

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**HİDROKSİ KUMARİN KUATERNER AMONYUM TUZLARININ SENTEZİ
VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mert Olgun KARATAŞ

Balıkesir, 2011

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

HİDROKSİ KUMARİN KUATERNER AMONYUM TUZLARININ SENTEZİ
VE KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mert Olgun KARATAŞ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ümit ÇAKIR
Eş Danışman: Prof. Dr. Bülent ALICI

Sınav Tarihi: 26.07.2011

Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Ümit ÇAKIR(BAÜ)

Doç. Dr. Fatih SATIL (BAÜ)

Yrd. Doç. Dr. İsmet BAŞARAN (BAÜ)

Enstitü Yönetim Kurulunun tarih sayılı oturumunun
nolu kararı ile Mezun olmuştur.

Balıkesir, Temmuz-2011

**Bu alışma, Balıkesir Üniversitesi Rektrlė
Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir**

ÖZET

HİDROKSİ KUMARİN KUATERNER AMONYUM TUZLARININ SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

Mert Olgun KARATAŞ

Bahkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,

Kimya Anabilim Dalı

(Yüksek Lisans Tezi / Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ümit ÇAKIR)

(Eş Danışman: Prof. Dr. Bülent ALICI)

Bahkesir, 2011

Kumarin (2H-1-benzopiran-2-on) bileşikleri birçok bitki hücresinde bulunmakta ve laboratuvar ortamında sentezlenmektedir. Kumarin bileşikleri son yıllarda özellikle biyolojik aktivitelerinden dolayı ilgi ile çalışılmaktadır.

Birçok kuaterner amonyum tuzu antimikrobiyal aktiviteleri nedeni ile temizlik malzemelerinde kullanılmaktadır.

Bu çalışmada yeni kumarin kuaterner amonyum tuzları sentezlenerek biyolojik aktiviteye sahip yeni tür bileşiklerin elde edilmesi amaçlanmıştır. Bunun yanı sıra suda çözünürlüğü zayıf olan kumarin bileşiklerinin iyonik türevleri hazırlanarak suda çözünebilen kumarin türevlerinin sentezi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada öncelikle Pechmann kondenzasyonuna göre hidroksi-kumarinler ve bu bileşiklerin kuaterner amonyum tuzları türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşikler hidroksi kumarin türevlerinin tersiyer aminler ile inert atmosferinde etkileştirilmesi ile elde edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin saflaştırılması için silikajel kolon kromatografisi ve kristallendirme teknikleri kullanılmıştır. Bu bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve FT-IR spektroskopikl metodları ile karakterize edilmiştir.

Son olarak elde edilen yeni bileşiklerin *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* bakteri türleri ve *Candida albicans*, *Candida tropicalis* mantar türleri üzerindeki etkileri incelendi ve minimal inhibitör konsantrasyonları belirlendi.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: kumarin / kumarin kuaterner amonyum tuzları / antimikrobiyal aktivite / amonyum tuzları

ABSTRACT

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF HYDROXY COUMARIN QUATERNARY AMMONIUM SALTS

Mert Olgun KARATAŞ

Balikesir University, Institute of Science

Department of Chemistry

(MSc. Thesis / Supervisor : Prof. Dr. Ümit ÇAKIR)

(Co-Supervisor: Prof. Dr. Bülent ALICI)

Balıkesir – Türkiye, 2011

Coumarin (2H-1-benzopyran-2-one) compounds are found on many plant cells and also being synthesized on laboratory conditions. Coumarin compounds are being investigated with high interest because of their high biological activities.

Quaternary ammonium salts are being used on cleanliness materials, due to their antimicrobial activities,

In this study, we purposed synthesis of new coumarin quaternary ammonium salts which are have biological activity. Beside water solubility of coumarin compounds are low, it is aimed synthesis of ionic coumarin derivatives for improving their solubility in water.

In this study, firstly, we synthesized hydroxy coumarin derivatives by Pechmann condensation and secondly synthesized their quaternary ammonium salts by reaction of coumarin derivatives and tertiary amines under inert argon atmosphere. Silikagel column chromatography and crystallization techniques used for purification of synthesized compounds. FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spectroscopic methods used for characterization of synthesized compounds.

Finally, effect of synthesized compounds on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* bacterium sorts and *Candida albicans*, *Candida tropicalis* fungus sorts investigated and minimal inhibitory concentration detected.

KEY WORDS : coumarin / coumarin quaternary ammonium salts / antimicrobial activity / ammonium salts

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|----------|
| ÖZET, ANAHTAR SÖZCÜKLER | ii |
| ABSTRACT, KEY WORDS | iv |
| İÇİNDEKİLER | vi |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | ix |
| ŞEKİL LİSTESİ | x |
| TABLO LİSTESİ | xii |
| ÖNSÖZ | xiii |
| 1.GİRİŞ | 1 |
| 1.1 Kumarinlerin Sınıflandırılması | 3 |
| 1.1.1 Benzen Halkası Üzerinde Sübstitüent Taşıyan Kumarinler | 4 |
| 1.1.1.1 Mono-sübstitüe Kumarinler | 4 |
| 1.1.1.2 Di-sübstitüe Kumarinler | 4 |
| 1.1.1.3 Tri-sübstitüe Kumarinler | 5 |
| 1.1.2 Piron Halkası Üzerinde Sübstitüent Taşıyan Kumarinler | 5 |
| 1.1.2.1 Mono-sübstitüe Kumarinler | 5 |
| 1.1.2.2 Di-sübstitüe Kumarinler | 6 |
| 1.1.3 Hem Benzen Hem Piron Halkası Üzerinde Sübstitüent Taşıyan Kumarinler | 7 |
| 1.1.4 Benzen Halkasına Halkalı Yapıların Kondanse Olmasıyla Meydana Gelen Kumarinler | 7 |
| 1.1.4.1 Furanokumarinler | 7 |
| 1.1.4.2 Piranokumarinler | 8 |
| 1.1.4.3 Benzokumarinler | 9 |
| 1.1.5 Piron Halkasına Halkalı Yapıların Kondanse Olmasıyla Meydana Gelen Kumarinler | 9 |
| 1.1.5.1 Beş Üyeli Halkaların Kondanse Olmasıyla Meydana Gelen Kumarinler | 9 |
| 1.1.5.2 Altı Üyeli Halkaların Kondanse Olmasıyla Meydana Gelen Kumarinler | 10 |
| 1.1.6 Dimer Kumarinler | 10 |
| 1.2 Kumarin Türevlerinin Sentezi | 11 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1.2.1 | Perkin Kumarin Sentezi | 11 |
| 1.2.2 | Pechmann-Duisberg Kumarin Sentezi | 12 |
| 1.2.3 | Knoevenagel Kondenzasyon Tepkimesi İle Kumarin Sentezi | 13 |
| 1.2.4 | o-hidroksiarilketonların Kostanecki Açılması İle Kumarin Sentezi | 13 |
| 1.2.5 | Reformatsky Tepkimesi İle Kumarin Sentezi | 14 |
| 1.2.6 | Houben-Hoesch Tepkimesi İle Kumarin Sentezi | 15 |
| 1.2.7 | Wittig Tepkimesi İle Kumarin Sentezi | 16 |
| 1.3 | Kumarinlerin Kimyasal Özellikleri | 16 |
| 1.4 | Kumarin Türevlerinin Aktiviteleri | 20 |
| 1.5 | Kuaterner Amonyum Tuzları | 26 |
| 1.6 | Çalışmanın Amacı | 29 |
| 2 | MATERYAL VE YÖNTEM | 30 |
| 2.1 | Sentezi Gerçekleştirilen Bileşikler | 31 |
| 2.1.1 | 1,2,4-Triasetilbenzen Sentezi | 31 |
| 2.1.2 | 4-klorometil-6,7-dihidroksi-2H-kromen-2-on- (4-klorometil-6,7-dihidroksikumarin) (K1) Sentezi | 31 |
| 2.1.3 | 4-klorometil-7,8-dihidroksi-2H-kromen-2-on- (4-klorometil-7,8-dihidroksikumarin) (K2) Sentezi | 32 |
| 2.1.4 | 4-klorometil-7-hidroksi-2H-kromen-2-on- (4-klorometil-7-hidroksikumarin) (K3) Sentezi | 32 |
| 2.1.5 | <i>N</i> -4-klorometil-7-hidroksikumarinil- <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetilamonyum klorür (T1) Sentezi | 33 |
| 2.1.6 | <i>N</i> -4-klorometil-6,7-dihidroksikumarinil- <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetilamonyum klorür (T2) Sentezi | 34 |
| 2.1.7 | <i>N</i> -4-klorometil-7,8-dihidroksikumarinil- <i>N</i> -benzil- <i>N,N</i> -dimetilamonyum klorür (T3) Sentezi | 34 |
| 2.1.8 | <i>N</i> -4-klorometil-7-hidroksikumarinil- <i>N</i> -izopropil- <i>N,N</i> -dimetilamonyum klorür (T4) Sentezi | 35 |
| 2.1.9 | <i>N</i> -4-klorometil-6,7-dihidroksikumarinil- <i>N</i> -izopropil- <i>N,N</i> -dimetilamonyum klorür (T5) Sentezi | 36 |
| 2.2 | Sentezlenen Bileşiklerin Antimikrobiyal Aktiviteleri İçin Genel Prosedür | 36 |
| 3 | BULGULAR | 37 |
| 3.1 | K1 Bileşiğinin Spektroskopik Bulguları | 37 |
| 3.2 | K2 Bileşiğinin Spektroskopik Bulguları | 39 |
| 3.3 | K3 Bileşiğinin Spektroskopik Bulguları | 42 |

| | | |
|-----|--|----|
| 3.4 | T1 Bileşiminin Spektroskopik Bulguları | 43 |
| 3.5 | T2 Bileşiminin Spektroskopik Bulguları | 46 |
| 3.6 | T3 Bileşiminin Spektroskopik Bulguları | 48 |
| 3.7 | T4 Bileşiminin Spektroskopik Bulguları | 50 |
| 3.8 | T5 Bileşiminin Spektroskopik Bulguları | 52 |
| 3.9 | Antimikrobiyal Sonuçlar | 55 |
| 4 | SONUÇ VE TARTIŞMA | 56 |
| 5 | KAYNAKLAR | 66 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

| Simge | Adı |
|--------------|---|
| NMR | Nükleer Manyetik Rezonans |
| FT-IR | Fourier Transform Infrared Spektroskopisi |
| Ph | Fenil |
| UV | Ultraviolet |
| °C | Santigrat Derece |
| FDA | Food and Drug Administration |
| NIOSH | National Institute For Occupational Safety and Health |
| DEPT | Distortion-less Enhancement By Polarization Transfer |
| DMF | <i>N,N</i> -dimetilformamid |
| DCM | Diklormetan |
| DMSO | Dimetilsülfoksit |
| THF | Tetrahidrofuran |
| TLC | İnce Tabaka Kromatografisi |
| o- | Orto |
| CFU | Koloni Oluşum Ünitesi |
| Ar | Aril |

ŞEKİL LİSTESİ

| Şekil No | Adı | Sayfa |
|------------|--|-------|
| Şekil 1.1 | Kumarin ve kromon bileşiklerinin temel yapı birimleri | 1 |
| Şekil 1.2 | Kumarin için önerilen olası yapılar | 2 |
| Şekil 1.3 | Bazı kumarin türevleri | 2 |
| Şekil 1.4 | Mono-sübstitüe kumarinlere bazı örnekler | 4 |
| Şekil 1.5 | 6,7-disübstitüe kumarinlere bazı örnekler | 4 |
| Şekil 1.6 | Tri-sübstitüe kumarinlere bazı örnekler | 5 |
| Şekil 1.7 | Piron halkası mono-sübstitüe kumarinlere bazı örnekler | 6 |
| Şekil 1.8 | Di-sübstitüe kumarinlere bazı örnekler | 6 |
| Şekil 1.9 | Bazı di-sübstitüe kumarin türevleri | 7 |
| Şekil 1.10 | Bazı furanokumarin örnekleri | 8 |
| Şekil 1.11 | Piranokumarinlere bazı örnekler | 8 |
| Şekil 1.12 | Benzokumarinlere bazı örnekler | 9 |
| Şekil 1.13 | Piron halkasına beş üyeli halkaların kondanse olmasıyla oluşan kumarinlere bazı örnekler | 10 |
| Şekil 1.14 | Aeterniyol | 10 |
| Şekil 1.15 | Dimer kumarinlere bazı örnekler | 11 |
| Şekil 1.16 | Warfarin | 20 |
| Şekil 1.17 | 4 konumunda klorometil içeren kumarinlerin genel gösterimi | 21 |
| Şekil 1.18 | Kanser tedavisinde aktivite gösteren bazı kumarin türevleri | 22 |
| Şekil 1.19 | Kumarin bileşiğinin metabolizması | 23 |
| Şekil 1.20 | Mg ²⁺ analizi için kullanılan kumarin türevi | 25 |
| Şekil 1.21 | Antimikrobiyal aktiviteye sahip bazı kuaterner amonyum tuzları | 27 |
| Şekil 3.1 | K1 bileşiğinin FT-IR spektrumu | 37 |
| Şekil 3.2 | a) K1 bileşiğinin 0-13 ppm aralığında ¹ H-NMR spektrumu | 38 |
| | b) K1 bileşiğinin 0-7 ppm aralığında ¹ H-NMR spektrumu | 38 |
| Şekil 3.3 | K1 bileşiğinin ¹³ C-NMR spektrumu | 39 |
| Şekil 3.4 | K2 bileşiğinin FT-IR spektrumu | 40 |

| | | |
|------------|---|----|
| Şekil 3.5 | K2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu | 40 |
| Şekil 3.6 | K2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu | 41 |
| Şekil 3.7 | K2 bileşiğinin DEPT spektrumu | 41 |
| Şekil 3.8 | K3 bileşiğinin FT-IR spektrumu | 42 |
| Şekil 3.9 | K3 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu | 43 |
| Şekil 3.10 | T1 bileşiğinin FT-IR spektrumu | 44 |
| Şekil 3.11 | T1 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu | 44 |
| Şekil 3.12 | a) T1 bileşiğinin 0-180 ppm aralığında ^{13}C -NMRspektrumu | 45 |
| | b) T1 bileşiğinin 110-180 ppm aralığında ^{13}C -NMR spektrumu | 45 |
| Şekil 3.13 | T2 bileşiğinin FT-IR spektrumu | 46 |
| Şekil 3.14 | T2 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu | 47 |
| Şekil 3.15 | T2 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu | 47 |
| Şekil 3.16 | T3 bileşiğinin FT-IR spektrumu | 48 |
| Şekil 3.17 | T3 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu | 49 |
| Şekil 3.18 | T3 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu | 49 |
| Şekil 3.19 | T4 bileşiğinin FT-IR spektrumu | 50 |
| Şekil 3.20 | T4 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu | 51 |
| Şekil 3.21 | T4 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu | 51 |
| Şekil 3.22 | T5 bileşiğinin FT-IR spektrumu | 52 |
| Şekil 3.23 | T5 bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu | 53 |
| Şekil 3.24 | T5 bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu | 54 |

TABLO LİSTESİ

| Tablo No | Adı | Sayfa |
|-----------------|---|--------------|
| Tablo 1.1 | Bazı doğal kaynaklarda bulunan kumarin konsantrasyonu | 3 |
| Tablo 3.1 | Sentezlenen bileşiklerin anitimikrobiyal aktivite sonuçları | 55 |
| Tablo 4.1 | Hidroksikumarin bileşiklerine ait spektroskopik veriler | 63 |
| Tablo 4.2 | T1, T2, T3 bileşiklerine ait spektroskopik veriler | 64 |
| Tablo 4.3 | T4, T5 bileşiklerine ait spektroskopik veriler | 65 |

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının planlanması ve yürütülmesi aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Ümit ÇAKIR'a şükranlarımı sunarım.

İnönü Üniversitesi'nde sürdürdüğüm çalışmalarım sırasında büyük yardımlarını gördüğüm, bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen eş danışman hocam Prof. Dr. Bülent ALICI' ya şükranlarımı sunarım.

İnönü Üniversitesi'nde yardımlarını benden esirgemeyen hocam Prof. Dr. İsmail ÖZDEMİR' e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımın her aşamasında desteklerini gördüğüm Arş. Gör. Sümeyya ALATAŞ'a, doktora öğrencisi Şeref KARADENİZ' e, Arş. Gör. Sezen KURŞUN' a teşekkürlerimi sunarım.

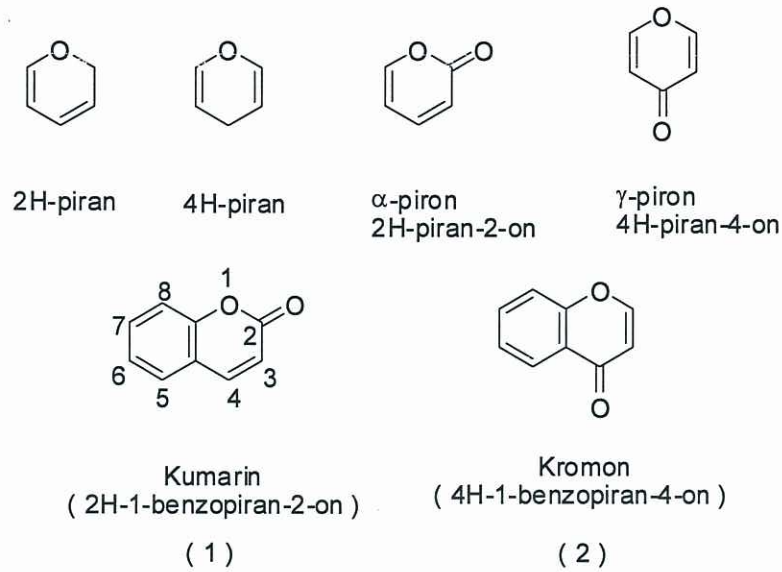
Biyolojik analizlerin yapılmasındaki desteklerinden dolayı doktora öğrencisi Nazan TEMELLİ'ye ve Arş. Gör. Serkan DAYAN' a teşekkürlerimi sunarım.

Beni bugünlere getiren ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, bu çalışmayı 2009/03 YL nolu proje ile destekleyen Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Piron halkasının benzen halkası ile kondenzasyon tepkimesi sonucu meydana gelen ve benzopiron olarak bilinen heterosiklik bileşikler iki ana gruba ayrılırlar. Şekil 1.1’de görüldüğü gibi bunlardan birincisi benzo- α -piron (2H-1-benzopiran-2-on) bileşikler (1), diğeri benzo- γ -piron (4H-1- benzopiran-2-on) bileşikleridir (2). Bu bileşikler piron halkasında karbonil grubu bulundurlar ve karbonil grubunun konumuna göre farklılık gösterirler. Piron halkasının α -pozisyonunda karbonil grubu bulunduran benzopiron bileşikler *kumarin* (*coumarin*), piron halkasının γ -pozisyonunda karbonil grubu bulunduran bileşikler ise *kromon* (*chromone*) olarak adlandırılırlar [1].

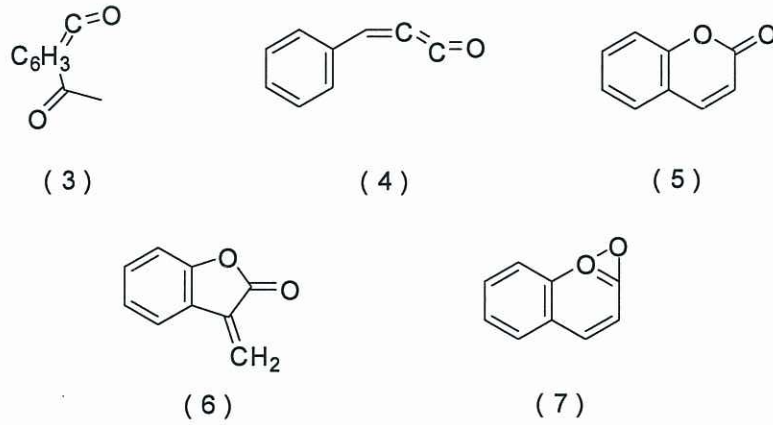


Şekil 1.1 Kumarin ve kromon bileşiklerinin temel yapı bileşenleri

Kumarin serbest halde ilk defa 1820 yılında Vogel tarafından *tonka baklası* adı verilen ve Güney Amerika’da yetişen fabaceae familyasından *Dipteryx odorata* (*Coumarouna odorata*) isimli ağacın kurutulmuş tohumlarından izole edilmiş ve bitkinin cins adından esinlenilerek *coumarin* adı verilmiştir [1].

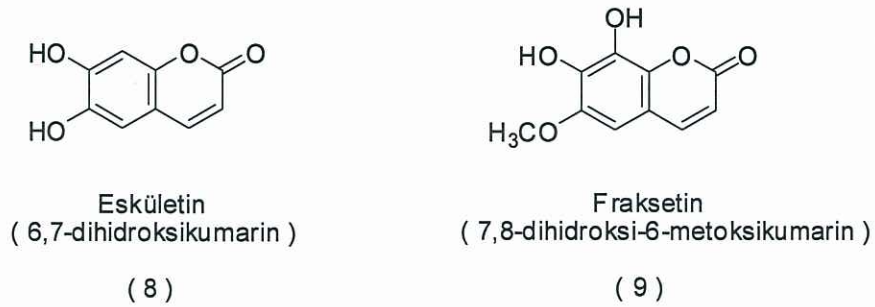
Kumarin bileşiğinin yapısının aydınlatılması sırasında bazı bilim adamlarınca Şekil 1.2’ de verilen farklı yapılar önerilmiştir. Bu yapılar Perkin (1868) (3),

Basecke (1870) (4), Strecker (1867) (5), Fitting (1868) (6), Tiemann (1877), Salkowski (1877), Morgan ve Mickletwait (1906) ve Clayton (1906) (7) tarafından önerilen yapılarıdır ve kumarin ve türevlerinin o dönem bilinen tüm tepkimeleri ile uyum göstermektedir [1].



Şekil 1.2 Kumarin için önerilen olası yapılar

Kumarin bileşiğinin kimyasal sentezi ilk olarak Perkin tarafından 1868 yılında gerçekleştirilmiştir. Kumarin bileşiğinin yapısı Strecker (1867) ve Fitting (1870) tarafından tam olarak aydınlatılmıştır [1]. Bugüne kadar 1000'in üzerinde kumarin türevi tanımlanmıştır [2]. Örneğin Şekil 1.3' de görülen eskületin (6,7-dihidroksi kumarin) (8) ve fraksetin (7,8-dihidroksi-6-metoksi kumarin) (9) gibi doğal bileşikler bazı bitkilerin çiçeklerinde serbest halde veya glikozidleri halinde bulunurlar. Tablo 1.1' de bazı doğal maddelerdeki kumarin miktarları verilmiştir [3].



Şekil 1.3 Bazı kumarin türevleri

Tablo 1.1 Bazı doğal kaynaklarda bulunan kumarin konsantrasyonu

| Kaynak | Miktar (ppm) |
|--------------------------|-----------------------|
| Çin tarçını yaprağı yağı | 17,000-87,300 |
| Tarçın yaprağı yağı | 40,600 |
| Tarçın kabuğu yağı | 7000 |
| Diğer tarçın türleri | 900 |
| Nane yağı | 20 |
| Yeşil çay | 0,2-1,7 |
| Yaban mersini | 0,0005 |

Kapalı formülü $C_9H_6O_2$ olan kumarin bileşiğinin molekül ağırlığı 146.15 g/mol olup parlak, beyaz kristal yapılı bir bileşiktir. Erime noktası 68-70 °C'dir. Etanol, kloroform, dietileter ve yağlarda kolayca çözünürken kaynar suda az, oda sıcaklığındaki suda ise çok az miktarda çözünür [4].

1.1 Kumarinlerin Sınıflandırılması

Kumarin türevleri başlıca 6 ana sınıfta toplanabilir.

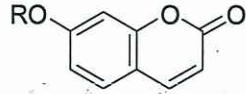
- 1- Benzen halkası üzerinde süstitüent taşıyan kumarinler
- 2- Piron halkası üzerinde süstitüent taşıyan kumarinler
- 3- Hem benzen halkası hemde piron halkası üzerinde süstitüent taşıyan kumarinler
- 4- Benzen halkasına halkalı yapıların kondense olmasıyla meydana gelen kumarinler
- 5- Piron halkasına halkalı yapıların kondense olmasıyla meydana gelen kumarinler
- 6- Dimer kumarinler

1.1.1 Benzen Halkası Üzerinde Sübstitüent Taşıyan Kumarinler

Kumarinlerin benzen halkasına farklı sübstitüentlerin farklı sayılarda bağlanmalarıyla mono-, di- ve tri- sübstitüe kumarinler meydana gelir

1.1.1.1 Mono-sübstitüe Kumarinler

Bu tür kumarinlere örnek olarak Şekil 1.4' de görülmekte olan umbelliferon (10) ve herniarin (11) verilebilir [5,7].



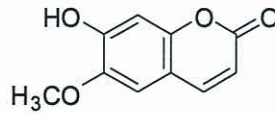
R : H : 7-hidroksikumarin (umbelliferon) (10)

R : CH₃ : 7-metoksikumarin (herniarin) (11)

Şekil 1.4 Mono-sübstitüe kumarinlere bazı örnekler

1.1.1.2 Di-sübstitüe Kumarinler

Benzen halkası üzerinde 2 tane sübstitüent taşıyan kumarinlerdir. Şekil 1.5' de görülen skoleptin (12) bu tür bileşiklere örnek olarak verilebilir [5,7].



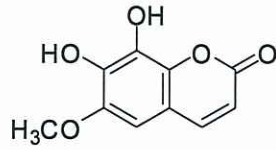
7-hidroksi-6-metoksikumarin
(skoleptin)

(12)

Şekil 1.5 6,7-disübstitüe kumarinlere bir örnek

1.1.1.3 Tri-sübstitüe Kumarinler

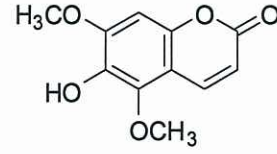
Çoğunlukla bitkilerden elde edilen bu tür kumarinlerden fraksetin ilk olarak *Fraxinus excelsior* bitkisinden izole edilmiştir. Şekil 1.6'da fraksetin (9) ve 5,7-dimetoksi-6-hidroksikumarin (13) bileşikleri görülmektedir [5,7].



Fraksetin

(7,8-dihidroksi-6-metoksikumarin)

(9)



5,7-dimetoksi-6-hidroksikumarin

(13)

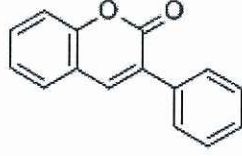
Şekil 1.6 Tri-sübstitüe kumarinlere bazı örnekler

1.1.2 Piron Halkası Üzerinde Sübstitüe Taşıyan Kumarinler

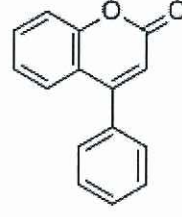
Piron halkasının Şekil 1.1 bileşik (1)'de gösterilen 3 veya 4 numaralı karbon atomunlarına hidroksil, aromatik veya alifatik gruplarının bağlanmasıyla meydana gelen kumarinlerdir. Özellikle 3 veya 4 numaralı karbon atomlarında fenil grubu içeren kumarinlerin bitki bünyesinde sentezlendikleri ve bunların antioksidan özellik gösterdikleri bilinmektedir. 3 ve 4 numaralı karbon atomlarına bağlı gruplara göre mono- ve di- sübstitüe kumarinler meydana gelmektedir [6,7].

1.1.2.1 Mono-sübstitüe Kumarinler

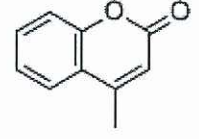
Bu tür kumarinlerin en önemli grubu Şekil 1.7'de gösterilen fenil grubu taşıyan kumarin türevleridir (14-16).



3-fenilkumarin
(14)



4-fenilkumarin
(15)

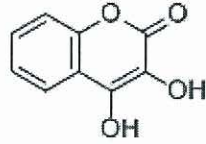


4-metilkumarin
(16)

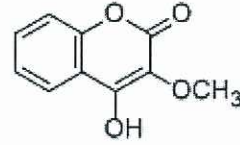
Şekil 1.7 Piron halkası mono-sübstitüe kumarinler

1.1.2.2 Di-sübstitüe Kumarinler

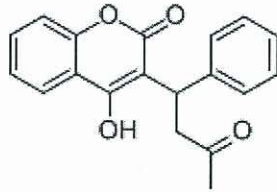
Şekil 1.8'de bu tür kumarin bileşiklerine ait bazı örnekler verilmiştir (17-20).



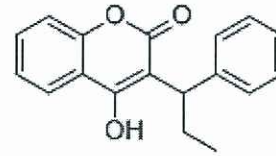
3,4-hidroksikumarin
(17)



3-metoksi-4-hidroksikumarin
(18)



Warfarin
(19)



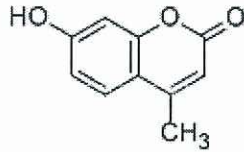
Fenpropion
(20)

Şekil 1.8 Bazı di-sübstitüe kumarinlere örnekler

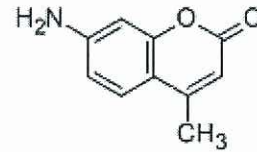
Sentetik bir bileşik olan warfarin (19) eczacılıkta antikoagülant olarak kullanılmaktadır [6,7].

1.1.3 Hem Benzen Hem Piron Halkası Üzerinde Sübstitüent Taşıyan Kumarinler

Bu sınıfa giren 4-metilumbelliferon (21) su kaynaklarında bakteriyel kirlenmenin belirlenmesi için uygulanan testlerde fluoresans sinyal oluşturması amacıyla kullanılır. Yine bu sınıfa giren 7-amino-4-metilkumarin (22) peptid türevleri, proteaz enziminin araştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır [6]. Şekil 1.9' da bu iki bileşiğin açık yapıları gösterilmektedir.



4-metilumbelliferon
(4-metil-7-hidroksi kumarin)
(21)



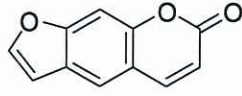
7-amino-4-metil kumarin
(22)

Şekil 1.9 Bazı di-sübstitüe kumarin türevleri

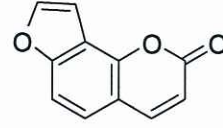
1.1.4 Benzen Halkasına Halkalı Yapıların Kondense Olmasıyla Meydana Gelen Kumarinler

1.1.4.1 Furanokumarinler

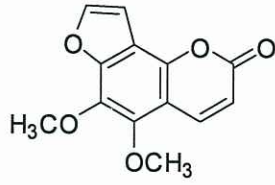
Bu bileşikler kumarinin benzen halkasına beş üyeli furan halkasının kondanse olmasıyla oluşur. Bu grubun birçok üyesi lineer furanokumarin pisoralenin (23) veya onun daha kararlı açısız izomeri anjelisinin (24) türevleridir. Lineer izomerde furan halkası ile benzen halkası aynı düzlemde bulunur. Açısız izomerde ise furan halkası ile benzen halkası farklı düzlemlerde bulunur [6]. Şekil 1.10' da bu tür kumarinlere bazı örnekler verilmiştir (23-27).



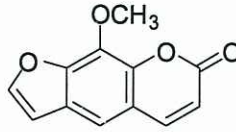
Psoralen
(23)



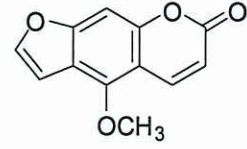
Anjelisin
(24)



Pimpinellin
(25)



Ksantotoksin
(26)

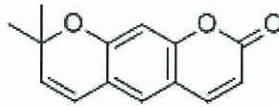


Bergapten
(27)

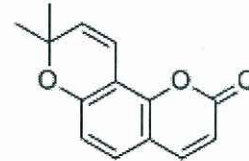
Şekil 1.10 Bazı furanokumarin örnekleri

1.1.4.2 Piranokumarinler

Kumarinin benzen halkasına bir piron halkasının kondense olması ile piranokumarinler (28, 29) meydana gelir. Bu grup üyelerinin de furanokumarinlerde olduğu gibi lineer ve açısall yapıları vardır. Şekil 1.11' de bazı piranokumarin örnekleri gösterilmektedir.



Ksantiletin
(28)

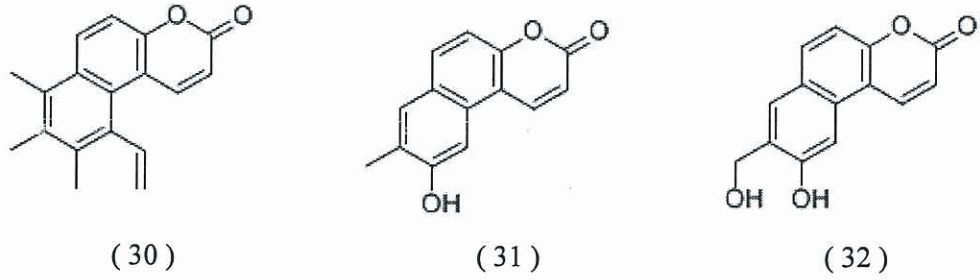


Seselin
(29)

Şekil 1.11 Piranokumarinlere bazı örnekler

1.1.4.3 Benzokumarinler

Juncus acutus rizomlarından etilasetat ile ekstrakte edilen bazı benzokumarinlerin antifungal özellikleri bir mantar türü olan yeşil algler üzerinde araştırılmış ve yüksek inhibitör etki gösterdikleri görülmüştür [8]. Bunun yanında bazı polisiklik kumarin türevlerinin kanser tedavisinde etkileri araştırılmaktadır [9]. Şekil 1.12' de bazı benzokumarin türevleri gösterilmektedir (30-32).



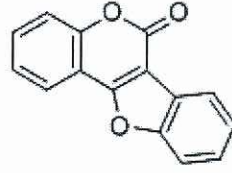
Şekil 1.12 Benzokumarinlere bazı örnekler

1.1.5 Piron Halkasına Halkalı Yapıların Kondense Olmasıyla Meydana Gelen Kumarinler

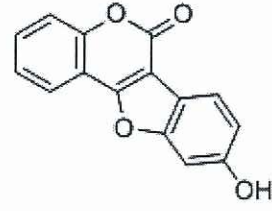
Şekil 1.1 bileşik (1)'de gösterilen kumarin bileşiğinin 3 ve 4 karbon atomlarına halkalı yapıların kondense olmasıyla meydana gelen kumarinlerdir.

1.1.5.1 Beş Üyeli Halkaların Kondense Olmasıyla Meydana Gelen Kumarinler

Şekil 1.13'de bu tür kumarin bileşiklerinin en çok bilinen üyeleri olan kumestan (33) ve kumesterol (34) bileşiklerinin açık yapıları gösterilmektedir.



Kumestan
(33)

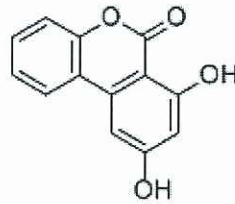


Kumestrol
(34)

Şekil 1.13 Piron halkasına 5 üyeli halkaların kondense olmasıyla oluşan kumarinlere bazı örnekler

1.1.5.2 Altı Üyeli Halkaların Kondensasyonu Sonucu Meydana Gelen Kumarinler

Bu tür kumarin türevlerine Şekil 1.14' de açık yapısı gösterilen aeterniyol (35) verilebilir.

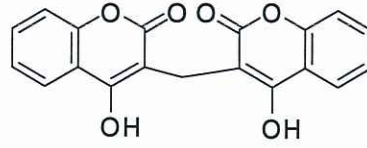


(35)

Şekil 1.14 Aeterniyol

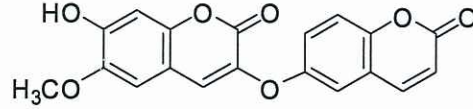
1.1.6 Dimer Kumarinler

İki kumarinin piron halkalarının 3 pozisyonundaki karbon atomlarının birleşmesi ile farklı yapıdaki kumarin türevleri meydana gelir. Dimer kumarinlere Şekil 1.15'de açık yapıları gösterilen bishidroksikumarin (dikumarol) (36), dafnoretin (37) ve demetildafnoretin (38) örnek olarak verilebilir [10].



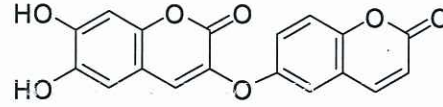
Bishidroksikumarin (Dikumarol)

(36)



Dafronetin

(37)



Demetildafronetin

(38)

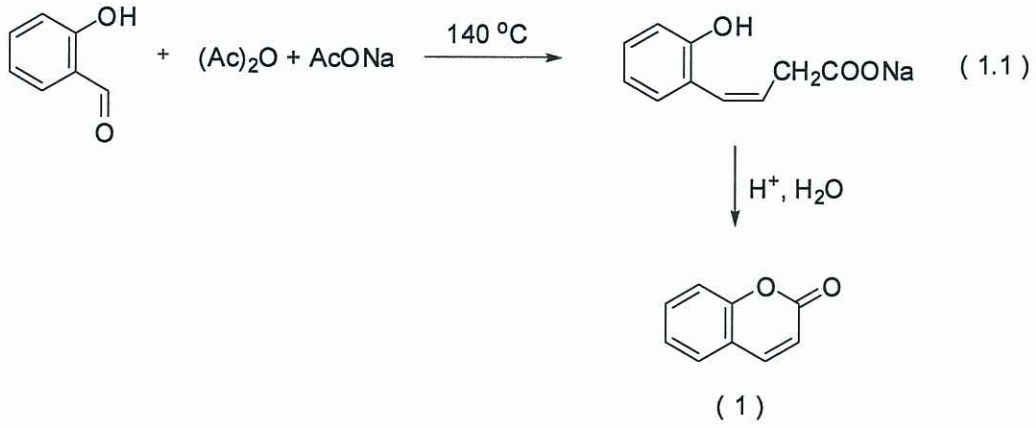
Şekil 1.15 Dimer kumarinlere bazı örnekler

1.2 Kumarin Türevlerinin Sentezi

Doğal kumarinler genelde bitki hücrelerinde bulunan hidroksi veya metoksi kumarinlerdir. Bu kumarin türevleri laboratuvar ortamında da sentezlenebilmektedir. Kumarin türevlerinin sentezi için çok fazla metot bulunmaktadır. Burada en çok bilinen ve kullanılan metodlar üzerinde durulacaktır.

1.2.1 Perkin Kumarin Sentezi

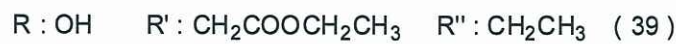
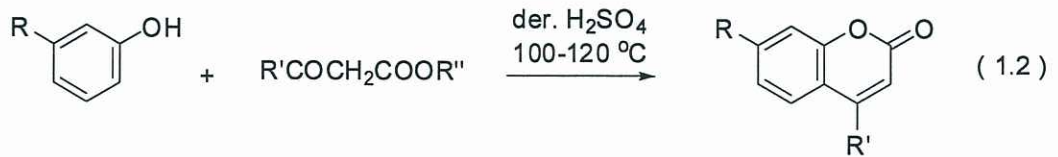
Kumarinin ilk kimyasal sentezi 1868 yılında Perkin tarafından gerçekleştirilmiştir. Perkin salisilaldehiti asetikanhidrit ve kuru sodyumasetat ile ısıtarak kumarin sentezini gerçekleştirmiştir (1.1) [1,11].



Bu tepkimede ara ürün olarak sinamik asit türevi oluşur ve daha sonra lakton halkası oluşacak şekilde kondensasyon gerçekleşir [1].

1.2.2 Pechmann-Duisberg Kumarin Sentezi

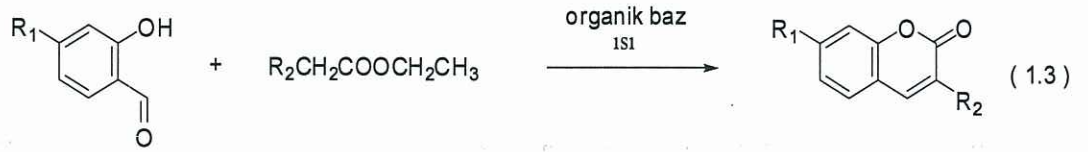
İlk olarak Pechmann tarafından fenollerin malonik asit ile derişik sülfürik asit varlığında ısıtılmasıyla kumarin elde edilmiştir ancak bu metodla sübstitüe fenollerin tepkimeleri oldukça sınırlıdır. Daha sonra Pechmann ve Duisberg tarafından Pechmann-Duisberg tepkimesi olarak bilinen tepkime geliştirilmiştir [1]. Bu tepkimede sübstitüe fenoller dahil fenol türevleri β -ketonik esterlerle derişik sülfürik asit varlığında ısıtılarak sübstitüe kumarinler sentezlenmiştir (1.2) [1]. Bu metod birçok sübstitüe kumarinin sentezlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır [1]. Bazı kumarinlerin sentezinde sülfürik asit yerine AlCl_3 , CF_3COOH ve POCl_3 kullanılmaktadır.



Polihidroksi fenoller bu tepkimeye oldukça yatkındırlar. Elektron çekici gruplar genellikle bu tepkimeyi engelleyecek şekilde davranırlar. Bu tepkimede farklı ketonik grup ve farklı ester grupları içeren bileşikler kullanarak farklı kumarin türevleri sentezlenebilmektedir.

1.2.3 Knoevenagel Kondenzasyon Tepkimesi İle Kumarin Sentezi

2-hidroksibenzaldehit ve türevlerinin etilmalonat, etilasetoasetat ve etilsiyanoasetat ile piperidin ve piridin gibi organik bazlar varlığında ısıtılması sonucu farklı kumarin türevleri sentezlenmiştir (1.3) [1].

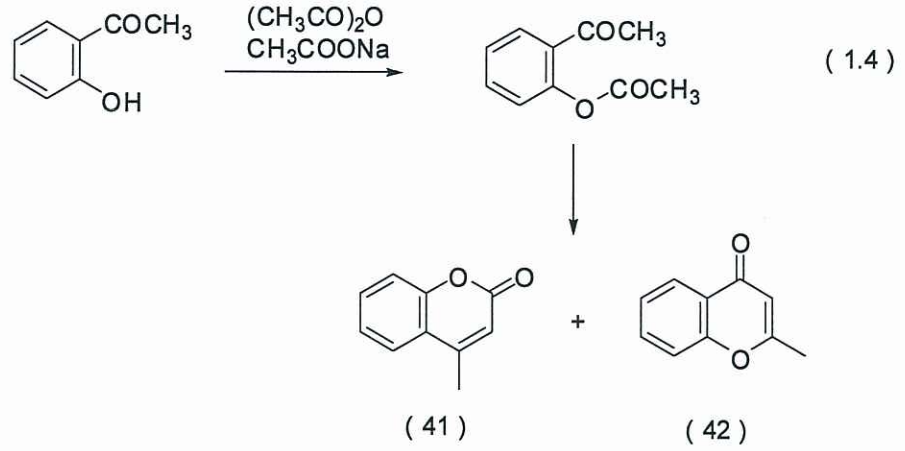


R₁ : OH

R₂ : CO₂CH₂CH₃ (40-a), COCH₃ (40-b), CN (40-c)

1.2.4 o-Hidroksiarilketonların Kostanecki Açılması İle Kumarin Sentezi

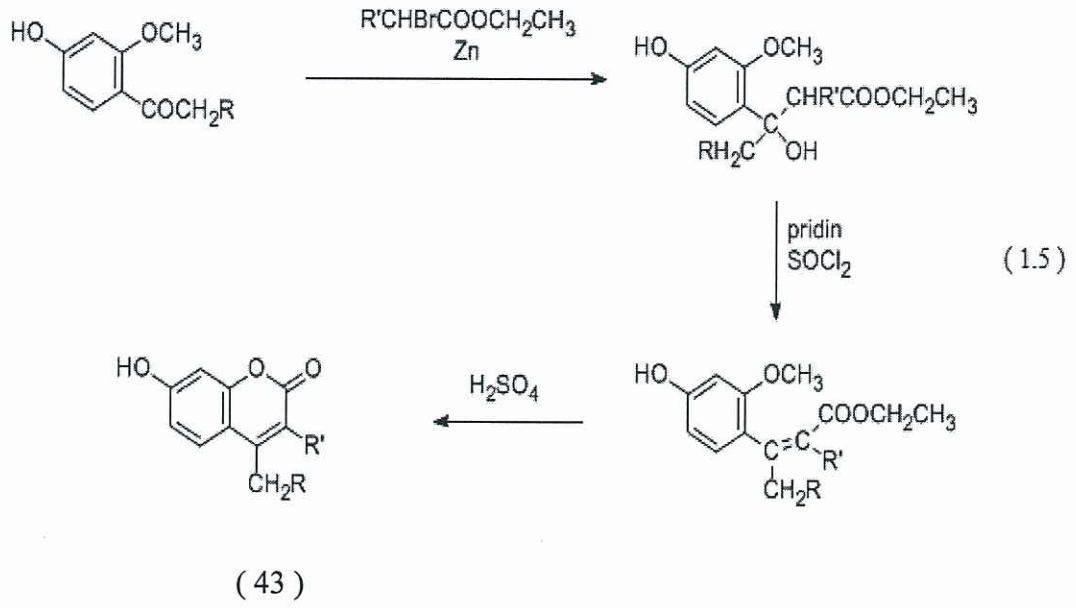
Bu yöntem Allan-Robinson ya da Kostanecki-Robinson tepkimesi olarak da bilinmektedir. o-hidroksiarilketonlar ısıtılarak asitanhidrit ve bu asidin sodyum tuzu ile tepkimeye girmektedir (1.4) [1]. Bu tepkimede önce kumarin açıl türevi olan bir ara ürün oluşur ve bu ara üründen bir su molekülünün ayrılması ile meydana gelen kondenzasyon sonucu kumarin ve kromon bileşikleri oluşur[1].



Bu tepkime sonucu 2-metilkromon (42) ve 4-metilkumarin (41) bileşiklerini içeren bir karışım oluşmaktadır. Sentezlenen bu bileşiklerin IR ve UV spektrumları oldukça benzerdir. Daha sonra Baker ve Eastwood fenilasetikasit ve fenilasetat kullanarak kromon oluşmadığını gözlemlemişlerdir. Bu iki bileşiğin ayrımını ortamın asitlendirilmesi veya bazikleştirilmesi ile sağlanabilir. Kromon HCl ile kristal yapıda tuzlar verirken kumarin HCl çözeltisinde kararlıdır [1].

1.2.5 Reformatsky Tepkimesi İle Kumarin Sentezi

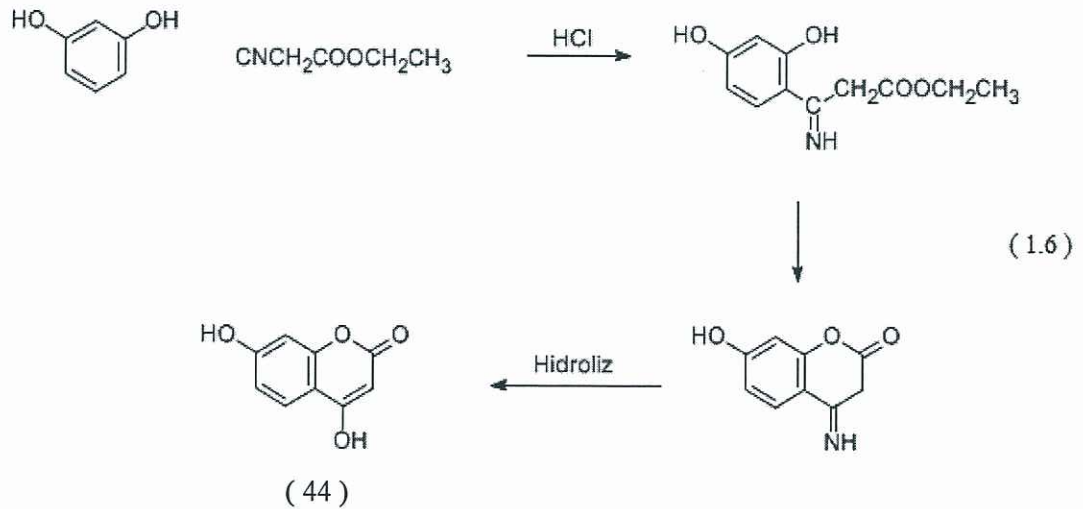
Bu tepkime ile o-hidroksiarilalkil ketonlar kullanılarak 3,4-disübstitüe kumarinler (43) sentezlenebilmektedir. Tepkime metalik çinko varlığında α karbonuna brom bağlı esterler ile gerçekleşir (1.5) [1].



Bu tepkimede oluşan sinnamik asit ara ürününde R gruplarının *cis* yapıda olmaları durumunda kumarine dönüşümün gerçekleştiği görülmüştür. R gruplarının *trans* formda olduğu hallerde sinnamik asit kumarin halkasına dönüşmemektedir [1].

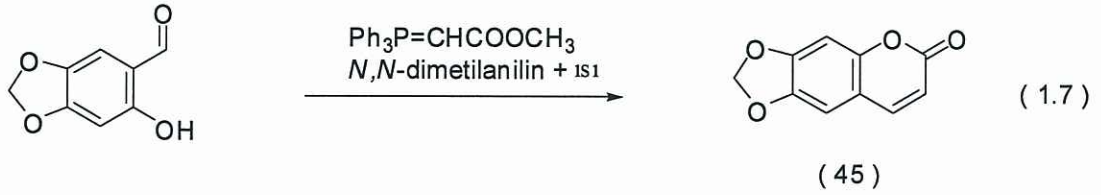
1.2.6 Houben – Hoesch Tepkimesi İle Kumarin Sentezi

Sonn, rezorsinolu siyanoasetik ester ile Houben – Hoesch tepkimesi koşullarında tepkimeye sokmuştur. Ara ürün olarak ketimin oluşmakta ve hidroliz ile bu bileşik 4,7-dihidroksikumarine (44) dönüşmektedir (1.6) [1].



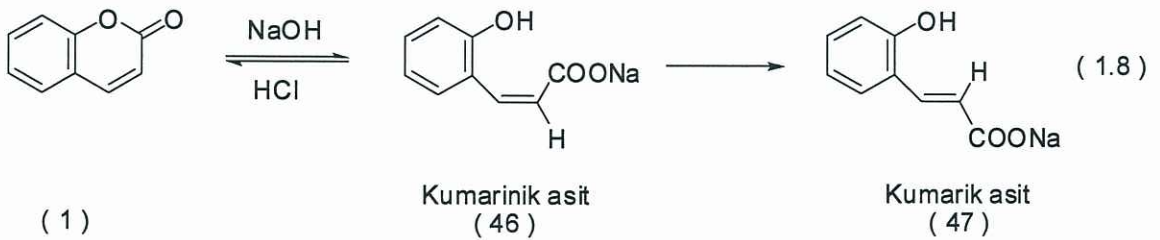
1.2.7 Wittig Tepkimesi İle Kumarin Sentezi

Wittig tepkimesi kullanılarak salisilaldehitler ve alkoksikarbonilmetilentrifenilfosforanların *N,N*-dimetilanilin içerisinde ısıtılarak yüksek verimli kumarin türevleri sentezlenmiştir (1.7) [12].



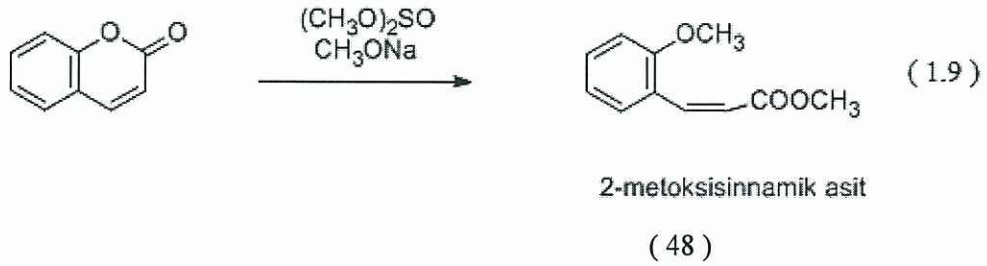
1.3 Kumarinlerin Kimyasal Özellikleri

Kumarin grubuna ait tüm bileşikler alkali ortamda lakton halkasının açılması şeklinde tepkime verirler. Kumarinin seyreltik sodyum hidroksit ile tepkimesi sonucu lakton halkası açılarak sodyum kumarinat oluşur. Bu bileşiğe aynı zamanda kumarinik asit sodyum tuzu (*cis*-2-hidroksisinnamik asit sodyum tuzu) (46) da denir. Bu yapı alkali ile uzun süre muamele edildiğinde *cis* asit yapısı kararlı *trans* asidin tuzuna (*trans*-2-hidroksi sinnamik asit soydum tuzu) (47) dönüşür ve bu aside kumarik asit denir (1.8) [6].

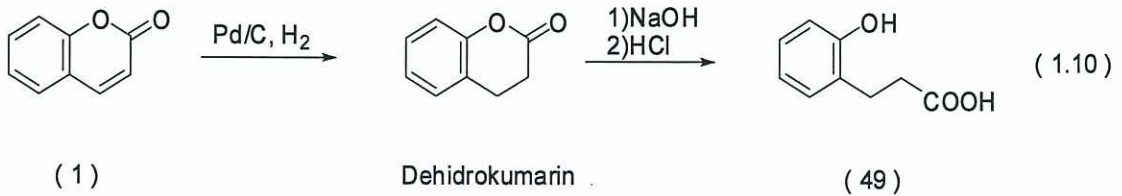


Kumarin ve kromon bileşiklerinin aynı anda oluştuğu tepkimelerde kumarin bileşiğinin hassas testi alkali çözeltilerle lakton halkasının açılması ve kumarinik

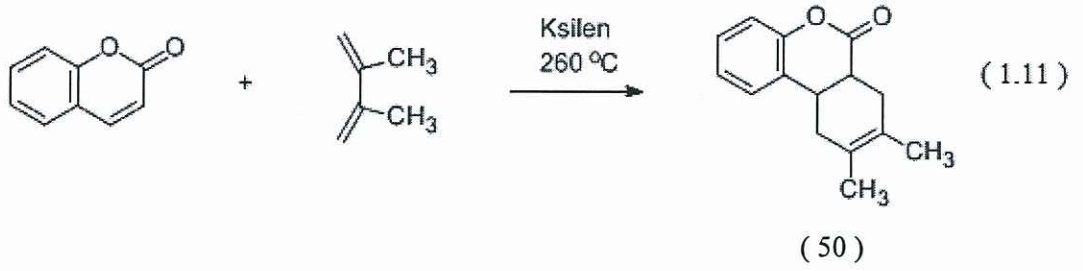
asidin daha kararlı olan kumarik aside fotokimyasal olarak dönüşmesi esasına dayanmaktadır. Kumarin iskeletinin hidrolizi ile aynı anda 2 konumunda bulunan fenolat grubu alkalimetal hidroksit ve dimetilsülfat ile metillenir. Tepkime ürünü 2-metoksi sinnamik asittir (48) (1.9). Burada oluşan ürünün 2-metoksi sinnamik asit veya bir türevi olması maddenin kumarin olduğunu gösterir [1].



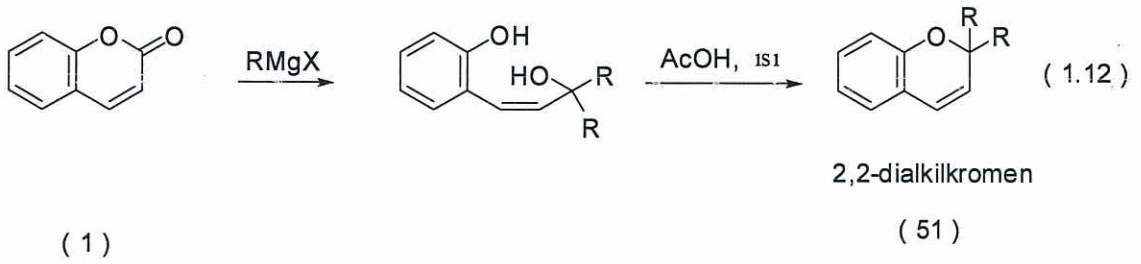
Kumarin ve türevleri çeşitli indirgeyici bileşiklerle dehidrokumarinlere dönüştürülebilir ve bunların hidrolizi sonucunda da asit oluşur. Kumarin bileşiğinden bu şekilde melilotik asit (49) oluşur (1.10) [5].



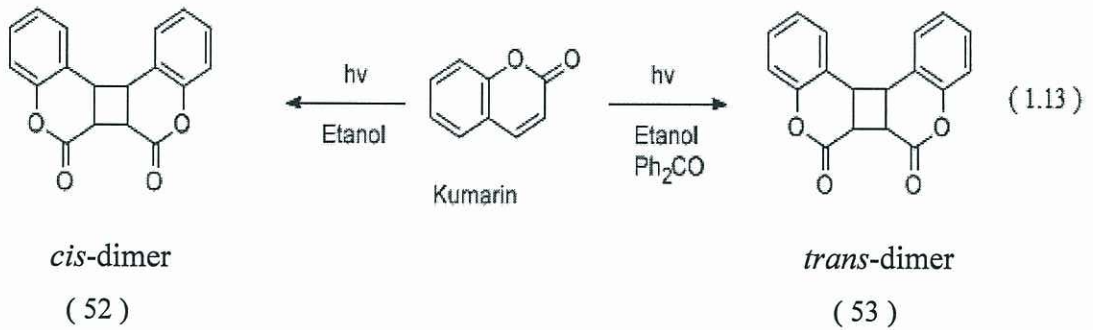
Piron halkasındaki çift bağ α,β -doymamış karbonil bileşiklerinde olduğu gibi olefinik karakterdedir. Kumarin 2,3-dimetilbütadien ile Diels-Alder tepkimesi vermesi sonucu 8,9-dimetil-6a,7,10,10a-tetra-hidrobenzo- α -piron (50) bileşiği elde edilir (1.11) [5].



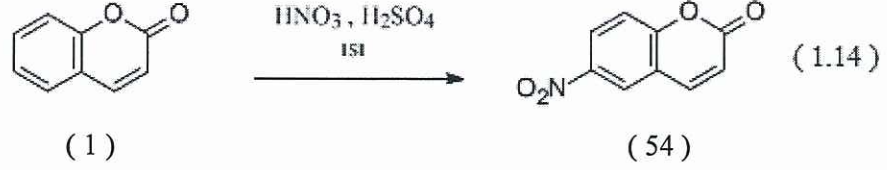
Kumarin bileşiminin piron halkası Grignard reaktifleri ile asetik asit içerisinde dehidratasyona uğrayarak 2,2 dialkilkromen (51) bileşimini verir (1.12) [5].



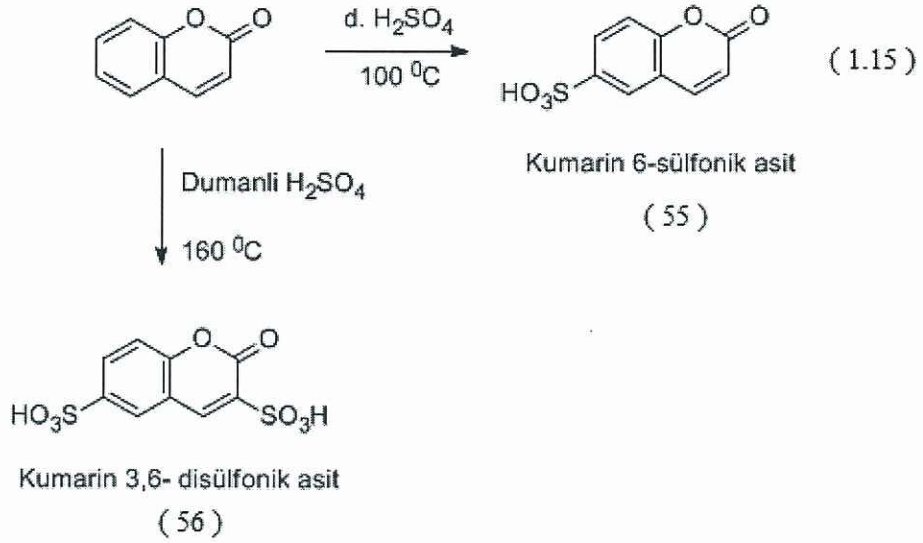
Kumarin katı halde uzun zaman veya etanol içerisinde UV veya güneş ışığı ile etkileştiğinde *cis*-siklobütan (52) birimi içeren dimer oluşur. Aynı etkileşim etanol içerisinde benzofenon varlığında yapılırsa *trans*-siklobütan (53) içeren dimerlere dönüşür (1.13).



Kumarin bileşiği dumanlı sülfürik asit ve nitrik asit varlığında nitrolama tepkimesine sokulduğunda 6-nitrokumarin (54) bileşiği ele geçer (1.14) [1].



Kumarinin sülfolanmasında 100 °C'de derişik sülfürik asit kullanıldığı zaman sülfolanmanın nitrik asitte olduğu gibi benzen halkası üzerinden ve Şekil 1.1 bileşik (1)'de verilen 6 konumundan (55) olduğu görülmüştür. Tepkime sıcaklığı 160 °C'ye çıkarıldığında ise kumarin 3,6- disülfonik asit (56) ele geçer (1.15) [1].

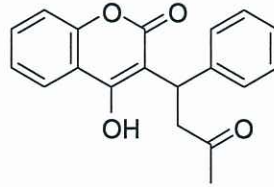


Kumarin bileşiği oda sıcaklığında kloroform içerisinde bromla tepkimeye sokulduğunda 3,4-dibromokumarin ele geçmektedir. Tepkime ortamında karbon disülfür (CS₂) bulunduğunda bromlama sonucu 3,6-dibromokumarin bileşiğinin oluştuğu görülmüştür. Tepkime basınç altında gerçekleştirildiğinde ise 3,6,8-tribromokumarin türevi ele geçmektedir [1].

1.4 Kumarin Türevlerinin Aktiviteleri

Kumarin ve türevlerine bitkilerde tek başlarına veya başka moleküllerle bileşik halinde yaygın olarak rastlanır. Bunun yanında bir çok kumarin türevi laboratuarlarda sentezlenebilmektedir. Bu bileşikler çeşitli biyolojik aktiviteler sergilemeleri nedeniyle ilgi ile çalışılmaktadır. Biyolojik aktivitelerinin yanı sıra kumarin halkasına takılan süstitüentler kumarin bileşiğine güçlü flouresans özellik kazandırmaktadır [24-27].

Kumarin bileşiklerinin bilinen en önemli özellikleri canlılarda kanama sırasında antikoagülant olarak davranmasıdır. Bazı kumarin türevleri antikoagülant olarak eczacılıkta kullanılmaktadır [13]. Şekil 1.16' da antikoagülant olarak satılan warfarin (19) bileşiğinin açık yapısı görülmektedir.



Warfarin
(19)

Şekil 1.16 Warfarin

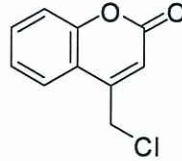
Kumarin türevleri gıda sanayinde ve kişisel temizlik malzemelerinde bir dönem kullanılmıştır. Ancak hayvanlar üzerinde yapılan deneyler sonucu toksik özellik gösterdiği belirlenince FDA tarafından 1954 yılında kullanımı yasaklanmıştır [14,15].

Doğal kumarin bileşikleri hoş kokuları nedeniyle parfüm sanayinde kötü kokuları maskeleyen amacıyla kullanılmaktadır [16].

Kumarin bileşiğinin 3 konumuna fenil grubunun takılmasıyla elde edilen kumarin türevlerinin kuvvetli antioksidan ve östrojen etki gösterdikleri gözlenmiştir. 3-fenil kumarin bileşikleri aril flavonoid türevleridir ve bitkilerden de izole edilmektedir. 3-fenilkumarinin bitkiler üzerindeki etkileri incelendiğinde bu bileşiklerin bitki filizlenmesini inhibe ettiği görülmüştür.

2008 yılında Başaran ve arkadaşları tarafından sentezlenen bazı 3-fenilkumarin bileşiklerinin insan vücudu için çok kritik bir önemi olan karbonik anhidraz enziminin inhibisyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır [17].

Şekil 1.17' deki gibi kumarin halkasının 4 konumuna klorometil grubunun takılması sonucu farklı kumarin türevleri (57) sentezlenmiş ve biyolojik aktiviteleri incelenmiştir. 2010 yılında Çakır ve arkadaşları tarafından 4 konumuna klorometil takılan kumarin türevleri, sekonder aminlerle etkileştirilerek amino kumarin türevleri sentezlenmiş, bu bileşiklerin taç eter türevlerine geçilerek metal tutma, antibakteriyel ve antioksidan özellikleri araştırılmıştır [18].



(57)

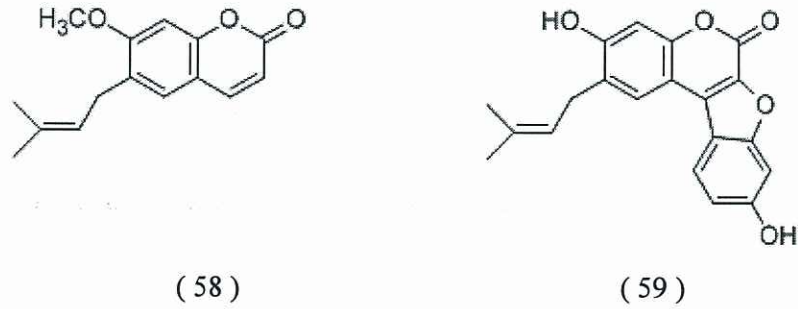
Şekil 1.17 4 Konumunda klorometilen içeren kumarinlerin genel gösterimi

Bir başka çalışmada kumarin bileşiklerinin çinko ve bakır türevleri sentezlenmiş ve yüksek oranda ülser inhibisyonu gösterdikleri görülmüştür [19].

Kumarin bileşiklerinin inhibisyon özelliklerinin incelendiği çalışmaların belki de en önemlisi AIDS virüsünün insan vücuduna integrasyonunu sağlayan enzim olan HIV integras enzimi üzerinde yapılan çalışmalardır. Bazı biskumarin türevlerinin bu

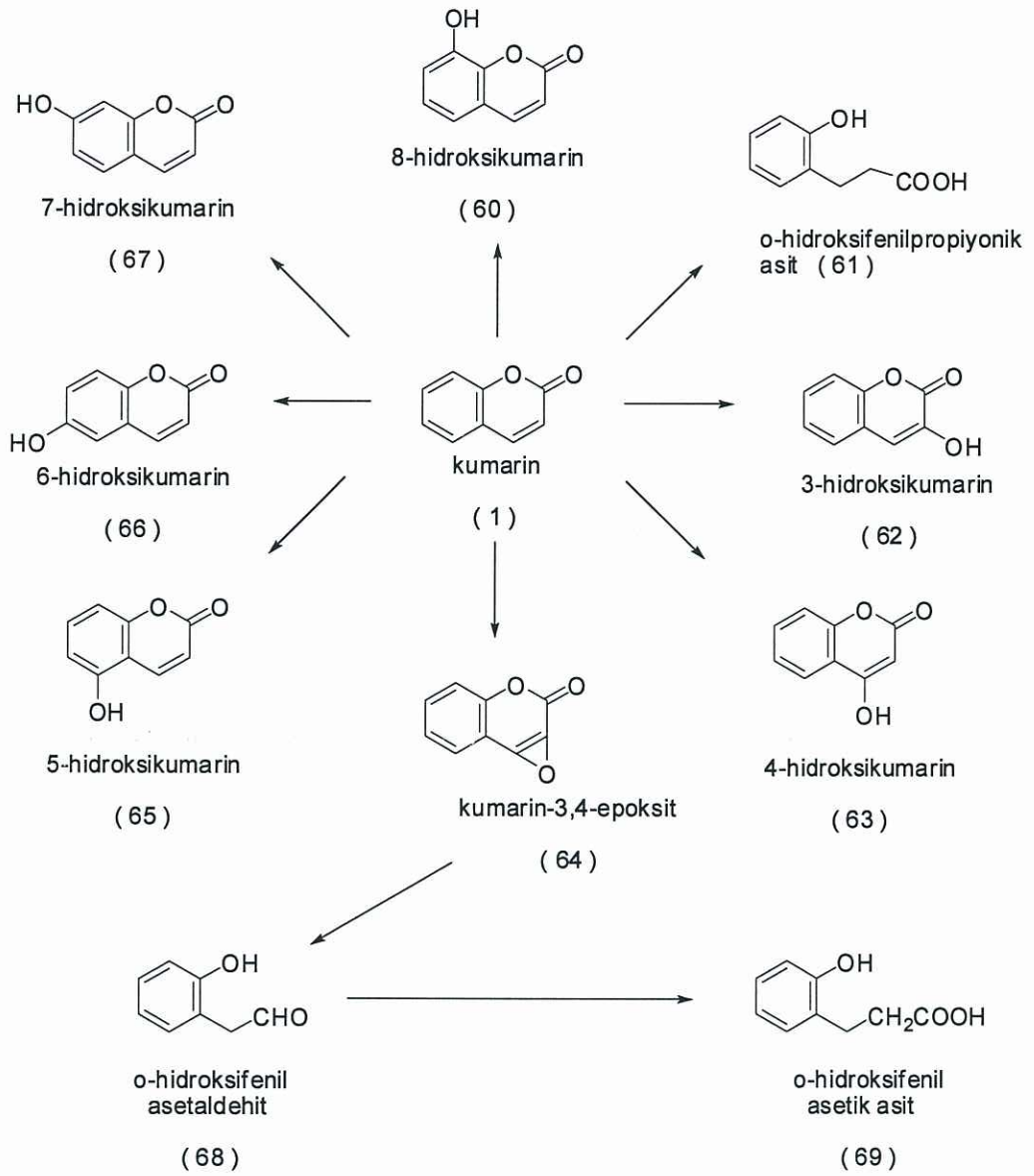
enzimi yüksek oranda inhibe ettiği görülmüştür. Bu, AIDS tedavisinde kumarinlerin potansiyel olarak kullanılabilceği umudunu doğurmuştur [20].

Bu çalışmaların yanında kumarin türevlerinin kanser tedavisindeki etkileri de araştırılmaktadır. Kumarin bileşiklerinin göğüs kanseri, mide kanseri, bağırsak kanseri ve böbrek kanseri tedavisindeki etkileri araştırılmıştır. Şekil 1.18’ de görülen kumarin türevleri (58, 59) özellikle göğüs kanseri tedavisinde umut vermektedir [21].



Şekil 1.18 Kanser tedavisinde aktivite gösteren bazı kumarin türevleri

2001 yılında sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada kumarinin vücutta nasıl metabolize olduğu araştırılmıştır. Şekil 1.19’da görüldüğü gibi kumarin bileşiğinin (3,4,5,6,7,8 konumları) hidroksil grubu bağlanarak yükseltgendiği görülmüştür. Bu 6 olasılıktan en fazla 7-hidroksikumarin (67) ve 3-hidroksikumarin (62) olduğu tespit edilmiştir. 7-hidroksikumarin (umbelliferon) bitki hücrelerinde bulunan doğal bir bileşiktir. Metabolize olan bu bileşiklerinin kanserle tedavide etkili olmalarının yanı sıra radyoterapinin oluşturduğu yan etkilerin giderilmesinde de etkili oldukları saptanmıştır [22,23].



Şekil 1.19 Kumarin bileşiğinin metabolizması

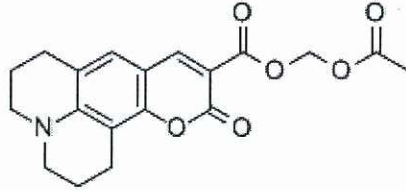
Kumarin ve türevlerinin toksisitesi hakkında birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar sıçan, fare, insan gibi farklı canlılar üzerinde yapılmıştır [23]. Her canlıda kumarinin metabolize olması sonucu farklı metabolitlerin farklı oranlarda oluştuğu bilinmektedir. Kumarin 1954 yılından beri FDA tarafından toksik madde olarak sınıflandırılmış ve kullanımı veya gıdalara karıştırılması yasaklanmıştır. FDA'nın aldığı bu karar sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalara göre alınmıştır ve bu çalışmalar sonucu NIOSH tarafından da kumarin karsinojenik olarak tanımlanmıştır. Ancak

Ames yaptığı testlerde kumarinin mutajenik olmadığını göstermiştir. Bu da sıçanların metabolizmasının insan metabolizması ile karşılaştırılmasının yanıltıcı olabileceğini göstermiştir. İnsanlarda ana metabolit 7-hidroksikumarin iken sıçanlarda ana metabolit 3-hidroksikumarindir. Sıçanlarda 3-hidroksikumarinin ölümcül dozu 1,8 g/kg iken 3,2 g/kg 7-hidroksikumarin dozu ile hiçbir toksik etki göstermemiştir. İnsanda kumarin toksisitesi ile ilgili birkaç çalışma vardır. Bu çalışmalar sonucunda kumarinin karaciğerin fonksiyonunu bozduğu kesin olarak kanıtlanamamıştır. 2163 hastada yapılan çalışmada toksik sıklığın sadece % 0,37 olduğu gözlenlenmiş ve kumarin tedavisi kesildiğinde bu etkinin ortadan kalktığı görülmüştür. Bu nedenle kumarinin bazı kişilerde karaciğer enzim seviyesini yükselterek karaciğer fonksiyonlarını etkileyebileceği belirtilmiştir [15,23].

Kumarinler biyolojik aktivitelerinin yanında farklı alanlarda da kullanılmaktadır ve bu alanlardaki çalışmalar hızla devam etmektedir. Kumarinler renksiz bileşikler olmalarına rağmen kumarin bileşiğine takılan süstitüentler (6 veya 7 konumlarına elektron verici, 3 veya 4 konumlarına ise elektron çekici) kumarinleri renkli yapmakta ve onlara güçlü flouresans özellik kazandırmaktadır. Kumarin halkasına takılan yeni tür grupların flouresans özelliği nedeniyle 4-bromometil kumarin ve buradan elde edilen türevlerle yağ asitlerinin ve diğer karboksilli asitlerin kromatografik olarak tanınmalarının mümkün olacağı belirtilmiştir [24].

Kumarin bileşiklerinin farklı süstitüentler ile farklı flouresans özellik göstermeleri onların birçok iyon ve farklı türün analizinde kullanılmasını sağlamaktadır. Bu tür çalışmalara bir örnek Cu^{2+} katyonunun analizinde amino grupları içeren kumarin türevinin farklı, Cu^{2+} katyonunu bağladıktan sonra oluşan kumarin türevinin farklı flouresans özellik göstermesi ile Cu^{2+} ya seçimli sensörler geliştirilmesidir [25]. Bu çalışmaya benzer bir çalışma Mg^{2+} katyonu için de yapılmış Mg^{2+} ya karşı hassas kumarin bazlı sensörler geliştirilmiştir. Sentezlenen kumarin türevlerinin magnezyum katyonu ilave edilmeden ve ilave edildikten sonra UV absorpsiyonları ölçülmüş ve absorpsiyon bandının oldukça değiştiği belirlenmiştir. Bu değişikliğin nedeni Mg^{2+} katyonun kumarin türevi ile oluşturduğu komplekstir. Ortama ilave edilen KCl ve NaCl tuzlarının spektruma bir etkisi

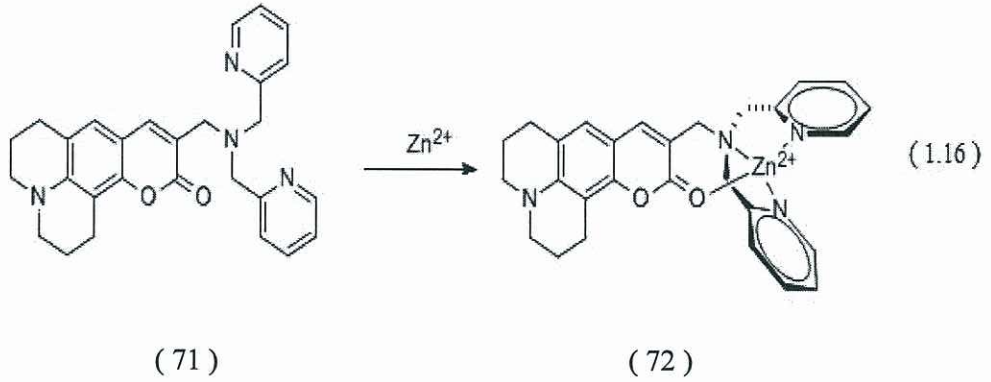
olmadığı belirlenmiştir. Bu da Mg^{2+} kationuna seçiciliğin yüksek olduğunu göstermektedir [26]. Şekil 1.20’de Mg^{2+} analizi için kullanılan kumarin türevi görülmektedir (70).



(70)

Şekil 1.20 Mg^{2+} analizi için kullanılan kumarin türevi

Benzer bir çalışma Zn^{2+} kasyonu ile de yapılmıştır (71, 72) (1.16) [27].



(71)

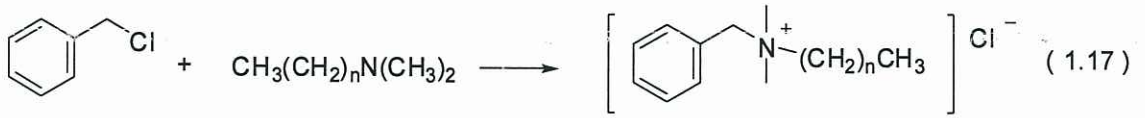
(72)

(1.16)

1.5 Kuaterner Amonyum Tuzları

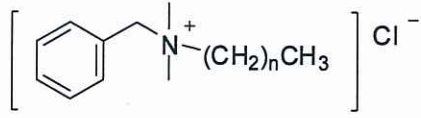
Kuaterner amonyum iyonları NR_4^+ yapısında pozitif yüklü bileşiklerdir. Kuats olarak da adlandırılırlar. R alkil veya aril grupları olabilir. Kuaterner amonyum kationu, NH_4^+ , primer, sekonder veya tersiyer amonyum iyonlarının aksine pH'a bağlı olarak yük değişikliği göstermez, sürekli pozitif yüklüdür. Kuaterner amonyum tuzları kuaterner amonyum iyonları ve karşı bir anyondan oluşur [28].

Kuaterner amonyum tuzlarının hazırlanmasında en çok kullanılan yöntem tersiyer amin bileşiklerinin alkil halojenürler ile tepkimesidir (1.17) [29].

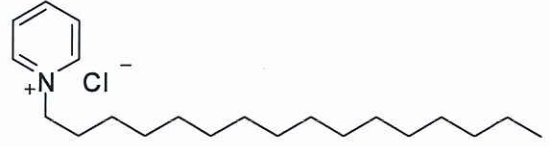


Benzalkonyum klorür türevi
(73)

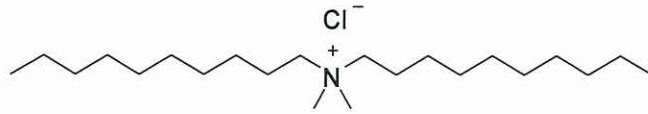
Kuaterner amonyum tuzlarının en çok bilinen özellikleri antimikrobiyal özellikleridir. Özellikle uzun alkil zinciri içeren kuaterner amonyum tuzları antimikrobiyal ve disinfektant özellik sergilemektedir. Bunun dışında kuaterner amonyum tuzları mantarlara ve virüslere karşı da aktiftir. Kuaterner amonyum bileşikleri sabun ve anyonik deterjanlar tarafından deaktive edilir. Kuaterner amonyum tuzları sert sularda da deaktive olur ve sert sularda kullanılmamaları önerilir. Kuaterner amonyum tuzları mikrop ve mantar gibi canlıları hücre zarlarını parçalayarak etkisiz hale getirirler [30]. Şekil 1.21' de antimikrobiyal aktiviteye sahip bazı kuaterner amonyum tuzları görülmektedir (73- 76).



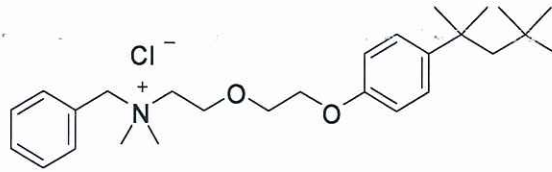
Benzalkonyum türevi
(73)



1-hekzadesipridyum klorür
(74)



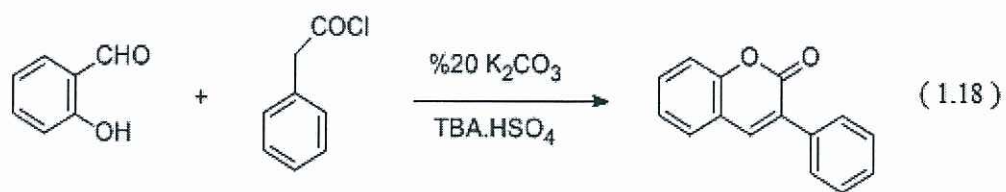
Didesil, dimetilamonyum klorür
(75)



Benzetonyum klorür
(76)

Şekil 1.21 Antimikrobiyal aktiviteye sahip bazı kuarterner amonyum tuzları

Kuarterner amonyum tuzları antimikrobiyal etkilerinin yanında organik kimyada faz transfer katalizörü olarak da kullanılırlar [29]. Birbiri ile karışmayan iki çözücü ve reaktiflerin kullanıldığı tepkimelerde kuarterner amonyum tuzları fazlar arası transferi sağlar. Örneğin çözücü olarak diklormetan kullanılan ve salisilaldehit ve fenilasetilklorürle 3-fenilkumarin sentezinde faz transfer katalizörü olarak tetrabütilamonyumhidrojensülfat (TBA.HSO_4) kullanılır (1.18) [31].



1.6 Çalışmanın Amacı

Çalışmamızın temel amacı yüksek biyolojik aktiviteye sahip iki tür olan kumarin ve kuaterner amonyum tuzu yapılarını bir arada içeren kumarin kuaterner amonyum tuzlarının sentezlenmesi ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesidir. Kumarin ve türevleri genellikle apolar organik çözücülerde çözünen ve suda çok az miktarda çözünen bileşiklerdir. Bu çalışmanın diğer bir amacı iyonik yapıda kumarin türevleri sentezleyerek kumarin bileşiğinin sudaki çözünürlüğünü arttırmaktır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Sentezlenen kumarin bileşikleri havanın oksijenine karşı duyarlı bileşikler olduklarından tüm deneyler argon gazı altında inert atmosfer ortamında Schlenk tekniği kullanılarak gerçekleştirildi. Tepkimelerde kullanılan cam malzemeler kullanılmadan önce vakum altında ısıtılarak içerisindeki hava ve nem uzaklaştırılıp argon gazı dolduruldu.

Sentezlerde kullanılan kimyasal çözücüler Sigma-Aldrich firmasından ticari olarak temin edildi, uygun saflaştırma yöntemleri ile saflaştırıldı ve saflıkları $^1\text{H-NMR}$ ile kontrol edildikten sonra kullanıldı. DMF ve DCM, fosfor pentaoksit (P_2O_5) varlığında; dietileter, metalik Na varlığında; aseton, MgSO_4 varlığında kaynatıldıktan sonra kullanıldı. Sentezlerde kullanılan CH_3CN ve toluen ticari olarak temin edildiği şekilde (analitik saflıkta (%99,9)) kullanıldı.

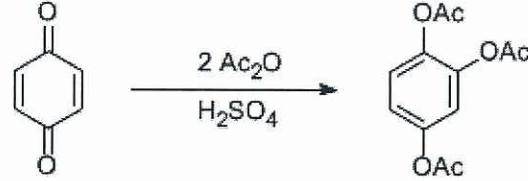
Sentezlerde kullanılan 1,4-benzokinon, rezorsinol (1,3-dihidroksibenzen), pryogallol (1,2,3-trihidroksibenzen), etil-4-kloroasetoasetat, *N,N*-dimetilbenzilamin, *N,N*-dimetilisopropilamin bileşikleri Sigma-Aldrich firmasından ticari olarak analitik saflıkta temin edildi ve bileşiklerin saflıkları $^1\text{H-NMR}$ ile kontrol edildikten sonra kullanıldı.

NMR spektrumları Bruker Ultra Shield 300 MHz NMR cihazında alındı. FT-IR spektrumları Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spektrofotometresinde ATR ünitesi ile $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ aralığında alındı. Erime noktaları Bornstead Electrothermal erime noktası tayin cihazı ile belirlendi.

Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesinde kullanılan DMSO Sigma-Aldrich firmasından analitik saflıkta temin edildi.

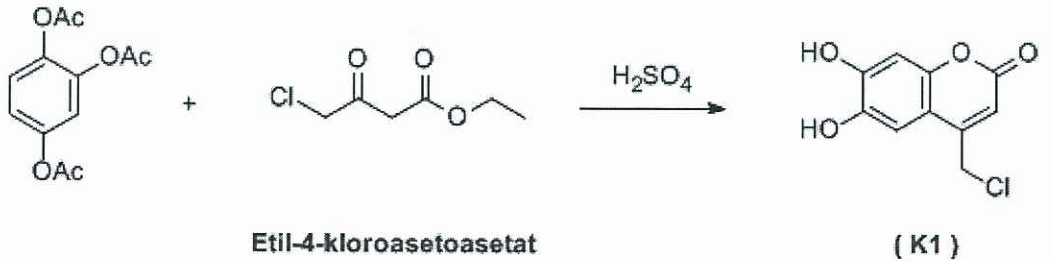
2.1 Sentezi Gerçekleştirilen Bileşikler

2.1.1 1,2,4 Triasetilbenzen Sentezi



3 g H₂SO₄ (1.71 mL, %96 lık), 45 g (41.75 mL, 0.45 mol) asetik anhidrit üzerine dikkatlice damla damla ilave edildi. Daha sonra 15 g (0.15 mol) p-benzokinon (e.n. : 115 °C) kısım kısım 1 saatte eklendi. Bu esnada sıcaklık 40-50 °C' de tutuldu. Bu sıcaklıkta 15 dakika karıştırılmaya devam edildi. Bu süre sonunda kahverenkli bir çökelek oluştu. Çökelek 600 mL soğuk suya döküldü, süzüldü, vakumda bol su ile iyice yıkandı. Vakum desikatöründe iyice kurutuldu ve karanlık bir ortamda saklandı. Verim : % 84. e.n : 96-97 °C.

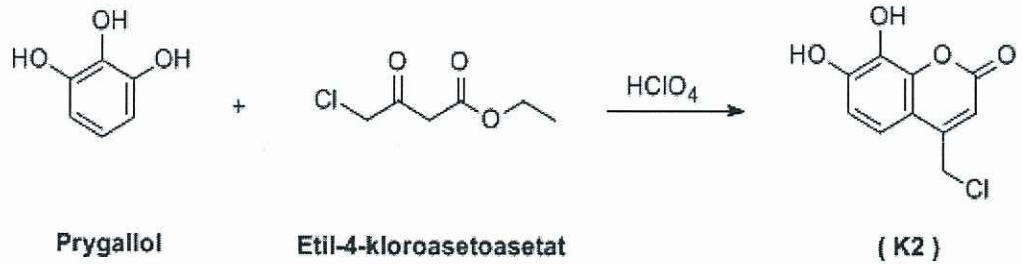
2.1.2 4-klorometil-6,7-dihidroksi-2H-kromen-2-on (4-klorometil-6,7-dihidroksikumarin) (K1) Sentezi



25,2 g (0.1 mol) 1,2,4,-triasetilbenzen, 16,45 g (0.1 mol) 4-kloro etilasetoasetat azot atmosferinde, ekzotermik bir reaksiyon verdiği için dikkatlice

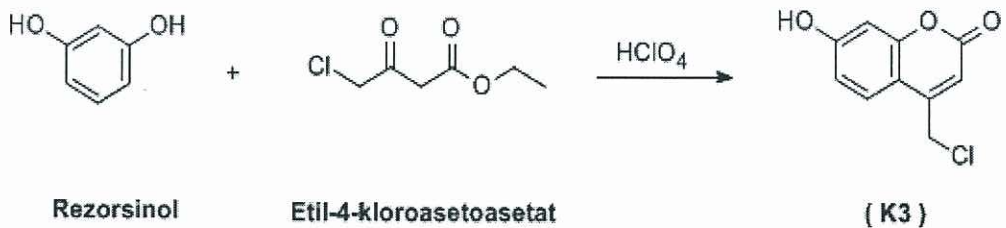
100 mL % 75'lik sülfirik aside katıldı. 2 saat karıştırıldı. Tepkime sonrası çözelti 600 mL soğuk suya katıldı ve kumarin çöktürüldü. Çöken maddemiz vakumda süzüldü ve yine vakum altında kurutuldu. Ürün açık havada bozulduğu için inert atmosferde asetik asit içerisinde kristallendirildi. 19,7 g. Verim : % 87. e.n. : 190-192°C.

2.1.3 4-klorometil-7,8-dihidroksi-2H-kromen-2-on (4-klorometil-7,8-dihidroksikumarin) (K2) Sentezi



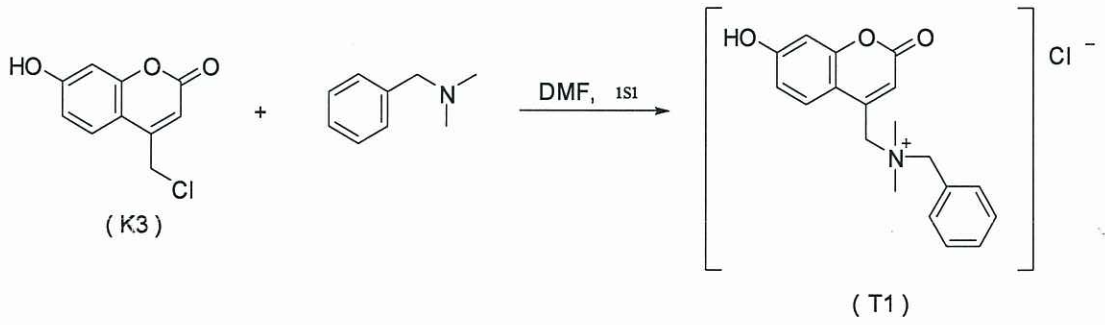
3.83 g (30 mmol) pyrogallol, 5 g (30 mmol) etil-4-kloroasetoasetat ve HClO_4 (10 mL, %60'luk) karışımı 90 °C'de 4 saat süreyle geri soğutucu altında ısıtıldı. Karışım buzlu su üzerine aktarılarak kumarin çöktürüldü. Elde edilen ürün aseton:hekzan 3-2 çözücü sisteminde silikajel kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Sarı kristal ürün. 3.3 g. Verim : %48. e.n. : 215-217 °C.

2.1.4 4-klorometil-7-hidroksi-2H-kromen-2-on (4-klorometil-7-hidroksi kumarin) (K3) Sentezi



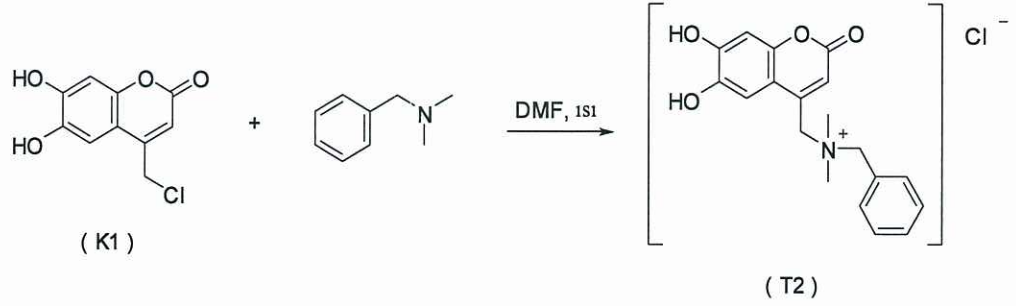
2.0 g (18,2 mmol) rezorsinol, 2.1 g (18,2 mmol) etil-4-kloroasetoasetat ve HClO₄ (3.6 mL % 70) karışımı 3 saat 80-90 °C'de geri soğutucu altında ısıtıldı. Karışım soğutuldu ve buzlu su üzerine boşaltıldı. Oluşan ham ürün süzüldü. Alınan katı madde nötral pH sağlanana kadar su ile yıkandı ve daha sonra DCM ile yıkandı. Sarı katı ürün. 2,1 g. Verim : %54. e.n. : 173-175°C (Bozundu).

2.1.5 *N*-4-klorometil-7-hidroksikumarinil-*N*-benzil-*N,N*-dimetilamonyum klorür (T1) Sentezi



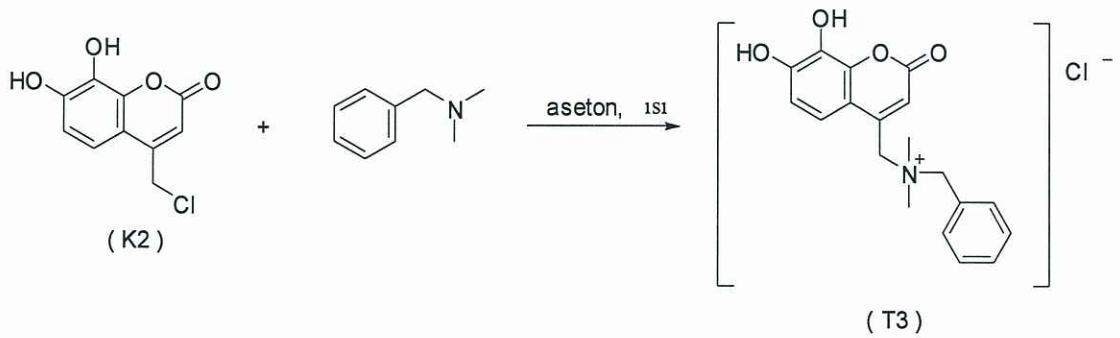
0,8 g (3,75 mmol) 4-klorometil-7-hidroksikumarin (K3) bileşiği 10 mL DMF'de çözüldü. Daha sonra üzerine 0,51 g (3,75 mmol) *N,N*-dimetilbenzilamin eklendi. Tepkime inert atmosferde gerçekleştirildi. Tepkime 60 °C de 24 saat tutuldu. DMF vakum altında uzaklaştırıldı. Katı ürün saf su ile ekstrakte edildi. Su, vakum ve ısı ile uzaklaştırıldı. Elde edilen yağimsı ürün THF ile yıkanarak katılaştırıldı ve saflaştırıldı. Beyaz katı ürün. 0,21 g. Verim : %16. e.n. : 194-196 °C.

2.1.6 *N*-4-klorometil-6,7-dihidroksikumarinil-*N*-benzil-*N,N*-dimetilamonyum klorür (T2) Sentezi



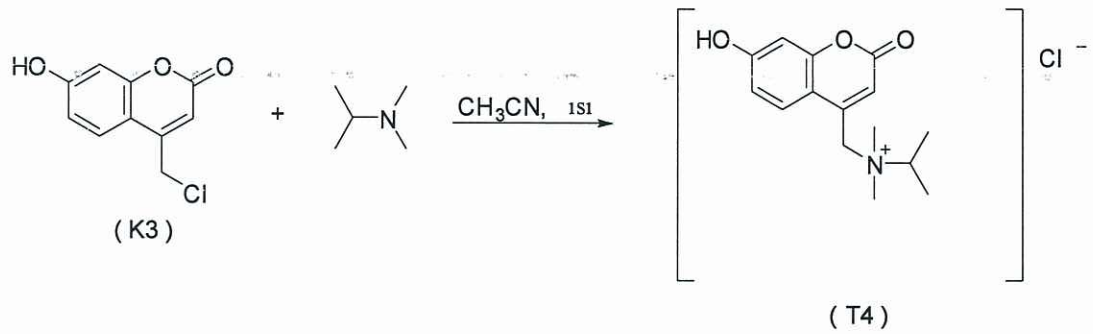
0,86 g (3,8 mmol) 4-klorometil-6,7-dihidroksikumarin (K1) bileşiği 10 mL DMF’de çözüldü. Karışıma 0,51 g (3,8 mmol) *N,N*-dimetilbenzil amin eklendi. Tepkime inert atmosferde gerçekleştirildi. Tepkime 100 °C’de 2 gün tutuldu. DMF vakum altında uzaklaştırıldı. Katı ürün sıcak su ile ekstrakte edildi. Su, ısı ve vakum yardımıyla uzaklaştırıldı. Kırmızı-turuncu katı ürün dietileter ve DCM ile yıkanarak kurutuldu. 55 mg. Verim : %4 . e.n. : 190-192 °C.

2.1.7 *N*-4-klorometil-7,8-dihidroksikumarinil-*N*-benzil-*N,N*-dimetilamonyum klorür (T3) Sentezi



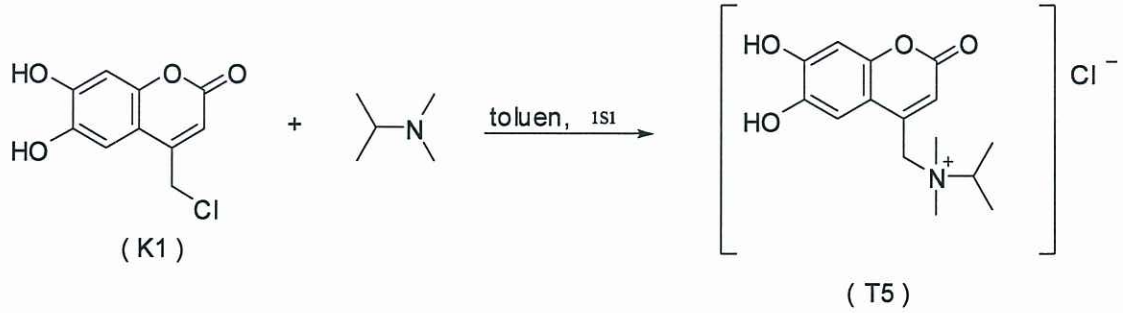
0,5 g (2,2 mmol) 4-klorometil-7,8-dihidroksi kumarin (K2) 20 mL asetonda çözüldü. Karışıma 0,28 g (2,2 mmol) *N,N*-dimetilbenzil amin eklendi. Tepkime inert atmosferde gerçekleştirildi. Karışım asetonda 2 gün geri soğutucu altında ısıtıldı. Az miktarda bir katı çöktü ve çöken katı süzülerek ayrıldı. Bu maddenin ürünümüzü içermeyen bir karışım olduğu TLC ile anlaşıldı. Süzüntüye dietileter eklenerek kristallendirildi. Kristaller dietileter ve DCM ile yıkandı ve kurutuldu. Sarı katı ürün. 70 mg. Verim : %9. e.n. : 150 °C bozundu.

2.1.8 *N*-4-klorometil-7-hidroksikumarinil-*N*-izopropil-*N,N*-dimetilamonyum klorür (T4) Sentezi



0,5 g (2,4 mmol) 4-Klorometil-7-hidroksikumarin (K1) 10 mL asetonitrilde çözüldü. Karışıma 0,2 g (2,4 mmol) *N,N*-dimetilizopropil amin eklendi. Tepkime inert atmosferde gerçekleştirildi. Tepkime karışımı asetonitrilde 90-95 °C'de 4 gün geri soğutucu altında ısıtıldı. Asetonitril vakumda çekilerek uzaklaştırıldı. Oluşan katı ürün sıcak su ile ekstrakte edildi ve su uzaklaştırıldı. Kahverengi katı ürün. 70 mg. Verim : %10. e.n. :204-208 °C bozundu.

2.1.9 *N*-4-klorometil-6,7-dihidroksikumarinil-*N*-izopropil-*N,N*-dimetilamonyum klorür (T5) Sentezi



0,45 g (2 mmol) 4-klorometil-6,7-dihidroksi kumarin (K1), 20 mL tolüen ile karıştırıldı ve karışıma 0,18 g (2 mmol) *N,N*-Dimetil izopropil amin eklendi. Tepkime inert atmosferde gerçekleştirildi. Tepkime karışımı 2 gün 80 °C de ısıtıldı ve daha sonra 1 hafta geri soğutucu altında ısıtıldı. Tepkime sonunda oluşan ham ürün etil asetatla yıkanarak başlangıç maddesi olan 4-klorometil-6,7-dihidroksi kumarin ortamdan uzaklaştırıldı. Elde edilen ürün etanol ve dietileter sisteminde kristallendirildi. Sarı katı ürün. 45 mg. Verim : %7. e.n. : 244-245 °C.

2.2 Sentezlenen Bileşiklerin Antimikrobiyal Aktiviteleri İçin Genel Prosedür

Sentezlenen bileşikler 2 mL DMSO'da çözüldü. Sulandırma distile su ile yapıldı. Bu bileşiklerin derişimleri 800, 400, 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25 µg/mL'ye kadar seyreltildi. Bakteri ve mantarların (10⁶ CFU s/mL) standart inoculumları (ekim yapılan miktar) steril plastik halka uçlu öze ile (0.01 mL) agar plaklarına ekim yapıldı. Ekim yapılan tüm plaklar 35 °C de inkübatörde bakteriler için 16-20 saat, mantarlar için 48 saat bekletildikten sonra değerlendirildi. Bakteri ve mantarların çoğalmasını önleyen en düşük derişimleri minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) olarak belirlendi. Testlerde mantarlar için Flucunazole, bakteriler için Ampicillin ve Ciprofloxacın standart karşılaştırma amaçlı kullanıldı [32,33,34].

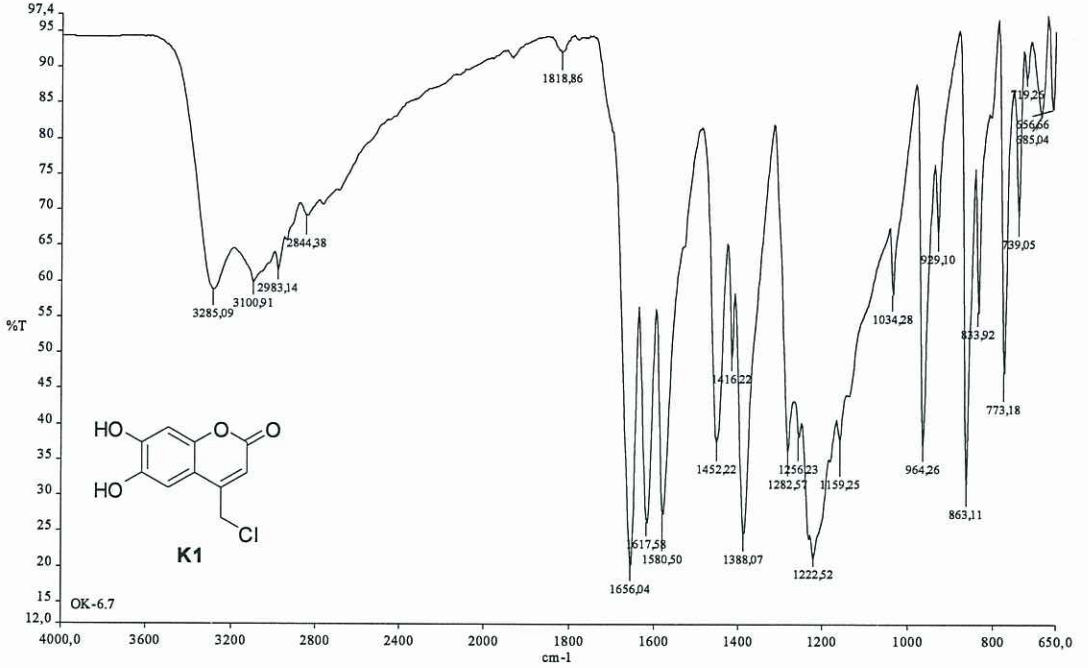
3. BULGULAR

3.1 4-klorometil-6,7-dihidroksi-2H-kromen-2-on (4-klorometil-6,7-dihidroksikumarin) (K1) Bileşiminin Spektroskopik Bulguları

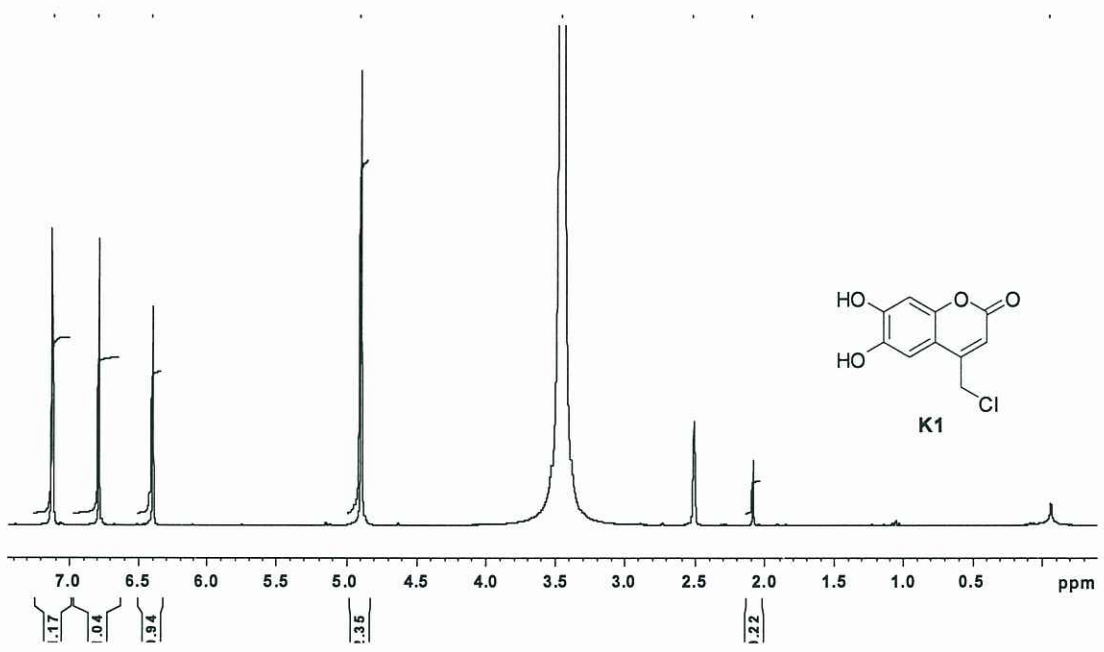
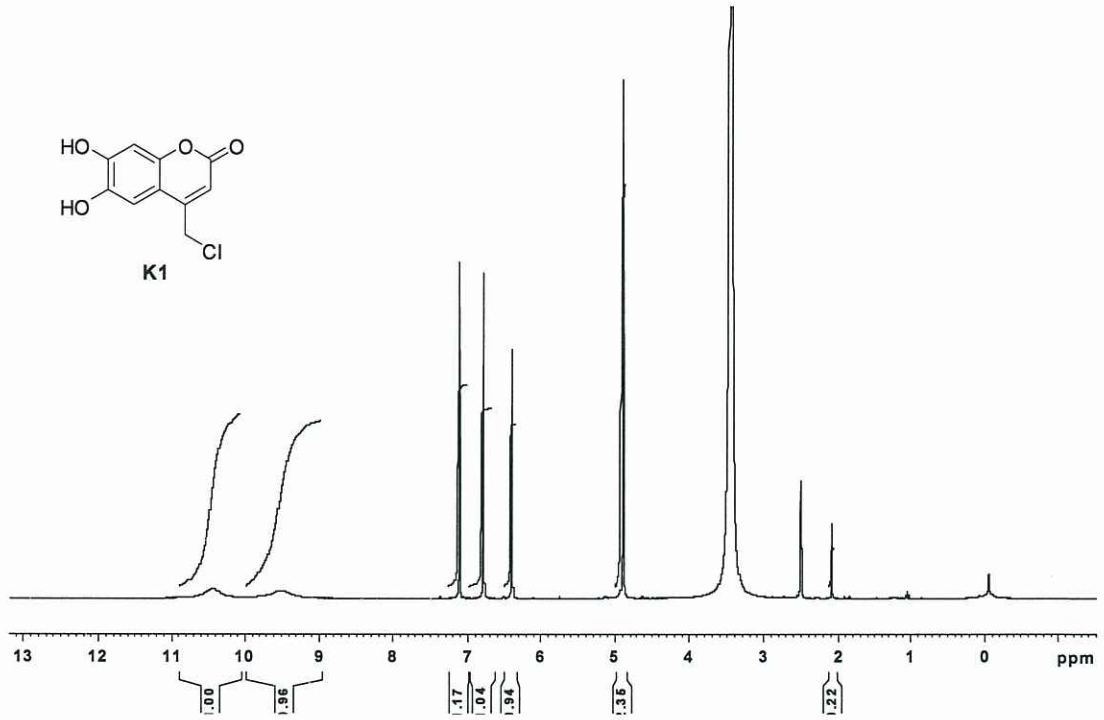
FT-IR (cm^{-1}): 3285 (Ar-OH gerilimi), 3101 ve 1819 (aromatik C-H gerilimi), 1656 (-C=O gerilimi), 1617 (-C=C- gerilimi)

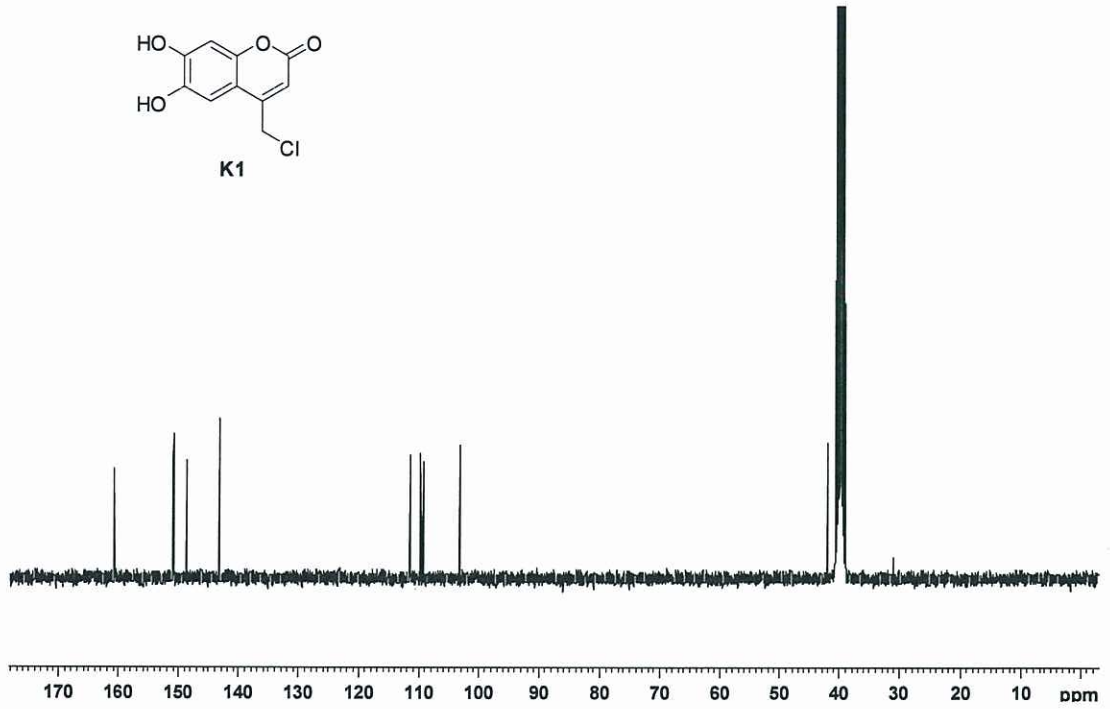
$^1\text{H-NMR}$ (δ_{H} , DMSO- d_6 , 300 MHz, ppm) : 10.45 (s, 1H), 9.51 (s, 1H), 7.12 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 4.90 (s, 2H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (δ_{C} , DMSO- d_6 , 300 MHz, ppm) : 151.17, 151.05, 148.77, 143.36, 111.66, 109.86, 109.35, 103.36, 42.04



Şekil 3.1 K1 Bileşiminin FT-IR Spektrumu





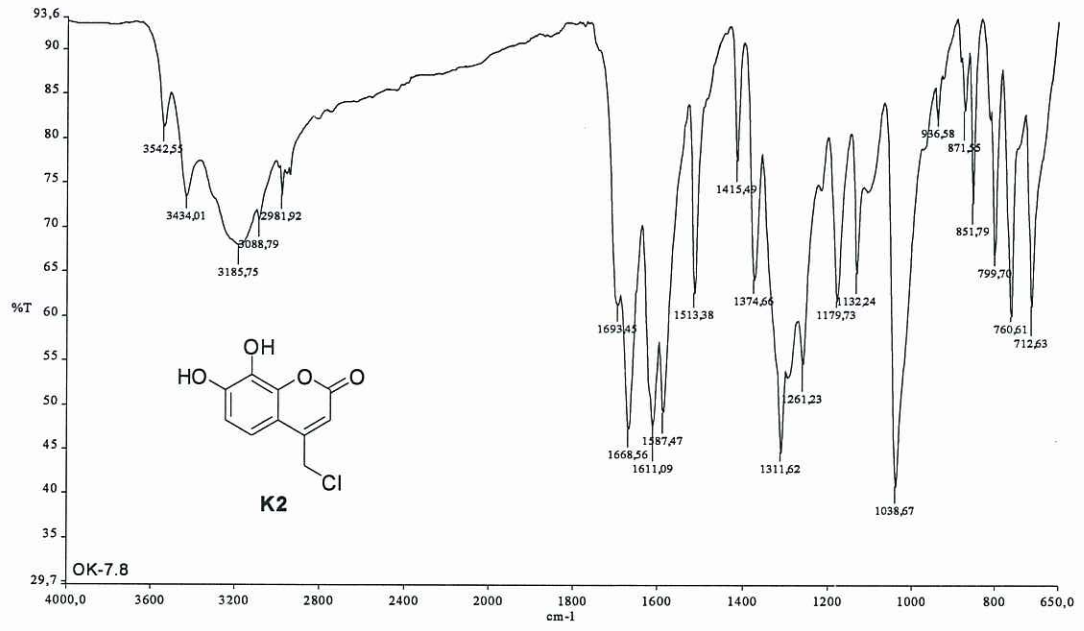
Şekil 3.3 K1 Bileşiğinin ¹³C-NMR Spektrumu

3.2 4-klorometil-7,8-dihidroksi-2H-kromen-2-on (4-klorometil-7,8-dihidroksikumarin) (K2) Bileşiğinin Spektroskopik Bulguları

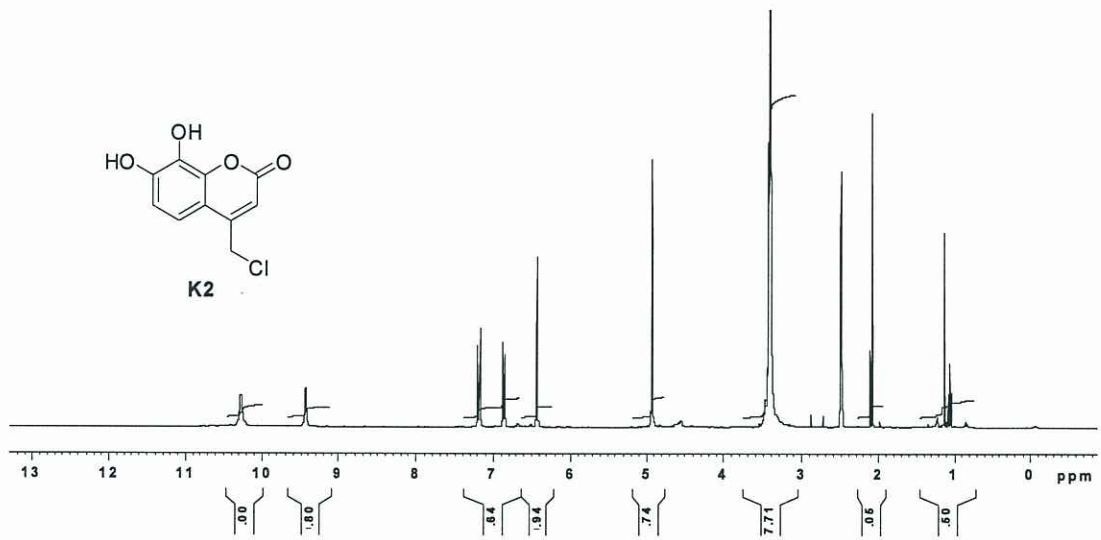
FT-IR (cm⁻¹) : 3542 ve 3434 (Ar-OH gerilimi), 3088 (aromatik C-H gerilimi), 1668 (-C=O gerilimi), 1611 (-C=C- gerilimi)

¹H-NMR (δ_H, DMSO-d₆, 300 MHz, ppm) :10.27 (s, 1H,), 9.40 (s, 1H), 7.2-7.17 (d, J=9 Hz, 1H,), 6.87-6.84 (d, J= 9 Hz, 1H,), 6.42 (s, 1H), 4.93 (s, 2H)

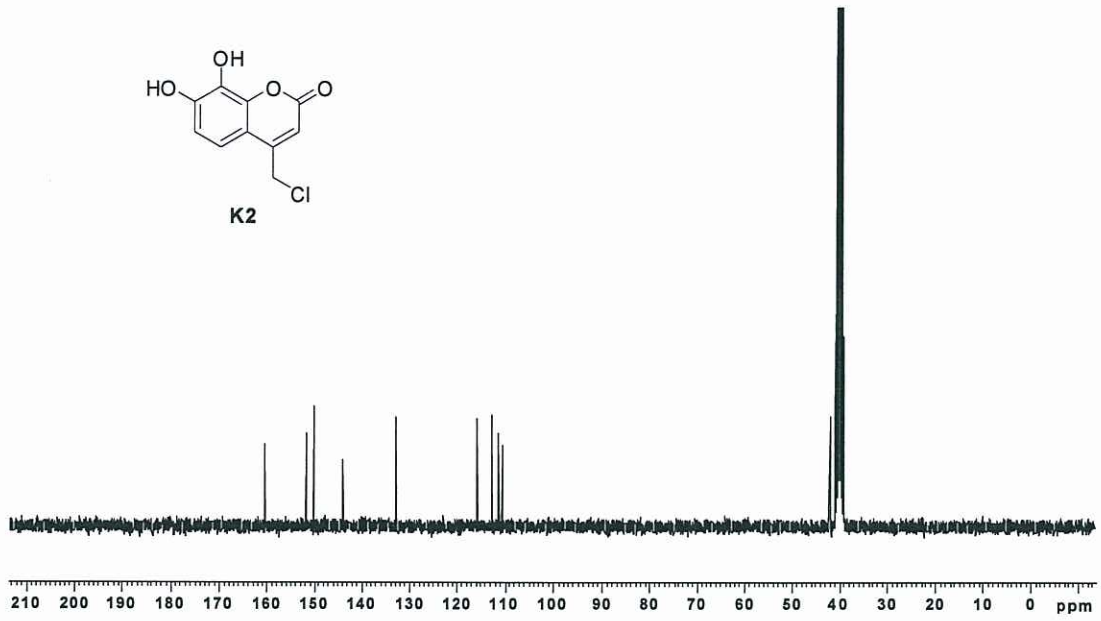
¹³C-NMR (δ_C, DMSO-d₆, 300 MHz, ppm) : 160.58, 151.87, 150.21, 144.13, 132.90, 115.94, 112.78, 111.41, 110.57,41.94



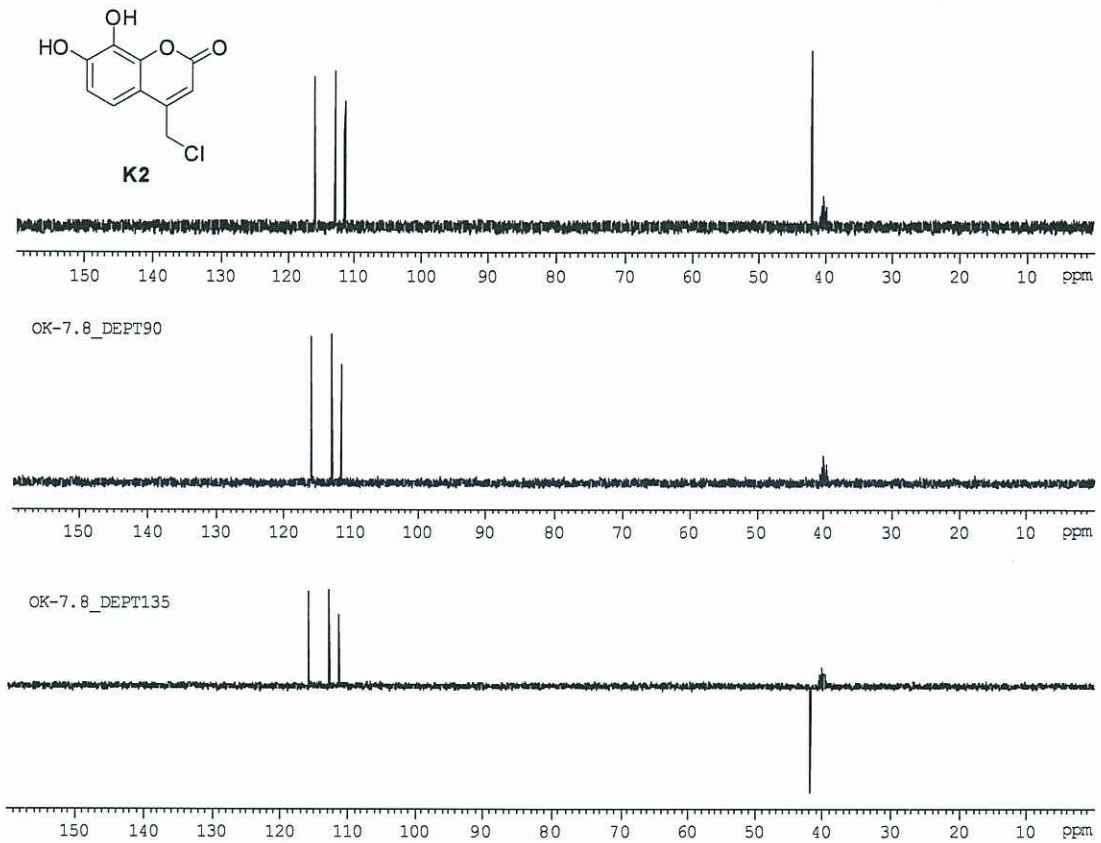
Şekil 3.4 K2 Bileşiminin FT-IR Spektrumu



Şekil 3.5 K2 Bileşiminin ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 3.6 K2 Bileşiğinin ¹³C-NMR Spektrumu



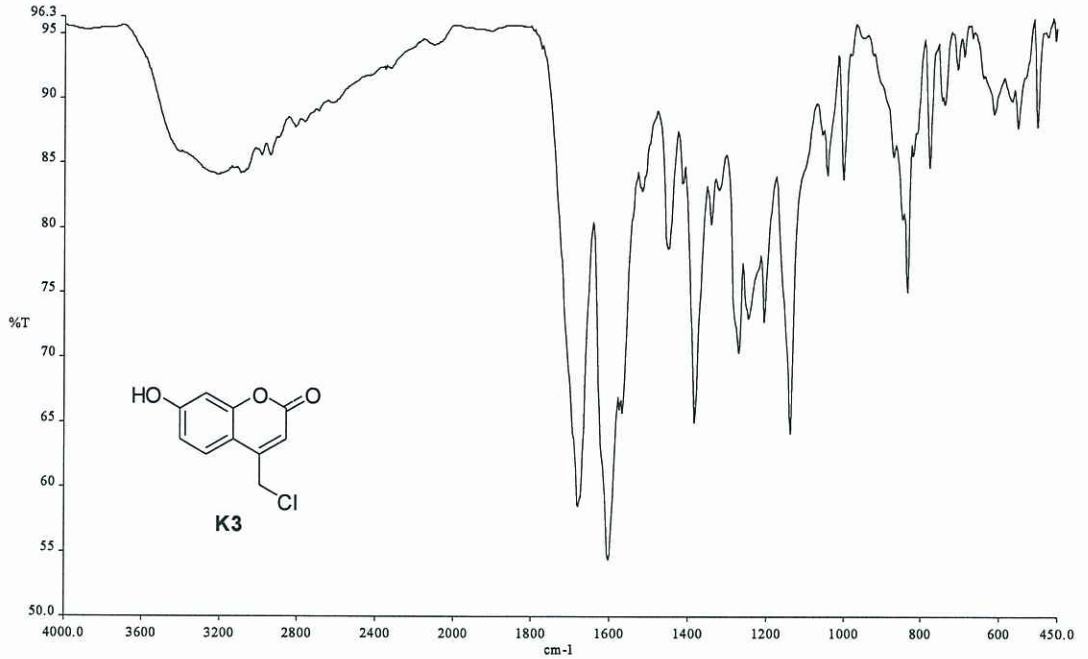
Şekil 3.7 K2 Bileşiğinin DEPT Spektrumu

3.3 4-klorometil-7-hidroksi-2H-kromen-2-on (4-Klorometil-7-hidroksikumarin) (K3) Bileşiminin Spektroskopik Bulguları

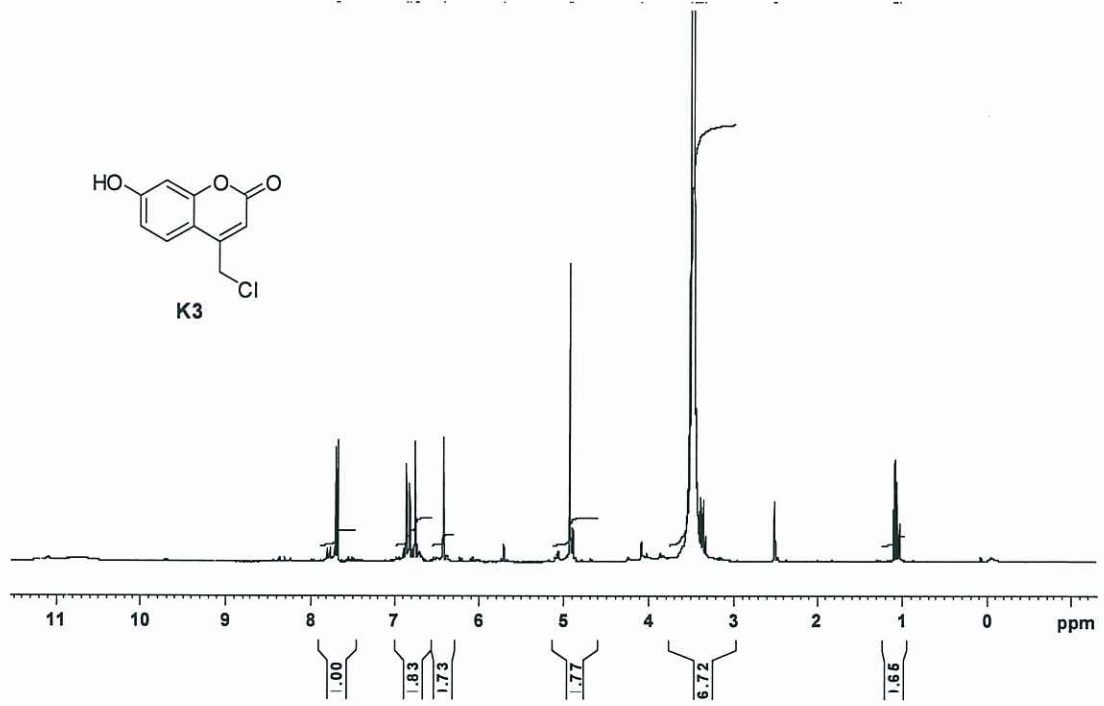
FT-IR (cm^{-1}) : 3206,63 (Ar-OH gerilimi), 1681,91 (-C=O gerilimi), 1603,23 (-C=C- gerilimi)

$^1\text{H-NMR}$ (δ_{H} , DMSO- d_6 , 300 MHz, ppm) : 7.72-7.11 (d, 1H), 6.85 (d, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.40 (s, 1H), 4.95 (s, 2H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (δ_{C} , DMSO- d_6 , 300 MHz, ppm) : 161.80, 160.64, 155.75, 151.44, 107.01, 114.12, 112.64, 111.51, 109.80, 104.15, 42,5



Şekil 3.8 K3 Bileşiminin FT-IR Spektrumu



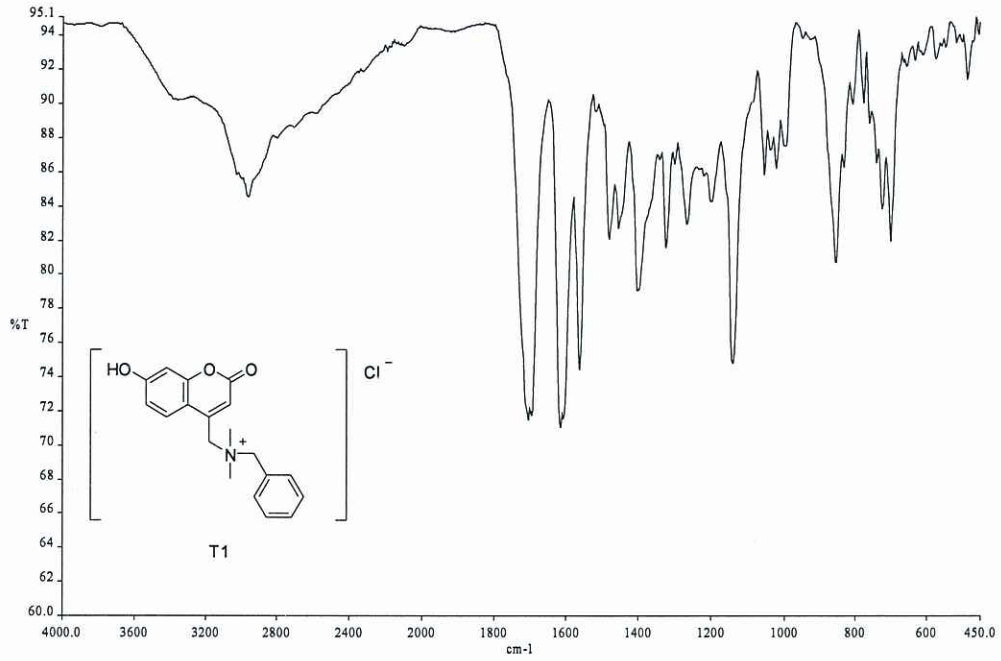
Şekil 3.9 K3 Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu

3.4 *N*-4-klorometil-7-hidroksi kumarinil-*N*-benzil-*N,N*-dimetilamonyum klorür (T1) Bileşiğinin Spektroskopik Bulguları

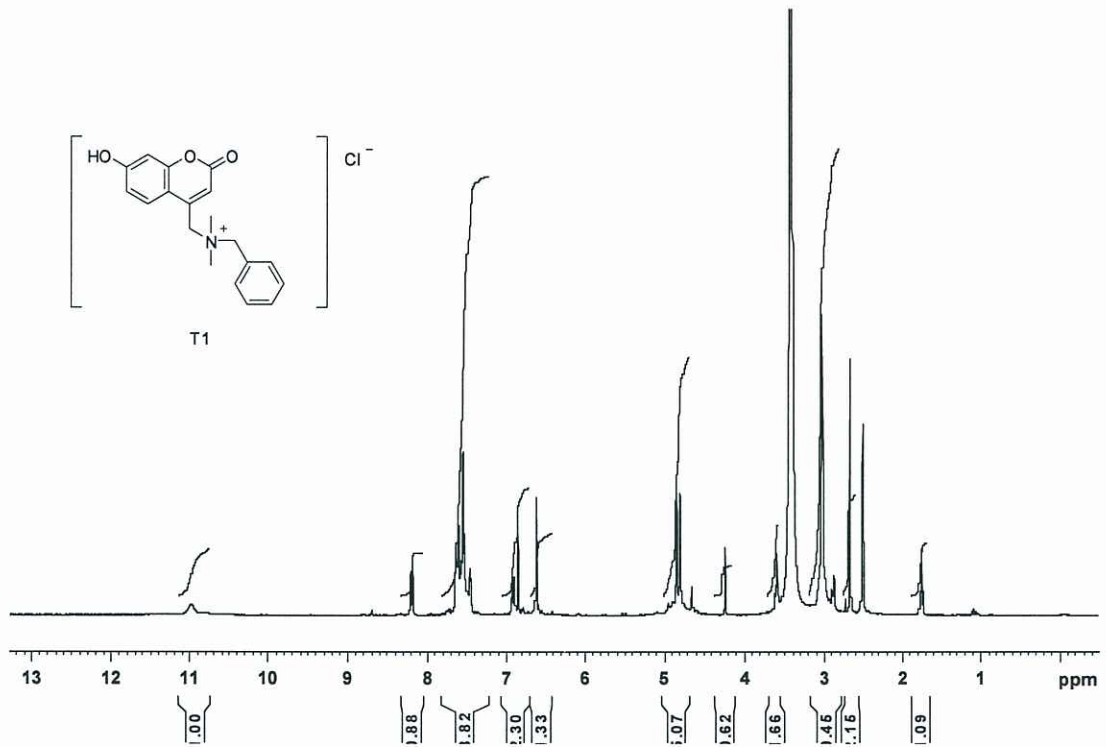
FT-IR (cm⁻¹) : 3357 (Ar-OH gerilimi), 3027 (Aromatik C-H gerilimi), 2962 (Alifatik C-H gerilimi), 1704 (-C=O gerilimi), 1615 (-C=C- gerilimi)

¹H-NMR (δ_H, DMSO-d₆, 300 MHz, ppm) : 10.99 (s, 1H), 8.21-8.18(d, *J*= 9 Hz, 1H), 7.64-7.45 (m, 5H), 6.93-6.92 (d, 2H), 6.85 (s, 1H), 6.62 (s, 1H), 4.86 (s, 2H), 4.81 (s, 2H), 3.03 (s, 6H)

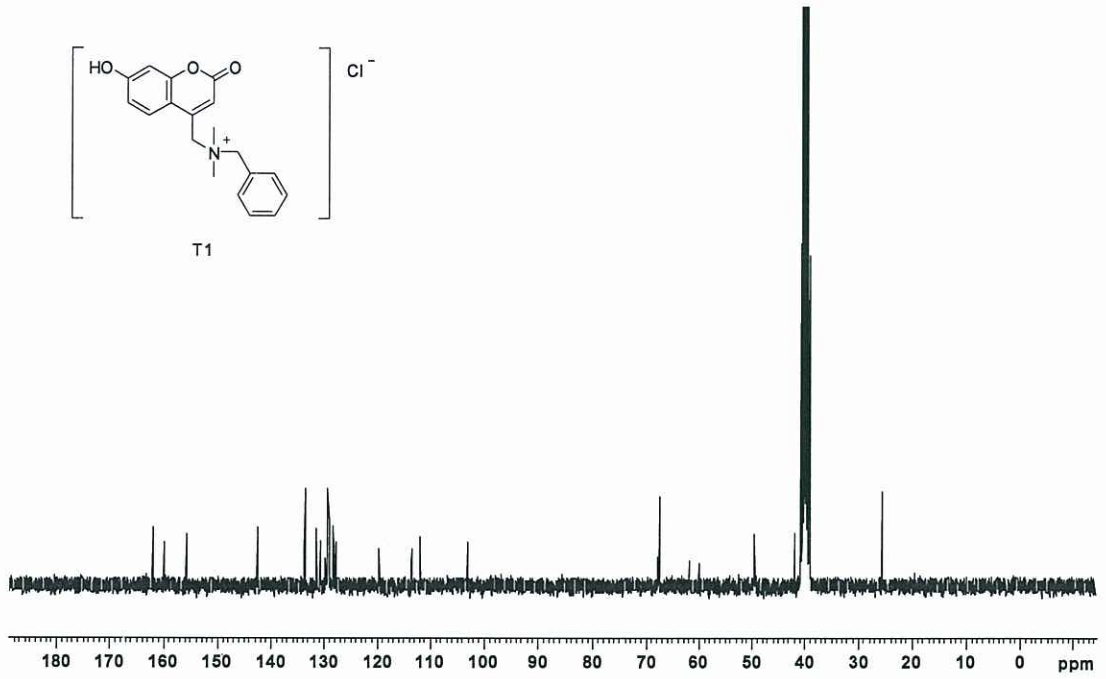
¹³C-NMR (δ_C, DMSO, 300 MHz, ppm) : 162, 160.08, 155.96, 142.53, 133.7, 131.48, 129.87, 129.38, 129.25, 128.36, 113.61, 112, 103.25, 67.48, 61.76, 49.54



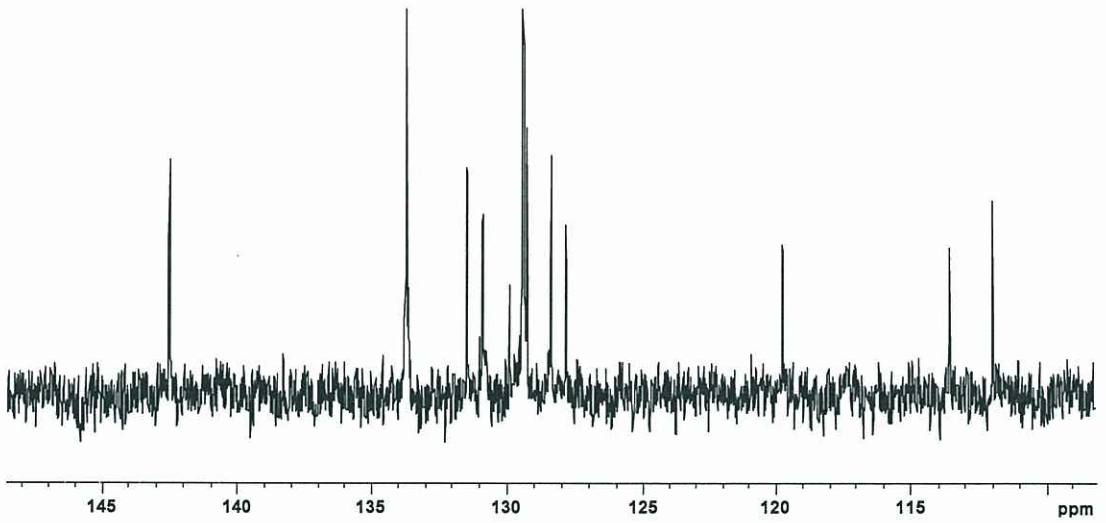
Şekil 3.10 T1 Bileşiğinin FT-IR Spektrumu



Şekil 3.11 T1 Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 3.12 a) T1 Bileşiğinin 0-180 ppm aralığında ¹³C-NMR Spektrumu



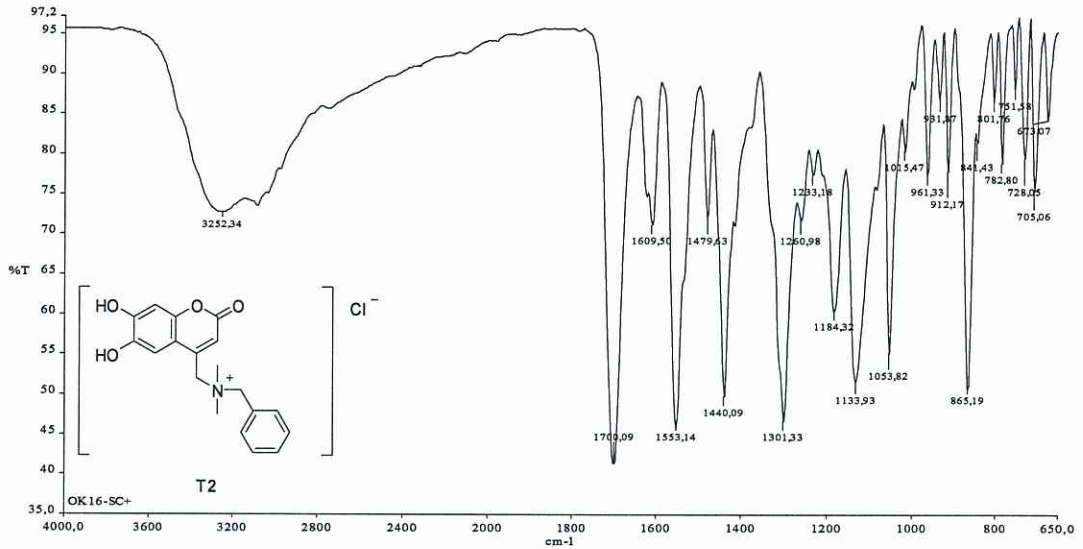
Şekil 3.12 b) T1 Bileşiğinin 110-180 ppm aralığında ¹³C-NMR Spektrumu

3.5 N-4-klorometil-6,7-dihidroksikumarinil-N-benzil-N,N-dimetilamonyum klorür (T2) Bileşğinin Spektroskopik Bulguları

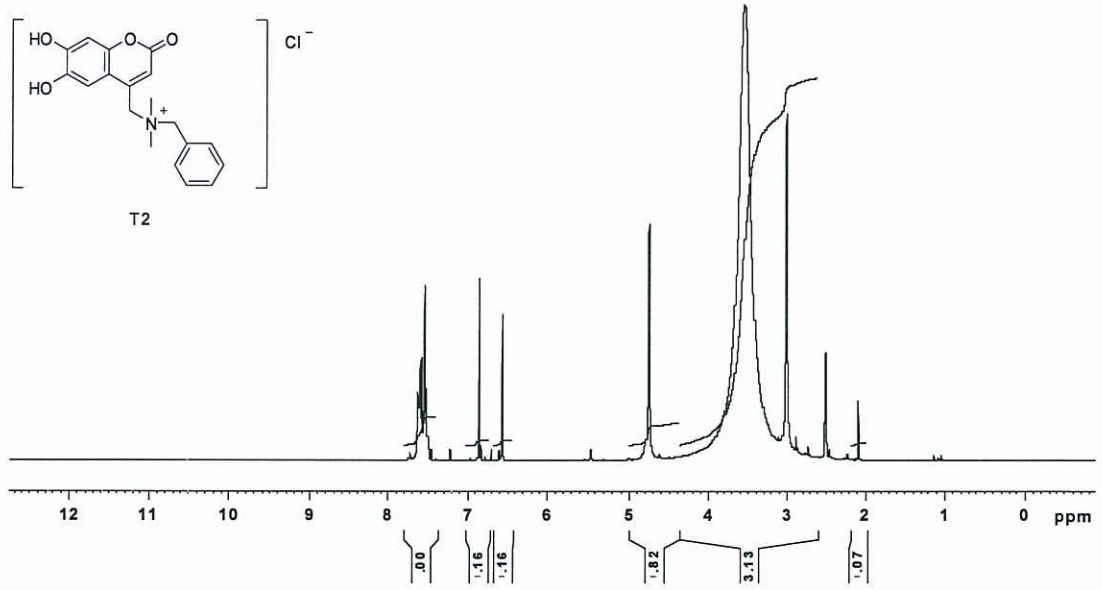
FT-IR (cm^{-1}) : 3252 (Ar-OH gerilimi), 1700 (-C=O gerilimi), 1609 (-C=C- gerilimi)

$^1\text{H-NMR}$ (δ_{H} , DMSO- d_6 , 300 MHz, ppm) : 7.63-7.47 (m, 6H), 6.87 (s), 6.57 (s, 1H), 4.76 (s, 4H), 3.01 (s, 6H)

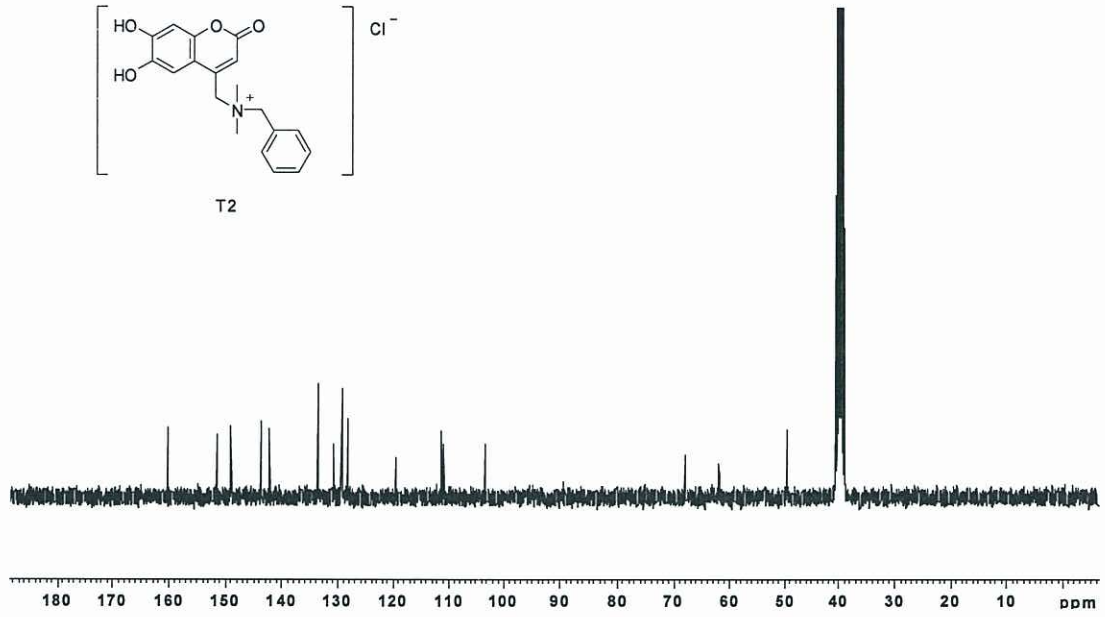
$^{13}\text{C-NMR}$ (δ_{C} , DMSO- d_6 , 300 MHz, ppm) : 160.4, 151.7, 149.12, 143.77, 142.31, 133.72, 130.9, 129.4, 128.28, 119.5, 111.41, 110.95, 103.44, 68.05, 62.04, 49.63



Şekil 3.13 T2 Bileşğinin FT-IR Spektrumu



Şekil 3.14 T2 Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu



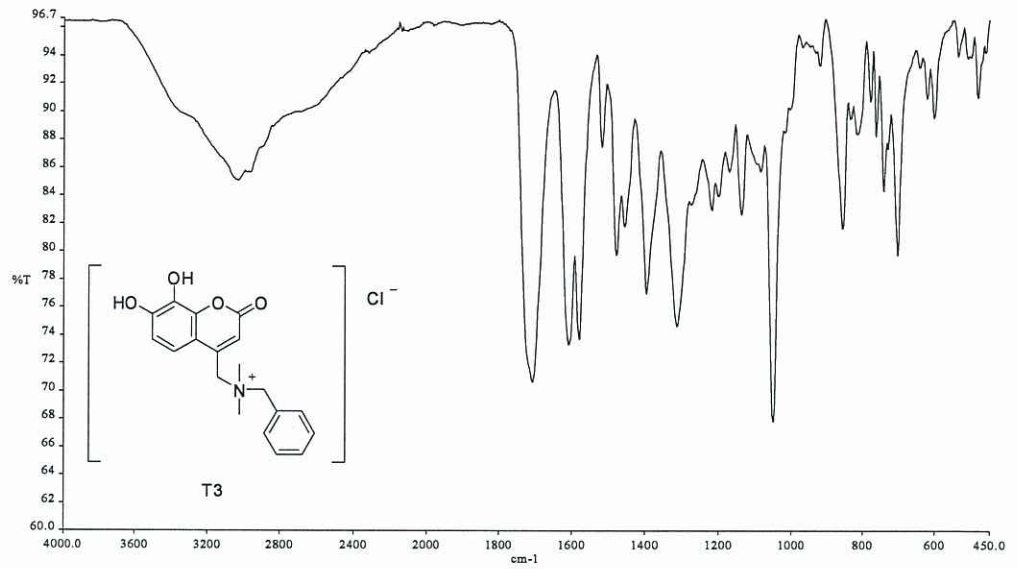
Şekil 3.15 T2 Bileşiğinin ¹³C-NMR Spektrumu

3.6 *N*-4-klorometil-7,8-dihidroksikumarinil-*N*-benzil-*N,N*-dimetilamonyum klorür (T3) Bileşğinin Spektroskopik Bulguları

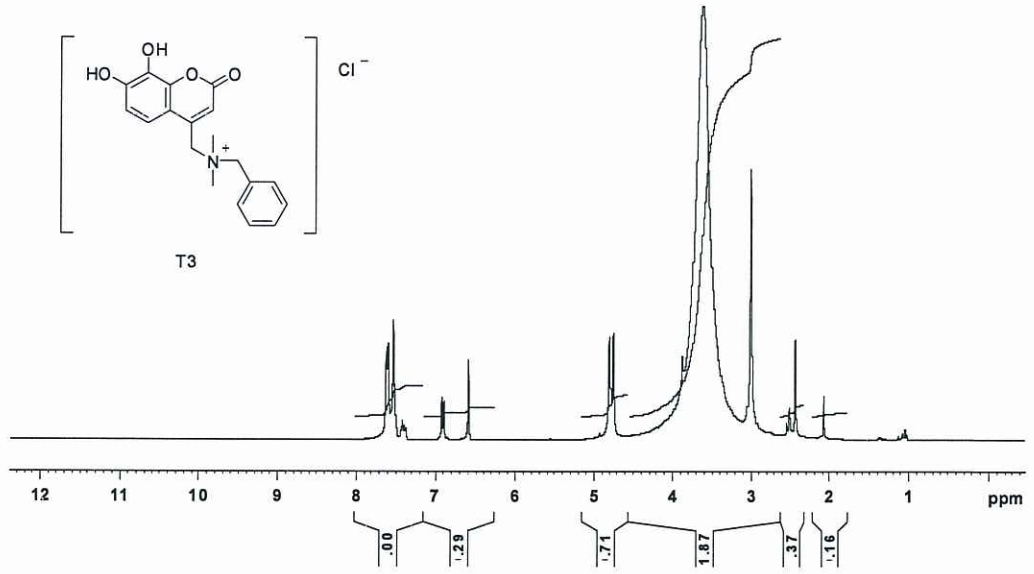
FT-IR (cm^{-1}) : 3357 (Ar-OH gerilimi), 3033 (aromatik -C-H gerilimi), 1707 (-C=O gerilimi), 1607 (-C=C- gerilimi)

$^1\text{H-NMR}$ (δ_{H} , DMSO- d_6 , 300 MHz, ppm) : 7.62-7.38 (m, 6H), 6.93-6.90 (d, $J=9$ Hz, 1H), 6.6 (s), 4.8 (s, 2H), 4.76 (s, 2H), 3.01 (s, 6H),

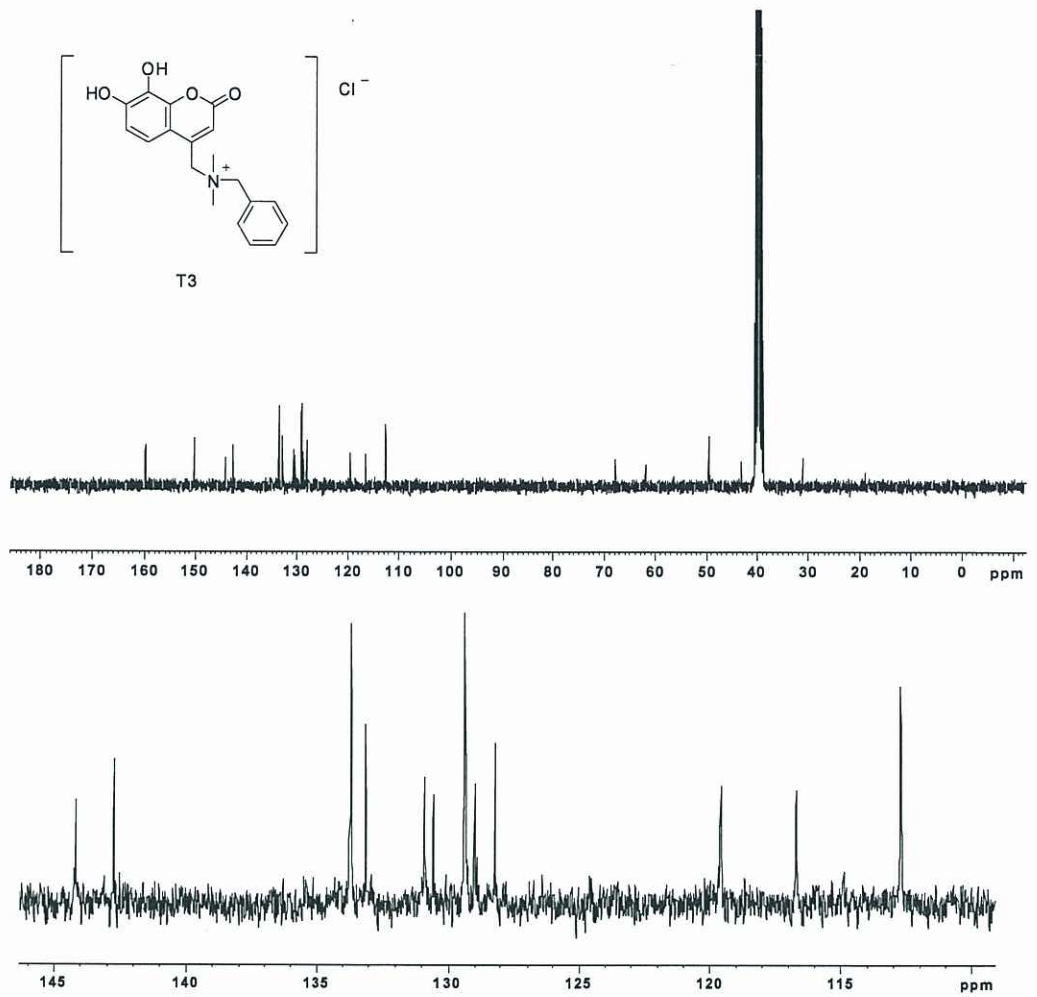
$^{13}\text{C-NMR}$ (δ_{C} , DMSO- d_6 , 300 MHz, ppm) : 160.00, 150.32, 144.17, 142.73, 133.71, 133, 130.58, 129.4, 129.02, 128.25, 119.61, 116.73, 122.74, 68, 61.98, 49.61



Şekil 3.16 T3 Bileşğinin FT-IR Spektrumu



Şekil 3.17 T3 Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu



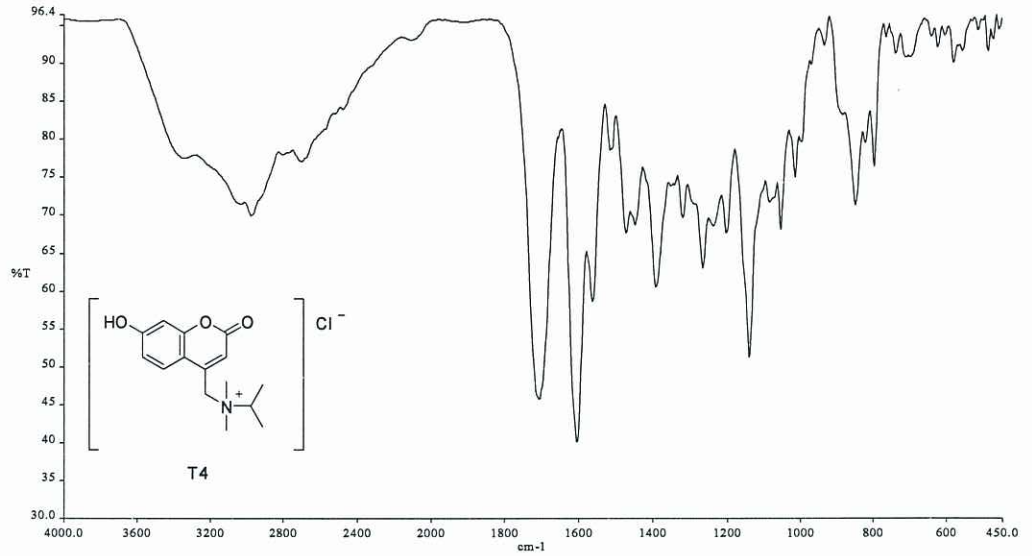
Şekil 3.18 T3 Bileşiğinin ¹³C-NMR Spektrumu

3.7 *N*-4-klorometil-7-hidroksikumarinil-*N*-izopropil-*N,N*-dimetilamonyum klorür (T4) Bileşiminin Spektroskopik Bulguları

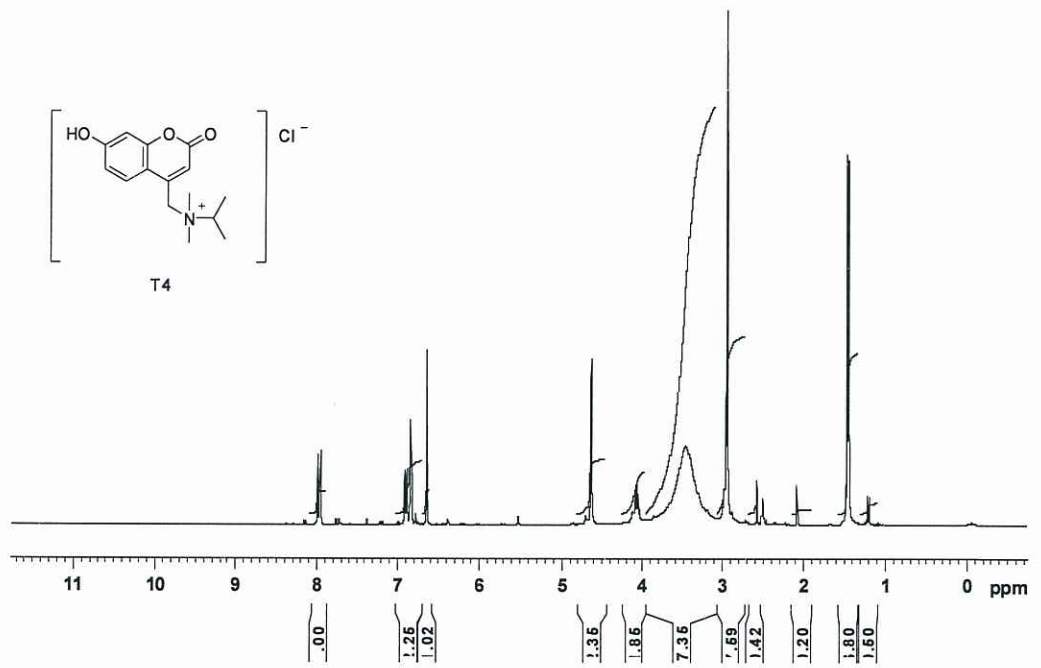
FT-IR (cm⁻¹) : 3346 (Ar-OH gerilimi), 3027 (Aromatik C-H gerilimi), 2980 (Alifatik C-H gerilimi), 1705 (-C=O gerilimi), 1605 (-C=C- gerilimi)

¹H-NMR (δ_H, DMSO-d₆, 300 MHz, ppm): 7.99-7.96(d, *J*=9 Hz, 1H), 6.93-6.89 (d, 1H), 6.849 (s, 1H), 6.64 (s, 1H), 4.64 (s, 2H), 4.112-4.036 (heptet, *J*=6 Hz, 1H), 2.96 (s, 6H), 1.47-1.45 (d, *J*= 6 Hz, 6H)

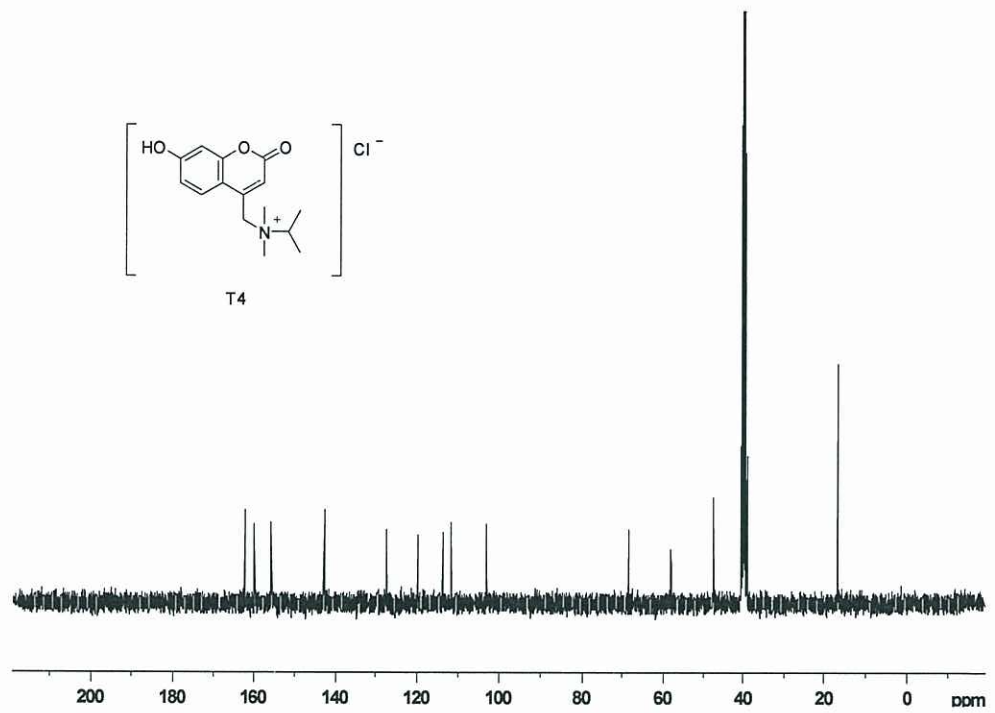
¹³C-NMR (δ_C, DMSO-d₆, 300 MHz, ppm) : 162.32, 160.04, 155.87, 142.77, 127.67, 119.69, 113.7, 111.81, 103.25, 68.51, 58.18, 47.56



Şekil 3.19 T4 Bileşiminin FT-IR Spektrumu



Şekil 3.20 T4 Bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu



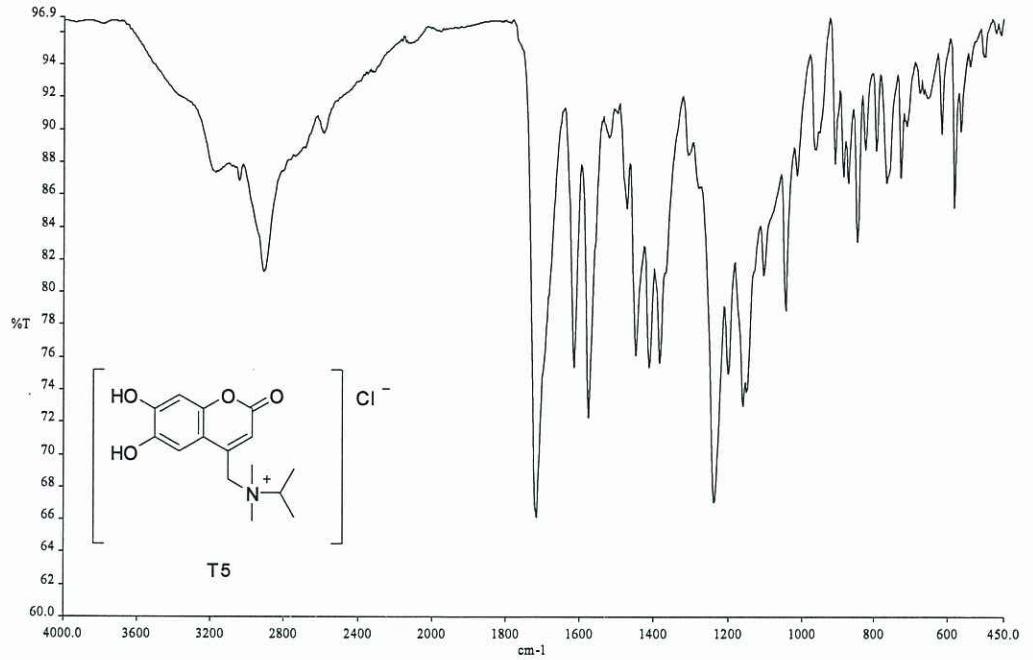
Şekil 3.21 T4 Bileşiğinin ¹³C-NMR Spektrumu

3.8 *N*-4-klorometil-6,7-dihidroksikumarinil-*N*-izopropil-*N,N*-dimetilamonyum klorür (T5) Bileşiminin Spektroskopik Bulguları

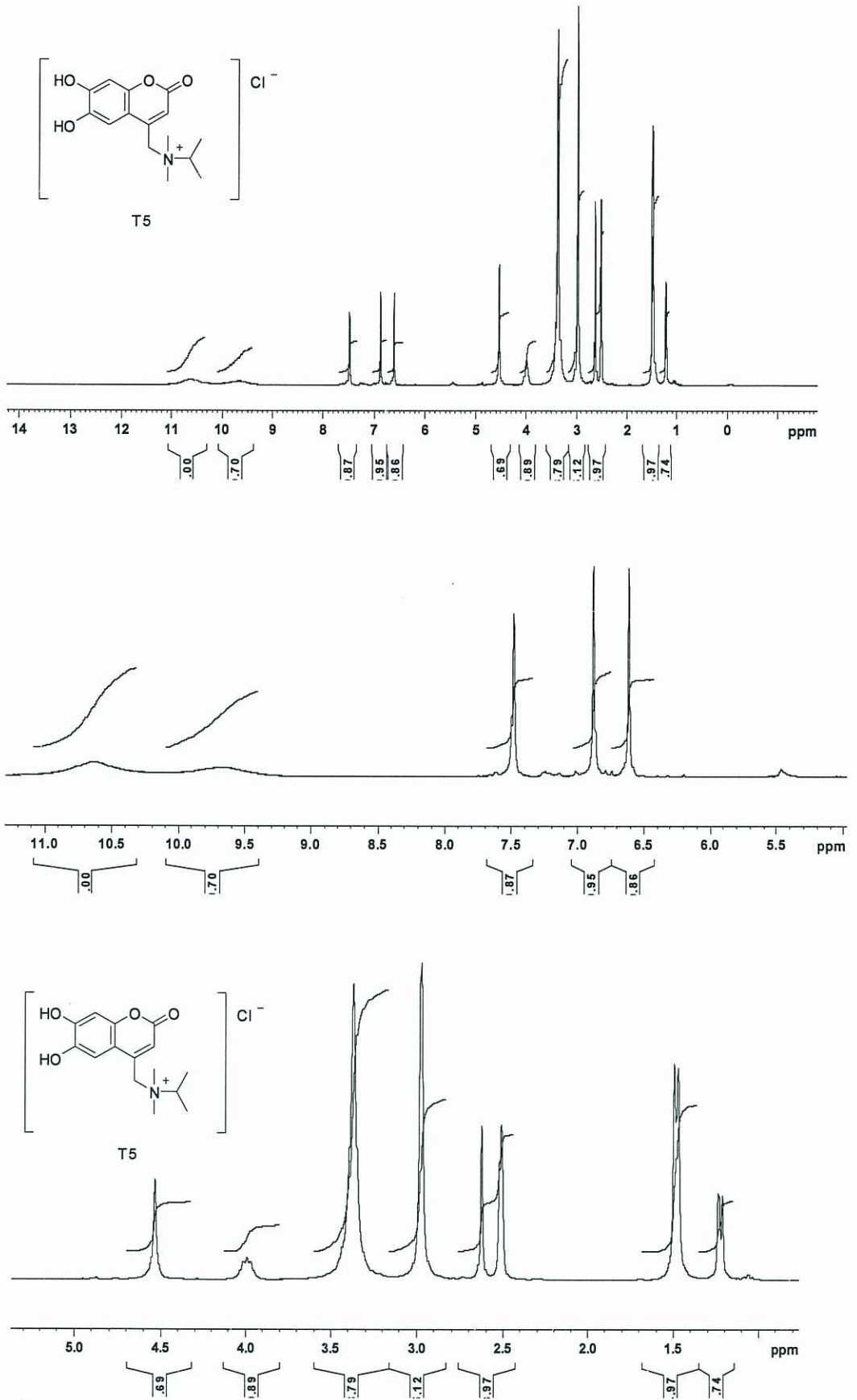
FT-IR (cm⁻¹) : 3335 (Ar-OH gerilimi), 3043 (Aromatik C-H gerilimi), 2913 (Alifatik C-H gerilimi), 1717 (-C=O gerilimi), 1614 (-C=C- gerilimi)

¹H-NMR (δ_H, DMSO-d₆, 300 MHz, ppm) : 10.63 (s, 1H), 9.68 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 6.881 (s,1H), 6.62 (s, 1H), 4.537 (s,2H), 4.01-3.98 (heptet, *J*=6 Hz, 1H), 2.977 (s, 6H), 1.494-1.474 (d, *J*=6 Hz, 6H)

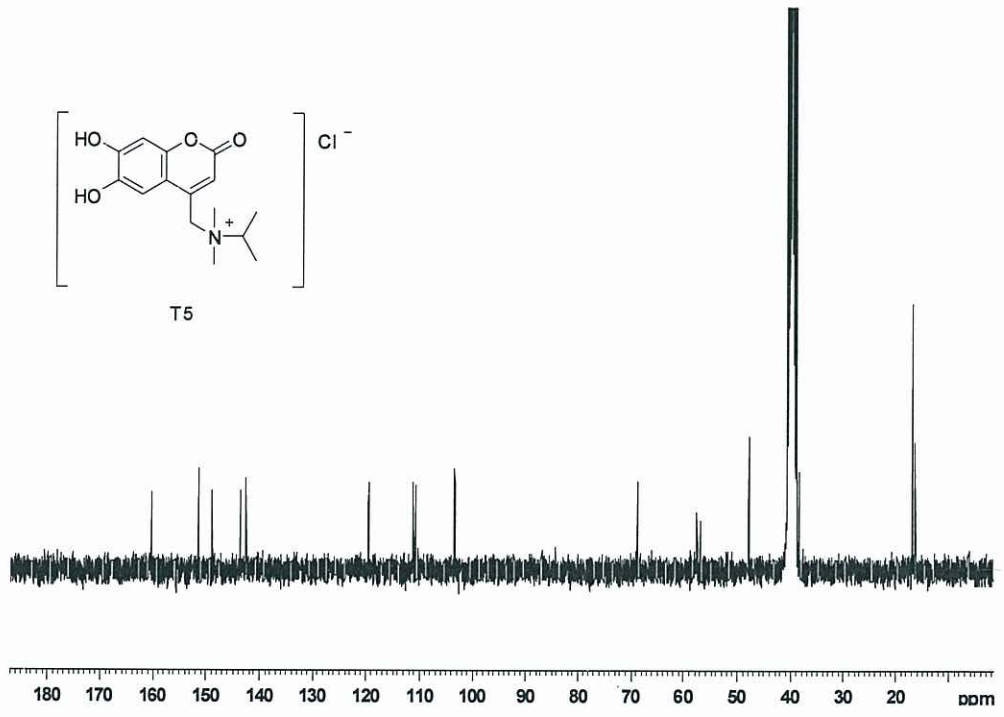
¹³C-NMR (δ_C, DMSO-d₆, 300 MHz, ppm) :160.3, 151.33, 148.88, 143.65, 142.48, 119.7, 111.37, 110.83, 103.62, 68.86, 57.77, 48.07, 16.94



Şekil 3.22 T5 Bileşiminin FT-IR Spektrumu



Şekil 3.23 T5 Bileşiminin ¹H-NMR Spektrumu



Şekil 3.24 T5 Bileşiminin ^{13}C -NMR Spektrumu

3.9 Antimikrobiyal Sonuçlar

Kullanılan bakteri, mantar ve minimal inhibisyon konsantrasyonu (MIK) ($\mu\text{g/mL}$) sonuçları aşağıda Tablo 3.1 de verilmiştir.

Tablo 3.1 Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktivite sonuçları (MIK- $\mu\text{g/mL}$)

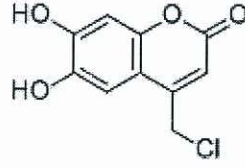
| | <i>Escherichia coli</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Candida albicans</i> | <i>Candida tropicalis</i> |
|----------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| K1 | 800 | 400 | 800 | 800 | 400 | 400 |
| K2 | 400 | 400 | 800 | 800 | 400 | 400 |
| K3 | - | 800 | 800 | 800 | 800 | 800 |
| T1 | - | - | - | 800 | 800 | 800 |
| T2 | - | - | 800 | 800 | 800 | 800 |
| T3 | 800 | 800 | 400 | 800 | 400 | 400 |
| T4 | - | - | - | - | 800 | 800 |
| Ampicillin | 3.12 | 3.12 | 1.56 | - | - | - |
| Ciprofloxacin | 1.56 | 0.39 | 0.78 | 3.12 | - | - |
| Fluconazole | - | - | - | - | 3.12 | 3.12 |

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada 4-klorometil hidroksi kumarinler ile tersiyer aminler etkileştirilerek kumarin kuaterner amonyum tuzları sentezlenmiştir. Öncelikle Pechamann kondenzasyonu ile 4-klorometil-6,7-dihidroksikumarin (K1), 4-klorometil-7,8-dihidroksikumarin (K2) ve 4-klorometil-7-hidroksikumarin (K3) bileşikleri sentezlenmiştir.

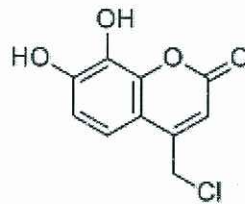
Elde edilen ürünlerin yapıları FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spektroskopik teknikler ile aydınlatılmıştır. Elde edilen ürünlerin NMR spektrumları çözücü olarak DMSO-d₆ kullanılarak alınmıştır.

4-klorometil-6,7-dihidroksikumarin (K1) bileşiğinin Şekil 3.2’ de ¹H-NMR spektrumu görülmektedir. Bu spektrum incelendiğinde; 7.12 ve 6.79 ppm’de aromatik protonlar singlet halde (kumarin 5 ve 8 konumua ait protonlar) , 6.4 ppm’de olefinik proton (kumarin 3 konumuna ait) singlet ve 4.9 ppm’de ise metilen protonları yine singlet halde gözlenmiştir. 4.9 ppm’ de gözlenen metilen protonları 2 eşdeğer protondur ve bu spektrumun integral değerleri ile uyumludur. 9.51 ve 10.45 ppm’de yayvan -OH protonu pikleri görülmektedir. Yine ürünün Şekil 3.3’de verilen ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde 151.2 ppm’de kumarin halkasında 2 konumundaki karbon atomu görülmektedir. 42 ppm’de ise metilen karbonu görülmektedir. Metilenklorür grubunun bağlı olduğu 4 konumundaki olefinik karbon atomu metilen klorür grubunun elektron çekici özelliğinden dolayı 151.05 ppm’de pik vererek daha düşük alana kaymıştır. Bunun yanında spektrum incelendiğinde beklendiği gibi 10 farklı karbon atomu gözlenmiştir. 4-klorometil-6,7-dihidroksi kumarin (K1) bileşiğinin Şekil 3.1’de FT-IR spektrumu verilmiştir. Molekülün FT-IR spektrumu incelendiğinde gözlenen 3285 cm⁻¹ -OH piki, 3101 cm⁻¹ de ve 1819 cm⁻¹ de aromatiklik piki, 1656 cm⁻¹ de -C=O ve 1617 cm⁻¹ de -C=C- pikleri yapıyı desteklemektedir.



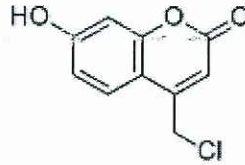
4-klorometil-6,7-dihidroksi kumarin (K1)

4-klorometil-7,8-dihidroksi kumarin (K2) bileşiminin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu Şekil 3.5' de görülmektedir. Ürünün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu incelendiğinde 7.2-7.17 ve 6.87-6.84 ppm'de iki tane dublet görülmektedir. Bu iki pik 5 ve 6 konumundaki karbonlara bağlı protonlar olup J değerleri 9 Hz' dir ve bu komşu iki proton olduğunu doğrulamaktadır. Bunun yanında 6.42 ppm' de singlet olefinik proton görülmektedir. Yine 4.93 ppm'de metilen protonları görülmekte ve eşdeğer olan iki proton ile spektrumun integrasyon değerleri uyum göstermektedir. 10.27 ve 9.40 ppm'de yayvan $-\text{OH}$ protonu pikleri görülmektedir. Ürünün Şekil 3.6'da verilen $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu incelendiğinde 160.58 ppm'de 2 nolu karbonil karbonu, bunun yanında 151.87 ppm'de 4 nolu karbon atomu, ve 41.94 ppm'de metilen karbonu görülmektedir. $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumunda moleküldeki farklı karbon sayısı olan 10 tane pik gözlenmiştir. Ürünün Şekil 3.4'de verilen FT-IR spektrumu incelendiğinde 3542 cm^{-1} ve 3434 cm^{-1} ' de $-\text{OH}$ piki, 3088 cm^{-1} 'de aromatiklik , 1668 cm^{-1} ' de $-\text{C}=\text{O}$ piki, 1611 cm^{-1} 'de $-\text{C}=\text{C}-$ piki görülmektedir ve bu pikler yapıyı desteklemektedir.



4-klorometil-7,8-dihidroksi kumarin (K2)

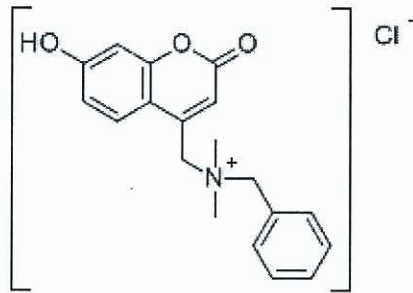
4-klorometil-7-hidroksi kumarin (K3) bileşiminin $^1\text{H-NMR}$ spektrumu Şekil 3.9' da verilmiştir. Ürünün $^1\text{H-NMR}$ spektrumu incelendiğinde 6,42 ppm' de 3 numaralı karbon atomuna bağlı olefinik proton piki görülmektedir. 7,69-7,66 ppm'de dublet, 6,75-6,86 ppm arasında iki aromatik proton moleküldeki 3 aromatik proton ile uyum göstermektedir. 4,95 ppm'de metilen protonları görülmektedir ve 2 eşdeğer proton spektrumdaki integrasyon değeri ile uyum göstermektedir. Ürünün $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu incelendiğinde 161,8 ppm'de 2 konumdaki karbonil karbonu, 160,64 ppm'de 4 konumunda metilen grubunun bağlı olduğu karbon ve 42,5 ppm'de metilen karbonu görülmektedir. Bunun yanında ürünün FT-IR spektrumu (Şekil 3.8) incelendiğinde 3206 cm^{-1} de $-\text{OH}$ piki, 1682 cm^{-1} ' de $\text{C}=\text{O}$ piki ve 1603 cm^{-1} de $\text{C}=\text{C}$ pikleri görülmektedir ve bu pikler yapıyı desteklemektedir.



4-klorometil-7-hidroksi kumarin (K3)

Yukarıda spektrum değerleri verilen ve Şekil 2.2, Şekil 2.3 ve Şekil 2.4'te verilen reaksiyonlara göre sentezlenen kumarin bileşikleri N,N-dimetil benzilamin, N,N-dimetil izopropilamin ile etkileştirilerek N-4-klorometil-7-hidroksi kumarinil, N-benzil,N,N-dimetil amonyum klorür (T1) , N-4-klorometil-6,7-dihidroksi kumarinil, N-benzil, N,N-dimetil amonyum klorür (T2), N-4-klorometil-7,8-dihidroksi kumarinil,N-Benzil,N,N-dimetil amonyum klorür (T3), N-4-klorometil-7-hidroksi kumarinil,N-izopropil,N,N-dimetil amonyum klorür (T4), N-4-klorometil-6,7-dihidroksi kumarinil,N- izopropil, N,N-dimetil amonyum klorür (T5) bileşikleri sentezlenmiştir.

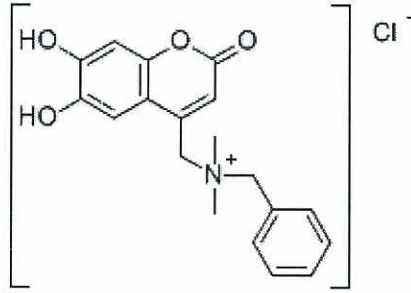
N-4-klorometil-7-hidroksi kumarinil, *N*-benzil, *N,N*-dimetil amonyum Klorür (T1) bileşiğinin ¹H-NMR Spektrumu Şekil 3.11' de verilmiştir. Ürünün ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde 10.99 ppm' de yayvan –OH protonu piki görülmektedir. 8.21-6.86 ppm aralığında molekülde bulunan aromatik protonlar görülmektedir ve spektrumun integrasyon değeri ile uyumludur. 6.62 ppm'de olefinik proton görülmektedir ve 4-klorometil-7-hidroksikumarin bileşiğine göre (6.42) daha düşük alana kaydığı gözlenmiştir. 4.86 ppm ve 4.81 ppm değerlerinde metilen ve benzilik protonlar yan yana gözlenmektedir. 3.03 ppm de singlet halde –CH₃ protonları gözlenmektedir. Ürünün ¹³C-NMR spektrumu Şekil 3.12' de verilmiştir ve spektrum incelendiğinde 67.48 ppm'de benzil karbonu görülmektedir. 61 ppm'de azot atomuna bağlanarak daha düşük alana kayan metilen karbonu gözlenmektedir. Bunun yanında yine kumarin halkasının 2 konumundaki karbon atomu 162 ppm'de gözlenmiştir. Molekülün FT-IR spektrumu (Şekil 3.10) incelendiğinde 4-klorometil-7-hidroksi kumarine göre çok daha belirgin bir şekilde 2962 cm⁻¹'de C-H gerilim piki gözlenmektedir. Yine 4-klorometil-7-hidroksi kumarin spektrumunda 1681 cm⁻¹'de gözlenen C=O piki 1704.92 cm⁻¹'de gözlenmektedir ve 3300 cm⁻¹'de –OH piki gözlenmektedir.



N-4-klorometil-7-hidroksi kumarinil, *N*-benzil, *N,N*-dimetil amonyum klorür (T1)

N-4-klorometil-6,7-dihidroksi kumarinil, *N*-benzil, *N,N*-dimetil amonyum klorür (T2) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu (Şekil 3.14) incelendiğinde 7.74-7.47 ppm aralığında multipler şeklinde aromatik protonları görülmektedir. Yine 6.57

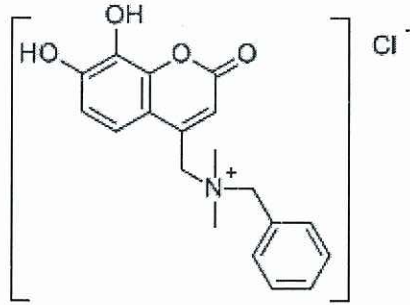
ppm'de olefinik proton singlet halde gözlenmektedir ve 4-klorometil-6,7-dihidroksi kumarine göre (6.4 ppm) daha düşük alana kaymıştır. 4.76 ppm değerinde spektrumun integrasyon değerleri incelendiğinde 4 protona denk gelen singlet bir pik görülmektedir. Bu pikin birbirine yakın değerlerde pik veren metilen ve benzilik protonların çakışarak verdiğini düşünmekteyiz. Bunun yanında 3.01 ppm' de $-CH_3$ protonları görülmektedir. Ürünün ^{13}C -NMR spektrumu (Şekil 3.15) incelendiğinde 68 ppm'de benzil karbonu, yine 62 ppm' de azot atomu bağlandıktan sonra daha düşük alana kayan metilen karbonu görülmektedir. Yine 49.6 ppm' de azot atomuna bağlı $-CH_3$ karbonu görülmektedir. Bunun yanında molekülün yapısı incelendiğinde 16 farklı karbon atomu olduğu görülmektedir ve spektrumda 16 karbon atomu görülmüştür. Ürünün FT-IR (Şekil 3.13) spektrumu incelendiğinde 3252 cm^{-1} ' de $-OH$ piki, 1700 cm^{-1} ' de $-C=O$ piki, 1610 cm^{-1} ' de $-C=C-$ pikleri görülmektedir ve bu değerler yapıyı desteklemektedir.



N-4-klorometil-6,7-dihidroksi kumarinil, *N*-benzil, *N,N*-dimetil amonyum klorür (T2)

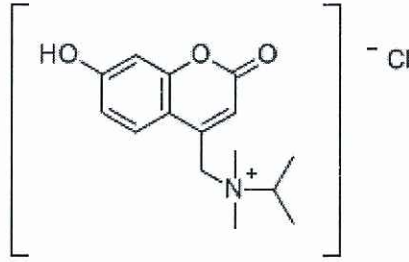
N-4-klorometil-7,8-dihidroksi kumarinil, *N*-benzil, *N,N*-dimetil amonyum klorür (T3) bileşiğinin 1H -NMR spektrumu (Şekil 3.17) incelendiğinde 7.62-6.90 ppm aralığında multipler şeklinde aromatik protonları görülmektedir. 6.6 ppm' de singlet olefinik proton görülmektedir ve bu değer yine 4-klorometil-7,8-dihidroksi kumarin bileşiğinde görülen olefinik proton pikine (6.42 ppm) göre daha düşük alanda çıkmıştır. 4.8 ppm ve 4.76 ppm' de iki ayrı singlet halinde benzilik ve metilen protonları görülmektedir. Yine 3.01 ppm'de $-CH_3$ protonları gözlenmektedir.

Ürünün ^{13}C -NMR spektrumu (Şekil 3.18) incelendiğinde 68 ppm'de benzilik ve 62 ppm'de metilen karbonları görülmektedir. Azot atomuna bağlı olan $-\text{CH}_3$ grubu karbonu 50 ppm'de görülmektedir. Molekülün FT-IR spektrumunda gözlenen (Şekil 3.16) 3357 cm^{-1} $-\text{OH}$ piki, 3033 cm^{-1} aromatik C-H piki, 1707 cm^{-1} C=O piki ve 1607 cm^{-1} C=C piki yapıyı desteklemektedir.



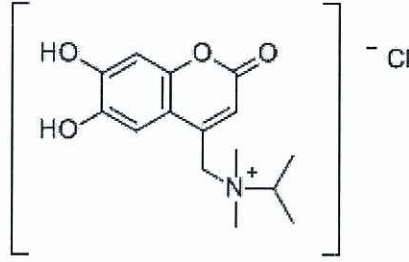
N-4-klorometil-7,8-dihidroksi kumarinil, *N*-benzil, *N,N*-dimetil amonyum klorür (T3)

N-4-klorometil-7-hidroksi kumarinil, *N*-izopropil, *N,N*-dimetil amonyum klorür (T4) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu (Şekil 3.20) incelendiğinde 7.94-6.79 ppm aralığında 3 tane aromatik proton gözlenmektedir. 6.64 ppm'de kumarin-3 konumunda bulunan olefinik proton gözlenmektedir. 4.64 ppm'de singlet metilen protonları gözlenmektedir. 4.12-4.04 ppm'de heptet şeklinde ($J=6\text{Hz}$) izopropil grubunun 2 numaralı karbon atomuna bağlı olan tek proton görülmektedir. Yine 2.96 ppm'de azot atomuna bağlı $-\text{CH}_3$ protonları singlet halde görülmüştür. 1,47-1,449 ppm'de ($J=6\text{Hz}$) izopropil grubunun 1 ve 3 numaralı karbonlarına bağlı bulunan $-\text{CH}_3$ protonları dublet şeklinde görülmektedir. Ürünün ^{13}C -NMR spektrumu (Şekil 3.21) incelendiğinde molekülde olması gereken gibi 13 farklı karbon atomu gözlenmiştir. 68.5 ppm'de izopropil grubunun 2 numaralı karbon atomu, 58.2 ppm'de metilen karbonu, 47.6 ppm'de azot atomuna bağlı $-\text{CH}_3$ karbonu, 16.9 ppm'de izopropil grubunun 1 ve 3 numaralı karbonları gözlenmektedir. Yine ürünün FT-IR spektrumu (Şekil 3.19) incelendiğinde gözlenen 3346 cm^{-1} $-\text{OH}$ piki, 3027 cm^{-1} aromatik C-H, 2980 cm^{-1} alifatik C-H, 1705 cm^{-1} C=O , 1605 cm^{-1} C=C pikleri ürünün yapısını desteklemektedir.



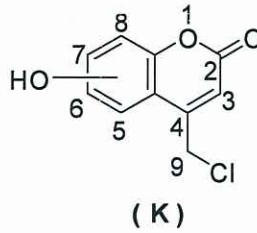
N-4-klorometil-7-hidroksi kumarinil, *N*-izopropil, *N,N*-dimetil amonyum klorür (T4)

N-4-klorometil-6,7-dihidroksi kumarinil, *N*- izopropil, *N,N*-dimetil amonyum klorür (T5) bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ (Şekil 3.23) spektrumu incelendiğinde 10.63 ve 9.68 ppm değerlerinde yayvan $-\text{OH}$ protonu pikleri görülmektedir. 7.49 ve 6.88 ppm değerlerinde kumarin-5,8 konumlarında bulunan protonlar singlet olarak görülmektedir. 6.62 ppm'de olefinik proton yine singlet halde görülmektedir. 4,54 ppm'de metilen protonları singlet halde görülmektedir. 4.01-3.98 ppm'de ($J=6\text{Hz}$) izopropil grubunun 2 numaralı karbon atomuna bağlı olan tek proton heptet olarak görülmektedir. 2,98 ppm'de azot atomuna bağlı $-\text{CH}_3$ protonları singlet olarak, 1,49-1.47 ppm'de ($J=6\text{Hz}$) izopropil grubunun 1 ve 3 numaralı karbon atomlarına bağlı $-\text{CH}_3$ protonları dublet olarak görülmektedir. Ürünün $^{13}\text{C-NMR}$ spektrumu (Şekil 3.24) incelendiğinde 68.9 ppm'de izopropil grubunun 2 numaralı karbon atomu, 57.8 ppm'de metilen karbonu, 48.1 ppm'de N atomuna bağlı $-\text{CH}_3$ gruplarına ait karbon atomları ve 16.9 ppm'de izopropil grubunun 1 ve 3 numaralı karbon atomları görülmektedir. Yine ürünün FT-IR spektrumu (Şekil 3.22) incelendiğinde gözlenen 3335 cm^{-1} $-\text{OH}$, 3043 cm^{-1} aromatik C-H, 2913 cm^{-1} alifatik C-H, 1717 cm^{-1} C=O, 1614 cm^{-1} C=C pikleri yapıyı desteklemektedir.



N-4-klorometil-6,7-dihidroksi kumarinil, *N*- izopropil, *N,N*-dimetil amonyum klorür (T5)

Şekil 4.1' de hidrosikumarin bileşiklerinin genel yapıları görülmektedir. Tablo 4.1' de ise hidrosikumarin bileşiklerine ait karakterize edici bazı spektroskopik veriler görülmektedir.

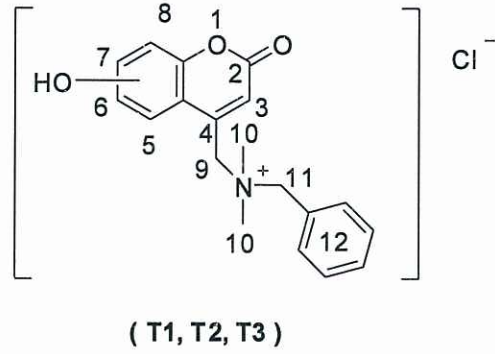


Şekil 4.1 Hidrosikumarin bileşiklerinin genel gösterimi

Tablo 4.1 Hidrosikumarin bileşiklerine ait spektroskopik veriler

| | ¹ H-NMR (ppm) | | ¹³ C-NMR (ppm) | | FT-IR (cm ⁻¹) | | |
|-----------|----------------------------|------------|-----------------------------|------|----------------------------|------|-------|
| | 3 | 9 | 2 | 9 | C=O | C=C | Ar-OH |
| K1 | 6.40, s, 1H | 4.91,s, 2H | 151.2 | 42.9 | 1656 | 1617 | 3285 |
| K2 | 6.42 ,s, 1H | 4.93,s, 2H | 160.5 | 41.9 | 1692 | 1611 | 3434 |
| K3 | 6.42 ,s, 1H | 4.95 s,2H | 161.9 | 41.8 | 1681 | 1603 | 3206 |

Şekil 4.2' de T1, T2 ve T3 bileşiklerinin genel yapıları görülmektedir. Tablo 4.2' de ise bu bileşiklere ait karakterize edici bazı spektroskopik veriler görülmektedir.

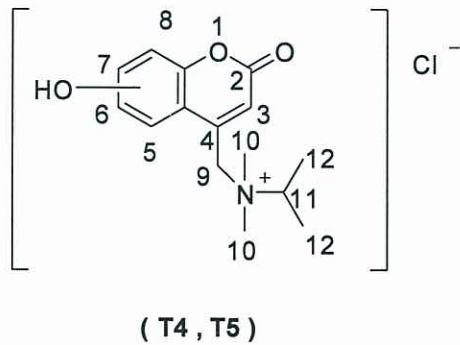


Şekil 4.2 T1, T2 ve T3 bileşiklerinin genel yapıları

Tablo 4.2 T1, T2 ve T3 bileşiklerine ait spektroskopik veriler

| | ¹ H-NMR (ppm) | | | ¹³ C-NMR (ppm) | | |
|-----------|----------------------------|-------------|-------------|-----------------------------|-------|-------|
| | 9 | 10 | 11 | 9 | 10 | 11 |
| T1 | 4.86, s, 2H | 3.03, s, 6H | 4.81, s, 2H | 61.76 | 4954 | 67.83 |
| T2 | 4.76, s, 2H | 3.01, s, 6H | 4.76, s, 2H | 68.05 | 62.04 | 49.63 |
| T3 | 4.8, , 2H | 3.0, s, 6H | 4.76, s, 2H | 68.0 | 61.98 | 49.61 |

Şekil 4.3 ' de T4 ve T5 bileşiklerinin genel yapıları görülmektedir. Tablo 4.3'de T4 ve T5 bileşiklerine ait karakterize edici bazı spektroskopik veriler görülmektedir.



Şekil 4.3 T4 ve T5 bileşiklerinin genel yapıları

Tablo 4.3 T4 ve T5 bileşiklerine ait spektroskopik veriler

| | ¹ H-NMR (ppm) | | | | ¹³ C-NMR (ppm) | | | |
|-----------|----------------------------|-------------|--------------------------|------------|-----------------------------|-------|------|------|
| | 9 | 10 | 11 | 12 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| T4 | 6.64, s, 2H | 2.96, s, 6H | 4.12-4.036 heptet, 1H | 1.47,d,6H | 68.5 | 58.2 | 47.6 | 16.9 |
| T5 | 4.54, s, 2H | 2.98, s, 6H | 4.01-3.98, heptet, 1H | 1.49,d, 6H | 68.86 | 57.77 | 48.1 | 16.9 |

Sentezlenen bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri incelendiğinde (Tablo 3.1) tüm kumarinler ve kumarin kuaterner amonyum tuzlarının *candida albicans* ve *candida tropicalis* mantar türlerinin üremesini engellediği görülmektedir. Ancak bunu bakteriler için söyleyememekteyiz. Çalışılan bakteri türlerinden sadece *Pseudomonas aeruginosa* türüne karşı tüm bileşiklerin etkisi olduğu görülmektedir. Bakteri ve mantarlar için karşılaştırma amaçlı kullanılan Ampicillin, Ciprofloxacın, Fluconazole ile minimal inhibisyon konsantrasyonları (MIK) karşılaştırıldığı zaman kumarin veya kumarin kuaterner amonyum tuzlarında bu değer en az 400 µg/mL' ye kadar inebilmiş ve karşılaştırma amaçlı kullanılan bileşiklerin oldukça altında kalmıştır.

5. KAYNAKLAR

- [1] Sethna, S.M., Shah, N.M., "The Chemistry of Coumarins", *Chem. Rev.*, **36**, (1945), 1-62
- [2] Trenor, S.R., Shultz, A.R., Love, B.J., Long, T.E., "Coumarin in Polymers: From Light Harvesting to Photo-Cross-Linkable Tissue Scaffolds", *Chem. Rev.*, **104**, (2004), 3059-3077
- [3] Lake, B.G., "Coumarin Metabolism, Toxicity and Carcinogenicity: Relevance for Human Risk Assessment", *Food and Chemical Toxicology*, **37**, (1999), 423-453
- [4] Cohen, A.J., "Critical Review of The Toxicology of Coumarin With Special Reference to Interspecies Differences in Metabolism and Hepatotoxic Response and Their Significance to Man", *Food and Chemical Toxicology*, **17**, (1979), 277-289
- [5] Coffey, S., Rood's Chemistry of Carbon Compounds, vol IV(E), 2nd ed., Elsevier, New York (1977)
- [6] O'Kennedy, R., Thornes, R.D., Coumarin Biology, Application and Made of Action, John Wiley and Sons Ltd. England, (1997), 1-336
- [7] Boğa, M., "Kumarin Türevi Yeni 14:4 Taç Eter Bileşiklerinin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması", Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, (2005)
- [8] Dellagrecia, M., Fiorentino, A., Isidori, M., Previtera, L., Temussi, F., Zaralli, A., "Benzocoumarins from the Rhizomes of *Juncus Acutus*", *Tetrahedron*, **59**, (2003), 4821-4825
- [9] Harvey, R.G., Cortez, C., Anantharayanan, T.P., Schnolka, S., "A New Coumarin Synthesis and Its Utilization for The Synthesis of Polycyclic Coumarin Compounds With Anticarcinogenic Properties", *J. Org. Chem.*, **53**, (1988), 3939-3943
- [10] Dodge, F.D., "Some Derivatives of Coumarin", *J. Am. Chem. Soc.*, **38**, (1916), 446
- [11] Perkin, W.H., Chem News, (1875), 258

- [12] Moes, D., Vervisch, S., Debenedetti, S., Davio, S., Mangelinckx, S., Girbellina, N., Kimp, N.D., "Synthesis and Structural Revision of Naturally Occuring Ayapin Derivatives", *Tetrahedron*, **61**, (2005), 2505-2511
- [13] Shilling, W., Longland, R., Crampton, C., "Metabolism of Coumarin in Man", *Nature*, **221**, (1969), 664
- [14] Murray, R.D.H., Mendez, J., Brown, S.A., "The Natural Coumarins", John Wiley and Sons Ltd., New York (1982)
- [15] Gündüz C., "Di- ve Tetrahidroksi-2H-1-Benzopiron Türevi Makrohalkalı Eterlerin Sentezi, Spektroskopik Karakterizasyonu ve Alkali Katyon Bağlama Özellikleri", Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, (2009)
- [16] Guenther, E., The Essential Oils, Vol II, D.Von Nostrand Ltd., New York, (1975)
- [17] Basaran, I., Sinan, S., Cakir, Ü., Bulut, M., Arslan, O., Ozensoy, O., "In vitro Inhibition of Cytosolic Carbonic Anhydrases I and II by Some New Dihydroxycoumarin Compounds", *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **23**, (2008), 32-36
- [18] Gümüş, A., Karadeniz, Ş., Uğraş., H.I., Bulut, M., Çakır, Ü., Gören, A.C., "Synthesis, Complexation and Biological Activity of 4-Aminomethyl-7,8-Dihydroxy Coumarines and Their Crown Ether Derivatives", *Journal of Heterocyclic Chem.*, **47**, (2010), 1127-1133
- [19] Tropkov, V.A., Parfenov, E.A., Smirnov, L.D., "Synthesis and Antiulcer Activity of Copper and Zinc-Containing Coumarin Antioxidant", *Pharmaceutical Chemistry Journal*, **30-7**, (1996), 445-447
- [20] Zhao, H., Neamati, N., Hong, H., Mazumder, A., Wang, S., Sunder, S., Milne, G.W.A., Pemmier, Y., Burke, T.R., "Coumarin Based Inhibitors of HIV Integrase", *J.Med.Chem.*, **40 (2)**, (1997), 242-249
- [21] Musa, M.A., Copperwood, J.S., Khan, M.D.F., "A Review of Coumarin Derivatives in Pharmacotherapy of Breast Cancer", *Current Medicinal Chemistry*, **15**, (2008), 2664-2670
- [22] Weymarn, L.B., Murphy, S.E., "Coumarin Metabolism by Rat Esophagal Microsomes and Cytochrome P450 2A3", *Chem. Res. Toxicol*, **14**, (2001), 1386-1392
- [23] O'Kennedy, R., Lacy, A., "Studies on Coumarin and Coumarin-Related Compounds to Determine Their Therapeutic Pole in the Treatment of Cancer", *Current Pharmaceutical Designs*, **10**, (2004), 3797-3811

- [24] Tsuchiya, H., Hayashi, T., Neruse, H., Takagi, N., "High Performance Liquid Chromatography of Carboxylic Acids using 4-Bromomethyl-7-Acetylcoumarin as Fluorescence Reagent", *Journal of Chromatography*, **234-1**, (1982), 121-130
- [25] Lei, J., Xu, X.M., Xu, J., Chan, L.H., Jiang, P., Chang, F.X., Lu, G.N., Wang, Q., Wu, J.C., Tang, N., "Synthesis, Characterization, Cytotoxic Activities and DNA-Binding Studies of Ternary Copper (II), Complexes with New Coumarin Derivatives" *Chem. Pharm. Bull.*, **58(8)**, (2010), 1003-1008
- [26] Suzuki, Y., Kamatsu, H., Ikeda, T., Saito, N., Araki, S., Citterio, D., Hisomoto, H., Kitamura, Y., Kubota, T., Nakagawa, J., Oka, K., Suzuki, K., "Design and Synthesis of Mg^{+2} Selective Fluoroionophores Based on a Coumarin Derivative and Application for Mg^{+2} Measurement in a Living Cell", *Anal. Chem.*, **74**, (2002), 1423-1428
- [27] Mizukami, S., Okada, S., Kimura, K., Kikuchi, K., " Design and Synthesis of Coumarin-Based Zn^{+2} Probes for Ratiometric Fluorescence Imaging", *Inorganic Chemistry*, **48**, (2009), 7630-7638
- [28] IUPAC, Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed., (The "Gold Book"), (1997)
- [29] Smith, Micheal, B., Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure, 5th ed., Wiley-Interscience , (2001)
- [30] Jia, Z., Shen, D., Xu, W., "Synthesis and Antibacterial Activities of Quaternary Ammonium Salt of Chitosan", *Carbohydrate Research*, **333**, (2001), 1-6
- [31] Başaran, İ., " Yeni Coumarin Crown Eterlerin Sentezi ve Kompleksleşme Sabitlerinin Saptanması", Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, (2007)
- [32] National Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Approved Standard, 7th ed., CLSI Document M7-A7 : National Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA, USA, (2003)
- [33] Clinical Laboratory Standards Institute, Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard, 2nd ed., M27-A2, National Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, (2002)
- [34] Temelli, N., "Gümüş ve Altın N-Heterosiklik Karben Komplekslerinin Sentezi ve Özellikleri", Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, (2010)