, H. ve Olea, C., 2008, Synthesis of calix[4]arenes bearing benzothiazolyl, benzoxazolyl and benzoimidazolyl heterocycles, *Journal of Chemical Research (S)*, 6, 324–326.

Salvio, R., Volpi, S., Cacciapaglia, R., Sansone, F., Mandolini, L. ve A., C., 2016, Upper rim bifunctional cone-calix[4]arenes based on a ligated metal ion and a guanidinium unit as DNAase and RNAase mimics, *J. Org. Chem.*, 81, 4728-4735.

Sap, A., Tabakcı, B. ve Yılmaz, A., 2012, Calix[4]arene-based Mannich and Schiff bases as versatile receptors for dichromate anion extraction: synthesis and comparative studies, *Tetrahedron*, 68 8739-8745.

Saravanan, V., Kannan, A. ve Rajakumar, P., 2017, *p*-tert-Butylcalix[4]arene core based ferrocenyl dendrimers: Novel sensor for toxic Hg^{2+} ion even in presence of Zn^{2+}, Cu^{2+} and Ag^{+} ions, *Sensors and Actuators B*, 242, 904-911.

Schulz, M., Gehl, A., Schlenkrich, J., Schulze, H. A., Zimmermann, S. ve Schaate, A., 2018, A calixarene-based metal–organic framework for highly selective NO_2 detection, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 57, 12961 –12965.

Seganish, J., Fettinger, J. C. ve Davis, J. T., 2006, Facilitated chloride transport across phosphatidylcholine bilayers by an acyclic calixarene derivative: Structure-function relationships, *Supramolecular Chemistry*, 18 (3), 257–264.

Sharma, P., Kumar, A. ve Mandloi, A., 2002, Synthesis of 25,26,27-tris(ethoxycarbonylmethoxy)-28-(substituted oxycarbonylmethoxy)calix[4]arene: First example of caliximidazole/benzimidazole analog, *Synthetic Communications*, 32 (17), 2619–2626.

Shigenaga, M., Gimeno, C. ve Ames, B., 1989, Urinary 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86 (24), 9697–9701.

Shimojo, K., Oshimo, T., Naganawa, H. ve Goto, M., 2007, Calixarene-assisted protein refolding via liquid-liquid extraction, *Biomacromolecules*, 8, 3061-3066.

Shinkai, S., Iwamoto, K., Araki, K. ve Matsuda, T., 1990, "Cone"–"Partial Cone" Isomerism in Tetramethoxy-*p*-*t*-butylcalix[4]arene. Novel Solvent Effects and Metal Template Effects

Chemistry Letters, 19 (8), 1263-1266.

Sidorov, V., Kotch, F. W., Abdrakhmanova, G., Mizani, R., Fettinger, J. C. ve Davis, J. T., 2002, Ion channel formation from a calix[4]arene amide that binds HCl, *J. Am. Chem. Soc.*, 124 (10), 2267-2278.

Snurnikova, O. V., Lukyanenko, A. P., Alekseeva, E. A., Korovin, Y. V. ve Rusakova, N. V., 2011, Synthesis and spectral-luminescent properties of polynuclear lanthanide complexes with functionalized calix[4]arenes, *Macroheterocycles*, 4 (2), 93-96.

Soares Jr., M. N., Gáscon, T. M., Fonseca, F. L. A., Ferreira, K. S. ve Bagatin, I. A., 2014, Evaluation of the biological effects of 5-Cl-8-oxyquinolinepropoxycalix[4]arene and 8-oxyquinolinepropoxycalix[4]arene *in vitro* and *in vivo*, *Materials Science and Engineering C*, 40 260–266.

Soldatkin, O. O., Marchenko, S. V., Soldatkina, O. V., Cherenok, S. O., Kalchenko, O. I., Prynova, O. S., Sylenko, O. M., Kalchenko, V. I. ve Dzyadevych, S. V., 2018, Conductometric sensor with calixarene‐based chemosensitive element for the arginine detection, *Chemical Papers*, 72, 2687-2697.

Song, K.-S., Nimse, S. B., Kim, J., Kim, J., Nguyen, V.-T., Ta, V.-T. ve Kim, T., 2011, 9G DNAChip: Microarray based on the multiple interactions of 9 consecutive guanines, *Chemical Communication*, 47, 7101–7103.

Sparke, A. E., Fisher, C. M., Mewis, R. E. ve Archibald, S. J., 2010, Synthesis, structure and reactivity of 1-(4-nitrobenzyl)-2-chloromethyl benzimidazole, *Tetrahedron Letters*, 51, 4723–4726.

Stephens, T., Bunde, C. ve Fillmore, B., 2000, Mechanism of action in thalidomide teratogenesis, *Biochem. Pharmacol.*, 59 (12), 1489-1499.

Stewart, D. R. ve Gutsche, C. D., 1993, The one-step synthesis of *p-tert*-butylcalix[5]arene, *Organic Preparations and Procedures International*, 25, 137–139.

Stewart, D. R. ve Gutsche, C. D., 1999, Isolation, characterization, and conformational characteristics of *p-tert*-Butylcalix[9−20]arenes, *Journal of the American Chemical Society*, 121 (17), 4136–4146.

Sudrajat, H. ve Armunanto, R., 2008, Conformational equilibrium and spectroscopic properties of calix[4]arene: Theoretical study using *AB initio* method, *Indonesian Journal of Chemistry*, 8 (3), 397-403.

Sènèque, O., Rondelez Y. L., Le Clainche L., Inisan C., Rager M.-N., Giorgi M. ve O., R., 2001, Calix[6]arene-Based *N3*-Donors-A Versatile Supramolecular System with Tunable Electronic and Steric Properties-Study on the Formation of Tetrahedral Dicationic Zinc Complexes in a Biomimetic Environment, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 10, 25972-22604.

Tabakcı, B., Yılmaz, M. ve Bedük, A. D., 2012, Novel calix[4]arene-based polymeric catalysts as Acyltransferase enzyme mimics, *Journal of Applied Polymer Science*, 125, 1012–1019.

Tao, X., Feng, Q. ve He, H., 2018, Preparation of calixarene-PI nanofibers and application as a selective adsorbent for heavy metal ions, *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 13 (1), 1-8.

Thondorf, I., Brenn, J., Brandta, W. ve Böhmer, V., 1995, *Tetrahedron Lett.*, 36, 6665–6668.

Tian, D., Yan, H. ve Li, H., 2010, A selective fluorescent probe of Hg^{2+} based on triazole-linked 8-oxyquinoline calix[4]arene by click chemistry, *Supramolecular Chemistry*, 22 (4), 249–255.

Trush, V. V., Cherenok, S. O., Tanchuk, V. Y., Kukhar, V. P., Kalchenko, V. I. ve Vovk, A. I., 2013, Calix[4]arene methylenebisphosphonic acids as inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23, 5619–5623.

Valerie, K. ve Povirk, L., 2003, Regulation and mechanisms of mammalian double-strand break repair, *Oncogene.*, 22 (37), 5792-5812.

Veesar, I. A., Memon, S. ve Syed, M. N., 2013, Synthetic *p*-tetrasulphonatocalix[4]arene as novel excipient for lipase-complex, *Biochemical Engineering Journal*, 79, 71-76.

Vikipedi, 2018.

Vocanson, F., Lamartine, R., Lanteri, P., Longeray, R. ve Gauvrit, J. Y., 1995, A One-Step Synthesis of *p-tert*-Butylcalix[7]arene is proposed-optimization is carried out by the method of experimental plants, *New Journal of Chemistry*, 19 (7), 825-829.

Vocanson, F. ve Lamartine, R., 1996, Characterization of synthetic precursors of *p-tert*-butylcalix[4]arene and *p-tert*-butylcalix[8]arene. Mechanisms of formation of calix[4]arene and calix[8]arene, *Supramolecular Chemistry*, 7, 19–25.

Vovk, A. I., Kononets, L. A., Tanchuk, V. Y., Cherenok, S. O., Drapailo, A. B., Kalchenko, V. I. ve Kukhar, V. P., 2010, Inhibition of *Yersinia* protein tyrosine phosphatase by phosphonate derivatives of calixarenes, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20, 483–487.

Wahl, M. ve Sundaralingam, M., 1997, Crystal structures of A-DNA duplexes, *Biopolymers*, 44 (1), 45-63.

Wang, F., Wu, Y., Lu, K. ve Ye, B., 2013, A simple but highly sensitive and selective calixarene-based voltammetric sensor for serotonin, *Electrochimica Acta*, 87, 756– 762.

Wang, H. W., Feng, Y. Q. ve Xue, J. Q., 2009, A novel fluorescent calix[4]arene derivative with benzimidazole units for selective recognition to Fe^{3+} and Cr^{3+} *Letters in Organic Chemistry*, 6 (5), 409-411.

Wang, J., 2002, Cellular roles of DNA topoisomerases: A molecular perspective, *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 3 (6), 430-440.

Wang, Y.-X., Guo, D.-S., Duan, Y.-C., Wang, Y.-J. ve Liu, Y., 2015, Amphiphilic *p*-sulfonatocalix[4]arene as ‘‘Drug Chaperone’’ for escorting anticancer drugs, *Scientific Reports*, 5 (9019), 1-7.

Ward, J., Li, L., Regan, F., Deasy, M. ve Kelleher, F., 2015, Bis(spirolactam) 1,3-double-armed calix[4]arene compounds and their application as extractants for the determination of heavy metal ions, *J. Incl. Phenom. Macrocycl Chem.*, 83, 377–386.

Wing, R., Drew, H., Takano, T., Broka, C., Tanaka, S., Itakura, K. ve Dickerson, R., 1980, Crystal structure analysis of a complete turn of B-DNA, *Nature*, 287 (5784), 755–758. .

Yang, J., Li, Z., Tan, W., Wu, D., Tao, Y. ve Kong, Y., 2018, Construction of an electrochemical chiral interface by the self-assembly of chiral calix[4]arene and cetyltrimethylammonium bromide for recognition of tryptophan isomers, *Electrochemistry Communications*, 96, 22-26.

Yang, K., Li, S.-Z., Wang, Y.-H., Zhang, W.-Z., Xu, Z.-H., Zhou, X.-Y., Zhu, R.-X., Luo, J. ve Wan, Q., 2014, Enantioselective recognition of an inherently chiral calix[4]arene crown-6 carboxylic acid cone conformer towards chiral aminoalcohols, *RSC Advances*, 4, 6517-6526.

Zadmard, R., Tabar-Heydar, K. ve Imani, M., 2015, Separation of amino acids by high performance liquid chromatography based on calixarene-bonded stationary phases, *Journal of Chromatographic Science*, 53, 702-707.

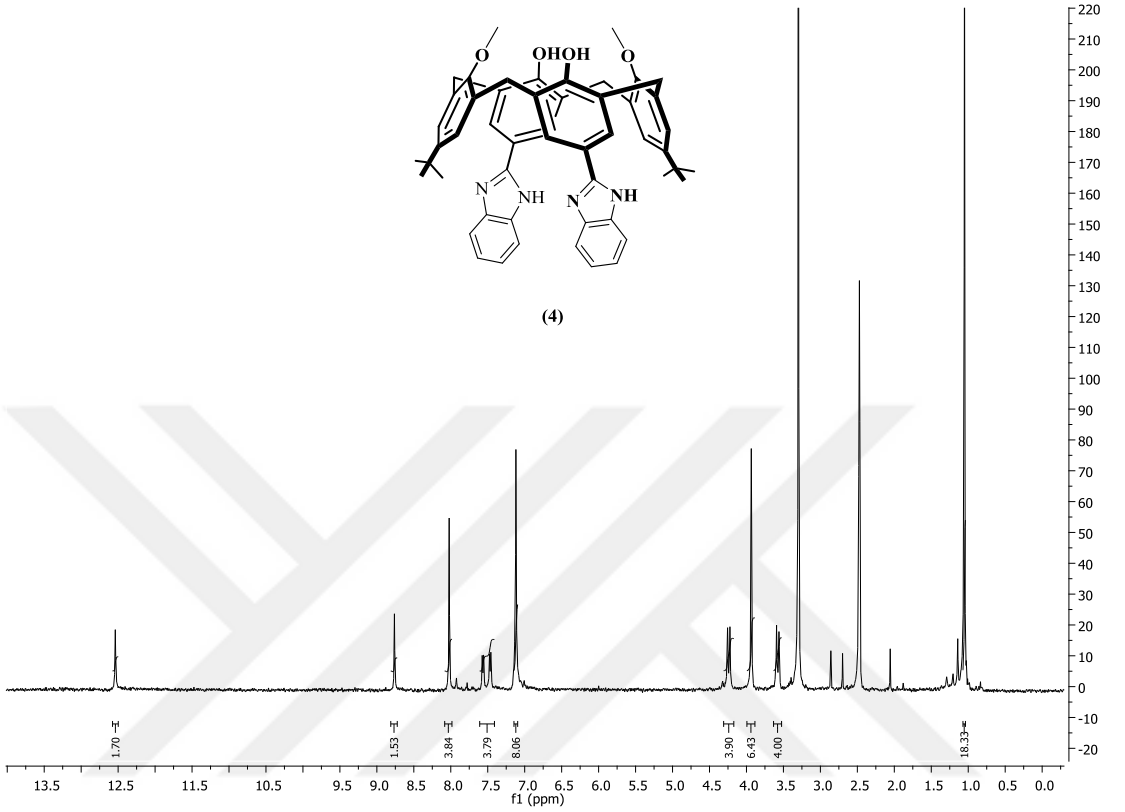
Zhang, W., Zhang, Y., Zhang, Y., Lan, C., Miao, Y., Deng, Z., Ba, X., Zhao, W. ve Zhang, S., 2019, Tetra-proline modified calix[4]arene bonded silica gel: A novel stationary phase for hydrophilic interaction liquid chromatography, *Talanta*, 193, 56-63.

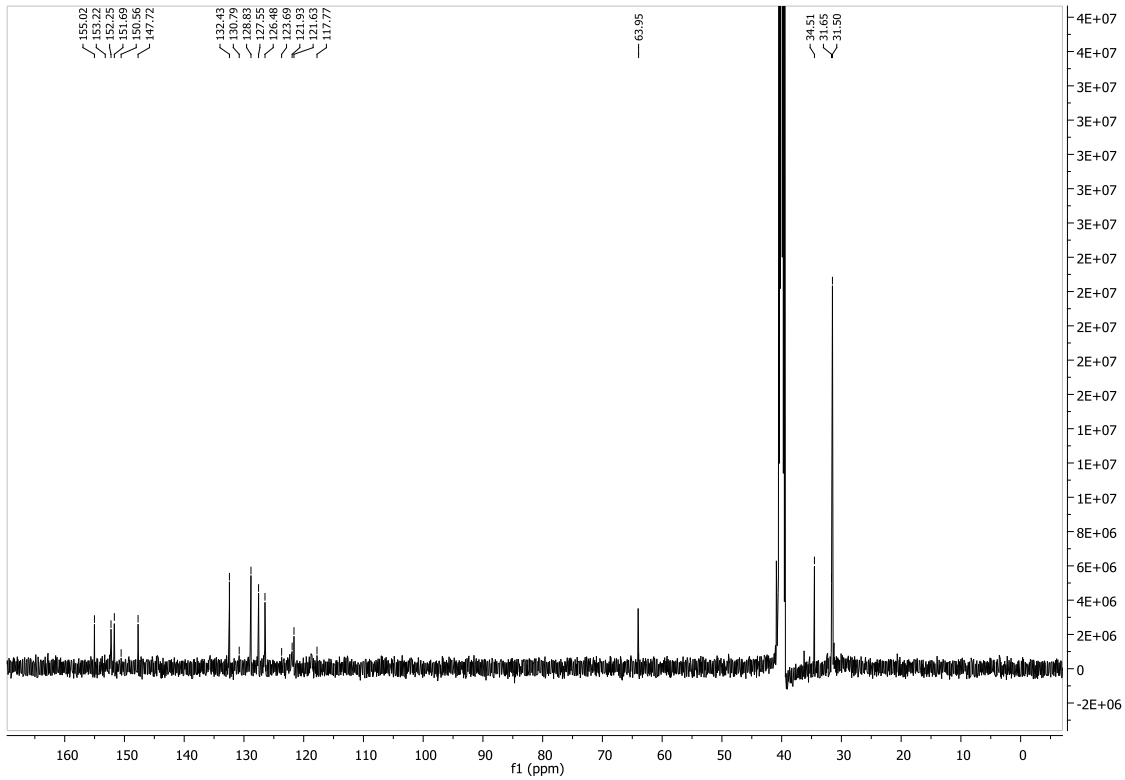
Zheng, Z., Geng, W.-C., Gao, J., Mu, Y.-J. ve Guo, D.-S., 2018, Differential calixarene receptors create patterns that discriminate glycosaminoglycans, *Org. Chem. Front.*, 5, 2685–2691.

Zinke, A., Ziegler, E., Martinowitz, E., Pichelmayer, H., Tomio, M., Wittmann-Zinke, H. ve Zwanziger, S., 1944, Zur Kenntnis des Hartungs-prozesses von Phenol-Formaldehyd-Harzen, X. Mitteilung, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 77B, 264-272.

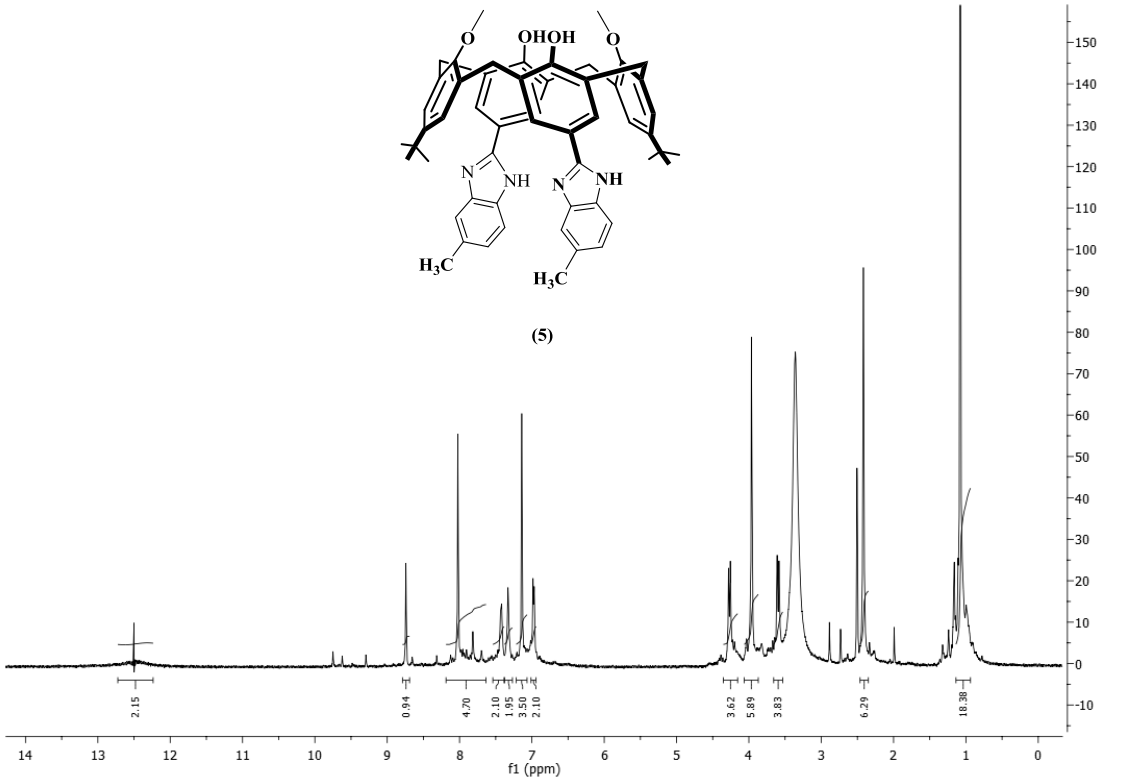
EKLER

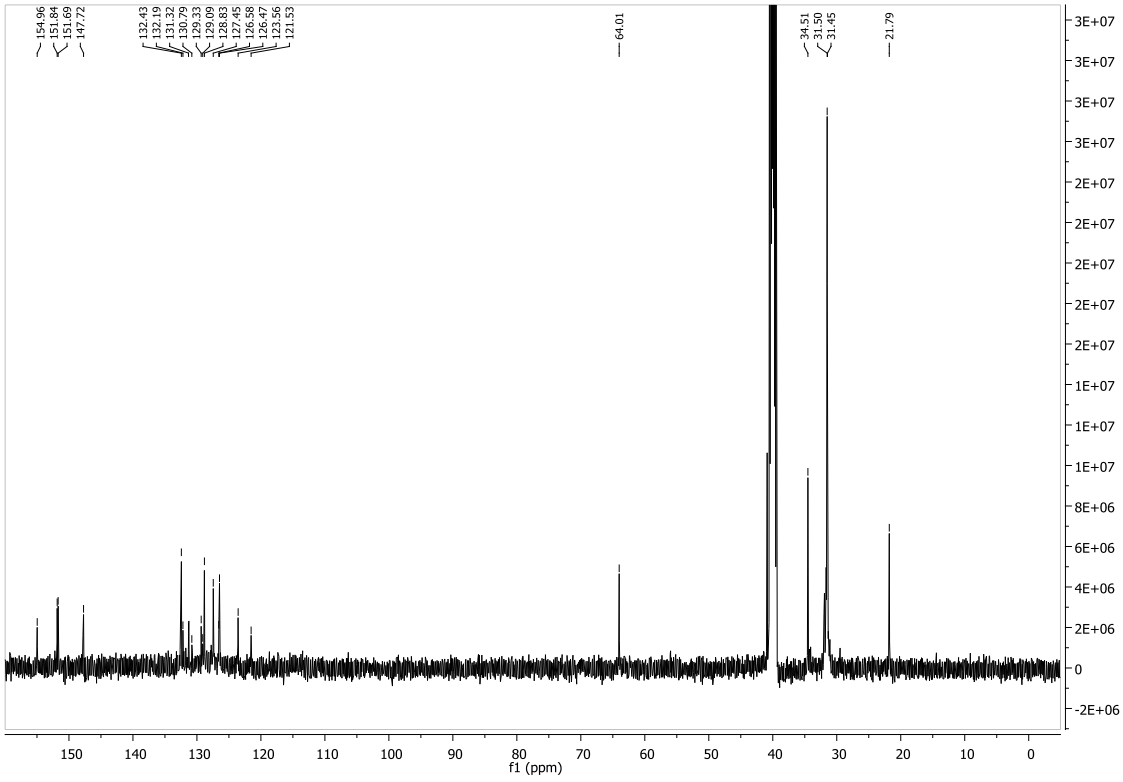
EK-1 Bileşik **4**'ün ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu



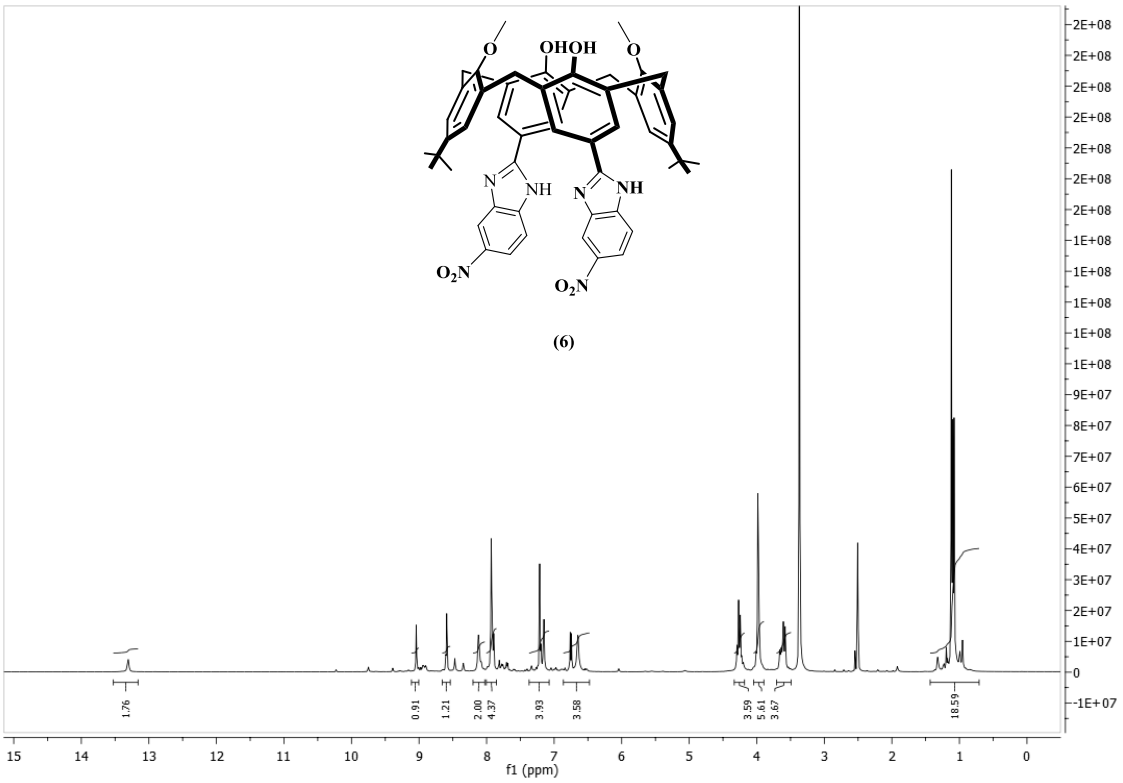


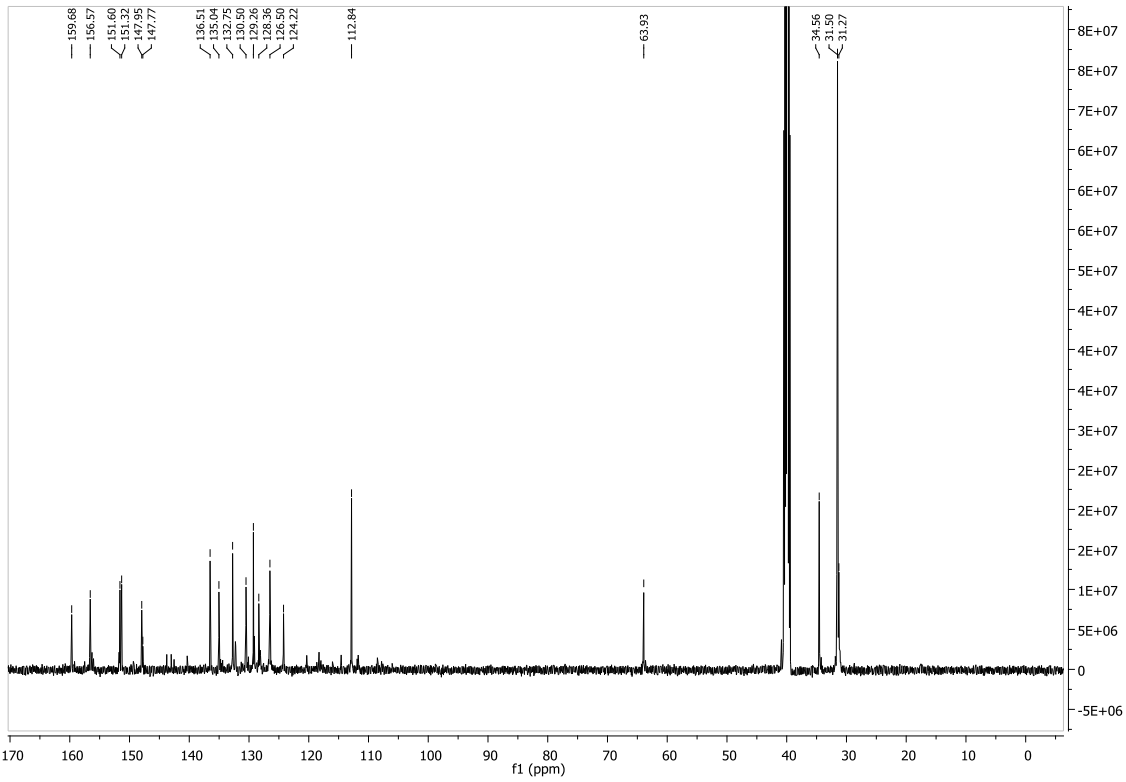
EK-2 Bileşik **5**'in ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu



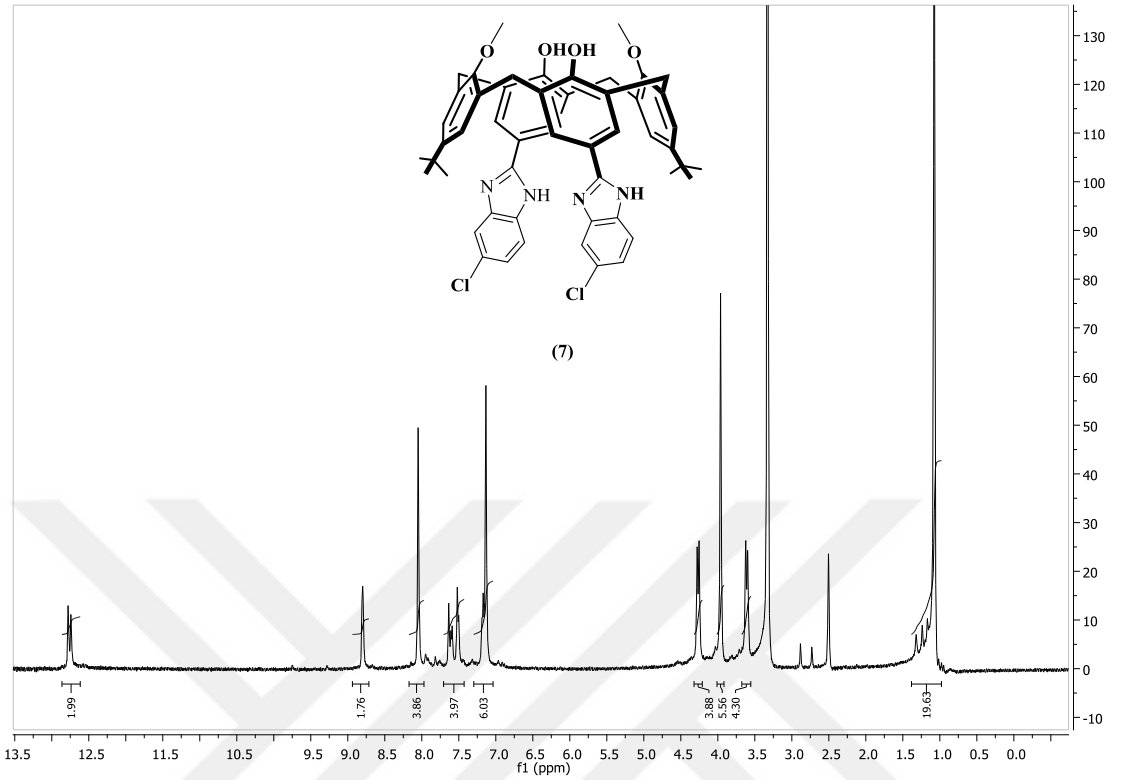


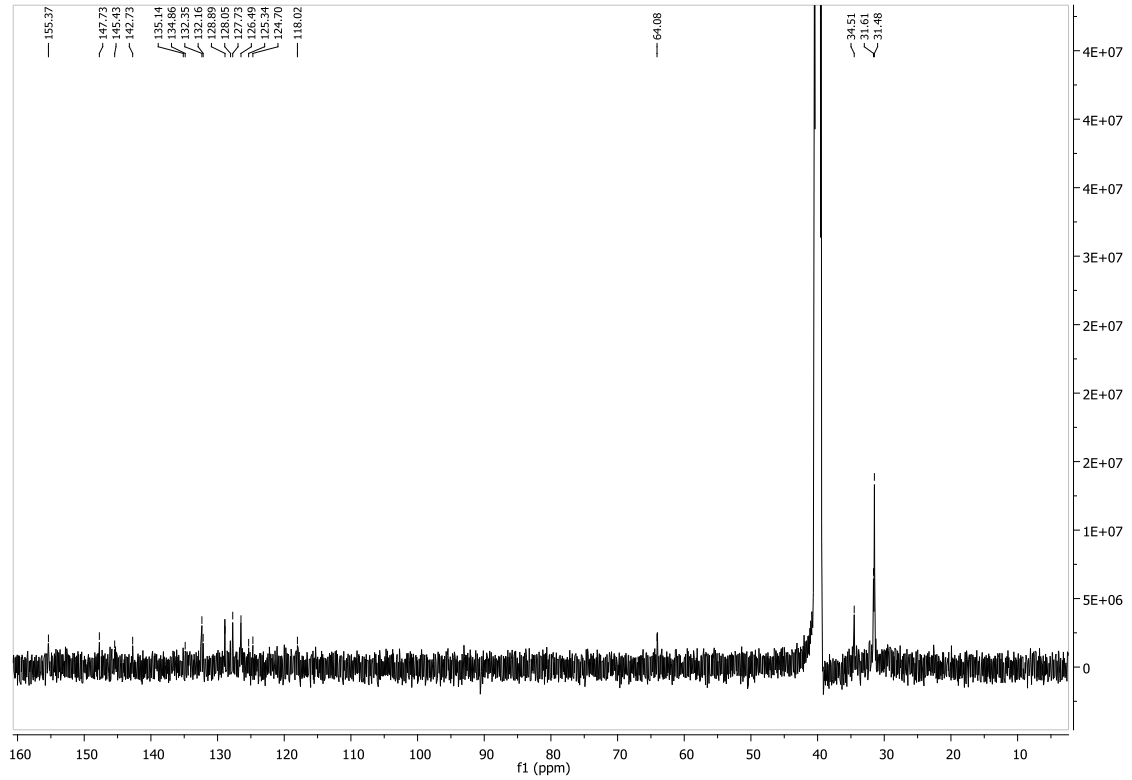
EK-3 Bileşik **6**'nın ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu



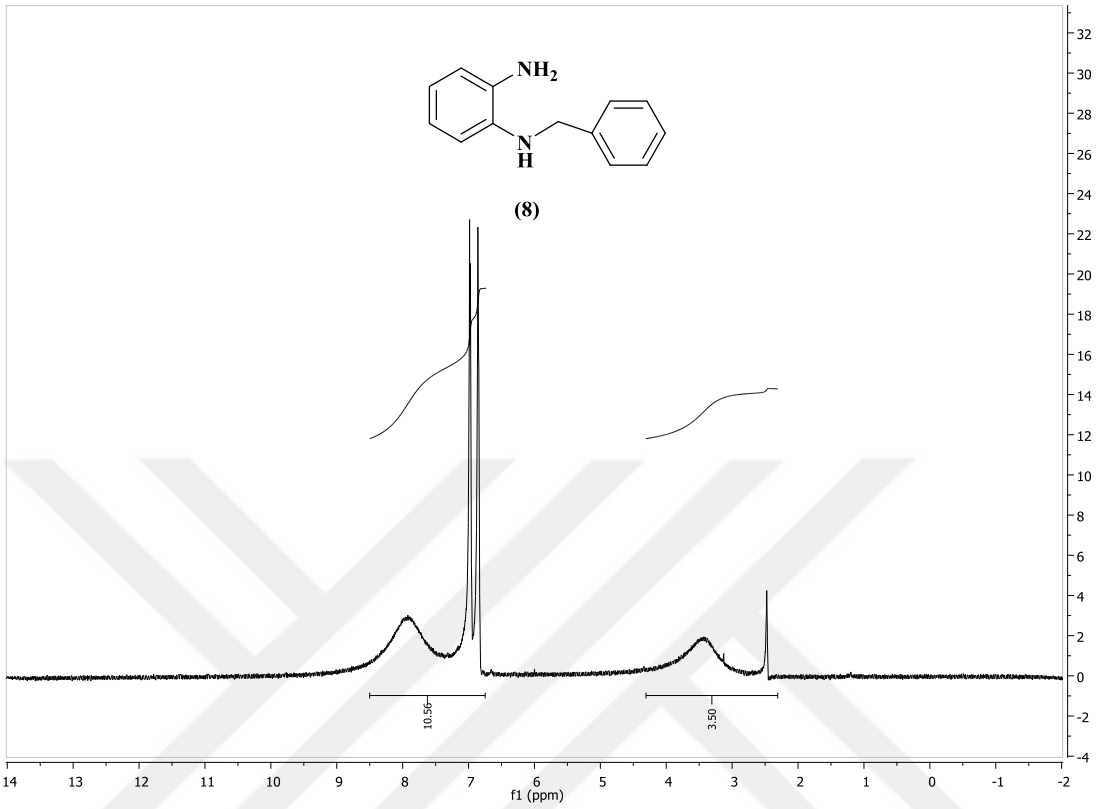


EK-4 Bileşik **7**'nin ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu

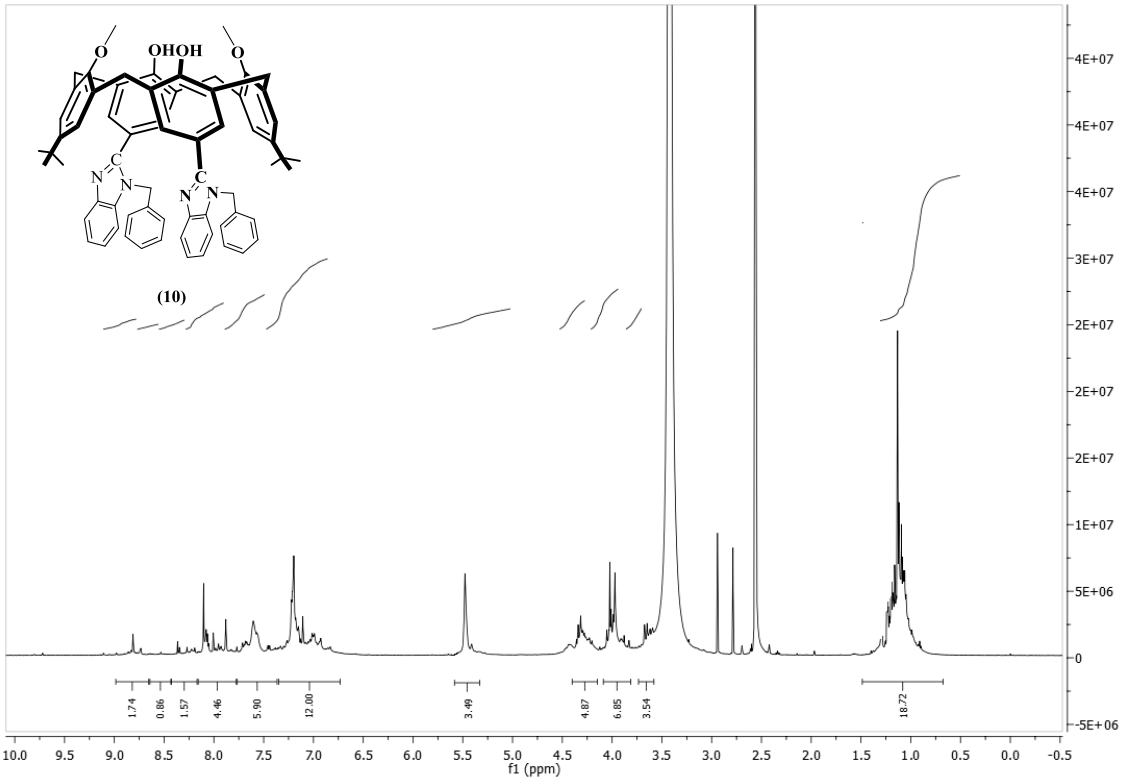




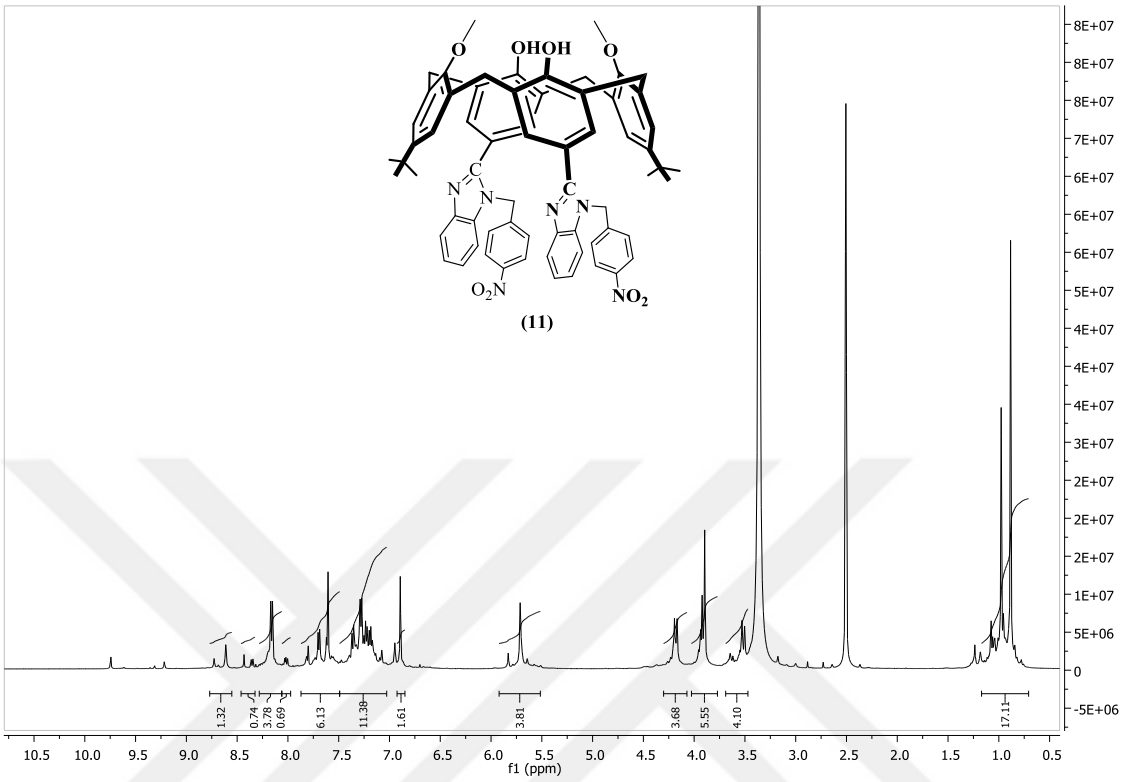
EK-5 Bileşik **8**'in ^{1}H NMR Spektrumu

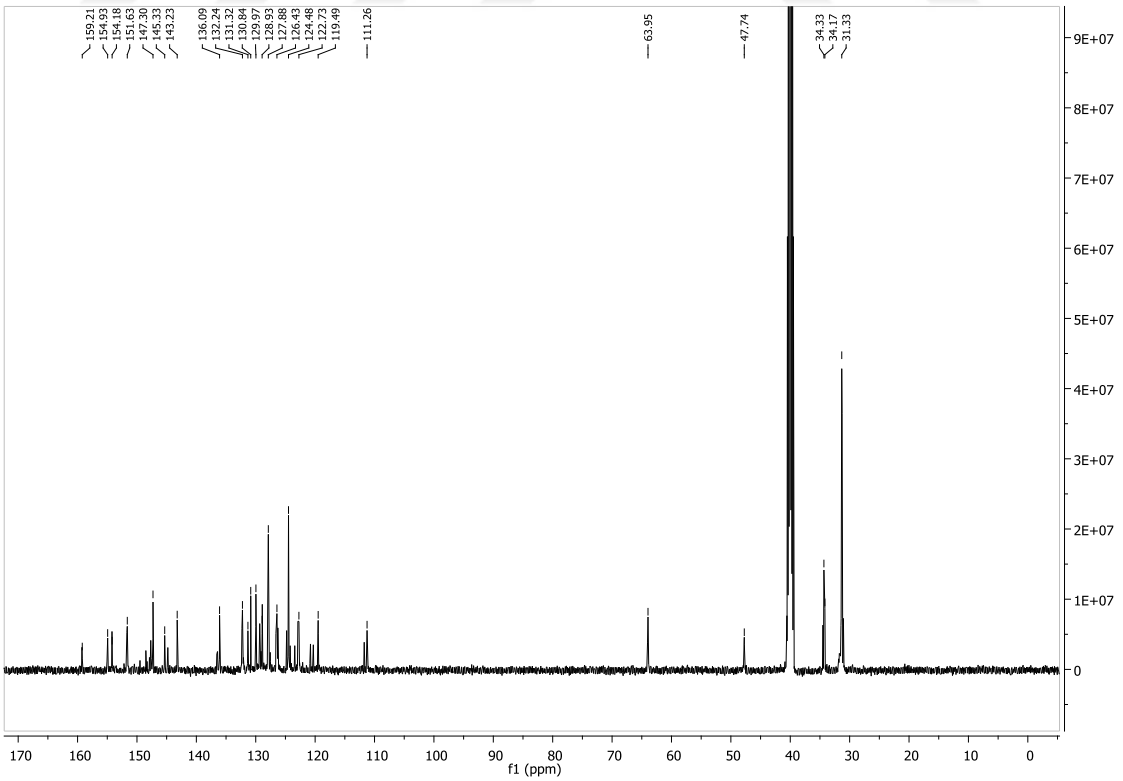


EK-6 Bileşik **10**'un ^{1}H NMR Spektrumu

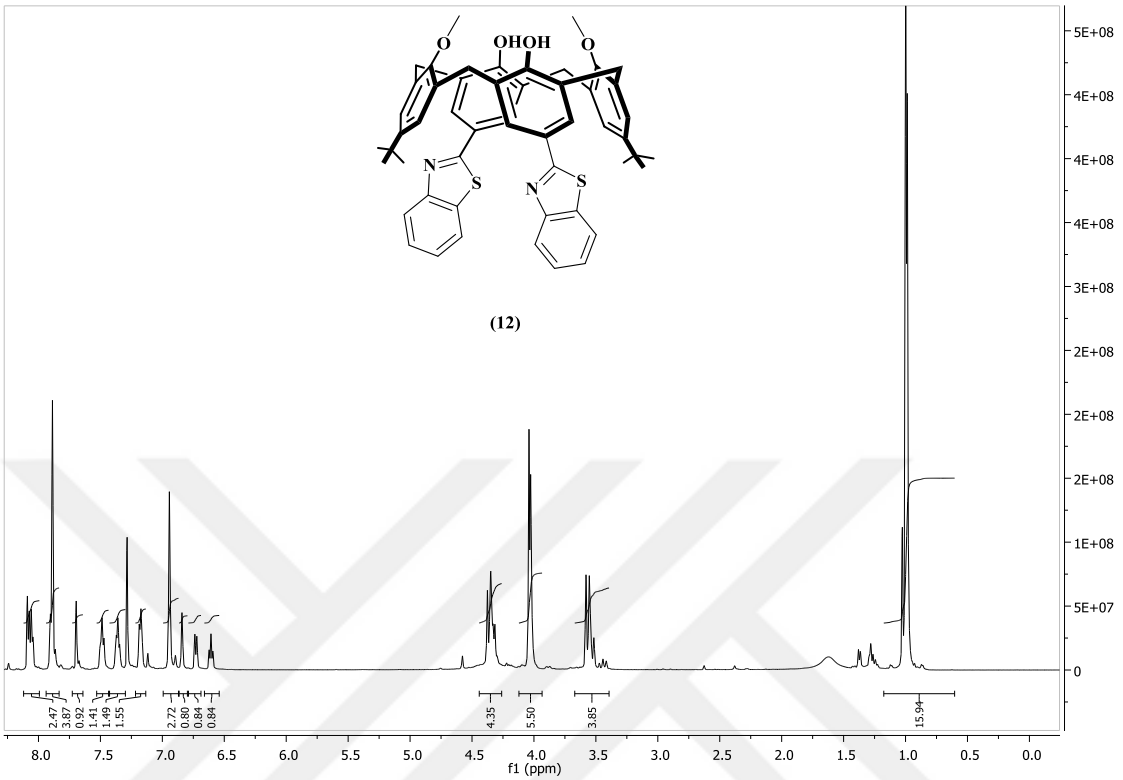


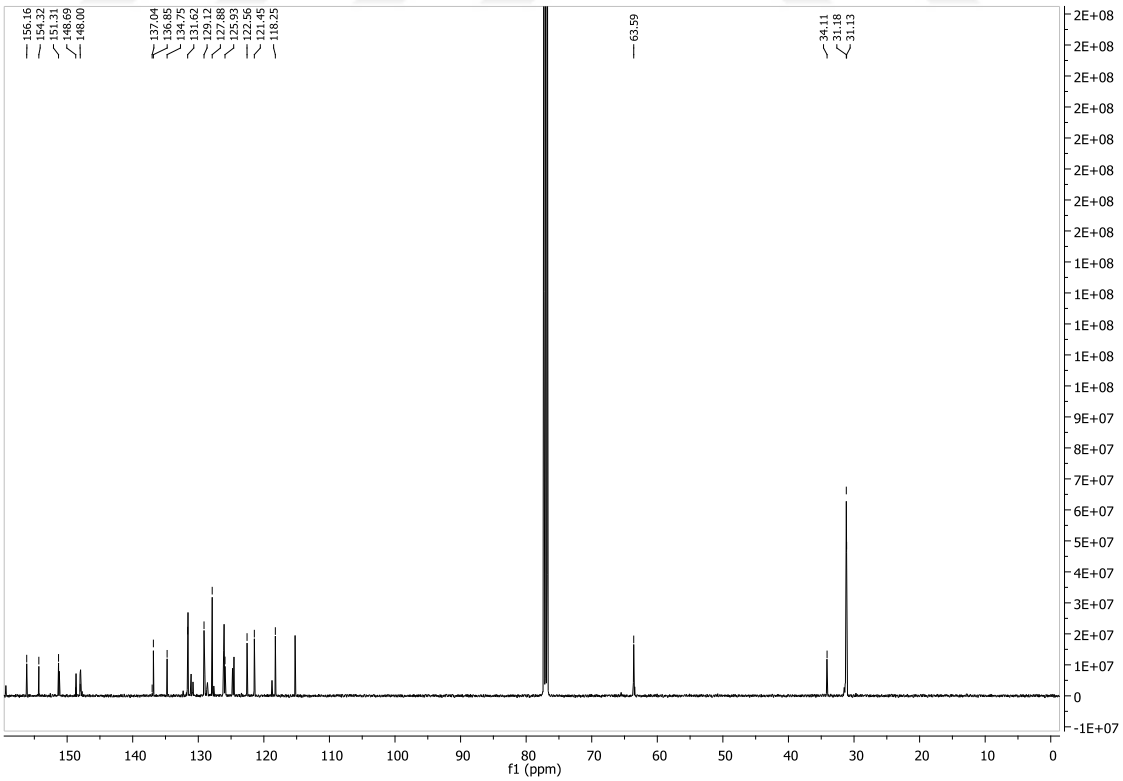
EK-7 Bileşik **11**'in ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu



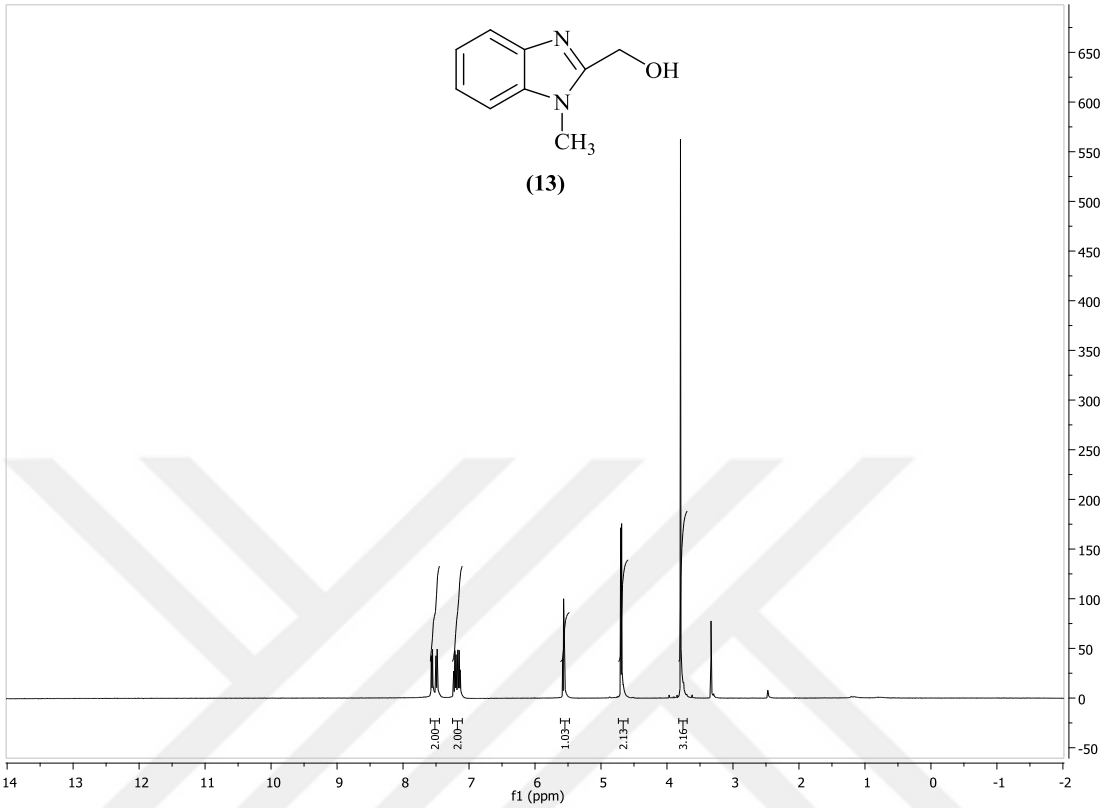


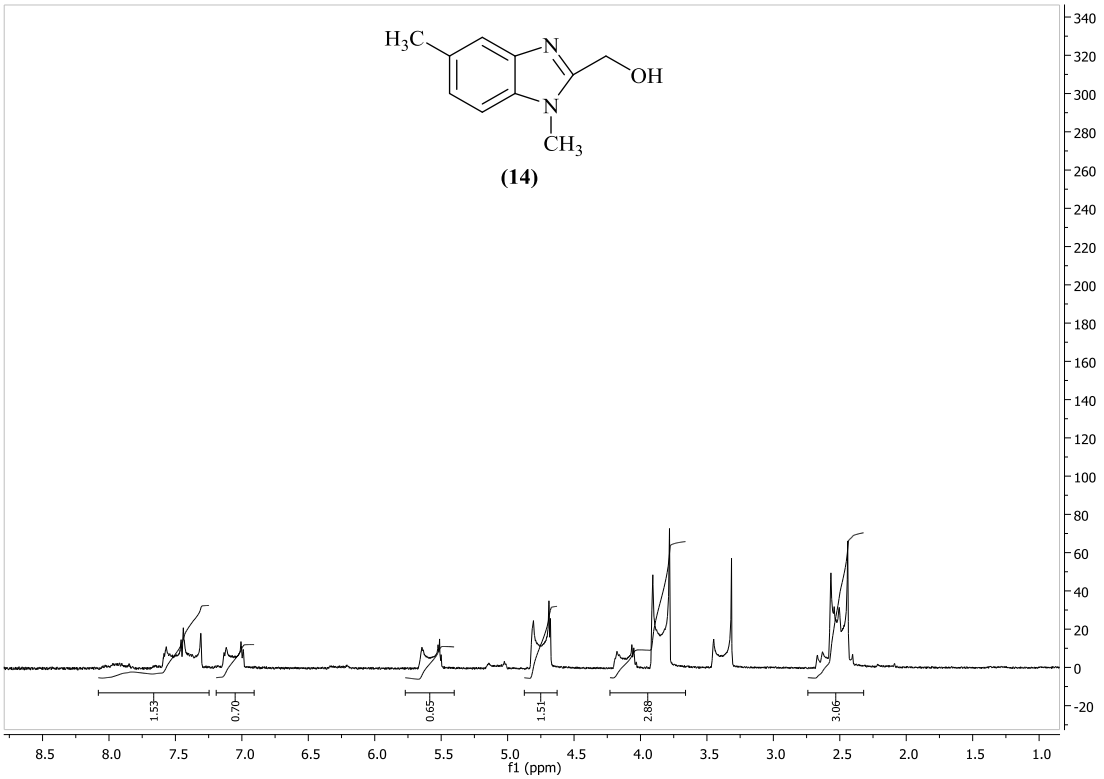
EK-8 Bileşik **12**'nin ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu



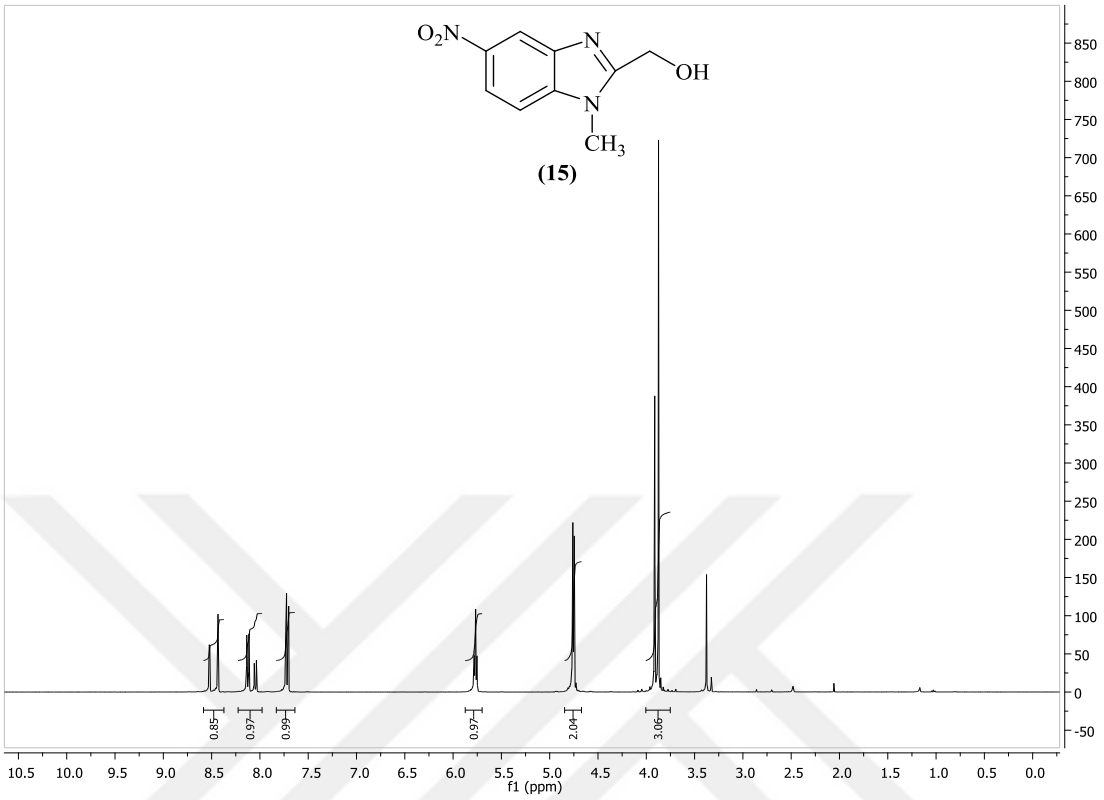


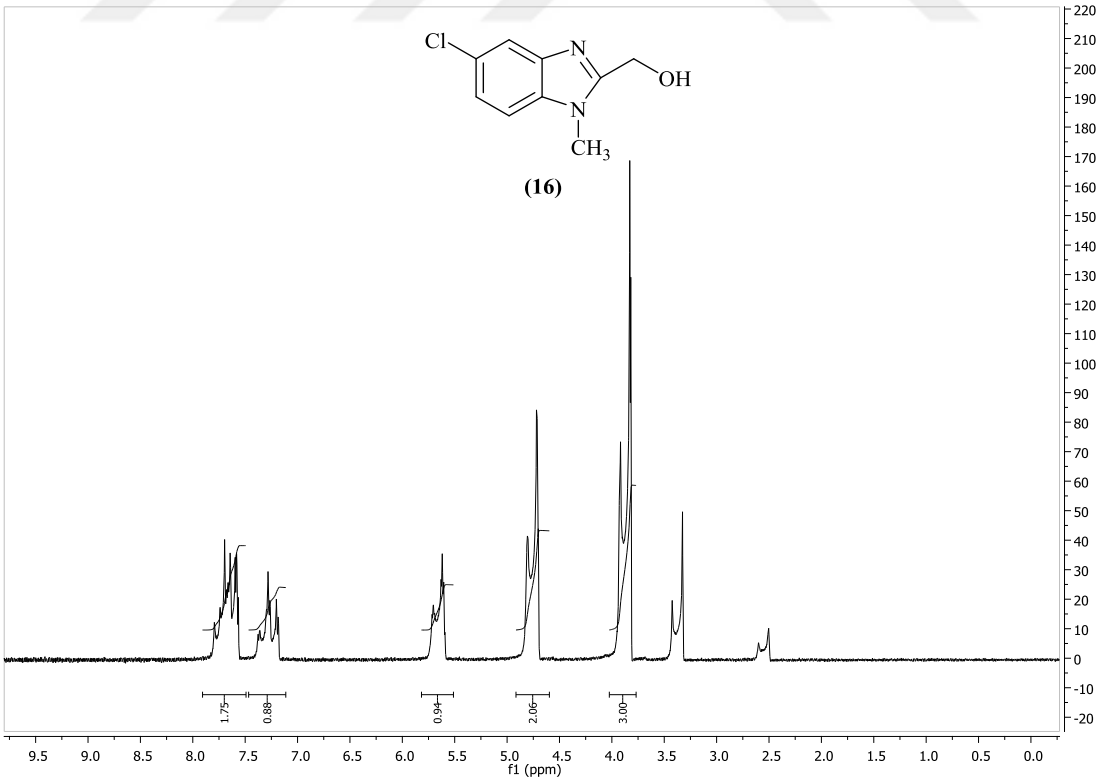
EK-9 Bileşik **13** ve **14**'ün ^{1}H NMR Spektrumu



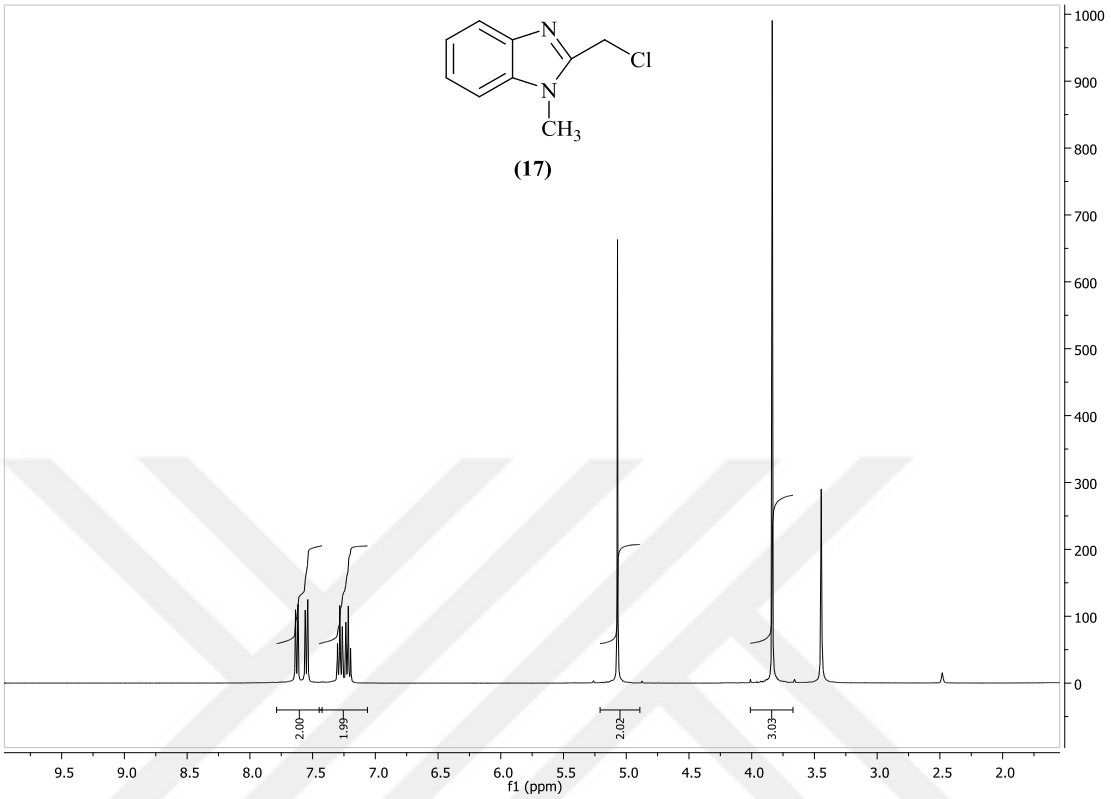


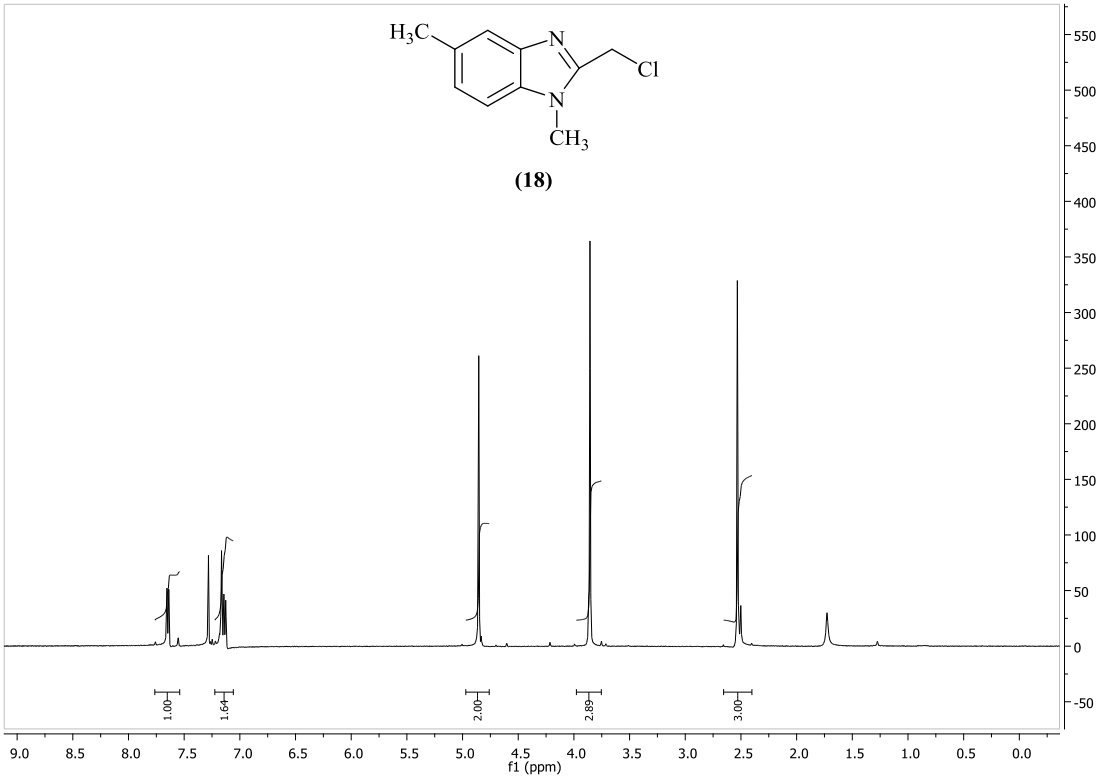
EK-10 Bileşik **15** ve **16**'nın ^{1}H NMR Spektrumu



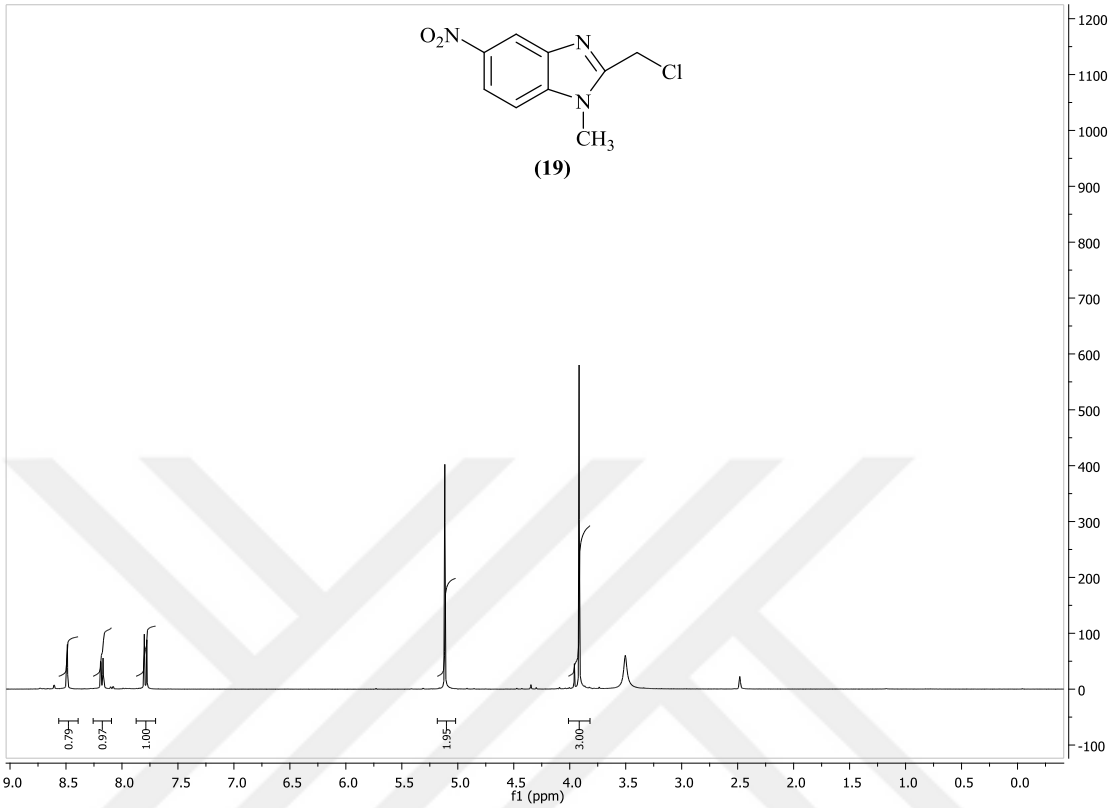


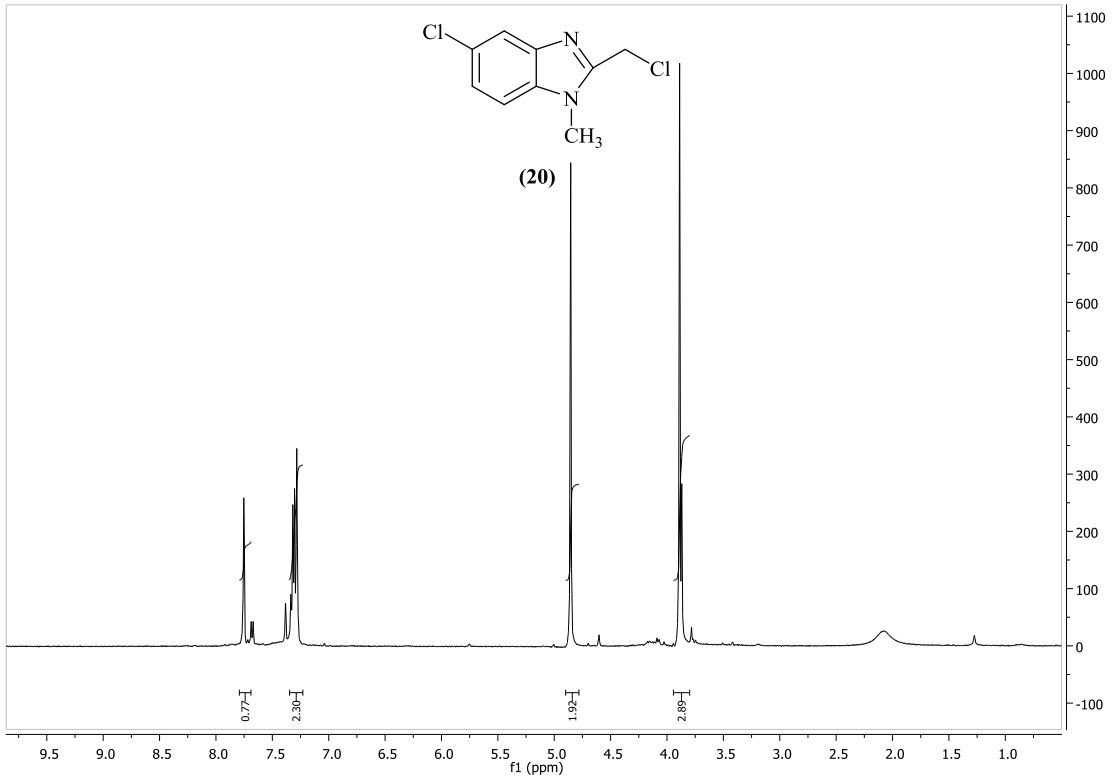
EK-11 Bileşik **17** ve **18**'in ^{1}H NMR Spektrumu



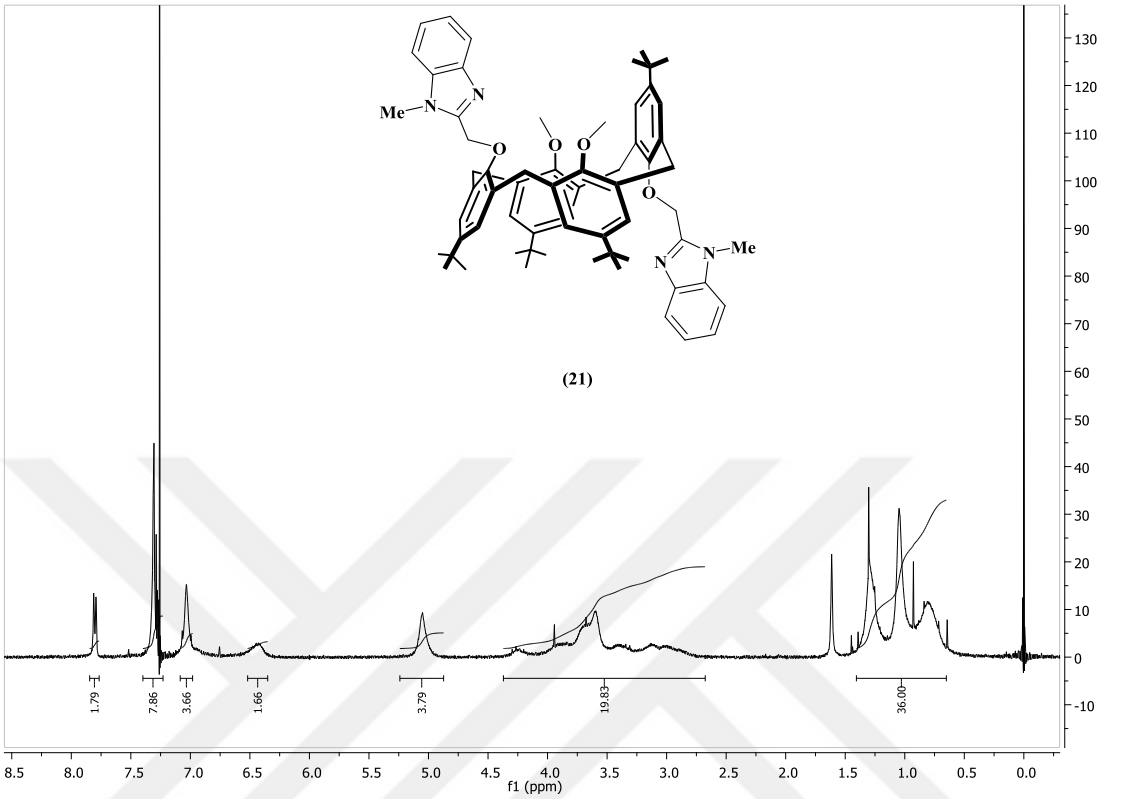


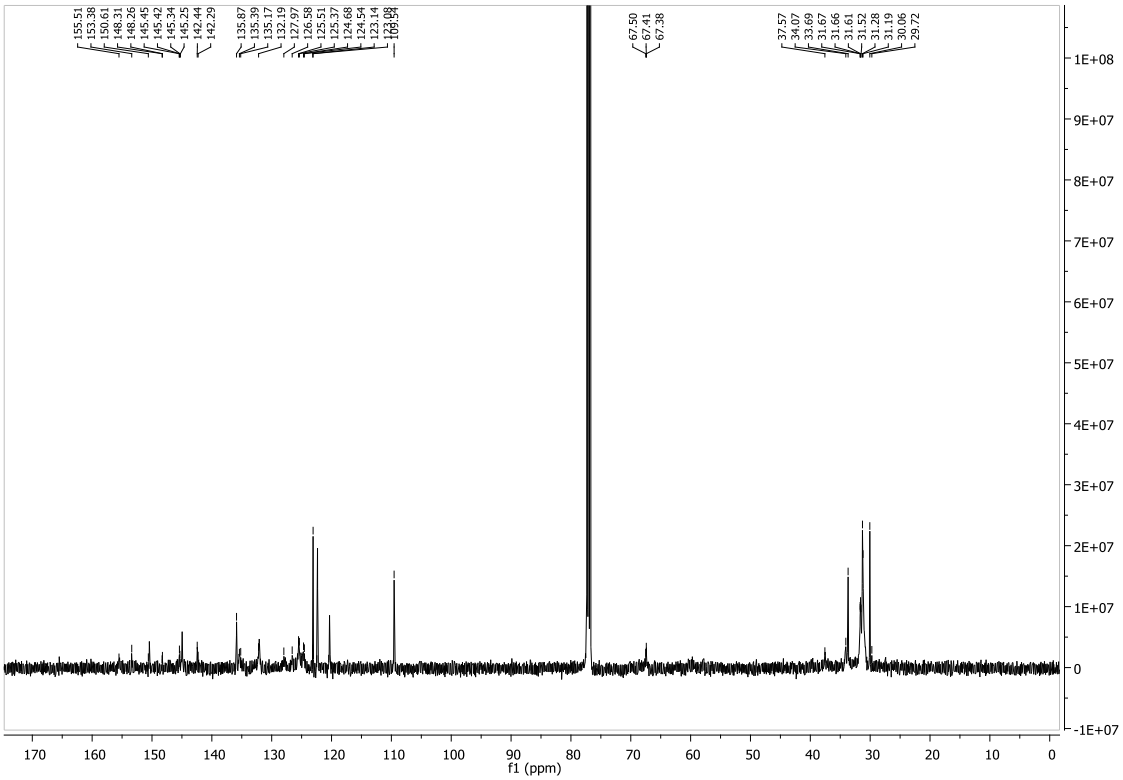
EK-12 Bileşik **19** ve **20**'nin ^{1}H NMR Spektrumu



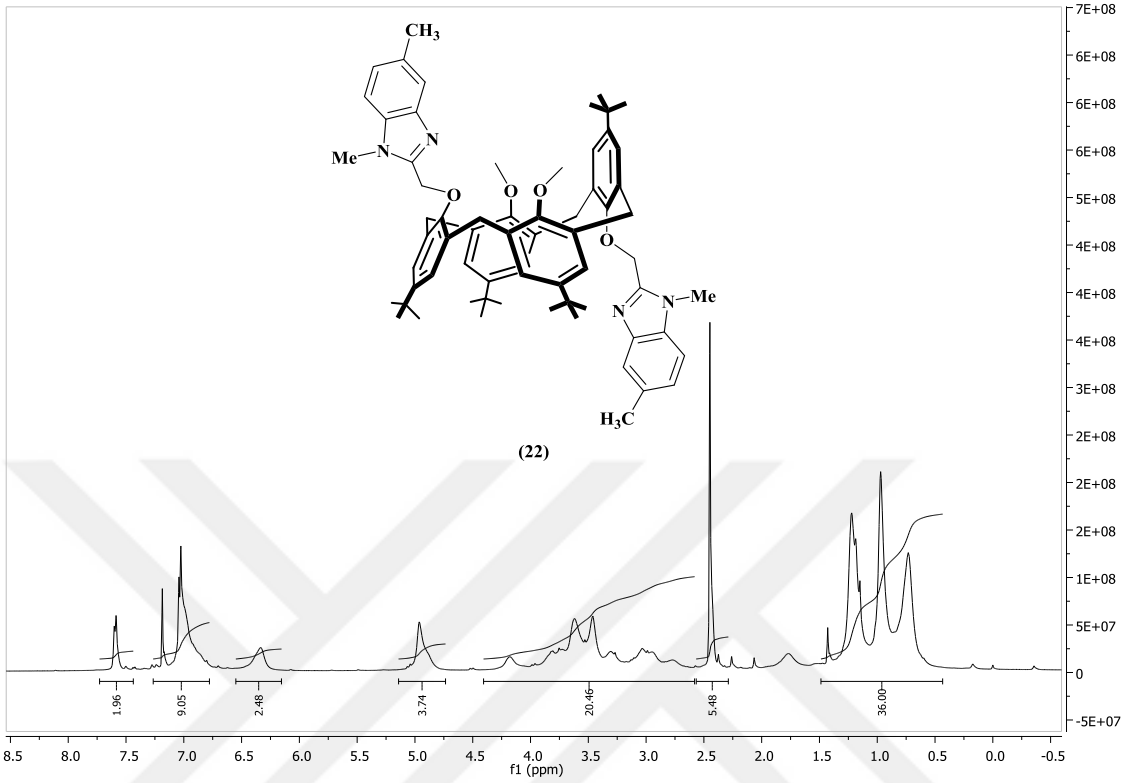


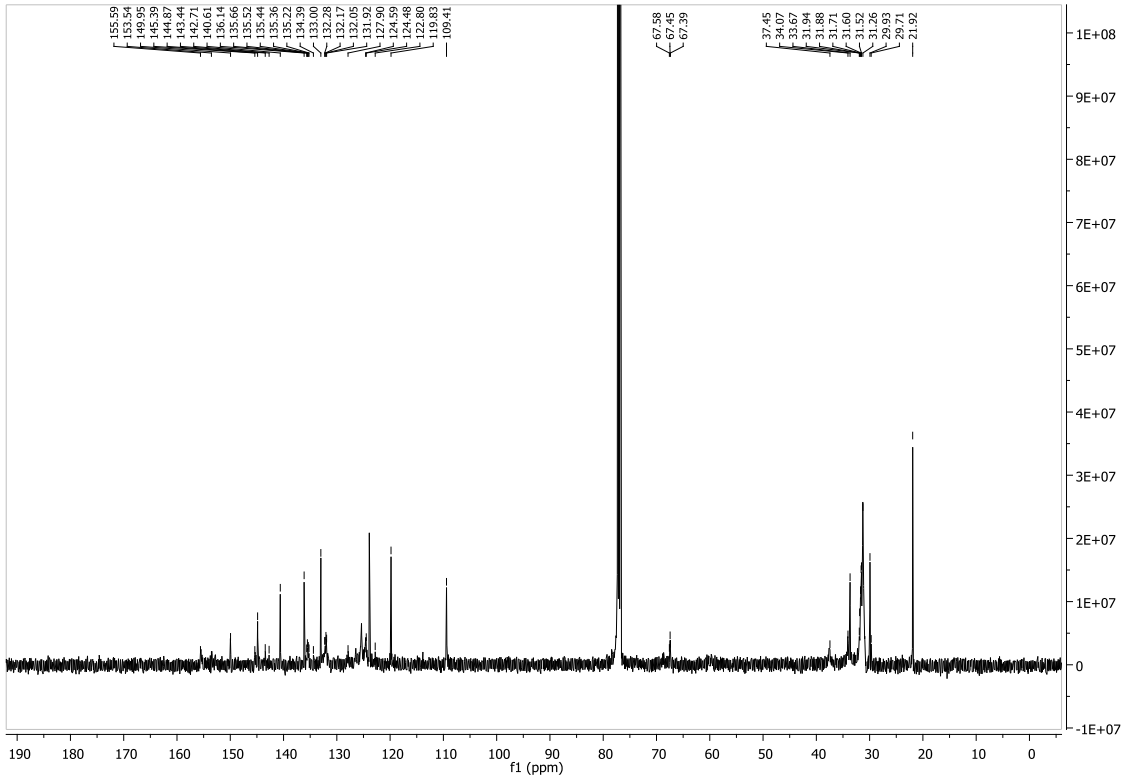
EK-13 Bileşik **21**'in ^{1}H NMR Spektrumu



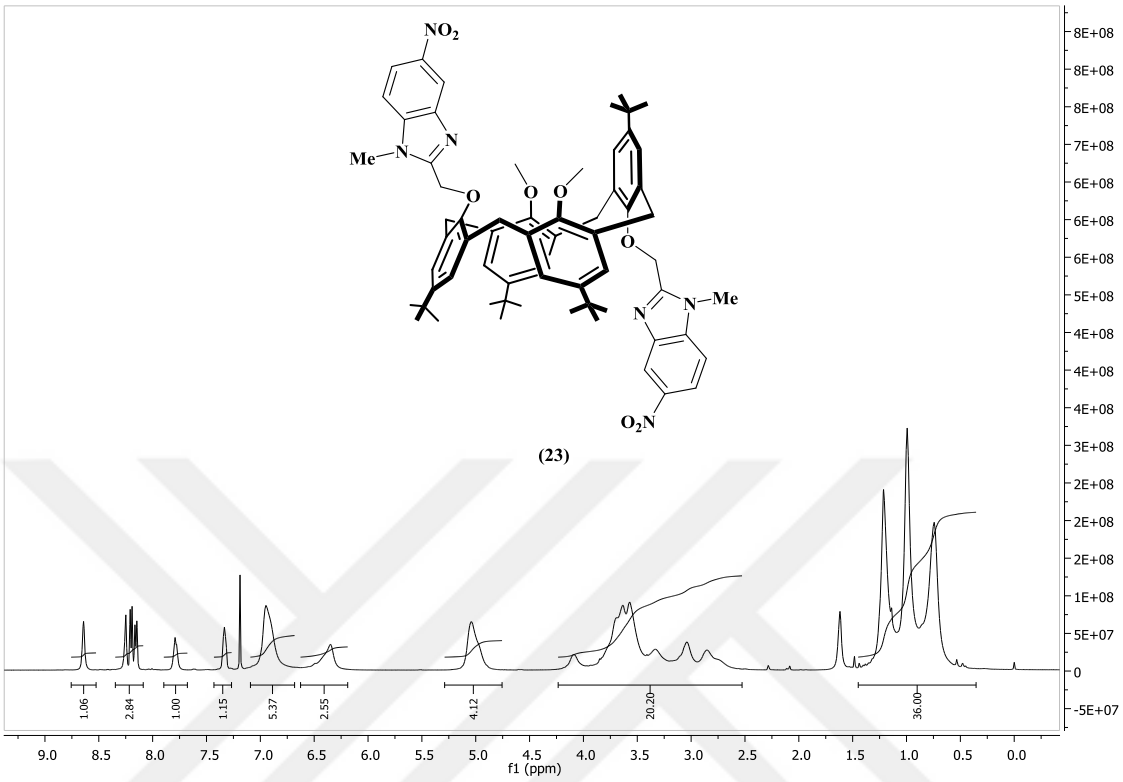


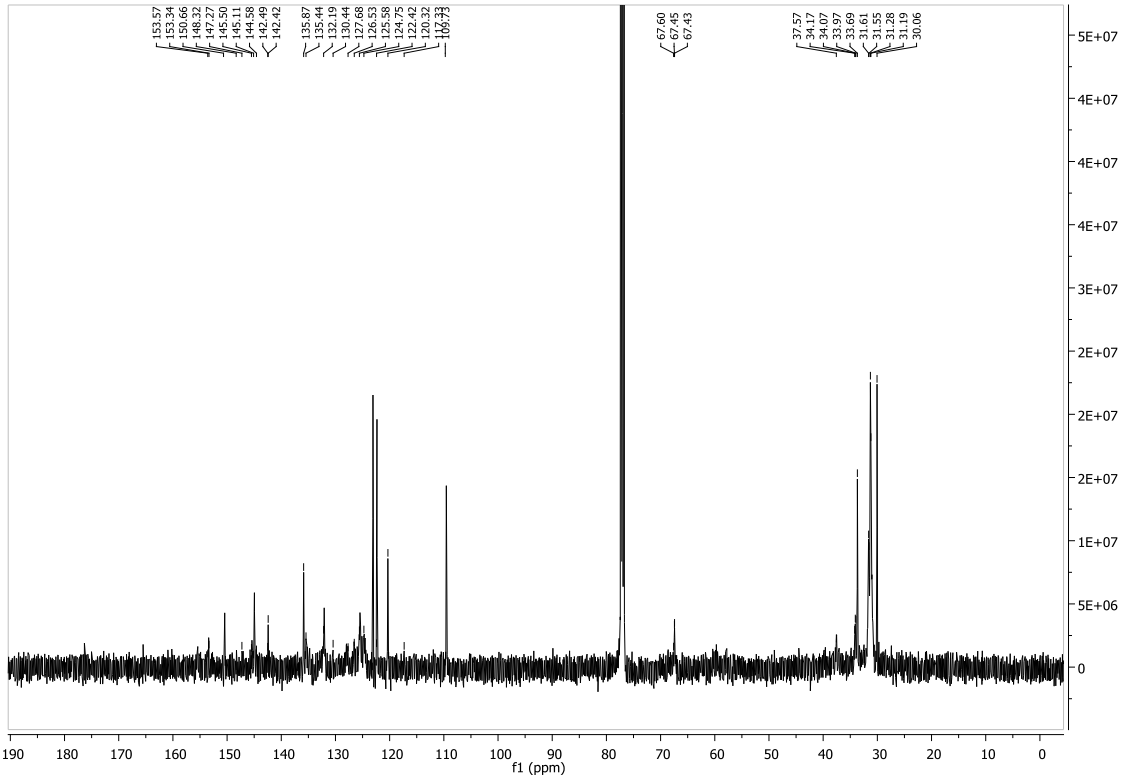
EK-14 Bileşik **22**'nin ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu



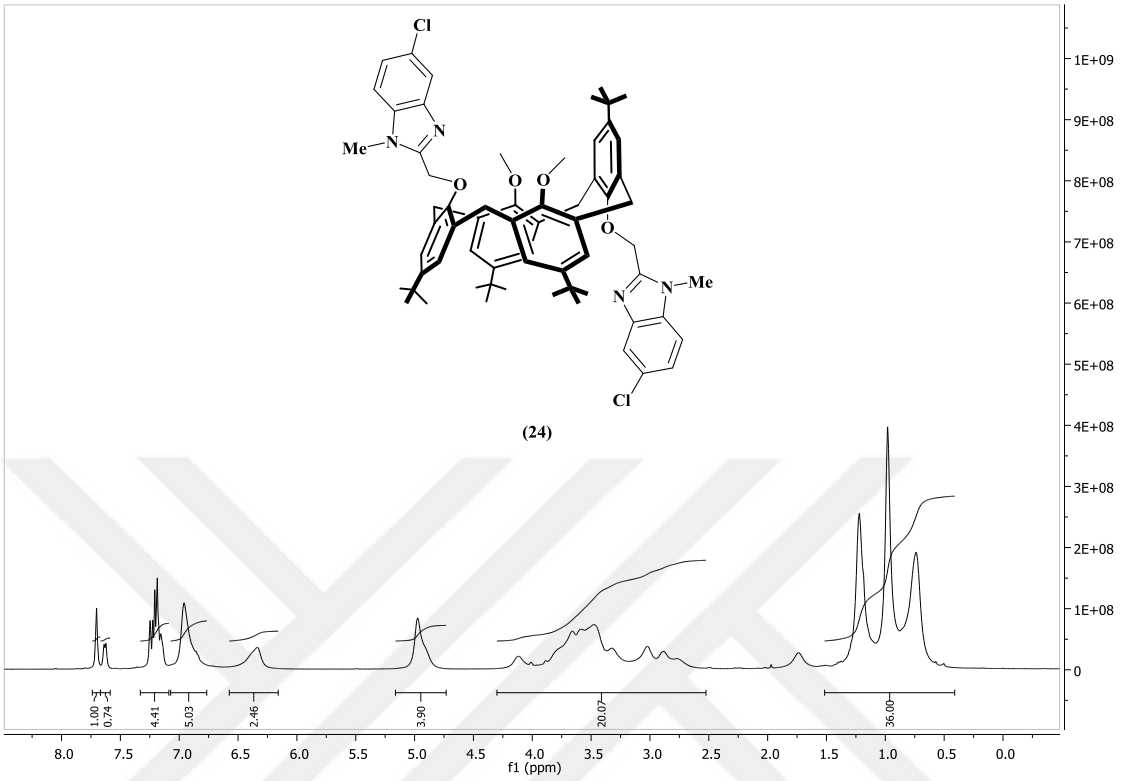


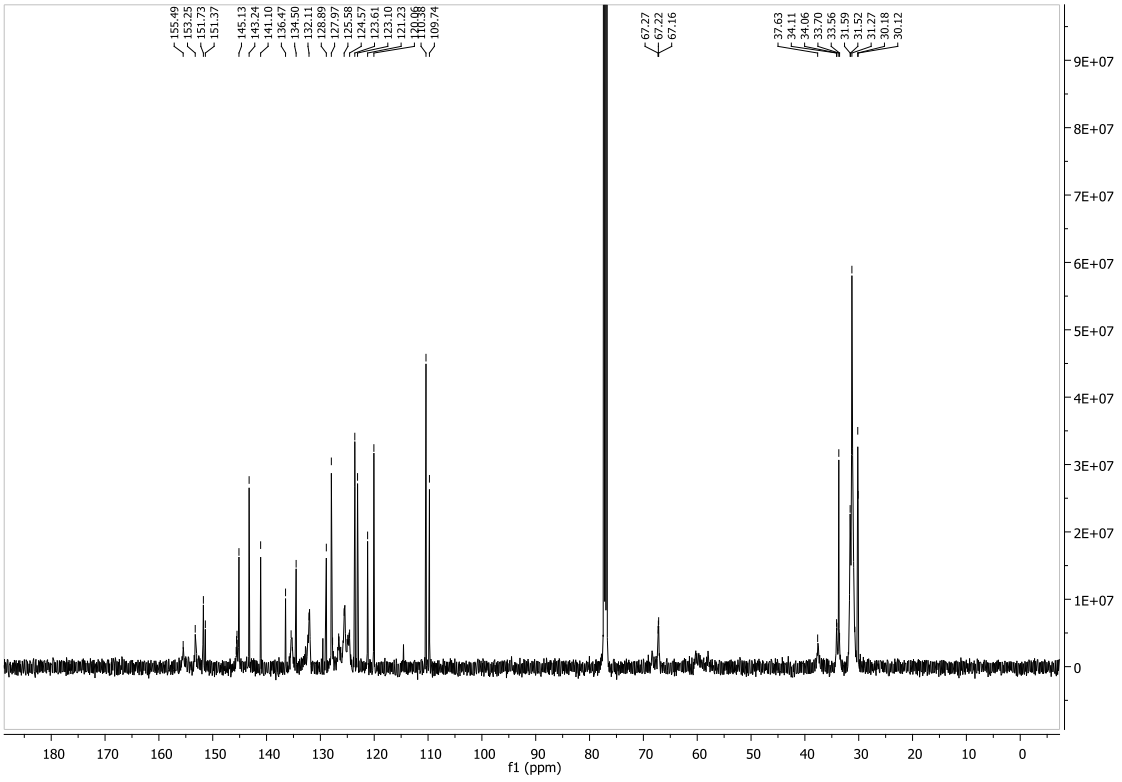
EK-15 Bileşik **23**'nin ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu



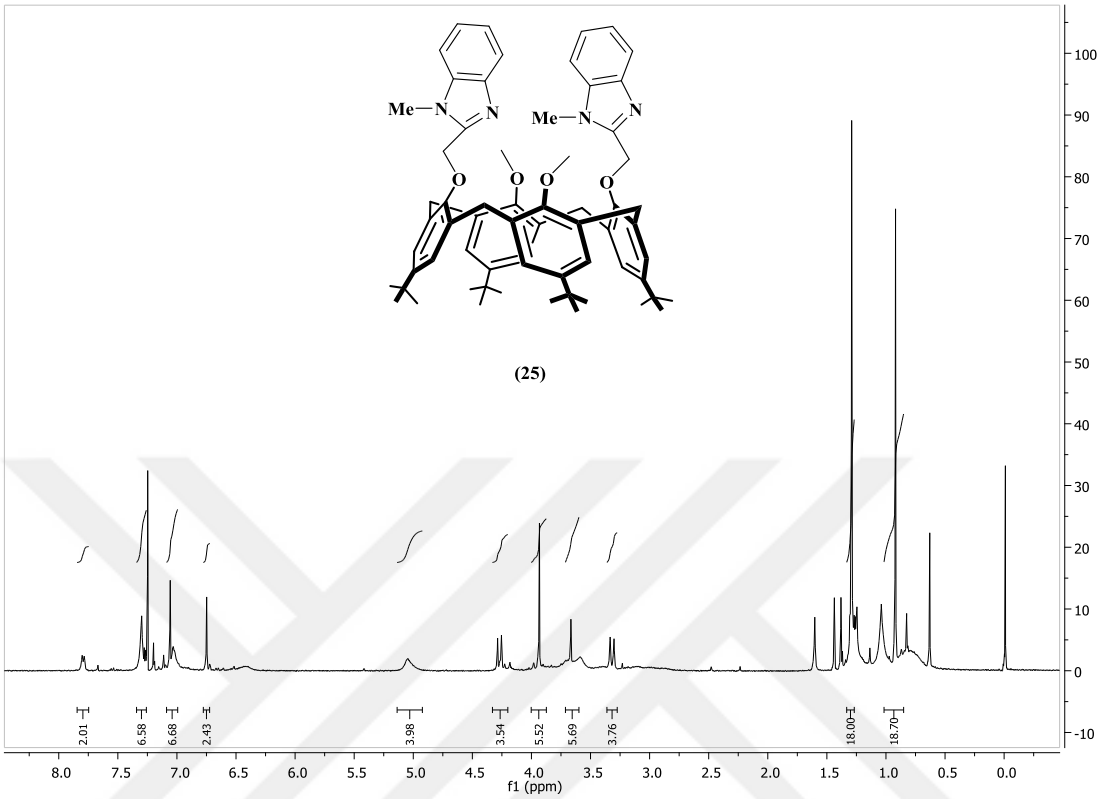


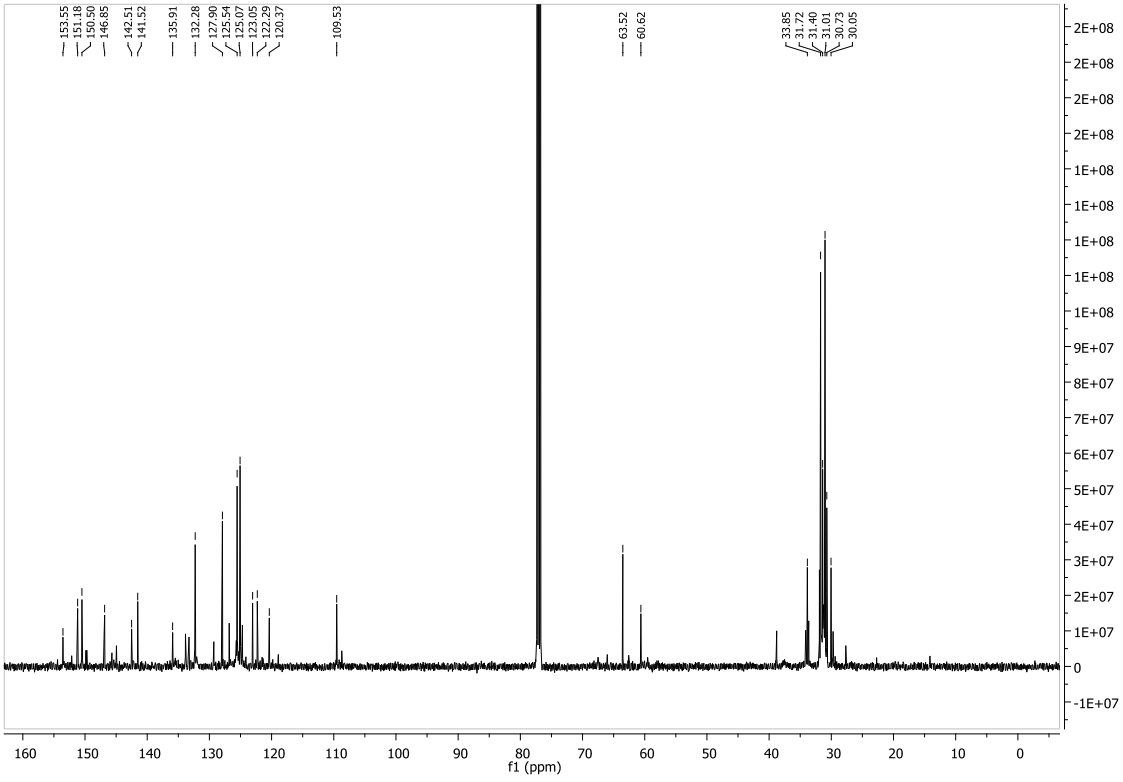
EK-16 Bileşik **24**'in ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu



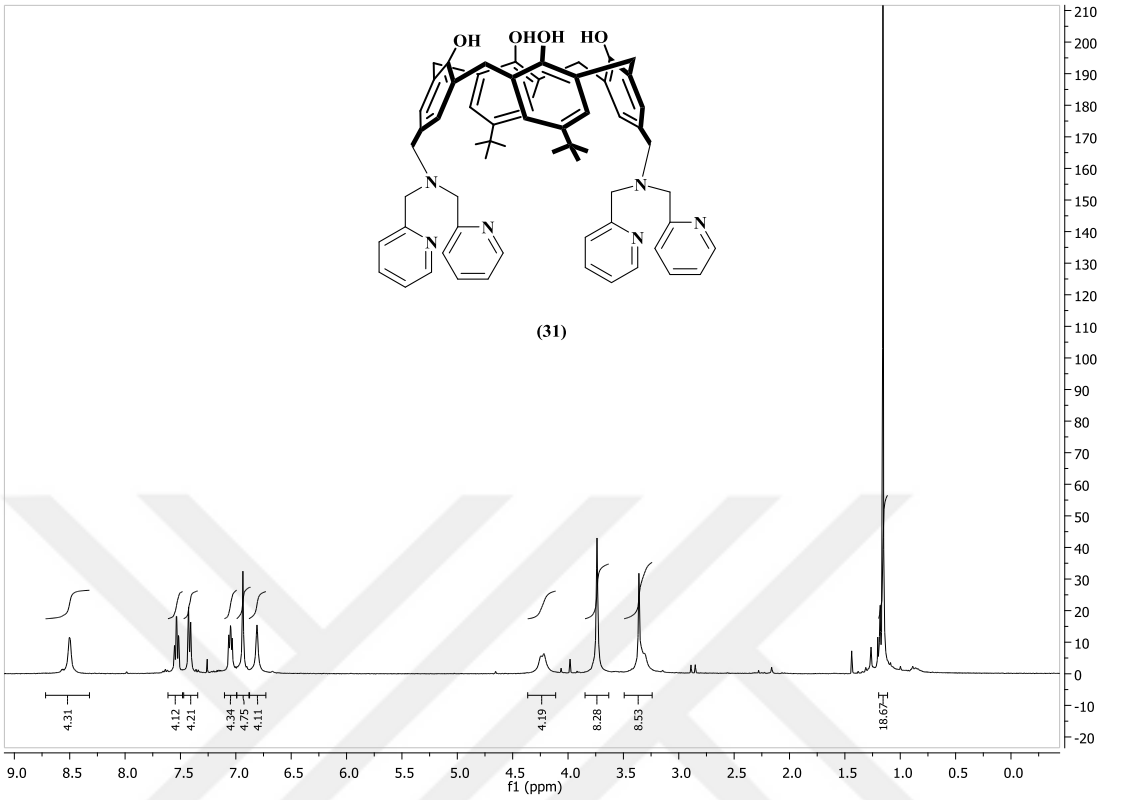


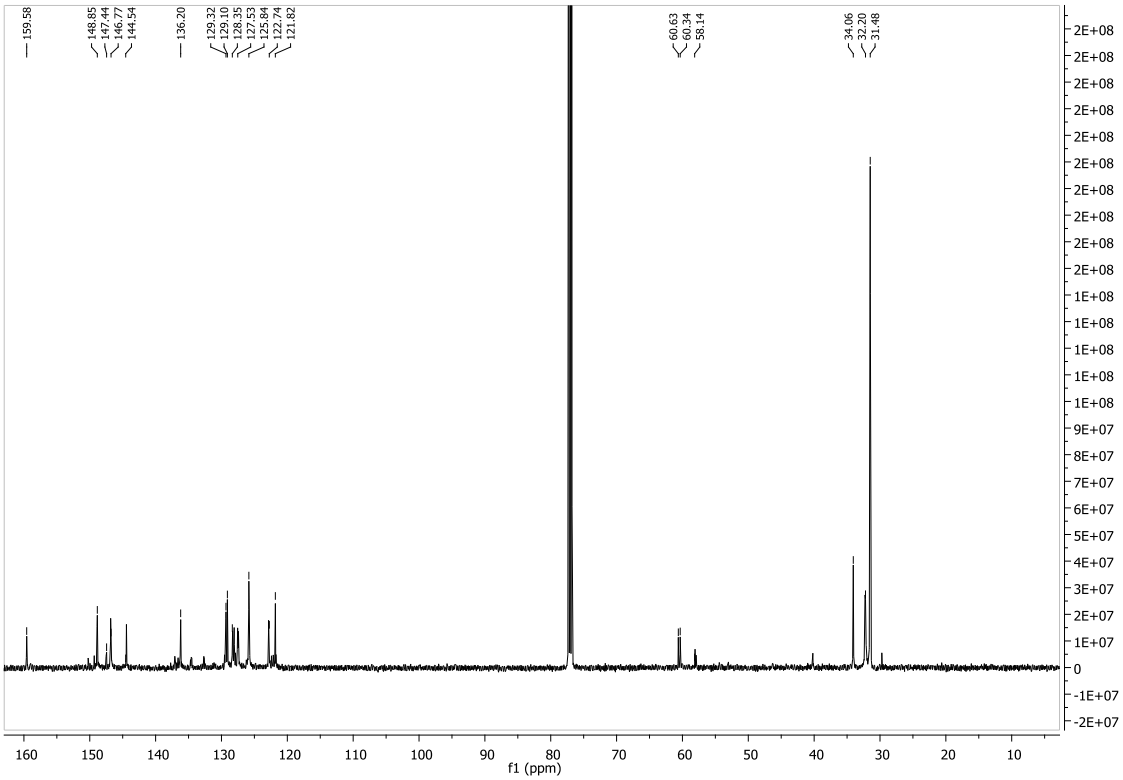
EK-17 Bileşik **25**'in ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu



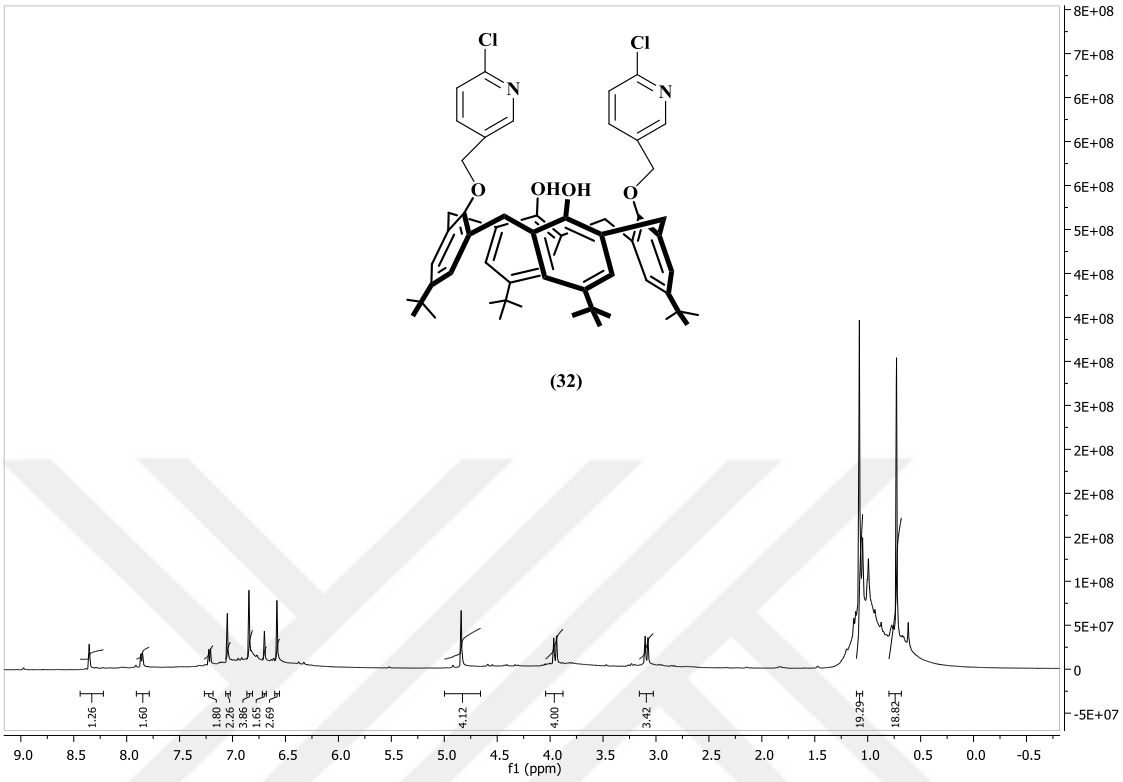


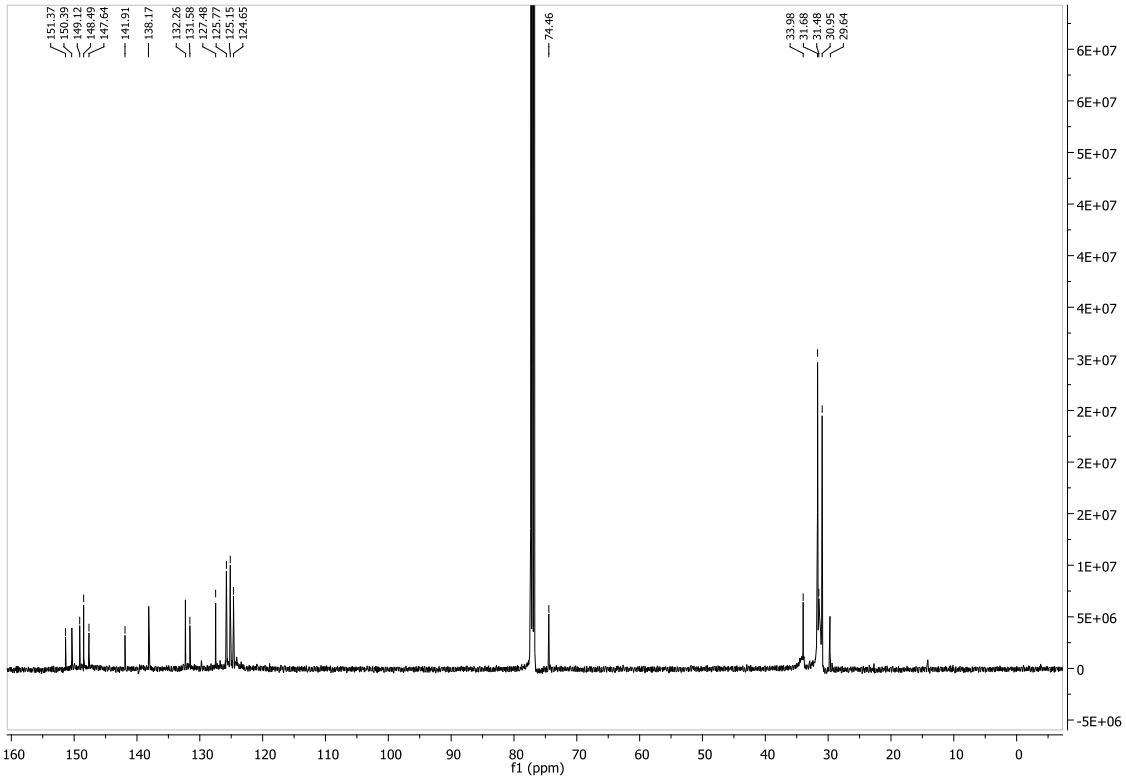
EK-18 Bileşik **31**'in ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu



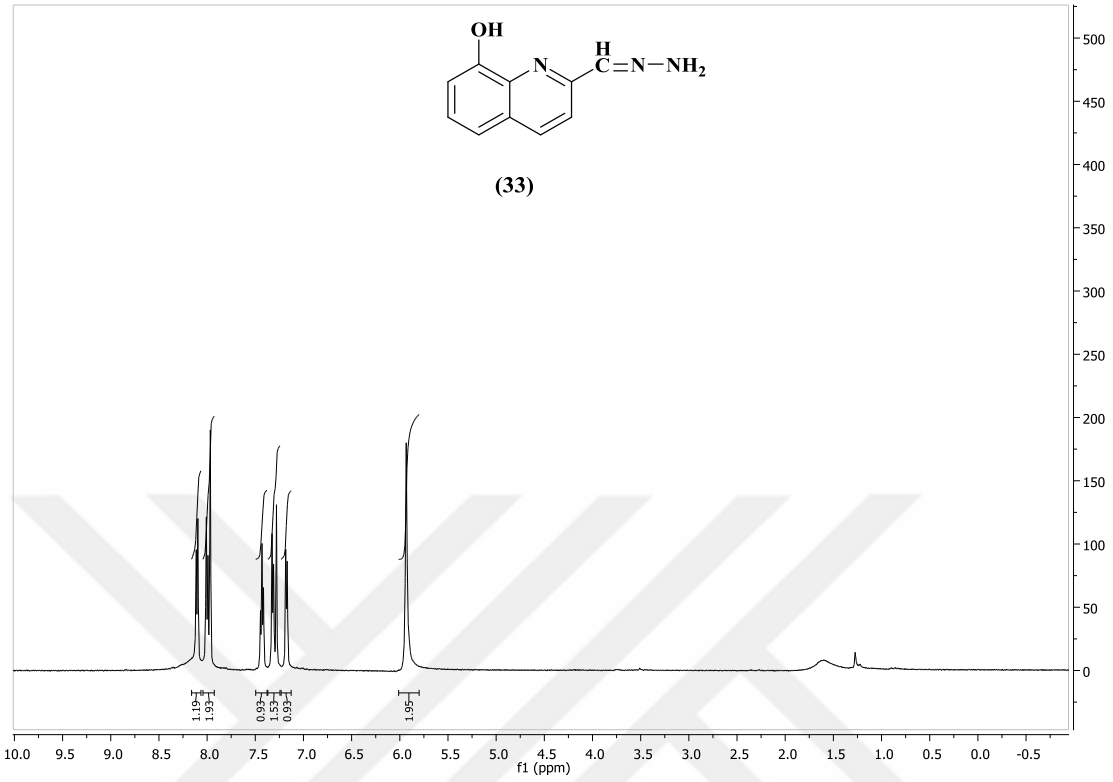


EK-19 Bileşik **32**'nin ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu

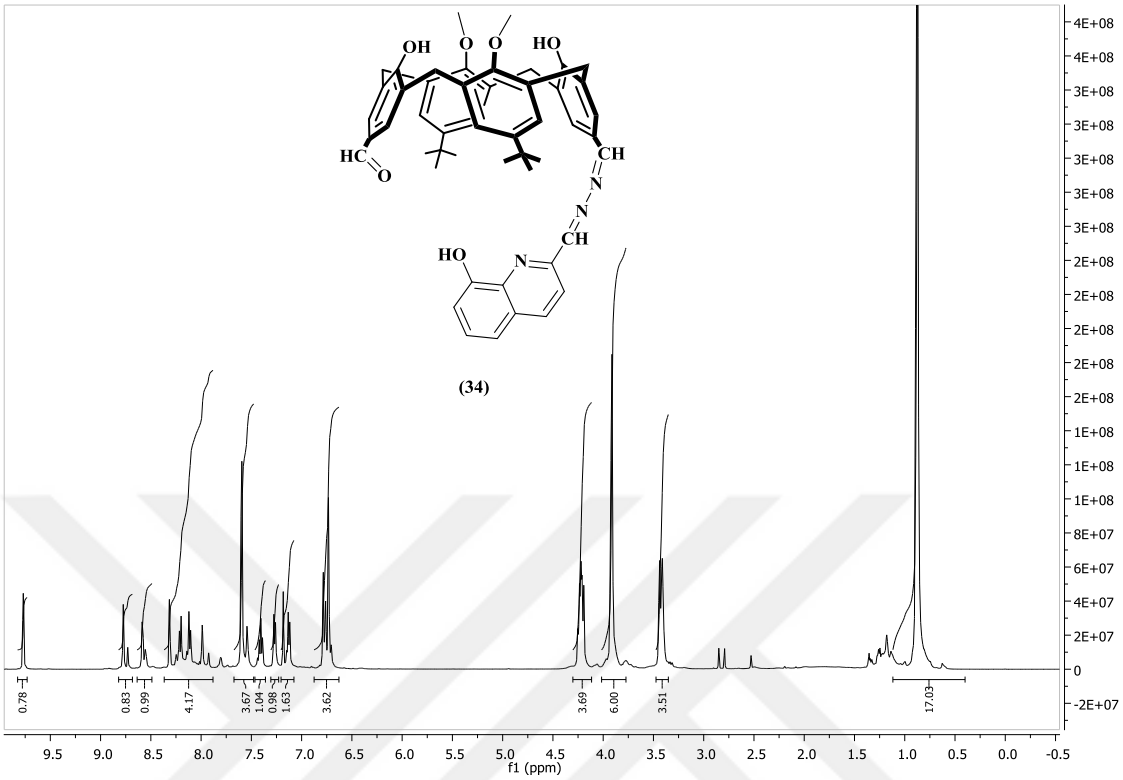


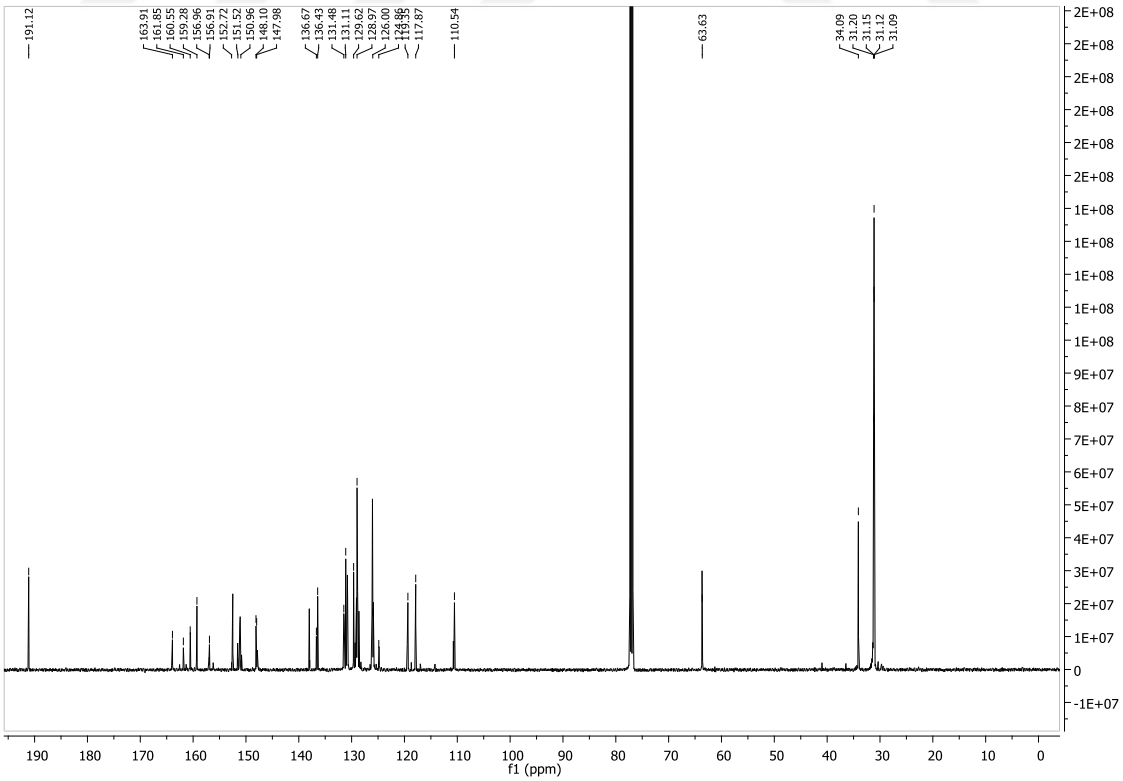


EK-20 Bileşik **33**'ün ^{1}H NMR Spektrumu

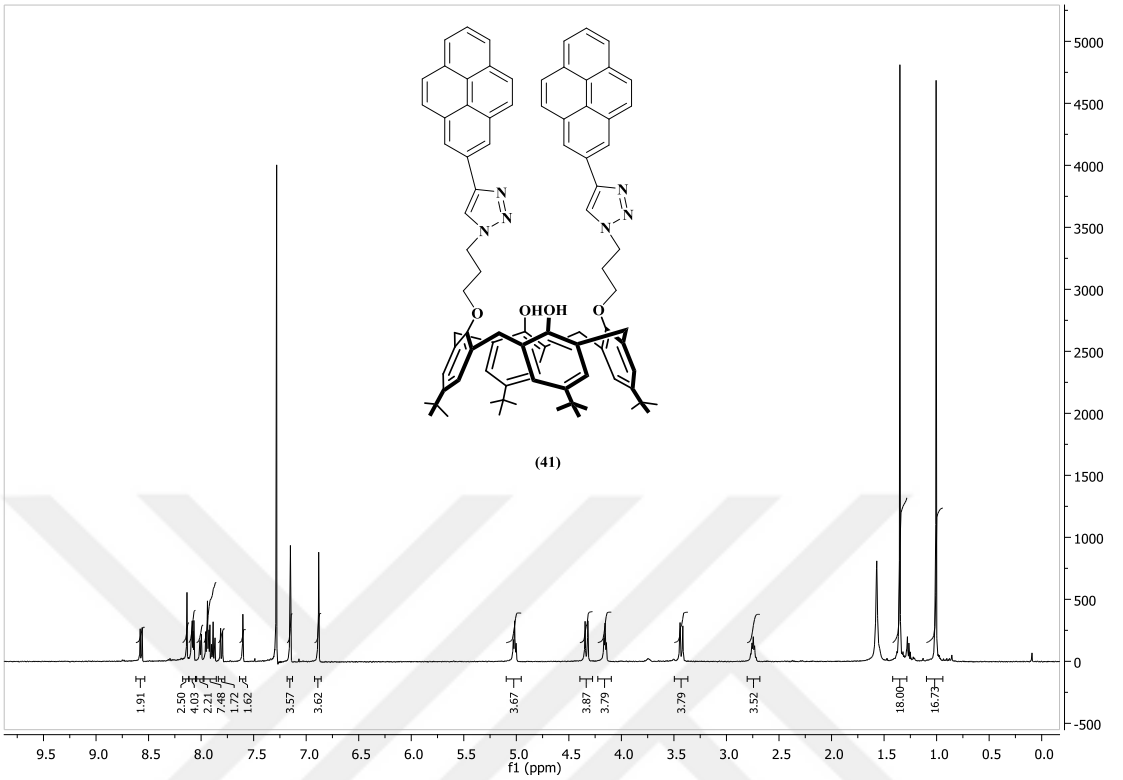


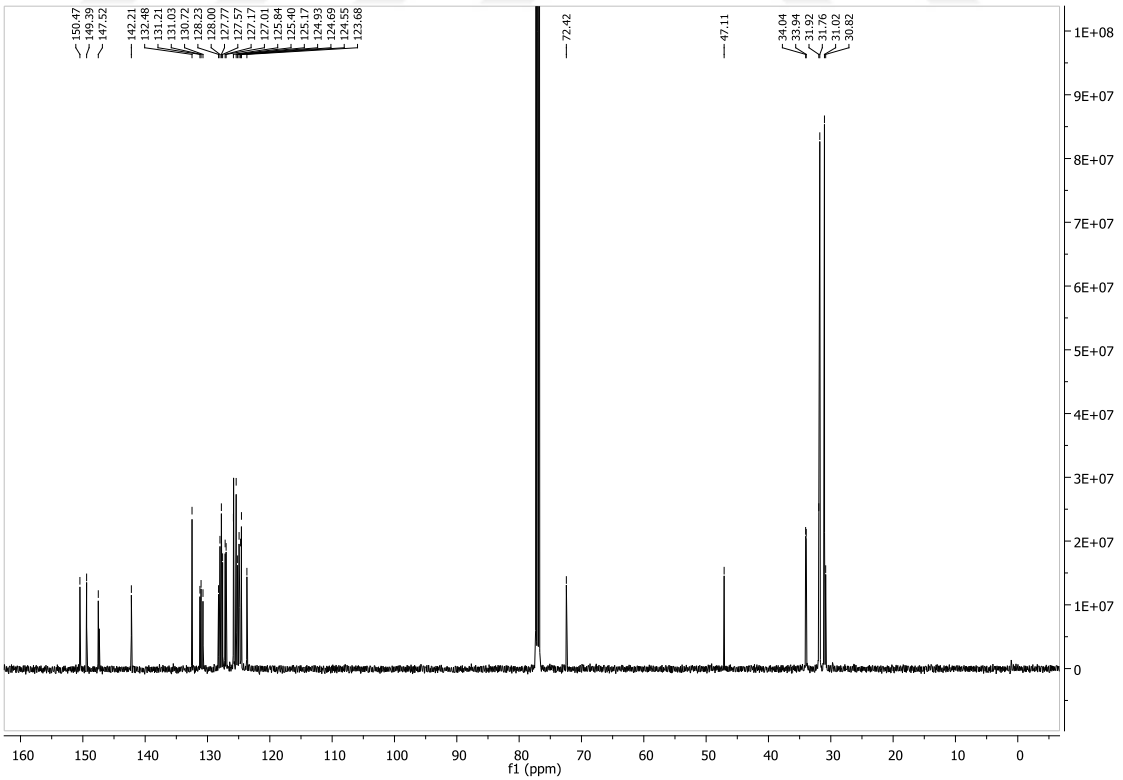
EK-21 Bileşik **34**'ün ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu



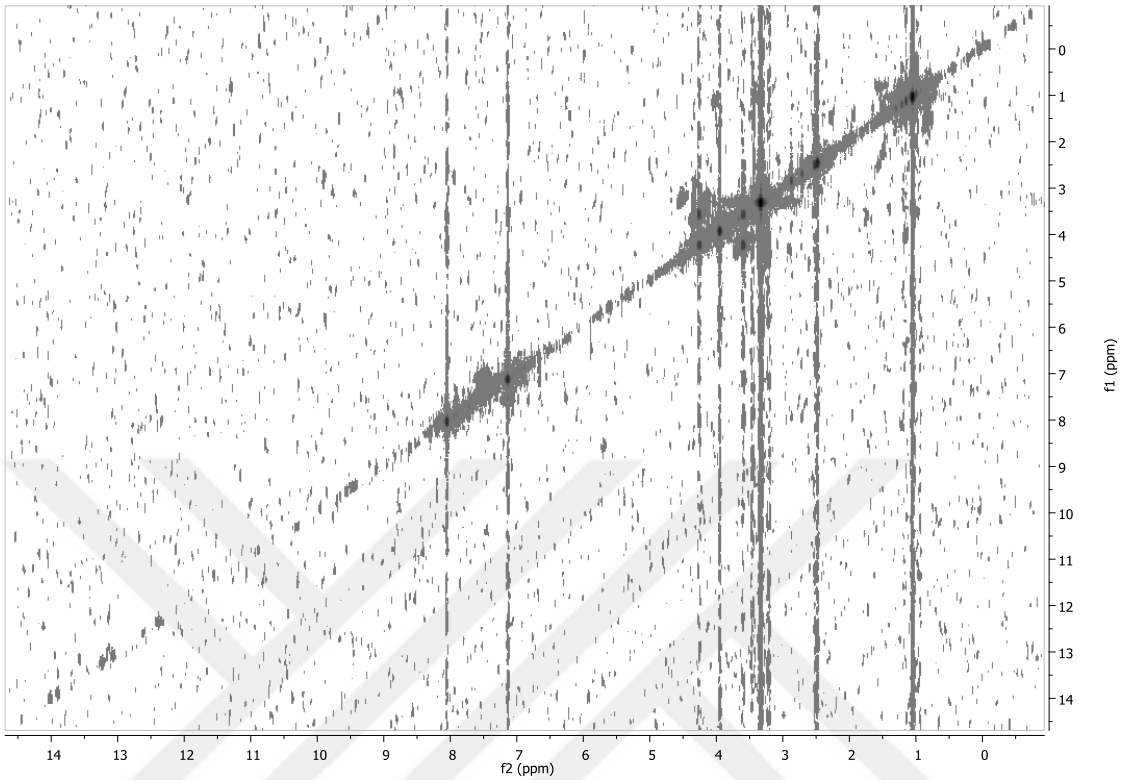


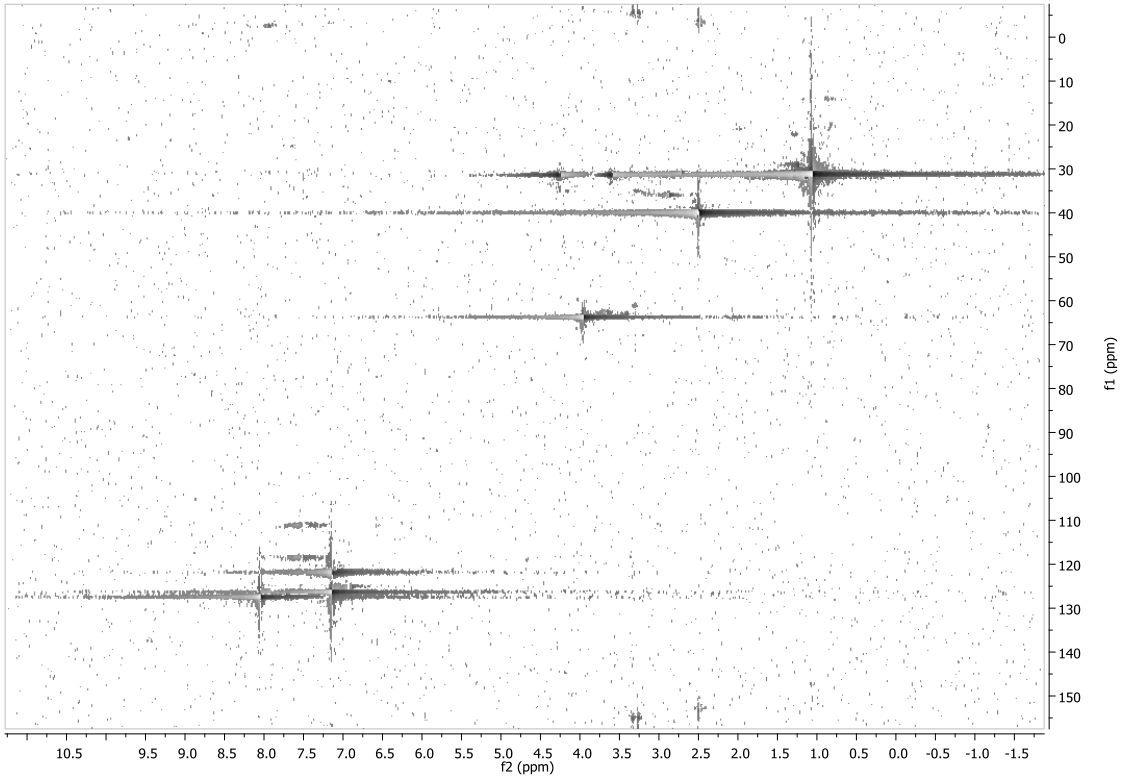
EK-22 Bileşik **37**'nin ^{1}H NMR ve ^{13}C NMR Spektrumu



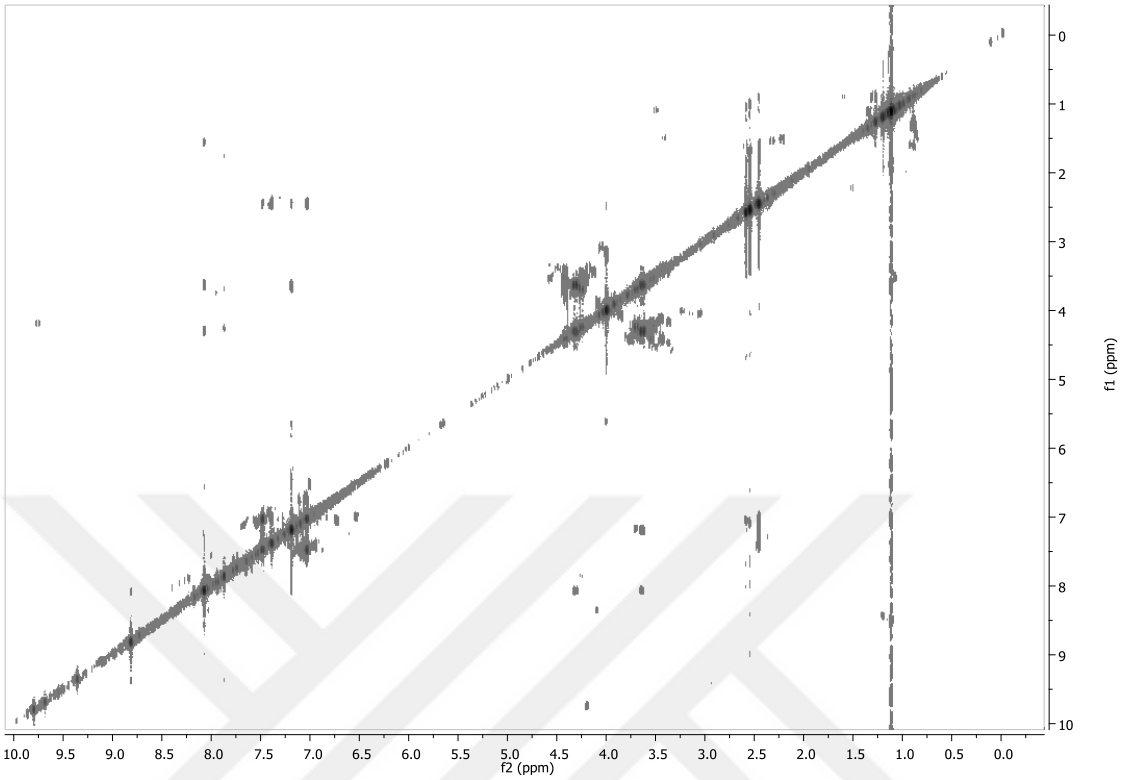


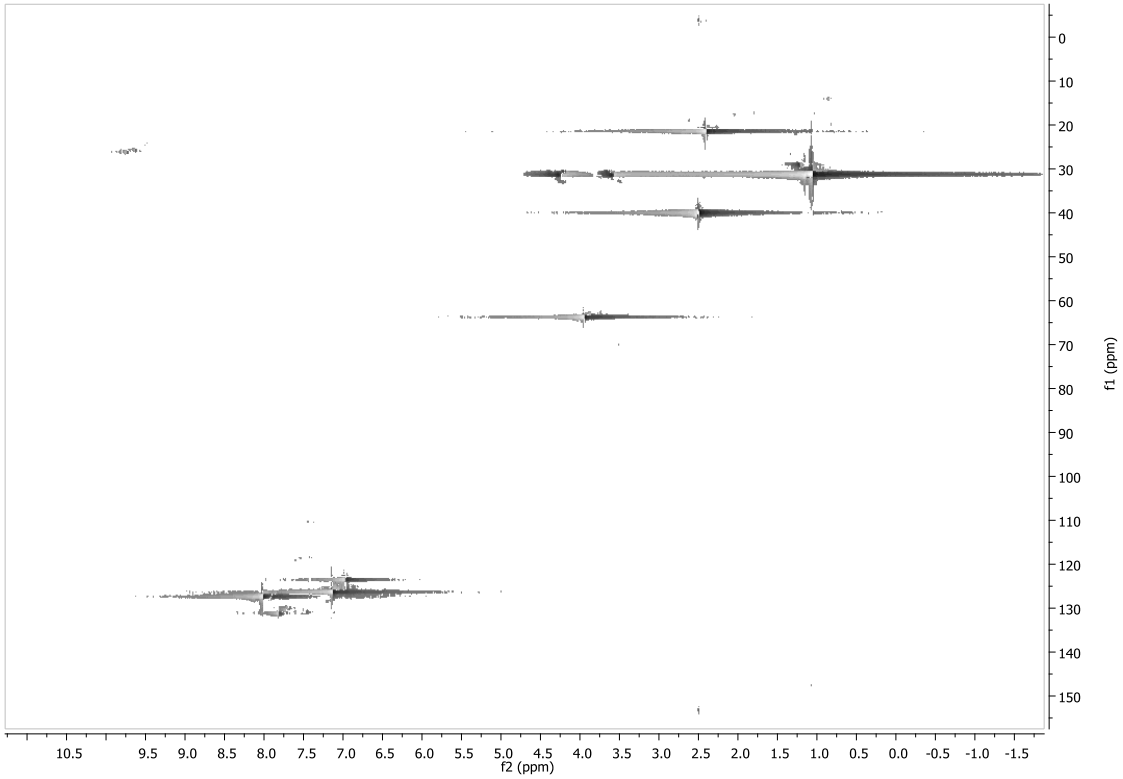
EK-23 Bileşik **4**'ün NOESY ve HETCOR Spektrumu



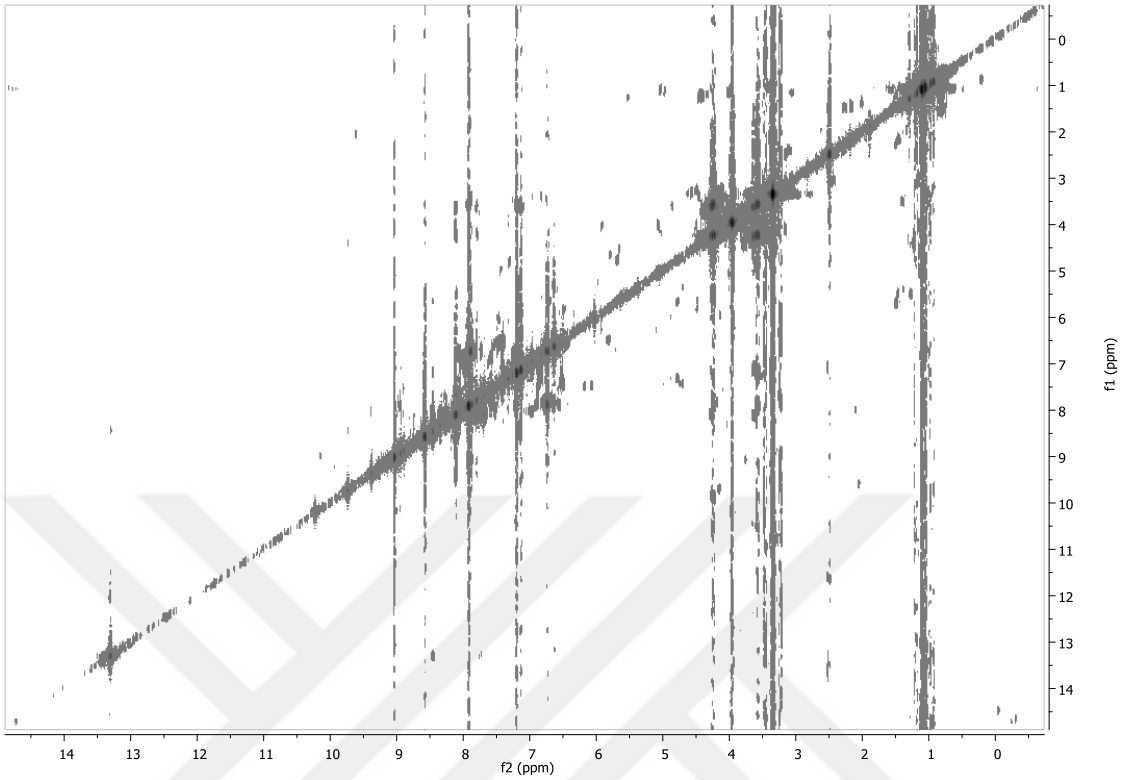


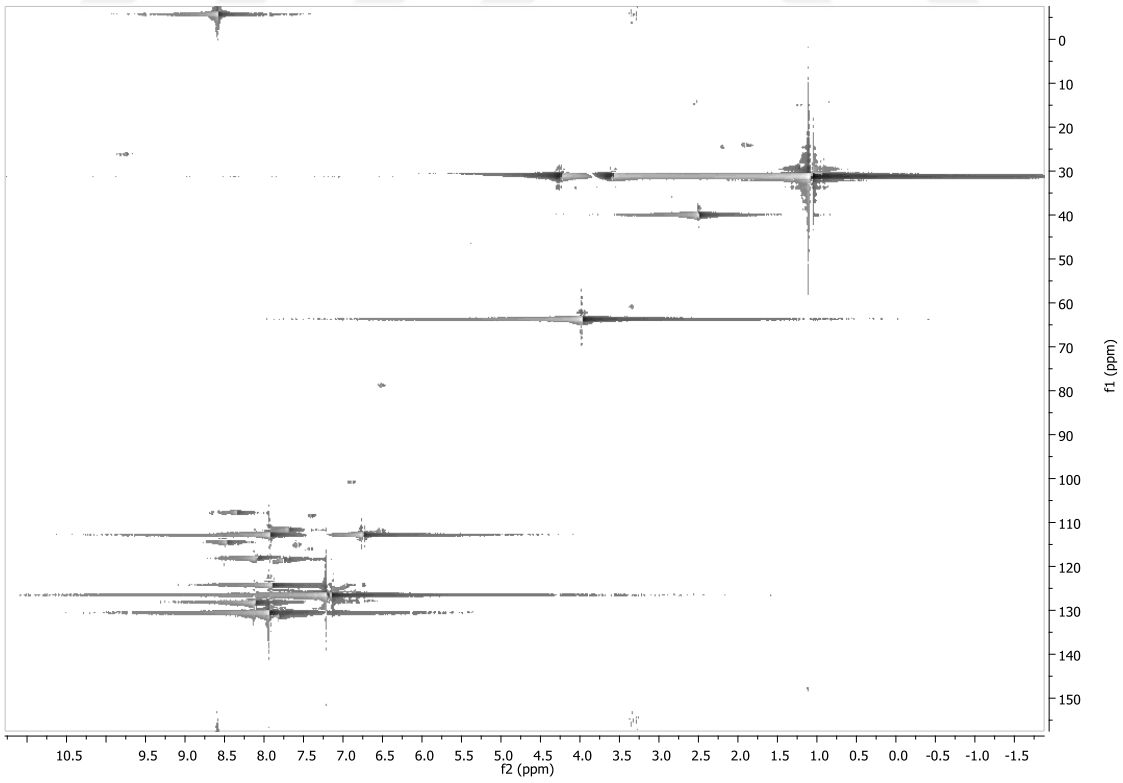
EK-24 Bileşik **5**'in NOESY ve HETCOR Spektrumu



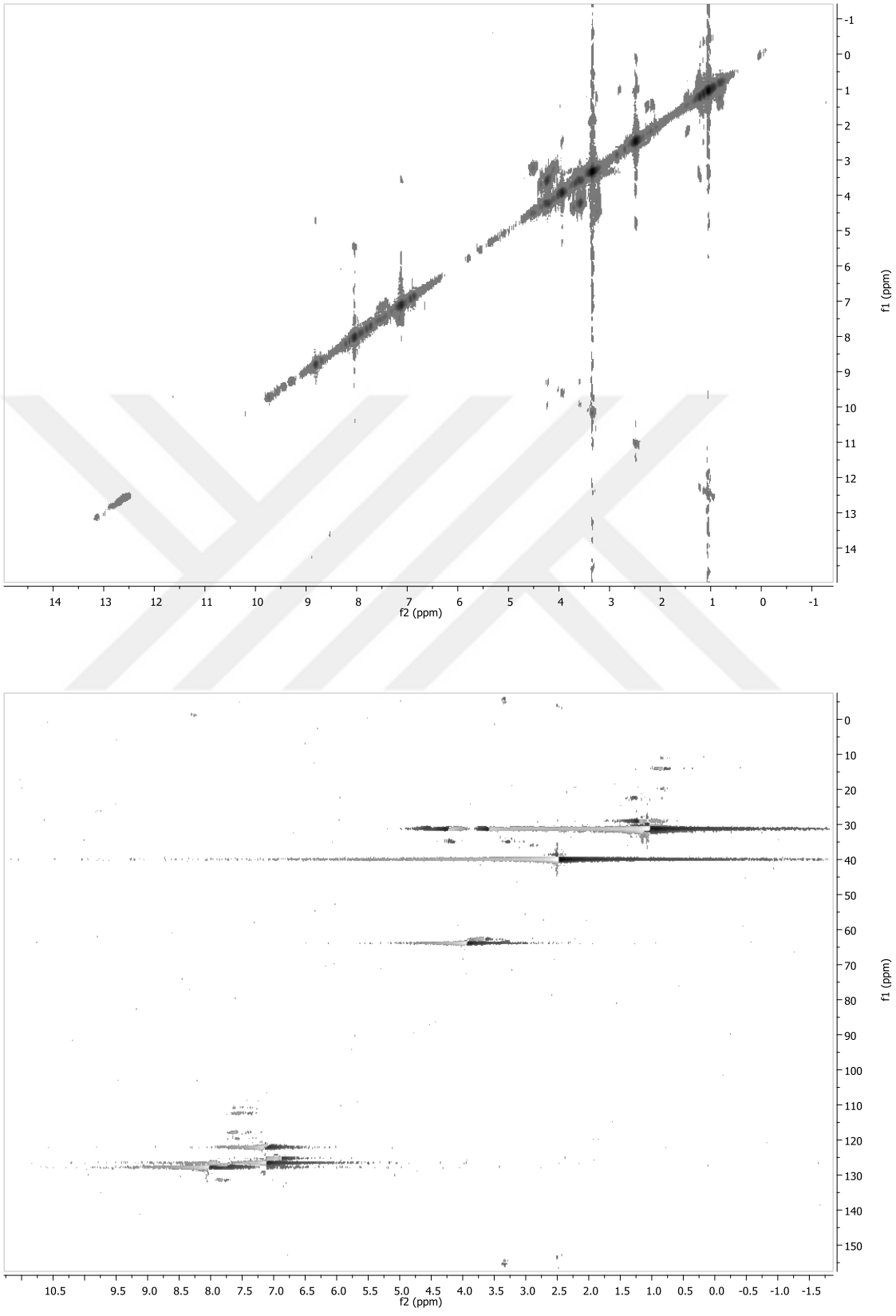


EK-25 Bileşik **6**'nın NOESY ve HETCOR Spektrumu

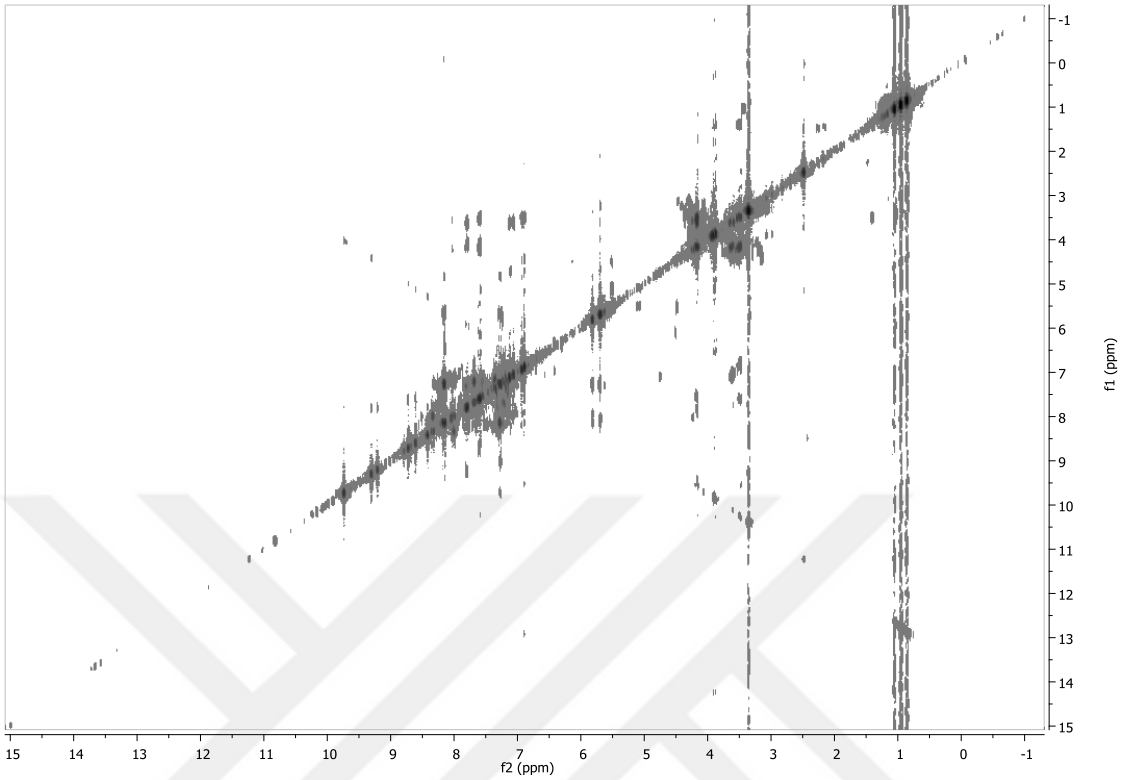


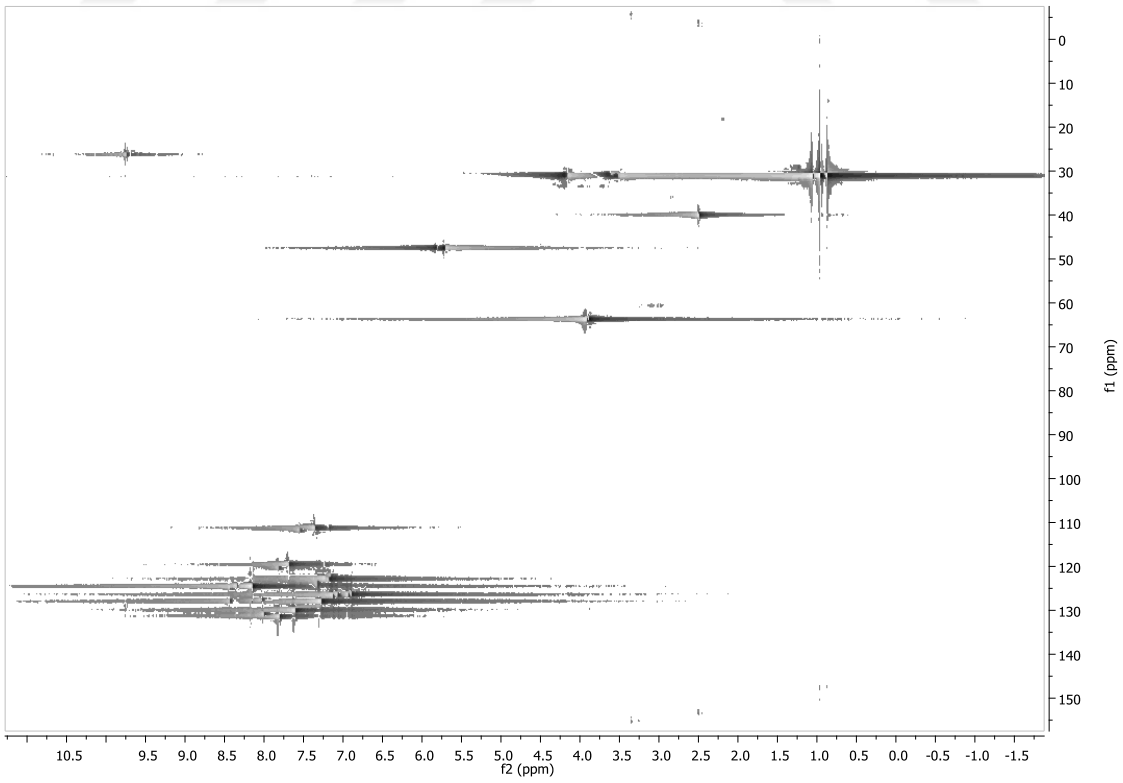


EK-26 Bileşik **7**'nin NOESY ve HETCOR Spektrumu

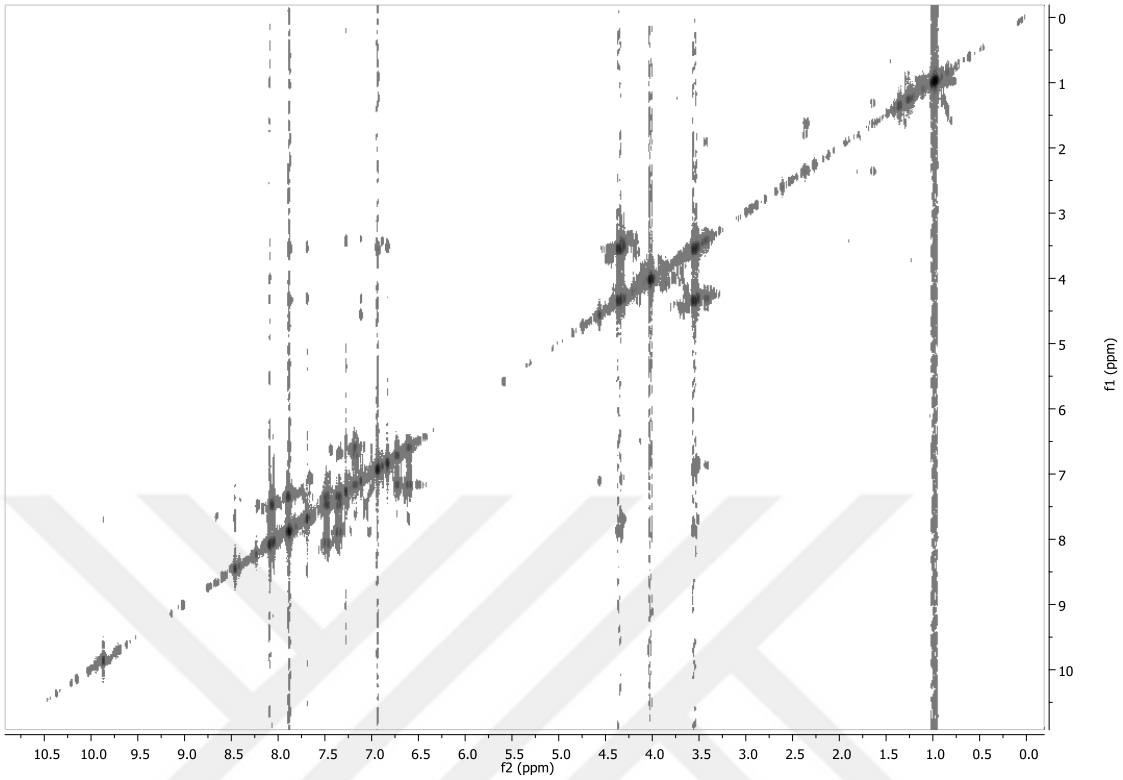


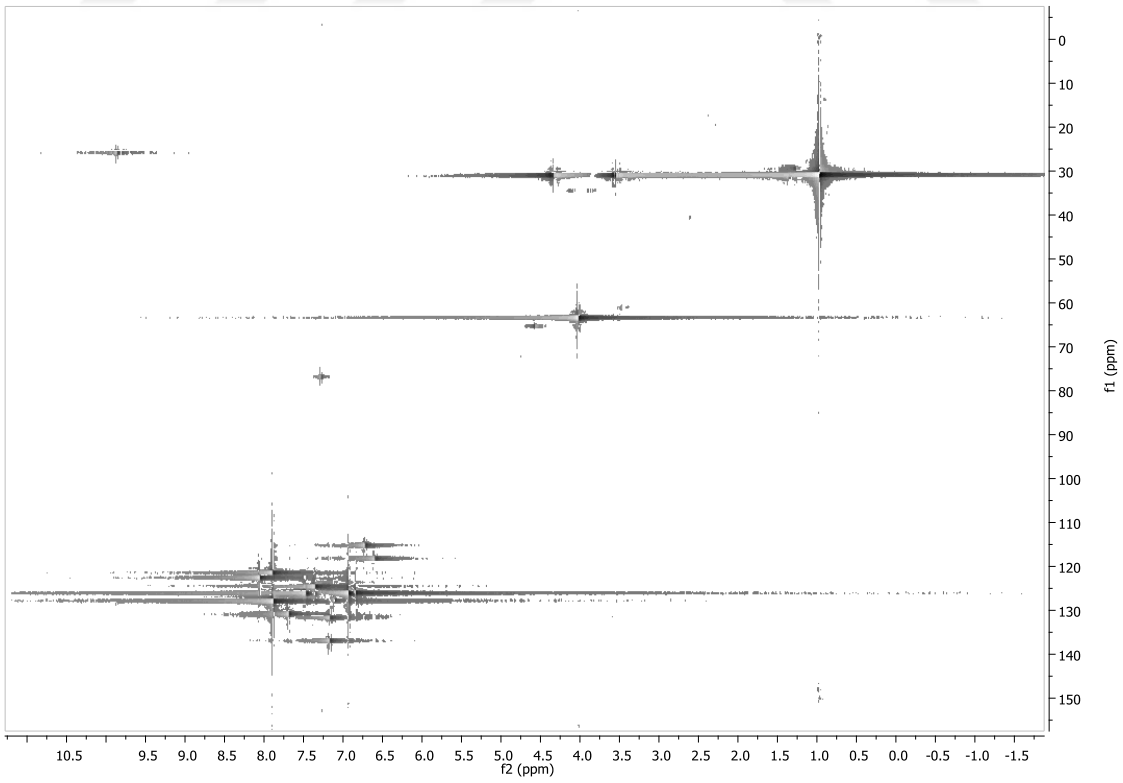
EK-27 Bileşik **11**'in NOESY ve HETCOR Spektrumu



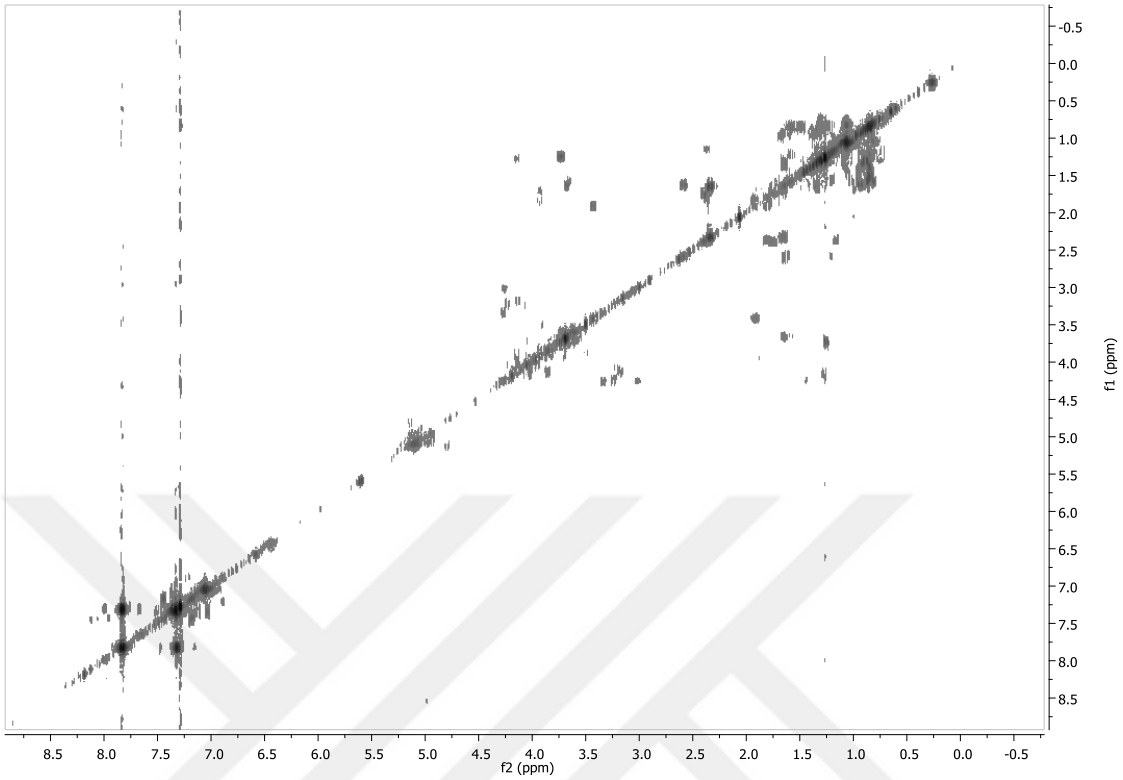


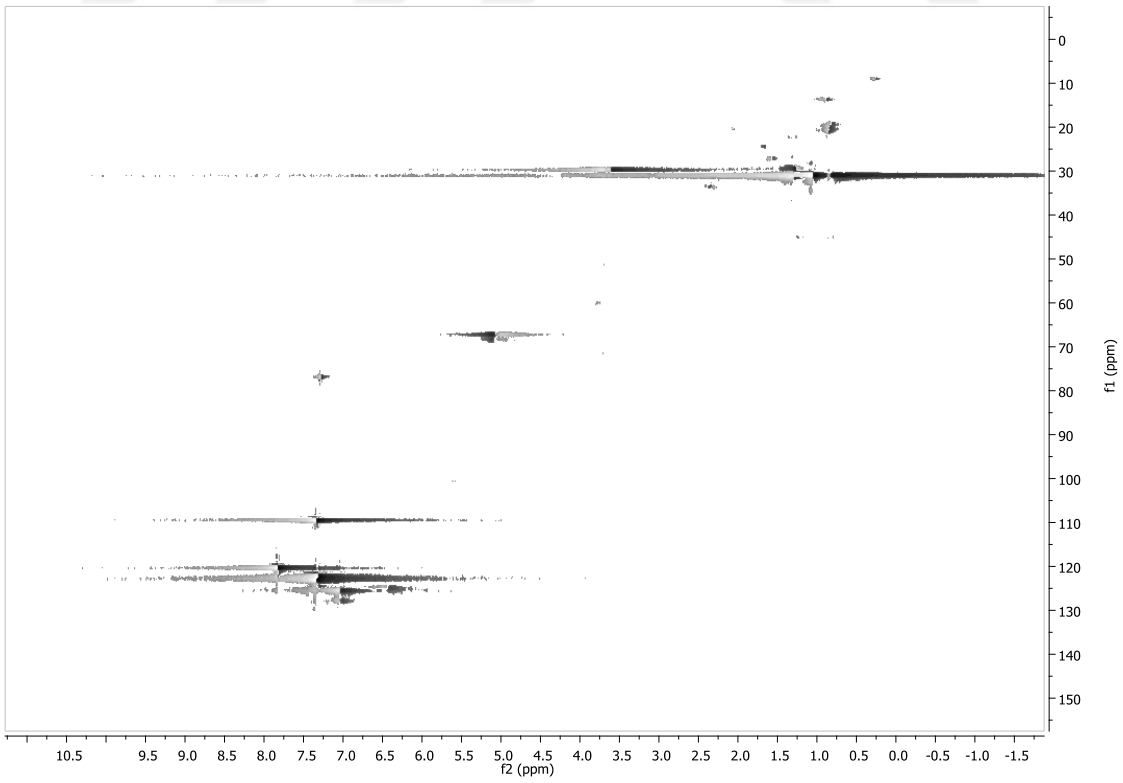
EK-28 Bileşik **12**’nin NOESY ve HETCOR Spektrumu



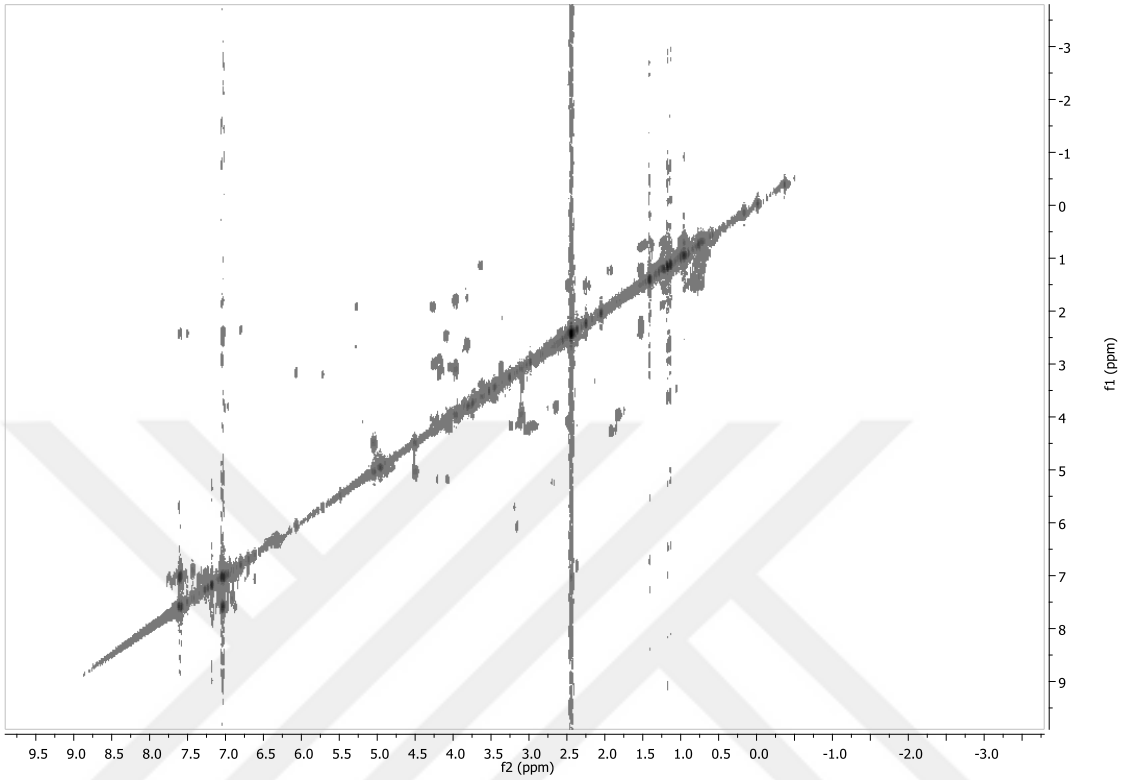


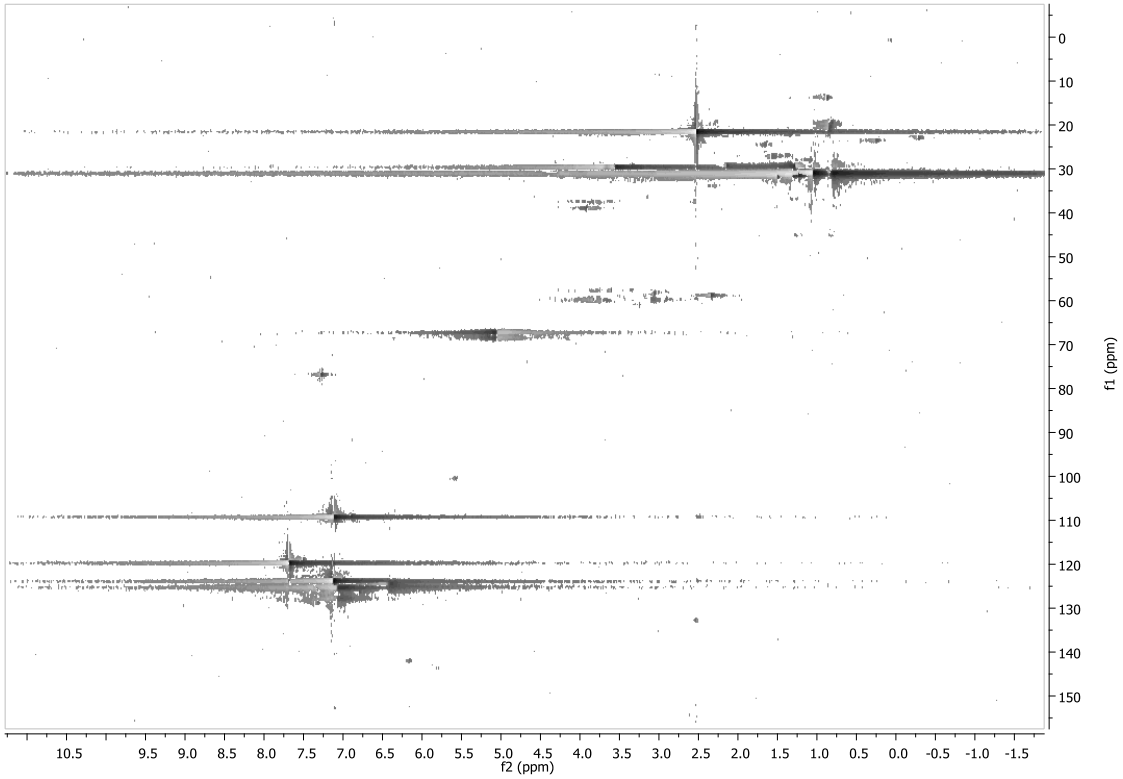
EK-29 Bileşik **21**'in NOESY ve HETCOR Spektrumu



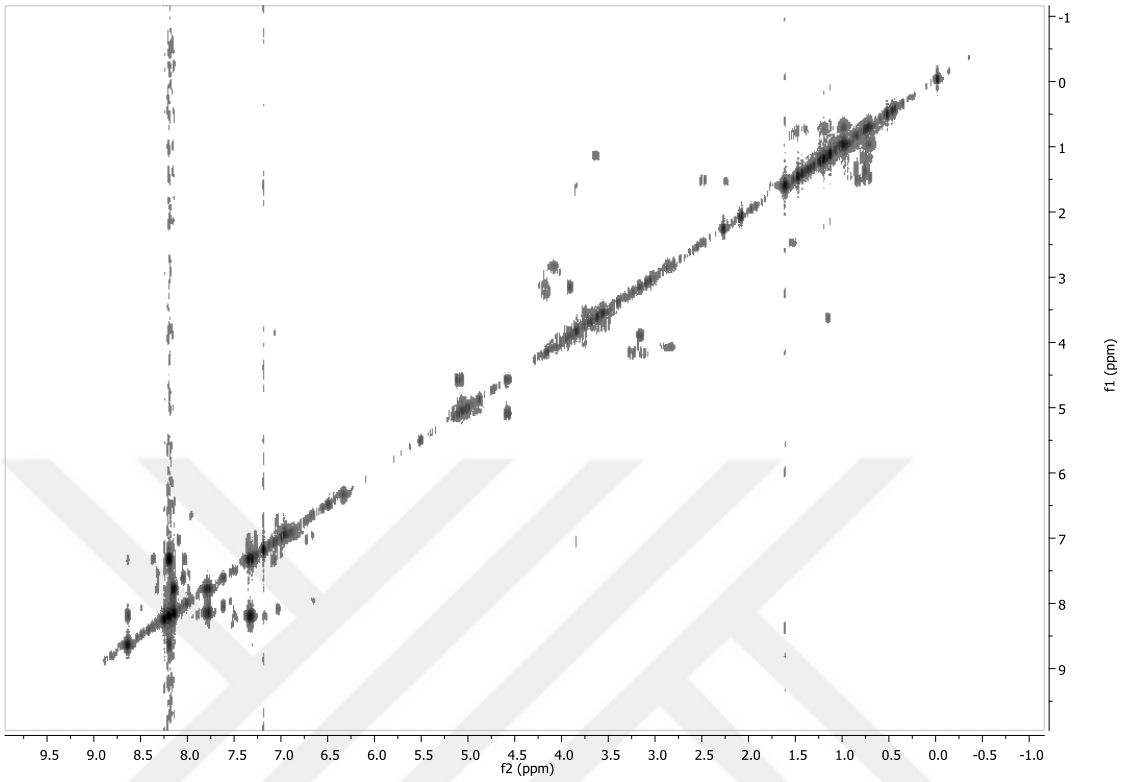


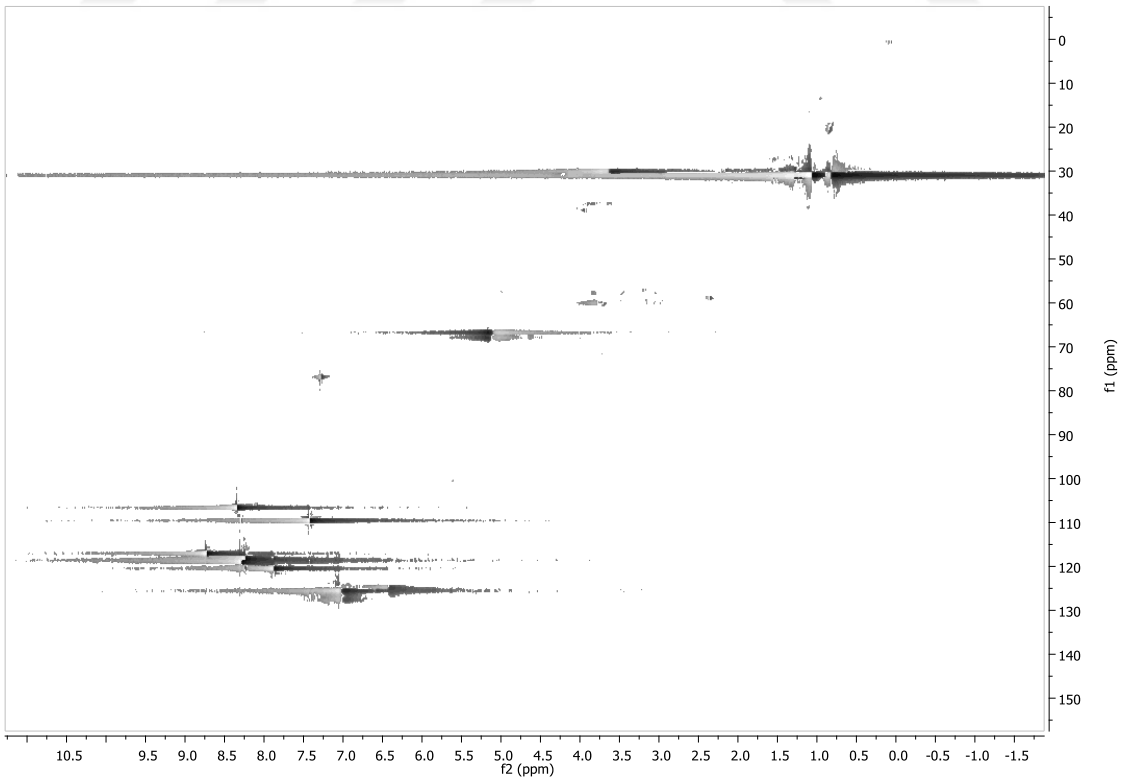
EK-30 Bileşik **22**'nin NOESY ve HETCOR Spektrumu



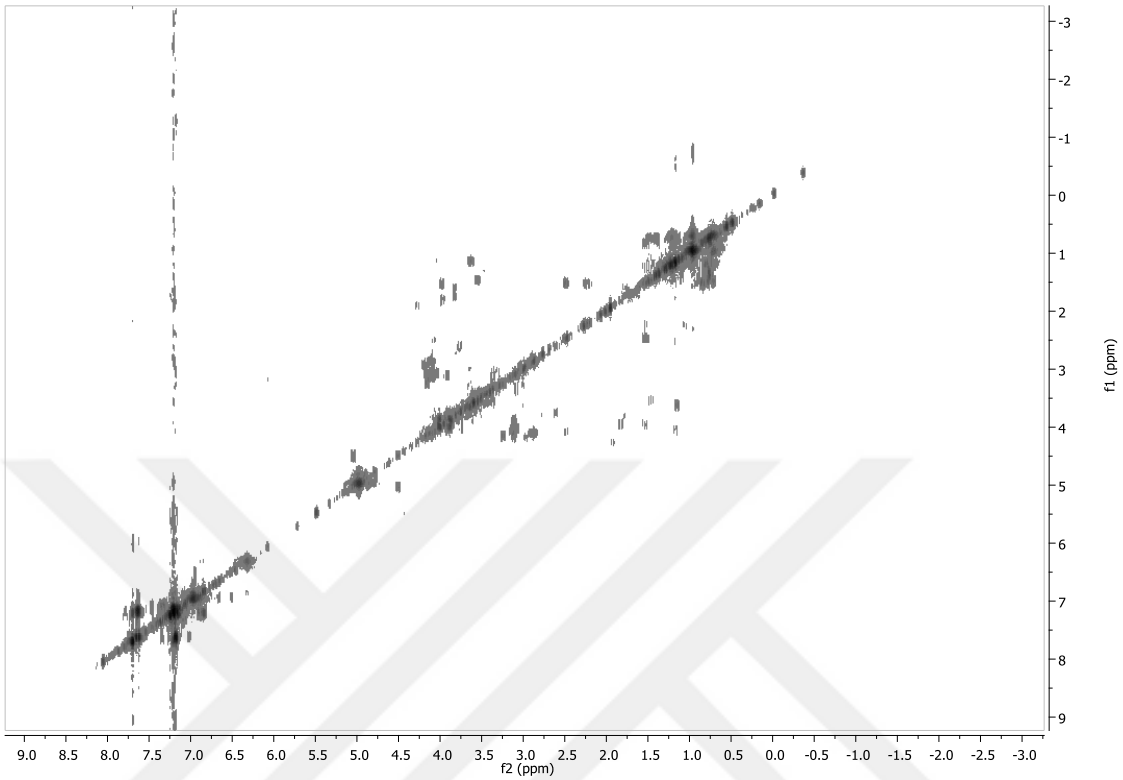


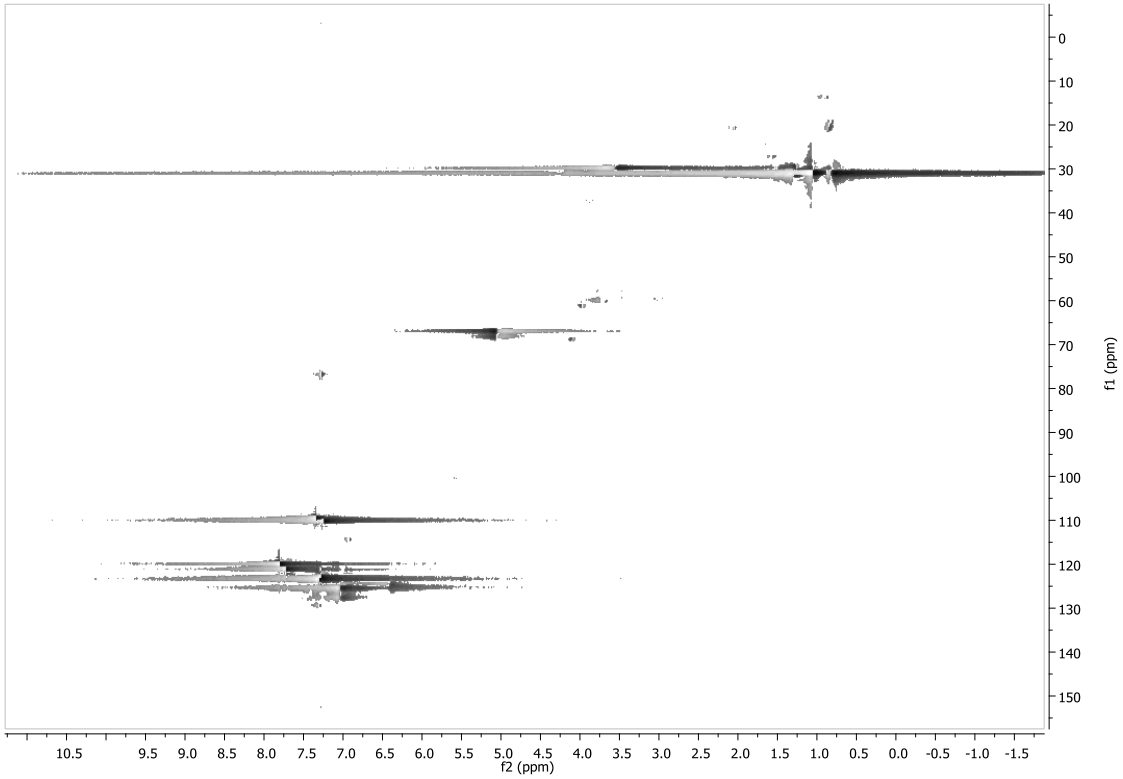
EK-31 Bileşik **23**'ün NOESY ve HETCOR Spektrumu



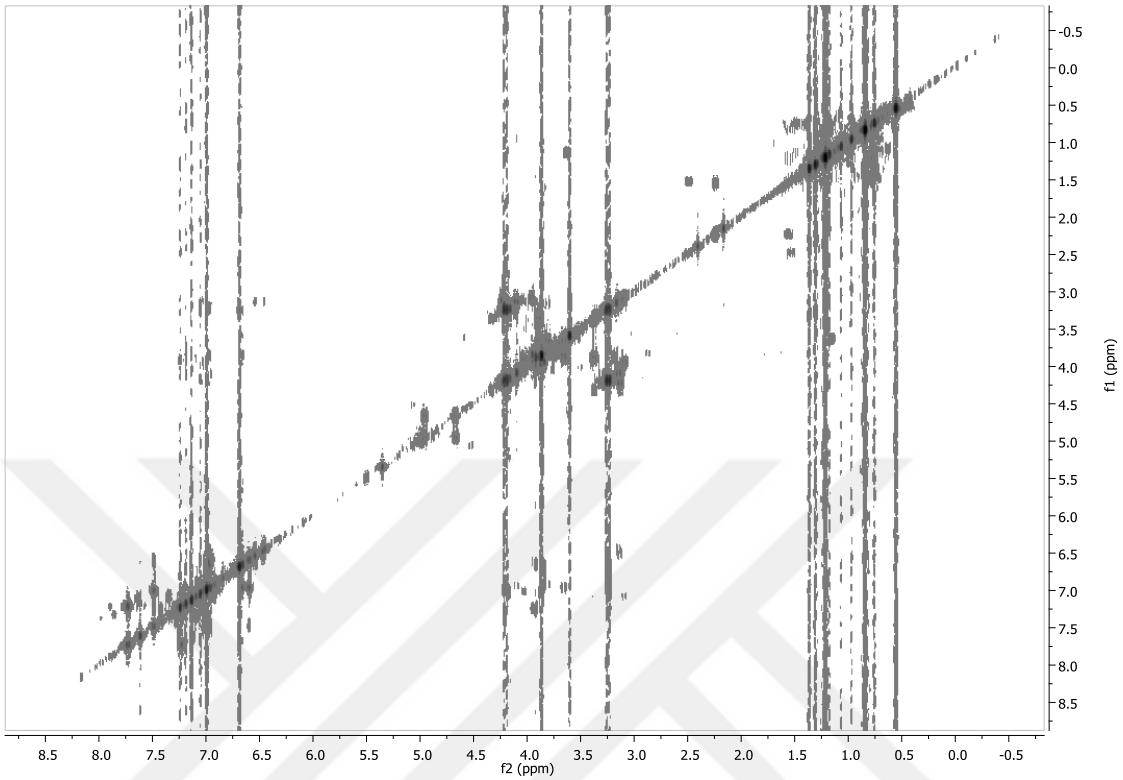


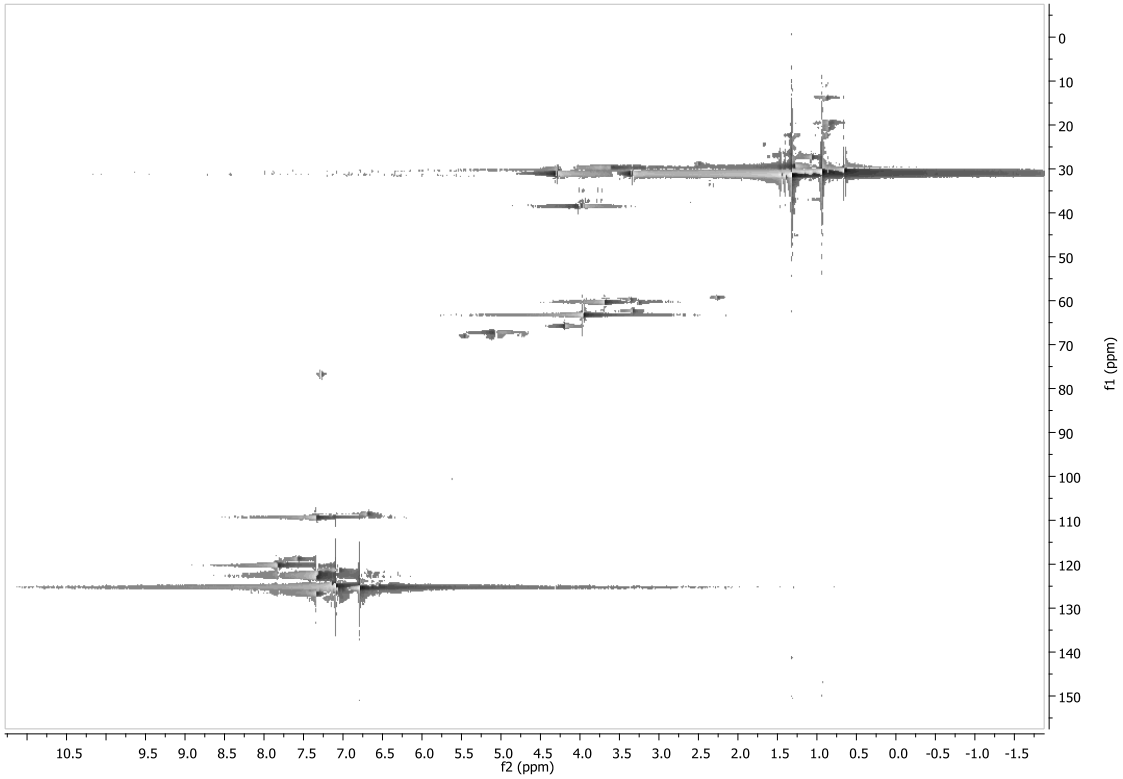
EK-32 Bileşik **24**'ün NOESY ve HETCOR Spektrumu



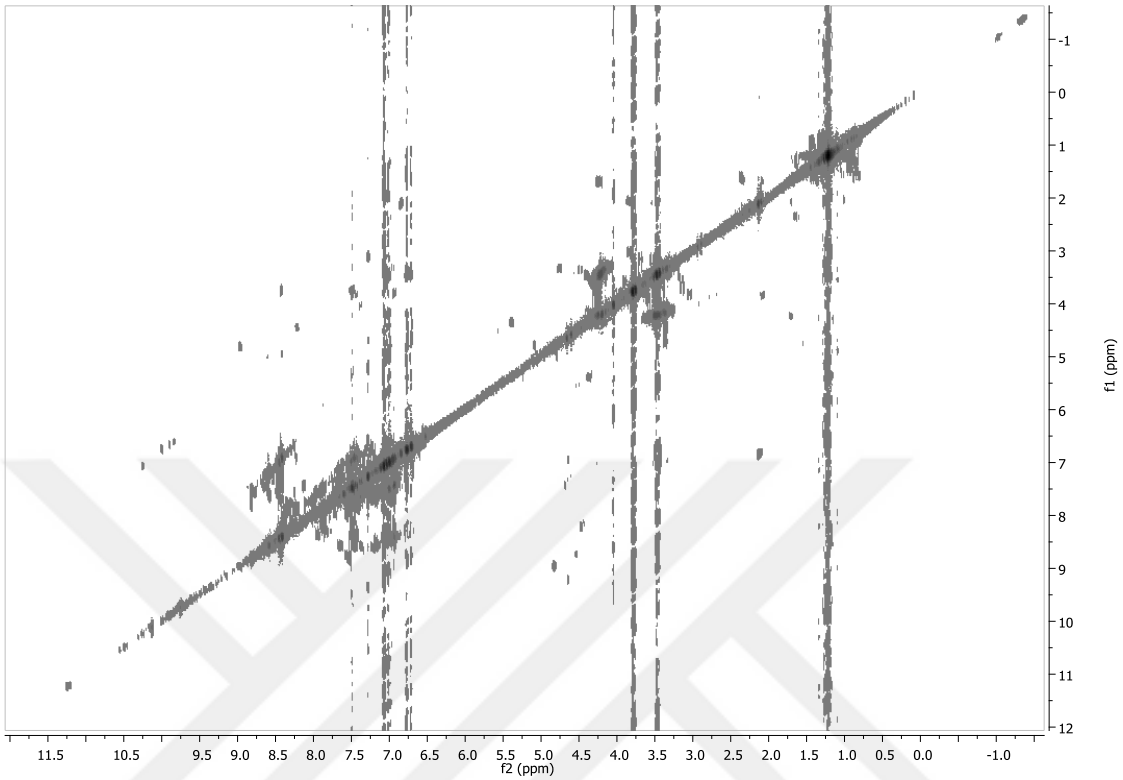


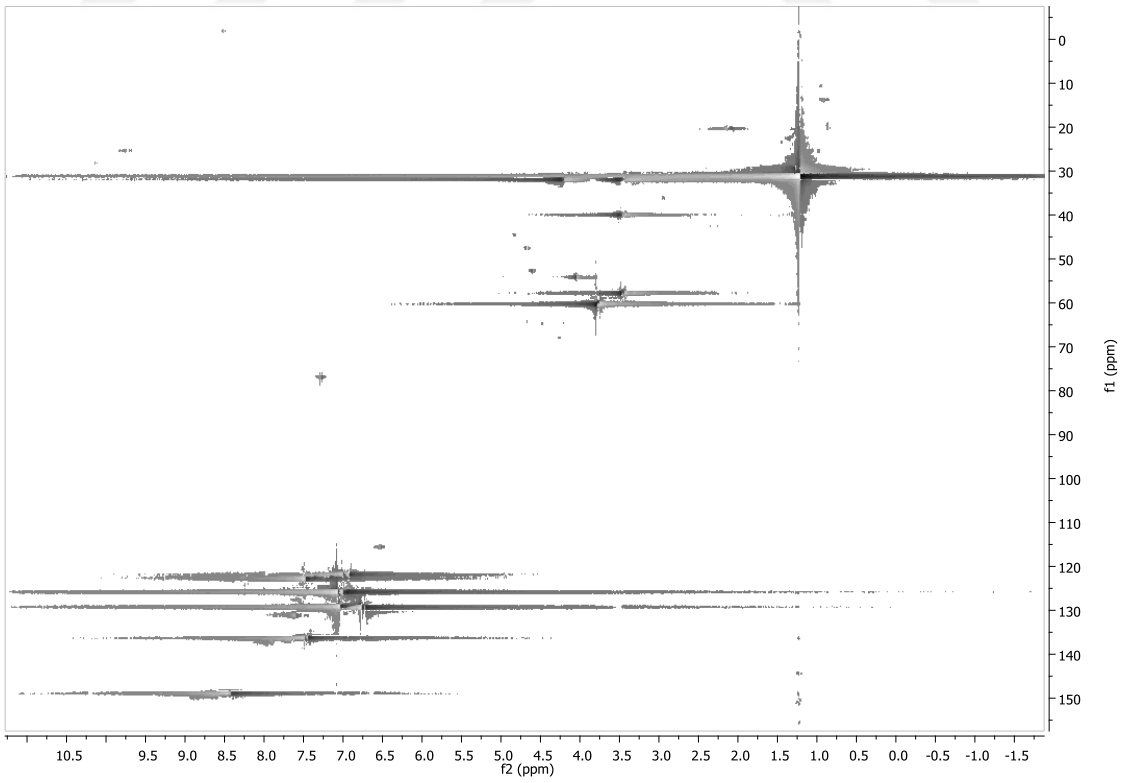
EK-33 Bileşik **25**'in NOESY ve HETCOR Spektrumu



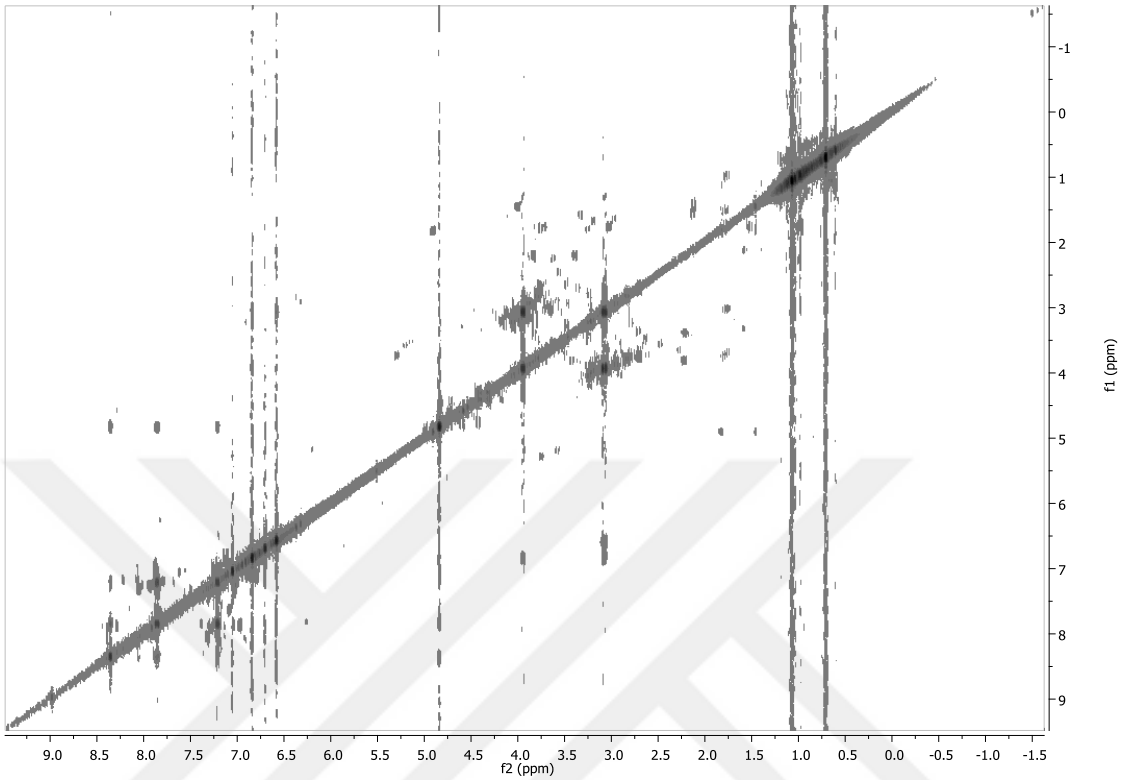


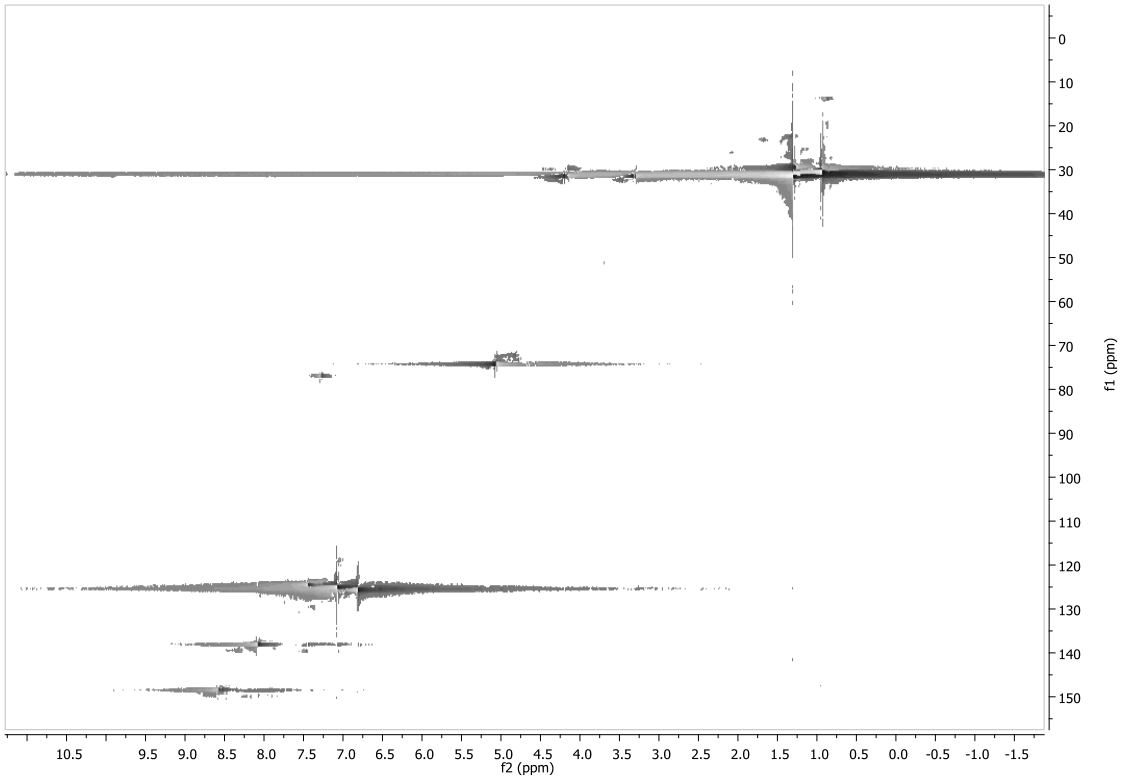
EK-34 Bileşik **31**'in NOESY ve HETCOR Spektrumu



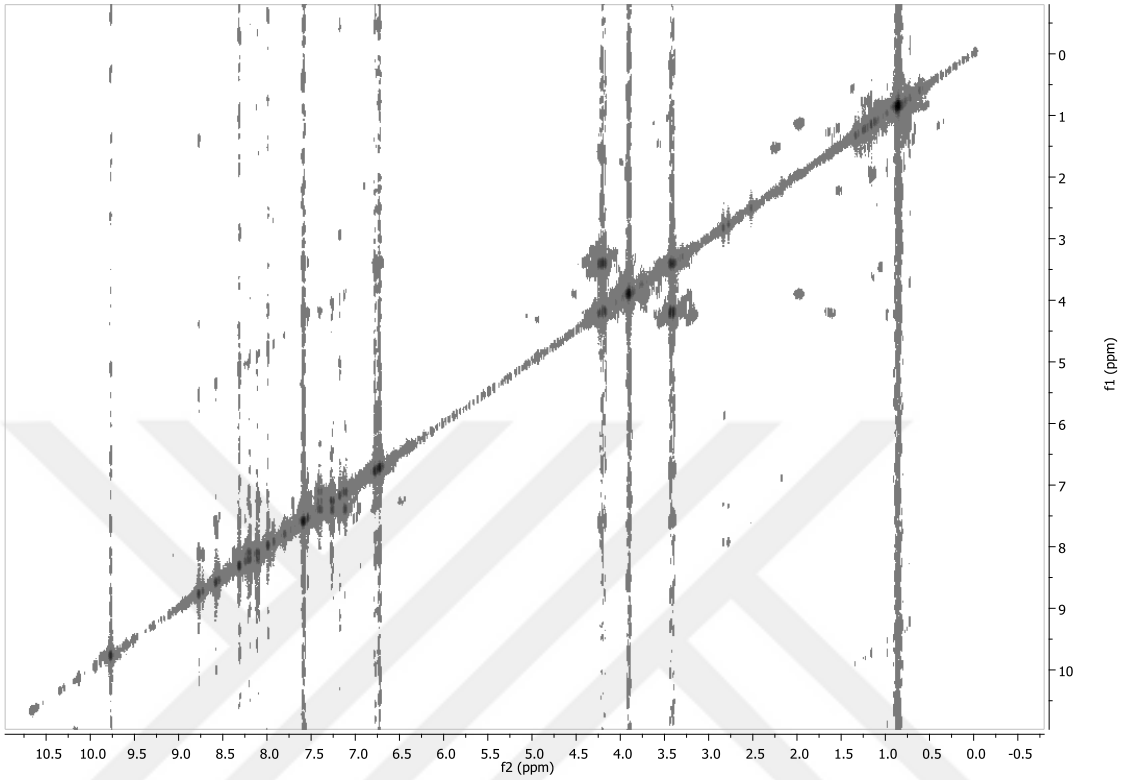


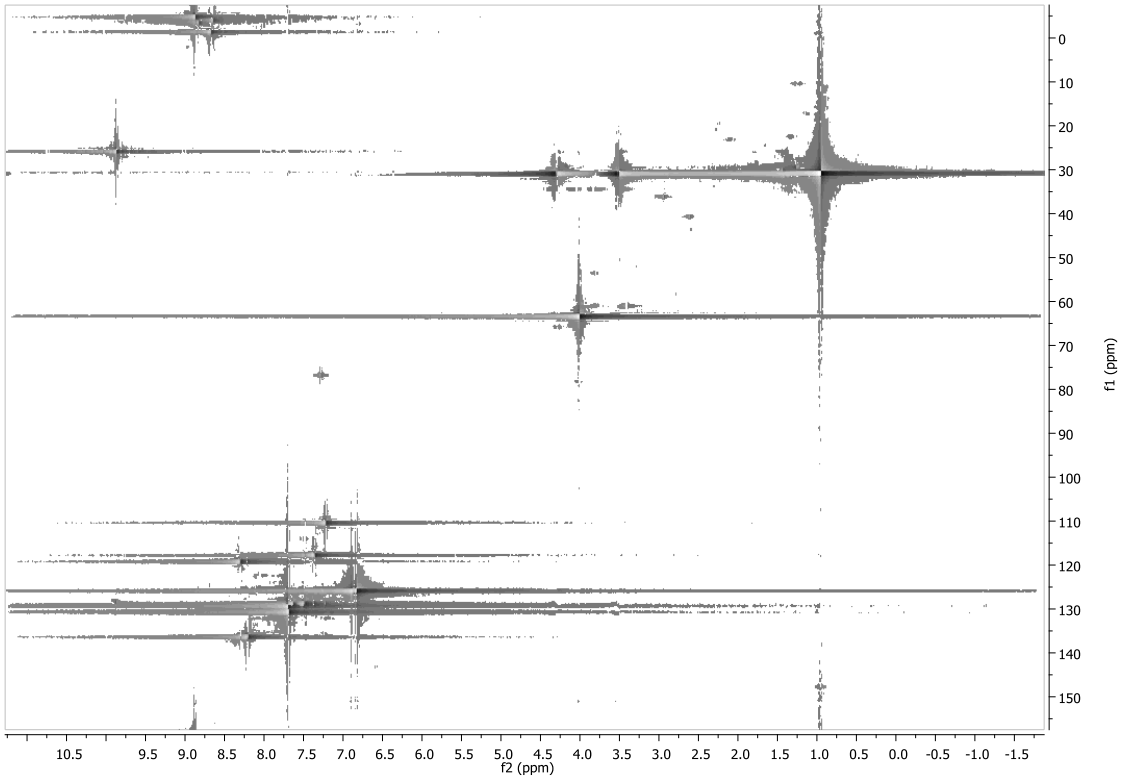
EK-35 Bileşik **32**’nin NOESY ve HETCOR Spektrumu



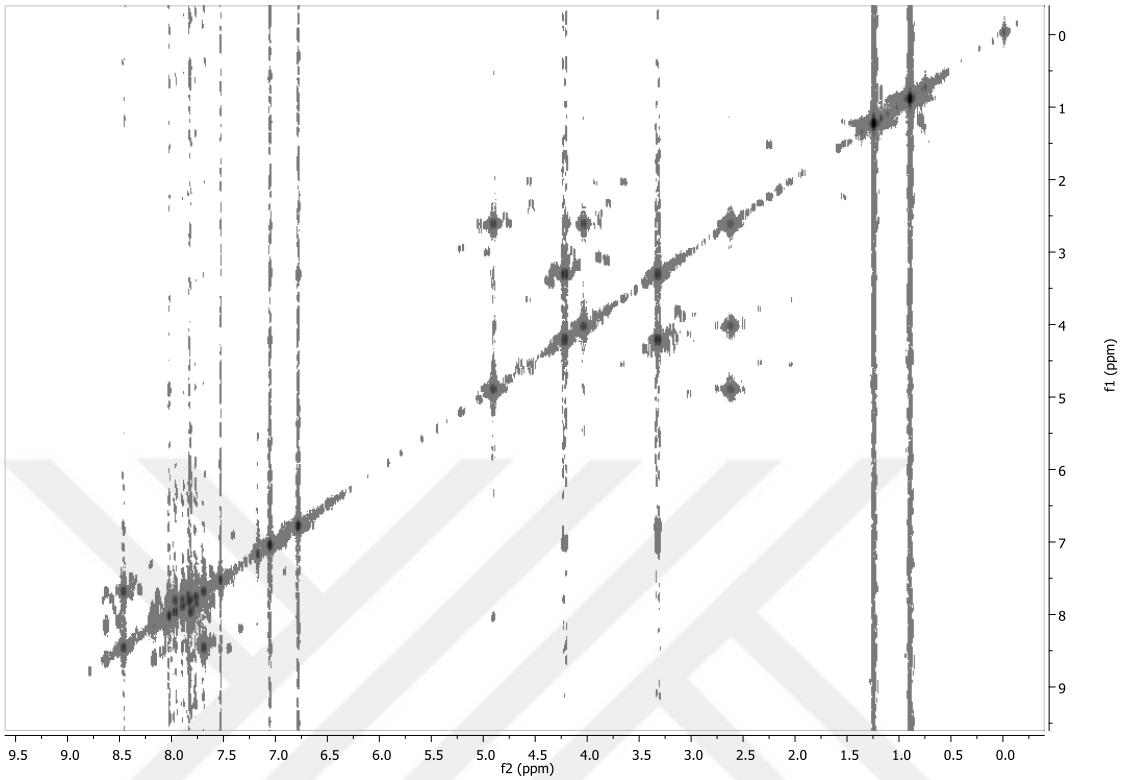


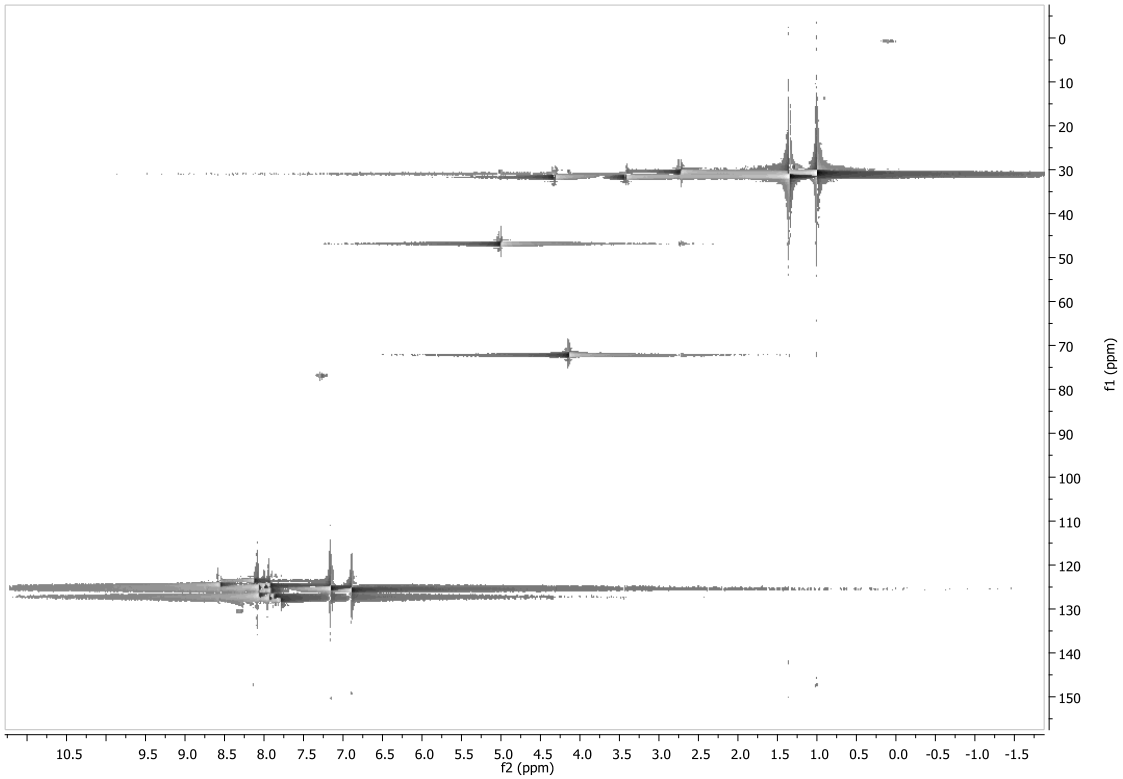
EK-36 Bileşik **34**'ün NOESY ve HETCOR Spektrumu



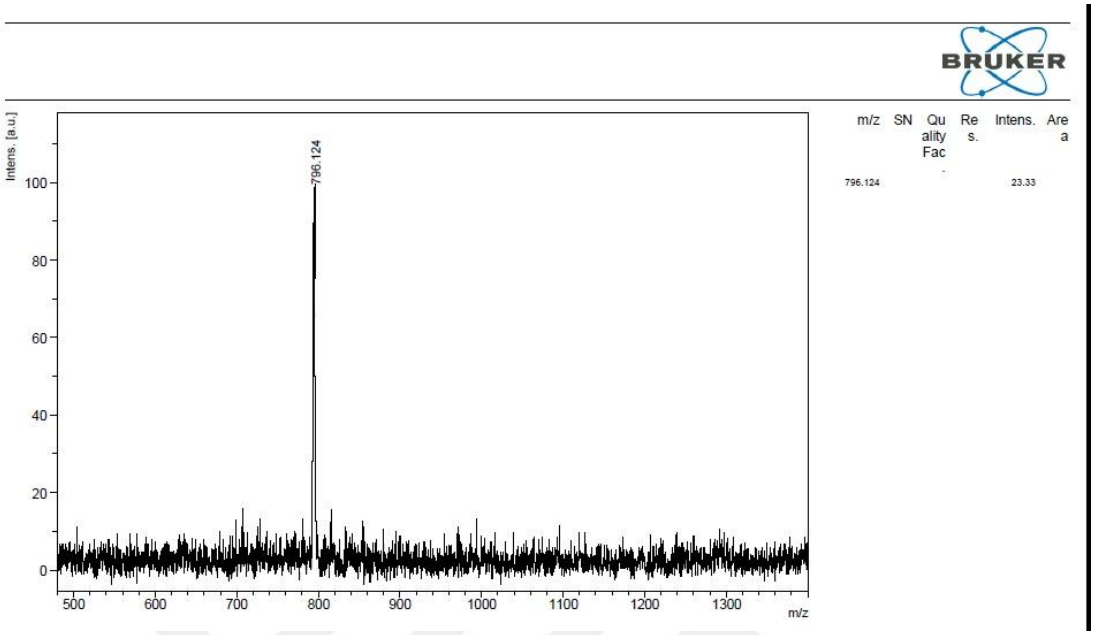


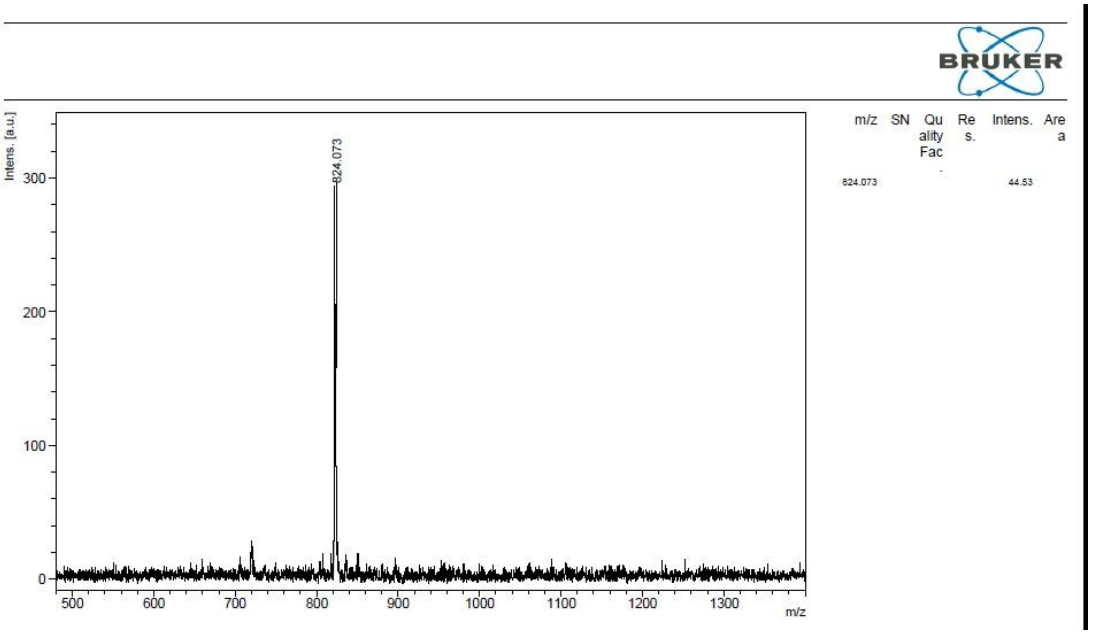
EK-37 Bileşik **37**'nin NOESY ve HETCOR Spektrumu



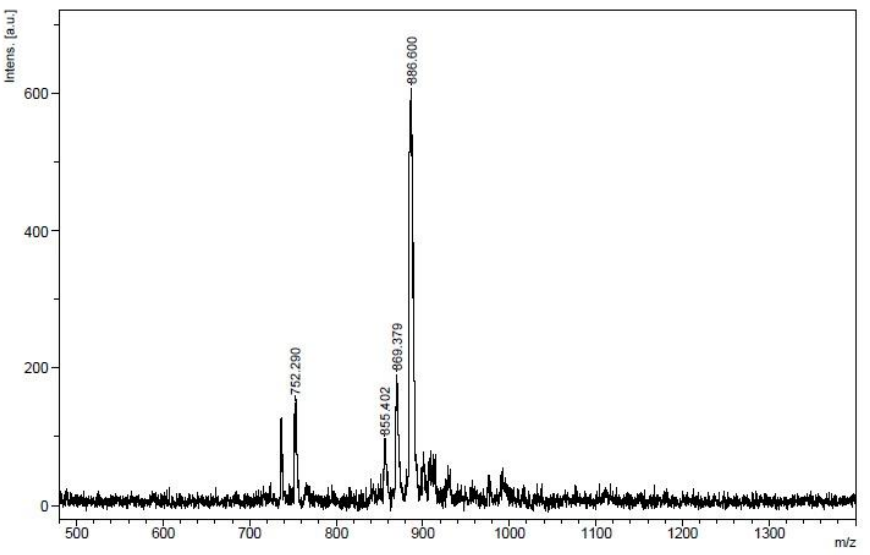


EK-38 Bileşik **4** ve **5**'in MALDI-TOF MS spektrumu

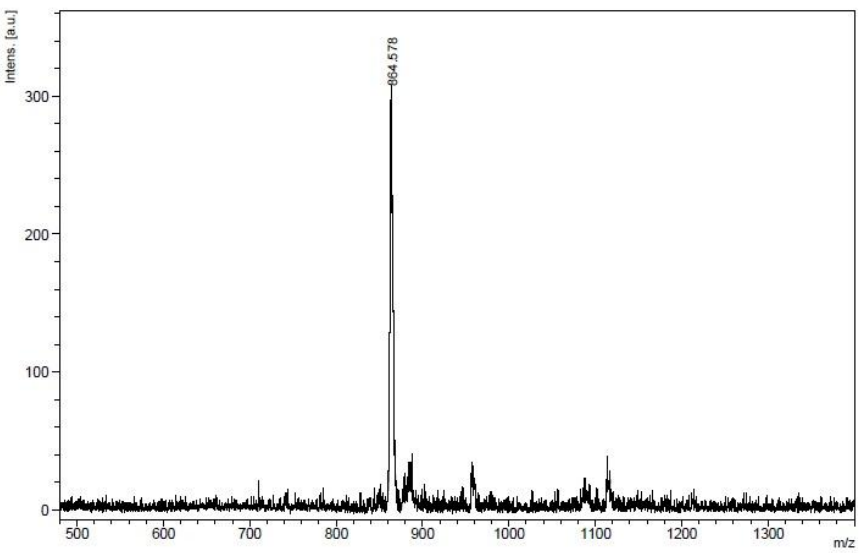




EK-39 Bileşik **6** ve **7**'nin MALDI-TOF MS spektrumu

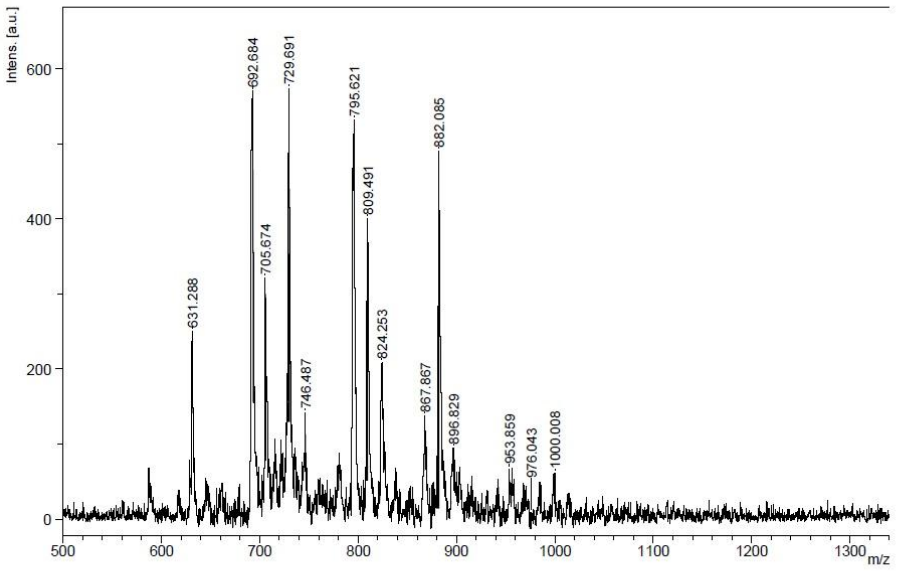


m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
736.254	7.0		1436	128.05	98
752.290	7.9		2645	147.90	72
855.402	4.5		2399	92.27	67
869.379	9.0		2245	189.64	120
886.600				607.36	

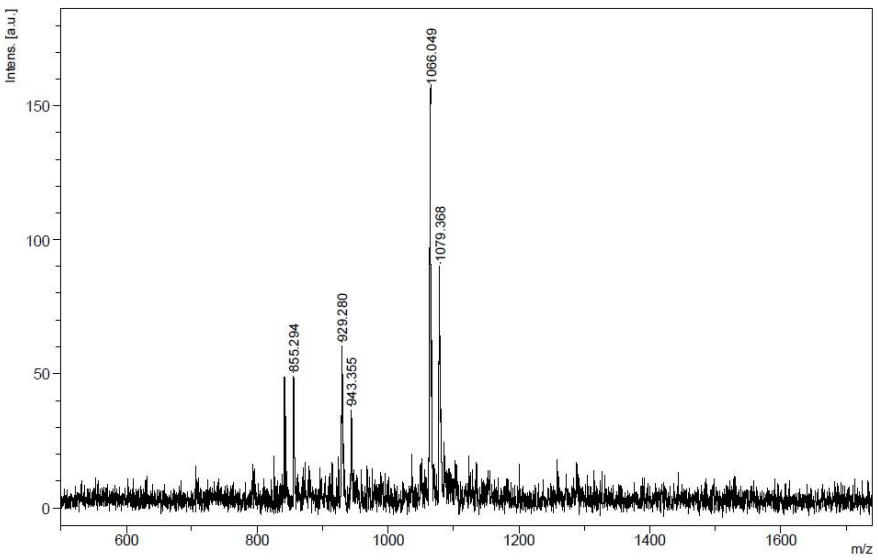


m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
864.578				278.00	

EK-40 Bileşik **10** ve **11**'in MALDI-TOF MS spektrumu

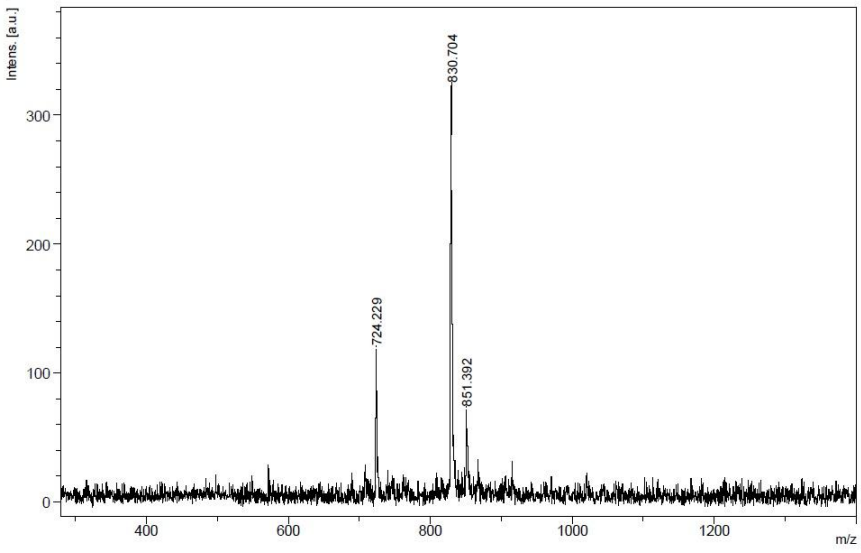


m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
631.288	8.7		1432	250.95	166
692.684	17.0		778	570.31	833
705.674	9.3		673	321.66	402
729.691	15.8		660	574.24	951
746.487	3.7		2104	141.83	87
795.621	14.7		1759	532.46	385
809.491	11.0		728	400.44	511
824.253	5.8		1259	208.20	218
867.867	3.9		1444	137.23	111
882.085	14.0		732	490.61	722
896.829	2.8		1004	94.85	99
942.695	1.7		1786	54.15	36
953.859	2.2		2459	67.52	41
976.043				4.48	
984.511				49.66	
1000.008				61.32	

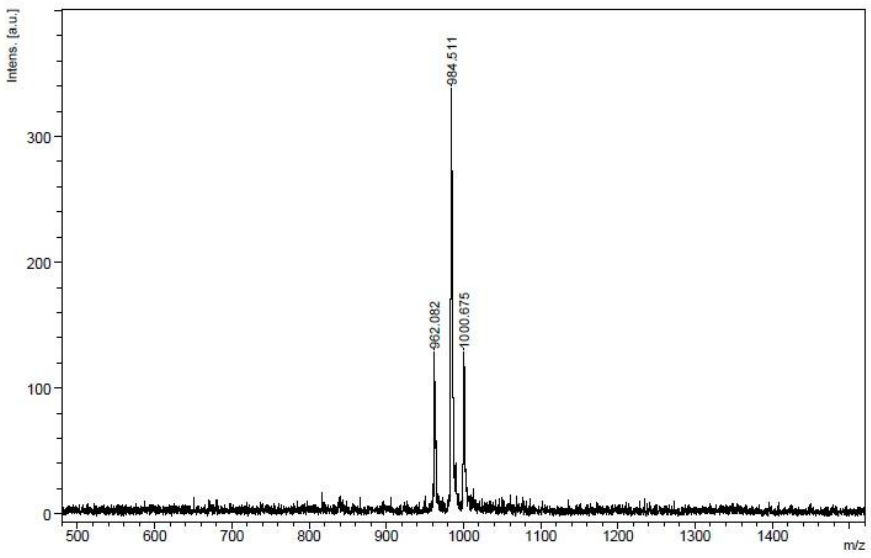


m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
841.399	6.2		1833	48.61	27
855.294	6.2		2351	49.08	22
929.280	7.1		2336	60.35	46
943.355	4.2		2407	36.07	21
1066.049				50.67	
1079.368				59.07	

EK-41 Bileşik **12** ve **21**'in MALDI-TOF MS spektrumu

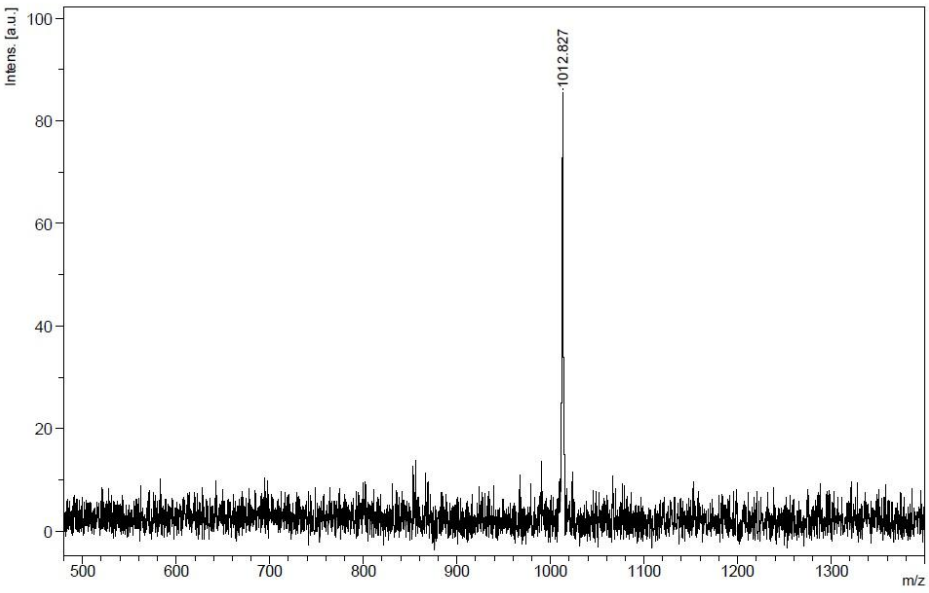


m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
724.229				118.29	
830.704				137.08	
851.392				71.38	

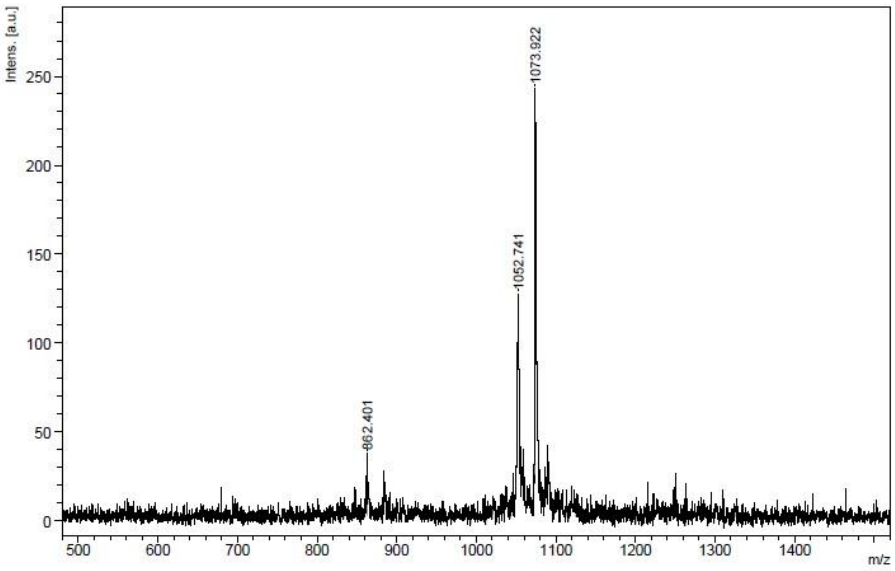


m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
962.082	19.5		1845	126.00	83
984.511				336.00	
1000.675	19.3		2057	126.00	94

EK-42 Bileşik **22** ve **23**'ün MALDI-TOF MS spektrumu

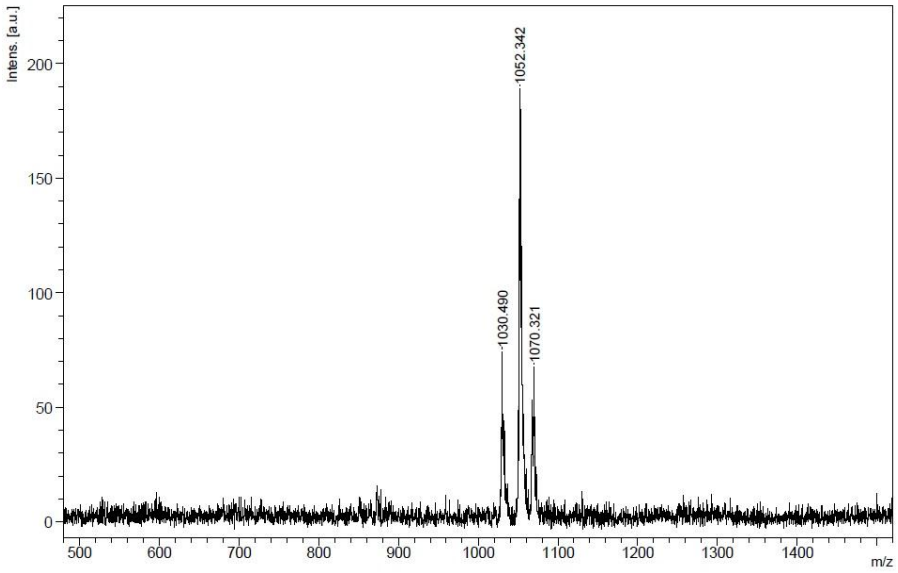


m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
1012.827				83.40	

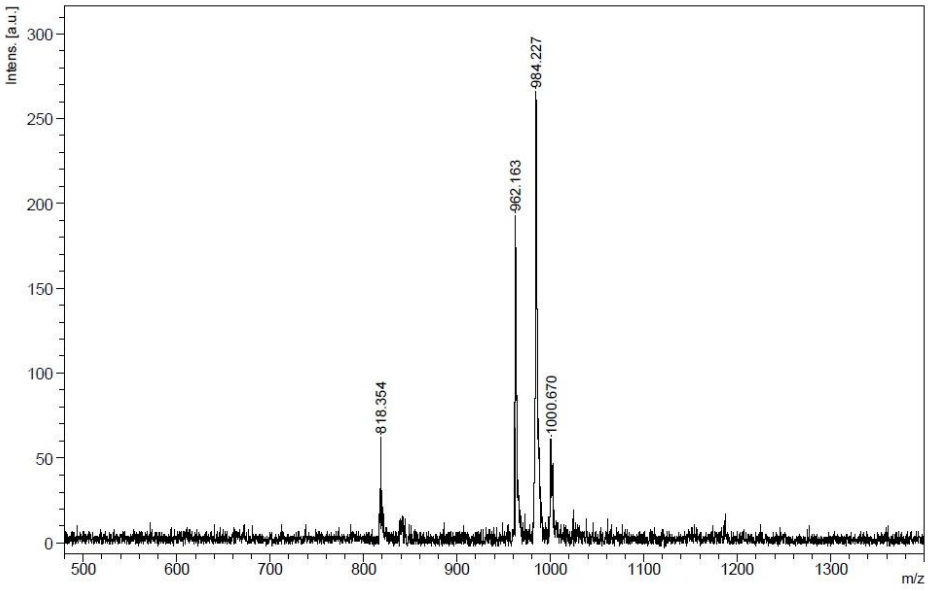


m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
862.401	4.7		1411	37.66	27
1052.741	13.2		1706	126.83	119
1073.922	25.3		2040	242.28	202

EK-43 Bileşik **24** ve **25**'in MALDI-TOF MS spektrumu

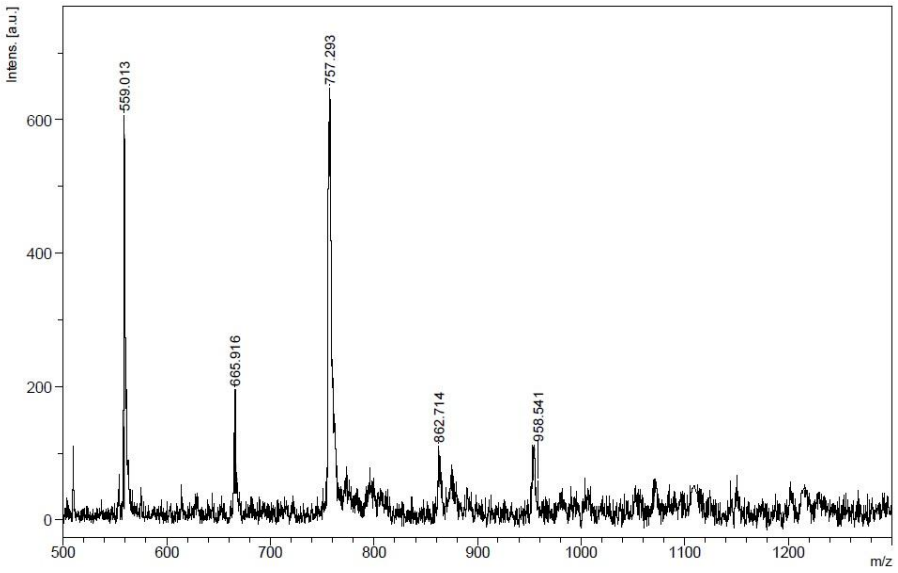


m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
1030.490				70.58	
1052.342				189.12	
1070.321				67.49	

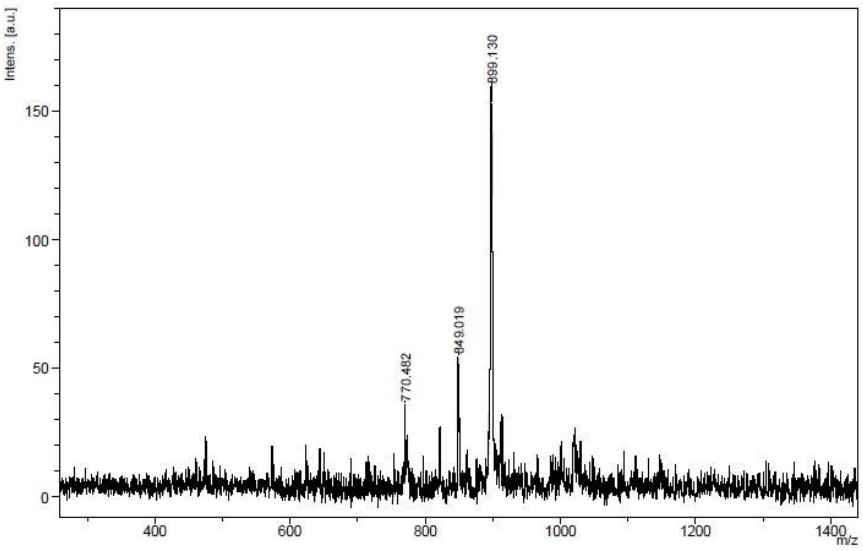


m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
818.354	8.7		1297	62.00	47
962.163	23.7		2071	193.00	124
984.227				266.00	
1000.670	7.7		5522	61.00	23

EK-44 Bileşik **31** ve **32**'nin MALDI-TOF MS spektrumu

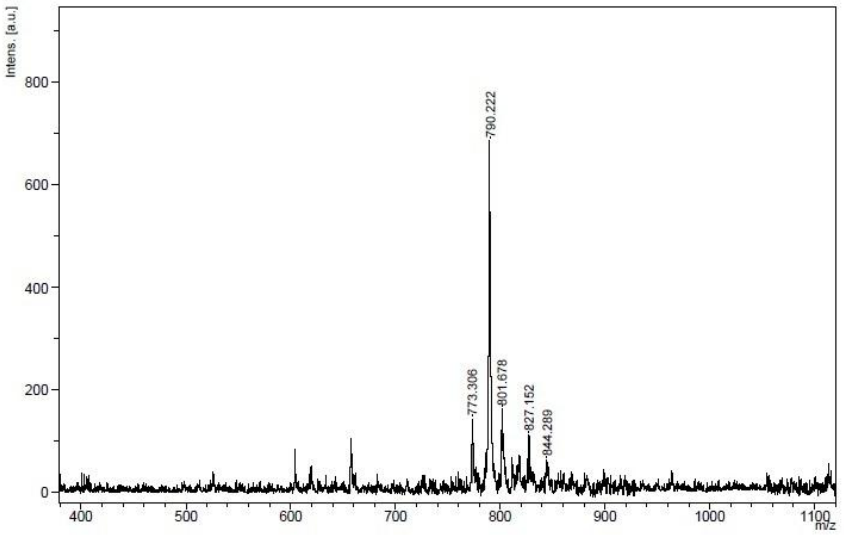


m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
559.013	28.1		1264	607.00	399
665.916	8.0		428	195.00	381
757.293	22.3		2549	647.00	546
862.714	3.7		1421	112.00	90
874.866	2.6		2963	83.00	42
958.541				58.00	

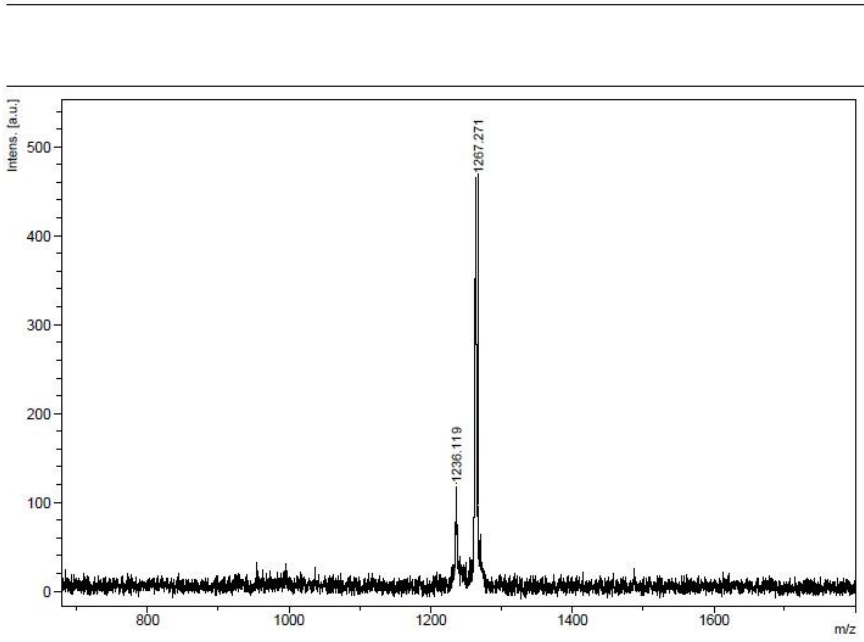


m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
770.482	3.7		990	35.81	33
849.019	5.4		1692	54.33	50
899.130				141.08	

EK-45 Bileşik **34** ve **37**'nin MALDI-TOF MS spektrumu



m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
773.306	5.8		1499	139.34	95
790.222				560.73	
801.678				159.78	
827.152	3.1		692	88.22	109
844.289	2.2		1152	62.15	56



m/z	SN	Quality Fac.	Res.	Intens.	Area
1236.119				117.62	
1267.271				75.48	

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Şeyda Çiğdem ÖZKAN
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Konya/1987
Telefon : -
Faks : -
e-mail : seydaozkan87@gmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Selçuklu Atatürk Lisesi, Selçuklu, Konya	2004
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2008
Yüksek Lisans	:	S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Selçuklu, Konya	2011
Doktora	:	S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Selçuklu, Konya	2018

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2015-2017	Gebze Teknik Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

UZMANLIK ALANI Biyokimya, Biyoorganik kimya

YABANCI DİLLER İngilizce (İyi derecede)

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR

- Ilkay Hilal Gubbuk, **Şeyda Çiğdem Özkan**, and Aydan Yilmaz "Sorption of Heavy Metal Ions by Glass Beads_Immobilized Calix[4]arenes Derivative" *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*, **2013**, Vol. 49, No. 3, pp. 266–273.
- **Şeyda Çiğdem Özkan**, Aydan Yilmaz & İsmail Özmen "Synthesis of new calix[4]arene amide derivatives and investigation of their DNA cleavage activity" *Supramolecular Chemistry*, **2014**, 26, 25-31 (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır).
- **Şeyda Çiğdem Özkan**, Aydan Yilmaz, Emine Arslan, Leyla Açık, Ülkü Sayın, Elif Gülbahçe Mutlu, "Novel copper(II) complexes of *p-tert*-butylcalix[4]arene diamide derivatives: Synthesis, Antimicrobial and DNA cleavage activities" *Supramolecular Chemistry*, **2015**, 27, 255-267 (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır).

Ulusal ve Uluslar arası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceeding) basılan bildiriler

- Yilmaz, A., Arslan, U., Yıldız, D., **Özkan, Ş.Ç**., "Synthesis of Water Soluble O-alkylsulfonatocalix[4]arene and Their Biological Activities ", 11th International Conference on Calixarenes, Tarragona, Spain, P60, 2011,(Konferans).

- **Ş. Ç. Özkan**, A.Yilmaz, L. Açık, E. Arslan "Investigation of biological properties of calix[4]arene amide derivatives" 3th Pak-Turk International Chemistry Conference, 2012, Bursa, TURKEY.

- Daşbadem, R., **Özkan, Ş.Ç.,** Yılmaz, A., "Bazı 2-fenil kinazolin-4(3h)-on türevlerinin sentezi ve biyolojik özelliklerinin incelenmesi" 2. Ulusal Organik Kimya Kongresi, 24-26 Eylül 2014, Ankara, TÜRKİYE.

- **Özkan, Ş.Ç.,** Yilmaz, A., Özmen, İ., "Investigation of DNA binding properties of the calix[4]arene amide derivatives", *International Conference on Applied Informatics for Health and Life Sciences (AIHLS),* 19-22 Ekim 2014, Kuşadası, Aydın, TURKEY.

- Yilmaz, A., **Özkan, Ş.Ç.,** Arslan, E., "DNA Cleavage Activities of Novel Cu(II) complexes of Calix[4]arene Amide Derivatives", *International Conference on Applied Informatics for Health and Life Sciences (AIHLS),* 19-22 Ekim 2014, Kuşadası, Aydın, TURKEY.

- Yılmaz, A., **Özkan, Ş.Ç.,** Sayın, Ü., "Amit Fonksiyonel Gruplu Kaliks[4]arenlerin Bakır(II) Komplekslerinin Sentezi ve Karakterizasyonu", V. Ulusal Anorganik Kimya Kongresi, 22-25 Nisan 2015, Mersin, TÜRKİYE.

- Burhanoğlu, T., Ekşiler, K., Seyitoğlu, A.N., **Özkan, Ş.Ç.,** Türkan, A., "Effects of Ca^{2+} and Zn^{2+} ions on the activity and stability of*Geobacillus kaustophilus* lipase", *European Biotechnology Congress*, 7-9 Mayıs 2015, Bucharest, Romanya.

- **Özkan, Ş.Ç.**, Türkan, A., "Ca^{2+} iyonunun *Geobacillus kaustophilus* lipaz aktivitesine ve kararlılığına etkisi", GTÜ 1. Kimya Öğrenci Kongresi, 7 Nisan 2016, Gebze, Kocaeli, TÜRKİYE.

- **Özkan, Ş.Ç.**, Seyitoğlu, A.N., Türkan, A., "Mn^{2+} iyonunun *Geobacillus kaustophilus* lipaz aktivitesine ve kararlılığına etkisi", 27. Ulusal Kimya Kongresi, 23-28 Ağustos 2015, Çanakkale, TÜRKİYE.

- **Özkan, Ş.Ç.**, Türkan, A., "Thermal-Unfolding Studies of *Geobacillus kaustophilus* Lipase by Circular Dichroism Spectroscopy", 28. Ulusal Kimya Kongresi, 15-20 Ağustos 2016, Mersin, TÜRKİYE.

- **Ş. Ç. Özkan**, A.Yilmaz, "Bazı Benzimidazol gruplu Kaliks[4]aren türevlerinin sentezi ve antibakteriyel özelliklerinin incelenmesi", GTÜ 2. İnovatif Kimya Bilim Öğrenci Kongresi, 7 Nisan 2017, Gebze, Kocaeli, TÜRKİYE.

- **Ş. Ç. Özkan**, A.Yilmaz, "Synthesis of new benzimidazole derivatives of *p-tert*-buthylcalix[4]arenes and investigation of DNA interactions of them", 4th International TURK-PAK Conference On Chemical Sciences (ITPCCS 2017), 26-28 Ekim 2017, Konya, TÜRKİYE.

- A.Yilmaz, **Ş. Ç. Özkan**, "Investigation of DNA interactions of some water-soluble calix[4]arenes" ChemBioCon 2018, 11-14 Temmuz 2018, Sharm El Sheikh, Mısır.