



**T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BENZİMİDAZOL TÜREVLİ RU-(II) BİLEŞİKLERİNİN
İNSAN MEME KANSER HÜCRELERİNDE
ANTİKANSER AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DERYA TANDOĞAN-KURT

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMASÖTİK BİYOKİMYA
ANA BİLİM DALI**

SIVAS-2020

**T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BENZİMİDAZOL TÜREVLİ RU-(II) BİLEŞİKLERİNİN
İNSAN MEME KANSER HÜCRELERİNDE
ANTİKANSER AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DERYA TANDOĞAN-KURT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FARMASÖTİK BİYOKİMYA
ANA BİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ SERAP ŞAHİN-BÖLÜKBAŞI
2. TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. NESLİHAN ŞAHİN**

SİVAS-2020

“Benzimidazol Türevli Ru-(II) Bileşiklerinin İnsan Meme Kanseri Hücrelerinde Antikanser Aktivitelerinin Araştırılması” adlı **Yüksek Lisans** Tezi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Farmasötik Biyokimya** Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Behzat ÇİMEN



Üye

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ERGÜL



Üye (Danışman)


Dr. Öğr. Üyesi

Serap ŞAHİN-BÖLÜKBAŞI



ONAY

Bu tez çalışması, ...27.12.2019 Tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

KATKI BELİRTME/TEŞEKKÜR

Öncelikle Yüksek Lisan eğitimim boyunca bilgi birikimi ve tecrübesiyle beni yönlendiren, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Serap ŞAHİN-BÖLÜKBAŞI'na teşekkür ederim.

Tez çalışmam kapsamında kullanacağımız bileşiklerin sentezi sırasında bilgi ve deneyimini esirgemeyen 2. Tez Danışman hocam Doç. Dr. Neslihan ŞAHİN'e, teşekkür ederim. DAPI boyama görüntülerinin alınmasında yardımcı olan Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Zeynep Deniz ŞAHİN-İNAN'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında ümit verdiği ve destek olduğu için sevgili eşim Mehmet KURT'a, teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen babam Deniz TANDOĞAN'a, annem Zehra TANDOĞAN'a ve kız kardeşlerime teşekkür ederim. Ayrıca laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmaya maddi destek sağlayan Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) birimine teşekkür ederim. "Bu çalışma, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) tarafından ECZ-060 proje numarası ile desteklenmiştir."



ÖZET

BENZİMİDAZOL TÜREVLİ RU-(II) BİLEŞİKLERİNİN İNSAN MEME KANSER HÜCRELERİNDE ANTİKANSER AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Derya TANDOĞAN-KURT

Yüksek Lisans Tezi

Farmasötik Biyokimya Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Serap ŞAHİN-BÖLÜKBAŞI

2. Danışman: Doç. Dr. Üyesi Neslihan ŞAHİN

2020, 92 sayfa + xvi

Son zamanlarda organometalik bileşiklerin antikanser aktiviteleri ile ilgili çalışmalar giderek artmaktadır. Bu çalışmada, N-alkilbenzimidazol ligandları (**1a-c**) ve bu ligandların N-koordine Ru-(II) komplekslerinin (**2a-c**) MDA-MB-231 ve MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine karşı antikanser aktiviteleri araştırıldı. L-929 (fibroblast hücreleri) normal hücreler olarak kullanıldı. Hem ligandların hem de Ru-(II) komplekslerinin antikanser aktiviteleri 24 saat, 48 saat ve 72 saat süreyle MTT (3- (4,5-dimetiltiyazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolyum bromür) analizi ile araştırıldı. Ayrıca ligandların ve komplekslerin MDA-MB-231, MCF-7 insan meme kanseri hücreleri ve L-929 normal hücreleri üzerine apoptotik etkileri DAPI (4,6-diamidino-2 fenilindol) boyamasıyla araştırıldı. Ru-(II) komplekslerinin (**2a-c**) ligandlarından (**1a-c**) daha iyi antikanser aktivitesi gösterdiği bulundu. Sonuçlarımız, **2a** ve **2b** komplekslerinin, meme kanseri hücrelerinde (MDA-MB-231, MCF-7) ve L-929 normal hücrelerinde MTT boyamasında derişim ve zamana bağılı düşüşlere neden olduğunu gösterdi. **2c** bileşiğı, MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerine ve L-929 normal hücrelerine karşı 500 µM'lik derişim değerinde de antikanser aktivite göstermedi. Veriler, **2a**'nın tüm zaman noktalarında MDA-MB-231, MCF-7 insan meme kanseri hücreleri ve L-929 normal hücrelerinde en aktif bileşik olduğunu gösterdi. Komplekslerin IC₅₀ derişimlerinin MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanser hücrelerine uygulanmasının, kromatin yoğunlaşması ve apoptozun indüklendiğini gösteren nükleer parçalanma ile sonuçlandığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Benzimidazol; *p*-simen; MTT; DAPI; Antikanser aktivite; MCF-7; MDA-MB-231; L-929

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTICANCER ACTIVITY OF BENZIMIDAZOLE DERIVATIVE RU-(II) COMPLEXES AGAINST HUMAN BREAST CANCER CELLS

Derya TANDOĞAN-KURT

Master Thesis

Department of Pharmaceutical Biochemistry

Supervisor: Assistant Prof. Dr. Serap ŞAHİN-BÖLÜKBAŞI

Second Supervisor: Associate Prof. Dr. Neslihan ŞAHİN

2020, 92 pages + xvi

Recently, studies on the anticancer activities of organometallic compounds are increasing. In this study, it has been investigated the anticancer activities of N-alkylbenzimidazole ligands (**1a-c**) and their N-coordinated Ru-(II) complexes (**2a-c**) against MDA-MB-231 and MCF-7 human breast cancer cells. L-929 (fibroblast cells) were used as normal cells. The anticancer activities of both ligands and Ru-(II) complexes were investigated by MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide) analysis for 24 h, 48 h, and 72 h. We also investigated the apoptotic effect of ligands and complexes on MDA-MB-231, MCF-7 human breast cancer cells and L-929 normal cells via DAPI (4,6-diamidino-2 phenylindole) staining. It was found that the Ru-(II) complexes (**2a-c**) showed better anticancer activity than their ligands (**1a-c**). Our results indicated that complexes **2a** and **2b** caused concentration and time-dependent decreases in MTT staining on breast cancer cells (MDA-MB-231, MCF-7) and, L-929 normal cells. Compound **2c** did not display anticancer activity toward MDA-MB-231 breast cancer cells and L-929 normal cell line at a concentration of 500 µM. Data indicated that complex **2a** the most active compound on MDA-MB-231, MCF-7 human breast cancer cells and, L-929 normal cells in all time points. It was observed that application at IC₅₀ concentrations of complexes on MDA-MB-231 and MCF-7 breast cancer cells resulted in chromatin condensation and nuclear fragmentation indicating the induction of apoptosis.

Key words: Benzimidazole; *p*-cymene; MTT; DAPI; Anticancer activity; MCF-7; MDA-MB-231; L-929

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
YÖNERGE	iii
KATKI BELİRTME/TEŞEKKÜR	iv
İTHAT	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiv
KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanser	3
2.2. 2018 Yılı Dünya Kanser Verileri	3
2.3. 2018 Yılı Türkiye Kanser Verileri	7
2.4. Meme Dokusu	8
2.4.1. Memenin Yapısı	8
2.5. Meme Kanseri	9
2.6. Meme Kanseri Dünya ve Türkiye Epidemiyolojisi	10
2.7. Meme Kanseri Risk Faktörleri	12
2.7.1. Yaş	12
2.7.2. Ailesel ve Genetik Risk Faktörleri	13
2.7.3. Yaşam Tarzı	14
2.7.4. Üreme ile İlgili Faktörler	16
2.7.5. Çevresel Faktörler	16
2.8. Meme Kanseri Evreleri	17
2.9. Meme Kanserinin Tedavi Yöntemleri	18
2.9.1. Cerrahi Yöntem	18
2.9.2. Radyoterapi	19
2.9.3. Hormonal Terapi	19
2.9.4. Kemoterapi	21
2.9.4.1. Adjuvan Kemoterapi	21
2.9.4.2. Neoadjuvan Kemoterapi	21

2.10. Kemoterapi Yan Etkileri	21
2.10.1. Halsizlik	22
2.10.2. Bulantı ve Kusma	22
2.10.3. Saç Dökülmesi	22
2.10.4. Kan Değerlerinin Azalması	23
2.10.5. Ağız Yaraları	23
2.10.6. İshal ve Kabızlık	23
2.10.7. Cilt ve Tırnaklarda Meydana Gelen Değişiklikler	24
2.11. Azoller	24
2.12. Azoller ve Metal Kompleksleri	25
2.13. Benzimidazol ve Türevleri	25
2.13.1. Benzimidazollerin Sentezi	26
2.13.2. Benzimidazol Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri	27
2.13.2.1. Antihipertansif Aktivite	28
2.13.2.2. Antienflamatuar Aktivite	30
2.13.2.3. Antimikrobiyal Aktivite	31
2.13.2.4. Antioksidan Aktivite	32
2.13.2.5. Antitümör Aktivite	33
2.14. Rutenyum	38
2.15. Kanser Araştırmalarında Hücre Kültürlerinin Kullanılması	39
2.16. Kemoterapi Potansiyeli Bulunan İlaçların Hücre Toksisitesi Analiz Yöntemleri	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM	44
3.1. Kullanılan Malzemeler	44
3.2. Kullanılan Cihazlar	44
3.3. Genel Sentez Yöntemi	45
3.4. N-Koordine Benzimidazol Ligandlarının Sentezi	45
3.4.1. N-(1-naftalenometil)benzimidazol, 1a	45
3.4.2. N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol, 1b	45
3.4.3. N-(2-morfolinoetil)benzimidazol, 1c	46
3.5. N-koordine Ru(II)- <i>p</i> -simeen Komplekslerinin Sentezi	46
3.5.1. Dikloro-(N-(1-naftalenometil)benzimidazol)-(p-simeen)rutenyum(II), 2a	46
3.5.2. Dikloro-N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol)-(p-simeen)rutenyum (II), 2b	47
3.5.3. Dikloro-N-(2-morfolinoetil)benzimidazol)-(p-simeen)rutenyum(II), 2c	47
3.6. Antikanser Aktivite	48
3.6.1. Bileşiklerin Hazırlanması	48
3.6.2. Kullanılan Hücre Hatları ve Büyüme Koşulları	48
3.6.2.1. MDA-MB-231 (ATCC® HTB-26™) Hücre Hattı	48
3.6.2.2. MCF-7 (ATCC® HTB-22™)Hücre Hattı	49

3.6.2.3. L-929 (ATCC® CCL-1™) Hücre Hattı	49
3.6.3. Hücrelerin Çözülmesi	50
3.6.4. Hücrelerin Pasajlanması	50
3.6.5. Hücrelerin Sayımı	51
3.6.6. Hücrelerin Ekimi ve MTT Ölçümü	51
3.7. DAPI Boyaması	51
3.8. İstatistik Analiz	52
4. BULGULAR	53
4.1. Ligandlar (1a-c) ve N-koordine Ru-(II) komplekslerinin (2a-c) Sentezi	53
4.2. Antikanser Aktivite	53
4.3. DAPI Boyaması	67
5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇ	77
7. KAYNAKLAR	79
8. ÖZGEÇMİŞ	92

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1.	2018 Yılında Öngörülen Toplam Kanser Vaka Sayıları (A) ve Ölüm Oranlarının (B) Dünya Genelindeki Dağılımı [42]	4
Şekil 2.2.	En Yaygın 5 Kanser Türü İçin Toplam Kanser Vaka Sayıları (A) ve Ölüm Oranlarının (B) Dünya Genelindeki Dağılımı (2018 Yılı)	5
Şekil 2.3.	En Yaygın 5 Kanser Türünün Kanser Vaka Yüzdeleri ve Ölüm Yüzdelerinin Dünya Genelindeki Dağılımı Kadınlarda (A), Erkeklerde (B) (2018 Yılı)	6
Şekil 2.4.	Memenin yapısı	8
Şekil 2.5.	Meme Kanseri Türleri	10
Şekil 2.6.	Türkiye’de Kadınlarda en sık görülen ilk on kanserin yaşa bağlı olarak oranlanmış hızlarının dağılımları	11
Şekil 2.7.	Meme kanserinin yaşa bağlı olarak farklı coğrafi bölgelerde dağılımı	13
Şekil 2.8.	Alkol kullanımının meme kanseri oluşum riski ile ilişkisi	15
Şekil 2.9.	Azolelerin Yapıları	24
Şekil 2.10.	Benzimidazol Yapısı	26
Şekil 2.11.	Benzimidazol Türevlerinin Bazı Biyolojik Aktiviteleri	28
Şekil 2.12.	MTT prensibi	41
Şekil 2.13.	MTT, WST-1 ve XTT yapıları	42
Şekil 3.1.	MDA-MB-231 hücre hattı morfolojisi	48
Şekil 3.2.	MCF-7 hücre hattı morfolojisi	49
Şekil 3.3.	L-929 hücre hattı morfolojisi	50
Şekil 4.1.	N-(1-naftalenometil)benzimidazol (1a) ve Dikloro-(N-(1-naftalenometil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (2a)’un MDA-MB-231 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktivitesi. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar ± SEM olarak verilmiştir. (Kontrolle göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001)	54

- Şekil 4.2.** N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol, (1b) ve Dikloro-N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (2b)'un, MDA-MB-231 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrole göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001) 55
- Şekil 4.3.** N-(2-morfolinoetil)benzimidazol, (1c) ve Dikloro-N-(2-morfolinoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (2c)'un MDA-MB-231 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrole göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001) 56
- Şekil 4.4.** N-(1-naftalenometil)benzimidazol (1a) ve Dikloro-(N-(1-naftalenometil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (2a)'un MCF-7 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir. (Kontrole göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001) 58
- Şekil 4.5.** N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol, (1b) ve Dikloro-N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (2b)'un, MCF-7 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrole göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001) 59
- Şekil 4.6.** N-(2-morfolinoetil)benzimidazol, (1c) ve Dikloro-N-(2-morfolinoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (2c)'un MCF-7 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri.. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrole göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001) 60
- Şekil 4.7.** N-(1-naftalenometil)benzimidazol (1a) ve Dikloro-(N-(1-naftalenometil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (2a)'un L-929 normal fare fibroblast hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrole göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001) 62

- Şekil 4.8.** N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol, (1b) ve Dikloro-N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (2b)'un, L-929 normal fare fibroblast hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrolle göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001) 63
- Şekil 4.9.** N-(2-morfolinoetil)benzimidazol, (1c) ve Dikloro-N-(2-morfolinoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (2c)'un L-929 normal fare fibroblast hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrolle göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, ##p < 0.0001) 64
- Şekil 4.10.** Ligand ve komplekslerin 24, 48 ve 72 saat için belirlenen 24, 48 ve 72 saat için belirlenen IC₅₀ derişim değerlerinin uygulandığı MDA-MB-231, MCF-7 insan meme kanser hücreleri ve L-929 normal fare fibroblast hücrelerinde DAPI boyaması 68
- Şema 4.1.** Ligandlar (1a-c) ve bu ligandların N-koordine Ru-(II) komplekslerinin (2a-c) Sentezi 53

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.1. Meme kanseri hücrelerinin sınıflandırılması ve kullanılan meme kanseri hücre hatları profilleri	10
Tablo 4.1. N-alkilbenzimidazol ligandları (1a-c) ve bu ligandların N-koordine Ru-(II) komplekslerinin (2a-c) MDA-MB-231 insan meme kanser hücrelerinde 24 saat, 48 saat ve 72 saat için IC ₅₀ Değerleri	57
Tablo 4.2. N-alkilbenzimidazol ligandları (1a-c) ve bu ligandların N-koordine Ru-(II) komplekslerinin (2a-c). MCF-7 insan meme kanser hücrelerinde 24 saat, 48 saat ve 72 saat için IC ₅₀ değerleri	61
Tablo 4.3. N-alkilbenzimidazol ligandları (1a-c) ve bu ligandların N-koordine Ru-(II) komplekslerinin (2a-c) L-929 normal fare fibroblast hücrelerinde 24 saat, 48 saat ve 72 saat için IC ₅₀ Değerleri	65
Tablo 4.4. N-koordine Ru-(II) komplekslerin (2a-c) seçicilik indeksleri (Sİ)	66

KISALTMALAR/SİMGELER

Ru	Rutenyum
MTT	3-(4, 5-dimetiltiazol-2-yl)-2, 5-difeniltetrazolium bromid
DAPI	4,6-diamidino-2 fenilindol
UV	Ultraviyole
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
ER	Östrojen reseptörü
PR	Progesteron reseptörü
HER2	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
DNA	Deoksiribonükleik asit
Im	İmidazol
Imd	İmidazoln
BIm	Benzimidazol
RAS	Renin-Anjiyotensin Sistemi
ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
AT1	Anjiyotensin reseptörü 1
Ang II	Anjiyotensin II
IL-1	İnterlökin-I
TNF- α	Tümör nekroz faktörü- α
CSF	Koloni uyarıcı faktörler
DPPH	2.2.-Difenil-1-pikrihidrazil
NO	Nitrik oksit
SOD	Süperoksit dismutaz
G	Guanin
A	Adenin
ROS	Reaktif oksijen türlerinin
MTS	3-(4,5- dimetiltiyazol-2-yl)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4- sülfofenil)-2H-tetrazolyum
XTT	2,3-bis-(2- metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid

WST	2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)- 5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum
DMSO	Dimetilsülfoksit
FBS	Fetal Bovin serum
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
THF	Tetrahidrofuran
PBS	Fosfat tampon tuzu
DCM	Diklorometan
Et₂O	Etanol
ECACC	European Collection of Authenticated Cell Cultures
µL	Mikrolitre
CO₂	Karbondioksit
SI	Seçicilik İndeksi
Gram	g
Santigrat	°C
5-FU	5- Florourasil
µM	Mikromolar
IC₅₀	Hücrelerinin % 50'sinin ölümüne neden olan madde derişimi

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Vücut savunma sisteminden kaçarak kontrolsüz bölünebilme yeteneğini elde eden hücrelerin oluşmasıyla meydana gelen bir hastalık olan "kanser" erken tanı ve tedavi gerçekleştirilmediği sürece genellikle ölüme sebep olan oldukça ciddi bir sağlık sorunudur. Kanser, özellikle gelişmiş ülkelerde meydana gelen ölümlerin yaklaşık %25'ini oluşturup, tüm dünyada iskemik kalp rahatsızlığından sonra ölüme sebep olan ikinci sıradaki hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Antiproliferatif, antitümör ve antineoplastikler olarak da bilinen birçok antikanser ajan, çeşitli kanser türlerinin tedavisi için rapor edilmiş olup yeni, kanser önleyici terapötik maddelerin gelişimi son yıllarda ilerlemiştir [1-4]. Kanser tedavisi, tümör hücrelerinde meydana gelen spesifik moleküler değişiklikleri hedeflemeye odaklanmıştır [5-10]. Kanser tedavisi çeşitli ilaçlardan oluşmasına rağmen, bu ilaçların ciddi yan etkileri nedeniyle yeni antikanser ilaçların araştırılmasına yönelik çalışmalar artmaktadır [11].

Birçok koordinasyon bileşiğinin biyolojik aktiviteleri araştırılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar organometalik bileşiklere, özellikle de rutenyum (Ru)-(II) benzimidazol bileşiklerine odaklanmıştır [12-15]. Benzimidazol yapısı, ilaç keşfi ve tıbbi kimyada önemli bir farmakofortur [16-17]. Rutenyum komplekslerinin, düşük yarılanma ömürleri, uyarılmış durum reaktiviteleri ve redoks stabilitesi gibi önemli özellikleri nedeniyle, bu bileşiklerle ilgili çalışmalar giderek artmaktadır [18-20]. Benzimidazol çekirdeği etrafındaki bağlı grupların farklılaşması, bu yapıyı içeren bileşiklere geniş bir biyolojik aktivite yelpazesi sağlamıştır [21-24]. Son yıllarda, farklı bağlı grup içeren birçok benzimidazol türevlerinin, antibakteriyel, antioksidan, antifungal, antiviral, antihipertansif, antiülser, antiprotozoal ve anti-enflamatuar ajanlar dahil olmak üzere çeşitli biyolojik aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir [25-32]. Benzimidazol türevleri ayrıca siklin-kinaz veya tirozin kinaz inhibitörleri oldukları ve kanser tedavisi için hücre proliferasyonunun inhibe ettikleri gösterilmiştir [33-36]. Ru ve benzimidazolün yukarıda bahsedilen yararlı biyolojik özellikleri, Ru-(II) içeren benzimidazol komplekslerine olan ilgiyi arttırmaktadır.

Çalışmamızın birinci basamağında; N-alkilbenzimidazol ligandları (**1a-c**) ve bu ligandların N-koordine Ru-(II) kompleksleri (**2a-c**) inert atmosferde ve standart şilenk tekniği kullanılarak sentezlendi. Sentezlenen ligandların (**1a-c**) ve komplekslerin (**2a-c**) antikanser aktiviteleri, MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanser hücrelerine uygulanmalarından sonra 24, 48 ve 72 saat zaman noktalarında MTT yöntemi kullanılarak araştırıldı. Ayrıca tüm bileşikler (**1a-c** ve **2a-c**) L-929 sağlıklı fare fibroblast hücrelerine de uygulanarak, komplekslerin sağlıklı ve kanserli hücreler arasında olası seçici özelliklerinin varlığı da araştırıldı. Çalışmamızda ayrıca ligandlar (**1a-c**) ve N-koordine Ru-(II) komplekslerinin (**2a-c**) kanser ve normal hücreler üzerindeki olası apoptotik etkileri DAPI boyama yöntemi kullanılarak araştırıldı. Çalışma sonucunda, elde edilen veriler ile; meme kanseri tedavisi için aday olabilecek yeni bileşiklerin literatüre kazandırılmasının yanı sıra, ileride yapılacak yeni sentez çalışmaları için yol gösterici olması amaçlanmaktadır.

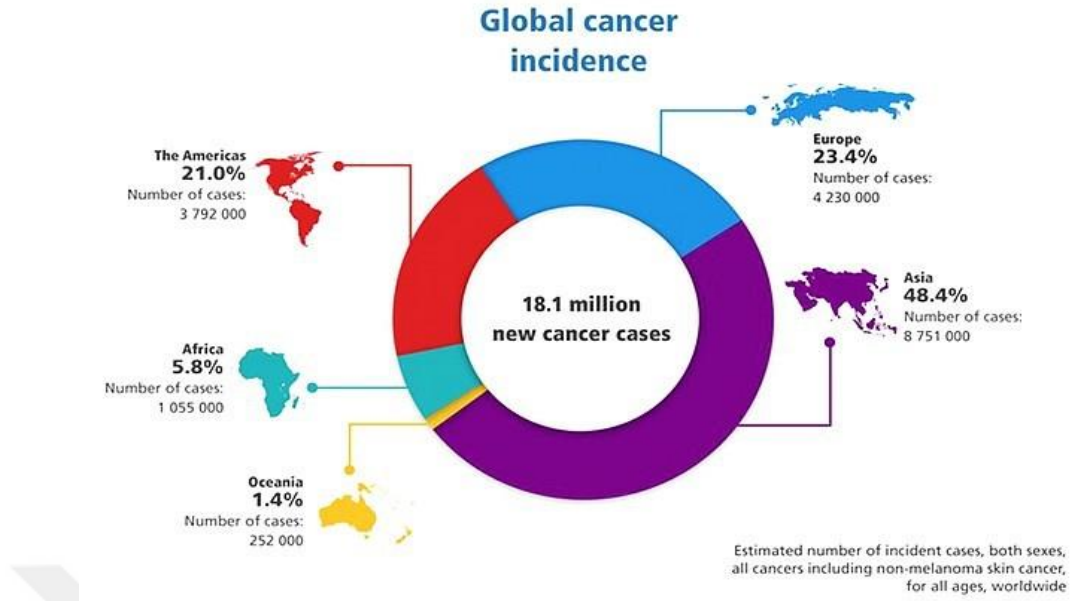
2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kanser

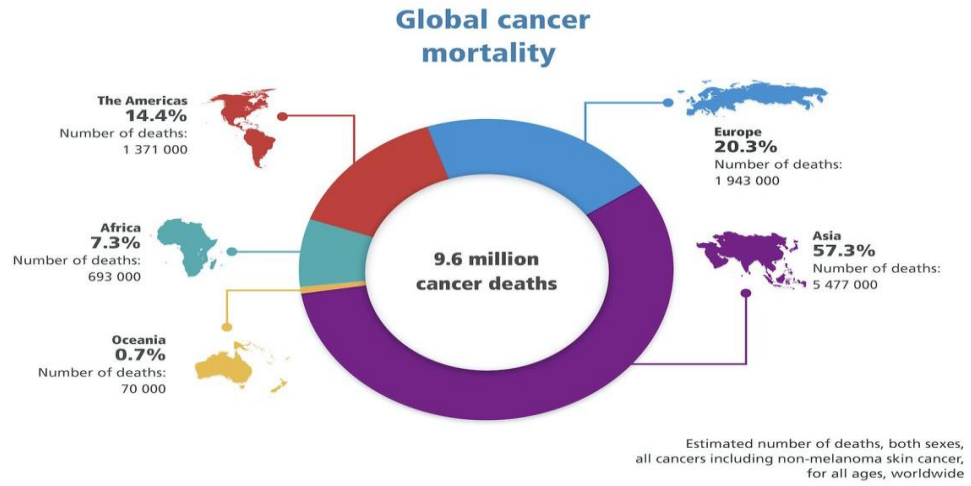
Antik Mısır'da M.Ö. 1600'lü yıllarda insan kemik kanseriyle ilgili mumyalar ve el yazmaları bulunmuştur. M.Ö. 1500'lü yıllarda ise meme kanseriyle ilgili ilk vakanın kaydı yapılmıştır. Kanıtlara bakıldığında kanserin tedavi edilemediği ve geçici yöntemler tercih edildiği belirtilmiştir [37]. Kanseri terimi, Yunan fizikçi Hippocrates (M.Ö. 460-370) tarafından kullanılmış olup tümörleri tanımlamak için "karsinos" ve "karsinoma" terimleri kullanmıştır. Kanseri, vücut savunma sisteminden kaçarak kontrolsüz bölünebilme yeteneğini elde eden hücrelerin oluşmasıyla meydana gelen bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Kanseri tüm dünyada, iskemik kalp rahatsızlığından sonra ölüme sebep olan ikinci sıradaki hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Kanseri oluşumunda, genetik ve özellikle çevresel faktörlerin önemli rol aldığı bilinmekle birlikte, ultraviyole ışınları (UV), karsinojen maddeler, beslenme alışkanlıkları, sigara ve alkol kullanımı gibi diğer faktörlerinde kanseri oluşumu ve ilerlemesinde önemli faktörler oldukları bilinmektedir. Kanseri tanısı için günümüzde farklı yöntemler (biyokimyasal testler, ultrasonografi, röntgen, radyoizotopik taramalar, kan sayımı, endoskopi, bilgisayarlı tomografi, biyopsi, manyetik rezonans görüntüleme, sitoloji, histopatoloji vb.) bir arada veya ayrı ayrı kullanılmaktadır [38]. Günümüzde kanseri tedavisi için, kemoterapi, radyoterapi, hormon tedavisi, immünoterapi gibi yöntemlerden faydalanılmaktadır [39]. Ancak tedavinin pahalı olması ve olası yan etkilerinden dolayı var olanlardan farklı, yan etkileri daha az olan yeni tedavi yöntemleri ve ajanlarının araştırılmasına yönelik çalışmalar sürekli devam etmektedir.

2.2. 2018 yılı Dünya Kanseri Verileri

2018 yılında, tüm dünyada 18.1 milyon yeni kanseri vakası ve 9.6 milyon ölümlü kanseri vakası bildirilmiştir [40]. 2018 yılı için toplam kanseri vaka sayısı ve ölümlü oranlarının Dünya genelindeki dağılımları Şekil 2.1.'de verilmiştir [40]. GLOBOCAN 2018, 185 ülke ve 36 farklı kanseri türü ile ilgili verileri göz önüne alınarak oluşturulmuştur.



(A)



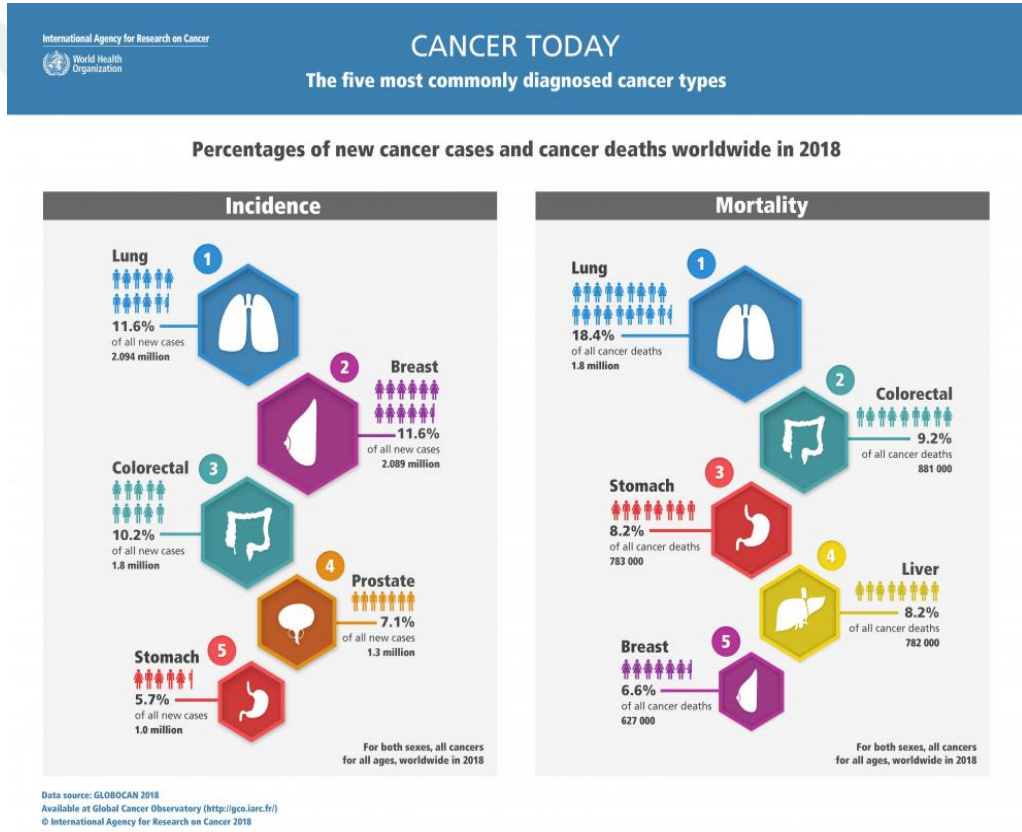
Data source: GLOBOCAN 2018
Available at Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr/>)
© International Agency for Research on Cancer 2018

(B)

Şekil 2.1. 2018 Yılında Öngörülen Toplam Kansere Vaka Sayıları (A) ve Ölüm Oranlarının Dünya Genelindeki Dağılımı (B) [40].

2018 yılında gözlenen toplam kanser vaka sayılarının kıtalara göre dağılımları ve yüzdeleri; Asya (% 48.4), Avrupa (% 23.4), Amerika (% 21), Afrika (% 5.8) ve Okyanus ülkeleri (% 1.4) olarak sıralanmıştır. 2018 yılında gözlenen toplam ölümlü kanser vaka sayılarının kıtalara göre dağılımları ve yüzdeleri ise; Asya (% 57.3), Avrupa (% 20.3), Amerika (% 14.4), Afrika (% 7.3) ve Okyanus ülkeleri (% 0.7) olarak gözlenmiştir (Şekil 2.1.). Kanserle ilgili ölüm

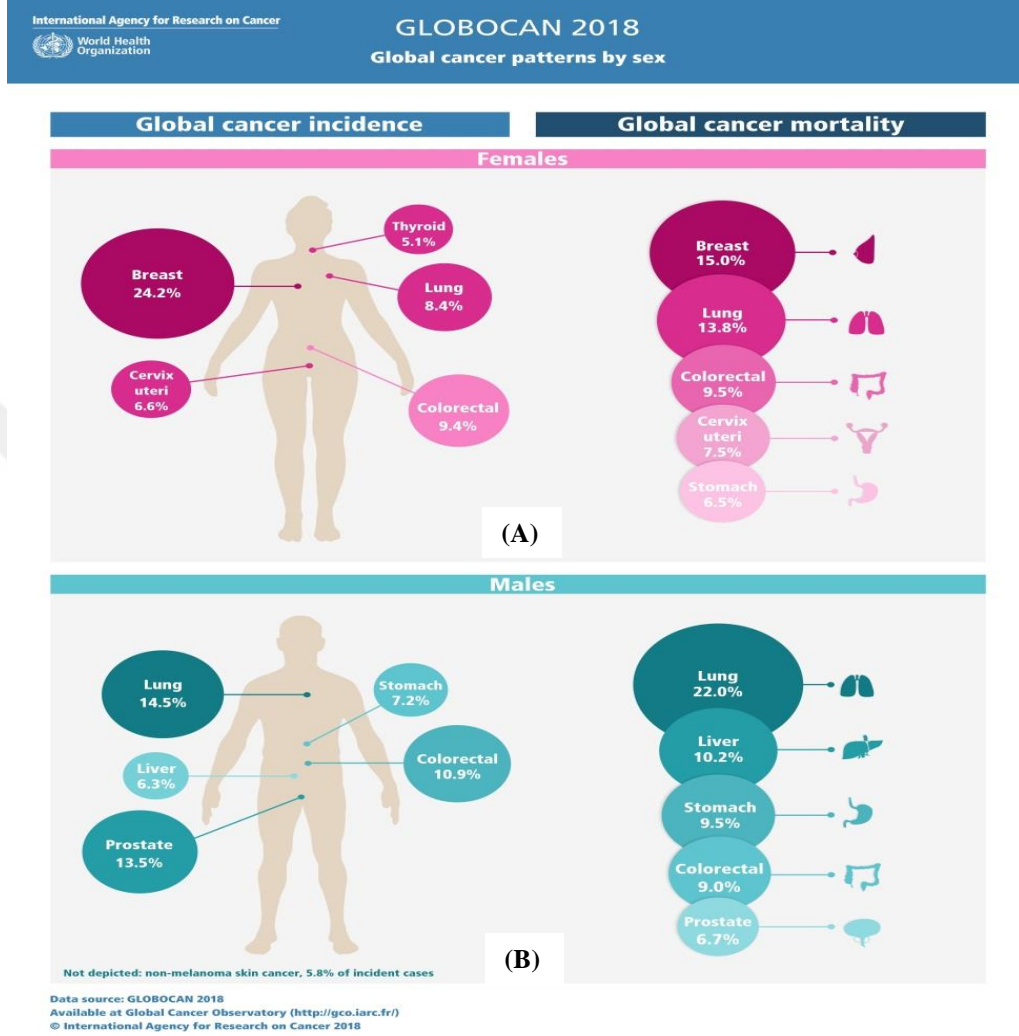
oranlarının; Avrupa, Amerika ve Okyanus ülkelerinde kanser görülme oranlarına göre düşük olduğu gözlenirken, Asya ve Afrika kıtalarında ise daha yüksek olduğu gözlenmiştir [40]. Dünya genelinde, kanser görülme oranının erkeklerde kadınlara göre iki kat daha fazla olduğu, ayrıca kanser türüne ve bölgeye bağlı olarak ölüm oranlarının erkekler arasında dokuz kata kadar kadınlar arasında ise dört kata kadar değiştiği belirtilmiştir [40]. Elde edilen diğer bir sonuç ise; bazı kanser türlerinde yaşa bağlı kansere yakalanma ve ölüm oranların hem kadınlar hem de erkekler için, gelişmiş ülkelerdeki kansere yakalanma oranı yüksek olsa dahi ölüm oranlarının gelişmemiş ülkelere göre daha az olduğu gözlenmiştir [40].



Şekil 2.2. En Yaygın Beş Kanser Türü İçin Toplam Kanser Vaka Sayıları (A) ve Ölüm Oranlarının (B) Dünya Genelindeki Dağılımı (2018 Yılı) [40].

Şekil 2.2.'de, 2018 yılında dünya genelindeki en yaygın görülen beş kanser türünün vaka sayıları ve ölüm oranları gösterilmiştir. Akciğer kanseri % 11.6 görülme oranı ve % 18.4 ölüm oranı ile ilk sırada yer almaktadır. Görülme oranları göz önüne alındığında ikinci sırayı meme kanseri almakta ve bunu,

kolorektal kanseri, prostat kanseri ve mide kanseri izlemektedir. Ölüm oranlarında ise akciğer kanserinden sonra kolorektal kanseri, mide kanseri, karaciğer kanseri ve meme kanseri yer almaktadır [40].



Şekil 2.3. En Yaygın Beş Kanser Türünün Kanser Vaka Yüzdeleri ve Ölüm Yüzdelerinin Dünya Genelindeki Dağılımı Kadınlarda (A), Erkeklerde (B) (2018 Yılı) [40]

Kadınlarda; meme kanseri, kolorektal kanser, akciğer kanseri, servik kanseri ve tiroid kanseri, erkeklerde ise; akciğer kanseri, prostat kanseri, kolorektal kanser, mide kanseri ve karaciğer kanseri en yaygın tanısı konulan ilk 5 kanser türü olarak sıralanmıştır (Şekil 2.3.). Kadınlarda en yüksek ölüm oranlarının gözlendiği kanser türleri sırasıyla; meme, akciğer, kolorektal, servik ve tiroid kanserleri iken erkeklerde; akciğer, karaciğer, mide, kolorektal ve prostat kanserleridir (Şekil 2.3.) [40].

2.3. 2018 Yılı Türkiye Kanser Verileri

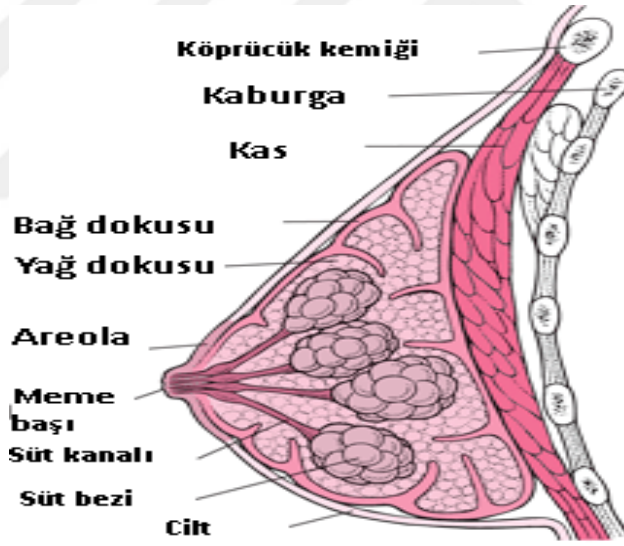
Kanserle Savaş Daire Başkanlığı ülkemizde Sağlık Bakanlığı'na bağlı olarak 1983 tarihinde kurulmuştur. Yine bu tarihte kanser hastalığının, yönetmelik ile bildiriminin yapılması zorunlu olan hastalıklar arasına alınmasıyla kanser hastalığının bakanlığa bildirilmesi sağlanmış ve bu dönemde, kanser sıklığı araştırmaları da gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda, ülkemizde ilk kez, organa spesifik kanser oranlarıyla kanser türlerinin genel profili ilişkilendirilmiştir. Kanser kayıtçılığı öncelikle pasif sistemle başlamıştır. Ancak yeterli sayı ve uygun kalitede verilerin elde edilerek toplanamaması sebebiyle 1992 tarihinde kanser kayıtlarının aktif sistemle toplanmasına başlanmıştır. İlk kez İzmir'de Kanser Kayıt ve İnsidans Projesi kapsamında aktif kanser kayıt merkezi kurulmuştur. Bu merkezin kuruluşundan 6 yıl sonra Antalya'da da Kanser Kayıt Merkezi açılarak, burada da kanser kayıtları toplanılmaya başlamıştır. Türkiye'de 1991 yılının başında gerçekleştirilen bir çalışmada 1985 ile 1990 tarihleri arasında tanısı konulan tüm kanserlerin yaklaşık %20 sinin meme kanseri olduğu, ve görülme sıklığının 1985 ile 1987 tarihleri arasında tüm kanser türleri içerisinde ikinci sıradayken, 1988 ile 1990 tarihleri arasında ise birinci sıraya yükseldiği rapor edilmiştir. 2001 yılı Sağlık Bakanlığı Kanser Savaş Daire Başkanlığı kayıtlarına göre; meme kanserinin kadınlarda tanısı konulan tüm kanserler içinde sıklığı % 24.3'dir.

Türkiye'de 2018 yılında, 210.537 yeni kanser vakası ve 116.710 ölümlü kanser vakası bildirilmiştir [40]. Görülme oranları göz önüne alındığında, meme, prostat, akciğer, kolorektum ve tiroid kanserleri ilk beş sırada yer alırken, ölüme sebep olan kanser türlerinin ise akciğer, prostat, meme, mide ve tiroid kanserleri olduğu bildirilmiştir [40]. Erkeklerde akciğer kanserinin kadınlarda ise meme kanserinin en sık teşhis edilen ve en fazla ölümlü sonuçlanan kanser türleri oldukları belirtilmiştir [40]. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre; Türkiye'de her beş ölümden biri kanser sebebiyle olup, Dünya'da olduğu gibi Türkiye'de kanser hastalığı kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır [41-42].

2.4. Meme Dokusu

2.4.1. Memenin Yapısı

Modifiye bir ter bezi olan meme; anteriortorastik duvarın en ön bölgesinde yer almaktadır. Laktasyon (süt verme) dönemi dışında bir meme ortalama olarak 10-12 cm çapında ve yaklaşık 150-400 g ağırlığındadır. Meme dokusu; glandüler doku, fibröz doku ve yağ dokusundan oluşmaktadır. Meme dokusunu oluşturan bölgeler Şekil 2.4.'de gösterilmiştir. Meme dokusu, meme yüzeyinden meme derinliklerine doğru üç alana ayrılmaktadır [43]. Bunlar: cilt ile anterior meme fasyası arasında kalan Premamarian (subkutan) alan, anteriorfasya ile posteriorfasya arasında bulunan duktuslar ile dallarını, terminal duktolobüler ünitenin büyük kısmıyla fibrözstomal elemanlarını içeren Mamarian alan, ve üçüncü olarak da yağ, kan damarları ve lenfatikleri içeren Retromamarian alanıdır.



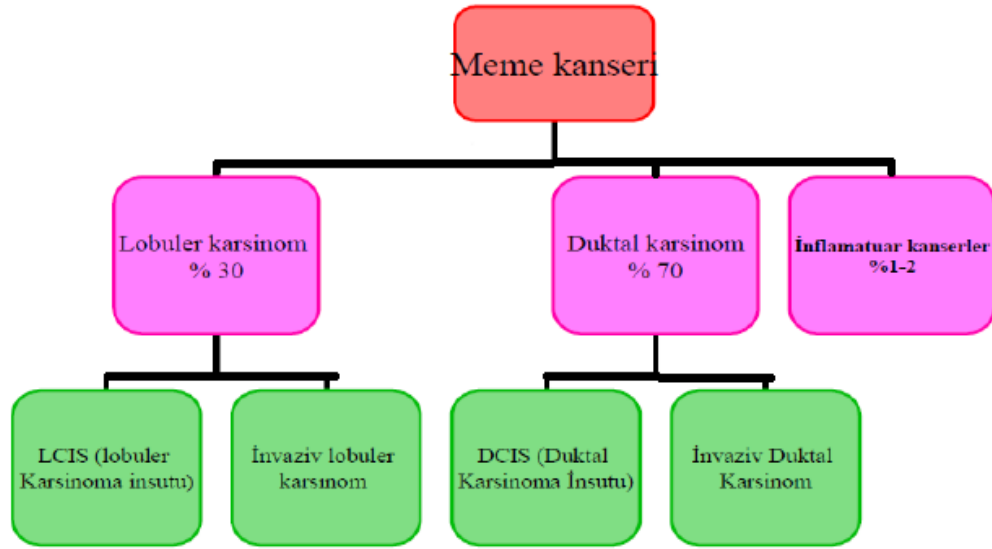
Şekil 2.4. Memenin yapısı [44]

Meme, 15 ile 20 arasında bir sayıda lobdan (segmentten) meydana gelmektedir [43]. Memede bulunan bu loblardan her bir lob memenin başından başlayarak ışınal simetride doku içerisine dağılmıştır. Memeyi oluşturan her bir lobun memenin baş bölgesine doğru yönelmiş ayrı birer kanalı bulunmaktadır. Her lob 20 ile 40 arasında değişen bir sayıda lobulus içermekte olup her bir lobulusta yaklaşık olarak 10 ile 100 adet asinus (duktül) ihtiva etmektedir. Lobuluslarda bulunan asinuslar birleşerek memede yer alan terminal duktusa

(ekstralobüler ve intralobüler segmentlerden oluşur) açılmaktadır [45]. Lobus, bir terminal duktusun intralobüler segmenti ve bu segmente açılan asinuslardan oluşmaktadır. Bu yapı terminal duktolobüler ünite olarak adlandırılmaktadır [46-47]. Terminal duktus yapıları birleşerek subsegmental duktus adı verilen yapıyı, subsegmental duktuslar da birleşerek segmental (laktifer) duktusu meydana getirmektedirler. Laktifer duktus bölümü meme başında genişlemekte ve bu yapı da laktifer sinüs olarak adlandırılmaktadır. Laktifer sinüs de ampulla ile meme başı bölgesinden dışarıya açılmaktadır [48]. Laktifer sinüs bölgesi, laktasyon sırasında sütün toplandığı yerdir. Areola bölgesinde sebaseglandlar bulunmaktadır. Bu sebaseglandlar gebelik süresince areola ve meme başı bölgelerini koruyan bir madde salgılamaktadır. Areola bölgesinin altında yağ dokusu bulunmamaktadır. Meme başı, areola orta kesiminde yerleşmiş olan koni veya silindir şeklindeki çıkıntı olup yağ dokusu içermemektedir. Genellikle 4. interkostal aralıkta bulunmaktadır. Ancak konumu kişiler arasında farklılık gösterebilmektedir. Meme başının uç bölgesinde laktifer sinüslerin açıldığı bölgeler bulunmaktadır [49]. Aksiller kuyruk, yukarı ve lateral bölgeye doğru uzanan, derin fasyayı delerek geçen ve aksiller damarlarla yakın bölgede bulunan kısımdır [50].

2.5. Meme Kanseri

Meme kanseri, süt kanalları ile meme lobüllerini meydana getiren hücrelerin kontrolsüz bölünmeleri ve bu hücrelerin vücudun başka bölgelerine göç ederek (metastaz yaparak) o bölgelerde de çoğalmaya devam etmeleriyle gelişmektedir. Meme kanserleri, patolojik olarak, kanserleşen hücrelerinin lokalize olduğu bölgelere (primer kanser hücrelerinin olduğu bölge) veya yayılma eğilimlerine göre sınıflandırılmaktadırlar. Süt kanallarından meydana gelen kanser tipine ductal karsinom, lobüllerden meydana gelen kanser tipine de lobüler karsinom adı verilmektedir. Kanser hücreleri, türevlendikleri bölgeler ve doku ile sınırlı kalırlarsa in situ, yayılma eğilimi gösterirlerse yani metastaz yaparlar ise invazif meme kanseri olarak adlandırılmaktadırlar [51]. Meme karsinomlarının yaklaşık olarak %15'ini invazif lobüler karsinomlar oluşturmaktadır [52].



Şekil 2.5. Meme Kanser Türleri

Meme kanserleri; gen anlatımı profilinin tespit edilmesi, tümör ile lenf nodlarının derecelendirilmesi ve çeşitli belirteçlerin (biyomarkırların) varlığının olup olmamasına göre sınıflandırılmaktadır. Meme kanserleri, memeli hücrelerinde bulunan ve meme kanseri oluşum sebeplerinden birisi olan östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve epidermal büyüme faktörü reseptörü (HER2) ekspresyonları göz önüne alınarak beş ayrı alt gruptan oluşmaktadır (Tablo 1).

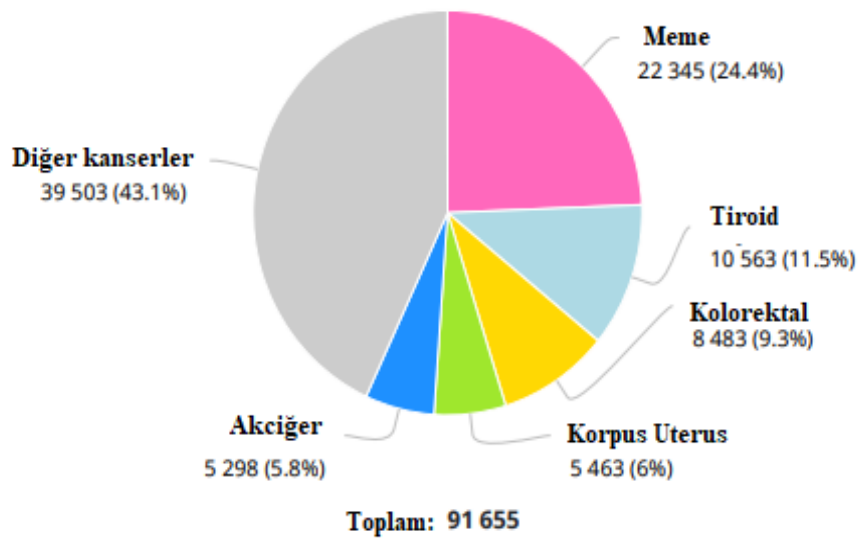
Tablo 1. Meme kanseri hücrelerinin sınıflandırılması ve kullanılan meme kanseri hücre hatları profilleri

Sınıflandırma	İmmünoprofil	Hücre Hatları
Luminal A	ER ⁺ , PR ^{+/-} , HER ⁻	MCF-7, T47D
Luminal B	ER ⁺ , PR ^{+/-} , HER ⁺	BT474, ZR-75
Bazal	ER ⁻ , PR ⁻ , HER ⁻	MDA-MB-468
Normal	ER ⁻ , PR ⁻ , HER ⁻	MDA-MB-231
HER2	ER ⁻ , PR ⁻ , HER ⁺	SKBR3, MDA-MB-453

2.6. Meme Kanseri Dünya ve Türkiye’de Epidemiyolojisi

Dünya sağlık örgütü tarafından 2018 yılında açıklanan verilere göre meme kanserinin tüm kanser türleri arasında görülme sıklığı % 24.2 olarak rapor edilmiş olup meme kanseri kadınlarda görülme sıklığı en yüksek olan kanser

türü olarak bildirilmiştir [40]. 2018 yılında tespit edilen meme kanseri ile ilişkili ölüm sayısı 627 bin kişi olup Dünyada kadınlar üzerinde teşhisi konulan her 4 kanser türünden biri meme kanseridir. Meme kanserinin görülme sıklığı Dünya üzerinde ülkeler arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Meme kanserinin görülme sıklığının en yüksek olduğu bölge Kuzey Amerika kıtasıdır (99.4/100.000). Buna karşılık meme kanseri ilişkili ölüm oranının en düşük olduğu bölge yine Kuzey Amerika kıtasıdır (yaklaşık % 25). Çin’de ve Afrika kıtasında meme kanserine yakalanma oranı çok düşük olmasına karşın (sırasıyla 11.7 ve 13.64/100.000) ölüm oranı oldukça yüksek oranlarda seyretmektedir (yaklaşık % 45). Meme kanserine bağlı ölüm oranı az gelişmiş ülkelerden gelişmiş ülkelere doğru gidildikçe azalmaktadır. Meme kanserinin farklı gelişmişlik seviyesindeki ülkelerde görülme ve ölüm oranları arasındaki tespit edilen bu farklılıkların altında yatan sebeplerin; yaş, diyet ve yaşam şekli gibi çeşitli farklılıklar olduğu düşünülmektedir [40, 52]. Meme kanseri ile ilişkili olarak tespit edilen önemli paradoksların bir tanesi de beyaz ırka mahsus kadınlarda meme kanserinin görülme sıklığının siyahilere oranla yaklaşık % 20 gibi önemli bir oranda daha fazla olmasına rağmen, ölüm oranlarının siyahi ırkta daha fazla olmasıdır. Etnik farklılıklar arasında oluşan bu paradoksun yaşam tarzı ve sosyoekonomik durumlardan kaynaklandığı düşünülmektedir [40, 52].



Şekil 2.6. Türkiye’de Kadınlarda en sık görülen ilk on kanserin yaşa bağlı olarak oranlanmış hızlarının dağılımları [40]

2018 yılı Sağlık Bakanlığının verilerine göre; kadınlarda yüksek sıklıkla görülen ilk on kanser türünün yaşa göre oranlanmış dağılımları belirlenmiştir (Şekil 2.7.). Meme kanserinin % 24,4'lık dilime sahip olduğu saptanmıştır [40, 52]. Sağlık Bakanlığı'nın açıkladığı veriler ile Meme Hastalıkları Dernekleri Federasyonu'nun açıkladığı veriler beraber analiz edildiğinde Türkiye'nin batı bölgelerinde meme kanseri görülme sıklığının doğu bölgelerine oranla yaklaşık olarak 2 kat fazla olduğu rapor edilmiştir [53].

2.7. Meme Kanseri Risk Faktörleri

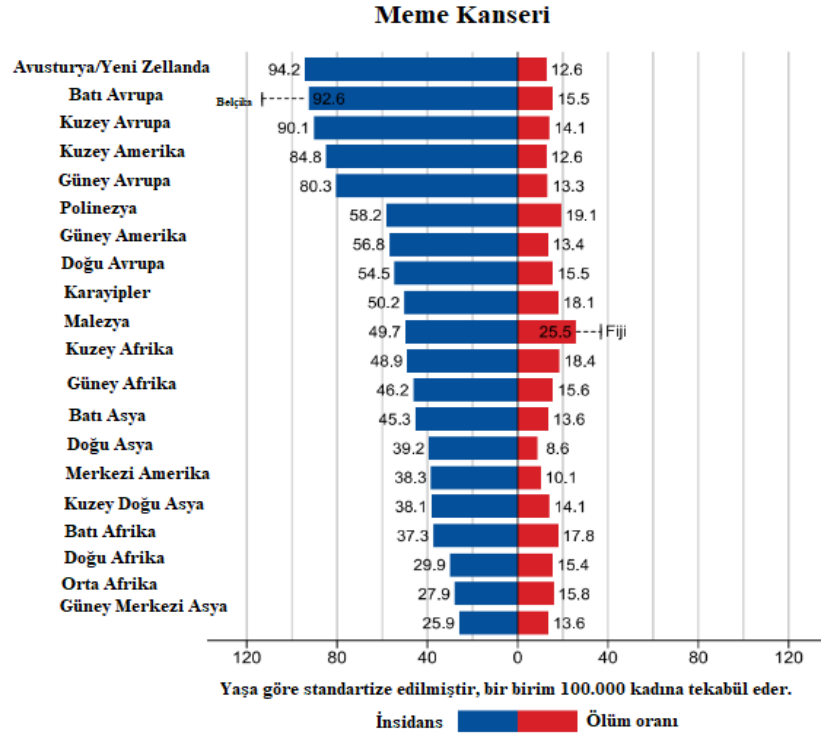
Meme kanseri üzerine yapılan birçok çalışmada elde edilen veriler meme kanseri oluşum ve gelişim sürecinin ve buna bağlı olarak da teşhis ve ölüm sayılarının farklı olduğunu göstermektedir. Bu değişkenlik günümüzde bilinen birçok risk faktörü nedeniyle oluşmaktadır. Risk faktörlerinin içinde en önemlileri ise yaş, ailevi geçmiş, yaşam şekli, üreme ile ilgili faktörler ve çevresel faktörlerdir [54].

2.7.1. Yaş

Meme kanserinin oluşmasında yüksek etkiye sahip risk faktörleri analiz edildiğinde ileri yaşa sahip olmanın oldukça önemli bir risk faktörü olduğu gözlenmiştir [54]. Yapılan birçok çalışmada menopoz öncesi yaşlarda (bazı kadınlarda değişebilmekle beraber genellikle 40-50 yaş aralığı) meme kanseri riskinin giderek arttığı tespit edilmiştir [54]. Dünya'da meme kanseri tanısı konulan kadınlar ile gerçekleştirilen çalışmalarda, tanı konulan kadınların yaklaşık olarak % 70'inin 50 yaşında veya üzerinde olduğu rapor edilmektedir. Ayrıca 50 ve üzerinde yaşa sahip kadınların meme kanserine yakalanma sıklığının, 50 yaşından küçük kadınlara göre yaklaşık olarak 4 kat fazla olduğu vurgulanmaktadır. Meme kanserinin yaşa bağlı olarak farklı coğrafi bölgelerdeki dağılımı Şekil 2.7.'de gösterilmektedir [40]. Sağlık Bakanlığı'nın kadınlar üzerinde yapmış olduğu istatistiksel çalışmaya göre de; meme kanserine yakalanma riskinin yaşa bağlı olarak giderek arttığı ve özellikle de 45-49 ile 50-54 yaşları aralığındaki kadınlarda meme kanseri riskinin genç yaşlardaki kadınlara göre oldukça fazla olduğu bildirilmektedir.

Gerçekleştirilen birçok çalışmada, genç yaştaki meme kanseri hastalarının üçlü negatif meme kanseri (östrojen reseptörü negatif, progesteron reseptörü negatif

ve HER-2 negatif) özelliğe sahip olduğu ve bu reseptör proteinlerinin ekspresyonlarının gerçekleşmediği bildirilmiştir [55-56]. İleri yaştaki bireylerde ise genellikle hormon reseptörü pozitif olduğu, bu reseptör proteinlerinin aşırı ekspresyonlarının olduğu rapor edilmiştir [57].



Şekil 2.7. Meme kanserinin yaşa bağlı olarak farklı coğrafi bölgelerde dağılımı [40].

2.7.2. Ailesel ve Genetik Risk Faktörleri

Kuzey Amerika Kıtası ve Avrupa’da teşhisi konulan meme kanseri olgularının %10’dan fazlası genetik yatkınlık gösteren bireylerden oluşmaktadır. Meme kanseri oluşumunda tam olarak kaç farklı genin rol aldığı henüz tam olarak bilinmemektedir. Ancak, 13. ve 17. kromozomlardaki lokuslarda lokalize bulunan *BRCA1* ile *BRCA2* genlerinin meme kanseri ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Meme kanseri görülme sıklığının beyaz ırkta yaklaşık olarak 1/800, Askenazi Yahudilerinde ise %2 oranında olduğu rapor edilmiştir [40]. Türkiye popülasyonunda *BRCA* mutasyonuna sahip olma oranlarının oldukça düşük olduğu bildirilmektedir [58]. 667 adet over kanseri tanısı konmuş vakada *BRCA* geninde mutasyon araştırılan bir çalışmada tüm vakalarda yalnızca %1 oranında *BRCA* mutasyonu saptanırken, aile öyküsü olan vakaların içerisinde

% 9.8 oranında BRCA mutasyonu saptanmıştır [59]. Karadeniz bölgesinde 211 adet meme kanseri tanısı konulmuş vakada *BRCA1* ile *BRCA2* genlerindeki mutasyonları araştıran bir çalışmada da, *BRCA1* geninde mutasyon % 1.9 olarak saptanmış olup *BRCA2* geninde mutasyon gözlenmemiştir [59].

Meydana gelen genetik mutasyonların neticesinde oluşan meme kanseri türlerinin çoğu 65’li yaşlardan önce gelişmektedir. Birinci dereceden olan akrabalarında 50 yaşından önce meme kanseri teşhisi konulan bir kadının meme kanserine yakalanma riski yaklaşık olarak iki kat yada daha fazla artmaktadır. Bunun yanı sıra meme kanseri teşhisi konulan akrabanın yaşı ne kadar genç ise, birey için meme kanserine yakalanma risk de o kadar artmaktadır. Örneğin kız kardeşinde 30 ile 39 yaşları arasında meme kanseri teşhisi konulan bir kadının, 65 yaşına doğru artan meme kanseri oluşma riskinin %10 olduğu, ancak kız kardeşi 50 ile 54 yaşları arasında meme kanseri teşhisi konulan bir kadının ise yaklaşık olarak %5 olduğu rapor edilmiştir [59]. Eğer iki farklı birinci dereceden akrabada meme kanseri teşhisi konmuş ise risk 4 ile 6 kat arasında artmaktadır [59].

2.7.3. Yaşam Tarzı

Meme kanseri ile yakından ilişkili olan bir diğer faktör yaşam tarzıdır. Bunun içerisinde en önemli olanlar ise beslenme ve alkol kullanımınıdır.

Alkol; gerçekleştirilen epidemiyolojik çalışmalarda alkol tüketiminin kadınlarda menopoza öncesinde ve sonrasında meme kanserine yakalanma riskini arttırdığı rapor edilmiştir [60]. Meme kanserine yakalanma riskinde meydana gelen bu artış tüketilen alkol miktarı ile doğru orantı göstermektedir. Şekil 2.8’de alkol kullanımı ile meme kanserine yakalanma arasındaki ilişki gösterilmektedir [60]. Menopoz öncesi dönemdeki kadınlarda da özellikle adetli yumurtlama döneminde tüketilen alkolün östrojen hormonu seviyesinde oldukça belirgin bir artışa sebep olması sebebiyle özellikle bu dönemde yoğun alkol tüketilmesi önerilmemektedir. Menopoz sonrasındaki dönemlerde de alkol alınımı östrojen seviyelerini doğrudan arttırmaktadır. Alkol tüketimi ayrıca bağışıklık sistemi ve beslenmeyi de bozmaktadır. Bunun sonucunda da vitamin (A, B6, B12, D, E ve folat) ile minerallerde (özellikle selenyum) eksikliğe sebep olmaktadır. Tüm bu nedenlerden dolayı vücudun kanser

oluşumuna ve gelişimine karşı sürdürdüğü savaşı bozmaktadır. Özellikle de menopoza girdikten sonraki dönemlerde alkol alan kadınlarda meydana gelen folat yoksunluğu sebebiyle, folat alımının artırılmasının, meme kanserinin alkol sebepli artış riskini azaltabileceği düşünülmektedir [60].

Beslenme; doğal antioksidan bileşiklerin, çeşitli esansiyel vitaminlerin ve diğer fitokimyasalların en temel kaynağını oluşturan meyvelerin ve sebzelerin düzenli tüketilmesinin, meme kanserine yakalanma riskinde azalmayı sağladığı bildirilmiştir. Günlük tüketilen sebze porsiyonu miktarının, doğrudan meme kanseri riskini etkilediği bildirilmiştir. Meyve ve sebzelerin meme kanserine karşı menopoz öncesi ve menopoz sonrası koruyucu etkisinin varlığı da saptanmıştır. Bitki kaynaklı gıdaların renklerinin koyu yeşil, sarı, kırmızı, veya turuncu renkte olması, bu gıdaların lif, antioksidan ve antikanserojen maddeleri yoğun olarak ihtiva ettiğine işaret etmektedir. Bunun yanı sıra meyve, sebze, kırmızı şarap ve çayda oldukça zengin bir şekilde bulunan flavonoidlerin, yumurtalık ve meme kanserlerine yakalanma riskinde azalmayı sağladığı rapor edilmiştir [61-62].



Şekil 2.8. Alkol kullanımının meme kanseri oluşum riski ile ilişkisi [60].

Soya ürünlerinin de içerdikleri bitkisel östrojen hormonu sebebiyle tüketildiklerinde meme kanserine yakalanma riskinde kayda değer bir azalmayı sağladıkları rapor edilmiştir. Bitkisel kaynaklı östrojen, memeli östrojenine

göre östrojen reseptörü üzerinde daha zayıf bir etkiye sahiptir ve bunun yanı sıra insan östrojeninin de etkisini azaltmaktadır. Ancak kişi bir defa meme kanseri ile teşhis edildiğinde, bitkisel östrojen de meme kanseri hücrelerini çoğaltabileceği ve tedavi süresince alınan antiöstrojenlerin etkilerini azaltabileceği için kullanılmamaları gerektiği bildirilmiştir [61-62].

2.7.4. Üreme ile İlgili Faktörler

Kadınlarda menapoz döneminden sonra ki dönemlerde, östrojen hormonunun temel kaynağı adrenal bezlerden salgılanan dehidroepiandrosterondur. Bu bileşik periferik yağ dokusunda metabolize edilerek östradiol veya östrona dönüştürülmektedir. Kadınlarda östrojene maruz kalınan sürede meydana gelen artış (erken menarş dönemi; 12 yaş döneminden önce ve geç menapoz dönemi; 55’li yaşlardan sonraki dönem), meme kanseri tümörlerinin gelişme ve oluşma riskinde meydana gelen artışla doğrudan ilişkilendirilmiştir. [63]. Gebelik ile ilişkili olduğu tespit edilen meme bölgesi epitelinin terminal farklılaşması da meme kanserine karşı koruyucudur. Bu sebeple ilk doğumun kadının ileriki yaşlarında yapılmış olması veya hiç doğum yapılmamış olması meme kanseri riskinde oluşan artışla ilişkilendirilmiştir [63]. Daha önce hiç doğum yapılmamış olması meme kanserine yakalanma riskinde yaklaşık olarak 1.2 ile 1.7 katlık bir artışa sebep olmaktadır. Çoklu doğum yapılmış olmasının meme kanserine karşı olan koruyucu etkisi ile tartışmalıdır. İnfertilitenin (kısırlığın) meme kanserine yakalanma riskini azalttığı şeklindeki veriler ile kısırlık tedavisinin meme kanserine yakalanma riskini nasıl etkilediği yönündeki veriler ise çelişkilidir [63].

2.7.5. Çevresel Faktörler

Meme kanseri gelişiminde genetik faktörlerin yanı sıra çevresel faktörler de oldukça önemli rol oynamaktadır. Bu faktörler arasında en önde gelen iyonize radyasyondur. Özellikle genç yaştaki kadınların iyonize radyasyona maruz kalması kanser riskini büyük oranda arttırmaktadır [64]. Çünkü erken yaşlarda vücuttaki hücre bölünmesi daha fazladır, radyasyon sonucu açığa çıkan DNA hasarı böylelikle daha çok kopyalanmakta ve kanser riski artmaktadır. Radyasyona maruz kalma süresindeki artışla doğru orantılı olarak kanser oluşum riski de artmaktadır [64].

Meme kanseri oluşumunda yukarıda ayrıntılı olarak açıklanan faktörlerin yanısıra; azalmış fiziksel aktivite, obezite veya hormon terapisi gibi çeşitli faktörlerin de etkili olabileceği belirtilmiştir [65].

2.8. Meme Kanseri Evreleri

Diğer kanser çeşitlerinde olduğu gibi meme kanseri de erken ve geç evrelerden oluşmaktadır. Erken evredeki meme kanseri hastalarında hastalığın seyri zor olmamakla birlikte teşhisten sonraki 5 yıl gibi bir dönemde yaşama oranları % 70'dir. Meme kanseri; tümör büyüklüğü, nodların durumu/konumu ve metastatik potansiyele göre dört evreye ayrılmıştır. Bu evreler aşağıda açıklanmıştır [66].

Evre 0: Bu aşamada kanser hücreleri henüz çevreye yayılabilme potansiyeli kazanmamış ve ayrıca lokalizasyon olarak yalnızca memede sınırlı kalmışlardır.

Evre I: Bu evreye ulaşan kanser hücreleri artık meme dokusuyla sınırlı kalmak kaydıyla meme dokusu içerisinde herhangi bir bölgeye göç edebilme yani invazyon yeteneğine sahip olurlar. Bu evre iki alt gruptan oluşmaktadır.

Evre IA: Tümörün yaklaşık olarak 2 cm çapında olduğu ve meme dokusu içerisindeki bölgelere invazyon gösterebilme yeteneğine sahip olan meme kanseri hücreleridir.

Evre IB: Bu evrede tümör dokusu bulunmamakla birlikte daha küçük gruplar halinde hücre toplulukları varlığı söz konusudur ve çapları 0,2-2 mm aralığında olan kanser hücreleri invazif potansiyele sahiplerdir. Meme dokusundan lenf sistemine geçebilmektedirler. Kanser hücreleri mikroskobik olup meme dokusundaki kanal ve loblardan dışarıya göç edebilmektedirler.

Evre II : Bu evrenin iki alt grubu bulunmaktadır.

Evre IIA: Tümör çapları 2 mm'den büyük olanlar meme dokusunda bulunmamakla birlikte her üç aksiller lenf nodlarından birinde bulunmaktadır. 2 cm ya da daha küçük çaptaki tümörler genellikle aksiller lenf nodlarına yayılmaktadır. Bu evredeki tümör çapları çoğunlukla 2-5 cm olmaktadır.ve bunlar lenf nodlarında bulunmamaktadır.

Evre IIB: Bu evredeki tümör hücreleri 2 cm'den büyük 5 cm'den küçük olmakla birlikte her üç aksiller lenf nodlarından birinde ve göğüs kemiğine

yakın lenf nodlarında bulunmaktadır. 0,2-2 mm aralığındaki tümörler ise yalnızca lenf nodlarında bulunmaktadır.

Evre III: Bu evrenin üç alt grubu bulunmaktadır.

Evre IIIA: Tümör dokuları herhangi bir büyüklüğe sahip olabilirler veya meme dokusunda tümör bulunmayabilir. Göğüs kemiğine yakın lenf nodlarında veya aksiller lenf nodlarında tümör dokuları bulunmaktadır. Tümör büyüklüğü 5 cm'den daha büyüktür ve daha küçük gruplar ise daha çok lenf nodlarında bulunur.

Evre IIIB: Tümör herhangi bir büyüklükte olabilir ve göğüs duvarında veya derisinde şişkinlik veya yaraya neden olur. Meme derisinin büyük bir kısmında kızarıklık meydana gelir, yanma hissi ve kabarıklıklar oluşur.

Evre IIIC: Memede herhangi bir kanser belirtisi olmayabilir veya tümör var ise herhangi bir büyüklükte olabilir. On ya da daha fazla aksiller lenf nodlarında yayılım görülür. Lenf nodunun üstünde ve köprücük kemiğinin altında yayılım görülebilir.

Evre IV: Uzak metastatik kanser aşamasındadır. Kanser hücreleri vücudun diğer bölgelerine yayılmıştır.

2.9. Meme Kanserinin Tedavi Yöntemleri

Meme kanseri tedavisinde; lokal (cerrahi tedavi, radyoterapi) ve sistemik tedavi (kemoterapi, endokrin tedavi) gibi farklı türde tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Meme kanseri için tedavi yönteminin belirlenmesindeki en önemli etmen hastalığın evresidir.

2.9.1. Cerrahi Yöntem

Meme kanseri tedavisinde en yaygın kullanılan yöntemlerden birisi olup farklı uygulama şekilleri bulunmaktadır. *Kısmi mastektomi* sadece memedeki tümörün alındığı ancak memenin alınmadığı yani memenin korunduğu cerrahi yöntemdir. Tümörlü dokular alınırken etraftaki bazı hastaliksız dokular da alınmaktadır. *Total mastektomi;* tüm memenin alındığı durumdur. Koltuk altındaki lenf nodlarının alınmadığı duruma basit mastektomi denir. *Modifiye radikal mastektomi;* memenin tümünün alındığı, koltuk altındaki lenf nodlarının çoğunun ya da tümünün alındığı durumdur. İki göğüs kasından küçük olan da lenf nodlarının alınmasını kolaylaştırmak için alınabilmektedir.

2.9.2. Radyoterapi:

Radyasyon terapisi, kanser hücrelerini yok etmek için kullanılan yüksek enerjili X-ışınlarının kullanıldığı bir tedavi yöntemidir. Radyasyon, vücudun dışından kanserli bölgeye uygulanabileceği gibi (dış radyasyon) tümörlü dokunun doğrudan içine radyoaktif madde enjekte edilerek (iç radyasyon) de gerçekleştirilebilmektedir. Meme kanseri tümörlerinin tedavisinde sıklıkla uzun süre ve düzenli olarak dış radyasyon yöntemi kullanılmakta ve X-ışınları uygulanmaktadır. Radyoterapi uygulaması cerrahi müdahaleden sonra meme, göğüs duvarı veya koltuk altı bölgelerinde kalan kanser hücrelerini elimine etmek amacıyla kullanılabilir gibi, nadiren de olsa cerrahi müdahale öncesinde tümörün boyutunun küçültülmesi amacıyla da uygulanabilmektedir [62].

2.9.3. Hormonal Terapi

Hastalığın hormonal tedavi denilen ilaçlar ile tedavi edilebileceğini gösteren iki gösterge, östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörüdür (PR). Bu reseptörlerin tümör hücrelerinin yüzeylerinde bulunma miktarları arttıkça, meme kanserinin hormonal tedavi kapsamında incelenen ilaç tedavilerinden fayda görme ihtimali de o miktarda artmaktadır. Meme kanseri hücrelerinin ihtiva ettiği ER ve PR'lerinin oranları ne kadar fazlaysa, bu tümör hücrelerinin kanda bulunan östrojen ve/veya progesteron seviyelerinden de aynı oranda etkili bir şekilde etkilendiğini göstermektedir. Meme kanseri hücreleri özellikle kanda bulunan östrojenin etkisiyle artan kontrolsüz bir artış göstermekte ve vücudun diğer bölgelerine yayılmaktadırlar. Hormonal tedaviyi oluşturan kanser ilaçları, kanda bulunan östrojen hormonuyla meme kanseri hücrelerinin ER ve PR proteinlerine bağlanarak bu reseptörleri östrojene karşı sessizleştirirler. Bunun sonucunda da, tümör hücrelerinin östrojene bağlı çoğalma kapasiteleri inhibe edilmiş olur ve bu hücreler östrojene karşı duyarsızlaşırlar [64].

Tamoksifen, en sık ve en uzun süredir kullanılan hormonoterapi ilacı olup hem anti-östrojenik hem de östrojenik etki göstermektedir [67]. Yani; östrojen ile yarışarak meme kanseri hücrelerinin reseptörlerini bloke etmekte ve böylece östrojenin, meme kanseri hücresinin çoğalmasını arttırıcı etkisini

engellemektedir. Diğer yandan, kemik dokusunun mineral metabolizmasını dengeleyerek lipid profili üzerine de olumlu etkilere sahip olarak (östrojene karşı agonistik etki) kemik erimesini engellemekte ve kan dolaşımında bulunan yağların düşük düzeyde kalmasını sağlamaktadır.

LHRH-analogları ise genellikle meme kanseri tedavi süreci bittikten sonra geçici bir süreliğine yumurtalık fonksiyonlarını baskılama amacı ile hastaya verilen hormonal tedavi ilaçlarıdır. Fulvestrant, seçici östrojen reseptör down-regülatörlerindedir. Genellikle menopoz sonrası östrojen reseptörü-pozitif meme kanseri hastalarına uygulanmakla birlikte tamoksifen gibi östrojen ile yarışıl bir etki göstermektedir [68]. Mifepristone, östrojen reseptörünün yanı sıra progesteron reseptörüne de progesteron ile yarışıl olarak yüksek afinite ile bağlanmakta ve progesteron reseptörünün aktivasyonu sonucu, oluşan sinyalin çekirdeğe iletilmesini engellemektedir [68].

Menopozdan önce kadınlardaki östrojenin büyük bölümünü yumurtalıklar üretilirken, menopoz sonrasında kadınlarda bulunan östrojen miktarı azalmakta ve androjen üretimi artmaktadır [68]. Klinik araştırmalarda aromataz inhibitörlerinin meme kanseri hücreleri üzerindeki inhibe edici etkileri gösterilmiştir. Hem erken evrede bulunan hem de ileri evrede olan hormon reseptörü bakımından pozitif invaziv meme kanserli menopoz sonrası kadınların genel tedavisinde aromataz inhibitörleri sıklıkla tercih edilmektedir. Kesin olarak menapoza girmiş olan 50 yaşını aşmış kadınlarda salgılanması böbrek üstü bezlerinden gerçekleştirilen veya vücuttaki yağ dokusundan üretimi gerçekleştirilen ve düzeyi artan östrojenin, geri dönüşümünü gerçekleştiren aromataz enziminin çalışmasını bloke ederek östrojen hormonu düzeyini azaltan bir hormonal tedavi ilacıdır. Meme kanseri hücre hatlarında gerçekleştirilmiş olan bir çok çalışmada söz konusu ilacın yüksek ölçüde etkin ve oldukça güvenilir bir tümör tedavi ajanı olduğu aynı zamanda da meme tümörü tedavisinde kullanım için de uygun bir ilaç olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca tamoksifen ile karşılaştırılmalı yapılan araştırmalarda aromataz inhibitörlerinin, tüm evredeki meme kanseri vakalarında Tamoksifen'den daha etkin bir ilaç olabildiği gösterilmiştir [64].

2.9.4. Kemoterapi

Kemoterapi, tablet halinde, kas vb. dokulara doğrudan enjeksiyon yoluyla, kan dolaşımına damar yoluyla serum şeklinde gerçekleştirilen enjeksiyon (introvenöz uygulama gerçekleştirilir) ve kapsül halinde olmak üzere farklı şekillerde uygulanabilmektedir [69-70].

Meme kanseri teşhisini takiben uygulanan kemoterapi ilaçları yalnızca meme dokusunda bulunan meme kanseri hücrelerini değil tüm vücuda yayılmış olan meme kanseri hücrelerini öldürme amacı ile kullanılmaktadır. Bu sebeple bu ilaçlar vücutta toksik etkiler oluşturmaktadırlar. Meme kanseri süresince uygulanan kemoterapi İntravenöz yoldan doğrudan kan dolaşımına ilacın verilmesi ile uygulanabildiği gibi oral yoldan tablet şeklinde de uygulanabilmektedir. Meme kanserinde uygulanan iki çeşit kemoterapi vardır:

2.9.4.1. Adjuvan Kemoterapi

Meme dokusunun cerrahi ile alınmasından sonra uygulanan kemoterapidir. Meme dokusu alındıktan sonra geriye kalan ve metastaz yoluyla vücudun geri kalan bölgelerine yayılmış olan kanser hücrelerini öldürmek amacıyla kullanılmaktadır. Adjuvan kemoterapi de amaç hastalığın yeniden nüksetmesini ve metastaz yaparak yayılmasını önlemektir [69-70].

2.9.4.2. Neoadjuvan Kemoterapi

Meme dokusunun cerrahi ile alınmasından önce uygulanan kemoterapidir. Neoadjuvan kemoterapi spesifik olarak bölgesel gelişim gösteren ileri seviye meme kanserleri tümörlerinin tedavisi sürecinde uygulanmaktadır. Neoadjuvan kemoterapi meme kanseri tümörünün küçülmesini sağlamak ve meme kanseri cerrahisini kolaylaştırmaktadır. Kullanılan birincil kemoterapik maddeler meme kanseri tümörünün küçülmesini sağlamakta yetersiz kalır ise, başka kemoterapik maddelere geçilmektedir [69-70].

2.10. Kemoterapi Yan Etkileri

Her iki tedavi türünde de klinik olarak onaylanmış ve kullanılmakta olan kemoterapi ilaçları oldukça fazla yan etkilere sebep olmaktadır [69-70]. Söz konusu yan etkiler şu şekilde sıralanabilmektedir:

2.10.1. Halsizlik

Halsizlik, kemoterapi tedavisi süresince ve sonrası en sık karşılaşılan yan etkilerden birisidir ve görülme sıklığı olarak birinci sıradadır. Kemoterapi sonrası görülen halsizlik, kansızlığa (anemi) veya hastanın duygusal olarak tükenmişlik duygusu bağlı olmak üzere oldukça çeşitli sebeplere bağlı olarak gerçekleşebilmektedir. Şayet halsizliğin sebebi kan değerlerinde gerçekleşen düşme ise, kan değerleri kan transfüzyonu gerçekleştirilerek eski değerlerine yükseltilir ve halsizlik ortadan kaldırılabilir. Ancak halsizlik psikolojik sebeplere bağlı olarak meydana gelmekte ise bu durumda mutlaka uzman birinden psikolojik yardım alınması gerekmektedir [69-70].

2.10.2. Bulantı ve Kusma

Kemoterapi sürecine bağlı olarak meydana gelen bulantı ve kusma kemoterapiden hemen sonra doğrudan ortaya çıkabileceği gibi kemoterapi tedavisini takip eden ileriki günlerde de ortaya çıkabilmektedir. Bazı durumlarda ise, ilginç olarak hastalarda henüz daha kemoterapiye başlamadan “beklenti bulantısı” adı verilen bulantı da görülebilmektedir. Kemoterapi süresince meydana gelen bulantı ve kusma şikayetleri, günümüzde geliştirilen yeni ilaçlar sayesinde önlenebilen veya oldukça az düzeye indirilebilen yan etkilerdir [69-70].

2.10.3. Saç Dökülmesi

Uygulanan kemoterapik maddelerden bazıları geçici olarak saçların dökülmesine sebep olabilmektedir. Kemoterapi süresince görülen saç dökülmesinin seviyesi, alınan kemoterapi ilacının türüne ve uygulanan dozuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Kemoterapi süresince gerçekleşen saç dökülmesi genellikle tedavi başladıktan yaklaşık olarak 2 ile 3 hafta sonra başlamaktadır. Söz konusu saç dökülmesi süreci geçici bir süreçtir ve kemoterapi tedavisi tamamlandıktan sonraki 3. veya 4. haftadan sonra saçlar yeniden çıkmaya başlamaktadır. Kemoterapi süresince saçların dökülmesinin sebebi, kemoterapi ilaçlarının öncelikli olarak yüksek bölünme hızına sahip olan hücreleri hedef alması ve onları öldürmesidir. Saç folikülleri de oldukça hızlı bölünen hücrelerdir [69-70].

2.10.4. Kan Değerlerinin Azalması

Kemoterapi tedavisi süresince vücutta bulunan kırmızı kan hücrelerinin (alyuvarlar), beyaz kan hücrelerinin (akyuvarlar) ve trombositlerin (plateletler) seviyelerinde düşme görülmektedir. Bu düşüşün temel sebebi, kemoterapik ilaçların kemik iliğinde kan yapımı sürecini baskılamasıdır. Kemik iliği kök hücreleri (homeopatik kök hücreler) hızlı bölünen hücrelerdir ve kemoterapi ilaçlarından kanser hücreleri gibi öncelikli olarak etkilenmektedirler. Alyuvarlar vücudun geneline oksijen taşıyan kan hücreleridir ve eksikliklerinde; halsizlik, çarpıntı ve çabuk yorulma gibi semptomlar ortaya çıkmaktadır. Akyuvarlar vücudun savunma hücreleridir ve sayıları azaldığında kişi çok kolay enfeksiyon kapabilmektedir. Trombositler ise kanın pıhtılaşması sürecinde görev almaktadırlar. Trombositlerin sayılarında görülen düşüşler vücutta kolay morarmalar ile burun ve diş eti bölgelerinde meydana gelen kanamalara sebep olmaktadır [69-70].

2.10.5. Ağız Yaraları

Kullanılan kemoterapi ilaçları çeşitli durumlarda ağız dokusunda çeşitli iltihabi yaralara neden olabilmektedir. Bu sebeple kemoterapi alan hastaların mutlaka ağız içi hijyenine dikkat etmeleri gerekmektedir. Ayrıca çok sıcak ve çok soğuk yiyecek ve içeceklerden de kaçınmaları, dudaklarını sık sık çeşitli nemlendirici kremlerle nemlendirmeleri gerekmektedir. Bu şekilde ağız yaralarını en aza indirgeyebilirler. Ayrıca ağız içi yaralar meydana geldiğinde hastalık sürecinin takibini gerçekleştiren doktora mutlaka ilave tedaviler konusunda danışılmalı ve görüşü alınmalıdır [69-70].

2.10.6. İshal ve Kabızlık

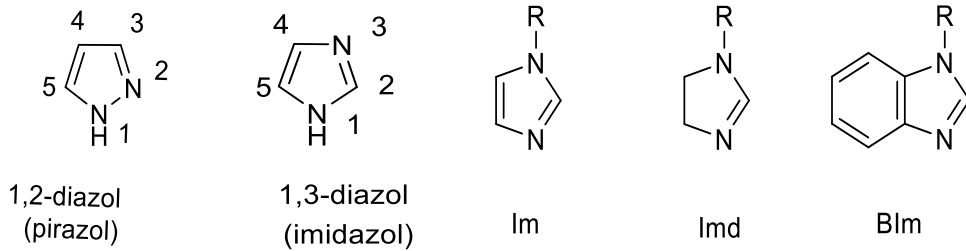
Tedavi amacıyla kullanılan kemoterapi ilaçları türüne bağlı olarak değişmekle beraber genellikle oldukça ciddi hastalarda ishal veya kabızlık sorununa sebep olabilmektedirler. İshal ve kabızlık sorunları genellikle diyetteki değişim veya basit ilaç tedavileri ile çözülebilmektedir. Ancak bazı durumlarda meydana gelen ishal tahmin edilenden oldukça fazla şiddetli olduğu için mutlaka damar yolundan sıvı desteği almak gerekmektedir [69-70].

2.10.7. Cilt ve Tırnaklarda Meydana Gelen Değişiklikler

Kullanılan kemoterapi ilaçlarından bazıları cilt renginde koyulaşmaya, soyulmaya, kızarıklığa veya kuruluğa, tırnaklar üstlerinde koyulaşmaya ve kolay kırılmalara neden olabilmektedir. Söz konusu durumlar gerçekleştiğinde kolonya ve alkol gibi irite edici kimyasallardan mutlaka uzak durulması gerekmektedir. Cilt üzerine pansuman, ılık su ile gerçekleştirilebilir veya basit nemlendiriciler cilde sürülebilir. Söz konusu şikayetler sıklıkla görülmektedir ve ciddi boyutlara ulaşmamaktadır ayrıca zamanla da düzelmektedir [69-70].

2.11. Azoller

Halkasında karbon atomu dışında oksijen, azot ve kükürt gibi heteroatomlar içeren bileşiklere heterosiklik bileşikler olarak adlandırılmaktadırlar. Azoller; azot atomu içeren beş üyeli heterosiklik bileşikler olarak tanımlanmaktadır. İki azot içeren beş üyeli halkalar diazoller olarak bilinen heterosiklik bileşiklerdir. Bunlar 1,2-diazoller ve 1,3-diazoller olmak üzere iki farklı izomere sahiptirler. Azoller ve türevleri fungusidler, herbisidler, bitki yetiştirme düzenleyicileri ve tedavi edici maddeler gibi biyolojik öneme sahip olmalarının yanı sıra, epoksi reçinelerde taşıyıcı ve paslanmayı önleyici madde olarak da kullanılmaktadırlar [71].

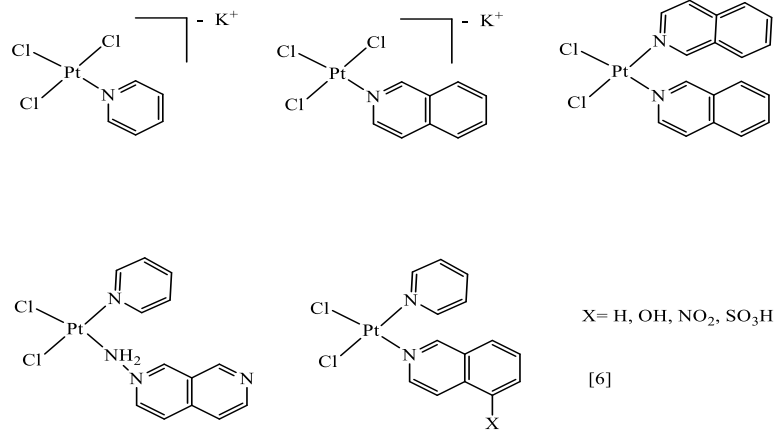


Şekil 2.9. Azollerin Yapıları

İmidazol, benzimidazol ve imidazolin bilinen en yaygın azol bileşiklerdir. 1,3-diazollerden olan imidazollerde (Im) 4 ve 5 numaralı karbonlar arasında çift bağ bulunurken imidazolinler (Imd) doymuş bileşiklerdir. Benzimidazolde (Blm) ise imidazol halkasının 4. ve 5. konumlarında benzen halkası bulunmaktadır.

2.12. Azoller ve Metal Kompleksleri

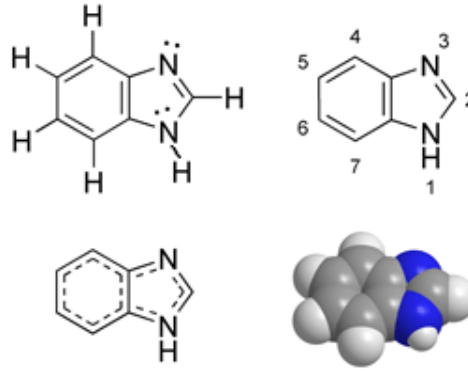
İlaçların yan etkileri ve ilaca karşı direncin ortaya çıkması ciddi bir sağlık problemleri olarak kabul edilmektedir. Bu yüzden var olanlardan kimyasal olarak farklı olan, geniş spektrumlu ve aynı zamanda düşük sitotoksiteye sahip yeni anti-kanser ajanlar dizayn edilmesi ve bu bileşiklerin sentezlenmesi önemli hale gelmektedir. Özellikle N-donör ligandlı heterosiklik bileşiklerin, ilaçların ve bazı vitaminlerin bir bileşeni olarak birçok biyolojik sistemde önemli rol oynadığı bilinmektedir [72-73]. Bu yüzden birçok araştırmacı koordinasyon bileşiklerinde ligand olan heterosiklik bileşiklerin çeşitli merkez atomları ile bileşiklerini araştırmışlardır [74].



Azot içeren heterosiklik moleküller, yaşam kalitesinin artırılması için hayati olan kimyasalların ve birçok doğal ürün ve biyolojik olarak aktif ilacın kimyasal unsurunun en büyük kısmını oluşturmaktadırlar [73-74].

2.13. Benzimidazol ve Türevleri

Benzimidazol, 1,3-Benzodiazole veya benzoglioksalin olarakta bilinmektedir. Benzimidazol kimyasal olarak, imidazol halkasının 4. ve 5. konumlarından benzen halkasına bağlanmasıyla oluşan bir heteroaromatik halkadır [75]. Bir benzimidazol halkasında iki farklı kimyasal yapıda azot atomu taşınmaktadır. Hidrojen atomunu üzerinde taşıyan azota “imino azotu” veya “pirol azotu” gibi isimler, tersiyer yapıda bulunan diğer azota ise “piridin azotu” veya “tersiyer azot” isimleri ile adlandırılma yapılmaktadır. İmino azotu tarafından taşınan hidrojen atomuna da “imino hidrojeni” adı verilmektedir.



Şekil 2.10. Benzimidazol yapısı.

Benzimidazo halkası hem asit hem de baz özelliği göstermesi nedeniyle amfoterik karakteristiğe sahip bir kimyasal yapıdır. Benzimidazollerin bazik özellikleri, tersiyer azot atomu üzerlerinde bulunan ve reaksiyona girdikleri bileşiğe veya atoma aktarılabilen ortaklaşmamış elektron çifti içermelerinden kaynaklanmaktadır. Benzimidazoller asit özelliklerini, taşıdıkları imino hidrojenini ortama proton olarak vererek göstermektedirler. Bu sebeple benzimidazoller elektron çekici gruplar ile süstitüe edildiklerinde asit karakteristikleri artış göstermektedir [76].

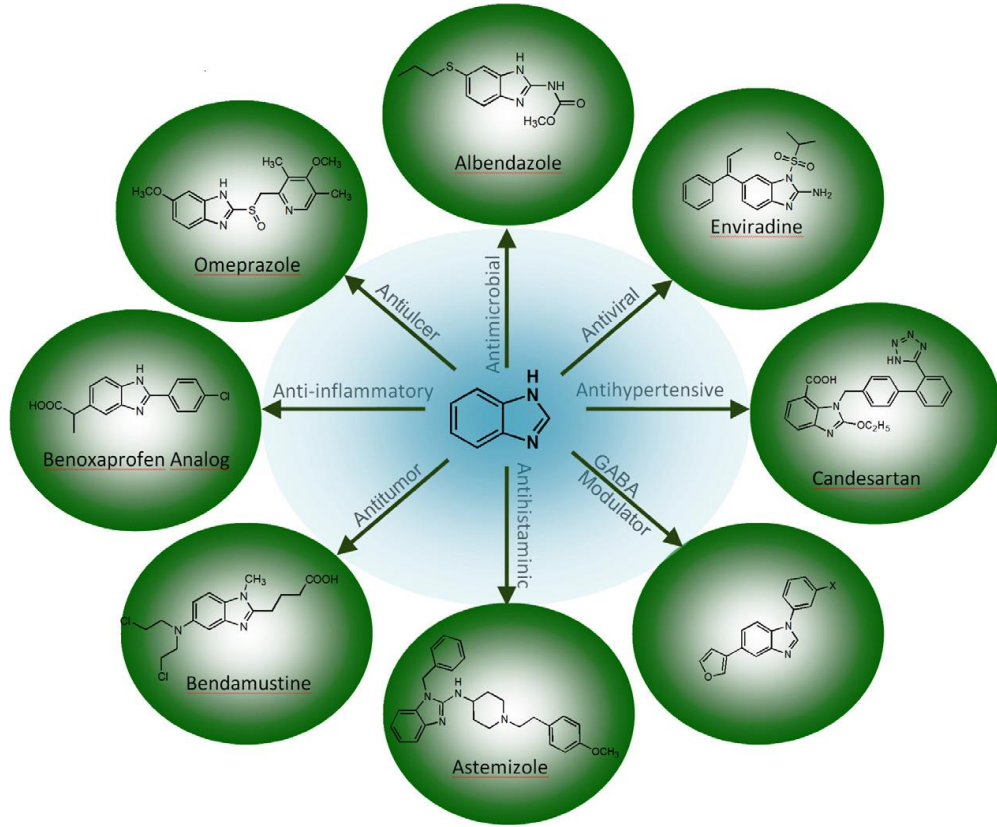
2.13.1. Benzimidazollerin Sentezi

Benzimidazol türevi ilk bileşik, 1872 tarihinde 2-nitro-4- metilasetanilin bileşiğinin Hoebrecker tarafından SnCl_2/HCl bileşiği yardımıyla indirgenme tepkimesi aracılığıyla sentezlenmiştir [77]. Aynı bileşik, 3,4-diaminotoluen bileşiğinin glasiyel asetik asit içinde ısıtılması ile elde edilmiştir [78-79]. 1928 yılında ise Phillips, 2-süstitüebenzimidazollerini o-fenilendiamin ve uygun karboksilik asit (4N HCl) içerisinde 30 ile 40 dakika kadar ısıtılması yoluyla sentezlemiştir. Kendi adını verdiği bu sentez yöntemini kullanarak benzimidazol halkasının 2 numaralı konumunda $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\alpha\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{C}_6\text{H}_5$ gibi farklı grupları içeren bileşikleri sentezlemiştir [80]. Günümüze kadar yapılan çalışmalar göz önüne alındığında; 2- alkilsüstitüe benzimidazol bileşiklerinin sentezinde; sentez verimi, kolaylık ve ürün saflığı açısından uygun ve en çok uygulanan yöntemin Phillips yöntemi olduğu görülmektedir. Daha sonra yapılan çalışmalarda birçok bilim insanı bu yöntemi modifiye ederek kullanmışlardır [81-83]. Phillips metodu kullanılarak 2-alkil-

sübstitüe benzimidazol türevli bileşiklerin sentezlenmesinde oldukça iyi sonuçlar elde edilmekte ancak 2-aril-sübstitüe benzimidazol bileşiklerinin elde edilmesinde tepkime verimi çok düşük olmakta veya hiç ürün elde edilememektedir. Yapılan bir çalışmada, o-fenilendiamin türevli bileşiklerin polifosforik asit varlığında aril veya alkil karboksilik asitlerle tepkimeye girmesi neticesinde 2-alkil/aril benzimidazol türevlerinin oldukça yüksek bir verimle elde edildiği bildirilmiştir [84]. o-Fenilendiaminler ile beraber karboksilik asit bileşiklerinin kimyasal tepkimeleri farklı çözücüler ve katalizörler varlığında veya katalizör kullanılmadan mikrodalga kullanımı yoluyla da gerçekleştirilebilmektedir. Bu yöntemlerin kullanılmasıyla, daha kısa zamanda ve oldukça yüksek verimle ürün elde edilebilmektedir [85]. Polifosforik asit varlığında 2-alkil veya 2-aril sübstitüe benzimidazol türevlerinin mikrodalga aracılığıyla kimyasal sentezinin, tepkime verimini diğer benzimidazol sentezleme yöntemlerine göre %10'dan %50'ye arttırdığı ve ayrıca sentez zamanını da azalttığı rapor edilmiştir [86].

2.13.2. Benzimidazol Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri

Heterosiklik bileşikler, biyolojik sistemlerdeki fonksiyonları nedeniyle önemli bir bileşik sınıfını oluşturmaktadırlar. Bu bileşiklerin içinde benzimidazoller, biyolojik aktivitelerinin çeşitliliği nedeniyle ayrıca önemlidirler. Benzimidazol çekirdeği, bir bileşikte farklı hedeflere etki eden birçok önemli farmakolojik özellikleri ortaya çıkardığı için bileşiğin anahtar bölgesi olarak ' Master Key 'olarak adlandırılabilir. Benzimidazol yapısında bulunan yedi adet bağlanma bölgesinin tamamı çeşitli kimyasal türlerle bağlanma yapabilse de, biyolojik olarak aktif benzimidazol türevli bileşiklerin çoğu 1., 2. ve/veya 5. (veya 6.) konumlarında fonksiyonel gruplar taşımaktadırlar. Bu nedenle benzimidazolün -mono-, di- veya tri-sübstitüe edilmiş türevleri oluşabilmektedir. Benzimidazollerin sentez ve kimyasal yapı-aktivite ilişkilerine yönelik çalışmalar 19. yüzyılın sonlarından günümüze kadar çok kapsamlı olarak yapılmıştır ve halen çalışılmaya devam edilmektedir. Çalışmalar sonucu elde edilen pek çok benzimidazol bileşiği endüstride, tıp ve farmasötik kimyada geniş bir kullanım alanına sahiptir.

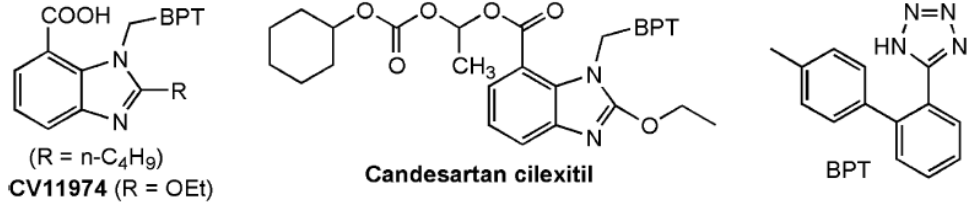


Şekil 2.11. Benzimidazol Türevlerinin Bazı Biyolojik Aktiviteleri [17].

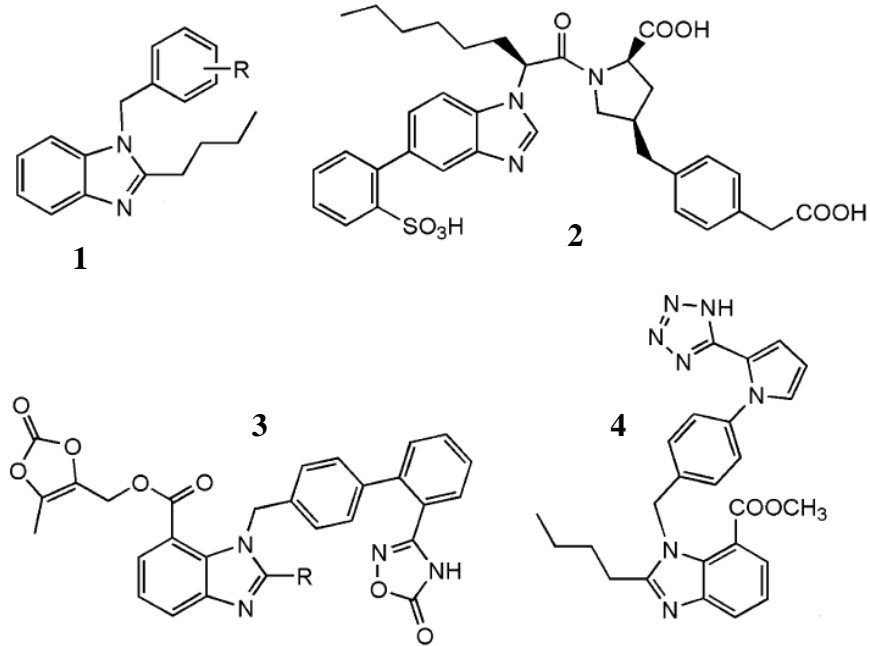
2.13.2.1. Antihipertansif Aktivite

Benzimidazol yapısı, antihipertansif ilaçların geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Benzimidazol içeren bileşiklerin çoğu, Renin-Anjiyotensin Sistemi (RAS) üzerine etki ederek antihipertansifler gibi davranmaktadırlar. Anjiyotensin II (Ang II), RAS yolağı tarafından üretilen ve aktif baskılayıcı olan bir oktapeptittir. Ang I, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) tarafından Ang II'ye dönüştürülmektedir. Ang II, anjiyotensin reseptörü 1 (AT1) üzerine etki ederek, vazokonstriksiyona, Na^+ tutulmasına ve aldosteron salınımı ile hipertansif etkiye neden olmaktadır. Ang II'nin bu etkilerini kontrol etmek için; Renin ve ACE inhibitörleri kullanılarak Ang II üretiminin bloke edilmesi veya Ang II'nin AT1 reseptörlerine bağlanmasının bloke edilmesi gibi çeşitli stratejiler bulunmaktadır. Reseptördeki inhibisyonun, maksimum güvenli, spesifik ve etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu nedenle, antihipertansiflerin üretilmesine yönelik araştırma ve geliştirme faaliyetlerinin çoğu AT1 reseptör blokerlerinin geliştirilmesine yöneliktir [17]. Gerçekleştirilen ilk çalışmaların birinde, etkili bir AT1 reseptörü antagonisti olarak 2-bütül-benzimidazol-7-

karboksilik asit (CV11974) sentezlenmiştir [17]. Losartan ve EXP3174'e göre daha aktif olan CV11974, AT1 reseptörlerini yarışmasız inhibe ederek doza bağlı olarak yavaş ayrılması nedeniyle kan basıncını azaltmaktadır [17]. 7-karboksil grubunun esterifikasyonu ile günümüzde ticari olarak temin edilebilen oral olarak aktif ve uzun etkili AT1 reseptör bloke edici *candesartan cilexetil* sentezlenmiştir [17].

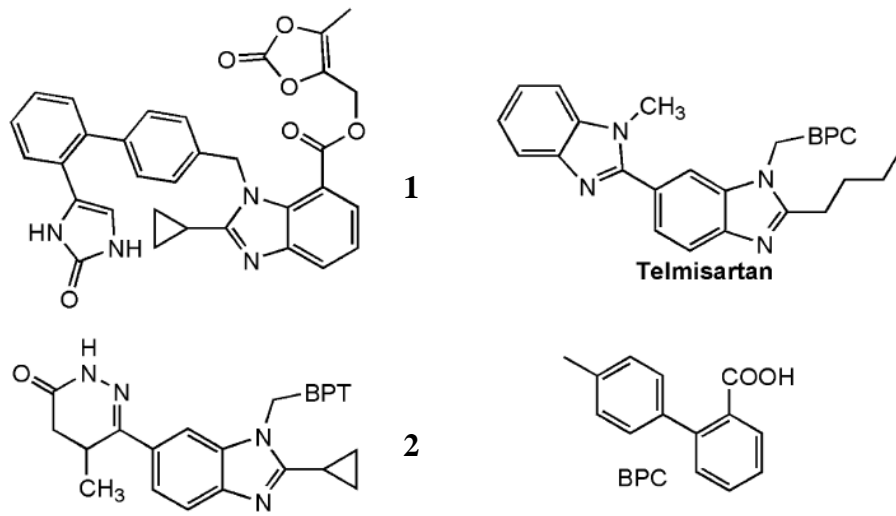


Daha etkili bileşikler geliştirmek için çeşitli araştırma grupları tarafından benzimidazol yapısında bulunan tüm yedi konum da araştırılmıştır. Genel olarak, AT1 reseptöründeki çekirdeğin N-3'te bulunan H-bağı donör bölgesi ile etkileşimi için 4 konumunun bağlanma yapmaması gerektiği ancak, 1 konumlarına bifenil bağlı olduğu görülmüştür. Bileşikteki bifenil kısmının başka yapılarla değiştirilmesiyle aşağıda yapıları verilen ve farklı etkilere sahip bileşikler elde edilmiştir [17].



Tetrazol yapısının çeşitli asidik heterosikllerle değiştirilmesiyle, farklı aktivitelere sahip bileşikler elde edilmiş olup, bileşiklerin hiçbirisinin tetrazol

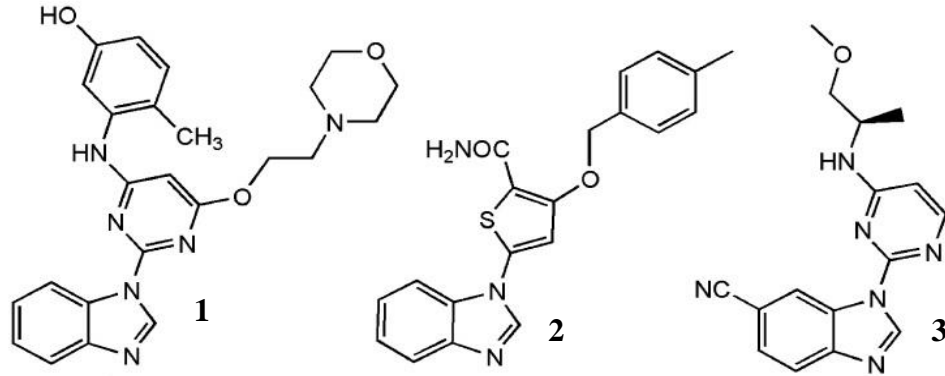
içeren bileşikler kadar güçlü ve biyokullanışlı olmadığı gözlenmiştir [17]. Bileşiğin yapısında tetrazol molekülünün karboksil grubu ile yer değiştirmesi veya birlikte bulunmasıyla çok kıymetli oral aktif antagonistler üretilmiştir [17]. 7-konumundaa bulunan -COOH grubu, etkili bileşikler elde edilmesine yol açmaktadır. Bu asidik fonksiyonun daha fazla esterlenmesi, kandesartan sileksitilin klinik kullanımı ile belirtildiği gibi oral biyoyararlanımı arttırmaktadır. Kuroita ve ark. aşağıda yapıları verilmiş olan; 5-metil-2-okso-1,3-dioksol-4-il metil esterleri analoglarını Ang II'in güçlü oral aktif antagonistleri olarak bildirmişlerdir [17].



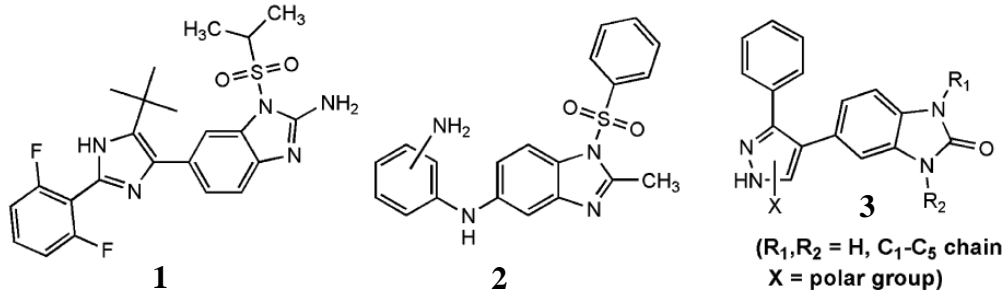
2.13.2.2. Antienflamatuar Aktivite

Alzheimer hastalığı, astım, ateroskleroz, Crohn hastalığı, gut, multiplikleroz, osteoartrit, sedef hastalığı, romatoid artrit, diyabet, kanser, bakteriyel veya viral enfeksiyonlar gibi sayısız hastalığın kronik iflamasyonla sonuçlanmaması için inflamasyonun kontrolü büyük önem taşımaktadır [17]. Enflamasyonun kontrolü için en yaygın olarak araştırılan noktalar arasında plazma proteazları, prostaglandinler, lökotrienler, histamin, serotonin, nitrik oksit, interlökinler 1-16 (IL-1 ila IL-16), tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), kemokinler (CXC, CC ve C altkümüleri) ve koloni uyarıcı faktörler (CSF) gibi enflamatuar ara ürünler bulunmaktadır [17]. Bu ara ürünler siklooksijenazlar, kaspaslar ve kinazların katıldığı farklı yollarla oluşturulmaktadır [17]. Benzimidazol yapısı içeren anti-enflamatuar bileşiklerin sentezi modern tıp kimyasının taihi kadar eskidir. Anti-enflamatuar aktiviteleri iyi ile mükemmel arasında değişen birçok

benzimidazol türevli bileşik sentezlenmiş olmasına rağmen klinik çalışmalar yavaş ilerlemektedir. Kinazları hedef alan bir dizi bileşiğin inflamasyon ve otoimmünite ile ilgili klinik deneyleri halen devam etmektedir [17]. 1-konumunda farklı heterosiklik grupları içeren benzimidazol yapılarının güçlü anti-enflamatuar aktiviteye sahip olduğu ve bağlı grubun değişmesiyle aktivitenin de değiştiği gösterilmiştir [17].

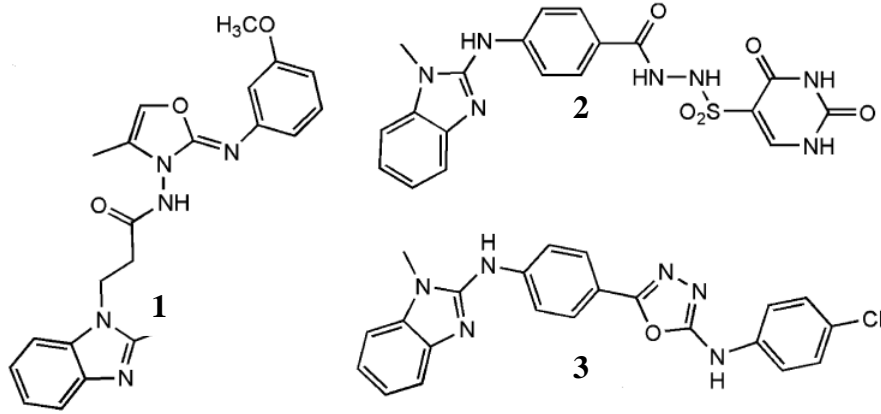


Birden fazla konumunda bağlı grup içeren benzimidazol türevlerinin orta ve yüksek aralığında değişen anti-enflamatuar aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir [17].

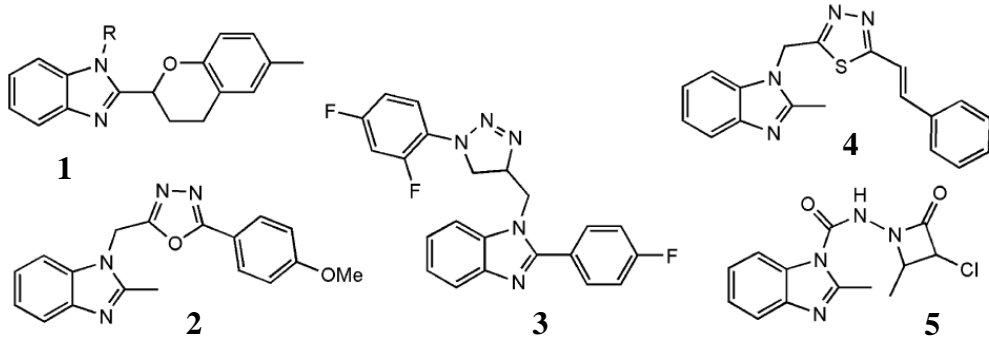


2.13.2.3. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal ajanlar, bakteri, protozoa, helmintler (solucanlar), mantarlar ve virüsler dahil olmak üzere çeşitli türlere karşı etkili olan farklı kimyasal yapılar içermektedirler. Benzimidazol yapısı içeren antimikrobiyallerin geliştirilmesi ile ilgili araştırmaların çoğu 2000 yılından sonra gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda 1-sübstitüe benzimidazol bileşiklerinin zayıf antimikrobiyal aktivite gösterdikleri, ancak 1,2-sübstitüe benzimidazol bileşiklerinin güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir [17].



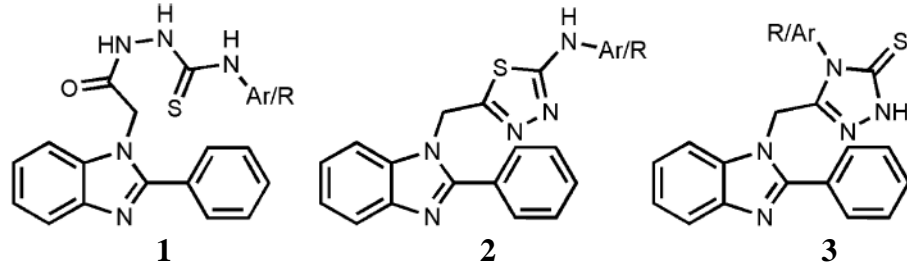
Kroman, β -laktam, tiazol ve oksadiazol gibi heterosiklik yapıların benzimidazol yapısına bağlanmasıyla oluşan hibrid bileşiklerin güçlü antibakteriyel ve/veya antifungal özelliklere sahip oldukları bildirilmiştir [17].



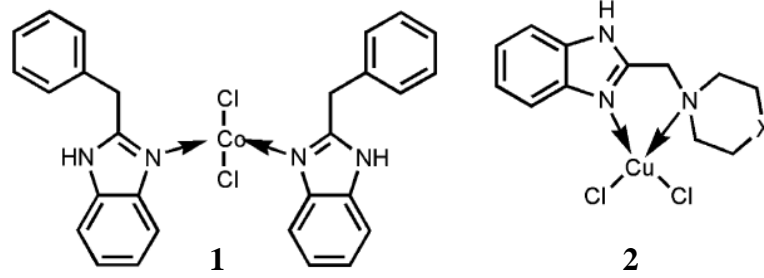
Benzimidazol yapısı içeren bileşiklerinin farklı metallerle (Fe^{3+} , Zn^{2+} , Pd^{2+} , Cu^{2+} , Ag^+ , Au^{1+} , Cd^{2+} , Co^{2+}) kompleksleştirilmesinin, bu bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerini arttırdığı bildirilmiştir [17].

2.13.2.4. Antioksidan Aktivite

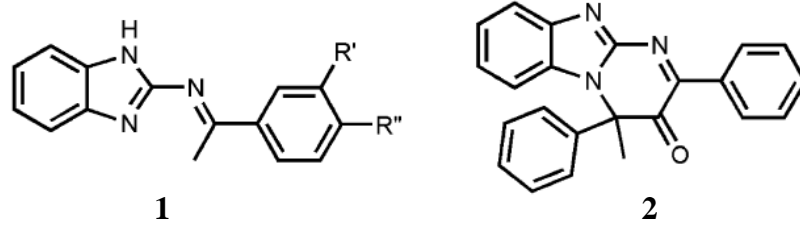
Antioksidan ve serbest radikal temizleme aktivitesine sahip olan ilaçlar, organizmanın antioksidan kapasitesinin eksikliği ile doğrudan ilişkili olan kanser gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadırlar. Benzimidazolün 1-konumuna tiyodiazoller, triazoller ve bunların açık zincirli eşdeğerlerinin yani tiyosemikarbazit türlerinin eklenmesi antioksidan aktiviteyi ortaya çıkarmaktadır. Benzimidazolün 1-konumuna farklı aril ve alkil gruplarının bağlanması da güçlü antioksidanların elde edilmesine olanak sağlamıştır. Bunlar arasında, 1-konumunda semikarbazit türevlerini içeren bileşiklerin, DPPH radikalinin yanısıra lipid peroksidasyon seviyeleri üzerine de daha güçlü inhibisyon etkisi gösterdikleri bildirilmiştir [17].



2-sübstitüe benzimidazollerin Cu^{2+} ve Co^{2+} ile koordinasyon bileşiklerinden elde edilen –bir ve –iki dişli ligandların nitric oksit (NO) süpürme ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri araştırılmış ve bazılarının etkili NO süpürme ve SOD aktivitelerine sahip oldukları gözlenmiştir [17].



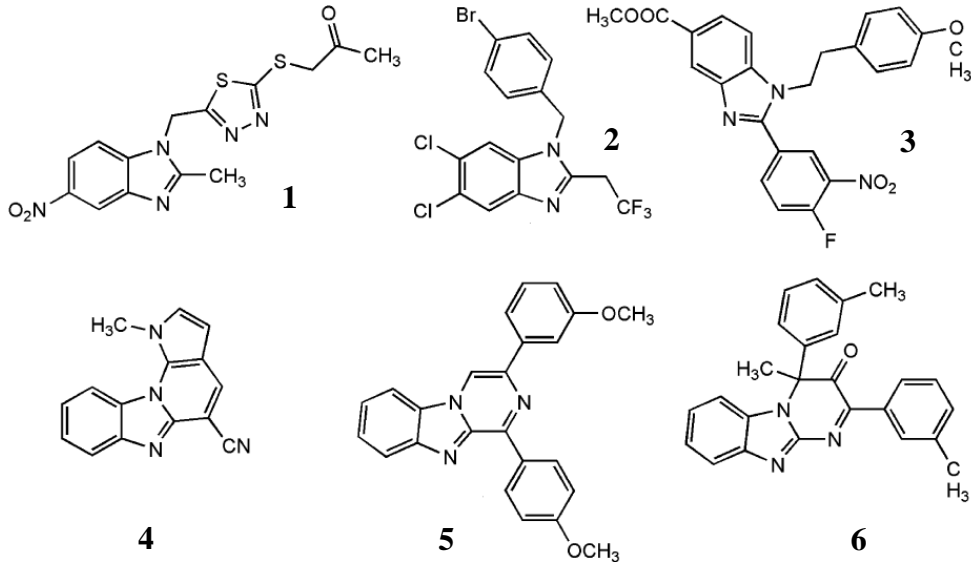
Yapılan çalışmalarda benzimidazollerin Schiff bazlarının, lipofiliklikle birlikte artan güçlü lipid peroksidasyon inhibisyon aktivitesi gösterdikleri bulunmuştur [17].



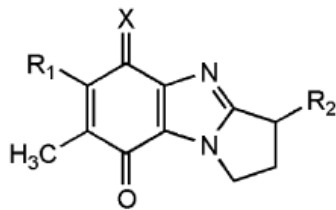
2.13.2.5 Antitümör Aktivite

Benzimidazol yapısı ilaç keşfi ve tıbbi biyokimyada önemli bir yapıdır. Benzimidazol yapısı; pürin bazlarına benzerliği ve biyolojik olarak aktif olan moleküllerin yapısında bulunması nedeniyle yaygın olarak çalışılmaktadır. Kanser, dünya nüfusunun büyük çoğunluğunu etkileyen önde gelen sağlık sorunlarından birisidir. Çeşitli kanser türlerinin tedavisi için farklı mekanizmalarla etki eden benzimidazol türevli antikanser ajanlar (ayrıca antitümör, antiproliferatif ve antineoplastikler olarak da adlandırılır) bildirilmiştir [17].

1-pozisyonda çeşitli heterosikllerle süstitüe 2-metil-5-nitro benzimidazollerin değerlendirilmesi, 1-pozisyonda bulunan metilen grubuna bağlanan tiyadiazol halkasının, maksimum antitümör aktiviteye neden lduğu ortaya çıkmıştır (1). Aynı zamanda, benzimidazolün 5-konumundaki nitro grubunun da aktivite için kritik olduğu da ortaya anlaşılmıştır [17]. Ng. ve ark., prostat kanserinde androjen reseptör antagonistleri olarak kullanılmaları için bazı 2,5,6-trihalogenobenzimidazollerin aktivitelerini araştırmışlardır [17]. SAR çalışmaları, en güçlü androjen reseptör antagonistinin 1-(4-bromobenzil) (2) olduğunu göstermiştir. Benzimidazol-5-karboksilik asit analoglarının antilösemik aktiviteleri incelenmiş ve aşağıda yapısı verilen (3) numaralı bileşiğin apoptozu aktive ettiği gözlenmiştir [17]. Düzlemsel birleşmiş benzimidazol analoglarının DNA'daki baz çiftleri arasındaki boşluklara girmesi DNA parçalanmasıyla sonuçlanmaktadır. Bu mekanizmaya dayanarak, bu tür bileşiklerin (4-6) kanser hücrelerine karşı güçlü bir aktivite gösterdikleri gözlenmiştir [17].

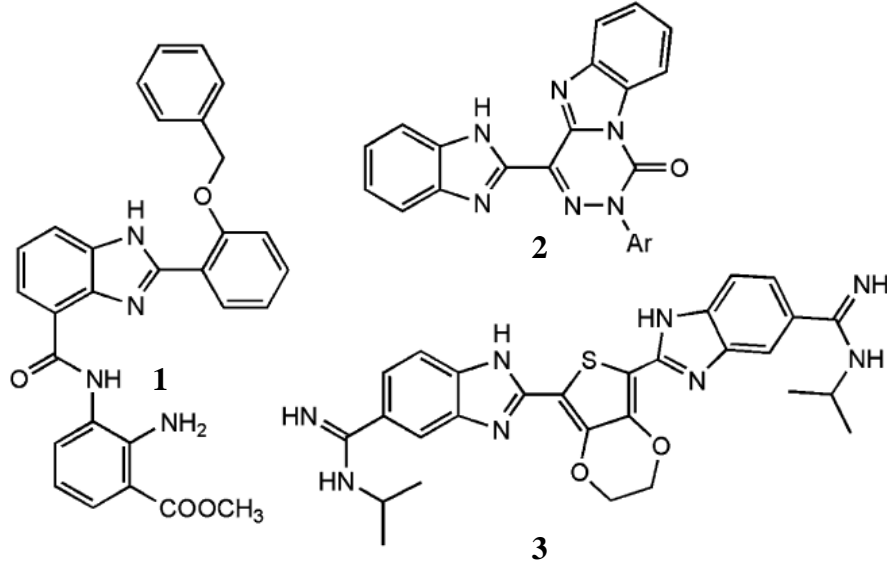


Pirolol[1,2- α]benzimidazoller Guanin (G) ve Adenin (A) bazlarının ayrılmasına neden olarak DNA'nın alkilasyonunu indirgeme yoluyla etki gösteren antikanser ajan sınıflarının ilkidir [17].

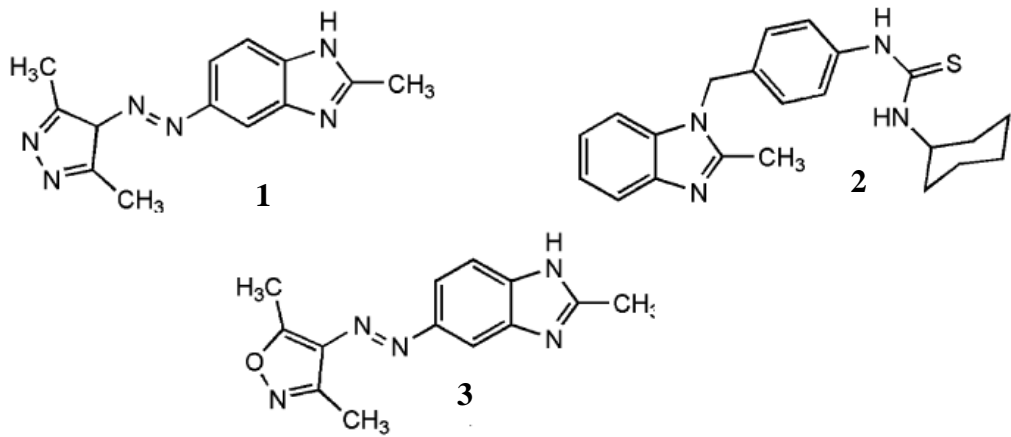


- X= O, R₁ = N\triangle, R₂ = CH₃ 1
X= O, R₁ = NHCOCH₃, R₂ = Ester function 2
X= NH, R₁ = NHCOCH₃, R₂ = Ester function 3

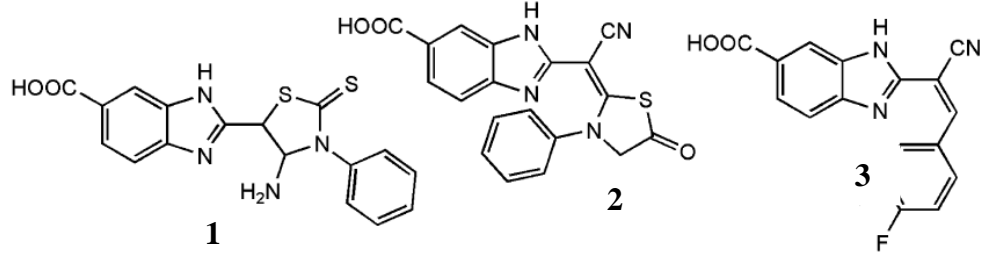
Huang ve ark., sentezledikleri bis(benzimidazol) öncülü bileşiklerden aşağıda yapısı verilen (1) numaralı bileşik insan A-549, BFTC-905, RD, MES-SA ve HeLa kanser hücrelerine karşı en yüksek antikanser aktiviteyi göstermiştir [17]. Bir başka bis(benzimidazol) analogu olan benzimidazolil-1,2,4-triazino[4,5- α]benzimidazol-1 on bileşiğinin (2) çoklu ilaç dirençli p-glikoprotein eksprese eden hücre hatlarına karşı önemli bir aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir [17]. Bir tiyofen halkası ile bağlanmış iki benzimidazol çekirdeği, sekiz farklı kanser hücre hattı üzerinde orta ile güçlü arasında değişen antiproliferatif etki göstermiştir. Bu bileşiklerden aktivitesi en yüksek olan bileşiğin (3) 30 dakika içinde canlı HeLa hücrelerine girdiği ancak 2.5 saat sonra bile çekirdeklerde birikmediği bildirildi [17].



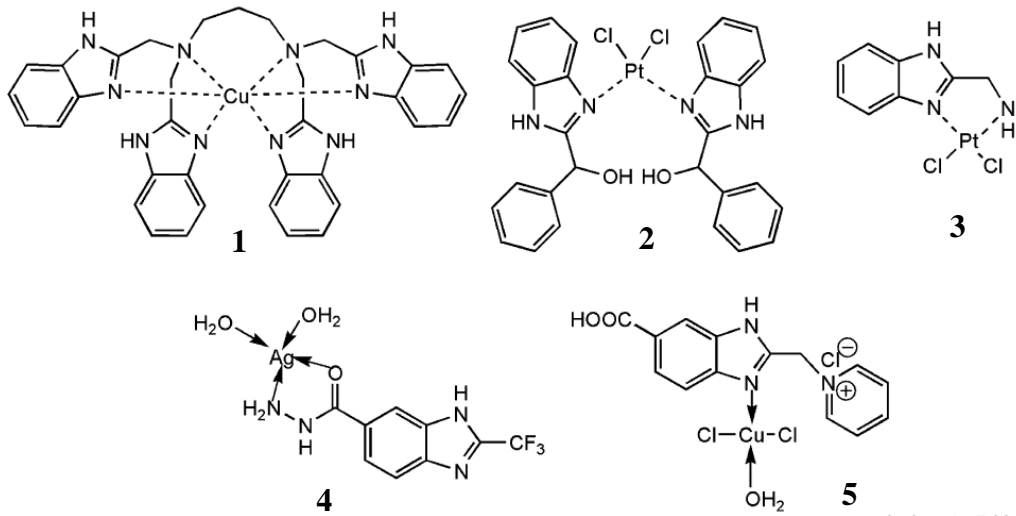
Farklı süstitüentler içeren benzimidazol türevlerinin akciğer ve meme kanserlerine karşı sitotoksik etkileri bildirilmiştir [[17].



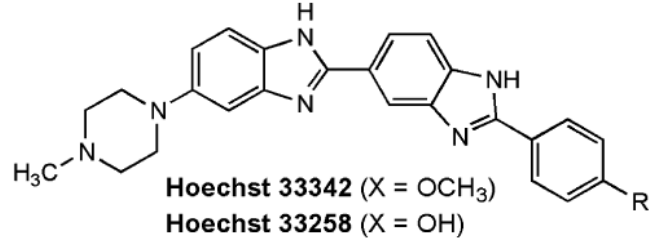
Ayrıca 5 konumunda klor veya karboksil grubu bulunan ve 4-aminotioksotiyazol, 4-okstiazolidin, 4-florobenziliden ile 2-sübstitüe benzimidazoller güçlü antitumor ajanlar olarak bildirilmiştir [17].



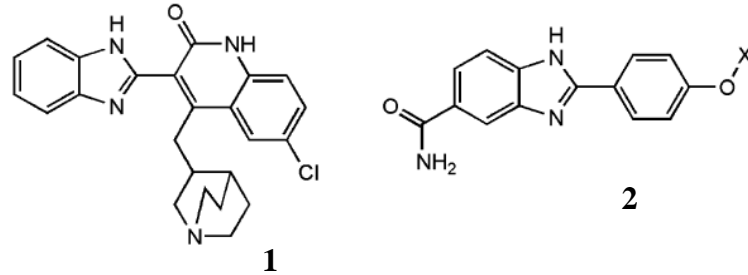
Geçiş metal iyonlarına sahip benzimidazol kompleksleri antitümör aktiviteye sahiptirler. Cu^{2+} benzimidazolimetil-1,3-diaminopropan kompleksi (1), DNA'nın çift sarmalında araya girme kabiliyetine sahiptir [17]. N-Trimetilsililpropilbenzimidazol metal kompleksleri, dört farklı tümör hücre hattında sitotoksik aktivite göstermişlerdir [17]. Pt^{2+} kompleksleri (2,3) antiproliferatif özellikleri bakımından değerlendirildiklerinde, MCF-7 insan meme kanser hücre hattı ve HeLa insan servik kanser hücre hattı üzerine etkili aktivite gösterdikleri gözlenmiştir [17]. 2-metil benzimidazol-5-karboksilik asit hidrazitlerin metal (bakır, gümüş, demir, mangan) kompleksleri arasında gümüş kompleksinin (4) iki insan hücre hattına karşı sitotoksikite (IC_{50} 2 μM) gösterdiği bulunmuştur [17]. 2-Piridinilbenzimidazol-5-karboksilik asitin (5) bir Cu^{2+} kompleksinin güçlü topoizomeraz II inhibe edici aktivite sergilediği bulunmuştur [17].



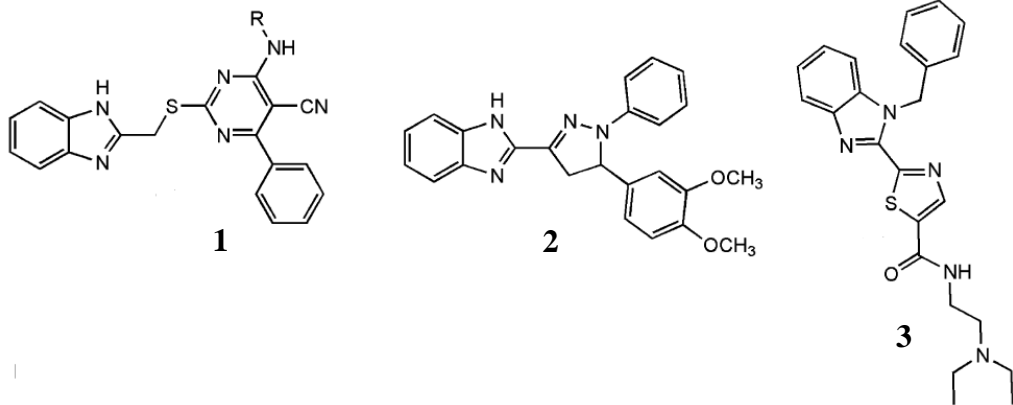
Bis-benzimidazoller antikanser ajanların keşfi için kullanılan bir başka bileşik sınıfıdır. Bu bileşiklerden en önemlileri olan Hoechst-33342 ve Hoechst-33258, DNA topoizomeraz I inhibe edici aktivitelerinin yanı sıra *in vitro* antitümör aktivite de göstermektedirler [17].



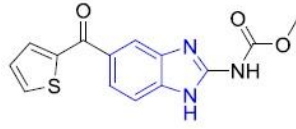
Kanser tedavisi için serin/threonine kontrol nokta kinaz (CHK-1) inhibitörü olarak kullanılabilen bazı 2-sübstitüe quinolinon-3-il benzimidazol türevleri sentezlenmiştir (1) [17]. Başka bir çalışmada da yine CHK-1 inhibitörleri sentezlenmiş (2) ancak tüm bileşiklerin aktiviteleri bir önceki çalışmada sentezlenen bileşiklerden düşük bulunmuştur [17].



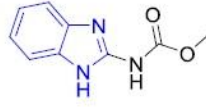
2-sübstitüe benzimidazoller üzerindeki son gelişmeler, 2-pozisyonunda farklı heterosikller içeren ve farklı kanser hücre hatlarında güçlü antikanser ajanların elde edilmesine yol açmıştır. Bunlar arasında pirimidin türevleri, pirazolin türevleri ve tiyazol türevleri yer almaktadır [17].



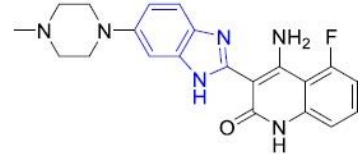
Benzimidazol yapısı Nocodazole (I), Carbendazim (II) ve Dovitinib (III) gibi antikanser ajanların ana yapısında bulunmaktadır.



Nocodazole (I)



Carbendazim (II)



Dovitinib (III)

Farklı süstitüent içeren benzimidazol türevlerinin yukarıda ayrıntıları açıklanan biyolojik aktivitelerinin yanısıra antiviral, psikoaktif, lipit modüle edici, antiokagulant aktiviteleride bulunmaktadır [87-90].

2.14. Rutenyum

Serbest radikal molekülleri, en dış yörüngelerinde en az bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron çifti taşıyan ayrıca inorganik veya organik moleküllerle tepkime verme özelliğine sahip olan oldukça yüksek reaktivitesi olan yarı ömürleri kısa moleküllerdir. Singlet oksijen, hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil radikallerini içeren reaktif oksijen türlerinin tamamı (ROS), biyolojik tepkimelerin yan ürünü olarak veya eksojen faktörlerden meydana gelmektedir [91]. Vücutta yer alan antioksidan savunma sisteminin temel görevi, ROS'ların zararlı etkilerini ortadan kaldırmaktır [91]. Antioksidan aktivitelere sahip olan bileşiklerin, vücutta meydana gelen sorunlar neticesinde antioksidan savunma sisteminde oluşacak eksiklerden kaynaklanan hastalıkların önlenmesinde veya tedavisinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Metaller ve heterosiklik ligandların beraber getirdiği kompleksler, metalloproteinlerin model bileşiklerini oluşturmaları sebebiyle biyoinorganik kimyada özel ilgi alanı oluşturmaktadır. Son yıllarda oldukça popülerleşen inorganik ilaçlar, modern tıbbi ilaçların önemli bir bölümünü meydana getirmektedirler. Bu sebeple de N-koordine metal-protein komplekslerinin kimyasal sentezi koordinasyon kimyasında oldukça yoğun olarak araştırılmakta ve çalışılmaktadır [92]. Rutenyum elementi, sağlıklı hücrelere karşı oldukça düşük hücresele toksisite göstermesi ancak tümör hücrelerince oldukça kolay absorbe edilip, vücuttan da oldukça kolay atılması sebebiyle tercih sebebi olmaktadır [93]. Rutenyum elementi özellikle son dönemlerde geliştirilen yeni

antitümör ilaçların geliştirilmesi sürecinde kullanılan ve gelecek vadeden elementlerden biridir. Rutenyum elementinin bu kadar etkin olmasında demir elementine benzer özellikler sergilemesi, ligand değişim hızının iyi olması, sitotoksik etkisinin de platin elementinden oldukça düşük olmasının yanısıra platin içeren ilaçlara karşı direnç kazanmış kanser hücreleri üzerinde de etkinlik göstermesi rol oynamaktadır [94].

2.15. Kanser Araştırmalarında Hücre Kültürlerinin Kullanılması

Özellikle insanın doğaya karşı giderek artan empati duygusu ve yükselen etik değerlerin getirdiği bir sonuç olarak canlı organizmaların, özellikle memelilerin bilimsel araştırmalarda denek hayvanları olarak kullanılmasının mümkün olduğunca kısıtlanması ve engellenmesi gerekliliği oluşmuştur. Söz konusu kısıtlamalar ve artan biyoteknolojik gelişmeler, hayvan deneylerinin alternatifini olarak pek çok farklı alanda hücre kültürlerinin geliştirilmesine ve kullanılmasına yol açmıştır. Geliştirilen ölümsüz hücre kültürleri mikrobiyoloji çalışmalarında özellikle de virüslerin üretilmesi ve karakterize edilmesi, bunun yanı sıra da virüs temelli aşularının üretimi amacıyla uzun sürelerdir kullanılmaktadır [95-97].

Son yüzyılda ise mikrobiyolojik çalışmaların yanı sıra hayvan deneylerinin yerini büyük ölçüde hücre kültürü deneyleri almıştır. Hayvan deneylerinin kısmen de olsa alternatifini olma özelliği gösteren hücre kültürü çalışmaları sayesinde, kanser araştırmaları hız kazanmış olup, özellikle de kanser ilaçlarının geliştirilmesinde ve etkilerinin saptanmasında önemli hale gelmiştir. İlk olarak 1951 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nin (ABD) Baltimore eyaletinde servikal kanser sebebiyle gözlem altında olan afroamerikan bir hastanın tümör dokularının laboratuvar ortamında kültüre alınması başarıyla gerçekleştirilmiş ve Henrietta Lack adındaki hastaya ithafen "HeLa" adı verilmiştir. Servikal kanser hücre hattı olan HeLa hücreleri ölümsüz olup halen dünya genelindeki kanser araştırma gruplarınca sıklıkla kullanılmaktadır.

Günümüzde hayvan hücre ve doku kültürlerinin sıklıkla tercih edildiği alanlar moleküler kanser araştırmaları, aşı ve ilaç geliştirilmesi ve *in vitro* sitotoksisite analizi çalışmalarıdır. Kimyasallar için kullanılan sitotoksik terimi, hücresel ölüme sebep olan madde anlamına gelmektedir. Sitotoksisite üzerine yapılan

araştırmalar, bir maddenin hücreler üzerinde öldürücü etkisi olup olmadığının tespit edilmesi amacıyla yapılmaktadır. Hücre kültürlerinde gerçekleştirilen sitotoksisite çalışmaları ise hem uygulamanın oldukça kolay olması hemde *in vivo* çalışmalarda elde edilen datalar ile uyum göstermesi sebebiyle, hayvanlar üzerinde yapılan deneylere alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Günümüze kadar geçen süreçte hücre kültürü çalışmaları toksikoloji laboratuvarlarında oldukça tercih edilen yöntem haline gelmiştir.

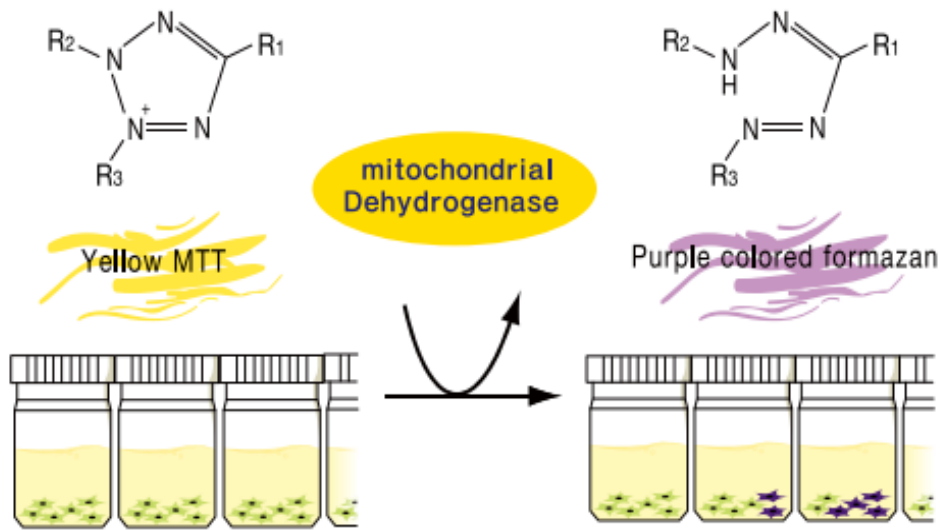
Hücre toksisitesi, incelemeye konu olan kimyasalın dozuna ve kimyasala maruz kalma süresine bağılı olarak farklı düzeylerde oluşmaktadır. Sitotoksik maddeye maruz kalan hücreler, sitotoksisite belirli bir eşik değerinin üzerine çıktığında apoptoz, otofaji ve nekroz gibi hücre sel ölüm yollarını indükleyebilirler veya sitostazis (hücre gelişimini büyüme safhasında durdurmaya çalışan kimyasal madde) sebebiyle bölünme özelliklerini kaybederler. Hücre temelli sitotoksisite çalışmalarıyla test edilen kimyasalın sitostatik ve sitotoksik karakteristikleri hakkında temel bilgiye varılır. [98-99]. Araştırmalar sırasında, biyolojik, kimyasal veya fiziksel etkilere maruz bırakılan hücre kültürlerinde, maruziyet sonrasındaki hücre sel canlılığın belirlenmesi, bu araştırmaların oldukça önemli bir basamağını oluşturmaktadır. Kimyasal uygulamalarına bağılı olarak meydana gelen hücre toksisitesi sonucunda değişen hücre canlılığının tespit edilmesi için kullanılan birçok test mevcuttur. Hücre toksisitesinin saptanmasında kullanılan yöntemler genel olarak lüminesans, kolorimetrik, ve enzimatik yöntemler olarak sıralanmaktadır.

2.16. Kemoterapi Potansiyeli Bulunan İlaçların Hücre Toksisitesi Analiz Yöntemleri

Gerek yeni sentezlenen ve olası kemoterapi ilacı olma potansiyeline sahip olan bileşikler olsun, gerekse doğada bulunan bileşikler olsun kanser tedavisinde kullanılma potansiyelleri düşünöldüğünde, söz konusu potansiyelin incelenmesi için kullanılan en temel ve hızlı yöntemlerin başında hücre toksisite analizleri gelmektedir. Tetrazolyum tuzları hücre canlılığını belirlemeye yarayan ve toksisite testlerinde sıklıkla kullanılan bileşiklerdir.

Tetrazolyum tuzları, heterosiklik yapıya sahip olan organik yapıli kimyasal bileşiklerdir. Tetrazolyum tuzlarının keşfedildikleri yıllardan günümüze kadar geçen süreçte yaklaşık olarak 1000'i aşkın üyesi sentezlenmiştir. [97, 100-101] Tetrazolyum tuzları kimyasal tepkimeler sırasında ortamda oluşan elektronları alarak indirgenirler ve formazan adı verilen kristal yapılarla dönüşerek renk değiştirirler. Tetrazolyum halkaları yalnızca aktif bir mitokondri tarafından, elektron transfer sisteminde oluşan elektronlarca kırılabilir. Böylece yalnızca canlı hücrelerde renk değişimi oluşmaktadır. Ölü hücrelerin aktif elektron transfer sistemleri olmadığı için tetrazolyum tuzlarını indirgeyememektedirler. Bu nedenle ölü hücrelerde renk değişimi gözlemlenmemektedir.

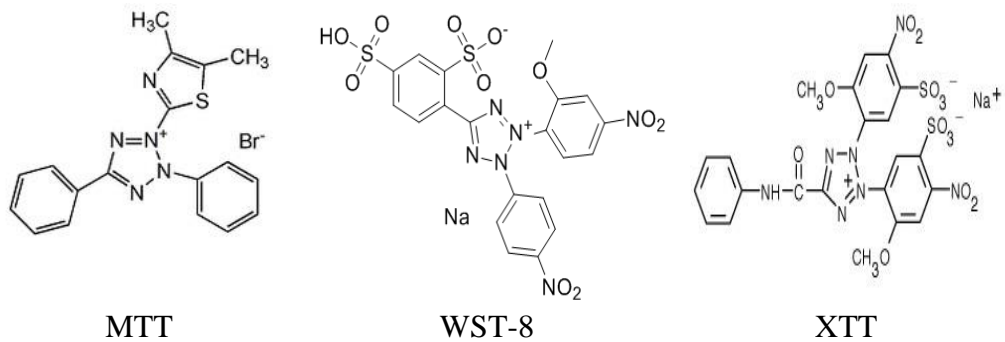
Tetrazolyum bileşiklerinin sahip olduğu bu özellik, onları biyolojik çalışmalar için oldukça önemli hale getirmektedir [101]. Mossman (1983) tarafından sentezlenen 3-(4,5-dimetiltiyazol2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum-bromür (**MTT**)'yi takiben 3-(4,5- dimetiltiyazol-2-yl)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum (**MTS**), 2,3-bis-(2- metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5- karboksianilid (**XTT**) ve 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)- 5-(2,4-disülfofenil)-2H-tetrazolyum (**WST**) kimyasalları gibi farklı karakteristiklere sahip olan farklı tetrazolyum bileşikleri de geliştirilmiş ve kolorimetrik analiz metodlar arasına eklenmişlerdir [102].



Şekil 2.12. MTT prensibi

Araştırmalarda, oldukça fazla sayıda tetrazolyum-formazan kimyasalı kullanılmıştır. Ancak bunlardan yalnızca birkaç tanesi kabul görebilmiş ve biyolojik sistemlere uygunluğu sağlanabilmiştir. Söz konusu olan tetrazolyum bileşikleri, hücre membranından geçerek hücreye girebilme ve çözünülebilme özelliklerine göre iki farklı gruba ayrılmaktadır.

Birinci grupta yer alan MTT bileşiği, pozitif yüklü bir kimyasal olmakla beraber ökaryotik hücre membranından kolaylıkla geçebilmektedir. Hücrenin içerisine geçtikten sonra elektron alarak indirgenebilmektedir [103-104]. İndirgenme reaksiyonunun sonucunda oluşan formazan kristalleri, suda çözünülebilir kimyasallar değildir ve bu sebeple kristal şeklinde çökmektedirler. İkinci grupta yer alan bileşikler olan XTT, WST ve MTS bileşikler ise negatif yük ihtiva eden bileşikler olup ökaryotik hücre membranından içeri giremezler. Bu sebeple söz konusu olan bileşiklerle beraber ara elektron alıcı donörlerin (fenazin metil sülfat veya fenazin etil sülfat) kullanılması gerekmektedir [105-106]. Elektron alıcı donör moleküller, ökaryotik hücre membranını geçerek sitoplazmaya girerler ve sitoplazmadan veya plazma membranından elektronları alarak besi yerine geri dönerler. Bu geri dönüş sonrası aldıkları elektronları tetrazolyum bileşiğine aktararak onları indirgerler. İkinci grup içerisinde yer alan bileşiklerin indirgenmesi yoluyla oluşan formazan kristalleri ise suda ve sonuç olarak besi yerinde çözünülebilir karakteristiktir [107]. Hücre toksisitesi analizlerinde sıklıkla kullanılan tetrazolyum bileşiklerinin kimyasal yapıları Şekil 2.12.'de gösterilmektedir



Şekil 2.13. MTT, WST-1 ve XTT yapıları [107].

Tetrazolyum kimyasalları kullanılarak yapılan canlılık testleri, üç aşamada gerçekleştirilmektedir. Birinci olarak, analize tabi tutulacak olan kimyasal

madde ile üzerinde çalışma yapılacak olan hücreler belirli bir süre, kimyasalın besisi yerine eklenmesi suretiyle inkübe edilmektedir. İkinci aşamada ise analizi yapılan kimyasal madde ortamdan uzaklaştırılmakta ve tetrazolyum bileşiği besisi yerine eklenmektedir. Tetrazolyum bileşiği besisi yerine eklendikten sonra ortalama 1 ile 4 saat süren bir inkübasyon gerçekleştirilmektedir [108]. Söz konusu olan inkübasyon süresince, canlı hücreler kullanılan tetrazolyum bileşiğini indirgeyerek formazana dönüştürmektedir. Son olarak da renk değişimi spektrofotometrik analiz yöntemleri ile analiz edilerek hücre canlılığı kantitatif olarak saptanmaktadır. [102, 109]. Analiz sonucunda saptanan absorbans miktarı, tetrazolyum tuzunun derişimine, canlı hücre sayısına, bağlıdır. MTT kimyasalı indirgenmeden önce sarımtırak renklidir, indirgenme reaksiyonu ile dönüştüğü formazan formu ise mor renklidir ve suda çözünmemektedir (Şekil 2.12.). Ancak analizin doğru yapılabilmesi için, çökelen formazan kristallerinin mutlaka çözünmesi gerekmektedir. MTT testinde oluşan ve çökelen formazanı çözmek için dimetilsülfoksit (DMSO) kimyasalının uygulanmaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Kullanılan Malzemeler

Malzeme	Marka
MDA-MB-231 hücre hattı	ATTC (HTB-26)
MCF-7 hücre hattı	ATTC (HTB-22)
L-929 hücre hattı	ECACC (NCTC)
DMEM	Sigma (D6429)
RPMI-1640	ATTC (30-2001)
Fetal bovin serum	ATTC (30-2020)
Penicilin-Streptomycin	ATTC (30-2300)
%0.25 Trypsin-EDTA (1X)	Sigma
MTT	Serva
Sodyum hidrür	Sigma
1-Naftilmetil klorür	Sigma
2-(diizipropilamimo)etilklorür	Sigma
2-morfolinoetilklorür	Sigma
<i>p</i> -simen	Sigma
Benzimidazol	Sigma
Diklorometan	Sigma
Tetrahidrofuran,	Sigma
Etanol	Sigma
Rutenyum klorür	Sigma
Tripan Blue	Sigma
4,6-diamidino-2 fenilindol (DAPI)	Sigma
Formaldehit	Sigma
PBS	Sigma
Mounting media	Sigma

3.2. Kullanılan Cihazlar

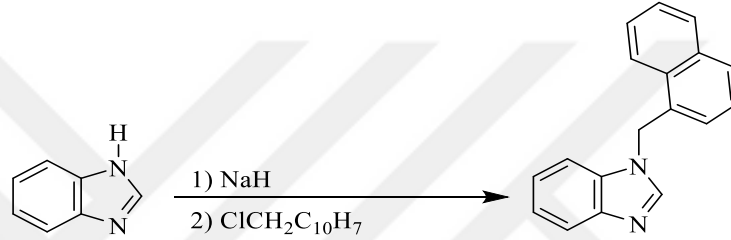
Cihaz	Marka/Model
Laminar Kabin	Bilser Biosafety Cabinet (Class II)
CO ₂ İnkübarör	ESCO
ELISA	Biotek, Epoch
Hücre görüntüleme cihazı	Juli FL
-80 °C	Nüve
Çeker ocak	Fume
Floresan mikroskop	Olympus BX51 Japan

3.3. Genel Sentez Yöntemi

Sentezlenen bileşiklerin bazıları havanın nemine ve oksijene karşı hassas olmaları nedeniyle tüm deneyler inert atmosferde gerçekleştirildi. Bundan dolayı tepkimede kullanılan cam malzemeler kullanılmadan önce vakum altında ısıtılarak içerisindeki nem ve oksijen uzaklaştırılıp daha sonra argon gazı ile dolduruldu. Çözücüler ve reaktifler, kullanılmadan önce literatürde verilen yöntemler esas alınarak kurutulup inert ortamda saflaştırıldı [110].

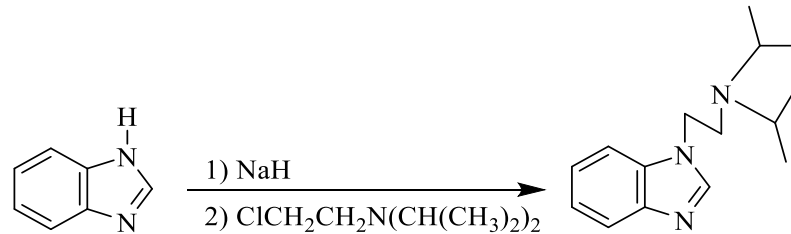
3.4. N-Koordine Benzimidazol Ligandlarının Sentezi

3.4.1. N-(1-naftalenometil)benzimidazol, 1a



Hekzan ile yıkanıp kurutulmuş sodyum hidrür (1.2 g, 50 mmol) bir şilence konuldu. Üzerine THF (50 mL) eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika karıştırıldı. Karışım üzerine benzimidazol (5.90 g, 50 mmol) azar azar ilave edildi. Çözeltiye 1-naftilmetilklorür (8.8 g, 50 mmol) eklendi. Oluşan çözelti bir gece oda sıcaklığında, 3 saat su banyosunda karıştırıldı. Çözelti soğutuldu ve THF vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen katı üzerine diklormetan (40 mL) ilave edildi ve filtreden süzüldü. Ham ürün DCM/Et₂O karışımında kristallendirildi. Verim: 8.22 g; % 63..

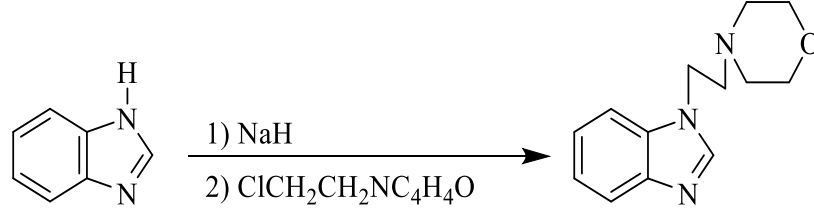
3.4.2. N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol, (1b)



Hekzan ile yıkanıp kurutulmuş sodyum hidrür (1.2 g, 50 mmol) bir şilence konuldu. Üzerine THF (50 mL) eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika karıştırıldı. Karışım üzerine benzimidazol (5.90 g, 50 mmol) azar azar ilave

edildi. Çözeltiye 2-(diizopropilamino)etilklorür (8.1 g, 50 mmol) eklendi. Oluşan çözelti bir gece oda sıcaklığında, 3 saat su banyosunda karıştırıldı. Çözelti soğutuldu ve THF vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen katı üzerine diklormetan (40 mL) ilave edildi ve filtreden süzüldü. Ham ürün DCM/Et₂O karışımında kristallendirildi. Verim: 9.0 g; % 74.

3.4.3. N-(2-morfolinoetil)benzimidazol, 1c

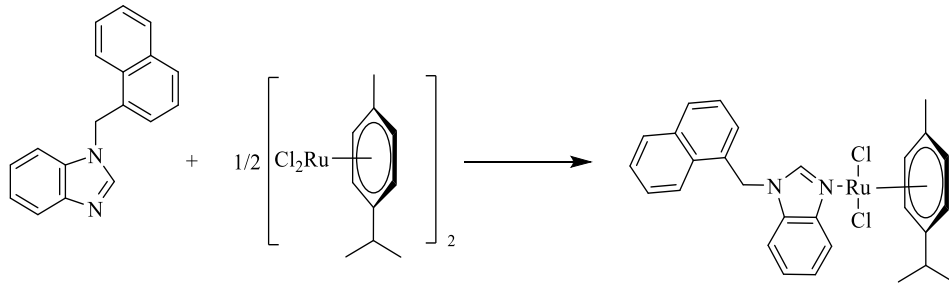


Hekzan ile yıkanıp kurutulmuş sodyum hidrür (1.2 g, 50 mmol) bir şilence konuldu. Üzerine THF (50 mL) eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika karıştırıldı. Karışım üzerine benzimidazol (5.90 g, 50 mmol) azar azar ilave edildi. Çözeltiye 2-morfolinoetil klorür (7.5 g, 50 mmol) eklendi. Oluşan çözelti bir gece oda sıcaklığında, 3 saat su banyosunda karıştırıldı. Çözelti soğutuldu ve THF vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen katı üzerine diklormetan (40 mL) ilave edildi ve filtreden süzüldü. Ham ürün DCM/Et₂O karışımında kristallendirildi. Verim: 8.4 g; % 73.

3.5. N-koordine Ru(II)-*p*-simen Komplekslerinin Sentezi

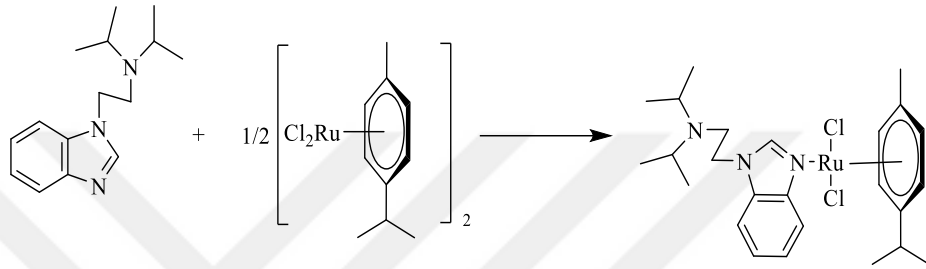
Benzimidazolin türevleri literatüre göre sentezlendi [111-112]. 1-Sübstitüye benzimidazolinlerin sentezi için benzimidazol; THF'te NaH ile etkileştirilip uygun alkil halojenür tepkime ortamına eklendi. Oluşan ham ürün damıtılarak saflaştırıldı. Elde edilen ligandlar, [RuCl₂(*p*-simen)]₂ ile etkileştirilerek Ru-(II)-azol kompleksi elde edildi.

3.5.1. Dikloro-(N-(1-naftalenometil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II), 2a



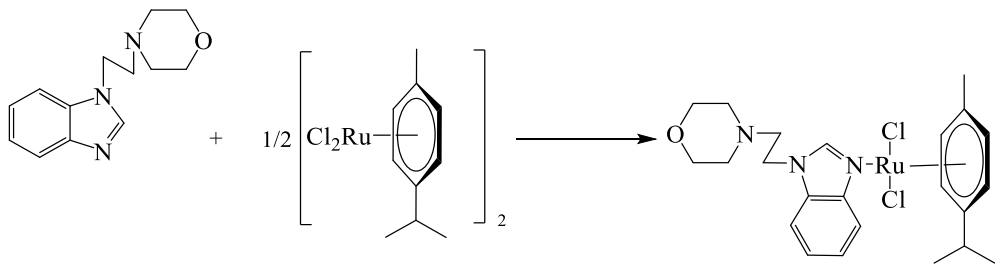
N-(1-naftalenometil)benzimidazol (0,26 g; 1,00 mmol) kuru toluende (10 mL) çözüldü ve çözeltiye $[\text{RuCl}_2(p\text{-simen})]_2$ kompleksi (0,31 g; 0,5 mmol) ilave edildi. Toluene sıcaklığında 4 saat reflux kaynatıldı. Çözücünün tamamı vakumda uzaklaştırılıp bordo renkteki ham ürün eterle yıkandı ve vakumda kurutuldu. Diklormetan/eter (1:4) ortamında kristallendirildi. Verim: 0,52 g; % 78.

3.5.2. Dikloro-N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum (II), 2b



N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol (0,24 g; 1,00 mmol) kuru toluende (10 mL) çözüldü ve çözeltiye $[\text{RuCl}_2(p\text{-simen})]_2$ kompleksi (0,31 g; 0,5 mmol) ilave edildi. Toluene sıcaklığında 4 saat reflux kaynatıldı. Çözücünün tamamı vakumda uzaklaştırılıp bordo renkteki ham ürün eterle yıkandı ve vakumda kurutuldu. Diklormetan/eter (1:4) ortamında kristallendirildi. Verim: 0,47 g; % 78.

3.5.3. Dikloro-N-(2-morfolinoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II), 2c



N-(2-morfolinoetil)benzimidazol (0,23 g; 1,00 mmol) kuru toluende (10 mL) çözüldü ve çözeltiye $[\text{RuCl}_2(p\text{-simen})]_2$ kompleksi (0,31 g; 0,5 mmol) ilave edildi. Toluene sıcaklığında 4 saat reflux kaynatıldı. Çözücünün tamamı vakumda uzaklaştırılıp bordo renkteki ham ürün eterle yıkandı ve vakumda kurutuldu. Diklormetan/eter (1:4) ortamında kristallendirildi. Verim: 0,45 g; % 76.

3.6. Antikanser Aktivite

N-alkilbenzimidazol ligandları (1a-c) ve bu ligandların N-koordine Ru(II) kompleksleri (2a-c) antikanser aktivitelerinin araştırılması amacıyla MCF-7 ve MDA-MB-231 insan meme kanser hücreleri, ATTC'den ve L-929 normal fare fibroblast hücreleri ECACC'den ticari olarak temin edildi.

3.6.1. Bileşiklerin Hazırlanması

Bileşikler hücrelere uygulanacakları gün, dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde çözüldü ve farklı derişimdeki (0.5-500 µM) çözeltileri hazırlandı.

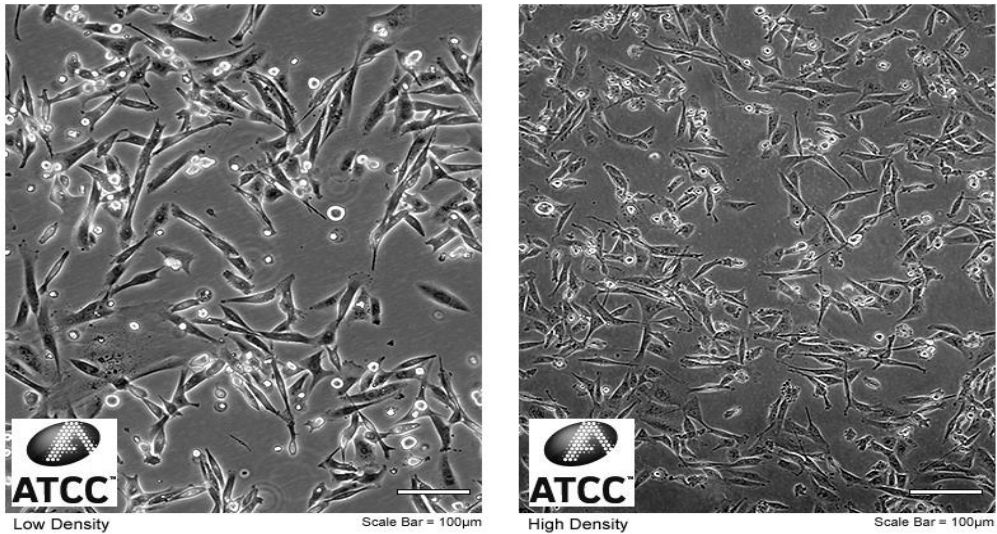
3.6.2. Kullanılan Hücre Hatları ve Büyüme Koşulları

Meme kanser hücreleri (MDA-MB-231 ve MCF-7) 10% (v/v) fetal bovin serum ve % 1 penicilin-streptomycin içeren DMEM besi yerinde, L-929 normal fibroblast hücreleri ise 10% (v/v) fetal bovine serum ve % 1 penicilin-streptomycin içeren RPMI-1640 besi yeri içerisinde, % 95 nem, 5 % CO₂ ve 37 °C koşullarındaki inkübatörde kültüre edildi.

3.6.2.1. MDA-MB-231 (ATCC® HTB-26™) Hücre Hattı

MDA-MB-231 hücre hattı, 51 yaşında karkas kökenli bir kadının meme dokusundaki adenokarsinomadan elde edilen meme kanseri hücre hattıdır. ATCC hücre bankası kodu HTB-26 olan MDA-MB-231 hücre hattının farklı büyüme oranlarına sahip görüntüleri Şekil 3.1.'de gösterilmektedir.

ATCC Number: **HTB-26™**
Designation: **MDA-MB-231**



Şekil 3.1. MDA-MB-231 Hücre Hattı Morfolojisi [113].

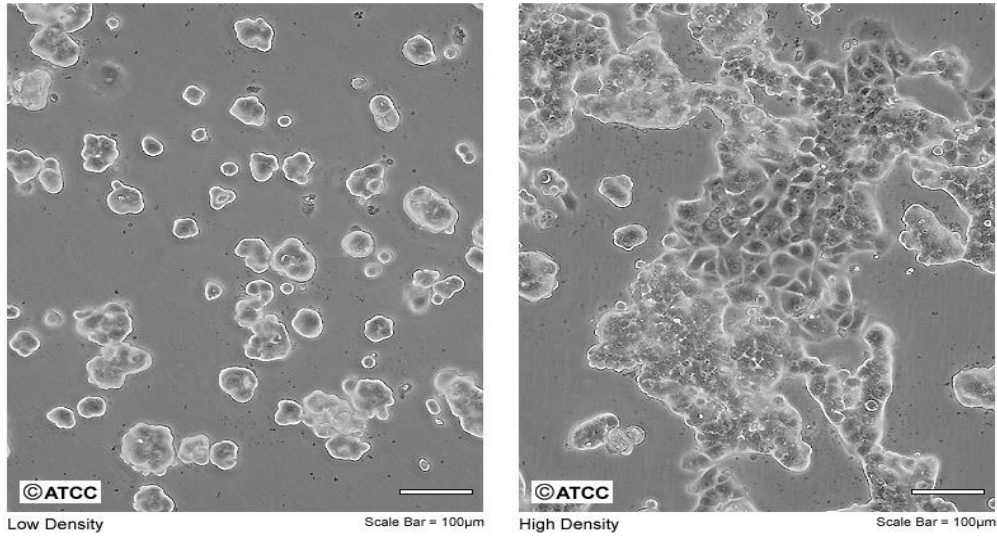
Oldukça agresif ve invazif olan MDA-MB-231 hücre hattı, östrojen, progesteron ve HER2 reseptörleri bakımından üçlü negatif özellikte olup kemoterapi çalışmalarında kullanılabilir potansiyeli olan ilaçların denenmesi için uygun bir modeldir. Bazal meme kanseri modelini oluşturan MDA-MB-231 hücre hattının MCF-7 ile ilaç hassasiyeti farklıdır. Östrojen reseptörünü hedef alan tamoksifen gibi kemoterapötik ilaçlardan etkilenmezler.

3.6.2.2. MCF-7 (ATCC® HTB-22™) Hücre Hattı

Michigan Cancer Foundation-7 (MCF-7) Hücre hattı 1970 yılında 69 yaşında olan kafa kökenli bir kadından izole edilen, meme adenokarsinoma, hücre hattıdır. ATCC hücre bankası kodu HTB-22 olan MCF-7 hücre hattının farklı büyüme oranlarına sahip görüntüleri Şekil 3.2.'de gösterilmektedir.

Östrojen reseptörü pozitif olan MCF-7 hücre hattı yalnızca östrojen uyarılması ile beraber büyümektedir. MCF-7 hücre hattı, progesteron reseptörü de pozitif olup HER2 bakımından negatiftir. MCF-7 hücreleri *in vitro* meme kanseri çalışmalarında, meme epitelini taklit eden karakteristikleri sebebiyle sıklıkla kullanılmaktadırlar.

ATCC Number: **HTB-22**
Designation: **MCF-7**



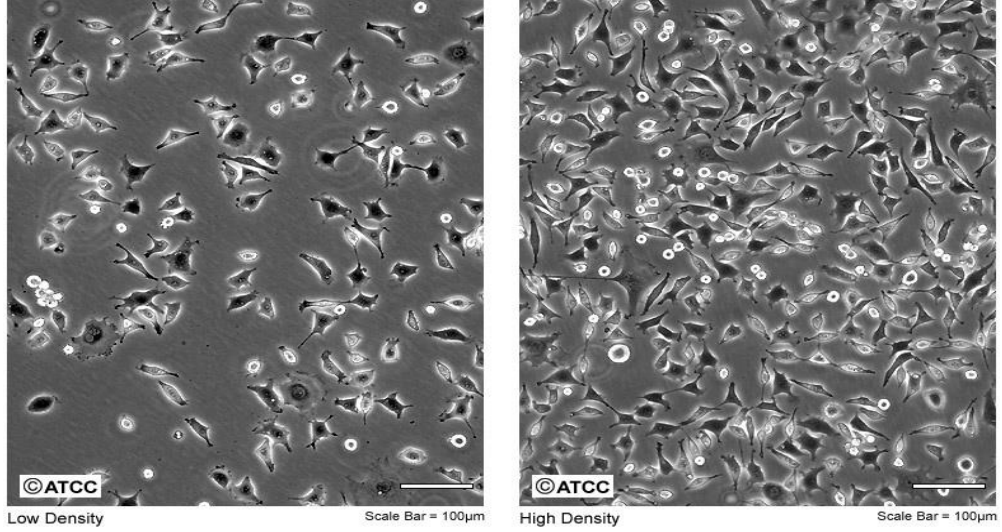
Şekil 3.2. MCF-7 Hücre Hattı Morfolojisi [113].

3.6.2.3. L-929 (ATCC® CCL-1™) Hücre Hattı

L-929 hücre hattı, erkek bir fareye ait sağlıklı adipoz dokuya ait hücre hattıdır. Fibroblastik karakteristiğe sahip olan L-929 hücreleri girintili yüzeylere

yapışabilme özelliğine sahiptirler. L-929 hücre European Collection of Authenticated Cell Cultures (ECACC) den temin edildi. L-929 hücre hattının farklı büyüme oranlarına sahip görüntüleri Şekil 3.3.'de gösterilmektedir.

ATCC Number: **CCL-1**
Designation: **NCTC clone 929**



Şekil 3.3. L-929 Hücre Hattı Morfolojisi [113].

3.6.3. Hücrelerin Çözülmesi

-80 °C'den çıkarılan hücreler (MDA-MB-231, MCF-7, ve L-929) 37 °C'lik su banyosunda hızlı bir şekilde çözülerek üzerlerine 1 mL besi yeri eklendi. Pipetaj yapılarak homojen hale getirildikten sonra 25 mL'lik flaslara alınarak, 8 mL besi yeri eklendi (MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanser hücresi üzerine DMEM, L-929 sağlıklı hücreler üzerine ise RPMI 1640). Flaslarda hücre varlığı kontrol edildikten sonra inkübatöre kaldırıldı. Ertesi gün hücrelerin tutunup tutunmadıkları kontrol edildi ve gerekli ise besi yerleri değiştirildi.

3.6.4. Hücrelerin Pasajlanması

Çözülen hücrelerin ekildiği flasklar her gün kontrol edildi. Büyüme yüzdeleri % 80-90'a ulaşan hücrelerin bulunduğu flaslardaki besi yerleri aspire edildi ve flaskın tüm yüzeyini kaplayacak şekilde 3 mL Tiripsin-EDTA eklendi. CO₂ inkübatöre alınan flasklar 15-20 sn'de bir kontrol edilerek hücrelerin flask yüzeyinden ayrılmaları sağlandı. Hücreler üzerine 10 mL besi yeri eklendi ve

pipetörle yavaşça al-çek işlemi yapılarak hücreler homojen hale getirildi. Bir flaska bu hücre süspansiyonunun yarısı eklendi ve her iki flaska da toplam hacim 12-15 mL olacak şekilde besi yeri eklendi. Hücre görüntüleme cihazı ile flasklardaki canlı hücre varlığı ve yoğunlukları kontrol edilerek CO₂ inkübatöre bırakıldı.

3.6.5. Hücrelerin Sayımı

3.7.4.'te anlatıldığı gibi elde edilen homojen hücre karışımından 10 µL endorf tüpe alınarak üzerine 10 µL tripan blue boyasından eklendi ve pipetajlandı. Bu karışımdan 10 µL alınarak gerçek zamanlı hücre görüntüleme cihazında en az 3 farklı bölgede sayıldı ve bu üç sayımın ortalaması alınarak hücre sayım işlemi tamamlandı.

3.6.6. Hücrelerin Ekimi ve MTT Ölçümü

3.7.4.'te anlatıldığı şekilde sayılan hücreler, hücre türüne göre DMEM ve RPMI besi yerleri kullanılarak 100000 hücre/mL olacak şekilde seyreltildi ve 96 kuyulu plakalara ekildi. Hücrelerin plakalara yapışmaları için plakalar birgün % 95 nem, 5 % CO₂ ve 37 °C koşullarındaki inkübatörde bekletildi ve bileşiklerin farklı derişimleri hücrelere uygulanarak 24, 48 ve 72 saat sonra MTT ölçümü yapıldı ve hücre canlılıkları belirlendi. Kısaca; zaman bitimlerinde her bir kuyuya 10 µl MTT eklenerek 2 saat 37°C 'de %5 CO₂ içeren inkübatörde inkübe edildi. 2 saat sonunda kuyulardaki besi yeri aspire edildi ve 100'er µl DMSO eklendi. 15 dakika oda sıcaklığında çalkalayıcı üzerinde inkübe edildikten sonra absorbans değerleri Elisa okuyucu ile 570 nm dalga boyunda okundu. Her bir bileşiğin 24, 48 ve 72 saat için IC₅₀ değerleri GraphPad Prism kullanılarak hesaplandı [114].

3.7. DAPI Boyaması

Floresan boyama yöntemi olarak kullanılan DAPI boyaması yapılarak, komplekslerin MDA-MB-231, MCF-7 insan meme kanseri ve L-929 fare normal fibroblast hücreleri üzerine apoptotik etkilerinin olup olmadığı belirlendi [115]. Üstel olarak büyüyen hücreler pasajlanarak 1x10⁵ hücre/mL olacak şekilde 6-kuyulu plakalara ekildi. Hücrelerin plakalara tutunmaları için 24 saat beklenildikten sonra **2a**, **2b**, ve **2c** komplekslerinin MTT deneyi

sonucunda 24, 48 ve 72 saat için belirlenen IC₅₀ derişim değerleri hücrelere uygulandı. Zaman bitimlerinde, besi yerleri aspire edilerek hücreler iki kez 1xPBS ile yıkandı ve 0.01% formaldehit çözeltisi ile 10 dakika fixe edildi. Hücreler tekrar iki kez 1xPBS ile yıkanarak, 100 µM DAPI eklendi ve 10 dk karanlıkta inkübe edildi. Son olarak hücreler tekrar iki kez 1xPBS ile yıkandıktan sonra 2 damla mounting media eklenip oda sıcaklığında 5 dk beklendi. Hücre morfolojisindeki değişimler 350/486 nm (ex/em) dalga boylarında (Olympus BX51, Japan) at 40× stereo-floresan mikroskobu ile görüntülendi.

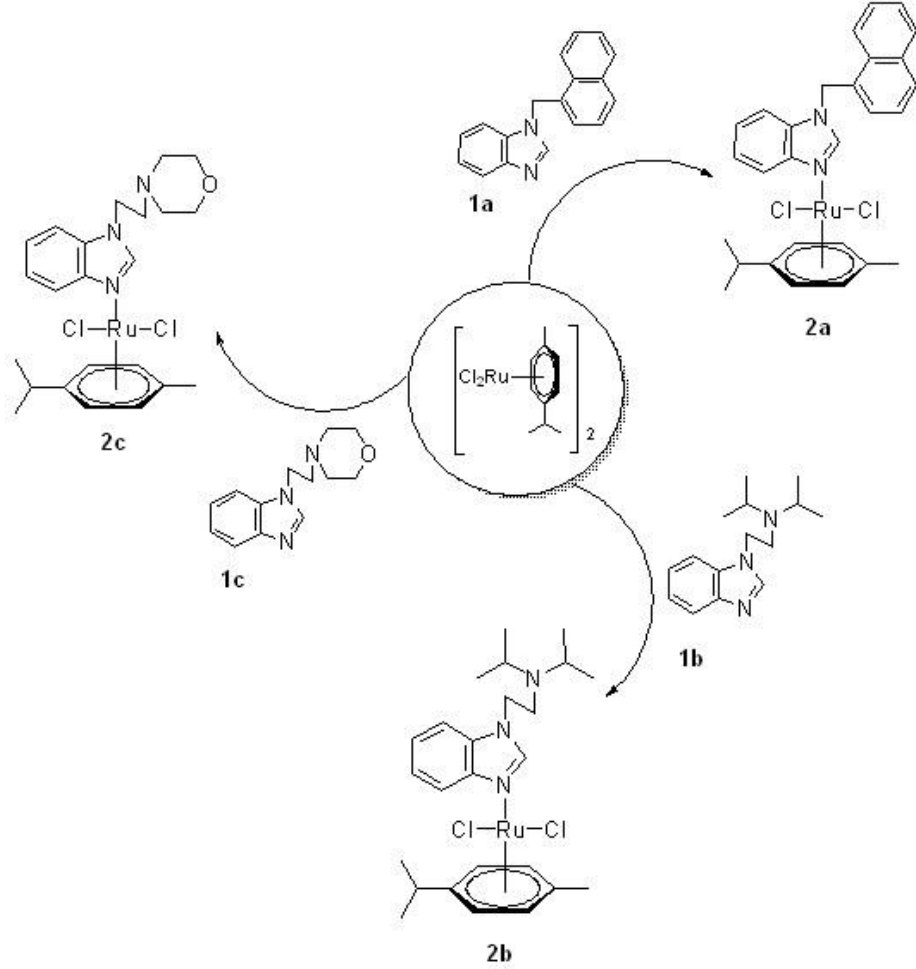
3.8. İstatistik Analiz

Antikanser aktivite deneylerindeki tüm ölçümler dokuz tekrarlı olarak yapıldı (n=9) ve sonuçlar standart sapmalarıyla (\pm SEM) verildi. GraphPad Prism7 programı (GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) kullanılarak IC₅₀ değerleri hesaplandı. Gruplar arasındaki farkın karşılaştırılması için One Way Anova ve Dunnett's çoklu karşılaştırma testi kullanıldı ve anlamlılık için *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001 olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Ligandlar (1a-c) ve N-koordine Ru-(II) Komplekslerinin (2a-c) Sentezi

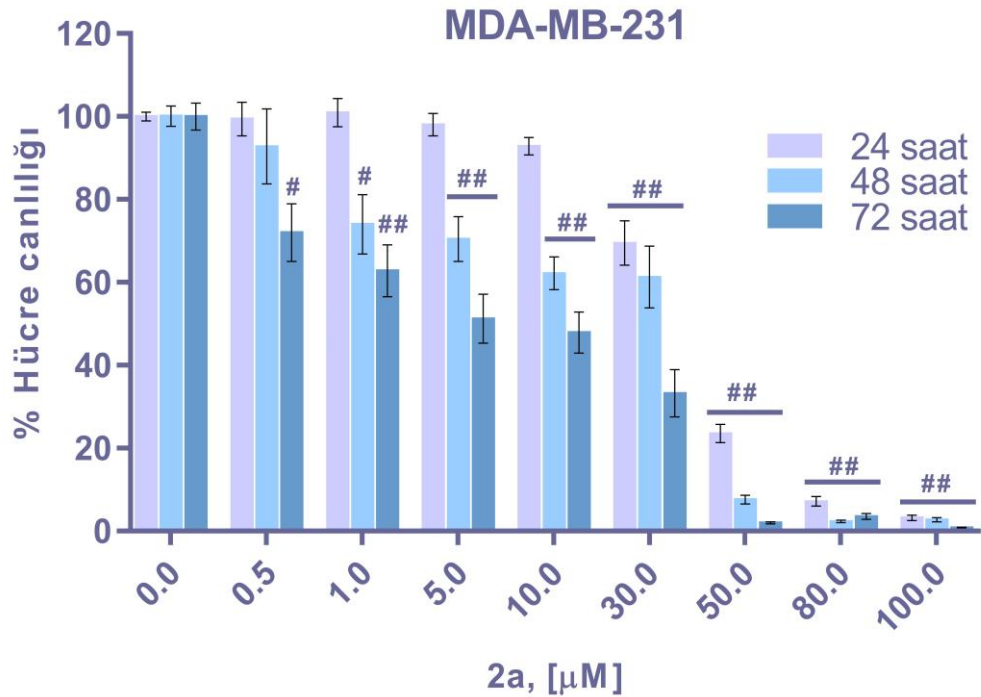
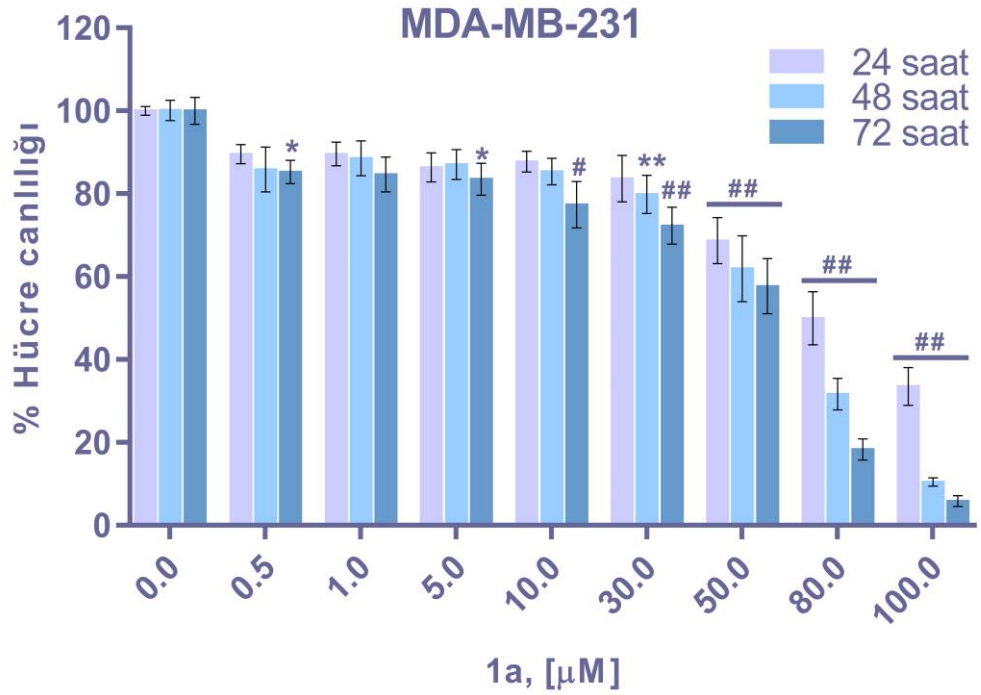
N-alkilbenzimidazol ligandları (1a-c) ve bu ligandların N-koordine Ru-(II) kompleksleri (2a-c) literatüre göre sentezlendi [111-112].



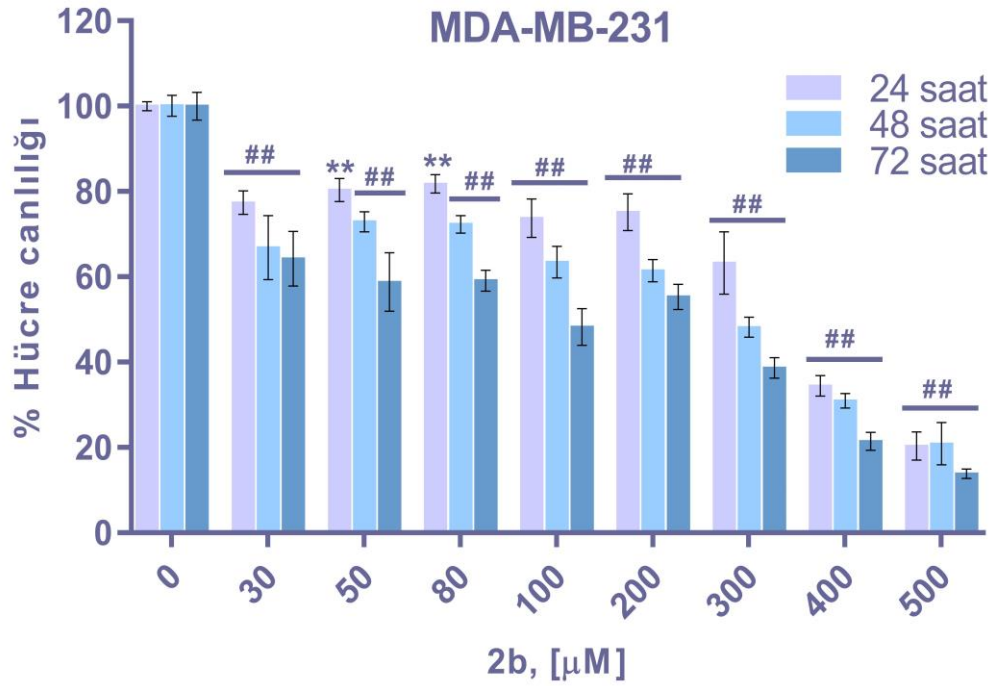
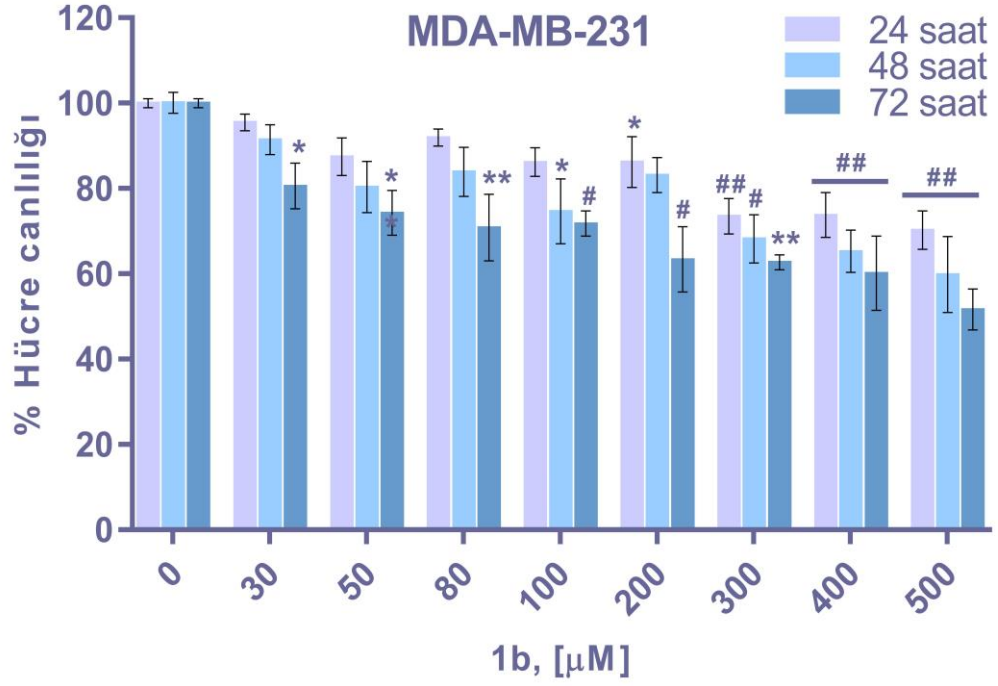
Şema 1. N-alkilbenzimidazol ligandları (1a-c) ve bu ligandların N-koordine Ru-(II) komplekslerinin (2a-c) sentezi [111,112].

4.2. Antikanser Aktivite

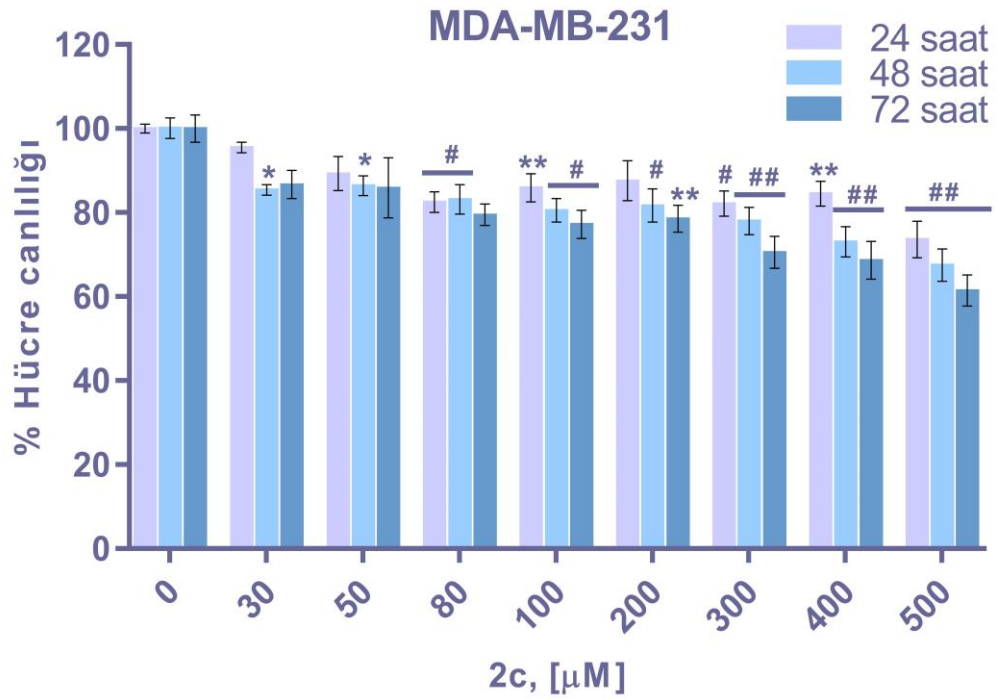
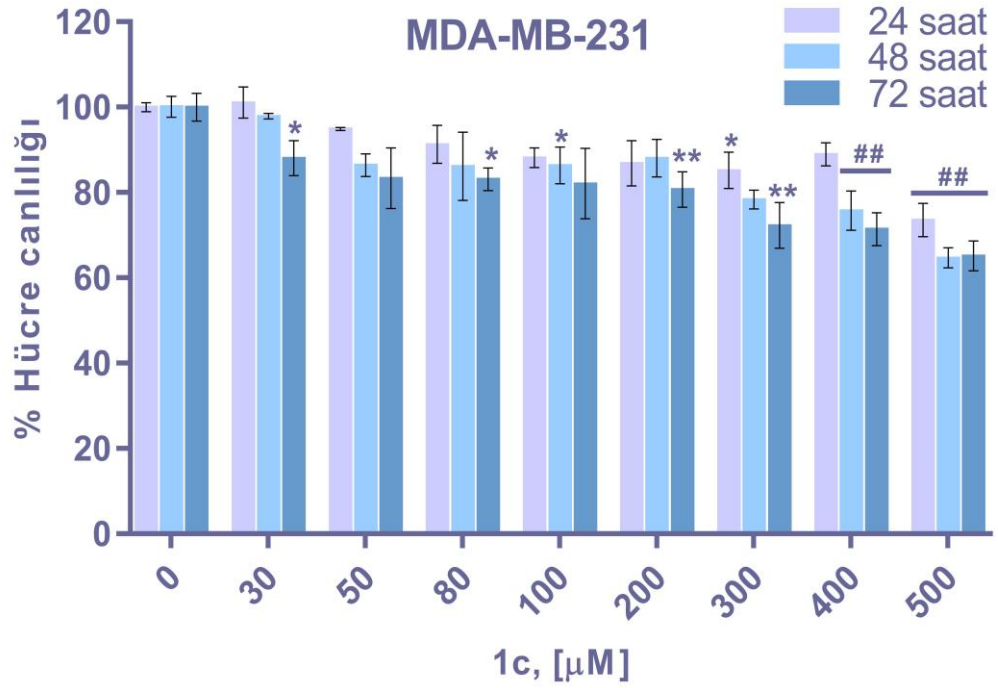
N-alkilbenzimidazol ligandları (1a-c) ve bu ligandların N-koordine Ru-(II) komplekslerinin (2a-c) MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri MTT yöntemi ile 24, 48 ve 72 saatlik uygulama zamanları için belirlendi (Şekil 4.2-4.6). Ayrıca tüm bileşikler L-929 normal fibroblast hücrelerine de uygulanarak, komplekslerin sağlıklı ve kanserli hücreler arasında seçici özelliğe sahip olup olmadıkları da araştırıldı (Şekil 4.7-4.9).



Şekil 4.1. N-(1-naftalenometil)benzimidazol (**1a**) ve Dikloro-(N-(1-naftalenometil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (**2a**)'un MDA-MB-231 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktivitesi. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir. (Kontrole göre anlamlılık; * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, # $p < 0.0005$, ## $p < 0.0001$).



Şekil 4.2. N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol, (**1b**) ve Dikloro-N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (**2b**)'un, MDA-MB-231 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrole göre anlamlılık; * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, # $p < 0.0005$, ## $p < 0.0001$).



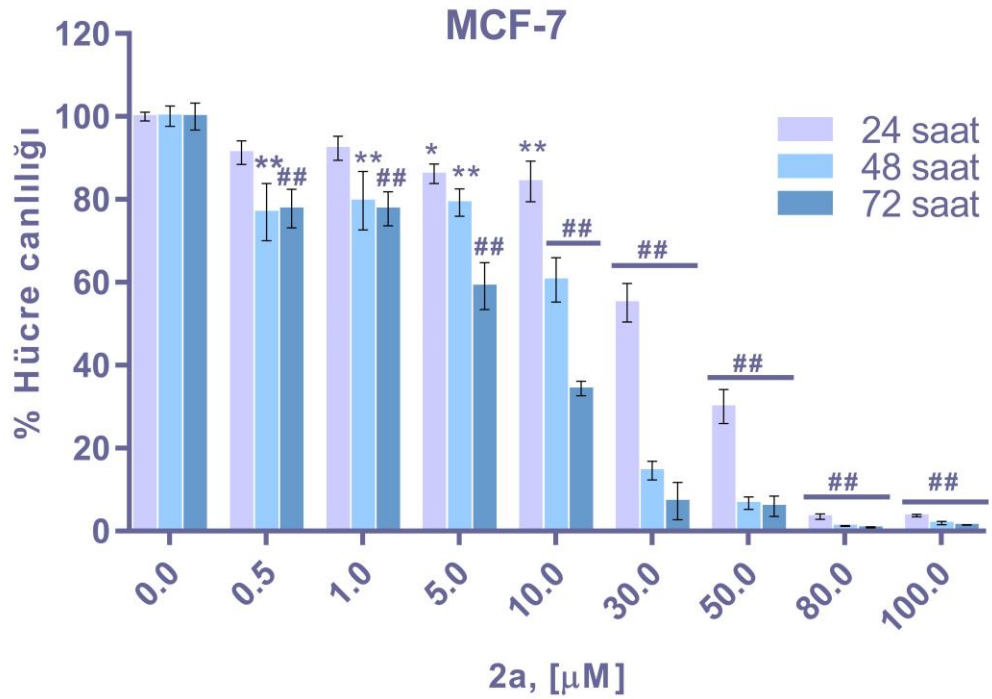
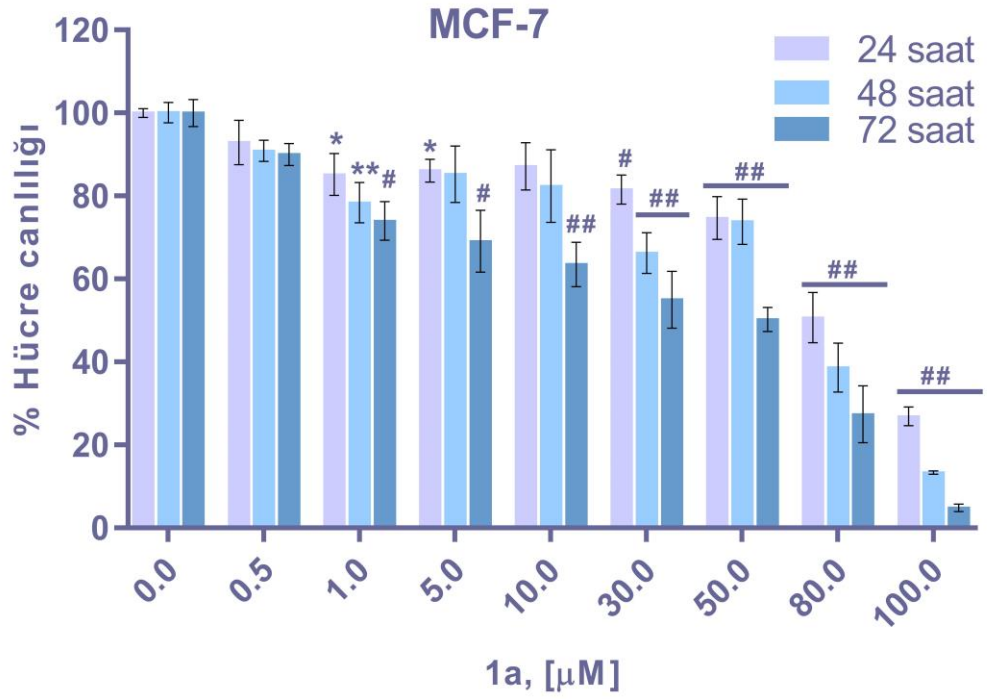
Şekil 4.3. N-(2-morfolinoetil)benzimidazol, (1c) ve Dikloro-N-(2-morfolinoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (2c)'un MDA-MB-231 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrole göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001).

Tablo 4.1. N-alkilbenzimidazol ligandları (**1a-c**) ve bu ligandların N-koordine Ru-(II) komplekslerinin (**2a-c**) MDA-MB-231 insan meme kanser hücrelerinde 24 saat, 48 saat ve 72 saat için IC₅₀ Değerleri

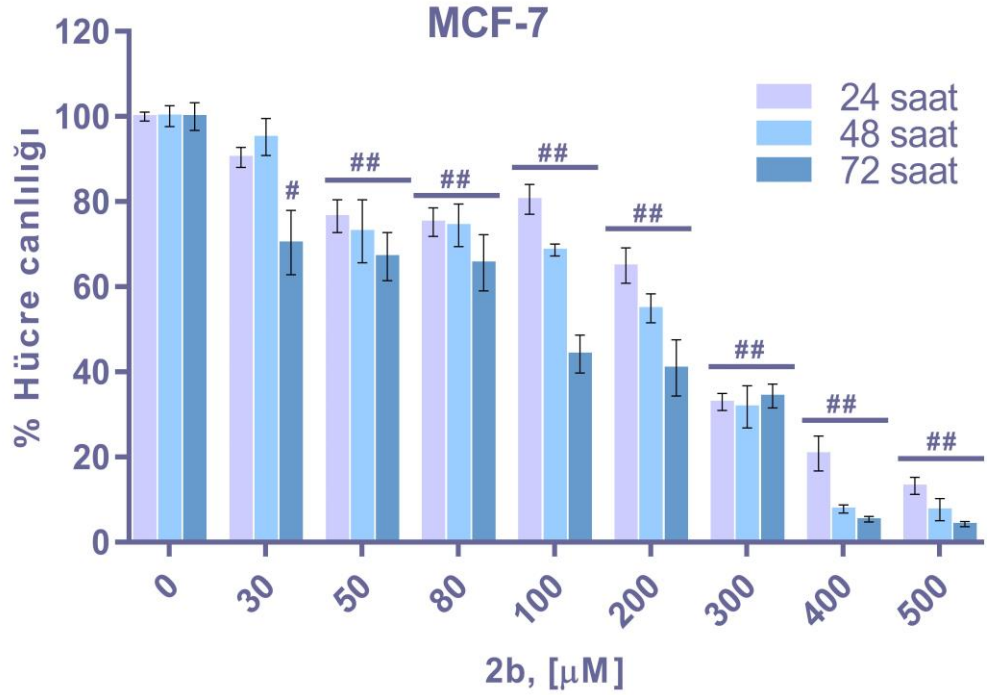
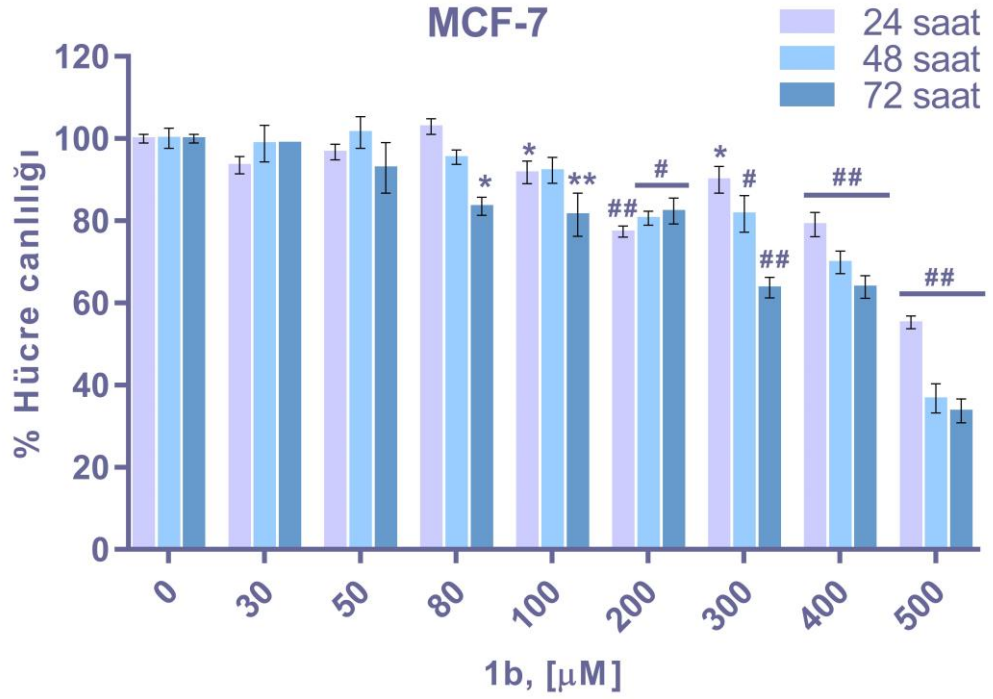
Bileşik	(IC ₅₀ , µM) ^a		
	24 saat	48 saat	72 saat
1a	67.6 ± 0.04	50.7 ± 0.20	41.5 ± 0.03
1b	>500	>500	>500
1c	>500	>500	>500
2a	35.9 ± 0.01	13.4 ± 0.07	8.98 ± 0.08
2b	180.0 ± 0.05	144.0 ± 0.03	86.1 ± 0.02
2c	>500	>500	>500

^aIC₅₀ değeri, bileşik uygulamalarından 24 saat, 48 saat ve 72 saat sonra yapılan MTT deneyi ile hücre canlılığında % 50 azalmaya neden olan derişim değeri olarak hesaplanmış olup sonuçlar ± SEM olarak verilmiştir (n=9).

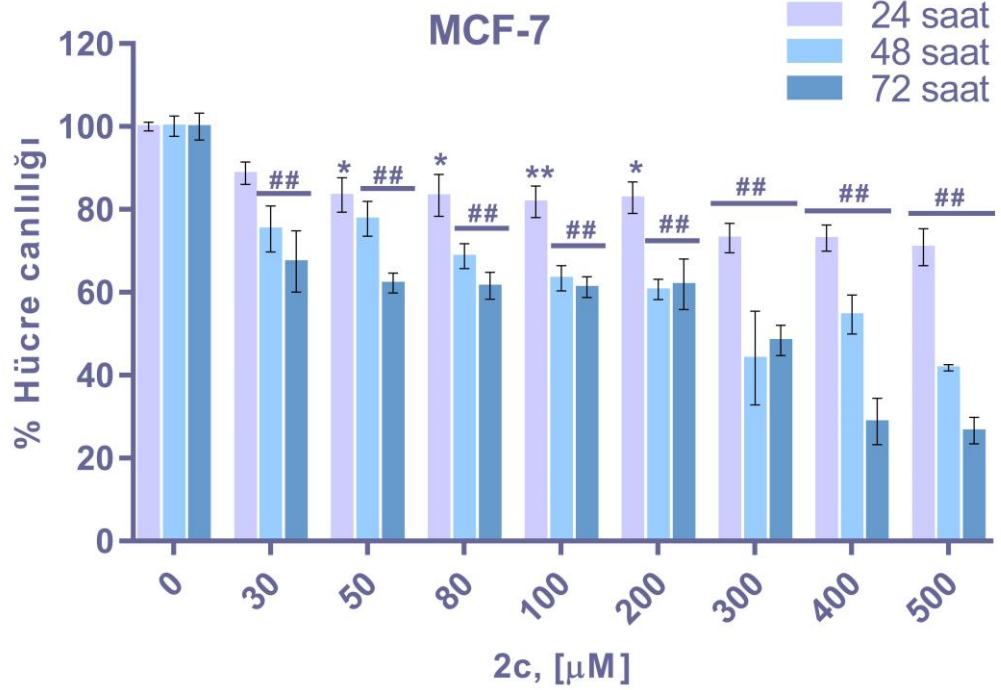
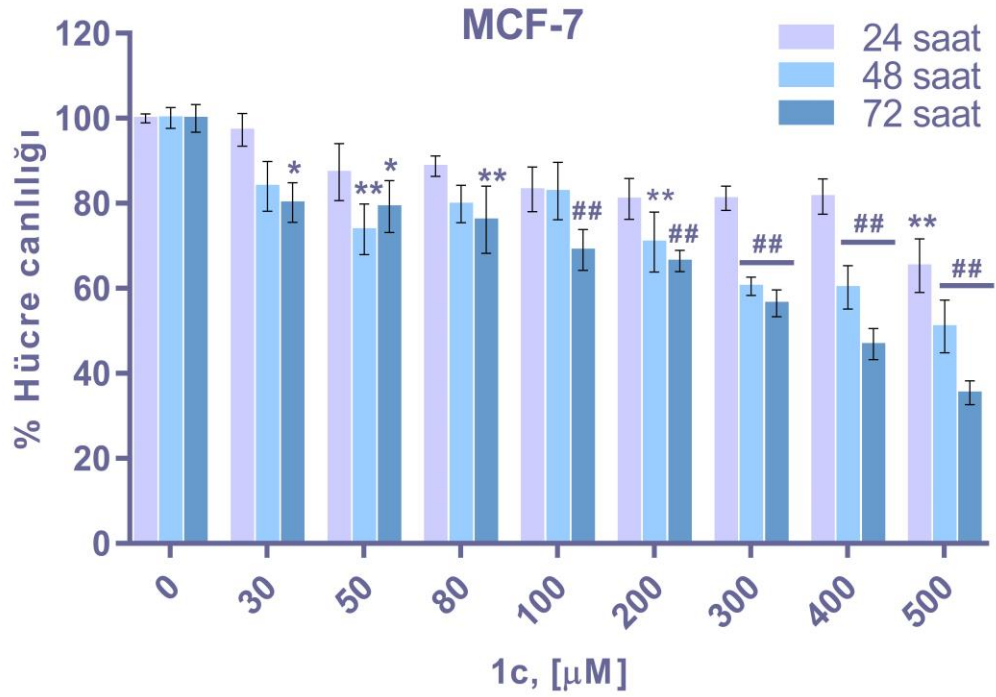
Şekil 4.1 – 4.3’de; x eksenini N-alkilbenzimidazol ligandları (**1a-c**) ve Ru-(II) komplekslerinin (**2a-c**) derişimlerini, y eksenini ise hücrelerin kontrole göre canlılık oranlarını göstermektedir. Şekil 4.1 – 4.3’de görüldüğü gibi ligand ve komplekslerin derişimindeki artışla paralel olarak antikanser aktivitede artış gözlenmiştir. Yani, bileşiklerin derişimlerinin artmasıyla, MDA-MB-231 meme kanser hücrelerinin canlılık oranlarında düşüş gözlenmiştir. Bu grafikler kullanılarak, ligandlar ve komplekslerin MDA-MB-231 meme kanser hücrelerinin % 50’sini öldürdükleri derişim değerleri (IC₅₀) hesaplanmıştır (**Tablo 4.1.**). IC₅₀ değerindeki azalma antikanser aktivitedeki artışa işaret etmektedir. **2a** ve **2b** komplekslerinin ligandlarına (**1a-b**) göre daha düşük IC₅₀ değerlerine sahip oldukları ve bu nedenle daha yüksek antikanser aktivite gösterdikleri saptanmıştır. **1b** ve **1c** ligandları ile **2c** kompleksinin tüm zaman noktalarında IC₅₀ değerleri > 500 µM olarak gözlemlendiğinden **1b** ve **1c** ligandları ile **2c** kompleksi MDA-MB-231 insan meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktivite göstermemiştir. **2a**’nın tüm zaman noktaları için elde edilen IC₅₀ değerlerinin diğer komplekslerin IC₅₀ değerlerinden daha küçük olduğu gözlenmiş olup, bu bulgu **2a** kompleksinin MDA-MB-231 meme kanser hücreleri üzerine en yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Bileşiklerin MDA-MB-231 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktivite sıralaması; 2a > 1a > 2b olarak bulunmuştur.



Şekil 4.4. N-(1-naftalenometil)benzimidazol (**1a**) ve Dikloro-(N-(1-naftalenometil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (**2a**)'un MCF-7 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir. (Kontrole göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001)



Şekil 4.5. N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol, (**1b**) ve Dikloro-N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (**2b**)'un, MCF-7 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrole göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001).



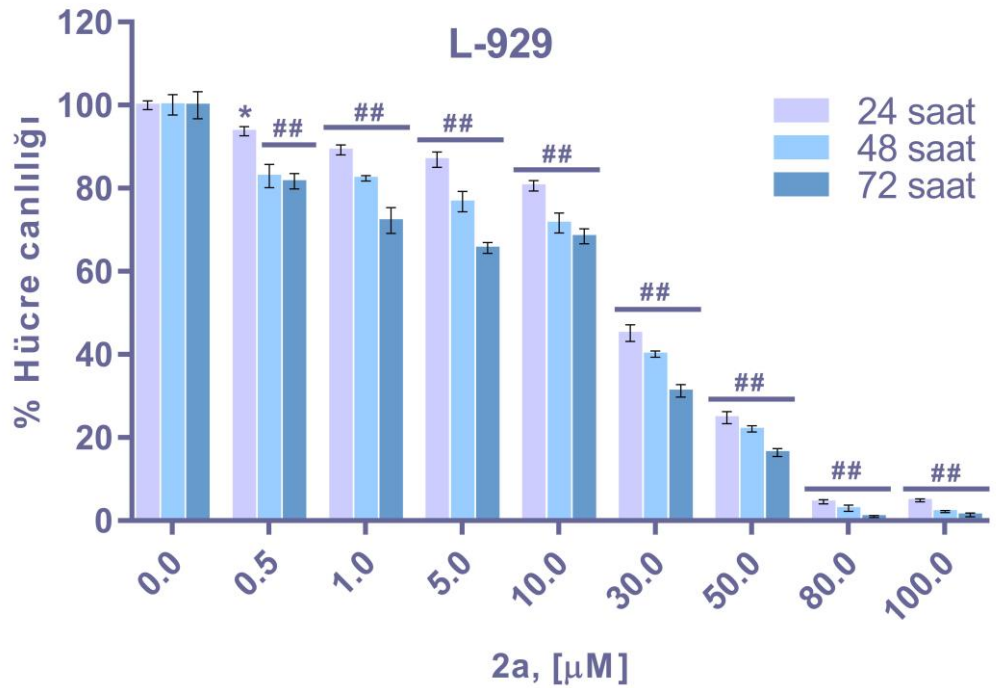
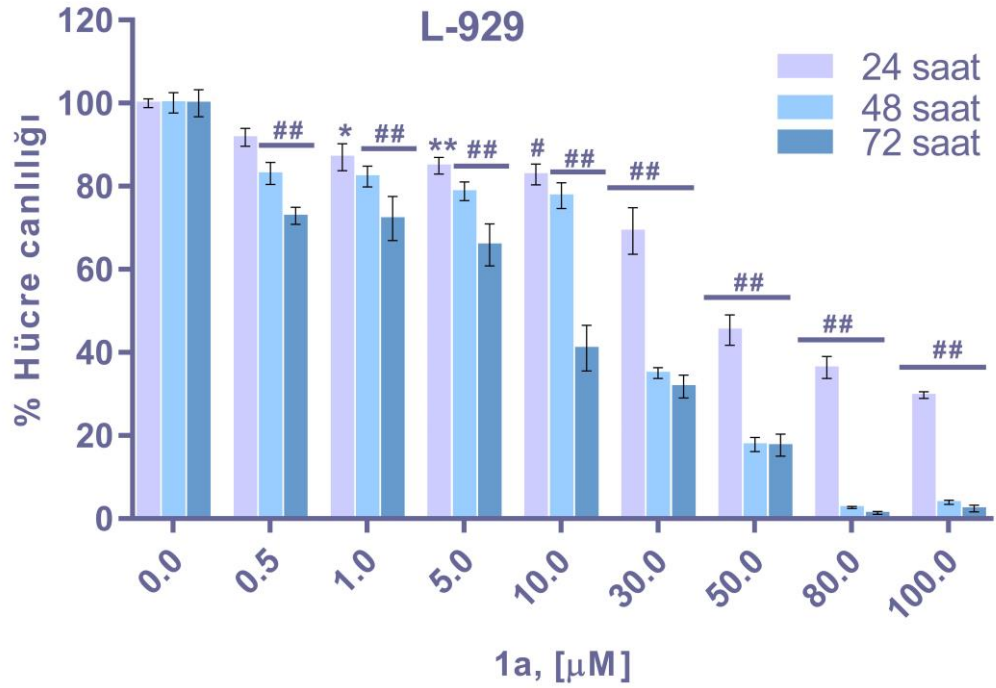
Şekil 4.6. N-(2-morfolinoetil)benzimidazol, (1c) ve Dikloro-N-(2-morfolinoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (2c)'un MCF-7 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri.. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrole göre anlamlılık; **p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001).

Tablo 4.2. N-alkilbenzimidazol ligandları (**1a-c**) ve bu ligandların N-koordine Ru-(II) komplekslerinin (**2a-c**.) MCF-7 insan meme kanser hücrelerinde 24 saat, 48 saat ve 72 saat için IC₅₀ değerleri

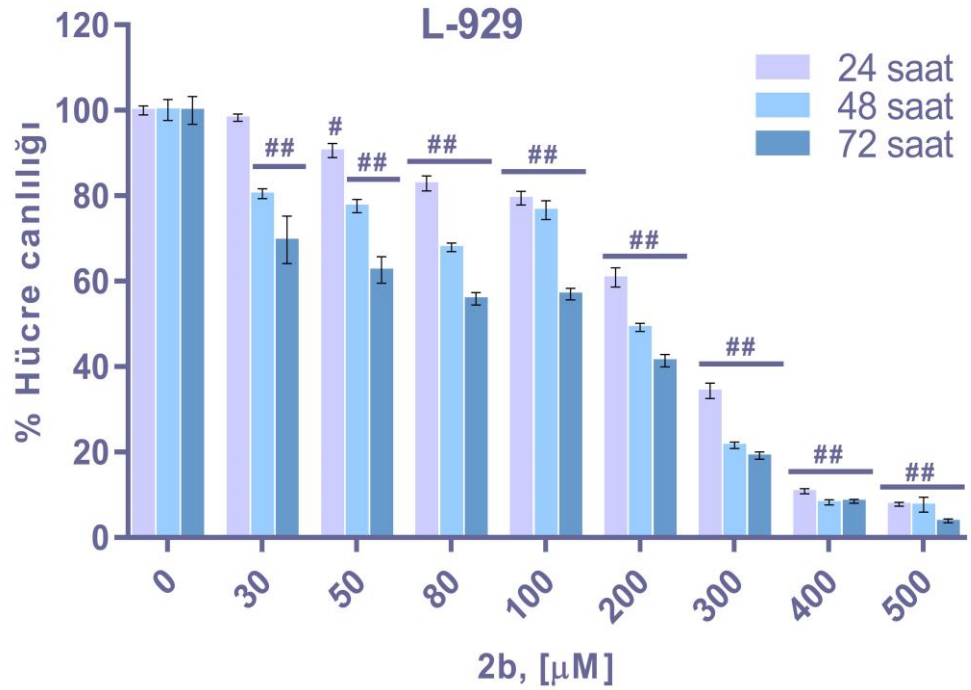
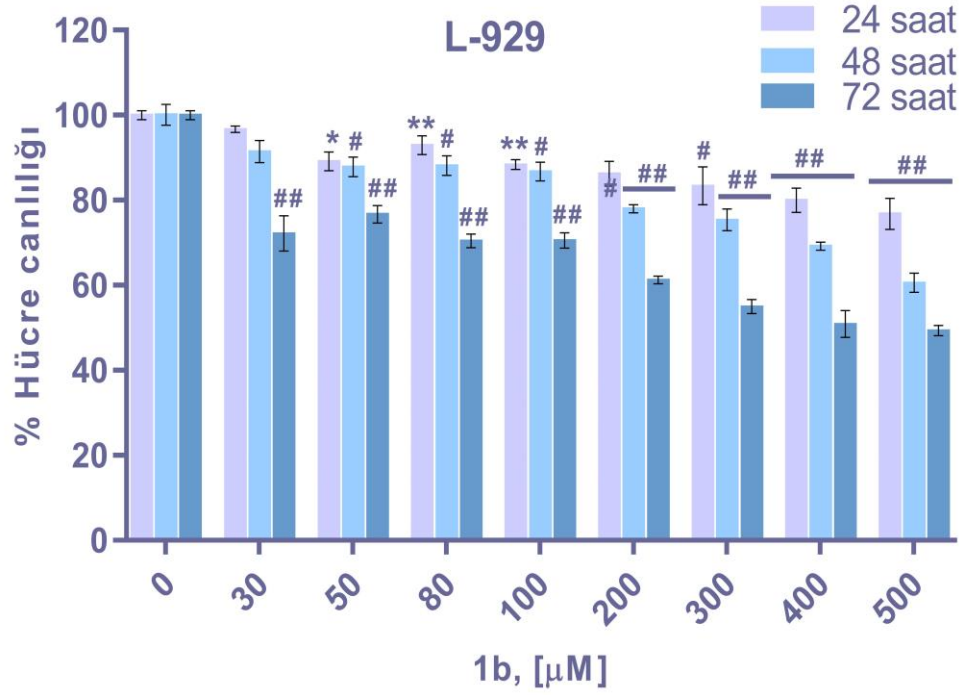
Bileşik	(IC ₅₀ , µM) ^a		
	24 saat	48 saat	72 saat
1a	51.2 ± 0.03	50.1 ± 0.05	15.9 ± 0.08
1b	>500	472.1 ± 0.42	278.4 ± 0.03
1c	>500	>500	386.4 ± 0.05
2a	29.4 ± 0.03	11.3 ± 0.04	3.95 ± 0.07
2b	162.7 ± 0.03	118.0 ± 0.04	70.0 ± 0.06
2c	>500	329.2 ± 0.02	231.4 ± 0.40

^aIC₅₀ değeri, bileşik uygulamalarından 24 saat, 48 saat ve 72 saat sonra yapılan MTT deneyi ile hücre canlılığında % 50 azalmaya neden olan derişim değeri olarak hesaplanmış olup sonuçlar ± SEM olarak verilmiştir (n=9).

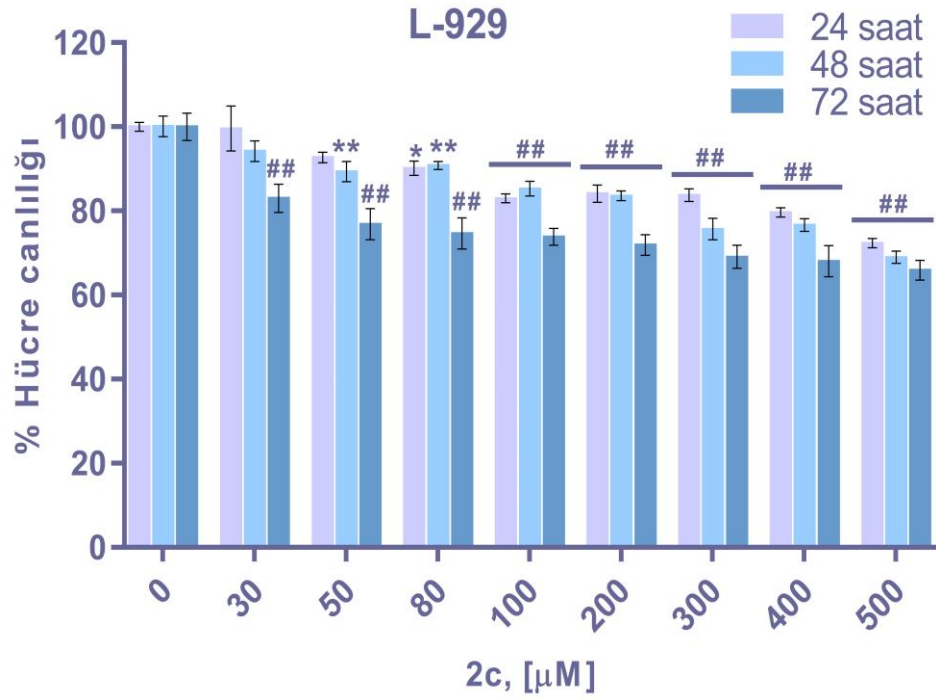
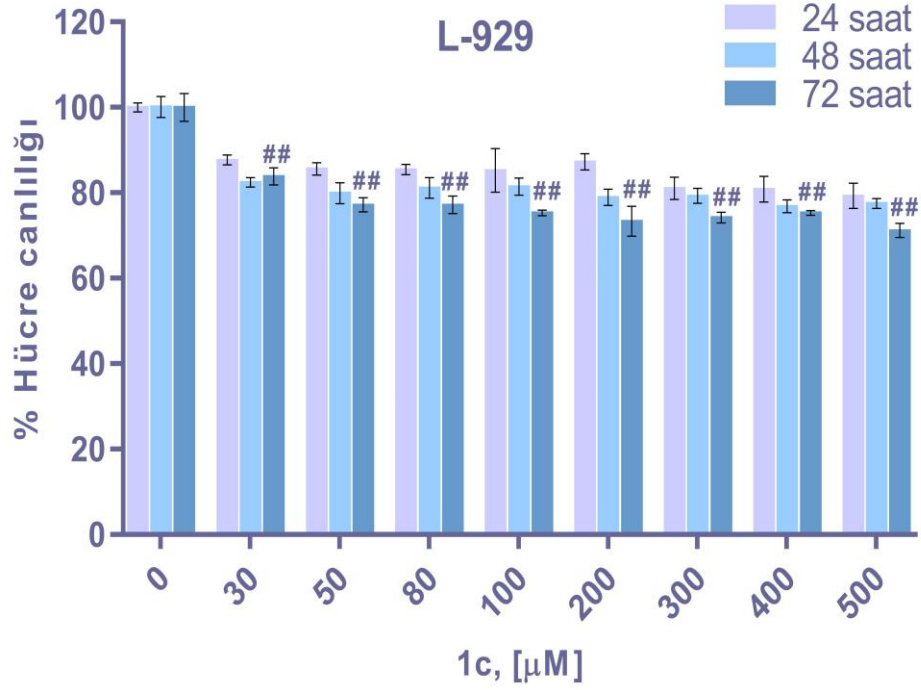
Şekil 4.4 - 4.6'da; x eksenini N-alkilbenzimidazol ligandları (**1a-c**) ve Ru-(II) komplekslerinin (**2a-c**) derişimlerini, y eksenini ise hücrelerin kontrole göre canlılık oranlarını göstermektedir. Şekil 4.4 - 4.6'da görüldüğü gibi ligand (**1a-c**) ve komplekslerinin (**2a-c**) derişimindeki artışla paralel olarak antikanser aktivitede artış gözlenmiştir. Bileşiklerin derişimindeki artışla paralel olarak, MCF-7 meme kanser hücrelerinin ölüm oranları artış göstermektedir. Bu grafikten faydalanılarak ligandlar (**1a-c**) ve Ru-(II) komplekslerinin (**2a-c**) MCF-7 meme kanser hücrelerinin % 50'sini öldürdükleri derişim değerleri (IC₅₀) belirlenmiştir (**Tablo 4.2.**). Düşük IC₅₀ değerleri, yüksek antikanser aktiviteyi göstermektedir. Ligandların (**1a-c**), komplekslere (**2a-c**) göre daha büyük IC₅₀ değerlerine sahip oldukları ve komplekslere göre daha düşük antikanser aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. **1c** ligandı dışındaki ligand (**1a-b**) ve komplekslerinin (**2a-c**) IC₅₀ değerlerinin zamana bağlı olarak azaldığı ve buna bağlı olarak antikanser aktivitelerinin arttığı gözlenmiştir. Tüm zaman noktaları için **2a** bileşiğinin en düşük IC₅₀ değerlerine ve en yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Ligandlar (**1a-c**) ve Ru-(II) komplekslerinin (**2a-c**) MCF-7 meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktivite sıralaması; 2a > 1a > 2b > 2c > 1b > 1c olarak bulunmuştur.



Şekil 4.7. N-(1-naftalenometil)benzimidazol (**1a**) ve Dikloro-(N-(1-naftalenometil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (**2a**)'un L-929 normal fare fibroblast hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrole göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001).



Şekil 4.8. N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol, (**1b**) ve Dikloro-N-(2-diizopropilaminoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (**2b**)'un, L-929 normal fare fibroblast hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrole göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, #p < 0.0005, ##p < 0.0001).



Şekil 4.9. N-(2-morfolinoetil)benzimidazol, (1c) ve Dikloro-N-(2-morfolinoetil)benzimidazol)-(p-simen)rutenyum(II) (2c)'un L-929 normal fare fibroblast hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri. Deneyler 9 tekrarlı yapılmış (n=9) ve sonuçlar \pm SEM olarak verilmiştir (Kontrole göre anlamlılık; *p < 0.05, **p < 0.005, ##p < 0.0001).

Tablo 4.3. N-alkilbenzimidazol ligandları (**1a-c**) ve bu ligandların N-koordine Ru-(II) komplekslerinin (**2a-c**) L-929 normal fare fibroblast hücrelerinde 24 saat, 48 saat ve 72 saat için IC₅₀ Değerleri

Bileşik	(IC ₅₀ , µM) ^a		
	24 saat	48 saat	72 saat
1a	22.3 ± 0.04	16.6 ± 0.03	5.47 ± 0.06
1b	>500	>500	>500
1c	>500	>500	>500
2a	22.2 ± 0.02	15.9 ± 0.03	9.30 ± 0.05
2b	187.0 ± 0.01	150.3 ± 0.02	90.1 ± 0.04
2c	>500	>500	>500

^aIC₅₀ değeri, bileşik uygulamalarından 24 saat, 48 saat ve 72 saat sonra yapılan MTT deneyi ile hücre canlılığında % 50 azalmaya neden olan derişim değeri olarak hesaplanmış olup sonuçlar ± SEM olarak verilmiştir (n=9).

Şekil 4.7. - 4.9.'da; x eksenini N-alkilbenzimidazol ligandları (**1a-c**) ve Ru-(II) komplekslerinin (**2a-c**) derişimlerini, y eksenini ise hücrelerin kontrole göre canlılık oranlarını göstermektedir. Şekil 4.7. - 4.9.'da görüldüğü gibi ligand ve komplekslerin derişimindeki artışla paralel olarak antikanser aktivitede ve L-929 hücrelerinin ölüm oranlarında artış gözlenmiştir. Bu grafikler yardımıyla ligandlar (**1a-c**) ve Ru-(II) komplekslerinin (**2a-c**) L-929 hücrelerinin % 50'sini öldürdükleri derişim değeri (IC₅₀) belirlenmiştir (**Tablo 4.3.**). Düşük IC₅₀ değeri yüksek antikanser aktiviteye işaret etmektedir. Komplekslerin (**2a-c**), L-929 hücrelerinde ligandlarına göre (**1a-c**) daha düşük IC₅₀ değerlerine sahip oldukları ve daha yüksek antikanser aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. MDA-MB-231 meme kanser hücre hattına benzer olarak; **1b** ve **1c** ligandları ile **2c** kompleksinin tüm zaman noktalarında IC₅₀ değeri > 500 µM olarak gözlemlendiğinden **1b** ve **1c** ligandları ile ve **2c** kompleksi L-929 hücreleri üzerine antikanser aktivite göstermemiştir. **2a**'nin tüm zaman noktaları için elde edilen IC₅₀ değerlerinin diğer komplekslerin IC₅₀ değerlerinden daha küçük olduğu gözlenmiş olup, bu bulgu **2a** kompleksinin L-929 hücreleri üzerine en yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Bileşiklerin L-929 normal fare fibroblast hücreleri üzerine antikanser aktivite sıralaması MDA-MB-231 meme kanser hücre hattında gözlemlendiği gibi; 2a > 1a > 2b olarak bulunmuştur

Tablo 4.4. N-koordine Ru-(II) komplekslerin (**2a-c**) seçicilik indeksleri (Sİ)

Hücre hattı	Zaman (Saat)	Kompleks (SI) ^a		
		2a	2b	2c
MDA-MB-231	24	<1	1.03	>1
	48	1.18	1.04	>1
	72	1.04	1.04	>1
MCF-7	24	<1	1.15	>1
	48	1.40	1.27	> 1.52
	72	2.35	1.28	> 2.16

^aSeçicilik indeksi, aynı kompleksin aynı zaman noktaları için sağlıklı hücreler için gözlenen IC₅₀ değerlerinin kanserli hücreler için gözlenen IC₅₀ değerlerine bölünmesiyle hesaplandı.

MDA-MB-231 ve MCF-7 insan meme kanser hücreleri için en yüksek seçiciliğe sahip olan Ru-(II) kompleksi belirlemek için, herbir kompleksin iki ayrı meme kanser hücre hattı için seçicilik indeksi (SI) değerlerini hesaplandı (**Tablo 4.4.**). Çalışmalarda, beş ve üzeri SI değerine sahip olan bileşiklerin kanser hücrelerine karşı sağlıklı hücrelere göre daha yüksek toksik etki gösterdiği bildirilmiştir [116-117]. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, **2a**'nın MDA-MB-231 ve MCF-7 insan meme kanser hücreleri için 24 saat uygulama zamanı dışında SI değerleri >1 olarak gözlenmiştir. **2b** kompleksi göz önüne alındığında ise, tüm uygulama zamanları için Sİ değerleri her iki insan meme kanser türü için > 1 olarak bulunmuştur. **2c** kompleksinin MDA-MB-231 insan meme kanser hücre hattına uygulanan üç zaman noktası ve MCF-7 insan meme kanser hücre hattı için ise 24 saat zaman noktası için SI değerleri ≥ 1 olarak belirlenmiştir. Ayrıca **2a**, **2b** ve **2c** kompleksleri için en yüksek Sİ değeri MCF-7 meme kanser hücre hattında 72 saat uygulama zamanında saptanmıştır. Verilere göre elde edilen bir diğer sonuç; komplekslerin MDA-MB-231 meme kanseri üzerine gözlenen Sİ değerleri birbiri ile çok yakın değerler olup, MCF-7 meme kanser hücre hattı için Sİ değerleri ise zamanla artış göstermektedir. Bu nedenle kompleksler, MCF-7 hücre hatlarında zamana bağlı seçicilik gösterirken, MDA-MB-231 meme kanser hücrelerinde zaman bağlı seçici özellik göstermemektedirler.

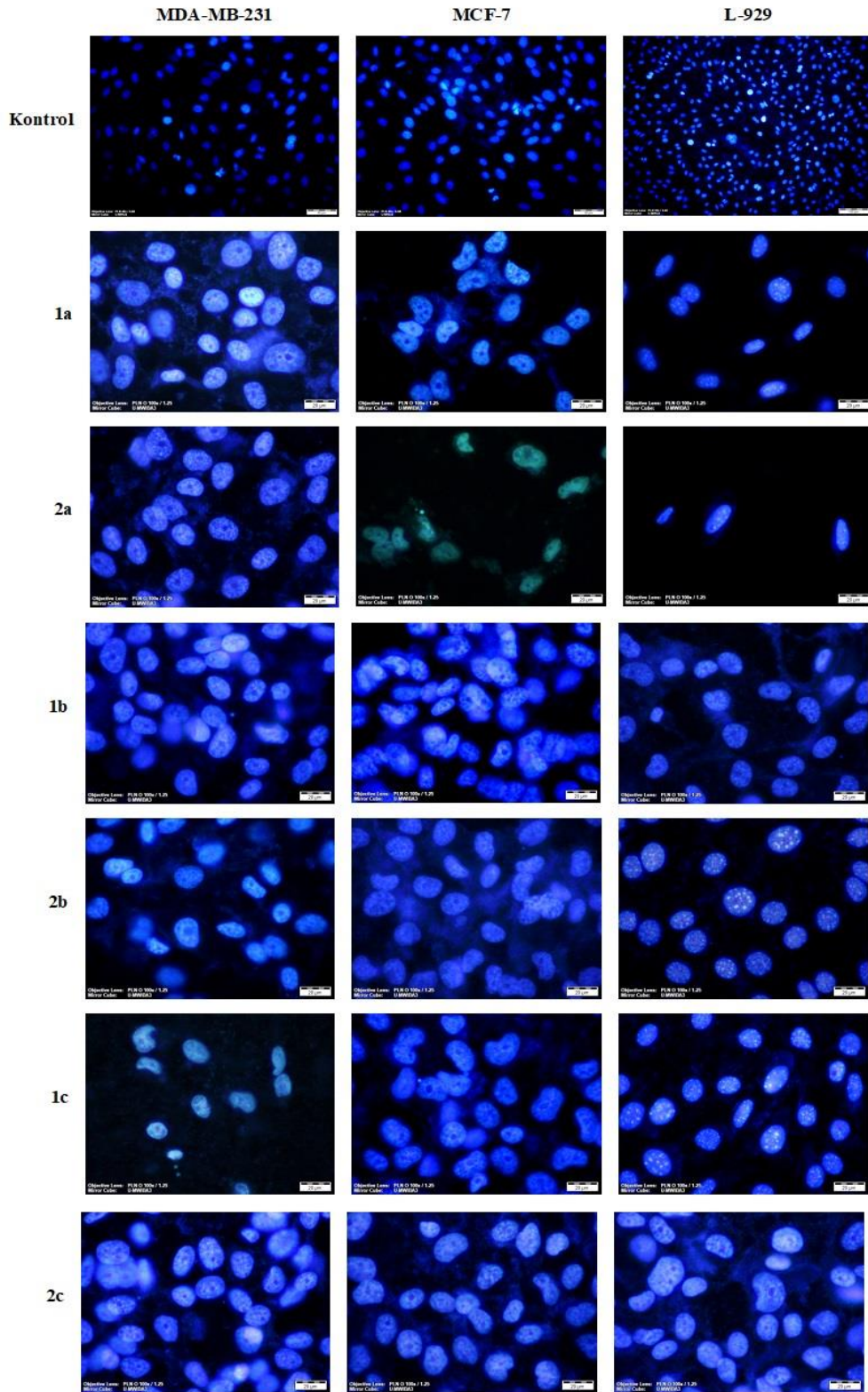
Yapı sitotoksik aktivite arasındaki ilişki incelendiğinde; **2a-c** komplekslerini birbirinden farklı kılan yapı, benzimidazol grubuna bağlı olan R gruplarıdır. R grupları; **2a-c** komplekslerinde sırasıyla; *naftalenometil*, *diizopropilaminoetil*,

ve *morfolinoetil*'dir. Komplekslerin MDA-MB-231 ve MCF-7 insan meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri **2a** > **2b** > **2c** olarak bulunmuştur. **2a** kompleksinde bulunan *naftalenometil* grubunun, bileşiğin insan meme kanser hücre hatları üzerindeki yüksek antikanser aktivitesinde önemli rol aldığı belirlenmiştir. Antikanser aktivite sıralaması *diizopropilaminoetil* bağlı **2b** ve *morfolinoetil* bağlı **2c** kompleksi olarak devam etmektedir. Bu sonuçlar, benzimidazol yapısına bağlanan grubun, bileşiğin hem aktivitesinde hem de seçiciliğinde çok önemli rolü olduğunu göstermektedir. Bileşikler, aynı kanser türünün alt tiplerinde (MCF-7 insan meme kanser hücre hattı östrojen (ER), progesteron (PR) reseptörleri açısından pozitif ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü (HER2) açısından negatif iken; MDA-MB-231 meme kanser hücre hattı östrojen (ER), progesteron (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü (HER2) reseptörleri açısından negatiftir) de seçicilik gösterebilmektedirler.

4.3. DAPI Boyaması

Floresan boyama yöntemi olarak kullanılan DAPI boyaması yapılarak, komplekslerin MDA-MB-231, MCF-7 insan meme kanser hücreleri ve L-929 normal fare fibroblast hücrelerine apoptotik etkilerinin olup olmadığı belirlendi. Floresan boyama yöntemleri, floresan maddelerin (örn. Hoechst boyası, DAPI, propidium iyodür) kullanılmasıyla yapılmaktadır. Floresan boyalar DNA'ya bağlanabildiklerinden, hücrenin kromatini dolayısıyla nükleusu görünür hale gelmektedir. DAPI, DNA'ya bağlanan floresan bir boyadır ve hücre morfolojisiyle ilgili bilgiler vermektedir. Kromatin kondensasyonu veya nükleus fragmentasyonu olan hücreler apoptotik hücreler olarak değerlendirilmektedir.

Şekil 4.10'da kontroller , insan meme kanser hücreleri (MDA-MB-231, MCF-7) ile normal fare fibroblast hücrelerine (L-929) ligand (**1a-c**) ve komplekslerin (**2a-c**); 24, 48 ve 72 saat için MTT deneyi ile belirlenmiş olan IC₅₀ derişimlerinin uygulanmasından 24, 48 ve 72 saat sonra yapılan DAPI boyaması sonucunda elde edilen floresan mikroskop görüntüleri verilmiştir. Şekil 4.10'da görüldüğü gibi kromatin kondensasyonu veya nükleus fragmentasyonunun varolduğu apoptotik hücreler gözlenmiştir.



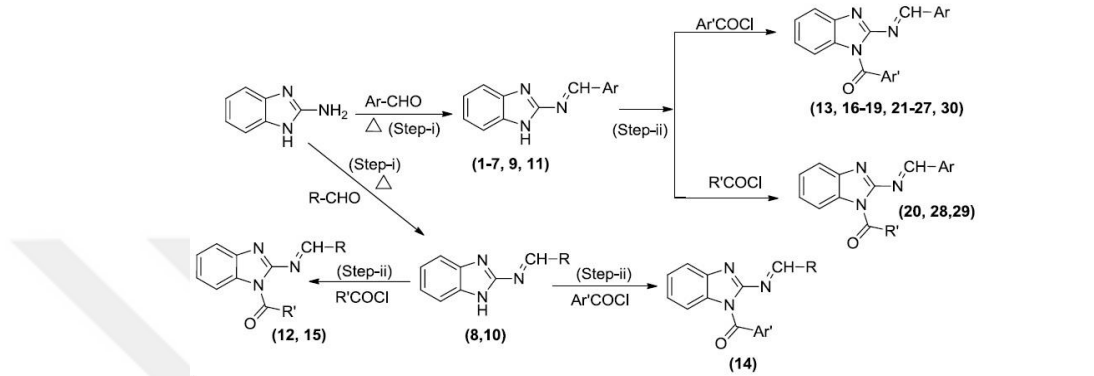
Şekil 4.10. Ligand ve komplekslerin 24, 48 ve 72 saat için belirlenen IC_{50} derişim değerlerinin uygulandığı MDA-MB-231, MCF-7 meme kanser hücreleri ve L-929 normal fare fibroblast hücrelerinde DAPI boyaması

5. TARTIŞMA

Dünya’da meme kanseri, kadınlarda görülen kanser türleri arasında, en fazla görülen malign (kötü huylu) tümörü olup, kadınlarda oluşan kanserlerin yaklaşık olarak %30’unu oluşturmaktadır. Meme kanserinin görülme sıklığı dünya genelinde ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir. Avrupa genelinde yılda yaklaşık olarak 180.000, Birleşik Devletler’ de (ABD) ise yaklaşık olarak 184.000 yeni meme kanseri vakası tespit edilmektedir. Dünya genelinde ortalama yaşam süresinin artması, yaşam biçiminin farklı etkenlerle (çevresel faktörler, egzersiz, stres vs.) değişim geçirmesi, kanser teşhisi için yapılan kanser taramalarının yaygınlaşması ve kanser vakalarının bildiriminde meydana gelen artışlar meme kanseri görülme sıklığındaki artışa sebep olan başlıca etmenler olarak sayılabilmektedir. Meme dokusunda tümör hücrelerinin oluşmasında, meme hücrelerinin uzun süreli olarak östrojen hormonuna maruz kalması temel sebep olarak sunulmaktadır. Tesbit edilen meme kanseri türlerinin yaklaşık olarak %60’ından fazlasının östrojen reseptörü bakımından pozitif olduğu bilinmektedir. Tespit edilen bu meme kanseri dokularından yaklaşık olarak üçte birinin de endokrin tedavilere yanıt vermediği ortaya konulmuştur.

Kanserin modern tedavisi birçok farklı ilaç içermesine rağmen, bu ilaçların yan etkileri nedeniyle yeni anti kanser ilaçların keşvine yönelik araştırmalar önem kazanmaktadır. Günümüzde inorganik ilaçlar, tıbbi tedavi edicilerin önemli bir kısmını oluşturmakta ve son otuz yıldır sisplatin bileşiği $[Pt(NH_3)_2Cl_2]$ ve analogları kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sisplatinin suda çözünürlüğünün az olması, toksisitesinin yüksek olması gibi dezavantajları bilim adamlarını daha iyi tedavi ediciler ve daha az zararlı bileşikler bulmaya yönlendirmiştir. Metaller ile heterosiklik ligandların oluşturduğu kompleksler, metal-proteinlerin model bileşikler oldukları için biyoinorganik kimyada özel bir ilgi alanıdır. Son yıllarda N-koordine metal komplekslerinin sentezi koordinasyon kimyasında yoğun olarak çalışılmakta ve birçok koordinasyon bileşiğinin biyolojik aktiviteleri araştırılmaktadır. Ru ve benzimidazolün yararlı biyolojik aktiviteleri nedeniyle Rutenyum-(II) benzimidazol bileşiklerine olan ilgi her geçen gün artmaktadır.

Vashist ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 30 farklı 1,2-disübstitüe benzimidazol türevi sentezlenerek, bu bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Çalışmada ayrıca, sentezlenen bileşiklerin MCF-7 insan meme kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri 72 saat uygulama zamanı için araştırılmış ve bileşiklerin antikanser aktiviteleri yaygın olarak kullanılan kemoterapötik bir ilaç olan 5-Florourasil (5-FU) ile karşılaştırılmıştır [118].

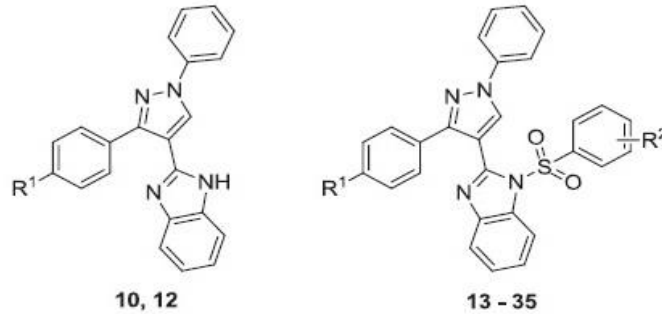


Comp.	R/Ar	R'/Ar'	Comp.	R/Ar	R'/Ar'	Comp.	R/Ar	R'/Ar'
1		--	11		-	21		
2		--	12			22		
3		--	13			23		
4		--	14			24		
5		--	15			25		
6		--	16			26		
7		--	17			27		
8		--	18			28		
9		-	19			29		
10		-	20			30		

Elde edilen bulgular; 5-FU in MCF-7 meme kanser hücreleri için IC₅₀ değerinin 35.4 µM olduğunu, bileşiklerin MCF-7 meme kanser hücreleri için IC₅₀ değerlerinin ise 0.9 ile > 628.1 µM arasında değiştiğini göstermiştir. 12, 21, 22 ve 29 numaralı bileşiklerin MCF-7 meme kanser hücrelerine karşı en yüksek antikanser aktiviteye sahip oldukları saptanmış olup, IC₅₀ değerleri sırasıyla 7.0, 5.4, 0.9 ve 5.5 µM olarak bulunmuştur [118]. Çalışmamızdan elde

edilen sonuçlara göre; **2a** kompleksinin MCF-7 meme kanser hücre hattında 72 saat uygulama zamanı için IC₅₀ değeri 3.95 ± 0.07 µM olup, 22 numaralı bileşik dışındaki bileşiklere göre (12, 21 ve 29) daha yüksek antikanser aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Diğer ligand ve komplekslerin (**1a-c**, **2b**, **2c**) IC₅₀ değerlerinin 12, 21, 22 ve 29 numaralı bileşiklerin IC₅₀ değerlerinden daha yüksek olduğu ve bu nedenle daha düşük antikanser aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir.

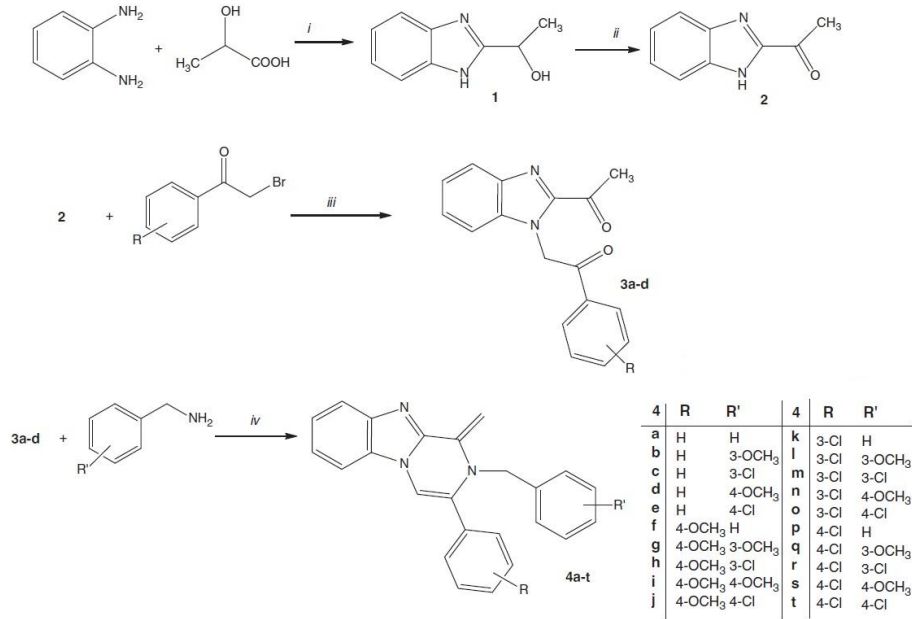
Son yıllarda, tubulin hedefli ilaçlar, antikanser ilaç araştırmalarının odağı haline gelmektedir. 2019 yılında yapılan çalışmada benzimidazol graftlı-benzsülfamid içeren pirazol halka türevi 25 adet yeni bileşik sentezlenmiş ve potansiyel tubulin polimeraz inhibitörleri olarak biyoaktiviteleri açısından incelenmişlerdir. Tüm bileşiklerin, insan akciğer adenokarsinomu epitel hücre hattı (A549), serviks karsinoma hücre hattı (Hela), insan hepatoma hücre hattı (HepG2) ve insan meme kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerindeki inhibisyon aktiviteleri 24 saat uygulama zamanı için MTT yöntemi kullanılarak araştırılmıştır [119].



Compounds	R ¹	R ²	Compounds	R ¹	R ²
10	-CH ₃	-	24	-F	4-F
12	-CF ₃	-	25	-F	4-Cl
13	-CH ₃	H	26	-F	4-Br
14	-CH ₃	4-CH ₃	27	-F	4-CF ₃
15	-CH ₃	2,5-(CH ₃) ₂	28	-CF ₃	H
16	-CH ₃	4-F	29	-CF ₃	4-OCH ₃
17	-CH ₃	4-Cl	30	-CF ₃	2,5-(CH ₃) ₂
18	-CH ₃	4-Br	31	-CF ₃	4-NO ₂
19	-CH ₃	4-CF ₃	32	-CF ₃	4-F
20	-F	H	33	-CF ₃	4-Cl
21	-F	4-OCH ₃	34	-CF ₃	4-Br
22	-F	2,5-(CH ₃) ₂	35	-CF ₃	4-CF ₃
23	-F	4-NO ₂			

Pozitif kontrol olarak kolsisin ve CA-4 kullanılmıştır. Bileşiklerin MCF-7 meme kanser hücresi için IC₅₀ değerlerinin 0.17–7.26 µM aralığında değiştiği gözlenmiştir. Çalışmamızda kullanılan bileşiklerde en küçük IC₅₀ değeri (29.4 ± 0.03 µM), **2a** kompleksi için gözleendiğinden, bileşiklerimiz bu çalışmada sentezlenen bileşiklerden daha düşük antikanser aktivite göstermişlerdir. En yüksek *in vitro* antikanser aktiviteye sahip olan bileşiğin; A549, Hela, HepG2 ve MCF-7 kanser hücre hatlarında IC₅₀ değerlerinin sırasıyla 0.15, 0.21, 0.33 ve 0.17 µM olduğu gözlenmiştir [119].

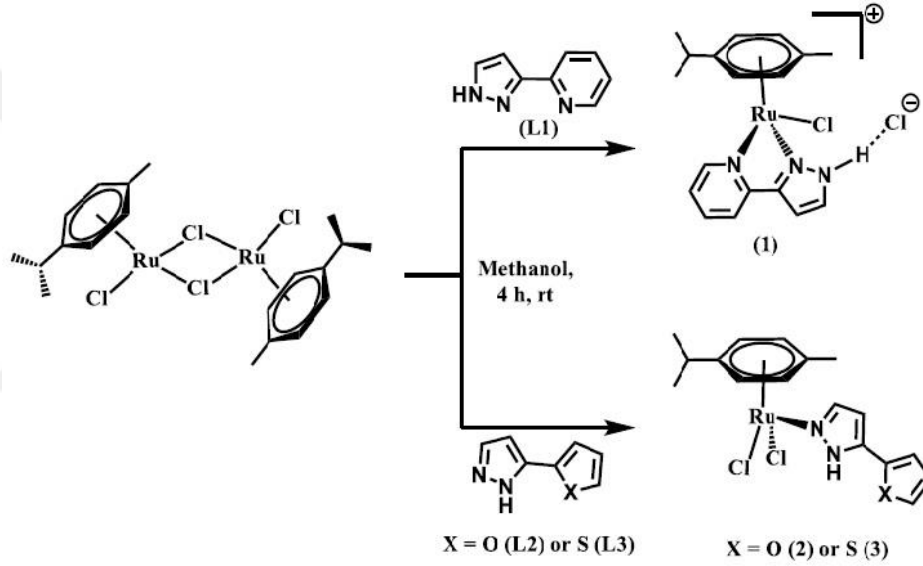
Demirayak ve Yurttaş tarafından yapılan çalışmada dört farklı diketon bileşiğinden (**3a-d**) 20 adet yeni 2-benzil-1-metiliden-3-aril-1,2-dihidropirazin [1,2-a] benzimidazol türevi bileşik (**4a-t**) sentezlenmiştir. Tüm bileşikler American NCI'ya gönderilmiş ve **3c** ile **4d, e, f, i, j, n, p**, bileşiklerinin antikanser aktiviteleri, dokuz neoplastik hastalıktan elde edilen yaklaşık 60 insan kanser hücre hattına karşı *in vitro* olarak değerlendirilerek sonuçlar büyüme yüzdesi olarak verilmiştir [120].



Bileşik **3c**, (2- (2-asetil-1 H-benzimidazol-1-il) -1- (3-klorofenil) etanon) ve bileşik **4n**, (2- (4-metoksibenzil) -1-metiliden-3- (3-klorofenil) -1, 2-dihidropirazin [1,2-a] benzimidazolün)'in en aktif bileşikler oldukları ve sırasıyla % 24.53 ve % 22.62 olarak gözlenen en düşük büyüme yüzdelere

sahip bulunmuştur. **3c**'nin ve **4n** IC₅₀ değerlerinin sırasıyla; antikanser ilaç olarak kullanılan cisplatininden ve melphalandan daha küçük olduğu bulunmuştur. Benzimidazol halkasının birinci ve / veya ikinci pozisyonunda diketon alt yapısı içeren bileşiklerin yüksek antikanser aktiviteleri nedeniyle ilaç adayı moleküller olabilecekleri öngörülmüştür [120].

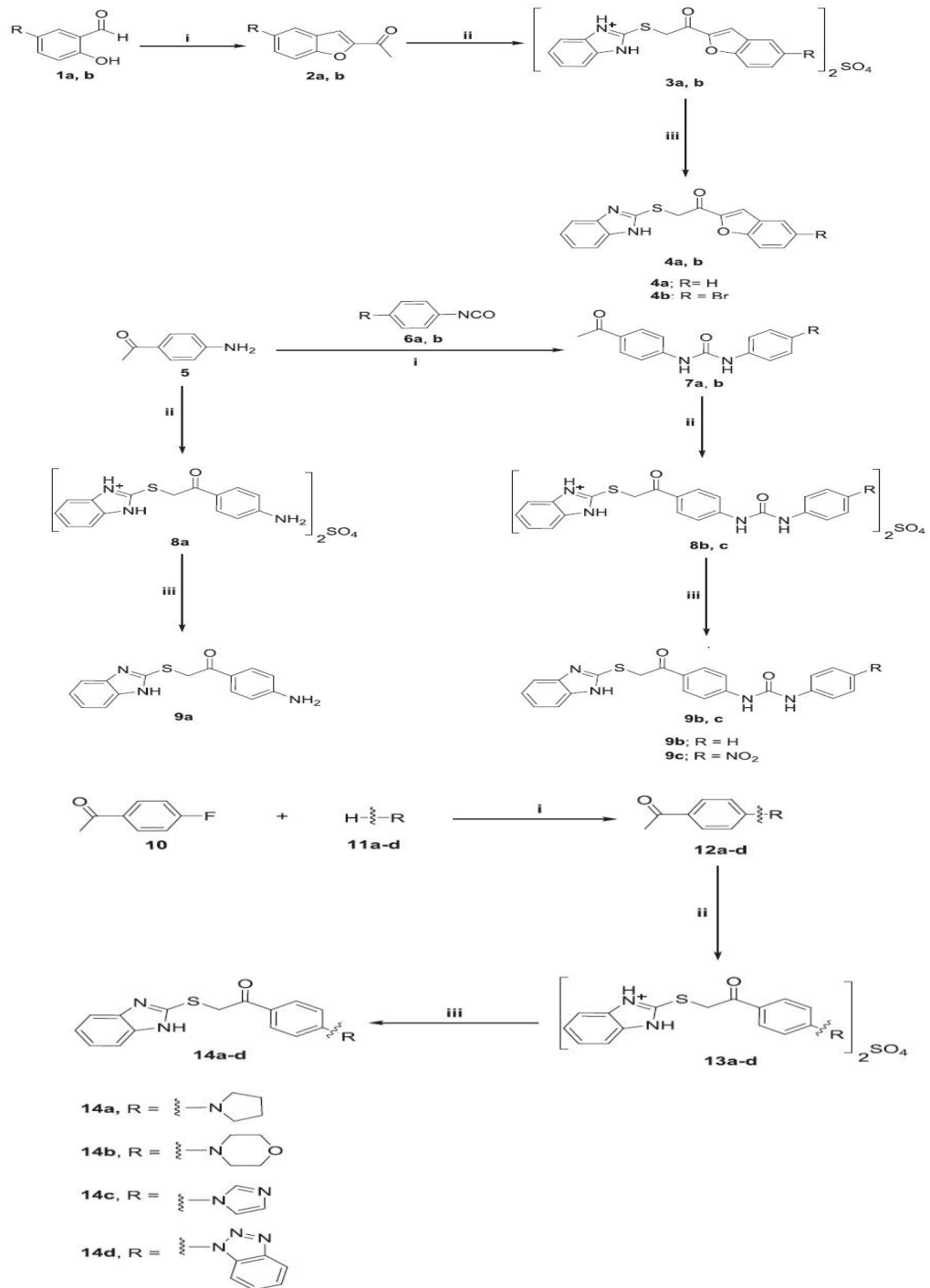
Huang ve ark., pirazol içeren ligand [2-(1Hpirazol-3-il)piridin (**L1**), 3-(furan-2-il)-1H-pirazol (**L2**) ve 3-(tiofen-2-il)-1H-pirazol (**L3**)] ve [RuCl₂-(η⁶-*p*-cymene)] dimer kullanarak 3 adet Ru(II)-*p*-simen kompleksi [(η⁶-*p*-simen)Ru(η²-N,N-L1)Cl]Cl (**1**), [(η⁶-*p*-simen)Ru(η¹-N-L₂)Cl₂] (**2**) ve [(η⁶-*p*-simen)Ru(η¹-N-L₃)Cl₂] (**3**)] sentezlemişlerdir [121].



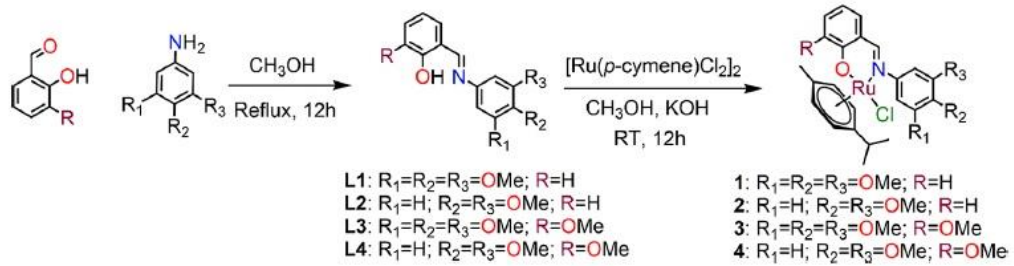
Yeni sentezlenen komplekslerin yapıları elementel analiz, spektroskopik yöntemler (FT-IR, UV, ¹H NMR, ¹³C MNR ve kütle) ve kristalografik yöntemler kullanılarak tanımlanmıştır. Ru-(II)-*p*-simen komplekslerinin (**1–3**) v cisplatinin *in vitro* sitotoksiteleri üçlü negatif meme kanseri (TNBC) MDA-MB-231 hücrelerine karşı değerlendirilmiştir. *In vitro* sitotoksitite sonuçları, kompleks 1'in MDA-MB-231 hücrelerine karşı kompleks 2, 3 ve cisplatininden daha fazla aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular, kompleks 1'in MDA-MB-231 meme kanser hücrelerine karşı seçici bir sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir [121].

Ibrahim ve ark., tarafından farklı asetofenon parçalarına sahip 2-sübstitüe tiyobenzimidazol türevi 18 adet yeni bileşik sentezlenmiş ve antikanser

aktiviteleri Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından belirlenen 60 adet insan kanser hücre hattında araştırılmıştır. Yapılan *in vitro* tarama sonucunda böbrek kanser hücre hattının (A498) sentezlenen bileşiklere en duyarlı hücre hattı olduğu belirlenmiştir. En yüksek antikanser aktiviteye sahip bileşiğin (**4a**) IC₅₀ değerinin 6.97 µM. Olduğu ve bu değer referans ilaç olarak kullanılan sunitinib'in IC₅₀ değerinden (6.97 µM) daha küçük olduğu gözlenmiştir [122].

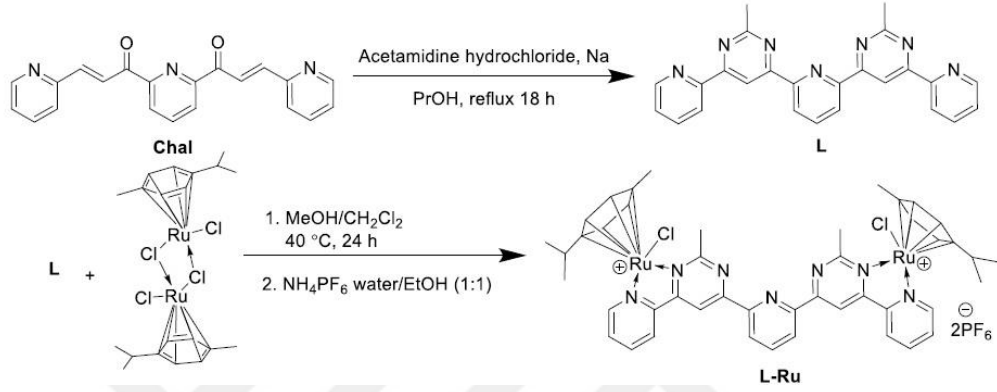


Yapılan başka bir çalışmada, genel kimyasal formülleri [RuII (η^6 -*p*-simen) (L) (Cl)] olan trimetoksi ve dimetoksifenilamin içeren şif baz ligand (L1-L4) türevli 4 adet yeni Ru-(II)- *p*-simen kompleksi (**1-4**) sentezlenerek X-ışınları difraksiyon yöntemi ve diğer analitik yöntemler kullanılarak karakterize edilmişlerdir. Sentezlenen yeni ligand ve komplekslerin *in vitro* sitotoksik aktiviteleri, insan pankreas karsinomu (MIA PaCa-2), üçlü negatif insan metastatik meme adenokarsinomu (MDA-MB-231) ve insan hepatoselüler karsinom (HepG2) hücreleri üzerinde araştırılmıştır. Deney sonuçları ligandların kanser hücreleri üzerine toksik etki göstermediklerini ancak kompleks oluşumunun toksisiteyi arttırdığını göstermiştir. Komplekslerin IC₅₀ değerlerinin 10-25 μ M. arasında değiştiği ve **1** numaralı bileşiğin MDA-MB-231 ve MIA PaCa-2 kanser hücreleri üzerine, günümüzde yaygın olarak kullanılan kemoterapötik ajan olan siplatinden 3 kat daha etkili olduğu gözlenmiştir [123]. Bileşiklerin MDA-MB-231 meme kanser hücrelerine 48 saat uygulama zaman noktası için IC₅₀ değerlerinin 11.4–18.6 μ M aralığında değiştiği gözlenmiştir. Çalışmamızda kullanılan bileşiklerde 48 saat uygulama zamanı için en küçük IC₅₀ değeri ($13.4 \pm 0.07 \mu$ M), **2a** kompleksi için gözlenmiş olup, ilgili çalışmada sentezlenen bileşiklerle benzer sitotoksik aktivite gösterdiği, diğer bileşiklerimizin ise daha düşük sitotoksik aktiviteye sahip oldukları gözlenmiştir.



Bhatti ve ark., yeni bir bis-pirimidin bazlı ligand 1,3-bis(2-metil-6-(piridin-2-il)pirimidin-4-il)benzen (**L**)'i kullanarak, dimetalik Ru-(II)-simen kompleksini; [(Ru(η^6 -*p*-simen)Cl)₂(1,3-bis(2-metil-6-(piridin-2-il)pirimidin-4-il)benzen)] (L-Ru) kompleksini sentezlemişlerdir. Rutenyum kompleksinin (L-Ru), *in vitro* sitotoksik aktivitesini değerlendirilmesinde akciğer kanseri hücrelerinden (A549 ve A427) faydalanılmış ve siplatın pozitif kontrol

olarak kullanılmıştır. Ru-(II) kompleksinin (20 μM), kanser hücreleri üzerinde güçlü antiproliferatif etki gösterdiği bulunmuştur. Çalışmada ayrıca kompleks uygulaması sonucunda antiproliferatif etki mekanizmasında meydana gelen değişiklikler de araştırılmış ve elde edilen bulgular ışığında bu rutenyum kompleksinin potansiyel etkili bir kemoterapötik olabileceğini ileri sürülmüştür [124].



6. SONUÇ

N-alkilbenzimidazol ligandları (**1a-c**) ve bu ligandların N-koordine Ru(II) kompleksleri (**2a-c**) sentezlendi. Sentezlenen bileşiklerin antikanser aktiviteleri, MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanser hücrelerinde 24, 48 ve 72 saat zaman noktalarında MTT yöntemi kullanılarak araştırıldı. Ayrıca tüm bileşikler L-929 normal fibroblast hücrelerine de uygulanarak, komplekslerin sağlıklı ve kanserli hücreler arasında seçici özelliğe sahip olup olmadıkları da araştırıldı. Çalışmamızda ayrıca bileşiklerinkanser ve normal hücreler üzerindeki olası apoptotik etkileri 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) boyama yöntemi kullanılarak araştırıldı.

Ligand ve komplekslerin derişimlerdeki artışla paralel olarak antikanser aktivitelerinde artış, kanser hücrelerinin canlılık oranlarında düşüş gözlenmiştir. Komplekslerin, ligandlarına göre daha düşük IC₅₀ değerlerine sahip oldukları ve bu nedenle daha yüksek antikanser aktivite gösterdikleri saptanmıştır. **2a**'nin tüm zaman noktaları için elde edilen IC₅₀ değerlerinin diğer komplekslerin IC₅₀ değerlerinden daha küçük olduğu gözlenmiş olup, bu bulgu **2a** kompleksinin MDA-MB-231 ve MCF-7 insan meme kanser hücreleri üzerine en yüksek antikanser aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Komplekslerin MDA-MB-231 meme kanseri üzerine zaman bağılı olarak gözlenen seçicilik şndeksi (Sİ) değerleri birbiri ile çok yakın değerler olup, MCF-7 meme kanser hücre hattı için Sİ değerleri ise zamanla artış göstermektedir. Bu nedenle kompleksler, MCF-7 hücre hatlarında zamana bağılı seçicilik gösterirken, MDA-MB-231 meme kanser hücrelerinde zaman bağılı seçici özellik göstermemektedirler.

İnsan meme kanser hücreleri (MDA-MB-231, MCF-7) ile normal fare fibroblast hücrelerine (L-929) ligand (**1a-c**) ve komplekslerin (**2a-c**); 24, 48 ve 72 saat için MTT deneyi ile belirlenmiş olan IC₅₀ derişimlerinin uygulanmasından 24, 48 ve 72 saat sonra yapılan DAPI boyamasında, kromatin kondenzasyonu veya nukleus fragmentasyonunun varolduğu apoptotik hücreler gözlenmiştir.

Kompleksleri farklılandıran yapı, benzimidazol grubuna bağlı olan R gruplarıdır. R grupları; **2a-c** komplekslerinde sırasıyla; *naftalenometil*, *diizopropilaminoetil*, ve *morfolinoetil*'dir. **2a-c** komplekslerini birbirinden farklı antikanser aktivite göstermişlerdir.

Bu sonuçlar, benzimidazol yapısına bağlanan grubun, bileşiğin hem aktivitesinde hem de seçiciliğinde çok önemli rolü olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda kullanılan meme kanseri hücreleri reseptörler bakımından farklı özellik taşımaktadırlar. Bileşikler, aynı kanser türünün alt tiplerinde (MCF-7 insan meme kanser hücre hattı östrojen (ER), progesteron (PR) reseptörleri açısından pozitif ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü (HER2) açısından negatif iken; MDA-MB-231 insan meme kanser hücre hattı östrojen (ER), progesteron (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü (HER2) reseptörleri açısından negatiftir) de seçicilik gösterebilmektedirler.

Bu tez çalışmasında iki farklı meme kanseri hücre hattı kullanılmıştır. Böylece, bileşiklerin farklı meme kanseri türleri üzerine olan olası terapötik etkileri ortaya konulmuştur. Ayrıca DAPI boyama yöntemi kullanılarak bileşiklerin apoptotic etkilerinin de olduğu saptanmıştır. Çalışma sonucunda, elde edilen veriler, farklı meme kanseri türlerinin tedavisinde kullanılabilecek aday yeni bileşiklerin sentezinde ve literatüre kazandırılmasında yol gösterici olacaktır.

7. KAYNAKALAR

- [1] Ali M, Ahmed M, Hafiz S, Kamal M, Mumtaz M, Ayatollahi SA. Design, Synthesis and Antitubercular Evaluation of Novel Series of Pyrazinecarboxamide Metal Complexes. *Iran J Pharm Res.* 2018;17(1):93-99.
- [2] Saha ML, Yan X, Stang PJ. Photophysical Properties of Organoplatinum(II) Compounds and Derived Self-Assembled Metallacycles and Metallacages: Fluorescence and its Applications. *Acc Chem Res.* 2016;49(11):2527-2539. DOI: [10.1021/acs.accounts.6b00416](https://doi.org/10.1021/acs.accounts.6b00416)
- [3] Pesaran Seïied Bonakdar A, Vafaei F, Farokhpour M, Nasr Esfahani MH, Massah AR. Synthesis and Anticancer Activity Assay of Novel Chalcone-Sulfonamide Derivatives. *Iran J Pharm Res.* 2017 ;16(2):565-568.
- [4] Kong D, Tian M, Guo L, Liu X, Zhang S, Song Y, Meng X, Wu S, Zhang L, Liu Z. Novel iridium(III) iminopyridine complexes: synthetic, catalytic, and in vitro anticancer activity studies. *J Biol Inorg Chem.* 2018;23(5):819-832. doi: [10.1007/s00775-018-1578-0](https://doi.org/10.1007/s00775-018-1578-0).
- [5] Qi YY, Gan Q, Liu YX, Xiong YH, Mao ZW, Le XY. Two new Cu(II) dipeptide complexes based on 5-methyl-2-(2'-pyridyl)benzimidazole as potential antimicrobial and anticancer drugs: Special exploration of their possible anticancer mechanism. *Eur J Med Chem.* 2018;154:220-232. doi: [10.1016/j.ejmech.2018.05.023](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.05.023).
- [6] Liu YP, Lei J, Tang LW, Peng Y, Au CT, Chen Y, Yin SF. Studies on the cytotoxicity and anticancer performance of heterocyclic hypervalent organobismuth(III) compounds. *Eur J Med Chem.* 2017;139:826-835. doi: [10.1016/j.ejmech.2017.08.043](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.08.043).
- [7] Wang Z, Shi XH, Wang J, Zhou T, Xu YZ, Huang TT, Li YF, Zhao YL, Yang L, Yang SY, Yu LT, Wei YQ. Synthesis, structure-activity relationships and preliminary antitumor evaluation of benzothiazole-2-thiol derivatives as novel apoptosis inducers. *Bioorg Med Chem Lett.* 2011;21(4):1097-1101. doi: [10.1016/j.bmcl.2010.12.124](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.12.124).
- [8] Huang KB, Mo HY, Chen ZF, Wei JH, Liu YC, Liang H. Isoquinoline derivatives Zn(II)/Ni(II) complexes: Crystal structures, cytotoxicity, and their action mechanism. *Eur J Med Chem.* 2015;100:68-76. doi: [10.1016/j.ejmech.2015.05.038](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.05.038).
- [9] Qi J, Liang S, Gou Y, Zhang Z, Zhou Z, Yang F, Liang H. Synthesis of four binuclear copper(II) complexes: Structure, anticancer

- properties and anticancer mechanism. *Eur J Med Chem.* 2015;96:360-368. [doi: 10.1016/j.ejmech.2015.04.031](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.031).
- [10] Liu JF, Huang YL, Yang WH, Chang CS, Tang CH. 1-benzyl-2-phenylbenzimidazole (BPB), a benzimidazole derivative, induces cell apoptosis in human chondrosarcoma through intrinsic and extrinsic pathways. *Int J Mol Sci.* 2012;13(12):16472-16488. [doi: 10.3390/ijms131216472](https://doi.org/10.3390/ijms131216472).
- [11] Xiang P, Zhou T, Wang L, Sun CY, Hu J, Zhao YL, Yang L. Novel benzothiazole, benzimidazole and benzoxazole derivatives as potential antitumor agents: synthesis and preliminary in vitro biological evaluation. *Molecules.* 2012;17(1):873-883. [doi: 10.3390/molecules17010873](https://doi.org/10.3390/molecules17010873).
- [12] Wan D, Tang B, Wang YJ, Guo BH, Yin H, Yi QY, Liu YJ. Synthesis and anticancer properties of ruthenium (II) complexes as potent apoptosis inducers through mitochondrial disruption. *Eur J Med Chem.* 2017;139:180-190. [doi: 10.1016/j.ejmech.2017.07.066](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.066).
- [13] He LJ, Yang DL, Li SQ, Zhang YJ, Tang Y, Lei J, Frett B, Lin HK, Li HY, Chen ZZ, Xu ZG. Facile construction of fused benzimidazole-isoquinolinones that induce cell-cycle arrest and apoptosis in colorectal cancer cells. *Bioorg Med Chem.* 2018;26(14):3899-3908. [doi: 10.1016/j.bmc.2018.06.010](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.06.010).
- [14] Akhtar MJ, Khan AA, Ali Z, Dewangan RP, Rafi M, Hassan MQ, Akhtar MS, Siddiqui AA, Partap S, Pasha S, Yar MS. Synthesis of stable benzimidazole derivatives bearing pyrazole as anticancer and EGFR receptor inhibitors. *Bioorg Chem.* 2018;78:158-169. [doi: 10.1016/j.bioorg.2018.03.002](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.03.002).
- [15] Wang Z, Deng X, Xiong S, Xiong R, Liu J, Zou L, Lei X, Cao X, Xie Z, Chen Y, Liu Y, Zheng X, Tang G. Design, synthesis and biological evaluation of chrysin benzimidazole derivatives as potential anticancer agents. *Nat Prod Res.* 2018;32(24):2900-2909. [doi: 10.1080/14786419.2017.1389940](https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1389940).
- [16] Boiani M, González M. Imidazole and benzimidazole derivatives as chemotherapeutic agents. *Mini Rev Med Chem.* 2005;5(4):409-424. [DOI: 10.2174/1389557053544047](https://doi.org/10.2174/1389557053544047)
- [17] Bansal Y, Silakari O. The therapeutic journey of benzimidazoles: a review. *Bioorg Med Chem.* 2012;20(21):6208-6236. [doi: 10.1016/j.bmc.2012.09.013](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.09.013).
- [18] Vock CA, Scolaro C, Phillips AD, Scopelliti R, Sava G, Dyson PJ. Synthesis, characterization, and in vitro evaluation of novel

- ruthenium(II) eta6-arene imidazole complexes. *J Med Chem.* 2006;49(18):5552-5561. doi.org/10.1021/jm060495o
- [19] Allardyce CS, Dyson PJ. Ruthenium in medicine: current clinical uses and future prospects. *Platinum Met. Rev.* 2001;45:62-69.
- [20] Rathinasamy S, Karki SS, Bhattacharya S, Manikandan L, Prabakaran SG, Gupta M, Mazumder UK. Synthesis and anticancer activity of certain mononuclear Ru (II) complexes. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2006;21(5):501-517. [DOI: 10.1080/14756360600703396](https://doi.org/10.1080/14756360600703396)
- [21] Ali M, Ali S, Khan M, Rashid U, Ahmad M, Khan A, Al-Harrasi A, Ullah F, Latif A. Synthesis, biological activities, and molecular docking studies of 2-mercaptobenzimidazole based derivatives. *Bioorg Chem.* 2018;80:472-479. [doi: 10.1016/j.bioorg.2018.06.032](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.06.032).
- [22] Chojnacki K, Wińska P, Wielechowska M, Łukowska-Chojnacka E, Tölzer C, Niefind K, Bretner M. Biological properties and structural study of new aminoalkyl derivatives of benzimidazole and benzotriazole, dual inhibitors of CK2 and PIM1 kinases. *Bioorg Chem.* 2018;80:266-275. [doi: 10.1016/j.bioorg.2018.06.022](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.06.022).
- [23] Singla R, Gupta KB, Upadhyay S, Dhiman M, Jaitak V. Design, synthesis and biological evaluation of novel indole-benzimidazole hybrids targeting estrogen receptor alpha (ER- α). *Eur J Med Chem.* 2018;146:206-219. [doi: 10.1016/j.ejmech.2018.01.051](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.051).
- [24] Ajani OO, Tolu-Bolaji OO, Olorunshola SJ, Zhao Y, Aderohunmu DV. Structure-based design of functionalized 2-substituted and 1,2-disubstituted benzimidazole derivatives and their in vitro antibacterial efficacy. *J Adv Res.* 2017;8(6):703-712. [doi: 10.1016/j.jare.2017.09.003](https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.09.003).
- [25] Naaz F, Srivastava R, Singh A, Singh N, Verma R, Singh VK, Singh RK. Molecular modeling, synthesis, antibacterial and cytotoxicity evaluation of sulfonamide derivatives of benzimidazole, indazole, benzothiazole and thiazole. *Bioorg Med Chem.* 2018;26(12):3414-3428. [doi: 10.1016/j.bmc.2018.05.015](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.05.015).
- [26] Sharma R, Bali A, Chaudhari BB. Synthesis of methanesulphonamido-benzimidazole derivatives as gastro-sparing antiinflammatory agents with antioxidant effect. *Bioorg Med Chem Lett.* 2017;27(13):3007-3013. [doi: 10.1016/j.bmcl.2017.05.017](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.05.017).
- [27] Bansal Y, Kaur M, Bansal G. Antimicrobial Potential of Benzimidazole Derived Molecules. *Mini Rev Med Chem.* 2019;19(8):624-646. [doi: 10.2174/1389557517666171101104024](https://doi.org/10.2174/1389557517666171101104024).

- [28] El-Gohary NS, Shaaban MI. Synthesis, antimicrobial, antiquorum-sensing and antitumor activities of new benzimidazole analogs. *Eur J Med Chem.* 2017;137:439-449. [doi: 10.1016/j.ejmech.2017.05.064](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.064).
- [29] Vausselin T, Séron K, Lavie M, Mesalam AA, Lemasson M, Belouzard S, Fénéant L, Danneels A, Rouillé Y, Cocquerel L, Foquet L, Rosenberg AR, Wychowski C, Meuleman P, Melnyk P, Dubuisson J. Identification of a New Benzimidazole Derivative as an Antiviral against Hepatitis C Virus. *J Virol.* 2016;90(19):8422-8434. [doi: 10.1128/JVI.00404-16](https://doi.org/10.1128/JVI.00404-16).
- [30] Khan MT, Razi MT, Jan SU, Mukhtiar M, Gul R, IzharUllah -, Hussain A, Hashmi AM, Ahmad MT, Shahwani NA, Rabbani I. Synthesis, characterization and antihypertensive activity of 2-phenyl substituted benzimidazoles. *Pak J Pharm Sci.* 2018;31(3(Supplementary)):1067-1074.
- [31] Noor A, Qazi NG, Nadeem H, Khan AU, Paracha RZ, Ali F, Saeed A. Synthesis, characterization, anti-ulcer action and molecular docking evaluation of novel benzimidazole-pyrazole hybrids. *Chem Cent J.* 2017;11(1):85. [doi: 10.1186/s13065-017-0314-0](https://doi.org/10.1186/s13065-017-0314-0).
- [32] Sharma R, Bali A, Chaudhari BB. Synthesis of methanesulphonamido-benzimidazole derivatives as gastro-sparing antiinflammatory agents with antioxidant effect. *Bioorg Med Chem Lett.* 2017;27(13):3007-3013. [doi: 10.1016/j.bmcl.2017.05.017](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.05.017).
- [33] Jain P, Flaherty PT, Yi S, Chopra I, Bleasdel G, Lipay J, Ferandin Y, Meijer L, Madura JD. Design, synthesis, and testing of an 6-O-linked series of benzimidazole based inhibitors of CDK5/p25. *Bioorg Med Chem.* 2011;19(1):359-373. [doi: 10.1016/j.bmc.2010.11.022](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.11.022).
- [34] Huang S, Lin R, Yu Y, Lu Y, Connolly PJ, Chiu G, Li S, Emanuel SL, Middleton SA. Synthesis of 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-5-isoquinolin-4-ylpyrazolo[1,2-b]pyridine, a potent cyclin dependent kinase 1 (CDK1) inhibitor. *Bioorg Med Chem Lett.* 2007;17(5):1243-1245. doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.12.031
- [35] Chhajed SS, Sonawane SS, Upasani CD, Kshirsagar SJ, Gupta PP. Design, synthesis and molecular modeling studies of few chalcone analogues of benzimidazole for epidermal growth factor receptor inhibitor in search of useful anticancer agent. *Comput Biol Chem.* 2016;61:138-144. [doi: 10.1016/j.compbiolchem.2016.02.001](https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2016.02.001).
- [36] Hou X, Huang F, Carboni JM, Flatten K, Asmann YW, Ten Eyck C, Nakanishi T, Tibodeau JD, Ross DD, Gottardis MM, Erlichman C, Kaufmann SH, Haluska P. Drug efflux by breast cancer resistance

protein is a mechanism of resistance to the benzimidazole insulin-like growth factor receptor/insulin receptor inhibitor, BMS-536924. *Mol Cancer Ther.* 2011;10(1):117-125. [doi: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0438](https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-10-0438).

- [37] Sudhakar A. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *J Cancer Sci Ther.* 2009;1(2):1-4. [DOI: 10.4172/1948-5956.100000e2](https://doi.org/10.4172/1948-5956.100000e2)
- [38] Kutluk T, Kars A. Kanser Konusunda Genel Bilgiler. T.C. Sağlık Bakanlığı Kanser ve Savaş Daire Başkanlığı, Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, 1992.
- [39] Baykara O. Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi. 2016;5(3):154-165.
- [40] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics. GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424. [doi: 10.3322/caac.21492](https://doi.org/10.3322/caac.21492).
- [41] TÜİK. Ölüm Nedeni İstatistikleri, 2015. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=21526>. Erişim tarihi:09.06.2019,
- [42] Özmen M, Cantürk Z, Çelik V, Güler N, Kapkaç M, Koyunu A, Müslümanoğlu M, Utkan Z. Meme Hastalıkları Kitabı Büneş Tıp Kitabevleri. Kısım I: Bölüm 1: Memenin Anatomisi, Fizyolojisi ve Konjenital Anomalileri. 2012;s 3.
- [43] Sanders LM, Groves AC, Schaefer S. Cutaneous angiosarcoma of the breast on MRI. *AJR Am J Roentgenol.* 2006;187(2):143-146. [DOI: 10.2214/AJR.05.1940](https://doi.org/10.2214/AJR.05.1940)
- [44] Anonim, <http://www.turkcerrahi.com/makaleler/meme/meme-anatomisi/>. Erişim tarihi: 22:00 11.04.2019, 2019.
- [45] Gamagami P. Atlas of Mammography. 1996. Blackwell Science, pp. 231-226, Cambridge, MA.
- [46] Dei Tos AP, Della Giustina D, Bittesini L. Aspiration biopsy cytology of malignant papillary breast neoplasms. *Diagn Cytopathol.* 1992;8(6):580-584. [DOI: 10.1002/dc.2840080608](https://doi.org/10.1002/dc.2840080608)
- [47] Fasel J. A plea for clinically oriented anatomy. *Clin Anat.* 2018;31(8): 1199. [DOI: 10.1002/ca.23275](https://doi.org/10.1002/ca.23275)
- [48] Lininger RA, Park WS, Man YG, Pham T, MacGrogan G, Zhuang Z, Tavassoli FA. LOH at 16p13 is a novel chromosomal alteration

- detected in benign and malignant microdissected papillary neoplasms of the breast. *Hum Pathol.* 1998;29(10):1113-1118. [DOI: 10.1016/s0046-8177\(98\)90422-1](https://doi.org/10.1016/s0046-8177(98)90422-1)
- [49] Netter FH, Colacino S. Atlas of human anatomy. 1989: New Jersey, Ciba-Geigy Corporation.
- [50] Society AC. Breast cancer facts & figures. 2007: American Cancer Society.
- [51] Damjanov I, Linder J, and W.A.D. Anderson, Anderson's pathology. Vol. 2. 1996: Mosby.
- [52] Stewart WB, Wild CP. World cancer report 2014. https://www.who.int/cancer/publications/WRC_2014/en/
- [53] Espié M, Lalloum M, Coussy F. Epidemiology and risk factors of breast cancer. *Soins.* 2013;(776):22-24. doi.org/10.1016/j.soin.2013.04.003
- [54] Bray F, McCarron P, Parkin DM. The changing global patterns of female breast cancer incidence and mortality. *Breast Cancer Res.* 2004;6(6):229-139. [DOI: 10.1186/bcr932](https://doi.org/10.1186/bcr932)
- [55] Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer.* 2007;109(9):1721-1728. [DOI: 10.1002/cncr.22618](https://doi.org/10.1002/cncr.22618)
- [56] Fisher B, Redmond C, Fisher ER, Caplan R. Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node negative breast cancer patients: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-06. *J Clin Oncol.* 1988;6(7):1076-1087. [DOI: 10.1200/JCO.1988.6.7.1076](https://doi.org/10.1200/JCO.1988.6.7.1076)
- [57] Turkoz FP, Solak M, Petekkaya I, Keskin O, Kertmen N, Sarici F, Arik Z, Babacan T, Ozisik Y, Altundag K. Association between common risk factors and molecular subtypes in breast cancer patients. *Breast.* 2013;22(3):344-350. [doi: 10.1016/j.breast.2012.08.005](https://doi.org/10.1016/j.breast.2012.08.005).
- [58] Manguoğlu E, Güran S, Yamaç D, Colak T, Simşek M, Baykara M, Akaydın M, Lüleci G. Germline mutations of BRCA1 and BRCA2 genes in Turkish breast, ovarian, and prostate cancer patients. *Cancer Genet Cytogenet.* 2010;203(2):230-237. [doi: 10.1016/j.cancergencyto.2010.07.125](https://doi.org/10.1016/j.cancergencyto.2010.07.125).

- [59] T.C. Sağlık Bakanlığı, T.H.S.K., Kanser Daire Başkanlığı. Erişim adresi: <http://kanser.gov.tr/index.php/dairefaaliyetleri/kanser-kayitciligi/108-t%C3%BCrkiyede-kanser-kayitcigi.html> Erişim Tarihi, Ekim, 2019.
- [60] Druesne-Pecollo N, Tehard B, Mallet Y, Gerber M, Norat T, Hercberg S, Latino-Martel P. Alcohol and genetic polymorphisms: effect on risk of alcohol-related cancer. *Lancet Oncol.* 2009;10(2):173-180. [doi: 10.1016/S1470-2045\(09\)70019-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70019-1).
- [61] Potter JD, Vegetables, fruit, and cancer. *Lancet.* 2005;366(9485):527-530. [DOI: 10.1016/S0140-6736\(05\)67077-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67077-8)
- [62] Steinmetz KA, Potter JD. Vegetables, fruit, and cancer. I. Epidemiology. *Cancer Causes Control*, 1991;2(5):325-357. [DOI: 10.1007/bf00051672](https://doi.org/10.1007/bf00051672)
- [63] Koçak S, Çelik L, Özbaş S, Dizbay Sak S, Tükün A, Yalçın B. Meme Kanserinde Risk Faktörleri, Riskin Değerlendirilmesi ve Prevansiyon: *The Journal of Breast Health* 2011;7(2):1-21
- [64] Carmichael A, Sami AS, Dixon JM. Breast cancer risk among the survivors of atomic bomb and patients exposed to therapeutic ionising radiation. *Eur J Surg Oncol.* 2003;29(5):475-479. [doi.org/10.1016/S0748-7983\(03\)00010-6](https://doi.org/10.1016/S0748-7983(03)00010-6)
- [65] Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı., T.H.S.K., Kanser Daire Başkanlığı. Erişim adresi: <http://kanser.gov.tr/index.php/dairefaaliyetleri/kanser-kayitciligi/108-t%C3%BCrkiyede-kanser-kayitcigi.html> Erişim Tarihi, 12.04.2019
- [66] Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol.* 2010;17(6):1471-1474. [doi: 10.1245/s10434-010-0985-4](https://doi.org/10.1245/s10434-010-0985-4).
- [67] Dowsett M, Cuzick J, Ingle J, Coates A, Forbes J, Bliss J, Buyse M, Baum M, Buzdar A, Colleoni M, Coombes C, Snowdon C, Gnant M, Jakesz R, Kaufmann M, Boccardo F, Godwin J, Davies C, Peto R. Meta-analysis of breast cancer outcomes in adjuvant trials of aromatase inhibitors versus tamoxifen. *J Clin Oncol.* 2010;28(3):509-518. [doi: 10.1200/JCO.2009.23.1274](https://doi.org/10.1200/JCO.2009.23.1274).
- [68] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Aromatase inhibitors versus tamoxifen in early breast cancer: patient-level meta-analysis of the randomised trials. *Lancet.* 2015;386(10001):1341-1352. [doi: 10.1016/S0140-6736\(15\)61074-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)61074-1).

- [69] Shapiro CL, Recht A. Side effects of adjuvant treatment of breast cancer. 2001;344(26):1997-2008. [DOI: 10.1056/NEJM200106283442607](https://doi.org/10.1056/NEJM200106283442607)
- [70] Coates A, Abraham S, Kaye SB, Sowerbutts T, Frewin C, Fox RM, Tattersall MH. On the receiving end--patient perception of the side-effects of cancer chemotherapy. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1983;19(2):203-208. [doi.org/10.1016/0277-5379\(83\)90418-2](https://doi.org/10.1016/0277-5379(83)90418-2)
- [71] Liu J, Chen J, Zhao J, Zhao Y, Li L, Zhang H. A modified procedure for the synthesis of 1-arylimidazoles. *Synthesis.* 2003;17:2661-2666. [DOI: 10.1055/s-2003-42444](https://doi.org/10.1055/s-2003-42444)
- [72] Nagar R. Syntheses, characterization, and microbial activity of some transition metal complexes involving potentially active O and N donor heterocyclic ligands. *J. Inorg. Biochem.* 1990;40(4):349-356. [doi.org/10.1016/0162-0134\(90\)80069-A.](https://doi.org/10.1016/0162-0134(90)80069-A)
- [73] Cavagioglio G, Benedetto L, Boccaleri E, Colangelo D, Viano I, Osella D. Pt(II) complexes with different N-donor aromatic ligands for specific inhibition of telomerase. *Inorg Chim Acta.* 2000;305(1):61-68. [doi.org/10.1016/S0020-1693\(00\)00114-6.](https://doi.org/10.1016/S0020-1693(00)00114-6)
- [74] Sorenson JRJ (1982) Metal Ions in Biological Systems. (Sigel H Ed) M Dekker, New York 14: 77.
- [75] Townsend LB, Revankar GR. Benzimidazole nucleosides, nucleotides, and related derivatives. *Chem Rev.* 1970;70(3):389-438. doi.org/10.1021/cr60265a005
- [76] Curini R, Materazzi S, D'Ascenzo G, De Angelis G. Thermal behavior of biological interesting coordination compounds of benzimidazole with divalent metal ions. *Thermochimica Acta.* 1990;161(2):201-374.
- [77] Hobrecker F. Ueber Reductions produkte der Nitracetamid verbindungen, *European Journal of Inorganic Chemistry.* 1872;5 (2):920-924.
- [78] Ladenburg A. Zur Constitution des Benzols. *European Journal of Inorganic Chemistry.* 1875;8(2):1209-1214.
- [79] Wright JB. The chemistry of benzimidazoles. *Chem Rev.* 1951;48(3):397-541. doi.org/10.1021/cr60151a002
- [80] Phillips MA. The Formation of 2-Substituted Benzimidazole. *J Chem Soc.* 1928;2393-2399.

- [81] Preston PN. Synthesis, Reactions, and Spectroscopic properties of benzimidazoles. *Chem Rev.* 1974;74(3):279-313. doi.org/10.1021/cr60289a001
- [82] He X, Vogels CM, Docken A, Westcott SA. Pyridyl Benzimidazole, Benzoxazole and Benzothiazole Platinum Complexes. *Polyhedron.* 2004;23:155-160. doi.org/10.1016/j.poly.2003.09.020
- [83] Selvam K, Swaminathan M. An easy one-step photocatalytic synthesis of 1-aryl-2-alkylbenzimidazoles by platinum loaded TiO₂ nanoparticles under UV and solar light. *Tetrahedron Lett.* 2011;52:3386-3392. doi.org/10.1016/j.tetlet.2011.04.090
- [84] Hein DW, Alheim RJ, Leavitt JJ. The use of polyphosphoric acid in the synthesis of 2-aryl- and 2-alkyl-substituted benzimidazoles, benzoxazoles and benzothiazoles. *J Am Chem Soc.* 1957;79:427-429. doi.org/10.1021/ja01559a053
- [85] Kim SJ, Gatto B, Yu C, Liu A, Liu LF, Lavoie EJ. Substituted 2, 5'-bi-1H-benzimidazoles; topoisomerase I inhibition and cytotoxicity. *J Med Chem.* 1996;39:992-998. doi.org/10.1021/jm950412w
- [86] Dubey R, Moorthy NSHN. Comparative studies on conventional and microwave assisted synthesis of benzimidazole and their 2-substituted derivative with the effect of salt form of reactant. *Chem Pharm Bull.* 2007;55(1):115-117. DOI: [10.1248/cpb.55.115](https://doi.org/10.1248/cpb.55.115)
- [87] Klimesova VK, Koci J, Waisser K, Kaustova J. New benzimidazole derivatives as antimycobacterial agents. *Farmaco.* 2002;57(4):259-265. DOI: [10.1016/s0014-827x\(02\)01218-1](https://doi.org/10.1016/s0014-827x(02)01218-1)
- [88] Coon T, Moree WJ, Li B, Yu J, Zamani-Kord S, Malany S, Santos MA, Hernandez LM, Petroski RE, Sun A, Wen J, Sullivan S, Haelewyn J, Hedrick M, Hoare SJ, Bradbury MJ, Crowe PD, Beaton G. Brain-penetrating 2-aminobenzimidazole H1-antihistamines for the treatment of insomnia. *Bioorg Med Chem Lett.* 2009;19(15):4380-4384. doi: [10.1016/j.bmcl.2009.05.086](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.05.086).
- [89] Richter HG, Benson GM, Bleicher KH, Blum D, Chaput E, Clemann N, Feng S, Gardes C, Grether U, Hartman P, Kuhn B, Martin RE, Plancher JM, Rudolph MG, Schuler F, Taylor S. Optimization of a novel class of benzimidazole-based farnesoid X receptor (FXR) agonists to improve physicochemical and ADME properties. *Bioorg Med Chem Lett.* 2011;21(4):1134-1140. doi: [10.1016/j.bmcl.2010.12.123](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.12.123).
- [90] Huel NH, Nar H, Priepke H, Ries U, Stassen JM, Wienen W. Structure-based design of novel potent nonpeptide thrombin

- inhibitors. *J Med Chem.* 2002;45(9):1757-1766. [DOI: 10.1021/jm0109513](https://doi.org/10.1021/jm0109513)
- [91] Luo Z, Yu L, Yang F, Zhao Z, Yu B, Lai H, Wong KH, Ngai SM, Zheng W, Chen T. Ruthenium polypyridyl complexes as inducer of ROS-mediated apoptosis in cancer cells by targeting thioredoxin reductase. *Metallomics.* 2014;6(8):1480-1490. [doi: 10.1039/c4mt00044g](https://doi.org/10.1039/c4mt00044g).
- [92] Kasem KK, Hazen R, Spaulding RM. Electrochemical studies on substituted iron-hexacyanoiron (III) bi-layered thin films at glassy carbon electrode/electrolyte interface. *Interface Science.* 2002;10(4):261-269. [DOI: 10.1023/A:1020848711982](https://doi.org/10.1023/A:1020848711982).
- [93] Brabec V, Nováková O. DNA binding mode of ruthenium complexes and relationship to tumor cell toxicity. *Drug Resist Updat.* 2006;9(3):111-122. [DOI: 10.1016/j.drug.2006.05.002](https://doi.org/10.1016/j.drug.2006.05.002)
- [94] Lashgari K, Kritikos M, Norrestam R, Norrby T. Bis (terpyridine) ruthenium (II) bis (hexafluorophosphate) diacetonitrile solvate. *Acta crystallographica. Section C, Crystal structure communications.* 1999;55(1):64-67. doi.org/10.1107/S0108270198011378
- [95] Mameda K, Zhang Z, Mukherjee AB, Dhanireddy R. A novel in situ method of SV40 transfection for the establishment of immortal pulmonary alveolar type II cell lines. *Ann N Y Acad Sci,* 2000;923:325-331. [DOI:10.1111/j.1749-6632.2000.tb05543.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb05543.x)
- [96] Small MB, Hubbard K, Pardinias JR, Marcus AM, Dhanaraj SN, Sethi KA. Maintenance of telomeres in SV40-transformed pre-immortal and immortal human fibroblasts. *J Cell Physiol,* 1996;168(3): 727-736. [DOI: 10.1002/\(SICI\)1097-4652\(199609\)168:3<727::AID-JCP26>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4652(199609)168:3<727::AID-JCP26>3.0.CO;2-U)
- [97] Tsuyama N, Miura M, Kitahira M, Ishibashi S, Ide T. SV40 T-antigen is required for maintenance of immortal growth in SV40-transformed human fibroblasts. *Cell Struct Funct.* 1991;16(1):55-62. [DOI: 10.1247/csf.16.55](https://doi.org/10.1247/csf.16.55)
- [98] Adan A, Kiraz Y, Baran Y. Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Curr Pharm Biotechnol,* 2016;17(14):1213-1221.
- [99] Kisanga EP, Tang Z, Guller S, Whirledge S. In Vitro Assays to Evaluate the Migration, Invasion, and Proliferation of Immortalized Human First-trimester Trophoblast Cell Lines. *J Vis Exp.* 2019;(145). [doi: 10.3791/58942](https://doi.org/10.3791/58942).

- [100] Altman A, Cohen IR. Differentiation of cytotoxic T lymphocytes enhanced by T cell factors produced during mixed lymphocyte interactions. *Adv Exp Med Biol*. 1976;66:289-294. [DOI: 10.1007/978-1-4613-4355-4_43](https://doi.org/10.1007/978-1-4613-4355-4_43)
- [101] Altman FP. Tetrazolium salts and formazans. *Prog Histochem Cytochem*. 1976;9(3):1-56. [DOI: 10.1016/s0079-6336\(76\)80015-0](https://doi.org/10.1016/s0079-6336(76)80015-0)
- [102] Mossman BT. In vitro approaches for determining mechanisms of toxicity and carcinogenicity by asbestos in the gastrointestinal and respiratory tracts. *Environ Health Perspect*. 1983;53:155-161. [doi: 10.1289/ehp.8353155](https://doi.org/10.1289/ehp.8353155)
- [103] Almutary A, Sanderson BJ. The MTT and Crystal Violet Assays: Potential Confounders in Nanoparticle Toxicity Testing. *Int J Toxicol*. 2016;35(4):454-462. [doi: 10.1177/1091581816648906](https://doi.org/10.1177/1091581816648906).
- [104] Chiba K, Kawakami K, Tohyama K. Simultaneous evaluation of cell viability by neutral red, MTT and crystal violet staining assays of the same cells. *Toxicol In Vitro*, 1998;12(3):251-258. [DOI: 10.1016/s0887-2333\(97\)00107-0](https://doi.org/10.1016/s0887-2333(97)00107-0)
- [105] Dzitko K, Dudzińska D, Grzybowski M, Długońska H. The utility of MTT and XTT colorimetric tests in the studies conducted in vitro with *Toxoplasma gondii* tachyzoites. *Wiad Parazytol*, 2010;56(2):145-152.
- [106] Stevens MG, Olsen SC. Comparative analysis of using MTT and XTT in colorimetric assays for quantitating bovine neutrophil bactericidal activity. *J Immunol Methods*. 1993;157(1-2):225-231. [DOI: 10.1016/0022-1759\(93\)90091-k](https://doi.org/10.1016/0022-1759(93)90091-k)
- [107] Shokrzadeh M, Modanloo M. An overview of the most common methods for assessing cell viability. *J Research in Medical and Dental Sci*. 2017;5(2):33-41. [doi: 10.5455/jrmds.2017526](https://doi.org/10.5455/jrmds.2017526).
- [108] Funk D, Schrenk HH, Frei E. Serum albumin leads to false-positive results in the XTT and the MTT assay. *Biotechniques*. 2007;43(2):178-182. [DOI: 10.2144/000112528](https://doi.org/10.2144/000112528)
- [109] Riss TL, et al. Assay Guidance Manual [Internet]. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; Cell Viability Assays. 2004-2013 May 1 [updated 2016 Jul 1].
- [110] Perrin DD, Armerego WFF, Perrin DR. 1980. Purification of laboratory Chemicals, Pergamon Press Ltd., Sec., Ed.

- [111] Özdemir İ, Şahin N, Çetinkaya B. Transfer hydrogenation of ketones catalyzed by 1-alkylbenzimidazole ruthenium(II) complexes. *Monatshefte Fur Chemie*, 2007;138(3):205-209.
- [112] Şahin Neslihan, 2005. N-Koordine Metal Komplekslerinin Sentezi ve Özellikleri. İnönü Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Malatya.
- [113] <https://www.lgcstandards-atcc.org/Products>
- [114] Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Natl Cancer Inst*. 1990;82(13):1107-1112. DOI: [10.1093/jnci/82.13.1107](https://doi.org/10.1093/jnci/82.13.1107)
- [115] Cummings BS, Schnellmann RG. Cisplatin-induced renal cell apoptosis: caspase 3-dependent and -independent pathways. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;302(1):8-17. DOI: [10.1124/jpet.302.1.8](https://doi.org/10.1124/jpet.302.1.8)
- [116] Iqbal MA, Umar MI, Haque RA, Khadeer Ahamed MB, Asmawi MZ, Majid AM. Macrophage and colon tumor cells as targets for a binuclear silver(I) N-heterocyclic carbene complex, an anti-inflammatory and apoptosis mediator. *J Inorg Biochem*. 2015;146:1-13. doi: [10.1016/j.jinorgbio.2015.02.001](https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.02.001)
- [117] Prayong P, Barusrux S, Weerapreeyakul N. Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants. *Fitoterapia*. 2008;79(7-8):598-601. doi: [10.1016/j.fitote.2008.06.007](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2008.06.007).
- [118] Vashist N, Sambhi SS, Narasimhan B, Kumar S, Lim SM, Shah SAA, Ramasamy K, Mani V. Synthesis and biological profile of substituted benzimidazoles. *Chem Cent J*. 2018;12(1):125. doi: [10.1186/s13065-018-0498-y](https://doi.org/10.1186/s13065-018-0498-y).
- [119] Wang YT, Shi TQ, Zhu HL, Liu CH. Synthesis, biological evaluation and molecular docking of benzimidazole grafted benzulfamide-containing pyrazole ring derivatives as novel tubulin polymerization inhibitors. *Bioorg Med Chem*. 2019;27(3):502-515. doi: [10.1016/j.bmc.2018.12.031](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.12.031).
- [120] Demirayak Ş, Yurttaş L. Synthesis and anticancer activity of some 1,2,3-trisubstituted pyrazinobenzimidazole derivatives. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2014;29(6):811-22. doi: [10.3109/14756366.2013.858142](https://doi.org/10.3109/14756366.2013.858142).
- [121] Huang YC, Haribabu J, Chien CM, Sabapathi G, Chou CK, Karvembu R, Venuvanalingam P, Ching WM, Tsai ML, Hsu SCN. Half-sandwich Ru(η^6 -p-cymene) complexes featuring pyrazole appended

ligands: Synthesis, DNA binding and in vitro cytotoxicity. *J Inorg Biochem.* 2019;194:74-84. [doi: 10.1016/j.jinorgbio.2019.02.012](https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.02.012).

- [122] Ibrahim HS, Albakri ME, Mahmoud WR, Allam HA, Reda AM, Abdel-Aziz HA5. Synthesis and biological evaluation of some novel thiobenzimidazole derivatives as anti-renal cancer agents through inhibition of c-MET kinase. *Bioorg Chem.* 2019;85:337-348. [doi: 10.1016/j.bioorg.2019.01.006](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.01.006).
- [123] Acharya S, Maji M, Raturaj, Purkait K, Gupta A, Mukherjee A. Synthesis, Structure, Stability, and Inhibition of Tubulin Polymerization by RuII-*p*-Cymene Complexes of Trimethoxyaniline-Based Schiff Bases. *Inorg Chem.* 2019;58(14):9213-9224. [doi: 10.1021/acs.inorgchem.9b00853](https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.9b00853).
- [124] Bhatti MZ, Ali A, Duong HQ, Chen J, Rahman FU. Anticancer activity and mechanism of bis-pyrimidine based dimetallic Ru(II)(η^6 -*p*-cymene) complex in human non-small cell lung cancer via p53-dependent pathway. *J Inorg Biochem.* 2019;194:52-64. [doi: 10.1016/j.jinorgbio.2019.01.019](https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.01.019).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Derya TANDOĞAN-KURT
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas/1989
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Kardeşler Mah. Sarıçiçek Sokak, Beyzade Apt. Bina No:4, Kat:11, Daire.30, Sivas
E-posta Adresi	deryaa_ayred@hotmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Sivas Halil Rıfat Paşa YDA Lisesi, 2007
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, 2011
Yüksek Lisans	Sivas Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2016
Ünvan	Hemşire

İş Tecrübesi

Sağlık Bakanlığı, 2012