



2-, 3-, 4-Bromo Azaflavanonların Amino Kalkonlardan Katı Faz Ortamında Mikrodalga Destekli Sentezi, Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Tayini

Tayyibe Beyza Yücel^{1,*}, Seda Fandaklı², İsmail Demir³, Nurettin Yaylı⁴

¹Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Giresun Üniversitesi, Giresun, Türkiye

²Sağlık Bilimleri Fakültesi Bölümü, Avrasya Üniversitesi, Trabzon, Türkiye

³Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, Türkiye

⁴Eczacılık Fakültesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Trabzon, Türkiye

Makale Tarihi

Gönderim: 13.09.2022

Kabul: 31.01.2023

Yayın: 30.06.2023

Araştırma Makalesi

Öz – Bu çalışmada, 2-aminoasetofenon bileşiğinden başlanarak 2-,3-,4- bromo substitue azakalkon (**1-3**) bileşikler sentezlendi. 1-3 Nolu bileşiklerinin katıfaz ortamında mikrodalga cihazı kullanılarak 2-, 3-, 4-bromo azaflavanon bileşikler (**4-6**), sırasıyla %52, %89 ve %77 verimlerle sentezlendi. Sentezlenen bileşikler spektroskopik olarak ¹Hidrojen, ¹³Karbon, Bağlanmış Proton Testi (APT) NMR, Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Infrared ve Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) yöntemleriyle karakterize edildi. Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri 12 ayrı mikroorganizmaya (4 adet Gram pozitif, 7 adet Gram negatif ve 1 fungus) karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak test edildi ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) hesaplandı. Sentezlenen azakalkon ve azaflavanon bileşikler (**1-6**) test edilen mikroorganizmalar arasında en yüksek etkiyi *Candida tropicalis*'a karşı gösterdi. 3-Bromo azaflavanon (**5**) bileşiği Gram pozitif *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* ve fungus *Candida tropicalis*'a karşı etkili bulundu. Test edilen hiçbir bileşik Gram negatif bakterilere karşı etkinlik göstermedi. Sentezlenen bileşikler arasında en yüksek aktiviteyi 6.25 µg/mL'lik MIC değeri ile 2 numaralı azakalkon bileşiği *Candida tropicalis*'a karşı gösterdi. Ayrıca sentezlenen **1-6** nolu bileşiklerin antioksidan aktiviteleri plazmanın demir indirgeme yeteneği (FRAP) ve 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil kapasitesi (DPPH) yöntemlerine göre yapıldı. Antioksidant testi sonucunda, 3-bromo kalkon (173,78±1,76 ve 0,48±0,01) ve 3-bromo azaflavanon (279,05±1,77 ve 0,093±0,001) bileşiklerinin en yüksek antioksidan aktiviteye sahip oldukları görüldü.

Anahtar Kelimeler – Azaflavanon, antimikrobiyal aktivite, antioksidan aktivite, mikrodalga.

Microwave Assisted Synthesis of 2-, 3-, 4-Bromo Azaflavonones from Amino Chalcones in Solid Phase Environment, Determination of Antimicrobial and Antioxidant Activities

¹ Health Services of Vocational School, Giresun University, Giresun, Türkiye

²Department of Nutrition and Dietetics, Faculty of Health Sciences, Avrasya University, Trabzon, Türkiye

³Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Karadeniz Technical University, Trabzon, Türkiye

⁴Faculty of Pharmacy, Karadeniz Technical University, Trabzon, Türkiye

Article History

Received: 13.09.2022

Accepted: 31.01.2023

Published: 30.06.2023

Research Article

Abstract – In this study, 2-, 3-, 4-bromo azachalcones (**1-3**) were synthesized starting from the 2-aminoacetophenone. 2-, 3-, 4-bromo azaflavonones (**4-6**) were synthesized from the compounds 1-3 by using a microwave method in the solid phase environment with the yields of 52%, 89%, and 77%, respectively. The synthesized compounds were characterized spectroscopically (¹H, ¹³C, Attached Proton Test (APT) NMR, Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FT-IR) and Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy (LC-MS/MS). The antimicrobial activities of the synthesized compounds were tested against 12 different microorganisms (4 Gram positive, 7 Gram negative and 1 fungus) using the disk diffusion method and the minimum inhibition concentration (MIC) was calculated. The synthesized azachalcone and azaflavonone compounds (**1-6**) showed the highest efficacy against *Candida tropicalis* among the microorganisms tested. 3-Bromo azaflavonone (**5**) was found to be effective against Gram positive *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* and fungus *Candida tropicalis*. None of the compounds showed activity against Gram-negative bacteria. Compound 2 showed the highest activity against *Candida tropicalis* among the tested compounds with a MIC value of 6.25 µg/mL. In addition, antioxidant activities of synthesized compounds **1-6** were performed according to FRAP and DPPH methods. As a result of the antioxidant test, it was observed that 3-bromo chalcone (173.78±1.76 and 0.48±0.01) and 3-bromo azaflavonone (279.05±1.77 and 0.093±0.001) had shown the highest antioxidant activity.

Keywords – Azaflavanon, antimicrobial activity, antioxidant activity, microwave.

¹ beyza.yucel@giresun.edu.tr

² seda.fandakli@avrasya.edu.tr

³ idemir@ktu.edu.tr

⁴ yayli@ktu.edu.tr

*Sorumlu Yazar

1. Giriş

Kalkonlar, flavonoidler ailesinin öncüleri olan, bitkiler tarafından üretilen polifenolik bileşiklerin bir grubudur (Arianingrum & Arty; 2018). Flavonlar, pirazolinler ve indol vb. gibi biyolojik öneme sahip birçok heterosiklik bileşikler anahtar öncüler olarak kalkonlar kullanılarak sentezlenebilir. Kalkonlar, yapısal olarak 1,3 konumlarından iki fenil halkasının bağlandığı 15 karbondan oluşmuş propan zincir yapısından oluşur. (Roleira, Varelaa, Gomes, Costa & Silva, 2021; Rozmer & Perjesi 2016, Valavanidis ve Vlachogianni 2013). Aromatik halka yapısında oksijen atomu bulunduran kalkonlar biyolojik açıdan önemli yere sahiptir (Eddarir Cotelle, Bakkour & Rolando, 2003; Forkman & Heller, 1999). Flavonoidler ve bunların alt sınıfı flavanonlar, doğada antikanser veya antikanserojenik (antimutajenik) aktivitelere sahip olduğu bildirilen polifenolik bileşikler olarak bulunur (Androustopoulos, Papakyriakou, Vourloumis, Tsatsakis & Spandidos, 2010; Panche, Diwan & Chandra, 2016). Flavanonlar genellikle 2'- substitue kalkonların (-OH, -NH₂) asetik asit, etanol veya başka çözücü içinde; bir asit varlığında (sülfürik asit, polifosforik asit gibi) veya bir baz katalizör varlığında (piridin, DBU, TEA gibi), geleneksel ısıtma veya mikrodalga ışınması altında siklizasyon reaksiyonu ile sentezlenir (Dongamanti, Naji, Bommidi&Rolando, 2016). Azaflavon bileşikleri, yapısında piridil veya 1 konumunda azot (N) bulunduran heterohalkalı bileşikler olup genel olarak azakalkon ya da substitue amino grubu bulunduran kalkon bileşiklerinden başlanarak sentezlenirler (Yaşar vd., 2008). Azaflavanon bileşikleri azaflavonoid sınıfı bileşiklerdir ve dihidrokinolinonlar olarak bilinirler (Nibbs & Scheidt; 2012; Sakirolla, Yaeghoobi&Rahman, 2012; Cheng, Zhao & Yu, 2014). Azaflavanon bileşiklerinin birbirinden farklı reseptör veya enzimler için ligand bulabilme kabiliyetlerinden dolayı antimalaryal, sitotoksik ve mRNA inhibitörü gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip oldukları, aday nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler) olarak önemli bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Higuchi vd., 2009; Patti vd., 2012; Chandrasekhar vd., 2012). Azaflavon ve azaflavanon bileşikleri yapı olarak doğadaki birçok bitkide bulunan bileşiklere benzer olması ve bu bileşiklerin de çok çeşitli biyolojik aktivite göstermelerinden dolayı literatürde mevcut olan sentez yöntemleri değiştirilerek farklı yöntemlerle sentezlenme ihtiyacı başlamıştır. Artan kimyasal atık ve sentez verimlerinin yükseltilmesi gibi sebeplerden dolayı günümüzde organik kimyadaki sentezler de yeşil kimya olarak bilinen metodlara ilgi artmaktadır. Birbirinden farklı substitue grupları bulunduran azaflavanon bileşiklerin sentezi, geleneksel yöntemlerle ya da değişik katalizörler varlığında mikrodalga cihazı ile yapıldığı çalışmalar bulunmaktadır (Rosa, Seca, Barreto, Silva & Pinto, 2019; Nilsson, Nielsen, Liljefors, Nielson & Sterner, 2008; Yaylı, Üçüncü, Yaylı, Demir & Demirbağ, 2008). Bu bileşiklerin sentezi için yapılan çalışmalarda, amino substitue kalkonlar sentezlenerek halkalaşma sonucundan azaflavanon bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir (Rocha, Vaz, Pinto&Silva, 2019; Gupta, Jamatia, Patil, Ma & Pal, 2018; Chelghoum, Bannous, Bouraiou, Bouacida & Belfaitah, 2012).

Son yıllarda sentez reaksiyonlarında klasik yöntemler yerine yeni sentez yöntemlerinin kullanıldığı görülmektedir. Bunun sebebi olarak klasik sentez işlemlerinin uzun süreli olması, fazla miktarda çözücü ve reaktif kullanımı, ürün veriminin düşük olması gibi olumsuzluklar olabilir (Hayes, 2004; Safari, Naseh, Zarnegar & Akbari, 2014). Bu olumsuz durumları ortadan kaldırmak ya da en aza indirme ihtiyacından ötürü, sentez alanındaki çalışmalarda farklı yöntemlerin bulunması söz konusu olmuştur. Bu anlamda mikrodalga cihazının kullanılmaya başlandığı çalışmaların sayısında oldukça artış görülmektedir (Horihoski, Watanabe, Narita, Suzuki & Serpone, 2018; Diaz- Ortiz, Prieto & Hoz, 2019). Bu sebeple mikrodalga cihazı yeni potansiyel ilaçların geliştirilmesinde önemli bir ısıtma kaynağı olarak kullanılmakta sentez alanındaki çalışmaların odağı haline gelmiştir (Mavandadi & Lidström; 2004). Mikrodalga destekli reaksiyonlar çözücü varlığında ve katı faz reaksiyonları şeklinde kullanılarak yapılmaktadır (Lidström, Tierney, Wathey & Wetman, 2001; Murti, Patak & Patak, 2021).

Kalkonlardan flavanon sentezi, genellikle polar özellikteki çözücüler kullanılarak ya da katı faz reaksiyonları ile beraber yapılmaktadır. Genellikle aseton, metanol, etanol gibi polar çözücü ortamında mikrodalgada flavanon bileşiklerinin sentezlendiği birçok çalışma mevcuttur (Sinyeue vd., 2022; Tehseen, Ghori, Khatoun, Sajid & Nafees, 2021; Rahim, Bhuiyan, Matin, Ali & Kabir, 2018). Mikrodalga ışınlarıyla flavanon bileşiklerinin sentez reaksiyonunda katı faz ortamında sentezlenmesi de yapılmaktadır (Albogami, Alkhatlan, Saleh & Elazzazy, 2014). Reaktant bileşikler alümina, silika, Klay, N-bromo sukkinimit (NBS) gibi katı maddelerle veya 1,2,4-tri kloro benzen (TCB) gibi sıvı çözücüler olarak kullanılarak, mikrodalga ışınlarının daha kuvvetli şekilde absorbe edilmesini ve reaksiyon ortamının homojen bir şekilde ısınması sağlanır (Silva, Silva, Tome & Cavaleiro, 1999; Patoilo, Silva, Pinto, Tome&Cavaleiro, 2007; Varma, 2002; Kahrman vd., 2012).

Bu çalışmada geniş biyolojik aktivite yelpazesine sahip olan heterohalkalı azaflavanon bileşiklerinin sentezlenmesi ve bu bileşiklerin çeşitli biyolojik aktivite çalışmalarının yapılması amaçlanmıştır. Bu çalışma kapsamında, sentezi yapılan toplam 6 adet kalkon ve flavanon bileşiklerinin literatürde sentezlerinin mevcut olduğu görülmektedir (Zhao vd., 2013; Santos vd., 2017; Varma & Saini, 1997). 2-/3- bromo substitue azaflavanon bileşiklerinin (4,5) mikrodalga cihazı kullanılarak sentezlenmesi ve sentezlenen azaflavanon bileşiklerinin biyolojik aktivite çalışmalarına dair herhangi bir çalışmanın mevcut olmadığı görülmüştür. Bu amaçla bu çalışmada, hem azaflavanon bileşiklerinin sentezinde yeni yöntemler kullanılarak sentez yapılması hem de antimikrobiyal, antioksidan aktivitelerinin tayin edilmesi ilk kez bu çalışmada yapılmıştır (Bhattacharya, Kundu & Maiti, 2010; Zhu vd., 2021; Li, Jin, Yu & Su, 2009; Saito, Moriya & Akiyama, 2015; Derebli vd., 2016).

2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada, çalışmaya konu olan farklı konumlardaki 1-,2-,3- bromo substitue azakalkon bileşikleri Claisen-Schmidt kondenzasyonu yöntemiyle sentezlendi. Sentezlenen kalkon bileşiklerinden başlanarak, laboratuvar tipi mikrodalga cihazında, molekül içi halkalaşma reaksiyonu üzerinden farklı konumlarda brom içeren azaflavanon bileşiklerinin sentezi yapılmıştır. Sentezlenen 6 bileşik, disk difüzyon yöntemi ardından minimum inhibisyon konsantrasyonu yöntemi kullanılarak toplam 12 adet Gram pozitif, Gram negatif ve fungus mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri, DPPH ve FRAP yöntemleri kullanılarak da antioksidan aktiviteleri tespit edildi.

2.1. Enstrümantasyon

Saflaştırma ve sentez işlemleri sırasında kullanılan tüm kimyasallar Merck ve Sigma-Aldirich, etanol, metanol organik çözücülerini %98 saflıkta olup fraksiyonlu destilasyon yapılarak sentez ve analiz işlemlerinde kullanıldı. NMR alırken kullanılan $CDCl_3$ ve CD_3OD Merck marka olup % 99.8 saflıktadır. UV spektrumları $25\text{ }^\circ\text{C}$ 'de, Unicam UV2-100 Spektrofotometresinde alındı. Kütle spektrumları Micromass Quattro LC-MS/MS cihazında alındı. Erime noktaları mikroskoba bağlı Thermo-var cihazı kullanılarak tayin edildi. IR spektrumları ise KBr tabletleri halinde veya NaCl üzerinde $CHCl_3$ ve CH_3OH çözücülerini yardımıyla Perkin-Elmer 1600 Series FT-IR ($4000-400\text{ cm}^{-1}$) spektrofotometresinde alındı. NMR spektrumları Varian Mercury 200 MHz NMR cihazı kullanıldı.

2.2. (1-3) Nolu Azakalkon Bileşiklerin Sentezi

Claisen-Schmidt kondenzasyon reaksiyonu ile 1-3 Nolu brom substitue azakalkon bileşiklerin sentezlenmesi için uygulanan prosedür literatürde verildiği gibi gerçekleştirildi (Zheng vd., 2013; Cheng vd., 2014). 2-amino asetofenon (1,0 g, 0,007 mol) ile 2-, 3- ve 4-bromo benzaldehit (1,36 g, 0,007 mol), baz olarak NaOH (1,0 g, 0,025 mol) ve çözmek için etanol ve NaOH çözmek için saf su kullanılmıştır. Reaksiyonlar $0-5\text{ }^\circ\text{C}$ aralığında yapılmış olup reaksiyonlara ait genel reaksiyon denklemi Şekil 1'de verilmiştir. Reaksiyon ortamının soğuk olmasına dikkat edilerek kloroform çözücü sisteminde asidik TLC ile reaksiyon ilerleyişi kontrol edilerek oluşan katı ürün ortamdan ayrıldı ve kolon kromatografisi ile saflaştırma sonrası sarı renkli ürünler $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C/APT-NMR}$ ve COSY spektroskopisi alınarak literatürdeki verilerle karşılaştırıldı.

2.3. (4-6) Nolu Azaflavanon Bileşiklerin Sentezi

İlgili azakalkon bileşiğinden 0,5 g (0,0016 mol) tartılarak üzerine 5 g K-10 Klay ilave edildi. Karışım üzerine kloroform ilave edilerek çözüldü. K-10 Klay ve kalkon karışımı evaporatörde kuruluğa kadar çekildi. Karışım, magnetle beraber mikrodalga cihazının reaktörde cihaza yerleştirildi. 350 Watt $80\text{ }^\circ\text{C}$ 'de 25 dk mikrodalga ışını gönderilerek reaksiyonun takibi asidik TLC kullanılarak yapıldı. Kontrollü olarak yapılan bu işlem 75 dk sonrasında bitirildi. K-10 Klayle beraber bulunan ürünü ortamdan almak için reaktör içeriği kloroformda çözümlenerek süzme işlemiyle ayrıldı ve evaporatörde çözücüsü uzaklaştırıldı. Sentezlenen yağimsı ürünlerin kolon kromatografisi ile saflaştırma sonrası $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C/APT-NMR}$ ve COSY spektrumları alındı.

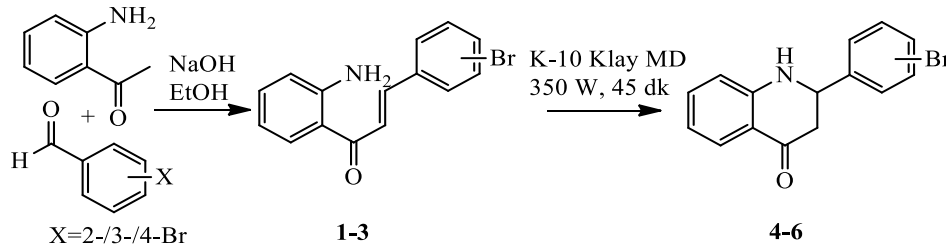
2.4. Antimikrobiyal Aktivite Testi

Sentezlenen toplam 6 adet bileşiğin antimikrobiyal aktivitelerinin bulunması için disk difüzyon yöntemi uygulanarak duyarlı bulunan mikroorganizmalara karşı minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) metodu uygulandı. American Type Culture Collection'dan (ATCC) elde edilen 11 bakteri türüne (4 Gram pozitif bakteri, 7 Gram negatif bakteri) ve 1 fungusu karşı ayrı ayrı test yapılarak aktivite tayini yapıldı.

Mikroorganizmalar sırasıyla; *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) ATCC 12228, *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922, *Klebsiella pneumonia* (*K. pneumonia*) ATCC 13883, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC 27853, *Proteus vulgaris* (*P. vulgaris*) ATCC 13315, *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) ATCC 14028, *Yersinia pseudotuberculosis* (*Y. pseudotuberculosis*) ATCC 911, *Enterobacter cloacae* (*E. cloacae*) ATCC 13047, *Candida tropicalis* ATCC 13803 (*C. tropicalis*'dir. Standart antibakteriyel ilaç olarak Kanamisin kullanılmıştır. Stok çözeltiler ve çözücü kontrolü için metanol kullanıldı.

2.4.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Sentezlenen bileşiklerin metanoldeki çözeltilerinin antimikrobiyal aktivite tayini için ilk olarak disk difüzyon yöntemi kullanıldı (Amelia vd., 2006; NCCLS, 1993). Her bakteri kültürü Muller-Hinton broth'a aşılana- rak 37°C'de 16 saat inkübe edildi. Optik yoğunluk değeri OD₆₂₅ = 0.08-0,1'e ayarlandı. Her bir bakteri süspan- sionundan 100 µL, Mueller-Hinton agar yüzeyine yerleştirildi. Petri kapları 37°C'de 24 saat inkübe edildi. Kanamisin, 10 µg/disk'te pozitif referans olarak kullanıldı. Çözeltilerin inhibisyon ölçümü için toplam çap ölçümü yapıldı. Her plaka, 10 µL metanol ve bir antibiyotik disk içeren boş bir disk taşıdı. Her madde için yapılan deneme üç tekrar halinde yapıldı. Bileşiklerin metanoldeki çözeltisiyle empenye edilmiş disklerin etrafındaki ≥ 6 mm çapındaki inhibisyon bölgesi olan bakteriler, minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) için kullanıldı.



Şekil 1. 1-6 Nolu bileşiklere ait genel sentez denklemi

2.4.2. Micro-seyreltme Yöntemi

Disk difüzyon testinde, sentezlenen bileşiklerin metanol çözeltilerinin duyarlı olduğu bulunan bakteri şuş- ları üzerinde MIC değerleri belirlendi. Bakteri şuşlarının inokulumları 12 saat agar kültürlerinden hazırlandı ve süspanسیونlar 0,5 McFarland standart bulanıklığa ayarlandı. Metanolde çözülen ekstraktlar önce test edi- lecek en yüksek konsantrasyona (500 µg/mL) seyreltildi ve ardından Muller-Hinton broth bulunan test 1 mL'lik test tüplerinde 500 µg/mL ile 0,49 arasında bir konsantrasyon aralığı elde etmek için seri 2 kat seyrelt- meler yapıldı. Muller-Hinton suyu içeren test tüpleri. Çözelti ortamındaki bileşiklerin bakteri şuşlarına karşı MIC değerleri, bir mikro-kuyu seyreltme yöntemi bazında belirlendi (Murray, Baron, Pfaller, Tenover & Yolke, 1995; Hajlaoui vd., 2009). Pozitif kontrol için standart ilaç olarak Kanamisin, 500-0,49 µg/mL kon- santrasyon aralığında Muller-Hinton broth'da hazırlanarak kullanıldı. 96 oyuklu plakalar, seyreltilmiş bileşiği içeren 200 µL Muller-Hinton broth'un her bir oyuğa dağıtılmasıyla hazırlandı ve her oyuğa 12 saatlik agar kültürlerinden 5 µL 0,5 McFarland ilave edildi. Her kuyunun içeriği 24 saat 37°C sıcaklıkta inkübe edildi. Her ortamda mikrobiyal büyüme, spektrofotometre (Molecular Devices, SpectraMax M2) kullanılarak 600 nm'de ilgili absorbans (Abs) okunarak belirlendi ve her kuyudan 10 µL numuneler Muller-Hinton agar ortamına kap- lanarak doğrulandı. Bu çalışmada yapılan antimikrobiyal aktivite testleri kullanılan her organizma için 2 tek- rarlı yapıldı.

2.5. Antioksidan Aktivite Testi

2.5.1. FRAP Yöntemi

FRAP yönteminde sentezlenen bileşiklerin 1 mg/mL konsantrasyonlardaki metanoldeki çözeltileri hazırlandı. Standart olarak Troloks kullanıldı. Numune körü dışındaki sentezlenen her bileşik ve standart çözelti içine 3 mL FRAP reaktifi ilave edildi. Standart ve numune kör çözeltilerine 100 µL sentezlenen bileşiklerin çözeltileri eklendi. 20 dakika bekletilerek spektrofotometre de 595 nm'de absorbansları ölçüldü (Benzie ve Strain, 1999).

Elde edilen absorbans değerleri, indirgeme potansiyeli yüksek antioksidan madde askorbik asit ile yapılan çalışma sonuçlarıyla karşılaştırıldı. Bu yöntemde, artan absorbans değeri artan indirgeme kuvvetini göstermektedir.

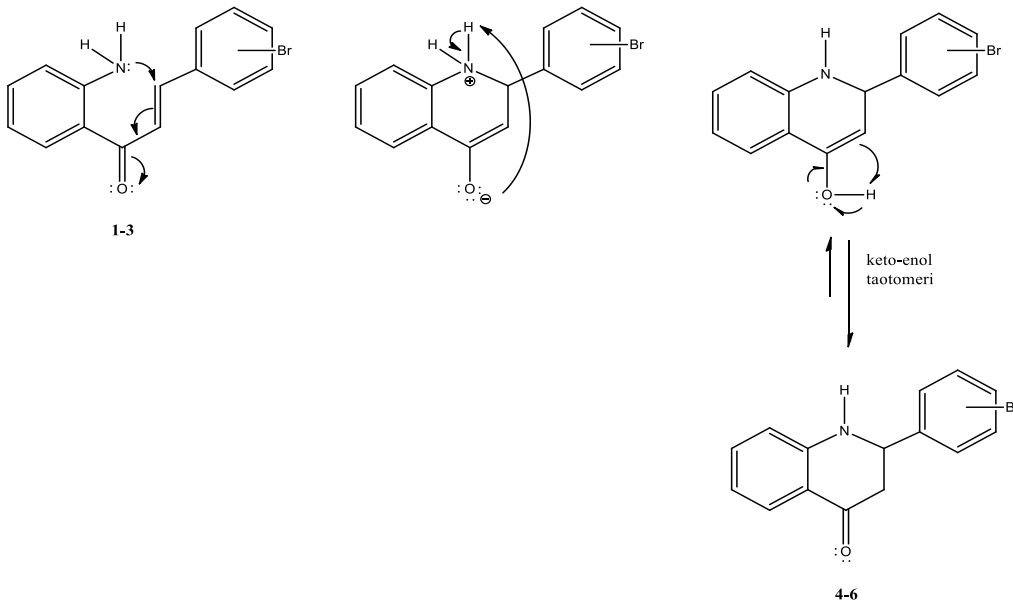
2.5.2. DPPH• Yöntemi

DPPH• radikali (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ile yapılan bu test için radikal metanol içinde çözüldü (Cuen-det, Hostettman, Potterat & Dyatmiko, 1997). Sentezi yapılan kalkon ve azaflavanon bileşiklerin ve standart bileşiklerin (BHT, Troloks, C vitamini) farklı konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlandı. 1/2 seyreltme işle-miyle 4 seyreltme yapıldı. Numune çözeltilerinin her birinin üzerine 750 µL DPPH• çözeltisi ilave edildi. Numune çözeltileri ve standart çözeltiler için iki tekrar çalışması yapıldı. Ayrıca numune/standart her bir konsantrasyonu için birer kör ve her bir numune çözücüsü için de üç paralel çalışıldı. İnkübasyon süresi 50 dk sonunda 517 nm'de absorbanslar okundu. Absorbans-konsantrasyon grafiği çizilerek radikal miktarını yarıya indiren numune konsantrasyonu olan IC₅₀ değerleri (mg/mL) hesaplandı.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. (1-6) Nolu Bileşiklerinin Sentezi

(1-3) Nolu bileşikler olan kalkon bileşiklerinin sentezleri literatürde belirtildiği şekilde yapıldı (Zheng vd., 2013; Cheng vd., 2014; Praveen, Parthasarathy, Kumar & Perumal, 2015). Sentezlenen kalkon bileşiklerinden ilgili flavanon bileşiklerinin sentez mekanizması Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 2. 4-6 Nolu bileşiklerin genel sentez mekanizması

Bu çalışmada, farklı konumlarda bromo substitue azaflavanon bileşikleri mikrodalga cihazında katı faz ortamında yağimsı halde saf halde elde edildi. Literatüre bakıldığında bromo substitue azaflavanon bileşiklerinin sentezlendiği çalışmalara rastlanılmaktadır (Saito vd., 2015; Gorepatil vd., 2018; Li vd., 2009; Ahmed, Konduru, Praven, Kumar, Kamaluddin 2013). Fakat 5 ve 6 numaralı azaflavanon bileşiklerinin ilk kez mikrodalgada sentezlediği söylenebilir. Azaflavanon bileşiklerindeki (4-6) α,β -doymamış karbonil grubuna ait çifte bağın etkileşme sabitleri 15.6, 15.8 ve 15.6 Hz'lik çifte bağ protonlarının etkileşme sabiti değerleriyle trans izomer yapısında olduğu bulunmuştur.

Derebli ve ark. (2016), çalışmalarında 2 amino asetofenondan başlayarak [C14dabco]Br katalizörü eşliğinde 4-brom substituentinde içinde olduğu farklı substitue 2-azaflavanon bileşikleri sentezlemiştir. Normal prosedürden farklı olarak Derebli çalışmasında çözücüsüz ortamda %76 oldukça yüksek verimle sentezi gerçekleştirmiştir. Bir başka çalışmada He ve ark., (2021), bizim çalışmamıza benzer şekilde, farklı substitue 2 azakalkon bileşiklerinden katalizör varlığında 2-azaflavanon bileşikleri sentezlediler. Literatürdeki yeni çalışmalarda sıklıkla görülen bir yöntem olan katalizör varlığında yapılan çalışmada ZnCl₂ eşliğinde asetik asit-asetik anhidrit ortamında geri soğutucu altında %74 verimle 4-bromo substitue 2-azaflavanon bileşiğinin sentezi yapılmıştır. Pan ve ark., (2016) 36 saat 25 °C de pirolidin (2-pirolidinmetil)-8-kinolinamin ortamında 3-bromo substitue azakalkon bileşiğinden azaflavanon bileşiğini %72 verimle sentezlemişlerdir. Bizim çalışmamızda farklı konumlardaki brom substitue 2-azaflavanon bileşiklerinin sentezi, çok daha çevreye duyarlı, reaktan ve çözücü kullanımının en aza indirildiği bir cihaz ile literatürdeki sentez çalışmalarından çok daha yüksek verimlerle yapılmıştır. Li ve ark. (2009), silikajelle beraber Yb(OTf)₃ kullanarak su banyosunda 3 bromo azaflavanon bileşiğinin olduğu farklı substitue gruplar bulunduran flavanon bileşikleri sentezlemişlerdir. İki farklı metot uygulayarak yaptıkları sentez işleminde %50-87 verimlerle ürün elde etmişlerdir. Çalışmada verilen NMR ve IR gibi spektroskopik veriler açısından benzerlik olduğu görülmektedir.

3.1.1. [2-(2-bromofenil)-2,3-dihidrokinolin-4(1H)-on] (4)

Verim: %52, katı ürün, R_f: 0.59 (kloroform); IR (KBr, cm⁻¹): 3327 (-NH), 1667 (C=O), 3013 (=CH), 2850-2929 (-CH); UV-vis λ nm (loge): 363 (2.8); ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃-CD₃OD (20:1, δ , ppm): [al-H: 4.6 (2H, t, J= 6.6 Hz), 2.7 (2H, AX₂), ar-H: 7.8 (d, 1H, J= 7.0 Hz), 7.4 (m, 3H), 7.3 (m, 2H), 6.8 (d, 1H, J= 7.8 Hz), 6.7 (d, 1H, J= 7.4 Hz), -NH: 4.7 (bs, 1H). ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃-CD₃OD (20:1, δ , ppm): 192.9 (C=O), 57.7 (CH₂), 46.2 (CH₂), ar-C [131.4 (CH), 118.5 (CH), 135.5 (CH), 116.0 (CH), 151.4 (CH), 118.8 (CH), 139.9 (CH), 122.0 (CH), 131.9 (CH), 128.2 (CH), 127.4 (CH), 131.7(CH)]. C₁₅H₁₂NO⁷⁹Br: 301 g/mol, LC-MS/MS (m/z) (%) [M(⁷⁹Br-NH₃)⁺: 284, hesaplanan 284(100).

3.1.2. [2-(3-bromofenil)-2,3-dihidrokinolin-4(1H)-on] (5)

Verim: %89, katı ürün, R_f: 0.56 (kloroform); IR (KBr, cm⁻¹): 3327 (-NH), 1666 (C=O), 3064 (=CH), 2849-2926 (-CH); UV-vis λ nm (loge): 243 (4.3), 262 (4.0), 362 (3.6); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃-CD₃OD (20:1, δ , ppm): [al-H: 4.7 (2H, t, J= 5.6 Hz), 2.8 (2H, AX₂), ar-H: 7.9 (d, 1H, J= 7.4 Hz), 6.7 (t, 1H, J= 8.2 Hz), 7.4 (t, 1H, J= 7.4 Hz), 7.2 (d, 1H, J= 7.4 Hz), 7.6 (s), 7.5 (d, 1H, J= 7.8 Hz), 7.3 (t, 1H, J= 4.4 Hz), 6.8 (d, 1H, J= 7.8 Hz), -NH: 4.5 (bs, 1H). ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃-CD₃OD (20:1, δ , ppm): 191.7 (C=O), 56.2 (CH₂), 46.3 (CH₂), ar-C [130.2 (CH), 118.4 (CH), 136.2 (CH), 115.0 (CH), 147.5 (CH), 118.6 (CH), 138.2 (CH), 127.9 (CH), 122.9 (CH), 131.8 (CH), 130.9 (CH), 129.9 (CH)]. C₁₅H₁₂NO⁷⁹Br: 301 g/mol, LC-MS/MS (m/z) (%) [M(⁷⁹Br-NH₃)⁺: 284, hesaplanan 284 (25).

3.1.3. [2-(2-bromofenil)-2,3-dihidrokinolin-4(1H)-on] (4)

Verim: %77, katı ürün, R_f: 0.51 (kloroform); IR (KBr, cm⁻¹): 3325 (-NH), 1670 (C=O), 3063 (=CH), 2853-2926 (-CH); UV-vis λ nm (loge): 234 (4.3), 262 (4.0), 364 (3.6); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃-CD₃OD (20:1, δ , ppm): [al-H: 5.2 (2H, t, J= 8.6 Hz), 2.7 (2H, AX₂), ar-H: 7.8 (d, 1H, J= 7.0 Hz), 6.8 (t, 1H, J= 7.4 Hz), 7.4 (t, 1H, J= 6.0 Hz), 7.3 (d, 1H, J= 7.2 Hz), 7.2 (d, 1H, J= 6.2 Hz), 7.7 (d, 1H, J= 6.2 Hz), 7.6 (d, 1H, J= 6.6 Hz), 6.6 (d, 1H, J=7.8 Hz), -NH: 4.7 (bs, 1H). ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃-CD₃OD (20:1, δ , ppm): 193.2 (C=O), 57.0 (CH₂), 44.4 (CH₂), ar-C [127.9 (CH), 118.7 (CH), 135.9 (CH), 116.4 (CH), 152.0 (CH), 119.1 (CH), 140.1 (CH), 133.5 (CH), 129.9 (CH), 123.1 (CH), 129.9 (CH), 133.5 (CH)]. C₁₆H₁₃O₂⁷⁹Br: 316, LC-MS/MS (m/z) (%) [M(⁷⁹Br-NH₃)⁺: 284, hesaplanan 284 (40).

3.2. Antimikrobiyal Aktivite

Sentezlenen kalkon ve flavanon bileşiklerinin çalışılan 11 bakteri ve 1 fungus üzerindeki antimikrobiyal aktivite sonucu Tablo 1’de gösterildi. Sentezlenen bileşiklerin test edilen G (-) bakteriler üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı tespit edildi. G (+) bakteriler üzerindeki etkilerinin de genel olarak çok düşük olduğu tespit edildi. 6 bileşik arasında bakteriler üzerinde en etkili 5 numaralı, 3-bromo substitue azaflavanon bileşiği olup, G (+) bir bakteri olan *E. faecalis*’e karşı 25 µg/mL etki gösterdi. Mikroorganizmaların geneline bakıldığında yine en etkili bileşiğin 5 numaralı 3-bromo substitue azaflavanon bileşiğinin *E. faecalis*, *S. epidermidis* ve *C. tropicalis* üzerinde etki gösterdiği tespit edildi. 3 numaralı bileşik olan 4-bromo substitue azakalkon bileşiği hariç diğer bileşiklerin hepsinin, insanlarda cilt ve deri hastalıklarına sebep olan fungus ailesinden bir mikroorganizma olan *C. tropicalis* üzerinde 6.25-100 µg/mL aralığında etkisinin olduğu bulundu. Bu bileşikler içerisinde *C. tropicalis*’e karşı en yüksek aktivite 6.25 µg/mL’lik MIC değeri ile 2 numaralı bileşik 3-bromo substitue azakalkon bileşiğinde bulundu. Kontrol antibiyotiği olan Kanamisin *C. tropicalis* üzerinde herhangi bir etkisi bulunmadı.

Tablo 1

1-6 nolu bileşiklerinin test edilen bakteri suşlarına karşı MIC değerleri (µg/mL)

Bakteriler	Kanamisin	1	2	3	4	5	6
<i>B. subtilis</i>	0.196	100	-	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i>	6.25	-	-	-	-	25	-
<i>S. aureus</i>	0.782	-	-	-	100	-	100
<i>S. epidermidis</i>	0.392	-	-	-	-	50	-
<i>E. coli</i>	1.562	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumonia</i>	0.392	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	--	-	-	-	-	-	-
<i>P. vulgaris</i>	0.196	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i>	1.562	-	-	-	-	-	-
<i>Y.pseudotuberculosis</i>	0.782	-	-	-	-	-	-
<i>E. cloaceae</i>	1.562	-	-	-	-	-	-
<i>C. tropicalis</i>	--	100	6.25	-	100	25	100

B. subtilis: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *E. faecalis*: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *S. aureus*: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis*: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *E. coli*: *Escherichia coli* ATCC 25922, *K. pneumonia*: *Klebsiella pneumonia* ATCC 13883, *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *P. vulgaris*: *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *S. typhimurium*: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Y. pseudotuberculosis*: *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *E. cloaceae*: *Enterobacter cloaceae* ATCC 13047, *C. tropicalis*: *Candida tropicalis* ATCC 13803.

Flor, klor ve brom substitue azaflavanon bileşiklerinin sentezi yapılan bir başka çalışmada Praven ve ark. (2015), azakalkon bileşiklerini önce epoksitleri haline çevirerek Diklorometan ortamında trifilik asit kullandıkları çalışmadır. 3- ve 4-bromo azaflavanon bileşiklerini sırasıyla 45 ve 50 dk süre sonunda %81-84 verimle sentezlemişlerdir. Yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmasında en yüksek aktiviteyi *Shigella flexneri* (15-20 mm), *Staphylococcus aureus* MRSA (17-22 mm) ve fungus olan *Candida albicans* (10-18 mm) üzerinde göstermişlerdir. Bu anlamda bizim çalışmamızdaki fungus üzerindeki aktivite açısından benzerlik gösterdiği söylenebilir. Kahrman ve ark.,(2012) 1,3-Diaza-flavanon ve flavon bileşiklerini sentezleyerek antimikrobiyal aktivitelerini çalışmışlardır. Çalışmada gram pozitif bakteriler üzerinde flavanon ve flavon bileşiklerinin yüksek aktivite gösterdiklerini bulmuşlardır. Bu çalışmada da Gram pozitif bakteriler olan *E. faecalis*, *S. epidermidis* ve *C. tropicalis* mikroorganizmaları üzerinde aktivite bulunmuş olması bakımından bizim çalışmamızı destekler şekildedir.

3.3. Antioksidan Aktivite

Brom süstitüentinin farklı konumlardaki kalkon ve flavanon bileşiklerinde içinde 3 konumundaki bileşikler olan 2 ve 5 bileşiklerinin antioksidan aktivitelerinin 6 bileşik içerisinde en yüksek olduğu bulundu. Sentezlenen bileşiklerde bulunun -NH₂ ve -NH gruplarının antioksidan aktivite gösterme eğilimi artırdığı bilinmektedir. FRAP ve DPPH antioksidan aktivite test sonuçları standart sapmalar hesaplanarak verilmiştir. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde brom süstitüentinin -NH₂ ve -NH substituentinden uzakta bulunmasının aktivitenin artması yönünde etki sağladığı söylenebilir.

Tablo 2

1-6 nolu bileşiklerin FRAP ve DPPH Sonuçları

Numune	FRAP ($\mu\text{mol/g}$)	DPPH (mg/mL)
1	81,642 \pm 1,231	0,583 \pm 0,011
2	173,783 \pm 1,763	0,484 \pm 0,012
3	59,794 \pm 0,983	0,819 \pm 0,015
4	237,333 \pm 1,295	0,122 \pm 0,009
5	279,052 \pm 1,773	0,093 \pm 0,009
6	231,056 \pm 1,451	0,997 \pm 0,012
Troloks*		0,0034 \pm 0,000

Yaşar ve ark., (2008) yaptıkları çalışmada sentezledikleri hidroksi substitue flavanon bileşiklerinin antimikrobiyal ve antioksidan tayinlerini yapmışlardır. DPPH tayini sonucunda flavanon bileşiğinin güçlü antioksidan gösterdiği, FRAP tayininde ise 268-283 μmol değerinde aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Bu bağlamda bu çalışmada sentezi yapılan 3 adet azaflavanon bileşiklerinin FRAP değerlerine bakıldığında 231-279 μmol olması bakımından literatürdeki çalışmadaki gibi yüksek antioksidan aktivite gösterdiği söylenebilir.

Diğer bir çalışma Sinek, (2012), hidroksi substitue azakalkon, azaflavon ve azaflavanon bileşiklerinin sentezlerinin yapıldığı çalışmada azaflavanon bileşiğinin sentezlenen bileşiklere kıyasla SC_{50} = 0,512 mg/mL değeri ile en yüksek DPPH değerine sahip olduğunu bulmuştur.

4. Sonuçlar

Flavanoid sınıfı bileşiklerden olan azaflavanon sınıfı bileşikler hem biyolojik hem de endüstriyel öneme sahiptir. Biyolojik aktivite olarak; antioksidan, antimikrobiyal, antialerjik, antihipertansif, antiülserojenik, antiviral geniş bir yelpazeye sahiptir. Bunların yanında boya endüstrisinde ve metaller tepkime girme kabiliyetinden dolayı besin, tekstil, deri, metalürji, tıp, ziraat gibi çok farklı ve kullanımı oldukça önemli olan değişik alanlarda kullanımları söz konusudur. Bu çalışmada azakalkon ve azaflavanon bileşiklerinin önce sentezi, sonrasında antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi amaçlandı. Flavanon bileşiklerinin literatüre bakıldığında, son yıllarda farklı kanser hücrelerine karşı aktivitelerinin bulunduğu çalışmalar bulunmaktadır. Bu sebeple antioksidan ve antimikrobiyal aktive değerleri yüksek bulunan bu bileşiklerin, antialerjik, antimutajenik, kardiyoprotektif, enzimatik aktivite modülatörleri ve antikanser gibi birçok farklı biyolojik aktivite testleri uygulanabilir. Farklı biyolojik aktivite çalışmalarının yapılması için yeterli bileşik miktarlarının sentezlenmesinde bu çalışmada tercih edilen, çevre dostu mikrodalga cihazı kullanılarak oldukça kısa sürede ve yüksek verimde flavanon bileşikleri sentezlenebilir. Bunun yanı sıra; farklı heterosiklik bileşiklerinin öncü molekülleri olan flavanon bileşiklerinin pirazolin ve glikozit türevleri gibi birçok bileşiğe sentezi gerçekleştirilerek aktivite çalışmaları genişletilebilir.

Teşekkür

Bu çalışmada antioksidan aktivite testlerini yapan, Prof. Dr. Hüseyin ŞAHİN'e teşekkürlerimizi sunarız.

Yazar Katkıları

Tayyibe Beyza YüceL: Bileşiklerin sentezini tasarlamış ve yapmıştır.

Seda Fandaklı: Bileşiklerin sentezinde yardımcı olmuştur.

İsmail Demir: Çalışmanın antimikrobiyal aktivitesini yapmıştır.

Nurettin Yaylı: Bileşiklerin sentezini tasarlamış ve değerlendirmiştir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Kaynaklar

- Ahmed, N., Konduru, N. K., Praveen, Kumar, A. ve Kamaluddin. (2013). Silica supported-Double metal cyanides (DMCs): A green and highly efficient catalytic protocol for isomerisation of 2'-hydroxychalcones to flavanones. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 373, 135-141. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2013.03.009>.
- Albogami, A. S., Alkhatlan, H. Z., Saleh, T. S. ve Elazzazy, A. M. (2014). Microwave-Assisted Synthesis of Potent Antimicrobial Agents of Flavanone Derivatives. *Oriental Journal of Chemistry*, 30 (2), 435-443. <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/300205>.
- Amelia, A., Almeida, P., Farah, A., Silva, D.A.M., Nunan, E.A. ve Gloria, B.A. (2006). Antibacterial Activity of Coffee Extracts and Selected Coffee Chemical Compounds against Enterobacteria. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54, 8738-8743. <https://doi.org/10.1021/jf0617317>.
- Androutsopoulos, V.P., Papakyriakou, A., Vourloumis, D., Tsatsakis, A.M. ve Spandidos, D.A. (2010). Dietary flavonoids in cancer therapy and prevention: Substrates and inhibitors of cytochrome P450 CYP1 enzymes. *Pharmacology & Therapeutics*, 123(1), 9-20. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.01.009>.
- Arianingrum, R. ve Arty, I.S. (2018). The effect of bromo chalcone [1-(4'-bromophenyl)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-propene-1-on] on T47D breast cancer cells AIP Conference Proceedings, 020071. <https://doi.org/10.1063/1.5065031>.
- Bhattacharya, R. N., Kundu, P. ve Maiti, G. (2010). Antimony Trichloride: An Efficient and Mild Catalyst for Cyclization of 2-Aminochalcones to the Corresponding 2-Aryl-2,3-Dihydroquinolin-4(1H)-ones. *Synthetic Communications*, 40(4), 476-481. <https://doi.org/10.1080/00397910902985523>.
- Benzie, I. F. F. ve Strain, J. J. (1999). Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay: Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration, *Methods in Enzymology*, 299, 15-27. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99005-5).
- Chandrasekhar, S., Pushpavalli, S. N., Chatla, S., Mukhopadhyay, D., Ganganna, B., Vijeender, K., Srihari, P., Reddy, C. R. ve Ramaiah, M. J. (2012). Aza-Flavanones as potent cross-species microRNA inhibitors that arrest cell cycle. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22, 645-648. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.10.061>.
- Cheng, S., Zhao, L. ve Yu, S. (2014). Enantioselective Synthesis of Azaflavanones Using Organocatalytic 6-endo Aza-Michael Addition. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 356, 982-986. <https://doi.org/10.1002/adsc.201300920>.
- Chelghoum, M., Bahnous, M., Bouraiou, A., Bouacida, S. ve Belfaitah, A. (2012). An efficient and rapid intramolecular aza-Michael addition of 2'-aminochalcones using ionic liquids as recyclable reaction media. *Tetrahedron Letters*, 53(32), 4059-4061. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2012.05.097>.
- Cuendet, M., Hostettmann, K., Potterat, O. ve Dyatmiko, W. (1997). Iridoid Glucosides with Free Radical Scavenging Properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta*, 80, 1144-1152. <https://doi.org/10.1002/hlca.19970800411>.
- Derabli, C. Mahdjoub S., Boulcina, R., Boumoud, B., Merazig, H. ve Debache, A. (2016). [C8dabco]Br: a mild and convenient catalyst for intramolecular cyclization of 2-aminochalcones to the corresponding 2-aryl-2,3-dihydroquinolin-4(1H)-ones. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 52(2), 99-103. <https://doi.org/10.1007/s10593-016-1840-8>.
- Díaz-Ortiz, Á., Prieto, P. ve Hoz, A. (2019). A Critical Overview on the Effect of Microwave Irradiation in Organic Synthesis. *The Chemical Record*, 19, 85-97. <https://doi.org/10.1002/tcr.201800059>.

- Dongamanti, A., Naji, H.H, Bommidi, V.L. ve Madderla, S. (2016). Microwave-assisted one-pot synthesis and antimicrobial evaluation of 2-(1-phenyl-3-(2-thienyl)-1H-pyrazol-4-yl)chroman-4-one derivatives. *Heterocyclic Communications*, 22(5), 259–264. <https://doi.org/10.1515/hc-2016-0027>.
- Eddarir, S., Cotelle, N., Bakkour, Y. ve Rolando, C. (2003). An Efficient Synthesis of Chalcones Based on the Suzuki Reaction, *Tetrahedron Letters*, 44, 5359-5363. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(03\)01140-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(03)01140-7).
- Forkmann, G. ve Heller, W. (1999). Biosynthesis of flavonoids, In *Comprehensive Natural Products Chemistry*, Edited by Sankawa U., Elsevier; Amsterdam, 713-748. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(00\)00192-0](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(00)00192-0).
- Gorepatil, A. B., Gorepatil, P. B., Gaikwad, M. V., Mhamane, D. S., Phadkule, A. N. ve Ingle, V.S. (2018). Zirconyl Nitrate as an Efficient Catalyst for Facile Synthesis of 2-Aryl-2,3-dihydroquinolin-4 (1H)-one Derivatives in Aqueous Medium. *Synlett*, 29(2), 235-237. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1589110>.
- Gupta, A., Jamatia, R., Patil, R.A., Ma, Y.R. ve Pal, A.K. (2018). Copper oxide/reduced graphene oxide nanocomposite-catalyzed synthesis of flavanones and flavanones with triazole hybrid molecules in one pot: A green and sustainable approach. *ACS Omega*, 3(7), 7288–7299. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00334>.
- Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri R. ve Bakhrouf, A. (2009). Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25, 2227-2238. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0130-3>.
- Hayes, B.L. (2004). Recent advances in microwave-assisted synthesis. *Aldrichimica Acta*, 37, 66-76. <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/marketing/global/documents/107/257/acta-vol37.pdf#page=74>.
- He, B., Phansavath, P. ve R. Vidal, V. (2021). Kinetic resolution of 2-aryl-2,3-dihydroquinolin-4(1H)-one derivatives by rhodium-catalysed asymmetric transfer hydrogenation. *Organic Chemistry Frontiers*, 8(11), 2504-2509. <https://doi.org/10.1039/D1QO00141H>.
- Higuchi, K., Umegaki, E., Watanabe, T., Yoda, Y., Morita, E., Murano, M. ve Tokioka, S.A. (2009). Present status and strategy of NSAIDs-induced small bowel injury. *Journal of Gastroenterology*, 44, 879-888. <https://doi.org/10.1007/s00535-009-0102-2>.
- Horikoshi, S., Watanabe, T., Narita, A., Suzuki, Y. ve Serpone, N. (2018). The electromagnetic wave energy effect(s) in microwave-assisted organic syntheses (MAOS). *Scientific Reports*, 8, 5151. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23465-5>.
- Kahriman N., Iskender N.Y., Yucel M., Yayli N., Demir E. ve Demirbag Z. (2012). Microwave-assisted synthesis of 1,3'-diaza-flavanone/flavone and their alkyl derivatives with antimicrobial activity. *The Journal of Heterocyclic Chemistry*, 49, 71–79. <https://doi.org/10.1002/jhet.800>.
- Li, J., Jin, L., Yu, C. ve Su, W. (2009). The cyclisation of 2'-aminochalcones using silica-supported Yb(OTf)₃ under solvent-free conditions. *Journal of Chemical Research*, 3, 170-173. <https://doi.org/10.3184/030823409X416974>.
- Lidström, P., Tierney, J., Wathey, B. ve Westman, J. (2001). Microwave Assisted Organic Synthesis—A Review. *Tetrahedron*, 57, 9225-9283. [http://dx.doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)00906-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0040-4020(01)00906-1).
- Mavandadi, F. ve Lidström, P. 2004. Microwave-assisted Chemistry in Drug Discovery. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 4,773–792. <https://doi.org/10.2174/1568026043451078>.
- Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenoer, F.C. ve Tenover, R.H. (1995). *Manual of clinical microbiology* (7th ed.). Washington, DC: ASM, pp. 1773. Washington, DC: ASM.
- Organization, WH (2001) WHO global strategy for containment of antimicrobial resistance. <https://www.worldcat.org/title/manual-of-clinical-microbiology/oclc/39914150>.
- Murti, Y., Pathak D. ve Pathak K. (2021). Green Chemistry Approaches to the Synthesis of Flavonoids. *Current Organic Chemistry*, 25(17), 2005-2027. <https://doi.org/10.2174/1385272825666210728095624>.

- Nibbs, E. A. ve Scheidt, K. A. (2012). Asymmetric Methods for the Synthesis of Flavanones, Chromanones, and Azaflavanones. *European Journal of Organic Chemistry*, 3, 449–462. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201101228>.
- Nilsson, J., Nielsen, E. Q., Liljefors, T., Nielsen, M. ve Sterner, O. (2008). Azaflavones Compared to Flavones as Ligands to the Benzodiazepine Binding Site of Brain GABAA Receptors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18, 5713-5716. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.09.092>.
- NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test, approved standard. M2-A5, 1993. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300057077>.
- Pan, G. F., Su, L., Zhang, Y. L., Guo, S. H. ve Wang, Y. Q. (2016). Organocatalytic one-pot asymmetric synthesis of 2-aryl-2,3-dihydro-4-quinolones. *RSC Advances*, 6(30), 25375-25378. <https://doi.org/10.1039/C6RA01247G>.
- Panche, A.N., Diwan, A.D. ve Chandra, S.R. (2016). Flavonoids: an overview, *Journal of Nutritional Science*, Cambridge University, Volume 5(e47):1-15. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>.
- Patoilo, D. T., Silva, A. M. S., Pinto, D. C. G. A., Tomé, A.C. ve Cavaleiro, J.A.S. (2007). Synthesis of 5-Hydroxy-2-(naphth-2-yl)chromone derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 44, 1345–1350. <https://doi.org/10.1002/jhet.5570440617>.
- Patti, A., Pedotti, S., Grassi, T., Idolo, A., Guido, M. ve Donno, A.D. (2012). Synthesis of 2-ferrocenylquinoline derivatives and evaluation of their antimalarial activity. *Journal of Organometallic Chemistry*, 716, 216-221. <https://doi.org/10.1016/j.jorgchem.2012.06.025>.
- Praveen, C., Parthasarathy K., Kumar P.S. ve Perumal P.T. (2015). Azaisoflavones: synthesis, antimicrobial evaluation and binding affinity with DNA gyrase. *Indian Journal of Chemistry Section B*, 54(3), 373-382. <http://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/30945>.
- Rahim, A., Bhuiyan, M. M. H., Matin, M. M., Ali, R. ve Kabir, E. (2018). Synthesis of 2-Phenylchromen-4-one derivatives by conventional and microwave: Assisted techniques, and their antimicrobial evaluation. *International Journal of Chemical Studies*, 6(1), 1644-1647. <https://www.researchgate.net/publication/341491752>.
- Rocha, D. H. A., Vaz, P. A. A. M., Pinto, D. C. G. A. ve Silva, A. M. S. (2019). Synthesis Chalcones and Their Isomerization into Flavanones and Azaflavanones. *Methods and Protocols*, 2, 70-78. <https://doi.org/10.3390/mps2030070>. <https://doi.org/10.3390/mps2030070>
- Roleiraa, M. F. F., Varelaa, C. L., Gomes, A. R., Costa, S. C. ve Silva, E.J.T. (2021). The health components of spices and herbs: The medicinal chemistry point of view. Chapter 2: Aromatic Herbs in Food Bioactive Compounds, Processing, and Applications, Pages 35-92. https://seap.taylors.edu.my/file/remspublication/107450_8147_1.pdf.
- Rosa, G. P., Seca, A. M. L., Barreto, M. C., Silva, A. M. S. ve Pinto, D. C. G. A. (2019). Chalcones and flavanones bearing hydroxyl and/or methoxyl groups: Synthesis and biological assessments. *Applied Sciences*, 9(14), 2846-2863. <https://doi.org/10.3390/app9142846>.
- Rozmer, Z. ve Perjési, P. (2016). Naturally occurring chalcones and their biological activities. *Phytochemistry Reviews*, 15, 87-120. <https://doi.org/10.1007/s11101-014-9387-8>.
- Safari, J., Naseh, S., Zarnegar, Z. ve Akbari, Z. (2014). Applications of microwave technology to rapid synthesis of substituted imidazoles on silica-supported SbCl₃ as an efficient heterogeneous catalyst. *Journal of Taibah University for Science*, 1(8), 323-330. <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2014.01.007>.
- Saito, K., Moriya, Y. ve Akiyama, T. (2015). Chiral Phosphoric Acid Catalyzed Asymmetric Synthesis of 2-Substituted 2,3-Dihydro-4-quinolones by a Protecting-Group-Free Approach. *Organic Letters*, 17(13), 3202–3205. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b01654>.
- Sakirolla, R., Yaeghoobi, M. ve Rahman, N.A. (2012). Synthesis of flavanones, azaflavanones, and thioflavanones catalyzed by PMA-SiO₂ as a mild, efficient, and reusable catalyst. *Monatshefte fuer Chemie*, 143, 797-800. <https://doi.org/10.1007/s00706-011-0663-7>.
- Santos, M.B., Pinhanelli, V.C., Garcia, M.A.R., Silva, G., Baek, S.J., França, S.C., Facin, A.L., Marins, M. ve Regasini, L.O. (2017). Antiproliferative and pro-apoptotic activities of 2- and 4-

- aminochalcones against tumor canine cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 138, 884-889. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.06.049>.
- Sinyeue, C., Matsui, M., Oelgemöller, M., Bregier, F., Chaleix, V., Sol, V. ve Lebouvier, N. (2022). Synthesis and Investigation of Flavanone Derivatives as Potential New Anti-Inflammatory Agents. *Molecules*, 27, 1781-1801. <https://doi.org/10.3390/molecules27061781>.
- Silva, A. M. S., Silva, A. M. G., Tomé, A. C. ve Cavaleiro, J. A. S. (1999). New Syntheses of Flavones from Diels–Alder Reactions of 2- Styrylchromones with ortho-Benzoquinodimethanes. *European Journal of Organic Chemistry*, 1999, 135-139. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0690\(199901\)1999:1<135::AID-EJOC135>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0690(199901)1999:1<135::AID-EJOC135>3.0.CO;2-I).
- Tehseen, F., Ghori, S.S., Khatoon, R., Sajid, S. ve Nafees, H. (2021). Comparative study of conventional and microwave assisted green synthesis of 6- amino flavones. *International Journal of Botany Studies*, 6(1), 536-539. <http://www.botanyjournals.com/archives/2021/vol6/issue1/6-1-18>.
- Valavanidis, A. ve Vlachogianni, T. (2013). Chapter 8: Plant Polyphenols: Recent Advances in Epidemiological Research and Other Studies on Cancer Prevention. *Studies in Natural Products Chemistry*, 39, 269-295. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62615-8.00008-4>.
- Varma, S. R. 2002. Clay and Clay-Supported Reagents in Organic Synthesis. *Tetrahedron*, 58 (7), 1235-1255. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)01216-9](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)01216-9).
- Yaşar, A., Akpınar, K., Burnaz, N. A., Küçük, M., Karaoğlu, Ş. A., Doğan, N. ve Yaylı, N. (2008). Microwave-Assisted Synthesis of 4'-Azaflavones and Their N-Alkyl Derivatives with Biological Activities, *Chemistry & Biodiversity*, 5, 830-838. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200890078>.
- Yaylı, N., Üçüncü, O., Yaylı, N., Demir, E. ve Demirbağ, Z. (2008). Microwave-Assisted Synthesis of 1,4'-Diazaflavone and N-Alkyl Derivative Pigments with Antimicrobial Activity, *Turkish Journal of Chemistry*, 32,785-795. <https://journals.tubitak.gov.tr/chem/vol32/iss6/14>.
- Zhao, F., Zhao, Q. J., Zhao, J. X., Zhang, D. Z., Wu, Q. Y. ve Jin, Y. S. (2013). Synthesis and cdc25B inhibitory activity evaluation of chalcones. *Chemistry of Natural Compounds*, 49, 206–214. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10600-013-0563-7.pdf>.
- Zheng Y., Wang X., Gao S., Ma M., Ren G., Liu H. ve Chen X. (2015). Synthesis and antifungal activity of chalcone derivatives. *Natural Product Research*, 29(19), 1804-18010. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1007973>.
- Zhu, Y., Zhou, J., Li, J., Xu, K., Ye, J., Lu, Y., Liu, D. ve Zhang, W. (2021). Kinetic resolution of azaflavanones via a RuPHOX-Ru catalyzed asymmetric hydrogenation. *Organic Chemistry Frontiers*, 8, 6609–6615. <https://doi.org/10.1039/D1QO01310F>.