

2, 4, 5 Tri (Süstitüe) Fenil İmidazol ve Türevlerinin Mutajenik Etkilerinin Ames/Salmonella Test Sisteminde Saptanması

Ayşe MERCANGÖZ

Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Eskişehir-TÜRKİYE

Berrin AYAZ TÜYLÜ

Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Eskişehir-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 25.03.1998

Özet: İlaç yapımında başlangıç maddesi olarak kullanılması amaçlanan 2, 4, 5 tri fenil imidazol ve dokuz türevinin mutajenik etkileri Ames/Salmonella/Mikrozom test yöntemi ile araştırıldı. Test bileşenlerinin özellikle TA98 suşunda etkili olduğu belirlendi. Bağlanan metil ve metoksi gruplarının pozisyonu ile mutajenik etki arasında bir ilişki saptandı.

Anahtar Sözcükler: İmidazol, 2, 4, 5 tri fenil imidazol, mutajenik aktivite, Ames/Salmonella/Mikrozom

Detection of Mutagenic Effects of 2, 4, 5 Tri (Süstitüe) Phenyl Imidazole and Its Derivatives in Ames/Salmonella/Test System

Abstract: The mutagenic effects of 2, 4, 5 tri-phenylimidazole and its nine different derivatives, which are aimed at producing medicine as a primary substance, were investigated by the Ames Salmonella/Microsome plate assay. The test compounds were directly effective, especially in the TA 98 strain. A relationship was found between the mutagenic effect and the positions of the methyl and methoxy groups.

Key Words: Imidazole, 2, 4, 5 triphenyl imidazole, mutagenic activity, Ames/Salmonella/Microsome.

Giriş

Çevremizde biyolojik etkileri bilinmeyen ve sayıları milyonları bulan sentetik ve doğal madde bulunmaktadır. Bu maddelerin çoğunun günlük kullanımda yer alması, özellikle kanserojenik potansiyelleri yönünden test edilmelerini gerekli kılmaktadır (1,2).

İnsanda oluşan kanserin % 75'i kimyasal kanserojenlere bağlanmaktadır. "Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu" panellerinde araştırması yapılan 300 kimyasal maddeler listesinde verilmiştir (3). Kanser hastalığının yaygın olması ve günümüzde tekniğin ilerlemesine karşı bu hastalığın ortadan kaldırılmaması, kanserin temelini oluşturan unsurların belirlenmesi gereğini ortaya çıkarmıştır. (2). Bu andan itibaren de genetik toksikoloji önem kazanmıştır (4). Gerçekte herhangi bir kimyasal maddenin, insanda genetik hasar oluşturabileceği henüz doğrudan gösterilmemiştir (5). Ancak bugün çevremizdeki çeşitli kimyasal maddelerin küçük miktarları mutasyona veya kansere neden olabilir (6, 3). Son yıllarda kimyasal maddelerin kanserojenik potansiyellerini ölçebilmek için kısa zamanlı testler geliştirildi. Bu testlerde genetik sistemler, direkt denenmek istenen maddelerle reaksiyona sokulup, maddelerin kanserojenik-mutajenik

potansiyeleri arasında ilişki kurulmaktadır (1, 2, 5). Ames tarafından geliştirilen bir yöntemde, *Salmonella* bakterileri kullanılarak, genotoksik-kanserojenik etkinin araştırılması, birçok çevre kirleticileri ve ilaçlara uygulanmıştır (3, 6, 7, 8). Bu test ile safra asiterinin (9), 30 ayrı kimyasalın (10, 11) quinolin ve monohidroksiquinolin'lerin (12, 13), gıda katkı maddesi olan azo boyalarının (14), sodyum benzoat ve sodyum nitratın (15), hava kirliliğini oluşturan partikülerin (16, 17, 18, 19), fabrika atmosferindeki kirli havanın (20, 21, 22) ve klorlu sularla hazırlanan meyva sularındaki malik asit ve tartarik asit komplekslerinin ve içme sularının (23), mutajenliği sınanmıştır.

Son yıllarda yapılan araştırmalar gerek doğal, gerekse insanlar tarafından üretilen bazı kimyasal maddelerin hem kimyasal yapılarını hem de mutajenik etkilerini belirleyici nitelikte olmuştur (24, 25, 26, 27).

Kimyasal maddelerin vücuda alınış yollarından biri de çeşitli amaçlarla kullanılan ilaçlar aracılığıyla. Çalışmamızda sentetik olarak elde edilen ve ilaç yapımında başlangıç maddesi olarak kullanılması amaçlanan trifenil imidazol ve türevlerinin mutajenik aktivitesi Ames/*Salmonella*/Mikrozom yöntemi ile araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada kullanılan *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşları, Dr. Bruce Ames'den (University of California, Berkeley, C.A. USA), mutajenik etkisi test edilen 2, 4, 5 trifenil imidazol ve dokuz farklı türevi, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Öğretim Üyeleri; Doç. Dr. İlhan IŞIKDAĞ ve Doç.Dr. Ümit UÇUCU'dan sağlandı. Denenen kimyasallara ait bazı bilgiler Tablo 1'de gösterilmektedir. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler aşağıda sıralanmaktadır.

Metabolik aktivasyon indükleyicileri : 3 metil kolontren, sodyum fenobarbitol

Pozitif kontroller : Sodyum azid, 2 aminofluoren.

Diğer kimyasallar : D-Biyotin, Ampisilin trihidrat,

D-glukoz-6fosfat, Dimetilformamid.

Test suşlarının genetik işaretlerinin doğrulanması çalışmada kullanılan *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarının genetik işaretlerinin kontrolü ve korunmaları, Maron ve Ames'in yöntemine uygun yapılmıştır (28).

Mutajenite testi, Maron ve Ames'in (28) geliştirdikleri plak inkorporasyon yöntemi uygulanarak yapıldı. Denenen kimyasalar dimetilformamid (DMF)'te çözülerek her deney seti için taze olarak hazırlandı. Pozitif kontroller olarak kullanılan sodyumazid-su, S9 konulmadan, 1,5 ml kullandı, 2-aminofluoren ise dimetilsülfoksit içinde çözüldü (S9 konularak kullanıldı). Kullanılan kimyasalların standart test suşları, için toksik olmayan dozları Dean ve arkadaşlarının (29) yöntemine uygun olarak saptandı ve sitotoksik olmayan 5 ayrı doz ile çalışıldı.

Standart plak inkorporasyon yönteminde, erimiş 2 ml'ik üst agara 0,1 ml bakteri kültürü (1-2.10⁹ adet/ml), 0,1 ml denenen kimyasal, 0,2 ml histidin biyotin eklenerek, minimal tuz ve

Tablo 1. Test bileşenlerinin kimyasal yapı ve formülleri.

Açık kimyasal yapı	Kapalı yapı ve formüller
	$C_{21}H_{16}N_2$ 2,4,5-Trifenil-imidazol (Başlangıç bileşiği) Lophine [⊕]
	$C_{22}H_{18}N_2O$ 2-(p-metoksi)fenil-4,5-di fenil-imidazol
	$C_{23}H_{20}N_2O_2$ 2-(4'-hidrokso-3'-metoksi) fenil-4,5 difenil-imidazol
	$C_{23}H_{20}N_2O_2$ 2-(3'-4'-dimetoksi) fenil- 4,5-difenil-imidazol
	$C_{25}H_{24}N_2$ 2-(2'-4'-dimetil) fenil-4,5 -di (4'-metil) fenil-imidazol
	$C_{25}H_{24}N_2O_2$ 2-(3',4-dimetoksi) fenil-4, 5-di(4'-metil) fenil-imidazol
	$C_{25}H_{20}N_2O_2$ 2-fenil-4,5 di (4'-metoksi) fenil-imidazol
	$C_{24}H_{22}N_2O_2$ 2-(4'-metoksi) fenil-4,5-di (4'-metoksi) fenil-imidazol
	$C_{25}H_{24}N_2O_2$ 2-(2',4-dimetil) fenil-4,5-di (4'-metoksi) fenil-imidazol
	$C_{24}H_{22}N_2O_2$ 2-(4'hidrokso-3'-metoksi) fenil-4,5 di (4'-metoksi) fenil-imidazol

2. 4. 5 Tri (Süstitüe) Fenil İmidazol ve Türevlerinin Mutajenik Etkilerinin Ames/Salmonella Test Sisteminde Saptanması

Tablo 2. TA98 ve TA100 Ames/Salmonella/Mikrozom testi Sonuçları

TEST BİLEŞİĞİ	DENEN Doz (µg/plak)	TA98 Revertant Koloni Sayısı		TA100 Revertant koloni Sayısı	
		S9 (-)	S9(+)	S9(-)	S9(+)
1) (Lophine+) 4,5-trifenil imidazol	10	40	39	181	178
	100	156	80	560	180
	1000	87	52	260	132
	2500	70	53	180	116
	5000	49	44	147	124
2) 2(4'metoksi) fenil 4,5-difenil imidazol	10	42	39	179	165
	100	217	68	305	174
	1000	98	43	245	160
	2500	66	50	325	182
	5000	35	34	145	177
3) 2-(4'hidroksi-3 metoksi) fenil-4,5- difenil imidazo	10	35	32	173	159
	100	41	28	340	186
	1000	40	23	290	170
	2500	58	21	177	168
	5000	35	39	184	182
4) 2 (3',4' dimetoksi fenil 4,5 difenil imidazol	10	49	43	165	164
	100	177	65	275	252
	1000	68	53	230	135
	2500	63	450	270	220
	5000	41	32	194	182
5)2-(2', 4'-di metil) fenil-4,5-di (44- metil fenil imidazol	10	65	42	165	151
	100	178	70	295	145
	1000	240	79	355	305
	2500	35	36	178	164
	5000	35	39	170	128
6) 2-(3', 4'- dimetoksi fenil- 4,5-di (4'-metil fenil imidazol	10	33	32	148	145
	100	88	35	200	147
	1000	41	37	255	180
	2500	34	31	154	162
	5000	35	34	174	159
7)2-fenil4,5-di (4'metoksi7fenil imidazol	10	36	37	154	146
	100	153	40	134	112
	1000	275	51	272	117
	2500	280	62	168	162
	5000	72	33	133	122
8)2(4'metoksi) fenil-4,5 di(4'- metoksi) fenil imidazol	10	60	34	165	145
	100	285	64	230	175
	1000	200	55	220	122
	2500	169	47	140	144
	5000	46	38	180	138
9)2-(2', 4'-dimetil) fenil-4,5-di(4'- metoksi)fenil imidazol	10	35	30	150	152
	100	132	32	160	144
	1000	148	35	275	153
	2500	205	36	410	170
	5000	34	38	153	128

glikoz içeren agar plaklarına döküldü, hemen döndürülerek düzgün bir şekilde yayıldı. Bu işlem 3 ayrı plakta tekrarlandı, S9 fraksiyonu varlığında yapılan deneylerde, bu karışıma 0,5 ml S9 karışım eklendi. Plaklar 37°C'de 48-72 saat inkübe edildi ve revertant kolonilerin sayımı yapıp, 3 ayrı plağın ortalamaları alındı.

S9 fraksiyonu, 3-metilkolontren ve sodyumfenobarbitol ile aktive edilmiş Sprague-Dawley ırkı erek ratların (180-200 gr) karaciğerinden ede edilmiş olup bu fraksiyonun protein miktarı Lowry yöntemiyle saptanmıştır (30 mg/ml) (30).

Standart test suşları histidin oksotrofudur. Ancak her test suşu belirli bir frekansla geriye dönerek histidinsiz ortamda üreyebilen koloniler verir. Bu kolonilere "spontan revertant" adı verilir. Bir kimyasalın bu test sisteminde mutajen olarak kabul edilmesi için TA98 ve TA100 ile verdiği revertant koloni sayısının, o suşa özgü spontan revertant sayısının en az iki katı olması gerekmektedir (31).

Bulgular

S9 varlığında ve yokluğunda plak inkorporasyon test sonuçları *S. typhimurim* TA98 ve TA100 için Tablo 2'de gösterilmiştir. Sonuçlardan spontan geri dönüş sayıları düşülmemiştir. TA98 için spontan sonucun standart sapması 34 ± 16.08 , TA100 için 128 ± 15.00 bulunmuştur.

Tartışma ve Sonuç

2, 4, 5 trifenil imidazol türevlerinin mutajen aktivitelerinin araştırılması için yaptığımız mutajenite deneyleri sonucunda tabloda görüldüğü gibi TA98 ve TA100 suşları dönüşüm sayıları açısından farklılık göstermiştir. TA 98 suşu TA100 suşuna göre daha fazla etkilenmiştir. test ettiğimiz imidazol türevleri direk mutajen etkiyi yalnızca TA 98 bakteri suşu ile vermiştir. TA98 suşunun özellikle 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10 no'lu denenen kimyasallara cevap verdiği saptanmıştır. Bu türevlerin yapısına bakıldığında imidazol halkasına ikinci konumda bağlı olan fenil yapısının ve buna bağlı olan grupların DNA ile etkileşime girme etkilerinin büyük olduğu görülmüştür. Bunlardan 2. ve 4. bileşiklerde, 2. fenile bağlı orta ve para konumlu metoksi grupları makro moleküllerle etkileşimde rol oynamaktadır. 5 no'lu bileşikte, hem 2. fenile bağlı hem de diğer fenil gruplarına bağlı metil grupları reaktivasyonda rol oynarlar.

7. Bileşikde, 4. ve 5. konumdaki fenile bağlı para konumlu metoksi grupları, 8. bileşikde, hem 4. ve 5. fenil yapısında 2. fenil yapısına bağlı metoksi grupları, 9. bileşikte hem metoksi hem de metil grupları, 10 no'lu bileşikte, para konumlu metoksi gruplarına ilaveten 2. konumlu fenil bileşiğine bağlı orta konumlu metoksi ve OH grupları etkileşimde görev almıştır.

Metil ve metoksi grupları aromatik halkayı orta ve para konumunda aktifleştirir ve yönlendirir. Ancak metil grubu hidrofobik karakterde rol aldığından diğer moleküllerle etkileşimde bu yönde görev yapar (32, 33, 34). Metoksi grubunda, (O-CH₃) oksijen üzerindeki ortaklanmamış elektron çiftlerinin yaratacağı (-) yükün DNA ile etkileşimde etkili olduğu

düşünülmektedir. Metoksi grubu aromatik yapılarda halkayı aktive ederek elektron yoğunluğunu arttırır. Elektron çifti vericisi olarak iş yapar (32, 33). Fenil grupları ise elektrofilik aromatik substitüsyon reaksiyonlarını gerçekleştirirler. Fenil gruplarıda makromoleküllerle bu şekilde bir etkileşime girerler (32, 33, 34).

TA100 suşu 1, 9, 10 no'lu bileşiklerin 100 mg/plak doz seviyesinden itibaren spontan cevabın 2 katına çıkan değerler vermiştir.

Bu verilere göre TA98'in verdiği cevaplar doğrultusunda, denediğimiz 2, 4, 5 trifenil imidazol ve türevleri çerçeve kayması şeklinde mutasyona sebep olmuştur. Diğer yandan S9 katılarak yapılan deneylerde 2, 4, 5 trifenil imidazol türevlerinin canlı vücuduna girdiği takdirde metabolik yıkım sonucu etkisiz hale getirilip vücuttan uzaklaştırıldığı kanısına varılmıştır. Metabolik aktivasyonda rol oynayan enzimlerin denenene test bileşimini faz I ve faz II ile yıkıma uğratarak direkt mutajen etkisini yok ettiği görülmüştür.

İlaçlar, kozmetikler, yiyecek koruyucuları gibi vücuda yabancı olan maddeler uyarılabilen izozimlerden oluşan detoksifikasyon enzim gruplarında metabolize edilirler (1). Bunlar genelde suda çözünür hale getirilip uzaklaştırılır (1, 3). Halkalı büyük moleküller genel olarak bazlarla reaksiyona girip elektrofilik, zaman zaman nükleofilik atakla bağlanırlar (1, 35). DNA bazlarında nereye bağlanırsa bağlansınlar hacim itibarıyla büyük olduklarından yanlış baz eşleşmelerine neden olurlar (1, 3).

İŞIKDAĞ ve UÇUCU'nun 1987'de yapmış oldukları antibakteriyel etkiye yönelik çalışmada (36) imidazol halkasına bağlı difenil bileşiklerinin biyolojik aktivitede rol almadığı, buna karşılık 2. konuma bağlı ve gruplarına göre, artan biyolojik etki sergiledikleri ortaya konmuştur. Bizim sonuçlarımızda trifenilin 2. konumundaki fenile bağlı gruplar, diğer süstitüe imidazol türevlerine göre daha fazla biyolojik aktivite göstermiştir. Bu sonuç İŞIKDAĞ ve UÇUCU'nun sonuçlarıyla uyumludur. İŞIKDAĞ'ın yayınlanmamış bir çalışmasında 4, 5 difenil ve 2, 4, 5 trifenil imidazol çekirdeğinin antihelmintik aktivite sergileyebileceği ve bu etkinin bağlı gruplarla değiştirilebileceği ortaya konmuştur.

Literatürlerde rastlanan diğer çalışmalarda imidazol çekirdekli bileşiklerin aktivitesi incelenmiştir. Yapılan 2 ayrı çalışmada imidazol çekirdekli difenil ve değişen substitüentli bileşiklerin karaciğer enzimlerinden faz I reaksiyonlarında işlev gören sitokrom P450'nin indüklenen miktarını artırdığı sitokrom P450 ile interaksyona girdiği, enzim proteinin tirozin aminoasitinin OH grubu ile, hidrojen köprüsü kurduğu gösterilmiştir (38). Kovaks'ın yaptığı çalışmada imidazol ve derivatlarının hücrel immüniteyi uyarıcı etki yaptığı ve neoplazma inhibitörü gibi rol oynadığı vurgulanmıştır (39). Başka bir çalışmada imidazol türevlerinin anti enflamatuar, antifungal etkisi araştırılmış ve bu etkileri sergilediği bulunmuştur (40).

Sonuç olarak; bu çalışmada 2, 4, 5 trifenil imidazol bileşiklerinin, bünyesinde bulundurduğu gruplar sayesinde, hem aromatik yapılar hem de alkilleyici ajanlar gibi hareket edip, DNA ile etkileşime girerek direkt mutajen aktivite gösterdiği saptanmıştır. Ancak tek hücrelilerde rastanan bu durum sadece bir çeşit mutasyonu ortaya çıkarmaktadır. Şöyle ki; test meddeleri, sadece TA98'in verdiği cevaplara göre his oksotrofu olan suşları, prototrof suşlar haline getirerek kuvvetli bir şekilde çerçeve kayması mutasyonuna sebep olurken, nokta mutasyonuna

zayıf etkili olmuştur. Bunu TA 100 suşu için imidazolün sadece 3 türevinde ve belirli dozlarda koloni sayılarını arttırmamasından anlamaktayız. Tek hücrelerdeki bu durum sadece imidazollerin seçici olarak DNA ile reaksiyona girdiğini ve reaktif olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak aynı kimyasallar aktive edilmiş karaciğer enzimleriyle denendiği aşamada, aynı sonuçları doğurmamıştır. Tabloda yer alan TA98 ve TA100 suşuna ait düşük değerler, test maddesi olan kimyasalların anti mutajenik potansiyellerinin araştırılmasını gerektirmektedir.

Kaynaklar

1. Bağcı, H. TÜBİTAK, Lisanüstü Yaz Okulu. (1985).
2. Forman, D., Ames, B., The Ames Test and the Causes of Cancer, Br. Med. J. Vol. 303, 428-429 (1991).
3. Vural, N., Toksikoloji, Ank. Üniv., Ecz. Fak., Yayınları, No: 56 Ankara (1984).
4. Ames, B.N., Identifying Environmental Chemicals Causing Mutation and Cancer, Science, 204, 587-59 (1979).
5. Ames, B.N., Food Constituents as a Source of Mutagens, Carcinogens and Anticarcinogens, Genetic Toxicology of the Diet, Proceeding of a Satellite Symposium of the Fourth International Conference on Environmental Mutagens Held in Copenhagen, Denmark, Ed. B. knudsen, 3-32 (June 1985).
6. Dökmeci, I., Toksikoloji, Akut zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi, Nobel Kitap kitabevi, İstanbul, 547 (1988).
7. Audrey, E. et al., Genotoxic Activity detected in Soils From a Hazardous Waste site by the Ames test and an SOS colorimetric test. Environmental and Molecular Mutagen, 220, 115-122 (1993).
8. Vargus, V.M.F., Motho, V.E.P., Henriques, J.A.P., Mutagenic Activity Detected by the Ames Test in River Water Under the Influence of Petro Chemical Industries, Mut. Res., 319, 31-45 (1993).
9. Mori, Y., et. al., Absence of Mutagenic Action of 5-B cholan 24 oic acid Derivatives in the Bacterial Fluctation and Standart Ames Tests, Mut. Res., 262, 267-274 (1991).
10. Einistö, P., et al., mutagenicity of 30 chemicals in Salmonella typhimurium strains Possesiry Different Nitro-Reductase or O-acetyltransferase Activities, Mut. Res., 259, 95-102. (1991).
11. Kalopissi, G., Structure-activity relationships of Aromatic Diamines in the Amb Salmonella typhimurium Assay, Partlı, Mut. res., 269, 95-102 (1991).
12. Wiems, M.I., et a., Comparison of the Mutagenicity of quinoline and All Monohydroxy quinolines with a series of Areneoxide, trans dihydrodiol epoxide, N-oxide and arene hydrate Derivatives of quinoline in the Ames/Salmonella/Microsome Test, Mut. Res, 278, 277-286 (1992).
13. Vikse, R., et al., Mutagenic Activity of the Methly and Phenyl Derivatives of Food Mutagen 2 amino 3 methylimidazol (4.5.t) quinoxiline (I Q) in the Ames Test, Mut. res., 298, 207-214 (1993).
14. İzbirak, A., Sümer, S., Diril, N., Gıdalara katılan Bazı Azo Boyalarının Mutajenik Etkilerinin Test edilmesi, IX-Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-23 Eylül, Bildiri (1988).
15. Akin, A., Sümer S., Gıda Katkı Maddesi Olarak kullanılan Sodyum Benzoat ve Sodyum Nitratın Salmonella/Microsome test Sisteminde Etkilerinin Araştırılması, Hacettepe, Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 10, 21-27 (1989).
16. Ong, T., steward, J., Whong, W.Z., A simple Insitue Mutagenicity Test System for Detection of Mutagenic Air Pollutions, Mut. Res., 139, 177-181 (1984).
17. Krishna, G., Ong, T., Zwhans, W., (a7 Mutagenicity Studies of Ambient Airborne Particles I. Comparison of Solvents Systems, Mut. res. 124, 121-130 (1983).
18. Krishna, G., Nath, I., zwhans, W., (b) Mutagenicity Studies of Ambient Airborne Particles I. Comparison of Solvents Systems, Mut. Res., 124, 121-130 (1983).

2. 4. 5 Tri (Süstitüü) Fenil İmidazol ve Türevlerinin Mutajenik Etkilerinin Ames/Salmonella Test Sisteminde Saptanması

19. Bağcı, H., ve arkadaşları, microbial Detection of Mutagens in filtrats of airborne particulates from Ankara. Dođa. Tr. J. Biol. 16(1); 33-58 (1992).
20. Krokje, A., Tiltne, A., Mylius, E., (a) The results of Salmonella typhimurium tests on expechorates from exposed workers. mut. Res., 156, 147-152 (1985).
21. Krokje, A., Tiltne, A., Mylius, E., Testing for mutagens in an aluminium plant the results of Salmonella typhimurium test urine from exposed workers, Mut. res, 204, 163-172 (1988).
22. Yılmaz, Ö.k. Yureri, Bağcı H., Ankara civarındaki yüzeysel suların Ames mutajenite testi ile değerlendirilmesi, SKKD 2(1), 15-21 (1992).
23. Chang, T.L., Robert, P., Hanzimmer, S., The interaction of aqueous solutions of chlorin with maic acid, tartaric acid and various fruit juics, a source of mutagens, Analytica letters, 21 (1 1), 2049-2067 (1988).
24. Benigni, R., Guliani, A., Computer asisted analysis of inter laboratory, Ames test variability, J. tox and Env. Health, 1, 135-148 (1988).
25. McCann, J., Kolder, J., an evalution of salmonella, OAmes) test data in the published literature Appication of statistical procedures and analysis of mutagenic potency, mut. Res., 134, 1-47 (1984).
26. Philipson, E.C., Ionnidis, C., Activation of aromatic amines to mutagens by various animal species including man, Mut. Res. 124, 325-336 (1983).
27. Maron, D.M. Ames, B.N., Revised method for the salmonella mutagenicity test, Mut. Res., 113, 173-215(1983).
28. Dean, B.I., B et al., Genetic toxicology testing of 41 Industrial chemicals, mut. Res., 153, 57-771 (1985).
29. Lowry, D.H., et. al., protein measurement with folinphenol reagent, J. Biol. Chem., 193, 265-275 (1951).
30. kier, L.d., et. al., The Salmonella typhimurium/mammalian microsomal assay, A Report of the US environmental protection Agency Gene tox. Programme, Mut. Res., 168, 69-240 (1986).
31. Linstromber, W.W., Modern Organik Kimya, Çev. Tahsin Uyar, Hacettepe Tađ Kitapçılık, Ankara, 345 (1983).
32. Zor, L., Organik Kimya, Anadolu Üniversitesi, Açık Öğretim Fakültesi Yayını, 191, 188 (1991).
33. Ergenç, N., Gürsoy, A.Ö., Eczacılar için organik kimya, İst. Üniv. Yayın. 3376, Acar Matbaacılık, İst. 1568 (1985).
34. İlkizler, A., Hetero Halkalı bileşikler, Karadeniz Üniv., Fen-Ed. Fak. Genel Yayın, 84 Trabzon (1985).
35. İşıkdadı, İ., Uçucu, Ü., Çakır, B., Gazi Üniv., Ecz. Fak. Dergisi, 6(1), 49-62 (1989).
36. Dinj, X., et. al., Induction of P450 cytochromes 2E2, 1A1 and 1A2 by imidazole in neonatal rabbits, Drug Metab. Dispos, 20 (6), 792-96 (1992).
37. Mahmadian, M., Nejad, F.T., Mode of action of antifungal drugs with cytochrome P450 I Sch. Pharm. Med. sci. Üniv., Tharan, 2 (1), 203 (1991).
38. Kovacs, A., Neoplasm inhibitors comprising amides or imidazol derivatives and cellular immunostimulants, Hung. teljes, H460, 130, 28 (1992).
39. Shah, H.S., Yu. C.D., Gibson, J., Tropical compisitions containing anti-inglammatory and antifungal imidazole derivatives, Eur. Pat., Appl. E P524, 602 (1993).