

İlaç Hammaddesi Olarak Sentezlenen Elektrofilik ve Nonelektrofilik Fenolik Schiff Bazlarının Umu Test Sistemi ile Genotoksik Aktivitesinin Araştırılması

Emre Ceyhan^{1,*}, Ayşe Mercangöz¹, Nimet Karakoç² ve Sevim Bilgiç²

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, 26480 Eskişehir, Turkey

²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Kimya Bölümü, 26480 Eskişehir, Turkey

* Corresponding author: eceyhan@ogu.edu.tr

Özet. Bu çalışmamızda Üniversitemiz Kimya Bölümü laboratuvarlarında sentez ettiğimiz ve ilaç hammaddesi olarak kullanılmasını amaçladığımız fenolik Schiff bazlarının bir grubunu oluşturan **A maddesi** 2-(N-feniliminometil)-fenol, **B maddesi** 2-(N-p-bromofeniliminometil)-fenol, **C maddesi** 2-(N-p-metilfeniliminometil)-fenol, **D maddesi** 2-(N-p-anilinfeniliminometil)-fenol'ü mutajenik aktiviteleri açısından kısa zamanlı genotoksisite testlerinden olan umu-test sistemi ile araştırdık. Umu-test yöntemi kalometrik bakteriyel bir test sistemidir ve DNA hasarı ile indüklenen SOS cevabı esas alınarak geliştirilmiştir. A, B, C, D maddeleri ve bunların DMSO'de çözülerek hazırlanan 5 farklı doz seviyelerindeki deney materyalleri galaktozidaz enzim aktivitesini artırmamıştır. Sonuçlar enzim ünite hesaplama formülüne göre hesaplanınca pozitif mutajen olan 4NQO maddesinin ünite değerinden fazla çıkmamıştır. Sonuçlar ayrıca istatistiki olarak da değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler. Umu, genotoksisite, mutajenite, fenolik Schiff bazı.

Abstract. In this work, we investigated, through a short-term genotoxicity experiment, the umu-test, the mutagenic activities of a group of phenolic Schiff bases, namely **Material A** 2-(N-phenyliminomethyl)-phenol, **Material B** 2-(N-p-bromophenyliminomethyl)-phenol, **Material C** 2-(N-p-methylphenyliminomethyl)-phenol and **Material D** 2-(N-p-anilinephenyl iminomethyl)-phenol, the substances which we synthesized, in the chemistry laboratories of our university, to form the raw materials of medicines. The umu-test method is a colorimetric bacterial test system and has been developed on the basis of SOS response induced by DNA damage. Materials A, B, C and D and the experimental materials prepared in 5 different dose levels by dissolving these materials in DMSO have not increased the galactosidase enzyme activity. When calculated with respect to the enzyme unit calculation formula, results seemed to be not larger than the unit value of the positive mutagenic material 4NQO. Results have also been evaluated statistically.

Keywords. Umu, genotoxicity, mutagenicity, phenolic Schiff base.

1. Giriş

Çevremizde bulunan ve biyolojik etkileri henüz bilinmeyen sayıları milyonları bulan sentetik ve doğal maddelerin kanserojenik potansiyelleri açısından test edilmesi sağlık açısından önemlidir [1]. Gelişen teknoloji insanlara rahatlığı sunmasının yanısıra çok önemli bir sorun olan çevre kirliliğini de beraberinde getirmektedir. Doğadaki tüm canlılar günlük yaşamda doğal yada yapay birçok kimyasal maddeyle yüz yüze gelmektedir. Bu kimyasal maddelerin bir kısmının mutajenik ve kanserojenik olduğu bilinmektedir [2]. Günümüzde insan sağlığında biyolojik, genetik, fiziksel yapı gibi faktörlerin yanısıra çevresel faktörlerin de önemli yeri vardır. Çevresel faktörlerin kalıtımsal doğum bozukluklarına, yaşlanmaya, katarakta, gelişimsel bozukluklara neden olmalarının yanısıra kanserin temel nedeni olduklarına ilişkin hipotez gün geçtikçe destek kazanmaktadır [3]. Kimyasal maddelerin karsinojenik etkisini ortaya çıkarmak için en iyi yaklaşım deney hayvanlarında tümör indüksiyonudur. Ancak bu testlerin sonuçlanması uzun zaman almakta ve uygulamaları da pahalı olmaktadır [3, 4]. Bu nedenle araştırmacılar kanser taramalarında esas olabilecek kısa zamanda sonuç verebilen ve uygulaması ucuz test sistemleri geliştirmişlerdir [4].

Kısa zamanlı test sistemlerinden yaygın olarak kullanılanlar bakteriyel mutajenik testlerdir. Bakteriyel testlerin tercih nedeni bakterilerin basit üreme ortamlarında hızla üremeleri, basit, çabuk ve ucuz uygulanabilir olmalarıdır [5, 6]. Bununla birlikte kısa zamanlı test sistemlerinin hiç biri tek başına yeterli değildir. Çünkü bu testlerin her biri sadece birkaç mutajen tipini tanımlayabilmektedir. Bu nedenle kısa zamanlı farklı testlerin birbirini izleyen bir sıra içinde kullanılmaları birçok bilim adamları tarafından tercih edilmektedir [6, 7, 8]. Hayvan karsinojite deneylerinin yerine geçebilecek nitelikte tek bir test sistemi bulunmadığından kimyasalların mutajenik ve kanserojenik güçlerini ortaya çıkarabilmek için bakterilerde, böceklerde ve tüm memeli hücrelerinde DNA hasarı, kromozom değişim ve hücre dönüşümü gibi çeşitli sonuçlar doğuran kısa zamanlı çeşitli testlerin bir arada kullanımı önerilmektedir [9, 10, 11]. Bu nedenle bizler çalışmamızda ilaç hammaddesi olarak kullanılması düşünülen elektrofilik ve nonelektrofilik özellik taşıyan bazı fenolik Schiff bazlarının genotoksik etkilerini kısa zamanlı bakteriyel test sistemlerinden umu test sistemi ile saptamaya çalıştık.

2. Materyal ve Metod

2.1. Materyal.

Fenolik Schiff bazları. Kimyasallarımız Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyeleri tarafından ilaç hammaddesi amacı ile sentezlenmiştir. Bunlar **A maddesi** 2-(N-feniliminometil)-fenol, **B maddesi** 2-(N-para-bromofeniliminometil)-fenol, **C maddesi** 2-(N-para-metiliminometil)-fenol, **D maddesi** 2-(N-p-anilinfeniliminometil)-fenol'dür.

Sentezlenmesi. Bileşiklerimiz Sawich ve çalışma arkadaşlarının (1956) yöntemine göre salisil aldehit (12,2 g/0,1 mol) ethanoldeki (30 ml) çözeltisine para konumda brom, metil ve amino bağlı anilinin (10,9 g/0,1 mol) ethanoldeki çözeltisi (20 ml) oda sıcaklığında 1 saatte yavaş yavaş ilave edilerek sarı kristallerin oluşması sağlanmıştır. Bileşiklerimizin U.V. ve I.R. spektrumu ile sentezleri doğrulandı. Aşağıda sentezlediğimiz maddelere ait spektrum bilgileri verilmiştir. Aşağıda bileşiklere ait açık yapılar ve fiziksel özellikler verilmiştir. Beş maddenin beş ayrı dozu (10 μ g, 100 μ g, 1000 μ g, 2500 μ g ve 5000 μ g) DMSO'de çözülerek deneylerde kullanılmıştır.

A Maddesi: 2-(N-feniliminometil)-fenol (C₁₃H₁₁NO)

I.R. spektrumu (KBr), ν_{\max} : 1616 (-CH=N-piki), 1588, 1972, 1484 cm⁻¹, (aromatik halkaya ait pikler).

I.R. spektrumu (CHCl₃), ν_{\max} : 1620 (-CH=N-piki), 1594, 1528, 1484 cm⁻¹, (aromatik halkaya ait pikler).

U.V. spektrumu (n-hekzan), λ_{\max} : 338,8 (0,310), 317,2 (0,274), 301,2 (0,259), 268,4 (0,360), 226,8 (0,543), 192,8 nm (0,761 abs).

OH⁻, λ_{\max} : 338,8 (0,292), 317,2 (0,266), 300,4 (0,264), 268,0 (0,364), 221,2 (0,623), 196,0 nm (0,683 abs).

H⁺, λ_{\max} : 399,2 (0,226), 258,4 (0,555), 195,2 nm (0,644 abs).

U.V. spektrumu (CHCl₃), λ_{\max} : 330,4 (0,392), 318,4 (0,366), 300,0 (0,339), 270,0 (0,425), 240,0 nm (0,407 abs).

OH⁻, λ_{\max} : 338,8 (0,372), 318,4 (0,347), 302,3 (0,322), 270,0 (0,403), 240,0 (0,383), 220,4 nm (0,064 abs).

H⁺, λ_{\max} : 398,8 (0,326), 328,8 (0,485), 260,4 (0,188), 248,4 (0,207), 241,6 nm (0,219 abs).

U.V. spektrumu (MeOH), λ_{\max} : 362,0 (0,332), 272,4 (0,429), 234,8 (0,678), 217,6 nm (0,023 abs).

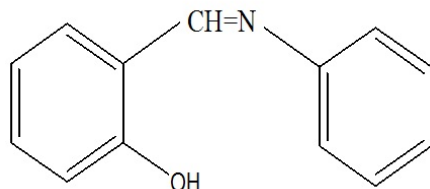
OH⁻, λ_{\max} : 376,0 (0,199), 265,6 (0,0271), 236,0 nm (0,593 abs).

H⁺, λ_{\max} : 334,4 (0,149), 256,0 (0,339), 222,4 (-0,004), 214,0 (-0,012), 206,0 nm (0,000 abs).

U.V. spektrumu (H₂O), λ_{\max} : 255,2 nm (0,086 abs).

OH⁻, λ_{\max} : 267,6 nm (0,077 abs).

H⁺, λ_{\max} : 256,8 (0,083), 192,8 nm (2,633 abs). **Verim:** %75. **Erime noktası:** 48°C.



B maddesi: 2-(N-p-Bromofeniliminometil)-fenol (C₁₃H₁₀NOBr)

I.R. spektrumu (KBr), ν_{\max} : 1618 (-CH=N- piki), 15688, 1496, 1454, 760 cm⁻¹ (aromatik halkaya ait pikler).

I.R. spektrumu (CHCl₃), ν_{\max} : 1620 (-CH=N-piki) 1574, 1496, 1454, 760 cm⁻¹ (aromatik halkaya ait pikler).

U.V. spektrumu (n-hekzan), λ_{\max} : 345,6 (0,214), 321,6 (0,203), 308,0 (0,191), 270,4 (0,244), 228,8 (0,352), 221,6 (0,351), 194,0 nm (0,679 abs).

OH⁻, λ_{\max} : 344,4 (0,201), 320,8 (0,199), 270,0 (0,287), 198,8 nm (1,949 abs).

H⁺, λ_{\max} : 259,2 (0,727), 197,2 nm (0,204 abs).

U.V. spektrumu (CHCl₃), λ_{\max} : 344,0 (0,445), 322,0 (0,428), 272,0 (0,442), 240,0 nm (0,448 abs).

OH⁻, λ_{\max} : 343,2 (0,423), 322,4 (0,404), 271,6 (0,418), 240,4 (0,424), 220,0 nm (0,069 abs).

H⁺, λ_{\max} : 405,2 (0,23), 338,4 (0,360), 280,0 (0,160), 256,0 (0,304), 221,6 nm (0,021 abs).

U.V. spektrumu (MeOH), λ_{\max} : 380,0 (0,514), 279,2 (0,601), 236,0 nm (0,899 abs).

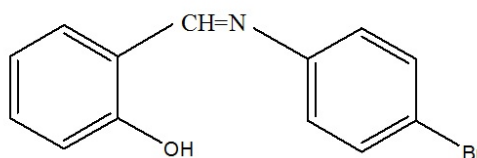
OH⁻, λ_{\max} : 376,0 (0,283), 298,0 (0,147), 238,0 nm (1,046 abs).

H^+ , λ_{max} : 322,0 (0,210), 252,8 nm (0,630 abs).

U.V. spektrumu (H_2O), λ_{max} : 270,0 nm (0,080 abs).

OH^- , λ_{max} : 270,0 (0,080), 198,0 nm (2,992 abs).

H^+ , λ_{max} : 392,8 (0,043), 256,8 (0,097), 193,2 nm (2,711 abs). **Verim:** %80. **Erime noktası:** 108-109°C.



C maddesi: 2-(N-p-metilfeniliminometil)-fenol ($\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}$)

I.R. spektrumu (KBr), ν_{max} : 1620 (-CH=N-piki), 1598, 1510, 1458, 760 cm^{-1} (aromatik halkaya ait pikler).

I.R. spektrumu (CHCl_3), ν_{max} : 1622 (-CH=N-piki), 1602, 1522, 1478, 760 cm^{-1} (aromatik halkaya ait pikler).

U.V. spektrumu (n-hekzan), λ_{max} : 343,6 (0,164), 339,2 (0,165), 320,8 (0,151), 304,4 (0,135), 268,8 (0,165), 224,0 (0,258), 193,6 nm (0,618 abs).

OH^- , λ_{max} : 343,2 (0,162), 338,8 (0,163), 319,2 (0,151), 302,8 (0,142), 268,4 (0,187), 194,4 nm (1,108 abs).

H^+ , λ_{max} : 264,0 (0,467), 196,0 nm (1,647 abs).

U.V. spektrumu (CHCl_3), λ_{max} : 343,6 (0,258), 322,0 (0,239), 210,4 (0,233), 240,4 (0,274), 217,2 (0,029), 212,8 (0,029), 212,8 nm (0,029 abs).

OH^- , λ_{max} : 343,2 (0,245), 322,0 (0,229), 270,4 (0,226), 240,4 nm (0,264 abs).

H^+ , λ_{max} : 402,8 (0,263), 338,8 (0,301), 276,4 (0,139), 254,4 (0,136) 240,4 nm (0,161 abs).

U.V. spektrumu (MeOH), λ_{max} : 351,6 (0,389), 317,2 (0,158), 302,4 (0,349), 272,8 (0,427), 234,4 (0,679), 216,0 nm (0,089 abs).

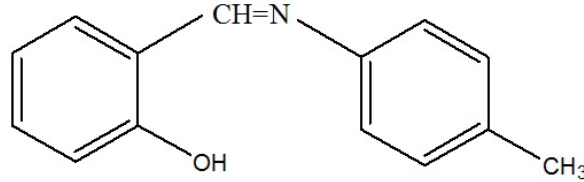
OH^- , λ_{max} : 351,6 (0,314), 318 (0,280), 302,8 (0,269), 267,2 (0,364), 236,0 (0,540), 221,2 (0,034), 215,2 nm (0,034 abs).

H^+ , λ_{max} : 438,8 (0,041), 339,6 (0,432), 320,0 (0,401), 267,6 (0,363), 233,2 (0,485), 213,6 nm (0,061 abs).

U.V. spektrumu (H_2O), λ_{max} : 255,2 nm (0,080 abs).

OH^- , λ_{max} : 271,6 nm (0,078 abs).

H^+ , λ_{max} : 318,4 (0,057), 256,0 nm (0,109 abs). **Verim:** %80. **Erime noktası:** 105°C.



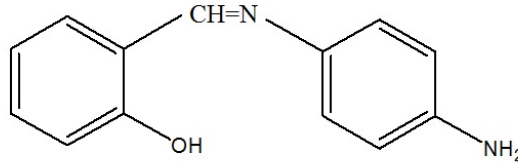
D maddesi: 2-(N-p-anilinfeniliminometil)-fenol ($\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$)

I.R. spektrumu (KBr), ν_{max} : 3250-3400 (NH_2), 3040 (aromatik C-H), 1620 (C=N), 1500-1580 (aromatik bölge), 1283 (C-O), 1189 (C-N), 835 (para yarılmaması), 749 (orto yarılmaması) cm^{-1} .

U.V. spektrumu (n-hekzan), λ_{max} : 293 (0,494), 280 (0,460) nm.

OH^- , λ_{max} : 375 (0,280), 292 (0,170) nm.

H^+ , λ_{max} : 250 (0,392), 240 (0,378) nm.



Deneyde kullanılan diğer kimyasallar. 4-nitroquinoline n-oxide (4NQO), O-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside (ONPG), 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactoside (Xgal), sodium dodecyl sulfate (SDS) ve yeast extract Sigma'dan, ampicillin ve chloramphenicol Fuluka'dan, dimethyl sulfoxide (DMSO), chloroform ve β -mercaptoethanol Merck'ten sağlanmıştır. Ayrıca besi yeri olarak LB broth (Luria-Bertoni), TGA broth (tryptone glucose ampicillin), M63 ortamı (minimal agarlı ortam), STA ortamı ve ONPG çözeltisi kullanılmıştır.

Bakteri suşları. *Salmonella thyphimurium* NM 2009 suşu normalin üstünde O-asetiltransferaz (O-AT) aktivitesine sahiptir. Bu suş, O-AT geninin vektör bir plazmid olan pACYC 184 içine subklonlanmasıyla oluşturulan pMN12 plazmidinin, TA 1535/pSK 1002 içine yerleştirilmesiyle oluşturulmuştur. *Salmonella thyphimurium* NM 3009 ise, normalin üzerinde O-AT ve nitroreduktaz (NR) aktivitesine sahip olan bir suştur. Bu suş hem O-AT hem de NR genlerinin vektör plazmidde

(pACYC) subklonlanmasıyla oluşan pNM13 plazmidinin TA 1535/pSK 1002 içine yerleştirilmesiyle oluşturulmuştur. NM 3009 suşu atasal olan suşa göre O-AT aktivitesi açısından 13 misli NR aktivitesi açısından ise 3 misli yüksek aktiviteye sahip olduğu için nitroarenlerin genotoksik etkisini saptamada çok büyük bir duyarlılık gösterir [11, 12, 13].

2.2. Metod. Deneyimize geçmeden önce fenolik Schiff bazlarının sitotoksik etkileri araştırıldı. Belirlenen doz üst sınır kabul edildi, altındaki dozlarla deney yürütüldü. Diğer yandan deneyde kullandığımız suşların genetik kontrolleri yapıldı ve deneylere başlandı.

Sitotoksik etkinin saptanması. Umu test sisteminde kullanılan iyotlu naftolik Schiff bazlarının çeşitli dozları bakteri kültürü ile inkübe edildikten sonra optik dansitesi 600 (OD₆₀₀)’de bakteri yoğunluğu okundu ve kontrole göre yoğunluğu düşüren dozlar sitotoksik olarak tanımlandı [12, 13, 14].

β -galaktosidaz, nitroredüktaz, asetiltransferaz, asetilkolinesteraz aktivitelerinin ölçülmesi. β -galaktosidaz aktivitesi Quillardet ve Hofnung (1985)’ın yöntemine göre saptandı [2]. Buna göre β -galaktosidaz aktivitesinin ölçülmesi için ayrılan tüplere 1,35 ml Z tamponu eklenerek 37 °C lik su banyosunda 5-10 dakika inkübasyonla sıcaklığın eşit olması sağlandıktan sonra ONPG (4mg/ml) çözeltisinden 0,3 ml eklenerek reaksiyon başlatıldı. Renk oluşumu için uygun bir süre (10-120 dakika) beklendikten sonra her tüpe 1 M Na₂CO₃ çözeltisinden 1 ml eklenerek reaksiyon durduruldu. Test tüpleri 420 nm’de okundu ve bu değerler ünite hesaplarında kullanıldı [12, 13, 14].

Nitroredüktaz, asetiltransferaz, asetilkolinesteraz enzimlerinin aktiviteleri ise Hein ve ark.’nın metoduna göre yapıldı [15]. Bu metoda göre *S. typhimurium* NM 2009 ve *S. typhimurium* NM 3009 suşlarının üzerine reaksiyon karışımı final hacim 90 μ l olacak şekilde 66 mM potasyum fosfat buffer (pH 7,25), A, B, C, D kimyasallarının beş farklı dozu sırasıyla ilave edildi. Son karışım 10000 x g’de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant içerisindeki bakteriyal lizata dithioeritrol eklenerek 5 dakika 37 °C inkübasyon gerçekleştirildi. Azalan absorbanlar 303 nm’de okundu sırasıyla nitroredüktaz, asetiltransferaz, asetilkolinesteraz enzimlerinin aktiviteleri hesaplanarak sitotoksik doz belirlendi. Ayrıca total protein konsantrasyonu Lowry’nin metoduna göre belirlendi [16].

Deneyin yapılışı. *S. typhimurium* NM 2009 ve *S. typhimurium* NM 3009 suşlarının donmuş örneklerinden 0,1 ml alınarak, 20 ml LB broth içinde 1 gece inkübe edildi. Gecelik kültür TGA broth ile 1/50 kez dilüe edilerek, 175 rpm'de 37 °C de OD₆₀₀ değeri 0,25 ile 0,3 olana kadar inkübe edildi. Daha sonra bu kültürlerin 0,9 ml'si steril bir tübe aktarıldı üzerine 30 µl fenolik Schiff bazlarından (beş ayrı doz ve beş farklı türevi) ilave edildi ve 3,5 saat inkübe edildi. 0,2 ml kültür içeren her tüpe 1,8 ml Z tamponu, 50 µl %0,1'lik SDS ve 10 µl saf kloroform eklenerek vortekslendi. Ardından reaksiyonu başlatmak için ortama 0,2 ml ONPG (4 mg/ml) çözeltisi eklendi ve tekrar vortekslendi. Renk oluşumu için 37 °C su banyosunda belirli bir süre bekletildikten sonra (10-60 dakika) reaksiyon 1 ml 1 M Na₂CO₃ çözeltisi ile durduruldu. Test tüpleri 420 ve 550 nm'de okundu ve bu değerler,

t = reaksiyon süresi (dakika)

v = kültürün miktarı (mililitre olarak)

A_{600} = 600 nm de okunan kültürün yoğunluğu

olmak üzere,

$$\text{Ünite} = 1000 \times \frac{A_{420} - 1,75 \times A_{550}}{t \times v \times A_{600}}$$

formülünde yerlerine konularak ünite hesaplamaları yapıldı.

Sonuçta ışık dağılımını kompanse etmek için bir düzeltme faktörü kullanılarak, O-nitrofenolün absorbansını doğru olarak hesaplayabiliriz. β -galaktosidaz aktivitesinde kontrole göre en az 2 katlık bir artışın gözlenmesi, umu-test sisteminde, kimyasalın genotoksisite açısından pozitif olarak değerlendirilebileceğini gösterir [11, 12, 13, 14].

3. Bulgular

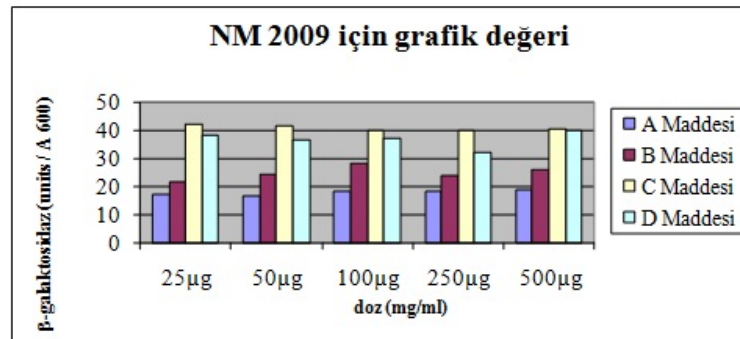
Umu test sistemi uyguladığımızda aldığımız değerler formülde yerine konup hesaplandı. Sonuçlar Tablo 1'de ve Şekil 1-3'te verildi. Değerlendirmeler hem dozlara hem de fenolik Schiff bazların kimyasal yapı ve konumlarına göre yapıldı.

4. Tartışma ve Sonuç

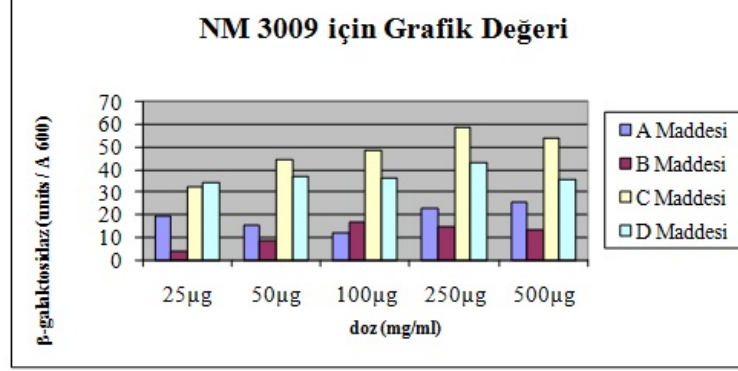
Organik kimya alanında yeni sentezlenen bileşiklerin sayısında gün geçtikçe bir artış vardır. Yeni sentez edilen bileşikler ilaç yapımında ve günlük kullanım olarak temiz-

TABLO 1. Fenolik Schiff bazlarının umu test sistemi ile verdikleri sonuçlar.

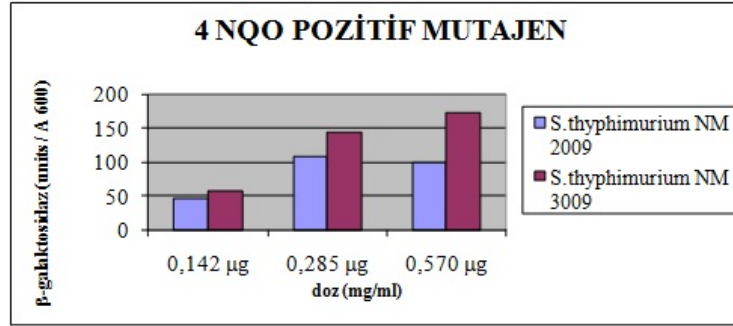
		NM 2009	NM 3009
A Maddesi 2-(N-feniliminometil)-fenol	500 μg	18,92867397	25,27439659
	250 μg	18,42873902	22,9493297
	100 μg	18,34760928	12,12811172
	50 μg	16,41545092	15,39734668
	25 μg	16,7986168	19,55530573
B Maddesi 2-(N-p-bromofeniliminometil)-fenol	500 μg	26,09981393	13,55231551
	250 μg	23,78403886	14,73026045
	100 μg	28,03186781	16,44295631
	50 μg	24,34004326	8,726124195
	25 μg	21,42755783	3,990147234
C Maddesi 2-(N-p-metilfeniliminometil)-fenol	500 μg	40,30889341	53,76121463
	250 μg	39,97972425	59,00794984
	100 μg	39,51617912	48,60232624
	50 μg	41,62534299	44,46591359
	25 μg	41,84835271	32,58092622
D Maddesi 2-(N-p-anilinfeniliminometil)-fenol	500 μg	39,94993798	35,50502232
	250 μg	32,22409436	43,31514904
	100 μg	37,04851546	36,26665261
	50 μg	36,36376613	37,08126502
	25 μg	37,87714544	34,31026365
4 NQO Pozitif Mutajen	0,142 μg	45,97	56,98
	0,285 μg	108,13	144,49
	0,570 μg	98,1	172,4

ŞEKİL 1. A,B,C,D maddelerinin *S. typhimurium* NM 2009 suşları ile verdikleri doz cevap grafikleri.

lik alanında, kozmetik alanında bizlere sunulmaktadır. Ancak bu bileşiklerin biyolojik aktiviteleri hakkında bilgilerimiz sınırlıdır. Laboratuvarımızda sentez edilen maddelerimiz Schiff bazlarının bir sınıfını teşkil etmekte ve elektrofilik ve non elektrofilik özellik taşıyan fenolik Schiff bazlarından oluşmaktadır. Preparatif amaçla yapılan bu



ŞEKİL 2. A,B,C,D maddelerinin *S. typhimurium* NM 3009 suşları ile verdikleri doz cevap grafikleri.



ŞEKİL 3. Pozitif mutajen olarak kullanılan 4NQO maddesinin *S. typhimurium* NM2009 ve *S. typhimurium* NM3009 suşları ile verdiği doz cevap eğrisi.

bileşikler yapılarında **A maddesi** 2-(N-feniliminometil)-fenol bileşiğinde fenil halkasına herhangi bir grup bağlı değildir. **B maddesi** 2-(N-p-bromofeniliminometil)-fenol fenil halkasına bağlı para konumlu brom bulundurur. **C maddesi** 2-(N-p-metilfeniliminometil)-fenol fenil halkasına bağlı para konumlu metil grubu bulundurur. **D maddesi** 2-(N-p-anilinfeniliminometil)-fenol fenil halkasına bağlı para konumlu anilin grubu bulundurur. Bu bileşikler bağlı bulunan gruplara göre etkinlik kazanmıştır. Anilin (NH₂) ve metil grupları halkayı aktive eder ve non elektrofilik özellik gösterir. Çiftlenmemiş elektron yoğunluğu vardır. Para konumlu brom ise elektron azlığı vardır ve kuvvetli bir elektrofilik özellik gösterir. Halkanın etkinliğini azaltır. Fenolik Schiff bazlarının kısa zamanlı testlerden umu test ile sınanması sonucu kullanılan bakteri sistemlerine farklı cevaplar vermemiştir. Bakteri sisteminde *S. typhimurium* NM2009 ve *S. typhimurium* NM3009 mutant suşları kullanılmıştır. Burada bileşiklerimizin hiç biri bakterilerin makromoleküller

DNA'sı ile reaksiyona girmemiş ve onların gen yapılarına etki edip enzim sentezini artırmamıştır. Başka çalışmalarda metil grubunun mutajen olduğu vurgulanmış [17, 18, 19, 20], daha başka çalışmalarda ise fenol'ün de tek başına mutajenlik yaratacağı ortaya konulmuştur [21, 22, 23]. Bileşiklerimiz direkt mutajen etkili çıkmamıştır. Ancak bu maddelerin genotoksik olmadığını ortaya koymaz. Bu çalışmalarımız başka deneylerle devam edecektir.

Kaynaklar

- [1] H. Bagci, J. H. Stuy, Bromouracil-induced mutagenesis in a mismatch-repair-deficient strain of *Haemophilus influenzae*, *Mutat. Res.* **73** (1994), 15–19.
- [2] P. Quillardet and M. Hofnung, The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures, *Mutat. Res.* **147** (1985), 65–78.
- [3] D. Forman, Ames, the Ames test, and the causes of cancer, *BMJ* **303** (1991), 428–429.
- [4] B. N. Ames, Mutagenesis and carcinogenesis: Endogenous and exogenous factors, *Environ. Mol. Mutagen.* **14** (1989), 66–77.
- [5] P. Einistö, M. Watanabe, M. Jr. Ishidate, T. Nohmi, Mutagenicity of 30 chemicals in *Salmonella typhimurium* strains possessing different nitroreductase or O-acetyltransferase activities, *Mutat. Res.* **259** (1991), 95–102.
- [6] R. Vikse, A. Knapstad, L. Klungsøyr and S. Grivas, Mutagenic activity of the methyl and phenyl derivatives of the food mutagen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoxaline (IQx) in the Ames test, *Mutat. Res.* **298** (1993), 207–214.
- [7] M. Manneberg, W. Lahm and M. Fountoulakis, Quantification of cysteine residues following oxidation to cysteic acid in the presence of sodium azide, *Anal. Biochem.* **231** (1995), 349–353.
- [8] J. S. Fisherman, B. L. Osborn, H. G. Chun, J. Plowman, A. C. Smith, M. C. Christian, D. S. Zaharko and R. H. Shoemaker, Chloroquinoxaline sulfonamide: A sulfanilamide antitumor agent entering clinical trials, *Invest. New Drugs* **11** (1993), 1–9.
- [9] N. S. Habib and S. A. el-Hawash, Synthesis and antimicrobial testing of thiazoliny-, thiazolidinonyl-quinoxalines and 1,2,4-triazolo[4,3-a]quinoxalines, *Pharmazie* **52** (1997), 594–598.
- [10] J. B. Sutherland, F. E. Evans, J. P. Freeman and A. J. Williams, Biotransformation of quinoxaline by *Streptomyces badius*, *Lett. Appl. Microbiol.* **22** (1996), 199–201.
- [11] Y. Oda, H. Yamazaki, M. Watanabe, T. Nohmi and T. Shimada, Highly sensitive umu test system for the detection of mutagenic nitroarenes in *Salmonella typhimurium* NM3009 having high O-acetyltransferase and nitroreductase activities, *Environ. Mol. Mutagen.* **21** (1993), 357–364.
- [12] Y. Oda, H. Yamazaki and T. Shimada, Role of human N-acetyltransferases, NAT1 or NAT2, in genotoxicity of nitroarenes and aromatic amines in *Salmonella typhimurium* NM6001 and NM6002, *Carcinogenesis* **20** (1999), 1079–1083.

- [13] Y. Oda, H. Yamazaki, M. Watanabe, T. Nohmi and T. Shimada, Development of high sensitive umu test system: rapid detection of genotoxicity of promutagenic aromatic amines by *Salmonella typhimurium* strain NM2009 possessing high O-acetyltransferase activity, *Mutat. Res.* **334** (1995), 145–156.
- [14] G. Reifferscheid and J. Heil, Validation of the SOS/umu test using test results of 486 chemicals and comparison with the Ames test and carcinogenicity data, *Mutat. Res.* **369** (1996), 129–145.
- [15] D. W. Hein, M. Hirata, I. B. Glowinski and W. W. Weber, Biochemical evidence for the coexistence of monomorphic and polymorphic N-acetyltransferase activities on a common protein in rabbit liver, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **220** (1982), 1–7.
- [16] O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough, A. L. Farr and R. J. Randall, Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.* **193** (1951), 265–275.
- [17] K. T. Bogen, Applicability of alternative models of revertant variance to Ames-test data for 121 mutagenic carcinogens, *Mutat. Res.* **322** (1994), 265–273.
- [18] L. Dalgaard, R. K. Hjortkjaer, B. Regnier and L. Nordholm, Pharmacokinetics of the neuroprotective glutamate antagonist NBQX (6-nitro-7-sulfamoyl-benzo(f)quinoxaline-2,3-dione) in mice, rats, and dogs. Interactions with probenecid, *Drug Metab. Dispos.* **22** (1994), 289–293.
- [19] C. Sengstag C and F. E. Würgler, DNA recombination induced by aflatoxin B1 activated by cytochrome P450 1A enzymes, *Mol. Carcinog.* **11** (1994), 227–235.
- [20] N. Shibuya, T. Ohta, H. Nakadaira, H. Mano, K. Endoh and M. Yamamoto, Mutagenicity of activated carbon adsorbate of drinking water in the Ames assay, *Tohoku J. Exp. Med.* **171** (1993), 89–95.
- [21] L. D. Claxton, J. Creason, B. Leroux, E. Agurell, S. Bagley, D. W. Bryant, Y. A. Courtois, G. Douglas, C. B. Clare, S. Goto, P. Quillardet, D. R. Jagannath, K. Kataoka, G. Mohn, P. A. Nielsen, T. Ong, T. C. Pederson, H. Shimizu, L. Nylund, H. Tokiwa, G. J. Vink, Y. Wang and D. Warshawsky, Results of the IPCS collaborative study on complex mixtures, *Mutat. Res.* **276** (1992), 23–32.
- [22] S. Monarca, R. Pasquini and P. Arcaleni, Detection of mutagens in unconcentrated and concentrated drinking water supplies before and after treatment using a microscale fluctuation test, *Chemosphere* **14** (1985), 1069–1080.
- [23] M. Font, A. Monge, E. Alvarez, A. Cuartero, M. J. Losa, M. J. Fidalgo, C. SanMartín, E. Nadal, I. Ruiz, I. Merino, J. J. Martínez-Irujo, E. Alberdi, E. Santiago, I. Prieto, J. J. Lasarte, P. Sarobe and F. Borrás, Synthesis and evaluation of new Reissert analogs as HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. 1. Quinoline and quinoxaline derivatives, *Drug Des. Discov.* **14** (1997), 305–332.