

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOJİK ASİT TÜREVİ MANNİCH BAZLARININ  
SENTEZİ VE İNSAN MELANOMA HÜCRELERİNE  
ETKİSİ İLE ANTİTİROZİN AZ AKTİVİTELERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Uzm. Ecz. Gülşah KARAKAYA**

**Farmasötik Kimya Programı**

**DOKTORA TEZİ**

**ANKARA**

**2017**

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOJİK ASİT TÜREVİ MANNİCH BAZLARININ  
SENTEZİ VE İNSAN MELANOMA HÜCRELERİNE  
ETKİSİ İLE ANTİTİROZİN AZ AKTİVİTELERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Uzm. Ecz. Gülşah KARAKAYA**

**Farmasötik Kimya Programı  
DOKTORA TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Mutlu AYTEMİR**

**ANKARA  
2017**

**Kojik Asit Türevi Mannich Bazlarının Sentezi ve İnsan Melanoma Hücrelerine Etkisi ile Antitirozinaz Aktivitelerinin Araştırılması**  
**Uzm. Ecz. Gülşah KARAKAYA**

Bu çalışma 21.06.2017 tarihinde, jürimiz tarafından “Farmasötik Kimya Programı” ’nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** *Prof. Dr. Ayla BALKAN*  
*(Hacettepe Üniversitesi)*



**Tez Danışmanı:** *Prof. Dr. Mutlu AYTEMİR*  
*(Hacettepe Üniversitesi)*



**Üye:** *Prof. Dr. Selma SARAÇ TARHAN*  
*(Hacettepe Üniversitesi)*



**Üye:** *Prof. Dr. Erden BANOĞLU*  
*(Gazi Üniversitesi)*



**Üye:** *Doç. Dr. Burcu ÇALIŞKAN*  
*(Gazi Üniversitesi)*



**ONAY**

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

Tarih 19 Temmuz 2017

Prof. Dr. Diclehan ORHAN  
 Enstitü Müdürü



## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

**Tezimin 21.06.2017 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

21. / 06. / 2017

  
Gülşah KARAKAYA

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Prof. Dr. Mutlu AYTEMİR danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.



*Uzm. Ecz. Gülşah KARAKAYA*

## TEŞEKKÜR

Doktora tezimin hazırlanmasında ve her aşamasında bana yol gösteren ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, zorluklarla karşılaştığımda hep yanımda olan sevgili hocam Prof. Dr. Mutlu Dilsiz AYTEMİR'e,

Aramızdan vakitsiz ayrılan kıymetli hocam başta Prof. Dr. Ünsal ÇALIŞ olmak üzere, Farmasötik Kimya eğitimimin her aşamasında bana katkı sağlayan tüm değerli hocalarıma,

Kütle spektrumlarının alınmasındaki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Erhan PALASKA'ya, NMR spektrumlarının alınmasındaki yardımlarından dolayı Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Hakan GÖKER'e,

Biyokimya Anabilim Dalı'nda yürütülen çalışmalardan dolayı Doç. Dr. Ayşe ERCAN ve Uzm. Bio. Selin ÖNCÜL'e,

Tüm eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olan aileme,

Desteği ve sevgisi için eşime,

Doktora tez döneminde aramıza katılan, varlıklarıyla bana neşe ve dayanma gücü veren oğlum MAHMUT METE ve kızım NURTEN ECE'ye,

Çok teşekkür ederim.

## ÖZET

**Karakaya, G., Kojik Asit Türevi Mannich Bazlarının Sentezi ve İnsan Melanoma Hücrelerine Etkisi ile Antitirozinaz Aktivitelerinin Araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Programı Doktora Tezi, Ankara, 2017.** Malign melanom; cilt, göz ve saçın rengini belirleyen melanin pigmentini üreten melanositlerin malign tümörü olup görülme sıklığı hızla artış gösteren ve mortalitesi yüksek olan bir kanser türüdür. Tirozinaz ise melanositlerde melanin oluşumundan sorumlu enzim olup ciltteki pigmentasyon ile meyve ve sebzelere kararmalardan sorumludur. Anormal düzeyde melanin oluşumu, malign melanom başta olmak üzere hiperpigmentasyon, postinflamatuar pigmentasyon, melazma ve cilt yaşlanması süreci gibi sorunların nedenidir. Tirozinazın inhibisyonu melanin üretimini büyük ölçüde etkilemektedir. Kojik asit (5-hidroksi-2-hidroksimetil-4H-piran-4-on) antitirozinaz özelliği çok iyi bilinen ve yaygın olarak kullanılan bir bileşiktir. Ancak dayanıklılık ve ciltte tahriş sorunlarından dolayı, uygun hidrofilik ve lipofilik dengeye sahip türevlerin ve daha iyi endüstriyel uygulamaların elde edilmesi bir gereksinim olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu amaçla, tez kapsamında kojik asit üzerinde modifikasyonlar yapılarak 2-sübstitüe-3-hidroksi-6-hidroksimetil/klorometil/metil/morfolinometil/piperidinometil/pirolidinometil-4H-piran-4-on yapısında kırk sekiz adet yeni bileşik sentezlenmiş, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, kütle spektroskopisi ve elemental analiz yöntemleriyle yapıları aydınlatılmıştır. Ayrıca, bu bileşiklere yapıca benzer ve daha önce yayın haline getirilen bileşikler de ilave edilerek toplamda altmış adet bileşiğin mantar tirozinaz inhibisyonları ile A375 insan melanoma hücreleri, HGF-1 gingival hücre hattı ve MRC-5 hücre hattı üzerinde sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Etkin olan bazı bileşiklerin A375 hücrelerinde melanogenez üzerine etkilerini belirlemek için spektrofotometrik yöntem kullanılarak hücrede melanin içeriği incelenmiştir. Böylelikle antitirozinaz etki, antikarsinojen etki ve melanogenez inhibisyonu arasındaki ilişki aydınlatılmaya çalışılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Kojik asit, Mannich reaksiyonu, mantar tirozinazı, melanogenez, sitotoksisite

*Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi (Proje No: THD-2015-7392) ve TÜBİTAK (Proje No: 315S067) tarafından desteklenmiştir.*

## ABSTRACT

**Karakaya, G., Synthesis of Mannich Bases of Kojic Acid and Research of Their Antityrosinase Activity and Effects on Human Melanoma Cells. Hacettepe University Health Sciences Institute Ph.D. Thesis in Pharmaceutical Chemistry, Ankara, 2017.** Malign melanoma is malign tumour of melanin pigment, which gives colour of skin, eyes and hair. It has an increasing rate of incidence and high mortality. Tyrosinase is the enzyme responsible for melanin production in melanocytes and thereby pigmentation of skin and browning of fruits and vegetables. Abnormal production of melanin causes many problems, especially malign melanoma, hyperpigmentation, post-inflammatory pigmentation, melasma and skin aging. Inhibition of tyrosinase effects melanin production on a large scale. Kojic acid (5-hydroxy-2-hydroxymethyl-4*H*-pyran-4-one) is a commonly used compound and well known with its antityrosinase property. However, there is need for better industrial applications and derivatives having optimal hydrophilic and lipophilic balance. For this purpose, within the scope of the thesis new fortyeight compounds having structure of 2-substituted-3-hydroxy-6-hydroxymethyl/chloromethyl/methyl/morpholinomethyl/piperidinylmethyl/pyrrolidinylmethyl-4*H*-pyran-4-one were synthesized by modifying kojic acid, their structures were identified by using techniques IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, mass spectroscopy and elementary analysis. Also, some compounds having similar structure and published as a manuscript before, were included the study and totally sixty compounds examined for their mushroom tyrosinase inhibition and cytotoxic effects on A375 human melanoma cells, HGF-1 gingival cell line and MRC-5 cell line. Some of active compounds were also examined for indicating their effects on melanogenesis via intra-cellular melanin content in A375 cells by using a spectrophotometric method. Hereby, the relationship between antityrosinase activity, anticarcinogenic activity and melanogenesis inhibition was tried to clarified.

**Keywords:** Kojic acid, Mannich reaction, mushroom tyrosinase, melanogenesis, cytotoxicity

*This study is supported by Hacettepe University Scientific Research Fond (Project no: THD-2015-7392) and TÜBİTAK (Project No:315S067).*



## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xix
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	10
2.1. Kimyasal Çalışmalar	10
2.1.1. Kojik Asit ve Türevlerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	10
2.1.2. Klorokojik Asit ve Türevlerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	32
2.1.3. Allomaltol ve Türevlerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	42
2.2. Spektral Özellikler	47
2.2.1. IR Spektrumları	47
2.2.2. <sup>1</sup> H-NMR Spektrumları	47
2.2.3. <sup>13</sup> C-NMR Spektrumları	47
2.2.4. Kütle Spektrumları	48
2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	49
2.3.1. Mantar Tirozinaz İnhibisyonu	49
2.3.2. Melanogenez ve Malign Melanom	66
2.3.3. Melanom Hücrelerine Sitotoksik Etkiler	68
2.3.4. Diğer Biyolojik Aktiviteler	72
2.4. Biyolojik Aktivite Tayin Yöntemleri	76
2.4.1. Mantar Tirozinaz İnhibisyonu	76
2.4.2. Hücre Kültürü ve Sitotoksosite Çalışmaları	77
2.4.3. Melanogenez Ölçüm Yöntemi	78

<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	79
3.1. Kimyasal Çalışmalar	79
3.1.1. Gereç	79
3.1.2. Sentez Yöntemleri	79
3.1.3. Analitik Yöntemler	80
3.1.4. Spektrometrik Kontroller	80
3.1.5. Elemental Analizler	81
3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	82
3.2.1. Mantar Tirozinaz Enzim İnhibisyonunun Ölçülmesi	82
3.2.2. Hücre Kültürü Çalışmaları ve SRB Deneyi	83
3.2.3. Melanogenez Ölçüm Yöntemi	85
<b>4. BULGULAR</b>	86
4.1. Kimyasal Çalışmalar	84
4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	140
4.2.1. Mantar Tirozinaz İnhibisyonu	140
4.2.2. Hücre Kültürü ve Sitotoksosite Çalışmaları	147
4.2.3. Melanogenez Çalışmaları	167
<b>5. TARTIŞMA</b>	168
5.1. Kimyasal Kısım	168
5.2. Spektral Kısım	174
5.2.1. IR Spektrumları	174
5.2.2. <sup>1</sup> H-NMR Spektrumları	175
5.2.3. <sup>13</sup> C-NMR Spektrumları	179
5.2.4. Kütle Spektrumları	181
5.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	186
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	194
<b>7. KAYNAKLAR</b>	195
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b>	

## SİMGELELER ve KISALTMALAR

ATCC	American Type Culture Collection
CDI	Carbonyldiimidazole
CIR	The Cosmetic Ingredient Review
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMF	Dimetilformamit
DMSO	Dimetilsülfoksit
EC	Enzyme Commission
EMA	European Medicines Agency
ESI	Elektrosprey İyonizasyon
FBS	Fetal Bovine Serum
FDA	Food and Drug Administration
HMDSO	Hexamethyldisiloxane
HGF-1	Human Gingival Fibroblast-1
IC <sub>50</sub>	Inhibitor Concentration
L-DOPA	L-3,4-dihidroksifenilalanin
MRC-5	Medical Research Council cell strain 5
NCI	National Cancer Institute
PMB	<i>para</i> -Metoksibenzil
ROS	Reactive Oxygen Species
SCCP	Scientific Committee on Consumer Products
SEER	Surveillance, Epidemiology and End Results
SRB	Sülforodamin B
TCA	Trikloroasetik asit
TFA	Trifloroasetik asit
THF	Tetrahidrofuran
THP	Tetrahidropiran

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1.1. Malign melanom tedavisinde kullanılan bazı ilaç etkin maddeleri.	2
1.2. Doğa kaynaklı ve sentetik bazı tirozinaz inhibitörleri.	3
1.3. Bileşiklerin genel sentez şeması.	7
2.1. Kojik asitin yapısı.	10
2.2. Çeşitli hidroksipiron türevleri.	11
2.3. 3-Hidroksi-4 <i>H</i> -piran-4-on halkasının tautomerik şekilleri.	11
2.4. Kojik asitin asitliğinin bazı bileşiklerle karşılaştırılması.	12
2.5. Kojik asitin pK <sub>a</sub> değerleri.	12
2.6. Kojik asitin moleküller arası hidrojen bağları ve bağ uzunlukları.	13
2.7. Kojik asitten hareketle klorokojik asit ve allomaltolün eldesi.	14
2.8. Kojik asit türevi Mannich bazlarının sentezi.	14
2.9. Kojik asitin piperazinilkinolon türevleri ile Mannich reaksiyonu.	15
2.10. Kojik asitin <i>N,N</i> -dietiletilendiamit ile Mannich reaksiyonu.	15
2.11. Kojik asitin çeşitli aminoasitlerle Mannich reaksiyonu.	16
2.12. Kojik asitin 1,4,7-triazasiklononan Mannich reaksiyonu.	17
2.13. Sıcaklığın Mannich reaksiyonuna etkisi.	17
2.14. Kojik asitin 2-etilhekzanal ile reaksiyonu.	17
2.15. Kojik asitten aldol reaksiyonu sonucu elde edilen ürünler.	18
2.16. Piridinon türevi Mannich bazının sentezi.	18
2.17. Kojik asitten piridinon türevlerinin sentezi.	18
2.18. Kojik asitten hareketle piridin karboksilat türevinin sentezi.	18
2.19. Kojik asitten piridinon sentezi.	19
2.20. Kojik asitten hareketle piridintiyon türevlerinin sentezi.	20
2.21. 4-Okso-1,4-dihidropiridazin türevinin sentezi.	20
2.22. Kojik asitten dikarboksilik asit türevlerinin sentezi.	20
2.23. Kojik asitten kiral türevlerin sentezi.	21
2.24. Kojik asitten hareketle antidiyabetik etkili indolil türevlerinin sentezi.	21
2.25. Kojik asitten funikon türevlerinin sentezi.	22
2.26. Kojik asitin pironil akrilik asitle esterleştirilmesi.	22
2.27. Kojil-APPA türevlerinin sentezi.	22
2.28. Enolik hidroksil grubunun O-alkilasyonuna örnek.	23
2.29. Enolik hidroksil grubunun β-diazopropiyonatlar O-alkilasyonu.	23

2.30.	Sinamat türevi depigmentasyon bileşikleri.	23
2.31.	Kojik asitten hareketle nitril türevlerinin sentezi.	24
2.32.	Antikanser etkili kojik asit türevlerinin sentezi.	24
2.33.	Tirozinaz inhibitörü kojik asit türevlerinin sentezi.	25
2.34.	Kojik amin dimerlerinin sentezi.	26
2.35.	Kojik asit esterleri.	26
2.36.	Kojik asit-tripeptit yapısındaki bileşiklerin sentezi.	27
2.37.	Kojik asit-fenilalanin amit yapısındaki bileşiklerin sentezi.	27
2.38.	Kojik asit türevi doğal olmayan $\alpha$ -aminoasitin sentezi.	28
2.39.	Kojik asitin Ru komplekslerinin sentezi.	29
2.40.	Kojik asit vanadyum kompleksinin yapısı.	30
2.41.	Kojik asitin çeşitli metallerle komplekslerinin sentezi.	30
2.42.	Kojik asitin NO dağıtıcı özellikteki kompleksi.	31
2.43.	Kojik asitin radyoprotektör özellikteki kompleksleri.	32
2.44.	Klorokojik asitin sentezi.	32
2.45.	Klorokojik asitin nükleofilik süstitüsüyonu.	33
2.46.	Klorokojik asitin tautomerleri.	33
2.47.	Mannich bazı yapısı taşıyan türevler.	34
2.48.	Klorokojik asitten hareketle Mannich bazlarının sentezi.	34
2.49.	Klorokojik asitten hareketle kojik aminin sentezi.	34
2.50.	Klorokojik asitten hareketle pestisit/insektisit türevlerin sentezi.	35
2.51.	Klorokojik asitten hareketle kükürtlü türevlerin sentezi.	35
2.52.	Klorokojik asitin çeşitli nükleofillerle reaksiyonu.	36
2.53.	6-Bromoklorokojik asitin sentezi.	36
2.54.	Klorokojik asit türevi kondanse bileşiklerin sentezi.	37
2.55.	Klorokojik asit türevi imidazol ve benzimidazol tuzlarının sentezi.	37
2.56.	2-Merkapto-1-metilimidazol türevlerinin sentezi.	38
2.57.	Çeşitli tirozinaz inhibitörlerinin sentezi.	39
2.58.	Hipoglisemik etkili türevlerin sentezi.	40
2.59.	Klorokojik asitin Fe ile kompleksi.	41
2.60.	Klorokojik asitin kitosanla konjugasyonu.	41
2.61.	Allomaltolün sentezi.	42
2.62.	İyodokojik asitten hareketle allomaltol eldesi.	42
2.63.	Allomaltol türevi Mannich bazları.	43

2.64.	Allomaltol türevi ve piridinon türevi Mannich bazları.	43
2.65.	Allomaltol türevlerinin Claisen düzenlenmesi.	44
2.66.	Allomaltolün iyonik sıvılardaki reaksiyonlarına örnekler.	44
2.67.	Allomaltolden piridinonlara geçiş.	45
2.68.	Analjezik ve antiinflamatuvar etkili piridinon türevleri.	45
2.69.	Allomaltol türevlerinin Ru kompleksleri.	46
2.70.	Allomaltol ve tiyoallomaltolün Mannich bazlarının kompleksleri.	46
2.71.	Allomaltolün Rh kompleksleri.	47
2.72.	Kojik asitin moleküler parçalanması.	48
2.73.	Tirozinaz enziminin binükleer bakır aktif merkezi (C).	50
2.74.	Melanin pigmentinin biyosentetik yolağı.	50
2.75.	Tirozinaz enziminin öngörülen katalitik mekanizması.	51
2.76.	Güncel sentetik tirozinaz inhibitörleri.	53
2.77.	Güncel doğa kaynaklı tirozinaz inhibitörleri.	55
2.78.	Antitirozinaz etkili bazı kojik asit türevleri.	57
2.79.	Kojil-APPA.	58
2.80.	Kojik asit-peptit türevi.	58
2.81.	Etilen köprüsü içeren tirozinaz inhibitörü.	59
2.82.	Tirozinaz inhibitörü tasarımına örnek.	60
2.83.	Kojik asit-metimazol türevi.	60
2.84.	Kojik asit-aminoasit amit türevi.	61
2.85.	Kükürt içeren tirozinaz inhibitörleri.	61
2.86.	<i>Bacillus subtilis</i> ile elde edilen kojik asit esteri.	61
2.87.	Bazı ester türevlerinde yapı-etki ilişkisi.	62
2.88.	Troloks grubu içeren kojik asit türevi.	62
2.89.	Kojik asit monooleat.	63
2.90.	Piridinon türevi tirozinaz inhibitörü.	63
2.91.	Piridinon türevinin aminoasit konjugatı.	63
2.92.	Allomaltol türevi esterler.	64
2.93.	Kojik asit-fenilalanin amit yapısındaki bileşiğın metal kompleksi.	64
2.94.	Melanosit ve keratinosit hücrelerinin derideki gösterimi.	66
2.95.	Kojik asitin stiril ve kinolin türevleri.	72
2.96.	Dopakinonun eldesi.	77
3.1.	Işık mikroskopunda görüntülenen A375 hücreleri (10X).	83

<b>3.2.</b>	Işık mikroskopunda görüntülenen HGF-1 hücreleri (10X).	84
<b>4.1.</b>	Mantar tirozinazının artan kojik asit dozlarına karşı inhibisyon grafiği.	140
<b>4.2.</b>	Bileşik <b>3</b> ve kojik asitin mantar tirozinazı üzerine inhibitör etkisi.	140
<b>4.3.</b>	Bileşik <b>43, 45, 53, 55</b> ve klorokojik asitin mantar tirozinazı üzerine inhibitör etkisi.	141
<b>4.4.</b>	Bileşik <b>21, 23, 25</b> ve allomaltolün mantar tirozinazı üzerine inhibitör etkisi.	141
<b>4.5.</b>	Mantar tirozinaz inhibisyonu yüksek olan Bileşik <b>3, 23, 53</b> 'ün kojik asit ile inhibisyon etkisinin kıyaslanması.	142
<b>4.6.</b>	Vemurafenibin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	149
<b>4.7.</b>	Vemurafenibin HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	149
<b>4.8.</b>	Vemurafenibin A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	149
<b>4.9.</b>	Bileşik <b>13</b> 'ün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	150
<b>4.10.</b>	Bileşik <b>13</b> 'ün HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	150
<b>4.11.</b>	Bileşik <b>13</b> 'ün A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	150
<b>4.12.</b>	Bileşik <b>43</b> 'ün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	151
<b>4.13.</b>	Bileşik <b>43</b> 'ün HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	151
<b>4.14.</b>	Bileşik <b>43</b> 'ün A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	151
<b>4.15.</b>	Bileşik <b>14</b> 'ün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	152
<b>4.16.</b>	Bileşik <b>14</b> 'ün HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	152
<b>4.17.</b>	Bileşik <b>14</b> 'ün A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	152
<b>4.18.</b>	Bileşik <b>18</b> 'in A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	153
<b>4.19.</b>	Bileşik <b>18</b> 'in HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	153
<b>4.20.</b>	Bileşik <b>18</b> 'in A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	153
<b>4.21.</b>	Bileşik <b>53</b> 'ün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X)	154

görüntüleri.	
<b>4.22.</b> Bileşik <b>53</b> 'ün HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	154
<b>4.23.</b> Bileşik <b>53</b> 'ün A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	154
<b>4.24.</b> Bileşik <b>11</b> 'in A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	155
<b>4.25.</b> Bileşik <b>11</b> 'in HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	155
<b>4.26.</b> Bileşik <b>11</b> 'in A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	155
<b>4.27.</b> Bileşik <b>20</b> 'nin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	156
<b>4.28.</b> Bileşik <b>20</b> 'nin HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	156
<b>4.29.</b> Bileşik <b>20</b> 'nin A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	156
<b>4.30.</b> Bileşik <b>17</b> 'nin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	157
<b>4.31.</b> Bileşik <b>17</b> 'nin HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	157
<b>4.32.</b> Bileşik <b>17</b> 'nin A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	157
<b>4.33.</b> Bileşik <b>3</b> 'ün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	158
<b>4.34.</b> Bileşik <b>3</b> 'ün HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	158
<b>4.35.</b> Bileşik <b>3</b> 'ün A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	158
<b>4.36.</b> Bileşik <b>58</b> 'in A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	159
<b>4.37.</b> Bileşik <b>58</b> 'in HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	159
<b>4.38.</b> Bileşik <b>58</b> 'in A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	159
<b>4.39.</b> Bileşik <b>23</b> 'ün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	160
<b>4.40.</b> Bileşik <b>23</b> 'ün HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	160
<b>4.41.</b> Bileşik <b>23</b> 'ün A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	160



4.42.	Klorokojik asitin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	161
4.43.	Klorokojik asitin HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	161
4.44.	Klorokojik asitin A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.	161
4.45.	Kojik asitin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	162
4.46.	Kojik asitin A375 hücrelerindeki % canlılık grafiği.	162
4.47.	Allomaltolün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	163
4.48.	Allomaltolün A375 hücrelerindeki % canlılık grafiği.	163
4.49.	Dakarbazinin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	164
4.50.	Dakarbazinin A375 hücrelerindeki % canlılık grafiği.	164
4.51.	Temozolomidin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	165
4.52.	Temozolomidin A375 hücrelerindeki % canlılık grafiği.	165
4.53.	Lenalidomidin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	166
4.54.	Fotemustinin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.	166
4.55.	Bazı bileşiklerin A375 hücrelerinde melanin içeriğinin kontrol grubu ve vemurafenible kıyaslanması.	167
5.1.	Klorokojik asitin sentez mekanizması.	169
5.2.	Klorokojik asit ve allomaltolün oksidasyon sayıları.	170
5.3.	Mannich bazlarının sentez mekanizması.	171
5.4.	Morfolin, piperidin ve pirolidin türevlerinin sentezi.	172
5.5.	Morfolin, piperidin ve pirolidin türevlerinin sentez mekanizması.	173
5.6.	Bileşik 23'e ait FT-IR spektrumu.	174
5.7.	Bileşik 23'ün DMSO-d <sub>6</sub> içinde alınan <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.	177
5.8.	Bileşik 23'ün fenil hidrojenlerine ait pikler ve yarımları.	178
5.9.	Bileşik 33, 43 ve 53'e ait <sup>1</sup> H-NMR spektrumlarındaki	179

aromatik bölgeler.	
<b>5.10.</b> Bileşik <b>23</b> 'ün DMSO-d <sub>6</sub> içinde alınan <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.	180
<b>5.11.</b> Bileşik <b>23</b> 'ün DMSO-d <sub>6</sub> içinde alınan <sup>13</sup> C-NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri.	181
<b>5.12.</b> Bileşik <b>1</b> 'in ESI-MS tekniği ile alınan kütle spektrumu.	182
<b>5.13.</b> Bileşik <b>1</b> 'in ESI-MS kütle spektrumunda öngörülen parçalanma ürünleri.	183
<b>5.14.</b> Bileşik <b>53</b> 'ün ESI-MS tekniği ile alınan kütle spektrumu.	184
<b>5.15.</b> Bileşik <b>30</b> ve <b>40</b> 'in ESI-MS tekniği ile alınan kütle spektrumları.	185
<b>5.16.</b> Tez kapsamındaki bileşiklerin genel yapısı.	186
<b>5.17.</b> Tirozinaz inhibisyonunda en aktif bileşikler.	188
<b>5.18.</b> Sentezlenen bileşiklerin mantar tirozinaz enzim inhibisyonu IC <sub>50</sub> değerlerinin grafikte gösterimi (µM).	189

**TABLolar**

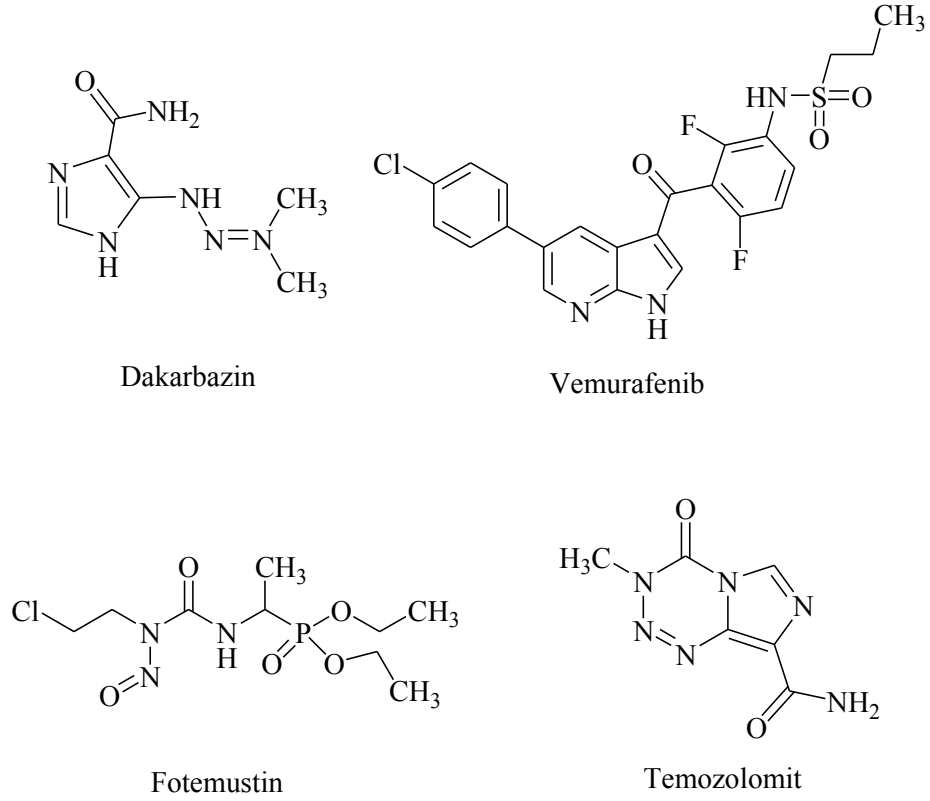
<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
<b>1.1.</b>	Bileşiklerin yapıları, kapalı formülleri, moleköl ağırlıkları ve erime dereceleri.	8
<b>4.1.</b>	Bazı bileşikler, klorokojik asit ve allomaltölün 492 nm'de ölçülen absorban, %inhibisyon ve ortalama değerleri	142
<b>4.2.</b>	Sentezlenen bileşiklerin mantar tirozinaz enzim inhibisyonu IC <sub>50</sub> değerleri (µM)	146
<b>4.3.</b>	Bileşiklerin A375 hücrelerine karşı sitotoksisite IC <sub>50</sub> değerleri (µM)	147
<b>4.4.</b>	Bileşiklerin A375, HGF-1 ve MRC-5 hücre hatlarına karşı sitotoksisite IC <sub>50</sub> değerleri (µM)	148
<b>5.1.</b>	Tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin yapılarının ve numaralarının toplu gösterilişi.	193

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Melanin, cilt renginden sorumlu pigment olup ultraviyole (UV) ışınlarının hasarına karşı cildin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. İnsanlar dışında mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlara kadar birçok canlıda bulunan önemli pigmentlerden biridir. Melanosit adlı hücrelerde üretilip melanozomlarda depolanmakta ve keratinosit adlı hücrelerin çekirdekleri üzerinde toplanmaktadır. Cildi, güneş ışınlarını absorbe ederek ve reaktif oksijen türlerini (ROS) uzaklaştırarak fotokarsinogeneze karşı korumaktadırlar (1-4). Dolayısıyla bu pigmentler, güneş ışığının UV ışınmasına aşırı maruziyet sonucu meydana gelen melanin üretiminde patolojik artış gibi zararlı etkilere karşı önemli savunma rolü üstlenmektedir (5).

Pek çok hastalık durumunda, melanositlerin fonksiyonlarının bozulması sonucu melanin biyosentezinde değişiklikler meydana gelmektedir. Buna bağlı olarak hiperpigmentasyon veya depigmentasyon denilen durumlar oluşabilmektedir. Melanin pigmentasyonunun aşırı düzeyleri, hiperpigmentasyon içeren yaşa bağlı lentigo, melazma, postinflamatuar melanoderma, çil ve yaşlılık lekeleri gibi estetik sorunları da beraberinde getiren çeşitli dermatolojik bozukluklara neden olmaktadır (4, 6).

Malign melanom, melanositler ve nevüs (ben) hücrelerinin malign tümörü olup deri kanserlerinin yaklaşık %2'sini oluşturmaktadır. Tüm dünyada görülme sıklığı hızla artış gösteren ve mortalitesi yüksek olan bir kanser türüdür. Günümüzde melanomun standart tedavisinde dakarbazin, temozolomit, fotemustin, sisplatin, karboplatin, vinka alkaloidleri ve taksanlar gibi kemoterapötik ajanlar kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçların hem sınırlı etkileri hem de önemli yan etkilerinden dolayı, son zamanlarda bunların yanı sıra interlökin-2 ve interferonlar da tedavi rejimlerinde yer almaktadır (7). Avrupa İlaç Dairesi-European Medicines Agency (EMA) 2011 yılında ipilimumab, 2012 yılında da vemurafenib etkin maddelerini içeren ilaçları, melanomun tedavisinde kullanılmak üzere onaylamıştır (Şekil 1.1.). Ayrıca, ileri düzeydeki melanomların tedavisi için genetik olarak modifiye edilmiş herpes simplex virüsü "talimogene laherparepvec (T-VEC)" de 2015 yılında FDA tarafından onaylanmış ilk ve tek onkolitik viral tedavi ürünüdür (8).

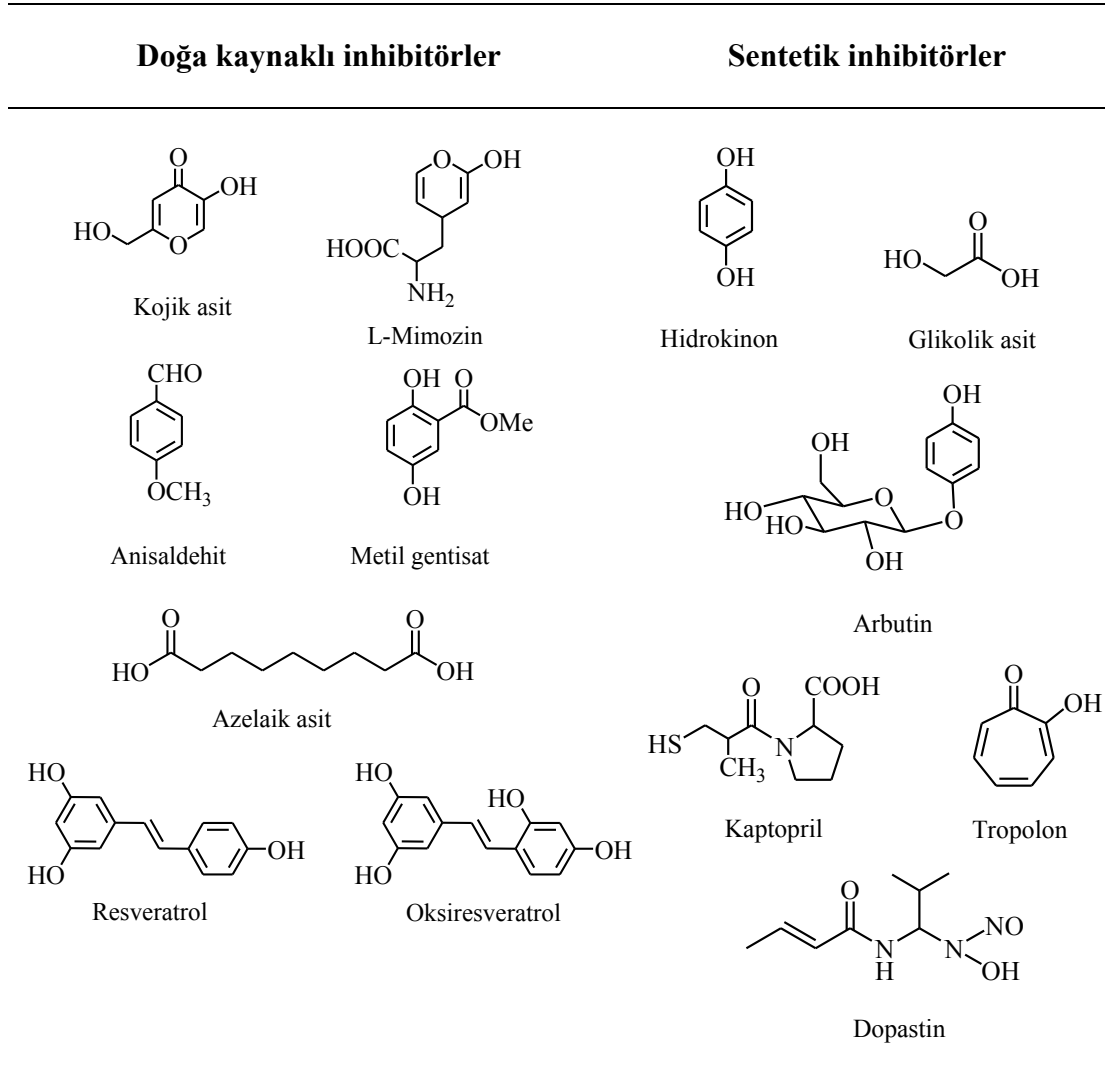


**Şekil 1.1.** Malign melanomun tedavisinde kullanılan bazı ilaç etkin maddeleri.

Coğrafi konumu nedeni ile ülkemizde güneşe maruziyetin yüksek olduğu ve özellikle kırsal kesimde açık alanda çalışmanın (tarım/çiftçilik vb.) yoğun olduğu dikkate alınırsa nüfusun melanom açısından önemli bir risk taşıdığı söylenebilir. Melanom ile mücadelede hastalık hakkında toplumda farkındalık yaratmak ve riskli grupları, koruyucu önlemleri tanımlamak ve halka tanıtmak gereklidir.

Tirozinaz (EC 1.14.18.1, polifenol oksidaz) bakteriler, funguslar, yüksek yapılı bitkiler (özellikle mantar, muz, elma, armut, patates, avokado ve şeftali gibi) ve hayvanlar dahil olmak üzere doğada yaygın olarak bulunan ve melanin adlı pigmentin biyosentezinden sorumlu enzimdir (9). İnsanlarda pigmentasyon bozuklukları ve diğer melanin ile ilgili sağlık sorunlarının önlenmesi ve tedavisinde, gerek sentetik gerekse doğa kaynaklı olmak üzere güvenli ve etkili tirozinaz inhibitörleri kullanılması bilinen bir yöntemdir (2).

Hiperpigmentasyonu gidermek amacıyla kullanılan tirozinaz inhibitörlerinin çoğu, yapısal olarak tirozin veya L-3,4-dihidroksifenilalanin (L-DOPA)'ya benzeyen fenol veya kateşol türevleridir (Şekil 1.2.) (2, 4).



**Şekil 1.2.** Doğa kaynaklı ve sentetik bazı tirozinaz inhibitörleri.

Tirozinaz inhibisyonu çalışmalarında mantar (mushroom) tirozinazı, araştırmacılar tarafından, ticari olarak kolay erişilebilir olduğundan yaygın olarak kullanılmaktadır. *Agaricus bisporus* adlı mantardan elde edilen bu enzim kolaylıkla saflaştırılabilmektedir. İnhibisyon gücü, mekanizması, kimyasal yapıları veya inhibitörlerin kaynakları açısından ayırt edilmeksizin çok farklı türde inhibitör, mantar tirozinazı üzerine yapılan çalışmalarla araştırılmaktadır (10-12).

Melanin sentezinde meydana gelen değişiklikler, hızla artan sıklığa sahip malign melanoma özgü, klinik ve histopatolojik özelliklerden sorumlu olabilmektedir. Bu nedenle cilt kanserlerinin ve melanin hiperpigmentasyonu ile ilişkili bazı dermatolojik bozuklukların tedavisinde tirozinaz inhibitörlerinin klinik olarak faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Endüstrideki önemine bağlı olarak kojik asit (5-hidroksi-2-(hidroksimeti1)-4*H*-piran-4-on) üretimi giderek artmakta, biyosenteziyle ilgili kayda değer sayıda çalışma yürütülmekte ve birçok yayında, kojik asitin kimyasal ve biyolojik özellikleri incelenmektedir. Kozmetik, tıp, gıda, tarım ve kimya endüstrilerinde çok geniş bir alanda kojik asitin uygulamaları bulunmaktadır. Kozmetik sektöründe hem antioksidan işleviyle hem de UV ışımadan koruyan ve pigmentasyona neden olan tirozinaz enziminin aktivitelerini önleyen bir inhibitör madde olarak kullanılmaktadır (13). Özellikle yüz ve boyun kremleri, pudralar ve losyonlar gibi durulanmayan ürün formülasyonlarında bulunan kojik asit için Kozmetik Bileşenleri Derleme Uzman Paneli-Cosmetic Ingredient Review (CIR) Expert Panel tarafından belirtildiği üzere bitmiş üründe %0,1 ile %2 konsantrasyonlarında kullanılmaktadır (14). Tıp alanında ise güçlü bir antibakteriyel, antimikrobiyal, antiviral, antilösemik ve antifungal aktivite gösterdiği kaydedilmiştir (15-23).

Kanser tedavisinde A375 insan malign melanom hücreleri kullanılarak kojik asitin genotoksitesisi ve söz konusu hücrelerin büyüme inhibisyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Kojik asit konsantrasyonunun artmasıyla bu hücrelerin büyümelerinin de direkt olarak inhibe olduğu gösterilmiştir (24). Başka bir çalışmada ise A375 hücre hattında kojik asitin antikanserojen etkisini incelemek amacıyla proteomik analiz yapılmış ve kojik asit uygulanan hücrelerde bazı proteinlerin kanser progresyonunda önemli rol oynadığı, dolayısıyla malign melanomun tanı ve tedavisinde önemli belirleyiciler olarak kullanılabileceği önerilmiştir (25). Ancak kojik asit ve birçok türevinin yağda çözünürlüğünün yani lipofilisitesinin düşük olması ve uzun süreli saklama koşullarında yüksek sıcaklığa karşı dayanıksız olmaları gibi stabilite problemleri bulunmaktadır. Lipofilisitesi yüksek bileşikler elde etmek amacıyla bileşiklerin Mannich bazlarının sentezlenmesi organik kimyada bilinen bir yöntemdir. Elde edilen hidrofobik yapı ile hücre içine permeabilitenin artması sağlanmıştır. Ayrıca antikanserojen özellikteki Mannich bazlarının hücresel hidroksil ve amin gruplarını alkilememelerinden dolayı klinik olarak kullanılan alkilleyici ajanlara göre mutajenisite ve genotoksisiteye neden olmamaları açısından üstünlükleri olduğu bilinmektedir (26). Fenolik Mannich bazlarının ise meme, böbrek, prostat, akciğer, kolon kanseri ve melanom gibi çeşitli kanser türleri üzerinde etkili oldukları

saptanmıştır (27). Dolayısıyla literatürde antikanserojen aktivitesi çalışılan çok sayıda Mannich bazı mevcuttur (28-32).

Önemli farmakoforlar veya biyoaktif öncü moleküller olarak aminoalkil zincir taşıyan ve yüksek tıbbi değere sahip olması beklenen çeşitli moleküllerin sentezinde Mannich bazlarının, kullanılması amaçlanmaktadır. Klinik olarak kullanımı bulunan ve aminoalkil zincir taşıyan Mannich bazlarına ise kokain, fluoksietin, atropin, etakrinik asit, triheksilfenidil, prosiklidin, ranitidin ve biperiden örnek olarak verilebilir (33).

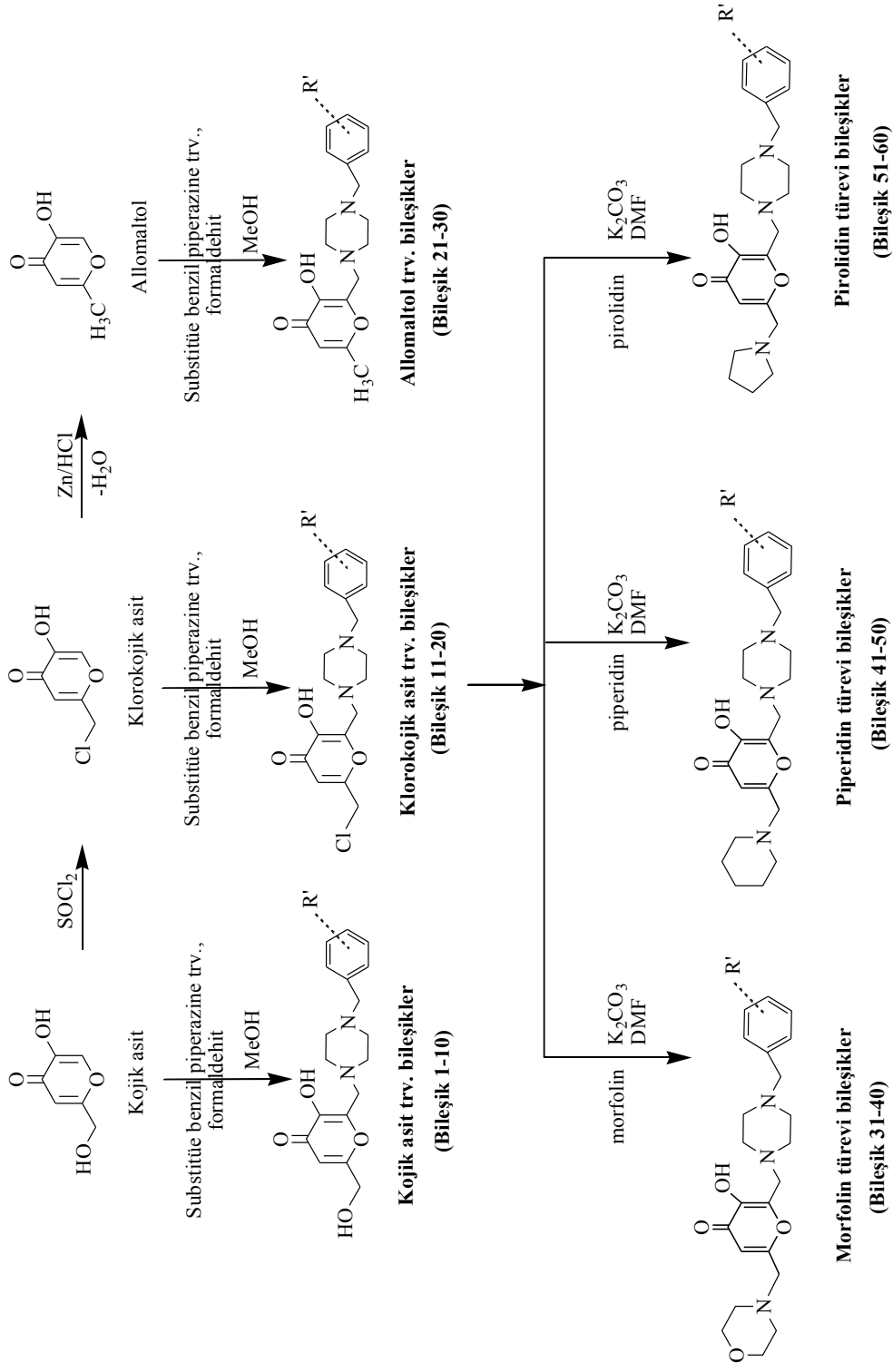
Laboratuvarımızda başlatılan ve yirmi yılı aşkın süredir kojik asit, klorokojik asit (5-hidroksi-2-(klorometil)-4*H*-piran-4-on) ve allomaltol (5-hidroksi-2-metil-4*H*-piran-4-on) den hareketle sentezlediğimiz hidroksipiron türevi Mannich bazları üzerinde yürütülen çalışmalarda, bu maddelerin antikonvülsan, antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktiviteler dahil olmak üzere çok çeşitli biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Söz konusu çalışmaların sonucunda elde edilen Mannich bazları, gerek aktivite gerekse sitotoksikite bakımından başlangıç maddelerinden daha etkili ve daha az toksik bileşikler olarak kaydedilmiştir (18-23, 34-39).

Birçok çalışmada antikanserojen özellik gösteren bileşiklerin yapısında morfolin, piperidin, piperazin, pirol, piridin, pirolidin gibi heteroatom taşıyan siklik gruplar bulunduğu bilgisinden yola çıkılarak, tez çalışmaları kapsamında, kojik asitin 6 numaralı konumunda bulunan alkolik hidroksil grubunun biyoizosteri olarak amin grupları hedeflenmiştir. Bu doğrultuda, kojik asit, klorokojik asit ve allomaltolden hareketle sentezlenen Mannich bazlarının yanı sıra 2-sübstitüe-3-hidroksi-6-morfolinometil/piperidinilmetil/pirolidinilmetil-4*H*-piran-4-on yapısı taşıyan yeni kırk sekiz adet Mannich bazının sentezlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada bütünlük sağlaması amacıyla yapıca benzer, daha önce yayın haline getirilmiş bileşikler de tez kapsamına alınıp yeniden sentezlenerek toplam altmış adet bileşiğin ve başlangıç maddeleri olan kojik asit, klorokojik asit ve allomaltolün A375 insan melanoma hücreleri üzerine sitotoksik etkileri ve tirozinaz enzim inhibisyonları araştırılmıştır. Melanom hücreleri üzerinde en fazla sitotoksik etki gösteren yirmi beş bileşiğin, sağlıklı insan hücre hatları olan HGF-1 (insan gingival fibroblast) ve MRC-5 (insan akciğer fibroblast) üzerindeki etkileri çalışılmıştır. Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR ve kütle spektroskopisi yöntemleri ve elemental analiz

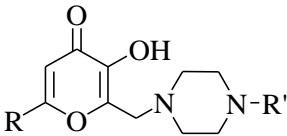


sonuçları ile kanıtlanmıştır. Bu bileşiklerin hücre canlılığı üzerine etkileri, A375 insan melanom hücrelerinde (ATCC CRL-1619) 48 saat inkübasyon sonrasında ELISA Plaka okuyucu ile sitotoksisite düzeyi spektrofotometrik olarak Sülförödamın B (SRB) testi ile belirlenmiştir. Tüm deneyler dört tekrar olacak şekilde çalışılmış, non-lineer regresyon grafikleri ve istatistik değerlendirme GraphPadPrism v. 5.03 kullanılarak yapılmıştır. Tirozinaz enzim inhibisyonları ise L-DOPA'nın substrat olarak kullanıldığı spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir. Ayrıca seçilen bileşiklerin A375 hücrelerinde melanogenez etkinliğini belirlemek için spektrofotometrik yöntem kullanılarak hücrede melanin içeriği incelenmiştir.

Çalışmadaki sentezin ilk basamağı; kojik asidin klorlanması sonucu klorokojik asidin sentezlenmesi ve klorokojik asitin çinko tozu ve hidroklorik asitle indirgenmesiyle allomaltolün elde edilmesini kapsamaktadır. İkinci basamak olarak, elde edilen hidroksipiron türevi başlangıç maddelerinin her biri (kojik asit, klorokojik asit ve allomaltol), on adet farklı yapıdaki halojen substitüe benzil piperazin türevleri ile tepkimeye sokularak Mannich bazları sentezlenmiştir. En son aşama olarak da klorokojik asit türevi Mannich bazlarının klor atomlarının morfolin, piperidin veya pirolidin gruplarıyla yer değiştirmesiyle yeni türevlerin sentezlenmesi gerçekleştirilmiştir. Bileşiklerin genel sentez şeması aşağıda verilmiştir (Şekil 1.3.). Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları, bileşiklere ait kapalı formül, molekül ağırlığı ve erime dereceleri ise Tablo 1.1.'de gösterilmiştir.



**Şekil 1.3.** Bileşiklerin genel sentez şeması.

**Tablo 1.1.** Bileşiklerin yapıları, kapalı formülleri, molekül ağırlıkları ve erime dereceleri.


Bileşik	R	R'	Kapalı Formülü	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Erime Derecesi (°C)
1	-CH <sub>2</sub> OH	3-klorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	364.82	170-1
2 <sup>a</sup>	-CH <sub>2</sub> OH	4-klorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	364.82	Dek.
3 <sup>b</sup>	-CH <sub>2</sub> OH	3,4-diklorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	399.27	180-1
4 <sup>b</sup>	-CH <sub>2</sub> OH	2,6-diklorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	399.27	196-7
5	-CH <sub>2</sub> OH	4-florobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	348.37	187-8
6	-CH <sub>2</sub> OH	2,5-diflorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	366.36	176-7
7 <sup>a</sup>	-CH <sub>2</sub> OH	3-triflorometilbenzil	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	398.38	183-4
8 <sup>a</sup>	-CH <sub>2</sub> OH	4-triflorometilbenzil	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	398.38	186-7
9	-CH <sub>2</sub> OH	2-floro-6-klorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> ClFN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	382.81	184-5
10	-CH <sub>2</sub> OH	2-floro-4-bromobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> BrFN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	427.26	Dek.
11 <sup>c</sup>	-CH <sub>2</sub> Cl	3-klorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	383.27	147-8
12 <sup>d</sup>	-CH <sub>2</sub> Cl	4-klorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	383.27	168-9
13 <sup>e</sup>	-CH <sub>2</sub> Cl	3,4-diklorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	417.71	147-8
14 <sup>d</sup>	-CH <sub>2</sub> Cl	2,6-diklorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	417.71	167-9
15 <sup>e</sup>	-CH <sub>2</sub> Cl	4-florobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> ClFN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	366.81	157-8
16 <sup>d</sup>	-CH <sub>2</sub> Cl	2,5-diflorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	384.81	151-2
17 <sup>d</sup>	-CH <sub>2</sub> Cl	3-triflorometilbenzil	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	416.82	161-2
18 <sup>d</sup>	-CH <sub>2</sub> Cl	4-triflorometilbenzil	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	416.82	150-1
19	-CH <sub>2</sub> Cl	2-floro-6-klorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	401.26	158-9
20	-CH <sub>2</sub> Cl	2-floro-4-bromobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> BrFN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	445.71	167-8
21 <sup>f</sup>	-CH <sub>3</sub>	3-klorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	348.82	158-9
22 <sup>g</sup>	-CH <sub>3</sub>	4-klorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	348.82	165-7
23	-CH <sub>3</sub>	3,4-diklorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	383.27	160-2
24	-CH <sub>3</sub>	2,6-diklorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	383.27	165-6
25	-CH <sub>3</sub>	4-florobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	332.37	168-70
26	-CH <sub>3</sub>	2,5-diflorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	350.36	163-5
27	-CH <sub>3</sub>	3-triflorometilbenzil	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	382.38	171-2
28	-CH <sub>3</sub>	4-triflorometilbenzil	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	382.38	171-2
29	-CH <sub>3</sub>	2-floro-6-klorobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> ClFN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	366.81	153-5
30	-CH <sub>3</sub>	2-floro-4-bromobenzil	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> BrFN <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	411.27	180-1
31	morfolinometil	3-klorobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	433.93	137-8
32	morfolinometil	4-klorobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	433.93	143-5
33	morfolinometil	3,4-diklorobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	468.37	142-4
34	morfolinometil	2,6-diklorobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	468.37	158-9
35	morfolinometil	4-florobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	417.47	156-7
36	morfolinometil	2,5-diflorobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	435.46	107-8
37	morfolinometil	3-triflorometilbenzil	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	467.48	142-4
38	morfolinometil	4-triflorometilbenzil	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	467.48	162-3
39	morfolinometil	2-floro-6-klorobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> ClFN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	451.92	144-5
40	morfolinometil	2-floro-4-bromobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> BrFN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	495.11	159-61

<sup>a</sup> (40), <sup>b</sup> (41), <sup>c</sup> (42), <sup>d</sup> (23), <sup>e</sup> (22), <sup>f</sup> Ticari olarak satılmaktadır, CAS registry number: 1324058-46-9, <sup>g</sup> (43)

**Tablo 1.1.** (Devamı) Bileşiklerin yapıları, kapalı formülleri, molekül ağırlıkları ve erime dereceleri.

Bileşik	R	R'	Kapalı Formülü	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Erime Derecesi (°C)
41	piperidinilmetil	3-klorobenzil	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	431.96	145-7
42	piperidinilmetil	4-klorobenzil	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	431.96	165-6
43	piperidinilmetil	3,4-diklorobenzil	C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	466.40	151-2
44	piperidinilmetil	2,6-diklorobenzil	C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	466.40	160-1
45	piperidinilmetil	4-florobenzil	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	401.47	159-60
46	piperidinilmetil	2,5-diflorobenzil	C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	433.49	102-4
47	piperidinilmetil	3-triflorometilbenzil	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	465.51	156-7
48	piperidinilmetil	4-triflorometilbenzil	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	465.51	160-1
49	piperidinilmetil	2-floro-6-klorobenzil	C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> ClFN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	449.95	140-2
50	piperidinilmetil	2-floro-4-bromobenzil	C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> BrFN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	494.40	163-4
51	pirolidinilmetil	3-klorobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	417.93	134-5
52	pirolidinilmetil	4-klorobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	417.93	168-9
53	pirolidinilmetil	3,4-diklorobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	452.37	143-4
54	pirolidinilmetil	2,6-diklorobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	452.37	147-9
55	pirolidinilmetil	4-florobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	401.47	147-9
56	pirolidinilmetil	2,5-diflorobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	419.46	108-10
57	pirolidinilmetil	3-triflorometilbenzil	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	451.48	154-5
58	pirolidinilmetil	4-triflorometilbenzil	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	451.48	154-6
59	pirolidinilmetil	2-floro-6-klorobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> ClFN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	435.92	120-1
60	pirolidinilmetil	2-floro-4-bromobenzil	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> BrFN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	480.37	157-8

<sup>a</sup> (40), <sup>b</sup> (41), <sup>c</sup> (42), <sup>d</sup> (23), <sup>e</sup> (22), <sup>f</sup> Ticari olarak satılmaktadır, CAS registry number: 1324058-46-9, <sup>g</sup> (43)

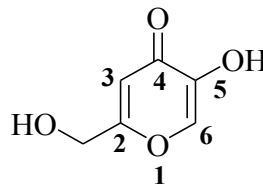
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kimyasal Çalışmalar

#### 2.1.1. Kojik Asit ve Türevlerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

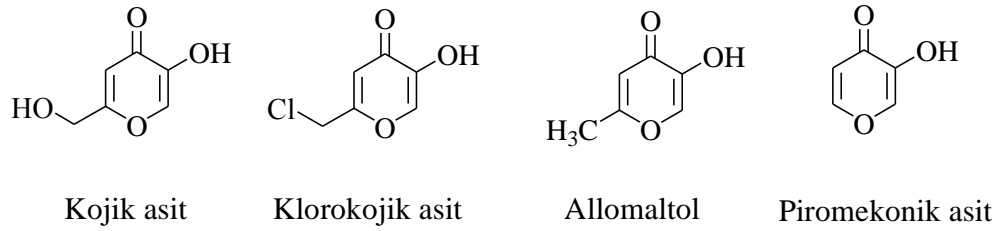
Kojik asit, sahip olduğu çok fonksiyonlu heterosiklik yapısı ve fizikokimyasal özellikleri ile birçok reaksiyona olanak sağlayan, değişik biyolojik aktivitelere sahip ve önemli merkezler içeren fungal bir metabolittir (17, 44). Bu yüzden 20. yüzyılın başlarından beri, kojik asit ilgi çeken araştırma konularından biri olmuş ve birçok türevi sentezlenmiştir.

Kojik asitin ana iskeleti, yapısında iki adet çifte bağ taşıyan karbon halkasından oluşan monosiklik piron halkasıdır (Şekil 2.1.). Fiziksel özellikleri açısından bakıldığında beyaz kristaller veya açık sarı kristal yapıdaki tozlardan oluşan ve kokusuz özellikteki bir maddedir. Erime derecesi 153-4°C, pKa değeri ise 7,90 ve 8,03 olarak verilmektedir. Su (43,85 g/L), aseton, etil asetat ve piridinde çözünür, etanolde az çözünür, dietil eter, kloroform veya benzende ise çözünmez özelliktedir. Piron halkasının 5 numaralı konumunda bulunan hidroksil grubu zayıf asidik özellik göstermektedir. Çoklu işleve sahip heterosiklik yapısından dolayı, katım, alkilasyon, açılasyon, oksidasyon, halka açılması, nükleofilik ve elektrofilik substitüsyon gibi çok çeşitli reaksiyon türlerini kapsayan önemli reaksiyon merkezlerini içermektedir (9).



**Şekil 2.1.** Kojik asitin yapısı.

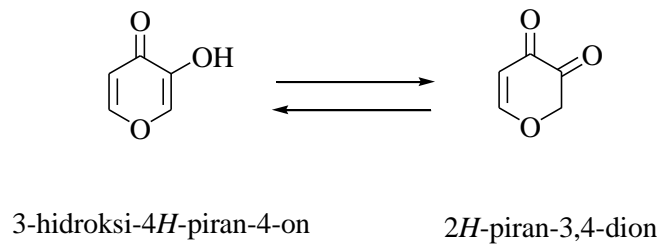
Kojik asit, 1907 yılında Saito tarafından, buharda pişirilmiş pirinç üzerindeki *Aspergillus oryzae* miselleri üzerinde keşfedilmiş, bundan sonra da yapısı 1924 yılında Yabuta tarafından aydınlatılmıştır. 1930'da D-glukozdan kimyasal sentez yoluyla elde edilmiştir. Kojik asit; klorokojik asit, allomaltol ve piromekonik asit (5-hidroksi-4H-piran-4-on) gibi potent türevlerin geliştirilebildiği, modifikasyonlara uygun bir yapıya sahiptir (45).



**Şekil 2.2.** Çeşitli hidroksipiron türevleri.

3-Hidroksi-4*H*-piran-4-on halkasının düzlemsel olması ve  $6\pi$  elektronu taşıması nedeniyle aromatik özelliğe sahip olduğu, çeşitli elektrofilik bileşiklerle yapılan reaksiyonlar sonucunda hidroksil grubuna göre *orto* konumundan elektrofilik süstitüsyona uğradığı, düşük elektron yoğunluğu nedeniyle *para* konumundan nükleofilik reaksiyona girdiği bildirilmiştir (46).

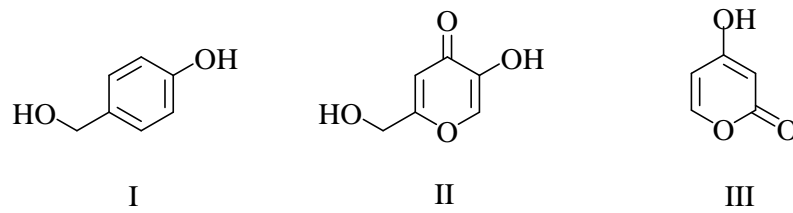
Kojik asitin genel iskeletinin iki adet tautomerik şekli vardır. Nötral moleküllerde en kararlı tautomer şekli, enol şeklinin olduğu ve bu yapıların molekül içi hidrojen bağıyla kararlı hale getirildiği bulunmuştur. Keto şekillerinin ise gaz fazındaki konsantrasyonuna kıyasla protik çözücülerde daha çok oluştuğu gözlenmiş, bunun nedeni olarak da çözücüyle molekül arasında oluşan etkileşimlerin, molekülü daha dayanıklı kılması olarak belirtilmiştir. Eğer yapıda bir protonlanma olacak ise de bunun halka içi oksijen yerine, keton oksijeni üzerinden gerçekleşeceği teorik çalışmalar sonucu açıklanmıştır (47).



**Şekil 2.3.** 3-Hidroksi-4*H*-piran-4-on halkasının tautomerik şekilleri.

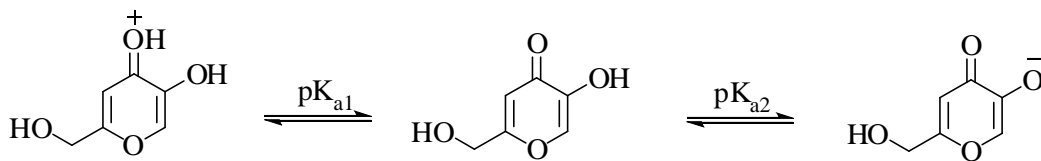
Kojik asitin yapısında iki farklı hidroksil grubu vardır. Biri 5 numaralı konumda bulunan ve moleküle fenol benzeri özellik ve zayıf asidik karakter sağlayan hidroksil grubu, diğeri ise 2 numaralı konumdaki primer alkol gibi davranan hidroksil grubudur. Asitliği fenolle ( $pK_a=9,82$ ) kıyaslandığında daha asidik bir yapı olduğu, bunun nedeninin de yapıdaki karbonil grubu olduğu öne sürülmüştür, ancak birçok reaksiyonda fenol gibi davrandığı saptanmıştır (48, 49).

Kojik asitin (II) asitliği, 4-hidroksimetil fenol (I) ve 4-hidroksi-2*H*-piran-2-on (III) bileşikleri ile kıyaslandığında I'e göre daha asidik olduğu ve bunun da karbonil grubunun eksi yükü dağıtarak molekülü daha kararlı hale getirmesinden kaynaklandığı öne sürülmüştür. Ancak III numaralı bileşiğe göre daha az asidik olduğu ortaya çıkmıştır. Bu durum, kojik asitte 4. ve 5. konumlar arasında molekül içi hidrojen bağının oluşmasıyla açıklanmıştır. Kojik asitin dissosiyasyon ihtimali olan 2 tane hidrojeni vardır ancak proton kaybedilmesi sırasında tercih edileni halkaya doğrudan bağlı olan 5. konumdaki hidroksile ait hidrojenidir (47, 50).



**Şekil 2.4.** Kojik asitin asitliğinin bazı bileşiklerle karşılaştırılması.

Kojik asit, iki adet protolitik denge oluşturabilecek oksijene sahiptir. Katyondan nötral forma geçerken oluşan denge sabiti  $pK_{a1}$  -1,50 dir. Bu değer, karbonil oksijeninin alifatik keton ya da aldehitteki eşdeğer karbonilden daha bazik olduğunu göstermektedir.  $pK_{a2}$  ise 7,80 olup tropolon ( $pK_a$  6,69) ve asetilaseton ( $pK_a$  8,86) ile kıyaslanabilir. Kojik asitin iyi bir anyonik bidentat ligand olmasının nedeni karbonil oksijeninin bazikliği, hidroksil grubunun da asitliğidir (51).

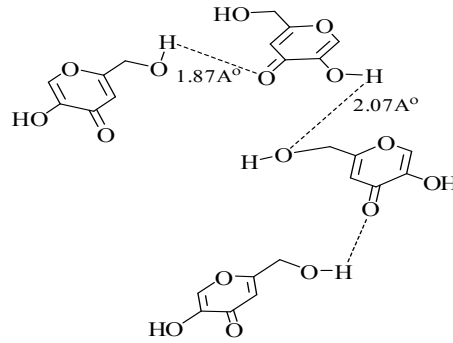


**Şekil 2.5.** Kojik asitin  $pK_a$  değerleri.

Bir bileşiğin yağda çözünme eğiliminin ölçüsü yani lipofilisitesinin göstergesi olan partiyon katsayısının logaritmik değeri  $\log P$  değeri ise kojik asitte -0,66 olarak kaydedilmiştir (52).

Kateşol yapısı taşıyan kojik asit türevlerinin, +2 ve +3 değerlikli çok sayıda metalle şelasyon yaptığı ve dayanıklı şekillerde  $M(\text{Kojik asit})_n$  ( $n= 2, 3$ ) kompleksleri oluşturduğu bildirilmiştir (53-56).

Kimya endüstrisinde, kojik asitin nötral ya da hafif asidik ortamda eser miktardaki  $Fe^{3+}$  iyonları ile koyu kırmızı,  $Cu^{3+}$  ile açık yeşil renkli kompleks oluşturması özelliği ile katyonların tespit edilmesinde kullanıldığından dolayı kojik asit, analitik bir araç olarak da kabul edilmektedir.  $Au^{3+}$  ile verdiği kompleks pH= 5,7-6,8 aralığında mavi-gri floresan verdiği, bu özelliğinden dolayı altının florometrik tayininde kullanıldığı bildirilmiştir (49, 51).



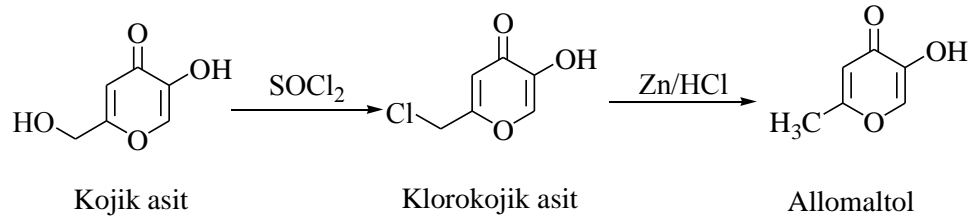
**Şekil 2.6.** Kojik asitin moleküller arası hidrojen bağları ve bağ uzunlukları.

Kojik asitin yapısının X-ışınları analizi ile aydınlatılmasıyla moleküller arasında iki tür hidrojen bağıyla düzlemsel yapının korunduğu belirtilmiştir (57).

Kojik asitin sahip olduğu polifonksiyonel halkanın farklı reaktiviteleri bulunmaktadır. Bu fonksiyonel gruplar arasında karbonil grubu, enol grubu, primer alkol fonksiyonel grubu, dien ve ayrıca aromatik özellikler bulunmaktadır. Bu çeşitlilik sayesinde aldol, Mannich, diazo eşleme, Claisen, konjugat katımı gibi çok çeşitli reaksiyon türlerine katılmaktadır. Kojik asitin en önemli reaksiyonlarından biri ise piridon ve piridin heterosiklik yapılarının sentezleridir. Ayrıca primer alkol grubu üzerinden yürüyen halojenasyon, oksidasyon ve diğer dönüşümler gibi tepkimeler sayesinde de yeni maddelerin sentezlenmesine elverişli türevlerin kazanılması sağlanmaktadır (45).

Birçok araştırmacı tarafından yapılan sentez işlemlerinde kojik asitin 2-hidroksimetil grubunun oda sıcaklığında tiyonil klorür ile klorlanması sonucu klorokojik asit halka hidroksili etkilenmeden elde edilmiştir. Klorokojik asitin, derişik hidroklorik asit içerisindeki çinko tozu ile indirgenmesi sonucu allomaltol kazanılmıştır (18, 19, 39, 58).

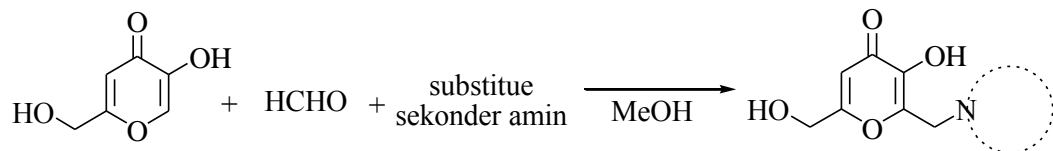




**Şekil 2.7.** Kojik asitten hareketle klorokojik asit ve allomaltolün eldesi.

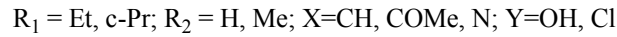
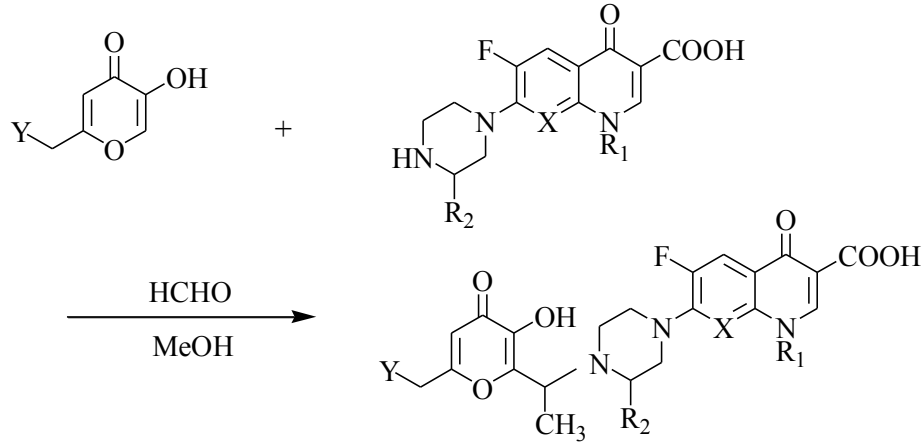
Klasik Mannich reaksiyonu, üç bileşenli bir kondenzasyon reaksiyonu olup en az bir aktif hidrojen atomu taşıyan bir bileşik, aldehit ve amin bileşiğinin Mannich bazları olarak bilinen bileşikleri meydana getirdikleri reaksiyon türleridir. Mannich bazlarının pratikte sayısız uygulamaları vardır. En önemlisi medisinal kimya olmak üzere, deri, kağıt ve tekstil sanayi gibi doğal materyallerin işlenmesi, petrol endüstrisi tarafından katkı maddesi olarak kullanılan sentetik polimerlerin üretimi, analitik belirteçler, kozmetikler ve boyalar gibi çok çeşitli alanlarda kullanıma sahiptirler. Mannich bazları çok çeşitli biyolojik aktiviteleri göstermelerinin yanı sıra aminometilasyon işlemi sayesinde ilaçların vücuda dağılmasında önemli olup özellikle kontrollü hidrolitik koşullarda deaminometilasyon ve deaminasyon gibi işlemlerle ön-ilaç olarak tasarlanabilir. Ayrıca Mannich bazları, yapıya polar fonksiyonel grupların eklenmesiyle bileşikleri hidrofilyk haline getirirken aynı zamanda uygun amin substitüsyonuyla daha lipofilyk hale de getirilebilir. İşte tüm bu avantajlarından dolayı Mannich bazları ile ilgili her yıl çok sayıda çalışma yapılmaktadır (27).

Laboratuvarımızda kojik asitten hareketle çeşitli Mannich bazları hazırlanmış antikonvülsan, antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitüberküler, yaşlanma karşıtı antioksidan, antitirozinaz ve antidermatofitik aktiviteleri incelenmiş, elde edilen sonuçlar ışığında umut vadeden maddelerin olduğu saptanmıştır (18-23, 39, 59, 60). Yüksek biyolojik aktivite görülen ve tez kapsamında da incelenen bazı bileşikler ise Türk Patent Enstitüsü'nde patent koruması altındadır (41).



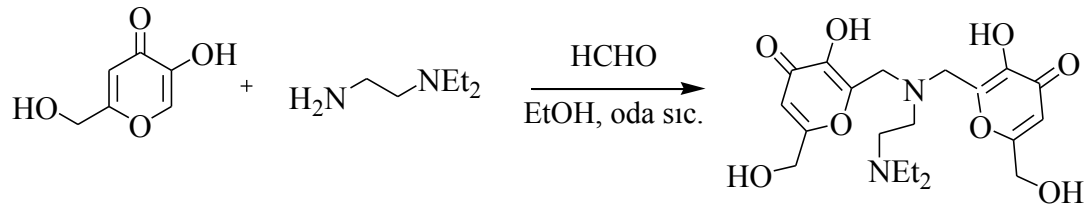
**Şekil 2.8.** Kojik asit türevi Mannich bazlarının sentezi.

Bir çalışmada hem kojik asit hem de klorokojik asit, oda sıcaklığında 7-piperazinilkinolon türevleri ve formaldehitte metanol varlığında Mannich reaksiyonuna girmiş ve elde edilen Mannich türevlerinin antibakteriyel aktivite gösterdikleri saptanmıştır (54).



**Şekil 2.9.** Kojik asitin piperazinilkinolon türevleri ile Mannich reaksiyonu.

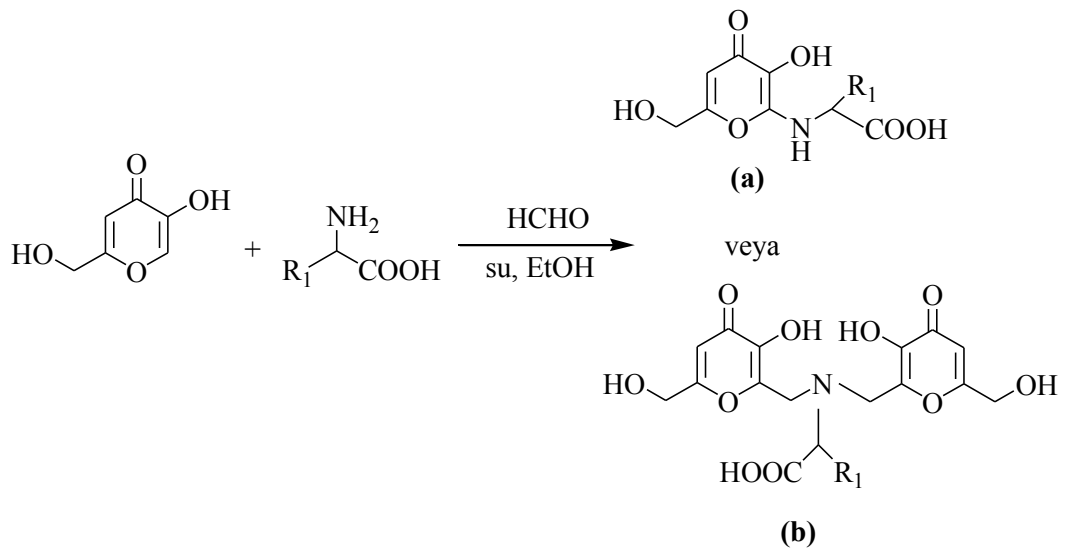
Nurchi ve ark. (61) tarafından yapılan çalışmada, kojik asit, formaldehit ve *N,N*-di-etil-etilendiamidin reaksiyonu sonucu elde edilen türevin ise potansiyel bir terapötik demir şelasyon ajanı olduğu saptanmıştır.



**Şekil 2.10.** Kojik asitin *N,N*-di-etil-etilendiamit ile Mannich reaksiyonu.

Kojik asitin aminoasitler ve formaldehitte reaksiyonu O'Brien ve ark. (62) tarafından bildirilmiş olup aminoasitlerin yapılarındaki ve çözünürlüklerindeki farklılıklardan dolayı diğer amin türleriyle olan reaksiyonlar kadar basit çözümlenememiştir. Kojik asit birkaç aminoasitle formaldehit varlığında su/etanol karışımında reaksiyona sokulmuştur. Glisin, taurin, DL-lösin ve DL-izolösin varlığında amin grubundaki her iki hidrojen atomu yer değiştirerek bis-Mannich

türevleri elde edilmiştir. DL-valin, sarkozin, DL-metiyonin ve L-prolin aminoasitleriyle gerçekleştirilen reaksiyonda ise aminin sadece bir hidrojen atomu kojik asitle yer değiştirmektedir. Ayrıca aynı araştırmacılar tarafından yürütülen bir başka çalışmada, kojik asit; dimetil ve dietil amin, piroolidin, morfolin, piperidin, N-metilpiperazin gibi sekonder aminlerle reaksiyona girdiğinde, tek kojik asitli Mannich türevine benzer yapının, lauril ve stearylamin gibi aminlerle reaksiyonu sonucu ise bis-Mannich türevlerinin elde edildiği bildirilmiştir (63).

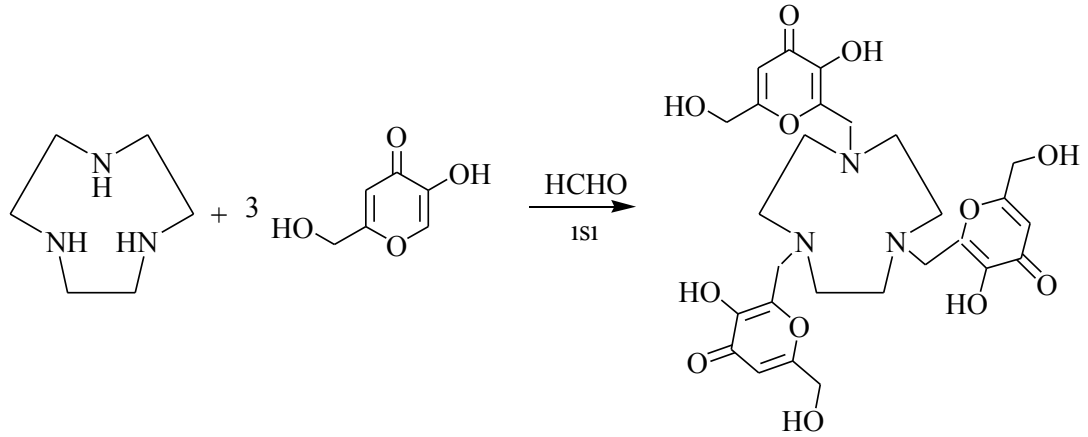


(a) R<sub>1</sub>: DL-valin, sarkozin, DL-metiyonin ve L-prolin

(b) R<sub>1</sub>: Glisin, taurin, DL-lösin ve DL-izolösin

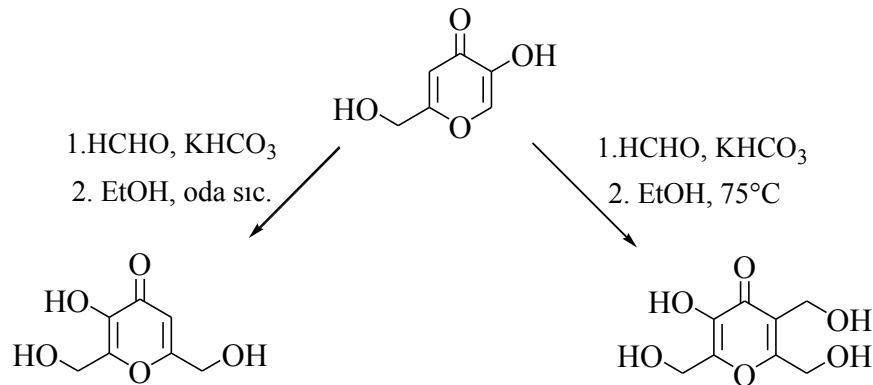
**Şekil 2.11.** Kojik asitin çeşitli aminoasitlerle Mannich reaksiyonu.

Kojik asitin, 1,4,7-triazasiklononan ve formaldehitin fazlasıyla, etanol varlığında yüksek sıcaklıkla muamelesi sonucunda aşağıdaki yapı elde edilmiş vermiş ve bu yapının daha sonra çeşitli metallerle kompleksleri hazırlanmıştır (64).



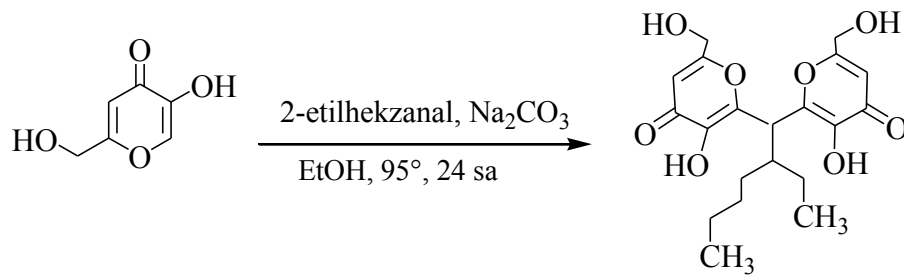
**Şekil 2.12.** Kojik asitin 1,4,7-triazasiklononan Mannich reaksiyonu.

Kojik asit karışımı ile paraformaldehitin, potasyum bikarbonat ya da potasyum karbonat varlığında absöü etanol içerisinde reaksiyonunun farklı sıcaklık koşullarında yürütüldüğünde farklı türevlerin elde edildiği görülmüştür (65).



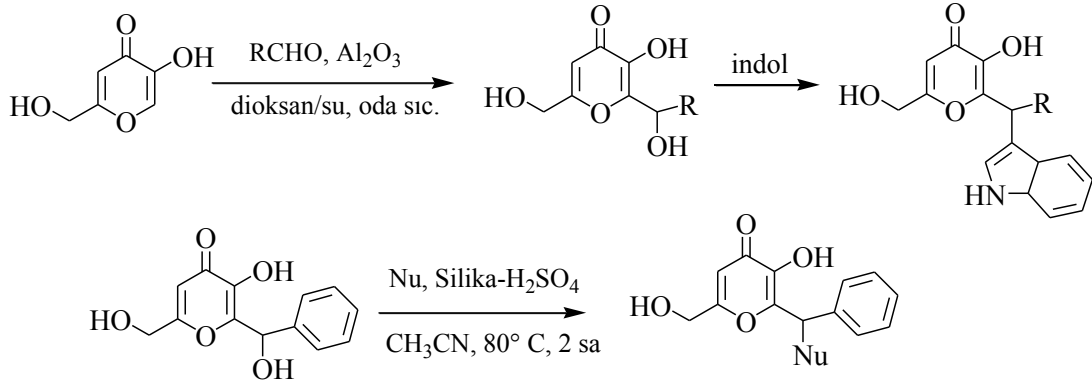
**Şekil 2.13.** Sıcaklığın Mannich reaksiyonuna etkisi.

Kojik asitin 2-etilhekzanal ile etanol içerisinde sodyum karbonat varlığında reaksiyonu sonucu elde edilen aldol türevi bileşik ise Ochiai ve ark. (66) tarafından sentezlenmiş olup yapısı aşağıda gösterilmiştir.



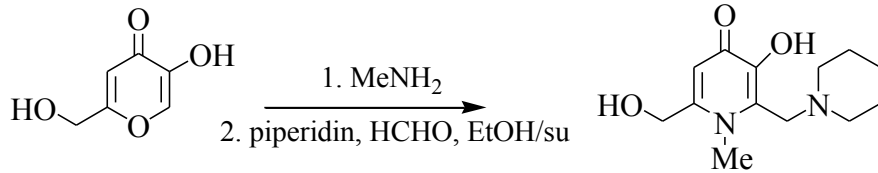
**Şekil 2.14.** Kojik asitin 2-etilhekzanal ile reaksiyonu.

Kojik asitin alüminyum oksit kullanılarak aromatik ve alifatik aldehitlerle aldol reaksiyonu yüksek verimde gerçekleşmiş olup elde edilen ürüne nükleofilik süstitüsyonla indol yapısı süstitüe edilerek insülin-mimik etkiye sahip bileşikler sentezlenmiştir (67, 68).



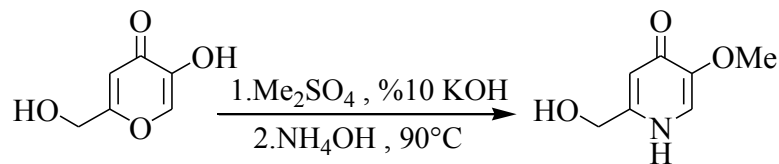
**Şekil 2.15.** Kojik asitten aldol reaksiyonu sonucu elde edilen ürünler.

Kojik asitin piridinon türevinden hareketle Mannich bazları elde etmek amacıyla kojik asitin metilaminle reaksiyonunu takiben formaldehit ve piperidinle muamelesi sağlanmış ve Mannich ürünleri kazanılmıştır. Bu türevlerin metal iyonları için yüksek afiniteli bidentat ligandlar olarak davrandıkları saptanmıştır (69).



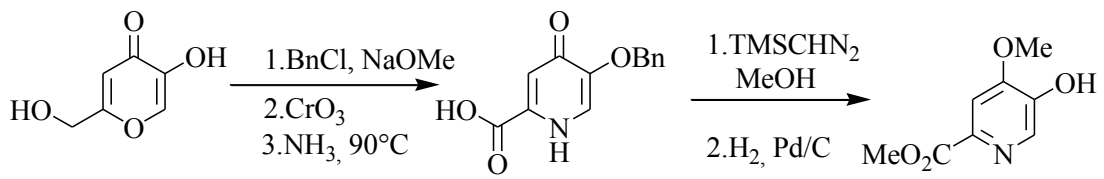
**Şekil 2.16.** Kojik asitten piridinon türevi Mannich bazının sentezi.

Antikanserojen aktivite gösteren bir bileşik sentezlemek amacıyla kojik asitten hareketle piridin-2-karbaldehit yapısındaki bileşiğin sentezi dört basamaklı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu sentez yolağının piridine geçiş yapılan kısmında ise kojik asit, potasyum hidroksit varlığında dimetil sülfat kullanılarak metillenmiş, daha sonra sıcakta amonyum hidroksit ile piridin yapısı elde edilmiştir (70).



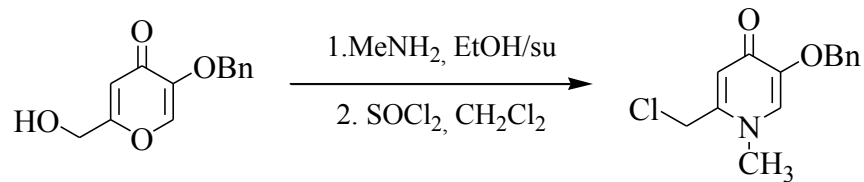
**Şekil 2.17.** Kojik asitten piridinon türevlerinin sentezi.

Farklı bir çalışmada, güçlü bir endotelin dönüştürücü enzim (Endothelin Converting Enzyme, ECE) inhibitörü ve antihipertansif bileşik olarak tasarlanan piridin türevinin eldesi için kojik asit, başlangıç maddesi olarak seçilmiştir. Sodyum metilat varlığında, enolik hidroksil grubu benzilchlorür ile korunmuş, oluşan üründeki hidroksimetil grubu Jones reaktifi ile karboksilik asite oksitlenmiş ve piridon yapısı elde edilmiştir. Karboksil ve fenolik hidroksil grupları, trimetilsilildiazometan kullanılarak, metillenmiş ve daha sonra benzil eter grubunun Pd/C ile uzaklaştırılması sonucu piridin karboksilat türevi sentezlenmiştir (71).



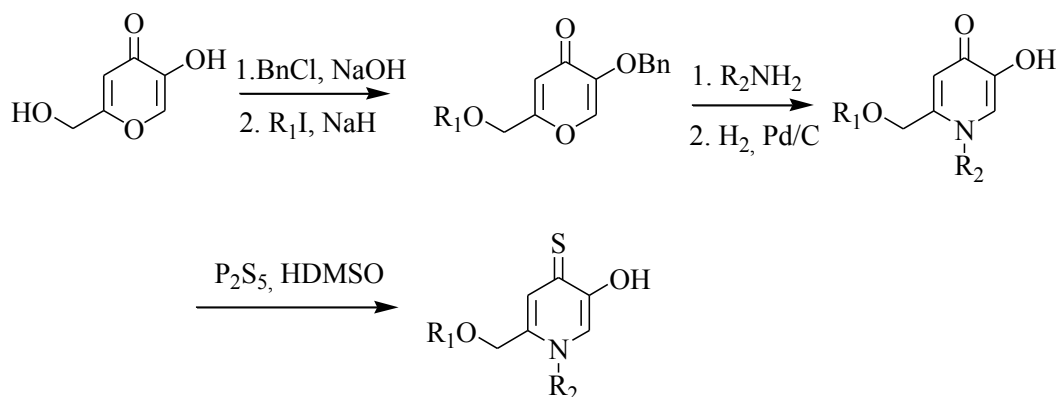
**Şekil 2.18.** Kojik asitten hareketle piridin karboksilat türevinin sentezi.

Piridinon elde etmek için yapılan bir başka çalışmada ise, benzille korunmuş kojik asit türevi metil aminle reaksiyona sokulmuş, elde edilen türev tiyonil klorürle muamele edilerek yüksek verimle piridinon elde edilmiştir (72).



**Şekil 2.19.** Kojik asitten piridinon sentezi.

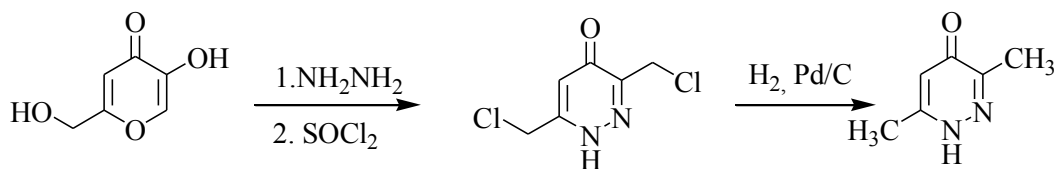
Kojik asitten piridintiyonlara geçiş ise beş basamaklı olup Sakurai ve ark. tarafından açıklanmıştır. Öncelikle kojik asitin 5 numaralı konumunda bulunan hidroksil grubu korunarak sodyum hidrür varlığında alkil iyodürlerle muamele edilmiş, böylelikle *o*-alkillenmiş ürünler elde edilmiştir. Elde edilen ürünler, aminlerle reaksiyona sokulduktan sonra, hidrojen gazı altında Pd/C ile benzil grubu uzaklaştırılarak piridinonlar elde edilmiştir. Bu türevlerin HMDSO varlığında P<sub>2</sub>S<sub>5</sub> ile reaksiyonu sonucu C=O çifte bağı C=S bağına dönüştürülmüştür (73).



R<sub>1</sub>: metil, etil, n-propil, n-butil, R<sub>2</sub>: n-propil, n-butil, n-pentil, n-heksil

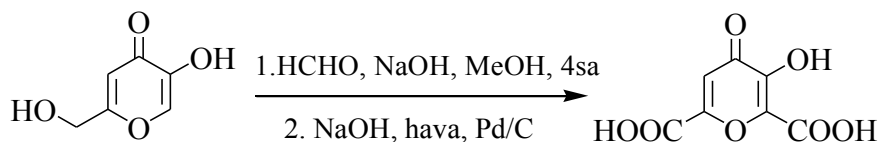
**Şekil 2.20.** Kojik asitten hareketle piridintiyon türevlerinin sentezi.

Zirak ve Eftekhari-Sis (45) tarafından belirtilen ve kojik asitin hidrazinlerle reaksiyonu araştırıldığı bir çalışmada kojik asit, önce hidrazin, sonra tiyonil klorür ile reaksiyona sokularak önce 4-okso-3,6-dikloro-1,4-dihidropiridazin elde edilmiş, bileşiğin Pd/C ile redüksiyonu sonucu 3,6-dimetil-4-okso-1,4-dihidropiridazin elde edilmiştir.



**Şekil 2.21.** 4-Okso-1,4-dihidropiridazin türevinin sentezi.

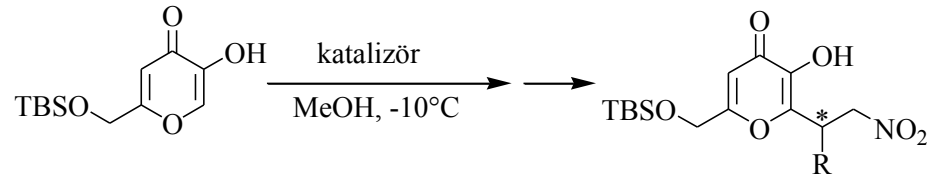
Kojik asit, NaOH varlığında formaldehit ile reaksiyona sokularak, bunu takiben NaOH ve Pd/C varlığında hava ile oksitlenerek 3-hidroksi-4-okso-4H-piran-2,6-dikarboksilik asit yapısındaki bileşik sentezlenmiştir (74).



**Şekil 2.22.** Kojik asitten dikarboksilik asit türevlerinin sentezi.

Wang ve ark. (75) tarafından geliştirilen enansiyoselektif Michael katımı reaksiyonunda, kojik asit türevi, nitro olefinlerle bifonksiyonel kiral tiyoüre-terciyer

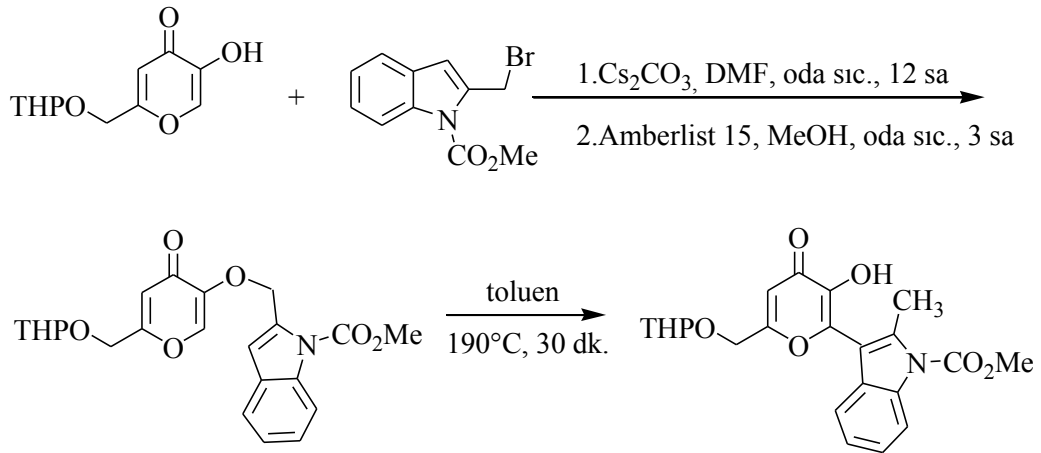
aminin katalizör olarak kullanılarak ürün elde edilmiştir. Bu reaksiyonda kojik asit türevi ile nitro olefinden yüksek verim ve iyi enansiyoselektif özellikteki türevler elde edilmiştir (76).



R: XC<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (X: H, 4-F, 4-Cl, 4-Br, 4-NO<sub>2</sub>, 4-Me, 4-MeO, 2-Cl, 2-Br, 2-NO<sub>2</sub>, 3-Br)

**Şekil 2.23.** Kojik asitten kiral türevlerin sentezi.

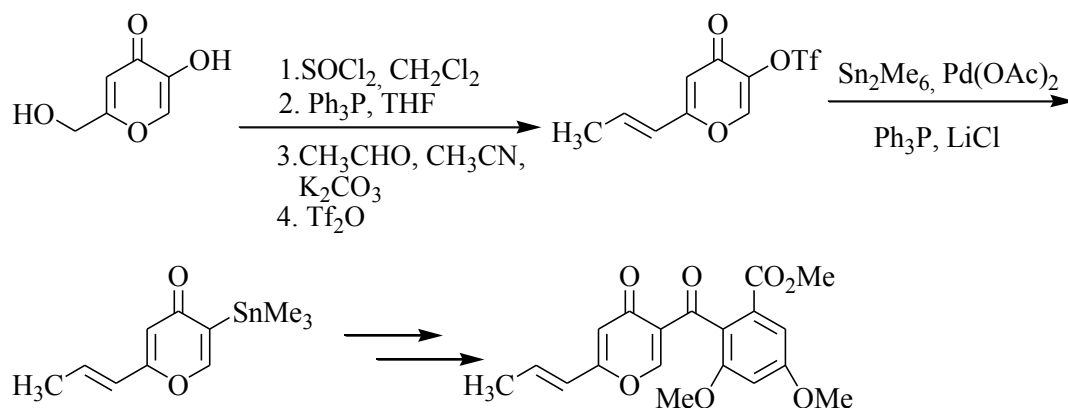
Bir başka çalışmada indolil-kojik asit türevleri hazırlanarak antidiyabetik aktiviteleri incelenmiştir. Kojik asitteki hidroksimetil grubu tetrahidropirran ile korunarak indol türevi ile tepkimeye sokulmuş, daha sonra yüksek sıcaklıkta hedeflenen bileşikler elde edilmiştir (77).



**Şekil 2.24.** Kojik asitten hareketle antidiyabetik etkili indolil türevlerinin sentezi.

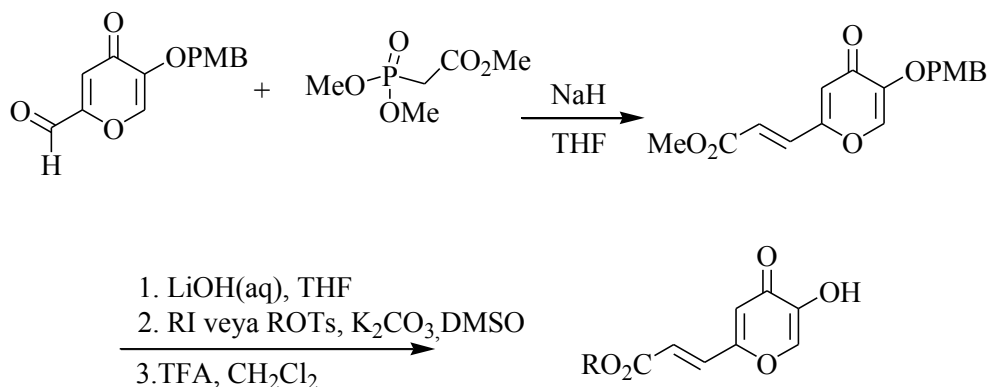
Başlangıç maddesi kojik asit olan funikon türevi bileşikler sentezlenmiş ve bu bileşiklerin sitostatik etkileriyle birlikte antiproliferatif özellikleri araştırılmıştır (78).





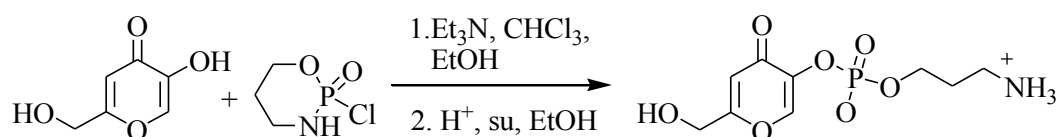
**Şekil 2.25.** Kojik asitten funikon türevlerinin sentezi.

Bu çalışma devamında aynı araştırmacılar tarafından elde edilen diğer bir tirozinaz inhibitörü ise aldehit türevinden pironil akrilik asitle esterleştirilmesi sonucu ester türevlerine geçilerek sentezlenmiştir (79).



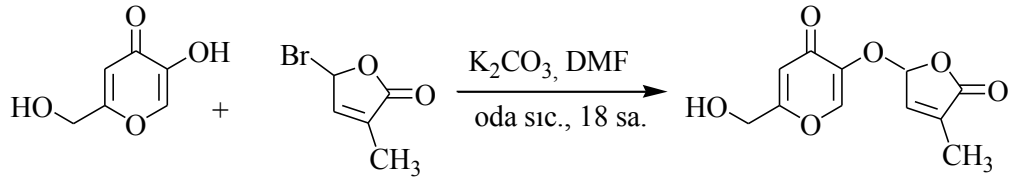
**Şekil 2.26.** Kojik asitin pironil akrilik asitle esterleştirilmesi.

Kojik asitin 5 numaralı konumundaki enolik özellikteki hidroksil grubu pek çok çalışma için hedef olmuştur. Kojil-APPA olarak isimlendirilen ve *in vivo* tirozinaz inhibitör etkisi tespit edilen molekül, kojik asit ve 2-kloro-[1,3,2]oksazafosfatinan 2-oksit bileşiğinin trietilamin varlığında reaksiyona girmesi ve bunu takiben asidik koşullarda hidroliz sonucu elde edilmiştir. Ancak bu molekülün aynı aktivitede *in vitro* etkinliği tespit edilememiştir (80).



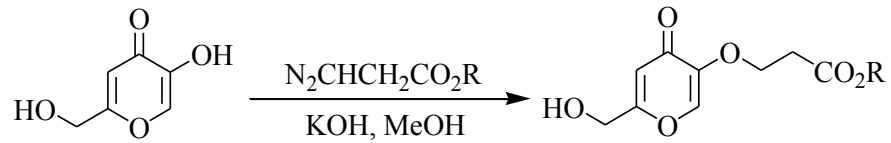
**Şekil 2.27.** Kojil-APPA türevlerinin sentezi.

Enolik hidroksil grubunun O-alkilasyonu ise, kojik asit ile bromo butenolitlerin kuru dimetil formamit (DMF) içinde susuz potasyum karbonat varlığında reaksiyonu sonucu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünün, parazit özellikteki yabancı bitkilerin tohumları için çimlenme uyarıcı etkiye sahip olduğu bulunmuştur (81).



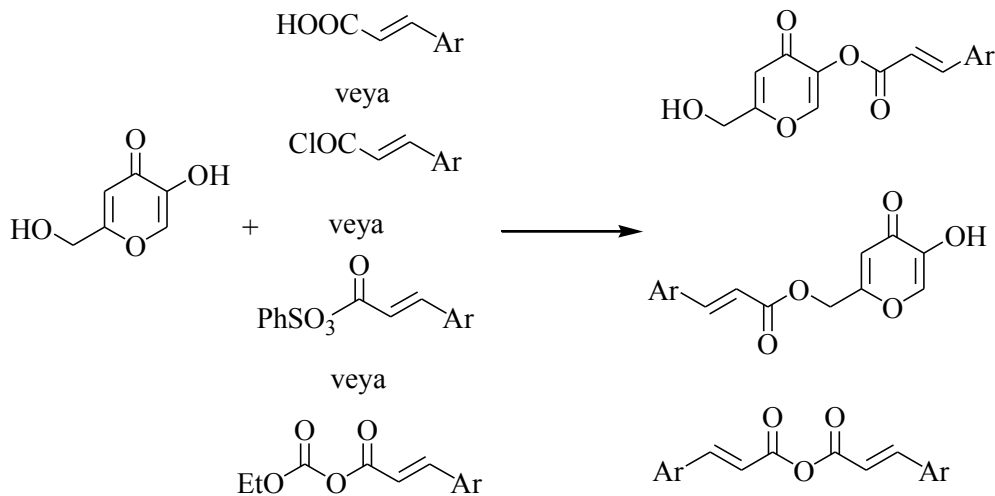
**Şekil 2.28.** Enolik hidroksil grubunun O-alkilasyonuna örnek.

Etil ve benzil  $\beta$ -diazopropiyonatlar potasyum hidroksit varlığında kojik asit ile oda sıcaklığında tepkimeye sokulmuş ve aşağıdaki türevler elde edilmiştir (82).



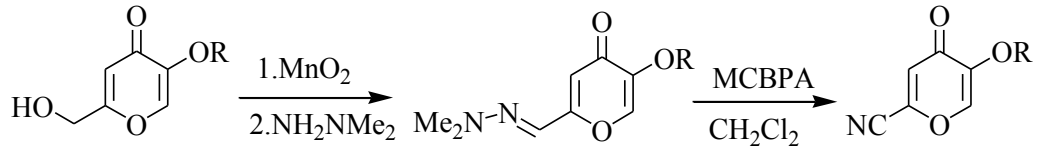
**Şekil 2.29.** Enolik hidroksil grubunun  $\beta$ -diazopropiyonatlar O-alkilasyonu.

Cho ve ark. (83) tarafından 2012 yılında yapılan bir çalışmada kojik asitin sinamat türevleri sentezlenerek, bu bileşiklerin depigmente edici özellikleri saptanmıştır.



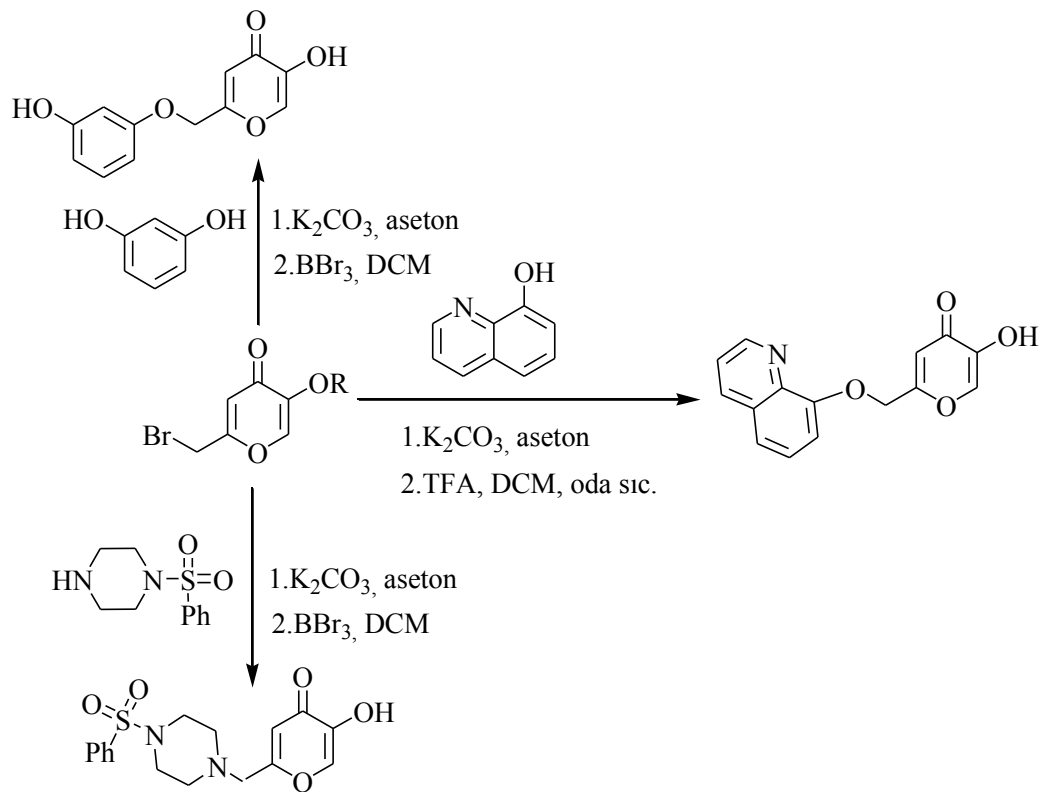
**Şekil 2.30.** Sinamat türevi depigmentasyon bileşikleri.

Kojik asitin  $MnO_2$  ile yürütülen oksidasyonunda *N,N*-dimetilhidrazin ile reaksiyonu sonucu *N,N*-dimetilhidrazon yapısı elde edilmiştir. Elde edilen bu molekül *meta*-kloroperoksibenzoik asit ile reaksiyona sokularak %53-69 verimlerde nitriller sentezlenmiştir (84).



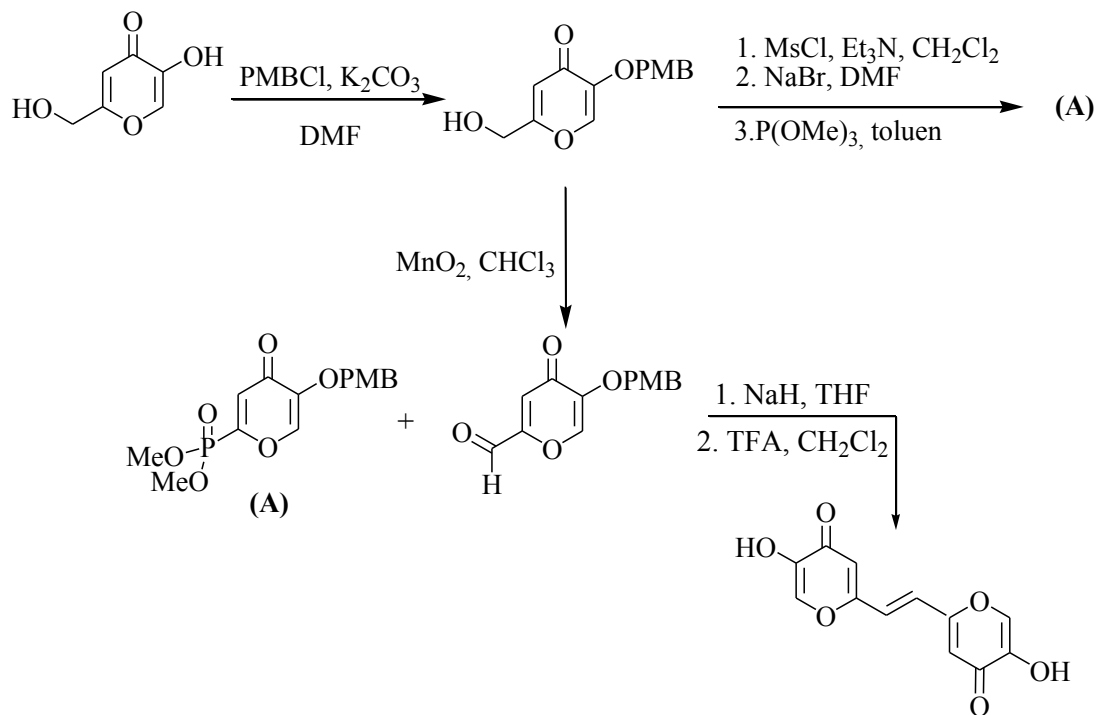
**Şekil 2.31.** Kojik asitten hareketle nitril türevlerinin sentezi.

Bir çalışmada, bir grup kojik asit türevinin Cu (II) kompleksleri hazırlanarak bu maddelerin He-La hücre dizilerine karşı antiproliferatif etki gösterdikleri bulunmuştur. Brom içeren türevler, potasyum karbonat varlığında 8-hidroksikinolin ve rezorsinol ile muamele edilerek istenen türevlere ulaşılmıştır. Ayrıca, yapısında benzil taşıyan bromo türevinin, DMF içerisinde potasyum karbonat varlığında arilsülfonil piperazinle reaksiyona sokulmasını takiben,  $BBr_3$  kullanılarak yapılan deproteksiyon sonucu piperazin yapısı taşıyan türev elde edilmiştir (85).



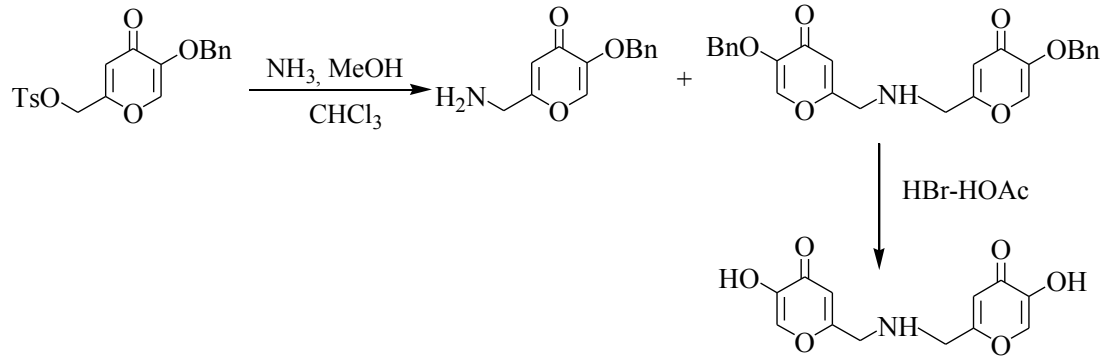
**Şekil 2.32.** Antikanser etkili kojik asit türevlerinin sentezi.

Lee ve ark. (86) tarafından melanin sentezi ve tirozinaz inhibitörü aktiviteye sahip kojik asit türevi, iki piron halkasının birleştirilmesiyle elde edilmiştir. Fosfonat bileşiği aldehitle sodyum hidrür varlığında oda sıcaklığında reaksiyona sokulmuştur. Enolik hidroksil grubunun korunması ve bunu takiben  $MnO_2$  ile oksidasyon sonucu komenik aldehit sentezlenmiştir. Bu yapı, elde edilen diğer halka ile birleştirilerek amaçlanan bileşik kazanılmıştır. Bu bileşiğin kojik asite göre sekiz kat daha güçlü tirozinaz inhibitörü etkiye sahip olduğu bulunmuştur. B16F10 melanoma hücrelerine karşı da daha etkili melanin sentez inhibitörü aktivite gösterdiği saptanmıştır.



**Şekil 2.33.** Tirozinaz inhibitörü kojik asit türevlerinin sentezi.

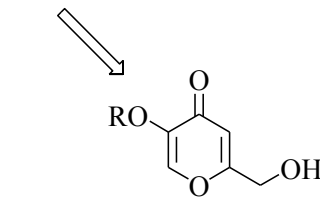
İskelet kası gevşetici ve civciv spinal kord nöronlarında kısmi agonist etkilere sahip 3-benzil-6-tosil kojik amin türevleri Atkinson ve ark. (87) tarafından daha önce sentezlenmiştir. Kojik asitin amonyak ile reaksiyonu sonucu kojik aminle birlikte dimerleri de elde edilmiştir. Korunan kısımlar asidik ortamda deproteksiyon ile uzaklaştırılmıştır (45).



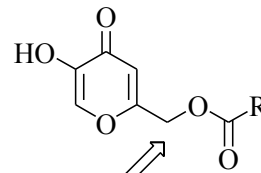
**Şekil 2.34.** Kojik amin dimerlerinin sentezi.

Kojik asitin stabilite ve çözünürlük sorunlarını iyileştirmek amacıyla çok sayıda ester türevleri sentezlenmiştir. Bu sentezler, gerek enzimatik gerekse kimyasal yollarla gerçekleştirilmiştir. Fenolik ve alkolik hidroksil gruplarının her birinden ayrı ayrı ve ikisinden de olmak üzere üç farklı türde ester türevleri vardır. Fenolik hidroksil grubunun ise daha kolay esterleştiği bildirilmiştir (88-90). Bu ester türevlerinde depigmente edici etkiler araştırılmış ve bu bileşiklerin daha etkili oldukları bulunmuştur. Günümüzde piyasada mevcut kojik asit esterleri kojik dipalmitat ve kojik izopalmitat adlı maddeler kozmetik ürünlerde kojik asite oranla daha güvenle kullanılan, herhangi bir kısıtlama koşulu bulunmayan bileşiklerdir.

5 numaralı konumun esterleri

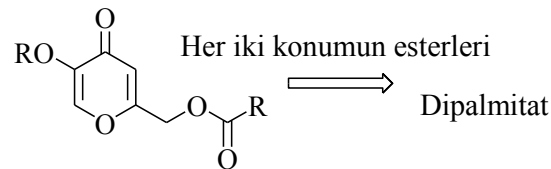


Monooleat  
Monopalmitat  
Monolaurat



7-O-vinil adipoil  
7-O-hekzanoil  
İzopalmitat

7 numaralı konumun esterleri



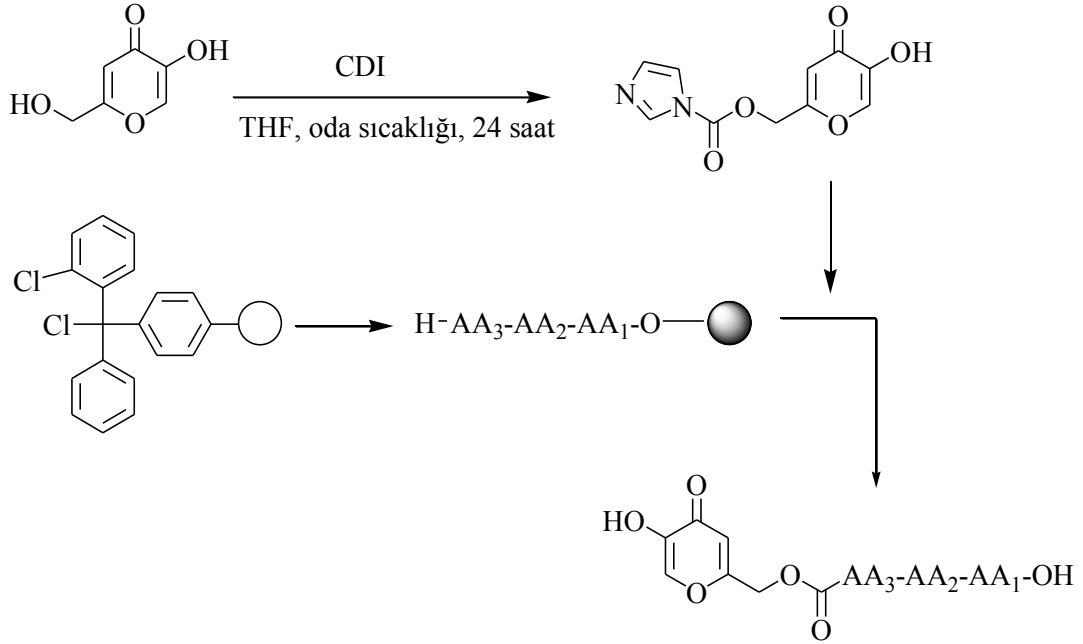
Her iki konumun esterleri

Dipalmitat

**Şekil 2.35.** Kojik asit esterleri.

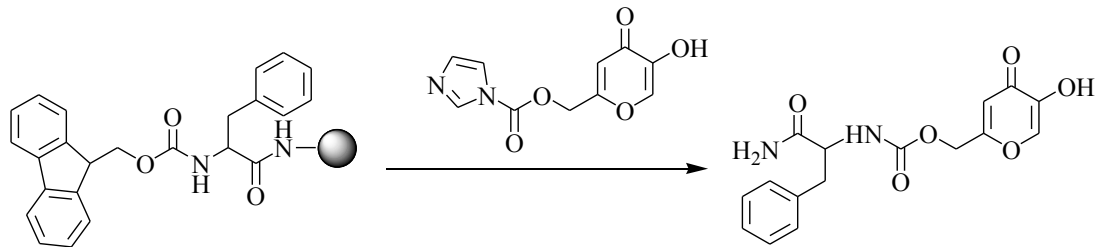
Tirozinaz inhibitörü aktivite gösteren kojik asit-tripeptit yapısındaki bileşikler ise benzer yöntemlerle farklı araştırmacılar tarafından sentezlenmiştir. Bu amaçla

kojik asit, karbonildiimidazol (CDI) ile oda sıcaklığında reaksiyona sokulmuş, diğer bir taraftan da 2-klorotritil reçinesine tripeptitler katı-faz yöntemiyle tutturulmuştur. Elde edilen bu aminoasitli yapı, kojik asit türeyle birleştirilerek %49-95 oranında değişen verimlerle antitirozinaz bileşikler elde edilmiştir (91).



**Şekil 2.36.** Kojik asit-tripeptit yapısındaki bileşiklerin sentezi.

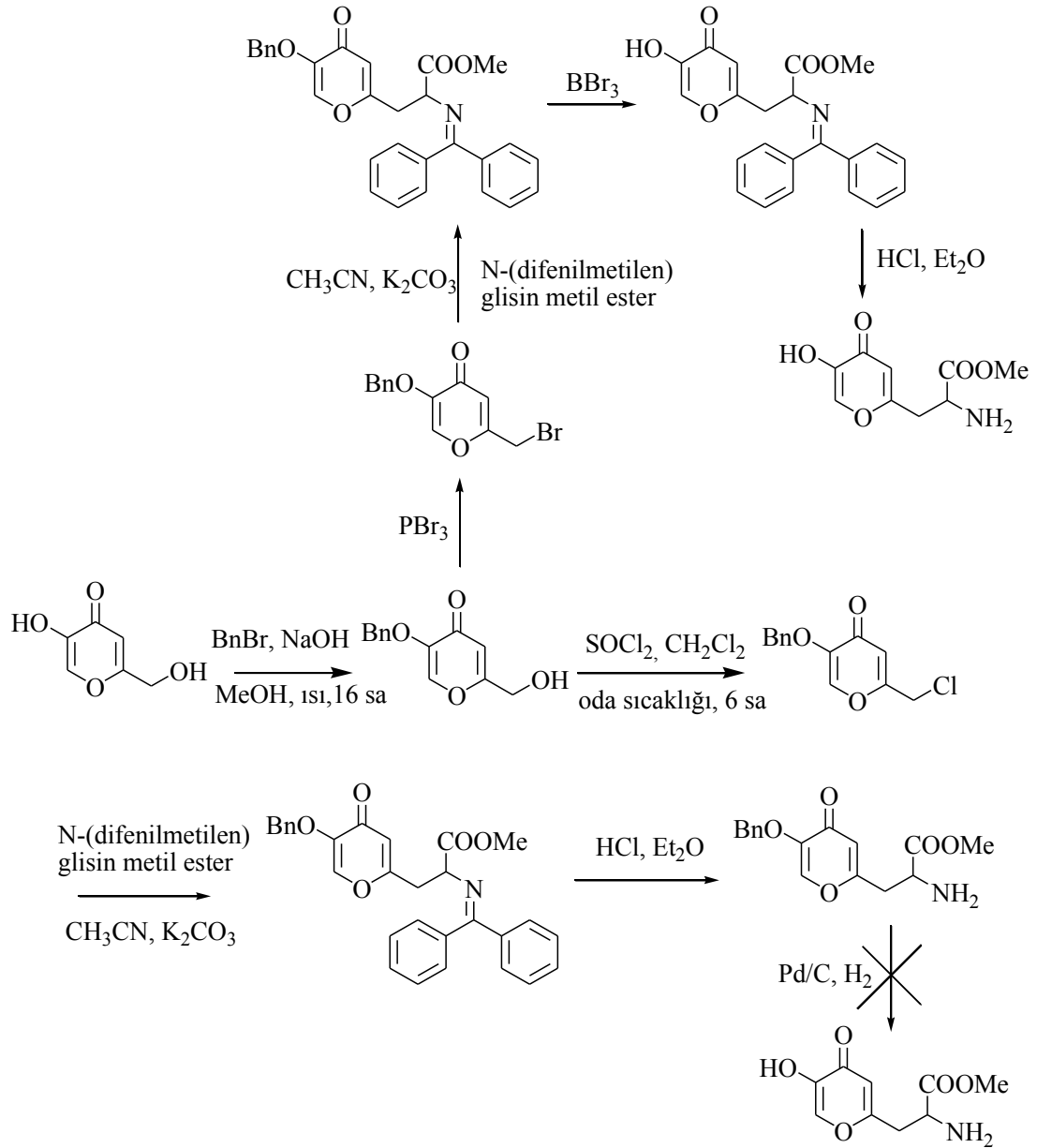
Kwak ve ark. (92) kojik asitten hareketle kojik asit-fenilalanin amit yapısındaki bileşiği sentezlemiş ve bunun çok iyi antitirozinaz etki gösterdiğini bulmuşlardır. Ayrıca daha sonra bu yapının CuCl<sub>2</sub> ve Zn(OAc)<sub>2</sub> ile metal komplekslerini hazırlayarak bu türevlerin de antitirozinaz etkileri incelenmiştir (93).



**Şekil 2.37.** Kojik asit-fenilalanin amit yapısındaki bileşiklerin sentezi.

Güncel bir çalışmada, kojik asit türevi doğal olmayan  $\alpha$ -aminoasit sentezlenmiştir. Öncelikle kojik asit, benzil bromür kullanılarak korunmuş, daha sonra elde edilen türev tisonil klorürle diklorometan içerisinde klorokojik asit türeğine

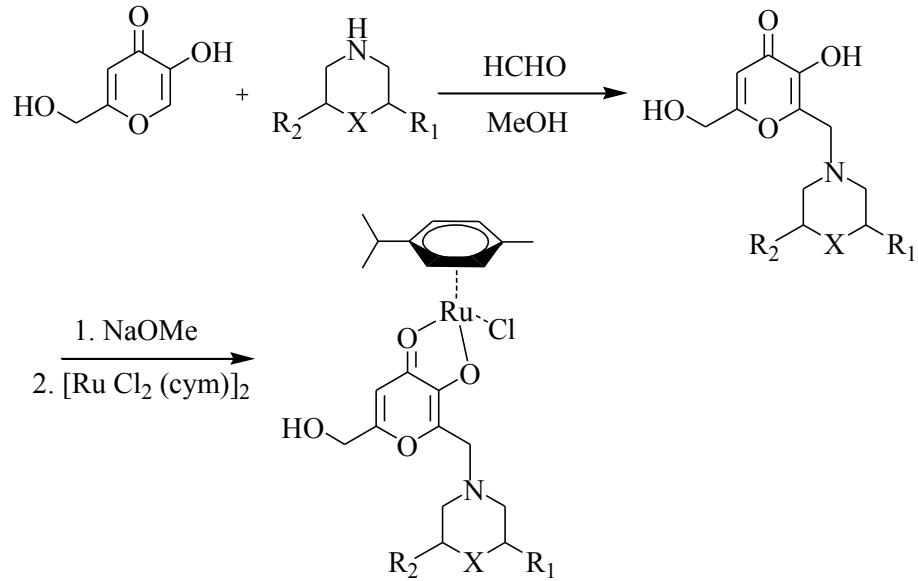
dönüştürülmüştür. Esterle reaksiyona sokulan madde, asidik ortamda hidrolize uğratılmış, ancak son basamakta benzil grubu uzaklaştırılamamıştır. Klorokojik asitle başarılı olamayan araştırmacılar bromokojik asitle yürütülen yolakta istedikleri ürünü sentezlemişlerdir (94).



**Şekil 2.38.** Kojik asit türevi doğal olmayan  $\alpha$ -aminoasitin sentezi.

Kasser ve ark. (95) tarafından yürütülen bir çalışmada kojik asit, siklik sekonder amin ve %35'lik formaldehit çözeltisinin reaksiyonu aşağıdaki şemada gösterilen Mannich ürününü vermiştir. Bu ürünün rutenyum ile hazırlanan

kompleksinin ise yapılan araştırmalarda antikanser ajan ve antitümör aktivitelere sahip oldukları bulunmuştur.

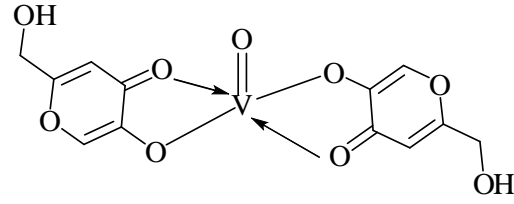


$R_1, R_2$ : H, Me; X:  $CH_2$ , CHMe, O

**Şekil 2.39.** Kojik asitin Ru komplekslerinin sentezi.

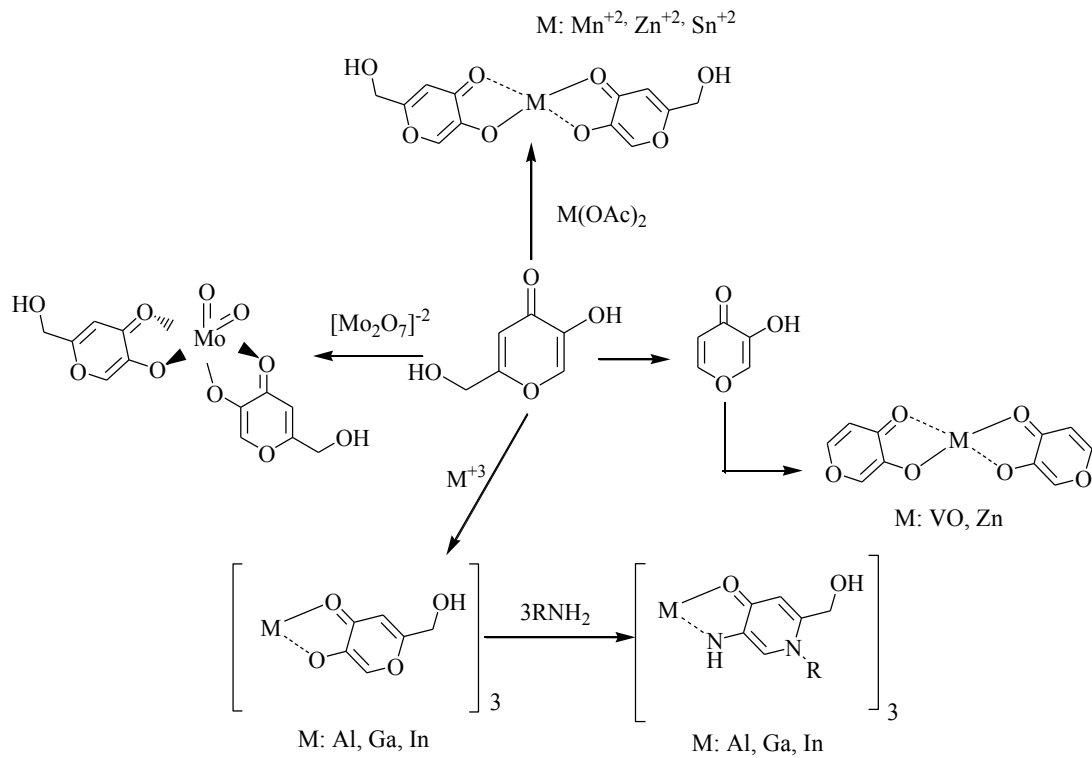
Heterosiklik yapıda birçok bileşik, düşük moleköl ağırlığına sahip olmaları, kolay sentezlenebilmeleri, çeşitli sübstituentlerle hidrofilik lipofilik dengeleriyle ayarlanabilir olmaları nedenleriyle iyi birer ligand olarak düşünülebilir. 3-Hidroksipironlar, kojik asit de dahil olmak üzere, çınko ve vanadyum ile bidentat kompleks yapabilmektedirler. Bu komplekslerin kandaki glukoz miktarını düşürmesi nedeniyle Tip II (insüline direnç ve anormal insülin salgılanması ile karakterize) diyabet tedavisinde kullanılabilirliği araştırılmıştır. Vanadium sulfat ( $VO_4$ ) kandaki glukoz miktarını düşürmekte ancak biriken metal toksisiteye neden olmaktadır. Bu nedenle metalin bir şelat içinde verilmesi tasarlanmaktadır. Bu amaçla 3-hidroksipiron bileşiği kullanılarak, şelasyon nedeniyle metalin polarlığı azaltılmış ve böylece hücre zarından geçebilir duruma getirilmiştir (96). Vanadyum bileşikleri oral diyabet tedavisinde tamamlayıcı olarak büyük öneme sahiptir. İnorganik tuzları bağırsaktan çok az emildiğinden, kojik asit ve maltol gibi hidroksipiron yapısındaki ligandlarla kompleksleri oluşturularak insülin mimetik aktiviteleri iyileştirilmeye çalışılmış, yapıları da X ışınları ile aydınlatılmıştır (97). Diyabet hastalarında vanadyum komplekslerinin insülin mimetik aktiviteleri olduğu için  $(VO)^{+2}$  esaslı tedavide kojik asit kompleksleri kullanılmaktadır (53, 98).





**Şekil 2.40.** Kojik asit vanadyum kompleksinin yapısı.

Kojik asitin fenolik yapısından dolayı çok sayıda metalle kompleksleri hazırlanmış, bu bileşiklerin radyoprotektif etki ve glukoz düşürücü insülin mimetik etki gibi çok çeşitli biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Ayrıca piron halkasından piridinon halkasına geçiş yapıldıktan sonra da metal kompleksler hazırlanmıştır (54, 56, 58, 99-101).

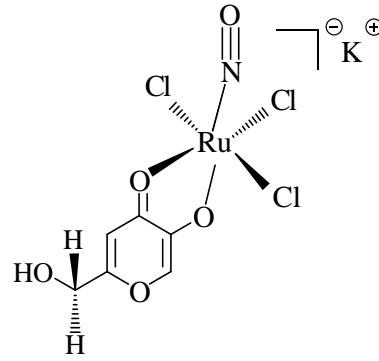


**Şekil 2.41.** Kojik asitin çeşitli metallerle komplekslerinin sentezi.

Kojik asitin şelasyon yapma yeteneğinden faydalanılarak kojik asitle uygun bileşikler kombine edilerek yeni makrosiklik şelatörler sentezlenmiş ve bunların tıbbi öneme sahip metallerle yaptığı şelatların, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılması amaçlanmıştır. Sentezlenen bu yeni şelat yapıcıların, talasemi hastalarındaki demir detoksifikasyonunda da etkili olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca ileri görüntüleme tekniklerinde, hedefe özgü radyodiagnostiklerin geliştirilmesi için metalik

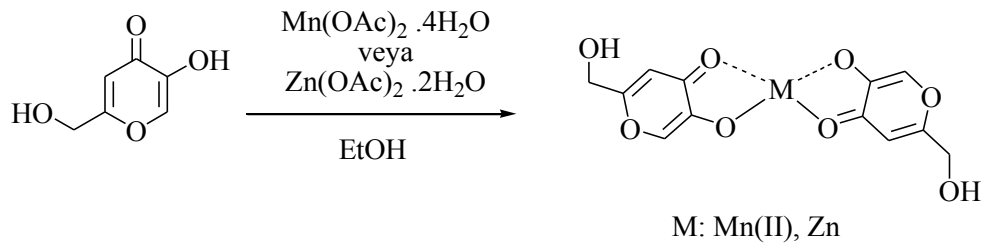
radyonüklitlere ilgi büyüktür. Biyomoleküllerin, metalik radyonüklitlerle işaretlenmesi için ise güçlü kovalent bağ yapabilecek, sağlam kompleksler oluşturabilecek inert ve dayanıklı şelatörlere ihtiyaç vardır. Bu amaçla sentezlenen makrosiklik şelatörün galyum ve demirin yanında indiyum ile de kompleks yaptığı belirtilmiştir (64).

Kojik asit metallere karşı yüksek affinite taşıması özelliğinden yararlanılarak bir çalışmada  $[\text{RuNO}]^6$  ile birebir oranda, metal-nitrozil kompleksleri hazırlanmıştır. Bu kompleksler, NO (nitrik oksit) dağıtıcı ajanlar olarak, kararlı bileşiklerden biyolojik hedeflere fotokimyasal NO salınımı sağlar. NO; nöral sinyalizasyon, kardiyovasküler kontrol, kanser azaltma gibi biyolojik olaylarda önemli rol oynar. Bu yüzden NO'in organizmada regülasyonu önemlidir (102).



**Şekil 2.42.** Kojik asitin NO dağıtıcı özellikteki kompleksi.

Radyoprotektör maddeler, iyonize radyasyonun toksik etkilerine karşı koruma sağlayan bileşiklerdir. Bu bileşikler, kanser hücrelerini öldürmek için normal dozda alınandan daha yüksek dozda radyasyon uygulanmasına olanak verirler. Emami ve ark., kojik asit ve kojik asitin mangan ve çinko komplekslerinin radyoprotektör aktivitelerini çalışmışlardır (54).

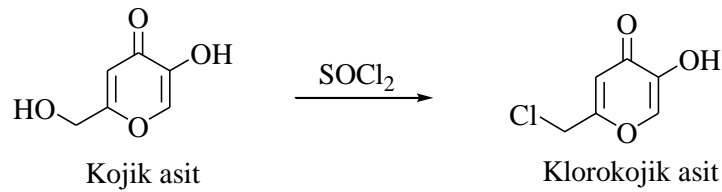


**Şekil 2.43.** Kojik asitin radyoprotektör özellikteki kompleksleri.

### 2.1.2. Klorokojik Asit ve Türevlerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Kojik asitteki alkolik hidroksil grubunun klorlanması sonucu elde edilen klorokojik asit, araştırmacılar tarafından tercih edilen önemli bir başlangıç maddesi ve ara ürün olarak karşımıza çıkmaktadır.

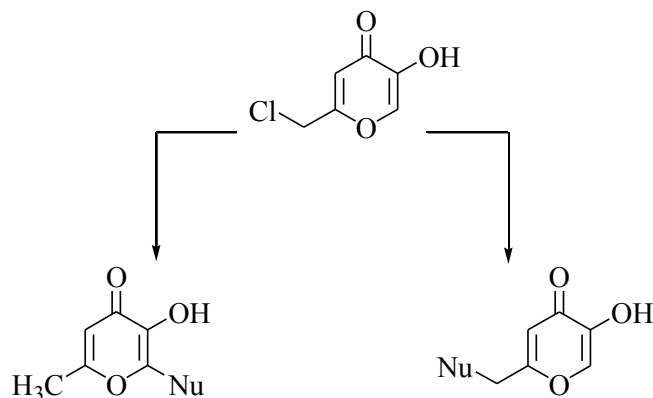
Kojik asidin tiyonil klorürle reaksiyonu sonucu oluşan klorokojik asit ilk kez 1924 yılında Yabuta tarafından sentezlenmiştir (Şekil 2.44.) (103). Daha sonra birçok araştırmacı tarafından aynı sentez yöntemi kullanılarak çeşitli çalışmalar yapılmıştır (18, 20, 22, 23, 58, 104).



**Şekil 2.44.** Klorokojik asitin sentezi.

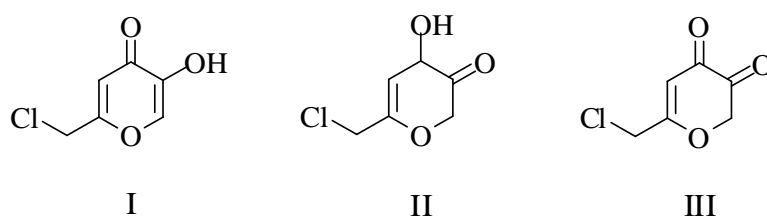
Beyaz renkte, toz kristaller şeklinde morfolojiye sahip olup erime derecesi 166-7 °C dir. Su, dietileter ve sikloheksanda çözünmez. Metanol, etanol, etil asetat ve benzende çözünür. Aseton ve kloroformda kolay çözünür.

Klorokojik asitin antimikrobiyal, antidermatofitik ve antifungal etkiye sahip olduğu bilinmektedir (22, 36). Ayrıca bu bileşik, reaksiyona giren reaktiflere bağlı olarak sahip olduğu klor atomu sayesinde farklı nükleofilik süstitüsyon reaksiyonlarına girebilmektedir. Klorokojik asit I-, N<sub>3</sub>- ve SCN- gibi nükleofillerle reaksiyona girdiğinde moleküldeki klor atomu söz konusu nükleofillerle yer değiştirmektedir. Bundan farklı olarak protonlanmış sekonder aminlerle reaksiyona girdiğinde 6 numaralı konumdaki karbon hedef alınarak 6-süstitüe allomaltol türevleri oluşmaktadır (105).



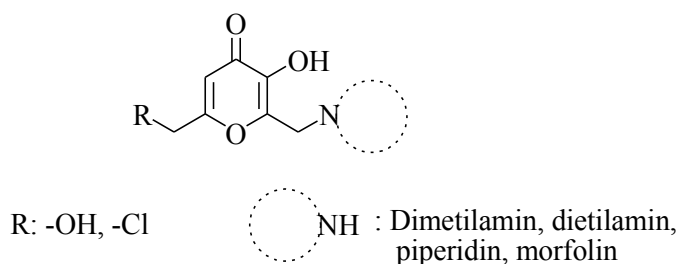
**Şekil 2.45.** Klorokojik asitin nükleofilik süstitüsüonu.

Nötral ya da protonlanmış bileşiklerin kararsız protonları olduğundan değişik totomerik şekillerde bulunabilirler (47). Yapılan çalışmalar sonucunda nötral klorokojik asit ve azidokojik asitin enolik (I) formlarının en dayanıklı şekiller olduğu bildirilmiştir. Azidokojik asit ve klorokojik asitin tautomerleri incelendiğinde ise üç adet en düşük enerjili yapı saptanmıştır. Yapıların enerjileri kıyaslandığında, I en düşük enerjiye sahiptir; keto formu (III), II'den daha az dayanıklıdır. Nötral keto formu hariç, tüm katyonik ve nötral totomerlerde molekül içi hidrojen bağı mevcuttur. Nötral moleküllerdeki hidrojen bağına katyonlarda bulunan hidrojen bağlarına göre daha güçlü olduğu bildirilmiştir (106).



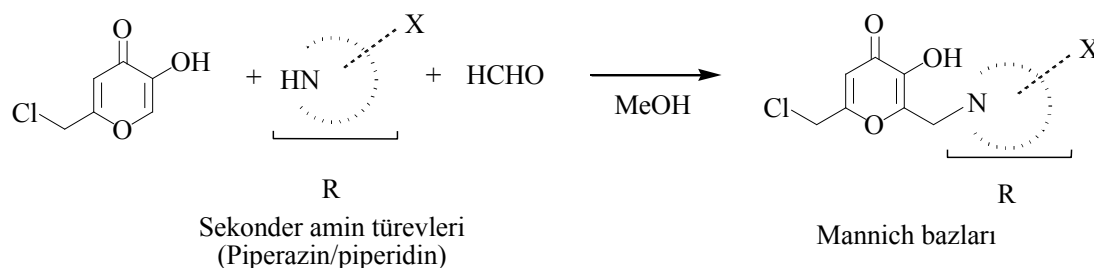
**Şekil 2.46.** Klorokojik asitin tautomerleri.

Kojik asit ve klorokojik asidin, farklı sekonder amin türevleri kullanılarak Mannich bazları hazırlanmıştır. Klorokojik asit için morfolin ve piperidin kullanılırken, kojik asit için bunların yanında dimetilamin ve dietilamin gibi halkalı yapıda olmayan türevler de kullanılarak 6 numaralı konumdan mono-Mannich türevleri sentezlenmiştir. Ayrıca kojik asidin 5 numaralı konumundaki hidroksil grubunun korunduğu türevlerde ise Mannich reaksiyonunun yürümediği saptanmıştır (63, 107).



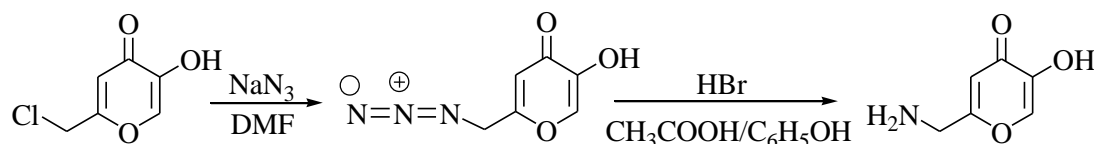
**Şekil 2.47.** Mannich bazı yapısı taşıyan türevler.

Anabilim dalımızda tarafımızca klorokojik asitten hareketle çok sayıda Mannich bazı sentezlenerek çeşitli biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. Literatürlerde “one pot reaction” (tek kaptaki reaksiyon) olarak tanımlanan bu reaksiyon türü klorokojik asit, formaldehit ve uygun sekonder amin yapısındaki bileşiğin aynı kap içerisinde tepkimeye sokulmasıyla oda sıcaklığında, hızlı ve yüksek verimlerle gerçekleştirilmiştir (20, 22, 23).



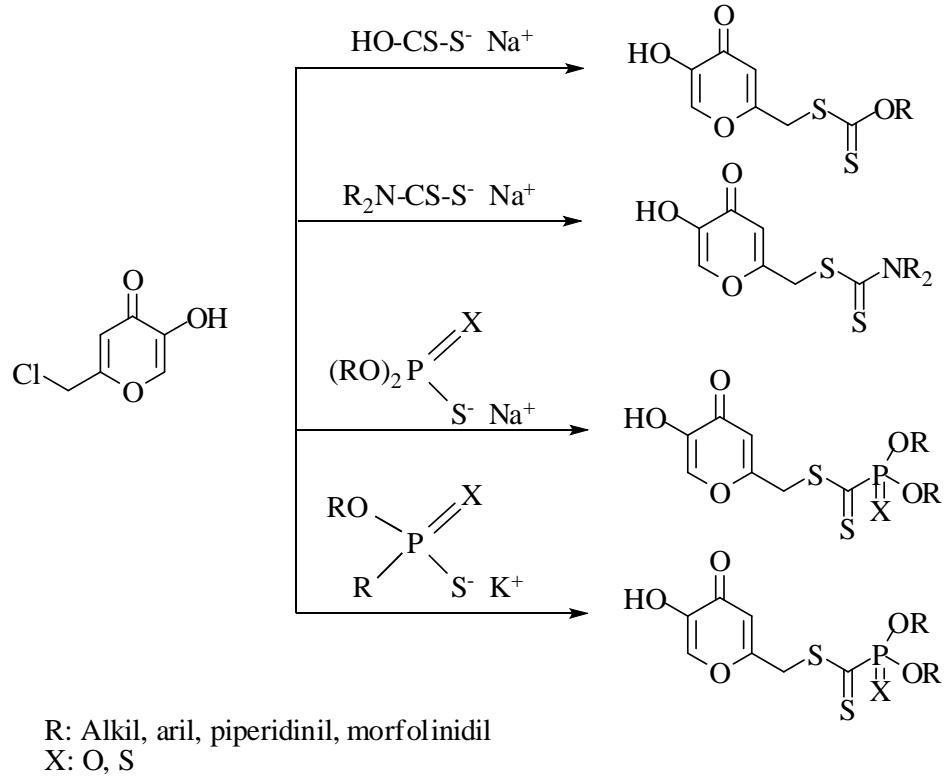
**Şekil 2.48.** Klorokojik asitten hareketle Mannich bazlarının sentezi.

Atkinson ve ark., klorokojik asiti dimetilformamit içerisinde sodyum azit ile reaksiyona sokarak 2-metilazit türevini, bu bileşiğin hidrobromik asit ile hidrolizi sonucu ise 2-aminometil-5-hidroksi-4H-piran-4-on (kojik amin) elde etmişlerdir (87).



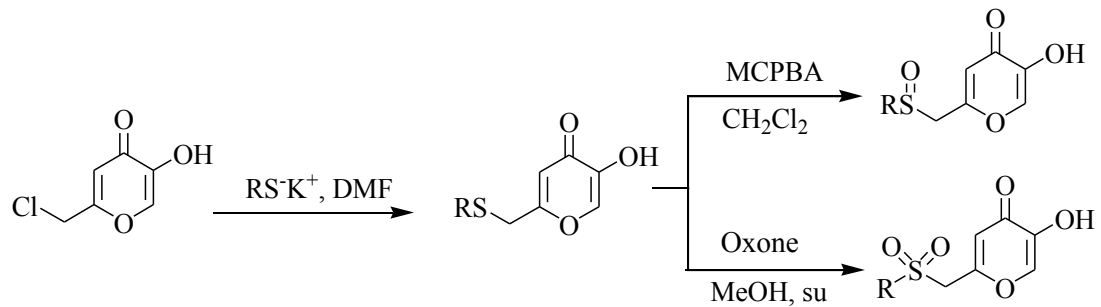
**Şekil 2.49.** Klorokojik asitten hareketle kojik aminin sentezi.

Bir çalışmada *N,N*-dialkilditiyokarbamik asit ve ditiyofosforik asitin *O*-alkil ve *O,S*-dialkil esterlerinin sodyum tuzları ile 5-süstitüe-2-klorometil-4H-piran-4-on türevleri üzerinden yeni klorokojik asit türevleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerin pestisit ve insektisit aktiviteleri gözlenmiştir (108).



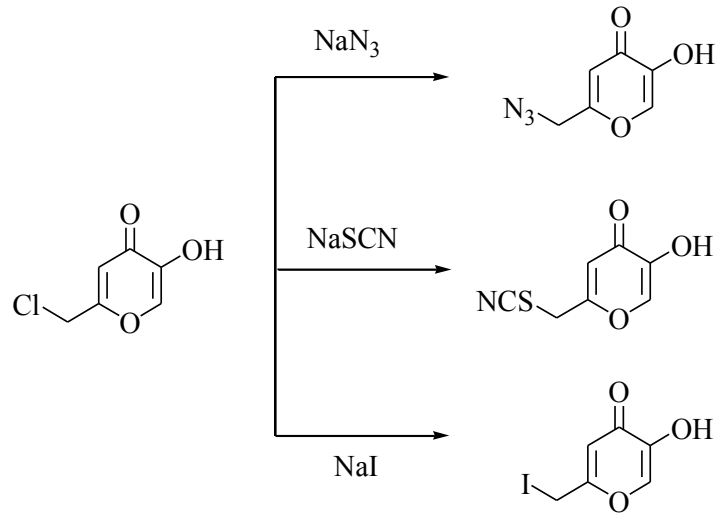
**Şekil 2.50.** Klorokojik asitten hareketle pestisit/insektisit türevlerin sentezi.

Başka bir çalışmada ise tiyoeter, sülfoksit ve sülfon köprüleri taşıyan kojik asit türevleri sentezlenmiş, bunların antitirozinaz ve antiinflamatuvar aktiviteleri araştırılmıştır. Kojik asitin tiyonil klorürle reaksiyonunu takiben klorokojik asit elde edilmiş, tiyollerin potasyum tuzlarıyla muamele edilmiş ve kojil tiyoeter türevleri sentezlenmiştir. Sülfoksit türevleri ise kojil tiyoeterlerin *m*-kloroperbenzoik asit (MCPBA) ile oda sıcaklığında reaksiyonu sonucu oluşmuştur. Daha sonra kojil tiyoeter türevleri oksidasyonla sülfon yapılarına dönüştürülmüştür. Sülfoksit ve sülfon türevlerinde tirozinaz inhibitörü aktivite düşerken lipofilik, çeşitli alkil zincirler taşıyan kojil tiyoeter türevlerinde söz konusu aktivite artmıştır (109, 110).



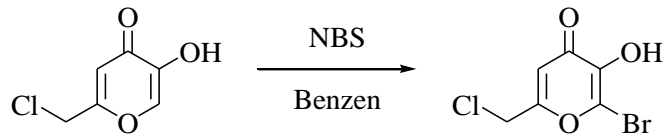
**Şekil 2.51.** Klorokojik asitten hareketle kükürtlü türevlerin sentezi.

Klorokojik asitteki klor atomunun azit grubuyla süstitüsüyonu sonucu azidokojik asit sentezlenmiştir. Klorokojik asit ve azidokojik asit nükleofilik süstitüsyon reaksiyonlar için iyi ligantlardır. Klorokojik asit sodyumtiyosiyanat ve sodyum iyodür ile de 6 numaralı konumdaki klor atomunun nükleofilik süstitüsüyonu sonucu hedeflenen ürünler meydana gelmiştir (105).



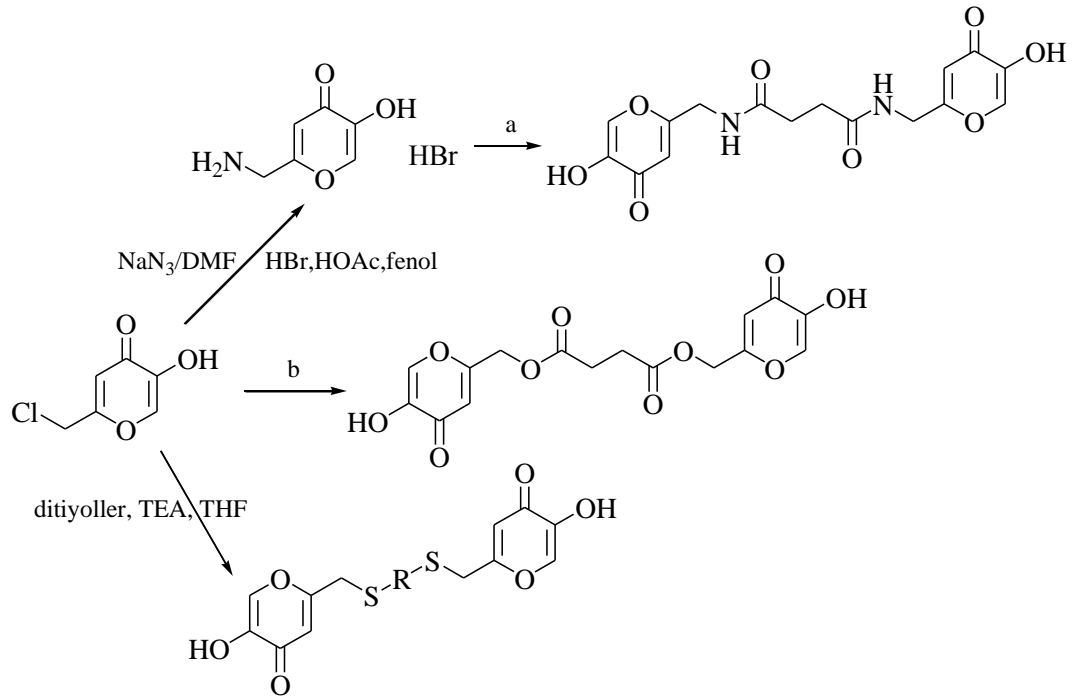
**Şekil 2.52.** Klorokojik asitin çeşitli nükleofillerle reaksiyonu.

Klorokojik asidin N-bromosüksinimit ile 6-bromoklorokojik asit oluşturduğu bildirilmiştir (111).



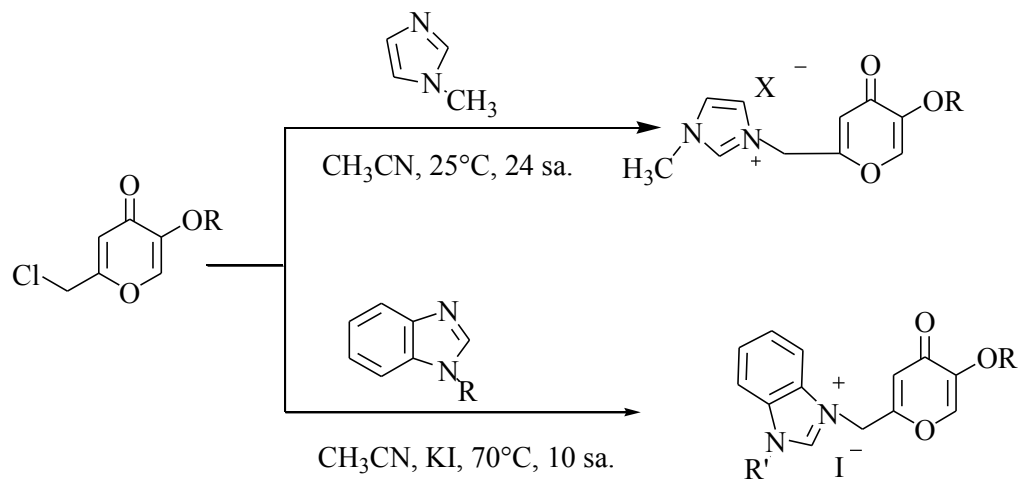
**Şekil 2.53.** 6-Bromoklorokojik asitin sentezi.

Rho ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada iki mol klorokojik asitin ester, amit ve tiyoeter gibi çeşitli köprülerle bağlanmasıyla çeşitli kondanse bileşikler hazırlanmıştır. Klorokojik asitin DMF içerisinde sodyum azit ile muamelesini takiben süksinil klorür ile reaksiyonu sonucu ilk sıradaki madde elde edilmiştir. Diğer bir yolla ise klorokojik asit kojil süksinik asitle tepkime vererek ikinci sıradaki madde sentezlenmiştir. Son olarak klorokojik asit, trietilamin varlığında ditiyollerle reaksiyona sokularak bis tiyoeter köprüsüne sahip bileşiklerin sentezlendiği bildirilmiştir (112).



**Şekil 2.54.** Klorokojik asit türevi kondanse bileşiklerin sentezi.

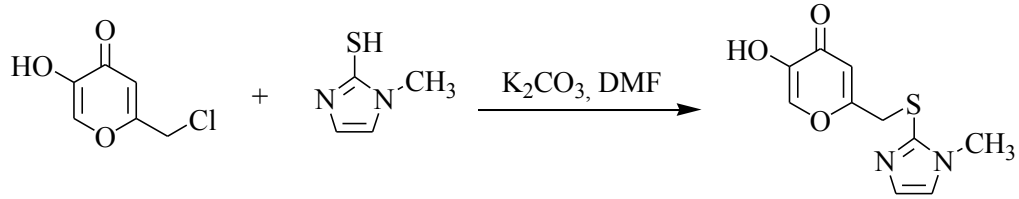
2012 Yılında yapılan bir çalışmada; kojik asit türevlerinin imidazol ve benzimidazol tuzları, *N*-heterosiklik karben ve iyonik sıvılar elde etmek amacıyla sentezlenmiştir. Klorokojik asit ve enolik hidroksil grubu benzille korunmuş olan türevi, *N*-metilimidazol ve *N*-alkilbenzimidazollerle reaksiyona sokularak amaçlanan bileşikler kazanılmıştır (113).



**Şekil 2.55.** Klorokojik asit türevi imidazol ve benzimidazol tuzlarının sentezi.

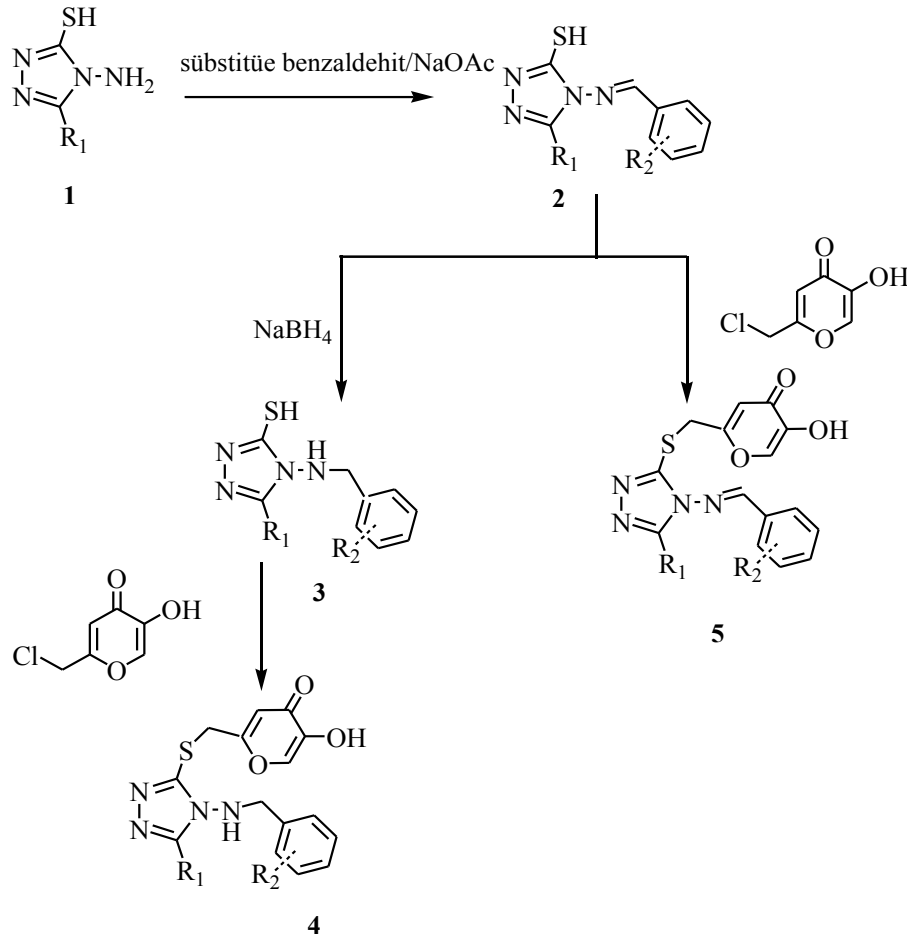


Güncel bir çalışmada klorokojik asit, yapısında tiyol içeren bir bileşikle reaksiyona sokularak antitirozinaz ve melanogenez inhibitörü yeni bileşikler elde edilmiştir. 2-Merkapto-1-metilimidazol ile klorokojik asit, potasyum karbonat varlığında DMF içerisinde reaksiyona sokulmuştur. Elde edilen maddenin mantar tirozinazına karşı kojik asitten daha aktif ve B16F10 malign melanom hücrelerine karşı daha az toksik olduğu saptanmıştır (114).



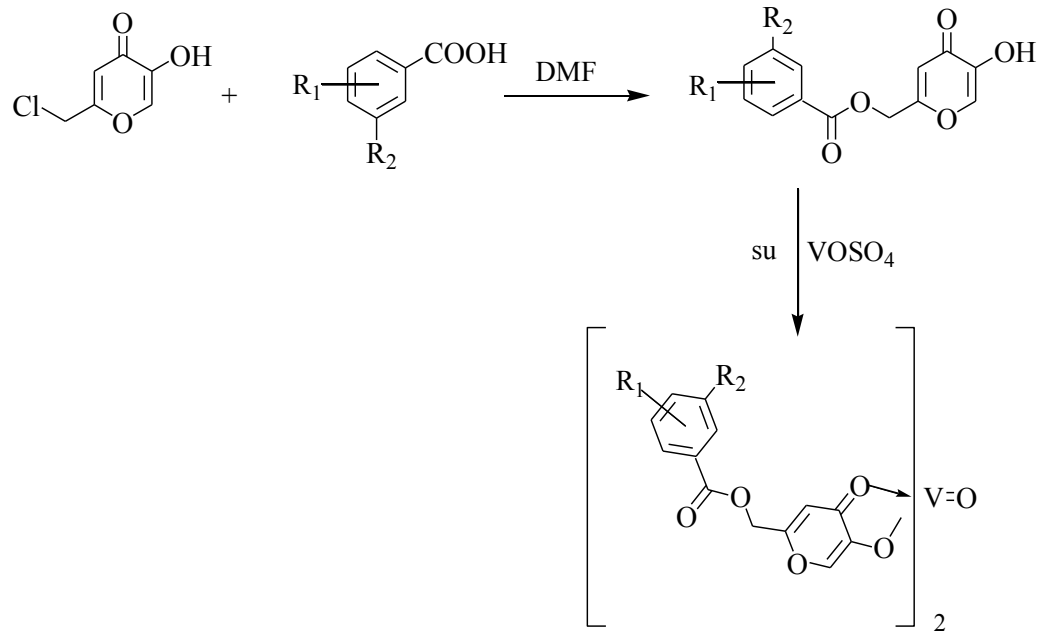
**Şekil 2.56.** 2-Merkapto-1-metilimidazol türevlerinin sentezi.

Kojik asit çekirdeğini temel alarak yeni, etkili ve güvenilir tirozinaz inhibitörü maddeler geliştirmek amacıyla yapılan bir çalışmada 1,2,4-triazol kullanılarak hidroksibenzaldehit ve kojik asit iskeleti bir araya getirilerek mantar tirozinazı üzerindeki etkisi incelenmiştir. 5-Süstitüe-3-merkapt-4-amino-1,2,4-triazol yapısındaki bileşik hidroksibenzaldehit ile kondenzasyon reaksiyonuna tabi tutulmuş, elde edilen Schiff baz, sodyum borohidür ile amine indirgenmiştir. Elde edilen bileşik, kojik asitle muamele edilerek trietil amin karşısında nükleofilik süstitüsyona uğramış ve yüksek verimle istenilen bileşiğe ulaşılmıştır. 2 Numaralı bileşik doğrudan klorokojik asitle reaksiyona girdiğinde ise 5 numaralı bileşiğe ulaşılmıştır. Elde edilen tüm 4 ve 5 yapısındaki yeni maddeler, standart kojik asitten daha yüksek inhibisyon göstermişlerdir (115).



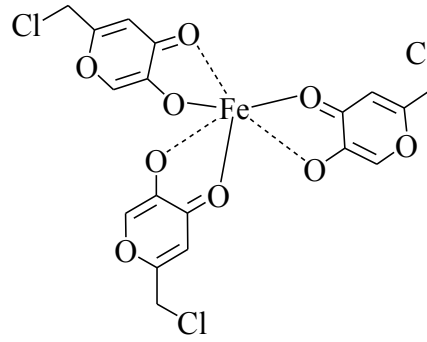
**Şekil 2.57.** Çeşitli tirozinaz inhibitörlerinin sentezi.

Kojik asitteki hidroksimetil grubu üzerinden yürütülen reaksiyonlarla da türevler elde edilmiştir. Bu fonksiyonel grup üzerinden kojik asitin benzoat esterleri hazırlanarak bunların tirozinaz inhibitör ve depigmentasyon aktiviteleri değerlendirilmiştir. Kojik asit, dimetilformamit içerisinde tiyonil klorürle muamele edilmiş, bunu takiben benzoik asitin potasyum tuzlarıyla reaksiyona sokulmuştur. Benzoat türevleri yüksek verimlerle elde edilmiştir. İleriki aşamalarda klorokojik asit; sodyum benzoat ve sodyum salisilatla tepkimeye sokularak (5-hidroksi-4-okso-4*H*-piran-2-il)metil 2-metilbenzoat ve (5-hidroksi-4-okso-4*H*-piran-2-il)metil 2-hidroksibenzoat iyi verimlerle elde edilmiştir. Bu şekilde sentezlenen maddelerin vanadil sülfatla kompleksleri hazırlanarak yüksek hipoglisemik etki gösteren antidiyabetik ajanlar olduğu tespit edilmiştir (83, 116-118).



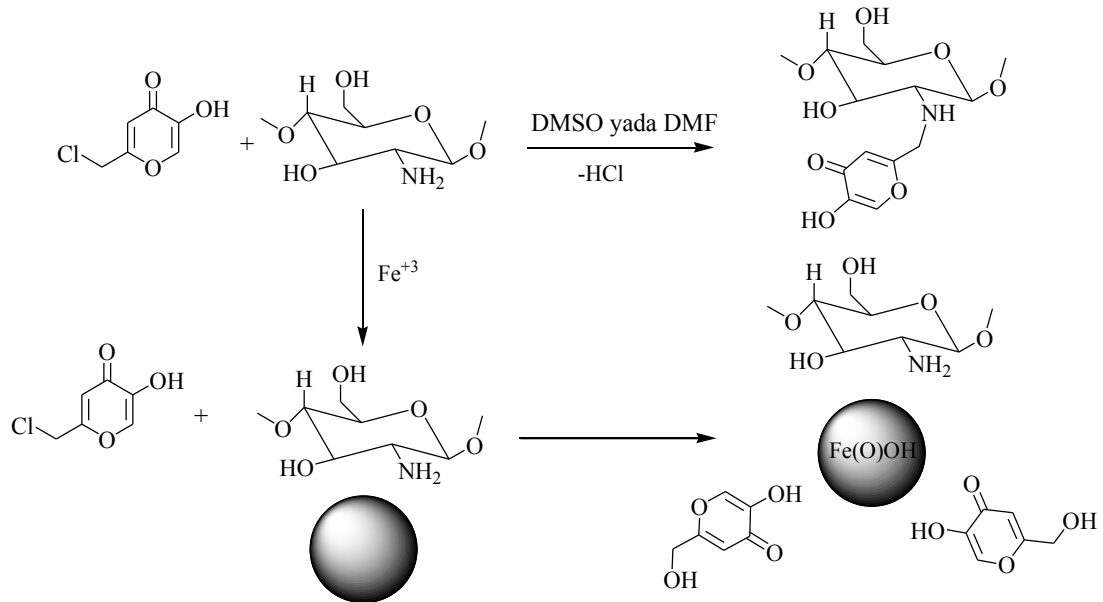
**Şekil 2.58.** Hipoglisemik etkili türevlerin sentezi.

Klorokojik asitin çeşitli metallerde 2-merkapt-1-metilimidazol kompleks oluşturabildiği bilinmektedir. Alüminyum ve galyumla yaptığı kompleksler suda çözünebilir özelliktedir. Alüminyum, Alzheimer hastalığında önemli yer tutmaktadır çünkü hastalığın neden olduğu tahribat, organizmada alüminyum birikmesine yol açar. Galyumun ise tümörlerin tespitinde kullanılışı araştırma konularından biridir. Tıbbi açıdan öneme sahip bu iki metalin nötral ortamda yaptıkları komplekslerin incelenmesi hastalıkların tanı ve tedavisine yönelik olarak doğru bir yaklaşımdır. Alüminyum bileşiklerinin suda çözünürlükleri galyum komplekslerinin çözünürlüklerinin yarısı kadardır. Klorokojik asitin her iki metalle yaptığı kompleksler de suda çözünmemektedir (119). Klorokojik asit ve allomaltolün diğer bütün hidroksipironlar gibi birçok metalle (demir, alüminyum, vanadium) oluşturduğu kompleksler, diyabet ve anemi tedavisinde yeni bileşikler olarak test edilmiştir (120, 121).



**Şekil 2.59.** Klorokojik asitin Fe ile kompleksi.

Metal katyonlarına seçici olarak bağlanabilme yeteneği sayesinde kitosan, kontamine suların ağır metallere arındırılmasında kullanıldığı gibi ayrıca diş macunu, şampuan, vücut kremi gibi kozmetik ürünlerinin içeriğinde, gıdalarda koruyucu amaçla, ilaç, ziraat ve biyomedikal alanlarda da kullanımı olan doğal kaynaklı bir polimerdir.  $Fe^{3+}$  iyonuna karşı affinitesi bilindiğinden diğer bir şelasyon yapıcı bileşik olan kojik asitle bir araya getirilerek konjugatları oluşturulmuştur. Bu konjugatların sentezlenmesinde iki farklı yaklaşım söz konusudur. İlkinde, klorokojik asit ile kitosan serbest amin grupları aracılığıyla kovalent bağ oluştururken, ikincide ise subkoloidal  $Fe(O)OH$ 'in nanopartikül olarak kitosana bağlı  $Fe(III)$  metallerinin kojik asitle kompleks oluşturmasıdır (45, 122).

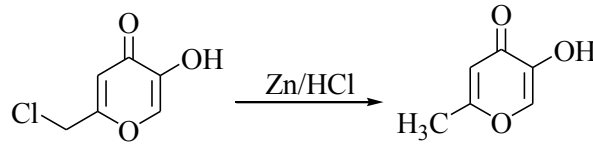


**Şekil 2.60.** Klorokojik asitin kitosana konjugasyonu.

### 2.1.3. Allomaltol ve Türevlerinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

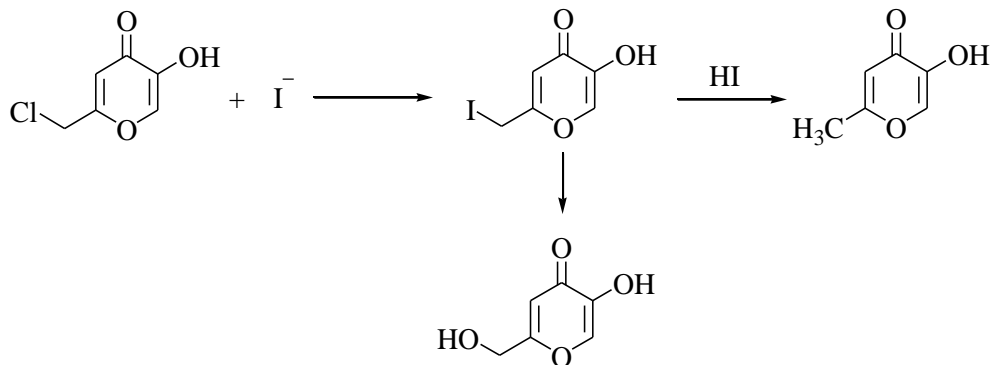
Allomaltol, 2-metil-5-hidroksi-4*H*-piran-4-on yapısında olup biyolojik açıdan dikkat çeken, hidroksipiron türevi bir bileşiktir. Allomaltolün organoleptik özelliklerine bakıldığında renksiz ve kokusuz toz şeklinde olduğu, erime derecesinin ise 152-3°C olduğu tespit edilmiştir.

Allomaltolün sentezi de klorokojik asit gibi ilk kez Yabuta tarafından gerçekleştirilmiştir (123). Klorokojik asitin asidik ortamda çinko tozu ile indirgenmesi sonucunda elde edilmiştir (Şekil 2.3.). Geliştirilen yöntem, basit, etkili ve yüksek verimlidir. Ancak allomaltol farklı araştırmacılar tarafından farklı yollarla da sentezlenmiştir. Dibenzoil kojik asitin glasiyal asetik asitte indirgenmesiyle elde edilen yöntemin de bilinmesine rağmen halen günümüzde tercih edilen ilk yöntemdir (124).



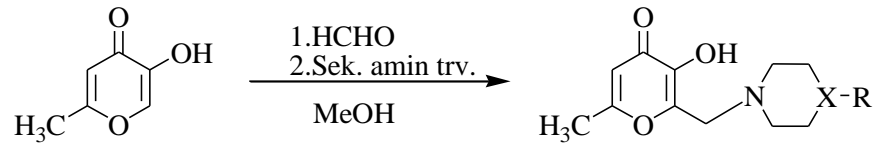
Şekil 2.61. Allomaltolün sentezi.

Allomaltol klorokojik asitten sentezlendiği gibi, iyodokojik asitten de sentezlenmektedir. Klorokojik asitin iyot ile reaksiyona girmesiyle iyodokojik asit oluşmaktadır. Işıktan ve sıcaktan bozunan iyodokojik asitin, allomaltola dönüştüğü bildirilmiştir (105).



Şekil 2.62. İyodokojik asitten hareketle allomaltol eldesi.

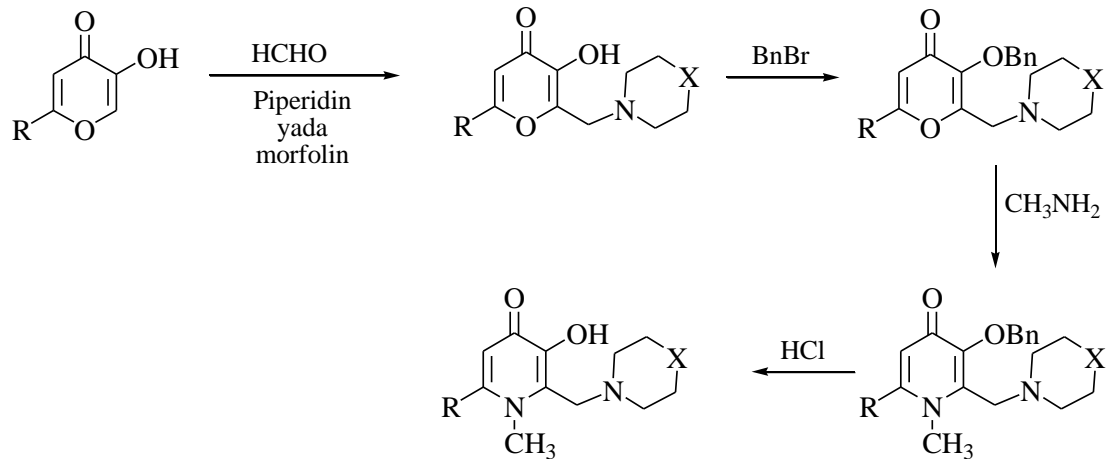
Son yıllarda yapılan çalışmalarda çoklu bileşenli reaksiyonlar biyolojik olarak aktif bileşikler sentezlemek için kullanılan etkili bir araç olarak görülmektedir. Çünkü bu reaksiyonların, yüksek verimlilik, ürünlerin bir yerde kümelenmesi ve basit uygulama gibi avantajları söz konusudur. Laboratuvarımızda allomaltolden yola çıkılarak, metanol varlığında formaldehit ve sekonder amin türevi maddelerle Mannich bazları hazırlanmış, sentezlenen türevlerde de antikonvülsan ve antimikrobiyal aktiviteler araştırılmıştır (18, 19).



X= N, C

**Şekil 2.63.** Allomaltol türevi Mannich bazları.

Dehkordi ve ark. tarafından 2008 yılında yapılan çalışmada, kojik asit ve allomaltolün 2 numaralı konumuna formaldehit varlığında Mannich reaksiyonu uygulanarak piperidin veya morfolin süstitüe edilmiş türevleri sentezlenmiştir. Yapılarda bulunan fenolik hidroksil grubu, benzil bromürle reaksiyona sokularak korunmuştur (125).

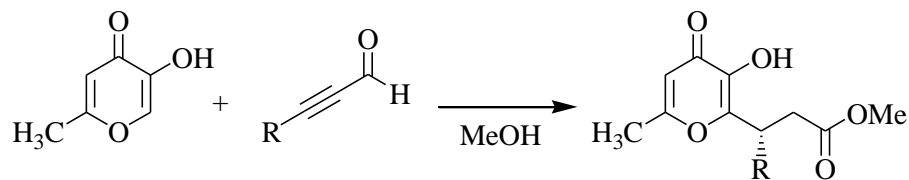


R: -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OH

X: -CH<sub>2</sub>, -O

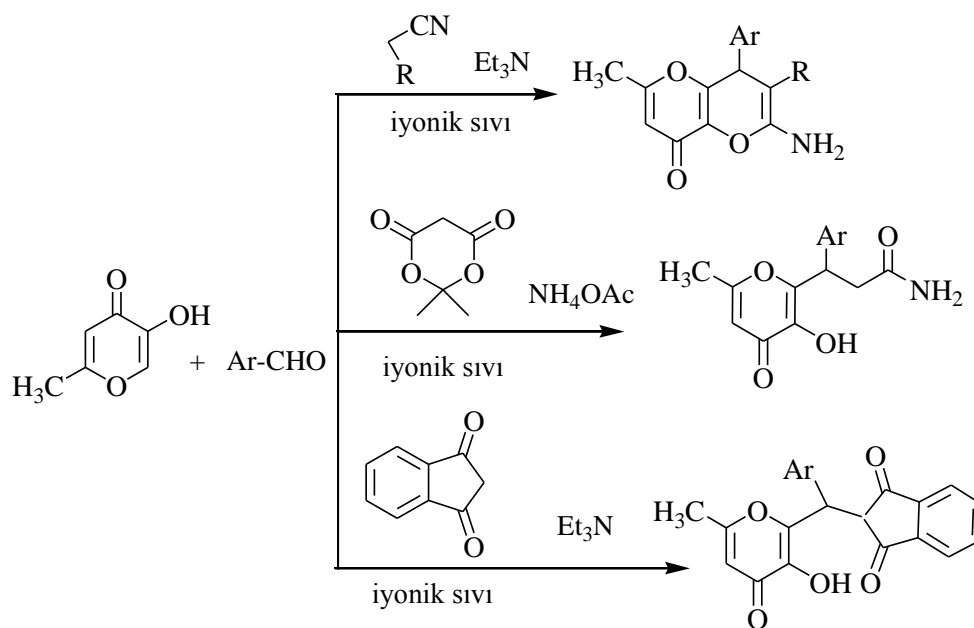
**Şekil 2.64.** Allomaltol türevi ve piridinon türevi Mannich bazları.

Daha sonra yapılan bir çalışmada N-heterosiklik karben tarafından katalizlenen enansiyoselektif Claisen düzenlemesi kullanılarak yeni allomaltol türevleri sentezlenmiştir (126).



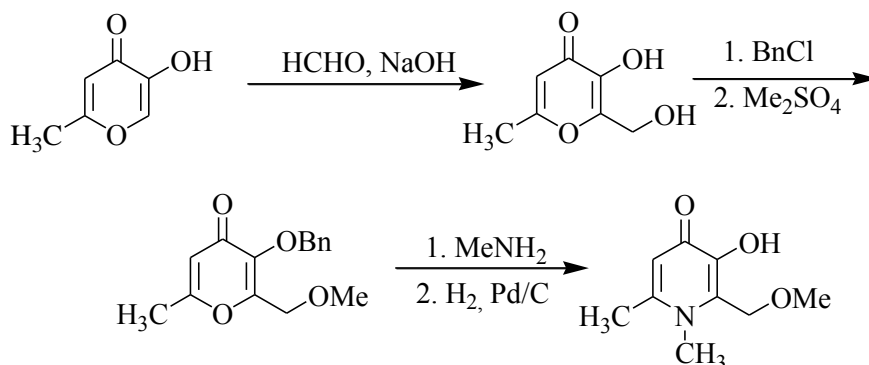
**Şekil 2.65.** Allomaltol türevlerinin Claisen düzenlenmesi.

Bunların yanında, organik kimya sentezlerinde iyonik sıvılar uçucu ve yanıcı olmamaları, geri dönüştürülebilir olmaları gibi temel özellikleri sayesinde iyi huylu reaksiyon ortamları olarak dikkat çekmektedirler. Yeşil kimyanın, mevcut çevreye kirlilik sorunlarını ortadan kaldıracak çözümleri kapsayan bir akım olduğu düşünülürse iyonik sıvıları da kapsayan bu reaksiyon türlerinin, artan reaksiyon hızı ve seçiciliği de göz önünde bulundurulduğunda organik kimyada bu uygulamaların giderek arttığı net bir şekilde görülmektedir. Bu prensiple, aynı çalışma grubu tarafından aşağıdaki şemada belirtilen çoklu bileşen reaksiyonları gerçekleştirilerek allomaltol türevleri yüksek verimlerle sentezlenmiştir (127-129).



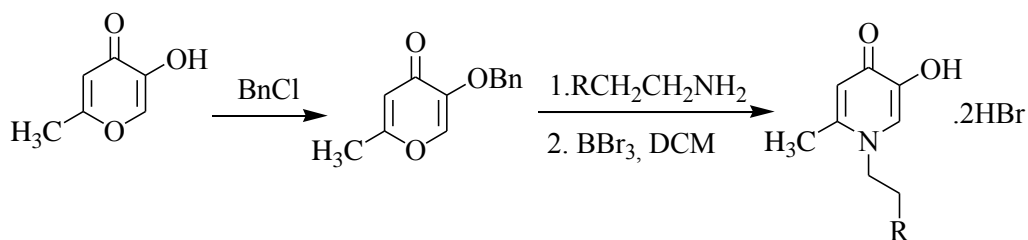
**Şekil 2.66.** Allomaltolün iyonik sıvılardaki reaksiyonlarına örnekler.

Allomaltolün enolik hidroksil grubu benzil bromürle ve alkolik hidroksil grubu ise dimetil sülfatla korunarak piridinon türevine geçilmiştir (130).



**Şekil 2.67.** Allomaltolden piridinonlara geçiş.

Kojik asitten hareketle elde edilen Mannich bazları dışında da çok sayıda biyolojik olarak aktif bileşik mevcuttur. Anabilim dalımızda yürütülen çalışmalarda kojik asitten hareketle piron halkasından piridinon halkasına geçiş sağlanarak 1,2,5-trisübstitüe 4(1*H*) piridinon türevleri sentezlenmiştir. Bu maddelerin yüksek analjezik ve antiinflamatuvar etkiye sahip oldukları bulunmuştur. Öncelikle tiyonil klorür kullanılarak kojik asitten klorokojik asit elde edilmiş, daha sonra çinko tozu ile redüksiyonunu takiben elde edilen allomaltolün yapısındaki hidroksil grubu, benzil klorürle korunarak 4-piron türevleri sentezlenmiştir. Elde edilen türevler, çeşitli aminlerle muamele edilmiş, takiben borontribromür kullanılarak benzil grubu uzaklaştırılmıştır (59, 60).



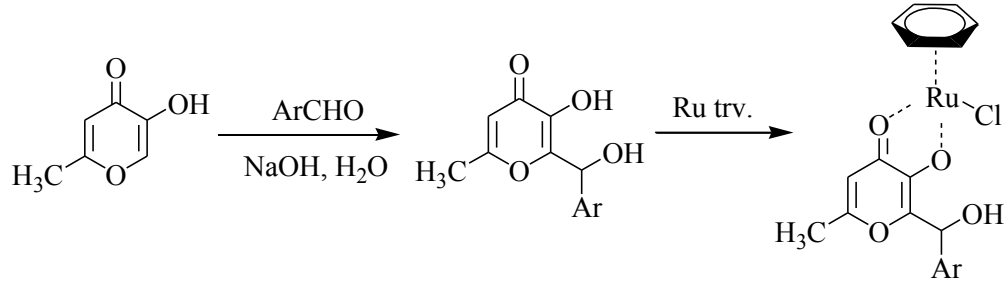
R: N-piperidil, 2-piridil, N-metilpirolidin-2-il, N-morfolino

**Şekil 2.68.** Analjezik ve antiinflamatuvar etkili piridinon türevleri.

Allomaltolün hidroksipiron halkasının iyi bir bidentat ligand olabilme özelliği sayesinde galyum, vanadium ve demir metalleriyle kompleksleri hazırlanmıştır. Bu türevlerin antikanserojen ve antidiyabetik özellikleri araştırılmıştır (131-133).

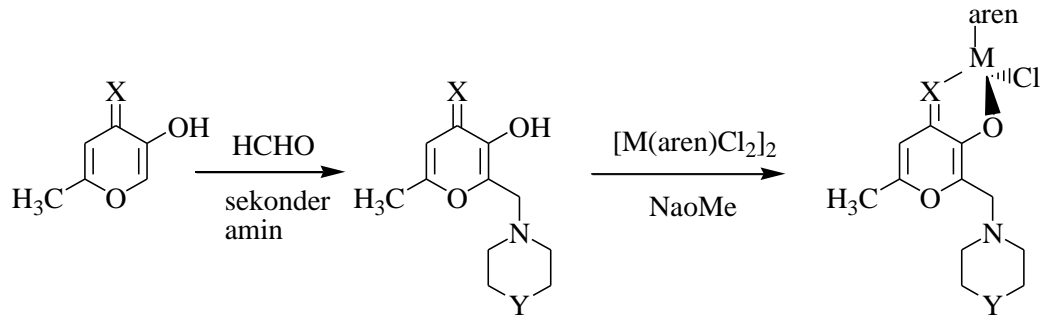


Tümör inhibe edici özelliğe sahip aldol türevi rutenyum kompleksleri 2009 yılında yürütülen çalışmalarda tanımlanmıştır. Kojik asitten hareketle elde edilen bileşik üç basamaklı bir yolak ile sentezlenmiştir. Öncelikle kojik asitin tiyonil klorürle reaksiyonu oda sıcaklığında gerçekleşmiş, sonra 75°C’de Zn/HCl ile redüksiyonunu takiben bazik koşullarda formaldehitte ya da benzaldehitte muamele sonucu aldol ürünleri elde edilmiştir (134).



**Şekil 2.69.** Allomaltol türevlerinin Ru kompleksleri.

Allomaltolün *Lawessons* reaktifiyle tepkimesi sonucu oluşan tiyoallomaltolün siklik sekonder aminler ve formaldehitte reaksiyonunda Mannich ürünler yüksek verimle elde edilmiş ve bu ürünlerin çeşitli metallerle kompleksleri hazırlanarak insan kanser hücre haatlarında 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5 difenil tetrazolyum bromür (MTT) deneyi ile sitotoksiteleri araştırılmıştır (135).

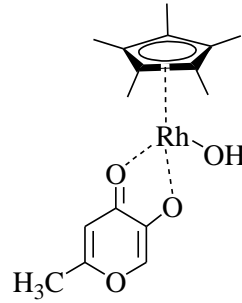


X: O, S; Y: -O<sup>-</sup>, -CH<sub>2</sub><sup>-</sup>, -N-CH<sub>3</sub><sup>-</sup>; M: Ru, Os

**Şekil 2.70.** Allomaltol ve tiyoallomaltolün Mannich bazlarının kompleksleri.

Rodyum metali komplekslerinin insan kanser hücrelerinde DNA’yı hüresel hedef olarak çift sarmal DNA ile kovalent bağlar aracılığıyla stabil yapı oluşturarak kanser hücrelerinin büyümelerini durdurdukları bildirilmiştir. Bu bilgiden yola

çıkılarak hazırlanan allomaltolün rodyum komplekslerinde özellikle CH1 (over kanseri) hücre hattına karşı sitotoksisite gözlenmiştir (136).



**Şekil 2.71.** Allomaltolün Rh kompleksleri.

## 2.2. Spektral Özellikler

### 2.2.1. IR Spektrumları

Kojik asitin IR spektrumunda O-H gerilim bandı  $3250-3100\text{ cm}^{-1}$  arasında yayvan bir pik olarak gözlenmiştir. Piron halkasının C=O gerilim bandı  $1685\text{ cm}^{-1}$ 'de, C=C gerilim bandı  $1655, 1610$  ve  $1575\text{ cm}^{-1}$ 'de keskin pikler şeklinde gözlenmektedir. Aromatik C-O-C gerilim bandı  $1240\text{ cm}^{-1}$ 'de görülmektedir (137). Diğer bir çalışmada kojik asitteki C=O gerilim bandı  $1648\text{ cm}^{-1}$ 'de, C=C gerilim bandı  $1503\text{ cm}^{-1}$ 'de, C-O gerilimi ise  $1113\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenmiştir (39).

Klorokojik asitin IR spektrumunda  $3200-3230$  (O-H, gerilim),  $1680, 1645$  (C=O gerilim),  $1610, 1580$  (C=C gerilim),  $1235$  (C-O, gerilim, aromatik) ve  $750-767\text{ cm}^{-1}$ 'de (C-Cl gerilim) pikler gözlenmiştir (137, 138). C-H gerilme titreşimleri  $3700-2800\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenmiştir. Lantanitlerle yaptıkları şelatlarda  $3200\text{ cm}^{-1}$  civarında görülen OH grubuna ait pikin kaybolduğu görülmüştür (137). O-H gerilmelerinin de hidrojen bağı oluşumu nedeniyle daha düşük frekanslara kayarak bandın genişlemesine neden olduğu bildirilmiştir (138).

### 2.2.2. $^1\text{H-NMR}$ Spektrumları

Kojik asit ve klorokojik asitin dötoro dimetilsülfoksit (DMSO- $d_6$ ) içerisinde alınan  $^1\text{H-NMR}$  spektrumlarında, protonların kimyasal kayma değerleri sırasıyla  $\delta$  4,50; 4,67 (2H; s;  $\text{CH}_2$ ); 6,60; 6,70 (1H; s;  $\text{H}^3$ ); 8,10; 8,13 (1H; s;  $\text{H}^6$ ); 5,68; 9,09 ppm (1H; s; OH) olarak bildirilmiştir (18, 39).

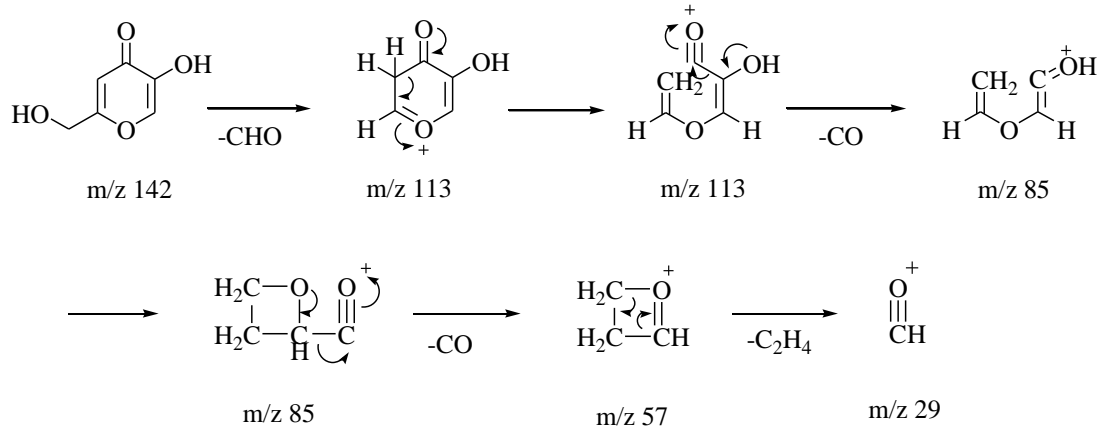
Allomaltolün DMSO- $d_6$  içerisinde alınan spektrumunda, bu piklerden başka 2 numaralı konumdaki  $-CH_3$  grubundaki protonlar 2,25 ppm'de singlet pik vermiştir. Ayrıca 3 numaralı konumdaki aromatik hidrojene ait pik, 6,70 ppm civarından 6,10 ppm'e kaymıştır (18).

### 2.2.3. $^{13}C$ -NMR Spektrumları

Kojik asit ve diğer hidroksi-4*H*-piran-4-on yapısındaki bileşiklerin  $^{13}C$ -NMR spektrumuna ait kimyasal kayma değerleri literatürlerde 139, 145, 110, 161-168 ve 173 skalasında verilmiştir (139).

### 2.2.4. Kütle Spektrumları

Kojik asit molekülünün kütle spektrumunda verdiği pik değerlerine göre parçalanma şekilleri 1968 yılında yapılan bir çalışmada açıklanmıştır (Şekil 2.72.). Parçalanmada ilk basamak kojik asitteki primer alkol grubundan oksonyum iyonu oluşturmak için  $-CHO$  grubunun ayrılmasıdır. Bu molekül kendi içerisinde düzenlendikten sonra dekarboksilasyon sonucu  $m/z$  değeri 85 olan parçalanma ürününü vermektedir. Molekül içi hidrojen göçü sonucunda halka kapanmaktadır. Bu yapıdan da sırasıyla  $-CO$  ve  $-C_2H_5$  grupları ayrılarak diğer parçalanma ürününü oluşturmaktadır (140).



**Şekil 2.72.** Kojik asitin moleküler parçalanması.

Ayrıca, yapılan bir çalışmada allomaltole ait moleküler iyon pikinin aynı zamanda temel pik olduğu ve  $m/z$  değerinin 127 olduğu bildirilmiştir (18).

Klorokojik asitte moleküllerin, O-H····O tipinde güçlü, allomaltolde ise C-H····O tipinde zayıf hidrojen bağlarıyla bir arada buldukları açıklanmıştır (138). Bu farklılığın şelasyon özelliklerine etki edeceği düşünülerek, Fe<sup>3+</sup> ile yaptığı oktahedral bidentat komplekslerin kristal yapıları aydınlatılmıştır. Allomaltol ve kojik asit *fac* izomer yapısında kompleks oluştururken, klorokojik asitte bunların aksine *mer* izomeri oluşmuştur (98, 138).

Bazı Mannich bileşiklerinin yapıları, ayrıca X-ışınları analizi ile aydınlatılmıştır. Molekülün konformasyonu moleküller arası ve molekül içi hidrojen bağlarıyla sağlanmaktadır. Bazı zayıf molekül içi etkileşimler yapıyı dayanıklı hale getirmeye yardımcı olmaktadır. Piperazin halkasının ise sandalye konformasyonunda olduğu görülmüştür (141-143).

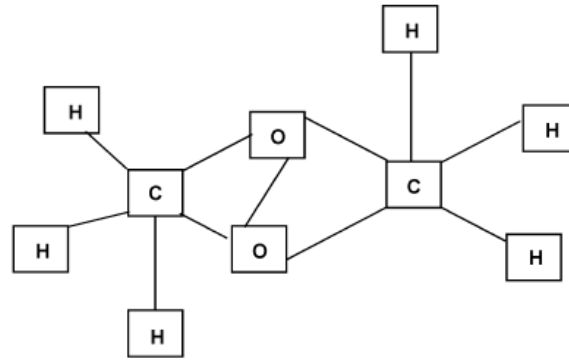
### 2.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

#### 2.3.1. Mantar Tirozinazı İnhibisyonu

Tirozinaz, oksidaz enzim türlerinden olup bitki, hayvan, mantar ve mikroorganizmalarda bulunan, çoklu işleve sahip bir enzimdir. Cilt, saç ve hayvanlarda kürk rengini belirleyen melanin adlı pigmentin biyosentezinden sorumludur (10).

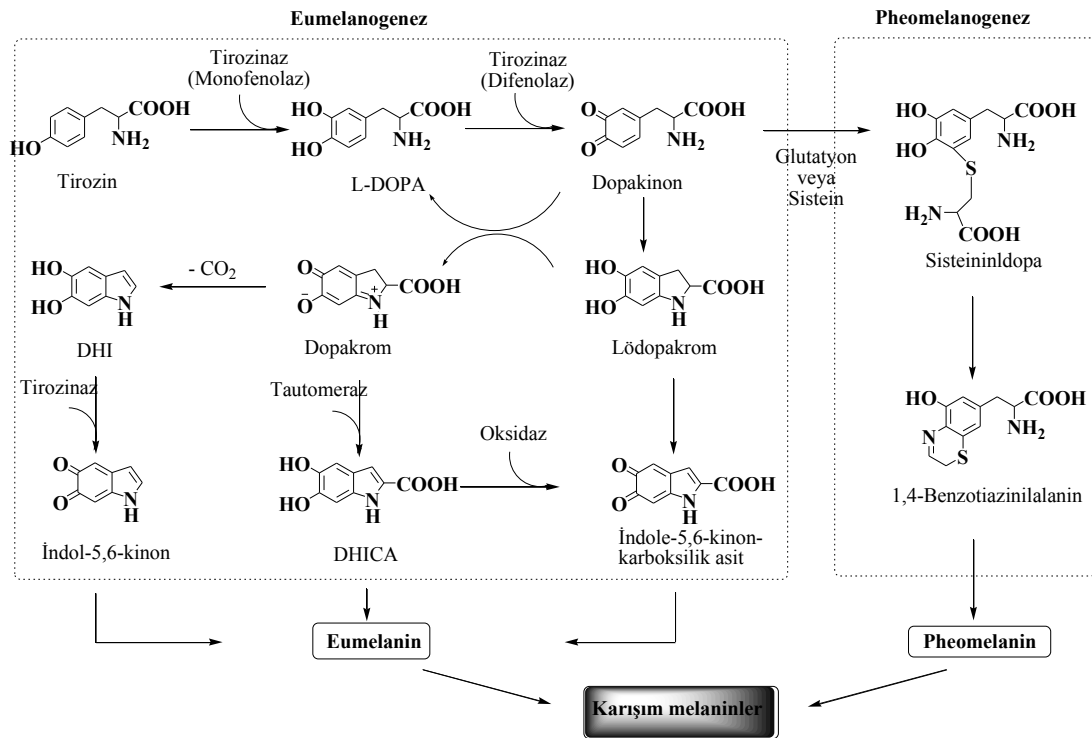
Yüksek yapıli bitkiler ve mantarlarda tirozinaz enzimleri üç izoform şeklinde bulunmaktadır. Bunlar, olgunlaşmamış (immature), olgun latent (mature latent) ve aktif izoformlardır. Ancak bu formlar arası ilişki ve kinetiklerinin biyokimyasal karakterizasyonu henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Tirozinazın aktif bölgesinde iki adet bakır atomunun bulunduğu bilinmektedir. Şimdiye kadar en iyi karakterize edilmiş tirozinazlar ise *Streptomyces glauseus*, *Neurospora crassa* ve *Agaricus bisporus*'a aittir (2). Özellikle *A. bisporus*'a ait olan tirozinaz, memelilerdeki tirozinaz ile homolog yapıda olduğundan melanogenezle ilgili çalışmalarda iyi bir model oluşturmaktadır (10).

Aşağıdaki şekilde (Şekil 2.73.), tirozinaz enziminin binükleer bakır aktif bölgesi (C), oksijenler (O) ve histidin (His-N) (H) aminoasiti ile şematize edilmiştir. Altı adet histidinin, enzimin aktif bölgesindeki bakır atomlarıyla bağlandığı, bu bakır atomlarının da moleküler oksijen ve kendisinin fenolik substratı (örneğin inhibitörler) ile etkileştiği bilinmektedir (144).



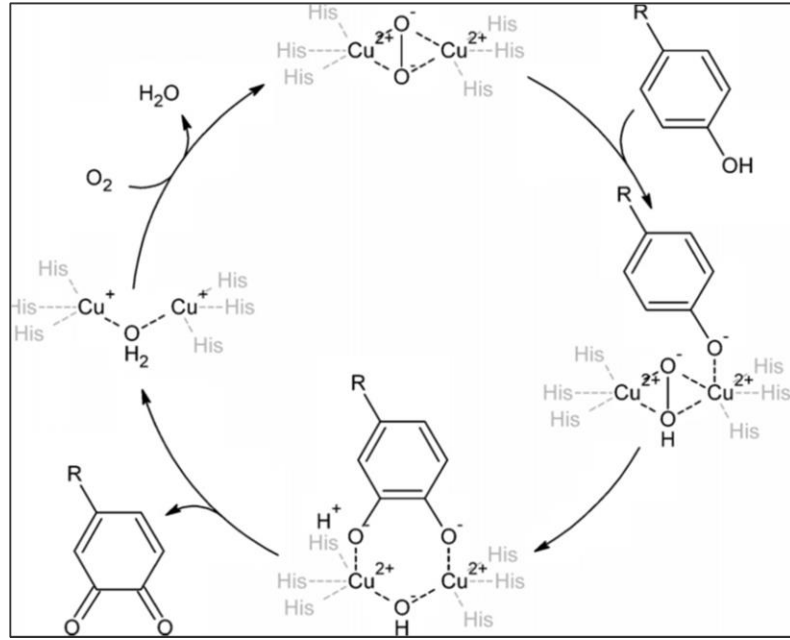
**Şekil 2.73.** Tirozinaz enziminin binükleer bakır aktif merkezi (C).

Tirozinaz, melanin biyosentez yolağında anahtar rolündeki iki önemli reaksiyonu katalizlemektedir. Bunlardan ilki, daha sonra L-DOPA'ya dönüşecek olan tirozin aminoasidine hidroksil grubunun katılması, ikincisi ise L-DOPA'nın *o*-dopakinona oksidasyon reaksiyonuyla dönüştürülmesidir. Bu iki ana basamaktan sonra ileri enzimatik basamaklarla melanin oluşturulmaktadır (Şekil 2.74.) (1). L-Tirozinin melanine dönüştüğü bu enzimatik oksidasyon, melaninin pek çok işleve sahip olmasından dolayı büyük öneme sahiptir.



**Şekil 2.74.** Melanin pigmentinin biyosentezik yolağı. (DOPA, 3,4-dihidroksifenilalanin; DHI, 5,6-dihidroksindol; DHICA, 5,6-dihidroksindol-2-karboksilik asit)

Tirozinaz enziminin öngörülen katalitik mekanizması ise aşağıdaki gibidir (Şekil 2.75.). Tirozinaz monofenolün *orto*-hidroksilasyonunu ve bunu takip eden ilgili *orto*-kinonun kateşole dönüşümünü katalizlemektedir (145).



Şekil 2.75. Tirozinaz enziminin öngörülen katalitik mekanizması.

Meyve, sebze ve deniz ürünleri gibi gıdalarda oluşan enzimatik kararma, gıdanın renk kalitesi ile aromalarının bozulması ve besin değerlerinin kaybıyla ilişkilendirilmektedir. Enzimatik kararma, hücre yapısının parçalanmasına neden olan fırçalama, soyma ve parçalama işlemleri sonrasında oksijen varlığında; tirozinaz ve onun polifenolik substratlarının karışmasıyla oluşmaktadır (146). Enzimatik kararma oranı; tirozinaz ve fenolik substratların konsantrasyonu, oksijen miktarı, pH, sıcaklık vb. faktörlere bağlıdır (12). Bu yüzden, gıda endüstrisinde kalitenin ve ekonomik değerinin kontrol edilmesinde tirozinaz enziminin inhibisyonu çok önemlidir. Ayrıca böceklerdeki tirozinaz; melanogenez, yara iyileştirme, parazit enkapsülasyonu ve sklerozizasyon proseslerinde gerekli olduğundan, tirozinaz inhibitörleri insektisit olarak ve böcek kontrol ilaçlarında da kullanılmaktadır (2).

Kozmetik ürünlerde, tirozinaz inhibitörleri cilt beyazlatıcı etkilerinden, çil oluşumunun engellenmesi ve güneş yanığı sonrası ciltte depigmentasyon özellikleri sayesinde kullanılmaktadır. Gerek doğal gerekse sentetik kaynaklardan çok sayıda tirozinaz inhibitörü madde kaydedilmesine rağmen öncelikli olarak güvenlilik ile ilgili

sorunlardan dolayı (örneğin, hücrelere karşı yüksek toksisite, oksijen ve suya karşı düşük stabilite) sadece birkaçı cilt beyazlatıcı ajan olarak kullanılmakta ve bu da kullanımlarını sınırlandırmaktadır. Tirozinaz inhibitörlerinin endüstri ve ekonomideki önemlerinden dolayı pek çok araştırmacı bu inhibitörlerin yeni sınıflarının keşfedilmesi amacıyla çalışmaktadır (2, 79).

Melanin sentezinde meydana gelen herhangi bir değişiklik pek çok hastalık durumuyla sonuçlanabilmektedir. Tıbbi açıdan bakıldığında, tirozinaz inhibitörlerinin melazma, postinflamatuvar hiperpigmentasyon, güneşe bağlı lentigo ve Addison hastalığı gibi hastalıkların güncel tedavilerinde yer aldıkları bilinmektedir (147).

Dolayısıyla tirozinaz inhibitörlerinin, gıda, kozmetik ve tıp alanlarında önemleri giderek artmakta, özellikle çeşitli depigmentasyon bileşiklerinin araştırılması için tirozinaz önemli bir hedef haline gelmektedir.

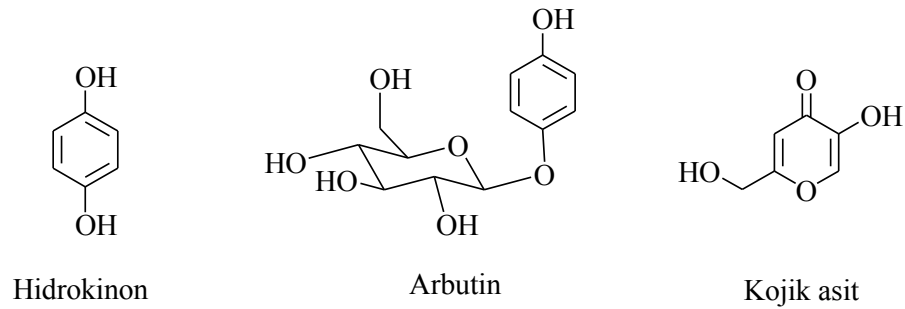
Tirozinaz inhibitörleri deneysel gözlemler sonucu yapılan çalışmalara göre şu şekilde sınıflandırılmıştır (10).

- i. Redükleyici bileşikler: *o*-Dopakinonu DOPA'ya geri redükleyerek dopakrom ve melanin oluşumunu engellerler. (Örneğin askorbik asit)
- ii. *o*-Dopakinon temizleyiciler: Dopakinonla reaksiyona girerek renksiz bileşikler meydana getirirler. Ortamdaki temizleyici tüketilene kadar melanin oluşumu yavaşlar ve tükenince tekrar eski hızına döner. (Örneğin tiyo içeren bileşiklerin çoğu)
- iii. Alternatif enzim substratları: Bazı fenolik bileşiklerin kinit reaksiyon ürünleri, dopakromunkinden farklı spektral aralıkta absorblama yaparlar. Bu maddeler, tirozinaza iyi affinite göstererek dopakrom oluşumunu önler.
- iv. Spesifik olmayan enzim inaktivatörleri: Asitler ya da bazlar gibi, enzimi denatüre ederek aktiviteyi inhibe ederler.
- v. Spesifik enzim inaktivatörleri: Bu bileşikler, mekanizmaya dayalı inhibitörler olup "intiharıcı (suicide)" olarak da nitelendirilirler. Enzimle kovalent bağ yaparak ona tersinmez olarak bağlanırlar.
- vi. Spesifik tirozinaz inhibitörleri: Tirozinaz enzimiyle tersinir bağ oluşturarak enzimin katalitik kapasitesini azaltırlar.

Bu sınıflandırmalar sonucu sadece son iki grupta bulunan maddeler “gerçek inhibitörler” olarak tanımlanmaktadır.

Tirozinaz inhibisyonunu tespit eden birkaç tip deney vardır. Literatürlerde temel olarak iki ana yöntem kullanılmaktadır. Bunlardan ilki ve daha sık kullanılanı ticari olarak temin edilen mantar tirozinazının kullanıldığı *in vitro* deneydir. İkincisi ise hücresel test olup tirozinaz aktivitesini, melaninin hücre içinde birikimini ölçerek veya bir tirozinaz substratının dönüşüm oranını tanımlayarak ölçmektedir. Enzime dayalı olan yöntem daha kolay yürütülmesi, doğru sonuçlar vermesi ve enzimle ilgili yaklaşımlar açısından çalışmaya olanak sağlaması açısından daha çok tercih edilmektedir (148).

Güncel tirozinaz inhibitörlerinin çoğunun toksisitesi ve yetersiz etkinlik gibi sorunları mevcuttur. Örnek verilecek olursa, güncel tedavilerin en yaygın olanları, tirozinaz inhibitörü olarak hidrokinonu içermektedir. Hidrokinon da yapısal olarak tirozin analogu olup oksidasyona uğramaktadır. Bu reaksiyonun ürünü olan benzokinon ise mutajen bir madde olarak bilinmekte ve DNA’ya zarar verebilmektedir. Ayrıca hepatosit ve melanosit hücrelerine sitotoksik olduğundan karsinojenik de olabilir. Bu nedenlerden dolayı, hidrokinonun cilt aydınlatıcı bileşik olarak kozmetik ürünlerde kullanımı Avrupa’da yasaklanmış, Amerika’da İlaç ve Gıda Dairesi-Food and Drug Administration (FDA) tarafından ise giderek artan sıkı ve detaylı incelemelere tabi tutulmaktadır. Ülkemiz gibi Avrupa Birliği mevzuatını ulusal yasalarla uyumlaştıran ülkelerde de hidrokinonun bu amaçla kozmetik ürünlerde kullanımı da güncel Kozmetik Yönetmeliği kapsamında yasaklanmıştır. Hidrokinona alternatif olarak arbutin de gösterilebilir ancak onun da hidrokinon glikoziti olduğu düşünülürse güvenilirlikle ilgili şüpheler yine oluşmaktadır (147).



**Şekil 2.76.** Güncel sentetik tirozinaz inhibitörleri.



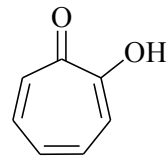
Kojik asit, tirozinaz inhibitörü olarak 20. yüzyılın başlarından beri, deniz mahsulleri ve taze sebzelerde kararmayı önlemek ve tazeliğini koruyarak renginin bozulmasını engellemek amacıyla gıda endüstrisinde katkı maddesi işleviyle kullanılmaktadır. Mantar tirozinazında monofenolaz aktivitesini yarışmalı olarak inhibe edici ve difenolaz aktivitesine karşı karışık inhibitör etki göstermektedir. Kojik asitin gözlemlenen yarışmalı inhibitör etkisi ise enzimin aktif bölgesindeki bakırla şelasyon yapmasıyla açıklanmaktadır (13, 114).

Tirozinazın aktif merkezinde iki bakır iyonu ve aktif merkezin yakınında da lipofilik uzun-dar geçit bulunmaktadır. Kojik asitin tirozinazın aktivitesini, 5-hidroksil ve 4-karbonil grupları aracılığıyla tirozinazdaki bakır iyonu ile şelat oluşturarak inhibe ettiği çeşitli çalışmalarda kaydedilmiştir (86, 149, 150).

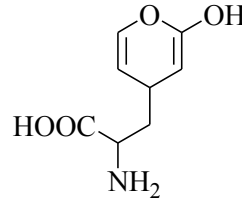
Bir çalışmada kojik asitin kurbağa tirozinazının kateşolaz aktivitesini klasik olmayan bir davranışla yavaş bağlayıcı olarak inhibe ettiği belirtilmiştir (13).

Kojik asit, insan melanosit tirozinazını yavaş, etkili ve tersinir yarışmalı olarak kararma için gerekli olan oksijenin geri alımını ve enzimin aktif merkezindeki bakır iyonu ile şelasyon sonucu inhibe ederek melanin oluşumunu önlemektedir. Bu yüzden, kojik asit hücrel melanın oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır (151).

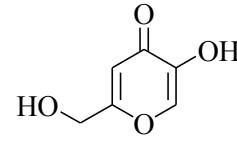
Kojik asit ve arbutin, cilt bakım ürünlerinde genellikle aydınlatıcı bileşikler olarak kullanılmaktadır. Topikal olarak kullanımlarının belirli sınırlamalarla güvenli ve etkili oldukları gösterilmiştir (9). Son yıllarda, bibenzil analoglarının kojik asitten 20 kat daha güçlü antitirozinaz aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur. Ancak kojik asitin inhibitör aktivitesinin kozmetiklerde kullanımı için yeterince etkili olmaması, saklama koşullarında dayanıksız olması gibi özellikleri söz konusudur. Literatürlerde kojik asit tek başına veya tropolon ve L-mimozin ile birlikte yeni sentezlenen inhibitörlerin güçlerinin kıyaslanmasında referans madde olarak kullanılmaktadır (4, 10, 11, 144). Bu üç madde, yapısal olarak fenolik substratlara benzemekte ve kompetitif inhibisyon özelliği göstererek yavaş bağlanma inhibitörleri olarak adlandırılmaktadırlar (12).



Tropolon



L-Mimosin



Kojik asit

**Şekil 2.77.** Güncel doğa kaynaklı tirozinaz inhibitörleri.

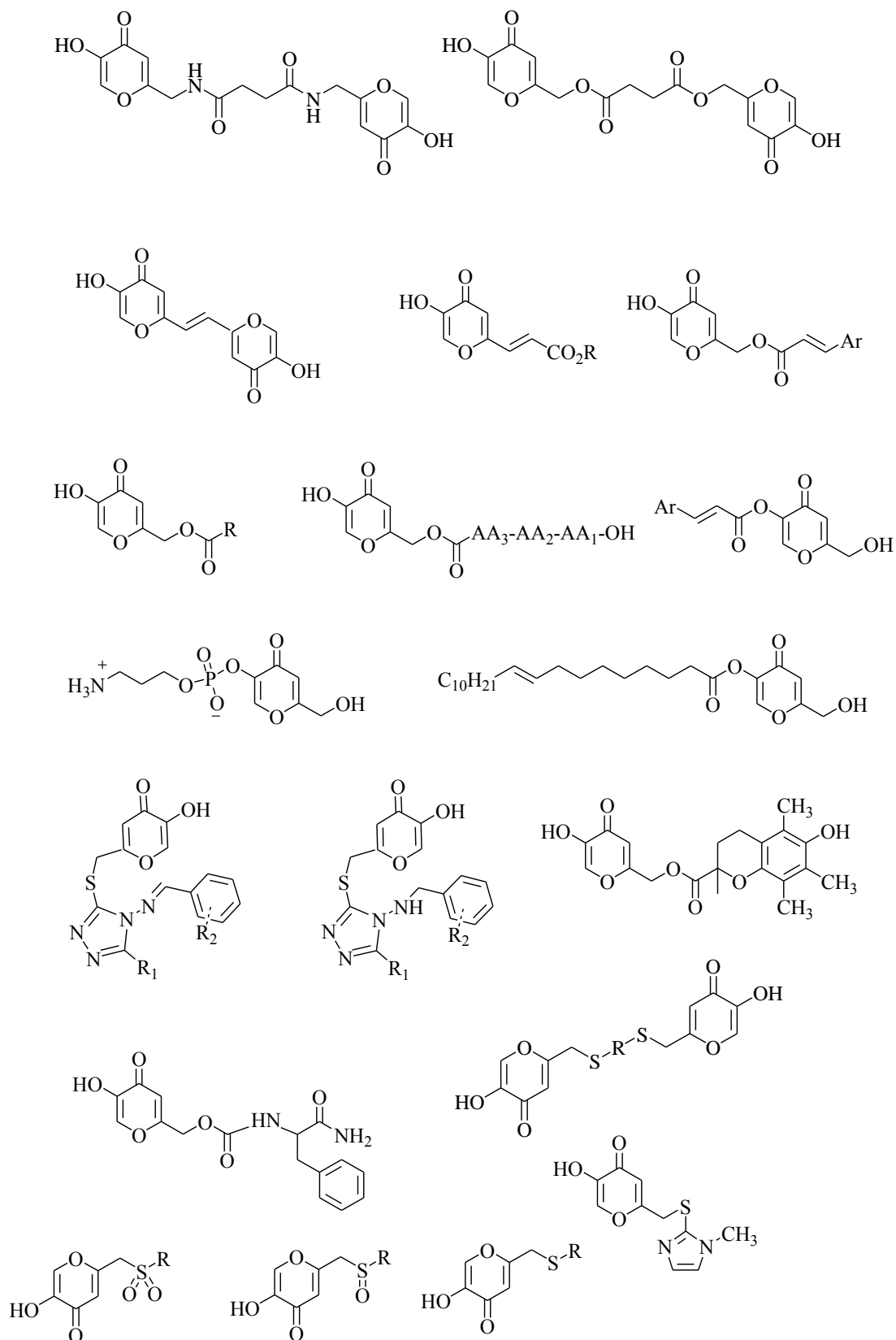
Güzellik endüstrisinin de katıldığı yaklaşıma göre kojik asit şimdiye kadarki en iyi doğal bazlı losyon içeriklerinden biridir. Bazı kültürlerle göre güzelliğin tanımı, açık tondaki ve neredeyse soluk beyaz ten rengine dayandığından pek çok kadın daha açık renkli bir tene sahip olmak için kojik asit gibi cilt beyazlatma özelliği olan maddeleri içeren cilt aydınlatıcı kozmetik ürünleri tercih etmektedir. Özellikle Uzak Doğu ülkelerinde yıllar boyunca cilt rengini açmak için kullanılmasına rağmen, çok sayıda insanda güneş lekeleri, çiller gibi güzellikle ilişkili pigmentasyon problemlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Beyazlatıcı losyonların büyük çoğunluğu, kojik asitin yanında C vitamini (askorbik asit), ayı üzümü ekstresi, meyan kökü veya karadut gibi bitkisel kaynakların yanında glikolik asit gibi alfa hidroksiasit (AHA) türevlerini de içermektedir.

Kojik asit içeren losyonları kullanan kadınlar, yaşlılık lekeleri, hamilelik ve doğum kontrol hapları gibi hormon düzeyini etkileyen durumlarda oluşan hiperpigmentasyon gibi nedenlerle de bu ürünleri kullanmaktadırlar. Bu tür losyonların tercih edilmesinin bir diğer nedeni ise krem veya sabunlara göre ciltten daha iyi absorbe olmalarıdır. Güneşe maruz kalmadan önce bu losyon kullanıldığında ayrıca kırısklık oluşumunun azalmasını sağlamaktadır. Bu özelliklerinden dolayı söz konusu ürünler iyi birer yaşlanma karşıtı ürün olarak karşımıza çıkmaktadır. Sonuç olarak kojik asit, tirozinaz inhibe edici özelliği sayesinde çok sayıda kozmetik formülasyonun içeriğinde yer almakta ve pek çok ürün kendi içinde ayrı bir yetenek kazanmaktadır. Bazı ürünler vitamin A ve E gibi çeşitli vitaminleri kombine etmektedirler, buradaki temel amaç, kojik asitle meydana gelebilecek cilt tahrişlerini yatıştırmaktır. Diğer bir krem kombinasyonu örneği ise, retinol, vitamin C, kojik asit ve glikolik asittir. Bu hammaddelerin eklenmesindeki amaç da yine kojik asitin uzun süreli kullanımına bağlı olası cilt hassasiyetini gidermektir. Kojik asit içeren ve FDA

tarafından onaylanan bazı ticari ürünlerin isimleri ise şöyledir: AEC Kojic acid, Kojic acid SL, Melanobleach-K, Oristar KA, Rita KA, Tonelite Kojic acid, Botacenta SLC 175, Dermawhite HS, Melarrest A, Melarrest L ve Vegewhite (14).

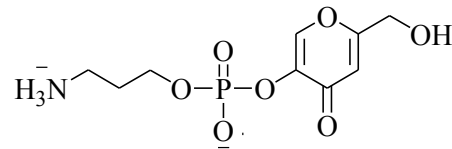
Kojik asit için kaydedilen kozmetik dışı uygulamalar ise melazma tedavisi, gıdalarda koruyucu ve antioksidan amaçlı, antibiyotik, kimyasal ara madde, metal şelasyonu, pestisit ve antimikrobiyal maddeler olarak geçmektedir. İyi bilinen bu özelliğinden dolayı pek çok çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılmaktadır. Mantar, patates, elma, beyaz karides ve dikenli ıstakozun tirozinaz inhibisyonlarının, enzimatik kararma için gerekli olan oksijenin alımının önlenip melanin oluşumunun engellenmesiyle gerçekleştiği bulunmuştur (149).

Kojik asitin güçlü inhibitör etkisine rağmen sitotoksisite kaynaklı cilt iritasyonu ve saklama koşullarındaki düşük stabilitesinden dolayı kozmetiklerde kullanımı sınırlıdır. Kojik asit üzerinde yapılan modifikasyonlar, daha üstün tirozinaz inhibitörleri geliştirmek amacıyla izlenmesi gereken bir yoldur. Birçok yarı sentetik kojik asit türevi, kojik asitin yapısını modifiye ederek farmakokinetik özelliklerini ve şelasyon yeteneğini iyileştirmek amacıyla sentezlenmiştir. Bu bağlamda kojik asitin daha iyi endüstriyel uygulamalarını elde etmek amacıyla araştırmacılar daha lipofilik yapıya sahip olan bileşikler üzerine odaklanmışlardır (Şekil 2.78.)



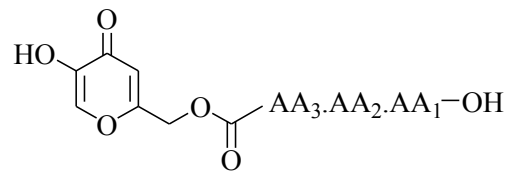
**Şekil 2.78.** Antitirozinaz etkili bazı kojik asit türevleri.

Kojik asitin daha dayanıklı türevlerini elde etmek amacıyla yapılan bir çalışmada Kim ve ark. (80), 3-aminopropan fosforik asit adlı madde ile çalışmışlardır. Bu madde, insan fibroblast kültürlerinde kolajen yapımını stimüle eden, ayrıca ciltle uyumlu olduğu için kozmetik ürünlerde de tercih edilen bir bileşiktir. 5-[(3-Aminopropil)fosfinooksil]-2-(hidroksimetil-4H-piran-4-on (Kojil-APPA) yapısındaki bileşiğin *in situ* koşullarda tirozinaz inhibisyon etkisi göstermesine rağmen *in vitro* olarak göstermediği görülmüştür. Bu da Kojil-APPA'nın hücrelerde enzimatik olarak kojik asit ve 3-aminopropan fosforik asite dönüştürüldüğü anlamına gelmektedir. Kojil-APPA'nın fare melanoma hücreleri ve normal insan melanositlerinde melanin sentezi üzerine kojik asit gibi inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur.



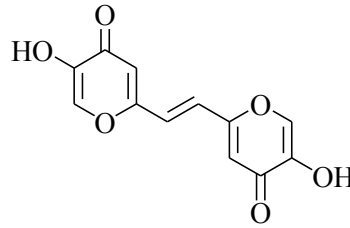
**Şekil 2.79.** Kojil-APPA.

Stabilite ve güvenilirlik ile ilgili sorunların çözülmesi adına yapılan çalışmaların biri de kojik asitin peptit türevlerinin sentezlenmesidir. Bu amaçla sentezlenen bileşiklerin bazılarının kojik asitten çok daha yüksek antitirozinaz aktiviteye sahip olduğu ve saklama koşullarındaki stabilitelerinin on beş kat daha iyi olduğu tespit edilmiş, ayrıca toksisitelerinin de kojik asitten daha düşük olduğu bulunmuştur (91).



**Şekil 2.80.** Kojik asit-peptit türevi.

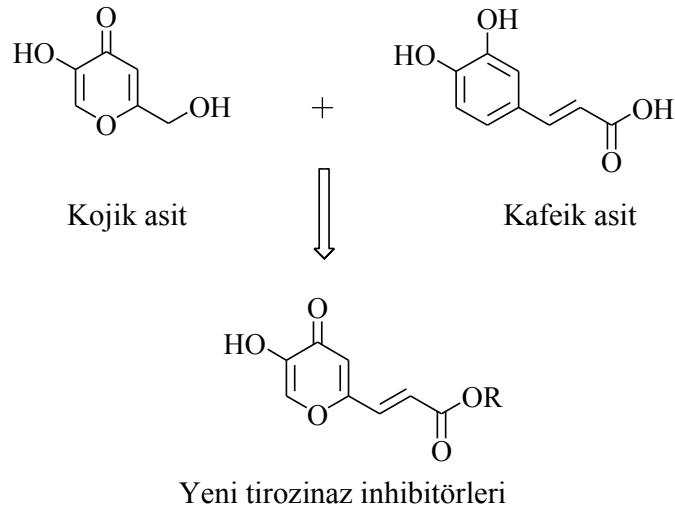
İki piron halkasının etilen köprüsüyle birleştirilerek oluşturulduğu yapıya sahip bir bileşiğin kojik asite göre sekiz kat daha güçlü tirozinaz inhibitörü etkiye sahip olduğu bulunmuştur. B16F10 melanoma hücrelerine karşı da daha etkili melanin sentez inhibitörü aktivite gösterdiği saptanmıştır (86).



**Şekil 2.81.** Etilen köprüsü içeren tirozinaz inhibitörü.

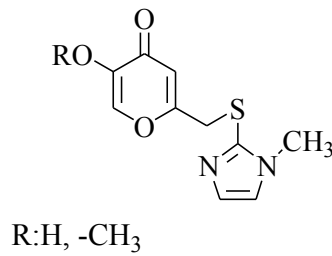
Bir bileşiğin beyazlatıcı etkisi genellikle hücreden bağımsız sistemlerde mantar tirozinaz inhibisyonu veya hücresel tirozinaz aktivitesinin inhibisyonu şeklinde ölçülür (152, 153). Örneğin, kojik asit, arbutin ve elajik asit gibi çoğu melanin sentez inhibitörleri tirozinaz aktivitesini inhibe ederek melanogenezi baskırlar. Ancak, mantar tirozinaz inhibisyonu ile hücresel tirozinaz aktivitesi veya hücresel melanin oluşumunun inhibisyonu arasındaki korelasyonu göstermek için çok az kanıt bulunmaktadır. Bir çalışmada; *in vitro* mantar tirozinaz aktivitesi inhibisyonu, hücresel tirozinaz aktivitesi inhibisyonu ve A2058 melanoma hücre dizisinde hücresel melanin oluşumunun inhibisyonu arasındaki korelasyon araştırılmıştır. Ayrıca son iki sistem arasındaki korelasyonu çalışmak için UVA radyasyonu da uygulanmıştır. Çünkü UV-indüklenmiş melanogenez UV radyasyonuna maruz kalan insan cildinde iyi bilinen bir fizyolojik cevaptır. Çalışma sonucu elde edilen bilgilere göre, mantar tirozinaz aktivitesi inhibisyonu veya hücresel tirozinaz aktivitesi inhibisyonu hücresel melanin oluşumu için faydalı bir gösterge oluşturmamıştır. Melanoma hücrelerindeki melanin içeriği ve tirozinaz aktivitesini arttırmak için UVA radyasyonunun kullanımı, doğal ve bitkisel ürünlerin olası beyazlatma etkilerinin değerlendirilmesi için daha uygun olduğu bulunmuştur. Ancak, herhangi bir ürünün beyazlatıcı etkisi için en son kanıt insan veya hayvan çalışmalarının gözlenmesi gerektiği öne sürülmüştür (151).

Tirozinaz inhibitörü özelliği bilinen farklı yapıda bileşiklerin bir araya getirilerek yeni türevlerin oluşturulması da daha etkili bileşikler tasarlamada kullanılan bir yöntemdir. Buradan yola çıkılarak bir çalışmada kojik asit ve hidrosillenmiş sinamik asit yapıları buluşturularak bazı esterler sentezlenmiştir. Kojik asitten daha iyi aktiviteye sahip türevler bulunmuştur (79).



**Şekil 2.82.** Tirozinaz inhibitörü tasarımına örnek.

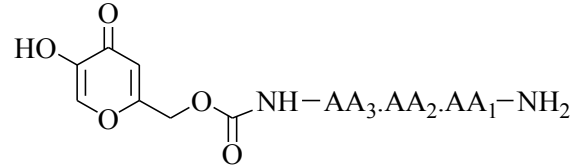
Aynı yaklaşımla kojik asit ve melanogenez inhibitörü özelliği bilinen tiyol bileşikleri bir araya getirilerek hazırlanan kojik asit-metimazol türevi bileşiklerin mantar tirozinazına karşı inhibisyonları ile B16F10 murin melanoma hücrelerinde hücre içi melanin oluşumuna karşı inhibitör etkileri araştırılmıştır. Fenolik hidroksil grubunun metil ile kapatıldığı türevde inhibitör aktivite gözlenmezken, diğer bileşiğin kojik asitten daha iyi antitirozinaz aktivite gösterdiği, bunun yanında da yapılan deneylerde sitotoksosite ve iritasyon göstermediği tespit edilmiştir (114).



**Şekil 2.83.** Kojik asit-metimidazol türevi.

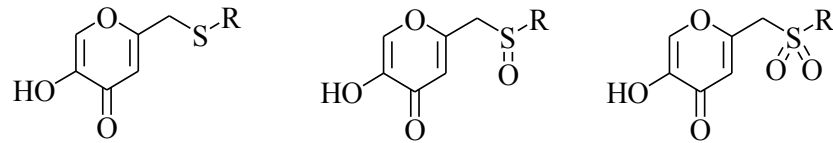
Yapılan bir çalışmada kojik asit-tripeptit amitlerin, kojik asit-tripeptit serbest asitler ile benzer tirozinaz aktivite gösterdikleri, ancak saklama koşulları stabilitesi açısından hem kojik asitten hem de tripeptit amitli türevden daha üstün oldukları tespit edilmiştir (154). Daha yüksek tirozinaz inhibitörü aktiviteye, dayanıklılık ve sentetik etkinliğe sahip kojik asit türevleri sentezlemek amacıyla bir grup kojik asit-aminoasit amit (KA-AA-NH<sub>2</sub>) türevi sentezlenmiş ve aktiviteleri incelenmiştir. Kojik asit-fenilalanin amit yapısındaki bileşiğin melanin oluşumu sırasında dopakrom üretim

miktarını azalttığı görülmüştür. Buradan yola çıkılarak bu yapıdaki bileşiklerin, bileşiğin yan zinciri ile tirozinazın aktif bölgesi arasındaki hidrofobik etkileşimler sayesinde tirozinaz inhibisyonu yaptığı bir docking programı ile açıklanmaya çalışılmıştır (155).



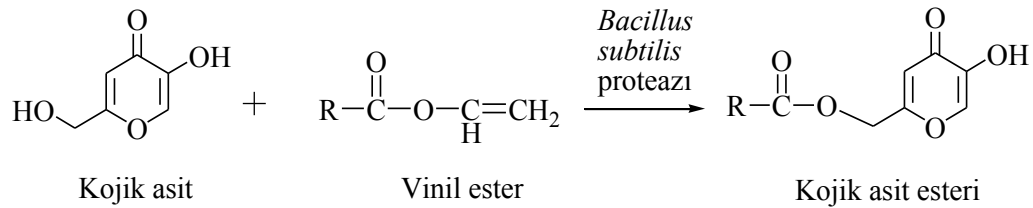
**Şekil 2.84.** Kojik asit-aminoasit amit türevi.

Bir diğer çalışmada ise, tiyoeter, sülfoksit ve sülfon köprüleri taşıyan kojik asit türevleri sentezlenmiştir. Antitirozinaz etki, sülfoksit ve sülfon türevlerinde azalırken, uygun lipofilik zincirleri taşıyan kojil tiyoeter türevlerinde aktivite artmıştır (109).



**Şekil 2.85.** Kükürt içeren tirozinaz inhibitörleri.

Alkolik hidroksil grubunun esterleştirilmesinin hedeflendiği bir çalışmada, kojik asitin lipofilitesi; divinil adipat, vinil hekzanoat, vinil oktanoat veya vinil dekanoat ile *Bacillus subtilis* proteazı kullanılarak esterleştirilmesi sonucu artırılmıştır (90).

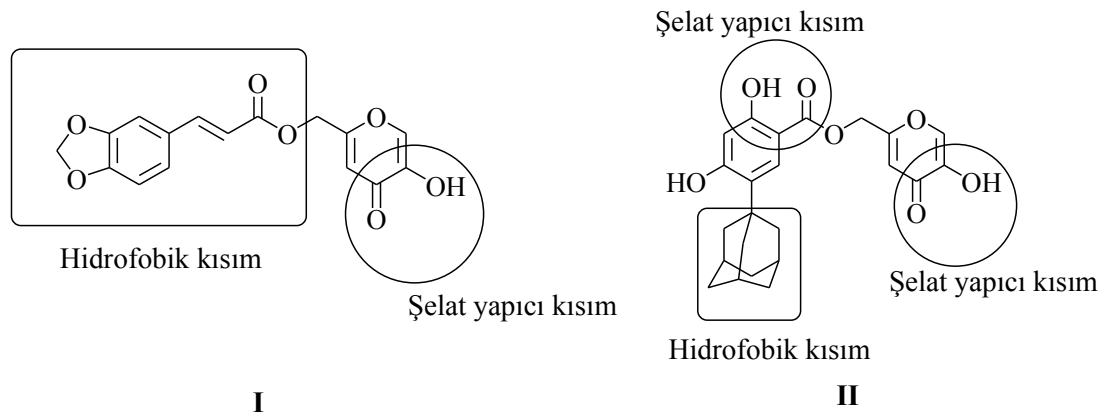


**Şekil 2.86.** *Bacillus subtilis* ile elde edilen kojik asit esteri.

Ester türevlerinin hazırlandığı bir çalışmada, kojik asitin 3,4-metilendioksi sinnamik asit esterinin (I) kojik asitten daha yüksek antitirozinaz aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Ester türevlerinde enolik hidroksil grubu bir metil grubuyla

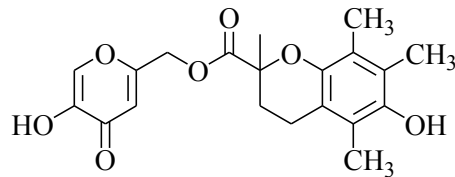


korunduğunda aktivitenin tamamen ortadan kaybolduğu görülmüştür. Bu durum, kojik asitin tirozinazın aktif bölgesindeki bakır atomuyla etkileştiğini doğrulamaktadır. Ayrıca hidrofobik kısmında tirozinaz ile etkileşimde önemli olduğu öne sürülmüştür. Ancak yine aynı çalışma grubunun 2-hidroksi benzoik asit türevleriyle oluşturdukları kojik asit esterlerinde (II) antitirozinaz aktivite gözlenmemiştir. Bu sonuç çalışmacılara, ya adamantan grubunun oluşturduğu sterik engelin ya da kojik asit ile 2-hidroksi benzoik asit grubu arasındaki bakır şelasyonu yapma üzerine yeterli eğilimlerinin olduğunu düşündürmüştür (156).



**Şekil 2.87.** Bazı ester türevlerinde yapı-etki ilişkisi.

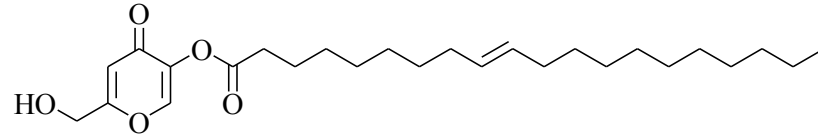
Ahn ve ark (157). tarafından sentezlenen ve yapısında troloks grubu taşıyan kojik asit türevinin güçlü tirozinaz inhibitörü ve radikal süpürücü aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Aynı bileşiğin hücre dayalı deneyde, hücrenin melanin içeriğini hücre sitotoksitesisi olmadan düşürdüğü bulunmuştur.



**Şekil 2.88.** Troloks grubu içeren kojik asit türevi.

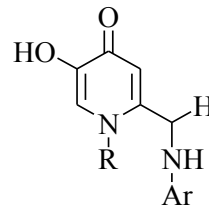
Kojik asit ve kojik asitin monooleat, monolaurat ve monopalmitat esterlerinin depigmente edici özellikleri B16F1 melanoma hücrelerinde  $\alpha$ -MSH-(alpha-stimulating hormone-) tarafından indüklenen melanin sentezi üzerinde melanin oluşumu ve tirozinaz aktivite inhibisyonları incelenerek değerlendirilmiştir. Kojik asit

ve esterleri, ayrıca depigmente edici özelliklerini arttıran antioksidan aktivite göstermişlerdir. Anılan çalışmada kojik asit esterlerinin kojik asitten daha düşük sitotoksik etkiye sahip olmalarından dolayı hiperpigmentasyon tedavisinde daha güvenli olduklarından alternatif bileşikler olarak düşünülmüştür (89).



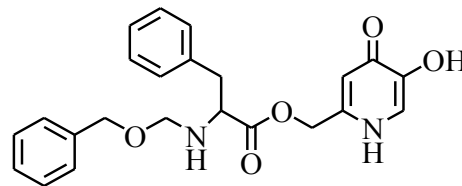
**Şekil 2.89.** Kojik asit monooleat.

Bir çalışmada, biyoizosterlik prensibinden yola çıkılarak piranon halkasındaki oksijen atomu azot ile değiştirilerek piridinon halkası elde edilmiş, piridinon türevlerinde de antitirozinaz ve antioksidan aktivite incelenmiş olup sentezlenen türevlerin birinde kojik asitten yüksek aktiviteler elde edilmiştir (158).



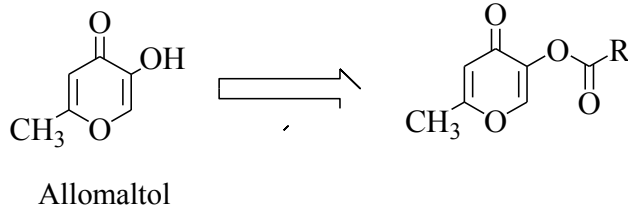
**Şekil 2.90.** Piridinon türevi tirozinaz inhibitörü.

Kojik asitten hareketle elde edilen piridinon türevlerinin aminoasit ve dipeptit konjugatları sentezlenerek tirozinaz inhibitör aktiviteleri ve etki mekanizmaları araştırılmıştır. Monofenolaz aktivite için  $IC_{50}$  (sistemin %50 cevabına karşılık gelen doz) değerlerinin kojik asitten daha iyi olduğu belirlenen bileşiklerin difenolaz aktiviteleri de incelenmiştir. İnhibitör mekanizmalarının ise tersinir ve karışık (yarışmalı olan ve olmayan) tipte olduğu bulunmuştur. Özellikle yapısında benzil grubu taşıyan bileşiğin kojik asitten daha iyi bakır şelasyonu yapma kabiliyeti olduğu tespit edilmiştir (159).



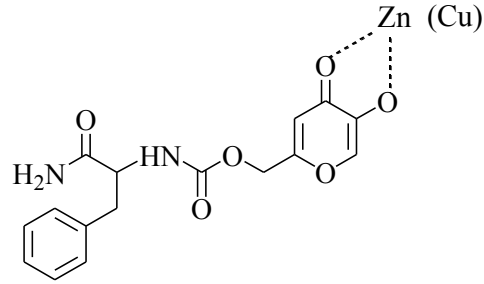
**Şekil 2.91.** Piridinon türevinin aminoasit konjugatı.

Kojik asitle aynı yapısal iskelete sahip allomaltolün ise pigmentasyon bozuklukları, güneş yanığının önlenmesi ve yağlar için antioksidan olarak kullanıldığı, ester türevlerinin ise yeni tirozinaz inhibitörleri olarak tanımlandığı bir patent çalışması mevcuttur (160).



**Şekil 2.92.** Allomaltol türevi esterler.

Kojik asit-fenilalanin amit yapısındaki bileşiğin metal komplekslerinin hem *in vitro* enzim testinde hem de hücre bazlı deney sisteminde yüksek antitirozinaz aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bu sonuçlara göre, hücrelere düşük geçiş yeteneği olan hidrofilik moleküllerin taşınması için metal kompleks oluşumunun iyi bir taşıyıcı sistem olabileceği gösterilmiştir. Ek olarak, bu yeni bileşikler, kozmetik endüstrisinde etkili bir beyazlatıcı ajan olarak veya düzensiz hiperpigmentasyonda kullanılabileceği görüşü öne sürülmüştür (92).



**Şekil 2.93.** Kojik asit-fenilalanin amit yapısındaki bileşiğin metal kompleksi.

Biyolojik açıdan verimli ara ürünlerin eldesinde araştırmacıların sıklıkla kullandıkları morfolin ve 5(4*H*)-oksazolon halkaları taşıyan yeni bileşikler sentezlenerek, bunların tirozinaz inhibitörü aktiviteleri araştırılmıştır. Elde edilen tüm maddelerin mantar tirozinazına karşı yüksek inhibitör etki gösterdikleri saptanmıştır (161).

Güncel bir çalışmada ise 4-florobenzilpiperidin taşıyan indol türevi bileşiğin antitirozinaz etkisi araştırılmış, hem monofenolaz hem de difenolaz aktivitelerinde

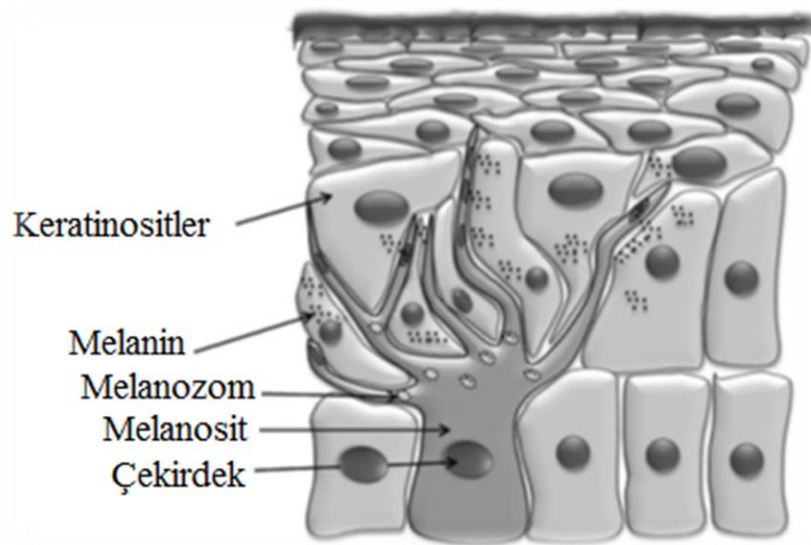
standart olarak kullanılan kojik asitten daha güçlü olduğu bulunmuştur. Aynı çalışmada mantar tirozinazı ve bakteriyel tirozinazın katalitik cepleriyle etkileşimleri docking çalışmalarıyla incelenmiştir. Burada flor atomunun varlığının, sonuçları dramatik şekilde etkileyebilecek kadar önemli olduğu bulunmuştur (162).

Bu çalışmalar ışığında ve doğrultusunda kojik asit, klorokojik asit ve allomaltolden hareketle hazırlanan lipofilitesi arttırılmış halojen taşıyan Mannich bazı yapısındaki bileşikler ile bunlara substitüe edilmiş, morfolin, piperidin ve piroolidin grupları taşıyan bileşiklerin yüksek antitirozinaz aktiviteye sahip olması öngörülerek tez çalışmaları yürütülmüştür.

### 2.3.2. Melanogenez ve Malign Melanom

Melanogenez, melanin adlı pigmentin, epidermisin bazal tabakasına konumlanmış melanosit adlı hücreler tarafından üretilmesini takiben, cilt ve saç foliküllerine dağıtılması süreçlerini kapsayan işlem olup enzimatik olarak katalizlenen kimyasal reaksiyonlarla oluşturulmaktadır (2, 144). İnsanlarda cilt renginin temel belirleyicisi melanin pigmenti olup cildin UV ışımayı absorblayarak koruyucu bariyer oluşturması ve dolayısıyla cilt hücrelerinin bu hasara karşı korunmalarında önemli rol oynamaktadır (10).

Keratinosit hücreleri, derideki epidermis tabakasının temel hücre tipini oluşturan, cildi çevresel faktörlere karşı korumak amacıyla kendi kendini yenileyebilen epitelyal bariyer oluşturan hücrelerdir. Melanosit hücreleri ise, epidermisin bazal tabakasında yer alan ve dentritik özellikteki hücrelerdir (Şekil 2.94.) Ürettikleri melanin pigmenti ile keratinositleri, UV-B ışımının DNA'ya hasar verici etkilerine karşı korumaktadır. Dentritik yapısı sayesinde bir melanosit, birden çok keratinositle temas kurarak uzun mesafelere ulaşmaktadır. Melanozomlar ise melanositlerdeki pigment granülleridir. Bu yapıları keratinositler, hücre içlerine almakta ve melanozomlar, keratinositlerin çekirdeklerini UV ışınlarına karşı korumaktadırlar. Melanositler ayrıca keratinosit büyüme faktörleri (KGFs) ve interlökin (IL)-1, IL-6 ve IL-8 gibi sitokinleri salgılayan hücrelerdir (163).



**Şekil 2.94.** Melanosit ve keratinosit hücrelerinin derideki gösterimi.

Melanogenez işleminde, hız kısıtlayıcı basamaklarda tirozinaz enzimi görev aldığından süreci kontrol eden de bu enzim olarak bilinmektedir. Melanogenezde meydana gelen değişiklikler, hızla artan sıklığa sahip malign melanom olarak bilinen kanser türünün klinik ve histopatolojik özelliklerinin bir parçası olabilir. Dolayısıyla tirozinaz inhibitörlerinin, malign melanom ve melanin hiperpigmentasyonu ile ilişkili bazı dermatolojik hastalıkların tedavilerinde klinik olarak yararlı olabileceği bildirilmiştir (164).

Malign melanom, melanositler ve nevüs hücrelerinin malign tümörü olup melanomun en önemli yerleşim yeri deridir. Malign melanom, tüm deri kanserlerinin yaklaşık %2'sini oluşturmakla beraber deri kanserlerine bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir. Tüm dünyada görülme sıklığı hızla artış gösteren ve mortalitesi yüksek olan bir kanserdir. Riskli grupları tanımlamak, toplumun ve sağlık çalışanlarının farkındalığını arttırmak, özellikle korunmaya yönelik eğitim ve erken tanı için uygun tarama programları belirlemek ve hastalıkla mücadeleyi artırarak morbidite ve mortaliteyi azaltmak mümkündür (165).

Melanomun epidemiyolojisi incelendiğinde dünyada yeni melanom vakası her 100 000 kişide 2,8; melanoma bağlı ölümler ise her 100 000 kişide 0,6 olarak bildirilmektedir. Genel popülasyonda beklenen yaşam süresinde artış olması nedeniyle melanom sıklığındaki artış özellikle yaşlı nüfusu etkilemektedir. Melanom insidansının diğer kanser formlarına kıyasla daha hızlı bir artış gösterdiği (son 30 yılda %237 kadar) bildirilmektedir (165).

Tüm cilt kanserlerinin yalnızca %4'ünden sorumlu olan melanom, cilt kanserine ilişkin ölümlerin ise %75'inden sorumlu görülmektedir. Ayrıca, melanomun erkekleri kadınlardan daha fazla etkilediği bildirilmektedir. SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results) çalışmasının sonuçlarına göre erkeklerde yaşam boyu melanom gelişme riski %2,67 iken kadınlarda bu oran %1,79 olarak belirlenmiştir. Ancak, UV ışınlarına maruziyetin artışı ve solaryum kullanımları nedeniyle genç kadınlarda melanom görülme sıklığında artış olabileceği bildirilmektedir (165).

Malign melanom, genellikle melanositlerin, transformasyon ve proliferasyonundan gelişmektedir. Ayrıca, hücresel büyümenin normal kontrol mekanizmalarına cevap vermemesiyle de ortaya çıkmaktadır. Melanositler, bunun sonrasında yakın çevresindeki yapı ve organlara sıçrama denilen metastaz yapmakta

ve söz konusu organı istila ederek işlevini görmesine engel olmaktadır. Melanomun ilerlemesine dair moleküler ve hücrel mekanizmaları anlamak için *in vitro* çalışmalarda melanom cilt modelleri oluşturmak amacıyla insan malign melanom hücreleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek tekrarlanabilirliğe sahip ve uygulaması kolay yöntemlerdir. *In vivo* melanomun ilerlemesine yapıcı paralellik göstermesinin yanında, hayvan ve insan klinik deneylerine oranla maliyeti daha düşük deneylerdir (166).

Melanomun geleneksel tedavisinde kullanılan ilaçlar arasında dakarbazin, temozolomit, fotemustin, sisplatin, karboplatin, vinka alkaloidleri ve taksanlar gibi kemoterapötik ajanların yanı sıra interlökin-2 ve interferonlar da yer almaktadır (7). Melanom tedavisinde kullanılmak üzere EMA, 2011 yılında ipilimumab, 2012 yılında da vemurafenib etkin maddelerini içeren ilaçları da onaylamıştır (167). İmmunoterapötikler olarak adlandırılan bu ilaçlardan vemurafenib BRAF inhibitörü iken, ipilimumab, T-hücrelerinin yüzeyinde bulunan CTLA4 proteini bloke ederek kanser hücrelerine saldırmasını sağlayan monoklonal bir antikordur. Ayrıca malign melanomun ileri evrelerinde dabrafenib ve trametinib adlı moleküllerin kombine tedavisi 2014 yılında, 2015'te ise vemurafenib ile kobimetinib kombinasyon tedavisi FDA tarafından onaylanmıştır.

Dakarbazin çok yüksek olmayan aktivitesine rağmen kombine ilaç tedavilerine kaynak oluşturmuştur. Temozolomit ise yapısal olarak dakarbazine benzeyen ve oral yolla kullanılan bir diğer ilaçtır. Her iki ilaç arasında sağ kalım açısından belirgin bir fark olmamasına rağmen temozolomit daha iyi tolere edilebilmektedir. Temozolomite FDA tarafından melanom tedavisi için endikasyon verilmemesine rağmen ülkemizde Temodal ve Temomid ticari isimleriyle mevcut ilaçlar, çeşitli beyin tümörleri ve metastatik malign melanom tedavisinde endikedir. Diğer tekli ilaçlar ise platinler (karboplatin, sisplatin) ve nitrozürelere (karmustin (BCNU), lomustin, semustin, fotemustin) olarak bilinmektedir. Tekli ajanların yanıt oranını arttırmak amacıyla çok sayıda çoklu ilaç tedavisi de değerlendirilmiştir (168).

### **2.3.3. Melanom Hücrelerine Sitotoksik Etkiler**

A375 amelanositik melanoma hücreleri melanogenez içeriğini belirlemek için uygun bir modeldir. Bu hücrelerin proliferasyon yeteneği çok yüksektir ve bu

hücrelerde melanogenez yolağının başlıca proteinlerinden olan tirozinaz ve tirozinaz ilişkili proteinler fonksiyon bozuklukları göstermektedir. ROS içerikleri ve metastaz yapma eğilimleri yüksektir. Ayrıca, bir onkoprotein olan RAF transkripsiyon faktörü geninin altıyüzüncü kodonundaki nokta mutasyonu ile karakterizedir. Bu özelliği ile ticari olarak satılan insan kaynaklı malign melanom hücreleri arasında ayrıcalıklı bir konumdadır (169).

Kojik asitin cilt beyazlatma etkisinin dışında ayrıca, A375 insan malign melanom hücreleri kullanılarak kanser tedavisinde genotoksitesisi araştırılmıştır. A375 melanom hücrelerinin hücre büyüme inhibisyonu üzerine kojik asitin etkisi incelendiğinde, kojik asit konsantrasyonunun artmasıyla bu hücrelerin büyümelerinin de direkt olarak inhibe olduğu gösterilmiştir. DNA mikroçip ile A375 melanom hücrelerinde kojik asite cevap olarak farklı eksprese olan genlerin analizi yapılmıştır. Bu genler, hücresel bileşen (hücre, hücre dışı bölge), moleküler fonksiyon (bağlanma, katalitik aktivite, sinyal dönüştürücü aktivite) ve biyolojik işlemler (fizyolojik işlemler, hücresel işlemler, biyolojik işlemlerin düzenlenmesi, gelişim) kategorilerine göre sınıflandırılmıştır. Bu bilgiler sayesinde kojik asite karşı melanom karsinogenezinin düzenlenmesi hakkında değerli veriler elde edilmiştir. Ayrıca bu 7 down-regüle gen, A375 hücrelerine kojik asit muamelesinden sonra belirgin ayrımsal ekspresyon göstermiştir. Bu genler, malign melanomda tümör oluşumunun düzenlenmesinde deaktive edici özellik olarak tümör baskılayıcı etki göstermiştir. Bu genlerin ileriki çalışmalarda, tanı ve tedavi için faydalı belirteçler olabileceği düşünülmüştür (24). Aynı çalışma grubunun yürüttüğü başka bir çalışmada ise A375 insan malign melanom hücre dizilerinde kojik asitin antikanser etkisini incelemek amacıyla proteomik analiz yapılmış ve kojik asit uygulanan hücrelerde bazı genlerin kanser progresyonunda önemli rol oynadıkları tespit edilmiştir. A375 hücrelerinin proteomik profilleri, kontrol grubu ve kojik asit uygulamasıyla karşılaştırılmış, 30 ayrımsal proteinin eksprese edildiği tespit edilmiştir. Bu proteinlerden 16'sının, kojik asitle muamele edilen A375 hücrelerinde tümör oluşumu ve melanogenez baskılayan p53 tümör supresor proteini ve hücre apoptozu ile bağlantılı olduğu saptanmıştır. Isı şok proteinlerinin stres sırasında hücre yaşamını sağlaması ve hücre metabolizmanın kontrol edilmesinde önemli fonksiyonları olmaları açısından önemlidir. Kanser biyolojisinde ısı şok proteinlerinin, tümör hücresinin büyümesi ve



yaşamısını sağlamak için yüksek oranlarda eksprese edildiği bulunmuştur. Kojik asitin, tümör büyümesine ve antiapoptoz etkiye neden olan ısı şok proteinlerinin ekspresyonunu baskıladığı gözlenmiştir. Bu etki antitümör aktivitede önemli rol oynamaktadır. Ayrıca bu çalışmada, melanogenezde moleküllerin sinyalizasyonun baskılanmasına yol açan ve tümör baskılayıcı özellikte bir proteinin kojik asitle muamele edilen A375 hücrelerinde up-regüle olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada, apoptozun regülasyonundan sorumlu proteinler de ortaya çıkarılmıştır. Bu proteinlerin, malign melanom kanserinin tanı ve tedavisinde önemli biyobelirteçler olarak kullanılabilceği önerilmiştir (25).

Isı şok proteinleri, tüm canlı hücrelerde bulunan bir grup protein olup, çeşitli patolojik durumlarda rol oynamaktadırlar. Apoptoz gibi antikanser mekanizmaları baskılamaktadırlar. Dolayısıyla bunların inhibitörleri, kanser tedavisinde dikkat çekmektedirler (170). Kojik asit ve arbutinle muamele edilmiş A375 insan malign melanom hücrelerinin moleküler profillerinin incelendiği bir çalışmada ise, kojik asitin tümör büyümesini destekleyen ve antiapoptoz etkiye yol açabilen ısı şok proteinlerinin ekspresyonunu baskılayabileceği bildirilmiştir. Kojik asitin bu etkisinin antitümör aktivitesinde önemli bir rol oynayacağı öne sürülmüştür (166).

Kojik asitin melazma gibi hiperpigmentasyon hastalıklarının tedavisinde etkinliği bilinmesine rağmen memeli melanosit kültürlerinde antimelanojenik aktivitesinin yeterli olmadığı, pigmentasyonu azaltmadığı çalışmalarda tespit edilmiştir (6, 148). Bunun nedenini araştırmak için başka bir çalışma yapılmıştır. Burada kojik asitin insan cildindeki antimelanojenik aktivitesinin farmakolojik mekanizması *in vivo* olarak değerlendirilmeye çalışılmıştır. Melanosit ve keratinositin her ikisini de içeren hücre kültüründe kojik asitin IL-6 ve IL-8 üretimini arttırdığı bulunmuştur, ancak IL-6 doğrudan melanogenezini inhibe etmesine rağmen IL-8 etmemiştir. Sadece melanosit içeren kültürde kojik asit IL-6 üretimini arttırmazken, sadece keratinosit içeren kültürde belirgin olarak IL-6 gen ve protein ekspresyonunu arttırmıştır. Sonuç olarak, kojik asitin klinikteki etkili antimelanojenik aktivitesi, keratinositlerdeki IL-6 üretimi ile ilişkilendirilmiştir (171).

Başka bir çalışmada ise kojik asitin, insan keratinositlerinde bir transkripsiyon faktörü olan NF- $\kappa$ B'nin aktivasyonunun potansiyel inhibitörü olduğu bulunmuş,

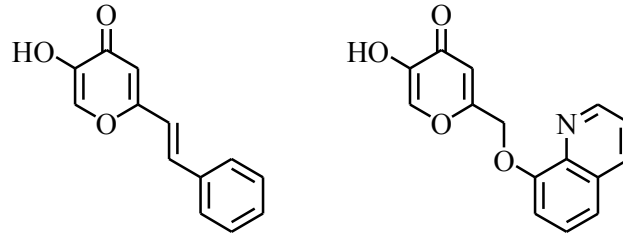
böylece “NF- $\kappa$ B’nin aktivasyonunun, kojik asit tarafından indüklenmiş antimelanojenik aktiviteye dahil olduğu” hipotezi ortaya konulmuştur (172).

Kojik asit,  $\alpha$ -arbutin ve  $\beta$ -arbutinin melanogenez ile fare melanoma hücreleri (B16-4A5) ve insan melanoma hücreleri (HMV-II) üzerinde tirozinaz aktivitesi ve tirozinaz protein ekspresyonunun inhibitör etkileri araştırılmıştır. Kojik asitin HMV-II hücrelerinde diğer maddelerden daha güçlü inhibitör olduğu bulunmuştur (173).

Bir çalışmada, melanospesifik antikarsinojenik aktivitenin tirozinaz aktivitesi ile bağlantılı olduğu bulunmuştur (144). Böylece tirozinaz aktivitesini hedef alan olası tedavi yöntemlerinin malign melanoma tedavisinde başlıca öneme sahip olduğu görülmektedir.

Son yıllarda melanogenez sırasında melanositleri yüksek derecede oksidatif strese maruz bırakan hidrojen peroksit ve diğer reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluştuğu gösterilmiştir. Ayrıca, ROS süpürücüler ve ROS inhibitörlerinin, UV-indüklenmiş melanogenez baskıladığı bulunmuştur (174). UV-A ışınlarının A2058 melanoma hücre hattında hücrel tirozinaz inhibisyonu ve melanin oluşumu arasındaki korelasyonu belirgin biçimde arttırdığı saptanmıştır (151). UV ışımaya, metal iyonları, serbest radikaller ve reaktif türlere aşırı maruziyet, tirozinaz geninin transkripsiyonunu belirgin şekilde uyarak hiperpigmentasyona neden olmaktadır. C vitamini gibi antioksidanların da serbest radikal süpürücü etkileriyle tirozinaz aktivitesini inhibe ettikleri bilinmektedir (89). Melanin biyosentezini takiben UV ışımaya maruziyet, ciltte çok miktarlarda ROS oluşturmaktadır. Bu yüzden antioksidan ürünlerin deri üzerine yararlı etkileri mevcuttur (175).

Kojik asitin iyi bir metal şelatörü, dolayısıyla da güçlü bir tirozinaz inhibitörü ve antioksidan madde olduğu çok iyi bilinmektedir. Bu özellikleri sayesinde iyi bir antimelanojenik bileşik olarak görülmektedir. Bunların yanında terapötik endikasyon açısından incelendiğinde bakır şelatörlerinin antikanser özellik gösterdikleri bilinmektedir (176-179). Kojik asit, tirozinaz ile bakır şelasyonu yapması özelliğiyle ele alındığında bu özelliğe sahip yeni nesil antiproliferatif ajanlar geliştirilmesi açısından güçlü bir aday olarak görülmektedir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada kojik asitin türevleri sentezlenerek He-La hücrelerine karşı antiproliferatif etkileri incelenmiş ve yapısında stiril ve kinolin yapısı taşıyan bileşiklerin güçlü apoptoz yeteneklerinin olduğu bulunmuştur (85).



**Şekil 2.95.** Kojik asitin stiril ve kinolin türevleri.

Yapılan çalışmalarda kojik asidin deri karsinogenezinde başlatıcı ya da ilerletici aktivitesinin olmadığı, güvenli bir şekilde kozmetik preparatlarının içeriğinde kullanılabileceği açıklanmıştır (180).

Ayrıca, insan melanom hücre kültüründe hardal gazının sitotoksik etkilerini kojik asitin düşürdüğü bulunmuştur (181).

Klorokojik asit, bromokojik asit ve iyodokojik asit gibi kojik asidin halojen türevlerinin neoplastik hücre hatları üzerinde biyolojik etkileri incelenmiştir. L1210 (murine leukemia) ve GH<sub>4</sub>C<sub>1</sub> (rat pinitary) hücrelerinin kullanıldığı çalışmada neoplastik hücre büyümesi, DNA, RNA ve protein sentezlerine etkisi, sitoplazmik fosforilasyon ve hücre kültüründe cAMP birikimi incelenmiştir. Klorokojik asit ve bromokojik asitin DNA, RNA ve protein sentezlerinin inhibe ettikleri, ayrıca L1210 hücrelerinde düşük molekül ağırlıklı sitoplazmik proteinlerin elektroforetik profillerinin belirgin olarak etkilendiği tespit edilmiştir (182).

Yapısında morfolin ve piperidin grupları taşıyan keto Mannich bazlarının sitotoksik ve antikanser etkileri olduğu bildirilmiştir (27).

Kojik asit ve birçok türevinin yağda çözünürlüğünün düşük olması ve uzun süreli saklanmalarında yüksek sıcaklığa karşı stabilite problemleri bulunmaktadır. Bu özellikleri, yağ-bazlı ürünlerde kullanımlarını kısıtlamaktadır. Dolayısıyla daha dayanıklı, etkin ve güvenli türevlerin araştırılması kaçınılmaz bir ihtiyaçtır.

#### 2.3.4. Diğer Biyolojik Aktiviteler

Kojik asit, *Aspergillus oryzae*, *Penicillium* veya *Acetobacter spp.* gibi fungal ya da bakteriyel zincirlerin, çok geniş karbon kaynağından aerobik prosesle sentezlendikleri biyolojik olarak önemli doğal bir antibiyotiktir (9, 17, 44). Kojik asit, demir bağlayıcı etkisi sayesinde  $\beta$ -talesemi veya anemi gibi demir yüklemesi ile ilişkili hastalıklarda önemli rol oynamaktadır (17, 47, 53, 55, 183).

Kalay, berilyum, çinko, bakır, nikel, kobalt mangan, krom, altın, palladyum, indium, galyum, vanadyum ve alüminyum gibi metallerin asetat tuzlarıyla dayanıklı metal koat kompleksleri oluşturmaktadır (51, 53, 54, 64, 96-98, 101, 119, 138, 183, 184). Bu kompleksler diyabet, anemi, fungal enfeksiyonlar ve neoplazi gibi bazı hastalık durumlarının tedavisinde kullanılabilecek bileşikler olarak karşımıza çıkmaktadırlar (17, 185). Özellikle tris(kojik asit) alüminyum(III) ve galyum(III) komplekslerinin yağda çözünürlükleri olduğundan bu maddeler, kan-beyin bariyerini belirgin bir yetenekle aşabilmektedirler (119).

Akut, kronik, üreme ve genotoksisite çalışmaları sonucunda, kojik asitin zehirleyici özellikte olmadığı tespit edilmiştir. Sıçan karaciğerinde genotoksisite ve karsinogenite ile fare derisinde karsinogeniteye neden olmadığı yapılan çalışmalarda bulunmuştur (25). İnsan cildinden dolaşıma yavaş absorpsiyonundan dolayı, tümör oluşum eşiğine ulaşamamaktadır. CIR uzman panelinin kararına göre kozmetik ürünlerde %1 konsantrasyonlara kadar kullanımı güvenli olarak tespit edilmiştir. Erişilebilir insan duyarlılaştırma verileri, kojik asitin durulanmayan kozmetik ürünlerde %2'ye kadar güvenli olduğu sonucuna ulaştırmaktadır. Dolayısıyla %2 limitin uygun olabileceği görüşündedirler. Güncel kullanım konsantrasyonlarının kullanıldığı endüstriyel bir araştırmada, kojik asitin kozmetik ürünlerde kullanım konsantrasyonunun %0,1 ile %2 arasında değiştiği saptanmıştır. Avrupa Komisyonu Tüketici Ürünleri Bilimsel Komitesi (SCCP), kojik asitin en yüksek %1 konsantrasyonda kullanıldığı bir cilt bakım formülasyonunda güvenlilik sınırının hesaplanmasına göre, olası sistemik etkilerinden (özellikle tiroitteki yan etkiler) dolayı insan sağlığı için bir risk oluşturduğunu tespit etmiştir. Ayrıca bu komite tarafından, olası bir cilt duyarlılaştırıcısı olduğu da bulunmuştur (14).

Tüysüz fareler üzerinde yapılan bir çalışmada kojik asitin foto-hasar ve bunu takip eden cilt kırıklığını önlediği gözlemlenmiştir. Geçiş metal iyonları için iyi bir şelatör ve serbest radikal tutucu özelliği olduğu için ışığa karşı korunmada etkin bir ajan olarak belirlenmiştir. Kronik güneş ışınlarına maruziyet sonucu deride açığa çıkan demir kırıklığına neden olmaktadır. Kojik asitin tüysüz fareler üzerinde yapılan deneyler sonucunda UV ışınlarına maruz bırakılan farelerde gözlenen kırıklıkların, kojik asit uygulanmayan farelerin derilerindeki kırıklıklara göre daha az bulunduğu

belirtilmiştir. Böylece kojik asitin ışın kaynaklı hasarları önlediği, bu nedenle kozmetikte kırışıklık giderici bir bileşik olarak kullanılabilceği düşünülmüştür (186).

Kojik asitin geçmiş antimikrobiyal aktivite çalışmalarında, gram negatif bakterilere karşı gram pozitiflerden daha aktif olduğu bulunmuştur (44). Bazı kojik asit türevlerinin ise *Candida albicans* ve *C. krusei*'ye karşı belirgin antifungal özellik gösterdiği bulunmuştur (17, 18, 36). Kojik asit, sahip olduğu antifungal ve antibakteriyel nitelikler sayesinde, özellikle sabun, krem, losyon ve jel gibi kozmetik ürün tiplerinde avantajlı bir hammadde olarak tercih edilmektedir (9).

Bir çalışmada kojik asitin halojen türevlerinin (klorokojik asit, bromokojik asit ve iyodokojik asit) dermatofit veya mikromiset türlerine karşı belirgin antifungal aktiviteye sahip oldukları belirtilmiştir. Özellikle bu bileşiklerin Cu(II) tuzlarının halojen türevlerinden daha aktif oldukları saptanmıştır. Buradan yola çıkılarak bu bileşiklerin insanlar ya da hayvanlar için dermatolojide kullanılabilir yapılar olduğu ileri sürülmüştür (17).

Allomaltolün hidroksipiron halkasının bidentat ligand olabilme özelliği sayesinde Ga(III) kompleksi hazırlanarak tanımlanmış ve antikanser etkileri araştırılmıştır (131).

Vanadium metaliyle uygun ligandlar oluşturularak *in vivo* glukoz düşürücü etkinin araştırıldığı bir çalışmada allomaltol içeren kompleksin en iyi sonucu verdiği görülmüştür (132).

Allomaltol türevlerinin ayrıca antimalaryal ve demir şelasyonu etkileri de bulunmuştur (133, 187).

Kojik asitin antikonvülsan etkisi de yıllar önce kaydedilmiş, pentilentetrazol ve striknin ile indüklenen konvülsiyonlara karşı etilmaltolden daha zayıf aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Bir ilacın yağdaki çözünürlüğünün, o ilacın omurga sıvısı ve beyine transferinde önemli bir faktör olduğu kabul edilmektedir. 2-Alkil-hidroksipiron yapısına sahip bileşiklerin 2 numaralı konumdaki alkil grubunda artan karbon sayısı ile birlikte pentilentetrazol ile indüklenmiş konvülsiyonlara karşı inhibitör etkilerindeki artış, yağdaki çözünürlüğün artışı ile ilişkilendirilmektedir (188, 189).

Kojik asitin antioksidan etkisi sayesinde sıçanlarda yapılan lokal uygulama ile yara iyileştirmesini hızlandırdığı bulunmuştur (190).

Kojik asit ve palm yağı bazlı yağ asitlerinin esterleştirilmesi sonucu oluşan ester türevlerinin de antioksidan özellikte olduğu tespit edilmiştir (89).

Anabilim dalımızda yürütülen çalışmalarda kojik asit/klorokojik asit/allomaltol türevi hidroksipiron yapısında çok sayıda Mannich bazı sentezlenmiş ve bunların çok çeşitli alanlarda biyolojik aktiviteleri taranmıştır. Reaksiyonlar; hızlı, kolay ve yüksek verimle gerçekleşirken bu türevler aktivite açısından da güçlü adaylar olarak bulunmuştur (18-23, 34-39).

Laboratuvarımızda sentezlediğimiz kojik asit, klorokojik asit ve allomaltol türevlerinin antikonvülsan aktiviteleri araştırılmış, elektroşok ve subkutan pentilentetrazol tarafından indüklenmiş nöbet testleri uygulanmıştır. Farklı lipofilik fenil halkalarının piperazinin 4 numaralı konumuna substitüsyonuyla elde edilen türevlerde kan-beyin engeline penetrasyon hedeflenmiştir. Substitüentlerin etkilerinin araştırılmasının yanı sıra ana çekirdeğin etkisi de incelenmiş ve sonuçta kojik asit türevlerinin allomaltol türevlerine göre daha etkili oldukları görülmüştür. Dolayısıyla kojik asitteki biri keto ve hidroksil grubu, diğeri de hidroksimetil grubu ve halka içi oksijen atomu arasında olmak üzere iki adet hidrojen bağının önemli olduğu tespit edilmiştir (18, 38, 39).

Bir diğer çalışmamızda ise, Mannich bazları *Herpes Simplex Virus-1 (HSV-1)* ve *Human Parainfluenza Virus* tip 3 (PI-3) e karşı Madin Darby sığır böbreği ve Vero hücre dizileri kullanılarak antiviral etkileri araştırılmıştır. Asiklovir ve oseltamivirin kontrol ilaçlar olarak kullanıldıkları çalışmada 4-metoksifenil piperazin yapısı taşıyan türevin en güçlü aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Sentezlenen bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal aktivite profilleri de incelenmiş, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Bacillus subtilis* türleri ve bunların ilaca rezistan izole suşlarına karşı aktiviteleri değerlendirilmiştir. Antifungal aktivite içinse *Candida albicans* ve *C. parapsilosis* ve bunların izole suşları test edilmiştir. Ampisilin, vankomisin, gentamisin, ofloksazin, levofloksazin, antibakteriyel; ketokonazol ve flukonazol ise antifungal deneylerde kontrol ilaçlar olarak kullanılmıştır. Sonuçlara göre 1-64 µg/mL aralığında minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerine rastlanmıştır (20, 21).

2010 yılında sonuçlandırılan yüksek lisans tezinde klorokojik asitten hareketle çok sayıda Mannich bazı sentezlenerek çeşitli biyolojik aktiviteleri de incelenmiştir. Öncelikle tez kapsamında antikonvülsan, antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri incelenmiştir. Antikonvülsan aktivite açısından çok etkili olmasa da bileşiklerin antibakteriyel ve antifungal etkileri oldukça güçlü bulunmuştur. Söz konusu bileşiklerin ayrıca antitüberkülar aktiviteleri de incelenerek yayın haline getirilmiştir (23). Bileşiklerin özellikle *Mycobacterium avium* a karşı 4-32 µg/mL aralığında değişen MİK değerlerine sahip olarak yüksek etkili oldukları görülmüştür.

Aynı yılda, laboratuvarımızda yürütülen başka bir çalışma sonucunda da substitue piperazin ve piperidin grupları taşıyan klorokojik asit türevlerinin antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktiviteleri sitotoksisiteleri ile birlikte araştırılmış, özellikle 3,4-diklorobenzil piperazin içeren bileşiğin dikkat çekici aktiviteye sahip olduğu görülmüştür (20).

Elde edilen tüm bu bilgiler ışığında, tarafımızca sentezlenen klorokojik asit türevi Mannich bazları ile ilgili yürütülen TÜBİTAK projesi sonucu (Proje numarası: SBAG-111S311) sentezlenen maddelerin *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes var. erinacei* ve *Epidermophyton floccosum* türü dermatofitlere karşı antidermatofitik aktiviteleri incelenmiş, He-La ve MRC-5 hücre hattına karşı sitotoksisiteleri değerlendirilmiştir (22).

Klorokojik asit türevi Mannich bazlarında karşımıza çıkan bu potansiyel aktivite durumu sonraki çalışmalarımıza da ışık tutmuştur.

## **2.4. Biyolojik Aktivite Tayin Yöntemleri**

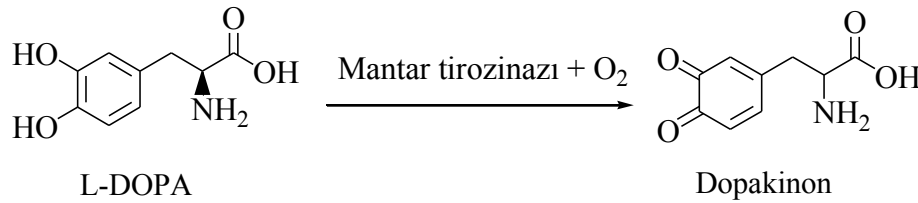
### **2.4.1. Mantar Tirozinaz İnhibisyonu**

Tirozinaz inhibitörlerinin değerlendirilmesinde ilk ve en sık kullanılan yöntem, *in vitro* mantar tirozinazı deneyidir (148). Bu yöntem uygulaması basit ve kesin sonuçlar sağlayan bir yöntemdir. Ancak insan kullanımına yönelik geliştirilen ürünlerde sonuçlar her zaman doğru orantılı olmayabilir.

Mantar tirozinazının 3 formda bulunduğu gösterilmiştir. Bunlar oksitirozinaz, deoksi-tirozinaz ve met-tirozinaz olarak isimlendirilmiştir. Deoksitirozinaz oksijenle bağlanarak oksitirozinazı meydana getirir. Monofenolaz aktivitede, L-tirozin L-DOPA'ya dönüşür, bu aşamada enzim deoksi-tirozinaz olarak geri dönüştürülür.

Difenolaz aktivitede L-DOPA dopakinona dönüşür ve enzim sadece bir oksijen atomu kaybederek met-tirozinaz oluşur. Met-tirozinazın, L-DOPA'ya karşı diğer türlerden daha çok affinitesi olduğu düşünülmektedir. Bu yüzden tirozinaz inhibitörlerinin araştırılması için özellikle docking çalışmalarında ana hedef olarak görülmektedir. L-DOPA katalizlendikten sonra, met-tirozinaz, deoksi-tirozinazı oluşturmak için aktif cebinde yer alan oksijen atomunu kaybetmektedir (191).

Tez çalışmasında, mantar tirozinaz enzim inhibisyon yüzdesini belirlemek amacıyla substrat olarak L-DOPA'nın kullanıldığı spektrofotometrik bir yöntem (192) modifiye edilerek uyarlanmıştır. İzlenecek olan inhibisyon, tirozinazın *o*-difenolaz aktivitesini temel almaktadır.



**Şekil 2.96.** Dopakinonun eldesi.

#### 2.4.2. Hücre Kültürü ve Sitotoksisite Çalışmaları

Tez kapsamında kullanılan hücre hatları, A375 malign melanom hücre hattı, HGF-1 gingival fibroblast hücre hattı ve MRC-5 akciğer kaynaklı fibroblast hücre hattı Amerikan Tip Kültür Koleksiyonundan (ATCC) satın alınmıştır. Hücrelerin her biri insan kaynaklı olup A375 hücre hattı, malign melanom hastası, 54 yaşında kadın bireye ait cilt dokusundan alınmış epitelyal hücrelerdir. HGF-1 hücre hattı ise sağlıklı, 28 yaşında erkek bireyin diş eti dokusundan alınmış fibroblast hücrelerdir. MRC-5 hücre hattı, 14 haftalık sağlıklı erkek bebeğin akciğer kaynaklı fibroblastlarından oluşmaktadır.

Hücrelerin morfolojik özellikleri ve çoğalma süreci ışık mikroskobu ile (NIKON Eclipse TS100, ABD) gözlemlenmiştir.

Sulforodamin B (SRB) deneyi, 1990 yılında geliştirilen, hücre canlılığının *in vitro* ölçümünde sık kullanılan bir yöntemdir. SRB, aminoksanten yapıda bir boya olup, zayıf asidik ortamda yapısındaki iki adet sülfonik grup ile proteinlerin bazik amino asit kalıntılarına bağlanmaktadır. SRB'nin sitokiyometrik bir boya olmasından kaynaklı olarak, boyanmış hücrelerdeki boya miktarı, direkt olarak hücre kütlesi ile



orantılı kabul edilmektedir (193). Tez kapsamında yürütülen çalışmalarda, öncelikle HGF-1 hücreleri steril 96 kuyucuklu plakaya, her bir kuyucukta 5000 hücre olacak şekilde ekilmiştir. Hücreler kuyucuklarda doluluğa ulaştığı zaman, önceden belirlenen dozlarda, Mannich bazları ile ayrı ayrı muamele edilmiştir. Hücrelerin 48 saat süresince inkübatörde inkübe edilmesinin ardından SRB deneyi gerçekleştirilmiştir.

### **2.4.3. Melanogenez Ölçüm Yöntemi**

Melanogenez ölçümü Huang ve ark. (194) tarafından gerçekleştirilen yöntem esas alınarak ve üzerinde küçük değişiklikler uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre 6 kuyucuklu plakalara ekilen A375 insan melanoma hücreleri kuyucuk başına  $5 \times 10^5$  hücre olacak şekilde ekilmiştir. Hücreler %80 yoğunluğa ulaştıkları vakit melanogenez etkinliği ölçülmek istenen bileşikler eklenmiş ve 48 saat sonra hücreler tripsinize edilerek toplanmıştır. 1200 x g'de 5 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilen hücrelerin üzerinde oluşan süpernatant atıldıktan sonra pellet %0.5 Triton X100 içeren 0.2 M Fosfat tamponunda (pH 7,4) homojenize edilmiş ve vortekslenmiştir. Daha sonra 10000 x g'de 5 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilerek yine süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pellet sırasıyla % 10 TCA ve %70 etanol ile yıkanmıştır. %20 DMSO içeren 1N NaOH içerisinde çözünen pellet 1 saat boyunca 80°C'de inkübe edilmiştir. Örnekler 470 nm'de ölçülmüş ve kontrole kıyaslanarak melanogenez etkinliği hesaplanıp sonuçlar bar düzleminde grafiklenmiştir. Her örnek, bağımsız 3 deneyin ortalaması alınarak grafiklenmiş ve istatistik analizi GraphPad 5.0 kullanılarak yapılmıştır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Kimyasal Çalışmalar

##### 3.1.1. Gereç

2-((4-(Süstitüebenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(morfolino/piperidino/pirolidinometil)-4H-piran-4-on türevlerinin türevi bileşiklerin sentezinde kullanılan kojik asit, formaldehit, sodyum hidroksit ve dimetil formamit Merck; tiyonil klorür, metanol, morfolin, piperidin ve pirolidin Aldrich, piperazin türevleri de Aldrich ve Fluka firmalarının ürünleridir.

##### 3.1.2. Sentez Yöntemleri

###### *5-Hidroksi-2-klorometil-4H-piran-4-on (Klorokojik asit) Sentezi*

50 g (0,35 mol) Kojik asit 200 mL tiyonil klorür içerisinde çözülür. Sarı renkte katı ürün oluşana kadar oda ısısında 1 saat karıştırılır. Çöken kısım süzülerek alınır ve petrol eteri (60-70°C) ile yıkanır. Klorokojik asit su ile kristallendirilerek (42,5 g, %75,9) renksiz iğne şeklinde kristaller elde edilir (Erime Derecesi: 166-7°C) (23).

###### *5-Hidroksi-2-metil-4H-piran-4-on (Allomaltol) Sentezi*

Klorokojik asit, 100 mL suda süspande edilir ve 50°C'ye kadar karıştırılarak ısıtılır. Çinko tozu yavaş yavaş ilave edilir. Isı 70°C 'ye çıkarılarak karıştırmaya devam edilir. Damla damla derişik hidroklorik asit ilave edilerek 70-80°C 'de ısıtmaya üç saat devam edilir. Çinko tozunun aşırısı süzülerek uzaklaştırılır. Çözelti 200 mL diklorometan ile üç kez ekstre edilir, organik çözücüler birleştirilerek susuz sodyum sülfat ile kurutulur ve vakumda uçurulur. Katı kısım izopropanol ile kristallendirilerek (%62,8) açık sarı tabaka şeklinde kristaller elde edilir (Erime Derecesi: 152-3°C) (19).

###### *3-Hidroksi-6-klorometil/metil-2-süstitüe-4H-piran-4-on türevlerinin sentezi (Genel sentez yöntemi I)*

Süstitüe sekonder amin türevi (1 mol) üzerine formaldehit ilave edilip karıştırılır. Çözeltiyeye kojik asit/klorokojik asit/allomaltol (1 mol) eklenir ve 20 mL

metanol eklenerek oda ısısında karıştırılır. Çöken katı vakumda süzülüp soğuk metanolla yıkanıp uygun çözücülerle kristallendirilir (20).

***2-((4-(süstitübenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(morfolino/piperidino/pirolidinometil)-4H-piran-4-on türevlerinin sentezi (Genel sentez yöntemi II)***

Morfolin/piperidin/pirolidin ( $0,7 \times 10^{-3}$  mol) 0.5 mL dimetilformamit içerisinde çözülür. Buz banyosundaki bu karışıma 2 mL dimetilformamitte çözülmüş Mannich bazı ( $1,4 \times 10^{-3}$  mol) damla damla eklenerek karıştırılır. Potasyum karbonat ( $K_2CO_3$ ) ( $0,7 \times 10^{-3}$  mol) bu karışıma eklenerek karıştırılmaya devam edilir. 36 saat sonunda karışım buzlu suya dökülür, organik çözücü ile ekstre edilir. Organik faz uçurulduğunda kalan katı metanolla yıkanıp uygun çözücülerle kristallendirilir (195).

### **3.1.3. Analitik Yöntemler**

#### ***Erime Derecesi Tayinleri***

Bileşiklerin erime dereceleri “Thomas Hoover Capillary Melting Point Apparatus” erime derecesi tayin cihazı ile saptanmıştır. Verilen erime dereceleri düzeltilmemiş değerlerdir.

#### ***cLog P Tayinleri***

Bileşiklerin clog P değerleri ChemDraw® Ultra 8.0.3 programında teorik olarak hesaplanmıştır.

### **3.1.4. Spektrometrik Kontroller**

#### ***IR Spektrumları***

IR spektrumları, “Perkin Elmer FT-IR System, Spectrum BX” spektrofotometresinde alınmış ve dalga sayısı ( $cm^{-1}$ ) cinsinden değerlendirilmiştir.

### ***<sup>1</sup>H-NMR Spektrumları***

Bileşiklerin <sup>1</sup>H-NMR spektrumları dötörokloroform (CDCl<sub>3</sub>) veya dötörodimetilsülfoksit (DMSO-d<sub>6</sub>) içerisindeki yaklaşık %10'luk çözeltileri ile "Varian Mercury 400" NMR spektrometresinde alınmış,  $\delta$  (ppm) skalasında değerlendirilmiştir. *J* değerleri Hz cinsinden verilmiştir.

### ***<sup>13</sup>C-NMR Spektrumları***

Bileşiklerin <sup>13</sup>C-NMR decoupled spektrumları dötörokloroform (CDCl<sub>3</sub>) veya dötörodimetilsülfoksit (DMSO-d<sub>6</sub>) içerisindeki yaklaşık %10'luk çözeltileri ile "Varian Mercury 400" NMR spektrometresinde alınmış,  $\delta$  (ppm) skalasında değerlendirilmiştir.

### ***Kütle Spektrumları***

Bileşiklerin Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nde yapılan kütle spektroskopileri, metanol içerisindeki çözeltilerinden pozitif iyon elektrosprey iyonizasyon (ESI-MS) tekniği ile "Micromass ZQ MS Spectrometer" cihazı ve "MassLynx 4.1" yazılımı kullanılarak alınmıştır. Cihazda kapiller voltajı 3,92 kV, koni voltajı 42,37 kV; kaynak sıcaklığı 120°C, desolvasyon sıcaklığı 180°C, koni gaz akışı 50 L/saat, desolvasyon gaz akışı olarak ise 500 L/saat ayarları kullanılmıştır.

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda yapılan kütle spektroskopileri ise Waters Micromass ZQ (Micromass UK, Manchester, UK) cihazının pozitif iyon modunda, yüksek performanslı sıvı kromatografisi ise Waters Alliance cihazında C18 kolon kullanılarak yapılmıştır.

### **3.1.5. Elemental Analizler**

Bileşiklerin karbon, hidrojen ve azot elementlerinin analizleri Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Leco CHNS-932 analizler (Leco, St. Joseph, MI, USA) cihazı ile yapılmıştır.

### 3.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Sentezlenen bileşiklerin A375 malign melanoma, HGF-1 gingival fibroblast ve MRC-5 akciğer kaynaklı fibroblast hücre hatlarına karşı sitotoksiteleri hücre canlılığı ölçülerek değerlendirilmiştir. Söz konusu hücreler, ATCC'den ticari olarak temin edilmiştir.

Bileşiklerin antitirozinaz aktivitesini belirlemek için, mantar tirozinaz inhibisyon yüzdesini belirlemek amacıyla substrat olarak L-DOPA'nın kullanıldığı spektrofotometrik bir yöntem (192) modifiye edilerek uyarlanmıştır. Bu çalışmada kullanılan mantar tirozinazı Sigmadan tedarik edilmiştir.

Ayrıca aktif bulunan bazı bileşiklerin, A375 hücrelerinde melanogenez etkinliğini belirlemek için spektrofotometrik yöntemle hücre içi melanin içeriği tespit edilmiştir.

Tez kapsamında değerlendirilen biyolojik aktivite çalışmalarının tümü Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yürütülmüştür.

#### 3.2.1. Mantar Tirozinaz Enzim İnhibisyonunun Ölçülmesi

Mantar tirozinazının enzimatik aktivitesi inhibisyon kinetiği kullanılan substrata göre özgülük göstermektedir. Bu sebeple inhibisyon yüzdesini belirlemek amacıyla substrat olarak L-DOPA'nın kullanıldığı spektrofotometrik bir yöntem (192) modifiye edilerek uyarlanmıştır. İzlenecek olan inhibisyon, tirozinazın *o*-difenolaz aktivitesini temel almaktadır.

Bu çalışmada kullanılan mantar tirozinazı (EC 1.14.18.1) Sigmadan (T3824) tedarik edilmiştir. Enzim 50 mM (pH 6,5) fosfat tamponunda çözülmüştür. Tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin, tirozinaz enzimi üzerine etkisini belirlemek üzere 96 kuyucuklu plakaların içerisine sırasıyla 100 µL (pH 6,8) 50 mM fosfat tamponu, 10 µL inhibitör (Bileşik **1-60** ve başlangıç maddeleri), 30 µL 5 mM L-DOPA (Sigma, D9628) eklenmiştir. Deney kontrolü gruplarında örnek çözelti yerine aynı hacimde DMSO kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak tirozinazı inhibe ettiği bilinen kojik asit, referans madde olarak kullanılmıştır. Karışım 37°C'de 10 dakika süre ile pre-inkübasyona tabi tutulmuştur. 10 µL enzim eklenerek tepkime başlatılmış ve 37°C'de

15 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda 492 nm’de BioTek PowerWave HT Elisa Plaka Okuyucuda absorbans değerleri kaydedilmiştir. Tüm örnek ve kontrol çözeltileri 3’er defa ölçülmüş ve değerleri kaydedilmiştir. Her bir maddenin % inhibisyonları kontrol çözeltilerine kıyaslanarak aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

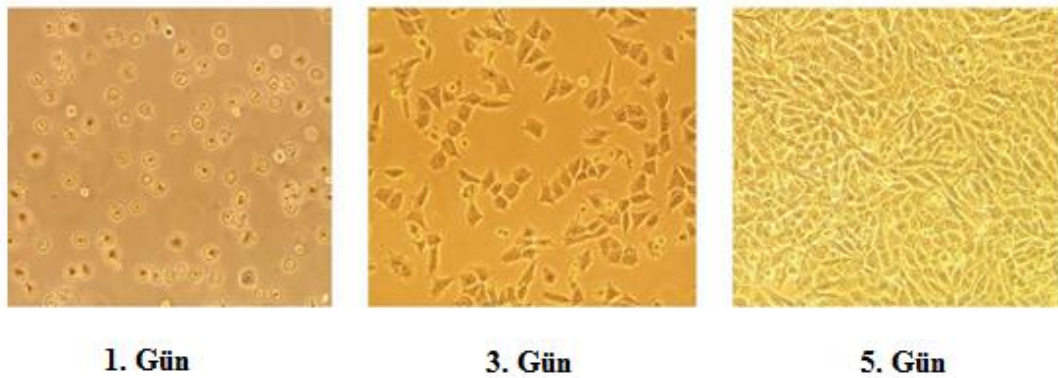
$$\% \text{ inhibisyon} = [(A-B)/A] \times 100$$

Formülde sırasıyla A, DMSO’nun; B ise örneklerin 492 nm’de vermiş olduğu absorbansı göstermektedir.

Elde edilen inhibisyon yüzdeleri nonlinear regresyon yöntemiyle istatistik ve çizim programı GraphPad Prism 5.03 kullanılarak çizilmiş, standart sapmaları ve IC<sub>50</sub> değerleri elde edilmiştir.

### 3.2.2. Hücre Kültürü Çalışmaları ve Sülförödamın B (SRB) Deneyi

Her biri insan kaynaklı olan A375 Malign melanoma hücre hattı, HGF-1 gingival fibroblast hücre hattı ve MRC-5 akciğer kaynaklı fibroblast hücre hattı ATCC’den satın alınmıştır. Hücreler ısı ile inaktive edilmiş %10 FBS, %1 L-glutamin ve %1 penisilin/streptomisin içeren DMEM besin ortamında, T75 hücre flasksında 37°C sıcaklıkta ve %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde çoğaltılmıştır. Hücrelerin morfolojik özellikleri ve çoğalma süreci, ışık mikroskobu ile (NIKON Eclipse TS100, ABD) gözlemlenmiştir (Şekil 3.1 ve 3.2.).



**Şekil 3.1.** Işık mikroskobunda görüntülenen A375 hücreleri (10X).



**Şekil 3.2.** Işık mikroskopunda görüntülenen HGF-1 hücreleri (10X).

SRB deneyi için, öncelikle HGF-1 hücreleri steril 96 kuyucuklu plakaya, her bir kuyucukta 5000 hücre olacak şekilde ekilmiştir. Hücreler kuyucuklarda doluluğa ulaştığı zaman, önceden belirlenen dozlarda, Mannich bazları ile ayrı ayrı muamele edilmiştir. Hücrelerin 48 saat süresince inkübatörde inkübe edilmesinin ardından SRB deneyi gerçekleştirilmiştir.

İlk olarak hücreler, 100  $\mu$ L %10 (a/h) TCA ile 1 saat süresince 4°C'de inkübe edilerek plakaya fikse edilmiştir. Daha sonra plaka dH<sub>2</sub>O ile yıkanarak TCA'nın ortamdaki uzaklaştırılması sağlanmıştır. Plaka kurutulduktan sonra her bir kuyucuğa 100  $\mu$ L %0,06 (a/h) SRB çözeltisi eklenerek 30 dakika süresince oda sıcaklığında inkübe edilmiş ve böylece boyanın hücre proteinlerine bağlanması sağlanmıştır. İnkübasyon süresinin bitiminde, plaka %1 (h/h) asetik asit ile yıkanarak bağlanmamış boya uzaklaştırılmıştır. Plakanın kurutulmasının ardından her bir kuyucuğa 200  $\mu$ L Tris bazı (pH 10.5) eklenip boyanın tamamen çözünmesi sağlandıktan sonra Elisa plaka okuyucuda (PowerWave XS, Biotek, ABD) her bir kuyucuk için 510 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülmüştür. Hiç madde eklenmemiş, sadece hücre bulunan kuyucuklarda hücre canlılığı %100 kabul edilerek, diğer kuyucuklardaki hücre canlılığı da absorbansa göre orantılı olarak belirlenmiştir. Her bir bileşiğin HGF-1 hücreleri için IC<sub>50</sub> değerleri Graphpad Prism 5.0 yazılım programı yardımıyla non-lineer regresyon ile hesaplanmıştır. Bu deney en az n=3 olacak şekilde tekrarlanmıştır (193).

### 3.2.3. Melanogenez Ölçüm Yöntemi

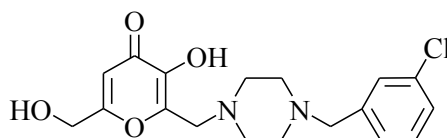
Melanogenez ölçümü Huang ve ark. nin (194) yöntemi esas alınarak ve küçük değişiklikler uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre 6 kuyucuklu plakalara ekilen A375 insan melanoma hücreleri, kuyucuk başına  $5 \times 10^5$  hücre olacak şekilde ekilmiştir. Hücreler %80 yoğunluğa ulaştıkları vakit melanogenez etkinliği ölçülmek istenen bileşikler eklenmiş ve 48 saat sonra hücreler tripsinize edilerek toplanmıştır. 1200xg'de 5 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilen hücrelerin üzerinde oluşan süpernatant atıldıktan sonra pellet %0,5 Triton X100 içeren 0,2 M Fosfat tamponunda (pH 7,4) homojenize edilmiştir ve vortekslenmiştir. Daha sonra 10000xg'de 5 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilerek yine süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pellet sırasıyla %10 TCA ve %70 etanol ile yıkanmıştır. %20 DMSO içeren 1N NaOH içerisinde çözünen pellet 1 saat boyunca 80°C'de inkübe edilmiştir. Örnekler 470 nm'de ölçülmüş ve kontrole kıyaslanarak melanogenez etkinliği hesaplanıp sonuçlar bar düzleminde grafiklenmiştir. Her örnek, bağımsız üç deneyin ortalaması alınarak grafiklenmiş ve istatistik analizi GraphPad 5.0 kullanılarak yapılmıştır.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Kimyasal Çalışmalar

#### 2-((4-(3-Klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(hidroksimetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 1)



0,6 g (0,0042 mol) Kojik asit, 0,89 g (0,0042 mol) 1-(3-klorobenzil)piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi 170-1°C. Verim: 1,397 g (%91), clog P: 1,306.

IR spektrumunda 3338 (O-H, gerilim), 2976 (C-H (alifatik), gerilim), 1653 (C=O, gerilim), 1456 (C=C, gerilim) ve 1088 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

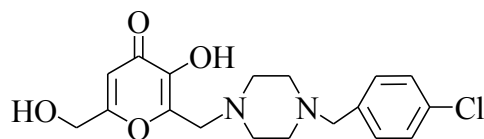
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,37 (4H; brs; piperazin); 2,47-2,51 (4H; m; piperazin); 3,46 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-); 3,51 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 4,29 (2H; s; -CH<sub>2</sub>OH); 5,61 (1H; brs; -CH<sub>2</sub>OH); 6,30 (1H; s; H <sup>$\delta$</sup> ) ve 7,23-7,36 (4H; m; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 52,41; 53,56; 59,59; 61,08; 108,94; 126,85; 127,35; 128,34; 130,02; 132,90; 140,94; 143,5; 146,53; 167,58 ve 173,58 ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 365 (temel pik, %100, (M+H)<sup>+</sup>), 367 (M+H+2)<sup>+</sup> ve 387 (M+Na)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 364,82 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 59,26	5,80	7,68
Bulunan	: 59,08	5,76	7,81

**2-((4-(4-Klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(hidroksimetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 2)**



0.6 g (0,0042 mol) Kojik asit, 0.89 g (0,0042 mol) 4-klorobenzilpiperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime Derecesi: Dekompoze (Ref. 203-4°C), Verim: 1.474 g (%96), clog P: 1,306 Bkz. (40).

IR spektrumunda 1654 (C=O, gerilim), 1456 (C=C, gerilim) ve 1051 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

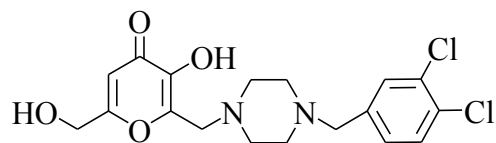
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,36-2,51 (8H; m; piperazin); 3,43 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-); 3,51 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 4,28 (2H; s; -CH<sub>2</sub>OH); 5,61 (1H; brs; -CH<sub>2</sub>OH); 6,30 (1H; s; H<sup>5</sup>); 7,30 (2H; d; J=10,8; Ar-H<sup>2'</sup>, H<sup>6'</sup>) ve 7,36 (2H; d; J=12,8; Ar-H<sup>3'</sup>, H<sup>5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 52,30; 53,45; 59,48; 60,87; 108,83; 130,25; 131,25; 137,12; 143,54; 146,42; 167,46 ve 173,47 ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 365 (temel pik, %100, (M+H)<sup>+</sup>), 367 (M+H+2)<sup>+</sup> ve 387 (M+Na)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 364,82 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 59,26	5,80	7,68
Bulunan	: 59,39	5,76	7,91

**2-((4-(3,4-Diklorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(hidroksimetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 3)**



0,5 g (0,0036 mol) Kojik asit, 0,86 g (0,0036 mol) 1-(3,4-diklorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi 180-1°C (Ref. 180-1°C), Verim: %90, clog P: 1,899 Bkz. (41).

IR spektrumunda 1607 (C=O, gerilim), 1455 (C=C, gerilim) ve 1196 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

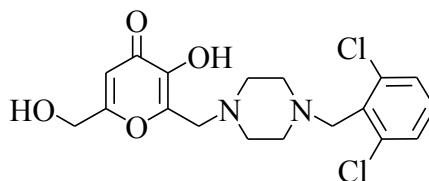
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,37 (4H; brs; piperazin); 2,47 (4H; brs; piperazin); 3,45 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-); 3,51 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 4,28 (2H; s; -CH<sub>2</sub>OH); 5,61 (1H; brs; -CH<sub>2</sub>OH); 6,31 (1H; s; H<sup>5</sup>); 7,28 (1H; dd; *J*= 8; *J*= 2; Ar-H<sup>6'</sup>); 7,51 (1H; d; *J*=2; Ar-H<sup>2'</sup>); 7,56 (1H; d; *J*=8; Ar-H<sup>5'</sup>) ve 8,89-8,98 (1H; br; -OH) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 52,27; 52,32; 53,46; 59,51; 60,24; 108,85; 128,84; 129,24; 130,24; 130,33; 130,74; 139,56; 143,59; 146,41; 167,49 ve 173,49 ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 399 (temel pik, % 100, (M)<sup>+</sup>), 401 (M+2)<sup>+</sup> ve 421 (M+Na)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 399,27 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 54,15	5,05	7,02
Bulunan	: 54,01	5,10	7,27

**2-((4-(2,6-Diklorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(hidroksimetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 4)**



0,5 g (0,0036 mol) Kojik asit, 0,86 g (0,0036 mol) 1-(2,6-diklorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi 196-7°C (Ref. 196-7°C), Verim: %93, clog P: 1,899 Bkz. (41).

IR spektrumunda 1607 (C=O, gerilim), 1435 (C=C, gerilim) ve 1197 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

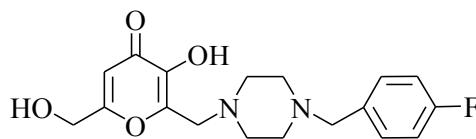
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,41 (4H; brs; piperazin); 2,49 (4H; brs; piperazin); 3,50 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-); 3,66 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 4,28 (2H; s; -CH<sub>2</sub>OH); 5,60 (1H; brs; -CH<sub>2</sub>OH); 6,30 (1H; s; H<sup>5</sup>); 7,31 (1H; t; J= 8; J= 2; Ar-H<sup>4</sup>); 7,44 (2H; d; J= 8; Ar-H<sup>3'</sup>, H<sup>5'</sup>) ve 8,89-8,98 (1H; br; -OH) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 52,28; 52,41; 53,43; 55,79; 59,49; 108,84; 128,48; 129,73; 133,54; 135,99; 143,58; 146,36; 167,48 ve 173,46 ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 399 (temel pik, %100, M<sup>+</sup>), 401 (M+2)<sup>+</sup> ve 421 (M+Na)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	:	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 399,27 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	54,15	5,05	7,02
Bulunan	:	54,04	4,87	7,35

**2-((4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(hidroksimetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 5)**



0,5 g (0,0036 mol) Kojik asit, 0,7 g (0,0036 mol) 1-(4-florobenzil)piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 187-8°C, Verim: %98, clog P: 0,736.

IR spektrumunda 3245 (O-H, gerilim), 1605 (C=O, gerilim), 1454 (C=C, gerilim) ve 1224 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

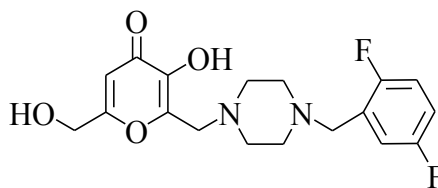
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,36 (4H; brs; piperazin); 2,47 (4H; brs; piperazin); 3,43 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-); 3,52 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 4,31 (2H; s; -CH<sub>2</sub>OH); 5,60 (1H; brs; -CH<sub>2</sub>OH); 6,34 (1H; s; H<sup>5</sup>); 7,12 (2H; t; J=9,2; J=8,4; Ar-H<sup>3'</sup>, H<sup>5'</sup>) ve 7,31 (2H; m; Ar-H<sup>2'</sup>, H<sup>6'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 52,36; 52,43; 53,58; 59,61; 61,07; 108,95; 114,73; 114,95; 130,55; 130,63; 134,30; 134,31; 143,69; 146,54; 160,03; 162,44; 167,60 ve 173,62 ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 349 (temel pik, %100, M+H)<sup>+</sup>, 350 (M+2)<sup>+</sup> ve 371 (M+Na)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	:	C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 348,37 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	62,06	6,08	8,04
Bulunan	:	62,14	6,10	8,11

**2-((4-(2,5-Diflorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(hidroksimetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 6)**



0,5 g (0,0036 mol) Kojik asit, 0,76 g (0,0036 mol) 1-(2,5-diflorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 176-7°C, Verim: %72, clog P: 0,879.

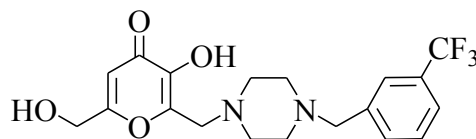
IR spektrumunda 3330 (O-H, gerilim), 1617 (C=O, gerilim), 1457 (C=C, gerilim) ve 1179 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,41 (8H; brs; piperazin); 3,49 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-); 3,50 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 4,29 (2H; s; -CH<sub>2</sub>OH); 5,66 (1H; brs; -CH<sub>2</sub>OH); 6,34 (1H; s; H<sup>5</sup>) ve 7,09-7,23 (3H; brs; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 367 (temel pik, %100, (M+H)<sup>+</sup>) ve 389 (M+Na)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 366,36 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 59,01	5,50	7,65
Bulunan	: 58,96	5,41	7,83

**2-((4-(3-Triflorometilbenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(hidroksimetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 7)**



0,57 g (0,0040 mol) Kojik asit, 0,99 g (0,0040 mol) 1-(3-triflorometilbenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi 183-4°C (Ref. 183-5°C). Verim: 1,2523 g (%78), clog P: 1,476 Bkz. (40).

IR spektrumunda 1609 (C=O, gerilim), 1456 (C=C, gerilim) ve 1198 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

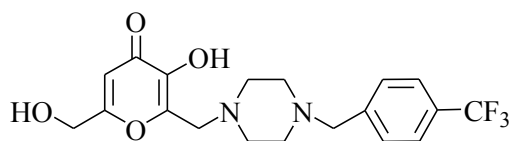
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,48-2,51 (8H; m; piperazin); 3,51 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-); 3,55 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 4,29 (2H; s; -CH<sub>2</sub>OH); 5,66 (1H; brs; -CH<sub>2</sub>OH); 6,32 (1H; s; H<sup>δ</sup>) ve 7,54-7,62 (4H; m; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 52,32; 53,47; 59,56; 59,50; 60,96; 108,85; 122,86; 129,03; 132,71; 139,75; 143,56; 146,44; 167,49 ve 173,49 ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS)m/z 399 ((M+H)<sup>+</sup>, temel pik, %100) ve 421 (M+Na)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 398,4 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 57,28	5,31	7,03
Bulunan	: 57,12	5,51	7,14

**2-((4-(4-Triflorometilbenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(hidroksimetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 8)**



0,57 g (0,0040 mol) Kojik asit, 0,9 g (0,0040 mol) 1-(4-triflorometilbenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi 186-7°C (Ref. 186-8°C), Verim: 1,517 g (%95), clog P: 1,476 Bkz. (40).

IR spektrumunda 1620 (C=O, gerilim), 1463 (C=C, gerilim) ve 1085 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,39-2,52 (8H; m; piperazin); 3,52 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-); 3,55 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 4,29 (2H; s; -CH<sub>2</sub>OH); 5,66 (1H; brs; -CH<sub>2</sub>OH); 6,32 (1H; s; H<sup>5</sup>); 7,51 (2H; d; *J*=8,4; Ar-H<sup>2'</sup>, H<sup>6'</sup>) ve 7,67 (2H; d; *J*=7,6; Ar-H<sup>3'</sup>, H<sup>5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

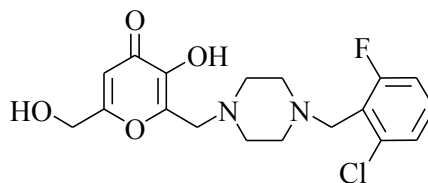
<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 52,36; 53,46; 59,50; 61,09; 108,85; 124,92; 127,31; 127,63; 129,22; 143,24; 146,42; 167,49 ve 173,49 ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 155 (temel pik, % 100), 399 (M+H)<sup>+</sup> ve 421 (M+Na)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	:	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 398,4g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	57,28	5,31	7,03
Bulunan	:	56,96	5,38	7,11



**2-((4-(2-Floro-6-klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(hidroksimetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 9)**



0,3 g (0,0021 mol) Kojik asit, 0,48 g (0,0021 mol) 1-(2-floro-6-klorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 184-5°C, Verim: 0,69 g (%85), clog P: 1,449.

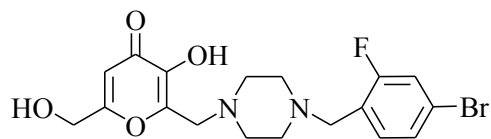
IR spektrumunda 3274 (O-H, gerilim), 2820 (C-H (alifatik), gerilim), 1607 (C=O, gerilim), 1454 (C=C, gerilim) ve 1198 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,48-2,50 (8H; m; piperazin); 3,47 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-); 3,56 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 4,27 (2H; s; -CH<sub>2</sub>OH); 6,29 (1H; s; H<sup>5</sup>) ve 7,16-7,37 (3H; m; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 177 (temel pik, %100), 383 (M)<sup>+</sup>, 385 (M+2)<sup>+</sup>, 405 (M+Na)<sup>+</sup> ve 407 (M+Na+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	:	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> ClFN <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 382,81 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	56,47	5,27	7,32
Bulunan	:	56,07	5,33	7,40

**2-((4-(2-Floro-4-bromobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(hidroksimetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 10)**



0,3 g (0,0021 mol) Kojik asit, 0,58 g (0,0021 mol) 1-(2-floro-4-bromometil-benzil)piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: Dekompoze, Verim: 0,831 g (%90), clog P: 1,599.

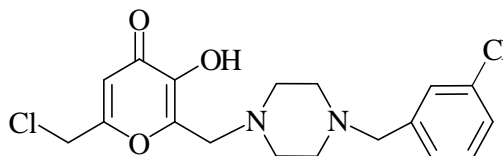
IR spektrumunda 3282 (O-H, gerilim), 2825 (C-H (alifatik), gerilim), 1608 (C=O, gerilim), 1464 (C=C, gerilim) ve 1089  $\text{cm}^{-1}$ 'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

$^1\text{H-NMR}$  spektrumunda  $\delta$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) 2,37-2,51 (8H; m; piperazin); 3,47 (2H; s;  $-\text{CH}_2-$ ); 3,49 (2H; s;  $-\text{CH}_2-\text{Ar}$ ); 4,28 (2H; s;  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ); 5,75 (1H; brs;  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ); 6,30 (1H; s;  $H^5$ ) ve 7,32-7,49 (3H; m;  $\text{Ar-H}$ ) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 177 (temel pik, %100), 427 (M) $^+$  ve 449 (M+Na) $^+$  de pikler görülür.

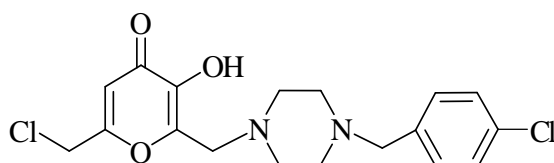
Analiz	: $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{BrFN}_2\text{O}_4$ (M.A.: 427,26 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 50,60	4,72	6,56
Bulunan	: 49,98	4,75	6,84

**2-((4-(3-Klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(klorometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 11)**



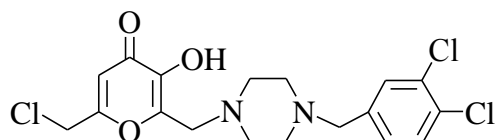
0,6 g (0,0037 mol) klorokojik asit, 0,79 g (0,0037 mol) 1-(3-klorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi 147-8°C (Ref. 147-8°C), Verim: 1,08 g (%76), clog P: 2,906 Bkz. (42).

**2-((4-(4-Klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(klorometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 12)**



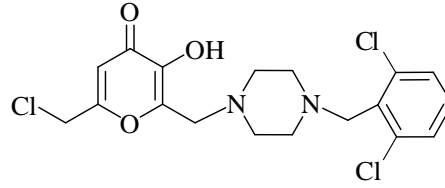
0,6 g (0,0037 mol) klorokojik asit, 0,79 g (0,0037 mol) 1-(4-klorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi 168-9°C (Ref. 168-9°C), Verim: 1,31 g (%92), clog P: 2,906 Bkz. (23).

**2-((4-(3,4-Diklorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(klorometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 13)**



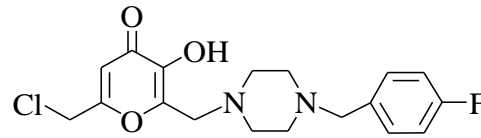
0,6 g (0,0037 mol) klorokojik asit, 0,91 g (0,0037 mol) 1-(3,4-diklorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi 147-8°C (Ref. 147-8°C), Verim: 1,40 g (% 90), clog P: 3,499 Bkz. (20).

**2-((4-(3,4-Diklorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(klorometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 14)**



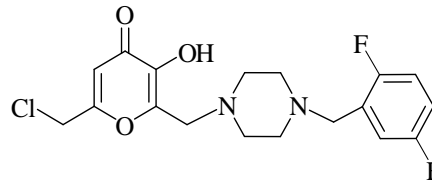
0,6 g (0,0037 mol) klorokojik asit, 0,91 g (0,0037 mol) 1-(2,6-diklorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi 167-9°C (Ref. 167-9°C), Verim: 1,40 g (%90), clog P: 3,499 Bkz. (23).

**2-((4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(klorometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 15)**



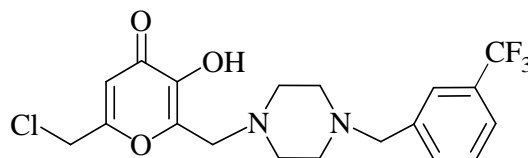
0,6 g (0,0037 mol) klorokojik asit, 0,71 g (0,0037 mol) 1-(4-florobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi 157-8°C (Ref. 157-8°C), Verim: 0,96 g (%68), clog P: 2,336 Bkz. (20).

**2-((4-(2,5-Diflorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(klorometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 16)**



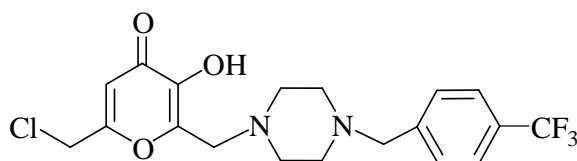
0,6 g (0,0037 mol) klorokojik asit, 0,79 g (0,0037 mol) 1-(2,5-diflorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi 151-2°C (Ref. 151-2°C, Verim: 1,1 g (%75), clog P: 2,479 Bkz. (23).

**2-((4-(3-Triflorometilbenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(klorometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 17)**



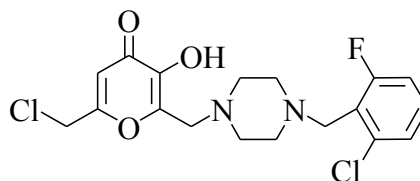
0,6 g (0,0037 mol) klorokojik asit, 0,91 g (0,0037 mol) 1-[3-(triflorometil)-benzil]piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 161-2°C (Ref. 161-2°C), Verim: 1,21 g (%78), clog P: 3,076 Bkz. (23).

**2-((4-(4-Triflorometilbenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(klorometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 18)**



0,6 g (0,0037 mol) klorokojik asit, 0,91 g (0,0037 mol) 1-[4-(triflorometil)-benzil]piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi 150-1°C (Ref. 150-1°C), Verim: 1,29 g (%83), clog P: 3,076 Bkz. (23).

**2-((4-(2-Floro-6-klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(klorometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 19)**



0,3 g (0,0019 mol) Klorokojik asit, 0,48 g (0,0019 mol) 1-(2-floro-6-klorobenzil)piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 158-9°C, Verim: 0,60 g (%80), clog P: 3,049.

IR spektrumunda 3020 (C-H (aromatik), gerilim), 2951 (C-H (alifatik), gerilim), 1602 (C=O, gerilim), 1462 (C=C, gerilim) ve 1200 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

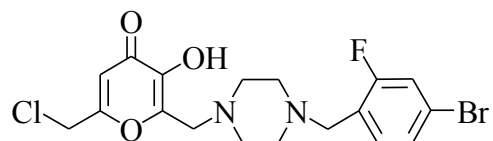
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,44-2,51 (8H; m; piperazin); 3,54 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-); 3,58 (2H; d; *J*=1,6; -CH<sub>2</sub>-Ar) ; 4,65 (2H; s; -CH<sub>2</sub>OH); 6,54 (1H; s; *H*<sup>5</sup>) ve 7,18-7,40 (3H; m; Ar-*H*) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 41,37; 51,84; 52,20; 52,33; 53,32; 112,37; 114,18; 114,41; 123,25; 123,43; 125,51; 129,99; 130,09; 135,57; 135,62; 144,00; 147,59; 160,21; 161,13; 162,67 ve 173,39 ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 401 (temel pik, %100), 403 (M+H)<sup>+</sup>, 423 (M+Na)<sup>+</sup> ve 425 (M+Na+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	:	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 401,26 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	53,88	4,77	6,98
Bulunan	:	53,73	4,94	7,13

**2-((4-(2-Floro-4-bromobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(klorometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 20)**



0,5 g (0,0031 mol) Klorokojik asit, 0,85 g (0,0031 mol) 1-(2-floro-4-bromobenzil)piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 167-8°C, Verim: 0,91 g (%80), clog P: 3,199.

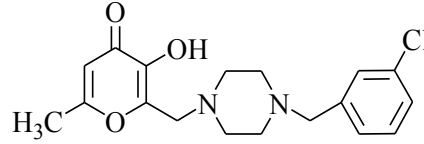
IR spektrumunda 3020 (C-H (aromatik), gerilim), 2951 (C-H (alifatik), gerilim), 1602 (C=O, gerilim), 1462 (C=C, gerilim) ve 1200 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,46-2,50 (8H; m; piperazin); 3,47 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-); 3,54 (2H; d; -CH<sub>2</sub>-Ar); 4,64 (2H; s; -CH<sub>2</sub>OH); 6,53 (1H; s; H<sup>5</sup>) ve 7,31-7,49 (3H; m; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 195 (temel pik, %100), 445 (M)<sup>+</sup>, 447 (M+2)<sup>+</sup>, 467 (M+Na)<sup>+</sup> ve 469 (M+Na+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> BrClFN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 445,71 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 48,51	4,30	6,29
Bulunan	: 48,11	4,34	6,52

**2-((4-(3-Klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-metil-4H-piran-4-on  
(Bileşik 21)**

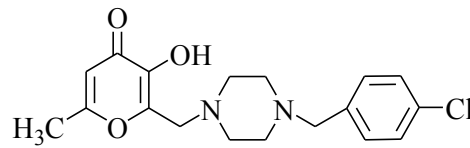


0,2 g (0,0016 mol) Allomaltol, 0,33 g (0,0016 mol) 1-(3-klorobenzil)piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 158-9°C, Verim: 0,3875 g (%63), clog P: 2,843.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 160 (temel pik), 349 (M+H)<sup>+</sup> ve 371 (M+Na)<sup>+</sup> de pikler görülür (C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (M.A.: 348,82 g/mol)).

Ticari olarak piyasada mevcuttur (CAS Registry Number: 1324058-46-9).

**2-((4-(4-Klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-metil-4H-piran-4-on  
(Bileşik 22)**

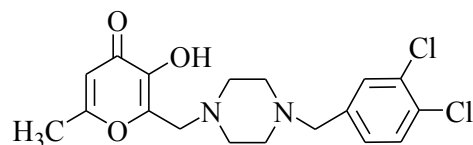


0,2 g (0,0016 mol) Allomaltol, 0,33 g (0,0016 mol) 1-(4-klorobenzil)piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 165-7°C (Ref. 159-9°C), Verim: 0,4111 g (%75), clog P: 2,843 Bkz. (43).

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 160, 349 ((M+H)<sup>+</sup>, temel pik), 351 (M+H+2)<sup>+</sup> ve 371 (M+Na)<sup>+</sup> de pikler görülür (C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (M.A. : 348,82 g/mol)).



**2-((4-(3,4-Diklorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-metil-4H-piran-4-on  
(Bileşik 23)**



0,2 g (0,0016 mol) Allomaltol, 0,39 g (0,0016 mol) 1-(3,4-diklorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 160-2°C, Verim: 0,365 g (%60), clog P: 3,436.

IR spektrumunda 2849 (C-H, gerilim, alifatik), 1641 (C=O, gerilim), 1497 (C=C, gerilim), 1233 (C-N, gerilim) ve 1179 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

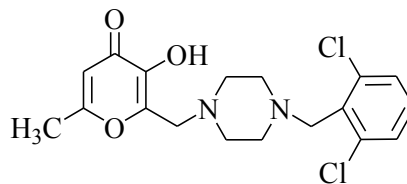
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,25 (3H; s; -CH<sub>3</sub>); 2,37 (4H; brs; piperazin); 2,47 (4H; brs; piperazin); 3,46 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,49 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,22 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,28 (1H; dd; *J*=8,2; *J*=1,6; Ar-H<sup>6'</sup>); 7,52 (1H; d; *J*=2,0; Ar-H<sup>2'</sup>) ve 7,56 (1H; d; *J*=8,0; Ar-H<sup>5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 19,39; 52,33; 52,40; 53,54; 60,30; 111,16; 128,94; 129,31; 130,32; 130,41; 130,81; 139,67; 143,29; 146,53; 164,65 ve 173,51 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) *m/z* 383 (temel pik, %100, (M)<sup>+</sup>) ve 385 (M+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 383,27 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 56,41	5,26	7,31
Bulunan	: 56,15	5,34	7,55

**2-((4-(2,6-Diklorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-metil-4H-piran-4-on  
(Bileşik 24)**



0,2 g (0,0016 mol) Allomaltol, 0,39 g (0,0016 mol) 1-(2,6-diklorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 165-6°C, Verim: 0,3617 g (%60), clog P: 3,436.

IR spektrumunda 2829 (C-H, gerilim, alifatik), 1618 (C=O, gerilim), 1435 (C=C, gerilim), 1196 (C-N, gerilim) ve 1002 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

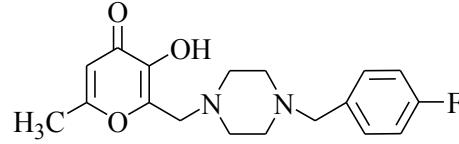
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,41 (3H; s; -CH<sub>3</sub>); 2,51 (4H; brs; piperazin); 2,51 (4H; m; piperazin); 3,48 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,66 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,21 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,30-7,34 (1H; m; Ar-H<sup>4'</sup>) ve 7,45 (2H; d; Ar-H<sup>3',5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO, 100 MHz) 19,38; 52,36; 52,50; 53,51; 55,87; 111,16; 128,56; 129,83; 133,62; 136,08; 143,29; 146,52; 164,66 ve 173,50 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 383 (temel pik, %100, (M)<sup>+</sup>) ve 385 (M+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 383,27 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 56,41	5,26	7,31
Bulunan	: 56,22	5,19	7,57

**2-((4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-metil-4H-piran-4-on  
(Bileşik 25)**



0,2 g (0,0016 mol) Allomaltol, 0,31 g (0,0016 mol) 1-(4-florobenzil)piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 168-70°C, Verim: 0,40 g (%66), clog P: 2,273.

IR spektrumunda 2944, 2816 (C-H, gerilim, alifatik), 1622 (C=O, gerilim), 1600 (C-C (halka içi), gerilim), 1511, 1456 (C=C, gerilim), 1222 (C-N, gerilim) ve 1147 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

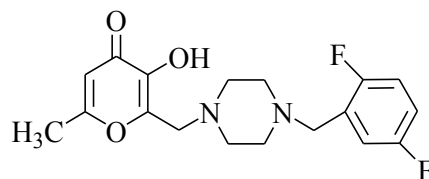
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 2,25 (3H; s; -CH<sub>3</sub>); 2,46 (4H; brs; piperazin); 2,60 (4H; brs; piperazin); 3,44 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,62 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,16 (1H; t; piran-H<sup>5</sup>); 6,95 (2H; t; Ar-H<sup>3',5'</sup>) ve 7,22 (2H; m; Ar-H<sup>2',6'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 20,13; 52,81; 55,23; 62,23; 111,31; 122,82; 123,96; 125,60; 128,23; 128,67; 129,18; 130,11; 130,43; 130,75; 131,07; 132,32; 139,10; 143,51; 145,22; 165,22 ve 173,95 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 332 (temel pik, %100, (M)<sup>+</sup>)'de pik görülür.

Analiz	: C <sub>18</sub> H <sub>21</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 332,37 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 65,05	6,37	8,43
Bulunan	: 65,00	6,66	8,53

**2-((4-(2,5-Diflorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-metil-4H-piran-4-on  
(Bileşik 26)**



0,2 g (0,0016 mol) Allomaltol, 0,34 g (0,0016 mol) 1-(2,5-diflorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir, Erime derecesi: 163-5°C, Verim: 0,3875 g (%70), clog P: 2,416.

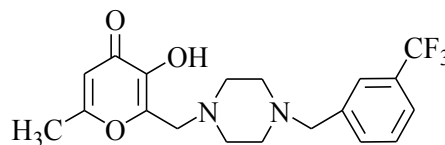
IR spektrumunda 2812 (C-H, gerilim, alifatik), 1641 (C=O, gerilim), 1496, 1460 (C=C, gerilim), 1233 (C-N, gerilim) ve 987 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,22 (3H; s; -CH<sub>3</sub>); 2,43 (4H; brs; piperazin); 2,48 (4H; t; piperazin); 3,47 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,48 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,18 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>) ve 7,09-7,22 (3H; m; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 351 (temel pik, %100, (M)<sup>+</sup>) ve 353 (M+2)<sup>+</sup>de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (M.A. : 350,36 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 61,71	5,75	8,00
Bulunan	: 61,58	5,91	8,20

**2-((4-(3-Triflorometilbenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-metil-4H-piran-4-on (Bileşik 27)**



0,2 g (0,0016 mol) Allomaltol, 0,31 g (0,0016 mol) 1-(3-triflorometilbenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 171-2°C, Verim: 0,40 g (%66), clog P: 3,013.

IR spektrumunda 2937, 2763 (C-H, gerilim, alifatik), 1626 (C=O, gerilim), 1596 (C-C (halka içi), gerilim), 1484, 1460 (C=C, gerilim), 1233 (C-N, gerilim) ve 1185 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

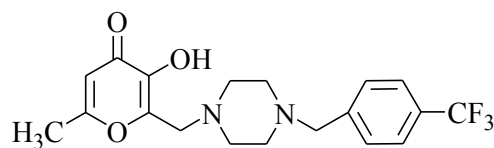
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 2,27 (3H; s; -CH<sub>3</sub>); 2,50 (4H; brs; piperazin); 2,63 (4H; brs; piperazin); 3,54 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,64 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,18 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,40 (1H; t; Ar-H<sup>5'</sup>); 7,48 (2H; d; Ar-H<sup>4',6'</sup>) ve 7,56 (1H; s; Ar-H<sup>2'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 20,13; 52,81; 55,23; 62,23; 111,31; 122,82; 123,96; 125,60; 128,23; 128,67; 129,18; 130,11; 130,43; 130,75; 131,07; 132,32; 139,10; 143,51; 145,22; 165,22 ve 173,95 ppm de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 382 (temel pik, %100, (M)<sup>+</sup>)'de pik görülür.

Analiz	: C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 382,38 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 59,68	5,54	7,33
Bulunan	: 59,60	5,75	7,46

**2-((4-(4-Triflorometilbenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-metil-4H-piran-4-on (Bileşik 28)**



0,2 g (0,0016 mol) Allomaltol, 0,39 g (0,0016 mol) 1-(4-triflorometilbenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 171-2°C, Verim: 0,43 g (%71), clog P: 3,013.

IR spektrumunda 2820 (C-H, gerilim, alifatik), 1621 (C=O, gerilim), 1453 (C=C, gerilim), 1321 (C-N, gerilim) ve 1198, 1116 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

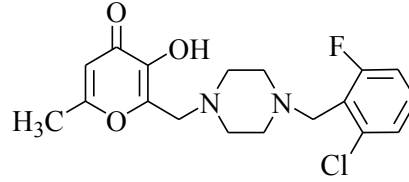
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 2,26 (3H; s; -CH<sub>3</sub>); 2,49 (4H; brs; piperazin); 2,62 (4H; brs; piperazin); 3,53 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,63 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,18 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,41 (2H; d; Ar-H<sup>2',6'</sup>) ve 7,53 (2H; d; Ar-H<sup>3',5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz) 20,12; 52,82; 55,18; 62,22; 111,31; 120,14; 122,84; 125,14; 128,25; 129,18; 142,25; 145,28; 165,22 ve 173,97 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 382 (temel pik, %100, (M)<sup>+</sup>)'da pik görülür.

Analiz	: C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 382,38 g/mol)		
		% C	% H
Hesaplanan	:	59,68	5,54
Bulunan	:	59,30	5,58
			% N
			7,33
			7,41

**2-((4-(2-Floro-6-klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-metil-4H-piran-4-on (Bileşik 29)**



0,16 g (0,0013 mol) Allomaltol, 0,39 g (0,0013 mol) 1-(2-floro-6-klorobenzil)-piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 153-5°C, Verim: 0,092 g (%20), clog P: 2,986.

IR spektrumunda 3222 (O-H, gerilim), 2938, 2811 (C-H, gerilim, alifatik), 1612 (C=O, gerilim), 1588 (C-C (halka içi), gerilim), 1449 (C=C, gerilim), 1317 (C-N, gerilim) ve 1212 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

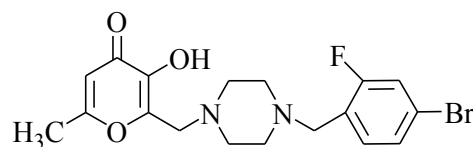
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,24 (3H; s; -CH<sub>3</sub>); 2,43 (4H; brs; piperazin); 2,50 (4H; m; piperazin); 3,47 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,58 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,20 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,20 (1H; m; Ar-H<sup>3'</sup>) ve 7,31-7,40 (2H; m; Ar-H<sup>4',5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 19,29; 51,77; 52,24; 53,39; 111,06; 114,11; 114,33; 123,22; 123,40; 125,41; 125,44; 129,90; 130,00; 135,50; 135,56; 143,18; 146,43; 160,15; 162,61; 164,56 ve 173,40 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 367 (temel pik, %100, (M)<sup>+</sup>) ve 469 (M+2)<sup>+</sup> da pikler görülür.

Analiz	: C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> ClFN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 366,81 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 58,94	5,50	7,64
Bulunan	: 58,61	5,73	7,70

**2-((4-(2-Floro-4-bromobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-metil-4H-piran-4-on (Bileşik 30)**



0,06 g (0,0049 mol) Allomaltol, 0,13 g (0,0049 mol) 1-(2-floro-4-bromobenzil)piperazin ve formaldehitten hareketle genel sentez yöntemi I'e göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 180-1°C, Verim: 0,092 g (%47), clog P: 3,136.

IR spektrumunda 2818 (C-H, gerilim, alifatik), 1626 (C=O, gerilim), 1460 (C=C, gerilim), 1233 (C-N, gerilim) ve 999 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,24 (3H; s; -CH<sub>3</sub>); 2,39 (4H; brs; piperazin); 2,51 (4H; brs; piperazin); 3,32 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,49 (2H; d; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,21 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,33-7,40 (2H; m; Ar-H<sup>5',6'</sup>) ve 7,48 (1H; d; Ar-H<sup>3'</sup>) ppm'de pikler görülür.

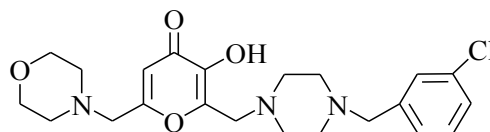
<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 19,29; 52,15; 52,28; 53,44; 53,83; 111,06; 118,27; 118,52; 120,06; 120,16; 124,10; 124,24; 127,22; 127,25; 132,87; 132,92; 143,18; 146,46; 159,30; 161,78; 164,56 ve 173,40 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 411 (temel pik, %100, (M)<sup>+</sup>) ve 413 (M+2)<sup>+</sup>de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> BrFN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 411,27 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 52,57	4,90	6,81
Bulunan	: 51,84	5,05	7,00



**2-((4-(3-Klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(morfolinometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 31)**



0,5 g (0,0013 mol) Bileşik 11 ve 0,226 g (0,0026 mol) morfolinden 0,180 g (0,0013 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 137-8°C, Verim: 0,1517 g (%13), clog P: 2,091.

IR spektrumunda 2951, 2808 (C-H, gerilim, alifatik), 1618 (C=O, gerilim), 1595 (C-C (halka içi), gerilim), 1456 (C=C, gerilim), 1195, 1117 (C-N, gerilim) ve 867 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

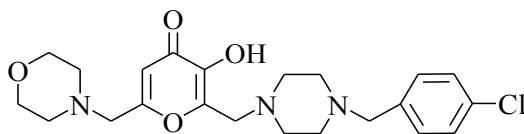
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 2,49-2,52 (8H; t; piperazin-H); 2,62 (4H; brs; morfolin-CH<sub>2</sub>-N); 3,37 (2H; s; morfolin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,47 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,66 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 3,70 (4H; t; morfolin-CH<sub>2</sub>-O); 6,46 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,15-7,25 (3H; m; Ar-H) ve 7,30 (1H; s; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 52,76; 52,86; 53,47; 55,37; 59,78; 62,16; 66,80; 111,68; 127,13; 127,31; 128,97; 129,49; 134,19; 140,11; 143,94; 145,44; 164,49 ve 173,83 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 218 (temel pik, %100), 434 (M)<sup>+</sup> ve 436 (M+2)<sup>+</sup>da pikler görülür.

Analiz	: C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 433,93 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 60,89	6,50	9,68
Bulunan	: 60,33	6,83	9,80

**2-((4-(4-Klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(morfolinometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 32)**



0,5 g (0,0013 mol) Bileşik 12 ve 0,226 g (0,0026 mol) morfolinden 0,180 g (0,0013 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 143-5°C, Verim: 0,068 g (%6), clog P: 2,091.

IR spektrumunda 2811 (C-H, gerilim, alifatik), 1625 (C=O, gerilim), 1595 (C-C (halka içi), gerilim), 1490, 1454 (C=C, gerilim), 1193, 1114 (C-N, gerilim) ve 1004 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

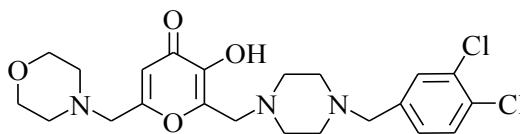
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,43-2,51 (12H; brs; piperazin-*H* ve morfolin-*CH*<sub>2</sub>-N); 3,40 (2H; s; morfolin-*CH*<sub>2</sub>-piran); 3,45 (2H; s; piran-*CH*<sub>2</sub>-piperazin); 3,54 (2H; s; -*CH*<sub>2</sub>-Ar); 3,57 (4H; t; morfolin-*CH*<sub>2</sub>-O); 6,34 (1H; s; piran-*H*<sup>5</sup>) ve 7,26-7,36 (4H; m; Ar-*H*) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 52,21; 52,37; 52,74; 53,31; 58,58; 60,88; 66,10; 111,80; 128,00; 130,41; 131,32; 137,14; 143,60; 146,98; 163,67 ve 173,29 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 211 (temel pik, %100) ve 213 (temel pik+2)'de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> . 1/2 H <sub>2</sub> O (M.A.: 433,93 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 60,06	6,72	9,34
Bulunan	: 60,00	6,36	9,51

**2-((4-(3,4-Diklorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(morfolinometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 33)**



0,5 g (0,0012 mol) Bileşik 13 ve 0,208 g (0,0024 mol) morfolinden 0,165 g (0,0012 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 142-4°C, Verim: 0,070 g (%12), clog P: 2,684.

IR spektrumunda 2956, 2803 (C-H, gerilim, alifatik), 1618 (C=O, gerilim), 1457 (C=C, gerilim), 1116 (C-N, gerilim) ve 1003 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

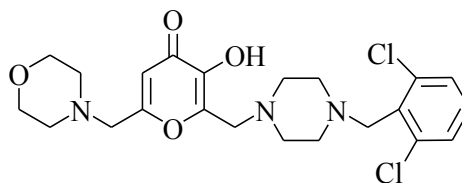
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 2,53 (8H; t;  $J=4,2$ ; piperazin-*H*); 2,64 (4H; brs; morfolin-*CH*<sub>2</sub>-N); 3,39 (2H; s; morfolin-*CH*<sub>2</sub>-piran); 3,45 (2H; s; piran-*CH*<sub>2</sub>-piperazin); 3,68 (2H; s; -*CH*<sub>2</sub>-Ar); 3,72 (4H; t;  $J=4,6$ ; morfolin-*CH*<sub>2</sub>-O); 6,48 (1H; s; piran-*H*<sup>5</sup>); 7,14 (1H; dd;  $J=8,4$ ;  $J=2$ ; Ar-*H*<sup>6'</sup>); 7,36 (1H; d;  $J=8,0$  Ar-*H*<sup>5'</sup>) ve 7,42 (1H; d;  $J=2$ ; Ar-*H*<sup>2'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 52,76; 52,83; 53,47; 55,24; 59,74; 61,51; 66,80; 111,64; 128,24; 130,18; 130,70; 130,99; 132,33; 138,46; 143,94; 145,51; 164,56 ve 173,84 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) *m/z* 234 (temel pik, %100), 235 (temel pik+H), 468 (M)<sup>+</sup> ve 470 (M+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 468,37 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 56,42	5,81	8,97
Bulunan	: 55,79	5,93	9,27

**2-((4-(2,6-Diklorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(morfolinometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 34)**



0,5 g (0,0012 mol) Bileşik 14 ve 0,208 g (0,0024 mol) morfolinden 0,165 g (0,0012 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 158-9°C, Verim: 0,080 g (%14), clog P: 2,684.

IR spektrumunda 2937, 2813 (C-H, gerilim, alifatik), 1621 (C=O, gerilim), 1454, 1435 (C=C, gerilim), 1194, 1114 (C-N, gerilim) ve 1003 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

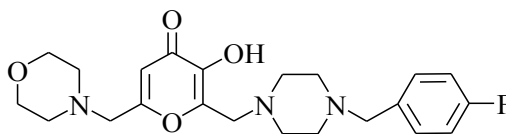
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 2,51 (4H; t; morfolin-CH<sub>2</sub>-N); 2,60-2,63 (8H; brs; piperazin-H); 3,36 (2H; s; morfolin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,64 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,70 (4H; t; *J*=4,4; morfolin-CH<sub>2</sub>-O); 3,75 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,45 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,12 (1H; t; Ar-H<sup>4'</sup>) ve 7,27 (2H; t; Ar-H<sup>3',5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 52,66; 53,00; 53,48; 55,61; 56,20; 66,79; 111,81; 128,35; 128,87; 134,08; 136,94; 143,95; 145,34; 164,33 ve 173,80 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 235 (temel pik, %100) ve 468 (M)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	:	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> . CH <sub>3</sub> OH(M.A.: 468,37 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	55,20	6,24	8,40
Bulunan	:	55,61	5,71	9,19

**2-((4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(morfolinometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 35)**



0,5 g (0,0014 mol) Bileşik 15 ve 0,238 g (0,0028 mol) morfolinden 0,187 g (0,0014 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 156-7°C, Verim: 0,280 g (%45), clog P: 1,521.

IR spektrumunda 3018 (O-H, gerilim), 2950, 2793 (C-H, gerilim, alifatik), 1618 (C=O, gerilim), 1457 (C=C, gerilim), 1327 (C-N, gerilim) ve 1117 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

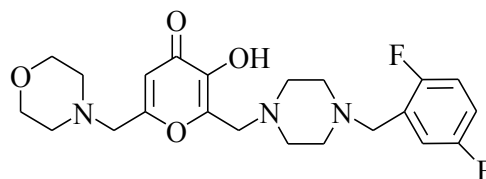
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 2,50 (8H; t; piperazin-H); 2,61 (4H; brs; morfolin-CH<sub>2</sub>-N); 3,36 (2H; s; morfolin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,45 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,65 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 3,69 (4H; t; morfolin-CH<sub>2</sub>-O); 6,45 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 6,97 (2H; t; Ar-H<sup>3',5'</sup>) ve 7,24 (2H; t; Ar-H<sup>2',6'</sup>) ppm'de pikler görülür,

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 52,67; 52,87; 53,46; 55,35; 59,73; 61,99; 66,79; 111,70; 114,91; 115,12; 130,56; 133,53; 143,97; 145,53; 160,79; 163,22; 164,45 ve 173,85 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 418 (temel pik, %100, (M+H)<sup>+</sup>)'de pik görülür.

Analiz	:	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 417,47 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	63,29	6,76	10,07
Bulunan	:	63,15	6,56	10,16

**2-((4-(2,5-Diflorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(morfolinometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 36)**



0,5 g (0,0013 mol) Bileşik 16 ve 0,226 g (0,0026 mol) morfolinden 0,180 g (0,0013 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 107-8°C, Verim: 0,1517 g (%27,7), clog P: 1,664.

IR spektrumunda 3341 (O-H, gerilim), 2816 (C-H, gerilim, alifatik), 1632 (C=O, gerilim), 1596 (C-C (halka içi), gerilim), 1496, 1448 (C=C, gerilim), 1112 (C-N, gerilim) ve 998 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

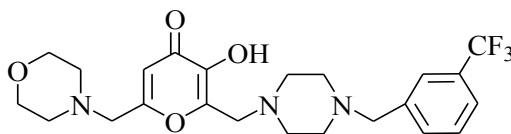
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 2,50-2,53 (8H; brs; piperazin-H); 2,62 (4H; s; morfolin-CH<sub>2</sub>-N); 3,37 (2H; s; morfolin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,54 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,65 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 3,70 (4H; t; morfolin-CH<sub>2</sub>-O); 6,44 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 6,86-7,1 (3H; m; Ar-H) ve 7,26 (1H; brs; -OH) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz) 52,48; 52,87; 53,48; 54,66; 55,07; 59,86; 66,69; 111,80; 144,95; 145,53; 155,96; 157,42; 158,36; 159,80; 164,30 ve 173,84 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 218 (temel pik, % 100), 436 (M+H)<sup>+</sup> ve 458 (M+Na)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> . 2CH <sub>3</sub> OH (M.A.: 435,46 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 57,70	7,06	8,41
Bulunan	: 57,58	6,24	9,29

**2-((4-(3-Triflorometilbenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(morfolinometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 37)**



0,3 g (0,00072 mol) Bileşik 17 ve 0,126 g (0,00144 mol) morfolinden 0,099 g (0,00072 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 142-4°C, Verim: 0,181 g (%50), clog P: 2,261.

IR spektrumunda 3293 (O-H, gerilim), 2952, 2824 (C-H, gerilim, alifatik), 1635 (C=O, gerilim), 1462 (C=C, gerilim), 1328 (C-N, gerilim) ve 1117 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

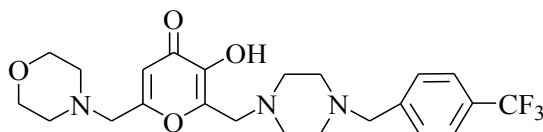
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 2,38-2,44 (8H; brs; piperazin-H); 2,48-2,51 (4H; m; morfolin-CH<sub>2</sub>-N); 3,39 (2H; s; morfolin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,54 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,55 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 3,57 (4H; m; morfolin-CH<sub>2</sub>-O); 6,34 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>) ve 7,52-7,60 (4H; m; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 52,23; 52,39; 52,76; 53,31; 58,60; 61,00; 66,09; 111,83; 120,18; 122,89; 123,56; 123,60; 124,80; 124,84; 124,88; 125,59; 128,30; 128,47; 128,78; 129,09; 129,13; 129,40; 132,69; 139,65; 147,00, 163,66 ve 173,33 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 468 (temel pik, %100, (M<sup>+</sup>)), 469 (M+H)<sup>+</sup> da pikler görülür.

Analiz	:	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 467,48 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	59,09	6,04	8,99
Bulunan	:	58,83	6,08	9,06

**2-((4-(4-Triflorometilbenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(morfolinometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 38)**



0,4 g (0,00096 mol) Bileşik 18 ve 0,167 g (0,00192 mol) morfolinden 0,133 g (0,00096 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 162-3°C, Verim: 0,197 g (%55), clog P: 2,261.

IR spektrumunda 2954, 2812 (C-H, gerilim, alifatik), 1620 (C=O, gerilim), 1458(C=C, gerilim), 1118 (C-N, gerilim) ve 1066 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 2,52 (8H; m; piperazin-H); 2,63 (4H; brs; morfolin-CH<sub>2</sub>-N); 3,38 (2H; s; morfolin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,55 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,66 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 3,71 (4H; t; morfolin-CH<sub>2</sub>-O); 6,47 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,43 (2H; d; J=8; Ar-H<sup>2',6'</sup>) ve 7,56 (2H; d; J=8; Ar-H<sup>3',5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

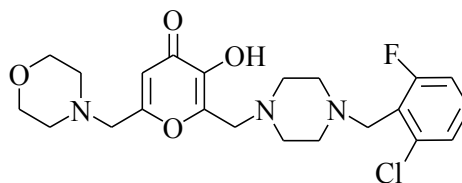
<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 52,86; 53,47; 55,16; 59,78; 62,19; 66,79; 111,44; 117,56; 122,02; 122,83; 125,16; 125,54; 129,12; 129,35; 129,67; 142,23; 143,82; 145,39; 164,67 ve 173,73 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 235 (temel pik, %100) ve 468 (M+H)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 467,48 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 59,09	6,04	8,99
Bulunan	: 58,78	5,68	9,18



**2-((4-(2-Floro-6-klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(morfolinometil)-4H-piran-4-on (Bileşik 39)**



0,3 g (0,00075 mol) Bileşik 19 ve 0,130 g (0,00150 mol) morfolinden 0,133 g (0,00075 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 144-5°C, Verim: 0,097 g (%30), clog P: 2,234.

IR spektrumunda 2820 (C-H, gerilim, alifatik), 1624 (C=O, gerilim), 1597 (C-C (halka içi), gerilim), 1453 (C=C, gerilim), 1198 (C-N, gerilim) ve 1113 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

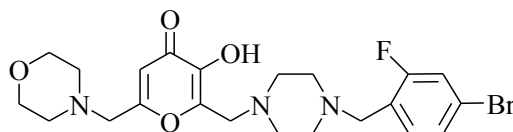
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,40-2,41 (8H; brs; piperazin-*H*); 2,48 (4H; m; morfolin-*CH*<sub>2</sub>-N); 3,37 (2H; s; morfolin-*CH*<sub>2</sub>-piran); 3,49 (2H; s; piran-*CH*<sub>2</sub>-piperazin); 3,53 (4H; t; morfolin-*CH*<sub>2</sub>-O); 3,56 (2H; s; -*CH*<sub>2</sub>-Ar); 6,31 (1H; s; piran-*H*<sup>5</sup>); 7,18 (1H; t; Ar-*H*<sup>3'</sup>) ve 7,28-7,37 (2H; m; Ar-*H*<sup>4',5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 51,77; 52,11; 52,30; 52,71; 53,16; 58,52; 66,05; 111,77; 114,10; 114,33; 123,17; 123,35; 125,41; 125,44; 129,91; 130,00; 135,49; 135,55; 143,59; 146,94; 160,14; 162,60; 163,61 ve 173,28 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 226 ve 452 (temel pik, %100, (M)<sup>+</sup>)'de pikler görülür.

Analiz	:	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> ClFN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (M.A.: 451,92 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	58,47	6,02	9,30
Bulunan	:	58,21	6,17	9,50

**2-((4-(2-Floro-4-bromobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(morfolino-  
metil)-4H-piran-4-on (Bileşik 40)**



0,3 g (0,00067 mol) Bileşik 20 ve 0,118 g (0,00134 mol) morfolinden 0,0932 g (0,00067 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 159-161°C, Verim: 0,183g (%52), clog P: 2,384.

IR spektrumunda 2942, 2815 (C-H, gerilim, alifatik), 1620 (C=O, gerilim), 1580 (C-C (halka içi), gerilim), 1453 (C=C, gerilim), 1195 (C-N, gerilim) ve 1004 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

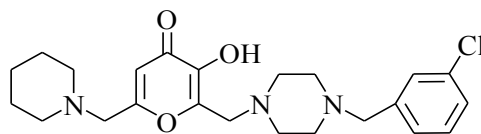
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 2,36 (4H; brs; morfolin-CH<sub>2</sub>-N); 2,41 (4H; t; piperazin); 2,49 (4H; m; piperazin); 3,38 (2H; s; morfolin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,45 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,50 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 3,54 (4H; t; morfolin-CH<sub>2</sub>-O); 6,32 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,28-7,36 (2H; m; Ar-H<sup>5',6'</sup>) ve 7,45 (1H; d; Ar-H<sup>3'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 52,18; 52,72; 53,23; 53,81; 58,54; 66,07; 111,77; 118,27; 118,52; 120,07; 120,17; 124,03; 124,18; 127,21; 132,87; 143,64; 146,94; 159,28; 161,76; 163,64 ve 173,31 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 496 (temel pik, %100, (M)<sup>+</sup>) ve 498 (M+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> BrFN <sub>3</sub> O <sub>4</sub> . 2CH <sub>3</sub> OH (M.A.: 495,11 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 51,43	6,29	7,50
Bulunan	: 51,70	5,33	8,54

**2-((4-(3-Klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(piperidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 41)**



0,3 g (0,00078 mol) Bileşik 11 ve 0,133 g (0,00156 mol) piperidinden 0,108 g (0,00078 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 145-7°C, Verim: 0,196 g (%58), clog P: 3,371.

IR spektrumunda 3018 (O-H, gerilim), 2937, 2786 (C-H, gerilim, alifatik), 1619 (C=O, gerilim), 1596 (C-C (halka içi), gerilim), 1455 (C=C, gerilim) ve 1192 cm<sup>-1</sup>'de (C-N, gerilim) pikler görülür.

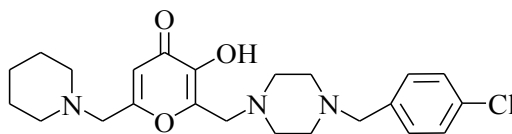
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,43-1,44 (2H; m; piperidin<sup>4</sup>-H); 1,56-1,61 (4H; m; piperidin<sup>3,5</sup>-H); 2,43-2,45 (4H; t; *J*=5,2; piperidin<sup>2,6</sup>-H); 2,65 (8H; brs; piperazin); 3,34 (2H; s; piperidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,49 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,68 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,46 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,18-7,27 (4H; m; Ar-H) ve 7,32 (1H; s; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,91; 25,87; 52,75; 52,81; 54,55; 55,36; 60,25; 62,13; 111,50; 127,15; 127,33; 129,45; 134,20; 140,04; 143,81 ve 145,14 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 217 (temel pik, %100) ve 432 (M)<sup>+</sup>'de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 431,96 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 63,95	7,00	9,73
Bulunan	: 63,56	6,92	9,77

**2-((4-(4-Klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(piperidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 42)**



0,3 g (0,00078 mol) Bileşik 12 ve 0,133 g (0,00156 mol) piperidinden 0,108 g (0,00078 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 165-6°C, Verim: 0,80 g (%80), clog P: 3,371.

IR spektrumunda 2937, 2808 (C-H, gerilim, alifatik), 1623 (C=O, gerilim), 1594 (C-C (halka içi), gerilim), 1456 (C=C, gerilim), 1229, 1200 (C-N, gerilim) ve 1006 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

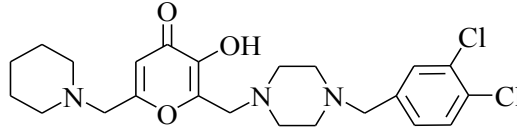
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,41-1,44 (2H; m; piperidin<sup>4</sup>-H); 1,55-1,61 (4H; m; piperidin<sup>3,5</sup>-H); 2,44 (4H; t; *J*=5; piperidin<sup>2,6</sup>-H); 2,48 (4H; m; piperazin); 2,63 (4H; m; piperazin); 3,34 (2H; s; piperidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,47 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,67 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,46 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>) ve 7,22-7,28 (4H; m; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,90; 25,88; 52,74; 52,83; 54,53; 55,23; 60,22; 62,01; 111,52; 127,35; 130,35; 132,78; 136,49; 143,90; 145,43; 165,53 ve 173,98 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 217 (temel pik, %100), 432 (M)<sup>+</sup> ve 434 (M+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 431,96 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 63,95	7,00	9,73
Bulunan	: 63,52	7,39	10,01

**2-((4-(3,4-Diklorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(piperidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 43)**



0,3 g (0,00072 mol) Bileşik 13 ve 0,122 g (0,00122 mol) piperidinden 0,099 g (0,00078 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 151-2°C, Verim: 0,181 g (%32), clog P: 3,964.

IR spektrumunda 2936, 2808 (C-H, gerilim, alifatik), 1620 (C=O, gerilim), 1595 (C-C (halka içi), gerilim), 1456 (C=C, gerilim), 1195 (C-N, gerilim) ve 1006 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

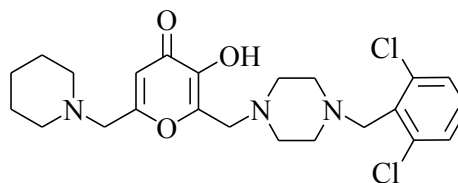
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,41-1,43 (2H; m; piperidin<sup>4</sup>-H); 1,54-1,60 (4H; m; piperidin<sup>3,5</sup>-H); 2,42 (4H; t; *J*=5; piperidin<sup>2,6</sup>-H); 2,47 (4H; brs; piperazin); 2,62 (4H; brs; piperazin); 3,33 (2H; s; piperidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,43 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,67 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,44 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,12 (1H; dd; *J*=8,4; *J*=2; Ar-H<sup>6'</sup>); 7,35 (1H; d; *J*=8; Ar-H<sup>5'</sup>) ve 7,40 (1H; d; *J*=14; Ar-H<sup>2'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,89; 25,85; 52,77; 54,55; 55,14; 60,26; 61,51; 111,52; 128,24; 130,16; 130,70; 138,54; 143,86; 145,36; 165,54 ve 173,95 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 233 (temel pik, %100), 466 (M)<sup>+</sup> ve 468 (M+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A. : 466,40 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 59,23	6,27	9,01
Bulunan	: 58,74	6,75	9,21

**2-((4-(2,6-Diklorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(piperidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 44)**



0,3 g (0,00072 mol) Bileşik 14 ve 0,122 g (0,00143 mol) piperidinden 0,099 g (0,00078 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 160-1°C, Verim: 0,186 g (%33), clog P: 3,964.

IR spektrumunda 3064 (O-H, gerilim), 2934, 2810 (C-H, gerilim, alifatik), 1620 (C=O, gerilim), 1596 (C-C (halka içi), gerilim), 1454, 1435 (C=C, gerilim), 1196 (C-N, gerilim) ve 1006 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

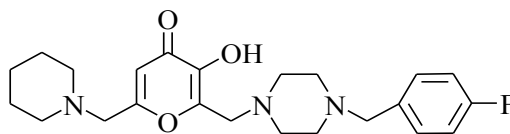
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,40-1,44 (2H; m; piperidin<sup>4</sup>-H); 1,54-1,60 (4H; m; piperidin<sup>3,5</sup>-H); 2,42 (4H; t; J=5,2; piperidin<sup>2,6</sup>-H); 2,59-2,63 (8H; m; piperazin); 3,32 (2H; s; piperidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,63 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,75 (2H; s; -CH<sub>2</sub>- Ar); 6,43 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,12 (1H; t; Ar-H<sup>4'</sup>) ve 7,27 (2H; t; Ar-H<sup>3',5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,91; 25,87; 52,66; 52,83; 54,53; 55,57; 56,20; 60,24; 111,65; 128,33; 128,83; 134,14; 136,95; 143,85; 142,21; 165,38 ve 173,91 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 234 (temel pik, %100), 466 (M)<sup>+</sup> ve 468 (M+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 466,40 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 59,23	6,27	9,01
Bulunan	: 58,72	6,41	9,17

**2-((4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(piperidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 45)**



0,3 g (0,00082 mol) Bileşik 15 ve 0,139 g (0,00164 mol) piperidinden 0,13 g (0,00082 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 159-60°C, Verim: 0,20 g (%60), clog P: 2,801.

IR spektrumunda 2938, 2808 (C-H, gerilim, alifatik), 1623 (C=O, gerilim), 1595 (C-C (halka içi), gerilim), 1496 (C=C, gerilim), 1219 (C-N, gerilim) ve 1006 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

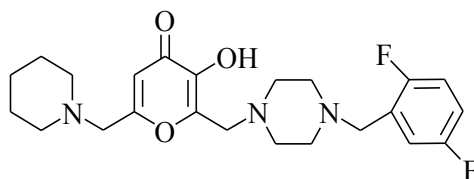
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,40-1,43 (2H; m; piperidin<sup>4</sup>-H); 1,54-1,60 (4H; m; piperidin<sup>3,5</sup>-H); 2,42 (4H; t;  $J=5,2$ ; piperidin<sup>2,6</sup>-H); 2,62 (8H; brs; piperazin); 3,24 (2H; s; piperidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,47 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,65 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,44 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 6,45-6,49 (2H; m; Ar-H<sup>3',5'</sup>) ve 7,23-7,27 (2H; m; Ar-H<sup>2',6'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,89; 25,83; 52,65; 52,82; 54,55; 55,27; 60,27; 61,94; 111,57; 114,92; 115,13; 130,61; 143,86; 145,29; 160,81; 163,24; 165,46 ve 173,93 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 233 (temel pik, %100), 466 (M)<sup>+</sup> ve 468 (M+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 401,47 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 65,82	7,03	10,47
Bulunan	: 66,06	7,04	10,26

**2-((4-(2,5-Diflorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(piperidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 46)**



0,3 g (0,00078 mol) Bileşik 16 ve 0,133 g (0,00156 mol) piperidinden 0,108 g (0,00078 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 102-4°C, Verim: 0,180 g (%54), clog P: 2,944.

IR spektrumunda 3344 (O-H, gerilim), 2941, 2816 (C-H, gerilim, alifatik), 1632 (C=O, gerilim), 1595 (C-C (halka içi), gerilim), 1496, 1447 (C=C, gerilim), 1181 (C-N, gerilim) ve 996 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,43-1,44 (2H; m; piperidin<sup>4</sup>-H); 1,55-1,61 (4H; m; piperidin<sup>3,5</sup>-H); 2,44 (4H; t; *J*=5,2; piperidin-CH<sub>2</sub>-N); 2,55-2,65 (8H; brs; piperazin); 3,35 (2H; s; piperidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,56 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,67 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,46 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 6,88-7,12 (3H; m; Ar-H) ve 7,27 (1H; brs; -OH) ppm'de pikler görülür.

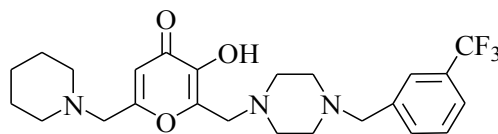
<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,89; 25,87; 52,56; 52,80; 54,53; 54,67; 55,20; 60,23; 111,45; 143,82; 145,28; 155,96; 157,42; 158,37; 159,82; 165,61 ve 173,92 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) *m/z* 218 (temel pik, % 100), 435 (M+H)<sup>+</sup> ve 457 (M+Na)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	:	C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> . 1/2CH <sub>3</sub> OH (M.A.: 433,49 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	62,79	6,95	9,35
Bulunan	:	62,79	7,01	9,62



**2-((4-(3-Triflorometilbenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(piperidin-1-il-metil)-4H-piran-4-on (Bileşik 47)**



0,3 g (0,00072 mol) Bileşik 17 ve 0,123 g (0,00144 mol) piperidinden 0,099 g (0,00072 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 156-7°C, Verim: 0,147 g (%45), clog P: 3,541.

IR spektrumunda 2949, 2808 (C-H, gerilim, alifatik), 1618 (C=O, gerilim), 1596 (C-C (halka içi), gerilim), 1456 (C=C, gerilim), 1195 (C-N, gerilim) ve 1117 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

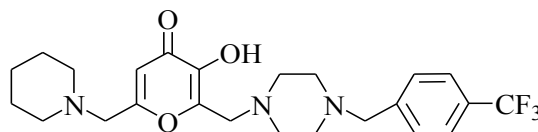
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,41-1,46 (2H; m; piperidin<sup>4</sup>-H); 1,56-1,61 (4H; m; piperidin<sup>3,5</sup>-H); 2,45 (4H; t; *J*=5; piperidin<sup>2,6</sup>-H); 2,52 (4H; brs; piperazin); 2,65 (4H; brs; piperazin); 3,34 (2H; s; piperidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,56 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,67 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,45 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,41 (1H; t; Ar-H<sup>5'</sup>); 7,50 (2H; d; Ar-H<sup>4',6'</sup>) ve 7,57 (1H; s; Ar-H<sup>2'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,88; 25,86; 52,76; 54,52; 55,04; 60,22; 62,16; 111,30; 122,81; 123,97; 125,57; 130,56; 130,88; 132,26; 139,03; 143,77; 145,22; 165,67 ve 173,84 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 234 (temel pik, % 100) ve 466 (M+H)<sup>+</sup>'da pikler görülür.

Analiz	: C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 465,51 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 61,92	6,50	9,03
Bulunan	: 61,80	6,80	9,19

**2-((4-(4-Triflorometilbenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(piperidin-1-il-metil)-4H-piran-4-on (Bileşik 48)**



0,4 g (0,00096 mol) Bileşik 18 ve 0,163 g (0,00192 mol) piperidinden 0,132 g (0,00096 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 160-1°C, Verim: 0,188 g (%58), clog P: 3,541.

IR spektrumunda 2939, 2809 (C-H, gerilim, alifatik), 1621 (C=O, gerilim), 1596 (C-C (halka içi), gerilim), 1457 (C=C, gerilim), 1320 (C-N, gerilim) ve 1119  $\text{cm}^{-1}$ 'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

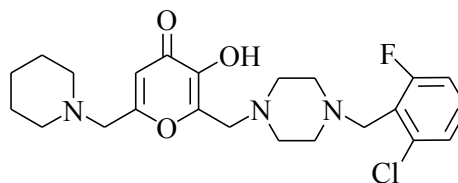
$^1\text{H-NMR}$  spektrumunda  $\delta$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) 1,41-1,46 (2H; m; piperidin<sup>4</sup>-H); 1,55-1,61 (4H; m; piperidin<sup>3,5</sup>-H); 2,44 (4H; t;  $J=5,4$ ; piperidin<sup>2,6</sup>-H); 2,50 (4H; brs; piperazin); 2,63 (4H; brs; piperazin); 3,34 (2H; s; piperidin- $\text{CH}_2$ -piran); 3,55 (2H; s; piran- $\text{CH}_2$ -piperazin); 3,66 (2H; s;  $-\text{CH}_2$ -Ar); 6,45 (1H; s; piran- $\text{H}^5$ ); 7,43 (2H; d;  $J=7,6$ ; Ar- $\text{H}^{2',6'}$ ) ve 7,55 (2H; d;  $J=8$ ; Ar- $\text{H}^{3',5'}$ ) ppm'de pikler görülür.

$^{13}\text{C-NMR}$  spektrumunda  $\delta$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) 23,89; 25,86; 52,83; 54,56; 55,28; 60,27; 62,19; 111,49; 122,84; 125,19; 125,56; 129,17; 129,57; 142,22; 143,81; 145,18; 165,57 ve 173,90 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 234 (temel pik, %100) ve 466 (M+H)<sup>+</sup>'da pikler görülür.

Analiz	: $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3$ (M.A.: 465,51 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 61,92	6,50	9,03
Bulunan	: 61,80	6,67	9,21

**2-((4-(2-Floro-6-klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(piperidin-1-il-metil)-4H-piran-4-on (Bileşik 49)**



0,3 g (0,00075 mol) Bileşik 19 ve 0,127 g (0,00150 mol) piperidinden 0,103 g (0,00075 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 140-2°C, Verim: 0,153 g (%58), clog P: 3,514.

IR spektrumunda 3233 (O-H, gerilim), 2935, 2811 (C-H, gerilim, alifatik), 1620 (C=O, gerilim), 1578 (C-C (halka içi), gerilim), 1453 (C=C, gerilim), 1197 (C-N, gerilim) ve 1007 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

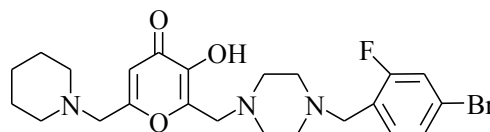
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 1,34 (2H; d; piperidin<sup>4</sup>-H); 1,46 (4H; t; piperidin<sup>3,5</sup>-H); 2,37 (4H; t; piperidin<sup>2,6</sup>-H); 2,43 (4H; brs; piperazin); 2,51 (4H; brs; piperazin); 3,35 (2H; s; piperidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,52 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,59 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,30 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,20 (1H; t; Ar-H<sup>3'</sup>) ve 7,32-7,40 (2H; m; Ar-H<sup>4',5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 23,55; 25,47; 51,76; 52,10; 52,28; 53,12; 53,46; 59,00; 111,54; 114,08; 114,32; 123,13; 123,32; 125,42; 129,95; 135,54; 143,56; 146,83; 160,14; 162,61; 164,35 ve 173,37 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 226 (temel pik, % 100) ve 450 (M)<sup>+</sup>'de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> ClFN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 449,95 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 61,40	6,50	9,34
Bulunan	: 61,44	6,83	9,46

**2-((4-(2-Floro-4-bromobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(piperidin-1-il-metil)-4H-piran-4-on (Bileşik 50)**



0,3 g (0,00075 mol) Bileşik 20 ve 0,115 g (0,00150 mol) piperidinden 0,093 g (0,00075 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 163-4°C, Verim: 0,134 g (%55), clog P: 3,664.

IR spektrumunda 2936 (C-H, gerilim, alifatik), 1625 (C=O, gerilim), 1484, 1460 (C=C, gerilim), 1233 (C-N, gerilim) ve 1040 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

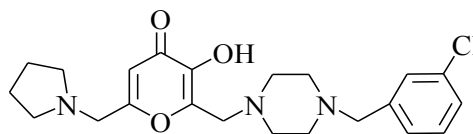
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 1,33-1,34 (2H; m; piperidin<sup>4</sup>-H); 1,42-1,48 (4H; m; piperidin<sup>3,5</sup>-H); 2,36 (4H; t; *J*=5; piperidin<sup>2,6</sup>-H); 2,43 (4H; brs; piperazin); 2,48 (4H; m; piperazin); 3,33 (2H; s; piperidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,46 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,50 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,28 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,29-7,37 (2H; m; Ar-H<sup>5',6'</sup>) ve 7,46 (1H; d; Ar-H<sup>3'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 23,56; 25,48; 52,14; 53,19; 53,47; 53,80; 59,01; 111,47; 118,26; 118,52; 120,09; 120,18; 123,94; 124,09; 127,18; 132,93; 143,56; 146,84; 159,30; 161,77; 164,42 ve 173,31 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) *m/z* 494 (temel pik, %100, (M)<sup>+</sup>) ve 496 (M+2)<sup>+</sup> da pikler görülür.

Analiz	: C <sub>23</sub> H <sub>29</sub> BrFN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 494,40 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 55,88	5,91	8,50
Bulunan	: 55,91	6,11	8,54

**2-((4-(3-Klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(pirolidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 51)**



0,3 g (0,00078 mol) Bileşik 11 ve 0,111 g (0,00156 mol) pirolidinden 0,108 g (0,00078 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 134-5°C, Verim: 0,144 g (%44), clog P: 2,812.

IR spektrumunda 3332 (O-H, gerilim), 2943, 2809 (C-H, gerilim, alifatik), 1626 (C=O, gerilim), 1595 (C-C (halka içi), gerilim), 1497, 1454 (C=C, gerilim), 1189 (C-N, gerilim) ve 1006 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

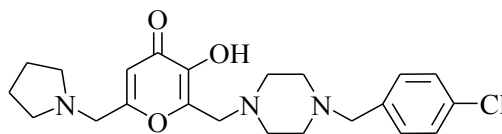
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,79 (4H; brs; pirolidin<sup>3,4</sup>-H); 2,49 (4H; brs; pirolidin<sup>2,5</sup>-H); 2,58 (4H; brs; piperazin); 2,63 (4H; brs; piperazin); 3,47 (2H; s; pirolidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,49 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,66 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,42 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,16-7,26 (4H; m; Ar-H) ve 7,31 (1H; s; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda δ (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,61; 52,76; 52,85; 54,14; 55,47; 57,07; 62,15; 111,44; 127,14; 127,30; 134,22; 140,12; 143,88; 145,19; 165,62 ve 173,98 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 210 (temel pik, %100) ve 419 (M+H)<sup>+</sup>'da pikler görülür.

Analiz	: C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 417,93 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 63,22	6,75	10,05
Bulunan	: 62,46	6,80	10,08

**2-((4-(4-Klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(pirolidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 52)**



0,3 g (0,00078 mol) Bileşik 12 ve 0,111 g (0,00156 mol) pirolidinden 0,108 g (0,00078 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 168-9°C, Verim: 0,220 g (%68), clog P: 2,812.

IR spektrumunda 2949, 2809 (C-H, gerilim, alifatik), 1620 (C=O, gerilim), 1594 (C-C (halka içi), gerilim), 1456 (C=C, gerilim), 1197, 1118 (C-N, gerilim) ve 1004 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

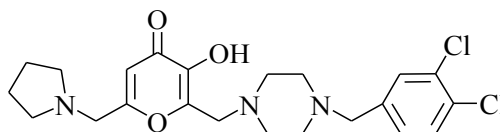
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,79-1,82 (4H; m; pirolidin<sup>3,4</sup>-H); 2,49 (4H; brs; pirolidin<sup>2,5</sup>-H); 2,57-2,63 (8H; brs; piperazin); 3,47 (2H; s; pirolidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,50 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,67 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,43 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,22-7,29 (4H; m; Ar-H) ve 7,31 (1H; s; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 52,73; 52,88; 54,15; 55,50; 57,10; 62,01; 111,44; 128,38; 130,35; 132,82; 136,46; 143,87; 145,15; 165,61 ve 173,98 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 210 (temel pik, % 100) ve 419 (M+H)<sup>+</sup> da pikler görülür.

Analiz	: C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 417,93 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 63,22	6,75	10,05
Bulunan	: 62,80	6,86	10,28

**2-((4-(3,4-Diklorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(pirolidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 53)**



0,3 g (0,00078 mol) Bileşik 13 ve 0,102 g (0,00156 mol) pirolidinden 0,099 g (0,00078 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 143-4°C, Verim: 0,074 g (%20), clog P: 3,405.

IR spektrumunda 2806 (C-H, gerilim, alifatik), 1621 (C=O, gerilim), 1592 (C-C (halka içi), gerilim), 1456 (C=C, gerilim), 1196, 1117 (C-N, gerilim) ve 1006 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

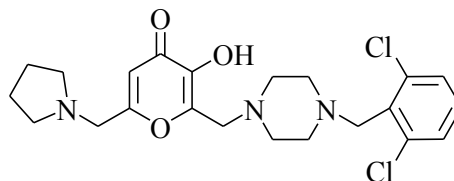
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,79-1,82 (4H; m; pirolidin<sup>3,4</sup>-H); 2,49 (4H; brs; pirolidin<sup>2,5</sup>-H); 2,57-2,63 (8H; m; piperazin); 3,44 (2H; s; pirolidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,49 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,67 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,42 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,13 (1H; dd;  $J=8,4$ ;  $J=1,2$ ; Ar-H<sup>2'</sup>); 7,36 (1H; d;  $J=8,4$ ; Ar-H<sup>5'</sup>) ve 7,41 (1H; d;  $J=1,6$ ; Ar-H<sup>6'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,60; 52,78; 54,15; 55,38; 57,12; 61,50; 111,40; 128,24; 130,19; 130,71; 131,00; 132,35; 138,48; 143,84; 145,11; 165,62 ve 173,95 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 453 (temel pik, %100, (M+H)<sup>+</sup>) ve 455 (M+H+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	:	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 452,37 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	58,41	6,02	9,29
Bulunan	:	57,99	6,04	9,41

**2-((4-(2,6-Diklorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(pirolidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 54)**



0,3 g (0,00078 mol) Bileşik 14 ve 0,111 g (0,00156 mol) pirolidinden 0,108 g (0,00078 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 147-9°C, Verim: 0,220 g (%68), clog P: 3,405.

IR spektrumunda 2952, 2825 (C-H, gerilim, alifatik), 1634 (C=O, gerilim), 1462 (C=C, gerilim), 1199 (C-N, gerilim) ve 1000 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 1,64-1,67 (4H; m; pirolidin<sup>3,4</sup>-H); 2,39-2,50 (12H; brs; pirolidin<sup>2,5</sup>-H ve piperazin); 3,45 (2H; s; pirolidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,49 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,63 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,27 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,28 (1H; t; Ar-H<sup>4'</sup>) ve 7,42 (2H; t; Ar-H<sup>3',5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

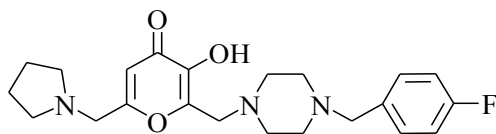
<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 23,20; 52,25; 42,47; 53,14; 53,35; 55,77; 111,08; 128,47; 129,70; 133,57; 136,04; 143,59; 146,75; 164,89 ve 173,44 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 227 (temel pik, % 100), 453 (M+H)<sup>+</sup> ve 455 (M+H+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

Analiz	: C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> . CH <sub>3</sub> OH (M.A.: 452,37 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 57,03	6,45	8,67
Bulunan	: 56,77	6,19	9,29



**2-((4-(4-Florobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(pirolidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 55)**



0,3 g (0,00078 mol) Bileşik 15 ve 0,116 g (0,00156 mol) pirolidinden 0,113 g (0,00078 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 147-9°C, Verim: 0,074 g (%20), clog P: 2,242.

IR spektrumunda 2957, 2875, 2812 (C-H, gerilim, alifatik), 1624 (C=O, gerilim), 1596 (C-C (halka içi), gerilim), 1507, 1447 (C=C, gerilim), 1201 (C-N, gerilim) ve 1007 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

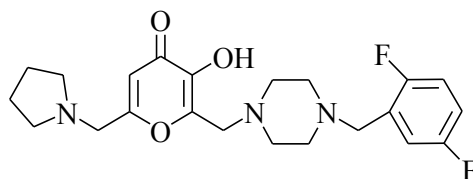
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,77-1,80 (4H; m; pirolidin<sup>3,4</sup>-H); 2,48 (4H; brs; pirolidin<sup>2,5</sup>-H); 2,56-2,63 (8H; m; piperazin); 3,46 (2H; s; pirolidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,49 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,65 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,41 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 6,96 (2H; t; Ar-H<sup>3',5'</sup>) ve 7,23-7,27 (2H; m; Ar-H<sup>2',6'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,59; 52,62; 52,80; 54,13; 55,35; 57,09; 61,92; 111,47; 114,92; 115,14; 130,65; 133,38; 143,93; 145,28; 160,81; 163,25; 165,51 ve 174,02 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 402 (temel pik, %100, (M+H)<sup>+</sup>)'de pik görülür.

Analiz	:	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 401,47 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	65,82	7,03	10,47
Bulunan	:	65,58	7,44	10,54

**2-((4-(2,5-Diflorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(pirolidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on (Bileşik 56)**



0,3 g (0,00078 mol) Bileşik 16 ve 0,111 g (0,00156 mol) pirolidinden 0,108 g (0,00078 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmeye çalışılmıştır. Erime derecesi: 108-10°C, Verim: 0,180 g (%55), clog P: 2,385.

IR spektrumunda 3360 (O-H, gerilim), 2813 (C-H, gerilim, alifatik), 1632 (C=O, gerilim), 1496 (C=C, gerilim), 1190 (C-N, gerilim) ve 1000 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

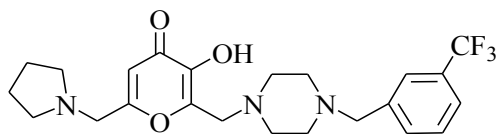
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,66-1,69 (4H; m; pirolidin<sup>3,4</sup>-H); 2,40 (4H; brs; pirolidin<sup>2,5</sup>-H); 2,47-2,51 (8H; brs; piperazin); 3,47 (2H; s; pirolidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,50 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,52 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,31 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>) ve 7,09-7,23 (3H;m; Ar-H) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,22; 52,26; 52,29; 53,22; 53,38; 54,01; 55,84; 111,17; 115,06; 115,15; 115,30; 115,39; 116,41; 116,50; 116,66; 116,75; 116,97; 117,02; 117,21; 117,26; 143,70; 146,82; 15,57; 155,59; 156,84; 156,86; 157,96; 157,98; 159,24; 164,97 ve 173,53 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 420 (temel pik, %100, (M+H)<sup>+</sup>)'de pik görülür.

Analiz	:	C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> . H <sub>2</sub> O (M.A.: 419,46 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	60,40	6,68	9,61
Bulunan	:	60,34	6,72	9,73

**2-((4-(3-Triflorometilbenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(pirolidin-1-il-metil)-4H-piran-4-on (Bileşik 57)**



0,3 g (0,00072 mol) Bileşik 17 ve 0,102 g (0,00144 mol) pirolidinden 0,099 g (0,00072 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 154-5°C, Verim: 0,181 g (%50), clog P: 2,982.

IR spektrumunda 2949, 2795 (C-H, gerilim, alifatik), 1617 (C=O, gerilim), 1596 (C-C (halka içi), gerilim), 1457 (C=C, gerilim), 1156 (C-N, gerilim) ve 1117 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

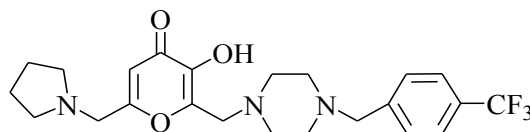
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,78-1,82 (4H; m; pirolidin<sup>3,4</sup>-H); 2,51 (4H; brs; pirolidin<sup>2,5</sup>-H); 2,60 (4H; t; piperazin); 2,64 (4H; t; piperazin); 3,50 (2H; s; pirolidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,55 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,67 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,43 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,41 (1H; t; Ar-H<sup>5'</sup>); 7,50 (2H; d; Ar- H<sup>4',6'</sup>) ve 7,57 (1H; s; Ar-H<sup>2'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,60; 52,80; 54,14; 55,43; 57,09; 62,19; 111,42; 122,82; 123,99; 125,58; 128,23; 128,69; 130,17; 130,49; 130,81; 132,30; 139,06; 143,85; 145,11; 165,60 ve 173,95 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 227 (temel pik, %100) ve 452 (M)<sup>+</sup>'de pikler görülür.

Analiz	:	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 451,48 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	61,19	6,25	9,31
Bulunan	:	60,90	6,58	9,51

**2-((4-(4-Triflorometilbenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(pirolidin-1-il-metil)-4H-piran-4-on (Bileşik 58)**



0,4 g (0,00096 mol) Bileşik 18 ve 0,163 g (0,00192 mol) pirolidinden 0,137 g (0,00096mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 154-6°C, Verim: 0,122 g (%33), clog P: 2,982.

IR spektrumunda 2787 (C-H, gerilim, alifatik), 1626 (C=O, gerilim), 1595 (C-C (halka içi), gerilim), 1458 (C=C, gerilim), 1322 (C-N, gerilim) ve 1066 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

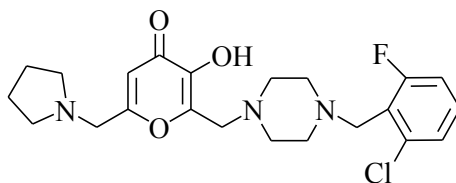
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,78-1,81 (4H; m; pirolidin<sup>3,4</sup>-H); 2,50 (4H; brs; pirolidin<sup>2,5</sup>-H); 2,59 (4H; t; piperazin); 2,62 (4H; t; piperazin); 3,49 (2H; s; pirolidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,54 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,66 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,42 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,42 (2H; d; J=8; Ar-H<sup>2',6'</sup>) ve 7,55 (2H; d; J=8; Ar-H<sup>3',5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 23,60; 52,83; 54,14; 55,38; 57,10; 62,20; 111,41; 122,84; 125,17; 129,17; 129,23; 129,55; 142,25; 143,88; 145,21; 165,64 ve 173,99 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 227 (temel pik, %100) ve 452 (M+H)<sup>+</sup>'de pikler görülür.

Analiz	:	C <sub>23</sub> H <sub>28</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 451,48 g/mol)		
		% C	% H	% N
Hesaplanan	:	61,19	6,25	9,31
Bulunan	:	61,05	6,50	9,52

**2-((4-(2-Floro-6-klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(pirolidin-1-il-metil)-4H-piran-4-on (Bileşik 59)**



0,3 g (0,00075 mol) Bileşik 19 ve 0,106 g (0,00150 mol) pirolidinden 0,137 g (0,00075 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 120-1°C, Verim: 0,120 g (%35), clog P: 2,955.

IR spektrumunda 2942, 2814 (C-H, gerilim, alifatik), 1620 (C=O, gerilim), 1579 (C-C (halka içi), gerilim), 1452 (C=C, gerilim), 1195 (C-N, gerilim) ve 1004 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

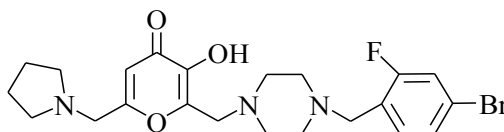
<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 1,66-1,69 (4H; m; pirolidin<sup>3,4</sup>-H); 2,43 (4H; brs; pirolidin<sup>2,5</sup>-H); 2,51 (8H; m piperazin); 3,49 (2H; s; pirolidin-CH<sub>2</sub>-piran); 3,50 (2H; s; piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,58 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,30 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,18-7,23 (1H; m; Ar-H<sup>3'</sup>) ve 7,31-7,40 (2H; m; Ar-H<sup>4',5'</sup>) ppm'de pikler görülür.

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 23,19; 51,83; 52,28; 53,18; 53,32; 55,77; 111,13; 114,18; 114,41; 123,22; 123,41; 125,49; 125,52; 129,98; 130,08; 135,57; 135,63; 143,62; 146,80; 160,21; 162,67; 164,95 ve 173,49 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 219 (temel pik, %100) ve 436 (M)<sup>+</sup> da pikler görülür.

Analiz	: C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> ClFN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 435,92 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 60,62	6,24	9,64
Bulunan	: 60,08	6,48	9,61

**2-((4-(2-Floro-4-bromobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(pirolidin-1-il-metil)-4H-piran-4-on (Bileşik 60)**



0,3 g (0,00075 mol) Bileşik 20 ve 0,096 g (0,00150 mol) pirolidinden 0,0932 g (0,00075 mol) potasyum karbonat varlığında genel sentez yöntemi II'ye göre elde edilmiştir. Erime derecesi: 157-8°C, Verim: 0,154 g (%45), clog P: 3,105.

IR spektrumunda 2940, 2786 (C-H, gerilim, alifatik), 1626 (C=O, gerilim), 1485, 1460 (C=C, gerilim), 1233 (C-N, gerilim) ve 1005 cm<sup>-1</sup>'de (C-O, gerilim) pikler görülür.

<sup>1</sup>H-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz) 1,67 (4H; m; pirolidin<sup>3,4</sup>-H); 2,36 (4H; brs; pirolidin<sup>2,5</sup>-H); 2,44 (4H; brs; piperazin); 2,48 (4H; m piperazin); 3,46 (4H; s; pirolidin-CH<sub>2</sub>-piran ve piran-CH<sub>2</sub>-piperazin); 3,50 (2H; s; -CH<sub>2</sub>-Ar); 6,27 (1H; s; piran-H<sup>5</sup>); 7,30-7,37 (2H; m; Ar-H<sup>5',6'</sup>) ve 7,44 (1H; d; Ar-H<sup>3'</sup>) ppm'de pikler görülür.

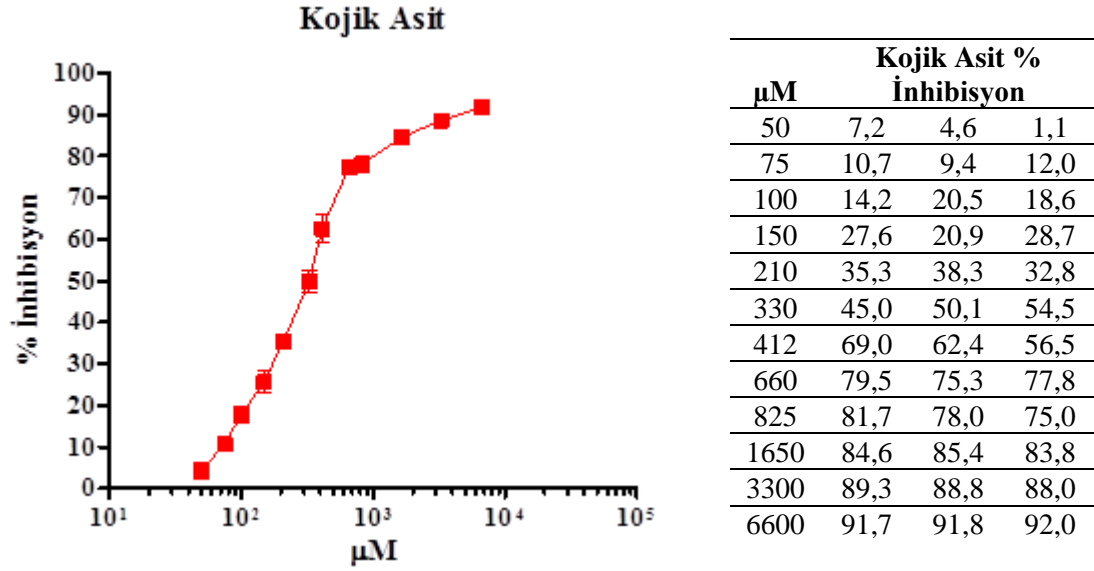
<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz) 23,21; 52,21; 53,14; 53,37; 53,83; 55,76; 111,05; 118,27; 118,52; 120,08; 120,18; 124,06; 124,21; 127,20; 127,24; 132,90; 143,56; 146,76; 159,32; 161,80 ve 173,42 ppm'de pikler gözlenmiştir.

Kütle spektrumunda (ESI-MS) m/z 241 (temel pik, % 100), 480 (M)<sup>+</sup> ve 482 (M+2)<sup>+</sup> de pikler görülür.

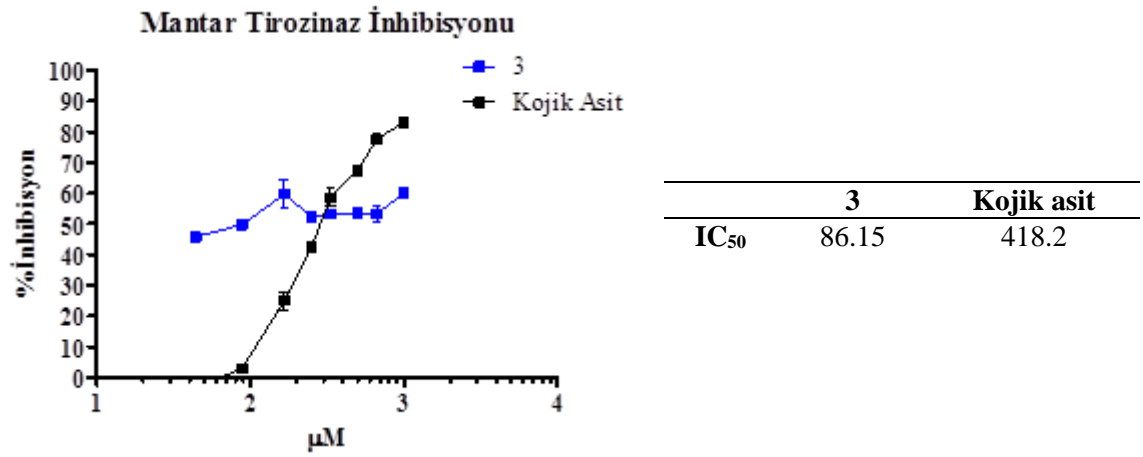
Analiz	: C <sub>22</sub> H <sub>27</sub> BrFN <sub>3</sub> O <sub>3</sub> (M.A.: 480,37 g/mol)		
	% C	% H	% N
Hesaplanan	: 55,01	5,67	8,75
Bulunan	: 54,67	5,92	9,05

## 4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

### 4.2.1. Mantar Tirozinaz İnhibisyonu

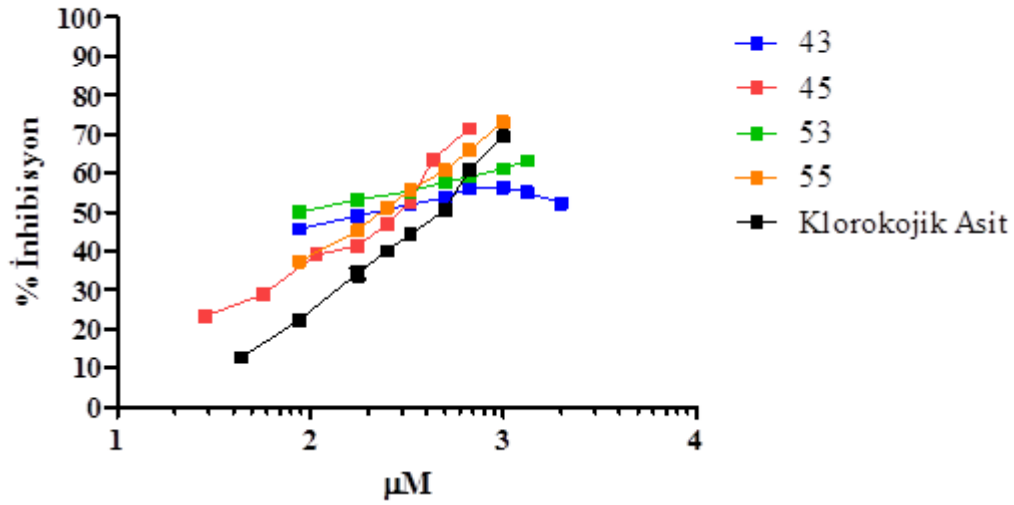


Şekil 4.1. Mantar tirozinazının artan kojik asit dozlarına karşı inhibisyon grafiği



Şekil 4.2. Bileşik 3 ve kojik asitin mantar tirozinazı üzerine inhibitör etkisi

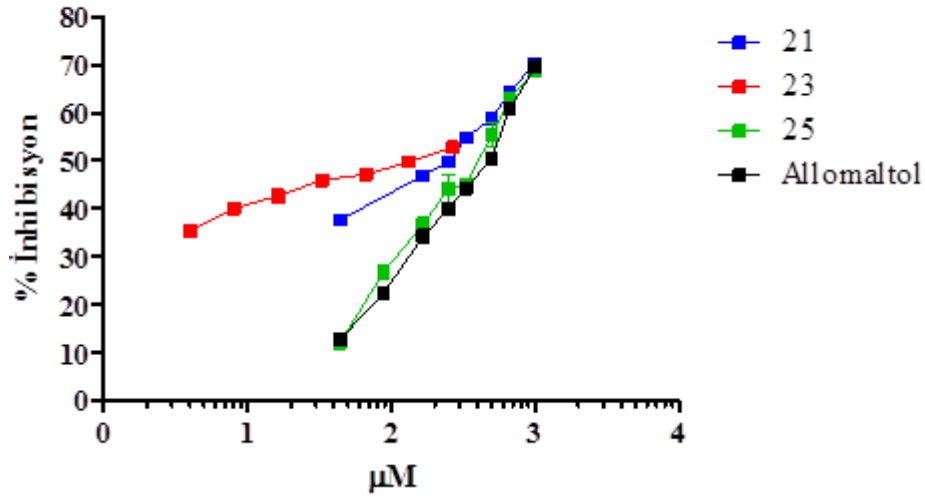
### Mantar Tirozinaz İnhibisyonu



	43	45	53	55	Klorokojik Asit
IC <sub>50</sub>	204.1	232.3	94.05	225.5	413.7

Şekil 4.3. Bileşik 43, 45, 53, 55 ve klorokojik asitin mantar tirozinazı üzerine inhibitör etkisi

### Mantar Tirozinaz İnhibisyonu

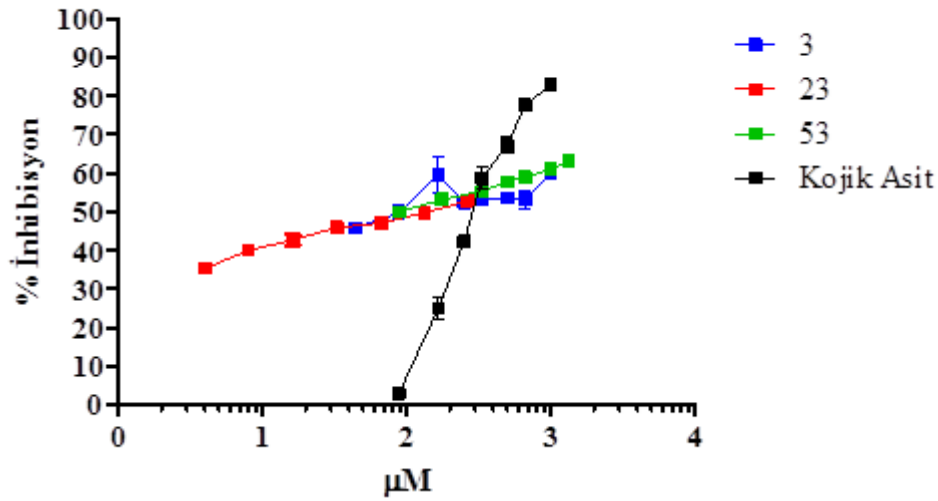


	21	23	25	Allomaltol
IC <sub>50</sub>	198.7	123.7	362.1	411.6

Şekil 4.4. Bileşik 21, 23, 25 ve allomaltolün mantar tirozinazı üzerine inhibitör etkisi



### Mantar Tirozinaz İnhibisyonu



	3	23	53	Kojik asit
IC <sub>50</sub>	86.15	123.7	94.05	418.2

**Şekil 4.5.** Mantar tirozinaz inhibisyonu yüksek olan Bileşik 3, 23, 53'ün kojik asit ile inhibisyon etkisinin kıyaslanması

**Tablo 4.1.** Bazı bileşikler, klorokojik asit ve allomaltolün 492 nm'de ölçülen absorbans, %inhibisyon ve ortalama değerleri

Bileşik 3							
$\mu\text{M}$	Absorbans			%İnhibisyon			Ortalama
1000	0,171	0,169	0,188	61,1	61,6	57,2	60,0
666	0,204	0,188	0,224	53,6	57,2	49,1	53,3
500	0,2	0,203	0,209	54,5	53,8	52,5	53,6
333	0,203	0,202	0,211	53,8	54,1	52,0	53,3
250	0,203	0,212	0,213	53,8	51,8	51,6	52,4
166	0,156	0,198		64,5	55,0		59,7
88	0,205	0,229	0,228	53,4	47,9	48,1	49,8
44	0,238	0,238		45,9	45,9		45,9

**Bileşik 23**

$\mu\text{M}$	Absorbans			%İnhibisyon			Ortalama
1000	0,259	0,249	0,275	43,7	45,9	40,2	43,3
666	0,232	0,233	0,229	49,6	49,3	50,2	49,7
500	0,237	0,226	0,23	48,5	50,9	50,0	49,8
333	0,207	0,231	0,233	55,0	49,8	49,3	51,4
250	0,239	0,221	0,236	48,0	52,0	48,7	49,6
166	0,228	0,23	0,227	50,4	50,0	50,7	50,4
88	0,254	0,24	0,238	44,8	47,8	48,3	47,0
44	0,242	0,243		47,4	47,2		47,3

**Bileşik 53**

$\mu\text{M}$	Absorbans			$\mu\text{M}$	%İnhibisyon			Ortalama
1000	0,24	0,255	0,259	2000	63,2	60,9	60,3	61,5
666	0,241	0,244	0,236	1332	63,1	62,6	63,8	63,2
500	0,255	0,254	0,252	1000	60,9	61,1	61,4	61,1
333	0,268	0,267	0,266	666	58,9	59,1	59,2	59,1
250	0,276	0,275	0,275	500	57,7	57,9	57,9	57,8
166	0,291	0,29	0,293	332	55,4	55,6	55,1	55,4
88	0,306	0,306	0,305	176	53,1	53,1	53,3	53,2
44	0,322	0,326	0,331	88	50,7	50,1	49,3	50,0

**Bileşik 21**

$\mu\text{M}$	Absorbans			%İnhibisyon			Ortalama
1000	0,136	0,126	0,131	69,1	71,3	70,2	70,2
666	0,162	0,155	0,152	63,2	64,7	65,4	64,4
500	0,183	0,182	0,177	58,4	58,6	59,7	58,9
333	0,198	0,198	0,201	55,0	55,0	54,3	54,7
250	0,221	0,22	0,222	49,7	50,0	49,5	49,7
166	0,238	0,238	0,224	45,9	45,9	49,1	46,9
88	0,494	0,494	0,463	-12,4	-12,4	-5,3	-10,0
44	0,274	0,274		37,7	37,7		37,7

**Bileşik 43**

$\mu\text{M}$	Absorbans			$\mu\text{M}$	%İnhibisyon			Ortalama
1000	0,311	0,297	0,326	2000	52,3	54,5	50,1	52,3
666	0,271	0,275	0,274	1332	55,5	54,8	55,0	55,1
500	0,269	0,264	0,264	1000	55,8	56,7	56,7	56,4
333	0,273	0,274	0,253	666	55,2	55,0	58,5	56,2
250	0,278	0,285	0,284	500	54,4	53,2	53,4	53,6
166	0,285	0,298	0,293	332	53,2	51,1	51,9	52,1
88	0,309	0,315	0,307	176	49,3	48,3	49,6	49,0
44	0,334	0,328	0,33	88	45,2	46,1	45,8	45,7

**Bileşik 45**

$\mu\text{M}$	Absorbans			%İnhibisyon			Ortalama
1000	0,186	0,186	0,187	71,5	71,5	71,3	71,5
666	0,236	0,239	0,238	63,8	63,4	63,5	63,6
500	0,317	0,299	0,309	51,4	54,2	52,7	53,4
333	0,352	0,347	0,341	46,1	46,8	47,8	46,9
250	0,396	0,378	0,373	39,3	42,1	42,8	41,4
166	0,398	0,411	0,385	39,0	37,0	41,0	39,0
88	0,463	0,462	0,466	29,1	29,2	28,6	29,0
44	0,504	0,491	0,508	22,8	24,8	22,2	23,2

**Bileşik 55**

$\mu\text{M}$	Absorbans			%İnhibisyon			Ortalama
1000	0,179	0,173	0,175	72,6	73,5	73,2	73,1
666	0,227	0,214	0,22	65,2	65,2	67,2	65,9
500	0,255	0,26	0,255	60,9	60,2	60,9	60,7
333	0,289	0,29	0,289	55,7	55,6	55,7	55,7
250	0,317	0,316	0,32	51,4	51,6	51,0	51,3
166	0,367	0,35	0,356	43,8	46,4	45,5	45,2
88	0,401	0,411	0,414	38,6	37,0	36,6	37,4
44				100,0	100,0	100,0	100,0

**Bileşik 25**

$\mu\text{M}$	Absorbans			%İnhibisyon			Ortalama
1000	0,133	0,141	0,143	70,2	68,4	68,0	68,9
666	0,167	0,16	0,17	62,6	64,2	61,9	62,9
500	0,195	0,182	0,22	56,3	59,3	50,7	55,4
333	0,249	0,239	0,246	44,3	46,5	44,9	45,2
250	0,262	0,223	0,264	41,3	50,1	40,9	44,1
166	0,291	0,271	0,284	34,9	39,3	36,4	36,9
88	0,336	0,314	0,331	24,8	29,7	25,9	26,8
44	0,393	0,392		12,0	12,2		12,1

**Klorokojik asit**

$\mu\text{M}$	Absorbans			%İnhibisyon			Ortalama
1000	0,071	0,07	0,07	83,9	84,1	84,1	84,0
666	0,075	0,083	0,083	82,9	81,1	81,1	81,7
500	0,107	0,106	0,11	75,7	75,9	75,0	75,5
333	0,117	0,133	0,137	73,4	69,7	68,8	70,7
250	0,173	0,179	0,179	60,7	59,3	59,3	59,7
166	0,192	0,222	0,229	56,3	49,5	47,9	51,3
88	0,32	0,357	0,365	27,2	18,8	17,0	21,0
44	0,428	0,413	0,424	2,7	6,1	3,6	4,1

Allomaltol							
$\mu\text{M}$	Absorbans			%İnhibisyon			Ortalama
1000	0,152	0,149	0,149	69,1	69,7	69,7	69,5
666	0,193	0,196	0,189	60,7	60,1	61,6	60,8
500	0,249	0,237	0,243	49,4	51,8	50,6	50,6
333	0,277	0,273	0,272	43,7	44,5	44,7	44,3
250	0,299	0,293	0,293	39,2	40,4	40,4	40,0
166	0,333	0,309	0,328	32,3	37,2	33,3	34,2
88	0,379	0,382	0,384	22,9	22,3	21,9	22,4
44	0,426	0,432	0,429	13,4	12,1	12,7	12,7

**Tablo 4.2.** Sentezlenen bileşiklerin mantar tirozinaz enzim inhibisyonu  $\text{IC}_{50}$  değerleri ( $\mu\text{M}$ ) (çoktan aza doğru sırasıyla).

Bileşik Numarası	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )	Bileşik Numarası	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )	Bileşik Numarası	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ )
<b>3</b>	86,15	<b>38</b>	1503	<b>18</b>	*nd
<b>53</b>	94,05	<b>56</b>	1616	<b>24</b>	*nd
<b>23</b>	123,7	<b>59</b>	1688	<b>28</b>	*nd
<b>21</b>	198,7	<b>32</b>	1759	<b>30</b>	*nd
<b>43</b>	204,1	<b>35</b>	1847	<b>34</b>	*nd
<b>55</b>	225,5	<b>12</b>	1900	<b>37</b>	*nd
<b>45</b>	232,3	<b>36</b>	1900	<b>39</b>	*nd
<b>25</b>	362,1	<b>16</b>	>2000	<b>45</b>	*nd
<b>22</b>	438,8	<b>19</b>	>2000	<b>47</b>	*nd
<b>41</b>	493,8	<b>20</b>	>2000	<b>52</b>	*nd
<b>51</b>	588,2	<b>33</b>	>2000	<b>Allomaltol</b>	<b>411,6</b>
<b>15</b>	618,6	<b>40</b>	>2000	<b>Klorokojik asit</b>	<b>413,7</b>
<b>42</b>	746	<b>46</b>	>2000	<b>Kojik Asit</b>	<b>418,2</b>
<b>26</b>	760,9	<b>44</b>	>2000		
<b>11</b>	990,7	<b>49</b>	>2000		
<b>31</b>	1105	<b>54</b>	>2000		
<b>57</b>	1115	<b>60</b>	>2000		
<b>50</b>	1216	<b>14</b>	*nd		
<b>27</b>	1270	<b>13</b>	*nd		
<b>29</b>	1408	<b>17</b>	*nd		

\*nd: belirlenemedi (not determined).

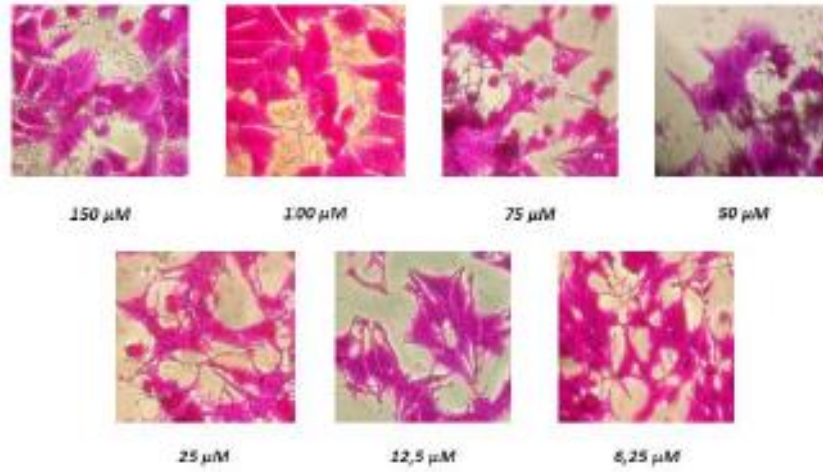
#### 4.2.2. Hücre Kültürü ve Sitotoksosite Çalışmaları

**Tablo 4.3.** Bileşiklerin A375 hücrelerine karşı sitotoksosite IC<sub>50</sub> değerleri (µM)

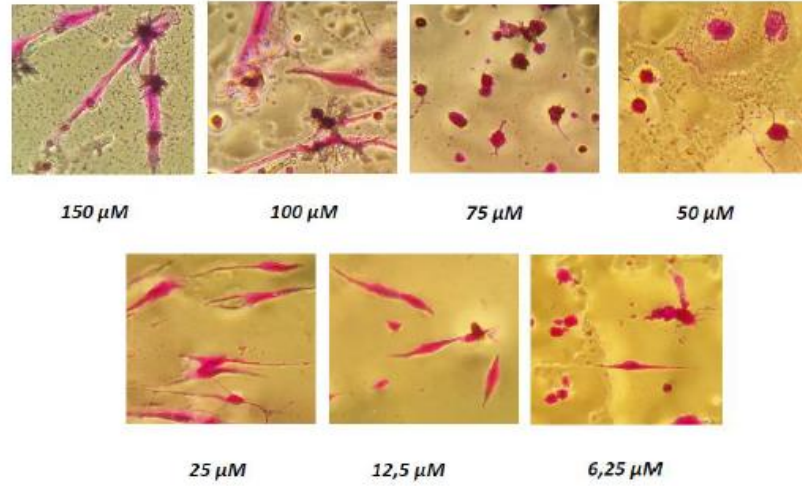
Bileşik Numarası	IC <sub>50</sub> (µM)	Bileşik Numarası	IC <sub>50</sub> (µM)	Bileşik Numarası	IC <sub>50</sub> (µM)
1	73,74	24	88,63	47	87,5
2	78,01	25	93,48	48	49,98
3	43,81	26	93,63	49	103
4	84,5	27	97,23	50	57,72
5	92,01	28	91,41	51	95,9
6	87,56	29	93,66	52	56,05
7	89,87	30	82,51	53	27,75
8	66,35	31	85,36	54	87,45
9	95,59	32	50,3	55	100,9
10	77,33	33	78,64	56	91,42
11	32,77	34	88,04	57	104,3
12	71,27	35	81,97	58	47,27
13	11,26	36	92,53	59	101,2
14	21,41	37	86,86	60	63,27
15	52,46	38	62,04	<b>Klorokojik asit</b>	71,74
16	59,65	39	91,05	<b>Allomaltol</b>	93,14
17	35,07	40	68,58	<b>Kojik Asit</b>	98,77
18	25,12	41	92,37	<b>Vemurafenib</b>	4,58
19	63,48	42	68,15	<b>Dakarbazin</b>	69,57
20	33,84	43	19,4	<b>Temozolomid</b>	95,58
21	98,72	44	84,24	<b>Lenalidomid</b>	143,1
22	90,28	45	89,55	<b>Fotemustin</b>	İnhibisyon yok
23	47,28	46	93,7		

**Tablo 4.4.** Bileşiklerin A375, HGF-1 ve MRC-5 hücre hatlarına karşı sitotoksikite IC<sub>50</sub> değerleri (µM)

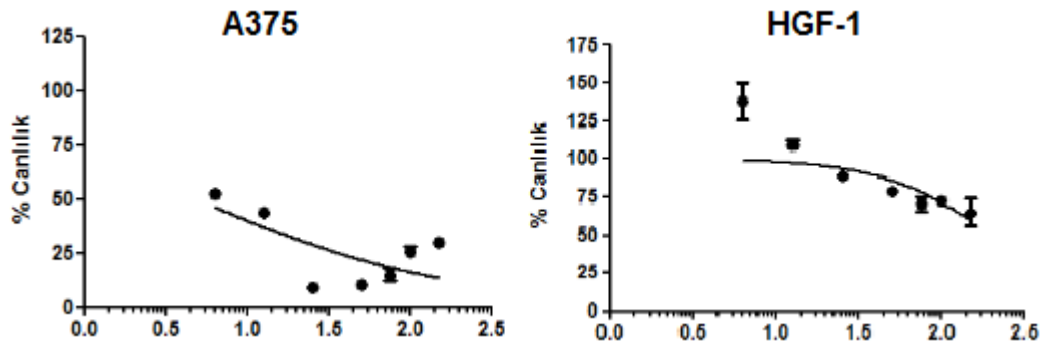
Sıra No	Bileşik No	A375	HGF-1	MRC-5
1	<b>Vemurafenib</b>	4,58	231,9	inhibisyon yok
2	<b>13</b>	11,26	inhibisyon yok	inhibisyon yok
3	<b>43</b>	19,4	487,9	127,2
4	<b>14</b>	21,41	325,3	254,5
5	<b>18</b>	25,12	239,8	259
6	<b>53</b>	27,75	199,5	138,4
7	<b>11</b>	32,77	234,7	185,5
8	<b>20</b>	33,84	1012	99,9
9	<b>17</b>	35,07	507,1	263,5
10	<b>3</b>	43,81	200,1	209,5
11	<b>58</b>	47,27	203,6	189,8
12	<b>23</b>	47,28	410,4	120,4
13	<b>48</b>	49,98	212,2	150,5
14	<b>32</b>	50,26	inhibisyon yok	168,4
15	<b>15</b>	52,46	565,5	229,5
16	<b>52</b>	56,05	734,7	174,1
17	<b>50</b>	57,72	189	152,8
18	<b>16</b>	59,65	157,9	inhibisyon yok
19	<b>38</b>	62,04	328,5	224,5
20	<b>60</b>	63,27	471,1	148,5
21	<b>19</b>	63,48	344,2	96,87
22	<b>8</b>	66,35	190,9	inhibisyon yok
23	<b>42</b>	68,15	180,1	inhibisyon yok
24	<b>40</b>	68,58	182,5	120,4
25	<b>Dakarbazin</b>	69,57	230,6	230,3
26	<b>12</b>	71,27	2301	inhibisyon yok
27	<b>Klorokojik Asit</b>	71,74	1958	inhibisyon yok
28	<b>1</b>	73,74	927,9	inhibisyon yok
29	<b>Allomaltol</b>	93,14	inhibisyon yok	inhibisyon yok
30	<b>Temozolomid</b>	95,58	inhibisyon yok	inhibisyon yok
31	<b>Kojik Asit</b>	98,77	193,9	2123
32	<b>Lenalidomid</b>	143,1	4353	inhibisyon yok
33	<b>Fotemustin</b>	inhibisyon yok	inhibisyon yok	inhibisyon yok



**Şekil 4.6.** Vemurafenibin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.

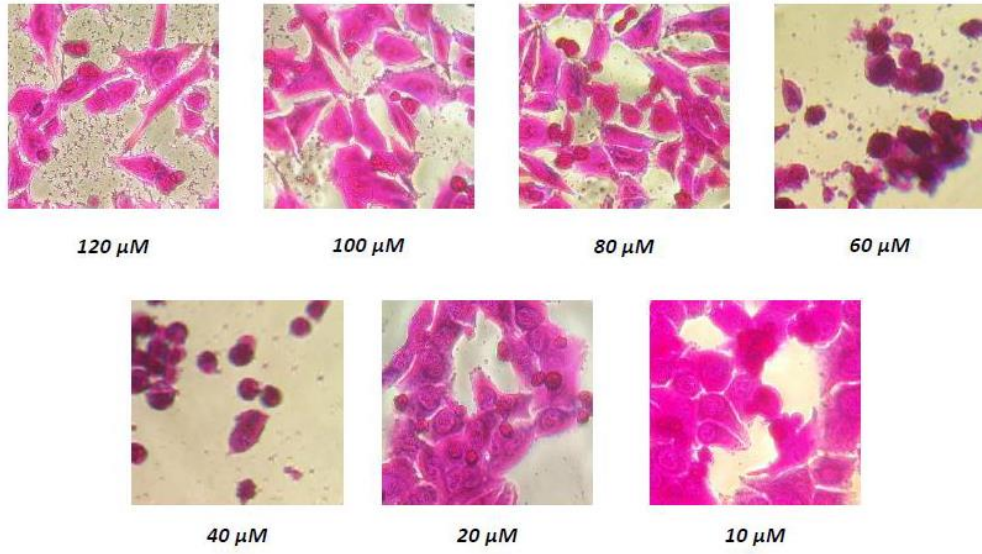


**Şekil 4.7.** Vemurafenibin HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.

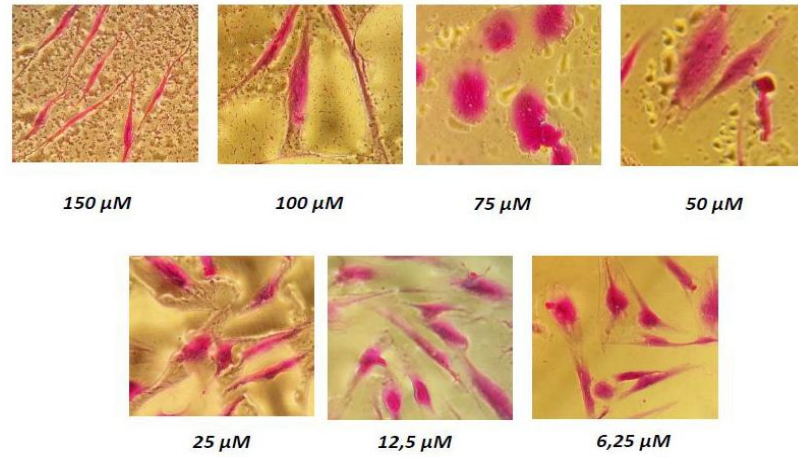


**Şekil 4.8.** Vemurafenibin A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.

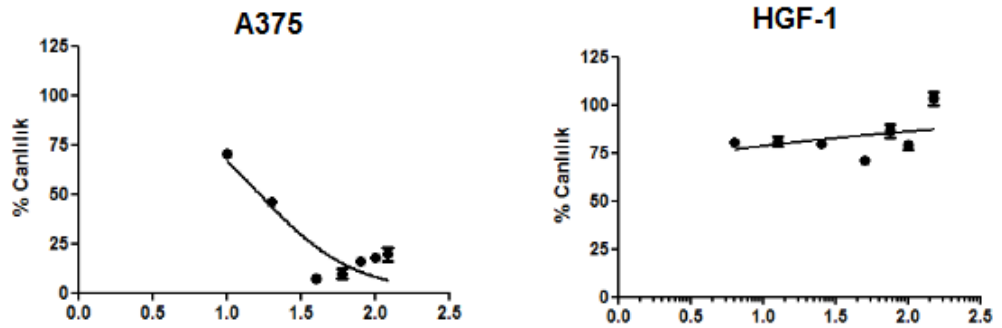




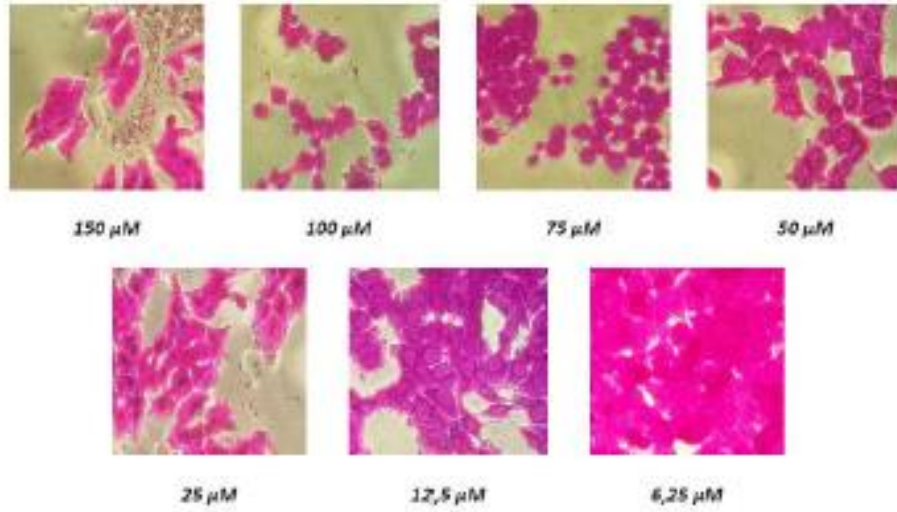
**Şekil 4.9.** Bileşik 13'ün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



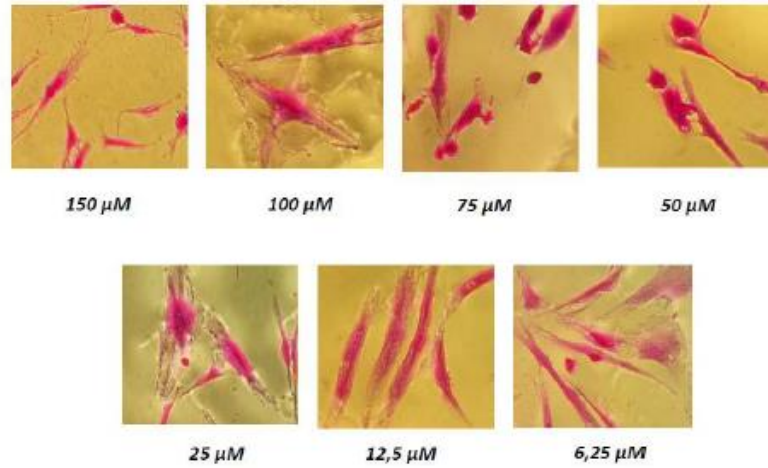
**Şekil 4.10.** Bileşik 13'ün HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



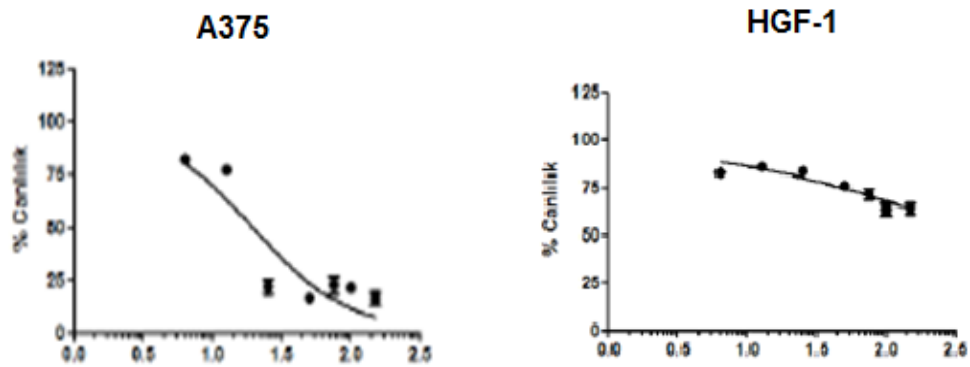
**Şekil 4.11.** Bileşik 13'ün A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.



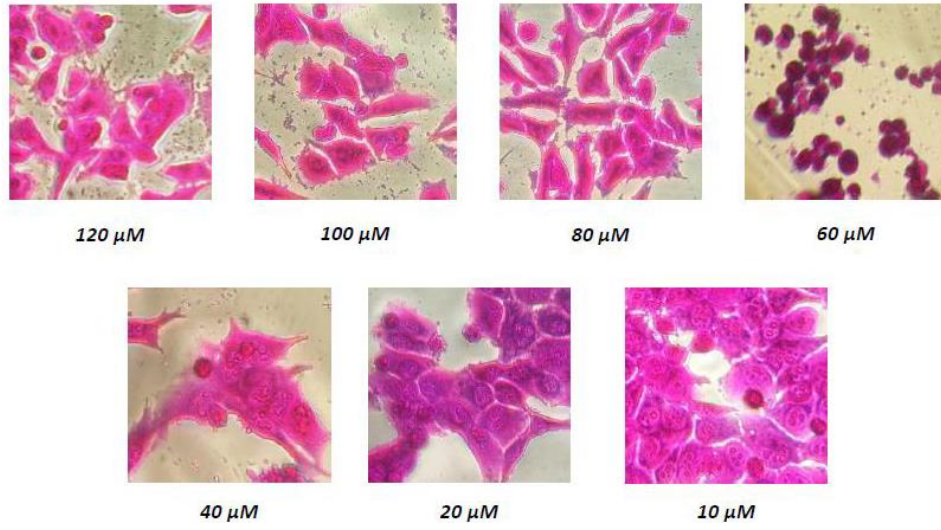
**Şekil 4.12.** Bileşik 43'ün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



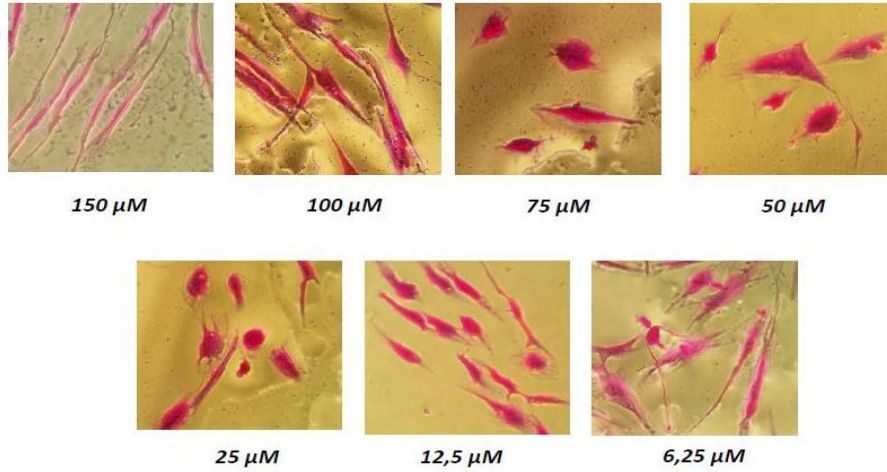
**Şekil 4.13.** Bileşik 43'ün HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



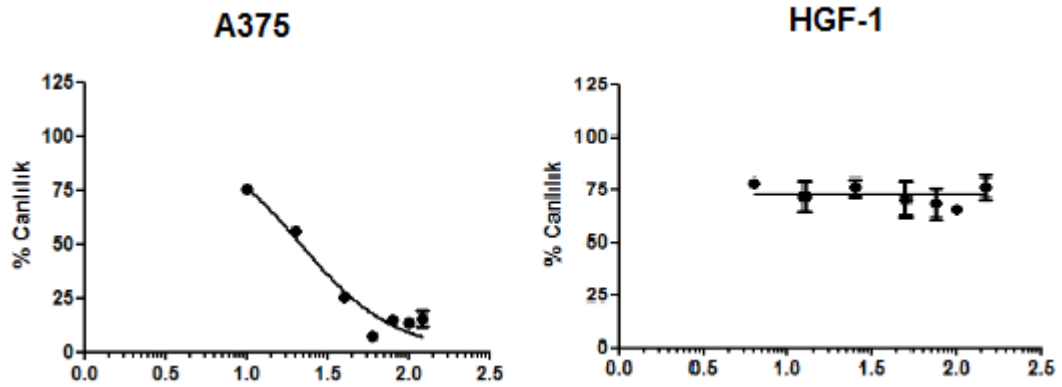
**Şekil 4.14.** Bileşik 43'ün A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.



**Şekil 4.15.** Bileşik 14'ün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.

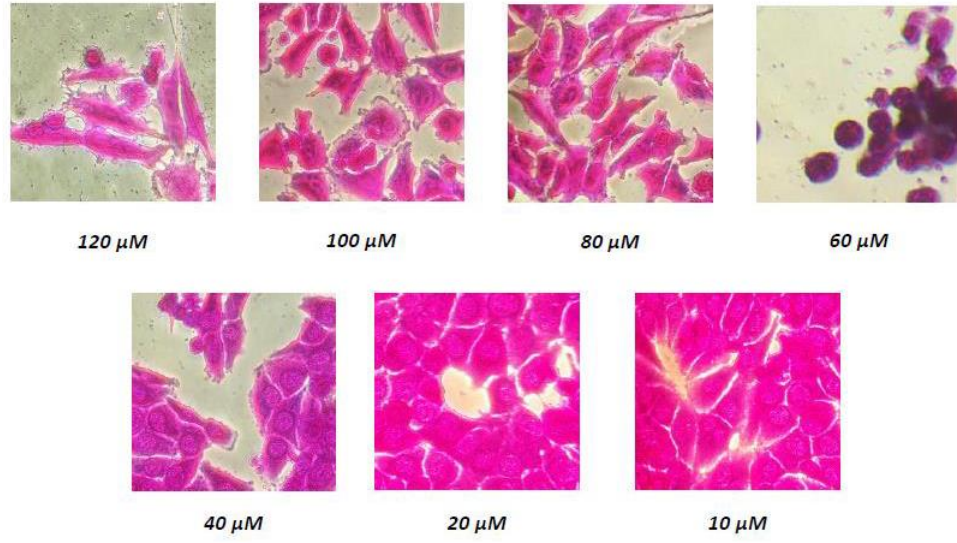


**Şekil 4.16.** Bileşik 14'ün HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.

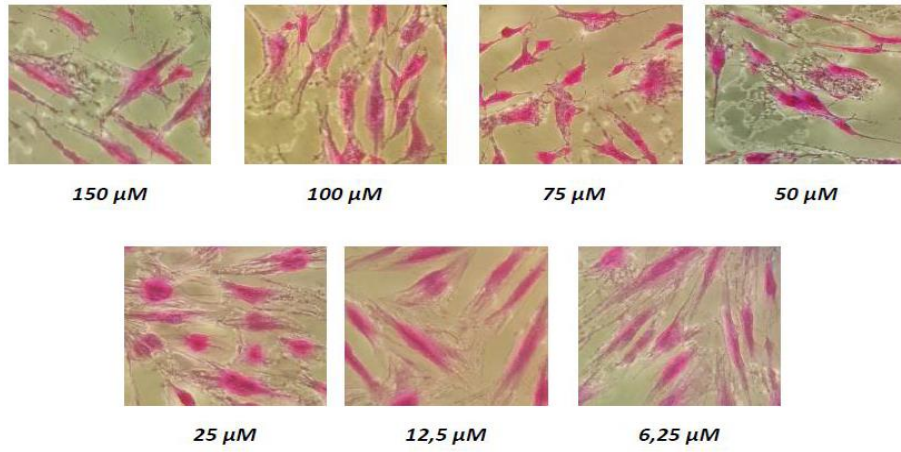


**Şekil 4.17.** Bileşik 14'ün A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.

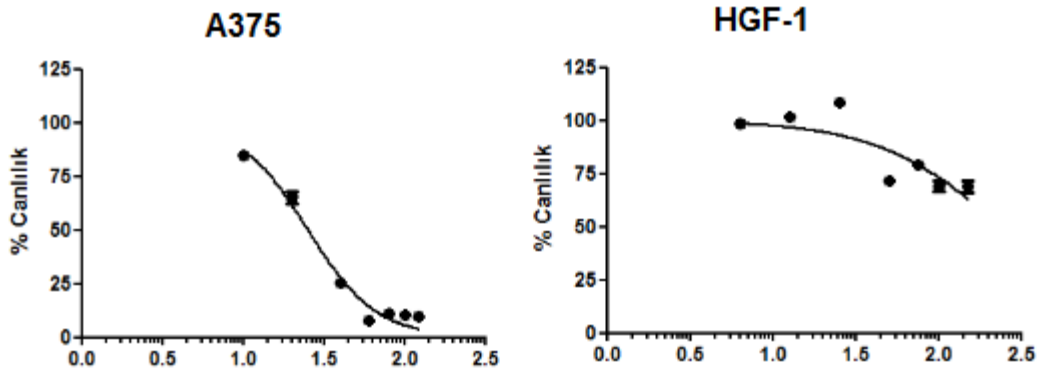




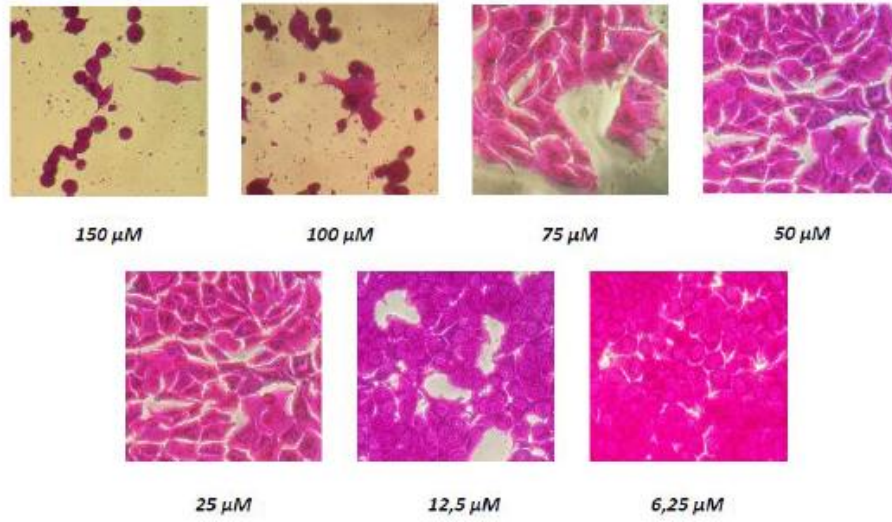
**Şekil 4.18.** Bileşik 18'in A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



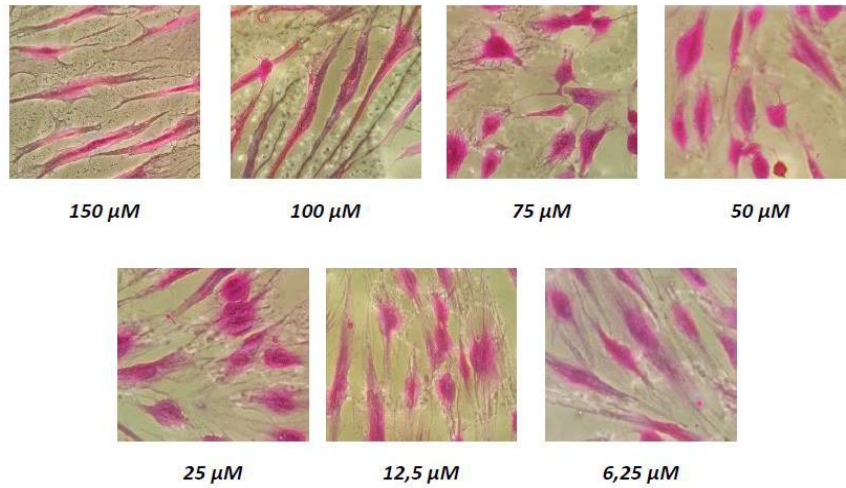
**Şekil 4.19.** Bileşik 18'in HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



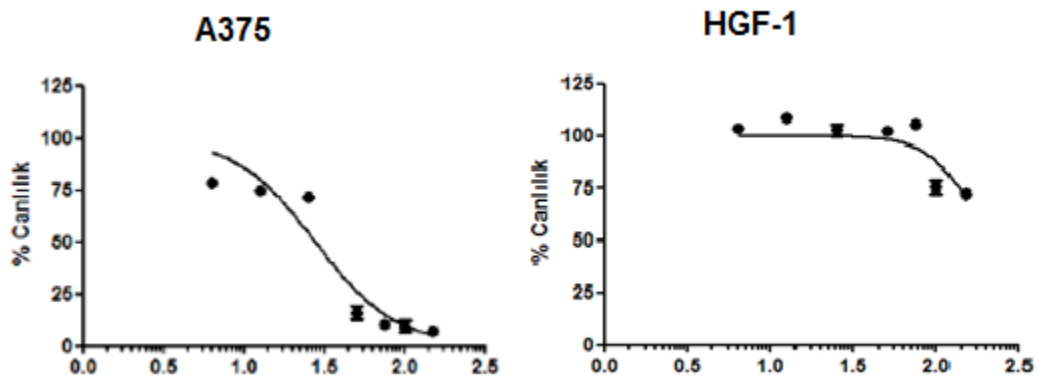
**Şekil 4.20.** Bileşik 18'in A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.



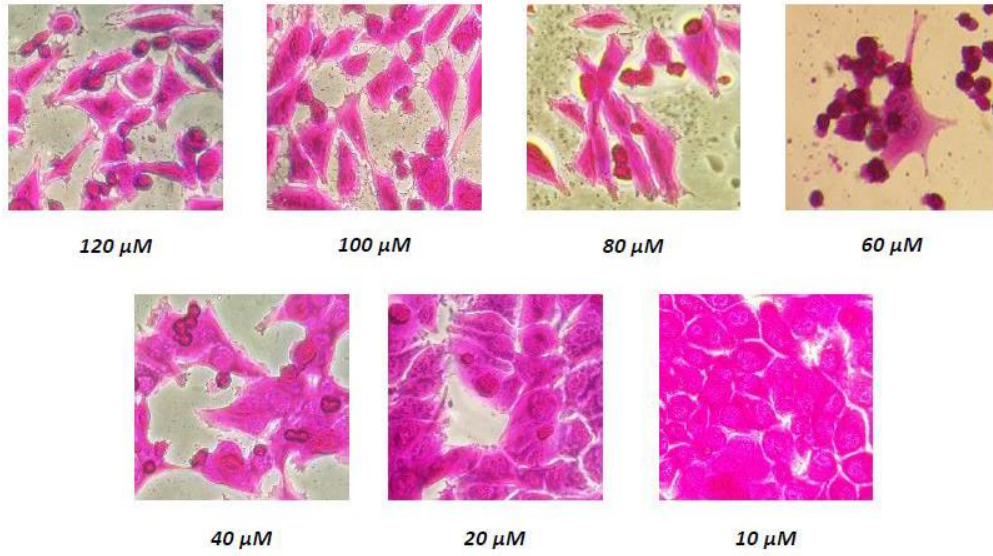
**Şekil 4.21.** Bileşik 53'ün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



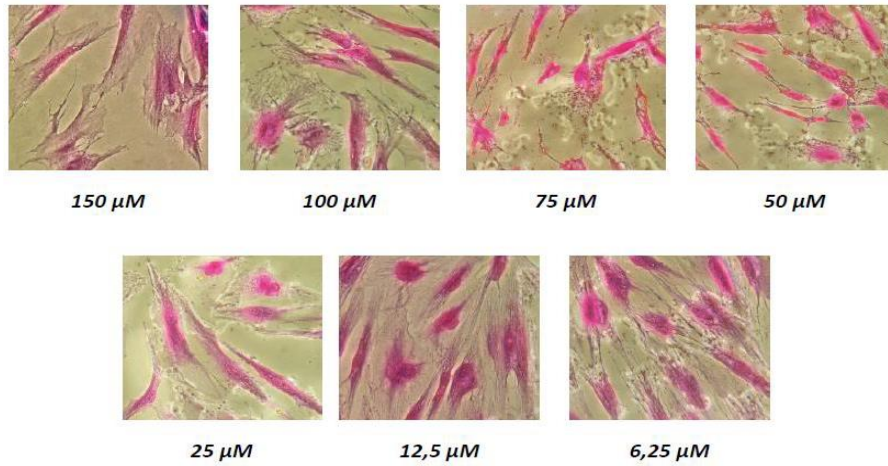
**Şekil 4.22.** Bileşik 53'ün HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



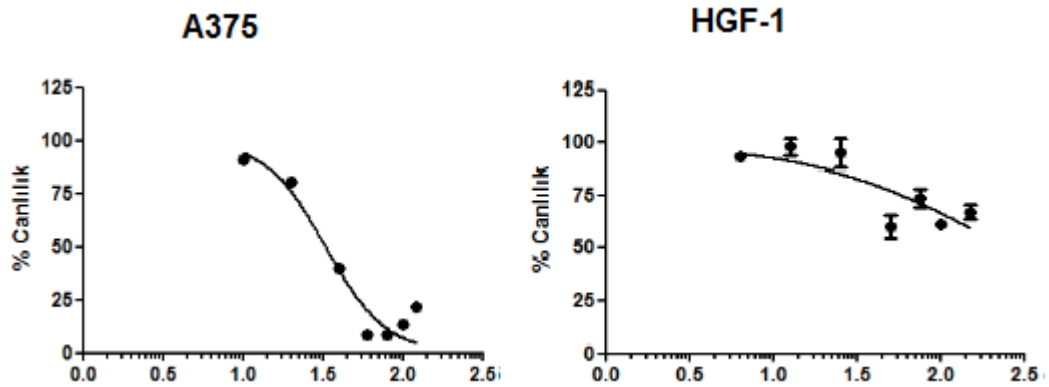
**Şekil 4.23.** Bileşik 53'ün A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.



Şekil 4.24. Bileşik 11'in A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.

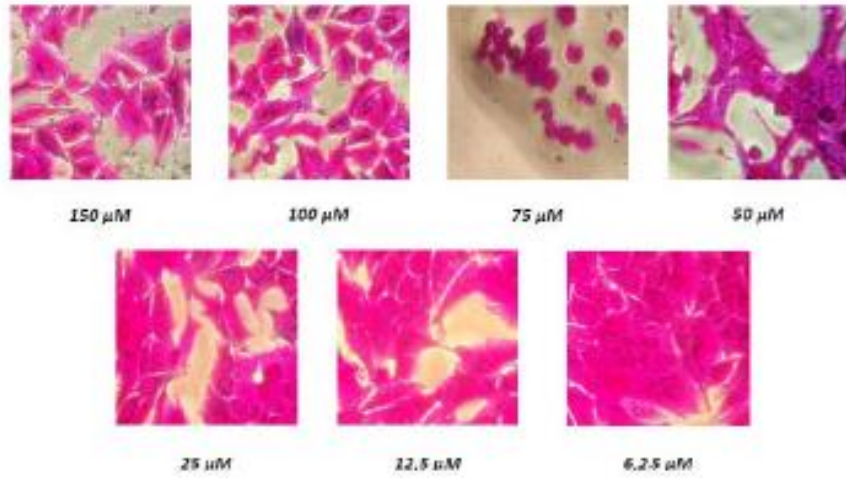


Şekil 4.25. Bileşik 11'in HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.

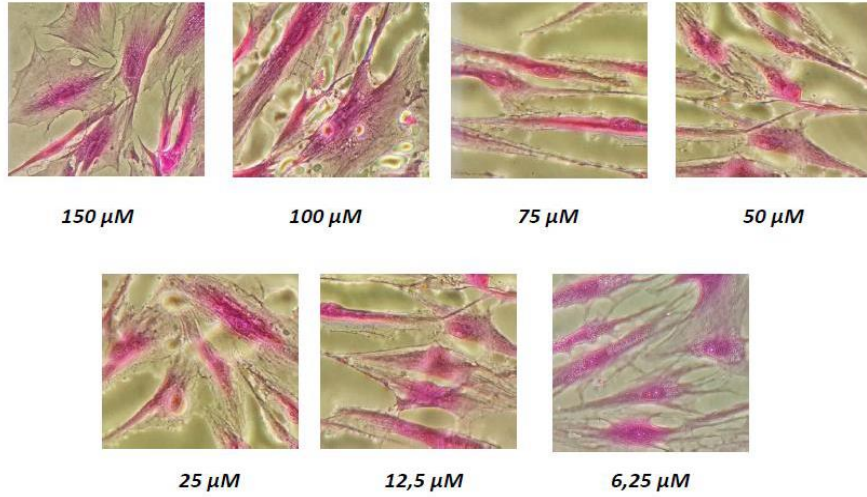


Şekil 4.26. Bileşik 11'in A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.

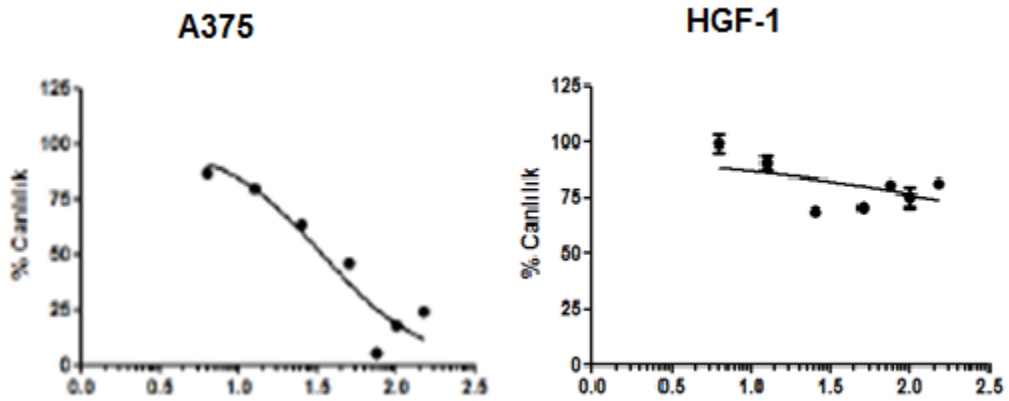




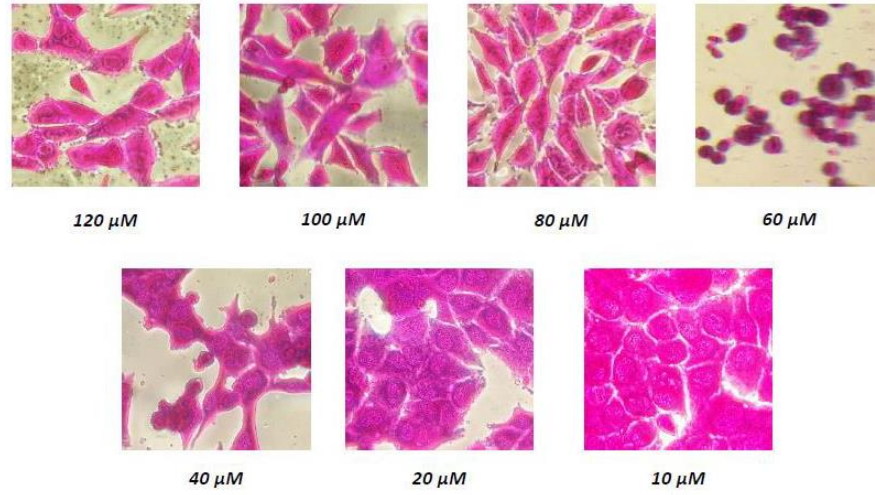
**Şekil 4.27.** Bileşik 20'nin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



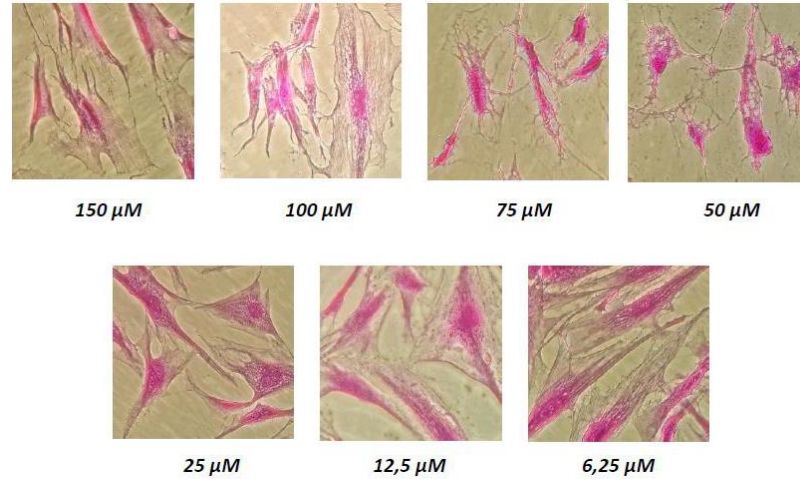
**Şekil 4.28.** Bileşik 20'nin HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



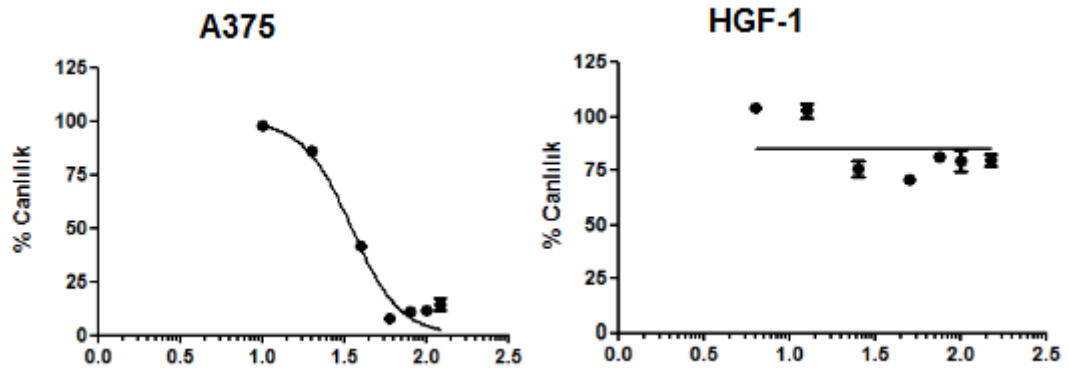
**Şekil 4.29.** Bileşik 20'nin A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.



**Şekil 4.30.** Bileşik 17'nin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.

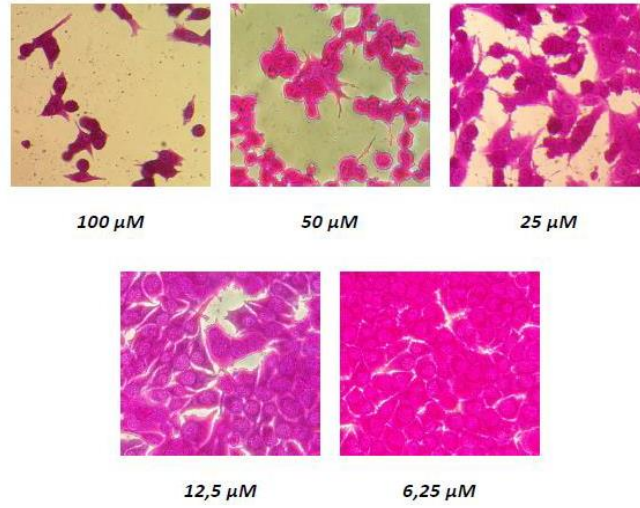


**Şekil 4.31.** Bileşik 17'nin HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.

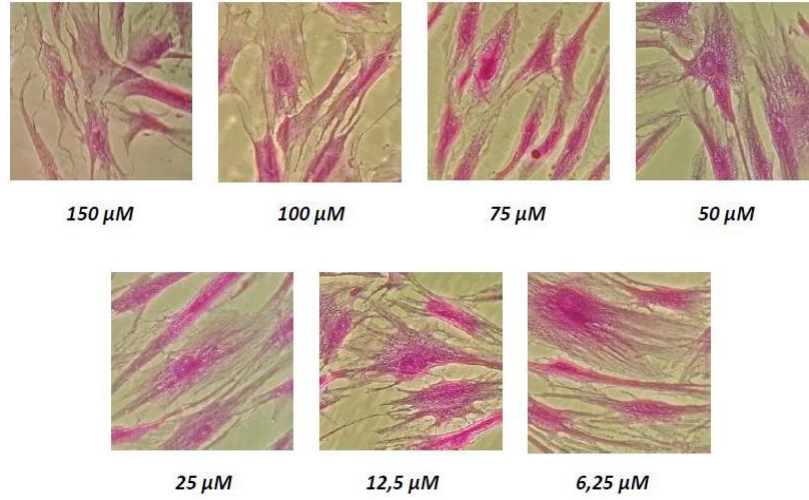


**Şekil 4.32.** Bileşik 17'nin A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.

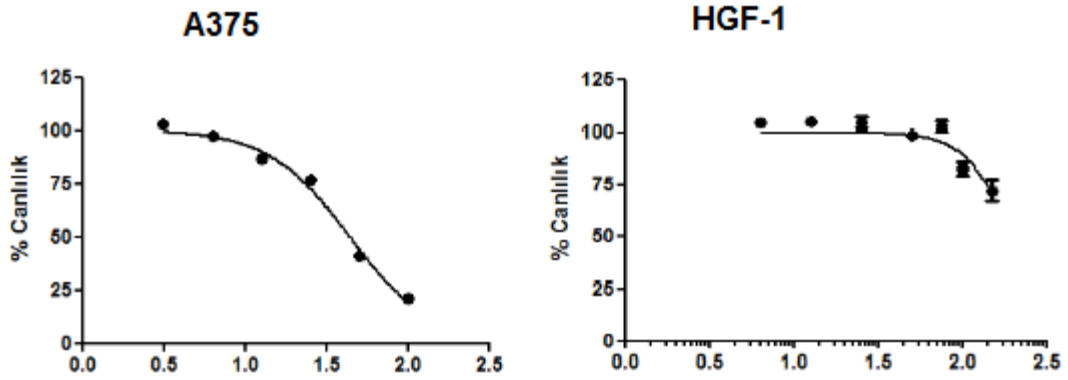




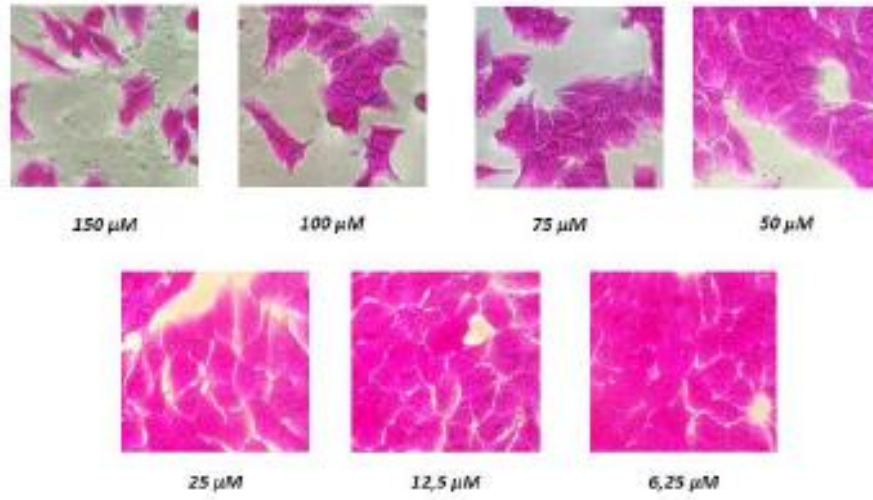
**Şekil 4.33.** Bileşik 3'ün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



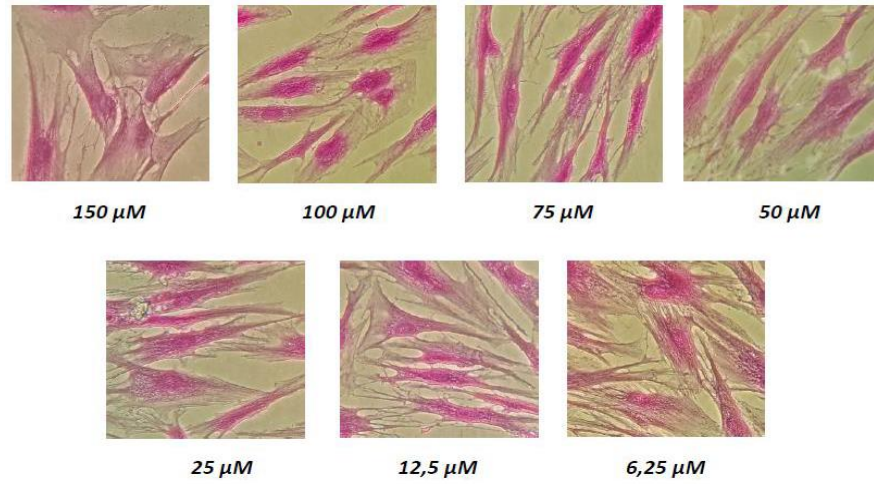
**Şekil 4.34.** Bileşik 3'ün HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



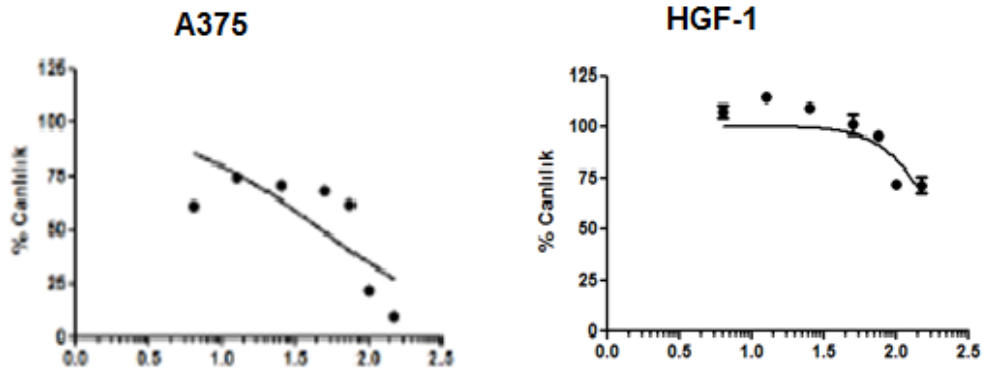
**Şekil 4.35.** Bileşik 3'ün A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.



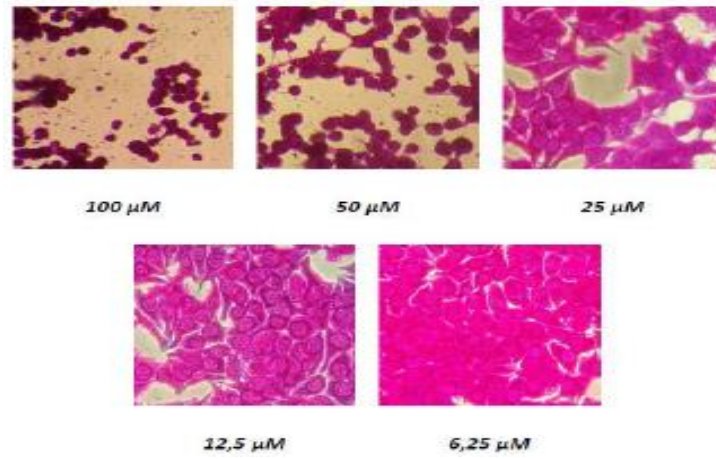
**Şekil 4.36.** Bileşik 58'in A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



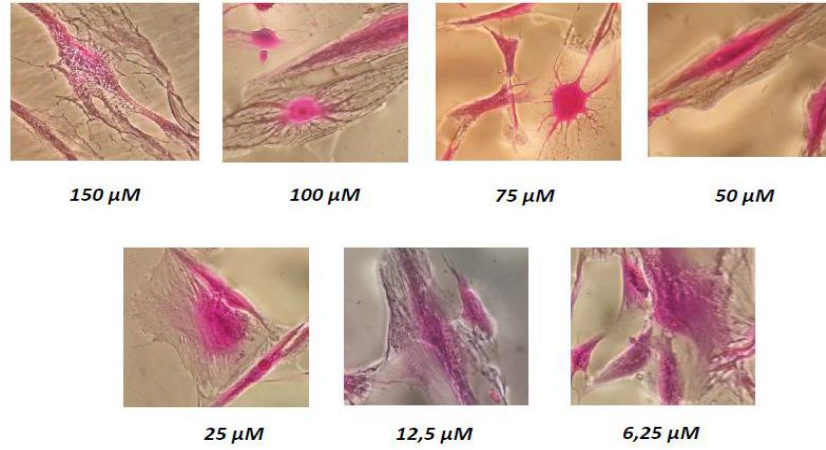
**Şekil 4.37.** Bileşik 58'in HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



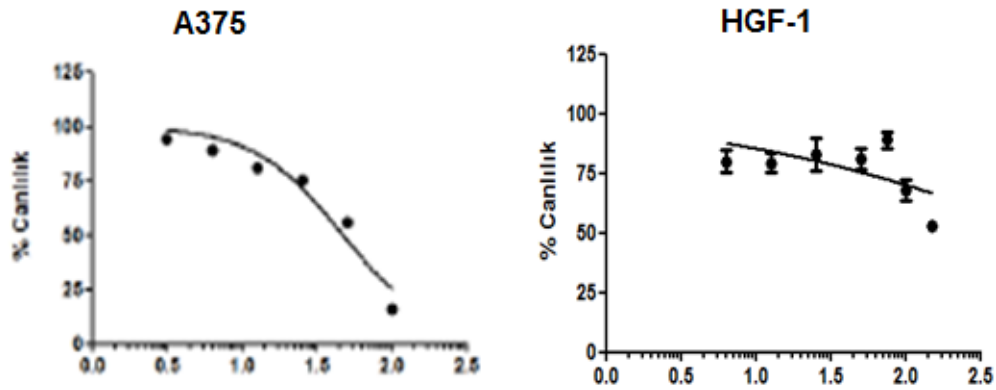
**Şekil 4.38.** Bileşik 58'in A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.



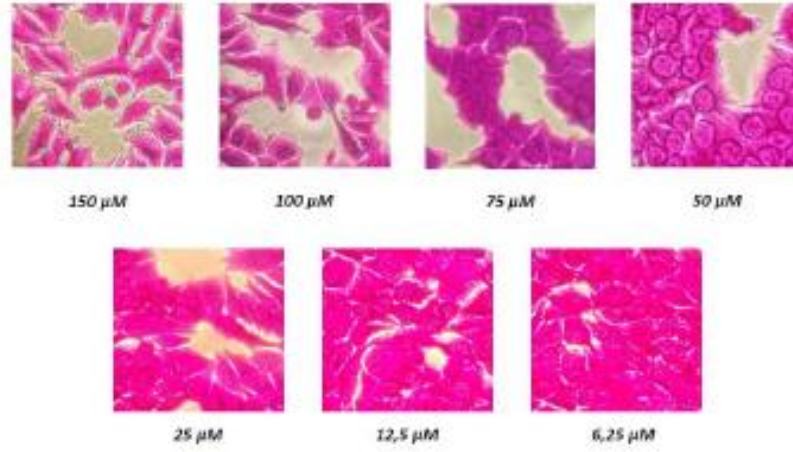
**Şekil 4.39.** Bileşik 23'ün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



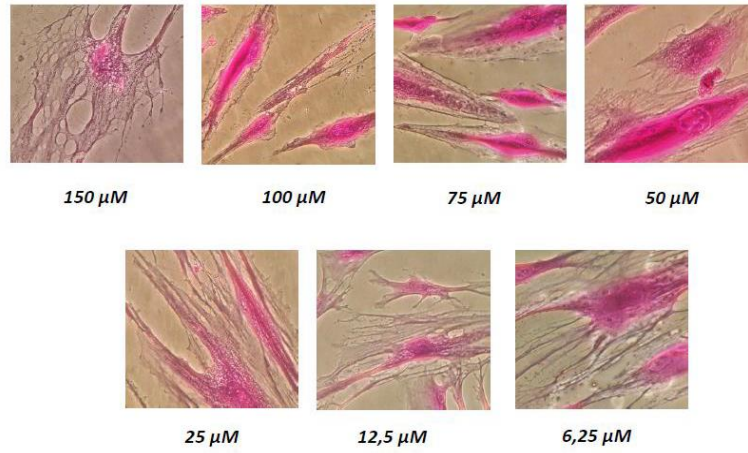
**Şekil 4.40.** Bileşik 23'ün HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



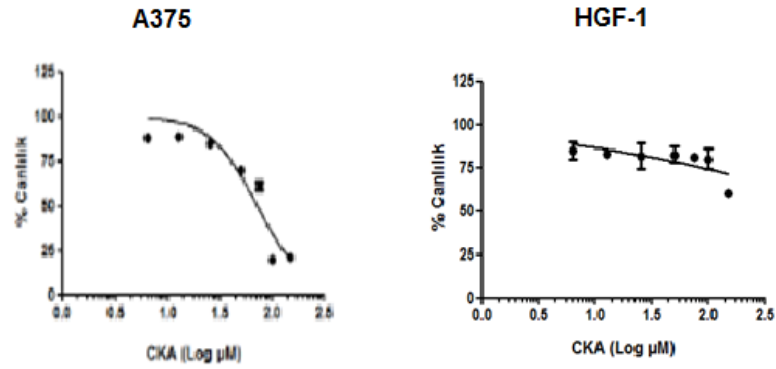
**Şekil 4.41.** Bileşik 23'ün A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri.



**Şekil 4.42.** Klorokojik asitin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.

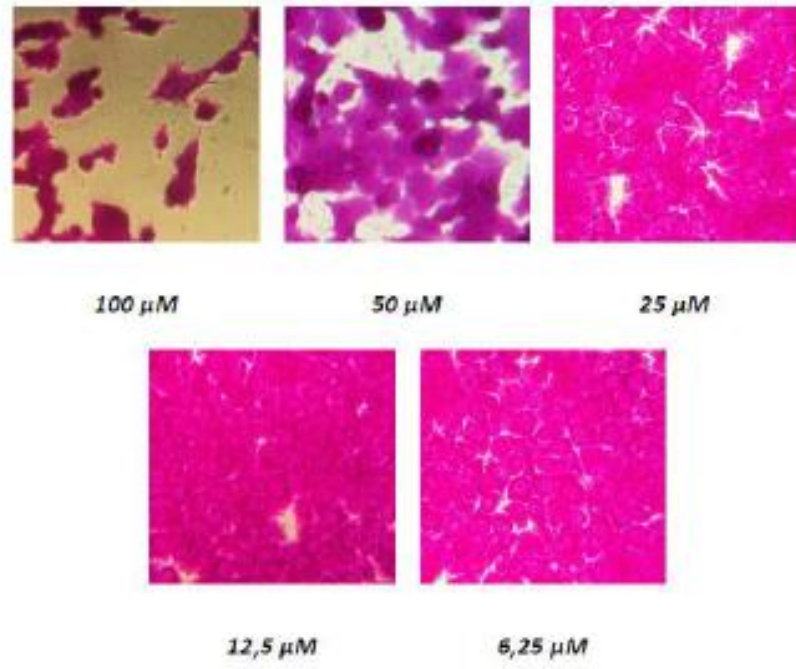


**Şekil 4.43.** Klorokojik asitin HGF-1 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.

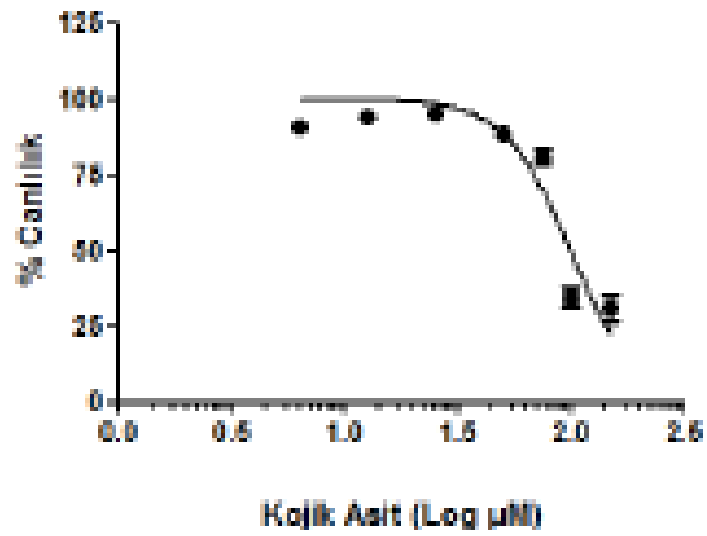


**Şekil 4.44.** Klorokojik asitin A375 ve HGF-1 hücrelerindeki % canlılık grafikleri

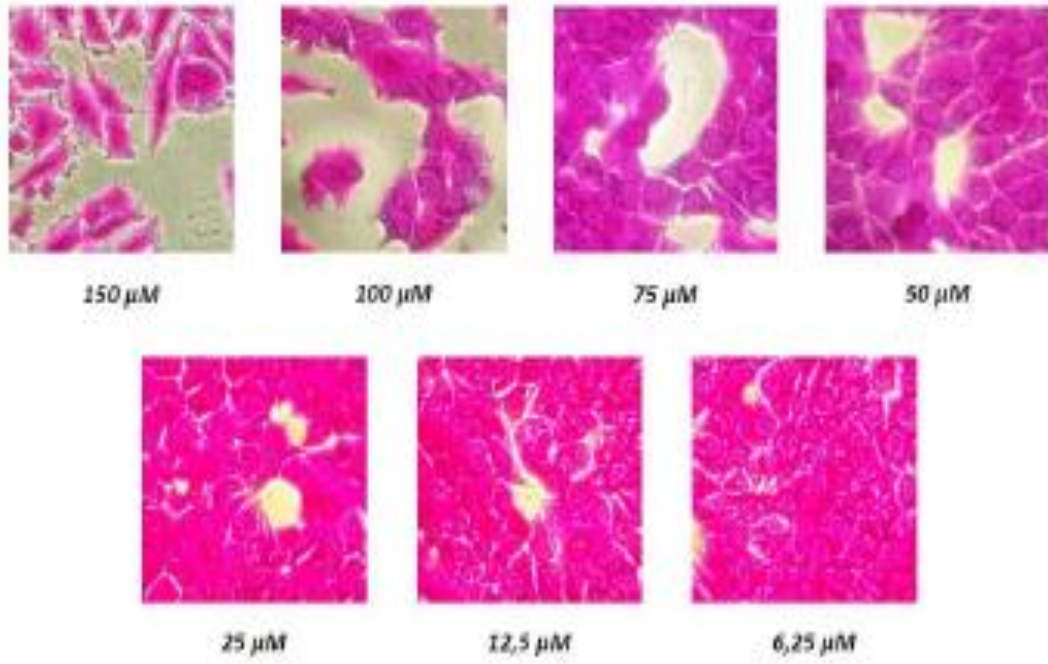




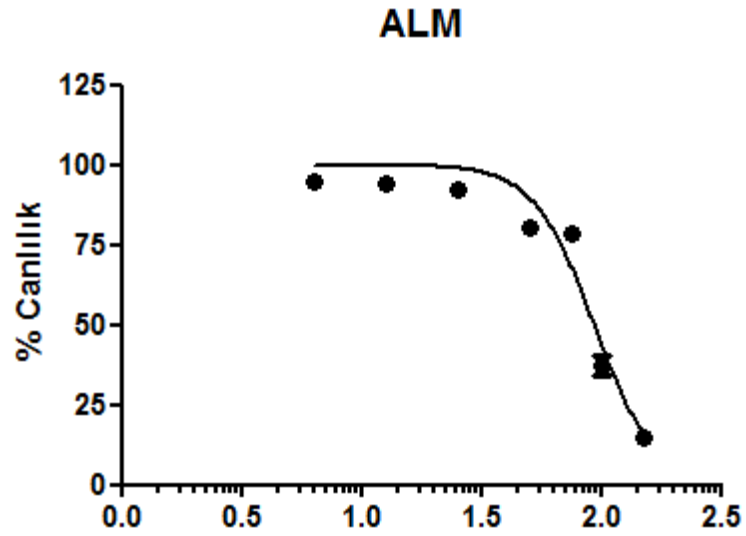
Şekil 4.45. Kojik asitin A375 hücrelerindeki sitotoksosite görüntüleri



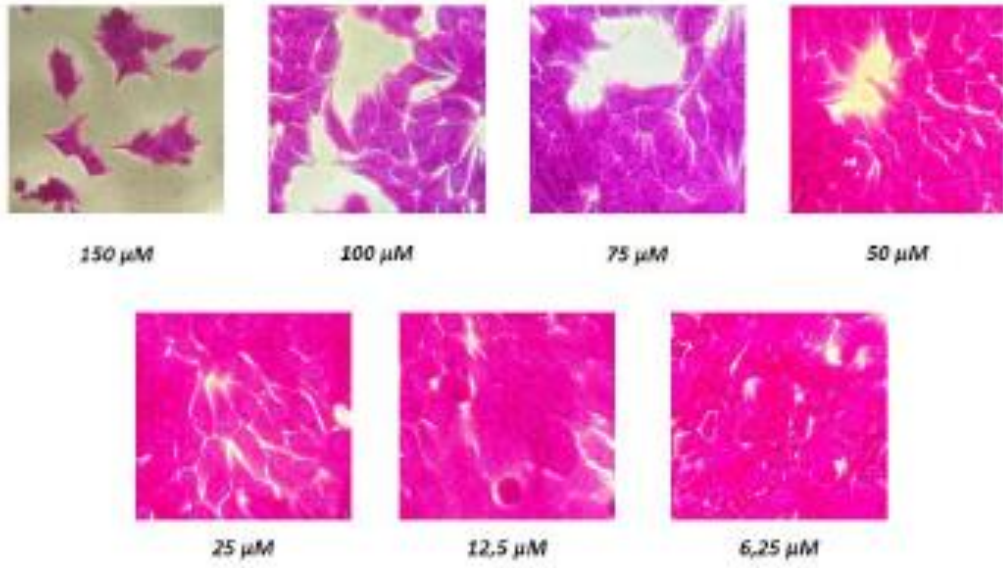
Şekil 4.46. Kojik asitin A375 hücrelerindeki % canlılık grafiği.



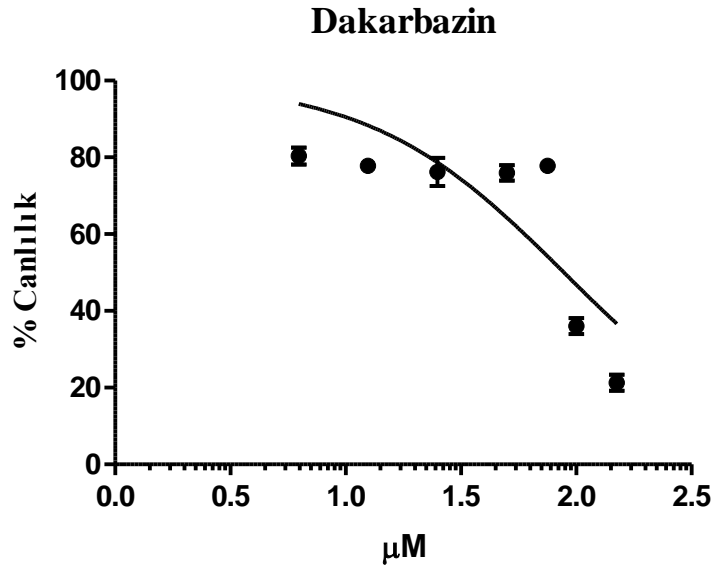
**Şekil 4.47.** Allomaltolün A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



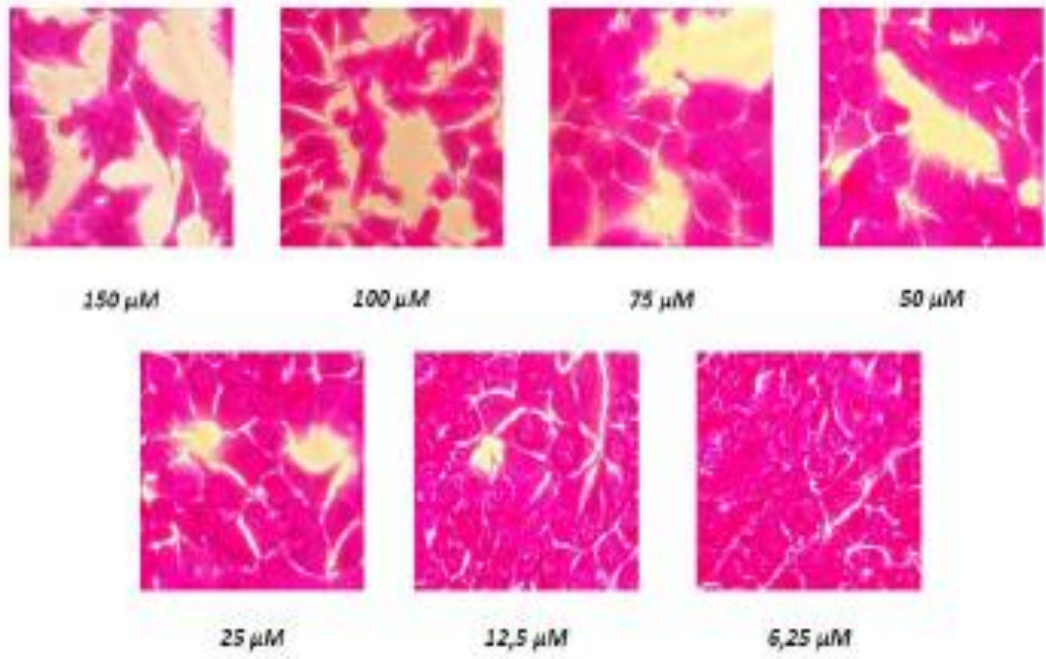
**Şekil 4.48.** Allomaltolün A375 hücrelerindeki % canlılık grafiği.



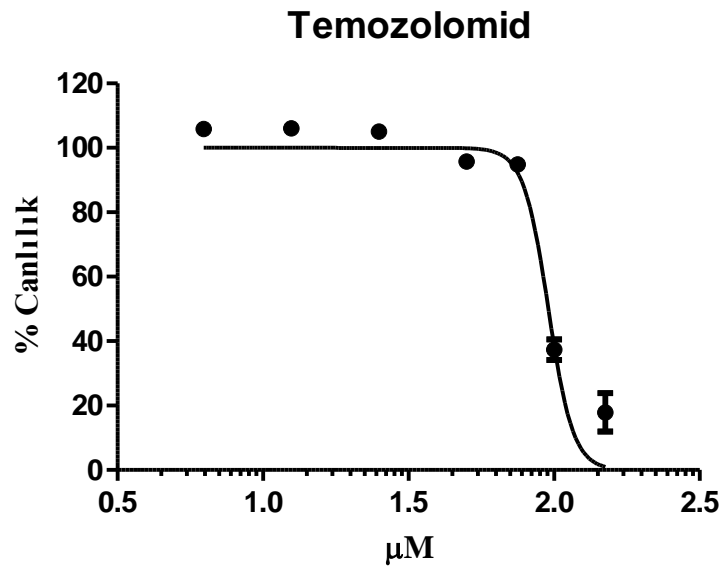
Şekil 4.49. Dakarbazine A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



Şekil 4.50. Dakarbazine A375 hücrelerindeki % canlılık grafiği.

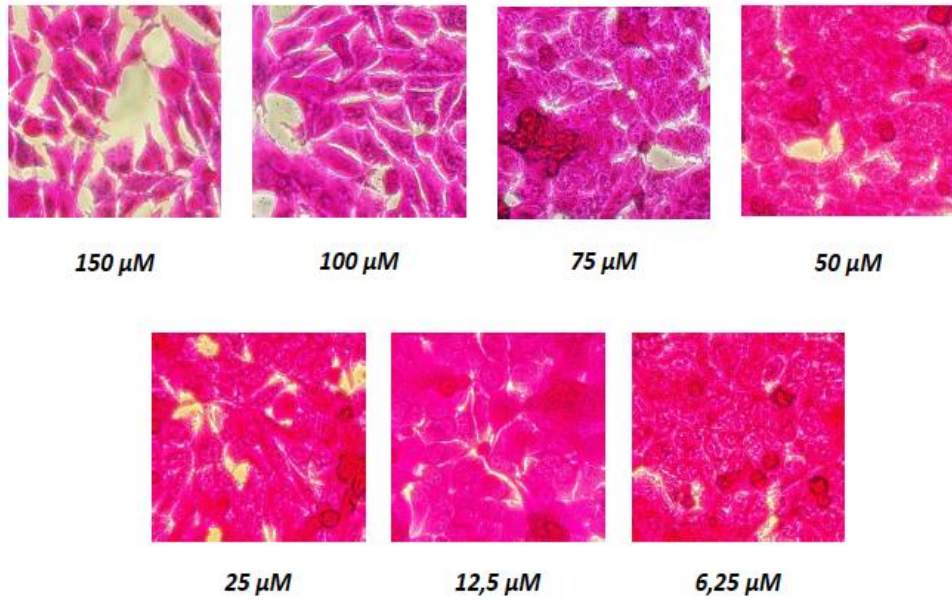


**Şekil 4.51.** Temozolomidin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.

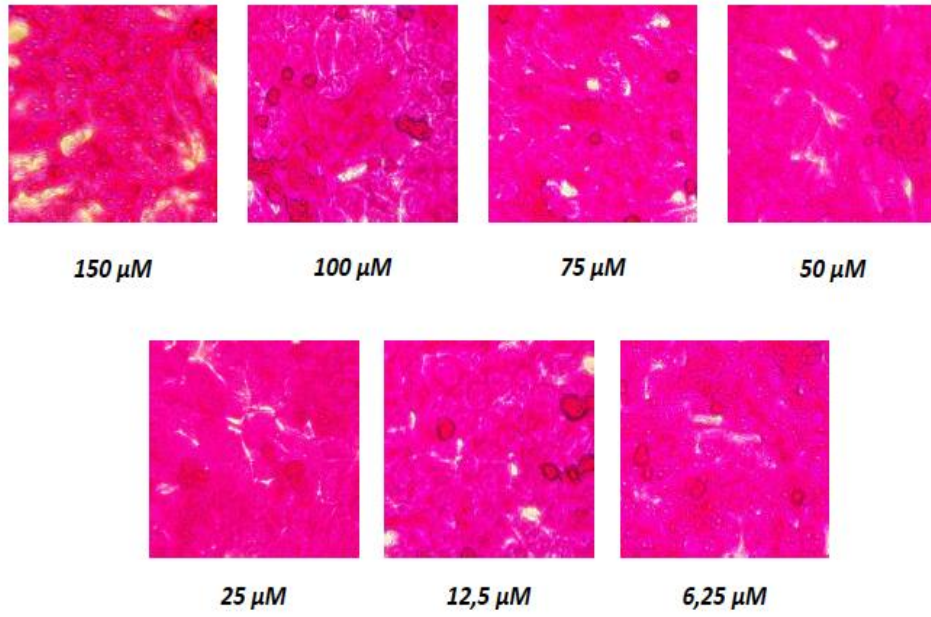


**Şekil 4.52.** Temozolomidin A375 hücrelerindeki % canlılık grafiği.



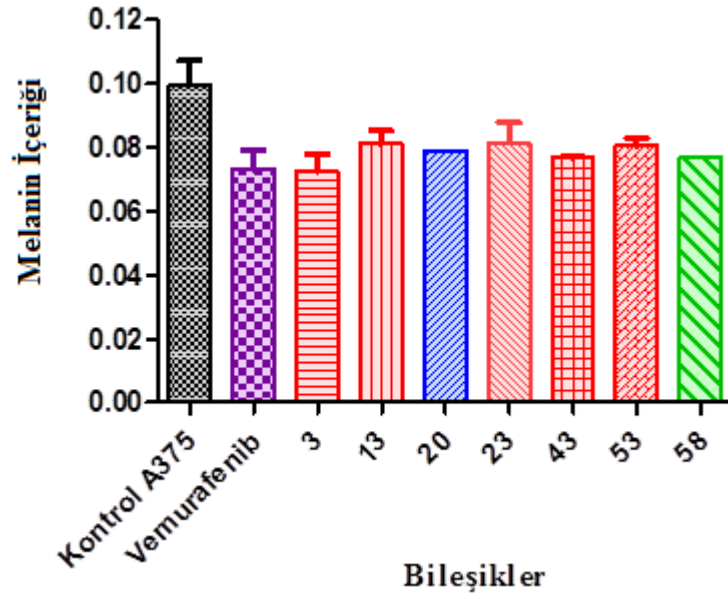


**Şekil 4.53.** Lenalidomidin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.



**Şekil 4.54.** Fotemustinin A375 hücreleri üzerine etkisinin mikroskop (10X) görüntüleri.

### 4.2.3. Melanogenez Çalışmaları



Şekil 4.55. Bazı bileşiklerin A375 hücrelerinde melanin içeriğinin kontrol grubu ve vemurafenible kıyaslanması.

## 5. TARTIŞMA

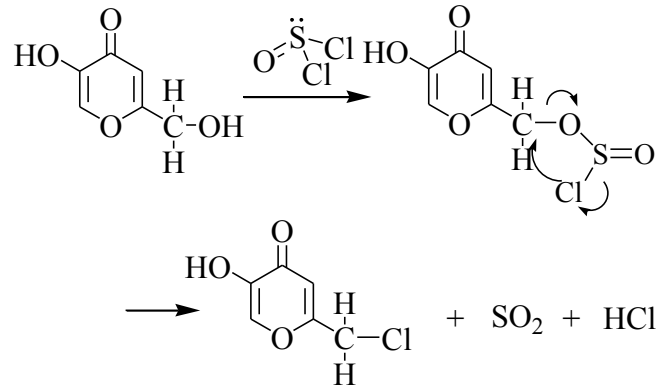
### 5.1. Kimyasal Kısım

Tez kapsamında, ticari olarak temin edilen kojik asitten hareketle klorokojik asit ve allomaltol gibi hidroksipiron türevleri sentezlenmiş, bu üç başlangıç maddesinden hareketle farklı halojen gruplarının substitue edildiği benzil piperazin gruplarıyla Mannich bazları hazırlanmıştır. Klorokojik asit türevi Mannich bazlarında ise bir basamak daha ileri gidilerek altı numaralı konumdaki klor atomu morfolin, piperidin veya pirolidin gibi doymuş siklik aminlerle substitüe edilerek yeni türevler kazanılmıştır. Bu maddelerin kırk sekiz adeti yeni bileşikler iken yapı etki bütünlüğü oluşturması açısından aynı substitüentleri taşıyan ve tarafımızca sentezlenen ancak daha önce yayın haline getirilmiş maddeler veya ticari olarak temin edilebilir durumdaki bir madde de çalışma kapsamına alınarak biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sentezi yapılan bileşiklerin beklenen biyolojik etkilerini değerlendirmek amacıyla, sitotoksosite çalışmaları yapıp antitirozinaz etkileri incelenmiştir.

Bileşiklerin yapıları IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR ve kütle spektroskopisi ile aydınlatılmış ve elemental analizleri ile kanıtlanmıştır.

Bu tez çalışmasında, kaynaklarda başlangıç maddesi ya da ara ürün olarak kullanılan klorokojik asit, bildirilen yöntemler ışığında kojik asitten hareketle sentezlenmiştir (20, 22, 23, 58).

Alkollerin tiyonil klorürle klorinasyonu sonucu alkil klorürler meydana gelmektedir. Kojik asitteki primer alkol grubunun tiyonil klorürle mekanizması nükleofilik iç substitüsyon reaksiyonu (S<sub>N</sub>i) olup aşağıdaki mekanizmaya göre yürümektedir (Şekil 5.1.) (196).

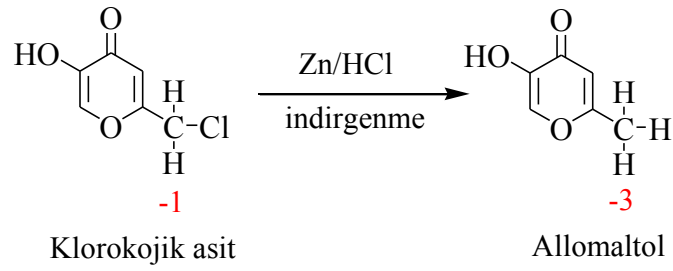


**Şekil 5.1.** Klorokojik asitin sentez mekanizması

İlk basamakta alkoldeki oksijen, kükürt atomuna nükleofilik atak yaparak klorürü çıkarır ve alkil sülfid oluşur. Daha sonra sülfid grubuna bağlı klor atomu molekülden kükürt dioksit çıkmasıyla oksijen atomuyla yer değiştirir. Reaksiyon oksijen atomu üzerinden yürür ve klor atomu çıkan grubun ayrıldığı taraftan moleküle saldırdığı için moleküde konfigürasyon değişimi olmaz.  $S_Ni$  ve  $S_N1$  tepkimeleri arasındaki fark  $S_Ni$  de gerçek bir karbokatyonun oluşmaması, dolayısıyla rasemizasyonun da gözlenmemesidir.

Tiyonil klorür sahip olduğu kükürt atomunun üzerinde, elektron çifti içeren piramidal yapıda bir reaktiftir. Su ile tepkimeye girdiğinde HCl ve  $SO_2$  ürünlerini meydana getirmektedir. Bu ürünler gaz formunda olduğu için ortamdan uzaklaştırılması kolaydır. Bu yüzden  $PCl_5$  gibi diğer klorlayıcı bileşiklere göre tercih edilir.

Çalışmamızın devamında klorokojik asitten hareketle allomaltolün sentezlenmesi amaçlanmıştır. Bunun için asidik ortamda redüksiyon gerçekleştirilmiştir. Derişik hidroklorik asit ve çinko tozunun kullanıldığı reaksiyonda kullanılan reajanlar itibariyle çağrıştırırsa da tam bir Clemmensen redüksiyonu olmayıp keton ya da aldehit yerine alkil halojenürün hidrokarbona dönüştüğü bir reaksiyondur. Klorokojik asitte 6 numaralı konumdaki karbonun oksidasyon sayısı -1 iken allomaltolde -3'e dönüşmüştür.

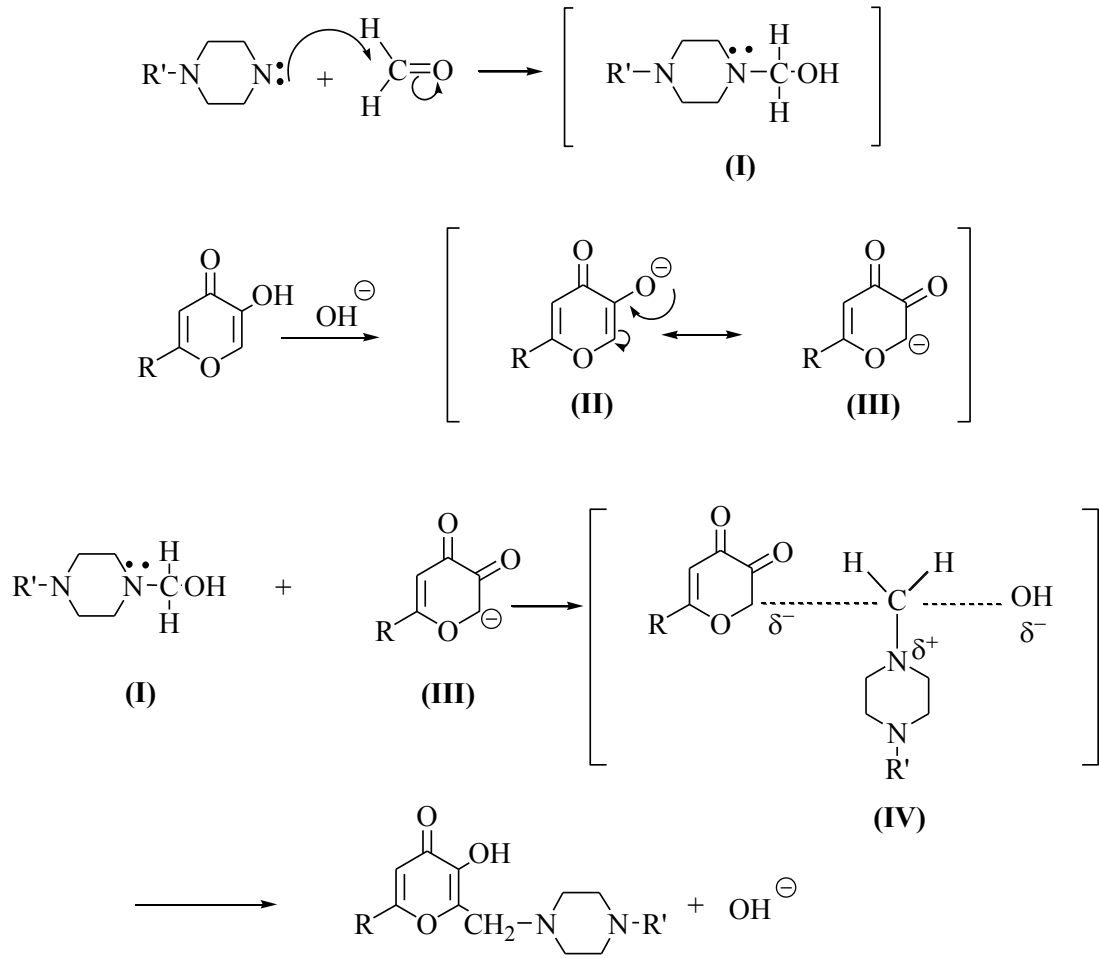


**Şekil 5.2.** Klorokojik asit ve allomaltolün oksidasyon sayıları.

Sentetik organik kimyada çoklu bileşenli reaksiyonlar; kısa reaksiyon süresi, düşük sıcaklıkta gerçekleşebilmesi, yüksek verimli olması gibi avantajlarından dolayı dikkat çekmektedirler. Mannich tipi reaksiyonlar keto-enol totomerik şekilleri gösteren karbonil bileşikleri, formaldehit ve primer veya sekonder aminden oluşan üç bileşenli kondenzasyon reaksiyonlarıdır. Tez kapsamında sentezlenen Mannich bazlarında sekonder amin türevi olarak halojen substitue benzil piperazin türevleri tercih edilmiştir. Klorokojik asitin formaldehit ve piperazin türevleri ile Mannich reaksiyonuna göre oda ısısında reaksiyona girmesi sonucu Mannich bazı yapısındaki bileşikler elde edilmiştir.

1960 yılında, O'Brien ve ark. kojik asidin Mannich reaksiyonlarındaki reaktivitesinin serbest enolik hidroksil grubunun varlığına bağlı olduğunu bildirmiştir. Kojik asitin fenolden daha asidik olmasına bağlı olarak sahip olduğu geniş anyon konsantrasyonundan dolayı fenole göre daha aktiftir. 4H-Piran-4-on halkasının 2 numaralı konumdan Mannich reaksiyonu gerçekleştiği ortaya konmuştur (63).

Süstitue benzilpiperazin türevlerinin, formaldehitte verdiği reaksiyondan primer alkol türevi olan aminometilol bileşiği (**I**) elde edilmiştir. Keto-enol totomerizasyonu sonucu oluşan keto (**III**) şekli üzerinden reaksiyon gerçekleşir. Kojik asit çekirdeğindeki fenolik -OH grubundan hidrojenin uzaklaştırılmasıyla oluşan fenoksit iyonunun (**II**) bu reaksiyonda katkısı olduğu düşünülmektedir. Bazik ortamda, 2 numaralı konumunda eksi yük taşıyan anyonun aminometilol grubuna saldırmasıyla meydana gelen reaksiyonların SN<sub>2</sub> mekanizmasına göre ara ürün (**IV**) oluşturduğu varsayılır. Bu ara üründen hidroksil anyonunun kopması sonucu 2 numaralı konumundan Mannich reaksiyonu gerçekleşerek tez kapsamındaki bileşikler (**Bileşik 1-30**) sentezlenmiştir (Şekil 5.3.). Mannich türevlerinin düşük alkali ortamda daha etkili biçimde sentezlenebileceği önceki araştırmalarda bildirilmiştir (63, 107).

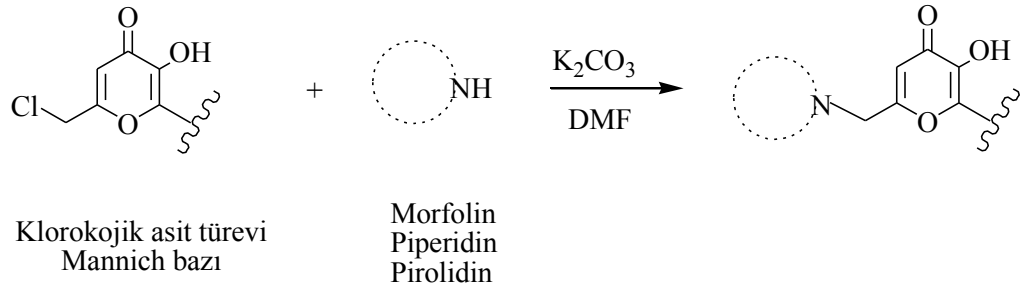


Mannich Bazı Bileşikleri

### Bileşik 1-30

**Şekil 5.3.** Mannich bazlarının sentez mekanizması

Tez çalışmamızın devamında klorokojik asit türevi Mannich bazlarının yapılarında modifikasyon yapılarak klorometil grubundaki klor atomu morfolin, piperidin veya pirolidin gruplarından biriyle yer değiştirerek yeni türevler sentezlenmiştir. Önceki çalışmalarda (27) yapısında morfolin ve piperidin taşıyan Mannich bazlarının antikanser aktivite gösterdiği kaydedildiğinden tez kapsamında bu gruplar tercih edilmiştir. Yapısal bütünlük oluşturması amacıyla beş üyeli siklik yapıdaki pirolidin grubu da çalışmaya eklenerek toplam otuz adet yeni türev sentezlenmiştir.



**Şekil 5.4.** Morfolin, piperidin ve pirolidin türevlerinin sentezi.

Klorokojik asit türevi Mannich bazlarına sekonder amin türevi olan morfolin, piperidin ve pirolidin gruplarının eklenmesi, nükleofilik süstitusyon reaksiyonudur. Bu reaksiyonda elektronegatif bir atom olan klor atomu molekülden ayrılarak bunun yerine söz konusu siklik amin grupları bağlanmaktadır. Klorür iyonu nispeten kararlı ve zayıf bazik özellikte olduğundan iyi bir çıkan grup, amin gruplarıysa nükleofillerdir. Bu grupların nükleofilik güçleri yani polarize olmuş karbon atomuna saldırı güçleri yüksektir. Aynı zamanda iyi birer baz oldukları da bilinmektedir. pKa değerleri morfolin, piperidin ve pirolidin için sırasıyla şöyledir: 8,36; 11,22; 11,27. Ortaklaşmamış elektronlarını pozitif çekirdeklerle paylaşarak bağ yapmayı tercih etmektedirler.

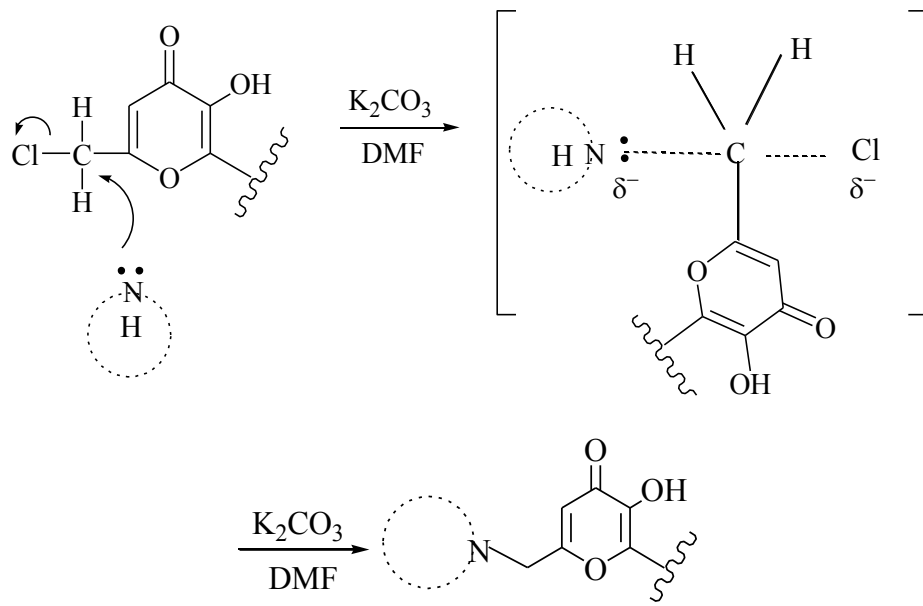
Nükleofilik reaksiyonlar, kullanılan çözücünün polaritesinden etkilenmektedirler. Dielektrik sabiti yüksek olan polar çözücülerin kullanılması, reaksiyon sırasında oluşan iyonları kararlı kılmakta ve geçiş kompleksinin oluşmasını hızlandırmaktadırlar.

Son yıllarda DMF gibi birçok polar aprotik çözücü, kimyacılar tarafından yaygın şekilde kullanılmaktadır. Aprotik çözücüler, molekülleri kuvvetli bir elektronegatif atoma bağlanmış hidrojen atomu içermeyen çözücülerdir. Bu çözücülerin hepsi iyonik bileşikleri çözmekte ve katyonları çok iyi bir şekilde sarabilmektedirler. Ayrıca bu çözücüler, hidrojen bağı yapamadıklarından dolayı negatif yüklü ayrılan grubu solvataşyona uğratamamakta dolayısıyla nükleofiller daha reaktif kalmaktadırlar.

Bir nükleofilik süstitusyon reaksiyonunun mekanizmasını etkileyen birden çok faktör bulunmaktadır. Bunlara reaktantın yapısı, nükleofilin gücü ve konsantrasyonu ve çözücünün yapısı örnek olarak verilebilir. Çalışmamızda yer alan reaktantın yapısı ve kullanılan çözücü itibarıyla reaksiyonun mekanizması SN<sub>2</sub> olarak

düşünülmektedir. Primer alkil halojenürler genellikle  $SN_2$  mekanizmasına göre yürürken bu reaksiyonların hızları DMF gibi polar aprotik çözücüler içinde gerçekleştirildiğinde son derece artmaktadır (197).

Potasyum karbonat ile bazik hale getirilen ortamda daha elektronegatif olan klor atomu sayesinde polarize olmuş bağa sahip olan karbon atomuna, ortaklaşmamış elektronlarıyla siklik sekonder amin grupları saldırarak geçiş kompleksini oluştururlar. Daha sonra klorun ayrılmasıyla istediğimiz bileşikler elde edilmiş olur. Öngörülen reaksiyon mekanizması ise aşağıdaki gibidir (Şekil 5.5).



**Şekil 5.5.** Morfolin, piperidin ve pirolidin türevlerinin sentez mekanizması



## 5.2. Spektral Kısım

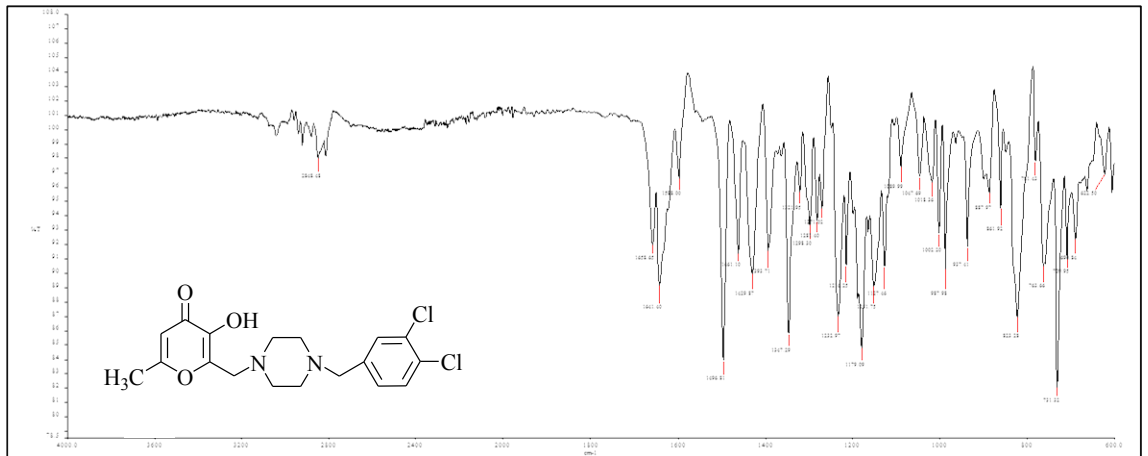
### 5.2.1. IR Spektrumları

Tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin IR spektrumları, her dalga boyunu tek tek taramayı gerektirmeyen, hız ve duyarlılık açısından üstün sistemler olan FT-IR (Fourier Transform-InfraRed) yöntemiyle alınmıştır.

IR spektrumlarında, 3100-3000  $\text{cm}^{-1}$ 'de aromatik, 3000-2800  $\text{cm}^{-1}$ 'de alifatik C-H gerilim, 1200-1195  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-O gerilim, 1125-1115  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-N gerilim ve 735-750  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-Cl gerilimine ait pikler ve bu pikler dışında aromatik ve heteroaromatik yapılara ait düzlem dışı C-H deformasyon pikleri gözlenmiştir.

Kojik asitten hareketle sentezlenen Mannich bazlarında bunların yanında alkolik hidroksil grubuna ait O-H gerilimine ait pikler 3200-3000 civarında yayvan olarak görülmüştür. Ancak piron halkasının 3 numaralı konumundaki fenolik hidroksilde ise durum biraz farklıdır. Bu grup sentezlenen tüm bileşiklerde olmasına rağmen hepsinde bu gerilim piki gözlenmemiştir çünkü keto-enol tautomerizasyonu sonucu hidroksil grubunun keton grubuna dönüştüğü düşünülmektedir.

Bileşikler, sahip oldukları hidroksil grupları ile hem molekül içi hem de moleküller arası hidrojen bağı yapmaktadırlar. Bu nedenle serbest olmayan O-H bağına ait IR gerilme bandı, düşük frekansa kayar ve genişler. Çünkü hidrojen bağı oluşumu, bağı uzunluğunu arttırır. Aynı etki halka içi C=O grubuna ait gerilme titreşiminde de gözlenmektedir. 1700  $\text{cm}^{-1}$  civarında gözlenmesi beklenen pik 1620  $\text{cm}^{-1}$ 'de görülmektedir.



**Şekil 5.4.** Bileşik 23'e ait FT-IR spektrumu.

### 5.2.2. <sup>1</sup>H-NMR Spektrumları

Bileşiklerin DMSO-*d*<sub>6</sub> ve CDCl<sub>3</sub> içinde alınan <sup>1</sup>H-NMR spektrumları incelendiğinde integral değerleri bu protonların varlığını doğrulamaktadır. Piperazin halkasındaki azot atomlarının yarılmaları çok zor sağlandığı için spektrum alınması sırasında bazı maddeler ısıya tabii tutulmuştur. Piperazin halkasına ait protonlar idealde iki triplet pik olarak saptanması beklenirken çoğu spektrumda bu yarıma gözlenememiştir. Pikler yayvan singlet ya da multipler olarak karşımıza çıkmaktadır.

Tüm bileşiklerde ortak olan hidroksipiron çekirdeğinin hidrojenlerinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda gözlenen değerleri birbirini doğrulamakta, halkanın 5 numaralı konumundaki karbona bağlı hidrojen 6,20-6,40 ppm aralığında singlet yarıma şeklinde gözlenmektedir. Yine tüm bileşiklerde ortak yapı olan substitüe fenil protonları, 7,10-7,50 ppm dolaylarında, substitüentin konumuna ve sayısına bağlı olarak değişik yarımlar göstererek yapıları doğrulamaktadır.

Piperazin halkalarının piron halkasına daha yakın olan karbonlarına bağlı hidrojenlerin verdiği pikler 2,40 ppm civarında gözlenirken daha uzaktaki hidrojenler kimyasal çevrelerinde perdeleme etkisi azaldığından daha yüksek ppm'de (2,50 ppm) pik verirler. Bu durum, sentezlenen bütün bileşiklerde görülmektedir. Piperazin halkasındaki bu iki grup hidrojen türü genellikle 4H integrallerinde saptanabilirken bazı bileşiklerin spektrumlarında yeterince ayırtılamadığından, üst üste çakışarak 8H integralinde yayvan singlet olarak gözlenmiştir.

Aynı spektrum skalasına yapısında morfolin grubu taşıyan bileşikler dahil olduğunda (Bileşik **31-40**) elektronik çevre açısından birbirine benzer daha çok hidrojen devreye girdiğinden bazı bileşiklerde 12H integralinde pikler gözlenmiştir. Morfolin halkasının azota yakın olan karbon atomuna bağlı hidrojenler, piperazin hidrojenleriyle aynı bölgede çıkmaktadır. Yine morfolin halkasının oksijene bağlı olan karbonunun hidrojenleri ise 3,70 ppm civarında gözlenmektedir. Piperazin halkasının yapısında bulunan protonların triplet yarımları sonucu etkileşme sabitleri (*J*) hesaplanmış, genelde 4,5 Hz değeri elde edilmiştir. Ancak aromatik fenil halkasına ait protonların *J* değerleri 7,5 Hz civarındadır.

Piperidin grubu içeren Bileşik **41-50** maddelerinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumlarında ise piperidin halkasının 4 numaralı konumunda bulunan, yapıya en uzakta konumlanmış karbon atomunun hidrojenlerinin 1,33-1,46 ppm aralığında gözlendiği

görülmüştür. Çevresindeki çoklu hidrojen komşuluğundan dolayı piklerdeki yarılmalar multipler şeklinde. Piperidin 3 ve 5 numaralı konumunda yer alan hidrojenler 4H integralinde 1,55-1,60 ppm civarında yine multipler olarak gözlenmiştir. 2 ve 6 numaradakilere ise azot atomuna doğrudan bağlı karbonun üzerinde olduklarından piklerinin gözlemlendiği ppm değerleri TMS'e (tetrametilsilan) göre kimyasal kaymaları artma göstermiş ve 2,45 ppm'e kadar çıkmıştır. Triplet olarak yarılan bu piklerde *J* değerleri ise 5, 5,2 ve 5,4 Hz olarak kaydedilmiştir.

Yapısında pirolidin grubu taşıyan bileşiklerde ise (Bileşik **51-60**) en düşük ppm'de gözlenen hidrojenler, pirolidin halkasının 3 ve 4 numaralı konumlarında yer alan ve 1,65-1,80 ppm gözlenenlerdir. Pirolidin diğer hidrojenleri ise 2,40 ppm dolaylarında görülmektedir. Triplet olarak yarılmaları beklenen bu pikler, spektrumlarında çoğu kez yayvan singlet ya da multipler olarak karşımıza çıkmaktadır. Piperazin halkasında yer alan hidrojenlerle çok yakın alanda kaydedilmelerinden dolayı integralleri birlikte toplu olarak kaydedilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerden sadece *para* konumunda substitüe benzil piperazin türevi olan 3 farklı grup mevcuttur. Bileşik **3**, **13**, **23**, **33**, **43**, **53** *p*-Cl, **6**, **16**, **26**, **36**, **46**, **56** *p*-F, **8**, **18**, **28**, **38**, **48** ve **58** ise *p*-CF<sub>3</sub> taşıyan bileşiklerdir. Bu bileşiklere ait fenil halkasındaki simetrik protonların dublet yarılmaları gözlenmektedir. *p*-CF<sub>3</sub> türevlerinde söz konusu simetrik dublet yarılmaları eşleşme sabitleriyle doğrulanırken aynı durum diğer türevlerin bazı maddelerinde görülmemiştir.

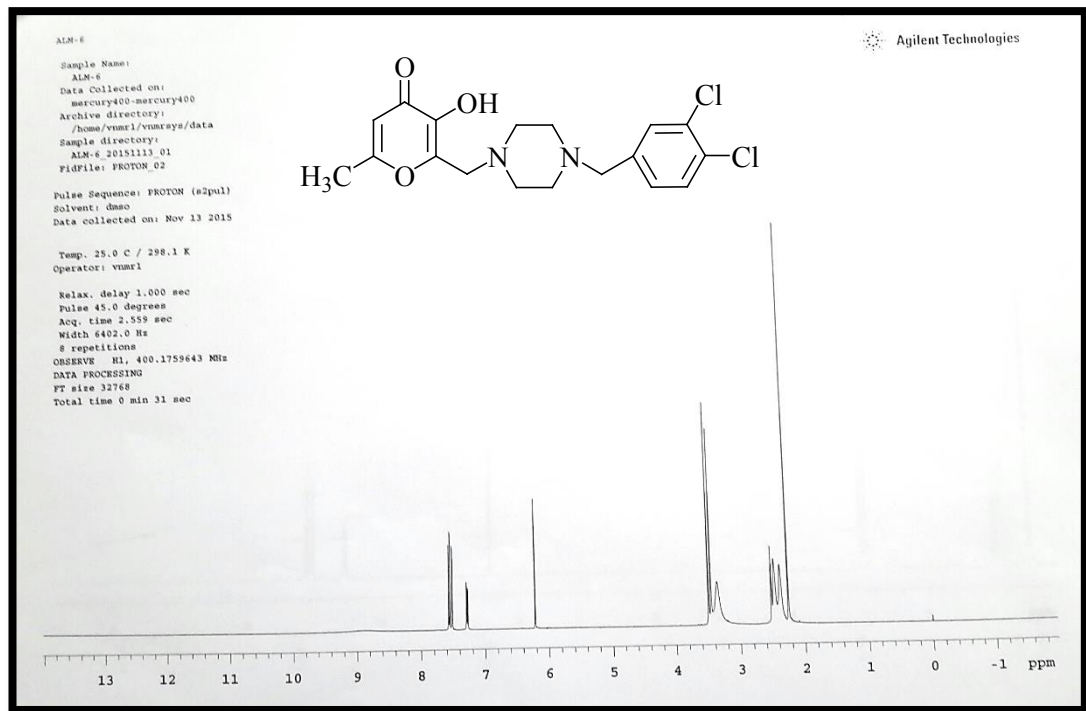
Bazı bileşiklerde (Bileşik **3**, **4**, **36** ve **46**) piron halkasının 3 numaralı konumundaki -OH grubuna ait proton 7,3 veya 8,9 ppm civarında yayvan bir pik şeklinde gözlenebilmiştir. Diğer bileşiklerde bu pikin görülmemesinin nedeni heteroatoma bağlı hidrojenlerin çözücüdeki dötoro atomla kolaylıkla değişebilir olmasıdır.

Mannich bazları olmaları açısından, 3,4-diklorobenzil piperazin yapısını ortak olarak içeren ve biyolojik aktivite bakımından önemli olan seriye (Bileşik **3**, **13**, **23**, **33**, **43** ve **53**) ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumları bu bölümde ayrıntılı olarak incelenecektir. Bileşik **13**'e ait spektrum tez çalışması öncesinde kaydedilmiş verilerdir (20).

Serideki tüm bileşiklerde sahip olunan hidrojen sayısı integral değerleriyle uyumlu bulunmuştur. Piranon halkasının 5 numaralı konumundaki karbona bağlı hidrojen sırasıyla 6,31; 6,22; 6,54; 6,48; 6,44 ve 6,42 ppm'de singlet olarak

gözlenmiştir. Sadece Bileşik **3** ve **13**'te pik veren 3 numaralı konumdaki –OH grubu ise sırasıyla 8,89-8,98 ve 9,0-9,20 aralığında yayvan singlet olarak görülmektedir. Tüm bileşiklerde ortak bulunan bir diğer grup ise Mannich reaksiyonuyla oluşturulan metilen köprüsü olup o da 3,43-3,49 değerleri arasında singlet şeklinde kaydedilmiştir. Piperazin ve fenil grupları arasındaki –CH<sub>2</sub>- ise daha düşük alana kaymakta ve 3,49-3,68 ppm'de görülmektedir. Bir diğer singlet metilen ise allomaltol türevleri hariç hepsinde görülen pironun 6 numaralı konumunda yer almaktadır. Burada takılan substituentin de farklı olmasından dolayı değerler 3,33 ile 4,65 ppm arasında değişmektedir.

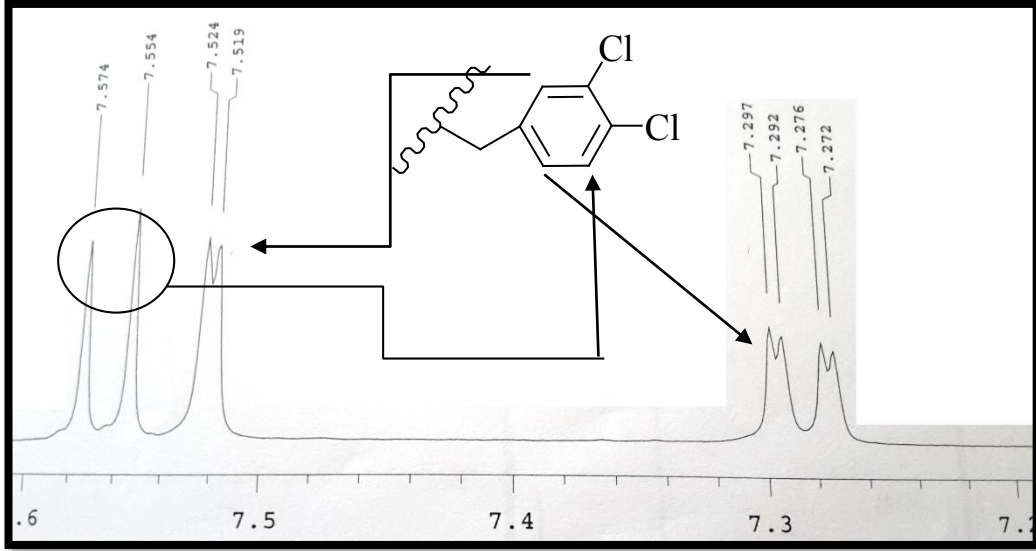
Piperazin halkalarının yarılmaması daha önce de belirtildiği gibi tam sağlanamamıştır. Allomaltol türevi olan Bileşik **23**'e ait spektrumda metil grubu 2,25 ppm'de 3H integralinde ve singlet olarak gözlenirken piperazine ait hidrojenler tam olarak yarılamadığından yayvan singlet olarak 2,37 ve 2,47 ppm'de görülmektedir. Çözücü olan dötoro DMSO'ya ait multipllet pik ise 2,5 ppm'de karşımıza çıkmaktadır.



**Şekil 5.7.** Bileşik **23**'ün DMSO-d<sub>6</sub> içinde alınan <sup>1</sup>H-NMR spektrumu.

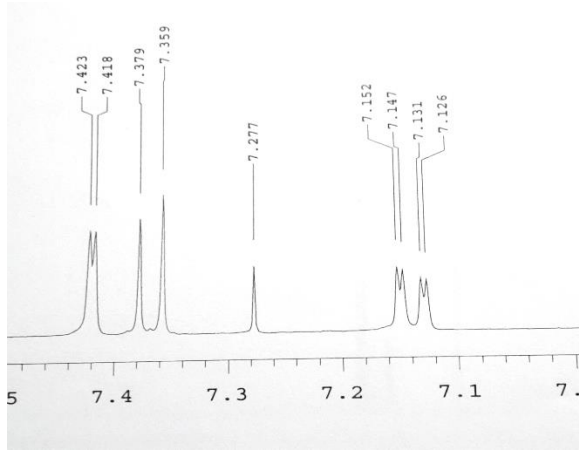
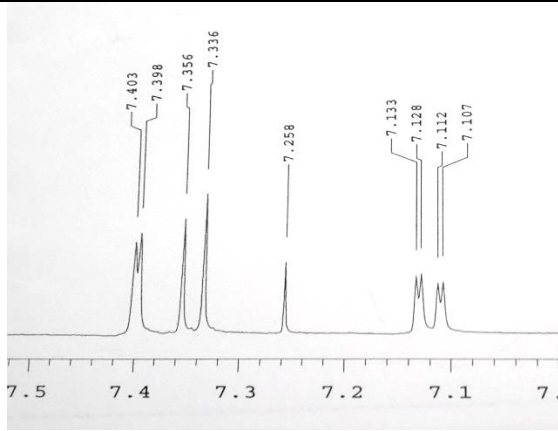
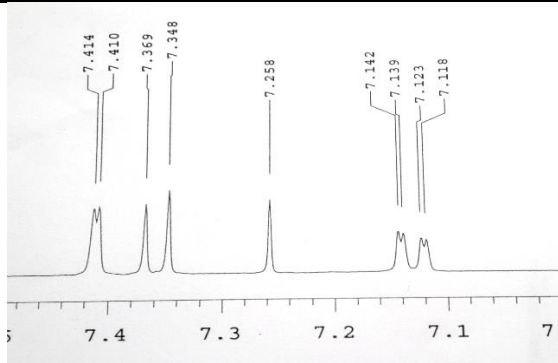
Fenil halkasında yer alan aromatik hidrojenleri incelediğimizde, 6 numaralı konumdaki karbona bağlı olan bir adet *orto* bir adet de *meta* komşuluğunda proton

bulduğundan dubletin dubleti olarak yarılmış ve 7,28 ppm'de pik vermiş, 2 numaradaki karbona bağlı olan ise *meta* komşuluğundaki protondan dolayı dublet pik vermiş ve eşleşme sabiti  $J$  değeri 2 Hz olarak kaydedilmiştir. 7,56 ppm'deki pik ise 5. konuma ait olup *orto* komşuluğundaki proton nedeniyle yine dublet ve  $J$  değeri 8 Hz'dir (Şekil 5.8.).



Şekil 5.8. Bileşik 23'ün fenil hidrojenlerine ait pikler ve yarılmaları.

Aynı serinin morfolin, piperidin ve pirolidin türevleri olan Bileşik 33, 43 ve 53'e ait spektrumlarında da paralel sonuçlar gözlenmiştir. Ancak fenil halkasındaki aromatik protonlarda allomaltol türevinden farklı olarak 2 ve 5 numaralı konumdaki protonların yeri değişmiştir. Yarılmalar ise aynı şekildedir. Ayrıca söz konusu spektrumlar dötoro kloroform içerisinde alındığından, aynı alanda her üç spektrumda da çözücü piki görülmektedir (Şekil 5.9.).

**Bileşik 33****Bileşik 43****Bileşik 53**

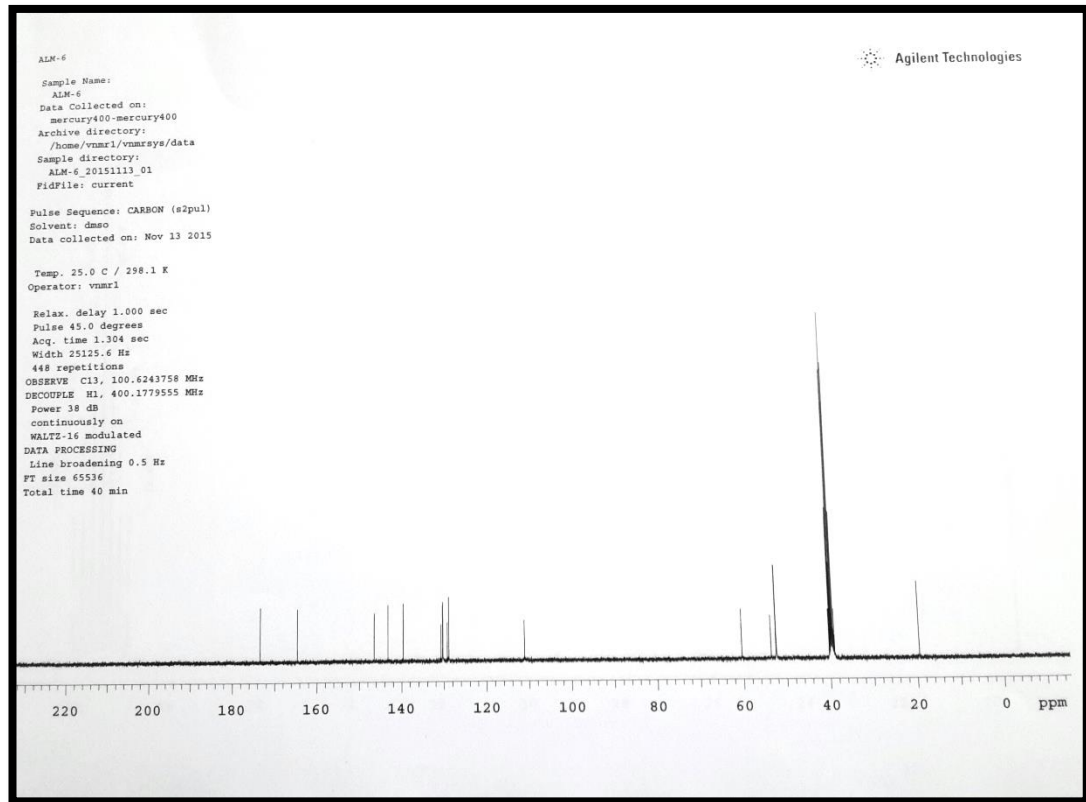
**Şekil 5.9.** Bileşik 33, 43 ve 53'e ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumlarındaki aromatik bölgeler.

### 5.2.3. <sup>13</sup>C-NMR Spektrumları

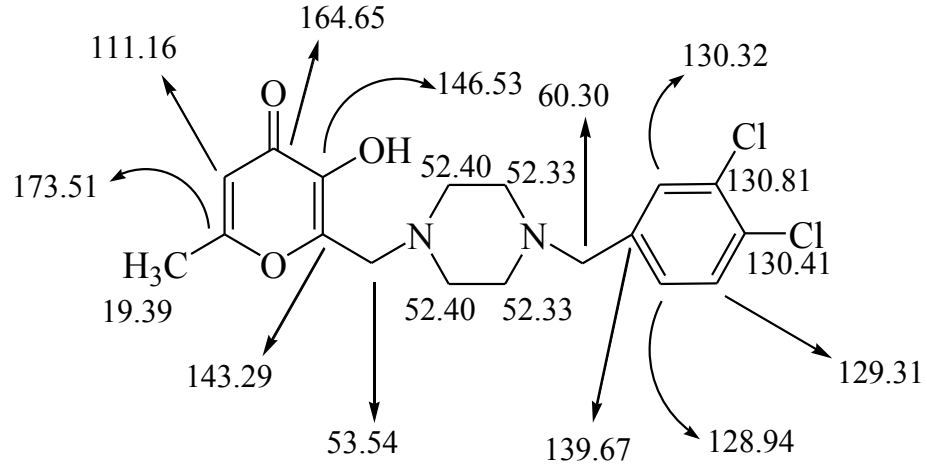
Sentezlenen bileşiklerdeki karbon iskeletini tanımaya yönelik olarak tüm bileşiklerin DMSO-d<sub>6</sub> ve CDCl<sub>3</sub> içinde alınan <sup>13</sup>C-NMR spektrumları “proton decoupled” (proton eşleşmemiş) yöntemiyle alınmıştır. Ancak bazı bileşikler,

kendileri de birer aktif çekirdek olan flor atomu içerdiğinden bu bileşiklere ait spektrumları yorumlanamamıştır.

Spektrumlarını incelediğimiz 3,4-diklorobenzil piperazin türevlerinden, allomaltolden hareketle sentezlenen Bileşik **23**'ün  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumunda pironon halkasının 2 numaralı konumundaki karbona bağlı ve yapıdaki tek  $-\text{CH}_3$  karbonu 19,39 ppm'de gözlenmiştir. Mannich reaksiyonuyla oluşturulan metilen grupları ile piperazinin ve benzilin yapısındaki metilen grupları ise 52,33-60,30 ppm aralığında kaydedilmiştir. Piron halkasının 3 numaralı konumundaki karbon 111,16 ppm'de pik verirken fenil halkasındakiler 128,94 ile 139,67 ppm aralığında görülmektedir. Piron halkasının 5 ve 6 numaralı konumundaki karbonlara ait pikler ise sırasıyla 146,53 ve 143,29 ppm'de gözlenmiştir. Piron halkasındaki keton grubunun karbonu olan 4 numaralı karbon ise 164,65 ppm'de, son olarak da 2 numaralı konumdaki karbon 173,51 ppm'de pik vermiştir. Çözücüye ait pik ise 39,5 ppm de güçlü bir multipllet olarak görülmektedir (Şekil 5.10. ve 5.11.).



Şekil 5.10. Bileşik **23**'ün DMSO- $d_6$  içinde alınan  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu.



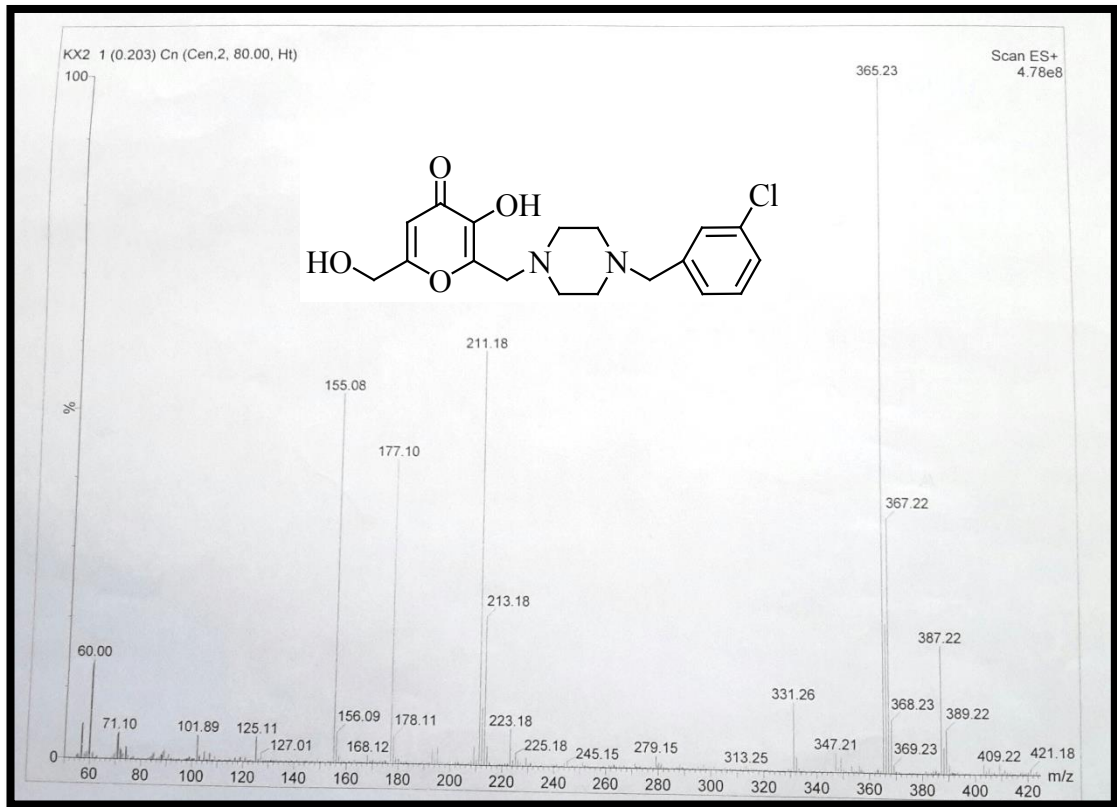
**Şekil 5.11.** Bileşik 23'ün DMSO-d<sub>6</sub> içinde alınan  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumundaki kimyasal kayma değerleri.

#### 5.2.4. Kütle Spektrumları

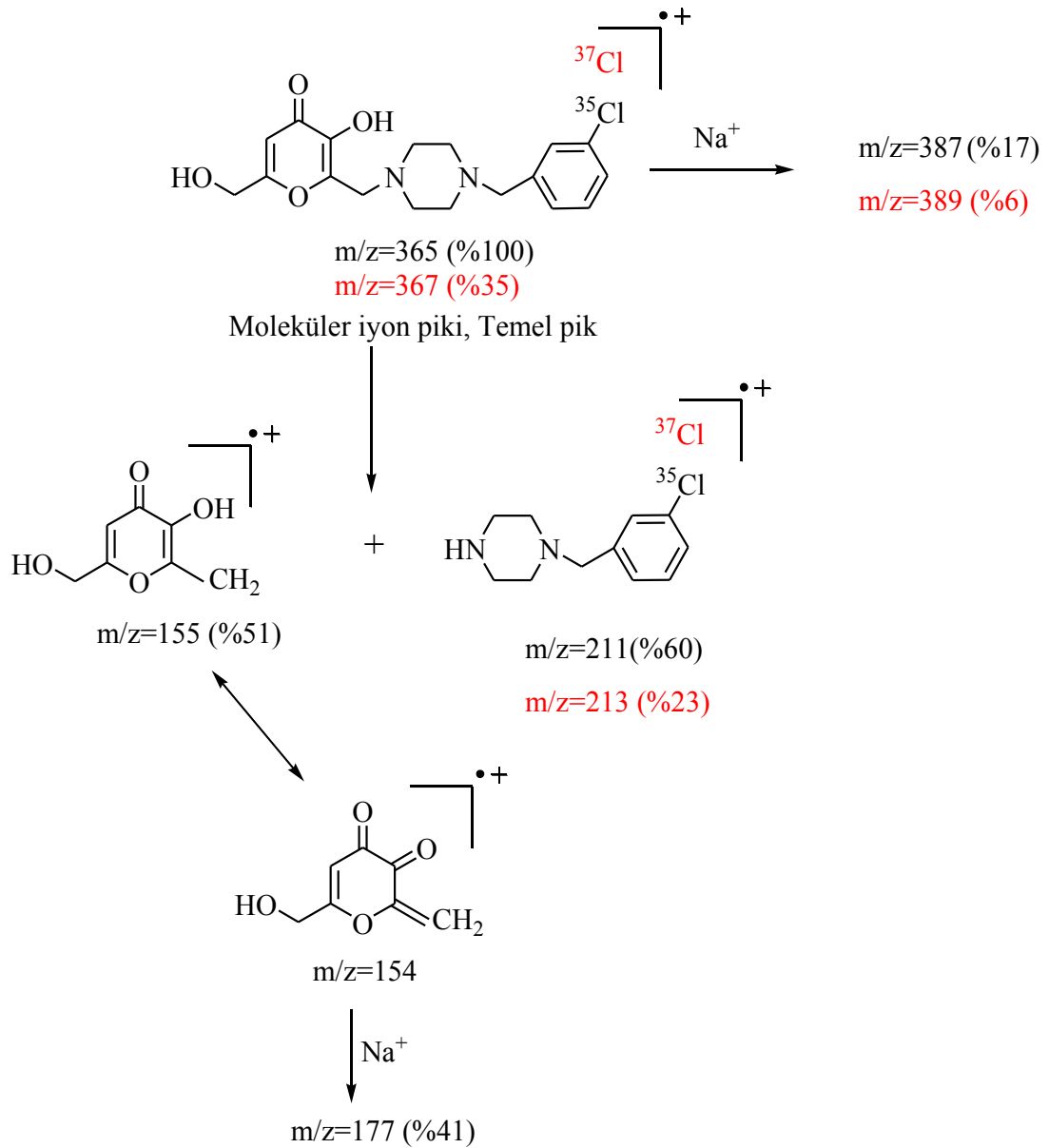
Sentezlenen bileşiklerin yapılarının Elektrosprey İyonizasyon (ESI) tekniği ile metanolde çözülerek spektrumları alınması sonucu moleküler iyon pikleri saptanmıştır. Bu yöntem, polar ve uçucu olmayan bileşikler için ideal olup özellikle buharlaştırılması ve iyonlaştırılması zor olan protein, peptit, nükleik asit ve ilaç molekülleri gibi büyük yapıların tayininde tercih edilmektedir.

3-Klorobenzil piperazin substitüeni taşıyan kojik asit türevi Mannich bazı olan Bileşik 1'in kütle spektrumu incelendiğinde m/z 365 olan (M+H)<sup>+</sup> pikinin aynı zamanda temel pik olduğu görülmektedir. 367'deki pikin ise yapıdaki  $^{37}\text{Cl}$  izotopundan kaynaklanan ve temel pikin üçte bir şiddetindeki pik mevcuttur. Spektrum aşağıda olup (Şekil 5.10.), öngörülen parçalanma ürünleri ise şekilde yer almaktadır (Şekil 5.11.). Ürünlerin bazılarında analiz sırasında cihazdan kaynaklanan Na<sup>+</sup> pikleri mevcuttur.





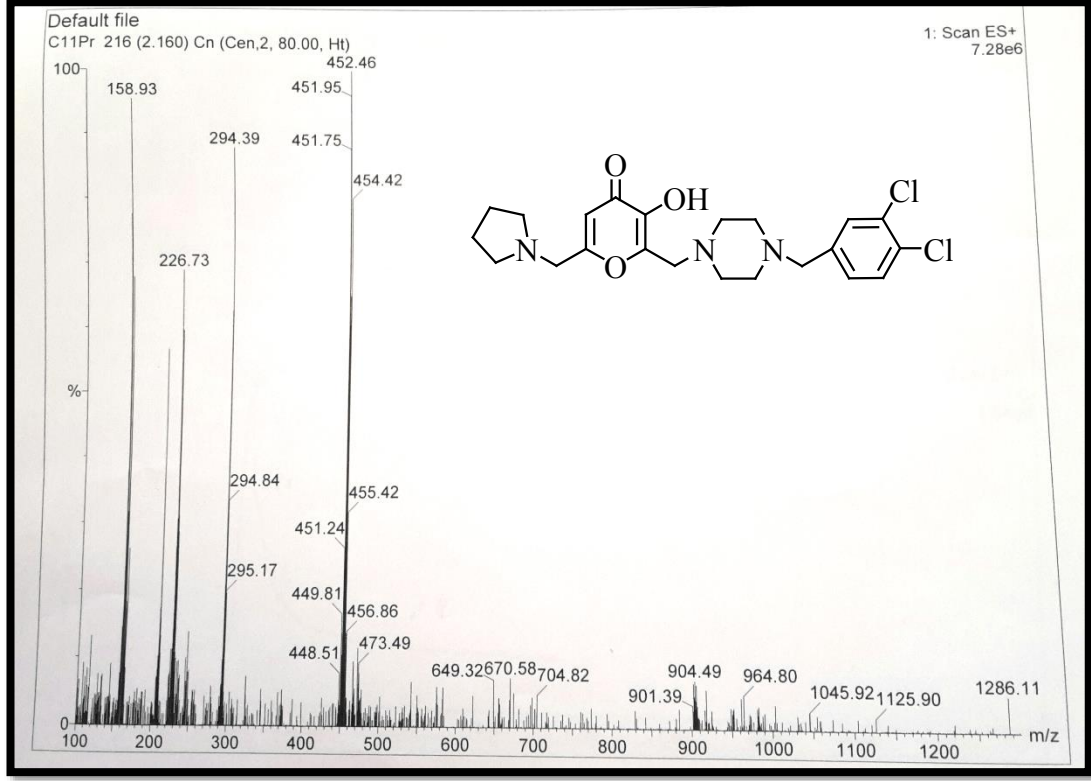
Şekil 5.12. Bileşik 1'in ESI-MS tekniği ile alınan kütle spektrumu.



**Şekil 5.13.** Bileşik **1**'in ESI-MS kütle spektrumunda öngörülen parçalanma ürünleri.

Yapısında 3,4-diklorobenzil piperazin taşıyan Bileşik **23**'ün kütle spektrumunda ise  $m/z$  248, 383 ve 385'te pikler görülmektedir (Şekil 5.14.). Molekül ağırlığı 383 g/mol olan bileşiğin spektrumunda temel pik  $m/z$  383'te gözlenen pik olup izotop piki olan 385'in bağıl bolluk oranı da %73 olarak hesaplanmıştır. Bu serinin piperidin taşıyan türevi olan Bileşik **53**'te ise moleküler iyon piki olan temel pik  $m/z$  452 olarak gözlenmektedir. Bir bileşikte birden fazla klor atomu olduğunda izotop piklerinin bağıl bolluklarının  $(a+b)^n$  formülüyle bulunduğu bilinmektedir. Klor için

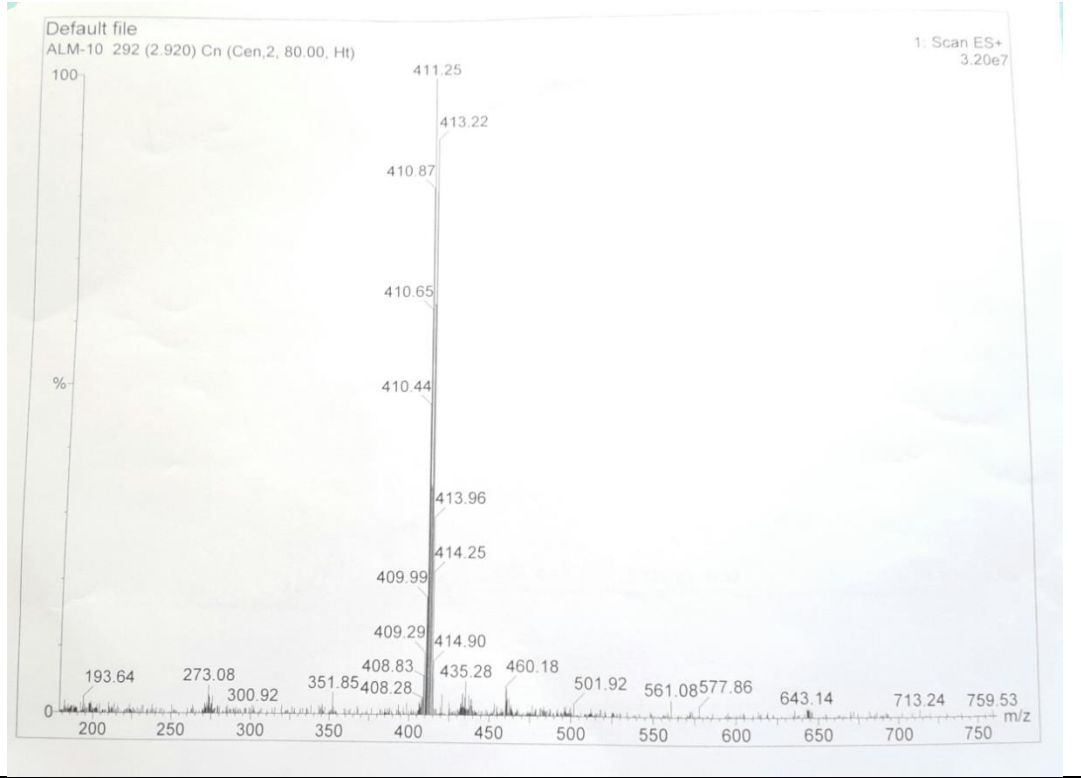
$a=3$ ,  $b=1$  ve bu bileşikte  $n=2$ 'dir. Dolayısıyla  $(a+b)^2=a^2+2ab+b^2$  denklemine göre  $(M)^+$ ,  $(M+2)^+$  ve  $(M+4)^+$  piklerinin bağıl bollukları oranı sırasıyla 9:6:1'dir.



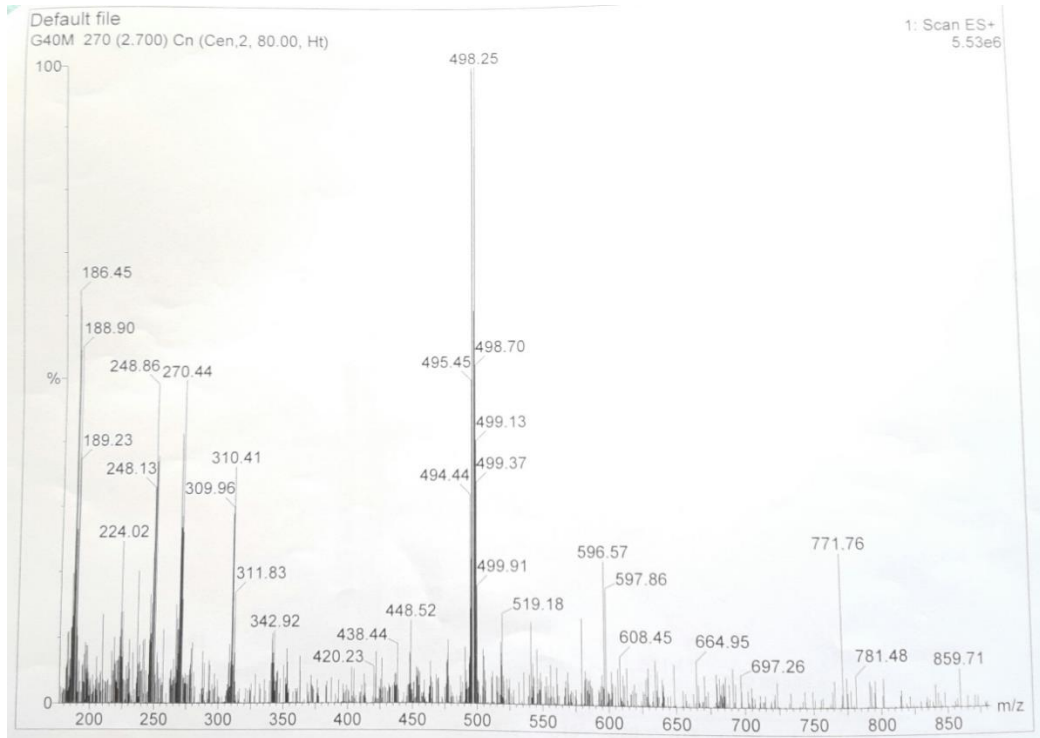
**Şekil 5.14.** Bileşik 53'ün ESI-MS tekniği ile alınan kütle spektrumu.

Allomaltol türevi Mannich bazlarından Bileşik 30, 2-floro-4-bromobenzil substitüenti taşıdığından kütle spektrumunda Br atomuna ait izotop piklerinin gözleendiği diğer maddelerden biridir. Doğada brom atomunun  $^{79}\text{Br}$  ve  $^{81}\text{Br}$  olmak üzere iki adet stabil izotopu mevcuttur ve bunların sırasıyla bağıl bollukları %50,69 ve %49,81 olarak bilinmektedir. Dolayısıyla spektrumda gözlenen piklerin şiddetleri yaklaşık olarak aynı görünmektedir. Morfolin türevi olan Bileşik 40'ta ise şiddetli moleküler iyon pikinin yanı sıra 2-floro-4-bromobenzil grubunun ayrılmasıyla oluşan  $m/z=186$  piki ve izotoplarını içeren  $m/z=188$  piki de gözlenmektedir (Şekil 5.13.).

### Bileşik 30



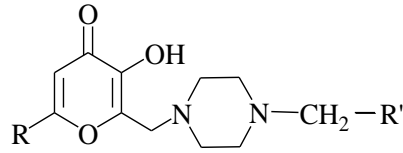
### Bileşik 40



Şekil 5.15. Bileşik 30 ve 40'nun ESI-MS tekniği ile alınan kütle spektrumları.

### 5.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Hiperpigmentasyon, tirozinaz enziminin aşırı melanin üretmesinden kaynaklanan bir olgudur. Melanin her ne kadar canlılarda UV ışımaya karşı koruyuculuk sağlasa da bu pigmentin aşırı üretimi ve birikmesi ciltte yaşlanma lekelerine ve melazmaya yol açarken, gıdalarda rengin koyulaşıp kalitenin düşmesine neden olmaktadır. Bu sebeple gıda ve kozmetik endüstrisinde melanin üretimini azaltan tirozinaz enzimi inhibitörleri yoğun ilgi çekmektedir. Kojik asit, tirozinaz inhibitörü özelliğinden dolayı özellikle kozmetikte beyazlatıcı kremlerin formülasyonlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak yüksek dozda toksik özellik göstermesi ve stabilite problemlerinden dolayı yeni moleküllerin sentezine ihtiyaç duyulmaktadır.



**Şekil 5.16.** Tez kapsamındaki bileşiklerin genel yapısı.

Tez kapsamında R' grubu olarak on farklı substitüe halojen grubu taşıyan fenil türevi kullanılmıştır. Çalışmada R grubu, morfolinometil, piperidinometil ve pirolidinometil olarak tasarlanmıştır. Ayrıca, yapı etki ilişkilerini incelemek açısından tez kapsamında hidroksimetil, klorometil, metil yapısı taşıyan Mannich bazları da çalışmaya eklenmiştir. Tablo 5.1.de yapısı verilen altmış adet Mannich bileşiğinin hem mantar tirozinaz enzim inhibisyonu hem de sitotoksosite çalışmaları tamamlanmıştır. Sitotoksosite çalışmaları A375 malign melanom, sağlıklı hücre modeli olarak da HGF-1 insan gingival fibroblast ve MRC-5 akciğer fibroblast hücre hatlarında artan dozlarda 6,25-150 µM doz aralığında çalışılmıştır. Etkili olduğu belirlenen bileşiklerin hücre üzerine farklı dozlardaki fenotipik etkileri, morfolojik değişimleri mikroskop altında hücre bütünlüğü gözetilerek incelenmiştir. A375 ve HGF-1 mikroskop görüntüleri birbirleriyle kıyaslanmıştır. Sentezlenen bileşiklerin sitotoksosite çalışmaları için hücrenin oksidatif kapasitesini ölçmeyi esas alan MTT testi yerine maddelerle birleştiğinde kompleks oluşturmayacak ve canlı hücrelerin proteinlerini gerçek zamanlı ölçmeyi hedefleyen SRB yöntemi modifiye edilerek deneylerde

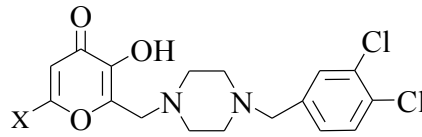
kullanılmıştır. Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) 2008 yılından bu yana SRB yöntemini sitotoksosite tarama testlerinin validasyon yöntemi olarak kabul etmiştir. Sitotoksosite testi sonucunda hesaplanan IC<sub>50</sub> değerlerinin mikroskop görüntüleri ile paralel ve tutarlı olduğu saptanmıştır. Standart ilaç olarak melanoma tedavisinin farklı evrelerinde tekli veya kombine olarak uygulanan vemurafenib, dakarbazin, temozolomid, lenalidomid ve fotemustin kullanılmıştır. Ayrıca, melanom hücre hattına karşı etkin olan bazı bileşiklerin yine A375 malign melanom hücrelerindeki melanin içeriklerine etkisi Huang ve ark. nın geliştirdiği yöntem kullanılarak *in vitro* ölçülmüştür (194). Bu çalışmada tercih ettiğimiz insan A375 amelanositik melanoma hücreleri melanogenez içeriğini belirlemek için uygun bir modeldir. Bileşiklerin hem antitirozinaz hem de sitotoksik aktivite gösterenleri, A375 hücresinde uygulanarak melanogenez yolağına etkisi saptanmıştır.

Mantar kaynaklı tirozinaz enziminin inhibisyonunun incelenmesinde kojik asit standart bileşik olarak kullanılmıştır. Tirozinaz enzim inhibisyonları ise L-DOPA'nın substrat olarak kullanıldığı spektrofotometrik yöntemle tayin edilmiştir. Elde edilen inhibisyon yüzdeleri nonlineer regresyon yöntemiyle istatistik ve çizim programı GraphPad Prism 5.03 kullanılarak çizilmiş, standart sapmaları ve IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanmıştır. Tablo 4.1.'de etkin tirozinaz inhibisyonu yapan bazı Mannich bazları ile birlikte klorokojik asit ve allomaltolün L-DOPA'ya karşı 44 ila 2000 µM doz aralığındaki 492 nm'de görülen absorbans değerleri gösterilmiştir. Bu değerler esas alınarak her bir doza karşılık gelen %inhibisyon değerleri saptanmıştır. Bileşiklerin mantar tirozinaz enzim inhibisyonu IC<sub>50</sub> değerleri Tablo 4.2.'de topluca verilmiştir.

Kojik asitin IC<sub>50</sub> değeri 418,2 µM iken en yüksek inhibisyona sahip Bileşik 3 (3-hidroksi-2-(3,4-diklorobenzilpiperazinmetil)-6-hidroksimetil-piran-4H-on)'in IC<sub>50</sub> değeri 86,15 µM dir (Tablo 4.2.). Daha önceki tirozinaz inhibisyonu çalışmalarımızda Bileşik 3'ün yüksek aktiviteye sahip olduğu saptanmış ve Türk Patent Enstitüsü ve Uluslararası Patente başvuru yapılmıştır.

Tez içeriğinde bu Mannich bazının 6 numaradaki konumunda bulunan hidroksilmetil grubunun yerine siklik amino taşıyan morfolin (Bileşik 31-40), piperidin (Bileşik 41-50) ve pirolidin (Bileşik 51-60) gibi siklik halkalar getirilerek aktivite üzerindeki rolü araştırılmıştır. Ancak sentezlenen otuz yeni bileşikte (Bileşik 31-60) Bileşik 3'ten daha düşük tirozinaz inhibisyonu göstermiştir. Tez kapsamında

yeni sentezlenen kırk sekiz bileşik içerisinde de Bileşik **3** kadar etkin inhibisyon yapan bileşik saptanamamıştır. Bununla birlikte, ilk beş sırada 3,4-diklorobenzilpiperazin yapısı taşıyan Bileşik **3**, **23**, **43** ve **53** en yüksek inhibisyon değerlerine sahip olması, Mannich bazı yapısında bulunun 3,4-diklorobenzilpiperazin grubunun aktivite üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Bu dört bileşik hem başlangıç bileşiği hem de referans bileşik olan kojik asitten ( $IC_{50}$ : 418,2  $\mu$ M) yüksek inhibisyon değerlerine sahiptirler. Buna rağmen morfolinometil taşıyan Bileşik **33** ise çok düşük bir inhibisyon gözlenmiştir.

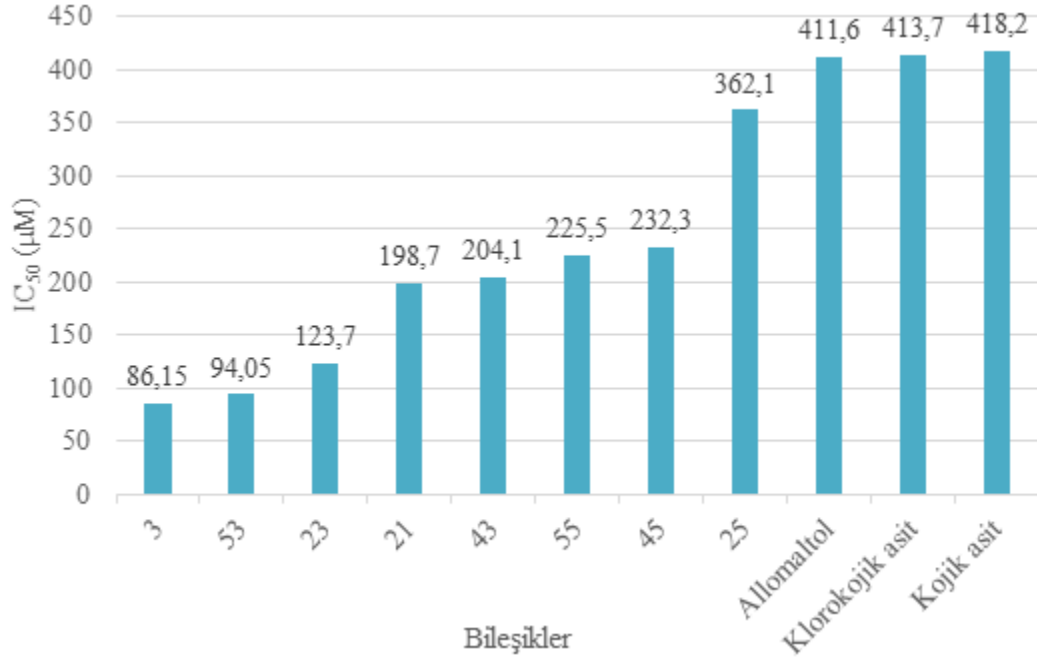


X	Bileşik
hidroksimetil	<b>3</b>
metil	<b>23</b>
piperidinilmetil	<b>43</b>
pirolidinil	<b>53</b>

**Şekil 5.17.** Tirozinaz inhibisyonunda en aktif bileşikler.

Bileşik **21** (2-((4-(3-klorobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-metil-4H-piran-4-on), Bileşik **55** (2-((4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(pirolidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on), Bileşik **45** (2-((4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-(piperidin-1-ilmetil)-4H-piran-4-on), ve Bileşik **25** (2-((4-(4-florobenzil)piperazin-1-il)metil)-3-hidroksi-6-metil-4H-piran-4-on) sırasıyla  $IC_{50}$  değeri 198,7  $\mu$ M, 225,5  $\mu$ M, 232,3  $\mu$ M, ve 362,1  $\mu$ M dir (Tablo 4.2.). Bu dört bileşik de başlangıç bileşikleri olan kojik asit, klorokojik asit ( $IC_{50}$ : 413,7  $\mu$ M) ve allomaltolden ( $IC_{50}$ : 411,6  $\mu$ M) daha yüksek inhibisyon göstermiştir. Başlangıç maddelerinin tirozinaz enzim inhibisyonları birbirine çok yakın iken yapıya Mannich reaksiyonu ile eklenen 3,4-dikloro ve 4-floro benzilpiperazin yapısı taşıyan bileşikler ile inhibisyon artmıştır. Sonuç olarak; 3,4-dikloro ve 4-floro benzilpiperazin yapısı taşıyan bileşikler en yüksek inhibisyondan düşüğe doğru sırasıyla Bileşik **3**, **53**, **23**, **21**, **43**, **55**, **45** ve **25**, referans bileşikten bile aktif olarak bu serinin en yüksek mantar tirozinaz enzim inhibisyonunu göstermiştir (Şekil 5.18.). Morfolin halkası taşıyan

Bileşik **33** ve **35**'de beklenen inhibisyon göstermediğinden bu yapının aktivite üzerine olumsuz etkisinden bahsedilebilir. Bu çalışmada sekiz adet Mannich bazının mantar tirozinazına karşı göstermiş olduğu yüksek inhibisyon değerleri, ümit vericidir.



**Şekil 5.18.** Sentezlenen bileşiklerin mantar tirozinaz enzim inhibisyonu IC<sub>50</sub> değerlerinin grafikte gösterimi (µM).

Tez kapsamında gerçekleştirilen sitotoksosite çalışmalarında, her biri insan kaynaklı olan A375 malign melanoma hücre hattı, HGF-1 gingival fibroblast hücre hattı ve MRC-5 akciğer kaynaklı fibroblast hücre hattı ATCC'den kullanılmıştır. Kırk sekizi orijinal bileşik olmak üzere toplam altmış adet Mannich bazının A375 hücrelerindeki sitotoksitesini çalışılmıştır. Melanom hücresi üzerinde en yüksek sitotoksik etki gösteren yirmi beş bileşik, sağlıklı insan hücre hatları olan HGF-1 ve MRC-5 üzerinde, test edilen bileşiklerin sağlıklı hücreye olan etkilerini değerlendirmek amacıyla denenmiştir. Piyasada malign melanom tedavisinde kullanılan vemurafenib, dakarbazin, temozolomid, lenalidomid ve fotemustin kontrol ilaç olarak kullanılmıştır. Dozlar 150 µM'dan başlayarak besiyerinde seyreltme yoluyla sırasıyla 100, 75, 50, 25, 12,5 ve 6,25 µM konsantrasyonlarda çalışılmıştır. Bileşiklerin 3 ayrı hücre hattına olan sitotoksitesini SRB testi aracılığıyla belirlenmiştir. Bu test, hücrel protein içeriğini kolorimetrik olarak belirleyip ölçmek esasına dayanmaktadır. Diğer sitotoksosite testlerinden farklı olarak elektrokimyasal



potansiyel üzerinden değil de canlı hücrelerdeki protein içeriği üzerinden ölçüm yapmasından dolayı elde edilen sonuçlar canlılık ile doğrusal, tekrarlanabilir ve geniş ölçekli ilaç taramalarına uygundur. Bu nedenle NCI, yüksek işlem hacimli maddelerin taramasında SRB testini standart protokol olarak kullanmaktadır. Bileşiklerin A375 hücrelerine karşı sitotoksosite IC<sub>50</sub> değerleri (µM) Tablo 4.3.'de topluca verilmiştir. Bileşiklerin sitotoksitesinin belirlenmesinin yanı sıra hücrelerin morfolojisi üzerinde yapmış oldukları değişiklikler de ışık mikroskobu ile her dozda incelenmiş ve etkileri kaydedilmiştir. Yirmi dört adet Mannich bazı, başlangıç bileşiklerinden (kojik asit, klorokojik asit ve allomaltolden), ayrıca vemurafenib hariç denenen tüm kontrol ilaçlarından da düşük dozlarda A375 malign melanom hücre hattına sitotoksik iken, HGF-1 ve MRC-5'ye karşı yüksek dozlarda sitotoksosite göstermektedir (Tablo 4.4). Örneğin; Bileşik **43** A375 hücrelerine uygulandığında IC<sub>50</sub> değeri 19,4 µM iken HGF-1 hücrelerinde bu değer 487,9 µM'dır; söz konusu bileşik sağlıklı hücrelerde ancak 25,1 kat daha fazla uygulandığında hücrelerin %50 sini öldürmektedir. Bu bulgu mikroskop görüntüsü (Şekil 4.11. ve Şekil 4.12.) ile paraleldir. Bileşik **43** ile vemurafenibin (Şekil 4.6.) mikroskop görüntüleri kıyaslandığında daha düşük doz uygulamasında hücrenin bütünlüğünün kaybolduğu buna karşılık aynı dozlarda Bileşik **43**'ün özellikle sağlıklı HGF-1 hücrelerinde hücre morfolojisini (Şekil 4.12.) bozmadığı gözlenmiştir.

Vemurafenib, bir protoonkogen olan B-raf enziminin inhibitörüdür ve geç evre melanomların tedavisinde kullanılmaktadır. B-raf, hücre büyümesi ile doğrudan ilişkili olan bir sinyal iletimi proteindir ve aralarında malign melanomun da olduğu birçok kanserde mutasyona uğramış halde bulunmaktadır. Sinyal iletimi bozulmuş olan hücreler sürekli büyümekte, bölünmekte ve böylelikle kanser başta olmak üzere patolojik oluşumlar hızlanmaktadır. B-raf geninin 600 numaralı kodonunda oluşan mutasyon sonucunda valin, glutamat ile yer değiştirir. V600E olarak adlandırılan bu nokta mutasyon, bazı geç evre metastatik melanomların bir kısmında bulunur. Vemurafenib, V600E mutasyonu taşıyan melanomlarda etkili olması için tasarlanmış FDA onaylı bir ilaçtır. Bu çalışmada kullanılan A375 hücreleri V600E mutasyonunu taşımaktadır. Vemurafenib, V600E mutasyonunu taşımayan melanom hücrelerinde herhangi bir sitotoksik etki göstermediği gibi, aksine B-raf yolağını uyararak tümör büyümesine katkıda bulunmaktadır. Bu çalışmada tasarlanan bileşiklerin,

vemurafenibden daha az etkili ama daha yaygın olarak kullanılan dakarbazinden çok daha sitotoksik olması bu nedenle önemlidir. Yirmi dört adet bileşik, V600E mutasyonunu taşıyan geç evre metastatik melanom hücrelerinde, melanom tedavisinde kullanılan dört farklı ilaçtan daha aktif sonuç vermiştir. Ancak, sitotoksisite testlerinden de daha önemlisi, tasarlanan bu bileşiklerin sağlıklı hücrelerin morfolojisi üzerindeki etkileridir; yirmi dört bileşiğin on dört tanesi HGF-1 hücrelerinde vemurafenibden daha yüksek IC<sub>50</sub> değerine sahiptir. Bu bileşikler sırasıyla **13, 43, 14, 18, 11, 20, 17, 23, 32, 15, 52, 38, 60** ve **19**'dur. Bunun anlamı, bu bileşikler sağlıklı hücrelerde vemurafenibin yarattığı sitotoksisitenin çok altında hücrelere zarar vermektedirler. Diğer taraftan her ne kadar vemurafenibin IC<sub>50</sub> değeri 231,9 µM olsa da hücrelerin morfolojisi incelendiğinde sadece 50 µM'da hücrelerin membran bütünlüklerini kaybettikleri ve fibroblast karakteristiğinin bozulduğu gözlenmektedir. Oysa sunulan ışık mikroskopisi şekillerinde sırasıyla **13, 43, 14, 18, 53, 11, 20, 17, 3, 58** ve **23** numaralı bileşiklerin HGF-1 hücrelerinin morfolojisinde membran bütünlüğünü bozmadan IC<sub>50</sub> dozunda hücreleri öldürdükleri gözlemlenmiştir.

Mannich bazlarının, başlangıç bileşikleri olan kojik asit, klorokojik asit ve allomaltolden daha etkili oldukları saptanmıştır. Özellikle 3,4-diklorobenzilpiperazin yapısı taşıyan Bileşik **3, 13, 23, 43** ve **53**; referans bileşik dakarbazinden daha etkili bulunmuş ve çalışmada en aktif seri olarak saptanmıştır. Ayrıca bu serideki Bileşik **3, 53** ve **23**'ün mantar tirozinazına karşı yüksek inhibitör etkinliği de belirlenmiştir. Bu iki biyolojik etki arasında benzil piperazin grupları açısından sağlanan paralellik, 6 numaralı konumdaki substitüentlerde sağlanamamıştır.

Daha önce yüksek lisans tez çalışmasında sentezlemiş olduğumuz Bileşik **11, 14, 16-18** ve yayın haline getirilmiş bir çalışmamızda (20) yer alan klorokojik asit türevi Mannich bazları (Bileşik **13** ve **15**) da yapısal benzerlik bakımından yapı-etki ilişkisini yorumlamak amacıyla çalışmaya dahil edilmiştir. Bu bileşikler, A375 hücrelerine yüksek sitotoksisite gösterirken sağlıklı fibroblast hücresi olan HGF-1 ve MRC-5'ye karşı ancak yüksek dozlarda düşük sitotoksisite göstermiştir. Malign melanom tedavisinde en yaygın kullanılan kemoterapötiklerden olan dakarbazinden daha aktif çıkan bileşiklerden en güçlü aktiviteye sahip ilk beş bileşik ise sırasıyla Bileşik **13, 43, 14, 18** ve **53**'tür. Yeni sentezlenen türevlerden ayrıca Bileşik **20, 58, 48, 32, 50, 38, 60, 19, 8, 42** ve **40** dakarbazinden daha yüksek inhibisyon göstermiştir.

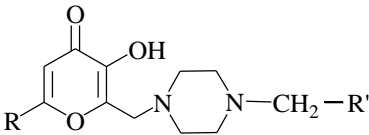
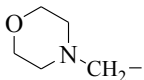
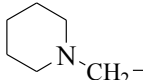
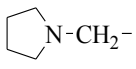
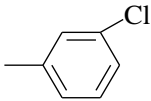
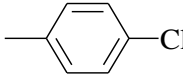
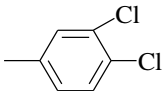
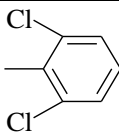

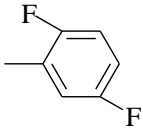
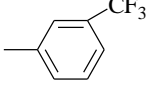
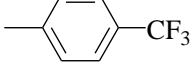
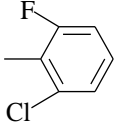
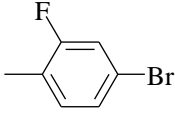
Bu sonuçlar ışığında devam etmekte olan melanogenez sonuçlarımız ile birlikte değerlendirerek yeni bir patent başvurusunun yapılması planlanmıştır.

Melanogenez sonuçları ile tüm deneyler değerlendirildiğinde bileşiklerin hem mantar tirozinazını hem de insan tirozinazını, dopamin yolağı ile inhibe ettiği gösterilmiştir. Özellikle Bileşik **3**, vemurafenib kadar melanogenezi inhibe etmiştir. Bileşik **13, 20, 23, 43, 53** ve **58** kontrol grubundan daha çok fakat vemurafemid kadar etkin inhibisyon göstermemiştir.

Özet olarak, Bileşik **3, 23, 13, 43, 53, 20** ve **58** mantar tirozinazını standart bileşik kojik asite kıyasla çok daha etkili inhibe etmektedir. Bu bileşikler, sağlıklı insan hücreleri olan HGF-1 ve MRC-5'ye karşı toksik değil iken A375 melanoma hücrelerine karşı sitotoksik etki göstermektedir. İlave olarak, söz konusu yedi bileşik A375 hücrelerinde melanogenez yolağını baskılamaktadır.

Elde edilen sonuçlar ışığında; gelecek çalışmalarımızdaki hedefimiz Vemurafenib sadece V600E mutasyonuna sahip melanoma hücrelerine etkin iken daha geniş spektrumlu farklı evrelerdeki malign melanom hücrelerini hedef alan bileşikleri sentezlemektir. Ayrıca, melanogenezi inhibe eden bu yedi bileşiğin etki mekanizmasının apoptoz üzerinden yürüyüp yürümediği, varsa apoptozun kaspaz enzimlerini inhibe edip etmediği, hücre profilasyonunu ve siklusunu baskılayıp baskılamadığı araştırılacaktır.

**Tablo 5.1.** Tez kapsamında sentezlenen bileşiklerin yapılarının ve numaralarının toplu gösterilişi.

						
<b>R</b>						
<b>R'</b>	-CH <sub>2</sub> OH	-CH <sub>2</sub> Cl	-CH <sub>3</sub>			
	<b>1</b>	<b>11</b>	<b>21</b>	<b>31</b>	<b>41</b>	<b>51</b>
	<b>2</b>	<b>12</b>	<b>22</b>	<b>32</b>	<b>42</b>	<b>52</b>
	<b>3</b>	<b>13</b>	<b>23</b>	<b>33</b>	<b>43</b>	<b>53</b>
	<b>4</b>	<b>14</b>	<b>24</b>	<b>34</b>	<b>44</b>	<b>54</b>
	<b>5</b>	<b>15</b>	<b>25</b>	<b>35</b>	<b>45</b>	<b>55</b>
	<b>6</b>	<b>16</b>	<b>26</b>	<b>36</b>	<b>46</b>	<b>56</b>
	<b>7</b>	<b>17</b>	<b>27</b>	<b>37</b>	<b>47</b>	<b>57</b>
	<b>8</b>	<b>18</b>	<b>28</b>	<b>38</b>	<b>48</b>	<b>58</b>
	<b>9</b>	<b>19</b>	<b>29</b>	<b>39</b>	<b>49</b>	<b>59</b>
	<b>10</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>40</b>	<b>50</b>	<b>60</b>

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Günümüzde, dünya çapında pek çok araştırmacı, yeni tirozinaz inhibitörlerini keşfetmek için birlikte çalışmalar yürütmektedir. Bu inhibitörlerin çoğunda yüksek toksisite, zayıf cilt penetrasyonu, formülasyonlarda düşük stabilite gibi çeşitli sınırlandırmalar karşımıza çıkmaktadır. Bundan dolayı, güçlü aktiviteye sahip, düşük yan etkili yeni ve güçlü inhibitörlerin keşfi çok önemlidir.

Kojik asit, tirozinaz inhibitörü özelliği iyi bilinen bir madde olup bu özelliğiyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, saklama süresindeki dayanıksızlığından dolayı kullanımını sınırlanmakta ve kozmetik endüstrisinde yeni tirozinaz inhibitörlerine ihtiyaç duyulmaktadır. İnsanların kullanımı için daha uygun tirozinaz inhibitörlerinin tasarlanmasında daha geniş çalışmalar gerekmektedir.

Kojik asitin sahip olduğu polifonksiyonel halkanın farklı reaktiviteleri bulunmaktadır. Bu çeşitlilik sayesinde aldol, Mannich, diazo eşleme, Claisen, konjugat katım gibi çok çeşitli reaksiyon türlerine katılmaktadır. Mannich reaksiyonları, Farmasötik Kimya'da özellikle azot içeren bileşiklerin yeniden yapılandırılmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca kojik asitin primer alkolik grubunda yürüyen halojenasyon ve redoks gibi tepkimeler sayesinde yeni maddelerin sentezlenmesi sağlanmaktadır. Kimyasal avantajlarının yanı sıra kojik asit ve türevlerinin çok çeşitli biyolojik aktiviteleri bilinmektedir. Güçlü biyolojik etkilere rağmen mevcut stabilite ve toksisite sorunlarından dolayı yeni türevlere ihtiyaç duyulduğundan dolayı daha etkili, güvenli ve dayanıklı moleküllerin ve komplekslerin sentezlenmesi için farmasötik kimyanın uzun zamandır çalışılan bir konusu haline gelmiştir. Antitirozinaz özelliği güçlü olan kojik asitin yapısı üzerinde yapılacak modifikasyonlar, özellikle daha üstün moleküller geliştirmek amacıyla izlenmesi gereken bir yoldur. Bu tez kapsamında elde edilen bilgiler ışığında, mantar ve insan tirozinazını yüksek aktivitelerle inhibe eden, A375 insan malign hücre hattına karşı melanom tedavisinde kullanılan dakarbazinden daha sitotoksik iken sağlıklı hücre hatlarına (HGF-1 ve MRC-5) karşı toksik etki göstermeyen bileşikler sentezlenmiştir.

Gelecek çalışmalarımızda daha geniş spektrumlu farklı evrelerdeki malign melanom hücrelerini hedef alan bileşiklerin sentezlenmesi ve yapı-etki ilişkileriyle birlikte moleküler mekanizmalarının aydınlatılması hedeflenmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Gupta AK, Gover MD, Nouri K, Taylor S. The treatment of melasma: A review of clinical trials. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2006;55(6):1048-65.
2. Kim Y-J, Uyama H. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: Structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2005;62(15):1707-23.
3. Sapkota K, Roh E, Lee E, Ha E-M, Yang J-H, Lee E-S, et al. Synthesis and anti-melanogenic activity of hydroxyphenyl benzyl ether analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2011;19(7):2168-75.
4. Briganti S, Camera E, Picardo M. Chemical and instrumental approaches to treat hyperpigmentation. *Pigment Cell Research*. 2003;16(2):101-10.
5. Urabe K, Nakayama J, Hori Y. Mixed epidermal and dermal hypermelanoses. *The Pigmentary System: Physiology and Pathophysiology*. 1998:909-11.
6. Curto EV, Kwong C, Hermersdörfer H, Glatt H, Santis C, Virador V, et al. Inhibitors of mammalian melanocyte tyrosinase: *In vitro* comparisons of alkyl esters of gentisic acid with other putative inhibitors. *Biochemical Pharmacology*. 1999;57(6):663-72.
7. Lacy KE, Karagiannis SN, Nestle FO. Advances in the treatment of melanoma. *Clinical Medicine*. 2012;12(2):168-71.
8. Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F, Amatruda T, Senzer N, Chesney J, et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2015;33(25):2780-8.
9. Burdock GA, Soni MG, Carabin IG. Evaluation of health aspects of kojic acid in food. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2001;33(1):80-101.
10. Chang T-S. An updated review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*. 2009;10(6):2440-75.
11. Parvez S, Kang M, Chung HS, Bae H. Naturally occurring tyrosinase inhibitors: Mechanism and applications in skin health, cosmetics and agriculture industries. *Phytotherapy Research*. 2007;21(9):805-16.
12. Seo S-Y, Sharma VK, Sharma N. Mushroom tyrosinase: Recent prospects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003;51(10):2837-53.
13. Cabanes J, Chazarra S, Garcia-Carmonia F. Kojic Acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1994;46(12):982-5.
14. Burnett CL, Bergfeld WF, Belsito DV, Hill RA, Klaassen CD, Liebler DC, et al. Final report of the safety assessment of kojic acid as used in cosmetics. *International Journal of Toxicology*. 2010;29(6\_suppl):244S-73S.
15. Bransová J, Brtko J, Uher M, Novotný L. Antileukemic activity of 4-pyranone derivatives. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 1995;27(7):701-6.

16. Beélik A. Kojic acid. *Advances in Carbohydrate Chemistry*. 1956;11:145-83.
17. Brtko J, Rondahl L, Fickova M, Hudecova D, Eybl V, Uher M. Kojic acid and its derivatives: History and present state of art. *Central European Journal of Public Health*. 2004;12(SUPP):S16-S7.
18. Aytemir MD, Çalış Ü, Özalp M. Synthesis and evaluation of anticonvulsant and antimicrobial activities of 3-hydroxy-6-methyl-2-substituted 4*H*-pyran-4-one derivatives. *Archiv der Pharmazie*. 2004;337(5):281-8.
19. Aytemir MD, Çalış Ü. Anticonvulsant and neurotoxicity evaluation of some novel kojic acids and allomaltol derivatives. *Archiv der Pharmazie*. 2010;343(3):173-81.
20. Aytemir MD, Özçelik B. A study of cytotoxicity of novel chlorokojic acid derivatives with their antimicrobial and antiviral activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010;45(9):4089-95.
21. Aytemir MD, Özçelik B. Synthesis and biological activities of new mannich bases of chlorokojic acid derivatives. *Medicinal Chemistry Research*. 2011;20(4):443-52.
22. Aytemir MD, Özçelik B, Karakaya G. Evaluation of bioactivities of chlorokojic acid derivatives against dermatophytes coupled with cytotoxicity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2013;23(12):3646-9.
23. Karakaya G, Aytemir MD, Özçelik B, Çalış Ü. Design, synthesis and *in vivo/in vitro* screening of novel chlorokojic acid derivatives. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2013;28(3):627-38.
24. Cheng S-L, Liu RH, Sheu J-N, Chen S-T, Sinchaikul S, Tsay GJ. Toxicogenomics of kojic acid on gene expression profiling of A375 human malignant melanoma cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2006;29(4):655-69.
25. Nawarak J, Huang-Liu R, Kao S-H, Liao H-H, Sinchaikul S, Chen S-T, et al. Proteomics analysis of kojic acid treated A375 human malignant melanoma cells. *Journal of Proteome Research*. 2008;7(9):3737-46.
26. Gül HI, Gül M, Vepsäläinen J, Erciyas E, Hänninen O. Cytotoxicity of some azines of acetophenone derived mono-mannich bases against Jurkat cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2003;26(5):631-7.
27. Roman G. Mannich bases in medicinal chemistry and drug design. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;89:743-816.
28. Gül HI, Das U, Pandit B, Li P-K. Evaluation of the cytotoxicity of some mono-mannich bases and their corresponding azine derivatives against androgen-independent prostate cancer cells. *Arzneimittelforschung*. 2006;56(12):850-5.
29. Küçükoğlu K, Gül M, Atalay M, Mete E, Kazaz C, Hanninen O, et al. Synthesis of some mannich bases with dimethylamine and their hydrazones and evaluation of their cytotoxicity against Jurkat cells. *Arzneimittelforschung*. 2011;61(06):366-71.

30. Mete E, Gül HI, Cetin-Atalay R, Das U, Şahin E, Gul M, et al. The design and cytotoxic evaluation of some 1-aryl-3-isopropylamino-1-propanone hydrochlorides towards human Huh-7 hepatoma cells. *Archiv der Pharmazie*. 2011;344(5):333-9.
31. Bilginer S, Gul HI, Mete E, Das U, Sakagami H, Umemura N, et al. 1-(3-Aminomethyl-4-hydroxyphenyl)-3-pyridinyl-2-propen-1-ones: A novel group of tumour-selective cytotoxins. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2013;28(5):974-80.
32. Küçükoğlu K, Mete E, Çetin-Atalay R, Gül HI. Synthesis of 3-aryl-4-aryl-1-isopropylamino-4-piperidinols and evaluation of the cytotoxicities of the compounds against human hepatoma and breast cancer cell lines. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2015;30(4):564-8.
33. Bala S, Sharma N, Kajal A, Kamboj S, Saini V. Mannich bases: An important pharmacophore in present scenario. *International Journal of Medicinal Chemistry*. 2014;2014.
34. Aytemir MD, Uzbay T, Erol DD. New 4 (1H)-pyridinone derivatives as analgesic agents. *Arzneimittelforschung*. 1999;49(03):250-4.
35. Aytemir MD, Hider RC, Erol DD, Özalp M, Ekizoğlu M. Synthesis of new antimicrobial agents; amide derivatives of pyranones and pyridinones. *Turkish Journal of Chemistry*. 2003;27(4):445-52.
36. Aytemir MD, Erol DD, Hider RC, Özalp M. Synthesis and evaluation of antimicrobial activity of new 3-hydroxy-6-methyl-4-oxo-4H-pyran-2-carboxamide derivatives. *Turkish Journal of Chemistry*. 2003;27(6):757-64.
37. Aytemir M, Çalış Ü. Synthesis of some new hydroxypyranone derivatives and evaluation of their anticonvulsant activities. *FABAD*. 2006;31:23-9.
38. Aytemir MD, Çalış Ü. Synthesis of some novel mannich bases derived from allomaltol and evaluation of their anticonvulsant activities. *Hacettepe University Journal of Faculty of Pharmacy*. 2007;27(1):1.
39. Aytemir MD, Septioğlu E, Çalış Ü. Synthesis and anticonvulsant activity of new kojic acid derivatives. *Arzneimittelforschung*. 2010;60(01):22-9.
40. Aytemir MD, Karakaya G, Özçelik B, editor Antidermatophytic and antimycobacterial activity of kojic acid derivatives with cytotoxicity evaluation. *EFMC-ISMC XXIII International Symposium on Medicinal Chemistry*; 2014; Lizbon, Portekiz.
41. Aytemir MD, Özçelik B, Orhan Erdoğan İ, Karakaya G, Şenol Sezer F, inventor Biyolojik etkili kojik asit türevi mannich bazları. Türk Patent:TR2015/07653-WO2016/209180, Uluslararası Patent:PCT/TR2016/000070. 2016.
42. Demiryürek G. Bazı hidroksipiron türevi mannich bazlarının tasarımı, sentezi ve biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi [Yüksek Lisans]. Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2010.



43. Berk B, Us D, Öktem S, Kocagöz ZT, Çağlayan B, Kurnaz IA, et al. Molecular modeling and antimycobacterial studies of mannich bases: 5-Hydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-ones. *Turkish Journal of Chemistry*. 2011;35(2):317-30.
44. Bentley R. From miso, sake and shoyu to cosmetics: A century of science for kojic acid. *Natural Product Reports*. 2006;23(6):1046-62.
45. Zirak M, Eftekhari-Sis B. Kojic acid in organic synthesis. *Turkish Journal of Chemistry*. 2015;39(3):439-96.
46. Joule JA, Mills K. *Heterocyclic Chemistry*: John Wiley & Sons; 2008.
47. Zborowski K, Gryboś R, Proniewicz LM. Determination of the most stable structures of selected hydroxypyrones and their cations and anions. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*. 2003;639(1):87-100.
48. Kim W-H, Choppin G-R. Kinetic studies of neptunium (VI) reduction reactions with kojic acid and tropolone. *Inorganic Chemistry*. 1988;27:2771-3.
49. Hassan R. Kinetics and mechanism of oxidation of kojic acid by permanganate ion in perchlorate media. *Acta chimica Hungarica*. 1992;129(5):661-9.
50. Petrola R. UV Absorption-spectra and acid strengths of kojic acid and its ring-substituted derivatives in aqueous-solution. *Finnish Chemical Letters*. 1985(5):201-6.
51. Naik DV. Interaction of kojic acid with gold (III) ions. *Analytica Chimica Acta*. 1979;106(1):147-50.
52. Heng K, Kei T, Singh K, Hairui L, Ai-Ling P, Lifeng K. *Handbook of cosmeceutical excipients and their safeties*: Elsevier; 2014.
53. Moggia F, Brisset H, Fages F, Chaix C, Mandrand B, Dias M, et al. Design, synthesis and redox properties of two ferrocene-containing iron chelators. *Tetrahedron letters*. 2006;47(20):3371-4.
54. Emami S, Hosseinimehr SJ, Taghdisi SM, Akhlaghpour S. Kojic acid and its manganese and zinc complexes as potential radioprotective agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2007;17(1):45-8.
55. Stenson AC, Cioffi EA. Speciation of M<sup>+</sup> 3-hydroxypyronone chelation complexes by electrospray ionization ion trap and Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2007;21(16):2594-600.
56. Katoh A, Matsumura Y, Yoshikawa Y, Yasui H, Sakurai H. Evaluation of insulin-mimetic activities of vanadyl and zinc (II) complexes from the viewpoint of heterocyclic bidentate ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2009;103(4):567-74.
57. Lokaj J, Kožišek J, Koreň B, Uher M, Vrabel V. Structure of kojic acid. *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*. 1991;47(1):193-4.
58. Ellis BL, Duhme AK, Hider RC, Hossain MB, Rizvi S, van der Helm D. Synthesis, physicochemical properties, and biological evaluation of

- hydroxypyranones and hydroxypyridinones: Novel bidentate ligands for cell-labeling. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1996;39(19):3659-70.
59. Öztürk G, Erol DD, Aytemir MD, Uzbay T. New analgesic and antiinflammatory agents 4(1*H*)-pyridinone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2002;37(10):829-34.
  60. Öztürk G, Erol DD, Uzbay T, Aytemir MD. Synthesis of 4 (1*H*)-pyridinone derivatives and investigation of analgesic and antiinflammatory activities. *Il Farmaco*. 2001;56(4):251-6.
  61. Nurchi VM, Crisponi G, Arca M, Crespo-Alonso M, Lachowicz JI, Mansoori D, et al. A new bis-3-hydroxy-4-pyrone as a potential therapeutic iron chelating agent. Effect of connecting and side chains on the complex structures and metal ion selectivity. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2014;141:132-43.
  62. O'Brien G, Patterson J, Meadow J. Amino acid derivatives of kojic acid. *The Journal of Organic Chemistry*. 1962;27(5):1711-4.
  63. O'Brien G, Patterson J, Meadow J. Amino derivatives of kojic acid. *The Journal of Organic Chemistry*. 1960;25(1):86-9.
  64. Yang C-T, Sreerama SG, Hsieh W-Y, Liu S. Synthesis and characterization of a novel macrocyclic chelator with 3-hydroxy-4-pyrone chelating arms and its complexes with medicinally important metals. *Inorganic Chemistry*. 2008;47(7):2719-27.
  65. Woods L. The Hydroxymethylation of kojic acid. *Journal of the American Chemical Society*. 1950;72(9):4322-.
  66. Ochiai B, Kamiya M, Endo T. Synthesis and Fe (III)-complexation ability of polyurethane bearing kojic acid skeleton in the main chain prepared by polyaddition of aliphatic hydroxyl groups without protection of phenolic hydroxyl groups. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 2012;50(17):3493-8.
  67. Sharma DK, Singh B, Mukherjee D. Aldol reaction of kojic acid using alumina supported base catalyst and enzymatic resolution of the aldol adduct by CALB. *Tetrahedron Letters*. 2014;55(42):5846-50.
  68. Sharma DK, Pandey J, Tamrakar AK, Mukherjee D. Synthesis of heteroaryl/aryl kojic acid conjugates as stimulators of glucose uptake by GLUT4 translocation. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014;85:727-36.
  69. Patel MK, Fox R, Taylor PD. Directed aminomethylation of 3-hydroxy-2(1*H*)-pyridinones and 3-hydroxy-4(1*H*)-pyridinones: Synthesis of iso-deferiprone. *Tetrahedron*. 1996;52(5):1835-40.
  70. O'Malley MM, Damkaci F, Kelly TR. Synthesis of pterocellin A. *Organic Letters*. 2006;8(12):2651-2.
  71. Massa MA, Patt WC, Ahn K, Sisneros AM, Herman SB, Doherty A. Synthesis of novel substituted pyridines as inhibitors of endothelin converting enzyme-1 (ECE-1). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 1998;8(16):2117-22.

72. Storr T, Mitchell D, Buglyó P, Thompson KH, Yuen VG, McNeill JH, et al. Vanadyl–Thiazolidinedione combination agents for diabetes therapy. *Bioconjugate Chemistry*. 2003;14(1):212-21.
73. Sakurai H, Katoh A, Kiss T, Jakusch T, Hattori M. Metallo–allixinate complexes with anti-diabetic and anti-metabolic syndrome activities. *Metallomics*. 2010;2(10):670-82.
74. Lovell S, Subramony P, Kahr B. Poppy acid: Synthesis and crystal chemistry. *Journal of the American Chemical Society*. 1999;121(30):7020-5.
75. Wang J, Zhang Q, Zhang H, Feng Y, Yuan W, Zhang X. Organocatalytic enantioselective Michael addition of a kojic acid derivative to nitro olefins. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2012;10(15):2950-4.
76. Reddy BS, Reddy SM, Swain M, Dudem S, Kalivendi SV, Reddy CS. Enantioselective 1, 4-addition of kojic acid derivatives to  $\beta$ -nitroolefins catalyzed by a cinchonine derived sugar thiourea. *RSC Advances*. 2014;4(18):9107-11.
77. Xiong X, Pirrung MC. Modular synthesis of candidate indole-based insulin mimics by Claisen rearrangement. *Organic Letters*. 2008;10(6):1151-4.
78. Manzo E, Ciavatta ML, Pagano D, Fontana A. An efficient and versatile chemical synthesis of bioactive glyco-glycerolipids. *Tetrahedron Letters*. 2012;53(7):879-81.
79. Kang SS, Kim HJ, Jin C, Lee YS. Synthesis of tyrosinase inhibitory (4-oxo-4H-pyran-2-yl) acrylic acid ester derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2009;19(1):188-91.
80. Kim DH, Hwang J-S, Baek HS, Kim K-J, Lee BG, Chang I, et al. Development of 5-[(3-aminopropyl)phosphinoxy]-2-(hydroxymethyl)-4H-pyran-4-one as a novel whitening agent. *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 2003;51(2):113-6.
81. Zwanenburg B, Mwakaboko AS. Strigolactone analogues and mimics derived from phthalimide, saccharine, p-tolylmalondialdehyde, benzoic and salicylic acid as scaffolds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2011;19(24):7394-400.
82. Braun LL, Looker J. Esters of  $\beta$ -diazopropionic acid. A new synthesis of  $\beta$ -aryloxypropionic acids. *Journal of the American Chemical Society*. 1958;80(2):359-63.
83. Cho J-C, Rho HS, Baek HS, Ahn SM, Woo BY, Hong YD, et al. Depigmenting activity of new kojic acid derivative obtained as a side product in the synthesis of cinnamate of kojic acid. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2012;22(5):2004-7.
84. Młochowski J, Giurg M, Uher M, Korenova A, Vegh D. Conversion of formyl into cyano groups in kojic acid derivatives and analogues. *Journal für Praktische Chemie/Chemiker-Zeitung*. 1996;338(1):65-8.
85. Chen Y-H, Lu P-J, Hulme C, Shaw AY. Synthesis of kojic acid-derived copper-chelating apoptosis inducing agents. *Medicinal Chemistry Research*. 2013;22(2):995-1003.

86. Lee YS, Park JH, Kim MH, Seo SH, Kim HJ. Synthesis of tyrosinase inhibitory kojic acid derivative. *Archiv der Pharmazie*. 2006;339(3):111-4.
87. Atkinson JG, Girard Y, Rokach J, Rooney C, McFarlane C, Rackham A, et al. Kojic amine-a novel gamma-aminobutyric acid analogue. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1979;22(1):99-106.
88. Lajis A, Basri M, Mohamad R, Hamid M, Ashari S, Ishak N, et al. Enzymatic synthesis of kojic acid esters and their potential industrial applications. *Chemical Papers*. 2013;67(6):573-85.
89. Lajis AFB, Hamid M, Ariff AB. Depigmenting effect of kojic acid esters in hyperpigmented B16F1 melanoma cells. *BioMed Research International*. 2012;2012.
90. Raku T, Tokiwa Y. Regioselective synthesis of kojic acid esters by *Bacillus subtilis* protease. *Biotechnology Letters*. 2003;25(12):969-74.
91. Kim H, Choi J, Cho JK, Kim SY, Lee Y-S. Solid-phase synthesis of kojic acid-tripeptides and their tyrosinase inhibitory activity, storage stability, and toxicity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2004;14(11):2843-6.
92. Kwak S-Y, Noh J-M, Park S-H, Byun J-W, Choi H-R, Park K-C, et al. Enhanced cell permeability of kojic acid-phenylalanine amide with metal complex. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2010;20(2):738-41.
93. Kwak SY, Choi HR, Park KC, Lee YS. Kojic acid-amino acid amide metal complexes and their melanogenesis inhibitory activities. *Journal of Peptide Science*. 2011;17(12):791-7.
94. Balakrishna C, Payili N, Yennam S, Devi PU, Behera M. Synthesis of new kojic acid based unnatural  $\alpha$ -amino acid derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2015;25(21):4753-6.
95. Kasser JH, Kandioller W, Hartinger CG, Nazarov AA, Arion VB, Dyson PJ, et al. Mannich products of kojic acid and N-heterocycles and their Ru (II)-arene complexes: Synthesis, characterization and stability. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2010;695(6):875-81.
96. Masoud MS, El-Thana SA, El-Enein A. Palladium (II)-kojic acid interaction. *Transition Metal Chemistry*. 1989;14(2):155-6.
97. Zborowski K, Grybos R, Proniewicz LM. Molecular structures of oxovanadium (IV) complexes with maltol and kojic acid: a quantum mechanical study. *Inorganic Chemistry Communications*. 2005;8(1):76-8.
98. Zaremba K, Lasocha W, Adamski A, Stanek J, Pattek-Janczyk A. Crystal structure and magnetic properties of tris (2-hydroxymethyl-4-oxo-4*H*-pyran-5-olato- $\kappa^2$ O5, O4) iron (III). *Journal of Coordination Chemistry*. 2007;60(14):1537-46.
99. Zhang Z, Hui TT, Orvig C. One-pot synthesis of N-substituted-3-hydroxy-4-pyridinone chelate complexes of aluminum, gallium, and indium. *Canadian Journal of Chemistry*. 1989;67(11):1708-10.

100. Lord SJ, Epstein NA, Paddock RL, Vogels CM, Hennigar TL, Zaworotko MJ, et al. Synthesis, characterization, and biological relevance of hydroxypyronone and hydroxypyridinone complexes of molybdenum. *Canadian Journal of Chemistry*. 1999;77(7):1249-61.
101. Barret MC, Mahon MF, Molloy KC, Steed JW, Wright P. Synthesis and structural characterization of Tin (II) and Zinc (II) derivatives of cyclic  $\alpha$ -hydroxyketones, including the structures of Sn (maltol) 2, Sn (tropolone) 2, Zn (tropolone) 2, and Zn (hinokitiol) 2. *Inorganic chemistry*. 2001;40(17):4384-8.
102. Zangl A, Klüfers P, Schaniel D, Woike T. Photoinduced linkage isomerism of {RuNO} 6 complexes with bioligands and related chelators. *Dalton Transactions*. 2009(6):1034-45.
103. Yabuta T. LXXIII.—The constitution of kojic acid, a  $\gamma$ -pyrone derivative formed by *Aspergillus Oryzæ* from carbohydrates. *Journal of the Chemical Society, Transactions*. 1924;125:575-87.
104. Liu ZD, Khodr HH, Liu DY, Lu SL, Hider RC. Synthesis, physicochemical characterization, and biological evaluation of 2-(1'-hydroxyalkyl)-3-hydroxypyridin-4-ones: novel iron chelators with enhanced pFe<sup>3+</sup> values. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1999;42(23):4814-23.
105. Uher M, Szymońska J, Korenova A, Tomasik P. Re-examination of nucleophilic substitution in chlorokojic acid. *Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly*. 2000;131(3):301-7.
106. Zborowski K, Korenova A, Uher M, Proniewicz LM. Quantum chemical studies on tautomeric equilibria in chlorokojic and azidokojic acids. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*. 2004;683(1):15-22.
107. Ichimoto I, Ueda H, Tatsumi C, Fujii K, Sekido F, Nonomura S. Studies on kojic acid and its related  $\gamma$ -pyrone compounds: Part VII. The alkylation of kojic acid and pyromeconic acid through their mannich base (Synthesis of maltol-(1)) Part VIII. Synthesis of comenic acid from kojic acid (Synthesis of maltol (2)). *Agricultural and Biological Chemistry*. 1965;29(2):94-103.
108. Uher M, Konecny V, Rajniakova O. Synthesis of 5-hydroxy-2-hydroxymethyl-4H-pyran-4-one derivatives with pesticide activity. *Chem Pap*. 1994;48:282-4.
109. Rho HS, Ahn SM, Yoo DS, Kim MK, Cho DH, Cho JY. Kojyl thioether derivatives having both tyrosinase inhibitory and anti-inflammatory properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2010;20(22):6569-71.
110. Rho HS, Baek HS, Ahn SM, Kim MK, Ghimeray AK, Cho DH, et al. Synthesis and biological evaluation of kojyl thioether derivatives as tyrosinase inhibitors. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2010;31:2375-8.
111. Tolentino L, Kagan J. Nuclear bromination in the kojic acid series. *The Journal of Organic Chemistry*. 1974;39(15):2308-9.
112. Rho HS, Baek HS, Ann S, Kim DH, Chang IS. Synthesis of new anti-melanogenic compounds containing two molecules of kojic acid. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2008;29(8):1569-71.

113. Ghasemi Z, Gholamhoseini-Nazari M, Allahvirdinesbat M, Saraei M, Shahrissa A. Synthesis of novel imidazolium and benzimidazolium salts from halomethyl derivatives of 4-pyrones. *Letters in Organic Chemistry*. 2012;9(9):677-82.
114. Chen M-J, Hung C-C, Chen Y-R, Lai S-T, Chan C-F. Novel synthetic kojic acid-methimazole derivatives inhibit mushroom tyrosinase and melanogenesis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2016;122(6):666-72.
115. Xie W, Zhang H, He J, Zhang J, Yu Q, Luo C, et al. Synthesis and biological evaluation of novel hydroxybenzaldehyde-based kojic acid analogues as inhibitors of mushroom tyrosinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2016.
116. Rho HS, Lee CS, Ahn SM, Hong YD, Shin SS, Park Y-H, et al. Studies on tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of benzoic acid derivatives containing kojic acid moiety. *Bull Korean Chem Soc*. 2011;32:4411-4.
117. Wei Y-B, Yang X-D. Synthesis, characterization and anti-diabetic therapeutic potential of a new benzyl acid-derivatized kojic acid vanadyl complex. *Biometals*. 2012;25(6):1261-8.
118. Wei Y, Zhang C, Zhao P, Yang X, Wang K. A new salicylic acid-derivatized kojic acid vanadyl complex: synthesis, characterization and anti-diabetic therapeutic potential. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2011;105(8):1081-5.
119. Finnegan MM, Lutz TG, Nelson WO, Smith A, Orvig C. Neutral water-soluble post-transition-metal chelate complexes of medical interest: aluminum and gallium tris (3-hydroxy-4-pyrones). *Inorganic Chemistry*. 1987;26(13):2171-6.
120. Kiss T, Kiss E, Garribba E, Sakurai H. Speciation of insulin-mimetic VO (IV)-containing drugs in blood serum. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2000;80(1):65-73.
121. Willsky G, Goldfine A, Kostyniak P, McNeill J, Yang L, Khan H, et al. Effect of vanadium (IV) compounds in the treatment of diabetes: *In vivo* and *in vitro* studies with vanadyl sulfate and bis (maltolato) oxovanadium (IV). *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2001;85(1):33-42.
122. Synytsya A, Blafková P, Synytsya A, Čopíková J, Spěváček J, Uher M. Conjugation of kojic acid with chitosan. *Carbohydrate polymers*. 2008;72(1):21-31.
123. May O, Moyer A, Wells P, Herrick H. The production of kojic acid by *Aspergillus flavus*. *Journal of the American Chemical Society*. 1931;53(2):774-82.
124. Beélik A, Purves C. Some new reactions and derivatives of kojic acid. *Canadian Journal of Chemistry*. 1955;33(8):1361-74.
125. Dehkordi LS, Liu ZD, Hider RC. Basic 3-Hydroxypyridin-4-ones: Potential antimalarial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2008;43(5):1035-47.

126. Kaeobamrung J, Mahatthananchai J, Zheng P, Bode JW. An enantioselective Claisen rearrangement catalyzed by N-heterocyclic carbenes. *Journal of the American Chemical Society*. 2010;132(26):8810-2.
127. Li Y-L, Wang K, Zhao B, Jiang Q-S, Du B-X, Chen C-F. One-pot, three-component, green procedure for efficient synthesis of allomaltol derivatives. *Research on Chemical Intermediates*. 2015;41(8):5149-58.
128. Li Y, Zhao B, Du B, Jiang Q, Wang X, Cao C. Efficient and mild one-pot three-component reaction to synthesize pyrano [3, 2-b] pyran derivatives in ionic liquid. *Tetrahedron Letters*. 2013;54(3):227-30.
129. Li Y, Jiang Q, Wang K, Du B, Wang X. A novel and green synthesis of kojic acid derivatives in ionic liquid [bmim] BF<sub>4</sub>. *Tetrahedron Letters*. 2013;54(52):7147-50.
130. Liu ZD, Kayyali R, Hider RC, Porter JB, Theobald AE. Design, synthesis, and evaluation of novel 2-substituted 3-hydroxypyridin-4-ones: Structure–activity investigation of metalloenzyme inhibition by iron chelators. *Journal of medicinal chemistry*. 2002;45(3):631-9.
131. Enyedy ÉA, Dömötör O, Varga E, Kiss T, Trondl R, Hartinger CG, et al. Comparative solution equilibrium studies of anticancer gallium (III) complexes of 8-hydroxyquinoline and hydroxy (thio) pyrone ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2012;117:189-97.
132. Saatchi K, Thompson KH, Patrick BO, Pink M, Yuen VG, McNeill JH, et al. Coordination chemistry and insulin-enhancing behavior of vanadium complexes with maltol C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub> structural isomers. *Inorganic Chemistry*. 2005;44(8):2689-97.
133. Liu ZD, Piyamongkol S, Liu DY, Khodr HH, Lu SL, Hider RC. Synthesis of 2-amido-3-hydroxypyridin-4(1*H*)-ones: Novel iron chelators with enhanced pFe<sup>3+</sup> values. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2001;9(3):563-73.
134. Kandioller W, Hartinger CG, Nazarov AA, Kasser J, John R, Jakupec MA, et al. Tuning the anticancer activity of maltol-derived ruthenium complexes by derivatization of the 3-hydroxy-4-pyrone moiety. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2009;694(6):922-9.
135. Schmidlehner M, Pichler V, Roller A, Jakupec MA, Kandioller W, Keppler BK. Organometallic complexes of (thio) allomaltol-based mannich-products: Synthesis, stability and preliminary biological investigations. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2015;782:69-76.
136. Dömötör O, Aicher S, Schmidlehner M, Novak MS, Roller A, Jakupec MA, et al. Antitumor pentamethylcyclopentadienyl rhodium complexes of maltol and allomaltol: Synthesis, solution speciation and bioactivity. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2014;134:57-65.
137. Dutt N, Sarma U. Chemistry of lanthanons—XLI. Isolation and characterisation of tris chelates of lanthanides with maltol, kojic acid and chloro-kojic acid. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*. 1975;37(7-8):1801-2.

138. Hryniewicz K, Stadnicka K, Pattek-Janczyk A. Crystal structure and vibrational spectra of 2-chloromethyl-5-hydroxy-4*H*-pyran-4-one and 5-hydroxy-2-methyl-4*H*-pyran-4-one as potential ligands for Fe (III) complexes. *Journal of Molecular Structure*. 2009;919(1):255-70.
139. Kingsbury CA, Clifton M, Looker JH. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of kojic acid and other 4-pyrone derivatives. *The Journal of Organic Chemistry*. 1976;41(16):2777-80.
140. Nakata H, Tatematsu A. The high-resolution mass spectrum of kojic acid. *Journal of the Mass Spectrometry Society of Japan*. 1967;15(3-4):184-7.
141. Ocak İskeleli N, Işık S, Aytemir MD. 3-Hydroxy-2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-ylmethyl]-6-methylpyran-4-one. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*. 2005;61(6):o1947-o9.
142. Köysal Y, Işık Ş, Aytemir MD. 3-Hydroxy-6-methyl-2-[4-(3-trifluoromethylphenyl)piperazin-1-ylmethyl]-4*H*-pyran-4-one. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*. 2004;60(1):o112-o4.
143. Ocak N, Işık Ş, Aytemir MD. Ethyl 4-(3-hydroxy-6-methyl-4-oxo-4*H*-pyran-2-ylmethyl)piperazine-1-carboxylate. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*. 2004;60(4):o561-o3.
144. Khan MTH. Molecular design of tyrosinase inhibitors: A critical review of promising novel inhibitors from synthetic origins. *Pure and Applied Chemistry*. 2007;79(12):2277-95.
145. Schurink M, van Berkel WJ, Wichers HJ, Boeriu CG. Novel peptides with tyrosinase inhibitory activity. *Peptides*. 2007;28(3):485-95.
146. Loizzo M, Tundis R, Menichini F. Natural and synthetic tyrosinase inhibitors as antibrowning agents: an update. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2012;11(4):378-98.
147. Germanas JP, Wang S, Miner A, Hao W, Ready JM. Discovery of small-molecule inhibitors of tyrosinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2007;17(24):6871-5.
148. Okombi S, Rival D, Bonnet S, Mariotte A-M, Perrier E, Boumendjel A. Analogues of N-hydroxycinnamoylphenalkylamides as inhibitors of human melanocyte-tyrosinase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2006;16(8):2252-5.
149. Chen JS, Wei C-I, Marshall MR. Inhibition mechanism of kojic acid on polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry (USA)*. 1991.
150. Jun N, Hong G, Jun K. Synthesis and evaluation of 2', 4', 6'-trihydroxychalcones as a new class of tyrosinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2007;15(6):2396-402.
151. Song T-Y, Chen C-H, Yang N-C, Fu C-S. The correlation of in vitro mushroom tyrosinase activity with cellular tyrosinase activity and melanin formation in melanoma cells A2058. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2009;17(3).



152. Wu C-Y, Pang J-HS, Huang S-T. Inhibition of melanogenesis in murine B16/F10 melanoma cells by *Ligusticum sinensis* Oliv. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2006;34(03):523-33.
153. Hsu C-K, Chang C-T, Lu H-Y, Chung Y-C. Inhibitory effects of the water extracts of *Lavendula* sp. on mushroom tyrosinase activity. *Food Chemistry*. 2007;105(3):1099-105.
154. Noh JM, Kwak SY, Kim DH, Lee YS. Kojic acid–tripeptide amide as a new tyrosinase inhibitor. *Peptide Science*. 2007;88(2):300-7.
155. Noh J-M, Kwak S-Y, Seo H-S, Seo J-H, Kim B-G, Lee Y-S. Kojic acid–amino acid conjugates as tyrosinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2009;19(19):5586-9.
156. Rho HS, Goh M, Lee J, Ahn SM, Yeon J-H, Yoo DS, et al. Ester derivatives of kojic acid and polyphenols containing adamantane moiety with tyrosinase inhibitory and anti-inflammatory properties. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 2011;32(4):1411-4.
157. Ahn SM, Rho HS, Baek HS, Joo YH, Hong YD, Shin SS, et al. Inhibitory activity of novel kojic acid derivative containing trolox moiety on melanogenesis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2011;21(24):7466-9.
158. Asadzadeh A, Sirous H, Pourfarzam M, Yaghmaei P, Afshin F. In vitro and in silico studies of the inhibitory effects of some novel kojic acid derivatives on tyrosinase enzyme. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2016;19(2):132.
159. Zhao D-Y, Zhang M-X, Dong X-W, Hu Y-Z, Dai X-Y, Wei X, et al. Design and synthesis of novel hydroxypyridinone derivatives as potential tyrosinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2016;26(13):3103-8.
160. Wempe MF, Clauson JM, Deng L. 5-hydroxy-2-methyl-4*H*-pyran-4-one esters as novel tyrosinase inhibitors. *Google Patents*; 2012.
161. Hamidian H, Azizi S. Synthesis of novel compounds containing morpholine and 5(4*H*)-oxazolone rings as potent tyrosinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2015;23(21):7089-94.
162. Ferro S, De Luca L, Germanò MP, Buemi MR, Ielo L, Certo G, et al. Chemical exploration of 4-(4-fluorobenzyl) piperidine fragment for the development of new tyrosinase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;125:992-1001.
163. Gupta A, Avci P, Dai T, Huang Y-Y, Hamblin MR. Ultraviolet radiation in wound care: sterilization and stimulation. *Advances in Wound Care*. 2013;2(8):422-37.
164. Chen B-J, Shi M-J, Cui S, Hao S-X, Hider RC, Zhou T. Improved antioxidant and anti-tyrosinase activity of polysaccharide from *Sargassum fusiforme* by degradation. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016;92:715-22.
165. Çelik İSA, Büyükberber S, Coşkun U, Yalçın B, Mandel NM, Sağlam Kaytan E, Gökmen E, Coşkun HŞ, Abalı H, Demirkesen C, Akbulut H, Erkin G, Güler

- Tezel G, Gültekin M, Boztaş G, Gökoç O. Melanom Yol Haritası Türkiye: Melanom Çalışma Grubu; 2012 [updated Aralık 2012. Available from: <http://kanser.gov.tr/Dosya/Medya/Haberler/Melanomyolharitasi.pdf>.
166. Hsieh J-F, Chen S-T, Cheng S-L. Molecular profiling of A375 human malignant melanoma cells treated with kojic Acid and arbutin: INTECH Open Access Publisher; 2011.
  167. Childers NMM. The melanoma white paper: Reshaing EU healthcare for melanoma patients: ECPC M-ICAB; 2012 [updated 2012. Available from: <http://www.ecpc.org/Documents/Edu/MICAB/White-Paper-on-Melanoma-Reshaping-EU-Healthcare-for-Melanoma-Patients.pdf>.
  168. Parlak A. Melanoma Genel Bakış. *Konuralp Tıp Dergisi*. 2014;2014(1):22-7.
  169. Bracalente C, Ibañez IL, Berenstein A, Notcovich C, Cerda MB, Klamt F, et al. Reprogramming human A375 amelanotic melanoma cells by catalase overexpression: Upregulation of antioxidant genes correlates with regression of melanoma malignancy and with malignant progression when downregulated. *Oncotarget*. 2016;7(27):41154.
  170. Öncel M. Isı Şok Proteinleri ve Kanser. *European Journal Basic Medical Science*. 2012;2(1):16-23.
  171. Choi H, Kim K, Han J, Choi H, Jin SH, Lee EK, et al. Kojic acid-induced IL-6 production in human keratinocytes plays a role in its anti-melanogenic activity in skin. *Journal of Dermatological Science*. 2012;66(3):207-15.
  172. Moon K-Y, Ahn KS, Lee J, Kim YS. Kojic acid, a potential inhibitor of NF-κB activation in transfectant human HaCaT and SCC-13 cells. *Archives of Pharmacal Research*. 2001;24(4):307-11.
  173. Kai H, Matsuno K. Assessment of the effect of arbutin isomers and kojic acid on melanin production, tyrosinase activity, and tyrosinase expression in B16-4A5 and HMV-II melanoma cells. *Planta Medica Letters*. 2015;2(01):e39-e41.
  174. Huang H-C, Hsu T-F, Chao H-L, Chen C-C, Chiu S-W, Chang T-M. Inhibition of melanogenesis in murine melanoma cells by *Agaricus brasiliensis* methanol extract and anti-reactive oxygen species (ROS) activity. *African Journal of Microbiology Research*. 2014;8(6):519-24.
  175. Campos PM, da Silva Horinouchi CD, da Silveira Prudente A, Cechinel-Filho V, de Almeida Cabrini D, Otuki MF. Effect of a *Garcinia gardneriana* (Planchon and Triana) Zappi hydroalcoholic extract on melanogenesis in B16F10 melanoma cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;148(1):199-204.
  176. Nobel CSI, Kimland M, Lind B, Orrenius S, Slater AF. Dithiocarbamates induce apoptosis in thymocytes by raising the intracellular level of redox-active copper. *Journal of Biological Chemistry*. 1995;270(44):26202-8.
  177. Burkitt MJ, Bishop HS, Milne L, Tsang SY, Provan GJ, Nobel CSI, et al. Dithiocarbamate toxicity toward thymocytes involves their copper-catalyzed conversion to thiuram disulfides, which oxidize glutathione in a redox cycle without the release of reactive oxygen species. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1998;353(1):73-84.

178. Brewer GJ, Dick RD, Grover DK, LeClaire V, Tseng M, Wicha M, et al. Treatment of metastatic cancer with tetrathiomolybdate, an anticopper, antiangiogenic agent: Phase I study. *Clinical Cancer Research*. 2000;6(1):1-10.
179. Redman BG, Esper P, Pan Q, Dunn RL, Hussain HK, Chenevert T, et al. Phase II trial of tetrathiomolybdate in patients with advanced kidney cancer. *Clinical Cancer Research*. 2003;9(5):1666-72.
180. Yoshitaka H, Kawabe M, Nabae K, Yosuke T, Kitamoto S, Takumi H, et al. Kojic acid-absence of tumor-initiating activity in rat liver, and of carcinogenic and photo-genotoxic potential in mouse skin. *The Journal of Toxicological Sciences*. 2007;32(2):143-59.
181. Smith C, Lindsay C. Kojic acid reduces the cytotoxic effects of sulfur mustard on cultures containing human melanoma cells *in vitro*. *Journal of Applied Toxicology*. 2001;21(6):435-40.
182. Bransova J, Uher M, Brtko J. Regulation of selected biological processes in neoplastic cell lines by halogen derivatives of 5-hydroxy-2-hydroxymethyl-4-pyranone. *Anticancer Research*. 1997;18(6A):4423-8.
183. Sudhir PR, Wu HF, Zhou ZC. Probing the interaction of kojic acid antibiotics with iron (III) chloride by using electrospray tandem mass spectrometry. *Rapid Communications In Mass Spectrometry*. 2005;19(2):209-12.
184. Cecconi F, Ghilardi CA, Ienco A, Mariani P, Mealli C, Midollini S, et al. Different complexation properties of some hydroxy keto heterocycles toward beryllium (II) in aqueous solutions: Experimental and theoretical studies. *Inorganic Chemistry*. 2002;41(15):4006-17.
185. Wolf P, Westveer W. The antimicrobial activity of several substituted pyrones. *Archives of Biochemistry*. 1950;28(2):201-6.
186. Mitani H, Koshiishi I, Sumita T, Imanari T. Prevention of the photodamage in the hairless mouse dorsal skin by kojic acid as an iron chelator. *European Journal of Pharmacology*. 2001;411(1):169-74.
187. Kandioller W, Kurzwehnart A, Hanif M, Meier SM, Henke H, Keppler BK, et al. Pyrone derivatives and metals: From natural products to metal-based drugs. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2011;696(5):999-1010.
188. Aoyagi N, Kimura R, Murata T. Studies on *Passiflora incarnata* dry extract. I. Isolation of maltol and pharmacological action of maltol and ethyl maltol. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1974;22(5):1008-13.
189. Kimura R, Matsui S, Ito S, Aimoto T, Murata T. Central depressant effects of maltol analogs in mice. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1980;28(9):2570-9.
190. Mohammadpour M, Behjati M, Sadeghi A, Fassihi A. Wound healing by topical application of antioxidant iron chelators: kojic acid and deferiprone. *International Wound Journal*. 2013;10(3):260-4.
191. Oyama T, Takahashi S, Yoshimori A, Yamamoto T, Sato A, Kamiya T, et al. Discovery of a new type of scaffold for the creation of novel tyrosinase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2016;24(18):4509-15.

192. Chen Q-X, Kubo I. Kinetics of mushroom tyrosinase inhibition by quercetin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(14):4108-12.
193. Vichai V, Kirtikara K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nature Protocols*. 2006;1(3):1112-6.
194. Huang H, Wang X, Ding X, Xu Q, Hwang SK, Wang F, et al. Effect and mechanism of tacrolimus on melanogenesis on A375 human melanoma cells. *Chinese Medical Journal*. 2013;127(16):2966-71.
195. Che X, Sheng C, Wang W, Cao Y, Xu Y, Ji H, et al. New azoles with potent antifungal activity: design, synthesis and molecular docking. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2009;44(10):4218-26.
196. Balcı M. *Organik Kimya Reaksiyon Mekanizmaları*. Ankara: Türkiye Bilimler Akademisi; 2008.
197. Solomons TG, Fryhle CB. *Organic Chemistry* John Wiley&Sons. Inc. 2000:1125.

**ÖZGEÇMİŞ**  
**GÜLŞAH (DEMİRYÜREK) KARAKAYA**

**BİREYSEL BİLGİLER**

**Doğum Tarihi** : 23 Temmuz 1985  
**Doğum Yeri** : Aydın  
**Uyruğu** : T.C.  
**Medeni Hali** : Evli, 2 çocuk  
**Adres (iş)** :T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu  
Söğütözü Mahallesi 2176. Sokak No:5  
P.K. 06520 Çankaya/ANKARA  
**Telefon** : 0 312 218 30 00/3048 **Cep telefonu:** 0533 771 27 22  
**Faks** : 0 312 218 34 60  
**E-posta** : gulsah.karakaya@titck.gov.tr  
gulsahdemiryurek@yahoo.com  
**Yabancı Dil** : İngilizce

**EĞİTİMİ**

**2007-2010** : **Bilim Uzmanlığı derecesi (M.Sc.)**  
Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,  
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı. (2008- 2010)  
**2003-2007** : **Lisans (Pharm.)**  
Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi  
**1996-2003** : **Orta Öğretim-Lise Öğretim**  
Aydın Adnan Menderes Anadolu Lisesi

**MESLEKİ DENEYİMİ**

Ocak 2012 – Devam ediyor : Eczacı  
Kozmetik Ürünler Dairesi,  
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu,  
Ankara-Türkiye

- Ocak 2010 – Ocak 2012 : Araştırma Görevlisi (Bilim Uzmanı)  
 Hacettepe Üniversitesi,  
 Eczacılık Fakültesi,  
 Farmasötik Kimya Anabilim Dalı,  
 Ankara-Türkiye
- Ocak 2008 – Ocak 2010 : Araştırma Görevlisi  
 Hacettepe Üniversitesi,  
 Eczacılık Fakültesi,  
 Farmasötik Kimya Anabilim Dalı,  
 Ankara-Türkiye
- Aralık 2007 – Ocak 2008 : Uzman Yardımcısı  
 Novagenix Bio-Analitik İlaç ve Ar-Ge Merkezi  
 Ankara-Türkiye
- 2006 Temmuz-Ağustos : Stajer- Endüstri  
 Eczacıbaşı Sağlık rnleri  
 Üretim Departmanı  
 Lüleburgaz-Tekirdağ-Türkiye

## **BİLİMSEL FAALİYETLER**

### ***YÜKSEK LİSANS TEZİ***

“Bazı Hidroksipiron Türevi Mannich Bazlarının Tasarımı, Sentezi Ve Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi”, ***Bilim Uzmanlığı (M.Sc.) Tezi***, Ocak 2010, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı.

**Tez Danışmanı:** Doç.Dr. Mutlu Dilsiz Aytemir.

### ***ARAŞTIRMA PROJELERİ***

1. “Bazı Hidroksipiron Türevi Mannich Bazlarının Tasarımı, Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin Değerlendirilmesi” başlıklı Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi Destek projesi.

Proje No: 4756 (27.01.2009 – 15.06.2010).  
Proje Yürütücüsü: Doç.Dr. Mutlu Aytemir

2. “Klorokojik Asit Türevi Mannich Bazları Üzerinde Dermatofitlere Karşı Antifungal Aktivitenin Sitotoksosite ile Birlikte Değerlendirilmesi” başlıklı 1002-TÜBİTAK Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı projesi.

Proje No: SBAG-111S311 (15.01.2012 – 13.11.2012)  
Proje Yürütücüsü: Prof.Dr. Mutlu Aytemir

3. “Kojik Asit Türevi Mannich Bazlarının Tasarımı, Sentezi, Antimikobakteriyal ve Antidermatofitik Aktivitelerinin Sitotoksiteleri ile Birlikte Değerlendirilmesi” başlıklı 1002-TÜBİTAK Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı projesi.

Proje No: SBAG-113S527 (15.12.2013 –30.12.2014)  
Proje Yürütücüsü: Prof.Dr. Mutlu Aytemir

4. “Allomaltol Türevi Yeni Mannich Bazlarının Sentezi ve Tirozinaz İnhibitörü Etkilerinin Değerlendirilmesi” başlıklı Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyonu Birimi Hızlı Destek projesi.

Proje No: THD-2015-7392 (09.09.2015 – 11.07.2016)  
Proje Yürütücüsü: Prof.Dr. Mutlu Aytemir

## PATENT

“Biyolojik Etkili Kojik asit Türevi Mannich Bazları” başlıklı 23.06.2015 tarihinde Türkiye Patent Enstitüsü’ne (TR2015/07653-WO2016/209180) ve 17.05.2016 tarihinde uluslararası patente (PCT/TR2016/000070) patent başvurusu yapılmıştır.

## ULUSLARASI BASILAN KİTAP BÖLÜMLERİ

1. Aytemir, M.D., **Karakaya G.**, Medicinal Chemistry and Drug Design, Kojic Acid Derivatives, Editor: Deniz Ekinci, Published by InTech, ISBN 978 953 51 0513 8, Chapter 1, pp: 1-26, 16 Mayıs 2012, Rijeka, Croatia.

## ULUSLARARASI DERGİLERDE YAYINLANAN MAKALELER

1. **Karakaya, G.**, Aytemir, M.D., Özçelik, B., Çalış, Ü., Design, Synthesis and *In vivo/In vitro* Screening of Novel Chlorokojoic Acid Derivatives, **J. Enz. Inh. Med. Chem.** 28(3), 627-638 (2013).
2. Aytemir, M.D., Özçelik, B., **Karakaya, G.**, Evaluation of Bioactivities of Chlorokojoic Acid Derivatives Against Dermatophytes Couplet with Cytotoxicity, **Bioorg. & Med. Chem. Lett.** 23(12), 3646-3649 (2013).

## ULUSLARARASI KONGRELERDE SUNULAN POSTER BİLDİRİLERİ

1. Aytemir, M.D., **Demiryürek, G.**, Özçelik, B., Antimicrobial Activities of Mannich Bases of Chlorokojoic Acid Derivatives, Third International Meeting on Pharmacy & Pharmaceutical Sciences (IMPPS-3), İstanbul-Turkey, 09-12 June 2010.
2. Aytemir, M.D., **Demiryürek, G.**, Özçelik, B., Çalış, Ü. Synthesis and Evaluation of Biological Activities of Chlorokojoic Acid Derivatives, XXIst International Symposium on Medicinal Chemistry, Brussels, Belgium, 05 - 09 September 2010, *Drugs of the Future*, Vol 35 (Suppl. A), PC205, September 2010.
3. Aytemir, M.D., **Demiryürek, G.**, Özçelik, B., Çalış, Ü. Potent Anticonvulsant and Antimicrobial Activities of Chlorokojoic Acid Derivatives, 4<sup>th</sup> International Meeting on Medicinal and Pharmaceutical Chemistry and 6<sup>th</sup> International



Symposium of Pharmaceutical Chemistry-IMMPC-ISPC Joint Meeting Ankara, Turkey, 30 September - 2 October 2010.

4. **Demiryürek, G., Şahin, E., Aytemir, M.D.,** Structural Analysis of a Mannich Base of Chlorokojic Acid, 4<sup>th</sup> International Meeting on Medicinal and Pharmaceutical Chemistry and 6<sup>th</sup> International Symposium of Pharmaceutical Chemistry-IMMPC-ISPC Joint Meeting, Ankara, Turkey, 30 September - 2 October 2010.
5. **Karakaya, G., Aytemir, M.D.,** Synthesis of Some Novel Mannich Bases of Kojic Acid, International Symposium on Drug Research and Development “From Chemistry to Medicine” & New Horizons and Job Opportunities for Young Scientists, Antalya, Turkey, 27-29 May 2011.
6. **Karakaya, G., Özçelik, B., Aytemir, M.D.,** Synthesis of Mannich Bases Of Chlorokojic Acid / Anti-*Mycobacterium Tuberculosis* Activity of Chlorokojic Acid Derivatives, 4<sup>th</sup> European Conference on Chemistry for Life Sciences, Budapest, Hungary, 31 August-03 September 2011.
7. Aytemir, M.D., **Karakaya G., Özçelik B.,** Synthesis, Characterization, Antidermatophytic And Cytotoxicity Evaluation of Some Novel Hydroxypyrones, 7<sup>th</sup> Eurasian Meeting on Heterocyclic Chemistry, PP34, İstanbul, Türkiye, 17-21 Haziran 2012.
8. Aytemir, M.D., Özçelik B., **Karakaya G.** Antidermatophytic and Cytotoxicity Evaluation of Some Chlorokojic Acid Derivatives, 10<sup>th</sup> International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS 10<sup>th</sup>), P66, Ankara, Türkiye, 26-29 Haziran 2012.
9. Aytemir, M.D., Özçelik B., **Karakaya G.** Antidermatophytic Activity of Chlorokojic Acid Derivatives with Cytotoxicity Evaluation, 22<sup>nd</sup> International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISMC), Berlin, Germany, 2-6 September 2012, Chem.Med.Chem., 2012.
10. Aytemir, M.D., **Karakaya G., Özçelik B.,** Synthesis and Antidermatophytic Activity of Some Allomaltol Derivatives with Cytotoxicity, XXII National Meeting on Medicinal Chemistry, Roma, Italy, 10-13 September 2013.
11. Aytemir, M.D., **Karakaya G., Özçelik B.,** Anti-*Mycobacterial* Activities of Mannich Bases of Allomaltol with Cytotoxicity, International Multidisciplinary Symposium on Drug Research & Development - New Drug Entities & Cancer

Research, Nanotechnology & Scientific and Industrial Perspectives, Türkiye, Antalya, 28-30 November 2013.

12. Aytemir, M.D., **Karakaya G.**, Özçelik B., Antidermatophytic and Antimycobacterial Activity of Kojic Acid Derivatives with Cytotoxicity Evaluation, EFMC-ISMIC 2014 XXIII International Symposium on Medicinal Chemistry, Lisbon, Portugal, 7-11 September, 2014.
13. Aytemir, M.D., **Karakaya G.**, Özçelik B., Antidermatophytic and Antimycobacterial Activity of Mannich Bases of Kojic Acid with Cytotoxicity Evaluation, Fourth International Meeting on Pharmacy&Pharmaceutical Sciences (IMPPS-4), Türkiye, İstanbul, 18-21 September, 2014.
14. Aytemir, M.D., **Karakaya G.**, Özçelik B., Kojic Acid Derivatives as Antidermatophytic and Antimycobacterial Agents with Cytotoxicity Evaluation. 11<sup>th</sup> International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS 11<sup>th</sup>), P-213, Ankara, Türkiye, 9-12 June 2015.
15. Aytemir, M.D., **Karakaya G.**, Özçelik B., Anti-*mycobacterium* Activity of some Allomaltol Derivatives. International Multidisciplinary Symposium on Drug Research and Development (DRD-2015), Eskişehir, 14-17 October 2015.
16. Aytemir, M.D., **Karakaya G.**, Özçelik B., Antidermatophytic and Anti-*mycobacterium* Activities of Kojic Acid and Allomaltol Derivatives with Cytotoxicity. 1st International Gazi Pharma Symposium Series (GPSS), Antalya, 12-15 December 2015.
17. Aytemir, M.D., **Karakaya G.**, Senol F.S., Erdogan Orhan I. Antioxidant Activities of Mannich Bases of Kojic Acid Derivatives. XXIV EFMC International Symposium on Medicinal Chemistry (EFMC-ISMIC 2016), Manchester, England, 28 August-1 September 2016.
18. Aytemir, M.D., **Karakaya G.**, Ercan A., Öncül S., Cytotoxicity of a Kojic Acid Derivative on A375 Human Malignant Melanoma and HGF1 Fibroblast Cells. The 10th Joint Meeting on Medicinal Chemistry in Dubrovnik, Croatia, 25-28 June 2017.