

BAZI AROMATİK AMİNLERİN FORMALDEHİT İLE
MİKRODALGA YÖNTEMİ KULLANARAK
MANNİCH BAZI SENTEZİ VE GLOKOM ENZİM
AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

Melek YILMAZ

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Eylül-2012

BAZI AROMATİK AMİNLERİN FORMALDEHİT İLE MİKRODALGA YÖNTEMİ
KULLANARAK MANNİCH BAZI SENTEZİ VE GLOKOM ENZİM AKTİVİTESİNİN
İNCELENMESİ

Melek YILMAZ

Dumlupınar Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği Uyarınca
Kimya Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Bülent BÜYÜKKIDAN

Eylül – 2012

KABUL ve ONAY SAYFASI

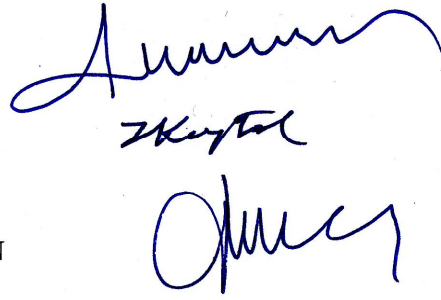
Melek YILMAZ'ın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “BAZI AROMATİK AMİNLERİN FORMALDEHİT İLE MİKRODALGA YÖNTEMİ KULLANARAK MANNİCH BAZI SENTEZİ VE GLOKOM ENZİM AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ” başlıklı bu çalışma, jürimizce Dumlupınar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğın ilgili maddeleri uyarınca değeriendirilerek kabul edilmiştir.

08 /10 /2012

Üye : Doç. Dr. Metin BÜLBÜL

Üye : Doç. Dr. Zeki KARTAL

Üye : Yrd. Doç. Dr. Bülent BÜYÜKKIDAN



Fen Bilimleri Enstitüsünün Yönetim Kurulu'nun ... / ... /2012 gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan GÖÇMEZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BAZI AROMATİK AMİNLERİN FORMALDEHİT İLE MİKRODALGA YÖNTEMİ KULLANARAK MANNİCH BAZI SENTEZİ VE GLOKOM ENZİM AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ

Melek YILMAZ

Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2012

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Bülent BÜYÜKKIDAN

ÖZET

Mannich bazı yeni bileşiklerin sentezinde önemlidir. Mannich bazı doğrudan veya ara ürün olarak kullanılabilir. Mannich reaksiyonu aktif hidrojen taşıyan bir bileşik ile formaldehit ve bir 1⁰ veya 2⁰ amin varlığında gerçekleşir.

Mannich bazlarının en önemli uygulamaları ilaç kimyası (antineoplastik ilaçlar, analjezikler, antibiyotikler), polimer kimyası, yüzey aktif maddeleridir. Ayrıca Mannich bazı iyi bir kimyasal ve solventtir.

Bu çalışmada kısa, etkili ve yeni bir yöntem olan mikrodalga yöntemi ile N,N'-bis (2,3-dimetilfenil) metandiamin, N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin, N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin, N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin sentezlendi. Sentezlenen bu Mannich bazlarının yapıları ¹³C-NMR, ¹H-NMR ve FT-IR yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Ayrıca bu Mannich bazlarının glokom enzim aktivitesi incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Enzim Aktivitesi, Glokom, Mannich Bazı, Mikrodalga.

MICROWAVE METHOD OF FORMALDEHYDE WITH SOME AROMATIC AMINES MANNICH SOME ENZYME ACTIVITY USING SYNTHESIS AND GLAUCOMA INVESTIGATION

Melek YILMAZ

Chemistry Department, M. S. Thesis, 2012

Thesis Supervisor: Asst. Prof. Bülent BÜYÜKKIDAN

SUMMARY

Mannich is important in the synthesis of some new compounds. Also can be used directly or as intermediates in some Mannich. Mannich reaction of formaldehyde with an active hydrogen-bearing compound and an amine in the presence of either 1⁰ or 2⁰ occurs.

Mannich bases, the most important applications in pharmaceutical chemistry (antineoplastic drugs, analgesics, antibiotics), polymer chemistry, surface active agents. In addition, some of the good chemical and solvent Mannich.

In this study, short, efficient, and a new method, the microwave method and the N,N'-bis(2,3-dimethylphenyl) metandiamin, N-(2-fluorophenyl)-N-o-tolylmetandiamin, N-(4-fluorophenyl)-N-o-tolylmetandiamin, N, N, N', N'-tetrabenzylmetandiamin synthesized. Mannich bases of the synthesized structures that ¹³C-NMR, ¹H-NMR and FT-IR is illuminated by the methods. In addition, Mannich bases, glaucoma, enzyme activity was investigated.

Keywords: Enzyme activity, Glaucoma, Mannich Bases, Microwave.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Yrd. Doç. Dr. Bülent BÜYÜKKIDAN' a, deneysel çalışmalarımın yönlendirilmesinde ve yorumlanmasında yardımcı olan Değerli Hocam Yrd. Doç. Dr. Nurgün BÜYÜKKIDAN'a, biyolojik aktivite çalışmalarında yardımcı olan Değerli Hocam Doç. Dr. Metin BÜLBÜL'e, FT-IR spektrumlarının alınmasında yardımcı olan Sayın Hocam Doç. Dr. Zeki KARTAL'a, kimya bölümü değerli hocalarına ve çalışma arkadaşım Çiğdem KOCAYEL'e teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Ayrıca, öğrenim hayatım boyunca bana maddi ve manevi destek sağlayan aileme ve arkadaşlarıma sonsuz şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1 Mannich Reaksiyonu ve Mekanizması	2
2. MANNİCH BAZI BİLEŞENLERİ	5
2.1 Substrat.....	5
2.2 Aldehit.....	10
2.3 Amin	12
2.4 Mannich Reaktifi	13
2.4.1 Asit ve esterler	14
2.4.2 Aldehitler	16
2.4.3 Fenoller ve asetilenler.....	17
2.4.4 Ketonlar	18
2.4.5 α -Pikolinler ve kinolinler	19
3. MANNİCH BAZININ İLERİ REAKSİYONLARI.....	20
4. MANNİCH BAZLARININ KULLANIM ALANLARI.....	22
4.1 Farmasötik Endüstri ve Böcek İlacı Ürünleri	22
4.2 Doğal ve Sentetik Makromoleküler Materyallerin Üretimi.....	28
4.2.1 Deri	28
4.2.2 Kağıt	28
4.2.3 Tekstil	29
4.2.4 Makromoleküler materyallerin üretimi.....	29
4.3 Petrol Ürünleri	30
4.4 Muhtelif Ürünler	30
4.4.1 Analitik ajanlar.....	30
4.4.2 Kozmetik.....	31
4.4.3 Boyalar.....	31
4.4.4 Patlayıcılar ve barutlar.....	31
4.4.5 Gıda endüstrisi	31
4.4.6 Mürekkepler	31
4.4.7 Fotoğrafçılık.....	32

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.5 Saflaştırma ve Geri Dönüşüm.....	32
5. BİYOLOJİK AKTİVİTE VE ENZİM	33
5.1 Enzimler	33
5.2 Karbonik Anhidraz.....	34
5.3 Karbonik Anhidraz Aktivitesi.....	35
5.4 Karbonik Anhidraz İnhibitörleri	36
5.5 Göz Bozuklukları ve Glokom.....	36
6. ÇALIŞMANIN AMACI.....	39
7. MATERYAL VE YÖNTEM.....	40
6.1 Kullanılan Malzemeler	40
7.2 Kullanılan Kimyasallar	40
7.3 Kullanılan Cihazlar	40
7.4 Saflaştırma.....	40
7.4.1 Aminlerin saflaştırılması.....	40
7.4.2 Metil alkolün saflaştırılması.....	41
7.4.3 Etil alkolün saflaştırılması	41
7.4.4 Hekzanın saflaştırılması.....	41
7.4.5 Kloroform saflaştırılması.....	41
7.5 Yöntem.....	41
8. MANNİCH BAZLARININ SENTEZİ	42
8.1 N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin	43
8.2 N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin	48
8.3 N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin	54
8.4 N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin	59
9. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI	64
10. TARTIŞMA VE YORUM.....	69
KAYNAKLAR DİZİNİ	70

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Genel Mannich reaksiyonu.	1
1.2. Mannich bazı eldesi.	1
1.3. β -aminoketon sentezi.	1
1.4. Mannich reaksiyonunun genel mekanizması.	2
1.5. N,N-Dimetilbütan-1-aminin (4) sentez mekanizması.	3
1.6. Asidik ortamda Mannich reaksiyonunun mekanizması.	4
2.1. Fosforik asidin Mannich bazı.	6
2.2. Aktif ketonla primer amin arasında gerçekleşen Mannich reaksiyonu.	8
2.3. Primer aminler ve aldehit ile 1970'li yıllara kadar belirlenen tek reaksiyon.	8
2.4. Etilmalonik asit, formaldehit ve dimetilamin arasında gerçekleşen Mannich reaksiyonu.	9
2.5. Dekarboksilasyon ile yan ürün oluşumu.	9
2.6. 2- β -dietilaminoetil piridin.	10
2.7. Aldehitlerin genel yapısı.	10
2.8. Aminlerin genel yapısı.	12
2.9. Mannich reaktifinin oluşumu.	14
2.10. Dimetilaminin etilmalonik asitle verdiği Mannich reaksiyonu.	15
2.11. Etilmalonik asitin dekarboksilasyonu.	15
2.12. Metilmalonik asit, formaldehit ve metilamin reaksiyonu.	16
2.13. 3-Metil bütanalın formaldehit varlığında dimetil amin hidroklorid ile reaksiyonu.	16
2.14. Metil amin ile isobutiralaldehitin verdiği Mannich reaksiyonu.	16
2.15. Mono-, di- ve tri-substitüe ürün oluşumu.	17
2.16. Etilbenzenin formaldehit ve 2° amin varlığında Mannich reaksiyonu.	18
3.1. İki hidrojene sahip Mannich bazının ileri reaksiyonu.	20
3.2. Bir hidrojene sahip Mannich bazının ileri reaksiyonu.	20
3.3. Hidrojene sahip olmayan Mannich bazının ileri reaksiyonu.	21
3.4. Bir veya birden fazla etkin hidrojen atomuna sahip Mannich bazının reaksiyonu.	21
3.5. Aşırı formaldehit varlığında Schiff bazı oluşumu.	21
4.1. N,N-bis(4-antipirilmetil)-piperazin.	26
4.2. N,N-tetra-(antipiril-1-metil)-1,2-diaminoetan.	26
4.3. Sentezlenmiş çeşitli metal kompleksleri (Indian, 2000).	27
4.4. Antitümör aktivitesi gösteren ligantın metal kompleksleri.	28
4.5. Analitik ajan olarak Mannich bazları.	30

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.6. Patlayıcı sektöründe kullanılan Mannich bazı.	31
4.7. Fotoğrafik emülsiyonların duyarlılığının arttırılmasında kullanılan Mannich bazı örneği.	32
5.1. HCO_3^- ve CO_3 iyonları arasındaki dönüşümler.	34
5.2. Karbonik anhidraz enzim aktivitesi.	35
8.1. Sentezlenen Mannich bazları ve kullanılan aminler.	42
8.2. N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (71) bileşiğinin elde edilişi.	43
8.3. N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (71) bileşiğinin IR grafiği.	44
8.4. N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (71) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	45
8.5. N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (71) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.	46
8.6. N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin (74) bileşiğinin elde edilişi.	48
8.7. N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin (74) bileşiğinin IR grafiği.	49
8.8. N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (74) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	50
8.9. N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin (74) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.	51
8.10. N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (76) bileşiğinin elde edilişi.	54
8.11. N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (76) bileşiğinin IR grafiği.	55
8.12. N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (76) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	56
8.13. N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (76) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.	57
8.14. N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin (78) bileşiğinin elde edilişi.	59
8.15. N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin (78) bileşiğinin IR grafiği.	60
8.16. N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin (78) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.	61
8.17. N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin (78) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.	62
9.1. p-nitro fenil asetat' ın hidrolizi.	64
9.2. hCA I izoenziminin esteraz aktivitesi üzerine N,N'-bis(2,3-dimetilfenil) metandiamin bileşiğinin etkisi.	65
9.3. hCA II izoenziminin esteraz aktivitesi üzerine N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin bileşiğinin etkisi.	65
9.4. hCA I izoenziminin esteraz aktivitesi üzerine N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin bileşiğinin etkisi.	66
9.5. hCA II izoenziminin esteraz aktivitesi üzerine N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin bileşiğinin etkisi.	66
9.6. hCA I izoenziminin esteraz aktivitesi üzerine N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin bileşiğinin etkisi.	67
9.7. hCA II izoenziminin esteraz aktivitesi üzerine N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin bileşiğinin etkisi.	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Substratlara göre mannich bazı çeşitleri.	6
2.2. Mannich reaksiyonunda kullanılan keton örnekleri.	7
2.3. Bazı amino metilleme reaktifleri.	11
2.4. Mannich reaksiyonu veren bazı 2° aminler.	13
2.5. Mannich reaksiyonu veren bazı 1° aminler.	13
2.6. Mannich bazı sentezinde kullanılabilen bazı asitler.	14
2.7. Mannich reaksiyonunda aktif hidrojen taşıyan bazı ketonlar.	18
2.8. Mannich reaksiyonu veren pikolin ve kinolin türü moleküller.	19
4.1. Mannich bazlarının kullanım alanları.	22
4.2. Farmasötikal olarak kullanılan C-Mannich Bazları.	23
4.3. Biyosid aktiviteye sahip Mannich bazları.	24
4.4. Makromoleküler ürünlerde Mannich bazları.	29
5.1. Karbonik anhidraz inhibitörleri.	38
8.1. N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (71) bileşiğinin ¹³ C- ve ¹ H-NMR tablosu.	47
8.2. N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin (74) bileşiğinin ¹³ C- ve ¹ H-NMR tablosu.	53
8.3. N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (76) bileşiğinin ¹³ C- ve ¹ H-NMR tablosu.	58
8.4. N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin (78) bileşiğinin ¹³ C- ve ¹ H-NMR tablosu.	63
9.1. Sentezlenen bileşiklerin IC ₅₀ değerleri.	68

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

α	Alfa
β	Beta
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
cm^3	Santimetreküp
%	Yüzde

Açıklama

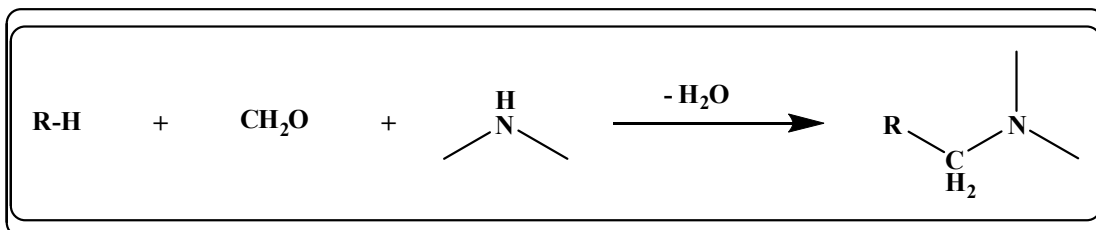
Kısaltmalar

Ar-	Aril
dk	Dakika
EN	Erime noktası
Et-	Etil
g	Gram
IR	Kızılötesi spektrumu
l	Litre
m-	Meta
MA	Molekül ağırlığı
Me-	Metil
ml	Mililitre
mmol	Milimol
NMR	Nükleer manyetik rezonans
o-	Orto
p-	Para
Ph	Benzen
UV	Morötesi spektrumu

Açıklama

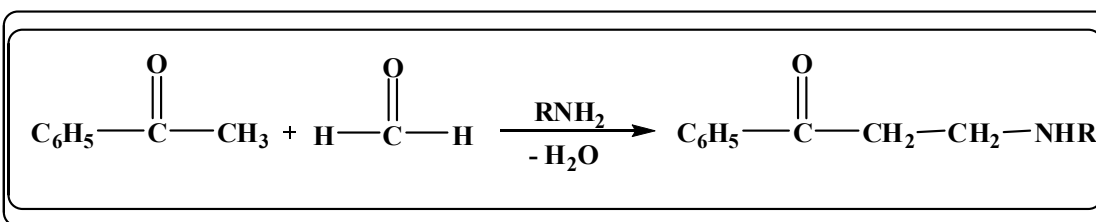
1. GİRİŞ

İlk kez 1912 yılında Mannich ve Krosche tarafından bulunan bu reaksiyon; formaldehitin bir amin bileşiğiyle aktif hidrojen içeren bir bileşiğin metilen köprüsüyle bağlanmasını gösterir (Mannich and Krosche, 1912).



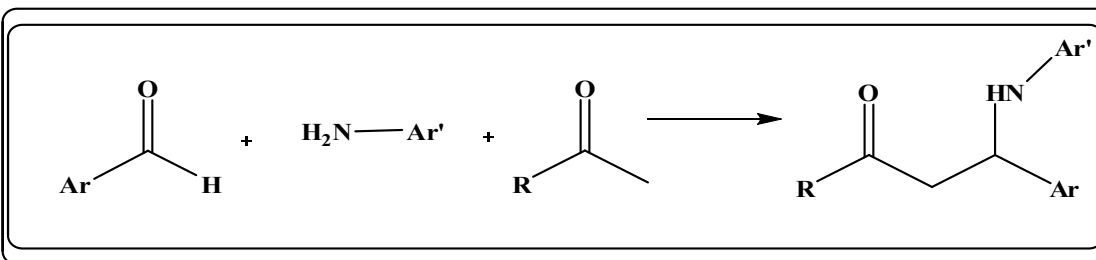
Şekil 1.1 Genel Mannich reaksiyonu.

Bu metot daha sonra birçok bileşiğin sentezinde ve sentetik amaçlar ile kullanıldığı için büyük bir öneme kavuşmuştur (Blicke, at al., 1954; Hellman and Opitz, 1960).



Şekil 1.2 Mannich bazı eldesi.

Mannich reaksiyonları 1900'li yıllardan beri β-amino ketonları sentezlemek için kullanılan en önemli yöntemdir (Arend, et al.,1998).



Şekil 1.3 β-aminoketon sentezi.

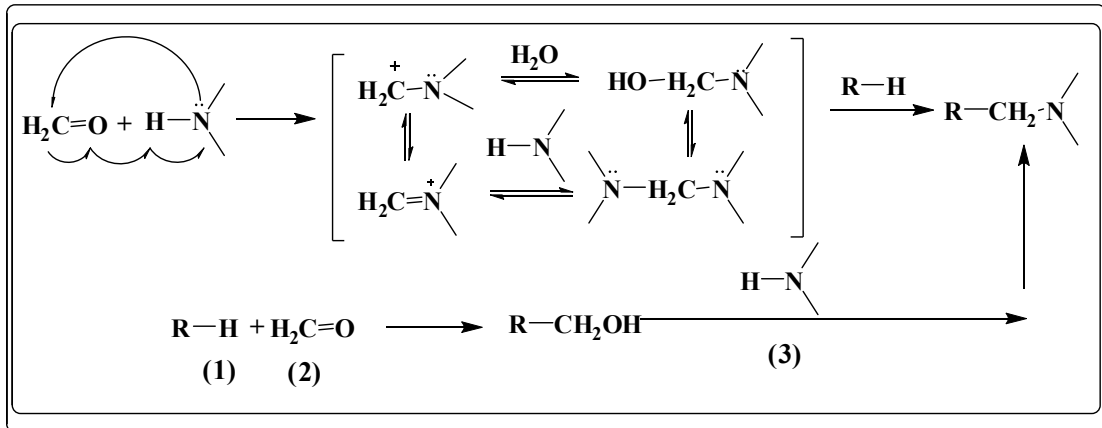
Reaksiyonun çok etkili olmasına rağmen, reaksiyon süresinin uzun olması ve veriminin düşük olması gibi dezavantajları vardır (Bryant, et al., 1990). Fakat tüm bu dezavantajlar mikrodalga yöntemiyle Mannich bazı sentezlendiğinde ortadan kaldırılabilir (Lidström, et al., 2001).

Mannich bazları, steroid hormonları, antibiyotikler, vitaminler ve alkaloidler gibi doğal ürünler ve ilaç sentezlerinde kullanılır (Tramontini and Angiolini, 1994).

1.1 Mannich Reaksiyonu ve Mekanizması

Genel olarak Mannich reaksiyonunun mekanizması; amin bileşiği (3) ve formaldehit (2) varlığında en az bir aktif hidrojen içeren bileşiklerin (1) kondenzasyonu ile meydana gelir Şekil(1.4). Reaksiyonda aktif hidrojen aminometil grubu ile yer değiştirir (Blicke, et al., 1942; Tramontini, 1973).

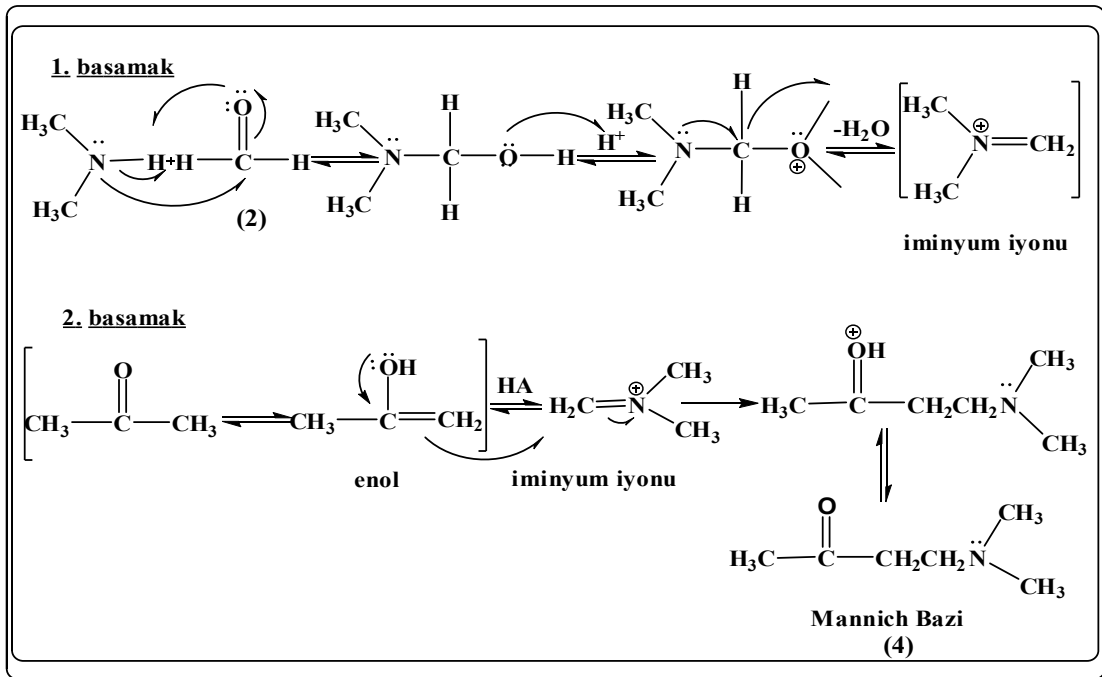
Mannich reaksiyon ilk yapıldığı 20.yüzyılın başlarında amin bileşiğinin HCl tuzu ile gerçekleştirilirken özellikle polimerlere uygulanması ile sulu emülsiyonunda reaksiyonlar yapıldı (Tramontini and Angiolini, 1988).



Şekil 1.4 Mannich reaksiyonunun genel mekanizması.

Mannich bazı sentezinde, aktif hidrojen taşıyan bileşikler olarak ketonlar, aldehytler, asitler, esterler, fenoller, asetilenler, α -pikolinler, kinaldinler gibi bileşikler kullanılabilir. Amin olarak primer ve sekonder aminler kullanılmaktadır. Dimetil amin çok reaktiftir ve genellikle çok iyi verimle ürün oluşmasına neden olur.

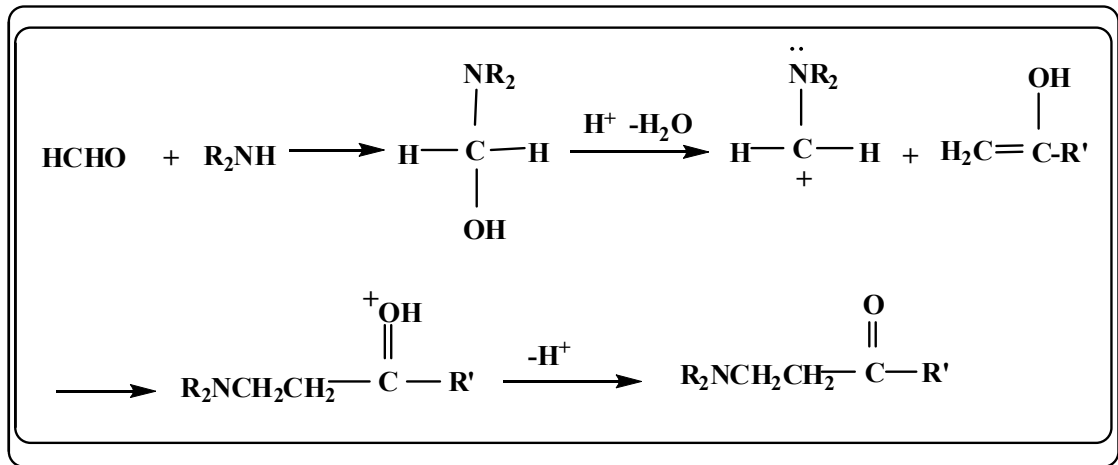
Mannich reaksiyon bir aldehite (genellikle formaldehit kullanılır) amonyak ya da alkil aminlerin katılıp R_2NCH_2OH tipinde bir metilol katılma ürünü vermesiyle başlar. Bu katılma ürünü su yitirir ve iminyum tuzu oluşur. Son aşamada iminyum tuzu, karbonil bileşiği gibi aktif hidrojen içeren bir bileşiğin bazik ortamda oluşturduğu enolat iyonu ile reaksiyon verir (Pine, et al., 1980; March, et al., 1985).



Şekil 1.5 N,N-Dimetilbütan-1-aminin (4) sentez mekanizması.

Reaksiyon hızı aldehit, amin ve etkin hidrojen bileşiğinin derişimine bağlıdır.

Mannich reaksiyon bazik ortamda oluşabildiği gibi asidik ortamda da meydana gelebilir. Aldehit, amin ve etkin hidrojen taşıyan bileşik asidik ortamda Mannich reaksiyonu için öngörülen mekanizma şöyledir (March, et al., 1985):



Şekil 1.6 Asidik ortamda Mannich reaksiyonunun mekanizması.

2. MANNİCH BAZI BİLEŞENLERİ

Bir mannich reaksiyonunun gerçekleşebilmesi için aktif hidrojen içeren substrat, aktif hidrojen içeren bir karbonil bileşiği ve bir amin bileşiğine ihtiyaç vardır.

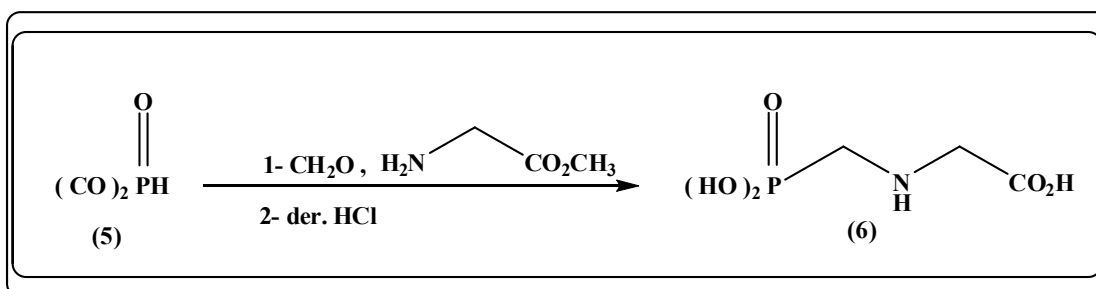
2.1 Substrat

Mannich reaksiyonunda sentezlenen ürünün yapısı üzerinde substrat seçimi çok önemlidir. Mannich bazları aminometilasyon olduğu atoma göre C-Mannich Bazı, N-Mannich bazı, O-Mannich bazı... gibi isimler alır. Bazı literatür çalışmalarında substrata göre amino metillemenin C-, N-,O-,S-... atomları üzerinden olduğu görülmektedir. Çizelge 2.1’de Mannich reaksiyonlarında kullanılan substratlara bağlı olarak oluşan Mannich bazlarının genel bir sınıflandırılması yer almaktadır.

Substrat doğrudan aminometilasyon için tercih edilmeyen bir yapıda olduğunda reaksiyonun daha kolay gerçekleşmesini sağlayacak bir substrat belirlemek genel bir uygulamadır. Zararlı otları yok edici ve korozyon önleyici olarak kullanılan fosforik asidin Mannich bazları bunun örnekleridir. Bunlar alkil esterlerinin amino metilasyonunu takiben ester gruplarının asit hidrolizi sonucu meydana gelir (Tromontini and Angiolini,1989; Tetrahedron, 1791).

Çizelge 2.1 Substratlara göre mannich bazı çeşitleri.

Substratlara göre Mannich Bazı çeşitleri.		
C-Mannich Bazı	N-Mannich Bazı	O-, S-, P-, As-Mannich Bazı
$R-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-CH_2-N<$	$R_2N-CH_2-N<$	$R-O-CH_2-N<$
$X-\overset{\overset{ }{\mid}}{C}-$ (X=N- Het.aromatik halka, karboksi-, nitro grubu,...)	$R-\overset{\overset{X}{\parallel}}{C}-N<$ (X=O,S)	$R-S-$
$X=\overset{\overset{ }{\mid}}{C}-$ (X=R ₂ C, R-N)	$\underbrace{\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ X \quad C \end{array}}_{\text{heterohalka (X=N,O,...)}}$	$R-SO_2-$
$R-C\equiv C-$	$---$	$R-\overset{\overset{ }{\mid}}{P}-$ $R-\overset{\overset{ }{\mid}}{P}-O-$
$R-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$ (veya NH- aktif benzen halkası)	$---$	$R-\overset{\overset{ }{\mid}}{As}-$

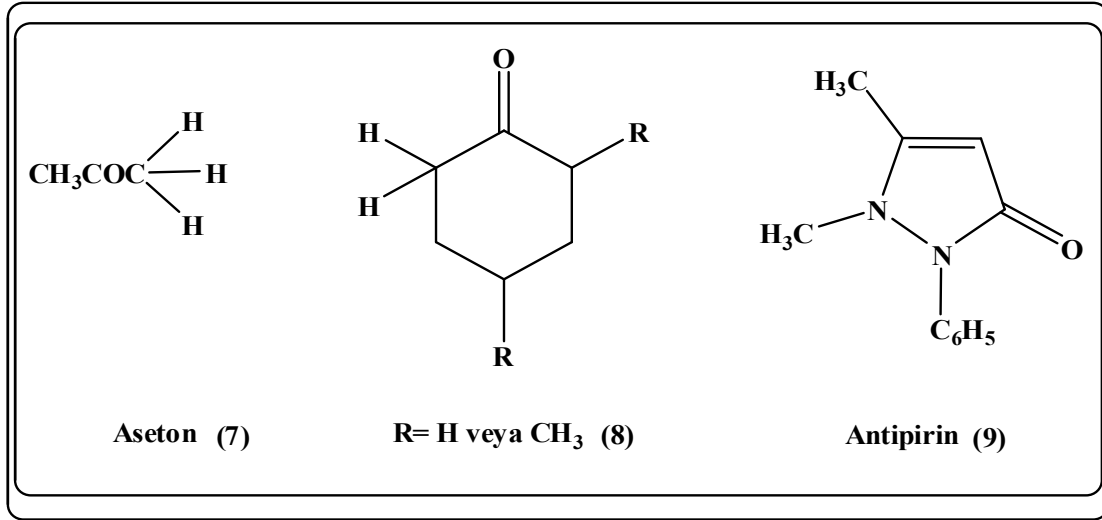


Şekil 2.1 Fosforik asidin Mannich bazı.

Yapılan araştırmalara göre en çok ve ayrıntılı çalışmanın C-Mannich bazı ile ilgili olduğu görülmüştür. En çok kullanılan substratlardan biri ketondur. Örneğin, substrat olarak doymuş ketonlar, sikloalkanon, α-, β- doymamış ketonlar, alifatik aromatik ketonlar,

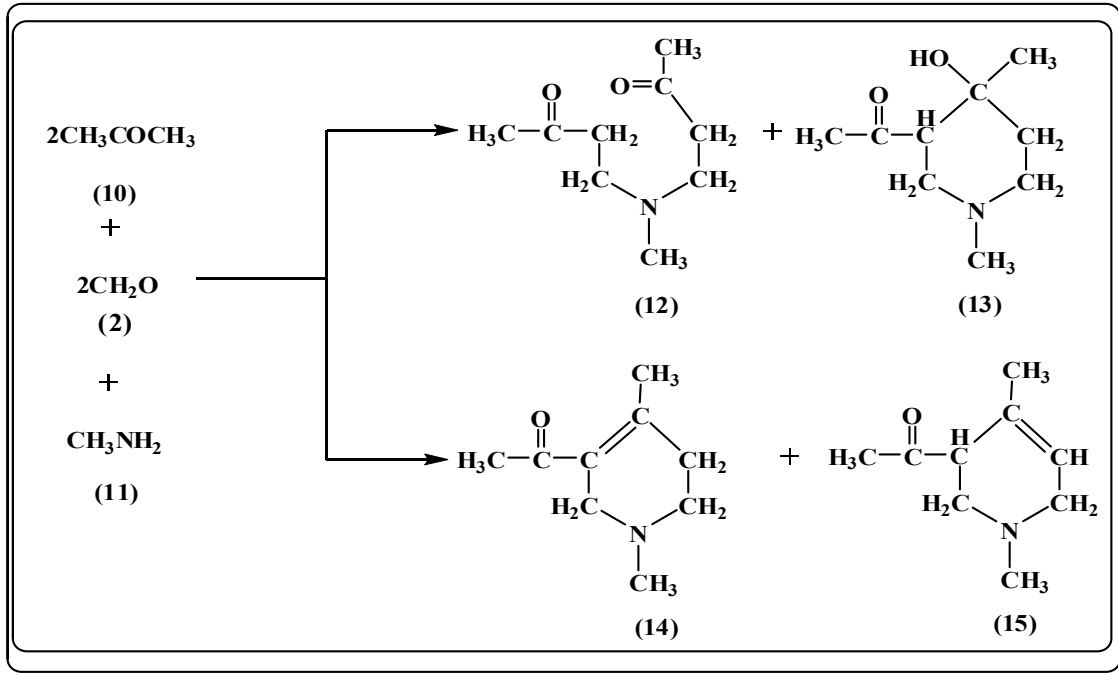
heterosiklik bileşiklerde ve aromatik halkada karbonil grubu içeren heterosiklik ketonların kullanıldığı bir çok çalışma vardır. Birkaç keton örneği (7, 8, 9) Çizelge 2.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2 Mannich reaksiyonunda kullanılan keton örnekleri.



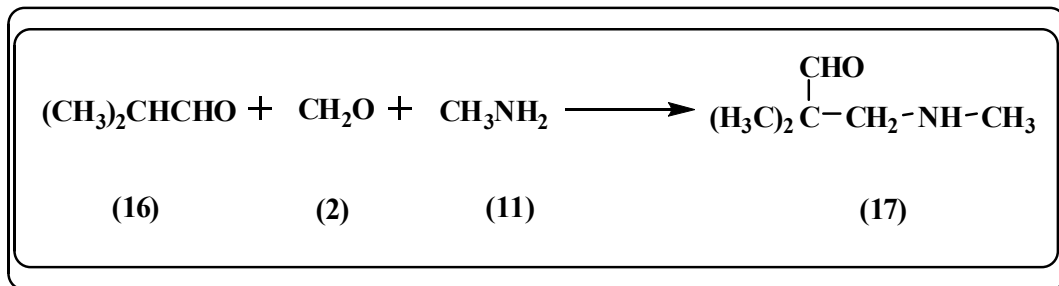
Bazı ketonların ise Mannich reaksiyonu vermediği görülmüştür. o-Aminoasetofenon ve onun asetil ve benzoil türevleri ve m-aminoasetofenon, p-aminoasetofenon ve β-tetralon bunlara örnek verilebilir. Ayrıca 1-fenil-3-metilpirazolon-5, 1-fenil-5-metilpirazolon-3 ve barbitürik asit de reaksiyon vermeyen ketonlardır (Ege, 1999).

Alifatik ketonlar ve primer aminler çok sayıda ürün verir. Örneğin, Şekil 2.2’de görülen formaldehit (2), dimetilketon (10) ve metilen amin (11) ile yapılan reaksiyonlarda dört farklı ürün (12, 13, 14, 15) oluşmuştur.



Şekil 2.2 Aktif ketonla primer amin arasında gerçekleşen Mannich reaksiyonu.

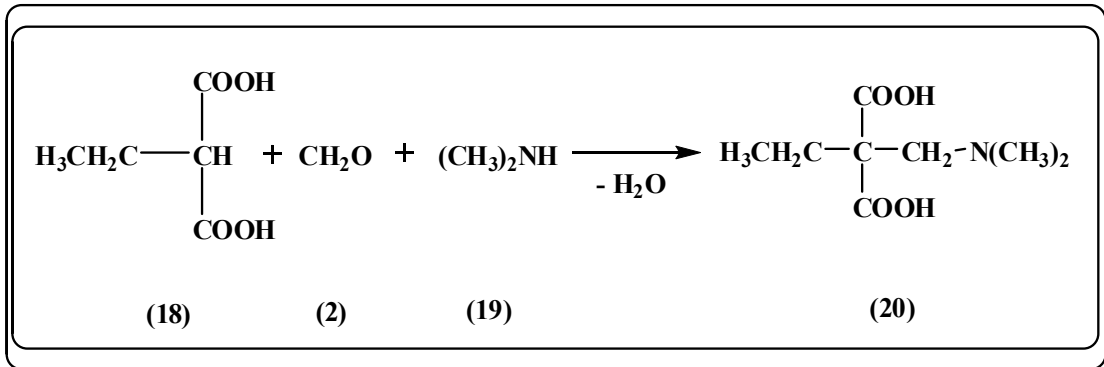
Aldehitlerin ikincil aminlerle gerçekleştirilen Mannich reaksiyonundaki davranışı ketonlara benzer. Aldehitin α -hidrojen atomu dialkilaminometil grubuyla yer değiştirir. Metilol grubunun α -karbon atomunda ikincil reaksiyon oluşur. Birincil aminler ve aldehit ile 1970'li yıllara kadar belirlenen tek reaksiyon Şekil 16'da görülmektedir. Reaksiyonda formaldehit (2), *iso*-bütilaldehit (16) ve metilamin (11) kullanılarak Mannich kondenzasyonu gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.3 Primer aminler ve aldehit ile 1970'li yıllara kadar belirlenen tek reaksiyon.

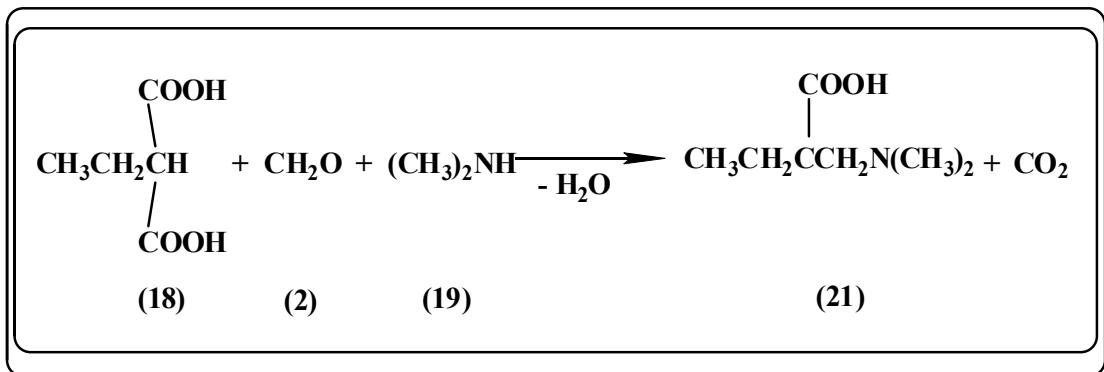
Karboksilik asit ve sekonder aminlerin Mannich bazı reaksiyonunda çok sayıda karboksili asit, aldehit ve ketonların yerine kullanılabilir. Asitler ile gerçekleştirilen reaksiyonlarda sekonder amin tuzlarına kıyasla sekonder aminler tercih edilir.

Etilmalonik asit (18), formaldehit (2) ve dimetilamin (19) reaksiyonunda sadece bir aktif hidrojenin yer değiştirdiği reaksiyon Şekil 2.4’de verilmiştir.



Şekil 2.4 Etilmalonik asit, formaldehit ve dimetilamin arasında gerçekleşen Mannich reaksiyonu.

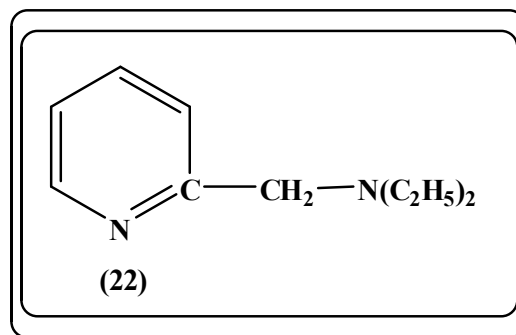
Genelde yan reaksiyon ürünleri de meydana gelir. Buna örnek olarak aşağıda görülen etilasetoasetikasit (18), formaldehit (2) ve dimetilamin (19) ile asidin dekarboksilasyonu meydana gelir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Dekarboksilasyon ile yan ürün oluşumu.

Aktif hidrojen atomu içeren asitler ile birincil aminlerin Mannich reaksiyonunda oluşan ürün, ikincil aminlerle gerçekleşen reaksiyon ürünleriyle benzerdir. Beklenen ilk ürün kondenzasyonla meydana gelen üçüncül amindir.

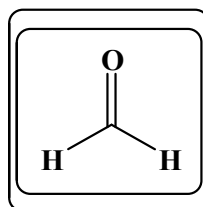
Piperidinde bulunan α -metil grubu ya da kinolin çekirdekleri, metil ketonda bulunan metil gruplarının hidrojenleri ile aynı aktiviteye sahiptir. α -Pikolin, 2-metil kinolin, 2-metil-4-hidroksi kinolin, 2-metil-8-nitro kinolin, ve 2-etoksi-4-metilkinolin gibi bileşikler dimetilamin, dietilamin, metildietilenamin, piperidin, metilamin ve diğer serbest aminler ile Mannich reaksiyonu veren benzer bileşiklere örnek olarak gösterilebilir. Örneğin, α -pikolin, formaldehit ve dietilaminin reaksiyonu sonucu oluşan 2- β -dietilaminoetil piridin oluşur (22) (Blicke, et al., 1942).



Şekil 2.6 2- β -dietilaminoetil piridin.

2.2 Aldehit

Yapılarında karbonil grubu bulunan organik bileşiklerden, karbonil grubuna bir hidrojenin bağlı olduğu bileşikler aldehitlerdir.



Şekil 2.7 Aldehitlerin genel yapısı.

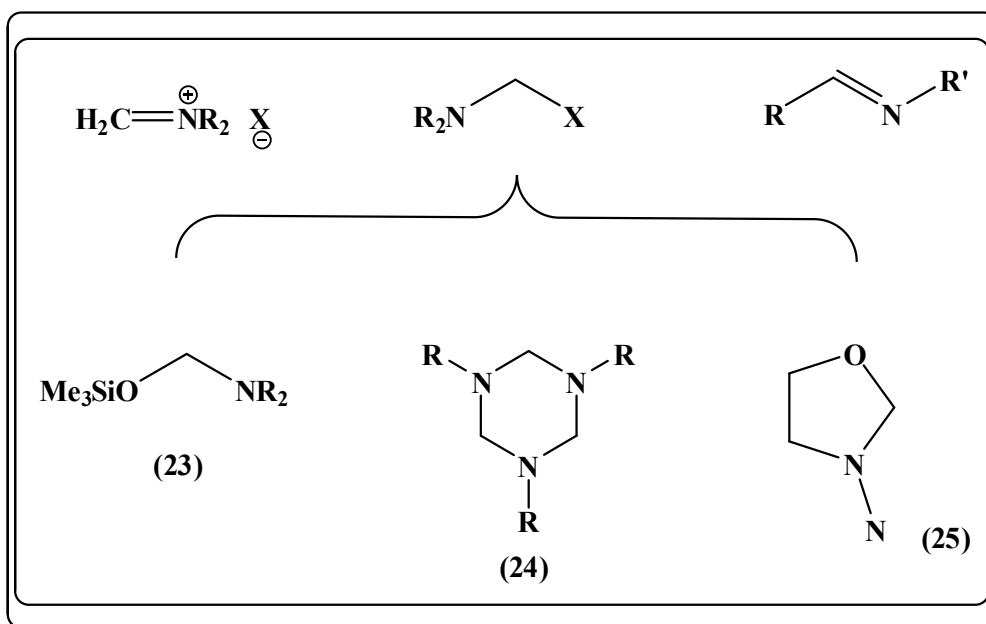
Aldehitler yapılarındaki karbonil grubu sebebiyle birçok reaksiyona kolaylıkla iştirak edebilirler. Kolayca yükseltgenerek karboksilli asitleri, indirgenerek alkolleri verirler. Formaldehit ve asetaldehit gibi aldehitler kolayca polimerleşir (Altunışık, 2007).

Mannich tepkimelerinde genellikle formaldehit kullanılır. Bununla birlikte amino alkilleme amacıyla aril aldehitlerin de kullanılması olanaklıdır. Aktif hidrojen bileşiği olarak ketonların kullanıldığı bazı durumlarda molekül içi amino alkilleme gerçekleşerek halkalı türevlerin oluştuğu bilinmektedir (King, 1983).

Ve bazı durumlarda formaldehit metilen dihalojenürler CH_2XY ($\text{X} = \text{Cl}, \text{I}; \text{Y} = \text{Cl}, \text{I}$ ve $\text{X} \neq \text{Y}$) veya klorometileter ($\text{CH}_3\text{O}-\text{CH}_2-\text{Cl}$) gibi eter türevleri ile değiştirilebilir.

Çoğu durumda amino metilasyon reaksiyonu önceden hazırlanmış amino metilleme reaktifleri kullanılarak yapılır. Azometin türevlerinin birkaç örnek ile bu reaktiflerin çeşitli türleri bilinmektedir. Bu bileşikler;

Çizelge 2.3 Bazı amino metilleme reaktifleri.

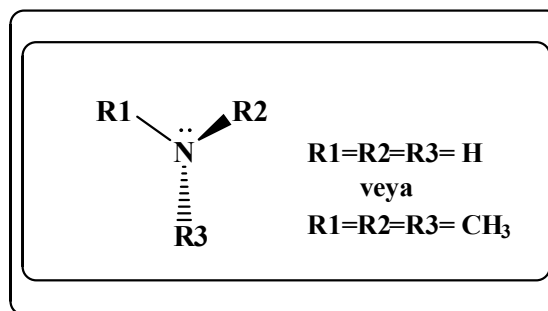


Metilen iminyum tuzları uygun metilen-bis-aminler, formaldehit N, O-asetalleri veya metilen halojenürlerden sentezlenir. Benzer $\text{R}^1-\text{CH}=\text{N}^+\text{R}_2 \text{X}^-$ tuzları da hazırlanılmıştır. Bu reaktifler alkilkarbonil bileşikleriyle, esterlerle, laktonlarla ve aktiflenen diğer substratlarla birlikte kullanılmıştır. Alkillenmemiş aldehit ve ketonların, fenollerin ve heterosiklik substratların C-amino metilasyonu iyi sonuçlar vermiştir.

Formaldehit veya diğer aldehitlerin 3° alkil aminlerle reaksiyonuyla hazırlanan azometin reaktiflerinin fenol ve NH-amid substratları için uygun amino metilasyon ajanları olduğu kanıtlanmıştır (Tramontini and Angiolin, 1989; Tetrahedron, 1791).

2.3 Amin

Azot atomuna bir ya da daha fazla alkil veya aril grubunun bağlı olduğu bileşikler aminlerdir.



Şekil 2.8 Aminlerin genel yapısı.

Aminoasitler, peptitler, proteinler, alkaloidler, DNA ve RNA gibi bileşiklerin yapısında bulunan amino ($-\text{NH}_2$) grubu dolayısıyla birçok önemli biyokimyasal olaylarda aktif rol alırlar.

Mannich reaksiyonlarında 1° ve 2° aminler kullanılır. Az da olsa amonyak da tercih edilebilir (Blicke, et al., 1942).

Mannich sentezlerinde iyi bilinen substratlar olan NH amidleri de amin reaktifi olarak kullanılabilir (Ünlü, 2002).

2° aminlerden dimetilamin oldukça reaktif bir amindir ve yüksek verimde ürün elde edilebilir.

Çizelge 2.4 Mannich reaksiyonu veren bazı 2° aminler.

2° AMİNLER
Fenil hidrazin
Dimetil anilin
Etanol amin
Naftil-1-amin
2,3-dimetil anilin

Dimetil amin çok aktiftir ve genellikle çok iyi verimle ürün oluşmasına sebep olur. Dietil amin dimetil amine göre daha az aktiftir. Örneğin; dietilamin, formaldehit ve aseton, benzolaseton ve diğer türevlerle normal ürünler verirler. Formaldehit ve etilmetil keton ile Mannich reaksiyonuna hiç rastlanmamıştır.

Çizelge 2.5 Mannich reaksiyonu veren bazı 1° aminler.

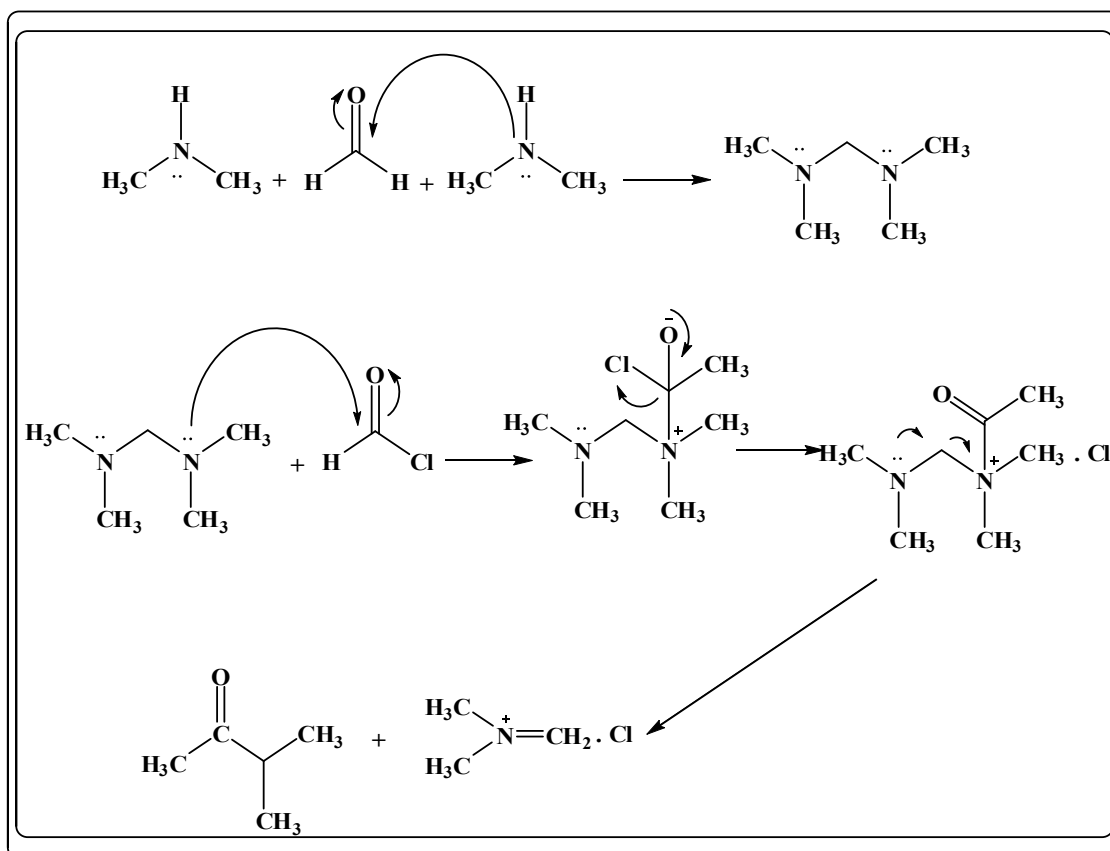
1° AMİNLER
Dibenzil amin
Dietil amin
Dietanol amin
Difenil amin
Morfolin

Yukarıda ki 2° aminler veya onların tuzu Mannich reaksiyonlarında kullanıldıkları zaman ilk ürün 2° amindir. Fakat genellikle reaksiyona girenlerin fazlası ile bir 3° amin verirler.

2.4 Mannich Reaktifi

Klasik Mannich tepkimesinin yeterli olmadığı durumlarda amino metilleyici olarak önceden hazırlanmış iminyum tuzları kullanılır. Bu tuzlara Mannich reaktifi adı verilir. Metilen iminyum tuzlarını en uygun hazırlama yöntemi uygun metilen-bis aminlerin asetil halojenürlerle tepkimesini içerir (Böhme and Hartke, 1960)

Metilen iminyum tuzları susuz ortamlarda ve düşük sıcaklıkta yüksek verimle oluşur. Mannich reaktifinin oluşumuna ait tepkime mekanizması:



Şekil 2.9 Mannich reaktifinin oluşumu.

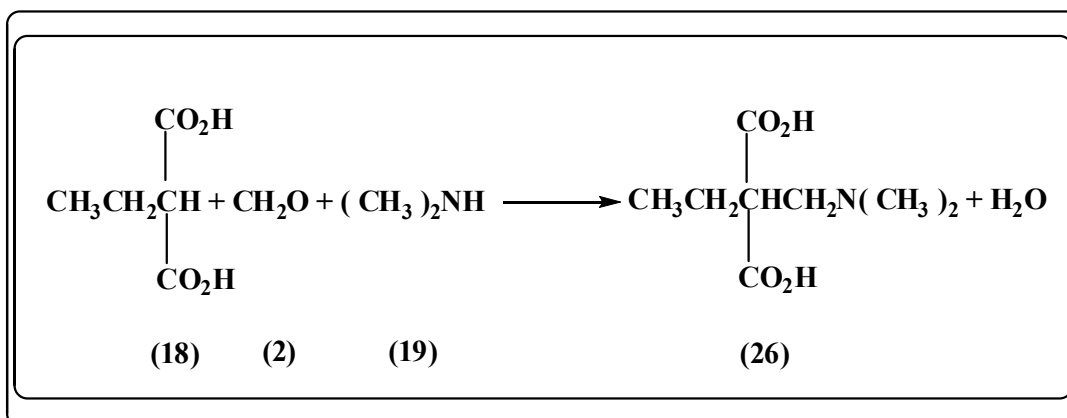
2.4.1 Asit ve esterler

α -pozisyonunda yüksek aktiviteli hidrojen içeren asitler aldehit ya da keton yerine kullanılabilir. Kullanılan bazı asitler:

Çizelge 2.6 Mannich bazı sentezinde kullanılabilen bazı asitler.

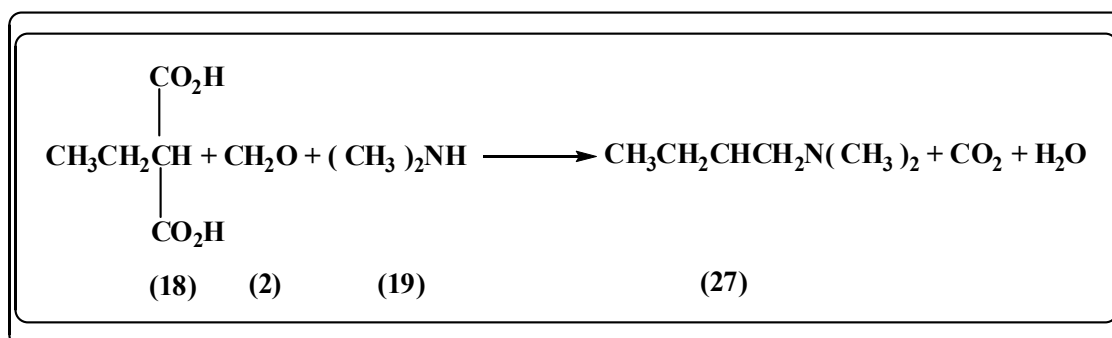
$\text{CNCH}_2\text{CO}_2\text{H}$
$\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CO}_2\text{H}$
$\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{H})_2$
$\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$
$\text{C}_6\text{H}_5\text{COCH}_2\text{CO}_2\text{H}$
$\text{CH}_2(\text{CO}_2\text{H})_2$
$\text{RCH}(\text{CO}_2\text{R})\text{CO}_2\text{H}$

Bir hidrojen atomunun yer değiştirmesiyle oluşan reaksiyona örnek olarak etilmalonik asit (**18**), formaldehit (**2**) ve dimetilamin (**19**) reaksiyonu verilebilir (Blicke, at al., 1942).



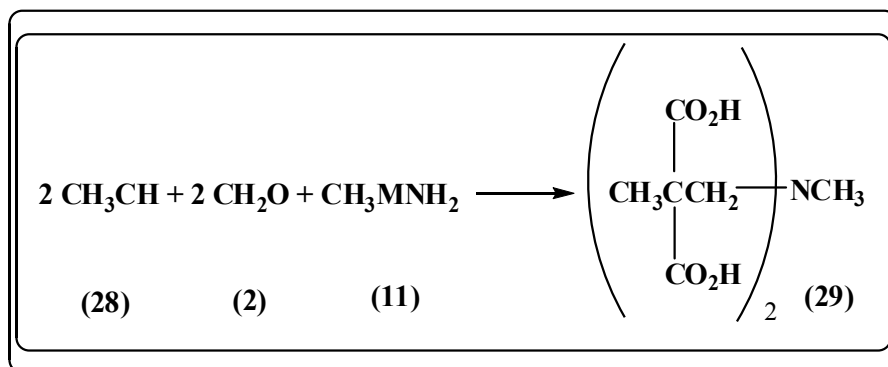
Şekil 2.10 Dimetilaminin etilmalonik asitle verdiği Mannich reaksiyonu.

Yan reaksiyonlar etilasetoasetikasitin (21) formaldehit (2) ve dimetilamin (19) kondenzasyonunda olduğu gibi asidin dekarboksilasyonunu içerir.



Şekil 2.11 Etilmalonik asitin dekarboksilasyonu.

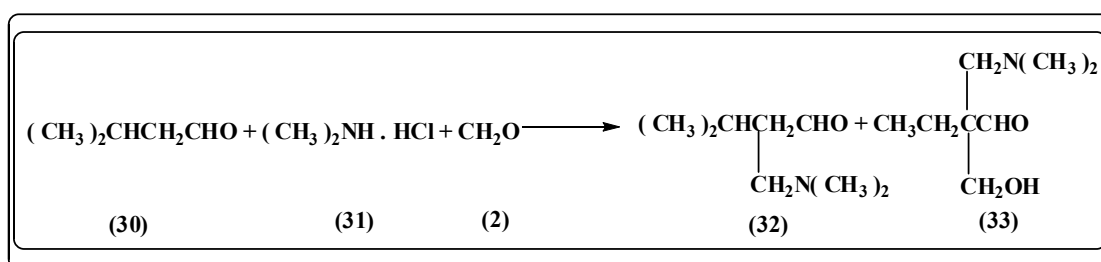
Aktif hidrojen atomları içeren asitler 1° aminlerin Mannich reaksiyonu 2° aminlerle aynı tipte bileşikler oluştururlar. Beklenen ilk ürün genellikle kondenzasyonla oluşan bir 3° amin olur.



Şekil 2.12 Metilmalonik asit, formaldehit ve metilamin reaksiyonu.

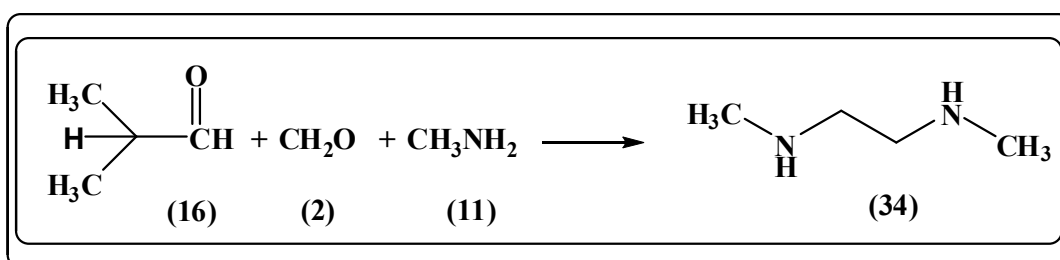
2.4.2 Aldehitler

2° aminlerle aldehitlerin Mannich reaksiyonunda aldehitlerin davranışları ketonlarınkine benzer. Aldehitin α -hidrojen atomu dialkil amino metil grubuyla yer değiştirir. Metilol grubunun α -karbon atomunda ikincil reaksiyon oluşur.



Şekil 2.13 3-Metil bütanalın formaldehit varlığında dimetil amin hidroklorid ile reaksiyonu.

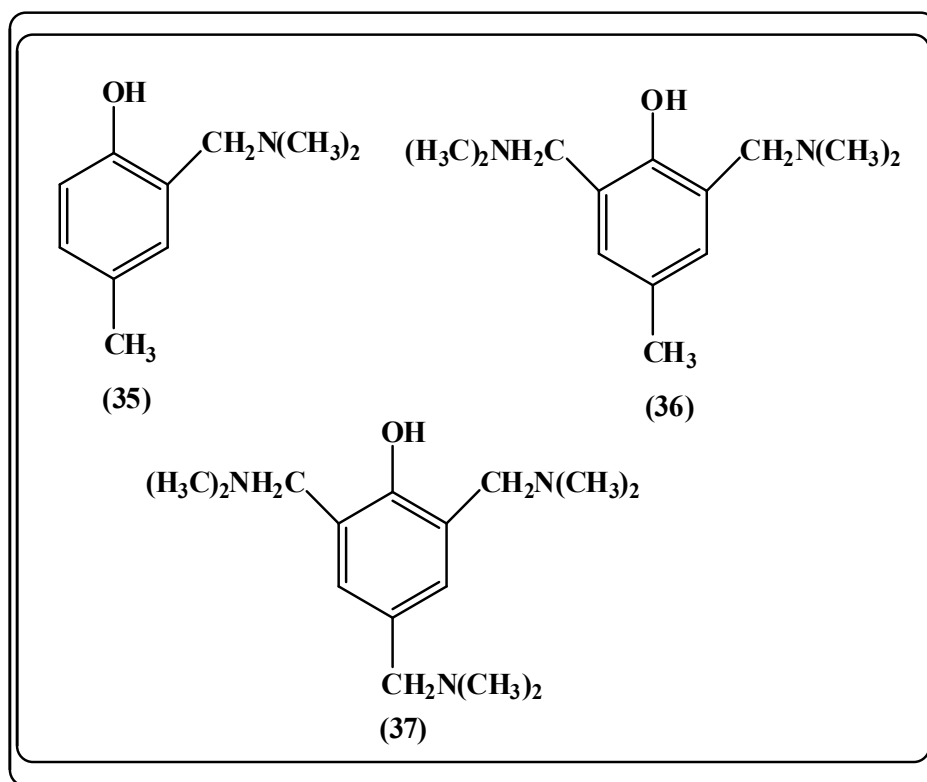
1° amin, aldehit ve formaldehitte (2) gerçekleştirilen tek reaksiyon isobutiraldehit (16) ve metilamin (11) reaksiyonudur (Şekil 2.14).



Şekil 2.14 Metil amin ile isobutiralaldehitin verdiği Mannich reaksiyonu.

2.4.3 Fenoller ve asetilenler

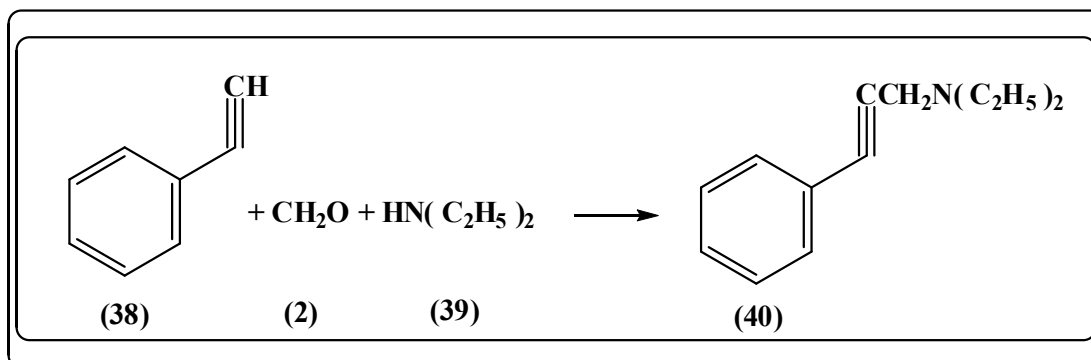
Fenoller birincil aminlerle Mannich reaksiyonu vermezler. Ancak ikincil aminlerle o- ve p- pozisyonlarından Mannich reaksiyonu verirler. Fenolden, 4-asetamino fenol, o- ve p- kresol, 3,5-dimetil fenol, 2-metil-4-etil fenol, 2- ve 4-metoksi fenol, β -naftol ve 8- hidroksi kinolinin formaldehit ve dimetilamini piperidin veya morfolin ile olan reaksiyon ürünleri belirlenmiştir. p-Krezolden mono ve disubstitüe ürün (**35**, **36**), fenolden ve m-krezolden trisubstitüe ürün (**37**) oluşur (Şekil 2.15).



Şekil 2.15 Mono-, di- ve tri-substitüe ürün oluşumu.

Fenollerde bulunan o- ve p- hidrojenler aktif olduğundan Mannich reaksiyonu verirler (Noller, 1965). Fenol, 4-asetaminofenol, dimetilfenol, 2-metil-4-etilfenol, β -naftol ve 8-hidrokinolinin formaldehit ve dimetilamin ya da piperidin, morfolin ile olan reaksiyon ürünleri belirlenmiştir.

Asetilenler, birincil aminlerle Mannich reaksiyonu vermez. İkincil aminlerle (**39**) ise formaldehit (**2**) varlığında fenil asetilen (**38**) ve 2-nitro, 2-amino, 4- metoksi gibi substitüe olmuş türevleri reaksiyon verir (Şekil 14).



Şekil 2.16 Etilbenzenin formaldehit ve 2° amin varlığında Mannich reaksiyonu.

2.4.4 Ketonlar

Doymuş ketonlar, sikloalkanlar, β -doymamış ketonlar, alifatik aromatik ketonlar, heterosiklik bileşikler ve aromatik halkada karbonil grubu içeren heterosiklik ketonlar 2° amin ile Mannich reaksiyonuna uğrar ve genellikle iyi verimle reaksiyon verirler (Blicke, et al., 1942). Bütün ketonlar Mannich reaksiyonu vermezler. o- ve p- aminoasetofenon ve bunların asetil, benzil türevleri, p-asetoaminoasetofenon, β -tetrolon, 1-fenil-3-metilpirazolon ve barbutirik asit reaksiyon vermeyen ketonlara örnektir.

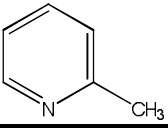
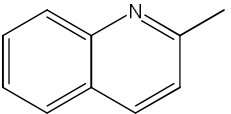
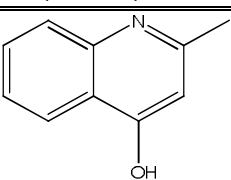
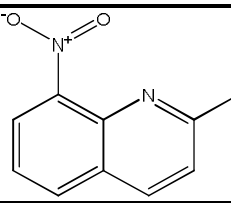
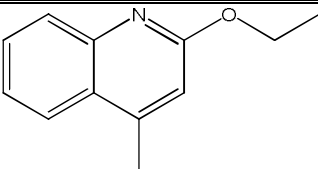
Çizelge 2.7 Mannich reaksiyonunda aktif hidrojen taşıyan bazı ketonlar.

Alifatik Ketonlar	Sikloalkanonlar	Alifatik Aromatik Ketonlar	Heterosiklik Ketonlar
Aseton Fenil Süstitüye Vinil	R R=H veya CH₃ Sikloheksanon	B-Asetotetrolin R=Fenil, Süstitüye Fenil, Naftil Asetofenon	Antipirin Chromanon

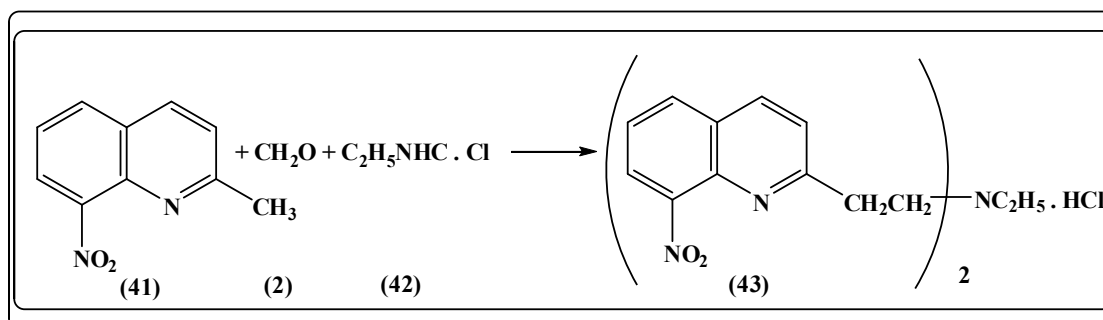
2.4.5 α -Pikolinler ve kinolinler

Pikolin ve pikolin türevlerinde bulunan hidrojenler, metil ketonda bulunan metil hidrojenlerle aynı aktiviteye sahiptir.

Çizelge 2.8 Mannich reaksiyonu veren pikolin ve kinolin türü moleküller.

α-pikolin	
2-metilkinolin	
2-metil-4-hidroksikinolin	
2-metil-8-nitrokinolin	
2-etoksi-4-metilkinolin	

Piridin çekirdeğinin 2 pozisyonunda metil grubu ihtiva eden tek bileşik 2-metil-8-nitrokinolindir ve 1° amin ve formaldehitte reaksiyon verir.

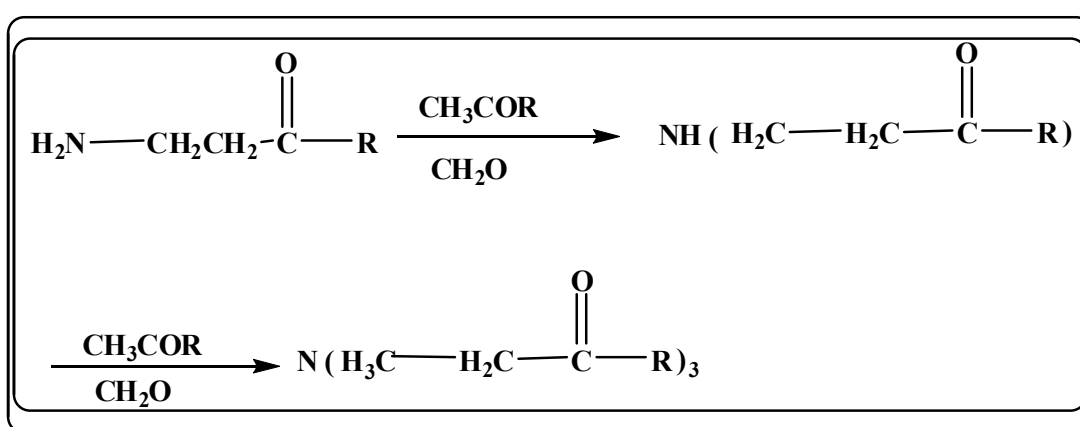


Şekil 2.17 3° amin oluşumu.

3. MANNİCH BAZININ İLERİ REAKSİYONLARI

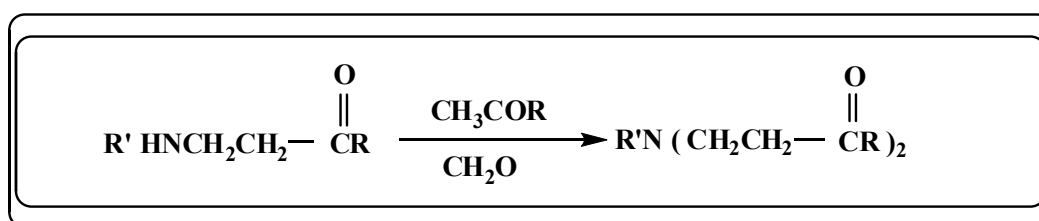
Mannich bazlarından daha ileri reaksiyonlar da elde edilebilir. Bu ileri reaksiyonlar üç şekilde gösterilebilir (Blicke, et al.,1942; March, at al., 1985).

i- İleri reaksiyon amino grubu üzerinden olur. Eğer amino grubu 1° ya da 2° ise azot üzerindeki hidrojen sayısına bağlı olarak iki ya da bir aldehit ve etkin hidrojen bileşiği molekülleri ile etkileşebilir (Şekil 3.1).



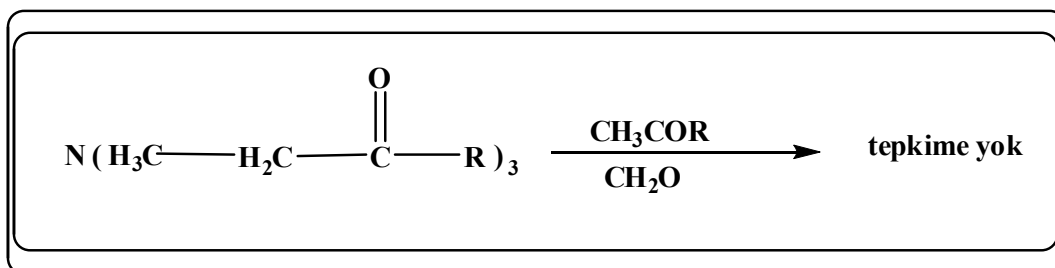
Şekil 3.1 İki hidrojene sahip Mannich bazının ileri reaksiyonu.

Bir hidrojene sahip azot bileşiğinin tepkimesi şekil 3.2'deki gibidir.



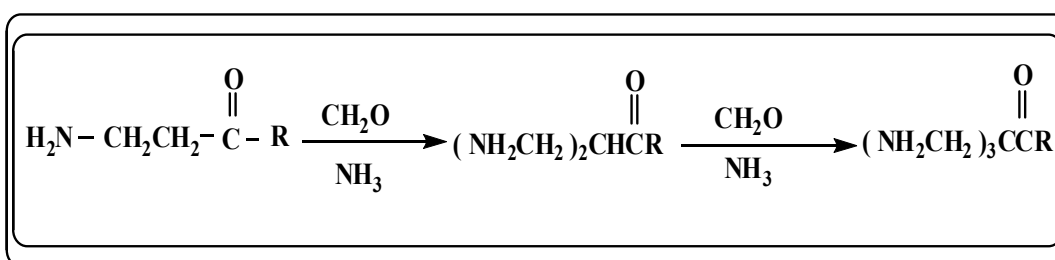
Şekil 3.2 Bir hidrojene sahip Mannich bazının ileri reaksiyonu.

Azot üzerinde hiç hidrojen yoksa reaksiyon daha ileri gitmez (Şekil 3.3).



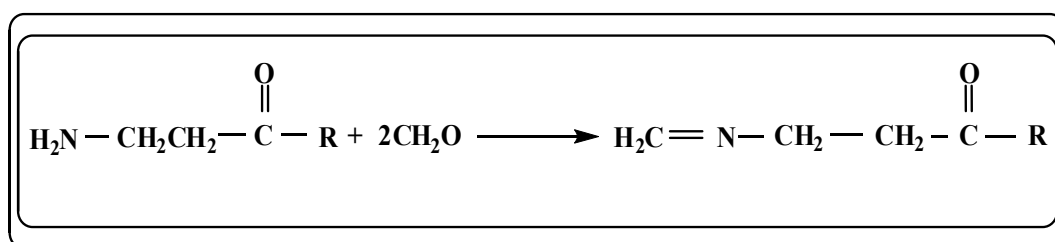
Şekil 3.3 Hidrojene sahip olmayan Mannich bazının ileri reaksiyonu.

ii- Mannich bazının verdiği ikinci reaksiyon etkin metilen grubu üzerinde meydana gelir. Eğer bazın etkin metilen kısmında bir ya da iki etkin hidrojen daha varsa aldehit ve amin reaksiyona devam eder (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Bir veya birden fazla etkin hidrojen atomuna sahip Mannich bazının reaksiyonu.

iii- Mannich bazın üçüncü tip reaksiyonu aşırı formaldehit bulunduğu zaman ortaya çıkabilir. Formaldehit bazla etkileşerek Schiff bazı verebilir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 Aşırı formaldehit varlığında Schiff bazı oluşumu.

Mannich bazları organik kimyada pek çok ürünün üretiminde kullanılır (Champe and Harvey, 1997).

4. MANNİCH BAZLARININ KULLANIM ALANLARI

Çizelge 4.1 Mannich bazlarının kullanım alanları.

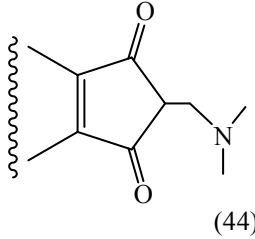
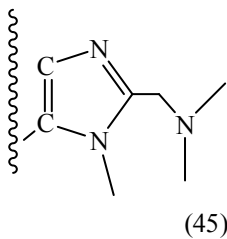
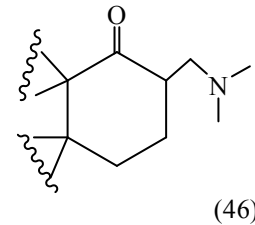
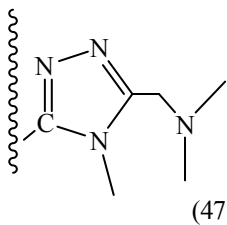
Farmasötik Endüstri ve böcek ilacı ürünleri		Makromoleküller		Petrol ürünleri	Diğer ürünler	Saflaştırma	Geri dönüşüm
<u>Tıbbi ilaçlar</u>	<u>Zirai ilaçlar</u>	<u>Doğal</u>	<u>Sentetik</u>	-Petrol işleme	-Analitik reaktifler	-Su	-Madeni yağlar
- Antibiyotikler	-İnsektisitler	-Deri	-Yapıştırıcı	-Filtreleme	-Kozmetik	-Gazlar	-Plastik
- Antidepresant	-Herbisitler	-Kağıt	-Dolgu malzemesi	-Akışkanlığın düzenlenmesi	-Boya ve pigmentler		-Kağıt
-Antikanser	-Fungisitler	-Tekstil	-Kaplama ürünleri	-Parafin ayırıştırma	-Patlayıcılar		
-Antitümör	-Büyüme düzenleyiciler		-Elastomer	-Tuzun giderilmesi	-Gıda endüstrisi		
-Antilemfoma			-Köpükler	-Köpük önleyici ajanlar	-Mürekkep		
-Antipsikotik			-Plastikler	-Kirlilik önleyiciler	-Fotoğraf		
-Antikoagülant				-Demir süferler	-Matbaa		

Çizelge 4.1’de gösterildiği gibi, Mannich bazları organik kimya endüstrisinin pek çok ürününün üretiminde kullanılır. Özellikle, bu bileşikler makromoleküler sentetik maddelerin aktif temel farmasötikleri ya da temel bileşenleridir. Bu ikinci alanda, petrol ürünlerinin üretimindeki ve atıkların geri dönüşümü gibi birçok alanda, bu maddeler önemli katkı maddeleri ya da yardımcı maddeler olarak kullanılırlar.

4.1 Farmasötik Endüstri ve Böcek İlacı Ürünleri

Mannich bazlarının kimyanın gelişimine temel katkısı şüphesiz, bu yüzyılın başında Carl Mannich’in yaptığı farmasötik çalışmalar olmuştur. Aslında, ticari olarak kullanılması mümkün olabilecek ilaçlar ile ilgili yapılan muazzam ölçüdeki araştırma ve yayınlar bu bileşiğin endüstri ile ilişkisini ortaya koymuştur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Farmasötikal olarak kullanılan C-Mannich Bazları.

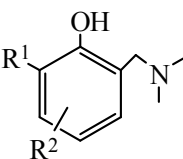
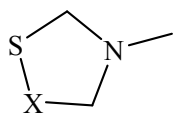
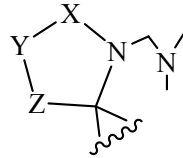
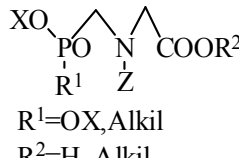
Farmasötikal Olarak Kullanılan Mannich Bazları			
İşlevsel Yapı	Ticari Adı (Aktivitesi ^a)	İşlevsel Yapı	Ticari Adı (Aktivitesi ^a)
 (44)	Oxazidione (aCO)	 (45)	Clemizole (aHY)
 (46)	Malindone (aPS) Pimeclon (RS)	 (47)	Adinazolom (aD)

aCO: Antikoagülant (44), aPS: Antipsikotik (46), RS: Solunum Uyarıcısı (46), aHY: Antihistaminik (45), aD: Antidepresant (47) (Schmidt and Brunetti, 1976; Asherson et al., 1980; Ermili et al., 1974; Roth et al., 1976).

Çizelge 4.2’de verilen ve ilaç etken maddesi olarak kullanılan bileşikler Mannich reaksiyonlarından elde edilmişlerdir.

Fenolik Mannich bazları (48) en yaygın böcek ilaçlarıdır, fakat halkalı ve düz zincirli O-Mannich bazları (Croxall and Melamed, 1995; Kovalenk et al., 1987) ve fosforik asit Mannich bazları da (Kuwahara and Mutsukado, 1977) önemli ölçüde kullanılmaktadır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Biyosid aktiviteye sahip Mannich bazları.

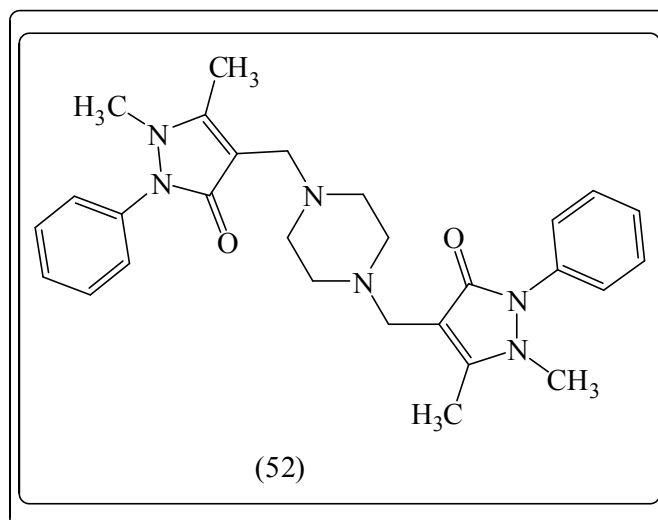
Biyosid Aktiviteye Sahip Mannich Bazları			
İşlevsel Yapı	Aktivitesi	İşlevsel Yapı	Aktivitesi
 $R^1 = \text{Me, OMe, COOH} \dots$ $R^2 = \text{H, Cl} \dots$ (48)	İnsektisid ve İnsect Repellant	 $X = \text{CH}_2, \text{N(Alkil)-CS}$ (49)	Fungusit ve Virüsitler
 $X-Z = \text{C, N, S}$ (50)	Fungusit ve Virüsitler	 $R^1 = \text{OX, Alkil}$ $R^2 = \text{H, Alkil}$ $X = \text{H, P Bu}_4$ $Z = \text{H, OH, Alkil}$ (51)	Herbisit ve Plant Growth Regulators

Son zamanda yapılan çalışmalarda görüldüğü üzere çok bileşenli reaksiyonların önemi giderek artmaktadır (Dondoni and Massi, 2006). Bu açıdan Mannich kondenzasyonu da birçok bileşenli reaksiyon olduğu için önemlidir. Azot atomu içeren ve bir heterosiklik bileşik olan heksahidroprimidinler gibi birçok bileşik Mannich bazı ile sentezlenerek anorganikteki uygulamaları incelenmiştir (Krassig, 1955). Heterosiklik yapı içeren ve alkaloid grubuna giren bu bileşiklerin biyoaktiviteleri incelendiğinde antikanser, antilemfoma ve antibiyotikler gibi birçok aktivitesi gözlenmiştir (Groszkowski et al., 1973). Anorganik kimyada yapılan son çalışmalarda ise bu ligantların Rh(I) (Özdemir vd., 2005), Al(III) (Zhao, Sun, You, 1999) ve Fe(II), Ni(II), Zn(II) gibi biyolojik öneme sahip metallerle kompleksleştikleri bildirilmiştir (Bre'fuel et al., 2005).

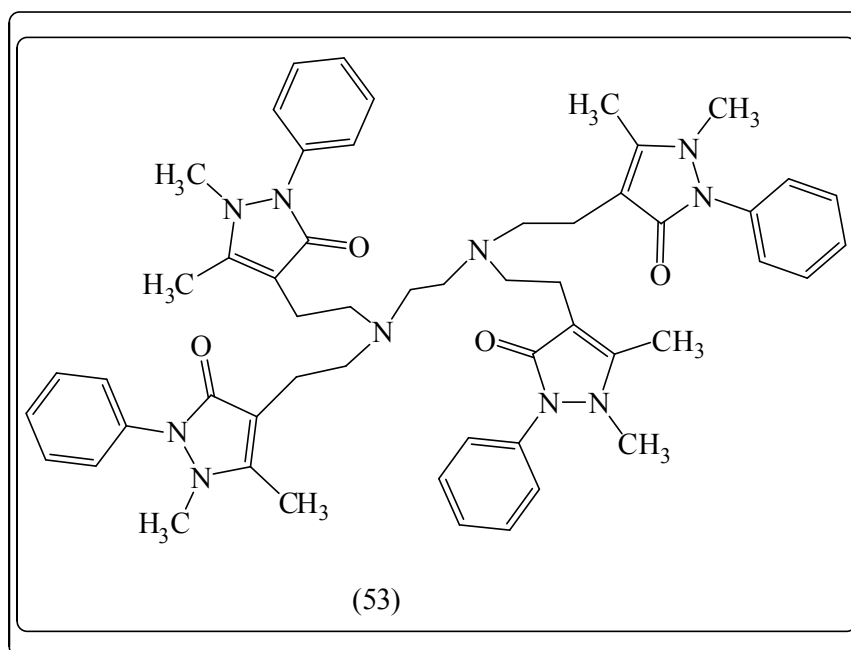
Biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerin çeşitli geçiş metalleri ile yapmış olduğu kompleksler biyoanorganik kimyanın en önemli araştırma konusunu oluşturmaktadır. Bu alanda geliştirilmiş bazı ligantların geçiş metalleri homojen katalizlerde kullanılmıştır (Chaudhuri et al., 1998; Chaudhuri et al., 1999).

Tyrosin radikalinin keşfiyle beraber oksijen bağımlı enzimatik katalizlerin (Sigel, 1994; Goldberg and Lippard, 1995) çeşitli metalloprotein içermesinden dolayı koordinasyon kimyasında fenol içeren ligantlarla (Halfen et al., 1997; Wang and Stack, 1996; Zurita, et al., 1997; Bill et al., 1999; Halcrow et al., 1999; Itoh, et al., 1997; Yamato et al., 2000; Shimazaki et al., 2000) ilgili araştırmalar halen devam etmektedir. Tyrosin radikalinin çeşitli analogları olarak fenoksil radikalleri ve fenol içeren ligant sistemleri de potansiyel olarak kullanılmaktadır. Ayrıca fenollerin demirle sentezlenen kompleksleri de, demir-tirosinat proteinin (Awugh et al., 1980) aktif bölgesi gibi dizayn edilerek kullanılmıştır. Diğer taraftan, monometillenmiş fenoller yine demir ile kompleksleştirilmiş ve hemertirin (Borovik et al., 1990) enzimin aktif bölgesine benzetilmiştir. Benzer şekilde metan monooksijenaz (Murch et al., 1986) ya da ribonükleotid redüktaz (Niehida et al., 1991) gibi enzimler içinde dinükleer mangan kompleksleri (Diril et al., 1989) kullanılmıştır. Son yıllarda, hemosiyanin ve tyrosinaz'ın aktivitelerine benzemesi amacıyla diaminometillenmiş fenollerden dinükleer bakır kompleksleri de sentezlenmiştir (Oberhausen et al., 1991; Gelling et al., 1988; Gelling and Feringa, 1990; Gelling et al., 1990). Çoğu enzimin yerine kullanılmış ve simetrik dinükleer ligantlardan sentezlenmiş kompleksler, farklı koordinasyon yapılarına sahip olmalarına rağmen ortak olarak iki metal merkezinin bulunduğu görülmüştür. Bu ligantlar genel olarak iki metal merkezi sebebiyle dinükleer kompleks oluşumuna gitmektedir. Ancak sınırlı sayıda simetrik olmayan dinükleer komplekslerinde çözücü içinde aniden ve kendiliğinden oluştuğu bildirilmiştir (Norman et al., 1990; Gomez-Romero et al., 1986; Fallon et al., 1991, Yan et al., 1989).

Yapılan başka bir çalışmada ise Mannich bazları (77, 78) ve bu bazların demir ile yapılmış metal komplekslerinin antikanser aktiviteleri incelenmiş ve komplekslerin ligantlara göre daha iyi aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (Alexandrova et al., 2005).

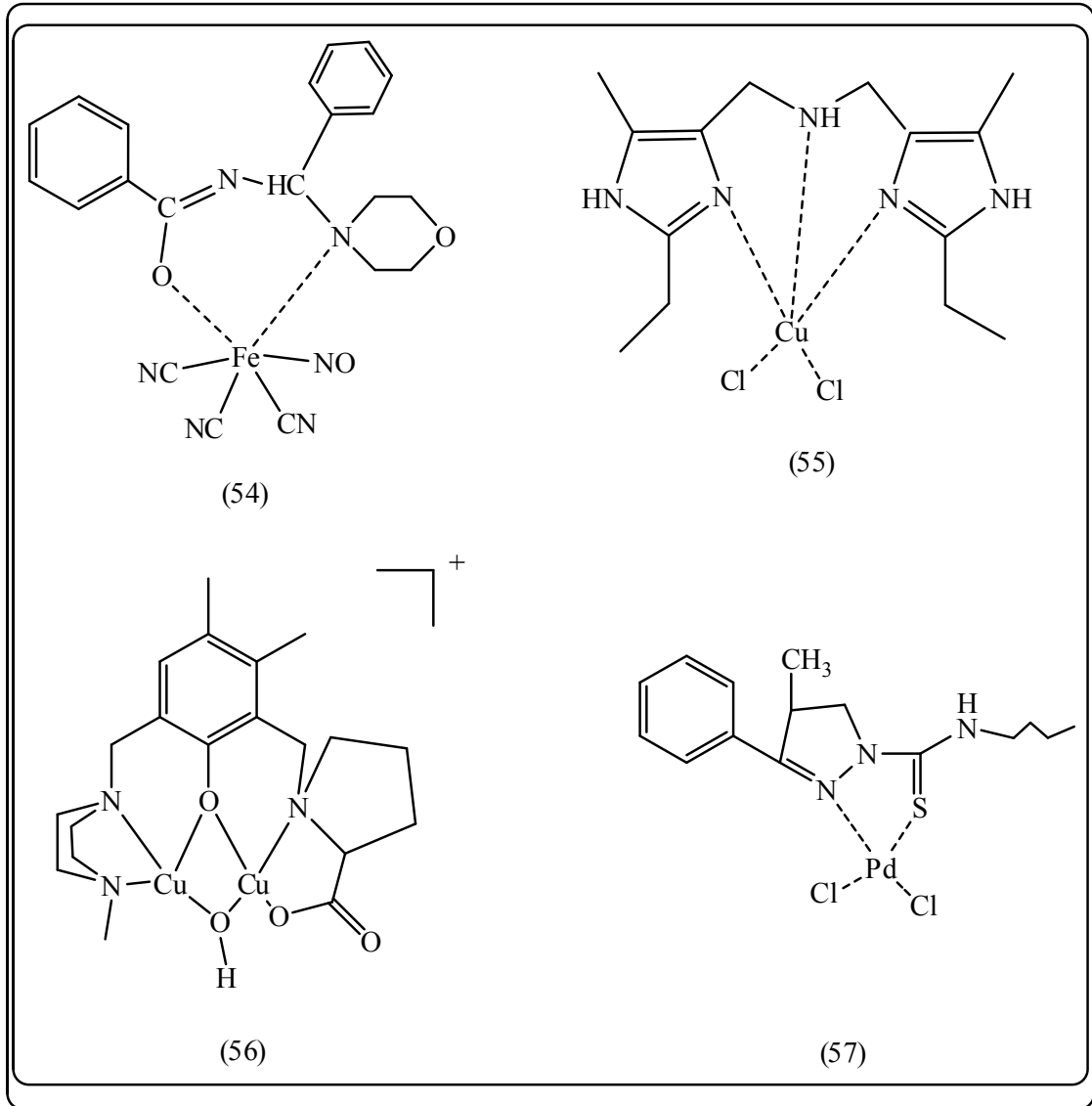


Şekil 4.1 N,N-bis(4-antipirilmetil)-piperazin.



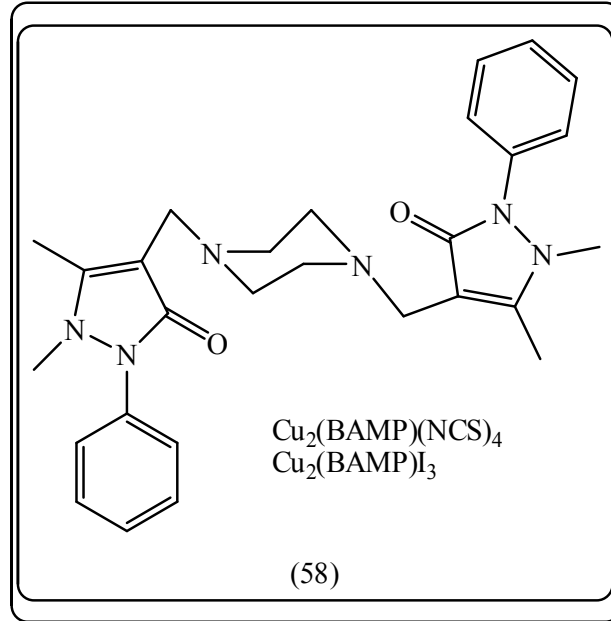
Şekil 4.2 N,N-tetra-(antipiril-1-metil)-1,2-diaminoetan.

Şekil 4.3’de verilen örneklerde görülen, (53) numaralı bileşik, demir (III)’ün bir kompleksi, yine aynı şekilde görülen farklı Mannich bazlarının bakır kompleksleri (55, 56) ve (57) numaralı bileşik ise Mannich bazının paladyum kompleksidir. Bu kompleks için söylenebilecek bir başka şey ise antiamoebik aktivite göstermesidir. Ligant kompleksleştirildiğinde aktifliği arttığı görülmektedir (Indian, 2000).



Şekil 4.3 Sentezlenmiş çeşitli metal kompleksleri (Indian, 2000).

Şekil 4.4’de verilen ligant (58), Mannich reaksiyonu ile sentezlenmiştir. Bu ligandın bakır komplekslerinin iyi bir antitümör aktivitesi gösterdiği rapor edilmiştir (Experimental Pathology and Parasitology, 2005).



Şekil 4.4 Antitümör aktivitesi gösteren ligantın metal kompleksleri.

4.2 Doğal ve Sentetik Makromoleküler Materyallerin Üretimi

Doğal makromoleküllerin üretiminde yardımcı ya da katkı maddesi olarak Mannich Bazlarının kullanımı ile ilgili temel maddeler, selülozik ve protik fiberlerin üretimine dayanan deri, kağıt ve tekstil endüstrisidir.

4.2.1 Deri

Deri üretim prosesi ile ilgili bazı araştırmalar, kollojenlerle çapraz bir ilişkiye atıf etmektedir. Özellikle, deneyler formaldehit ya da diğer poli-fonksiyonel Mannich Bazı başlangıçlarını kullanarak yapılmaktadır. Özellikle deri üretiminde fenolik Mannich Bazlarının ajanlar olarak kullanıldığı çalışmalar dikkate değerdir (Sellet, 1972).

4.2.2 Kağıt

Lignin (McKauge, 1974) ile muamele sonucu farklı aminometil türevlerinin üretildiği ahşap endüstrisine ilave olarak, selüloz endüstrisi (Mahanta et al., 1986) ve özellikle kâğıt üretim proseslerinde çoğunlukla katkı maddesi olarak ya da yardımcı madde olarak Mannich bazlarından türetilen ürünler kullanılmaktadır. Tutunma, ayırma, filtreleme ve kurutma proseslerinde kullanıldıkları gibi son ürünün kalitesini arttırmak üzere boyutlandırma katkıları ya da güçlendirme katkıları olarak da kullanılmaktadır (Koho, 1984).

4.2.3 Tekstil

Tekstil endüstrisinde hem üretim prosesinde, hem de ürünün kalitesini artırma amacı ile boyamada Mannich Bazları kullanılmaktadır (Guthrie, et al.,1964).

4.2.4 Makromoleküler materyallerin üretimi

Mannich bazı kullanımına ihtiyaç duyan makromoleküler sentetik materyallerin endüstriyel üretimi Tablo 4’de verilmiştir. Bunlardan bazıları (yapıştırıcılar, kaplamalar, sabun plastikleri ve reçineler) materyalin yapısal bileşeni olarak Mannich bazını kullanırken, tüm listelenmiş alt dallar önemli bir katkı maddesi olarak (temel olarak antioksidanlar) ya da temel katalizör ve hızlandırıcı olarak kullanımlarını göstermektedir. Ayrıca plastiğin tele yapışması için fotopolimerleşebilen boyalar (Roos, 1981) ve hız ayarlı yapışma arttırıcılar kullanımı gibi özel fonksiyonlar da gösterilmiştir (Schloman, 1986).

Çizelge 4.4 Makromoleküler ürünlerde Mannich bazları.

Makromoleküler Ürünlerde Mannich Bazları		
Branş	Fonksiyonu	Materyal
Yapıştırıcı	Komponent/Modifiye	Fenol esaslı Nişasta esaslı Melamin, poliakrilamid
	Katalizör	Epoksi
Kaplama	Komponent	Epoksi
	Kür kimyasal hızlandırıcı	Epoksi
	Adhezyon arttırıcı	-
	Pigment	-
Elastomer	Vulkanizasyon arttırıcı	Doğal ve sentetik Kauçuk
	Antioksidan	-
	Yapışkan arttırıcı	-
Köpükler	Komponent/Modifiye	Poliüretanlar
	Dengeleyici	Poliüretanlar
Plastikler	Antioksidant	Polienler
	Hızlandırıcı	Poliakrilikler
	Plastikleştirici	-
Reçineler	Komponent/Modifiye	Melamin ve Üre esaslı
	Katalizör	Melamin esaslı, poliüretanlar
	Yapışkan arttırıcı	-
Dolgu Malzemesi	Katalizör	Poliüretanlar, Epoksiler

4.3 Petrol Ürünleri

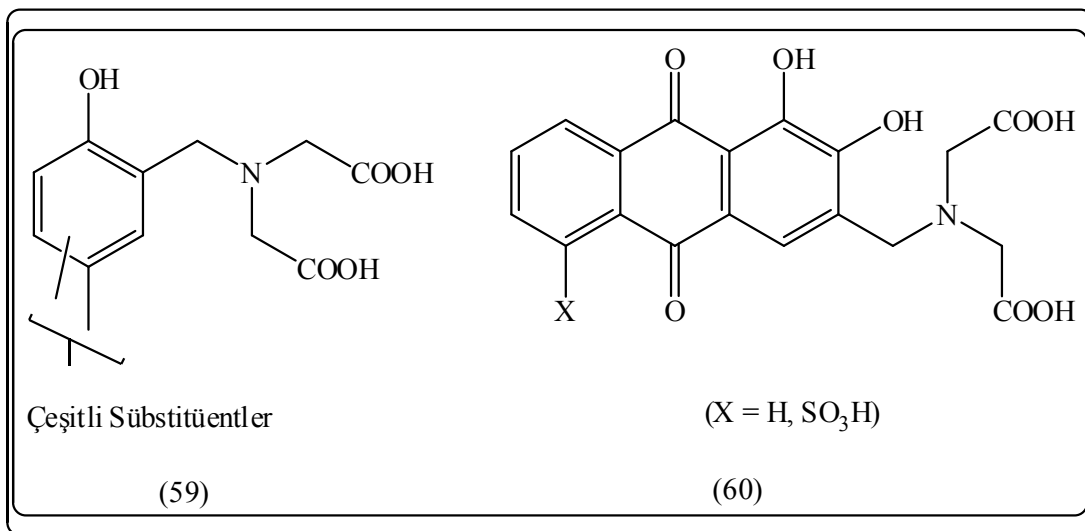
Mannich bazları, ham yağ çıkarılmasından son ürünün eldesine kadar, petrol endüstrisinin proseslerinin tamamında yardımcı madde ve katkı maddesi olarak kullanılır. Aslında bunlar, akışkanlığın düzenlenmesinde (Leighton et al., 1987), parafinden ayrışmada (Oleinikov, 1981) ve tuzun giderilmesinde (Dytyuk and Samakaev, 1980) oleofilizer (yağ seven) olarak kullanılırlar. Mannich bazları köpükleşme önleyici ajanlar ve demulsiferler (faz dengeleyici) olarak kullanıldığı gibi (Mikryukova et al., 1985), ısı değişimlerinde kirlilik önleyici (Roling and Niu, 1984) olarak da kullanılırlar.

4.4 Muhtelif Ürünler

Yukarıda bahsedilen (Tablo 6) temel branşlara ilave olarak, Mannich bazlarının çok yönlü kimyası spesifik kullanıma yönelik pek çok ürünün sentezini mümkün kılar.

4.4.1 Analitik ajanlar

Bazı fenolik Mannich Bazlarının komplekslerinin, kolorimetrik ajanlar ve titrasyon indikatörleri üretmek için kullanılabileceği rapor edilmiştir. Alizarin türevleri (60) (Minin and Filipova, 1972) içeren pek çok fenol (59) (Körbl and Pribil, 1957) bu açıdan sentezlenmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 Analitik ajan olarak Mannich bazları.

4.4.2 Kozmetik

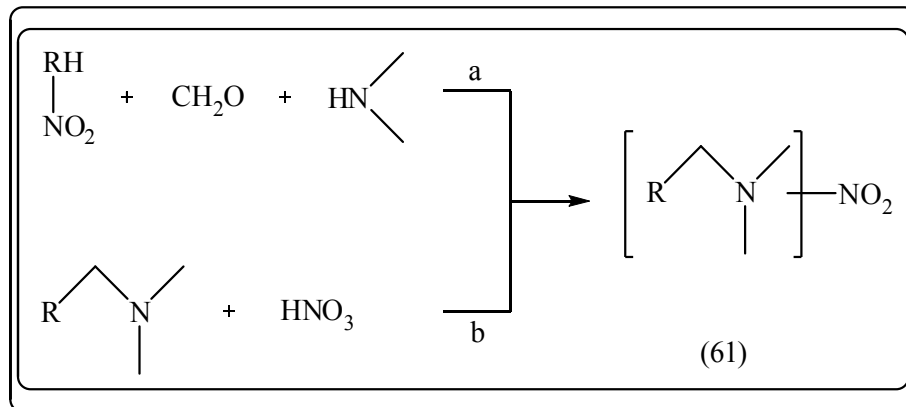
Hijyenik bakım için üretilen deodorantlar ve saç ürünlerinde de fenollerin polimerik Mannich bazları kullanılmıştır (Kalopissis et al., 1976).

4.4.3 Boyalar

Mannich bazları, tekstilde boyama öncesi ve sonrası muamelelerde ve kâğıt boyama ile pigment sentezinde de kullanılmıştır.

4.4.4 Patlayıcılar ve barutlar

Patlayıcı olarak NO_2 grubu içeren Mannich bazları Şekil 37'de gösterildiği şekilde nitroalkanların Mannich reaksiyonları ile (a) ya da aminometil türevlerinin nitrasyonu ile (b) sentezlenmiştir (61) (Leusen and Strating, 1977; Boileau et al., 1990).



Şekil 4.6 Patlayıcı sektöründe kullanılan Mannich bazı.

4.4.5 Gıda endüstrisi

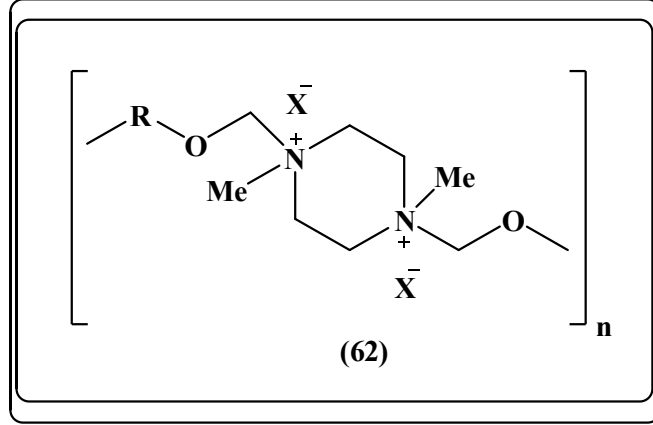
Mannich sentezi gıda endüstrisinde [Yüzey-aktif ajanlar (Arnos et al., 1980; Kawaguchi et al., 1982) ve gallik asitten türetilen antioksidanlar protein seyreltici ve gıda koruyucu olarak sırası ile katkı maddesi olarak da kullanılmıştır], hayvan besinlerinin hazırlanmasında ve aminoasit üretiminde kullanılır (McKinney and Uhing, 1956).

4.4.6 Mürekkepler

Benzotriazolden ve naftolden türetilmiş Mannich bazları seyreltici ve antikorozyon özellikleri nedeni ile intaligo yazıda ve top uçlu tükenmez kalem mürekkeplerinin üretiminde kullanılırlar.

4.4.7 Fotoğrafçılık

Bazı Mannich bazları ve türevleri bu alanda kullanılır. Bu amaçla, piperazinin O-aminometil türevleri (62) fotoğrafik emülsiyonların duyarlılığının arttırılmasında kullanılmıştır.



Şekil 4.7 Fotoğrafik emülsiyonların duyarlılığının arttırılmasında kullanılan Mannich bazı örneği.

4.5 Sıflaştırma ve Geri Dönüşüm

Endüstriyel atık suların sıflaştırılmasında ve geri kazanımı çalışmaları ekonomi ve çevre açısından oldukça önemli olup, bu işlemdede etkin şekilde kullanılabilecek ve itina ile hazırlanmış yardımcı materyallere ihtiyaç vardır. Yine bu alanda özellikle atık suların arıtılmasında ve iyon-değişim reçinelerinin üretiminde Mannich Bazları kullanılmaktadır.

5. BİYOLOJİK AKTİVİTE VE ENZİM

5.1 Enzimler

Enzimler canlı hücreler tarafından sentezlenen ve canlı metabolizmasındaki kimyasal reaksiyonları hızlandıran ve hiçbir yan ürün oluşturmada %100 ürün verimi sağlayan biyolojik katalizörlerdir. Enzimlerin, üzerinde etkili oldukları ve ürüne dönüştürdükleri bileşiklere “substrat” denir.

Enzimle katalizlenen reaksiyonların çoğu katalizlenmeyen reaksiyonlara göre 10^{15} ile 10^{20} kat daha hızlıdır. Tipik olarak, her enzim molekülü saniyede 100 ile 1000 substrat molekülünü ürüne çevirme yeteneğine sahiptir. Birim zamanda bir mol enzim tarafından ürüne dönüştürülen substratın mol sayısına “turnover sayısı” denir. Karbonik anhidraz, enzimler arasında en yüksek turnover sayısına sahip olanları arasındadır (600.000 s^{-1}) (İnan ve Gül, 2001).

Enzimlerin büyük kısmının etki gösterebilmesi için protein yapılı olmayan bir kofaktöre gereksinimi vardır. Kofaktör, koenzim adı verilen organik bir bileşik veya metal iyonu olabilir. Enzim, kofaktörü ile beraber bulunuyor ise holoenzim, holoenzimin kofaktörsüz protein kısmına apoenzim denir. Kofaktör gerektiren enzimlerde; uygun kofaktör yoksa apoenzimin biyolojik aktivitesi yoktur (İnan ve Gül, 2001). Bazı enzim-kofaktör bağlanmaları kovalent yapıda ve diyalizle uzaklaştırılamayacak kadar sıkıdır. Böyle kofaktörlere “prostetik grup” adı verilir (Harper, 1975). Kofaktör olarak metal iyonu kullanan enzimlere metaloenzim denir. Metal iyonları ya asit-baz katalizi, ya kovalent kataliz yapar, yada enzimin konformasyonunda değişiklik yaparak substratın bağlanmasını kolaylaştırır (İnan ve Gül, 2001). Enzimlerin hem “in vivo” hem de “in vitro” aktivitelerinin bazı bileşikler tarafından azaltılması hatta yok edilmesi olayına “inhibisyon” adı verilir. Buna sebep olan bileşiklere “inhibitör” denilir. İnhibitörler genellikle küçük molekül kütesine sahip bileşikler veya iyonlardır.

Enzimatik aktivitenin inhibisyonu, biyolojik sistemlerde başlı başına bir kontrol mekanizması oluşturduğundan önemli bir olaydır. Birçok ilaçlar ve zehirli bileşiklerde etkilerini bu yolla gösterir.

İnhibitörler hem etki mekanizmalarının, hem de metabolik yolların aydınlatılmasında önemlidir (Keha ve Küfrelioğlu, 2004). Bir enzimin katalitik etkisi birçok yollarla değiştirilebilir. Bir protein olan enzim molekülü denatüre edilirse üç boyutlu yapısı bozulur ve bunun sonucu enzimin katalitik etkisi kaybolur. Enzimin aktif bölgesini oluşturan fonksiyonel grupları bloke eden herhangi bir reaksiyon, enzim aktivitesini değiştirir veya yok eder. Bu tip

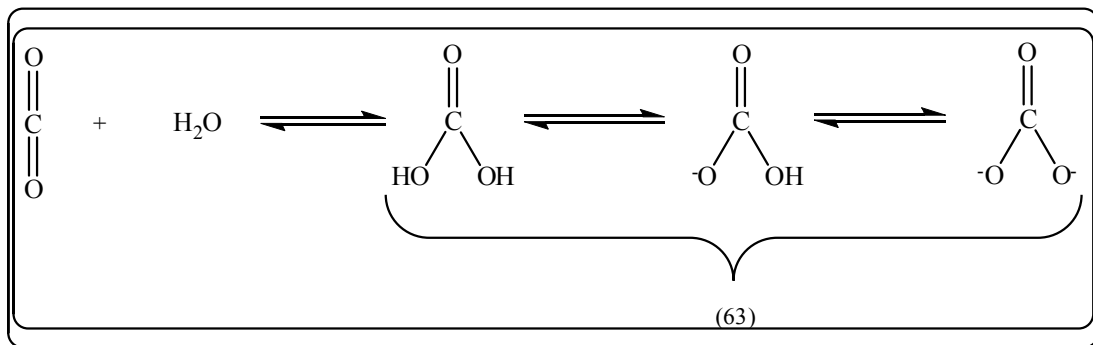
inhibitör enzime katılınca enzimin orijinal aktivitesi tekrar kazanılmayacak bir şekilde değişikliğe uğrar (İnan ve Gül, 2001).

5.2 Karbonik Anhidraz

Genel olarak insandaki CA izoenzimlerinin incelenmesi sonucunda ortaya çıkarılmıştır. Omurgahlarda on altı farklı izoenzimin gen yapısı belirlenmiş ve bu izoenzimlerin hayati fonksiyonlarının doku ve organlara göre farklılık gösterdiği bulunmuştur. Bu dokular arasında ; akciğer, böbrek, gastrik mukoza, göz lensi, tükürük bezleri, kaslar, sinir miyelin kılıfı, pankreas, prostat ve endometrium dokular başta gelmektedir ve bunların çoğundan CA enzimi karakterize edilmiş ve fonksiyonları belirlenmeye çalışılmıştır (Hewett-Emmett, 2000).

Göz lensi, kornea ve silyer apitelyumda ise, HCA-II ve HCA-IV izoenzimleri bol miktarda bulunmaktadır. Bu dokuda bulunan HCA-II izoenziminin önemi, glokom hastalığı tedavisi için yapılan araştırmalar sonucu ortaya çıkarılmıştır. Glokom hastalığı, anormal derecede yüksek göz içi basıncından ileri gelmekte (IOP) ve dönüşümsüz körlüğe sebep olmaktadır. IOP' nin tek kontrol noktası göz içi sıvısıdır. Bu sıvının salgılanmasında, karbonik anhidraz enziminin uyarıcı etkisi vardır. Bu enzimin inhibisyonu ile, silyer epitelinin salgı aktivitesi %25-30 oranında azalmaktadır (Renzi et al., 2000).

Karbonik anhidraz, CO_2 ve H_2CO_3 veya ortamın pH' sına göre HCO_3^- ve CO_3 iyonları arasında dönüşümleri katalizleyen bir enzimdir. Düzlem bir molekül olan CO_2 ' in farklı açılara sahip piramidal yapıda H_2CO_3 ' e kendiliğinden dönüşümü oldukça yavaştır.



Şekil 5.1 HCO_3^- ve CO_3 iyonları arasındaki dönüşümler.

Karbonik anhidrazın biline on altı izoenziminden üçü olan CA I, CA II ve CA III kristallendirilmiş ve yapıları hakkında detaylı bilgiler elde edilmiştir. Üç izoenzimde stoplazmada çözünmüş halde bulunur. Her bir enzim molekülün aktif bölgesi, yaklaşık

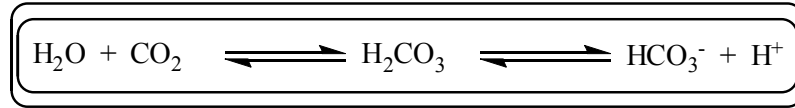
tetrahedral geometriye sahip, üç histidin imidazol halkası ve bir su molekülü ile koordine olmuş Zn^{+2} iyonun kataliz olayındaki fonksiyonu vazgeçilmez olup, uzaklaştırılmasıyla elde edilen apo-CA' lar tam manasıyla aktiveden yoksundurlar (Armstrong et al., 1966; Scher and Dietsch, 1984).

Karbonik anhidraz enzimi birçok fizyolojik olayda rol almaktadır. Bunlar arasında en önemlileri şöyle sıralanabilir:

1. Asit-baz dengesi
2. Kardiovasküler tonusun regülasyonu
3. Sindirim
4. Hücre bölümleri arasındaki iyon değişimi
5. Değişik enzimatik reaksiyonlar için gerekli bikarbonatın sağlanması

5.3 Karbonik Anhidraz Aktivitesi

Enzimin aktivitesi; CO_2 'in hidratasyonu, bikarbonatın dehidratasyonu ve bazı esterlerin hidrolizi gibi özelliklerinden yararlanılarak belirlenir.



Şekil 5.2 Karbonik anhidraz enzim aktivitesi.

Reaksiyonda görüldüğü gibi, ortama göre CO_2 gazı çıkmakta veya harcanmaktadır. Aynı zaman da H^+ konsantrasyonu artmakta veya azalmaktadır. Açığa çıkan veya azalan CO_2 gazı, kantitatif olarak manometrik metodun reaksiyon pH'sının değişken olması, CO_2 'in suda sınırlı çözünmesi ve uzun zaman alması gibi dezavantajları vardır (Maren and Conroy, 1993).

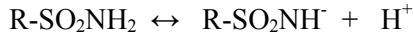
İkinci olarak, ortamdaki H^+ konsantrasyonu; pH'nın yükselmesi veya düşmesi için geçen süre potansiyometrik yolla inhibitörle belirlenebilir. Fakat bu metodun kısa zaman alması gibi bir avantajının yanı sıra, reaksiyon sırasında pH'nın değişken olması CO_2 'in suda çözünmesi ve kullanılan indikatörün inhibisyon etkisi gibi olumsuz sonuçları da vardır (Stams et al., 1998).

Enzimin saflaştırma basamağında uygulanan yöntemde; CO_2 hidratasyonunda pH'ın 8,2' den 6,3' e düşmesi için geçen süre, pH-stat metodu kullanılarak bulunmaktadır (Briganti et al., 1996).

Enzimin esteraz aktivitesi ise, p-nitro fenil asetatın hidrolizi ile açığa çıkan p-nitro fenol miktarının 348 nm’ de spektrofotometrik ölçümü ile tayin edilmektedir (Landolfi et al., 1998).

5.4 Karbonik Anhidraz İnhibitörleri

Yapılan çalışmalarda karbonik anhidraz enziminin en güçlü organik inhibitörünün aromatik ve heteroaromatik sülfonamidler olduğunu göstermektedir. Sülfonamidlerin kolaylıkla iyonik yapı kazanmaları en çarpıcı özelliklerinden biridir. Bu iyonik yapı aşağıdaki reaksiyonda görülmektedir.



Sülfonamidin bu özelliği karbonik anhidraz enzimi üzerindeki inhibisyon için son derece önemlidir. Ayrıca sülfonamid ligand olarak kullanılmaktadır (Hakansson, et al., 1992; Roughton, et al., 1946).

Sülfonamidler, süstitüe olmamış bir $-SO_2NH_2$ grubu veya bir $-SO_2NH(OH)$ grubu içeren etkin inhibitörlerdir. Sülfonamid grubunun azot atomu aracılığıyla ilk olarak; enzimin aktif bölgesindeki metal iyonuna anyonlar şeklinde ($R-SO_2NH^-$ veya $R-SO_2N-OH$) iyonik olarak bağlanırlar. İkinci olarak da hidrofobik etkileşmelerle inhibitörün enzime bağlanması tamamlanmış olur. Sülfonamidlerin, karbonik anhidraz enzimine güçlü bir şekilde bağlanması; bu iki etkinin toplamının bir sonucudur (Tozlu, 1997; Lindskog and Wistrand, 1988)

Karbonik anhidraz inhibitörlerini yapılarına ve etki mekanizmalarına göre ayırmak mümkündür. Sülfonamidlerden elde edilen bu ilaçlar sistemik karbonik anhidraz inhibitörleri ve topikal karbonik anhidraz inhibitörleri olarak iki sınıfta incelenir.

5.5 Göz Bozuklukları ve Glokom

Glokom hastalığı, yüksek göz içi basıncıyla ortaya çıkarak, dönüşümsüz körlüğe sebep olmaktadır. Hastalığın en belirgin risk faktörü göz içi basıncının yükselmesidir. Diğer risk faktörü miyopi, diabetes, yetersiz kan dolaşımı, yaş, yüksek göz tansiyonu, sistemik hipertansiyon ve kalıtım yolu ile aktarılması sıralanabilir. Fakat göz içi basıncı 22 mm Hg’den daha düşük hastaların %20’sinde de glokom hastalığı rastlanmaktadır.

Göz içi basıncının kontrolünde çok önemli rolü olan karbonik anhidrazın inhibisyon yolu ile glokomlu hastaların göz içi basıncı düşürülmektedir. Karbonik anhidrazın güçlü inhibitörleri olan sülfonamidleri 1940 yılında Mann ve Keilin sentezlemiştir.

Glokom tedavisinde uzun zamandan beri 4 çeşit sistemik bileşikler kullanılmaktadır. Bu bileşikler asetozolamid (64), metazolamid (65), etokzolamid (66) ve diklorfenamid (67) bileşikleridir (Webster, 1989; Alexopoulos et al., 1996). Göz damlası olarak kullanılan suda çözülen sulfonami CA'ların geliştirilmesi 1990'lı yıllarda başladı ve 1995 yılında bu tür ilk farmakolojik etmen olan dorzolamid (68) Trusopt markasıyla piyasaya çıktı. Yapısal olarak benzer başka bir bileşen olan brinzolamid glokomanın tropikal tedavisi için onaylanmıştır.

Dorzolamid (68) ve brinzolamide (69) suda çözülen CA inhibitörleridir ve korneaya nüfuz etmek için yağda yeterince çözülebilirler ve sırasıyla hidroklorik asit tuzu (5.5 pH değerinde) yada serbest baz topikal olarak uygulanabilirler. Bu iki ilaç IOP'nin azaltılmasında etkilidir ve sistematik olarak kullanılan ilaçlarla karşılaştırıldığında daha az yan etki gösterirler. Dorzolamid göz damlası solusyonlarının asidik pH düzeyinden kaynaklanan gözün batması, yanması, kızarması, bulanık görmek ve kaşıntı gibi gözlemlenmiş yan etkilere sahiptirler. Dolayısıyla doğal antiglokom ilaçların bulunması büyük önem kazanmıştır.

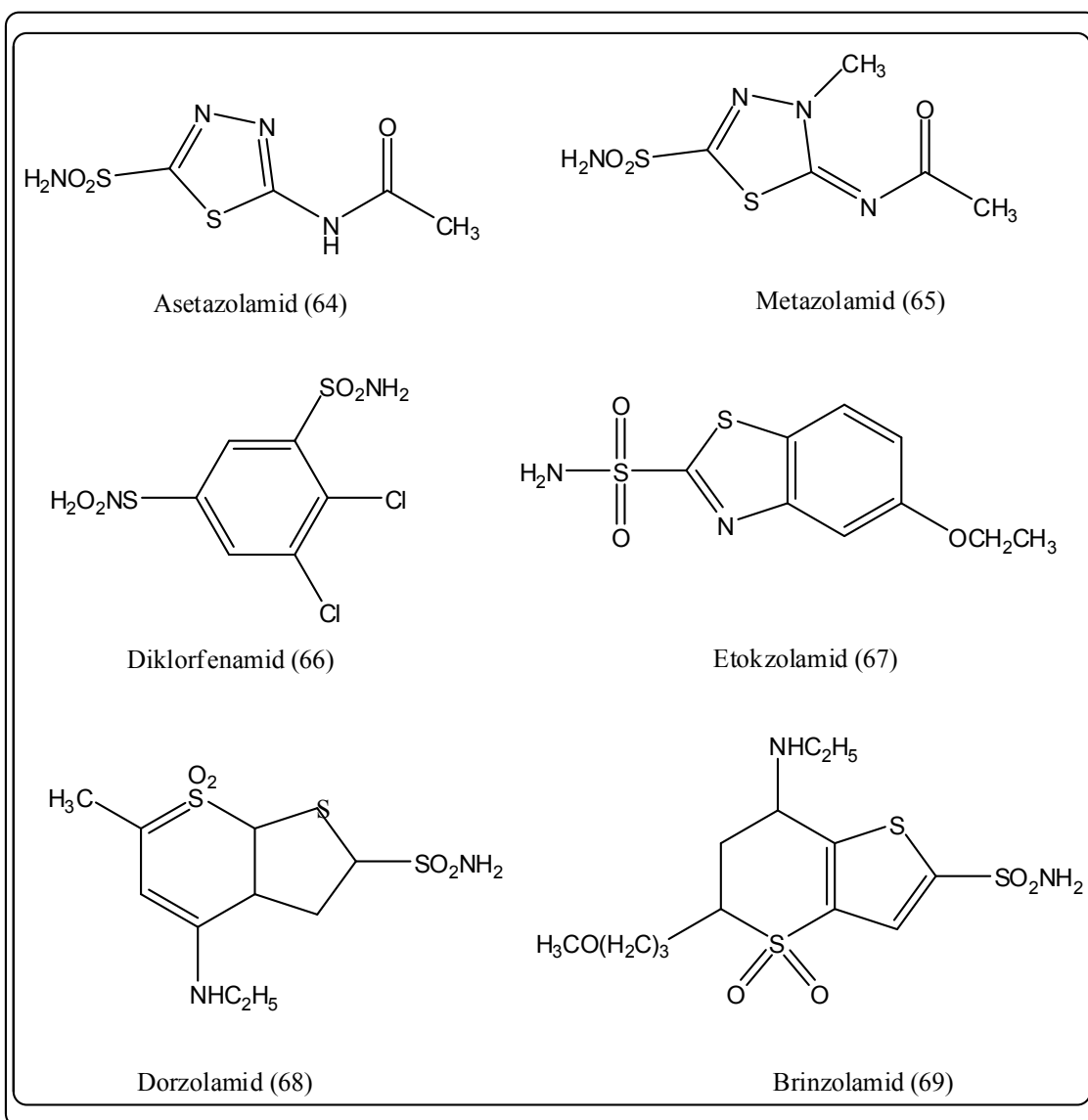
Glokom hastalığının gelişmesinde büyük bir risk faktörü olan yüksek göz içi basıncının oluşmasını engelleyen göz içi basıncının düşürülmesi yöntemi, glokom hastalığı tedavisinde önemli bir yer almaktadır ve hastalığın fazla ilerlememiş durumları için uygulanabilen geçerli bir metottur (Kass et al., 2002; Lichter et al., 2001; Heijl et al., 2002; Leske et al., 2003). Glokom tedavisinin temel amacı optik sinir başı hasarını ve buna bağlı gelişen görme alanı kayıplarını önlemektir. Optik sinir hasarının gelişiminde göz içi basıncının artışının yanı sıra diğer bir çok faktörün rolü olmasına rağmen uygulanan tedavi yöntemlerinin büyük bir bölümü göz içi basıncını düşürmeye yöneliktir (Ritch et al., 1996; James, 1993).

Glokomda diğer risk faktörleri; yaş, soy, diyabet, sistemik hipertansiyon, çeşitli miyop hastalıkları ve kalıtım yolu ile aktarılması sıralanabilir.

Göz içi basıncının kontrolünde çok önemli rolü olan karbonik anhidrazın inhibisyonu yolu ile glokomlu hastaların göz içi basıncı düşürülmektedir (Flammer et al., 2002). Bu yüzden karbonik anhidraz inhibitörleri yüksek IOP'yi düşürmek için yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

Çünkü göz içi sıvısının salgılanması silyer epitelyumda bulunan bir izoenzim olan CA-II tarafından HCO_3^- 'in üretimine bağlıdır (Rassam et al., 1993).

Çizelge 5.1 Karbonik anhidraz inhibitörleri.



6. ÇALIŞMANIN AMACI

Bu çalışmada; o-toluidin, dibenzilamin, 2,3-dimetilanilin, 2-floro anilin, 4-floro anilin ve formaldehit kullanarak kısa süreli, etkili, yüksek verimli, çözücüsüz ortamda reflux (ısıtma) yöntemine göre daha avantajlı mikrodalga yöntemi ile Mannich bazları sentezlendi. Sentezlenen Mannich bazlarının yapıları Infrared (kızılötesi) spektroskopisi, H¹ nükleer manyetik rezonans spektroskopisi, ¹³C nükleer manyetik rezonans spektroskopisi gibi spektroskopik yöntemlerle aydınlatıldı. Biyolojik aktivite açısından glokom enzim aktivitesi incelendi.

7. MATERİYAL VE YÖNTEM

6.1 Kullanılan Malzemeler

- Isıtma işlemi için; su banyosu
- Soğutma işlemi için; buz banyosu, tuz banyosu
- Cam malzemeler; çeşitli boyutlarda erlen, balon, saat camı, mezür, baget, deney tüpü, huni, pipet ve beher

7.2 Kullanılan Kimyasallar

- Çözücüler; Etil alkol, Metil alkol, Aseton, DMSO, Asetik asit, Heksan, Karbontetraklorür, Etil asetat
- Tepkenler; 3,4-dimetil fenol, dibenzilamin, dimetilamin, 4-floroanilin, N,N-dietilendiamin ve formaldehit

7.3 Kullanılan Cihazlar

- Bruker Avance DPX-300 MHz (^1H -NMR ve ^{13}C -NMR)
- Bruker Optics Vertex 70 (FT-IR Spektrometresi)
- Gallenkamp (Erime Noktası Tayin Cihazı)
- Bibby RE 110 (Rotary Evaporatör)
- SII Exstar 6000 - TG/DTA 6300 (DT/TGA)
- UVP Mineralight UVGL-58 marka UV Lambası (254-366 nm)
- Mido/2/AL 0-250 °C (Etüv)
- Millipore (Vakum Pombası)
- Mikrodalga (Plazmatronika)
- Chiltern Hotplate Manyetik Stirrer HS 31 (Manyetik Isıtıcı)
- DC Alufolien Kieselgel 60 F 254 Merck (ITK Levhası)

7.4 Saflaştırma

7.4.1 Aminlerin saflaştırılması

Aminler etil alkolde çözülüp aktif kömür ilave edildikten sonra bir süre karıştırılır. Daha sonra sıcak süzme yapılır ve ardından sıcak su banyosunda karıştırılıp üzerine soğuk hekzan ilave edilir. Kristallenme gözlenir. Böylece saf amin elde edilmiş olur.

7.4.2 Metil alkolün saflaştırılması

Metil alkol, CaO ile birlikte geri soğutucu altında kaynatıldıktan sonra destile edilir. Çok saf metil alkol elde etmek için geri soğutucu takılır, 2 l bir balona, 5 g Mg, 0,5 gram I_2 ve 70 cm^3 CaO üzerinde destillenmiş 900 cm^3 metil alkol konulur. İyodun rengi gidene kadar kaynatılır. Atmosfer basıncında destile edilir.

7.4.3 Etil alkolün saflaştırılması

4 gram magnezyum metali, 1 gram iyot, 50 ml etil alkol 1 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Üzerine 50 ml etil alkol daha ilave edildi ve iyodun rengi gidene kadar karıştırıcı yardımıyla kaynatıldı. Sonra üzerine 900 ml etil alkol ilave edildi. Bu ilaveden sonra üç gün riflaks edildi. Riflaks edildikten sonra geri soğutucu altında destile edildi (Saflaştırma kullanılan etil alkol $CaCl_2$ ilave edilmiştir).

7.4.4 Hekzanın saflaştırılması

Hekzan, bir gece $CaCl_2$ içerisinde bekletilir. Süzülür ve destile edilir. Bu işlemlerden sonra Na metali ilave edilir ve $CaCl_2$ tüpü vasıtasıyla bir kapta toplanır.

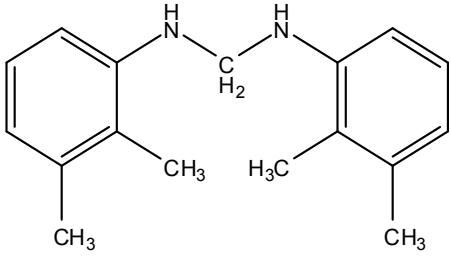
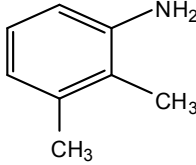
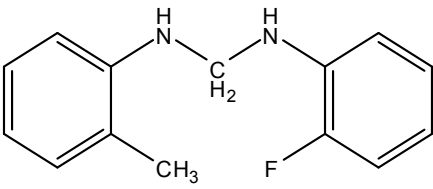
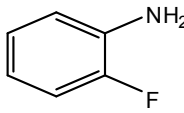
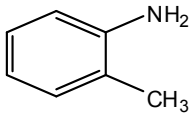
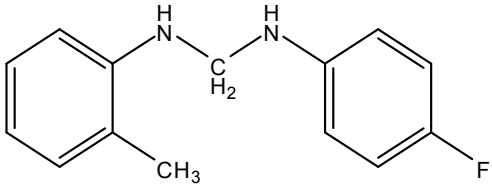
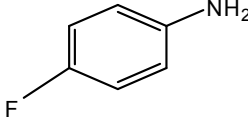
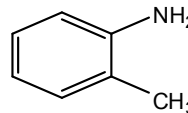
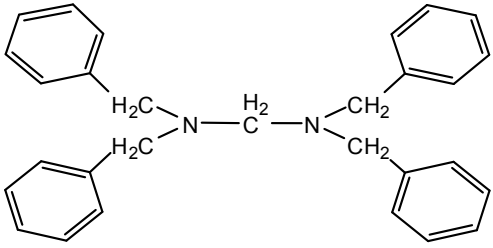
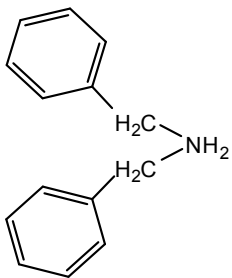
7.4.5 Kloroform saflaştırılması

250 ml kloroform ayırma hunisine koyulur. Önce 10 ml HCl ile ekstrakte edilir ve su ile yıkanır. Sonra 1 g $NaHCO_3$ ile ekstrakte edilir ve su ile yıkanır. Daha sonra $CaCl_2$ ilave edilir. Bir gün bekletilir ve daha sonra destillenir.

7.5 Yöntem

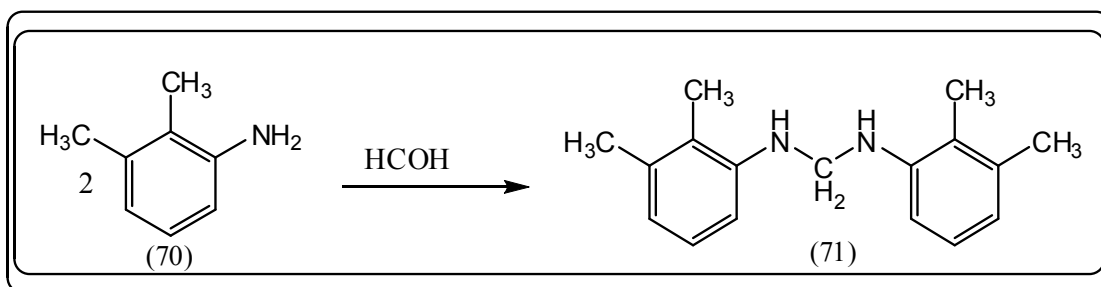
Bu tez çalışmasında reflux yöntemine (ısıtma yöntemi) alternatif olarak daha kısa süreli, yüksek verimli ve daha etkin bir yöntem olan mikrodalga yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemin ısıtmaya olan diğer bir önemli üstünlüğü ise çözücüsüz ortamda reaksiyonların gerçekleştirilmesidir. Bu yöntem ile Mannich bazları sentezlenmiştir.

8. MANNİCH BAZLARININ SENTEZİ

Sentezlenen Mannich Bazları	Kullanılan Aminler
 N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (71)	 2,3-dimetilaniilin (70)
 N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (74)	 2-floroanilin (72)
	 o-toluidin (73)
 N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (76)	 4-floroanilin (75)
	 o-toluidin (73)
 N,N,N',N'-tetrabenzilmethandiamin (78)	 dibenzilamin (77)

Şekil 8.1 Sentezlenen Mannich bazları ve kullanılan aminler.

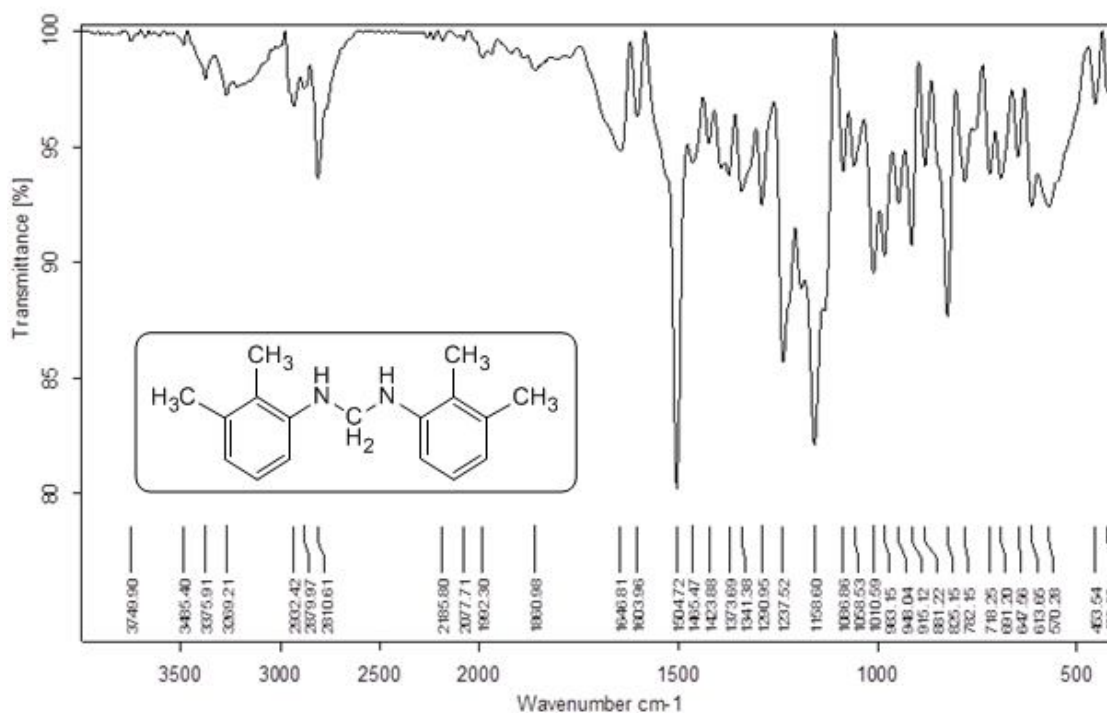
8.1 N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin



Şekil 8.2 N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (71) bileşiğinin elde edilişi.

2,3-dimetil anilinin (1 mmol) üzerine damla damla formaldehit (%37'lik, 2 mmol) ilave edilerek mikrodalgada reaksiyonun gerçekleşmesi için ışığa maruz bırakıldı. ITK kontrolü yapılarak başlangıç bileşiklerinin kalmadığı anlaşıldığında reaksiyon sonlandırıldı. Etanolde çözüldükten sonra kristallenmesi için bekletildi. IR, ¹H NMR ve ¹³C NMR gibi spektroskopik yöntemlerle yapı aydınlatıldı.

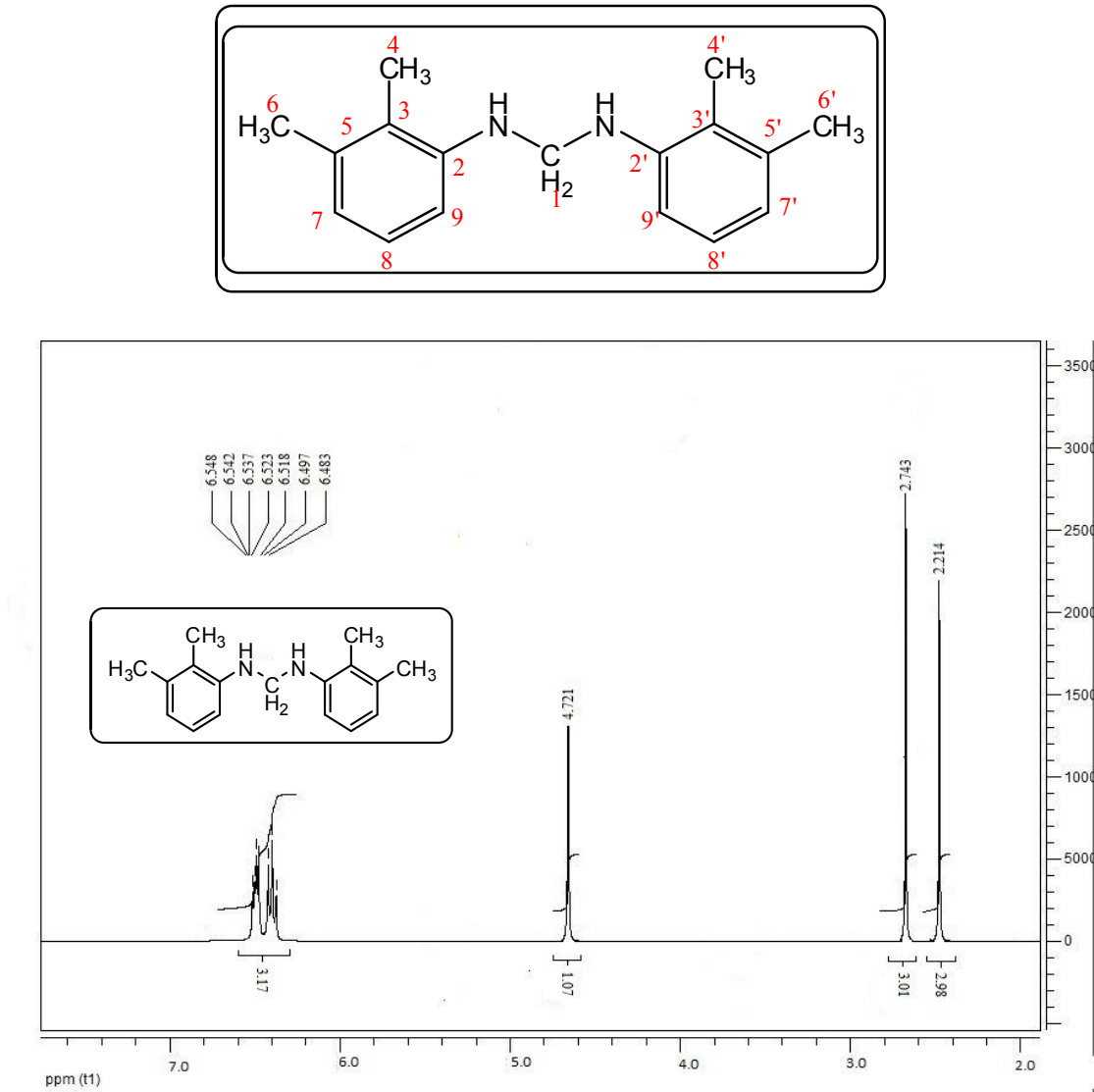
Erime Noktası	138°C
Verim	%82
Kritallendirilen Çözücü	Etanol
Süre	50 dk.
Mikrodalga gücü	600 W



Şekil 8.3 N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (71) bileşiğinin IR grafiği.

Bileşiğin IR spektrumunda;

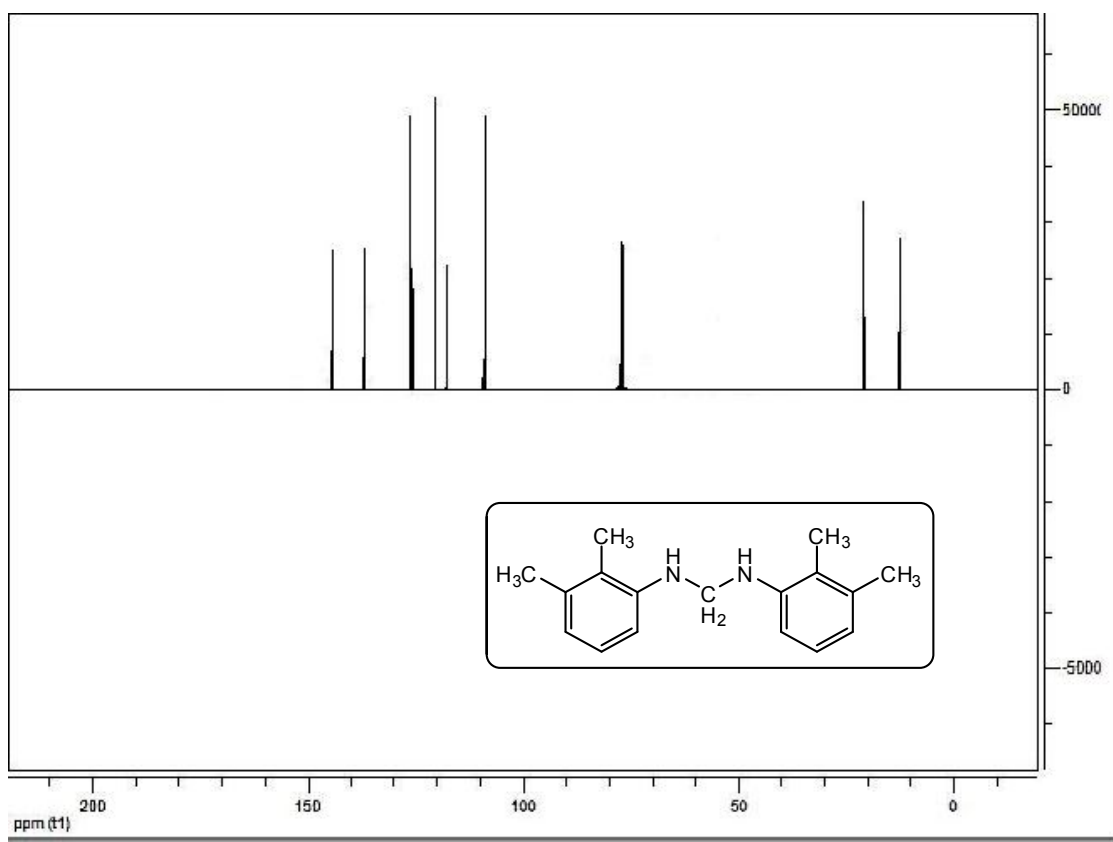
- $\sim 800\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ de disüstitüe aromatik protonları
- $\sim 1150\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ de C-N-C gerilmesi
- $\sim 1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ de aromatik -CH protonları
- $\sim 2800\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$ de -CH₂ pikine bağlı -CH gerilmesi, çift band, asimetrik ve simetrik gerilme



Şekil 8.4 N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (71) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

Bileşiğin ¹H-NMR spektrumunda;

- $\delta=2,214$ ppm' de (H4-H4') metil protonları (6H,s)
- $\delta=2,743$ ppm' de (H6-H6') metil protonları (6H,s)
- $\delta=4,721$ ppm' de (H1) metilen protonları (2H,s)
- $\delta=6,497$ ppm' de (H9-H9') aromatik protonu (2H,d)
- $\delta=6,523$ ppm' de (H7-H7') aromatik protonu (2H,d)
- $\delta=6,542$ ppm' de (H8-H8') aromatik protonu (2H,t)



Şekil 8.5 N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (71) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

Bileşiğin ^{13}C - NMR spektrumunda;

- $\delta=12,625$ ppm' de (C4-C4') simetrik metil grubuna ait karbon piki
- $\delta=21,742$ ppm'de (C6-C6') simetrik metil grubuna ait karbon piki
- $\delta=75,884$ ppm'de (C1) metilen grubuna ait karbon piki
- $\delta=111,639$ ppm'de (C9-C9') simetrik aromatik CH piki
- $\delta=119,851$ ppm'de (C7-C7') simetrik aromatik CH piki
- $\delta=121,547$ ppm'de (C3-C3') ipso karbonuna bağlı C piki
- $\delta=128,792$ ppm'de (C8-C8') simetrik aromatik CH piki
- $\delta=139,523$ ppm'de (C5-C5') ipso karbonuna bağlı C piki
- $\delta=144,925$ ppm'de (C2-C2') ipso karbonuna bağlı C piki

Bileşiğin CDCl_3 içerisinde alınan ^1H -NMR spektrumunda; 2,214 ppm'de üç H'luk pikin $-\text{CH}_3$ protonlarından, 2,743 ppm'de üç H'luk pikin $-\text{CH}_3$ protonlarından, 4,721 ppm'de iki H'luk pikin $-\text{CH}_2$ protonlarından, 6,497 ppm'de iki H'luk pikin aromatik halkaya bağlı simetrik

–CH protonlarından, 6,523 ppm’de iki H’lık pikin aromatik halkaya bağlı simetrik –CH protonlarından, 6,542 ppm’de iki H’lık pikin aromatik halkaya bağlı simetrik –CH protonlarından kaynaklandığı görülmektedir.

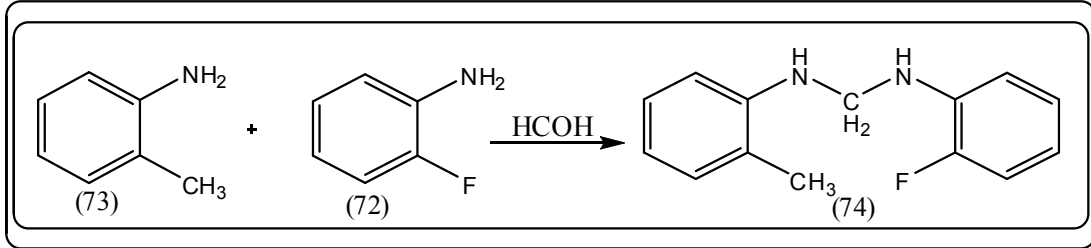
4,721 ppm’de gözlenen iki protonluk tekli pik Mannich reaksiyonunun gerçekleştiğini göstermektedir.

Bileşiğin CDCl₃ içerisinde alınan ¹³C-NMR spektrumunda; 12,625 ve 21,742 ppm’de gelen piklerin –CH₃ karbonlarından, 75,884 ppm’de gelen pikin –CH₂ karbonundan, 111,639, 119,851,128,792 ppm’de gelen piklerin simetrik aromatik –CH karbonundan, 121,547, 139,523, ppm’de gelen piklerin aromatik halkaya bağlı simetrik ipso karbonundan, 144,925 ppm’de gelen pikin aromatik halkada –NH ‘a bağlı simetrik ipso karbondan kaynaklanmaktadır.

Çizelge 8.1 N,N’-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (71) bileşiğinin ¹³C- ve ¹H-NMR tablosu.

Fonksiyonel Grup	Kimyasal Kayma (ppm)	Fonksiyonel Grup	Kimyasal Kayma (ppm)
H4-H4'	2,214	C4-C4'	12,625
H6-H6'	2,743	C6-C6'	21,742
H1	4,721	C1	75,884
H9-H9'	6,497	C9-C9'	111,639
H7-H7'	6,523	C7-C7'	119,851
H8-H8'	6,542	C3-C3'	121,547
		C8-C8'	128,792
		C5-C5'	139,523
		C2-C2'	144,925

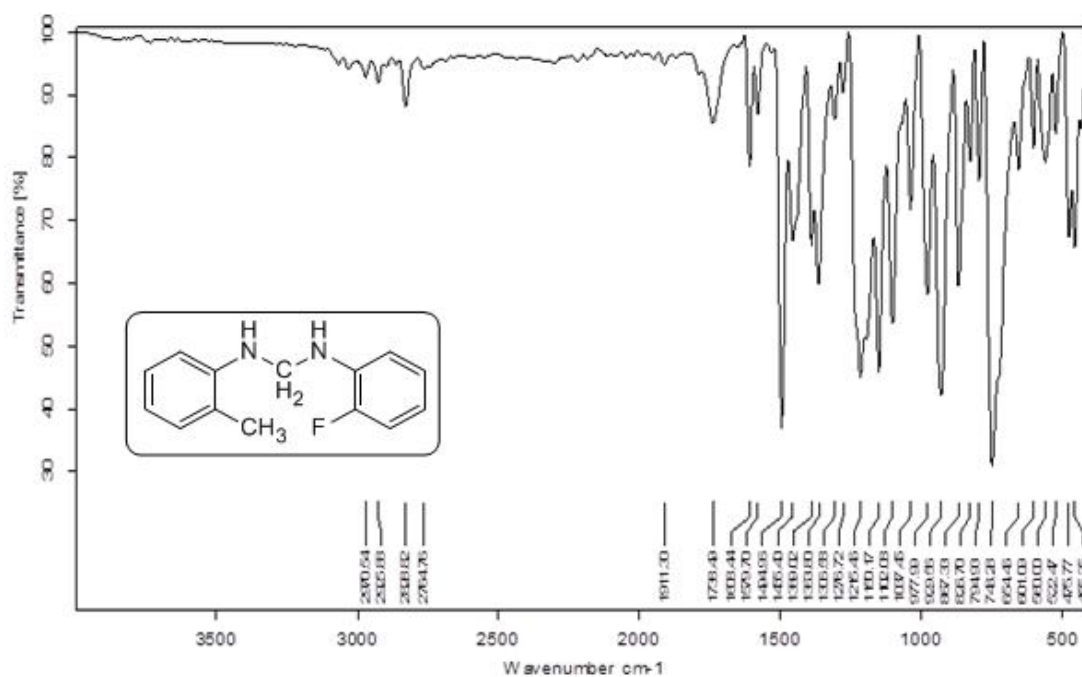
8.2 N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin



Şekil 8.6 N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin (74) bileşiğinin elde edilişi.

O-Toluidinin (1mmol) ve 2-floro anilin (1 mmol) üzerine damla damla formaldehit (%37'lik, 2 mmol) ilave edilerek mikrodalgada reaksiyonun gerçekleşmesi için ışığa maruz bırakıldı. ITK kontrolü yapılarak başlangıç bileşiklerinin kalmadığı anlaşıldığında reaksiyon sonlandırıldı. Etanolde çözüldükten sonra kristallenmesi için bekletildi. IR, ^1H NMR ve ^{13}C NMR gibi spektroskopik yöntemlerle yapı aydınlatıldı.

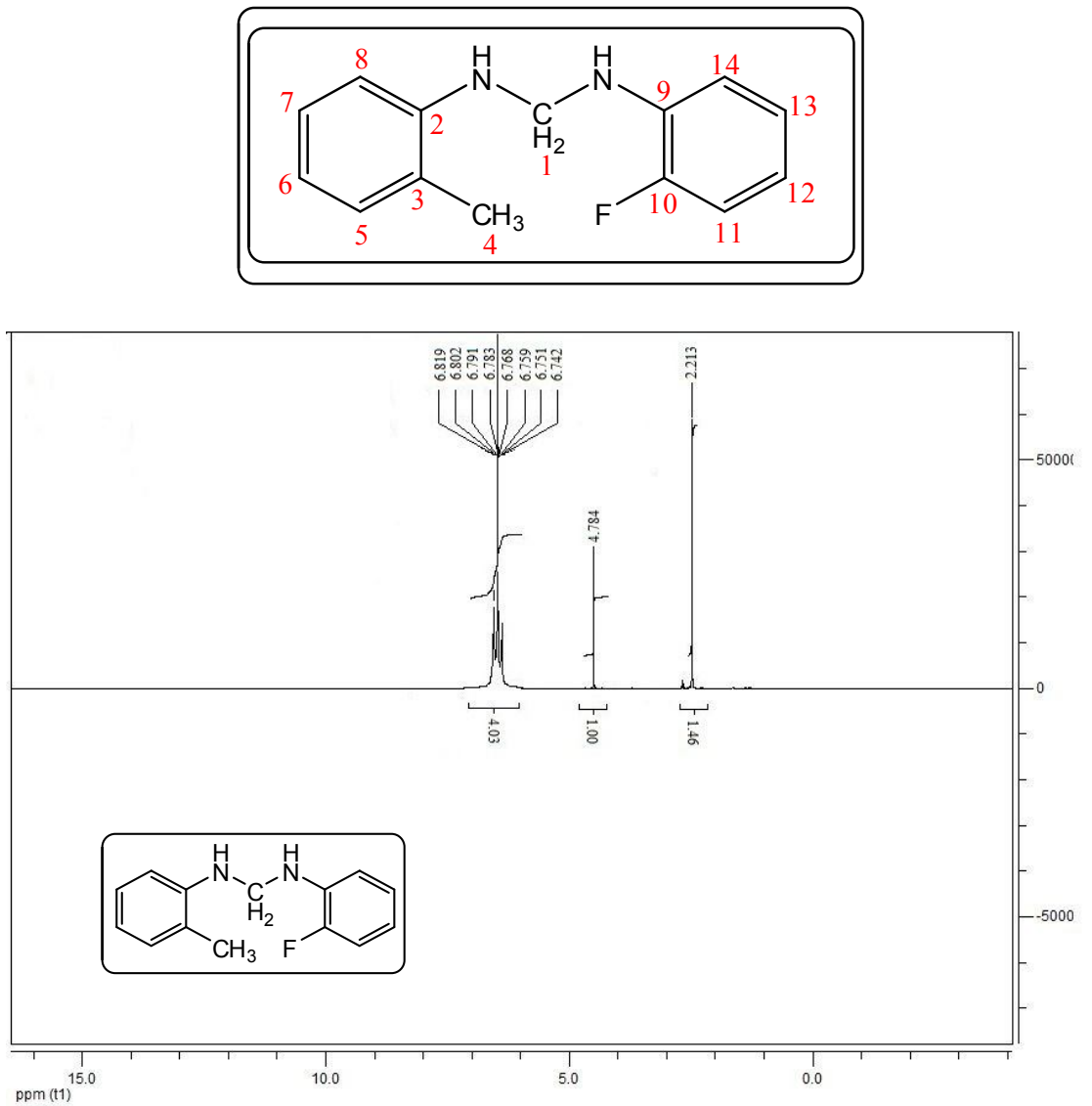
Erime Noktası	153°C
Verim	%77
Kritallendirilen Çözücü	Etanol
Süre	45 dk.
Mikrodalga gücü	600 W



Şekil 8.7 N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin (74) bileşiğinin IR grafiği.

Bileşiğin IR spektrumunda;

- $\sim 700\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ de disüstitüe aromatik protonları
- $\sim 1100\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ de C-N-C gerilmesi
- $\sim 1200\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$ de C-F gerilmesi
- $\sim 1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ de aromatik -CH protonları
- $\sim 2800\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$ de -CH₂ pikine bağlı -CH gerilmesi, çift band, asimetrik ve simetrik gerilme

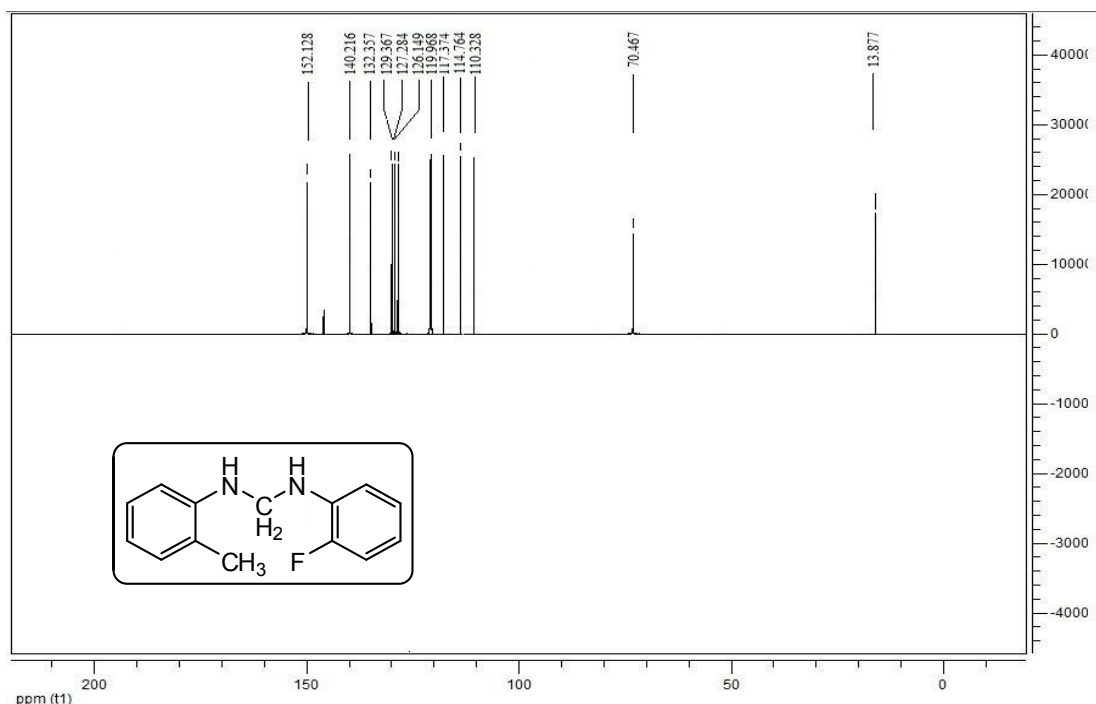


Şekil 8.8 N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (74) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

Bileşiğin ¹H-NMR spektrumunda;

- $\delta=2,213$ ppm' de (H4) metil protonları (3H,s)
- $\delta=4,784$ ppm' de (H1) metilen protonları (2H,s)
- $\delta=6,742$ ppm' de (H14) aromatik protonu (1H,d)
- $\delta=6,751$ ppm' de (H12) aromatik protonu (1H,t)
- $\delta=6,759$ ppm' de (H8) aromatik protonu (1H,d)
- $\delta=6,768$ ppm' de (H6) aromatik protonu (1H,t)
- $\delta=6,783$ ppm' de (H13) aromatik protonu (1H,t)
- $\delta=6,791$ ppm' de (H11) aromatik protonu (1H,d)

- $\delta=6,802$ ppm'de (H7) aromatik protonu (1H,t)
- $\delta=6,819$ ppm'de (H5) aromatik protonu (1H,d)



Şekil 8.9 N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin (74) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

Bileşiğin ^{13}C - NMR spektrumunda;

- $\delta=13,877$ ppm 'de (C4) metil grubuna ait karbon piki
- $\delta=70,467$ ppm' de (C1) metilen grubuna ait karbon piki
- $\delta=110,328$ ppm' de (C8) aromatik CH piki
- $\delta=114,764$ ppm' de (C14) aromatik CH piki
- $\delta=117,374$ ppm' de (C11) aromatik CH piki
- $\delta=119,968-119,964$ ppm' de (C6-C12) aromatik CH pikleri
- $\delta=119,966$ ppm' de (C3) ipso karbonuna bağlı C piki
- $\delta=124,149$ ppm' de (C13) aromatik CH piki
- $\delta=125,284$ ppm' de (C7) aromatik CH piki
- $\delta=126,367$ ppm' de (C5) aromatik CH piki
- $\delta=132,357$ ppm' de (C9) ipso karbonuna bağlı C piki
- $\delta=140,216$ ppm' de (C2) ipso karbonuna bağlı C piki
- $\delta=152,128$ ppm' de (C10) ipso karbonuna bağlı C piki

Bileşğin CDCl_3 içerisinde alınan ^1H -NMR spektrumunda; 2,213 ppm'de üç H'lık pikin

$-\text{CH}_3$ protonlarından, 4,784 ppm'de iki H'lık $-\text{CH}_2$ protonlarından, 6,742 ppm'de bir H'lık pikin aromatik halkaya bağlı $-\text{CH}$ protonundan, 6,751 ppm'de bir H'lık pikin aromatik halkaya bağlı

$-\text{CH}$ protonundan, 6,759 ppm'de bir H'lık pikin aromatik halkaya bağlı $-\text{CH}$ protonundan, 6,768 ppm'de bir H'lık pikin aromatik halkaya bağlı $-\text{CH}$ protonundan, 6,783 ppm'de bir H'lık pikin aromatik halkaya bağlı $-\text{CH}$ protonundan, 6,791 ppm'de bir H'lık pikin aromatik halkaya bağlı $-\text{CH}$ protonundan, 6,802 ppm'de bir H'lık pikin aromatik halkaya bağlı $-\text{CH}$ protonundan, 6,819 ppm'de bir H'lık pikin aromatik halkaya bağlı $-\text{CH}$ protonundan kaynaklandığı görülmektedir.

4,784 ppm'de gözlenen iki protonluk tekli pik Mannich reaksiyonunun gerçekleştiğini göstermektedir.

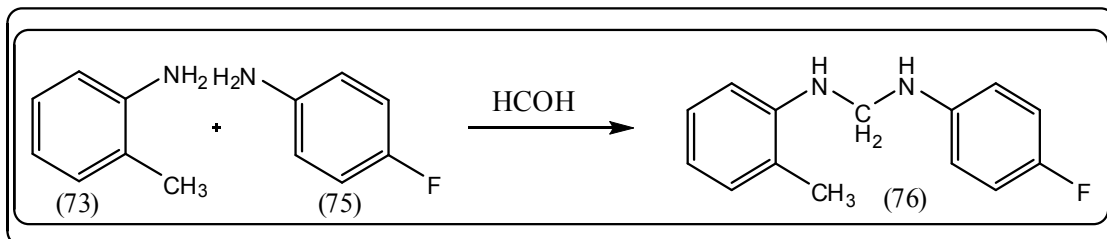
Bileşğin CDCl_3 içerisinde alınan ^{13}C -NMR spektrumunda; 13,877 ppm'de gelen pikin

$-\text{CH}_3$ karbonundan, 70,467 ppm'de gelen pikin $-\text{CH}_2$ karbonundan, 110,328, 114,764, 117,374, 119,968, 119,964, 124,149, 125,284, 126,367 ppm'de gelen piklerin aromatik halkaya bağlı $-\text{CH}$ karbonundan, 119,966, 132,357, 140,216, 152,128 ppm'de gelen piklerin aromatik halkaya bağlı ipso karbonundan kaynaklandığı görülmektedir.

Çizelge 8.2 N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin (74) bileşiğinin ^{13}C - ve ^1H -NMR tablosu.

Fonksiyonel Grup	Kimyasal Kayma (ppm)	Fonksiyonel Grup	Kimyasal Kayma (ppm)
H4	2,213	C4	13,877
H1	4,784	C1	70,467
H14	6,742	C8	110,328
H12	6,751	C14	114,764
H8	6,759	C11	117,374
H6	6,768	C12-C6	119,964-119,968
H13	6,783	C3	119,966
H11	6,791	C13	124,149
H7	6,802	C7	125,284
H5	6,819	C5	126,367
		C9	132,357
		C2	140,216
		C10	152,128

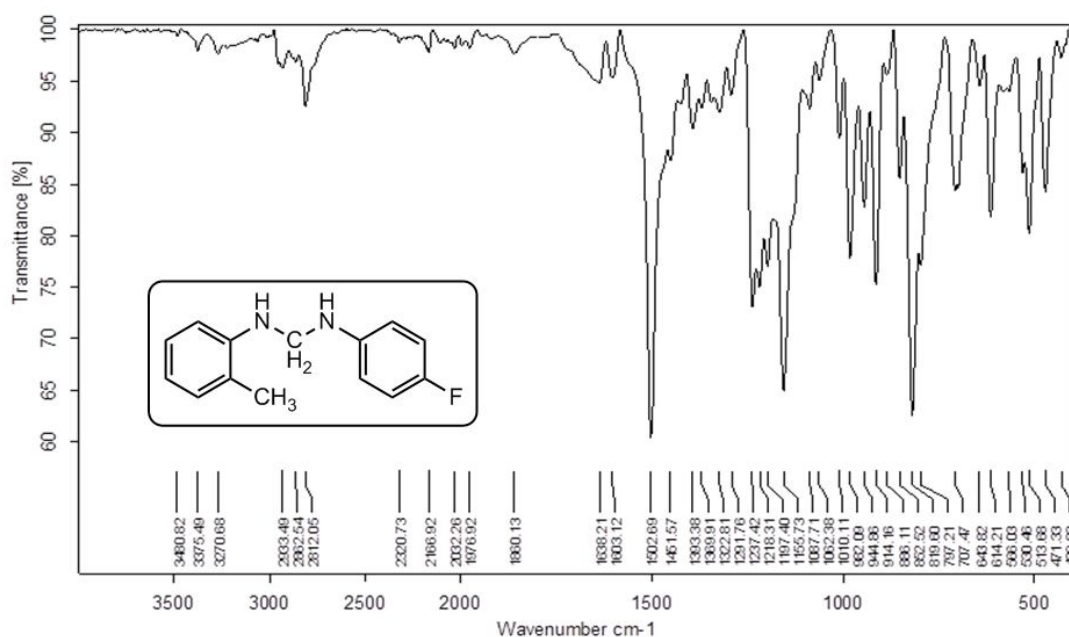
8.3 N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin



Şekil 8.10 N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (76) bileşiğinin elde edilişi.

O-Toluidinin (1mmol) ve 2-floro anilin (1 mmol) üzerine damla damla formaldehit (%37'lik, 2 mmol) ilave edilerek mikrodalgada reaksiyonun gerçekleşmesi için ışığa maruz bırakıldı. ITK kontrolü yapılarak başlangıç bileşiklerinin kalmadığı anlaşıldığında reaksiyon sonlandırıldı. Etanolde çözüldükten sonra kristallenmesi için bekletildi. IR, ¹H NMR ve ¹³C NMR gibi spektroskopik yöntemlerle yapı aydınlatıldı.

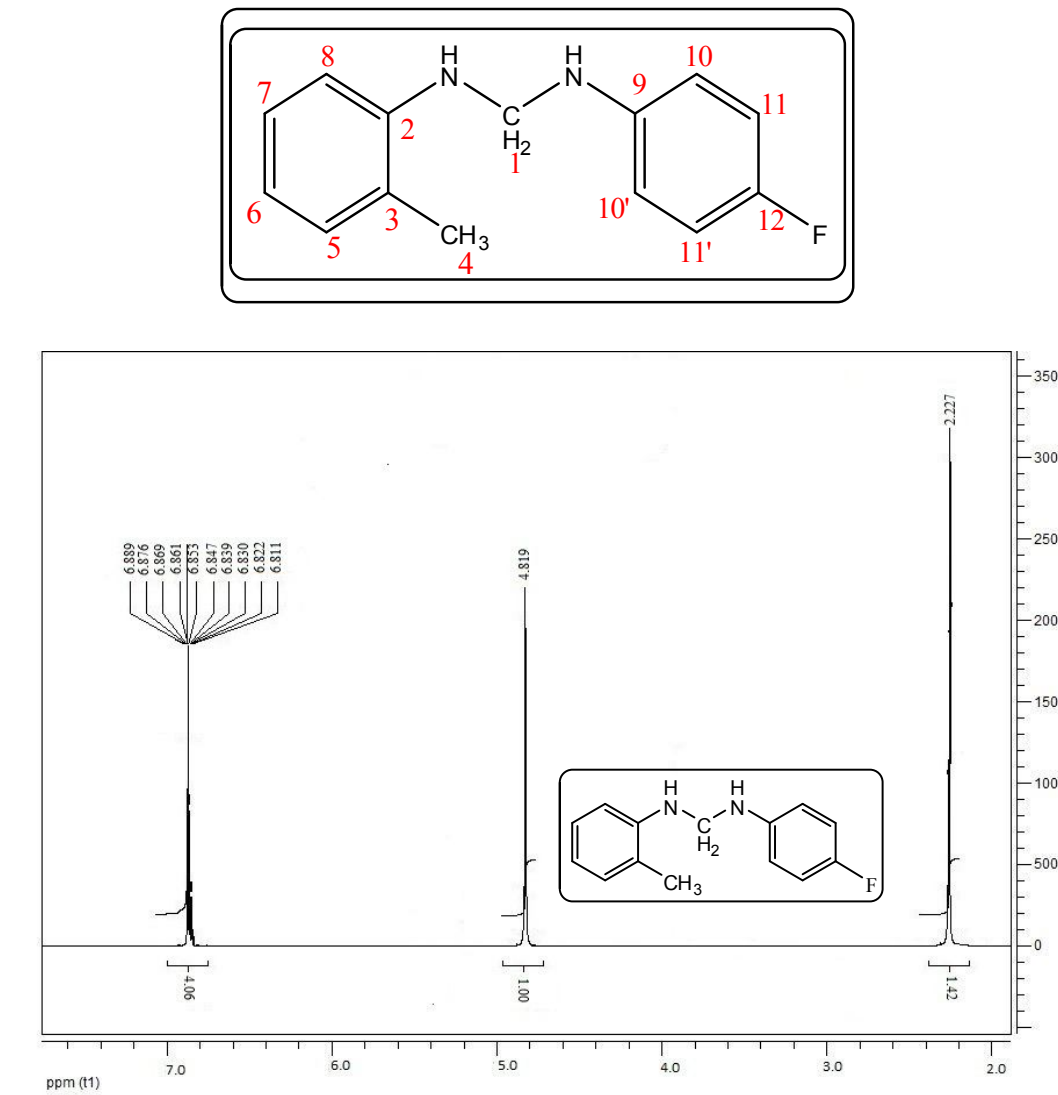
Erime Noktası	142°C
Verim	%72
Kritallendirilen Çözücü	Etanol
Süre	55 dk.
Mikrodalga gücü	600 W



Şekil 8.11 N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (76) bileşiğinin IR grafiği.

Bileşiğin IR spektrumunda;

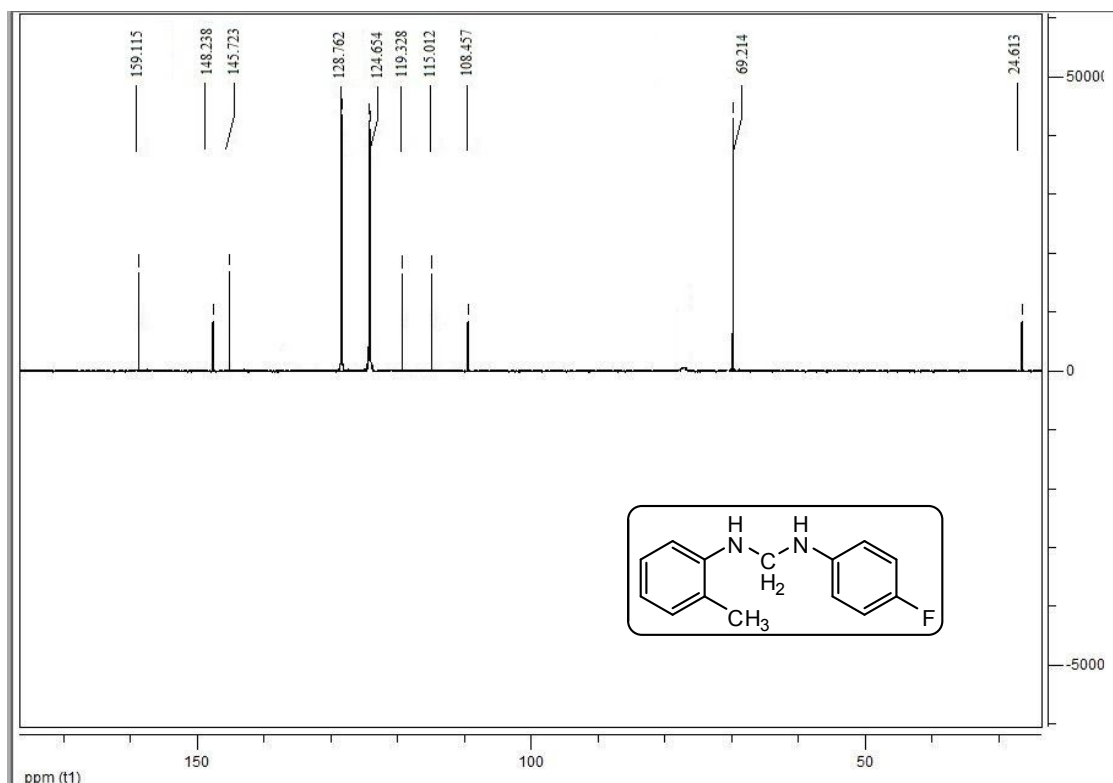
- $\sim 800-900 \text{ cm}^{-1}$ de disüstitüe aromatik protonları
- $\sim 1100-1200 \text{ cm}^{-1}$ de C-N-C gerilmesi
- $\sim 1200-1300 \text{ cm}^{-1}$ de C-F gerilmesi
- $\sim 1500-1600 \text{ cm}^{-1}$ de aromatik -CH protonları
- $\sim 2800-2900 \text{ cm}^{-1}$ de -CH₂ pikine bağlı -CH gerilmesi, çift band, asimetrik ve simetrik gerilme



Şekil 8.12 N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (76) bileşiğinin ¹H-NMR spektrumu.

Bileşiğin ¹H-NMR spektrumunda;

- $\delta=2,227$ ppm' de (H4) metil protonları (3H,s)
- $\delta=4,819$ ppm' de (H1) metilen protonları (2H,s)
- $\delta=6,811$ ppm' de (H8) aromatik protonu (1H,d)
- $\delta=6,817$ ppm' de (H6) aromatik protonu (1H,t)
- $\delta=6,830$ ppm' de (H11-H11') simetrik aromatik protonu (2H,d)
- $\delta=6,853$ ppm' de (H7) aromatik protonu (1H,t)
- $\delta=6,869$ ppm' de (H10-H10') simetrik aromatik protonu (2H,d)
- $\delta=6,889$ ppm' de (H5) aromatik protonu (1H,d)



Şekil 8.13 N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (76) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

Bileşiğin ^{13}C - NMR spektrumunda;

- $\delta=24,613$ ppm'de (C4) metil grubuna ait karbon piki
- $\delta=69,214$ ppm'de (C1) metilen grubuna ait karbon piki
- $\delta=108,457$ ppm'de (C8) aromatik CH piki
- $\delta=115,012$ ppm'de (C11-11') simetrik aromatik CH piki
- $\delta=119,328$ ppm'de (C10-10') simetrik aromatik CH piki
- $\delta=124,657$ ppm'de (C3) ipso karbonuna bağlı C piki
- $\delta=128,762$ ppm'de (C6) aromatik CH piki
- $\delta=145,723$ - $146,538$ ppm'de (C7-C5) aromatik CH piki
- $\delta=147,284$ - $148,238$ ppm'de (C9-C2) ipso karbonuna bağlı C piki
- $\delta=159,115$ ppm'de (C12) ipso karbonuna bağlı C piki

Bileşiğin CDCl_3 içerisinde alınan ^1H -NMR spektrumunda; 2,227 ppm'de üç H'lık pikin $-\text{CH}_3$ protonlarından, 4,819 ppm'de iki H'lık $-\text{CH}_2$ protonlarından, 6,811 ppm'de bir H'lık pikin aromatik halkaya bağlı-CH protonundan, 6,817 ppm'de bir H'lık pikin aromatik halkaya bağlı $-\text{CH}$ protonundan, 6,830 ppm'de iki H'lık pikin aromatik halkaya bağlı simetrik $-\text{CH}$

protonundan, 6,853 ppm'de bir H'luk pikin aromatik halkaya bagli -CH protonundan, 6,869 ppm'de iki H'luk pikin aromatik halkaya bagli simetrik -CH protonundan, 6,889 ppm'de bir H'luk pikin aromatik halkaya bagli-CH protonundan kaynaklandigi gorulmektedir.

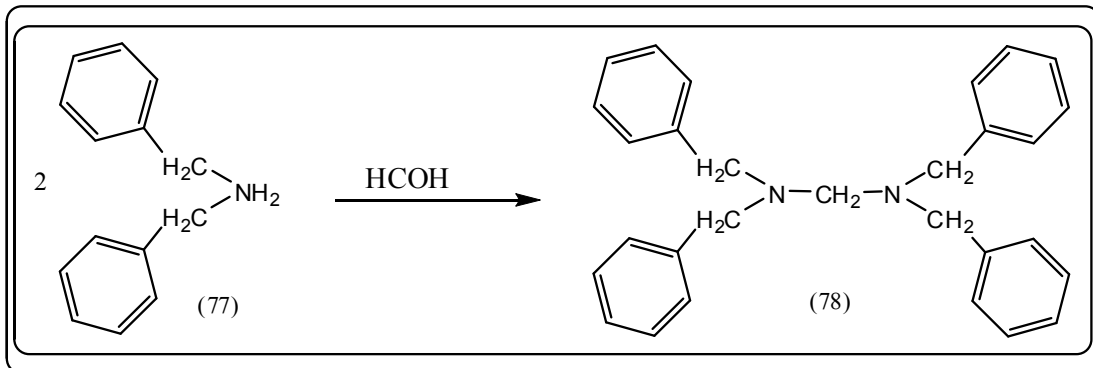
4,819 ppm'de gozlenen iki protonluk tekli pik Mannich reaksiyonunun gerceklestigini gostermektedir.

Bilesigin CDCl₃ icerisinde alinan ¹³C-NMR spektrumunda; 24,613 ppm'de gelen pikin -CH₃ karbonundan, 69,214 ppm'de gelen pikin -CH₂ karbonundan, 108,457, 115,012, 119,328, 128,762, 145,723 ppm'de gelen piklerin aromatik halkaya bagli -CH karbonundan, 124,657, 147,284, 148,238, 159,115 ppm'de gelen piklerin aromatik halkaya bagli ipso karbonundan kaynaklandigi gorulmektedir.

Çizelge 8.3 N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (76) bileşiminin ¹³C- ve ¹H-NMR tablosu.

Fonksiyonel Grup	Kimyasal Kayma (ppm)	Fonksiyonel Grup	Kimyasal Kayma (ppm)
H4	2,227	C4	24,613
H1	4,819	C1	69,214
H8	6,811	C8	108,457
H6	6,817	C11-C11'	115,012
H11-H11'	6,830	C10-C10'	119,328
H7	6,853	C3	124,657
H10-H10'	6,869	C6	128,762
H5	6,889	C7-C5	145,723-146,538
		C9-C2	147,284-148,238
		C12	159,115

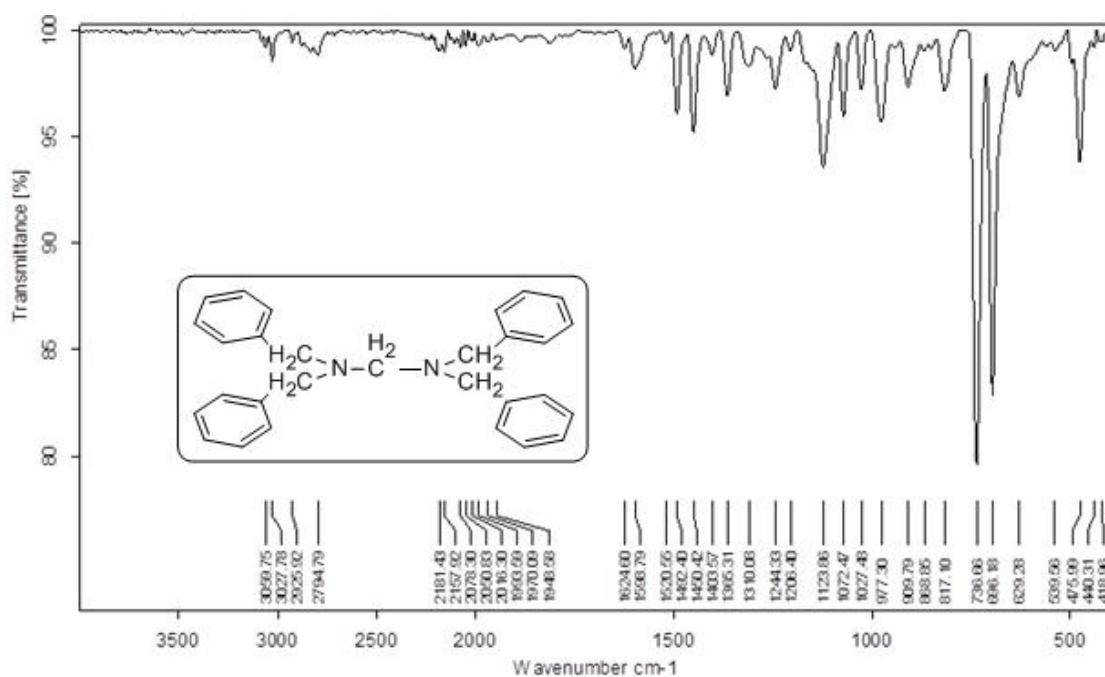
8.4 N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin



Şekil 8.14 N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin (78) bileşiğinin elde edilişi.

Dibenzilamin (1 mmol) üzerine damla damla formaldehit (%37'lik, 2 mmol) ilave edilerek mikrodalgada reaksiyonun gerçekleşmesi için ışığa maruz bırakıldı. ITK kontrolü yapılarak başlangıç bileşiklerinin kalmadığı anlaşıldığında reaksiyon sonlandırıldı. Etanolde çözüldükten sonra kristallenmesi için bekletildi. IR, ^1H NMR ve ^{13}C NMR gibi spektroskopik yöntemlerle yapı aydınlatıldı.

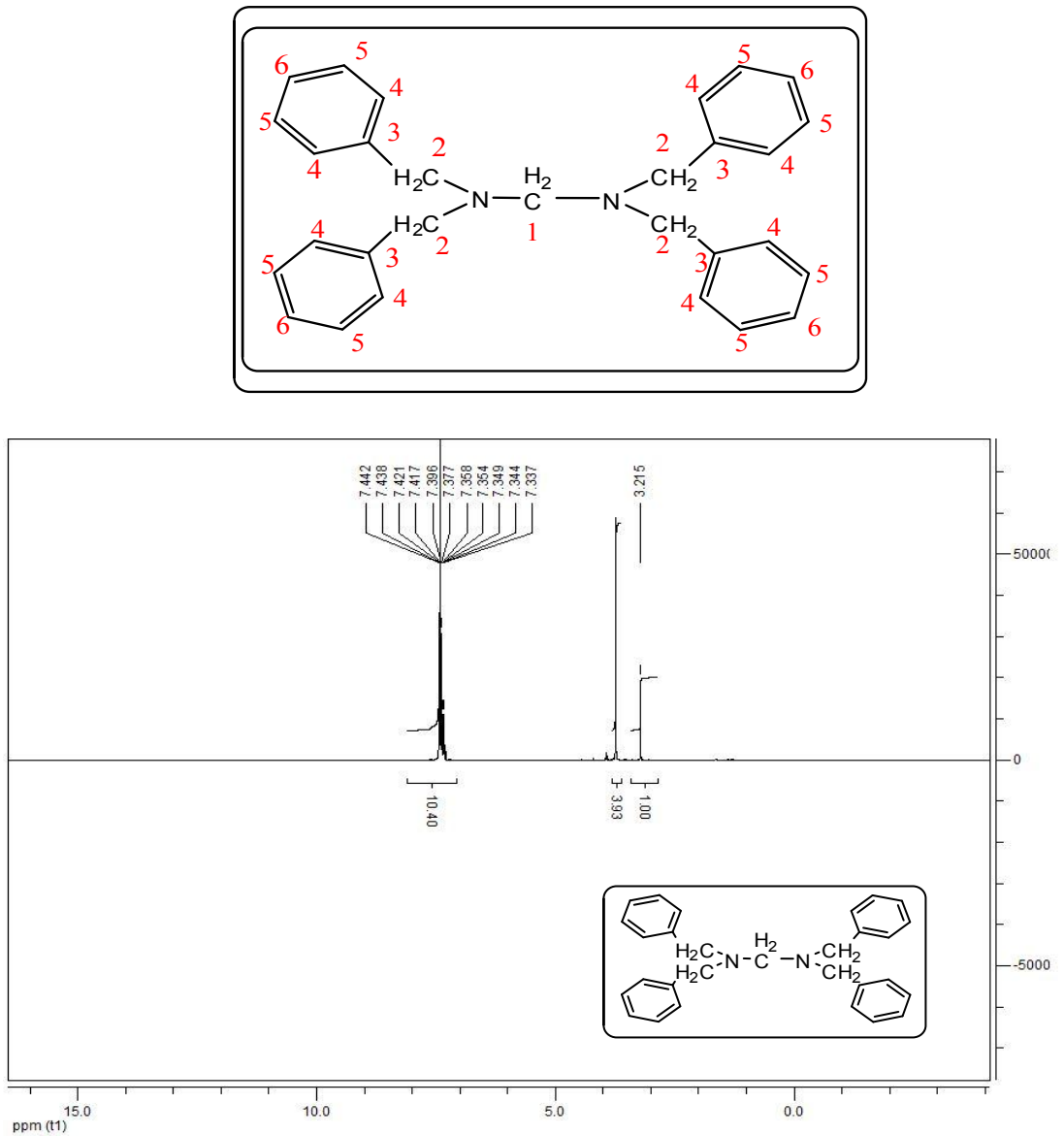
Erime Noktası	84°C
Verim	%87
Kritallendirilen Çözücü	Etanol
Süre	40 dk.
Mikrodalga gücü	600 W



Şekil 8.15 N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin (78) bileşiğinin IR grafiği.

Bileşiğin IR spektrumunda;

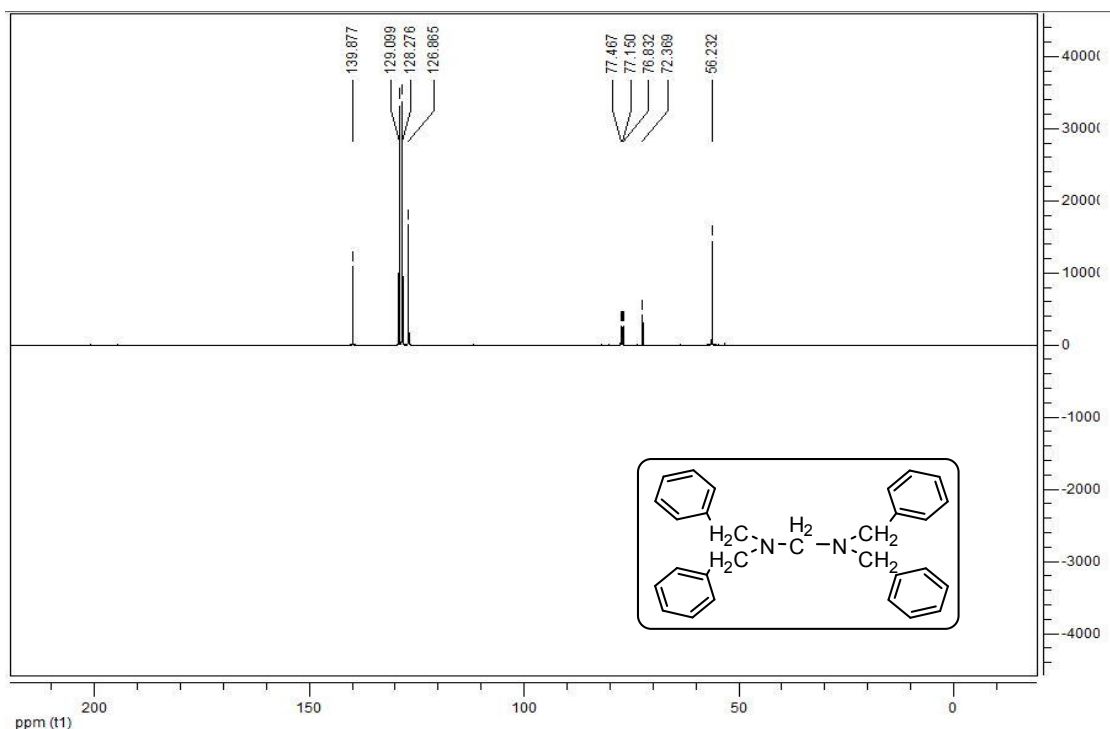
- $\sim 700-750\text{ cm}^{-1}$ de disüstitüe aromatik protonları
- $\sim 1100-1200\text{ cm}^{-1}$ de C-N-C gerilmesi
- $\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ de aromatik -CH protonları
- $\sim 2800\text{ cm}^{-1}$ de -CH₂ pikine bağlı -CH gerilmesi, çift band, asimetrik ve simetrik gerilme



Şekil 8.16 N,N,N',N' -tetrabenzilmetandiamin (78) bileşiğinin ^1H -NMR spektrumu.

Bileşiğin ^1H -NMR spektrumunda;

- $\delta = 3,215$ ppm' de (H1) metilen protonları (2H,s)
- $\delta = 3,714$ ppm' de (H2) metilen protonları (8H,s)
- $\delta = 7,377$ ppm' de (H4) simetrik aromatik protonları (8H,d)
- $\delta = 7,421$ ppm' de (H6) simetrik aromatik protonları (4H,t)
- $\delta = 7,442$ ppm' de (H5) simetrik aromatik protonları (8H,t)



Şekil 8.17 N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin (78) bileşiğinin ^{13}C -NMR spektrumu.

Bileşiğin ^{13}C - NMR spektrumunda;

- $\delta=56,232$ ppm 'de (C2) metilen piki
- $\delta=76,832$ ppm' de (C1) metilen piki
- $\delta=128,276$ ppm' de (C6) simetrik aromatik CH piki
- $\delta=129,099$ ppm' de (C5) simetrik aromatik CH piki
- $\delta=129,857$ ppm' de (C4) simetrik aromatik CH piki
- $\delta=139,877$ ppm' de (C3) simetrik ipso karbonuna bağlı C piki

Bileşiğin CDCl_3 içerisinde alınan ^1H -NMR spektrumunda; 3,215 ppm'de iki H'luk pikin $-\text{CH}_2$ protonlarından, 3,714 ppm'de sekiz H'luk pikin $-\text{CH}_2$ protonlarından, 7,377, 7,421, 7,442 ppm'de yirmi H'luk pikin aromatik halkaya bağlı $-\text{CH}$ protonlarından kaynaklandığı görülmektedir.

3,215 ppm'de gözlenen iki protonluk tekli pik Mannich reaksiyonunun gerçekleştiğini göstermektedir.

Bileşiğin CDCl_3 içerisinde alınan ^{13}C -NMR spektrumunda; 56,232 ppm'de gelen pikin $-\text{CH}_2$ karbonundan, 76,832 ppm'de gelen pikin $-\text{CH}_2$ karbonundan, 128,276, 129,099, 129,857

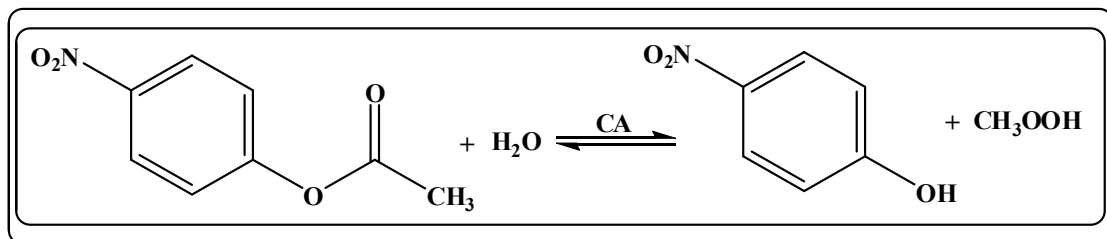
ppm’de gelen piklerin aromatik halkaya bağılı –CH karbonundan, 139,877 ppm’de gelen piklerin aromatik halkaya bağılı ipso karbonundan kaynaklandığı görülmektedir.

Çizelge 8.4 N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin (78) bileşiğinin ^{13}C - ve ^1H -NMR tablosu.

Fonksiyonel Grup	Kimyasal Kayma (ppm)	Fonksiyonel Grup	Kimyasal Kayma (ppm)
H1	3,215	C2	56,232
H2	3,714	C1	76,832
H4	7,377	C6	128,276
H6	7,421	C5	129,099
H5	7,442	C4	129,857
		C3	139,877

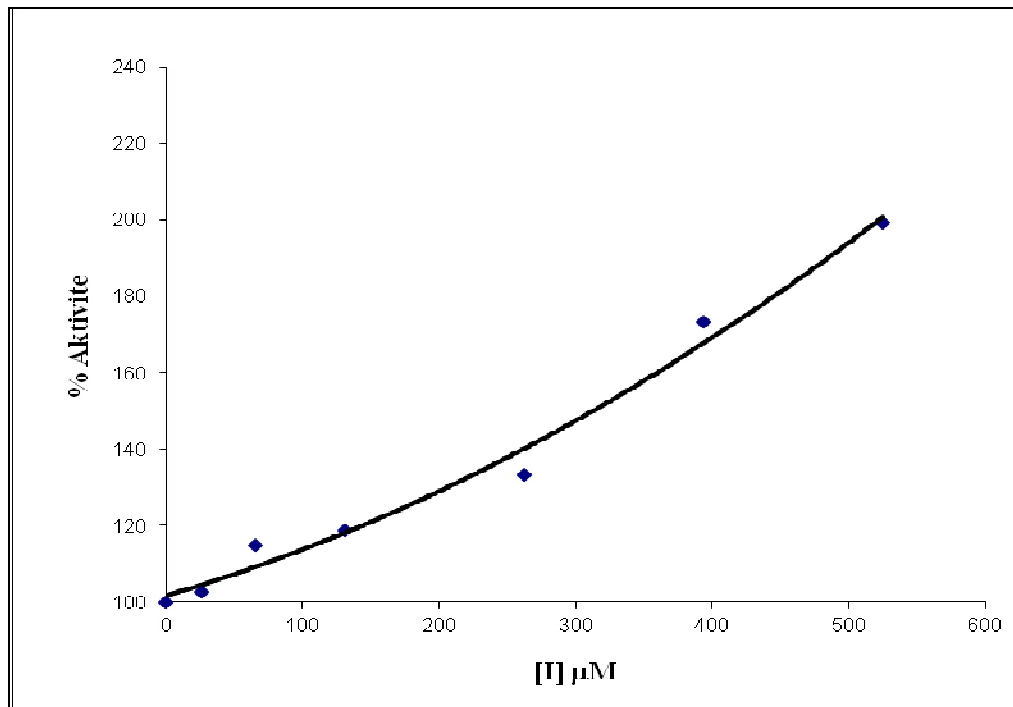
9. BİYOLOJİK AKTİVİTE ÇALIŞMALARI

Esteraz aktivitesi tayini; karbonik anhidrazın esteraz aktivitesine sahip olması esasına dayanmaktadır. Prensip olarak karbonik anhidraz, substrat olarak kullanılan p-nitro fenil asetatı, 348 nm’ de absorbans veren p-nitro fenol veya p-nitro fenolat’ a hidroliz etmektedir.

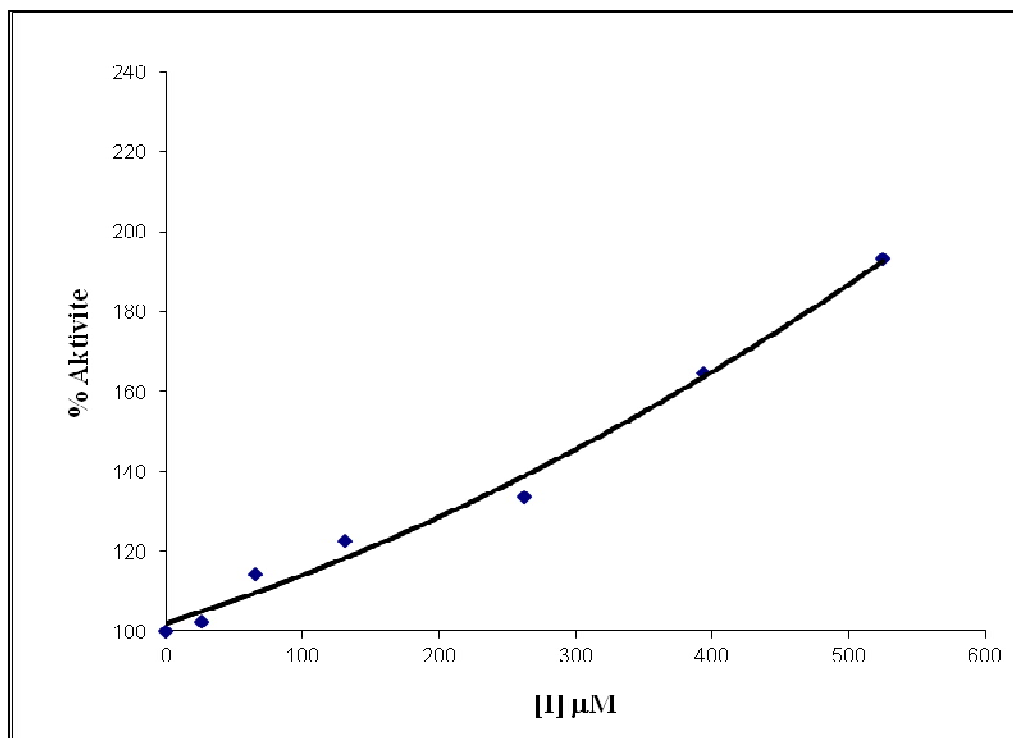


Şekil 9.1 p-nitro fenil asetat' ın hidrolizi.

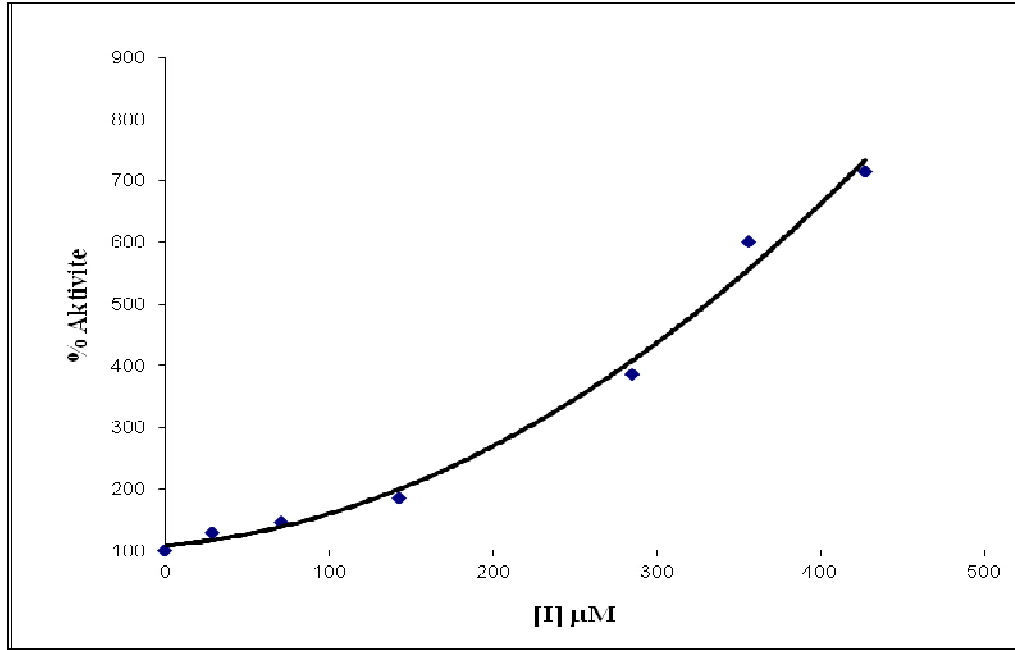
Sentezlenen bileşiklerin eritrosit karbonik anhidraz enziminin esteraz aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisinin in vitro olarak incelenmesi; CA enziminin esteraz aktiviteleri üzerinde yeni sentezlenen N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (96), N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin (98), N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (100), bileşiklerinin inhibisyon etkileri; glokom hastalığı tedavisi için klinikte lokal olarak kullanılan miktar olan %1'lik çözeltileri hazırlanarak, enzim üzerine tatbik edildiği deneylerde beş farklı inhibitör konsantrasyonu için esteraz aktivite ölçümü yapıldı.



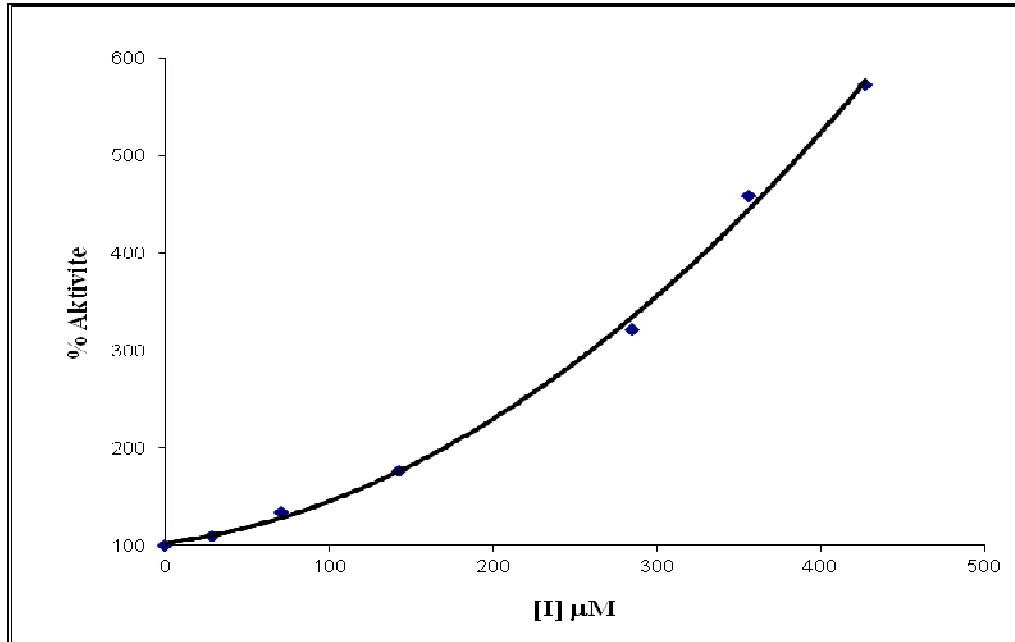
Şekil 9.2 hCA I izoenziminin esteraz aktivitesi üzerine N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin bileşiğinin etkisi.



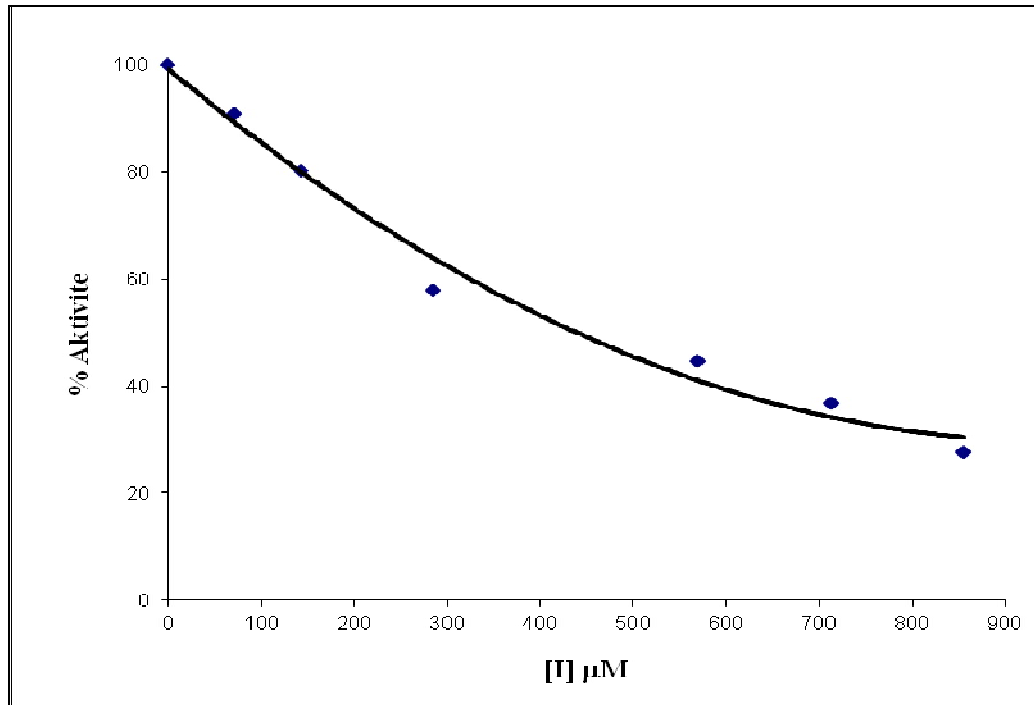
Şekil 9.3 hCA II izoenziminin esteraz aktivitesi üzerine N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin bileşiğinin etkisi.



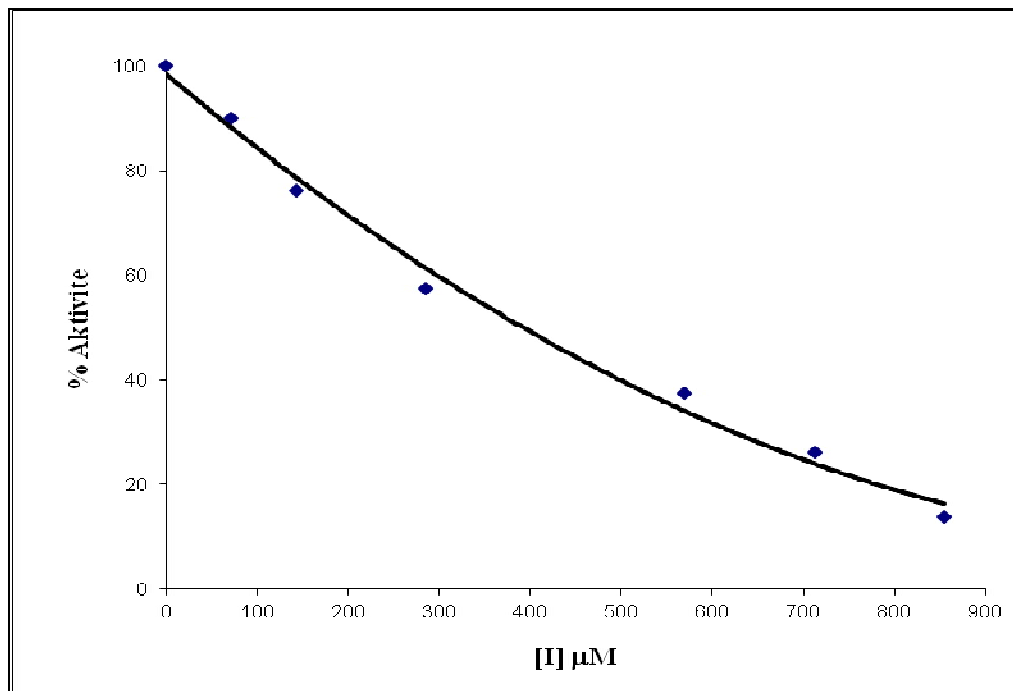
Şekil 9.4 hCA I izoenziminin esteraz aktivitesi üzerine N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin bileşiğinin etkisi.



Şekil 9.5 hCA II izoenziminin esteraz aktivitesi üzerine N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin bileşiğinin etkisi.



Şekil 9.6 hCA I izoenziminin esteraz aktivitesi üzerine N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin bileşiğinin etkisi.



Şekil 9.7 hCA II izoenziminin esteraz aktivitesi üzerine N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin bileşiğinin etkisi.

N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin, N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin, N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin bileşiklerinin insan eritrositlerinden saflaştırılan hCA I ve hCA II enzimlerinin hidrataz ve esteraz aktivitesi üzerindeki etkileri *in vitro* olarak çalışılmıştır. Bileşikler hCA I ve hCA II enzimin hidrataz aktivitesine etki etmemiştir. Ancak esteraz aktivitesi üzerine inhibitör veya aktivatör etki göstermişlerdir. Grafiklerden de anlaşılabacağı gibi N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin ve N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin bileşiği hCA I ve hCA II üzerinde aktivatör etki gösterirken N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin bileşiği inhibitör etki göstermiştir. Bu farklılığın bileşiklerin yapılarından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Deney sonuçlarını gösteren çizelge aşağıda verilmiştir.

Çizelge 9.1 Sentezlenen bileşiklerin IC₅₀ değerleri.

Bileşik	Esteraz IC₅₀ (μM)	
	hCA I	hCA II
AAZ	4,3	3,2
Y-12	Aktive Ediyor	Aktive Ediyor
Y-15	Aktive Ediyor	Aktive Ediyor
Y-16	448,35	392,38

Tablodaki değerlere bakıldığında N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin glokom tedavisinde kullanılan asetazolamit (AAZ) bileşiğine göre oldukça zayıf inhibisyon potansiyeline sahip oldukları görülmektedir.

10. TARTIŞMA VE YORUM

Son zamanlarda birçok hastalığın giderek yaygınlaşması, mikroorganizmaların klasik antibiyotiklere karşı daha fazla direnç göstermesi tıbbi açıdan acil önlemler alınmasını gerektirmektedir. Bu nedenle etkisi fazla olan ilaçların buluşu, geliştirilmesi büyük öneme sahiptir ve aynı zamanda ülke ekonomisine de büyük oranda katkı sağlamaktadır.

Mannich bazları ve türevleri, farmostatik, makromoleküler, tekstil, petrol ürünleri, sentetik yapıştırıcı, dolgu malzemesi, petrol ürünleri, saflaştırma, geri kazanım, kozmetik ve gıda endüstrilerinde kullanılır.

Bu çalışmada; başlangıç maddelerinden çıkarak formaldehit ile yeni, etkili ve farklı bir yöntem olan mikrodalga yöntemi kullanarak yeni Mannich bazları sentezlenmiştir. Bu yöntemin reaksiyonlarda çözücü kullanılmaması, yüksek verimli ürünler elde edilmesi, sentezin diğer yollara göre çok daha kısa sürede gerçekleşmesi gibi avantajları vardır.

Elde edilen bu Mannich bazları uygun saflaştırma yöntemleri ile saflaştırılmış ve sentezlenen bu bileşiklerin yapıları FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR gibi spektroskopik yöntemlerle aydınlatılmıştır. Bu bileşiklerin N,N,N',N'-tetrabenzilmetandiamin, N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin (96), N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin (98), N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin (100), olduğu anlaşılmıştır.

Ayrıca; sentezlenen bu Mannich bazlarının göz tansiyonu tedavisinde etkili bir ilaç olarak kullanılması amacıyla bölümümüz biyokimya laboratuvarında CA-I ve CA-II enzim aktiviteleri de incelenmiştir.

Yapılan bu aktivite çalışmalarında N-(4-florofenil)-N-o-tolilmetandiamin bazı aktivite göstermezken N,N'-bis(2,3-dimetilfenil)metandiamin, N-(2-florofenil)-N-o-tolilmetandamin bazları biyolojik aktivite göstermiş ve böylece farmakoloji alanı için bir ürün araştırma ve geliştirme alanı ortaya çıkmıştır.

Sonuç olarak sentezlenen Mannich bazlarının endüstriyel kullanım alanlarının araştırılması ve bu araştırmalar sonucunda birçok gereksinimin karşılanması düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- [1] Alexandrova, R. I., Rashkova, G., Popova, T., Slavov, S., Stefanova, N., Mosoarca, E. M., Tudose, R., Costisor O., 2005, Proceedings of the balkan scientific conference of biology in plovdiv (bulgaria), 7, 13 p.
- [2] Alexopoulos, C.S., Mims, C.W., Blakwell, M., 1996, Introductory Mycology, John Wiley & Sons Inc., New York, 1, 441 p.
- [3] Altınışık M., 2007, ADÜTF Biyokimya AD.
- [4] Arend, M., Westermann, E. and Risch, N., 1998, What does Carl Mannich have to do with frogs?, Angew. Chem. Int. Ed., 37, 1044–1070 p.
- [5] Armstrong, J., Mc, D., Myers, D. V., Verpoorte, J. A., Edsall, J. T., 1966, Purification and properties of human erythrocyte carbonic anhydrase. J. Biol. Chem., 214, 5137 p.
- [6] Arnos, H. E., Evans, J. J., Himmelsbach, D.S., Barton, F. E., 1980, T, agric, Foof Chem. Chem. Abstr., 93, 202 p.
- [7] Awugh, E. W., Brodie, A. M., Plowman, J. E., Brown, K. L., Addieon, A. W., 1980, Fbw Gainsford, A. Znorg. Chem., 19, 3655 p.
- [8] Bill, E., Müller, J., Weyhermüller, T., Wieghardt, K., 1999, Inorg. Chem., 38, 5795 p.
- [9] Blicke, F., 1954 The Mannich Reaction in Organic Reactions, Vol. I, John Wiley & Sons, New York.
- [10] Blicke, F.F., 1942. The Mannich Reactions, Organic Reactions, John Wiley and Sons, pp. 303-341 p.
- [11] Blicke, F.F., 1942, Organic Reactions Vol. I, John Wiley and Sons 303-341 p.
- [12] Blicke, F.F., 1942, The Mannich reaction; Organic Reactions, 1, John Wiley&Sons, 303-343
- [13] Blicke, F.F., 1942, The Mannich reaction; Organic Reaktionen, 1, John Wiley&Sons, 303-341p.
- [14] Blicke, F.F., 1942. The Mannich Reaction, Organic Reactions, John Wiley & Sons, p.p 303-341 p.
- [15] Blicke, F.F., John W., 1942, The Mannich reaction in organic reactions, 303, 334 p.
- [16] Böhme, H., Hartke, K., 1960 Über die Spaltung von Aminen und α -dialkylamino-athern mit Carbonsäurehalogeniden”, Chem. Ber., 93:1305-1309 p.
- [17] Boileau, J., Piteau, M., Jacob, G., 1990, Chem. Abstr., 112 p.
- [18] Borovik, A. S., Hendrich, M. P., Holman, T. R., Mhck, E., Papaefthymiou, V., Que, L., 1990, Jr. J. Am. Chem. SOC, 112, 6031 p.
- [19] Bourguignon, J.J., Wermuth, C.G., 1981, Bull. Soc. Chim. France, J. Org. Chem., 46, 489 p.
- [20] Bre’fuel, N., Lepetit, C., Shova, S., Franc,oise, D., Tuchagues, J. P., 2005, Inorg. Chem., 44, 8916, 8928 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- [21] Briganti, F., Pierattelli, A., Scozzafava, A., Supuran, C. T., 1996, Eur. J. Med. Chem., 31, 1001 p.
- [22] Butler, G. B., Hong, S. H. J., 1987, Macromol. Sci. Chem. 24, 919 p.
- [23] Champe, P.C. ve Harvey, R.A., 1997, Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevleri, 438 s.
- [24] Chaudhuri, P., Hess, M., Flörke, U., Wieghardt, K., 1998, Angew. Chem., Int. Ed., 37, 2217 p.
- [25] Chaudhuri, P., Hess, M., Weyhermüller, T., Wieghardt, K., 1999, Angew. Chem., Int. Ed., 38 p.
- [26] Croxall, W. J., Melamed, S., 1995, U.S. Patent, Chem. Abstr., 2, 715, 631 p.
- [27] Diril, H., Chang, H. R., Nilges, J. M., Zhanp, X., Potenza, J. A., Schugar, H. J., Hied, S. S., Hendrickson, D. N., 1989, J. Am. Chem. SOC, 111,5102 p.
- [28] Dondoni, A., Massi, A. 2006, Acc. Chem. Res., 39, 451, 463 p.
- [29] Dytyuk, I. T., Samakaev, R. K., 1980, U.S.S.R, Patent, Chem. Abstr., 93 p.
- [30] Ege, S., 1999, Organic chemistry, Houghton Mifflin Company, Boston.
- [31] Ermili, A., Roma, G., Mazzei, M., Ambrosini, A., Passerini, N., 1974, Furmaco Ed. Sci., 29, 237, 247 p.
- [32] Ermili, A., Roma, G., Mazzei, M., Ambrosini, A., Passerini, N., 1974, Furmaco Ed. Sci., 29, 237, 247 p.
- [33] Experimental Pathology and Parasitology, 8/2, 2005.
- [34] Fallon, G. D., Markiewicz, A., Murray, K., Qmch, T., 1991, J. Chem. SOCC. hem. Commun., 198 p.
- [35] Flammer J, Orgu S., Costa V. P., 2002, The impact of ocular blood flow in glaucoma. Prog Retin Eye Res., 21: 359, 393 p.
- [36] Gelling, O. J., Feringa, B. L., 1990, J. Am. Chem. SOC, 112, 7699 p.
- [37] Gelling, O. J., Meetama, A., Feringa, B. L., 1990, Znorg. Chem., 29, 2816 p.
- [38] Gelling, O. J., van Bolhuis, F., Meetama, A., Feringa, B. L., 1988, J. Chem. SOC. Chem. Commun., 552 p.
- [39] Goldberg, D. P., Lippard, S. J., 1995, Adv. Chem. Ser., 246, 259 p.
- [40] Gomez-Romero, P., DeFotis, G. C., Jameson, G. B., 1986, J. Am. Chem. SOC., 108, 851 p.
- [41] Groszkowski, S., Korzycka, L., Bialasiewicz, W., 1973, Pol. J. Pharmacol. Pharm., 25, 573577 p.
- [42] Guthire, J. D., Pottle, M. S., Marcavio, M. F., 1964, Am. Dyest. Rep., 53 p.
- [43] Hakansson, K., Carlsson, M., Svensson, L. A. and Liljas, A. 1992, Structure of native and apo carbonic anhydrase II. J. Mol. Biol. 227: 1192-1204 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- [44] Halcrow, M. A., Lindy Chia, L. M., Liu, X., McInnes, E. J. L., Yellowlees, L. J., Mabbs, F. E., Scowen, I. J., McParrlin, M., Davies, J. E., 1999, J. Chem. Soc., Dalton Trans., 1753 p.
- [45] Halfen, J. A., Jazdzewski, B. A., Mahapatra, S., Berreau, L. M., Wilkinson, E. C., Que, L., Tolman, Jr., W. B., 1997, J. Am. Chem. Soc., 119, 8217 p.
- [46] Harper, H., 1975, Enzymes. Review of physiological chemistry, Californiyalos Altos 15th Edition. 126, 172 p.
- [47] Heijl A, Leske M. C, Bengtsson B, 2002, Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression: results from the Early Manifest Glaucoma Trial. Arch Ophthalmol. ; 120(10): 1268, 1279 p.
- [48] Hellman, H., Opitz, G., 1960, -Amino-alkylierung, Verlag Chemie, Weinheim.
- [49] Hewett-Emmett, D., 2000, In the carbonic anhydrase-new horizons. BirkhauserVerlag, Basel, 29, 78 p.
- [50] İnan, Y., Gül, M., 2001, Biyokimya, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., 447 s.
- [51] Itoh, S., Takayama, S., Arakawa, R., Furuta, A., Komatsu, M., Ishida, A., Takamuku S., Fukujumi, S., 1997, Inorg. Chem., 36, 1407 p.
- [52] James B. 1993, Blood flow in the pathogenesis of glaucoma. Current opinion in ophthalmology, 4: 65, 72 p.
- [53] Kalopissis, G., Abegg, J.L., Ghilardi, G., De Beaulieu, H.P., 1976, U.S. Patent, Chem. Abstr., 85,143118 p.
- [54] Kass M. A., Heuer D. K., Higginbotham E.J., 2002, The ocular hypertension treatment study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. Arch Ophthalmol.; 120(6): 701-13, discussion 829, 830 p.
- [55] Kawaguchi, H., Hoshino., and Ohtsuka, Y., 1982, Proc. 28th IUPAC Macromol, SYM, 609 p.
- [56] Keha, E. E., Küfrevioğlu, Ö. İ., 2004, Biyokimya, Aktif Yayınevi, 642 s.
- [57] King, F.D., 1983, Tetrahedron Lett. 24:3281 p.
- [58] Körbl, J., Pribil, R., 1957, Some new metallochromic indicators of the Complexon type, Chem. Ind., 223 p.
- [59] Kovalenko, L. G., Ruban, E. M., Skyrnik, E. M., Viktrov-Nabokov, O. V., 1987, Med. Parazit, Parazit, Bolezni, Chem. Abstr., 107 p.
- [60] Krassig, H., 1955, Makromol. Chem., 17, 77 p.
- [61] Kuwahara, M., Mutsukado, M., 1977, Japanese Kokai, Chem. Abstr. 88 p.
- [62] Kyoritsu Organic Ind. Research Lab., Japanese Kokai Tokyo Koho JP 58,127,719, 1983, Chem. Abstr., 100.36060.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- [63] Landolfi, C., Marchetti, M., Ciocci, G., Milanese, C., 1998, Development and pharmacological characterization of a modified procedure for the measurement of carbonic anhydrase activity J. Pharm. And. Toxicol. Meth., 38, 169, 172 p.
- [64] Leighton, J. C., Iovine, C. P., Carmine, P., 1987, U.S. Patent, Chem. Abstr., 108 p.
- [65] Leske M. C, Heijl A., Hussein M, 2003, Factors for glaucoma progression and the effect of treatment: the early manifest glaucoma Trial. Arch Ophthalmol., 121(1): 48, 56 p.
- [66] Lichter P. R., Musch D. C., Gillespie B. E., 2001, Interim clinical outcomes in the collaborative initial glaucoma treatment study comparing initial treatment randomized to medications or surgery. Ophthalmology., 108(11): 1943, 1953 p.
- [67] Lidström, P., Thierney, J., Whatey, B. and Westman, J., 2001, Microwave assisted organic synthesis – A review, Tetrahedron, 57, 9225–9283 p.
- [68] Lindskog, S. and Wistrand, P. J. 1988, Inhibitors of carbonic anhydrase. In: Design of Enzyme Inhibitors as Drugs, pp. 698-723 p.
- [69] Mahanta, D., Rahman, A., 1986, Indian J. Chem. A, 25A, 825p.
- [70] Mannich, C., Krosche, W., 1912, Arch. Pharm. 250, 647p.
- [71] March, J., 1985, Advanced Organic Chemistry, 3rd Ed., 800-802, 828 p., John Wiley and Sons
- [72] March, J., Advanced Organic Chemistry, 3rd Ed., 800-802, 828, John Wiley and Sons, (1985)
- [73] Maren, T. H., Conroy, C. W., 1993, A new class of carbonic anhydrase inhibitor. J. Biol. Chem., 268, 26233, 26239 p.
- [74] McKauge, A. B., 1974, J. Appl. Chem. Bioethanol., 24, 604 p.
- [75] McKinney, L. L., Setzkorn, E. A., Uhing, F. H., 1956, U.S. Patent, Chem. Abstr., 50, 713 p.
- [76] Mikryukova, N. K., Potapenko, A. P., Litvinenko, L. V., Matyash, L. G., Popovich, T. D., Polevaya, V. I., 1985, U.S.S.R. Patent SU, Chem. Abstr., 103 p.
- [77] Minin, A.A., Filipova, L.P., 1972, Uch. Zap. Permsk. Gos. Univ., Chem. Abstr., 77, 229 p.
- [78] Murch, B. P., Bradley, F. C., Que, L., 1986, Jr. J. Am. Chem. SOC., 108, 5027 p.
- [79] Niehida, Y., Akamatsu, T., Naeu, M., 1991, Chem. Lett., 1703 p.
- [80] Noller, C.r., 1965, Chemistry of Organic Compound, 3rd Ed., W.B.Squanders, 260, 656, 664, 667, 908 p.
- [81] Norman, R. E., Yan, S., Que, L., Backee, G., Ling, J., Sandere-Loehr, J., Zhang, J. H., O'Connor, C. J., 1990, J. Am. Chem. SOC., 112, 1564 p.
- [82] Oberhausen, K. J., Richardson, J. F., Buchanan, R M., McCusker, J. K., Hendrickson, D. N., Latour, J. M., 1991, Znorg. Chem., 30, 1357 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- [83] Oleinikov, A. N., 1981, U.S.S.R. Patent, Chem. Abstr., 95 p.
- [84] Özdemir, I., Demir, S., Çetinkaya, B., Çetinkaya, E. J., 2005, Organomet. Chem. 690, 5849, 5855 s.
- [85] Pine, S.H., Hendrickson, J.B., Cram, d.j., Hammond, G.S., 1980, Organic Chemistry, 4th. Ed., 292-294 p.
- [86] Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.), Vol. 112, No. 6, December, 2000, 559, 572 p.
- [87] Rassam S. M., Patel V, Kohner E.M., 1993, The effect of acetazolamide on the retinal circulation. Eye., 7: 697, 702 p.
- [88] Renzi, G., Scozzafava, A., Supuran, C. T., 2000, Carbonic anhydrase inhibitors: Topical sulfonamide antiglaucoma agents incorporating secondary amine moieties, Bioorg. Med. Chem., Italy, 10, 673, 676 p.
- [89] Ritch R., Shields M. B., Krupin T., 1996, Chronic open angle glaucoma: treatment. In the glaucomas, 170, 188 p.
- [90] Roling, P. V., Niu, J.H.Y., 1989, U.S. Patent, Chem, Abstr., 111 p.
- [91] Roos, L., 1981, German Offen., Chem. Abstr., 95 p.
- [92] Roth, H. J., Abdul-Baki, A., Schraut, T., 1976, Arch. Pharm., 309, p.
- [93] Roughton, F. J. W. and Booth, V. H. 1946, The Effect of substrate concentration, pH and other factors upon the activity of carbonic anhydrase. Biochem. J. (40) : 319 p
- [94] Scher, A., Dietsch, P., 1984, A 54 000 molecular weight protein with carbonic anhydrase activity rabbit erythrocytes. In Biology and Chemistry of the carbonic anhydrase. Annals New York Acad. Sci., 241, 429 p.
- [95] Schloman, W. W., 1986, European Patent Appl. EP., Chem. Abstr., 105 p.
- [96] Schmidt, A., Brunetti, 1976, H. Helv. Chim. Acta, 59, 522 p; Asherson, J. L., Bilgic, O., Young, D. W. J., 1980, Chem. Sot. Z, 512, 522 p.
- [97] Sellet, I., 1972, U.S. Patent, Chem. Abstr., 77 p.
- [98] Shimazaki, Y., Huth, S., Odani, A., Yamauchi, O., 2000, Angew. Chem., Int. Ed., 112 p.
- [99] Sigel, H., Sigel A., 1994, Metal Ions in Biological Systems, eds., Marcel-Dekker, New York, 30p.
- [100] Stams, T., Chen, Y., Boriack – Sjodin, P. A., Hurt, J. D., Liao, J., May, J. A., Dean, T., Laipis, P., Christianson, D. W., 1998, Protein Sci., 7, 556 p.
- [101] These reactions are often run in HCl at high temperatures; see e.g. Bryant, J. A., Helgeson, R. C., Knobler, C. B., de- Grandpre, M. P. and Cram, D. J., 1990, Host-Guest complexation. 53. Functional group preorganized in hemispherands for binding alkali metal and ammonium cations, J. Org. Chem., 55, 4622–4634 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- [102] Tozlu, İ., 1997, Eritrositlerinden Afinite Kromatografisi ile saflaştırılan Karbonik Anhidraz Enziminin Kinetik ve Elektroforetik Özelliklerinin İncelenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilimdalı, Van.
- [103] Tramontini, M., 1973. Advances in The Chemistry of Mannich Bases, Synthesis, 703-775 p.
- [104] Tramontini, M., Angiolini L., 1988. Mannich Bases in Polymer Chemistry, Polymer, 29, 771-776 p.
- [105] Tramontini, M., Angiolini, L., 1989. Further Advances in The Chemistry of Mannich Bases, Tetrahedron, 1791-1800 p.
- [106] Tramontini, M., Angiolini, L., 1989. Further Advances in The Chemistry of Mannich Bases, Tetrahedron, 1791-1800 p.
- [107] Tramontini, M., Angiolini, L., 1994, Mannich Bases: Chemistry and Uses; CRC Press: Boca Raton, FL.
- [108] Transition Metal Chemistry (2007) 32:816–821 Springer 2007 DOI 10.1007/s11243-007 0266-7. Inorganica Chimica Acta 355 (2003) 64/68. Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.), Vol. 112, No. 6, December 2000, pp 559–572 Ó Indian Academy of Sciences.
- [109] Ünlü, C.H., 2002, Bazı mono ve dinitrillerin Mannich reaksiyonlarının incelenmesi
- [110] Van Leusen, A. M., Strating, J., 1977, Org. Synth., 57, Chem Abstr., See also Org. Synth., 57, 102 p.
- [111] Wang, Y., Stack, T. D. P., 1996, J. Am. Chem. Soc., 118 p.
- [112] Webster, J., 1989, Inroduction to Fungi, Cambridge University Press, Melbourne, 1, 669 p.
- [113] Yamato, K., Inada, T., Doe, M., Ichimura, A., Takui, T., Kojima, Y., Kikunaga, T., Nakamura, S., Yanagihara, N., Onaka, T., Yano, S., 2000, Bull. Chem. Soc. Jpn., 73, 903 p.
- [114] Yan, S., Cox, D. D., Pearce, L. L., Juarez-Garcia C., Que, L., Zhang, J. H., O'Connor, C., 1989, J. Znorg. Chem., 28, 2507 p.
- [115] Zhao, Q., Sun, H. S., You, X.-Z. J., 1999, Organomet. Chem., 572, 59, 64 p.
- [116] Zurita, D., Gautier-Luneau, I., Menage, S., Piere, J. L., Saint-Aman, E., 1997, J. Biol. Inorg. Chem., 2, 46 p.