

171857

BAZI SÜBSTİTÜE BENZİLİDENANİLİN
TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE
YAPI AYDINLATMALARI İLE MUTAJENİK,
SİTOTOKSİK VE ANTİPROLİFERATİF
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

Ecz. Yusuf ÖZKAY
Yüksek Lisans Tezi

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı
Şubat-2005

“Bu tez Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. (Komisyonun 19.04.2004 tarih ve 8/9 sayılı kararı ile kabul edilen 040309 no’lu proje)”

JÜRİ ve ENSTİTÜ ONAYI

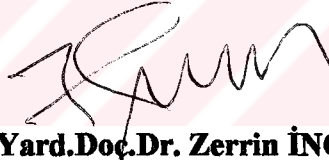
Yusuf ÖZKAY' ın “ Bazı Sübstitüe Benzilideanalın Türevlerinin Sentezleri ve Yapı Aydınlatmaları ile Mutajenik, Sitotoksik ve Antiproliferatif Etkilerinin Araştırılması Üzerine Çalışmalar” başlıklı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans tezi **02.02.2005** tarihinde, aşağıdaki juri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



ÜYE (Tez Danışmanı) : **Prof.Dr. İlhan IŞIKDAĞ**



ÜYE : **Prof.Dr. Doğu NEBİOĞLU**



ÜYE : **Yard.Doç.Dr. Zerrin İNCESU**

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun **15.01.2005** tarih ve **02/1** Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.



Enstitü Müdürü
Prof.Dr. Yusuf ÖZTÜRK



ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI SÜBSTİTÜE BENZİLİDENANİLİN TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ VE YAPI AYDINLATMALARI İLE MUTAJENİK, SİTOTOKSİK VE ANTİPİROLİFERATİF ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

Ecz. Yusuf ÖZKAY

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İlhan IŞIKDAĞ

ŞUBAT 2005

Bu tez kapsamında ana yapı olarak benzilidenanilin çekirdeği içeren toplam 10 adet bileşik, Schiff bazlarının elde edilmesinde kabul edilen standart yöntem ile sentezlenmiştir. Benzaldehid türevleri ve anilin, asidik ortamda etanol içerisinde, kondenzasyon reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Sentezlenen bileşiklerden bazıları, kristallendirilerek saflaştırılmış ve spektroskopik yöntemler yardımıyla yapıları aydınlatılmıştır. Her bir bileşiğin erime derecesi ölçülmüş ve literatür verileriyle kıyaslanmıştır.

Sentezlenen sübstitüe benzilidenanilin türevi bileşiklerin, sitotoksik etkileri MTT testi ile, mutajenik etkileri Ames *Salmonella* / mikrozom testi ile, antiproliferatif etkileri ise hücre çoğalması ölçüm kiti (BrdU kiti) kullanılarak saptanmıştır.

Çalışma kapsamında bileşiklerin fizikokimyasal özellikleri hakkında bilgi elde edebilmek için, sterik, elektronik ve bazı hidrofobik parametre değerleri, doğrudan tablo değerleri kullanılarak hesaplanmış; R_M hidrofobik parametre değerleri ise, deneysel bulgulara dayandırılarak saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sübstitüe benzilidenanilin, Schiff bazı, sitotoksik etki, MTT, mutajenik etki, Ames *Salmonella* / mikrozom testi, antiproliferatif etki.

ABSTRACT

Master of Science Thesis

THE STUDIES ON THE SYNTHESIS AND STRUCTURE ELUCIDATIONS,
INVESTIGATION OF MUTAGENIC, CYTOTOXIC AND ANTIPROLIFERATIVE
EFFECTS OF SOME SUBSTITUTED BENZYLIDENEANILINE DERIVATIVES

Pharm. Yusuf ÖZKAY

Anadolu University

Institute Of Health Science

Department Of Pharmaceutical Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. İlhan IŞIKDAĞ

FEBRUARY 2005

In this thesis, ten compounds which include benzilideneaniline nuclei were synthesized by the standart method of obtaining Schiff bases. Benzaldehyde derivatives and aniline were subjected to condensation reaction under acidic condition in ethanol. Some of the synthesized compounds were purified by recrystallization and their structure elucidations were performed by spectroscopic methods. Melting points of each compounds were measured and compared with melting points value in literature.

The cytotoxic, mutagenic and antiproliferative effects of the substituted benzylideneaniline compounds were determined by MTT, Ames Salmonella/ microzome tests and cell proliferation ELISA, BrdU kit, respectively.

In this study to obtain knowledges about physicochemical parameters of the coumpounds, steric, electronic and some hydrofobic parameter values were calculated by using table values; R_M hydrofobic parameter values were also established by experimental data.

Key Words: Substitute benzilydeneaniline, Schiff base, cytotoxic effect, MTT, mutagenic effect, Ames *Salmonella* / microzome test, antiproliferative effect.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans derslerim ve tez çalışmalarım süresince yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, anlayış ve hoşgörüsüyle çalışmalarımı destek veren tez danışmanım, Sayın Hocam Prof. Dr. İlhan IŞIKDAĞ'a, çalışmalarına katkıda bulunan sevgili hocam Doç. Dr. Kadriye Benkli'ye ve Farmasötik Kimya Anabilim Dalındaki diğer hocalarıma;

Bileşiklerin Şitotoksitite ve Antiproliferatif etki testlerini özveriyle gerçekleştiren Biyokimya Anabilim Dalı başkanı Yard. Doç. Dr. Zerrin İNCESU'ya, İbrahim HATİPOĞLU'na ve Mehmet YEŞİLKAYA'ya; Mutajenik etki testlerini gerçekleştiren Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerinden Doç. Dr. Mehtap KUTLU'ya, Araş. Gör. Gözde AYDOĞAN'a ve Araş. Gör. Volkan KILIÇ'a;

Yardım ve yakın ilgileriyle her zaman yanımda olan değerli dostlarım Ümide DEMİR'e, Nafiz Öncü CAN'a ve Özgür Devrim CAN'a;

Maddi ve Manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, sonsuz anlayış ile daima yanımda olan sevgili aileme;

Desteklerinden dolayı Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na;

En içten teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. KAYNAK BİLGİLERİ.....	3
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	54
3.1. Kullanılan kimyasal alet ve maddeler.....	54
3.1.1. Kullanılan aletler.....	54
3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler.....	55
3.2. Genel sentez yöntemi.....	56
3.3. Sentezlenen bileşiklerin analizleri.....	56
3.3.1. Erime noktası tayini.....	56
3.3.2. R _f ve R _m değerinin saptanması.....	56
3.3.3. C, H, N tayini.....	56
3.3.4. IR spektrumlarının alınması.....	57
3.3.5. NMR spektrumlarının alınması.....	57
3.3.6. MASS spektrumlarının alınması.....	57
3.4. Sentezlenen bileşiklerin mutajenitelerinin incelenmesi.....	57
3.5. Sentezlenen bileşiklerin sitotoksisitelerinin incelenmesi.....	57
3.6. Sentezlenen bileşiklerin antiproliferatif etkilerinin incelenmesi.....	57
4. DENEYSEL KISIM.....	58
4.1. Sentezlenen bileşikler.....	58
4.1.1 Benzilidenanilin.....	58
4.1.2 4-hidroksibenzilidenanilin.....	59

4.1.3 4-klorobenzilidenanilin.....	60
4.1.4 4-metilbenzilidenanilin.....	61
4.1.5 4-metoksibenzilidenanilin.....	62
4.1.6 4-nitrobenzilidenanilin.....	63
4.1.7 4-trifluorobenzilidenanilin.....	64
4.1.8 2,4-diklorobenzilidenanilin.....	65
4.1.9 N-2,4-dimetilbenzilidenanilin.....	66
4.1.10 3,4-metilendioksibenzilidenanilin.....	67
4.2. İnce tabaka kromatografisi (İ.T.K) kullanılarak yapılan çalışmalar.....:	68
4.2.1 R _f değerinin saptanması	68
4.2.2 R _M değerinin saptanması.....	68
4.3. Mutajenik etki testi.....	69
4.4. Hücre kültürlerinin hazırlanması.....	70
4.5. MTT sitotoksisite deneyi.....	70
4.6. Antiproliferatif etki testi.....	70
5. FİZİKOKİMYASAL PARAMETRELER.....	72
5.1. Hidrofobik parametreler.....	72
5.1.1. Partisyon katsayısı.....	72
5.1.2. Parakor (Par).....	75
5.1.3. Hidrofobik sübstitüent katsayısı (π).....	77
5.2. Sterik parametreler.....	78
5.2.1. Molekül ağırlığı (MW).....	78
5.2.2. Moleküler refraksiyon (Molar kırılma, MR).....	78
5.2.3. Moleküler hacim (Mv).....	81
5.2.4. Moleküler konnektivite indeksi (MCI).....	82
5.3. Elektronik parametre.....	84
5.3.1. Elektronik sübstitüent katsayısı (σ).....	84
6. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	86
6.1. Bileşiklerin sentezi.....	86
6.2. Spektral verilerin değerlendirilmesi.....	87
6.2.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	87

6.2.2 ¹ H-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi.....	88
6.2.3 Kütle (APCI) spektrumlarının değerlendirilmesi.....	91
6.3. Mutajenik etki testi sonuçlarının değerlendirilmesi.....	109
6.4. MTT toksisite testi sonuçlarının değerlendirilmesi.....	110
6.5. Antiproliferatif etki testi sonuçlarının değerlendirilmesi.....	117
7. KAYNAKLAR.....	148
ÖZGEÇMİŞ.....	167



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1: a) N-benziliden-N'-fenilhidrazin reaksiyon denklemi.....	3
b) N-benzilidenhidroksilamin reaksiyon denklemi	
Şekil 2: İminlerin genel reaksiyon denklemi.....	3
Şekil 3: Schiff bazlarının reaksiyon mekanizması.....	4
Şekil 4: Rhodopsin'in biyolojik reaksiyon denklemi.....	5
Şekil 5: Benzilidenanilin.....	6
Şekil 6: 2,4-dinitrobenzilidenanilin.....	6
Şekil 7: p-klorobenzalanilin.....	7
Şekil 8: 4-hidroksibenzilidenanilin.....	7
Şekil 9: a) p-(p-hidroksibenzilidenamino)fenol.....	8
b) N-(p-nitrobenziliden)-p-nitroanilin	
c) N-benziliden-p-toluiden	
Şekil 10: 2,4,6-triklorobenzilidenanilin.....	9
Şekil 11: a) p-benzalamino benzoikasit.....	10
b) benzal-p-iyodoanilin	
Şekil 12: a) o-nitrobenziliden-2,3,6-trimetilanilin.....	10
b) o-nitrobenziliden-2,5-dikloronitroanilin	
Şekil 13: 4-(p-nitrobenzilidenamino)benzensülfonamid.....	11
Şekil 14: N,N'-(4-nitrobenziliden)bis(2-nitroanilin).....	12
Şekil 15: 4-asetamidobenzilidenanilin.....	12
Şekil 16: p-nitrobenziliden-p-fenetiden.....	13
Şekil 17: 4-sübstitüe ve 4'-sübstitüe benzalanilin türevleri.....	13
Şekil 18: p-klorobenziliden-p'-kloroanilin.....	14
Şekil 19: Mangandioksit varlığında benzalanilin eldesi.....	14
Şekil 20: Sübstitüe benzilidenanilin-4-tiyosiyanoanilin.....	15
Şekil 21: a) N-benziliden-o-nitroanilin.....	15
b) N,N-benzilidendi(o-nitroanilin)	
Şekil 22: N,N-dibenzal-p-feniliendiamin.....	16
Şekil 23: o-anisiliden-o-anisidin.....	16
Şekil 24: N-(2-metilbenziliden)-4-tiyosiyanoanilin.....	17

Şekil 25: Bazı sübstitüe benzilidenanilin türevleri ve erime dereceleri.....	17
Şekil 26: 4-klorobenziliden-4-sübstitüe anilin.....	18
Şekil 27: Bazı aromatik Schiff bazları.....	18
Şekil 28: a) Benziliden-4-sübstitüe anilin	19
b) 4-sübstitüe benzilidenanilin	
Şekil 29: 4-(N-benzilidenamino)benzoikasit.....	19
Şekil 30: Difeniltüre ve sübstitüe benzilidenanilin eldesi.....	20
Şekil 31: 3-metoksi-4-hidroksibenzalanilin.....	20
Şekil 32: Sübstitüe tiyoüre ve sübstitüe benzilidenanilin eldesi.....	21
Şekil 33: a) N-fenil-4-sübstitüe benzamid ve 4-sübstitüe benzilidenanilin eldesi.....	22
b) N-4-sübstitüe fenilbenzamid ve benziliden-4-sübstitüe anilin eldesi	
Şekil 34: CO basıncı altında selenyum varlığında benzilidenanilin eldesi..	22
Şekil 35: Bazı Schiff bazları.....	23
Şekil 36: Bazı Schiff bazları.....	23
Şekil 37: N-(4-dimetilaminobenziliden)-4-bromoanilin.....	23
Şekil 38: Bazı sübstitüe benzilidenanilin türevleri.....	24
Şekil 39: a) 3,4-metilendioksibenzilidenanilin.....	25
b) 4-izopropilbenzilidenanilin	
c) 4-fluorobenzilidenanilin	
Şekil 40: Fenildikloroboran katalizörlüğünde benzilidenanilin türevi eldesi.....	25
Şekil 41: Borontriklorür katalizörlüğünde sübstitüe N-fenilbenzaldimin eldesi.....	26
Şekil 42: Bis[trifenilfosfin]paladyum diklorür katalizörlüğünde N-fenilbenzaldimin türevlerinin eldesi.....	26
Şekil 43: 4-sübstitüe-N-benzilidenanilin.....	27
Şekil 44: a) N-benziliden-4-nitroanilin.....	27
b) N-benziliden-4-metoksianilin	
Şekil 45: N-(p-metilfenil)iminotrietoksifosforen ile 4-nitrobenziliden-4-metilanilin eldesi.....	28
Şekil 46: Bazı benzilidenanilin türevleri.....	28

Şekil 71: a) 3-metilbenziliden-3-metilanilin.....	42
b) 2-nitrobenziliden-2-nitroanilin	
Şekil 72: N-(p-etilfenil)-p-klorobenzaldimin.....	42
Şekil 73: 2-[2-hidroksi-5-(2-butylbenzilidenamino)]benzoikasit.....	43
Şekil 74: N-(4-Siyanobenziliden)anilin.....	43
Şekil 75: N-(2-hidroksi-5-klorofenil) salisilaldimin.....	44
Şekil 76: a) 4-sübstitüe benziliden-4-etinilanilin.....	44
b) 4-etinilbenziliden-4-sübstitüe anilin	
Şekil 77: N-4-klorofenilbenzalanilin.....	45
Şekil 78: InCl ₃ katalizörlüğünde sübstitüe benzilidenanilin eldesi.....	45
Şekil 79: a) N-(o-hidroksifenil)-5-metoksisalisilaldimin.....	48
b) N-(m-hidroksifenil)-5-metoksisalisilaldimin	
Şekil 80: a) 4-nitro[N-(o-hidroksibenziliden)]anilin.....	49
b) N-(o-hidroksibenziliden)anilin	
Şekil 81: p, p'-N-sübstitüe benzilidenanilin türevleri.....	50
Şekil 82: N-sinnamiliden-2-merkptoanilin.....	50
Şekil 83: a) Benzilidenanilin.....	51
b) Salisilidenanilin	
c) N,N' Bis-(salisiliden)benzen-1,4- diamin	
d) N,N' Bis-(salisiliden)benzen-1,2-diamin	
Şekil 84: 2-hidroksi-3-metoksibenzilidenanilin ve 4' türevleri.....	51
Şekil 85: N-sübstitüe klorofenilsalisilaldimin.....	52
Şekil 86: Co ^{II} -porfrin katalizörlüğünde <i>para</i> -sübstitüe fenilazid ile imin eldesi.....	52
Şekil 87: 2-(metiltiyo)-N-sübstitüe-benzilidenanilin.....	53
Şekil 88: Sentezlenen bileşiklerin genel reaksiyon denklemi.....	86
Şekil 89: Sentezlenen bileşiklere ait reaksiyon mekanizması.....	86
Şekil 90: (<i>Z</i>) ve (<i>E</i>) Benzilidenanilin'de azometin grubunda σ- π etkileşimi ve azometin protonunun anilin protonlarına bağ uzaklığı.....	91

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1: Bazı p ve/veya p'-süstitüe benzilidenanilin türevlerinin reaksiyon süreleri, % verimleri ve erime dereceleri.....	47
Tablo 2: Bazı süstitüentlerin log P değerleri	74
Tablo 3: Atomik ve yapısal sabiteler.....	75
Tablo 3: Atomik ve yapısal sabiteler.....	76
Tablo 4: Bazı süstitüentlerin π değerleri.....	77
Tablo 5: Bazı bağların “Molar Refraksiyon” değerleri.....	80
Tablo 6: Atomik hacim değerleri.....	81
Tablo 7: Heteroatomlar için valans delta değerleri.....	83
Tablo 8: Bazı süstitüentlerin σ değerleri.....	84
Tablo 9: Sentez edilen bileşiklere ait tüm fizikokimyasal parametre değerleri.....	85
Tablo 10: Sentezlenen bileşiklerin kapalı formülleri, molekül ağırlıkları, erime dereceleri ve % verimleri.....	87

GRAFİKLER DİZİNİ**Sayfa**

Grafik 1: 2 Numaralı bileşiğe ait IR spektrumu.....	92
Grafik 2: 2 Numaralı bileşiğe 1H-NMR Spektrumu (0-11 ppm).....	93
Grafik 3: 2 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (6-8.5 ppm).....	94
Grafik 4: 2 Numaralı bileşiğe ait Kütle (APCI) spektrumu (Pozitif İyonizasyon).....	95
Grafik 5: 2 Numaralı bileşiğe ait Kütle (APCI) spektrumu (Negatif İyonizasyon).....	96
Grafik 6: 5 Numaralı bileşiğe ait IR spektrumu.....	97
Grafik 7: 5 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (2-9 ppm).....	98
Grafik 8: 5 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (6.8-8.8 ppm).....	99
Grafik 9: 7 Numaralı bileşiğe ait IR spektrumu.....	100
Grafik 10: 7 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (0-10 ppm).....	101
Grafik 11: 7 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (7-9 ppm).....	102
Grafik 12: 9 Numaralı bileşiğe ait IR spektrumu.....	103
Grafik 13: 9 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (1-10 ppm).....	104
Grafik 14: 9 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (1.9-3 ppm).....	105
Grafik 15: 9 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (7-9 ppm).....	106
Grafik 16: 9 Numaralı bileşiğe ait Kütle (APCI) spektrumu (Pozitif İyonizasyon).....	107
Grafik 17: 9 Numaralı bileşiğe ait Kütle (APCI) spektrumu (Negatif İyonizasyon).....	108
Grafik 18: 1 Numaralı Bileşiğin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi.....	118
Grafik 19: 1 Numaralı Bileşiğin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre çoğalması üzerine etkisinin belirlenmesi.....	119
Grafik 20: 2 Numaralı Bileşiğin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi.....	120

Grafik 21: 2 numaralı bileşimin(a) metabolik aktivasyonsuz,(b) metabolik aktivasyonlu ortamda TA 98 ve TA 100 şuşları için mutajenik etki grafiği.....	126
Grafik 22: 2 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre çoğalması üzerine etkisinin belirlenmesi.....	127
Grafik 23: 3 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi.....	128
Grafik 24: 3 numaralı bileşimin(a) metabolik aktivasyonsuz,(b) metabolik aktivasyonlu ortamda TA 98 ve TA 100 şuşları için mutajenik etki grafiği.....	129
Grafik 25: 3 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre çoğalması üzerine etkisinin belirlenmesi.....	130
Grafik 26: 4 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi.....	131
Grafik 27: 4 numaralı bileşimin(a) metabolik aktivasyonsuz,(b) metabolik aktivasyonlu ortamda TA 98 ve TA 100 şuşları için mutajenik etki grafiği.....	132
Grafik 28: 4 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre çoğalması üzerine etkisinin belirlenmesi.....	133
Grafik 29: 5 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi.....	134
Grafik 30: 5 numaralı bileşimin(a) metabolik aktivasyonsuz,(b) metabolik aktivasyonlu ortamda TA 98 ve TA 100 şuşları için mutajenik etki grafiği.....	135
Grafik 31: 5 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre çoğalması üzerine etkisinin belirlenmesi.....	136
Grafik 32: 6 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi.....	137
Grafik 33: 6 numaralı bileşimin(a) metabolik aktivasyonsuz,(b) metabolik aktivasyonlu ortamda TA 98 ve TA 100 şuşları için mutajenik etki grafiği.....	138

Grafik 34: 6 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre çoğalması üzerine etkisinin belirlenmesi.....	139
Grafik 35: 7 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi.....	140
Grafik 36: 7 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre çoğalması üzerine etkisinin belirlenmesi.....	141
Grafik 37: 8 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi.....	142
Grafik 38: 8 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre çoğalması üzerine etkisinin belirlenmesi.....	143
Grafik 39: 9 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi.....	144
Grafik 40: 9 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre çoğalması üzerine etkisinin belirlenmesi.....	145
Grafik 41: 10 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi.....	146
Grafik 42: 10 Numaralı Bileşimin A 549 (a) ve HeLa (b) hücre çoğalması üzerine etkisinin belirlenmesi.....	147

KISALTMALAR DİZİNİ

A-549	: İnsan akciğer kanser hücre hattı
DNA	: Deoksi ribo nükleik asid
DMEM	: Dulbecco's modification of Eagles
DMSO	: Dimetil sülfoksit
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asid
FBS	: Fetal Bovine serum
HeLa	: İnsan uterus karsinoma hücresi
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
MASS	: Kütle spektrometresi
MCI	: Moleküler konnektivite indeksi
MR	: Moleküler refraksiyon
MTT	: [3-(4,5-Dimetiltiyazolil-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür]
Mv	: Moleküler hacim
MW	: Moleküler Ağırlık
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NMR	: Nükleer magnetik rezonans
Rf	: Tutunma faktörü
R _M	: Absorbabilite katsayısı
TMS	: Trimetil silan
UV	: Ultraviyole

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Canlılık birimi olan her hücre meydana gelir, gelişir, olgunlaşır, yaşlanır ve ölür. İnsanlarda hücre çoğalması ve hücre ölümü pozitif ve negatif dönüşümler olarak tanımlanan iki periyot tarafından kontrol edilir^[1,2].

Tek hücrelilerin üremeleri ve çok hücreli bir organizmanın büyüme, gelişme ve çoğalması hücre bölünmesiyle sağlanır. Hücre çoğalmasında temel nokta önce DNA'nın replikasyonu ve sonra bunun sitoplazma bölünmesiyle iki yavru hücreye aktarılmasıdır.

Organizmadaki hücrelerin fizyolojik yada fizyolojik olmayan nedenlere bağlı olarak, komşu hücrelerden ayrılıp bir takım değişikliklerden sonra yok olmasına apoptoz denir^[1]. Apoptoz, organizmada dokuların gelişmelerinde ve normal şekilde işlevini sürdürmelerinde önemli rol oynar. Hücrelerin çoğalması ile apoptoz arasındaki dengesizlik kanser gibi çok ciddi hastalıklara neden olabilir^[3].

Kanser hücresel davranışların değişimi sonucu meydana gelen bir hastalıktır. Kanser temelini oluşturan asıl neden, hücrelerin genetik bilgilerinin değişmesidir. Bu değişim sonucu hücreler kontrol edilemeyen bir biçimde malign tümörleri oluşturmak üzere çoğalırlar. Malign tümörler çok çabuk büyümeye yatkın hücrelerdir ve anormal büyüme sonucu normal doku ve organlara zarar verirler. Normal hücreler kromozomlarının eşleşmesi sonucu büyümelerini hem *in vivo* hem de *in vitro* ortamda duyarlı bir biçimde sürdürürken, kanserli hücreler genellikle kromozomlarda meydana gelen bir bozukluk sonucu anormal olarak hızlı bir şekilde büyürler^[4].

Hücrelerin kromozomlarında meydana gelen bozukluklar mutasyon oluşumuna neden olabilir. Mutasyon hücre genetik materyalindeki devamlı değişimdir ve mutasyona neden olan maddelere mutajen denilmektedir. Son yıllarda, karsinojenik olan bir çok maddenin mutajenik; benzer şekilde mutajenik olan bir çok maddenin de karsinojenik olduğu gösterilmiştir. Kimyasal maddelerin mutajenik etkileri ile karsinojenik etki potansiyelleri arasındaki bu kuvvetli ilişkinin olması, mutajenezis testlerini, kimyasal maddelerin karsinojenik

risklerinin araştırılmasında tarama testleri olarak kullanılması sonucunu doğurmuştur^[5].

Günümüzde kanserin herhangi bir şeklini tedavi edecek kimyasal bir bileşik bilinmemektedir. Kanser kemoterapisinde kullanılan ilaçlar ağrıyı azaltma, yaşam süresini bir miktar uzatma ve yaşam kalitesini arttırmaya yöneliktir^[6].

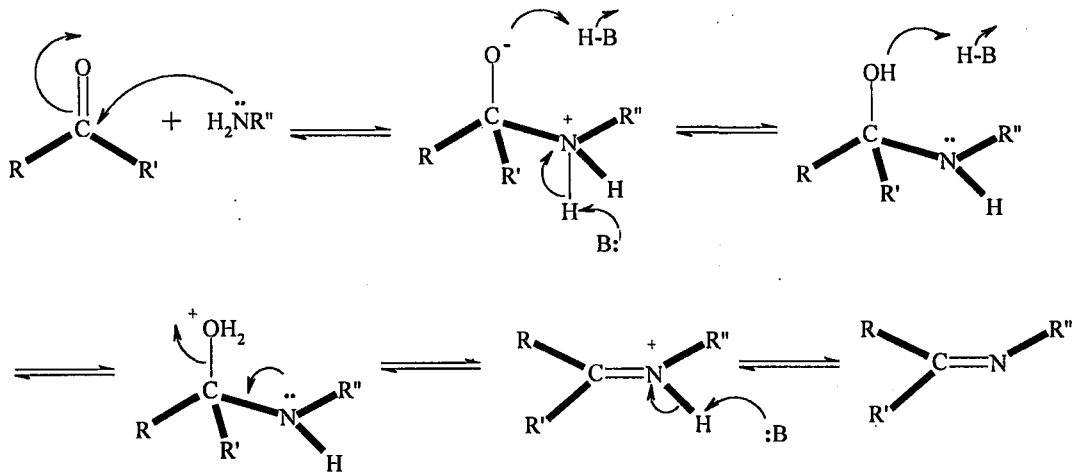
Schiff bazlarının, aktif metilen grubu taşıyan bileşiklerle reaksiyonu sonucu antineoplastik etki ortaya koydukları bildirilmiştir^[7]. Bu çalışmanın amacı Schiff bazı olarak da bilinen benzilidenanilin türevlerinin, sitotoksik ve mutajenik aktiviteleri ile antiproliferatif etkilerinin araştırılmasıdır. Literatürde özellikle antiproliferatif etkiye yönelik bir kayıt bulunmamaktadır.

Tez kapsamında yapılan çalışmalar bu grup bileşiklerin ileride ilaç olarak kullanılma şanslarını arttırmaktadır. Bu amaçla sentezlenen bazı süstitüe benzilidenanilin türevlerinin, sitotoksik etkileri MTT testi ile, mutajenik etkileri Ames *Salmonella* / mikrozom testi ile, antiproliferatif etkileri ise hücre çoğalması ölçüm kiti (BRDU kiti) kullanılarak belirlenmiştir.

İmin oluşumu çok düşük ve çok yüksek pH larda yavaştır ve genellikle pH 4-5'de en hızlı şekilde yürür. İmin oluşumu için önerilen reaksiyon mekanizması göz önünde bulundurulursa asit katalizörün niçin yararlı olduğu anlaşılabilir. Protonlanmış aminoalkol'ün iminyum iyonu haline dönüşmek için su molekülü kaybettiği basamak reaksiyon mekanizmasında önemli bir basamaktır. Alkol grubunun protonlanmasıyla asit, zor kopan grubu (-OH) kolay kopan grup (-OH₂⁺) şekline dönüştürür.

Hidronyum iyon konsantrasyonunun çok yüksek olduğu durumda reaksiyon daha yavaş yürür çünkü bu ihtiyaç duyulan nükleofil konsantrasyonun azalmasının bir etkisidir. Hidronyum iyon konsantrasyonunun çok düşük olduğu durumda da reaksiyon yavaşlar çünkü protonlanmış aminoalkol konsantrasyonu azalır. pH 4-5 en etkili aralıktır^[10].

Aldehidler ve ketonlar; karbonil karbonlarının nükleofilik atağa yatkın olması nedeniyle yüksek derecede aktiflik gösterirler. Amonyak ve amonyağın primer amin türevleri, öncelikle karbonil karbonuna atak ederek reaksiyonu başlatırlar, bunu hidroksil grubu taşıyan karbona, azotun amin oluşturmak üzere bağlanmasını sağlayan hidrojen transferi takip eder. Asidik şartlarda hidroksil grubu protonlanır ve daha sonra hedeflenen ürünün asit konjugatını oluşturmak için su kaybı meydana gelir. Son olarak hidrojen iyonu transferiyle Schiff bazı meydana gelir.

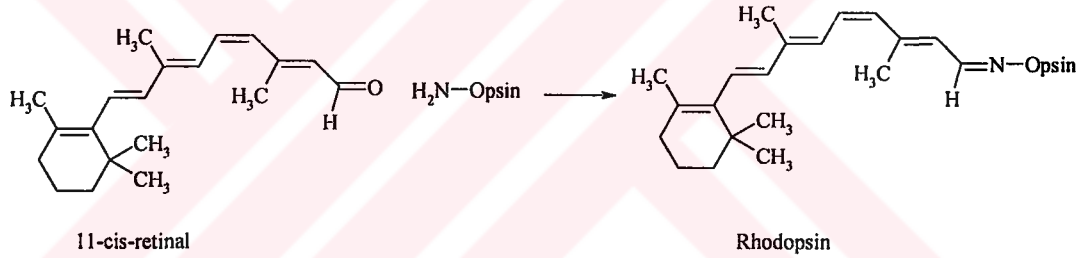


Şekil 3: Schiff bazlarının reaksiyon mekanizması

Kondensasyon basamağında su oluşumu için asit katalizör kullanılır. Reaksiyon mekanizmasında gösterilen bütün basamaklar geri dönüşümlüdür. Prensip olarak, reaksiyon sonucu açığa çıkan su Schiff bazı ile birlikte aldehid yada ketona ve amine geri dönüşecektir. Ancak, aromatik başlangıç maddelerinin kullanılması ile oluşan ürünler, alifatik başlangıç maddeleriyle oluşan ürünlerden daha kararlıdır. Ketonlar bu reaksiyona aldehidler kadar yatkın değildir.

Sentetik olarak bakıldığında, iminler komplike aminlerin sentezlerinde önemli bileşiklerdir. Schiff bazları hidrojenlenerek aminlere indirgenebilirler. Biyolojik yönden bakıldığında ise; bazı iminler omurgalıların görme gücü açısından önemlidir. Örneğin, opsin adlı proteinin amino asit kalıntılarındaki amino grubuna 11-cis-retinal imin oluşturacak şekilde bağlanarak rhodopsin adlı maddeyi oluşturur^[11].

Rhodopsin omurgalıların retinalarında karanlık ve aydınlığı görme gücünden sorumlu bir pigmenttir^[12].

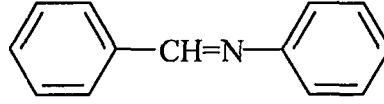


Şekil 4: Rhodopsin'in biyolojik reaksiyon denklemi

Aldiminler, siklik katılım, halka kapanması ve yer değiştirme reaksiyonlarıyla bir çok sayıda endüstriyel bileşiğin oluşumunda, genellikle başlangıç maddesi olarak kullanılırlar^[13].

İmin fonksiyonel grubu, Schiff bazlarının temel yapısını oluşturur. Bu fonksiyonel grup karbonil grubunun koruyucusu gibi davranır ve stereoselektif transformasyonda önemli rol oynar. C=N bağının transformasyon reaksiyonlarında, seçici ve uyumlu reaksiyon ajanlarının geliştirilmesi için çalışmalar yapılmaktadır^[14].

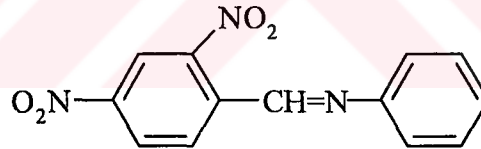
1910 yılında; Sudborough ve arkadaşı, amino grubu (-NH₂) taşıyan bileşiklerin katılım reaksiyonlarını incelemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucu, sarı renkli benzilidenanilin (E.D. 112 °C), kahverengi-sarı renkli benziliden- α -naftilamin ve benziliden- β -naftilamin sentezlenmiştir^[15].



Şekil 5: Benzilidenanilin

1912 yılında; Law yaptığı çalışmada, sentezlediği bazı benzalanilin türevlerinin erime derecelerini bildirmiştir. Sentezlediği 4-süstitüe benzalanilin türevleri; p-tolilidenanilin, p-klorobenzilidenanilin (E.D. 65,5-66 °C) olarak verilmiştir^[16].

1912 yılında; Reich, 2,4-dinitrobenzilidenanilin'i potasyumpermanganat çözeltisi ile muamele ederek %80 verimle, sarı iğnemsî kristaller halinde, 2,4-dinitrobenzilidenanilin (E.D. 131 °C) sentezlemiştir^[17].



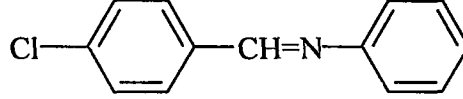
Şekil 6: 2,4-dinitrobenzilidenanilin

1927 yılında; Langman ve arkadaşları süstitüentlerin benzilidenanilin türevlerinin stabilitesine katkısı üzerine yaptıkları çalışmada, benzilidenanilin ve benzilidenanilin'in *orto*, *meta* ve *para* metoksi ile nitro türevlerini hazırlamışlardır^[18].

1925 yılında; Bogert, 1 mol benzaldehid ve 1 mol anilin'i 125 °C de 5 saat boyunca ısıtarak, %85-86 verimle benzalanilin'in sentezini gerçekleştirmiştir^[19].

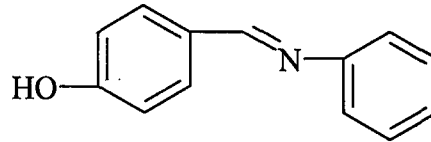
1928 yılında; Bigelow ve arkadaşı, 106 g benzaldehid ve 93 g anilin'i 165 ml etanol içerisinde 15 dakika boyunca ısıtarak %84-87 verimle benzalanilin elde etmiştir^[20].

1932 yılında; Bonino ve arkadaşı, bazı benzalanilin- p-klorobenzalanilin ve benzal-p-kloroanilin bileşiklerini sentezlemişler ve bu türevlerin C=N grubu ile ilgili olarak IR spektroskopisi çalışması yapmışlardır^[21].



Şekil 7: p-klorobenzalanilin

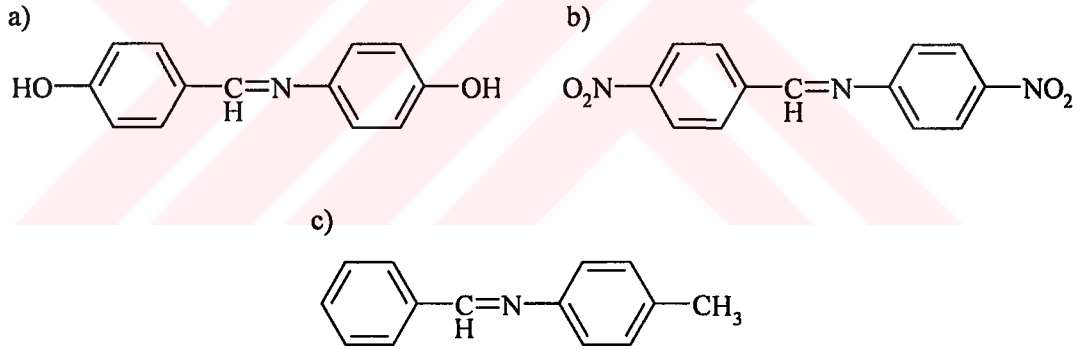
1947 yılında; Smets tarafından azometin türevlerinin UV absorpsiyonu üzerine yapılan çalışmada, çeşitli aldehid türevleri ile amin türevleri reaksiyona sokularak, bazı azometin türevleri elde edilmiştir. Sentezler sonucunda; %90 verimle benzilidenanilin (E.D. 52-53 °C), %77 verimle 4-hidroksibenzilidenanilin (E.D. 195 °C), %81 verimle 2-hidroksibenzilidenanilin (E.D.52 °C), %85 verimle 4-metoksibenzilidenanilin (E.D. 63 °C), %83 verimle 3-nitrobenzilidenanilin (E.D. 69-70 °C) ve %88 verimle 4-dimetilaminobenzilidenanilin (E.D.102 °C) elde edilmiştir.^[22]



Şekil 8: 4-hidroksibenzilidenanilin

1947 yılında; Porai-Koshits ve arkadaşları, çeşitli azometin türevlerinin sentezi için 3 farklı yöntem kullanmışlardır. İlk yöntemde, eşit miktarlarda amin ve aldehid türevleri %25-50'lik asetik asit veya %50'lik etanol içinde, 45-50 °C de birkaç dakika boyunca ısıtılmış, daha sonra soğutularak koyu sarı renkli p-

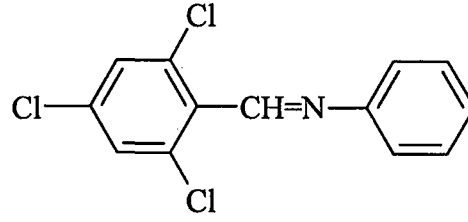
benzilidenaminofenol (E.D. 181 °C), koyu sarı renkli p-(p-hidroksibenzilidenamino) fenol (E.D. 208 °C) ve gri renkli N-benziliden-p-anisidin (E.D. 69 °C) elde edilmiştir. İkinci yöntemde, eşit miktar amin ve aldehid türevinin %96 'lık etanol içerisinde 2-3 saat kaynatılmasıyla, sarı renkli N-(p-nitrobenziliden)-p-nitroanilin (E.D. 198-200 °C), sarı renkli N-(m-nitrobenziliden)-m-nitroanilin (E.D. 153-154 °C) elde edilmiştir. Üçüncü yöntemde ise; eşit miktar amin ve aldehid türevi, herhangi bir çözücü kullanılmadan ısıtılmış, buz parçaları üzerine dökülerek renksiz N-benziliden-p-toluiden (E.D. 35 °C), sarı renkli N-benziliden-o-toluiden (E.D. 28-30 °C), renksiz N-benziliden-p-kloroanilin (E.D.62 °C), renksiz N-benziliden-m-kloroanilin (E.D. 35-38 °C), renksiz N-benziliden-o-kloroanilin (E.D. 50-52 °C), renksiz N-benzilidenanilin (E.D. 49-51 °C), sarı renkli N-(p-nitrobenziliden)anilin (E.D. 90-93 °C), altın sarısı renkli N-(benziliden)-m-nitroanilin (E.D. 71-72 °C), sarımsı renkte N-(m-nitrobenziliden)anilin (E.D. 66 °C) ve N-(p-hidroksibenziliden)anilin elde edilmiştir^[23].



Şekil 9: a) p-(p-hidroksibenzilidenamino)fenol
b) N-(p-nitrobenziliden)-p-nitroanilin
c) N-benziliden-p-toluiden

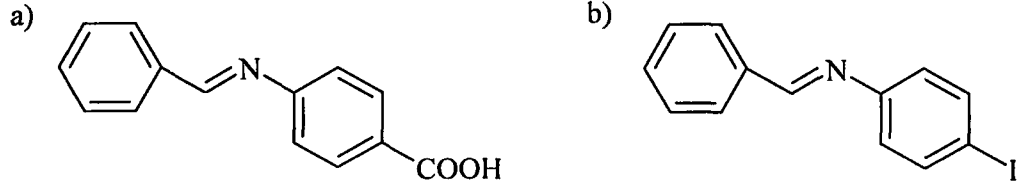
1951 yılında; Gramaticakis yaptığı çalışmada, aldehid türevlerinin sıcak veya soğuk etanol içerisindeki çözeltisiyle eşit miktarlarda anilin türevlerini karıştırmış ve çeşitli benzilidenanilin türevlerini elde etmiştir. Bu çalışma sonucunda 2,4-diklorobenzilidenanilin (E.D. 87 °C), 2,4-dimetilbenzilidenanilin (E.D. 54 °C), 2,4,6-trimetilbenzilidenanilin, 2,4,6-triklorobenzilidenanilin (E.D.

51 °C), 4-metoksibenzilidenanilin, 2-,3- ve 4-nitrobenzilidenanilin sentezlenmiştir^[24].



Şekil 10: 2,4,6-triklorobenzilidenanilin

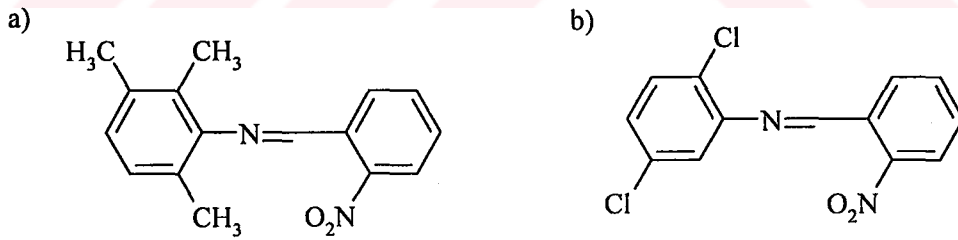
1953 yılında; Roe ve arkadaşı, bazı Schiff bazlarının hazırlanmasında iki farklı yöntem kullanmıştır. 1. yöntemde; uygun aldehid ve uygun amin türevi benzen yada petrol eterinde çözülmüş, elde edilen çözelti Dean-Stark tüpüne bağlı dibi yuvarlak balon içerisinde, teorik olarak hesaplanan su miktarı elde edilene kadar geri çeviren soğutucu altında ısıtılmıştır. Daha sonra vakum uygulanarak çözücü ortamdan uzaklaştırılmış ve kalan Schiff bazı etanol yada petrol eterinden kristallendirilmiştir. 2. yöntemde ise; uygun aldehid ve amin türevi sıcak su banyosunda yarım saat boyunca ısıtılmış daha sonra elde edilen Schiff bazı etanol veya petrol eterinden kristallendirilmiştir. Birinci yöntem sonucu elde edilen Schiff bazları; benzal-o-kloroanilin, p-benzalamino benzoikasit (E.D. 191-191 °C), benzalanilin (E.D. 52 °C), benzal-p-nitroanilin (E.D. 117-119 °C), etil p-benzalamino benzoat (E.D. 42.5 °C), benzal-p-bromoanilin (E.D. 66 °C), m-benzalamino benzoikasit (E.D. 131-132 °C) şeklindedir. İkinci yöntem sonucu ise p-klorobenzalanilin (E.D. 64-65 °C), p-klorobenzal-p-kloroanilin (E.D. 110-111 °C), p-metilbenzalanilin, benzal-p-toluidin (E.D. 29-30 °C), p-metilbenzal-p-toluidin (E.D. 91-93 °C), benzal-p-toluidin, benzal-p-fluoroanilin (E.D. 56.8 °C), benzal-p-anisidin (E.D. 70-71 °C), p-metoksibenzalanilin (E.D. 64 °C), benzal-o-toluidin, benzal-p-iodoanilin (E.D. 82-84 °C), m-klorobenzalanilin, benzal-m-(trifluorometil)anilin (E.D. 66-68 °C), benzal-p-(asetil)anilin (E.D. 95-97 °C), benzal-p-(trifluorometil)anilin (E.D. 63-65 °C) ve benzal-p-kloroanilin (E.D. 62-63 °C) elde edilmiştir^[25].



Şekil 11: a) p-benzalamino benzoikasıit

b) benzal-p-iyodoanilin

1954 yılında; Ried ve arkadaşları gerçekleştirdikleri çalışmada, eşit miktarlarda o-nitrobenzaldehyd ile bazı primer amin türevlerini, etanol içerisinde reaksiyona sokmuşlar, oluşan ürünü etanolden kristallendirmişlerdir. Çalışma sonucunda; sarı renkli o-nitrobenziliden-2,3,6-trimetilanilin (E.D. 57 °C), turuncu renkli o-nitrobenziliden-2,4,6-trimetilanilin (E.D. 69 °C), yeşil renkli o-nitrobenziliden-p-metoksianilin (E.D. 80,3 °C), sarı-yeşil renkli o-nitrobenziliden-o-etoksianilin (E.D. 63,5 °C), sarı renkli o-nitrobenziliden-p-etoksianilin (E.D. 82,2 °C), renksiz o-nitrobenziliden-o-nitroanilin (E.D. 180 °C), renksiz o-nitrobenziliden-m-nitroanilin (E.D. 131 °C); sarımsı renkte o-nitrobenziliden-p-nitroanilin (E.D. 141 °C) ve sarı renkli o-nitrobenziliden-2,5-dikloroanilin (E.D. 120,5 °C) sentezlenmiştir^[26].

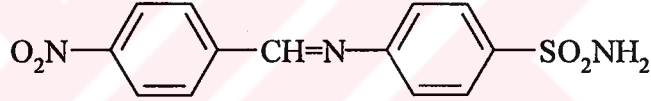


Şekil 12: a) o-nitrobenziliden-2,3,6-trimetilanilin

b) o-nitrobenziliden-2,5-dikloroanilin

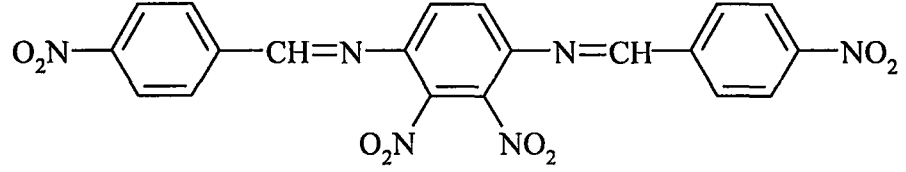
1954 yılında; Porai-Koshits ve arkadaşları tarafından ortaya koyulan çalışmada, aromatik azometinlerin oluşumunun geri dönüşümlü olduğu gösterilmiştir. Dayanaksız aromatik aminlerden oluşan ürünlerin ortamda asit olmadan, nem varlığında bile rahatlıkla parçalanabildiği bildirilmiştir. Aynı

zamanda azometinlerin dayanıklı aromatik aminlerden meydana geldiği düşüncesinin yanlış olduğu vurgulanmıştır. Bu çalışmada 50 ml toluen yada ksilen içerisinde 13,8 g p-nitroanilin konulmuş, elde edilen çözelti 25 ml toluen yada ksilen içerisindeki 11,7 g benzaldehid çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışım düzenli bir biçimde ısıtılmış, ısıtma işlemine ara vermeden distilasyona tabi tutulmuştur. Distilasyon ürünü, bünyesindeki sudan kurtulana dek kuru çözücü ilavesine özen gösterilmiştir. Elde edilen çözeltinin soğutulmasıyla, %88-92 verimle, benziliden-p-nitroanilin elde edilmiştir. Ürün toluen-dietileter karışımından kristallendirilmiş ve sarı renkli, 117-118 °C erime derecesine sahip olan kristaller elde edilmiştir. Kristalize ürünün nemli ortamda renginin sarıdan yeşile döndüğü kaydedilmiştir. Benzer şekilde %98 verimle p-nitrobenziliden-p-nitroanilin (E.D. 146 °C), %92-93 verimle m-nitrobenziliden-p-nitroanilin (E.D. 70-72 °C) ve %88-89 verimle 4-(p-nitrobenzilidenamino)benzensülfonamid (E.D. 178-179,2 °C) sentezlenmiştir^[27].



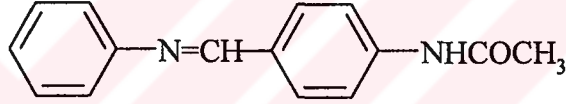
Şekil 13: 4-(p-nitrobenzilidenamino)benzensülfonamid

1956 yılında; Fench ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, amin türevlerinin etanoldeki çözeltisine aldehid türevlerinin etanoldeki çözeltisini ilave ederek çeşitli benzilidenanilin türevlerini hazırlamışlardır. Bu şekilde 3-nitrobenzilidenanilin (E.D. 63-63,5 °C), N-(3-nitrobenziliden)-4-nitroanilin (E.D. 128-129 °C), 4-nitrobenzilidenanilin (E.D. 91-92 °C), N-(4-nitrobenziliden)-4-metilanilin (E.D. 122-123 °C), N-(4-nitrobenziliden)-4-nitroanilin (E.D. 199-200 °C), N,N'-(4-nitrobenziliden)bis(2-nitroanilin) (E.D. 42-44 °C) ve N-(4-nitrobenziliden)-2-kloroanilin (E.D. 122-123 °C) elde edilmiştir^[28].



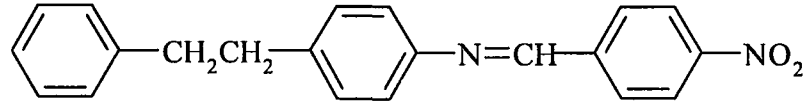
Şekil 14: N,N'-(4-nitrobenziliden)bis(2-nitroanilin)

1957 yılında; Clougherty ve arkadaşları, uygun aldehid ve anilin türevlerini reaksiyona sokarak elde ettikleri benzilidenanilin türevlerinin, C=N grubuna ait IR değerlerini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada; 2-hidroksibenzilidenanilin, 4-hidroksibenzilidenanilin, 4-metoksibenzilidenanilin, 4-asetamidobenzilidenanilin, 4-dimetilaminobenzilidenanilin ve 2-nitrobenzilidenanilin sentezlenmiştir^[29].



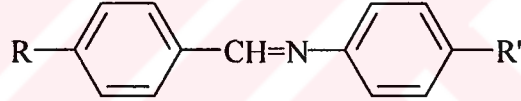
Şekil 15: 4-asetamidobenzilidenanilin

1958 yılında; Koz'minykh ve arkadaşları, çeşitli aromatik aldehid türevleri ve aromatik amin türevlerinin etanol içindeki eşit miktar çözeltilerini karıştırıp, kaynatarak bazı Schiff bazlarını elde etmişlerdir. Bu şekilde, 15 g m-nitrobenzaldehyd ve 9,3 g anilin'in reaksiyonu sonucunda erime derecesi 68-70 °C olan 20 g m-nitrobenzilidenanilin elde edilmiştir. Aynı şekilde m-nitrobenzaldehyd ve p-toluiden'in reaksiyonu sonucu m-nitrobenziliden-p-toluiden (E.D. 93-94 °C); m-nitrobenzaldehyd ve p-anisidin'in reaksiyonu sonucu sarı kristalize m-nitrobenziliden-p-anisidin (E.D. 72-73 °C); p-nitrobenzaldehyd ve p-anisidin'in reaksiyonu sonucu turuncu-kırmızı kristalize p-nitrobenziliden-p-anisidin (E.D. 134-135 °C); m-nitrobenzaldehyd ve p-fenetiden'in reaksiyonu sonucu m-nitrobenziliden-p-fenetiden (E.D. 100 °C) ve son olarak p-nitrobenzaldehyd ve p-fenetiden'in reaksiyonu sonucu sarı-turuncu kristalize p-nitrobenziliden-p-fenetiden (E.D. 123-124 °C) elde edilmiştir^[30].



Şekil 16: p-nitrobenziliden-p-fenetiden

1960 yılında; Weinstein ve arkadaşı, uygun benzaldehid ve anilin türevlerinden eşit miktar kullanarak hazırladıkları karışımı 1 saat boyunca sıcak su banyosunda bekletmişler ve p-süstitüe benzalanilin türevlerini elde etmişlerdir. N-benziliden-p-nitroanilin ve N-p-klorobenziliden-p-kloroanilin'i ise uygun benzaldehid ve anilin türevlerinden eşit miktar kullanarak etanolde hazırladıkları çözeltiyi 1 saat geri çeviren soğutucu altında ısıtarak elde etmişlerdir. Ürünler sıcak karışımların buz banyosunda soğutulmasıyla çöktürülerek ve etanolden kristallendirilerek elde edilmiştir^[31].



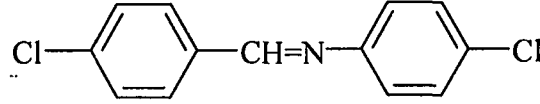
(R,R': N(CH₃)₂, OCH₃, CH₃, H, Cl, Br, NO₂)

Şekil 17: 4-süstitüe ve 4'-süstitüe benzalanilin türevleri

1961 yılında; Ebara bazı süstitüe benzilidenanilin türevlerini sentezlemiş, elde ettiği bileşiklerin erime derecelerini ve spektral özelliklerini incelemiştir. Yapılan çalışmada her hangi bir dehidratasyon ajanı kullanmaksızın aldehid türevi ile anilin türevi direkt kondensasyona tabi tutulmuş ve reaksiyon ürünü etanol veya izopropanolden kristallendirilmiştir. Bu şekilde; benzilidenanilin (E.D. 63 °C), p-hidroksibenzilidenanilin (E.D. 193-194 °C), p-klorobenzilidenanilin (E.D. 61-62 °C), p-nitrobenzilidenanilin (E.D. 90-90,5 °C) elde edilmiştir^[32].

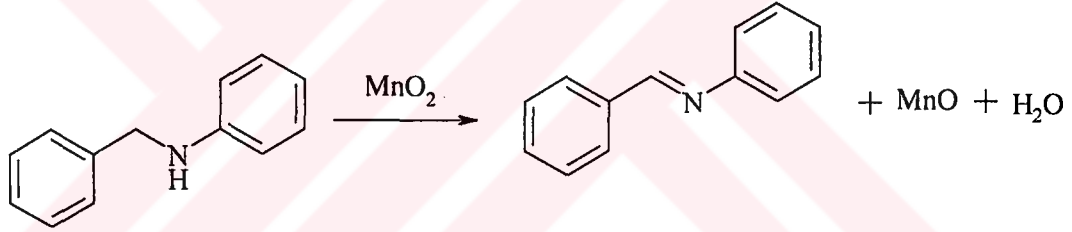
1961 yılında; Cordes ve arkadaşı, uygun süstitüe benzaldehid ve uygun süstitüe anilin türevini %50'lik etanol içerisinde reaksiyona sokarak bazı Schiff

bazılarını elde etmişlerdir. Elde edilen ürünleri %96'lık etanolden kristallendirmişlerdir. Sentezler sonucunda p-klorobenziliden-p'-anilin (E.D. 109-111 °C), N-p-klorobenzilidenanilin (E.D. 60-62 °C), N-p-hidroksibenzilidenanilin (E.D. 90-91 °C), N-p-metilbenzilidenanilin (E.D. 44-45 °C) ve N-benzilidenanilin elde edilmiştir^[33].



Şekil 18: p-klorobenziliden-p'-kloroanilin

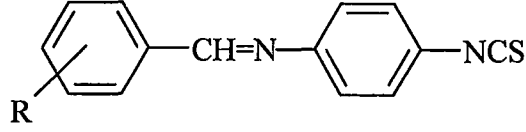
1963 yılında; Pratt ve arkadaşı, N-benzilanilin'in benzen içerisindeki çözeltisinin mangandioksit varlığında, geri çeviren soğutucu altında kaynatılmasıyla yüksek yüzdede benzalanilin elde edildiğini bildirmiştir^[34].



Şekil 19: Mangandioksit varlığında benzalanilin eldesi

1964 yılında; Fabini ve arkadaşı tarafından yapılan çalışmada, 50 ml etanoldeki 13 g 4-hidroksibenzaldehid, karbondioksitle doyurulmuş ve karışımın sıcaklığı 2 °C ye kadar düşürülmüştür. Bu karışım 150 ml etanol içerisindeki 15 g 4-tiyosiyanatoanilin ile 30 dakika boyunca ısıtılmış, buz üzerinde birkaç saat bekletildikten sonra süzölmüş ve 30 dakikalık periyotlarla 50 ml etanol ile 3 kez yıkanmıştır. Bu işlemler sonucunda 22,9 g 4-hidroksibenziliden-4-tiyosiyanatoanilin elde edilmiştir. Yukarıda anlatılan yöntem ile 15,4 g 2-metilbenziliden-4-tiyosiyanatoanilin, 19,8 g 2-nitrobenziliden-4-tiyosiyanatoanilin, 18,4 g 3-nitrobenziliden-4-tiyosiyanatoanilin ve 15,6 g 2,4-

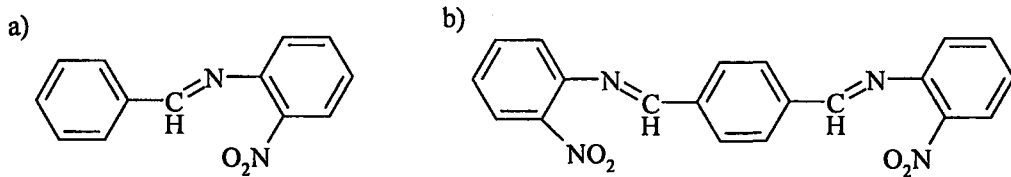
dinitrobenziliden-4-tiyosiyanoanilin elde edilmiştir. Elde edilen bileşiklerin fungustatik özellikleri incelenmiş ve 7 dermatophytes cinsi ve 3 bira mayası cinsi mantar üzerinde kayda değer fungustatik aktivite gösterdikleri gözlenmiştir^[35].



Şekil 20: Sübstitüe benzilidenanilin-4-tiyosiyanoanilin

1964 yılında; Stacy ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, N-benziliden-o-nitroanilin ve N,N-benzilidendi(o-nitroanilin)'in sentezini gerçekleştirmişlerdir. 6,90 g (0,05 mol) o-nitro anilin'in 10 ml susuz toluendeki çözeltisine 10,6 g (0,10 mol) benzaldehid'in 10 ml susuz toluendeki çözeltisini ilave etmişler, karışımı 36 saat boyunca geri çeviren soğutucu altında ısıtmışlar, çözücünün büyük kısmını distilasyonla ortamdan uzaklaştırdıktan sonra kalan çözeltiyi soğumaya bırakmışlardır. Oluşan çökeltiyi süzerek almışlar ve heptan-benzen karışımından kristallendirmişlerdir. Sentez sonucunda %31 verimle erime derecesi 76-77 °C olan benziliden-o-nitroanilin elde etmişlerdir.

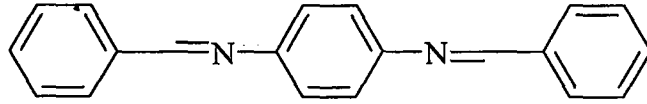
Aynı çalışmada; 6,90 g (0,05 mol) o-nitro anilin ve 3,20 g (0,03 mol) benzaldehid'in 10 ml susuz toluen içerisindeki çözeltileri Dean-Stark tüpünde 0,3 ml su birikene kadar yaklaşık 9 saat boyunca ısıtılmıştır. Reaksiyon karışımın soğutulmasından sonra oluşan çökelek süzülerek alınmış, 5 ml toluen ile oda sıcaklığında yıkanmış ve %34 verimle erime derecesi 94,5-95 °C olan N,N-benzilidendi(o-nitroanilin) elde edilmiştir.^[36]



Şekil 21: a) N-benziliden-o-nitroanilin

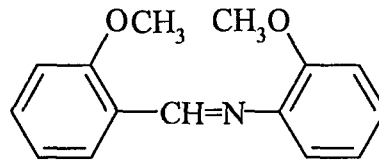
b) N,N-benzilidendi(o-nitroanilin)

1965 yılında; Luvisi ve arkadaşları, nitro bileşikleri ile alkil taşıyan aromatik bileşikleri Schiff bazı oluşturmak üzere reaksiyona sokmuşlardır. 850 ml'lik beher içerisine 31 g o-nitroklorobenzen, 150 g toluen ve 29g di-*tert*-butilperoksid konularak otoklav içerisine yerleştirilmiştir. Otoklav, 30 atmosfer basınç altında 130-140 °C de 3 saat boyunca çalıştırılmıştır. Bu süre sonunda karışım soğutulmuş ve o-kloro-N-benzalanilin fraksiyonlu distilasyon sonucu ayrılmıştır. Aynı yöntem kullanılarak p-hidroksi-N-benzalanilin, N,N-dibenzal-p-fenilendiamin ve p-kloro-N-benzalanilin elde edilmiştir^[37].



Şekil 22: N,N-dibenzal-p-fenilendiamin

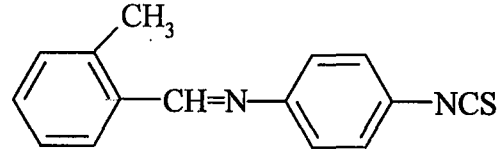
1966 yılında; Elias ve arkadaşı, eşit miktar amin ve aldehid türevini reaksiyona sokarak bazı Schiff bazlarının sentezlerini gerçekleştirmiş ve sentezlenen bileşiklerin Mass spektrumlarını incelemiştir. Yapılan çalışmada benziliden-p-anisidin (E.D. 71 °C), o-anisilidenanilin (E.D. 43 °C), o-anisiliden-o-hidroksianilin (E.D. 60 °C) ve o-anisiliden-o-anisidin (E.D. 70 °C) sentezlenmiştir^[38].



Şekil 23: o-anisiliden-o-anisidin

1966 yılında; Weuffen ve arkadaşları, sübstitüe benziliden-4-tiyosiyanoanilin türevlerinin, gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde gösterdikleri bakteriyostatik etkinlikleri incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucu incelenen bileşikler ile bakteriyostatik aktivite arasında herhangi bir yapı etki

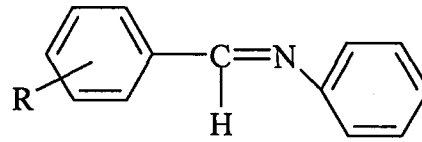
ilişkisi kurulamamıştır. Buna karşın en güçlü bakteriyostatik etkiyi N-(2-metilbenziliden)-4-tiyosiyanoanilin göstermiştir^[39].



Şekil 24: N-(2-metilbenziliden)-4-tiyosiyanoanilin

1967 yılında; D'Alelio ve arkadaşları, 0,1 mol amin türevi ile yeterli miktar kararlı karbonil türevini, 150 ml toluen içerisinde karıştırmışlar Lewis asidi ilavesinden sonra karışımı Dean-Stark tüpünde su çıkışı gözlenene kadar ısıtmışlardır. Reaksiyon sonucunda çeşitli Schiff bazlarını sentezlemişlerdir. Sentezler sonucunda benzilidenanilin (E.D. 49 °C), p-bromobenzilidenanilin (E.D. 65 °C), m-nitrobenzilidenanilin (E.D. 66 °C), p-hidroksibenzilidenanilin (E.D. 200 °C) elde edilmiştir.^[40]

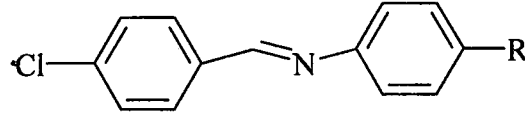
1967 yılında; Bren ve arkadaşları, anilin ile çeşitli aldehid türevlerini, etanol veya toluen içerisinde geri çeviren soğutucu altında 1-2 saat boyunca ısıtarak, bazı benzilidenanilin türevlerinin sentezini gerçekleştirmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen bileşiklerin erime dereceleri belirtilmiştir^[41].



[R: H (E.D. 51 °C), p-OH (E.D.184 °C), p-OCH₃ (E.D. 72 °C), m-CH₃ (E.D. 35 °C), p-F (E.D. 57 °C), p-Cl (E.D. 62 °C), m-Br (E.D. 210 °C), p-Br (E.D. 66 °C) p-I (E.D. 83 °C), p-CH₃CH₂COO (E.D. 52 °C), p-CF₃ (E.D. 65 °C) m-NO₂ (E.D. 70 °C), p-NO₂ (E.D. 117 °C)]

Şekil 25: Bazı süstitüe benzilidenanilin türevleri ve erime dereceleri

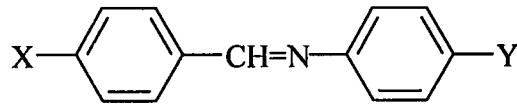
1967 yılında; Nakamura ve arkadaşları, benzilidenanilin türevlerinde C = N bağının IR değerlerini incelemişlerdir. Bu çalışmada 4-klorobenzaldehid ve çeşitli 4-süstitüe anilin türevleri reaksiyona sokulmuş, 4-klorobenziliden-4-süstitüe anilin türevleri elde edilmiş ve bu türevlerin erime dereceleri bildirilmiştir. Elde edilen bileşikler; 4-klorobenziliden-4-hidroksianilin (E.D. 179 °C), 4-klorobenziliden-4-metoksianilin (E.D. 122 °C), 4-klorobenziliden-4-nitroanilin (E.D. 161 °C) ve 4-klorobenziliden-4-bromoanilin (E.D. 179 °C), şeklindedir^[42].



(R : OH, OCH₃, NO₂, Br)

Şekil 26: 4-klorobenziliden-4-süstitüe anilin

1968 yılında; Bürgi ve arkadaşları, 13 aromatik Schiff bazının sentezini gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları çalışmada uygun anilin ve benzaldehid türevini çözücü kullanılarak yada kullanmaksızın 1:1 oranında karıştırmışlar ve 100 °C de 1 saat boyunca ısıtmışlardır. Elde edilen ürünü petrol eteri, eter, etilasetat, etanol veya glasiyel asetik asitten kristallendirmişlerdir^[43].



(X: H, Cl, OH, NO₂, CH₃, COOH; Y: H, Cl, Br, NO₂, CH₃, COOH)

Şekil 27: Bazı aromatik Schiff bazları

1969 yılında; Tabei ve arkadaşı, 29 benzalanilin türevini p-süstitüe benzaldehid türevleri ile anilin'in veya benzaldehid ile p-süstitüe anilin türevlerinin kondensasyon reaksiyonu sonucu elde etmişlerdir. Elde edilen ürünler

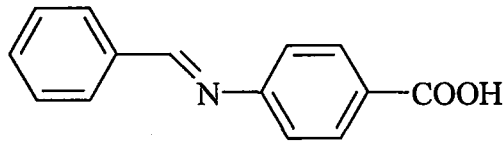
metanol veya etanolden kristallendirilerek yada alçak basınç altında distile edilerek saflaştırılmıştır. Kristalize ürünlerin yapıları IR ve ¹H-NMR spektroskopileri yardımıyla aydınlatılmıştır^[44,45].



(X: N(CH₃)₂, OH, OCH₃, OC₂H₅, CH₃, H, C₆H₅, Cl, Br, I, COOH, COOR, COCH₃, SO₂NH₂, NO₂)

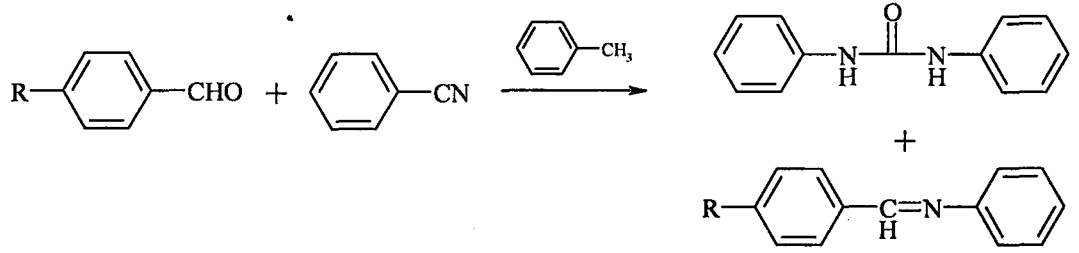
Şekil 28: a) Benziliden-4-süstitüe anilin
b) 4-süstitüe benzilidenanilin

1969 yılında; Nasir-ud-din ve arkadaşları, 6 farklı Schiff bazının sentezini gerçekleştirmişlerdir. Yapılan çalışmada 0,5 mol 4-nitroanilin 1,25 mol benzaldehid ile 140 °C'de 8 saat boyunca kaynatılmış, ortamdan su çıkışı meydana gelmesiyle %77 verimle, erime derecesi 117 °C olan N-benziliden-4-nitroanilin elde edilmiştir. Aynı yöntem kullanılarak ; %77 verimle N-benziliden-2-nitroanilin (E.D. 75-76 °C), %78,5 verimle N-benziliden-4-kloroanilin (E.D. 62-63 °C), %80 verimle N-benziliden-4-metoksianilin (E.D. 71 °C), %71 verimle 4-(N-benzilidenamino)benzoikasıit (E.D. 190-191 °C), %80,6 verimle N-4-metoksibenzilidenanilin (E.D. 64 °C) sentezlenmiştir.^[46].



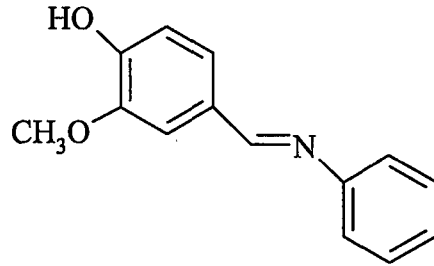
Şekil 29: 4-(N-benzilidenamino)benzoikasıit

1971 yılında; Kozlov ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada, 0,1 mol aromatik aldehid türevi ve 0,15 mol benzonitril karışımı 140-150 °C de 10-15 dakika boyunca ısıtılmış, daha sonra bu karışıma 50 ml toluen eklenerek 30 dakika daha ısıtılmıştır. Bu süre sonunda difenilüre ile birlikte, kullanılan aromatik aldehide göre ; %24,4 verimle benzilidenanilin, %36,7 verimle 4-dimetiaminobenzilidenanilin, %31,7 verimle 4-metoksibenzilidenanilin, %20,5 verimle 4-klorobenzilidenanilin, %21,4 verimle 4-bromobenzilidenanilin ve %21,3 verimle 4-nitrobenzilidenanilin elde edilmiştir^[47].



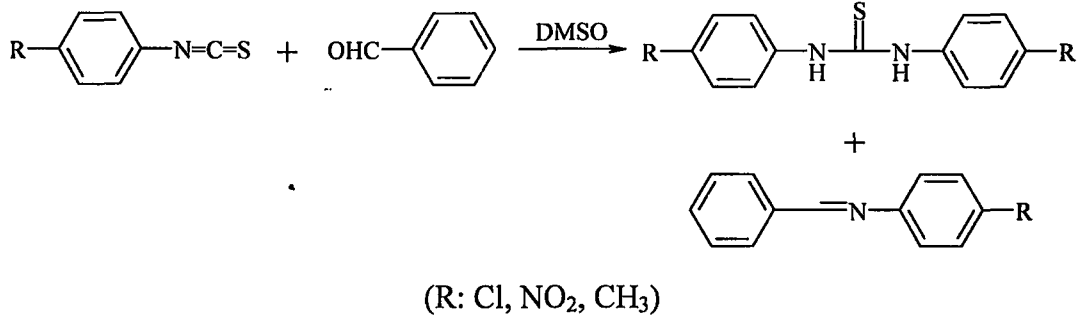
Şekil 30: Difenilüre ve sübstütie benzilidenanilin eldesi.

1972 yılında; Vladimirtsev ve arkadaşları, 19 farklı benzalanilin türevinin yulaf, marul ve salatalık fidelerinin büyümesine ne yönde katkıda bulunduğunu araştırmışlardır. Yapılan çalışmada benzalanilin türevlerinin bir çoğu monokotiledon'ların büyümesini stimüle ederken dikotiledonların büyümesini inhibe etmiştir. Test edilen türevlerden en yüksek büyüme stimüle edici etkiyi 3-metoksi-4-hidroksibenzalanilin göstermiştir^[48].



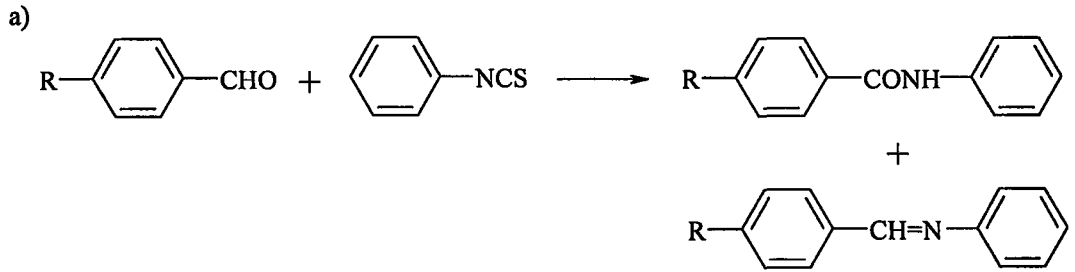
Şekil 31: 3-metoksi-4-hidroksibenzalanilin

1974 yılında; Chattopadhyaya ve arkadaşı, çalışmalarında susuz dimetilsülfoksit içerisinde eşit miktar sübstitüe fenilizotiyosiyanat ile benzaldehid'i reaksiyona sokmuş ve reaksiyon sonucunda %22-47 verimle sübstitüe tiyoüre türevleri ile %43-65 verimle sübstitüe benzilidenanilin türevlerini elde etmiştir^[49].

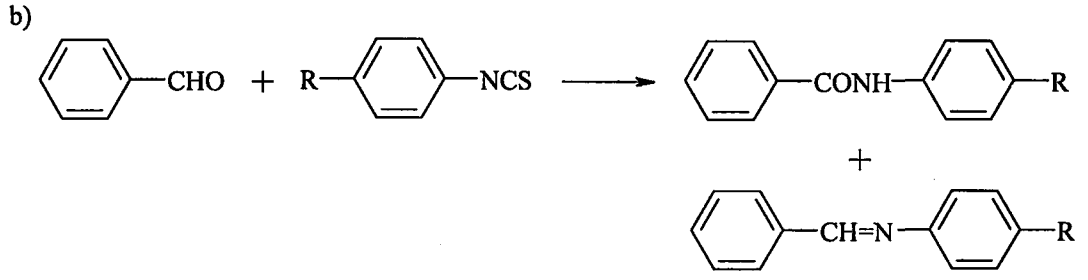


Şekil 32: Sübstitüe tiyoüre ve sübstitüe benzilidenanilin eldesi

1974 yılında; Knoppova ve arkadaşları, aromatik isotiyosiyanat türevleri ile benzaldehid türevlerini reaksiyona sokmuşlardır. Yapılan çalışmada fenilizotiyosiyanat ile 4-sübstitüe benzaldehid reaksiyona sokularak anilid türevleri ile azometin türevleri elde edilmiştir. Benzer şekilde 4-sübstitüe fenilizotiyosiyanat ile benzaldehid'in reaksiyonu sonucu yine anilid türevleri ile azometin türevleri elde edilmiştir^[50].



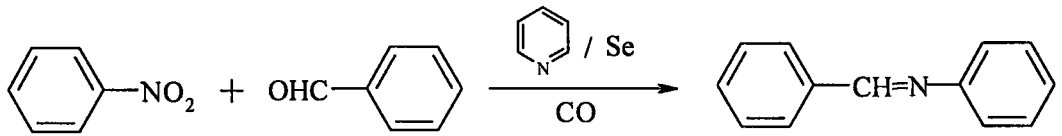
(R: H, Br, Cl, NO₂, CH₃, OCH₃, N(CH₃)₂)



(R: H, Br, CH₃COO, CH₃, CH₃CH₂COO, OCH₃)

Şekil 33: a) N-fenil-4-sübstitüe benzamid ve 4-sübstitüe benzilidenanilin eldesi
b) N-4-sübstitüe fenilbenzamid ve benziliden-4-sübstitüe anilin eldesi

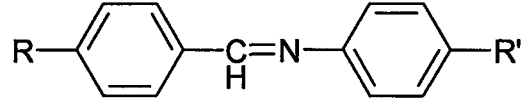
1975 yılında; Ryuichiro ve arkadaşı, benzilidenanilin çekirdeği taşıyan çeşitli Schiff bazlarının sentezlerini, nitroaren türevleri ile aldehid türevlerini selenyum ve bir baz varlığında karbonmonoksit ile ısıtarak gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada nitrobenzen, benzaldehid, selenyum ve piridin karışımı 20 kg/cm² CO basıncı altında 6 saat boyunca ısıtılmış ve %59 verimle benzilidenanilin elde edilmiştir. Baz olarak piridin yerine N-metilpirolidin kullanıldığında verim %79'a çıkmıştır. Aynı yöntem ile farklı benzaldehid türevleri kullanılarak, o-hidroksibenzilidenanilin, p-klorobenzilidenanilin, p-metilbenzilidenanilin ve p-metoksibenzilidenanilin sentezlenmiştir^[51].



Şekil 34: CO basıncı altında selenyum varlığında benzilidenanilin eldesi

1975 yılında; Seiji tarafından yapılan bir çalışmada, 4-sübstitüe benzaldehid ile 4-sübstitüe nitrobenzen'in karbonmonoksit basıncı altında çeşitli palladyum bileşikleri ile muamele edilmesi sonucu 5 Schiff bazı sentezlenmiştir. Bu çalışmada, 1,06 g benzaldehid 1,23 g nitrobenzen, 0,2 g Pd-Cl₂ kompleksi ve 0,45 g piridin benzen içerisinde karıştırılmış ve karışım otoklav içerisinde 150

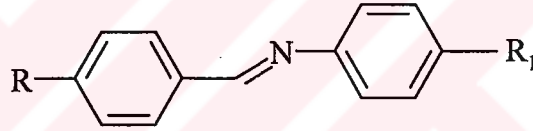
atmosfer karbonmonoksit basıncı altında, 230 °C de 5 saat boyunca bekletilerek %71,1 verimle benzilidenanilin elde edilmiştir^[52].



(R: H, CH₃, (CH₃)₂N; R': H, Cl, OCH₃)

Şekil 35: Bazı Schiff bazları

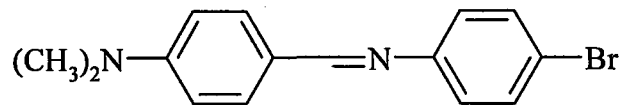
1977 yılında; Smirnova ve arkadaşları, çeşitli aromatik aminler ve aldehidleri reaksiyona sokarak bazı Schiff bazlarının sentezlerini %66,5-97,2 verimle gerçekleştirmişlerdir^[53].



(R: H, OH, OCH₃, Cl; R₁: H, NO₂, Br, I)

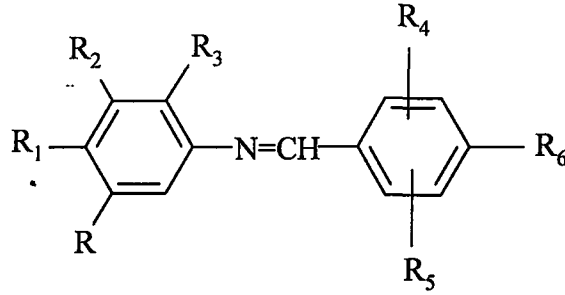
Şekil 36: Bazı Schiff bazları

1978 yılında; Martvon ve arkadaşı yaptıkları çalışmada, benzaldehid, p-nitrobenzaldehyd veya p-dimetilaminobenzaldehid ile anilin, p-nitroanilin, p-bromoanilin veya p-metoksianilin'i reaksiyona sokarak %70-85 verimle bazı benzilidenanilin türevlerinin sentezini gerçekleştirmişlerdir^[54].



Şekil 37: N-(4-dimetilaminobenziliden)-4-bromoanilin

1978 yılında; Nuss ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada, benzaldehid türevleri ile anilin türevleri, etanol içerisinde, oda sıcaklığında reaksiyona sokulmuş ve benzilidenanilin türevleri elde edilmiştir. Çalışma sonucunda sentezlenen bileşiklerin, antiinflamatuvar etkinliklerinin tespit edildiği bildirilmiştir^[55].

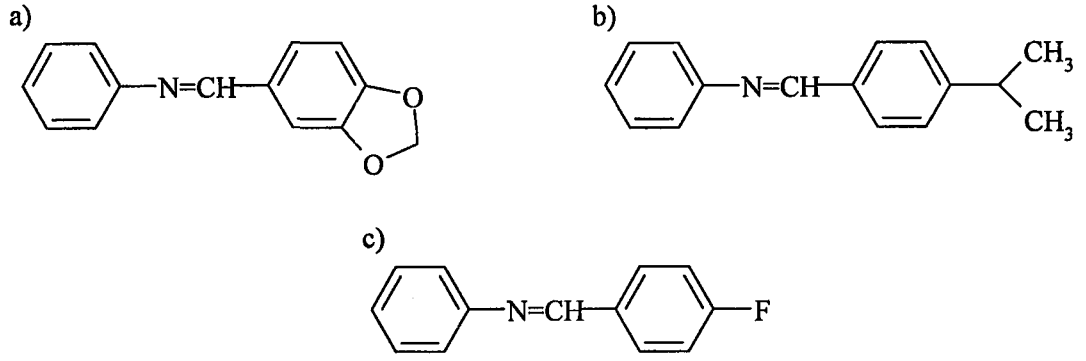


[R-R₂ (aynı veya farklı): H, alkil, haloalkil, haloalkoksi, halo, açil, açiloksi, açiltiyo, alkiltiyo, alkilsülfinil, alkilsülfonil, OH; R₃: H, alkil; R₄-R₅ (aynı veya farklı): H, alkil, halo, alkiltiyo, alkilsülfinil, alkilsülfonil; R₆: H, halo, haloalkil, alkilsülfonil, COOH, karbaloksi, sikloalkil, sikloalkenil, aril]

Şekil 38: Bazı süstitüe benzilidenanilin türevleri

1979 yılında; Khoo ve arkadaşları, süstitüe benzaldehid ve süstitüe anilin türevlerinin reaksiyonu sonucu elde edilen azometin grubu bileşiklerde, süstitüentlerin benzilidenanilin çekirdeğinin ¹H-NMR spektrumunu, ne yönde değiştirdiğini incelemişlerdir^[56].

1979 yılında; Fisnerova ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada, uygun benzaldehid türevleri ile anilin türevleri reaksiyona sokulmuş ve çeşitli benzilidenanilin türevleri elde edilmiştir. Bu çalışma ile, 3,4-metilendioksibenzilidenanilin, 4-izopropilbenzilidenanilin ve 4-fluorbenzilidenanilin'in sentezleri gerçekleştirilmiştir^[57].

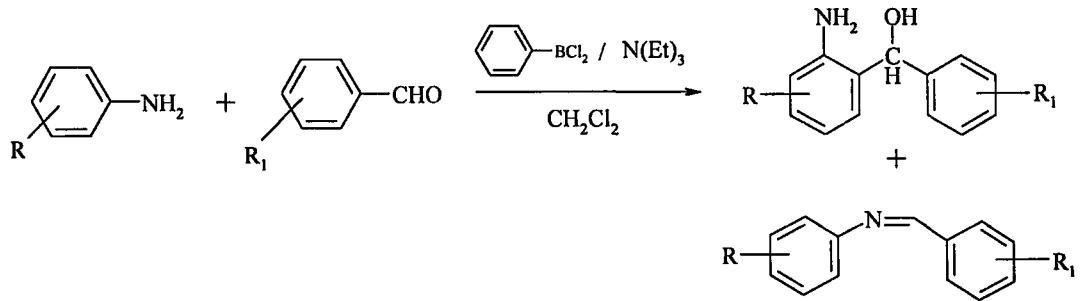


Şekil 39: a) 3,4-metilendioksibenzilidenanilin

b) 4-izopropilbenzilidenanilin

c) 4-fluorobenzilidenanilin

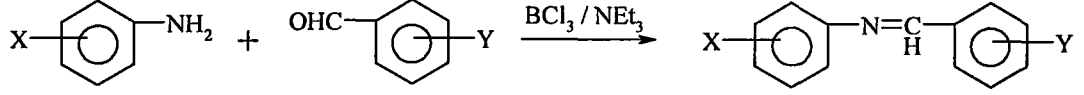
1979 yılında; Shionogi ve arkadaşı tarafından α -aril-2-aminobenzilalkol türevleri üzerine yapılan sentez çalışmasında, çeşitli anilin türevleri ile benzaldehid türevleri trietilamin ve fenildikloroboran yada butildikloroboran varlığında reaksiyona sokulmuştur. Diklorometan içerisindeki 3 mmol anilin yine diklorometan içerisindeki 3 mmol fenildikloroboran üzerine eklenmiş bu karışıma $-15 - -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de diklorometan içerisindeki 7,5 mmol trietilamin ilave edilmiştir. Elde edilen bu karışıma benzaldehid eklenmiş, oda sıcaklığında 4 saat boyunca karıştırılarak 466 mg α -fenil-2-aminobenzilalkol ile 82 mg benzilidenanilin elde edilmiştir^[58].



(R: H, 4-OCH₃, 4-Cl, 4-NO₂, 4-CH₃CH₂COO, 2-CH₃,
2-OCH₃; R₁: H, 4-NO₂, 4-CH₃, 2-Cl, 3-NO₂)

Şekil 40: Fenildikloroboran katalizörlüğünde benzilidenanilin türevi eldesi.

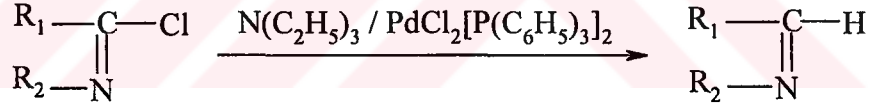
1980 yılında; Sugasawa ve arkadaşları, sübstitüe anilin türevleri ile sübstitüe benzaldehid türevlerini, borontriklorür varlığında trietilamin içerisinde reaksiyona sokarak, sübstitüe N-fenilbenzaldimin türevlerinin sentezini gerçekleştirmişlerdir^[59].



(X: H, 4-OCH₃, 4-Cl, 4-NO₂, 4-COOCH₂CH₃, 2-CH₃, 2-OCH₃,
3-CH₃, 3-NO₂; Y: H, 4-NO₂, 4-OCH₃, 2-Cl, 3-NO₂)

Şekil 41: Borontriklorür katalizörlüğünde sübstitüe N-fenilbenzaldimin eldesi

1985 yılında; Tanaka ve arkadaşı, sübstitüe imidoilklorür türevleri ile bis[trifenilfosfin]palladyum diklorür'ü, trietilamin içerisinde 120 °C de 2-9 saat boyunca geri çeviren soğutucu altında ısıtarak sübstitüe N-fenilbenzaldimin türevlerini sentezlemişlerdir^[60].

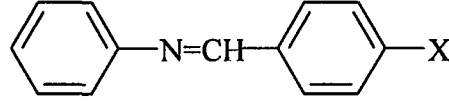


(R₁: Ph; R₂: 4-CH₃-Ph, 4-CH₃O-Ph, 4-Cl-Ph, 4-C₂H₅OOC-Ph)

Şekil 42: Bis[trifenilfosfin]palladyum diklorür katalizörlüğünde N-fenilbenzaldimin türevlerinin eldesi

1985 yılında; Yang ve arkadaşları, 4-sübstitüe-N-benzilidenanilin türevlerinin sentezlerini 4-sübstitüe benzaldehid ve anilin'in kondensasyonu sonucu gerçekleştirmişlerdir. Yürütülen çalışmada eşit miktarlarda 4-sübstitüe benzaldehid ve anilin, toluen yada etanol içerisinde geri çeviren soğutucu altında yaklaşık 5 saat boyunca ısıtılmış, çözücü 45 dakika boyunca distile edilerek

ortamdan uzaklaştırılmış ve reaksiyon karışımı soğutularak ürün çöktürülmüştür. Elde edilen ürünler vakum yardımıyla veya etanolden kristallendirilerek saflaştırılmıştır. Elde edilen saf ürünlerin erime dereceleri literatür verileriyle kıyaslanmış ve ¹H-NMR spektrumları incelenmiştir^[61].

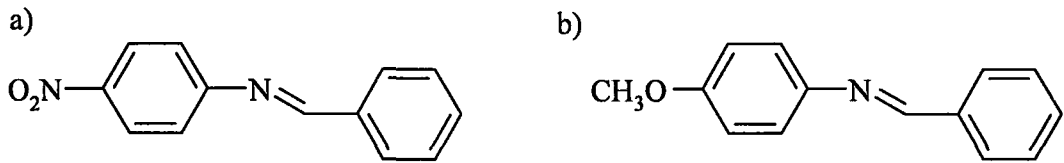


(X: N(CH₃)₂, OH, OCH₃, CH₂CH₃, CH₃, H, F, Cl, COOCH₃, COOH, CN, NO₂)

Şekil 43: 4-süstitüe-N-benzilidenanillin

1985 yılında; Miller ve arkadaşları, 20 N-benzilidenanilin türevi sentezlemişler ve erime derecelerini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada eşit miktar anilin ve aldehid türevi, etanol veya toluen içerisinde, Dean-Stark tüpü yardımıyla su oluşumu gözlenene kadar ısıtılmış, daha sonra karışım soğutularak N-benzilidenanilin türevleri elde edilmiştir. Sentezlenen bileşikler etanolden kristallendirilmiştir. Kristalize ürünlerin yapıları ¹H-NMR ve ¹³C-NMR analizleri sonucunda aydınlatılmıştır^[62].

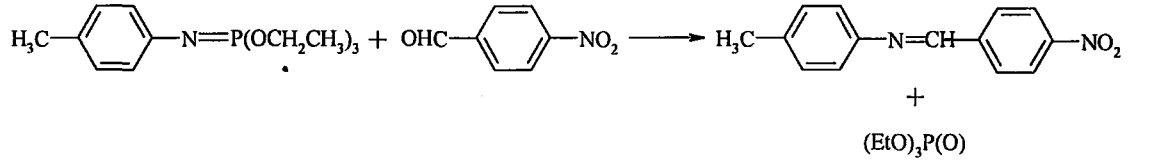
1986 yılında; Luciano ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, p-metoksianilin, p-nitroanilin veya anilin ile benzaldehid, metanol yada dimetilülfoksit içerisinde reaksiyona sokulmuş ve ürün olarak N-benzilidenanilin, N-benziliden-4-nitroanilin veya N-benziliden-4-metoksianilin elde edilmiştir^[63].



Şekil 44: a) N-benziliden-4-nitroanilin

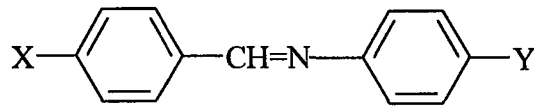
b) N-benziliden-4-metoksianilin

1987 yılında; Rin ve arkadaşları, N-ariliminotrietoksifosforen türevlerinin benzaldehid türevleriyle reaksiyonlarını incelemiştir. Yapılan sentez çalışmasında N-feniliminotrietoksifosforen, N-(m-metilfenil)iminotrietoksifosforen, N-(p-metilfenil)iminotrietoksifosforen veya N-(m-nitrofenil)iminotrietoksifosforen ile benzaldehid, p-klorobenzaldehid, p-nitrobenzaldehyd reaksiyona sokulmuş, %50-91 verimle imin türevleri elde edilmiştir. Reaksiyon sonucunda yan ürün olarak trietoksifosfenoksit açığa çıkmıştır^[64].



Şekil 45: N-(p-metilfenil)iminotrietoksifosforen ile 4-nitrobenziliden-4-metilanilin eldesi

1987 yılında; Alcaide ve arkadaşları, 45 benzilidenanilin türevinin sentezini gerçekleştirmişler ve literatürde rastlanmayan bileşiklerin yapılarını erime derecesi tayini, UV, IR, ¹H-NMR spektroskopileri ve elementel analiz yöntemleriyle aydınlatmışlardır. Gerçekleştirdikleri sentezlerde eşit miktar amin ve aldehid türevini benzen, toluen veya ksilen içerisinde, geri çeviren soğutucu altında 1-2 saat ısıtmışlar ve vakum yardımıyla çözücüyü ortamdan uzaklaştırarak benzilidenanilin türevlerini elde etmişlerdir^[65].

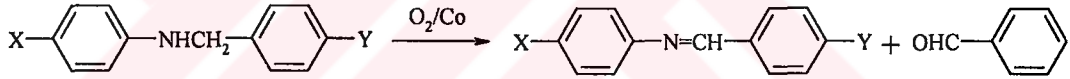


(X: H, Cl, CH₃O, CH₃, NO₂; Y: H, CH₃, CH₃O, F, Cl, Br, I, NO₂, N(CH₃)₂)

Şekil 46: Bazı benzilidenanilin türevleri

1987 yılında; Gawinecki, N-p-nitrobenziliden-p-süstitüe anilin türevleri ile N-p-süstitüe benziliden-p-dimetilaminoanilin türevlerinin sentezlerini gerçekleştirmiştir. Yaptığı sentezlerde 0,03 mol süstitüe anilin'in 2,5 ml metanol deki çözeltisi ile 0,03 mol süstitüe benzaldehyd'in yine 2,5 ml metanol içerisindeki çözeltisini karıştırmış ve bu karışımı birkaç dakika çalkalamıştır. Oluşan ürünü benzen, kloroform, etanol, n-hekzan veya metanolden kristallendirmiştir. Sentezler sonucunda elde ettiği ürünlerin erime derecelerini tayin etmiş ve bu bileşiklere ait ¹H-NMR spektrumu değerlendirmesi yapmıştır^[66].

1988 yılında; Nishinaga ve arkadaşları, 2 mmol N-benzilanilin'in 30 ml etanoldeki çözeltisine 0,02 mmol kobalt ilave etmişler, oluşan süspansiyonu 60 °C de atmosferik oksijen basıncı altında 24 saat boyunca ısıtmışlardır. Karışımı alçak basınç altında vakuma tabi tutarak elde ettikleri kalıntıyı, az miktar diklorometan içerisinde çözmüşlerdir. Çözelti içerisindeki metal kompleksinden kolon kromatografisi yardımıyla kurtulduktan sonra, geriye kalan çözeltiden, vakum uygulanarak organik çözücünün uçurulmasıyla %87 verimle N-benzilidenanilin ve %9 verimle benzaldehyd elde etmişlerdir^[67].

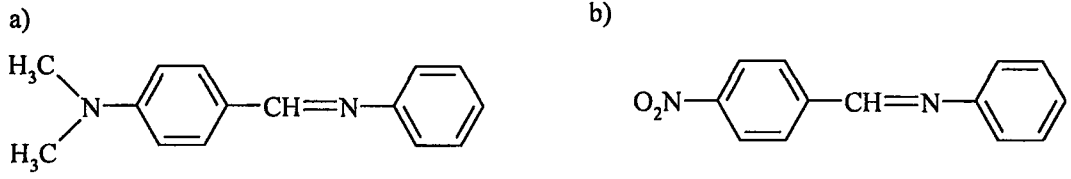


(X: H, CH₃, Cl, OCH₃; Y: H, CH₃, Cl, OCH₃, NO₂)

Şekil 47: Kobalt katalizörlüğünde benzilidenanilin eldesi

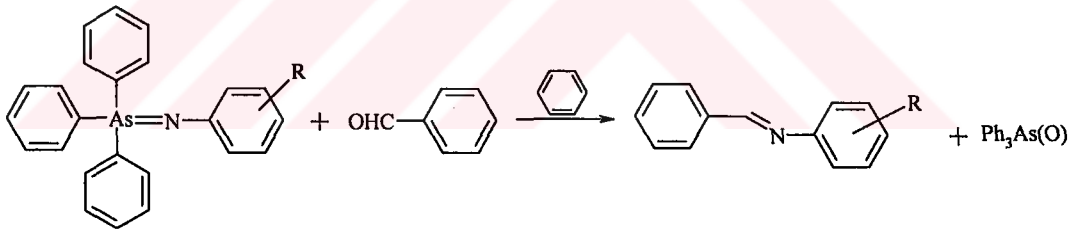
1989 yılında; Isao ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, α-aril-N-fenilnitron türevlerinin diiyodotrifenilfosforen katalizörlüğünde N-benzilidenanilin türevlerine dönüşümünü, etkili ve basit bir metot olarak tanımlamışlardır. Reaksiyonun benzen içerisinde, oda sıcaklığında, kısa sürede yüksek verimle (%92-96) yürüdüğü belirtilmiştir. Bu yöntem ile benzilidenanilin ve 4-(kloro, bromo, nitro, metil, metoksi, dimetilamino) benzilidenanilin türevleri sentezlenmiştir. Aynı çalışmada α-(4-dimetilaminofenil)-N-fenilnitron ve α-(4-nitrofenil)-N-fenilnitron diklorometan içerisinde fosfin ve iyot

katalizörlüğünde deoksidasyona uğratılmış ve yüksek verimde (%94-97) 4-dimetilaminobenzilidenanilin ve 4-nitrobenzilidenanilin elde edilmiştir^[68].



Şekil 48: a) 4-dimetilaminobenzilidenanilin
b) 4-nitrobenzilidenanilin

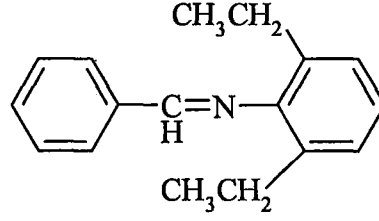
1989 yılında; Kokorev ve arkadaşları, arseazo bileşiklerinin aldehydler, karboksilik asitler ve karboksilik asit klorürleriyle reaksiyonlarını incelemiştir. As = N bağına içeren N-trifenilarse-4-sübstitüe anilin türevleri ile benzaldehid veya 2-, 3-, 4-dimetilaminobenzaldehid, benzen içerisinde reaksiyona sokulmuş ve %64-94 verimle azometin bileşikleri elde edilmiştir. Reaksiyon sonunda yan ürün olarak trifenilarsenoksit meydana gelmiştir^[69].



(R: H, 2-Cl, 2-OCH₃, 4-OCH₃, 4-NO₂, 4-Br, 4-CH₃)

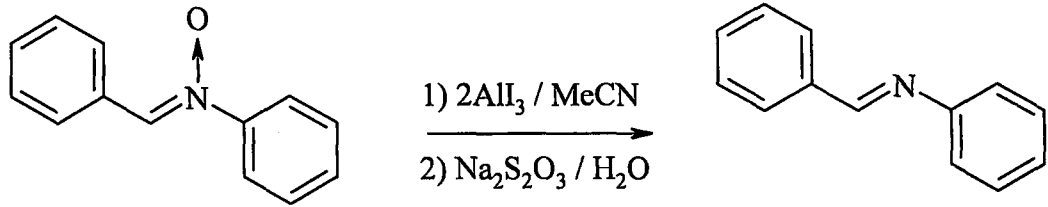
Şekil 49: N-trifenilarse-4-sübstitüe anilin türevlerinden azometin türevi eldesi.

1989 yılında; Venkov ve arkadaşları, benzaldehid ile anilin, 4-kloroanilin, 2,6-dimetilanilin veya 2,6-dietilanilin'i reaksiyona sokarak benzilidenanilin, benziliden-4-kloroanilin, benziliden-2,6-dimetilanilin, benziliden-2,6-dietilanilin bileşiklerinin sentezini gerçekleştirmişlerdir^[70].



Şekil 50: Benziliden-2,6-dietilanilin

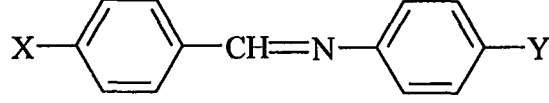
1990 yılında; Sándhu ve arkadaşları, 20 mol AlI_3 'ü 50 ml metilsiyanoür içerisinde çözerek hazırladıkları çözeltiyi, benzaldehid-N-fenilnitron ile karıştırıp, karışımı geri çeviren soğutucu altında, susuz ortamda 5 saat boyunca ısıtmışlardır. Ortamdan çözücüyu vakum yardımıyla uzaklaştırdıktan sonra, kalıntıyı 100 ml su ile yıkamışlardır. Elde edilen ürünü kloroform ile 25 ml'lik porsiyonlar halinde dört kez ekstrakte etmişler ve ekstraksiyon ürününü %10'luk $Na_2S_2O_3$ çözeltisi ile 20 ml'lik porsiyonlar halinde iki kez yıkamışlardır. Ürünü Na_2SO_4 yardımıyla kurutmuşlar, vakum uygulayarak %91 verimle N-fenilbenzaldimin elde etmişlerdir. N-fenil benzaldimin'i etanolden kristallendirdikten sonra erime derecesini $52\text{ }^\circ C$ olarak kaydetmişlerdir. Bu yöntem ile ayrıca; %89 verimle N-(4-klorofenil)benzaldimin (E.D. $62\text{ }^\circ C$), %85 verimle N-fenil-3,4-metilendioksibenzaldimin (E.D. $69\text{ }^\circ C$), %88 verimle N-fenil-4-klorobenzaldimin (E.D. $66\text{ }^\circ C$) ve %85 verimle N-fenil-3-metilbenzaldimin (E.D. $314\text{ }^\circ C$) elde edilmiştir^[71].



Şekil 51: Alüminyumtriiodür katalizörlüğünde N-fenilbenzaldimin eldesi

1991 yılında; Kazushige ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, sekonder amin türevlerinin tersiyerbutilhidroperoksit ile deoksidasyonu sonucu

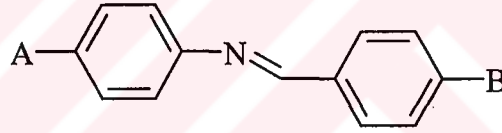
bazı imin türevleri elde edilmiştir. Sekonder amin türevi olarak N-4-sübstitüe fenil-4-sübstitüe benzilamin türevleri kullanılmış, deoksidasyon sonucunda imin türevi olarak 4-sübstitüe benziliden-4-sübstitüe anilin türevleri elde edilmiştir^[72].



(X: H, NO₂, OCH₃, CH₃, Cl ; Y: H, OCH₃, CH₃, Cl)

Şekil 52: 4-sübstitüe benziliden-4-sübstitüe anilin türevleri

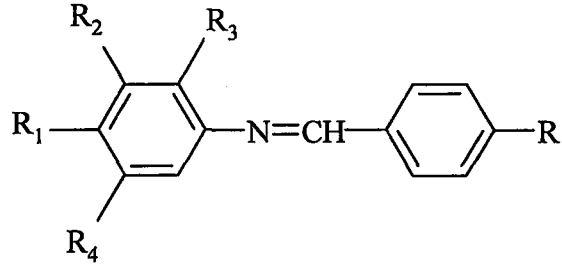
1991 yılında; Figueroa ve arkadaşları, 4-sübstitüe anilin türevleri ile 4-sübstitüe benzaldehid türevlerini kondensasyon reaksiyonuna sokarak, 4-sübstitüe, 4'-sübstitüe veya 4,4'-disübstitüe benzilidenanilin türevlerini sentezlemişlerdir. Elde edilen bileşiklerin IR spektroskopileri incelenmiştir^[73].



(A: H, B: H; A: NO₂, B: N(CH₃)₂, A: NO₂, B: H ; A: H, B: N(CH₃)₂)

Şekil 53: 4,4'-disübstitüe benzilidenanilin türevleri

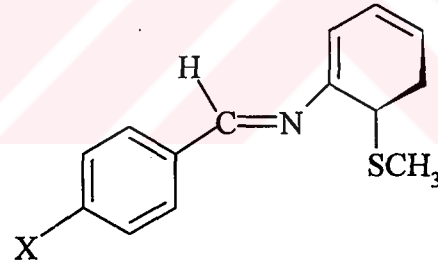
1994 yılında; Xing ve arkadaşları, bazı Schiff bazlarının sentezini gerçekleştirmiş ve elde edilen ürünler üzerinde UV-spektroskopisi çalışması yapmışlardır. Çeşitli sübstitüe benzalanilin türevleri uygun aromatik amin ve aromatik aldehidin kondensasyon reaksiyonu sonucu sentezlenmiştir^[74].



(R: H, NO₂; R₁: H, Cl, NO₂, CH₃, OCH₃, OCH₂CH₃;
R₂: H, HNCOCH₃; R₃, R₄: H, OCH₃)

Şekil 54: Bazı sübstitüe benzalanilin türevleri

1994 yılında; Sinha ve arkadaşı tarafından ortaya koyulan çalışmada, 2-(metiltiyo)-N-(p-sübstitüe benziliden)anilin türevleri, eşit miktar 2-(metiltiyo)anilin ve *para*-sübstitüe benzaldehid'in 3 saat boyunca ısıtılarak kondensasyona tabi tutulması sonucu elde edilmiştir. Kondensasyon reaksiyonu sonucu elde edilen ürünlerin yapıları elementel analiz, IR spektroskopisi ve ¹H-NMR spektroskopisi yardımıyla aydınlatılmıştır^[75].

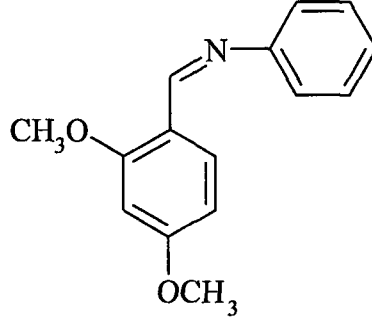


(X: H, CH₃, OCH₃, NO₂, Cl)

Şekil 55: 2-(metiltiyo)-N-(p-sübstitüe benziliden)anilin türevleri

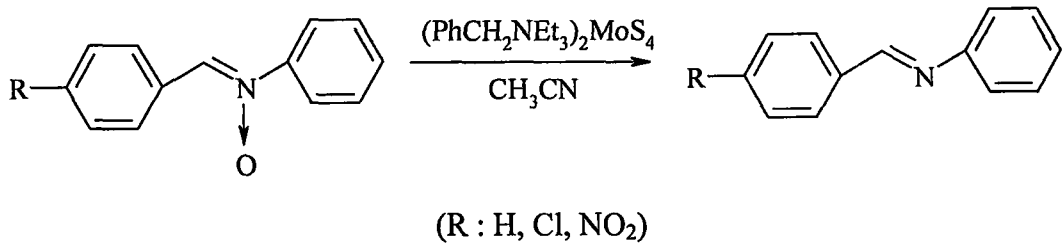
1994 yılında; Bulatova ve arkadaşları, bazı sübstitüe 5-(klorometil)-1,3-oksazolidinlerin sentezini gerçekleştirmişlerdir. İki basamak halinde yürüten sentezin birinci basamağında sübstitüe benzaldehid türevleri ile sübstitüe anilin türevleri kondanse edilmiş ve %42-86 verimle benzilidenanilin, 4-

metoksibenzilidenanilin, 2,4-dimetoksibenzilidenanilin ve 4-klorobenzilidenanilin Schiff bazları elde edilmiştir. Schiff bazları CCl_4 içerisinde epiklorohidrin ile siklizasyona sokulmuş, SnCl_4 ilavesiyle sübstitüe 5-(klorometil)-1,3-oksazolidinler $\leq \%65$ verimle elde edilmiştir^[76].



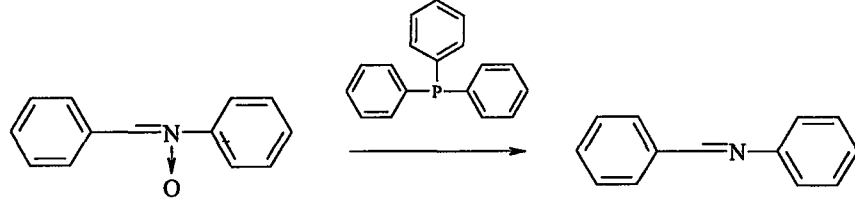
Şekil 56: 2,4-dimetoksibenzilidenanilin

1995 yılında; Chandrasekaran ve arkadaşları, nitron ve N-oksit türevlerinin metilsiyandır içerisinde, tetratıyomolibdat ile $25\text{ }^\circ\text{C}$ de muamele edilmesi sonucu yürüyen deoksidasyon reaksiyonuyla, imin ve amin türevlerinin elde edildiğini belirtmişlerdir. Yaptıkları çalışmada 1,2 mmol tetratıyomolibdat'ın 5 ml metil siyanürdeki sıcak çözeltisine, 2 mml metilsiyandır içindeki 1 mmol nitron yada N-oksit türevi oda sıcaklığında ilave edilmiştir. Reaksiyonun tamamlanmasının ardından çözücü vakum uygulanarak uçurulmuş ve kalıntı dietileter ile ekstraksiyona tabi tutulduktan sonra süzölmüştür. Reaksiyon ürünleri kristallendirme sonucu veya distilasyon sonucu saflaştırılmıştır. Sentezler sonucunda $\%60$ verimle benzilidenanilin, $\%72$ verimle p-klorobenzilidenanilin, $\%88$ verimle p-nitrobenzilidenanilin elde edilmiştir^[77].



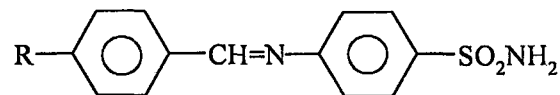
Şekil 57: Tetratıyomolibdat katalizörlüğünde p-sübstitüe benzilidenanilin eldesi

1995 yılında; Sivasubramanian ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, trifenilfosfin ile N-(fenilmetilen)benzenamin N-oksit (benzaldehyd fenilnitron) reaksiyona sokulmuş, meydana gelen deoksidasyon reaksiyonu sonucunda ürün olarak N-(fenilmetilen)benzenamin (benzaldimin) elde edilmiştir^[78].



Şekil 58: Trifenilfosfin katalizörlüğünde deoksidasyon ile benzaldimin eldesi.

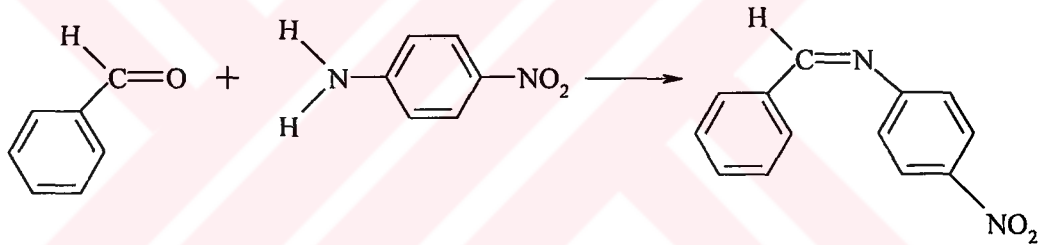
1996 yılında; Supuran ve arkadaşları, sülfanilamid ve aromatik aldehidlerin reaksiyonu sonucu elde edilen Schiff bazlarının, karbonik anhidraz enzimi üzerindeki inhibitör etkilerini incelemişlerdir. 25 mmol sülfanilamid 40 ml sıcak etanol içerisinde çözülmüş, ve 25 mmol uygun aldehid türevi karışıma ilave edilmiştir. Reaksiyon karışımı 3 saat boyunca ısıtılmış, çözücü ortamdan vakum yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Daha sonra kalıntı soğutulularak %82-99 verimle kristalize ürün elde edilmiştir. Elde edilen ürün %96'lık etanolden kristallendirilmiştir. Ürünlerin yapıları erime derecesi tayini, UV spektroskopisi, IR spektroskopisi, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopileri yardımıyla aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerin insan kırmızı kan hücresi karbonik anhidraz enzimi (CA I) ve öküz kırmızı kan hücresi karbonik anhidraz enzimi (CA II) üzerindeki inhibitör etkinlikleri incelenmiş ve en güçlü inhibitörün N-(4-siyanobenziliden) sülfanilamid olduğu tespit edilmiştir^[79].



(R: H, Cl, OH, OCH₃, N(CH₃)₂, NO₂, CN)

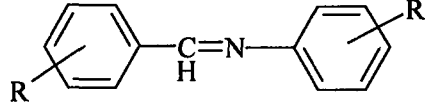
Şekil 59: N-(4-süstitüe benziliden) sülfanilamid

1997 yılında; Aggarwall ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, aromatik aminlerin amino gruplarındaki her iki hidrojen atomunun, bir hidrokarbon grubuyla yer değiştirmesi sonucu oluşan bileşiklerin Schiff bazları olarak bilindiğini vurgulamışlardır. İmin zinciriyle (-HC = N-) karakterize olmuş benzilidenanilin molekülü üzerine yapılan çalışmada, 20 adet benzilidenanilin türevi uygun aldehid ve amin'in kondensasyonu sonucu elde edilmiştir. Başlangıç maddeleri çözücü (örneğin etanol yada metanol) içerisine eşit miktarda katılmış ve ısıtılarak yada ısıtılmadan reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyon süresince su çıkışı meydana gelmiş ve reaksiyon sonucunda ürün katı olarak elde edilmiştir. Reaksiyonda başlangıç maddesi olarak 4 aldehid (benzaldehyd, salisilaldehid, anisaldehyd ve isovanillin) ve 5 amin (p-nitroanilin, p-siyanoanilin, p-benzoilanilin, p-karbamilanilin, o-metil-p-nitroanilin) kullanılmış ve 20 adet Schiff bazı elde edilmiştir^[80].



Şekil 60: Benziliden-p-nitroanilin eldesi

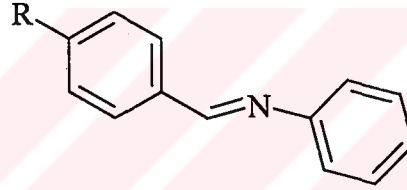
1997 yılında; Chuangfang ve arkadaşları tarafından ortaya koyulan çalışmada, bazı aminobenzilfosfonik asit türevlerinin sentezleri gerçekleştirilmiş ve aşınma inhibisyonu etkinlikleri incelenmiştir. İlk olarak anilin türevleri ve benzaldehid türevleri reaksiyona sokulmuş ve benzilidenanilin çekirdeği taşıyan bileşikler elde edilmiştir. Benzilidenanilin türevlerinin H_3PO_4 ile reaksiyonu aminobenzilfosfonik asit türevlerini vermiştir^[81].



(R: H, 4-NO₂, 2-OH; R': H, 4-CH₃, 3-NO₂)

Şekil 61: Bazı benzilidenanilin türevleri

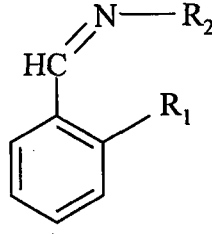
1997 yılında; Rade ve arkadaşları, azometin türevlerini L-sistein ile reaksiyona sokarak biyolojik ve tıbbi yönden önemli bileşikler olan 2-aril-sübstütüe-tiazolidin-4-karboksilik asit türevlerini elde etmişlerdir. Azometin türevleri; benzaldehid, 4-metilbenzaldehyd veya 4-klorobenzaldehid ile anilin'in reaksiyonu sonucu elde edilmiştir^[82].



(R: H, CH₃, Cl)

Şekil 62: Bazı azometin türevleri

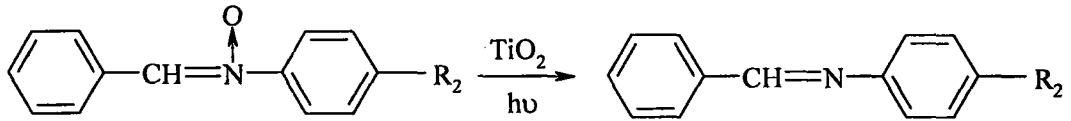
1998 yılında; Salman ve arkadaşı, Ar-CH=N-Ar tipindeki bileşiklerin genellikle N-benzilidenanilin Schiff bazları olarak tanıdıklarını bildirmişlerdir. Gerçekleştirilen çalışmada 2-hidroksibenzaldehid veya 2-metoksibenzaldehid'in, anilin veya p-sübstütüe anilin türevleri ile kondensasyonu sonucu 8 Schiff bazı türevi sentezlenmiş ve bunlar üzerinde Mass spektroskopisi çalışması yapılmıştır^[83].



(R₁: OH, R₂: Ph, p-CH₃Ph, p-IPh, p-BrPh, p-CH₃OPh, p-N(CH₃)₂Ph, p-NO₂Ph; R₁: OCH₃, R₂: Ph,)

Şekil 63: Bazı Schiff bazı türevleri

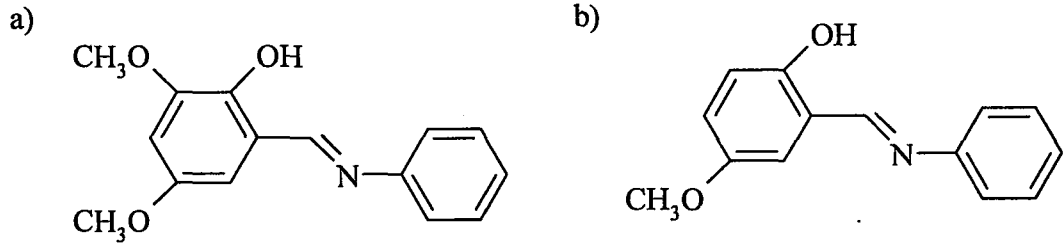
1998 yılında; Srinivasan ve arkadaşı ışınlanmış TiO₂ üzerine yaptıkları çalışmada, aldimin türevlerinin nitron türevlerine direkt oksidasyonu ile ilgili hiçbir kayıt bulunmamasına rağmen, nitron türevlerinin aldimin türevlerine deoksidasyonu ile ilgili çalışmalar olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmaları esnasında %1 oranında TiO₂ ihtiva eden 1 milimolar nitron türevi (5 ml asetonitril içerisinde) çözeltisi, fotokimyasal reaktör kullanılarak ışınlanmış ve ürünler gaz kromatografisi yardımıyla ayrılmıştır. Bu çalışma sonucu benzilidenanilin, 4-metoksibenzilidenanilin, 4-metilbenzilidenanilin, 4-klorobenzilidenanilin ve 4-bromobenzilidenanilin elde edilmiştir^[84].



Şekil 64: Işınlanmış TiO₂ katalizörlüğünde süstitüe benzilidenanilin eldesi.

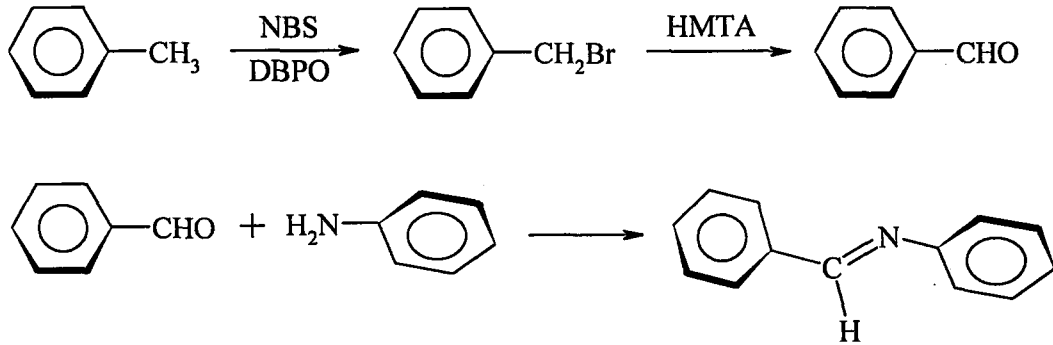
1998 yılında; Dziembowska ve arkadaşları çalışmalarında, 3,5-dimetoksi-2-[(fenilimino)metil]fenol ve 4-metoksi-2-[(fenilimino)metil]fenol' ün sentezini gerçekleştirmiştir. Sözü edilen Schiff bazları 5-metoksi salisilaldehid veya 4,6-dimetoksisalisilaldehid ile anilin'in reaksiyonu sonucu hazırlanmış, daha sonra hegzandan kristallendirilmiştir. Yapıları NMR spektroskopisiyle aydınlatılmış,

erime dereceleri ; 3,5-dimetoksi-2-[(fenilimino)metil]fenol için 96-97 °C, 4-metoksi-2-[(fenilimino)metil]fenol için 70-71 °C olarak bildirilmiştir^[85].



Şekil 65: a) 3,5-dimetoksi-2-[(fenilimino)metil]fenol
b) 4-metoksi-2-[(fenilimino)metil]fenol

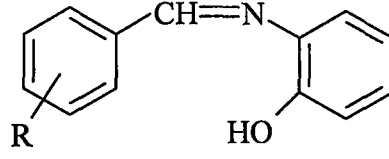
1998 yılında; Meic ve arkadaşları, zincirleme reaksiyonlar sonucu *trans*-N-benzildenanilin'in sentezini gerçekleştirmişlerdir. İlk olarak toluen, N-bromosüksinimid ve dibenzoilperoksid ile karıştırılarak benzilbromür elde edilmiştir. Oluşan benzil bromür, hekzametilentetramin ile reaksiyona sokularak benzaldehid elde edilmiştir. Benzaldehid ile anilin'in reaksiyonu sonucu oluşan ürün %85'lik etanolden kristallendirilmiştir. Sentezlenen bileşiğin erime derecesi, 50-52 °C olarak tespit edilmiş, ¹³C-NMR ve ¹H-NMR spektroskopileri yardımıyla yapısı aydınlatılmıştır^[86].



Şekil 66: *trans*-N-benzildenanilin'in zincirleme reaksiyonlarla sentezi

1998 yılında; Kılıç ve arkadaşları yaptıkları çalışma ile 17 Schiff bazının sentezini gerçekleştirmişlerdir. o-hidroksianilin ve sübtitüe benzaldehid'in

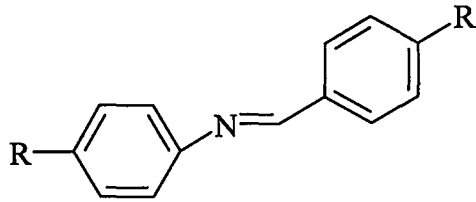
kondensasyonu ile oluşan ürünlerin, etanolden kristallendirilmesi sonucu süstitüe benzilidenanilin-o-hidroksianilin türevleri elde edilmiştir^[87].



(R: H, Cl, Br, I, NO₂, OCH₃, OH)

Şekil 67: Süstitüe benzilidenanilin-o-hidroksianilin

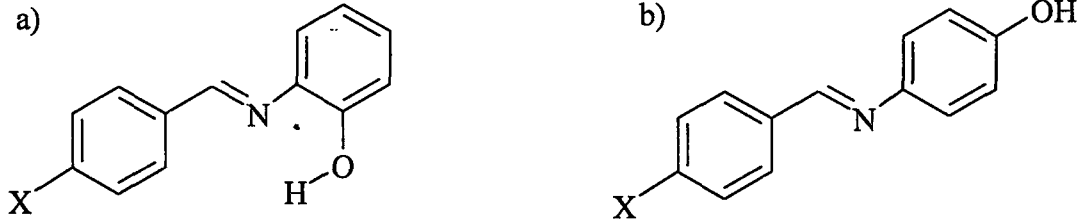
1998 yılında; Toda ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, azometinlerin enantioselektif oksidasyon, siklik katılım ve siklizasyon reaksiyonlarında önemli yapı taşları olduğunu bildirmiştir. Çalışma grubu azometinlerin, anilin türevleri ile aromatik aldehid türevlerinden sentezlerinin, genellikle bir çözelti içerisinde, asit katalizör tarafından gerçekleştiğini ve reaksiyon sırasında yan ürün olarak su meydana geldiğini, nötralizasyon ve kristallendirme işlemlerinden sonra ürünlerin %80-95 verimle elde edildiğini belirtmiştir. Yapılan çalışmada katı başlangıç maddelerinden 10 mmol uygun anilin türevi ve 10 mmol uygun aldehid türevi havan içerisinde beraberce öğütülmüş ve karışım 2-120 saat boyunca oda sıcaklığında tutulmuştur. Reaksiyonlar sonucunda %100 verimle azometin türevi bileşikler elde edilmiştir. Reaksiyon ürünlerinin yapıları IR ve NMR spektroskopileri ile aydınlatılmıştır^[88].



(R: CH₃, OCH₃; R': Cl, Br, NO₂, HO;
R: Cl, Br; R': OH; R: NO₂; R': Cl; R: OH; R': Cl)

Şekil 68: Bazı azometin türevleri

1998 yılında; Kamounah ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 50 mmol 2-hidroksianilin yada 4-hidroksianilin ile 50 mmol 4-sübstitüe benzaldehid türevleri 75 ml etanol içerisinde, geri çeviren soğutucu altında 2 saat boyunca ısıtılmış, reaksiyon karışımının soğutulmasından sonra elde edilen Schiff bazları etanolden kristallendirilmiştir. Elde edilen bileşikler üzerinde UV spektroskopisi çalışması yapılmıştır^[89].

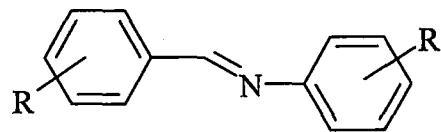


(X: H, NO₂, CH₃, OCH₃, N(CH₃)₂)

Şekil 69: a) 4-sübstitüe benziliden-2-hidroksianilin

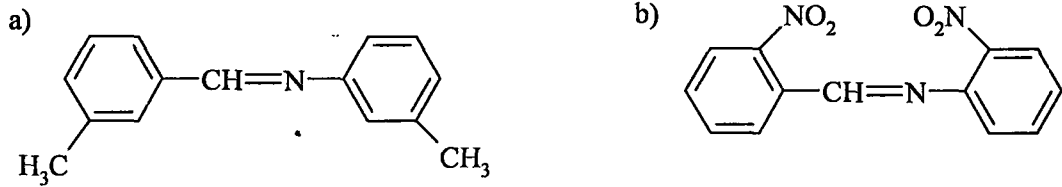
b) 4-sübstitüe benziliden-4-hidroksianilin

1998 yılında; Varma ve arkadaşı tarafından yürütülen çalışmada, p-klorobenzaldehid (0,7 g, 5 mmol), anilin (0,455 g, 5 mmol) ve K10 kili (1 g) karışımını içeren 25 ml'lik beher, mikrodalga fırını içerisinde bulunan alüminyum banyosuna yerleştirilmiş ve 2 dakika boyunca ışınlanmıştır. Bu yöntemle elde edilen Schiff bazları daha sonra yine mikrodalga fırını içerisinde NaBH₄ ile indirgenerek benzilamin türevlerini vermiştir^[90]. Bu çalışma sonucunda elde edilen Schiff bazları benzilidenanilin, salisilidenanilin, salisiliden-p-nitroanilin, p-klorobenzilidenanilin, p-klorobenziliden-o-hidroksianilin, p-anisilidenanilin, p-anisiliden-p-hidroksianilin, p-nitrobenzilidenanilin, 3,4-dimetoksibenziliden-p-kloroanilin şeklindedir.



Şekil 70: Mikrodalga fırınında ışınlama sonucu elde edilen Schiff bazları.

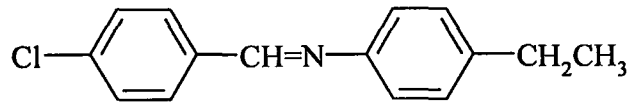
1998 Yılında; Ming ve arkadaşları, aldehid türevleri ile amin türevlerini, mikrodalga ışınlarına maruz kalacak şekilde, alüminyum destek üzerinde kondensasyona bırakmışlar ve %58,3-92,3 verimle Schiff bazları elde etmişlerdir. Reaksiyon esnasında aldehid türevi olarak; benzaldehid, 2-, 3-, 4-nitro benzaldehid, amin türevi olarak; anilin, 2-, 3-, 4-metilanilin, 3-, 4- nitroanilin kullanılmış Schiff bazı olarak da benzilidenanilin türevleri elde edilmiştir^[91].



Şekil 71: a) 3-metilbenziliden-3-metilanilin

b) 2-nitrobenziliden-2-nitroanilin

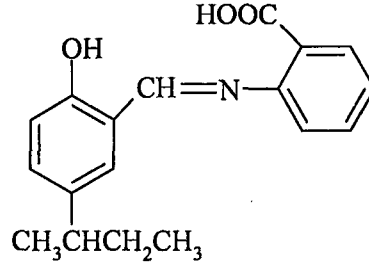
1999 yılında; Ahamed ve arkadaşı sübstitüe yada non-sübstitüe anilin ve aldehid türevlerini kullanarak bazı aromatik anilinlerin sentezini gerçekleştirmişlerdir. Uygun anilin ve aldehid türevlerinin 100 °C de 10 dakika boyunca ısıtılmasıyla elde edilen ürün alkol veya benzenden kristallendirilmiştir. Bu şekilde; N-fenilbenzaldimin, N-fenil-p-metilbenzaldimin, N-fenil-p-klorobenzaldimin, N-fenil-p-metoksibenzaldimin, N-(p-klorofenil)-benzaldimin, N-(p-metoksifenil)-benzaldimin, N-(p-klorofenil)-p-klorobenzaldimin, N-(p-metoksifenil)-p-metoksibenzaldimin ve N-(p-etilfenil)-p-klorobenzaldimin elde edilmiştir^[92].



Şekil 72: N-(p-etilfenil)-p-klorobenzaldimin

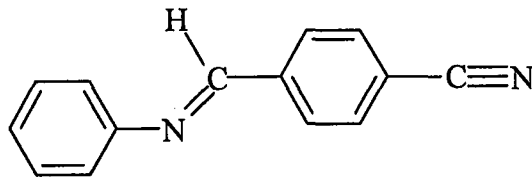
1999 yılında; Hage ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, 5-(2-butil)salisilaldehid'in (0,200 g. 1,12 mmol) kloroform (10 ml) içerisindeki çözeltisi, 2-aminobenzoik asid'in (0,155 g. 1,12 mol) kloroform (10 ml)

içerisindeki çözeltilisine ilave edilmiştir. Reaksiyon karışımı 2 saat boyunca ısıtılmış, karışıma sodyum sülfat ilave edilmiş ve sarı çözelti 30 dakika daha ısıtılmıştır. Süzme işlemi sonucunda %72 verimle 2-[2-Hidroksi-5-(2-butilbenzilidenamino)]benzoik asit elde edilmiştir. Elde edilen ürünün yapısı elementel analiz, UV spektroskopisi, IR spektroskopisi, ¹³C-NMR analizi ve ¹H-NMR analizi ile aydınlatılmıştır. Başlangıç maddelerinden 5-(2-butil)salisilaldehid Reimer-Tiemann reaksiyonuyla %30 verimle elde edilmiştir^[93].



Şekil 73: 2-[2-hidroksi-5-(2-butilbenzilidenamino)]benzoikasit

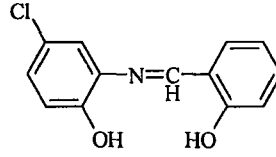
1999 yılında; Andreev ve arkadaşları, 4-siyanobenzaldehid ve anilin'in kondensasyon reaksiyonu sonucu N-(4-siyanobenziliden)anilin'in sentezini gerçekleştirmişler ve elde edilen bu bileşik üzerinde IR spektroskopisi çalışması yapmışlardır^[94].



Şekil 74: N-(4-Siyanobenziliden)anilin

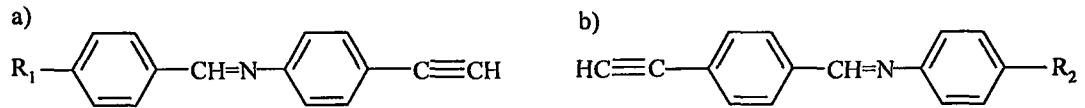
1999 yılında; Kabak ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmada, N-(2-hidroksi-5-klorofenil) salisilaldimin sentezlenmiştir. 2-amino-4-klorofenol'ün (0,03 mol) etanol içerisindeki çözeltisi hazırlanmış ve bu çözeltiliye

salisilaldehid'in (0,03 mol) etanol içerisindeki çözeltisi ilave edilmiştir. Reaksiyon karışımı soğutularak turuncu renkli kristalize ürün elde edilmiştir^[95].



Şekil 75: N-(2-hidroksi-5-klorofenil) salisilaldimin

1999 yılında; Balcar ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, her iki benzen halkasında da çeşitli sübstitüentler taşıyan benzilidenanilin türevlerinin uzun yıllardan beri çalışmalara konu olmalarına rağmen, sübstitüent olarak etinil (HC≡C-) grubu taşıyan benzilidenanilin türevlerinin bilinmediğini belirtmişler ve bu bileşiklerin sentezlerini gerçekleştirmişlerdir. 1 mmol aldehid türevi 1 mmol amin türevi ile 2-4 ml metanol içerisinde karıştırılmış, 5-20 dakika sonra kristalize ürünün meydana gelmeye başladığı gözlenmiştir. 3 saat sonra kristalize sarı ürün ortamdan alınmış, metanol ile küçük porsiyonlar halinde yıkandıktan sonra kurutulmuştur. Alkollü süzüntü içerisinde kalan ikincil ürün çözücünün distilasyonu ile kurtarılmış ve metanolden kristallendirilerek %97-99 verimle sentezleme işlemi tamamlanmıştır. Elde edilen bileşiklere ait erime derecesi, elementel analiz, UV-spektroskopisi, IR spektroskopisi, MASS spektroskopisi, ¹H-NMR spektroskopisi, ¹³C-NMR spektroskopisi sonuçları çalışma sonucunda belirtilmiştir^[96].



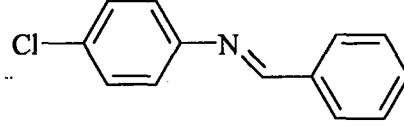
(R₁: CH₃, *t*-Bu, F, Br, NO₂, CN, N(CH₃)₂;

R₂: CH₃, *t*-Bu, F, Br, NO₂, OCH₃, Cl, I, CF₃)

Şekil 76: a) 4-sübstitüe benziliden-4-etinilanilin

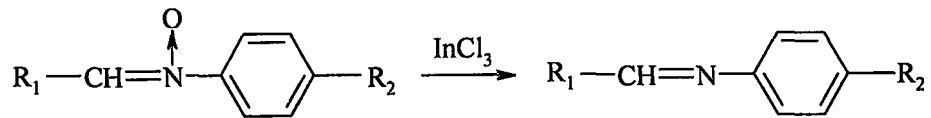
b) 4-etinilbenziliden-4-sübstitüe anilin

2000 yılında; Koichi ve arkadaşı, organik çözücü ve katalizör kullanmadan bazı iminlerin hazırlanışını bildirmiştir. Çalışmalarında benzaldehid ve 100 µm partikül boyutuna sahip olan p-kloroanilin su içerisinde dağıtılarak kondensasyona sokulmuştur. Reaksiyon oda sıcaklığında gerçekleşmiş ve 30 dakika boyunca devam etmiştir. Reaksiyon sonucunda %99 verimle N-4-klorofenilbenzalanilin elde edilmiştir^[97].



Şekil 77: N-4-klorofenilbenzalanilin

2001 yılında; Sandhu ve arkadaşları, nitron, azoksibenzen ve N-heteroaren N-oksit gibi N-oksit türevlerinden, çeşitli aromatik imin türevlerinin elde edildiği reaksiyon için indyumtriklorür'ün uygun bir deoksidasyon ajanı olduğunu ortaya koymuşlardır. Yaptıkları çalışmada 0,4 g (2 mmol) benzaldehid N-fenil nitron'un 15 ml susuz asetonitrildeki çözeltisi, 0,45 g (2 mmol) susuz InCl_3 üzerine ilave edilmiş ve karışım azot gazı basıncı altında 1 saat ısıtılmıştır. Reaksiyon sonucunda çözücü ortamdan vakum pompası ile uzaklaştırılmış ve kalıntıya 50 ml su ilave edilmiştir. Bu karışım %25'lik amonyak çözeltisi ilavesiyle bazik karakterli (pH = 8) hale getirilmiş, dietil eter ile ekstrakte edildikten (2 x 30) sonra susuz Na_2SO_4 ilavesiyle kurutulmuş ve çözücü distilasyon ile ortamdan uzaklaştırılmıştır. Kolon kromatografisi yardımıyla (petrol eteri/benzen 4:1) %95 verimle ; benzilidenanilin, 4-klorobenzilidenanilin, 4-metoksibenzilidenanilin ve benziliden-4-kloroanilin elde edilmiştir^[98].



(R_1 : Ph, 4-Ph, 4- CH_3OPh , R_2 : H; R_1 : Ph, R_2 : Cl)

Şekil 78: InCl_3 katalizörlüğünde süstitüe benzilidenanilin eldesi.

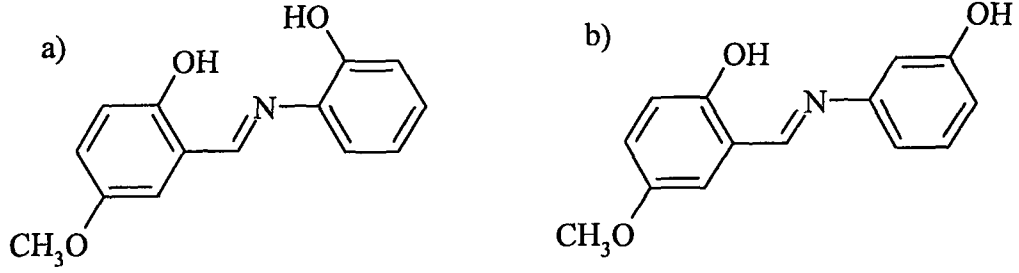
2001 yılında; Tashiro ve arkadaşları, sulu ortamda, uygun şartlar altında, herhangi bir tampon sistem veya katalizör kullanmadan imin sentezinin sınırlarını ve geçerliliğini araştırmayı amaçlamışlardır. Schiff bazlarının, benzaldehid ve türevlerinin uygun şartlar altında ve düşük sıcaklıklarda, aminlerle kondensasyonu sonucu kolay elde edilebilir bileşikler olduğu belirtilmiştir. Bu reaksiyonun ilk basamağında , ara ürün olarak aminoalkol olduğu, ikinci basamadağıında su çıkışının meydana geldiğı vurgulanmıştır. Sentezler sonucunda; benzilidenanilin, benziliden-o-kloroanilin, benziliden-p-kloroanilin, benziliden-p-fluoroanilin, benziliden-m-fluoroanilin, benziliden-p-metilanilin, benziliden-m-kloro-o-metilanilin, benziliden-2,6-dikloroanilin, benziliden-p-siyanoanilin, benziliden-o-metoksianilin, p-metilbenzilidenanilin, salisilidenanilin, p-fluorobenzilidenanilin, p-nitrobenzilidenanilin ve p-siyanobenzilidenanilin %16-97 verimle elde edilmiştir^[99].

2002 yılında; Tanaka ve arkadaşı tarafından yapılan çalışmada, analitik, tıbbi, polimer ve kristalize materyal olarak geniş kullanım alanı bulan N-sübstitüe iminlerin(Schiff bazlarının), aromatik aldehydler ile alifatik ve aromatik aminlerin kondensasyonu sonucu olduğu bildirilmiştir. Literatür bilgilerinde iminlerin, amin ve karbonil grubu taşıyan bileşiklerin, organik çözücü içindeki karışımlarının, geri çeviren soğutucu altında ısıtılmasıyla hazırlandığı belirtilmiştir. İmin ve benzer kondensasyon ürünlerinin genellikle bir asit katalizör kullanımıyla olduğu vurgulanmıştır. Yapılan bu çalışmada ise benzaldehid türevleri ile anilin türevleri kondensasyonunun, herhangi bir asit katalizör kullanılmadan, sulu ortam içinde etkin bir şekilde gerçekleştiğı ve ürünlerin ortamdandan süzülerek ayrıldığı belirtilmiştir. Sıvı benzaldehid (0,25 g, 2,35 mmol) ve kristalize p-kloroanilin (0,30 g, 2,35 mmol) az miktar su içerisinde (5 ml) oda sıcaklığında 30 dakika süreyle ısıtılmıştır. Kristalize ürün süzülerek alınmış, su ile yıkanmış ve desikatörde %99 verimle benziliden-p-kloroanilin elde etmek üzere kurutulmuştur^[100]. Bu yöntemle elde edilen bileşiklerin , reaksiyon süresi, % verimleri ve erime dereceleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Bileşik	Süre / Saat	Verim / %	Erime Derecesi °C
Benzilidenanilin	3	98	50-53
Benziliden-p-metilanilin	1	86	52
Benziliden-p-kloroanilin	0,5	99	58-61
Benziliden-p-bromoanilin	0,5	98	62-65
Benziliden-p-metoksianilin	3	86	66-69
p-metilbenzilidenanilin	1	88	88
p-klorobenzilidenanilin	2	97	58-61
p-bromobenzilidenanilin	1	86	71-74
p-fetilbenzilidenanilin	0,5	92	155-158
p-hidroksibenilidenanilin	0,5	94	50-53
p-klorobenziliden-p-kloroanilin	0,5	87	110-113
Salisiliden-p-bromoanilin	0,5	94	111-114

Tablo 1: Bazı p ve/veya p'-süstitüe benzilidenanilin türevlerinin reaksiyon süreleri, % verimleri ve erime dereceleri.

2002 yılında; Popovic ve arkadaşları, N-(o-hidroksifenil)-5-metoksisalisilaldimin ve N-(m- hidroksifenil)-5-metoksisalisilaldimin'in sentezini gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada; 5-metoksisalisilaldehid ve 2-hidroksianilin etanol içerisinde 1:1 molar oranında çözülmüş ve reaksiyon karışımı 3 saat boyunca hava banyosu üzerinde ısıtılmıştır. Oluşan koyu kırmızı kristalize ürün süzülerek alınmış ve etanol ile yıkandıktan sonra vakum yardımıyla kurutularak %84 verimle N-(o-hidroksifenil)-5-metoksisalisilaldimin elde edilmiştir. Yine aynı çalışmada; 5-metoksisalisilaldehid ve 3-hidroksianilin etanol içerisinde 1:1 molar oranında çözülmüş, 3 saat boyunca hava banyosu üzerinde ısıtıldıktan sonra, reaksiyon karışımı alçak basınç altında (20 mm/Hg) distile edilmiştir. Birkaç gün sonra kristalize ürün süzülerek alınmış, etanol ile yıkanmış ve vakum yardımıyla kurutulmuştur. Elde edilen her iki ürünün yapısı elementel analiz ve IR spektroskopisi yardımıyla tayin edilmiştir^[101].



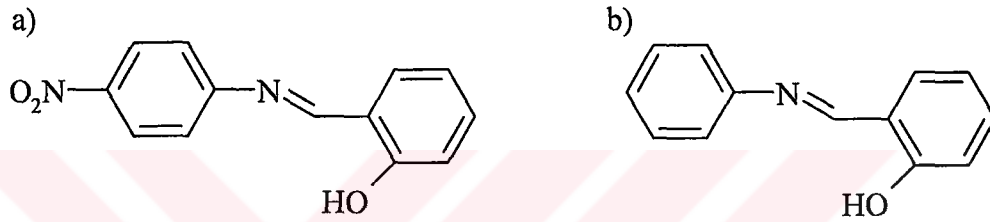
Şekil 79: a) N-(o-hidroksifenil)-5-metoksisalisilaldimin

b) N-(m-hidroksifenil)-5-metoksisalisilaldimin

2002 yılında; James ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, bazı imin türevleri sentezlenmiş ve bu bileşiklerin yapıları; erime derecesi tayini, elementel analiz, MASS, UV, IR ve ¹H-NMR spektroskopileri yardımı ile aydınlatılmıştır. Sentezler esnasında iki farklı yöntem kullanılmıştır. Birinci yöntemde; 1 mmol 4-metoksibenzaldehid 5 ml etanol içinde çözülmüş ve 20 ml etanoldeki 1 mmol anilin'in sıcak çözeltisine eklenmiştir. Karışıma 2 ml benzen ilave edilmiş ve geri çeviren soğutucu altında 24 saat boyunca ısıtılmıştır. Bu süre sonunda reaksiyon karışımı soğutulmuş, oluşan çökelti alçak basınç altında yoğunlaştırılarak %79 verimle krem renkli (4-feniliminometil)metoksifenil elde edilmiştir. Ürün petrol eterinden kristallendirilmiş ve erime derecesi 56-58 °C olarak kaydedilmiştir. Anlatılan bu yöntem kullanılarak %53 verimle açık sarı renkli (3-nitrobenziliden)aminofenil (E.D. 62-63 °C), %83 verimle beyaz renkli (4-metilbenziliden)aminofenil (E.D. 43-44 °C), %81 verimle beyaz renkli (4-klorobenziliden)aminofenil sentezlenmiştir (E.D. 62-63 °C) . İkinci yöntemde ise; 1 mmol 4-metoksianilin 5 ml etanol içinde çözülmüş ve 20 ml etanoldeki 1 mmol benzaldehid'in sıcak çözeltisine eklenmiştir. Karışıma 2 ml benzen ilave edilmiş ve geri çeviren soğutucu altında 24 saat boyunca ısıtılmıştır. Bu süre sonunda reaksiyon karışımı soğutulmuş, oluşan çökelti alçak basınç altında yoğunlaştırılarak %62 verimle beyaz renkli 4-(benzilidenamino)metoksifenil elde edilmiştir. Ürün petrol eterinden kristallendirilmiş ve erime derecesi 69-70 °C olarak kaydedilmiştir. Bu yöntem kullanılarak %76 verimle kahverengi renkli, yağimsı benziliden-p-tolilanilin, %89 verimle açık kahverengi renkli benziliden-

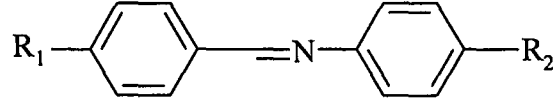
m-tolilanilin ve %33 verimle beyaz renkli benziliden(4-klorofenil)amin (E.D. 59-60 °C) sentezlenmiştir^[102].

2002 yılında; Luo ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, benzilidenanilin türevlerinden 4-nitro[N-(o-hidroksibenziliden)]anilin ve N-(o-hidroksibenziliden)anilin'in, hemolizin inhibisyon süresini uzatabildiği ve bu Schiff bazlarının hemolizi azaltan serbest radikallere karşı antioksidan olarak rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Bu sonuçtan hareketle alkil grubu taşıyan yada konjuge sistem halindeki Schiff bazlarının, kırmızı kan hücrelerini, hemolizi etkili şekilde azaltan serbest radikallere karşı koruyabileceği bildirilmiş ve bu bilginin antioksidan ilaçların düzenlenmesinde yararlı olabileceğine işaret edilmiştir^[103].



Şekil 80: a) 4-nitro[N-(o-hidroksibenziliden)]anilin
b) N-(o-hidroksibenziliden)anilin

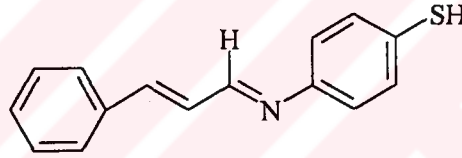
2002 yılında; Bayari ve arkadaşı tarafından yapılan çalışmada, Schiff bazlarının, kimyanın ve biyokimyanın bir çok alanında, sahip oldukları biyolojik aktivitelerden ötürü önemli roller oynadığı belirtilmiştir. Aromatik Schiff bazına örnek olan N-benzilidenanilin ve türevlerinin, yıllardan beri çalışmalara konu olduğu ve izoelektronik bir molekül olan N-benzilidenanilin'in aynı zamanda sıvı veya kristal özellikler gösteren bir çok bileşiğin, temel bileşeni olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmada dokuz adet süstitüe-N-benzilidenanilin türevinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Bütün bileşikler eşit miktar p-süstitüe benzaldehid ve p-süstitüe anilin'in susuz benzen içerisinde geri çeviren soğutucu altında ısıtılmasıyla sentezlenmiştir. Reaksiyon yaklaşık olarak iki saat sürmüştür. Çözücü vakum pompasında uçurularak uzaklaştırılmış ve kalıntı etanol veya petrol eterinden kristallendirilmiştir^[104].



(R₁: H; R₂: OCH₃, CH₃, Cl; R₁: OCH₃; R₂: H, Cl;
R₁: NO₂; R₂: H, OCH₃; R₂: H, R₁; Cl, CH₃)

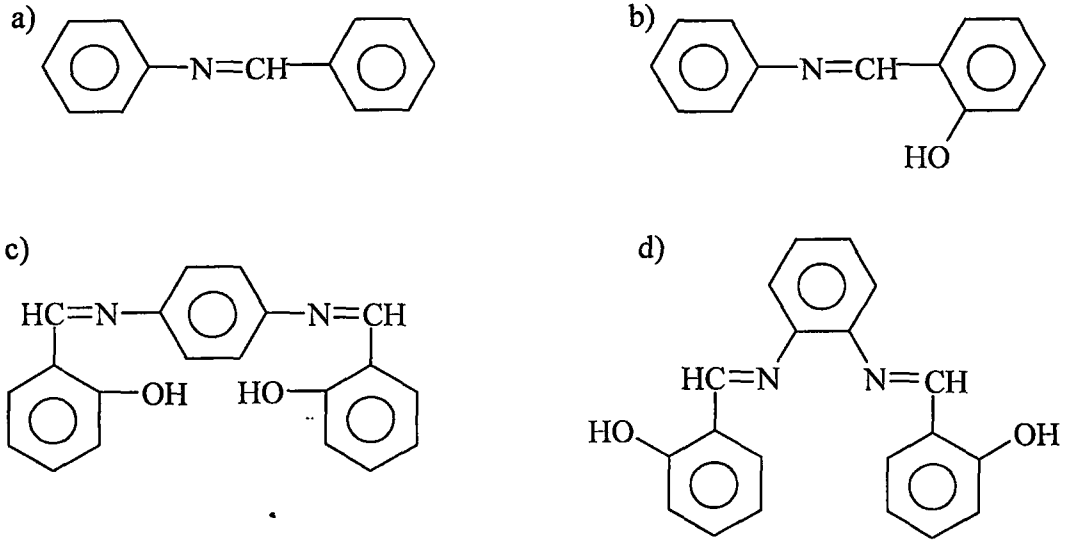
Şekil 81: p, p'-N-süstitüe benzilidenanilin türevleri

2002 yılında; İde ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 2-merkaptanilin'in (1 mmol) etanoldeki çözeltisine, sinamaldehyd'in (1 mmol) etanoldeki çözeltisini ilave edilmiştir. Karışım geri çeviren soğutucu altında ısıtılmış ve 1 saat boyunca Schiff bazının oluşması için oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ürün olarak N-sinnamiliden-2-merkaptanilin elde edilmiştir^[105].



Şekil 82: N-sinnamiliden-2-merkaptanilin

2002 yılında; Xinfu ve arkadaşı tarafından yapılan çalışmada, uygun miktar aldehid türevi, dibi yuvarlak üç boyunlu balon içerisine 100 ml etanol ile birlikte konulmuş, içerik homojen hale geldikten sonra, amin türevi uygun oranda ilave edilmiştir. Sarı renkli kristaller oluşana kadar reaksiyon karışımı ısıtılmıştır. Kristal oluşumunun gözlenmediği durumda, reaksiyon karışımı, kristaller gözlenene kadar alkolün ortamdan uzaklaştırılmasıyla konsantre hale getirilmiştir. Kalıntı süzülerek alınmış, yıkanmış ve etanolden kristallendirilmiştir. Reaksiyon sonucunda elde edilen ürün karanlık ortamda saklanmıştır^[106]. Bu çalışma ile benzilidenanilin, salisilidenanilin, N,N' Bis-(salisiliden)benzen-1,4-diamin ve N,N'-Bis (salisiliden)benzen-1,2-diamin elde edilmiştir.



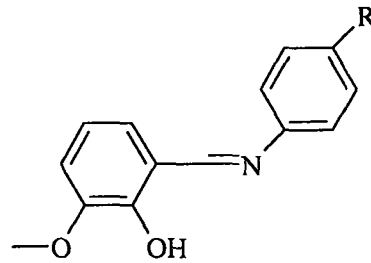
Şekil 83: a) Benzilidenanilin

b) Salisilidenanilin

c) N,N' Bis-(salisiliden)benzen-1,4-diamin

d) N,N' Bis-(salisiliden)benzen-1,2-diamin

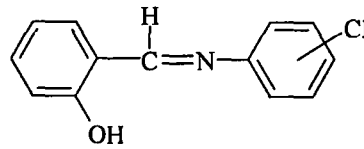
2003 yılında; Yeap ve arkadaşları tarafından 8 Schiff bazının sentezinin gerçekleştirdiği çalışmada eşit miktarlarda o-vanilin ve değişik anilin türevleri, etanol içerisinde karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı 5 saat boyunca geri çeviren soğutucu altında ısıtılmış, ürün oluşumu, reaksiyon karışımının oda sıcaklığına soğutulmasıyla hızlandırılmıştır. Oluşan ürün süzülerek alınmış, etanol yada kloroformdan kristallendirilmiş ve alçak basınç altında kurutulmuştur. Elde edilen bileşiklerin yapıları $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ ve IR spektroskopileriyle aydınlatılmıştır^[107].



(R : H, F, Cl, Br, NO₂, CH₃, OCH₃, CN)

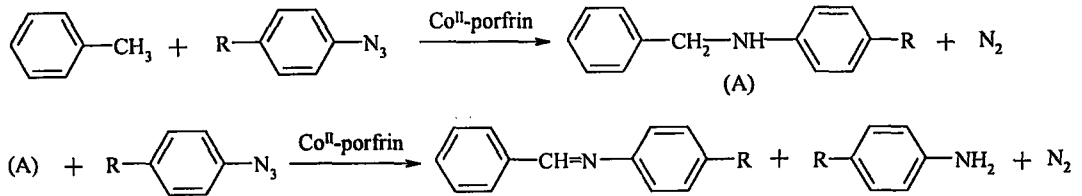
Şekil 84: 2-hidroksi-3-metoksibenzilidenanilin ve 4' türevleri.

2003 yılında; Emregül ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, salisilaldimin'in, %5 lik HCl çözeltisi içerisinde bulunan çeliğin aşınması üzerine gösterdiği inhibe edici özelliğinin, klorür iyonu sübstitüsüyle ne yönde değiştiğini araştırmışlardır. Çeşitli amin türevleri ve salisilaldehid'in etanol içerisindeki kondensasyon reaksiyonuyla elde edilen Schiff bazları, etanol yada metanolden kristallendirilmiştir. Elde edilen bileşiklerin (N-fenil-salisilaldimin, N-2-klorofenil-salisilaldimin, N-3-klorofenil-salisilaldimin, N-4-klorofenil-salisilaldimin) aşınma inhibitörü etkinlikleri kıyaslanmıştır. N-fenilsalisilaldimin'in 2- ve 4- kloro sübstitüyonları aşınma inhibitörü etkinliğini artırırken 3-kloro sübstitüyonu bu etkiyi azaltmıştır^[108].



Şekil 85: N-sübstitüe klorofenilsalisilaldimin

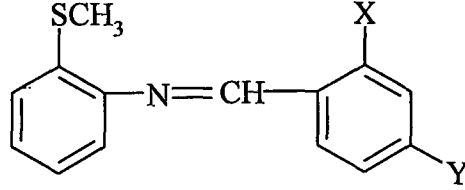
2003 yılında; Cenini ve arkadaşları toluen ile *para*-sübstitüe fenilazid'i, Co^{II}-porfrin katalizörlüğünde reaksiyona sokarak bazı imin türevlerinin sentezini gerçekleştirmişlerdir. Reaksiyonun ara basamağında sekonder amin türevi bir bileşik elde edilmiş, bu bileşik ile *para*-sübstitüe fenilazidin fazlasının Co^{II}-porfrin katalizörlüğünde reaksiyona devam etmesiyle imin fonksiyonu sentezlenmiştir^[109].



(R: NO₂, OCH₃, Cl, CN, F, Br, CH₃, H)

Şekil 86: Co^{II}-porfrin katalizörlüğünde *para*-sübstitüe fenilazid ile imin eldesi.

2004 yılında; Contreras ve arkadaşları, bazı 2-(metiltiyo)-N-sübstitüe-benzilidenanilin türevinin sentezini gerçekleştirmiştir. Eşit miktar 2-(metiltiyo)anilin ve sübstitüe benzaldehid türevi, magnezyum sülfat varlığında 2 saat boyunca ısıtılmış, kondensasyon reaksiyonu sonucu 2-(metiltiyo)-N-sübstitüe-benzilidenanilin türevleri elde edilmiştir^[110].



(X: H; Y: H, Cl, N(CH₃)₂, NO₂, Y: H; X: F, CH₃)

Şekil 87: 2-(metiltiyo)-N-sübstitüe-benzilidenanilin

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan kimyasal alet ve maddeler

3.1.1. Kullanılan aletler

Isıtıcı-karıştırıcı: Heidolph MR 3003 Elektro magnetik montolu ısıtıcı

Elektronik terazi: Schimadzu Libror EB-330 HU

Ultraviyole lambası: Model UVGL-58 Mineralight Lamb Multiband UV-254/366 nm

Erime derecesi tayini cihazı: Electrothermal 9100 Digital Melting Point Apparatus

Elementel analiz aleti: Leco CHNS 932 Elementel Analiz Aleti

Infrared spektrofotometresi: Shimadzu 8400 FTIR Spektrofotometre

Nükleer magnetik rezonans spektrometresi: Bruker Avance DPX-400 Spektrometre

Kütle spektrometresi: Agilent 1100 MSD Spektrometre

3.1.2. Kullanan kimyasal maddeler

Anilin	(Merck)
Asetik asid	(Merck)
Benzaldehid	(Merck)
2,4-Diklorobenzaldehid	(Merck)
2,4-Dimetilbenzaldehyd	(Merck)
Etil alkol	(Tekel)
4-Hidroksibenzaldehid	(Merck)
4-Klorobenzaldehid	(Merck)
Kloroform	(Merck)
Metanol	(Merck)
4-Metilbenzaldehyd	(Merck)
3,4-Metilendioksibenzaldehid	(Merck)
4-Metoksibenzaldehid	(Merck)
4-Nitrobenzaldehyd	(Merck)
4-Trifluorobenzaldehid	(Merck)
25 TLC aluminium sheets 20x20 cm slicagel 60 F ₂₅₄	(Merck)

3.2. Genel sentez yöntemi

0,06 mol benzaldehid türevi ve 0,5 ml asetik asit dibi yuvarlak balon içerisinde 20 ml etanol ilavesiyle karıştırıldı. Karışım üzerine 0,05 mol anilin damla damla ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtıldı. İnce tabaka kromatografisi sonucuna göre reaksiyona son verildi. Balon buz banyosu içerisinde 30 dakika bekletilerek ürünün çökmesi sağlandı. Çöken kısım süzülerek alındı, su ile yıkandı, kurutuldu. Metanol'den kristallendirildi.

3.3. Sentezlenen bileşiklerin analizleri

3.3.1. Erime noktası tayini

Sentezlenen bileşiklerin erime noktalarının saptanması, toz edilen maddenin, bir ucu açık kapiller borulara ½ cm kadar doldurularak Electrothermal Erime Noktası Tayini Cihazında yapılmış ve bulunan değerler düzeltilmemiştir.

3.3.2. R_f ve R_m değerinin saptanması

Elde edilen bileşiklerin R_f ve R_m değerleri, kloroform : metanol (98 : 2) çözücü sisteminin mobil faz olarak kullanıldığı ince tabaka kromatografisi yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Çalışmalarda adsorban olarak silikajel 60 F₂₅₄ ile kaplanmış 20 x 20 cm ebadındaki alüminyum plaklar kullanılmıştır. Lekelerin saptanmasında, ultraviyole ışığı (254 ve 366 nm) kullanılmıştır.

3.3.3. C, H, N tayini

2 numaralı Bileşiğin C, H, N, analizi Leco CHNS 932 Elementel Analiz Aleti kullanılarak yapılmıştır.

3.3.4. IR spektrumlarının alınması

2,5,7 ve 9 numaralı bileşiklerin IR spektrumları, potasyum bromür içinde hazırlanan tabletleri kullanılarak, Shimadzu 8400 FTIR Spektrofotometre'sinde alınmıştır.

3.3.5. NMR spektrumlarının alınması

2,5,7 ve 9 numaralı bileşiklerin NMR spektrumları, TMS referans maddesine karşı, maddenin DMSO içindeki çözeltisi hazırlanarak, Bruker Avance DPX-400 MHz Spektrometresi kullanılarak alınmıştır.

3.3.6. MASS spektrumlarının alınması

2 ve 9 numaralı bileşiklerin MASS spektrumları Agilent 1100 MSD Spektrometresi ile APCI tekniği uygulanarak alınmıştır.

3.4. Sentezlenen bileşiklerin mutajenitelerinin incelenmesi

4. konumdan süstitüe olmuş benzilidenanilin türevlerinden 2,3,4,5,6 numaralı bileşiklerin mutajenik özellikleri, Ames *Salmonella* / mikrozom testi uygulanarak belirlenmiştir.

3.5. Sentezlenen bileşiklerin sitotoksitelerinin incelenmesi

Bileşiklerin Sitotoksik özellikleri, MTT testi uygulanarak belirlenmiştir.

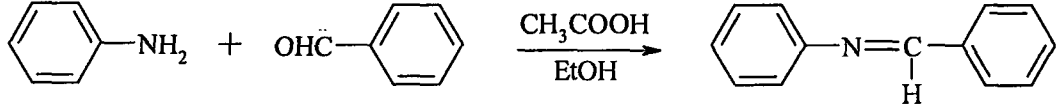
3.6. Sentezlenen bileşiklerin antiproliferatif etkilerinin incelenmesi

Sentezlenen bileşiklerin antiproliferatif etkilerinin ölçülmesi BrdU kiti kullanılarak yapılmıştır.

4. DENEYSEL KISIM

4.1. Sentezlenen bileşikler

4.1.1 Benzilidenanilin



Anilin	0,005 mol	0,465 g
Benzaldehid	0,006 mol	0,636 g
Asetik asid		0,5 ml
Etanol		20 ml

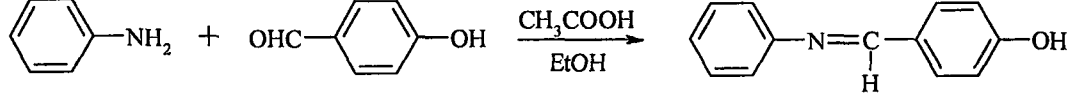
Benzaldehid ve asetik asid dibi yuvarlak balon içerisinde etanol ilavesiyle karıştırıldı. Karışım üzerine damla damla anilin ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtıldı. İnce tabaka kromatografisi sonucuna göre reaksiyona son verildi. Balon buz banyosu içerisinde 30 dakika bekletilerek ürünün çökmesi sağlandı. Çöken kısım süzülerek alındı, su ile yıkandı, kurutuldu. Metanol'den kristallendirildi.

Verim: %89

Deneysel erime derecesi: 50.8 °C

Literatür erime derecesi: 49-51 °C ^[22]

4.1.2 4-hidroksibenzilidenanilin



Anilin	0,005 mol	0,465 g
4-hidroksibenzaldehid	0,006 mol	0,732 g
Asetik asid		0,5 ml
Etanol		20 ml

4-hidroksibenzaldehid ve asetik asid dibi yuvarlak balon içerisinde etanol ilavesiyle karıştırıldı. Karışım üzerine damla damla anilin ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtıldı. İnce tabaka kromatografisi sonucuna göre reaksiyona son verildi. Balon buz banyosu içerisinde 30 dakika bekletilerek ürünün çökmesi sağlandı. Çöken kısım süzülerek alındı, su ile yıkandı, kurutuldu. Metanol'den kristallendirildi.

Verim: %85

Deneysel erime derecesi: 197.4 °C

Literatür erime derecesi: 200 °C ^[40]

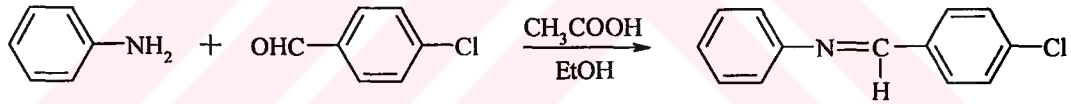
Elementel Analiz	: C ₁₃ H ₁₁ NO		
Hesaplanan	: C : 79.17	H : 5.62	N : 7.10
Bulunan	: C : 78.90	H : 5.24	N : 7.00

IR (KBr) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 3446 (aromatik O-H gerilim bandı); 3045, 3002, 2912 (aromatik C-H gerilim bandları); 2867 (alifatik C-H gerilim bandı), 1603 (C=N gerilim bandı), 1574, 1516, 1485, 1445 (Aromatik C=C bandları), 1387 (alifatik C-H eğilim bandı), 1286, 1242, 1164 (Aromatik C-N ve C-C gerilim bandları), 841 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı eğilim bandı), 760 , 690 (monosüstitüe benzen düzlem dışı eğilim bandı)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) (DMSO) $\delta(\text{ppm})$: 6,85-6,95 (2H, d, Ar-H *Benziliden*); 7,20-7,25 (3H, m Ar-H *Anilin*); 7,35-7,45 (2H, m, Ar-H *Anilin*); 7,75-7,85 (2H, d, Ar-H *Benziliden*); 8,45 (1H, s, N=CH), 10,1 (H, yayvan, Ar-OH)

MS (APCI) m/z : 196 [M-1], 197 [M⁺], 198 [M+1], 199 [M+2]

4.1.3 4-klorobenzilidenanilin



Anilin	0,005 mol	0,465 g
4-klorobenzaldehid	0,006 mol	0,843 g
Asetik asid		0,5 ml
Etanol		20 ml

4-klorobenzaldehid ve asetik asid dibi yuvarlak balon içerisinde etanol ilavesiyle karıştırıldı. Karışım üzerine damla damla anilin ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtıldı. İnce tabaka kromatografisi sonucuna göre

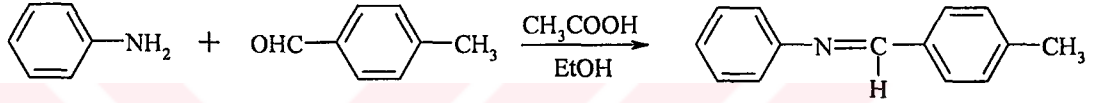
reaksiyona son verildi. Balon buz banyosu içerisinde 30 dakika bekletilerek ürünün çökmesi sağlandı. Çöken kısım süzülerek alındı, su ile yıkandı, kurutuldu. Metanol'den kristallendirildi.

Verim: %80

Deneysel erime derecesi: 64.6 °C

Literatür erime derecesi: 65.5-66 °C [16]

4.1.4 4-metilbenzilidenanilin



Anilin	0,005 mol	0,465 g
4-metilbenzaldehyd	0,006 mol	0,720 g
Asetik asid		0,5 ml
Etanol		20 ml

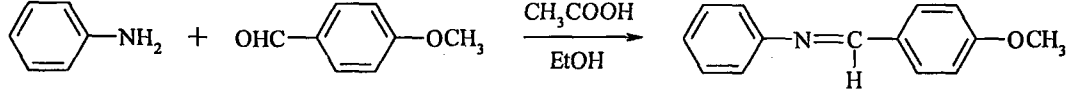
4-metilbenzaldehyd ve asetik asid dibi yuvarlak balon içerisinde etanol ilavesiyle karıştırıldı. Karışım üzerine damla damla anilin ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 1 saat ısıtıldı. İnce tabaka kromatografisi sonucuna göre reaksiyona son verildi. Balon buz banyosu içerisinde 30 dakika bekletilerek ürünün çökmesi sağlandı. Çöken kısım süzülerek alındı, su ile yıkandı, kurutuldu. Metanol'den kristallendirildi.

Verim: %85

Deneysel erime derecesi: 46.8 °C

Literatür erime derecesi: 44-45 °C [33]

4.1.5 4-metoksibenzilidenanilin



Anilin	0,005 mol	0,465 g
4-metoksibenzaldehid*	0,006 mol	0,816 g
Asetik asid		0,5 ml
Etanol		20 ml

4-metoksibenzaldehid ve asetik asid dibi yuvarlak balon içerisinde etanol ilavesiyle karıştırıldı. Karışım üzerine damla damla anilin ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtıldı. İnce tabaka kromatografisi sonucuna göre reaksiyona son verildi. Balon buz banyosu içerisinde 30 dakika bekletilerek ürünün çökmesi sağlandı. Çöken kısım süzülerek alındı, su ile yıkandı, kurutuldu. Metanol'den kristallendirildi.

Verim: %86

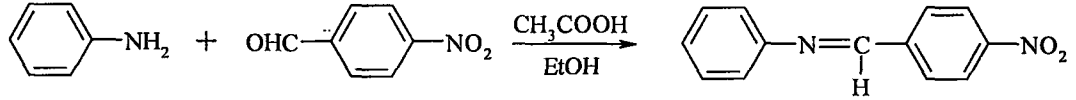
Deneysel erime derecesi: 60.6 °C

Literatür erime derecesi: 64 °C [46]

IR (KBr) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 3076, 3001, 2961, 2934 (aromatik C-H gerilim bandları), 2880 (alifatik C-H gerilim bandı), 1622 (C=N gerilim bandı), 1572, 1508, 1483, 1421 (Aromatik C=C bandları), 1310 (alifatik C-H eğilim bandı), 1252, 1171, 1109, (Aromatik C-N ve Aromatik C-C gerilim bandları) 841 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı eğilim bandı), 773, 696 (monosüstitüe benzen düzlem dışı eğilim bandı)

¹H-NMR(400 MHz) (DMSO) δ(ppm) : 3,85 (H, s, OCH₃); 7,05-7,10 (2H, d, Ar-H *Benziliden*); 7,20-7,25 (3H, m Ar-H *Anilin*); 7,35-7,45 (2H, m, Ar-H *Anilin*); 7,85-7,90 (2H, d, Ar-H *Benziliden*); 8,55 (1H, s, N=CH),

4.1.6 4-nitrobenzilidenanilin



Anilin	0,005 mol	0,465 g
4-nitrobenzalhid	0,006 mol	0,906 g
Asetik asid		0,5 ml
Etanol		20 ml

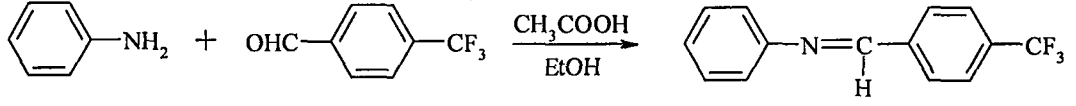
4-nitrobenzalhid ve asetik asid dibi yuvarlak balon içerisinde etanol ilavesiyle karıştırıldı. Karışım üzerine damla damla anilin ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtıldı. İnce tabaka kromatografisi sonucuna göre reaksiyona son verildi. Balon buz banyosu içerisinde 30 dakika bekletilerek ürünün çökmesi sağlandı. Çöken kısım süzülerek alındı, su ile yıkandı, kurutuldu. Metanol'den kristallendirildi.

Verim: %82

Deneysel erime derecesi: 92.4 °C

Literatür erime derecesi:90-90.5 °C [32]

4.1.7 4-trifluorobenzilidenanilin



Anilin	0,005 mol	0,465 g
4-trifluorobenzaldehid	0,006 mol	1,044 g
Asetik asid		0,5 ml
Etanol		20 ml

4-trifluorobenzaldehid ve asetik asid dibi yuvarlak balon içerisinde etanol ilavesiyle karıştırıldı. Karışım üzerine damla damla anilin ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtıldı. İnce tabaka kromatografisi sonucuna göre reaksiyona son verildi. Balon buz banyosu içerisinde 30 dakika bekletilerek ürünün çökmesi sağlandı. Çöken kısım süzülerek alındı, su ile yıkandı, kurutuldu. Metanol'den kristallendirildi.

Verim: %93

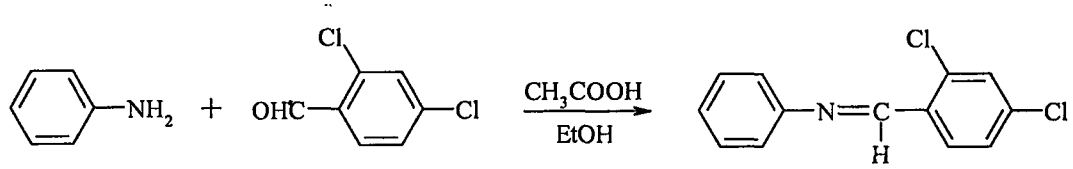
Deneysel erime derecesi: 67.9 °C

Literatür erime derecesi: 65 °C [41]

IR (KBr) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 3084, 3059, 3032, 2993 (aromatik C-H gerilim bandları), 2885 (alifatik C-H gerilim bandı), 1622 (C=N gerilim bandı), 1577, 1485, 1448 (Aromatik C=C bandları), 1335 (alifatik C-H eğilim bandı), 1173, 1121 (Aromatik C-C gerilim ve C-N bandları), 837 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı eğilim bandı), 768, 696 (monosüstitüe benzen düzlem dışı eğilim bandı)

¹H-NMR(400 MHz) (DMSO) δ(ppm) : 7,25-7,30 (3H, m Ar-H *Anilin*); 7,45-7,50 (2H, m, Ar-H *Anilin*); 7,85-7,95 (2H, d, Ar-H *Benziliden*); 8,15-8,20 (2H, d, Ar-H *Benziliden*); 8,75 (1H, s, N=CH),

4.1.8 2,4-diklorobenzilidenanilin



Anilin	0,005 mol	0,465 g
2,4-diklorobenzaldehid	0,006 mol	1,044 g
Asetik asid		0,5 ml
Etanol		20 ml

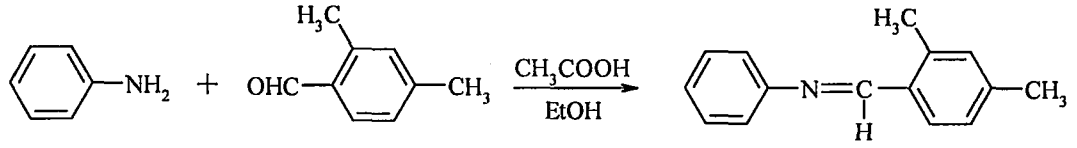
2,4-diklorobenzaldehid ve asetik asid dibi yuvarlak balon içerisinde etanol ilavesiyle karıştırıldı. Karışım üzerine damla damla anilin ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 1 saat ısıtıldı. İnce tabaka kromatografisi sonucuna göre reaksiyona son verildi. Balon buz banyosu içerisinde 30 dakika bekletilerek ürünün çökmesi sağlandı. Çöken kısım süzülerek alındı, su ile yıkandı, kurutuldu. Metanol'den kristallendirildi.

Verim: %80

Deneysel erime derecesi: 88.2 °C

Literatür erime derecesi: 87 °C [24]

4.1.9 N-2,4-dimetilbenzilidenanilin



Anilin	0,005 mol	0,465 g
2,4-dimetilbenzaldehyd	0,006 mol	0,804 g
Asetik asid		0,5 ml
Etanol		20 ml

2,4-dimetilbenzaldehyd ve asetik asid dibi yuvarlak balon içerisinde etanol ilavesiyle karıştırıldı. Karışım üzerine damla damla anilin ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtıldı. İnce tabaka kromatografisi sonucuna göre reaksiyona son verildi. Balon buz banyosu içerisinde 30 dakika bekletilerek ürünün çökmesi sağlandı. Çöken kısım süzülerek alındı, su ile yıkandı, kurutuldu. Metanol'den kristallendirildi.

Verim: %84

Deneysel erime derecesi: 52.2 °C

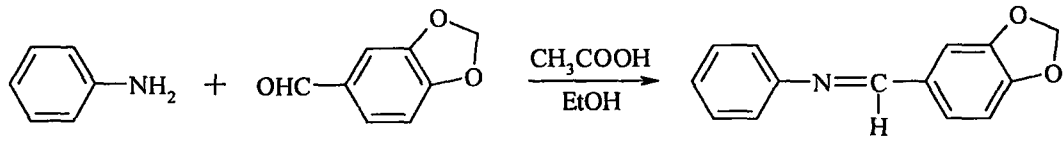
Literatür erime derecesi: 54 °C [24]

IR (KBr) $\nu_{\text{maks}}(\text{cm}^{-1})$: 3076, 3049, 3970, 2947 (aromatik C-H gerilim bandları), 2894, 2860 (alifatik C-H gerilim bandı), 1625 (C=N gerilim bandı), 1589, 1558, 1485, 1448 (Aromatik C=C bandları), 1367 (Alifatik C-H eğilim bandı), 1227, 1196 (Aromatik C-C ve C-N gerilim bandı), 829 (1,4-disüstitüe benzen düzlem dışı eğilim bandı), 763, 700 (monosüstitüe benzen düzlem dışı eğilim bandı).

¹H-NMR(400 MHz) (DMSO) δ(ppm) : 2,33 (H, s, CH₃); 2,55 (H, s, CH₃); 7,10-7,15 (2H, d, Ar-H *Benziliden*); 7,25-7,30 (3H, m Ar-H *Anilin*); 7,40-7,45 (2H, m, Ar-H *Anilin*); 7,90-7,95 (H, d, Ar-H *Benziliden*); 8,75 (1H, s, N=CH),

MS (APCI) m/z : 208 [M-1], 209 [M], 209 [M+1], 210 [M+2]

4.1.10 3,4-metilendioksibenzilidenanilin



Anilin	0,005 mol	0,465 g
3,4-metilendioksibenzaldehyd	0,006 mol	0,900g
Asetik asid		0,5 ml
Etanol		20 ml

3,4-metilendioksibenzaldehyd ve asetik asid dibi yuvarlak balon içerisinde etanol ilavesiyle karıştırıldı. Karışım üzerine damla damla anilin ilave edildi ve geri çeviren soğutucu altında 2 saat ısıtıldı. İnce tabaka kromatografisi sonucuna göre reaksiyona son verildi. Balon buz banyosu içerisinde 30 dakika bekletilerek ürünün çökmesi sağlandı. Çöken kısım süzülerek alındı, su ile yıkandı, kurutuldu. Metanol'den kristallendirildi.

Verim: %83

DeneySEL erime derecesi: 68.4 °C

Literatür erime derecesi : 69 °C [71]

4.2 İnce tabaka kromatografisi (İ.T.K) kullanılarak yapılan çalışmalar

4.2.1 R_f değerinin saptanması

Bu araştırmada yapılan sentezlerde bütün bileşikler için reaksiyon süresi ve elde edilen ürünlerin saflıkları ince tabaka kromatografisi kullanılarak kontrol edilmiştir. İ.T.K çalışmalarında Kloroform:Metanol (98:2), Kloroform:Metanol (95:5), Kloroform:Metanol (90:10) karışımları çözücü sistemi olarak denenmiş ve bunlardan Kloroform:Metanol (98:2) en uygun sistem olarak belirlenmiştir. Çalışmalar esnasında adsorban olarak Silikajel 60 F₂₅₄ ile kaplanmış 20 x 20 cm ebadındaki alüminyum plaklar kullanılmıştır.

Maddelerin etanoldeki çözeltileri hazırlanıp adsorban kaplı alüminyum plaklara kılcal boru yardımı ile yaklaşık 0,01 ml civarında tatbik edilmiş ve developman sonrası lekelerin belirlenmesi UV ışığı altında 254 ve 366 nm'lerde yapılmıştır.

4.2.2 R_M değerinin saptanması

Absorbabilite katsayısı R_M, hidrofobik bir parametredir. Kromatografik çalışmalar sonucu belirlenen R_f değerleri kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla R_M değeri hesaplanabilir. Bu çalışmada sentezi gerçekteştirilen bütün bileşiklerin R_M değerleri deneysel olarak tespit edilmiştir.

$$R_M = \log [(1/R_f) - 1]$$

R_M değeri, bileşiğin absorbabilitesinin ölçüsü durumundadır. Bileşiğin etki yerine ulaşıp uygun reseptöre bağlanması absorpsiyon mekanizmasına dayandığından bu parametre ilaçların yapı-etki ilişkileri içerisinde kullanım alanı bulmuştur.

4.3. Mutajenik etki testi

Bileşiklerin mutajenik özelliklerinin belirlenmesi için yapılan deneylerde *Salmonella typhimurium* bakterisinin LT-2 atasal suşundan in vitro mutasyonlar sonucu türetilen TA 98 ve TA 100 suşları kullanıldı. Bu mutantlar his⁻ bakteriler olup, his operonunun değişik bölgelerinde farklı birer mutasyon içerirler. *Salmonella* / mikrozom testi ile kimyasal maddelerin bu test suşlarını his⁺ revertantlar haline dönüştürme özellikleri belirlenmektedir. TA 98 suşu çerçeve kayması mutasyonlarına, TA 100 suşu ise baz-çifti değişimi mutasyonlarına karşı duyarlıdır. Çalışmalarımızda standart plak inkorporasyon yöntemi uygulandı^[141].

Test kimyasallarının farklı konsantrasyonlardaki (0.01, 0.1, 1, 10, 100 µg/petri) stok solüsyonları DMSO içerisinde çözülerek hazırlandı. Bileşiklerin standart test suşları için toksik olmayan dozları literatür verilerine^[142] göre belirlendi ve sitotoksik olmayan beş ayrı doz ile çalışıldı.

Çalışmada kullanılan *Salmonella typhimurium* TA 98 ve TA 100 suşlarının stoklarının hazırlanışı, genetik işaretlerinin kontrolü ve plak inkorporasyon yönteminin uygulanışı literatür verilerine^[141] göre yapıldı.

S9 fraksiyonu, 3-metilkolantren ile indüklenmiş Sprague-Dawley ırkı erkek ratların (180-200g) karaciğerinden elde edildi. S9 karışımı; 8 mM MgCl₂, 33 mM KCl, 5 mM glukoz-6-fosfat, 4 mM NADP, 100 mM sodyum fosfat (pH 7.4) ve karışımın mililitresi başına 0.04 ml S9 içermektedir^[141].

Standart plak inkorporasyon yönteminde 45 °C' deki su banyosunda tutulan eritilmiş 2 ml'lik üst agara 0,1 ml test bileşiği ve 0,1 ml bakteri kültürü (1-2 x 10⁹ bakteri/ml) eklenerek, minimal tuz ve glukoz içeren agar plaklarına döküldü. S9 fraksiyonu varlığında yapılan deneylerde 0,5 ml S9 karışımı ilave edildi. Plaklar 37 °C'de 48-72 saat inkübe edildi ve revertant kolonilerin sayımı yapıldı. Her deney negatif kontrolleri (spektrofotometrik derecedeki dimetilsülfoksit) ve pozitif kontrolleri (20 µg/petri NPD TA98 için ve 1,5 µg/petri SAZ TA100 için) içerecek şekilde üç defa paralel olarak uygulandı. Metabolik aktivasyon içeren deneylerde 2AF (10 µg/petri) her iki suş içinde pozitif mutajen olarak kullanıldı.

4.4. Hücre Kültürlerinin Hazırlanması

A549 hücreleri (insan akciğer kanser hücre hattı) % 10 Fetal Bovine serum (FBS) içeren Nutrient Mixture F-12 (HAM's) ve HeLa hücreleri ise (insan uterus karsinoma) % 20 FBS içeren Dulbecco's Modification of Eagles (DMEM) besi ortamı bulunan 25cm² 'lik kültür kaplarında %95 hava ve %5 CO₂'li gaz ortamında 37°C de inkübe edildiler.

4.5. MTT Sitotoksisite Deneyi

Bir tetrazolyum boyaya dayalı olan mikrotitrasyon deneyi literatüre uygun olarak yapılmıştır^[150]. %80 büyüme fazına gelmiş olan hücreler %0.25 tripsin/EDTA ile toplanarak hemositometri ile sayıldılar. Hücreler 2×10^3 hücre/mL gelecek şekilde süspansiyon haline getirildiler ve sitotoksik etkileri incelenmek üzere farklı konsantrasyondaki (0,0001-0,0005-0,001-0,005-0,01-0,05 mg/ml) test maddeleri hücrelere eklendi. Daha sonra her bir konsantrasyon aralığından 4 kuyucuk olacak şekilde 200µL hücre süspansiyonundan 96 kuyulu tabakalara ekim yapıldı. Hücreler 24 ve 48 saat 37°C de inkübe edildiler ve her bir zaman aralığından sonra hücrelere 20µL (5 mg/ml) MTT boyası eklendikten sonra, canlı hücrelerin metabolik aktiviteleri sonucu MTT boyasının suda çözünmeyen formazan tuzu haline dönüştürülmesi için, hücreler 37°C de 2 saat daha inkübe edildiler. Bu sürenin sonunda hücreler tarafından oluşturulan formazan tuzlarının çözülmesi için her bir kuyuya 200 µl DMSO eklenerek 10 dakika oda ısısında inkübe edilmişler ve renk değişimi 540nm dalga boyunda ELx808-IU Bio-Tek plaka okuyucuda absorbanları ölçülmüştür.

4.6. Antiproliferatif Etki Testi

Sentezlenen bileşiklerin antiproliferatif etkilerinin ölçülmesi 96-kuyulu tabakalarda BrdU kiti kullanılarak yapılmıştır. Hücreler (HeLa ve A549) 37°C de 24 saat inkübe edildikten sonra 0.25% tripsin/EDTA ile ortamdan toplanarak 6×10^2 hücre her bir kuyuya gelecek şekilde ekim yapıldı. Çözücü solüsyonu içinde

Çözdürülen test maddeleri farklı konsantrasyon aralığında her bir kuyuya eklendiler. Her bir konsantrasyon aralığı için 3 kuyuya ekim yapıldı ve ölçüm sonrası bunların ortalamaları dikkatte alındı. Ekim işlemleri tamamlandıktan sonra hücreler 24, 48 ve 72 saat 37°C de inkübatör de tutuldular. Her bir zaman aralığının sonunda hücrelere 20µL BrdU solüsyonu eklenerek 37°C de 2 saat inkübasyona tabi tutuldular. Daha sonra ise fixdenat solüsyonu ile oda ısısında 30 dakika fiske edilen hücreler 100µL anti-BrdU-POD antikoruna ile 90 dakika oda ısısında bekletildiler. Bu sürenin bitiminde hücreler PBS ile 3 kez yıkanarak fotometrik ölçüm için renk değişimi gözleninceye kadar substrat solüsyonu içinde bekletildiler. Örneklerin absorbanları 340 nm dalga boyunda plaka okuyucuda (ELx808-IU Bio-Tek) ölçüldü.



5. FİZİKOKİMYASAL PARAMETRELER

5.1. Hidrofobik parametreler

5.1.1. Partisyon katsayısı

Partisyon katsayısı aktiviteye etki eden faktörlerden birisidir ve ilacın yağda çözünme eğiliminin bir ölçüsüdür.

Partisyon katsayısı additif karakterli ve biyokimyasal sistemlerin yapı-etki çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir parametre türüdür. Belirli bir ısıda birbirleri ile çok az karışan veya hiç karışmayan iki çözücü sistemi arasında, bir bileşiğin çözülmüş konsantrasyonlarının oranı olarak genel tanımı yapılır ve “P” ile gösterilir. Burada çözücü sistemi olarak bir yağ, bir de su fazı kullanılır. Bileşiğin yağ fazı içindeki niceliğinin, su fazındaki niceliğe oranı, biyolojik etki ile grafiğe geçirildiğinde bir parabol elde edilir. Partisyon katsayısının logaritması alındığında bu ilişki doğrusal hale gelir^[111,112-102,103].

Partisyon katsayısı üzerine ilk çalışmaları Meyer ve Overton yapmışlardır. Bu çalışmalarda birçok basit organik bileşiğin narkotik aktivitesinin yağ/su partisyon katsayısı (P) ile paralel olduğu gösterilmiş, bu nedenle organik bileşiklerin biyolojik aktivitesini saptamak için yağdaki çözünürlükleri incelenmiştir. Overton ve Meyer’in yaptıkları çalışmalardaki amaç, organik bileşiklerin yağlı sinir hücrelerine etkileyen karakteristikleri geliştirmektir. Bunun için model sistem olarak yağ/su sistemini seçmişlerdir^[113-104]. Yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda biyosistemle etkileşen model, lipofilik maddelere en iyi uyan solvanın polar solvanlar olduğu saptanmıştır.

Oktanöl/su partisyon katsayısı kullanılarak birçok istatistiksel çalışmalar yapılmaktadır. Ancak bu sistemin tüm model organik bileşikler için ideal solvan sistemi olduğu kesin değildir^[114-105].

Pratikte uygulanan partisyon katsayısı tayini çalışmalarında su fazı olarak pH’sı 7.4 civarında olan tampon çözeltiler, yağ fazı olarak da, biyolojik ortama en uygun sistem kabul edilen n-oktanöl kullanılmaktadır^[115,116-106,107].

Partisyon katsayıları, ilaçların (özellikle zar geçirgenliğinin önde geldiği durumlarda) biyolojik etkinlikleri ve etki süreleri ile ilgilidir. Tiyopental[®]'in yağda çözünürlüğü Pentobarbital[®]'den fazladır. Bu yüzden kan plazmasından hızla yok olur ve nötral yağ dokularına yerleşir. Onun için etki kısadır, kısa süreli genel anestezi olarak kullanılır. Ancak yağdaki çözünürlüğünün fazla olması nedeni ile vücutta depolandığı yerlerden atılımı uzun süreceğinden, kullanımından uzun süre sonra bile uyku verici özellik gösterir^[111-102].

Organik moleküller, partisyon katsayılarının logaritması ile orantılı olarak hücreler arası yollarına devam ederler. Hansch'a göre ^[117,118-108, 109], bir organik molekül, yapısal özelliklerine bağlı olarak, hücre dışındaki seyreltik çözüldüden hücre içine yavaşça geçer. Bu durumda biyolojik yanıt için şu denklem yazılabilir:

$$\frac{d(\text{yanıt})}{dt} = ACk_x$$

k_x = Denge değışmezi

A = Molekülün belli bir yöreye belirli bir zaman biriminde ulaşması için olasılık

C = Bileşğin hücre dışı konsantrasyonu

Yapı-etki ilişkilerine uygulanabilecek herhangi bir model varsa A ve k_x deneysel ölçümlerle bulunabilir olmalıdır. A değeri için serbest enerjiye bağlı bir değışmez olan π seçilmiştir. π değeri ile log P arasında bir bağıntı vardır:

$$\pi = \log P_{\text{süstitütle}} - \log P_{\text{nonsüstitütle}}$$

log P değeri molekülün tümünün partisyon katsayısının logaritmasıdır. π ise molekülün tek bir parçasına ait bir değerdir. ^[111-102] Negatif π değerinin süstitüentın ana yapıya göre yağdaki çözünürlük özelliğini azalttığı, pozitif π değerinin ise süstitüentın ana yapıya göre yağdaki çözünürlük özelliğini arttırdığı bilinmektedir. Madde ile su arasında yada molekülde bulunan -COOH ve -OH gibi gruplar arasında hidrojen bağı meydana geliyorsa log P değeri azalır. π değerleri katılımlı (additif) karakter gösterir. Molekülün parçalarına ait π

değerlerinin toplamı molekülün log P'sini vermektedir. Bu özellikten hareketle, bir seri bileşiğin tümü, deney yapmaksızın, yalnız tablo değerlerinden faydalanarak gerekli hesaplamalar yapılabilir. Ancak burada yan yana bulunan iki grubun hesaplanması sırasında molekül içi hidrofobik bağ oluşumundan kaynaklanan etkileşimler, apolar grupların etkileşimleri, elektronik etkileşimler, hidrojen bağı etkileşimleri göz ardı edilmemelidir.

Bu çalışmada, teorik hesaplamalarda Rekker'in sayısal tablo değerleri kullanılmıştır^[110]. Teorik olarak log P değerlerinin hesaplanmasında bazı özel durumlara dikkat etmek gerekir:

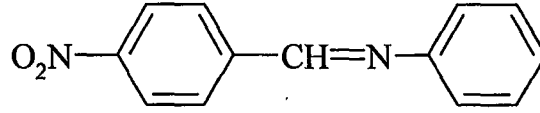
- -OH, -O-, -COOH, -NH₂ gibi iki elektronegatif grup, bir veya iki C atomu ile ayrıldığında sırasıyla düzeltme faktörü olarak 0.861 ve 0.574 katılmalıdır.
- H atomu, -COOH, -COOR, -COR, -CONH₂ gibi elektronegatif gruplara bağlı olduğunda $f_H = 0.175$ yerine $f_H = 0.462$ kullanılmalıdır (Burada " f_H " Rekker'e göre hidrojen atomunun lipofilité değeridir.
- Bifenil gibi konjuge veya benzofenon gibi kros konjuge aromatik halka sistemlerinde 0.28 değerindeki düzeltme faktörü katılmalıdır.
- Kondanse aromatik sistemlerde (naftalen gibi) her bir C atom çifti için 0.31 düzeltme faktörü kullanılır.

Düzeltilme faktörleri ve alifatik, aromatik f değerleri "magic constant" denilen ve $C_M = 0.28$ ile ifade edilen bir değerle açıklanabilmektedir.

MOLEKÜL	log P	MOLEKÜL	log P
C ₆ H ₅	1.840	Cl (Ar)	0.924
C ₆ H ₄	1.658	H	0.182
C ₆ H ₃	1.476	OH (Ar)	-0.314
CH ₃	0.701	O (Ar)	-0.439
CH ₂	0.519	NO ₂ (Ar)	-0.053
CH	0.337	N (Ar)	-0.929
C	0.155	CF ₃	1.323

Tablo 2: Bazı sübstitüentlerin log P değerleri ^[119-110]

Teorik log P hesabına örnek olarak 4-nitrobenzilidenanilin verilmiştir.



$$\begin{aligned}\log P &= f_{\text{ArNO}_2} + f_{\text{C}_6\text{H}_4} + f_{\text{CH}} + f_{\text{ArN}} + f_{\text{C}_6\text{H}_5} \\ &= (-0.053) + 1.658 + 0.337 + (-0.929) + 1.840 \\ &= 2.853\end{aligned}$$

5.1.2. Parakor (Par)

Toksisite çalışmalarında ilk kez Mc Govan tarafından kullanılan ve hidrofobik bir parametre olan parakor, molekülün molar hacmi ile yüzeysel gerilimini ifade etmektedir. Bir molekülün biyolojik sistemde etki yöresine ulaşmaya kadar karşısına çıkan lipofilik ve hidrofilik engelleri aşmasında molekül hacminin, molekül içi çekici ve itici güçlerin bir ölçüsü durumunda olan yüzey geriliminin önemli rolleri üstlenmesi nedeni ile parakor, kantitatif yapı-etki ilişkileri (QSAR) çalışmalarında kullanılan bir parametre niteliğini kazanmıştır [120-111].

Bir molekülün parakor değeri, molekül hacmi ve yüzey gerilimi üzerinden yapılan bir takım deneyler sonucu bulunur. Bunun yanısıra Sugden, Mumford, Phillips, Vogel ve Quayle'a ait, atomik ve yapısal değerleri içeren tablolar yardımıyla da teorik olarak hesaplanabilmektedir^[121,122-112, 113].

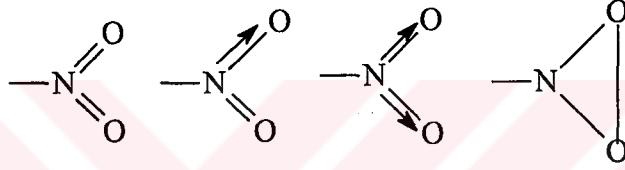
MOLEKÜL	Sugden	Mumford Ve Phillips	Vogel	Quayle
CH ₂	39.0	40.0	40.0	40.0
C	4.8	9.2	8.6	9.0
H	17.1	15.4	15.7	15.5
O	20.0	20.0	19.8	-
N	12.5	17.5	-	14.5
Cl	54.3	55.0	55.2	-
F	25.7	25.5	-	-

Tek bağ	-11.6	-9.5	-	-
Çift bağ	23.2	19.0	19.9	-
Beş üyeli halka	8.5	3.0	-	-
Altı üyeli halka	6.1	0.8	-	-

Tablo 3: Atomik ve yapısal sabiteler

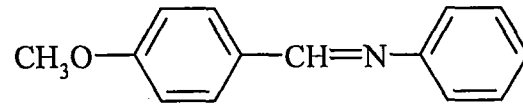
Teorik parakor hesaplamalarında dikkat edilmesi gereken bazı noktalar vardır:

- Zincir dallanmaları
- Etilenik ve karbonil bağlanmaları
- Tersiyer dallanmalar
- Semipolar bağlar



- Hidrojen köprüsü
- Halka kapanması
- Alkil benzenlerde pozisyon izomerisi
- Kritik sıcaklık, basınç, moleküler refraktivite ve viskozite gibi açıklamaların sabiteleri de bulunmaktadır.

Bu çalışmadaki bileşiklerin parakor değerleri Mumford ve Phillips'in atomik ve yapısal sabitelerinden faydalanılarak hesaplanmıştır. Parakor değerinin hesaplanmasına örnek olarak, sentezi gerçekleştirilen bileşiklerden 4-metoksibenzilidenanilin verilmiştir.



$$\begin{aligned}
 \text{Par} &= (14 \times 9.2) + (13 \times 15.4) + (1 \times 17.5) + (1 \times 20) + (2 \times 0.8) + [23 \times (-9.5)] + (7 \times 19) \\
 &= 128.8 + 200.2 + 17.5 + 20 + 1.6 + (-218.5) + 133 \\
 &= 282.6
 \end{aligned}$$

$$\log \text{Par} = 2.4512$$

5.1.3. Hidrofobik süstitüent katsayısı (π)

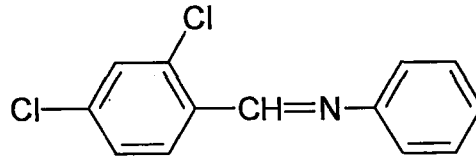
P, partiyon katsayısı olarak tanınan değışmezdir. Belirli bir sıcaklıkta birbirleri ile çok az karışan veya hiç karışmayan iki çözücü sistemi arasında, bir bileşğin çözülmüş konsantrasyonlarının oranıdır. Bu değışmezin logaritması log P olarak verilir. Bu değeri bir molekülün tümünün partiyon katsayısının logaritmasıdır. π ise molekülün bir grubuna özgü olan değerdir^[111-102].

π değeri katılımlı özellik gösterir. Bir molekülün parçalarına özgü olan π değeri toplamı o molekülün log P'sini verir. Bu nedenle bir seri bileşğin tümünü deneyimedeñ yalnız π değeriinden yararlanarak gerekli hesaplamaları yapmak mümkündür. Ancak π değeriinden hesaplanmasında dikkatli olmak gerekir. Yan yana bulunan iki grubun hesaplanması sırasında, molekül içi hidrofobik bağ oluşumu ile etkileşimler, apolar grupların etkileşimleri, elektronik etkileşimler, hidrojen bağı etkileşimleri dikkate alınmalıdır^[111-102].

GRUPLAR	π	GRUPLAR	π
o-CH ₃	0.56	3,4-(OCH ₂ O)	-0.05
p-CH ₃	0.56	p-OH	-0.67
p-Cl	0.71	p-OCH ₃	-0.02
o-Cl	0.71	p-CF ₃	1,07
p-NO ₂	-0,28		

Tablo 4: Bazı süstitüentlerin π değeri [116-107].

π değeriinden hesaplanmasına 2,4-diklorobenzilidenanilin örnek olarak verilmiştir. Bileşğin π değeri; benzilidenanilin çekirdeğinin π değeri 0 olarak kabul edildiği için o-Cl ve p-Cl değeriinden toplamına eşittir.

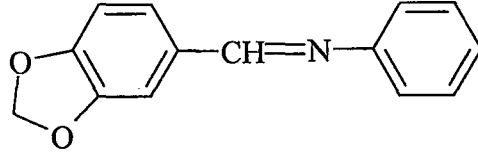


$$\begin{aligned}\pi &= \text{o-Cl}_\pi + \text{p-Cl}_\pi \\ &= 0.71 + 0.71 \\ &= 1.42\end{aligned}$$

5.2. Sterik parametreler

5.2.1. Molekül ağırlığı (MW)

Örnek : 3,4-metilendioksibenzilidenaniline ait kapalı formül $C_{14}H_{11}NO_2$ 'dür



$$MW = (14 \times 12.0107) + (11 \times 1.0079) + (1 \times 14.0067) + (2 \times 15.9994) =$$

$$MW = 225.2422$$

$$\log MW = 2.3527$$

5.2.2. Moleküler refraksiyon (Molar kırılma, MR)

Bir ortama gelen ışının, gelme ve kırılma açılarının sinüslerinin oranına “kırılma indisi” denir. Bir sıvının belli bir dalga boyundaki ışın için kırılma indisi “n” ise, spesifik kırılma;

$$r = \frac{n^2-1}{n^2+2} \cdot \frac{1}{d} \text{ bağlantısıyla gösterilir}$$

d = Cismin kırılma indisinin ölçüldüğü temperatürdeki yoğunluğu

n = Kırılma indisi

Spesifik kırılmanın mol tartısı ile çarpımına “Molar Kırılma” denir. MR ile ifade edilen molar kırılma Lorentz-Lorentz denklemi ile açıklanabilir;

$$MR = \frac{n^2-1}{n^2+2} \cdot \frac{MW}{d}$$

n = Kırılma indisi

d = Yoğunluk

MW = Molekül ağırlığı

Herhangi bir ortamın kırılma indisi, ışığın vakumdaki hızının ortamdaki hızına oranıdır. Bu “Refraktometre” denilen optik araçlarla ölçülür. Ancak bu yolla ölçülen kırılma indisi sabit değildir. Işığın dalga boyu azaldıkça kırılma indisi artar. Bu yüzden sonuçları karşılaştırabilmek için sabit frekanslı bir ışık kullanılır. Bu amaçla pratikte sodyum buharı lambasından yararlanılır.

Molar kırılma (MR), katılımlı etki gösteren sterik bir fizikokimyasal parametredir. Bu katılımlı özelliğinden dolayı molekülün her bir parçasının refraktivitesinin hesaplanmasına olanak tanımış ve bu değerlerle ilgili olarak geniş tablolar hazırlanmıştır^[114]. Bu sonuçlar kullanılarak herhangi bir grubun o moleküle katkısı hesaplanabilir ve buradan yola çıkarak da o bileşiğin biyolojik etkisi ile korelasyonunu kurmak mümkün olur.

MR’ın toplamsal ve yapısal özelliği şu şekilde formüle edilir:

$$MR = \sum nr + \Sigma$$

r = Atomik kırılma

n = Atom sayısı

Σ = Yapıya ait değer

MR’ın London dispersiyon kuvvetleri ile olan ilişkisi şu denklemlerle ifade edilebilir:

$$E = \frac{-3\alpha_a\alpha_b}{2r^6} \cdot \frac{I_a I_b}{I_a + I_b} \quad MR = \frac{4\pi N\alpha}{3}$$

E = İki atom (a ve b atomları) arasındaki yaklaşımcı (cohesive) enerji

α = a ve b atomlarının polarizabiliteleri

r = a ve b atomları arasındaki uzaklık

I = İyonizasyon potansiyeli

N = Avagadro sayısı

π = 3.14

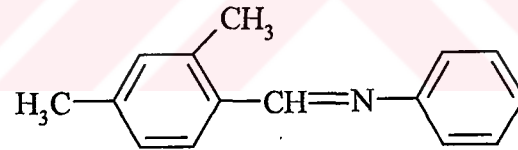
London dispersiyon veya apolar kuvvetleri; birbiri ile etkileşen moleküllerde geçici dipollerin değişimi sonucu ortaya çıkan kuvvetlerdir ve hep mevcuttur. İki apolar molekülün birbirini çekmesine dayanır.

Yapı-etki ilişkilerini geliştirmek amacıyla Agin ve arkadaşlarının ortaya çıkardıkları MR parametresi ^[124-115], molar hacmin tam olarak düzeltilmiş formudur^[125-116].

Bağ Şekli	Bağ Değerleri	Bağ Şekli	Bağ Değerleri
C-H	1.676	C=C	4.17
C-C	1.296	C=N	3.75
C-N	1.57	N-H	1.76
C-O	1.54	N-O	2.43
C-Cl	6.51	N=O	4.00
C-F	5.00	O-H	2.8

Tablo 5: Bazı bağların “Molar Refraksiyon” değerleri

Örnek: 2,4-dimetilbenzilidenanilin



$$\begin{aligned}
 MR &= [15x(C-H)] + [9x(C-C)] + [6x(C=C)] + [1x(C-N)] + [1x(C=N)] \\
 &= (15x1.676) + (9x1.296) + (6x4.17) + (1x1.57) + (1x3.75) \\
 &= 25.14 + 11.664 + 25.02 + 1.57 + 3.75 \\
 &= 67.144
 \end{aligned}$$

$$\log MR = 1.8270$$

5.2.3. Moleküler hacim (Mv)

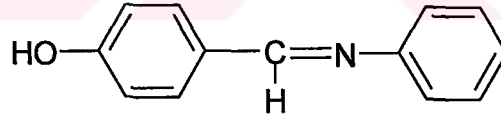
Molar hacim, molekül tartısı ile spesifik hacmin (gram başına hacim) çarpımına eşittir. Molar hacim = $Mv = Vm = M / d$ (d = yoğunluk)

Molar hacim de toplamsal ve yapısal bir özelliktir, atomik hacimlerin toplamına eşittir^[126-117].

Atom	Hacim (cm ³)
H	3.7
C	14.8
Cl	22.2
F	17.1
N	15.6
-O-	7.4
=O	12.0

Tablo 6: Atomik hacim değerleri

Örnek: N-4-hidroksifenilbenzilidenanilin



Kapalı Formül :C₁₃H₁₁NO

$$\begin{aligned} MV &= (13 \times 14.8) + (11 \times 3.7) + (1 \times 15.6) + (1 \times 7.4) \\ &= 192.4 + 40.7 + 15.6 + 7.4 \\ &= 256.1 \end{aligned}$$

$$\log MV = 2.4084$$

5.2.4. Moleküler konnektivite indeksi (MCI)

Biyolojik sistem aktivasyonunda kimyasal yapı-etki etkileşiminde rol oynayan klasik termodinamik faktörlerin yanı sıra moleküllerin topolojik özelliklerinin de önemli olduğu ortaya konulmuştur^[127,128-118,119]. İlaçların etki mekanizmalarının aydınlatılmasına yeni bir boyut kazandıran ve moleküler yapının rölatif bir ölçütü olarak açıklanan topolojik parametreler, reseptör yapısı söz konusu olmadığı durumlarda, reseptör tarafından tanınmayı yada reseptöre bağlanmayı karakterize etmek amacıyla kullanılmaktadır^[129-120].

Moleküler konnektivite indeksi, topolojik bir parametre olup Randić^[130-121] tarafından çeşitli aşamalarla açıklanmış, Kier ve Hall^[132-122] tarafından da teorisi geliştirilerek Medisinal Kimya araştırmalarında çeşitli moleküler yapılara ve biyolojik aktivitelere uygulanmıştır^[132,133-123,124]. Bu parametre moleküler yapının büyüklüğü, biçimi, bağ tipleri, doymamışlığı, siklizasyonu, dallanması ve hetero element içeriği ile açıklanmaktadır^[134,135-125,126].

Randić'in ilk geliştirdiği parametre, esas olarak molekülün dallanma özelliklerini ilgilendiren molekül dallanma indeksi idi. Bu indeksin, homolog serilerde belli fiziksel özelliklerle (kaynama derecesi, yüzey alanı gibi) önemli istatistiksel ilişkiler göstermesi, bu fiziksel özelliklerle yakın ilişkisi olan biyolojik özelliklerin de bu parametre ile ilişkisi olup olmadığını düşündürmüştür. Çok önemli olduğu düşüncesinden hareketle bu konudaki çalışmaların sayısı artmış, ayrıca kolay hesaplanabilir bir parametre olması da konuyu cazip hale getirmiştir^[133-124].

Moleküler konnektivite indeksi (X), Kier ve Hall'ın heteroatom içeriği göz önüne alınarak ortaya koydukları modifiye yöntem ile MCI logaritması olarak hesaplanmıştır^[136,137-127,128].

Buna göre moleküler iskelet, hidrojen atomları ihmal edilmek üzere ele alınabilir. Her bir karbon atomu, komşu karbonlara bağlanma sayısına göre 1, 2, 3,4 ($\delta_i\delta_j$) şeklinde numaralandırılır. Heteroatoma bağlı hidrojen sayısının da çıkarılmasından sonra valans elektron sayısına eşit olan değer, heteroatoma ait olarak ele alınır. Daha sonra her bağ için, bağı oluşturan atomların almış oldukları sayıların çarpımı ile bir değer bulunur. Bu değerlerin toplanması ile de molekülün

valans konnektivite indeksi ($^1X^v$) elde edilir. Bu hesaplar aşağıdaki formül ile gösterilebilir:

$$X = \sum_{k=1}^N C_k = \sum_k \frac{1}{(\sqrt{\delta_i \times \delta_j})_k}$$

X = Konnektivite indeksi

δ_i = Molekül iskeletindeki her bir köşeyi (atomu) ve bunun diğer köşelerle bağlantısının sayısal değeri

N = Bağ (yani iskelettteki kenar) sayısı

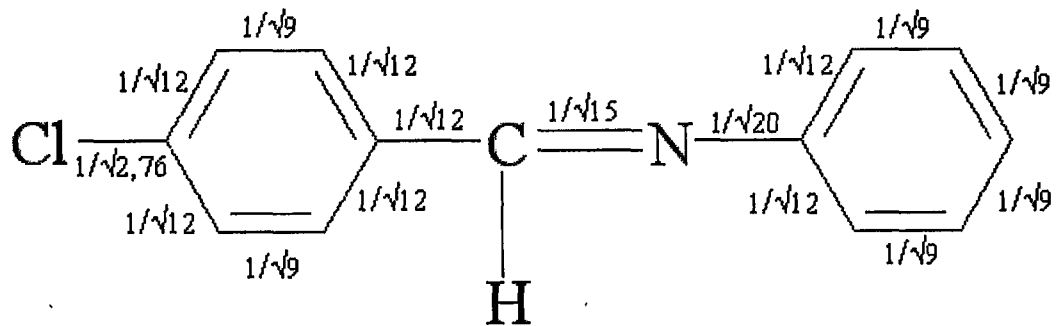
C_k = Bağlantıların toplamı

Heteroatomlar için alınması gereken değerler (δ^v) Kier ve Hall tarafından tablolar halinde verilmiştir.^[131,136-122,127]

Atom	δ	Atom	δ
=N-	5	-O-	6
Nitro N	6	Cl	0.690
O=N-O	6	F	7
-OH	5		

Tablo 7: Heteroatomlar için valans delta değerleri

Örnek : N-4-klorobenzilidenanilin



$$\begin{aligned}
X &= (1/\sqrt{2,76}) + 6x(1/\sqrt{9}) + 7x(1/\sqrt{12}) + (1/\sqrt{15}) + (1/\sqrt{20}) \\
&= 0,6019 + 2 + 2,0207 + 0,2582 + 0,2236 \\
&= 5,1044
\end{aligned}$$

$$\log \text{MCI} = 0,7079$$

5.3. Elektronik parametre

5.3.1. Elektronik süstitüent katsayısı (σ)

σ değışmezi bir elektronik parametredir. Hammett'in çalışmalarından yararlanılarak bir çok süstitüent değışmezi bulunmuştur. Bunlar özel, elektronik ve bazen de sterik etkenleri açıklarlar^[111-102].

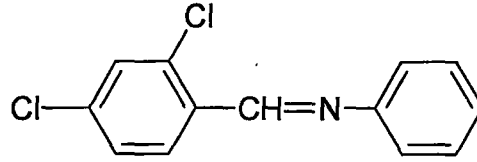
Reaksiyon merkezleri ile diğer süstitüentlerin doğrudan etkileşimleri için σ^- ve σ^+ değışmezi kullanılmıştır. Bu işaretler reseptör yöresinin nükleofilik yada elektrofilik olmasına dayanmaktadır. Böylece σ değerinin işareti saptanarak reseptör ile etkileşme mekanizması ortaya konulabilir. Ayrıca meta ve para'da bulunan süstitüentler için σ_m ve σ_p değışmezleri kullanılır^[111-102].

Alifatik seride rezonans ve sterik etkileri, Taft'ın σ^* değışmezi ile incelemek mümkündür. Yine Taft tarafından ortaya atılan σ_1 , E_s ve σ_R değışmezleri, polar, sterik ve rezonans etkilerinin ayrılmasını sağlar. E_s basit organik moleküller için çözeltilerde saptandığında, bulunan değerlerin enzimatik reaksiyonlar ile çok iyi korele olduğu bilinmektedir^[111-102].

Gruplar	σ	Gruplar	σ
o-Cl	0.23	Ph-3,4-(OCH ₂ O)	-0.17
p-Cl	0.23	p-OH	-0.37
o-CH ₃	-0.17	p-OCH ₃	-0.27
p-CH ₃	-0.17	p-CF ₃	0.54

Tablo 8: Bazı süstitüentlerin σ değerleri^[111-102].

Örnek: N-2,4-diklorobenzilidenanilin



Bileşğin σ değeri; ana yapı değeri 0 olarak alındığı için o-Cl ve p-Cl değerinin toplamına eşittir.

$$\begin{aligned}\sigma &= o\text{-Cl}_\sigma + p\text{-Cl}_\sigma \\ &= 0.23 + 0.23 \\ &= 0.46\end{aligned}$$

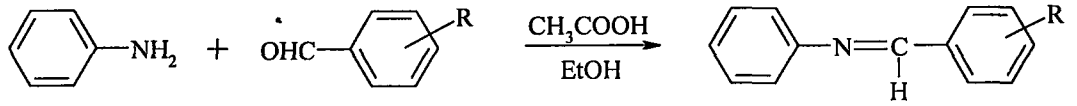
No	Hidrofobik Parametreler				Sterik Parametreler				Elektronik Parametreler
	Log P	Log Par	π	R_M (ort)	Log MW	log MR	log MV	Log MCI	σ
1	3.0880	2.4160	0	-0.0174	2.2654	1.7623	2.3957	0.6620	0
2	2.5920	2.4331	-0.67	-0.1224	2.2950	1.7828	2.4084	0.6745	-0.37
3	3.8300	2.4774	0.71	-0.1943	2.3338	1.7971	2.4268	0.7079	0.23
4	3.6070	2.4347	0.56	-0.2311	2.2906	1.7959	2.4328	0.6962	-0.17
5	3.1680	2.4512	-0.02	-0.2126	2.3246	1.8081	2.4445	0.7138	-0.27
6	2.8530	2.4944	-0.28	-0.1402	2.3546	1.8073	2.4472	0.6727	0.78
7	4,2290	2.4672	1.07	-0.0696	2.3966	1.8624	2.4929	0.7259	0.54
8	4.5720	2.5312	1.42	-0.2499	2.3982	1.8294	2.4559	0.7480	0.46
9	4.1260	2.4527	1.12	-0.3274	2.3207	1.8270	2.4670	0.7339	0.34
10	2.3650	2.4953	-0.05	0.0348	2.3527	1.8062	2.4445	0.7387	-0.17

Tablo 9: Sentez edilen bileşiklere ait tüm fizikokimyasal parametre değerleri

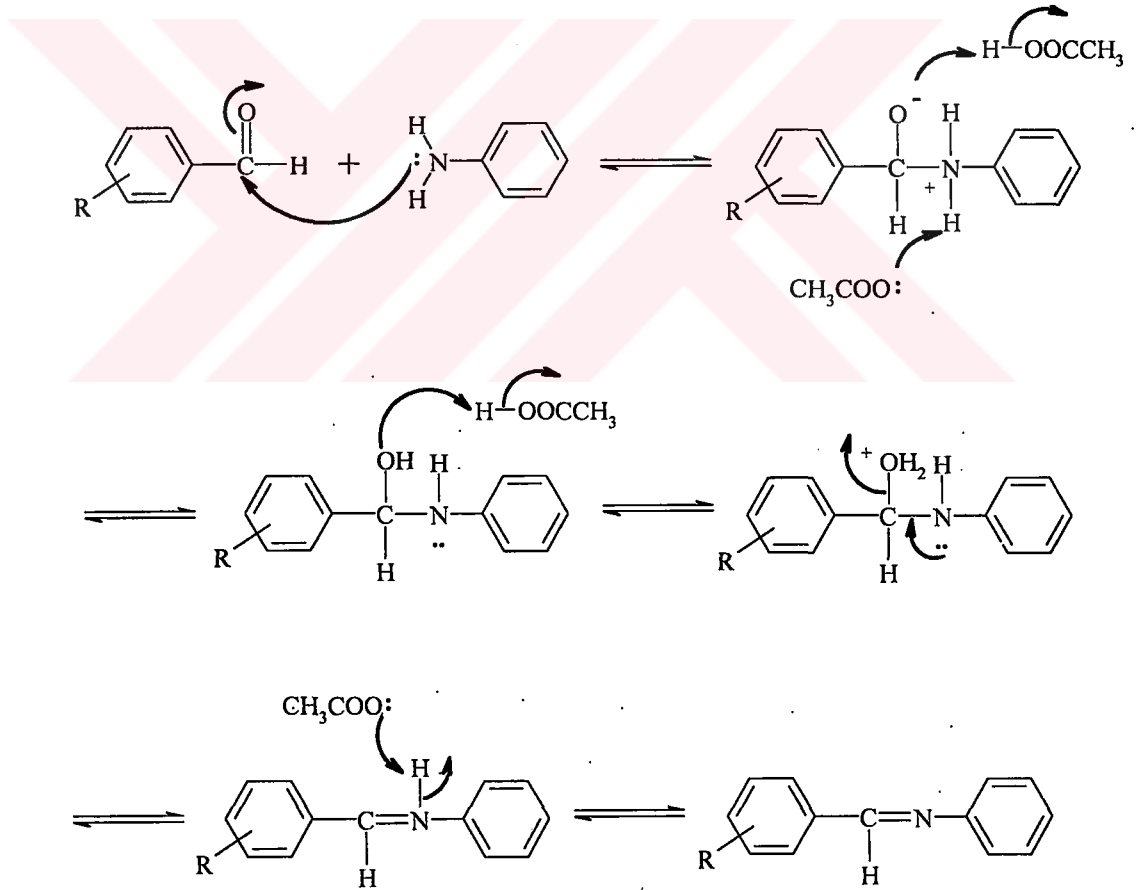
6. SONUÇ VE TARTIŞMA

6.1. Bileşiklerin sentezi

Bu çalışmada yer alan bileşikler, Schiff bazlarının elde edilmesinde kabul edilen standart yöntem ile, yani karbonil grubu taşıyan bileşikler (benzaldehyd türevleri) ve primer aminlerin (anilin) asidik ortamda, organik çözücü içerisinde kondenzasyon reaksiyonu sonucu %80-93 verimle sentezlenmiştir.



Şekil 88: Sentezlenen bileşiklerin genel reaksiyon denklemi



Şekil 89: Sentezlenen bileşiklere ait reaksiyon mekanizması

No	R	Kapalı formül	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Erime Derecesi (°C)	Verim (%)
1	-	C ₁₃ H ₁₁ N	181,24	50,8	89
2	4-OH	C ₁₃ H ₁₁ NO	197,24	197,4	85
3	4-Cl	C ₁₃ H ₁₀ ClN	215,68	64,6	80
4	4-CH ₃	C ₁₄ H ₁₃ N	195,27	46,8	85
5	4-OCH ₃	C ₁₄ H ₁₃ NO	211,27	60,6	86
6	4-NO ₂	C ₁₃ H ₁₀ N ₂ O ₂	226,24	92,4	82
7	4-CF ₃	C ₁₄ H ₁₀ F ₃ N	249,24	67,9	93
8	2,4-Cl	C ₁₃ H ₉ Cl ₂ N	250,13	88,2	80
9	2,4-CH ₃	C ₁₅ H ₁₅ N	209,29	52,2	84
10	3,4(CH ₂)O ₂	C ₁₄ H ₁₁ NO ₂	225,25	68,4	83

Tablo 10: Sentezlenen bileşiklerin kapalı formülleri, molekül ağırlıkları, erime dereceleri ve % verimleri

6.2 Spektral verilerin değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerden; 2 ve 9 numaralı bileşiğin MASS spektrumu, 2, 5, 7 ve 9 numaralı bileşiklerin IR ve ¹H-NMR spektrumları çekilmiş ve yapıları aydınlatılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin taşıdıkları ortak yapısal özellik nedeniyle ve bu bileşiklerin 1900'lü yılların başından beri sentezlenip, yapılarının aydınlatılmış olması nedeniyle, bunların dışında kalan bileşiklere ait spektrumlar incelenmemiştir.

6.2.1. IR spektrumlarının değerlendirilmesi

IR spektrumlarının incelenmesi sonucu, bileşikleri karakterize edebilecek bant gruplarının saptanması mümkün olmuştur. Tüm bileşiklerin ana yapısı, sübstitüentler dışında aynıdır. Bu nedenle spektrumlar birbirine benzemektedir. C=N gerilim bandı, 1625-1603 cm⁻¹; aromatik C=C gerilim bandı, 1589-1421 cm⁻¹;

alifatik C-H gerilim bandı 2894-2860 cm^{-1} ; alifatik C-H eğilim bandı 1387-1310 cm^{-1} ; Aromatik C-C ve C-N gerilim bandları 1252-1109 cm^{-1} ; 1,4-disübstitüe benzen düzlem dışı eğilme bandı 841-829 cm^{-1} ; monosübstitüe benzen düzlem dışı eğilme bandları 773-759 cm^{-1} ve 700-690 cm^{-1} aralığında gözlenmiştir.

6.2.2. ^1H -NMR spektrumlarının değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin ortak ana yapıları incelendiğinde, benzilidenanilin çekirdeğinin taşıdığı protonların 3 farklı bölgede toplandığı görülür. Bunlar azometin köprüsünün. (N=CH) ve bu köprünün her iki tarafında yer alan fenil halkalarının protonlarıdır. 2, 5, 7 ve 9 numaralı bileşiklerin NMR spektrumları incelendiğinde ortak karakteristik özellik olarak azometin grubu protonu spektrumlarında 8,45 – 8,75 ppm değerlerine sahip 1H singlet bir pik olarak gözlenmiştir.

Proton etrafındaki yüksek elektron yoğunluğu protonu perdeleyerek daha yüksek alan şiddetinde rezonansa gelmesine yol açar ve ppm değeri azalır. Proton etrafındaki düşük elektron yoğunluğu ise protonu perdelemeyerek daha düşük alan şiddetinde rezonansa gelmesine yol açar ve ppm değeri artar^[138]. Aromatik halkaya elektron çekici bir grup bağlandığı zaman halkada elektron yoğunluğu azalacağından, halka protonlarının perdelenmesi de azalır ve buna bağlı olarak aromatik halka protonlarının kimyasal kayma değerleri aşağı alana doğru kayar^[139]. Bu bilgiler ışığında azometin grubu protonunun spektrumunda bu denli düşük alanda gözlenmesinin nedeni açıklanabilir. Azometin grubunda yer alan elektron çekici azot atomu çifte bağlar boyunca metin (-CH) grubunun elektronlarını rezonans yolu ile şiddetli şekilde çekecek ve metin grubunun elektron yoğunluğu çok zayıflayacaktır. Dolayısıyla metin protonu düşük alan şiddetine doğru kayacak ve ppm değeri de hayli artacaktır. Azometin grubu protonunun ppm değeri hakkında yapılan bu yorumun doğruluğu literatür verileri incelenerek^[75,79,102] kanıtlanmıştır.

Benzen halkasına ait aromatik protonların 7,27 ppm de singlet bir pik verdiği bilinmektedir^[140]. 2, 5 ve 7 numaralı bileşiklerde benziliden grubundaki fenil halkası 1-4 disübstitüe haldedir, dolayısıyla halka üzerinde bulunan 4 proton

yapısal simetriden dolayı ikişer protondan oluşan iki grup şeklinde ayrılabilir. Bu iki proton grubu bir yanda rezonans yolla elektron çekici azometin grubunun diğer yanda yine rezonans yolla elektron çekici (7 numaralı bileşik $-CF_3$) veya rezonans yolla elektron verici (2 numaralı bileşik $-OH$ ve 5 numaralı bileşik $-OCH_3$) bir grubun tesiri altındadır. 2 ve 5 numaralı bileşiklere ait NMR spektrumları incelendiğinde benziliden grubundaki fenil halkası protonlarının 6,85-7,10 ppm ile 7,75-7,90 ppm değerlerinde 2H dublet şeklinde iki pik verdiği göze çarpar. Sübstitüe olmamış benzen halkası protonlarının ppm değerleri ile (7,27) bu değerler kıyaslandığında iki proton grubundan birinin daha yüksek alan şiddetinde diğerinin daha düşük alan şiddetinde pik verdiği görülür. Bunun nedeni azometin grubuna komşu halde bulunan iki proton etrafındaki elektron yoğunluğunun, azometin grubunun elektron çekici etkisi nedeniyle azalmasıdır. Dolayısıyla bu proton grubu daha düşük alan şiddetine kayacak ve 7,27'den daha büyük bir ppm değeri verecektir. Aynı bileşiklerde 4. konumda bulunan sübstitüentler (OH , OCH_3) elektron verici özelliktedir. Dolayısıyla fenil halkasında 4. konuma komşu olan 3. ve 5. konumlardaki protonların etrafındaki elektron yoğunluğu artacak ve böylece daha yüksek alan şiddetine kayarak 7,27'den daha küçük bir ppm değeri verecektir. 7 numaralı bileşiğin NMR spektrumu incelendiğinde 7,85-7,95 ppm ile 8,15-8,20 ppm de 2H dublet halinde iki pik verdiği gözlenir. Yine bu değerler sübstitüe olmamış benzen halkası protonlarının değerleriyle kıyaslandığında her iki proton grubunun da daha düşük alan şiddetine doğru kaydığı göze çarpar. Bunun nedeni de hem azometin grubunun hem de 4. konumdaki sübstitüentin ($-CF_3$) elektron çekici özellikte olmasından kaynaklanır. İki sübstitüentin birden elektron çekmesi ile fenil halkası üzerindeki elektron yoğunluğu çok azalacak ve protonlar düşük alan şiddetine doğru kayarak daha yüksek ppm değerinde pik verecektir.

9 numaralı bileşikte ise benziliden grubunda yer alan fenil halkası 1,2,4 tri sübstitüe haldedir. Yapıda daha önceki bileşiklerde olduğu gibi fenil protonları arasında bir gruplaşma ve simetri söz konusu değildir. Bu yüzden bu bileşiğe ait spektrumda 1-4 yarılmaları yerine fenil üzerinde bulunan 3 proton için ayrı ayrı 3 pikin gözlenmesi beklenir. Bileşiğe ait spektrumda 7,90-7,95 ppm de 1H dublet bir pik ve 7,10-7,15 ppm de 2H dublet bir pik görülmektedir. 3. ve 5. konumlarda

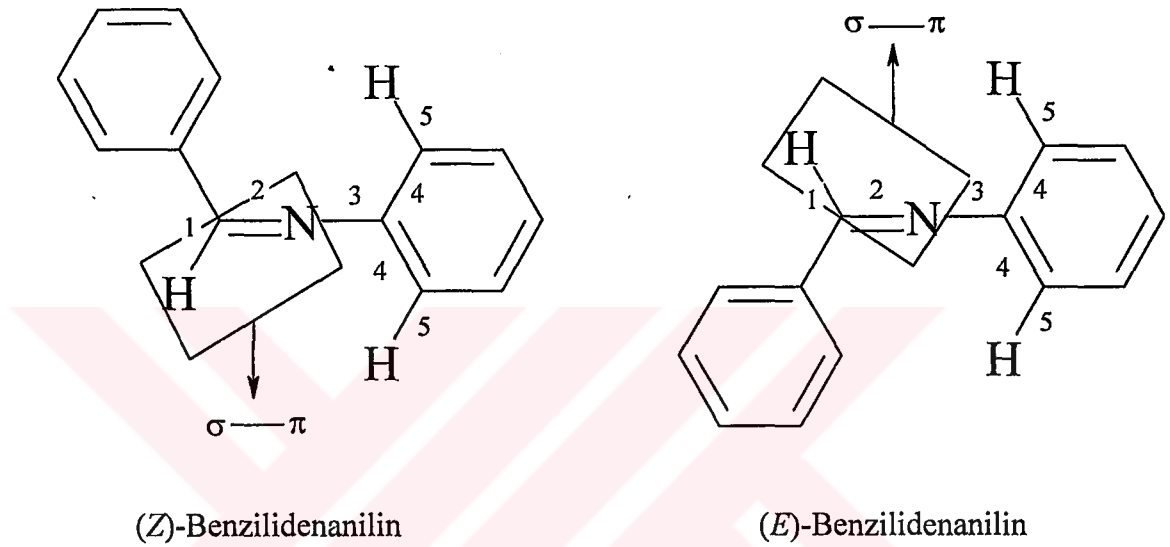
bulunan protonlar birbirine çok benzeyen elektronik çevreye sahip oldukları için spektrumda 7,10-7,15 ppm de üst üste gelecek şekilde pik vermişlerdir. Süstitüe olmamış benzen protonlarından daha yüksek bir alan şiddetinde pik vermeleri de komşularındaki metil gruplarının elektron verici özelliklerinin bir sonucudur. 1. konumda bulunan azometin grubunun elektron çekici etkisinden dolayı komşusunda bulunan 6. konumdaki proton elektronca fakir bir elektronik çevrede kalmış ve düşük alan şiddetine doğru kayarak pik vermiştir.

Benzilidenanilin çekirdeğindeki anilin grubunda bulunan fenil halkası üzerinde 5 proton bulunmaktadır. Fenil halkası azometin grubuna komşu haldedir. Azometin grubu elektron çekici bir grup olduğu için halka üzerindeki protonların hepsinin 7,27 den daha düşük bir alan şiddetinde pik vermesi gerekir. Bileşiklere ait spektrumlar incelendiğinde 7,20-7,30 ppm de 3H triplet bir pik ve 7,40-750 ppm de 2H triplet bir pik gözlenmesi bu beklentiyi doğrular. 7,20-7,30 ppm de gözlenen pik 3., 4. ve 5. konumlarda bulunan protonlara 7,40-7,50 ppm de gözlenen pik ise 2. ve 6. konumda bulunan protonlara aittir. 2. ve 6. konumda bulunan protonlar azometin grubuna daha yakın oldukları için diğer gruplara nazaran elektronca daha fakir bir çevre içerisinde bulunacaklar ve daha düşük alan şiddetinde yer alacaklardır.

3., 4. konumlar ile 5. konumdaki protonlar birbirine çok yakın elektronik çevrede buldukları için bu protonlara ait pikler üst üste gelmiştir ve 3H triplet tek bir pik olarak görünmektedir. 2. ve 6. konumlarda bulunan piklerin komşuluklarında birer tane proton bulunmaktadır. Dolayısıyla n+1 kuralına göre bu protonlara ait pikin 2H dublet olarak gelmesi beklenir. Ancak spektrum incelendiğinde bu protonlara ait pikin dublet değil triplet olduğu göze çarpar.

Schiff bazlarının (*E*) ve (*Z*) izomerler şeklinde elde edilebilen bileşikler olduğu bildirilmiştir^[10]. Organik bileşiklerde dört ve daha fazla bağ üzerinden spin-spin etkileşmeleri görülebilir ve buna uzun mesafede etkileşme denir. Uzun mesafe etkileşmelerinin daha çok doymamış bileşiklerde gözlenmesi σ - π orbitallerinin etkileşmesinden kaynaklanır ve etkileşme sabiti (*J*) 0.0-0.3 Hz arasında değişir. Bu tür etkileşmelerde bir protonun yapacağı yarımla sayısı kestirilemez^[139]. Anilin halkası üzerindeki 2. ve 6. konumlardaki protonların etkileşme sabitleri 0.5-0.15 Hz'dir bu değer uzun mesafede etkileşme sabitinin

değer aralığındadır. Bileşiğin azometin grubundaki proton ile anilin protonları arasında 5 bağlık bir mesafe söz konusudur. Ayrıca yine azometin grubunda σ - π orbitallerinin etkileşmesi söz konusudur. Bu özelliklerden ötürü ve sentezlenen bileşiklerin (*E*) ve (*Z*) izomer durumları da göz önüne alındığında azometin köprüsünde bulunan protonun, uzun mesafede anilin halkası üzerinde bulunan 2. ve 6. konumlardaki protonları etkileyebileceği ve bu protonların spektrumda dublet yerine triplet bir şekilde gözleneceği düşünülebilir.

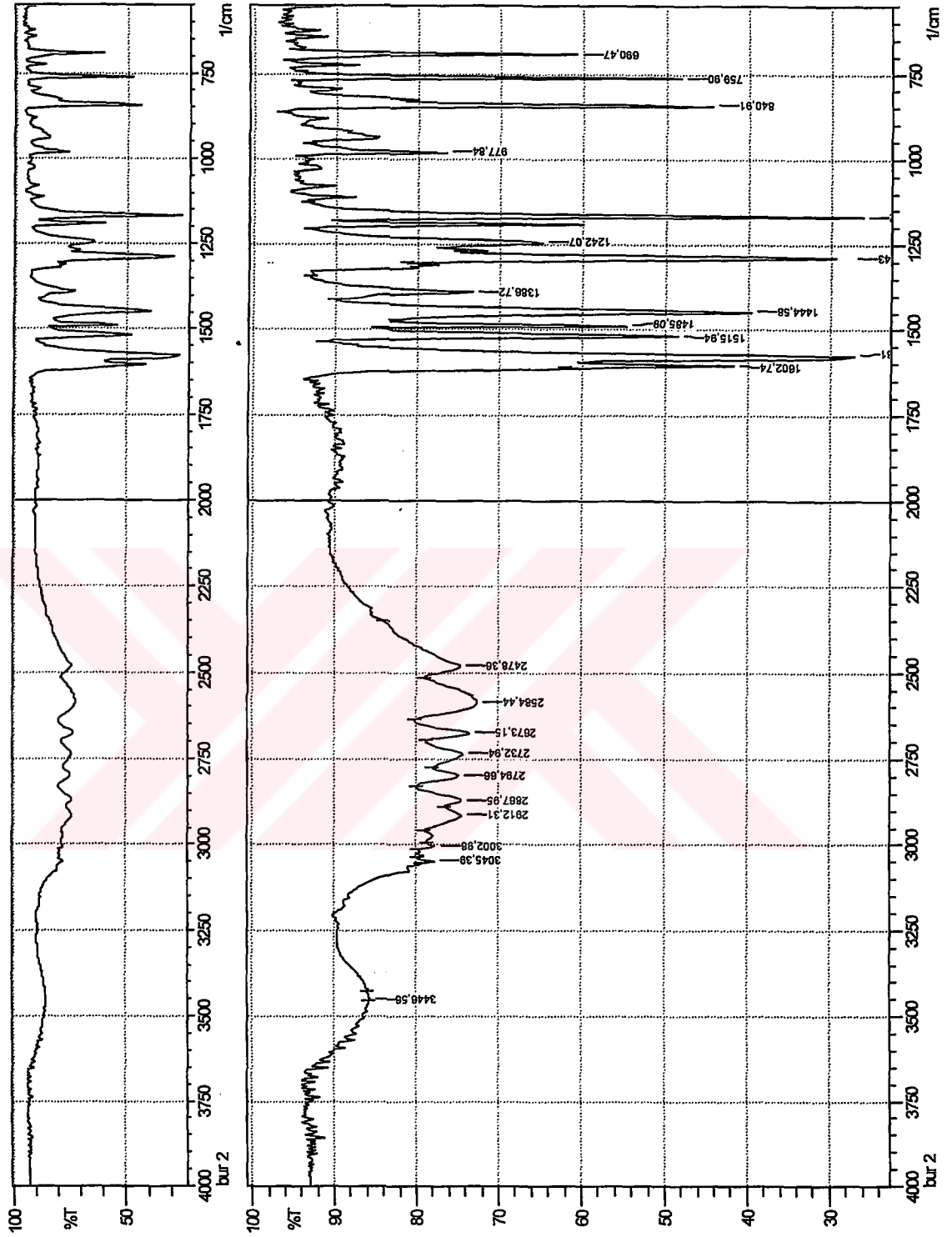


Şekil 90: (*Z*) ve (*E*) Benzilidenanilin’de azometin grubunda σ - π etkileşimi ve azometin protonunun anilin protonlarına bağ uzaklığı.

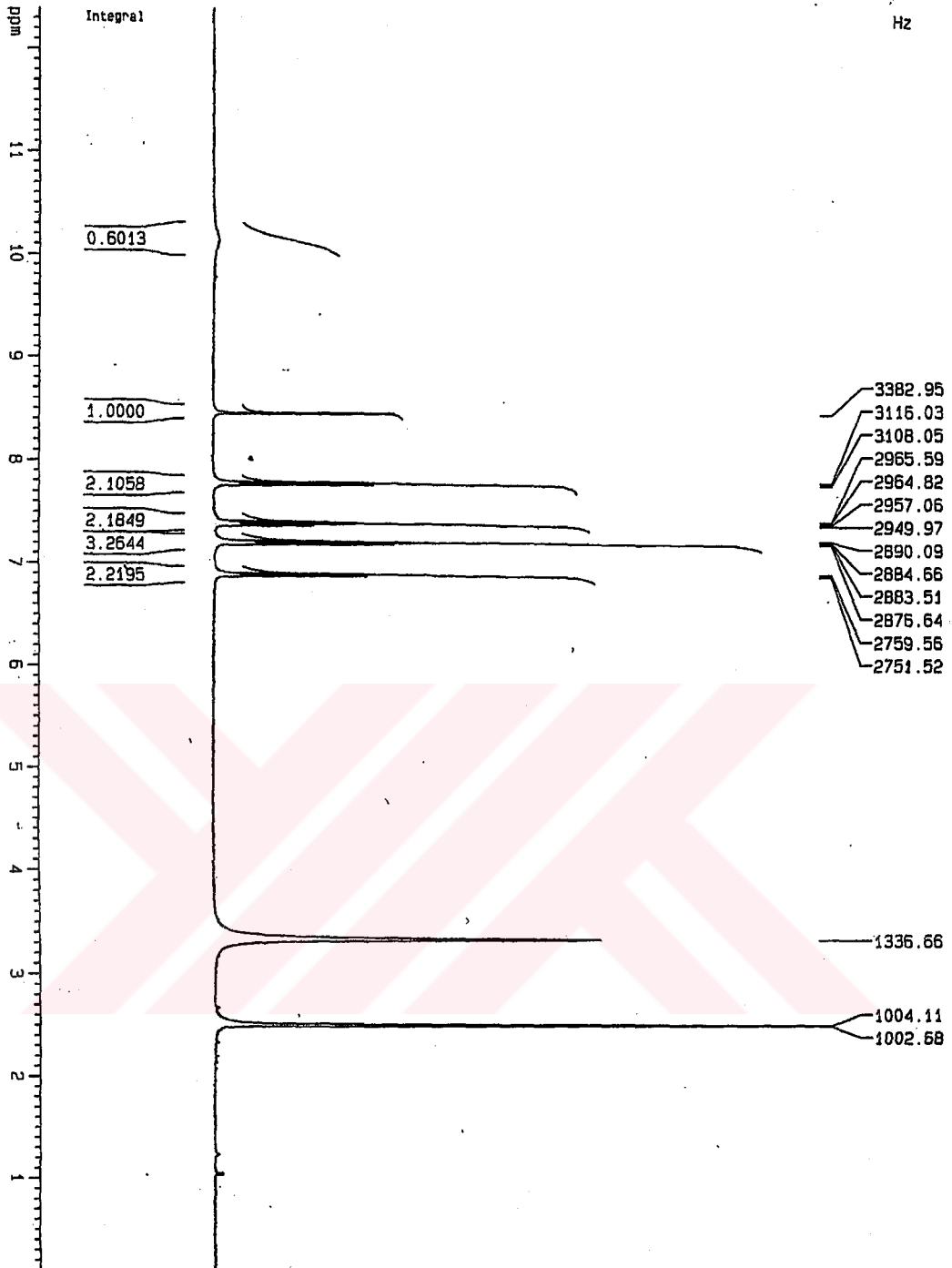
6.2.3. Kütle (APCI) spektrumlarının değerlendirilmesi

Kütle (APCI) tekniği, spektrumları alınan bileşiklerimizin parçalanma ürünleri hakkında fazla açıklayıcı olmamakla beraber, bileşiklerin M^+ , $M+1$, $M+2$ $M-1$, değerleri net olarak elde edilmiştir.

Kütle APCI tekniği, moleküler iyonunun kararsız olması durumunda M^+ pikinin tanınması için geliştirilen bir yöntemdir. Bu yöntemde pozitif iyon kimyasal iyonlaştırma tekniği kullanıldığı gibi negatif iyon tekniği de uygulanabilir ve elde edilen kütle spektrumlarında $M+1$ veya $M-1$ piki M^+ pikinden daha şiddetlidir^[138].



Grafik 1: 2 Numaralı bileşiğe ait IR spektrumu



Current Data Parameters
 NAME 22tend04
 EXPNO 4
 PROCNO 1

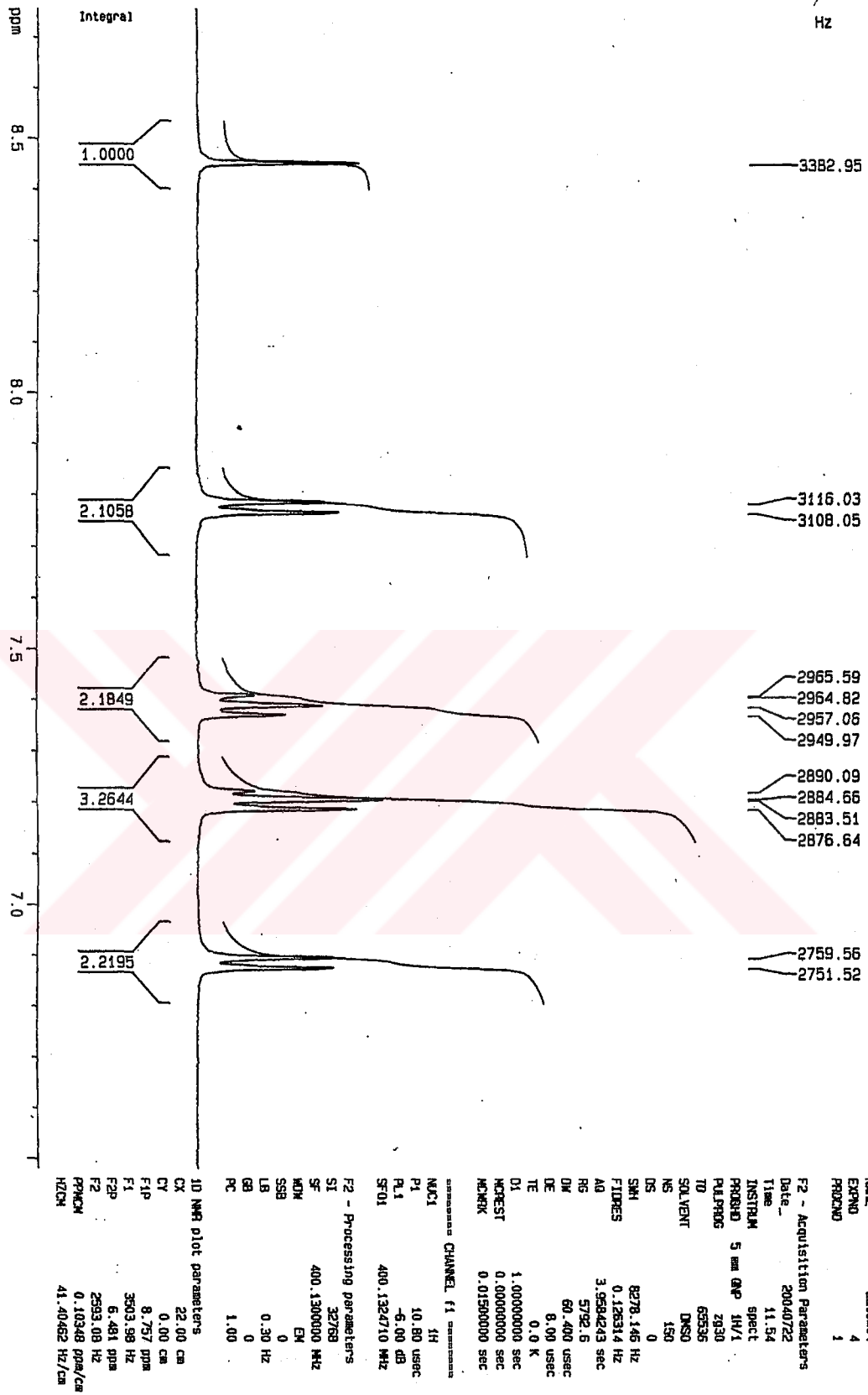
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20040722
 Time 11.54
 INSTRUM spect
 PROBRD 5 mm QNP 1H/1
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT DMSO
 NS 150
 DS 0
 SMH 8278.145 Hz
 FIDRES 0.126314 Hz
 AQ 3.9584243 sec
 RG 5792.6
 DW 60.400 usec
 DE 8.00 usec
 TE 0.0 K
 D1 1.00000000 sec
 MCRST 0.00000000 sec
 MCHK 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 10.80 usec
 PL1 -6.00 dB
 SF01 400.1324710 MHz

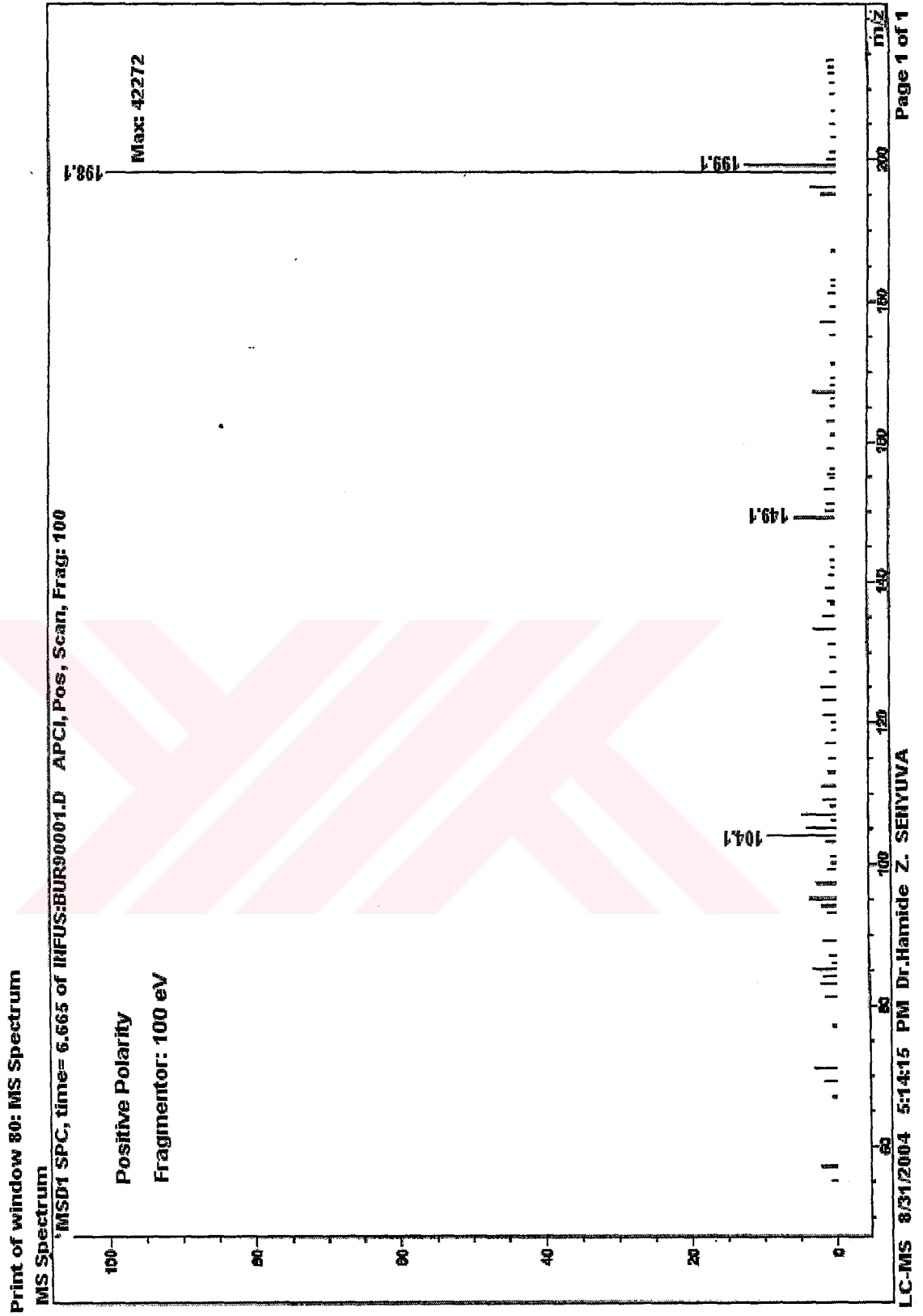
F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 400.1300000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

1D NMR plot parameters
 CX 22.00 cm
 CY 0.00 cm
 F1P 12.397 ppm
 F1 4960.27 Hz
 F2P 0.101 ppm
 F2 40.24 Hz
 PPMCK 0.55891 ppm/cm
 HZCM 223.63771 Hz/cm

Grafik 2: 2 Numaralı bileşiğe 1H-NMR Spektrumu (0-11 ppm)



Grafik 3: 2 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (6-8.5 ppm)

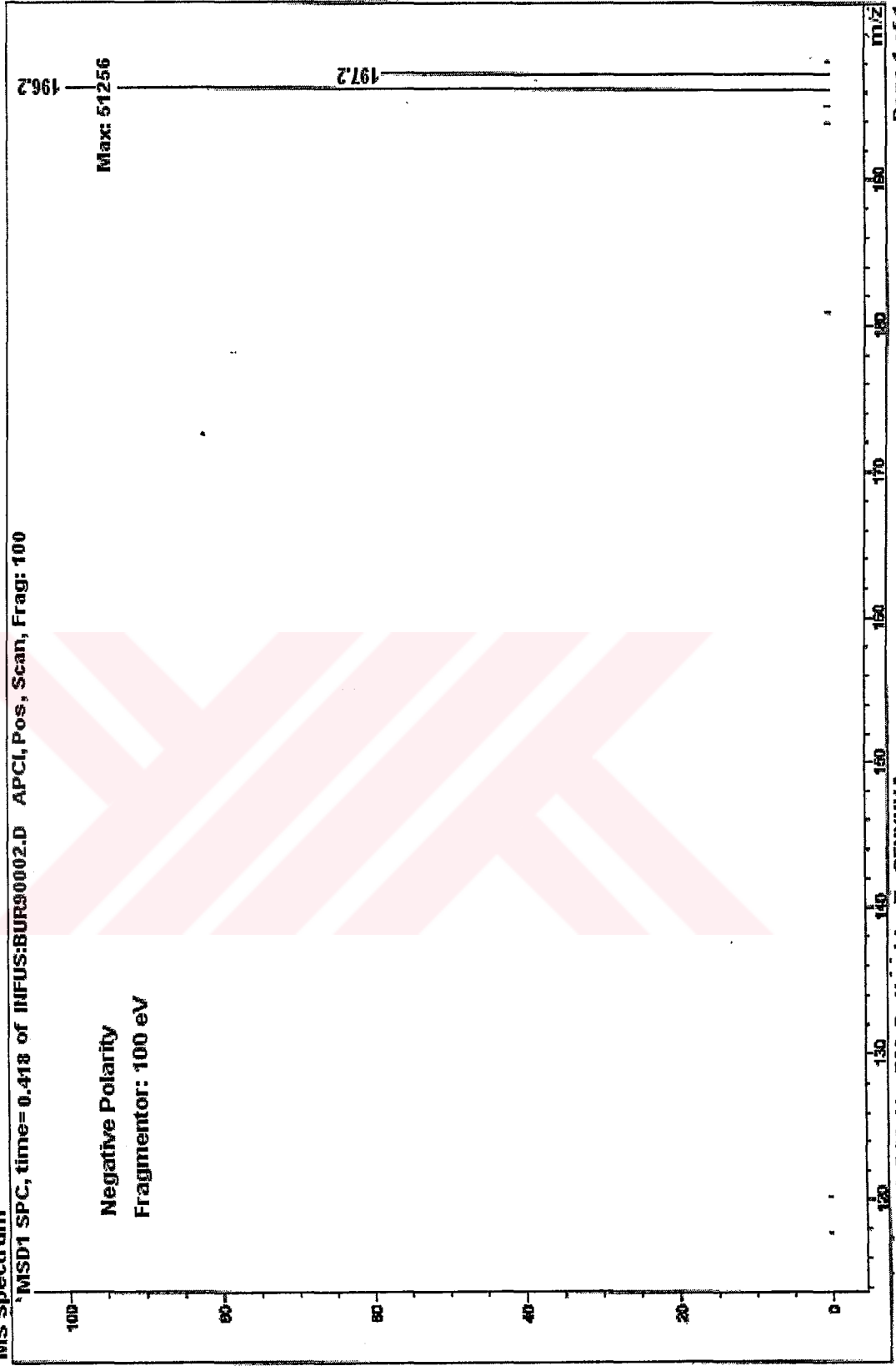


Grafik 4: 2 Numaralı bileşiğe ait Kütle (APCI) spektrumu (Pozitif İyonizasyon)

Print of window 80: MS Spectrum

MS Spectrum

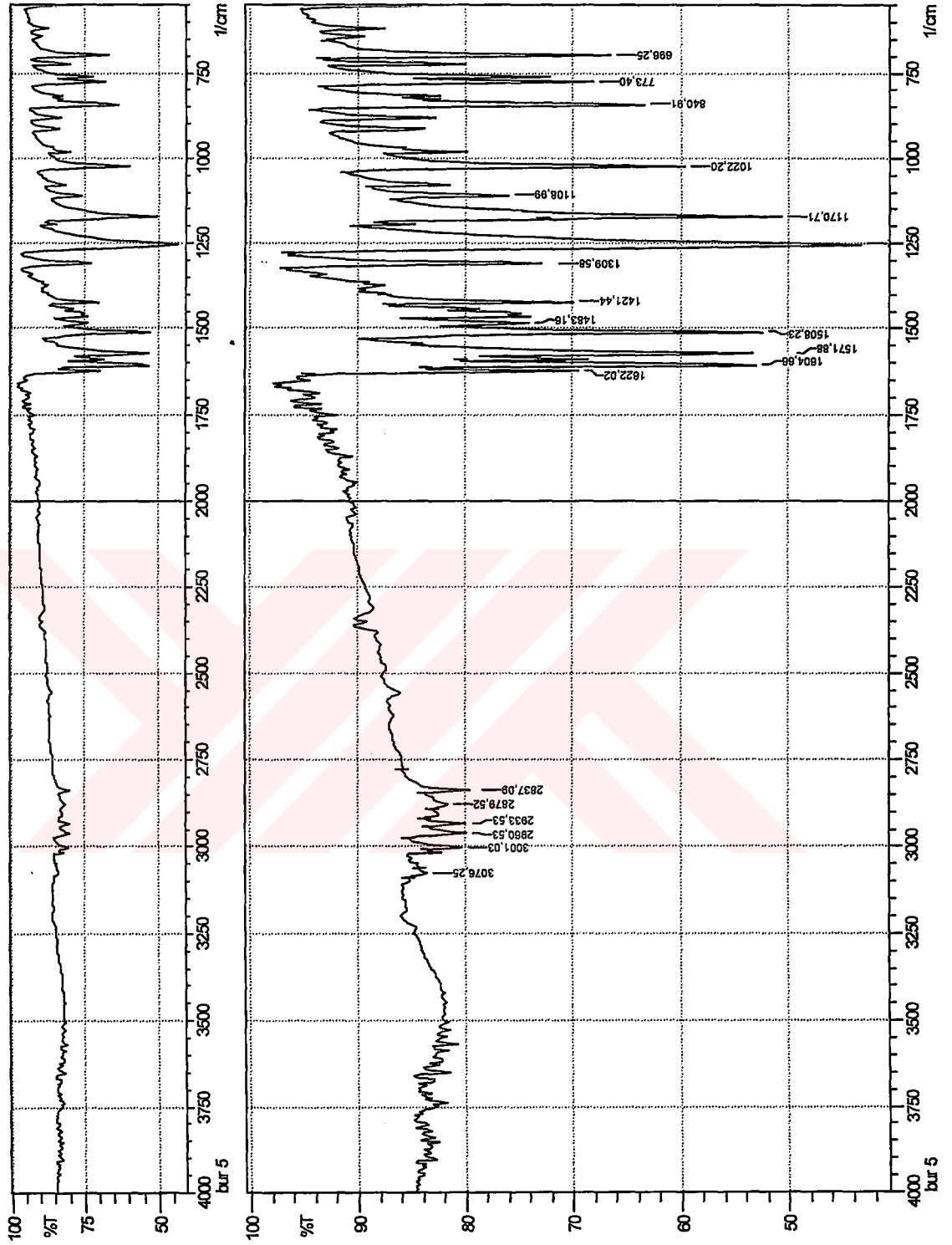
MSD1 SPC, time= 0.418 of INFUS:BUR0002.D APCI, Pos, Scan, Frag: 100



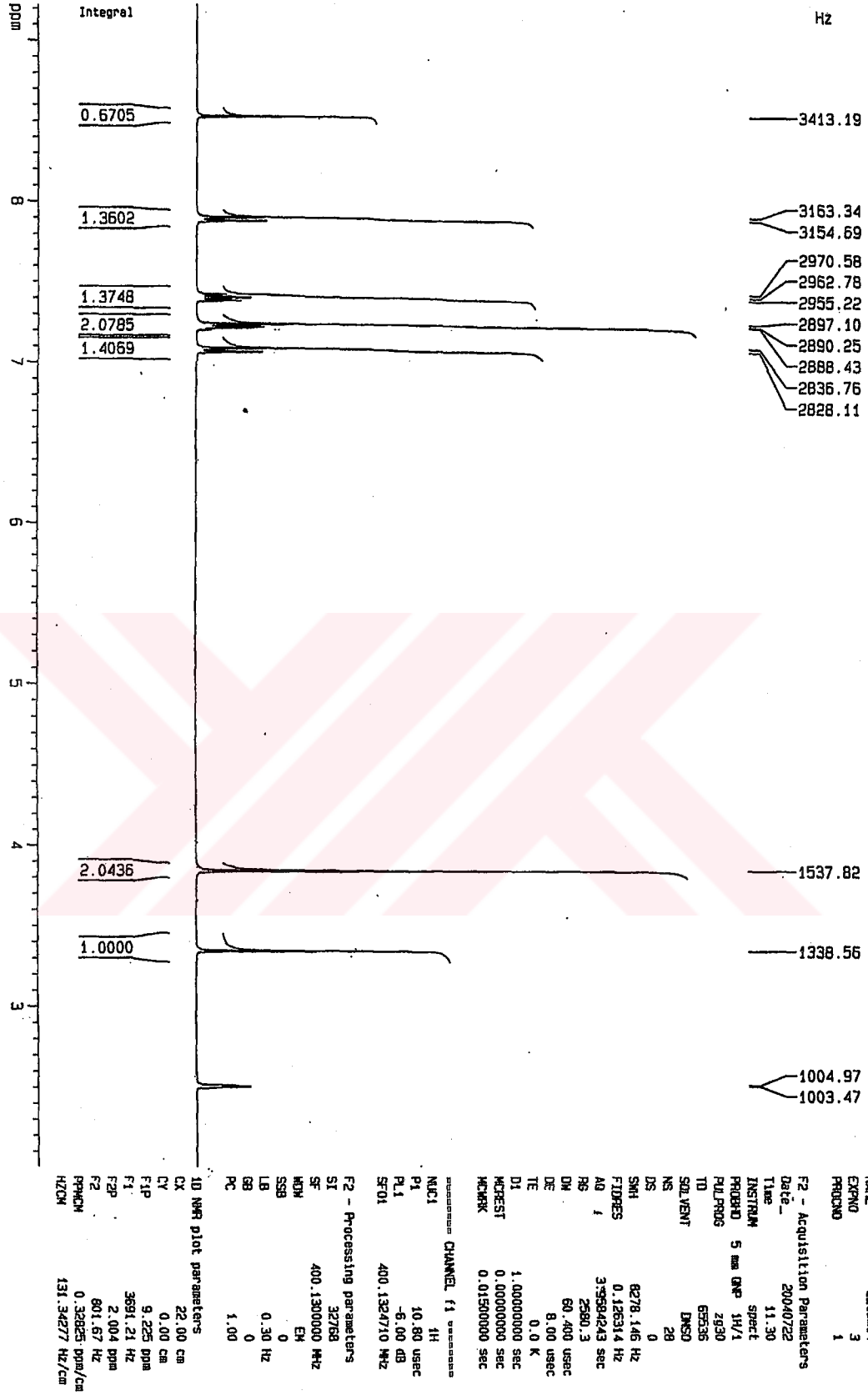
Page 1 of 1

LC-MS 8/31/2004 5:20:41 PM Dr.Hamide Z. SERIYUVA

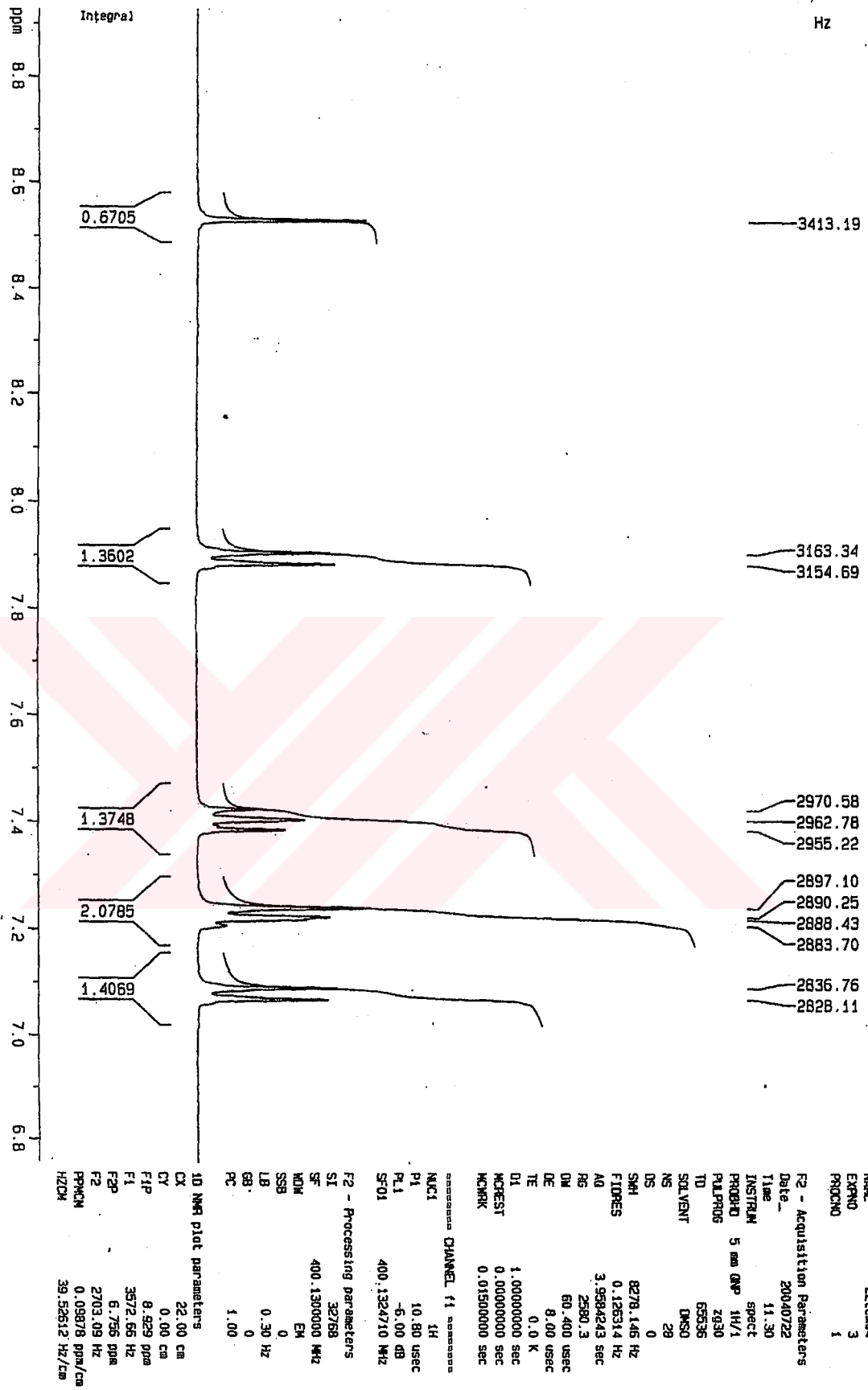
Grafik 5: 2 Numaralı bileşiğe ait Kütle (APCI) spektrumu (Negatif İyonizasyon)



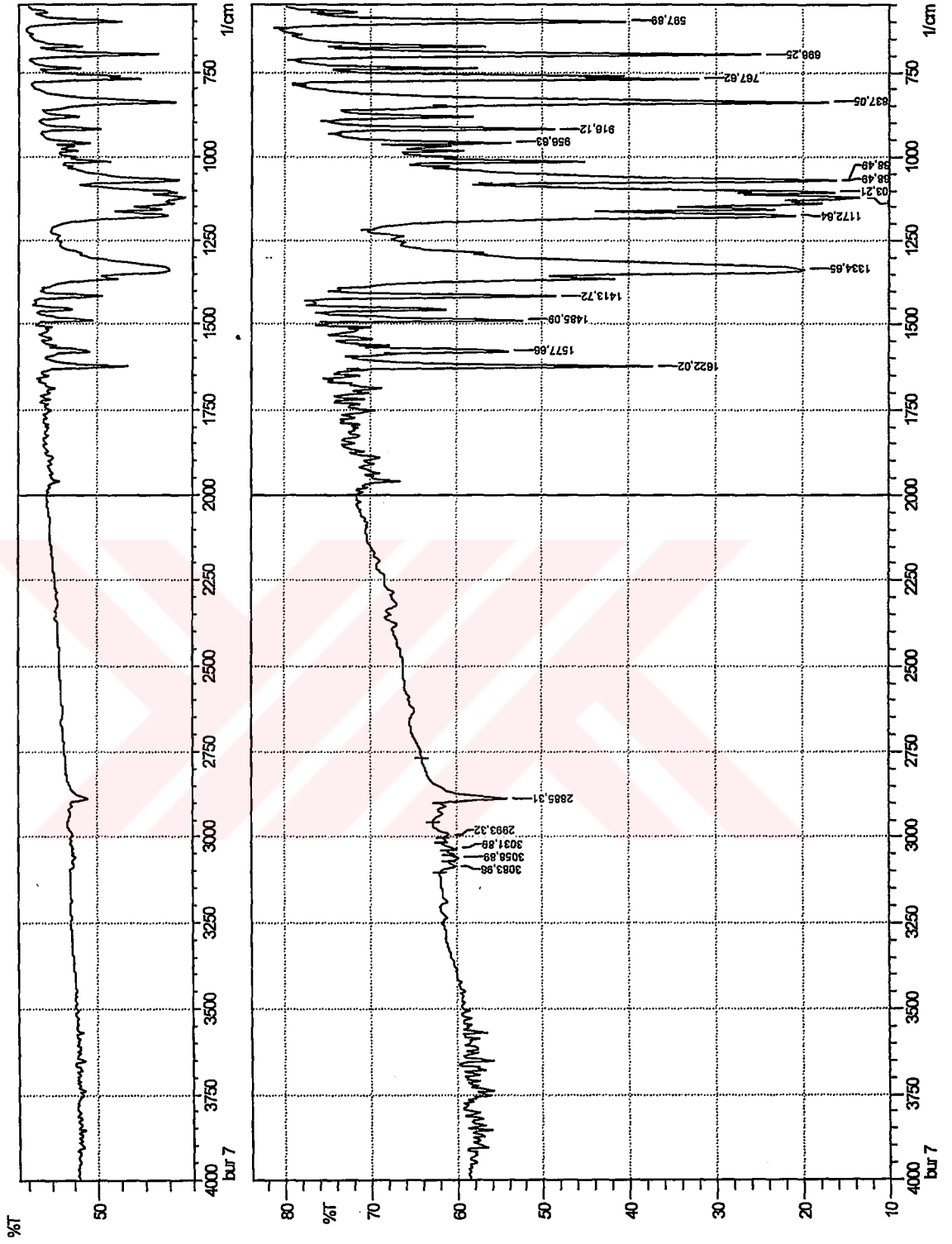
Grafik 6: 5 Numaralı bileşiğe ait IR spektrumu



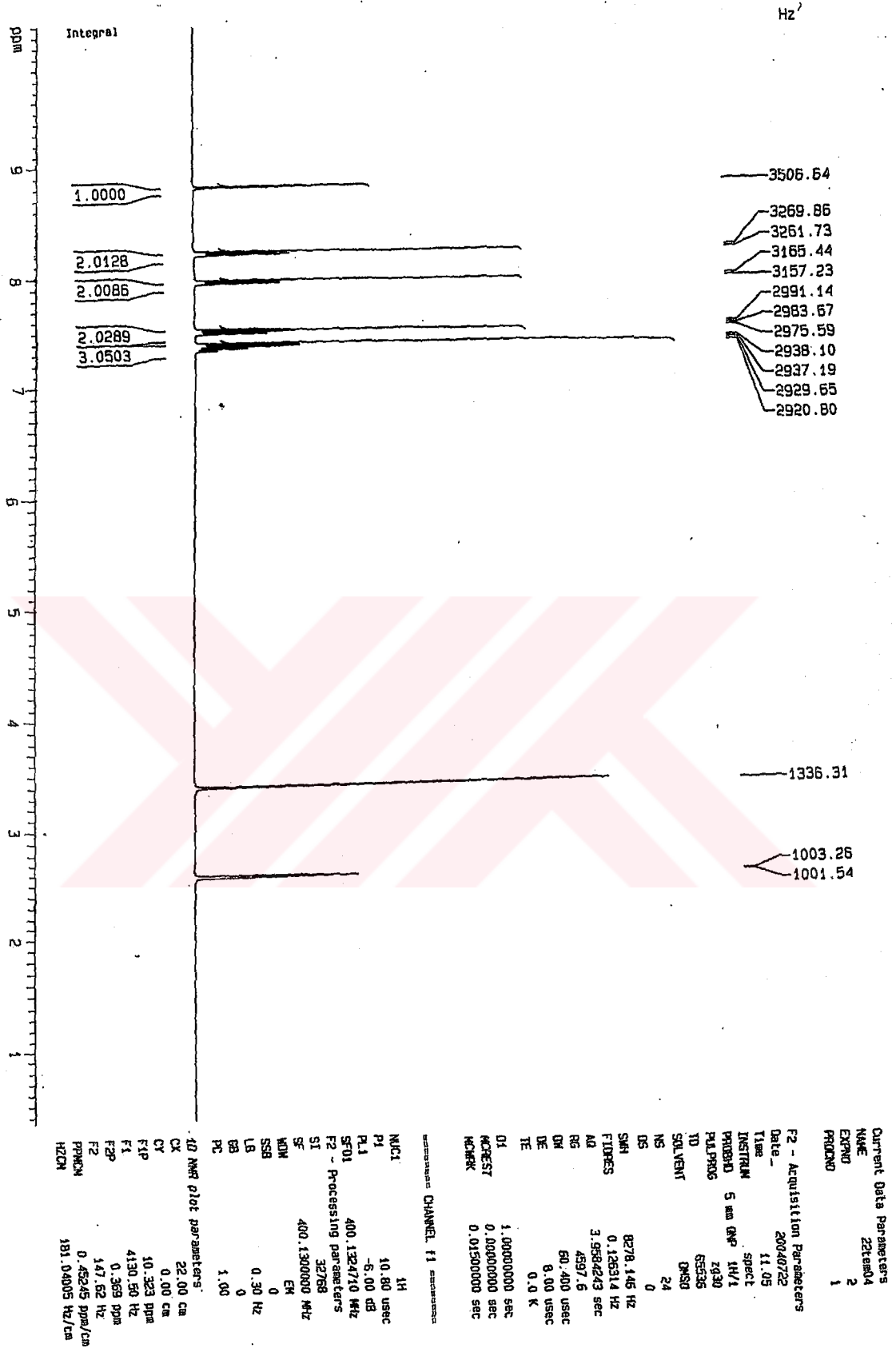
Grafik 7: 5 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (2-9 ppm)



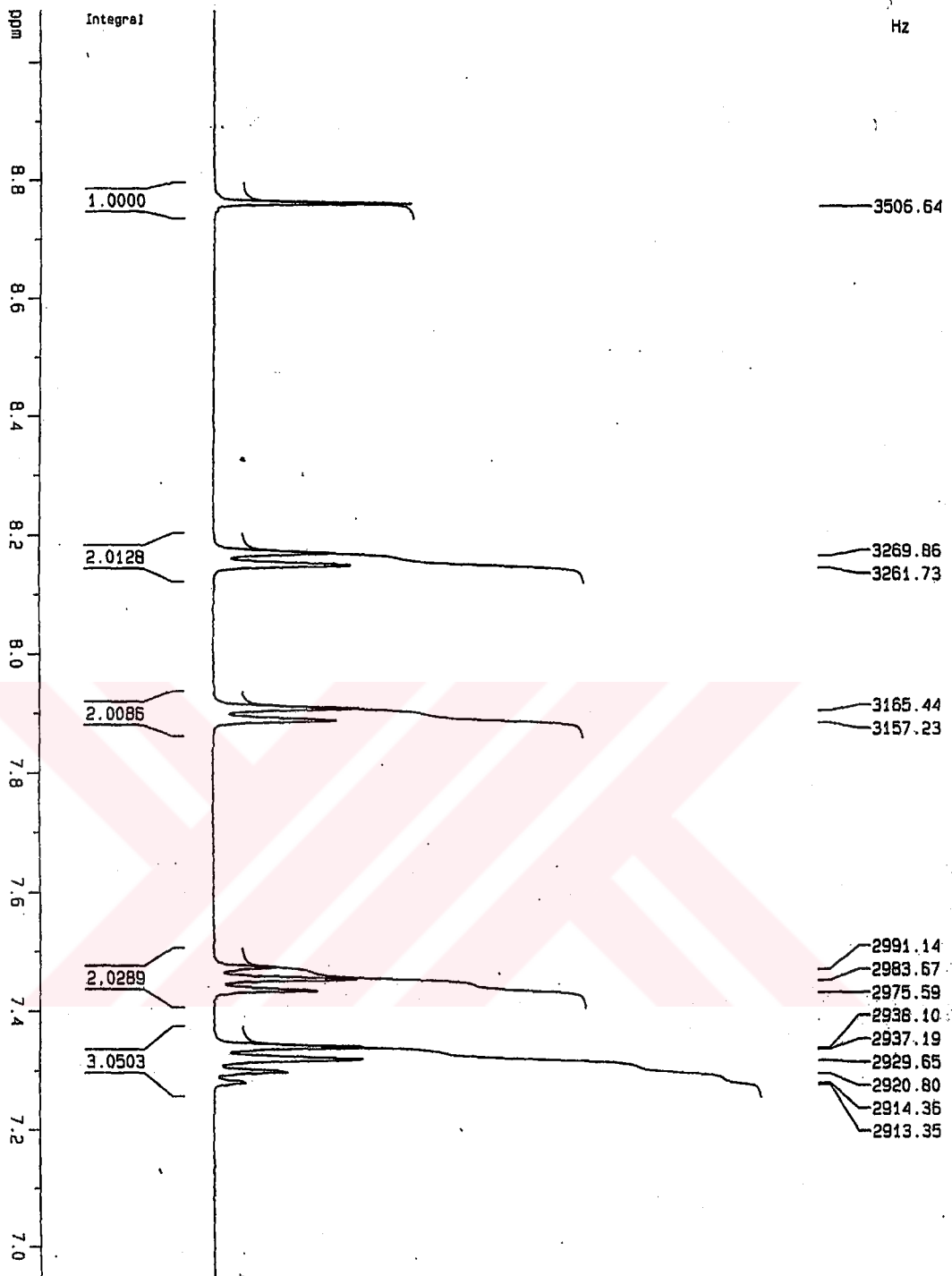
Grafik 8: 5 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (6.8-8.8 PPM)



Grafik 9: 7 Numaralı bileşiğe ait IR spektrumu



Grafik 10: 7 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (0-10 ppm)



Current Data Parameters
 NAME 22kand04
 EXPNO 2
 PROCNO 1

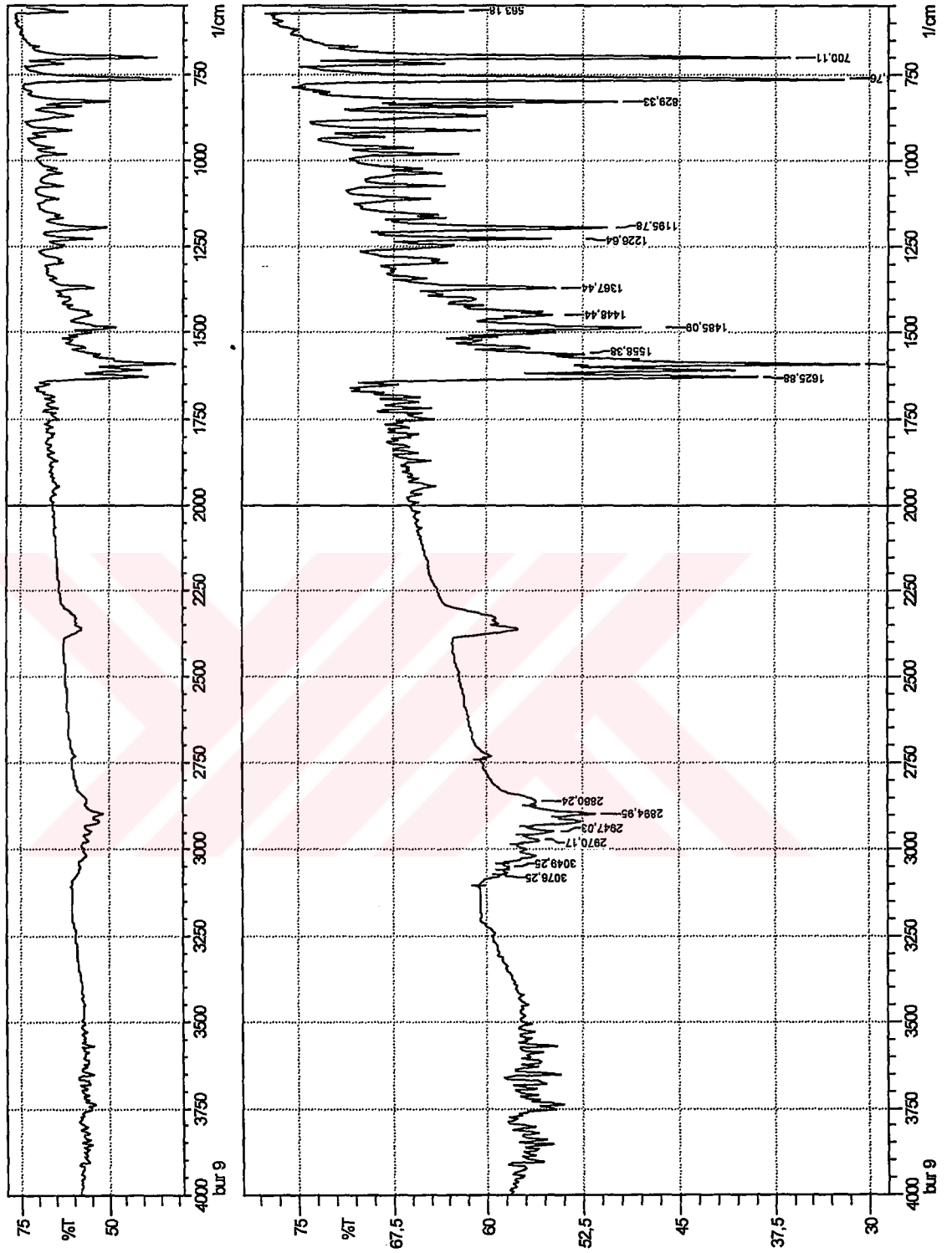
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20040722
 Time 11.05
 INSTRUM spect
 PRGHD 1H/1
 PULPROG zg30
 TD 65536
 SOLVENT DMSO
 NS 24
 DS 0
 SM1 8278.146 Hz
 FIDRES 0.126314 Hz
 AQ 3.9584243 sec
 RG 4597.6
 DM 60.400 usec
 DE 8.00 usec
 TE 0.0 K
 D1 1.00000000 sec
 MCOREST 0.00000000 sec
 MCORR 0.01500000 sec

***** CHANNEL f1 *****
 NU1 1H
 P1 10.80 usec
 PL1 -6.00 dB
 SF01 400.1324710 MHz

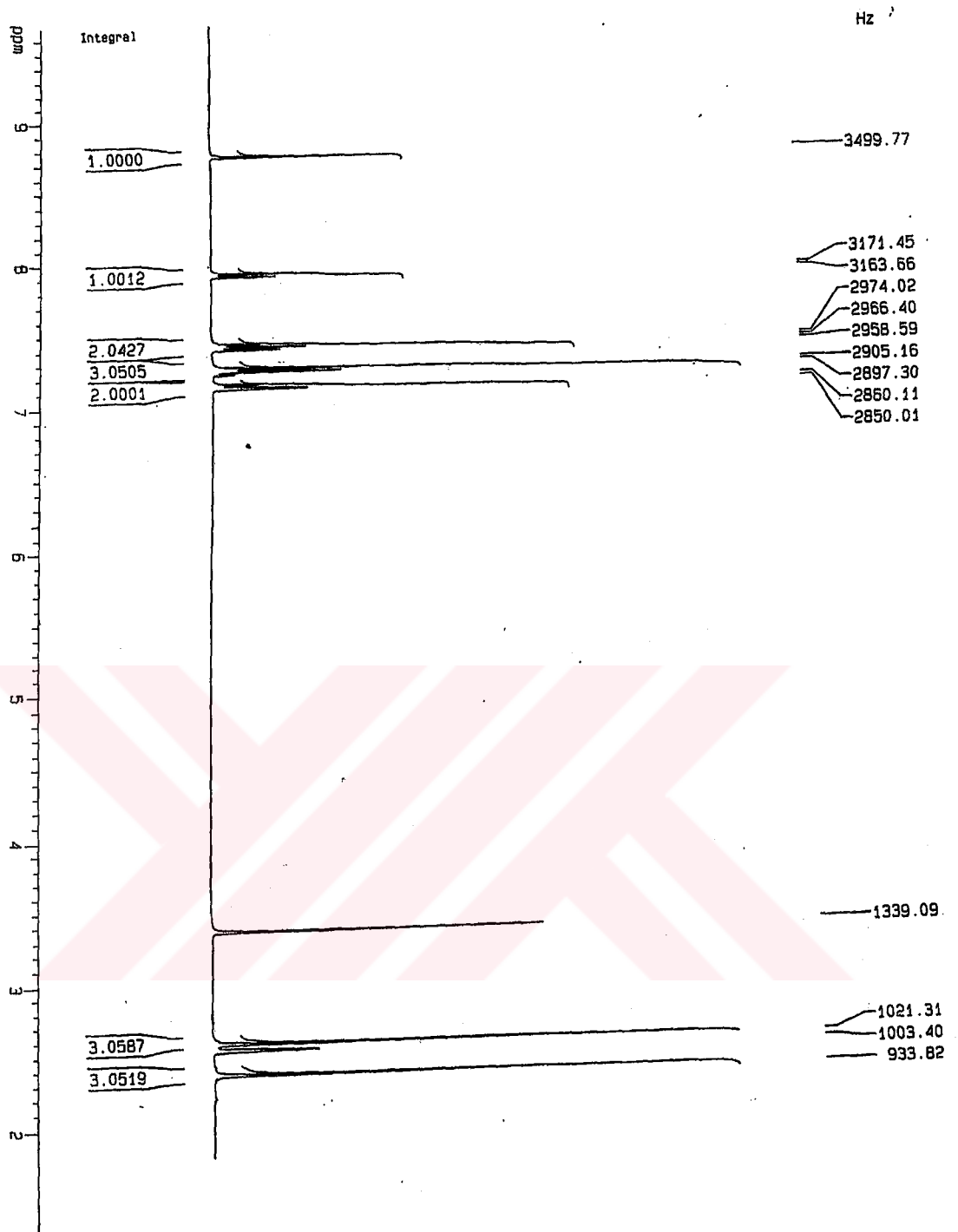
F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 400.1300000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

1D NMR plot parameters
 CX 22.00 cm
 CV 0.00 cm
 FIP 9.090 ppm
 F1 3637.34 Hz
 F2p 6.942 ppm
 F2 2777.82 Hz
 PPM1CM 0.09764 ppm/cm
 HZCM 39.06879 Hz/cm

Grafik 11: 7 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (7-9 ppm)



Grafik 12: 9 Numaralı bileşiğe ait IR spektrumu



Current Data Parameters
 NAME 22kmd4
 EXPNO 1
 PROCNO 1

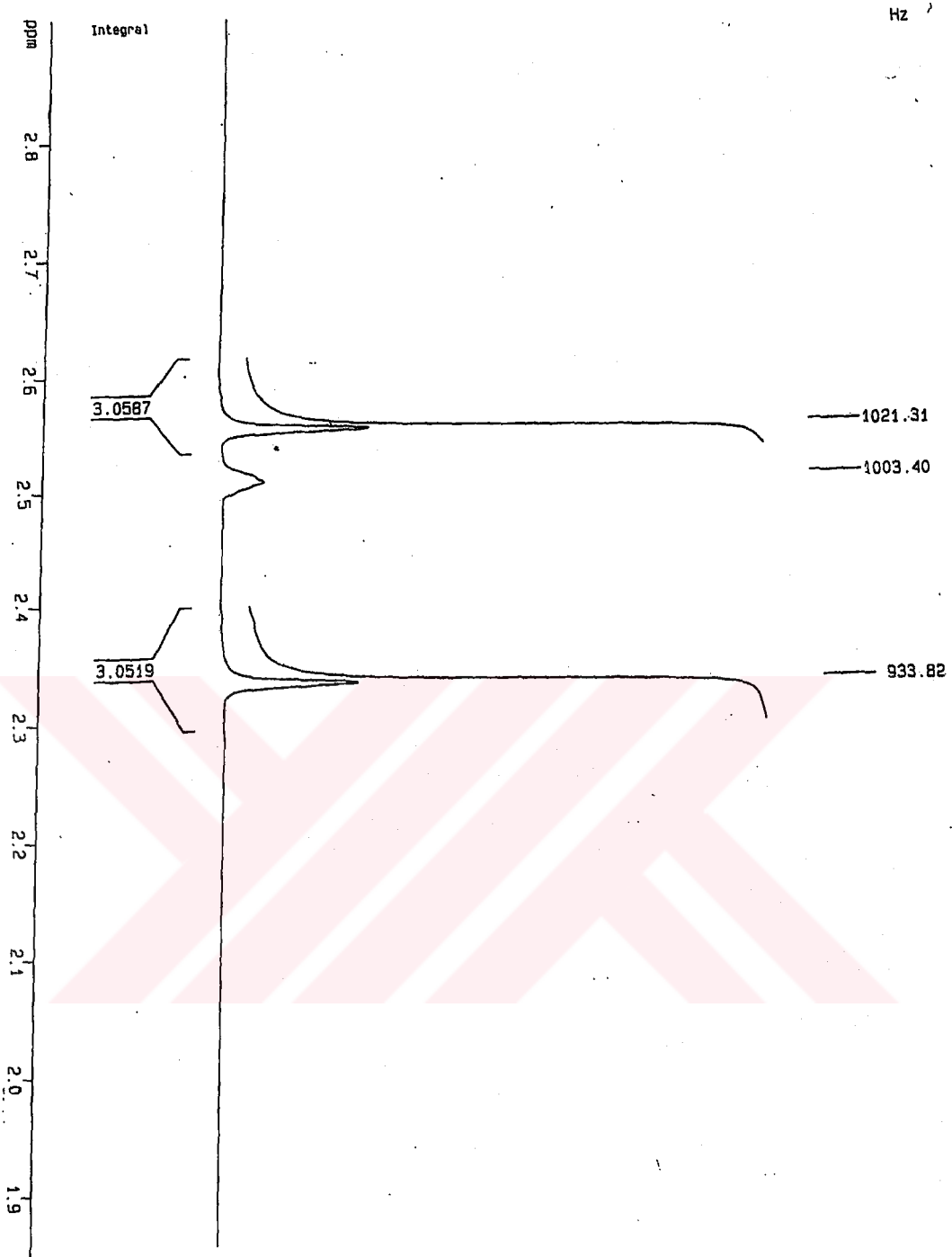
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20040722
 Time 10.24
 INSTRUM spect
 PULPROG zgpg30
 TD 65536
 SOLVENT DMSO
 NS 100
 DS 0
 SS 8278.146 Hz
 SFO1 0.126314 Hz
 FIDRES 3.9584243 sec
 AQ 2298.8
 RG 60.400 usec
 DE 8.00 usec
 TE 0.0 K
 DI 1.00000000 sec
 ACQRES 0.00000000 sec
 MCORR 0.01500000 sec

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 10.80 usec
 PL1 -6.00 dB
 SFO1 400.1324710 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 400.1300000 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

1D NMR plot parameters
 CX 22.00 cm
 CY 0.00 cm
 F1P 9.681 gpm
 F1 3673.78 Hz
 F2P 1.313 dpm
 F2 525.19 Hz
 PPM1M 0.36040 gpm/cm
 HZCM 152.20836 Hz/cm

Grafik 13: 9 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (1-10 ppm)



Current Data Parameters
 NAME 2f1eak04
 EXPNO 1
 PROCNO 1

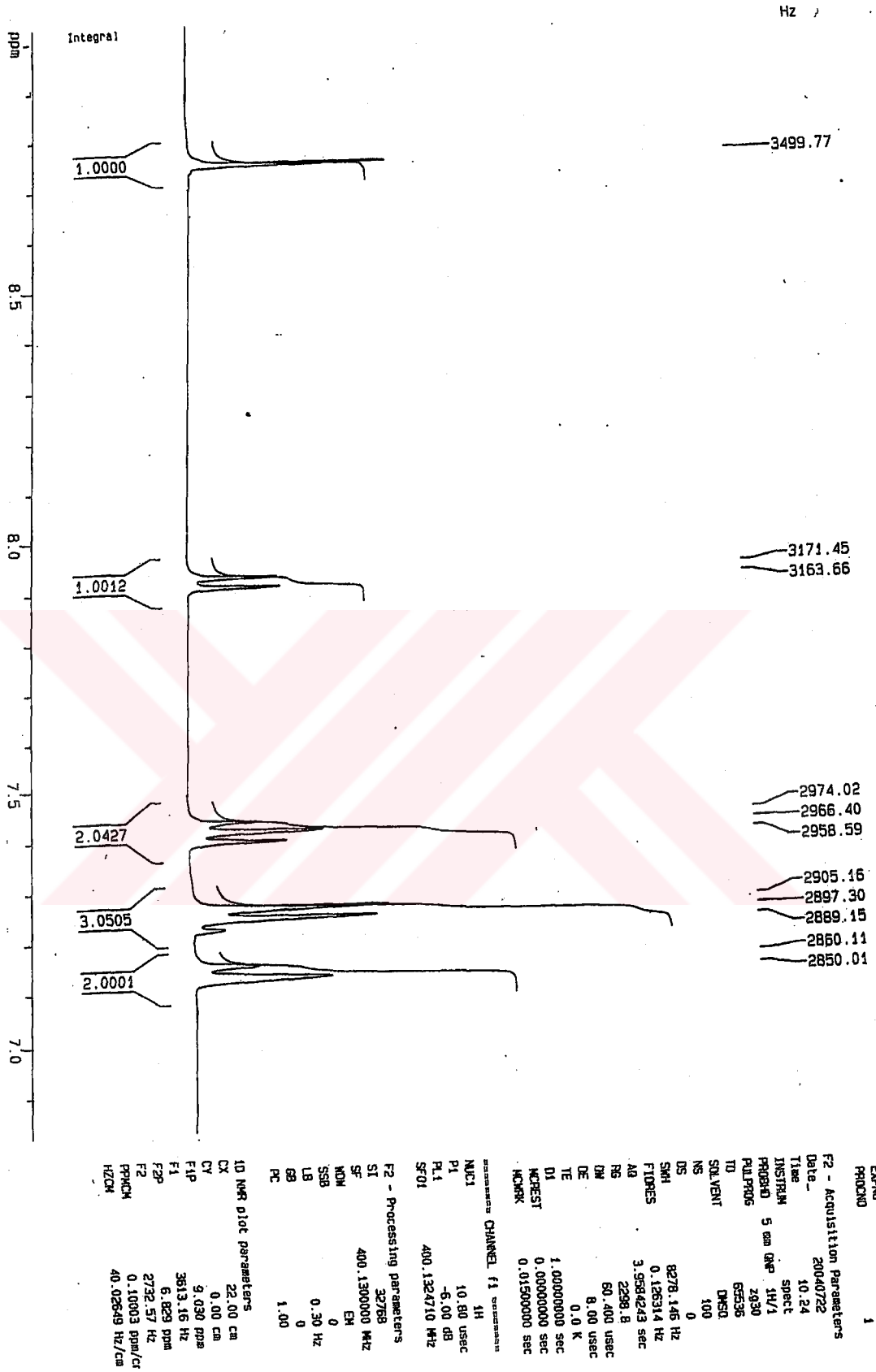
F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20040722
 Time 10.24
 INSTRUM spect
 PROBAD 5 mm QNP 1H/1
 PULPROG zg30
 TD 65536
 TO 65536
 SOLVENT DMSO
 NS 100
 DS 0
 SWH 8278.146 Hz
 FIDRES 0.126314 Hz
 AQ 3.994243 sec
 RG 2298.8
 DW 60.400 usec
 DE 8.00 usec
 TE 0.0 K
 D1 1.00000000 sec
 D11 0.00000000 sec
 ACQRES1 0.01500000 sec
 HZCENK 400.1324710 MHz

===== CHANNEL f1 =====
 NUC1 1H
 P1 10.80 usec
 PL1 -5.00 dB
 SFO1 400.1324710 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 400.130000 MHz
 WNF EN
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

ID NMR plot parameters
 CX 22.00 cm
 CY 0.00 cm
 F1P 2.906 ppm
 F1 1182.86 Hz
 F2P 1.837 ppm
 F2 743.10 Hz
 PPM1CM 0.04769 ppm/cm
 HZ1CM 19.08020 Hz/cm

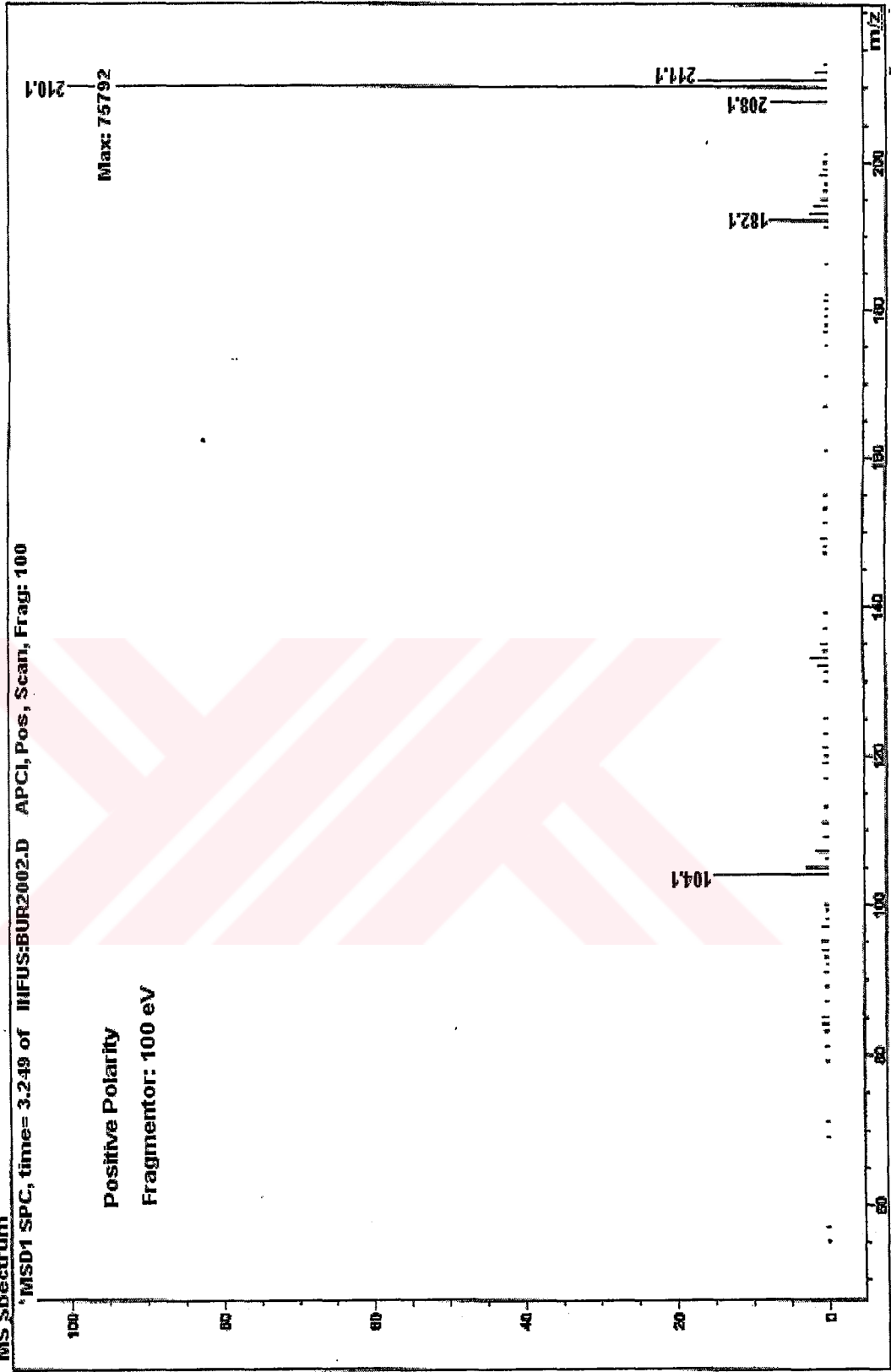
Grafik 14: 9 Numaralı bileşiğe ait 1H-NMR spektrumu (1.9-3 ppm)



Grafik 15: 9 Numaralı bileşiğe ait ¹H-NMR spektrumu (7-9 ppm)

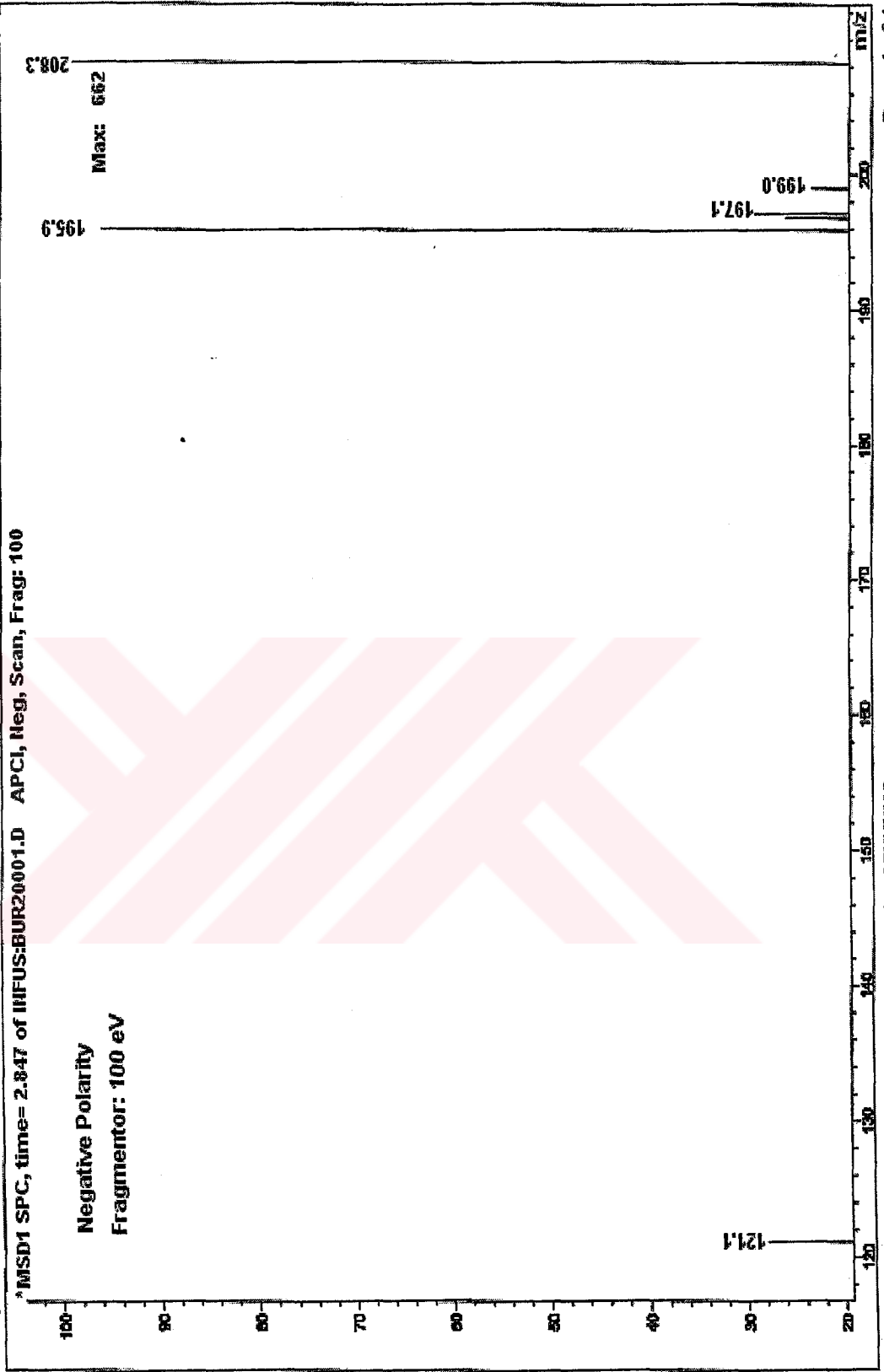
Print of window 80: MS Spectrum
MS Spectrum

MSD1 SPC, time= 3.249 of IIFUS:BUR2002.D APCI, Pos, Scan, Frag: 100



Grafik 16: 9 Numaralı bileşiğe ait Kütle (APCI) spektrumu (Pozitif İyonizasyon)

Print of window 80: MS Spectrum
MS Spectrum



Grafik 17: 9 Numaralı bileşiğe ait Kütle (APCI) spektrumu (Negatif İyonizasyon)

6.3. Mutajenik etki testi sonuçlarının değerlendirilmesi

Bileşiklerin mutajenik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla Ames *Salmonella* / mikrozom testi uygulanmıştır. Bu test kimyasal olarak indüklenebilen mutasyonları belirleyebilmek amacıyla 1975 yılında Dr. Bruce Ames ve arkadaşları tarafından özel olarak dizayn edilmiştir. Dünya çapındaki pek çok laboratuarda yeni kimyasalların mutajenik potansiyellerini araştırmak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Ames *Salmonella* / mikrozom test sistemi kullanılarak, çok sayıda kimyasalın genotoksik etkilerinin bir ön taraması yüksek duyarlılıkla yapılabilmektedir^[143,144].

Sonuçlar SPSS istatistiksel programı, Student-t testi ile değerlendirilmiştir. Deneylerde elde edilen revertant koloni sayıları ve çözücü kontrol revertant koloni sayısı arasındaki istatistiksel açıdan anlamlı sayılabilecek farklılıklar ve / veya revertant koloni sayılarındaki doza bağlı artış mutajenitenin kanıtı olarak kabul edilmiştir^[141,145].

Mutajenik etkileri incelen bileşiklerden 2'si TA 98 şuşu için, 5'i TA 100 şuşu için metabolik aktivasyonsuz ortamda mutajenik özellik göstermiştir. Metabolik aktivasyon aralığında 2 bileşik TA 98, 1 bileşik TA 100 şuşu için mutajendir.

Farklı pozisyonlarında nitro grubu taşıyan çeşitli bileşiklerin mutajeniteleri daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir^[146,147]. 4 konumda nitro grubu bulduran 6 numaralı bileşik TA 98 şuşu üzerinde S9 varlığında ve yokluğunda mutajen iken TA 100 şuşu için S9 yokluğunda gözlenen mutajenite S9'lu deneylerde görülmemiştir.

4. konumda metoksi grubu taşıyan 5 numaralı bileşik, metabolik aktivasyon varlığında çerçeve kayması mutasyonu oluşturmaktadır. Ayrıca bileşiğin hem kendisi hem de metabolik yan ürünleri baz çifti değişimi mutasyonu'na neden olmaktadır.

4. konumunda metil grubu taşıyan 4 numaralı bileşik TA 100 için S9 lu ortamda mutajenik özellik göstermiştir.

4. konumunda klor atomu bulunan 3 numaralı bileşik metabolik aktivasyonsuz ortamda çerçeve kayması mutasyonu oluştururken, 4. konumunda hidroksil grubu bulunan 2 numaralı bileşik ise baz çifti değişimi mutasyonuna neden olmaktadır.

Aromatik gruplar içeren bileşiklerin mutajenik özellikleri yapılan pek çok çalışmada bildirilmiştir^[148,149]. Farklı yan gruplar içeren 5 benzilidenanilin türevinin tümünün mutajenik özellik göstermesi literatür verilerini doğrulamaktadır.

6.4. MTT toksisite testi sonuçlarının değerlendirilmesi

Hücreler farklı konsantrasyonlardaki benzilidenanilin türevleri ile 24 ve 48 saat, 37 °C de inkübe edildiler ve daha sonra test maddelerinin sitotoksik etkileri tetrazolyum (MTT) deneyi ile belirlendi. Hücre sayısını ve canlılığını ölçen indikatör bir boya olan MTT, canlı hücre mitokondrial dehidrogenaz enzimlerin aktivitesi ile renkli bir formazan tuzuna dönüşür^[151,152].

Grafik 18a; 1 numaralı bileşiğin A-549 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini, Grafik 18b; HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini göstermektedir. 1 numaralı bileşiğin (0,0001 mg/mL) A-549 hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %34.86 sitotoksitite gözlenmiştir. Aynı konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında sitotoksitenin arttığı tespit edilmiştir (%83.49). Daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksitite de anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bileşiğin (0,0001 mg/mL) HeLa hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %16.63 sitotoksitite tespit edilmiştir. Aynı konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında sitotoksitenin yaklaşık olarak aynı kaldığı (%15.86) saptanmıştır. Daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksitenin oldukça arttığı belirlenmiştir. 1 numaralı bileşik zamana ve konsantrasyona bağlı olarak hem A-549 hem de HeLa hücre canlılığını inhibe etmektedir. Bu inhibisyon A-549 hücrelerinde daha fazladır.

1 numaralı test maddesinin IC₅₀ değeri A-549 hücreleri (24 saat) için 0,2 µg/mL ; HeLa hücreleri (24 saat) için ise 0,37 µg/mL olarak bulunmuştur.

Grafik 20a; 2 numaralı bileşimin A-549 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini, Grafik 20b; HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini göstermektedir. 2 numaralı bileşimin (0,0001 mg/mL) A-549 hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %49.42 sitotoksitite gözlenmiştir. Aynı konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında sitotoksitite artmış ve %80.65'lik bir değer bulunmuştur. Daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksitite de anlamlı bir artış belirlenmiştir. Bileşimin (0,0001 mg/mL) HeLa hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %12.87 sitotoksitite gözlenmiştir. Aynı konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında %3.16 stimülasyon saptanmıştır. Daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksitite de belirgin bir artış gözlenmiştir. 2 numaralı bileşik zamana ve konsantrasyona bağlı olarak A-549 ve HeLa hücrelerinin her ikisinde de hücre canlılığını inhibe etmektedir. Bileşimin inhibe edici özelliği A-549 hücrelerinde, HeLa hücrelerine göre daha fazladır.

2 numaralı test maddesinin IC₅₀ değeri A-549 hücreleri (24 saat) için 0,1 µg/mL ; HeLa hücreleri (24 saat) için ise 0,46 µg/mL olarak bulunmuştur.

Grafik 23a; 3 numaralı bileşimin A-549 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini, Grafik 23b; HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini göstermektedir. 3 numaralı bileşimin (0,0001 mg/mL) A-549 hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %33.44 sitotoksitite saptanmıştır. Aynı inkübasyon süresi için 0,0005-0,001-0,005-0,1 mg/mL konsantrasyonlarında sitotoksitite %48.24 (0,0005 mg/mL) ile %30.32 (0,05 mg/mL) arasında değişmiştir. Konsantrasyon 0,05 mg/mL'ye çıkarıldığında toksik etki en üst seviyeye ulaşmış ve %75.71 sitotoksitite gözlenmiştir. 0,0001 mg/mL konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında %60.99 sitotoksitite gözlenmiştir. 3 numaralı bileşimin A-549 hücreleri ile 48 saatlik inkübasyonunda 0,0005-0,001-0,005-0,1-0,05 mg/mL konsantrasyonlarda sitotoksitite büyük oranda artmıştır. 3 numaralı bileşimin (0,0001 mg/mL) HeLa hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %31.49 sitotoksitite gözlenmiştir. Aynı konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında %3.36 stimülasyon gözlenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda hem 24 saatlik hem de 48 saatlik inkübasyonlarda sitotoksitite anlamlı şekilde artmıştır. 3 numaralı bileşik zamana ve konsantrasyona bağlı olarak her iki hücre

tipi içinde inhibe edici özellikte olup, bileşiğin sitotoksik etkisinin HeLa hücreleri için belirgin bir oranda daha fazla olduğu görülmektedir.

3 numaralı test maddesinin IC₅₀ değeri A-549 hücreleri (24 saat) için 25 µg/mL ; HeLa hücreleri (24 saat) için ise 0,28 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Grafik 26a; 4 numaralı bileşiğin A-549 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini, 26b; HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini göstermektedir. 4 numaralı bileşiğin (0,0001 mg/mL) A-549 hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %19.97 sitotoksitite tespit edilmiştir. 24 saatlik inkübasyon için 0,0005-0,001-0,005 mg/mL konsantrasyonlarda bileşiğin sitotoksik özelliği nispeten artmış, 0,05 mg/mL konsantrasyonda sitotoksik etki en üst seviyeye (%75.22) ulaşmıştır. İlk konsantrasyonda (0,0001 mg/mL) inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında %52.83 sitotoksitite gözlenmiş, uygulanan ara konsantrasyonlarda sitotoksitite değerlerinde nispeten bir artma belirlenmiştir. 48 saatlik inkübasyon süresi için 4 numaralı bileşiğin son konsantrasyonu (0,05 mg/mL) uygulandığında %90.10 sitotoksitite değeri tespit edilmiştir. 4 numaralı bileşiğin (0,0001 mg/mL) HeLa hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %16.05 sitotoksitite gözlenmiştir. Aynı inkübasyon süresi boyunca konsantrasyonun artmasıyla sitotoksik etkide de artış gözlenmiş ve uygulanan son konsantrasyonda oldukça yüksek oranda sitotoksitite (%80.47) saptanmıştır. 0,0001 mg/mL konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında %39.84 sitotoksitite gözlenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksitite de anlamlı artış gözlenmiş ve 0,05 mg/mL konsantrasyonda sitotoksitite %91.30 seviyesine kadar çıkmıştır. 4 numaralı bileşik zamana ve konsantrasyona bağlı olarak hem A-549 hem de HeLa hücre canlılığını inhibe etmektedir. 3 numaralı bileşikte olduğu gibi 4 numaralı bileşikte de sitotoksik etkinin HeLa hücreleri için belirgin bir oranda daha fazla olduğu görülmektedir.

4 numaralı test maddesinin IC₅₀ değeri A-549 hücreleri (24 saat) için 25 µg/mL ; HeLa hücreleri (24 saat) için ise 0,30 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Grafik 29a; 5 numaralı bileşiğin A-549 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini, Grafik 29b; HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini göstermektedir. 5 numaralı bileşiğin (0,0001 mg/mL) A-549 hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %24.02 sitotoksitite gözlenmiştir. 24 saatlik inkübasyonda 0,0005-0,001

mg/mL konsantrasyonlarda %73,89-%69.74 sitotoksitite gözlenmiş, en son konsantrasyonda (0,05 mg/mL) %71.98 sitotoksitite belirlenmiştir. 0,0001 mg/mL'lik ilk konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında %55.42 sitotoksitite tespit edilmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksitite de anlamlı bir artış olmuş ve 0,05 mg/mL'lik son konsantrasyonda sitotoksitite %84.35 olarak saptanmıştır. 5 numaralı bileşiğin (0,0001 mg/mL) HeLa hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %26.52 sitotoksitite gözlenmiştir. 24 saatlik inkübasyonda uygulanan 0,05 mg/mL konsantrasyonda sitotoksitite en üst seviyede (%82.95) tespit edilmiştir. 0,0001 mg/mL konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında %38.29 sitotoksitite gözlenmiştir. 48 saatlik inkübasyonda, konsantrasyon artışıyla birlikte bileşik HeLa hücreleri için oldukça yüksek sitotoksitite göstermiş ve en yüksek konsantrasyon değerinde (0,05mg/mL) sitotoksitite değeri %90.66 olarak kaydedilmiştir. 5 numaralı bileşiğin zamana ve konsantrasyona bağlı olarak A-549 ve HeLa hücre canlılığını inhibe ettiği A-549 hücreleri için nispeten daha fazla olduğu söylenebilir.

5 numaralı test maddesinin IC₅₀ değeri A-549 hücreleri (24 saat) için 0,25 µg/mL ; HeLa hücreleri (24 saat) için ise 0,40 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Grafik 32a; 6 numaralı bileşiğin A-549 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini Grafik 32b; HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini göstermektedir. 6 numaralı bileşiğin (0,0001 mg/mL) A-549 hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %12.08 sitotoksitite gözlenmiştir. Uygulanan ikinci konsantrasyonda (0,0005 mg/mL) sitotoksitite %66.42' ye çıkmış ve ara konsantrasyonlarda nispeten yakın sitotoksik değerler gözlenmiştir. 6 numaralı bileşiğin 24 saatlik inkübasyonda uygulanan son konsantrasyonu (0,05 mg/mL) ile %67.90 sitotoksitite saptanmıştır. İnkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında 0,0001 mg/mL konsantrasyonda %21.85 sitotoksitite gözlenmiştir. 24 saatlik inkübasyonda olduğu gibi 48 saatlik inkübasyonda da ara konsantrasyonlarda yakın sitotoksik değerler gözlenmiş ve 0,05 mg/mL'lik son konsantrasyonda %76.075 sitotoksitite tespit edilmiştir. 6 numaralı bileşiğin (0,0001 mg/mL) HeLa hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %15.53 sitotoksitite gözlenmiştir. Bileşiğin 24 saatlik inkübasyonunda ara konsantrasyonların uygulanması ile sitotoksitite değeri artmış ve 0,05 mg/mL konsantrasyonda

%61.66 sitotoksitite belirlenmiştir. İnkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında 0,0001 mg/mL konsantrasyon ile %1.39 stimülasyon, 0,05 mg/mL konsantrasyon ile %85.97 sitotoksitite gözlenmiştir. 6 numaralı bileşiğin zamana ve konsantrasyona bağlı olarak hem A-549 hem de HeLa hücre canlılığını inhibe ettiği ve bileşiğin A-549 hücreleri üzerinde daha yüksek sitotoksik etkiye neden olduğunu söylemek mümkündür..

6 numaralı test maddesinin IC₅₀ değeri A-549 hücreleri (24 saat) için 0,30 µg/mL ; HeLa hücreleri (24 saat) için ise 30 µg/mL olarak bulunmuştur.

Grafik 35a; 7 numaralı bileşiğin A-549 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini, Grafik 35b; HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini göstermektedir. 7 numaralı bileşiğin (0,0001 mg/mL) A-549 hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %30.54 sitotoksitite gözlenmiştir. Ara konsantrasyonlarda sitotoksitite belli sınırlar içerisinde kalmış en son konsantrasyonda ise %69.21 sitotoksitite tespit edilmiştir. İnkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında 0,0001 mg/mL konsantrasyonda %81.62 sitotoksitite gözlenmiştir. 0,0005-0,001-0,005 mg/mL konsantrasyonda önce türevlerden hiç birinde rastlanmayan bir sitotoksitite azalması gözlenmiştir. 0,01 mg/mL'lik konsantrasyon A-549 hücreleri için %7.52 stimülasyon, 0,05 mg/mL'lik konsantrasyon ise %48.21 sitotoksitite gösterilmiştir. 7 numaralı bileşiğin (0,0001 mg/mL) HeLa hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %14.57 sitotoksitite gözlenmiştir. 0,001 mg/mL konsantrasyonda sitotoksitite en üst seviye ulaşmış ve %72.14 olarak kaydedilmiştir. En son konsantrasyonda ise sitotoksitite değeri %68.63 olarak belirlenmiştir. 0,0001mg/mL konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında %14.42 sitotoksitite gözlenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksitite de anlamlı bir artış gözlenmiş 0,001-0,01 mg/mL konsantrasyonlarda sitotoksitite %66.35 olarak tespit edilmiştir. 7 numaralı bileşik farklı zaman ve konsantrasyonlarda her iki hücre canlılığını da inhibe etmektedir.İnhibisyon derecesi HeLa hücreleri için A-549 hücrelerinden oldukça fazladır.

7 numaralı test maddesinin IC₅₀ değeri A-549 hücreleri (24 saat) için 20 µg/mL ; HeLa hücreleri (24 saat) için ise 0,320 µg/mL olarak bulunmuştur.

Grafik 37a; 8 numaralı bileşiğin A-549 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini, Grafik 37b; HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini göstermektedir.

8 numaralı bileşimin (0,0001 mg/mL) A-549 hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %13.56 sitotoksitite gözlenmiştir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak sitotoksitite belirgin şekilde artmış ve 0,05 mg/mL'lik son konsantrasyonda %69.37 seviyesine ulaşmıştır. 0,0001 mg/mL'lik konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında %72.41 sitotoksitite gözlenmiştir. Ara konsantrasyonlarda, 7 numaralı bileşikte olduğu gibi sitotoksitite'de azalma belirlenmiş, son konsantrasyonda ise %72.11 sitotoksitite saptanmıştır. 8 numaralı bileşimin (0,0001 mg/mL) HeLa hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %22.56 stimülasyon gözlenmiştir. 0,0005 mg/mL konsantrasyonda %65.18 sitotoksitite, 0,005 mg/mL konsantrasyonda ise %71.25 sitotoksitite tespit edilmiştir. 0,0001 mg/mL konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında %21.61 stimülasyon gözlenmiştir. Konsantrasyonun artmasıyla belirgin bir sitotoksitite artışı olmuş, son konsantrasyonda (0,005mg/mL) %88.01 sitotoksitite belirlenmiştir. 8 numaralı bileşik A-549 hücreleri için sitotoksiktir. 0.0001 mg/mL konsantrasyonda HeLa hücre canlılığını stimüle etmesinden dolayı tümörijenik özelliğe sahip olduğu söylenebilir ve konsantrasyonun artmasıyla HeLa hücre canlılığını inhibe etmektedir. Bileşimin A-549 ve HeLa hücreleri üzerinde gösterdiği inhibisyon etkinlikleri birbirine yakındır.

8 numaralı test maddesinin IC₅₀ değeri A-549 hücreleri (24 saat) için 0,30 µg/mL ; HeLa hücreleri (24 saat) için ise 30 µg/mL olarak bulunmuştur.

Grafik 39a; 9 numaralı bileşimin A-549 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini, Grafik 39b; HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini göstermektedir. 9 numaralı bileşimin (0,0001 mg/mL) A-549 hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %58.76 stimülasyon gözlenmiştir. Uygulanan ara konsantrasyonlarda stimülasyon devam etmiş ancak en son konsantrasyonda (0,005 mg/mL) %54.89 sitotoksitite belirlenmiştir. 0,0001 mg/mL konsantrasyon da inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığı zaman %39.66 stimülasyon gözlenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda stimüle edici etkide anlamlı bir azalma gözlenmiş ve 0,005 mg/mL konsantrasyondan sonra %76.54 sitotoksiksitite gözlenmiştir. 9 numaralı bileşimin (0,0001 mg/mL) HeLa hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %8.37 stimülasyon gözlenmiştir. Konsantrasyon 0,0005 mg/mL'ye çıkartıldığında %17.44 sitotoksitite tespit edilmiştir. En son konsantrasyonda (0,005 mg/mL)

sitotoksitite değeri %64.41 olmuştur. İnkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında 0,0001 mg/mL konsantrasyonda %20.59 sitotoksitite gözlenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksitite de anlamlı bir artış gözlenmiş ve en son konsantrasyonda (0,005 mg/mL) %77.46 sitotoksitite belirlenmiştir. 9 numaralı bileşik konsantrasyona bağlı olarak A-549 hücre canlılığını önce stimüle sonra inhibe etmektedir. HeLa hücre canlılığını ise inhibe etmektedir. Bileşiğin hücreler üzerindeki inhibisyon etkinlikleri birbirine yakın olmasına rağmen HeLa hücreleri için nispeten daha fazladır.

9 numaralı test maddesinin IC_{50} değeri A-549 hücreleri (24 saat) için 45 μ g/mL ; HeLa hücreleri (24 saat) için ise 20 μ g/mL olarak bulunmuştur.

Grafik 41a; 10 numaralı bileşiğin A-549 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini Grafik 41b; HeLa hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini göstermektedir. 10 numaralı bileşiğin (0,0001 mg/mL) A-549 hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu hücre canlılığını %41.42 oranında stimüle ettiği gözlenmiştir. 0,0005-0,001-0,01 mg/mL konsantrasyonlarda hücre stimölasyonu devam etmiş, 0,005 mg/mL konsantrasyonda %21.40, 0,01 mg/mL konsantrasyonda ise %68.12 sitotoksitite belirlenmiştir. 0,0001 mg/mL konsantrasyonda inkübasyon süresi 48 saate çıkarıldığında %73.31 stimölasyon gözlenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda stimüle edici etkide anlamlı bir azalma saptanmış ve uygulanan en son konsantrasyonda (0,05 mg/mL) %69.08 sitotoksikite gözlenmeye başlamıştır. 10 numaralı bileşiğin (0,0001 mg/mL) HeLa hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu %9.52 sitotoksitite gözlenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksitite de artış belirlenmiş ve en son konsantrasyonda (0,005mg/mL) %68.12 sitotoksitite tespit edilmiştir. 48 saatlik inkübasyon süresinde 0,0001 mg/mL konsantrasyonda %11.32 sitotoksitite gözlenmiştir.24 saatlik inkübasyon süresinde olduğu gibi daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksitite de artış belirlenmiş ve en son konsantrasyonda (0,005mg/mL) %77.55 sitotoksitite saptanmıştır. 10 numaralı bileşik konsantrasyona bağlı olarak A-549 hücre canlılığını önce stimüle etmiş, sonra inhibe etmiştir. Bileşik konsantrasyon artışıyla birlikte HeLa hücre canlılığını inhibe etmektedir. Bileşiğin hücreler üzerindeki inhibisyon etkinlikleri birbirine yakındır ve HeLa hücreleri için nispeten daha fazladır.

10 numaralı test maddesinin IC₅₀ değeri A-549 hücreleri (24 saat) için 40 µg/mL ; HeLa hücreleri (24 saat) için ise 9 µg/mL olarak bulunmuştur.

MTT testi, bileşiklerin hücreler üzerindeki toksik etkilerinin zaman ve konsantrasyona bağlı olarak belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir. Bu test sonucunda %10-20 oranında sitotoksitite gösteren bileşiklerin toksiteleri ihmal edilebilir, çünkü deneyler esnasında uygulanan işlemler, hücrelerde az da olsa ölüme neden olmaktadır. MTT testi verileri ışığında sentezlenen benzilidenanilin türevlerinden 9 ve 10 numaralı bileşikler hem A-549 hem de HeLa hücreleri üzerinde diğer türevlere kıyasla en az toksitite gösteren bileşiklerdir. Ancak bu bileşikler A-549 hücreleri için hücre canlılığı stimüle ettiğinden tümorojenik olarak değerlendirilebilirler.

9 ve 10 numaralı bileşikler dışında kalan diğer bileşiklerin tamamı hücreler üzerinde konsantrasyon ve zamana bağımlı olarak değişen yüzdelerde sitotoksitite göstermiştir.

Medisinal kimya açısından düşünüldüğünde; bileşiklerin sitotoksik etkilerinin benzilidenanilin yapısında bulunan fenil halkalarından kaynaklandığı düşünülebilir. Benzenin oldukça toksik bir madde olduğu ve bir yapıya bağlanan fenil halkasının toksititeyi arttırdığı bilinmektedir. MTT testi sonuçlarına bakıldığında bileşiklerin büyük çoğunluğunun, hem A-549 hem de HeLa hücreleri üzerinde sitotoksik etki göstermeleri, yapı içerisinde bulunan fenil halkalarından kaynaklandığı söylenebilir.

6.5. Antiproliferatif etki testi sonuçlarının değerlendirilmesi

Sentezi gerçekleştirilen benzilidenanilin türevi bileşiklerin antiproliferatif etkinlikleri, BrdU kiti kullanılarak ölçüldü.. Hücreler (HeLa ve A549), 37°C de 24, 48 veya 72 saat inkübe edildikten sonra 0.25% tripsin/EDTA ile ortamdan toplandılar ve her bir kuyuya 6 × 10² hücre gelecek şekilde ekim yapıldı. Çözücü solüsyonu içinde çözündürülen test maddeleri, farklı konsantrasyon aralığında her bir kuyuya eklendiler. Her konsantrasyon aralığı için 3 kuyuya ekim yapıldı ve ölçüm sonrası bunların ortalamaları dikkatte alındı.

Bileşiklere ait antiproliferatif etkinin değerlendirilmesi için elde edilen grafiklerde, kontrol grupları, madde ilavesi yapılmaksızın, hücrelerin yalın şekilde inkübasyona bırakılması halinde (24, 48 ve 72 saat) ölçülen absorbans değerlerini göstermektedir. Grafiklerde görülen background grupları hücrelerin anti-BrdU-POD antikoru ile etkileşmeleri (24, 48 ve 72 saat) sonucunda elde edilen absorbans değerlerini göstermektedir. Hücre ile anti-BrdU-POD antikoru etkileşimi sonucu DNA sentezi inhibisyonunun son derece yüksek olduğu bütün grafiklerde belirgin bir şekilde görülmektedir. Cisplatin ve etoposid grupları (pozitif testler) bu maddelerin, hücreler ile etkileşmesi sonucu gözlemlenen DNA sentezi inhibisyonunu belirtmektedir. Cisplatin'in A-549 hücreleri ile etkileşimi sonucu elde edilen absorbans değerleri incelendiğinde, DNA sentezi inhibisyonunda bir artma olmadığı gözlenmiştir. Bu deneysel bulgu, literatür verilerini doğrulamaktadır^[153]. Etoposid'in hem A-549 hem de HeLa hücreleri üzerinde antiproliferatif etkisinin olduğu, grafiklerde elde edilen absorbans değerlerinden net bir şekilde anlaşılmaktadır. Grafiklerde farklı konsantrasyonlardaki test maddelerinin, HeLa ve A-549 hücreleri ile değişen zaman aralıklarında inkübasyonu (24, 48 ve 72 saat) sonucu elde edilen üçer grup mevcuttur.

Grafik 19a; 1 numaralı bileşiğin, A-549 hücreleri üzerindeki, Grafik 19b; HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisini göstermektedir. Kontrol grupları ile, bileşiğe ait veriler kıyaslandığında, 1 numaralı bileşiğin A-549 hücreleri ile farklı konsantrasyonlarda (0,2-0,1-0,05 µg/mL) 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonu sonucu, DNA sentezi inhibisyonunu nispeten arttırdığı, yani düşük oranda antiproliferatif etki ortaya koyduğu gözlenmiştir. Bileşik en etkili DNA inhibisyonunu, 48 saatlik inkübasyonda (0,05 µg/mL), %50.38 oranında ortaya koymuştur. Bileşiğin HeLa hücreleri ile IC₅₀ (0,37 µg/mL) konsantrasyonunda 24 ve 72 saatlik inkübasyon sonucunda, DNA sentezini nispeten inhibe ettiği, 48 saatlik inkübasyon sonucunda ise, DNA sentezini arttırdığı belirlenmiştir. Bileşik 0,1 µg/mL konsantrasyonda 24 ve 48 saatlik inkübasyon sonucu, DNA sentezini artırmıştır. Konsantrasyon 0,05 µg/mL'ye düşürüldüğünde, 24 saatlik inkübasyon ile DNA sentezini düşük oranda inhibe etmiş, 48 ve 72 saatlik inkübasyon ile DNA sentezini değiştirmemiştir.

Grafik 22a; 2 numaralı bileşimin, A-549 hücreleri üzerindeki, Grafik 22b; HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisini göstermektedir. Kontrol grupları ile, bileşiğe ait verilerin kıyaslanması sonucu, 2 numaralı bileşimin A-549 hücreleri ile 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonu sonucu, DNA sentezini IC₅₀ (0,1 µg/mL) konsantrasyonunda tamamen durdurduğu belirlenmiştir. Konsantrasyon 0,05 µg/mL ye düştüğünde, antiproliferatif etkinliğin azaldığı, 0,01 µg/mL konsantrasyonda ise, %95.40 oranında DNA sentezi inhibe ettiği gözlenmiştir. 2 numaralı bileşimin HeLa hücreleri ile 0,46 µg/mL konsantrasyonda, 24 ve 72 saatlik inkübasyonu sonucunda, DNA sentezinde nispeten bir inhibisyon gözlenmiş, 48 saatlik inkübasyon ile, DNA sentezini artırıcı bir etki tespit edilmiştir. 0,1 µg/mL konsantrasyonda, 24 ve 48 saatlik inkübasyon ile, DNA sentezinin arttığı, 72 saatlik inkübasyon sonucu ise düşük oranda antiproliferatif etkinin ortaya çıktığı saptanmıştır. Bileşik 0,05 µg/mL konsantrasyonda DNA sentezini arttırmaktadır.

Grafik 25a; 3 numaralı bileşimin, A-549 hücreleri üzerindeki, Grafik 25b; HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisini göstermektedir. Kontrol grupları ile, bileşiğe ait verilerin kıyaslanması sonucu, 3 numaralı bileşimin A-549 hücreleri ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu, DNA sentezini IC₅₀ (25 µg/mL) konsantrasyonunda çok yüksek oranda inhibe ettiği, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonucunda ise, DNA sentezini tamamen sona erdirdiği saptanmıştır. Konsantrasyon 5 µg/mL'ye düştüğünde, DNA sentez inhibisyonunun azaldığı saptanmıştır. En etkili konsantrasyonun 24 saatlik inkübasyon sonucu, 0,1 µg/mL olduğu tespit edilmiştir. Bu konsantrasyonun, DNA sentezini %80.88 oranında inhibe ettiği saptanmıştır. 3 numaralı bileşimin HeLa hücreleri farklı konsantrasyon ve inkübasyon sürelerinde, DNA sentezini düşük oranda inhibe ettiği saptanmıştır. Bileşimin IC₅₀ (0,28 µg/mL) konsantrasyonunda, 72 saatlik inkübasyon sonucu, DNA sentezini %52.53 oranında inhibe ettiği gözlemlenmiştir. 0,1 µg/mL konsantrasyonda, 48 saatlik inkübasyon sonucu ise, DNA sentezinin arttığı belirlenmiştir.

Grafik 28a 4 numaralı bileşimin, A-549 hücreleri üzerindeki, Grafik 28b; HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisini göstermektedir. 4 numaralı bileşik ile A-549 hücrelerinin üç farklı zaman dilimi için inkübasyonu (IC₅₀ 25

$\mu\text{g/mL}$) sonucu, DNA sentezinin tamamen sona erdiği söylenebilir. Konsantrasyon $10 \mu\text{g/mL}$ düşürüldüğünde, 24 ve 48 saatlik sürelerde bileşiğin, DNA sentezini önemli derecede inhibibe ettiği gözlenmiştir. Aynı konsantrasyon ile 72 saatlik inkübasyonda ise, DNA sentezi üzerindeki etkinin azaldığı görülmektedir. Bileşiğin $0,1 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda, hücreler ile 24 saatlik inkübasyon sonucu, DNA sentezini %78.94 oranında inhibe ettiği, 48 ve 72 saatlik inkübasyonlarda ise, antiproliferatif etkide bir azalma olduğu belirlenmiştir. 4 numaralı bileşiğin HeLa hücreleri ile farklı konsantrasyonlarda 24 ve 72 saatlik inkübasyonu sonucu, antiproliferatif etki gözlenmiştir. $0,05 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda, 72 saatlik inkübasyon sonucu %59.40'lık bir DNA sentezi inhibisyonu saptanmıştır. Bileşiğin, HeLa hücreleri ile farklı konsantrasyonlarda 48 saatlik inkübasyonları sonucu, DNA sentezini arttırdığı belirlenmiştir.

Grafik 31a 5 numaralı bileşiğin, A-549 hücreleri üzerindeki, Grafik 31b; HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisini göstermektedir. Kontrol grupları ile bileşiğin farklı konsantrasyon ve zaman aralıkları karşılaştırıldığında, farklı oranlarda DNA sentez inhibisyonun meydana geldiği tespit edilmiştir. A549 hücreleri için en fazla inhibe edici etki, $0,05 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyon ile %91.68 oranında elde edilmiştir. 5 numaralı bileşiğin, HeLa hücreleri ile değişen konsantrasyon ve zaman dilimlerinde inkübasyonları incelendiğinde, farklı oranlarda antiproliferatif etki ortaya koyduğu saptanmıştır. En yüksek antiproliferatif etki (%77.47), $0,1 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda, 24 saatlik inkübasyon ile elde edilmiştir.

Grafik 34a 6 numaralı bileşiğin, A-549 hücreleri üzerindeki, Grafik 34b; HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisini göstermektedir. Farklı konsantrasyon ve zaman aralıklarında, bileşiğin A-549 hücrelerinin çoğalmasını çok düşük oranda engellendiği gözlenmiştir. 6 numaralı bileşik için en ilgi çekici bulgu bileşiğin $0,2 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda, 48 saatlik inkübasyon ile ve bunun yanında $0,1 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda, 24 ve 48 saatlik inkübasyonlar ile DNA sentezini arttırmasıdır. 6 numaralı bileşiğin, HeLa hücreleri ile IC_{50} ($30 \mu\text{g/mL}$) konsantrasyonunda farklı inkübasyon süreleri sonucu, belirgin bir antiproliferatif etki saptanmıştır. En yüksek etki 24 saatlik inkübasyon sonucu, %92.85 DNA

sentezi inhibisyonu olarak elde edilmiştir. Diğer konsantrasyonlarda bileşiğin DNA sentezini çok düşük oranlarda inhibe ettiği gözlenmiştir.

Grafik 36a; 7 numaralı bileşiğin, A-549 hücreleri üzerindeki, Grafik 36b; HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisini göstermektedir. Bileşik 20 µg/mL konsantrasyonda hücrelerin büyük kısmının DNA sentezini inhibe etmiştir. Ancak 10 µg/mL ve 0,1 10 µg/mL konsantrasyonlarda, bileşiğin önemli bir şekilde hücre çoğalmasını engelleyici etki ortaya koymadığı saptanmıştır. 7 numaralı bileşiğin, HeLa hücreleri ile bütün inkübasyon süreleri için konsantrasyon değerleri göz önüne alındığında, DNA sentez inhibasyonuna önemli bir katkısının olmadığı belirlenmiştir.

Grafik 38a; 8 numaralı bileşiğin, A-549 hücreleri üzerindeki, Grafik 38b; HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisini göstermektedir. Bileşik A-549 hücreleri ile farklı inkübasyon süreleri ve konsantrasyonlarında, DNA sentezinde düşük oranda bir inhibisyon yaratmıştır. En fazla antiproliferatif etkinin (%64.44) 0,1 µg/mL konsantrasyonda, 72 saatlik inkübasyonla ortaya çıkması DNA inhibisyonunun zamana bağımlı olduğunu göstermektedir. 7 numaralı bileşikte gözlemlendiği gibi 8 numaralı bileşiğinde, HeLa hücreleri ile bütün inkübasyon süreleri için konsantrasyon değerleri göz önüne alındığında, DNA sentez inhibasyonuna önemli bir katkısının olmadığı tespit edilmiştir.

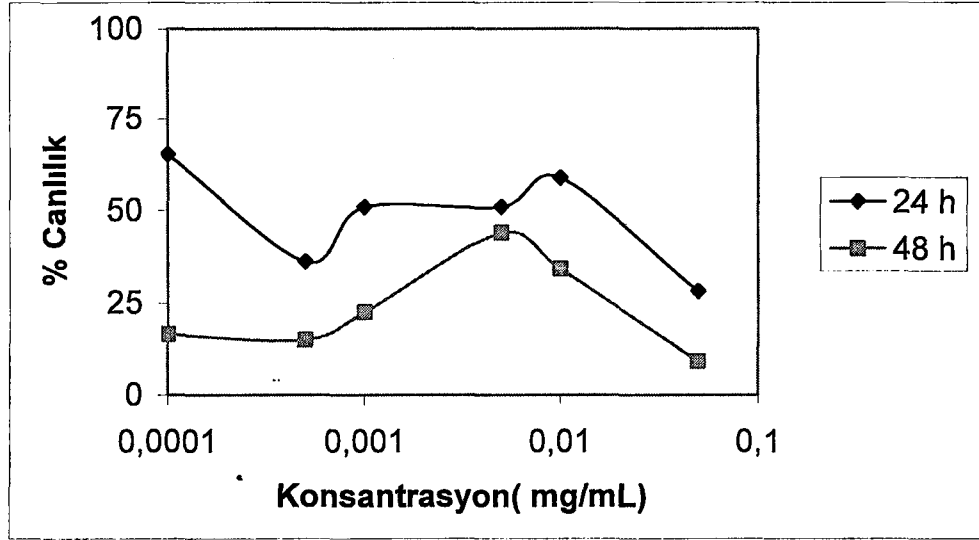
Grafik 40a; 9 numaralı bileşiğin, A-549 hücreleri üzerindeki, Grafik 40b; HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisini göstermektedir. IC₅₀ (45 µg/mL) konsantrasyonunda, bileşik A-549 hücreleri üzerinde anlamlı şekilde DNA sentezini durdurmuş, zamana bağımlı olarak 72 saatlik inkübasyonunda, hücrelerin DNA sentezini inhibe etmiştir. Uygulanan 10 µg/mL' lik konsantrasyonda bileşiğin etkinliği oldukça düşüktür. Konsantrasyon 0,1 µg/mL'e düşürüldüğünde, 48 saatlik inkübasyon sonucu, %84.27'luk bir DNA sentezi inhibisyonu gözlenmiştir. 9 numaralı bileşiğin, HeLa hücreleri ile değişen konsantrasyonlarda ve zaman aralıklarında inkübasyonu sonucu, farklı düzeylerde DNA sentezi inhibisyonu göstermesine karşın, en fazla antiproliferatif etki IC₅₀ (20 µg/mL) konsantrasyonunda %72 oranında elde edilmiştir.

Grafik 40a; 10 numaralı bileşiğin, A-549 hücreleri üzerindeki, Grafik 40b; HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisini göstermektedir. Bileşiğin A-549

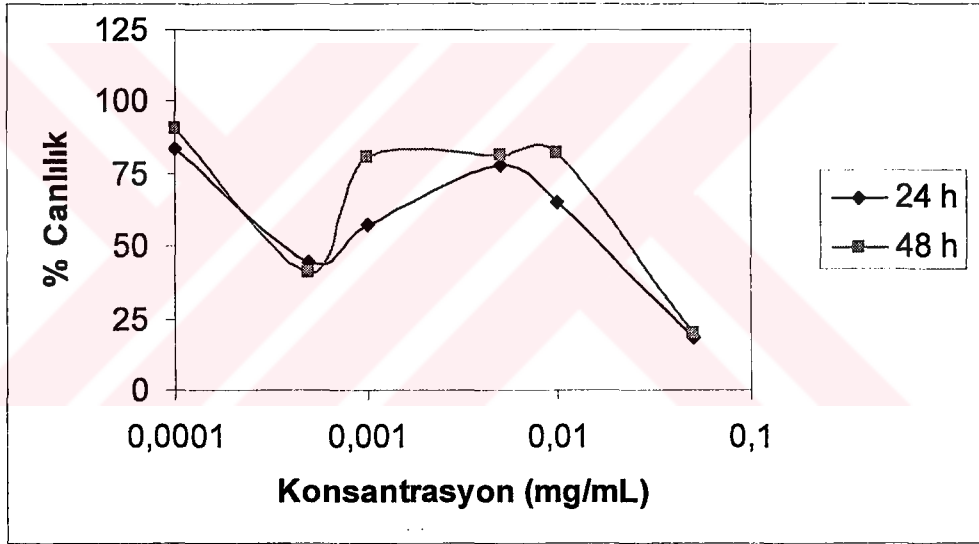
hücreleri ile farklı sürelerde inkübasyonu sonucu, IC₅₀ (40 µg/mL) konsantrasyonunda, DNA sentezi inhibisyonu belirgin şekilde artmıştır. En yüksek DNA inhibisyonu 0,5 µg/mL konsantrasyonda, 72 saatlik inkübasyon sonucu, % 92.44 oranında gözlenmiştir. Konsantrasyonun azalması ile IC₅₀ değerine kıyasla DNA sentez inhibisyonu azalmıştır. 10 numaralı bileşiğin, farklı konsantrasyonlarda, HeLa hücreleri ile 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonları sonucu, DNA sentezini inhibe ettiği saptanmıştır. Zamana bağlı olarak en etkili (%67.03) DNA sentez. inhibisyonu, 72 saatlik inkübasyon sonucu, IC₅₀ (40 µg/mL) konsantrasyonu ile elde edilmiştir.

Yapılan biyokimyasal çalışmalar sonucunda, sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin, HeLa hücreleri ile kıyaslandığında, A-549 hücreleri üzerinde daha fazla antiproliferatif etkilerinin olduğu saptanmıştır. A-549 hücreleri için Benzilidenanilin türevi bileşiklerden 6 numaralı türev, bazı konsantrasyonlarda beklenen etkinin tam tersini göstererek DNA sentezini artırmıştır. Diğer türevlerin farklı konsantrasyon ve inkübasyon süreleri için, değişen oranlarda antiproliferatif etki göstermelerinin yanında 2 ve 3 numaralı bileşikler, A-549 hücreleri üzerinde önemli derecede DNA sentezi inhibisyonu göstermişlerdir.

Sentezlenen bileşiklerin HeLa hücreleri üzerinde çok belirgin bir antiproliferatif etki göstermemişlerdir. Benzilidenanilin türevlerini HeLa hücrelerinin DNA sentezini değişen konsantrasyon ve inkübasyon sürelerinde inhibe etmelerine rağmen, bu bileşikler için en dikkat çekici veri 48 saatlik inkübasyon süreleri sonucunda bileşiklerin DNA sentezini artırmaları yönündedir.

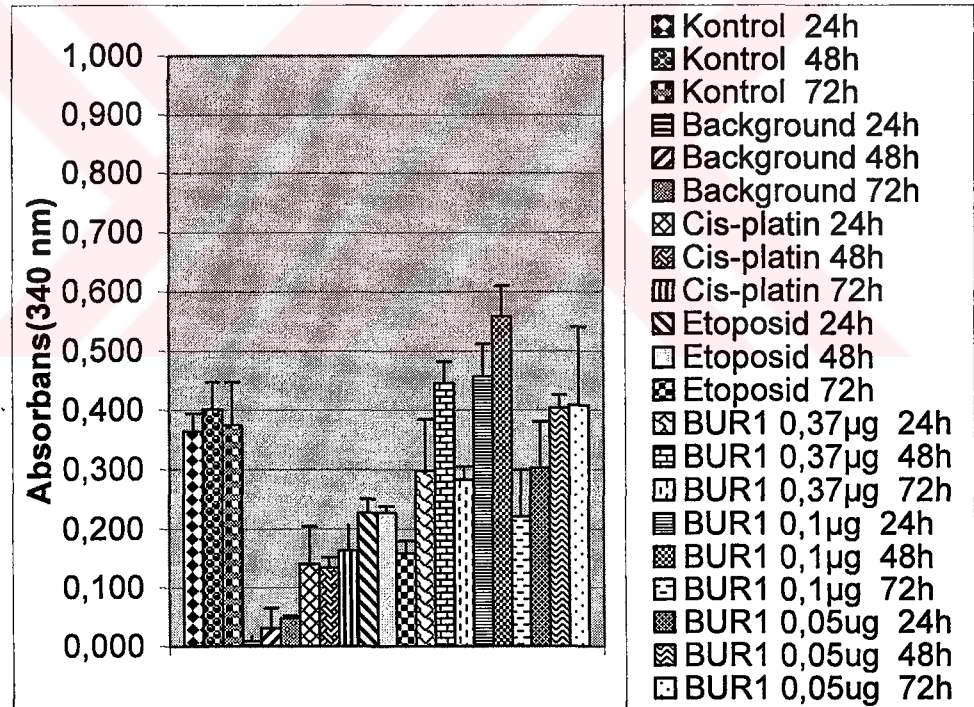
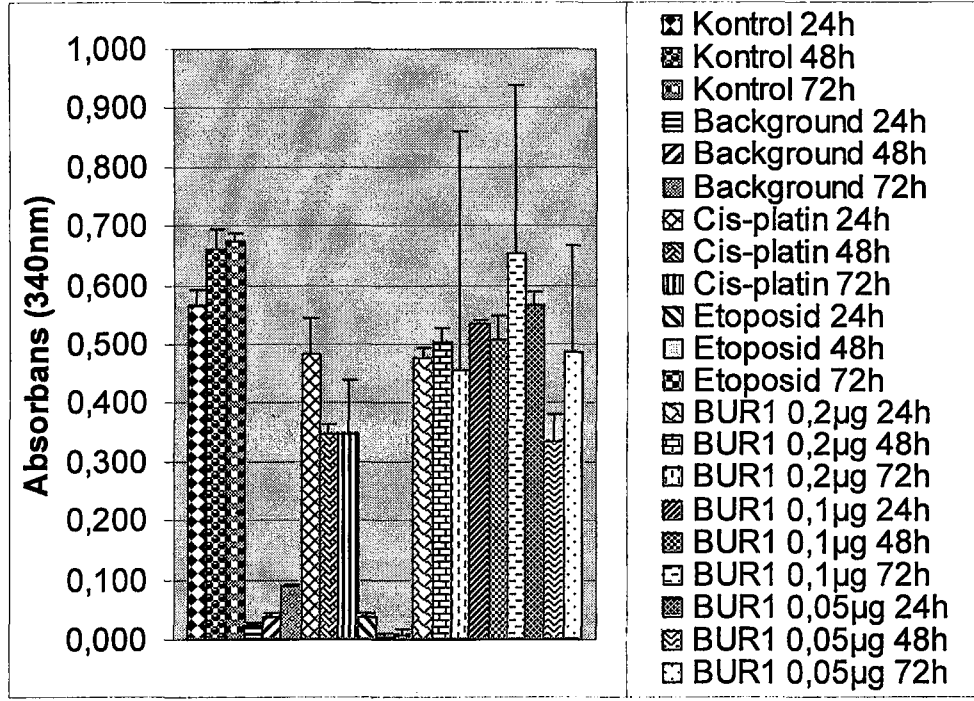


a

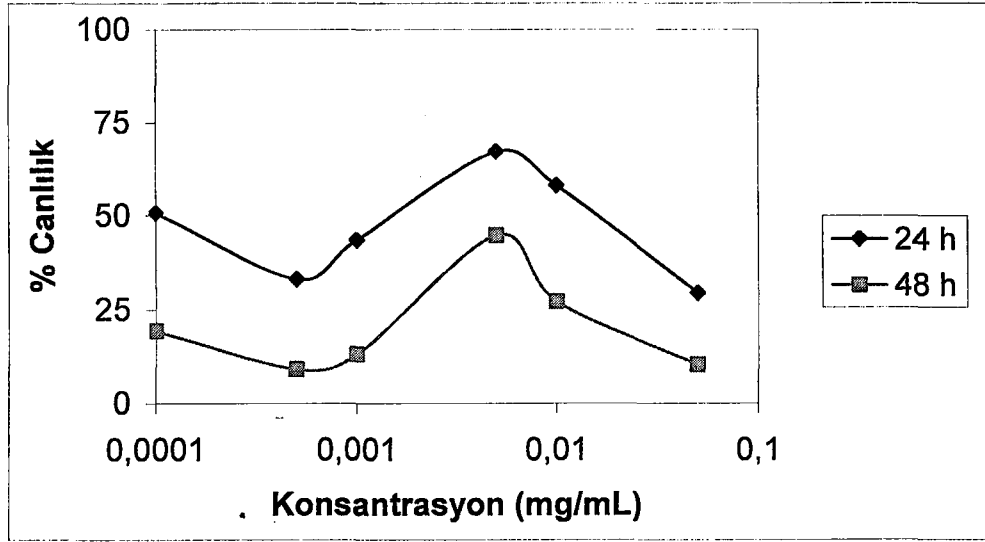


b

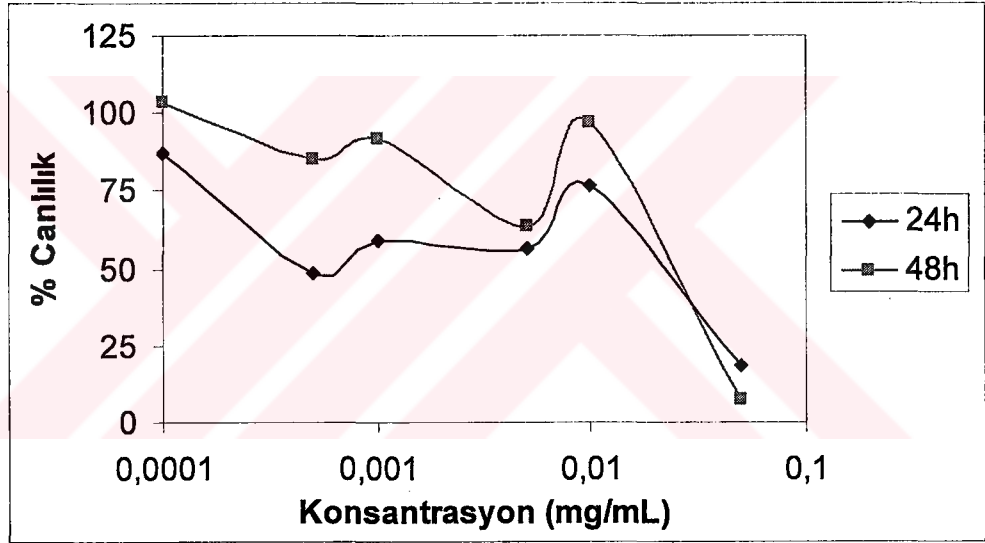
Grafik 18: 1 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra 0,0001-0,0005-0,001-0,005-0,01-0,05 mg/mL konsantrasyonlarında benzilidenanilin ile 24 ve 48 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 4 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir. Kontrol grubunun hücre çoğalma yüzdesi % 100 kabul edilmiştir. Ortalama değerler \pm St. Hata (n=4)



Grafik 19: 1 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) DNA sentezi üzerine etkisinin belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra farklı konsantrasyonlarında benzilidenanilin ile 24, 48, 72 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 3 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir.

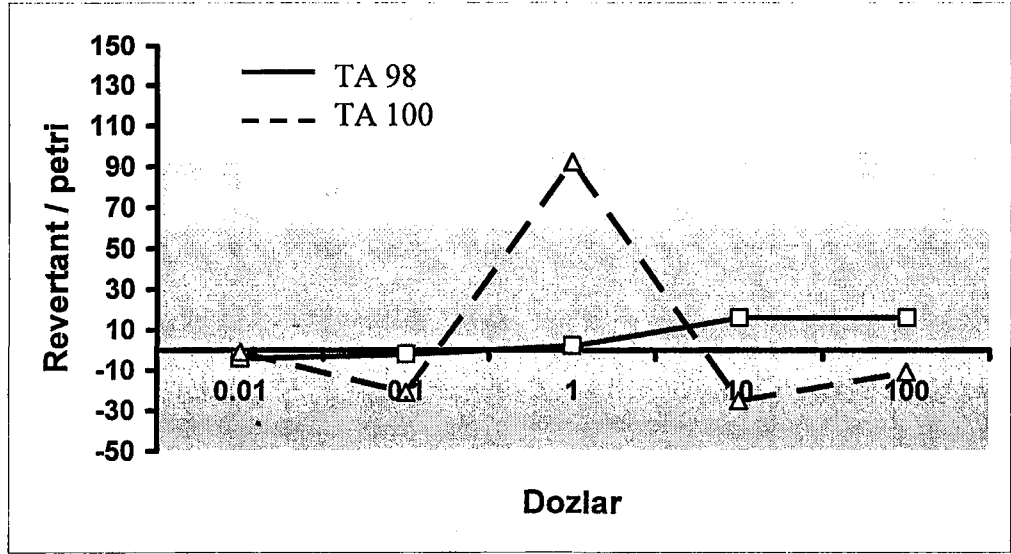


a

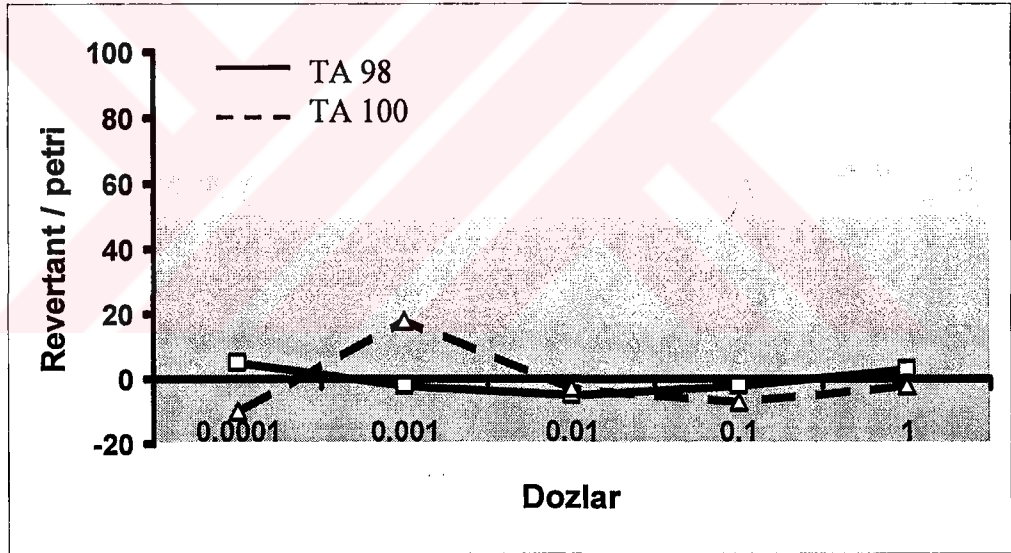


b

Grafik 20: 2 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra 0,0001-0,0005-0,001-0,005-0,01-0,05 mg/mL konsantrasyonlarında 2-hidroksibenzilidenanilin ile 24 ve 48 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 4 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir. Kontrol grubunun hücre çoğalma yüzdesi % 100 kabul edilmiştir. Ortalama değerler \pm St. Hata (n=4)

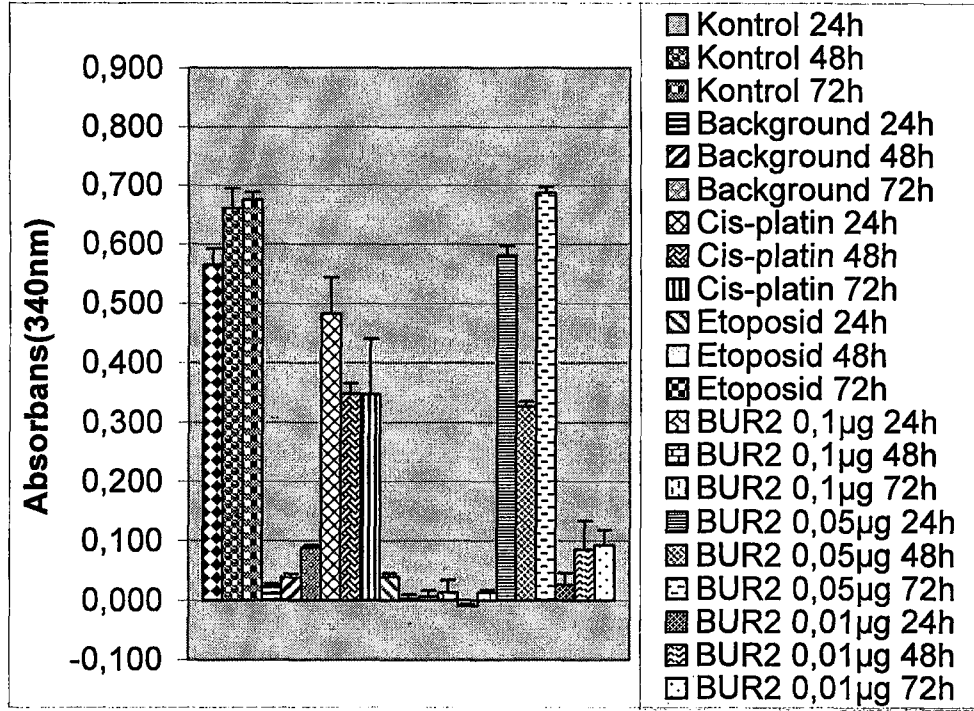


a

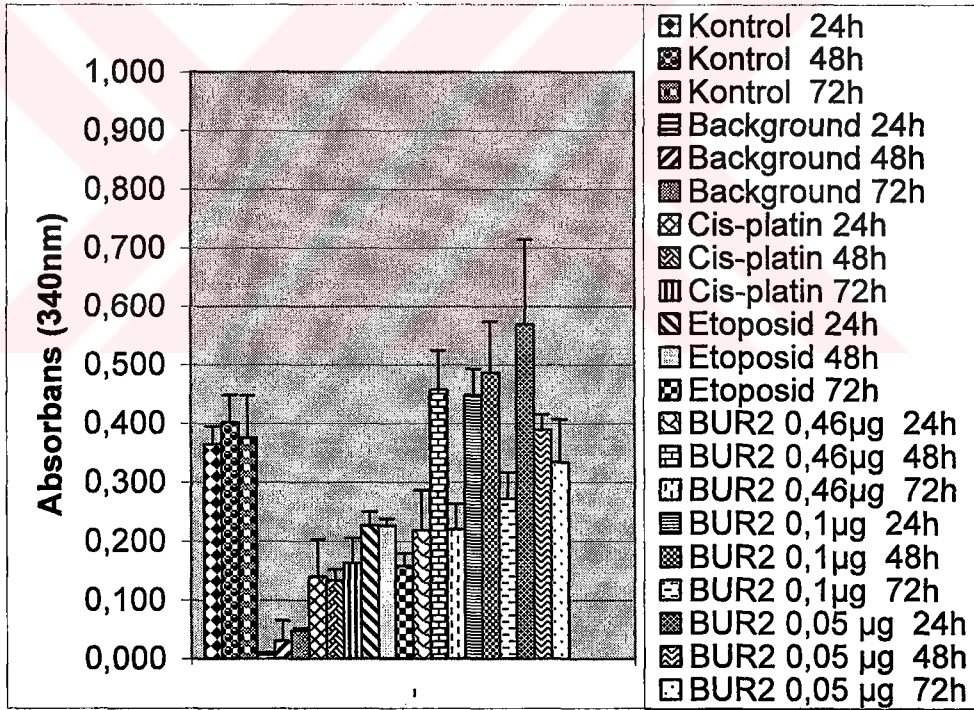


b

Grafik 21: 2 numaralı bileşimin (a) metabolik aktivasyonsuz, (b) metabolik aktivasyonlu ortamda TA 98 ve TA 100 şuşları için mutajenik etki grafiği.

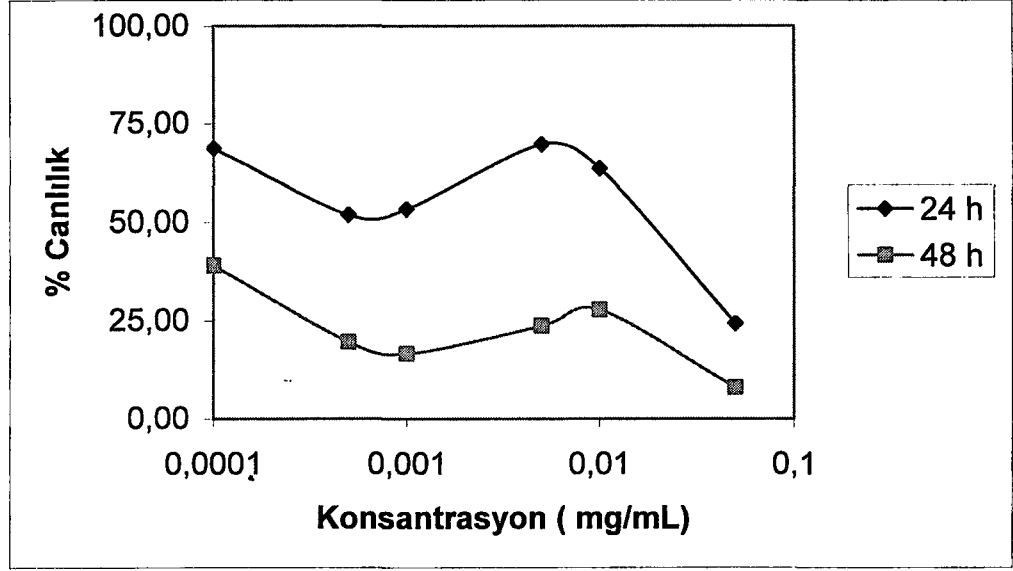


a

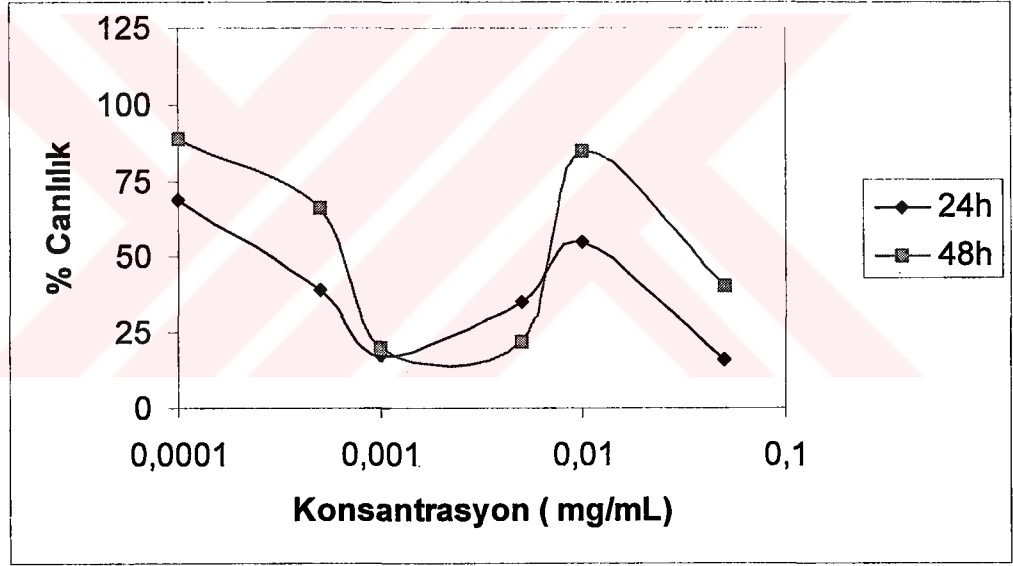


b

Grafik 22: 2 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) DNA sentezi üzerine etkisinin belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra farklı konsantrasyonlarında 4-hidroksibenzilidenanilin ile 24, 48, 72 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 3 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir.

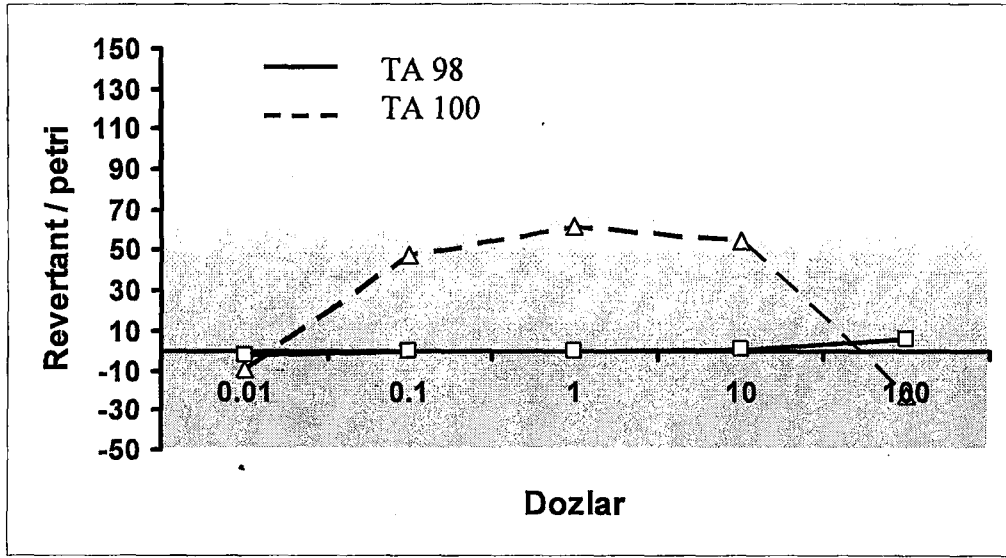


a

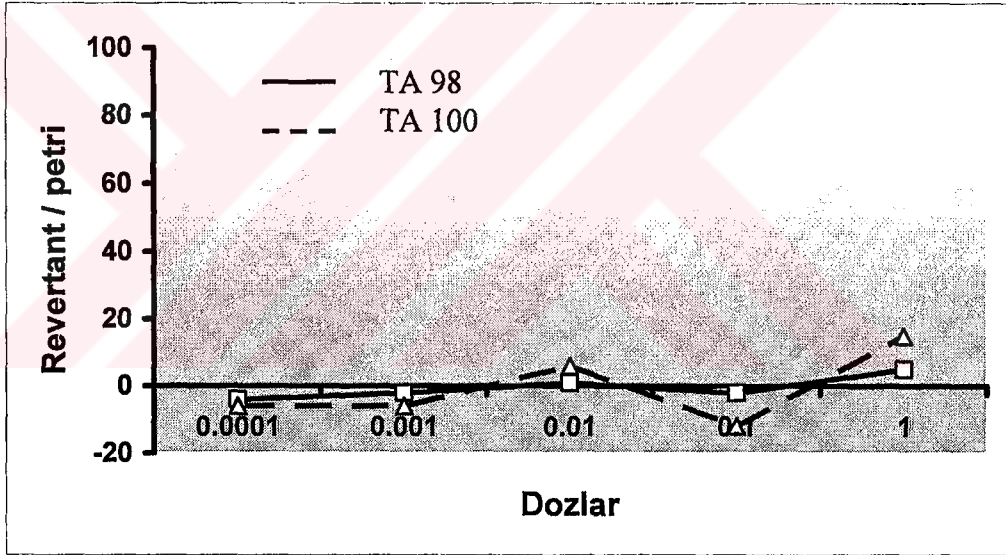


b

Grafik 23: 3 Numaralı Bileşğin A-549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra 0,0001-0,0005-0,001-0,005-0,01-0,05 mg/mL konsantrasyonlarında 3-klorobenzilidenanilin ile 24 ve 48 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 4 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir. Kontrol grubunun hücre çoğalma yüzdesi % 100 kabul edilmiştir. Ortalama değerler \pm St. Hata (n=4)

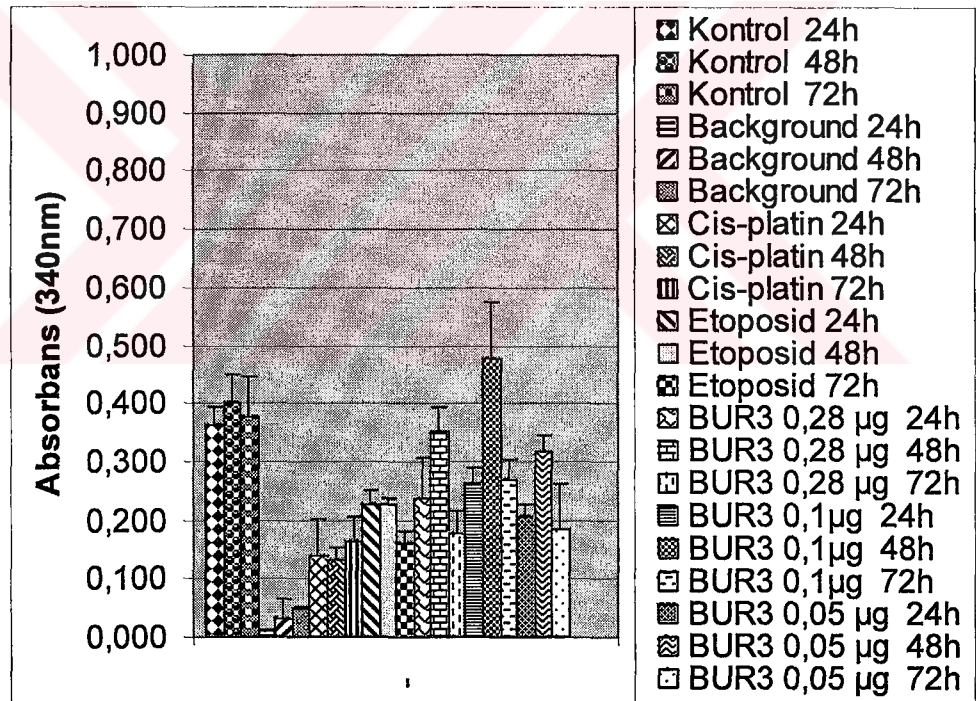
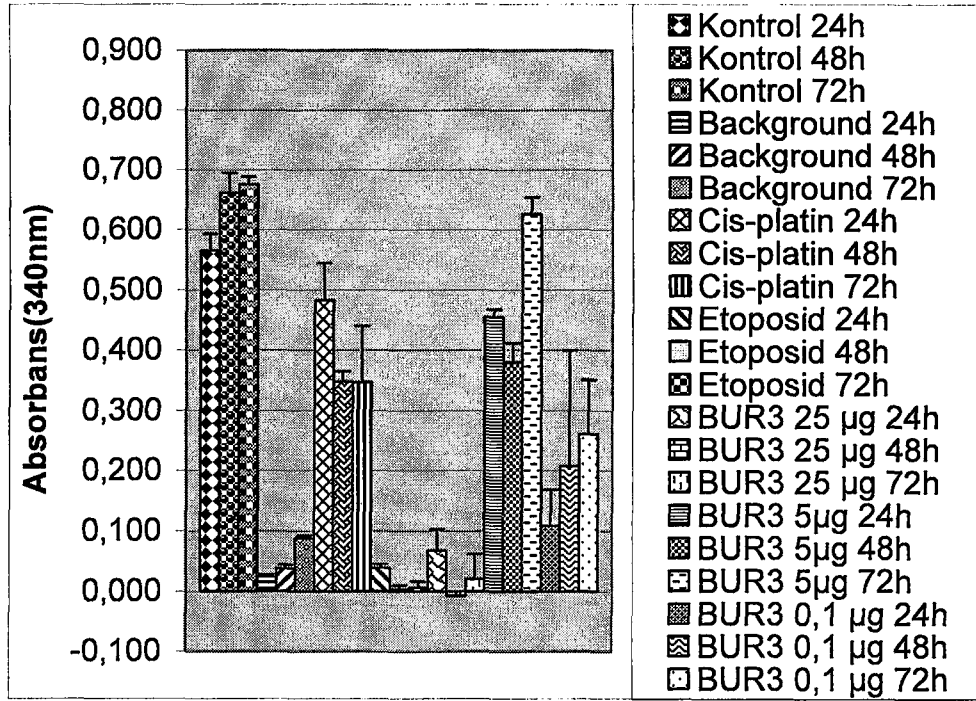


a

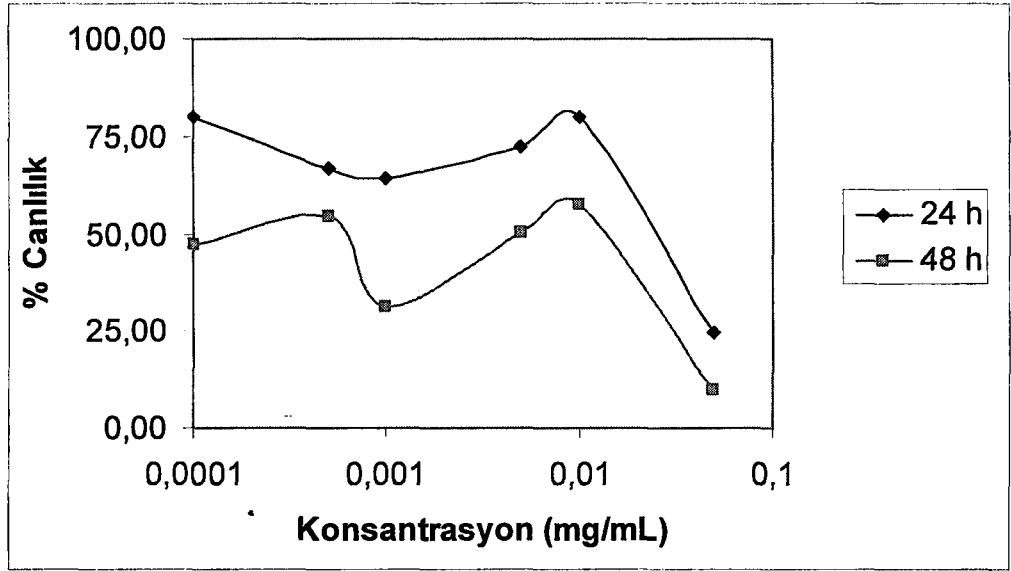


b

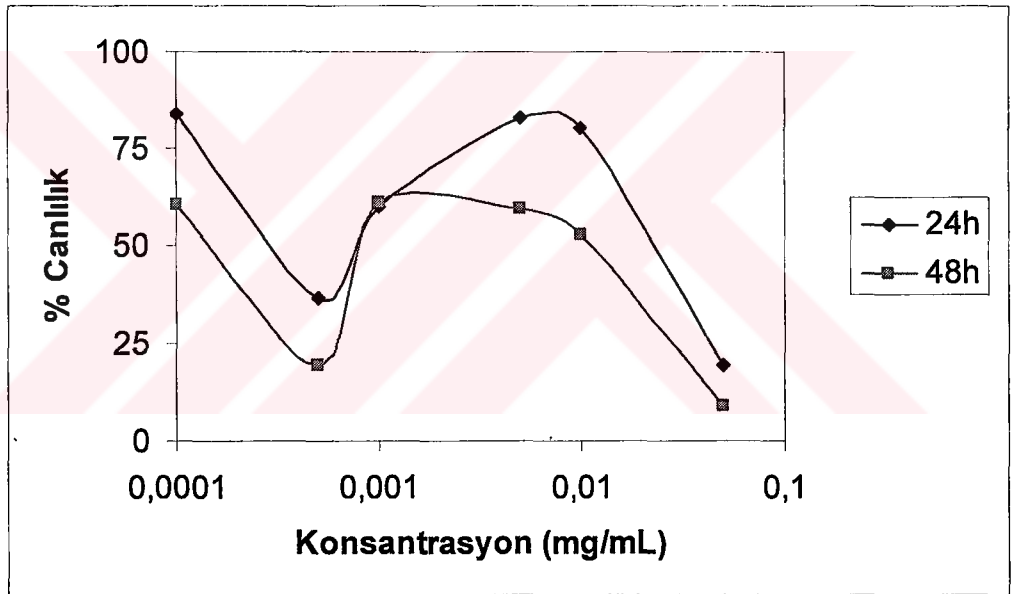
Grafik 24: 3 numaralı bileşimin (a) metabolik aktivasyonsuz, (b) metabolik aktivasyonlu ortamda TA 98 ve TA 100 şuşları için mutajenik etki grafiği.



Grafik 25: 3 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) DNA sentezi üzerine etkisinin belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra farklı konsantrasyonlarında 4-klorobenzilidenanilin ile 24, 48, 72 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 3 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir.

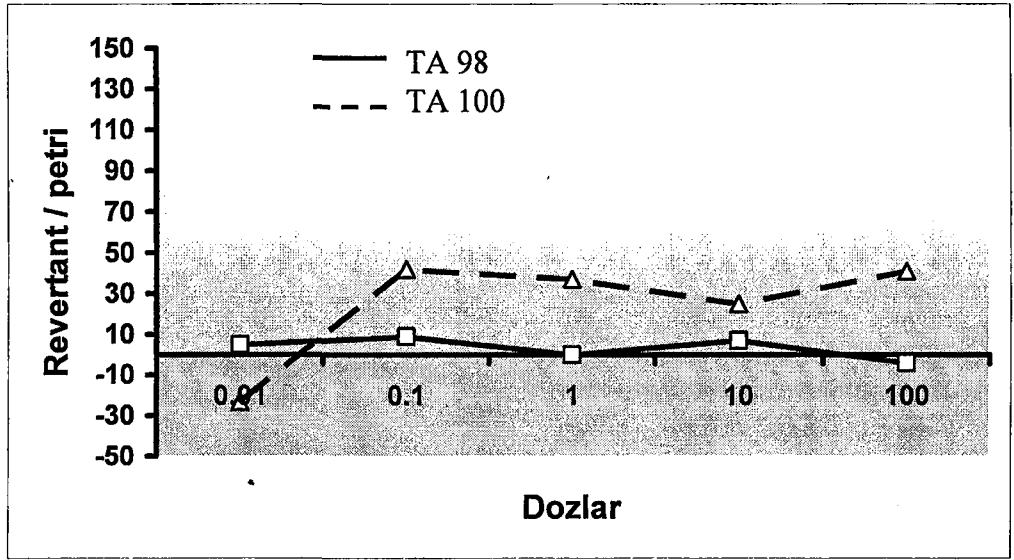


a

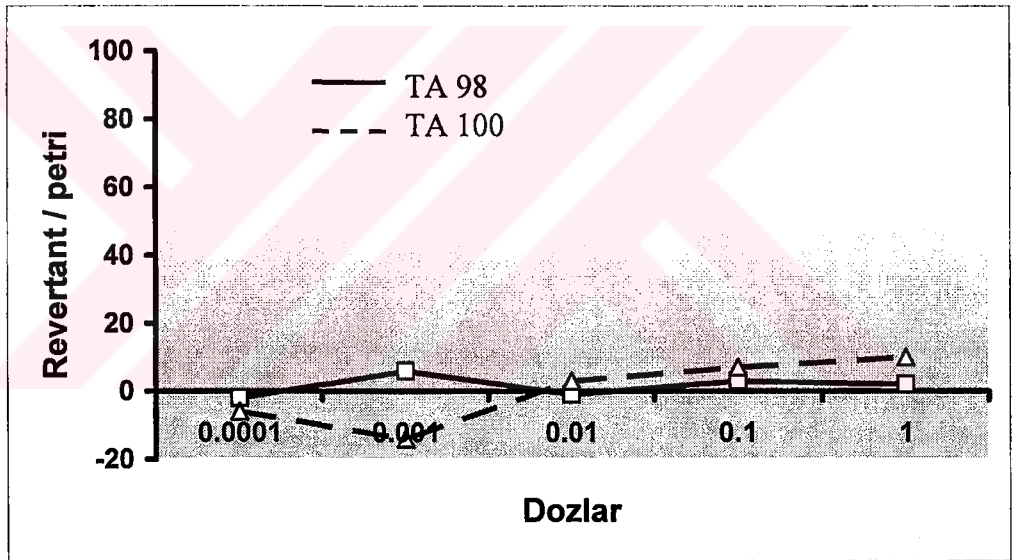


b

Grafik 26: 4 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra 0,0001-0,0005-0,001-0,005-0,01-0,05 mg/mL konsantrasyonlarında 4-metilbenzilidenanilin ile 24 ve 48 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 4 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir. Kontrol grubunun hücre çoğalma yüzdesi % 100 kabul edilmiştir. Ortalama değerler \pm St. Hata (n=4)

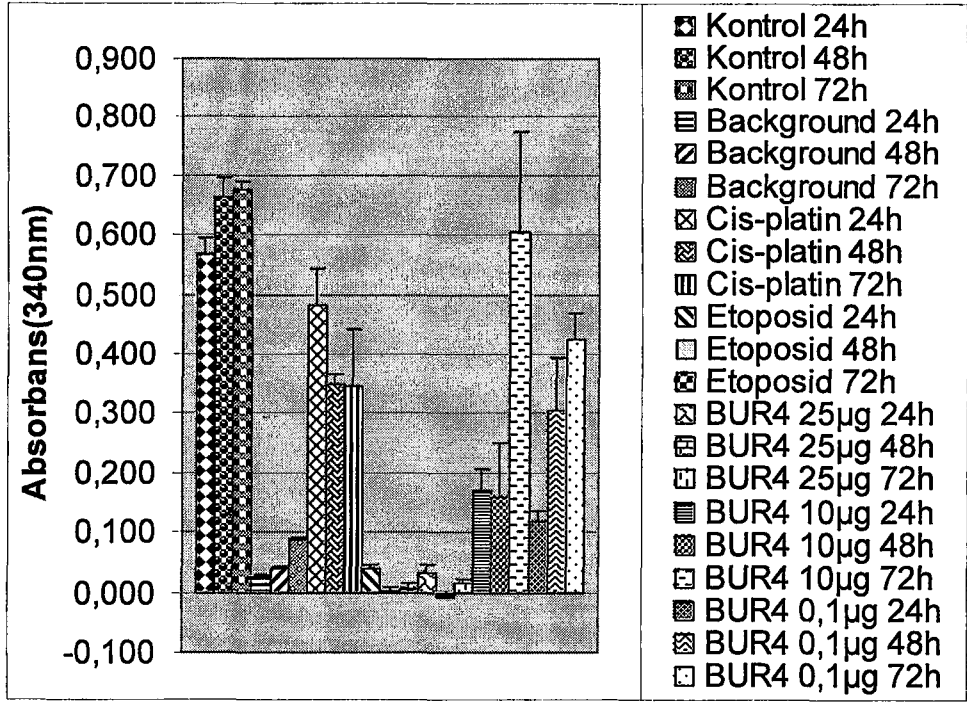


a

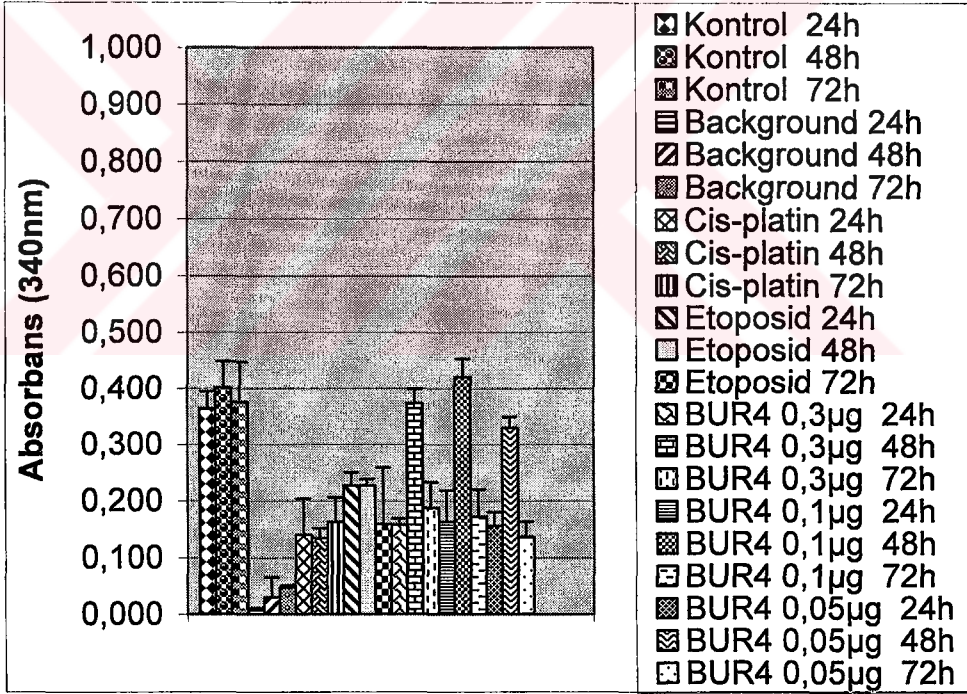


b

Grafik 27: 4 numaralı bileşğin (a) metabolik aktivasyonsuz, (b) metabolik aktivasyonlu ortamda TA 98 ve TA 100 şuşları için mutajenik etki grafiği.

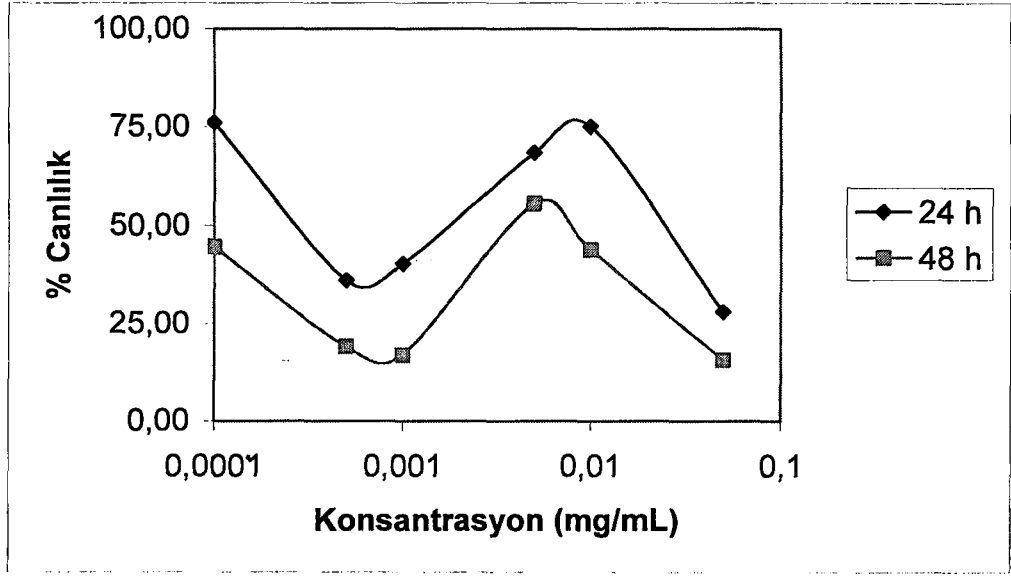


a

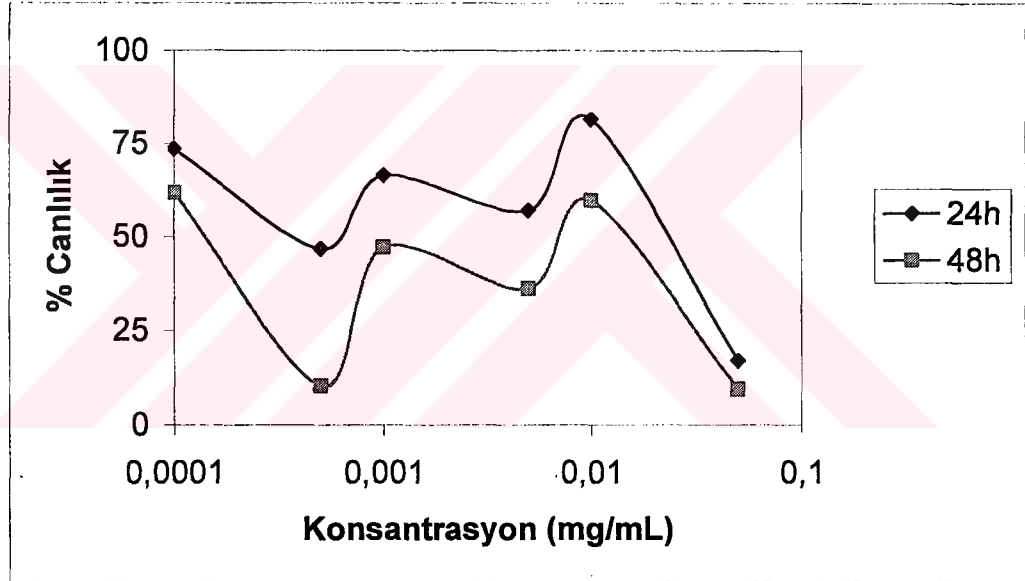


b

Grafik 28: 4 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) DNA sentezi üzerine etkisinin belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra farklı konsantrasyonlarında 4-metilbenzilidenanilin ile 24, 48, 72 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 3 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir.

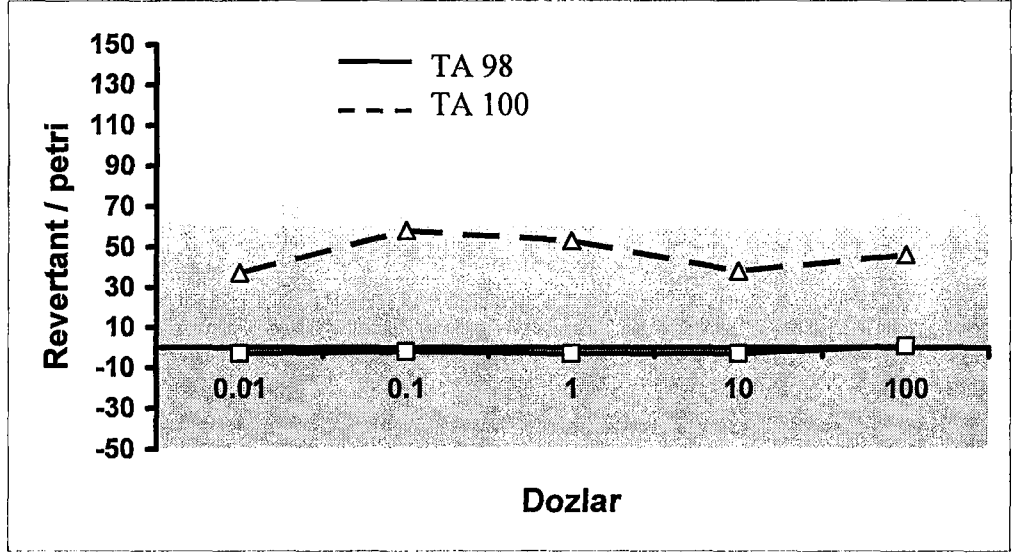


a

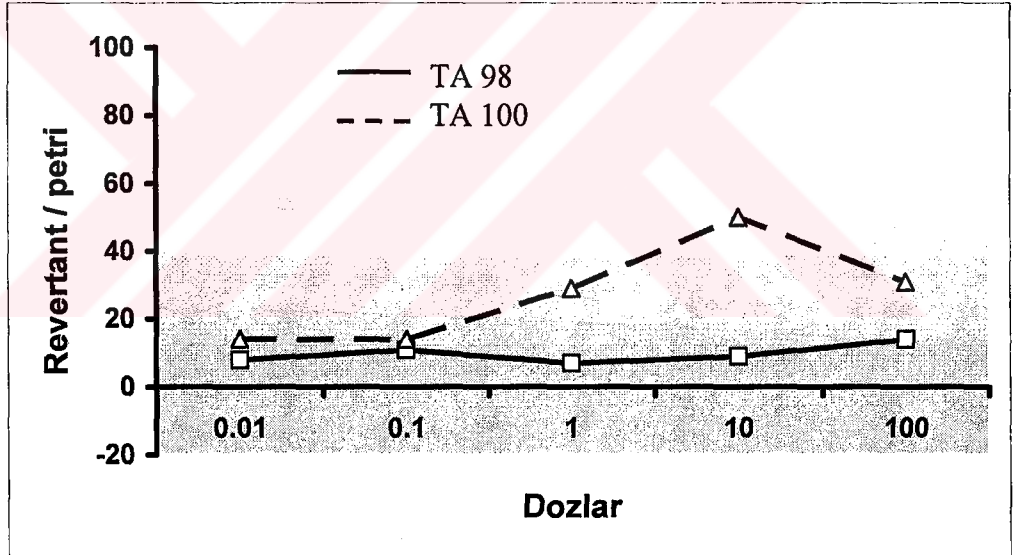


b

Grafik 29: 5 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra 0,0001-0,0005-0,001-0,005-0,01-0,05 mg/mL konsantrasyonlarında 4-metoksibenzilidenanilin ile 24 ve 48 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 4 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir. Kontrol grubunun hücre çoğalma yüzdesi % 100 kabul edilmiştir. Ortalama değerler \pm St. Hata (n=4)

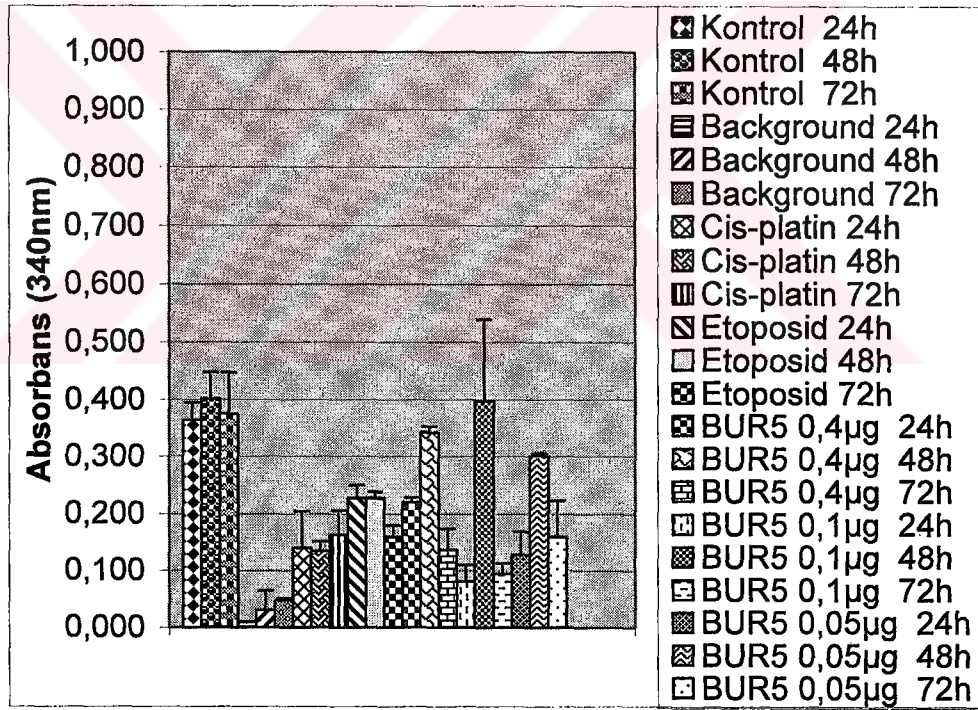
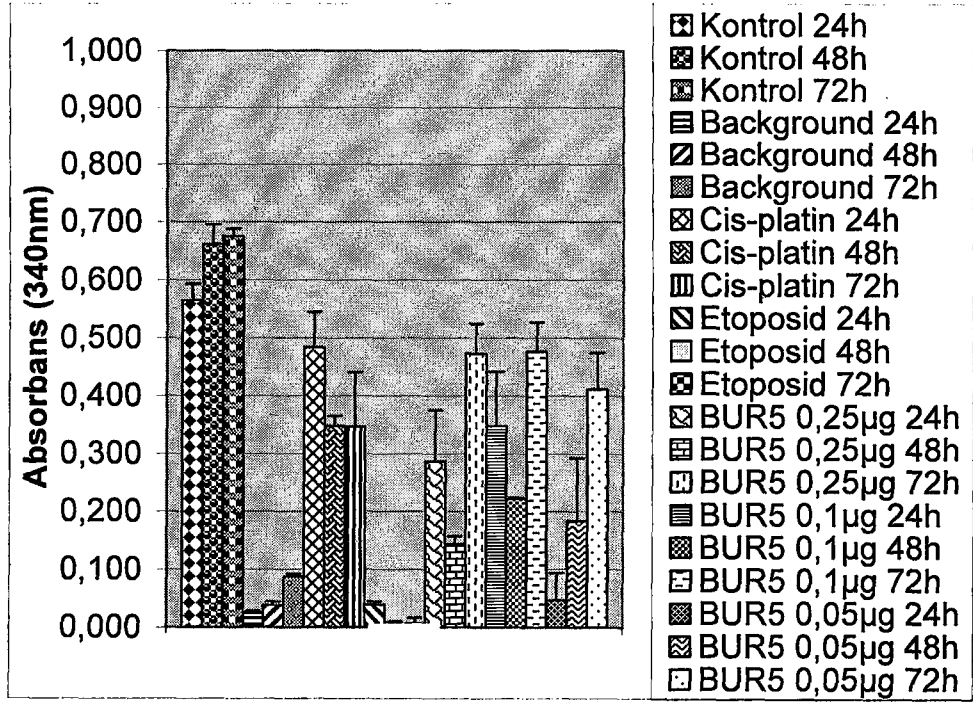


a

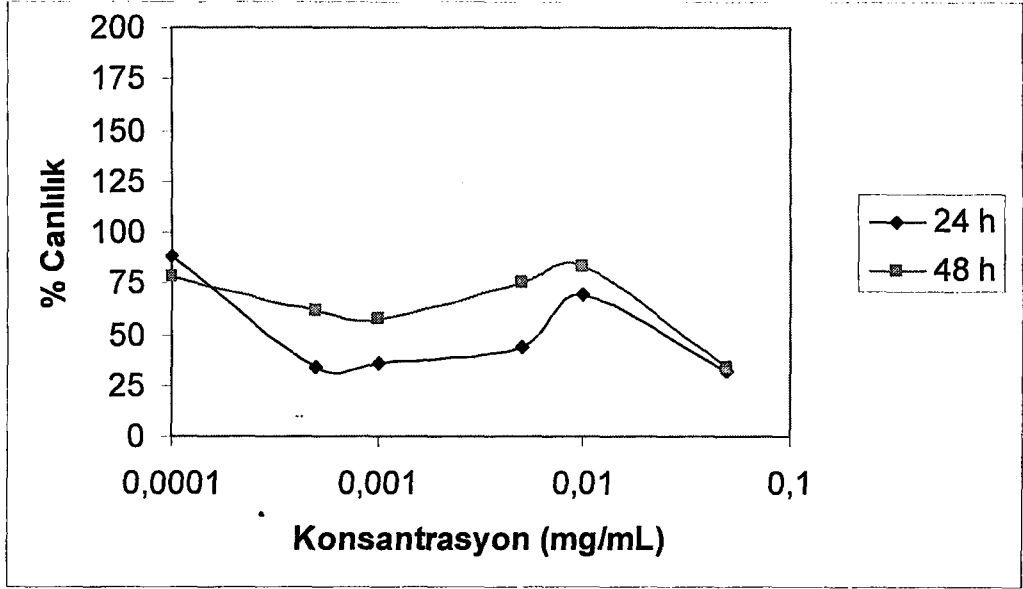


b

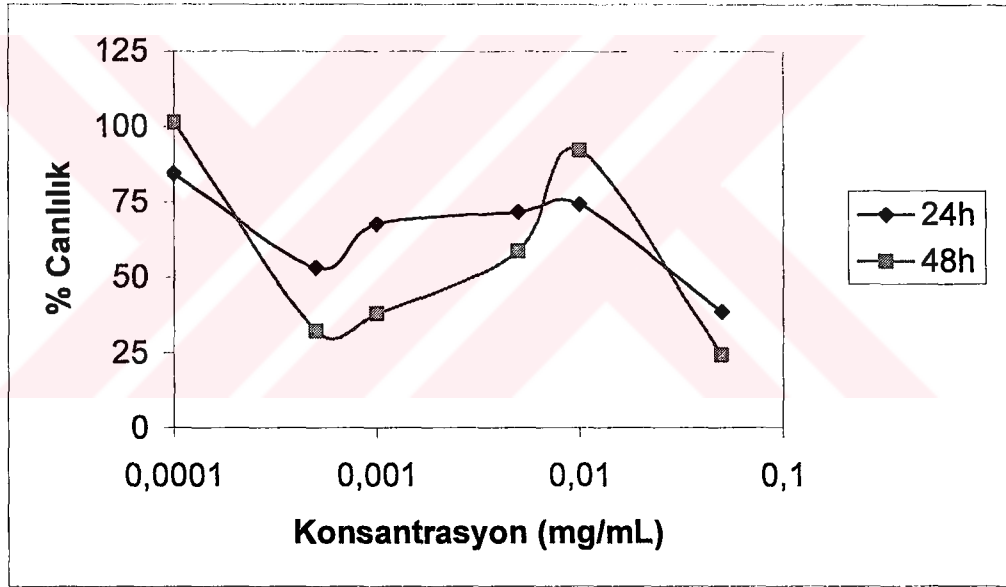
Grafik 30: 5 numaralı bileşimin (a) metabolik aktivasyonsuz, (b) metabolik aktivasyonlu ortamda TA 98 ve TA 100 şuşları için mutajenik etki grafiği.



Grafik 31: 5 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) DNA sentezi üzerine etkisinin belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra farklı konsantrasyonlarında 4-metoksibenzilidenanilin ile 24, 48, 72 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 3 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir.

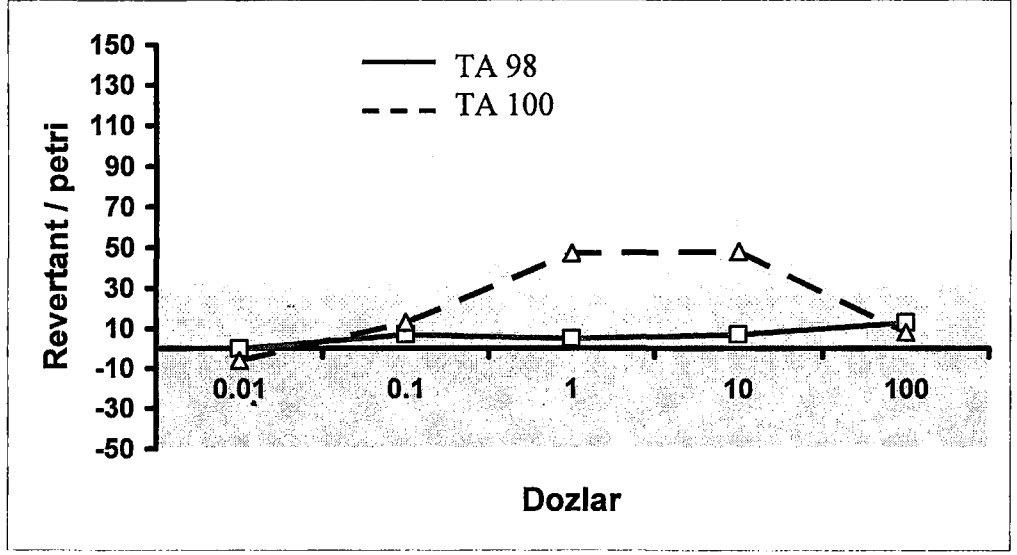


a

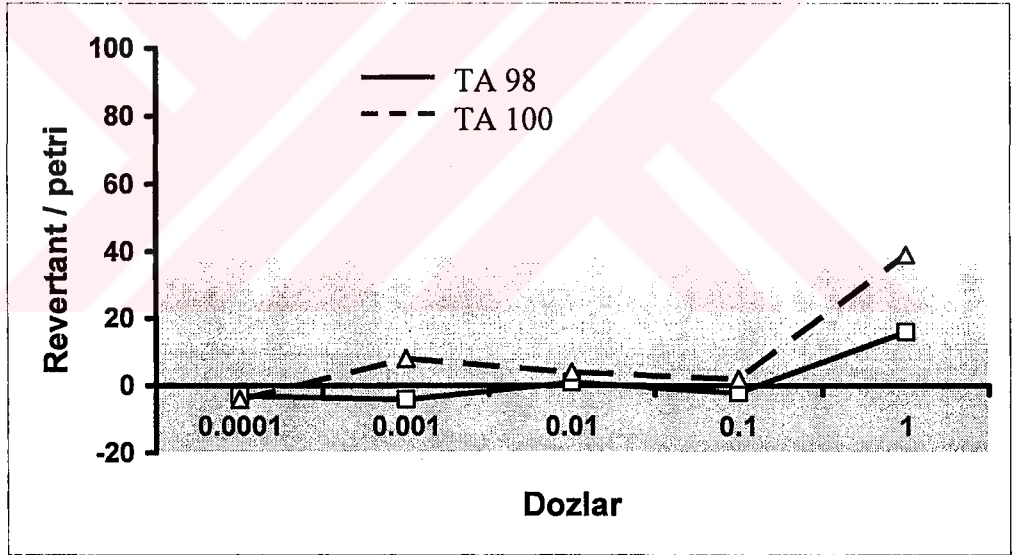


b

Grafik 32: 6 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra 0,0001-0,0005-0,001-0,005-0,01-0,05 mg/mL konsantrasyonlarında 6-nitrobenzilidenanilin ile 24 ve 48 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 4 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir. Kontrol grubunun hücre çoğalma yüzdesi % 100 kabul edilmiştir. Ortalama değerler \pm St. Hata (n=4)

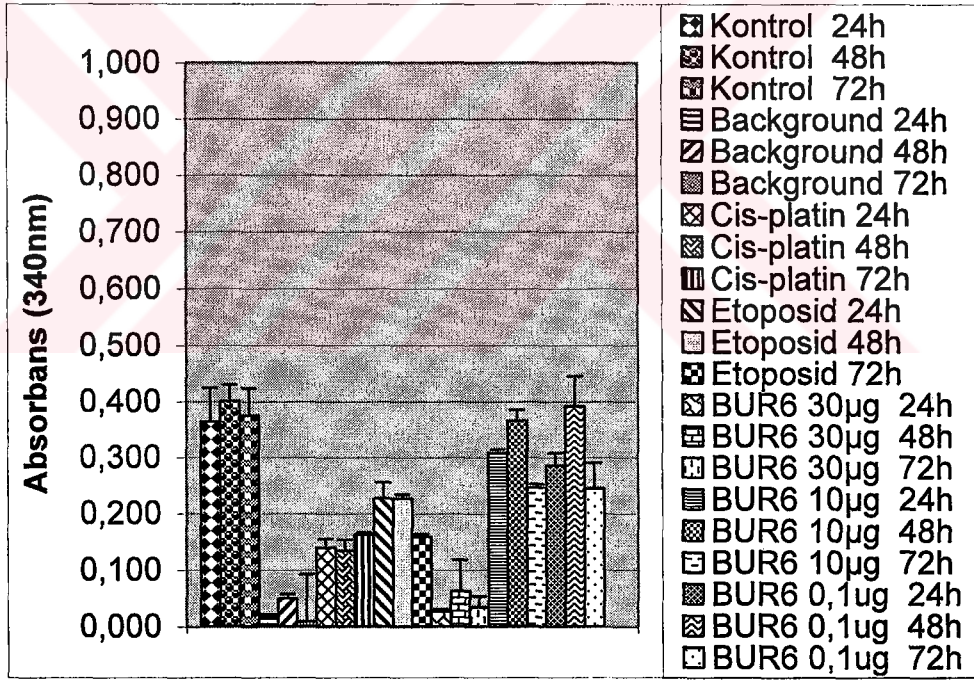
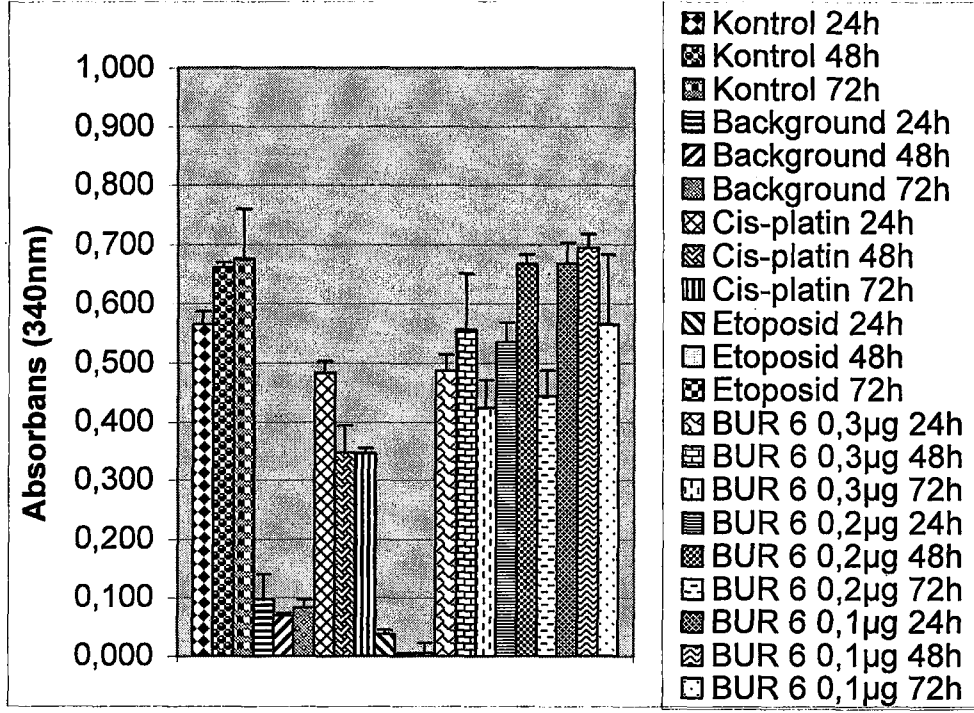


a

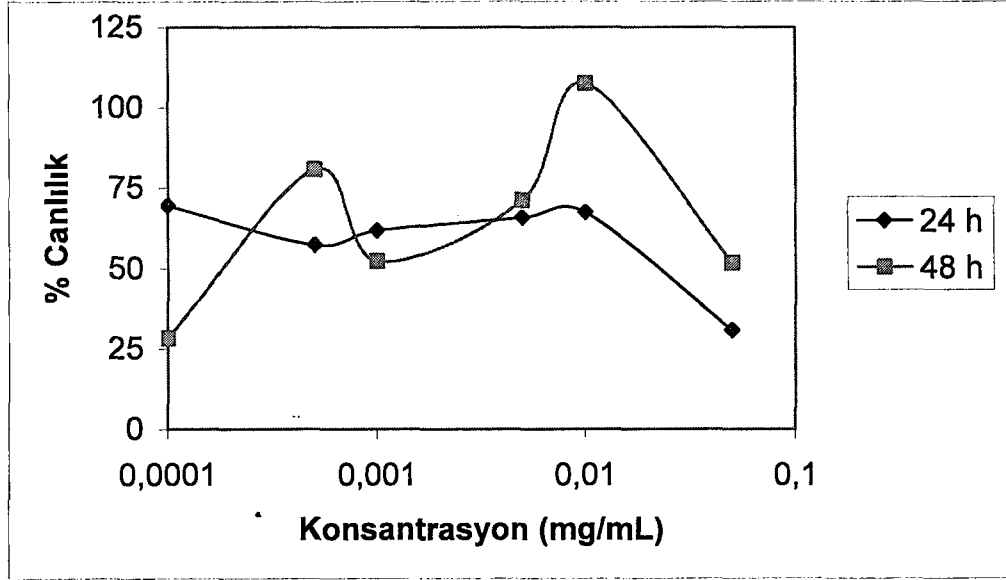


b

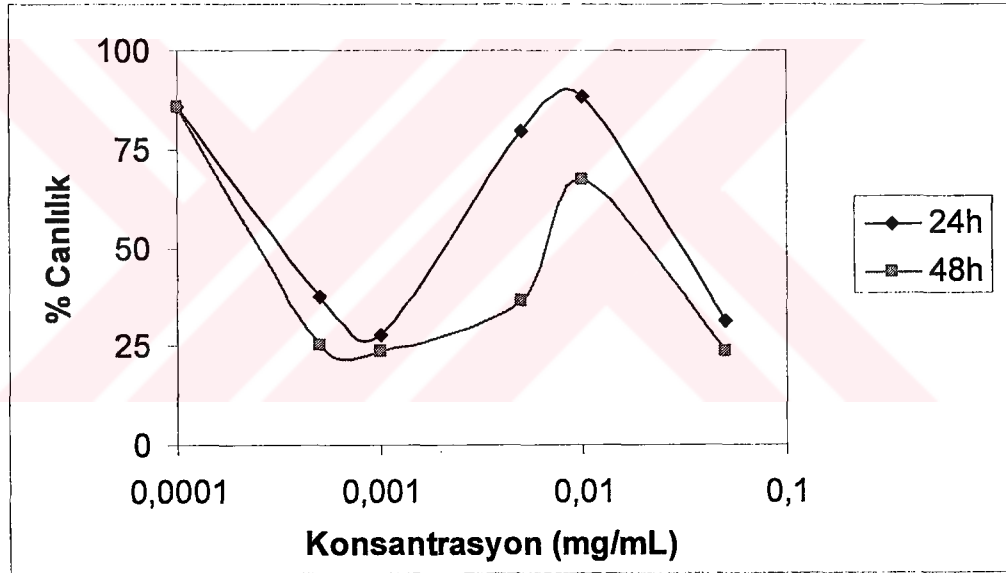
Grafik 33: 6 numaralı bileşimin (a) metabolik aktivasyonsuz, (b) metabolik aktivasyonlu ortamda TA 98 ve TA 100 şuşları için mutajenik etki grafiği.



Grafik 34: 6 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) DNA sentezi üzerine etkisinin belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra farklı konsantrasyonlarında 4-nitrobenzilidenanilin ile 24, 48, 72 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 3 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir.

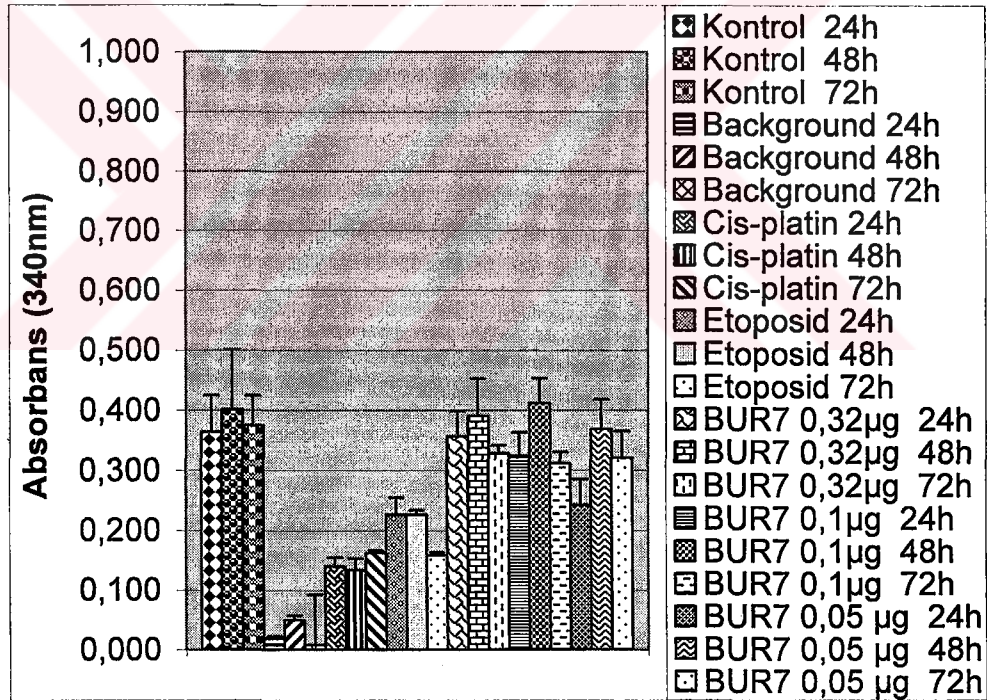
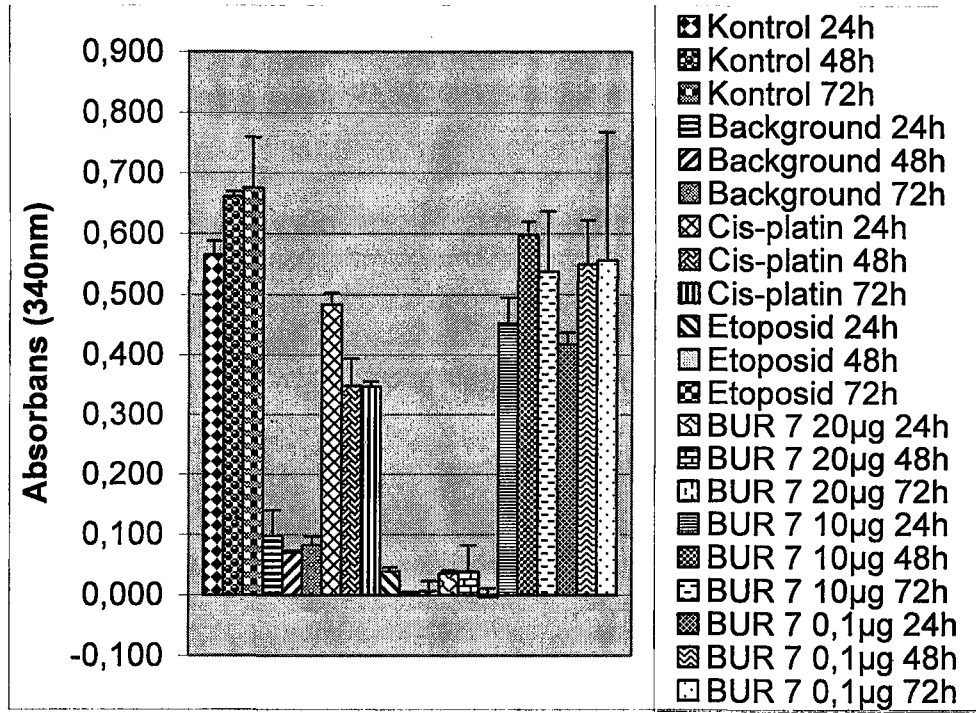


a

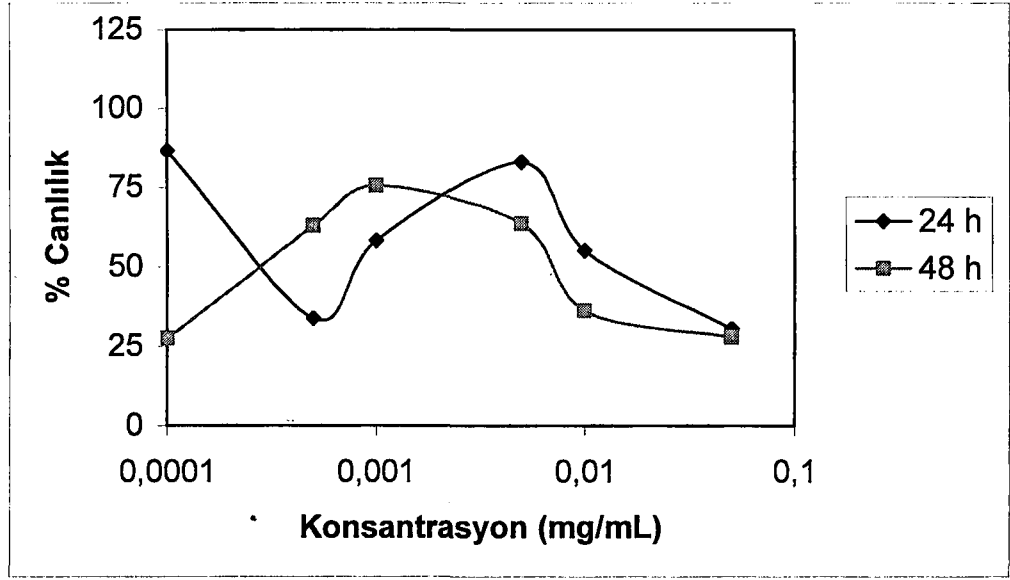


b

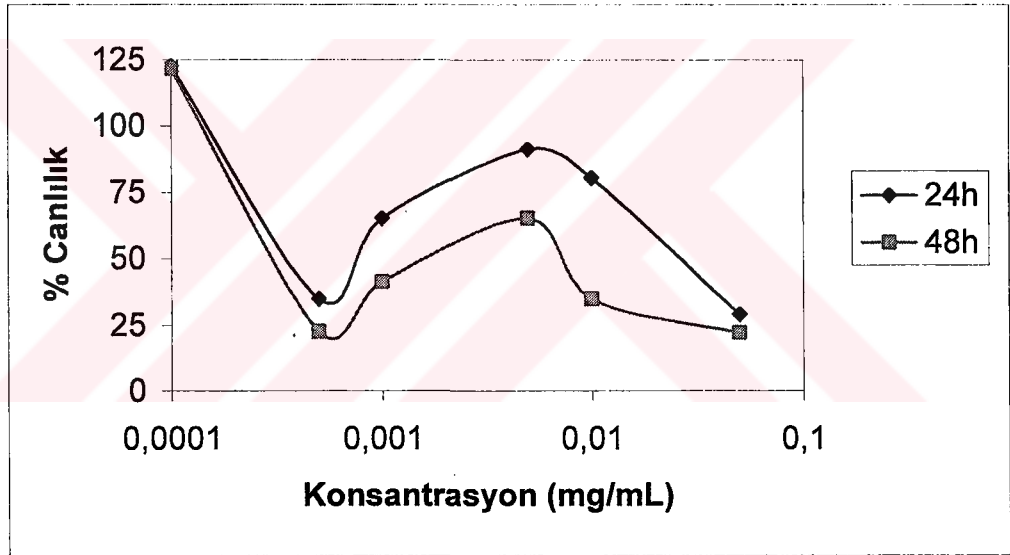
Grafik 35: 7 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra 0,0001-0,0005-0,001-0,005-0,01-0,05 mg/mL konsantrasyonlarında 4-trifluorobenzilidenanilin ile 24 ve 48 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 4 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir. Kontrol grubunun hücre çoğalma yüzdesi % 100 kabul edilmiştir. Ortalama değerler \pm St. Hata (n=4)



Grafik 36: 7 Numaralı Bileşğin A-549 (a) ve HeLa (b) DNA sentezi üzerine etkisinin belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra farklı konsantrasyonlarında 4-trifluorobenzilidenanilin ile 24, 48, 72 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 3 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir.

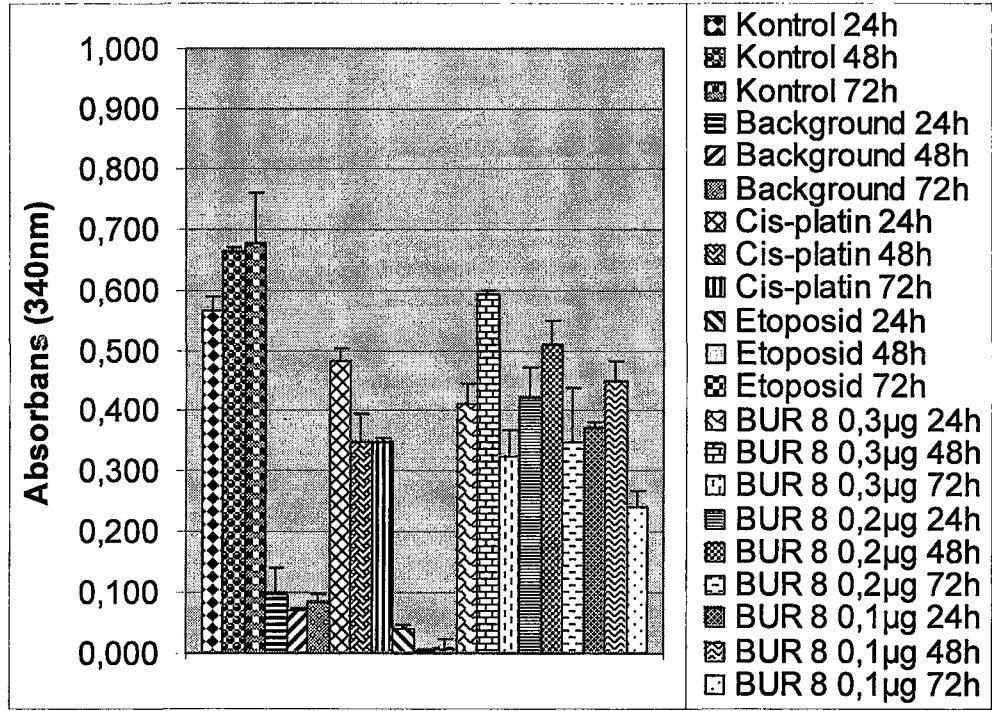


a

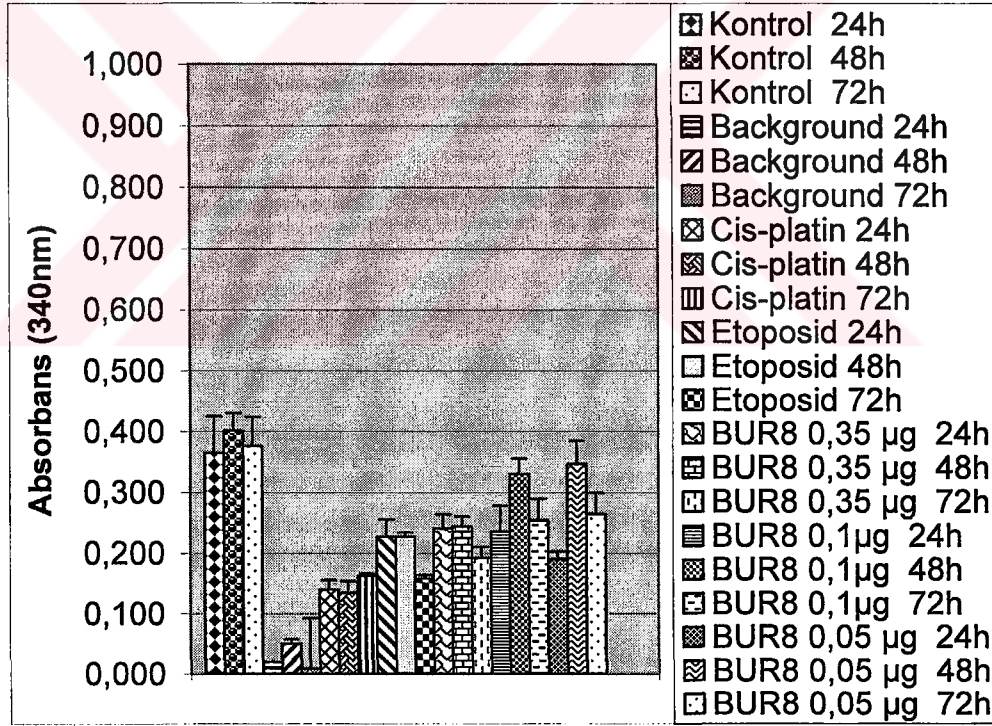


b

Grafik 37: 8 Numaralı Bileşimin A-549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra 0,0001-0,0005-0,001-0,005-0,01-0,05 mg/mL konsantrasyonlarında 2,4-diklorobenzilidenanilin ile 24 ve 48 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 4 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir. Kontrol grubunun hücre çoğalma yüzdesi % 100 kabul edilmiştir. Ortalama değerler \pm St. Hata (n=4)

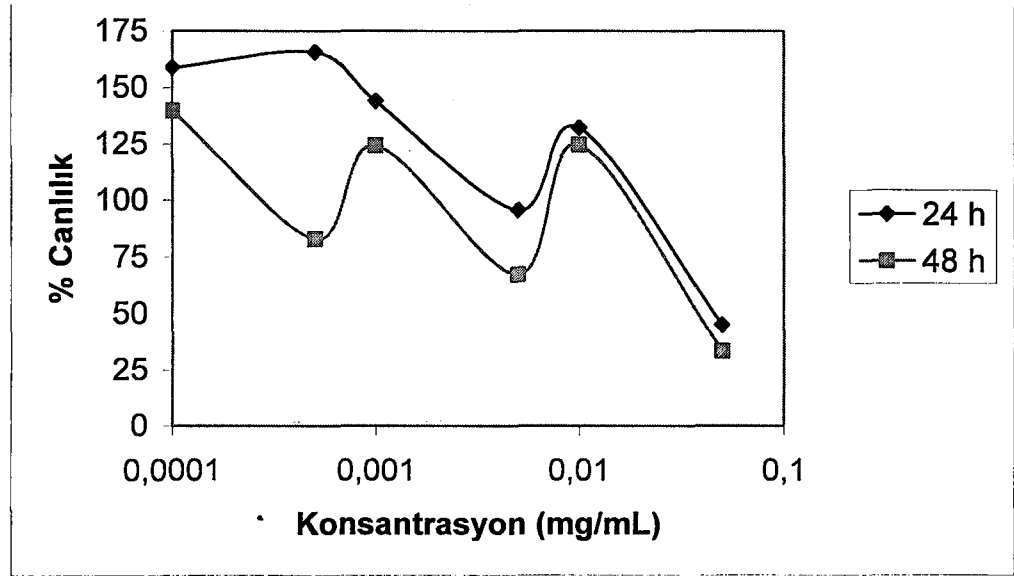


a

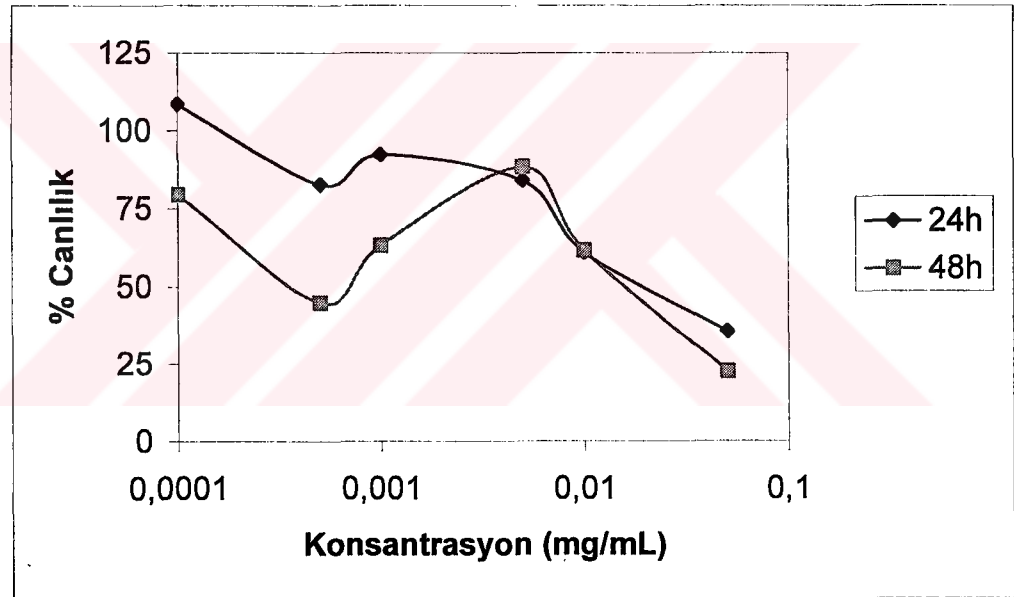


b

Grafik 38: 8 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) DNA sentezi üzerine etkisinin belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra farklı konsantrasyonlarında 2,4-diklorobenzilidenanilin ile 24, 48, 72 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 3 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir.

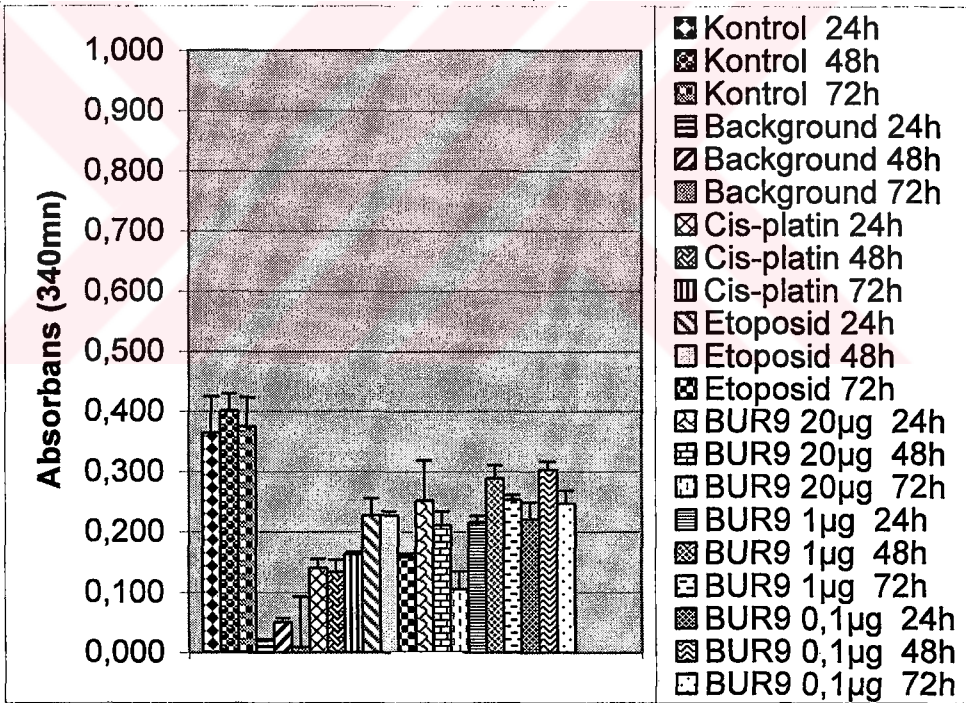
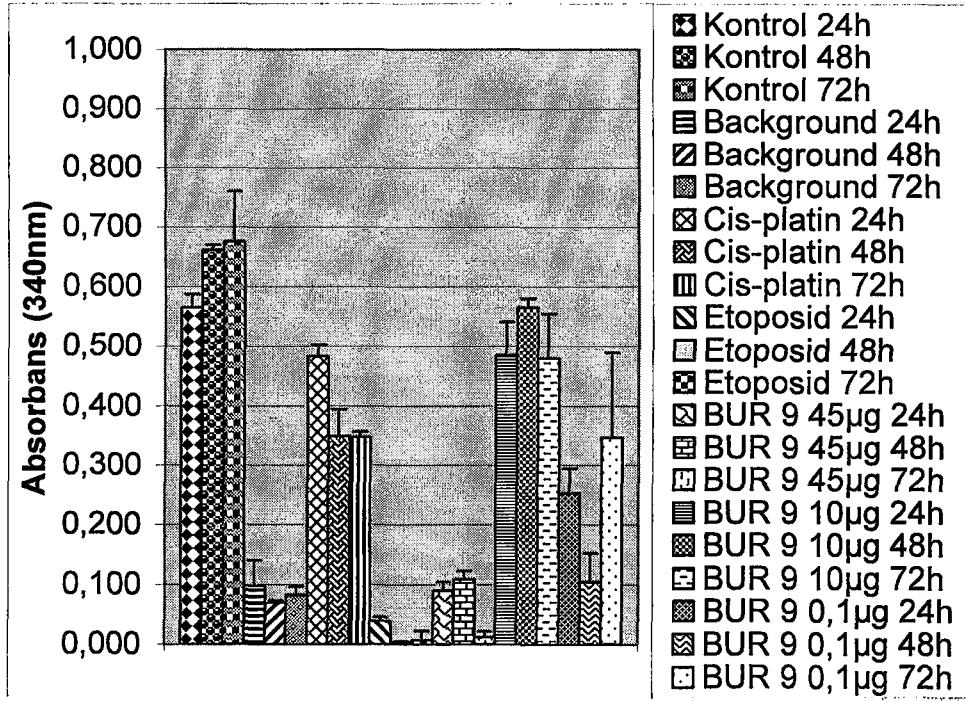


a

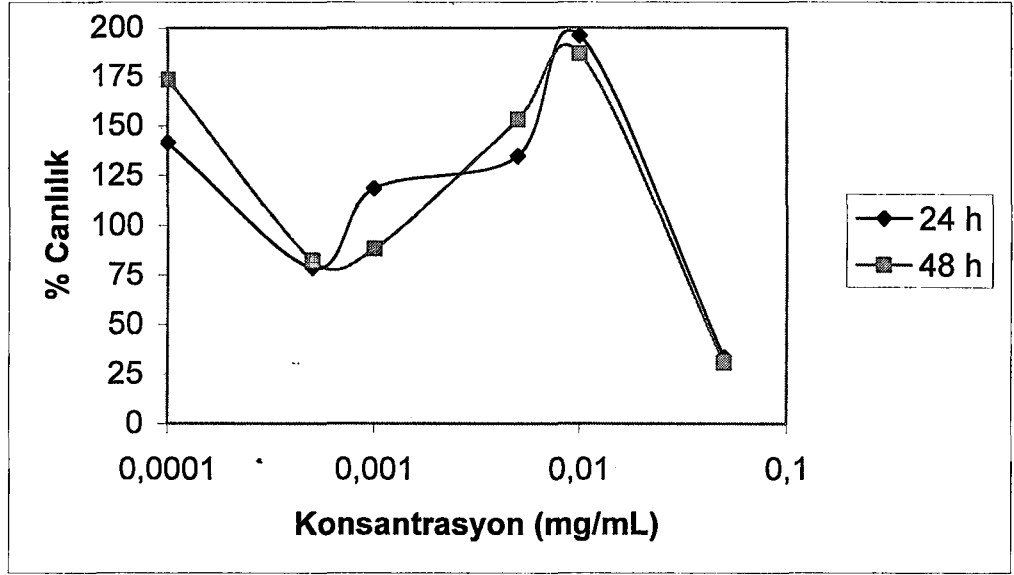


b

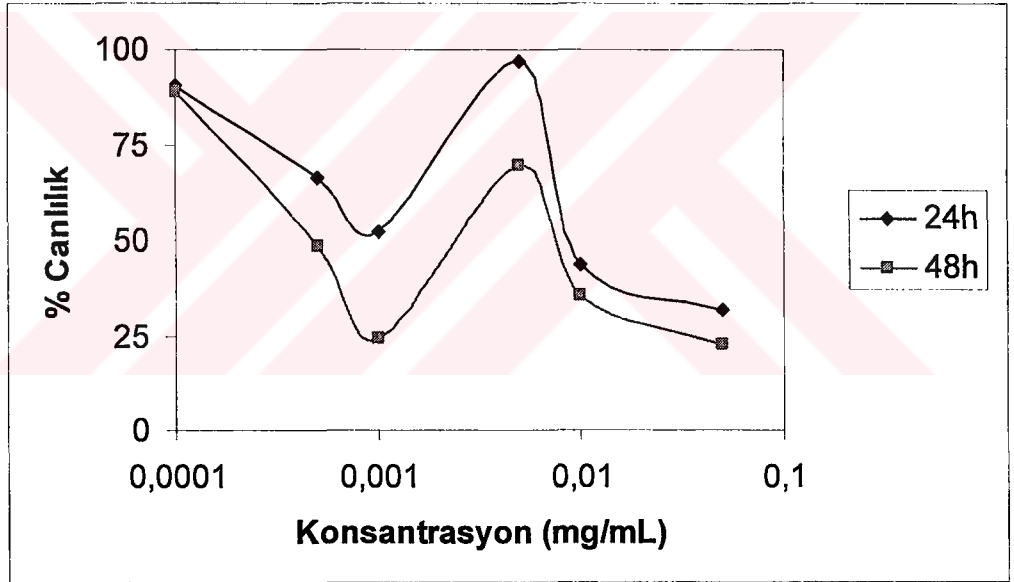
Grafik 39: 9 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra 0,0001-0,0005-0,001-0,005-0,01-0,05 mg/mL konsantrasyonlarında 2,4-dimetilbenzilidenanilin ile 24 ve 48 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 4 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir. Kontrol grubunun hücre çoğalma yüzdesi % 100 kabul edilmiştir. Ortalama değerler \pm St. Hata (n=4)



Grafik 40: 9 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) DNA sentezi üzerine etkisinin belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra farklı konsantrasyonlarında 2,4-dimetilbenzilidenanilin ile 24, 48, 72 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 3 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir.

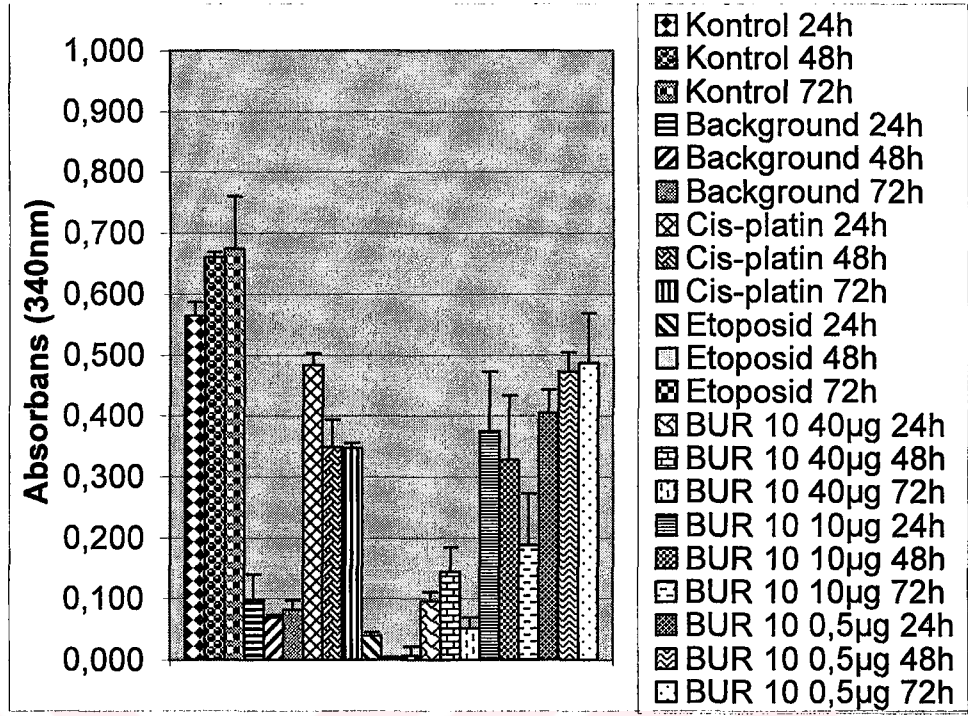


a

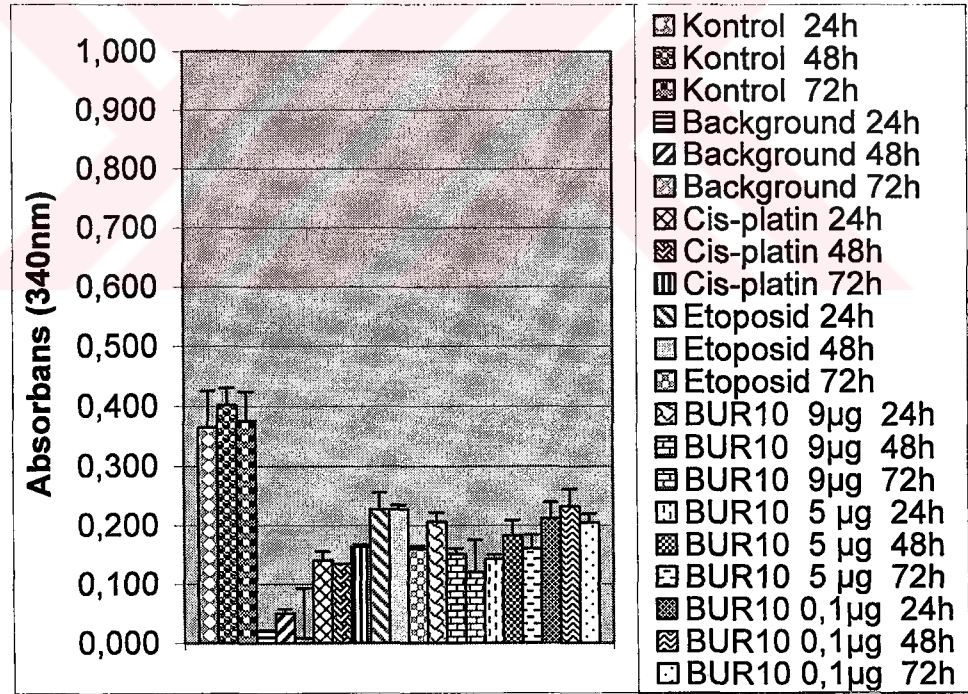


b

Grafik 41: 10 Numaralı Bileşimin A-549 (a) ve HeLa (b) hücre canlılığı üzerine etkisinin MTT yöntemi ile belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra 0,0001-0,0005-0,001-0,005-0,01-0,05 mg/mL konsantrasyonlarında 3,4-metilendioksibenzilidenanilin ile 24 ve 48 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 4 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir. Kontrol grubunun hücre çoğalma yüzdesi % 100 kabul edilmiştir. Ortalama değerler \pm St. Hata (n=4)



a



b

Grafik 42: 10 Numaralı Bileşiğin A-549 (a) ve HeLa (b) DNA sentezi üzerine etkisinin belirlenmesi. Hücreler tabakalara belli sayıda ekildikten sonra farklı konsantrasyonlarında 3,4-metilendioksibenzilidenanilin ile 24, 48, 72 saat inkübe edildiler. Her bir veri noktası 3 bağımsız kuyunun ortalamasını temsil etmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. BASARAN, A., *Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı*. Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Eskişehir. 2002.
2. TZEN, CY., HUANG YW., *Cloning of murine early quiescence-1 gene: the murine counterpart of dermatopontin gene can induce and be induced by cell quiescence*. Experimental Cell Research. **294**:30-38. 2004.
3. KUO, PL., CHIANG, LC., LIN, CC., *Resveratrol-induced apoptosis is mediated by p53-dependent pathway in Hep G2 cells*. Life Sciences. **72**:23-34. 2002.
4. KARP, G., *Cell and molecular Biology concepts and experiments*. John Wiley & Sons, Inc. 1996.
5. VURAL, N., *Toksikoloji*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Ankara. 1996.
6. ERTAN, M., *Farmasötik Kimya*. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Ankara. 2000.
7. NAWROCKA, W., SZTUBA, B., KOWALSKA, M. W., LISZKIEWICZ, H., WIETRZYK, J., NASULEWICZ, A., PELCZYNSKA. M., OPOLSKI, A., *Synthesis and antiproliferative activity in vitro of 2-aminobenzimidazole derivatives*. Il Farmaco. **59(2)**:83-91. 2004.
8. ATKINS, R. C., CAREY, F. A., *third edition organic chemistry abrief course*, McGraw-Hill companies, Inc. 2002.

9. Relevant Scientists who Contributed to the Development of Organic Chemistry in Firenze. Ugo Schiff (1834-1915). www.chimorg.unifi.it/RelevantScientists.doc
10. SOLOMONS, T. W. G., FRYHLE, C. B., *organic chemistry seventh edition*, John Wiley & Sons, Inc. 2000.
11. RUBLEIN, K., *Exp't 17 Mystery product: The reaction of benzaldehyde and aniline*. Organic Instructional Laboratories. 1-4. 1998.
12. TERSTEGEN, F., KOLSTER, K., FALZEWSKI, S., BUSS, V., *Rhodopsin-structure, spectroscopy and dynamics of a chromophore in a truly heterogeneous environment*. World Scientific **26(35)**:1-10. 2000.
13. AYDOGAN, F., OCAL, N., TURGUT, Z., YOLACAN, C., *Transformation of aldimines derived from pyrrole-2-carbaldehyde. Synthesis of thiazolidino-fused compounds*. Korean Chemical Society. **22(5)**: 476-80. 2001.
14. HANDIQUE, J. G., BORAH, L., SARMA, R. J., BARUAH, J. B., *Participation of self-generated polyaniline support in copper(II) catalysed oxidative reactions of phenyl aldimines. Journal of molecular catalysis A: Chemical*. **188**: 63-69. 2002.
15. SUDBOROUGH, J.J., BEARD, S.H., *Additive compounds of s-trinitrobenzene with aryamines, combination as affected by constitution of the arylamine*. Journal Chemistry Society. **97**:773-98. 1910. C.A. **4(2)**:2116.
16. LAW, H. D., *Electrolytic reduction. Part V. Benzylidene bases*. Journal Chemistry Society. **101**:154-66. 1912. C.A. **6(2)**:1738.

17. REICH, S., *2,6-Dinitrobenzaldehyde*. *Geneva ber.*, **45**:804-9. 1912. C.A. **6(2)**:1618.
18. LANGMAN, E. M., HEALY, W., DUTT, P. K., *The influence of substituents on the stability of Schiff's bases. I. Hydrolysis of nitro- and methoxybenzylideneanilines*. *Quart. J. Indian Chem. Soc.* **4**:75-79 1927. C.A. **21**:2669.
19. BOGERT, M. T., *Benzalaniline*. *Organic Syntheses* **5**:13-14. 1925. C.A. **20**:174
20. BIGELOW, L. A., EATNOUGH, H., *Benzalaniline*. *Organic Syntheses* **8**:22-23. 1928. C.A. **22**:1576
21. BONINO, G. B., CELLA, P., *Raman spectrum of several aniline derivatives*. *Atti accad. Lincei* **15**:568-72. 1932. C.A. **26**:5497
22. SMETS, G., DELVAUX, A., *Azomethines and halochromism*. *Bullet. soc. chim. Belg.* **56**:106-33 1947. C.A. **41**:6469e
23. PORAI-KOSHITS, B. A., POZNANSKAYA, E. M., SHEVCHENKO, V. S., PAVLOVA, L. A., *Azomethines. I. Hydrolysis reaction of azomethines*. *J. Gen. Chem.* **17**:1774-87. 1947. C.A. **42**:5863h
24. GRAMMATICAKIS, P., *Spectral study of nitrogen derivatives of some aromatic aldehydes and ketones. VII. N-Phenyloximes, anils and phenylhydrazones of aryl aldehydes*. *Bull. soc. chim. France.* 965-72. 1951. C.A. **46**: 1113f
25. ROE, A., MONTGOMERY, A., *Kinetics of the catalytic hydrogenation of certain Schiff bases*. *Journal of the American Chemical Society.* **75**:910-12 1953.

26. RIED, W., WILK, M., *The photochemistry of unsaturated nitrocompounds. I. The influence of substitution on the photorearrangement of o-nitroazomethines.* Ann. **590**:91-110. 1954. C.A. **50**:288e
27. PORAI-KOSHITS, B. A., REMIZOV, A. L., *Synthesis and properties of azomethines from weakly basic aromatic amines.* Zhur. Obshchei Khim. **24**:372-5. 1954. C.A. **49**:4572h
28. FENCH, G., TOMMASINI, A., *Isosteric substitution of furan ring with benzene ring. Derivatives of m- and p-nitrobenzaldehyde.* Atti. soc. peloritana sci. fis. mat. Nat. **3**:279-302. 1957. C.A. **51**:1966c
29. COLUEGHERTY, L. E., SOUSA, J. A. WYMAN, G. M., *C:N stretching frequency in infrared spectra of aromatic azomethines.* J. Org. Chem. **22**:462. 1957. C.A. **51**:16105e
30. KOZ'MINYKH, O.N., *Catalytic syntheses of nitro, amino and sulfonamido derivatives of 2-phenylquinoline and 3-phenylbenzo[f]quinoline.* Uchenye Zapiski, Perm. Gosudarst. Univ. Im. A.M. Gor'kogo. **15**(4):111-27. 1958. C.A. **55**:27313c
31. WEINSTEIN, J., MCININCH, E., *Base strengths of p-substituted benzalanilines.* Journal of the American Chemical Society. **82**:6064-67. 1960.
32. EBARA, N., *Benzylideneaniline. III. Anils of substituted benzaldehydes.* Bulletin of Chemical Society Japan. **34**:1151-8. 1961. C.A. **56**:14973h
33. CORDERS, E. H., JENCKS, W. P., *Nucleophilic catalysis of semicarbazone formation by anilines.* Journal of American Chemical Society. **54**:826-31. 1961.

34. PRATT, E. F., MCGOVERN, T. P., *Oxidation by solids. III. Benzalanilines from N-Benzylanilines and Related Oxidations by Manganese Dioxide. Journal of Organic Chemistry.* **29**:1540-43. 1963.
35. FABINI, R.P., WEUFFEN, W., *Organic thiocyanates. VI. Schiff bases of 4-thiocyanatoaniline and their fungustatic properties. Arch. Pharm.* **297(9)**:554-65. 1964. C.A. **61**:14562b
36. STACY, G. W., ETTLING, B. V., PAPA, A. J., *Reactions of Benzaldehyde with o-Nitroaniline. Journal of Organic Chemistry.* **29**:1537-40. 1963.
37. LUVISI, J. P., *Preparation of Schiff bases. U.S. 3,169,988* (Cl. 260-266) 1965.
38. ELIAS, D. J., GILLIS, R. G., *The mass spectra of Schiff bases. I. Simple fissions and rearrangements. Australian Journal of Chemistry.* **19(2)**: 251-55. 1966. C.A. **64**:11058f
39. WEUFFEN, W., POHLOUDEK-FABINI, R., *Organic thiocyanates. Bacteriostatic properties of some Schiff bases of 4-thiocyanatoaniline (4-rhodaniline). Arch. Pharm.* **299(9)**:777-83. 1966. C.A. **65**:17404f
40. D'ALELIO, G. F., CRIVELLO, J. V., SCHOENING, R. K., HUEMMER, T. F., *Polymeric Schiff bases. II Synthesis of azomethines by a continuous azeotropic method. J. Macromol. Sci., Chem.* **1(7)**:1251-8. 1967. C.A. **69**:35625j
41. BREN, V. A., MALYSHEVA, E. N., MINKIN, V. I., *Basicity and structure of azomethines and their structural analogs. II. The effect of substituents in the anilinering on the basicity of aromatic azomethines.*

- Reakts. Sposobnost Org. Soedin., Tartu. Gos. Univ. **4(3)**:523-34. 1967. C.A. **69**:43279q
42. NAKAMURA, M., KOMATSU, K., GONDO, Y., OHTA, H., UEDA, Y., *Infrared study of the C=N stretching frequency in N-benzylideneaniline derivatives.* Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). **15(5)**:585-92. 1967. C.A. **67**:53450m
43. BURGI, H. B., DUNITZ, J. D., ZUST, C., *Lattice parameters and space groups of some aromatic Schiff bases.* Acta Crystallographica. Section B, **24(3)**: 463-464. 1968.
44. TABELI, K., SAITOU, E., *Nuclear magnetic resonance and infrared spectra of aromatic azomethines.* Bulletin of the Chemical Society of Japan. **42(5)**:1440-1443. 1969.
45. TABELI, K., SAITOU, E., *Infrared absorption bands of benzalanilines observed in the 1200-850 cm^{-1} region.* Bulletin of the Chemical Society of Japan. **42(9)**:2693-2694 1969.
46. NASIR-UD-DIN., WALKER, E., LATIF, M., *Synthesis of Schiff bases.* Chem. Ind. **2**:51-2. 1969. C.A. **70**:77470f
47. KOZLOV, N. S., PAK, V. D., IVANOV, N. A., *Aromatic Schiff bases.* Tr. Perm. Sel-Khoz. Inst. **68**:147-48. 1970. C.A. **77**:113926q
48. VALADIMIRTSEV, I. F., KARABANOV, Y. V., KHRIPKO, S. S., BOLDYREV, I. V., *Biological activity of benzalanilines.* Fiziol. Aktiv. Veshchestva. **4**:136-38. 1972. C.A. **79**:39226j

49. CHATTOPADHYAYA, J. B., RAMA, R. A. V., *Synthesis of substituted thioureas and Schiff bases from organic isothiocyanates in dimethyl sulfoxide*. *Synthesis*. **4**:289-90. 1974. C.A. **81**:3318t
50. KNOPPOVA, V., KOMANOVA, E., KADA, K., JURASSEK, A., KOVAC, J., *Reactions of aromatic isothiocyanates with benzaldehydes*. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **39(12)**:3728-32. 1974. C.A. **82**:155675r
51. RYUICHIRO, T., TAKESHI, A., *Schiff bases from nitroarenes and aldehydes*. *Japan. Kokai* **77 25. 725** (Cl. C07C119/08). 1977..
52. SEIJI, S., *Schiff bases*. *Japan. Kokai* **76,136,631** (Cl. C07C119/10). 1976
53. SMIRNOVA, T. V., KOZENASHEVA, L. Y., PERESKOKOVA, V. A., KATKOV, Y. B., *Synthesis of α -[monoaryl(alkyl)amino]aryl=phosponates*. *Deposited Doc. VINITI 4529-77*. 1977. C.A. **91**:157811s
54. MARTVON, A., UHER, M., *Addition of thiophosgene to the carbon-nitrogen double bond*. *Zb. Pr. Chemickotechnol. Fak. SVST* **43-6**. 1975-1976. C.A. **90**:103582d
55. NUSS, G. W. J, SANTARO, N. J., DOUGLAS, G. H., *Benzylideneaniline and derivatives*. *Can. CA* **1,120,946** (Cl. C07C119/06). 1982.
56. KHOO, L. F., *Azomethine proton chemical shift of Schiff bases*. *Spectrochim. Acta, Part A.* **35A(8)**:993-5. 1979. C.A. **92**:57727w
57. FISNEROVA, L., GRIMOVA, J., NEMEECK, O., *New 2-phenyl-3-aminopropanic acid derivatives*. *Cesk. Farm.* **28(8)**:326-30. 1979. C.A. **93**:114097n

58. SHIONOGI, CO., *α -Aryl-2-aminobenzyl alcohols*. Jpn.Kokai Tokyo Koho **81 39,047** (Cl. C07C91/40). 1981.
59. SUGASAWA, T., TOYADA, T., SASAKURA, K., *Aminohaloboran in organic synthesis. VIII.¹ A one-step synthesis of 2-aminobenzhydrols from anilines*. Tetrahedron Letters. **21(2):173-176**. 1980
60. TANAKA, M., KOBAYASHI T., *Simple and high yield synthesis of aldimines via palladium complex-catalyzed reduction of imidoyl*. Synthesis. **10:967-969**. 1985.
61. ODIAN, G., YANG, N., WEI, Y., *Substituent effects on ¹H NMR spectra of 4- and 4'-substituted trans-N-benzylideneanilines*. Magnetic Resonance in Chemistry. **23(11):908-915**. 1985.
62. MILLER, J., ECHEVARRIA A., NASCIMENTO, M. G., *¹³C NMR and azotmethine ¹H NMR spectra of substituted N-benzylideneanilines and Hammett*. Magnetic Resonance in Chemistry. **23(10):809-813**. 1985.
63. FORLANI, L., SINTONI, M., TODESCO, P. E., *Condensation reactions between aromatic aldehydes and some heterocyclic aromatic amines*. Gazz. Chim. Ital. **116(5):229-32**. 1986. C.A. **106:175848s**
64. KIM, T. R., CHO, B. R., LEE, Y. H., *Reactions of N-aryliminotriethoxyphosphoranes with benzaldehydes*. Bull. Korean Chem. Soc. **8(1):48-9**. 1987. C.A. **108:56209r**
65. ALCAIDE, B., MARDOMINGO, C. L., PLUMET, J., CATIVILEA, C., MAYORAL, A., *Orbital control in the 1,3-dipolar cycloaddition of benzonitrile oxide to benzylideneanilines*. Canadian Journal of Chemistry. **65(9): 2050-2056**. 1987.

66. GAWINECKI, R., *Synthesis and proton NMR spectra of benzylideneanilines with sterically interacting substituents*. Polish Journal of Chemistry. **61(4-6):589-598**. 1987.
67. NISHINAGA, A., YAMAZAKI, S., MATSUURA T., *Catalytic dehydrogenation of secondary amines with the cobalt schiff base complex-oxygen system*. Tetrahedron Letters **29(33):4115-4118**. 1988.
68. FURUKAWA, I., SUDO, T., HASHIMATO, S., *Deoxygenation of α -aryl-N-phenylnitrones with diiodotriphenylphosphorane*. Nippon Kagaku Kaishi **10:1748-52**. 1989. C.A. **113:23207p**
69. KOKOREV, G. I., YAMBUSHEV, F. D., BADRUTDINOV, S. K., *Organoarsenic compounds with aldehydes, acids, and acid chlorides*. Zh. Obshch. Khim. **59(7):1548-50**. 1989. C.A. **112:139216z**
70. VENKOV, A., LUKANOV, L., MINKOV, M., *Derivatives of N-(2-chloroethoxymethyl)anilides as plant-growth regulating agents*. Chem. Ind. **20:686-7**. 1989. C.A. **112:178269p**
71. SANDHU, J. S., KONWAR, D., BORUAH, R. C., *An efficient general method for the deoxygenation of N-arylnitrones, azoxybenzenes, and N-heteroaren*. Synthesis **4:337-9**. 1990.
72. MARUYAMA, K., KUSUKAWA, T., HIGUCHI, Y., NISHINAGA, A., *Cobalt Schiff base complex catalyzed dehydrogenation of amines with tert-butyl hydroperoxide*. Chem. Lett. **7:1093-6**. 1991. **115:182709m**
73. FIGUEROA, K., CAMPOS-VALLETTE, M., VENEGAS, D., QUIROZ, A., QUEZADA, E., *A vibrational and theoretical interpretation of the conformation of mono- and disubstituted N-benzylideneanilines*. Spectroscopy Letters. **24(4):589-96**. 1991

74. XING, C., NAN, Q., LUEBAI, C., *Synthesis of Schiff bases organic compounds and study of second harmonic generation activity*. Dalian Ligong Daxue Xuebao. **34(1)**:31-7. 1994. C.A. **122**:9623a
75. SINHA, C., CHATTOPADHYAY, P., *Regioselective mercuration of 2-(methylthio)-N-(benzylidene)anilines*. Polyhedron. **13(18)**:2689-2693 1994.
76. BULUTOVA, O. F., ROMANOV, N. A., CHALOVA, O. B., RAKMANKULOV, D. L., *Synthesis of substituted 5-(chloromethyl)-1,3-oxazolidines*. Zh. Org. Khim. **30(1)**:55-8. C.A. **122**:133034y
77. CHANDRASEKARAN, S., ILANKUMARAN, P., *Chemoselective deoxygenation of nitrones and N-oxides with tetrathiomolybdate*. Tetrahedron Letters. **36(27)**: 4881-2. 1995.
78. SIVASUBRAMANIAN, S., RAMAMOORTHY, V., BALASUBEAMANIAN, G., *Synthesis of aldimines by deoxygenation of nitrones*. Org. Prep. Proced. Int. **27(2)**:221-4. 1995. C.A. **123**:82914w
79. SUPURAN, C.T., NICOLAE, A., POPESCU A., *Carbonic anhydrase inhibitors. Part 35. Synthesis of Schiff bases derived from sulfanilamide and aromatic aldehydes: the first inhibitors with equally high affinity towards cytosolic and membrane-bound isozymes*. Eur.J.Med.Chem. **31**: 431-438. 1996.
80. BHAT, K., CHOI, J., MCCALL, S. D., AGGARWALL, M. D., CARDELINO, B. H., MOORE, C. E., PENN, B. G., FRAZIER, D. O., SANGHADASA, M., BARR, T. A., LAXMESHVAR, N. B., *Theoretical and experimental study of the second-order polarizabilities of Schiff's bases for nonlinear optical application*. Computational Materials Science . **8**:309-316. 1997.

81. ZHU, C., GAO, X., XIAO, H., *Synthesis and corrosion-inhibition property of aminobenzyl phosphonic acid*. *Huaxue Tongbao*. **5**:48-51. 1997. C.A. **127**:149199v
82. MARKOVIC, R., RAJKOVIC, B., *Synthesis of 2-aryl-substituted thiazolidine-4-carboxylic acids by intramolecular cycloaddition of in situ formed azomethine derivatives of L-cysteine*. *J.serb. Chem. Soc.* **62(10)**:957-964. 1997. C.A. **128**:13416b
83. SALMAN, S. R., SALEH, N. A. I., *Mass spectral study of tautomerism in some Schiff bases*. *Spectroscopy Letters*. **31(69)**: 1179-89. 1998.
84. SOMASUNDARAM, N., SRINIVASAN, C., *Oxygenation of aldimines and Deoxygenation of Nitrones on Irradiated TiO₂*. *Tetrahedron letters*. **39**: 3547-3550. 1998.
85. KRYGOWSKI, T.M., STEPIEN, B., ANULEWICZ-OSTROWSKA, R., DZIEMBOWSKA, T., *π -electron Delocalisation in the Spacer of the O-H...N Bridge in Schiff Bases. Crystal and Molecular Structure of 3,5-dimetoksi-2-[(phenylimino)methyl]phenol and 4-metoksi-2-[(phenylimino)methyl]phenol and phenol*. *Tetrahedron*. **55(17)**: 5457-5464. 1999.
86. MEIĆ, Z., NOVAK, P., VIKIĆ-TOPIC, D., SMRECKI, V. PLAVEC, J., *Structural dependence of isotope effects in ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance spectra of the trans-N-benzylideneaniline imino group*. *Spectrochimica Acta Part A* **54**:327-333. 1998.
87. KILIC, E., ATAKOL, O., CANEL, E., ALIBESEGLU, Z., GUNDUZ, T., *Potentiometric Investigation of the Effects of Several Substituents on the Basicity of Benzilidene-o-hydroxyaniline*. *Turk. J. Chem.* **22**:387-391. 1998.

88. TODA, F., SCHMEYERS J., BOY J., KAUPP G., *Quantitative solid-solid synthesis of azomethines*. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2. **4**:989 – 994. 1998.
89. KAMOUNAH, F. S., SALMAN, S. R., MAHMOUD, A. A. K., *Substitution and solvent effect of some substituted Schiff bases*. Spectroscopy Letters. **31(7)**:1557-1567. 1998.
90. RAJENDER S., VARMA, D., RAJENDER, D., *Sodium Borohydride on Wet Clay, Solvent-free Reductive Amination of Carbonyl Compounds Using Microwaves*. Tetrahedron. **54**:6293-8. 1998.
91. ZHANG, M., ZHANG, Z., LU, P., WANG, A., *Aldehydes or ketones condensation reaction with amines on alumina support under microwave irradiation*. Huaxue Yanjiu. **9(4)**:28-31. 1998. C.A. **130**:267166s
92. AHAMED, K. A. B., KASSIM, A. N. M., *Interactive free energy relationship for multiple substituent effects in the oxidative cleavage of aromatic anils by N-chlorobenzamide in aqueous methanol medium*. Indian Journal of Chemistry Section A. **38A(6)**:533-540. 1999.
93. HAGE, R., LIGTENBARG, A. G. J., MEETSMA, A., FERINGA, B. L., *Hydrogen bonding properties and intermediate structure of N-(2-carboxyphenyl)salicylideneimine*. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2. **4**:807–812. 1998.
94. ANDREEV, G. N., OGNANOVA, V., STAMBOLIYSKA, B., JUCHNOVSKI, I. N., *Vibrational spectra and structure of N-(4-cyanobenzylidene)-aniline, its ¹⁵N and D₅ isotopomers and their monomeric dianions: an experimental and ab initio study*. Journal of Molecular Structure. **513**:139-148. 1999.

95. KABAK, M., ELMALI, A., KAVLAKOGLU, E., ELERMAN, Y., DURLU, T. N., Tautomeric properties, conformations and structure of N-(2-hydroxy-5-chlorophenyl) salicylaldimine. *Journal of Molecular Structure*. **510**:207-214. 1999.
96. BALCAR, H., CEJKA, J., KUBISTA, J., PETRUSOVA, L., KUBAT, P., BLECHTA, V., *Preparation and Properties of Isomeric N-(4-Substituted Benzylidene)-4-Ethynylanilines and 4-Substituted N-(4-Ethynylbenzylidene)Anilines*. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **65**:203-215. 2000.
97. TANAKA, K., TODA, F., *Preparation of imines and imidazolidines without using organic solvents or catalysts*. *Jpn. Kokai Tokyo Koho JP 60,337* (Cl. C07C249/02). 2002.
98. SANDHU, J. S., ILIAS, MD., BARMAN, D. C., PRAJAPATI, D., An indium mediated efficient chemoselective deoxygenation of N-oxides and nitrones. *Tetrahedron Letters*. **43**:1877-1879. 2002.
99. TASHIRO, M., SIMION, C., SIMION, A., KANDA, T., NAGASHIMA S., MITOMA, Y., YAMADA, T., MIMURA K., *Synthesis of imines, diimines and macrocyclic diimines as possible ligands, in aqueous solution*. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*. **17**: 2071 – 2078. 2001.
100. TANAKA, K., SHIRAISHI, R., *Clean and efficient reactions of aldehydes and amines in a water suspension medium*. *Green Chemistry*. **2**:272-3. 2000.
101. POPOVIC, Z., PAVLOVIC, G., MATKOVIC-CALOGOVIC, D., ROJE, V., LEBAN, I., *On tautomerism of two 5-methoxysalicylaldimine structural isomers in the solid state: structural study of N-(o-*

- hydroxyphenyl)-5-methoxysalicylalimine and N-(m-hydroxyphenyl)-5-methoxysalicylalimine. Journal of Molecular Structure* **615**:23-31. 2002.
102. JAMES, T. D., HARTLEY, J. H., PHILIPS, M. D., *Saccharide-accelerated hydrolysis of boronic acid imines. New Journal of Chemistry.* **26**:1228-1237. 2002.
103. LUO, X. Y., ZHAO, J. Z., LIN, Y. J., LIU, Z. Q., *Antioxidative effect of Schiff bases with-o-hydroxybenzylidene group on free radical induced hemolysis of human red blood cell. Chemical Research in Chinese Universities.* **18(3)**:287-289. 2002. A.
104. GUNER, V., BAYARI, S., *Infrared spectra and AM1 calculations of N-benzylideneanilines. Spectroscopy letters.* **35(1)**: 83-88. 2002.
105. IDE, S., ANCIN, N., OZTAŞ, S. G. , TUZUN, M., SAHIN, E., *Spectral and structural studies of Ni(II) and Zn(II) complexes of N-trans-cinnamylidene-2-mercaptoaniline. Journal of Molecular Structure.* **608**:89-93. 2002.
106. XINFU, X., HUISEN, Y., *A study on fluorescence spectra of Schiff bases. Chemical Journal On Internet.* **5(2)**: 17. 2002.
107. YEAP, GY., HA, ST., ISHIZAWA, N., SUDA, K., BOEY, PL., MAHMOOD, W. A. K., *Synthesis, Crystal structure and spectroscopic study of para substituted 2-hydroxy-3-methoxybenzalideneanilines. Journal of Molecular Structure* **658**:87-99. 2003.
108. EMREGUL, K.C., KURTARAN, R., ATAKOL, O., *An investigation of chloride-substituted Schiff bases as corrosion inhibitors for steel. Corrosion science* **45(12)**: 2803-2817. 2003.

109. CENINI, S., RAGAINI, F., PENONI, A., GALLO, E., TOLLARI, S., LI GOTTI, C., LAPADULA, M., MANGIONI, E., *Amination of benzylic C-H bonds by arylazides catalyzed by Co^{II}-porphyrin complexes: A synthetic and mechanistic study*. Chem. Eur. J. **9**(1):249-59. 2003.
110. CONTRERAS, R., LOEB, B., VALDERRAMA, M., LAGOS, M., BURGOS, F., RAMIREZ, P., CONCEPCION, J., *Synthesis and reactivity of new methylallylpalladium(II) complexes with bidentate 2-(methylthio-N-benzylidene)anilines*. Journal of Organometallic Chemistry **689**:395-404. 2004.
111. NOYANALPAN, N., *Farmasötik ve Medisinal Kimya Ders Kitabı*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi. Ankara 1978.
112. MURRAY, W. J., HALL, L. H., KIER, L. B. *Molecular Connectivity III: Relationship to Partition Coefficients*, J. Pharm. Sci. **64**:1978-81. 1975.
113. HANSCH, C., LEO, A., *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology. Hydrophobic Parameters*. Wiley & Sons, Inc. 1979.
114. LEO, A., JOW. P. Y. C., SILIPO, C., HANSCH, C., *Calculation of Hydrophobic Constant (log P) from and f Constants*, J. Med. Chem. **18**:865-8. 1975.
115. HANSCH, C., DUNN, W. J., *Linear Relationships Between Lipophilic Character and Biological Activity of Drugs*, J. Pharm. Sci. **61**:1. 1972.
116. HANSCH, C., LEO, A., UNGER, S. H., KIM, K. H., NIKAITANI, D., LIEN, E. J., *Aromatic Substituent Constant for structure Activity Correlations*, J. Med. Chem. **16**:1207-26. 1973.

117. HANSCH, C., LIEN, E. J., HELMER, F., Arch. Biochem. Biophys. **128**:319. 1968.
118. LEO, A., HANNSCH, C., CHURCH, C., J. Med. Chem. **12**:766. 1969.
119. REKKER, R. F., DEKORT, H. M., *The hydrophobic fragmental constant, an extension to a 1000 data point set.* Eur. J. Med.-Chim. Ther. **14(6)**:479-88. 1979.
120. QUAYLE, O. R., *The Parachors of Organic Compounds*, Chem. Rev. **53**:439-89. 1953.
121. SUGDEN, S., J. Chem. Soc. **125**:1177. 1924.
122. VOGEL, A. I., Chem. Soc. **133**. 1946.
123. VOGEL, A. I., Chem. Soc. **1833**. 1948.
124. AGIN, D., HERSCH, L., HOLTZMAN, D., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **53**:952. 1965.
125. DUNN, W. J., Eur. J. Med. Chem. **12**:109. 1977.
126. BERKEM, A. R., BAYKUT, S., *Fizikokimya Kitabı*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, Sayı:2735
127. PARKER, G. R., *Correlation of log P with Molecular Connectivity in Hydroxyureas: Influence of conformational system on log P.* J. Pharm. Sci. **67**:513-6. 1978
128. RAY, S. K., BASAK, S. C., RAYCHAUDHORY, C. A. B., GHOSH, J. J., *The utility of information content, hydrophobicity and Van der Waals*

volume in desing of barbiturates and tumor inhibitory triazines. Arzneim. Forsch./Drug Res. 33:352. 1983.

129. BASK, S. C., MAGNUSON, V. R., *Molecular Topology and Narcosis. Arzneim. Forsch./Drug Res. 33:501-3. 1983.*
130. RANDIC, M., *On characterization of molecular branching, J. Am. Chem. Soc. 97:6609-15. 1975.*
131. KIER, L. B., HALL, L. H., *Derivation and significanse of valence molecular connectivity. J. Pharm. Sci. 70:583-9. 1981.*
132. KIER, L. B., HALL, L. H., *Molecular connectivity study of muscarinic reseptor offinity of acetylcholine antagonists. J. Pharm. Sci. 67:1408-12. 1978.*
133. KIER, L. B., MURRAY, W. J., *Molecular connectivity 4 relationships to biological activities. J. Med. Sci. 18:1272-4. 1975.*
134. HALL, L. H., KIER, L. B., *Molecular connectivity and substructure analysis. J. Pharm. Sci. 67:1743-7. 1978.*
135. HALL, L. H., KIER, L. B., *Molecular connectivity. VII. Spesific treatment of heteroatoms. J. Pharm. Sci. 65:1806-9. 1977.*
136. HALL, L. H., KIER, L. B., *Structure-Activity Studies Using Valence Molecular connectivity. J. Pharm. Sci. 66:642-4. 1977.*
137. KIER, L. B., HALL, L. H., *General definition of valence delta values for molecular connectivity. J. Pharm. Sci. 72:1170-3. 1983.*

138. ERDIK, E., *Organik kimyada spektroskopik yöntemler*. Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Ankara. 1993.
139. BALCI, M., *Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi*. ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş. Ankara. 1999.
140. SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C., MORRILL, T., *Spectrometric identification of organic compounds third edition*. John Wiley & Sons, Inc. 1974.
141. MARON, D., AMES, B.N., *Revised methods for Salmonella mutagenicity test*. Mutation Research. **113**:173-215. 1983.
142. DEAN, B. J., BROOKS, T. M., HODSON-WALKER, G., *Genetic toxicology testing of 41 industrial chemical*. Mutation Research. **15**:57-75. 1985.
143. JOSEPHY, P.D., GRUZ, P., NOHMI, T., *Recent advances in the construction of bacterial genotoxicity assays*. Mutation Research. **386**:1-23. 1997.
144. MAMBER, S.W., KOLEK, B., BROOKSHIRE, K.W., BONNER, D.P., FUNG-TOMC, J., *Activity of quinolones in the Ames Salmonella TA102 mutagenicity test and other bacterial genotoxicity assays*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. **37**:213-217. 1993.
145. MORTELMANS, K., ZEIGER, E., *The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay*. Mutation Research. **455**:29-60. 2000.
146. ABMANN, N., EMMRICH, M., KAMPF, G., KAISER, M., *Genotoxic activity of important nitrobenzenes and nitroanilines in the Ames test and*

their structure-activity relationship. Mutation Research. **395**:139-144. 1997.

147. HRELIA, P., FIMOIGNARI, C., MAFFEI, F., BRIGHENTI, B., GARUTI, L., BURNELLI, S., CANTELLI-FORTI, G., *Synthesis, metabolism and structure-mutagenicity relationships of novel 4-nitro-(imidazoles and pyrazoles) in Salmonella typhimurium.* Mutation Research. **397**:293-301. 1998

148. GLENDE, Ć., SCHMITT, H., ERDINGER, L., ENGELHARDT, G., BOCHE, G., *Transformation of mutagenic aromatic amines into non-mutagenic species by alkyl substituents Part I. Alkylation ortho to the amino function.* Mutation research. **498**: 19-37. 2000.

149. LUDOLPH, B., KLEIN, M., ERDINGER, L., BOCHE, G., *The effects of 4' alkyl substituents on the mutagenic activity of 4-amino and 4-nitrostilbenes in Salmonella typhimurium.* Mutation research. **429**:195-209. 2001.

150. CHEN, C.F; HWANG, J.M; WU, C.H; CHEN, C.S; CHEN, K.Y, *Evaluation of a rapid tetrazolium-based colorimetric assay for selecting anticancer drugs.* Zhonghua Yi Xue Za Zhi Chinese Medical Journal ; Free China Ed, **46**:7-16. 1990.

151. ZEYTİNOĞLU, H., İNCESU, Z. and BASER, K.H.C., *Inhibition of DNA Synthesis by Carvacrol in Mouse Myoblast Cells Bearing a Human N-Ras Oncogene,* Phytomedicine, **10** (4), 292-299 (2003).

152. MOSSMAN, T., *Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays,* Journal of Immunological Methods, **65**, 55-63 (1983).

153. LOPREVITE M., FAVONI R. E., CUPIS A., PIRANI P., PIETRA G., BRUNO S., GROSSI F., SCOLARO T., ARDIZZONI A.; *Interaction between novel anticancer agents and radiation in non-small cell lung cancer cell lines*, *Lung Cancer*, **33** (1), 27-39 (2001).



ÖZGEÇMİŞ

20.03.1981 tarihinde Karamanda doğdum. İlk öğrenimimi Kazımkarabekir ilkokulunda tamamladım. 1992 yılında Karaman Anadolu Lisesini kazandım. 1996 yılında bu okulun orta kısmından, 1999 yılında lise kısmından mezun oldum. Aynı yıl Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesini kazandım. 21.07.2003 yılında lisans eğitimimi tamamladım. Yine 2003 yılında Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Kimya Anabilim Dalında tezli yüksek lisansa başladım. Halen Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım.

