



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ECZACILIKTA BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**METOKSİ KALKON BİLEŞİKLERİNİN
OBEZİTE TEDAVİSİNDE TERAPÖTİK
POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**

Zeynep ERİK

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Rezzan ALİYAZICIOĞLU

TRABZON-2024

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

15.04.2024
Zeynep ERİK
(İmza)

İthaf

Bu doktora tezimi, benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve her zaman yanımda olan sevgili eşime ve değerli kızıma ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Tüm doktora tez sürecinde desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, samimiyetini ve yakınlığını her daim hissettiren ve hayatım boyunca minnettar kalacağım çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Rezzan ALİYAZICIOĞLU'na,

Bilgi ve tecrübeleri ile her zaman yol gösteren ve her daim yanımda hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Nurettin YAYLI'ya,

Fikirlerini ve tecrübelerini her zaman benimle paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Oktay YILDIZ'a ve doktora süreci boyunca emeği geçen tüm hocalarıma,

İlgili araştırmam süresince *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda ve doktora sürecinde karşılaştığım tüm diğer zorluklarda desteğini esirgemeyen, çok değerli arkadaşlarım Dr. Öğr. Üyesi Sıla Özlem ŞENER'e ve Dr. Öğr. Üyesi Şeyda KANBOLAT'a,

In vitro sitotoksiste çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Can Özgür YALÇIN hocama, antimikrobiyal aktivite çalışmalarındaki desteklerinden dolayı Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU'na,

İlgili araştırmam süresince histopatolojik analizlerin gerçekleştirilmesinde desteğini esirgemeyen çok değerli hocalarım Arş. Gör. Dr. Abdülkadir KUTLU ve Prof. Dr. Engin YENİLMEZ'e,

KTÜ-BAP THD-2021-9293 ve TDK-2021-9627 kodlu BAP projeleri ile desteklenen bu araştırma için Karadeniz Teknik Üniversitesi'ne,

TÜBİTAK-BİDEB 2211-Yurt İçi Doktora Burs Programı kapsamında, doktora eğitimim süresince maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a,

Tüm hayatım boyunca maddi ve manevi bana destek olan değerli abim Erdem AKBAY'a, her zaman sevgilerini hissettiren değerli hocalarım Salih ve Elif BOZDAĞ'a,

Desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, haklarını asla ödeyemeyeceğim, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, annem Seringül AKBAY ve babam İsmail AKBAY'a,

Tanıdığım günden bu yana yüzümü her daim güldüren, maddi ve manevi desteğini her daim hissettiğim sevgili eşim Dr. İshak ERİK'e, neşe kaynağımız olan biricik kızımıza teşekkürü bir borç bilirim.

Zeynep ERİK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ	xvii
ÖZET	xxi
ABSTRACT	xxii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	23
2. GENEL BİLGİLER	24
2.1. Obezite	24
2.1.1. Obezitenin Epidemiyolojisi	24
2.1.2. Obezite Risk Faktörleri	25
2.1.3. Obezite Tedavisi	26
2.1.3.1. Diyet ve Yaşam Tarzı Değişikliği	26
2.1.3.2. Farmakolojik Tedavi	27
2.1.3.3. Cerrahi Müdahale	30
2.1.4. Obezitede Lipaz İnhibitörleri	31
2.1.4.1. Pankreatik Lipaz İnhibitörlerinin Metabolik Mekanizmaları	31
2.1.5. Obezite ve Dislipidemi İlişkisi	33
2.1.5.1. Lipoprotein Metabolizması	34
2.1.5.2. Metabolik Dislipidemi Yolakları	36
2.2. Kalkonlar	40
2.2.1. Kalkonların Genel Özellikleri	40
2.2.1.1. Kalkonların İsimlendirilmesi	41
2.2.1.2. Kalkonların Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	42
2.2.1.3. Kalkonların Floresan Özellikleri	42
2.2.2. Kalkonların Sentezi	43
2.2.2.1. Kalkonların Biyosentezi	43

2.2.2.2. Kalkonların Farklı Sentetik Yöntemlerle Sentezi	43
2.2.3. Kalkonların Biyolojik Aktiviteleri	48
2.2.3.1. Antikanser Aktivite	49
2.2.3.2. Antienflamatuar Aktivite	53
2.2.3.3. Nöroprotektif Aktivite	56
2.2.3.4. Antioksidan Aktivite	57
2.2.3.5. Antibakteriyel Aktivite	60
2.2.3.6. Antifungal Aktivite	64
2.2.3.7. Antiviral Aktivite	66
2.2.3.8. Antitüberküloz Aktivite	68
2.2.3.9. Antimalaryal Aktivite	70
2.2.3.10. Antileishmanial Aktivite	74
2.2.3.11. Antidiyabetik Aktivite	76
2.2.3.12. Kalkonların Diğer Biyolojik Aktiviteleri	79
3. GEREÇ ve YÖNTEM	84
3.1. Materyal	84
3.1.1. Kimyasal Madde ve Çözücüler	84
3.1.2. Alet ve Cihazlar	84
3.2. Metoksi Kalkon Bileşiklerinin Sentezi	85
3.2.1.1 Nolu Bileşiğin Sentezi	86
3.2.2.2 Nolu Bileşiğin Sentezi	87
3.2.3.3 Nolu Bileşiğin Sentezi	87
3.2.4.4 Nolu Bileşiğin Sentezi	88
3.2.5.5 Nolu Bileşiğin Sentezi	88
3.2.6.6 Nolu Bileşiğin Sentezi	88
3.2.7.7 Nolu Bileşiğin Sentezi	89
3.2.8.8 Nolu Bileşiğin Sentezi	89
3.2.9.9 Nolu Bileşiğin Sentezi	90
3.2.10.10 Nolu Bileşiğin Sentezi	90
3.2.11.11 Nolu Bileşiğin Sentezi	90
3.2.12.12 Nolu Bileşiğin Sentezi	91
3.2.13.Yapı aydınlatma Yöntemleri	91
3.3. <i>In vitro</i> Biyolojik Aktivite Çalışmaları	91

3.3.1. Lipaz Enzim Aktivite Çalışmaları	91
3.3.2. Hücre Canlılık Testi	92
3.3.3. Diğer Enzim Aktivite Çalışmaları	93
3.3.3.1. Asetilkolin / Bütirilkolin Esteraz Enzim Aktivite Çalışmaları	93
3.3.3.2. Tirozinaz Enzim Aktivite Çalışmaları	93
3.3.3.3. α -Amilaz Enzim Aktivite Çalışmaları	94
3.3.3.4. α -Glukozidaz Enzim Aktivite Çalışmaları	94
3.3.4. Antioksidan Aktivite Çalışmaları	95
3.3.4.1. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP)	95
3.3.4.2. Bakır (II) İndirgeme Antioksidan Gücü (CUPRAP)	95
3.3.4.3. DPPH Radikali Giderici Aktivite	95
3.3.5. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları	96
3.4. <i>In vivo</i> Biyolojik Aktivite Çalışmaları	97
3.4.1. Sıçanlara Uygulanan Numunelerin Hazırlanması	97
3.4.2. Deney Hayvanları	97
3.4.3. Biyokimyasal Analiz Çalışmaları	98
3.4.4. Histopatolojik Analiz Çalışmaları	99
3.4.5. İstatistiksel Analiz Çalışmaları	99
4. BULGULAR	101
4.1. Sentez Bulguları	101
4.1.1. 1 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları	101
4.1.2. 2 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları	104
4.1.3. 3 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları	107
4.1.4. 4 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları	110
4.1.5. 5 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları	113
4.1.6. 6 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları	116
4.1.7. 7 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları	119
4.1.8. 8 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları	122
4.1.9. 9 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları	125
4.1.10. 10 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları	128
4.1.11. 11 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları	131
4.1.12. 12 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları	134
4.2. <i>In vitro</i> Biyolojik Aktivite Bulguları	137

4.2.1. <i>In vitro</i> Lipaz Enzim Aktivite Bulguları	137
4.2.2. Hücre Canlılık Testi Sonuçları	137
4.2.3. Diğer Enzim Aktivite Çalışmalarına Yönelik Bulgular	138
4.2.3.1. Asetilkolin/Bütirilkolin Esteraz Enzim Aktivite Bulguları	138
4.2.3.2. Tirozinaz Enzim Aktivite Bulguları	139
4.2.3.3. α -Amilaz Enzim Aktivite Bulguları	140
4.2.3.4. α -Glukozidaz Enzim Aktivite Bulguları	141
4.2.4. Antioksidan Aktivite Çalışmalarına Yönelik Bulgular	143
4.2.4.1. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Bulguları	143
4.2.4.2. Bakır (II) İndirgeme Antioksidan Gücü (CUPRAC) Bulguları	144
4.2.4.3. DPPH Radikali Giderici Aktivite Bulguları	145
4.2.5. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarına Yönelik Bulgular	146
4.3. <i>In vivo</i> Biyolojik Aktivite Bulguları	147
4.3.1. Ağırlık, Ağırlık Farkı ve % Ağırlık Değişimine Ait Bulgular	147
4.3.2. Biyokimyasal Analiz Çalışmalarına Yönelik Bulgular	152
4.3.3. Histopatolojik Analiz Çalışmalarına Yönelik Bulgular	153
4.3.4. İstatistiksel Analiz Çalışmalarına Yönelik Bulgular	173
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	174
6. KAYNAKLAR	188
ÖZGEÇMİŞ	212
EKLER	214

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa
Tablo 1. Obezite tedavisinde kullanılan ilaçların karşılaştırılması (Williams'tan)	30
Tablo 2. Adipokinler ve lipid metabolizması üzerindeki etkileri (Vekic'ten)	39
Tablo 3. Antikanser aktivite gösteren bileşikler	51
Tablo 4. Antienflamatuar aktivite gösteren bileşikler	52
Tablo 5. Nöroprotektif aktivite gösteren bileşikler	57
Tablo 6. Antioksidan aktivite gösteren bileşikler	59
Tablo 7. Antimikrobiyal aktivite gösteren bileşikler	63
Tablo 8. Antifungal aktivite gösteren bileşikler	66
Tablo 9. Antiviral aktivite gösteren bileşikler	67
Tablo 10. Antitüberküloz aktivite gösteren bileşikler	69
Tablo 11. Antimalaryal aktivite gösteren bileşikler	72
Tablo 12. Antileishmanial aktivite gösteren bileşikler	75
Tablo 13. Antidiyabetik aktivite gösteren bileşikler	77
Tablo 14. Farklı biyolojik aktivite gösteren diğer bileşikler	81
Tablo 15. Sentez ve biyolojik çalışmalarda kullanılan cihazlar	84
Tablo 16. Metoksi kalkon (1-12) bileşiklerinin sentezi	86
Tablo 17. <i>In vivo</i> antiobezite aktivite deney ve kontrol grupları	98
Tablo 18. 1 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları	101
Tablo 19. 1 Nolu bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (CDCl_3 , δ , ppm)	102
Tablo 20. 2 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları	104
Tablo 21. 2 Nolu bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (CDCl_3 , δ , ppm)	105
Tablo 22. 3 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları	107
Tablo 23. 3 Nolu bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (CDCl_3 , δ , ppm)	108
Tablo 24. 4 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları	110
Tablo 25. 4 Nolu bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (CDCl_3 , δ , ppm)	111

Tablo 26.	5 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve moleköl bulguları	113
Tablo 27.	5 Nolu bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (CDCl_3 , δ , ppm)	114
Tablo 28.	6 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve moleköl bulguları	116
Tablo 29.	6 Nolu bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (CDCl_3 , δ , ppm)	117
Tablo 30.	7 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve moleköl bulguları	119
Tablo 31.	7 Nolu bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (CDCl_3 , δ , ppm)	120
Tablo 32.	8 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve moleköl bulguları	122
Tablo 33.	8 Nolu bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (CDCl_3 , δ , ppm)	123
Tablo 34.	9 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve moleköl bulguları	125
Tablo 35.	9 Nolu bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (CDCl_3 , δ , ppm)	126
Tablo 36.	10 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve moleköl bulguları	128
Tablo 37.	10 Nolu bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (CDCl_3 , δ , ppm)	129
Tablo 38.	11 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve moleköl bulguları	131
Tablo 39.	11 Nolu bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (CDCl_3 , δ , ppm)	132
Tablo 40.	12 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve moleköl bulguları	134
Tablo 41.	12 Nolu bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri (CDCl_3 , δ , ppm)	135
Tablo 42.	Metoksi kalkon bileşiklerinin (1-12) <i>in vitro</i> lipaz enzim inhibisyon bulguları	137
Tablo 43.	Metoksi kalkon bileşiklerinin (2, 3, 7, 8) hücre canlılığı bulguları	137
Tablo 44.	Metoksi kalkon bileşiklerinin (1-12) enzim inhibisyon çalışmalarına yönelik bulgular	142
Tablo 45.	Metoksi kalkonların (1-12) antioksidan aktivite sonuçları	145
Tablo 46.	Metoksi kalkonların (1-12) antimikrobiyal aktivite sonuçları	146
Tablo 47.	Grupların haftalık ağırlık ortalamaları	147
Tablo 48.	Deney gruplarının 8 hafta sonundaki genel görüntüleri	150

Tablo 49. Deney gruplarına ait bazı biyokimyasal parametrelerin sonuçları	151
Tablo 50. Deney gruplarına ait karaciğer, böbrek ve yağ dokusu parametrelerinin sonuçları	152
Tablo 51. Deney gruplarına ait karaciğer hasarı skorlamasının sonuçları	163
Tablo 52. Deney gruplarına ait karaciğer, böbrek ve yağ dokusu parametrelerinin sonuçları	171



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 1. İnsan vücudundaki lipid metabolik yolları (TG: Trigliserit, SYA: Serbest yağ asiti, MG: Monogliserit) (Liu'dan)	33
Şekil 2. Obezitedeki lipoprotein metabolizması (TG: Trigliserit, SYA: Serbest yağ asiti, HL: Hepatik lipaz, KETP: Kolesterol ester taşıyıcı protein, KE: Kolesterol esteri) (Sener'den)	36
Şekil 3. Kalkon türevlerinin genel özellikleri (Rammohan'dan)	41
Şekil 4. Kalkonların kimyasal yapısı ve numaralandırılması	41
Şekil 5. Kalkonların sentezi için kullanılan çeşitli çapraz bağlanma reaksiyonları (Rammohan'dan)	48
Şekil 6. 1 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	103
Şekil 7. 1 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	103
Şekil 8. 2 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	106
Şekil 9. 2 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	106
Şekil 10. 3 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	109
Şekil 11. 3 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	109
Şekil 12. 4 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	112
Şekil 13. 4 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	112
Şekil 14. 5 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	115
Şekil 15. 5 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	115
Şekil 16. 6 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	118
Şekil 17. 6 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	118
Şekil 18. 7 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	121
Şekil 19. 7 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	121
Şekil 20. 8 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	124
Şekil 21. 8 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	124
Şekil 22. 9 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	127
Şekil 23. 9 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	127
Şekil 24. 10 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	130
Şekil 25. 10 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	130
Şekil 26. 11 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	133

Şekil 27.	11 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	133
Şekil 28.	12 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)	136
Şekil 29.	12 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)	136
Şekil 30.	Galantamin standartının % asetilkolinesteraz inhibisyonu	138
Şekil 31.	Galantamin'in ve metoksi kalkon bileşiklerinin asetilkolinesteraz inhibisyonu IC_{50} değerleri	138
Şekil 32.	Galantamin standartının % bütirilkolin esteraz inhibisyonu	139
Şekil 33.	Galantamin'in ve metoksi kalkon bileşiklerinin bütirilkolinesteraz inhibisyonu IC_{50} değerleri	139
Şekil 34.	Kojik asit standartının % tirozinaz inhibisyonu	140
Şekil 35.	Kojik asit'in ve metoksi kalkon bileşiklerinin tirozinaz inhibisyonu IC_{50} değerleri	140
Şekil 36.	Akarboz standartının % α -amilaz inhibisyonu	141
Şekil 37.	Akarboz'un ve metoksi kalkon bileşiklerinin α -amilaz inhibisyonu IC_{50} değerleri	141
Şekil 38.	Akarboz standartının % α -glukozidaz inhibisyonu	142
Şekil 39.	Akarboz'un ve metoksi kalkon bileşiklerinin α -glukozidaz inhibisyonu IC_{50} değerleri	142
Şekil 40.	Metoksi kalkon bileşiklerinin (1-12) FRAP tayini TEAC cinsinden değerleri	143
Şekil 41.	Metoksi kalkon bileşiklerinin (1-12) CUPRAC tayini TEAC cinsinden değerleri	144
Şekil 42.	BHT standardının absorbans kontrastasyon grafiği	145
Şekil 43.	DPPH yöntemine göre metoksi kalkonların (1-12) ve BHT'nin SC_{50} değerleri	145
Şekil 44.	Deney gruplarının haftalık ağırlık ortalamalarının bulguları	148
Şekil 45.	Deney gruplarının haftalara göre ağırlık ortalamalarının değişim bulguları	149
Şekil 46.	Deney gruplarının haftalara göre % ağırlık değişimi bulguları	149
Şekil 47.	Deney gruplarının serum IL- 1β düzeyleri	152
Şekil 48.	Grup I genel görünüm, normal histolojik morfoloji (H&E, 200x)	154
Şekil 49.	Grup I genel görünüm, normal histolojik morfoloji (H&E, 400x)	154

Şekil 50.	Grup II genel görünüm; hepatosteatoz alanları, inflamatuvar hücre birikimleri ve hipereozinofilik preapoptotik/apoptotik hepatositler	155
Şekil 51.	Grup II genel görünüm; hepatositlerde lipit birikimleri ve preapoptotik/apoptotik hepatositler	156
Şekil 52.	Grup II genel görünüm; portal alan etrafında inflamatuvar hücre birikimleri ve preapoptotik/apoptotik hepatositler	157
Şekil 53.	Grup II genel görünüm; santral ven etrafında genişlemeler ve preapoptotik/apoptotik hepatositler	157
Şekil 54.	Grup III genel görünüm; hepatositlerde lipit birikimleri ve preapoptotik/apoptotik hepatositler	158
Şekil 55.	Grup III genel görünüm; portal alan etrafında inflamatuvar hücre birikimleri, hepatositlerde lipit birikimleri ve preapoptotik/apoptotik hepatositler	158
Şekil 56.	Grup III genel görünüm; santral ven etrafında genişlemeler ve preapoptotik/apoptotik hepatositler	159
Şekil 57.	Grup IV genel görünüm; hepatositlerde lipit birikimleri ve preapoptotik/apoptotik hepatositler	160
Şekil 58.	Grup IV genel görünüm; preapoptotik/apoptotik hepatositler	160
Şekil 59.	Grup IV genel görünüm; normal interselüler mesafeler ve preapoptotik/apoptotik hepatositler	161
Şekil 60.	Grup V genel görünüm; hepatositlerde lipit birikimleri ve preapoptotik/apoptotik hepatositler ve interselüler genişlemeler	162
Şekil 61.	Grup V genel görünüm; santral ven etrafında genişlemeler ve preapoptotik/apoptotik hepatositler	162
Şekil 62.	Grupların karaciğer hasar skorlaması grafiği	163
Şekil 63.	Grup I'in normal histolojik morfolojisi	164
Şekil 64.	Grup II'in tubüler hasar alanları ve epitel hücreleri, tubüler epitel hücrelerinde lipit birikimleri, epitelde vakuolizasyonlar	165
Şekil 65.	Grup II'in atrofik glomerulus ve dilate Bowman boşluğu, tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri, lipit birikimleri, epitelde vakuolizasyonlar	165
Şekil 66.	Grup II'in tubüler epitel hücrelerinde lipit birikimleri, fırçamsı kenarda bozulma ve epitelde vakuolizasyonlar	166

Şekil 67.	Grup III'in tubüllerde dilatasyon, tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri, tubüler epitel hücrelerinde lipit birikimleri ve epitelde vakuolizasyonlar	167
Şekil 68.	Grup III'in tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri, tubüler epitel hücrelerinde lipit birikimleri ve vakuolizasyonlar, dejenere tubüler hücreler ve nekrotik tubüller	167
Şekil 69.	Grup IV'ün tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri, dejenere tubüler epitel ve vakuolizasyonlar	168
Şekil 70.	Grup IV'ün tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri, dejenere tubüler epitel hücreleri ve lipit birikimleri	169
Şekil 71.	Grup V'in tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri	170
Şekil 72.	Grup V'in tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri ve epitelde vakuolizasyonlar	170
Şekil 73.	Grupların böbrek hasarı grafiği	171

KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

5-HT	5-Hidroksitriptamin
5-LOX	5-Lipoksijenaz
Abs	Absorbans
AChE	Asetilkolinesteraz
ALT	Alanin Aminotransferaz
AMPK	AMP ile Aktive Olan Protein Kinaz
Apo B100	Apolipoprotein B100
Apo C-III	Apolipoprotein C-III
Apo48	Apolipoprotein B48
AST	Aminotransferaz
ATP	Adenozin Trifosfat
BChE	Bütirilkolinesteraz
BHI	Brain Heart Infusion
BHT	Bütil Hidroksi Tolüen
CA	Karbonik Anhidraz
CETP	Kolesterilester Transfer Proteini
COX-2	Siklooksijenaz-2
CQ	Klorokin
CUPRAC	Bakır (II) İndirgeme Antioksidan Gücü
DPP4	Dipeptidil Peptidaz-4
DPPH	2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
DTNB	5,5- Dithio-Bis-2-Nitrobenzoik Asit
EMA	Avrupa İlaç Ajansı
Emi	Emisyon
ER	Uzatılmış Salım
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FRAP	Demir İndirgeme Antioksidan Gücü
g	Gram
GABA	Gama Aminobütirik Asit
GLP-1	Glukagon Benzeri Peptid-1
GLUT 4	Glukoztransporter tip 4

GSH	Mitokondriyal Glutasyon
H&E	Hematoksilen&eoizin
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HIV	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HMG-CoA	3-Hidroksi-3-Metilglutaril-Coa
HSL	Hormona Duyarlı Lipaz
IC₅₀	İnhibisyonun %50'sini Oluşturan Konsantrasyon
IKI	İyodur/potasyum İyodür
IL-12	İnterlökin 12
IL-1β	İnterlökin-1 β
IL-6	İnterlökin 6
IRS	İnsülin Reseptör Substratları
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi
JAK/STAT	Janus Kinaz/Sinyal Dönüştürücü
Kg	Kilogram
KTÜ	Karadeniz Teknik Üniversitesi
LCAT	Lesitin-Kolesterol Açıltransferaz
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LPL	Lipoprotein Lipaz
LPS	Lipopolisakkaridler
MAO	Monoamin Oksidaz
MAPK	Mitojenle Aktifleştirilmiş Protein Kinaz
mg	Miligram
MHA	Mueller-Hinton Agar
MİK	Minimal İnhibisyon Konsantrasyon
mL	Mililitre
mmol	Milimol
mol	Molekül Ağırlığı
MSH	Hücre Aracılı Melanosit Uyarıcı Hormon
MTP	Mikrozomal Triglicerit Transfer Proteini
MTT	3- (4,5-Dimetiltiazol-2-İl) -2,5-Difeniltetrazolyum Bromür
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
Nm	Nanometre
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
NO	Nitrik Oksit
NPC1L1	Niemann-Pick C1 Like 1 Proteini
PDA	Potato Dextrose Agar
PGE2	Prostaglandin E2
PL	Pankreatik Lipaz
PLTP	fosfolipid transfer Proteini
p-NPB	p-Nitro Fenil Butirat
PNPG	4-Nitrofenil β-D-Glukuronid
POMC	Proopiomelanokortin
PPAR-γ	Peroksizom Proliferatör ile Aktive Edilmiş Reseptörler-γ
PPAR-α	Peroksizom Proliferatörü ile Aktive Olan Reseptör-α
PTP1B	Protein Tirozin Fosfataz 1B
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SF	Serum Fizyolojik
SOD	Süperoksit Dismutaz
T2D	Tip 2 Diyabet
TB	Tüberküloz
TLR 4	Toll Benzeri Reseptör 4
TNF-α	Tümör Nekroz Faktörü-α
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu
UV	Ultraviyole
vb.	Ve Benzeri
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
VLDL	Düşük Yoğunluklu Lipoproteinlerin
YNBB	Yeast Nitrogen Base
μm	Mikrometre
μM	Mikromolar

Simgeler

°C	Santigrat
E	Trans
J	Etkileşim Sabiti
Z	Cis
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
ε	Epsilon
κ	Kappa
λ	Lamda

Formüller

Al_2O_3	Alüminyum Oksit
AlCl_3	Alüminyum Klorür
$\text{Ba}(\text{OH})_2$	Baryum Hidroksit
$\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$	Triflorür-Dietileter
CHCl_3	Kloroform
Cs_2CO_3	Sezyum Karbonat
EtOAc	Etil Asetat
FeCl_3	Demir (III) Klorür
H_2O	Su
H_2SO_4	Sülfirik Asit
HCl	Hidroklorik Asit
K_2CO_3	Potasyum Karbonat
KOH	Potasyum Hidroksit
NaOH	Sodyum Hidroksit
$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$	Paladyum-Tetrakistrifenilfosfin
THF	Tetrahidrofuran

ÖZET

Metoksi Kalkon Bileşiklerinin Obezite Tedavisinde Terapötik Potansiyelinin Araştırılması

Obezite dünyadaki yaygın sağlık problemlerinden birisidir. Obezite tedavisinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır ve her geçen gün yeni tedavi stratejileri araştırılmaktadır. Kalkonlar flavonoidlerin prekürsörüdür ve geniş bir biyolojik aktiviteye sahiptir. Araştırma yapılan metoksi kalkon bileşikleriyle ilgili literatürde obezite tedavisine dair herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Tez çalışmamız kapsamında sentezlenen 12 adet metoksi kalkon bileşiğinin antioksidan aktiviteleri, antimikrobiyal etkinlikleri, asetilkolinesteraz, bütirilkolin esterase, tirozinaz, α -amilaz, α -glukozidaz ve lipaz enzimini inhibe edici aktiviteleri belirlenmiştir. Obezite tedavisine yönelik olarak en yüksek lipaz enzim inhibisyonu aktivitesi gösteren bileşiklerin MTT yöntemiyle sitotoksikite çalışmaları yapılmıştır, Sitotoksik olmayan ve etkili bileşiğin yüksek yağlı diyet ile obezite modeli oluşturulan sıçanlarda *in vivo* antiobezite etkisi, sıçanların haftalık vücut ağırlık değişimleri ölçülerek, serum biyokimyasal parametre düzeyleri (HDL, LDL kolesterol, total kolesterol, adiponektin, trigliserit, IL-1 β , insulin, glukoz, kreatinin, AST ve ALT) belirlenerek ve histopatolojik analizler (karaciğer, yağ ve böbrek dokusu üzerinde) gerçekleştirilerek değerlendirilmiştir.

In vivo çalışmadan elde edilen bulgular sonucunda, etkin madde (10 mg/kg ve 40 mg/kg doz) gruplarında sıçanların ortalama vücut ağırlığında, serum LDL, total kolesterol, trigliserit, insülin ve IL-1 β seviyelerinde azalma, HDL seviyelerinde ve adiponektin seviyesinde artış tespit edilmiştir. Histopatolojik analizlerde, karaciğer ve böbrek dokusunda etkin madde gruplarında düzeltici etkiler gözlemlenmiştir.

Bu doktora tez çalışmasından elde edilen hem biyokimyasal hem de histopatolojik veriler değerlendirdiğinde, uygulanan metoksi kalkon bileşiğinin (7, 1-(2,4,5-trimetoksifenil), 3-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on) antiobezite etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Etkin maddenin, obezite komplikasyonlarını iyileştirebileceği ve potansiyel alternatif bir terapötik ajan olabileceği düşünülmektedir. Terapötik amaçlı kullanılabilmesi için ileri disiplinlerarası farmakolojik, toksikolojik çalışmalar ve klinik araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antiobezite, *In vivo*, Kolesterol, Lipaz, Sitotoksikite, Yağ Dokusu

ABSTRACT

Investigation of Therapeutic Potential of Methoxy Chalcone Compounds in the Treatment of Obesity

Obesity is one of the common health problems in the world. Various methods are used in the treatment of obesity and new treatment strategies are being researched every day. Chalcones are the precursors of flavonoids and have a wide range of biological activities. There are no studies in the literature on the treatment of obesity regarding methoxy chalcone compounds.

The antioxidant, antimicrobial, acetylcholinesterase, butyrylcholine esterase, tyrosinase, α -amylase, α -glucosidase, and lipase enzyme inhibitory activities of 12 methoxy chalcone compounds synthesized within the scope of our thesis study were determined. Cytotoxicity studies of the compounds showing the highest lipase enzyme activity for the treatment of obesity were carried out using the MTT method. The *in vivo* antiobesity effect of compound, which is non-cytotoxic and has the highest lipase inhibitory activity, was evaluated in rats created as an obesity model with a high-fat diet. The *in vivo* antiobesity effect of the non-cytotoxic and most effective compound on rats created as an obesity model with a high-fat diet was determined by measuring the weekly body weight changes of the rats and serum biochemical parameter levels (HDL, LDL cholesterol, total cholesterol, adiponectin, triglyceride, IL-1 β , insulin, glucose, creatinine, AST and ALT) and histopathological analyzes (on liver, fat and kidney tissue).

As a result of the findings obtained from the *in vivo* study, there was a decrease in the average body weight, serum LDL, total cholesterol, triglyceride, insulin and IL-1 β levels while there was an increase in HDL and adiponectin levels of rats in the active ingredient (10 mg/kg and 40 mg/kg dose) groups. In histopathological analysis, corrective effects were observed in the active substance groups in heart and kidney tissue. When both biochemical and histopathological data were evaluated, it was seen that the methoxy chalcone compound (7, 1-(2,4,5-trimethoxyphenyl), 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one) has been found to have antiobesity activity. It is thought that the active substance can improve the complications of obesity and be a potential alternative therapeutic agent. In order to be used for therapeutic purposes, advanced interdisciplinary pharmacological, toxicological studies and clinical research are required.

Keywords: Adipose tissue, Antiobesity, Cholesterol, Cytotoxicity, *In vivo*, Lipase

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite, insan sağlığını olumsuz etkileyecek ölçüde vücutta anormal ya da aşırı yağ birikimi olarak tanımlanmaktadır. Diyabet, kalp-damar hastalıkları, bazı kanser türleri, hipertansiyon, kas-iskelet sistemi hastalıkları gibi hastalıkların ortaya çıkmasına neden olan obezite, yaşam kalitesinin düşmesine ve ölümlere yol açan ciddi ve küresel bir sağlık problemidir (1). Obezitenin tedavisinde günümüzde kullanılan ilaçların sayısı ve etkinliği oldukça sınırlıdır. Obezite tedavi edilmesinde, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylı semptomimetik ve gastrointestinal lipaz inhibitörü ilaçlar, serotonin agonistleri ve kombine ilaçlar kullanılmaktadır. Uykusuzluk, kalp hızında artış, kusma, anksiyete, huzursuzluk, baş dönmesi, baş ağrısı, ağız kuruluğu, tat duyusunda farklılaşma, titreme, diyare, kabızlık bu ilaçlarda görülebilen yan etkilerdir (2). Obezite tedavisindeki bu durum, obezitenin tedavisi için yeni araştırmaların önemini artırmaktadır.

Polimetoksiflavonlar, hiperlipideminin engellenmesinde önemli rol oynayan biyoaktif bileşenlerin bir grubudur (3). Kalkonlar flavonoidlerin prekürsörüdür ve geniş bir biyolojik aktiviteye sahiptirler. İlaçların ortaya çıkardığı yan etkilerin azaltılması ve insan sağlığı refahının geliştirilmesi amacıyla doğal ürünlerin bileşiminde bulunan özellikle polimetoksiflavonların antihiperlipidemik etkinlik göstermesi ve flavonoidlerin prekürsörü olan metoksi kalkonların obezite tedavisinde kullanılabilirliğinin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışmanın amacı; birinci aşamada 12 adet metoksi kalkon bileşiğinin sentez edilerek lipaz enzimini inhibe edici etkisinin belirlenmesi ve sitotoksikite çalışmalarının yapılmasıdır. İkinci aşamada ise, en yüksek lipaz inhibitör aktiviteye sahip ve sitotoksik olmayan bileşiğin yüksek yağlı diyet ile obezite modeli oluşturulan sıçanlarda; sıçanların vücut ağırlıkları değişimlerinin ölçülmesi, obeziteyle ilişkili yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL), total kolesterol, adiponektin, trigliserit ve interleukin (IL-1 β) yanında insülin ve glukoz biyokimyasal parametrelerinin düzeylerinin ölçülmesi, böbrek fonksiyonları için kreatinin, karaciğer fonksiyonları için AST ve ALT düzeyleri belirlenmesi ve karaciğer, yağ ve böbrek dokusu üzerinde histopatolojik analizlerin gerçekleştirilmesidir. Planlanan çalışma ile en etkin bileşiğin obezite tedavisindeki terapötik potansiyelinin araştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite

Obezite, tüm dünyada önemi artan bir sağlık sorunudur (4). Obezite, çoğunlukla enerjisi fazla gıdaların gereğinden fazla tüketilmesi sonucunda enerji alımı ve enerji tüketimi arasındaki dengenin bozulmasıyla ortaya çıkan ve vücutta aşırı yağ birikimine neden olan; diyabet, kas ve iskelet sistemi rahatsızlıkları, hipertansiyon, dislipidemi, aterosklerotik kardiyovasküler hastalık, uyku apnesi, osteoartrit, bazı kanser türleri gibi birçok kronik hastalığa sebebiyet verebilen bir sağlık problemidir (5-7). Enerji dengesini etkileyen iki temel faktör, gıda tüketimi (tüketilen gıdanın enerji yoğunluğu ve miktarı) ve fiziksel aktivitedir (gerçekleştirilen faaliyetlerin türü, yoğunluğu ve sıklığı). Kilo alımı, harcamadan daha fazla enerji tüketimi olduğunda ortaya çıkmaktadır (8). Asya popülasyonlarında vücut kitle indeksi (VKİ) $\geq 27.5 \text{ kg/m}^2$, diğer popülasyonlarda ise VKİ $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ olduğunda obezite olarak tanımlanmaktadır (9).

Obezite prevalansı dünya çapında endişe verici bir oranda artmaya devam ederken, obeziteye bağlı komplikasyonların kişisel ve ekonomik yükü her zamankinden daha önemli hale gelmektedir. Diyet ve yaşam tarzı önlemleri, hastanın obeziteye karşı temel odak noktası olmaya devam ederken, daha çok farmakolojik ve/veya cerrahi tedaviler gerekmektedir. Ancak, bu tedavilerin genellikle kilo verme etkinliği, yan etkiler, cerrahi riskler ve sıklıkla obezite nüksü gibi sınırlılıkları bulunmaktadır. Günümüzde, obezitenin spesifik tedavisi için yalnızca beş ilaç tedavisi onaylanmıştır (10).

2.1.1. Obezitenin Epidemiyolojisi

2017 küresel beslenme raporu, dünya çapında 2 milyar yetişkinin fazla kilolu / obez olduğunu göstermiştir (11). Son otuz yılda obezite küresel olarak artmıştır ve beklenmedik bir şekilde, düşük ve orta gelirli ülkelerde kontrolsüz kentleşme ve beslenme bozuklukları nedeniyle artmaktadır (8, 12).

2016 yılında 1.9 milyardan fazla yetişkin (dünyanın yetişkin nüfusunun %39'u) fazla kilodan etkilenmiştir ve bunların 650 milyondan fazlası (%13) obeziteye sahiptir ve obezite oranları birçok ülkede %50'yi aşmaktadır (13). 2016 yılında 5 yaşın altındaki 41 milyon çocukta ve 5-19 yaş aralığında ise 340 milyon çocukta fazla kilo veya obezite geliştiği bildirilmiştir (14). Gelişmiş ülkelerde obezite prevalansındaki artış son yıllarda yavaşlamış gibi görünse de gelişmekte olan ülkelerde hızla artmaktadır ve hiçbir ülke salgını tersine

çevirmede başarılı olamamıştır (15). Avrupa ülkelerinin çoğunda, son 10 yılda prevalans %10'dan %40'a çıkmıştır ve özellikle İngiltere'de üç kattan fazla artmıştır (16). 2030 yılına kadar obezite prevalansında %33'lük bir artış öngörülmektedir (15).

2.1.2. Obezite Risk Faktörleri

Farklı bilim insanları coğrafyaya, sosyal koşullara, politik ve ekonomik faktörlere ve insan genetiğine bağlı olarak değişen birçok risk faktöründen bahsetmektedir. Toplumda, en yaygın faktörler; sosyodemografik, davranışsal, genetik faktörler ve obezogenik çevrede yaşamak olarak belirtilmiştir (17).

Farklı literatür çalışmaları, obezite ile yüksek oranda ilişkili olan sosyodemografik faktörleri açıkça tanımlamıştır. Örneğin; ileri yaş, özel okullarda eğitim-öğretim, cinsiyet (8), düşük refah endeksi (18), evlilik (medeni durum) (17), şehirde ikamet (18), abur cubur ve fırınlanmış veya enerjisi yoğun gıdalara kolay erişilebilirlik ve paketlenmiş hayvansal kaynaklı gıdalar (8), yerel tarım ticaretinin gıda perakendeciliği ile değiştirilmesi (19) ve hamile olma (20) gibi faktörlerin obeziteyi tetiklediği bildirilmiştir.

Bilimsel olarak; şekerlemeler, şekerler, alkolsüz içecekler, yağlar ve alkol gibi enerjisi yoğun gıdaların tüketilmesi obezite ve kronik hastalıklarla yüksek oranda ilişkilendirilmiştir (21). Düzensiz beslenme alışkanlığı, hamur işi gıdalarının tüketimi (22), işlenmiş gıdaların tüketimi (19), aşırı alkol tüketimi (18), monoton diyet veya düşük diyet kalitesi (21) obezite oluşumunu arttırmaktadır. Kahvaltı ve meyve yemek obezite oluşumunu azaltmaktadır (17, 23). Birçok literatür çalışması; düzensiz fiziksel egzersiz veya fiziksel hareketsizlik (18, 23), televizyon izleme veya uzun ekran süresi, kısa uyku süresi veya vardiyalı çalışma (24), stres, obezogenik ortam, kentleşme ve sanayileşme, sigara içme ve ulaşım için sık taksi kullanımının (18) aşırı kilo/obezite için belirleyici faktörler olduğunu göstermiştir.

Obezogenik ortam, son yıllarda obezite prevalansındaki hızlı artışı açıklamaya katkı sağlamaktadır. Araştırmalar, ailede obezite öyküsünün ve farklı genetik olarak düzenlenmiş genlerin obezite için bir risk olduğunu ortaya koymuştur (22). Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS), 250'den fazla gen/lokusun obezite ile ilişkili olduğunu belirlemiştir. Bu genler; yağ kütlesi ve obeziteyle bağlantılı gen (FTO), obezite ve tip 2 diyabetin gelişiminde önemli bir rol göstermiştir (25).

2.1.3. Obezite Tedavisi

Kilo yönetiminin ilk adımı sağlıklı beslenme, artan fiziksel aktivite ve davranış değişiklikleri gibi yaşam tarzı değişiklikleridir. Bu farmakolojik olmayan yöntemler, tüm obezite tedavilerinin omurgasını oluşturur ve bu nedenle kilo yönetimi ilaçları tedaviye eklendikten sonra bile yüksek düzeyde kontrol edilmelidir. İlaçlar, genellikle yaşam tarzı değişiklikleri tek başına istenen kilo kaybını sağlamazsa eklenmektedir. VKİ 30 ve üzerinde veya iki veya daha fazla komorbiditesi olan ve VKİ 27 ve üzerinde olan hastalar için yaşam tarzı değişikliklerine farmakoterapi eklenmesi önerilmektedir. Bu komorbiditeler, hipertansiyon, diyabet, prediyabet ve dislipidemi gibi hastalıkları içermektedir (7, 26, 27). Obezite tedavisinde, diyet ve yaşam tarzı değişikliği, farmakolojik tedavi ve cerrahi müdahaleler genel tedavi yaklaşımlarını oluşturmaktadır (28).

2.1.3.1. Diyet ve Yaşam Tarzı Değişikliği

Yaşam tarzı değişikliği, aşırı kilolu ve obez bireyler için kilo kaybı sağlamak amacıyla kalori alımını azaltmak ve fiziksel aktiviteyi artırmaktır (28). Diyet uygulaması ile vücudun gereksinim duyduğu enerjiden daha az enerji alması veya fiziksel aktivite ile vücudun aldığı enerjinin daha fazlasını harcaması amaçlanmaktadır. Obezite tedavisinde günlük 800-1500 kkal alınabilecek düşük enerjili diyetler önerilmektedir (29).

Egzersiz uygulaması ile enerji tüketiminin artırılması amaçlanmaktadır. Egzersizin kilo kaybının yanı sıra kalp damar rahatsızlıklarına, solunuma ve metabolik fonksiyonlara fayda sağladığı bilinmektedir (30). Sadece diyet ile kilo kaybında yağ doku yanında kas dokuda da kayıp olurken egzersiz ile kilo kaybında kas kitlesi korunmaktadır (31).

Vücut ağırlığı, nörolojik ve hormonal süreçleri içeren iştahın baskılanmasıyla da korunabilmektedir. Serotonin, histamin ve dopamin reseptörlerinin aktiviteleriyle doyumluk/tokluk hissinin oluşması yakından ilişkilidir. Bu hormon reseptörleri üzerinden tedavi yaklaşımlarının obezite tedavisine katkı sağlayabileceği bildirilmiştir (32).

Davranış değişikliği, kilonun korunması veya istenilen kiloya ulaşmada kullanılan diğer bir yöntemdir. Burada amaç doğru beslenmenin öğretilmesi ve alışkanlık haline getirilmesi ve düzenli fiziksel aktivitede artış sağlanması için olumlu davranışların oluşturulmasıdır (33). Davranış değişikliği üç aşamada gerçekleşir. Birinci aşama, gerçekçi hedeflerin belirlenmesi ve uygulanması, ikinci aşama, uygulanan programa devamlılığın

sağlanması ve üçüncü aşama ise, hedeflerin artırılarak kararlı bir şekilde devam ettirilmesidir (34).

2.1.3.2. Farmakolojik Tedavi

Obezite için farmakoterapi, özellikle yaşam tarzı değişikliği ile kilo kaybının sürdürülmesi için düşünülmelidir. Kilo kaybı tedavi yaklaşımında obezite ilaçları, $VKİ \geq 30$ kg/m^2 olan hastalar ile $VKİ \geq 27$ kg/m^2 olan ve kiloya bağlı komorbiditesi olan hastalar için önerilmektedir (28). FDA obeziteyi tedavi etmek için beş ilaç tedavisini (orlistat, phentermine/topiramate, lorcaserin, naltrekson / bupropion, liraglutide) onaylarken, Avrupa İlaç Ajansı (EMA) yalnızca üç ilaç tedavisini (orlistat, bupropion / naltrekson ve liraglutide) onaylamıştır (10, 35).

Orlistat

Orlistat, hem FDA hem de EMA tarafından onaylanmış pankreatik lipaz enziminin seçici bir inhibitörüdür ve bağırsak sindirimini ve yağ emilimini düzenlemektedir (36). Orlistat, $VKİ 30$ kg/m^2 'den büyük veya diğer risk faktörleri (hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi vb.) ile ilişkili olarak $VKİ 27$ kg/m^2 'den büyük olan hastalar için endikedir. Günlük doz olarak orlistatın 120 mg kullanımı, yağ emilimini ortalama %30 oranında azaltmaktadır (37). Çok sayıda randomize kontrollü çalışma, orlistatın orta düzeyde kilo kaybı (~%3) için etkinliğini göstermiştir. (38, 39). 12 aydan fazla orlistat kullanan obezite hastalarında 2.9-3.4 kg kilo kaybı gözlemlenirken, gastrointestinal yan etkiler (diyare, şişkinlik ve fekal inkontinans gibi), yağda çözünen vitaminlerin emiliminde azalma ve steatore (yağlı dışkı) oluşabilmektedir (28, 36).

Hamilelerde, kronik malabsorpsiyon sendromu olan ya da kolestazi bulunan hastalarda orlistat kullanımı kontrendikedir. Ayrıca; levotiroksin, varfarin, amiodaron, siklosporin, antiretroviral ve antiepileptik ajanlar gibi ilaçlar ile etkileşime girmekte ve emilimlerini azaltabilmektedir. Orlistat kullanımıyla ilişkili ek metabolik faydalar arasında kan basıncının düşmesi (sistolik, 1.15 mmHg; diyastolik, 1.07 mmHg) ve dolaşımdaki lipidlerin azalması (toplam kolesterol, 0.30 mmol/L; düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol, 0.27 mmol/L; trigliseritler, 0.09 mmol/L), kardiyovasküler risk faktörlerinin iyileşmesi, serum glukoz seviyelerinde azalma ve insülin duyarlılığında artış bulunmaktadır (37, 40).

Fentermin/Topiramat

Fentermin, iştahı bastıran noradrenalin salınımını uyaran bir semptomimetik iken, topiramat, iştah bastırma mekanizması belirsiz olsa da kilo kaybını artıran bir antikonvülzandır (36). Topiramat, 2004 yılında migren ve 1996 yılında epilepsi için onaylanan bir ilaç olmasına rağmen, kalori alımı ile ilişkisinin; karbonik anhidraz enziminin inhibisyonu, gama aminobütirik asit (GABA) reseptörlerinin modülasyonu ve glutamat antagonizması mekanizmalarıyla ilgili olduğu düşünülmektedir (37). 12 aylık kullanımında 6.6–8.6 kg arasında kilo kaybının gözlemlendiği çalışmalar etkili bir kilo verme ajanı olduğunu göstermiştir (36). Bununla birlikte, yan etkiler arasında uykusuzluk, kabızlık, ağız kuruluğu, baş dönmesi, tat alma duyusunda bozukluk ve parestezi bulunmaktadır. 2012 yılında FDA tarafından onaylanırken, güvenlik endişelerinden dolayı EMA bu ilacın tedavide kullanımını reddetmiştir (10, 41).

Kontrole tabi ve uzatılmış salım (ER) preparatı olan fentermin/topiramat ER, hamileliğin ilk trimesterinde kullanıldığında bebeklerde dudak yarığı oluşturma riski taşıdığından çocuk sahibi olmak isteyen kadınlar tarafından kullanılmamalıdır. Hamileler, glokom, hipertiroidizm ve monoamin oksidaz (MAO) inhibitörü kullanan hastalarda kontrendikedir (41).

Lorkaserin

Lorkaserin, hipotalamik selektif serotonin 5-hidroksitriptamin (5-HT)-2C reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla etki eden iştah bastırıcı bir ajandır ve 2012'de FDA tarafından kullanılmak üzere onaylanmıştır. Lorkaserin, hipotalamusta bulunan anoreksijenik pro-opiomelanokortin nöronları üzerindeki reseptör 5HT-2C'ye etki ederek tokluk hissi oluşturur ve iştahı baskılar (42). VKİ 30 kg/m²'den büyük veya komorbiditesi olan hastalarda ise VKİ 27 kg/m²'den büyük olan kişilerde kullanılmaktadır (36). Lorkaserinin bir yıllık kullanımında, yaklaşık 3.2-3.6 kg'lık kilo kaybının yanı sıra kan basıncı (sistolik, 0.61 mmHg; diyastolik, 0.49 mmHg) ve lipidler (toplam kolesterol, 0.35 mmol/L; LDL kolesterol, 0.35 mmol/L) dahil olmak üzere metabolik parametrelerde iyileşme tespit edilmiştir (43). Lorkaserin kullanımıyla ilişkili yaygın olarak baş ağrısı, mide bulantısı ve baş dönmesi gibi yan etkiler gözlemlenmiştir (36). Serotonerjik ilaçlar ile aynı zamanda kullanıldığında nörolepti malign veya serotonin sendromuna benzeyen reaksiyonlara sebep olabilmektedir (42).

Naltrekson/Bupropion

Naltrekson bir opioid antagonistidir, bupropion ise zayıf bir dopamin ve noradrenalin geri alım inhibitörüdür. Obezite tedavisinde hem FDA hem de EMA tarafından kullanımı onaylanmıştır. Kombinasyon halinde, bu ilaçlar, hipotalamik proopiomelanokortin (POMC) hücre aracılı melanosit uyarıcı hormonun (MSH) salınımını artırarak tokluk hissini artırır ve bu da gıda tüketiminin azalmasına ve enerji harcamasının artmasına neden olur (44). Diğer obezite farmakoterapileri gibi naltrekson/bupropion da obezite ile ilişkili diğer komorbiditelerle birlikte VKİ 27 kg/m²'den büyük veya VKİ 30 kg/m²'den büyük olan hastalar için endikedir. Mide bulantısı, baş ağrısı, uykusuzluk, kabızlık, baş dönmesi ve ağız kuruluğu gibi yan etkilerle birlikte toplam vücut ağırlığında yıllık % 4.8 (ortalama 4.4 kg) ek bir kilo kaybı gözlemlenmiştir (44, 45).

Naltrekson/bupropionun çok yağlı diyet ile alınması bupropion ve naltreksonun sistemik düzeylerini önemli ölçüde artırmaktadır. Naltrekson/bupropion, kronik opioid veya MAO inhibitörü kullanan hastalarda, nöbet geçmişi olanlarda, hipertansiyonlu hastalarda, anoreksiya veya bulimya nervoza gibi nöbetlere eğilimli olanların yanı sıra benzodiazepin, alkol, antiepileptik veya barbitürat ilaçlarının aniden kesilmesi durumlarında kontrendikedir (44).

Liraglutid

Liraglutid, başlangıçta tip 2 diyabet (T2D) tedavisi için onaylanan glukagon benzeri bir peptid-1 (GLP-1) agonistidir. Günde bir kez 3.0 mg'lık bir dozda kullanılmaktadır (T2D tedavisi için günlük 1.8 mg'a kadar). Liraglutid, hipotalamik stimülasyon yoluyla tokluğu artırarak ve mide boşalmasını geciktirerek, böylece gıda alımını azaltarak kilo kaybını iyileştirmektedir (36). Liraglutid kullanan diyabeti olmayan obez hastalarda besin alımını ve günlük açlığı azaltmasının yanı sıra gastrik boşalma süresini de uzattığı belirlenmiştir (46). Obezite ile ilişkili diğer komorbiditelerle birlikte VKİ 27 kg/m²'den büyük veya VKİ 30 kg/m²'den büyük olan hastalarda kilo kaybını desteklemek için FDA ve EMA tarafından onaylanmıştır (36). Yaygın yan etkiler; mide bulantısı, kusma ve pankreatittir. Yapılan çalışmalarda bir yıllık kullanımda 5.3-5.9 kg'lık ek bir yıllık kilo kaybı gözlemlenmiştir (45, 47). Liraglutidin; hamilelerde, kendisinde veya ailesinde tip 2 multipl endokrin neoplazi sendromu ya da meduller tiroit karsinomu olan hastalarda kontrendike olduğu belirtilmiştir. Ayrıca liraglutidin insülin veya insülin sekretagogları ile aynı zamanda kullanımı hipoglisemi oluşma riskini artırabilmektedir (47). Obezite tedavisinde kullanılan ilaçların

etki mekanizmaları, tedavide kullanılan dozları ve yan etkileri gibi özelliklerinin karşılaştırılması Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Obezite tedavisinde kullanılan ilaçların karşılaştırılması (Williams’tan, 10)

İlaç	Etki mekanizması	Doz	Onay	Kilo kaybı	Yan etki
Orlistat	Pankreas lipaz inhibitörü	60-120 mg günde üç kez	FDA (1999) EMA (1998)	2.9–3.4 kg/yıl	Steatore, Fekal inkontinans
Fentermin/ Topiramet	Sempatomimetik, iştah baskılayıcı	3.75/23 mg; 7.5/46 mg; 11.25/69 mg; 15/92 mg günde bir kez	FDA (2012)	6.6–8.6 kg/yıl	Uykusuzluk, Baş dönmesi, Ciltte karıncalanma ve uyuşma hissi
Lorkaserin	5-HT _{2C} reseptör aktivasyonu	10 mg günde iki kez	FDA (2012)	3.2–3.6 kg/yıl	Baş ağrısı, Mide bulantısı, Baş dönmesi
Naltrekson/ Bupropion	Dopamin ve noradrenalin geri alım inhibitörü (bupropion); Opioid reseptör antagonisti (naltrekson)	32 mg/360 mg 2 tablet, günde 4 kez	FDA, EMA (2014)	Yılda %4.8 azalma	Mide bulantısı/ Kusma, Baş ağrısı, Baş dönmesi
Liraglutid	GLP-1 reseptör agonisti	3.0 mg enjeksiyon günde bir kez	FDA (2014) EMA (2015)	5.9 kg/yıl	Mide bulantısı, Kusma, Pankreatit

FDA: ABD Gıda ve İlaç Dairesi, EMA: Avrupa İlaç Ajansı

2.1.3.3. Cerrahi Müdahale

Cerrahi müdahalenin kullanımı son yıllarda önemli ölçüde artmıştır. Obezite salgını ve tekniklerdeki ilerlemeler cerrahi müdahalenin artan kullanımına katkıda bulunmuştur. Cerrahi müdahale, yaşam tarzı değişikliği ve farmakolojik tedavi başarısız veya yetersiz

olduktan sonra obeziteyi tedavi etmek için veya obezite ile ilişkili ciddi komorbiditeleri olan obez hastalar için uygulanmaktadır (28). Morbid obez hastalarda cerrahi dışı tedavilerden sonra kilo alma insidansı çok yüksektir (yaklaşık % 95). Günümüzde cerrahi müdahale morbid obez hastaların tedavisinde neredeyse tek yöntemdir (48).

Ulusal Sağlık Enstitüleri, obezite cerrahisini $VKİ \geq 40 \text{ kg/m}^2$ olan obez bireyler ve/veya $VKİ \geq 35 \text{ kg/m}^2$ olan ve ciddi hastalıkları (Tip 2 diyabet, koroner arter hastalıkları, şiddetli obstrüktif uyku apnesi vb.) olan kişiler için önermektedir. Cerrahinin amacı, kalori alımını kısıtlayarak ve/veya gıda emilimini önleyerek kilo kaybını sağlamaktır. En yaygın prosedürler; gastrik bantlama, gastrik balon, gastrik bypass, duodenal switch (distal gastrik bypass) ile biliopankreatik diversiyon ve dikey sleeve gastrektomidir (28). Cerrahi tedavi ile elde edilen başarılı sonuçlar, obez kişilerin psikolojilerinde iyileşme ve fiziksel aktivitelerde artış meydana getirmiştir (49).

2.1.4. Obezitede Lipaz İnhibitörleri

Obezitenin önlenmesi ve tedavisi, kronik metabolik hastalıkların prevalansını ve mortalitesini azaltmanın anahtarıdır. Obezite tedavisi; uzun süreli diyet düzenlemesine ve egzersiz müdahalesine ek olarak, kısa süreli bir ilaç tedavisi ile cerrahi uygulamayı bir arada içerebilmektedir. Ancak cerrahi müdahale bazen yağ dağılımını düzensiz hale getirir. Günümüzde mevcut tedavilerin çoğu, kilo kaybı sağlamak için uzun süreli diyet ve egzersizle birlikte daha güvenli kısa süreli ilaç tedavisinden oluşmaktadır (50).

Pankreatik lipaz (PL) inhibitörleri, insan yağının metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Besin kaynağındaki yağı, vücudun emebileceği ve metabolizmaya katabileceği küçük gliserol ve yağ asitleri moleküllerine ayırır (51). PL inhibitörleri, PL'nin parçalama yeteneğinin bir kısmını kaybetmesini sağlar ve lipid düşürücü etkiyi elde etmek için besin kaynağından kana giren yağı kontrol eder (50).

2.1.4.1. Pankreatik Lipaz İnhibitörlerinin Metabolik Mekanizmaları

Karaciğer ve yağ dokusu, lipid depolama için ana organlardır. Aşırı lipid birikimi sıklıkla alkolsüz yağlı karaciğer ve yağ dokusunun aşırı hipertrofinine neden olur. Obezitenin gelişimi vücut yağının metabolizması ile yakından ilişkilidir. Ana diyet (%90) trigliseritlerden oluşur. Ekzojen yağ, insan vücudu tarafından doğrudan kullanılamaz ve emilim için hidrolize edilmelidir (50).

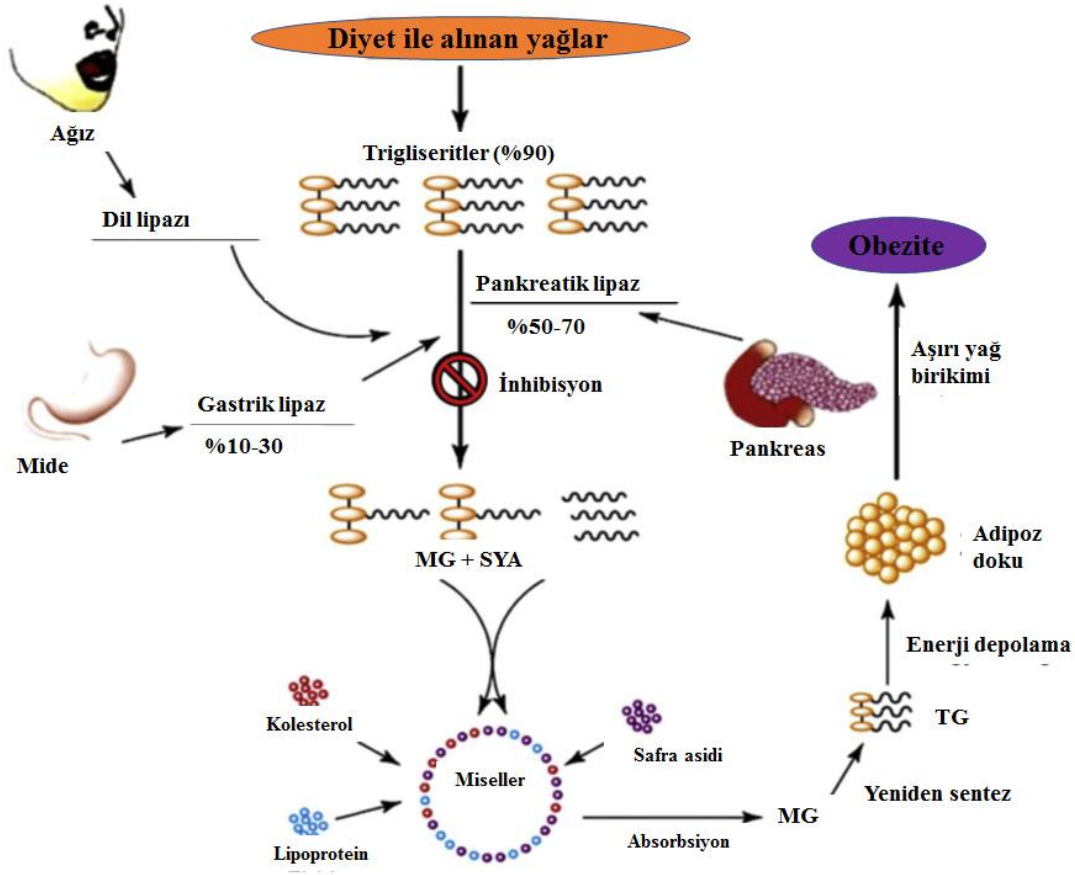
Sindirim sisteminde bulunan lipazlar arasında dil lipazı, mide lipazı ve pankreas lipazı bulunur. Gastrik lipaz sıklıkla pankreas lipaz salgısını düzenleyen ve lipolizde yardımcı rol oynayan önemli bir etken olarak kabul edilir. Bağırsakta yağ asitlerinin emilimini doğrudan etkileyen ve sindirim sistemi lipazlarından en önemlisi pankreas lipazıdır. Pankreatik lipaz (PL); pankreastan salgılanan, sindirim sistemindeki diyet lipidlerini hidrolize eden, sindirilen yağlarda bulunan triaçilgliserol substratlarını monogliseritlere ve serbest yağ asitlerine dönüştüren birincil lipazdır. Bağırsakta, monogliseritler ve serbest yağ asitleri daha sonra bağırsakları kaplayan hücreler olan enterositlere taşınır ve daha sonra emilir. Yağ içeren gıda insan vücudu tarafından alındıktan sonra, trigliserit bazlı lipid, önce lipaz tarafından monogliserit, gliseril ester ve serbest yağ asidine hidrolize edilir ve üründeki 1,2-glikolid ve yağ asitlerinin içeriği daha yüksektir (50, 52).

Yağın lingual lipaz tarafından parçalanması çok küçüktür, ancak bebeklerin ve küçük çocukların yağ alımının %50 ile %70'ini parçalayabilmektedir. Daha sonra, gastrointestinal kanalda ve ince bağırsakta gastrik lipaz (%10 - %30 bozunma) ve pankreas lipazı (%50 - %70 bozunma) tarafından serbest yağ asitlerine ve monoaçilgliserole hidrolize edilir ve ardından vücutta kolesterol ve lipoprotein oluşur. Safra asidi gibi lipid karışımı partiküller, ince bağırsak tarafından emilir ve triaçilgliserolün yeniden senteziyle enerjiyi yağ dokusu olarak depolar (50).

Lipaz inhibitörleri, mide ve ince bağırsağın aktif lipaz kısmı ile birleşerek mide/tripsin konformasyonunu değiştirir, katalitik aktiviteyi inhibe eder ve böylece kandaki trigliseritler gibi lipidleri azaltır. Hidroliz, gıdalardaki lipidlerin sindirimini ve emilimini azaltmasının yanı sıra yağ dokusu birikiminde ve obeziteyi kontrol etme ve tedavi etmede etkinlik sağlar. Lipaz inhibitörü etki ettikten sonra genellikle bağlı olduğu lipaz ile atılır (50, 53). İnsan vücudundaki lipid metabolik yollar Şekil 1'de gösterilmiştir.

Günümüzde yaygın olarak kullanılan kilo verme ilaçları, periferik lipaz inhibitörleri (orlistat) ve merkezi sinir sistemi iştah bastırıcıları (fenfluramin ve sibutramin) olarak iki kategoriye ayrılmıştır. Ancak birkaç klinik çalışma, bu ilaçları alan hastaların baş ağrısı, baş dönmesi, ağız kuruluğu, kabızlık ve uykusuzluk gibi yan etkilere daha yatkın hale geldiğini göstermiştir. Daha ciddi olarak, tedavinin kapsamını büyük ölçüde sınırlayan çeşitli zihinsel veya kardiyovasküler yan etkilere neden olabileceği belirtilmiştir. Merkezi sinir sistemi ilaçlarının güvenliği henüz tam olarak açıklığa kavuşturulmadığından; yeni ilaçların

geliştirilmesinde periferik olarak etkili olan lipaz inhibitörlerinin sinir sistemine girmemelerinden dolayı nispeten daha güvenli olduğu belirtilmiştir (50). Klinik çalışmalar, bir pankreatik lipaz inhibitörü olarak orlistatin yüksek yağlı diyetin neden olduğu obeziteyi azaltabileceğini ve orlistat almanın yağlı dışkıya yol açabileceğini doğrulamıştır (54-56).



Şekil 1. İnsan vücudundaki lipid metabolik yolları (TG: Trigliserit, SYA: Serbest yağ asiti, MG: Monogliserit) (Liu'dan, 50)

2.1.5. Obezite ve Dislipidemi İlişkisi

Dislipidemi, obezite ile ilişkili olarak lipoproteinlerin aşırı üretilmesi veya eksik olması sonucunda ortaya çıkan lipoprotein metabolizmasının bozulmasıdır. Obez hastalarda lipid metabolizmasında anormallikler çok sık görülmektedir. Obezite hastalarının yaklaşık %60-70'i dislipidemiktir (57). Aşırı beslenmeye ve azalan enerji harcamasına bir yanıt olarak, yoğun hiperplazi süreçleri ve adipositlerin hipertrofisi ile ilişkili koşullar olan kilo alımı, aşırı kilo ve obeziteye yol açmaktadır (58). Obezite insidansının artışına bağlı olarak morbidite ve mortalite; hem tıbbi hem de ekonomik maliyetlerin artması, koroner arter

hastalığı, hipertansiyon, T2D diyabet, solunum bozuklukları ve dislipidemiye içeren komorbid durumlarla ilgilidir (59). İnsülin direnci/hiperinsülinemi, obezitede en sık görülen metabolik bozukluktur ve dislipidemi gelişiminin arkasındaki ana belirleyici unsurdur. Son yıllarda, insülin direnci ve obezitenin birlikte hareket etmesinden kaynaklanan dislipidemi formu “metabolik dislipidemi” olarak kabul edilmektedir (58).

Obezitenin tipik dislipidemisi, artan trigliseritler ve serbest yağ asitleri, HDL disfonksiyonu ile azalmış HDL kolesterol ve normal veya hafif artmış LDL kolesterolden oluşmaktadır (60). Dislipidemi, obezite ile T2D diyabet, kardiyovasküler hastalık ve belirli kanser türlerinin gelişimi arasında önemli bir bağlantıdır (58).

2.1.5.1. Lipoprotein Metabolizması

Lipitler organizmada farklı metabolik yollarla kullanılmakta, taşınmakta ve depolanmaktadır. Lipit içerikli bir diyetten sonra, trigliseritler önce bağırsak lümeninde 2-monoağılgiserole ve serbest yağ asitlerine dönüştürülmekte ve sonra spesifik taşıyıcılarla veya pasif difüzyon yoluyla enterositlere taşınmaktadır. Kolesterol, spesifik kolesterol taşıyıcısı Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) proteini aracılığıyla enterositler tarafından alınır. Enterositlerde, 2-monoağılgiserol ve yağ asitleri tekrar trigliseritlere ve kolesterol ise kolesterol esterlerine dönüşür. Daha sonra kolesterol esterleri ve trigliseritler apolipoprotein B48 (Apo48) ve fosfolipitler ile şilomikronları meydana getirirler (Şekil 2). Şilomikronlar lenfatik sistem üzerinden torasik kanal yoluyla dolaşıma katılır (59, 60).

Trigliseritçe zengin lipoproteinler olan çok düşük yoğunluklu lipoproteinlerin sentezi (VLDL), şilomikronların sentezine benzer şekilde karaciğerde gerçekleşmektedir. Farklılık olarak apolipoprotein B100 (Apo B100) yapısına katılmaktadır (59). Şilomikronlar ve VLDL, enerji harcaması ve depolanması için kalbe, iskelet kasına ve yağ dokusuna serbest yağ asitlerini taşımaktadır (61).

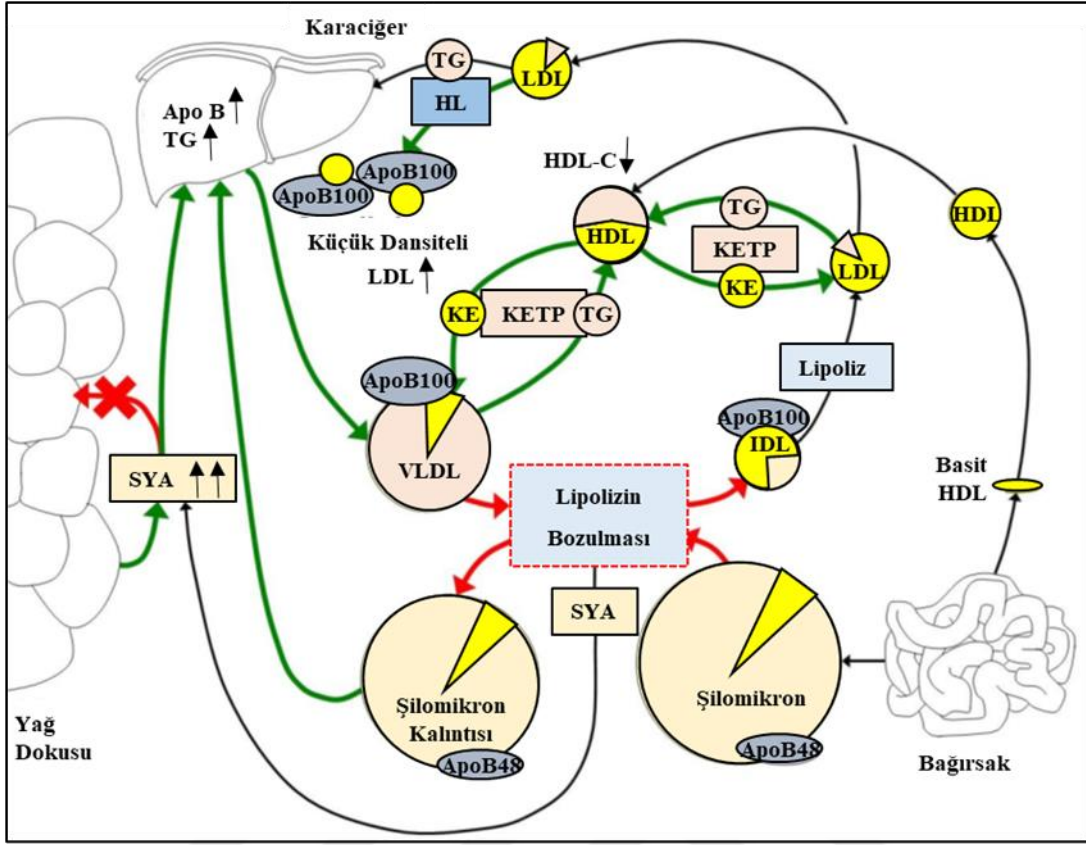
Serbest yağ asitlerinin dolaşımda salınması için trigliserit açısından zengin lipoproteinlerin yeterli düzeyde lipolizi gereklidir. Bu süreç, kofaktör olarak görev yapan çeşitli enzimler ve proteinler tarafından düzenlenir. Lipoprotein lipaz (LPL), dolaşımdaki trigliseritlerin lipolizi için birincil enzimdir ve kalp, iskelet kası ve yağ dokusu gibi büyük miktarda serbest yağ asidi gerektiren dokularda güçlü bir şekilde eksprese edilir (61).

Şilomikronlardan ve VLDL'den serbest bırakılan yağ asiti miktarı, insülin tarafından uyarılan LPL aktivitesine bağlıdır (62, 63). Buna karşılık, apolipoprotein C-III (apo C-III),

LPL'nin ve aynı zamanda hepatik lipazın bir inhibitörüdür. Plazma apo C-III konsantrasyonları, plazma trigliserit düzeyi ile pozitif korelasyon gösterir (64).

Şilomikronlar ve VLDL, lipoliz işlemi sırasında sırasıyla şilomikron kalıntıları ve yoğun LDL oluşturmak için çap olarak küçülür. Şilomikron kalıntıları, apo E, hepatik lipaz, LDL reseptörü, LDL reseptörü ile ilişkili protein ve heparan sülfat proteoglikanlar dahil olmak üzere birçok yolla karaciğer tarafından alınır. Buna karşılık, LDL öncelikle karaciğer tarafından LDL reseptörü yoluyla alınır (65, 66).

Trigliserit ve LDL metabolizmasının yanı sıra, bağırsak ve karaciğer, HDL partiküllerinin sentezi yoluyla ters kolesterol taşınmasında önemli bir rol oynar. HDL, arter duvarı da dahil olmak üzere periferik dokulardan kolesterol alımını teşvik eder ve kolesterolü karaciğere geri döndürür. Enterositler ve hepatositler, HDL'nin yapısal proteini olan apo A-I'yi sentezler. Yeni oluşan HDL partikülleri, periferik dokulardan serbest kolesterol alır. Ardından, HDL içindeki kolesterol, HDL ile ilişkili lesitin-kolesterol açiltransferaz (LCAT) tarafından kolesterol esterlerine esterlenir (67). Dolaşım içinde, HDL partikülleri ayrıca kolesterilester transfer proteini (CETP) ve fosfolipid transfer proteini (PLTP) etkisiyle kolesterol esterleri ile zenginleşir. Karaciğerde, hepatik lipaz, HDL ile ilişkili trigliseritlerin ve ters kolesterol taşınmasına tekrar katkıda bulunabilen daha küçük HDL partiküllerinin oluşumunu indükleyen fosfolipidleri hidrolize eder (68). Bu nedenle, lipit metabolizması oldukça dinamiktir ve tokluk durumu, trigliserit açısından zengin lipoprotein konsantrasyonları, HDL seviyeleri ve işlevi, enerji harcaması, insülin seviyeleri ve duyarlılığı ve yağ dokusu işlevi dahil olmak üzere çok sayıda faktöre bağlıdır (59).



Şekil 2. Obezitedeki lipoprotein metabolizması (TG: Trigliserit, SYA: Serbest Yağ Asiti, HL: Hepatik Lipaz, KETP: Kolesterol Ester Taşıyıcı Protein, KE: Kolesterol Esteri) (Sener'den, 69)

2.1.5.2. Metabolik Dislipidemi Yolakları

İnsülinin tokluk artışı, yakıt depolama için en önemli düzenleyici mekanizmalardan biridir. İnsülinin tokluk artışı, hücre içi lipidlerin hidrolizi için anahtar enzim olan hormona duyarlı lipazın etkili bir şekilde inhibisyonu ile sonuçlanır. İnsülin ayrıca yağ dokusundan serbest yağ asidi mobilizasyonunun önemli bir düzenleyicisidir. Bu nedenle, insülin direnci, trigliserit açısından zengin lipoproteinlerin ve serbest yağ asitlerinin metabolizması üzerinde büyük bir etkiye sahiptir (59).

İnsülin direnci ve metabolik dislipidemi adipozopati ile ilişkilidir (70). Adipozopatide, yağ dokusunda farklı fonksiyonel ve yapısal değişiklikler meydana gelmektedir ve adiposit hücre içi yapısı üzerinde de zararlı etkileri vardır; bu da endoplazmik retikulum stresine ve mitokondri disfonksiyonuna yol açar. Genel olarak obeziteye bağlı insülin direncinin en önemli moleküler araçlarının adipositler ve biriken makrofajlar tarafından üretilen adipokinler olduğu kabul edilmektedir (58). Ayrıca, değişen adipositler

insüline dirençlidir, bu da lipolizi ve serbest yağ asitlerinin dolaşıma girmesini artırır. Artan serbest yağ asit konsantrasyonu, yağ olmayan dokuda obeziteyle ilişkili insülin direncinin diğer bir mekanizması olarak lipotoksisteyi tetiklemektedir (71).

İnsülin, hormona duyarlı lipaz (HSL) inhibisyonu ile yağ dokusundaki lipolizi baskılar, böylece serbest yağ asitlerinin dolaşıma salınımını kontrol eder (71). Ayrıca insülin, apoB100 bozulmasını uyarır ve karaciğerden VLDL'nin salgılanmasını baskılar (72). Dolaşımda, VLDL partiküllerinden trigliseritlerin lipoprotein lipaz güdümlü hidrolizi, insülin ve hepatik lipazın aktivitesi tarafından uyarılır, bu nedenle genel olarak, insülin trigliserit açısından zengin lipoprotein bozulmasını uyarır. Karaciğerde insülin, 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) redüktazın defosforilasyonunu destekler, enzimi aktive eder ve kolesterol sentezini uyarır (71).

İnsülin direnci durumunda, trigliserit açısından zengin lipoproteinlerin plazma klirensi gecikerek hipertrigliseridemiye neden olur. Bu koşullar altında, CETP'nin aktivite olması, lipoprotein partikülleri arasında trigliseritlerin kolesterol esterlerle değişimini teşvik eder. Sonuç olarak, LDL ve HDL partikülleri trigliserit ile zenginleştirilir ve sonrasında plazma lipazları ile hidroliz edilerek daha küçük ve yoğun hale gelir ve küçük, yoğun (sdLDL) ve işlevsiz HDL parçacıklarının birikmesiyle sonuçlanır (73).

Serbest yağ asitlerinin obezite ile ilişkili insülin direnci gelişimindeki rolüyle ilgili olarak, yağ dokusundan artan serbest yağ asidi salınımının bu kademeli süreçteki ilk adım olabileceği vurgulanmaktadır (74). Hipertrofik adipositlerdeki serbest yağ asitleri, insülin reseptör substratları (IRS) proteinlerinin fosforilasyonunu sağlayan spesifik serin kinazları aktive eder ve bu kovalent modifikasyon, insülin reseptör sinyalini azaltır. Ayrıca, serbest yağ asitlerinin, hücrel immün yanıt oluşmasında yer alan çeşitli hücrel reseptörler için ligandlar olduğu bilinmektedir (58).

Serbest yağ asitlerinin proinflamatuvar M1 makrofajlar üzerinde yer alan Toll benzeri reseptör 4'e (TLR 4) bağlanması, proinflamatuvar adipokinlerin üretimini uyarmakta ve yağ dokusunda inflamasyonu indüklemektedir (75). İnsüline dirençli olan adipositler dolaşıma serbest yağ asitlerini salmaktadır. Serbest yağ asitleri ya lipid moleküllerinin biyosentezinde ya da farklı dokularda oksidasyon için kullanılır. Bu iki metabolik yolağın kapasiteleri doygunluğa ulaştığında, hücrede serbest yağ asitlerinin ve bu yolların metabolik olarak ara ürünleri artmaktadır. Bu da iskelet kasında ve karaciğer dokusunda lipid birikimine ve insülin direnci gelişmesine yol açmaktadır (76).

Adipokinlerin birçok farklı metabolik işlevi ve rolleri vardır. Obezite ile ilişkili patofizyolojik durumlarda, son yirmi yılda çok sayıda çalışmanın ana konusu olmuştur (58).

Leptinin keşfi ve rolü gıda alımının ve enerji harcamasının düzenlenmesinde yağ dokusunun aktif bir endokrin organ olduğunu göstermiştir (77). Leptinin insülin sekresyonunu azaltan negatif geri besleme döngüsüne katıldığı bilinmektedir, ancak aynı zamanda insülin duyarlılığını artıran glukoz dönüşümünü de uyarmaktadır. Leptin, adipoz doku makrofajlarını tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), interlökin 6 (IL-6), interlökin 12 (IL-12) salgılaması için uyardığı ve yağ dokusunda düşük dereceli inflamasyonu güçlendirdiği için proinflamatuvar bir adipokin olarak kabul edilir (58, 78).

Rezistin, insanlarda birincil olarak makrofajlar ve monositler tarafından salgılanan bir adipokindir ve insülin direnci gelişimindeki rolü tam olarak açık değildir. Genel olarak, rezistin insanlarda insülin duyarlılığını azalttığı kabul edilir, ancak çok sayıda çalışmanın sonuçları tek tip değildir. Klinik çalışmalar, rezistin konsantrasyonu ile insülin direnci veya obezite indeksleri arasında hiçbir korelasyon bulamamıştır. Rezistin inflamasyondaki rolü de iyi bilinmektedir. İnflamatuvar sitokinler, rezistin gen ekspresyonunun indüklenmesiyle rezistin salgılamak için makrofajları uyarır, buna karşılık rezistin, proinflamatuvar sitokinlerin üretimini teşvik eder (79).

TNF- α , obezite ile indüklenen insülin direnci ve dislipidemi gelişiminin tüm yönlerinde rol oynayan multipotent bir sitokindir. Enflamasyonu, özellikle TNF- α ve IL-6'yı insülin direnci ile bağlayan ana mekanizma, insüline bağımlı dokularda glukoz transporter (taşıyıcı) tip 4 (GLUT 4) gen ekspresyonunun azalmasıdır (80). TNF- α 'nın spesifik etkisi, yağ dokusunun makrofajlarında IL-6 ve IL-1 gibi diğer proinflamatuvar sitokinlerin sentezinin indüklenmesiyle inflamatuvar sürecin hızlanması ile ilgilidir. TNF- α 'nın diğer inflamatuvar sitokinlerle ilişkisi (Tablo 2), nükleer faktör kappa B (NF- κ B) yolunun aktivasyonunu indüklemesi ve yağ dokusunda oksidatif stresi desteklemesi önemlidir (81). NF- κ B transkripsiyon faktörünün TNF- α tarafından aktivasyonu, β hücrelerinin inflamasyonunu indükleyen ve insülin üretiminin azalmasına yol açan mekanizmalardan biridir (58, 82).

Adiponektin, anti-inflamatuvar adipokinler arasında (Tablo 2) plazmadaki en yüksek konsantrasyona sahip olandır. Adipozopatide, TNF- α , IL-6 ve reaktif oksijen türleri, adipositlerde ADIPOQ geninin ekspresyonunu aşağı regüle eder, dolayısıyla dolaşımdaki adiponektin düzeyi azalır. Adiponektinin insülin duyarlılığını arttırdığı en önemli mekanizmalar, AMP ile aktive olan protein kinazın (AMPK) ve vücutta lipid

metabolizmasını düzenleyen bir transkripsiyon faktörü olan peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör- α (PPAR- α) aktivasyonu aracılığıyla görünmektedir (83). Adiponektinin ana etkisi, serbest yağ asit oksidasyonunu ve kasta glikoz alımını artırması ve hepatik glikoz üretimini azaltmasıdır (84). Adiponektin ayrıca β -hücre fonksiyonunu doğrudan etkiler ve anti-apoptotik etki gösterir (85).

Tablo 2. Adipokinler ve lipid metabolizması üzerindeki etkileri (Vekic'ten, 58)

Adipokin	Etki Mekanizması	Lipit metabolizması üzerine etkisi
Proinflamatuvar adipokinler		
Leptin	Serbest yağ asidi oksidasyon enzimlerinin aktivasyonu Adipoz olmayan dokularda trigliserit depolanmasında azalma	Lipolitik etki
Rezistin	Mikrozomal trigliserit transfer proteini (MTP) aktivasyonu ApoB-100 sentezinin uyarılması	VLDL üretiminin artması
TNF- α	Hormona duyarlı lipaz (HSL) fosforilasyonu ve aktivasyonu	Lipolitik etki
IL-6	Janus kinaz/sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon (JAK/STAT) yolunun aktivasyonu	Lipolitik etki
IL-1	Lipoprotein lipaz (LPL) aktivitesinin baskılanması	Hipertrigliseridemi
Anti-inflamatuvar adipokinler		
IL-10	Apolipoprotein A1'e PPAR- γ -bağımlı kolesterol akışı	HDL kolesterol konsantrasyon artışı
Adiponektin	AMPK ile aktive olan PPAR- α transkripsiyon faktörü	Serbest yağ asidi oksidasyon artışı
Omentin 1	AMPK sinyali yolunun aktivasyonu	Kolesterol sentezinin inhibisyonu

2.2. Kalkonlar

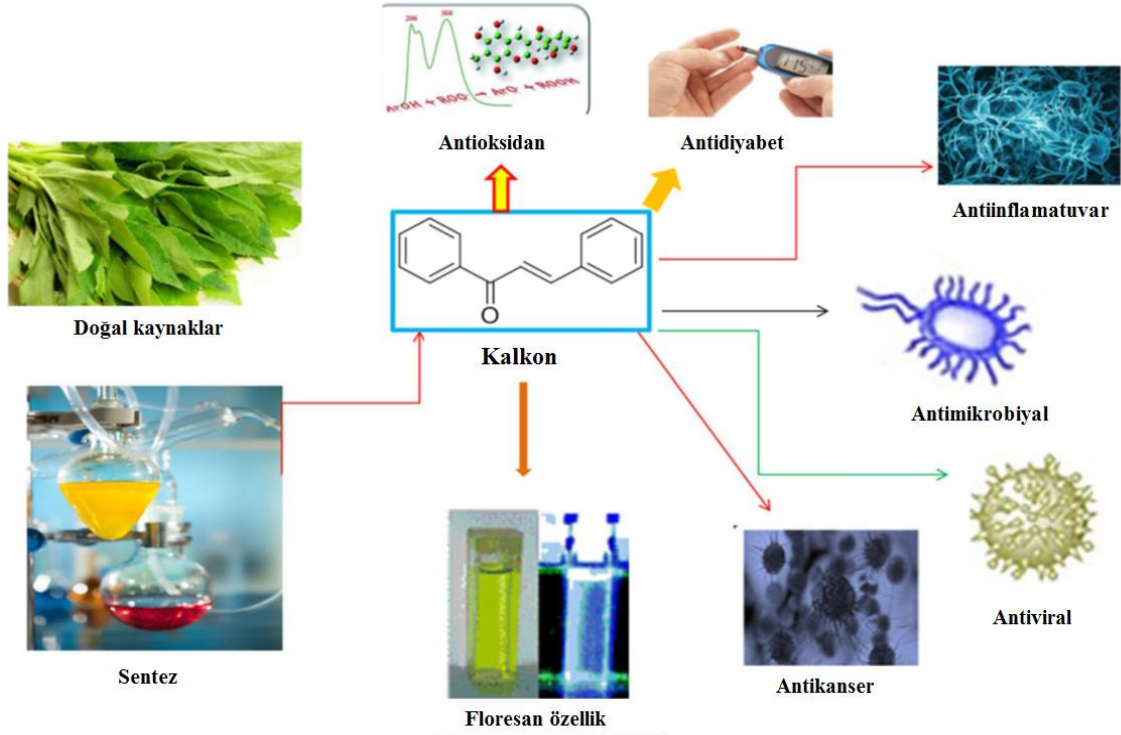
2.2.1. Kalkonların Genel Özellikleri

Kalkon; üç karbonlu, bir alfa, beta doymamış karbonil köprüsü ile birbirine bağlanan iki aromatik halkadan oluşan bir iskelettir (86). Aynı zamanda asetofenon veya 1,3-difenil-2-propen-1-on olarak da bilinir (87). Birçok önemli biyolojik bileşiğin merkezi çekirdeğini oluşturan aromatik bir ketondur (88). "Kalkon" terimi ilk olarak 19. yüzyılda bir dizi doğal kromoforik ürünü sentezleyen Kostanecki ve Tambor tarafından kullanılmıştır (87).

Doğal olarak oluşan çok sayıda kalkon, arıl halkalarında polihidroksillenmiştir (89). Stereokimyasal olarak kalkon, hem trans (*E*) hem de cis (*Z*) izomerlerinde bulunabilir, ancak *Z* konformeri, karbonil grubu ile A halkasının sterik etkileri nedeniyle daha kararsızdır (90). Kalkonlarda, iki aromatik halka ve elektrofilik α , β -doymamış karbonil sistemi; diğer heterosiklik çekirdeklerle, yani pirazol, pirimidin, izoksazol, pirazolin, tiyadiazol, benzoksazepin, benzodiazepin, benzotiyazepin vb. bileşiklerle sürekli konjugasyon halindedir. Bu özelliklerinin; düşük redoks potansiyellerinin, kararlılıklarının, elektron transfer reaksiyonlarının ve daha da önemlisi umut verici biyolojik aktivitelerinin nedeni olabileceği düşünülmektedir (91).

Kalkonlar yapısal olarak çeşitli flavonoid gruplarından biridir ve kalkonların iskelet modifikasyonu izomerik anahtar adım olan flavonoid yapıyı oluşturmaya kolayca izin vermektedir (88). Kalkonların kimyası, sentez kolaylığı, birçok türev elde etmek için çok sayıda değiştirilebilir hidrojeninin olması, açık zincir modeli ve azakalkonlar, izoksazoller, pirazoller ve indol türevi gibi yeni bir organik bileşikler sınıfı üretmek için iskelet modifikasyonunun özellikleri nedeniyle eski günlerden beri araştırmacılar arasında ilgi uyandırmaktadır (86, 88).

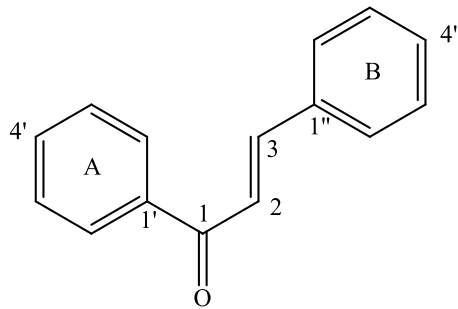
Kalkon türevleri; antidiyabetik, antifibrinojenik, antifungal, antigut, antihistaminik, antihiperlipidemik, antihipertansif, antienflamatuar, antiinvazif, antilayşmanya, antimalarial, antimetastatik, antimikrobiyal, antineoplastik, antinosiseptif, antiobezite, antioksidan, antiplatelet, antiprotozal, antiretroviral, antitripanozomal, antitüberküler, antiülser, anksiyolitik, hipnotik, immünosupresif, osteojenik (Şekil 3) gibi farklı çok çeşitli terapötik aktiviteler sergilemektedir (86, 90).



Şekil 3. Kalkon türevlerinin genel özellikleri (Rammohan'dan, 90)

2.2.1.1. Kalkonların İsimlendirilmesi

Kalkonlar için farklı zamanlarda çeşitli adlandırma yöntemleri öne sürülmüştür (87). Ancak kalkon bileşiklerinin yaygın olarak kullanılan ve Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) tarafından kabul edilebilen adlandırması 1,3 difenil-2-propen-1-on'dur. Kalkon çekirdeğin pozisyonlarının numaralandırılmasındaki önemli fark, flavonoid yapıya göre ters çevrilmiş olmasıdır (Şekil 4). Aril halkaları, kalkon içerisinde A ve B halkaları olarak adlandırılır (90).



Şekil 4. Kalkonların kimyasal yapısı ve numaralandırılması

2.2.1.2. Kalkonların Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Kalkonlar sadece çiçeklerde değil, aynı zamanda yapraklarda, meyvelerde, köklerde ve gövdelerde bulunmaktadır. Doğal olarak oluşan kalkonlar genellikle kristal katı maddelerdir. Sarı, turuncu ve kahverengi gibi farklı renklere sahiptir (92). Kalkonlar, göreceli olarak flavonoidlerden ve izoflavonoidlerden daha karardır. Aseton, kloroform, diklorometan gibi organik çözücülerde; alkollerde, sulu asidik ve alkali çözeltilerde iyi çözünürler (90). Alkali çözeltilerde koyu kırmızı veya turuncu kırmızı renkler sergilerler. Kalkonlar Wilson testine pozitifdir; yani konsantre H_2SO_4 ile pembe renklenme yaparlar. Ayrıca, alkollü ferrik klorür çözeltisi ile muamele edilen kalkonlar mor renklenmeye neden olur. Bu, serbest fenolik hidroksil gruplarının varlığını gösterir. Kalkonlar, flavonoidleri vermek için halkalaşma reaksiyonlarına girerler (90, 92).

Kalkonlar 2 saat boyunca dimetilsülfoksit içinde eser miktarda iyot ile ısıtıldığında flavonları verir. Flavanonlar, glasiyal asetik asit içinde hidrobromik asit ile muamele edilmiş kalkonların siklizasyonu yoluyla kolaylıkla elde edilebilir. Bu izomerizasyon reaksiyonunda kısmi demetilasyon ve debenzilasyon meydana gelebilir (90). Kalkonlar, metanolik sodyum hidroksit solüsyonunda hidrojen peroksit kullanılarak oksidasyon ile flavonollere dönüştürülebilir. Bir diğer önemli izomerizasyon reaksiyonu, auroesidin sentaz varlığında kalkon öncülerinden auron oluşumudur (93).

2.2.1.3. Kalkonların Floresan Özellikleri

Floresan materyaller; kimyasal problemler, elektrokromik materyaller, floresan boyalar, sensörler, boyaya duyarlı güneş pillerinde katkı maddesi olarak bulunmaları ve daha da önemlisi yeni ilaçların geliştirilmesi çalışmalarında umut verici olmaları nedeniyle büyük ilgi görmektedir (90). Floresan kalkonlar, canlı hücrelerdeki emisyon renk değişiklikleri yoluyla çeşitli hastalıkları tespit etmek için kullanılmaktadır (94). Bu floresan kalkonlar, radyoaktif olmayan sübstituentlerin kullanılması için yeni fırsatlar sağlamaktadır (95). Ayrıca, şu anda floresan kalkonların, hücresel hedeflerin yanı sıra mekanik araştırmalar için kimyasal problemlerin araştırılmasında da faydalı olduğu tespit edilmiştir (96). Yeni floresan kalkon analoglarının, Alzheimer hastalığını tedavi etmek için kullanılan mevcut terapötik yaklaşım olan β -amiloid plaklarının oluşumunun inhibisyonunda etkili olduğu bildirilmiştir (97).

Her iki aril halkası üzerinde uygun sübstitüentlere (elektron çeken fonksiyonel gruplar) sahip kalkonlar floresan olarak rapor edilmiştir. Floresans çalışmasında yer alan

temel parametreler, absorpsiyon (Abs, λ , nm) ve emisyon (Emi, λ , nm) dalga boyları, yok olma katsayısı (ϵ) ve kuantum verimi (ϕ) 'dir. Bu fiziksel parametreler, içsel floresanı göstermek için molekül boyunca elektron yoğunluğuna bağlıdır. Deneysel analizlere göre, kalkonun değerli bir floresan kimyasal olması için aşağıdaki gibi bazı yapısal özelliklere sahip olması gerekir: Molekül düzlemsel olmalıdır; A halkasında metoksi grupları gibi zayıf elektron veren grupların olması; daha az kuantum verimi gösteren nitro, nitril grupları gibi elektron çeken gruplara göre daha umut vericidir. B halkasında dimetilamino, dietilamino, diarilamino veya piperazin, piperidin grupları gibi iki sübstitüentli bir amino grubunun varlığı; daha yüksek yok olma katsayısı, daha yüksek kuantum verimleri ve daha düşük iyonizasyon potansiyeline sahip floresan özellik için çok önemlidir. α , β -doymamış sistemin konjugasyonunun ek bağlarla genişlemesi floresans özelliği azaltacaktır (90).

2.2.2. Kalkonların Sentezi

2.2.2.1. Kalkonların Biyosentezi

Kalkonların biyosentezi üzerine birkaç rapor yayınlanmıştır. Andersen ve Markham tarafından açıklanan rapor en güvenilir yaklaşımdır. Biyosentetik yaklaşımda, kalkon oluşumu iki biyogenez yolunun bir araya gelmesinden oluşmaktadır. Kalkonun A halkası genellikle asetat yolundan sentezlenen floroglusinol (C6 birimi) tipinden ve B halkası ise, şikimat yolu ile sentezlenen fenilpropanoid öncüsünden (C9 birimi) oluşmaktadır (92).

Bir fenilpropanoid CoA (p-kumaroil CoA), üç malonil koenzim A (malonil-CoA) molekülü ile ardışık kondenzasyona uğrayarak bir tetraketid öncüsü ile sonuçlanır. Ayrıca, bu tetraketid iki farklı yolda siklizasyona uğramaktadır. Birincil olarak, tetraketid kalkon sentaz (bir katalizör görevi görür) varlığında siklizasyona uğrar ve A halkasında (kalkonaringenin) bir kalkon tri-oksijenasyon verir. İkinci yöntemde ise, tetraketid, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) varlığında bir indirgenmeye uğrar ve daha sonra kalkon sentaz varlığında siklizasyon ile bir 6'-deoksikalkon (izoliquiritigenin) oluşur (90).

2.2.2.2. Kalkonların Farklı Sentetik Yöntemlerle Sentezi

Kalkonların ayrıcalıklı bir iskelet yapısı vardır ve genellikle tıbbi kimyada, ilaç keşfi için kolay sentezlenebilen çeşitli sübstitüentler sağlayan bir kimyasal yapı olarak kullanılır. Kalkonların sentezi genel olarak, asit veya baz katalizi kullanılarak kondenzasyon reaksiyonları yoluyla gerçekleştirilmektedir (90).

Kalkonların sentezi için en yaygın olarak uygun konsantrasyonda (% 30, % 40, % 50 veya % 70'lik) sulu bir alkali çözeltisi kullanılır. 0 °C'de etil asetat veya metanol gibi uygun bir çözücü içinde kuru hidroklorik gaz, aromatik ketonlardan kalkon sentezlenmesinde kullanılmıştır. Ayrıca, kalkonların sentezinde fosfor oksiklorür, susuz $AlCl_3$, amino asit, sulu boraks çözeltisi, perklorik asit, piperidin, bor triflorür, alkali metal alkoksit, magnezyum tert-butoksit ve organokadmiyum bileşikler gibi ajanların da kullanıldığı belirtilmiştir (87).

Claisen-Schmidt Kondenzasyonu

Kalkonların sentezi için çeşitli yöntemler sunulmuştur; bunlardan en uygun olanı, organik kimyadaki en bilinen reaksiyonlardan biri olan Claisen-Schmidt kondenzasyonudur (87). Bu reaksiyon, kalkon türevlerinin hazırlanması için basit bir yöntemdir; burada eş molar miktarlarda süstitüe edilmiş asetofenon ve süstitüe edilmiş aldehit türevleri, polar çözücüler (alkol) içinde asit veya baz katalizörlerin varlığında birkaç saat boyunca 50-100 °C'de yoğunlaşmaya maruz bırakılmaktadır (87, 90). Claisen-Schmidt reaksiyonunda, alkali konsantrasyonu sıklıkla % 10 ile % 60 arasında değişmektedir. Reaksiyon yaklaşık 50 °C'de 12-15 saat veya oda sıcaklığında 1 hafta süreyle gerçekleştirilmektedir. Bu koşullar altında, bir Cannizzaro reaksiyonu da meydana gelebilmekte ve istenen ürünün verimi düşebilmektedir. Bundan kaçınmanın bir yolu olarak, aldehit yerine benziliden-diasetat kullanımı rapor edilmiştir (98).

Baz varlığında kalkon oluşumu, enolat mekanizmasının dehidrasyonu yoluyla aldol ürününden meydana gelirken; asit katalizi durumunda, enol mekanizmasından sentezlenmektedir. Bu kondenzasyon için kullanılan genel baz reaktifler NaOH, KOH ve $Ba(OH)_2$ 'dir. Bu yöntemin ana dezavantajları, yavaş reaksiyon hızı ve yan ürünlerin olasılığıdır (87). Bununla birlikte, Claisen-Schmidt kondenzasyonu, basit prosedür ve diğer geleneksel yöntemlere kıyasla daha fazla verim nedeniyle kalkonların sentezinde en yaygın kullanılan yöntemdir. Sulu baz çözeltisi içinde tri-metoksi asetofenonun floro süstitüentli aldehitlerle Claisen kondenzasyonu kullanılarak yüksek verime (% 80-90) sahip bir dizi floro süstitüentli kalkon rapor edilmiştir (90).

Genel olarak, Claisen-Schmidt kondenzasyon reaksiyonu sıvı fazda gerçekleştirilir, ancak bazı durumlarda katı fazda kondenzasyonlar da gerçekleştirilmektedir. Bu katı faz kondenzasyon reaksiyonunda, başlangıçta asetofenon türevi reçineye bağlanmış ve daha sonra benzaldehitlerin türevleri ile muamele edilmiştir. Son olarak, kalkonlar, trifloroasetik asit ile muamele edilerek reçineden arındırılmıştır. Katı faz Claisen-Schmidt yoğunlaşmaları

için en iyi reçineler, 4-vinil piridin stiren ve 2-klorotrietilklorür çapraz bağlayan Co (II) kompleksidir. Bu reçine aracılı reaksiyonlarda herhangi bir yan ürün oluşmadığı bildirilmiştir (90).

Baz aracılı Claisen-Schmidt kondenzasyonu kalkonların sentezi için başarıyla gerçekleştirilmesine rağmen, Bronsted asitleri ve Lewis asitleri de asit katalizör olarak kullanılmıştır. Asitle katalize edilen Claisen-Schmidt kondenzasyon reaksiyonu etanolde HCl ile gerçekleştirilmiş, ancak verimler çok zayıf (% 10-40) elde edilmiştir. Ayrıca kalkonlar, baron triflorür-dietileter ($\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$) katalizörlüğünde 3 saatten daha kısa reaksiyon süresinde % 75-95'lik kayda değer verimle sentezlenmiştir (90).

Öğütme Yöntemi

Öğütme yöntemi solventsizdir, çok basittir, çevreye zarar vermez ve kantitatif verimle reaksiyon kısa sürede gerçekleşmektedir. Kalkonların oda sıcaklığında sentezi için çevre dostu bir yaklaşımdır. Bu yöntemde, çeşitli kalkonlar, uygun metil ketonlar, aldehytler ve sodyum hidroksit karışımının havan eli ile açık bir havanda öğütülmesiyle sentezlenir (99). Reaktanların öğütülmesi yoluyla azakalkonların kolay ve çözücü içermeyen sentezi bildirilmiştir (100). Başka bir çalışmada ise, öğütme yöntemi uygulanarak iyi verime sahip (% 60-88) diazotizasyon ve diazocoupling yoluyla yeni bir biskalkon serisi sentezlenmiştir (90, 101).

Mikrodalga Tekniği

Mikrodalga katı faz yöntemi artık organik sentezde iyi bilinen bir tekniktir. Bu yöntem diğer geleneksel yöntemlere göre daha fazla avantaj sağlamaktadır. Bu yöntem reaksiyon süresini, yan ürünleri, çözücülerin buharlaşmasını azaltır ve en önemlisi daha yüksek verimle sonuçlanır (102). Asetofenonların aldehytlerle çözücüsüz, moleküler iyot emdirilmiş alümina katalizli mikrodalga ışınlama reaksiyonu rapor edilmiştir. Nötr alümina, katalitik yüzey görevi görür ve moleküler iyot, hidroksi aril keton ile nükleofilik katım sağlanabilmesi için aldehytlerin karbonil grubunu aktive etmek amacıyla Lewis asidi görevi görür (90). Aynı şekilde Ashok ve arkadaşları, gelişmiş ürünlerle çözücüsüz mikrodalga yöntemi altında toz KOH kullanarak yeni bir karbazol bazlı kalkon sınıfı sentezlemiştir (90, 103). 2-hidroksikalkonları sentezlemek için 2'-hidroksiasetofenon, benzaldehit ve havayla kurutulmuş susuz potasyum karbonat (K_2CO_3) karışımı 3-5 dakika mikrodalga ışınlarına tabi tutulduğunda; yüksek verim yüzdesi (% 80-90) ile berrak ve katı ürün elde edilmiştir (104).

Ultrason Tekniği

Ultrason ışınlaması, kısa reaksiyon süresine ve yüksek reaksiyon verimi yüzdesine sahip olduğu için mikrodalga ışınlama tekniği gibi faydalı bir yöntemdir. Bu tekniğin esası, kimyasal reaksiyonların gerçekteştiği küvette titreşimin artışıyla ilişkili olabilecek ultrasonik dalgalar tarafından katalitik bölgelerin etkinleştirilmesidir. Kalkonların sentezi ayrıca K_2CO_3 , bazik Al_2O_3 , $Ba(OH)_2$, $KF-Al_2O_3$ gibi heterojen katalizörler kullanılarak ultrason ışınlama yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Katalizör olarak K_2CO_3 varlığında yüksek verimle ultrasonik yöntemle kalkon sentezi rapor edilmiştir. Benzer şekilde, ultrasonik ışınlama tekniği altında asidik kil (KSF) kullanılarak yüksek verime sahip (% 80-96) kalkonların çözücüsüz sentezi bildirilmiştir (90, 105).

Coupling Reaksiyonları

Çeşitli süstitüentlere sahip yeni bir kalkon sınıfının sentez edilmesinde, geleneksel yöntemlerin kullanılması bazen istenmeyen ürünlere ve zorlu kromatografik ayırmaya neden olmaktadır. Bu nedenle, Suzuki-Miyaura reaksiyonu, Heck reaksiyonu, Julia-Kocienski olefinasyonu, Witting reaksiyonu ve Friedel-Crafts açılması gibi cross-coupling yöntemleri kalkonlar gibi farmasötik moleküllerin sentezinde kullanılmıştır ve reaksiyonlar şematik olarak Şekil 5'te gösterilmiştir (90).

Suzuki-Miyaura Reaksiyonu

Suzuki reaksiyonu ilk olarak Akira Suzuki tarafından 1979 yılında tanımlanmıştır ve daha sonra kalkonların sentezi için uygulanmıştır (90). Bu reaksiyonda benzoil klorürler ve fenilvinilboronik asit, kalkonları sentez etmek için reaksiyona katılmaktadır (104). Suzuki-Miyaura reaksiyonu, bir metal katalizli cross-coupling reaksiyonudur ve C-C bağı oluşumu yoluyla kalkonlar sentezlenir. Argon atmosferinde paladyum-tetrakis(trifenil)fosfin ($Pd(PPh_3)_4$), sezyum karbonat (CS_2CO_3) ve susuz toluen altında sinamoil klorürün çeşitli aril boronik asitlerle bağlanması üzerine bir dizi kalkon sentezlenmiş ancak verimler orta düzeyde bulunmuştur. Aynı reaksiyon koşulunda, çeşitli benzoil klorürler ile stirilboronik asit kullanıldığında reaksiyon yüksek verimle sonuçlanmıştır (90).

Friedel-Crafts Açılması

Claisen-Schmidt reaksiyonuna ek olarak kalkonlar ayrıca bir fenolün doğrudan Friedel-Crafts açılması ile sentezlenebilmektedir (104). Aromatik eterlerin, güçlü Lewis asidi katalizörü $AlCl_3$ varlığında sinamoil klorür ile açılması kalkonları vermektedir.

Yüksek oranda süstitüentlenmiş kalkonlar bu teknik kullanılarak hazırlanmıştır ancak çok az kullanılan bir yöntemdir (90). Bu reaksiyonda fenol, A-halkasına dönüşürken, açılme ajanı, C₆-C₃-C₆ birimini oluşturmak için hem B-halka karbonlarını hem de üçlü karbon köprüsünü oluşturmaktadır (104).

Julia-Kocienski Olefinasyonu

Julia-Kocienski olefinasyonu, kalkonların ve flavanonların sentezi için yenilikçi bir uygulama olarak rapor edilmiştir (104). 2-(benzo[d] tiyazol-2-ilsülfonil)-1-feniletanon reaktifi varlığında ve aromatik aldehytlerin bazik ortamda reaksiyonu sonucunda yüksek verimle bir dizi kalkon sentezlenmiştir (106).

Witting Reaksiyonu

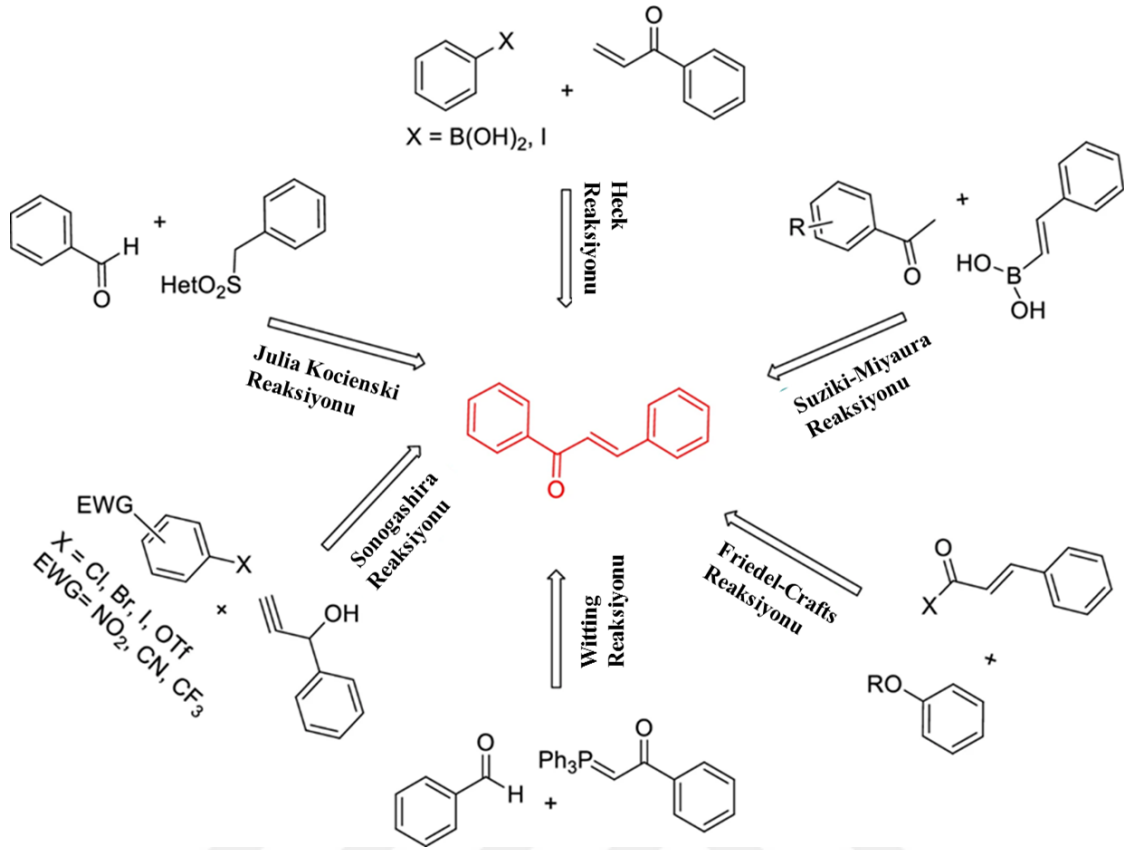
Kalkonlar ayrıca, kalkonların α , β -doymamış karbonil türevleri olarak temel işlevi göz önünde bulundurulması ile Witting olefinasyonu yoluyla sentezlenmektedir. Kalkonlar, tetrahidrofuran (THF), trifenilbenzoilmeten fosforan ve benzaldehitte 30 saatte geri akışta veya benzende 3 günde geri akışta orta dereceli verimlerle elde edilmiştir (90).

Heck Reaksiyonu

Metal katalizli Heck reaksiyonları, aril boronik asitlerin ve aril vinil ketonların C-C bağ oluşumu üzerinde birleştirilmesi yoluyla kalkonların sentezi için kullanılan etkili bir yöntemdir (90).

Sonogashira Reaksiyonu

Sonogashira reaksiyonu, 16-24 saat boyunca inert gaz koşulları altında, kaynayan bir trimetilamin ve THF karışımında paladyum katalizörü varlığında terminal alkinlerin aril halojenürlerle birleştirilmesi esasına dayanmaktadır (90).



Şekil 5. Kalkonların sentezi için kullanılan çeşitli çapraz bağlanma reaksiyonları (Rammohan'dan, 90)

2.2.3. Kalkonların Biyolojik Aktiviteleri

Kalkon ve türevleri gibi heterosiklik bileşikler, terapötik potansiyel ve farmakolojik özelliklerinin geniş spektrumu nedeniyle 21. yüzyılda tıbbi kimyada çok önemli ve ilgi çekici olmuştur (90). Bu bileşikler, birçok hayati terapötik maddenin geliştirilmesinde anahtar olarak rol oynamaktadır. Çok çeşitli fizikokimyasal ve farmakolojik aktivitenin varlığının yanı sıra yaşam sürdürme süreçlerine katkılarından dolayı olağanüstü ilgi görmüştür. Kalkonlardan türetilen değerli sentetik analoglara sahip çok sayıda bileşik gelişmiş terapötik özellikler sunmaktadır. Bu bileşiklerin yapısal modifikasyonlarıyla potansiyel kemoterapötik ve farmakoterapötik ajanlar olduğu kanıtlanmıştır (87). Kalkon türevleri; antikanser, antibakteriyel, antikonvülsan, antiHIV, antihiperglisemik, antiinflamatuvar, antimalaryal, antileishmanial, antimikrobiyal, antioksidan, antiprotozoal, antitüberküloz, antiviral, antifungal, antiülseratif dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktiviteler sergilemektedir (90).

2.2.3.1. Antikanser Aktivite

Sentetik ve doğal kaynaklı bazı kalkonlar, süperoksit üretimini ve lipid peroksidasyonunu inhibe ederek antioksidan etki ile birlikte tümör hücrelerine karşı aktivite göstermektedir (90). Tanımlanmış antitümör ajanlar arasında kalkonlar, kanser kemoterapisinde yararlı olan önemli küçük molekül yapılı bir sınıfı temsil etmektedir. Son raporlar, bazı kalkonların antiproliferatif ve tümör azaltıcı aktivitelerine odaklanmıştır. Diyet olarak doğal kaynaklardan flavonoidlerin ve kalkonların alımının güvenli olduğu ve bu molekül sınıfının alınmasında herhangi bir olumsuz etki gözlemlenmediği bildirilmiştir (107).

Bazı hidroksikalkonların (Bileşik **1 (B1)** ve **B2**) mitokondriyal glutatyon (GSH) ve adenosin trifosfat (ATP) tükenmesini indükleyerek hücre hattına sitotoksikite gösterdiği ve melanom hücrelerinde apoptoz yoluyla hücre ölümünü etkilediği rapor edilmiştir (108). Yapılarında α -bromoakriloil parçası ve kalkon çerçevesinin α , β -doymamış keton sistemine karşılık gelen bir çift Michael alıcısı içeren yeni bir α -bromoakriloilamido kalkon serisi sentezlenmiş ve **B3** nolu bileşiğin murin lösemi hücre dizilerine karşı $0.24 \pm 0.05 \mu\text{M}$ 'lik bir IC_{50} değeri ile yüksek antiproliferatif aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (107, 109).

Tümör nekroz faktörü (TNF) ile ilişkili apoptozu indükleyen ligand (TRAIL); kanser hücrelerinde apoptozu indükleyen ve normal hücreler için toksik olmayan, doğal olarak oluşan bir antikanser ajandır. TRAIL, ölüm reseptörü TRAIL-R1 ve / veya TRAIL-R2 ile etkileşimi yoluyla çeşitli kanser hücrelerinde ölümü indükler (107). Bazı araştırmalarla kalkonlar (likokalkon-A (**B4**), izobavakalkon (**B5**), ksantohumol (**B6**), butein (**B7**) vb.) ve dihidrokalkonların (2'6'-dihidroksi-4'-metoksidihidrokalkon (**B8**), 2'6'-dihidroksi-4,4'-dimetoksidihidrokalkon (**B9**), 4,2',4',6'-tetrahidroksidihidrokalkon (**B10**), prostat kanseri hücrelerinde TRAIL aracılı apoptoz ve sitotoksikiteyi önemli ölçüde artırdığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, kalkonların ve dihidrokalkonların, kanser hücrelerinin TRAIL indüklü programlanmış hücre ölümüne duyarlı hale getirilmesi yoluyla prostat kanserinin kemoprevensiyonunda önemli rol alabileceğini doğrulamıştır (110).

Bifenil bazlı bir dizi kalkon (**B11**, **B12**) insan meme kanseri hücre hatlarına karşı sitotoksikite için değerlendirilmiş ve bu kalkonların standart ilaç tamoksifenden daha iyi antikanser ajanlar olduğu belirlenmiştir (107, 111).

Millettia pachycarpa bitkisinden izole edilen millepachine (**B13**) adında bir antikanser kalkon izole edilmiştir. *Glycyrrhiza inflata*'den izole edilen likokalkon- A (**B4**),

L1210 lösemi ve B16 melanoma hücrelerine karşı toksisite sergileyen başka bir antikanser kalkondur. Butein (**7**); *in vitro* olarak göğüs kanseri, kolon karsinomu, osteosarkom ve hepatik yıldız hücreleri dahil olmak üzere birçok insan kanserini baskılayabilen başka bir doğal kalkondur (90, 112).

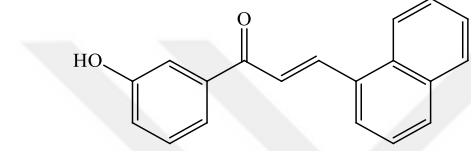
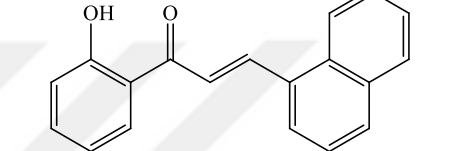
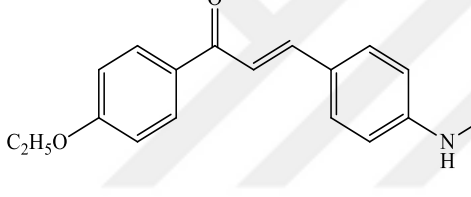
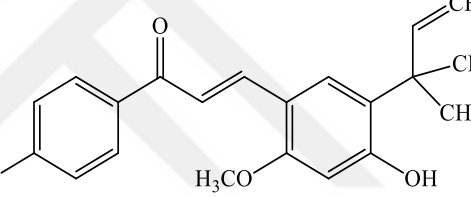
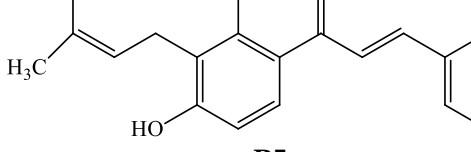
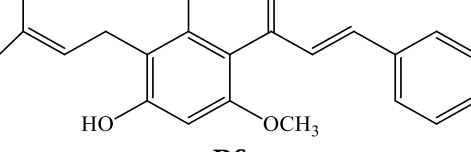
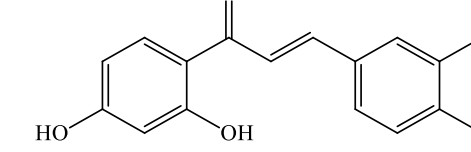
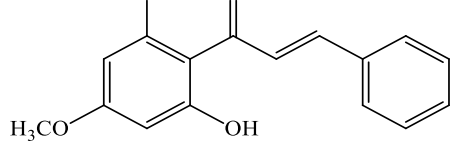
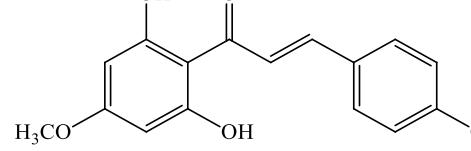
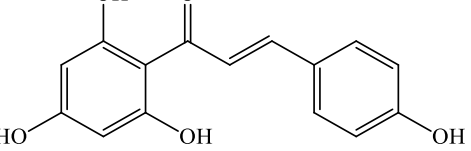
Ksanthohumol'un (XN, **B6**), prostat hiperplazisi ve prostat karsinogenesinde ve proliferasyonun azalmasında potansiyel kemopreventif bir ajan olarak yararlı olabileceği gösterilmiştir (24, 48 ve 72 saat için 26 ve 12 μ M arasında IC₅₀ değerleri ile). Hayvan toksisite çalışmaları, XN'nin insanlara zararlı olmadığına dair kanıt sağlamıştır (107). *Helichrysum maracandicum*'dan izole edilen antikarsinojenik kalkonlar olan naringenin (**B14**) ve glukozid izosalipurozit (**B15**), *in vitro* bir deneyde Sencar faresinin kültürlenmiş hücrelerine karşı güçlü antiproliferatif aktivite göstermiş ve p38 mitojenle aktive edilmiş protein kinaz ekspresyonunu baskılamıştır (107).

Bir dizi boronik kalkon antikanser aktiviteleri ve etki mekanizmaları açısından değerlendirilmiş; test edilen sekiz kalkon türevi arasında 3,5-bis-(4-boronik asit-benziliden)-1-metil-piperidin-4-on (**B16**); sırasıyla 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) deneyi ve koloni oluşturma deneyinde, 1.5 ve 0.6 μ M IC₅₀ değerleri ile en güçlü sitotoksik aktivite sergilemiştir. Bu boronik kalkon bileşiğinin sitotoksik aktivitesinin, p53 ve p21 proteinlerinin birikimi ve apoptoz indüksiyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. *Syzygium samarangense* (Blume) Merr ve LM Perry'nin meyvelerinden ve tohumlarından izole edilen C-metilenmiş üç bileşik; bileşik **B17**, stercurensin (**B18**) ve cardamonin (**B19**), SW-480 insan kolon kanseri hücre hattına karşı sitotoksik aktivite (sırasıyla IC₅₀ = 10 μ M, 35 μ M ve 35 μ M) göstermiştir (107, 113).

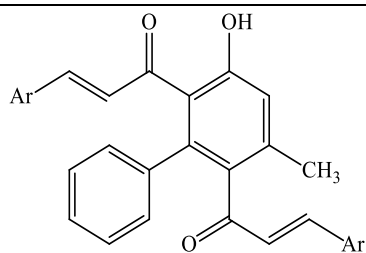
Heterosiklik kalkonların Mannich bazları sentezlenmiş ve bu serideki en aktif bileşiğin (**B20**) MCF-7 hücre hattına karşı 0.03 μ g/mL IC₅₀ değeri ile etkili olduğu bulunmuştur (Reddy ve ark., 2008). Ayrıca antimitotik ajan olan combrestatinin aril ve aroil süstitüentli kalkon analogları sentezlenmiş ve bunların tübülün polimerizasyonuna müdahale etme yetenekleri incelenmiştir. Bu bileşiklerden sadece **B21**, tübülün polimerizasyonunu (2.0 μ M) benzer şekilde 2.5 μ M'lik düşük konsantrasyonda inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bu bileşiğin, endotel hücre şeklini ve hücreler arası adhezyonu düzenlemekten sorumlu mikrotübüllere müdahale eden seçici bir vasküler bozucu ajan olduğu ileri sürülmüştür (107).

Angelica keiskei'den izole edilen bir başka kalkon bileşiği olan izobavakalkonun (**B5**) nöroblastoma hücre hatları IMR-32 ve NB-39'a karşı sitotoksikite sergilediği ve yüksek konsantrasyonda (4-10 M) maruziyette bile normal hücreler üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Bu sonuçlar, izobavakalkonun nöroblastomda mitokondriyal yolla apoptozu indüklediğini ve nöroblastomun tedavisi için etkili ve güvenli bir ilaç olarak uygulanabileceğini göstermiştir (107, 114). Antikanser aktivite gösteren bileşiklerin kimyasal formülleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

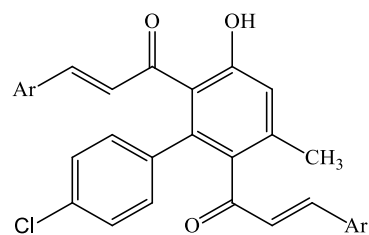
Tablo 3. Antikanser aktivite gösteren bileşikler

 B1	 B2
 B3	 B4
 B5	 B6
 B7	 B8
 B9	 B10

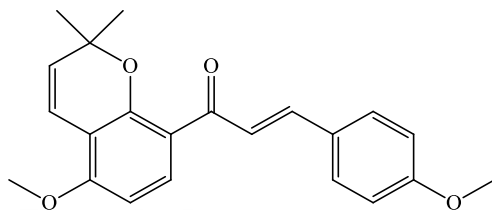
Tablo 3. (Devam)



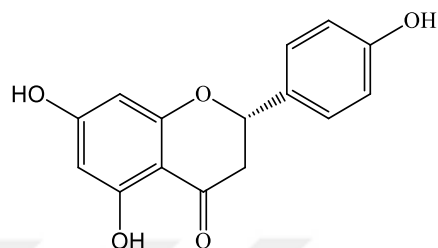
B11: Ar=3,4-Dimetoksifenil



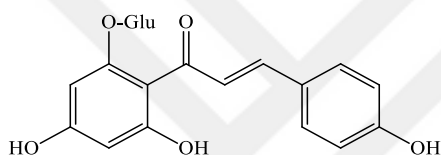
B12: Ar=2-Naftil



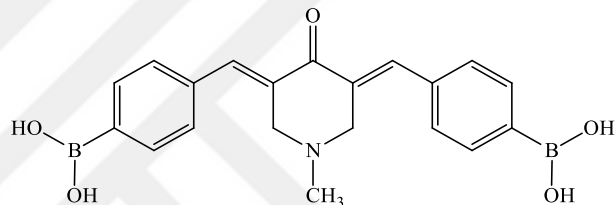
B13



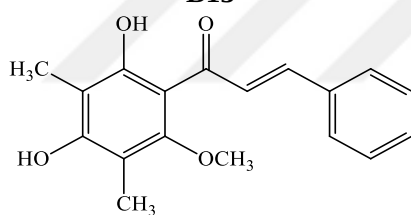
B14



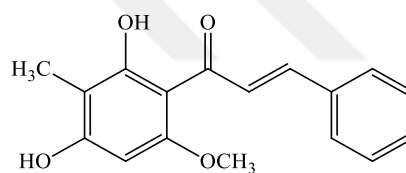
B15



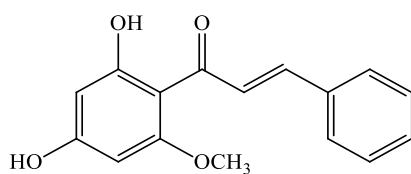
B16



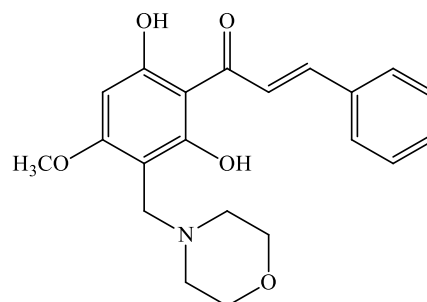
B17



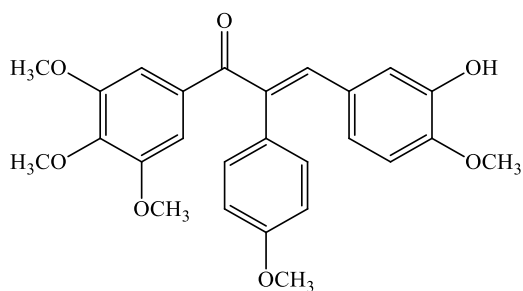
B18



B19



B20



B21

2.2.3.2. Antienflamatuar Aktivite

Enflamasyon, zararlı uyarılara karşı karmaşık bir biyolojik tepkidir ve birçok patofizyolojik durumla ilişkilidir. Enflamatuar uyarılara yanıt olarak makrofajlar, kısa ömürlü serbest radikal nitrik oksit (NO) dahil olmak üzere çeşitli pro-enflamatuar moleküller salgılar. Bir dizi kalkon türevi olası antienflamatuar etkiler için araştırılmıştır. Dimetilamino-kalkon türevi olan bileşik **B22**'nin, uyarılmış insan nötrofilleri tarafından veya hipoksantin / ksantin oksidaz sistemi (HX / XO) tarafından üretilen süperoksit anyonunu önemli ölçüde giderici etkisinin olduğu bulunmuştur. Ayrıca, dimetilamino-kalkonların bir *in vitro* çalışmasında; lipopolisakkarit ile uyarılan RAW 264.7 makrofaj hücrelerince üretilen NO ve prostaglandin E2 (PGE2) medyatörlerinin üretimi üzerindeki inhibitör aktiviteleri araştırılmış ve iki dimetilamino-kalkon türevi bileşik **B23** ve **B24**'ün sırasıyla 0.6 ve 0.7 μM IC_{50} değerleri ile NO üretiminin konsantrasyona bağlı inhibisyonuna neden olduğu tespit edilmiştir (107).

Florlu 3,4-dihidroksikalkonlar, yeni 5-lipoksijenaz (5-LOX) inhibitörleri olarak tasarlanmış, sentezlenmiş ve antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir. *In vitro* deneyler sonucunda test ortamında en etkili bileşiğin **B25** nolu bileşik olduğu belirlenmiştir (115). Sentetik bir kalkon olan bileşik **B26**'nın, aspirine (% 66) kıyasla % 63 etki göstererek hidroperoksit oluşumunun güçlü bir inhibitörü olduğu bulunmuştur (116). Bir dizi karboksilatlı, heteroaril süstitüe kalkon türevi sentezlenmiş ve vasküler hücre adhezyon molekülü-1 ekspresyonu üzerine etkileri araştırılmış, bileşik **B27**'nin güçlü inhibitör etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin insan astımı ve diğer enflamatuar bozukluklar için terapötik değere sahip olabileceği umudu doğmuştur (117). Sentezlenmiş bir 2',4',6'-Tris (metoksimetoksi) kalkon türevi olan olan bileşik **B28**, sıçan hepatik hücrelerinde ve murin makrofajlarında güçlü antiproliferatif ve antienflamatuar etkiler sergilemiştir (118). C-1 fenil halkasının para-pozisyonunda bir p-MeSO₂NH veya p-N3, siklooksijenaz-2 (COX-2) farmakoforuna sahip bir dizi kalkon sentezlenmiş ve bunlardan bileşik **B29**'un, referans ilaç rofecoxib'den ($\text{IC}_{50} = 0.50 \mu\text{M}$) daha aktif olarak seçici bir COX-2 inhibitörü ($\text{IC}_{50} = 0.3 \mu\text{M}$) olduğu tespit edilmiştir (107, 119).

2,4,6-Trimetoksiasetofenondan türetilen bazı sentetik kalkonlar, bakteriyel lipopolisakkaridler (LPS) tarafından indüklenen RAW 264.7 hattının murin makrofajlarında NO üretimi ile ilişkili olarak *in vitro* inhibitör etkileri açısından değerlendirilmiş ve bileşik **B30**'un, indüklenmiş nitrik oksit sentazın oldukça seçici bir inhibitörü olan pozitif kontrol

ilaçtan daha düşük IC₅₀ değerine sahip olduğu ve enflamatuar sürecin daha aktif inhibitörü olduğu ortaya çıkarılmıştır (107, 120).

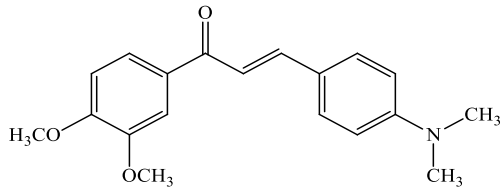
Bir dizi 3',4',5'-trimetoksikalkon analogları sentezlenip makrofajlarda NO üretimi üzerindeki ve tümör hücresi proliferasyonunda inhibitör etkileri araştırıldığında; bileşik **B31**'in, 0.3 µM IC₅₀ değeriyle NO üretiminde en güçlü inhibitör ajan olduğu bulunmuştur (121). Başka bir çalışmada bileşik **B32**, güçlü bir interleukin 5 inhibitörü olarak tanımlanmıştır (50 µM'de % 99.5 inhibisyon, IC₅₀ = 1.8 µM). Ayrıca, A halkasının 6-pozisyonundaki benziloksi veya sikloheksilmetoksi gibi hidrofobik grubun aktivite için gerekli olduğu ve B halkasının 4-pozisyonunda hidrojen alıcı özelliği olan elektron çekici grupların aktiviteyi artırdığı bildirilmiştir (107, 122).

Bazı yeni mono- ve di-O-prenile kalkon türevleri 5-lipoksijenaz (5-LOX) moleküler modeli temelinde tasarlanmış ve 5-LOX inhibitör aktiviteleri için test edilmiştir. Bileşik **B33**'un, 4 uM IC₅₀ değeri ile iyi inhibisyon sergilediği bulunmuştur (89). Yeni süstitüe edilmiş biskumarin-kalkon hibritleri sentezlenmiş; sentezlenen bileşikler arasında **B34** nolu bileşiğin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olmasının yanı sıra aktif antienflamatuar ajan olduğu bulunmuştur. Burada bileşiğin antienflamatuar özelliğinin kısmen radikal süpürme aktivitesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür (107, 123).

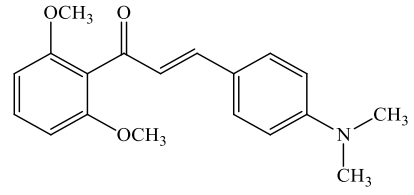
Naringenin-kalkon, bir pro-enflamatuar ajan olan sitokinlerin üretimini inhibe ederek antienflamatuar aktivite sergileyen iyi bilinen doğal bir bileşiktir. Nepal propolisinden izole edilen isoliquiritigenin ve *Rhus verniciflua*'dan izole edilen butein, lipopolisakkarit ile indüklenen iNOS ve COX-2 ekspresyonunu inhibe ederek güçlü anti-inflamatuar aktivite gösteren önemli doğal kalkonlardır. Sentetik bir heterokalkonun, antienflamatuar hastalıkların tedavisi için kullanılan güçlü bir sitokin inhibitörü olduğu bildirilmiştir (90). İndirgenmiş bir kalkon, murin makrofaj benzeri hücre hatlarında LPS ve INF-γ tarafından indüklenen NO üretimini inhibe etmesi ile bir antiinflamatuar ajan olarak tanımlanmıştır (124).

Antienflamatuar aktivite gösteren bileşiklerin kimyasal formülleri Tablo 4'te gösterilmiştir.

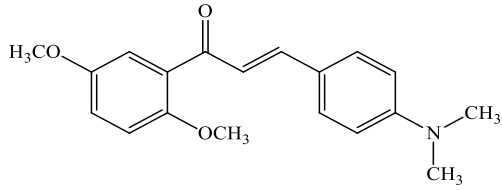
Tablo 4. Antienflamatuar aktivite gösteren bileşikler



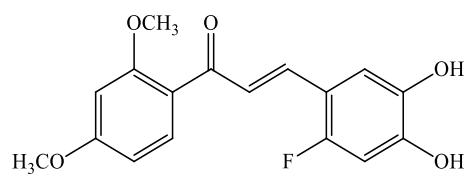
B22



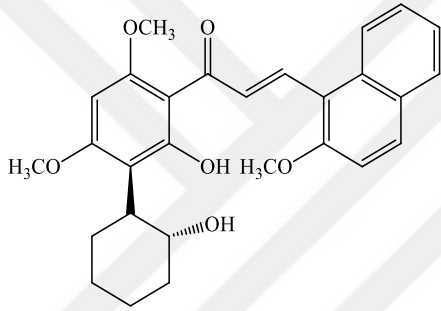
B23



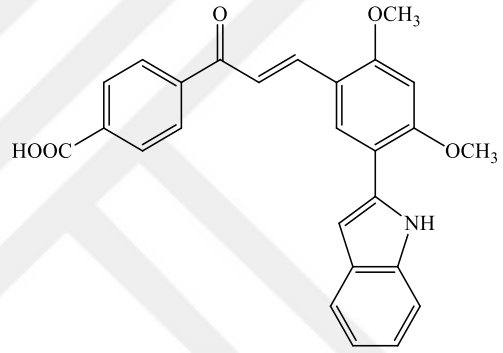
B24



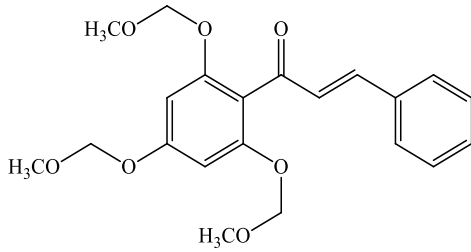
B25



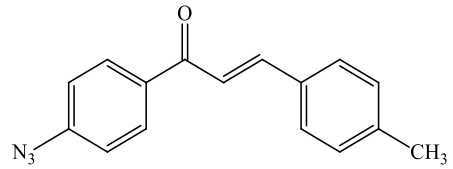
B26



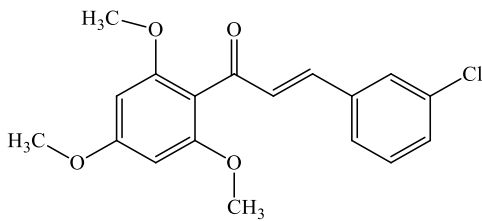
B27



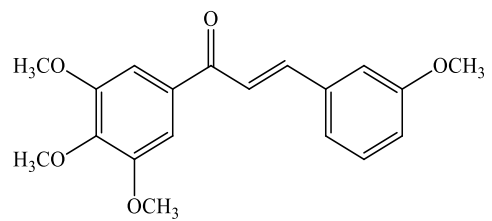
B28



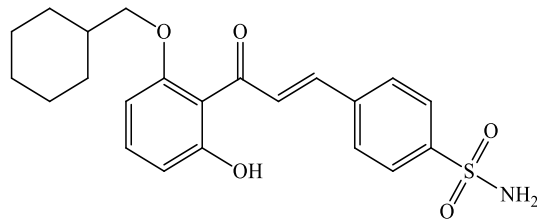
B29



B30

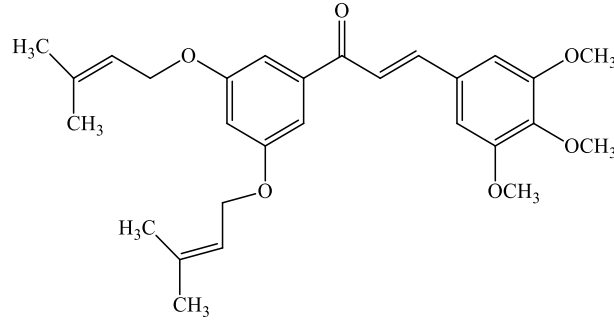


B31

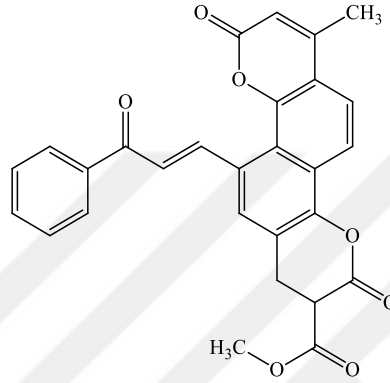


B32

Tablo 4. (Devam)



B33

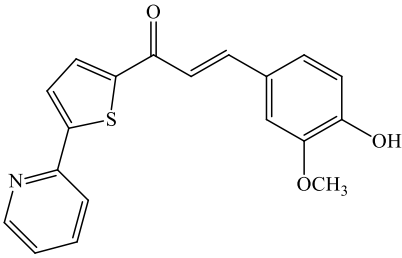
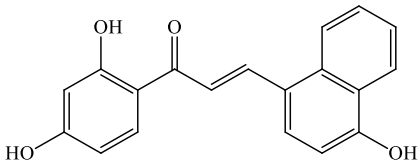
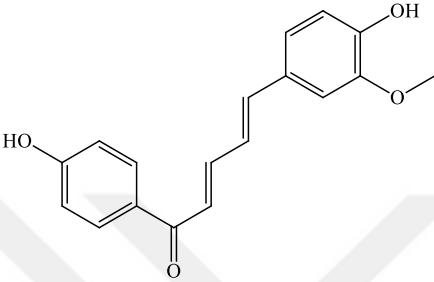
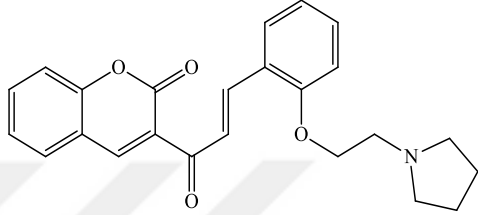


B34

2.2.3.3. Nöroprotektif Aktivite

Alzheimer hastalığı, beta amiloid peptidin birikiminden kaynaklanan nörodejeneratif bir hastalıktır ve dünya çapında birçok insanın karşılaştığı en ilerleyici metabolik bozukluktur. Asetilkolinesterazlar (AChE), butirilkolinesterazlar (BChE) ve memantin inhibitörleri, nörodejeneratif bozukluğu tedavi etmek için kullanılan mevcut terapötik yaklaşımlardır. Sentezlenmiş olan tienilkalkon (**B35**) bileşiğinin transglutaminazın güçlü inhibitörü olarak etki gösterdiği ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi veya tedavisi için faydalı olabileceği ortaya konulmuştur (90). Bazı nitro-süstitüe edilmiş kalkonlar, katekol-O-metiltransferaz enzim inhibitör aktiviteleri sergilemiş ve Parkinson gibi nörodejeneratif bozuklukların kontrol edilmesinde faydalı olmuştur (125). Ayrıca sentetik kalkonlar (**B36**, **B37**), Alzheimer ile ilgili bozuklukların tedavisinde faydalı olabilecek μ -calpain ve katepsin B'ye karşı güçlü inhibisyon göstermiştir. Başka bir çalışmada, güçlü bir AChE inhibitörü olarak bir kumarin kalkon hibriti (**B38**) sentezlenmiş ve nörojenaratif bozukluğun tedavisinde faydalı olabileceği bildirilmiştir (90). Nöroprotektif aktivite gösteren bileşiklerin kimyasal formülleri Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Nöroprotektif aktivite gösteren bileşikler

	
B35	B36
	
B37	B38

2.2.3.4. Antioksidan Aktivite

Metabolik süreç sırasında insan vücudunda üretilen çok sayıda serbest radikal, oksidasyon yoluyla DNA, proteinler ve lipidler gibi biyomoleküllere zarar verebilmektedir; bu da kanserler, inflamatuvar olmayan tümörler, sindirim ülserleri, romatoid artrit ve yaşlanma gibi oksidatif hasara bağlı çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir (90). Bu nedenle, biyolojik sistemlerden serbest radikallerin uzaklaştırılması, hücre sürdürülebilirliği için hayati önem taşımaktadır. Antioksidanlar, serbest radikal temizleyiciler olarak bilinir ve serbest radikal türlerini yakalama eğilimindedirler ve zincir reaksiyonlarında oksitlenebilir substratların oksidasyonunu spesifik olarak inhibe ederler veya geciktirirler (87).

Birkaç kalkon türevi sentezlenmiş ve hidrojen peroksit süpürme, indirgeme gücü, DPPH radikal süpürme ve süperoksit radikal süpürme olmak üzere dört yöntem ile antioksidan aktivite değerlendirilmiştir. A halkasında bir -OH parçası grubuna ve B halkasının para pozisyonunda -SCH₃ ve -OCH₃ gruplarına sahip bileşiklerin güçlü antioksidan aktivite gösterdiği ve A ve B halkalarının meta konumunda hidroksil ve metoksi gruplarına sahip olan bileşiğin de güçlü bir antioksidan olduğu bulunmuştur (87). Başka bir çalışmada biyolojik sistemden zayıf biyoyararlanım ve hızlı eliminasyon sınırlamalarının üstesinden gelmek için florlu kalkonlar sentezlenmiş ve süperoksit dismutaz (SOD) süpürme deneyi kullanılarak antioksidan etki araştırılmıştır. Sentezlenen tüm bileşikler iyi

antioksidan aktivite sergilemiş, B halkasında iki flor atomu ve A halkasında bir hidroksil grubu bulunan bileşik **B39**, en yüksek antioksidan aktivite göstermiştir (87, 126).

Glycyrrhiza uralensis'ten (Leguminosae) izole edilen bir kalkonun (**B40**) güçlü DPPH radikal süpürücü aktivite sergilediği ve kuzeydoğu Çin'de geleneksel tıpta kullanıldığı bildirilmiştir. Cedredipronon (**B41**), *Cedrelopsis grevei*'nin (Ptaeroxylaceae) tohum ve meyvelerinden izole edilmiş ve güçlü süperoksit süpürücü etki göstermiştir. *Maclura tinctoria* (Moraceae) kabuğundan izole edilen prenile kalkon glikozit (**B42**), farklı antioksidan prensiplerinde radikal süpürme aktivitesi göstermiştir. Başka bir çalışmada allilatlanmış kalkonların allilatlanmamış kalkonlara (**B43-B45**) göre daha iyi bir şekilde serbest radikalleri inhibe ederek antioksidan aktivite sergilediği rapor edilmiştir (90).

Fenil halkalarında izoprenil süstitüentleri bulunan birçok hidroksikalkon, antioksidan potansiyele sahiptir (89). Butein (**B7**), sappankalkon (**B46**) ve okanin (**B47**) gibi 3,4-dihidroksi kalkonlar etkili antioksidan aktivite göstermiştir. Başka bir çalışmada; A halkasında C-2'de bir hidroksil grubu ve B halkasında bir katekol grubunun varlığı antioksidan aktiviteyi artırmış olmasına rağmen, α ve β çift bağının olmamasının etkinliği azalttığı belirtilmiştir (107).

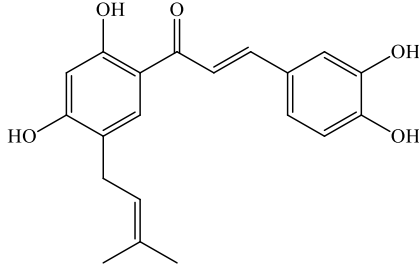
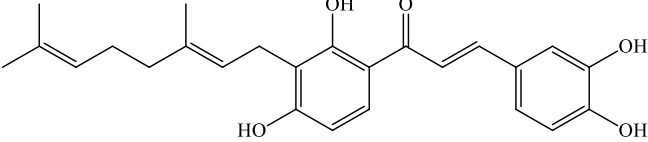
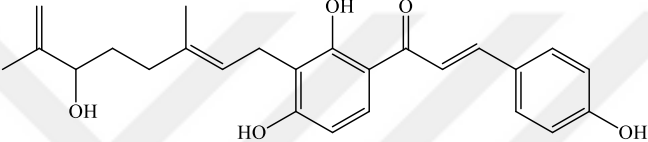
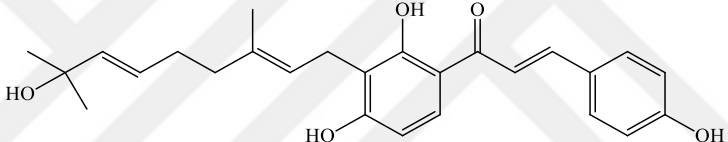
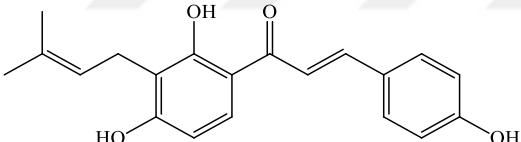
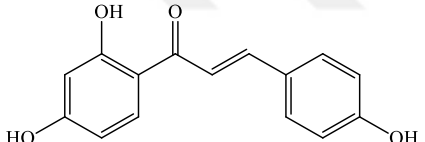
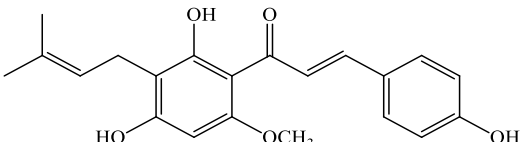
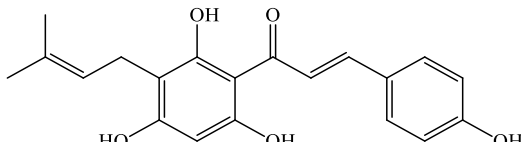
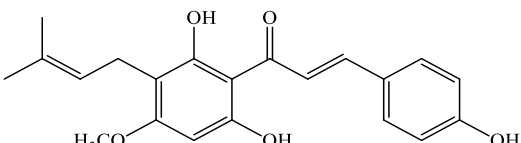
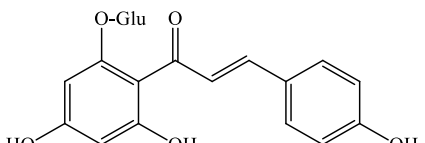
Broussonetia papyrifera Vent'den izole edilen broussokalkon A (**B48**); sıçan beyni homojenatında demir kaynaklı lipid peroksidasyonunu, konsantrasyona bağlı bir şekilde $0.63 \pm 0.03 \mu\text{M}$ IC₅₀ ile inhibe etmiştir. Bu sonuç, broussokalkon A'nın çok yönlü serbest radikal temizleme aktivitesi ile bütillenmiş hidroksil tolüen (BHT) kadar güçlü bir antioksidan olduğunu göstermiştir. DPPH testinde, broussokalkon A'nın radikal temizleme aktivitesi, α -tokoferolden (vitamin E) daha güçlü bulunmuştur. Ayrıca, broussokalkon A'nın, NO üretimini konsantrasyona bağlı olarak baskıladığı belirtilmiştir (107, 127).

Artocarpus nobilis'in meyvelerinden izole edilen 3-hidroksiksanthoangelol (**B49**) α -tokoferolden (IC₅₀ = 13.8 μg / mL) daha güçlü DPPH radikal süpürme aktivitesi (IC₅₀ = 5 μg / mL ile) göstermiştir. *Angelica keiskei*'nin köklerinden izole edilen ksanthoangelol B (**B50**) ve ksanthokeismins A (**B51**), pozitif kontrol resveratrol'den (IC₅₀ = 5.3 μM) daha güçlü süperoksit temizleyici (sırasıyla IC₅₀ = 0.5, 1.1 μM) olarak bulunmuştur (128). Başka bir araştırmada prenile kalkon 3-prenilisoliquiritigenin'in (**B52**), prenile olmayan analog izoliquiritigenin'den (**B53**) daha iyi bir DPPH radikal temizleyicisi olduğu gösterilmiştir (129). Ksantohumol (**6**), desmetilksantohumol (**B54**) ve 4'-metilksantohumol (**B55**), ferulik ve p-kumarik asitlerden daha aktif antioksidan aktivite sergilemişlerdir (130).

Nymphaea caerulea çiçeklerinden izole edilen izosalipurposid'in (**B56**) antioksidan aktivitesi miyelomonositik HL-60 hücrelerinde reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumunun inhibisyonu belirlenerek değerlendirilmiş ve bu bileşiğin C vitamininden ($IC_{50} = 1.95 \mu g / mL$) daha aktif ($IC_{50} = 1.7 \mu g / mL$) olduğu tespit edilmiştir (107, 131). Antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin kimyasal formülleri Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Antioksidan aktivite gösteren bileşikler

Tablo 6. (Devam)

 B48	
 B49	
 B50	
 B51	
 B52	 B53
 B6	 B54
 B55	 B56

2.2.3.5. Antibakteriyel Aktivite

Kalkonların antimikrobiyal aktivitesi birçok araştırma makalesinde bildirilmiştir (87). Klinik olarak gram pozitif bakterilerde hızlı direnç gelişimi, ciddi bir halk sağlığı tehdidini oluşturmaktadır (107). Kalkonların antimikrobiyal aktivitesinin, α , β -doymamış

karbonil fonksiyonu sayesinde olduğuna inanılmaktadır (90). Bu bileşiklerdeki reaktif bir α , β -doymamış keto fonksiyonunun varlığının, temel bir proteindeki bir nükleofilik grup ile konjugasyona uğrayıp antimikrobiyal aktiviteye katkıda bulunduğu belirtilmiştir (87). İzobavakalkon (**B5**) ve bavakalkon (**B57**), *Psoralea corylifolia*'dan izole edilen doğal kaynaklı antibakteriyel ajan olarak bildirilen iki önemli kalkondur (90). Sentetik bir yapı iskeleti olan 3-(karboksialkil) rodanin (**B58**), insan patojenlerine karşı düşük konsantrasyonda (1 μg / mL) güçlü inhibisyon sergileyen ve antibakteriyel olduğu kadar antifungal ajan olarak da bildirilen bir antimikrobiyal kalkondur. Diğer bir kalkon ise (**B59**), ağız enfeksiyonlarının tedavisi için bir antimikrobiyal olarak önerilmektedir (90).

Meyan kökünden izole edilen likokalkon A (**B4**) ve likokalkon C (**B60**) 3.13-12.5 μg / mL arasında değişen minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleriyle özellikle *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*'a karşı güçlü antibakteriyel aktivite göstermiştir. Likokalkon A, metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları (OM481, OM505) üzerine 16 μg / mL MİK değeri ile ve MRSA suşları (K3 ve ST28) üzerine 6.25 μg / mL MİK değeri ile antibakteriyel etki sergilemiştir. Likokalkon A analogları *S. aureus*'a karşı test edildiğinde, A halkasında 4-pozisyonundaki serbest hidroksil grubunun antibakteriyel aktivite için gerekli olduğu anlaşılmıştır. Lipofilik prenil grubu çıkarıldığında, toplam aktivitede bir azalma gözlenmiştir. Prenil grubu bir propil grubu ile değiştirildiğinde ise, orta derecede bir antibakteriyel etki saptanmıştır. Daha uzun heksil grubunun eklenmesi (**B61**), likokalkon A'dan daha güçlü bir antimikrobiyal etki ile sonuçlanmıştır (107, 132).

Bir çalışmada bir dizi nitrofuril kalkon hazırlanmış ve antibakteriyel aktiviteleri için test edilmiştir. Sentezlenen türevler arasında bileşik **B62**, 1 μg / mL konsantrasyonda *S. aureus*'a karşı en etkili bileşik olarak bulunmuştur (87).

Dihidroalkonlar olan asebogenin (**B63**), *S. aureus* ve MRSA'ya karşı sırasıyla 10 ve 4.5 μg / mL IC_{50} değerleri ile inhibitör aktivite göstermiştir (107). Diğer bir çalışmada hidroksi kalkonlardaki temel 4'-hidroksi grubunun daha asidik 4'-hidroksi analogları (örn., 3'-floro veya 3',5'-difluoro) ile değiştirilmesiyle bileşiklerin neredeyse inaktif olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca, katyonik alifatik amino süstitüentlere sahip bir kalkon sınıfı incelenmiş ve B halkasının 2-pozisyonunda bir piperazine sahip olan bileşik **B64**'in, MRSA'ya karşı 2 μM MİK değeri gösterdiği bulunmuştur. Bu bileşiğin ayrıca 5 μM MİK değeri ile *Enterococcus faecium* ve *Escherichia coli*'ye karşı da aktif olduğu tespit edilmiştir (133).

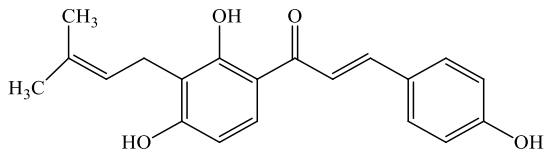
3-[1-Okso-3- (2,4,5-trimetoksifenil) -2-propenil] -2H-1-benzopiran-2-on bileşiği (**B65**) sentezlenmiş ve 1000 ug / mL konsantrasyonda *B. subtilis*, *Bacillus pumilus* ve *E. coli*'ye karşı önemli antimikrobiyal aktivite sergilemiştir. Bir diğer çalışmada 3-aril-1- (2,4-dikloro-5-florofenil)-2-propen-1-on bileşiğinin (**B66**) antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiş ve halojenlerin antimikrobiyal aktivite için gerekli lipofilik özelliklere sahip olduğu sonucuna varılmıştır (87).

İki adet alliloksi kısmı içeren bir dizi kalkon sentezlenmiş ve 2'4'-dialliloksi-6'-metoksi kalkon (**B67**) keşfedilmiştir. Bu bileşiğin 25 µM'dan daha az konsantrasyonda *Trypanosoma cruzi*'ye karşı seçiciliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada B halkası üzerinde bir p-süstitüenti olarak oksazolidinon farmakoforuna (güçlü antibakteriyel) sahip iki sentetik kalkonun (**B68** ve **B69**), antibiyotik direnç suşları da dahil olmak üzere çeşitli *S. aureus* ve *Enterococcus faecalis* suşlarına karşı 32 µg / mL MİK değeri ile antibakteriyel aktivite sergilediği bulunmuştur (107, 134).

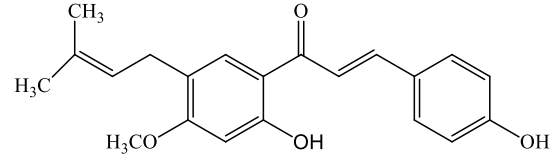
Piperazin ve 2,5-diklorotiyofen heterosiklik çekirdekleri içeren iki dizi bileşik güçlü antimikrobiyal ajanlar olarak sentezlenmiştir. MİK değerleri, değerlendirilen tüm suşlara karşı genellikle 2.22- 100 µg / mL aralığında bulunmuştur. MİK₅₀ değerleri siprofloksasin (MİK₅₀ = 100 µg / mL) ile karşılaştırıldığında, tüm bileşiklerin *S. aureus*'a karşı etkili olduğu bulunmuştur. Bu bileşiklerden **B70** ve **B71**'in *S. aureus*'a ve *E. coli*'ye karşı yüksek aktivite gösterdiği saptanmıştır (107, 135).

2,4-Tiazolidinedion ve benzoik asit grupları taşıyan yeni bir kalkon türevleri serisi sentezlenmiş ve gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu bileşiklerden **B72** ve **B73**'nin, gram pozitif suşlara (*S. aureus* RN 4220 ve *S. aureus* KCTC 503) karşı, pozitif kontrol olarak norfloksasin (MİK = 2 µg / mL) ve oksasilin (MİK = 1 µg / mL) ile karşılaştırıldığında güçlü antibakteriyel aktivite (MİK= 1 ug / mL) gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı bileşiklerin, 64 mg / mL'de gram negatif suşlara (*E. coli* 1356 ve *E. coli* 1682) karşı herhangi bir aktivite sergilemediği bulunmuştur. Bileşik **B72**'nin, MRSA CCARM 3167 ve 3506'ya karşı sırasıyla 1 µg / mL ve 0.5 µg / mL MİK değerleri ile, norfloksasine (MİK = 8 µg / mL ve 4 µg / mL) göre sekiz kat daha fazla ve oksasilinden (MİK> 64 µg / mL) 64 kat daha fazla aktivite potansiyeli gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca sonuçlar, karboksil grubunun gram pozitif suşlara karşı antibakteriyel aktivite için gerekli olduğunu göstermiştir (136). Antimikrobiyal aktivite gösteren bileşiklerin kimyasal formülleri Tablo 7'de gösterilmiştir.

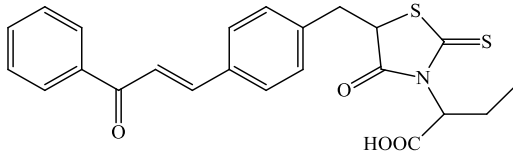
Tablo 7. Antimikrobiyal aktivite gösteren bileşikler



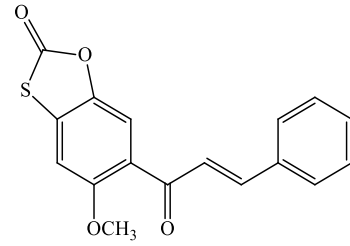
B5



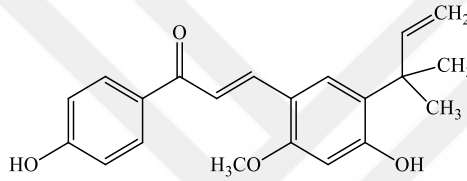
B57



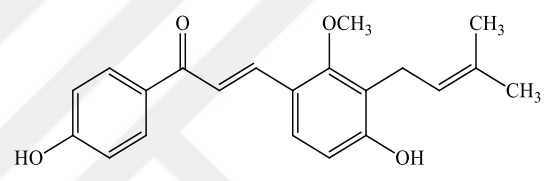
B58



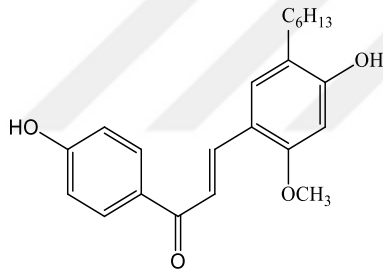
B59



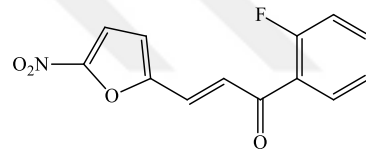
B4



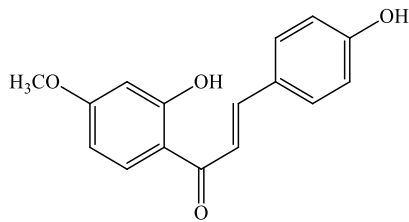
B60



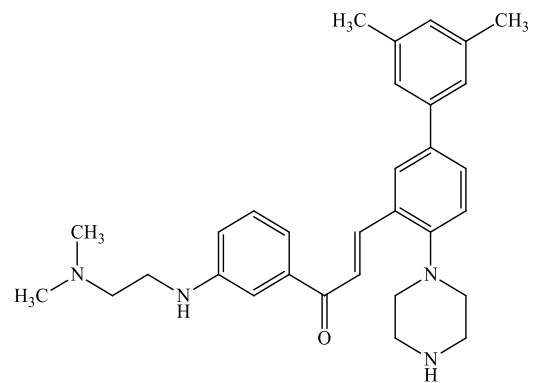
B61



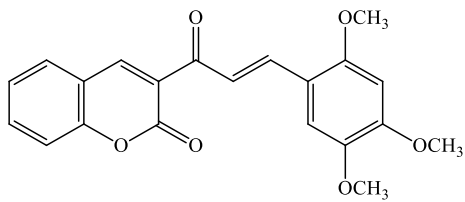
B62



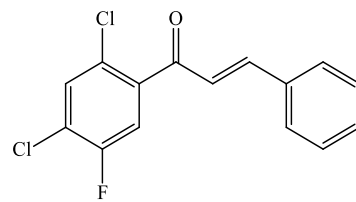
B63



B64

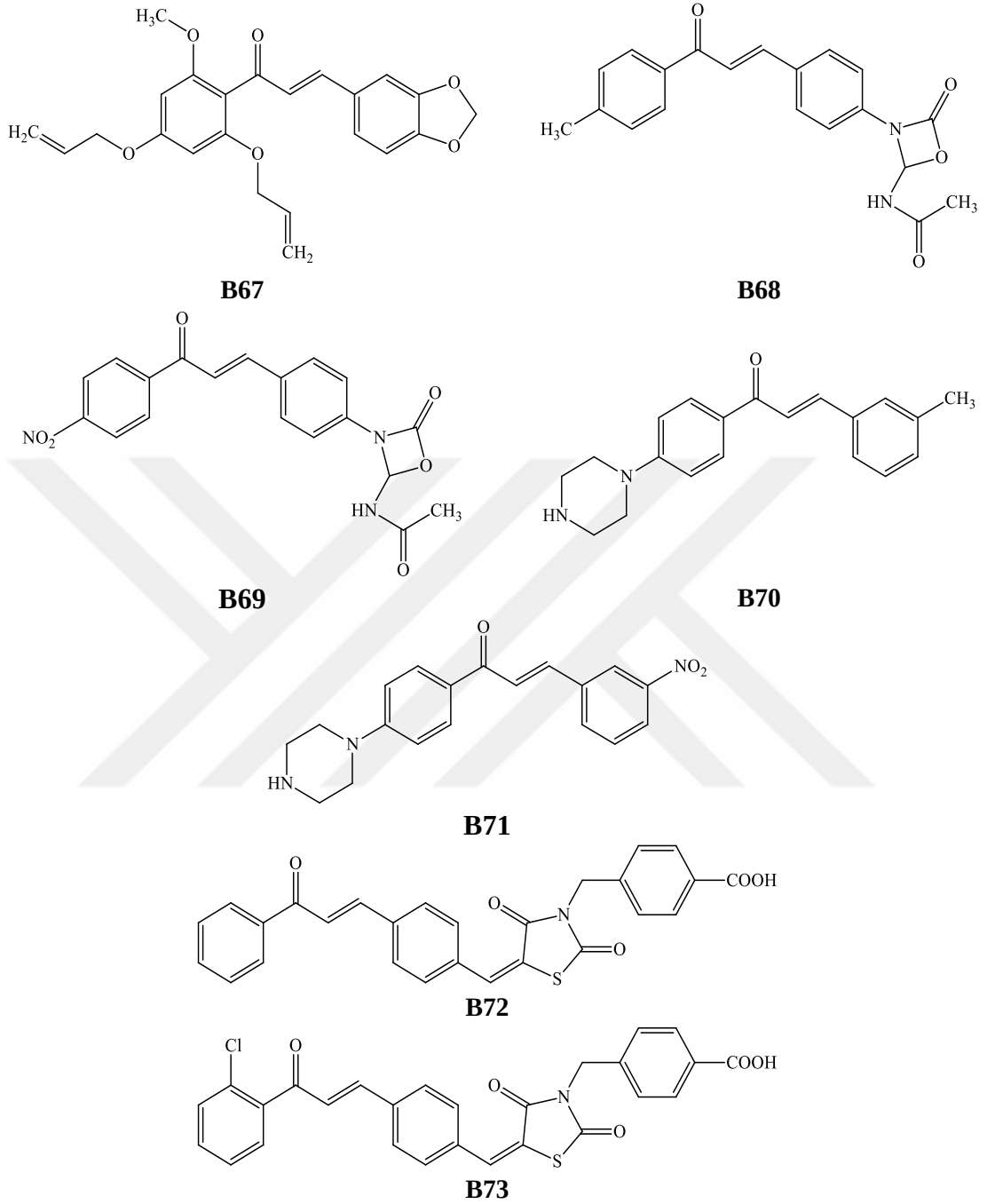


B65



B66

Tablo 7. (Devam)



2.2.3.6. Antifungal Aktivite

Kalkonların, *Candida* türleri de dahil olmak üzere çeşitli mantar ve mayaların büyümesini engellediği gösterilmiştir. Kalkonların antifungal etkisinin, mantar hücre duvarının engellenmesi ile ilgili olduğu bilinmektedir. Antimikrobiyal aktiviteleri ve özellikle antifungal etkileri büyük ölçüde reaktif enon kısmına bağlanmıştır (107). Ayrıca

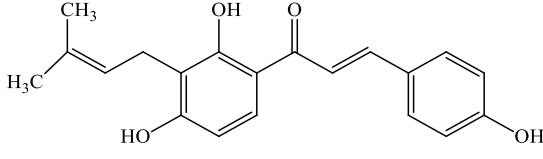
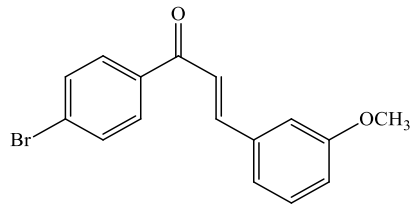
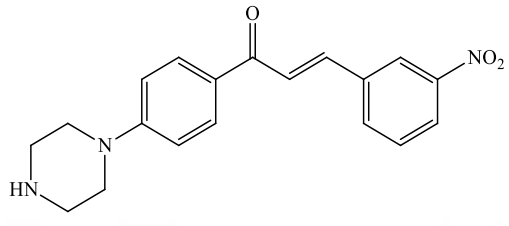
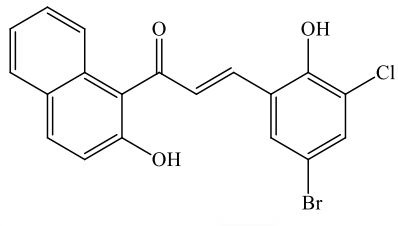
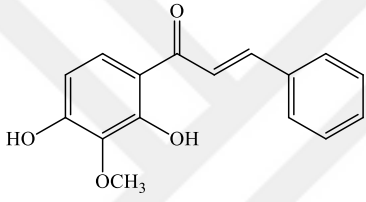
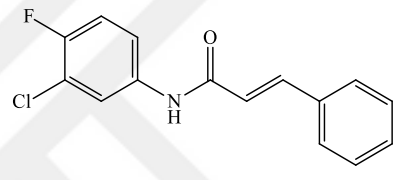
kloro, dikloro, bromo ve floro grupları gibi farmakoforlu bileşiklerin, güçlü antifungal aktivite sergilediği rapor edilmiştir (87).

Maclura tinctoria yapraklarından izole edilen bir prenil kalkon olan izobavakalkon (**B5**), 3 µg / mL IC₅₀ değeri ile mantar patojenleri *Candida albicans*'a ve 7 µg / mL IC₅₀ değeri ile *Cryptococcus neoformans*'a karşı aktivite göstermiştir (137). Başka bir çalışmada, agar difüzyon yöntemi kullanılarak insan fırsatçı patojenik mantarlara karşı beş kalkon test edilmiş ve en aktif bileşiğin A halkasının para pozisyonunda elektron çekme grubuna sahip olmayan ve orto-pozisyonunda da substituent taşımayan bileşik olduğu (**B74**) belirlenmiştir. Bileşiğin, *Microsporum gypseum* (MİK = 1.5 µg / mL), *Trichophyton mentagrophytes* (MİK = 3 µg / mL), *Microsporum canis* (MİK = 25 µg / mL), *Trichophyton rubrum* (MİK = 3 µg / mL) ve *Epidermophyton flokozum* (MİK = 0.5 µg / mL) 'a karşı güçlü antifungal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (138).

4'-Piperazinil substitüentine sahip birkaç kalkon, dört patojenik mantar olan *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Candida krusei* ve *Candida glabrata*'ya karşı referans flukonazole (MİK = 50 µg / mL) göre daha iyi inhibe edici aktivite göstermiştir. Bunlardan **B75** nolu bileşiğin, *C. albicans*'a karşı iyi aktivite (MİK = 6.75 µg / mL), *A. fumigatus*'a karşı (MİK = 7.17 µg / mL) ve *C. krusei*'ye karşı ise orta düzeyde aktivite (MİK = 18.56 µg / mL) gösterdiği saptanmıştır (139).

Naftalen kısmı ve diğer tarafında farklı substitüentlere sahip bir aril parçası olan bir kalkon sentezlenmiş (**B76**) ve bu bileşiğin *Aspergillus niger* ve *Rhizopus oryzae*'ye karşı antifungal aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Başka bir çalışmada antifungal aktivite sergileyen 2', 4'-dihidroksi-3'-metoksikalkon bileşiği (**B77**), *Zuccagnia punctata*'nın metanolik ekstresinden izole edilmiştir. Yine bir diğer araştırmada sentezlenen yeni ksantoksilinden türetilmiş kalkon (**B78**) antifungal aktivite göstermiştir (87). Antifungal aktivite gösteren bileşiklerin kimyasal formülleri Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Antifungal aktivite gösteren bileşikler

	
B5	B74
	
B75	B76
	
B77	B78

2.2.3.7. Antiviral Aktivite

Kalkonların antiviral özellikleri, bitki virüsleri ve insan rinovirüslerinin inhibisyonu üzerine yapılan çalışmalarda keşfedilmiştir (107). İnsan immün yetmezlik virüsüne (HIV) karşı aktivite gösteren doğal ve sentetik orijinli birkaç kalkon rapor edilmiştir (90). Cardamonin (**B19**) bileşiği, 31 µg / mL IC₅₀ değeri ile kayda değer bir anti-HIV-1 PR aktivitesi (% 75.1 inhibisyon) sergilemiştir (140). Desmos cinsinden elde edilen bir β-hidroksi kalkonun (**B79**), iyi bir terapötik indeks ile güçlü anti-HIV aktivite (EC₅₀ = 0.022 ug / mL) gösterdiği ve kalkon iskeletindeki C-4 metoksi grubunun, anti-HIV aktivitesi için kritik olabileceği ileri sürülmüştür (141). Humulus cinsinden izole edilen ksanthumol (**B6**), seçici bir HIV-1 inhibitörü özellik göstermiş ve HIV-1 enfeksiyonu için yeni bir terapötik maddeyi temsil edebileceği belirtilmiştir (90, 107).

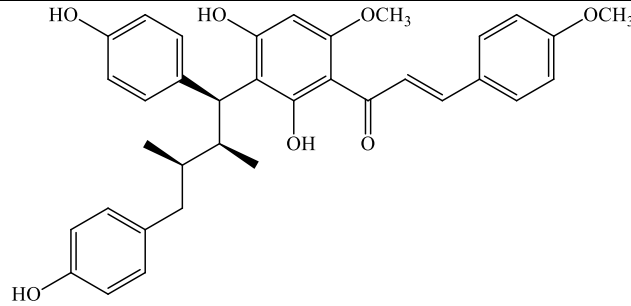
Başka bir çalışmada yapısal olarak farklı 11 küçük molekülü HIV-1 integras inhibitörü tanımlanmış olup; bu bileşiklerden **B80**, kofaktör olarak hem Mn⁺² hem de Mg⁺² varlığında saflaştırılmış integraza karşı 2 µM IC₅₀ değeriyle güçlü inhibitör aktivite sergilemiştir (107).

Naringenin-kalkon (**B81**) turuncgiller meyvelerinde yaygın olarak bulunur ve antiviral özelliklere sahip olduğu açıklanmıştır. *Leptospermum recurvum*'dan (Myrtaceae) izole edilen myrigalone G (**B82**), *Herpes simplex* virüsüne karşı antiviral aktivite sergilemiştir. *Iryantheria megistophulla*'dan izole edilen iki antiviral kalkon olan ıryantherin K (**B83**) ve L (**B84**), patates virüsüne karşı güçlü inhibisyon ve AChE'ye karşı orta derecede inhibisyon göstermiştir. Bu bileşikler C-benzillenmiş dihidrokalkon-lignan konjugat diastereoizomerleridir ve doğada çok nadir bulunmaktadır (90). Antiviral aktivite gösteren bileşiklerin kimyasal formülleri Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. Antiviral aktivite gösteren bileşikler

B19	B79
B6	B80
B81	B82
B83	

Tablo 9. (Devam)



B84

2.2.3.8. Antitüberküloz Aktivite

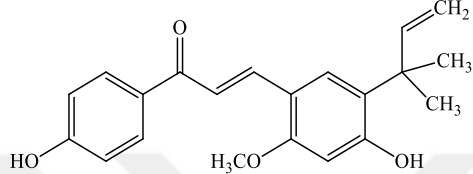
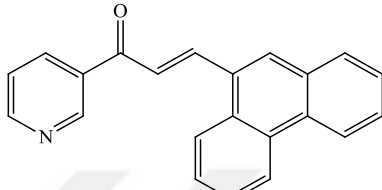
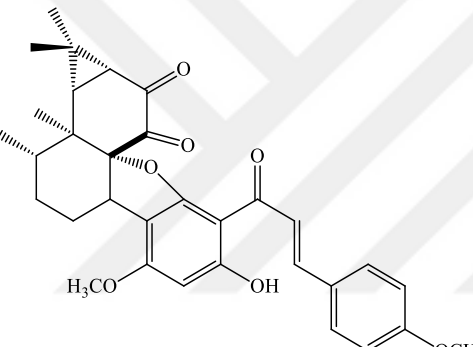
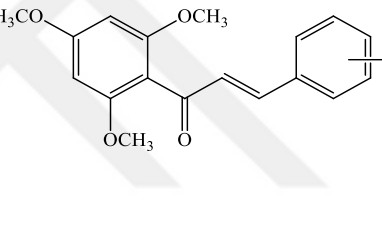
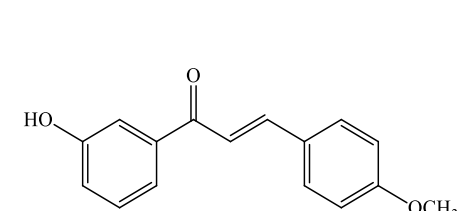
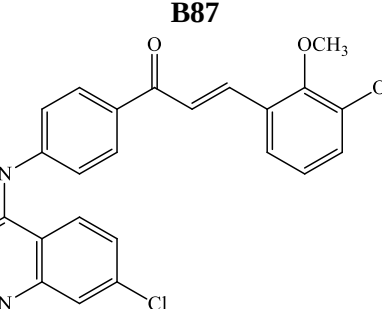
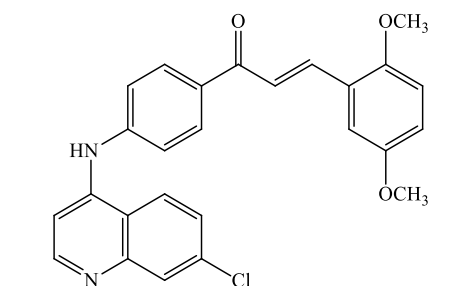
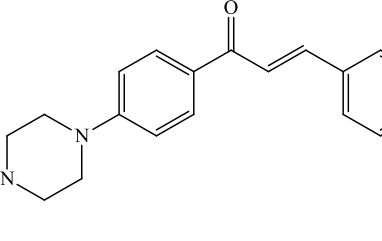
Tüberküloz (TB), dünyada en sık karşılaşılan mikobakteriyel hastalıktır. Bulaşıcı hastalıklar arasında TB, dünya çapında yılda 2 milyondan fazla can kaybına sebep olmaktadır (107). *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium marinum* ve *Mycobacterium xenophii* likokalkon A (**4**) bileşiği (MİK <20 mg / L) tarafından inhibe edilmiştir (142). Bir dizi flavonoid, kalkon ve kalkon benzeri bileşiğin *M. tuberculosis* H37Rv'ye karşı inhibe edici aktiviteleri değerlendirilmiş ve kalkon benzeri bileşik **B85**'ün, 12.5 ug / mL'lik konsantrasyonda % 96 inhibisyon sergilediği tespit edilmiştir (143).

Nardostachys chinensis'ten izole edilmiş, farklı iskelete sahip yeni bir terpenoid kalkon olan nardoaristolone A (**B86**), umut verici bir antitüberküloz aktivite sergilemiştir. Ayrıca flor süstitüentli sentetik bir kalkonun (**B87**), *M. tuberculosis* suşuna karşı antitüberküloz aktivite gösterdiği bildirilmiştir (90).

25 sentetik kalkonun, iki konsantrasyonda (50 ve 100 µg / mL) *M. tuberculosis* H37Rv'ye karşı aktiviteleri araştırılmış ve antimikobakteriyel aktivitenin tamamen B halkasındaki süstitüentlere (hidrofilik nitro veya hidroksil grupları gibi) bağlı olduğu ortaya çıkmıştır. **B88** nolu bileşiğin her iki konsantrasyonda da en iyi aktivite sergilediği bulunmuştur (144). Bir dizi süstitüe edilmiş kinolinil kalkon sentezlenmiş ve *M. tuberculosis* H37RV'ye karşı *in vitro* antitüberküloz aktiviteleri değerlendirilmiştir. Burada iki kalkon bileşiğinin (**B89**, **B90**) güçlü antitüberküloz aktivite (MİK=3.12 ug / mL) gösterdiği ve VERO, MBMDM hücre hatlarına karşı toksik olmadığı görülmüştür (107, 145).

Bir dizi 4-alkilamino kalkon sentezlenmiş ve *in vitro* antitüberküler ve antimalaryal aktiviteleri açısından taranmıştır. Serinin en aktif bileşiğinin, *M. tuberculosis* H37Rv'ye karşı 3.12 µg / mL MİK değerine sahip N-metil piperazin süstitüe olan kalkon bileşiği (**B91**) olduğu bulunmuştur (107, 146). Antitüberküloz aktivite gösteren bileşiklerin kimyasal formülleri Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Antitüberküloz aktivite gösteren bileşikler

 B4	 B85
 B86	 B87
 B88	 B89
 B90	 B91

2.2.3.9. Antimalaryal Aktivite

Her yıl 1 milyondan fazla insan sıtmadan hayatını kaybetmektedir. Bu ölümlerin çoğundan sorumlu olan organizma olan *Plasmodium falciparum* mevcut ilaçların çoğuna direnç geliştirmiştir (107). Sıtma parazitleri mevcut ilaçlara giderek daha da dirençli hale geldiğinden, gelişmiş ve daha etkili sıtma ilaçlarına ihtiyaç duyulmaktadır (87). Kalkonların antimalaryal aktivitesi ilk olarak, Çin meyankökü köklerinden izole edilen likokalkon A'nın (**B4**) güçlü antimalaryal aktivite sergilemesi üzerine bildirilmiştir (147). Likokalkon A'nın ayrıca *P. falciparum* mitokondrilerinde ubikinol sitokrom c redüktaz (bc1 kompleksi) ve süksinat ubikinon redüktazı (kompleks II) inhibe ettiği bildirilmiştir. Yapılan araştırmalar neticesinde antimalaryal kalkonların, hemoglobin degradasyonu için parazit tarafından kullanılan bir enzim olan sıtma sistein proteazına ve *P. falciparum* sikline bağımlı protein kinaz Pfmrk proteinine karşı etkili olduğu ve insan sikline bağımlı protein kinaz CDK7'sine karşı aktif olmadığı ileri sürülmüştür (107, 148, 149).

Bir dizi alkoksile ve hidroksile kalkon sentezlenmiş ve hipoksantin alım deneyinde *P. falciparum*'a (K1) karşı *in vitro* antimalaryal aktivitesi değerlendirilmiştir. Metoksi (**B92**), dimetoksi (**B93-B95**) ve trimetoksi analogların (**B96, B97**) iyi *in vitro* aktivitelere ($IC_{50} < 5$ uM) sahip olduğu bulunmuştur. Hidroksile kalkonlar, alkoksilatlı analoglardan daha az aktif bulunmuştur. Süstitüentlerin boyutu ve hidrofobikliği kritik parametreler olarak belirlenmiştir. **B94** nolu bileşik *in vivo* değerlendirildiğinde, enfekte farelerin ömrünü uzatmada klorokin (CQ) ile karşılaştırılabilir olduğu tespit edilmiştir (136).

Başka bir benzer çalışmada kalkon türevleri hazırlanmış ve antimalaryal özellikleri açısından değerlendirilmiştir. B halkası üzerindeki 2 ve 4 pozisyonlarında -OCH₃ gruplarına sahip bileşiklerin iyi aktivite gösterdiği, 3, 4 ve 5 pozisyonlarındaki benzer grupları içeren bileşiklerin daha az aktivite sunduğu belirtilmiş; en aktif bileşiğin, 1- (4-benzimidazol-1-il-fenil) -3- (2,4-dimetoksifenil)-propen-1-on) (**B98**) molekülü olduğu ve diğerlerine kıyasla daha iyi antimalaryal aktivite sergilediği rapor edilmiştir (150).

Bir dizi sentezlenen kinolinil kalkonun *P. falciparum* sistein proteaz inhibisyonu ve kültürlenmiş *P. falciparum* parazitlerine karşı aktiviteleri değerlendirilmiştir. **B99** nolu bileşiğin, hipoksantin alım deneyinde *P. falciparum*'a (K1) karşı umut verici (IC_{50} değeri = 19.0 uM) olduğu tespit edilmiştir (151). Sentezlenen bir dizi ferofenil kalkonun CQ-dirençli *P. falciparum* suşuna karşı *in vitro* antimalaryal aktivitesi araştırılmış ve en aktif bileşikler sırasıyla 4.5 ve 5.1 mM'lik IC_{50} değerleri ile 1-(3-piridil)-3-ferrosenil-2-propen-1-on (**B100**)

ve 1-ferrosenil-3-(4-nitrofenil)-2-propen-1-on (**B101**) bulunmuştur (152). Başka bir araştırmada sentezlenen bir seri fenilurenil kalkonun *in vitro* antimalaryal aktivitesi değerlendirildiğinde, en aktif bileşiğin (**B102**), 1.76 μM 'lik bir IC_{50} değeri ile *P. falciparum* gelişiminin inhibe ettiği bulunmuştur (153). Aynı araştırmacılar tarafından sentezlenen bir dizi sülfonamid kalkon türevinin *in vitro* beta-hematin oluşumunu inhibe etme yetenekleri araştırılmış ve kültürlenmiş *P. falciparum* parazitlerine (W2) karşı aktiviteleri değerlendirilmiştir. **B103** nolu bileşik kültürlenmiş *P. falciparum* parazitlerinin (1 μM) inhibisyonunda en etkili bulunmuştur. Ayrıca trimetoksi sübstitüe kalkon bileşiğinin (**B104**); CQ ($\text{IC}_{50} = 1.33 \mu\text{M}$) ile karşılaştırıldığında beta-hematin ($\text{IC}_{50} = 0.48 \mu\text{M}$) oluşumunu inhibe eden aktif bir bileşik olduğu tespit edilmiştir (154).

Bir çalışmada 14 kalkon bileşiğinin insan sıtma paraziti *P. falciparum*'a (3D7) karşı *in vitro* antimalaryal aktiviteleri değerlendirilmiştir. A halkasında p-pozisyonunda triazol sübstitüenti ve B halkasında p-kloro sübstitüenti içeren bir kalkon bileşiği olan bileşik **B105**, 1.52 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 'lik bir IC_{50} değeri ile en güçlü antiplasmodial türev olarak bulunmuştur. Sonuçlar, tekli veya çoklu nitrojen içeren küçük lipofilik grupların *in vitro* antimalaryal aktiviteyi artırabildiğini göstermiştir (155). Diğer bir çalışmada asetilenik kalkonların *P. falciparum*'un W2 suşuna karşı antimalaryal aktiviteleri değerlendirilmiş ve 3.8 μM IC_{50} değeri ile en aktif olarak bileşik **B106** bulunmuştur (156).

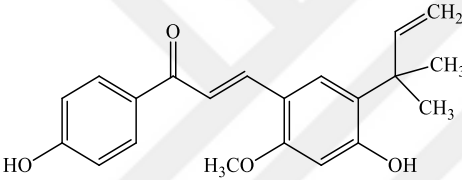
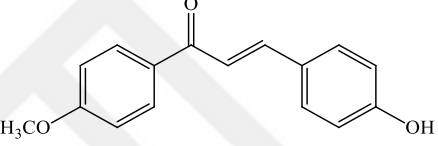
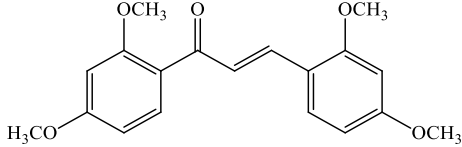
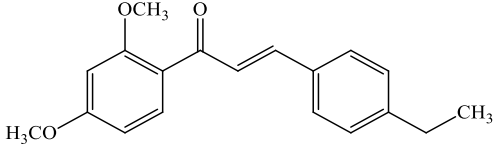
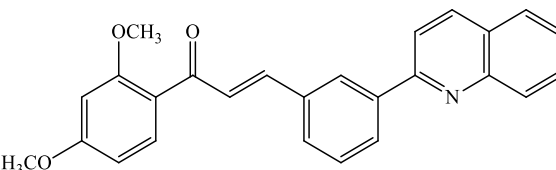
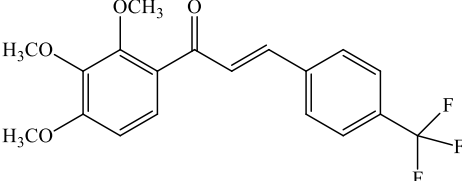
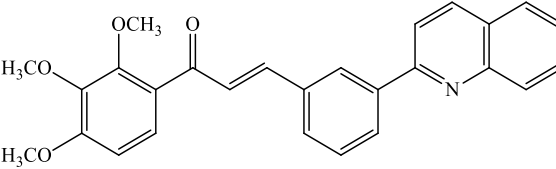
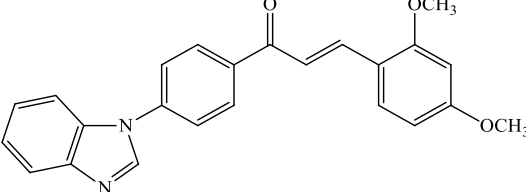
A halkasında amino grubuna bağlı akridin parçası taşıyan bir dizi yeni kalkon sentezlenmiş ve *P. falciparum* NF-54'e karşı *in vitro* antimalaryal aktivitesi araştırılmıştır. En aktif bileşiğin (**B107**), 0.4 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 'lik düşük bir konsantrasyonda paraziti % 71.4 oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir (157).

Bir dizi metoksillenmiş kalkonun *P. falciparum*'a (3D7 suşu) karşı antimalaryal yapı-aktivite ilişkisi incelenmiş ve A halkası üzerindeki elektron salan metoksi grupların ve B halkasında elektron çeken grupların antimalaryal gücü artırırken, bu grupların konumsal değişiminin etkide azalmaya neden olduğu ortaya çıkarılmıştır. α , β doymamış keton bağlayıcısının, her iki uçtaki aromatik gruplar arasında konjugasyon sağladığı ve iyi aktivite için kritik olduğu gösterilmiştir. Sitotoksik bir araştırma, en aktif iki bileşiğin **B108** ($\text{IC}_{50} = 1.8 \mu\text{M}$) ve **B109** ($\text{IC}_{50} = 2.0 \mu\text{M}$) nispeten toksik olmadığını göstermiştir (158). Benzer bir çalışmada, α -piranokalkonlar ve pirazolin analogları sentezlenmiş ve mikrotitre plakası bazlı SYBR-Green-I testi kullanılarak kültürde sıtma parazitin büyümesi değerlendirilerek antimalaryal aktivite test edilmiştir. Serinin en güçlü analogunun, *P. falciparum*'un CQ-

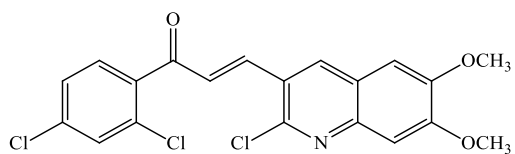
duyarlı (3D7) suşuna karşı 3.1 µg / mL IC₅₀ değeri ve CQ-dirençli olan izolatına (RKL9) karşı 1.1 µg / mL IC₅₀ değeri ile bileşik **B110** olduğu bulunmuştur (148).

Yeni bir klorokinolin bazlı kalkon serisinin *in vitro* antiamibik ve antimalaryal aktiviteleri değerlendirilmiştir. **B111** (IC₅₀ = 0.05 µM), **B112** (IC₅₀ = 0.09 µM), **B113** (IC₅₀ = 0.06 µM) ve **B114** (IC₅₀ = 0.05µM) nolu dört bileşik, *Entamoeba histolytica*'nın HM1: IMSS suşuna karşı metronidazole göre 16 ile 29 kat arasında daha güçlü antiamibik aktivite göstermiştir. Bunun aksine, bu bileşiklerin *P. falciparum*'un CQ duyarlı (3D7) suşuna karşı *in vitro* antimalaryal aktivitesinin, CQ ve kinin (sırasıyla IC₅₀ = 0.0065 µM ve 0.14uM) gibi standart ilaçlarla karşılaştırıldığında nispeten düşük (>31.31 uM) olduğu belirtilmiştir (159). Antimalaryal aktivite gösteren bileşiklerin kimyasal formülleri Tablo 11'de gösterilmiştir.

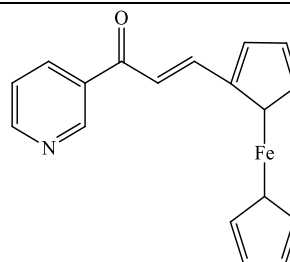
Tablo 11. Antimalaryal aktivite gösteren bileşikler

 B4	 B92
 B93	 B94
 B95	 B96
 B97	 B98

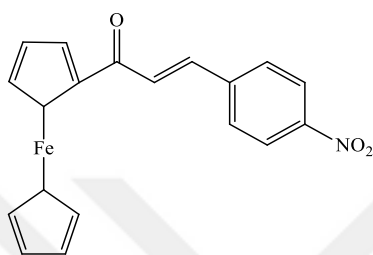
Tablo 11. (Devam)



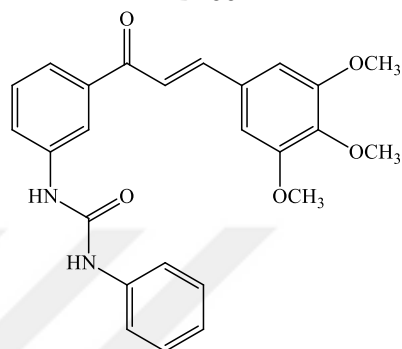
B99



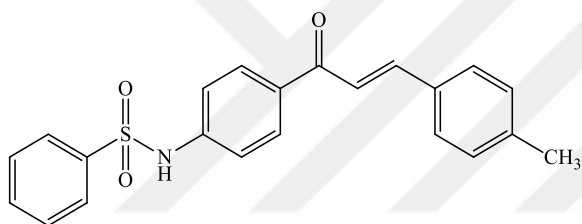
B100



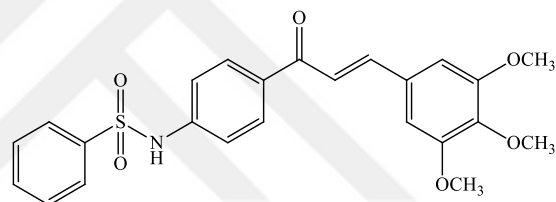
B101



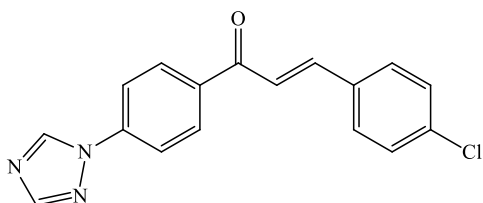
B102



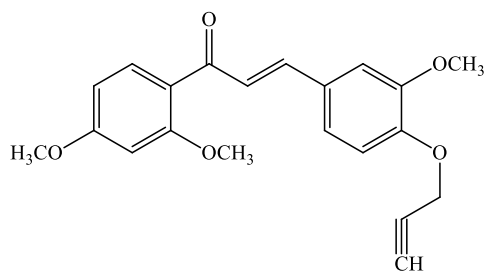
B103



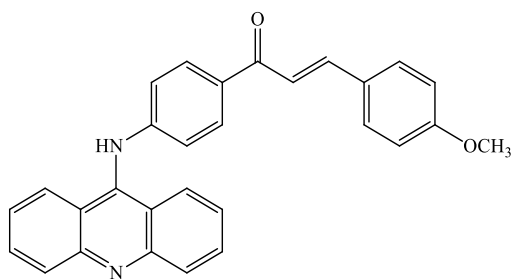
B104



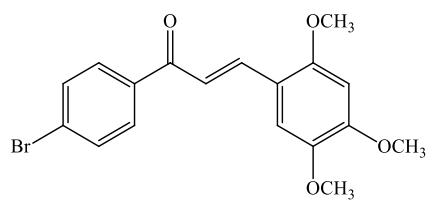
B105



B106

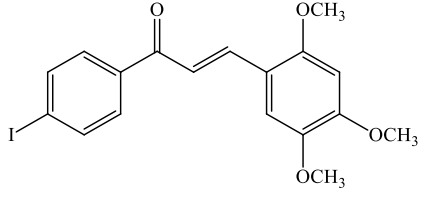
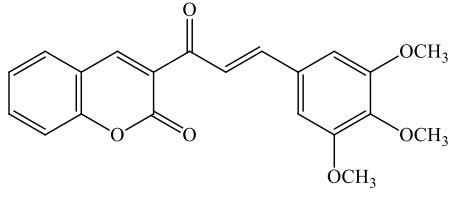
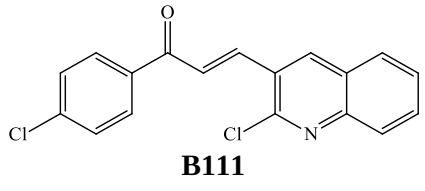
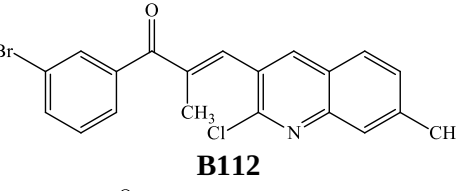
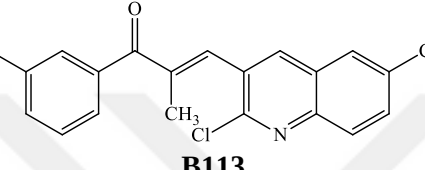
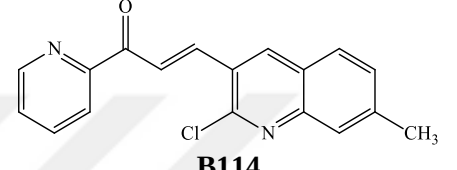


B107



B108

Tablo 11. (Devam)

 B109	 B110
 B111	 B112
 B113	 B114

2.2.3.10. Antileishmanial Aktivite

Leishmaniasis, *Leishmania* cinsinin protozoan parazitlerinin neden olduğu vektör kaynaklı bir hastalıktır. Bu hastalığın tedavisi için çok sayıda sentetik bileşik test edilmiş olmasına rağmen, likokalkon A (**B4**) hala araştırılan doğal birkaç kalkondan biridir (107). Bu kalkon bileşiği, Japonlar tarafından çeşitli abdominal spazmodik semptomları tedavi etmek için kullanılan doğal bir antiparazitik ajandır (160). Likokalkon A (**B4**), parazit mitokondrisinde bulunan seçici bir hedef olan fumarat redüktazı inhibe ederek *Leishmania donovani* ve *Leishmania major* promastigotlarının ve amastigotlarının *in vitro* proliferasyonunu etkili bir şekilde azaltmaktadır. Ayrıca likokalkon C (**B60**)'nin, *L. major* parazitinin büyümesini likokalkon A ile aynı ölçüde inhibe ettiği rapor edilmiştir (161).

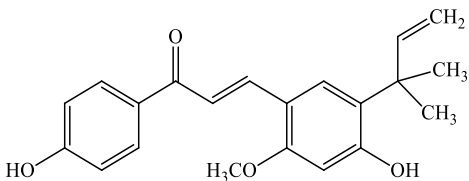
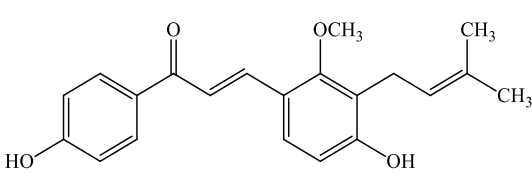
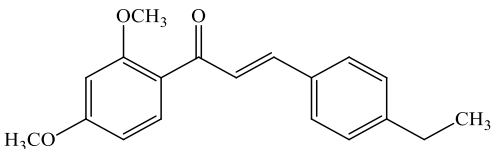
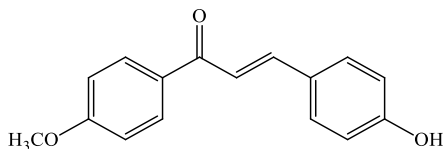
Bir dizi sentezlenen oksijenli kalkonların *L. donovani* amastigotlarına karşı antileishmanial aktivitesi test edilmiştir. Yapı-aktivite ilişkisi karşılaştırıldığında, antileishmanial aktivitenin özellikle 4'-hidroksil süstitüentli A halkaları ve hetero / poliaromatik B halkalarında daha az lipofilik özellikle ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Sentezlenen tüm kalkonlar arasında iki alkoksile kalkon (**B115** ve **B116**), farelerin makrofajlarına karşı iyi antileishmanial aktivite (<10 μ M) ve orta derecede toksisite (10 μ M'de gözlemlenmek üzere) göstermiştir (162).

Meyan köklerinden (*Glycyrrhiza eurycarpa*, Leguminosae) izole edilen kanzonol C (**B117**) bileşiği güçlü antileishmanial aktivite göstermiştir (163). Crotamosmin (**B118**),

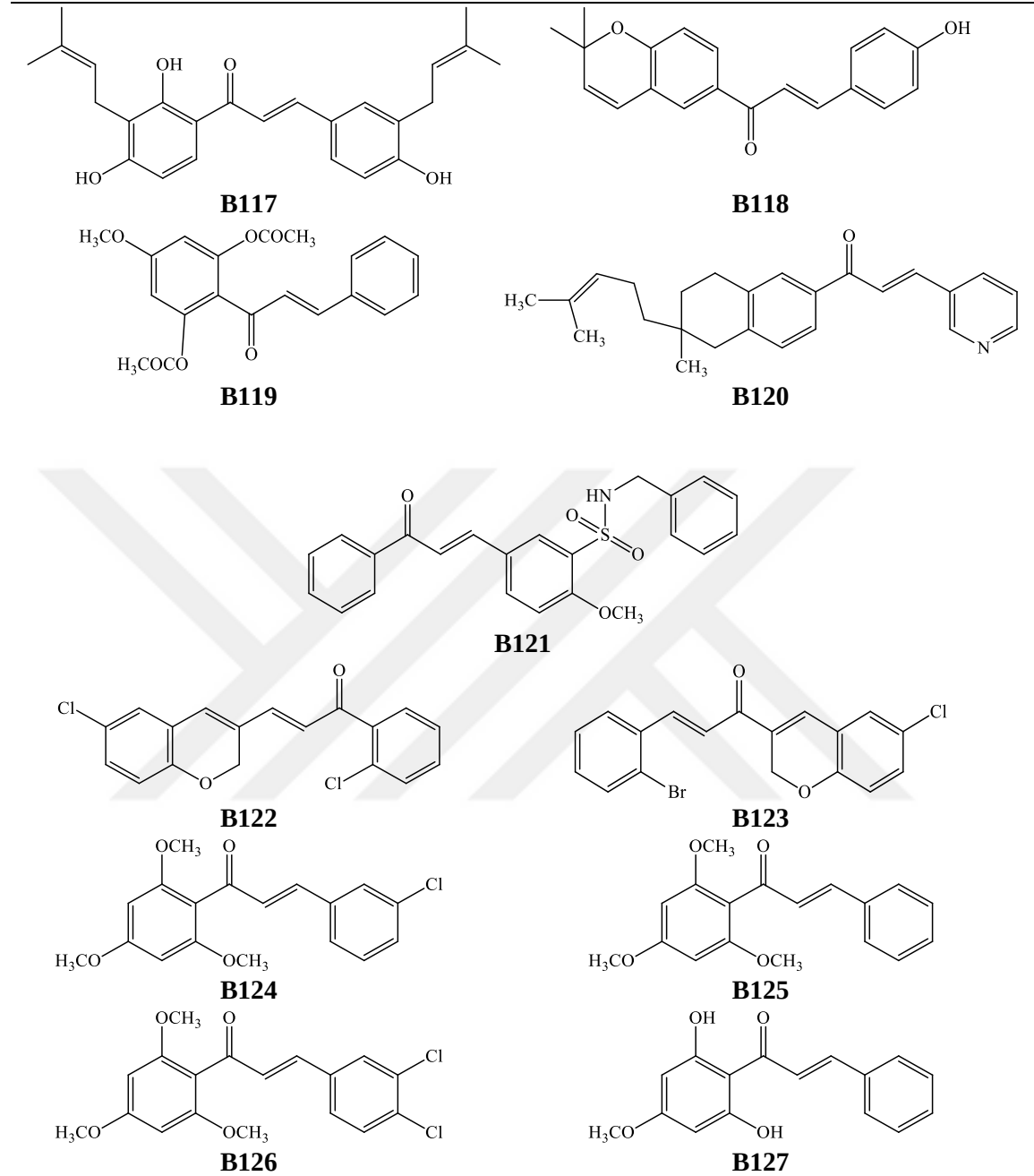
Crotalaria rosmosissima'dan izole edilen ve güçlü antileishmanial aktivite gösteren başka bir önemli kalkondur (164). Sentezlenmiş bir dihidrokalkon bileşiği (**B119**) antileishmanial aktivite sergilemiştir (165).

Çok sayıda yeni kromeno kalkon sentezlenmiş ve *L. donovani*'nin *in vitro* hücre dışı promastigotlarına ve hücre içi amastigotlarına karşı araştırılmıştır. Piridin B halkasına sahip olan bileşik **B120**, 10 µg / mL konsantrasyonda % 99 promastigot inhibisyonu göstermiştir ve bu serideki en güçlü bileşik olduğu bulunmuştur (164). Başka bir çalışmada bir dizi sülfonamid 4-metoksikalkon *Leishmania braziliensis* promastigotlarına karşı değerlendirilmiştir. Tüm bileşikler konsantrasyona bağlı antileishmanial aktivite sergilemiş ve bir benzilamino türevi olan bileşik (**B121**), pentamidinden daha iyi antileishmanial aktivite göstermiştir (166). 6-kloro-2H-kromen-3-il grubuna sahip bir dizi kalkonoidin MTT testini kullanılarak *L. major*'un promastigot formuna karşı *in vitro* etkinliği belirlenmiştir. **B122** ve **B123** nolu bileşiklerin antileishmanial aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (167). Tri-metoksi kalkonların sentezi, moleküler modellemesi ve SAR çalışmaları yapılmış ve antileishmanial etkileri rapor edilmiştir. **B124- B126** analogları iyi bir antileishmanial aktivite sergilemiştir (87). 2',6'-dihidroksi-4'-metoksikalkon (**B127**) bileşiğinin antileishmanial aktivite sergilediği tespit edilmiştir (168). Antileishmanial aktivite gösteren bileşiklerin kimyasal formülleri Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 12. Antileishmanial aktivite gösteren bileşikler

	
B4	B60
	
B115	B116

Tablo 12. (Devam)



2.2.3.11. Antidiyabetik Aktivite

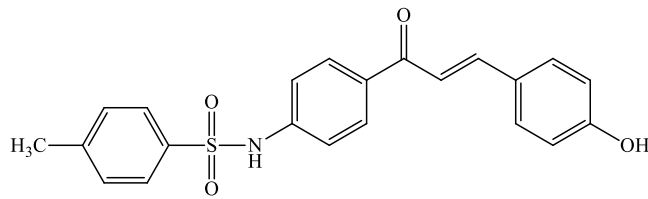
Kalkonların insülin benzeri aktivitelere sahip olduğu ve adipositlerdeki glikoz alımını iyileştirdiği belirtilmiştir. Bu bileşiklerin; α -glukozidaz, dipeptidil peptidaz-4 (DPP4), peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptörler- γ (PPAR), protein tirozin fosfataz 1B (PTP1B) ve aldoz redüktazın güçlü inhibitörleri olarak antihiperglisemik veya hipoglisemik ajanlar olduğu bildirilmiştir ve bu özelliklerinden dolayı bu bileşikler diyabet hastalığı tedavisinde önemli olmuştur (86, 169).

Sülfonamid kalkonların güçlü bir yeni α -glukozidaz inhibitörleri olarak rol aldığı bildirilmiştir. **B128** ve **B129** bileşiklerinin sırasıyla 0.98 μ M ve 0.40 μ M IC₅₀ değerleri ile en güçlü inhibitörler olduğu tespit edilmiştir (170).

Naftil kalkonların, özellikle hiperglisemik normal sıçanlarda akut serum glukoz seviyesini düşürücü etkiye sahip olduğu, bileşik **B130**'un glukoz tarafından indüklenen insülin salgılanmasını önemli ölçüde uyardığı ve antihiperglisemik aktiviteden fenil halkalarındaki nitro grubunun varlığının ve konumlarının sorumlu olduğu bulunmuştur (171). 3,4-metilendioksi ile süstitüe edilmiş B halkasına ve çeşitli gruplarla süstitüe edilmiş A halkasına sahip bir dizi sentezlenen kalkonların hayvan modelinde antihiperglisemik etkinliği araştırılmıştır. Metoksi süstitüe edilmiş **B131** ve **B132**'nin, 60 dakikada lispro insülin ve tolbutamid için gösterilene yaklaşık % 96 oranında benzer şekilde glukoz tarafından indüklenen hiperglisemiye inhibe ettiği rapor edilmiştir (172).

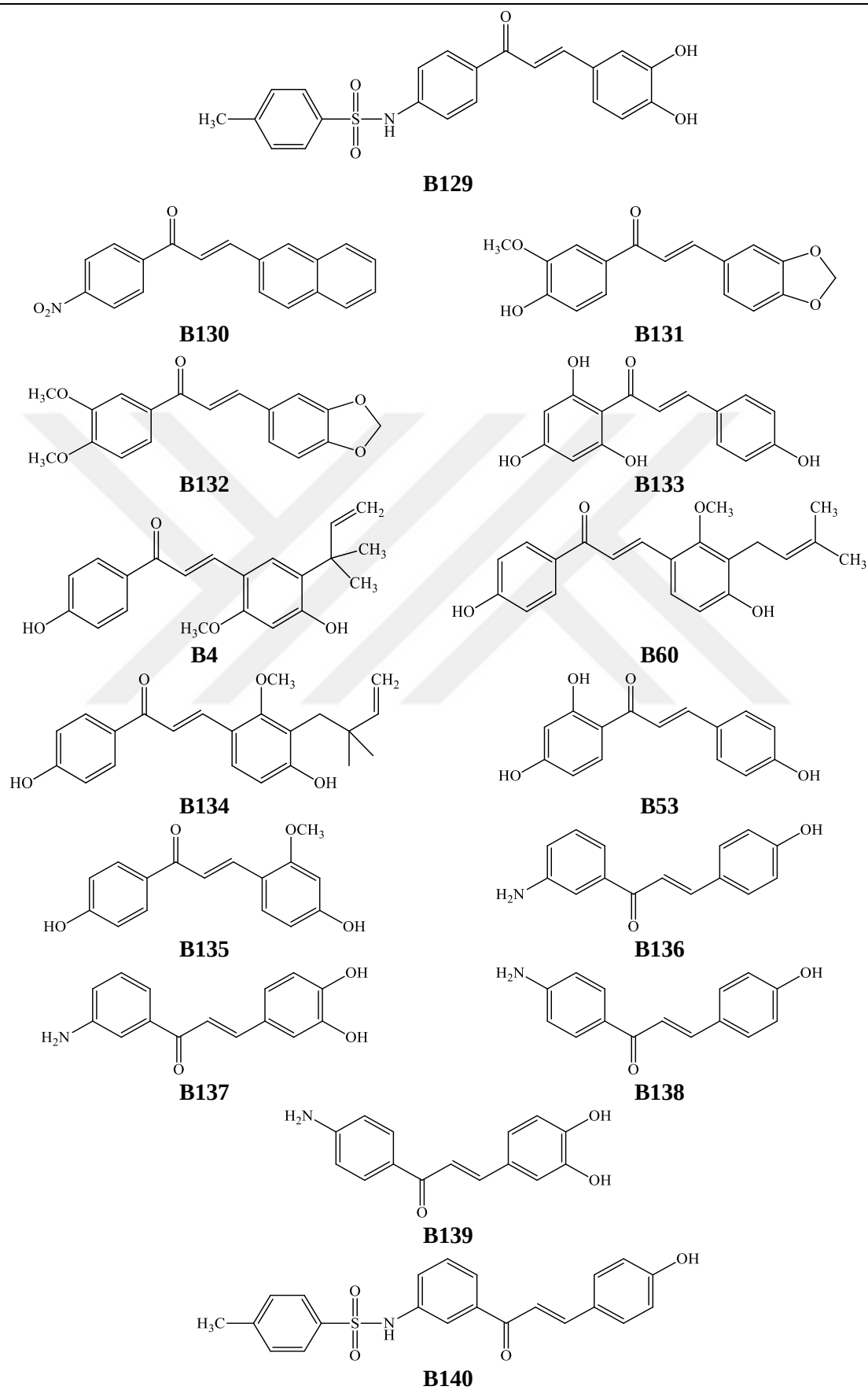
Erythrina mildbraedii'den izole edilen yeni bir kalkon olan abissinon-VI-4-O-metil eter (**B133**), PTP1B'yi inhibe ederek güçlü antidiyabetik aktivite göstermiştir (173). *Glycyrrhiza inflata*'dan izole edilmiş likokalkon A (**B4**), likokalkon C (**B60**), likokalkon E (**B134**), izoliquiritigenin (**B53**) ve ekinatin (**B135**) ve bu bileşiklerin sentetik türevleri, insülin ve leptin sinyal yolunun negatif bir düzenleyicisi olarak tip II diyabet ve obezitenin tedavisinde hayati rol oynayan PTP1B inhibitörü olarak rapor edilmiştir (174). α -Glukozidaz enziminin güçlü bir inhibitörü olan yeni sülfonamid kalkonlar (**B136-B143**) bildirmiştir (175). Antidiyabetik aktivite gösteren bileşiklerin kimyasal formülleri Tablo 13'te gösterilmiştir.

Tablo 13. Antidiyabetik aktivite gösteren bileşikler

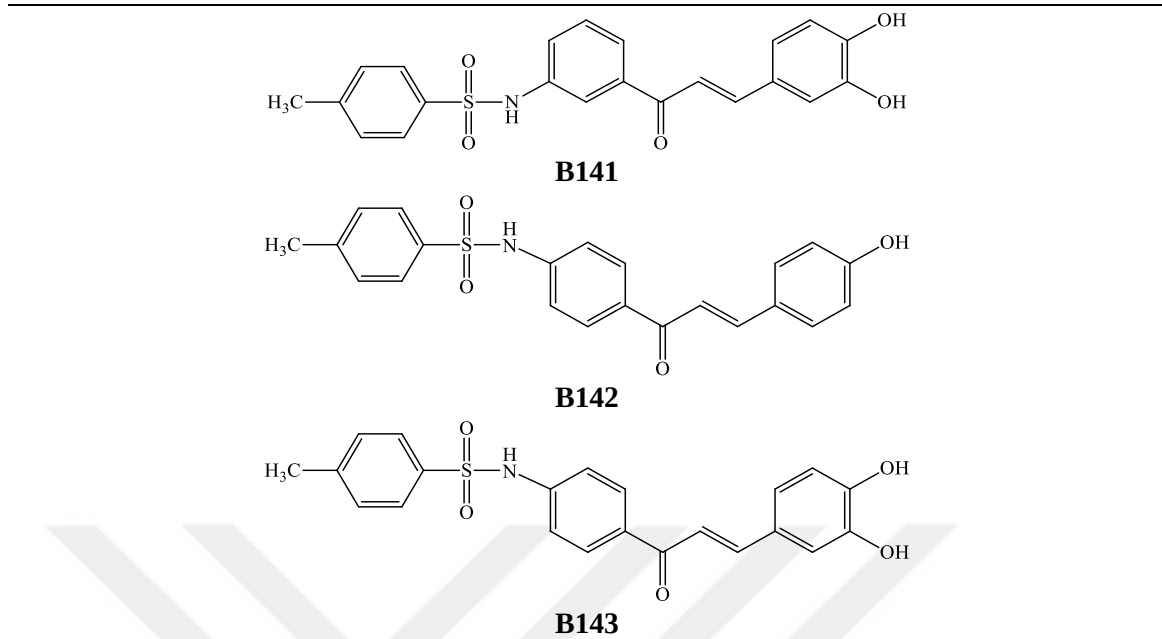


B128

Tablo 13. (Devam)



Tablo 13. (Devam)



2.2.3.12. Kalkonların Diğer Biyolojik Aktiviteleri

Tephrosia purpurea'dan (Leguminosae) izole edilmiş tephrosone (**B144**) ve tephropurpurin (**B145**) isimli iki kalkon, hücre bazlı kinon redüktaz indüksiyon deneyi kullanılarak kemopreventif ajanlar olarak tanımlanmıştır. *Mundulea sericea*'dan (Leguminosae) izole edilen munsericin (**B146**) de başka bir kemopreventif ajandır. Ksanthohumol (**B6**), prokarsinojenlerin metabolik aktivasyonunun inhibisyonu, kanserojen detoksifiye edici enzimlerin indüksiyonu ve tümör büyümesinin erken aşamada inhibisyonu olmak üzere üç özellik sergileyen çok yönlü bir kemopreventif ajan olduğu belirtilmiştir (90).

Yeni kalkon süstitüentli benzensülfonamidler sentezlenmiş (**B147**) ve karbonik anhidraz (CA) inhibe edici özellikleri değerlendirilmiştir. Yeni sentezlenen sülfonamidlerin tümü, 9.88-55.43 nM aralığında inhibitör sabiti (K_i) değerleri ile CA izoformlarına karşı önemli inhibitör aktivite sergilemiştir (101). Başka bir çalışmada ilk kez doğal ve sentetik biskalkonlara alternatif olarak yeni bir tip biskalkon sentezlenmiş ve bu bileşiklerin (**B148**, **B149**), karbonik anhidraz inhibisyon aktivitesi araştırılmış ve biskalkonların neredeyse tamamı orta ve iyi inhibe edici etkiler sergilemiştir (87, 176).

Likokalkon A (**B4**) ve bazı sentetik analoglarının, insan periferel kan mononükleer hücre proliferasyonu ve sitokin üretiminin aktivitesi üzerindeki etkileri araştırılmış ve

likokalkon A ve bazı analoglarının immünomodülatör etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (177). Bir dizi sülfonat kalkon türevi sentezlenmiş ve bunların voltaja bağımlı potasyum (K^+) kanalı inhibitör aktiviteleri araştırılmıştır. Bileşik **B150** (C74), $0.51 \pm 0.05 \mu M$ IC_{50} değeri ile en güçlü K^+ kanal blokeri olmuştur (89, 177). 1,4-dioksan halka içeren iki kalkon (**B151**, **B152**), albino sıçanlarda CCl_4 ile indüklenen hepatotoksositeye karşı değerlendirildiğinde, standart silybon-70'e kıyasla güçlü bir antihepatotoksik aktivite sergilemiştir (177).

Sentetik türevli kalkon olan kanzonol C (**B117**), güçlü antiülser aktivite sergilemiştir (178). Sophoradin (**B153**) doğal olarak oluşan bir prenile kalkondur ve türevleri ülser önleyici aktivite göstermektedir. Ayrıca sophoradinin sentetik analogları (**B154**- **B156**), sophoradin ile benzer şekilde yüksek antiülser aktivite göstermiştir (90).

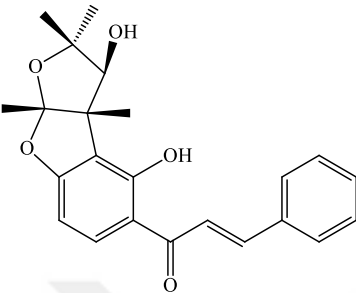
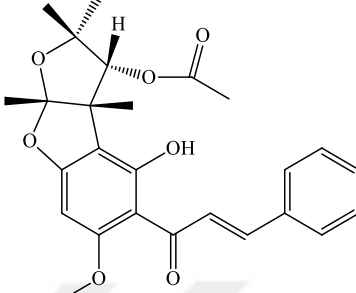
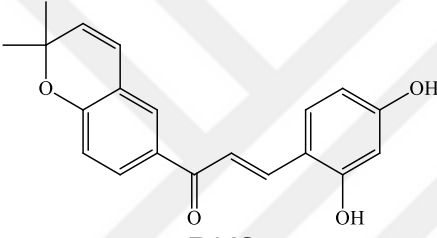
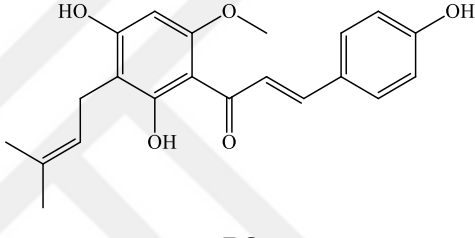
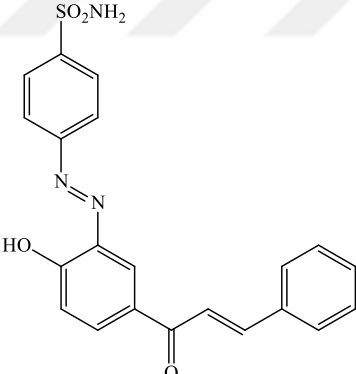
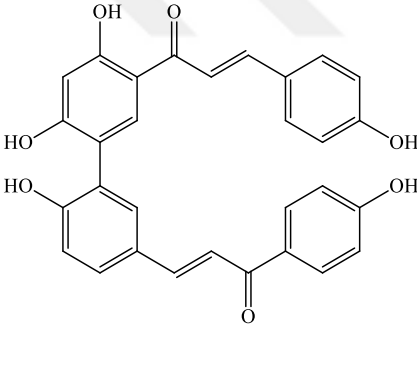
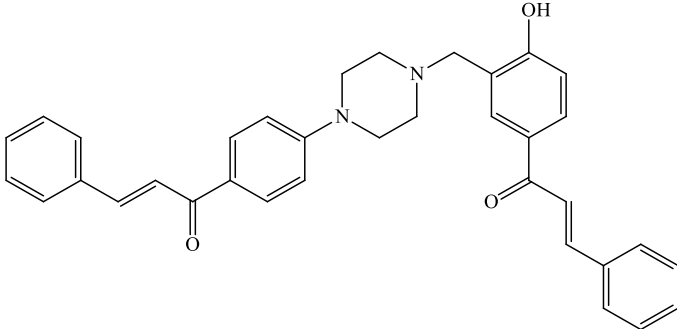
Polifenol oksidaz olarak da bilinen tirozinaz, doğada yaygın olarak dağılan bakır içeren bir enzimdir. Melanin biyosentez yolunda moleküler oksijeni içeren monofenollerin o-fenollere hidroksilasyonu (monofenolaz aktivitesi) ve o-fenollerin o-kinonlara oksidasyonu (difenolaz aktivitesi) reaksiyonlarını katalize eder (179).

İzoliquiritigenin (**B53**) kalkon bileşiği, substrat olarak tirozin kullanıldığında, $8.1 \mu M$ IC_{50} ile hem mono hem de difenolaz tirozinaz aktivitelerini inhibe etmiş; bu da kalkonların cilt yenileme ajanlarına aday olabileceğini düşündürmüştür (180). Butein (7) ve sentez edilen üç farklı tetrahidroksikalkonların farklı fonksiyonel gruplarının tirozinaz üzerindeki inhibe edici güçleri değerlendirildiğinde; B halkasındaki 2, 4 süstitüntli resorsinol alt biriminin, en güçlü inhibe edici aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. En iyi aktivite gösteren bileşikler sırasıyla $0.2 \mu M$ ve $0.02 \mu M$ IC_{50} ile bileşik **B157** ve **B158** olmuştur (89). Hidroksikalkon olan bileşik **B159**, bir substrat olarak L-tirozine göre tirozinaz üzerinde yüksek inhibitör etki sergilemiştir (181). 4'-(p-toluensülfonilamino)-4-hidroksikalkon (TSAHC) (**B160**), tirozinaz aktivitesi ve depigmentasyon etkisi araştırılmış ve TSAHC'nin melanin biyosentezinde üç ana tirozinazla ilişkili tirozinaz, TRP-1 ve TRP-2 proteinlerini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (89, 182).

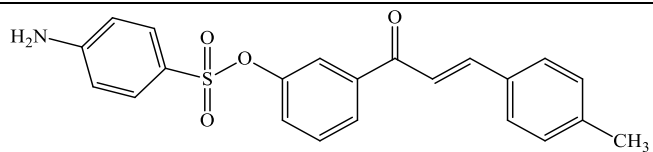
Lonkokarpin (**B161**) ve derrisin (**B162**) adlı kalkonlar, esas olarak fosfodiesteraz aktivitesi inhibisyonu veya guanozin 3',5'-siklik ve adenozin 3',5'-siklik monofosfat hücre içi düzeylerinin yükselmesi yoluyla önemli antiplatelet etki göstermiştir (183). Kalkonların vazorelaksan aktivitelerini iyileştirmek için NO donörü veya 1,4-dihidropiridil kısmı ile konjuge hibrit kalkon türevleri tasarlanmış ve moleküler hibridizasyon stratejisine göre

sentezlenmiştir. Bileşiklerin vazorelaksan aktiviteleri araştırılmış ve iki bileşiğin (**B163**, **B164**) güçlü vazorelaksan etki gösterdiği bulunmuştur (184). Farklı biyolojik aktivitelere sahip bileşiklerin kimyasal formülleri Tablo 14’te gösterilmiştir.

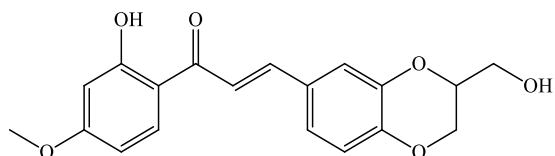
Tablo 14. Farklı biyolojik aktivite gösteren diğer bileşikler

 B144	 B145
 B146	 B6
 B147	 B148
 B149	

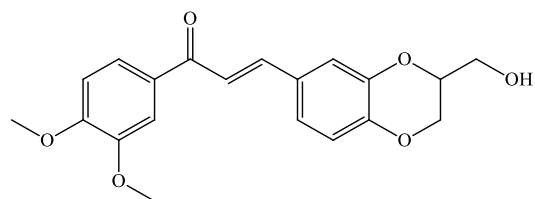
Tablo 14. (Devam)



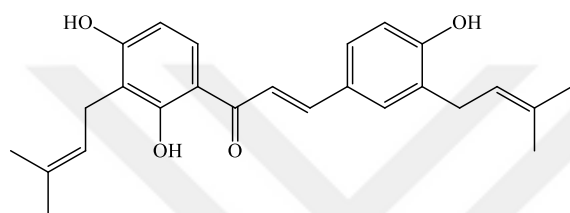
B150



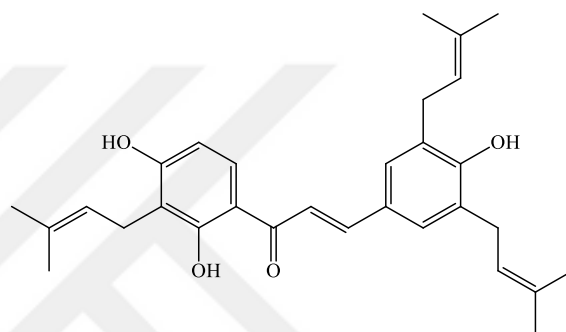
B151



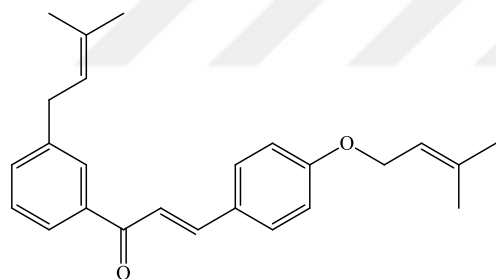
B152



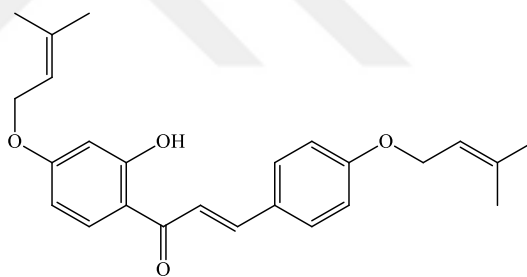
B117



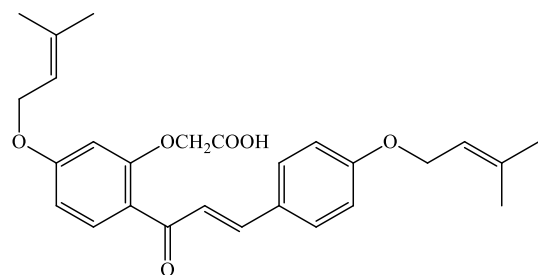
B153



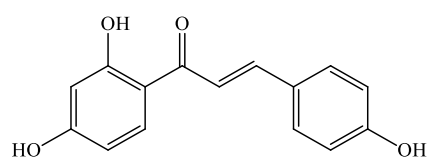
B154



B155

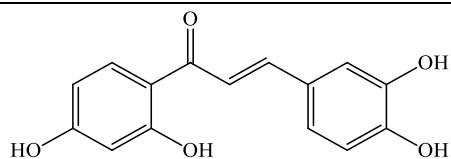


B156

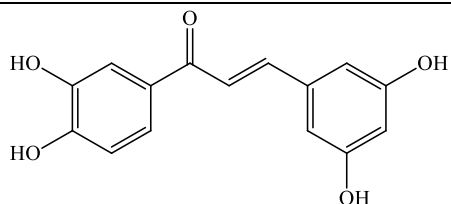


B53

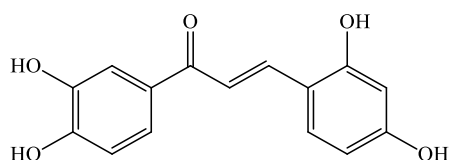
Tablo 14. (Devam)



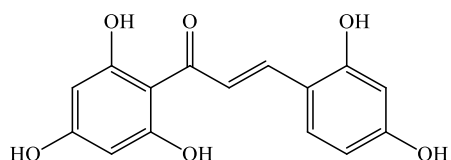
B7



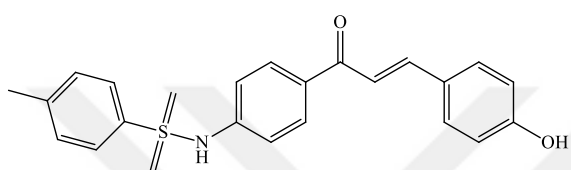
B157



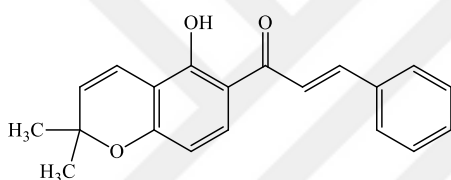
B158



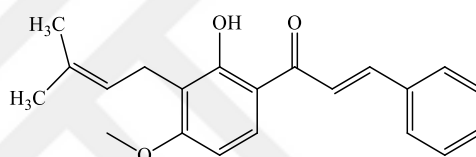
B159



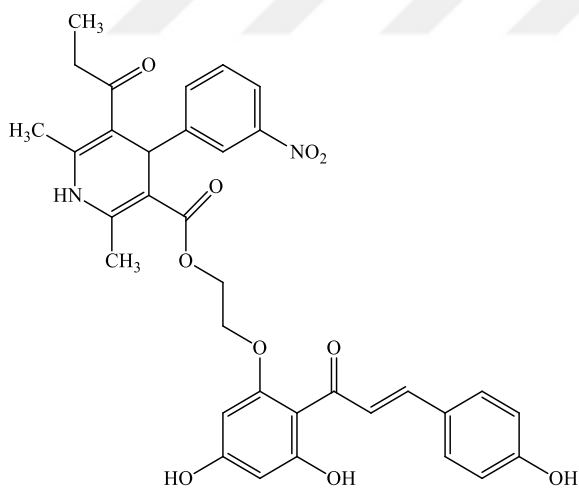
B160



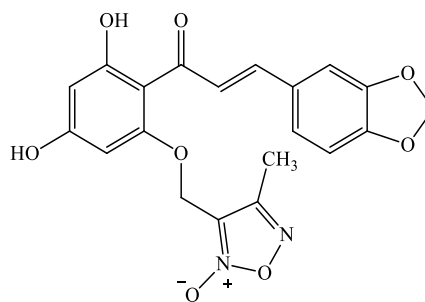
B161



B162



B163



B164

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kimyasal Madde ve Çözücüler

Çalışmamızda metoksi kalkon bileşiklerinin sentezinde kullanılan 3,4,5-trimetoksiasetofenon, 2,3,4-trimetoksiasetofenon, 2,4,5-trimetoksiasetofenon ve 3,4,5-trimetoksibenzaldehid bileşikleri ve etanol çözücüsü Sigma-Aldrich firmasından; 3,4-dimetoksiasetofenon, 2,3,4-trimetoksibenzaldehid, 3,4-dimetoksibenzaldehid bileşikleri BLDpharm firmasından temin edilmiştir.

Biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılan Tris-HCl, *p*-nitro fenil butirat (*p*-NPB), NaOH, pankreatik lipaz tip II enzimi, Orlistat, etanol, NaCl, HCl, PNPG (4-Nitrofenil β -D-glukuronid), 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve BHT, Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

3.1.2. Alet ve Cihazlar

Sentez ve biyolojik aktivite (*in vitro/in vivo*) çalışmalarında kullanılan alet ve cihazlar Tablo 15'te gösterilmiştir.

Tablo 15. Sentez ve biyolojik çalışmalarda kullanılan cihazlar

Alet/Cihaz	Marka/Model
Hassas Terazı	Ohaus PA214C
Terazi	Ohaus Gold series SPJ 602
Manyetik Karıştırıcı	Heidolph Mr Hei-Standart
Ultrasonik Banyo	Soltec mod.2200 ETH
Liyofilizatör	Christ Alpha 1-4 LD plus
Etüv	MMM Group-Ecocell LSIS-B2V/EC 111
Buzdolabı	Arçelik
Vakum Pompası	Millipore Model No: WP6122050
Ultraviyole Spektrofotometresi	Camag 022.9120- Perkin Elmer Lambda 25 UV/VIS Spektrometer

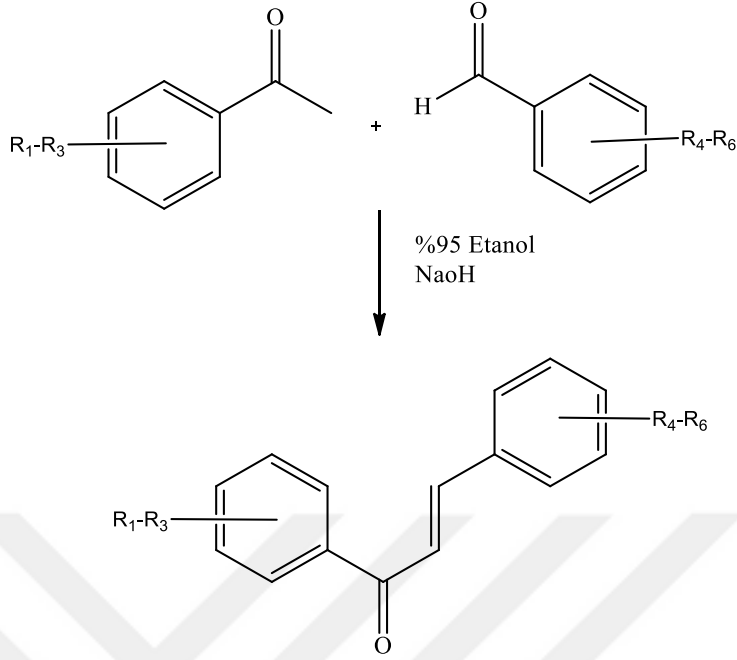
Tablo 15. (Devam)

Infrared Spektrometresi	Perkin Elmer Frontier IR Spektrometer Shimadzu IR Spektrometer
Erime Noktası Tayini Cihazı	Melting-Point Apparatus With Microscope
NMR Spektroskopisi	Bruker AVANCE III 400 MHz
Spektrofotometre	SpektrostarNano-BMG LABTECH
Laminar akışlı kabin	Mikrotest, MLF-120 ClassII
İnkübatör	Nüve, EC 160
Santrifüj Cihazı	Nüve NF 400
Doku Takip Cihazı	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA
Gömme Cihazı	HistoCore Arcadia H & HistoCore Arcadia C
Doku Boyama Cihazı	Leica autostainer XL, Minnesota, USA
Kameralı Dijital Fotoğraf Makinesi	P71 Olympus, Tokyo, Japan

3.2. Metoksi Kalkon Bileşiklerinin Sentezi

1-12 Nolu bileşiklerin sentezi Claisen-Schmidt kondenzasyonuna göre gerçekleştirilmiştir (Tablo 16). Metoksi sübtitüe asetofenon ile metoksi sübtitüe benzaldehit bileşiklerinin bazik ortamda su ve alkol çözücüsü ile çözülerek oda sıcaklığında sentez reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar ince tabaka kromatografisi (İTK) yöntemi ile kontrol edilerek sonlandırılmıştır. Analizler özel olarak hazırlanan silika jel kaplanmış hazır alüminyum plaklar (İTK Silica gel 60 F₂₅₄, 20x20 cm, Merck) kullanılarak yapılmıştır. Sentezlenen bileşikler kristallendirme ile saflaştırılmıştır.

Tablo 16. Metoksi kalkon (1-12) bileşiklerinin sentezi

						
	-R ₁	-R ₂	-R ₃	-R ₄	-R ₅	-R ₆
1	3-OCH ₃	4-OCH ₃	5-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃	5-OCH ₃
2	3-OCH ₃	4-OCH ₃	5-OCH ₃	2-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃
3	3-OCH ₃	4-OCH ₃	5-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃	-H
4	2-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃	5-OCH ₃
5	2-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃	2-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃
6	2-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃	-H
7	2-OCH ₃	4-OCH ₃	5-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃	5-OCH ₃
8	2-OCH ₃	4-OCH ₃	5-OCH ₃	2-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃
9	2-OCH ₃	4-OCH ₃	5-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃	-H
10	3-OCH ₃	4-OCH ₃	-H	3-OCH ₃	4-OCH ₃	5-OCH ₃
11	3-OCH ₃	4-OCH ₃	-H	2-OCH ₃	3-OCH ₃	4-OCH ₃
12	3-OCH ₃	4-OCH ₃	-H	3-OCH ₃	4-OCH ₃	-H

3.2.1. 1 Nolu Bileşiğin Sentezi

0.6 g (15 mmol) NaOH tartılarak bir beherde 2 mL saf suda magnetik karıştırıcı ile çözülmüş ve üzerine %95'lik 4 mL etanol ilave edilmiştir. Beher buz su banyosuna yerleştirilmiş ve reaksiyon ortamı soğutulmuştur. 1.05 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi

asetofenon 5 mL etanolde tamamen çözüldükten sonra NaOH üzerine yavaşça eklenmiştir ve karıştırılmaya devam edilmiştir. 30 dakika sonra 0.98 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi benzaldehit 5 mL etanolde çözülerek damla damla karışıma eklenmiştir. 2 saat sonra karışım buz banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığında 12 saat karışması sağlanmıştır. Çöken kısım sinterlenmiş huniden süzülerek katı faz soğuk su ile yıkanmıştır. Kroze içinde kalan katı kısım spatül ile kazınarak alınmış ve saflığı İTK ile kontrol edilmiştir. Saf madde liyofilizatör ile kurutulmuş ve 1.68 g (4.32 mmol) madde elde edilmiştir. Sonrasında nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. 2 Nolu Bileşiğin Sentezi

0.6 g (15 mmol) NaOH tartılarak bir beherde 2 mL saf suda magnetik karıştırıcı ile çözülmüş ve üzerine %95'lik 4 mL etanol ilave edilmiştir. Beher buz su banyosuna yerleştirilmiş ve reaksiyon ortamı soğutulmuştur. 1.05 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi asetofenon 5 mL etanolde tamamen çözüldükten sonra NaOH üzerine yavaşça eklenmiştir ve karıştırılmaya devam edilmiştir. 30 dakika sonra 0.98 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi benzaldehit 5 mL etanolde çözülerek damla damla karışıma eklenmiştir. 2 saat sonra karışım buz banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığında 12 saat karışması sağlanmıştır. Çöken kısım sinterlenmiş huniden süzülerek katı faz soğuk su ile yıkanmıştır. Kroze içinde kalan katı kısım spatül ile kazınarak alınmış ve saflığı İTK ile kontrol edilmiştir. Saf madde liyofilizatör ile kurutulmuş ve 1.79 g (4.60 mmol) madde elde edilmiştir. Sonrasında NMR spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. 3 Nolu Bileşiğin Sentezi

0.6 g (15 mmol) NaOH tartılarak bir beherde 2 mL saf suda magnetik karıştırıcı ile çözülmüş ve üzerine %95'lik 4 mL etanol ilave edilmiştir. Beher buz su banyosuna yerleştirilmiş ve reaksiyon ortamı soğutulmuştur. 1.05 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi asetofenon 5 mL etanolde tamamen çözüldükten sonra NaOH üzerine yavaşça eklenmiştir ve karıştırılmaya devam edilmiştir. 30 dakika sonra 0.83 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi benzaldehit 5 mL etanolde çözülerek damla damla karışıma eklenmiştir. 2 saat sonra karışım buz banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığında 12 saat karışması sağlanmıştır. Çöken kısım sinterlenmiş huniden süzülerek katı faz soğuk su ile yıkanmıştır. Kroze içinde kalan katı kısım spatül ile kazınarak alınmış ve saflığı İTK ile kontrol edilmiştir. Saf madde liyofilizatör ile kurutulmuş ve 1.64 g (4.57 mmol) madde elde edilmiştir. Sonrasında NMR spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. 4 Nolu Bileşimin Sentezi

0.6 g (15 mmol) NaOH tartılarak bir beherde 2 mL saf suda magnetik karıştırıcı ile çözülmüş ve üzerine %95'lik 4 mL etanol ilave edilmiştir. Beher buz su banyosuna yerleştirilmiş ve reaksiyon ortamı soğutulmuştur. 1.05 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi asetofenon 5 mL etanolde tamamen çözüldükten sonra NaOH üzerine yavaşça eklenmiştir ve karıştırılmaya devam edilmiştir. 30 dakika sonra 0.98 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi benzaldehit 5 mL etanolde çözülerek damla damla karışıma eklenmiştir. 2 saat sonra karışım buz banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığında 12 saat karışması sağlanmıştır. Çöken kısım sinterlenmiş huniden süzülerek katı faz soğuk su ile yıkanmıştır. Kroze içinde kalan katı kısım spatül ile kazınarak alınmış ve saflığı İTK ile kontrol edilmiştir. Saf madde liyofilizatör ile kurutulmuş ve 1.57 g (4.04 mmol) madde elde edilmiştir. Sonrasında NMR spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. 5 Nolu Bileşimin Sentezi

0.6 g (15 mmol) NaOH tartılarak bir beherde 2 mL saf suda magnetik karıştırıcı ile çözülmüş ve üzerine %95'lik 4 mL etanol ilave edilmiştir. Beher buz su banyosuna yerleştirilmiş ve reaksiyon ortamı soğutulmuştur. 1.05 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi asetofenon 7 mL etanolde tamamen çözüldükten sonra NaOH üzerine yavaşça eklenmiştir ve karıştırılmaya devam edilmiştir. 30 dakika sonra 0.98 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi benzaldehit 7 mL etanolde çözülerek damla damla karışıma eklenmiştir. 2 saat sonra karışım buz banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığında 12 saat karışması sağlanmıştır. Karışım süzölmüş ve beher içerisinde yağimsı olarak çöken organik faz spatül yardımı ile alınmış ve saflığı İTK ile kontrol edilmiştir. Saf madde liyofilizatör ile kurutulmuş ve 1.76 g (4.37 mmol) madde elde edilmiştir. Sonrasında NMR spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.6. 6 Nolu Bileşimin Sentezi

0.6 g (15 mmol) NaOH tartılarak bir beherde 2 mL saf suda magnetik karıştırıcı ile çözülmüş ve üzerine %95'lik 4 mL etanol ilave edilmiştir. Beher buz su banyosuna yerleştirilmiş ve reaksiyon ortamı soğutulmuştur. 1.05 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi asetofenon 7 mL etanolde tamamen çözüldükten sonra NaOH üzerine yavaşça eklenmiştir ve karıştırılmaya devam edilmiştir. 30 dakika sonra 0.83 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi benzaldehit 7 mL etanolde çözülerek damla damla karışıma eklenmiştir. 2 saat sonra karışım buz banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığında 12 saat karışması sağlanmıştır. Karışım süzölmüş ve beher içerisinde yağimsı olarak çöken organik faz spatül yardımı ile alınmış ve

saflığı İTK ile kontrol edilmiştir. Saf madde liyofilizatör ile kurutulmuş ve 1.72 g (4.79 mmol) madde elde edilmiştir. Sonrasında NMR spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.7. 7 Nolu Bileşiğin Sentezi

0.6 g (15 mmol) NaOH tartılarak bir beherde 2 mL saf suda magnetik karıştırıcı ile çözülmüş ve üzerine %95'lik 4 mL etanol ilave edilmiştir. Beher buz su banyosuna yerleştirilmiş ve reaksiyon ortamı soğutulmuştur. 1.05 g (5 mmol) 2,4,5-trimetoksi asetofenon 7 mL etanolde tamamen çözüldükten sonra NaOH üzerine yavaşça eklenmiştir ve karıştırılmaya devam edilmiştir. 30 dakika sonra 0.98 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi benzaldehit 7 mL etanolde çözülerek damla damla karışıma eklenmiştir. 2 saat sonra karışım buz banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığında 12 saat karışması sağlanmıştır. Çöken kısım sinterlenmiş huniden süzülerek katı faz soğuk su ile yıkanmıştır. Kroze içinde kalan katı kısım spatül ile kazınarak alınmış ve saflığı İTK ile kontrol edilmiştir. Saf madde liyofilizatör ile kurutulmuş ve 1.66 g (4.29 mmol) madde elde edilmiştir (Reaksiyon-1, R1). Sonrasında NMR spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

In vitro lipaz enzim inhibisyon çalışmaları doğrultusunda *in vivo* deney protokolünde etkin madde kullanımı için sentez reaksiyonu yukarıda belirtildiği şekilde fazla miktarda (başlangıç maddeleri 20 mmol) çalışılarak gerçekleştirilmiştir. Saflaştırma kristallendirme yoluyla yapılmıştır ve 7.03 g madde elde edilmiştir (Reaksiyon-2, R2). Saflığı İTK ile kontrol edilmiştir.

3.2.8. 8 Nolu Bileşiğin Sentezi

0.6 g (15 mmol) NaOH tartılarak bir beherde 2 mL saf suda magnetik karıştırıcı ile çözülmüş ve üzerine %95'lik 4 mL etanol ilave edilmiştir. Beher buz su banyosuna yerleştirilmiş ve reaksiyon ortamı soğutulmuştur. 1.05 g (5 mmol) 2,4,5-trimetoksi asetofenon 7 mL etanolde tamamen çözüldükten sonra NaOH üzerine yavaşça eklenmiştir ve karıştırılmaya devam edilmiştir. 30 dakika sonra 0.98 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi benzaldehit 7 mL etanolde çözülerek damla damla karışıma eklenmiştir. 2 saat sonra karışım buz banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığında 12 saat karışması sağlanmıştır. Çöken kısım sintelenmiş huniden süzülerek katı faz soğuk su ile yıkanmıştır. Kroze içinde kalan katı kısım spatül ile kazınarak alınmış ve saflığı İTK ile kontrol edilmiştir. Saf madde liyofilizatör ile kurutulmuş ve 1.68 g (4.32 mmol) madde elde edilmiştir. Sonrasında NMR spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.9. 9 Nolu Bileşimin Sentezi

0.6 g (15 mmol) NaOH tartılarak bir beherde 2 mL saf suda magnetik karıştırıcı ile çözülmüş ve üzerine %95'lik 4 mL etanol ilave edilmiştir. Beher buz su banyosuna yerleştirilmiş ve reaksiyon ortamı soğutulmuştur. 1.05 g (5 mmol) 2,4,5-trimetoksi asetofenon 5 mL etanolde tamamen çözüldükten sonra NaOH üzerine yavaşça eklenmiştir ve karıştırılmaya devam edilmiştir. 30 dakika sonra 0.83 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi benzaldehit 5 mL etanolde çözülerek damla damla karışıma eklenmiştir. 2 saat sonra karışım buz banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığında 12 saat karışması sağlanmıştır. Çöken kısım sinterlenmiş huniden süzülerek katı faz soğuk su ile yıkanmıştır. Kroze içinde kalan katı kısım spatül ile kazınarak alınmış ve saflığı İTK ile kontrol edilmiştir. Saf madde liyofilizatör ile kurutulmuş ve 1.39 g (3.87 mmol) madde elde edilmiştir. Sonrasında NMR spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.10. 10 Nolu Bileşimin Sentezi

0.6 g (15 mmol) NaOH tartılarak bir beherde 2 mL saf suda magnetik karıştırıcı ile çözülmüş ve üzerine %95'lik 4 mL etanol ilave edilmiştir. Beher buz su banyosuna yerleştirilmiş ve reaksiyon ortamı soğutulmuştur. 0.9 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi asetofenon 5 mL etanolde tamamen çözüldükten sonra NaOH üzerine yavaşça eklenmiştir ve karıştırılmaya devam edilmiştir. 30 dakika sonra 0.98 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi benzaldehit 5 mL etanolde çözülerek damla damla karışıma eklenmiştir. 2 saat sonra karışım buz banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığında 12 saat karışması sağlanmıştır. Çöken kısım sinterlenmiş huniden süzülerek katı faz soğuk su ile yıkanmıştır. Kroze içinde kalan katı kısım spatül ile kazınarak alınmış ve saflığı İTK ile kontrol edilmiştir. Saf madde liyofilizatör ile kurutulmuş ve 1.55 g (4.32 mmol) madde elde edilmiştir. Sonrasında NMR spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.11. 11 Nolu Bileşimin Sentezi

0.6 g (15 mmol) NaOH tartılarak bir beherde 2 mL saf suda magnetik karıştırıcı ile çözülmüş ve üzerine %95'lik 4 mL etanol ilave edilmiştir. Beher buz su banyosuna yerleştirilmiş ve reaksiyon ortamı soğutulmuştur. 0.9 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi asetofenon 5 mL etanolde tamamen çözüldükten sonra NaOH üzerine yavaşça eklenmiştir ve karıştırılmaya devam edilmiştir. 30 dakika sonra 0.98 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi benzaldehit 5 mL etanolde çözülerek damla damla karışıma eklenmiştir. 2 saat sonra karışım buz banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığında 12 saat karışması sağlanmıştır. Çöken kısım

sinterlenmiş huniden süzülerek katı faz soğuk su ile yıkanmıştır. Kroze içinde kalan katı kısım spatül ile kazınarak alınmış ve saflığı İTK ile kontrol edilmiştir. Saf madde liyofilizatör ile kurutulmuş ve 1.43 g (4.01 mmol) madde elde edilmiştir. Sonrasında NMR spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.12. 12 Nolu Bileşiğin Sentezi

0.6 g (15 mmol) NaOH tartılarak bir beherde 2 mL saf suda magnetik karıştırıcı ile çözülmüş ve üzerine %95'lik 4 mL etanol ilave edilmiştir. Beher buz su banyosuna yerleştirilmiş ve reaksiyon ortamı soğutulmuştur. 0.9 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi asetofenon 5 mL etanolde tamamen çözüldükten sonra NaOH üzerine yavaşça eklenmiştir ve karıştırılmaya devam edilmiştir. 30 dakika sonra 0.83 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi benzaldehit 5 mL etanolde çözülerek damla damla karışıma eklenmiştir. 2 saat sonra karışım buz banyosundan çıkarılarak oda sıcaklığında 12 saat karışması sağlanmıştır. Üzerine soğuk su ilave edilerek karışımda yağimsi olarak çöken organik faz spatül yardımı ile alınmış ve saflığı İTK ile kontrol edilmiştir. Saf madde liyofilizatör ile kurutulmuş ve 1.47 g (4.47 mmol) madde elde edilmiştir. Sonrasında NMR spektroskopisi analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.13. Yapı aydınlatma Yöntemleri

Sentezlenen bileşiklerin saflıkları İTK analizleri ile kontrol edildikten sonra yapıları ^1H ve ^{13}C (APT) NMR spektroskopisi yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.3. *In vitro* Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.3.1. Lipaz Enzim Aktivite Çalışmaları

12 Adet bileşik, tampon çözelti kullanılarak (Tris-HCl tamponu, 0.1 M, pH = 8.0) dilüe edilmiş ve son konsantrasyonları 25, 50, 100, 200 ve 400 $\mu\text{g} / \text{mL}$ olan mikrolaklar elde edilmiştir. Substrat olarak p-NPB kullanılarak lipaz inhibisyon düzeyleri ölçülmüştür (35). Pozitif kontrol lipaz inhibitörü olarak FDA onaylı orlistat kullanılmıştır. Orlistat, pH=8.0 ve 0.1 M konsantrasyonda olan Tris-HCl tamponu ile dilüe edilmiş ve mikrolaktaki son konsantrasyonları 6.25, 12.5, 25, 50 ve 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$ olarak elde edilmiştir. Örneklerin absorbans ölçümleri spektrofotometre (SpectrostarNano-BMG LABTECH) cihazında 96 kuyucuklu mikrolak kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Deney prosedürü için, mikrolaklar 4 farklı kod ile (A, B, C ve D) sınıflandırılmıştır. Mikrolaklar, A: 90 μL enzim çözeltisi (Crude porcine PL type II (CPPL-TII), Sigma, EC 3.1.1.3, 200 unit / mL), 5 μL substrat çözeltisi (10 mM p-NPB asetonitril çözeltisi); 5 μL

tampon çözeltisi (pH = 8.00, 1 M konsantrasyonda Tris-HCl tamponu); B: 90 µL enzim çözeltisi (CPPL-TII, Sigma, EC 3.1.1.3, 200 unit / mL), 10 µL tampon çözeltisi (pH = 8.00, 1 M konsantrasyonda Tris-HCl tamponu); C: 90 µL enzim çözeltisi (CPPL-TII, Sigma, EC 3.1.1.3, 200 unit / mL), 5 µL örnek çözeltisi, 5 µL substrat çözeltisi (10 mM p-NPB asetonitril çözeltisi); D: 90 µL enzim çözeltisi (CPPL-TII, Sigma, EC 3.1.1.3, 200 unit / mL), 5 µL örnek çözeltisi, 5 µL tampon çözeltisi (pH = 8.00, 1 M konsantrasyonda Tris-HCl tamponu) olacak şekilde planlanmıştır. Mikroplaklar inkübatörde (Mettler) 37 °C’de 15 dk süreyle inkübe edilmiştir. Ardından substrat çözeltileri ilgili kuyucuklara eklenerek tekrar 37 °C’de 15 dk süreyle inkübe edilmiştir. Mikroplakların (örneklerin ve kontrol numunesinin) absorbansları spektrofotometrede 405 nm dalga boyunda ölçülmüştür. A, B, C ve D şeklinde tasarlanmış kuyucukların ölçülen absorbans değerleri aşağıdaki formülde yerine konularak lipaz enzimini inhibe ettiği değerler belirlenmiştir. Her bir örnek 3 tekrarlı çalışılmıştır.

$$\% \text{ Pankreatik Lipaz İnhibisyon} = \frac{[(A-B)-(C-D)]}{(A-B)} \times 100$$

Deney sonucunda, enzim inhibisyon değerleri % olarak belirlenmiş, konsantrasyon logaritması olarak grafiği geçirilmiş ve grafik denkleminde bileşiklerin IC₅₀ değerleri bulunmuştur.

3.3.2. Hücre Canlılık Testi

En yüksek lipaz enzim aktivitesi gösteren 4 bileşiğin (2, 3, 7, 8), fibroblast (L929) hücre hattı üzerine sitotoksik etkileri MTT yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Hücre kültürü çalışmaları Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı’nda yürütülmüştür. Çalışmada kullanılacak hücreler sıvı azot içerisinden çıkarılarak 37°C’de hızlıca çözülerek, %10 Fetal Bovine Serum, L-Glutamin, esansiyel olmayan aminoasitler, sodyum piruvat ve sodyum bikarbonat bulunan yüksek glukoz Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium (DMEM) besiyerinde standart kültür koşullarında (37°C’de, % 5 CO₂ içeren inkübatörde) çoğaltılmıştır. Hücrelerin besiyeri üç günde bir değiştirilerek; çalışma süresince hücrelerin üremesi devam ettirilmiştir.

Bu çalışma kapsamında ilk olarak bileşiklerin stok çözeltileri hazırlanmış, daha sonra farklı konsantrasyonlara seyreltme yapılmıştır. Maruziyet besiyerleri çözücü oranı %1’i aşmayacak şekilde oluşturularak negatif kontrol grubu olarak %1 oranında çözücü, pozitif kontrol grubu olarak ise %1’lik sodyum dodesil sülfat kullanılmıştır. Sitotoksikite testleri

96-kuyucuklu hücre kültür plakaları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, kuyucuklara 100 µL'de 5000 hücre olacak şekilde ekilmiştir. Mikroplakaların 24 saat boyunca 37°C ve %5 CO₂ ayarlı olan inkübatörde bekletilmesi sonucunda hücrelerin yüzeye yapışması sağlanmıştır. Bu süre sonunda bileşiklerin maruziyet besiyerleri oluşturulmuş ve plakalara ilave edilmiştir. Mikroplakalar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda besiyerleri tekrar uzaklaştırılmış, 5 mg / mL MTT ile hazırlanan besiyeri her kuyucuk başına 100 µL koyulmuştur. Plakalar inkübatöre alınıp 3 saat bekletildikten sonra besiyer uzaklaştırılıp her kuyucuk başına 100 µL dimetil sülfoksit (DMSO) ilave edilmiştir. Plakalar 10 dakika çalkalayıcıda bekletilip, mikropilaka okuyucu spektrofotometre ile 570 nm'de ölçülmüştür. Uygulanan konsantrasyona karşı elde edilen canlılık eğrisi ile IC₅₀ değeri hesaplanmıştır (185).

3.3.3. Diğer Enzim Aktivite Çalışmaları

3.3.3.1. Asetilkolin / Bütirilkolin Esteraz Enzim Aktivite Çalışmaları

Asetilkolinesteraz yönteminin esası, 5,5- dithio-bis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) varlığında salınan sarı renkli tiyokolinin oluşmasına dayanmaktadır. Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesinin belirlenmesinde, substrat olarak asetiltiyokolin iyodür, enzim olarak ise asetilkolinesteraz kullanılmıştır. Bütirilkolinesteraz inhibisyon aktivitesinde ise, substrat olarak bütiriltiyokolin iyodür, enzim olarak ise at serumundan elde edilmiş bütirilkolinesteraz enzimi kullanılmıştır (186).

Mikropilak kuyucuklarına, pH = 8 olarak hazırlanmış 130 µL fosfat tamponu, metoksi kalkon bileşiklerinin 10 µL 0.5 mM konsantrasyondaki etanollü çözeltilerinden ve 20 µL de enzim çözeltilisinden pipetlenmiştir. Bu karışım 10 dk süreyle, 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 10 dk sonrasında, DTNB reaktifi ve substratın her birinden 20 µL tüm kuyucuklara eklenmiştir.

Galantamin, standart olarak (antikolinesteraz) kullanılmıştır. ELISA okuyucuya mikropilaka yerleştirilmiş ve 412 nm dalga boyunda absorpsanlar belirlenmiştir. Aktiviteye sahip bileşiklerin bir seri halinde, çözeltileri 25 µg / mL'den 200 µg / mL'ye kadar dilüe edilmiş ve aynı işlemler tekrarlanarak IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

3.3.3.2. Tirozinaz Enzim Aktivite Çalışmaları

Tirozinaz inhibitör aktivitenin belirlenmesi, substrat olarak L-DOPA'nın kullanıldığı dopakrom yöntemi esasına dayanmaktadır (187). 96 kuyucuklu mikropilaka içerisinde, 25

μL örnek çözeltisi, 40 μL tirozinaz çözeltisi ve pH = 6.8 olan 100 μL fosfat tamponu birleştirilmiş ve 15 dk süreyle, 25 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Reaksiyon başlatılması 40 μL L-DOPA eklenerek sağlanmıştır. Benzer adımlarla enzim bulundurmeyen kör çözeltisi hazırlanmıştır. Örnek ve kör çözeltileri inkübe edildikten sonra (10 dakika 25 °C’de) spektrofotometre aracılığıyla absorbansları 492 nm’de tespit edilmiştir. Bileşiklerin tirozinaz inhibitör aktivitesi, standart olarak kullanılan kojik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

3.3.3.3. α -Amilaz Enzim Aktivite Çalışmaları

Bileşiklerin α -amilaz inhibitor aktivitesinin belirlenmesinde, Caraway-Somogyi iyodur/potasyum iyodur (IKI) yöntemi kullanılmıştır (188). 96 kuyucuklu mikrolaka içerisinde, 25 μL örnek çözeltisi, 50 μL α -amilaz çözeltisi ve pH = 6.9 olan 6 mM sodyum klorür karıştırılmış ve 10 dk, 37 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Ön inkübasyondan sonra reaksiyona nişasta çözeltisi (50 μL , % 0.05) yavaş yavaş eklenmiştir. Benzer adımlarla enzim bulundurmeyen kör çözeltisi hazırlanmıştır. Sonrasında, 10 dakika, 37 °C’de inkübasyon sağlanmış ve reaksiyon HCl (25 μL , 1 M) eklenmesi ile durdurulmuştur. Bunun üzerine 100 μL olacak şekilde iyodin-potasyum iyodür çözeltisi eklenmiştir. 630 nm’de örnek ve kör absorbansları spektrofotometre ile belirlenmiştir. Bileşiklerin α -amilaz inhibitor aktivitesi akarboz eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

3.3.3.4. α -Glukozidaz Enzim Aktivite Çalışmaları

Bileşiklerin α -glukozidaz inhibitör aktivitesinin belirlenmesinde, Palanisamy ve ark.’nın geliştirdiği yöntem kullanılmıştır (189). 96 kuyucuklu mikrolaka içinde, örnek çözeltisi (50 μL), glutatyon (50 μL), α -glukozidaz çözeltisi (50 μL), fosfat tamponu (pH = 6.8 olan 50 μL) ve PNPG (4-Nitrofenil β -D-glukuronid) (50 μL) çözeltisi karıştırılmış ve 37 °C’de, 15 dakika süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Benzer aşamalarla enzim bulunmayan kör çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon sodyum karbonat (50 μL , 0.2 M konsantrasyonda) eklendiğinde sonlandırılmıştır. Örnek ve kör absorbansları spektrofotometre aracılığıyla 400 nm’de belirlenmiştir. Bileşiklerin α -glukozidaz inhibitör aktivitesi akarboz eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

3.3.4. Antioksidan Aktivite Çalışmaları

3.3.4.1. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP)

FRAP metodu, Fe (III)-TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-S-triazin) kompleksinin antioksidan madde varlığında Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye indirgenmesi ile mavi renkli Fe(II)-TPTZ kompleksinin oluşması ve 595 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermesi prensibine dayanmaktadır (190, 191). Troloks'un farklı konsantrasyonları (62.5, 125, 250, 500, 1000 μ M) kalibrasyon için hazırlanmış ve etanol çözeltileri kullanılmıştır. Metoksi kalkon numunelerinin konsantrasyonları 10 mg / mL olarak hazırlanmıştır. Deney öncesinde taze olarak hazırlanan FRAP reaktifi çalışma süresince manyetik karıştırıcıda tutulmuştur. Çalışmada kör olarak örneklerin kendi çözücülerini kullanılmıştır. 50'şer μ L numune çözeltilerinden alınmış, üzerine FRAP reaktifinden 1.5 mL eklenmiştir. Tüpler vortekslenmiş ve 20 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Süre sonunda numunelerin absorbansları spektrofotometre yardımıyla 595 nm dalga boyunda ölçülerek FRAP değerleri Troloks standart maddesi ile karşılaştırılarak TEAC (μ M) olarak grafiğe geçirilmiştir.

3.3.4.2. Bakır (II) İndirgeme Antioksidan Gücü (CUPRAP)

Metod, antioksidan madde varlığında, 9-dimetil-1,10-fenantrolin (Nc)'in Cu(II) ile oluşan Cu(II)-Nc'nin oluşturduğu [bakır(I)- neokuproin (Cu(I)-Nc)] şelatının 450 nm dalga boyunda maksimum absorbans alınması ile antioksidan güç hesaplanmasına dayanmaktadır (192). Troloks'un farklı konsantrasyonları (62.5, 125, 250, 500, 1000 μ M) kalibrasyon için hazırlanmış ve metanol çözeltileri kullanılmıştır. Metoksi kalkon numuneleri 10 mg / mL konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Çalışmada kör olarak numunelerin kendi çözücülerini kullanılmıştır. Numune çözeltilerinden (500'er μ L) alındıktan sonra $NH_4CH_3COO^-$ (1000 μ L) ve $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ (1000 μ L) pipetlenmiştir. Sonrasında test çözeltilerine Nc reaktifi (1000 μ L) pipetlenirken numune körü için 20 sn arayla reaktif çözücüsü (metanol, 1000 μ L) eklenmiştir. Tüpler vortekslenmiş ve önce karanlıkta ve sonrasında oda sıcaklığında 30'ar dk bekletilmiştir. Geçen sürenin sonunda spektrofotometre yardımıyla 450 nm dalga boyunda numunelerin absorbansları ölçülmüştür. Standart madde olan troloks'a karşı numunelerin antioksidan kapasitesi belirlenmiş ve TEAC (μ M) olarak hesaplanmıştır.

3.3.4.3. DPPH Radikali Giderici Aktivite

2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal giderici aktivite yöntemi, antioksidan maddeden DPPH radikali üzerine bir protonun aktarılması sonucunda mor menekşe renginin kaybolması ve 517 nm'de spektrofotometre yardımıyla absorbansın ölçülmesi prensibine

dayanmaktadır (193). Kirby ve Schmidt tarafından geliştirilen yöntem esas alınarak radikal giderici aktivite tespit edilmiştir (191). Deneyde ticari olarak satın alınan DPPH radikalinin hazırlanan 100 µM'lık metanol çözeltisi kullanılmıştır. Antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin ortamda bulunmasıyla mor menekşe rengin açılması ve kaybolması ile 517 nm dalga boyunda spektrofotometre ile maksimum absorbansındaki azalış belirlenmiştir. Metanol ve BHT (0.01 mg / mL) standart madde olarak kullanılmıştır (193).

Öncelikli olarak antioksidan aktivite araştırması yapılacak metoksi kalkon numunelerinin çalışma için en uygun konsantrasyonları tespit edilmiştir. Ön çalışmalarda hazırlanan DPPH ve numune çözeltisinden eşit oranda pipetlenmiş ve 40 dk bekletildikten sonra radikalın mor menekşe rengi sabit kalıncaya kadar deneme çalışmaları yapılmış ve renk kalıcı olduğundaki konsantrasyon numune için en uygun konsantrasyon olarak belirlenmiş, renk kaybolduğunda numune konsantrasyonu seyreltilmiş ve işlemler tekrarlanmıştır. Numunelerin kendi çözücüleri ile seyreltilmiş farklı konsantrasyonları hazırlanırken; BHT'nin stok çözeltisi de 1:1 oranında dilüe edilmiş ve 5 farklı dilüsyonu elde edilmiştir. DPPH çözeltisi ve numune çözeltileri 750 µL olacak şekilde eşit hacimde karıştırılıp sonrasında vortekslenmiştir. Daha sonra oda sıcaklığında ve karanlıkta, başlangıçtan itibaren toplamda 55 dakika olacak şekilde bekletilmiştir. Süre sonunda 517 nm dalga boyunda, örneklerin absorbansı kör çözeltiliye karşı spektrofotometrede okunarak tespit edilmiştir. DPPH çözeltisi ve numunelerin kör olarak kendi çözüldüğü çözücüler referans alınmıştır. Elde edilen absorbanslara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirilmiş ve SC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Tüm numuneler üç tekrarlı çalışılmıştır.

3.3.5. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

12 Adet metoksi kalkon bileşiğinin antibakteriyal etkinliği, gram negatif (Gr (-)) enterik bakteriler; *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Yersinia pseudotuberculosis* (ATCC 911) ve gram negatif fermentatif olmayan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 43288), gram pozitif (Gr (+)) bakteriler; *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Listeria monocytogenes* (ATCC 43251), sporlu basil *Bacillus cereus* (709 ROMA), gram almayan bakteri; *Mycobacterium smegmatis* (ATCC607) ve mayalar; *Candida albicans* (ATCC 60193) ve *Saccharomyces cerevisiae* (RSKK 251) olmak üzere toplam 10 mikroorganizmaya karşı araştırılmıştır. Metoksi kalkon bileşiklerinin agar kuyucuk metodunda yapılan çalışmada 500-250 µg / mL konsantrasyonlarının 10 mm ve üzeri zon çapı verdikleri durumlarda kantitatif olarak mikrodilüsyon sıvı yöntemi

kullanılarak minimal inhibisyon konsantrasyon (MİK, µg / mL) belirlenmiştir (194). MIC yöntemi, “National Committee for Clinical Laboratory Standard” (NCCLS) standartlarına göre yapılmıştır. Besiyerleri bakteriler için; Mueller-Hinton agar (MHA) ve sıvı (MHB, H.7.3, Difco, Detroit, MI), gram vermeyen bakteri (*M. smegmatis* RSKK 251) suşu için; Brain Heart Infusion (BHI, Difco, Detroit, MI), mayalar için; Yeast Nitrogen Base sıvı (YNBB, pH 7.0, Difco, Detroit, MI) ve Potato Dextrose agar (PDA, Difco, Detroit, MI) kullanılmıştır. Kültürler 3-5 gün, aerobik koşullarda (35 °C’de) inkübe edilerek yapılmıştır (195). Mikrodilüsyon testi ELİSA pleytleri kullanarak yapılmıştır. Maddelerin 0.1 mL’si sıvı büyüme ortamı kullanılarak seri sulandırma yapılmıştır. Bir gece kültürlenen inoküle olacak mikroorganizmalar, McFarland 0.5 bulanıklığına geldiğinde (1×10^8 kob / mL) 1/10 oranında sulandırılarak her kuyucuğa 5×10^4 kob/kuyucuk konsantrasyonunda son test çözeltisinden 0.005 mL mikroorganizma koyulmuştur. Pleytler aerobik şartlarda, etüvde (35 °C’de) ve 16 ile 72 saat aralığında bekletilmiş ve MİK hesabı en düşük antimikrobik konsantrasyonda gözle görülmesine göre ve mikroorganizmanın kuyucuktaki üremesinin durmasına göre yapılmıştır.

3.4. *In vivo* Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.4.1. Sıçanlara Uygulanan Numunelerin Hazırlanması

In vivo modelle yapılan biyolojik aktivite çalışmalarında kullanılacak etkin madde miktarı, sıçanların ortalama ağırlığı referans alınarak (200 g) hesaplanmıştır ve iki farklı dozda (10 mg / kg ve 40 mg / kg) serum fizyolojik içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

In vivo biyolojik aktivite çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılacak orlistat miktarı da sıçanların ortalama ağırlığı 200 g kabul edilerek hesaplanmıştır ve orlistat 10 mg / kg dozda olacak şekilde serum fizyolojik ile karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.4.2. Deney Hayvanları

Bu çalışma için ağırlıkları yaklaşık 180-225 gram arasında olan 40 adet Spraque Dawley tipi dişi sıçanlar KTÜ Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezi’nden temin edilmiştir. Haftalık periyotlar halinde ağırlık takibi yapılmıştır. Sıçanlar tek tek bireysel kafeslerde 22 ± 2 °C’de, karanlık (12 saat) ve aydınlık (12 saat) ortamda barındırılmıştır. Sıçanlar eşit sayıda ($n = 8$) Tablo 17’de belirtildiği gibi 5 diyet grubuna ayrılmıştır. Bu çalışmanın etik kurul onayı KTÜ Deney Hayvanları Yerel Etik Kurul Başkanlığı’ndan alınmıştır (53488718 sayılı 2021/5-3 nolu karar).

Tablo 17. *In vivo* antiobezite aktivite deney ve kontrol grupları

Deney ve kontrol grupları		Hayvan adedi
Grup I	Standart yem (SY) + serum fizyolojik (SF) 1 mL (kontrol grubu)	8 adet
Grup II	Yüksek yağlı diyet yemi (YDY) + SF 1 mL (negatif kontrol grubu)	8 adet
Grup III	YDY + orlistat (10 mg/kg) (pozitif kontrol grubu)	8 adet
Grup IV	YDY + etkili biyoaktif bileşik (10 mg/kg)	8 adet
Grup V	YDY + etkili biyoaktif bileşik (40 mg/kg)	8 adet
Kullanılan toplam hayvan sayısı		40 adet

8 haftalık deney süresince sıçanlar aldıkları kaloriye göre temel olarak iki kategoriye ayrılmıştır. Birinci grup standart yemle (SY) beslenen sağlıklı sıçanlardan, ikinci gruptakiler ise yüksek yağlı diyet yemi (YDY, w/%60 Energy From Fat-Blue, Arden %35 yağlı saflaştırılmış obezite yemi) ile beslenen sıçanlardan oluşturulmuştur. 1 haftalık adaptasyon süresi sonrasında, Grup I: SY (kontrol grubu) ve Grup II: YDY (negatif kontrol grubu) deney süresince günde bir kez 1 mL serum fizyolojik (SF) intragastrik gavaj uygulaması ile verilmiştir. 56 günlük deney süresince diğer yüksek yağlı diyet gruplarına; Grup III: Yüksek yağlı diyet yemi + orlistat 10 mg/kg dozunda SF’de çözülerek ve 1 mL’ye tamamlanarak (pozitif kontrol grubu), Grup IV: Yüksek yağlı diyet yemi + etkili biyoaktif bileşik 10 mg/kg dozunda SF’de çözülerek ve 1 mL’ye tamamlanarak ve Grup V: Yüksek yağlı diyet yemi + etkili biyoaktif bileşik 40 mg/kg dozunda SF’de çözülerek ve 1 mL’ye tamamlanarak günde bir kez intragastrik gavaj uygulaması ile verilmiştir (196). Deneyin 57. gününde abdominal aortadan kan numunesi alındıktan hemen sonra kansızlaştırma yöntemiyle ötenazi sağlanmıştır.

3.4.3. Biyokimyasal Analiz Çalışmaları

8 Haftalık deney protokolü sonunda sıçanların kanları alındıktan sonra serum analizlerinin yapılabilmesi için kan örnekleri antikoagülansız tüpe alınarak oda sıcaklığında pıhtılaşması beklenmiş ve sonrasında santrifüjlenerek (1000 g’de 10 dakika) serumları elde

edilmiştir. Sonrasında elde edilen serum numunelerinde obeziteyle ilişkili HDL, LDL, trigliserit, total kolesterol, insülin, glukoz, adiponektin ve IL-1 β 'in yanı sıra böbrek fonksiyonları için kreatinin, karaciğer fonksiyonları için AST ve ALT düzeyleri belirlenmiştir.

Sıçan serumlarındaki trigliserit, total kolesterol, glukoz, AST, ALT ve kreatinin değerleri Karadeniz Teknik Üniversitesi Farabi Eğitim Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda yapılan analizlerle belirlenmiştir. HDL (Catalog No: FN-EK-ER1035), LDL (Catalog No: E-EL-R0579), IL-1 β (Catalog No: FN-EK-ER1094), adiponektin (Catalog No: FN-EK-ER0006) ve insülin (Catalog No: YHB1648Hu) düzeyleri ticari kitler kullanılarak tespit edilmiştir.

3.4.4. Histopatolojik Analiz Çalışmaları

Histopatolojik çalışmalar için deney gruplarına ait yağ, karaciğer ve böbrek doku örnekleri çıkartılmış ve tampon çözeltilerde saklanan dokular %10'luk formaldehit çözeltisi içerisine koyularak tespit edilmiştir. Bu dokular daha sonra Thermo Scientific ExcelsiorTM AS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA USA) tam otomatik doku takip cihazında standart doku takip prosedürüne uygun şekilde takip edilmiştir. Takip sonrasında HistoCore Arcadia H & HistoCore Arcadia C (Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Germany) gömme cihazı kullanılarak parafin içine gömülerek blok haline getirilen dokulardan tam otomatik olan mikrotom (Leica RM 2255, Tokyo, Japan) ile 5 μ m kalınlığında kesitler alınmıştır. Kesitler benmari (Lipshaw) içinde 37 °C'deki sıcak su üzerinde kırıksıklıkları giderildikten sonra lam üzerine alınmış ve elde edilen lamlar doku boyama cihazında (Leica autostainer XL, Minnesota, USA) standart prosedürüne uygun şekilde hematoksilin&eoizin ile boyanarak entellan ile kapatılmıştır. Yağ dokularına ait genel morfolojik değerlendirme ve çap ölçümleri, karaciğer dokularına ait hepatosteatoz ve genel morfoloji değerlendirmeleri, böbrek dokuda genel değerlendirmeler kameralı dijital fotoğraf makinasına sahip ışık mikroskopunda (DP71 (Olympus, Tokyo, Japan) software programı kullanılarak (Analysis 5 Research, Olympus Soft Imaging Solution, Germany) yapılmıştır.

3.4.5. İstatistiksel Analiz Çalışmaları

Sıçanların haftalık ağırlık ölçümleri, haftalar arasındaki ağırlık farkları ve haftalar arasındaki % ağırlık değişimleri, biyokimyasal analizlere ait bulgular ortalama $\pm$ standart sapma alınarak tablo ve grafiklerde verilmiştir. *In vivo* çalışmalarda her grubun ortalamaları alınmış ve Kolmogorov-Smirnov Testi kullanılarak normal dağılıma uygunlukları kontrol

edilmiştir. Veriler Kruskal-Wallis testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Mann Whitney-U testi ile de ikili grup karşılaştırmaları yapılmıştır.



4. BULGULAR

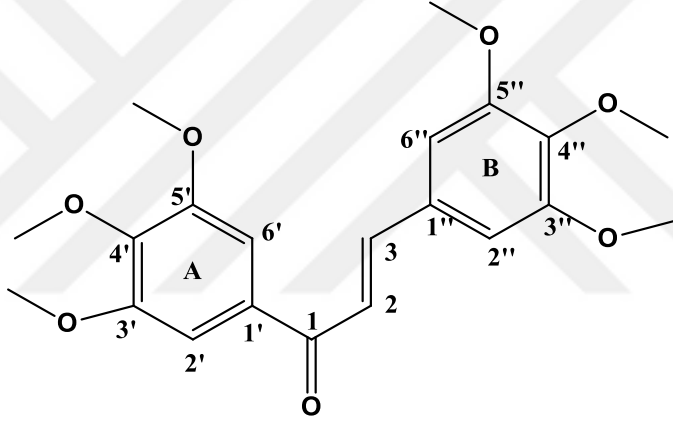
4.1. Sentez Bulguları

Saf olarak elde edilen bileşiklerin ^1H -NMR, ^{13}C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Tüm bileşiklerde karbon sinyalleri ve protonların komşulukları etkileşim sabiti ölçülerek (J) ve ACD NMR programı ile eşleştirilerek belirlenmiştir.

4.1.1.1 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları

1.05 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi asetofenon ile 0.98 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi benzaldehitin bazik ortamda oda sıcaklığında sentezi sonucunda 1.68 g (4.32 mmol) bileşik elde edilmiştir ve bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları Tablo 18’de verilmiştir.

Tablo 18. 1 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları

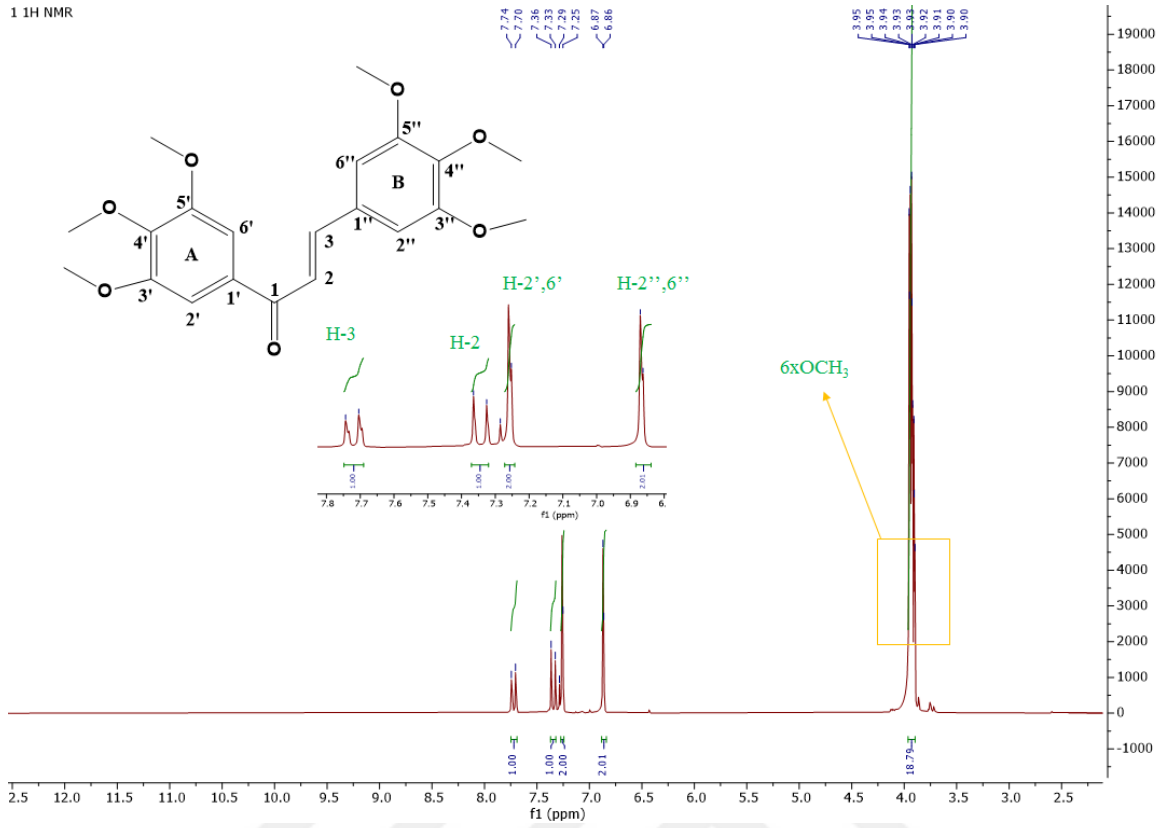
	
Molekül Adı	(2E)-1,3-bis (3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on
Molekül Formülü	$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_7$
Molekül Ağırlığı	388.41 g/mol
R_f	0.57 (Kloroform: Etil asetat, 8:1)
Verim	% 86.4

Saf olarak elde edilen bileşiğin ^1H -NMR, ^{13}C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşiğin ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR (APT) spektral değerleri Tablo 19’da ve ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR (APT) spektrumları Şekil 6-7’de verilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çifte bağın geometrik yapısının ^1H -NMR spektrumundan etkileşim sabiti ölçülerek trans konumunda olduğu ($J=15.6$ Hz) belirlenmiştir. ^1H -NMR spektral verilerine

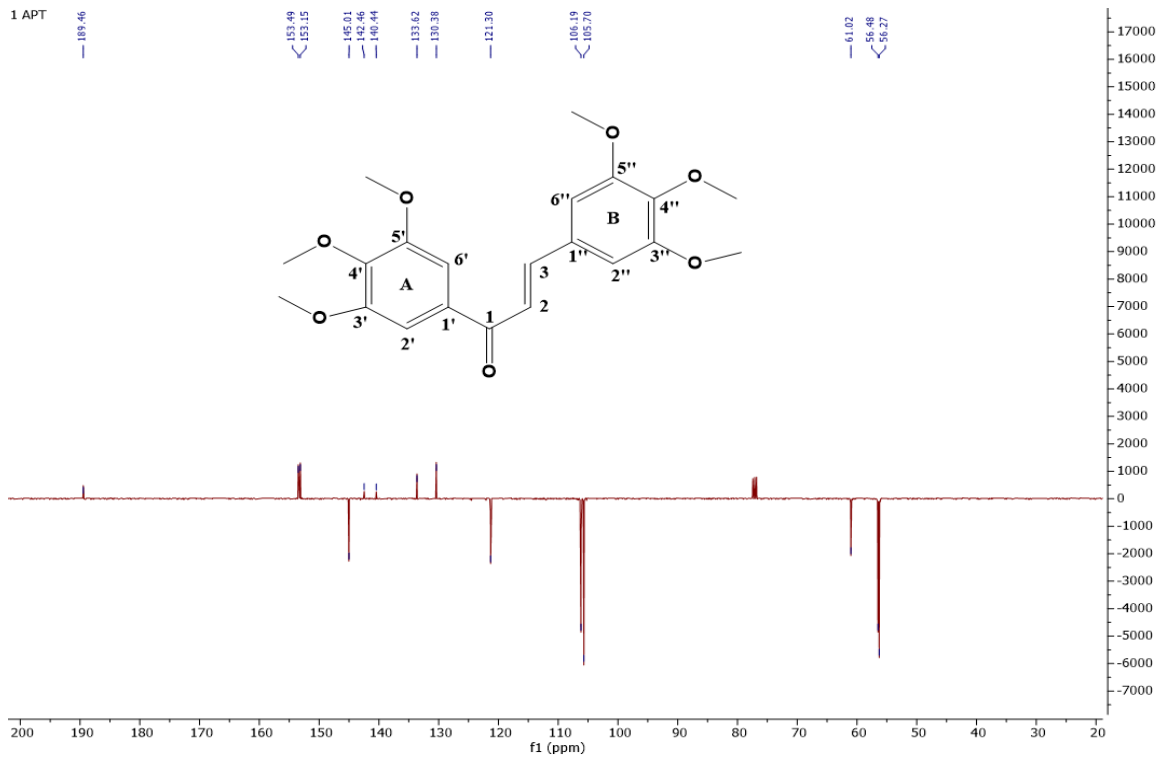
bakıldığında, 7.37 ($J=15.6$ Hz) ppm'de ve 7.72 ($J=15.6$ Hz) ppm'de dublet yarılmış ve 1'er proton integral oranına sahip pikler olefinik trans protonlarına (H-2 ve H-3) atfedilmiştir. 2'şer proton integral oranına sahip 7.27 ve 6.87 ppm'de gözlemlenen singlet sinyaller A ve B halkasındaki sırasıyla H-2', 6' ve H-2'', 6'' aromatik metin protonlarına ait olduğu belirlenmiştir. 3.90-3.95 ppm aralığında ise singlet yarılmış 18 integral oranına sahip protonlar 6 adet -OCH₃ olduğunu doğrulamaktadır. ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, karbonil kuaterner karbonu 189.5 (C-1) ppm'de; trans olefinik karbonlar (C-2 ve C-3) sırasıyla 121.3 ve 145.0 ppm'de; A ve B halkasındaki aromatik CH karbonları sırasıyla 106.2 ve 105.7 ppm'de tespit edilmiştir. 61.0 ppm'deki CH₃ pikleri 4' ve 4'' metoksi gruplarına; 56.3 ve 56.5 ppm'deki sinyaller sırasıyla 3',5' ve 3'',5'' metoksi gruplarına atfedilmiştir. ¹³C-NMR spektrumunda C-2' ile C-6', C-3' ile C-5', C-2'' ile C-6'', C-3'' ile C-5'', C-3'-OCH₃ ile C-5'-OCH₃, C-3''-OCH₃ ile C-5''-OCH₃ pikleri örtüşmüştür.

Tablo 19. 1 Nolu bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral değerleri (CDCl₃, δ , ppm)

No	C (APT)	¹ H	¹³ C (APT)
1	C	-	189.5
2	CH	7.37 (d, $J=15.6$ Hz, 1H)	121.3
3	CH	7.72 (d, $J=15.6$ Hz, 1H)	145.0
1'	C	-	133.6
2', 6'	CH	7.27 (s, 2H)	106.2
3', 5'	C	-	153.1
4'	C	-	142.5
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.90-3.95 (s, 9H)	56.3, 61.0
1''	C	-	130.4
2'', 6''	CH	6.87 (s, 2H)	105.7
3'', 5''	C	-	153.5
4''	C	-	140.4
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.90-3.95 (s, 9H)	56.5, 61.0



Şekil 6. 1 Nolu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)

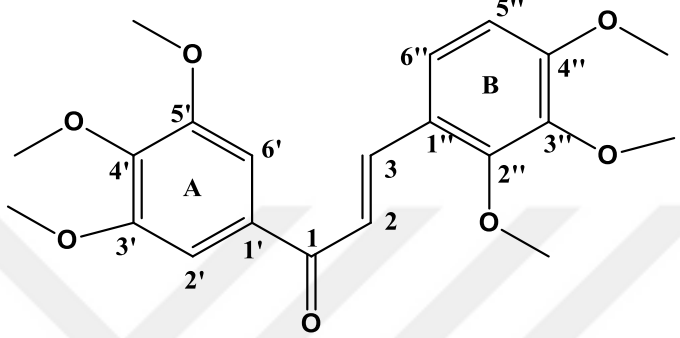


Şekil 7. 1 Nolu bileşiğin ¹³C-NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

4.1.2.2 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları

1.05 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi asetofenon ile 0.98 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi benzaldehitin bazik ortamda oda sıcaklığında sentezi sonucunda 1.79 g (4.60 mmol) bileşik elde edilmiştir ve bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları Tablo 20’de verilmiştir.

Tablo 20. 2 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları

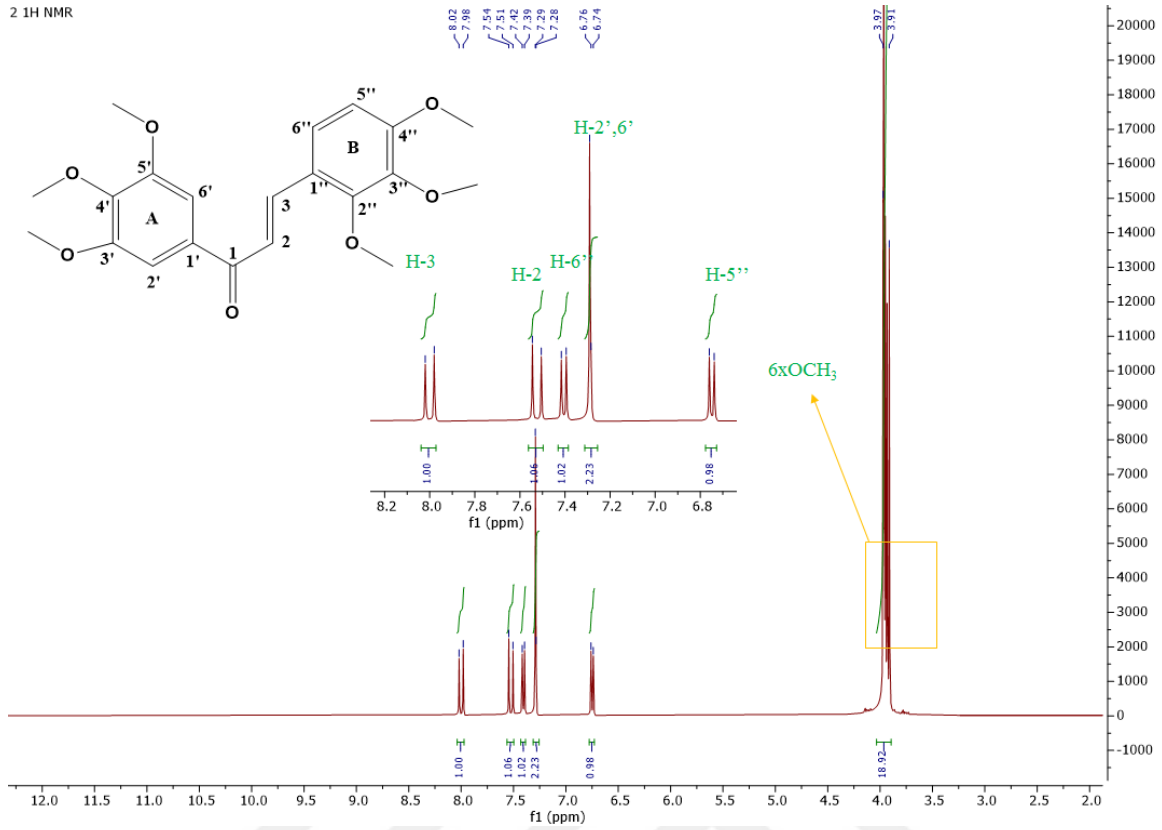
	
Molekül Adı	(2E)-3-(2,3,4-trimetoksifenil)-1-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on
Molekül Formülü	C ₂₁ H ₂₄ O ₇
Molekül Ağırlığı	388.41 g/mol
R _f	0.56 (Kloroform: Etil asetat, 8:1)
Verim	% 92.1

Saf olarak elde edilen bileşiğin ¹H-NMR, ¹³C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektral değerleri Tablo 21’de ve ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektrumları Şekil 8-9’da verilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çifte bağın geometrik yapısının ¹H-NMR spektrumundan etkileşim sabiti ölçülerek trans konumunda olduğu (J=15.8 Hz) belirlenmiştir. ¹H-NMR spektral verilerine bakıldığında, 7.52 (J=15.8 Hz) ppm’de ve 8.00 (J=15.8 Hz) ppm’de dublet yarılmış ve 1’er proton integral oranına sahip pikler olefinik trans protonlarına (H-2 ve H-3) atfedilmiştir. 2 proton integral oranına sahip 7.28 ppm’de gözlemlenen singlet sinyaller A halkasındaki H-2’, 6’ protonlarına aittir. B halkasında aromatik H-5’’ ve H-6’’ metin protonlarına dublet yarılmış 1’er proton integral oranına sahip 6.75 (J=8.8 Hz) ppm ve 7.41 (J=8.8 Hz) ppm sinyalleri atfedilmiştir. 18 proton integral oranı 6 adet metoksi grubuna işaret etmektedir ve

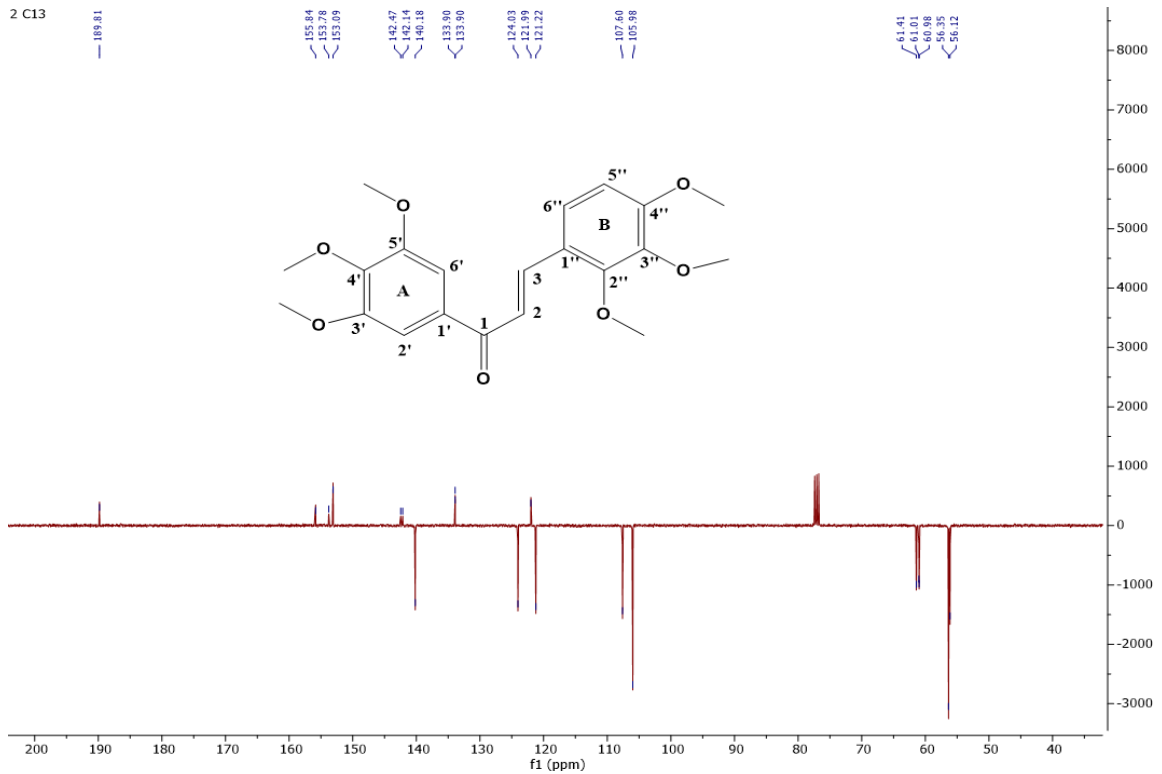
6 adet -OCH₃ protonları 3.91-3.97 ppm aralığında singlet sinyaller olarak tespit edilmiştir. ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, 9 kuaterner, 6 tane CH karbonu (1 örtüşme) ve 6 tane CH₃ karbonunun (2 örtüşme) olduğu belirlenmiştir. Karbonil kuaterner karbonu 189.8 (C1) ppm'de; trans olefinik karbonlar (C-2 ve C-3) sırasıyla 121.2 ve 140.2 ppm'de; A halkasındaki aromatik C-2', 6' aromatik metin karbonları 106.0 ppm'de tespit edilmiştir. B halkası aromatik metin karbonları ise 107.6 ppm ve 124.0 ppm'de belirlenmiştir ve sırasıyla C-5'' ve C-6'' karbonlarına atfedilmiştir. 61.4 ppm'deki CH₃ piki C-2'' metoksi grubuna; 61.0 ppm'deki pikler C-3'' ve C-4' metoksi gruplarına; 56.4 ve 56.1 ppm'deki sinyaller sırasıyla C-3',5' ve C-4'' metoksi gruplarına atfedilmiştir.

Tablo 21. 2 Nolu bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral değerleri (CDCl₃, δ, ppm)

No	C (APT)	¹ H	¹³ C (APT)
1	C	-	189.8
2	CH	7.52 (d, J=15.8 Hz, 1H)	121.2
3	CH	8.00 (d, J=15.8 Hz, 1H)	140.2
1'	C	-	133.9
2', 6'	CH	7.28 (s, 2H)	106.0
3', 5'	C	-	153.1
4'	C	-	142.5
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.91-3.97 (s, 9H)	56.4, 61.0
1''	C	-	122.0
2''	C	-	153.8
3''	C	-	142.1
4''	C	-	155.8
5''	CH	6.75 (d, J=8.8 Hz, 1H)	107.6
6''	CH	7.41 (d, J=8.8 Hz, 1H)	124.0
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.91-3.97 (s, 9H)	61.4, 61.0, 56.1



Şekil 8. 2 Nolu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)

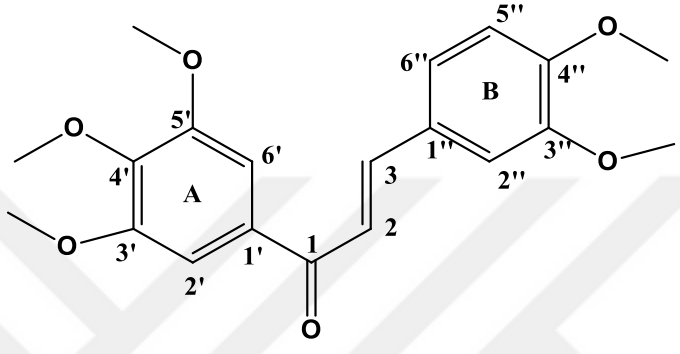


Şekil 9. 2 Nolu bileşiğin ¹³C-NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

4.1.3.3 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları

1.05 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi asetofenon ile 0.83 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi benzaldehitin bazik ortamda oda sıcaklığında sentezi sonucunda 1.64 g (4.57 mmol) bileşik elde edilmiştir ve bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları Tablo 22’de verilmiştir.

Tablo 22. 3 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları

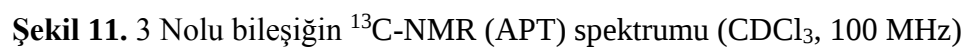
	
Molekül Adı	(2E)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on
Molekül Formülü	C ₂₀ H ₂₂ O ₆
Molekül Ağırlığı	358.38 g/mol
R _f	0.50 (Kloroform: Etil asetat, 8:1)
Verim	% 91.4

Saf olarak elde edilen bileşiğin ¹H-NMR, ¹³C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektral değerleri Tablo 23’de ve ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektrumları Şekil 10-11’de verilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çifte bağın geometrik yapısı etkileşim sabiti ölçülerek (*J*=15.6 Hz) belirlenmiştir ve trans (*E*) konumdadır. ¹H-NMR spektral verilerine bakıldığında, 7.34 ppm’de (*J*=15.6 Hz) ve 7.76 (*J*=15.6 Hz) ppm’de dublet yarılmış ve 1’er proton integral oranına sahip pikler H-2 ve H-3 olefinik trans protonlarına atfedilmiştir. B aromatik halkasında 3 tane CH protonu bulunmaktadır. 1 proton integral oranına sahip 7.15 ppm’de

gözlemlenen singlet sinyal H-2''; 6.91 ppm ($J=8.4$ Hz) ve 7.25 ppm ($J=8.4$ Hz) de gözlemlenen dublet sinyaller ise birbirine komşu H-5'' ve H-6'' aromatik metin protonlarına atfedilmiştir. 7.25 ppm'deki dublet yarıma ile A halkasındaki H-2', 6' protonlarına atfedilen 7.26 ppm'deki singlet yarıma örtüşmüştür. 15 proton integral oranı ile doğrulanan 5 adet -OCH₃ protonları 3.93-3.95 ppm aralığında singlet sinyaller olarak tespit edilmiştir. ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, 8 kuaterner, 7 tane CH karbonu (1 örtüşme) ve 5 tane CH₃ karbonunun (2 örtüşme) olduğu belirlenmiştir. 189.4 ppm'deki karbonil kuaterner karbonu C-1'e; 122.9 ppm ve 145.0 ppm'de CH karbonları olefinik C-2 ve C-3'e; 106.1 ppm'deki sinyal A halkasındaki aromatik C-2', 6' karbonlarına atfedilmiştir. B halkasındaki C-2'', C-5'' ve C-6'' aromatik metin karbonları ise sırasıyla 111.1 ppm, 110.4 ppm ve 119.8 ppm'de belirlenmiştir. 61.0 ppm'deki CH₃ piki C-4' metoksi grubuna; 56.4 ppm'deki pikler C-3' ve C-5' metoksi gruplarına; 56.0 ppm'deki sinyaller ise C-3'' ve C-4'' metoksi gruplarına atfedilmiştir.

Tablo 23. 3 Nolu bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral değerleri (CDCl₃, δ , ppm)

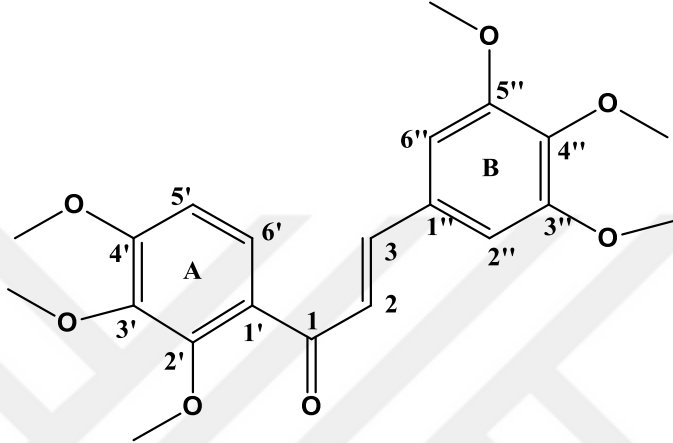
No	C (APT)	¹ H	¹³ C (APT)
1	C	-	189.4
2	CH	7.34 (d, $J=15.6$ Hz, 1H)	122.9
3	CH	7.76 (d, $J=15.6$ Hz, 1H)	145.0
1'	C	-	133.8
2', 6'	CH	7.26 (s, 2H)	106.1
3', 5'	C	-	153.1
4'	C	-	142.5
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.93-3.95 (s, 9H)	56.4, 61.0
1''	C	-	127.8
2''	CH	7.15 (s, 1H)	111.1
3''	C	-	149.2
4''	C	-	151.4
5''	CH	6.91 (d, $J=8.4$ Hz, 1H)	110.4
6''	CH	7.25 (d, $J=8.4$ Hz, 1H)	119.8
-OCH ₃ (x2)	CH ₃	3.93-3.95 (s, 6H)	56.0



4.1.4.4 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları

1.05 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi asetofenon ile 0.98 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi benzaldehitin bazik ortamda oda sıcaklığında sentezi sonucunda 1.57 g (4.04 mmol) bileşik elde edilmiştir ve bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları Tablo 24’te verilmiştir.

Tablo 24. 4 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları

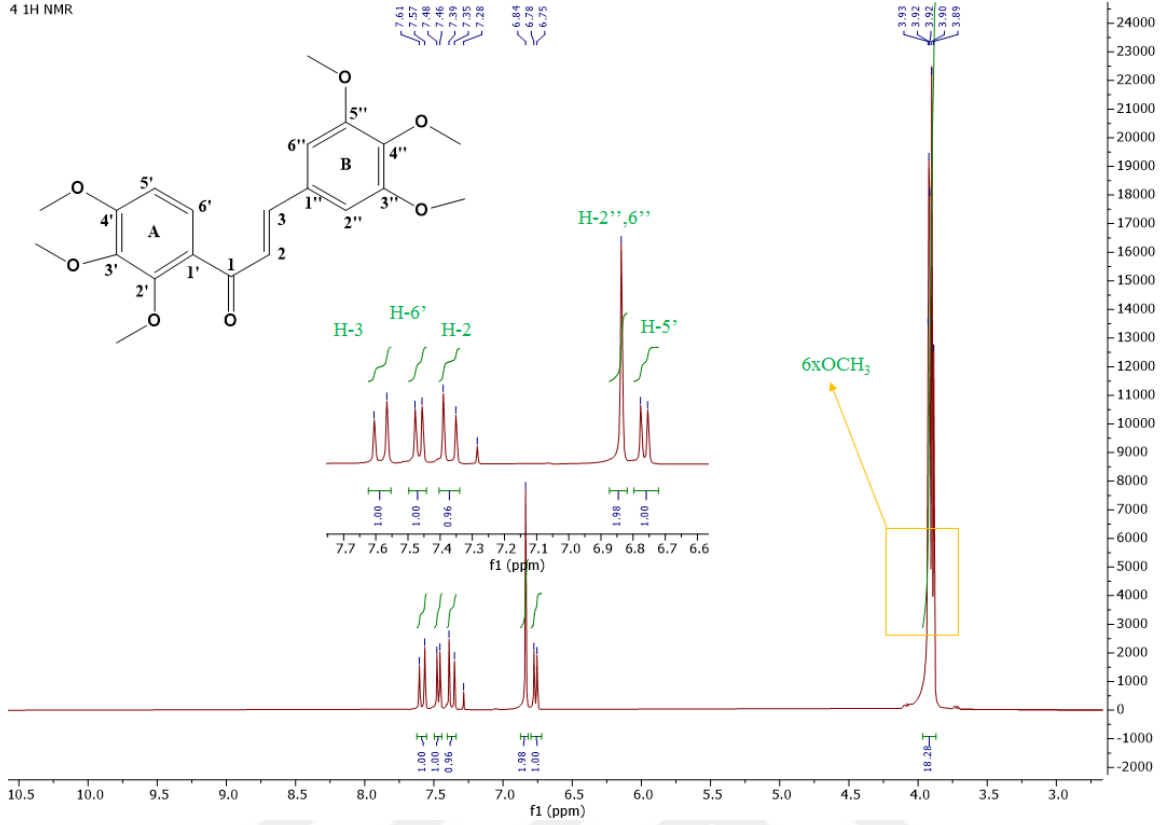
	
Molekül Adı	(2E)-3-(3,4,5-trimetoksifenil)-1-(2,3,4-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on
Molekül Formülü	C ₂₁ H ₂₄ O ₇
Molekül Ağırlığı	388.41 g/mol
R _f	0.50 (Kloroform: Etil asetat, 8:1)
Verim	% 80.8

Saf olarak elde edilen bileşiğin ¹H-NMR,¹³C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektral değerleri Tablo 25’te ve ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektrumları Şekil 12-13’te verilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çifte bağın geometrik yapısının trans konumunda olduğu etkileşim sabiti ölçülerek (*J*=16.2 Hz) belirlenmiştir. ¹H-NMR spektral verilerine bakıldığında, 7.37 ppm’de (*J*=16.2 Hz) ve 7.59 (*J*=16.2 Hz) ppm’de dublet yarılmış ve 1’er proton integral oranına sahip piklerin H-2 ve H-3 olefinik trans protonlarına ait olduğu belirlenmiştir. A ve B halkalarında 2’şer tane aromatik CH protonu bulunmaktadır. 1’er proton integral oranına sahip 6.76 ppm ve 7.47 ppm’de gözlemlenen dublet sinyaller A halkası aromatik metin

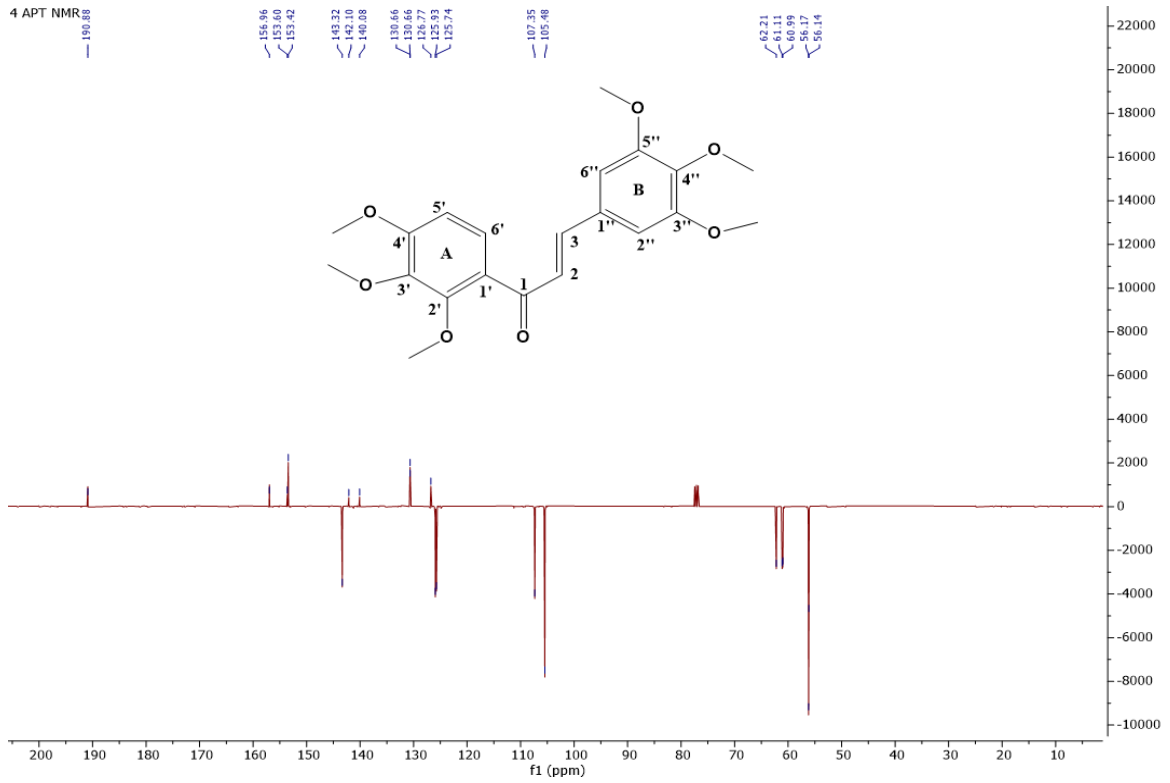
protonlarına (sırasıyla H-5' ve H-6'), 2 proton integral oranına sahip 6.84 ppm'de gözlemlenen singlet sinyal ise B halkası aromatik simetrik metin protonlarına (H-2'' ve H-6'') atfedilmiştir. 18 proton integral oranı ile doğrulanan 6 adet -OCH₃ protonları 3.89-3.93 ppm aralığında singlet sinyaller olarak tespit edilmiştir. ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, 9 kuaterner (1 örtüşme), 6 tane CH karbonu (1 örtüşme) ve 6 tane CH₃ karbonunun (1 örtüşme) olduğu belirlenmiştir. 190.9 ppm'deki karbonil kuaterner karbonu C-1'e; 125.7 ppm ve 143.3 ppm'de CH karbonları trans olefinik C-2 ve C-3'e; 107.4 ppm ve 125.9 ppm'deki sinyaller A aromatik metin karbonlarına (sırasıyla C-5', C-6'), 105.5 ppm'de gözlemlenen sinyal ise B halkası CH karbonlarına atfedilmiştir ve simetrik olduğu için örtüşmüştür. 61.1 ppm, 62.2 ppm ve 56.1 ppm'deki sinyaller sırasıyla A halkası C-2', C-3', C-4' metoksi CH₃ gruplarına; 61.0 ppm'deki CH₃ piki C-4'' metoksi grubuna; 56.2 ppm'deki pikler C-3'' ve C-5'' metoksi gruplarına atfedilmiştir.

Tablo 25. 4 Nolu bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral değerleri (CDCl₃, δ, ppm)

No	C (APT)	¹ H	¹³ C (APT)
1	C	-	190.9
2	CH	7.37 (d, J=16.2 Hz, 1H)	125.7
3	CH	7.59 (d, J=16.2 Hz, 1H)	143.3
1'	C	-	126.8
2'	C	-	153.6
3'	C	-	142.1
4'	C	-	157.0
5'	CH	6.76 (d, J=8.8 Hz, 1H)	107.4
6'	CH	7.47 (d, J=8.8 Hz, 1H)	125.9
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.89-3.93 (s, 9H)	56.1, 61.1, 62.2
1''	C	-	130.7
2'', 6''	CH	6.84 (s, 2H)	105.5
3'', 5''	C	-	153.4
4''	C	-	140.1
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.89-3.93 (s, 9H)	56.2, 61.0



Şekil 12. 4 Nolu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)

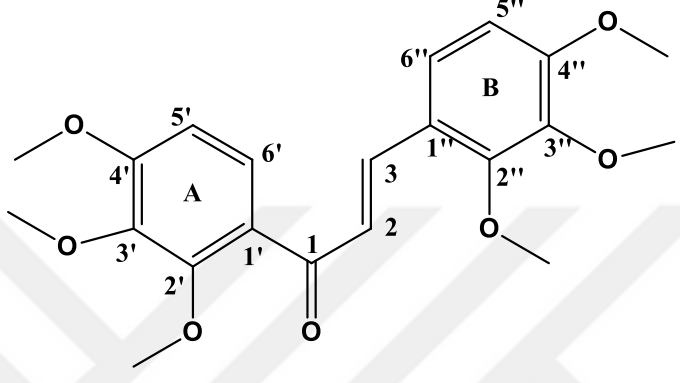


Şekil 13. 4 Nolu bileşiğin ¹³C-NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

4.1.5.5 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları

1.05 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi asetofenon ile 0.98 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi benzaldehitin bazik ortamda oda sıcaklığında sentezi sonucunda 1.76 g (4.37 mmol) bileşik elde edilmiştir ve bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları Tablo 26’da verilmiştir.

Tablo 26. 5 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları

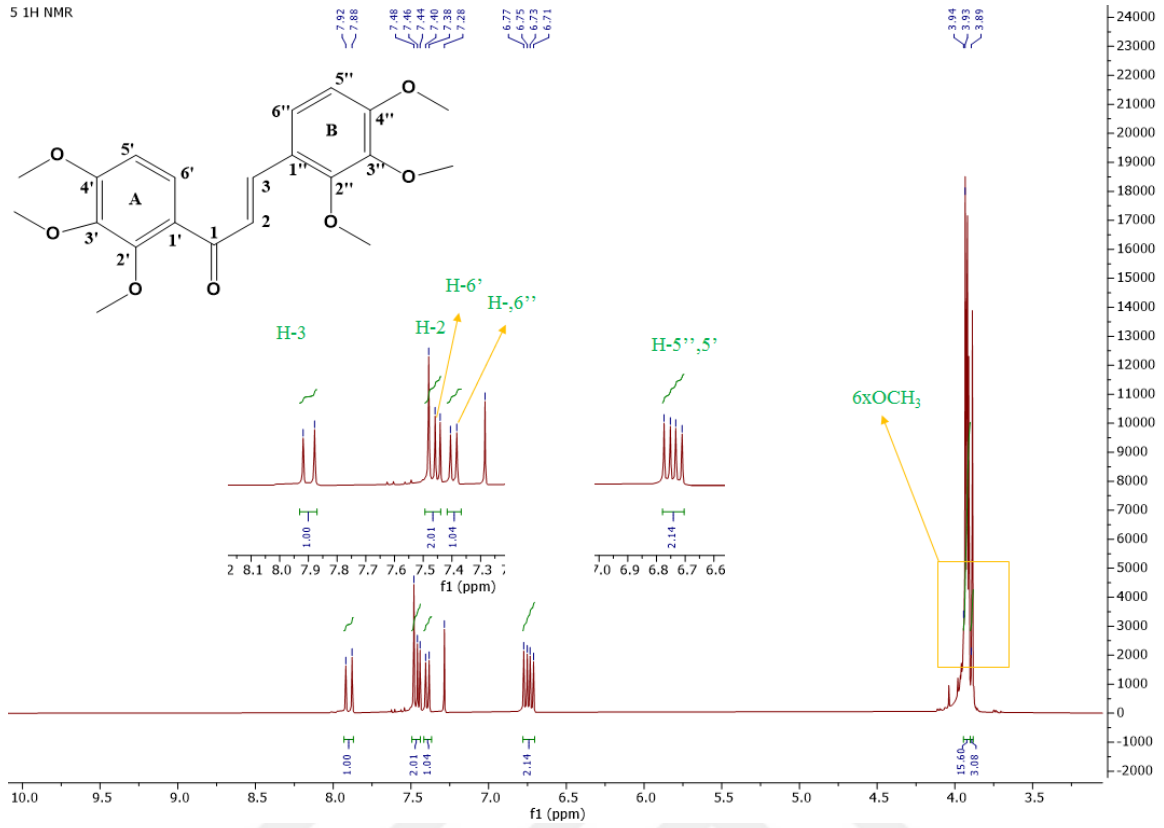
	
Molekül Adı	(2E)-3-(2,3,4-trimetoksifenil)-1-(2,3,4-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on
Molekül Formülü	C ₂₁ H ₂₄ O ₇
Molekül Ağırlığı	388.41 g/mol
R _f	0.63 (Kloroform: Etil asetat, 8:1)
Verim	% 87.5

Saf olarak elde edilen bileşiğin ¹H-NMR, ¹³C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektral değerleri Tablo 27’de ve ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektrumları Şekil 14-15’te verilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çifte bağın geometrik yapısının trans konumunda olduğu etkileşim sabiti ölçülerek (*J*=16.0 Hz) belirlenmiştir. ¹H-NMR spektral verilerine bakıldığında, 7.46 ppm’de (*J*=16.0 Hz) ve 7.90 (*J*=16.0 Hz) ppm’de dublet yarılmış ve 1’er proton integral oranına sahip pikler H-2 ve H-3 olefinik trans protonlarına atfedilmiştir. A ve B halkalarında 2’şer tane birbirlerine komşu aromatik CH protonları bulunmaktadır. 1’er proton integral oranına sahip 6.72 (*J*=8.8 Hz) ppm ve 7.45 ppm (*J*=8.8 Hz)’de gözlemlenen dublet sinyaller A halkası aromatik metin protonlarına (sırasıyla H-5’ ve H-6’), 1’er integral proton oranına

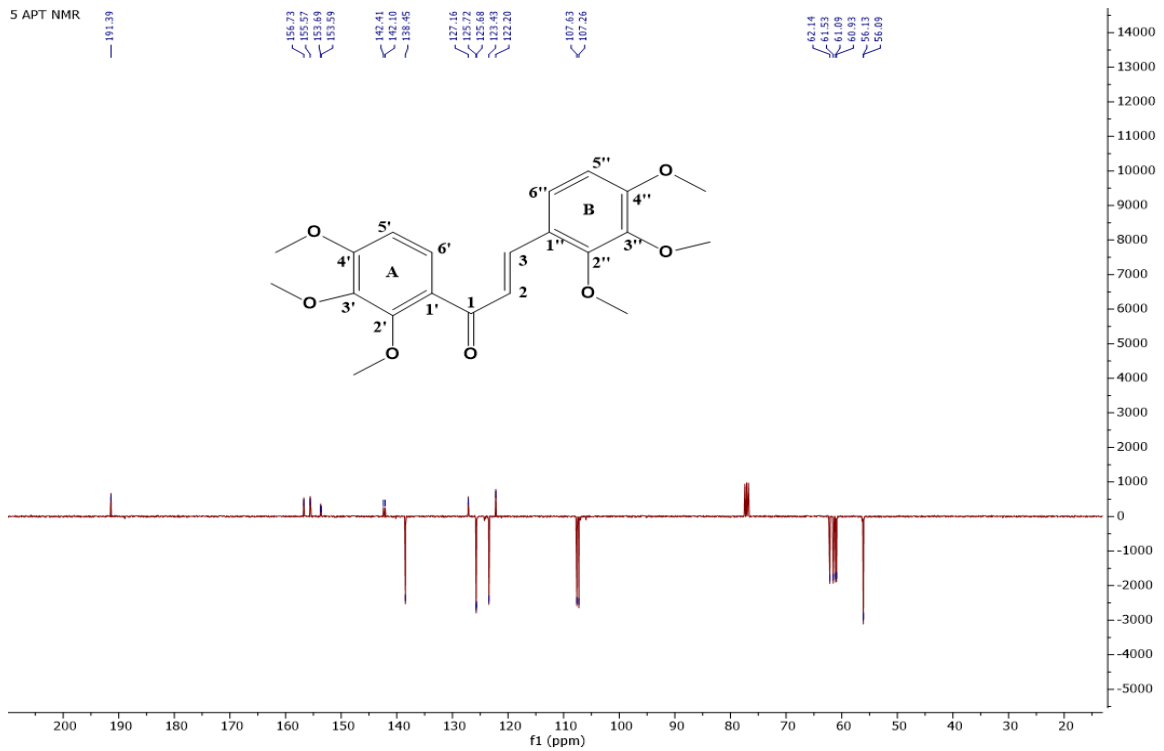
sahip 6.76 ($J=8.8$ Hz) ppm ve 7.39 ($J=8.8$ Hz) ppm’de gözlemlenen dublet sinyal ise B halkası aromatik komşu metin protonlarına (sırasıyla, H-5'' ve H-6'') atfedilmiştir. 18 proton integral oranı ile doğrulanan 6 adet -OCH₃ protonları 3.89-3.94 ppm aralığında singlet sinyaller olarak tespit edilmiştir. ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, 9 kuaterner (1 örtüşme), 6 tane CH karbonu (1 örtüşme) ve 6 tane CH₃ karbonunun (1 örtüşme) olduğu belirlenmiştir. Karbonil kuaterner karbonu 191.4 ppm’deki, trans olefinik CH karbonları ise 123.4 ppm ve 138.5 ppm’deki sinyallere atfedilmiştir. A halkası aromatik metin karbonları olan C-5' ve C-6' sırasıyla 107.3 ppm ve 125.7 ppm’de belirlenmiştir. B halkası aromatik metin karbonları ise sırasıyla 107.6 ppm (C-5'') ve 125.7 ppm’de (C-6'') belirlenmiştir. 61.1 ppm, 61.5 ppm ve 56.1 ppm’deki sinyaller sırasıyla A halkası C-2', C-3', C-4' metoksi CH₃ gruplarına; 62.1 ppm, 61.9 ppm ve 56.1 ppm’deki sinyaller ise sırasıyla B halkası C-2'', C-3'', C-4'' metoksi CH₃ gruplarına atfedilmiştir.

Tablo 27. 5 Nolu bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral değerleri (CDCl₃, δ, ppm)

No	C (APT)	¹ H	¹³ C (APT)
1	C	-	191.4
2	CH	7.46 (d, $J=16.0$ Hz, 1H)	123.4
3	CH	7.90 (d, $J=16.0$ Hz, 1H)	138.5
1'	C	-	122.2
2'	C	-	153.7
3'	C	-	142.4
4'	C	-	156.7
5'	CH	6.72 (d, $J=8.8$ Hz, 1H)	107.3
6'	CH	7.45 (d, $J=8.8$ Hz, 1H)	125.7
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.89-3.94 (s, 9H)	56.1, 61.1, 61.5
1''	C	-	127.2
2''	C	-	153.6
3''	C	-	142.1
4''	C	-	155.6
5''	CH	6.76 (d, $J=8.8$ Hz, 1H)	107.6
6''	CH	7.39 (d, $J=8.8$ Hz, 1H)	125.7
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.89-3.94 (s, 9H)	56.1, 61.9, 62.1



Şekil 14. 5 Nolu bileşiğin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 , 400 MHz)

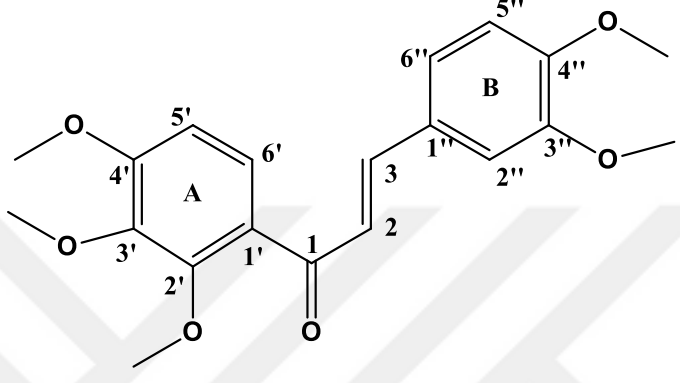


Şekil 15. 5 Nolu bileşiğin ^{13}C -NMR (APT) spektrumu (CDCl_3 , 100 MHz)

4.1.6.6 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları

1.05 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi asetofenon ile 0.83 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi benzaldehitin bazik ortamda oda sıcaklığında sentezi sonucunda 1.72 g (4.79 mmol) bileşik elde edilmiştir ve bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları Tablo 28’de verilmiştir.

Tablo 28. 6 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları

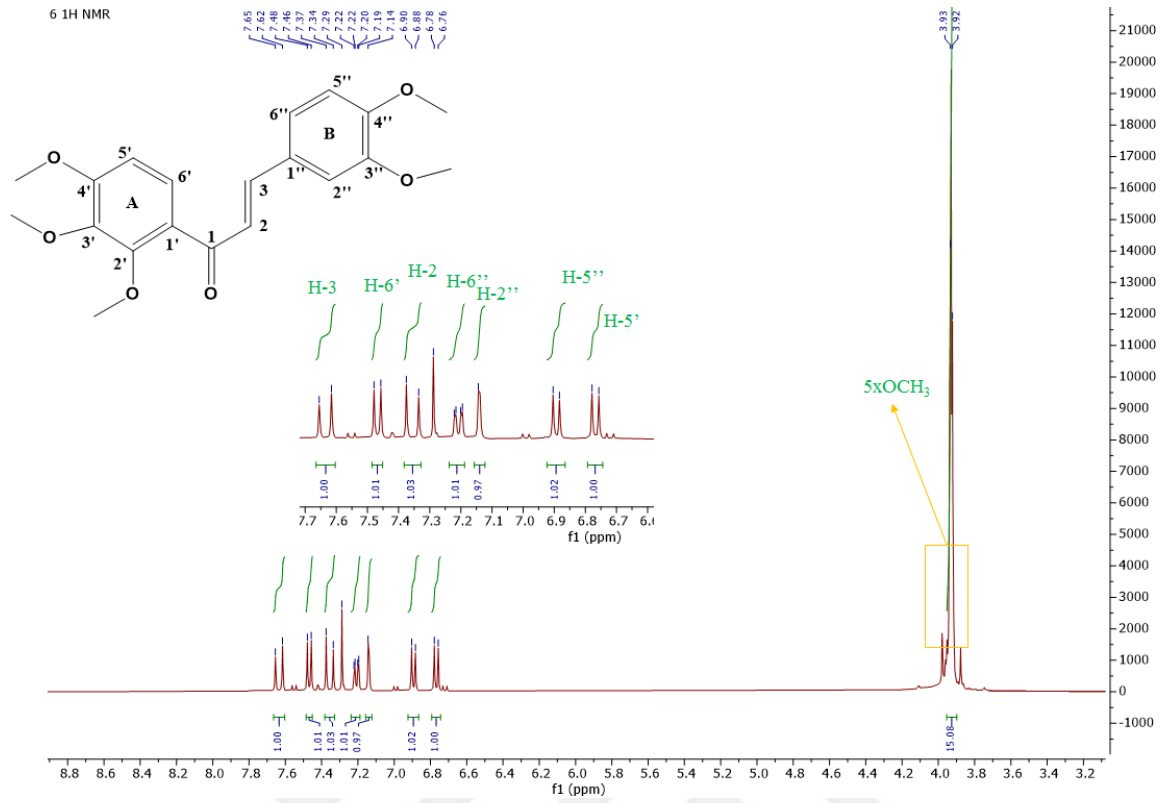
	
Molekül Adı	(2E)-1-(2,3,4-trimetoksifenil)-3-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on
Molekül Formülü	C ₂₀ H ₂₂ O ₆
Molekül Ağırlığı	358.38 g/mol
R _f	0.56 (Kloroform: Etil asetat, 8:1)
Verim	% 95.8

Saf olarak elde edilen bileşiğin ¹H-NMR, ¹³C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektral değerleri Tablo 29’da ve ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektrumları Şekil 16-17’de verilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çifte bağın geometrik yapısının etkileşim sabiti ölçülerek (*J*=15.8 Hz) trans (*E*) konumda olduğu belirlenmiştir. ¹H-NMR spektral verilerine bakıldığında, 7.35 ppm’de (*J*=15.8 Hz) ve 7.63 (*J*=15.8 Hz) ppm’de dublet yarılmış ve 1’er proton integral oranına sahip pikler H-2 ve H-3 olefinik trans protonlarına atfedilmiştir. A halkasında komşu 2 CH aromatik metin protonu, B halkalarında ise 2 tane komşu olmak üzere 3 tane aromatik CH protonları bulunmaktadır. 1’er proton integral oranına sahip 6.77 (*J*=8.8 Hz) ppm ve 7.46 (*J*=8.8 Hz) ppm’de gözlemlenen dublet sinyaller A halkası aromatik metin protonlarına

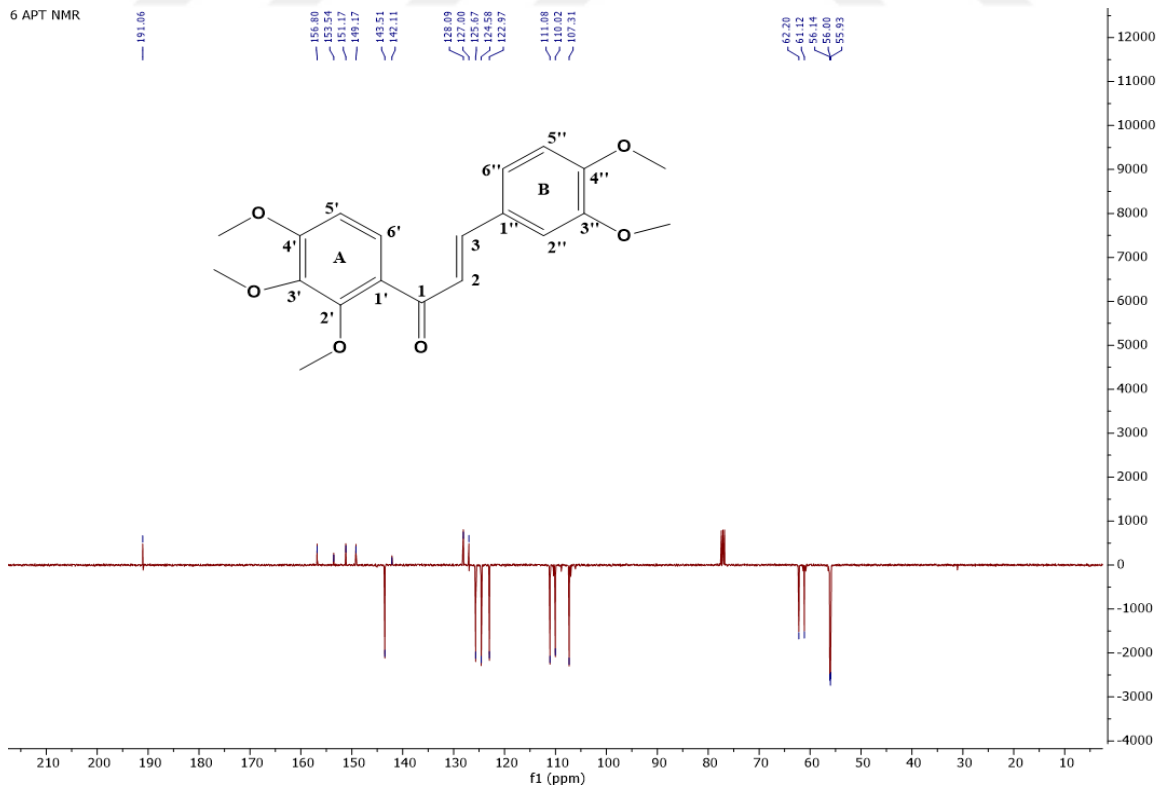
(sırasıyla H-5' ve H-6') atfedilmiştir. 1 proton integral oranına sahip 7.14 ppm'de gözlemlenen singlet sinyal H-2'' metin protonuna; 6.89 ppm ($J=8.3$ Hz) ve 7.21 ppm ($J=8.3$ Hz) de gözlemlenen dublet sinyaller ise komşu H-5'' ve H-6'' metin protonlarına atfedilmiştir. 15 proton integral oranı ile doğrulanan 5 adet -OCH₃ protonları 3.92-3.93 ppm aralığında singlet sinyaller olarak tespit edilmiştir. ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, 8 kuaterner, 6 tane CH karbonu ve 5 tane CH₃ karbonunun olduğu belirlenmiştir. 191.1 ppm'deki karbonil kuaterner karbonu C-1'e; 123.0 ppm ve 143.5 ppm'de CH karbonları olefinik C-2 ve C-3'e; 107.3 ve 125.7 ppm'deki sinyaller A halkasındaki C-5', 6' karbonlarına atfedilmiştir. B halkasındaki aromatik C-2'', C-5'' ve C-6'' metin karbonları ise sırasıyla 110.0 ppm, 111.1 ppm ve 124.6 ppm'de belirlenmiştir. 61.1 ppm, 62.2 ppm ve 56.1 ppm'deki CH₃ piki sinyalleri sırasıyla C-2', C-3' ve C-4' metoksi gruplarına; 56.0 ppm'deki sinyaller ise C-3'' ve C-4'' metoksi gruplarına atfedilmiştir.

Tablo 29. 6 Nolu bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral değerleri (CDCl₃, δ, ppm)

No	C (APT)	¹ H	¹³ C (APT)
1	C	-	191.1
2	CH	7.35 (d, $J=15.8$ Hz, 1H)	123.0
3	CH	7.63 (d, $J=15.8$ Hz, 1H)	143.5
1'	C	-	127.0
2'	C	-	153.5
3'	C	-	142.4
4'	C	-	156.8
5'	CH	6.77 (d, $J=8.8$ Hz, 1H)	107.3
6'	CH	7.46 (d, $J=8.8$ Hz, 1H)	125.7
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.92-3.93 (s, 9H)	56.1, 61.1, 62.2
1''	C	-	128.1
2''	CH	7.14 (s, 1H)	110.0
3''	C	-	149.2
4''	C	-	151.2
5''	CH	6.89 (d, $J=8.3$ Hz, 1H)	111.1
6''	CH	7.21 (d, $J=8.3$ Hz, 1H)	124.6
-OCH ₃ (x2)	CH ₃	3.92-3.93 (s, 6H)	56.0



Şekil 16. 6 Nolu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)

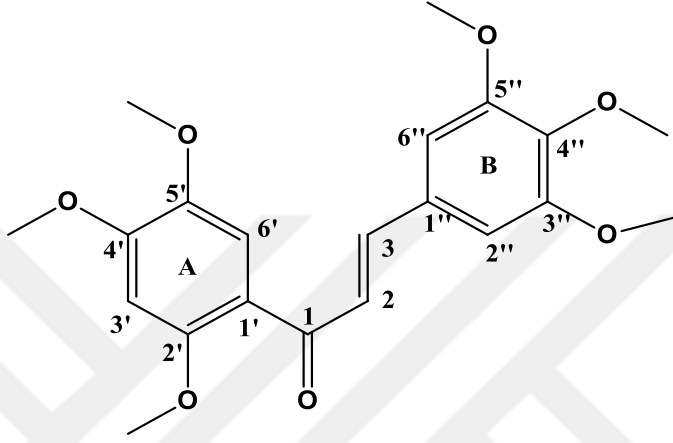


Şekil 17. 6 Nolu bileşiğin ¹³C-NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

4.1.7.7 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları

1.05 g (5 mmol) 2,4,5-trimetoksi asetofenon ile 0.98 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi benzaldehitin bazik ortamda oda sıcaklığında sentezi sonucunda 1.66 g (4.29 mmol) bileşik elde edilmiştir ve bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları Tablo 30’da verilmiştir.

Tablo 30. 7 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları

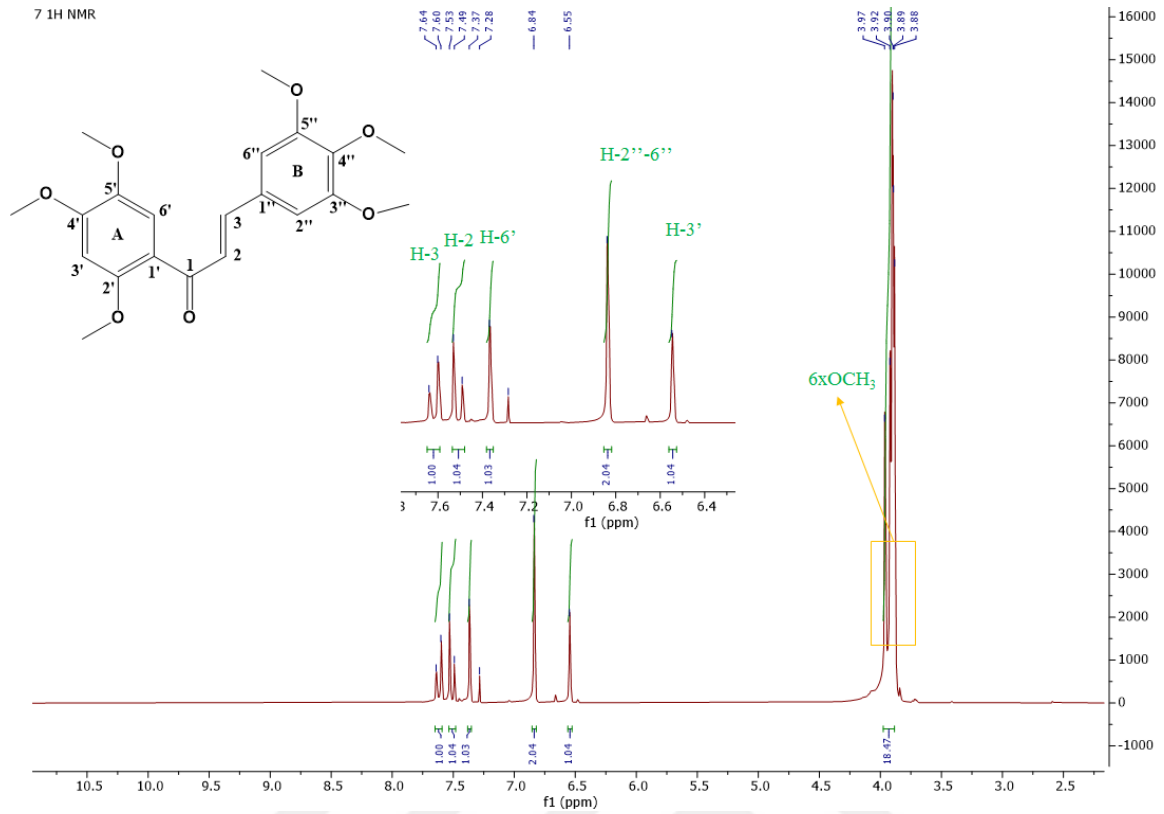
	
Molekül Adı	(2E)-1-(2,4,5-trimetoksifenil), 3-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on
Molekül Formülü	C ₂₁ H ₂₄ O ₇
Molekül Ağırlığı	388.41 g/mol
R _f	0.60 (Kloroform: Etil asetat, 8:1)
Verim R1	% 85.8
Verim R2	% 90.5

Saf olarak elde edilen bileşiğin ¹H-NMR, ¹³C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektral değerleri Tablo 31’de ve ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektrumları Şekil 18-19’da verilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çift bağın geometrik yapısının ¹H NMR spektrumundan etkileşim sabiti ölçülerek trans konumunda olduğu (J=15.6 Hz) belirlenmiştir. ¹H-NMR spektral verilerine bakıldığında, 7.52 ppm’de (J=15.6 Hz) ve 7.62 (J=15.6 Hz) ppm’de dublet yarılmış ve 1’er proton integral oranına sahip pikler olefinik trans protonlarına (H-2 ve H-3) atfedilmiştir. 1’er proton integral oranına sahip 6.55 ve 7.37 ppm’de gözlemlenen singlet sinyallerin A

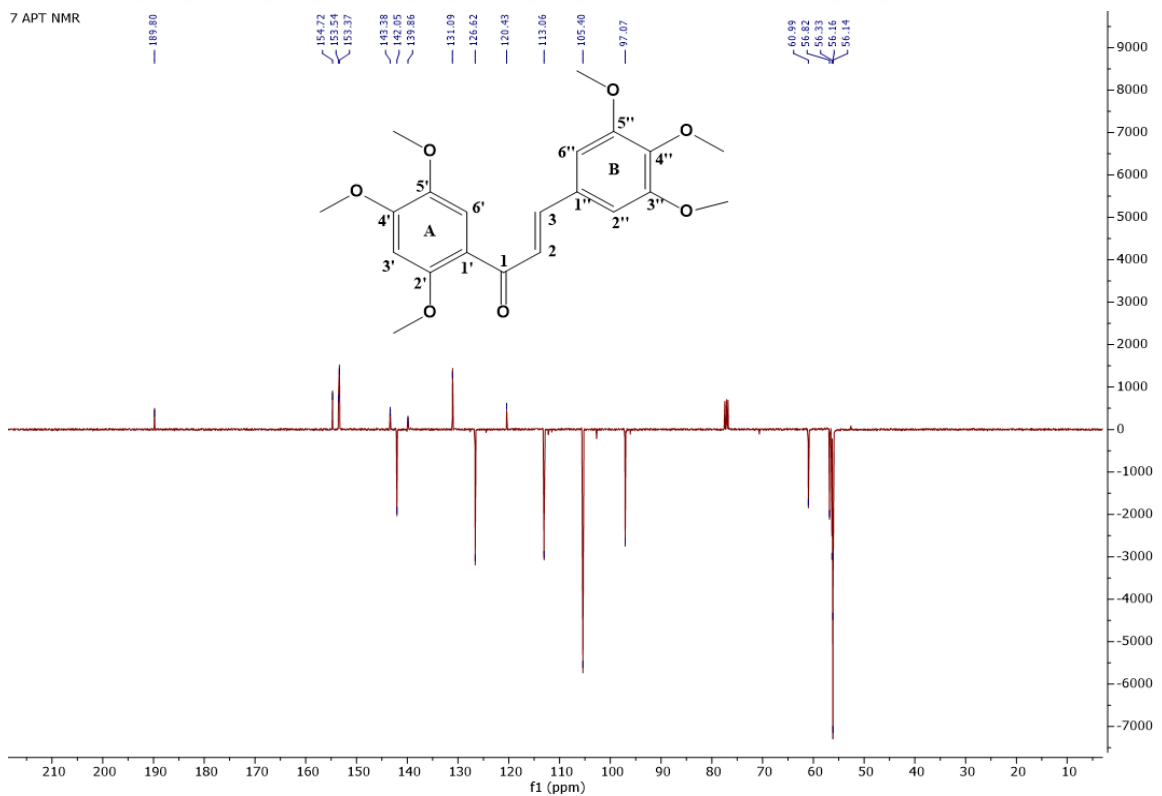
halkasındaki sırasıyla H-3' ve H-6' aromatik metin protonlarına ait olduğu belirlenmiştir. B halkasında simetrik H-2'', 6'' aromatik metin protonlarına ait sinyaller 2 integral oranı ile 6.84 ppm'de gözlemlenmiştir. 3.88-3.97 ppm aralığında ise 18 integral oranına sahip singlet sinyaller 6 adet -OCH₃ olduğunu doğrulamaktadır. ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, 9 kuaterner (1 örtüşme), 6 tane CH karbonu (1 örtüşme) ve 6 tane CH₃ (1 örtüşme) karbonunun olduğu belirlenmiştir. Karbonil kuaterner karbonu 189.8 (C-1) ppm'de; trans olefinik karbonlar (C-2 ve C-3) sırasıyla 126.6 ve 142.1 ppm'de; A halkasındaki aromatik CH karbonları sırasıyla 97.0 ve 113.1 ppm'de, B halkasındaki simetrik aromatik CH'ler, 105.4 ppm'de tespit edilmiştir. 61.0 ppm'deki CH₃ pikleri C-4'' metoksi grubuna; 56.8 ppm, 56.3 ppm, 56.2 ppm ve 56.1 ppm'deki sinyaller sırasıyla C-4', C-3''-5'', C-2' ve C-5' metoksi gruplarına atfedilmiştir.

Tablo 31. 7 Nolu bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral değerleri (CDCl₃, δ, ppm)

No	C (APT)	¹ H	¹³ C (APT)
1	C	-	189.8
2	CH	7.52 (d, J=15.6 Hz, 1H)	126.6
3	CH	7.62 (d, J=15.6 Hz, 1H)	142.1
1'	C	-	120.4
2'	C	-	154.7
3'	CH	6.55 (s, 1H)	97.0
4'	C	-	153.5
5'	C	-	143.4
6'	CH	7.37 (s, 1H)	113.1
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.88-3.97 (s, 9H)	56.1, 56.2, 56.8
1''	C	-	131.1
2'', 6''	CH	6.84 (s, 2H)	105.4
3'', 5''	C	-	153.4
4''	C	-	139.9
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.88-3.97 (s, 9H)	56.3, 61.0



Şekil 18. 7 Nolu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)

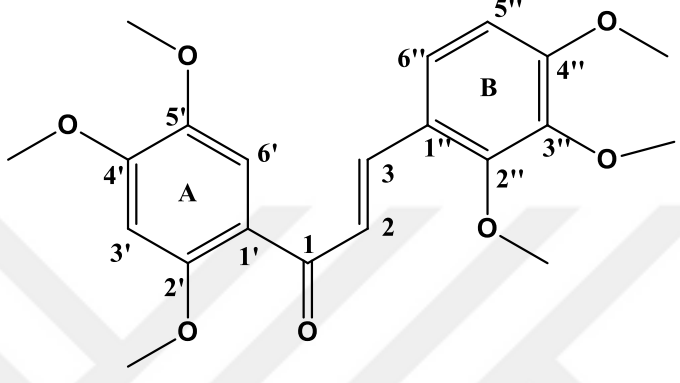


Şekil 19. 7 Nolu bileşiğin ¹³C-NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

4.1.8.8 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları

1.05 g (5 mmol) 2,4,5-trimetoksi asetofenon ile 0.98 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi benzaldehitin bazik ortamda oda sıcaklığında sentezi sonucunda 1.68 g (4.32 mmol) bileşik elde edilmiştir ve bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları Tablo 32’de verilmiştir.

Tablo 32. 8 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları

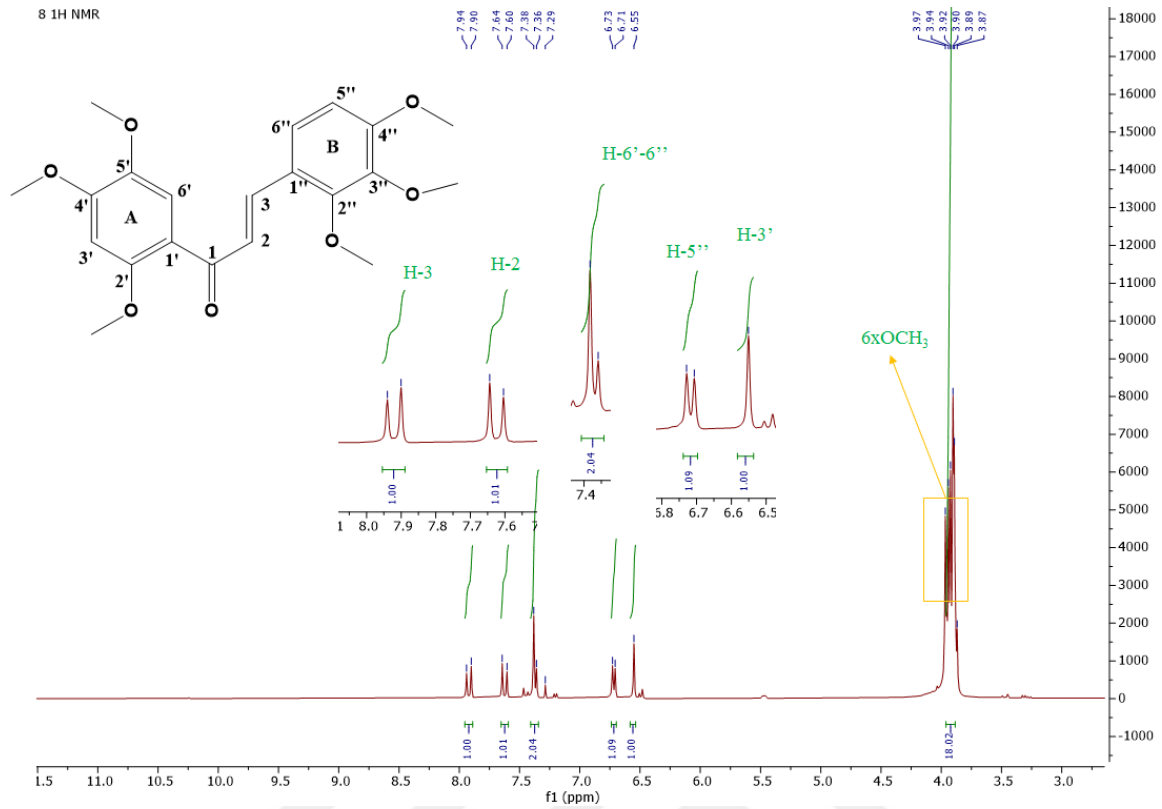
	
Molekül Adı	(2E)-3-(2,3,4-trimetoksifenil)-1-(2,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on
Molekül Formülü	C ₂₁ H ₂₄ O ₇
Molekül Ağırlığı	388.41 g/mol
R _f	0.60 (Kloroform: Etil asetat, 8:1)
Verim	% 86.5

Saf olarak elde edilen bileşiğin ¹H-NMR, ¹³C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektral değerleri Tablo 33’te ve ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektrumları Şekil 20-21’de verilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çifte bağın geometrik yapısının ¹H NMR spektrumundan etkileşim sabiti ölçülerek trans konumunda olduğu (J=15.9 Hz) belirlenmiştir. ¹H-NMR spektral verilerine bakıldığında, 7.62 ppm’de (J=15.9 Hz) ve 7.92 (J=15.9 Hz) ppm’de dublet yarılmış ve 1’er proton integral oranına sahip pikler olefinik trans protonlarına (H-2 ve H-3) atfedilmiştir. 1’er proton integral oranına sahip 6.55 ppm ve 7.38 ppm’de gözlemlenen singlet sinyallerin A halkasındaki sırasıyla H-3’ ve H-6’ aromatik metin protonlarına ait olduğu belirlenmiştir. B halkasında aromatik H-5’’ ve H-6’’ metin protonlarına dublet yarılmış 1’er proton integral

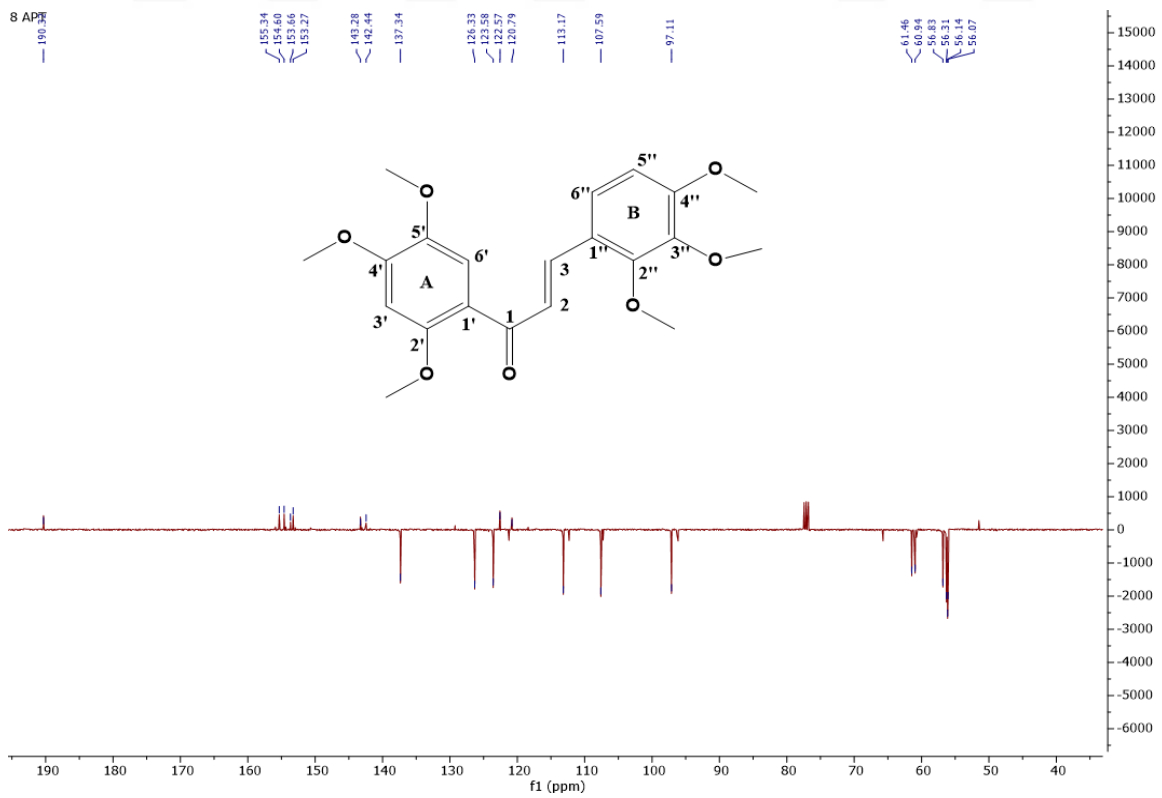
oranına sahip 6.72 ($J=8.8$ Hz) ppm ve 7.37 ($J=8.8$ Hz) ppm sinyalleri atfedilmiştir. H-6' ve H-6'' proton sinyalleri örtüşmüştür ve 2 integral oranı ile tespit edilmiştir. 18 proton integral oranı 6 adet metoksi grubuna işaret etmektedir ve 6 adet -OCH₃ protonları 3.87-3.97 ppm aralığında singlet sinyaller olarak tespit edilmiştir. ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, 9 kuaterner, 6 tane CH karbonu ve 6 tane CH₃ karbonunun (1 örtüşme) olduğu belirlenmiştir. Karbonil kuaterner karbonu 190.3 (C1) ppm'de; trans olefinik karbonlar (C2 ve C3) sırasıyla 123.6 ve 137.3 ppm'de; A halkasındaki aromatik C-3', 6' karbonları sırasıyla 97.1 ppm ve 113.2 ppm'de tespit edilmiştir. B halkası aromatik metin karbonları ise 107.6 ppm ve 126.3 ppm'de belirlenmiştir ve sırasıyla C-5'' ve C-6'' karbonlarına atfedilmiştir. 61.5 ppm ve 60.9 ppm'deki CH₃ pikleri sırasıyla C-2'' ve C-3'' metoksi gruplarına; 56.3 ppm'deki pik C-4'' metoksi grubuna; 56.8 ve 56.1 ppm'deki sinyaller sırasıyla C-4' ve C-2',5' metoksi gruplarına atfedilmiştir.

Tablo 33. 8 Nolu bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral değerleri (CDCl₃, δ, ppm)

No	C (APT)	¹ H	¹³ C (APT)
1	C	-	190.3
2	CH	7.62 (d, $J=15.9$ Hz, 1H)	123.6
3	CH	7.92 (d, $J=15.9$ Hz, 1H)	137.3
1'	C	-	120.8
2'	C	-	155.3
3'	CH	6.55 (s, 1H)	97.1
4'	C	-	153.7
5'	C	-	143.3
6'	CH	7.38 (s, 1H)	113.2
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.87-3.97 (s, 9H)	56.1, 56.8
1''	C	-	122.6
2''	C	-	153.3
3''	C	-	137.3
4''	C	-	154.6
5''	CH	6.72 (d, $J=8.8$ Hz, 1H)	107.6
6''	CH	7.37 (d, $J=8.8$ Hz, 1H)	126.3
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.87-3.97 (s, 9H)	56.3, 60.9, 61.5



Şekil 20. 8 Nolu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)

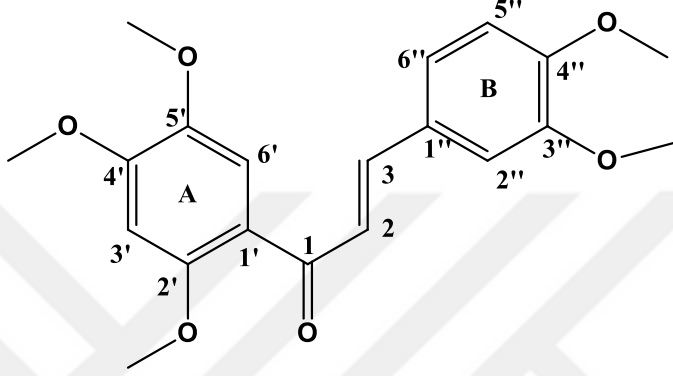


Şekil 21. 8 Nolu bileşiğin ¹³C-NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

4.1.9.9 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları

1.05 g (5 mmol) 2,4,5-trimetoksi asetofenon ile 0.83 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi benzaldehitin bazik ortamda oda sıcaklığında sentezi sonucunda 1.39 g (3.87 mmol) bileşik elde edilmiştir ve bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları Tablo 34’te verilmiştir.

Tablo 34. 9 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları

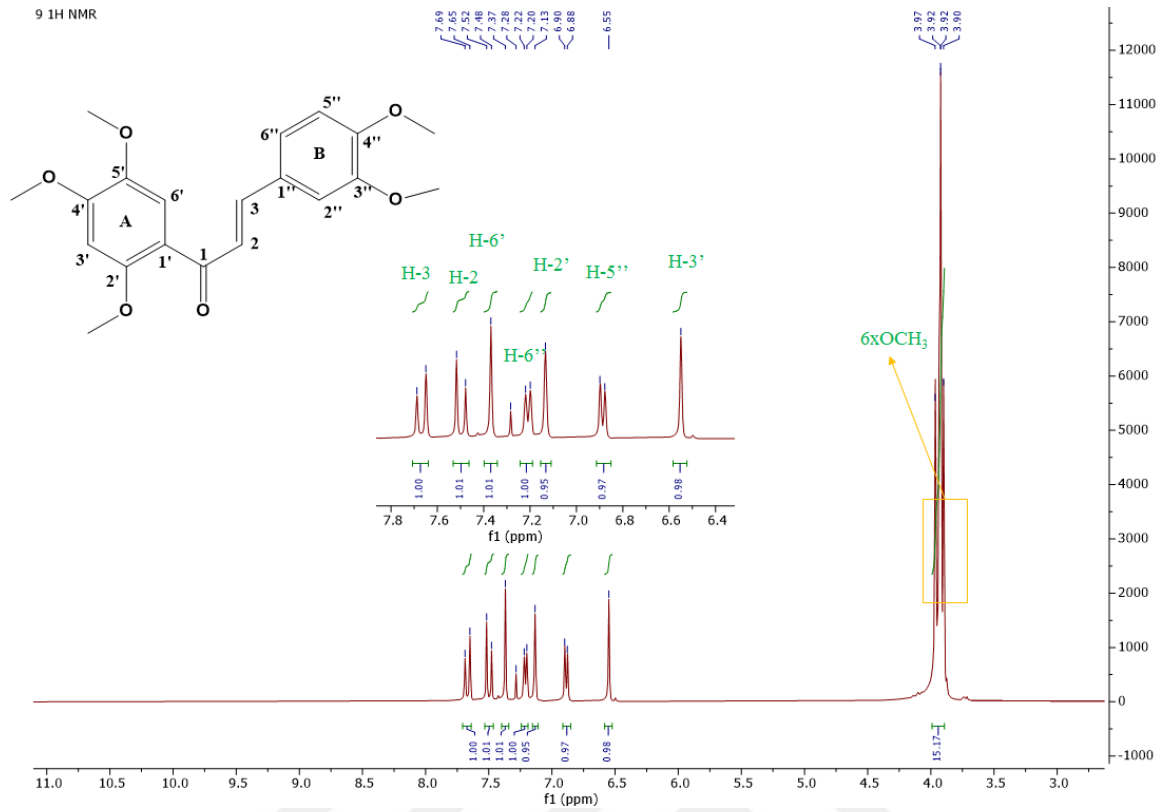
	
Molekül Adı	(2E)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1-(2,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on
Molekül Formülü	C ₂₀ H ₂₂ O ₆
Molekül Ağırlığı	358.38 g/mol
R _f	0.55 (Kloroform: Etil asetat, 8:1)
Verim	% 77.5

Saf olarak elde edilen bileşiğin ¹H-NMR, ¹³C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektral değerleri Tablo 35’te ve ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektrumları Şekil 22-23’te verilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çifte bağın geometrik yapısı etkileşim sabiti ölçülerek (*J*=15.6 Hz) belirlenmiştir ve trans (*E*) konumdadır. ¹H-NMR spektral verilerine bakıldığında, 7.50 ppm’de (*J*=15.6 Hz) ve 7.67 (*J*=15.6 Hz) ppm’de dublet yarılmış ve 1’er proton integral oranına sahip pikler H-2 ve H-3 olefinik trans protonlarına atfedilmiştir. 1’er proton integral oranına sahip 6.55 ppm ve 7.37 ppm’de gözlemlenen singlet sinyallerin A halkasındaki sırasıyla H-3’ ve H-6’ aromatik metin protonlarına ait olduğu belirlenmiştir. B aromatik halkasında 3 tane CH protonu bulunmaktadır. 1 proton integral oranına sahip 7.13 ppm’de

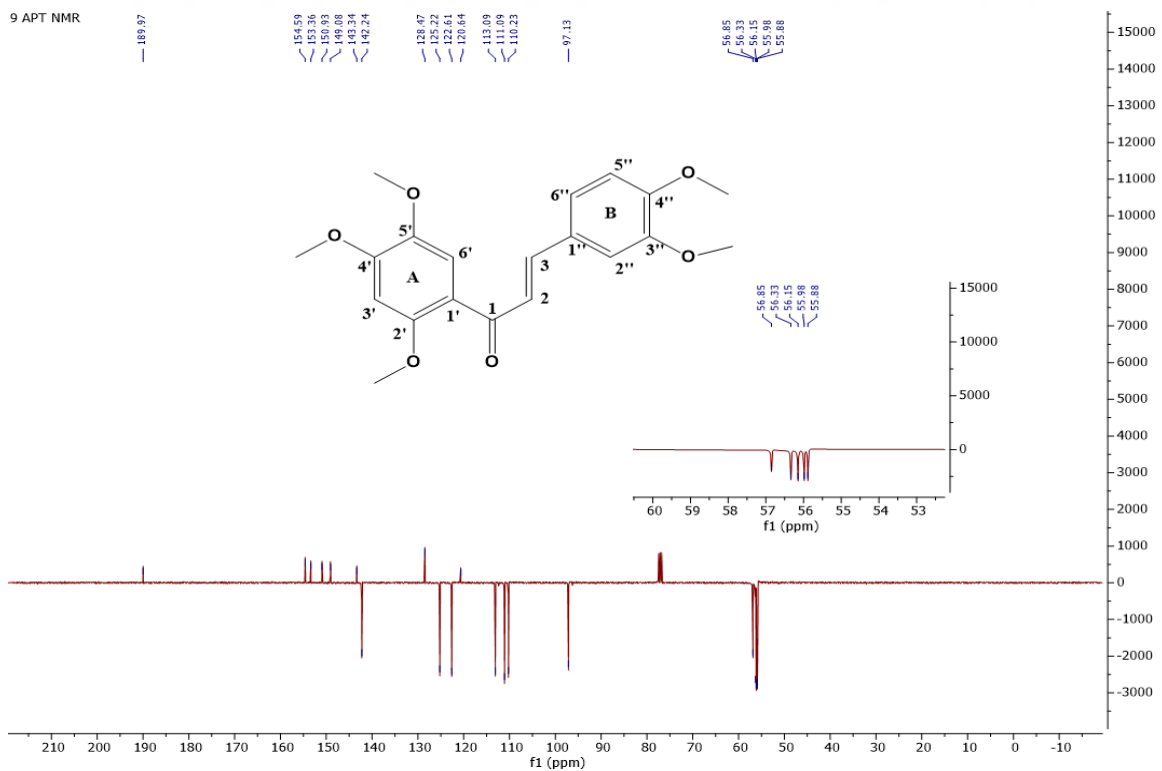
gözlemlenen singlet sinyal H-2'' aromatik metin protonuna; 6.89 ppm ($J=8.3$ Hz) ve 7.21 ppm ($J=8.3$ Hz) de gözlemlenen dublet sinyaller ise birbirine komşu H-5'' ve H-6'' metin protonlarına atfedilmiştir. 15 proton integral oranı ile doğrulanan 5 adet -OCH₃ protonları 3.90-3.97 ppm aralığında singlet sinyaller olarak tespit edilmiştir. ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, 8 kuaterner, 7 tane CH karbonu ve 5 tane CH₃ karbonunun olduğu belirlenmiştir. 190.0 ppm'deki karbonil kuaterner karbonu C-1'e; 125.2 ppm ve 142.2 ppm'de CH karbonları olefinik C-2 ve C-3'e atfedilmiştir. A halkasındaki aromatik C-3', 6' karbonları sırasıyla 97.1 ppm ve 110.2 ppm'de tespit edilmiştir. B halkasındaki aromatik C-2'', C-5'' ve C-6'' metin karbonları ise sırasıyla 111.1 ppm, 113.1 ppm ve 125.2 ppm'de belirlenmiştir. 56.1 ppm, 56.9 ppm ve 56.3 ppm'deki CH₃ pikleri sırasıyla C-2', C-4', C-5' metoksi gruplarına; 56.0 ve 55.9 ppm'deki sinyaller C-3'' ve C-4'' metoksi gruplarına atfedilmiştir.

Tablo 35. 9 Nolu bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral değerleri (CDCl₃, δ , ppm)

No	C (APT)	¹ H	¹³ C (APT)
1	C	-	190.0
2	CH	7.50 (d, $J=15.6$ Hz, 1H)	125.2
3	CH	7.67 (d, $J=15.6$ Hz, 1H)	142.2
1'	C	-	120.6
2'	C	-	154.6
3'	CH	6.55 (s, 1H)	97.1
4'	C	-	153.4
5'	C	-	143.3
6'	CH	7.37 (s, 1H)	110.2
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.90-3.97 (s, 9H)	56.1, 56.3, 56.9
1''	C	-	128.5
2''	CH	7.13 (s, 1H)	111.1
3''	C	-	149.1
4''	C	-	150.9
5''	CH	6.89 (d, $J=8.3$ Hz, 1H)	113.1
6''	CH	7.21 (d, $J=8.3$ Hz, 1H)	125.2
-OCH ₃ (x2)	CH ₃	3.90-3.97 (s, 6H)	55.9, 56.0



Şekil 22. 9 Nolu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)

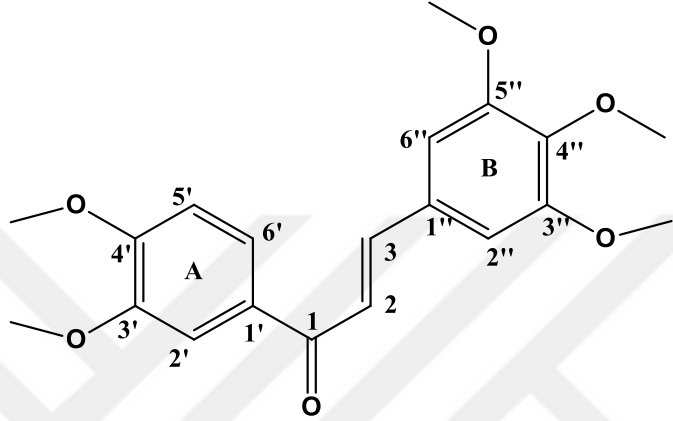


Şekil 23. 9 Nolu bileşiğin ¹³C-NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

4.1.10. 10 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları

0.9 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi asetofenon ile 0.98 g (5 mmol) 3,4,5-trimetoksi benzaldehitin bazik ortamda oda sıcaklığında sentezi sonucunda 1.55 g (4.32 mmol) bileşik elde edilmiştir ve bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları Tablo 36’da verilmiştir.

Tablo 36. 10 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları

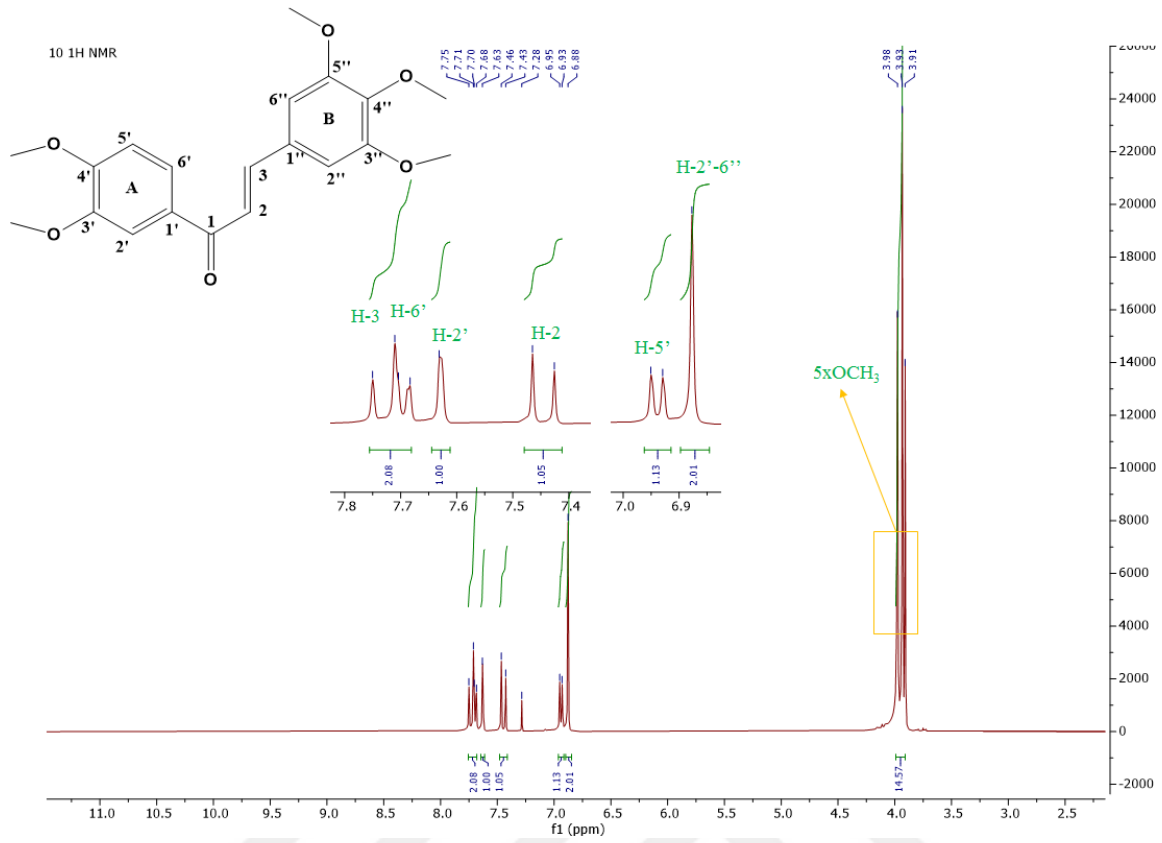
	
Molekül Adı	(2E)-1-(3,4-dimetoksifenil)-3-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on
Molekül Formülü	C ₂₀ H ₂₂ O ₆
Molekül Ağırlığı	358.38 g/mol
R _f	0.50 (Kloroform: Etil asetat, 8:1)
Verim	% 86.4

Saf olarak elde edilen bileşiğin ¹H-NMR, ¹³C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektral değerleri Tablo 37’de ve ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektrumları Şekil 24-25’te verilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çifte bağın geometrik yapısının ¹H NMR spektrumundan etkileşim sabiti ölçülerek trans konumunda olduğu (*J*=15.8 Hz) belirlenmiştir. ¹H-NMR spektral verilerine bakıldığında, 7.45 ppm’de (*J*=15.8 Hz) ve 7.73 ppm’de (*J*=15.8 Hz) dublet yarılmış ve 1’er proton integral oranına sahip pikler olefinik trans protonlarına (H-2 ve H-3) atfedilmiştir. 1’er proton integral oranına sahip 7.63 ppm’deki singlet, 6.92 (*J*=8.4 Hz) ppm ve 7.69 (*J*=8.4 Hz) ppm’de gözlemlenen dublet sinyallerin; A halkasındaki sırasıyla H-2’, H-5’ ve H-6’

aromatik metin protonlarına ait olduğu belirlenmiştir. B halkasında simetrik H-2'', 6'' aromatik metin protonlarına ait sinyaller 2 integral oranı ile 6.88 ppm'de gözlemlenmiştir. 3.91-3.98 ppm aralığında ise 15 integral oranına sahip singlet sinyaller 5 adet -OCH₃ olduğunu işaret etmektedir. ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, 8 kuaterner (1 örtüşme), 7 tane CH karbonu (1 örtüşme) ve 5 tane CH₃ (2 örtüşme) karbonunun olduğu belirlenmiştir. Karbonil kuaterner karbonu 188.6 (C-1) ppm'de; trans olefinik karbonlar (C-2 ve C-3) sırasıyla 123.0 ve 144.2 ppm'de; A halkasındaki aromatik CH karbonları sırasıyla (C-2', C-5' ve C-6'), 110.8 ppm, 109.9 ppm ve 121.0 ppm'de; B halkasındaki simetrik aromatik CH'ler (C-2'' ve C-6''), 105.4 ppm'de tespit edilmiştir. 61.0 ppm'deki CH₃ pikleri C-4'' metoksi grubuna; 56.2 ppm ve 56.1 ppm'deki sinyaller sırasıyla C-3''-5'', C-3'-4' metoksi gruplarına atfedilmiştir.

Tablo 37. 10 Nolu bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral değerleri (CDCl₃, δ, ppm)

No	C (APT)	¹ H	¹³ C (APT)
1	C	-	188.6
2	CH	7.45 (d, J=15.8 Hz, 1H)	123.0
3	CH	7.73 (d, J=15.8 Hz, 1H)	144.2
1'	C	-	131.3
2'	CH	7.63 (s, 1H)	110.8
3'	C		149.3
4'	C	-	153.3
5'	CH	6.92 (d, J=8.4 Hz, 1H)	109.9
6'	CH	7.69 (d, J=8.4 Hz, 1H)	121.0
-OCH ₃ (x2)	CH ₃	3.91-3.98 (s, 6H)	56.1
1''	C	-	130.6
2'', 6''	CH	6.88 (s, 2H)	105.6
3'', 5''	C	-	153.6
4''	C	-	140.2
-OCH ₃ (x3)	CH ₃	3.91-3.98 (s, 9H)	56.2, 61.0



Şekil 24. 10 Nolu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)

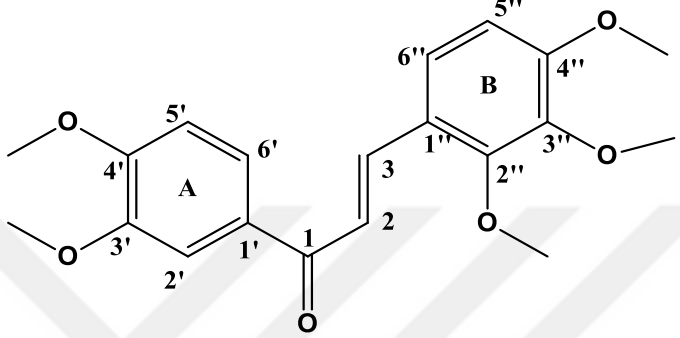


Şekil 25. 10 Nolu bileşiğin ¹³C-NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

4.1.11. 11 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları

0.9 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi asetofenon ile 0.98 g (5 mmol) 2,3,4-trimetoksi benzaldehitin bazik ortamda oda sıcaklığında sentezi sonucunda 1.43 g (4.01 mmol) bileşik elde edilmiştir ve bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları Tablo 38’de verilmiştir.

Tablo 38. 11 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları

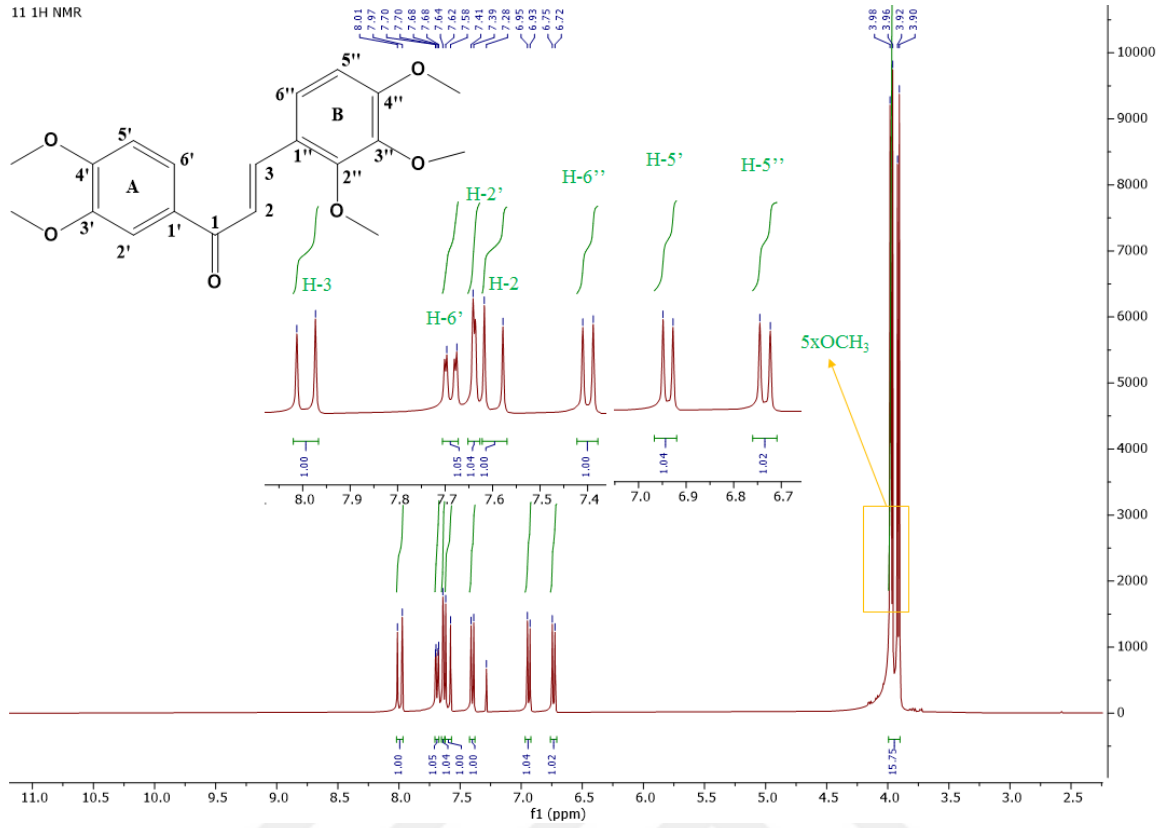
	
Molekül Adı	(2E)-3-(2,3,4-trimetoksifenil)-1-(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on
Molekül Formülü	C ₂₀ H ₂₂ O ₆
Molekül Ağırlığı	358.38 g/mol
R _f	0.68 (Kloroform: Etil asetat, 8:1)
Verim	% 80.3

Saf olarak elde edilen bileşiğin ¹H-NMR, ¹³C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektral değerleri Tablo 39’da ve ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektrumları Şekil 26-27’de verilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çift bağın geometrik yapısının ¹H NMR spektrumundan etkileşim sabiti ölçülerek trans konumunda olduğu (J=15.8 Hz) belirlenmiştir. ¹H-NMR spektral verilerine bakıldığında, 7.60 ppm’de (J=15.8 Hz) ve 7.99 ppm’de (J=15.8 Hz) dublet yarılmış ve 1’er proton integral oranına sahip pikler olefinik trans protonlarına (H-2 ve H-3) atfedilmiştir. 1’er proton integral oranına sahip 7.64 ppm’deki singlet, 6.94 (J=8.4 Hz) ppm ve 7.69 (J=8.4 Hz) ppm’de gözlemlenen dublet sinyallerin A halkasındaki sırasıyla H-2’, H-5’ ve H-6’ aromatik metin protonlarına ait olduğu belirlenmiştir. B halkasında aromatik H-5’’ ve H-6’’ metin protonlarına dublet yarılmış 1’er proton integral oranına sahip 6.74 (J=8.8 Hz) ppm

ve 7.40 ($J=8.8$ Hz) ppm sinyalleri atfedilmiştir. 15 proton integral oranı 5 adet metoksi grubuna işaret etmektedir ve 5 adet $-OCH_3$ protonları 3.90-3.98 ppm aralığında tespit edilmiştir. ^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde, 8 kuaterner, 7 tane CH karbonu ve 5 tane CH_3 (1 örtüşme) karbonunun olduğu belirlenmiştir. Karbonil kuaterner karbonu 189.1 (C-1) ppm'de; trans olefinik karbonlar (C-2 ve C-3) sırasıyla 122.9 ve 139.4 ppm'de; A halkasındaki aromatik CH karbonları sırasıyla (C-2', C-5' ve C-6'), 110.8 ppm, 109.9 ppm ve 121.1 ppm'de; B halkası aromatik metin karbonları ise 107.6 ppm ve 123.9 ppm' de belirlenmiştir ve sırasıyla C-5'' ve C-6'' karbonlarına atfedilmiştir. 61.4 ppm ve 61.0 ppm'deki CH_3 pikleri sırasıyla C-2'' ve C-3'' metoksi gruplarına; 56.1 ppm'deki pik C-4'' metoksi grubuna; 56.0 ppm'deki sinyaller C-3' -4' metoksi gruplarına atfedilmiştir.

Tablo 39. 11 Nolu bileşiğin 1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektral değerleri ($CDCl_3$, δ , ppm)

No	C (APT)	1H	^{13}C (APT)
1	C	-	189.1
2	CH	7.60 (d, $J=15.8$ Hz, 1H)	122.9
3	CH	7.99 (d, $J=15.8$ Hz, 1H)	139.4
1'	C	-	131.6
2'	CH	7.64 (s, 1H)	110.8
3'	C	-	149.1
4'	C	-	155.6
5'	CH	6.94 (d, $J=8.4$ Hz, 1H)	109.9
6'	CH	7.69 (d, $J=8.4$ Hz, 1H)	121.1
$-OCH_3$ (x2)	CH_3	3.90-3.98 (s, 6H)	56.0
1''	C	-	122.2
2''	C	-	153.0
3''	C	-	139.4
4''	C	-	153.7
5''	CH	6.74 (d, $J=8.8$ Hz, 1H)	107.6
6''	CH	7.40 (d, $J=8.8$ Hz, 1H)	123.9
$-OCH_3$ (x3)	CH_3	3.90-3.98 (s, 9H)	56.1, 61.0, 61.4



Şekil 26. 11 Nolu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)

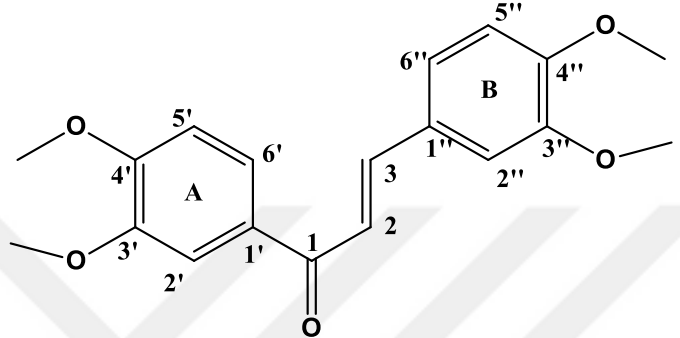


Şekil 27. 11 Nolu bileşiğin ¹³C-NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

4.1.12. 12 Nolu Bileşiğin Spektroskopik Bulguları

0.9 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi asetofenon ile 0.83 g (5 mmol) 3,4-dimetoksi benzaldehitin bazik ortamda oda sıcaklığında sentezi sonucunda 1.47 g (4.47 mmol) bileşik elde edilmiştir ve bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları Tablo 40'ta verilmiştir.

Tablo 40. 12 Nolu bileşiğin kimyasal yapısı ve molekül bulguları

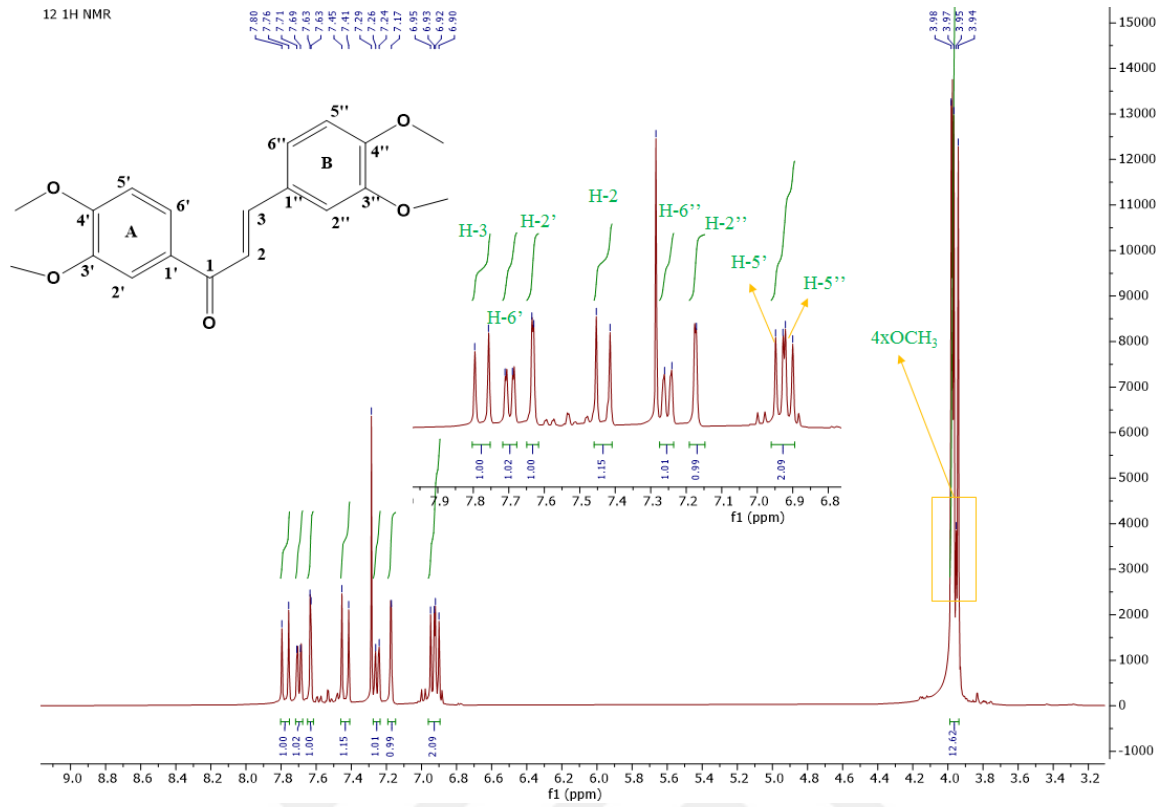
	
Molekül Adı	(2E)-1,3 bis(3,4-dimetoksifenil)prop-2-en-1-on
Molekül Formülü	C ₁₉ H ₂₀ O ₅
Molekül Ağırlığı	328.36 g/mol
R _f	0.50 (Kloroform: Etil asetat, 8:1)
Verim	% 89.5

Saf olarak elde edilen bileşiğin ¹H-NMR, ¹³C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektral değerleri Tablo 41'de ve ¹H-NMR ve ¹³C-NMR (APT) spektrumları Şekil 28-39'da verilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çifte bağın geometrik yapısı etkileşim sabiti ölçülerek (*J*=15.5 Hz) belirlenmiştir ve trans (*E*) konumdadır. ¹H-NMR spektral verilerine bakıldığında, 7.43 ppm'de (*J*=15.5 Hz) ve 7.78 (*J*=15.5 Hz) ppm'de dublet yarılmış ve 1'er proton integral oranına sahip pikler H-2 ve H-3 olefinik trans protonlarına atfedilmiştir. A ve B aromatik halkalarda 3'er tane CH protonu bulunmaktadır. A halkasında, 1 proton integral oranına sahip 7.63 ppm'de gözlemlenen singlet sinyal H-2'; 6.94 ppm (*J*=8.3 Hz) ve 7.70 ppm (*J*=8.3 Hz) de gözlemlenen dublet sinyaller ise birbirine komşu H-5' ve H-6' metin protonlarına atfedilmiştir. B halkasında ise, 1 proton integral oranına sahip 7.17 ppm'de gözlemlenen

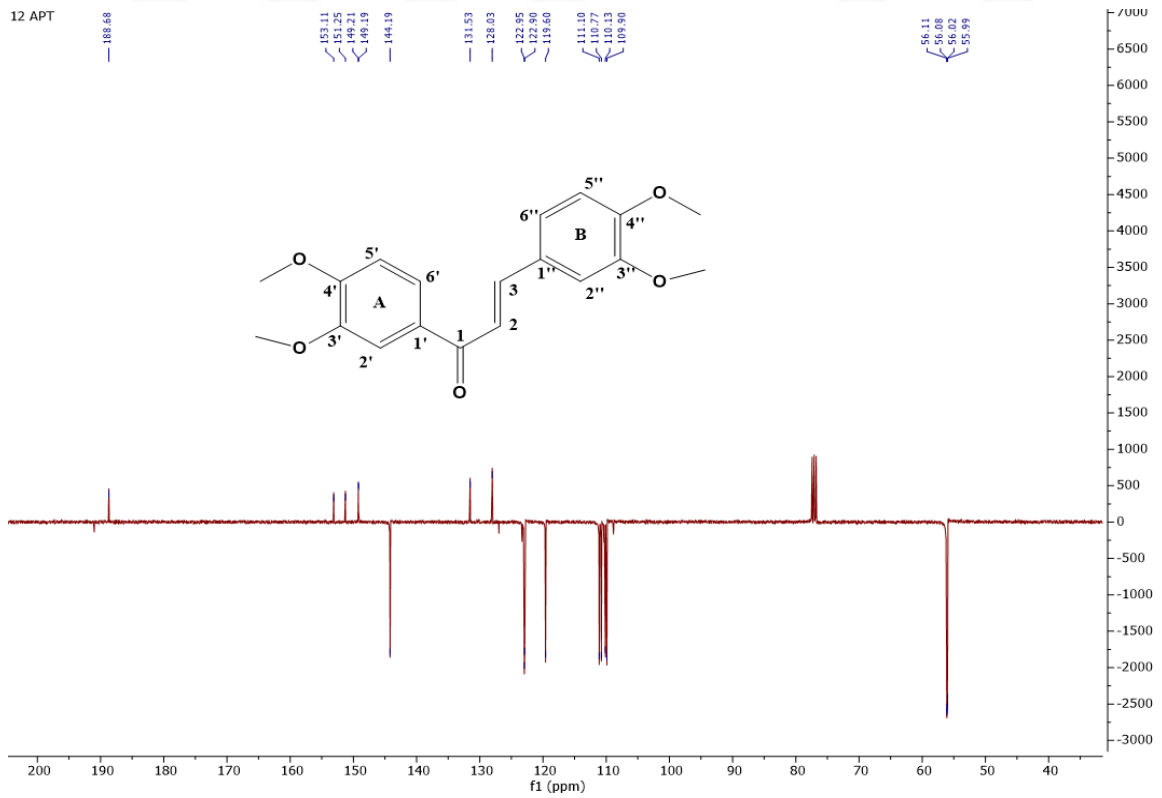
singlet sinyal H-2''; 6.91 ppm ($J=8.2$ Hz) ve 7.25 ppm ($J=8.2$ Hz) de gözlemlenen dublet sinyaller ise birbirine komşu H-5'' ve H-6'' metin protonlarına atfedilmiştir. 12 proton integral oranı ile doğrulanan 4 adet -OCH₃ protonları 3.94-3.98 ppm aralığında singlet sinyaller olarak tespit edilmiştir. ¹³C-NMR spektrumu incelendiğinde, 7 kuaterner (1 örtüşme), 8 tane CH karbonu (1 örtüşme) ve 4 tane CH₃ karbonunun (2 örtüşme) olduğu belirlenmiştir. 188.7 ppm'deki karbonil kuaterner karbonu C-1'e; 123.0 ppm ve 144.2 ppm'de CH karbonları olefinik C-2 ve C-3'e atfedilmiştir. A halkasındaki aromatik C-2', C-5' ve C-6' -CH karbonları sırasıyla 110.0 ppm, 109.9 ppm ve 119.6 ppm'de tespit edilmiştir. B halkasındaki aromatik C-2'', C-5'' ve C-6'' metin karbonları ise sırasıyla 111.1 ppm, 110.8 ppm ve 122.9 ppm'de belirlenmiştir. A halkası C-3', C-4' metoksi grupları 56.0 ppm'de, B halkası C-3'', C-4'' metoksi grupları ise 56.1 ppm'de tespit edilmiştir.

Tablo 41. 12 Nolu bileşiğin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral değerleri (CDCl₃, δ, ppm)

No	C (APT)	¹ H	¹³ C (APT)
1	C	-	188.7
2	CH	7.43 (d, $J=15.5$ Hz, 1H)	123.0
3	CH	7.78 (d, $J=15.5$ Hz, 1H)	144.2
1'	C	-	131.5
2'	CH	7.63 (s, 1H)	110.0
3'	C	-	149.2
4'	C	-	153.1
5'	CH	6.94 (d, $J=8.3$ Hz, 1H)	109.9
6'	CH	7.70 (d, $J=8.3$ Hz, 1H)	119.6
-OCH ₃ (x2)	CH ₃	3.94-3.98 (s, 6H)	56.0
1''	C	-	128.0
2''	CH	7.17 (s, 1H)	111.1
3''	C	-	149.2
4''	C	-	151.3
5''	CH	6.91 (d, $J=8.2$ Hz, 1H)	110.8
6''	CH	7.25 (d, $J=8.2$ Hz, 1H)	122.9
-OCH ₃ (x2)	CH ₃	3.94-3.98 (s, 6H)	56.1



Şekil 28. 12 Nolu bileşiğin ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃, 400 MHz)



Şekil 29. 12 Nolu bileşiğin ¹³C-NMR (APT) spektrumu (CDCl₃, 100 MHz)

4.2. *In vitro* Biyolojik Aktivite Bulguları

4.2.1. *In vitro* Lipaz Enzim Aktivite Bulguları

Sentezlenen 12 adet metoksi kalkon bileşiğinin *in vitro* lipaz enzim inhibisyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir (196). Elde edilen bulgular Tablo 42’de verilmiştir.

Tablo 42. Metoksi kalkon bileşiklerinin (1-12) *in vitro* lipaz enzim inhibisyon bulguları

Bileşik	IC ₅₀ (µg/mL)*
1	100.34 ± 2.05
2	46.67 ± 1.61
3	43.86 ± 2.18
4	123.03 ± 4.35
5	161.07 ± 3.53
6	169.82 ± 5.74
7	39.83 ± 1.12
8	42.43 ± 1.75
9	288.84 ± 10.23
10	94.84 ± 4.65
11	55.26 ± 3.41
12	65.16 ± 3.12
Orlistat	13.49 ± 1.23

*n=3, ± standart sapma

4.2.2. Hücre Canlılık Testi Sonuçları

En yüksek lipaz enzim inhibisyon aktivitesi gösteren bileşiklerin (2, 3, 7, 8), fibroblast (L929) hücre hattı üzerine sitotoksik etkileri MTT yöntemi kullanılarak IC₅₀ değerleri hesaplanmış ve Tablo 43’te verilmiştir.

Tablo 43. Metoksi kalkon bileşiklerinin (2, 3, 7, 8) hücre canlılığı bulguları

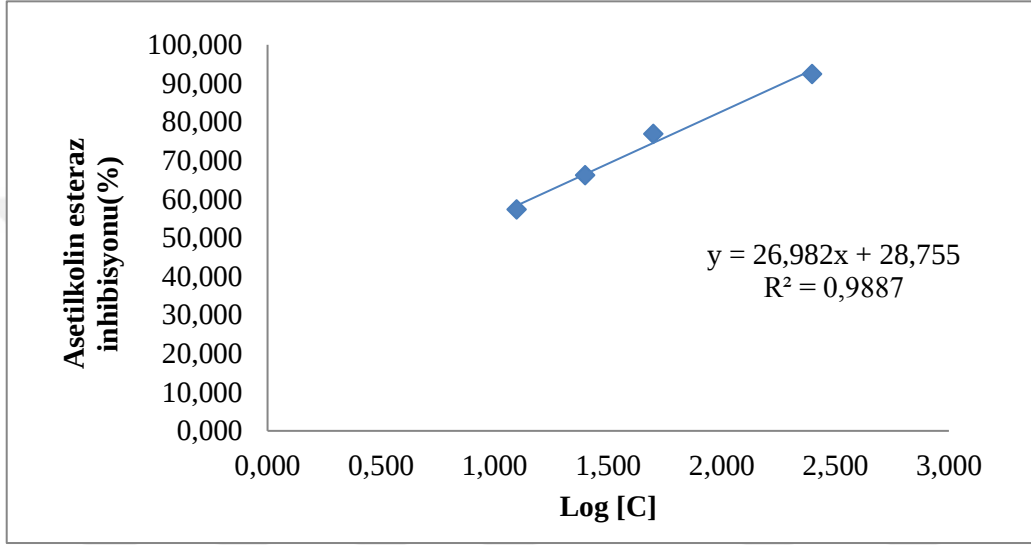
Bileşik	IC ₅₀ (µg/mL)*
2	59.34 ± 6.39
3	50.51 ± 10.05
7	111.56 ± 13.92
8	41.34 ± 5.18

*n=3, ± standart sapma

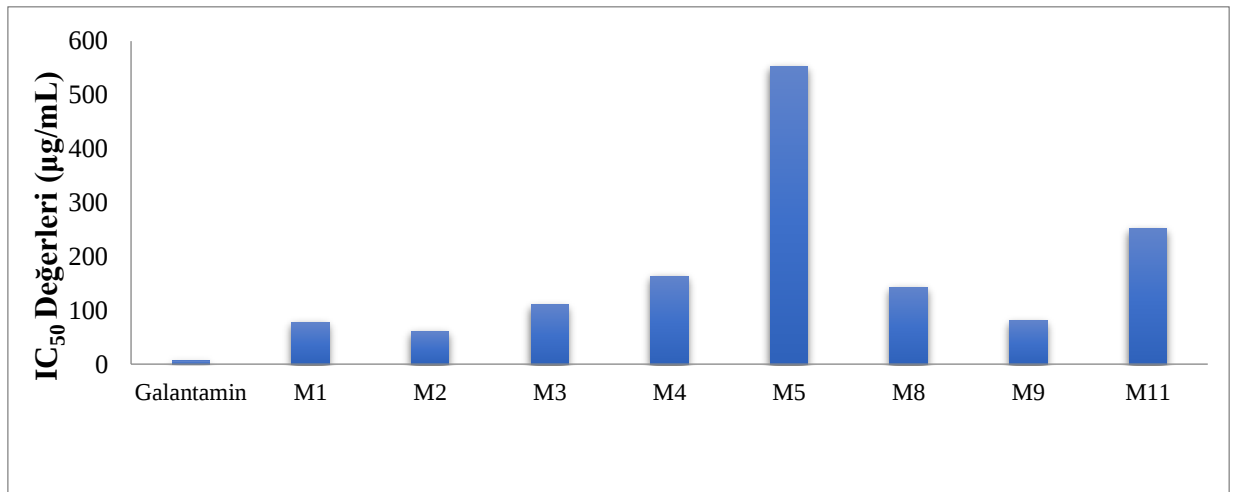
4.2.3. Diğer Enzim Aktivite Çalışmalarına Yönelik Bulgular

4.2.3.1. Asetilkolin/Bütirilkolin Esteraz Enzim Aktivite Bulguları

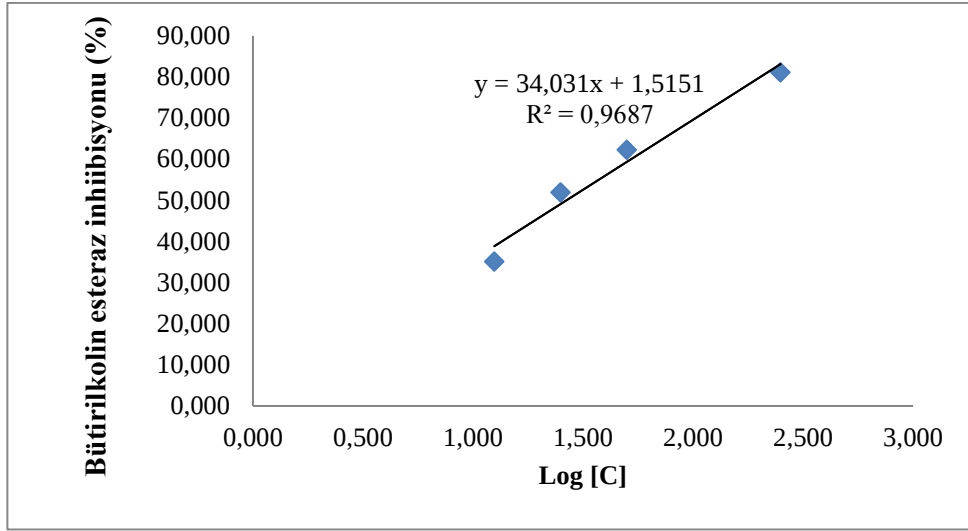
Metoksi kalkon bileşiklerinin asetilkolinesteraz enzim aktivitesi, 5,5- dithio-bis-(2-nitrobenzoik asit) varlığında salınan sarı renkli tiyokolinin oluşması esasına göre belirlenmiştir (186). Sonuçlar Şekil 30-33'te ve Tablo 44'te verilmiştir.



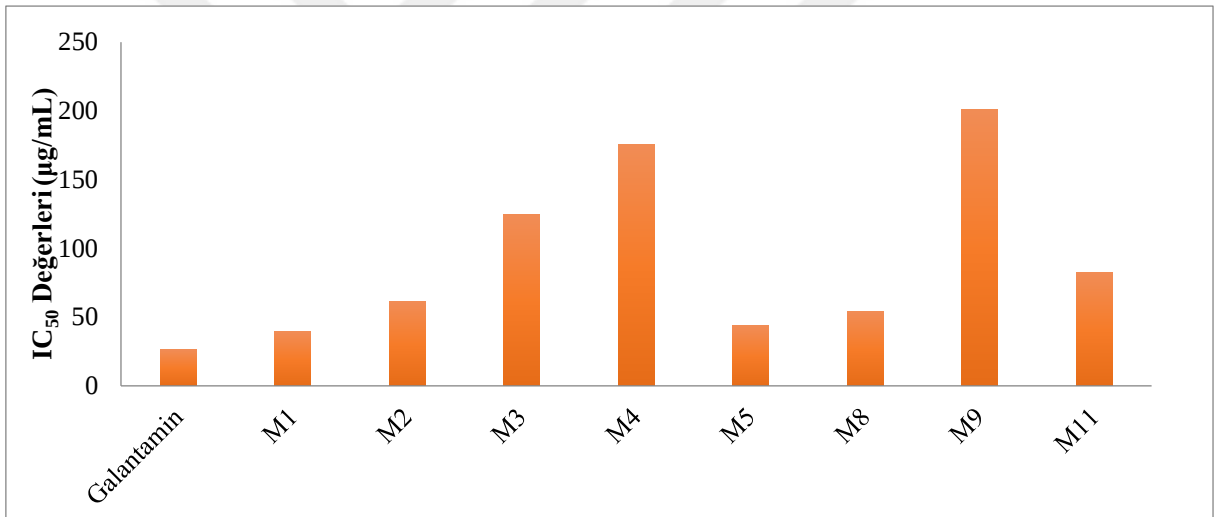
Şekil 30. Galantamin standartının % asetilkolinesteraz inhibisyonu



Şekil 31. Galantamin'in ve metoksi kalkon bileşiklerinin asetilkolinesteraz inhibisyonu IC₅₀ değerleri



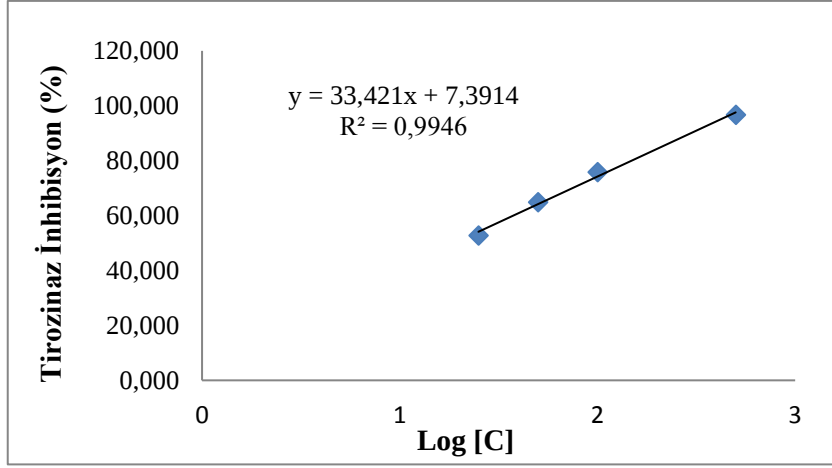
Şekil 32. Galantamin standartının % bütirilkolin esteraz inhibisyonu



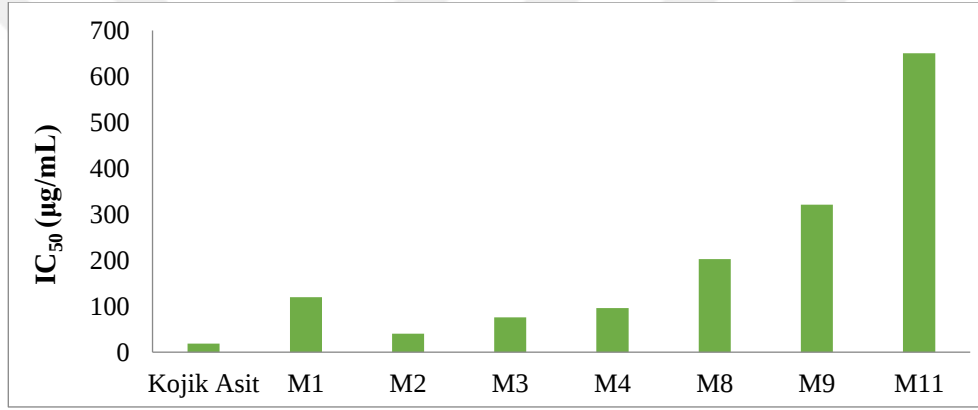
Şekil 33. Galantamin'in ve metoksi kalkon bileşiklerinin bütirilkolinesteraz inhibisyonu IC₅₀ değerleri

4.2.3.2. Tirozinaz Enzim Aktivite Bulguları

Metoksi kalkon bileşiklerinin tirozinaz inhibitör aktivitesinin belirlenmesinde, substrat olarak L-DOPA kullanılmıştır (187). Bileşiklerin tirozinaz inhibitör aktivitesi kojik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Kojik asit absorbans-konsantrasyon grafiği Şekil 34'te, bileşiklerin sonuçları ise Şekil 35 ve Tablo 44'te verilmiştir.



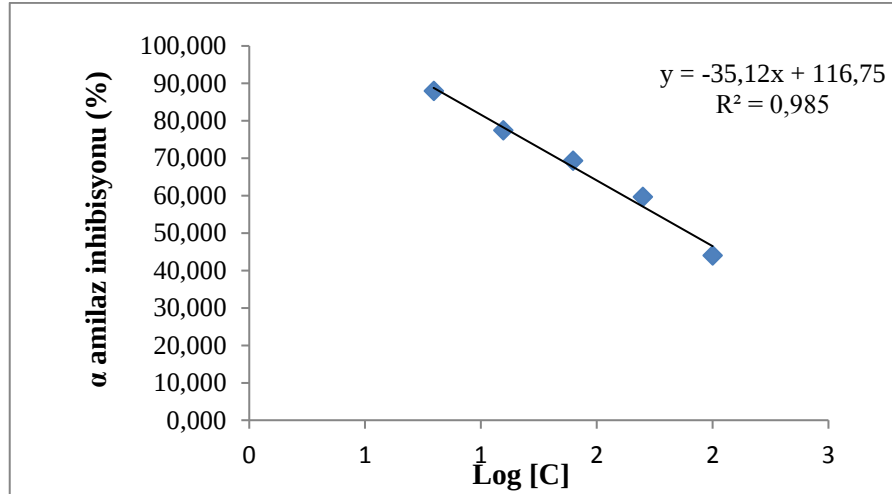
Şekil 34. Kojik asit standartının % tirozinaz inhibisyonu



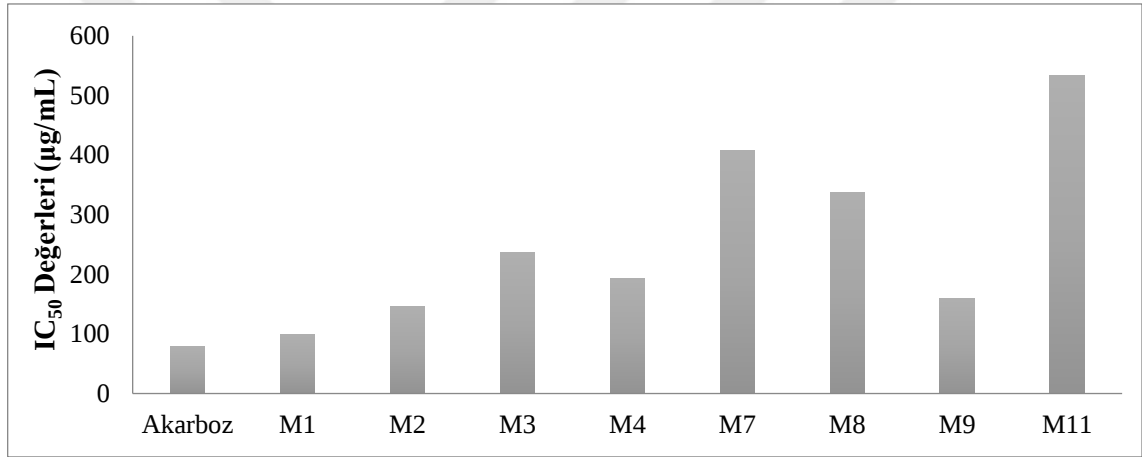
Şekil 35. Kojik asit'in ve metoksi kalkon bileşiklerinin tirozinaz inhibisyonu IC₅₀ değerleri

4.2.3.3. α -Amilaz Enzim Aktivite Bulguları

Bileşiklerin α -amilaz inhibitör aktivitesinin belirlenmesinde, Caraway-Somogyi iyodur/potasyum iyodur (IKI) yöntemi kullanılmıştır (188). Bileşiklerin α -amilaz inhibitor aktivitesi akarboz eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Akarboz absorbans-konsantrasyon grafiği Şekil 36'da bileşiklerin sonuçları ise Şekil 37 ve Tablo 44'te verilmiştir.



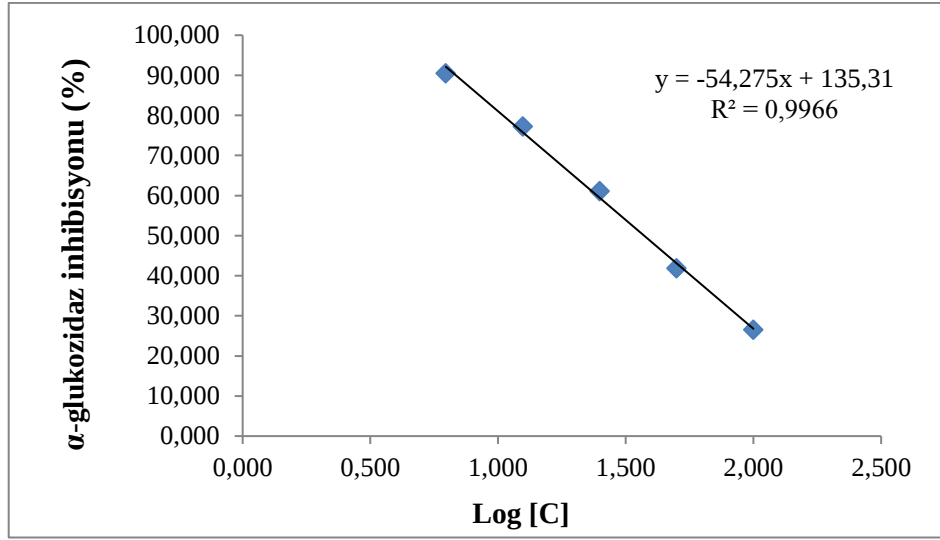
Şekil 36. Akarboz standartının % α -amilaz inhibisyonu



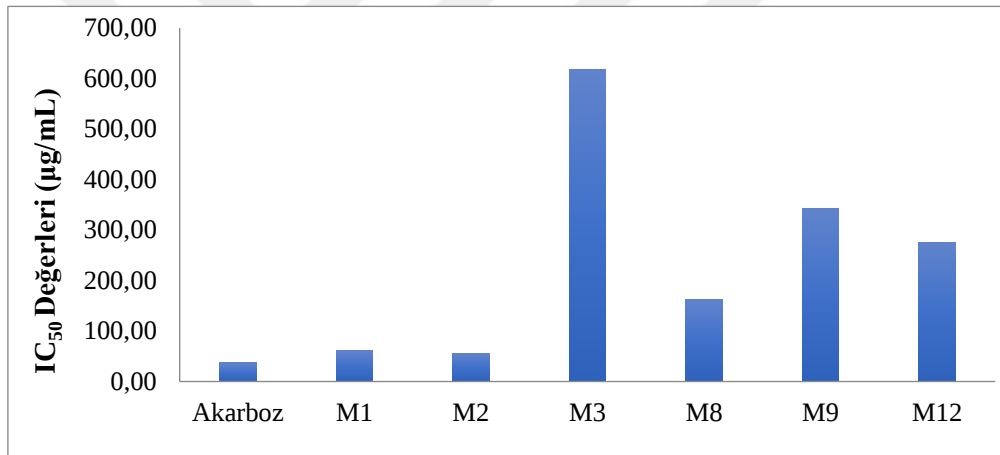
Şekil 37. Akarboz'un ve metoksi kalkon bileşiklerinin α -amilaz inhibisyonu IC₅₀ değerleri

4.2.3.4. α -Glukozidaz Enzim Aktivite Bulguları

Bileşiklerin α -glukozidaz inhibitör aktivitesinin belirlenmesinde Palanisamy ve ark.'nın geliştirdiği yöntem kullanılmıştır (189). Bileşiklerin α -glukozidaz inhibitör aktivitesi akarboz eşdeğeri olarak hesaplanmıştır. Akarboz absorbans-konsantrasyon grafiği Şekil 38'de, bileşiklerin sonuçları ise Şekil 39 ve Tablo 44'te verilmiştir.



Şekil 38. Akarboz standartının % α -glukozidaz inhibisyonu



Şekil 39. Akarboz'un ve metoksi kalkon bileşiklerinin α - glukozidaz inhibisyonu IC₅₀ değerleri

Tablo 44. Metoksi kalkon bileşiklerinin (1-12) enzim inhibisyon çalışmalarına yönelik bulgular (IC₅₀)

No	Asetilkolin Esteraz	Bütirilkolin Esteraz	Tirozinaz	α -Amilaz	α -Glukozidaz
1	78.15 $\pm$ 0.58	39.79 $\pm$ 1.29	119.41 $\pm$ 2.13	98.61 $\pm$ 3.17	60.93 $\pm$ 0.93
2	60.39 $\pm$ 1.24	61.53 $\pm$ 1.07	40.40 $\pm$ 1.01	146.54 $\pm$ 1.65	55.91 $\pm$ 1.78
3	110.25 $\pm$ 2.47	124.39 $\pm$ 2.24	76.11 $\pm$ 3.17	235.81 $\pm$ 1.08	617.49 $\pm$ 3.72
4	163.01 $\pm$ 2.19	175.84 $\pm$ 2.43	96.10 $\pm$ 2.19	192.98 $\pm$ 3.09	>1000

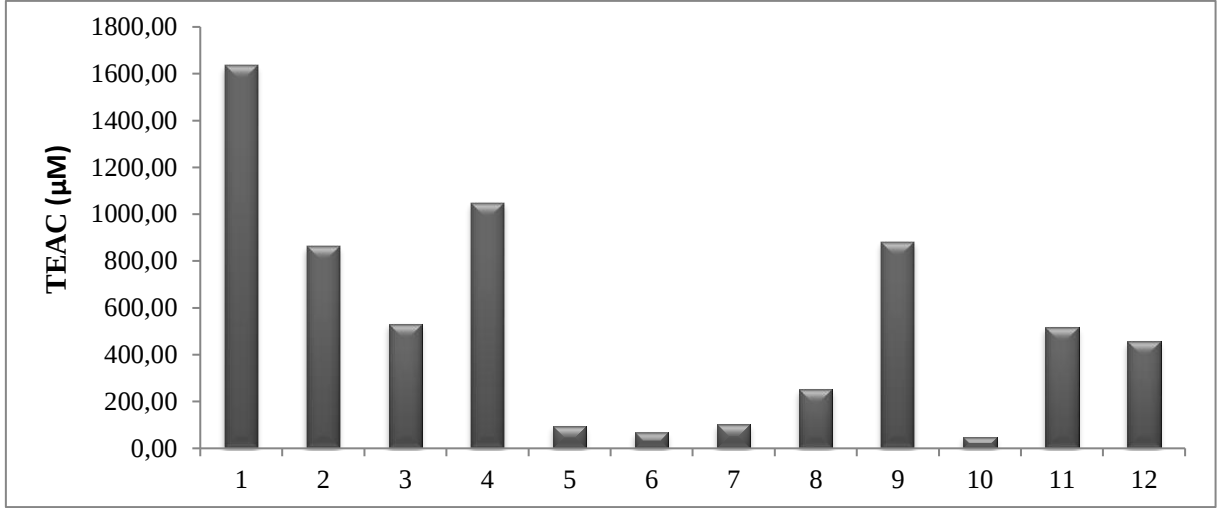
Tablo 44. (Devam)

5	552.77 ± 3.28	44.41 ± 3.78	>1000	>1000	>1000
6	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
7	>1000	>1000	>1000	406.98 ± 2.08	>1000
8	142.84 ± 3.71	54.34 ± 0.34	202.63 ± 3.03	337.40 ± 2.42	161.57 ± 2.23
9	81.13 ± 1.24	201.26 ± 1.12	320.88 ± 2.91	159.84 ± 1.25	341.76 ± 1.24
10	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
11	251.71 ± 1.09	82.51 ± 1.04	650.68 ± 1.28	532.94 ± 11.59	>1000
12	>1000	>1000	>1000	>1000	274.65 ± 1.48
Galantamin	6.13 ± 0.47	26.59 ± 0.71	-	-	-
Kojik asit	-	-	18.83 ± 1.09	-	-
Akarboz	-	-	-	79.55 ± 3.12	37.31 ± 3.12

4.2.4. Antioksidan Aktivite Çalışmalarına Yönelik Bulgular

4.2.4.1. Demir İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) Bulguları

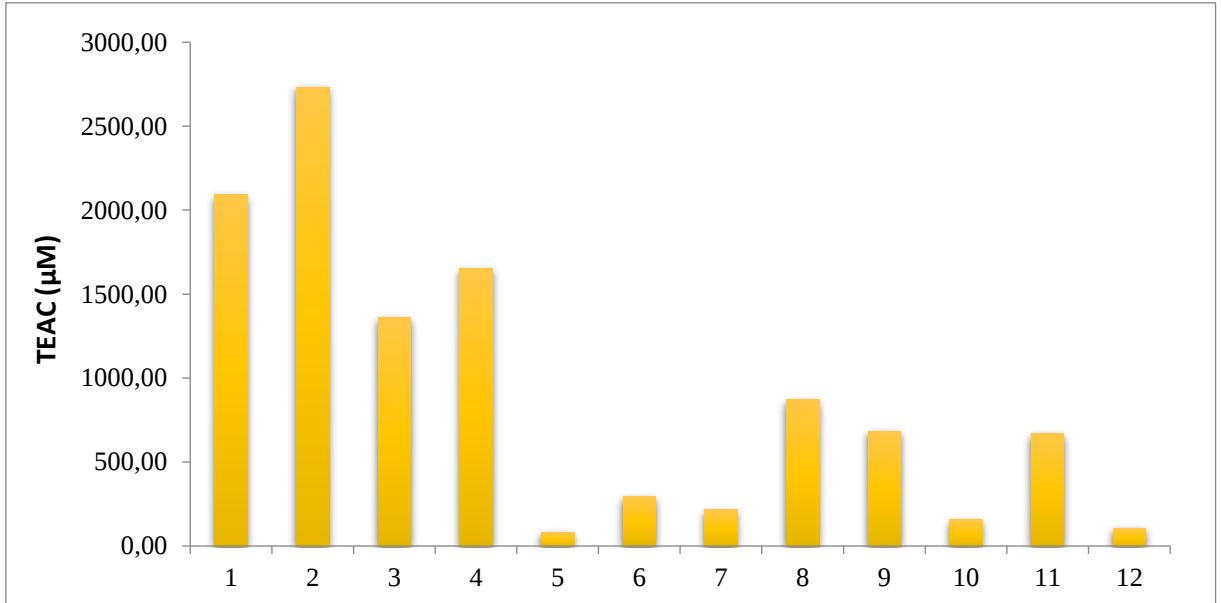
Metoksi kalkon bileşiklerinin (1-12) demir iyonlarını indirgeme gücü (FRAP) belirlenerek antioksidan aktivitesi tespit edilmiştir (191). FRAP değerleri, troloks çözeltisinin farklı oranlardaki konsantrasyonları kullanılarak troloks eşdeğeri TEAC (μM) olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar, Şekil 40 ve Tablo 45'te verilmiştir.



Şekil 40. Metoksi kalkon bileşiklerinin (1-12) FRAP tayini TEAC cinsinden değerleri

4.2.4.2. Bakır (II) İndirgeme Antioksidan Gücü (CUPRAC) Bulguları

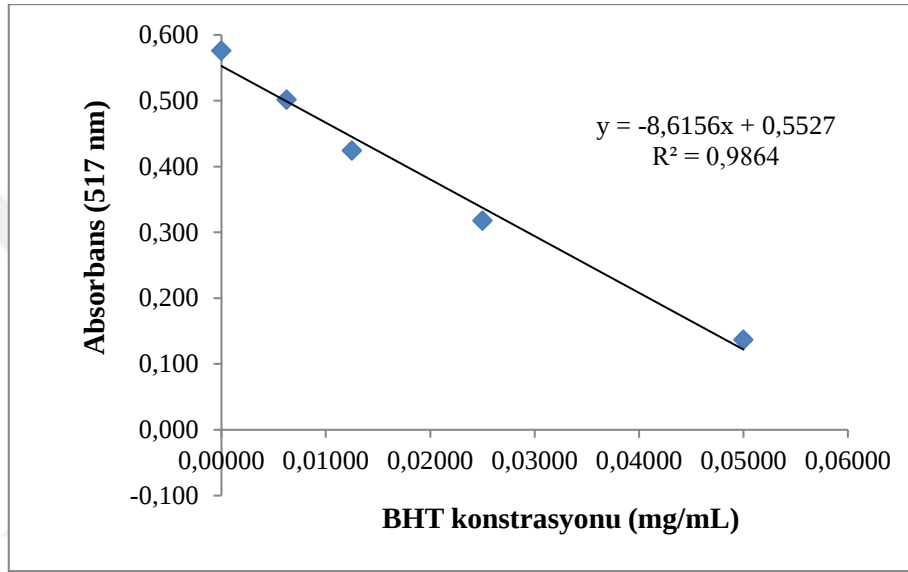
Metoksi kalkon bileşiklerinin (1-12) bakır iyonlarını indirgeme gücü (CUPRAC) belirlenerek antioksidan aktivitesi tespit edilmiştir (192). Standart madde olan troloks'a karşı numunelerin antioksidan kapasitesi belirlenmiş ve TEAC (μM) olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar, Şekil 41 ve Tablo 45'te verilmiştir.



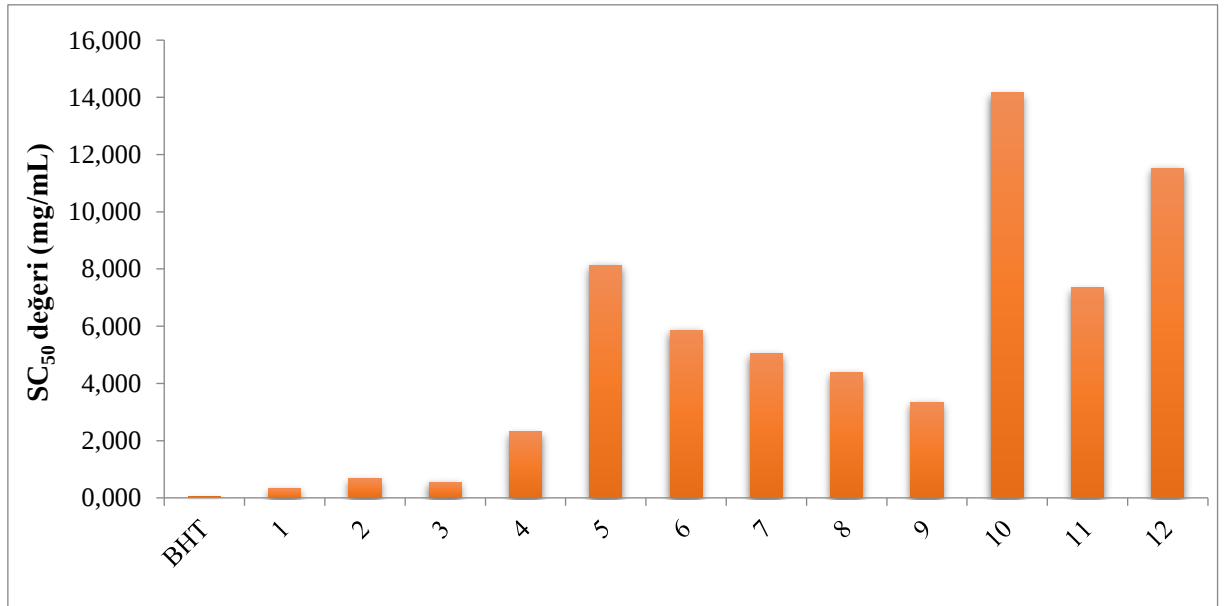
Şekil 41. Metoksi kalkon bileşiklerinin (1-12) CUPRAC tayini TEAC cinsinden değerleri

4.2.4.3. DPPH Radikali Giderici Aktivite Bulguları

Metoksi kalkon bileşiklerinin (1-12) Kirby ve Schmidt'in geliştirdiği yönteme göre DPPH radikali giderici aktivitesi tespit edilmiştir (191). Bileşiklerin SC₅₀ değerleri hesaplanmıştır (radikalın %50'sinin inhibe edildiği konsantrasyon) ve standart BHT'e karşı grafik elde edilmiştir (Şekil 42). Bileşiklerin DPPH aktivite sonuçları Şekil 43 ve Tablo 45'te verilmiştir.



Şekil 42. BHT standardının absorbans konsantrasyon grafiği



Şekil 43. DPPH yöntemine göre metoksi kalkonların (1-12) ve BHT'nin SC₅₀ değerleri

Tablo 45. Metoksi kalkonların (1-12) antioksidan aktivite sonuçları

Bileşikler	FRAP ¹	CUPRAC ²	DPPH ³
1	1633.70 ± 2.52	2093.33 ± 3.53	0.320 ± 0.002
2	861.80 ± 3.16	2732.00 ± 7.42	0.663 ± 0.001
3	531.13 ± 3.12	1360.00 ± 1.25	0.542 ± 0.003
4	1048.70 ± 4.32	1651.40 ± 3.91	2.311 ± 0.006
5	95.70 ± 3.25	81.40 ± 4.36	8.135 ± 0.004
6	66.37 ± 1.59	294.00 ± 1.92	5.865 ± 0.004
7	102.03 ± 3.06	216.00 ± 3.25	5.038 ± 0.002
8	249.70 ± 2.09	870.00 ± 7.18	4.379 ± 0.001
9	881.70 ± 4.15	682.40 ± 1.36	3.346 ± 0.004
10	49.03 ± 3.09	155.33 ± 2.57	14.165 ± 0.006
11	516.03 ± 8.03	670.00 ± 8.06	7.349 ± 0.008
12	457.03 ± 1.87	104.67 ± 2.13	11.524 ± 0.001
BHT	-	-	0.032 ± 0.001

¹FRAP değeri demir indirgeyici antioksidan gücünü (μM trolox eşdeğeri/gram), ²CUPRAC değeri bakır indirgeyici antioksidan gücünü (μM trolox eşdeğeri/gram), ³DPPH değeri 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal süpürme kapasitesini (mg/mL), BHT değeri bütillenmiş hidroksi tolueni gösterir.

4.2.5. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmalarına Yönelik Bulgular

12 adet metoksi kalkon bileşiğinin, 3 gr (-), 4 gr (+), 1 gram almayan ve 2 farklı mantar mikroorganizması olmak üzere toplamda 10 mikroorganizmaya karşı MİK yöntemiyle *in vitro* antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Sonuçlar Tablo 46'da verilmiştir.

Tablo 46. Metoksi kalkonların (1-12) antimikrobiyal aktivite sonuçları

No	Stok Konst. (µg/mL)	Mikroorganizma ve minimal inhibisyon konsantrasyon sonuçları (MİK, µg/mL)									
		Gram (-) Bak.			Gram (+) Bak.				Gram almayan	Mayalar	
		<i>Ec</i>	<i>Yp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sa</i>	<i>Ef</i>	<i>Lm</i>	<i>Bc</i>	<i>Ms</i>	<i>Ca</i>	<i>Sc</i>
1	10 300	643.8	643.8	643.8	-	-	-	-	321.9	643.8	643.8
2	10 000	625	1250	1250	-	-	-	-	625	1250	1250
3	10 400	627.5	1255	1255	-	-	-	-	627.5	1255	1255
4	10 100	631.3	1262.5	1262.5					1262.5	1262.5	1262.5
5	55 500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	12 800	800	1600	800	-	-	-	-	400	800	800
7	12 200	381.3	762.5	762.5					381.3	762.5	762.5
8	10 500	164.1	328.3	328.3	-	-	-	-	164.1	328.3	328.3
9	10 200	637.5	637.5	637.5	-	-	-	-	318.8	637.5	637.5
10	10 000	625	1250	1250	-	-	-	-	625	1250	1250
11	10 400	1255	2510	1255	-	-	-	-	627.5	1255	1255
12	40 000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A	10	10	18	128	35	10	15	15			
St	10								4		
Flu	5									8	8

Ec: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Yp*: *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Pa*: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Sa*: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Ef*: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Lm*: *Listeria monocytogenes* ATCC 43251 *Bc*: *Bacillus cereus* 702 Roma, *Ms*: *Mycobacterium smegmatis* ATCC607, *Ca*: *Candida albicans* ATCC 60193, *Sc*: *Saccharomyces cerevisiae* RSKK 251, A.: Ampisilin, St.: Streptomisin, Flu.: Flukonazol, (-): aktivite yok

4.3. *In vivo* Biyolojik Aktivite Bulguları

4.3.1. Ağırlık, Ağırlık Farkı ve % Ağırlık Değişimine Ait Bulgular

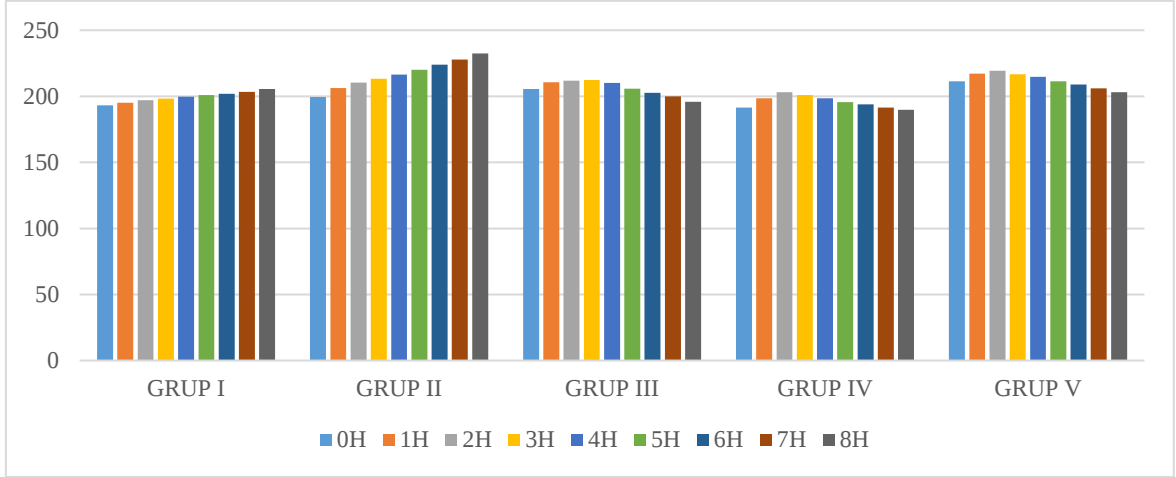
8 haftalık deney süresi boyunca haftalık deney hayvanlarının ağırlık tartımı gerçekleştirilmiş ve Tablo 47’de ortalama ağırlık (g) $\pm$ standart sapma (SS) olarak verilmiştir. 8 haftalık deney süresi sonundaki hesaplanan değerlere göre negatif kontrol grubuyla (Grup II) karşılaştırıldığında, ağırlık ortalamasında en büyük azalmanın pozitif kontrol grubunda olduğu (Grup III) sonrasında ise sırasıyla Grup V ve Grup IV’te de ağırlık ortalamalarının azaldığı tespit edilmiştir.

Tablo 47. Grupların haftalık ağırlık ortalamaları

	Ortalama ağırlık (g) $\pm$ SS				
	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
0. HAFTA	193.2 $\pm$ 6.01	199.6 $\pm$ 8.76	205.5 $\pm$ 19.41	191.5 $\pm$ 11.41	211.4 $\pm$ 9.82
1. HAFTA	195.1 $\pm$ 6.38	206.2 $\pm$ 7.71	210.7 $\pm$ 18.81	198.5 $\pm$ 13.68	217.1 $\pm$ 8.57
2. HAFTA	197.0 $\pm$ 5.95	210.4 $\pm$ 8.20	211.8 $\pm$ 18.64	203.1 $\pm$ 15.81	219.3 $\pm$ 6.31
3. HAFTA	198.2 $\pm$ 5.97	213.3 $\pm$ 8.46	212.3 $\pm$ 18.03	200.9 $\pm$ 12.60	216.7 $\pm$ 9.29
4. HAFTA	199.8 $\pm$ 5.64	216.3 $\pm$ 8.18	210.1 $\pm$ 16.78	198.5 $\pm$ 11.38	214.7 $\pm$ 11.09
5. HAFTA	200.9 $\pm$ 5.37	220.1 $\pm$ 7.86	205.8 $\pm$ 15.82	195.7 $\pm$ 11.76	211.4 $\pm$ 11.71
6. HAFTA	201.9 $\pm$ 5.12	224.0 $\pm$ 7.69	202.7 $\pm$ 15.26	193.9 $\pm$ 11.50	209.0 $\pm$ 12.37
7. HAFTA	203.3 $\pm$ 5.22	227.7 $\pm$ 7.71	200.0 $\pm$ 14.83	191.5 $\pm$ 11.73	206.1 $\pm$ 13.69
8. HAFTA	205.6 $\pm$ 6.01	232.4 $\pm$ 7.78	195.8 $\pm$ 14.61	189.8 $\pm$ 11.88	203.2 $\pm$ 14.76

Grup I: SY + serum fizyolojik (SF) 1 mL (kontrol grubu); Grup II: YDY + SF 1 mL (negatif kontrol grubu); Grup III: YDY + orlistat (10 mg/kg); Grup IV: YDY + etkili biyoaktif bileşik (10 mg/kg); Grup V: YDY + etkili biyoaktif bileşik (40 mg/kg); SS: standart sapma

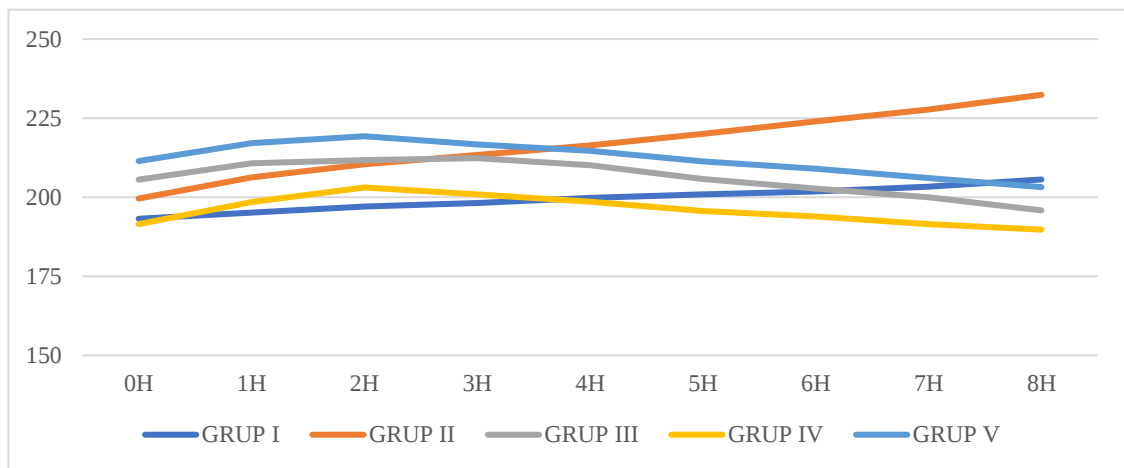
Ağırlık ortalaması bulgularına bakıldığında 8 haftalık deney süresi sonunda kontrol grubu olan Grup I'in ortalama ağırlığının 205.6 g, yüksek yağlı diyet grubu olan Grup II'nin 232.4 g ve pozitif kontrol grubu olan Grup III'ün ise 195.8 g olduğu belirlenmiştir. Metoksikalkon bileşiğinin etkisinin farklı dozajlarının incelendiği Grup IV ve Grup V'in ise ağırlıkları ortalamalarının sırasıyla 189.8 ve 203.2 g olduğu tespit edilmiştir ve haftalık ağırlık bulguları Şekil 44'te gösterilmiştir.



Grup I: SY + SF 1 mL (kontrol grubu); Grup II: YDY + serum SF 1 mL (negatif kontrol grubu); Grup III: YDY + orlistat (10 mg/kg) (pozitif kontrol grubu); Grup IV: YDY + etkili biyoaktif bileşik (10 mg/kg); Grup V: YDY + etkili biyoaktif bileşik (40 mg/kg)

Şekil 44. Deney gruplarının haftalık ağırlık ortalamalarının bulguları

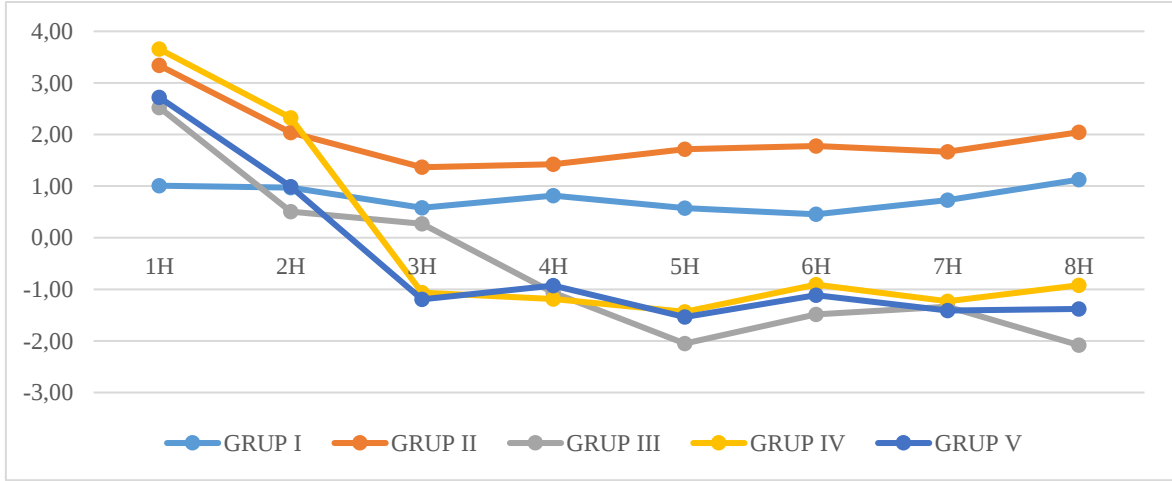
Ağırlık farkı sonuçlarına göre Grup I ve Grup II'nin ağırlık miktarının ortalamasında sırasıyla 12.4 g ve 32.8 g artış olurken, pozitif kontrol grubu Grup III'ün ağırlık miktarının ortalamasında 9.7 g azalma ve etkin madde farklı konsantrasyon grupları olan Grup IV ve Grup V'te ise sırasıyla 1.7 g ve 8.2 g azalma tespit edilmiştir. 8 haftalık deney süresi sonundaki haftalık ağırlık miktarının ortalamalarının değişimi (azalma/artma) Şekil 45'te gösterilmiştir.



Grup I: SY + SF 1 mL (kontrol grubu); Grup II: YDY + SF 1 mL (negatif kontrol grubu); Grup III: YDY + orlistat (10 mg/kg) (pozitif kontrol grubu); Grup IV: YDY + etkili biyoaktif bileşik (10 mg/kg); Grup V: YDY + etkili biyoaktif bileşik (40 mg/kg)

Şekil 45. Deney gruplarının haftalara göre ağırlık ortalamalarının değişim bulguları

Haftalara göre % ağırlık değişimi bulguları değerlendirildiğinde, Grup III, Grup IV ve Grup V en az % ağırlık değişimlerini sırasıyla -2.05, -1.44 ve -1.54 olarak 5. haftada gözlemlenmiştir. Grup II'nin % 1.37 'lik en az değişimi 3.haftada tespit edilirken, Grup I'in ise % 0.45 olan bu değeri 6. haftada belirlenmiştir. Veriler Şekil 46'da şematik olarak gösterilmiştir.



Grup I: SY + serum fizyolojik (SF) 1 mL (kontrol grubu); Grup II: YDY + SF 1 mL (negatif kontrol grubu); Grup III: YDY + orlistat (10 mg/kg); Grup IV: YDY + etkili biyoaktif bileşik (10 mg/kg); Grup V: YDY + etkili biyoaktif bileşik (40 mg/kg)

Şekil 46. Deney gruplarının haftalara göre % ağırlık değişimi bulguları

8 Hafta sonunda deney grupları görsel olarak değerlendirilmiş ve obezite grubuna göre diğer gruplara ait sıçanların daha zayıf olduğu tespit edilmiştir (Tablo 48).

Tablo 48. Deney gruplarının 8 hafta sonundaki genel görüntüleri

	0.hafta	8. hafta
Grup I		
Grup II		
Grup III		
Grup IV		
Grup V		

Grup I: SY + serum fizyolojik (SF) 1 mL (kontrol grubu); Grup II: YDY + SF 1 mL (negatif kontrol grubu); Grup III: YDY + orlistat (10 mg/kg); Grup IV: YDY + etkili biyoaktif bileşik (10 mg/kg); Grup V: YDY + etkili biyoaktif bileşik (40 mg/kg)

4.3.2. Biyokimyasal Analiz Çalışmalarına Yönelik Bulgular

Obeziteyle birlikte ortaya çıkan dislipideminin değerlendirilmesi için biyokimyasal parametrelerden sıçanların serum HDL, LDL, trigliserit ve total kolesterol düzeyleri tespit edilmiştir. Ayrıca obeziteyle ilişkili olan insülin direncinin belirlenebilmesi için sıçanların serum glukoz ve insülin düzeyleri belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 49’da gösterilmiştir.

Tablo 49. Deney gruplarına ait bazı biyokimyasal parametrelerin sonuçları

	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	Trigliserit (mg/dL)	Total kolesterol (mg/dL)	Glukoz (mg/dL)	İnsülin (mIU/L)
Grup I	102.58 ± 5.12	63.0 ± 1.26	95.13 ± 2.18	194.0 ± 6.16	116.38 ± 7.50	4.63 ± 0.23
Grup II	68.45 ± 2.05	96.4 ± 1.93	121.5 ± 3.40	216.75 ± 3.34	146.25 ± 5.94	7.88 ± 0.16
Grup III	98.87 ± 2.96	46.6 ± 2.10	111.88 ±1.81	164.50 ± 3.41	135.25 ± 4.02	5.14 ± 0.05
Grup IV	101.15 ± 2.02	33.8 ± 1.69	99.13 ± 1.55	154.75 ± 3.18	138.48 ± 7.41	5.58 ± 0.06
Grup V	105.8 ± 3.17	28.3 ± 1.42	89.63 ±1.14	148.75 ± 4.05	128.76 ± 5.21	5.42 ± 0.11

Grup I: SY + serum fizyolojik (SF) 1 mL (kontrol grubu); Grup II: YDY + SF 1 mL (negatif kontrol grubu); Grup III: YDY + orlistat (10 mg/kg); Grup IV: YDY + etkili biyoaktif bileşik (10 mg/kg); Grup V: YDY + etkili biyoaktif bileşik (40 mg/kg); SS: standart sapma

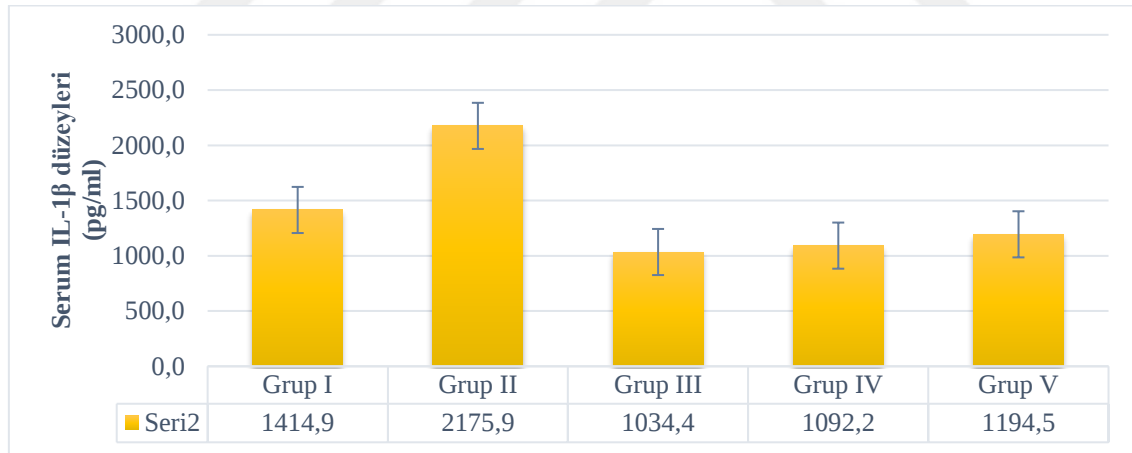
Ayrıca yağ dokusundan salgılanan ve obeziteyle ilişkili adiponektin düzeyleri belirlenmiştir. Bunun yanı sıra karaciğer fonksiyonları için AST ve ALT düzeyleri ve böbrek fonksiyonları için de kreatinin düzeyleri tespit edilmiştir. Bulgular Tablo 50’de gösterilmiştir.

Tablo 50. Deney gruplarına ait karaciğer, böbrek ve yağ dokusu parametrelerinin sonuçları

	Adiponektin (ng/mL)	Aspartat aminotransferaz (AST) (U/L)	Alanin aminotransferaz ALT (U/L)	Kreatinin (mg/dL)
Grup I	81.89 ± 1.64	53.75 ± 3.79	49.63 ± 4.04	0.26 ± 0.02
Grup II	54.62 ± 1.09	61.13 ± 3.56	73.13 ± 1.06	0.32 ± 0.04
Grup III	88.67 ± 4.43	53.63 ± 5.85	70.0 ± 5.26	0.27 ± 0.05
Grup IV	80.56 ± 1.61	55.13 ± 4.03	57.75 ± 4.91	0.26 ± 0.04
Grup V	93.18 ± 2.80	59.50 ± 5.68	53.0 ± 5.68	0.26 ± 0.04

Grup I: SY + serum fizyolojik (SF) 1 mL (kontrol grubu); Grup II: YDY + SF 1 mL (negatif kontrol grubu); Grup III: YDY + orlistat (10 mg/kg); Grup IV: YDY + etkili biyoaktif bileşik (10 mg/kg); Grup V: YDY + etkili biyoaktif bileşik (40 mg/kg); SS: standart sapma

Obeziteyle ilişkilendirilen kronik enflamasyonun değerlendirilebilmesi için sıçanların serum IL-1 β düzeyleri tespit edilmiştir. Sonuçlar Şekil 47’de verilmiştir.



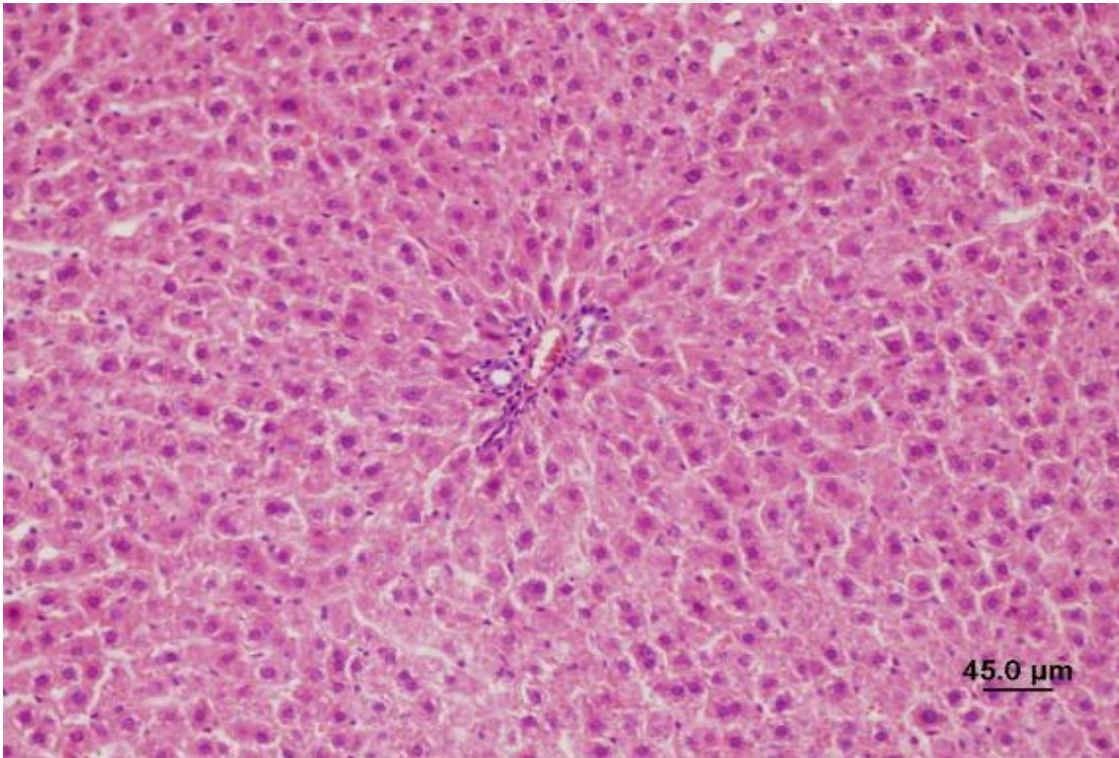
Grup I: SY + serum fizyolojik (SF) 1 mL (kontrol grubu); Grup II: YDY + SF 1 mL (negatif kontrol grubu); Grup III: YDY + orlistat (10 mg/kg); Grup IV: YDY + etkili biyoaktif bileşik (10 mg/kg); Grup V: YDY + etkili biyoaktif bileşik (40 mg/kg); SS: standart sapma

Şekil 47. Deney gruplarının serum IL-1 β düzeyleri

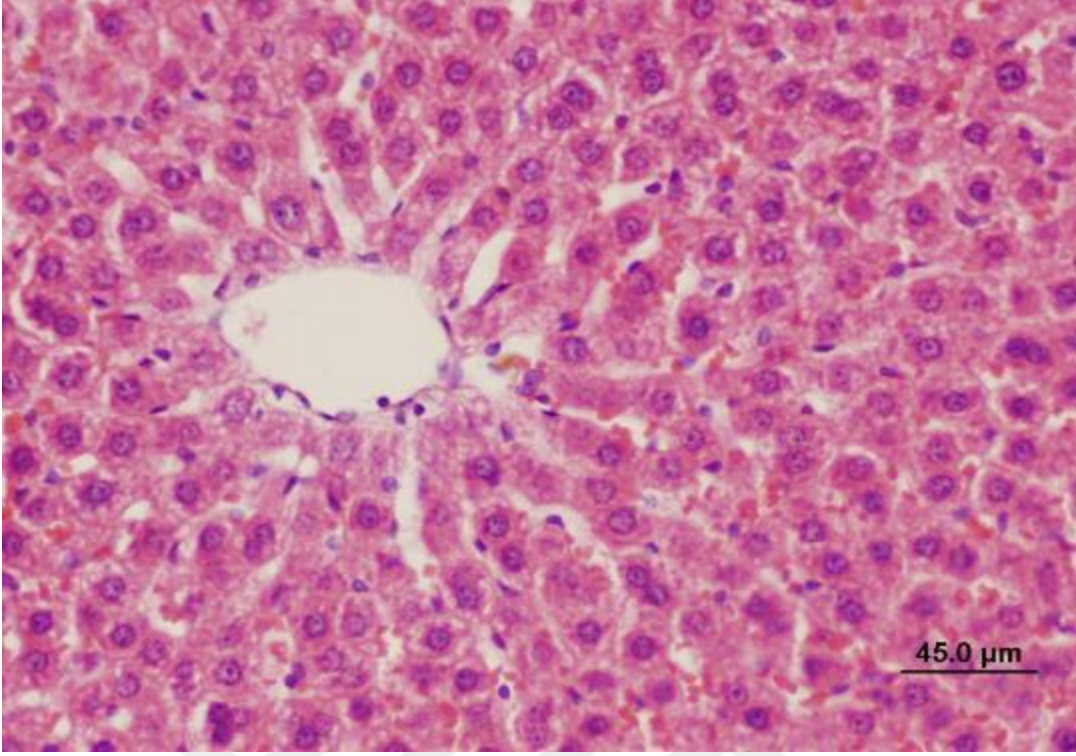
4.3.3. Histopatolojik Analiz Çalışmalarına Yönelik Bulgular

Histopatolojik çalışmalarda karaciğer, yağ ve böbrek doku örnekleri alınmış ve yağ dokularına ait genel morfolojik değerlendirme ve çap ölçümleri, karaciğer dokularına ait hepatosteatoz ve genel morfoloji değerlendirmeleri, böbrek dokuda genel değerlendirmeler

kameralı dijital fotoğraf makinasına sahip ışık mikroskobunda software programı kullanılarak yapılmıştır. Çalışma sonunda elde edilen hematoksilin&eozen (H&E) boyalı kesitler histopatolojik olarak incelendiğinde; Işık mikroskobu altında yapılan yağ dokusu incelemeleri sonucunda grupların 200X büyütme altındaki bir alanda bulunan ortalama adiposit sayıları tespit edilmiştir. 200X büyütme altında rastgele seçilen 3 farklı alandaki adiposit sayılarının ortalamaları alınmıştır. Yüksek yağlı diyet ile beslenen negatif kontrol olan Grup II’de kontrol grubuna göre adiposit sayı ve çaplarında belirgin bir artış tespit edilmiştir. Adiposit boyutlarında orlistat grubunda Grup II’ye kıyasla bir azalma gözlemlenmiştir. Grup IV’te ise hafif yükselme tespit edilmiştir. Grup I’e (kontrol grubu) ait karaciğer dokularının normal morfoloji sergiledikleri görülmüştür. Yer yer interselüler genişleme alanları gibi çeşitli patolojik görünümlere rastlanmakla birlikte genel olarak hepatik lobüller, santral venler, portal alanlar, hepatosit kordonları ve sinüzoidler doğal görünümde tespit edilmiştir (Şekil 48-49).



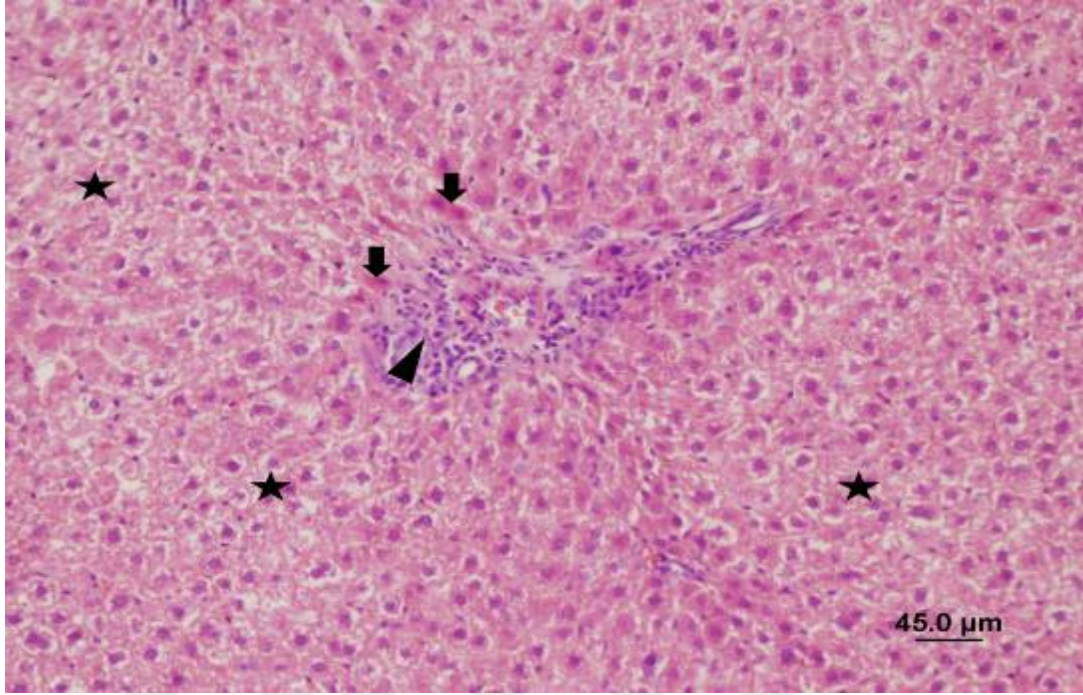
Şekil 48. Grup I genel görünüm, normal histolojik morfoloji (H&E, 200x)



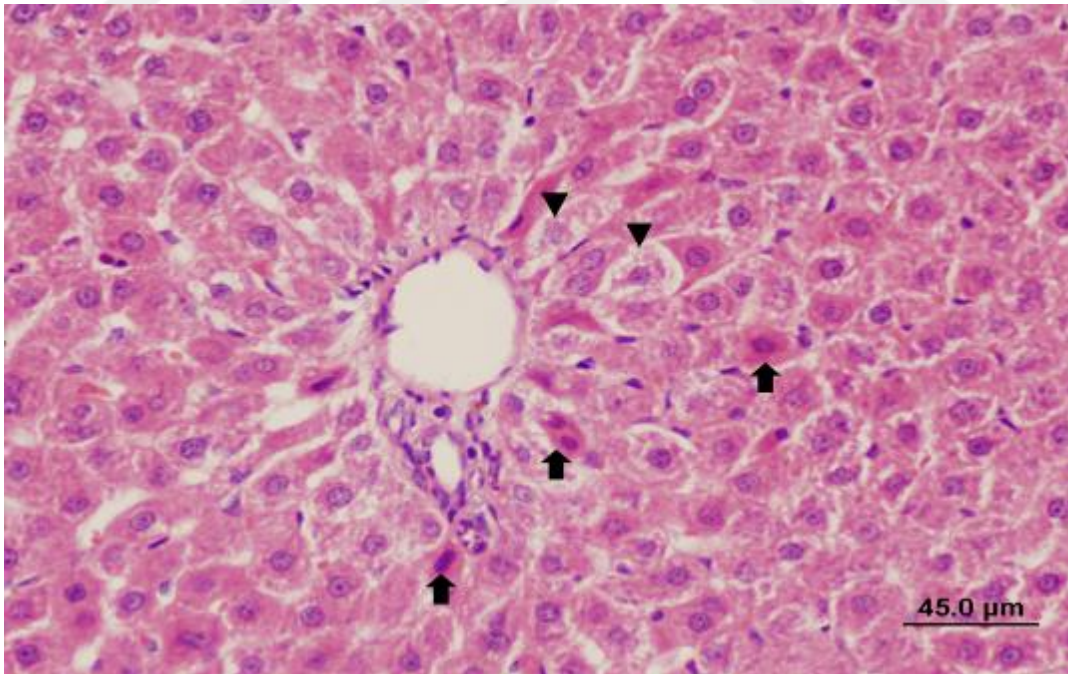
Şekil 49. Grup I genel görünüm, normal histolojik morfoloji (H&E, 400x)

Grup II (negatif kontrol)'ye bakıldığında ise genel görünümün bozulduğu dikkat çekmektedir. Görüntüde, mikroveziküler lipit birikimleri içeren hepatositler ve aralarındaki lipit vauolleri tarafından teşkil edildiği belirlenmiştir. Durumun daha ılıman olduğu alanlara dikkat edildiğinde bu tarz hücrelerin portal alanların etrafında yoğunlaştığı görülmektedir. Dikkat çeken bulgulardan bir diğeri karşılaşılan inflamatuvar hücre birikimleri olmuştur. Bu birikimler de yine özellikle portal alanlar etrafında görülmüştür. Ayrıca yine sıklıkla periportal alanlarda olmak üzere hipereozinofilik boyanmış preapoptotik/apoptotik hepatositlere rastlanmış ve yer yer nekrotik alanlar da tespit edilmiştir (Şekil 50 ve 51).

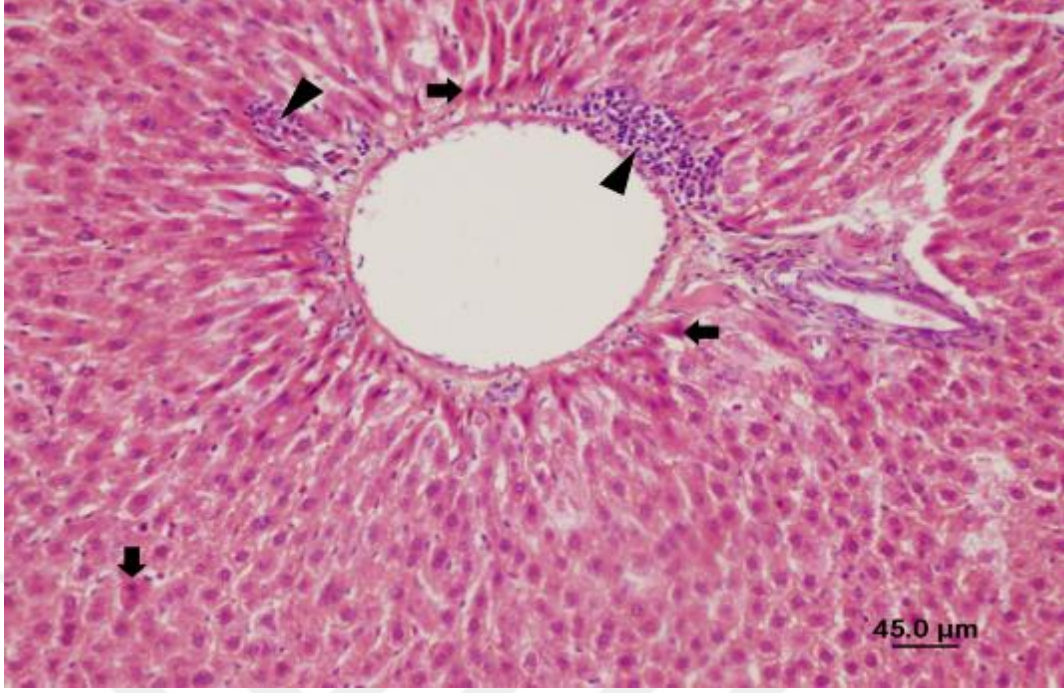
Bir diğer bulgu ise interselüler genişlemeler olmuştur. Mikroveziküler steatoz, inflamatuvar hücre birikimleri ve hipereozinofilik hücreler sıklıkla periportal alanlarda izlenirken interselüler genişlemeler daha çok santral venler etrafında görülmüştür (Şekil 52 ve 53).



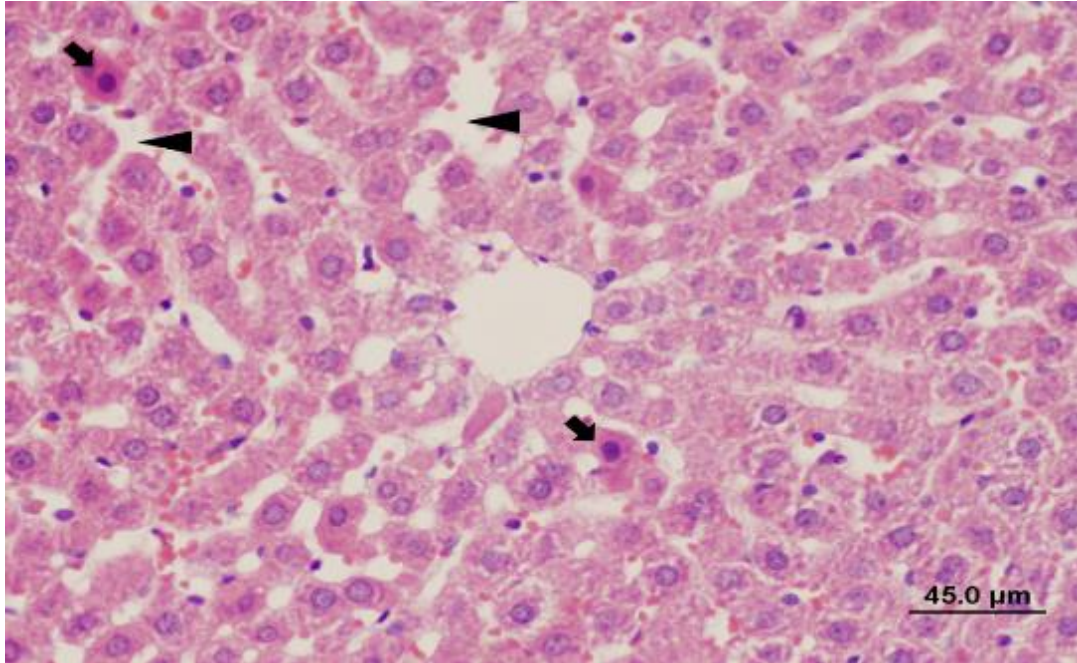
Şekil 50. Grup II genel görünüm; yaygın mikroveziküler hepatosteatoz alanları (yıldız), portal alan etrafında inflamatuvar hücre birikimleri (ok başı), hipereozinofilik preapoptotik/apoptotik hepatositler (ok) (H&E, 200x)



Şekil 51. Grup II genel görünüm; hepatositlerde lipit birikimleri (ok başı), ökromatik nükleuslu hipereozinofilik boyanmış preapoptotik/apoptotik hepatositler (ok) (H&E, 400x)

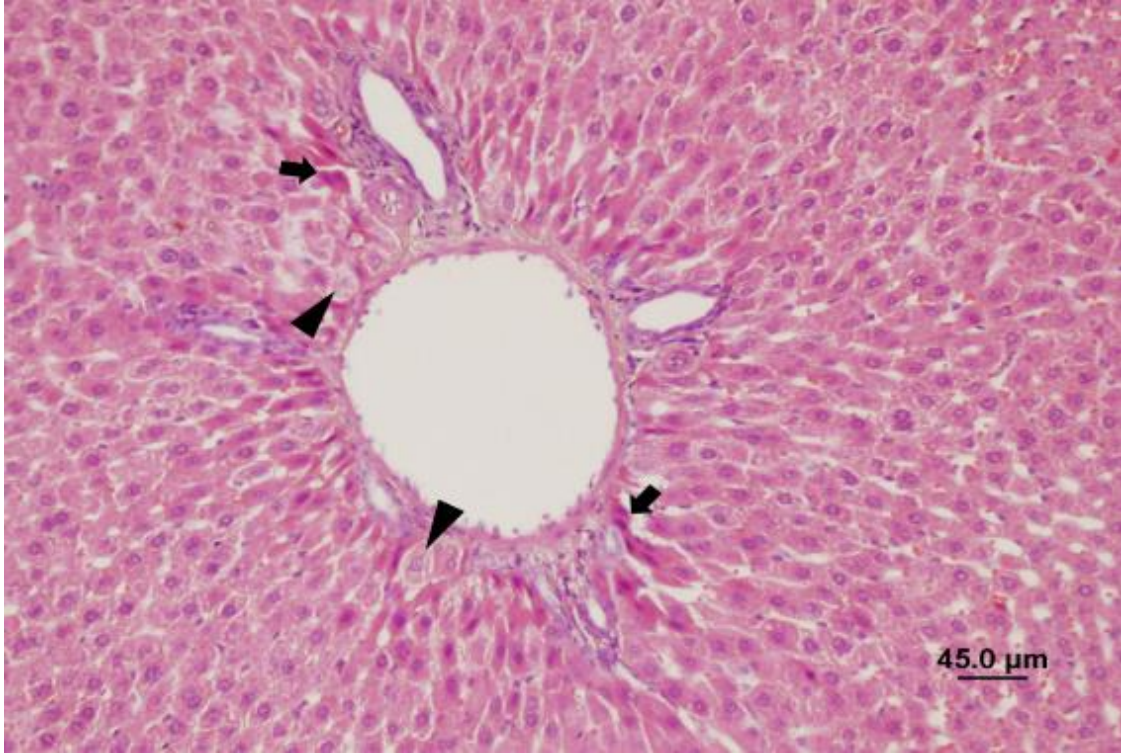


Şekil 52. Grup II genel görünüm; portal alan etrafında inflamatuvar hücre birikimleri (ok başı), ökromatik nükleuslu hipereozinofilik boyanmış preapoptotik/apoptotik hepatositler (ok) (H&E, 200x)

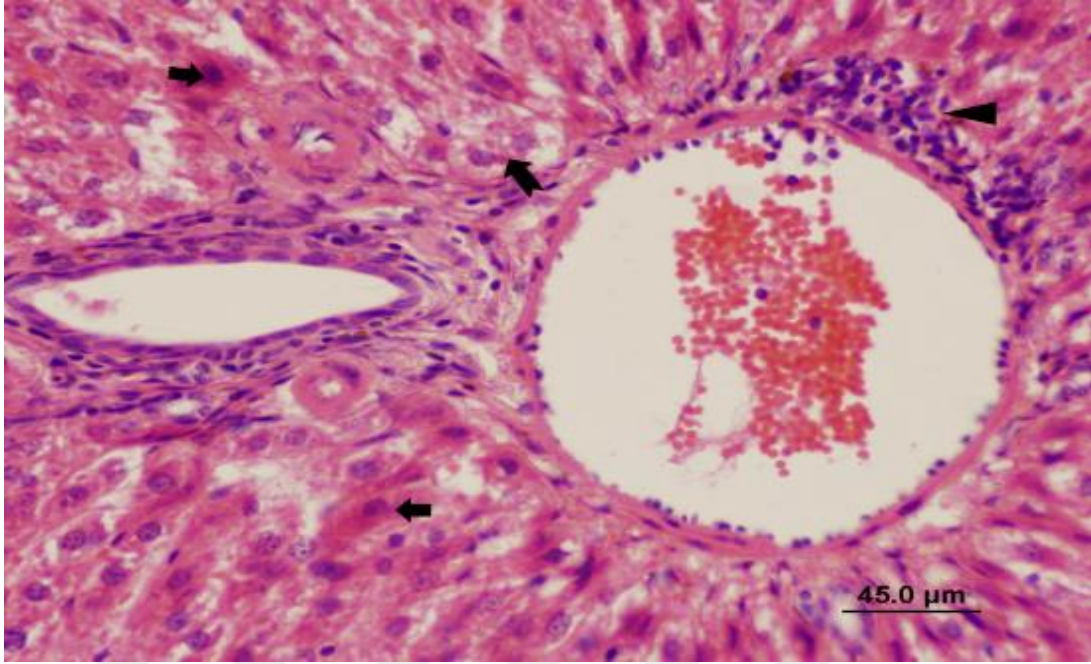


Şekil 53. Grup II genel görünüm; santral ven etrafında genişlemeler (ok başı), ökromatik nükleuslu hipereozinofilik boyanmış preapoptotik/apoptotik hepatositler (ok) (H&E, 400x)

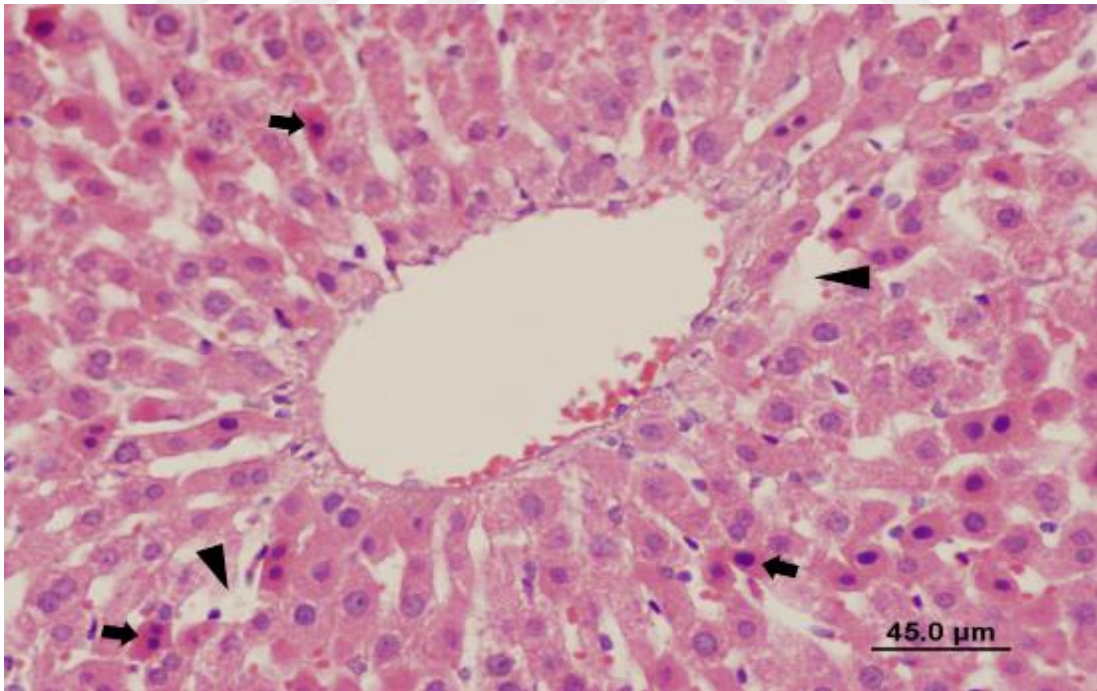
Grup III (pozitif kontrol) grubunda inflamatuvar hücre birikimlerine ve mikroveziküler hepatositeatoz alanlarına rastlanmakla beraber, bu bulgular II. grubuna göre daha seyrek görülmüştür. Ancak hipereozinofilik hepatositlere daha sık rastlanmış ve interselüler genişlemelere bakıldığında ise II. grubuna benzer bir görüntü ile karşılaşmıştır (Şekil 54-56).



Şekil 54. Grup III genel görünüm; hepatositlerde lipit birikimleri (ok başı), ökromatik nükleuslu hipereozinofilik boyanmış preapoptotik/apoptotik hepatositler (ok) (H&E, 200x)

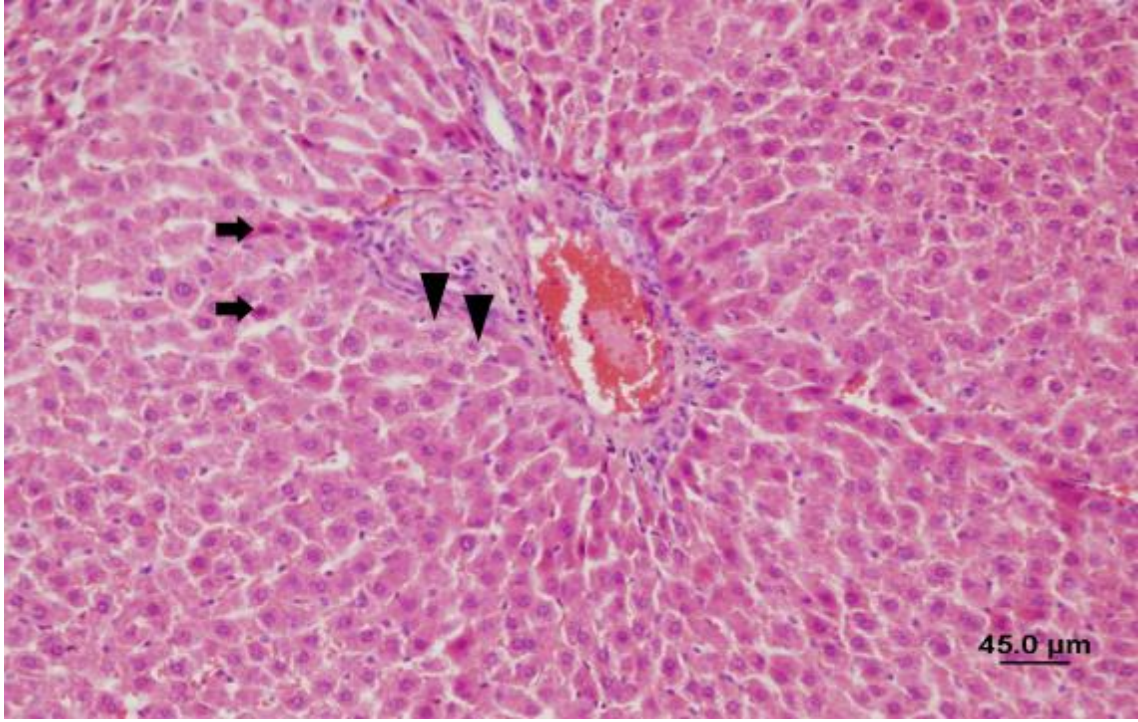


Şekil 55. Grup III genel görünüm; portal alan etrafında inflamatuvar hücre birikimleri (ok başı), hepatositlerde lipit birikimleri (çentikli ok), ökromatik nükleuslu hipereozinofilik boyanmış preapoptotik/apoptotik hepatositler (ok) (H&E, 400x)

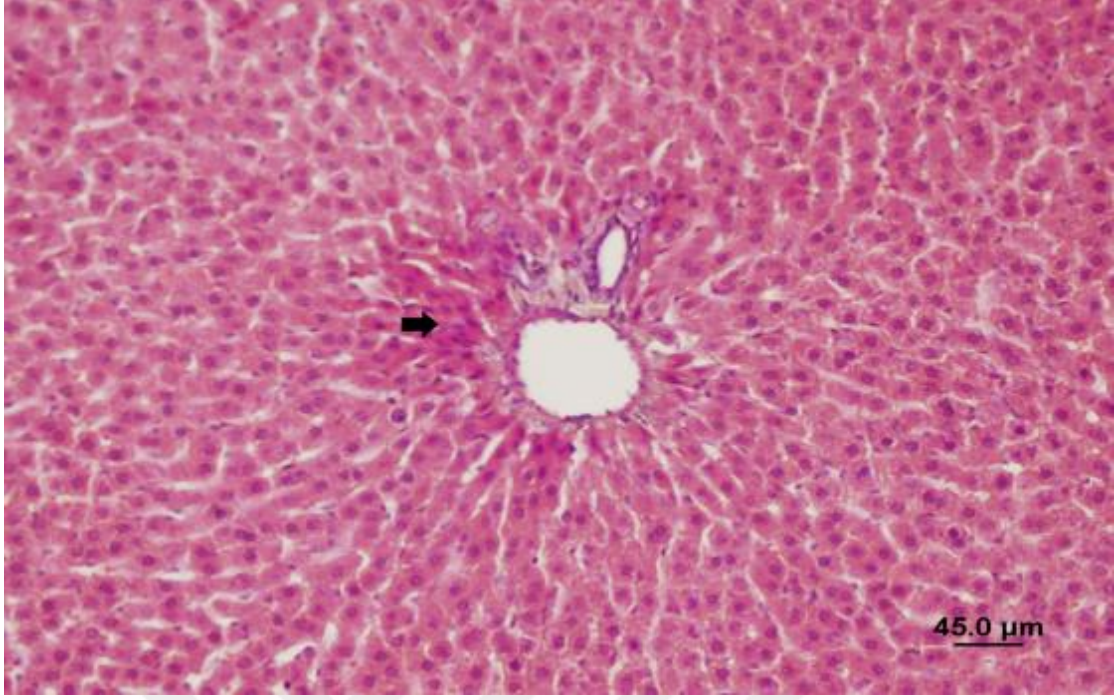


Şekil 56. Grup III genel görünüm; santral ven etrafında genişlemeler (ok başı), ökromatik nükleuslu hipereozinofilik boyanmış preapoptotik/apoptotik hepatositler (ok) (H&E, 400x)

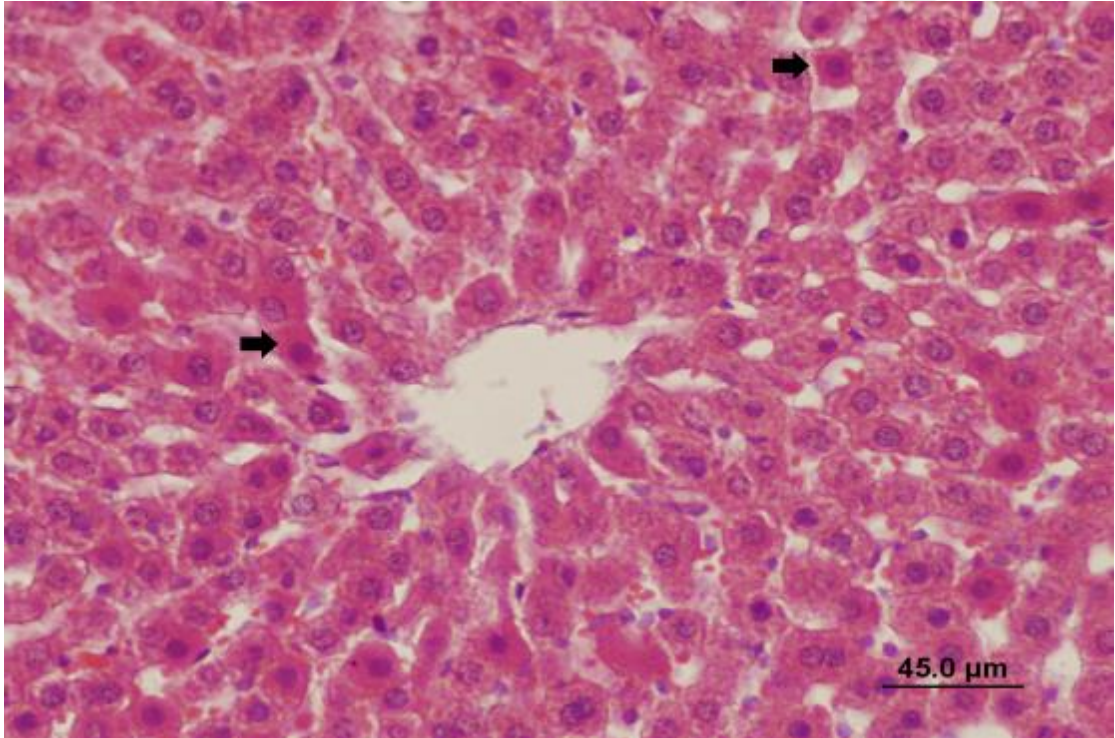
IV. grupta ise durum genel olarak III. gruba benzer olarak tespit edilmiştir. II. gruba kıyasla tüm bulgularda gözle görülür bir azalma söz konusuydu. Dahası IV. grupta, III gruptan farklı olarak, interselüler alanlardaki genişlemelerde de kayda değer bir düşüş tespit edilmiştir. Ancak yer yer hipereozinofilik hepatositler gözlemlenmiştir (Şekil 57-59).



Şekil 57. Grup IV genel görünüm; hepatositlerde lipit birikimleri (ok başı), ökromatik nükleuslu hipereozinofilik boyanmış preapoptotik/apoptotik hepatositler (ok) (H&E, 200x)

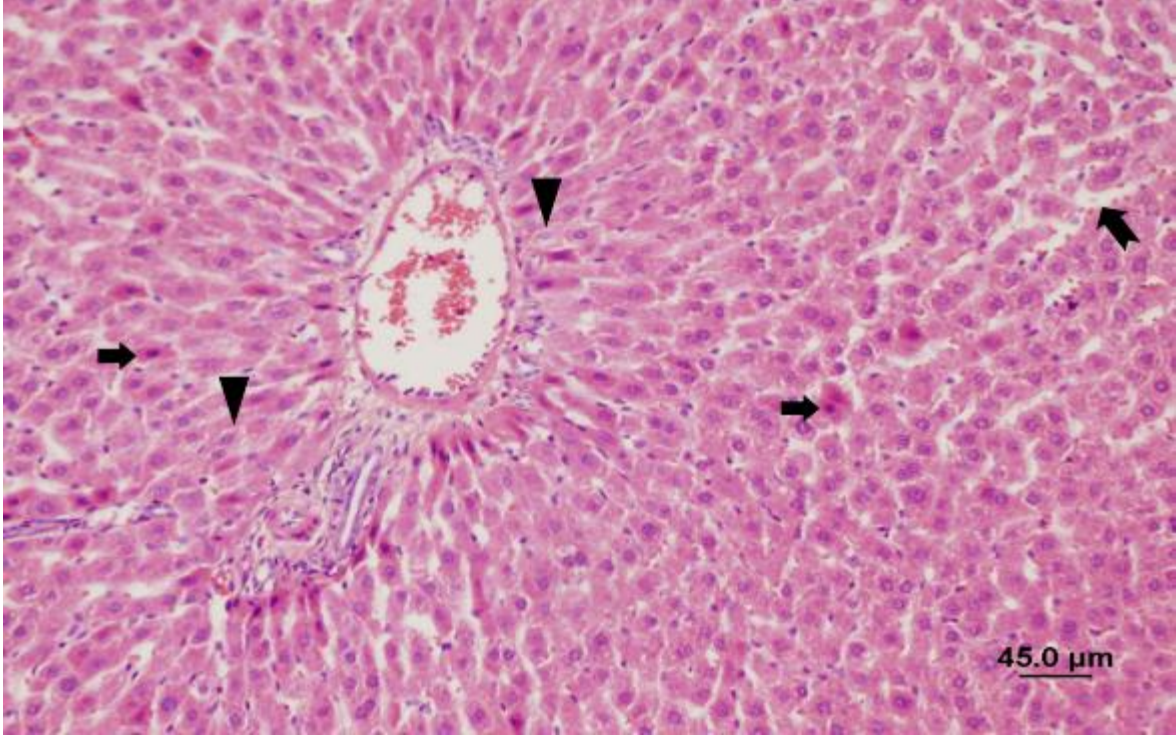


Şekil 58. Grup IV genel görünüm; hipereozinofilik boyanmış preapoptotik/apoptotik hepatositler (ok) (H&E, 200x)

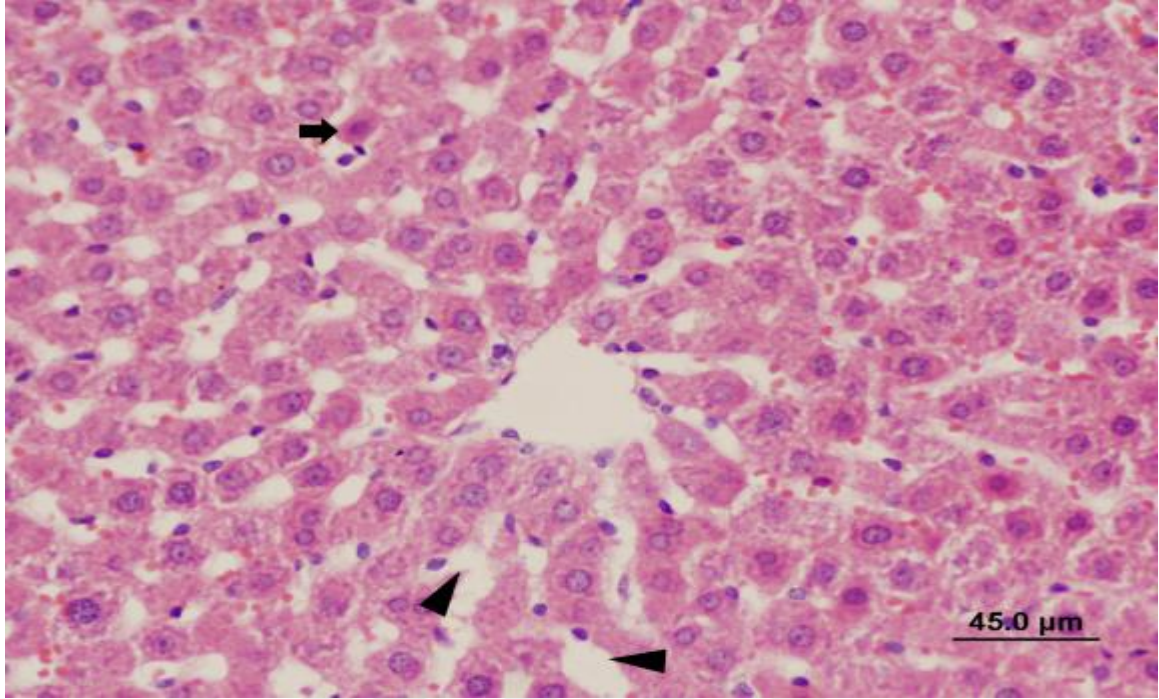


Şekil 59. Grup IV genel görünüm; normal interselüler mesafeler, ökromatik nükleuslu hipereozinofilik boyanmış preapoptotik/apoptotik hepatositler (ok) (H&E, 400x)

V. gruba bakıldığında da II. gruba kıyasla bulgularda azalma tespit edilmiştir. Bu azalma hipereozinofilik hepatositler için de tespit edilmiştir. Ancak IV. gruptan farklı olarak V. grupta interselüler genişlemelerde bir azalma gözlemlenmemiştir (Şekil 60-61).



Şekil 60. Grup V genel görünüm; hepatositlerde lipit birikimleri (ok başı), ökromatik nükleuslu hipereozinofilik boyanmış preapoptotik/apoptotik hepatositler (ok), interselüler genişlemeler (çentikli ok) (H&E, 200x)



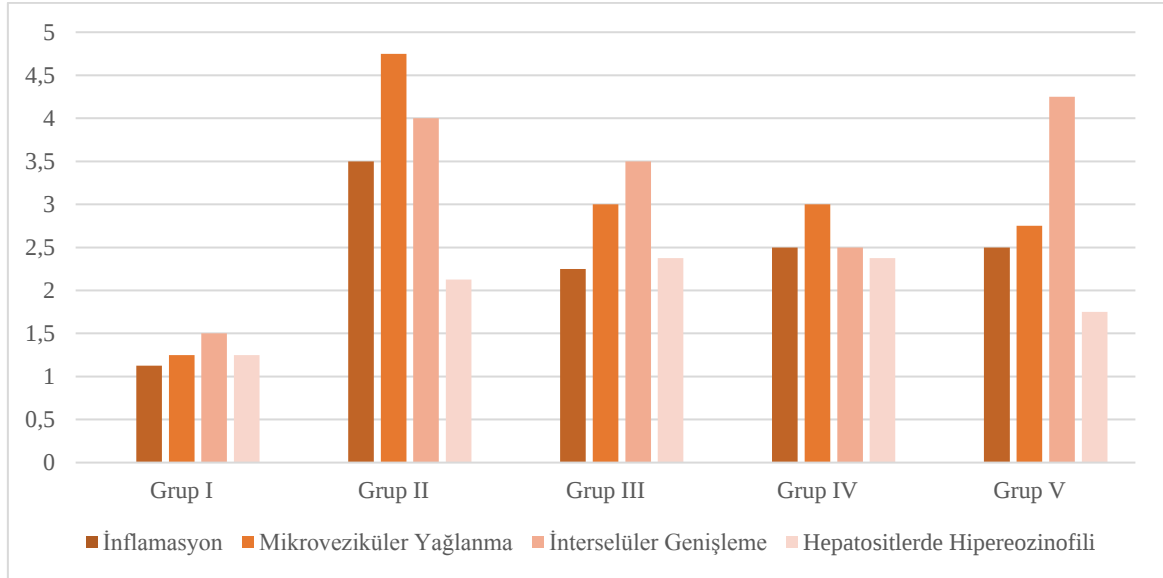
Şekil 61. Grup V genel görünüm; santral ven etrafında genişlemeler (ok başı), ökromatik nükleuslu hipereozinofilik boyanmış preapoptotik/apoptotik hepatositler (ok) (H&E, 400x)

Tüm gruplara ait karaciğer bulguları inflamasyon, mikroveziküler yağlanma, interselüler genişleme ve hepatositlerde hipereozinofili bakımından skorlaması yapılmış ve aşağıdaki Tablo 51 ve Şekil 62 elde edilmiştir.

Tablo 51. Deney gruplarına ait karaciğer hasarı skorlamasının sonuçları

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
İnflamasyon	1.125	3.5	2.25	2.5	2.5
Mikroveziküler Yağlanma	1.25	4.75	3	3	2.75
İnterselüler Genişleme	1.5	4	3.5	2.5	4.25
Hepatositlerde Hipereozinofili	1.25	2.125	2.375	2.375	1.75

1-Normal/normale yakın; 2-Hafif; 3-Orta; 4-Ağır; 5- Çok ağır

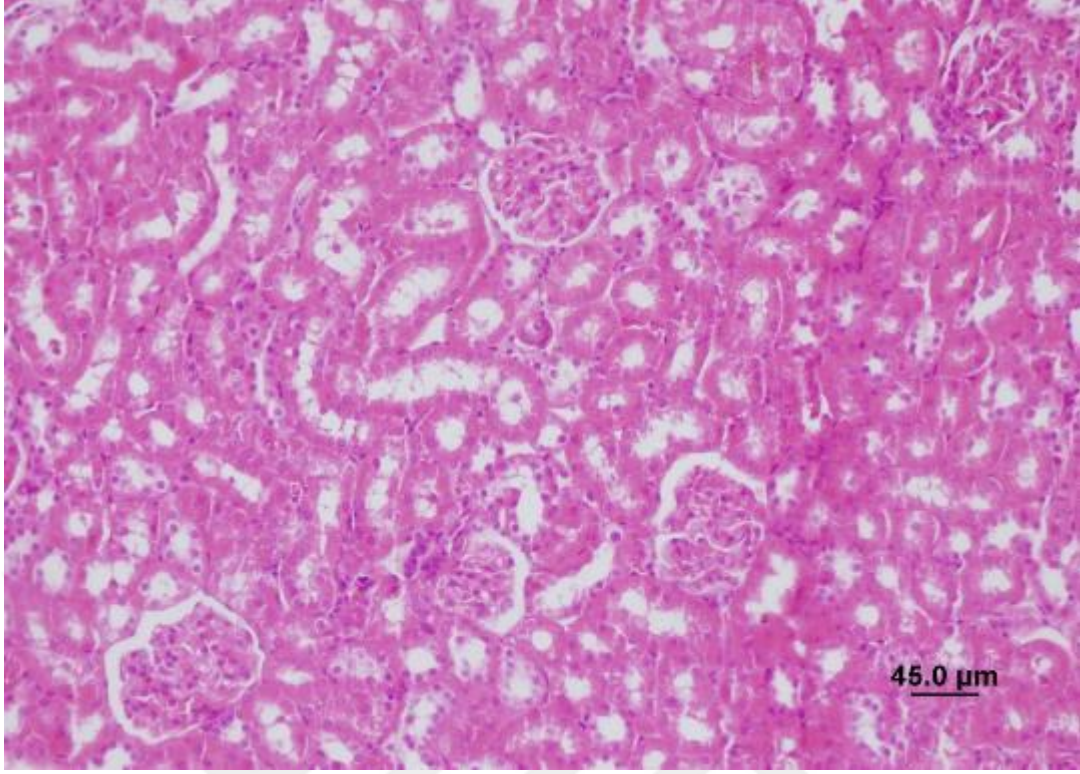


Grup I: SY + serum fizyolojik (SF) 1 mL (kontrol grubu); Grup II: YDY + SF 1 mL (negatif kontrol grubu); Grup III: YDY + orlistat (10 mg/kg); Grup IV: YDY + etkili biyoaktif bileşik (10 mg/kg); Grup V: YDY + etkili biyoaktif bileşik (40 mg/kg)

Şekil 62. Grupların karaciğer hasar skorlaması grafiği

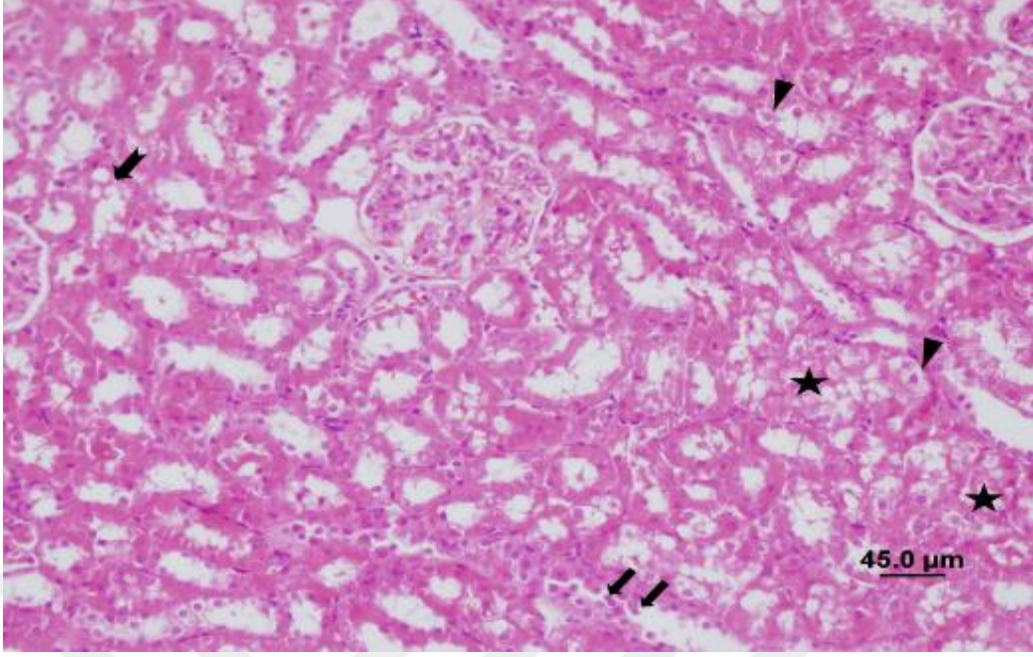
Sıçanların böbrek dokularından elde edilen hematoksilen&eozen boyalı kesitler histopatolojik olarak incelenmiş ve yapılan genel değerlendirmenin ardından; glomerüler fibrozis, glomerüler dilatasyon, glomerüler atrofi, lipid birikimleri, vakuolizasyonlar, tubül lümenine epitelyal hücre dökülmeleri, fırçamsı kenarda bozulmalar, tubüler dilatasyonlar değerlendirilmiştir.

Grup I'e ait böbrek dokularının normal morfoloji sergiledikleri görülmüş. Genel olarak glomerüller ve tubüler yapıların normal görünümde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 63).

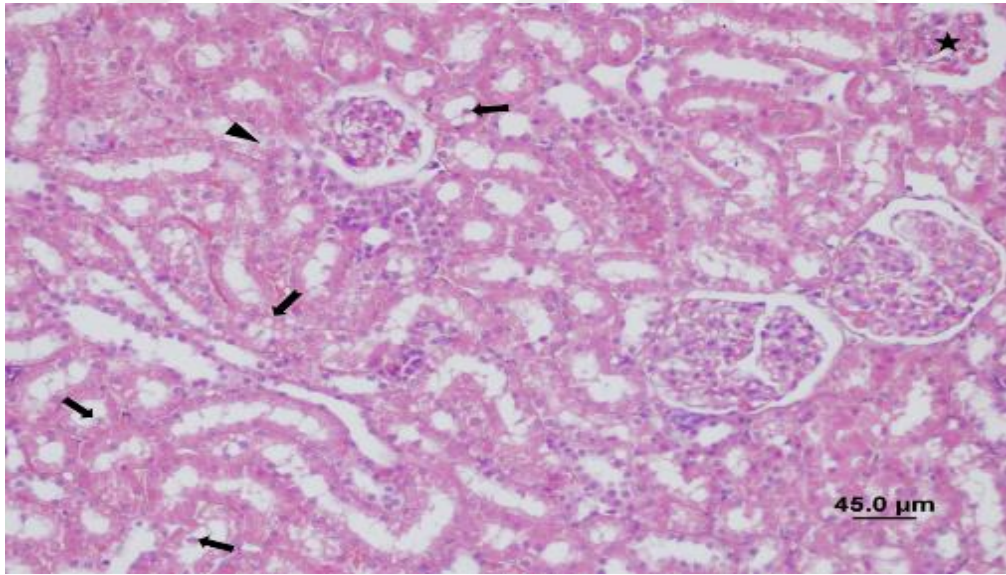


Şekil 63. Grup I'in normal histolojik morfolojisi (H&E, 200x)

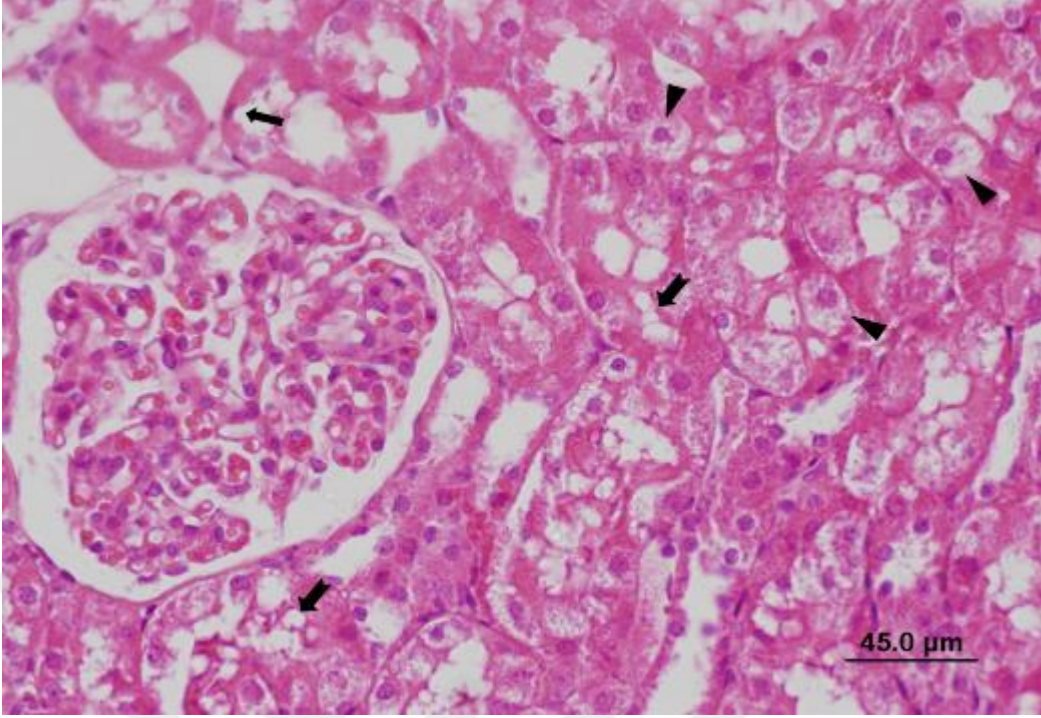
II. gruba bakıldığında ise genel görünümün bozulduğu ve hasarın daha çok tubüler yapılarda yoğunlaştığı görülmüştür. Proksimal tubüler hücrelerde lümene dökülmeler ve fırçamsı kenar kayıpları yaygınlaştığı belirlenmiştir (Şekil 64-65). Ayrıca yine sıklıkla proksimal tubüllerde olmak üzere lipit birikimleri ve lipit vakuollerinde artış dikkat çekmiştir (Şekil 66). Dilate tubüllerin yanında yer yer sınırları seçilemeyecek kadar hasar almış tubüler alanlara da rastlanmıştır. Glomerüller incelendiğinde ise çok yaygın olmamakla beraber yer yer glomerüler dilatasyon ya da atrofi görüntüleriyle karşılaşılmıştır.



Şekil 64. Grup II'in tubüler hasar alanları (yıldız), tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri (ok), tubüler epitel hücrelerinde lipit birikimleri (ok başı), epitelde vakuolizasyonlar (çentikli ok) (H&E, 200x)

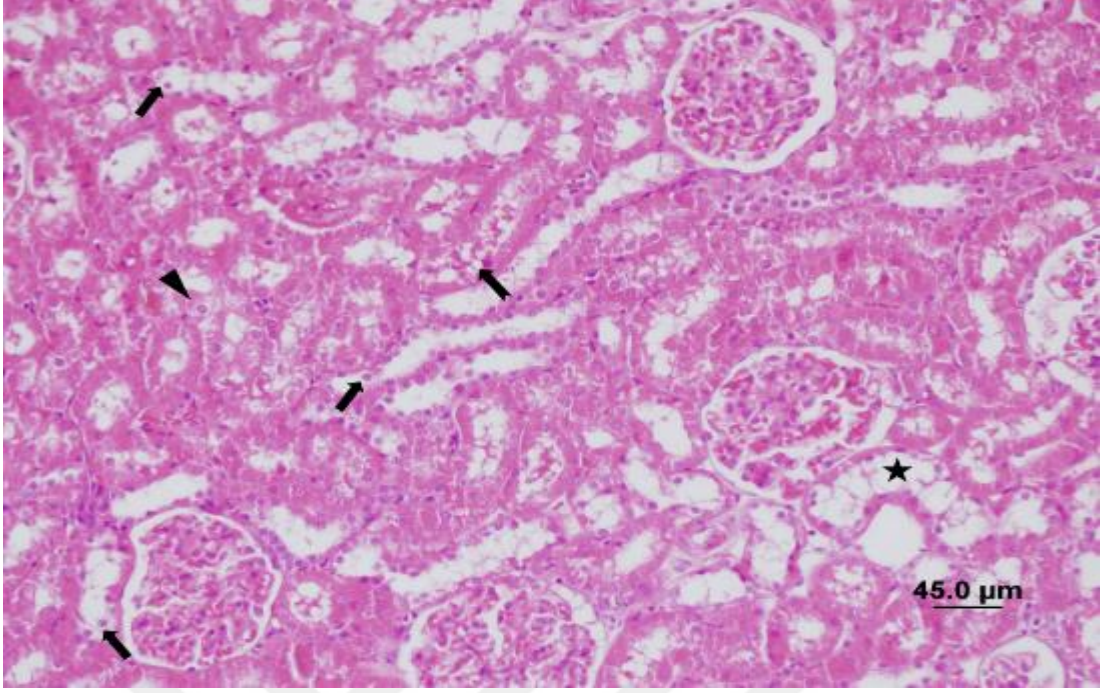


Şekil 65. Grup II'in atrofik glomerulus ve dilate Bowman boşluğu (yıldız), tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri (ok), tübüler epitel hücrelerinde lipit birikimleri (ok başı), epitelde vakuolizasyonlar (çentikli ok) (H&E, 200x)

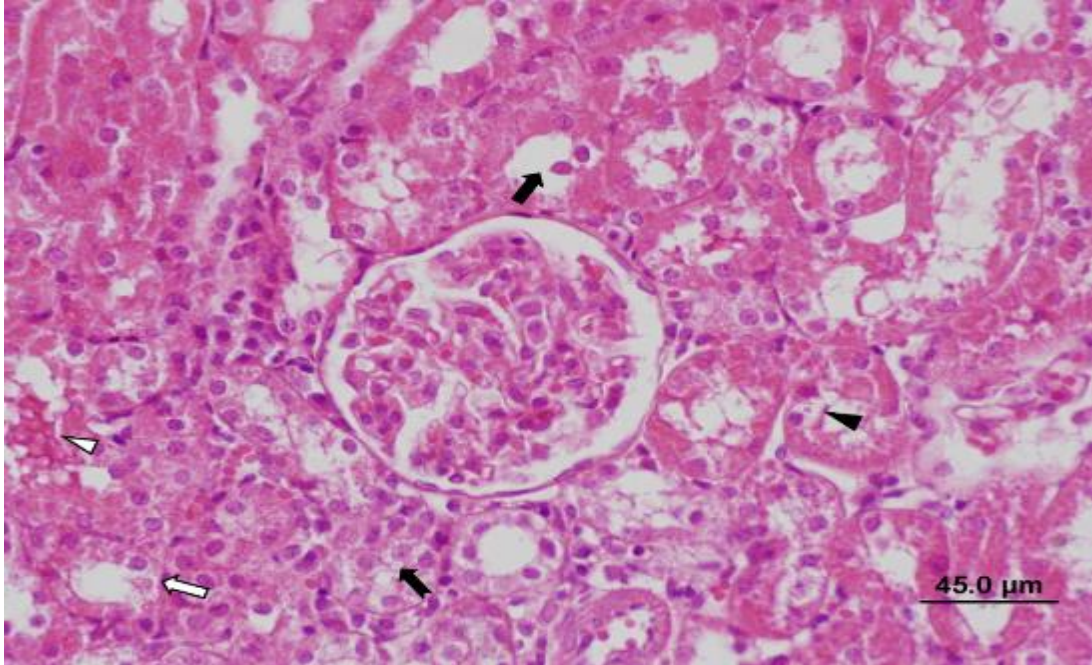


Şekil 66. Grup II'in tubüler epitel hücrelerinde lipit birikimleri (ok başı), fırçamsı kenarda bozulma (ok), epitelde vakuolizasyonlar (çentikli ok) (H&E, 400x)

III. grup, II grupla kıyaslandığında genel görünümde kayda değer bir düzelme izlenememiştir. Ancak düzelmenin görüldüğü parametreler de belirlenmiştir. Glomerüller ve tubüler hasar açısından II. grupla benzer bir görünümle karşılaşılrken, lipit birikimlerinin ve lipit vakuollerinin azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 67-68).

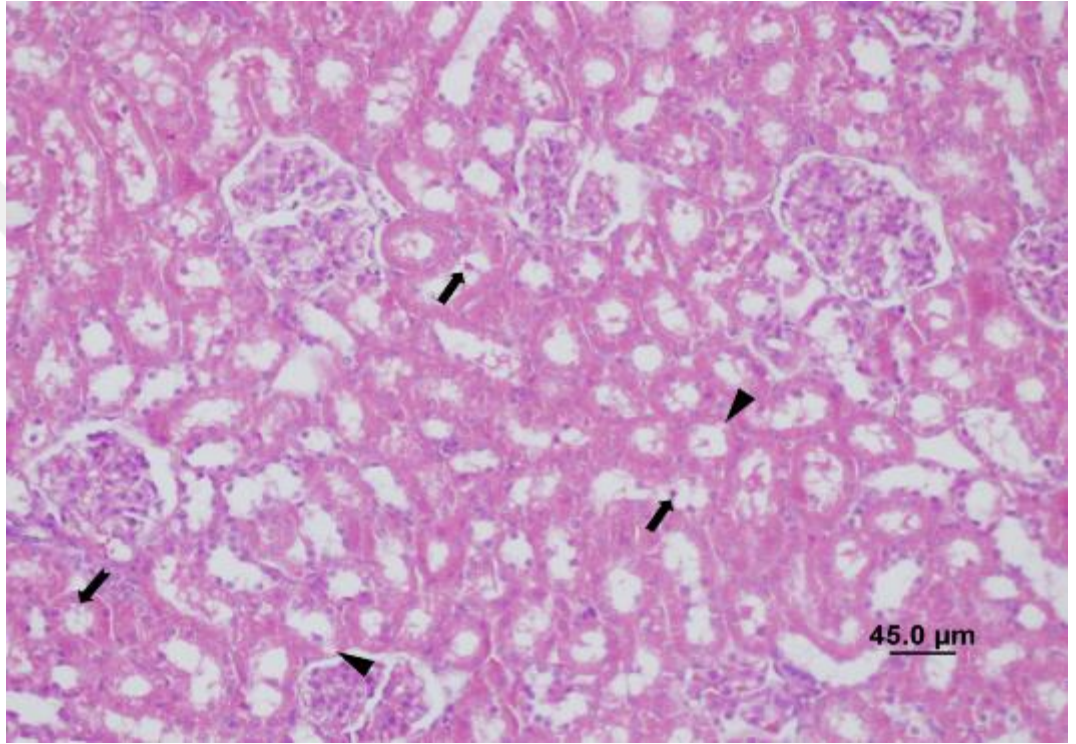


Şekil 67. Grup III'in tubüllerde dilatasyon (yıldız), tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri (ok), tubüler epitel hücrelerinde lipit birikimleri (ok başı), epitelde vakuolizasyonlar (çentikli ok) (H&E, 200x)

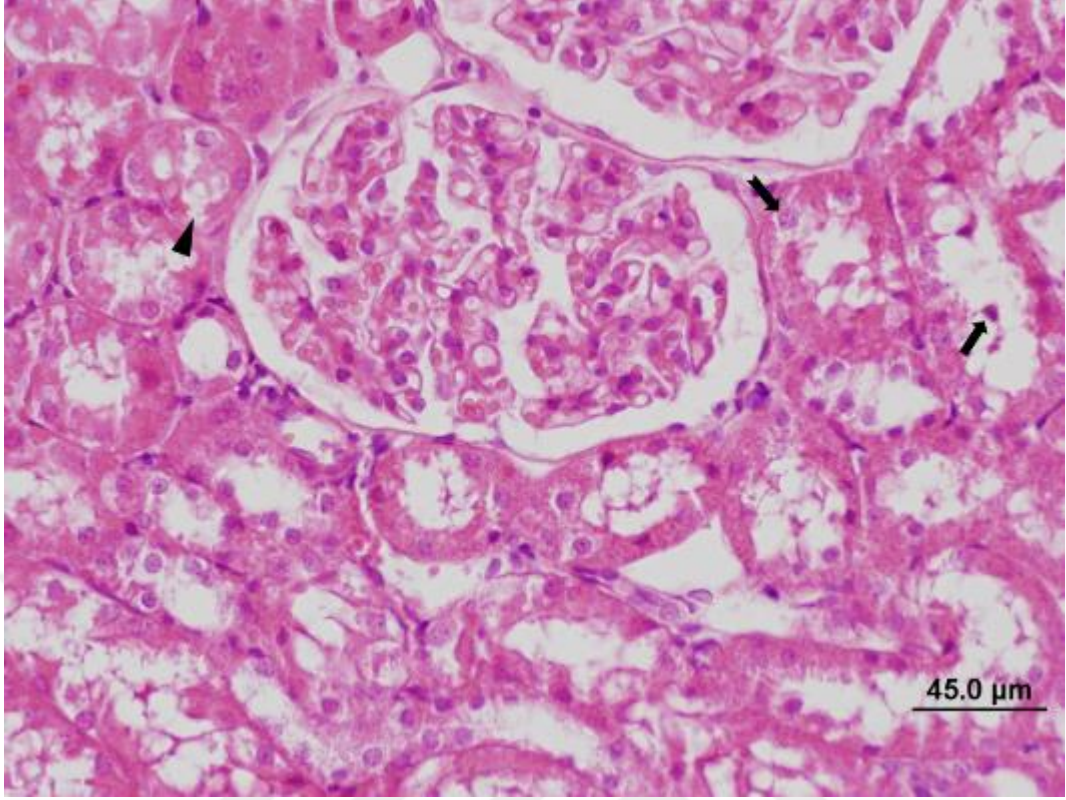


Şekil 68. Grup III'in tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri (ok), tubüler epitel hücrelerinde lipit birikimleri (ok başı), epitelde vakuolizasyonlar (çentikli ok), dejenere tubüler hücreler (beyaz ok), kast yapılarıyla birlikte nekrotik tubüller (beyaz ok başı) (H&E, 400x)

IV. gruba ait preparatlar incelendiğinde ise II. gruba kıyasla genel görünümde ve tüm parametrelerde bir düzelme olduğu görülmüştür. Karşılaşılan glomerüler ve tubüler hasar alanlarında azalmayla birlikte düzelmenin en bariz olduğu parametrenin lipit birikimleri ve lipit vakuolleri olduğu tespit edilmiştir. Lipit birikimleri içeren tubüler epitel hücrelerinde kısmi bir azalma tespit edilirken lipit vakuollerinin I. gruba benzer düzeylere kadar gerilediği görülmüştür (Şekil 69-70).

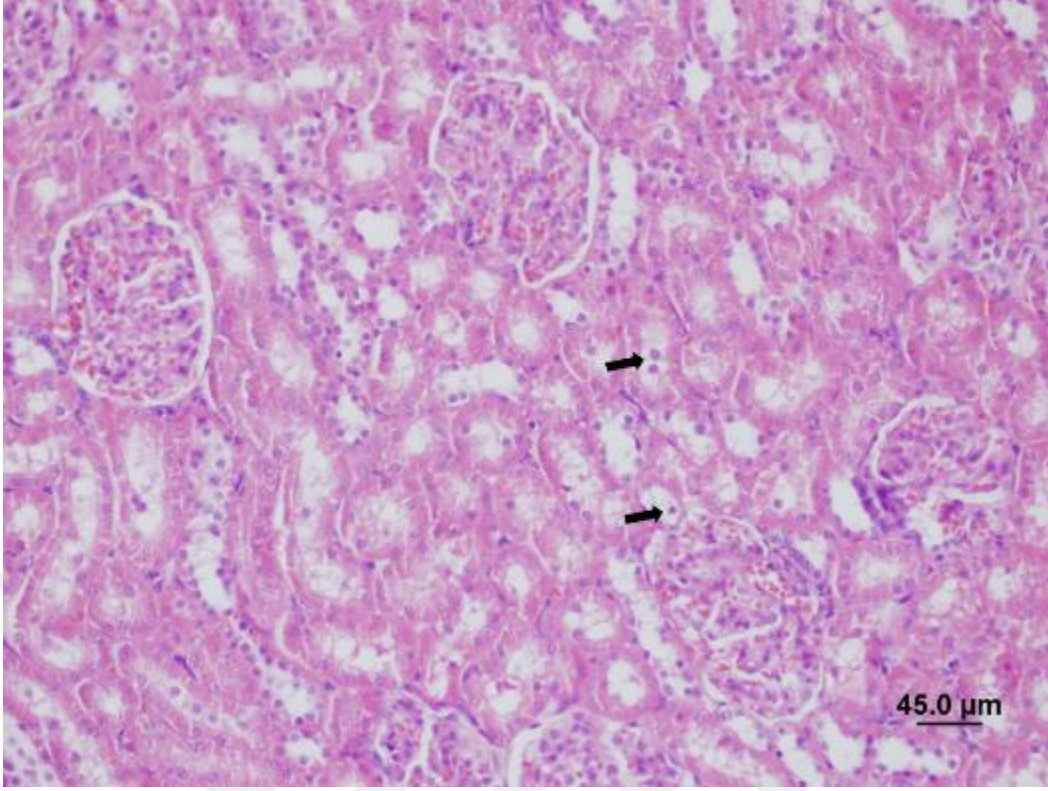


Şekil 69. Grup IV'ün tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri (ok), dejenere tubüler epitel (ok başı), epitelde vakuolizasyonlar (çentikli ok) (H&E, 200x)

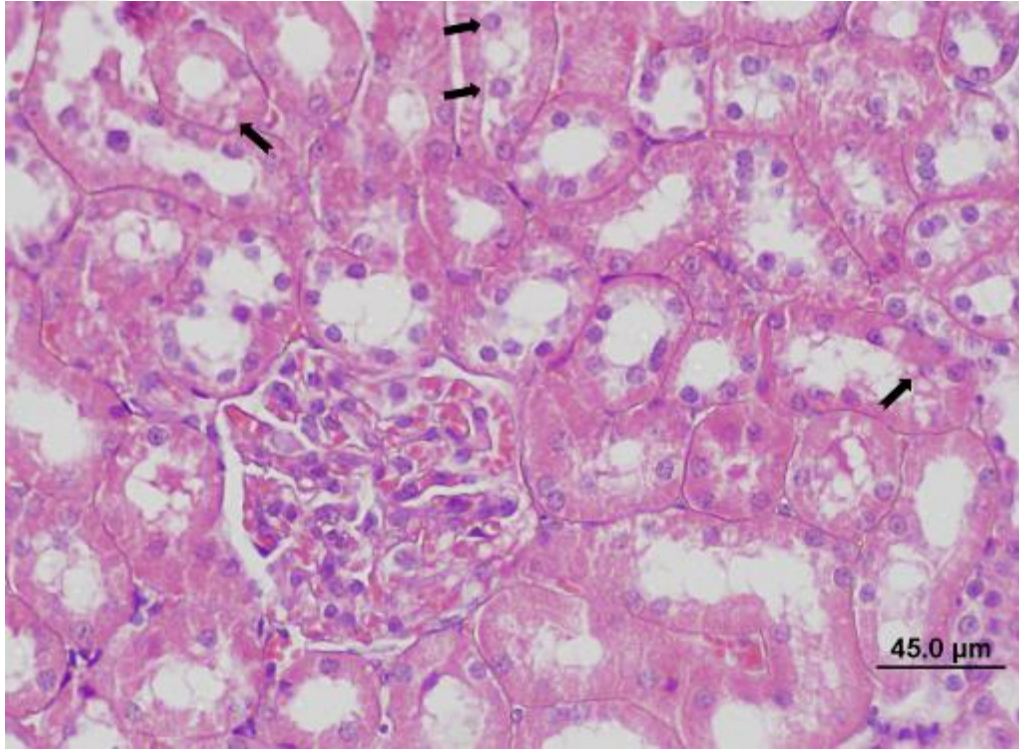


Şekil 70. Grup IV'ün tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri (ok), dejenere tubüler epitel (ok başı), tubüler epitel hücrelerinde lipit birikimleri (çentikli ok) (H&E, 400x)

V grupta ise durum IV. Gruba benzer olarak tespit edilmiştir. Genel görünümün yanı sıra değerlendirilen tüm parametrelerde gözle görülür bir düzelme belirlenmiştir. Tubüler hasar açısından elde edilen veriler, IV gruptaki sonuçlardan daha iyi olduğu belirlenmiştir. Ancak I. Grup ile kıyaslandığında yer yer hasarlı tubüllere rastlanmıştır (Şekil 71-72).



Şekil 71. Grup V'in tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri (ok) (H&E, 200x)



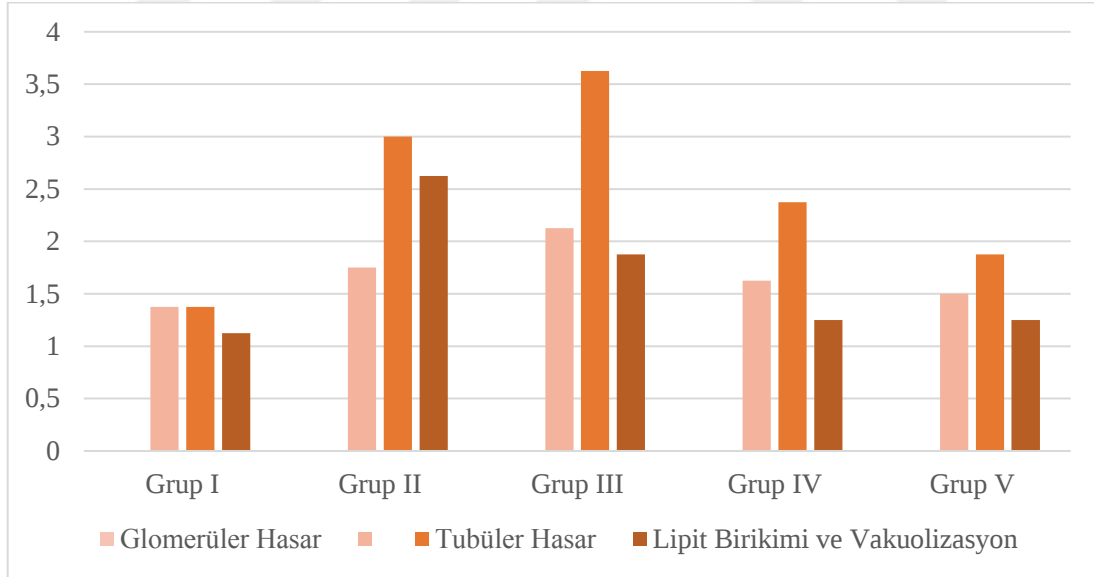
Şekil 72. Grup V'in tubül lümenine dökülmüş epitel hücreleri (ok), epitelde vakuolizasyonlar (çentikli ok) (H&E, 400x)

Tüm gruplara ait böbrek bulgularının, glomerüler hasar, tubüler hasar, lipit birikimi ve vakuolizasyon bakımından skorlaması yapılmış ve aşağıdaki Tablo 52 ve Şekil 73 elde edilmiştir.

Tablo 52. Deney gruplarına ait böbrek dokusu parametrelerinin sonuçları

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
Glomerüler Hasar	1.375	1.75	2.125	1.625	1.5
Tubüler Hasar	1.375	3.0	3.625	2.375	1.875
Lipit Birikimi ve Vakuolizasyon	1.125	2.625	1.875	1.25	1.25

1-Normal/normale yakın; 2-Hafif; 3-Orta; 4-Ağır; 5- Çok ağır



Grup I: SY + serum fizyolojik (SF) 1 mL (kontrol grubu); Grup II: YDY + SF 1 mL (negatif kontrol grubu); Grup III: YDY + orlistat (10 mg/kg); Grup IV: YDY + etkili biyoaktif bileşik (10 mg/kg); Grup V: YDY + etkili biyoaktif bileşik (40 mg/kg)

Şekil 73. Grupların böbrek hasarı grafiği

4.3.4. İstatistiksel Analiz Çalışmalarına Yönelik Bulgular

Gruplarda elde edilen ağırlık verileri, biyokimyasal parametreler ve histopatolojik bulguların istatistiksel analizleri Kolmogorov-Smirnov Testi ile yapılmış ve grupların normal dağılım gösterdikleri tespit edilmiştir. Kruskal-Wallis testi kullanılarak yapılan analizlerde ise p değeri $\leq 0,01$ olarak tespit edilmiş ve istatistiksel açıdan gruplar değerlendirildiğinde anlamlılık olduğu gözlemlenmiştir. İkili grup karşılaştırmaları Mann Whitney-U testi ile yapılmış; kontrol (Grup I), negatif kontrol (Grup II) ve pozitif kontrol (Grup III) gruplarıyla diğer grupların (Grup IV-V) ikili karşılaştırılmalarında p değeri $\leq 0,05$ olarak bulunmuş (kreatinin parametresi hariç) ve istatistiksel açıdan anlamlılık olduğu bulunmuştur.



5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Obezite, insan sağlığını bozacak ölçüde vücutta anormal ya da aşırı yağ birikiminin olduğu; diyabet, hipertansiyon, bazı kanser türleri, kalp ve damar hastalıkları, kas-iskelet sistemi hastalıkları gibi hastalıkların oluşmasına, yaşam kalitesinin azalmasına ve ölümlere yol açan ciddi ve küresel bir sağlık sorunudur. Obezite ve aşırı kilo sorunu dünya çapında bir epidemi haline gelmiştir. 2030 yılına gelindiğinde, aşırı kilolu bireylerin dünya nüfusunun %38'ini, obez bireylerin ise dünya nüfusunun %20'sini oluşturacağı; dolayısıyla küresel sağlık problemi olan obezitenin, giderek artan oranlarda ciddi sağlık problemlerine ve ekonomik yönden olumsuz sonuçlara yol açacağı öngörülmektedir (1). Obezitenin tedavisinde günümüzde kullanılan ilaçların sayısı ve etkinliği oldukça sınırlıdır. Pankreatik lipaz inhibisyonu, küresel sağlık problemi olan obezite tedavisinde geçerliliğini koruyan tedavi yaklaşımlarından biridir. Orlistat gibi pankreatik lipaz inhibitörleri, trigliseritlerin sindirimine engel olurlar ve vücuda besinsel yağ alımını durdururlar (1). Obezite tedavisinde kullanılan ilaçların uykusuzluk, kalp atış hızında artış, kusma, anksiyete, huzursuzluk, baş dönmesi, baş ağrısı, ağız kuruluğu, tat duyusunda farklılaşma, titreme, diyare ve kabızlık gibi yan etkileri bulunmaktadır (2).

Polimetoksiflavonların, hiperlipideminin engellenmesinde önemli rol oynadığı literatürde bildirilmiştir (3). Flavonoidlerin prekürsörü olan kalkonlar hem doğal kaynaklardan elde edilebilmekte hem de sentezlenebilmektedir (197, 198). Bitkilerden izole edilerek veya sentetik yolla elde edilen kalkon ve türevlerinin taşıdıkları fonksiyonel gruplar; onların antikanser (199), antiinflamatuvar (200), antihiperlipidemik (201), antiHIV (141), antifungal (202), antibakteriyel (200), antioksidan (130), antimitotik (203) ve antitüberküloz (143) gibi biyolojik aktiviteleri göstermelerine olanak sağlarlar. Kalkonların antiinflamatuvar, antidiyabetik ve antioksidan gibi aktiviteleri obeziteyle doğrudan ilişkilidir. Kalkonlar; α -glukozidaz, DPP4, PPAR, PTP1B ve aldoz redüktazın güçlü inhibitörleri olarak bildirilmiştir ve diyabet tedavisinde kullanım potansiyeli olan önemli ajanlardır (86).

Doktora tez kapsamında flavonoidlerin prekürsörü ve biyoaktif bileşikler olan 12 adet metoksi kalkon bileşiğinin sentezi yapılmıştır. Metoksi kalkon bileşiklerinin 3 farklı yöntemle antioksidan (FRAP, CUPRAC ve DPPH) ve MİK yöntemi ile antibakteriyel etkinlikleri belirlenmiştir. 12 adet metoksi kalkon bileşiğinin asetilkolinesteraz, bütirilkinolin esteraz, tirozinaz, α -amilaz, α -glukozidaz ve lipaz enzimini inhibe edici etkileri tespit

edilmiştir. Obezite tedavisine yönelik olarak en yüksek lipaz enzim aktivitesi gösteren bileşiklerin sitotoksikite çalışmaları yapılmıştır. En yüksek lipaz inhibitör aktiviteye sahip ve sitotoksik olmayan bileşiğin, yüksek yağlı diyet ile obezite modeli oluşturulan sıçanlarda; sıçanların vücut ağırlıkları değişimlerinin ölçülmesi, obeziteyle ilişkili HDL, LDL kolesterol, total kolesterol, adiponektin, trigliserit ve IL-1 β yanında insülin ve glukoz biyokimyasal parametrelerinin düzeylerinin ölçülmesi, böbrek fonksiyonları için kreatinin, karaciğer fonksiyonları için AST ve ALT düzeylerinin belirlenmesi ve karaciğer, yağ ve böbrek dokusu üzerinde histopatolojik analizlerin gerçekleştirilmesiyle obezite tedavisindeki potansiyeli araştırılmıştır.

1-12 nolu metoksi kalkon bileşiği (11 adet bilinen ve 1 adet yeni (**8**)) Claisen-Schmidt kondenzasyonuna göre sentezlenmiştir. Reaksiyonlar İTK ile kontrol edilerek sonlandırılmıştır. Sentezlenen bileşikler saf olarak çökmüş veya kristallendirme ile saflaştırılmıştır. Saf olarak elde edilen bileşiklerin ^1H -NMR, ^{13}C (APT)-NMR spektral analizleri gerçekleştirilmiştir. 2 ve 3 pozisyonundaki çifte bağın geometrik yapısı etkileşim sabiti ölçülerek ($J=15.5-16.2$ Hz) belirlenmiştir ve bütün bileşiklerin trans (*E*) konumda olduğu tespit edilmiştir. Kalkon bileşiklerinin ana yapısını oluşturan karbonil grubu bileşiklerde 188.6-191.4 ppm aralığında gözlemlenmiştir. A (**1-3**) ve B halkası (**1,4,7,10**) C-3, C-4 ve C-5 metoksi grubu taşıyan kalkon bileşiklerinde spesifik simetrik singlet sinyaller gözlemlenmiştir. A (**4-6**) ve B halkası (**2,5,8,11**) C-2, C-3 ve C-4 metoksi grubu taşıyan kalkon bileşiklerinde spesifik birbirine komşu protonların dublet yarıldığı sinyaller tespit edilmiştir. A halkasında (**7-9**) C-2, C-4 ve C-5 metoksi grubu taşıyan kalkon bileşiklerinde spesifik singlet sinyaller tespit edilmiştir. A (**10-12**) ve B halkası (**3,6,9,12**) C-3 ve C-4 metoksi grubu taşıyan kalkon bileşiklerinde spesifik singlet ve birbirine komşu protonların dublet yarıldığı sinyaller tespit edilmiştir. Tüm bileşiklerde protonların komşulukları etkileşim sabiti ölçülerek (J) ve ACD NMR programı ile eşleştirilerek belirlenmiştir.

Alzheimer hastalarında AChE ve BChE enzimin inhibe edilmesi bilişsel fonksiyonların aktivitesinin artırılması yönünden önem taşımaktadır (204). Yapılan çalışmalarda AChE inhibitörlerinin hastalığı tamamiyle iyileştirmediği ancak semptomları azalttığı ve hastalığın ilerlemesini yavaşlattığı bildirilmiştir (205). 12 adet metoksi kalkon bileşiğinin AChE ve BChE enzim inhibisyon aktiviteleri galantamin standartına göre değerlendirilmiştir ve Tablo 44'te verilmiştir. En yüksek AChE inhibitör aktivite sırasıyla **2** (IC_{50} : 60.39 ± 1.24 $\mu\text{g/mL}$), **1** (IC_{50} : 78.15 ± 0.58 $\mu\text{g/mL}$) ve **9** (IC_{50} : 81.13 ± 1.24 $\mu\text{g/mL}$)

nolu bileşiklerde tespit edilmiştir. En yüksek BChE inhibitör aktivite ise, sırasıyla **1** (IC_{50} : $39.79 \pm 1.29 \mu\text{g/mL}$), **5** (IC_{50} : $44.41 \pm 0.34 \mu\text{g/mL}$) ve **8** (IC_{50} : $54.34 \pm 0.34 \mu\text{g/mL}$) nolu bileşiklerde tespit edilmiştir. Bu sonuçlar en iyi etkinliğin A halkasında 3,4,5 pozisyonunda metoksi gruplarını bulunduran **1** ve **2** nolu bileşikte olduğunu göstermektedir. Ayrıca en düşük etkinlik her iki enzim aktivitesinde de **6**, **7**, **10** ve **12** nolu bileşikte belirlenmiştir. AChE ve BChE enzim inhibisyon aktivitelerinin azalmasına B halkasının 3 ve 4 nolu konumuna metoksi bağlanmasının olabileceği düşünülmektedir. Görüldüğü üzere, metoksi gruplarının kalkon molekülüne farklı bağlanma sırası, bu moleküllerin farklı konsantrasyonda inhibitör etkilerine neden olmuştur. Literatürde de floro, hidroksi, metoksi gibi fonksiyonel grupların kalkon molekülüne farklı bağlandığında inhibitör etkilerin değiştiği çalışmalar mevcuttur. Aslan ve ark. yaptığı bir çalışmada AChE etkinlikleri, 4-metoksikalkon > 2-hidroksi-4-metoksikalkon > 4-hidroksikalkon > 4-florokalkon > 4-floro-4-metoksikalkon > 4,4-difluorokalkon olarak bulunmuştur (206). Bazı hidroksi kalkon türevlerinin asetilkolinesteraza karşı 28.2–134.5 μM IC_{50} değerleri ile etkinlik gösterdiği gözlenmiştir (207). Bazı sentetik kalkonların, alzheimer ile ilgili bozuklukların tedavisinde faydalı olabilecek, μ -calpain ve katepsin B'ye karşı güçlü inhibisyon gösterdiği, başka bir çalışmada güçlü bir AChE inhibitörü olarak bir kumarin kalkon hibritinin nörodejeneratif bozukluğun tedavisinde faydalı olabileceği bildirilmiştir (90). Bazı nitro-süstitüe edilmiş kalkonların, katekol-O-metiltransferaz enzim inhibitör aktiviteleri sergilediği ve parkinson gibi nörodejeneratif bozuklukların kontrol edilmesinde faydalı olabileceği bildirilmiştir (125).

Tirozinaz enzimi, saç ve cilt rengini sağlayan melanin pigmentasyonunda rol oynamaktadır (208). Melanin insan cildini radyasyona karşı korumak için gereklidir; ancak anormal melanin birikimi melazma, çiller, efelitler ve senil lentijinler gibi pigmentasyon bozukluklarına neden olmaktadır. Literatürde, melanin biyosentezinde L-tirozinin önce 3,4-dihidroksifenilalanine (L-DOPA, monofenolaz aktivitesi) hidroksile edildiği ve daha sonra dopakinona (difenolaz aktivitesi) oksitlendiği belirtilmiştir. Tirozinin dopakinona dönüşmesi parkinson hastalığında ortaya çıkan nörotoksisite ile ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla bu enzim inhibitörlerinin parkinson hastalığında tedavi araştırmalarına yeni yöntem olabileceği düşüncesi ortaya çıkmıştır (208). Çalışmamızda metoksi kalkon bileşiklerinin tirozinaz enzim etkinliği α -kojik asit'e karşı değerlendirmiştir ve IC_{50} değerleri Tablo 44'te verilmiştir. En yüksek tirozinaz enzim inhibisyon aktivitesi sırasıyla **2** (IC_{50} : $40.40 \pm 1.01 \mu\text{g/mL}$), **3** (IC_{50} : $76.11 \pm 3.17 \mu\text{g/mL}$) ve **4** (IC_{50} : $96.10 \pm 2.19 \mu\text{g/mL}$) nolu

bileşiklerde tespit edilmiştir. En iyi etkinlik gösteren üç bileşikte ortak olarak A halkasında 4 metoksi, B halkasında ise 3,4 metoksi sübstitüentleri bulunmaktadır. Ayrıca 3,4,5-tri metoksi konfigürasyonu A halkasında konumlandığında (**2**) etkinlik B halkasında konumlanmaya göre (**4**) artmıştır. Görüldüğü üzere, metoksi gruplarının kalkon molekülüne farklı sırada bağlanması bu moleküllerin etkinliklerini değiştirmiştir. Literatürde de benzer çalışmalar bulunmaktadır. Bir dizi kalkon sentezlenmiş ve tirozinaz inhibitör aktiviteleri açısından incelenmiştir. Sentezlenen farklı türevde kalkonların 14.20–14.38 μM konsantrasyonda IC_{50} değeriyle potansiyel tirozinaz inhibitörleri olduğu bildirilmiştir (209). Farklı bir çalışmada ise, 3'-etoksi ve 4'-hidroksi taşıyan kalkon bileşiğinin, $6.19 \pm 1.05 \mu\text{M}$ IC_{50} değeriyle pozitif kontrol olan kojik asitten (IC_{50} : $9.28 \mu\text{M}$) daha yüksek tirozinaz inhibitör aktivite sergilediği bildirilmiştir (210). Literatürde kalkonların nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi veya tedavisi için faydalı olabileceği ortaya konulmuştur (90, 125, 211).

α -Amilaz ve α -glukozidaz enzimleri glukoz metabolizmasının esas enzimleridir. Bu enzimlerin aktivitesi ile kan glukoz seviyeleri artmaktadır. Bu bağlamda, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu diyabette kan glukoz seviyelerinin kontrol edilmesinde önemli bir mekanizma oluşturmaktadır (204). Metoksi kalkon bileşiklerinin α -amilaz ve α -glukozidaz enzimi inhibisyon aktiviteleri akarboza karşı değerlendirilmiştir ve IC_{50} değerleri Tablo 44'te verilmiştir. En yüksek α -amilaz enzim inhibisyon aktivitesi sırasıyla **1** (IC_{50} : $98.61 \pm 3.17 \mu\text{g/mL}$), **2** (IC_{50} : $146.54 \pm 1.65 \mu\text{g/mL}$) ve **9** (IC_{50} : $159.84 \pm 1.25 \mu\text{g/mL}$) nolu bileşiklerde tespit edilmiştir. α -Glukozidaz enzim inhibisyon aktivitesi değerlendirdiğinde ise en yüksek aktivite sırasıyla, **2** (IC_{50} : $55.91 \pm 1.78 \mu\text{g/mL}$), **1** (IC_{50} : $60.93 \pm 0.93 \mu\text{g/mL}$) ve **8** (IC_{50} : $161.57 \pm 2.23 \mu\text{g/mL}$) nolu bileşiklerde tespit edilmiştir. α -Amilaz enzim inhibisyon aktivitesinde 1 ve 2 nolu bileşiklerin A halkası konfigürasyonu aynıken B halkasında 5'' ve 2'' metoksi konumlanmasındaki farklılık etkinliği değiştirmiş ve 5'' konumunda en yüksek aktivite tespit edilmiştir. α -glukozidaz enzim inhibisyon aktivitesinde ise tam tersi konumlama etkiyi değiştirmiş ve en yüksek etkinlik B halkasında 2'' metoksi konumunda tespit edilmiştir. Literatürde, A halkasının C-2 ve C-4'ünde ve B halkasının C-3 ve C-4'ünde hidroksi gruplarının varlığı α -glukosidaz aktiviteyi desteklediği bildirilmiştir (212). Literatürde farklı azokalkon türevlerinin α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerine karşı sırasıyla $\text{IC}_{50} = 23.08\text{-}26.94 \mu\text{M}$ ve $\text{IC}_{50} = 26.08\text{-}27.99 \mu\text{M}$ konsantrasyon aralığında iyi inhibitör aktiviteler gösterdiği belirtilmiştir (213). Başka bir çalışmada, on altı sentetik kalkonun, *in vitro* α -amilaz inhibisyonu etkinliği araştırılmış ve standart akarboz ($\text{IC}_{50} = 1.34$

$\pm 0.3 \mu\text{M}$) ile karşılaştırıldığında $\text{IC}_{50} = 1.25 \pm 1.05$ ila $2.40 \pm 0.09 \mu\text{M}$ aralığında iyi inhibitör aktiviteler sergilediği tespit edilmiştir (214). Literatürde kalkonların α -glukozidaz ve α -amilaz inhibitör aktivite gösterdiği bildirilmiştir (170, 175, 215).

Oksidatif stres, vücudun antioksidan savunma mekanizması zayıfladığında ortaya çıkan serbest radikalleri uzaklaştıramadığı durumlarda görülmektedir. Yapılan araştırmalar, diyabet, kanser, kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi birçok hastalığın etiyolojisinde oksidatif stresin yer aldığını ve antioksidan etkiye sahip fenolik bileşiklerin oksidatif stres kaynaklı rahatsızlıklardan korunmada yararlı olabileceğini göstermektedir (216-219). Çalışmamızda, 12 adet metoksi kalkon bileşiğinin antioksidan etkinlikleri 3 farklı yöntemle (FRAP, CUPRAC ve DPPH) araştırılmıştır. FRAP ve CUPRAC yöntemleriyle bileşiklerin antioksidan kapasiteleri trolox eşdeğeri olarak hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 45'te verilmiştir. FRAP yöntemine göre, en yüksek antioksidan kapasite sırasıyla **1** ($1633.70 \pm 2.52 \mu\text{M}$ trolox eşdeğeri/gram), **4** ($1048.70 \pm 4.32 \mu\text{M}$ trolox eşdeğeri/gram) ve **9** ($881.70 \pm 4.15 \mu\text{M}$ trolox eşdeğeri/gram) nolu bileşikte gözlemlenmiştir. En düşük etkinlik ise **10** ($49.03 \pm 3.09 \mu\text{M}$ trolox eşdeğeri/gram) nolu bileşikte belirlenmiştir. CUPRAC yöntemine göre değerlendirildiğinde, en yüksek antioksidan kapasite sırasıyla **2** ($2732.00 \pm 7.42 \mu\text{M}$ trolox eşdeğeri/gram), **1** ($2093.33 \pm 3.53 \mu\text{M}$ trolox eşdeğeri/gram) ve **4** ($1651.40 \pm 3.91 \mu\text{M}$ trolox eşdeğeri/gram) nolu bileşikte gözlemlenmiştir. En düşük etkinlik ise **5** ($81.40 \pm 4.36 \mu\text{M}$ trolox eşdeğeri/gram) nolu bileşikte belirlenmiştir. 12 adet metoksi kalkon bileşiğinin DPPH radikalini süpürme kapasitesi BHT standardına karşı ölçülmüş ve sonuçlar SC_{50} değeri olarak Tablo 45'te verilmiştir. En yüksek radikal süpürücü etkinlik sırasıyla, **1** (SC_{50} : $0.320 \pm 0.002 \text{ mg/mL}$), **3** (SC_{50} : $0.542 \pm 0.003 \text{ mg/mL}$) ve **2** (SC_{50} : $0.663 \pm 0.001 \text{ mg/mL}$) nolu bileşiklerde tespit edilmiştir. En düşük etkinlik ise, **10** (SC_{50} : $14.165 \pm 0.006 \text{ mg/mL}$) nolu bileşikte tespit edilmiştir. FRAP ve DPPH yöntemine göre en iyi etkinlik **1** nolu bileşikte tespit edilmiştir. Görüldüğü üzere, metoksi gruplarının kalkon molekülüne farklı sırada bağlanması bu moleküllerin etkinliklerini değiştirmiştir. Kalkonların yapı-antioksidan aktiviteleri, serbest radikal nötralizasyonu, hidrojen bağı, singlet oksijen söndürme ve metal şelasyonu gibi bir dizi farklı mekanizmayla ilişkili olduğu literatürde belirtilmiştir (220). Literatürde, fenil halkalarında izoprenil süstituentleri bulunan birçok hidroksikalkonun antioksidan potansiyele sahip olduğu (107); butein, sappankalkon ve okanin gibi 3,4-dihidroksi kalkonların etkili antioksidan aktivite gösterdiği, *Broussonetia papyrifera* Vent'den izole edilen broussokalkon A bileşiğinin BHT kadar güçlü bir antioksidan olduğu belirtilmiştir (107, 127). Başka bir çalışmada ise, 3-

hidroksiksanthoangelolun α -tokoferolden daha güçlü DPPH radikal süpürme aktivitesi gösterdiği, ksanthoangelol B ve ksanthokeismsins A'nın, pozitif kontrol resveratrol'den daha güçlü süperoksit temizleyici olarak bulunduğu belirtilmiştir (128). Literatürde kalkon bileşiklerinin antioksidan aktive çalışmalarına yaygın olarak rastlanmaktadır (90, 107).

1-12 nolu metoksi kalkon bileşiğinin, 3 gr (-), 4 gr (+), 1 gram vermeyen ve 2 farklı mantar mikroorganizması olmak üzere toplamda 10 mikroorganizmaya karşı MİK yöntemiyle *in vitro* antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Sonuçlar Tablo 46'da verilmiştir. Bileşiklerin antimikrobiyal etkinliği değerlendirildiğinde, bileşiklerin tamamının Gr (+) bakterilere karşı etkinlik göstermediği tespit edilmiştir. Gr (-) bakterilerden *E. coli* 'ye karşı en iyi etkinlik sırasıyla **8** (MİK: 164.1 $\mu\text{g} / \text{mL}$) ve **7** (MİK: 381.3 $\mu\text{g} / \text{mL}$) nolu bileşiklerde tespit edilmiştir. Diğer gr (-) bakteriler *Y. pseudotuberculosis* ve *P. aeruginosa* 'ya karşı en iyi etkinlik **8** nolu bileşikte tespit edilmiş olup (MİK: 328.3 $\mu\text{g} / \text{mL}$), **1**, **7** ve **9** nolu bileşikler 637.5-762.5 $\mu\text{g} / \text{mL}$ MİK'te benzer antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Gr vermeyen bakteri *M. smegmatis* 'e karşı en yüksek antibakteriyel aktivite **8** nolu bileşikte tespit edilmiş olup (MİK: 164.1 $\mu\text{g} / \text{mL}$), sonrasında ise en iyi etkinlik **9** ve **1** nolu bileşiklerde sırasıyla 318.8 ve 321 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MİK'te gözlemlenmiştir. Mayalara karşı en yüksek antifungal etki, **8** nolu bileşikte (MİK: 328.3 $\mu\text{g} / \text{mL}$) belirlenmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde, gr (+) bakteriler hariç, gr (-), gram vermeyen (*M. smegmatis*) ve mayalara karşı (*C. albicans*, *S. cerevisiae*) geniş spektrumlu en güçlü antibakteriyel etkinlik 164.1-328.3 $\mu\text{g} / \text{mL}$ MİK aralığında **8** nolu bileşikte tespit edilmiştir. **5** ve **12** nolu bileşikte ise herhangi bir antibakteriyel etkinlik tespit edilmemiştir. Literatürde, dihidrokalkon olan asebogenin bileşiğinin *S. aureus* 'a karşı etkili olduğu, *P. corylifolia* 'dan izole edilen izobavakalkon ve bavakalkonun, doğal kaynaklı antibakteriyel ajan olarak bildirildiği, 3-(karboksialkil) rodanin bileşiğinin, insan patojenlerine karşı düşük konsantrasyonda (1 $\mu\text{g} / \text{mL}$) güçlü inhibisyon sergilediği ve antibakteriyel olduğu kadar antifungal ajan olarak da etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (90). Likokalkon A ve likokalkon C bileşiğin, özellikle *B. subtilis*, *S. aureus* ve *M. luteus* 'a karşı güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (107). Literatürde kalkon bileşiklerinin antimikrobiyal etkinlik sergilediğine dair birçok çalışma bulunmaktadır (87, 90, 107).

Günümüzde obezite tedavisinde pankreatik lipaz (PL) inhibitörleri büyük önem taşımaktadır. PL inhibitörleri, insan yağının metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır ve besin kaynağındaki yağı, vücudun emebileceği ve metabolizmaya katabileceği küçük

gliserol ve yağ asitleri moleküllerine ayırmaktadır (51). Klinik çalışmalar, bir pankreatik lipaz inhibitörü olarak orlistatin yüksek yağlı diyetin neden olduğu obeziteyi azaltabileceğini ve orlistat almanın yağlı dışkıya yol açabileceğini doğrulamıştır (54). Orlistat; diyare, şişkinlik ve fekal inkontinans gibi gastrointestinal yan etkilere sebep olmaktadır ve orlistat alan kişilerde yağda çözünen vitaminlerin emiliminde azalma görülmektedir. Obezite tedavisindeki bu durum, obezitenin tedavisi için yeni araştırmaların önemini artırmaktadır. Bu bağlamda çalışmamız kapsamında, 12 adet metoksi kalkon bileşiğinin lipaz enzim aktivite sonuçları orlistata karşı değerlendirildiğinde en yüksek lipaz enzim inhibisyonu aktivitesi 1-(2,4,5-trimetoksifenil), 3-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on (7) bileşiğinde tespit edilmiştir ve IC_{50} değeri $39.83 \pm 1.1216 \mu\text{g} / \text{mL}$ olarak bulunmuştur. Sonrasında en iyi lipaz enzim aktivitesi sırasıyla **8**, **3** ve **2** nolu bileşikte gözlemlenmiştir ve IC_{50} değerleri sırasıyla $42.43 \pm 1.7501 \mu\text{g} / \text{mL}$, $43.86 \pm 2.1826 \mu\text{g} / \text{mL}$ ve $46.67 \pm 1.6145 \mu\text{g} / \text{mL}$ olarak belirlenmiştir. En düşük etkinlik ise **9** nolu bileşikte (IC_{50} : $288.84 \pm 10.2278 \mu\text{g} / \text{mL}$) tespit edilmiştir. En yüksek lipaz enzim inhibisyon aktivitesi gösteren bileşiklerin (**2**, **3**, **7**, **8**), fibroblast (L929) hücre hattı üzerine sitotoksik etkileri araştırılmış ve MTT yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. En düşük sitotoksik aktivite sırasıyla **7** (IC_{50} : $111.56 \pm 13.92 \mu\text{g} / \text{mL}$), **2** (IC_{50} : $59.34 \pm 6.39 \mu\text{g} / \text{mL}$), **3** (IC_{50} : $50.51 \pm 10.05 \mu\text{g} / \text{mL}$) ve **8** (IC_{50} : $41.34 \pm 5.18 \mu\text{g} / \text{mL}$) olarak bulunmuştur. En düşük sitotoksik aktivite **7** nolu bileşikte tespit edilmiştir.

Sitotoksik olmayan en etkili **7** nolu bileşiğin yüksek yağlı diyet ile obezite modeli oluşturulan sıçanlarda antiobezite etkisi araştırılmıştır. Antiobezite etki değerlendirilirken, sıçanların vücut ağırlıkları değişimleri tespit edilmiştir. Obeziteyle ilişkili total kolesterol, HDL, LDL kolesterol, trigliserit, adiponektin, IL-1 β , glukoz ve insülin biyokimyasal parametrelerinin düzeyleri ve böbrek fonksiyonları için kreatinin, karaciğer fonksiyonları için AST ve ALT düzeyleri belirlenmiştir. Karaciğer, yağ ve böbrek dokusu üzerinde histopatolojik analizler gerçekleştirilmiştir. Antiobezite etkinin araştırılmasında, yüksek yağlı diyetle oluşturulan sıçan deney modelleri üzerinde *in vivo* obezite çalışmaları literatürde sıklıkla yer almaktadır (196, 221, 222).

8 Haftalık deney süresi sonunda elde edilen ağırlık bulguları değerlendirildiğinde, ağırlık değişimleri Grup II (negatif kontrol grubu) ile karşılaştırıldığında, ağırlık ortalamasındaki en büyük azalma Grup III'te (pozitif kontrol grubu) gerçekleşirken, Grup IV ve Grup V'in de ağırlık ortalamalarının da azaldığı gözlemlenmiştir. 8 haftalık deney

süresi sonunda ağırlık ortalamaları Grup I (kontrol grubu)'de 205.6 g, Grup II'de 232.4 g, Grup III'te 195.8 g, Grup IV'te 189.8 g ve Grup V'te 203.2 g olarak belirlenmiştir. Ağırlık farkı verilerine göre, kontrol ve negatif kontrol grubunda toplam ağırlık miktarı ortalaması sırasıyla 10.5 g ve 26.1 g artarken, pozitif kontrol grubu ve 2 farklı dozda etkin madde (10 mg / kg ve 40 mg / kg) gruplarında ise sırasıyla 14.9 g, 8.7 g ve 13.9 g azalma gözlemlenmiştir. Tez çalışmaları, 7 nolu metoksi kalkon bileşiğinin ve pozitif kontrol olan orlistat uygulamasının, obezite oluşturulan negatif kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sıçanların ortalama vücut ağırlığını azalttığını göstermiştir.

Obezite; plazma LDL, trigliserit ve total kolesterol düzeylerini artırırken, HDL düzeyini azaltmaktadır (223). Obez sıçanlarda artan serum LDL düzeyi, yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda da kaydedilmiştir (224). *İn vivo* çalışmamızda sıçan serumlarında gerçekleştirdiğimiz biyokimyasal parametre analiz sonuçları değerlendirildiğinde; LDL seviyelerinde, negatif (II. Grup) kontrol grubunda Grup I'e göre artış gözlemlenmiş, orlistat (III. grup) grubunda ise, yüksek yağlı diyet grubuna göre düşüş gözlemlenmiştir. Ayrıca, 10 mg/kg (IV. grup) ve 40 mg/kg (V. grup) etkin madde tedavi gruplarında ise hem orlistat grubuna göre hem de yüksek yağlı diyet grubuna göre LDL seviyelerinde azalma tespit edilmiştir. LDL seviyeleri Grup I-V' te sırasıyla 63.0 ± 1.26 mg/dL, 96.4 ± 1.93 mg/dL, 46.6 ± 2.10 mg/dL, 33.8 ± 1.69 mg/dL ve 28.3 ± 1.42 mg/dL olarak belirlenmiştir. HDL seviyelerinde; negatif kontrol grubu olan yüksek yağlı diyet grubunda kontrol grubuna göre azalma gözlenmiş, orlistat pozitif kontrol grubunda negatif kontrol grubuna göre artış gözlenmiştir. Ayrıca iki farklı etkin madde doz gruplarında da HDL seviyelerinde artış tespit edilmiştir. Grup I-V'in HDL sonuçları sırasıyla 102.58 ± 5.12 mg/dL, 68.45 ± 2.05 mg/dL, 98.87 ± 2.96 mg/dL, 101.15 ± 2.02 mg/dL ve 105.8 ± 3.17 mg/dL olarak bulunmuştur. Trigliserit seviyelerinde ise, yüksek yağlı diyet grubunda kontrol grubuna göre artış gözlemlenirken, orlistat ve etkin madde gruplarında azalma tespit edilmiştir. Grup I-V'in trigliserit değerleri sırasıyla, 95.13 ± 2.18 mg/dL, 121.5 ± 3.40 mg/dL, 111.88 ± 1.81 mg/dL, 99.13 ± 1.55 mg/dL ve 89.63 ± 1.14 mg/dL olarak bulunmuştur. Total kolesterol değerlerinde de LDL ve trigliserit değerlerinde benzer şekilde, yüksek yağlı diyet grubunda kontrol grubuna göre artış gözlemlenirken, orlistat ve etkin madde gruplarında negatif kontrol grubuna göre azalma gözlemlenmiştir. Total kolesterol değerleri ise sırasıyla, 194.0 ± 6.16 mg/dL, 216.75 ± 3.34 mg/dL, 164.50 ± 3.41 mg/dL, 154.75 ± 3.18 mg/dL ve 148.75 ± 4.05 mg/dL olarak bulunmuştur. Literatürde ve çalışmamızda da olduğu gibi yüksek yağlı diyet

grubunda LDL seviyelerinde artış, HDL seviyelerinde azalmadan kaynaklı kan dolaşımından karaciğere ters kolesterol taşınmasının azalması meydana gelmektedir (225).

Adiponektin, yağ dokusu tarafından salgılanan, enerji harcanmasında, iştahın kontrol edilmesinde, lipid ve glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rol alan endokrin ve metabolik fonksiyonları olan önemli bir hormondur (226). Adiponektin, sistemik insülin duyarlılığında ve glukoz homeostazisinde önemli rol oynamaktadır (227). Obez hastalarda plazma adiponektin seviyeleri önemli ölçüde azalmaktadır ve BMI ile negatif korelasyon göstermektedir (228). Adiponektinin damar yapısının korunmasında ve bütünlüğünde anahtar rol oynadığı bilinmektedir. Obezite ve metabolik sendrom durumunda azalan adiponektin düzeyleri insanları aterosklerotik damar hastalığına karşı daha duyarlı hale getirmektedir (229). *In vivo* çalışmamızda sıçan serumlarında gerçekleştirdiğimiz biyokimyasal parametre analiz sonuçları değerlendirildiğinde, III. Grup (orlistat), IV. Grup (10 mg/kg) ve V. Grup (40 mg/kg) ile II. Grup (negatif kontrol) karşılaştırıldığında, pozitif kontrol (Grup III) ve etkin madde gruplarında (Grup IV ve V) adiponektin düzeyinin arttığı gözlemlenmiştir ve sırasıyla 88.67 ± 4.43 ng/mL, 80.56 ± 1.61 ng/mL ve 93.18 ± 2.80 ng/mL olarak bulunmuştur. Genel olarak bulgular; iki farklı dozdaki etkin madde gruplarının, obezitede ateroskleroza sebep olan LDL düzeylerinde azalma, HDL seviyelerinde ise artış sağladığını ve obezitede oluşan dislipidemiye iyileştirici yönde etki edebileceğini, damar yapısının korunmasında ve bütünlüğünde anahtar rol oynayan adiponektin seviyesini artırdığından dolayı obezitenin meydana getirdiği olumsuz etkileri azaltabileceğini veya obeziteden korunmaya yardımcı olabileceğini göstermektedir.

Obez bireylerde yağ dokusu; artan miktarlarda esterleşmemiş yağ asitleri, gliserol, hormonlar, proinflamatuvar sitokinler ve insülin direncinin gelişiminde rol oynayan diğer faktörleri salgılamaktadır (229, 230). Obezite ve insülin direnci arasındaki ilişki büyük ölçüde yağ dokusunun fonksiyonundaki değişikliklere, özellikle serbest yağ asitlerinin artan salınımına ve adipokin sekresyonundaki anormalliklere bağlıdır (231). İnsülin direncine pankreas adacık β hücrelerinin (insülin salgılayan hücreler) fonksiyon bozukluğu eşlik ettiğinde, kan şekeri seviyelerinin kontrol edilememesi ortaya çıkar (232). Bu sebeple obezitenin neden olabileceği insülin direncinin değerlendirilmesi amacıyla, *in vivo* çalışmalar kapsamında sıçanların kan glukoz ve serum insülin düzeyleri belirlenmiştir. Analizler değerlendirildiğinde, yüksek yağlı diyet grubunun glukoz değerinin diğer gruplardan fazla olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubu ve negatif kontrol grubunun glukoz

değerleri sırasıyla 116.38 ± 7.50 mg/dL ve 146.25 ± 5.94 mg/dL olarak bulunmuştur. Glukoz değerleri, orlistat ve 10 mg/kg ve 40 mg/kg etkin madde gruplarında sırasıyla; 135.25 ± 4.02 mg/dL, 138.48 ± 7.41 mg/dL ve 128.76 ± 5.21 mg/dL olarak ölçülmüştür. Kontrol grubuna göre bu gruplarda kan glukoz seviyelerinde artış gözlemlenirken, negatif kontrol grubuna göre azalma tespit edilmiştir. İnsülin düzeyleri değerlendirildiğinde ise, negatif kontrol grubunda; kontrol, etkin madde ve pozitif kontrol grubuna göre anlamlı bir artış görülmüştür ve insülin değeri 7.88 ± 0.16 mIU/L olarak bulunmuştur. Pozitif kontrol grubu ile iki farklı doz etkin madde gruplarında ise anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. İnsülin değeri, orlistat ve etkili biyoaktif bileşik 10 mg/kg ve 40 mg/kg gruplarında sırasıyla 5.14 ± 0.05 mIU/L, 5.58 ± 0.06 mIU/L ve 5.42 ± 0.11 mIU/L tespit edilmiştir. Bu durum, yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta diyabetin ön evresi olan hiperinsülinemi seviyesinde olabileceğini göstermektedir. İki farklı doz biyoaktif bileşik ve orlistat grubu ile negatif kontrol grubu karşılaştırıldığında serum insülin seviyelerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak bu durum, biyoaktif metoksi kalkon bileşiğinin obeziteden kaynaklanabilecek insülin direncini azaltabileceği yorumunu ortaya çıkarmıştır.

Obezitenin neden olduğu insülin direnci, yağ dokusundan sitokinlerin ve diğer biyoaktif maddelerin artan salgılanmasının yanı sıra yağ makrofajlarının sayısı ile ilişkilidir (233). Adipokinler; inflamasyon, termoregülasyon, ateroskleroz, anjiyogenez, kan basıncı regülasyonu ve benzeri gibi birçok vücut fonksiyonunda rol oynamaktadır (234). İnterlökin (IL)-6, IL-8, IL-1 β , vasküler endotelyal büyüme faktörü ve tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) gibi az sayıda adipokin insan vücudunun çeşitli fonksiyonlarını lokal ve sistemik olarak düzenleyen bir ağ olarak çalışırlar (235). Obez insan ve hayvanların yağ dokusunda çok sayıda makrofaj infiltrasyonu vardır ve bu durum obezitenin neden olduğu inflamasyon ve insülin direncinin patogenezi ile bağlantılıdır (233). Yağ dokusundaki çeşitli adipokinlerin ve metabolitlerin anormal seviyeleri monositleri tetiklemektedir. İnflamasyonla ilişkili pro-inflamatuvar sitokinler olan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyeleri aktive monositler nedeniyle artar (236). Enflamatuvar sinyal yolağının harekete geçmesi ve bu sitokinlerin salgılanmasının artması patolojik durumu artırarak insülin sinyal yolağının bozulmasına yol açmaktadır. Ayrıca, lipid metabolizmasının serbest yağ asidini artırmasıyla karaciğer ve diğer dokulardaki glukoz dengesi bozulmakta ve insülin direncinin oluşmasına neden olmaktadır. Bu nedenle obezite tedavisinde veya obezite ile ilişkili hastalıkların tedavisinde antienflamatuvar tedavi yaklaşımlarının etkili olabilme potansiyelleri araştırılmaktadır (237, 238). Tip 2 diyabetli hastalardan elde edilen beta hücrelerinde IL-1 β

reseptör antagonistinin ekspresyonu azalmıştır. Bu veriler göz önüne alındığında, IL-1 β antagonisti ile IL-1 β arasındaki adacık dengesinin, tip 2 diyabetli hastalarda beta hücre fonksiyonunu ve glisemik kontrolü iyileştirebileceği belirtilmiştir (239). Tüm bu yaklaşımlardan hareketle, tez çalışmamızda sıçanlarda *in vivo* biyoaktivite çalışmaları kapsamında, deney gruplarının serum IL-1 β düzeyleri belirlenmiştir. Veriler karşılaştırıldığında, pozitif kontrol olan orlistat grubu (Grup III) ve iki farklı doz etkin madde (Grup IV: 10 mg/kg; Grup V: 40 mg/kg) gruplarında negatif kontrol grubuna (Grup II) göre serum IL-1 β düzeylerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Negatif kontrol grubunun IL-1 β seviyesi 2175.9 pg/mL, orlistat grubu, 10 mg/kg ve 40 mg/kg etkin madde gruplarının ise sırasıyla 1034.4 pg/mL, 1092.2 pg/mL ve 1194.5 pg/mL olarak bulunmuştur. Bu veriler doğrultusunda, iki farklı dozdaki etkin maddenin potansiyel antienflamatuvar etkiye sahip olduğu ve obezitenin neden olduğu insülin direncini azaltma yönünde etki edebileceği değerlendirilmiştir.

BMI ile AST ve ALT arasında ilişki olduğu literatürde belirtilmiştir. Visseral yağ birikimi, BMI dahil tüm antropometrik değişkenler arasında alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı bağlamında yüksek ALT konsantrasyonlarının en güçlü belirleyicisidir (240). Mevcut araştırmamızda, yüksek yağla beslenen sıçanların serumunda, kontrol gruplarına kıyasla artan ALT ve AST düzeyleri gözlemlenmiştir. Negatif kontrol grubunun AST ve ALT değerleri sırasıyla 61.13 ± 3.56 U/L ve 73.13 ± 1.06 U/L iken, bu değerler orlistat ve etkin madde gruplarında azalmıştır. Orlistat grubunda AST ve ALT değerleri, sırasıyla 53.63 ± 5.85 U/L ve 70.0 ± 5.26 U/L; 10 mg/kg etkin madde grubunda, sırasıyla 55.13 ± 4.03 U/L ve 57.75 ± 4.91 U/L; 40 mg/kg etkin madde grubunda, sırasıyla 59.50 ± 5.68 U/L ve 53.0 ± 5.68 U/L olarak bulunmuştur. Yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçan serumunda gözlenen yüksek ALT ve AST seviyeleri, bu artışın yüksek yağlı diyetin toksisitesinin neden olduğu hepatoselüler hasardan kaynaklanabileceğini göstermektedir. Yüksek yağlı diyetin benzer şekilde AST ve ALT bulgularını artırdığı literatürde belirtilmiştir (241). Son yıllarda obezitenin böbrek hasarında önemli bir faktör olduğu kabul edilmiştir. Ayrıca obezite salgını, böbrek hastalıklarının görülme sıklığındaki paralel artışla da ilişkilidir (242). Serum kreatinin değeri, böbrek fonksiyonunu yansıtmak için klinik çalışmalarda yaygın olarak kullanılan önemli bir parametredir. Mevcut çalışmamızda böbrek fonksiyonlarını belirlemek için sıçanlarda serum kreatinin değeri belirlenmiştir. Yüksek yağlı diyet grubunda kreatinin düzeyi kontrol grubuna göre artmış olmasına rağmen, kontrol grubu, orlistat ve etkin madde

grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Benzer şekilde literatürde yüksek yağlı diyetin kreatinin değerini artırdığı çalışmalar mevcuttur (243, 244).

Obezite, karaciğerde gerçekleşen lipit ve enerji metabolizmalarında bazı histopatolojik değişimler meydana getirmektedir. Obezitede, mikro ve makroveziküler vakuoller ve hepatosellüler yağ damlacığı oluşumunda artış olmakta ve steatoz tablosu meydana gelmektedir. Hatta histopatolojik tablonun ilerlemesiyle hepatositlerde balonlaşma ve mononükleer hücre infiltrasyonuna sebep olmakla siroza giden bir süreci başlatabilmektedir (245).

Karaciğer ve yağ dokusunda yapılan histopatolojik analizler değerlendirildiğinde; Yağ doku hücrelerinde, yüksek yağlı diyet ile beslenen negatif kontrol olan Grup II'de kontrol grubuna göre adiposit sayı ve çaplarında belirgin bir artış tespit edilmiştir. Adiposit boyutlarında orlistat grubunda Grup II'ye kıyasla bir azalma gözlemlenmiştir. Grup IV'te ise hafif yükselme tespit edilmiştir. Genel olarak orlistat ve tedavi gruplarında benzer morfolojik görüntü elde edilmiştir. Bu durum orlistat ve tedavi gruplarının yağ doku üzerinde obezite tedavisine yönelik olarak etkinlik sağlayabileceğini göstermektedir. Karaciğer dokularında ise, Grup III'te (pozitif kontrol) inflamatuvar hücre birikimlerine ve mikroveziküler hepatositeatoz alanlarına rastlanmakla beraber, bu bulgular II. gruba göre daha seyrek görülmüştür. Ancak hipereozinofilik hepatositlere daha sık rastlanmış ve interselüler genişlemelere bakıldığında ise II. gruba benzer bir görüntü ile karşılaşmıştır. IV. grupta ise, II. gruba kıyasla tüm bulgularda gözle görülür bir azalma gözlemlenmiş ve dahası IV. grupta, III gruptan farklı olarak, interselüler alanlardaki genişlemelerde de kayda değer bir düşüş tespit edilmiştir. Ancak yer yer hipereozinofilik hepatositler gözlemlenmiştir. V. gruba bakıldığında da II. gruba kıyasla bulgularda azalma tespit edilmiştir. V. grupta, III. gruba kıyasla hipereozinofilik hepatositleri azaltma açısından daha iyi sonuçlar elde edilmiş fakat interselüler genişlemeleri önleme noktasında aynı başarı elde edilememiştir. IV. grupta III. gruba kıyasla interselüler genişlemeleri önleme açısından daha başarılı sonuçlar elde edilmiş, diğer parametrelerde ise III gruba benzer sonuçlarla karşılaşmıştır. Grup IV ve Grup V'te uygulanan etkin madde tedavilerinin; yağlı diyetin karaciğerde oluşturduğu olumsuz etkileri gidermede etkili olduğu belirlenmiş ve mevcut tedavi grupları içinde ise karaciğer histopatolojisi açısından en iyi sonuçlar IV. grupta (10 mg / kg) tespit edilmiştir.

Obezite ile kronik böbrek hastalığı arasında bir ilişki olduğu ve obezitenin glomerülopatinin histopatolojik bulgularında değişimler meydana getirdiği literatürde bildirilmiştir (246). Obezite, yağlanmanın böbrek üzerinde oluşturduğu doğrudan etkiler yoluyla böbrek fonksiyonlarını bozmaktadır. Obezite, öncelikle afferent arteriyoldeki vazodilatasyon ve proksimal tübülerde tuzun yeniden emilimindeki artışa bağlı hemodinamik değişiklikler yoluyla glomerüllere doğrudan zarar verebilmektedir. Bu değişiklikler glomerüler hiperfiltrasyona ve sonuçta proteinüriye neden olmakta ve obezitenin küresel ölçekte artan yaygınlığıyla paralellik gösteren obeziteye bağlı glomerülopati insidansının artmasına neden olmaktadır (247, 248). Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda yapılan bir çalışmada; tübüllerde eozinofilik materyal birikimi ile yağlı dejenerasyon, glomerüllerde atrofi ve çekirdeklerin lümen içine ekstrüzyonu ile tanımlanan distal tübüller gözlemlenmiştir (249). Böbrek dokularından elde edilen histopatolojik veriler değerlendirildiğinde, III. gruba (orlistat) uygulanan tedavinin böbrekte lipit birikimlerini ve vakuolizasyonları gözle görülür derecede azalttığı, lakin tübüler ve glomerüler hasara katkıda bulunduğu görülmüştür. IV ve V. gruplarda uygulanan tedavilerde (sırasıyla etkin madde 10 mg / kg ve 40 mg / kg doz) ise tüm parametrelerde düzeltici etkiler gözlemlenmiştir. Her iki grupta da lipit birikimlerini ve vakuolizasyonları azaltma açısından önemli sonuçlar elde edilmiştir.

Tez çalışmamız kapsamında, flavonoidlerin prekürsörü ve biyoaktif bileşikler olan 12 adet sentezlenmiş metoksi kalkon bileşiğinden, en yüksek lipaz inhibitör aktiviteye sahip ve sitotoksik olmayan 7 nolu metoksi kalkon bileşiğinin yüksek yağlı diyet ile obezite modeli oluşturulan sıçanlarda antiobezite etkinliği değerlendirilmiş ve obeziteye karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Etkin madde ve pozitif kontrol olan orlistat uygulamasının, obezite oluşturulan negatif kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sıçanların ortalama vücut ağırlığını azalttığı gösterilmiştir. Biyokimyasal parametreler değerlendirdiğinde, tedavi gruplarında LDL, total kolesterol ve trigliserit seviyelerinde azalma, HDL seviyelerinde ve damar yapısının korunmasında anahtar rol oynayan adiponektin seviyesinde artış tespit edilmiştir. Etkin madde gruplarının dislipidemiye olumlu yönde etki ettiği ve obezitenin meydana getirdiği olumsuz etkileri azalttığı gözlemlenmiştir. Grupların insülin direnci ile ilişkili insülin ve proenflamatuvar sitokin IL-1 β düzeyleri belirlenmiş ve etkin madde gruplarında negatif kontrol grubuna göre insülin ve IL-1 β düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum, olası insülin direncinin tedavi gruplarında azaldığını ve etkin madde gruplarında antiinflamatuvar etkinliğin olduğunu göstermektedir. Yağ, karaciğer ve böbrek dokusunda

yapılan histopatolojik analizler değerlendirildiğinde, 10 mg/kg etkin madde doz grubunda, yağlı karaciğer dokusunda, orlistat ve obez gruptan farklı olarak, interselüler alanlardaki genişlemelerde kayda değer bir düşüş tespit edilmiştir. Böbrek dokusunda ise, etkin madde uygulanan tedavilerde (10 mg/kg ve 40 mg/kg doz), glomerüler ve tübüler hasar, lipid birikimi ve vakuolizasyon parametrelerinde düzeltici etkiler gözlemlenmiştir.

Bu doktora tez çalışmasından elde edilen hem biyokimyasal hem de histopatolojik veriler değerlendirildiğinde, 10 mg/kg ve 40 mg/kg doz uygulanan metoksi kalkon bileşiğinin (7, 1-(2,4,5-trimetoksifenil), 3-(3,4,5-trimetoksifenil)prop-2-en-1-on) antiobezite etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir. En etkin doz için farklı dozda çalışmaların yapılması gerekmektedir. Etkin maddenin, obezite tedavisinde meydana gelen komplikasyonları iyileştirebileceği veya obeziteden korunmaya yardımcı olabileceği ve güncel tedavide kullanılan orlistat etkin maddesinden kaynaklanan yan etkilerden dolayı potansiyel alternatif bir terapötik ajan olabileceği düşünülmektedir. Bundan sonra gerçekleştirilecek disiplinler arası mekanizma çalışmaları, toksikolojik ve klinik çalışmalar ile dünya çapında bir sağlık problemi olan obezite tedavisindeki ilaç etken madde olma potansiyeli daha etkin ve güvenilir bir noktaya taşınabilecektir.

6. KAYNAKLAR

1. Hruby A, Hu FB (2015). The epidemiology of obesity: A big picture. *Pharmacoeconomics* 33(7): 673-689.
2. Patra S, Nithya S (2015). Review of medicinal plants for anti-obesity activity. *Transl Biomed* 6(3): 1-21.
3. Zeng SL, Li SZ, Wei MY, Chen BZ, Li P, Zheng GD, Liu EH (2018). Evaluation of anti-lipase activity and bioactive flavonoids in the Citri Reticulatae Pericarpium from different harvest time. *Phytomedicine* 43: 103-109.
4. Csige I, Ujvárosy D, Szabó Z, Lőrincz I, Paragh G, Harangi M, Somodi S (2018). The impact of obesity on the cardiovascular system. *J Diabetes Res* 2018: 3407306. doi: 10.1155/2018/3407306.
5. Aktar N, Qureshi NK, Ferdous HS (2017). Obesity: a review of pathogenesis and management strategies in adult. *Delta Med Coll J* 5(1): 35-48.
6. Chakrabarti R (2009). Pharmacotherapy of obesity: emerging drugs and targets. *Expert Opin Ther* 13(2): 195-207.
7. Patel K (2020). Obesity treatment: a focus on pharmacotherapy of weight management. *Orthop Nurs* 39(2): 121-127.
8. Ford ND, Patel SA, Narayan KV (2017). Obesity in low-and middle-income countries: burden, drivers, and emerging challenges. *Annu Rev Public Health* 38: 145-164.
9. Purnell JQ (2018). Definitions, classification, and epidemiology of obesity. *Endotext* [online]. Available from: <https://europepmc.org/article/NBK/nbk279167#free-full-text> (Accessed 3 March 2024).
10. Williams DM, Nawaz A, Evans M (2020). Drug therapy in obesity: a review of current and emerging treatments. *Diabetes Ther* 11(6): 1199-1216.
11. Organization WH (2017). *Global Nutrition Report 2017: Nourishing the SDGs*. Bristol, UK: Development Initiatives.
12. Hoffman DJ (2001). Obesity in developing countries: causes and implications. *Food Nutri Agricul* 28: 35-44.
13. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, Mullany EC, Biryukov S, Abbafati C, Abera SF (2014). Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the global burden of disease study 2013. *The lancet* 384(9945): 766-781.

14. Jackson SE, Llewellyn CH, Smith L (2020). The obesity epidemic–Nature via nurture: A narrative review of high-income countries. *SAGE open medicine* 8: 2050312120918265. doi: 10.1177/2050312120918265.
15. Finkelstein EA, Khavjou OA, Thompson H, Trogdon JG, Pan L, Sherry B, Dietz W (2012). Obesity and severe obesity forecasts through 2030. *Am J Prev Med* 42(6): 563-570.
16. Agha M, Agha R (2017). The rising prevalence of obesity: part A: impact on public health. *International journal of surgery. Oncology* 2(7): e17.
17. Endalifer ML, Diress G (2020). Epidemiology, predisposing factors, biomarkers, and prevention mechanism of obesity: a systematic review. *J Obes* 2020: 6134362. doi: 10.1155/2020/6134362.
18. Baalwa J, Byarugaba B, Kabagambe E, Otim A (2010). Prevalence of overweight and obesity in young adults in Uganda. *Afr Health Sci* 10(4): 367-373.
19. Berhane HY, Jirström M, Abdelmenan S, Berhane Y, Alsanius B, Trenholm J, Ekström E-C (2020). Social stratification, diet diversity and malnutrition among preschoolers: a survey of Addis Ababa, Ethiopia. *Nutrients* 12(3): 712.
20. Kibria A, Muhammed G, Swasey K, Hasan MZ, Sharmeen A, Day B (2019). Prevalence and factors associated with underweight, overweight and obesity among women of reproductive age in India. *Glob Health Res Policy* 4(1): 1-12.
21. Yoon S-J, Kim H-J, Doo M (2016). Association between perceived stress, alcohol consumption levels and obesity in Koreans. *Asia Pac J Clin Nutr* 25(2): 316-325.
22. Sagbo H, Ekouevi DK, Ranjandriarison DT, Niangoran S, Bakai TA, Afanvi A, Dieudonné S, Kassankogno Y, Vanhems P, Khanafer N (2018). Prevalence and factors associated with overweight and obesity among children from primary schools in urban areas of Lomé, Togo. *Public Health Nutr* 21(6): 1048-1056.
23. Ngaruiya C, Hayward A, Post L, Mowafi H (2017). Obesity as a form of malnutrition: over-nutrition on the Uganda “malnutrition” agenda. *Pan Afr Med J* 28(1): doi: 10.11604/pamj.2017.28.49.11176.
24. Andonian C, Langer F, Beckmann J, Bischoff G, Ewert P, Freiling S, Kaemmerer H, Oberhoffer R, Pieper L, Neidenbach RC (2019). Overweight and obesity: an emerging problem in patients with congenital heart disease. *Cardiovasc Diagn Ther* 9(Suppl 2): 360.

25. Van der Valk ES, Savas M, van Rossum EF (2018). Stress and obesity: are there more susceptible individuals? *Curr Obes Rep* 7(2): 193-203.
26. Apovian CM, Aronne L, Rubino D, Still C, Wyatt H, Burns C, Kim D, Dunayevich E, Group CIS (2013). A randomized, phase 3 trial of naltrexone SR/bupropion SR on weight and obesity-related risk factors (COR-II). *Obesity* 21(5): 935-943.
27. Jensen MD, Ryan DH, Apovian CM, Ard JD, Comuzzie AG, Donato KA, Hu FB, Hubbard VS, Jakicic JM, Kushner RF (2014). 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American college of cardiology/american heart association task force on practice guidelines and the obesity society. *J Am Coll Cardiol* 63(25 Part B): 2985-3023.
28. Powell TM, Khera A (2010). Therapeutic approaches to obesity. *Curr Treat Options Cardiovasc* 12(4): 381-395.
29. Okay E, Sayek İ (2004). Morbid Obesite ve Cerrahi Tedavisi. Güneş Kitabevi, Ankara; Sayfa: 1180-1190.
30. Pate RR (1995). Physical activity and health: dose-response issues. *Res Q Exerc Sport* 66(4): 313-317.
31. Ainsworth BE, Haskell WL, Whitt MC, Irwin ML, Swartz AM, Strath SJ, O'Brien WL, Bassett DR, Schmitz KH, Emplaincourt PO (2000). Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. *Med Sci Sports Exerc* 32(9): 498-504.
32. Chantre P, Lairon D (2002). Recent findings of green tea extract AR25 (Exolise) and its activity for the treatment of obesity. *Phytomedicine* 9(1): 3-8.
33. Foster GD, Makris AP, Bailer BA (2005). Behavioral treatment of obesity. *Am J Clin* 82(1): 230-235.
34. Garaulet M, De Heredia FP (2010). Behavioural therapy in the treatment of obesity (II): role of the Mediterranean diet. *Nutr Hosp* 25(1): 9-17.
35. Yumuk V, Tsigos C, Fried M, Schindler K, Busetto L, Micic D, Toplak H (2015). European guidelines for obesity management in adults. *Obes Facts* 8(6): 402-424.
36. Apovian CM, Aronne LJ, Bessesen DH, McDonnell ME, Murad MH, Pagotto U, Ryan DH, Still CD (2015). Pharmacological management of obesity: an endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 100(2): 342-362.
37. Saunders KH, Umashanker D, Igel LI, Kumar RB, Aronne LJ (2018). Obesity pharmacotherapy. *Clinics* 102(1): 135-148.

38. Hutton B, Fergusson D (2004). Changes in body weight and serum lipid profile in obese patients treated with orlistat in addition to a hypocaloric diet: a systematic review of randomized clinical trials. *Am J Clin* 80(6): 1461-1468.
39. Padwal RS, Rucker D, Li SK, Curioni C, Lau DC (2003). Long-term pharmacotherapy for obesity and overweight. *Cochrane Database Syst Rev* (4): doi: 10.1002/14651858.CD004094.pub2.
40. Sahebkar A, Simental-Mendia LE, Reiner Ž, Kovanen PT, Simental-Mendia M, Bianconi V, Pirro M (2017). Effect of orlistat on plasma lipids and body weight: a systematic review and meta-analysis of 33 randomized controlled trials. *Pharmacol Res* 122: 53-65.
41. Lonneman Jr DJ, Rey JA, McKee BD (2013). Phentermine/Topiramate extended-release capsules (qsymia) for weight loss. *Pharm Ther* 38(8): 446.
42. Gustafson A, King C, Rey JA (2013). Lorcaserin (Belviq): a selective serotonin 5-HT_{2C} agonist in the treatment of obesity. *PharmTher* 38(9): 525.
43. Chan E, He Y, Chui C, Wong A, Lau W, Wong I (2013). Efficacy and safety of lorcaserin in obese adults: a meta-analysis of 1-year randomized controlled trials (RCTs) and narrative review on short-term RCTs. *Obes Rev* 14(5): 383-392.
44. Sherman MM, Ungureanu S, Rey JA (2016). Naltrexone/bupropion ER (Contrave): newly approved treatment option for chronic weight management in obese adults. *Pharm Ther* 41(3): 164.
45. Singh AK, Singh R (2020). Pharmacotherapy in obesity: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of anti-obesity drugs. *Expert Rev Clin Pharmacol* 13(1): 53-64.
46. Van Can J, Sloth B, Jensen C, Flint A, Blaak E, Saris W (2014). Effects of the once-daily GLP-1 analog liraglutide on gastric emptying, glycemic parameters, appetite and energy metabolism in obese, non-diabetic adults. *Int J Obes* 38(6): 784-793.
47. Mehta A, Marso SP, Neeland I (2017). Liraglutide for weight management: a critical review of the evidence. *Obes Sci Pract* 3(1): 3-14.
48. Maciejewski ML, Arterburn DE, Van Scoyoc L, Smith VA, Yancy WS, Weidenbacher HJ, Livingston EH, Olsen MK (2016). Bariatric surgery and long-term durability of weight loss. *JAMA Surg* 151(11): 1046-1055.
49. Atila K (2014). Morbid obezitenin cerrahi tedavisi. *Arch Toxicol* 1(1): 23-27.

50. Liu T-T, Liu X-T, Chen Q-X, Shi Y (2020). Lipase inhibitors for obesity: A review. *Biomed Pharmacother* 128: 110314.
51. Park H, Bae SH, Park Y, Choi HS, Suh HJ (2015). Lipase-mediated lipid removal from propolis extract and its antiradical and antimicrobial activity. *J Sci Food Agric* 95(8): 1697-1705.
52. Lowe ME (2002). The triglyceride lipases of the pancreas. *J Lipid Res* 43(12): 2007-2016.
53. Sánchez J, Priego T, Palou M, Tobaruela A, Palou A, Pico C (2008). Oral supplementation with physiological doses of leptin during lactation in rats improves insulin sensitivity and affects food preferences later in life. *Endocrinology* 149(2): 733-740.
54. Mathus-Vliegen E, Van Ierland-Van Leeuwen M, Terpstra A (2004). Lipase inhibition by orlistat: effects on gall-bladder kinetics and cholecystokinin release in obesity. *Aliment Pharmacol Ther* 19(5): 601-611.
55. Dollinger LM, Howell AR (1998). A 2-methyleneoxetane analog of orlistat demonstrating inhibition of porcine pancreatic lipase. *Bioorg Med Chem Lett* 8(8): 977-978.
56. Weber C, Tam Y, Schmidtke-Schrezenmeier G, Jonkmann J, Van Brummelen P (1996). Effect of the lipase inhibitor orlistat on the pharmacokinetics of four different antihypertensive drugs in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 51(1): 87-90.
57. Feingold KR (2020). Obesity and dyslipidemia. *Endotext* [Online]. Available from: <https://europepmc.org/article/NBK/nbk305895> (Accessed 3 March 2024).
58. Vekic J, Zeljkovic A, Stefanovic A, Jelic-Ivanovic Z, Spasojevic-Kalimanovska V (2019). Obesity and dyslipidemia. *Metabolism* 92: 71-81.
59. Klop B, Elte JWF, Castro Cabezas M (2013). Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients* 5(4): 1218-1240.
60. Franssen R, Monajemi H, Stroes ES, Kastelein JJ (2011). Obesity and dyslipidemia. *Med Clin North Am* 95(5): 893-902.
61. Goldberg IJ, Eckel RH, Abumrad NA (2009). Regulation of fatty acid uptake into tissues: lipoprotein lipase-and CD36-mediated pathways. *J Lipid Res* 50: S86-S90.
62. McQuaid SE, Hodson L, Neville MJ, Dennis AL, Cheeseman J, Humphreys SM, Ruge T, Gilbert M, Fielding BA, Frayn KN (2011). Downregulation of adipose tissue fatty acid trafficking in obesity: a driver for ectopic fat deposition? *Diabetes* 60(1): 47-55.

63. Karpe F, Dickmann JR, Frayn KN (2011). Fatty acids, obesity, and insulin resistance: time for a reevaluation. *Diabetes* 60(10): 2441-2449.
64. Ooi EM, Barrett PHR, Chan DC, Watts GF (2008). Apolipoprotein C-III: understanding an emerging cardiovascular risk factor. *Clin Sci* 114(10): 611-624.
65. Goldstein JL, Brown MS (2009). The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 29(4): 431-438.
66. Lambert G, Sjouke B, Choque B, Kastelein JJ, Hovingh GK (2012). The PCSK9 decade: thematic review series: new lipid and lipoprotein targets for the treatment of cardiometabolic diseases. *J Lipid Res* 53(12): 2515-2524.
67. Abumrad NA, Davidson NO (2012). Role of the gut in lipid homeostasis. *Physiol Rev* 92(3): 1061-1085.
68. Klop B, Wouter Jukema J, Rabelink TJ, Castro Cabezas M (2012). A physician's guide for the management of hypertriglyceridemia: The etiology of hypertriglyceridemia determines treatment strategy. *Panminerva Med* 54(2): 91.
69. Sener S (2020). Bazı *Cirsium* Mill. (Asteraceae) türleri üzerinde farmakognozik araştırmalar. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Anabilim Dalı, Ankara.
70. Magkos F, Fabbrini E, Mohammed BS, Patterson BW, Klein S (2010). Increased whole-body adiposity without a concomitant increase in liver fat is not associated with augmented metabolic dysfunction. *Obesity* 18(8): 1510-1515.
71. Dimitriadis G, Mitrou P, Lambadiari V, Maratou E, Raptis SA (2011). Insulin effects in muscle and adipose tissue. *Diabetes Res Clin Pract* 93: S52-S59.
72. Haas ME, Attie AD, Biddinger SB (2013). The regulation of ApoB metabolism by insulin. *J Clin Endocrinol Metab* 24(8): 391-397.
73. Natarajan P, Ray KK, Cannon CP (2010). High-density lipoprotein and coronary heart disease: current and future therapies. *J Am Coll Cardiol* 55(13): 1283-1299.
74. Capurso C, Capurso A (2012). From excess adiposity to insulin resistance: the role of free fatty acids. *Vasc Pharmacol* 57(2-4): 91-97.
75. Engin A (2017). The Pathogenesis of Obesity-Associated Adipose Tissue Inflammation. In: Engin A (eds) *Obesity and Lipotoxicity. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 960. Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-319-48382-59.
76. Samuel VT, Shulman GI (2016). The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. *J Clin Invest* 126(1): 12-22.

77. Lönnqvist F (1996). The obese (ob) gene and its product leptin a new route toward obesity treatment in man? *Int J Med* 89(5): 327–332.
78. Iikuni N, Kwan Lam QL, Lu L, Matarese G, Cava AL (2008). Leptin and inflammation. *Curr Immunol Rev* 4(2): 70-79.
79. Kwon H, Pessin JE (2013). Adipokines mediate inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol* 4: 71.
80. Leguisamo NM, Lehnen AM, Machado UF, Okamoto MM, Markoski MM, Pinto GH, Schaan BD (2012). GLUT4 content decreases along with insulin resistance and high levels of inflammatory markers in rats with metabolic syndrome. *Cardiovasc Diabetol* 11(1): 1-10.
81. Baker RG, Hayden MS, Ghosh S (2011). NF- κ B, inflammation, and metabolic disease. *Cell Metab* 13(1): 11-22.
82. Rehman K, Akash MSH (2016). Mechanisms of inflammatory responses and development of insulin resistance: how are they interlinked? *J Biomed Sci* 23(1): 1-18.
83. Schindler M, Pendzialek M, Grybel KJ, Seeling T, Gürke J, Fischer B, Navarrete Santos A (2017). Adiponectin stimulates lipid metabolism via AMPK in rabbit blastocysts. *Human Reproduction* 32(7): 1382-1392.
84. Lihn A, Pedersen SB, Richelsen B (2005). Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obes Rev* 6(1): 13-21.
85. Turer A, Scherer P (2012). Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia* 55(9): 2319-2326.
86. Mahapatra DK, Asati V, Bharti SK (2015). Chalcones and their therapeutic targets for the management of diabetes: structural and pharmacological perspectives. *Eur J Med Chem* 92: 839-865.
87. Gaonkar SL, Vignesh U (2017). Synthesis and pharmacological properties of chalcones: a review. *Rev Chem Intermed* 43(11): 6043-6077.
88. Gupta S, Maurya P, Upadhyay A, Kushwaha P, Krishna S, Siddiqi MI, Sashidhara KV, Banerjee D (2018). Synthesis and bio-evaluation of indole-chalcone based benzopyrans as promising antilipase and antiproliferative agents. *Eur J Med Chem* 143: 1981-1996.
89. Sahu N, Balbhadra S, Choudhary J, Kohli D (2012). Exploring pharmacological significance of chalcone scaffold: a review. *Curr Med Chem* 19(2): 209-225.

90. Rammohan A, Reddy JS, Sravya G, Rao CN, Zyryanov GV (2020). Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: a review. *Environ Chem Lett* 18(2): 433-458.
91. Kar Mahapatra D, Asati V, Bharti SK (2019). An updated patent review of therapeutic applications of chalcone derivatives (2014-present). *Expert Opin Ther Pat* 29(5): 385-406.
92. Andersen OM, Markham KR (2005). *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications* CRC press, London, Page: 1006.
93. Nakayama T, Sato T, Fukui Y, Yonekura-Sakakibara K, Hayashi H, Tanaka Y, Kusumi T, Nishino T (2001). Specificity analysis and mechanism of aurone synthesis catalyzed by aureusidin synthase, a polyphenol oxidase homolog responsible for flower coloration. *FEBS letters* 499(1-2): 107-111.
94. Tomasch M, Schwed JS, Weizel L, Stark H (2012). Novel chalcone-based fluorescent human histamine H3 receptor ligands as pharmacological tools. *Front Syst Neurosci* 6: 14.
95. Yun SW, Kang NY, Park SJ, Ha HH, Kim YK, Lee JS, Chang YT (2014). Diversity oriented fluorescence library approach (DOFLA) for live cell imaging probe development. *Acc Chem Res* 47(4): 1277-1286.
96. Zhou B, Jiang P, Lu J, Xing C (2016). Characterization of the fluorescence properties of 4-dialkylaminochalcones and investigation of the cytotoxic mechanism of chalcones. *Arch Pharm* 349(7): 539-552.
97. Watanabe H, Saji H, Ono M (2018). Novel fluorescence probes based on the chalcone scaffold for in vitro staining of β -amyloid plaques. *Bioorg Med Chem Lett* 28(19): 3242-3246.
98. Yerragunta V, Kumaraswamy T, Suman D, Anusha V, Patil P, Samhitha T (2013). A review on Chalcones and its importance. *PharmaTutor* 1(2): 54-59.
99. Rateb NM, Zohdi HF (2009). Atom-efficient, solvent-free, green synthesis of chalcones by grinding. *Synth Commun* 39(15): 2789-2794.
100. Radhakrishnan SK, Shimmom RG, Conn C, Baker AT (2016). Inhibitory kinetics of azachalcones and their oximes on mushroom tyrosinase: a facile solid-state synthesis. *Chem Biodivers* 13(5): 531-538.

101. Arslan T, Celik G, Celik H, Şentürk M, Yaylı N, Ekinçi D (2016). Synthesis and biological evaluation of novel bischalcone derivatives as carbonic anhydrase inhibitors. *Arch Pharm* 349(9): 741-748.
102. Gupta P, Mahajan A (2019). Sustainable approaches for steroid synthesis. *Environ Chem Lett* 17(2): 879-895.
103. Ashok D, Ravi S, Ganesh A, Lakshmi BV, Adam S, Murthy S (2016). Microwave-assisted synthesis and biological evaluation of carbazole-based chalcones, aurones and flavones. *Med Chem Res* 25(5): 909-922.
104. Nasir Abbas Bukhari S, Jasamai M, Jantan I (2012). Synthesis and biological evaluation of chalcone derivatives (mini review). *Mini-Rev Med Chem* 12(13): 1394-1403.
105. Tran N, Drogui P, Brar SK (2015). Sonochemical techniques to degrade pharmaceutical organic pollutants. *Environ Chem Lett* 13(3): 251-268.
106. Kumar A, Sharma S, Tripathi VD, Srivastava S (2010). Synthesis of chalcones and flavanones using Julia–Kocienski olefination. *Tetrahedron* 66(48): 9445-9449.
107. K Sahu N, S Balbhadra S, Choudhary J, V Kohli D (2012). Exploring pharmacological significance of chalcone scaffold: a review. *Curr Med Chem* 19(2): 209-225.
108. Navarini ALF, Chiaradia LD, Mascarello A, Fritzen M, Nunes RJ, Yunes RA, Creczynski-Pasa TB (2009). Hydroxychalcones induce apoptosis in B16-F10 melanoma cells via GSH and ATP depletion. *Eur J Med Chem* 44(4): 1630-1637.
109. Romagnoli R, Baraldi PG, Carrion MD, Cruz-Lopez O, Cara CL, Balzarini J, Hamel E, Canella A, Fabbri E, Gambari R (2009). Hybrid α -bromoacryloylamido chalcones. Design, synthesis and biological evaluation. *Bioorg Med Chem Lett* 19(7): 2022-2028.
110. Szliszka E, Czuba ZP, Mazur B, Sedek L, Paradysz A, Krol W (2009). Chalcones enhance TRAIL-induced apoptosis in prostate cancer cells. *Int J Mol Sci* 11(1): 1-13.
111. Sharma A, Chakravarti B, Gupt MP, Siddiqui JA, Konwar R, Tripathi RP (2010). Synthesis and anti breast cancer activity of biphenyl based chalcones. *Bioorg Med Chem* 18(13): 4711-4720.
112. Wang Y, Chan FL, Chen S, Leung LK (2005). The plant polyphenol butein inhibits testosterone-induced proliferation in breast cancer cells expressing aromatase. *Life Sci* 77(1): 39-51.

113. Simirgiotis MJ, Adachi S, To S, Yang H, Reynertson KA, Basile MJ, Gil RR, Weinstein IB, Kennelly EJ (2008). Cytotoxic chalcones and antioxidants from the fruits of *Syzygium samarangense* (Wax Jambu). *Food Chem* 107(2): 813-819.
114. Nishimura R, Tabata K, Arakawa M, Ito Y, Kimura Y, Akihisa T, Nagai H, Sakuma A, Kohno H, Suzuki T (2007). Isobavachalcone, a chalcone constituent of *Angelica keiskei*, induces apoptosis in neuroblastoma. *Biol Pharm Bull* 30(10): 1878-1883.
115. Nakamura C, Kawasaki N, Miyataka H, Jayachandran E, Kim IH, Kirk KL, Taguchi T, Takeuchi Y, Hori H, Satoh T (2002). Synthesis and biological activities of fluorinated chalcone derivatives. *Bioorg Med Chem* 10(3): 699-706.
116. Gacche R, Khsirsagar M, Kamble S, Bandgar B, Dhole N, Shisode K, Chaudhari A (2008). Antioxidant and anti-inflammatory related activities of selected synthetic chalcones: structure–activity relationship studies using computational tools. *Biol Pharm Bull* 56(7): 897-901.
117. Meng CQ, Ni L, Worsencroft KJ, Ye Z, Weingarten MD, Simpson JE, Skudlarek JW, Marino EM, Suen K-L, Kunsch C (2007). Carboxylated, heteroaryl-substituted chalcones as inhibitors of vascular cell adhesion molecule-1 expression for use in chronic inflammatory diseases. *J Med Chem* 50(6): 1304-1315.
118. Lee SH, Sohn DH, Jin XY, Kim SW, Choi SC, Seo GS (2007). 2', 4', 6'-Tris (methoxymethoxy) chalcone protects against trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis and blocks tumor necrosis factor- α -induced intestinal epithelial inflammation via heme oxygenase 1-dependent and independent pathways. *Biochem Pharmacol* 74(6): 870-880.
119. Zarghi A, Zebardast T, Hakimion F, Shirazi FH, Rao PP, Knaus EE (2006). Synthesis and biological evaluation of 1, 3-diphenylprop-2-en-1-ones possessing a methanesulfonamido or an azido pharmacophore as cyclooxygenase-1/-2 inhibitors. *Bioorg Med Chem* 14(20): 7044-7050.
120. Chiaradia LD, Dos Santos R, Vitor CE, Vieira AA, Leal PC, Nunes RJ, Calixto JB, Yunes RA (2008). Synthesis and pharmacological activity of chalcones derived from 2, 4, 6-trimethoxyacetophenone in RAW 264.7 cells stimulated by LPS: Quantitative structure–activity relationships. *Bioorg Med Chem* 16(2): 658-667.
121. Rao YK, Fang S-H, Tzeng Y-M (2009). Synthesis and biological evaluation of 3', 4', 5'-trimethoxychalcone analogues as inhibitors of nitric oxide production and tumor cell proliferation. *Bioorg Med Chem* 17(23): 7909-7914.

122. Yang H-M, Shin H-R, Cho S-H, Bang S-C, Song G-Y, Ju J-H, Kim M-K, Lee S-H, Ryu J-C, Kim Y (2007). Structural requirement of chalcones for the inhibitory activity of interleukin-5. *Bioorg Med Chem* 15(1): 104-111.
123. Sashidhara KV, Kumar M, Modukuri RK, Sonkar R, Bhatia G, Khanna A, Rai S, Shukla R (2011). Synthesis and anti-inflammatory activity of novel biscoumarin–chalcone hybrids. *Bioorg Med Chem Lett* 21(15): 4480-4484.
124. Zhao F, Nozawa H, Daikonnya A, Kondo K, Kitanaka S (2003). Inhibitors of nitric oxide production from hops (*Humulus lupulus* L.). *Biol Pharm Bull* 26(1): 61-65.
125. Jeon K-H, Lee E, Jun K-Y, Eom J-E, Kwak SY, Na Y, Kwon Y (2016). Neuroprotective effect of synthetic chalcone derivatives as competitive dual inhibitors against μ -calpain and cathepsin B through the downregulation of tau phosphorylation and insoluble A β peptide formation. *Eur J Med Chem* 121: 433-444.
126. Padhye S, Ahmad A, Oswal N, Dandawate P, Rub RA, Deshpande J, Swamy KV, Sarkar FH (2010). Fluorinated 2'-hydroxychalcones as garcinol analogs with enhanced antioxidant and anticancer activities. *Bioorg Med Chem Lett* 20(19): 5818-5821.
127. Cheng ZJ, Lin CN, Hwang TL, Teng CM (2001). Broussouchalcone A, a potent antioxidant and effective suppressor of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-activated macrophages. *Biochem Pharmacol* 61(8): 939-946.
128. Aoki N, Muko M, Ohta E, Ohta S (2008). C-geranylated chalcones from the stems of *Angelica keiskei* with superoxide-scavenging activity. *J Nat Prod* 71(7): 1308-1310.
129. Rao GV, Swamy BN, Chandregowda V, Reddy GC (2009). Synthesis of ($\pm$) Abyssinone I and related compounds: Their anti-oxidant and cytotoxic activities. *Eur J Med Chem* 44(5): 2239-2245.
130. Vogel S, Ohmayer S, Brunner G, Heilmann J (2008). Natural and non-natural prenylated chalcones: synthesis, cytotoxicity and anti-oxidative activity. *Bioorg Med Chem* 16(8): 4286-4293.
131. Agnihotri VK, ElSohly HN, Khan SI, Smillie TJ, Khan IA, Walker LA (2008). Antioxidant constituents of *Nymphaea caerulea* flowers. *Phytochem* 69(10): 2061-2066.
132. Kromann H, Larsen M, Boesen T, Schønning K, Nielsen SF (2004). Synthesis of prenylated benzaldehydes and their use in the synthesis of analogues of licochalcone A. *Eur J Med Chem* 39(11): 993-1000.

133. Nielsen SF, Larsen M, Boesen T, Schønning K, Kromann H (2005). Cationic chalcone antibiotics. Design, synthesis, and mechanism of action. *J Med Chem* 48(7): 2667-2677.
134. Selvakumar N, Kumar GS, Azhagan AM, Rajulu GG, Sharma S, Kumar MS, Das J, Iqbal J, Trehan S (2007). Synthesis, SAR and antibacterial studies on novel chalcone oxazolidinone hybrids. *Eur J Med Chem* 42(4): 538-543.
135. Tomar V, Bhattacharjee G, Kumar A (2007). Synthesis and antimicrobial evaluation of new chalcones containing piperazine or 2, 5-dichlorothiophene moiety. *Bioorg Med Chem Lett* 17(19): 5321-5324.
136. Liu X-F, Zheng C-J, Sun L-P, Liu X-K, Piao H-R (2011). Synthesis of new chalcone derivatives bearing 2, 4-thiazolidinedione and benzoic acid moieties as potential anti-bacterial agents. *Eur J Med Chem* 46(8): 3469-3473.
137. ElSohly H, Joshi A, Nimrod A, Walker L, Clark A (2001). Antifungal chalcones from *Maclura tinctoria*. *Planta Med* 67(01): 87-89.
138. Lopez SN, Castelli MV, Zacchino SA, Domínguez JN, Lobo G, Charris-Charris J, Cortés JC, Ribas JC, Devia C, Rodríguez AM (2001). In vitro antifungal evaluation and structure–activity relationships of a new series of chalcone derivatives and synthetic analogues, with inhibitory properties against polymers of the fungal cell wall. *Bioorg Med Chem* 9(8): 1999-2013.
139. Kaveri M, Prabhakaran R, Karvembu R, Natarajan K (2005). Synthesis and spectral studies of [RuCl (CO)(L)(PPh₃)(B)](HL= 2'-hydroxychalcones and B=PPh₃, pyridine or piperidine) and their catalytic and biological applications. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 61(13-14): 2915-2918.
140. Cheenpracha S, Karalai C, Ponglimanont C, Subhadhirasakul S, Tewtrakul S (2006). Anti-HIV-1 protease activity of compounds from *Boesenbergia pandurata*. *Bioorg Med Chem* 14(6): 1710-1714.
141. Wu J-H, Wang X-H, Yi Y-H, Lee K-H (2003). Anti-AIDS agents 54. A potent anti-HIV chalcone and flavonoids from genus *Desmos*. *Bioorg Med Chem Lett* 13(10): 1813-1815.
142. Friis-Møller A, Chen M, Fursted K, Christensen SB, Kharazmi A (2002). In vitro antimycobacterial and antilegionella activity of licochalcone A from Chinese licorice roots. *Planta Med* 68(05): 416-419.

143. Lin YM, Zhou Y, Flavin MT, Zhou LM, Nie W, Chen FC (2002). Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. *Bioorg Med Chem* 10(8): 2795-2802.
144. Sivakumar P, Seenivasan SP, Kumar V, Doble M (2007). Synthesis, antimycobacterial activity evaluation, and QSAR studies of chalcone derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* 17(6): 1695-1700.
145. Sharma M, Chaturvedi V, Manju Y, Bhatnagar S, Srivastava K, Puri S, Chauhan PM (2009). Substituted quinolinyl chalcones and quinolinyl pyrimidines as a new class of anti-infective agents. *Eur J Med Chem* 44(5): 2081-2091.
146. Ajay A, Singh V, Singh S, Pandey S, Gunjan S, Dubey D, Sinha SK, Singh BN, Chaturvedi V, Tripathi R (2010). Synthesis and bio-evaluation of alkylaminoaryl phenyl cyclopropyl methanones as antitubercular and antimalarial agents. *Bioorg Med Chem* 18(23): 8289-8301.
147. Chen M, Theander TG, Christensen SB, Hviid L, Zhai L, Kharazmi A (1994). Licochalcone A, a new antimalarial agent, inhibits in vitro growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* and protects mice from *P. yoelii* infection. *Antimicrob Agents Chemother* 38(7): 1470-1475.
148. Wanare G, Aher R, Kawathekar N, Ranjan R, Kaushik NK, Sahal D (2010). Synthesis of novel α -pyranochalcones and pyrazoline derivatives as *Plasmodium falciparum* growth inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 20(15): 4675-4678.
149. Geyer JA, Keenan SM, Woodard CL, Thompson PA, Gerena L, Nichols DA, Gutteridge CE, Waters NC (2009). Selective inhibition of Pfmrk, a *Plasmodium falciparum* CDK, by antimalarial 1, 3-diaryl-2-propenones. *Bioorg Med Chem Lett* 19(7): 1982-1985.
150. Yadav N, Dixit SK, Bhattacharya A, Mishra LC, Sharma M, Awasthi SK, Bhasin VK (2012). Antimalarial activity of newly synthesized chalcone derivatives in vitro. *Chem. Biol. Drug Des* 80(2): 340-347.
151. Domínguez JN, Charris JE, Lobo G, de Domínguez NG, Moreno MaM, Riggione F, Sanchez E, Olson J, Rosenthal PJ (2001). Synthesis of quinolinyl chalcones and evaluation of their antimalarial activity. *Eur J Med Chem* 36(6): 555-560.
152. Wu X, Wilairat P, Go M-L (2002). Antimalarial activity of ferrocenyl chalcones. *Bioorg Med Chem Lett* 12(17): 2299-2302.

153. Domínguez JN, León C, Rodrigues J, Gamboa de Domínguez N, Gut J, Rosenthal PJ (2005). Synthesis and evaluation of new antimalarial phenylurenyl chalcone derivatives. *J Med Chem* 48(10): 3654-3658.
154. Domínguez JN, León C, Rodrigues J, de Domínguez NG, Gut J, Rosenthal PJ (2005). Synthesis and antimalarial activity of sulfonamide chalcone derivatives. *Il Farmaco* 60(4): 307-311.
155. Mishra N, Arora P, Kumar B, Mishra LC, Bhattacharya A, Awasthi SK, Bhasin VK (2008). Synthesis of novel substituted 1, 3-diaryl propenone derivatives and their antimalarial activity in vitro. *Eur J Med Chem* 43(7): 1530-1535.
156. Hans RH, Guantai EM, Lategan C, Smith PJ, Wan B, Franzblau SG, Gut J, Rosenthal PJ, Chibale K (2010). Synthesis, antimalarial and antitubercular activity of acetylenic chalcones. *Bioorg Med Chem Lett* 20(3): 942-944.
157. Tomar V, Bhattacharjee G, Rajakumar S, Srivastava K, Puri S (2010). Synthesis of new chalcone derivatives containing acridinyl moiety with potential antimalarial activity. *Eur J Med Chem* 45(2): 745-751.
158. Kumar R, Mohanakrishnan D, Sharma A, Kaushik NK, Kalia K, Sinha AK, Sahal D (2010). Reinvestigation of structure–activity relationship of methoxylated chalcones as antimalarials: Synthesis and evaluation of 2, 4, 5-trimethoxy substituted patterns as lead candidates derived from abundantly available natural β -asarone. *Eur J Med Chem* 45(11): 5292-5301.
159. Hayat F, Moseley E, Salahuddin A, Van Zyl RL, Azam A (2011). Antiprotozoal activity of chloroquinoline based chalcones. *Eur J Med Chem* 46(5): 1897-1905.
160. Nagai H, He JX, Tani T, Akao T (2007). Antispasmodic activity of licochalcone A, a species-specific ingredient of *Glycyrrhiza inflata* roots. *JAfr J Pharm Pharmacol* 59(10): 1421-1426.
161. Nielsen SF, Chen M, Theander TG, Kharazmi A, Christensen SB (1995). Synthesis of antiparasitic licorice chalcones. *Bioorg Med Chem Lett* 5(5): 449-452.
162. Liu M, Wilairat P, Croft SL, Tan ALC, Go ML (2003). Structure–activity relationships of antileishmanial and antimalarial chalcones. *Bioorg Med Chem* 11(13): 2729-2738.
163. Christensen SB, Ming C, Andersen L, Hjørne U, Olsen CE, Cornett C, Theander TG, Kharazmi A (1994). An antileishmanial chalcone from *Chinese licorice* roots. *Planta Med* 60(02): 121-123.

164. Narender T, Tanvir K, Rao MS, Srivastava K, Puri S (2005). Prenylated chalcones isolated from *Crotalaria* genus inhibits in vitro growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Bioorg Med Chem Lett* 15(10): 2453-2455.
165. Hermoso A, Jiménez IA, Mamani ZA, Bazzocchi IL, Piñero JE, Ravelo AG, Valladares B (2003). Antileishmanial activities of dihydrochalcones from *Piper elongatum* and synthetic related compounds. Structural requirements for activity. *Bioorg Med Chem* 11(18): 3975-3980.
166. Andrighetti-Fröhner CR, de Oliveira KN, Gaspar-Silva D, Pacheco LK, Joussef AC, Steindel M, Simões CM, de Souza AM, Magalhaes UO, Afonso IF (2009). Synthesis, biological evaluation and SAR of sulfonamide 4-methoxychalcone derivatives with potential antileishmanial activity. *Eur J Med Chem* 44(2): 755-763.
167. Nazarian Z, Emami S, Heydari S, Ardestani SK, Nakhjiri M, Poorrajab F, Shafiee A, Foroumadi A (2010). Novel antileishmanial chalconoids: Synthesis and biological activity of 1-or 3-(6-chloro-2H-chromen-3-yl) propen-1-ones. *Eur J Med Chem* 45(4): 1424-1429.
168. Torres-Santos EC, Moreira DL, Kaplan MAC, Meirelles MN, Rossi-Bergmann B (1999). Selective effect of 2', 6'-dihydroxy-4'-methoxychalcone isolated from *Piper aduncum* on *Leishmania amazonensis*. *Antimicrob Agents Chemother* 43(5): 1234-1241.
169. Enoki T, Ohnogi H, Nagamine K, Kudo Y, Sugiyama K, Tanabe M, Kobayashi E, Sagawa H, Kato I (2007). Antidiabetic activities of chalcones isolated from a Japanese Herb, *Angelica keiskei*. *J Agric Food Chem* 55(15): 6013-6017.
170. Seo WD, Kim JH, Kang JE, Ryu HW, Curtis-Long MJ, Lee HS, Yang MS, Park KH (2005). Sulfonamide chalcone as a new class of α -glucosidase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 15(24): 5514-5516.
171. Damazio RG, Zanatta AP, Cazarolli LH, Chiaradia LD, Mascarello A, Nunes RJ, Yunes RA, Silva FRMB (2010). Antihyperglycemic activity of naphthylchalcones. *Eur J Med Chem* 45(4): 1332-1337.
172. Alberton EH, Damazio RG, Cazarolli LH, Chiaradia LD, Leal PC, Nunes RJ, Yunes RA, Silva FRMB (2008). Influence of chalcone analogues on serum glucose levels in hyperglycemic rats. *Chem Biol Interact* 171(3): 355-362.

173. Na M, Jang J, Njamen D, Mbafor JT, Fomum ZT, Kim BY, Oh WK, Ahn JS (2006). Protein tyrosine phosphatase-1B inhibitory activity of isoprenylated flavonoids isolated from *Erythrina mildbraedii*. J Nat Prod 69(11): 1572-1576.
174. Yoon G, Lee W, Kim S-N, Cheon SH (2009). Inhibitory effect of chalcones and their derivatives from *Glycyrrhiza inflata* on protein tyrosine phosphatase 1B. Bioorg Med Chem Lett 19(17): 5155-5157.
175. Nakai H, Okuyama M, Kim YM, Saburi W, Wongchawalit J, Mori H, Chiba S, Kimura A (2005). Molecular analysis of α -glucosidase belonging to GH-family 31. Biologia 60(16): 131-135.
176. Arslan T, Türkoğlu EA, Şentürk M, Supuran CT (2016). Synthesis and carbonic anhydrase inhibitory properties of novel chalcone substituted benzenesulfonamides. Bioorg Med Chem Lett 26(24): 5867-5870.
177. Barfod L, Kemp K, Hansen M, Kharazmi A (2002). Chalcones from Chinese liquorice inhibit proliferation of T cells and production of cytokines. Int Immunopharmacol 2(4): 545-555.
178. Ming DS, López A, Hillhouse BJ, French CJ, Hudson JB, Towers GN (2002). Bioactive Constituents from *Iryanthera megistophylla*. J Nat Prod 65(10): 1412-1416.
179. Seo S-Y, Sharma VK, Sharma N (2003). Mushroom tyrosinase: recent prospects. J Agric Food Chem 51(10): 2837-2853.
180. Nerya O, Vaya J, Musa R, Izrael S, Ben-Arie R, Tamir S (2003). Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots. J Agric Food Chem 51(5): 1201-1207.
181. Jun N, Hong G, Jun K (2007). Synthesis and evaluation of 2', 4', 6'-trihydroxychalcones as a new class of tyrosinase inhibitors. Bioorg Med Chem 15(6): 2396-2402.
182. Seo WD, Ryu YB, Curtis-Long MJ, Lee CW, Ryu HW, Jang KC, Park KH (2010). Evaluation of anti-pigmentary effect of synthetic sulfonylamino chalcone. Eur J Med Chem 45(5).
183. Fontenele J, Leal L, Ferreira M, Silveira E, Viana G (2005). antiplatelet effect of lonchocarpin and derricin Isolated from *Lonchocarpus sericeus*. Pharm Biol 43(8): 726-731.

184. Dong X, Du L, Pan Z, Liu T, Yang B, Hu Y (2010). Synthesis and biological evaluation of novel hybrid chalcone derivatives as vasorelaxant agents. *Eur J Med Chem* 45(9): 3986-3992.
185. Yalçın C, Yılmaz Sariatın S, Çiçek Polat D (2020). Quantification of phenolic and flavonoid contents and some biological activities of *Ornithogalum sigmoideum* Freyn & Sint. *J Res Pharm* 24(4): 487-496.
186. Ellman GL, Courtney KD, Andres JV, Featherstone RM (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7(2): 88-95.
187. Masuda T, Yamashita D, Takeda Y, Yonemori S (2005). Screening for tyrosinase inhibitors among extracts of seashore plants and identification of potent inhibitors from *Garcinia subelliptica*. *Biosci Biotechnol Biochem* 69(1): 197-201.
188. Zengin G, Uysal A, Gunes E, Aktumsek A (2014). Survey of phytochemical composition and biological effects of three extracts from a wild plant (*Cotoneaster nummularia* Fisch. et Mey.): a potential source for functional food ingredients and drug formulations. *PloS One* 9(11): e113527. doi: 10.1371/journal.pone.0113527.
189. Palanisamy UD, Ling LT, Manaharan T, Appleton D (2011). Rapid isolation of geraniin from *Nephelium lappaceum* rind waste and its anti-hyperglycemic activity. *Food Chem* 127(1): 21-27.
190. Perez C (1990). Antibiotic assay by agar-well diffusion method. *Acta Biol Med Exp* 15: 113-115.
191. Kirby AJ, Schmidt RJ (1997). The antioxidant activity of Chinese herbs for eczema and of placebo herbs. *J Ethnopharmacol* 56(2): 103-108.
192. Apak R, Güçlü K, Demirata B, Özyürek M, Çelik SE, Bektaşoğlu B, Berker KI, Özyurt D (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* 12(7): 1496-1547.
193. Albayrak S, Sağdıç O, Aksoy A (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi* 26(4): 401-409.
194. Barry AL (1999). Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents: approved guideline. National Committee for Clinical Laboratory Standards National Committee for Clinical Laboratory Standards Wayne, PA.

195. Woods GL, Brown-Elliott BA, Desmond EP, Hall GS, Heifets L, Pfyffer GE, Ridderhof JC, Wallace RJ, Warren NC, Witebsky FG (2003). Susceptibility testing of mycobacteria, nocardiae, and other aerobic actinomycetes. Approved standard, NCCLS document M24-A 23: 18.
196. Sener SO, Ozgen U, Kanbolat S, Korkmaz N, Badem M, Hanci H, Dirmenci T, Arabaci T, Aliyazicioglu R, Yenilmez E (2021). Investigation of therapeutic potential of three endemic *Cirsium* species for global health problem obesity. *S Afr J Bot* 141: 243-254.
197. Climent M, Corma A, Iborra S, Velty A (2004). Activated hydrotalcites as catalysts for the synthesis of chalcones of pharmaceutical interest. *J Catal* 221(2): 474-482.
198. Li J-T, Yang W-Z, Wang S-X, Li S-H, Li T-S (2002). Improved synthesis of chalcones under ultrasound irradiation. *Ultrason Sonochem* 9(5): 237-239.
199. Mokale SN, Dube PN, Bhavale SA, Sayed I, Begum A, Nevase MC, Shelke VR, Mujaheed A (2015). Synthesis, in-vitro screening, and docking analysis of novel pyrrolidine and piperidine-substituted ethoxy chalcone as anticancer agents. *Med Chem Res* 24(5): 1842-1856.
200. Ventura TLB, Calixto SD, Abraham-Vieira BdA, Souza AMTd, Mello MVP, Rodrigues CR, Miranda LSdMe, de Souza ROMA, Leal ICR, Lasunskia EB (2015). Antimycobacterial and anti-inflammatory activities of substituted chalcones focusing on an anti-tuberculosis dual treatment approach. *Molecules* 20(5): 8072-8093.
201. Satyanarayana M, Tiwari P, Tripathi BK, Srivastava A, Pratap R (2004). Synthesis and antihyperglycemic activity of chalcone based aryloxypropanolamines. *Bioorg Med Chem* 12(5): 883-889.
202. Lahtchev K, Batovska D, St P P, Ubiyvovk V, Sibirny A (2008). Antifungal activity of chalcones: A mechanistic study using various yeast strains. *Eur J Med Chem* 43(10): 2220-2228.
203. Kim DY, Kim K-H, Kim ND, Lee KY, Han CK, Yoon JH, Moon SK, Lee SS, Seong BL (2006). Design and biological evaluation of novel tubulin inhibitors as antimitotic agents using a pharmacophore binding model with tubulin. *J Med Chem* 49(19): 5664-5670.
204. Uysal A, Zengin G, Durak Y, Aktumsek A (2016). Screening for antioxidant and antimutagenic properties of extracts from *Centaurea pterocaula* as well as their enzyme inhibitory potentials. *Marmara Pharm J* 20(3): 232-242.

205. Kocancı FG, Aslım B (2016). Structure and functions of acetylcholinesterase and acetylcholinesterase inhibitory activity of plants. *Manas J Agric Vet Life Sci* 6(1): 19-35.
206. Aslan HE, Demir Y, Özaslan MS, Türkan F, Beydemir Ş, Küfrevioğlu ÖI (2019). The behavior of some chalcones on acetylcholinesterase and carbonic anhydrase activity. *Drug Chem Toxicol* 42(6): 634-640.
207. Hasan A, Khan KM, Sher M, Maharvi GM, Nawaz SA, Choudhary M, Atta-ur-Rahman, Supuran CT (2005). Synthesis and inhibitory potential towards acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and lipoxxygenase of some variably substituted chalcones. *J Enzyme Inhib Med* 20(1): 41-47.
208. Uchida R, Ishikawa S, Tomoda H (2014). Inhibition of tyrosinase activity and melanine pigmentation by 2-hydroxytyrosol. *Acta Pharm Sin B* 4(2): 141-145.
209. Akhtar MN, Sakeh NM, Zareen S, Gul S, Lo KM, Ul-Haq Z, Shah SAA, Ahmad S (2015). Design and synthesis of chalcone derivatives as potent tyrosinase inhibitors and their structural activity relationship. *J Mol Struct* 1085: 97-103.
210. Ranjbar S, Akbari A, Edraki N, Khoshneviszadeh M, Hemmatian H, Firuzi O, Khoshneviszadeh M (2018). 6-Methoxy-3, 4-dihydronaphthalenone chalcone-like derivatives as potent tyrosinase inhibitors and radical scavengers. *ett. Drug Des. Discov* 15(11): 1170-1179.
211. Kobkeathawin T, Chantrapromma S, Suwunwong T, Rhyman L, Ramasami YSC, Ponnadurai (2021). Synthesis, molecular docking and tyrosinase inhibitory activity of the decorated methoxy sulfonamide chalcones: in vitro inhibitory effects and the possible binding mode. *Sains Malaysiana* 50(9): 2603-2614.
212. Rocha S, Sousa A, Ribeiro D, Correia CM, Silva VL, Santos CM, Silva AM, Araújo AN, Fernandes E, Freitas M (2019). A study towards drug discovery for the management of type 2 diabetes mellitus through inhibition of the carbohydrate-hydrolyzing enzymes α -amylase and α -glucosidase by chalcone derivatives. *Food Funct* 10(9): 5510-5520.
213. Saleem F, Khan KM, Chigurupati S, Solangi M, Nemala AR, Mushtaq M, Ul-Haq Z, Taha M, Perveen S (2021). Synthesis of azachalcones, their α -amylase, α -glucosidase inhibitory activities, kinetics, and molecular docking studies. *Bioorg Chem* 106: 104489.

214. Ali M, Khan M, Zaman K, Wadood A, Iqbal M, Alam A, Shah S, Rehman AU, Yousaf M, Rafique R (2021). Chalcones: as potent α -amylase enzyme inhibitors; synthesis, in vitro, and in silico studies. *Med Chem* 17(8): 903-912.
215. Kurşun-Aktar BS, Adem Ş, Tatar-Yılmaz G, Hameed ZAH, Oruç-Emre EE (2023). Investigation of α -glucosidase and α -amylase inhibitory effects of phenoxy chalcones and molecular modeling studies. *J Mol Recognit* 36(11): e3061.
216. Kaur C, Kapoor HC (2001). Antioxidants in fruits and vegetables—the millennium's health. *Int J Food Sci* 36(7): 703-725.
217. García-Fontana B, Morales-Santana S, Longobardo V, Reyes-García R, Rozas-Moreno P, García-Salcedo JA, Muñoz-Torres M (2015). Relationship between proinflammatory and antioxidant proteins with the severity of cardiovascular disease in type 2 diabetes mellitus. *Int J Mol Sci* 16(5): 9469-9483.
218. Karasu Ç (2010). Glycoxidative stress and cardiovascular complications in experimentally-induced diabetes: effects of antioxidant treatment. *Open Cardiovasc J Med* 4: 240.
219. Dal S, Sigrist S (2016). The protective effect of antioxidants consumption on diabetes and vascular complications. *Diseases* 4(3): 24.
220. Díaz-Rubio L, Hernández-Martínez R, Estolano-Cobián A, Chávez-Velasco D, Salazar-Aranda R, Waksman de Torres N, Rivero IA, García-González V, Ramos MA, Córdova-Guerrero I (2019). Synthesis, biological evaluation and docking studies of chalcone and flavone analogs as antioxidants and acetylcholinesterase inhibitors. *Appl Sci* 9(3): 410.
221. Lee YJ, Lee JH, Kim YH, Kim JH, Yu SY, Kim DB, Lee JS, Cho ML, Cho JH, Kim BK (2015). Assessment of the pectolinarin content and the radical scavenging-linked antiobesity activity of *Cirsium setidens* Nakai extracts. *Food Sci Biotechnol* 24: 2235-2243.
222. Thompson D, Edelsberg J, Colditz GA, Bird AP, Oster G (1999). Lifetime health and economic consequences of obesity. *Arch Intern Med* 159(18): 2177-2183.
223. Despres J, Moorjani S, Tremblay A, Ferland M, Lupien P, Nadeau A, Bouchard C (1989). Relation of high plasma triglyceride levels associated with obesity and regional adipose tissue distribution to plasma lipoprotein-lipid composition in premenopausal women. *Clin Invest Med* 12(6): 374-380.

224. Novelli E, Diniz Y, Galhardi C, Ebaid G, Rodrigues H, Mani F, Fernandes AAH, Cicogna AC, Novelli Filho J (2007). Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim* 41(1): 111-119.
225. Raveh O, Pinchuk I, Fainaru M, Lichtenberg D (2001). Kinetics of lipid peroxidation in mixtures of HDL and LDL, mutual effects. *Free Radic Biol Med* 31(11): 1486-1497.
226. Erhardt E, Foraita R, Pigeot I, Barba G, Veidebaum T, Tornaritis M, Michels N, Eiben G, Ahrens W, Moreno LA (2014). Reference values for leptin and adiponectin in children below the age of 10 based on the IDEFICS cohort. *Int J Obes* 38(2): S32-S38.
227. Balsan GA, Vieira JLD, Oliveira AMd, Portal VL (2015). Relationship between adiponectin, obesity and insulin resistance. *Rev Assoc Med Bras* 61: 72-80.
228. O'rourke R, Metcalf M, White A, Madala A, Winters B, Maizlin I, Jobe B, Roberts C, Slifka M, Marks D (2009). Depot-specific differences in inflammatory mediators and a role for NK cells and IFN- γ in inflammation in human adipose tissue. *Int J Obes* 33(9): 978-990.
229. Han SH, Quon MJ, Kim J-a, Koh KK (2007). Adiponectin and cardiovascular disease: response to therapeutic interventions. *J Am Coll Cardiol* 49(5): 531-538.
230. Hopkins TA, Ouchi N, Shibata R, Walsh K (2007). Adiponectin actions in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res* 74(1): 11-18.
231. Westphal SA (2008). Obesity, abdominal obesity, and insulin resistance. *Clin Cornerstone* 9(1): 23-31.
232. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM (2006). Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 444(7121): 840-846.
233. Jung UJ, Choi M-S (2014). Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci* 15(4): 6184-6223.
234. Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E (2006). The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin Endocrinol* 64(4): 355-365.
235. Vona-Davis L, Rose DP (2009). Angiogenesis, adipokines and breast cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 20(3): 193-201.
236. Wang Z, Nakayama T (2010). Inflammation, a link between obesity and cardiovascular disease. *Mediators Inflamm* 2010: 535918. doi: 10.1155/2010/535918
237. Chawla A, Nguyen KD, Goh YS (2011). Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 11(11): 738-749.

238. McArdle MA, Finucane OM, Connaughton RM, McMorrow AM, Roche HM (2013). Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. *Front Endocrinol* 4: 52.
239. Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, Vølund A, Ehses JA, Seifert B, Mandrup-Poulsen T, Donath MY (2007). Interleukin-1–receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 356(15): 1517-1526.
240. Zarrati M, Aboutaleb N, Cheshmazar E, Shoormasti RS, Razmpoosh E, Nasirinezhad F (2019). The association of obesity and serum leptin levels with complete blood count and some serum biochemical parameters in Iranian overweight and obese individuals. *Med J Islam* 33: 72.
241. Uthandi A, Ramasamy K (2011). Hepatoprotective activity of sesame meal on high fat fed wistar rats. *Int J Sci Res* 2(12): 205-211.
242. Li X, Ma Y, Xie X, Yang Y, Zheng Y (2014). Relationship between serum creatinine and obesity in children in Xinjiang, China. *Genet Mol Res* 13: 2409-2416.
243. Evans PD, McIntyre NJ, Fluck RJ, McIntyre CW, Taal MW (2012). Anthropomorphic measurements that include central fat distribution are more closely related with key risk factors than BMI in CKD stage 3. *PLoS One* 7(4): e34699.
244. Amin KA, Kamel HH, Abd Eltawab MA (2011). Protective effect of Garcinia against renal oxidative stress and biomarkers induced by high fat and sucrose diet. *Lipids Health Dis* 10(1): 1-13.
245. Goodman ZD (2014). The impact of obesity on liver histology. *Clin Liver* 18(1): 33-40
246. Nawaz S, Chinnadurai R, Al-Chalabi S, Evans P, Kalra PA, Syed AA, Sinha S (2023). Obesity and chronic kidney disease: A current review. *Obes Res Clin Pract* 9(2): 61-74.
247. D'Agati VD, Chagnac A, De Vries AP, Levi M, Porrini E, Herman-Edelstein M, Praga M (2016). Obesity-related glomerulopathy: clinical and pathologic characteristics and pathogenesis. *Nat Rev Nephrol* 12(8): 453-471.
248. Yang S, Cao C, Deng T, Zhou Z (2020). Obesity-related glomerulopathy: a latent change in obesity requiring more attention. *Kidney Blood Press Res* 45(4): 510-522.
249. Elghazaly NA, Radwan EH, Zaatout HH, Elghazaly MM, El din Allam N (2019). Beneficial effects of fennel (*Foeniculum vulgare*) in treating obesity in rats. *J Obes Manag* 1(2): 16-33.

ÖDÜLLER / TEŞVİKLER/ BURSLAR

1. 2211-A Yurt içi Genel Doktora Bursu, TUBİTAK BİDEB, 2017-Devam ediyor

HOBİLER

1. Kitap okumak





EKLER