

“Sabahın alimləri” Respublika Layihə Müsabiqəsi

Lider şagirdin SAA: Mehtiyeva Fərəh Mehti qızı

2-ci şagirdin SAA: Soltan Aylin Elnur qızı

*Layihənin başlığı/adı:
Sinnamaldehyd-azometin tandemi: fərdi molekulaların İsveç Hərbi Bıçağına çevrilməsi fenomeni
*Layihənin qısa məzmunu:
Tədqiqatlara əsasən, mikrob infeksiyalarının və xərçəngin illik artımı böyük iqtisadi ziyanə və insan sağlamlığı üçün potensial risklərə səbəb olur. Bundan əlavə hazırda mövcud olan antimikrob və xərçəng əleyhinə dərmanların əhəmiyyətli çatışmazlıqları olduğundan (xüsusən antimikrob və xərçəng əleyhinə rezistentlik), antimikrob və xərçəng əleyhinə aktivliklərə malik birləşmələrin axtarışı güclənib. Bu problem yeni müqavimət mexanizmlərinin sürətlə inkişaf etməyəcəyi mikroorqanizmlərin və xərçəng hüceyrə xətlərinin davamlı növlərinə qarşı təsirli ola bilən yeni antimikrob və xərçəng əleyhinə polifunksional hibrid agentləri, yəni İsveç Hərbi Bıçaqları, hazırlamaqla həll edilə bilər. Qeyd olunanları nəzərə alaraq, bizim məqsədimiz antimikrob və xərçəng əleyhinə aktivliklərə sahib ola biləcək İsveç Hərbi Bıçaqları hazırlamaqdı. İsveç Hərbi Bıçaqları layihənin giriş hissəsində qeyd olunan səbəblərə görə sinnamaldehyd (darçın aldehidi) və azometin fraqmentləri (həmçinin onlara birləşən müxtəlif farmakofor qruplar) əsasında hazırladıq. Bunun üçün müxtəlif sinnamaldehyd törəmələrini alifatik poliaminlərlə kondensləşdirərək sinnamaldehyd və azometin fraqmentlərini daşıyan İsveç Hərbi Bıçaqları ala bildik. Daha sonra, birləşmələrin quruluşlarını ^1H, ^{13}C NMR spektroskopiyaya və kütlə (elektronsprey) spektrometriya üsulları ilə tədqiq edərək alınan birləşmələrin həqiqətən aşağıda qeyd olunan quruluşa sahib olduqlarını təsdiqləmiş olduq. Növbəti mərhələdə sintez olunan birləşmələrin aktivliklərini həm qram-müsbət və qram-mənfi bakteriya, həm də AsPC1 mədəaltı vəzi və A2780 yumurtalıq xərçəng hüceyrə xətlərinə qarşı araşdırdıq və sintez olunan birləşmələrin həqiqətən eyni anda həm antibakterial, həm də xərçəng əleyhinə aktivliklərə sahib olduqlarını müşahidə etmiş olduq. Beləliklə, birləşmələrin eyni anda həm antibakterial və həm də xərçəng əleyhinə aktivlik nümayiş etdirməsi onların həqiqətən İsveç Hərbi Bıçağı olduğunu təsdiq etmiş oldu. Nəticə etibarlı ilə, sadə fraqmentlərin (azometin və sinnamaldehyd) bir maddədə birləşərək sinergetik effekt göstərməsi fərdi molekulaların İsveç Hərbi Bıçağına çevrilməsi fenomeninin bir nümunəsi olur. Daha sonra, birləşmələrin bioloji aktivliklərini izah etmək üçün hesablamalı kimya metodları ilə quruluşlarını optimallaşdırdıq və bəzi kvant-kimyəvi parametrləri hesabladıq. Birləşmələrin bioloji aktivliyinin nəticələrini nəzərə alaraq bakteriya və xərçəng hüceyrə xətlərinin hədəf proteinlərini müəyyən etdik. Əlavə olaraq, birləşmə-protein kompleksini tədqiq etdik və birləşmələrin proteinlər ilə konyuqasiyasını ətraflı olaraq öyrəndik. Belə ki, konyuqasiyanın hansı rabitələr hesabına və həmin rabitələrin yaranma mexanizmlərində göstərmiş olduq. Müəyyən etdik ki, birləşmələr hədəf proteinlər ilə, əsasən hidrogen rabitəsinin hesabına, konyuqasiya olunaraq proteinlərin aktivliklərini inhibiləşdirirlər və nəticə olaraq antibakterial və xərçəng əleyhinə aktivliklər nümayiş etdirirlər. Birləşmə və proteinlər arasında əmələ gələn hidrogen rabitəsinin sabilliyi ilə bağlı dinamik simulyasiya edərək konyuqasiya prosesinin nə dərəcə stabil olduğunu tədqiq etmiş olduq.

“Sabahın alimləri” Respublika Layihə Müsabiqəsi

*Layihənin məqsədi və ideyası:

Təqdim olunan layihənin məqsədi sinnamaldehid və azometin fraqmentlərini bir molekulda birləşdirərək yeni İsveç Hərbi Bıçaqları hazırlamaq və onların polifunksionallığını bakteriya və xərçəng hüceyrə xətlərinə qarşı aktivliklərini tədqiq edərək nümayiş etdirməkdir. Alınan nəticələrin hesablamalı kimya, molekulyar dokinq və molekulyar dinamik simulyasiya metodlarından istifadə edərək təhlil edilməsində layihənin məqsədinə daxildir. Məqsədə çatmaq üçün aşağıdakı mərhələlər yerinə yetirilmişdir:

- İsveç Hərbi Bıçaqların kondensasiya üsulu ilə sintezi və saflaşdırılması
- Quruluşların NMR spektroskopiya və kütlə spektrometriya metodları ilə tədqiqi
- Antibakterial və xərçəng əleyhinə aktivliklərin öyrənilməsi
- Birləşmələrin hesablamalı kimya ilə tədqiqi, hədəf proteinlərin təyini və birləşmə-protein kompleksinin yaranma mexanizmi və sabilliyinin molekulyar dokinq və molekulyar dinamik simulyasiya metodlarından istifadə edərək araşdırılması

Layihə ideyasının antibakterial və xərçəng əleyhinə aktivliklərə sahib olan İsveç Hərbi Bıçaqların hazırlanmasına həsr olunması əslində bu sahədə olan çatışmazlıqlarla əlaqəlidir. Belə ki, son illərdə yeni antimikrob və xərçəng əleyhinə maddələrin yaradılması kəskin problemə çevrilib, çünki bəşəriyyət dərmanlar vasitəsi ilə müalicə oluna bilməyən infeksiyalar və xərçəng hüceyrə xətləri ilə üz-üzə qalıb. Bunun səbəbi mikroorqanizmlər və xərçəng hüceyrə xətləri tərəfindən dərmanlara qarşı müxtəlif müqavimət mexanizmlərinin ortaya çıxmasıdır. Bu problem yeni müqavimət mexanizmlərinin sürətlə inkişaf etməyəcəyi mikroorqanizmlərin və xərçəng hüceyrə xətlərinin davamlı növlərinə qarşı təsirli ola bilən yeni antimikrob və xərçəng əleyhinə polifunksional hibrid agentləri, yəni İsveç Hərbi Bıçaqları, hazırlamaqla həll edilə bilər. İsveç Hərbi Bıçaqlarının sinnamaldehid və azometin fraqmentləri (həmçinin onlara birləşən müxtəlif farmakofor qruplar) əsasında hazırlanmasının ideyası isə layihənin giriş hissəsində ətraflı olaraq əsaslandırılmışdır. Nəticə etibarı ilə, sadə fraqmentlərin (sinnamaldehid və azometin) bir maddədə birləşərək sinergetik effekt göstərməsi fərdi molekulların İsveç Hərbi Bıçağına çevrilməsi fenomeninin bir nümunəsi olur.

*Giriş :

Burada Layihənizin məzmunu ilə bağlı alimlər tərəfindən görüldüyü işlərdən söhbət açın. Sizin işinizi digərlərindən fərqləndirən cəhətləri göstərin . Oxşar işlərdən hansı şəkildə yararlandığınızı və öz işinizin hədəflərini izah edin.

Şiff əsası (imin və ya azometin kimi də tanınır) adı 1864-cü ildə birli aminlərin karbonilli birləşmələr ilə qarşılıqlı təsirinin nəticələrini ilk dəfə xarakterizə edən alman alimi Huqo Şiffin adından götürülmüşdür (Schiff H., 1864). Bu çoxməqsədli birləşmələr mühəndislik (biotibbi və toxuma, xüsusən də sümük toxuması mühəndisliyi) (Xu J. et al, 2019; Malik U. S. et al, 2022; Nair B. P. et al, 2015), sənaye əhəmiyyətli birləşmələrin sintezi üçün reagent və katalizatorlar (Das, P. et al, 2016; Mondal, K. et al, 2023; Su, Z. et al, 2010; Zendeheel, M. et al, 2017; Du, H. et al, 2007; Drozdak, R. et al, 2005; Xin, Y. et al, 2012), metal ionlarının aşkarlanması üçün analitik alətlər (Goshisht, M. et al, 2022; Junaid, H. et al, 2022; Bressi, V. et al, 2022), hüceyrə görüntüləməsi (flüoresan açma zondları kimi) (Afrin, A. et al, 2023; Kumari, N. et al, 2023; Udhayakumari, D. et al, 2020), bioloji (Ejidike, Ikechukwu P. et al, 2016; Patil, Sangamesh A. et al, 2015), kənd təsərrüfatı (pestisidlər kimi) (Khan, K. M. et al, 2009), aşqarlar (korroziya inhibitorları) (Mattio, L. M. et al, 2021; Muhammad, D. R. A. et al, 2017; Jeong, H. W. et al, 2003) kimi bir neçə sahədə geniş istifadə olunur. Şiff əsasları azot donor ligandı ($-\text{CH}=\text{N}$) kimi tanınır (Patai, S., 1970; Layter R.W., 1963), və imin azot atomları metal ionlarına qarşı Lyuis əsasları və ya elektron donorları kimi fəaliyyət göstərmək qabiliyyətinə malikdir. Bundan əlavə, sp^2 hibridləşməsində azot atomunda bölünməmiş elektron cütlərinin olması kimyəvi və bioloji xüsusiyyətlərə əhəmiyyətli dərəcədə təsir göstərir. İminlərin çoxsaylı xüsusiyyətləri azometin qrupuna bağlı olan əvəzedicilərdən asılı olaraq dəyişir. Belə ki, imin rabitəsi elektron sıxlığını konyugasiya vasitəsilə öz tərəfinə çəkməsi səbəbindən aril əvəzediciləri olan Şiff əsasları, sintezi daha uzun çəkən alkil əvəzediciləri olan Şiff əsasları ilə nisbətən daha sürətli və sabit şəkildə sintez edilə bilər (Dude, G. O. et al, 1964; Smith PAS, 1965; Subasi, N. T. et al, 2022). Azometin rabitəsindəki elektrofil karbon və nukleofilik azot müxtəlif nukleofillər və elektrofillərlə əla bağlanma imkanları təmin edir və bununla da fermentləri və ya DNT replikasiyasını inhibə edir. Azometin rabitəsinin azot atomu hüceyrənin tərkib hissələrinin aktiv mərkəzləri ilə hidrogen rabitəsinin əmələ gəlməsində iştirak edə bilər və normal hüceyrə proseslərinə müdaxilə edə bilər (Hameed, A. et al, 2017; Vashi, K. et al, 2004). Həmçinin qeyd etmək lazımdır ki, azometin rabitəsi insan bədənində yad olan bir rabitə deyil. Beləki, insan bədənində bir sıra vacib proseslər imin rabitələrinin əmələ gəlməsi ilə baş verir. Məsələn, görmə kimyasında mühüm rol oynayan imin əlaqəsi gözün tor qışasında kofaktor retinal və zülal opsin (Lizin 296 amin qrupu vasitəsilə) arasında əmələ gəlir və bu da rodopsinin əmələ gəlməsinə səbəb olur (Mukherjee, T. et al, 2011). Daha bir neçə nümunəyə in vivo transaminləşmə və dekarboksillləşmə reaksiyaları daxildir ki, bu reaksiyalarda B₆ vitamininin aktiv forması olan piridoksal fosfat bir sıra amin turşusu fraqmentləri ilə imin əlaqəsi əmələ gətirir. Ümumilikdə, bu proseslər əsas neyrotransmitter γ -aminobutan turşusu və histamin kimi həyati əhəmiyyətli birləşmələrin əmələ gəlməsinə səbəb olur (Metzler, D. E. et al, 1952).

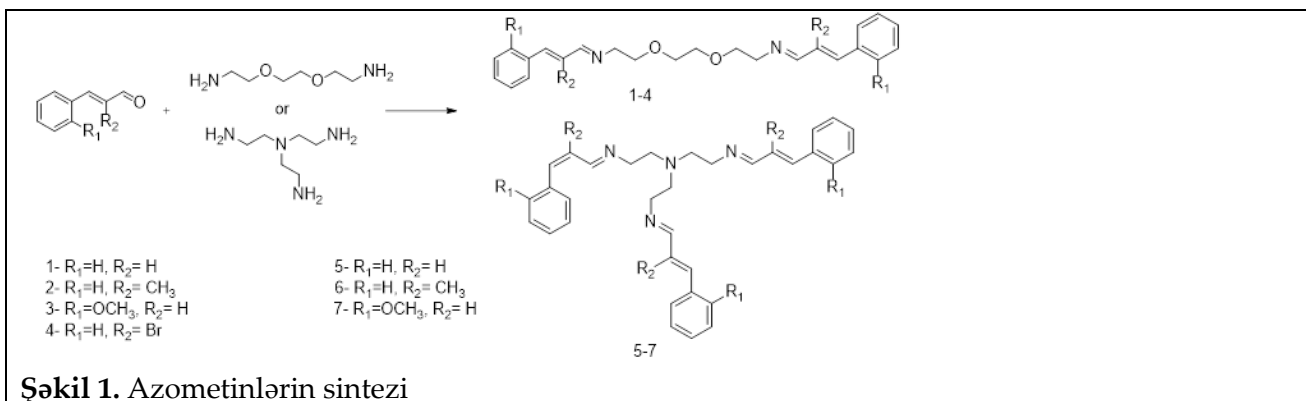
Beləliklə, yuxarıda qeyd olunan məlumatlar kontekstində Şiff əsaslarının bioloji və ya terapevtik təsirlərə malik olacağını təxmin etmək mümkündür. Həqiqətən də, müxtəlif tədqiqatlar azometinlərin xərçəng əleyhinə (Desai, S.B. et al, 2001), antibakterial (Abdel Aziz, A.A. et al, 2012), antiviral (Jarrahpour, A. et al, 2007), göbələk əleyhinə (De Souza, A.O. et al, 2007), ağrıkəsici (Sondhi, S. et al, 2006), qızdırmasalıcı, iltihab əleyhinə (Rana, K. et al, 2012), qıcolma əleyhinə (Pandey, S. et al, 2011), vərəm əleyhinə (Cordeiro, R. et al, 2020), antioksidant (Ejidike, Ikechukwu P. et al, 2016), qurd əleyhinə (Patil, Sangamesh A. et al, 2015), sitotoksik (Jamil, D. M. et al, 2018), ferment inhibitoru (xüsusən də amiloid- β aqreqasiyası, asetilxolinesteraza (AChE) və butirilxolinesteraza (BChE) fermentləri), DNT zədələnməsi (Khan M.I. et al, 2019) və s. kimi müxtəlif aktivliklərini aşkar etmişdilər. Lakin, məlumdur ki, müxtəlif səbəblərə görə, hər bioloji aktiv birləşmə dərman ola

bilməz. Şiff əsaslarının üstünlüyü ondadır ki, onların əsasında bəzi dərman nümayəndələri artıq mövcuddur. Misal olaraq, furazolidon (bakterial və ya protozoal ishalın müalicəsi), nitrofurantoin (ağırlaşmamış sidik yolu infeksiyalarının müalicəsi) və imbruvika (xroniki limfositik lasemiya, mantıya hüceyrəli limfoma) (Teran, R. et al, 2019) qeyd edilə bilər.

Digər nöqtəyi nəzərdən, mikrob infeksiyalarının və xərçəngin illik artımının böyük iqtisadi ziyanə və insan sağlamlığına potensial risklərə səbəb olduğunu, eləcə də hazırda mövcud olan antimikrob və xərçəng əleyhinə dərmanların əhəmiyyətli çatışmazlıqlarına (antimikrob/xərçəng əleyhinə müqavimət, toksiklik, məhdud effektivlik və ətraf mühit problemləri) malik olduğunu nəzərə alsaq, antimikrob və xərçəng əleyhinə aktivliklərə malik təhlükəsiz, təbii birləşmələrin axtarışı güclənmişdir (Thun, M. J. et al, 2010; Ma, X. et al, 2006). Dərman kəşf prosesi təbii birləşmələrin adi sintetik birləşmələrə nisbətən unikal keyfiyyətlərindən faydalanır və bu birləşmələrə əsaslanan dərmanların yaradılmasını vacib edir (Atanasov, A. G. et al, 2021). Təbii birləşmələrin nümunəsi olan sinnamaldehid dərman dizaynında faydalı bir özü sayılır. Sinnamaldehidin təbii mənbəyi *Sinnamolum* bitkilərinin qabığından əldə edilən darçın yağıdır. Bundan əlavə, ABŞ-ın Qida və Dərman Administrasiyası sinnamaldehidi Ümumi Təhlükəsiz birləşmələr sinfinə daxil etmişdir. Üzvi təbiəti və bioloji (antimikrob, xərçəng əleyhinə və s.) aktivliyi nəzərə alınmaqla, sinnamaldehid effektiv dərman tədqiqat platforması kimi xidmət edir (Lin, L. T. et al, 2013).

Digər tərəfdən, çoxməqsədli dərmanların (molekulyar İsveç Hərbi Bıçaqları) dizaynı müasir dərman sənayesində üstünlük təşkil edir, çünki bir dərman ilə bir neçə xəstəliyi müalicə etmək mümkün olur. Məsələn, xərçəng əleyhinə aktivlik nümayiş etdirən bəzi antibiotik növləri var. Antrasiklinlər, yəni daunorubisin, doksorubisin, epirubisin və mitoksantron, polifunksional dərmanların (İsveç Hərbi Bıçaqların) bariz nümunələridir (Saeidnia, S., 2015).

Beləliklə, yuxarıda qeyd olunanları nəzərə alaraq, polifunksional bioloji aktiv birləşmə (İsveç Hərbi Bıçaqları) hazırlamaq üçün sinnamaldehid və azometin fragmentlərini bir molekulda birləşdirməyə qərar verdik. Bu məqsədlə, sinnamaldehid törəmələri (2 trans-sinnamaldehid, α -metil-trans-sinnamaldehid, 2-metoksi-trans-sinnamaldehid və α -bromsinnamaldehid) və alifatik poliaminlər (tris(2-aminoetil)amin və 2,2-(etilendioksi)bis(etilamin) əsasında yeni azometinlərin sintezi katalizator olmayan mühitdə kondensasiya reaksiyası ilə həyata keçirilmişdir. Bu reaksiyanın üstünlüyü katalizatorsuz mühitdə getməsi ilə yanaşı, alınan kimyəvi maddələr üçün kolon xromatoqrafiyası kimi xüsusi bir saflaşdırma prosesinə olan tələbatı aradan qaldırır. Sintez edilmiş birləşmələrinin (Şəkil 1) strukturları NMR və kütlə metodları vasitəsilə öyrənilmişdir. Daha sonra sintez edilmiş 1-7 birləşmələri qram-müsbət və qram-mənfi bakteriya şammlarına (*S. aureus*, *E. coli*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *B. cenocepacia*, *M. smegmatis*) qarşı tədqiq edilmişdir. Sintez edilmiş birləşmələrinin müxtəlif təsirləri haqqında anlayışımızı genişləndirmək üçün onların iki fərqli xərçəng hüceyrə xətti, yəni AsPC-1 (mədəaltı vəzi xərçəng hüceyrə xətti) və A2780 (yumurtalıq xərçəng hüceyrə xətti) üzərində sitotoksik xüsusiyyətləri araşdırılmışdır. Nəticələrimiz göstərmişdir ki, birləşmələr həm antibakterial, həm də xərçəng əleyhinə aktivlik nümayiş etdirmişdilər. Aktiv birləşmələrin bioloji aktivliyini izah etmək üçün hesablamalı kimya metodlarından olan molekulyar dokinq tədqiqatları aparılaraq hədəf zülallar təyin edilmişdir. Bundan əlavə, molekulyar dinamik simulyasiya metodundan istifadə edərək, sintez edilmiş ligandlarla zülallar arasındakı qarşılıqlı təsir tədqiq edilmişdir. Nəticə etibarlı ilə, sadə fraqmentlərin (sinnamaldehid və azometin) bir maddədə birləşərək sinergetik effekt göstərməsi fərdi molekulların İsveç Hərbi Bıçağına çevrilməsi fenomeninin bir nümunəsi olmuşdur.



Şəkil 1. Azometinlərin sintezi

Metod:

Şiff əsasları aşağıdakı prosedurlardan istifadə etməklə kondensasiya reaksiyası ilə (Şəkil 1) sintez edilmişdir.

Birləşmə 1-N,N'-((etan-1,2-diilbis(oksi))bis(etan-2,1-diil))bis(3-fenilprop-2-en-1-imin. Yumru dibli kolbaya (10 ml) trans-sinnamaldehyd (0,8 mmol) və heksan (5 ml) əlavə olunur, ardınca 2,2'-(etilendioksi)bis(etilamin) (0,68 mmol) əlavə edilir. Reaksiya qarışığı otaq temperaturunda 24 saat qarışdırılır və daha sonra otaq temperaturunda reaksiya məhlulu 4 həftə qurudulur. Çıxım 67%. 1H NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , m.h.), 3.5 s (4H, $2CH_2N$), 3.6 s (8H, $4OCH_2$), 6.87-7.03 m (4H, $4CH=$), 7.26-7.35 m (3H, $3C_{Ar}H$), 7.43-7.49 m (6H, $6C_{Ar}H$), 7.64-7.69 m (1H, $1C_{Ar}H$), 7.98-8.13 d (2H, $CH=N$, $J=45$ Hz). ^{13}C NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , m.h.), 60.76 ($2NCH_2$), 70.18 ($2OCH_2$), 70.70 ($2OCH_2$), 127.72 ($2CH=$), 128.60 ($2CH=$), 129.34 ($4CH$, Ar), 129.58 ($4CH$, Ar), 136.10 ($2CH$, Ar), 141.80 ($2C$, Ar), 164.17 ($2CH=N$). HRMS (ESI-MS): 377.5337 [$M + H^+$].

Birləşmə 2-N,N'-((etan-1,2-diilbis(oksi))bis(etan-2,1-diil))bis(2-metil-3-fenilprop-2-en-1-imin): α -metil-trans-sinnamaldehyd (0.7 mmol) otaq temperaturunda dietil efirində (5 ml) həll olunur, daha sonra üzərinə 2,2'-(etilendioksi)bis(etilamin) (0.68 mmol) əlavə edilir və otaq temperaturunda 96 saat qarışdırılır, ardınca 17 saat qaynadılır. Reaksiya müddəti başa çatdıqdan sonra reaksiya qarışığı yağa bənzər birləşmənin alınması ilə otaq temperaturunda 4 həftə qurudulur. Çıxım 72%. 1H NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , ppm), 2.14-2.15 m (6H, $2CH_3$), 3.65 s (4H, $2CH_2N$), 3.75-3.76 d (8H, $4CH_2O$, $J=3$ Hz), 6.78-6.80 d (2H, $2CH=$, $J=6$ Hz), 7.25-7.30 m (2H, $2C_{Ar}H$), 7.34-7.40 m (8H, $8C_{Ar}H$), 7.99-8.01 d (2H, $2CH=N$, $J=6$ Hz). ^{13}C NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , ppm), 13.25 ($2CH_3$), 60.80 ($2CH_2N$), 70.50 ($2OCH_2$), 70.99 ($2OCH_2$), 127.69 ($2CH=$), 128.33 ($4CH$, Ar), 129.38 ($4CH$, Ar), 136.61 ($2C=$), 136.81 ($2C$, Ar), 139.22 ($2CH$, Ar), 167.69 ($2CH=N$). HRMS (ESI-MS): 405.5480 [$M+H^+$], 443.5762 [$M+K^+$].

Birləşmə 3-N,N'-((etan-1,2-diilbis(oksi))bis(etan-2,1-diil))bis(3-(2metoksifenil) prop-2-en-1-imin): 2-metoksi-sinnamaldehyd (0,62 mmol) heksanda (5 ml) həll edilir və ardınca 2,2'-(etilendioksi)bis(etilamin) (0,68 mmol) əlavə edilir. Reaksiya qarışığı otaq temperaturunda 24 saat qarışdırılır. Reaksiya müddəti bitdikdən sonra reaksiya qarışığı yağa bənzər birləşmənin alınması ilə otaq temperaturunda 4 həftə qurudulur. Çıxım 69%. 1H NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , ppm), 3.49 s (6H, $2OCH_3$), 3.58 s (4H, $2NCH_2$), 3.83 s (8H, $4OCH_2$), 6.90-7.66 m (12H, $8C_{Ar}H+4CH=$), 7.98-8.14 d (2H, $2CH=N$, $J=48$ Hz). ^{13}C NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , ppm), 56.16 ($2OCH_3$), 60.75 ($2CH_2N$), 70.15 ($2OCH_2$), 70.24 ($2OCH_2$), 112.20 ($2CH=$), 121.33 ($2CH=$), 124.50 ($2CH$, Ar), 128.07 ($2CH$, Ar), 129.15 ($2CH$, Ar), 131.15 ($2C$, Ar), 136.78 ($2C$, Ar), 157.57 ($2CH$, Ar), 164.98 ($2CH=N$). HRMS (ESI-MS): 437.5449 [$M+H^+$].

Birləşmə 4-N,N'-((etan-1,2-diilbis(oksi))bis(etan-2,1-diil))bis(2-bromo-3-fenilprop-2-en-1-imin): İzopropil spirti (5 ml), α -brom sinnamaldehyd (0,47 mmol) və 2,2'-(etilendioksi)bis(etilamin) (0,68 mmol) yumru dibli kolbaya (10 ml) əlavə edilir. Daha sonra reaksiya qarışığı 80°C-də 4 saat qarışdırılır. Reaksiya müddəti bitəndən sonra xloroformla ekstraksiya edilir. Ekstraksiya edilmiş üzvi təbəqə yağa bənzər birləşmənin alınması ilə 50°C-də 4 həftə qurudulur. Çıxım 59%. 1H NMR

spektr: (DMSO- d_6 , δ , ppm), 3.64 s (4H, 2CH₂N), 3.68 s (8H, 4OCH₂), 7.32-7.47 m (8H, 6C_{Ar}H+2CH=), 7.61-7.85 m (4H, 4C_{Ar}H), 8.28 s (2H, 2CH=N). ¹³C NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , ppm), 60.71 (2CH₂N), 70.19 (2OCH₂), 70.57 (2OCH₂), 128.32 (4C_{Ar}H+2CH=), 129.09 (6CH, Ar), 131.09 (2C=), 136.53 (2C, Ar), 162.49 (2CH=N).

Birləşmə 5-3-fenil-N-9-fenil-3-(6-fenilheksa-3,5-dien-1-il)nona-6,8-dien-1-il)prop-2-en-1-imin: Yumru dibli kolbaya (10 ml) trans-sinnamaldehyd (0,8 mmol), asetonitril (5 ml) və 0,68 mmol tris(2-aminoetil)amin əlavə olunur. Reaksiya qarışığı otaq temperaturunda 4,5 saat qarışdırılır. Reaksiya vaxtının sonunda çöküntü əmələ gəlir, süzülür, distillə edilmiş su ilə yuyulur və qurudulur. Çıxım 75%, ə.t.= 62-64°C. ¹H NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , ppm), 2.72-2.76 t (6H, 3CH₂, J=12 Hz), 3.48-3.52 t (6H, 3CH₂, J=12 Hz), 6.90-6.91 d (6H, 6CH=, J=3 Hz), 7.31-7.39 m (15H, 15C_{Ar}H), 7.98-8.01 t (3H, 3CH=N, J=9 Hz). ¹³C NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , ppm), 55.52 (3NCH₂), 59.72 (3OCH₂), 127.64 (6CH, Ar), 128.65 (3CH=), 129.25 (6CH, Ar), 129.43 (3CH=), 135.98 (3CH, Ar), 141.29 (3C, Ar), 163.52 (3CH=N). HRMS (ESI-MS): 489.6590 [M+H⁺].

Birləşmə 6-tris(2-metil-3-fenilaliliden)amino)etil)amin: α -metil-trans-sinnamaldehyd (0.7 mmol) DCM-də (5 ml) həll edilir, ardınca tris(2-aminoetil)amin (0.68 mmol) əlavə edilir. Reaksiya qarışığı otaq temperaturunda 4,5 saat qarışdırılır. Reaksiya müddətinin sonunda həlledici vakuumda qovulur və sarı yağa bənzər bir birləşmə otaq temperaturunda 4 həftə qurudulur. Çıxım 72%. ¹H NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , ppm), 1.98-2.0 d (9H, 3CH₃, J=6 Hz), 2.73-2.88 m (6H, 3NCH₂), 3.53-3.67 m (6H, 3NCH₂), 6.77 s (3H, 3CH=), 7.30 s (15H, 15C_{Ar}H), 7.94 s (3H, 3CH=N). ¹³C NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , ppm), 13.54 (3CH₃), 56.07 (3NCH₂), 59.71 (3NCH₂), 128.24 (3C=), 128.93 (6CH, Ar), 129.74 (6CH, Ar), 136.73 (3CH=), 136.96 (3CH, Ar), 138.65 (3C, Ar), 166.41 (3CH=N). HRMS (ESI-MS): 531.6648 [M + H⁺].

Birləşmə 7-tris(2-metoksifenil)alliden)amino)etil)amin: 2-metoksi-sinnamaldehyd (0,62 mmol) və tris(2-aminoetil)amin (0,68 mmol) heksanda (5 ml) həll edilir. Reaksiya qarışığı otaq temperaturunda 24 saat qarışdırılır. Reaksiya müddəti bitəndən sonra üzvi hissə dietil efir ilə ekstraksiya edilir. Ekstraksiya edilmiş üzvi təbəqə yağa bənzər birləşmənin alınması ilə 65-70°C-də 4 həftə qurudulur. Çıxım 65%. ¹H NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , ppm), 2.75-2.86 m (6H, 3CH₂N), 3.32 s (9H, 3OCH₃), 3.80 s (6H, 3CH₂N), 6.53-7.63 m (18H, 12C_{Ar}H+6CH=), 7.97-8.16 d (3H, 3CH=N, J=57 Hz). ¹³C NMR spektr: (DMSO- d_6 , δ , ppm), 55.48 (3NCH₂), 55.93 (3OCH₃), 59.67 (3NCH₂), 111.96 (3CH=), 121.09 (3CH=), 124.42 (3CH, Ar), 127.86 (3CH, Ar), 129.17 (3C, Ar), 130.85 (3C, Ar), 136.21 (3CH, Ar), 157.36 (3CH, Ar), 164.15 (3CH=N). HRMS (ESI-MS): 579.3323 [M+H⁺].

Qeyd olunan kütlə və NMR tədqiqatlarının spektrləri Şəkil 2-21-də göstərilmişdir.

Birləşmələrin antibakterial və xərçəng əleyhinə tədqiqatları xüsusi bilik və icazə tələb etdiyi üçün ATU-da yerinə yetirilib.

In silico tədqiqatlar

Nəzəri hesablamalar Gaussian 16 və Maestro 12.8 proqram təminatı istifadə edilərək aparılmışdır. Sintez edilmiş birləşmələr vakuumda M06-2X/6-311+G(d,p) səviyyəsində optimallaşdırılmışdır. Qeyd olunan birləşmələrin elektron xüsusiyyətləri və bioloji aktivliyi eyni hesablama səviyyəsində müəyyən edilmişdir. Elektron xüsusiyyətlərini proqnozlaşdırmaq üçün sərhəd molekulyar orbital və molekulyar elektrostatik potensial (MEP) xəritəsinin kontur diaqramı hesablanmışdır. Bu tədqiqatda tədqiq olunan birləşmələrin bioloji aktivlik sıralamasını proqnozlaşdırmaq üçün HOMO enerjisi (E_{HOMO}), LUMO enerjisi (E_{LUMO}), ionlaşma potensialı (I), elektron yaxınlığı (A), enerji boşluğu (ΔE), kimyəvi sərtlilik (η), kimyəvi yumşaqılıq (σ), mütləq elektromənfilik (χ), proton yaxınlığı (PA), elektrofillik indeksi (ω) və nukleofillik indeksi (ϵ) tənlik (1) – (8) istifadə edilərək hesablanmışdır.

$$I = -E_{HOMO} \quad (1)$$

$$A = -E_{LUMO} \quad (2)$$

$$\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO} \quad (3)$$

$$\eta = \frac{I + A}{2} \quad (4)$$

$$\sigma = \frac{1}{\eta} \quad (5)$$

$$\chi = \frac{|I + A|}{2} \quad (6)$$

$$\omega = \frac{\chi^2}{2\eta} \quad (7)$$

$$\varepsilon = \frac{1}{\omega} \quad (8)$$

Molekulyar doking

MMP2 (PDB ID: 1HOV), LasR (PDB ID: 2UV0) və MMP-1 (PDB ID: 2TCL) kristal strukturları Zülal Məlumat Bankından (PDB) aşağıdakı linklər vasitəsilə yüklənilib:

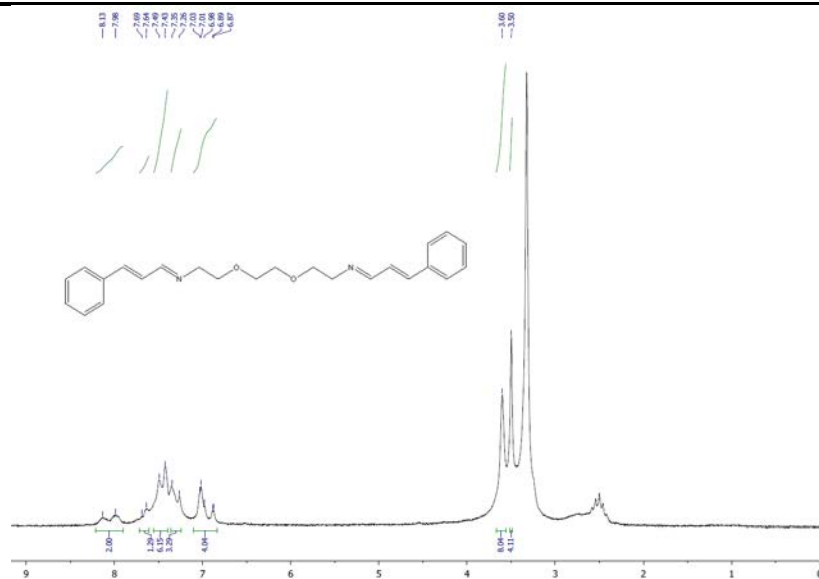
1. <https://www.rcsb.org/structure/1hov>
2. <https://www.rcsb.org/structure/2TCL>
3. <https://www.rcsb.org/structure/2UVO>

Reseptorları doking tədqiqatlarına hazırlamaq üçün bir neçə addım atılıb. Əvvəlcə, təmiz reseptor strukturunu təmin etmək üçün AutoDock Vina program təminatından istifadə edərək bütün su molekulları və birgə kristallaşmış ligandlar çıxardılır. Daha sonra, dəqiq qarşılıqlı təsirləri təmin etmək üçün struktura qütb hidrogen atomları əlavə edilib. Növbəti mərhələdə reseptor strukturu AutoDockTools-dan (ADT, versiya 1.5.6) prepare_receptor4.py skriptindən istifadə edərək minimuma endirilib. Daha sonra, elektrostatik potensialı dəqiq təmsil etmək üçün reseptora Kollman birləşmiş atom yükləri təyin edilib. Nəhayət, hazırlanmış reseptor strukturu sonrakı doking simulyasiyalarında istifadə üçün PDBQT formatında saxlanılır.

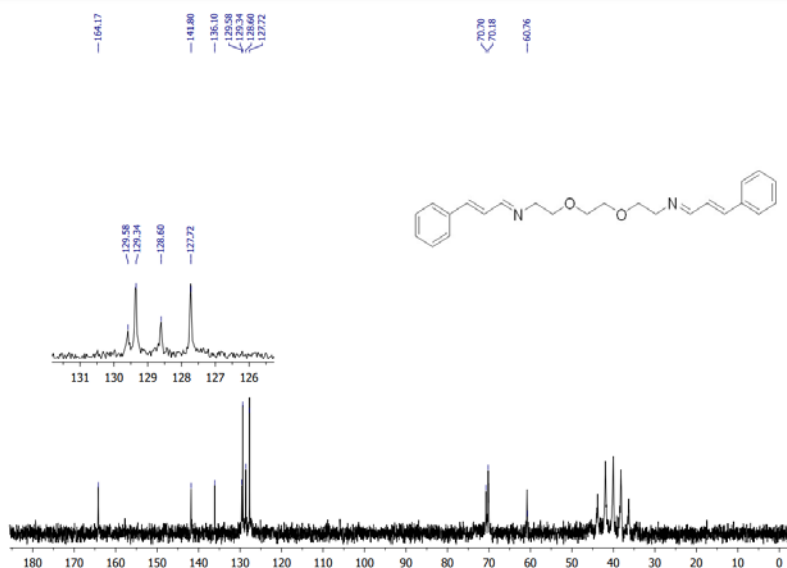
Liqand hazırlanması üçün birləşmələr AutoDockTools (ADT)-dan prepare_ligand4.py skripti ilə işlənmiş və nəticədə PDBQT formatında saxlanılan struktur əldə edilmişdir. Doking şəbəkəsi hər istiqamətdə 40 Å ölçüləri (x, y, z) olan birgə kristallaşmış ligand üzərində mərkəzləşdirilmişdir. Əvvəlcədən müəyyən edilmiş bir bağlama cibinin olmaması halında, potensial bağlama yerlərini tapmaq üçün kor doking yanaşmasından istifadə edilmişdir. Doking parametrlərinə Lamark genetik alqoritmindən istifadə edərək 2,5 milyon enerji qiymətləndirməsi, 100 qaçış və 150 populyasiya ölçüsü daxil edilmişdir. Bu simulyasiyalardan on bağlanma konformasiyası yaradıldı və sonrakı təhlil üçün 3 kkal/mol daxilində sərbəst enerjisinə malik olanlar seçildi. Bu seçilmiş konformasiyaların qarşılıqlı təsirləri BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2021 istifadə edilərək vizuallaşdırıldı və həm 2D, həm də 3D qarşılıqlı təsir diaqramları yaradıldı.

Molekulyar Dinamik (MD) Simulyasiya

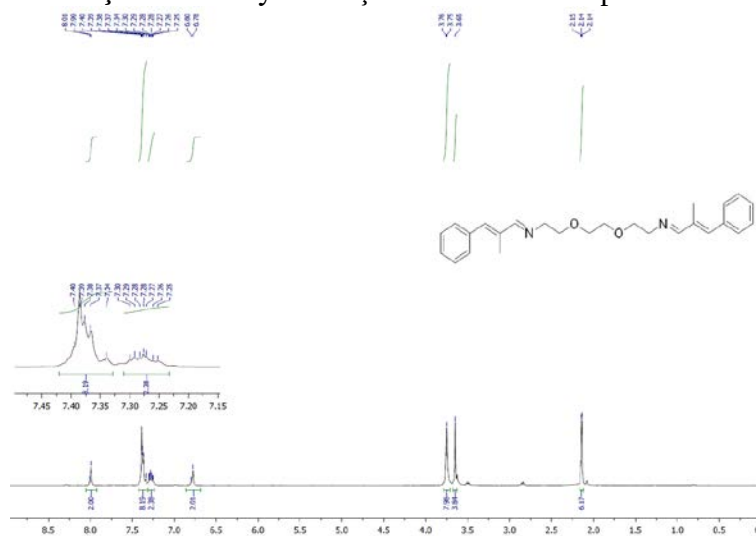
Birləşmələr və zülalların aktiv mərkəzi arasındakı qarşılıqlı təsirin stabilliyini GROMACS-2023.1 istifadə edərək molekulyar dinamika (MD) simulyasiyaları vasitəsilə tədqiq etmişdik. Zülal topologiyasını təyin etmək üçün CHARMM36 qüvvə sahəsi istifadə edildi və ligand topologiyası CGenFF serveri istifadə edilərək yaradıldı. Ümumi sistemin yükünü neytrallaşdırmaq üçün natrium və xlorid ionları daxil edildi. Enerjinin minimuma endirilməsi ən dik enmə alqoritmindən istifadə edilərək 10.0 kJ/mol qüvvə kəsiyi ilə aparıldı. Sterik toqquşmaları həll etmək üçün maksimum 50.000 addımdan istifadə olundu. Daha sonra sistem iki tarazlaşdırma mərhələsindən keçdi: hər biri 50.000 addımdan (10 pikosaniyə) ibarət olan və modifikasiya edilmiş Berendsen termostatından və “sıçrayan qurbağa” (leap frog) integratoru ilə NVT ansamblı (sabit hissəcik sayı, həcm və temperatur) və NPT ansamblı (sabit hissəcik sayı, təzyiq və temperatur). Sistem dinamikasının hərtərəfli nümunə götürülməsini təmin etmək üçün MD simulyasiyası 2 femtosaniyəlik zaman addımı ilə 100 nanosaniyədə icra edildi.



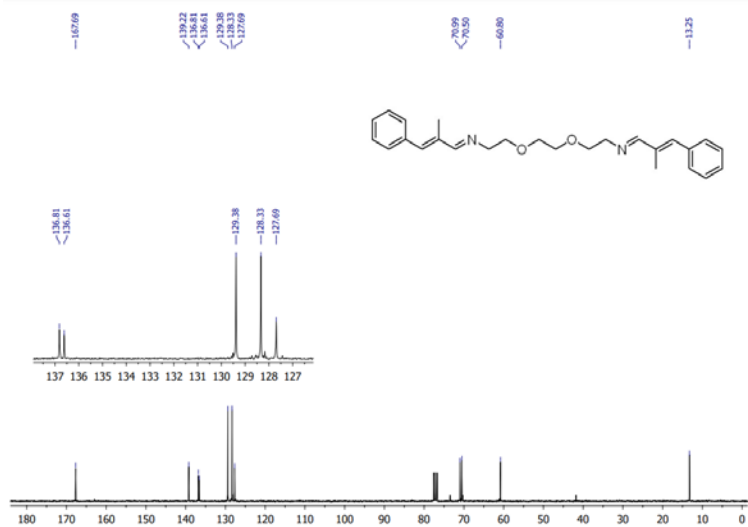
Şəkil 2. 1 sayılı birləşmənin ^1H NMR spektri



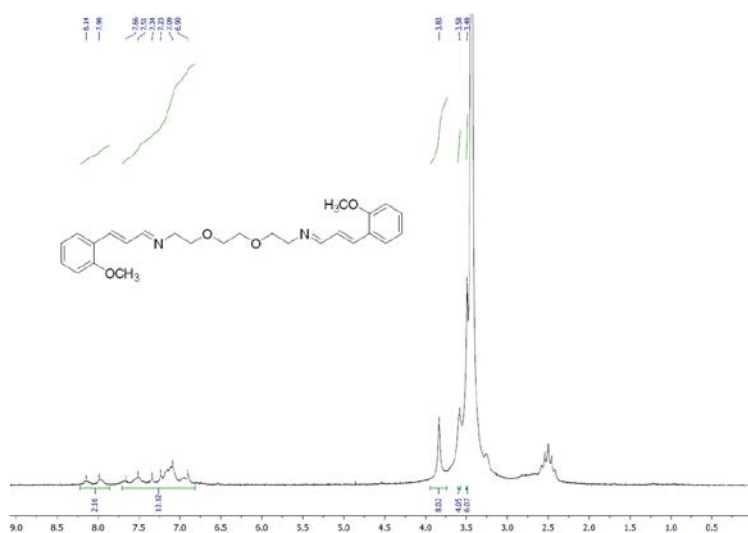
Şəkil 3. 1 sayılı birləşmənin ^{13}C NMR spektri



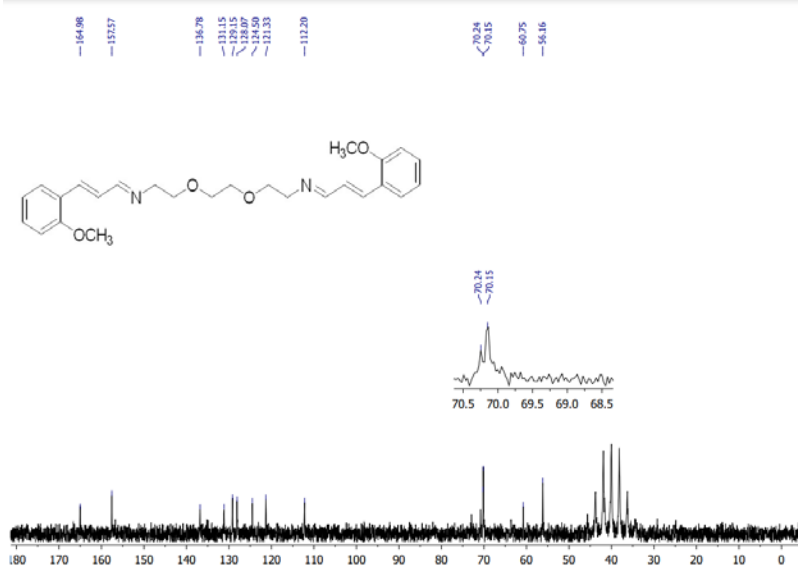
Şəkil 4. 2 sayılı birləşmənin ^1H NMR spektri



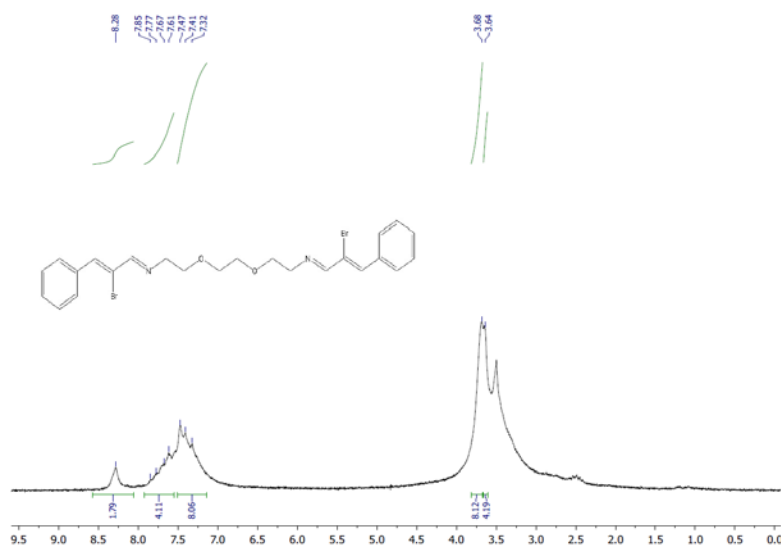
Şəkil 5. 2 sayılı birləşmənin ¹³C NMR spektri



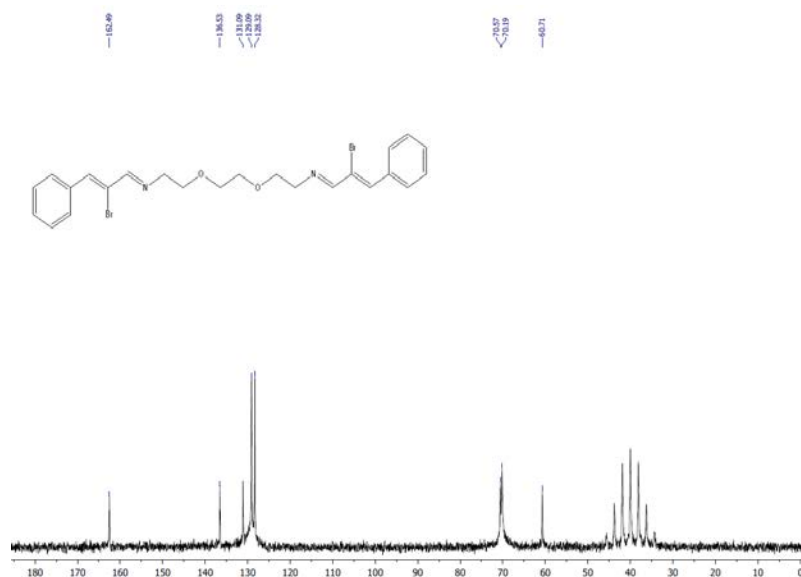
Şəkil 6. 3 sayılı birləşmənin ¹H NMR spektri



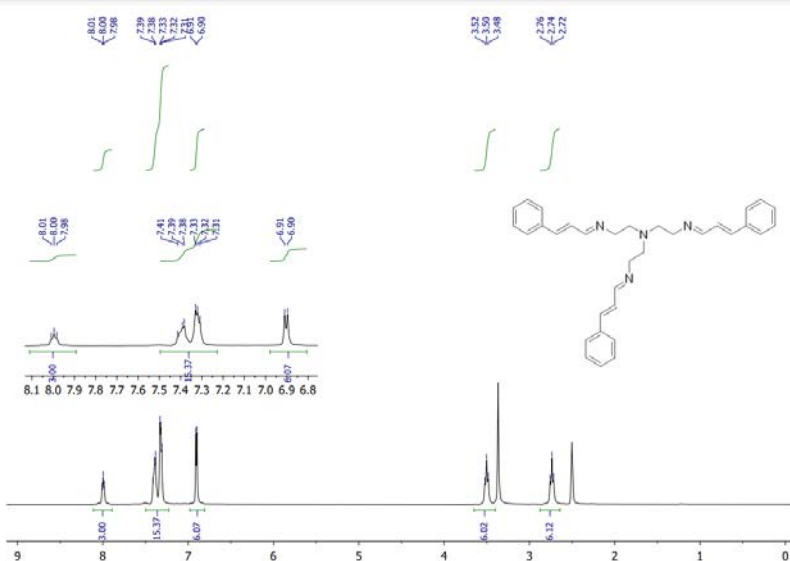
Şəkil 7. 3 sayılı birləşmənin ¹³C NMR spektri.



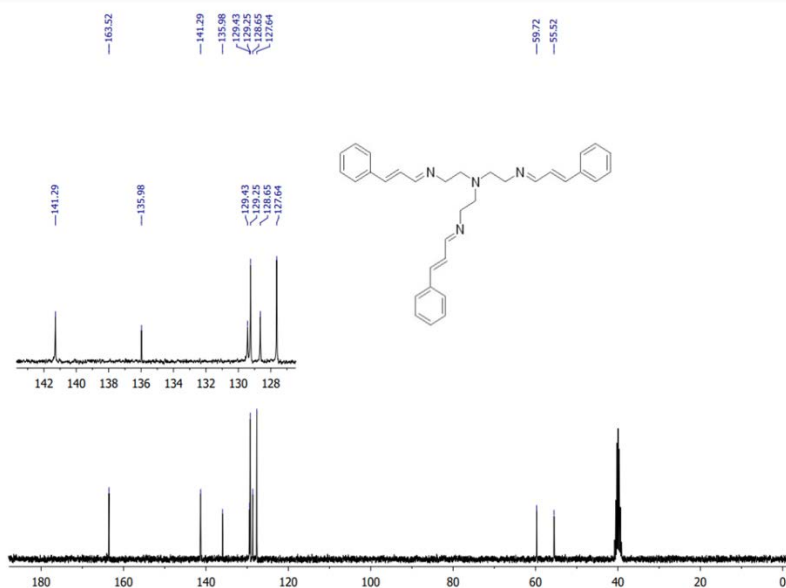
Şəkil 8. 4 saylı birləşmənin ¹H NMR spektri



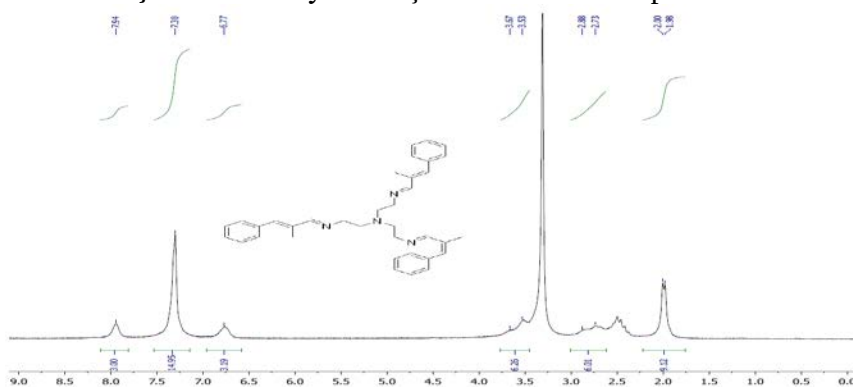
Şəkil 9. 4 saylı birləşmənin ¹³C NMR spektri.



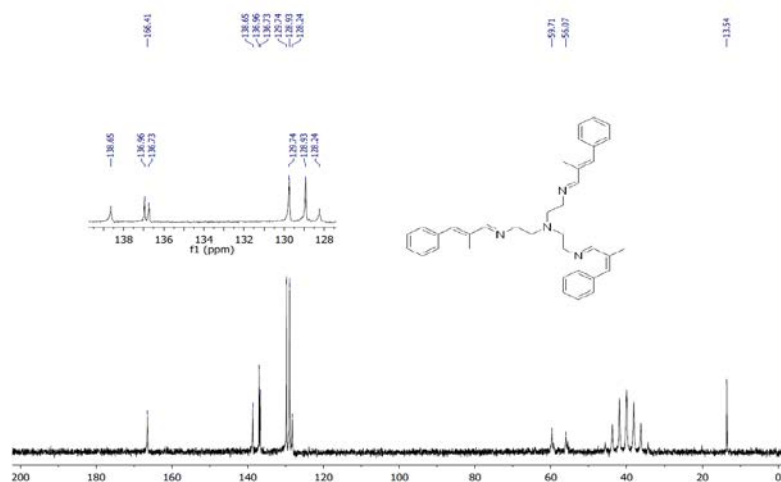
Şəkil 10. 5 saylı birləşmənin ¹H NMR spektri.



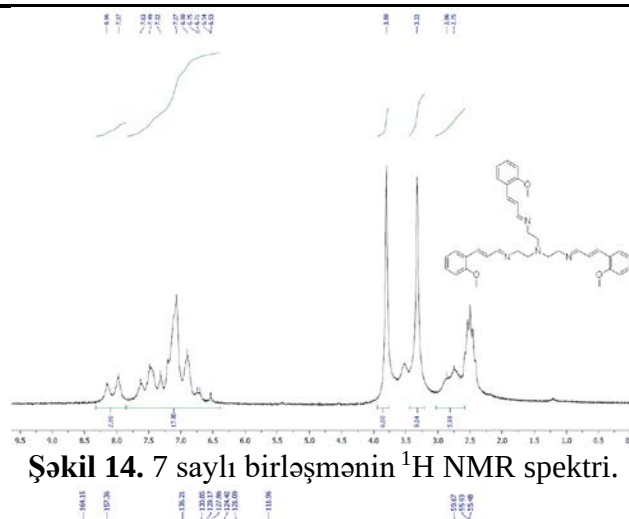
Şəkil 11.5 sayılı birləşmənin ^{13}C NMR spektri.



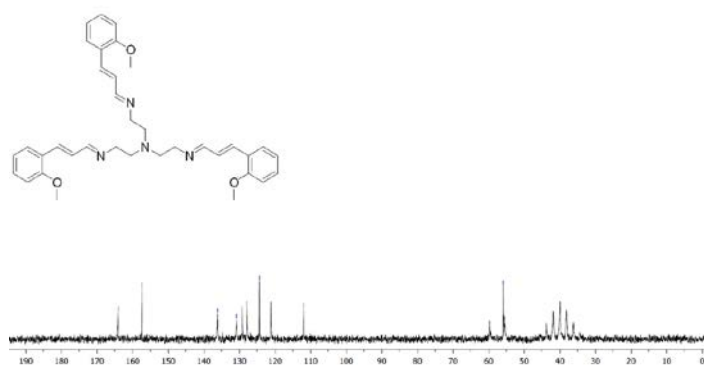
Şəkil 12. 6 sayılı birləşmənin ^1H NMR spektri.



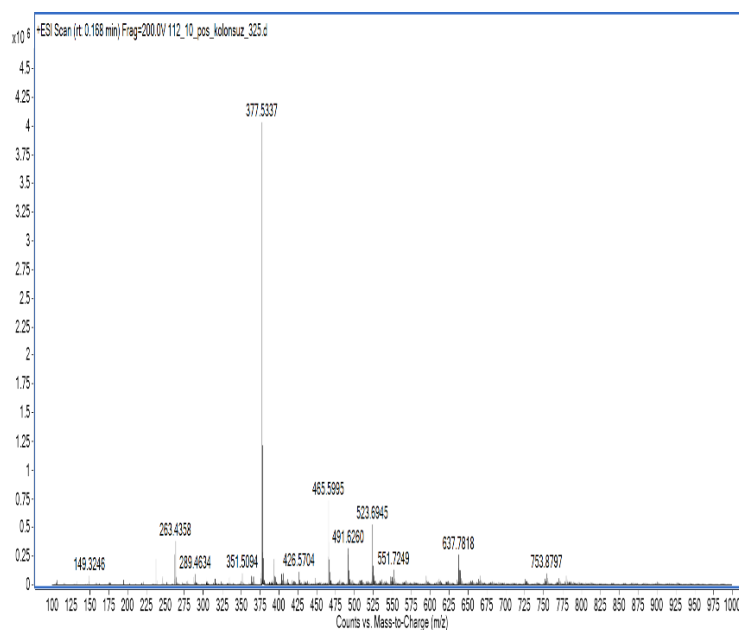
Şəkil 13. 6 sayılı birləşmənin ^{13}C NMR spektri.

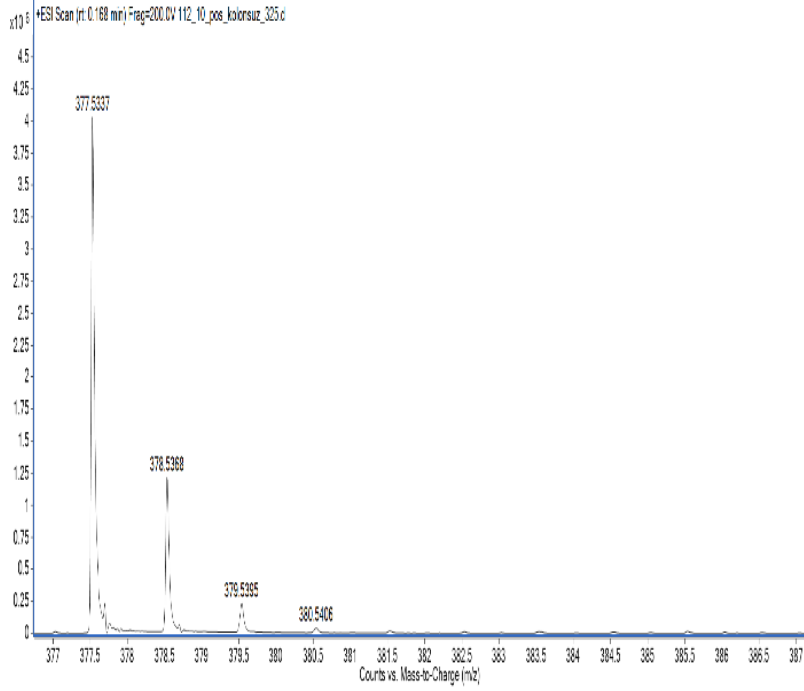


Şekil 14. 7 sayılı birleşmenin ^1H NMR spektri.

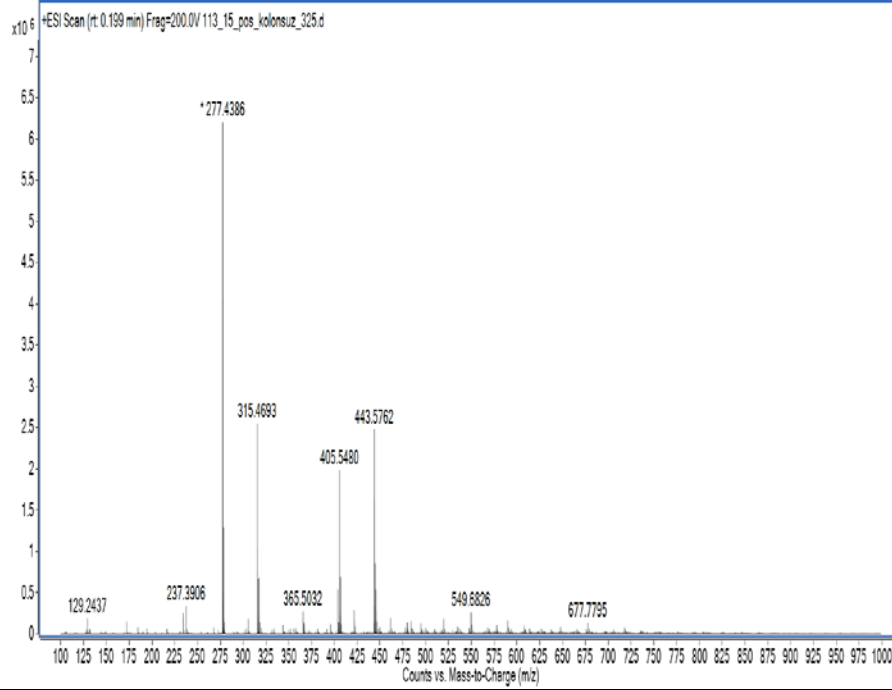


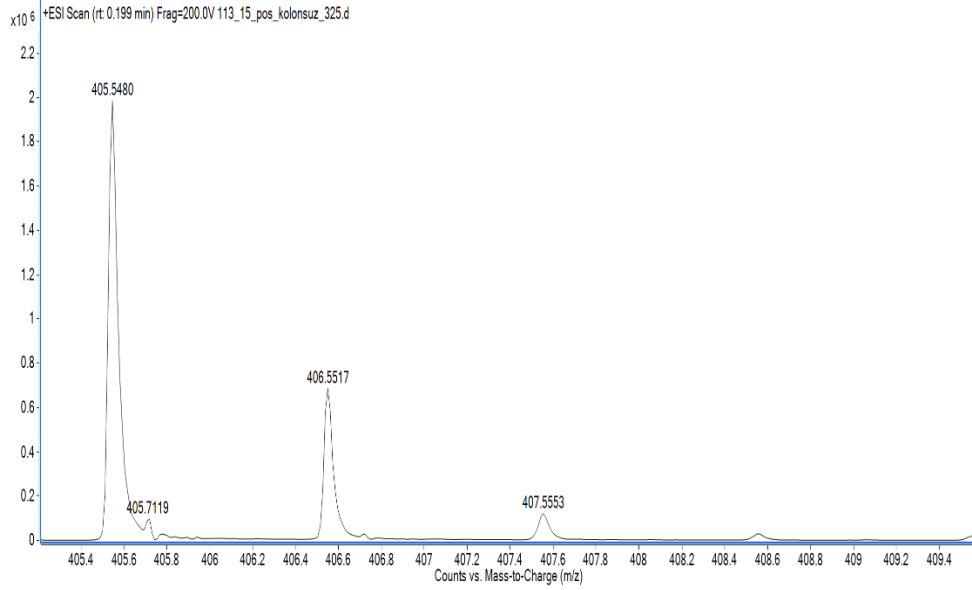
Şəkil 15. 7 sayılı birləşmənin ^{13}C NMR spektri.



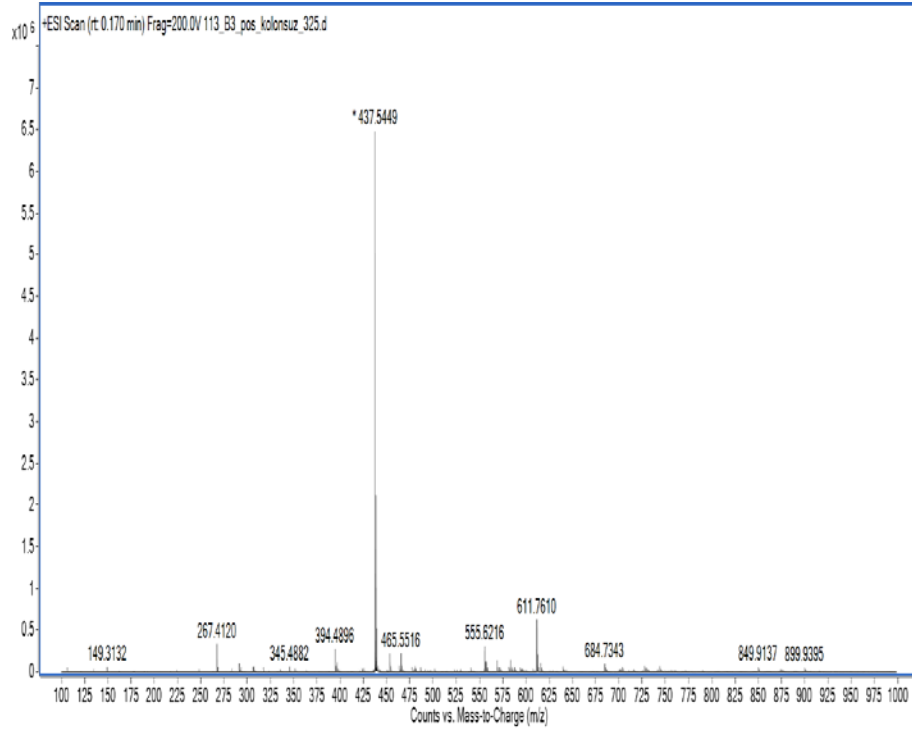


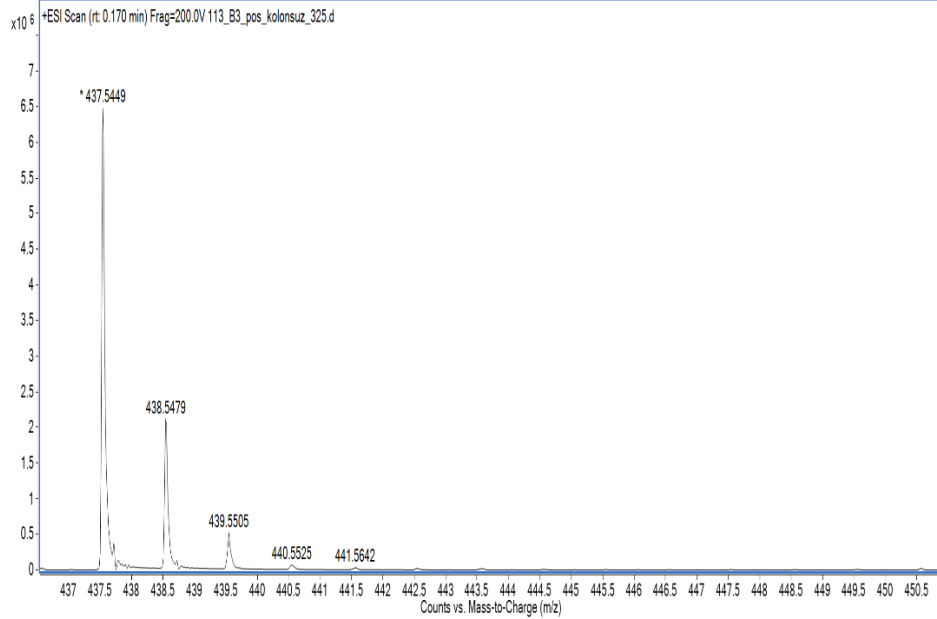
Şəkil 16. 1 saylı birləşmənin kütlə spektri



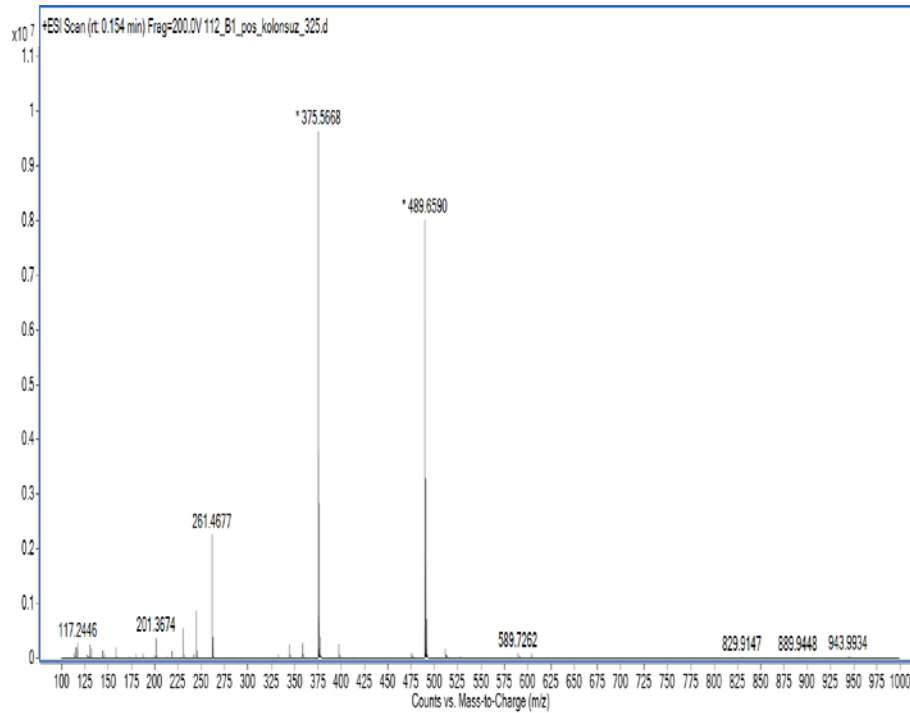


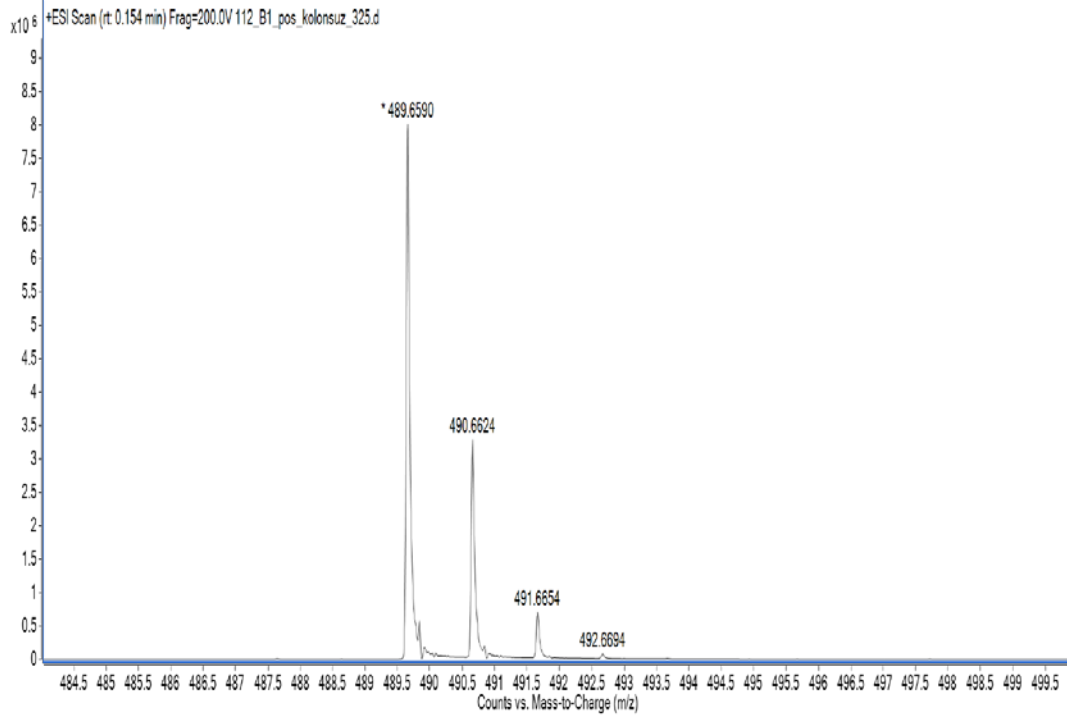
Şəkil 17. 2 saylı birləşmənin kütlə spektri



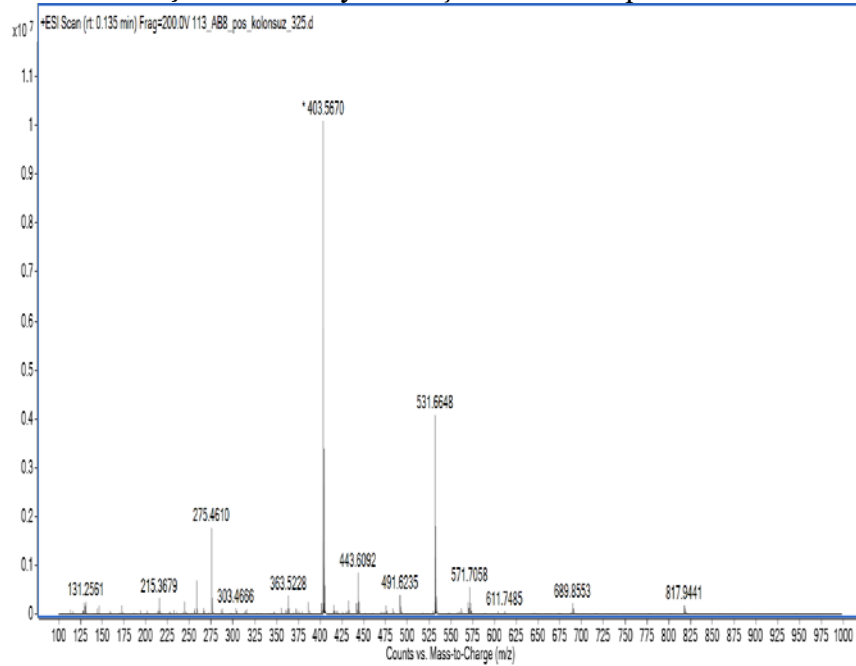


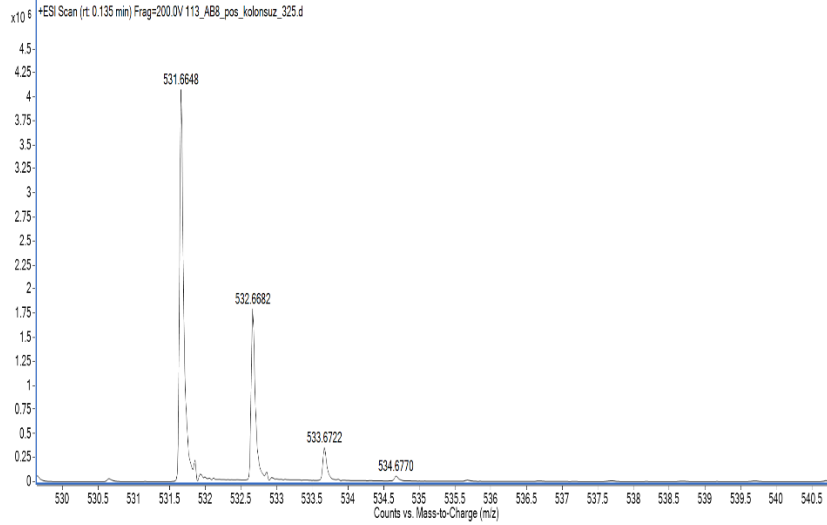
Şəkil 18. 3 saylı birləşmənin kütlə spektri



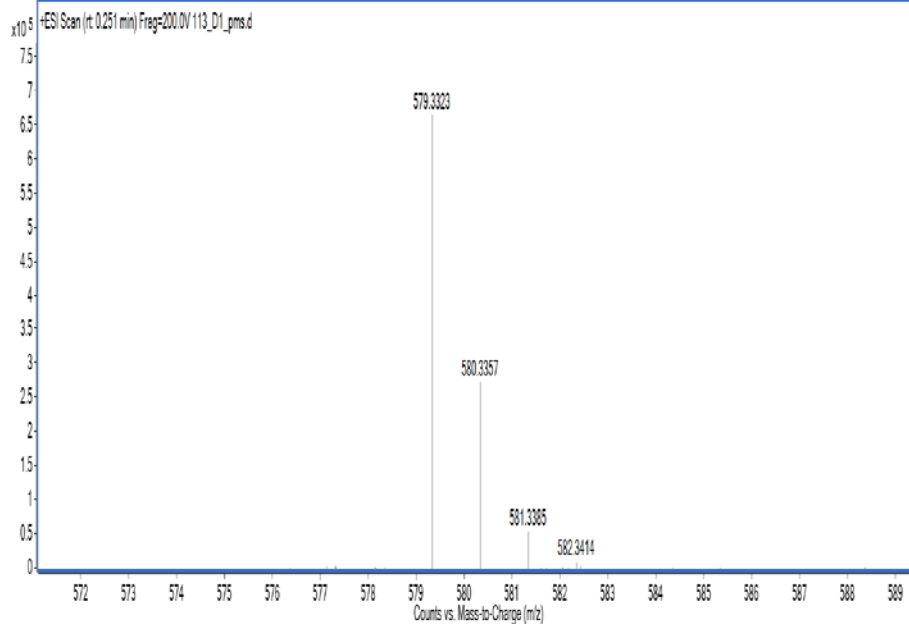
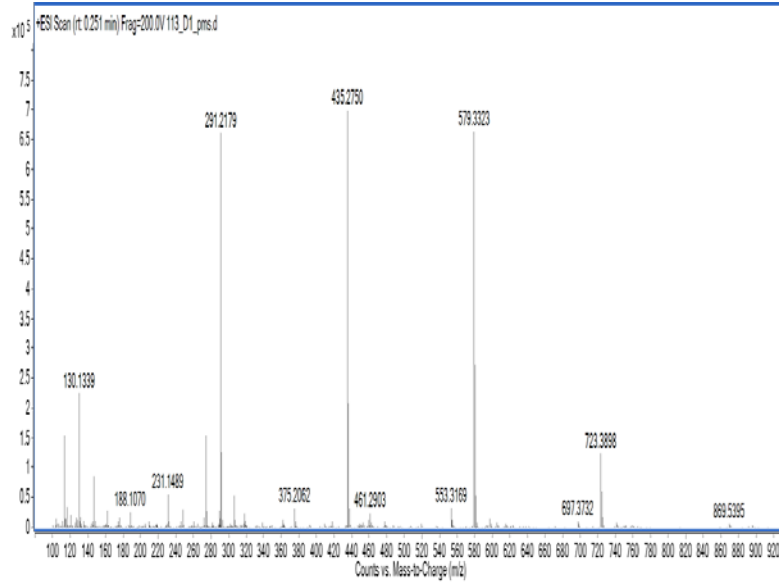


Şəkil 19. 5 sayılı birləşmənin kütlə spektri





Şəkil 20. 6 sayılı birləşmənin kütlə spektri



Şəkil 21. 7 sayılı birləşmənin kütlə spektri

Nəticələr və Fikir mübadiləsi :

Hədəf birləşmələr alifatik poliaminlər (tris(2-aminoetil)amin və 2,2-(etilendioksi)bis(etilamin)) və sinnamaldehid törəmələri (trans-sinnamaldehid, α -metil-trans-sinnamaldehid, 2-metoksi-trans-sinnamaldehid və α -bromsinnamaldehid) (Şəkil 1) əsasında kondensasiya reaksiyası nəticəsində sintez edilmişdilər. Reaksiyanın müsbət tərəfi katalizator olmayan mühitdə getməsi və əmələ gələn birləşmələr üçün kolon xromatoqrafiyası kimi xüsusi təmizləmə metodunun tələb olunmamasıdır. Bütün sintez edilmiş birləşmələrin strukturları ^1H , ^{13}C NMR spektroskopiyaya və kütlə spektrometriya üsulları ilə müəyyən edilmişdir (Şəkil 2-21). ^1H və ^{13}C NMR spektrlərinin ətraflı təhlili aldehid və ya amin qrupları ilə əlaqəli heç bir signalın olmadığını göstərdi. Bu, alifatik poliaminlərin bütün birli amin qruplarının sinnamaldehid törəmələrinin aldehid qrupu ilə kondensasiya olunduğunu təsdiqləyir. Bundan əlavə, azotemin ($\text{CH}=\text{N}$) qrupundan gələn signallarda spektrlərdə müşahidə olunurlar. Belə ki, ^1H NMR spektrlərində 8-8,5 m.h. və ^{13}C NMR spektrlərində 160-170 m.h. sahəsində azotemin qruplarının signalları müşahidə olunurlar. Bütün sintez edilmiş birləşmələrin aparılan kütlə analizlərində Şəkil 1-də göstərilən quruluşların doğru olduğunu göstərir.

Daha sonra birləşmələrin antibakterial və xərçəng əleyhinə tədqiqatları yerinə yetirilmişdir.

Cədvəl 1. Tədqiq olunan birləşmələrin antibakterial analizlərin nəticələri

Tədqiq olunan birləşmələr	Bakterial ştammlar						
	EC	AB	PA	KP	SA	BC	MS
1	62	16	125	512	16	64	62.5
2	512	512	512	512	250	512	512
3	62	16	250	512	16	128	62.5
4	32	16	125	256	32	128	125
5	32	64	16	256	8	256	125
6	256	128	128	512	64	256	250
7	125	16	32	256	64	256	250
Ampisillin	64	16	512	512	16	≥512	/

Cədvəl 1-dən görsəndiyi kimi, 2-ci birləşmənin bütün bakteriya ştammlarına qarşı aşağı aktivliyi aşkar edilmişdir. Digər ştammlarla müqayisədə isə *K. pneumoniae* bütün sınaqdan keçirilmiş birləşmələrə qarşı daha az həssas olmuşdur. Bakterial kulturalar digər birləşmələrlə müqayisədə 1, 3, 5 və 7 birləşmələrinə daha həssas olmuşdur. *E. coli*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. cenocepacia* və *M. smegmatis* bakteriyalarında ən aşağı MİQ-lər (minimum inhibiləşmə qatılığı) müvafiq olaraq 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (4 və 5-ci birləşmələr), 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1, 3, 4 və 7-ci birləşmələr), 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (5-ci birləşmə), 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (5-ci birləşmə), 64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1-ci birləşmə) və 62,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (1 və 3-cü birləşmələr) olmuşdur. Bundan əlavə, digər mikrob kulturaları ilə müqayisədə *S. aureus* və *A. baumannii*, 2-si istisna olmaqla, bütün birləşmələrə qarşı daha həssas idi. 7, 1 və 3 birləşmələrinin və təmiz antibiotik Ampisillinin MİQ dəyərləri *A. baumannii* vəziyyətində eyni idi (16 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Digər sınaqdan keçirilmiş birləşmələrlə müqayisədə 1 və 3 (62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) *M. smegmatis*-ə qarşı sınaqdan keçirildikdə oxşar aktivlik göstərmişdilər. Bundan əlavə, *P. aeruginosa* və *K. pneumoniae*-yə qarşı sınaqdan keçirildikdə Ampisillinin MİQ dəyəri 512 $\mu\text{g}/\text{ml}$ idi ki, bu da bu bakteriya ştammlarının bu antibiotikə davamlı olduğunu göstərir. Əldə edilən nəticələr göstərdi ki, *P. aeruginosa* (16 $\mu\text{g}/\text{ml}$) və *S. aureus* (8 $\mu\text{g}/\text{ml}$) halında 5 birləşməsinin MİQ-ı təmiz antibiotik Ampisillinin MİQ-ından aşağıdır (daha yaxşıdır).

Sintez edilmiş 1-7 birləşmələrinin polifunksional təsirləri haqqında anlayışımızı genişləndirmək üçün onların iki fərqli xərçəng hüceyrə xətti, yəni AsPC-1 (mədəaltı vəzi xərçəng hüceyrə xətti) və A2780 (yumurtalıq xərçəng hüceyrə xətti) üzərində sitotoksik xüsusiyyətləri MTT analizi vasitəsilə qiymətləndirilmişdir. Nəticələrimiz göstərdi ki, birləşmələr AsPC-1 hüceyrə xəttində bəzi kiçik fərqlərlə oxşar sitotoksik aktivliyə malikdirlər (Şəkil 22). Məsələn, azometinlər 5, 1, 6 və 7 AsPC-1 hüceyrələrinin canlılığını dozadan asılı olaraq əhəmiyyətli dərəcədə azaltmışdır (Şəkil 22A-D), lakin azometin 4 ilə müalicə yüksək konsentrasiyada kəskin azalma göstərmişdir (Şəkil 22E). 3 və 2 birləşmələr də hüceyrələrin canlılığını azaldır, lakin 100 μ M müalicəyə baxmayaraq hüceyrələrin 30%-dən çoxu canlı idi (Şəkil 22F-G). A2780 hüceyrə xətti vəziyyətində AsPC-1 hüceyrə xətti vəziyyətində olduğu kimi oxşar mənzərəni müşahidə edirik, lakin bəzi fərqlərlə. Bütün birləşmələr üçün 100 μ M ilə müalicədən sonra hüceyrə canlılığında əhəmiyyətli dərəcədə azalma müşahidə edilmişdir (Şəkil 23). Müəyyən olunmuşdur ki, 6 və 7 azometinləri dozadan asılı sitotoksik təsir göstərmiş (Şəkil 23B-C), 4-cü birləşmə isə yalnız yüksək dozada müalicə ilə hüceyrə canlılığında əhəmiyyətli dərəcədə azalma göstərmişdi (Şəkil 23E). Bu da digər birləşmələrlə müqayisədə daha az güclü sitotoksik təsirin olduğunu göstərmiş olur. MTT nəticələrimizin dəqiqliyini və etibarlılığını artırmaq üçün 100 μ M 1-7 birləşmələri ilə 48 saatlıq müalicədən sonra AsPC-1 hüceyrələrinin mikroskopik müayinələrini apardıq (Şəkil 24). Bu vizual qiymətləndirmələr kəmiyyət nəticələrimizlə sıx uyğun gəlir və nəticələrimizin etibarlılığını gücləndirir. Nəticə etibarlı ilə, sadə fraqmentlərin (sinnamaldehyd və azometin) bir maddədə birləşərək sinergetik bioloji (antibakterial və xərçəng əleyhinə) effekt göstərməsi fərdi molekulların İsveç Hərbi Bıçağına çevrilməsi fenomeninin bir nümunəsi olur.

Kvant kimyəvi hesablamalar kimyəvi və bioloji xüsusiyyətləri proqnozlaşdırmaq üçün effektiv metodlardan biridir. Bu tədqiqatda sintez edilmiş birləşmələr M06-2X/6-311+G(d,p) səviyyəsində optimallaşdırılıb. Birləşmələrin optimallaşdırılmış strukturu Şəkil 25-26-da verilmişdir. Elektron xüsusiyyətləri proqnozlaşdırmaq üçün HOMO və LUMO diaqramları, eləcə də birləşmələrin MEP xəritələri hesablanıb və Şəkil 27-32-də verilib. Elektronla zəngin bölgələr qırmızı rəngdə, elektronla zəif bölgə isə mavi rəngdə təmsil olunur. Kvant kimyəvi parametrlər birləşmələrin bioloji aktivlik sıralamasını proqnozlaşdırmaq üçün hesablanır və hədəf birləşmələri üçün Cədvəl 2-də verilmişdir.

Cədvəl 2. Molekulların hesablanmış kvant kimyəvi parametrləri.

Compounds	E_{HOMO}	E_{LUMO}	I	A	ΔE	η	σ	χ	PA	ω	ϵ
1	-7.3218	-0.6860	7.3218	0.6860	6.6358	3.3179	0.3014	4.0039	-4.0039	2.4159	0.4139
2	-7.6010	-0.7527	7.6010	0.7527	6.8483	3.4242	0.2920	4.1768	-4.1768	2.5475	0.3925
3	-7.2897	-0.8602	7.2897	0.8602	6.4296	3.2148	0.3111	4.0749	-4.0749	2.5826	0.3872
4	-7.7436	-1.0931	7.7436	1.0931	6.6505	3.3253	0.3007	4.4183	-4.4183	2.9354	0.3407
5	-7.0878	-1.0961	7.0878	1.0961	5.9917	2.9959	0.3338	4.0919	-4.0919	2.7945	0.3578
6	-7.2108	-0.8572	7.2108	0.8572	6.3536	3.1768	0.3148	4.0340	-4.0340	2.5612	0.3904
7	-6.9547	-0.7361	6.9547	0.7361	6.2187	3.1093	0.3216	3.8454	-3.8454	2.3779	0.4205

Bu parametrlər molekulyar sistemlərin reaktivliyi və sabitliyi haqqında vacib məlumat verir. Məsələn, E_{HOMO} və E_{LUMO} enerji səviyyələri molekulların elektron qəbul etmək və ya vermək qabiliyyətini göstərir, kimyəvi sərtlilik və yumşaqlyq isə molekulyar reaktivliyin ölçüləridir. Kimyəvi sərtlilik anlayışı birləşmənin elektron bulud polarizasiyasına və ya deformasiyasına müqavimətini ölçür. HSAB (Sərt və Yumşaq Turşu-Qələvi) prinsipi bu anlayışı Lyuis turşuları və əsasları arasındakı qarşılıqlı təsirləri təsvir etmək üçün istifadə edir. HSAB prinsipinə görə, sərt turşular sərt əsaslarla, yumşaq turşular isə yumşaq əsaslarla qarşılıqlı təsir göstərir. Bu prinsip molekulyar qarşılıqlı təsirlərin təbiətini anlamağımıza kömək edir. Yumşaqlyq anlayışı polyarlaşan kimyəvi növlərin reaktivliyinə aiddir. Bir molekul nə qədər yumşaqdırsa, digər molekullarla elektron ötürmə qabiliyyəti bir o qədər yüksəkdir. Bu, molekulyar reaksiyaların sürətinə və səmərəliliyinə təsir göstərir. Xüsusilə, sərt molekullarda böyük bir HOMO-LUMO boşluğu var ki,

bu da onların reaksiyalarını müəyyən şərtlər altında daha sabit edə bilər. Digər tərəfdən, yumşaq molekullar daha kiçik HOMO-LUMO boşluğuna malik ola bilər, yəni onlar daha sürətli və daha selektiv reaksiyalara məruz qala bilərlər. Bu anlayışlar kimyəvi birləşmələrin davranışını anlamağa və onların dizaynını optimallaşdırmağa kömək edir. Xüsusilə, birləşmənin kimyəvi sərtliliyi və yumşaqlığı potensial dərman namizədlərinin seçilməsində və sintezində mühüm rol oynayır. Hesablanmış təsvirə görə, ümumi bioloji aktivlik sıralaması aşağıdakı kimi olacaq:

Birləşmələr $7 > 5 > 6 > 3 > 1 > 4 > 2$

Tədqiq olunan birləşmələrin bioloji aktivliyini izah etmək üçün molekulyar doking hesablamaları aparılmışdır. Əvvəlcə xərçəng əleyhinə tədqiqatlar üçün hesablamalar aparılmışdır. Məlum olduğu kimi, sink və ya kalsium daşıyan transmembran proteolitik fermentlərin alt ailəsi olan matris metalloproteinazalar (MMP) bədxassəli hüceyrələrin inkişafı və yayılmasında iştirak edən siqnal molekullarından biri kimi tanınır. Angiogenezi, vaskulogenezi, yara sağlması və metastaz daxil olmaqla bir neçə bioloji proseslə əlaqəli olan bazal membran komponentlərini və hüceyrədənkənar matriksi (ECM) məhv etmək bu fermentlərin əsas funksiyasıdır. Miqrasiya, yapışma, qan və ya limfa sisteminə invaziya və nəticədə hədəf toxuma ilə təmas yolu ilə xərçəng hüceyrələrin ilkin şişdən ayrılması MMP-lərin köməyi ilə baş verir. Bütün qeyd olunanları nəzərə alaraq, MMP-lər effektiv inhibitorlar tapmaq üçün əsas maraq doğuran dərman hədəflərinə çevrilmişdir. Yuxarıda qeyd olunanları nəzərə alaraq, xərçəng tədqiqatları üçün molekulyar doking hesablamaları müvafiq olaraq MMP1 və MMP2 matrix metalloproteinazaları olan 2TCL və 1HOV-a qarşı aparılır. Bu zülalların reseptor bağlanma domeninin x-y-z koordinatları 2TCL üçün 73.82-8.73-9.11, 1HOV üçün isə 5.67-18.8-22.39 olaraq təyin olunur. Bütün bu hesablamalar OPLS4 metodu ilə aparılmışdır. Əvvəlcə sintez olunmuş birləşmələr və seçilmiş zülallar OPLS4 metodu ilə $pH=7\pm 2$ səviyyəsində minimuma endirilir. Daha sonra molekulyar doking hesablamaları aparılmışdır. Doking vahidi (DS), van der Waals enerjisi (E_{vdW}), Kulon enerjisi (E_{Coul}) və ümumi qarşılıqlı təsir enerjisi (E_{Total}) kimi bəzi parametrlər araşdırılmışdır. Bütün bu nəticələr Cədvəl 3-də verilmişdir.

Cədvəl 3. Molekulyar dokingin nəticələri

Birləşmələr	DS ^a	E_{vdW} ^a	E_{Coul} ^a	E_{Total} ^a
2TCL				
1	-3.71	-31.62	-12.37	-43.99
2	-3.75	-32.59	-12.12	-44.72
3	-3.83	-30.61	-15.81	-46.41
4	-4.42	-41.49	-6.73	-48.22
5	-3.57	-40.36	-12.27	-52.62
6	-4.70	-38.41	-9.03	-47.44
7	-5.62	-43.68	-17.27	-60.95
1HOV				
1	-7.17	-43.92	-4.62	-48.54
2	-7.65	-39.66	-0.12	-39.78
3	-5.52	-49.50	-0.37	-49.87
4	-7.45	-44.40	-0.16	-44.57
5	-8.43	-51.76	-3.72	-55.48
6	-6.96	-55.64	-6.12	-61.76
7	-8.82	-57.06	0.21	-56.85

^a kkal/mol

Cədvəl 3-ə əsasən, sintez edilmiş molekulaların MMP inhibitorları olmaq üçün kifayət qədər potensiala malik olduğunu görə bilərik. Əldə edilən məlumatlar in vitro tədqiqatlarında əldə edilən nəticələrlə yaxşı uyğunluq təşkil edir. Sintez edilmiş molekulalar arasında MMP1 zülalına qarşı ən yaxşı inhibisiya 7-ci birləşmədə, MMP2 zülalının inhibisiyası isə 5 və 7-ci birləşmələrdə müşahidə edilmişdir ki, bu da digər molekulalarla müqayisədə yaxşı açar-qıfıl uyğunluğunu göstərir. 7-ci birləşmənin MMP1 arasındakı mürəkkəb struktur və qarşılıqlı təsir xəritəsi müvafiq olaraq Şəkil 33 göstərilmişdir. Qarşılıqlı təsir xəritələrindəki amin turşular fərqli rəngdədir və bu rənglərin izahı aşağıda qeyd olunan şəkillərdə göstərilmişdir. Şəkil 6-dan görüldüyü kimi, amin turşu qalıqlarına TYR 137, PRO 138, SER 139, TYR 140, GLY 79, ASN 80, LEU 81, ALA 82, HIS 83, ALA 84, PHE 85, GLN 86, TYR 110, VAL 115, HIS 118, GLU 119, HIS 122, SER 72, ASN 71, ASP 70, HIS 128, SER 127, ZN 172 və ZN 170 daxildir. 7-ci birləşmə və 2TCL arasında yaranan qeyri-kovalent qarşılıqlı təsirlərdən biri də 2TCL-in ASN 80 ilə hədəf birləşmənin metoksi qrupunun oksigen cütü arasında əmələ gələn hidrogen rabitəsidir. Hidrofob qarşılıqlı təsirlər 7-ci birləşmənin CH=CH hissəsi, azot atomu, aminoalkil körpüləri və 2TCL-in LEU 81, ALA 82 arasında əmələ gəlir. Azot atomu donorları kimi azometinlər Lyuis əsasları (sərbəst elektron cütü) olduğuna görə, onlar metal ionlarına (Lewis turşusu) qarşı əla bağlanma xüsusiyyətləri təmin edə bilərlər. 2TCL sink tərkibli transmembran proteolitik fermentdir, yəni o, Lyuis turşusu kimi çıxış edə bilər və nəticədə 2TCL-in Zn ilə azometin rabitəsinin azot atomları arasında əlaqənin yaranması gözlənilir. Şəkil 6-dan görüldüyü kimi, belə koordinasiya həqiqətən də ZN 170 ilə 7-ci birləşmənin azometin rabitəsinin azot atomu arasında baş verir. Bundan əlavə, 7-ci birləşmənin sp^3 hibridləşmiş azot atomu (üçlü amin qrupu) da koordinasiyada iştirak edir. SER 139 və ASN 80 bölgələrlə 7-ci birləşmə arasında polyar qarşılıqlı təsirlərin yaranması inhibitorun strukturunda bölünməmiş oksigen elektron cütlərinin (metoksi qrupu) və bu amin turşularının hissələrində polyar qrupların olması ilə izah edilə bilər.

MMP1 fermentinin 7-ci birləşmə ilə qarşılıqlı təsirindən katalitik mərkəzdə yaranan konformasiya dəyişikliklərini araşdırmaq üçün molekulyar dinamik (MD) simulyasiyaları aparılmışdır. Bu tədqiqat 100 nanosaniyə (ns) davam edən MD simulyasiyaları vasitəsilə aparılmışdır və bu müddət ərzində simulyasiya edilmiş sistemin sabitliyi GROMACS proqram paketindən istifadə edərək kök orta kvadrat sapması (RMSD), girisiya radiusu (Rg) və həllediciyə əlçatan səth sahəsi (SASA) daxil olmaqla əsas struktur parametrləri vasitəsilə qiymətləndirilmişdir.

Şəkil 34A-da təsvir edildiyi kimi, zülalın RMSD qrafiki, 0,1 nm-dən az dalğalanmalar göstərən MMP1 fermentinin diqqətəlayiq sabitliyini göstərir. Lakin, ligandın RMSD-si daha yüksək qeyri-sabit dalğalanmalar göstərərək 20 ns-də 1,5 nm-dən 3 nm-ə qədər artdı, bu yüksək rəqslər trayektoriyanın 80 ns qədər davam etdi və bundan sonra Şəkil 34B-də göstərilirdiyi kimi, son 20 ns ərzində sabit dalğalanmaya çatdı. Bundan əlavə, Şəkil 34D-də göstərilirdiyi kimi, kompleks boyunca zülalın kompaktlığı simulyasiya dövründə Rg analizi vasitəsilə qiymətləndirilmişdir. MMP1 zülalı 7-ci birləşmə ilə kompleksləşdirildikdə nisbətən orta kompaktlıq və sabitlik nümayiş etdirirdi və 1,5 ilə 1,65 nm arasında nəzərə çarpan rəqslər müşahidə olunurdu. Sabitlik qiymətləndirməsi, kompleks üçün minimal dalğalanmanı göstərən və dəyərləri 95 ilə 102 nm² arasında dəyişən SASA qrafikini təhlil etməklə daha da aydın oldu və digər tədqiqatları da uyğunluq müşahidə olundu (Şəkil 34 C).

Komplekslərin sabitliyini qiymətləndirmək üçün 100 ns MD simulyasiyası boyunca RMSF faktorunu hesabladıq. Şəkil 35-də göstərilirdiyi kimi, ligand qarşılıqlı təsirlərində iştirak edən qalıqlar minimal fluktuasiya (<0,2 nm) nümayiş etdirir, xüsusən də üç histidin qalığını (His118, His122 və His128) daşıyan katalitik sink ionlu domen.

Digər hədəf zülalı kimi LasR (2UV0) seçildi. Qeyd olunan protein P. Aeruginosa bakteriyasının bir çox virulentlik genlərinin aktivləşməsində mühüm rol oynayır. Qeyd olunan protein bakteriyalarda ən çox istifadə edilən hüceyrələrarası rabitə sistemidir. LasR aktivliyinin inhibə

“Sabahın alimləri” Respublika Layihə Müsabiqəsi

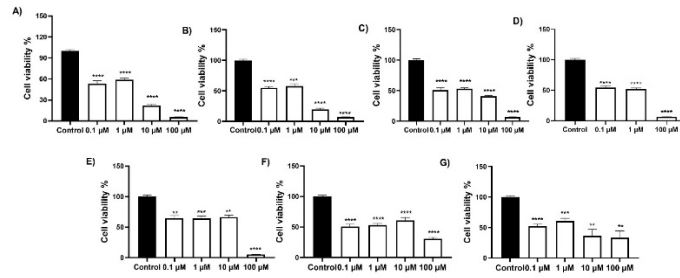
edilməsi patogen xüsusiyyətlərini və virulentlik amillərini azalda bilər. Beləliklə, LasR effektiv inhibitorlar tapmaq üçün əsas maraq doğuran dərman hədəfinə çevrilib.

Ps. aeruginosa-ya qarşı ən aşağı MİQ (16 µg/ml) yalnız 5-ci birləşmə halında müşahidə edildiyindən, onun LasR-ə (2UV0) bağlanma yaxınlığını yoxlamaq üçün molekulyar doking tədqiqatları aparılmışdır. Doking vahidinin -9.3 kkal/mol olması birləşmənin həqiqətən LasR-i inhibə etdiyini göstərir. Şəkil 36-da güclü bağlanma profilini göstərən qarşılıqlı təsirlərdə müşahidə olunur.

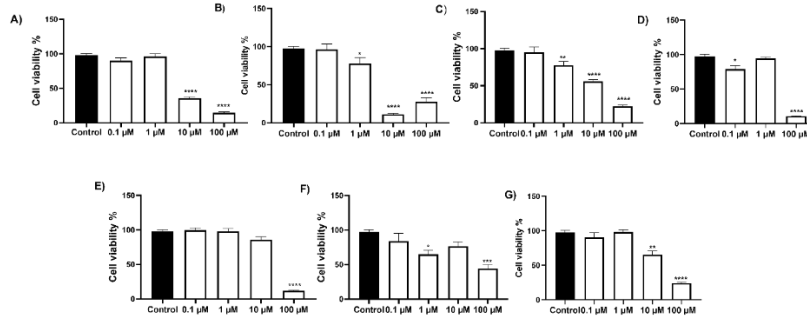
Daha sonra, MD simulyasiyaları aparılmışdır. RMSD qrafiki (Şəkil 37A), zülalın 5-ci birləşmə ilə bağlandıqdan sonra əmələ gələn kompleksin yüksək sabitliyini göstərir. 10 ns-dən sonra təxminən 0,05 nm sabit dalğalanma müşahidə olunur. Eynilə, 20 ns-dən sonra ligandın RMSD-si üçün nisbətən aşağı salınma müşahidə olunur ki, bu da ligandın sabit bir konformasiyaya çatdığını göstərir. Lakin, son 20 ns-də daha yüksək dalğalanma qeyd olunur ki, bu da ligandın ayrılması ilə əlaqəli ola bilər (Şəkil 37B). Zülalın kompaktlığı simulyasiya boyunca kompleksin Rg-ni vizuallaşdırmaqla qiymətləndirilmişdir (Şəkil 37D). Zülal 5-ci birləşməyə bağlandıqda yaxşı kompaktlıq və sabitlik nümayiş etdirdi, bunu simulyasiya boyunca 90-96 nm² diapazonunda sabit qalan SASA qrafikində müşahidə edilən aşağı dalğalanmalar sübut edir (Şəkil 37C). Kompleksin sabitliyini qiymətləndirmək üçün RMSF 100 ns MD simulyasiyası üzərində hesablanmışdır. Şəkil 38A-da göstəriləni kimi, RMSF təhlili ligand qarşılıqlı təsirlərində iştirak edən qalıqların 0,2 nm-dən az minimal dalğalanmalar nümayiş etdirərək ardıcıl dalğalanma nümunələri göstərmişdir. Bu minimal dalğalanma, ligandla birbaşa qarşılıqlı təsir göstərən bölgələrin yüksək dərəcədə sabit olduğunu göstərir. Qeyd olunanlar 5-ci birləşmənin LasR-ə bağlanma bölgələrinin sabitliyini vurğulayır.

Beləliklə, həm eksperimental bioloji tədqiqatlar, həm də hesablama kimyası metodları birləşmələrin həm antibakterial və həm də xərçəng əleyhinə aktivliyə sahib olduğunu nümayiş etdirir. Nəticə etibarilə, sadə fraqmentlərin (sinnamaldehyd və azometin) bir maddədə birləşərək sinergetik bioloji effekt göstərməsi fərdi molekulların İsveç Hərbi Bıçağına çevrilməsi fenomeninin bir nümunəsi olduğunu göstərmiş olur.

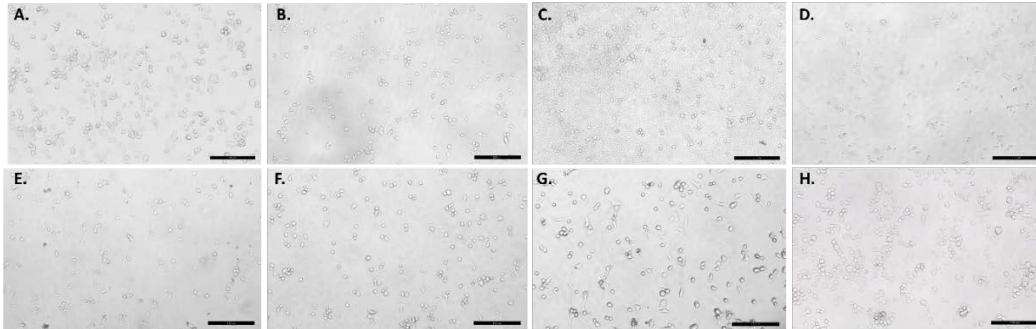
“Sabahın alimləri” Respublika Layihə Müsabiqəsi



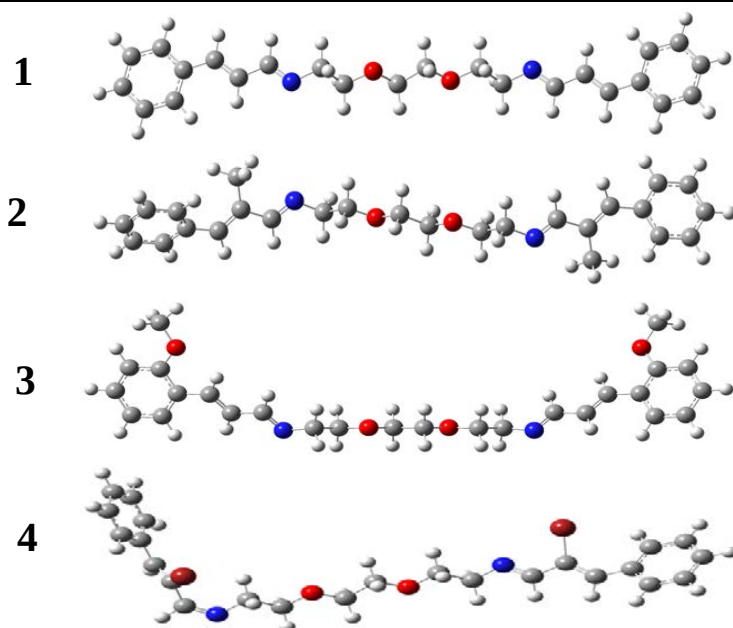
Şəkil 22: Bütün birləşmələrin müxtəlif konsentrasiyalarına məruz qaldıqdan sonra AsPC-1 hüceyrələrinin hüceyrə canlılığı (%). A) 5, B) 1, C) 6, D) 7, E) 4, F) 3 və G) 2. Təcrübələr üç dəfə təkrarlandı. * $p < 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, **** $p \leq 0.0001$.



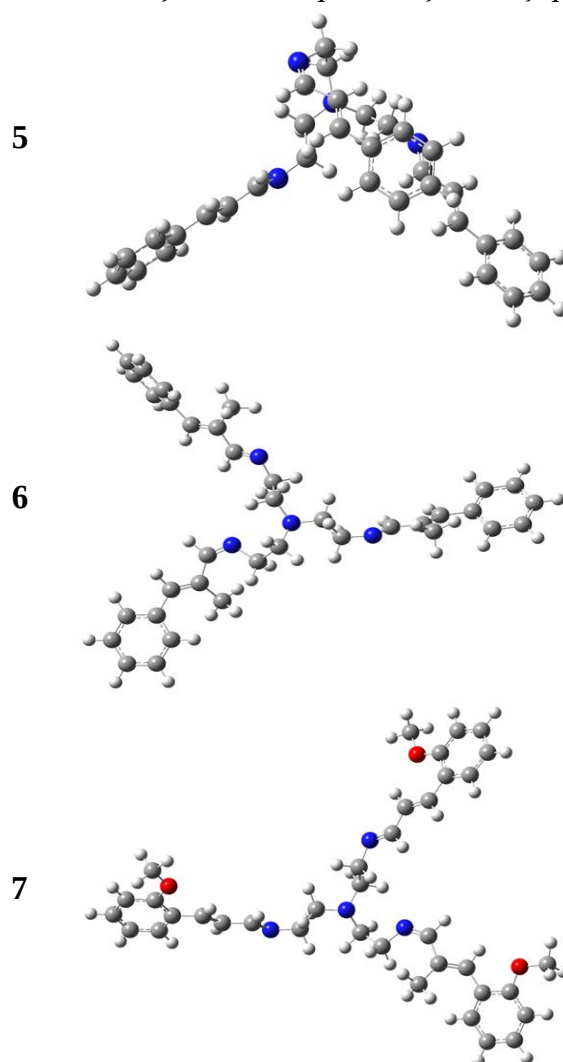
Şəkil 23: Bütün birləşmələrin müxtəlif konsentrasiyalarına məruz qaldıqdan sonra A2780 yumurtalıq xərçəngi hüceyrələrinin hüceyrə canlılığı (%). A) 5, B) 1, C) 6, D) 7, E) 4, F) 3 və G) 2. Təcrübələr üç dəfə təkrarlandı. * $p < 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, **** $p \leq 0.0001$.



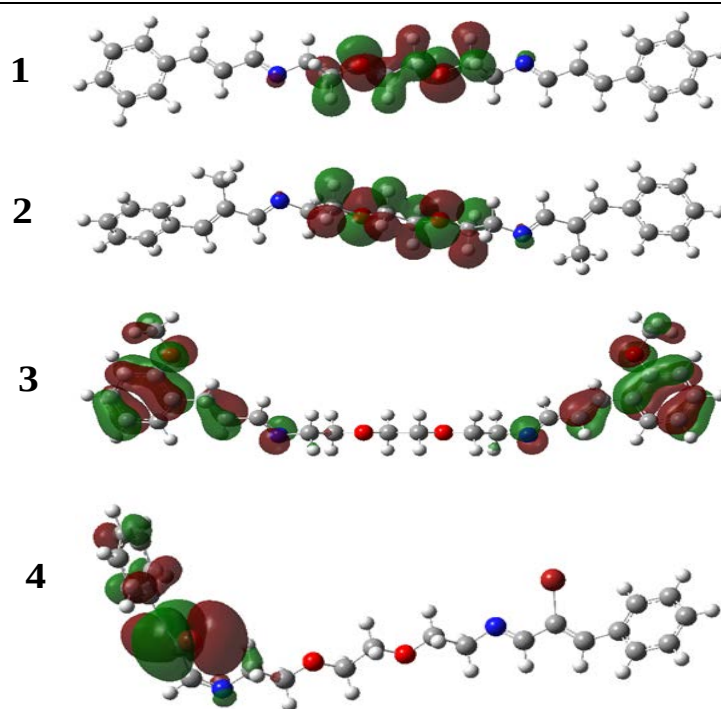
Şəkil 24: Bütün birləşmələrin 100 µM qatılıqda 48 saatlıq müalicədən sonra AsPC-1 hüceyrələrinin mikroskopik müayinəsi. A) Kontrol, B) 5, C) 1, D) 6, E) 7, F) 4, G) 3 və H) 2. (Böyütmə: 200x).



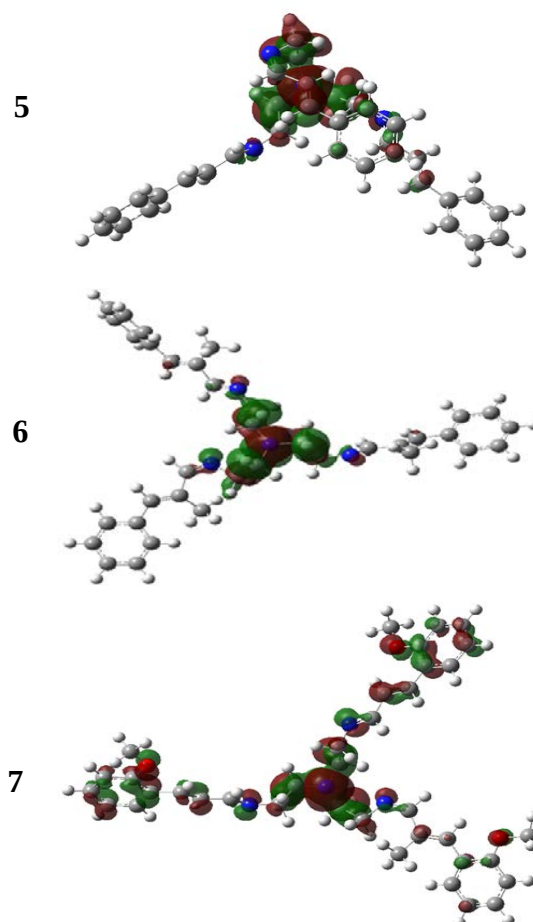
Şəkil 25. 1-4 birləşmələrinin optimallaşdırılmış quruluşu.



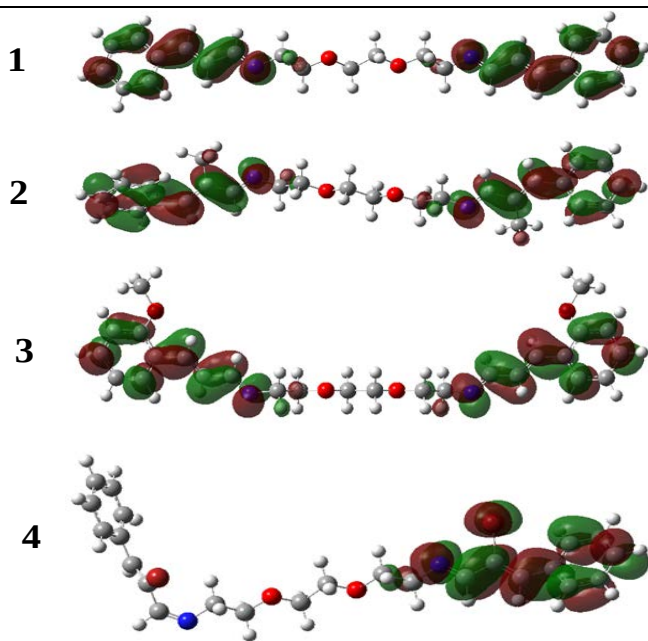
Şəkil 26. 5-7 birləşmələrinin optimallaşdırılmış quruluşu.



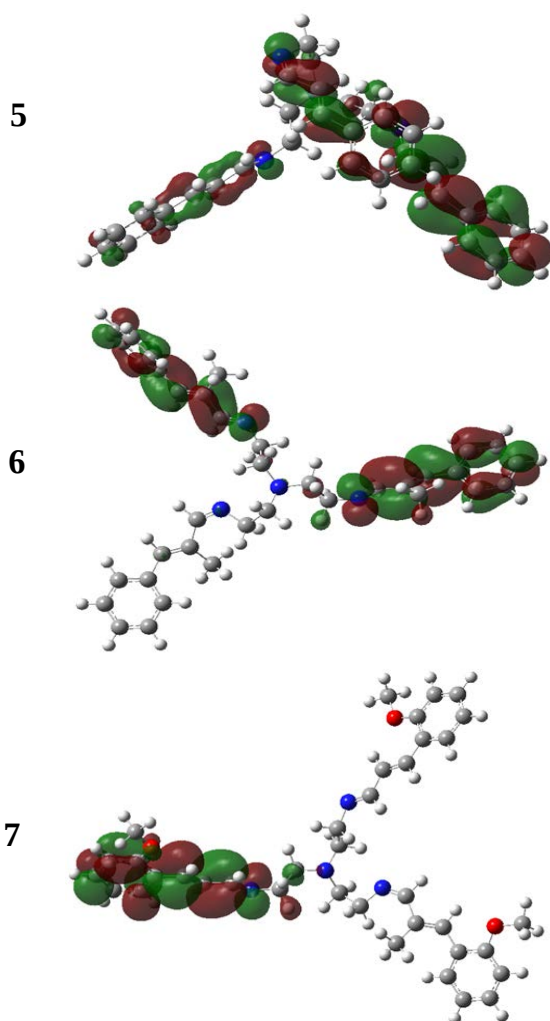
Şəkil 27. 1-4 birləşmələrinin HOMO qrafiki
HOMO



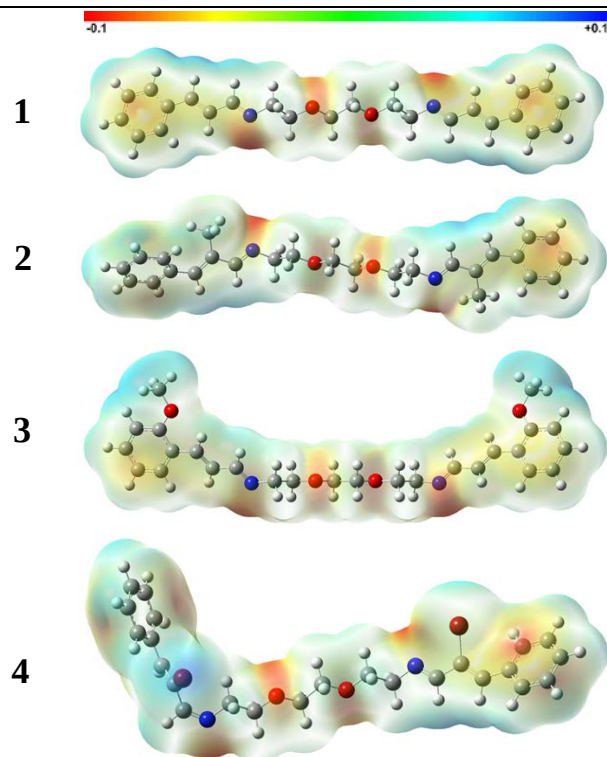
Şəkil 28. 5-7 birləşmələrinin HOMO qrafiki



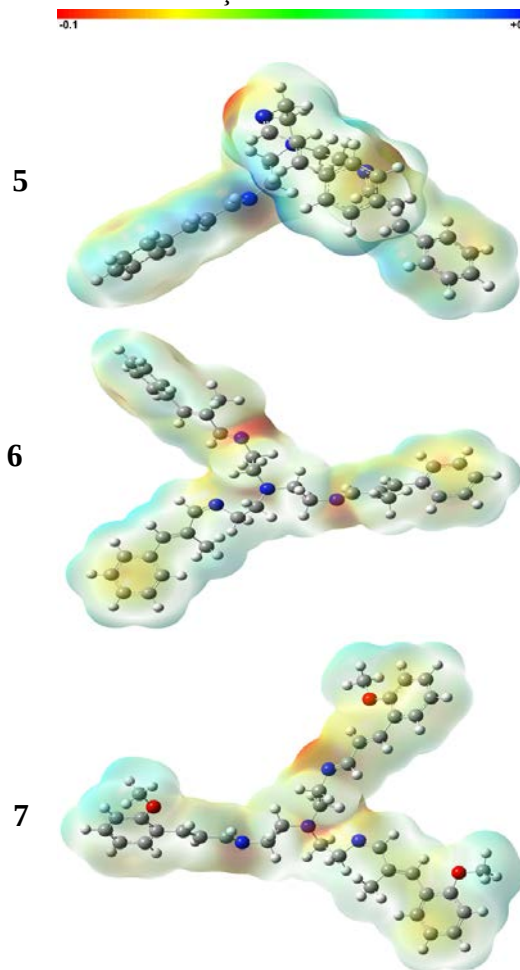
Şəkil 29. 1-4 birləşmələrinin LUMO qrafiki



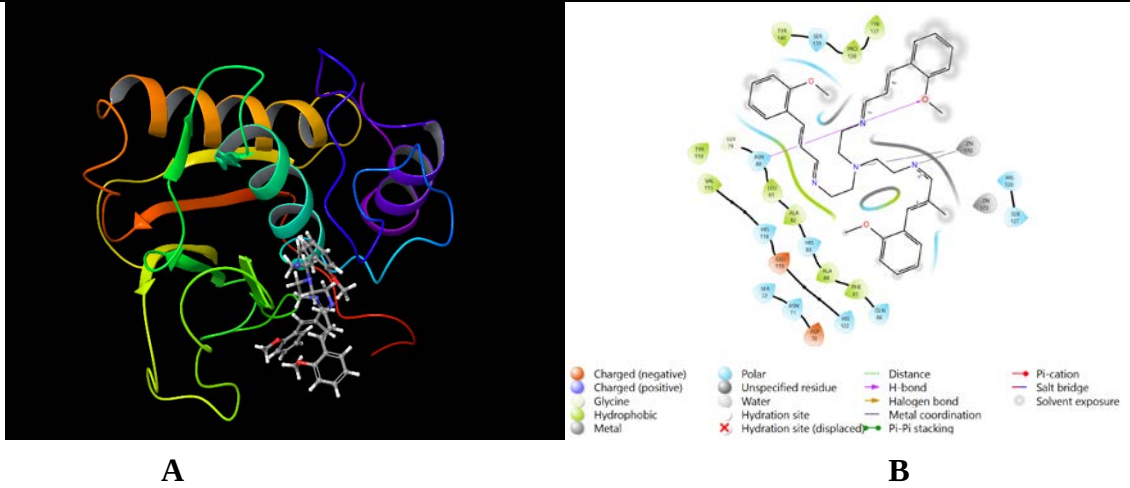
Şəkil 30. 5-7 birləşmələrinin LUMO qrafiki.



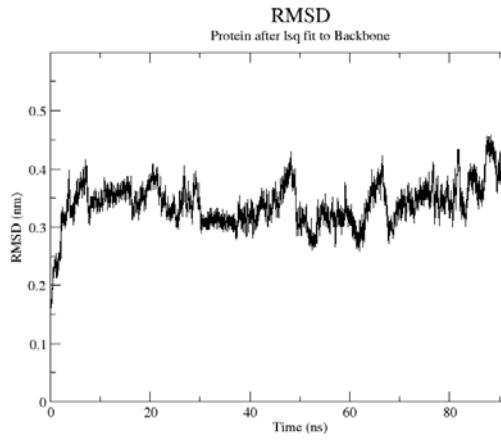
Şəkil 31. 1-4 birləşmələrinin MEP xəritələri



Şəkil 32. 5-7 birləşmələrinin MEP xəritələri

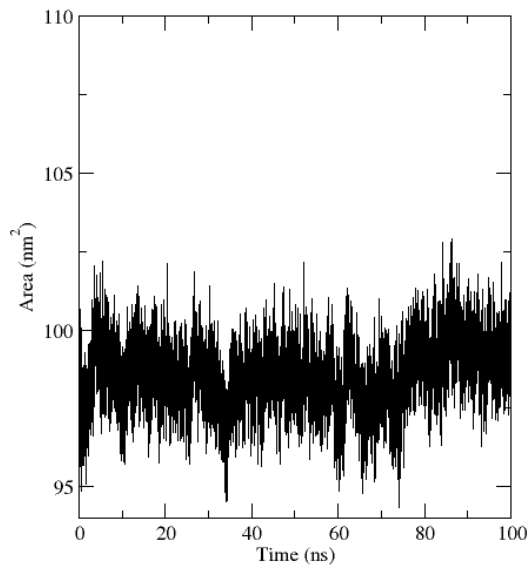


Şəkil 33. 7 və 2TCL arasında mürəkkəb struktur (A) və qarşılıqlı təsir xəritəsi (B).

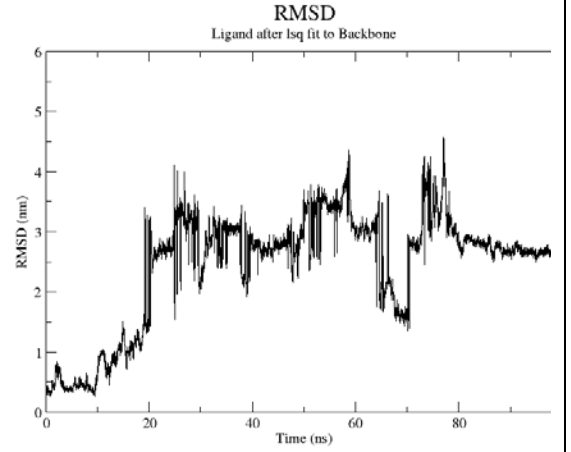


A

Solvent Accessible Surface

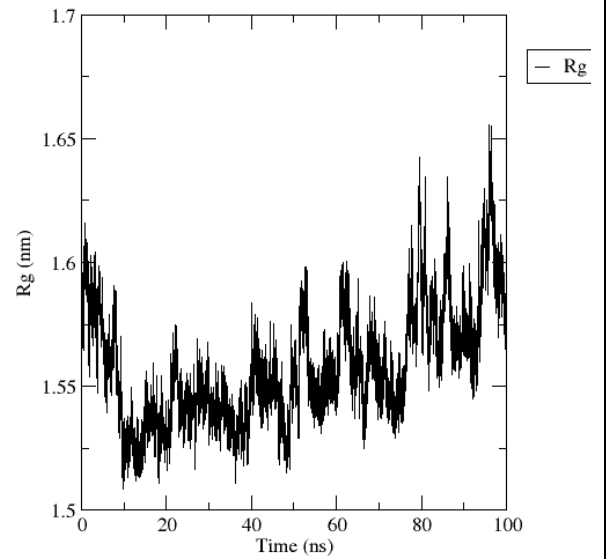


C



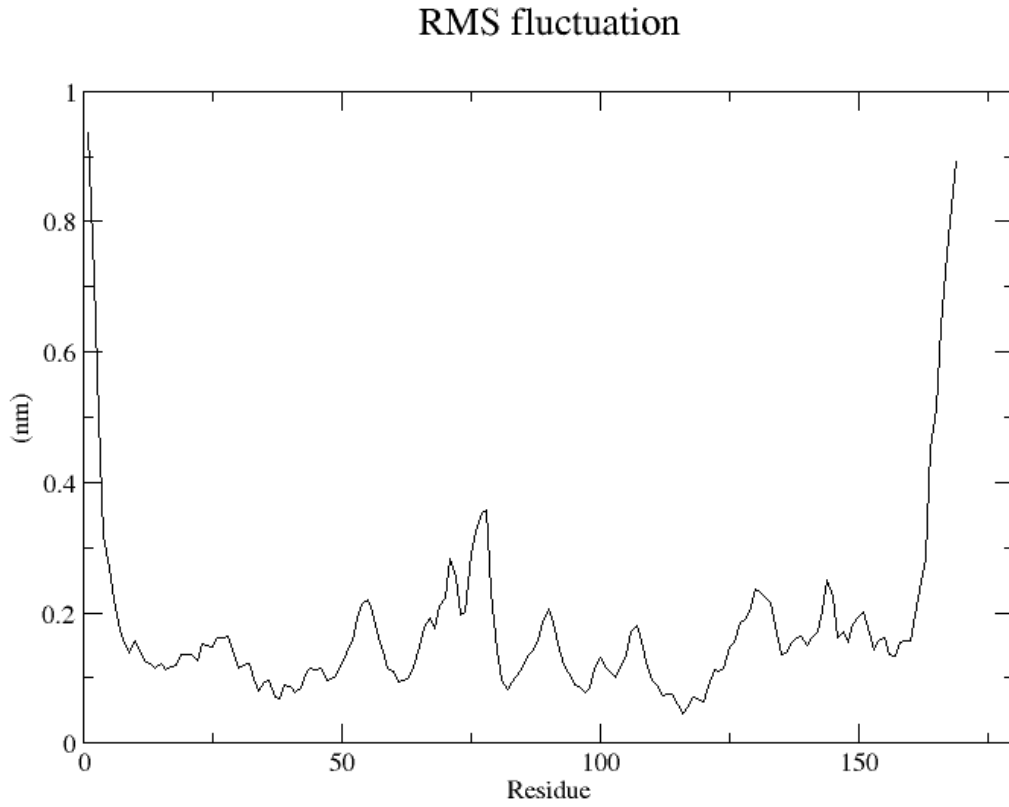
B

Radius of gyration (total and around axes)

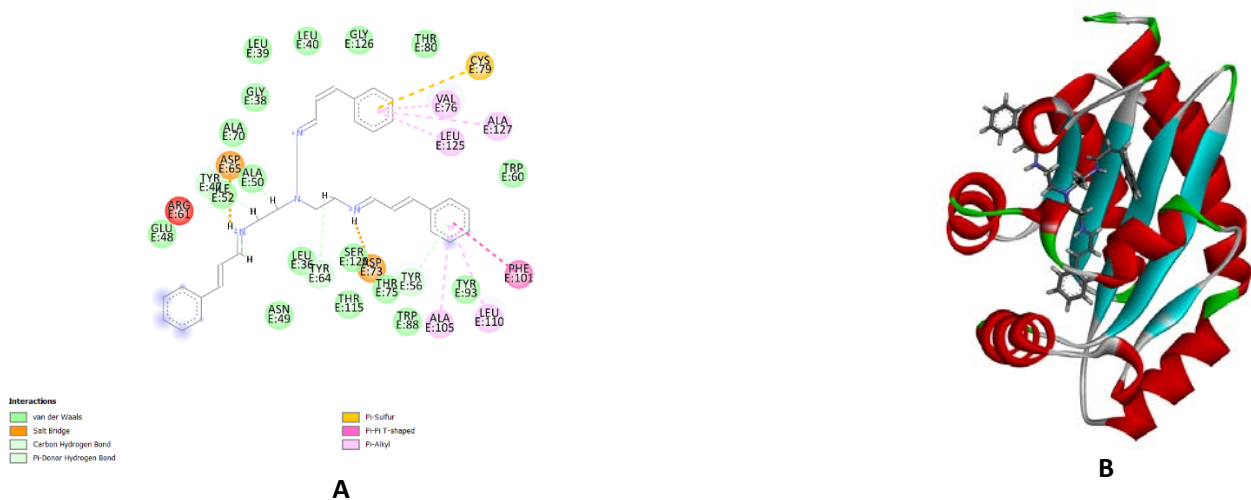


D

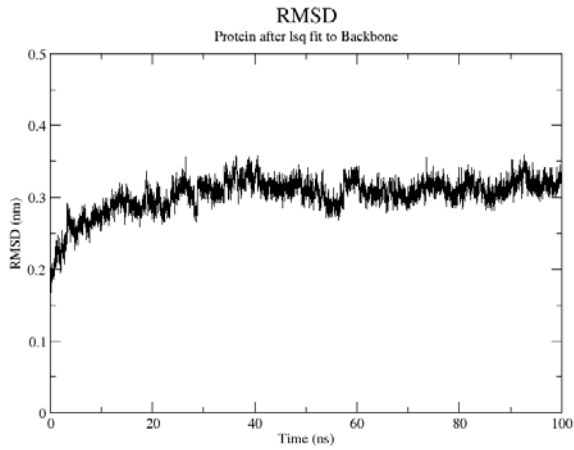
Şəkil 34. MD trayektoriyalarının 100 ns ərzində hesablanmış MMP1 RMSD-sinin struktur dinamikası (A), 7-ci birləşmənin RMSD-si (B), kompleksin SASA dəyərləri (C) və girisiya radiusu (D)



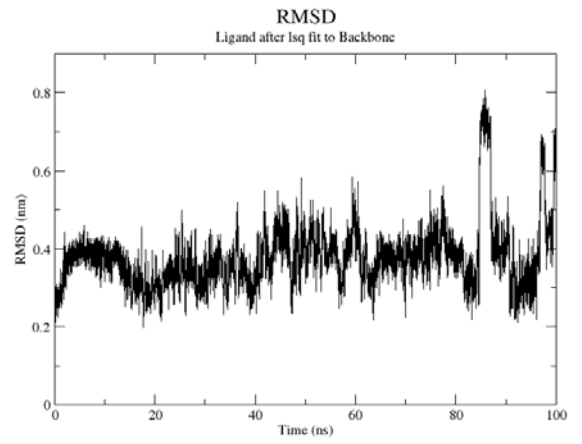
Şəkil 35. MD trayektoriyalarının 100 ns-i ərzində hesablanmış struktur dinamikası; Zülal RMSF-si



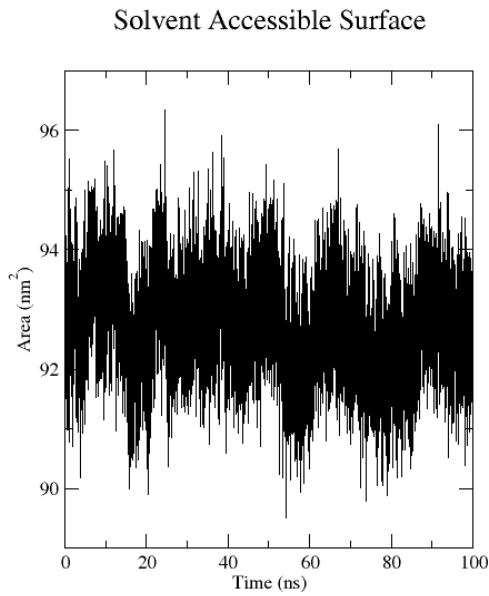
Şəkil 36. LasR reseptoruna qarşı 5-ci birləşmənin dokinqi. 2D qarşılıqlı təsirləri (A) və 3D qarşılıqlı təsirləri (B)



A

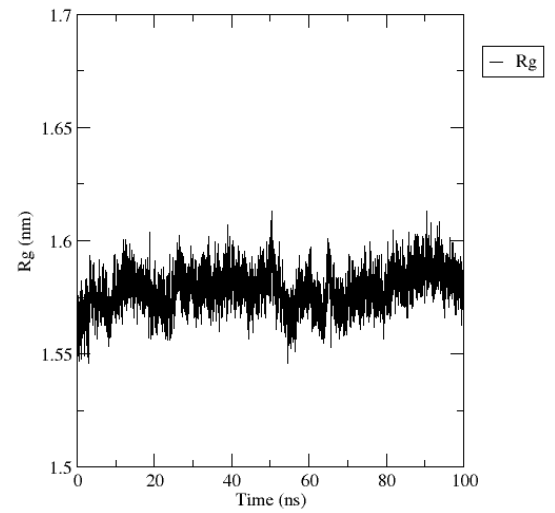


B



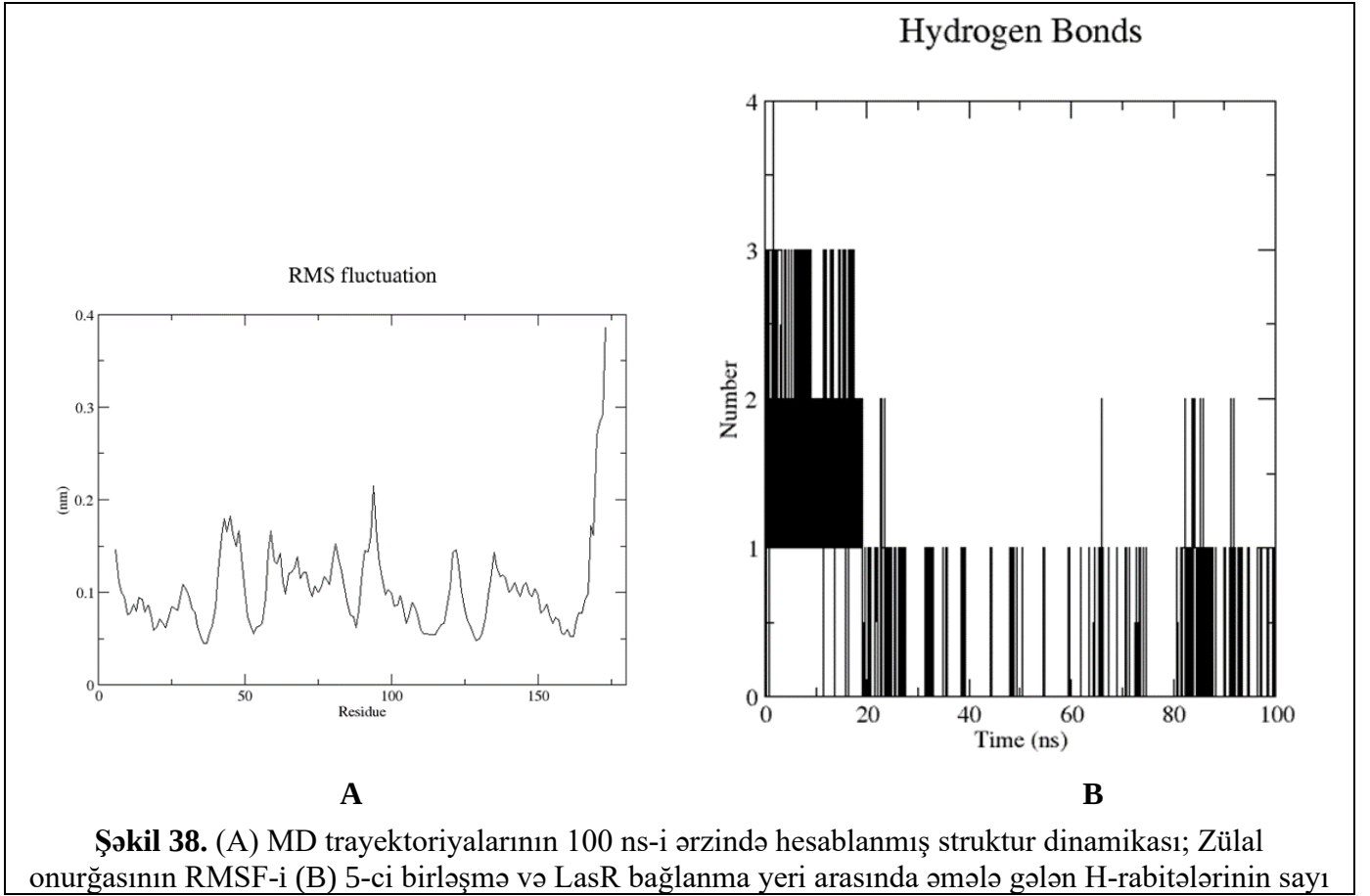
C

Radius of gyration (total and around axes)



D

Şəkil 37. MD trayektoriyalarının 100 ns-i ərzində hesablanmış struktur dinamikası. LasR RMSD (A), 5-ci birləşmə RMSD (B), kompleks SASA dəyərləri (C) və girasiya radiusu (D)



Qaynaqlar:

1. Abdel Aziz, A.A.; Salem, A.N.M.; Sayed, M.A.; Aboaly, M.M. Synthesis, structural characterization, thermal studies, catalytic efficiency, and antimicrobial activity of some M(II) complexes with ONO tridentate Schiff base N-salicylidene O-aminophenol (saphH₂). *J. Mol. Struct.* 2012, 1010, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2011.11.043>.
2. Afrin, A.; Jayaraj, A.; Gayathri, M. S. An overview of Schiff base-based fluorescent turn-on probes: a potential candidate for tracking live cell imaging of biologically active metal ions. *Sensors & Diagnostics* 2023, 2(5), 988-1076. <https://doi.org/10.1039/D3SD00110E>.
3. Atanasov, A. G.; Zotchev, S. B.; Dirsch, V. M.; Supuran, C. T. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nature reviews Drug discovery* 2021, 20(3), 200-216. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-00114-z>.
4. Bressi, V.; Akbari, Z.; Montazerzohori, M.; Ferlazzo, A.; Iannazzo, D.; Espro, C.; Neri, G. On the electroanalytical detection of Zn ions by a novel Schiff base ligand-SPCE sensor. *Sensors* 2022, 22(3), 900. <https://doi.org/10.3390/s22030900>.
5. Cordeiro, R.; Kachroo, M. Synthesis and biological evaluation of anti-tubercular activity of Schiff bases of 2-Amino thiazoles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letter* 2020, 30(24), 127655. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127655>.
6. Das, P.; Linert, W. Schiff base-derived homogeneous and heterogeneous palladium catalysts for the Suzuki–Miyaura reaction. *Coordination Chemistry Reviews* 2016, 311, 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2015.11.010>.
7. De Souza, A.O.; Galetti, F.C.S.; Silva, C.L.; Bicalho, B.; Parma, M.M; Fonseca, S.F.; Marsaioli, A.J.; Trindade, A.C.L.B.; Freitas-Gil, R.P.; Bezerra, F.S.; Andrade-Neto, M.; C. F. de Oliveira, M. Antimycobacterial and cytotoxicity activity of synthetic and natural compounds. *Quim. Nova.* 2007, 30, 1563–1566. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000700012>.
8. Desai, S.B.; Desai, P.B.; Desai, K.R. Synthesis of some Schiff bases, thiazolidinones and azetidinones derived from 2,6-diaminobenzo1,2-d: 4,5-d' bithiazole and their anticancer activities. *Heterocycl. Commun.* 2001, 7, 83–90. <https://doi.org/10.1515/HC.2001.7.1.83>.
9. Drozdak, R.; Allaert, B.; Ledoux, N.; Dragutan, I.; Dragutan, V.; Verpoort, F. Ruthenium complexes bearing bidentate Schiff base ligands as efficient catalysts for organic and polymer syntheses. *Coordination Chemistry Reviews* 2005, 249(24), 3055-3074. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.05.003>.
10. Du, H.; Pang, X.; Yu, H.; Zhuang, X.; Chen, X.; Cui, D.; Jing, X. Polymerization of rac-lactide using Schiff base aluminum catalysts: structure, activity, and stereoselectivity. *Macromolecules* 2007, 40(6), 1904-1913. <https://doi.org/10.1021/ma062194u>.
11. Dude, G. O.; Dudek, E. P. Spectroscopic Studies of Keto-Enol Equilibria. VII. Nitrogen-15 Substituted Schiff Bases. *Journal of the American Chemical Society* 1964, 86(20), 4283-4287. <https://doi.org/10.1021/ja01074a011>.
12. Ejidike, Ikechukwu P.; Ajibade, Peter A. Synthesis, Characterization, Anticancer, and Antioxidant Studies of Ru(III) Complexes of Monobasic Tridentate Schiff Bases. *Bioinorganic Chemistry and Applications* 2016, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2016/9672451>.
13. Goshisht, M. K.; Patra, G. K.; Tripathi, N. Fluorescent Schiff base sensors as a versatile tool for metal ion detection: strategies, mechanistic insights, and applications. *Materials Advances* 2022, 3(6), 2612-2669. <https://doi.org/10.1039/D1MA01175H>.
14. Hameed, A.; Al-Rashida, M.; Uroos, M.; Abid Ali, S.; Khan, K. M. Schiff bases in medicinal chemistry: a patent review (2010-2015). *Expert opinion on therapeutic patents* 2017, 27(1), 63-79. <https://doi.org/10.1080/13543776.2017.1252752>.

15. Xin, Y.; Yuan, J. Schiff's base as a stimuli-responsive linker in polymer chemistry. *Polymer Chemistry* 2012, 3(11), 3045-3055. <https://doi.org/10.1039/C2PY20290E>.
16. Xu, J.; Liu, Y.; Hsu, S. H. Hydrogels based on Schiff base linkages for biomedical applications. *Molecules* 2019, 24(16), 3005. <https://doi.org/10.3390/molecules24163005>.
17. Jamil, D. M.; Al-Okbi, A. K.; Al-Baghdadi, S. B.; Al-Amiery, A. A.; Kadhim, A.; Gaaz, T. S.; Mohamad, A. B. Experimental and theoretical studies of Schiff bases as corrosion inhibitors. *Chemistry Central Journal* 2018, 12(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186%2Fs13065-018-0376-7>.
18. Jarrahpour, A.; Khalili, D.; de Clercq, E.; Salmi, C.; Brunel, J.M. Synthesis, antibacterial, antifungal and antiviral activity evaluation of some new bis-Schiff bases of isatin and their derivatives. *Molecules* 2007, 12, 1720–1730. <https://doi.org/10.3390/12081720>.
19. Jeong, H. W.; Han, D. C.; Son, K. H.; Han, M. Y.; Lim, J. S.; Ha, J. H.; Kwon, B. M. Antitumor effect of the cinnamaldehyde derivative CB403 through the arrest of cell cycle progression in the G2/M phase. *Biochemical pharmacology* 2003, 65(8), 1343-1350. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(03\)00038-8](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(03)00038-8).
20. Junaid, H. M.; Batool, M.; Harun, F. W.; Akhter, M. S.; Shabbir, N. Naked eye chemosensing of anions by Schiff bases. *Critical reviews in analytical chemistry* 2022, 52(3), 463-480. <https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1806703>.
21. Khan M.I.; Gul S.; Khan M.A. Stability and Applications of Coordination Compounds; Chapter 6. Schiff bases and their metallic derivatives: highly versatile molecules with biological and abiological perspective. In *Stability and Applications of Coordination Compounds*. IntechOpen. 2019, 83-99.
22. Khan, K. M.; Ambreen, N.; Hussain, S.; Perveen, S.; Choudhary, M. I. Schiff bases of 3-formylchromone as thymidine phosphorylase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry* 2009, 17(8), 2983-2988. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.03.020>.
23. Kumari, N.; Singh, S.; Baral, M.; Kanungo, B. K. Schiff bases: a versatile fluorescence probe in sensing cations. *Journal of Fluorescence* 2023, 33(3), 859-893. <https://doi.org/10.1007/s10895-022-03135-6>.
24. Layter R.W. The chemistry of imines. *Chemical Reviews* 1963, 63, 489-510. <https://doi.org/10.1021/cr60225a003>.
25. Lin, L. T.; Wu, S. J.; Lin, C. C. The Anticancer Properties and Apoptosis-inducing Mechanisms of Cinnamaldehyde and the Herbal Prescription Huang-Lian-Jie-Du-Tang (Huáng Lián Jiě Dú Tāng) in Human Hepatoma Cells. *Journal of traditional and complementary medicine* 2013, 3(4), 227-233. <https://doi.org/10.4103/2225-4110.119732>.
26. Ma, X.; Yu, H. Cancer issue: global burden of cancer. *The Yale journal of biology and medicine* 2006, 79(3-4), 85.
27. Malik, U. S.; Niazi, M. B. K.; Jahan, Z.; Zafar, M. I.; Vo, D. V. N.; Sher, F. Nano-structured dynamic Schiff base cues as robust self-healing polymers for biomedical and tissue engineering applications: a review. *Environmental Chemistry Letters* 2022, 1-23. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01337-1>.
28. Mattio, L. M.; Pinna, C.; Catinella, G.; Musso, L.; Pedersen, K. J.; Krogfelt, K. A.; Pinto, A. Synthesis and Antimicrobial Activity of δ -Viniferin Analogues and Isosteres. *Molecules* 2021, 26(24), 7594. <https://doi.org/10.3390/molecules26247594>.
29. Metzler, D. E.; Snell, E. E. Some transamination reactions involving vitamin B6. *Journal of the American Chemical Society* 1952, 74(4), 979-983. <https://doi.org/10.1021/ja01124a033>.
30. Mondal, K.; Mistri, S. Schiff base based metal complexes: A review of their catalytic activity on aldol and henry reaction. *Comments on Inorganic Chemistry* 2023, 43(2), 77-105. <https://doi.org/10.1080/02603594.2022.2094919>.

31. Muhammad, D. R. A.; Dewettinck, K. Cinnamon and its derivatives as potential ingredient in functional food—A review. *International journal of food properties* 2017, 20, 2237-2263. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1369102>.
32. Mukherjee, T.; Hanes, J.; Tews, I.; Ealick, S. E.; Begley, T. P. Pyridoxal phosphate: biosynthesis and catabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics* 2011, 1814(11), 1585-1596. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2011.06.018>.
33. Nair, B. P.; Gangadharan, D.; Mohan, N.; Sumathi, B.; Nair, P. D. Hybrid scaffold bearing polymer-siloxane Schiff base linkage for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C* 2015, 52, 333-342. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.03.040>.
34. Pandey, S.; Srivastava, R. S. Synthesis and characterization of some heterocyclic schiff bases: potential anticonvulsant agents. *Medicinal Chemistry Research* (2011), 20, 1091-1101. <https://doi.org/10.1007/s00044-010-9441-z>.
35. Patai, S. *The Chemistry of the carbon-nitrogen double bond*. Norwich: Wiley. <https://lccn.loc.gov/70104166>. 1970.
36. Patil, Sangamesh A.; Prabhakara, Chetan T.; Halasangi, Bhimashankar M.; Toragalmath, Shivakumar S.; Badami, Prema S. DNA cleavage, antibacterial, antifungal and anthelmintic studies of Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes of coumarin Schiff bases: Synthesis and spectral approach. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2015, 137, 641–651. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.08.028>.
37. Rana, K.; Pandurangan, A.; Singh, N.; Tiwari, A. K. A systemic review of schiff bases as an analgesic, anti-inflammatory. *Int. J. Curr. Pharm. Res.* 2012, 4(2), 5-11.
38. Saeidnia, S. *New approaches to natural anticancer drugs* (No. 12036). Cham, Switzerland: Springer International Publishing 2015. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14027-8>.
39. Schiff H. Mittheilungen aus dem universitätslaboratorium in Pisa: Eine neue reihe organischer basen. *Justus Liebigs Ann Chem.* 1864, 131(1), 118–119. <https://doi.org/10.1002/jlac.18641310113>.
40. Smith PAS. *The Chemistry of Open-Chain Organic Nitrogen Compounds*. New York: Benjamin. <https://lccn.loc.gov/65013011>. 1965.
41. Sondhi, S. M.; Singh, N.; Kumar, A.; Lozach, O.; Meijer, L. Synthesis, anti-inflammatory, analgesic and kinase (CDK-1, CDK-5 and GSK-3) inhibition activity evaluation of benzimidazole/benzoxazole derivatives and some Schiff 's bases. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 2006, 14, 11, 3758– 3765. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.01.054>.
42. Su, Z.; Qin, S.; Hu, C.; Feng, X. Theoretical Investigations on the Mechanism of Hetero-Diels–Alder Reactions of Brassard’s Diene and 1, 3-Butadiene Catalyzed by a Tridentate Schiff Base Titanium (IV) Complex. *Chemistry–A European Journal* 2010, 16(14), 4359-4367. <https://doi.org/10.1002/chem.200902488>.
43. Subasi, N. T. Overview of Schiff Bases. In *Schiff Base in Organic, Inorganic and Physical Chemistry*. IntechOpen 2022. 10.5772/intechopen.108178.
44. Teran, R.; Guevara, R.; Mora, J.; Dobronski, L.; Barreiro-Costa, O.; Beske, T.; Heredia-Moya, J. Characterization of antimicrobial, antioxidant, and leishmanicidal activities of Schiff base derivatives of 4-aminoantipyrine. *Molecules* 2019, 24(15), 2696. <https://doi.org/10.3390/molecules24152696>.
45. Thun, M. J.; DeLancey, J. O.; Center, M. M.; Jemal, A.; Ward, E. M. The global burden of cancer: priorities for prevention. *Carcinogenesis* 2010, 31(1), 100-110. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp263>.
46. Udhayakumari, D.; Inbaraj, V. A review on Schiff base fluorescent chemosensors for cell imaging applications. *Journal of fluorescence* 2020, 30, 1203-1223. <https://doi.org/10.1007/s10895-020-02570-7>.

47. Vashi, K.; Naik, H. B. “Synthesis of novel Schiff base and azetidinone derivatives and their antibacterial activity,” European Journal of Chemistry 2004, 1, 272–276. <https://doi.org/10.1155/2004/158924>.
48. Zendehtdel, M.; Zamani, F. MCM-41-supported NNO type Schiff base complexes: a highly selective heterogeneous nanocatalyst for esterification, Diels–Alder and aldol condensation. Journal of Porous Materials 2017, 24, 1263-1277. <https://doi.org/10.1007/s10934-017-0367-4>.