



FEN FAKÜLTESİ  
Faculty of Science

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ / ATATÜRK UNIVERSITY

**ATA-KİMYA DERGİSİ**  
JOURNAL OF ATA-CHEM

**JOURNAL OF ATA-CHEM**  
*(J Ata-Chem)*

**ATA-KİMYA DERGİSİ**  
*(Ata-Kim Derg)*

<http://bilimseldergiler.atauni.edu.tr/system/ata-chem/index>

KASIM / NOVEMBER

YIL / YEAR 2021

CİLT / VOLUME: 01

SAYI / ISSUE: 01



JOURNAL OF ATA-CHEM / ATA-KİMYA DERGİSİ  
(Ata-Kim Derg / J Ata-Chem)

CONTENTS / İÇİNDEKİLER

RESEARCH ARTICLES / ARAŞTIRMA MAKALELERİ	Page Sayfa
<p><b>Aytuğ OKUMUŞ, Gamze ELMAS, Zeynel KILIÇ</b></p> <p>“Syntheses and spectral characterizations of tetraspirocyclotetraphosphazenes containing bis(4-fluorobenzyl) pendant arms”</p> <p>“Bis(4-florobenzil) pendant kollu tetraspirosiklotetrafosfazenlerin sentezi ve spektral karakterizasyonu”</p>	1-19
<p><b>Celal Tuğrul ZEYREK, Ertuğrul Gazi SAĞLAM, Sabire AYDIN</b></p> <p>“Studies on the vibrational frequencies and molecular electrostatic potential surfaces of the trans-bis-[O-3-methyl-1-butyl-(ferrocenyl)dithiophosphonato]nickel(II) complex”</p> <p>“Trans-bis-[O-3-metil-1-bütül-(ferrosenil)ditiyofosfonato]nikel(II) kompleksinin titreşim frekansları ve moleküler elektrostatik potansiyel yüzeyleri üzerine çalışmalar”</p>	20-28
<p><b>Esra ÇELİK, Mücahit ÖZDEMİR, Bahattin YALÇIN, Baybars KÖKSOY</b></p> <p>“In silico study and structure-activity relations of glucose-bound coumarin derivatives against the NSP12 protein of SARS-CoV-2”</p> <p>“SARS-CoV-2'nin NSP12 proteinine karşı glukozu bağlı kumarin türevlerinin in silico çalışması ve yapı-aktivite ilişkileri”</p>	29-37
REVIEW ARTICLES / DERLEME MAKALELERİ	
<p><b>Zehra ARSLAN, Murat BİNGÜL</b></p> <p>“Kumarin ve izokumarin türevlerinin anti-enflamatuar aktivite profillerinin araştırılması”</p> <p>“Investigation of anti-inflammatory activity profiles of coumarin and isocoumarine derivatives”</p>	38-51
<p><b>Orkun DALYAN, Mehmet PİŞKİN</b></p> <p>“Kimya fabrikalarında ve kümelerinde domino etkilerinin tarihsel bakış açısı ile incelenmesi”</p> <p>“Investigation of domino effects in chemical factories and clusters from a historical perspective”</p>	52-62

## Syntheses and spectral characterizations of tetraspirocyclotetraphosphazenes containing bis(4-fluorobenzyl) pendant arms

Aytuğ OKUMUŞ<sup>1a</sup>, Gamze ELMAS<sup>1b\*</sup>, Zeynel KILIÇ<sup>1c</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi, Kimya Bölümü, 06100 Ankara, Türkiye

ORCID: <sup>a</sup>0000-0002-2169-5695, <sup>b</sup>0000-0003-4877-3697, <sup>c</sup>0000-0003-1061-8122

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
16.05.2021	21.06.2021	12.10.2021

**Abstract:** The Cl exchange reactions of octachlorocyclotetraphosphazene,  $N_4P_4Cl_8$  (1), with two equimolar amounts of N-(4-fluorobenzyl)-N'-ethylethane-1,2-diamine resulted in the formation of 4,4,8,8-tetrachloro-2-trans-6-bis-N-(4-fluorobenzyl)-N'-ethylethane-1,2-diaminocyclotetraphosphazene (2) in dry THF. The Cl substitution reactions of the starting compound 2 with excess amounts of sodium 2,2-dimethyl-1,3-propanedioxy and 3-amino-1-propanoxy gave the bis(2,2-dimethyl-1,3-propanedioxy) (2a) and 4-trans/cis-8-bis(3-amino-1-propanoxy) (*trans/cis* 2b) 2-trans-6-bis(4-fluorobenzyl)spirocyclotetra phosphazenes, respectively. The structures of tetraspiro products (2a and *trans/cis* 2b) were verified using elemental analyses, mass spectrometry (ESI-MS), FTIR,  $^1H$ ,  $^{13}C$  { $^1H$ } and  $^{31}P$  { $^1H$ } NMR spectroscopy. On the other hand, the possible conformation of the two five-membered and two six-membered rings in the spatial skeletons of the three compounds (2a and *trans/cis* 2b) ought to be considered. As it turns out, these structures can exist as stable conformational isomers at low temperature and possibly room temperature, depending on the orientation of the four spiro rings. These structures can also form structurally locked isomers at low temperatures.

**Keywords:** 2-Trans-6-bis-(4-fluorobenzyl), spirocyclotetraphosphazenes, replacement reactions, spectroscopy

### Bis(4-florobenzil) pendant kollu tetraspirosiklotetrafosfazenlerin sentezi ve spektral karakterizasyonu

**Özet:** Oktaklorosiklotetrafosfazen,  $N_4P_4Cl_8$  (1)' in klor atomlarının iki eş molar miktarda N-(4-florobenzil)-N'-etiletan-1,2-diamin ile kuru THF içindeki değişim reaksiyonları 4,4,8,8-tetrakloro-2-trans-6-bis-N-(4-florobenzil)-N'-etiletan-1,2-diaminosiklotetrafosfazen (2) oluşumu ile sonuçlandı. Başlangıç bileşiği 2' nin aşırı miktarda sodyum 2,2-dimetil-1,3-propandioksit ve 3-amino-1-propanoksit ile Cl süstitüsyon reaksiyonları, sırasıyla bis(2,2-dimetil-1,3-propandioksi) (2a) ve 4-trans/cis-8-bis(3-amino-1-propanoksi) (*trans/cis* 2b) 2-trans-6-bis(4-florobenzil)spirosiklotetrafosfazenleri verdi. Tetraspiro ürünlerinin (2a ve *trans/cis* 2b) yapıları, element analizi, kütle spektrometrisi (ESI-MS), FTIR,  $^1H$ ,  $^{13}C$  { $^1H$ } ve  $^{31}P$  { $^1H$ } NMR spektroskopisi kullanılarak doğrulandı. Öte yandan, üç bileşiğin (2a ve *trans/cis* 2b) uzaysal iskeletlerindeki iki beş üyeli ve iki altı üyeli halkanın olası konformasyonu dikkate alınmalıdır. Anlaşıldığı üzere, bu yapılar, dört spiro halkanın yönelimine bağlı olarak düşük sıcaklıkta ve muhtemelen oda sıcaklığında kararlı konformasyonel izomerler olarak var olabilir. Bu yapılar ayrıca düşük sıcaklıkta yapısal olarak kilitli izomerler oluşturabilir.

**Anahtar Kelimeler:** 2-Trans-6-bis-(4-florobenzil) spirosiklotetrafosfazenler, yer değiştirme reaksiyonları, spektroskopi

## 1. INTRODUCTION

For long years, hexachlorocyclotriphosphazene (cyclic trimer,  $N_3P_3Cl_6$ ) and octachlorocyclotetraphosphazene (cyclic tetramer,  $N_4P_4Cl_8$ ) have been used largely as the beginning heterocyclic reagents for the preparation of the several substituted trimeric and tetrameric organocyclophosphazene derivatives [1-3]. The Cl replacement reactions of  $N_3P_3Cl_6$  and  $N_4P_4Cl_8$  with monofunctional ligands such as primary and/or secondary amines, alkyl oxides and aryloxides continue to be extensively studied [4, 5]. Nevertheless, substitution reactions of  $N_3P_3Cl_6$  and  $N_4P_4Cl_8$  with the bifunctional ligands *e.g.* diamines, aminoalkoxides and dialkoxides are quite rare in the literature [6-8]. Depending on the reaction conditions, spiro, ansa, bino, dispiro, ansa-spiro, trispiro and tetraspiro products occur with these bifunctional ligands [9-11]. Besides, studies with the tetramer are much less common than with the trimer. The most important reason for this is the large number of exchangeable Cl atoms in the tetramer ring and the formation of a large number of geometric and chiral isomers due to the replacement reactions of Cl atoms with substituents. Moreover, these isomers are very difficult to separate from reaction mixtures.

On the other hand, some cyclophosphazenes have recently been potentially used as ionic liquids [12], organic light emitting diodes (OLEDs) [13], rechargeable lithium-ion batteries [14], fluorescent indicators [15], lubricants [16], biomaterials [17], dendrimers [18, 19] and synthetic bones [20]. Moreover, partially and/or fully substituted cyclophosphazene architectures have drawn great attention over the past two decades due to their potential for antituberculosis, antibacterial, antifungal, anticancer and DNA cleavage activities [21-23].

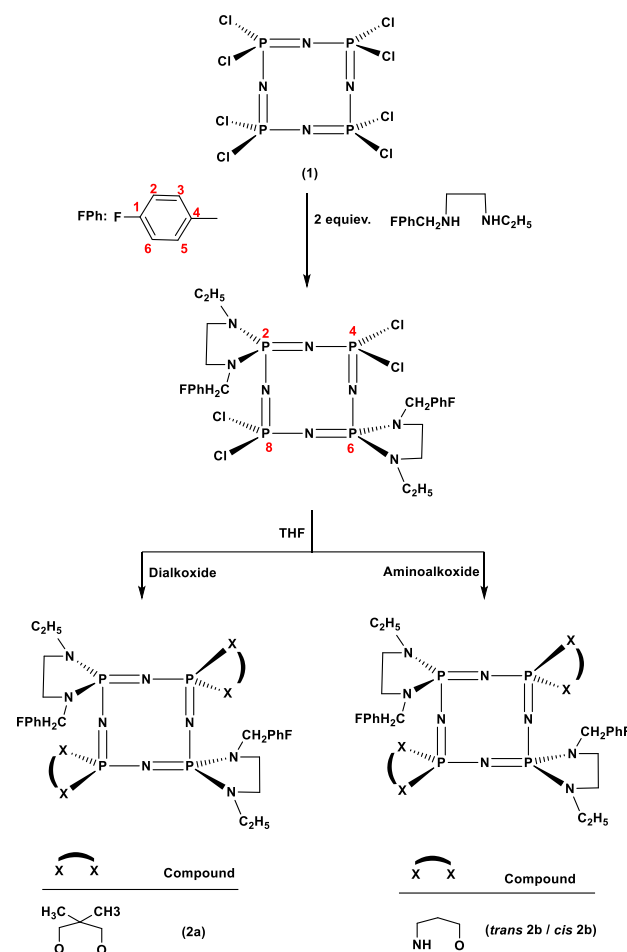
Eventually, the starting compound containing bis-(4-fluorobenzyl)-pendant arm (**2**) obtained from tetramer with two equimolar amounts of *N*-(4-fluorobenzyl)-*N'*-ethylethane-1,2-diamine was used in this research [24]. The present paper focuses on the Cl replacement reactions of **2** with excess amounts of the sodium 2,2-dimethyl-1,3-propanedioide and 3-amino-1-propanoxide (Figure 1), and the assessment of their spectroscopic properties.

## 2. MATERIAL AND METHOD

### 2.1. Physical measurements

The Cl exchange reactions have been pursued by thin-layer chromatography (TLC) on Merck DC Alufolien Kiesegel 60 B<sub>254</sub> sheets in various solvents. Column chromatography has been carried out using Merck Kiesegel 60 (230-400 mesh ATSM) silica gel. Melting points were determined by a capillary tube with a Gallenkamp apparatus. Elemental analyses were realized with the Leco CHNS-932 instrument. Fourier transform infrared (FTIR) spectra of tetrakispiro-(4-fluorobenzyl)cyclotetraphosphazenes (**2a** and *trans* **2b**-*cis* **2b**) were enrolled with a Jasco FT/IR-430 spectrometer in KBr discs. Electron spray ionization-mass spectra (ESI-MS) were recorded using a Waters 2695 Alliance

Micromass ZQ spectrometer.  $^1H$  and  $^{13}C$   $\{^1H\}$  NMR spectra were monitored on a Bruker DPX FT-NMR (500 MHz) spectrometer operating at 400.13 and 100.62 MHz, respectively.  $^{31}P$   $\{^1H\}$  NMR spectra were obtained by a Bruker Avance III HD (600 MHz) spectrometer operating at 242.94 MHz. NMR spectrometers were equipped with the 5 mm PABBO BB inverse-gradient probe and standard Bruker pulse programs were employed [25]. Micro and spectral analyzes (FTIR, ESI-MS,  $^1H$ ,  $^{13}C$   $\{^1H\}$  NMR and  $^{31}P$   $\{^1H\}$  NMR) were determined using the microanalytical service of Ankara University and İnönü University.



**Figure 1.** The syntheses of tetrakispiro-(4-fluorobenzyl)cyclotetraphosphazenes (**2a** and *trans* **2b**/*cis* **2b**).

### 2.2. Materials used for syntheses

The used organic solvents were distilled, dried and purified by common methods before use. The replacement reactions were fulfilled under Ar.  $N_4P_4Cl_8$  (Otsuka Chemical Co. Ltd. and recrystallized from hot *n*-hexane), *N*-methylethane-1,2-diamine (Merck), 4-fluorobenzaldehyde (Aldrich), 3-amino-1-propanol (Merck) and 2,2-dimethyl-1,3-propanediol (Aldrich) were procured.

### 2.3. Experimental part

#### 2.3.1. Syntheses of compounds

The starting reagent, *N*-(4-fluorobenzyl)-*N'*-ethylethane-1,2-diamine, was synthesized from the reactions of 4-fluorobenzaldehyde with *N*-methylethane-1,2-diamine in ethanol with respect to the published procedure [24]. The beginning cyclotetraphosphazene; 4,4,8,8-tetrachloro-2-*trans*-6-bis-*N*-(4-fluorobenzyl)-*N'*-ethylethane-1,3-diamino-cyclotetra phosphazene (**2**), was prepared with the reaction of  $N_4P_4Cl_8$  (**1**) with two equimolar amounts of *N*-(4-fluorobenzyl)-*N'*-ethylethane-1,2-diamine in dry THF according to the procedure [24].

#### 2.3.2. Synthesis of 2a

A solution of **2** (0.50 g, 0.70 mmol) in dry THF (100 mL) was slowly added into a solution of sodium 2,2-dimethyl-1,3-propanedioide (0.20 g, 1.55 mmol) in dry THF (50 mL) at  $-10^\circ\text{C}$ . The mixture was stirred for over 2 h at the same temperature. After the mixture was allowed to warm to ambient temperature, it was stirred and refluxed for 55 h under Ar. The sodium chloride was filtered off, and then the solvent was completely evaporated. The product was eluted by the column chromatography with toluene as eluent. Afterward, the separated white product (**2a**) was crystallized from toluene. Yield: 0.35 g (65 %). mp:  $194^\circ\text{C}$ . Anal. Calcd. for  $P_4N_8F_2C_{32}H_{50}O_4$ , C, 49.74; H, 6.52; N, 14.50. Found: C, 50.17; H, 7.15; N, 15.09. ESI-MS (Ir %):  $m/z$  773 ( $[MH]^+$ , 100). FTIR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu$  2928, 2870 (C-H aliph.), 1265 (asymm.) and 1179 (symm.) (P=N), 1048 (C-F).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  7.26 (dd, 4H,  $^3J_{\text{HH}}=7.6$  Hz,  $^4J_{\text{FH}}=6.0$  Hz,  $H_3$  and  $H_5$ ), 6.97 (dd, 4H,  $^3J_{\text{FH}}=8.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}}=8.8$  Hz,  $H_2$  and  $H_6$ ), 4.10 (d, 4H,  $^3J_{\text{PH}}=8.0$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{N}$ ), 3.77 (m, 8H,  $\text{OCH}_2\text{C}$ ), 3.13 (m, 2H,  $^3J_{\text{PH}}=10.4$  Hz,  $^2J_{\text{HH}}=7.2$  Hz,  $\text{NCH}_2$ ), 3.10 (m, 2H,  $^3J_{\text{PH}}=10.8$  Hz,  $^2J_{\text{HH}}=7.6$  Hz,  $\text{NCH}_2$ ), 3.04 (m, 2H,  $^3J_{\text{PH}}=10.8$  Hz,  $^2J_{\text{HH}}=6.8$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NR}$ ), 3.00 (m, 2H,  $^3J_{\text{PH}}=9.6$  Hz,  $^2J_{\text{HH}}=7.2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NR}$ ), 2.98 (m, 4H,  $^2J_{\text{HH}}=7.2$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.26 (s, 12H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 1.22 (t, 6H,  $^2J_{\text{HH}}=6.0$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  162.06 (d,  $^1J_{\text{FC}}=245.3$  Hz,  $C_1$ ), 135.78 (dd,  $^3J_{\text{PC}}=9.2$  Hz,  $^4J_{\text{FC}}=3.0$  Hz,  $C_4$ ), 129.59 (d,  $^3J_{\text{FC}}=8.5$  Hz,  $C_3$  and  $C_5$ ), 115.09 (d,  $^2J_{\text{FC}}=21.4$  Hz,  $C_2$  and  $C_6$ ), 67.11 (s,  $\text{OCH}_2\text{C}$ ), 48.03 (d,  $^2J_{\text{PC}}=4.0$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{N}$ ), 44.23 (d,  $^2J_{\text{PC}}=14.6$  Hz,  $\text{NCH}_2$ ), 43.76 (d,  $^2J_{\text{PC}}=13.2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NR}$ ), 39.38 (d,  $^2J_{\text{PC}}=3.2$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ), 29.65 and 29.61 (s,  $\text{OCH}_2\text{C}$ ), 21.39 and 21.32 (s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 13.48 (d,  $^3J_{\text{PC}}=6.1$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ).

#### 2.3.3. Syntheses of trans 2b/cis 2b

A solution of **2** (0.50 g, 0.70 mmol) in dry THF (100 mL) was slowly added into a solution of sodium 3-amino-1-propanoxide (0.15 g, 1.55 mmol) in dry THF (50 mL) at  $-10^\circ\text{C}$ . The mixture was stirred for over 2 h at the same temperature. After the mixture was allowed to warm to ambient temperature, it was stirred and refluxed for 60 h under Ar. The sodium chloride was filtered off, and the solvent was completely evaporated. The products were eluted by column chromatography with toluene. Afterward, the white products were the mixture of *trans* and *cis*-tetraspiro compounds (*trans* **2b** and *cis* **2b**), and

they could not be separated purely. The relative yields were calculated from the  $^{31}\text{P}$  NMR spectrum of the mixture; *trans* **2b** isomer: 59 % and *cis* **2b** isomer: 41 %. Total yield of *trans*- and *cis*-isomer: 0.30 g (60 %). Anal. Calcd. for  $P_4N_{10}F_2C_{28}H_{44}O_2$ , ESI-MS (Ir %):  $m/z$  715 ( $[MH]^+$ , 100). FTIR (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu$  2917, 2849 (C-H aliph.), 1231 (asymm.) and 1177 (symm.) (P=N), 1051 (C-F).

*trans* **2b** isomer:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  7.40 (dd, 4H,  $^3J_{\text{HH}}=8.8$  Hz,  $^4J_{\text{FH}}=5.6$  Hz,  $H_3$  and  $H_5$ ), 6.96 (dd, 4H,  $^3J_{\text{FH}}=8.4$  Hz,  $^3J_{\text{HH}}=8.8$  Hz,  $H_2$  and  $H_6$ ), 4.29 (m, 4H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.07 (d, 4H,  $^3J_{\text{PH}}=6.4$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{N}$ ), 3.23 (m, 4H,  $^3J_{\text{PH}}=9.6$  Hz,  $^2J_{\text{HH}}=5.6$  Hz,  $\text{NCH}_2$ ), 2.99 (m, 4H,  $^3J_{\text{PH}}=13.6$  Hz,  $^2J_{\text{HH}}=7.2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NR}$ ), 2.95 (m, 4H,  $\text{NH-CH}_2$ ), 2.91 (m, 4H,  $^2J_{\text{HH}}=7.2$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ), 2.26 (b, 2H,  $\text{NH}$ ), 1.63 (m, 4H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.13 (t, 6H,  $^2J_{\text{HH}}=7.2$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  161.84 (d,  $^1J_{\text{FC}}=243.8$  Hz,  $C_1$ ), 135.08 (dd,  $^3J_{\text{PC}}=9.2$  Hz,  $^4J_{\text{FC}}=3.1$  Hz,  $C_4$ ), 129.98 (d,  $^3J_{\text{FC}}=8.0$  Hz,  $C_3$  and  $C_5$ ), 114.91 (d,  $^2J_{\text{FC}}=21.4$  Hz,  $C_2$  and  $C_6$ ), 66.75 (d,  $^2J_{\text{PC}}=6.8$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 49.55 (d,  $^2J_{\text{PC}}=4.6$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{N}$ ), 45.11 (d,  $^2J_{\text{PC}}=12.3$  Hz,  $\text{NCH}_2$ ), 44.69 (d,  $^2J_{\text{PC}}=10.7$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NR}$ ), 42.08 (d,  $^2J_{\text{PC}}=4.6$  Hz,  $\text{NH-CH}_2$ ), 40.61 (d,  $^2J_{\text{PC}}=3.1$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ), 27.93 (d,  $^3J_{\text{PC}}=7.8$  Hz,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2$ ), 13.70 (d,  $^3J_{\text{PC}}=6.8$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ).

*cis* **2b** isomer:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  7.32 (dd, 4H,  $^3J_{\text{HH}}=8.6$  Hz,  $^4J_{\text{FH}}=5.6$  Hz,  $H_3$  and  $H_5$ ), 6.89 (dd, 4H,  $^3J_{\text{FH}}=8.8$  Hz,  $^3J_{\text{HH}}=8.8$  Hz,  $H_2$  and  $H_6$ ), 4.31 (m, 4H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.99 (d, 4H,  $^3J_{\text{PH}}=6.7$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{N}$ ), 3.27 (m, 4H,  $^3J_{\text{PH}}=9.6$  Hz,  $^2J_{\text{HH}}=5.2$  Hz,  $\text{NCH}_2$ ), 3.03 (m, 4H,  $^3J_{\text{PH}}=14.0$  Hz,  $^2J_{\text{HH}}=6.8$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NR}$ ), 2.94 (m, 4H,  $\text{NH-CH}_2$ ), 2.88 (m, 4H,  $^2J_{\text{HH}}=7.6$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ), 2.26 (b, 2H,  $\text{NH}$ ), 1.63 (m, 4H,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2$ ), 1.18 (t, 6H,  $^2J_{\text{HH}}=6.8$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , ppm):  $\delta$  161.87 (d,  $^1J_{\text{FC}}=243.8$  Hz,  $C_1$ ), 135.02 (dd,  $^3J_{\text{PC}}=9.4$  Hz,  $^4J_{\text{FC}}=3.2$  Hz,  $C_4$ ), 129.86 (d,  $^3J_{\text{FC}}=7.8$  Hz,  $C_3$  and  $C_5$ ), 114.69 (d,  $^2J_{\text{FC}}=21.4$  Hz,  $C_2$  and  $C_6$ ), 66.82 (d,  $^2J_{\text{PC}}=7.2$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 49.51 (d,  $^2J_{\text{PC}}=3.8$  Hz,  $\text{ArCH}_2\text{N}$ ), 45.00 (d,  $^2J_{\text{PC}}=14.6$  Hz,  $\text{NCH}_2$ ), 44.83 (d,  $^2J_{\text{PC}}=11.5$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NR}$ ), 41.98 (d,  $^2J_{\text{PC}}=3.8$  Hz,  $\text{NH-CH}_2$ ), 40.70 (d,  $^2J_{\text{PC}}=2.4$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ), 27.85 (d,  $^3J_{\text{PC}}=7.8$  Hz,  $\text{NHCH}_2\text{CH}_2$ ), 13.63 (d,  $^3J_{\text{PC}}=7.7$  Hz,  $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ).

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1. Syntheses

Firstly, the Cl substitution reaction of  $N_4P_4Cl_8$  (**1**) with two equimolar amounts of  $\text{FPhCH}_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ , *N*-(4-fluorobenzyl)-*N'*-ethylethane-1,2-diamine, resulted in the formation of 2-*trans*-6-bis-spiro-cyclotetraphosphazene (**2**) in 55 % yield as the major product. However, mono-spiro and 2-*cis*-6-bis-spiro-cyclotetraphosphazenes were obtained with the yields of 10 % and 7 %, respectively, as byproducts. The 2-*trans*-6-bis-spiro (**2**), mono-spiro and 2-*cis*-6-bis-spiro compounds were prepared with respect to our published paper [24]. Cyclotetraphosphazene **2** used in this study was eluted by column chromatography using toluene. Afterward, the exchange reaction of **2** with the an excess of

$\text{Na}_2[\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{O}]$ , sodium 2,2-dimethyl-1,3-propanedioxy, resulted in the formation of bis(2,2-dimethyl-1,3-propanedioxy)-2-*trans*-6-bis(4-fluorobenzyl)spiro compound (**2a**) with 65 % yield in dry THF (Figure 1). This product was eluted by column chromatography with toluene. Finally, as a result of the condensation reaction of **2** in dry THF with excess of  $\text{Na}[\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2]$ , sodium 3-amino-1-propanoxy, *trans*- and *cis*- bis(3-amino-1-propanoxy)-2-*trans*-6-bis(4-fluorobenzyl)spiro product mixture (*trans* **2b** and *cis* **2b**) was formed in 60 % overall yield. The tetraspiro compounds; *trans* **2b** and *cis* **2b** could not be isolated in pure forms using column chromatography and

preparative thin-layer chromatography (PTLC) methods. Therefore, were calculated as 59 % and 41 %, respectively, from the  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum of the mixture of *trans*- and *cis*- cyclotetraphosphazenes. It has been found that the yield of *trans* **2b** is larger than that of the *cis* **2b** product, because of the large steric hindrances of *cis* product. In Figure 2, the  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum of the mixture of *trans* **2b** and *cis* **2b** products was presented. The analytical and spectral data given in the Experimental Part are compatible with the suggested formulae of the tetraspiro structures. It is seen that the cyclotetraphosphazenes have  $[\text{MH}]^+$  protonated molecular ion peaks in their ESI-MS spectra.

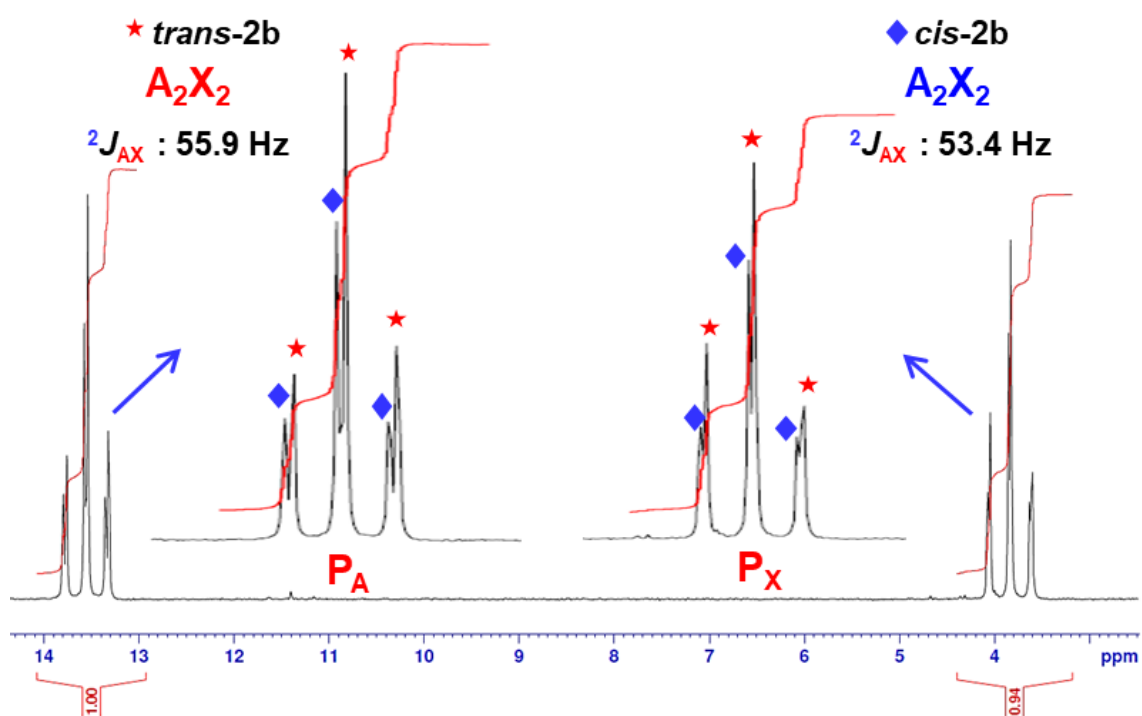


Figure 2.  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum of the mixture of *trans* **2b** and *cis* **2b** products.

Table 1.  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR data of bis(4-fluorobenzyl)cyclotetraphosphazenes (**2a**, *trans* **2b** and *cis* **2b**).

Comp.	Spin System	$\delta_{\text{PNN}}$ (ppm)	$\delta_{\text{PCl}_2}$ (ppm)	$\delta_{\text{PNO}}$ (ppm)	$^2J_{\text{PP}}$ (Hz)
* <b>2</b>	$\text{A}_2\text{X}_2$	$\text{P}_\text{A}$ : 4.83	$\text{P}_\text{X}$ : - 8.78	–	$^2J_{\text{AX}}$ : 24.3
<b>2a</b>	$\text{A}_2\text{X}_2$	$\text{P}_\text{A}$ : 14.09	–	$\text{P}_\text{X}$ : 0.84	$^2J_{\text{AX}}$ : 53.4
<i>trans</i> <b>2b</b>	$\text{A}_2\text{X}_2$	$\text{P}_\text{A}$ : 13.54	–	$\text{P}_\text{X}$ : 3.83	$^2J_{\text{AX}}$ : 55.9
<i>cis</i> <b>2b</b>	$\text{A}_2\text{X}_2$	$\text{P}_\text{A}$ : 13.58	–	$\text{P}_\text{X}$ : 3.85	$^2J_{\text{AX}}$ : 53.4

$^{31}\text{P}$  NMR data for the compounds in  $\text{CDCl}_3$  solutions at 293 K.

\* $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR value of **2** was taken from the literature 24

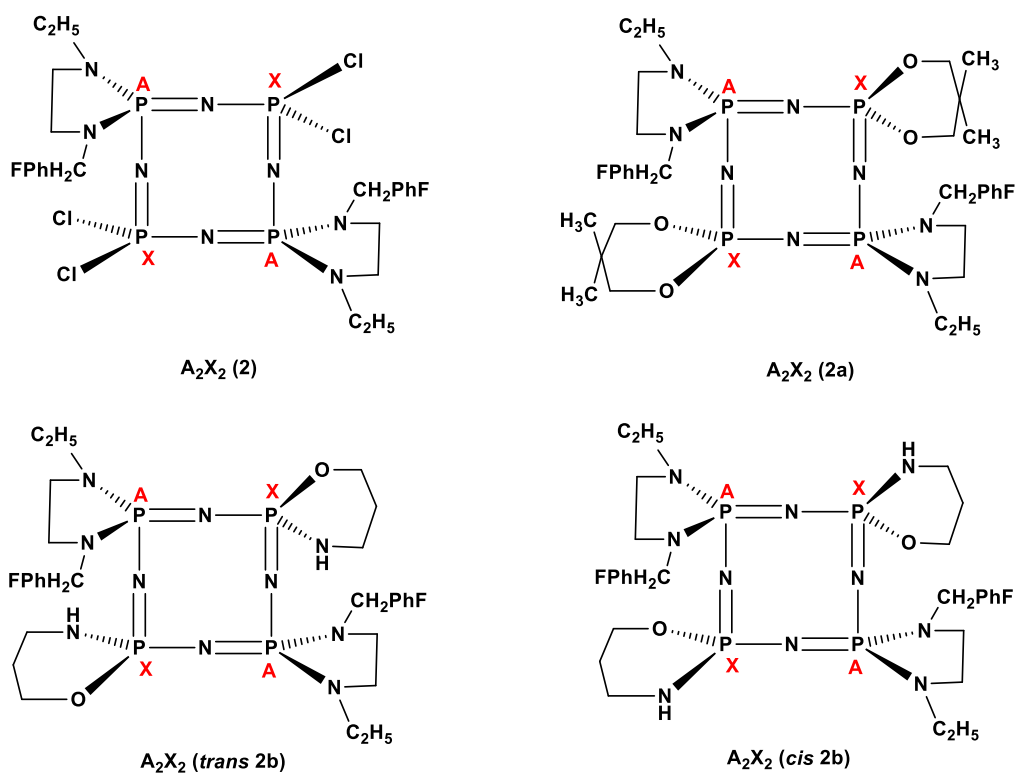


Figure 3. The spin systems of all the compounds.

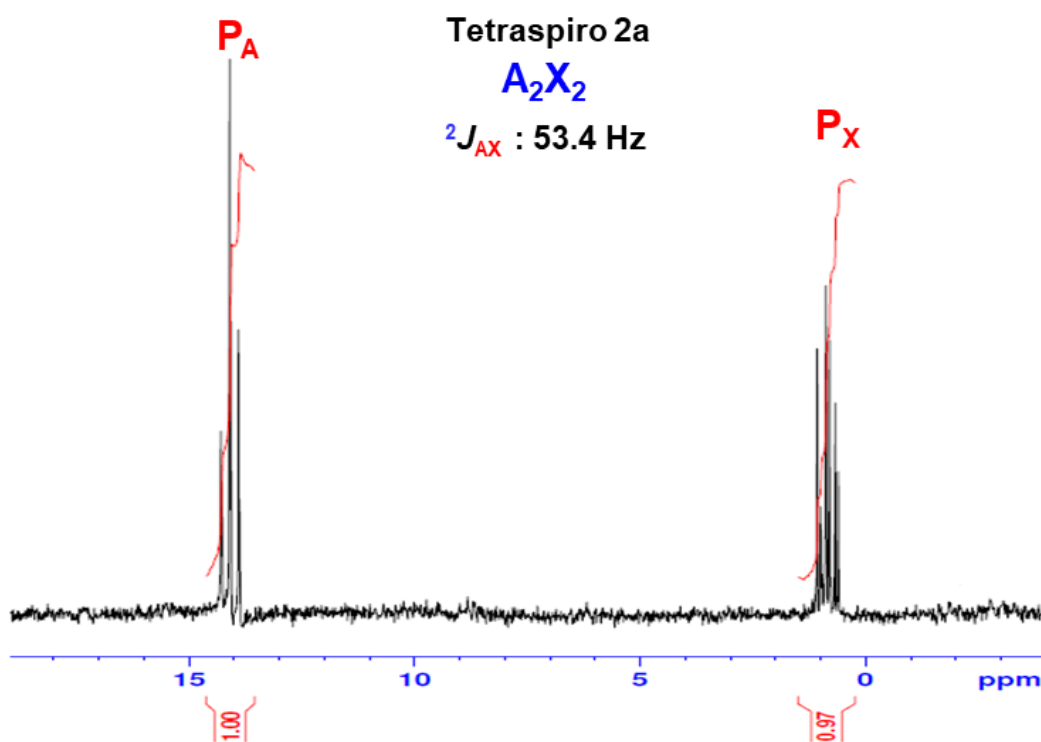


Figure 4.  $^{31}\text{P}$   $\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum of 2a.



### 3.2. NMR Spectroscopy

The  $^{31}\text{P}$   $\{^1\text{H}\}$  NMR data of bis(4-fluorobenzyl)cyclotetraphosphazenes (**2a**, *trans* **2b** and *cis* **2b**) were listed in Table 1 along with the data of the starting tetrachloro compound (**2**) presented for comparison purpose. The spin systems of all the compounds were found to be as  $\text{A}_2\text{X}_2$  owing to two different phosphorus environments in the cyclotetraphosphazene skeleton (Figure 3). It is noteworthy that the replacing of four Cl atoms with the propandioxy and/or aminopropanoxy groups significantly increases the chemical shifts ( $\delta$  P) and coupling constant ( $^2J_{\text{PP}}$ ) of **2a**, *trans* **2b** and *cis* **2b**.

The  $^{31}\text{P}$   $\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum of pure **2a** was illustrated in Figure 4, and the  $\delta$  P chemical shifts and  $^2J_{\text{PP}}$  coupling constants were assigned and written on the spectrum. Similarly,  $\delta$  P and  $^2J_{\text{PP}}$  values of *trans* **2b** and *cis* **2b** were written on the spectrum in Figure 2, as well.

Furthermore, in the starting cyclotetraphosphazene **2**, the four Cl atoms are diastereotopic and the unsubstituted P4 and P8 phosphorus atoms become prochiral centres (Figure 5.a). In bis-aminopropanoxy substituted compounds (*trans* **2b** and *cis* **2b**), P4 and P8 phosphorus atoms have the same substituents, and their configurations are changeable because of the *trans*- and *cis*- orientations of the NH and O groups/atoms (Figure 6). However, optical isomers for both *trans* and *cis* orientations of the NH and O groups/atoms cannot be formed, since the two 4-fluorobenzyl diamine groups are bonded to the P2 and P6 phosphorus atoms in the *trans* position. On the other hand, the possible conformations of two five-membered and two six-membered rings in the spatial skeletons of three compounds (**2a**, *trans* **2b** and *cis* **2b**) are shown by drawing (Figures 5.b and 6). As understood, these structures can form stable conformational isomers at low temperatures and possibly also at room temperature, depending on the orientation of the four spiro rings. However, these structures may also be conformationally locked at low temperatures.

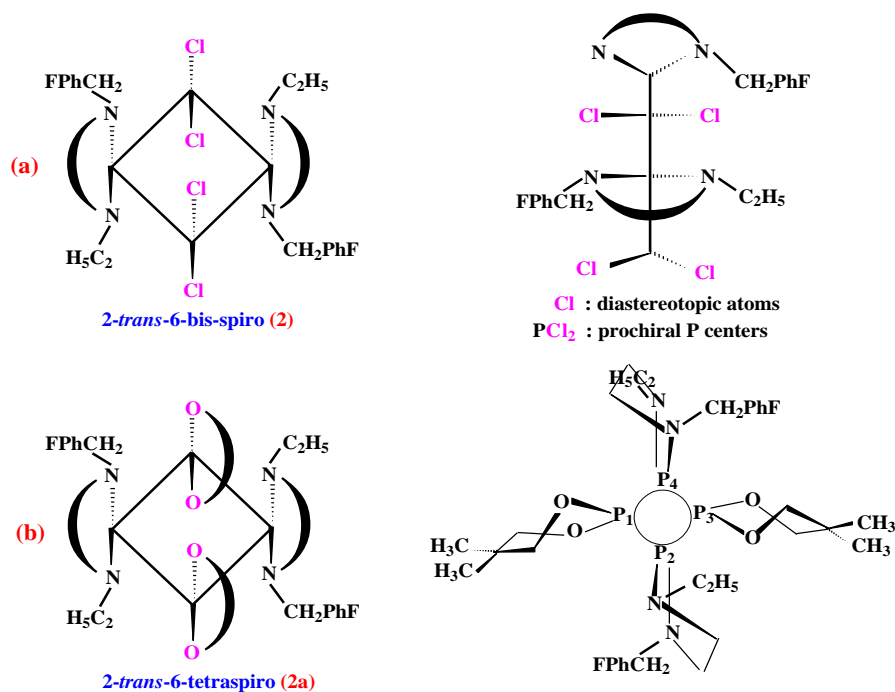
Based on the  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  and  $^1\text{H}$  NMR data, whole the carbon and proton signals were clearly interpreted. The  $\delta$  chemical shifts, multiplicities and  $J$  coupling constants ( $J_{\text{PC}}$  and/or  $J_{\text{FC}}$  values) of aromatic C1, C2/C6, C3/C5 and *ipso*-C4 carbons of the 4-fluorobenzyl rings were evaluated with respect to the expected literature values [26] (Figure 1).

The average  $^1J_{\text{FC}}$ ,  $^2J_{\text{FC}}$ ,  $^3J_{\text{FC}}$ , and  $^4J_{\text{FC}}$  values were calculated as  $^1J_{\text{FC}}= 244.3$  Hz,  $^2J_{\text{FC}}= 21.4$  Hz,  $^3J_{\text{FC}}= 8.1$  Hz and  $^4J_{\text{FC}}= 3.1$  Hz, respectively. Besides, the average  $J_{\text{PC}}$  value of *ipso*-C4 carbons was estimated as  $^3J_{\text{PC}}=9.3$  Hz. The average  $^2J_{\text{PC}}$  values for the NCH<sub>2</sub> and CH<sub>2</sub>NR carbons of three compounds (**2a**, *trans* **2b** and *cis* **2b**) were found to be 12.8 Hz. The most secure evidence from the exchange of the four Cl atoms of the starting compound (**2**) was the carbon signals of the propandioxy and aminopropanoxy substituents. As expected, the characteristic spiro OCH<sub>2</sub>C, OCH<sub>2</sub>C and C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> carbon peaks of the propandioxy groups were seen at *ca.* 67.11 ppm, 29.63 ppm and 21.35 ppm, respectively. However, the characteristic spiro OCH<sub>2</sub>, NHCH<sub>2</sub> and NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> carbon peaks of the aminopropanoxy groups were observed at *ca.* 66.80 ppm, 42.00 ppm and 27.90 ppm, respectively.

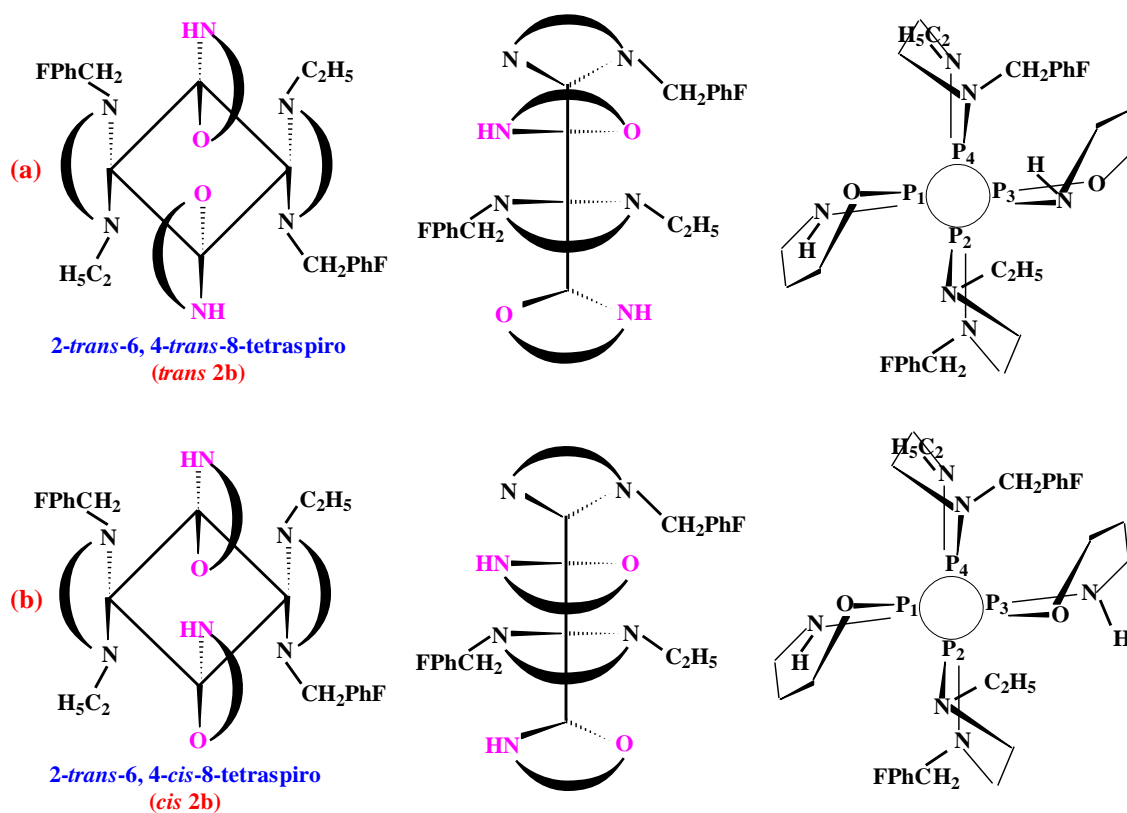
On the other hand, the integral ratios of  $^1\text{H}$  NMR spectra for **2a**, *trans* **2b** and *cis* **2b** exhibited that two propandioxy and two aminopropanoxy groups were bonded to the P4 and P8 phosphorus atoms (Figure 1). The  $\delta$  chemical shifts, multiplicities and  $J$  coupling constants ( $J_{\text{FH}}$  values) of aromatic  $H_2/H_6$  and  $H_3/H_5$  protons of 4-fluorobenzyl rings were elucidated in accordance with the given literature values [26] (Figure 1). The average values of  $^3J_{\text{FH}}$  and  $^4J_{\text{FH}}$  were determined as  $^3J_{\text{FH}}=8.5$  Hz and  $^4J_{\text{FH}}=5.7$  Hz, respectively. In addition, the average value of  $^3J_{\text{PH}}$  values for the NCH<sub>2</sub> and CH<sub>2</sub>NR hydrogens of **2a**, *trans* **2b** and *cis* **2b** was figured out as 11.1 Hz.

Finally, characteristic FTIR vibrations of the bis(4-fluorobenzyl)cyclotetraphosphazenes were interpreted in their FTIR spectra. Stretching vibrations ( $\nu_{\text{P-Cl}}$ ) of the starting tetrachlorophosphazene (**2**) appeared in 557  $\text{cm}^{-1}$  and 507  $\text{cm}^{-1}$ , and disappeared in the fully substituted ones (**2a**, *trans* **2b** and *cis* **2b**) [27]. The expected two kinds of asymmetric and symmetric  $\nu_{\text{P=N}}$  stretching frequencies of these compounds were observed at *ca.* 1248  $\text{cm}^{-1}$  and 1178  $\text{cm}^{-1}$ , respectively, referring to the  $\nu_{\text{asymm.}}$  and  $\nu_{\text{symm.}}$  stretching bands of the P=N bonds of the cyclotetraphosphazene ring [28, 29]. Strong absorption band, *ca.* 1050  $\text{cm}^{-1}$  attributed to  $\nu_{\text{C-F}}$  frequencies of C-F bonds in the 4-fluorobenzyl skeletons, and this finding complies with the literature data of the 4-fluorobenzyl pendant armed cyclophosphazenes [24, 26].





**Figure 5.** (a) The structure of 2-*trans*-6-bis-spiro (**2**) via stick diagram and spatial view and (b) the stick diagram of 2-*trans*-6-tetraspiro (**2a**) and one of its conformational isomers.



**Figure 6.** The stick diagram, spatial view and one of the conformational isomers of (a) 2-*trans*-6, 4-*trans*-8-tetraspiro (*trans* **2b**) and (b) 2-*trans*-6, 4-*cis*-8-tetraspiro (*cis* **2b**) cyclotetraphosphazenes.

#### 4. CONCLUSIONS

In this research, the tetrachloro (**2**) carrying bulky bis(4-fluorobenzyl) pendant arms and its propandioxy and aminopropanoxy derivatives (**2a**, *trans* **2b** and *cis* **2b**) were prepared. All Cl atoms of **2** were replaced with sodium 2,2-dimethyl-1,3-propanoxide and 3-amino-1-propanoxide to obtain these completely multiple heterocyclic tetraspirocyclotetraphosphazenes. Structural investigations of new bis(4-fluorobenzyl)-tetraspiro products were carried out by ESI-MS, FTIR,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  and  $^{31}\text{P}$   $\{^1\text{H}\}$  NMR techniques. These structures may exist as stable conformational isomers at low temperatures and possibly room temperature, depending on the orientation of the two five-membered and two six-membered spiro rings. As expected, tetraspiro structures can create structurally locked conformational isomers at low temperatures. Tetraspiro compounds might also be strong phosphazene bases and can be used as starting materials in the preparation of phosphazanium salts (protic molten salts, PMOS).

#### 5. Conflict of interest

The authors declare no competing financial interest.

**Ethical Approval:** Ethics Approval is not required for this study.

#### REFERENCES

- [1] Chandrasekhar, V., and Chakraborty, A., "Phosphazenes", *Organophosphorus Chemistry*, Royal Society of Chemistry, (2020), 49, 349-376.
- [2] Uslu, A., and Yeşilot, S., "Recent advances in the supramolecular assembly of cyclophosphazene derivatives", *Dalton Transaction*, (2021), DOI: 10.1039/D0DT04095A.
- [3] Binici, A., Okumuş, A., Elmas, G., Kılıç, Z., Ramazanoğlu, N., Açıık, L., Şimşek, H., Tunalı, B. Ç., Türk, M., Güzel, R., and Hökelek, T., "Phosphorus-nitrogen compounds. Part 42. The comparative syntheses of 2-cis-4-ansa(N/O) and spiro(N/O) cyclotetraphosphazene derivatives: spectroscopic and crystallographic characterization, antituberculosis and cytotoxic activity studies", *New Journal of Chemistry*, (2019), 43, 6856-6873.
- [4] Elmas, G., "Syntheses and structural characterizations of 2-pyridyl(N/O) spirocyclotriposphazene derivatives", *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and The Related Elements*, (2019), 194 (1-2), 13-24.
- [5] Elmas, G., Okumuş, A., Kılıç, Z., Çam, M., Açıık, L. and Hökelek, T., "Phosphorus-nitrogen compounds. Part 40. The syntheses of (4-fluorobenzyl) pendant armed cyclotetraphosphazene derivatives: spectroscopic, crystallographic and stereogenic properties, DNA interactions and antimicrobial activities", *Inorganica Chimica Acta*, (2018) 476, 110-122.
- [6] Chandrasekhar, V. and Narayanan, R. S., "Phosphazenes", *Organophosphorus Chemistry*, Royal Society of Chemistry, (2017), 46, 342-417.
- [7] Okumuş, A., Elmas, G., Kılıç, Z., Ramazanoğlu, N., Açıık, L., Türk, M. and Akça, G., "The reactions of  $\text{N}_3\text{P}_3\text{Cl}_6$  with monodentate and bidentate ligands: The syntheses and structural characterizations, in vitro antimicrobial activities and DNA interactions of 4-fluorobenzyl(N/O) spirocyclotriposphazenes", *Turkish Journal of Chemistry*, (2017), 41, 525-547.
- [8] Elmas, G., Okumuş, A., Cemaloğlu, R., Kılıç, Z., Çelik, S. P., Açıık, L., Tunalı, B. Ç., Türk, M., Çerçi, N. A., Güzel, R. and Hökelek, T., "Phosphorus-Nitrogen Compounds. Part 38. Syntheses, characterizations, cytotoxic, antituberculosis and antimicrobial activities and DNA interactions of spirocyclotriposphazenes with bis-ferrocenyl pendant arms", *Journal of Organometallic Chemistry*, (2017), 853, 93-106.
- [9] Chandrasekhar, V. and Chakraborty, A., "Phosphazenes", *Organophosphorus Chemistry*, Royal Society of Chemistry, (2019), 48, 400-423.
- [10] Elmas, G., "Syntheses and spectroscopic investigations of 2-pyridyl(N/N)spiro cyclotriposphazenes", *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, (2018), 5 (2), 621-634.
- [11] Okumuş, A., Elmas, G., Kılıç, Z., Binici, A., Ramazanoğlu, N., Açıık, L., Çoşut, B., Hökelek, T., Güzel, R., Tunalı, B. Ç., Türk, M. and Şimşek, H., "The comparative reactions of 2-cis-4-ansa and spiro cyclotriposphazenes with difunctional ligands: Structural and stereogenic properties, electrochemical, antimicrobial and cytotoxic activity studies", *Applied Organometallic Chemistry*, (2021), 35 (4), e6150, DOI: 10.1002/aoc.6150.
- [12] Okumuş, A., Akbaş, H., Karadağ, A., Aydın, A., Kılıç, Z. and Hökelek, T., "Antiproliferative effects against A549, Hep3B and FL cell lines of cyclotriposphazene-based novel protic molten salts: Spectroscopic, crystallographic and thermal results", *Chemistry Select*, (2017), 2, 4988-4999.
- [13] Mucur, S. P., Canımkbey, B., Kavak, P., Akbaş, H. and Karadağ, A., "Charge carrier performance of phosphazene-based ionic liquids doped hole transport layer in organic light-emitting diodes", *Applied Physics A*, (2020), 126 (12), 1-14.
- [14] Harrup, M. K., Gering, K. L., Rollins, H. W., Sazhin, S. V., Benson, M. T., Jamison, D. K., Michelbacher, C. J. and Luther, T. A., "Phosphazene based additives for improvement of safety and battery lifetimes in

- lithium-ion batteries”, *ESC Transaction*, (2012), 41, 13-25.
- [15] Selberg, S., Pagano, T., Tshepelevitsh, S., Haljasorg, T., Vahur, S., Luik, J., Saame, J. and Leito, I., “Synthesis and photophysics of a series of lipophilic phosphazene-based fluorescent indicators”, *Journal of Physical Organic Chemistry*, (2019), 32 (7), e3950.
- [16] Singh, R. K., Kukrety, A., Saxena, R. C., Chouhan, A., Jain, S. L. and Ray, S. S., “Phosphazene-based novel organo-inorganic hybrid salt: synthesis, characterization and performance evaluation as multifunctional additive in polyol”, *RSC Advances*, (2017), 7, 13390-13397.
- [17] Greish, Y. E., Bender, J. D., Lakshmi, S., Brown, P. W., Allcock, H. R. and Laurencin, C. T., “Low temperature formation of hydroxyapatite-poly(alkyl oxybenzoate)phosphazene composites for biomedical applications”, *Biomaterials*, (2005), 26, 1-9.
- [18] Caminade A. M., Hameauaand A. and Majorala J. P., “The specific functionalization of cyclotriphosphazene for the synthesis of smart dendrimers”, *Dalton Transaction*, (2015), 45, 1810-1822.
- [19] Wang L., Yang Y. X., Shi X., Mignani S., Caminde A. M. and Majoral J. P., “Cyclotriphosphazene core-based dendrimers for biomedical applications: an update<sup>[1]</sup> on recent advances”, *Journal of Materials Chemistry B*, (2018), 6, 884-895.
- [20] Nair, L., Bhattacharyya, S., Bender, J. D., Greish, Y. E., Brown, P. W., Allcock, H. And Laurencin, C. T., *Biomacromolecules*, (2004), 5, 2212-2220.
- [21] Elmas, G., Okumuş, A., Kılıç, Z., Çelik, S. P. and Açıık, L., “The spectroscopic and thermal properties, antibacterial and antifungal activity and DNA interactions of 4-(fluorobenzyl)spiro(N/O) cyclotriphosphazanium salts”, *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, (2017), 4 (3), 993-1016.
- [22] Andrianov, A. K., Marin, A. and Chen, J., “Synthesis, Properties, and Biological Activity of Poly[di(sodium carboxylatoethylphenoxy)phosphazene], *Biomacromolecules*, (2006), 7 (1), 394-399.
- [23] Elmas, G., Kılıç, Z., Çoşut, B., Keşan, G., Açıık, L., Çam, M., Tunalı B. Ç., Türk, M. and Hökelek, T., “Synthesis of Bis(2,2,3,3-tetrafluoro-1,4-butanedioalkoxy)-2-trans-6-bis(4-fluorobenzyl)spiro cyclotetraphosphazene: Structural Characterization, Biological Activity and DFT Studies”, *Journal of Chemical Crystallography*, (2020), 51 (2), 235-250. DOI 10.1007/s10870-020-00851-4.
- [24] Elmas, G., Okumuş, A., Sevinç, P., Kılıç, Z., Açıık, L., Atalan, M., Türk, M., Deniz, G. and Hökelek T., “Phosphorus-nitrogen compounds. Part 37. Syntheses and structural characterizations, biological activities of mono and bis(4-fluorobenzyl)spirocyclotetraphosphazenes”, *New Journal of Chemistry*, (2017), 41, 5818-5835.
- [25] Bruker program 1D WIN-NMR (release 6.0) and 2D WIN-NMR (release 6.1).
- [26] Elmas, G., “The reactions of 2-trans-6-bis(4-fluorobenzyl)spirocyclotetraphosphazene with primary amines: spectroscopic and crystallographic characterizations”, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and The Related Elements*, (2017), 192 (11), 1224-1232.
- [27] Egemen, G., Hayvalı, M., Kılıç, Z., Solak, A. O. and Üstündağ, Z., “Phosphorus-nitrogen compounds. Part 17. The synthesis, spectral and electrochemical investigations of porphyrinophosphazenes”, *Journal of Porphyrins Phthalocyanines*, (2010), 14, 227-234.
- [28] Elmas, G., Okumuş, A., Kılıç, Z., Özbeden, P., Açıık, L., Tunalı, B. Ç., Türk, M., Çerçi, N. A. and Hökelek, T., “Phosphorus-nitrogen compounds. Part 48. Syntheses of the phosphazanium salts containing 2-pyridyl pendant arm: Structural characterizations, thermal analysis, antimicrobial and cytotoxic activity studies”, *Indian Journal of Chemistry Section A*, (2020), 59A, 533-550.
- [29] Elmas, G., Okumuş, A., Hökelek, T. and Kılıç, Z., “Phosphorus-nitrogen compounds. Part 52. The reactions of octachlorocyclotetraphosphazene with sodium 3-(N-ferrocenylmethylamino)-1-propanoxide: Investigations of spectroscopic, crystallographic and stereogenic properties”, *Inorganica Chimica Acta*, (2019), 497, 119106.

## Supplementary Materials

### Contents

**Figure S1.** FTIR spectrum of **2a**

**Figure S2.** FTIR spectrum of the mixture of *trans* **2b** and *cis* **2**

**Figure S3.**  $^{31}\text{P}$   $\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum of **2a**

**Figure S4.**  $^{31}\text{P}$   $\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum of the mixture of *trans* **2b** and *cis* **2b**

**Figure S5.** ESI-MS spectrum of **2a**

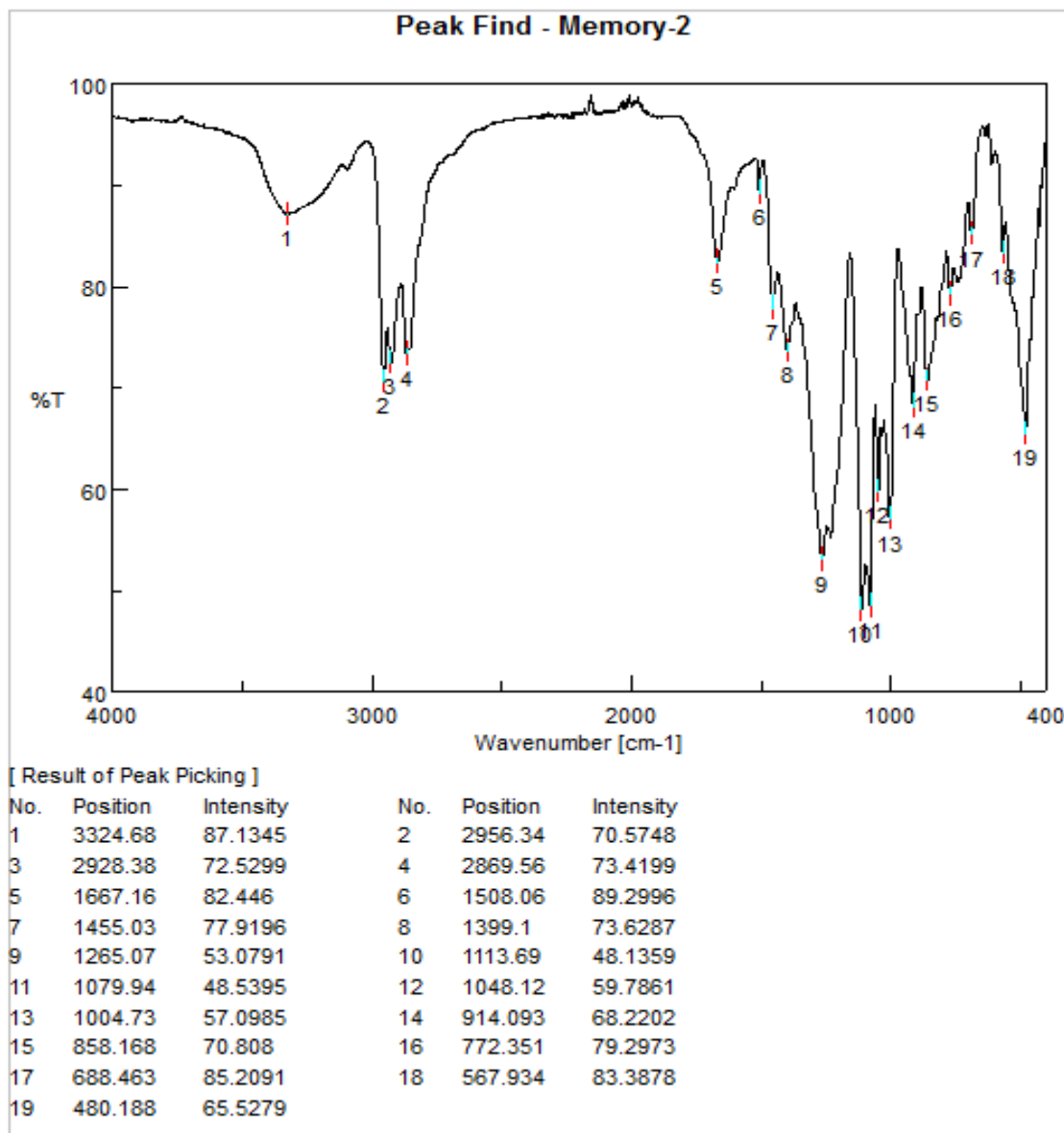
**Figure S6.** ESI-MS spectrum of the mixture of *trans* **2b** and *cis* **2b**

**Figure S7.**  $^1\text{H}$  NMR spectrum of **2a**

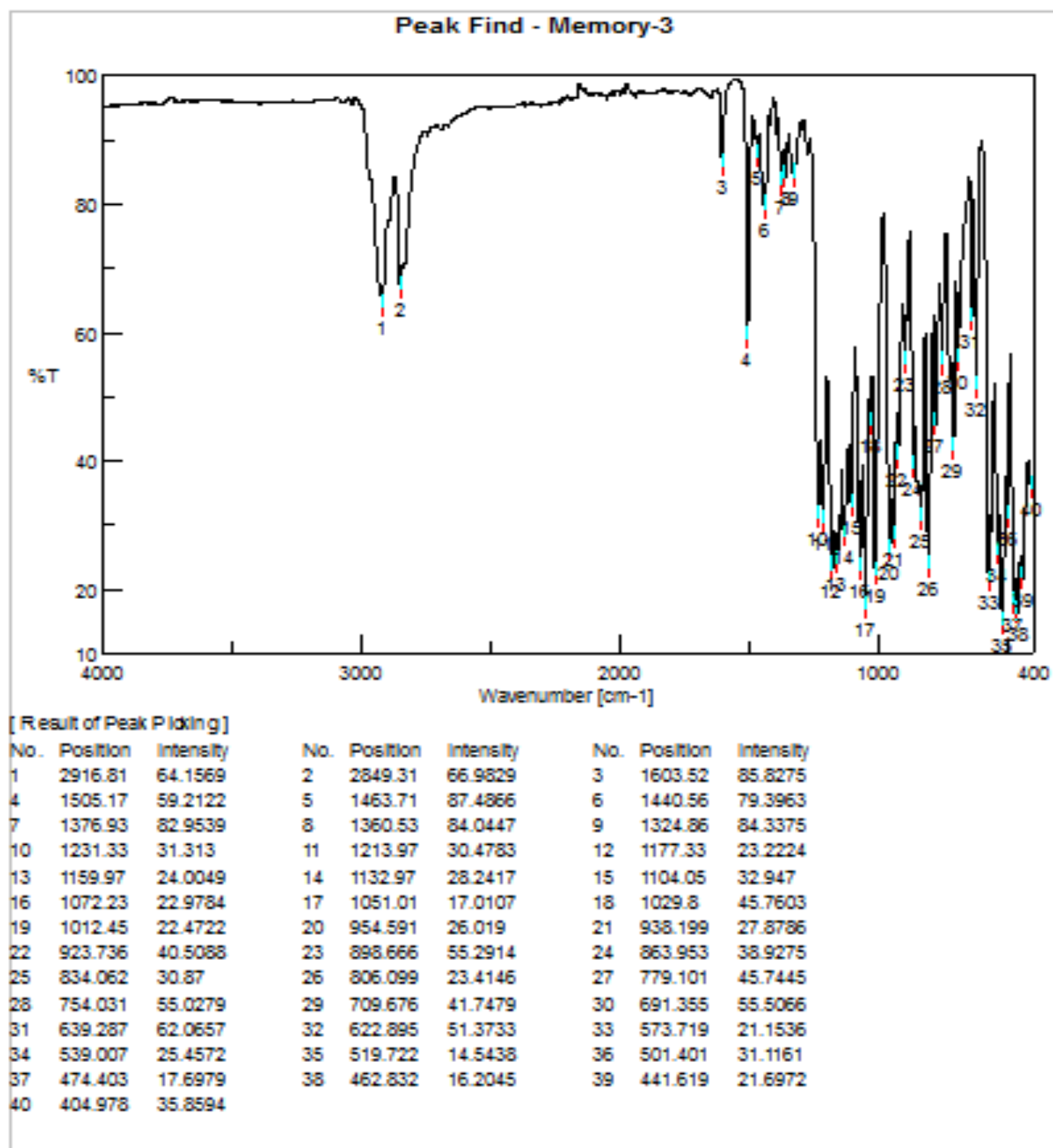
**Figure S8.**  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of **2a**

**Figure S9.**  $^1\text{H}$  NMR spectrum of the mixture of *trans* **2b** and *cis* **2b**

**Figure S10.**  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of the mixture of *trans* **2b** and *cis* **2b**



**Figure S1.** FTIR spectrum of **2a**.



**Figure S2.** FTIR spectrum of the mixture of *trans 2b* and *cis 2b*.

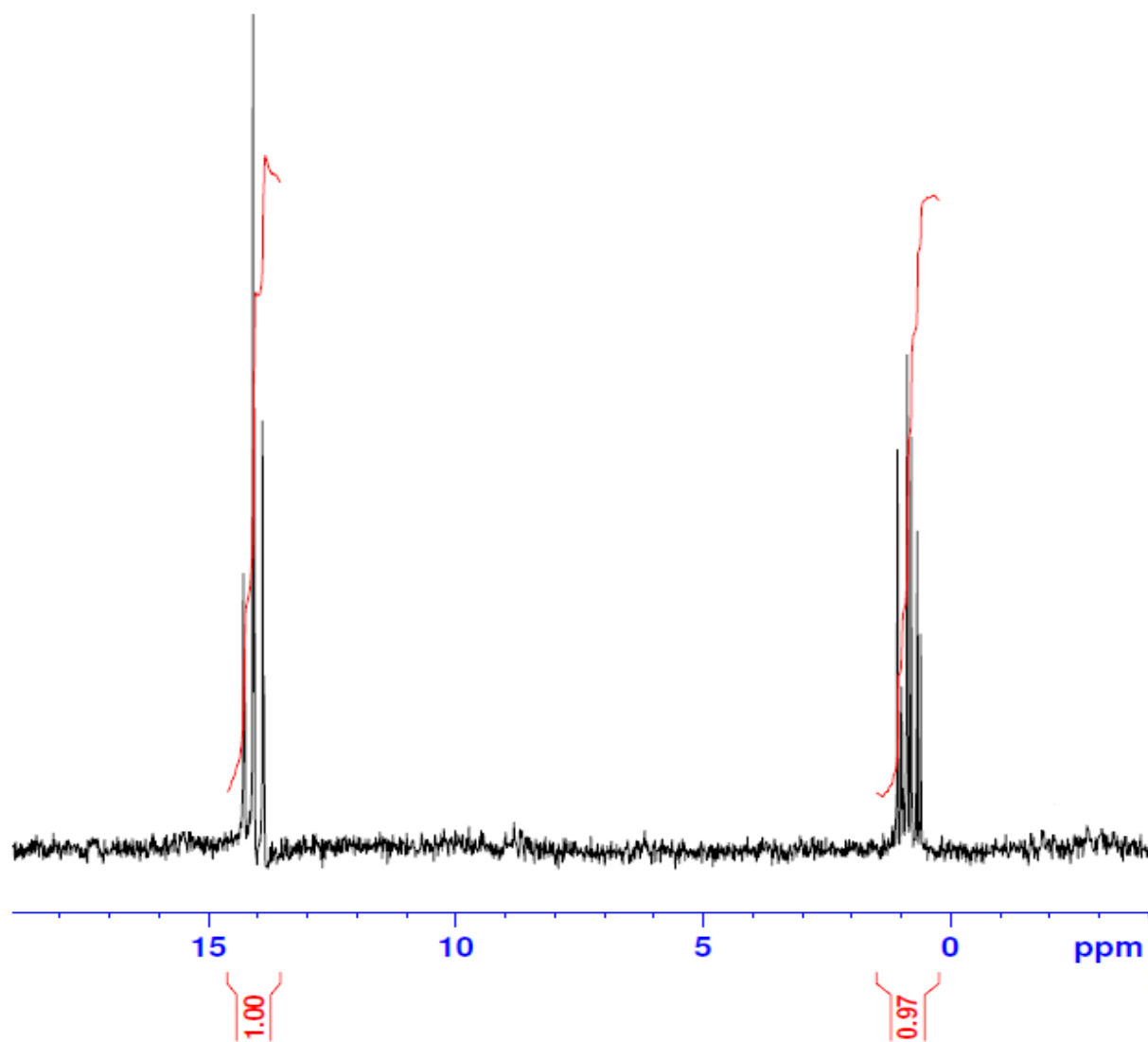
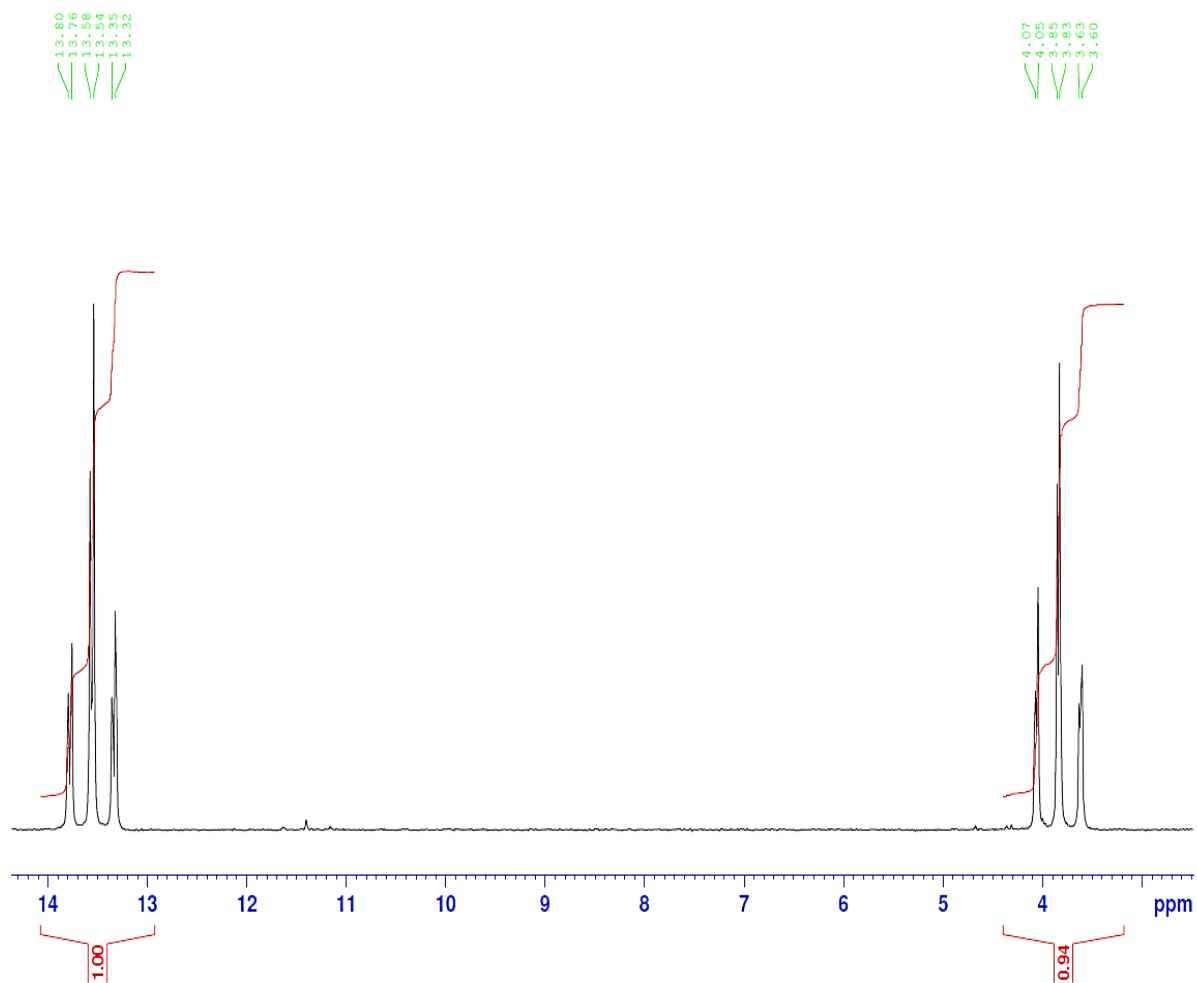
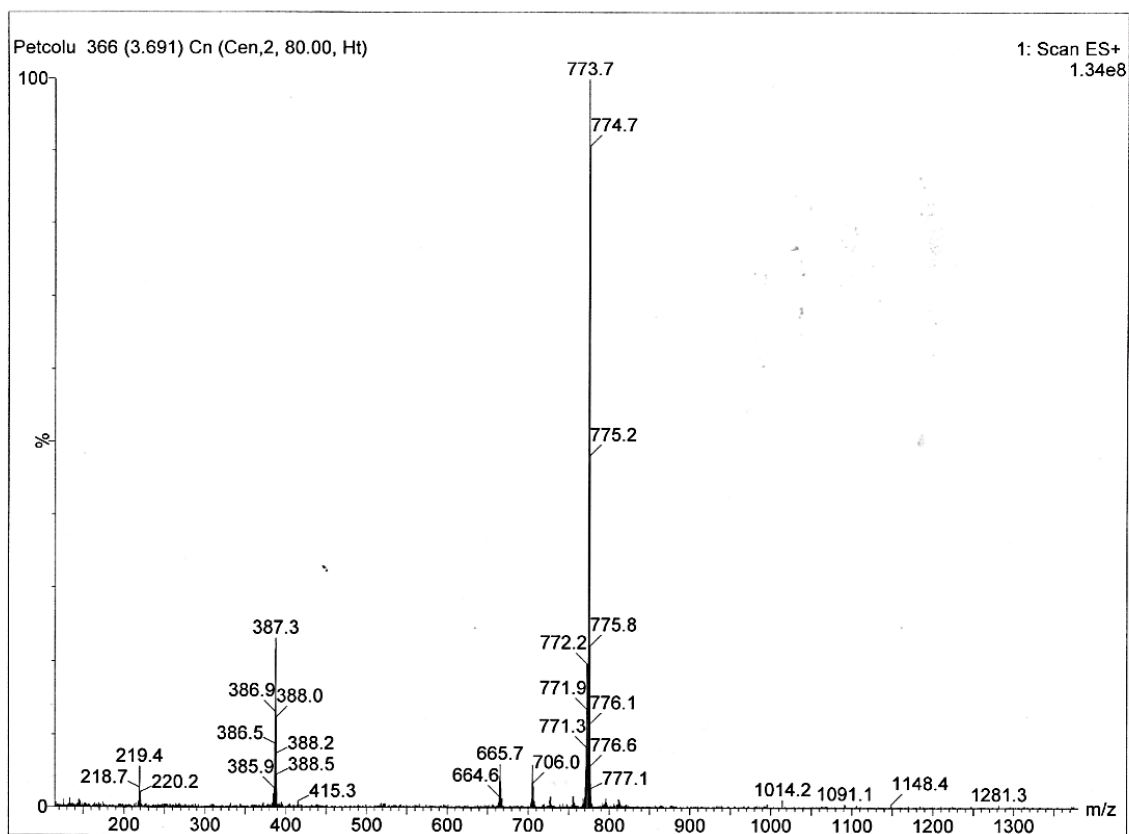


Figure S3.  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum of **2a**.

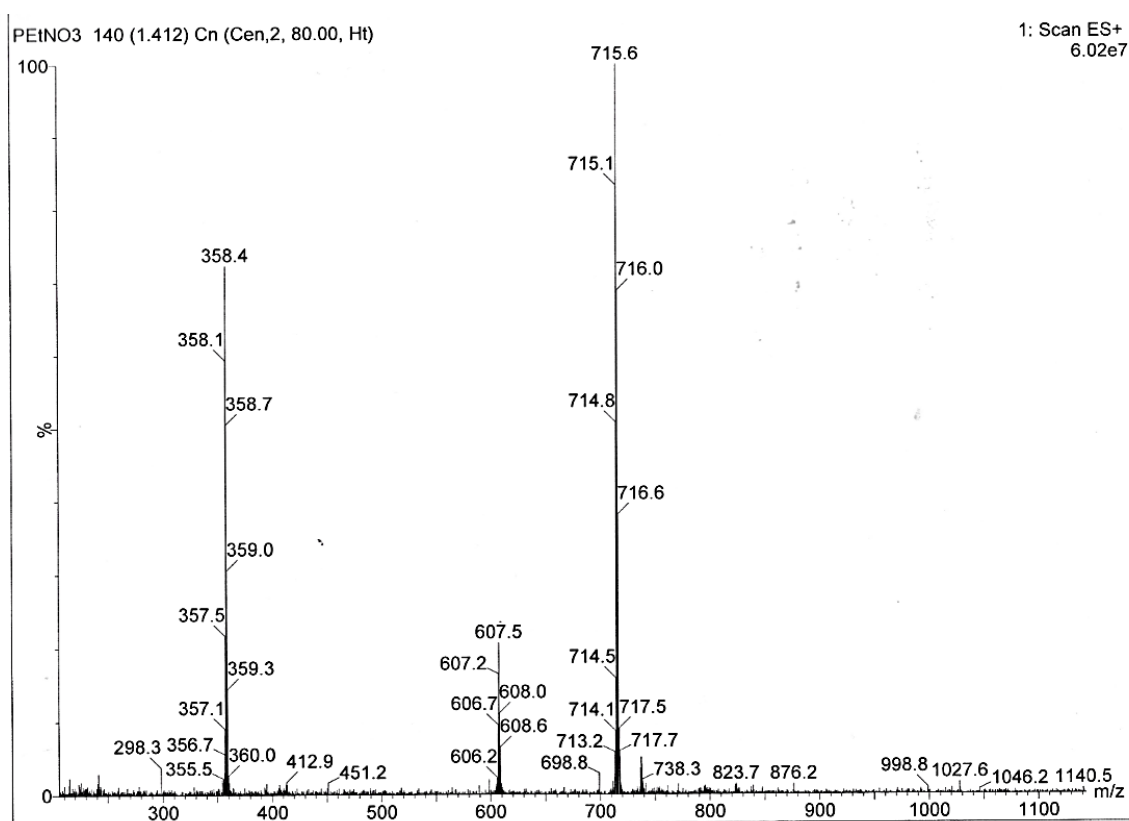




**Figure S4.**  $^{31}\text{P}$   $\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum of the mixture of *trans* **2b** and *cis* **2b**.

Figure S5. ESI-MS spectrum of **2a**.

Win

Figure S6. ESI-MS spectrum of the mixture of *trans* **2b** and *cis* **2b**.

Win

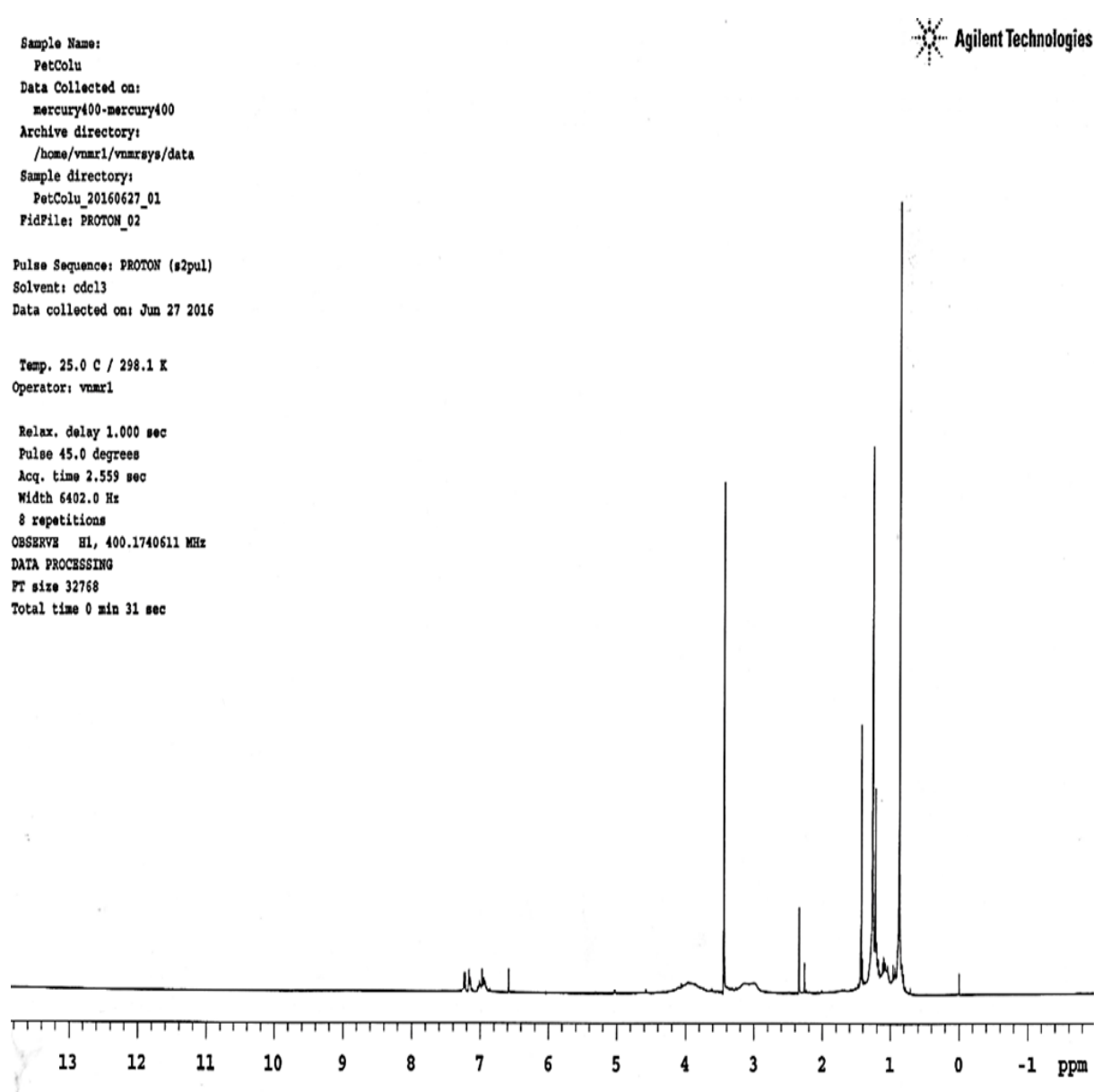


Figure S7.  $^1\text{H}$  NMR spectrum of **2a**.

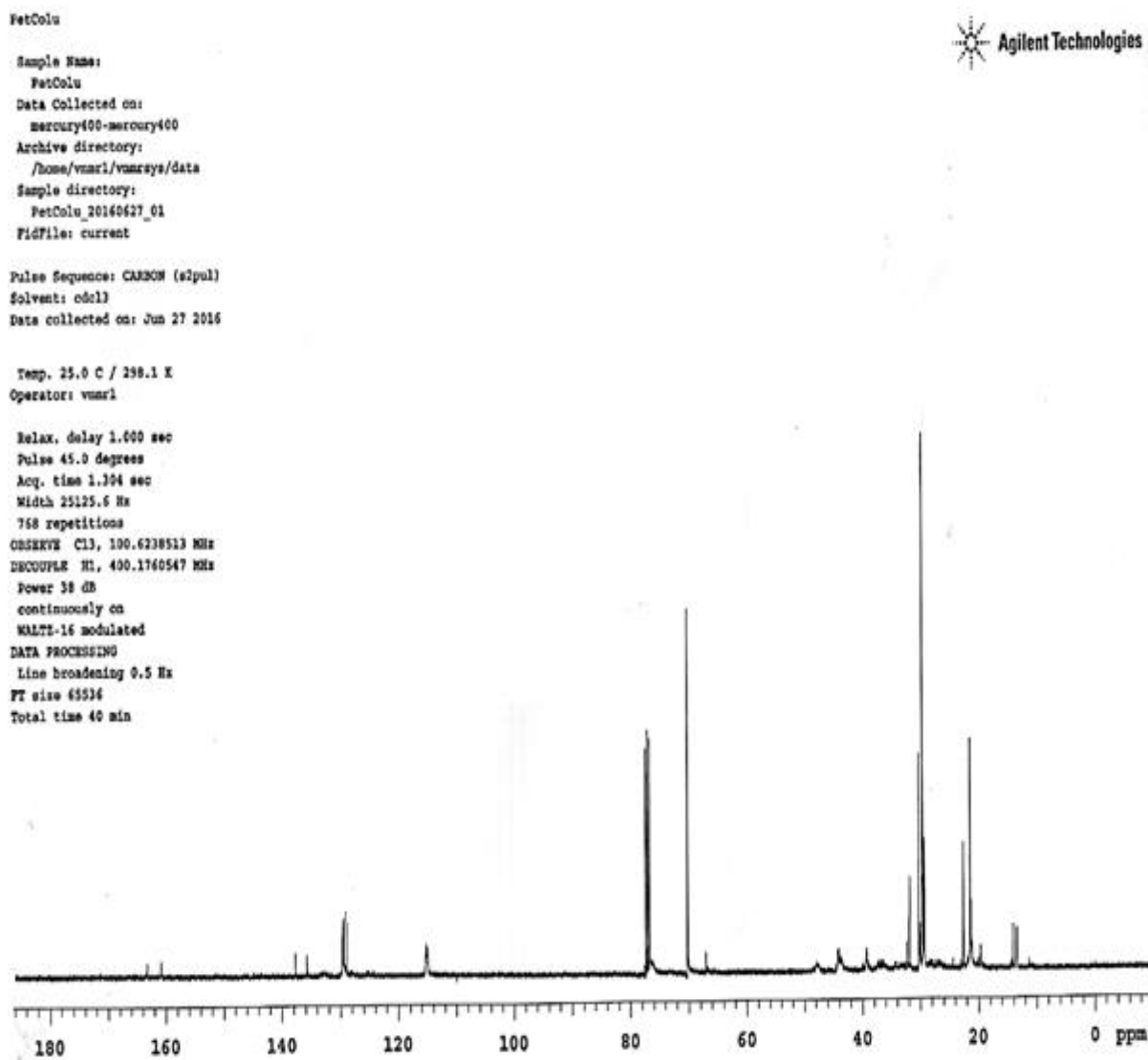


Figure S8.  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of 2a.

PetNO2

Sample Name:  
PetNO2  
Data Collected on:  
mercury400-mercury400  
Archive directory:  
/home/vnmr1/vnmrsys/data  
Sample directory:  
PetNO2\_20160418\_01  
FidFile: PROTON\_02

Pulse Sequence: PROTON (s2pul)  
Solvent: cdcl3  
Data collected on: Apr 18 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K  
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 2.559 sec  
Width 6402.0 Hz  
8 repetitions  
OBSERVE H1, 400.1740753 MHz  
DATA PROCESSING  
FT size 32768  
Total time 0 min 31 sec

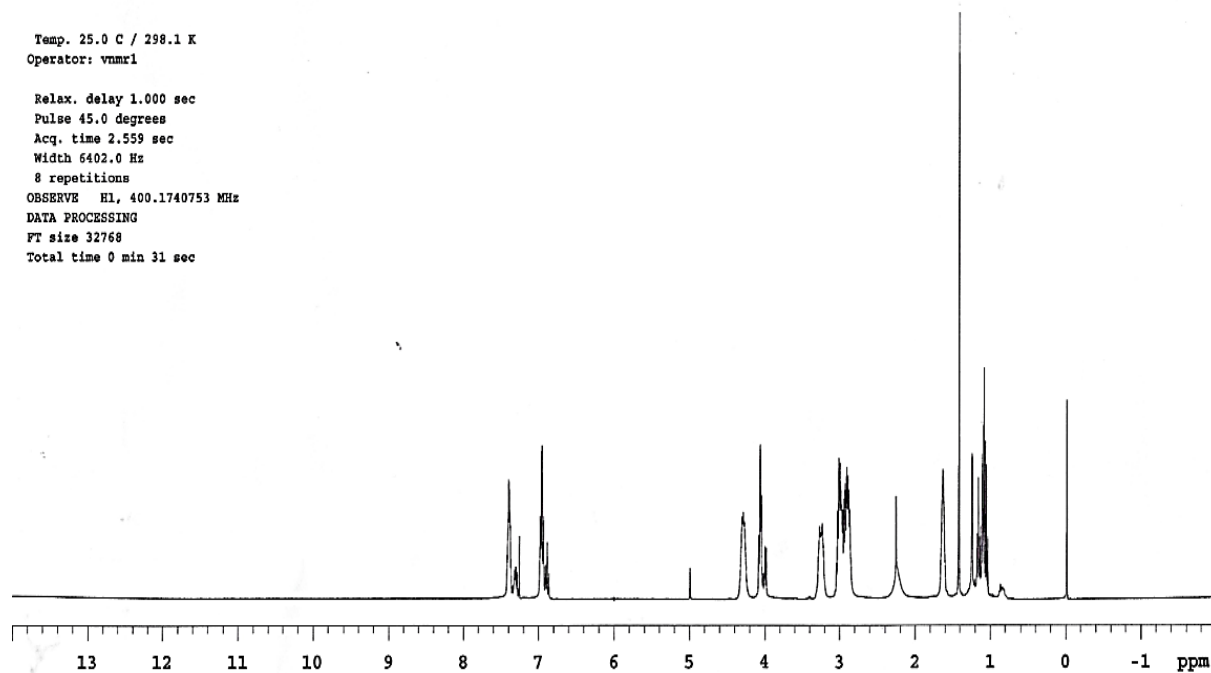


Figure S9.  $^1\text{H}$  NMR spectrum of the mixture of *trans* 2b and *cis* 2b.

PetNO2

Sample Name:  
PetNO2  
Data Collected on:  
mercury400-mercury400  
Archive directory:  
/home/vnmr1/vnmrsys/data  
Sample directory:  
PetNO2\_20160418\_01  
FidFile: CARBON\_01

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)  
Solvent: cdcl3  
Data collected on: Apr 18 2016

Temp. 25.0 C / 298.1 K  
Operator: vnmr1

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.304 sec  
Width 25125.6 Hz  
1000 repetitions  
OBSERVE C13, 100.6238513 MHz  
DECOUPLE H1, 400.1760547 MHz  
Power 38 dB  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 0.5 Hz  
FT size 65536  
Total time 40 min

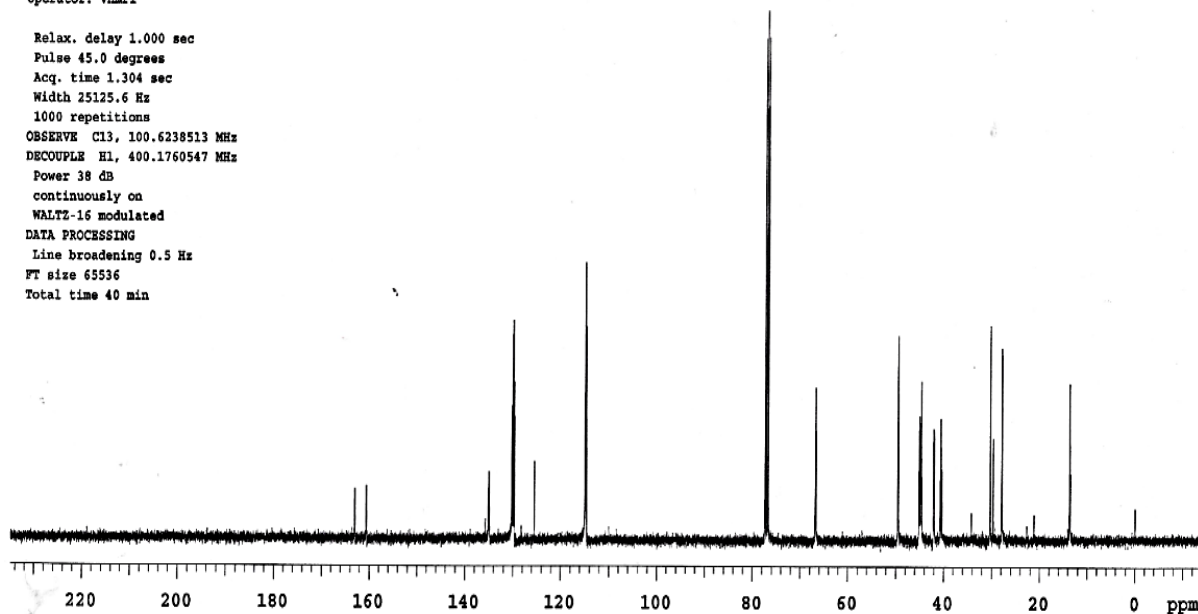


Figure S10.  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of the mixture of *trans* 2b and *cis* 2b.

## Studies on the vibrational frequencies and molecular electrostatic potential surfaces of the *trans*-bis-[O-3-methyl-1-butyl-(ferrocenyl)dithiophosphonato]nickel(II) complex

Celal Tuğrul ZEYREK<sup>1a</sup>, Ertuğrul Gazi SAĞLAM<sup>2b\*</sup>, Sabire AYDIN<sup>3c</sup>

<sup>1</sup>Department of Academy and Publications, Turkish Energy, Nuclear Mining and Research Institution, 06100 Beşevler, Ankara, Turkey

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Marmara University, 34722, Göztepe, İstanbul, Turkey

<sup>3</sup>TEBİP High Performers Program, Board of Higher Education of Turkey, Marmara University, 34722, Göztepe, İstanbul, Turkey

ORCID: <sup>a</sup>0000-0001-6744-7841, <sup>b</sup>0000-0002-7719-3934, <sup>c</sup>0000-0002-8593-8940

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
18.06.2021	23.07.2021	12.10.2021

**Abstract:** Vibrational spectroscopy (FT-IR and Raman) of *trans*-bis-[O-3-methyl-1-butyl-(ferrocenyl)dithiophosphonato]nickel(II) complex, [Ni(FcL)<sub>2</sub>], which was known previously has been reported. On the other hand, the density functional theory (DFT) calculations on the compound [Ni(FcL)<sub>2</sub>] have been performed to compare the experimental vibrational frequencies obtained from calculated vibrational frequencies of [Ni(FcL)<sub>2</sub>] complex for the first time. A relatively good correlation between experimental and theoretical frequencies were found for [Ni(FcL)<sub>2</sub>]. The molecular electrostatic potential (MEP) surface of the complex was also composed by DFT calculation using the optimized geometry at a B3LYP/LANL2DZ level.

**Keywords:** Ferrocenyl dithiophosphonato complexes, density functional theory, FT-IR, vibrational frequencies, molecular electrostatic potential

### *Trans*-bis-[O-3-metil-1-bütül-(ferrosenil)ditiyofosfonato]nikel(II) kompleksinin titreşim frekansları ve moleküler elektrostatik potansiyel yüzeyleri üzerine çalışmalar

**Özet:** *Trans*- bis -[O-3- metil- 1- bütül- (ferrosenil) ditiyofosfonato]nikel(II) kompleksinin [Ni(FcL)<sub>2</sub>] titreşim spektroskopisi (FT-IR ve Raman) bildirildi. Öte yandan, [Ni(FcL)<sub>2</sub>] kompleksinin hesaplanan titreşim frekanslarından elde edilen deneysel titreşim frekanslarını ilk kez karşılaştırmak için [Ni(FcL)<sub>2</sub>] bileşiği üzerinde yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) hesaplamaları yapılmıştır. [Ni(FcL)<sub>2</sub>] için deneysel ve teorik frekanslar arasında iyi bir korelasyon bulundu. Kompleksin moleküler elektrostatik potansiyeli (MEP) yüzeyi de B3LYP/LANL2DZ seviyesinde optimize edilmiş geometri kullanılarak DFT hesaplaması ile oluşturulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Ferrosenil ditiyofosfonato kompleksleri, yoğunluk fonksiyonel teorisi, FT-IR, titreşim frekansları



## 1. INTRODUCTION

After the discovery of elemental phosphorus in 1669 by Hennig Brand [1], organophosphorus compounds were progressively synthesized. Among them is the phenyl monothio phosphonic acid, which was prepared for the first time in 1877 by Köhler [2]. However, organodithiophosphorus compounds have not drawn that much attention until 1945, presumably due to their disagreeable odor. But the realization of the potential industrial uses of dithiophosphates, dithiophosphonates and dithiophosphinates which are a member of organodithiophosphorus compounds accelerated the investigations on these compounds. The ability of the organodithiophosphorus compounds to chelate transition metal ions opened a wide range of mining applications for them in the second half of the last century [3-7]. At later times, pesticides [8] and medical imaging agents [9] containing dithiophosphorus compounds have also emerged. Studies of anticancer activities of dithiophosphinic acid [10] and dithiophosphonic acid derivatives [11, 12] have been shown to be discouraging. Historically, at least three different methods have been used to synthesize dithiophosphonic acids (DTPOA) [17, 18]. Two of them are today regarded as laborious and lead to undesirable side products. The procedure currently used is based on the use of perthiophosphonic acid anhydrides and was invented in 1952 by Lecher et al. [10]. These scientists treated the above-mentioned compounds with alcohols and came up with DTPOAs. Lawesson realized that the perthiophosphonic acid anhydride, [2,4-bis(4-methoxyphenyl)-1,3,2,4-dithiadiphosphetane-2,4-disulfide], was also a good general thionation agent [11] and so the name Lawesson's reagent for the compounds. Later, analogs of Lawesson's reagent, LR, were developed [21]. One of these analogs, [2,4-diferrocenyl-1,3,2,4-dithiadiphosphetane-2,4-disulfide], (FcLR), has found wide use for the synthesis of ferrocenyl dithiophosphonates, (Fc-DTPOA) [12].

Fc-DTPOA-type compounds are usually synthesized through the reaction of FcLR with nucleophilic reagents such as alcohols. These compounds are difficult to purify as such, while their ammonium salts are stable. So, Fc-DTPOAs are converted to ammonium salts for purification. Ammonium salts are then treated with metal salts for the corresponding heterodinuclear complexes [23]. A number of these heterodinuclear complexes have already been reported with nickel(II) compounds being the most widely studied species [13]. Dinuclear Ni(II)-Fc-DTPOA complexes are of a square-planar coordination geometry as is the case with other soft base-type ligands [14-16]. Unlike Ni(II), the cations Zn(II) and Cd(II) are known to form four-coordinated, dimeric heterodinuclear complexes with Fc-DTPOAs [17].

The density functional theory (DFT) is widely used in methods in computational quantum chemistry by using the ab initio calculation of electronic structures of many-particle systems [18]. In the literature, the DFT has a great accuracy in reproducing the experimental values in geometry, dipole moment, vibrational frequency and the

molecular electrostatic potential (MEP) surface of organic and inorganic compounds [19-22]. In this study, to compare the experimental vibrational frequencies obtained from calculated vibrational frequencies and to investigate reactive sites for electrophilic and nucleophilic attack of *trans*-bis-[O-3-methyl-1-butyl-(ferrocenyl)dithiophosphonato]nickel(II) complex, [Ni(FcL)<sub>2</sub>] was investigated by using DFT with B3LYP/LANL2DZ level. The MEP area of [Ni(FcL)<sub>2</sub>] was determined by DFT computation at the same level to study reactive sites for electrophile and nucleophilic attack of the studied complex.

## 2. MATERIAL AND METHOD

The IR spectral data of the complex [Ni(FcL)<sub>2</sub>] were used according to the literature [23] for theoretical calculations.

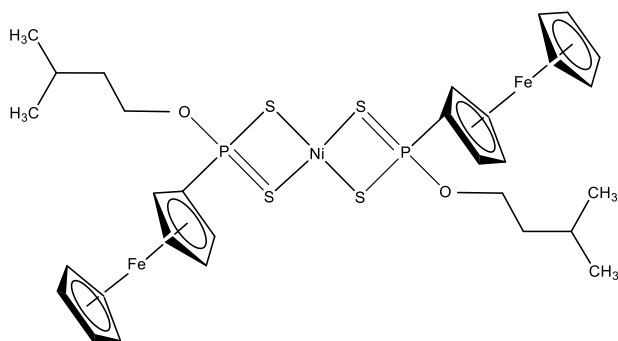
### 2.1. Computational methods

#### 2.2.1. DFT Calculation

The Gaussian 09 software package and the Gauss View visualization program [24, 25] were used to perform the density functional theory calculations on the compound [Ni(FcL)<sub>2</sub>]. The geometry optimization and vibrational band analyses were performed by DFT using the Becke-3-Lee-Yang-Parr (B3LYP) Density Functional [26, 27] with the Los Alamos effective core potentials plus double-zeta (LANL2DZ) [28] basis set in the ground state. The molecular electrostatic potential surface was also evaluated by using a B3LYP/LANL2DZ level to investigate the reactive sites and to identify the sites of *intra*- and *inter*-molecular interactions of the molecule. In order to compensate for systematic errors and thereby obtain accurate vibrational wavenumbers for the investigated compound in the solid phase, we calibrated the vibrational wavenumbers by using a scale factor value of 0.960 for individual primitive internal coordinates at the B3LYP/LANL2DZ level of theory [29]. The assignments of each vibratory mode were provided using the VEDA 4 program based on B3LYP [30]. The visual check for the vibrational band assignments were also performed by using Gauss-View molecular visualization program.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

In this study, we introduced theory studies for [Ni(FcL)<sub>2</sub>] which were previously synthesized and characterized (Figure 1). The compound [Ni(FcL)<sub>2</sub>] was first identified by experimental and theoretical studies for FTIR and Raman spectroscopy using by density functional theory, (DFT). The DFT calculations were also first studied on the basis of the MEP.



**Figure 1.** Structure of  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$ .

### 3.1. The vibrational band assignments of $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$

The  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$  vibrational bands were assigned at the B3LYP/LANL2DZ level of the theory. The important characteristic vibrational frequencies were analyzed and, the results relating to the complex  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$  were compared with the experimental counterparts to verify the assignments made. The comparison of the selected experimental (Exp.) and calculated vibrational frequencies ( $\text{cm}^{-1}$ ) for  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$  are given in Table 1.

**Table 1.** Comparison of the selected experimental and calculated vibrational frequencies ( $\text{cm}^{-1}$ ) for  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$ .

Exp. FT-IR	Exp. Raman	B3LYP/LANL2DZ Unscaled freq.	B3LYP/LANL2DZ freq.	Scaled	Band assignments
3106	3113	3306	3174		$\nu_s(\text{CH})_{\text{Cp}}$
3071	3076	3267	3136		$\nu_{\text{as}}(\text{CH})_{\text{Cp}}$
		3136/3125	3011/3000		$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$
2952	-	3117/3108	2992/2983		$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$
		3089	2965		$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_2)$
		3068	2945		$\nu_s(\text{CH}_2)$
2903	2874	3024	2903		$\nu_s(\text{CH}_3)$
1426	1409	1492	1432		sci(CH <sub>2</sub> )
1385	1388	1443/1428/1423	1385/1371/1366		$\nu(\text{CC})_{\text{Cp}}$
1365	1369	1419	1362		$\nu_2(\text{HC}-\text{CH}_2)$
1340	-	1399	1343		w(CH <sub>2</sub> )
1316	-	1397/1386/1376/1350	1341/1330/1320/1296		$\nu(\text{CC})_{\text{Cp}}$
1254	-	1296	1244		$\delta(\text{CH})_{\text{Cp}}$
1232	-	1287/1256	1236/1206		Tw(CH <sub>2</sub> )
1177	1189,1180	1175	1128		$\gamma(\text{CH}_2)$
1106	1108	1201/1123	1153/1078		Breathing-Cp
1041	1030	1095/1091/1084	1051/1047/1041		$\delta(\text{CH})_{\text{Cp}}$
1025	1065,1055	1077	1033		$\nu(\text{CH}_2-\text{CH}_2)$
984	1003	1013	919		$\nu(\text{O}-\text{CH}_2)$
898	904	903	867		$\nu(\text{P}-\text{OC})_{\text{aliph.}}$
825	838	852	818		Breathing-Cp
611	608	581/577	558		$\tau(\text{CCCH})_{\text{Cp}}$
595	600	555	532		$\nu(\text{PS})_{\text{asym}}$
504	508	506	486		$\nu(\text{PS})_{\text{sym}}$
446	451	459	441		$\nu_{\text{as}}(\text{Fe}-\text{Cy})_{\text{Fc}}$
338	339	329	316		$\nu(\text{Ni}-\text{S})_{\text{asym}}$
305	304	325	312		$\nu(\text{Ni}-\text{S})_{\text{sym}}$

$\nu$ : bond stretching,  $\delta$ : in-plane angle bending,  $\gamma$ : out-of-plane angle bending, sci: scissoring, Tw: twisting, w: wagging,  $\tau$ : torsion, asym: asymmetric, sym: symmetric.

Figure 2 depicts the experimental (FT-IR and Raman) and theoretical spectra of  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$ . In the empirical FT-IR spectrum of  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$ , symmetric (sym)  $[\nu_s(\text{CH})_{\text{Cp}}]$  and asymmetric (asym) stretching C-H vibrations  $[\nu_{\text{as}}(\text{CH})_{\text{Cp}}]$ , are observed at 3106 (FT-IR)/3113  $\text{cm}^{-1}$  (Raman) and 3071 (FT-IR)/3076  $\text{cm}^{-1}$  (Raman). The corresponding bands are computed at 3174  $\text{cm}^{-1}$  (sym) and 3136  $\text{cm}^{-1}$  (asym) frequencies.

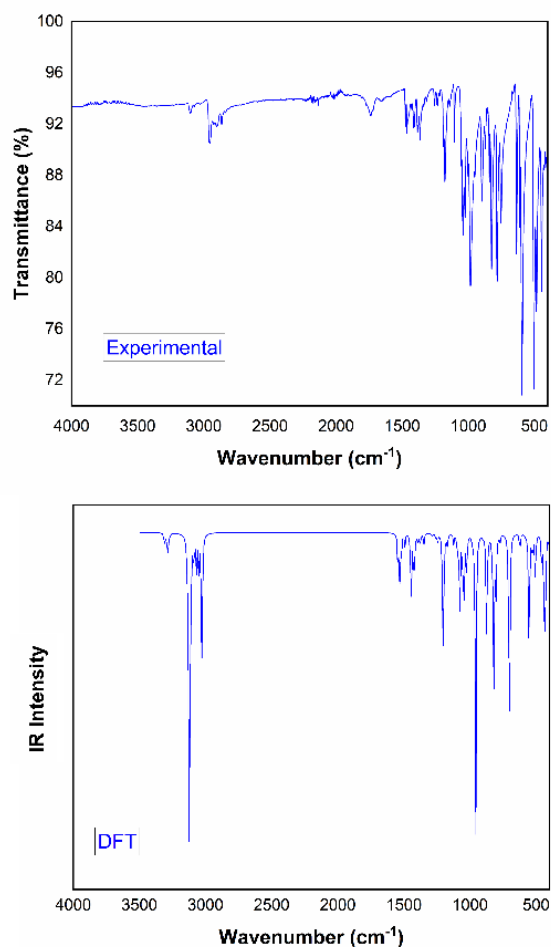
The combined FT-IR signal for the ring stretching vibrations  $\nu(\text{CC})_{\text{Cp}}$  is observed at 1316  $\text{cm}^{-1}$  while the four calculational predictions corresponding to the ring stretching modes are 1341/1330/1320/1296  $\text{cm}^{-1}$ . The in-plane bending  $[\delta(\text{CH})_{\text{Cp}}]$  is observed at 1254  $\text{cm}^{-1}$  whereas this vibration is computed to appear at 1244  $\text{cm}^{-1}$ . The out-of-plane bending vibrations mode  $\gamma(\text{CH}_2)$  is observed at 1177/1180  $\text{cm}^{-1}$  (FT-IR), 1189  $\text{cm}^{-1}$  (Raman).

The twisting modes  $\text{Tw}(\text{CH}_2)$  is observed at 1232  $\text{cm}^{-1}$  (FT-IR) as a combined signal. The predicted wavenumbers are at 1236 and 1206  $\text{cm}^{-1}$ . The bond stretching modes  $\nu(\text{CH}_2\text{-CH}_2)$  are observed at 1025  $\text{cm}^{-1}$  (FT-IR, combined) and 1065, 1055  $\text{cm}^{-1}$  (Raman). One of these modes is theoretically predicted at 1033  $\text{cm}^{-1}$ .

One other fundamental group vibration the H-C-H scissoring,  $\text{sci}(\text{CH}_2)$  is observed at 1426/1409  $\text{cm}^{-1}$  (FT-IR and Raman). The  $\text{sci}(\text{CH}_2)$  mode is calculated at 1432  $\text{cm}^{-1}$ . The stretching mode  $\nu(\text{O-CH}_2)$  is observed at 984  $\text{cm}^{-1}$  (FT-IR) and 1003  $\text{cm}^{-1}$  (Raman). This mode was calculated to appear at 919  $\text{cm}^{-1}$ .

The P-O stretching mode gives rise to a very strong band at 898  $\text{cm}^{-1}$  (FT-IR) and 904  $\text{cm}^{-1}$  (Raman) while the calculated frequency for this band is at 867  $\text{cm}^{-1}$  for the B3LYP/LANL2DZ level. The observed band at 595  $\text{cm}^{-1}$  (FT-IR) and 600  $\text{cm}^{-1}$  (Raman) spectra are attributed to the  $\nu(\text{PS})_{\text{asym}}$  mode and those at 504  $\text{cm}^{-1}$  (FT-IR) and 508  $\text{cm}^{-1}$  (Raman) to  $\nu(\text{PS})_{\text{sym}}$ . The corresponding theoretical values for these modes are calculated at 532  $\text{cm}^{-1}$  for  $\nu(\text{PS})_{\text{asym}}$  and 486  $\text{cm}^{-1}$  for  $\nu(\text{PS})_{\text{sym}}$ . The Ni-S symmetric stretching vibration,  $\nu(\text{Ni-S})_{\text{sym}}$  is observed at 305  $\text{cm}^{-1}$  (FT-IR) and 304  $\text{cm}^{-1}$  (Raman) whereas the Ni-S asymmetric stretching  $\nu(\text{Ni-S})_{\text{asym}}$ , at 338  $\text{cm}^{-1}$  (FT-IR) and 339  $\text{cm}^{-1}$  (Raman). The corresponding theoretical values are 312  $\text{cm}^{-1}$  for  $\nu(\text{Ni-S})_{\text{sym}}$  and 316  $\text{cm}^{-1}$  for  $\nu(\text{Ni-S})_{\text{asym}}$ .

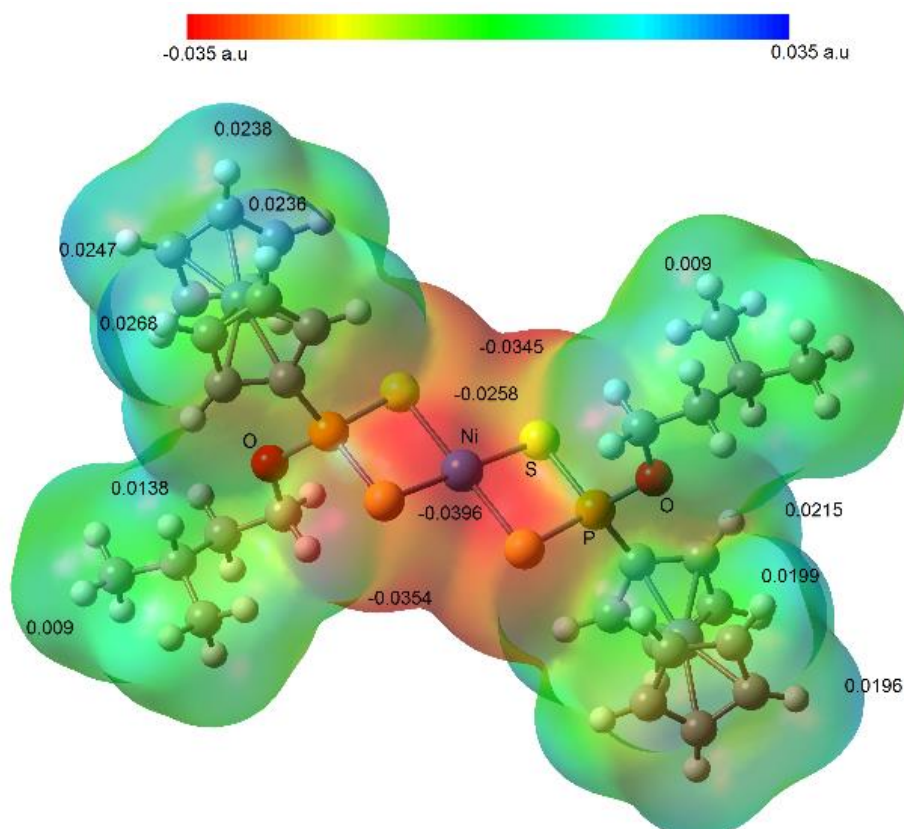
The calculated values of other group vibrations show good agreement with the experimental results. As a result, the scaled fundamental vibrations are in good consistency with experimental results. Our calculations compare well with similar findings reported in the literature [31-36].



**Figure 2.** Experimental and theoretical infrared spectra of  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$ .

### 3.2. The electrostatic surface potential of $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$

The MEP surface of the title complex was composed by DFT calculation using the optimized geometry at a B3LYP/LANL2DZ level to investigate reactive sites for electrophilic and nucleophilic attack. MEP is related to the electron density and a very useful descriptor in hydrogen bonding interactions.[37] MEP also is a very good device to analyze the processes involved in drug-receptor and enzyme-substrate interactions.[38] MEP surfaces of  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$  are illustrated in Figure 3. The blue colors are negative regions that are related to nucleophilic reactivity whereas red and yellow colors are positive regions that are related to electrophilic reactivity. Thus, electrostatic potential decreases in the order blue-green-yellow-orange-red.



**Figure 3.** The molecular electrostatic potential surfaces of  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$ .

As shown in Figure 3, the maximum negative values lie in the range  $(-0.0258) - (-0.0396 \text{ a.u.})$  for the region of O atoms and four-membered coordination rings (S1, S2, S1<sup>i</sup> and S2<sup>i</sup>) indicate possible sites of electrophilic reactivity while the positive values range of 0.0196 to 0.0268 a.u. for the region of the ferrocenyl moieties and 0.009 to 0.0138 a.u. for *iso*-amyl group indicate possible sites of nucleophilic reactivity in  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$ . These regions give preliminary information for the predictions of intermolecular interactions. As mentioned previously in section descriptions of the crystal structure and optimized geometry of  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$ , predicted reactive sites in the MEP for the investigated molecule are confirmed that the crystal structure of the  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$  was also stabilized by intermolecular and intramolecular hydrogen bonds between atoms of two ferrocenyl precursors ( $\text{C}3^i\text{-H}3^i\cdots\text{C}7^i$ ,  $\text{C}3^i\text{-H}3^i\cdots\text{C}8^i$ ) and between O atoms and H atoms of the *iso*-amyl group ( $\text{C}2\text{-H}2\cdots\text{O}1$ ,  $\text{C}13\text{-H}13\cdots\text{O}1$ ,  $\text{C}2^i\text{-H}2^i\cdots\text{O}1^i$ ,  $\text{C}13^i\text{-H}13^i\cdots\text{O}1^i$ , symmetry codes: (i)  $-x, -y+1, -z$ ; (ii)  $x+3/2, -y+1/2, z+1/2$ ) [23].

#### 4. CONCLUSION

The vibrational band assignments were performed at B3LYP/LANL2DZ theory level to compare the experimental (FT-IR) and calculated vibrational frequencies of the title compound. We have analyzed

the normal vibrational frequencies and compared our calculated results of the investigated compound with the experimental ones. As a result, the scaled fundamental vibrations are in good consistency with experimental results. The possible sites of electrophilic and nucleophilic reactivity in  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$  were predicted by the same level of DFT. According to the MEP surface of the investigated complex, the O atoms and four-membered coordination rings (S1, S2, S1<sup>i</sup> and S2<sup>i</sup>) have maximum negative regions which indicate possible sites of electrophilic reactivity while the ferrocenyl moieties and *iso*-amyl group have the positive regions which indicate possible sites of nucleophilic reactivity in  $[\text{Ni}(\text{FcL})_2]$ .

#### 5. CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no competing financial interest.

**Ethical Approval:** Ethics Approval is not required for this study.

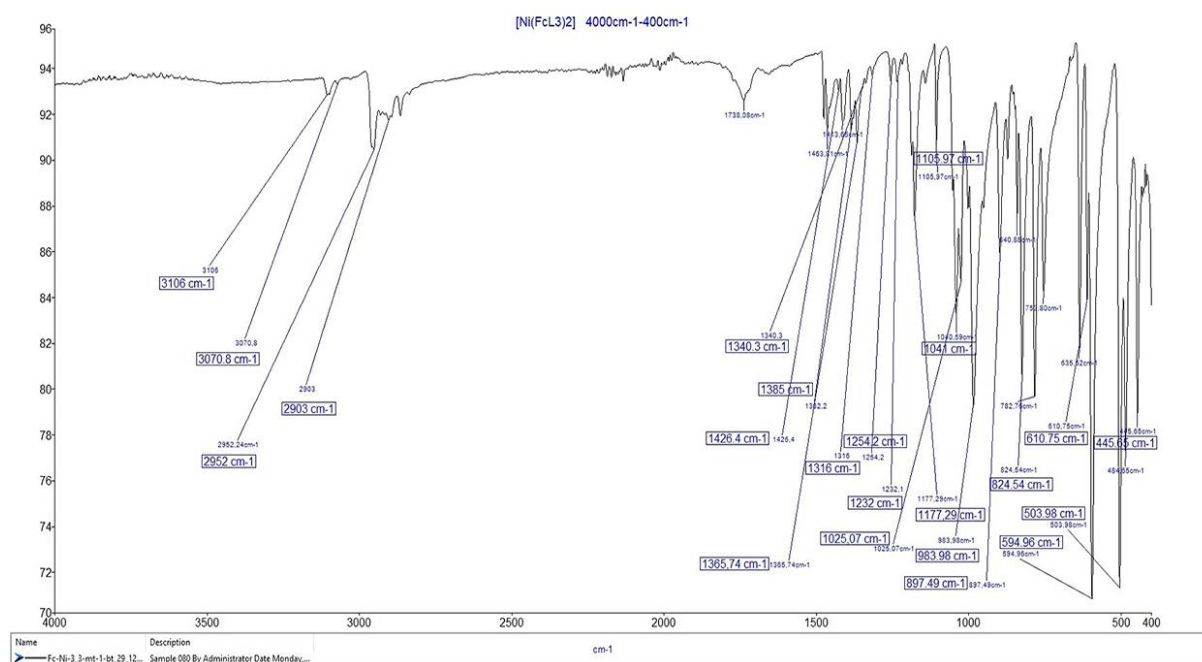
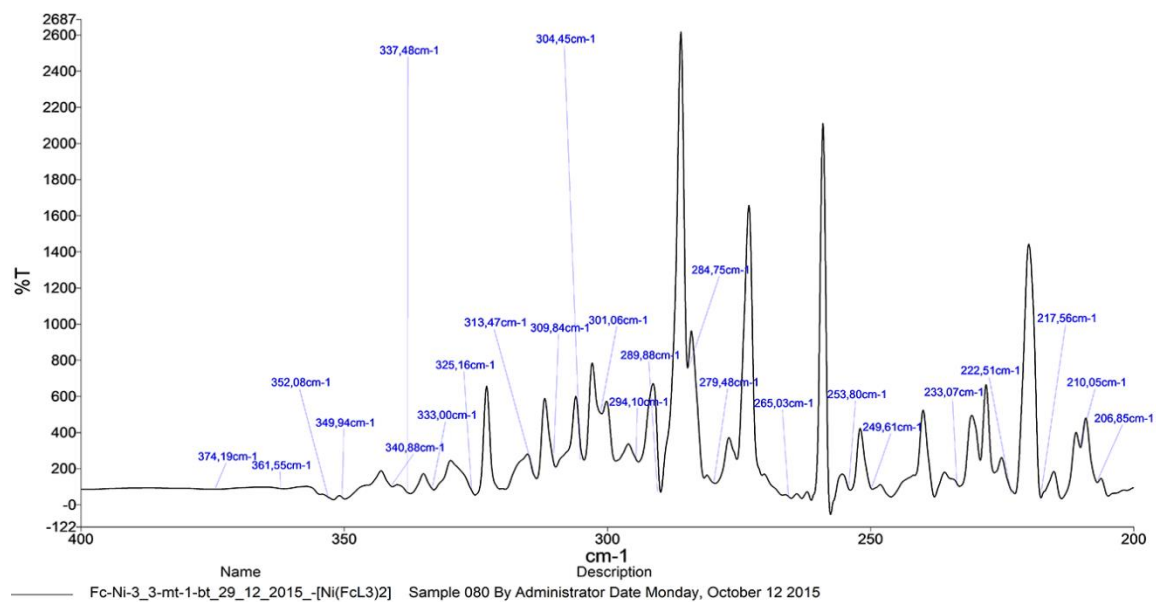
#### REFERENCES

- [1] Walker, B.J., "Organophosphorus Chemistry", Penguin, London, (1972).
- [2] Kosolapoff, G.M., "Organophosphorus Compounds", John Wiley&Sons, London, (1950).

- [3] He, X.H., Tian, G.X., Chen, J., Rao, L.F., "Characterization of the extracted complexes of trivalent lanthanides with purified cyanex 301 in comparison with trivalent actinide complexes", *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (2014), 43, 46, 17352-17357.
- [4] Diemert, K., Kuchen, W., "Zur Kenntnis Der Organophosphorverbindungen, XVIII Dithiophosphinsäuren RR'P(S)SH, Ihre Synthese, Derivate und Metallkomplexe", *Phosphorus, Sulfur and the Related Elements*, (1977), 3, 2, 131-136.
- [5] McCleverty, J.A., Kowalski, R.S.Z., Bailey, N.A., Mulvaney, R., O'Cleirigh, D.A., "Aspects of the inorganic chemistry of rubber vulcanisation. Part 4. Dialkyl- and diaryl-dithiophosphate and -dithiophosphate complexes of zinc: phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectral studies and structures of  $[NMe_4][Zn\{S_2P(OC_6H_4Me-p)_2\}_3]$  and  $[NEt_4][Zn(S_2PPh_2)_3]$ ", *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (1983), 4, 627-634.
- [6] Ageda, S., Fuke, C., Ihama, Y., Miyazaki, T., "The stability of organophosphorus insecticides in fresh blood", *Legal Medicine*, (2006), 8, 144-149.
- [7] Kumar, S., Khajuria, R., Gupta, V.K., Kant, R., Pandey, S.K., "The first nickel(II) complexes of disubstituted diphenyldithiophosphates: Synthesis, spectroscopic, electrochemical, antifungal and single crystal X-ray analysis", *Polyhedron*, (2014), 72, 140-146.
- [8] Kabra, V., Mitharwal, S., Singh, S., "Synthesis and Insecticidal Activity of Novel Dithiophosphonates", *Phosphorus and Sulfur and the Related Elements*, (2009), 184, 9, 2431-2442.
- [9] Pasqualini, R B.E., Comazzi, V., Laine, J., "Radiopharmaceutical product having in particular a cerebral tropism comprising a nitrato complex of a transition metal and method for preparing said product", *US5496929A*, (1996).
- [10] Lecher, H.Z., Greenwood, R.A., Whitehouse, K.C., Chao, T.H., "The Phosphonation of Aromatic Compounds with Phosphorus Pentasulfide", *Journal of the American Chemical Society*, (1956), 78, 19, 5018-5022.
- [11] Thomsen, K.C., Scheibye, S., Lawesson, S.-O., "Thiation with 2,4-Bis(4-Methoxyphenyl)-1,3,2,4-Dithiadiphosphetane 2,4-Disulfide: N-methylthiopyrrolidone", *Organic Syntheses*, (1984), 62, 158.
- [12] Karakus, M., Lonneck, P., Hey-Hawkins, E., "Zwitterionic ferrocenyldithiophosphonates: the molecular structure of  $[FcP(S)S(OCH_2CH_2NH_2Me)]$  [ $Fc = Fe(\eta^5-C_5H_4)(\eta^5-C_5H_5)$ ]", *Polyhedron*, (2004), 23, 14, 2281-2284.
- [13] Karakus, M., Lonneck, P., Yakhvarov, D., Hey-Hawkins, E., "Heterobimetallic nickel(II) complexes of ferrocenyldithiophosphonates. Molecular structures of  $[{FcP(OR)S_2}]_2Ni$  [ $Fc = Fe(\eta^5-C_5H_4)(\eta^5-C_5H_5)$ , R = Et, Pr-i, Bu-s, Bu-i]", *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, (2004), 630, 10, 1444-1450.
- [14] Van Zyl, W.E., "Dithiophosphonates and Related P/S-Type Ligands Of Group 11 Metals", *Comments on Inorganic Chemistry*, (2010), 31, 1-2, 13-45.
- [15] Sánchez, G., García, J.n., Meseguer, J., D., Serrano, J.L., Pérez, J., Molins, E.e., López, G., "Organometallic nickel(II) complexes with dithiophosphate, dithiophosphonate and monothiophosphonate ligands", *Inorganica Chimica Acta*, (2004), 357, 3, 677-683.
- [16] Arca, M., Cornia, A., Devillanova, F.A., Fabretti, A.C., Isaia, F., Lippolis, V., Verani, G., "New perspectives in phosphonodithioate coordination chemistry. Synthesis and X-ray crystal structure of trans-bis-[O-ethyl-(4-methoxyphenyl)phosphonodithioato] nickel(II)", *Inorganica Chimica Acta*, (1997), 262, 1, 81-84.
- [17] Gray, I.P., Milton, H.L., Slawin, A.M.Z., Woollins J.D., "Synthesis and structure of  $[Fc(RO)PS_2]^-$  complexes", *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (2003), 17, 3450-3457.
- [18] Sebastian, S., Sundaraganesan, N., Karthikeyan, B., Srinivasan, V., "Quantum mechanical study of the structure and spectroscopic (FT-IR, FT-Raman,  $^{13}C$ ,  $^1H$  and UV), first order hyperpolarizabilities, NBO and TD-DFT analysis of the 4-methyl-2-cyanobiphenyl", *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, (2011), 78, 2, 590-600.
- [19] Zeyrek, C.T., Alpaslan, G., Alyar H., Yildiz, M., Dilek, N., Unver, H., "Synthesis, molecular structure, spectroscopic and theoretical studies on E-2-ethoxy-4-[(4-ethoxyphenylimino)methyl]phenol", *Journal of Molecular Structure*, (2015), 1088, 14-27.
- [20] Zeyrek, C.T., Dilek, N., Yildiz, M., Unver, H., "Synthesis, structure, spectroscopic (FT-IR) and density functional modelling studies of 1-[(4-ethoxyphenylimino)methyl]naphthalene-2-ol", *Molecular Physics*, (2014), 112, 19, 2557-2574.

- [21] Sağlam, E.G., Ebinç, A., Zeyrek, C.T., Ünver, H., Hökelek, T., "Structural studies on some dithiophosphonato complexes of Ni(II), Cd(II), Hg(II) and theoretical studies on a dithiophosphonato Ni(II) complex using density functional theory", *Journal of Molecular Structure*, (2015), 1099, 490-501.
- [22] Sağlam, E.G., Bulat, E., Zeyrek, C.T., Dal, H., Hokelek, T., "Syntheses of and structural studies on some square planar dithiophosphonato Ni(II) complexes, octahedral pyridine derivatives thereof and X-ray crystallography, DFT and molecular docking studies of the latter", *Journal of Molecular Structure*, (2019), 1178, 112-125.
- [23] Sağlam, E.G., Akkoç, S., Zeyrek, C.T., Dal, H., Tutsak, Ö., "New heterobimetallic nickel(II) ferrocenyldithiophosphonato complexes: Syntheses, characterization, antiproliferative activity and X-ray, DFT, molecular docking studies on trans-bis-[O-3-methyl-1-butyl-(ferrocenyl)dithiophosphonato]nickel(II)", *Inorganica Chimica Acta*, (2021), 514, 119991.
- [24] Frisch, G.W.T. M.J., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H.P., Izmaylov, A.F., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenberg, J.L., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Montgomery, J.A., Peralta, J.E., Jr., Ogliaro, F., Bearpark, M., Heyd, J.J., Brothers, E., Kudin, K.N., Staroverov, V.N., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A., Burant, J.C., Iyengar, S.S., Tomasi, J., Cossi, M., Rega, N., Millam, J.M., Klene, M., Knox, J.E., Cross J.B., Bakken, V., Adamo C., Jaramillo, J., Gomperts R., Stratmann, R.E., Yazyev, O., Austin, A.J., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J.W., Martin, R.L., Morokuma, K., Zakrzewski, V.G., Voth G.A., Salvador P., Dannenberg, J.J., Dapprich, S., Daniels, A.D., Farkas, O., Foresman, J.B., Ortiz J.V., Cioslowski, J., Fox D.J., Gaussian 09, Gaussian, Inc., Wallingford, CT, (2009).
- [25] Dennington, T.K. R., Millam J., in: S.M. KS. (Ed.) "GaussView, Semichem", Inc., (2009).
- [26] Becke, A.D., "Density-functional thermochemistry. IV. A new dynamical correlation functional and implications for exact-exchange mixing", *The Journal of Chemical Physics*, (1996), 104, 3,1040-1046.
- [27] Lee, C., Yang W., Parr, R.G., "Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density", *Physical Review B*, (1988), 37, 2, 785-789.
- [28] Perdew, J.P., Kurth, S., Zupan, A., Blaha, P., "Accurate Density Functional with Correct Formal Properties: A Step Beyond the Generalized Gradient Approximation", *Physical Review Letters*, (1999), 82, 12, 2544-2547.
- [29] Sundaraganesan, N., Elango, G., Sebastian, S., Subramani, P., "Molecular structure, vibrational spectroscopic studies and analysis of 2-fluoro-5-methylbenzonitrile", *Indian Journal of Pure & Applied Physics*, (2009), 47, 7, 481-490.
- [30] Merrick, J.P., Moran, D., Radom, L., "An Evaluation of Harmonic Vibrational Frequency Scale Factors", *The Journal of Physical Chemistry A*, (2007), 111, 45, 11683-11700.
- [31] Karakus, M., Yilmaz, H., Bulak, E., "Synthesis and Characterization of Zn(II) and Cd(II) Complexes with Bisdithiophosphonates", *Russian Journal of Coordination Chemistry*, (2005), 31, 5, 316-321.
- [32] Gray, I.P., Slawin, A.M.Z., Woollins, J. Derek, "Synthesis and characterisation of disulfides and esters derived from their sodium organodithiophosphonate salts", *New Journal of Chemistry*, (2004), 28, 11,1383-1389.
- [33] Aragoni, M.C., Arca M., Demartin, F., Devillanova, F.A., Graiff, C., Isaia, F., Lippolis, V., Tiripicchio, A., Verani, G., "Reactivity of phosphonodithioato NiII complexes: solution equilibria, solid state studies and theoretical calculations on the adduct formation with some pyridine derivatives", *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (2001), 18, 2671-2677.
- [34] Masahide, N., Yoshinori, K., Hisashi, K., "Studies of Bivalent Metal Chelates of 2-Aminomethylpyridine", *Bulletin of the Chemical Society of Japan* (1975), 48, 1, 245-249.
- [35] Sunder, S., Hanlan, L., Bernstein, H.J., "Resonance Raman spectra of metal complexes of substituted dithiophosphinic acids", *Inorganic Chemistry*, (1975), 14, 8, 2012-2013.
- [36] Yu-Mei, Z., Hong-Li, Z., "Synthesis and Crystal Structure of Novel Ferrocenyl Pyrrolidines through Multicomponent Reaction, Synthesis and Reactivity in Inorganic", *Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, (2014), 44, 8, 1115-1118.
- [37] Politzer, D.G.T. P., "Plenum", New York, (1981).
- [38] Politzer, P.a.M., J.S., "Protein", Adenine Press (1991).

## Supplementary Materials

Figure SM 1a. [Ni(FcL)<sub>2</sub>] (4000cm<sup>-1</sup>-400cm<sup>-1</sup>).Figure SM 1b. [Ni(FcL)<sub>2</sub>] (400cm<sup>-1</sup>-200cm<sup>-1</sup>).



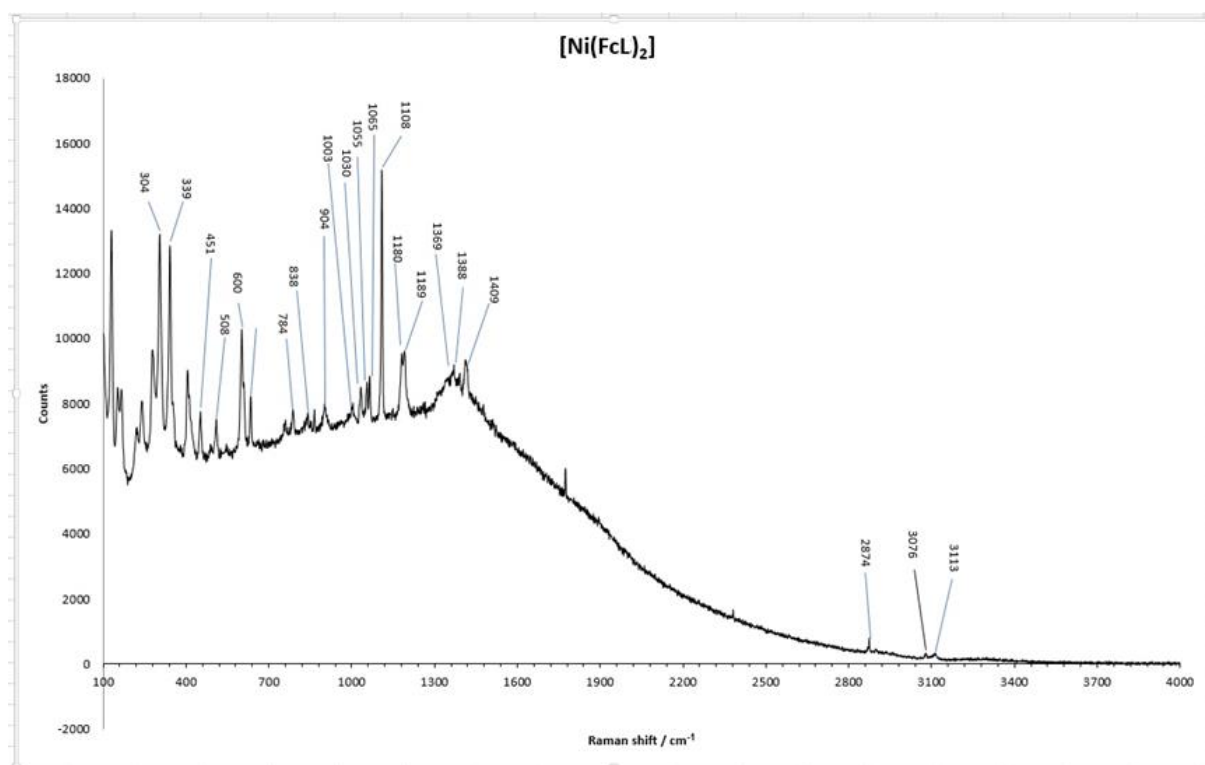


Figure SM 2. Raman spectra of [Ni(FcL)<sub>2</sub>]

## In silico study and structure-activity relations of glucose-bound coumarin derivatives against the NSP12 protein of SARS-CoV-2

Esra ÇELİK<sup>1a</sup>, Mücahit ÖZDEMİR<sup>1b</sup>, Bahattin YALÇIN<sup>1c</sup>, Baybars KÖKSOY<sup>2d\*</sup>

<sup>1</sup>Marmara University, Department of Chemistry, 34722 Istanbul, Turkey.

<sup>2</sup>Bursa Technical University, Department of Chemistry, 16310 Bursa, Turkey

ORCID: <sup>a</sup>0000-0002-7398-9281, <sup>b</sup>0000-0002-0840-4953, <sup>c</sup>0000-0003-4448-1101, <sup>d</sup>0000-0001-7939-5380

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
21.07.2021	23.08.2021	12.10.2021

**Abstract:** In this study, designs of antiviral drug candidates that may be effective against SARS-CoV-2 virus were performed. Molecular docking was used to explore the effect of coumarin and its derivatives, which have antiviral action, on RNA polymerase NSP12, one of the key proteins of the coronavirus. The sugar group on coumarins was selected to increase hydrophilicity, and the amide groups were diversified to investigate selectivity. Coumarins containing 3-(*p*-phenylamidomorpholine), 3-(*p*-phenylamidopiperazine), and 3-(*p*-phenylamidopiperidine) groups had the best docking scores, with binding affinities of -10.1 kcal/mol, -10.1 kcal/mol, and -10.0 kcal/mol, respectively. The pharmacokinetic and toxicokinetic properties of compounds were estimated close to reality using various databases, and their values were close to the target values needed for a compound to become a drug. This study is also thought to give insight to scientists working for the design of SARS-CoV-2 antiviral drugs in terms of the structure activity relationship between coumarin and its functional groups.

**Keywords:** SARS-CoV-2, COVID-19, Coronavirus, Coumarin, Drug design, Molecular docking.

### SARS-CoV-2'nin NSP12 proteinine karşı glukoza bağlı kumarin türevlerinin in silico çalışması ve yapı-aktivite ilişkileri

**Özet:** Bu çalışmada SARS-CoV-2 virüsüne karşı etkili olabilecek antiviral ilaç adaylarının tasarımları yapılmıştır. Moleküler yerleştirme, antiviral etkiye sahip kumarin ve türevlerinin, koronavirüsün temel proteinlerinden biri olan RNA polimeraz NSP12 üzerindeki etkisini araştırmak için kullanıldı. Kumarinlerdeki şeker grubu, hidrofiliteyi arttırmak için seçilmiş ve seçiciliği araştırmak için amid grupları çeşitlendirilmiştir. 3-(*p*-fenilamidomorfolin), 3-(*p*-fenilamidopiperazin) ve 3-(*p*-fenilamidopiperidin) gruplarını içeren kumarinler, sırasıyla -10.1 kcal/mol, -10.1 kcal/mol, and -10.0 kcal/mol bağlanma afiniteleriyle en iyi yerleştirme puanlarına sahipti. Bileşiklerin farmakokinetik ve toksikokinetik özellikleri, çeşitli veri tabanları kullanılarak gerçeğe yakın olarak tahmin edildi ve değerleri, bir bileşiğin ilaca dönüşmesi için gereken hedef değerlere yakındı. Bu çalışmanın ayrıca SARS-CoV-2 antiviral ilaçların tasarımı için çalışan bilim insanlarına kumarin ve fonksiyonel grupları arasındaki yapı aktivite ilişkisi açısından fikir vereceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** SARS-CoV-2, COVID-19, Koronavirüs, Kumarin, İlaç tasarımı, Moleküler yerleştirme

## 1. INTRODUCTION

From December 2019, the SARS-CoV-2 virus, which first appeared in Wuhan, China, has been affecting and endangering people's lives [1]. Acute respiratory syndrome is the most evident impact of coronavirus, but its other effects in the body are also being studied [2]. Headache, cough, fever, loss of taste and smell, and weakness are all frequent SARS-CoV-2 symptoms but still there are symptoms with many other research subjects. Nausea, vomiting, dizziness, diarrhea, redness in the eyes, and vision impairment are some of these symptoms [3, 4]. Additionally, at the person who healing from COVID-19 can observe anxiety and depression as psychology [4]. SARS-CoV-2 genome includes single stranded RNA, Envelope (E), Membrane (M), Spike (S), Nucleocapsid (N) and nonstructural proteins (NSP1-16) [5]. The interaction between spike protein with Ace-2 allows the coronavirus to enter the human cell [6-9]. Human ACE2 enzyme is located on the outer surface of lung arteries, kidneys, and intestine cells and the enzyme has mostly found in the lungs [10]. As the reason that, is scientists think coronavirus mostly effect on lungs. SARS-CoV-2 virus is activated protolithic by host cell proteases after the introduction of the cell [11]. To prevent the coronavirus from entering the cell, vaccinations that produce antibodies have been created. Antiviral medication trials to eliminate SARS-CoV-2 proteins are still ongoing.

Coumarins are seconder metabolites found in plants [12]. Coumarins are naturally existing organic compounds [13]. Coumarin and their derivatives are preferred in biological activity studies because of coumarins excellent pharmacological features [14]. It is also high antioxidant [15] anticoagulant [16], antimicrobial [17], antibacterial [18, 19] and anticancer [20] compounds, are highly preferred in medicine. In addition, coumarins have also been investigated for their effectiveness against pulmonary embolism, which is one of the symptoms of coronavirus [21-23].

The NSP12 protein is attached to RNA catalyzes viral RNA and helps to multiply the coronavirus. Coumarins were shown to attach to amino acids in the NSP12 catalytic domain through non-covalent hydrogen interactions [22]. The coumarin has an inhibitory impact at the conclusion of this contact, and it is estimated in the study that this lowered enzyme activity. In this approach, the coronavirus's fast multiplication in living cells may be avoided, and the coronavirus's potential for severe consequences can be reduced. It is expected that the findings will help to ongoing anti-viral research and that the coronavirus will decrease rather than increase in the cell.

## 2. MATERIAL AND METHOD

### 2.1. Molecular docking

Autodock Vina [24] was used to calculate binding affinity for coumarin derivatives (1-8). The X-ray

crystal structure of SARS-CoV-2 non-structural protein (PDB code: 7BV2) [25] was resolved using X-ray diffraction method with a resolution factor of 2.50 Å was retrieved from the RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>). Automatically the root of each ligand molecule is detected, and torsions were selected. The ligand's torsions were allowed to rotate, and the selected residues were tested. The ligands were docked blindly to see where they would preferentially bind. The amino acids in the active site of NSP-12 and NSP-12 with RNA were determined using BIOVA Discovery Studio Visualizer 2021 [26]. Pre-calculated grid maps were required for running the program, which were calculated using the AutoGrid program. The energy scoring grid box was set to 32x32x32 dimension (x, y, and z) centered at X = 91.692; Y = 92.471; and Z = 103.743 with 0.325 Angstroms grid points spacing assigned. As a docking engine, the Lamarckian Genetic Algorithm was used, with all docking parameters set to default. From 10 conformations obtained through vina calculations, the coumarin derivatives with the lowest energy placement score were chosen. The visualization processes were carried out using the Schrödinger Maestro program [27].

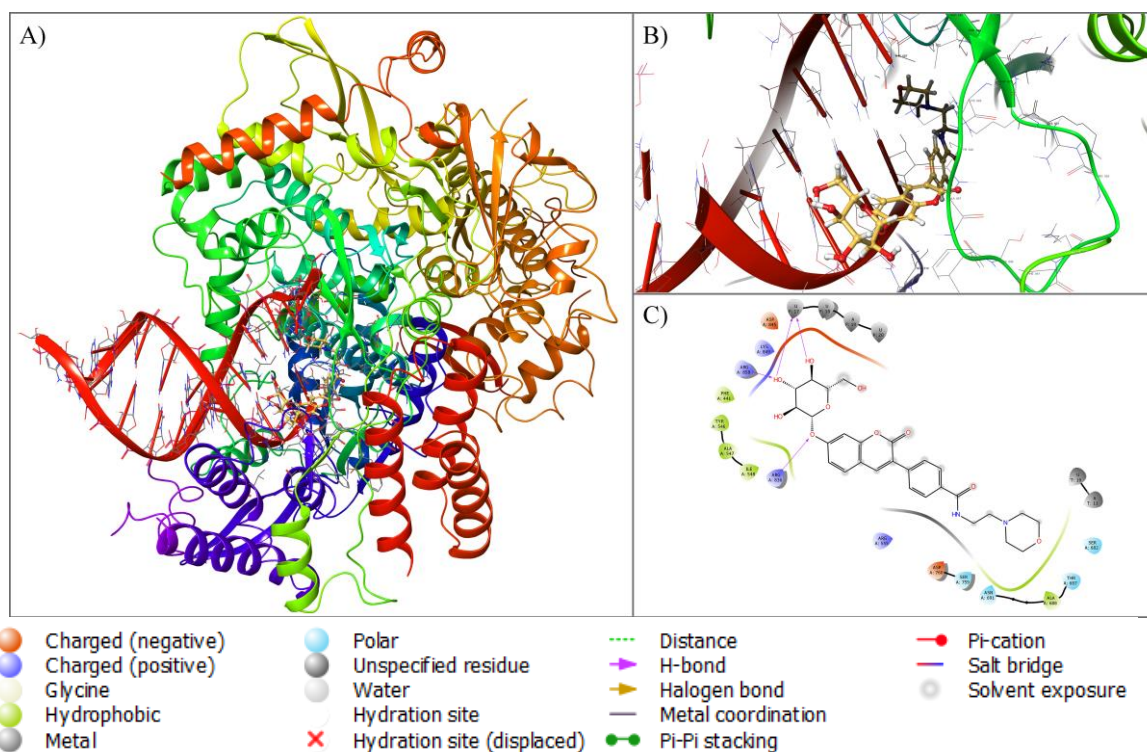
### 2.2. ADMET predictions

In drug design, determining the pharmacokinetic and toxicokinetic properties of drug candidate molecules prevents multiple experiments, saving both time and cost and making the success rate higher. Absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity parameters (ADMET) describe the properties that a drug molecule must carry. The SwissADME online database [28] was used to estimate the absorption, distribution, metabolism, and excretion values of coumarin derivatives. The ProTox-II online database [29] was used to estimate toxicity values.

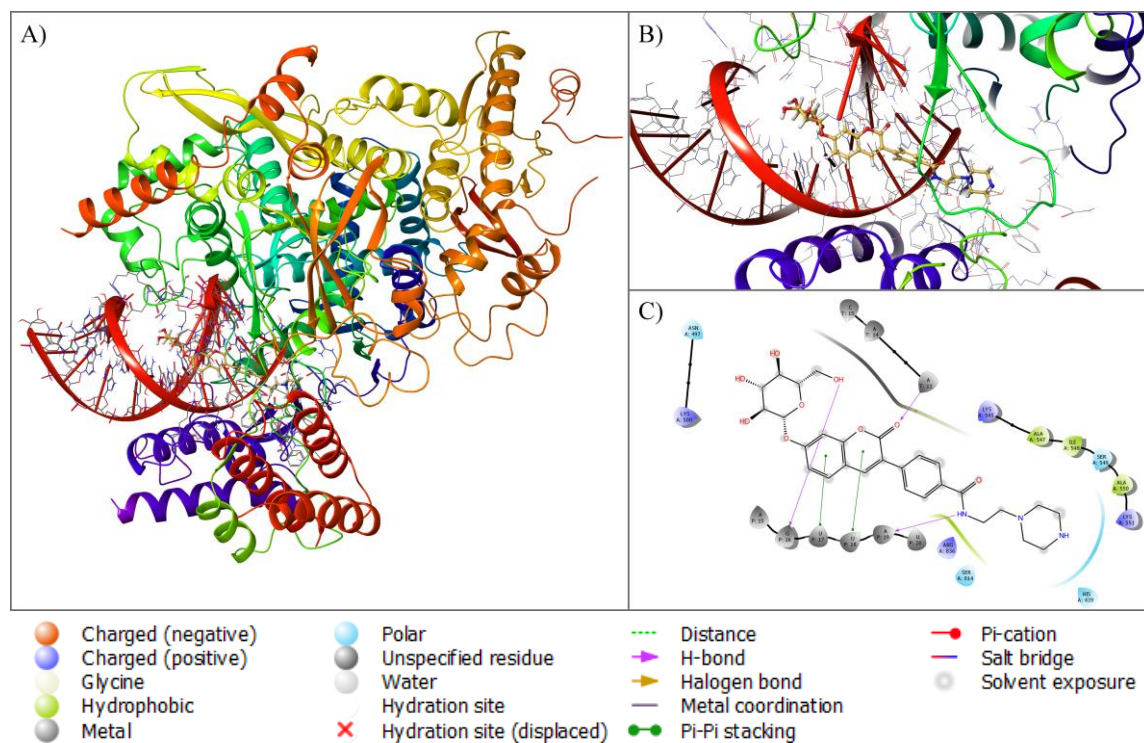
## 3. RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1. RdRp-NSP12 docking results

Eight targeted-coumarin derivatives were docked by molecular docking study on the NSP12 protein, the RNA polymerase of coronavirus. The docking studies were carried out in two different combinations on the same protein. In the NSP12-encoded docking study, heteroatoms and RNA found in the X-Ray data were extracted and an approach was developed on whether the compounds would only inhibit the polymerase enzyme. All heteroatoms were removed in NSP12 with RNA, and in order to dock for NSP12 without RNA, single stranded RNA was removed from the NSP12 enzyme and the docking study was carried out. Because ligand interactions in the active region where the end part of the RNA interacting with the enzyme is located, in addition to inhibiting NSP12, it causes the RNA Helix to separate from the structure and can stop replication by deactivating the RNA.

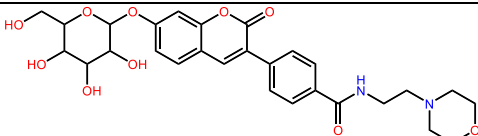
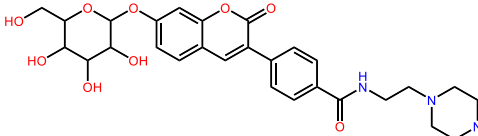
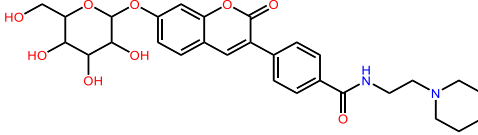
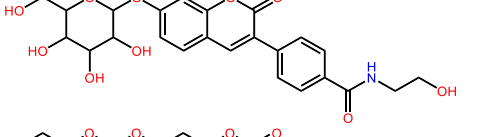
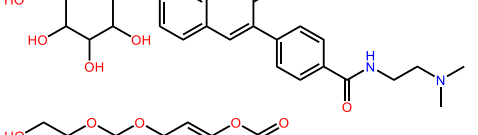
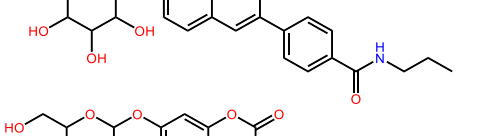
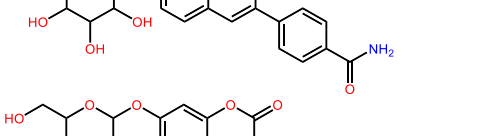
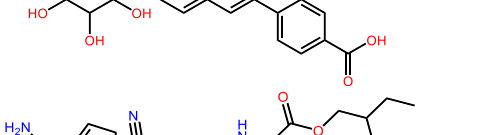
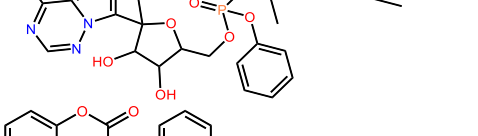
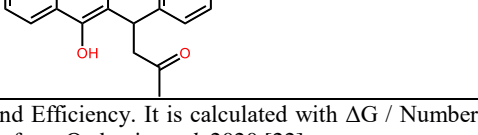


**Figure 1.** A) General demonstration of NSP12 with RNA and coumarin (1) inhibitor. B) Zoomed active site of NSP12 with RNA and coumarin (1) inhibitor. C) 2D diagram of coumarin and its interactions with amino acids and nucleobases.



**Figure 2.** A) General demonstration of NSP12 with RNA and coumarin (2) inhibitor. B) Zoomed active site of NSP12 with RNA and coumarin (2) inhibitor. C) 2D diagram of coumarin and its interactions with amino acids and nucleobases.

**Table 1.** The docking scores and ligand efficiency values of the coumarins (1-8) on NSP12 proteins.

Compound	NSP12+RNA	LE	NSP12	LE
(1) 	<b>-10.1</b>	-0.25	-8.6	-0.21
(2) 	<b>-10.1</b>	-0.25	-7.7	-0.19
(3) 	<b>-10.0</b>	-0.24	-8.6	-0.21
(4) 	-9.3	-0.26	-8.1	-0.23
(5) 	-9.6	-0.25	-7.4	-0.20
(6) 	-9.4	-0.26	-8.0	-0.22
(7) 	-9.5	-0.29	-8.3	-0.25
(8) 	-9.3	-0.28	-8.1	-0.25
<b>R1</b> 	<b>-11.20</b>	-0.27	<b>-12.61</b>	-0.30
<b>R2</b> 	-7.83	-0.34	-7.88	-0.34

LE: Ligand Efficiency. It is calculated with  $\Delta G / \text{Number of heavy atoms}$ . R1 is remdesivir and R2 is warfarin. R1 and R2 scores are from Ozdemir *et al.* 2020 [22].

Coumarin derivatives (1-3) carrying 3-(*p*-phenylamidomorpholine), 3-(*p*-phenylamidopiperazine), and 3-(*p*-phenylamidopiperidine) have the highest binding affinity scores (Table 1). The effectiveness of these substituents on NSP12 has been reported earlier by Özdemir *et al.* 2020 [22]. Linked sugar groups from the seventh position of coumarins did not increase non-

covalent interactions as expected, but this structure would facilitate the dissolution of the target inhibitor in water or blood serum. As the sugar and amide groups increased hydrophilicity, the ligands moved away from the hydrophobic parts and formed non-covalent interactions with both RNA and the critical amino acids in the active site.

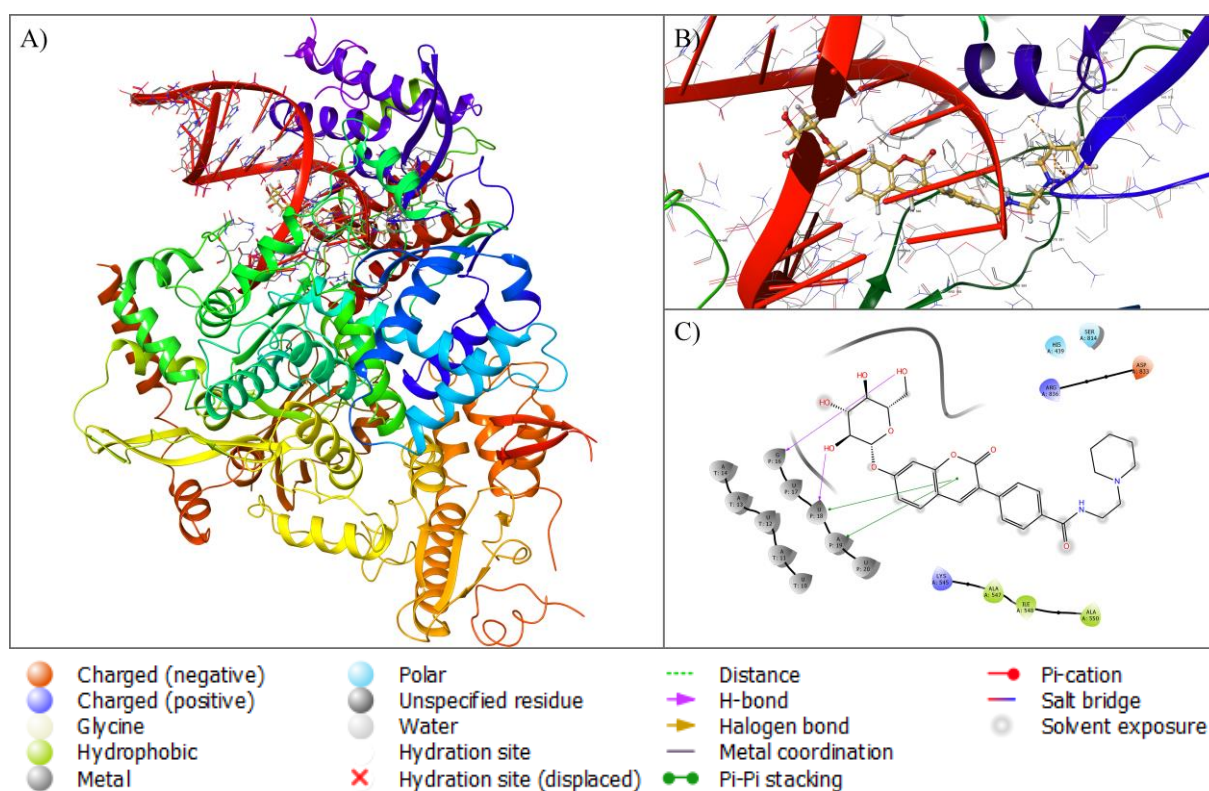


The docking score of 3-(*p*-phenylamidomorpholine) carrying coumarin is -8.6 for NSP12, and -10.1 kcal/mol for NSP12+RNA. Arginine amino acid (ARG836) with the oxygen bridge between coumarin and sugar, created an attractive hydrogen-bond interaction (2.78 Å). Again, the arginine amino acid (ARG858) formed a donor hydrogen bond interaction (1.93 Å) with the hydroxy group at the fourth position of the sugar substituent. The hydroxy group in the third position of glucose has a hydrogen bond interaction length of 2.92 Å, whereas the hydroxy group in the fourth position has a hydrogen bond interaction length of 2.25 Å.

The docking score of 3-(*p*-phenylamidopiperazine) carrying coumarin is -7.7 for NSP12 and -10.1 kcal/mol for NSP12 with RNA. Coumarin benzene and alpha pyran rings formed the  $\pi$ - $\pi$  stacking interactions with pyrimidine-2,4-dione ring of the uracil nucleobases (U:17 and U:18). The amine of the adenine nucleobase (A:11) has strong hydrogen bond interaction (2.42 Å) with carbonyl functional group of coumarin. The

guanine nucleobase (G:16) made a strong hydrogen bond interaction (1.88 Å) with the hydroxymethyl group in the sixth position of the glucose. The adenine nucleobase (A:19) with amide group of the coumarin interacted strong hydrogen bond (1.81 Å).

The docking score of 3-(*p*-phenylamidopiperidine)-carrying coumarin is -8.6 for NSP12 and -10.0 kcal/mol for NSP12 with RNA. Coumarin alpha pyran ring made the  $\pi$ - $\pi$  stacking interactions with pyrimidine-2,4-dione ring of the uracil nucleobases (U:17 and U:18). With the uracil nucleobase (U:18), the hydroxy group at the third position of the glucose group established a hydrogen bond interaction (2.17 Å). The glucose's hydroxymethyl group at the sixth position made a hydrogen bond interaction (2.15 Å) with the guanine (G:16) nucleobase. Coumarins featured in docking analyses exhibited similar interactions. Interactions in RNA-containing NSP-12 are mostly established by nucleobases. This indicates that coumarins can be very effective on its RNA, as well as inhibiting NSP-12, an RNA polymerase.



**Figure 3.** A) General demonstration of NSP12 with RNA and coumarin (1) inhibitor. B) Zoomed active site of NSP12 with RNA and coumarin (1) inhibitor. C) 2D diagram of coumarin and its interactions with amino acids and nucleobases.

### 3.2. Pharmacokinetic and toxicokinetic properties

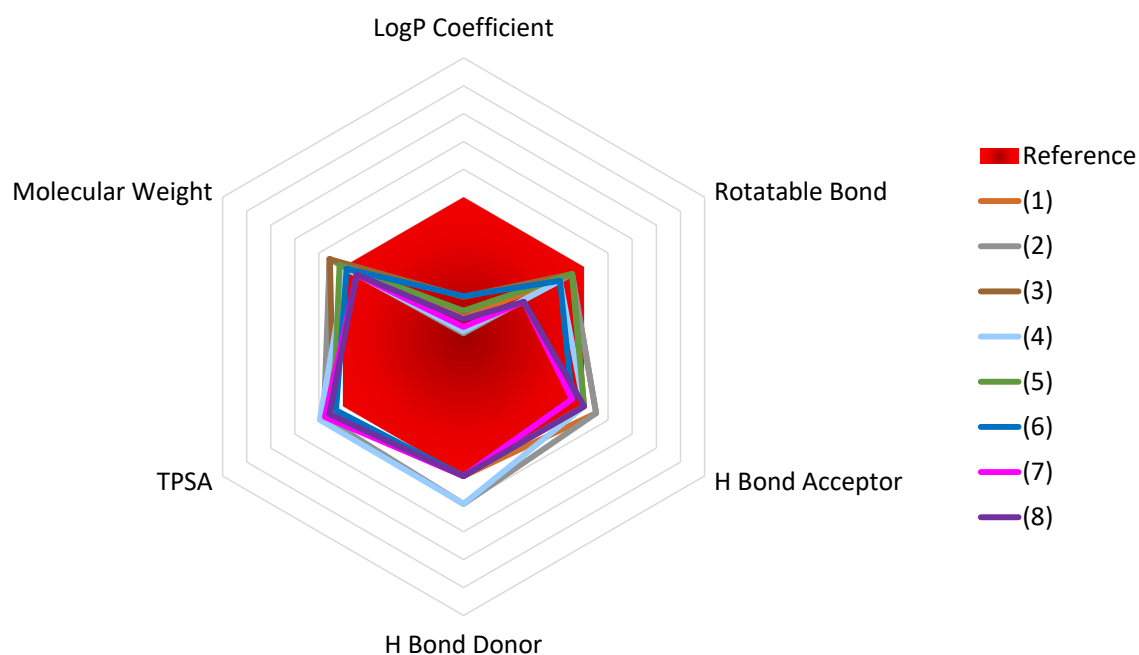
Knowing the behavior of drug components in the body in advance is an approach that provides convenience in drug design. ADMET estimation databases were used to determine the pharmacokinetic and toxicokinetic

properties of target coumarin derivatives (1-8). Lipinski mentioned some important criteria for a component to be a drug. Hydrogen bond donors should not exceed 5, hydrogen bond acceptors should not exceed 10, molecular weight should be less than 500 g/mol, and octanol-water partition coefficient (logP)

should not exceed 5 [30]. According to these rules, all coumarins are present in violations for the five important parameters of Lipinski. But violations for compounds 6-8 are only for the topological polar surface area and are negligible.

Polar surface areas are used in prediction of absorption, and compounds with large areas cannot penetrate the blood brain barrier, and as the polar surface grows, it becomes difficult for compounds to penetrate the cell membrane. All coumarin derivatives (1-8) are above the threshold value as TPSA. Due to the sugar groups that bind from the seventh position of coumarins, they have the high-water solubility. Not all coumarins can penetrate the blood-brain barrier due to the large topological polar surfaces but can be the substrate of *p*-glycoprotein with an important role in drug absorption. The warfarin drug is also a P-gp substrate. All Coumarins are not metabolized by CYP enzymes and are determined that they are not inhibitors that may exhibit side effects or toxicity.

The average similarity of the coumarins to the other compounds used for toxicokinetic estimates is 60%. The prediction accuracy is average 70%. On the toxicity scale from 1 to 6, 1 means highly toxic and 6 means non-toxic. Toxicity class of coumarin derivatives (1-8) estimated as 4. Coumarin derivatives are inactive for hepatotoxicity, carcinogenicity, cytotoxicity, and mitochondrial membrane potential values. As immunotoxicity, compounds 1, 3, 5, 7 and 8 are inactive, while compounds 2, 4 and 6 are active. The propyl piperazine (compound 2 functional group), propanol (compound 4 functional group) and propyl (compound 6 functional group) groups are thought to enhance immunotoxicity. Benzoic acid (compound 8 functional group) has been shown to have mutagenic effect compared to benzamide. All these ADMET features give an idea that the designed coumarin compounds may be the drug candidate.



**Figure 4.** The radar chart of designed coumarins (1-8) for logP coefficient, molecular weight, topological polar surface area, hydrogen bond donor, hydrogen bond acceptor, rotatable bond values. Reference values according to Lipinski's rule of five, logP value should be between 0.2-5; rotatable bond value should be between 0-10; hydrogen bond acceptor value should be between 0-10; hydrogen bond donor value should be between 0-5; topological polar surface area value should be between 20-150; molecular weight value should be between 150-500.

**Table 3.** The pharmacokinetic and toxicokinetic properties of coumarins in this study (1-8).

Properties	Coumarin derivatives							
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
Molweight (g/mol)	556.56	555.58	554.59	487.46	514.52	485.48	443.40	444.39
Number of atoms	72	73	74	60	67	62	53	52
Heavy atoms	41	40	40	35	37	35	32	32
Number of bonds	76	77	78	63	70	65	56	55
Rotatable bonds	9	9	9	8	9	8	5	5
H-Bond acceptors	11	11	10	10	10	9	9	10
H-Bond donors	5	6	5	6	5	5	5	5
Dipole moment (D) <sup>a</sup>	7.04	6.74	6.82	6.24	6.81	6.97	6.90	5.24
Molar refractivity	144.88	150.51	148.60	121.03	132.38	124.68	110.16	109.02
TPSA (Å <sup>2</sup> )	171.16	173.96	161.93	178.92	161.93	158.69	172.68	166.89
Log <i>P</i> <sub>o/w</sub>	0.69	-0.12	1.43	0.20	0.93	1.45	0.35	0.63
Water solubility	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
GI absorption	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low	Low
BBB permeant	No	No	No	No	No	No	No	No
<i>P</i> -gp substrate	Yes	No	No	Yes	Yes	Yes	No	No
CYP1A2 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No
CYP2C19 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No
CYP2C9 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No
CYP2D6 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No
CYP3A4 inhibitor	No	No	No	No	No	No	No	No
Log <i>K</i> <sub>p</sub> (cm/s)	-9.46	-9.66	-8.58	-9.29	-8.94	-8.15	-9.13	-8.68
Lipinski rules	No	No	No	No	No	Yes	Yes	Yes
Toxicity class <sup>b</sup>	4	4	4	4	4	4	4	4
Hepatotoxicity	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
Carcinogenicity	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
Immunotoxicity	Inactive	Active	Inactive	Active	Inactive	Active	Inactive	Inactive
Mutagenicity	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Active
Cytotoxicity	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive
MMP <sup>c</sup>	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive	Inactive

<sup>a</sup>Dipole moment estimated by Avogadro program.<sup>b</sup>The toxicity class consists of six numbers. Number 1 means toxic; number 6 means non-toxic.<sup>c</sup>MMP: Mitochondrial Membrane Potential.



#### 4. CONCLUSION

In this study, the effect of coumarin and its derivatives, whose antiviral activity is known, on RNA polymerase NSP12, one of the important proteins of the SARS-CoV-2 virus, was investigated by molecular docking. In general, NSP12 with RNA scores were lower due to a decrease in the NSP12 catalytic region cavity. The best NSP12+RNA docking scores are 3-(*p*-phenylamidomorpholine), 3-(*p*-phenylamidopiperazine) and 3-(*p*-phenylamidopiperidine) groups carrying coumarins and binding affinities are -10.1 kcal/mol, -10.1 kcal/mol, and -10.0 kcal/mol, respectively. Ligand efficiency suggests that coumarin derivatives in this study may be the potential NSP12 inhibitors. Research on the NSP12 protein of coumarins can be increased with in vivo/in vitro studies. This study is also expected to provide insight into the inhibiting effect of coumarin and its derivatives on scientists working on antiviral treatments for SARS-CoV-2.

#### 5. CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no competing financial interest.

**Ethical Approval:** Ethics Approval is not required for this study.

#### REFERENCES

- [1] Heidary, F., Gharebaghi, R. "Ivermectin: a systematic review from antiviral effects to COVID-19 complementary regimen" *The Journal of antibiotics*, (2020),73(9), 593-602.
- [2] Lai, C-C., Shih, T-P., Ko, W-C., Tang, H-J., Hsueh, P-R. "Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges" *International journal of antimicrobial agents*, (2020), 55(3), 105924.
- [3] Xu, P., Zhou, Q., Xu, J. "Mechanism of thrombocytopenia in COVID-19 patients" *Annals of hematology*, (2020), 99(6), 1205-1208.
- [4] Jain U. Effect of COVID-19 on the Organs. *Cureus*. 2020;12(8).
- [5] Khailany, R.A., Safdar, M., Ozaslan, M. "Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2" *Gene reports*, (2020), 19, 100682.
- [6] Mittal, A., Manjunath, K., Ranjan, R.K., Kaushik, S., Kumar, S., Verma, V. "COVID-19 pandemic: Insights into structure, function, and hACE2 receptor recognition by SARS-CoV-2" *PLoS pathogens*, (2020), 16(8), e1008762.
- [7] Hall, Jr D.C., Ji, H-F. "A search for medications to treat COVID-19 via in silico molecular docking models of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein and 3CL protease" *Travel medicine and infectious disease*, (2020), 35, 101646.
- [8] Dehelean, C.A., Lazureanu, V., Coricovac, D., Mioc, M., Oancea, R., Marcovici, I., et al. "SARS-CoV-2: repurposed drugs and novel therapeutic approaches—insights into chemical structure—biological activity and toxicological screening" *Journal of clinical medicine*, (2020), 9(7), 2084.
- [9] Wang, Q., Zhang, Y., Wu, L., Niu, S., Song, C., Zhang, Z., et al. "Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2" *Cell*, (2020), 181(4), 894-904.
- [10] Hati, S., Bhattacharyya, S. "Impact of Thiol–Disulfide Balance on the Binding of Covid-19 Spike Protein with Angiotensin-Converting Enzyme 2 Receptor" *ACS omega*, (2020), 5(26), 16292-16298.
- [11] Bao, L., Deng, W., Huang, B., Gao, H., Liu, J., Ren, L., et al. "The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice" *Nature*, (2020), 583(7818), 830-833.
- [12] Sun, X-Y., Liu, T., Sun, J., Wang, X-J. "Synthesis and application of coumarin fluorescence probes" *RSC Advances*, (2020), 10(18), 10826-10847.
- [13] Küpeli Akkol, E., Genç, Y., Karpuz, B., Sobarzo-Sánchez, E., Capasso, R. "Coumarins and coumarin-related compounds in pharmacotherapy of cancer" *Cancers*, (2020), 12(7), 1959.
- [14] Pivetta, T., Valletta, E., Ferino, G., Isaia, F., Pani, A., Vascellari, S., et al. "Novel coumarins and related copper complexes with biological activity: DNA binding, molecular docking and in vitro antiproliferative activity" *Journal of inorganic biochemistry*, (2017), 177, 101-109.
- [15] Basile, A., Sorbo, S., Spadaro, V., Bruno, M., Maggio, A., Faraone, N., et al. "Antimicrobial and antioxidant activities of coumarins from the roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae)" *Molecules*, (2009), 14(3), 939-952.
- [16] Golfakhrabadi, F., Abdollahi, M., Ardakani, M.R.S., Saeidnia, S., Akbarzadeh, T., Ahmadabadi, A.N., et al. "Anticoagulant activity of isolated coumarins (suberosin and suberenol) and toxicity evaluation of *Ferulago carduchorum* in rats" *Pharmaceutical biology*, (2014), 52(10), 1335-1340.
- [17] Shen, Y-F., Liu, L., Feng, C-Z., Hu, Y., Chen, C., Wang, G-X., et al. "Synthesis and antiviral activity of a new coumarin derivative against spring viraemia of carp virus" *Fish & shellfish immunology*, (2018), 81, 57-66.
- [18] Singh, L.R., Avula, S.R., Raj, S., Srivastava, A., Palnati, G.R., Tripathi, C., et al. "Coumarin–benzimidazole hybrids as a potent antimicrobial

- agent: synthesis and biological elevation” *The Journal of antibiotics*, (2017), 70(9), 954-961.
- [19] Hu, Y., Shen, Y., Wu, X., Tu, X., Wang, G-X. “Synthesis and biological evaluation of coumarin derivatives containing imidazole skeleton as potential antibacterial agents” *European journal of medicinal chemistry*, (2018), 143, 958-969.
- [20] Lingaraju, G.S., Balaji, K.S., Jayarama, S., Anil, S.M., Kiran, K.R., Sadashiva, M.P. “Synthesis of new coumarin tethered isoxazolines as potential anticancer agents” *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, (2018), 28(23-24), 3606-3612.
- [21] Özdemir, M., Köksoy, B., Ceyhan, D., Bulut, M., YALCIN, B. “In silico, 6LU7 protein inhibition using dihydroxy-3-phenyl coumarin derivatives for SARS-CoV-2” *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*. (2020) 7(3), 691-712.
- [22] Özdemir, M., Köksoy, B., Ceyhan, D., Sayın, K., Erçağ, E., Bulut, M., et al. “Design and in silico study of the novel coumarin derivatives against SARS-CoV-2 main enzymes” *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, (2020), 1-16.
- [23] Kow, C.S., Sunter, W., Bain, A., Zaidi, S.T.R., Hasan, S.S. “Management of outpatient warfarin therapy amid COVID-19 pandemic: a practical guide” *American Journal of Cardiovascular Drugs*, (2020), 20, 301-309.
- [24] Trott, O., Olson, A.J. “AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading” *Journal of computational chemistry*, (2010), 31(2), 455-461.
- [25] Yin, W., Mao, C., Luan, X., Shen, D-D., Shen, Q., Su, H., et al. “Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARS-CoV-2 by remdesivir” *Science*, (2020), 368(6498), 1499-1504.
- [26] BIOVIA DS. *Discovery Studio Visualizer*. San Diego: Dassault Systèmes 2021.
- [27] Schrödinger. *Maestro*. Release 2021-2 ed. LLC, New York, NY: Schrödinger; 2021.
- [28] Daina, A., Michielin, O., Zoete, V. “SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules” *Scientific reports*, (2017), 7(1), 1-13.
- [29] Banerjee, P., Eckert, A.O., Schrey, A.K., Preissner, R. “ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals” *Nucleic acids research*, (2018), 46(W1), W257-W63.
- [30] Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J. “Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings” *Advanced drug delivery reviews*, (1997), 23(1-3), 3-25.

## Kumarin ve izokumarin türevlerinin anti-enflamatuar aktivite profillerinin araştırılması

Zehra ARSLAN<sup>1</sup>, Murat BİNGÜL<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Diyarbakır, Türkiye

ORCID: <sup>a</sup>0000-0001-9169-667X, <sup>b</sup>0000-0002-3909-0694

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
17.07.2021	20.09.2021	12.10.2021

**Özet:** Kumarinler (2H-1-benzopiran-2-on) ve izokumarinler (1H-2-benzopiran-1-on), çoğunlukla bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan doğal olarak oluşan biyolojik aktif bileşiklerdir. Çok sayıda kumarin ve izokumarin türevi, farklı mekanizmalar yoluyla hafif ila çok güçlü antienflamatuar aktiviteye sahip olacak şekilde tasarlanmış, sentezlenmiş ve değerlendirilmiştir. Çok sayıda araştırma raporu, kumarin ve izokumarin ana yapısını, antienflamatuar ilaçların geliştirilmesi için potansiyel adaylar olarak göstermiştir. Bu doğal ürünlerin yapısal çeşitliliği ve biyolojik aktivitesi ile ilgili mevcut literatür gözden geçirilmiştir. Bu derleme makalesinde; çeşitli çalışmalar sonucu elde edilen antienflamatuar aktiviteye sahip doğal ve sentetik kumarin ve izokumarin türevlerinin karşılaştırmalı analizi gerçekleştirilmiş ve etkili antienflamatuar ilaçların tasarımında yol gösterici olması amacıyla kumarin ve izokumarin ana yapısı etrafında genel bir yapı-aktivite ilişkisi oluşturulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Kumarin, izokumarin, enflamasyon, antienflamatuar

### Investigation of anti-Inflammatory activity profiles of coumarin and isocoumarine derivatives

**Abstract:** Coumarins (2H-1-benzopyran-2-one) and isocoumarins (1H-2-benzopyran-1-one) are naturally occurring biologically active compounds mostly found in plants as well as microorganisms. A large number of coumarin and isocoumarin derivatives have been designed, synthesized, and evaluated to have mild-to-very potent anti-inflammatory activity through different mechanisms. Numerous research reports have indicated the coumarin and isocoumarin nucleus as potential candidates for the development of anti-inflammatory drugs. The available literature on the structural diversity and biological activity of these natural products has been reviewed. In this review article; Comparative analysis of natural and synthetic coumarin and isocoumarin derivatives with anti-inflammatory activity obtained as a result of various studies was carried out and a general structure-activity relationship was established around the main structure of coumarin and isocoumarin to guide the design of effective anti-inflammatory drugs.

**Keywords:** Coumarin, isocoumarin, inflammation, anti-inflammatory

## 1. GİRİŞ

Kumarinler, izokumarinler ve bunların analogları, doğada bitkilerin ve basit mikroorganizmaların ikincil metabolitleri (canlı varlıklar tarafından dış uyarılara yanıt olarak üretilen ürünler) olarak bulunur [1,2]. Kumarin, ilk olarak Vogel tarafından tonka fasulyesinde (*Dipteryx odorata* Willd, Fabaceae) bulunmuş ve daha sonra farklı bitki ailelerinden çok sayıda bitkide tanımlanmıştır [3]. Kumarinler, bitkilerde bulunan doğal ve sentetik kökenli olabilen bir fenolik madde sınıfıdır ve benzen ile  $\alpha$ -piron halkalarının kaynaşması ile meydana gelir [4]. Kumarin ve türevleri, antikoagülan, antibakteriyel, antioksidan, antitümör, antiviral ve enzim inhibisyonu gibi çeşitli biyolojik aktivite gösterir. Ayrıca kanser ve kardiyovasküler rahatsızlıkların riskini azaltarak faydalı etkiler sergiler [5]. Bu etkilerin çoğu, serbest radikal temizleme etkileri ile ilişkilendirilebilir. Kumarinler ayrıca prostaglandin biyosentezini inhibe ederek iltihabı azaltırlar [6]. İzokumarinler (1H-2-benzopiran-1-on), kumarinlerin (2H-1-benzopiran-2-on) izomerleridir. İzokumarinler, farklı bakteri türleri, küfler, likenler ve bitkilerden izole edilen doğal olarak oluşan laktonların önemli bir sınıfıdır [7]. Kumarinler gibi, bu aromatik lakton sınıfı da doğal oluşumları ve antifungal, antienflamatuar, antimikrobiyal, fitotoksik, sitotoksik ve diğer çeşitli farmakolojik aktiviteleri sebebiyle dikkat çekmiştir. [8] İzokumarinler ayrıca, izokarbostiriller, izokinolinler, izokromenler gibi çeşitli önemli hetero ve karbosiklik bileşiklerin sentezinde yer alan faydalı ara maddelerdir [8].

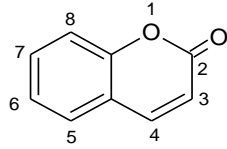
Enflamasyon, insan vücudunda kimyasal, fiziksel, immünolojik ve / veya biyolojik uyarıların bir sonucu olarak ortaya çıkan dinamik bir biyolojik süreçtir [9]. Tipik bir enflamatuar sürecin dört bileşeni; enflamatuar indükleyicileri (enfeksiyon, yara veya doku hasarı veya diğer hastalıklı durumlar gibi), sensörler (mast hücreleri, makrofajlar, dendritik hücreler vb.), enflamatuar araçları (çeşitli sitokinler, biyolojik aminler, vb.) ve hedef dokulardır. Orta dereceli bir iltihaplanma esas olarak insan vücudunun, antijenlere / indükleyicilere, fagositoz veya yaralanma bölgesinde lökosit göçü yoluyla karşı koyarak homeostasiyi eski haline getirmeye yönelik uyarıcı bir tepkidir [9]. Bu akut enflamatuar yanıt, normalde indükleyici ortadan kaldırıldıktan sonra sonlandırılır. Bununla birlikte indükleyici; Alzheimer hastalığı, astım, ateroskleroz, Crohn hastalığı, gut, multiple skleroz, osteoartrit, sedef hastalığı, romatoid artritis, diabetes mellitus, karsinom, bakteriyel veya viral enfeksiyonlar gibi herhangi bir hastalık durumu nedeniyle ortadan kaldırılmaz ve devam ederse, çözülme fazı kronik enflamasyona yol açarak indüklenmeyebilir bunun yerine genellikle indükleyicilerin yerinde lokalize olur ve lokal dokunun yeniden şekillenmesine neden olur. Enflamatuar yanıt; indükleyicileri ortadan kaldırarak, sensörleri bloke ederek, mediyatörleri inhibe ederek veya doğrudan hedef dokulara etki ederek kontrol edilebilir [10]. Enflamasyonu kontrol etmek için yaygın olarak

araştırılan hedefler; plazma proteazları, araşidonik asit metabolitleri (prostoglandin E2 (PGE2) ve lökotrienler gibi), histamin, serotonin, nitrik oksit, sitokinler (lipoksinler, interlökinler gibi iltihaplanma araçları ve tümör nekroz faktörü a), kemokinler ve koloni uyarıcı faktörlerdir. Bu araçlar, sensör hücrelerinin aktivasyonunun bir sonucu olarak siklooksijenazları, kaspazları ve kinazları içeren çeşitli süreçler yoluyla üretilir ve enflamatuar tepkiyi düzenlemek için spesifik reseptöre bağlanırlar [11]. Enflamasyonun üstesinden gelmek için mevcut yaklaşımlar, immün seçici antienflamatuar türevler, seçici glukokortikoid reseptör agonisti ve tümör nekrozis faktör (TNF) inhibitörlerinin kullanımını içerir [11]. Enflamatuar sitokinleri hedefleyebilen bir dizi aktif bileşik, bitkilerden izole edilmiş ve tanımlanmıştır [12]. Kumarin ve izokumarin türevi bileşikler de enflamasyon üzerinde etkili olabilen bileşikler arasında gösterilmiştir. Etkilerini, doku ödemi azaltarak, siklooksijenaz ve lipoksijenaz gibi enzimatik sistemlerin işlevlerini değiştirerek serbest radikallerin oluşumu ile gösterirler [7,14]. Bu nedenle çok sayıda kumarin ve izokumarin türevleri tasarlanmış, sentezlenmiş ve farklı mekanizmalar yoluyla hafif ila çok güçlü antienflamatuar aktiviteye sahip olacak şekilde değerlendirilmiştir.

## 2. KUMARİNLER

### 2.1. Kumarinlerin kimyasal yapıları

Kumarinler, bitkilerde bulunan doğal ve sentetik kökenli olabilen bir fenolik madde sınıfıdır ve benzen ile  $\alpha$ -piron halkalarının kaynaşması ile meydana gelirler (Şekil 1). Kumarin yapısı, orto-hidroksilasyon, yan zincir çift bağının trans-cis izomerizasyonu ve laktonizasyon yoluyla sinnamik asitten türetilir. Kumarinlerin trans formu stabildir ve siklize edilemez, bu nedenle bir çeşit izomerizasyon söz konusudur. Cis formu çok kararsızdır, bu nedenle trans konfigürasyonunda bulunma eğiliminde olur [14]. Kumarin suda çözünmez; ancak 4-hidroksi substitüsyonu, moleküle zayıf asidik özellikler kazandırır ve bu sayede hafif alkali koşullar altında suda çözünür hale gelir [15]. Kumarin ve türevleri, kumarin içinde bulunan aromatik olmayan hidrokarbon kısmı nedeniyle oldukça reaktiftir, bu nedenle açıl merkezinde halka açıklığı oluşması muhtemeldir. Aromatik halka üzerindeki C-6, Friedel-Crafts açılması, sülfonasyon gibi C-6 pozisyonundan substitüe türevlerin oluşumuna yol açan elektrofilik saldırıya uğrayabilir. Kumarin çekirdeği üzerindeki bir metil substitüsyonu, bağlanma konumuna bağlı olarak farklı şekillerde reaksiyona girebilir. C-7 pozisyonunda bulunan fenol grubu, kolayca açılasyon, benzoilasyon ve Friedel-Crafts reaksiyonlarına maruz kalır [15].



Şekil 1. Kumarinlerin genel yapısı

Doğada yaygın olarak bulunan kumarinlerin biyosentez yolu incelendiğinde genel olarak C-7 pozisyonunda oksijenlendiği görülmüştür. Ayrıca, C-3, C-4 ve C-7 pozisyonlarında çeşitli farmakofor gruplara sahip birkaç sentetik kumarin, antimikrobiyal, antikanser, antioksidan faaliyetleri açısından yoğun bir şekilde incelemiştir [16]. C-4 substitüsyonlu ariloksimetil, arilaminometil ve dikloroasetamidometil kumarinlere, karşılık gelen 1-azakumarin ile birlikte potansiyel antimikrobiyal ve antienflamatuar maddeler olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, benzofuran, furan ve tiyazol halka sistemleri ile bi- ve tri-heterosiklik kumarinler ve 1-azakumarinler, vanilin gibi biyo-uyumlu parçalarla birlikte hayvan modellerinde antienflamatuar maddeler olarak dikkate değer bir etki göstermiştir [17]. Biyolojik işlevler için sentetik kumarinlerin yapısal çeşitliliği genişletilerek bunlara benzer çok sayıda girişimde bulunulmuştur.

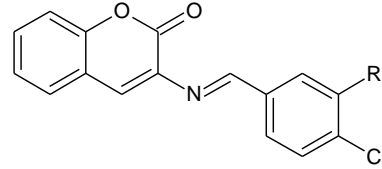
## 2.2. Kumarin türevlerinin antienflamatuar aktiviteleri

Heterosiklik çekirdek içeren bazı gruplardan türetilen bir çok kimyasal bileşiğin, bir veya birkaç aşamada enflamatuar süreci inhibe ettiği bildirilmiştir [11]. Kumarin analogları da içerdikleri benzo- $\alpha$ -piron iskeleti ile önemli bir antienflamatuar molekül sınıfını oluşturur [18]. Kumarinin kendisi ödem tedavisi için kullanılmıştır [19]. TNBS (trinitrobenzen-sülfonik asit) kaynaklı kolit üzerinde skopoletin, eskulin, dafnetin, fraksetin ve 4-metilumbeliferon gibi doğal kumarin türevleri ile yapılan genel bir çalışmada bu kumarinlerin iltihabı tedavi etmek için potansiyel ajanlar olduğu gösterilmiştir [20]. Etki, kumarinlerin antioksidan özellikleriyle doğrudan ilişkili görünmektedir. Bu doğal kumarin türevleri gibi doğal ürünler, sadece lipoksijenaz ve siklooksijenaz enzim sistemlerinin değil, aynı zamanda nötrofile bağımlı süperoksit anyon oluşumunun da inhibitörleri olarak kabul edilmektedir [21]. Doğal kaynaklardan izole edilen kumarin türevlerinin antienflamatuar özellik gösterdiğinin açığa çıkarılmasının ardından birçok araştırma grubu kumarin çekirdeği taşıyan sentetik türevler hazırlamış ve test etmiştir. Literatürde antienflamatuar, analjezik ve / veya antioksidan aktivite gösteren kumarin analoglarının sentezi ve keşfi hakkında birçok rapor mevcuttur. Bunlardan bazıları aşağıda kronolojik sırayla tartışılmıştır.

Sentetik kumarin türevleriyle ilgili en eski raporlardan biri 1992'de yayımlanmıştır, bu çalışmada bir dizi

süstitüe edilmiş 3- (benzilidenamino) kumarin, 100 mg / kg'lık oral dozda antienflamatuar aktivite için değerlendirilmiştir.

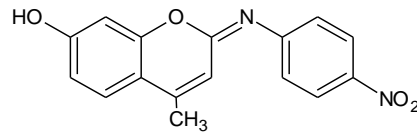
3-(3',4'-Diklorobenzilidenamino)kumarin ve 3-(3',4'-Klorobenzilidenamino)kumarin bileşikleri (Şekil 2), karragenanın neden olduğu pençe ödeminde sırasıyla %75 ve %60 inhibisyon sergilemiştir. Bunlar ayrıca farelerde asetik asitle indüklenen kıvrılma modelinde önemli analjezik aktivite göstermiştir [22].



(Bileşik 1 R= H; Bileşik 2 R=Cl)

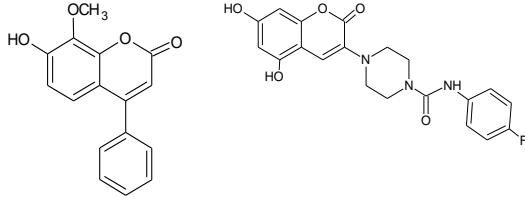
Şekil 2. 3- (Benzilidenamino) kumarin türevleri [22]

Bir diğer çalışmada farklı substitüsyonlara sahip kumarin Schiff bazları sentezlenmiş ve  $\beta$ -glukuronidaz inhibisyonu yoluyla in vitro antienflamatuar aktivite açısından değerlendirilmiştir. Yapı aktivite çalışmaları, bir nitro grubunun varlığının genel sterik etkisini,  $\beta$ -glukuronidaz inhibisyonuna katkıda bulunan faktörler arasında gösterilebileceğini ortaya çıkarmıştır. 4-metil-2-(4-nitrofenil)imino-2H-kromen-7-ol bileşiğinin (Şekil 3) %39 inhibisyonla çalışmada en güçlü antienflamatuar aktivite sergileyen bileşik olduğu bildirilmiştir [23].



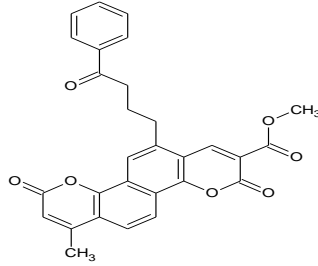
Şekil 3. 4-metil-2-(4-nitrofenil)imino-2H-kromen-7-ol [23]

7-hidroksi kumarin türevleri üzerinde yapılan bir çalışmada bu türevlerin, doza bağımlı bir şekilde indüklenebilir nitrik oksit sentaz (İ NOS) ekspresyonu, nitrik oksit (NO) ve interlökin-6 (IL-6) üretimi inhibisyonu aktivitesi sergilediği bulunmuştur. C-4 pozisyonundaki bir fenil halkası (4-(fenil)-6-hidroksi-7-metoksikumarin bileşiği) veya C-3'te bir lipofilik substitüsyonun (bileşik IMMLG5521) aktiviteyi daha da arttırdığı eklenmiştir (Şekil 4). Kumarin çekirdeği etrafındaki polar fonksiyonel grupların etkisinin keşfi, vasküler geçirgenliğin ve lökosit transmigrasyonunun inhibisyonu yoluyla önemli antienflamatuar aktiviteye sahip bileşik IMMLG5521 ile sonuçlanmıştır [24].



**Şekil 4.** 4-(fenil)-6-hidroksi-7-metoksikumarin ve bileşik IMMLG5521 [24]

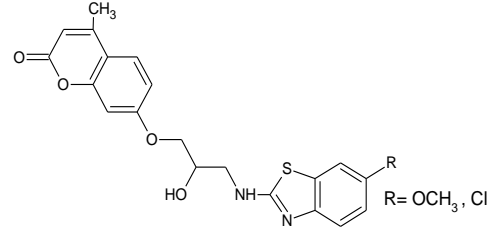
Bir başka çalışma grubu antioksidan/antiinflamatuvar moleküller elde etmek amacıyla kumarin ve kalkon yapılarının farmakofor gruplarını birleştirerek hibrid moleküller olarak bis-kumarinleri tasarlamıştır. Şekil 5'te verilen biskumarin-kalkon hibridi bileşik (4-okso-4fenilbütül türevi), ibuprofenden daha az olmakla birlikte en iyi antiinflamatuvar aktiviteyi sergilemiştir. Bununla birlikte bu bileşik, çift etkili ilaçların sentezinde öncül olabilecek güçlü antioksidan aktivite sergilemiştir [25].



**Şekil 5.** Biskumarin-kalkon hibridi (4-okso-4fenilbütül türevi) [25]

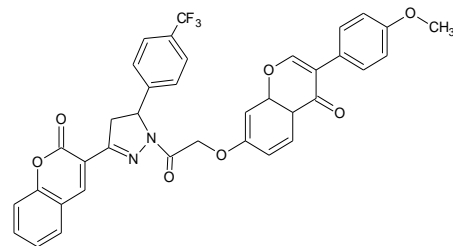
7-(3-(benzo[d]tiazol-2-ilamino)-2-hidroksipropoksi)-4-metil-2H-kromen-2-on türevlerinin (Şekil 6) çeşitli aromatik ve heterosiklik aminler kullanılarak sentezlendiği bir çalışmada, sentezlenen bileşikler antiinflamatuvar aktivite ve ülserojenik risk gözetilerek 5-lipoksijenaz (5-LOX) inhibisyonu açısından *in vivo* olarak değerlendirilmiştir. Bağlanma afinitesini ve enzimin aktif bölgesindeki oryantasyonu tahmin etmek için docking çalışması yapılmıştır. *In vivo* antiinflamatuvar ve *in vitro* 5-LOX enzim inhibisyon çalışması, benzotiyol halkasında metoksi substitüenti taşıyan türevin tüm tarama yöntemlerinde en güçlü bileşik olduğunu ortaya koymuştur. Bu bileşik *in vitro* kinetik çalışması sonucu 5-LOX enzimi ile yarışmalı olmayan tipte inhibisyon gösterdiği bulunmuştur. Aynı zamanda benzotiyazol halkasının C-6 pozisyonunda -OCH<sub>3</sub> grubu ve elektronegatif -Cl varlığı, güçlü aktivite için çok önemli substitüsyonlar olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca docking çalışması ve tüm farmakolojik taramalarda, bileşiklerde benzotiyazol halkasının varlığının kumarin halkasının C-7 pozisyonunda amino alkol bağlayıcı ile substitüe

edilmiş fenil halkasına kıyasla 5-LOX enzimi ile etkileşimde daha fazla kritik rol oynadığı sonucuna varılmıştır [26].

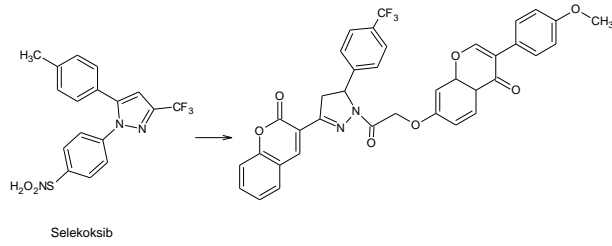


**Şekil 6.** 7-(3-(benzo[d]tiazol-2-ilamino)-2-hidroksipropoksi)-4-metil-2H-kromen-2-on türevleri [26]

Pirazolin ve pirazol gibi beş üyeli halkalar, antikanser ve antiinflamatuvar aktivitede kullanılan ayrıcalıklı yapılar olarak kabul edilmektedir. Merkezi pirazol halkası içeren diaril kısmından oluşan selekoksib, sık pazarlanan önemli seçici COX-2 (siklooksijenaz-1) inhibitörü ilaçlardan biridir [27]. Difeniloksadiazol/tiyadiazol hibritlerini içeren diaril beş üyeli heterosiklik iskelete dayanarak, yüksek antiinflamatuvar aktiviteye sahip birçok yeni bileşik tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Bu çalışmaların birinde, gelişmiş farmasötik profillere sahip yeni antiinflamatuvar ajanlar geliştirmek için fenil-pirazolin-kumarin türevleri tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Tüm bileşikler, lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen IL-6 salımına karşı inhibisyonların değerlendirilmesi ile karakterize edilen antiinflamatuvar aktiviteleri bakımından taranmıştır. Bunlar arasında [3-(1-(2-(3-(4-metoksifenil)-4-okso-4H-kromen-7-iloksi)asetil)-5-(4-(triflorometil)fenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)-2H-kromen-2-on] (Şekil 7); LPS ile uyarılan IL-6, TNF-a ve NO üretimini en yüksek antiinflamatuvar aktiviteyi göstererek inhibe etmiştir. Ayrıca çalışmada bu bileşik, iNOS, COX-2 ekspresyonlarını ve NF-kB / MAPK (nükleer faktör kappa B / mitojenle aktive olan protein kinaz) sinyal yoluyla IL-6, TNF-a, NO üretimlerini önemli ölçüde baskılayabildiği gösterilmiştir. Son olarak bu bileşiğin antiinflamatuvar aktivitesi, İrlanda yosunu kaynaklı pençe ödemi ile belirlenmiş ve *in vivo* değerlendirme sonuçları, bu bileşiğin araşidonik asit ile indüklenen sıçan ayak bileği eklemelerini de inhibe edebildiğini göstermiştir [28].

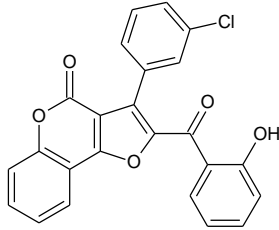


**Şekil 7.** [3-(1-(2-(3-(4-metoksifenil)-4-okso-4H-kromen-7-iloksi)asetil)-5-(4-(triflorometil)fenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)-2H-kromen-2-on] [28]



**Şekil 8.** Çalışmanın genel tasarım şeması [28]

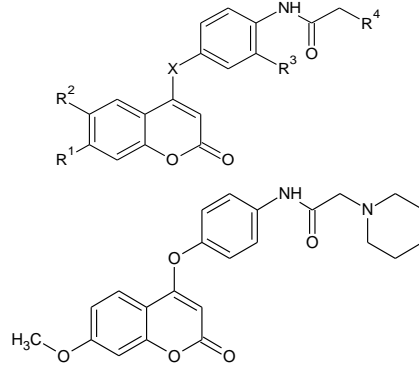
Bir dizi furo [3,2-c] kumarin türevlerinin sentezi, dimetil sülfoksit (DMSO) çözücüsü içinde 4-hidroksikumarinlerin substitüe benzaldehitlerle tek-kap üç bileşenli kondenzasyon yöntemi kullanarak yüksek verimde gerçekleştirilmiştir. Sentezlenmiş hedef bileşiklerin in vitro antiinflamatuvar biyoanalizlerinde Murin RAW264.7 hücreleri kullanılmıştır. 3-(3-klorofenil)-2-(2-hidroksibenzoil)-4H-furo[3,2-c]kromen-4-on (Şekil 9) yüksek antiinflamatuvar aktivite sergilemiştir. Bunun yanında güvenlik profiliyle, test edilen tüm furokumarinlerin dikkate değer antiinflamatuvar aktiviteleri, Griess testi kullanılarak ölçüldüğünde indometasin etkinliğini kıyaslanamayacak derecede aşmıştır [29].



**Şekil 9.** 3-(3-klorofenil)-2-(2-hidroksibenzoil)-4H-furo[3,2-c]kromen-4-on [29]

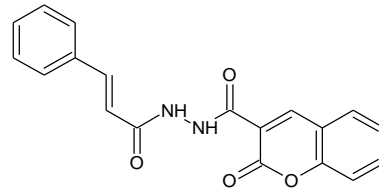
Kumarin iskeletinden hareketle yürütülen bir diğer çalışmada, yeni kumarin türevleri sentezlenmiş ve in vitro olarak anti-fibroz ve makrofajların anti-migrasyonu açısından değerlendirmiştir. Sentez esnasında hidrofobik grup terminalinin, inhibisyon aktivitesini bir dereceye kadar etkilediği görülmüştür. Bu çalışmada bileşiklerin toksisitesini azaltmak için ilaç tasarımında yaygın olarak kullanılan bir yöntem olan biyoizoster yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla bağlayıcı N atomu yerine O atomu substitüe edilerek toksisite önemli ölçüde azaltılmıştır. Sentezlenen bileşikler arasında N-(4-((2-okso-2H-kromen-4-il)oksi)fenil)-2-(piperidin-1-il)asetamid (Şekil 10), düşük toksisite ve makrofaj göçü ile NRK-49F (normal sıçan böbrek fibroblastı) hücrelerinde TGF-p (transforme büyüme faktörü-p) ile indüklenen toplam kolajen birikimi inhibisyonunda güçlü anti-fibroz etkinliği göstermiştir. Bu bileşiğin ayrıca, western blot analizi ile in vitro olarak COL1A1 (Kollagen tip I alfa 1 zinciri), a-SMA (alfa düz kas aktini) ve p-Smad3'ün TGF-21 ile indüklenen protein ekspresyonunu

baskıladığı gözlenmiştir. Bu, TGF-p / Smad3 sinyal yolunun hücre dışı matrisi azaltmak için inhibe edildiğinin göstergesidir. Ek olarak, aynı bileşik farelerde, hidrosiprolin içeriğini ve akciğer dokusunda enflamatuvar hücre infiltrasyonunu azaltarak bleomisin ile indüklenen pulmoner fibrozu hafifletmiştir. Kapsamlı yapısal özellikleri, iyi farmakokinetik özellikleri (F =% 39.88), anti-fibrotik aktivitesi ve in vivo düşük toksisitesi göz önüne alındığında, bu bileşik fibröz hastalıkların tedavisi için potansiyel bir aday olarak değerlendirilebilir [30].



**Şekil 10.** Sentezlenen bileşiklerin genel yapısı ve N-(4-((2-okso-2H-kromen-4-il)oksi)fenil)-2-(piperidin-1-il)asetamid [30]

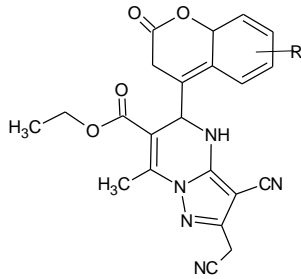
Kumarin türevlerinin, antiinflamatuvar ve antikonvülsan aktivitelerini araştırmak için 3-karbonil klorür kumarinler, substitüe aril asit hidrazidlerin reaksiyonu ile sentezlenmiştir. Moleküllerin tasarımında antiinflamatuvar aktivite için iki yapının sinerjik etkilerini göz önünde bulundurarak, kumarin-diaçilhidrazid hibrit yapısındaki iki hidrojen bağı, iki elektron verici grup (-NHCO-) ve iki hidrofobik aril grubu (kumarin ve aril asit) anahtar farmakoforlar olarak değerlendirilmiştir. Antiinflamatuvar etkinlik karragenan ile indüklenmiş sıçan pençesi ödeminde inhibisyon yoluyla gözlemlenmiş ve en etkili kumarin türevi N'-(2-hidroksibenzoil)-2-okso-2H-kromen-3-karbohidrazid (Şekil 11) olarak bulunmuştur [31].



**Şekil 11.** N'-(2-hidroksibenzoil)-2-okso-2H-kromen-3-karbohidrazid [31]

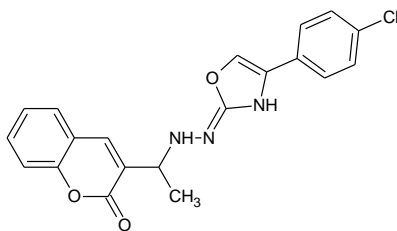
Enflamasyon oluşumu ile ilişkili kanserlerin tedavisinde umut verici bileşiklerin keşfi amacı ile aril/kumarin pirazolo[1,5-a]pirimidin türevi

bileşiklerin sentezi CAN (Serik amonyum nitrat) katalizörlüğünde tek aşamalı üç bileşenli yaklaşımla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen moleküller, yumurta albümini denatürasyon yöntemi ile antienflamatuar aktiviteleri açısından test edilmiş % 4.1-6.1 inhibisyon değerleri ile standart aseklofenaka göre daha iyi sonuçlar vermiştir. Nicel yapı-aktivite ilişkisi sonuçları aromatik halka (fenil/kumarin) etrafındaki çeşitli substitüsyon modellerinde dikkate değer aktivite göstermiştir. Aynı zamanda docking çalışmasından anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmada elde edilen bileşiklerin (Şekil 12), kanser hücreleri üzerindeki ön in vitro antiproliferatif aktivitesi, diğer bileşiklerle karşılaştırıldığında farmakolojik olarak belirgin bir şekilde daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlara dayanarak, fenil/kumarin pirazolo[1,5-a]pirimidinler gelecek nesil ilaç molekülleri için umut verici antienflamatuar ajanlar olarak öne çıkabilir[32].



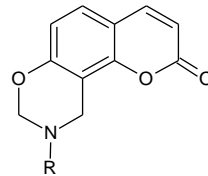
**Şekil 12.** Fenil/kumarin pirazolo[1,5-a]pirimidinler [32]

Enflamasyon tedavisinde ortaya çıkabilen yan etkileri en aza indirmek için etkili olan çözümlerden biri COX-2 inhibitörleridir. Bu çalışmada COX-2 inhibitörlerine yapısal olarak benzer tasarım esas alınarak hidrazon-etil köprüsü ile bağlanmış, kumarin yapısı ve substitüe oksazol halkasından oluşan üç farmakofor grup içeren moleküller sentezlenmiştir. Yumurta albümini, nihai bileşiklerin aktivitesini incelemek için bir akut enflamatuar model olarak sıçan pençe ödemi indüklemek için kullanılmıştır. DMSO'nun çözücü olarak kullanıldığı testlerde  $3.98 \pm 0.04e$  değeri ile 3-(1-((4-(4-nitrofenil)oksazol-2(3H)-idin)hidraziledin)etil)-2H-kromen-2-on bileşiği (Şekil 13) diğer bileşiklere kıyasla pençe kalınlığında en iyi azalmayı göstermiş ve aynı zamanda selekoksib ile karşılaştırıldığında pençe kalınlığı ödemi azaltmada daha iyi antienflamatuar aktivite sergilediği bulunmuştur. [33]

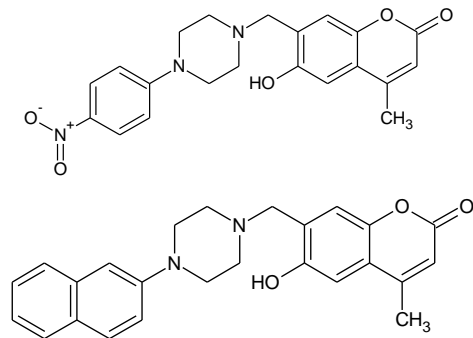


**Şekil 13.** 3-(1-((4-(4-nitrofenil)oksazol-2(3H)-idin)hidraziledin)etil)-2H-kromen-2-on [33]

Kumarin yapısında benzopiranon halkasının C-8'inden türetilen moleküllere odaklanan sınırlı sayıda çalışmanın varlığını göz önüne alan bir araştırma grubu, C-8 pozisyonunda aromatik ve alifatik piridin ve piperazinler ile substitüe yeni kumarin türevleri sentezlemiştir. Bu pozisyon daha önce antienflamatuar etki için sadece Kontogiorgis ve Hadjipavlou-Litina [34] tarafından 2005 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada araştırılmıştır. Bu çalışmada C-8 pozisyonundan türetilen bir dizi Mannich bazlı kumarin bileşiklerinin antienflamatuar aktivitesi ortaya çıkarılmıştır (Şekil 14). Aynı amaçla, doğal aktif metabolitler üzerinde de mevcut olan 7-OH parçası taşıyan kumarin ana yapısı seçilerek bir dizi amin ile çeşitlendirilip sentezlenen bileşikler, karagenan kaynaklı pençe ödemi karşı koruyucu aktivite sunduğu gösterilmiştir. Bunun yanında enflamatuar dokularda önemli ölçüde arttığı bilindiği için önemli bir enflamasyon göstergesi olan nitrit seviyeleri kullanılarak RAW264.7 makrofaj hücreleri üzerinde yapılan NO inhibisyon testi sonuçları, piperazin türevlerinin piperidinlerden çok daha güçlü olduğunu göstermiştir. 7-Hidroksi-4-metil-8-(4-naftalen-2-ilmetil-piperazin-1-ilmetil)-kromen-2-on ve 7-Hidroksi-4-metil-4-(4-nitrofenil)-piperazin-1-ilmetil)-kromen-2-on bileşikleri en yüksek antienflamatuar aktiviteye sahip iki bileşik olarak tespit edilmiştir (Şekil 15). Yapı-aktivite çalışmaları, serbest bir 7-OH varlığının molekülün hidrofilik özelliğine ve C-8 konumundaki substitüsyonun sterik etkiye katkısını önemli faktörler olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak aril substitüsyonlu piperazin heterosiklik halkası, yeni kumarin bazlı antienflamatuar ilaçların geliştirilmesi için uygun hedefler olarak değerlendirilebilir. [35]



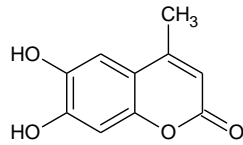
**Şekil 14.** Mannich bazlı kumarin türevlerinin genel yapısı [34]



**Şekil 15.** Aril substitüe piperazin-kumarin türevleri [35]



Doğal bir kumarin türevi olan eskuletinin (6,7-Dihidroksi-4-metilkumarin (6,7-DH-4MC)) (Şekil 16) antiinflamatuvar aktivitesi bilinmesine rağmen makrofajlardaki mekanizması daha önce çalışılmamıştır. Bu çalışmada; 6,7-DH-4MC'nin antiinflamatuvar aktivitesi, LPS ile uyarılan RAW 264.7 makrofajları üzerinde NO ve PGE2 gibi inflamatuvar faktörlerin ve IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonu ölçülerek değerlendirilmiştir. Sonuçlar, 6,7-DH-4MC'nin sitotoksitesiyi indüklemeyen NO seviyelerini ve PGE2 ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuş; NO ve PGE2 ekspresyonunun inhibisyonunun, 6,7-DH-4MC tedavisine yanıt olarak iNOS ve COX-2 aşağı-regülasyonu ile ilişkili olduğu doğrulanmıştır. Ayrıca 6,7-DH-4MC, IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerini doza bağlı bir şekilde azaltmıştır. Mekanistik çalışmalar ile 6,7-DH-4MC tedavisi üzerine ERK (hücre dışı sinyalle düzenlenmiş kinaz) ve p38-MAPK'nın fosforilasyonunun azaldığı ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca, LPS ile indüklenen hücrelerde I $\kappa$ B-a'nın (B-hücreleri inhibitörü- alfa- kappa hafif polipeptit gen artırıcı nükleer faktör) bozunması ve NF-KB'nin fosforilasyonu, 6,7-DH-4MC tedavisi ile kesintiye uğradığı kaydedilmiştir. Bu sonuçlar, 6,7-DH-4MC'nin dermatit, artrit, kardiyovasküler hastalık ve kanser gibi inflamatuvar hastalıklar için potansiyel bir terapötik ajan olduğunu göstermektedir [36].



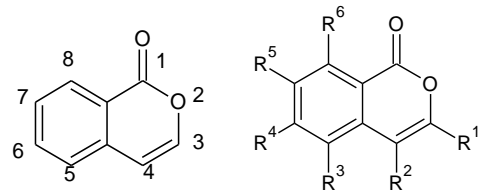
Şekil 16. 6,7-Dihidroksi-4-metilkumarin (6,7-DH-4MC) [36]

### 3. İZOKUMARİNLER

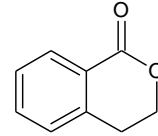
#### 3.1. İzokumarinlerin kimyasal yapıları

İzokumarinler, doğada bol miktarda bulunan laktonik doğal ürünlerdir. (Şekil 17). Doğal izokumarinlerin çoğu tipik biyosentetik kökenleri nedeniyle,  $\alpha$ -piranon halkasında bir 3-alkil veya bir substitüe edilmemiş 3-fenil halkasına ve benzen halkasında 8-oksijenasyona sahiptir [1]. Tüm doğal izokumarinler, ana yapılarındaki mevcut altı pozisyondan birinde veya daha fazlasında oksijen atomu taşırlar. Bu oksijen atomları, fenolik, eterli veya glikozidik gruplar şeklinde olabilir [37]. Diğer doğal ürün sınıflarında olduğu gibi, bu bileşiklerin sentezi sırasında yeni sentetik metodlar geliştirilmiştir [38]. İzokumarin iskeleti, 5,6 pozisyonunda benzen halkasına kaynaşmış bir laktonik  $\alpha$ -piranon halkasından oluşur. İzokumarin terimi, bu bileşiklerin Coumarouna odorata olarak bilinen tonka ağacından izole edilmiş kumarin bileşiklerine izomer olduğunu belirtir [39].

İzokumarin,  $\alpha$ -piranon halkası veya aromatik halka veya her ikisi üzerinden substitüe edilebilir. Bu nedenle R1-R6 genellikle alkil, aril, heterosiklik halkalar, halojen veya herhangi başka substitüsyonlar olabilir. Bununla birlikte, doğal izokumarinlerin çoğu, substitüe edilmiş bir C-3 karbonuna ve biyojenetik olarak asetattan türetilen tüm izokumarin C-8 oksijenasyonuna sahiptir ve bazıları C-6 oksijeni içerir [40]. İzokumarin, asiklik tautomerik keto asit formları ile dengede olabilir, aynı şekilde dihidroizokumarinlerin açık zincirli tautomer hidroksi asitleri ile dengede bulunabilirler. Bununla birlikte, her iki durumda da siklik tautomerler, keto- veya hidroksi-asid izokumarin ve 3,4-dihidroizokumarin iskeletine spontan siklizasyon gösterebileceği gibi termodinamik olarak daha karardır. 3,4-dihidroizokumarin yapısı Şekil 18'de verilmiştir [41].



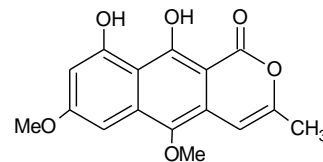
Şekil 17. İzokumarin genel yapısı ve substitüe izokumarin [37-40]



Şekil 18. 3,4-dihidroizokumarin yapısı [41]

#### 3.2. İzokumarin türevlerinin antiinflamatuvar aktiviteleri

İzokumarinlerin antiinflamatuvar moleküller olarak etki gösterdikleri bilinmektedir, ayrıca radikal süpürme kabiliyetine de sahiptirler [42]. Paepalanthus bromelioidesis' den elde edilen bir izokumarin olan paepalantin (Şekil 19), sıçan modellerinde test edildiğinde kolite karşı antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir [43].

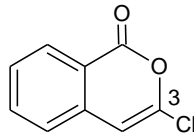


Şekil 19. Paepalantin kimyasal yapısı [43]

İzokumarinler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda izokumarinlerin; tümör oluşumu, beyin enfeksiyonu, amfizem, vasküler pıhtılaşma, artrit ve bronşiyal

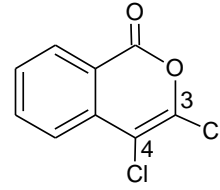
iltihaplanma gibi çeşitli hastalıkların etiyolojisinde rol oynayan çeşitli enzimleri inhibe ettikleri ortaya çıkarılmıştır [44]. Bunun sonucu olarak izokumarinler, enflamasyon oluşumunun eşlik ettiği hastalıkların tedavisinde geliştirilebilecek potansiyel antienflamatuar bileşikler olarak görülmüş ve üzerinde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan bazıları bu kısımda aktarılacaktır.

İzokumarinlerin enzim inhibisyonu aktivitesine dair yapılan kapsamlı çalışmalardan birinde, sentezlenen izokumarinlerde nükleofilik serin tarafından saldırıya uğrayabilecek bir lakton işlevi bulunmuştur. Bu bileşikler üç seriye ayrılabilir: 3-kloro, 3-alkoksi-4-kloro ve 3-alkoksi-7-amino-4-kloroizokumarinler. Sübstitüe edilmemiş izokumarin, bir substrat ya da bir serin proteazın inhibitörü olarak tanınmazken, pozisyon 3'e bir klor atomunun eklenmesi (Şekil 20), bu molekülün İnsan lökosit elastazı (HLE) ve domuz pankreatik elastaz (PPE) inhibitörü olmasını sağlamıştır. Bu sonuç, klorun laktonun elektrofilitesini artırabilen ve böylelikle serinin saldırısını kolaylaştıran elektron çekme davranışı ile açıklanabilir. Bu hipotez ile uyumlu bir şekilde ikinci seri bileşikler olarak, pozisyon 4'e ikinci bir klorun eklenmesi, inhibitör etki gücünü arttırmıştır [45].



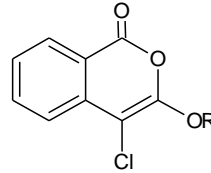
Şekil 20. 3-kloroizokumarin yapısı [45]

İkinci seri bileşikler, 3,4-dikloroizokumarin (DCI) (Şekil 21), çeşitli biyolojik süreçleri aydınlatmak için farmakolojik araç olarak yaygın şekilde kullanılan genel bir serin proteaz inhibitörüdür. DCI, metaloproteazları veya aspartik proteazları inhibe etmezken, kaspaz ve kalpain gibi sistein proteazlarını inhibe eder. Serin proteaz sınıfı içinde DCI, kimotripsin, HLE, katepsin G, insan proteinaz 3, trombin, tripsin, pıhtılaşma faktörü Xa, XIa, VIIa, XIIa, granzim gibi çok çeşitli enzimleri inhibe ettiği görülmüştür. 3-kloroizokumarin serisinde klor, lakton üzerindeki serin tarafından gerçekleştirilen nükleofilik saldırıyı maskelenmeyi önleyen gizli bir asit grubu gibi işlev görür [46]. Bu nedenle bu asit klorür, katalitik bölgenin histidin kalıntısını açılatabilir. PH-stat çalışmaları, diaçilat formunun oluşumunu ileri sürerken, inhibitörden gelen karboksilat fonksiyonu ile histidinden protonlanmış imidazolyum arasında elektrostatik bir bağ ile stabilize edilmiş mono-açillenmiş kompleks dahil edilmiştir. Bu son ara ürün, elektrosprey kütle spektrometresi ile tespit edilmiştir. Bu bileşiklerle karşılaşılan inhibisyonun geçici olduğu belirtilmiştir. Öte yandan enzim reaktivasyonunun hidroksilamin ile hızlandırılabilceği eklenmiştir.



Şekil 21. 3,4-dikloroizokumarin yapısı [46]

İlerleyen çalışmalarda C-3'teki klor atomunun bir alkoksi grubu ile değiştirilmesi, 3-alkoksi-4-kloro izokumarin serisini vermiştir (Şekil 22). Bu alkoksi grubunun modülasyonu, serin proteaza karşı seçiciliğin gelişmesine katkı sağlamıştır. Yapı aktivite ilişkileri, R'teki küçük bir alkil grubunun elastaz inhibisyonunu desteklediğini göstermiştir (kobs / I = 43000, 9 500, 1 525 M-ls-1 ile R = etil, izobutil ve benzil). Öte yandan, benzil gibi daha büyük bir grupla (kobs / I = 16 000,750, 610 M-ls-1 ile R = benzil, izobutil ve etil) daha iyi bir kimotripsin inhibisyonu elde edilmiştir. Elastaz reaktivasyonunun yarı ömrü, R = etil olduğunda yaklaşık bir saat ve R = izobutil olduğunda yirmi saat olarak kaydedilmiştir [47].

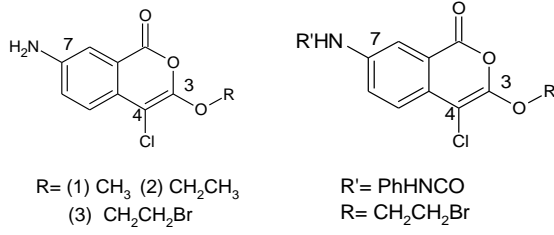


HLE : R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> > CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> > CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>  
a-CT : R = CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> > CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

Şekil 22. 3-alkoksi-4-kloro izokumarin bileşikler [47]

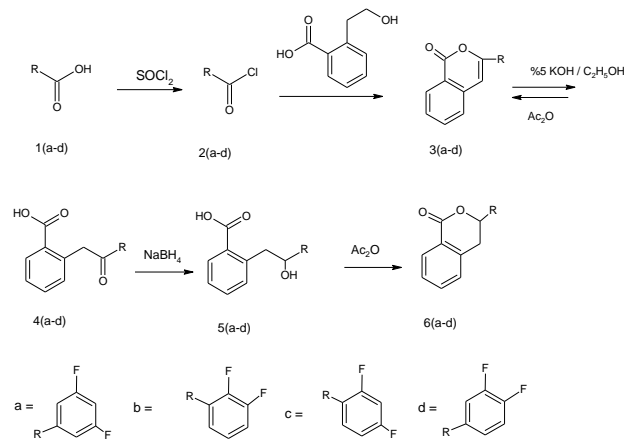
İnsan lökosit elastazı (HLE), iltihaplanma ve doku bozulmasında rol oynayan bir serin proteinaz enzimidir. Uygun HLE inhibitörlerinin, amfizem ve kistik fibroz gibi hastalıkların tedavisi için faydalı olacağına inanılmaktadır [48]. Farklı 3-alkoksi substitüsyonlarına sahip bir dizi 3-alkoksi-7-amino-4-kloroizokumarin bileşikleri hazırlanmış ve HLE inhibitörleri olarak değerlendirilmiştir (Şekil 23) [46]. Ek olarak, 7-amino-4-kloro-3-metoksiizokumarin, 7-amino-4-kloro-3-propoksiizokumarin ve 7-amino-4-kloro-3-(2-bromoetoksi)izokumarin bileşiklerinin açıl, üre ve karbamat türevleri serisi sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin çoğu, 104 ve 106 M-1 s-1 arasında kobs/[I] değerlere sahip çok güçlü HLE inhibitörleri olarak aktivite göstermişlerdir. İzokumarin halkasının 7-amino pozisyonundaki hidrofobik substitüsyonlar, HLE aktivitesi için en seçici ve iyi inhibe edici potansiyeli sağlamıştır. 2-bromoetoksi serisinde, PhNHCONH 7-substitüentine sahip bileşik 24, 1.2 x 10<sup>4</sup> ve 106 M-1 s-1'lik bir kobs/[I] değeri ile HLE için test edilen bileşikler arasında en seçici ve güçlü inhibitör olarak öne çıkmıştır. Bu sonuçlar sentezlenen bileşiklerin, yüksek etki gücü ve

mekanizmaya dayalı seçicilik göstermeleri ile yeni izokumarin inhibitörlerine dahil edilebileceğini göstermektedir.



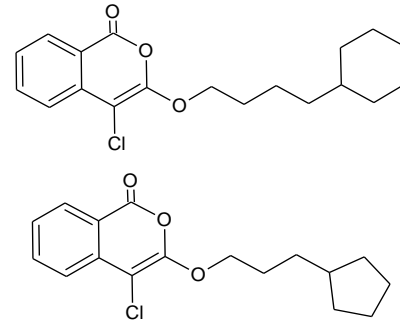
**Şekil 23.** 3-alkoksi-7-amino-4-kloroizokumarin bileşikleri [46]

İzokumarinlerin antienflamatuar aktivitelerinden hareketle yürütülen bir çalışmada, yeni 3-diflorofenilizokumarinler, asit klorürün homofthalik asit ile yoğunlaştırılması yoluyla sentezlenmiş ve bunlara karşılık gelen 3,4-dihidroizokumarine dönüştürülmüştür. Sentezlenen bileşikler (3 (a – d), 4 (a – d), 5 (a – d) ve 6 (a – d)) (Şekil 24), farelerde 12-O-tetradekanoilforbol-13-asetat (TPA) ile indüklenen enflamasyona karşı antienflamatuar aktiviteleri ölçülerek değerlendirilmiş ve inhibitör aktiviteler, bir antienflamatuar ilaç olan indometasin ile karşılaştırılmıştır. 1,0 mg dozda, 3b, 4d ve 5a bileşikleri iyi aktivite gösterirken, geri kalan bileşikler indometasine kıyasla daha düşük veya neredeyse eşit aktivite göstermiştir (1,0 mg / kulak dozunda % 91,35). Bu bileşiklerin in vivo antienflamatuar aktivitesi, osteoartrit ve arteriyoskleroz gibi enflamatuar hastalıklarla bağlantılı semptomları tedavi etme amacıyla yeni ilaçların geliştirilmesi için olası bir aday olarak değerlendirilebilir. İlave olarak sentetik bileşiklerin stabil serbest radikal DPPH'ye (2,2-difenil-2-pikrilhidrazil hidrat) karşı radikal temizleme etkileri spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve bileşik 5b, 93,3'lük bir IC<sub>50</sub> değeri ile en etkili DPPH radikal temizleyici olarak bulunmuştur [49].



**Şekil 24.** Floro-izokumarinlerin sentezi ve sentezlenen bileşiklerin genel yapıları [49].

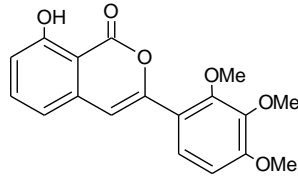
Pankreatik kolesterol esteraz (CEase), ekzokrin pankreastan salgılanan, diyet kolesterol esterlerinin safra tuzuna bağlı hidrolizine yardımcı olan, trigliserid ve fosfolipidlerin hidrolizine katkıda bulunan bir serin hidrolaz enzimidir [50]. CEase'nin dolaşımda aterosklerotik lezyonlarda biriktiği ve düz kas hücrelerinin proliferasyonunu tetiklediği için farklı patolojik roller üstlendiğini işaret eden çalışmalar mevcuttur [51]. Bu nedenle, potansiyel bir ilaç hedefi olarak CEase'lerin gelişimine ilgi gösterilmiştir. 4-Kloro-3-alkoksiizokumarinler (Şekil 25), serin hidrolazları ve serin proteazları inhibe eden bir haloenol lakton sınıfıdır. Güçlü CEase inhibitörleri olan 3-alkoksikloroizokumarinler geliştirildiği bir çalışmada inhibitörler, 3-alkoksi substitüentine dahil edilmiş doymuş bir sikloalkan halkasına sahip olacak şekilde tasarlanmıştır. Halkanın boyutunun yanı sıra halkaya bağlı karbon zincirinin uzunluğunun, CEase'ye bağlanmada önemli katkılar sağladığı bulunmuştur. 4-Kloro-3-(4-sikloheksilbütoksi) izokumarin ve 4-kloro-3-(3-siklopentilpropoksi) izokumarin bileşiğinin (Şekil 25), sırasıyla 11 nM ve 19 nM ayrılma sabitleri ile güçlü geri dönüşümlü CEase inhibitörleri olduğu gösterilmiştir. Yapılan kinetik sonuçlar, moleküler modellemelerden elde edilen tahminlerle tutarlılık göstermiştir. Yapı aktivite çalışmalarına göre 4-kloro-izokumarinlerin C-3 pozisyonunda büyük lipofilik gruplar ve daha uzun bağlar ile en iyi inhibitörler olacağı sonucu çıkarılmıştır. Kloroizokumarinler için, bir terminal siklopentil grubu veya sikloheksil grubu olan 3-alkoksi substitüentlerin iyi inhibitörler olacağı ve bağ uzunluğunun aktiviteye önemli katkı değişiklikler sağlayacağı tahmin edilmiştir [52].



**Şekil 25.** 4-Kloro-3-(4-sikloheksilbütoksi)izokumarin ve 4-kloro-3-(3-siklopentilpropoksi) izokumarin [52].

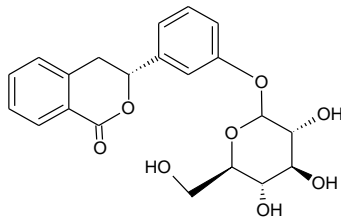
Bir diğer çalışmada, 3-arilizokumarin türevi yeni bileşikler sentezlenmiş ve bu bileşiklerin enflamasyon oluşumunda 5-lipoksijenaz ve mPGES1 enzimlerinin her ikisini de inhibe edici aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. Bu durum etkili bir antienflamatuar tedavisi için birden fazla hedefli bileşik arayışı için umut vaat etmiştir. Çalışma sonunda aril halkasında trimetoksi taşıyan bileşik en etkili bileşik olarak bulunmuştur (Şekil 26). Bu bileşik kanser hücrelerinin bazal membranı geçmesine ve ekstrasellüler matrikse

ulaşmasına yardımcı olmuş ve epitelyal mezenkimal geçişte görev alan PGE2 üretimi inhibe etmiştir [53].



**Şekil 26.** 3-arilizokumarin türevi bileşik [53]

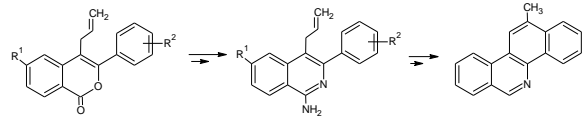
Homalium paniculiflorum'un köklerinden izole edilen doğal bir izokumarin olan GDC'nin (3-(4'-hidroksil-3'-O-β-D-glukopiranozil fenil dihidroizokumarin)) (Şekil 27), in vitro LPS kaynaklı iltihaplanmaya karşı koruyucu etkileri ve potansiyel mekanizmalarının incelendiği bir çalışmada sıçanların sinoviyal dokusundan elde edilen fibroblast benzeri sinoviyositler, LPS ile indüklenmiş ve ardından GDC ile tedavi edilmiştir. Sonuçlar, GDC'nin LPS'nin neden olduğu TNF-α, IL-6 üretimini önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermiştir. GDC ayrıca iNOS ve IL-1β ifadesinin yanı sıra aktivin A, silyer nörotrofik faktör (CNTF), frakalkin, IFN-γ, IL-4 ve TIMP-1 (doku inhibitörü matris metalloproteinaz 1) gibi pro-inflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu da azaltmıştır. Romatoid artrit oluşumunda fibroblast benzeri sinoviyositler ve bağışıklık hücreleri tarafından aşırı eksprese edilerek enflamatuar oluşumunu tetikleyen bu pro-enflamatuar sitokinlerin üretiminin GDC ile inhibe edilmesi romatoid artrit tedavisinde iltihabın üstesinden gelebilmek için umut verici olmuştur. Çalışmada elde edilen diğer sonuçlar GDC'nin in vitro olarak LPS kaynaklı enflamasyona karşı koruyucu etkilerinin NF-κB ve JNK (Jun N-terminal kinazlar) sinyal yolu ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür [54].



**Şekil 27.** 3-(4'-hidroksil-3'-O-β-D-glukopiranozil fenil)dihidroizokumarin [54].

Benzo[c]fenantridinlerin (Şekil 28) çeşitli farmakolojik özelliklerinin bilinmesine rağmen antienflamatuar potansiyelleri yeterince araştırılmamıştır. Bu nedenle 2020 yılında yapılan bir çalışma ile ilk kez, 11,12-dihidro benzo[c]fenantridin türevlerinin PDE4 inhibisyon potansiyeli in vitro olarak değerlendirilmiştir. Bu türevler, 4-alilizokumarin halkası ve FeCl3-aracılı intramoleküler yapının Pd katalizli eldesinin yanı sıra seçici aren-alil siklizasyonun anahtar adımlar olduğu çok aşamalı bir

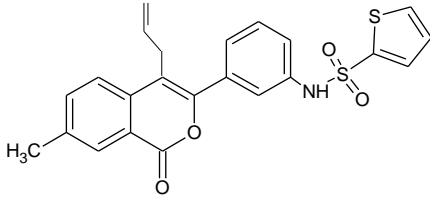
yöntem ile sentezlenmiştir. Çalışmadaki genel strateji, bir dizi 11,12-dihidro türevi elde etmek için Sonogashira bağlanmasının ardından izokumarin ve izokinolon sentezi daha sonra klorlamayı takiben siklizasyon adımlarının içerir. Elde edilen 11,12-dihidro türevlerin arasından doza bağlı PDE4B inhibisyonu (IC50 ~ 7 μM) gösteren bir bileşik, ilgili benzo[c]fenantridine dönüştürülmüş ve böylece bu sınıftan bir ilk isabet bileşiği elde edilmiştir. Bileşik ayrıca in vitro olarak kabul edilebilir mikrozomal stabilite ve önemli TNF-α sentez inhibisyonu göstermenin yanı sıra iki hücre bazlı toksisite analizinde önemli toksisite göstermemiştir. Sonuç olarak bu çalışmada, 11,12-dihidro benzo[c]fenantridin türevleri iyi bir verimle sentezlenmiş ve böylece ilk kez benzo[c]fenantridin bazlı bir PDE4 inhibitörünün tanımlanmıştır [55].



**Şekil 28.** Benzo[c]fenantridinlerin sentez çalışmanın genel tasarımı [55].

Aynı ekip tarafından yürütülen bir diğer çalışmada ise, antienflamatuar mediatörlerin hücre içi etkinliklerinden sorumlu ana enzim sınıfı olan Fosfodiesteraz-4 (PDE4) inhibitörü olmayan izokumarinlerden yola çıkılarak izokumarin yapısında C-3 benzen halkasına bir aminosülfonil/aminokarboksamid parçasının eklenmesiyle umut verici yeni PDE4 inhibitörleri elde edilmiştir. Bu yeni izokumarin sınıfı, uygun 2-alkinil benzamid türevinden başlayarak PdCl2-katalizi ile 4-alil-3-aril izokumarin halkasından sentezlenmiştir. Birkaç bileşik iyi in vitro PDE4B inhibisyonu göstermiş ve yapı aktivite çalışmaları, PDE4B inhibisyonu açısından aminosülfonamid yapısının, aminokarboksamide göre üstünlüğünü ortaya çıkarmıştır. PDE4B IC50 ¼ 0.43 ± 0.11 ve 0.54 ± 0.19 mM değerleri ile PDE4D'ye göre 2 kat seçiciliğe sahip iki bileşik önemli isabetler olarak ortaya çıkmıştır. İn silico docking çalışmaları bu iki bileşikteki aminosülfonamid yapısının, PDE4B inhibisyonuna önemli katkı sağladığı ortaya çıkarılmıştır. Diğer PDE'lere göre daha fazla PDE4 seçiciliği gösteren N-[3-(7-metil-1-okso-1H-2-benzopiran-3-il)fenil]tiyofen-2-sülfonamid (iki bileşikten biri) bileşiği, adjuvan kaynaklı artritlik sıçanlarda ayrıca değerlendirilmiştir. 30 mg/kg intraperitoneal dozda bileşik doza bağlı bir şekilde; pençe şişmesinde, diz eklemlerinde iltihaplanma ile pannus oluşumu ve pro-enflamatuar gen ekspresyonu/mRNA seviyelerinde önemli bir azalma ve vücut ağırlığında artış göstermiştir. Ayrıca, TNF-α inhibisyonunun yanı sıra MTT (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5 difenil

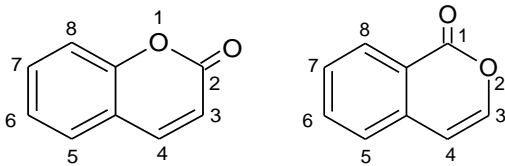
tetrazolyum bromür) deneyinde önemli bir toksisite göstermeyen bileşik zebra balıklarında yapılan kapsamlı toksisite çalışmasında teratojenite, hepatotoksisite, kardiyotoksisite gibi testlerde herhangi bir toksik etki göstermemiştir. Böylece, yeni, güvenli ve orta derecede seçici bir PDE4B inhibitörü olarak ortaya çıkan N-[3-(7-metil-1-okso-1H-2-benzopiran-3-il)fenil]tiyofen-2-sülfonamid bileşiği (Şekil 29), enflamatuvar hastalıklar için değerlendirilebilir [56].



**Şekil 29.** N-[3-(7-metil-1-okso-1H-2-benzopiran-3-yl)fenil]tiyofen-2-sulfonamid [56].

#### 4. SONUÇ

Birçok araştırma grubu, kumarin ve izokumarin çekirdeğinin farklı pozisyonlarında (C-3'ten C-8'e) maksimum antiinflamatuvar aktiviteye uygun fonksiyonel grupları bulmak için bir dizi bileşik geliştirmiştir (Şekil 30). Bu çalışmalardan elde edilen verilerin karşılaştırmalı analizi ile kumarin ve izokumarin çekirdeği etrafında yeni antiinflamatuvar moleküller tasarlamasında yol gösterici olabilen yapı aktivite bilgilerine ulaşılabilir. Buna göre öne çıkan gruplar şu şekilde özetlenebilir:



**Şekil 30.** Kumarin ve izokumarinlerin ana yapıları [11-42,43,45-56].

Çalışmalarda sentezlenen bileşiklerin çoğu çekirdeğin C-3 ve C-4 konumlarından substitüsyonlar ile türevlendirilmiştir. C-3'te, pirimidin ve pirazol gibi nitrojen içeren heterosiklerden oluşan elektron açısından zengin bir hidrofobik grup, antiinflamatuvar aktiviteyi güçlendirir. C-4'te yine azot içeren yapıların yanında substitüsyon içermeyen fenil yapısının da aktiviteye olumlu katkılar sağladığı söylenebilir. Ayrıca C-3 ve C-4 grupları kondenzasyon ve hibrit yapılarının oluşumuna olanak sağlamış ve bunun sonucunda yüksek antiinflamatuvar aktivite sergileyen sentetik kumarin analogları elde edilmiştir. Bunun yanında, C-5 pozisyonu üzerinde yeteri sayıda denemeler yapılmadığı için bu pozisyon keşfedilmemiş olarak kalmıştır. Ayrıca, C-7 ve C-8'deki

substitüsyonların etkisi hem sentetik hem de bitkilerden türetilmiş kumarinlerde büyük ölçüde benzerlik gösterir. C-7'deki karbamatlar ve nitrojen içeren heterosiklerin, hidrojen bağı yoluyla reseptör ile etkileşime girerek aktiviteyi artırdığı sonucuna varılmıştır. Öte yandan kumarin yapısında benzopiranon halkasının C-8'inden türetilen türevlerin C-7 ile karşılaştırıldığında daha sınırlı sayıda olduğu sonucuna varılabilir. Bu pozisyonda 2005 ve 2020 yıllarında yapılan çalışmalar ile C-8 konumundaki substitüsyonun sterik etkiye katkısı antiinflamatuvar aktiviteye etki eden önemli faktörler olarak ortaya çıkarılmıştır.

İzokumarinlerin antiinflamatuvar aktiviteleri üzerine yapılan sentetik çalışmaların çoğu, kumarinlerde olduğu gibi C-3 ve C-4 karbonuna getirilen substitüsyonlar üzerinden yürütülmüştür. Substitüe edilen grupları incelediğimizde C-3 pozisyonunda substitüe fenil, sikloalkil ve daha büyük lipofilik gruplar aktivitenin oluşmasında iyi sonuçlar vermiştir. Bunun yanında Powers ve ark. yapmış olduğu üç serili çalışmalarda, C-3 ve C-4'te yapılan aktivite çalışmaları sonucunda klor ve özellikle C-3'teki alkoloksi gruplarının enflamatuvar yollarla ilişkili olan elastaz enziminin güçlü inhibitörü olarak faydalı olabileceği bulunmuştur. Buna benzer bir başka çalışma Heynekamp ve ark. tarafından güçlü CEase inhibitörleri olan 3-alkoksikloroizokumarinler geliştirmek üzere yapılmıştır. 4 pozisyonundaki bir klor ve 3 pozisyonundaki bir terminal siklopentil veya sikloheksil grubu ile CEase'ın yağ asidi cebi ile optimum etkileşim enerjisine ulaşıldığı tespit edilmiştir. C-7'te ise hidroksil ve amino gruplarının öne çıktığını görüyoruz bu muhtemelen kumarinlerde olduğu gibi hidrojen bağları oluşumuna işaret eder.

Bu derleme makalesinde, literatürde yer alan kumarin ve izokumarinlerin antiinflamatuvar aktivitelerine dair yayınlar incelenip derlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda kumarin ve izokumarin türevi bileşiklerin beklenen derecede antiinflamatuvar aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Kumarin ve izokumarin ana yapısı etrafında yapılan karşılaştırmalı yapı aktivite analizi ile farklı konumlarında çeşitli fonksiyonel grupların veya kısımların uygunluğu ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır. Kumarinlerde C-5 ve C-6 pozisyonları nispeten keşfedilmemiş olarak kalmıştır. Bu nedenle, C-5'te uygun fonksiyonel grubun seçimi, faydalı yeni antiinflamatuvar moleküllerin geliştirilmesine olanak sağlayabilir. İzokumarinlerde ise özellikle C-3 ve C-4 dışındaki pozisyonlar üzerine çalışmalara yoğunlaşılabilir. Ayrıca kumarinlerde olduğu gibi izokumarinlerde de diğer sınıf bileşiklerle konjugasyon ile hibrit moleküller elde edilebilir. Bu noktada yapılacak çalışmalar birden fazla aktivite ile sonuçlanabileceğinden oldukça umut vaat etmektedir. Sonuç olarak kumarin ve izokumarinler, gösterdikleri çeşitli düzeylerdeki antiinflamatuvar aktivite profili ile üzerine daha fazla çalışılması gereken iki doğal olarak oluşan heterosiklik yapıdır.

## 5. ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar hiçbir rekabet eden finansal çıkar beyan etmemektedir.

### Etik Onay

Bu çalışma için Etik Onay belgesi gerekli değildir.

## KAYNAKLAR

- [1] Barry, R. D. "Isocoumarins. Developments Since 1950," *Chemical Reviews*, (2002), 64, 3, 229–260, doi: 10.1021/cr60229a002.
- [2] Borges, F., Roleira, F., Milhazes, N., Santana, L., and Uriarte, E. "Simple Coumarins and Analogues in Medicinal Chemistry: Occurrence, Synthesis and Biological Activity," *Current Medicinal Chemistry*, (2005), 12, 8, 887–916, doi: 10.2174/0929867053507315.
- [3] Matos, M. J., Santana, L., Uriarte, E., Abreu, O. A., Molina, E., and Yordi, E. G. "Coumarins — An Important Class of Phytochemicals," *Phytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health*, (2015), 1-30, doi: 10.5772/59982.
- [4] Stefanachi, A., Leonetti, F., Pisani, L., Catto M., and Carotti, A. "Coumarin: A natural, privileged and versatile scaffold for bioactive compounds", *Molecules*, (2018), 23(2), 250, 1-34, DOI: 10.3390/molecules23020250
- [5] Kumar, K. A., Nagamallu, R., and Govindappa, V. K., "Comprehensive review on coumarins: Molecules of potential chemical and pharmacological interest," *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, (2015), 7, 9, 67–81,
- [6] Fylaktakidou, K., Hadjipavlou-Litina, D., Litinas, K., and Nicolaides, D. "Natural and Synthetic Coumarin Derivatives with Anti-Inflammatory / Antioxidant Activities," *Current Pharmaceutical Design*, (2005), 10, 30, 3813–3833, doi: 10.2174/1381612043382710.
- [7] Shabir, G., Saeed, A., and El-Seedi, H. R. "Natural isocoumarins: Structural styles and biological activities, the revelations carry on ...," *Phytochemistry*, (2020), 181, 112568, doi: 10.1016/j.phytochem.112568.
- [8] Saeed, A. "Isocoumarins, miraculous natural products blessed with diverse pharmacological activities," *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2016), 116, 290–317, doi: 10.1016/j.ejmech.2016.03.025.
- [9] Medzhitov, R. "Origin and physiological roles of inflammation," *Nature*, (2008), 454, 7203, 428–435, doi: 10.1038/nature07201.
- [10] Nathan, C. "Points of control in inflammation," *Nature*, (2002) 420, 6917, 846–852,
- [11] Dhingra, A., Chopra, B., Dass, R., Mittal, S. "An update on Anti-inflammatory Compounds: A Review," *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*, (2015), 14, 2, 81–97, doi: 10.2174/1871523014666150514102027.
- [12] Perez, R. M. "Anti-Inflammatory Activity of Compounds Isolated from Plants," *The Scientific World Journal*, (2001), 1, 713–784, doi: 10.1100/tsw.2001.77.
- [13] Garg, S. S., Gupta, J., Sharma, S., and Sahu, D. "An insight into the therapeutic applications of coumarin compounds and their mechanisms of action," *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, (2020), 152, 105424, doi: 10.1016/j.ejps.2020.105424.
- [14] Sethna, N. M., Shah, S. M. "The Chemistry of Coumarins," *Chemical Reviews*, (1945), 36, 1, 1–62, doi.org/10.1021/cr60113a001
- [15] Jain P. K., and Joshi, H., "Coumarin: Chemical and pharmacological profile," *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, (2012), 2, 6, 236–240, doi: 10.7324/JAPS.2012.2643.
- [16] Dighe, N., Pattan, S. R., Dengale, S. S., Musmade, S., Deepak, Madhuri, S., Tambe, V., and Hole, M. B. "Synthetic and pharmacological profiles of coumarins: A review," *Archives of Applied Science Research*, (2010), 2, 65–71, <http://scholarsresearchlibrary.com/aasr-vol2-iss2/AASR-2010-2-2-65-71.pdf>.
- [17] Kulkarni, C. M., Kulkarni, M. V., Lin, G. M., Sun, C. H. "Recent advances in coumarins and 1-azacoumarins as versatile biodynamic agents," *Current Medicinal Chemistry*, (2006), 13, 23, 2795–2818, doi:0.2174/092986706778521968.
- [18] Bansal, Y., Sethi, P., and Bansal, G. "Coumarin: A potential nucleus for anti-inflammatory molecules," *Medicinal Chemistry Research*, (2013), 22, 7, 3049–3060, doi: 10.1007/s00044-012-0321-6.
- [19] Piller, N. B. "A comparison of the effectiveness of some anti inflammatory drugs on thermal oedema," *British Journal of Experimental Pathology*, (1975), 56, 6, 554–560.
- [20] Witaicenis A., Seito, L. N., Chagas, A. da S., Luiz Jr, D. de Al., Luchini, A. C., Rodrigues-Orsi, P., Cestari, S. H., Stasi, L. C. Di. "Antioxidant and intestinal anti-inflammatory effects of plant-derived coumarin derivatives," *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytomedicine*, (2014), 21, 240–246.

- [21] Casley-Smith JR, C.-S. J. "Modern treatment of lymphoedema II. The benzopyrones," *Australasian Journal of Dermatology*, (1992), 33, 69–74.
- [22] Maddi, V., Raghu, K. S., and Rao, M. N. A. "Synthesis and anti-inflammatory activity of 3-(benzylideneamino)coumarins in rodents," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, (1992), 81, 9, 964–966, doi: 10.1002/jps.2600810926.
- [23] Gacche, R. N., Gond, D. S., Dhole, N. A., and Dawane, B. S., "Coumarin Schiff-bases: As antioxidant and possibly anti-inflammatory agents," *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, (2006), 21, 2, 157–161, doi: 10.1080/14756360500532671.
- [24] Timonen, J. M., et al., "Synthesis and anti-inflammatory effects of a series of novel 7-hydroxycoumarin derivatives," *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2011), 46, 9, 3845–3850, doi: 10.1016/j.ejmech.2011.05.052.
- [25] Sashidhara, K. V., et al., "Synthesis and anti-inflammatory activity of novel biscoumarin-chalcone hybrids," *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, (2011), 21, 15, 4480–4484, doi: 10.1016/j.bmcl.2011.06.002.
- [26] Srivastava, P., Vyas, V. K., Variya, B., Patel, P., Qureshi, G., and Ghatge, M., "Synthesis, anti-inflammatory, analgesic, 5-lipoxygenase (5-LOX) inhibition activities, and molecular docking study of 7-substituted coumarin derivatives," *Bioorganic Chemistry*, (2016), 67, 130–138, doi: 10.1016/j.bioorg.2016.06.004.
- [27] Abdellatif, A., Abdelall, A., Fadaly, W. A., and Kamel, G. M. "Synthesis, cyclooxygenase inhibition, anti-inflammatory evaluation and ulcerogenic liability of new 1,3,5-triarylpyrazoline and 1,5-diarylpyrazole derivatives as selective COX-2 inhibitors," *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, (2016), 26, 2, 406–412, doi: 10.1016/j.bmcl.2015.11.105.
- [28] Chen L. Z., et al. "New arylpyrazoline-coumarins: Synthesis and anti-inflammatory activity," *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2017), 138, 170–181, doi: 10.1016/j.ejmech.2017.06.044.
- [29] Fattah, T. A., et al. "Functionalized furo[3,2-c]coumarins as anti-proliferative, anti-lipolytic, and anti-inflammatory compounds: Synthesis and molecular docking studies," *Journal of Molecular Structure*, (2019), 1179, 390–400, doi: 10.1016/j.molstruc.2018.11.014.
- [30] Deng, D., et al. "Synthesis and discovery of new compounds bearing coumarin scaffold for the treatment of pulmonary fibrosis," *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2019), 111790, doi: 10.1016/j.ejmech.2019.111790.
- [31] Tapanyigit, O., Demirkol, O., Güler, E., Erşatır, M., Çam, M. E., and Giray, E. S., "Synthesis and investigation of anti-inflammatory and anticonvulsant activities of novel coumarin-diacylated hydrazide derivatives," *Arabian Journal of Chemistry*, (2020), 13, 12, 9105–9117, doi: 10.1016/j.arabjc.2020.10.034.
- [32] Naik, N. S., et al. "Synthesis of novel aryl and coumarin substituted pyrazolo[1,5-a]pyrimidine derivatives as potent anti-inflammatory and anticancer agents," *Chemical Data Collections*, (2020), 30, 100550, doi: 10.1016/j.cdc.2020.100550.
- [33] Muthanna, M. H. A., Farhan, S. "Synthesis, Characterization and Anti-Inflammatory Study of New Heterocyclic Coumarin Derivatives," *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, (2021), 15, 1, 2363–2369.
- [34] Kontogiorgis, C. A., and Hadjipavlou-Litina, D. J. "Synthesis and antiinflammatory activity of coumarin derivatives," *Journal of Medicinal Chemistry*, (2005), 48, 20, 6400–6408, doi: 10.1021/jm0580149.
- [35] Buran, B. K., Reis, R., Sipahi, H., "Piperazine and piperidine-substituted 7-hydroxy coumarins for the development of anti-inflammatory agents," *Archiv der Pharmazie (Weinheim)*, (2021), 1–11, doi: <https://doi.org/10.1002/ardp.202000354>.
- [36] Kang, Y. S., Chung, Y. C., Lee, J. N., Kim, B. S., Hyun, C.-G. "Anti-Inflammatory Effects of 6,7-Dihydroxy-4-Methylcoumarin on LPS-Stimulated Macrophage Phosphorylation in MAPK Signaling Pathways," *Natural product communications*, (2021), 16, 5.
- [37] Pal, S., Chatare, V., and Pal, M. "Isocoumarin and Its Derivatives: An Overview on their Synthesis and Applications," *Current Organic Chemistry*, (2011), 15, 5, 782–800, doi: 10.2174/138527211794518970.
- [38] Napolitano, E. "Synthesis of isocoumarins over the last decade: a review," *Organic Preparations and Procedures International*, (1997), 29, 631–664, doi: DOI: 10.1080/00304949709355245.
- [39] Braca, A., Bader, A., and Tommasi, N. D., "Plant and fungi 3,4-dihydroisocoumarins: Structures, biological activity, and taxonomic relationships" *Studies in Natural Products Chemistry*, (2012), 37, 191–215. doi:10.1016/B978-0-444-59514-0.00007-9.
- [40] Saikia P., and Gogoi, S. "Isocoumarins: General Aspects and Recent Advances in their Synthesis," *Advanced Synthesis and Catalysis*, (2018), 360, 11, 2063–2075, doi: 10.1002/adsc.201800019.
- [41] Saddiqa, A., Usman, M., and Çakmak, O. "Isocoumarins and 3,4-dihydroisocoumarins,

- amazing natural products: A review,” *Turkish Journal of Chemistry*, (2017), 41, 2, 153–178, doi: 10.3906/kim-1604-66.
- [42] Tianpanich, P. K. K., Prachya, S., Wiyakrutta, S., Mahidol, C., Ruchirawat, S., “Radical scavenging and antioxidant activities of isocoumarins and a phthalide from the endophytic fungus *Colletotrichum* sp.,” *Journal of Natural Products*, (2010), 74, 1, 79–81.
- [43] Di Stasi, J. G. L.C., Camuesco, D., Nieto, A., Vilegas, W., Zarzuelo, A. “Intestinal anti-inflammatory activity of paepalantine, an isocoumarin isolated from the capitula of *Paepalanthus bromelioides*, in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis,” *Plantamedica*, (2004), 70, 4, 293–305.
- [44] Powers, J. C., and Kam, C. M. “Isocoumarin inhibitors of serine peptidases,” *Methods in Enzymology*, (1994), 244, 442–457, doi: 10.1016/0076-6879(94)44033-6.
- [45] Otake, J. C. P. S., Kam, C.M., Narasimhan, L., Poe, M., Blake, J.T., Krahenbuhl, O., Tschopp, J., “Human and murine cytotoxic T lymphocyte serine proteases: subsite mapping with peptide thioester substrates and inhibition of enzyme activity and cytolysis by isocoumarins,” *Biochemistry*, (1991), 30, 2217–2225.
- [46] Kerrigan, J. E., Oleksyszyn, J., Kam, C.-M., Selzler, J. and Powers, J. C. “Mechanism-Based Isocoumarin Inhibitors for Human Leukocyte Elastase. Effect of the 7-Amino Substituent and 3-Alkoxy Group in 3-Alkoxy-7-amino-4-chloroisocoumarins on Inhibitory Potency,” *Journal of Medicinal Chemistry*, (2002), 38, 3, 544–552, doi: 10.1021/jm00003a017.
- [47] Wade Harper, J., and Powers, J. C., “Reaction of serine proteases with substituted 3-alkoxy-4-chloroisocoumarins and 3-alkoxy-7-amino-4-chloroisocoumarins: new reactive mechanism-based inhibitors,” *Biochemistry*, (2002), 24, 25, 7200–7213, doi: 10.1021/bi00346a028.
- [48] Zimmerman, M., Morman, H., Mulvey, D., Jones, H., Frankshun, R., and Ashe, B. M., “Inhibition of elastase and other serine proteases by heterocyclic acylating agents,” *Journal of Biological Chemistry*, (1980), 255, 20, 9848–9851, doi: 10.1016/s0021-9258(18)43470-9.
- [49] Qadeer, G., Rama, N. H., and Garduño-Ramírez, M. L. “Synthesis and anti-inflammatory activity of fluorinated isocoumarins and 3,4-dihydroisocoumarins,” *Journal of Fluorine Chemistry*, (2007), 128, 6, 641–646, doi: 10.1016/j.jfluchem.2007.02.021.
- [50] Hui, D. Y., “Molecular biology of enzymes involved with cholesterol ester hydrolysis in mammalian tissues,” *Biochimica et Biophysica Acta - Lipids and Lipid Metabolism*, (1996), 1303, 1. Elsevier B.V., 1–14, doi: 10.1016/0005-2760(96)00085-9.
- [51] Howles, P. N., Carter, C. P., and Hui, D. Y., “Dietary free and esterified cholesterol absorption in cholesterol esterase (bile salt-stimulated lipase) gene-targeted mice,” *Journal of Biological Chemistry*, (1996), 271, 12, 7196–7202, doi: 10.1074/jbc.271.12.7196.
- [52] Heynekamp, J. J., Hunsaker, L. A., Vander Jagt, T. A., Royer, R. E., Deck, L. M., and Vander Jagt, D. L., “Isocoumarin-based inhibitors of pancreatic cholesterol esterase,” *Bioorganic Medicinal Chemistry*, (2008), 16, 9, 5285–5294, doi: 10.1016/j.bmc.2008.03.016.
- [53] Ramanan, M., Sinha, S., Sudarshan, K., Aiden, I. S., and Doble, M. “Inhibition of the enzymes in the leukotriene and prostaglandin pathways in inflammation by 3-aryl isocoumarins,” *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2016), 124, 428–434, doi: 10.1016/j.ejmech.2016.08.066.
- [54] Zhang, Y., et al., “Compound GDC, an Isocoumarin Glycoside, Protects against LPS-Induced Inflammation and Potential Mechanisms In Vitro,” *Inflammation*, (2019), 42, 2, 506–515, doi: 10.1007/s10753-018-0908-2.
- [55] Thirupataiah, B., Reddy, G. S., Ghule, S. S., Kumar, J. S., Mounika, G., et al., “Synthesis of 11,12-dihydro benzo[c]phenanthridines via a Pd-catalyzed unusual construction of isocoumarin ring/FeCl<sub>3</sub>-mediated intramolecular arene-allyl cyclization: First identification of a benzo[c]phenanthridine based PDE4 inhibitor,” *Bioorganic Chemistry*, (2020), 97, doi: 10.1016/j.bioorg.2020.103691.
- [56] Thirupataiah, B., Mounika, G., Reddy, G. S., Kumar, J. S., Hossain, K. A., et al. “PdCl<sub>2</sub>-catalyzed synthesis of a new class of isocoumarin derivatives containing aminosulfonyl / aminocarboxamide moiety: First identification of a isocoumarin based PDE4 inhibitor,” *European Journal of Medicinal Chemistry*, (2021), 221, 0223–5234, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113514>



## Kimya fabrikalarında ve kümelerinde domino etkilerinin tarihsel bakış açısı ile incelenmesi

Orkun DALYAN<sup>1a</sup>, Mehmet PİŞKİN<sup>2b\*</sup>

<sup>1</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İş Sağlığı ve Güvenliği, 17020, Çanakkale, Türkiye

<sup>2</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, 17020, Çanakkale, Türkiye

ORCID: <sup>a</sup>0000-0003-4791-9084, <sup>b</sup>0000-0002-4572-4905

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
14.05.2021	21.06.2021	12.10.2021

**Özet:** 1970'lerde dünyanın ilgisini çeken Batı ülkelerindeki büyük kazalar, kimya ve petrokimya sektörlerinde ve kümelerinde iç ve dış domino etkilerine yönelik araştırmalar için başlangıç noktasıdır. Başlangıçta, bu araştırmalar devlet kurumları ve hükümetle ilgili araştırma merkezleri tarafından yayınlandı. 1970'lerde ve 1980'lerde artan nicel risk analizleri ve Hollanda'da basılan "renkli kitaplar", domino etkilerinin nicelleştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. İkinci Avrupa Seveso Direktifi, 1990'ların ortalarından sonra konuyla ilgili akademik yayınların ve domino etkileri üzerine bilimsel araştırmaları önemli ölçüde artmasını teşvik etmektedir. Batı ülkelerindeki araştırmalara risk değerlendirmelerinde olasılıklar hakimdir ve karmaşık domino etkileri ve sonuçları için başarısızlık mekanizmaları hesaplanır. Önceki çalışmalar siyasi, resmi ve özel karar alma ile yakından ilgilidir. Risk yönetimine geçiş henüz emekleme aşamasındadır. Domino etkilerinin başlangıç noktalarındaki ilk senaryoları anlamak için gelecekte olabilecek süreçlere bir geçiş gereklidir. Hindistan'da 1990'ların ortalarında domino etkileri için bir farkındalık çağrısı yapıldı. Uluslararası bilimsel literatürde domino etkileri üzerine Çin yayınları, 2000'lerin ortalarından itibaren ortaya çıkmaktadır. Çin'deki hızlı sanayileşme nedeniyle, sektördeki birçok büyük kazayla kıyaslandığında diğer kimya şirketlerine göre çok fazladır. Bu derleme çalışmasında, 1966-2018 döneminde domino etkileri üzerine yapılan araştırmaların sonuçları, bu kaza süreçlerinin ana belirleyicileri ve bu alanda gelecekteki olası geçiş tartışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Domino etki, kimyasal küme, kimya endüstrisi, proses güvenliği, tarihsel inceleme

### Investigation of domino effects in chemical factories and clusters from a historical perspective

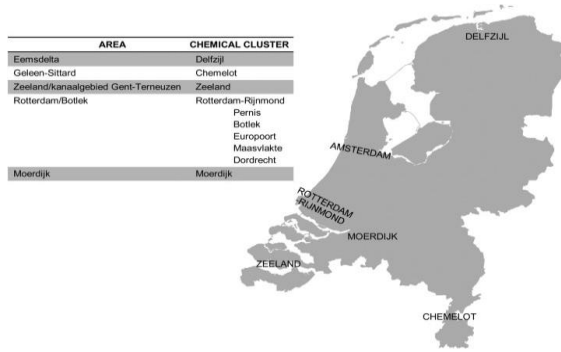
**Abstract:** Major accidents in Western countries, which attracted great media attention in the 1970s, are the starting point for research into internal and external domino effects in the chemical and petrochemical industries and clusters. Initially, these reports are published by government agencies and government-related research centers. With quantitative risk analyzes approaching in the 1970s and 1980s, the 'color books' published in the Netherlands play an important role in quantifying these domino effects. Since the mid-1990s, the second European Seveso Directive has promoted scientific research on domino effects, demonstrated by a significant increase in academic publications on the subject. Research in Western countries is dominated by risk assessments and probabilities. and failure mechanisms are calculated for the complex domino effects phenomenon and its consequences. Previous studies are closely related to political, official and private decision making. The transition to risk management is still in its infancy. A future transition is necessary to understand the initial scenarios as starting points for domino effects. A wake-up call for domino effects was issued in India in the mid-1990s. Chinese publications on domino effects have appeared in the international scientific press since the mid-2000s. Due to a rapid industrialization, the figures in the Chinese country are too much for chemical companies compared to many major accidents in this industry. This article will discuss the results of the research on domino effects carried out in the period 1966–2018 and the main determinants of these accident processes. In addition, the transition in both this research area and the future will be discussed.

**Keywords:** Domino effect, chemical cluster, chemical industry, process safety, historical investigation

## 1. GİRİŞ

Domino etkileri üzerine literatürde birçok derleme makalesi bulunmaktadır. Bazı makaleler kimya ve proses endüstrilerindeki domino etkileri de dahil olmak üzere büyük kazaların analizini sunmaktadır [1-5]. Başka bir makale, bu analizlerin son durumunu veya araştırmayı gözden geçirmektedir [6]. Bu çalışmada, son 50 yıldır yürütülen kaza süreçlerinin araştırılması ve konu hakkındaki bilginin geliştirilmesine ilişkin tarihsel bir bakış sunmaktadır. Tarihsel genel bakışlar sadece bir anekdot ve kronoloji kaynağı olarak değil, aynı zamanda bu yaklaşımı haklı çıkararak domino etkisi hakkındaki bilgilere ışık tutmaktadır. Bu çalışma, bilgimiz dahilinde bulunan geçişlere ve domino etkilerine yol açan karmaşık kaza süreçlerinin belirleyicilerine odaklanmaktadır.

Hollanda, kimya sektörü için elverişli bir iş ortamına sahiptir. Hollanda, Belçika, Almanya ve Kuzey Fransa'daki en önemli kimya merkezleri arasında direkt hatlar bulunmaktadır. Bu kimyasal kümelerden altı tanesi aktiftir (Şekil 1).



Şekil 1. Hollanda'daki kimyasal kümeler [47].

Rotterdam-Rijnmond, Moerdijk, Zeeland ve Chemelot da ARRRRA kümelenmesi, Anvers ve Ren-Ruhr bölgesi ile kimya endüstrisi içindeki iş birliğinin bir parçasıdır. ARRRRA (Antwerp-Rotterdam-Ren-Ruhr Bölgesi) kümesi boru hatları, kara, su ve demiryolları ile entegre edilmiştir [7]. Kimyasal bir küme, kimyasal olmayan cihazlarla çevrili olsun veya olmasın, çeşitli kimyasal ekipmanların ve tesislerin bulunduğu coğrafi olarak tanımlanmış bir alandır. Bu kurumlar arasında iş birliği olmayacağı gibi hafif veya yoğun bir şekilde iş birliği için organize edilmiş de olabilir. İş birliği, enerji ve hammaddelerin verimli kullanımı gibi fırsatlar oluşturmaktadır. 'Tedarik zinciri yönetimi', tedarik zincirinin farklı bölümlerinde aktif olan birden çok ortak arasındaki ilişkiler için bir seçenektir. Bu durum, dikey iş birliği olarak bilinmekte ve gereksiz lojistik maliyetlerini önlemektedir. İş birliği, olay ve afet yönetimi gibi bilgi, tesis veya kaynakların alışverişi ve paylaşımına atıfta bulunarak yatay da olabilir [8,9]. Şirketlere yakınlık ve şirketler arasındaki bağlantıların güvenlik üzerinde her zaman olumlu bir etkisi yoktur. Bu sektörlerdeki zincir entegrasyonu ve karmaşıklık, kademeli büyüme ve daha fazla otomasyon ile artmaktadır. Şirketlerin görev ve bileşenleri daha fazla dış kaynak kullandığında, süreçler ve

bağımlılıklar daha karmaşık hale gelir ve kaçma etkileri olsun veya olmasın büyük kaza risklerinde artış oluşturur. Hollanda'da patlamalar, yangınlar ve sızıntılardan kaynaklanan tehlikeli madde emisyonları, bazı büyük kazalar ve olaylar sürekli olarak meydana gelmektedir. Bu kazalar şimdiye kadar birkaç yüz milyon Türk lirasına varan maliyeti olan tesislerdeki hasarlarla sınırlıydı. Örneğin, 2011'de Rotterdam yakınlarındaki Moerdijk'deki Chemie-Pack şirketinde meydana gelen büyük bir yangına neden olan kazanın maddi hasarı 711 milyon Türk lirasına mal olmuştur.

Bir domino etkisi, nispeten daha karmaşık bir olaydır. Son yirmi yılda bu gibi olaylar bilimsel literatürde artan bir ilgi görmüştür. Domino etkileri için bir dizi tanım vardır. En basit tanım Lees'den gelir ve bu tanım 'bir birimdeki olayın başka bir birimdeki olayı takibine neden olan olay' olarak açıklamaktadır [10]. Reniers ve ortak yazarlar, bir domino etkisini 'önceki bir kazanın sonuçlarının hem mekânsal hem de sıralı olarak art arda gelen olaylarla arttığı ve büyük bir kazaya yol açtığı olaylar dizisi' olarak tanımlar [11]. Bu iki tanım, domino etkilerinin sürecini açıklamaktadır. Amerikan Kimya Mühendisleri Enstitüsü'nün (AIChE) Amerikan Kimyasal Proses Güvenliği Merkezi domino etkisini (CCPS), 'bir birimde başlayan ve termal bir etki, bir patlama veya parçaların etkisiyle yakındaki birimleri etkileyen bir olay' tanımlamaktadır. Bu tanımda, domino etkisinin mekanizmasına, ısı radyasyonuna, basınç dalgasına ve enkazın projeksiyonuna dikkat edilir. Bu durum, Cozzani ve ortak yazarlar tarafından dört aşamanın ayırt edildiği bir tanımda daha ayrıntılı olarak açıklanmıştır:

- Birincil kaza senaryosu, domino etkisinin başlangıç noktası;
- Birincil senaryonun fiziksel etkilerinden (artan vektör faktörleri) kaynaklanan ve en az bir ikincil üniteye hasarla sonuçlanan birincil olayı takip eden yayılma;
- Aynı veya başka fabrika birimlerini veya tesisi içeren bir veya daha fazla ikincil kaza senaryosu;
- Artış etkisi, birincil senaryoya göre domino etkisinin artması sonucudur

Bu son tanım, mekanizmalarda daha ayrıntılıdır ve bir kuruluş içindeki bir 'iç domino etkisi', ve birkaç kuruluş arasındaki bir 'dış domino etkisi' arasında ayrım yapar. Yukarıdaki dört tanım, domino olaylarının evrensel olarak kabul edilmiş bir tanımı konusunda literatürde zayıf bir fikir birliği olduğunu göstermektedir [5,6,9]. Domino kazalarının etkilerinin çok ciddi olabileceği gerçeğine rağmen, konu güvenlik yöneticileri tarafından çok az ilgi görmüştür. Bu konuya olan ilgi son on yılda dikkat çekiciydi. Sonuçta, domino etkileri karmaşıktır ve büyük kazalara kıyasla gerçekleşme olasılığı çok düşüktür. Bu derleme çalışması, aşağıdaki araştırma sorularına göre yapılandırılmıştır:

- Proses endüstrilerinde domino etkileri üzerine 1966-2018 yılları arasında yapılan araştırmanın sonuçları nelerdir?
- Birincil senaryolar, engeller, domino etkilerini hesaplama modelleri ve risk yönetimi ile ilgili araştırmanın odak noktası nedir?

- c) Bu dönemdeki araştırmalarda büyük ilerlemeler tespit edilebilir mi?

## 2. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra Batı ülkelerinin kimya endüstrisinde büyük bir gelişme yaşandı. Bu dönemde tehlikeli maddelerin üretim kapasitesi, depolanması ve taşınması önemli ölçüde arttı. Bu durum, 1970'lerden beri medyada ve bilimsel literatürde kapsamlı bir şekilde tartışılan büyük kazalara olan ilgiye yol açtı. O zamandan itibaren, proses endüstrisindeki tesislerin güvenilirliği büyük bir endişe konusu olmuş ve çeşitli 'kayıp önleme' çalışmaları başlatılmıştır [12].

Domino etkilerinin araştırılması farklı zaman dilimlerine ayrılabilir. Li ve ortak yazarlar, Seveso düzenlemeleri ile Batı ülkelerindeki akademik yayınların artışı araştırdılar [16]. 1982 yılında Seveso I direktifi [17], proses endüstrisinde önemli bir olay olarak domino etkilerinden bahseder. Bu, uluslararası konferanslardaki sunumlara ve büyük kazalar üzerine yapılan araştırma raporlarına veya kimyasal endüstri parklarının risklerine yönelik araştırmalara konu olan etkilerdir. Bilimsel dergilerdeki yayınlar 1982'den sonra ortaya çıkmıştır.

İlk dönem, 1966'da Fransa'nın Feyzin kentinde dahili bir domino etkisi olan büyük bir kaza ile başlamakta ve 1990'lı yılların başına kadar devam etmektedir.

İkinci dönem, 1996'dan itibaren Avrupa Seveso II direktifinin yayınlanmasıyla çakışmaktadır [18]. Bu kılavuz, mekânsal planlama için kurallar ve domino etkilerinin belirlenmesi ve önlenmesi gerekliliğini içermektedir. 2011 yılına kadar devam eden bu dönemde bilimsel basında çıkan yayınlarda artış olduğunu gözlenmektedir.

Üçüncü dönem ise Seveso III ile başlar [19]. Bu kılavuz, kimyasalla çalışan işletmelerin artan senaryoları önlemek için yoğun bir şekilde bilgi alışverişi yapmaları gerektiğini belirtir. Tüm Seveso yönergeleri yalnızca kurumlar arasındaki harici domino etkilerinden bahsederken kuruluş içindeki dahili domino etkilerini dışarıda bırakılır. Üçüncü dönem, bilimsel makalelerin sayısında keskin bir artış olduğunu göstermekte ve bu literatür taramasında 2018'e kadar devam etmektedir. Bu dönem, dinamik modelleme ve domino etkilerinin risk değerlendirmesi için metodolojilerin geliştirilmesiyle (örneğin, Bayes ağı ve Petri ağları aracılığıyla) güvenlik bariyerlerinin domino etkilerinin olasılığı ve ciddiyeti üzerindeki etkisinin modellenmesi ve değerlendirilmesi ve son 10 yılda domino etkilerinin maliyet-fayda risk yönetimiyle de karakterize edilebilir. Batı ülkelerinde yapılan araştırmalara ek olarak, Orta ve Güneydoğu Asya'dan yazarlar tarafından da domino etkileri üzerine birçok makale yayınlanmıştır. İlk belgelenen domino kazası 1947 yılına aittir. Texas City limanında amonyum nitrat taşıyan bir gemi, yangın nedeniyle patlamıştır. Patlama, zincirleme bir reaksiyona neden olarak diğer gemiler ve karadaki petrol deposunu patlatmıştır. Amerika'daki bu büyük endüstriyel kaza, ölüm sayısı bakımında diğer kazalara göre en büyüğü olmasına rağmen, domino etkilerinin araştırılması için tetikleyici olmamıştır [20].

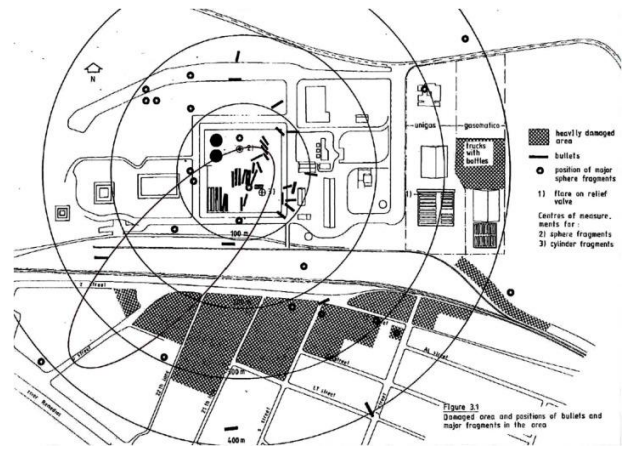
### 2.1. İlk dönem (1966 – 1995)

İlk döneme, dahili domino etkileri olan Feyzin-1966 Fransa, Flixborough-1974 İngiltere ve Mexico City-1984 Meksika gibi büyük kazalar hakimdir. Bu kazaların analizleri, domino etkilerine sahip tesadüfi süreçlere genel bir bakış sağlar ve 1970'lerde güvenlik alanında tanıtılan bir risk yaklaşımını teşvik etmektedir. Büyük Britanya, Hollanda ve İtalya'da ileriye dönük araştırmanın başlangıcı olmuştur. Bilimsel literatür, bu kaza süreçlerinin artan faktörlerinin araştırılmasına odaklanmaktadır.

#### 2.1.1. Avrupa ve Meksika'da domino etkisi olan büyük kazalar

1966 yılında Fransa'da Lyons'un 10 km aşağısında bulunan Feyzin rafinerisinin tank deposunda büyük bir yangın çıkmıştır. Bu büyük kazaya, literatürde çok az bir şekilde atıfta bulunmaktadır [21]. Bir (sıvılaştırılmış petrol gazı) LPG emisyonu, yan yoldan geçen bir araba tarafından ateşlenen bir gaz bulutu oluşturmuştur.

İkinci önemli kaza Delft-Hague'da Birinci Uluslararası Kayıp Önleme Sempozyumun bitiminden bir gün sonra meydana gelmiştir [22]. İngiltere'deki Kuzey Linconshire Flixborough Works of Nypro Limited'de şiddetli bir patlama meydana gelmiştir. İki reaktör arasında yeni yapılmış bir baypas, başlatma sırasında patlamış, ikincil bir etki olarak fabrikanın birçok yerinde yangınlar ve ardından gelen patlamalar fabrikanın büyük bir bölümünü patlatmıştır. Bu büyük kaza da bir domino etkisidir [23]. Üçüncü büyük domino felaketi, Flixborough'dan on yıl sonra Mexico City'nin kuzey bölgesi San Juan Ixhuatepec'de devlete ait petrol şirketi Petroleo Mexicana'nın Pemex LPG deposunda meydana gelmiştir. Sahadaki bir LPG sızıntısı, LPG boru hatlarını yakan bir ateş topu olan Kaynayan Sıvı Genişleyen Buhar Patlamasına (BLEVE) yol açmış ve ortaya çıkan alevler bir dizi sıralı patlamalara neden olmuştur. LPG silindirleri, kısmen bitişik olan bir yerleşim bölgesine fırlamıştır (Şekil 2) [10,24]. Bu kaza yaklaşık 650 kişinin hayatını kaybetmesiyle o zamana kadarki kaydedilen en kötü domino etkisi olmuştur.



Şekil 2. Mexico City PEMEX yerleşim alanı (taranmış bölgeler ağır hasar alan bölgeleri, halkalar gaz bulutu kapsayan yerleri ifade etmektedir) [10,24]

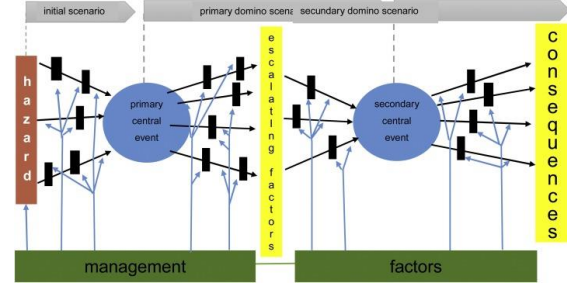
Dört yıl sonra İskoçya'nın yaklaşık 120 mil kuzey doğusunda bulunan Piper Alpha platformunda yaşanan bir başka felaket, platformlarda ve fabrika sahalarında meydana gelen yangın ve patlamalardan kaynaklanan domino etkilerine ve olayların artışına bir kez daha dikkat çekmiştir. Bu durum, 1980'lerin sonunda, kısaltılması LOPA olan 'Koruma Katmanları Analizi' tasarım stratejisinin oluşturulmasına yol açmıştır. Bu kavram askeri sektörden gelen ve ilk olarak 1950'lerde nükleer sektörde kullanılan bir tanımdır [25]. Bu tanıma 1990'lı yılların sonlarında da 'Güvenlik Bütünlük Seviyeleri (SIL'ler)' eklenmiştir.

### 2.1.2. Büyük Britanya, Hollanda ve İtalya'da olası risk araştırması

1970'li yılların başlarında, Flixborough felaketiyle beraber risk kavramı güvenlik biliminde de ortaya çıkmıştır. Hollanda'da, nicel risk analizi yöntemi olan kantitatif risk analizinin (QRA) tasarımına rehberlik eden 'renkli kitaplar' yayınlanmıştır [15]. Bir diğer önemli yayın, nükleer santraller için ilk kez olasılıklı risk analizi yöntemlerini (PRA) içeren WASH-1400 raporudur. Kimyasal tesislerin risklerinin ölçülmesi ilk olarak Büyük Britanya'da uygulanmıştır. Canvey adası, Thames Nehrinin kuzey denizi haricindeki kimyasal endüstri parkında ikinci bir petrol rafinerisinin inşası için bir iznin reddedilmesine yönelik bir teklifle sunulmuştur. İngiliz Sağlık ve Güvenlik İdaresi, kuruluşların, faaliyetlerin ve yerel sakinler için olası sonuçların potansiyel risklerini hesaplamıştır [26]. Bu endüstri parkında, bir sıvılaştırılmış doğalgaz (LNG) ve bir LPG terminali, petrol ürünleri, zehirli ve yanıcı sıvılar ve amonyak depolanması, bir petrol rafinerisi, bir amonyum nitrat tesisi ve tehlikeli maddelerin kara, su, raylar ve boru hatları üzerinden taşınması dahil olmak üzere çeşitli tehlikeli şirketler bulunmaktaydı. Öncelikle tarihsel verilere dayanarak, olasılıklar sıvı, gaz ve patlama emisyonları için hesaplanmıştır.

### 2.1.3. Domino etkilerinin bir kaza sürecinin sunumu ve domino etkisi papyon

Bu dönemde, domino etkilerine yol açan kaza süreçlerinin ana belirleyicileri, esas olarak geçmişteki büyük domino kazalarının vaka tanımlarından gelmektedir. Bu kaza süreçlerini görselleştirmenin bir yolu çift papyon yöntemidir (Şekil 3). Bu papyon, sol tarafta, bir tehlikeden başlayarak bir kaza sürecini ve başlangıcını göstermektedir. Soldan sağa doğru oklarla çeşitli kaza senaryoları gösterilmektedir. Bu senaryolar, domino etkisinin merkezi noktasına birincil merkezi olaya götürülebilir. Bu, tehlikenin kontrol edilemez hale geldiği ve artan faktörlere yol açtığı bir durumdur. Bu durum şeklin ortasındaki sarı dikdörtgendir.



Şekil 3. Domino etkisi faktörlerini belirten papyon yöntemi [47]

Şeklin sağ tarafında birincil kaza sürecinin sonuçlarından daha büyük sonuçlara yol açabilir. Şekil, tek bir domino taşının kaza sürecini göstermektedir. Prensipte olarak, birincil kaza süreci birden fazla ikincil merkezi olay ile sonuçlanabilir. Modelin gücü, etkileyen parametrelerle ilgilidir. Bu parametreler, birincil ve ikincil merkezi olayları, şekildeki daireleri önleyebilir veya sonuçları, sarı dikdörtgenleri sınırlayabilir. İki tür etkileyen parametre tanımlanabilir. İlk olarak, şekilde siyah dikdörtgenler olarak gösterilen güvenlik bariyerleri. Bunlar, kaza senaryolarını kesintiye uğratan fiziksel veya teknik engellerdir. İkinci olarak, mavi dikey oklarla engellerin, senaryoların ve tehlikelerin kalitesini etkileyen, şeklin altındaki yeşil dikdörtgenler olan yönetim faktörleri vardır. Mavi çizgiler fiziksel olmayan veya organizasyonel ve insani yönleri temsil eder. Domino etkilerini yeterince yönetmek için hem birincil hem de ikincil domino senaryoları kontrol edilmelidir.

### 2.1.4. Kantitatif risk analizi (QRA) ve domino etkisi

Yayınlarda en başından beri bir risk yaklaşımı ve ilgili risk hesaplaması çoğunlukla görülmektedir. Bunun nedeni kısmen 1970'lerden itibaren risk yaklaşımına artan odaklanma ve kısmen de meydana gelebilecek veya gerçekleşmiş büyük kaza süreçlerinin karmaşıklığından kaynaklanmaktadır. Belirtilen sanayi parklarındaki büyük kazalar genellikle çok karmaşıktır. Bu dönemde mekanizmalarını modellemedeki zorluklarına rağmen [6], bir risk yaklaşımı en güvenilir yöntem olmaktadır. QRA analizinde domino etkilerinin hesaba katılmadığı makalelerde belirtilmiştir. Kaza sürecinin artan faktörler dahil olmak üzere merkezi olaylarını ve sonuçlarını açıklamak için bir başlangıç yapılmaktadır. Bu başlangıç, bir havuz yangını, bir patlama, zehirli kimyasalların salınımı, bir ateş topu tarafından yansıtılan parçalar, BLEVE, bir jet yangını ve malzeme arızasından sonra bir patlama ile ilgili olabilmektedir. Bu dönemde bilimsel literatürde yer alan makalelerde, nicel risk analizleriyle ayrılmaz bir şekilde bağlantılı olan bazı belirsizlikler tartışılmaktaydı. Uzmanlar tarafından yapılan değerlendirmeler ve tarihsel veriler arasındaki uyumsuzluk, kimyasalların toksisite verilerindeki belirsizlikler ve analizin eksikliği, analizin dayandığı verilerle ilgilidir [2,27]. Mevzuat ve düzenlemeler sürecinde, bir risk analizinin sonuçları, risklerle ilgili iletişimi destekleyebilir ve karar vericiler arasında fikir birliğini destekleyebilir. Ancak riskleri yorumlamak için



uzman bireylere ihtiyaç vardır. Kimyasal bir endüstri parkına yakın yaşayan yerel sakinler gibi kararlar veren yerel yönetimler de bu uzmanlıktan yoksundur. Risklerin argüman olarak nicelleştirilmesi daha çok verimsizdir [28].

## 2.2. İkinci dönem, Seveso II, (1996 – 2001)

İkinci dönemde, proses endüstrisindeki ve liman bölgelerindeki büyük kazalara ilişkin geriye dönük araştırmaların beş büyük özeti yayınlanmıştır. Bu incelemeler için İngiliz Sağlık ve Güvenlik İdaresi'nin (HSE) Büyük Tehlike Olay Veri Hizmeti (MHIDAS), Avrupa Birliği Büyük Kaza Raporlama Sistemi (MARS), Hollanda Uygulamalı Bilimsel Araştırma (TNO) kuruluşunun Kaza Teknik Bilgi Sistemi (FACTS) ve Fransız Bölgesel Planlama ve Çevre Bakanlığı'nın Kazaların Analizi, Tespiti ve Bilgileri (ARIA) kullanılmıştır. Bu makaleler, tekli veya çoklu dahili ve harici domino etkileri olan kazalar dahil olmak üzere kaza süreçlerinin genel bir resmini sunmaktadır. Vaka raporlarının aksine, veri tabanlarındaki bilgi genellikle sınırlıdır. Veri tabanındaki bilgiler de farklılıklar genellikle yoktur veya yorumlanması zordur. Bu araştırmaya ek olarak, büyük kazaların yüzlerce sayıya ulaştığı bu dönemde, her ikisi de İtalya'dan sanayi parklarının risk hesaplamaları da dahil olmak üzere iki prospektif vaka çalışması yayınlanmıştır. Ayrıca, birincil merkezi olaylar, artan faktörler, engeller ve önlemler, domino etkilerini hesaplama yöntemleri ve endüstriyel kimyasal parklarda güvenliğin nasıl yönetilebileceği hakkında makaleler yayınlanmıştır.

### 2.2.1. Domino etkisi üzerine geriye dönük araştırma

İlk çalışma, MARS veri tabanını kullanılarak 1960 ve 1998 arasındaki 207 kimyasal büyük kazaya genel bir bakış sağlamıştır. Çeşitli tehlikeler arasında, yanıcı sıvılar (yağ, nafta, benzin, gazyağı), gaz halindeki hidrokarbonlar ve toksik maddeler (Cl<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, pestisitler) gibi karakteristik modeller de bulunmaktadır. En yüksek domino frekansı, gaz halindeki hidrokarbonlarda ve en düşük toksik maddelerle bulunmuştur. Ancak etki aralığı en büyük olan toksik maddelerdir [1]. MHIDAS'ı kaynak olarak kullanan ikinci bir araştırmada limanlarda 828 kimyasal olay incelenmiştir. Seveso II Direktifi, bu tehlikeli madde taşımalarına uygulanmaz. Kaza süreçleri 'muhafaza kaybı' (LOC) ile başlar ve patlama olsun veya olmasın bir yangına yol açmaktadır. Bu yangınlar manevra ve yaklaşma operasyonlarında çok sık değildir ve süreç-nakliye gibi kara operasyonları sırasında daha yaygındır. Yükleme (boşaltma) sırasında meydana gelen kazaların %5'i bir LOC sekansına sahiptir [2]. MHIDAS, üçüncü çalışmanın ana bilgi kaynağıdır. Ayrıca MARS, FACTS ve ARIA veri tabanlarının bilgisine de başvurulmuştur. Bu anket, MHIDAS veri tabanının yükselme faktörleri olarak sınıflandırılmasıyla birlikte 1961–2007 döneminde domino etkisi olan 225 kimyasal kazayı (dış olaylar, mekanik arıza, insan hatası, çarpışmalar ve kontrolden çıkma reaksiyonu gibi şiddetli reaksiyonlar) araştırmaktadır. Burada ilk iki kategori, harici olay ve mekanik arıza, depolamada, üretim sürecinde ve nakliyede domino etkileri için en önemli faktörlerdir. Bir patlama ile

başlayan ve ardından bir yangın ve bunun tersi olan kaza süreçleri, açık farkla çoğunluktadır [4]. Son iki çalışma, 1917 ile 2009 yılları arasındaki 224 domino kazasını [5], ve 84 jet yangınına araştırmıştır [3]. Kazaların %89'u ezici bir çoğunlukla yanıcı maddelerden kaynaklanmaktadır. Ancak CO<sub>2</sub>, Cl<sub>2</sub> gibi yanıcı olmayan maddeler ve aşırı ısınmış su da patlamalara ve ardından domino etkilerine neden olmaktadır.

### 2.2.2. İtalya'da olası risk araştırması

Tehlikeli maddelerin işlenmesi, depolanması ve taşınması nedeniyle büyük kaza risklerinin bulunduğu bir bölge üzerindeki etkiyi ölçmek için uygulanabilecek olan metodoloji (ARIPAR) uygulamasının ilk çalışmasından on beş yıl sonra, endüstriyel kimya parklarındaki şirketlerin resmi güvenlik raporlarından alınan 300 senaryoya dayanarak ikinci bir prospektif analiz başlatılmıştır. Sonuçlar 1995 çalışmasından farklı çıkmamıştır. Yine, ulaşımın neden olduğu bir dizi sıcak nokta konumu belirlenmiştir [29]. İkinci bir prospektif çalışma, İtalya'nın Sicilya kentinde, adanın doğu tarafında, Siracusa yakınlarındaki Augusta-Mellilli-Priolo sanayi parkında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, ARIPAR projesinin yönteminin de uygulanmış olması dışında, veri kaynaklarının ve sonuçlarının spesifikasyonu konusunda oldukça yetersizdir.

### 2.2.3. Kantitatif risk analizi (QRA) ve domino etkisi

Bilimsel literatürde, domino etkilerinin olasılıklarını ve sonuçlarını hesaplama yöntemlerine çok ilgi vardır. QRA analizi, bir hasar olasılığı modeli, bir probit, çeşitli artırma faktörleri ve aşırı basıncın bir sonucu olarak proses ekipmanına verilen hasar kategorileri için veya Hollandaca renkli kitap serisinden "Sarı Kitap"tan alınan bilgilerle tamamlanır. Tarihsel verilerin yetersizliğine rağmen, ekipmanla yapılan bir domino etkisinin sonuçları belirli süreçlerle hesaplamak için doğrudur [29]. Birincil merkezi olay bir patlamaysa, artan bir faktör olarak bir patlama dalgası oluşturan, aşırı basınç eşiği değerleri için, gemi kopması, tankın yerinden çıkması, bağlantı yer değiştirmesi gibi dikkate alınan sonuçlara bağlı olarak 7 ila 70 kPa arasında değişir [6, 30]. Sabit, havuz veya jet yangınları gibi birincil merkezi olaylar, artan bir faktör olarak radyasyon oluşturur. Örneğin çelik bir kap gibi hedef ekipman, 700° K'nin üzerindeki sıcaklıklarda hızla zayıflayacaktır [3]. Domino etkilerinin olasılıklarını ve sonuçlarını hesaplamak için kullanıcı dostu bir yazılım geliştirilmiştir. Kimyasal proses endüstrilerinde domino etkisi analizi için yeni bir yazılım (DOMIFTECT) [31], ve domino etkilerini önlemeyi planlamak için kullanıcıya faydalı yazılım (DomPrevPlanning) [32], bu yazılımlara örnektir. Bu yazılım, (yüksek derecede) yanıcı maddelere sahip tesisatlar arasındaki mesafelere, tesisatların arıza senaryolarına ve son beş yıldaki tesisler için niteliksel ve niceliksel değişikliklere bağlı olarak kurulumların göreceli önemini belirler. "Mor kitap" ve Hollanda Domino Etkisi

Dokümanı, hesaplamaların kaynaklarıdır. Değerlendirme nispeten basittir, domino tehlikelerinin ilk taramasını sağlar ve bir QRA analizinden farklı olarak, veriler için sınırlı bir girdi gerektirir.

#### 2.2.4. Güvenlik yönetimi ve önleme

Seveso II direktifinin, domino etkilerinin tanımlanması ve önlenmesine yönelik vurgusu, bireysel şirketlerin ötesine geçen bir dizi güvenlik yönetimi maddesi üretir. Bu, endüstriyel kimya parklarındaki şirketler, diğer şirketlerle bilgi paylaşmaya önceden hazır olmadıkları için sorunlara neden olmuştur [33]. Bir endüstri parkında, güvenlik, çevre ve sağlık için ortak sorumluluklar hâkim olsun ya da olmasın, hiçbir zaman net değildir [34]. Kimyasal şirketlerden gelen dış domino etkileriyle ilgili bilgiler, önemli kabul edilmiştir. Literatürde, gizli bilgilerle ilgilenen bağımsız katılımcılarla desteklenen, katılımcı şirketlerin temsilcilerinden oluşan bir 'küme konseyi' önerilmektedir. Bu, yönetim kurulunun hem açık ve gizli olmayan bir bölümünü hem de gizli olan bir bölümünü oluşturur. Bu kümelenmede, olası dış domino etkileri ve önlenmesi dahil her yönetim sisteminin standart faaliyetleri ile bir "Güvenlik Yönetim Sistemi" kurulabilir [35]. Karar verme, özellikle birkaç şirket üzerindeki risk yönetimi net bir ekonomik avantaj sağlamıyorsa kesinlikle bir kümelenme konseyi bağlamında karmaşık olabilir. Bu, karar verme sürecini kolaylaştırmak için ve stratejik iş birliği için oyun-teorik bir yaklaşımla ilgili yayınlar yayınlanmaktadır. Oyun teorisi, dahil olanlar için stratejik seçimleri ve finansal faydaları araştırmak için ekonomi bilimleri içinde yer alan matematiksel bir disiplindir [36]. Domino etkilerinin önlenmesine ilişkin makaleler bu dönemde, bariyerlerin türü, mesafeleri ve doğası gereği güvenli tasarım üzerine yayınlanmaktadır. Bariyerler, pasif, aktif ve prosedüre bağlı engeller olmak üzere üçe ayrılır. Pasif bariyerler, doğası gereği fizikseldir ve senaryolar üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir. Süreç bileşenlerinin ısı yalıtımı pasif bariyere bir örnektir. Bu önlem sıklıkla kullanılır ve maliyetli olabilir. Aktif bariyerler aynı zamanda senaryoları da doğrudan etkiler, ancak pasif bariyerler dışında aktif hale getirilecek bir dış müdahaleyi gerektirir. Basınç altındaki bir deponun üzerindeki bir sprinkler sistemi buna bir örnektir. Bu bariyerin, müdahalelerin başarısız olma olasılıkları nedeniyle daha az güvenilir olduğu bulunmuştur. Bu önlemlerin ötesinde, mesafe ve doğası gereği güvenli tasarım, birincil senaryoların sonuçlarını veya oluşumunu kontrol etmede çok etkilidir. Doğası gereği güvenli tasarımı ile azaltma, yoğunlaştırma, ikame ve basitleştirme gibi anahtar kelimelerle süreç yoğunlaştırmaya atıfta bulunulur. Bu tasarım yaklaşımı, daha az tehlikeli maddelere ve benzer koşullara yol açar [25, 37]. Şekil 3'teki doğal, güvenli tasarım yönetim faktörlerinden tehlikeye giden mavi oku temsil eder.

#### 2.3. Üçüncü dönem, Seveso III (2012 – 2018)

1984'te Mexico City'de meydana gelen büyük kaza, büyük olasılıkla sonuçları nedeniyle, bu ve önceki dönemdeki

makalelerin girişinde sıklıkla bahsedilir. Daha az ölçüde, 1974'te Flixborough'da ve 2005'te Buncefield'da meydana gelen büyük kazalara atıfta bulunmaktadır. İkinci döneme benzer şekilde, dominoların nicel değerlendirmelerinin ve etkilerinin araştırma hatları baskındır. Geriye dönük bir anket rapor edilir. Boru hatları, domino etkilerinin dinamik bir modellenmesinin yanı sıra yeniden dikkat çekmekte ve kaza süreçlerinin olasılığını ve etkilerini hesaplamak için yazılım geliştirilmektedir. Bununla ilgili artan makalelerin sayısına yansıyan bu domino kazası süreçlerini yönetmeye Seveso III'ün, Seveso II'den daha fazla önem verdiği görülmektedir.

#### 2.3.1. Dominoların nicel değerlendirilmesi

Kantitatif değerlendirme yöntemleri ile problemler belirlenir. Domino etkileri çok karmaşıktır, aynı modeller ve olasılık tahminleri için de geçerlidir. Verilerdeki yayılma ve yürütülen analizlerin belirsizlikleri hala büyüktür. Coğrafi bilgileri hesaba katabilen ve sonuçların bir değerlendirmesini sağlayan entegre yazılımda hala çok az gelişme vardır. İkinci bir nokta, ekipman ve tesisatların arızalanmasına neden olan yapısal hasar hakkında bilgi eksikliğidir. Bu, birincil merkezi birincil ve ikincil domino senaryolarına yol açan ilk senaryolarla ilgilidir. Bir tür tanımlayıcı domino epidemiyolojisi olan retrospektif araştırmanın sonuçları [38], önceki dönemdeki benzer araştırmaların sonuçlarının bir tekrarıdır. Aradaki fark, 1961'den 2007'ye ve 2011'e kadar uzatılan, dikkate alınan dönemdir. Çalışma, AB ülkeleri, diğer Batı ülkeleri ve dünyanın geri kalanının coğrafi bir karşılaştırmasını sunarak yine domino etkilerinin önemini ortaya koymaktadır. Dünyanın geri kalanında sıklıkta artış gözlemlenirken, AB ve diğer Batı ülkeleri hafif bir düşüş göstermektedir. Artan faktörler de dahil olmak üzere halihazırda bilinen birincil ve ikincil senaryoları genel bir bakış yayınlanmaktadır [39] (Tablo 1). Bir yangın veya bir ısı kaynağı ile toksik salınım alevlenebilse de birincil domino senaryosu olarak toksik emisyonlar bu genel bakışta bir artıştan sorumlu tutulmamaktadır [6].

İkinci dönemde olduğu gibi, domino etkilerinin modellenmesi birkaç farklı yaklaşım kullanılarak gerçekleştirilir. Probit fonksiyonları ile desteklenen QRA analizlerinin örnekleri vardır [40]. Yukarıda bahsedilen mor kitap, arıza sıklıkları ve etkilerinin önemli bir kaynağıdır. Bu aynı zamanda birincil emisyonların domino etkilerine yönelik modeller, ardından aşırı basınç ve ısı radyasyonu için de geçerlidir. Önerilen bir model, endüstriyel alanın topografyasının, hassas tesislerin özelliklerinin ve mevcut bariyerlerin olasılık hesaplamalarına dahil edildiği bir olay ağacına dayanmaktadır.

**Tablo 1.** Artan faktörler ve beklenen ikincil senaryolar [39].

Birincil senaryo	Sorun iletme vektörü	Beklenen ikincil senaryo
<b>Havuz yangını</b>	Radyasyon, yangın çarpması	Jet yangını, havuz yangını, BLEVE, toksik salınım
<b>Jet ateşi</b>	Radyasyon, yangın çarpması	Jet yangını, havuz yangını, BLEVE, toksik salınım
<b>Ateş topu</b>	Radyasyon, yangın çarpması	Tank ateşi
<b>Flaş ateşi</b>	Yangın çarpması	Tank ateşi
<b>Mekanik patlama</b>	Parçalar, aşırı basınç	Yok
<b>Kapalı patlama</b>	Aşırı basınç	Yok
<b>BLEVE</b>	Parçalar, aşırı basınç	Yok
<b>Buhar Bulutu Patlaması (VCE)</b>	Parçalar, aşırı basınç	Yok
<b>Toksik salınım</b>	Konsantrasyon	Yok

### 2.3.2. Boru hatları ve dominolar

Bir diğer nokta da paralel boru hatlarındaki domino etkileridir. Bu etkiler, kimya fabrikalarında olanlardan farklıdır. Korozyon burada çok önemli bir faktördür ve birincil senaryo tarafından oluşturulan delik veya kraterde bitişik bir boru hattı bulunuyorsa bir domino etkisi meydana gelebilir. Bitişik boru hatları zeminle korunmaktadır, bu nedenle paralel boru hatları arasında 10 m'lik bir mesafe yeterli görünmektedir [41].

### 2.3.3. Risk yönetimi

Bu üçüncü dönemde, birincil ve ikincil domino senaryolarını etkileyebilecek veya kontrol edebilecek bariyerlere ve risk yönetimine daha fazla önem verilmiştir. Risk analizi araştırmacıların büyük ilgisini çekmiştir ve risk azaltma gibi konular önem kazanmıştır. Endüstriyel kimya parklarında risk yönetimi bilgi alışverişi ile başlar. İkinci dönemde bir küme konseyinin planlanması önerilmektedir. Bu çağrı, karar verme için oyun-teorik yaklaşımında olduğu gibi [42] tekrarlanır. Acil durum müdahaleleri ve domino etkilerinin yayılmasını önlemede veya geciktirmede güvenlik bariyerlerinin etkinliği, risk yönetiminin önemli unsurlarıdır ve oldukça yeni bir domino etkileri araştırma hattıdır. Yangından kaynaklanan domino etkilerindeki bu tepkilerin ve verimliliklerin modellenmesi, Zamanlanmış Renkli Hibrit Petri ağları (TCHPN) kullanılarak test edilmektedir. Ayrıca, içsel bir güvenlik yaklaşımı da dahil olmak üzere potansiyel domino kurulumları ve ekipmanları için indekslere sahip Bayes ağlarına dayalı bir karar modeli tanıtılmıştır. Bu model, bariyerlerin

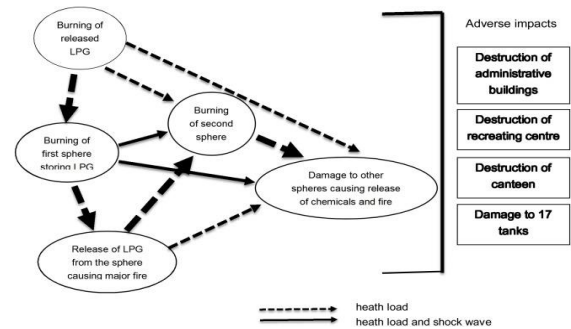
yerleştirilmesi gereken yerlerde karar vericileri desteklemektedir. Önlemlerin ve bariyerlerin sınıflandırılmasına ihtiyaç oluşturur. Miktar belirlemeye odaklanarak etkinliği de dahil olmak üzere mevcut engellerin başarısız olma olasılığı, ele alınır. Kullanılan sınıflandırma, ikinci dönemdeki sınıflandırmayla (doğası gereği güvenli tasarımlar, pasif bariyerler, aktif bariyerler ve prosedür gereği bariyerler) aynıdır.

## 2.4. Orta ve Güney Doğu Asya

Orta ve Güneydoğu Asya'daki domino etkilerine yönelik araştırmalar, Avrupa'da yapılan araştırmalara göre daha yakın bir tarihe aittir. Flixborough'daki en büyük kaza, yetmişli yıllarda Batı ülkelerinde domino etkileri üzerine yapılan araştırmalar için kırılma noktasıdır. Hindistan'da, 1990'ların sonunda Vishakhapatnam yakınlarındaki bir rafineride meydana gelen büyük bir kaza, Orta ve Güney Doğu Asya'da benzer bir rol oynamıştır. Komşu ülkelerinden biri olan Çin, bölgedeki diğer ülkelere kıyasla daha hızlı büyüyen bir kimya ve petrokimya sektörlerine sahiptir. Bu sektörler, özellikle kıyı bölgelerinde ve büyük nüfus merkezlerinin yakınında kimyasal kümeler halinde organize edilmiştir. Bu sektörlerdeki büyük kazalara rağmen, bu kazalar Hindistan, Vishakhapatnam'daki domino kazası ile benzer bir rol oynamıyor gibi görünmektedir.

### 2.4.1. Hindistan'da domino etkisi olan büyük kazalar

Hindistan'da, Bengal Körfezi'ndeki Andrah Pradesh eyaletindeki bir metropol olan Vishakhapatnam yakınlarındaki 40 yıllık Hindustan Petroleum Corporation Limited (HPLC) rafinerisinde 1997 yılında dahili domino etkilerine sahip büyük bir kaza meydana gelmiştir. Korozyonun neden olduğu bir LPG depolama tankının yanındaki boru hattındaki bir sızıntı, bir gaz bulutu oluşturmuştur. Gaz bulutu patlamasıyla büyük bir yangın çıkmış ve 15 dakika sonra bitişikteki bir depolama tankı patlayarak devamında birkaç tankı patlatmıştır (Şekil 4).



**Şekil 4.** Domino etkisi faktörlerini belirten papyon yöntemi [20]

Patlamanın sonucunda çok fazla yaralanma ve ölüm ve ayrıca çok büyük maddi hasar olmuştur. Kazanın analizi sırasında çeşitli eksiklikler bulundu. Bakım departmanından alınan korozyon raporlarına ve önceki büyük yangın madde emisyonlarına ilişkin başarısız eylemler gibi panik ve yönetim eylemsizliği mevcuttu.

Etkilenen binalar tank bölgesinden 30 m uzakta bulunmaktaydı ve patlamadan bir saat önce ilk sızıntının raporlanmasının ardından herhangi bir eylem yapılmamıştı. HPLC rafinerisindeki kaza, Domino Etki Analizi (DEA) yönteminin kurulumunun başlangıcı oldu. Bu yöntem, çeşitli yükselme faktörleri, aşırı basınç, parçalar ve ısı radyasyonu için literatürdeki eşik değerlerini savunmasız tesislerin özellikleriyle (kullanılan yapı malzemeleri, kimyasalların özellikleri ve miktarları, üniteler arasındaki mesafeler ve rüzgâr yönü) birleştirir. Bir çalışma, Vishakhapatnam'daki büyük kazayı ve Hindistan'daki diğer endüstriyel kazaları kapsamlı bir şekilde ele almış ve 1947'den 1997'ye kadar domino etkisi kazaların bir listesini sunmuştur [20]. HPLC rafinerisindeki büyük kazadan beş yıl önce, bir Hint risk analizi kurumunun domino etkileri, risk analizi modelleri ve bariyerleri hakkında ilk genel bakışı ortaya çıkarmıştır [43].

#### 2.4.2. Çin'de domino etkisi olan büyük kazalar

Çinli yazarlar için, yayınlarının uluslararası bilimsel literatürde yer alması daha uzun sürmektedir. Çin'deki hızlı sanayileşme birçok büyük kazaya neden olmaktadır. 2000 ve 2003 yılları arasında, her yıl 800 ila 1100 arasında ölümle birlikte, kimyasal maddeler içeren 400-600 kaza kayıt altına alınmıştır. Hangi katkının endüstriyel kimya parklarından geldiği takip edilememiştir. 2003'ten sonra bu rakamlar yarıya inmiş veya daha da azalmıştır. Yazarlar bu düşüşü yeni yürürlüğe giren mevzuata ve o yıldan itibaren doğrudan Merkezi Devlet Konseyi'ne rapor veren Çin Çalışma Müfettişliği'nin başka bir organizasyonuna bağlamaktadır [44]. Bazı yazarlar, Nanjing, Şangay yakınlarındaki endüstriyel kimya parklarında yürütülen risk analizlerini rapor etmektedir. Bu yazarlar, domino etkileri için QRA analizlerini veya patlayan tank parçalarının neden olduğu çoklu domino senaryoları için Monte Carlo simülasyonlarını uyarlamıştır [45]. Tıpkı Batı ülkelerinde olduğu gibi, genel yönetim ilkelerine kadar uzanan bir risk yönetimi yaklaşımına dikkat edilmektedir. Son olarak, Hintli yazarlarla kombinasyon halinde İran'dan kayda değer bir yayın edindiler. Domino etkilerinin sıklığını tahmin etmek için bir Monte Carlo Simülasyonu kullanılmaktadır. Dominoya duyarlı tesislerin varsayımsal bir kombinasyonu üzerine bir algoritma getirilir, bu durumda nafta, LPG ve ksilen içeren dört tank birbirinden farklı mesafelerdedir. Her seferinde farklı başlangıç koşullarına sahip birçok simülasyon sırasında, her kurulum için arıza veya arıza olmaması belirlenir. Simülasyon bir domino frekansı sağlar. Bu simülasyon tekniği, matematiksel olarak çok karmaşık olan veya sistemin davranışı hakkında bilginin eksik olduğu sistemler için hata frekansları hakkında ifadelerde bulunulabilme avantajına sahiptir [46].

### 3. SONUÇLAR

Dış domino etkileri bir yana, tek bir tesiste dahili bir domino etkisi nadir görülen bir olaydır. Bununla

birlikte, iki bitişik tesisin tehlikeli birimleri arasında yetersiz güvenlik mesafesine sahip yoğun kimyasal kümelerde, birindeki birincil yangın veya patlama, tek bir tesiste meydana gelebilecek şekilde diğerinde ikincil olanları tetikleyebilir. Bu nedenle, emniyet mesafesi yeterliliği ölçüğü, tek bir tesisin kurulumları için iki bitişik tesisin kurulumları ile aynı olacak, açıkça kurulumların tipine, boyutuna ve yükseltme vektörlerinin türüne ve büyüklüğüne bağlı olarak değişecektir.

Bu çalışmada, proses endüstrisindeki domino etkilerinin geçmişi ile ilgili olarak 1966–2018 dönemin genel bir bakış ile tartışılmıştır. Bu dönem, bilimde domino etkilerinin genel kabul görmüş bir tanımının olmadığı kısa bir dönemdir. İlk Seveso direktifinden önce hiçbir makale yokken domino etkilerine dair bilgiler hükümetlerin ve araştırma kurumlarının raporlarında yayınlanmış ve büyük domino felaketleri hakkında ayrıntılı vaka çalışmalarını sağlamıştır. Bu raporlar halihazırda tehlikeler, birincil ve ikincil merkezi olaylar, birincil ve ikincil domino senaryolarının kaba bir tanımını ve 1970'lerin başlarında sonuçları hakkında fikir vermektedir. Güvenlik alanındaki risk kavramı hala yenidir ve QRA, ortaya çıkan bir analiz modelidir. Bu modelde domino etkilerini azaltmak zordur ve bariyerlerin etkisi henüz dahil edilmemiştir.

İkinci dönemde, yükselen faktörlerin ve birincil ve ikincil merkezi olayların gözden geçirilmesiyle bilimsel literatürler oluşmaya başlamıştır. Ancak yine modellere bariyerlerin etkileri dahil edilmemiştir. Literatürde birincil senaryoların geliştirilmesine ilişkin bilgiler neredeyse yoktur. Makalelerin çoğu risk değerlendirmesi ile ilgiliyken, bu dönemde daha sonra risk yönetimi, küme güvenliği yönetimi, karar verme ve bariyerler yönünde bir dönüşüm gerçekleşmiştir. Acil durdurma (aktif), engelleme sistemleri (aktif), basınç ve/veya sıcaklık düşürme (aktif), inert gaz sağlayın (aktif), sprinkler (aktif), su baskın ve köpük sistemi (aktif), refrakter malzeme (pasif), yangına dayanıklı duvarlar veya paneller (pasif), mesafe (pasif), doğal güvenli tasarım (süreç yoğunlaştırma) gibi fiziksel bariyerler, tüm senaryolar üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir. Literatürde henüz rapor edilmemiş olan yönetim faktörleri, akıllı bariyerlerin varlığını ve kalitesini koruyan göstergeler ve eylemlerle ilgilidir.

Üçüncü periyotta yine domino olasılıklarını hesaplamak için matematiksel modellere odaklanılmıştır. Ancak aynı zamanda ilk dönemde de ifade edilen nicel yaklaşım eleştirisi vardır. Bu olasılık hesaplamalarının belirsizlikleriyle ilgilidir ve hesaplanan olasılıkların gerçeklikten çok inceleyen analistin vizyonu hakkında daha çok şey ifade ettiği öne sürülmektedir. Seveso yönergelerinin etkisi, bilimin genellikle kendi dinamiği olduğu için dikkat çekicidir. Güvenlik bilimi gibi uygulamalı bir disiplinde durum biraz daha az olabilir. Ancak domino etkileri üzerine yapılan araştırmanın siyasi, resmi ve özel karar vericilerle yakından bağlantılı olduğu sonucuna varılabilir.

Karar vermenin temel noktaları, artık yalnızca QRA'lara dayalı sonuçlara yol açmayan niceliksel modellerin sonuçlarıdır. Diğerlerinin yanı sıra, indeksler oluşturulur, Monte Carlo simülasyonları gerçekleştirilir ve Bayes ağları



ile analizler ve engellerin etkileri modellere dahil edilir. Karar vermede köklü bir değişim meydana gelmiştir. Örneğin, Hollanda'da, kuruluşların kümeler halinde organize edilip edilmediği kimyasal tesislerle ilişkili riskler hakkındaki tartışmalarda görülebilir. Güvenliğin esas olarak şirketlerin konusu olduğu ilk dönemin aksine, artık dikkatler sosyal olarak yönlendirilmektedir. Vatandaşlar endişelidir ve şeffaf ve anlaşılır bir risk yönetimi süreci şirketler için ciddi bir konu haline gelmiştir. Bu, yakın tarihli bir İngiliz çalışmasından da anlaşılmaktadır. Norveç'te yayınlanan bir çalışmada belirtildiği gibi, şirketler, bilim adamları ve vatandaşlar arasındaki tehlikeler ve riskler üzerine tartışmalar her zaman sorunsuz gitmez. Stavanger ve Oslo yakınlarındaki iki lokasyonda yaşayan sakinler, şirketler ve hükümet arasında risk değerlendirmesi konusunda bir çatışma ortaya çıkmıştır. LNG depolamasının çevresel risklerinin ihmal edilebilir düzeyde olduğu ve yakınında yaşayan sakinlere danışılmadan bir petrokimya kümelenmesinin yakınında bir kentsel genişleme planlanmıştır. Risk analizinin sonuçları hakkında halkla iletişim kurmamış ve konu ile ilgilenen bir şirket üniversiteye büyük miktarda para bağışlamıştır. Analizin sonuçları hakkında yorum yapan bir bilim insanı önce görevden alınmış ve daha sonra daha düşük bir pozisyonda işe tekrar alınmıştır.

Henüz gerçekleşmemiş bir dönüşüm, birincil senaryoların daha iyi anlaşılmasıdır. Domino etkilerinin tümü, bir veya daha fazla tehlikeyle başlar ve birincil senaryolar birincil bir merkezi olaya yol açar. Bu olaylar hakkında bilgi eksikliği, artış faktörlerinin olasılık hesaplamalarında oldukça belirsizlik oluşturur. Bu kısım, görüldüğünden çok daha fazla dikkat gerektirmektedir. Geçmişteki kazaların veri tabanları, bağlam bilgisi eksikliğinden dolayı güvenilir bir kaynak değildir. Büyük olasılıkla bu senaryolar ve merkezi olaylar şirkete özeldir. Bu konuyla ilgili araştırma, literatürden gelen olası senaryoların kapsamlı bir incelemesini ve fabrika yöneticileri ve operasyonel personel ile tartışmaları gerektirir. Yaklaşım olası değil, belirleyicidir ve mevcut bariyerler, mekanik ve enstrümantal uyarı sistemleri hakkında ayrıntılı bilgi sağlar. Yöneticiler ve operasyonel personel için olasılık bilgilerin anlaşılması zordur. Afet senaryolarının ilerlemesini izlemek için araçlara ve bariyerlerin kalitesini sağlamak için yönetim araçlarına ihtiyaçları vardır. Yakın zamanda hem mesleki hem de proses güvenliği alanında böyle bir yaklaşım geliştirilerek senaryoya özgü göstergeler üretilmiştir.

Sadece otuz yıl sonra Feyzin'de olduğu gibi Orta ve Güneydoğu Asya'da meydana gelen büyük bir kaza, domino etkileri konusunda daha fazla araştırmayı teşvik etmiştir. Bunun, bu etkilerin gelişmiş bir kontrolüne yol açıp açmadığı literatürden çıkarılması zordur. Çin'de, büyük kazalar ve bu kazalara bağlı ölüm oranlarıyla ilgili rakamlar bir rol oynamıştır. Bu ülkede domino etkilerle ilgili sürekli bir bilimsel çalışmalar mevcuttur.

#### 4. ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

#### Etik Onay

Bu çalışma için Etik Onay belgesi gerekli değildir.

#### KAYNAKLAR

- [1] Kourniotis, S., P., Kiranoudis, C., T., ve Markatos, N., C., "Statistical analysis of domino chemical accidents", *Journal of Hazardous Material*, (2000), 71, 1-3, 239 – 252.
- [2] Ronza, A., Felez, S., Darbra, R., M., Carol, S., Vilchez, J., A., ve Casal, J., "Predicting the frequency of accidents in port areas by developing event trees from historical analysis", *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, (2003), 16, 6, 551 – 560.
- [3] Gomez-Mares, M., Zarate, L., ve Casal, J., "Jet fires and the domino effect", *Fire Safety Journal*, (2008), 43, 8, 583 – 588.
- [4] Darbra, R., M., Palacios, A., ve Casal, J., "Domino effect in chemical accidents: Main features and accident sequences", *Journal of Hazardous Materials*, (2010), 183, 1-3, 565 – 573.
- [5] Abdolhamidzadeh, B., Abbasi, T., Rashtchian, D., ve Abbasi, S., A., "Domino effect in process-industry accidents-An inventory of past events and identification of some patterns", *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, (2011), 24, 5, 575 – 593.
- [6] Necci, A., Cozzani, V., Spadoni, G., ve Khan, F., "Assessment of domino effect: State of the art and research needs", *Reliability Engineering & System Safety*, (2015), 143, 3 – 18.
- [7] EPCA, "A paradigm shift: supply chain collaboration and competition in and between Europe's chemical clusters", *Teknik Rapor*, Brüksel, (2007).
- [8] Reniers, G., "How to increase multi-plant collaboration within a chemical cluster and its impact on external domino effect cooperation initiatives" *Bildiriler, 3rd International Conference on Safety and Security Engineering*, (2009), 379 – 388, Roma.
- [9] Reniers, G., "Multi-plant safety & security management in the chemical process industries" *Elektronik Baskı*, Weinheim, (2010).
- [10] Lees, F., "Loss prevention in the process industries" *Elektronik Baskı*, London, (1996).
- [11] Reniers, G., L., L., Dullaert, W., Ale, B., J., M., ve Soudan, K., "The use of current risk analysis tools evaluated toward preventing domino accidents" *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, (2005), 18, 3, 119 – 126.
- [12] Coevert, K., Groothuizen, Th Pasman, H., ve Trense, R., "Explosions of unconfined vapour clouds" *Bildiriler, 1st International loss prevention symposium*, (1974), 145 – 157, Delft.

- [13] Vörös, M., ve Honti, G., “Explosions of a liquid CO<sub>2</sub> vessel in a carbon dioxide plant”, *Bildiriler, 1st International loss prevention symposium*, (1974), 337 – 346, Delft.
- [14] Grim, W., “Case studies of fires in refineries and petrochemical plants”, *Bildiriler, 1st International loss prevention symposium*, (1974), 355 – 361, Delft.
- [15] Oostendorp, Y., Lemkowitz, S., Zwaard, W., Guljik, C., ve Swuste, P., “Introduction of the concept of risk within safety science in the Netherlands focusing on the years 1970-1990”, *Safety Science*, (2016), 85, 205 – 219.
- [16] Li, J., Reniers, G., Cozzani, V., ve Khan, F., “A bibliometric analysis of peer-reviewed publications on domino effects in the process industry”, *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, (2017), 49, 103 – 110.
- [17] Konsey Direktifi 82/501/EEC, “On the major accident hazards of certain industrial activities (Seveso I)”, *Teknik Rapor, Official Journal of the European Communities*, Brüksel, (1982).
- [18] Konsey Direktifi 96/82/EC, “On the control of major-accident hazards involving dangerous substances (Seveso II)”, *Teknik Rapor, Official Journal of the European Communities*, Brüksel, (1997).
- [19] Konsey Direktifi 2012/18/EU, “On the control of major-accident hazards involving dangerous substances (Seveso III)”, *Teknik Rapor, Official Journal of the European Communities*, Brüksel, (2012).
- [20] Khan, F., ve Abbasi, S., “Models of domino effect analysis in chemical process industries”, *Process Safety Progress*, (1998a), 17, 2, 107 – 123.
- [21] Török, Z., Ajtai, N., Turcu, A., ve Ozunu, A., “Comparative consequence analysis of the BLEVE phenomena in the context on land USE planning; case study: The Feyzin accident”, *Process Safety and Environmental Protection*, (2011), 89, 1, 1 – 7.
- [22] Buschmann, C., “Loss prevention and safety promotion in the process industry”, *Bildiriler, 1st International loss prevention symposium*, (1974), 362 – 369, Delft.
- [23] Hoiset, S., Hjertager, B., Solberg, T., ve Malo, K., “Flixborough revisited-an explosion simulation approach”, *Journal of Hazardous Materials*, (2000), 77, 1-3, 1 – 9.
- [24] Pietersen, C., M., “Analysis of the LPG-disaster in Mexico City”, *Journal of Hazardous Materials*, (1988), 20, 85 – 107.
- [25] Swuste, P., Groeneweg, J., Gulijk, C., Van Zwaard, W., ve Lemkowitz, S., “Safety management system from Tree mile island to Piper Alpha, a review in English and Dutch literature for the period 1979 to 1988”, *Safety Science*, (2018), 107, 224 – 244.
- [26] Lees, F., “Fire loss prevention in the process industries”, *Elektronik Baskı*, London, (1980).
- [27] Pate-Cornell, E., “Probabilistic risk analysis and safety regulation in chemical industry”, *Journal of Hazardous Materials*, (1987), 15, 1-2, 97 – 122.
- [28] Macgill, S., M., ve Snowball, D., J., “What use risk assessment”, *Applied Geography*, (1983), 3, 3, 171 – 192.
- [29] Antonioni, G., Spadoni, G., ve Cozzani, V., “Application of domino effect quantitative risk assessment to an extended industrial area”, *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, (2009), 22, 5, 614 – 624.
- [30] Cozzani, V., Gubinelli, G., ve Salzano, E., “Escalation thresholds in the assessment of domino accidental events”, *Journal of Hazardous Materials*, (2006), 129, 1-3, 1 – 21.
- [31] Khan, F., ve Abbasi, S., “DOMIFFFECT (DOMInoe FFECT): user-friendly software for domino effect analysis”, *Environmental Modelling & Software*, (1998b), 13, 2, 163 – 177.
- [32] Reniers, G., L., L., ve Dullaert, W., “DomPrevPlanningC: user-friendly software for planning domino effects prevention”, *Safety Science*, (2007), 45, 10, 1060 – 1081.
- [33] EPCA, “The role of clusters in the chemical industry”, *Teknik Rapor, Brüksel*, (2007a).
- [34] Heikkila, A., Malmen, Y., Nissila, M., ve Kortelainen, H., “Challenges in risk management in multi-company industrial parks”, *Safety Science*, (2010), 48, 4, 430 – 435.
- [35] Reniers, G., L., L., Dullaert, W., Ale, B., J., M., ve Soudan, K., “Developing an external domino accident prevention framework: Hazwim”, *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, (2005b), 18, 3, 127 – 138.
- [36] Reniers, G., L., L., “An external domino effects investment approach to improve cross-plant safety within chemical clusters”, *Journal of Hazardous Materials*, (2010b), 177, 1-3, 167 – 174.
- [37] Hendershot, D., “Inherently safer chemical process design”, *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, (1997), 10, 3, 151 – 157.
- [38] Hemmatian, B., Abdolhamidzadeh, B., Darbra, R., ve Casal, J., “The significance of domino effect chemical accidents”, *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, (2014), 29, 30 – 38.
- [39] Salzano, E., ve Cozzani, V., “Introducing external hazard factors in quantitative risk analysis”, *Revista de Inginieria*, (2012), 37, 50 – 56.
- [40] Kadri, F., Chatelet, E., ve Lalement, P., “The assessment of risk caused by fire and explosion in chemical process industry: A domino effect-based

- study”, *Journal of risk analysis and crisis response*, (2013), 3, 2, 66 – 76.
- [41] Ramirez, J., Pastor, E., Casal, J., ve Amaya, R., “Analysis of domino effect in pipelines”, *Journal of Hazardous Materials*, (2015), 298, 210 – 220.
- [42] Reniers, G., L., L., ve Amyotte P., “Prevention in the chemical and process industries”, *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, (2012), 25, 227 – 231.
- [43] Latha, P., Gautam, G., ve Raghavan, K., V., “Strategies for the quantification of thermally initiated cascade effects”, *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, (1992), 5, 1, 18 – 27.
- [44] Duan, W., Chen, G., Ye, Q., ve Chen, Q., “The situation of hazardous chemical accidents in China 200-2006”, *Journal of Hazardous Materials*, (2011), 186, 2-3, 1489 – 1494.
- [45] Sun, D., Jing, J., Zhang, M., Wang, Z., Zhang, Y., ve Cai, L., “Investigation of multiple domino scenarios caused by fragments”, *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, (2016), 40, 591 – 602.
- [46] Abdolhamidzadeh, B., Abbasi, T., Rashtchian, D., ve Abbasi, S., “A new method for assessing domino effect in chemical process industry”, *Journal of Hazardous Materials*, (2010), 182, 416–426.
- [47] Swuste, P., Nunen, K., Reniers, G., ve Khakzad, N., “Domino effects in chemical factories and clusters: An historical perspective and discussion”, *Process Safety and Environmental Protection*, (2019), 124, 18 – 30.