

**BAZI 2,4 DİSUBSTİTÜETİYAZOL TÜREVLERİNİN
ANTİKANSER VE ANTİİNFLAMATUAR
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Emil MAMİZADA

Eskişehir 2022

**BAZI 2,4 DİSUBSTİTÜETİYAZOL TÜREVLERİNİN
ANTİKANSER VE ANTİİNFLAMATUVAR
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Emil MAMİZADA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Halide EDİP TEMEL

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Eylül 2022

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Emil Mamizada'nın "Bazı 2,4 Disubstitüetiyazol Türevlerinin Antikanser ve Antiinflamatuvar Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tezi **22.09.2022** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Biyokimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Unvanı- Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Doç. Dr. Halide EDİP TEMEL

Üye : Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ

Üye : Doç. Dr. Emel ERGENE

Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ
Enstitü Müdürü

ÖZET

BAZI 2,4 DİSUBSTİTÜETİYAZOL TÜREVLERİNİN ANTİKANSER VE ANTIİNFLAMATUVAR ETKİ MEKANİZMALARININ ARAŞTIRILMASI

Emil MAMİZADA

Biyokimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eylül 2022

Danışman: Doç. Dr. Halide EDİP TEMEL

İnflamatuar yanıtlar kanserin çeşitli gelişme aşamalarının-malign dönüşüm, invazyon ve metastazların oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Bugün antiinflamatuvar ve antikanser etkiye sahip ilaçlar yüksek toksisite, düşük etkinlik ve ilaç toleransına neden olabildiği için tercih kısıtlılığına neden olmaktadır. Bu sebeple daha düşük toksik özelliğe sahip ve yüksek etki potansiyeline sahip antikanser ve antiinflamatuvar ilaçların sentezi ve tasarlanmasına yönelik araştırmalar önem kazanmıştır.

Tiyazol halkası, çeşitli hastalıkların ve kanserin tedavisinde kullanılan bileşiklerin molekül yapısına dahil olduğu için yeni araştırmalar ve daha etkili ilaçların geliştirilmesi açısından da büyük öneme sahiptir.

Bu tez kapsamında, 2,4 disubstitüetiyazol türevi bileşiklerin, siklooksijenaz (COX) enzimleri üzerinde inhibitör etki potansiyelleri ve A549 ve L929 hücre hatları üzerinde MTT yöntemi ile sitotoksite değerleri, apoptotik etki testleri ile ise bileşiklerin apoptotik aktiviteleri değerlendirilmiştir. MTT ile yapılan deneylerde HAL3, HAL5 ve HAL9 koduna sahip bileşiklerin A549 hücre hattı üzerinde sisplatin pozitif kontrole kıyasla daha yakın etki değerlerinin olduğu gözlemlenmiştir. Fakat bu üç bileşiğin COX-I ve COX-2 üzerinde inhibisyon aktivitelerine dair veri bulunamamıştır. COX inhibisyon deneylerinde ise en iyi sonuçları HAL2 ve HAL10 kodlu bileşikler göstermiştir. Çalışmamızın sonucundan elde edilmiş genel bulgular ise, HAL3, HAL5 ve HAL7 koduna sahip bileşiklerin iyi antikanser etki potansiyeline sahip olabileceğine dair fikir oluşturmuş ve bununla da tiyazol türevi bileşiklerinin temel alanları ile ilgili ilaç geliştirme çalışmalarında kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Bazı 2,4-disubstitüetiyazol türevleri, İnflamasyon, Kanser.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE ANTI-CANCER AND ANTI-INFLAMMATORY OF SOME 2,4 DISUBSTITUETHIAZOLE DERIVATIVES

Emil MAMİZADA

Department of Biochemistry

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, September 2022

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Halide EDİP TEMEL

Inflammatory responses play an important role in the development of various stages of cancer - malignant transformation, invasion and metastases. Today, drugs with anti-inflammatory and anticancer effects cause preference limitations as they can cause high toxicity, low efficacy and drug tolerance. For this reason, research on the synthesis and design of anticancer and anti-inflammatory drugs with lower toxic properties and high potency has gained importance.

Since the thiazole ring is included in the molecular structure of the compounds used in the treatment of various diseases and cancer, it is also of great importance in terms of new research and the development of more effective drugs.

Within the scope of this thesis, the inhibitory effect potentials of 2,4 disubstituthiazole derivative compounds on cyclooxygenase (COX) enzymes and their cytotoxicity values on A549 and L929 cell lines were evaluated by MTT method, and apoptotic activities of the compounds were evaluated by apoptotic effect tests. In experiments with MTT, it was observed that the compounds with the code HAL3, HAL5 and HAL9 had closer effect values on the A549 cell line compared to the cisplatin positive control. However, there was no data on the inhibitory activities of these three compounds on COX-I and COX-2. HAL2 and HAL10 coded compounds showed the best results in COX inhibition experiments. The general findings obtained as a result of our study, on the other hand, formed the idea that compounds with the code HAL3, HAL5 and HAL7 may have good anticancer effect potential, and showed that thiazole derivative compounds can be used in drug development studies related to their main areas.

Keywords: Some 2,4 disubstituthiazole derivatives, Inflammation, Cancer.

TEŐEKKÖR

Yüksek lisansım boyunca güler yüzü ve sabrı ile karşılaştığım sorunlarda bana yol gösteren, değerli tecrübelerinden yararlandığım iyi ki bu yolda danışmanım olan Sayın Doç. Dr. Halide EDİP TEMEL'e, hücre kültürü deneysel çalışmalarımızı gerçekleştirmemizi mümkün kılan ve çalışmaların tamamının gerçekleştirilmesinde göstermiş olduğu desteği için değerli hocam Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ'ye, test bileşiklerinin sentezini sağlayan hocam Prof. Dr. Leyla YURTTAŞ'a, apoptozla ilgili çalışmalarda vermiş olduğu emek ve gayretinden dolayı bölüm arkadaşım Aydan HÜSEYNLİ'ye, tez projesi yoluyla maddi destek sağlayan Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Programı'na ve sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Emil MAMİZADA

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalardan bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığımı ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Emil MAMİZADA

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ.....	4
2.1. İnflamasyon ve mekanizması.....	5
2.1.1. Araşidonik asit metabolitleri.....	6
2.1.1.1. Prostaglandinler	6
2.1.1.2. Lökotrienler	7
2.2. Siklooksijenaz enzimleri.....	9
2.2.1. COX-2 enziminin karsinogenezdeki rolü	10
2.2.1.1. COX-2 enziminin apoptoz ve metastazla ilişkisi	12
2.2.2. COX-2/PGE-2 sinyal yolağı.....	13
2.2.3. Terapötik ve önleyici stratejilerde siklooksijenazın baskılanması.....	14
2.3. Kronik inflamasyon ve kanser	15
2.3.1. Kanserde inflamasyonun önemi.....	16
2.3.2. Kanserde inflamasyon etkili sinyal yolları ve metabolitleri.....	17
2.3.3. Akciğer kanserinde inflamasyonun rolü.....	19
2.4. Kanser ve hücre ölümü	20
2.4.1. Otofaji	20
2.4.2. Nekroz	20

2.4.3. Apoptoz	21
2.4.3.1. Kaspaz ailesi	23
2.4.3.2. İnstrinsik (içsel) yolak	24
2.4.3.2.1. BCL-2 ailesi.....	24
2.4.3.3. Ekstrinsik (dışsal) yolak.....	25
2.4.3.4. Ortak yol.....	26
2.4.3.5. TNF ailesi.....	26
2.5. Kanser tedavisi	27
3. YÖNTEM	29
3.1. 2,4 disubstitüetiyazol türevlerinin genel sentez yöntemi	29
3.2. Enzim İnhibitör Aktivite Çalışmaları	31
3.3. Biyolojik Etki Çalışmaları.....	31
3.3.1. Antikanser etki çalışmaları.....	31
3.3.2. Apoptotik etki çalışmaları	32
4. BULGULAR.....	36
4.1. Enzim inhibitör aktiviteleri	36
4.1.1. Siklooksijenaz-1 (COX-1) enzimi inhibitör aktivitesi.....	36
4.1.2. Siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimi inhibitör aktivitesi.....	36
4.2. Sitotoksisite (MTT) testleri.....	37
4.3. Erken/Geç Apoptotik ve Nekrotik Etki testleri	38
4.3.1.. Pozitif kontrol sisplatin, HAL3, HAL5, HAL7, HAL8 ve HAL9 bileşiklerinin A549 hücre dizisi üzerine erken/geç apoptotik ve nekrotik etkileri	38
4.4. Mitokondriyal Membran Potansiyeli Aktivitesi	40
4.4 1. Pozitif kontrol sisplatin, HAL3, HAL5, HAL7, HAL8 ve HAL9 bileşiklerinin A549 hücre dizisi üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli aktivitesi.....	40
4.5. Kaspaz-3 Aktivitesi.....	42
4.5.1.. Pozitif kontrol sisplatin, HAL3, HAL5, HAL7, HAL8 ve HAL9 bileşiklerinin A549 hücre dizisi üzerinde kaspaz-3 aktivitesi	42

5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
KAYNAKÇA.....	54
ÖZGEÇMİŞ	

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1. İnflamasyonun soluble mediatörleri.....	9
Tablo 2.1. Apoptoz ve nekrozun kıyaslanması	21
Tablo 3.1. Sentezlenen bileşikler.....	30
Tablo 4.1. Sentezlenen bileşiklerin COX-1 aktivitesi üzerindeki inhibisyon değerleri	36
Tablo 4.2. Sentezlenen bileşiklerin COX-2 aktivitesi üzerindeki inhibisyon değerleri	36
Tablo 5.1. MTT analizleri sonucu 24 saat sonundaki IC50 değerleri.....	37
Tablo 6.1. Anneksin V-FITC ve PI boyaması sonucu A549 hücrelerinde % canlılık (HAL3, HAL5)	38
Tablo 6.2. Anneksin V-FITC ve PI boyaması sonucu A549 hücrelerinde % canlılık (HAL7, HAL8, HAL9)	39
Tablo 6.3. JC-1 boyaması sonucu A549 hücrelerinde % canlılık (HAL3, HAL5).....	40
Tablo 6.4. JC-1 boyaması sonucu A549 hücrelerinde % canlılık (HAL7, HAL8, HAL9)	41
Tablo 6.5. Kaspaz-3 aktivitesi için A549 hücrelerinin 24 saat sonunda işaretlenmesi (HAL3, HAL5)	42
Tablo 6.6. Kaspaz-3 aktivitesi için A549 hücrelerinin 24 saat sonunda işaretlenmesi (HAL7, HAL8, HAL9)	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Siklooksijenaz yolağı ürünleri.....	7
Şekil 1.2. Lipooksijenaz yolağı ürünleri.....	8
Şekil 2.1. COX-1 ve COX-2 enzimlerinin şematik gösterimi.....	11
Şekil 3.1. Kanser gelişiminde inflamasyonun rolü	17
Şekil 4.1. Apoptozun gelişme mekanizması.....	23
Şekil 5.1. 2,4 disubstitüetiyazol türevlerinin genel sentez yöntemi.....	29
Şekil 6.1. A549 hücrelerinin 24 saat sonunda Anneksin V-FITC ve PI (propidyum iyodid) boyaması (HAL3, HAL5)	38
Şekil 6.2. A549 hücrelerinin 24 saat sonunda Anneksin V-FITC ve PI (propidyum iyodid) boyaması (HAL7, HAL8, HAL9).....	39
Şekil 6.3. Mitokondriyal membran potansiyeli aktivitesi için A549 hücrelerinin 24 saat sonunda JC-1 boyaması (HAL3, HAL5).....	40
Şekil 6.4. Mitokondriyal membran potansiyeli aktivitesi için A549 hücrelerinin 24 saat sonunda JC-1 boyaması (HAL7, HAL8, HAL9)	41
Şekil 6.5. Kaspaz-3 aktivitesi için A549 hücrelerinin 24 saat sonunda işaretlenmesi (HAL3, HAL5).....	42
Şekil 6.6. Kaspaz-3 aktivitesi için A549 hücrelerinin 24 saat sonunda işaretlenmesi (HAL7, HAL8, HAL9)	43

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

15-HDPH	: 15-hidroksiprostaglandin dehidrogenaz
5-HETE	: 5-hidroksieikozatetraeonic asit
A549	: İnsan akciğer kanseri hücre hattı
AİF/İAF	: Apoptoz indükte edici faktör
APAF-1	: Apoptotik proteaz aktive edici faktör
APC	: Adenomatöz polipoz koli
Apo2L/TRAIL	: TNF ile ilişkili apoptozu indükleyen ligand
ATP	: Adenozin tirifosfat
BAX	: Bcl-2 bağı protein
Bcl-2	: B hücreli lenfoma 2
C6	: Fare glioma hücre hattı
CAD	: Karbamoil-fosfat sentetaz 2, aspartat transkarbamilaz ve dihidroorotaz
CDK	: Siklin bağımlı kinaz
COX	: Siklooksijenaz
CSC	: Kanser kök hücreleri
CSF 1	: Koloni stimüle edici faktör 1
CTL	: Sitotoksik T lenfositleri
CXC	: Kemokin reseptörleri
DAG	: Diasilgliserol
DISC	: Ölümü indükleyen sinyal kompleksi
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ECM	: Hücre dışı matris
EP	: Prostaglandin reseptör türü
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü
EMT	: Epitelyal mezenkimal geçiş
ERK	: Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinazlar
FADD	: Ölüm alanı ile FAS ilişkili protein
FBS	: Föetal sığır serumu

HEPG2	: İnsan hepatoselüler karsinoma hücre hattı
HGF	: Hepatosit büyüme faktörü
HMGB	: Yüksek mobiliteli grub kutusu 1
HT 29	: İnsan kolon kanseri hücre hattı
IC50	: Maksimum inhibisyonun %50'sini oluşturan doz
İCAM	: Hücre içi adhezyon molekülü
İP3	: İnositol 1,4,5-trifosfat
İRAKM	: İnterlökin 1 reseptörü ile ilişkili kinaz
JAK	: Janus kinaz
L929	: Normal fare fibroblastik hücre hattı
LT	: Lökotrien
MAP	: Mitojenle aktiveleşen kinazlar
MAPK	: Mitojenle aktiveleşen protein kinaz
MCF7	: İnsan meme kanseri hücre hattı
MCF7 ER	: Östrojen reseptörlü Michigan kanser bulgusu 7
MDSC	: Miyeloid kaynaklı süpressör hücre
MTT	: 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromid
NFκB	: Nukleer faktör kappa B
NIH/3T3	: Sağlıklı fare embriyonik fibroblast hücre hattı
NSAİD	: Steroid olmayan anti inflamatuvar ilaçlar
P2X7 R	: Pürinerjik reseptör türü
P53	: Protein 53
PARP	: Poli ADP-riboz
PBS	: Fosfat tamponlu salin
PDK1	: Fosfatidilkinaz 1
PG	: Prostaglandin
PGES	: Prostaglandin E sentaz
PI3K	: Fosfatidilinositol 3-kinaz
PİP2	: Fosfatidilinositol 4,5-bifosfat
PKB	: Protein Kinaz B

FITC	: Floresanzosiyanat
FLAP	: Lipooksijenaz aktive edici faktör
FLC	: Fosfolipaz C
G α q	: Guanin nükleotid bağlama proteininin alfa altbirimi
PKC	: Protein Kinaz C
PS	: Prostatiklin
RNA	: Ribonükleik asit
ROS	: Reaktif oksijen türleri
S.I.	: Selektivite indeksi
SMAC	: Kaspazların mitokondri türevli ikincil aktivatörü
SMAD	: Drosophila'daki Caenorhabditis elegans SMA ("küçük" solucan fenotipi) ve MAD ailesi
STAT	: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon proteinin aktivatörü
TAM	: Tümör aracılıklı makrofajlar
TGF	: Tümör büyüme faktörü
Th 1	: T helper 1
TLR	: Toll benzeri reseptörler
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TNF-R	: Tümör nekroz faktörü reseptörü
TNF- α	: Tümör nekroz faktörü alfa
TRADD	: TNF ile ilişkili ölüm reseptörü
TREM	: Miyeloid hücrelerde ekspresse edilen tetikleyici reseptör
TXA2	: Tromboksan A2
UVB	: Ultraviole B
VCAM	: Vasküler hücre adhezyon molekülü
VEGF	: Vasküler endotelial faktör

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bilinen tarih boyunca kanser insan ve hayvanlarda sık görülen bir problem olmuştur. Kanser hakkında bilinen en eski kayıtlar MÖ 3000 yılına kadar uzanmaktadır. Kanser kelimesi Latince yengeç anlamına gelen “cancer” veya “carcinoma” kelimelerinden türemiştir. Tümör terimi ilk defa ilk defa MÖ 3. yüzyılda tümörün etrafındaki şişmiş damarları bir yengecin bacaklarına benzettiği için Hippokrat tarafından kullanılmış, Yunan doktor Galen ise şişme anlamına gelen “oncos” terimini kullanmıştır. Özetle kanser, bir organizmadaki hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünmesi, çoğalması ve birikmesidir. Tek bir organı etkileyebildiği gibi uzaktaki organlara da yayılarak etkisini gösterebilir. Her ne kadar bazı standartlar belirlenmiş olsa da her kanser türüne özgü olarak farklı yaklaşımlar ve tedaviler uygulanmaktadır. Onkoloji kanserin tüm türlerini kapsamaktadır. Kanser tedavisinin yanısıra, kansere neden olan etmenlerin bulunması, kanserin oluşmadan engellenmesi, sosyal ve psikolojik destekler ile hastanın ve hasta yakınlarının rahatlatılması kanseri son derece karmaşık ve büyük bir problem haline getirmektedir. Tüm bu sorunları çözmek adına onkoloji tıbbın farklı dallarını birlikte kullanır. Kanser tedavisinde radyoterapi, kemoterapi, cerrahi, immünoterapi, hormon terapisi, hedeflenmiş terapiler ve gen terapi gibi biyolojik terapiler tek başına veya birlikte kullanılabilirler. İnsan vücudunu etkilediği bilinen 100’den fazla kanser türü bulunmaktadır. (Fitzmaurice C., vd., 2015; Pavlopoulou A., vd., 2016).

Kanserin ortaya çıkmasında tütün ve tütün ürünlerinin kullanımı, alkol, kötü beslenme, obezite, virüsler, iyonizan ışınlar maruziyet, mesleki hastalıklar ve çevresel kirleticiler sayılabilir. Hepatit B, Hepatit C ve HPV (Human Papilloma Virus) gibi virüsler karsinogenezde çok çalışılan virüslerdir. Hem erkeklerde hem de kadınlarda en sık rastlanan ve ölüme neden olan kanser türü akciğer kanseridir. 2. sırada ise erkeklerde prostat kanseri, kadınlarda ise meme kanseri gelmektedir (Blackadar CB. 2016, Siegel R., vd, 2015).

Dünya genelinde kalp ve damar hastalıklarından sonra en çok ölüme neden olan rahatsızlıkların başında kanser gelmektedir. Bununla beraber Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) istatistiklerine göre yalnızca 2019 senesinde yaklaşık 9,6 milyon insanın, kanser sebebiyle yaşamını kaybetmiş olduğu bildirilmiştir (Kanser İstatistikleri, 2019).

İnflamasyon- savunma mekanizmalarından biridir, organizmanın içsel ve dışsal çevresel faktörlere verdiği yanıtın bir parçasıdır, uyarınları ortadan kaldırır ve doku fizyolojisini düzenler. İnflamasyon lokal olarak dolor (ağrı), color (inflamasyon bölgesinde renk değişimi), rubor (kızarıklık), tumor (inflamasyon bölgesinde oluşan şişlik, ödem) ve inflamasyonlu organ veya dokunun işlevinin bozulması gibi semptomlar ile karakterize olunmaktadır. İnflamasyon ve kanser arasındaki bağlantılara dair ilk çalışmalar Rudolf Virchow tarafından tümör çevresinde lökositlerin bulunması ile başlamıştır (Eichten A., vd., 2006; Kozlov SV., vd., 2005).

Çalışmalar, inflamatuvar mekanizmalar yoluyla protümörojenik ajanların oluşumunu göstermektedir. Doku hemostazı bozulduğunda, makrofajlar ve mast hücreleri sitokinler, kemokinler ve histamin gibi biyoaktif uyarınları serbest bırakır; Bu, lökositlerin mobilizasyonuna ve inflamatuvar süreçle ilişkili yaralanma bölgesinde sızıntıya neden olur. Bu reaksiyonların uzun süreli olması kronik inflamasyona yol açar ve başta kanser olmak üzere birçok hastalığa neden ola bilmektedir. Daha sonralar yine kanser ve inflamasyon arasındaki ilişki üzerine birçok çalışmalar yapılmış ve kanserle inflamasyon arasında bağlantıların olduğu kanıtlanmıştır (MedzhitovR.,2010; Pandey MK., vd., 2006; Sachter E., vd., 2002 vd.).

Hastalığın tedavisinde cerrahi, radyoterapi, kemoterapi olmak üzere üç ana yöntem kullanılmaktadır (Sun vd., 2014). Kemoterapi, kanser için en çok tercih edilen tedavi yöntemidir. Kanser kemoterapisi denemeleri, 1990'larda antifolat ilaçlar ve nitrojen hardalı kullanılarak başladı. Bu kemoterapi ilaçlarının malign tümörlere karşı klinik uygulamaları çoğu durumda başarılı olmakla birlikte, ilaç direnci geliştirme ve normal hücreler üzerinde toksik etki gibi yan etkileri vardır. Aynı zamanda günümüzde kullanılan kemoterapi ve radyoterapi gibi geleneksel kanser tedavi yöntemleri pahalıdır. Bulantı, ishal, kabızlık, saç dökülmesi gibi hafif yan etkilerden nörolojik, kalp, akciğer, böbrek toksisitesi ve kemik iliği baskılanması gibi ciddi yan etkilere kadar birçok yan etkiye neden olabilir. Bu yan etkiler, tedavi protokollerini kabul etmekten hastaları yayındırarak daha yüksek kanser progresyonu ve kansere bağlı komplikasyonların insidansına neden olmaktadır. Ek olarak, bu tedavilerin çoğu sınırlı antikanser etkinliği göstermektedir. Cerrahi rezeksiyonlar estetik değişikliklere ve fonksiyon kaybına neden olabilir.

Bu nedenle daha etkili, seçici ve daha az toksikliye sahip hem doğal ve biyolojik ve aynı zamanda da sentetik maddeler esasında hazırlanmış antikanser özelliğe sahip moleküllerin bulunması ve etki mekanizmalarının öğrenilmesi gerekmektedir (Kumar vd., 2012; Alonso-Castro vd., 2011; Fang vd., 2012). Araştırmacılar, kanser hücrelerinde apoptozu tetikleyerek komşu sağlıklı hücrelerin yıkımını azaltan apoptotik mekanizmalara dayanan mevcut tedavilere odaklanmışlardır (Gerl ve Vaux, 2005).

Toksisite, düşük potansiyel ve ilaç direnci nedeniyle kanser önleyici ilaçların kullanımı çok sınırlıdır. Bundan dolayı son yıllarda araştırmacılar, tarafından yan etkileri ve toksisitesi en az olan antikanser ilaçlarının üretimi ve yeni hareket mekanizmasına sahip moleküllerin bulunmasına dair çalışmalar önem kazanmıştır (Gupta, 1994; Galmarini vd., 2001; Nussbaumer vd., 2011). Tiyazollerle yapılan çalışmalar, tiyazol türevlerinin bu konuda önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Tiyazol halka yapısı ilk kez Hantzsch ve Weberin α -tiyosiyanoasetonim molekülü üzerine yaptıkları çalışmalar esnasında belirlenmiştir (Hantzsch ve Weber, 1887; Weissberger, 1979). Daha sonralar penisilin antibiotiği ve vitamin B1 gibi önemli fizyolojik etkilere sahip olan moleküllerin yapısında tiyazol halka sisteminin olduğunda dair veriler bulunmuştur. Ek olarak, diğer heterosiklik halka sistemleriyle benzerlikler ve halkanın çeşitli farmakolojik aktivitelerdeki rolü, bu molekül yapısına sahip bileşikler ve türevleri hakkında araştırmaların artmasına sebep oldu. Tiyazol halka sistemi ve aynı yapıya sahip diğer bileşikler mantar, virüs, bakteriyel ve kanser hastalıkları üzerinde etkiler gibi çeşitli aktivitelere sahiptir, ancak bu sistem simeprevir (hepatit C genotip 1 tedavisinde kullanılıyor), dabrafenib (ileri melanom tedavisi) gibi yeni ilaçların yapısında da vardır. (Yong-Jin Wu, 2014). Tiyazol halka sistemi, 19. yüzyılın sonlarında ve 20. yüzyılın başlarında sentetik çalışmalar yoluyla elde edilmiştir. 1887'de Hantzsch ve Weber, şu anda da kullanılan en yaygın tiyazol sentezi yönteminin ne olduğunu keşfettiler (Hantzsch ve Weber, 1887). 1889'da tiyazollerin türetilmesi Prop ve diğerleri tarafından rapor edildi ve halen yaygın olarak kullanılan 2-aminotiyazol türevleri elde edilmiştir (Akbarzadeh vd., 2012). 1919'da Tcherinac, α -tiyosiyanoasetonların siklizasyonu ile tiyazol sentezlemiştir (Vernin, 1982). Erlenmeyer, bir toketon bileşiği ve nitrillerin reaksiyonundan yeniden tiyazol sentezledi. Son olarak, 1949 yılında Cook ve Heilbron, a-aminonitril ve a- aminoamidlerin karbon disülfid ile reaksiyonundan tiyazol sentezlemiştir (Cook vd.).

Antiinflamatuvar özelliğe sahip ve kanser tedavisinde kullanılan ilaçların geliştirilmesi amacı ile yapılmış çalışmaları incelediğimizde, tiyazol yapısı bulunan moleküllerin güçlü antikanser etkiye sahip olduğunu görebiliyoruz. Kanser oluşumunda ve metastazında rol oynayan bazı yolaklar ile dokulardaki prostaglandin seviyeleri arasında bir ilişki olduğu bilinmektedir. Bu bakımdan 2,4 disubstitüetiyazol türevi bileşiklerin antikanser etkileri ile birlikte inflamasyonda rol oynayan siklooksijenaz enzimleri (COX-1-COX-2) üzerindeki etkilerinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Çalışmamızda yüksek etkinliğe ve düşük toksisiteye sahip antikanser ve antiinflamatuvar bileşiklerin bulunması hedeflenmektedir. Çalışmamızdan elde edilen verilerin bazı 2,4 disubstitüetiyazol türevlerinin kanser ve inflamasyon üzerindeki etkinliğini ortaya koyacak olup bu konuda yapılan ilaç araştırma ve geliştirme çalışmalarına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. İnflamasyon ve Mekanizması

İnflamasyonun semptomları Celsus tarafından eski Mısır papirüsünde rubor (kızarıklık), tümör (şişkinlik), calor (ateş) ve dolor (ağrı) olarak tanımlanmaktadır. Bu sonuçlar genellikle akut vakalarda görülmektedir. 1793 yılında İskoçlu cerrah olan John Hunter, inflamasyonun bir hastalık değil özel olmayan bir yanıt olduğu fikrini ileri sürmüştür. Dermatit üzerine çalışmalar yapan Thomas Lewis, histaminin inflamasyonda vasküler değişikliklerin nedeni olduğu fikrini ileri sürmüştür. Bu fikir, iltihap zamanı oluşan kimyasal araçların önemini belirtmiş ve bu gibi durumlarda anti-inflamatuvar ilaçların kullanımına sebep olmuştur (Kumar vd.).

Hastalık akut veya kronik olabilir. Akut enflamasyon, ani bir yanıt ile oluşur ve enfeksiyon veya yaralanma bölgesine lökositlerin ve plazma proteinlerinin hızla ulaşması ile karakterize edilir (Deng H. vd., 2017). Akut inflamasyonda üç önemli özellik vardır: a) Kan akışının artmasıyla sonuçlanan vasküler çapta artış, b) Kan plazması proteinlerinin ve lökositlerin dolaşımdan çıkışına neden olan damar boşluktaki yapı değişiklikleri, c) Lökositlerin mikrosirkülasyonu ve zedelenme yerinde birikmesi ve etki edici faktörü aradan kaldırmak için aktive olması.

Enfeksiyon hastalıklar (bakteriler, virüsler, mantarlar, parazitler ve s aracılığıyla oluşturulan); hücre tipi Toll reseptörleri (TLR'ler) ve özel sitoplazmik reseptörler yoluyla çoklu araçların salınımını indükte ederek inflamatuvar yanıtların oluşmasına neden olurlar. İskemiye bağlı doku nekrozu, vücut ve bağışıklık sistemindeki yaralanma ve hasarlar, DNA'nın çevreye salınması, hipoksi ve yabancı ürünler ile ürik asit, ATP ve HMGB1'e (fonksiyonu bilinmeyen DNA bağlayıcı proteinler) tepki vermeye başlar. Normal durumlarda savunma amacıyla oluşan bu tepkiler doku zararına neden olabilir. Tek tek dokuların immünolojik reaksiyonlara maruz kalması durumunda, çevresel uyaranlara karşı aşırı duyarlılık reaksiyonları şeklinde görünen hastalıklar oluşabilir. İnflamatuvar uyarının tipine ve miktarına, etki olunan dokunun ve insan vücudunun doğasına bağlı olarak, akut enflamasyon bağ doku restorasyonu ile tamamen gerileyebilir veya kronik iltihabın oluşumuna sebebiyet verebilir (Kumar V., Abbas AK, Aster JC., 2013).

Lokal inflamatuvar alanlarda sitokinler ve immün komplekslerinin yanı sıra hücre zarlarında bulunan ve mediyatörlerden salınmaya hazır lipidlerden türetilen moleküller olan eikosanoidlerde salınır. Eikosanoidler depolanmaz ve kısa bir yarı ömre sahiptir (saniye ya da dakika olarak ölçülür). Herhangi bir sitokine, büyüme faktörü veya diğer uyarılara, travmaya maruz kalma, membran lipidlerinden araşidonik asit metabolitlerini serbest bırakır. Sitoplazmik fosfolipaz A2, eikosanoidlerin oluşumunda önemli yere sahiptir. Hücreye özgü ve agonist bağımlı süreçler, sitoplazmik fosfolipaz A2'nin nükleer dokuya, endoplazmik retikuluma ve siklooksijenaz (COX, prostaglandin sentezi) ve 5-lipoksijenaz (lökotrien sentaz) ile etkileşime girebileceği Golgi cisimciğine mobilizasyonunu sağlar (Hirata T., vd. 2012; Haeggström JZ., 2012).

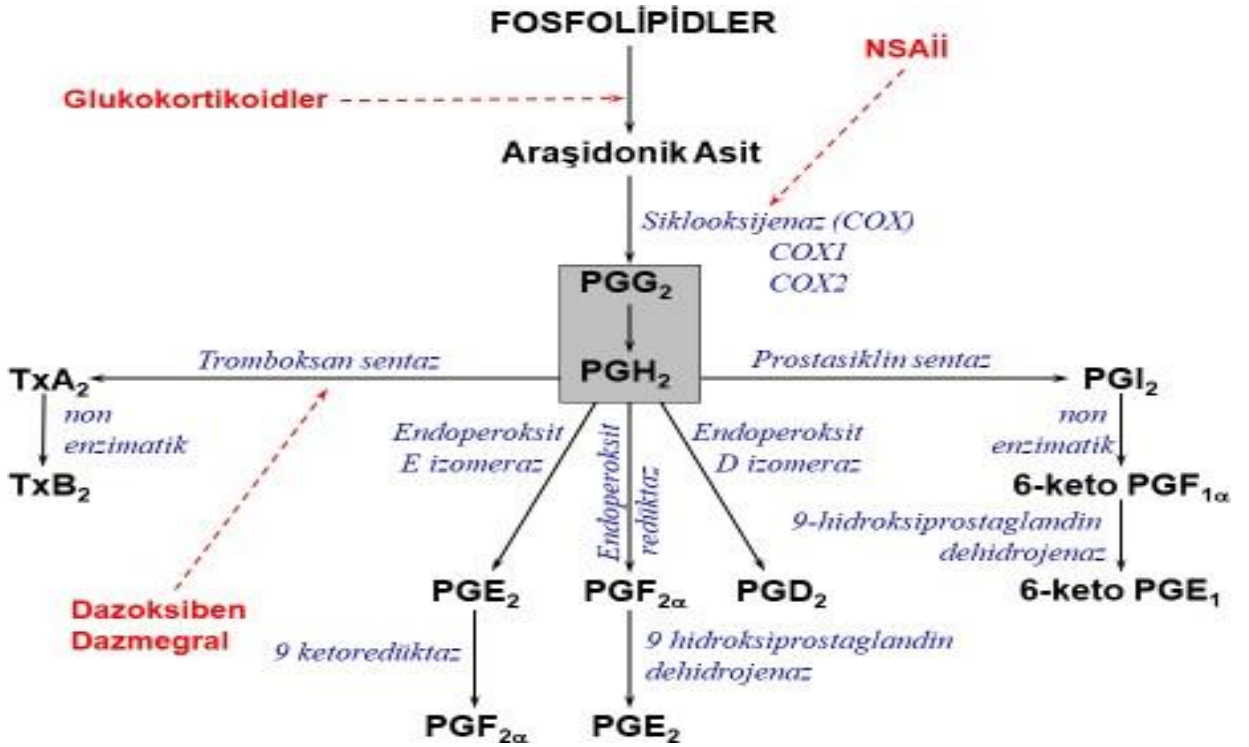
2.1.1. Araşidonik asit metabolitleri

Araşidonik asit, hücre zarlarının fosfolipidlerinde bulunan uzun zincirli doymamış bir yağ asididir. Enflamasyon zamanı nötrofillerdeki lizozomlardan veya C5a gibi kimyasal araçların aktivasyonundan türetilen fosfolipaz A2'den serbestleşerek salınır ve araşidonik asit oluşurlar (Funk vd., 2001). Metabolizmayı katalize eden enzimlerin isimlerine uygun olarak burada iki ana yolak ayrılır: a) Siklooksijenaz yolağı, b) Lipoksijenaz yolağı

2.1.1.1. Prostaglandinler

Prostanoidler, hasarlı hücreler tarafından salınan siklooksijenaz ve onun özel izomerazları tarafından metabolize edilen araşidonik asit tarafından oluşturulurlar (Şekil 1.1). Akutinflamatuvar alanlarda üretimleri artar. Eksojen ve endojen pirojenlere COX-2 yanıtıyla sentezlenen PGE2, merkezi eksotermik yanıtı aracılık eder. Bundan başka prostaglandinler, vasküler yanıtı ve ödem oluşumunu artırmak için bradikinin ve histamin ile sinerjik olarak hareket ederler. Normal dokularda olan prostaglandin düzeyleri, lökosit alımından önce akut inflamasyonla hızla artmaktadır. İnflamatuvar uyarılarla indükte olan COX-2, inflamasyondaki çok miktar prostanoid düzeylerinden sorumludur. COX-2 ayrıca trombosit- endotel hücre etkileşimlerinde endotel hücrelerinden prostasiklin üretimini artırarak inflamasyonda önemli fonksiyonları yerine yetirir. Bu yolun biyolojik ve kararlı son ürünlerinin prostaglandin E2, D2, F2, prostasiklin ve tromboksan A2'nin inflamatuvar araçları olduklarına dair yeterli kanıtlar vardır (Hirata T., Narumiya S., 2012).

Prostaglandinlerin, prostasiklinlerin ve tromboksanların sentezinin de NSAID'ler tarafından inhibe edildiği bilinmektedir. Prostasiklin, prekapiller arteriyelleri genişleterek en güçlü eriteme neden olan prostaglandin türevidir. PGE₂'nin hiperaljezi şekli histamin ve bradikinin ile sinerjizm göstermektedir (Kathleen A.; Midgett, 2011).



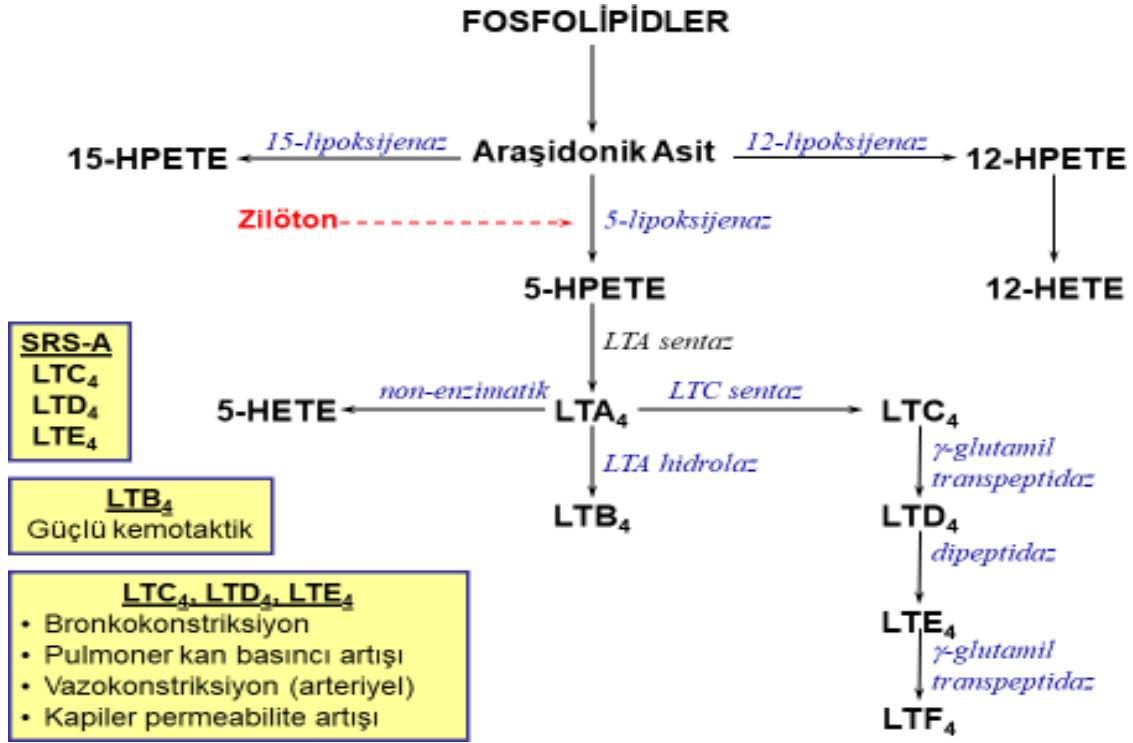
Şekil 1.1. Siklooksijenaz yolağı ürünleri
(<https://www.slideserve.com/sai/eikozanoidler-ve-diger-otakoidler>)

2.1.1.2. Lökotrienler

Prostaglandinlere ek olarak, araşidonik asit metabolitleri başka bir enzim grubu tarafından lökotrien sentezini indükler (lipoksijenaz yolağı) (Şekil 1.2). Önemleri, inflamatuvar yanıtı tepki veren dokulara bağlı olarak değişir. Örneğin, lökotrien antagonistleri bazı ürtiker alt tipleri için kullanılabilir, ancak sedef hastalığı için kullanılamaz. Prostaglandinlerin aksine, lökotrienler genellikle nötrofiller, makrofajlar ve mast hücrelerinden oluşur. 5-lipoksijenaz enzimi bu süreçte önemli bir rol oynar. 5-lipoksijenaz aktivatör proteini (FLAP) ile kombinasyon halinde salınmış araşidonik asidi lökotrien epoksit A₄'e (Di Gennaro A.) dönüştürür. LTA₄, güçlü bir nötrofil agonisti ve endotel hücrelerine lökosit yapışmasının uyarıcısı olan sitoplazmik hidrolaz LTA₄ tarafından LTB₄'e hidrolize edilebilir. Lökotrien A₄'te nükleer doku, Lökotrien C₄ sentaz ile

LTC₄ yapmak için glutasyonu da bağlayabilir. Çoklu ilaç direncine bağlı proteinler LTC₄'ün bir taşıyıcı olarak kullanılmasına, ve hücre dışı dokuda LTD₄ ve LTE₄'e metabolize olmasına izin verir.

Lipoksijenaz yoluyla güçlü inflamasyon öncülleri oluşturur. Metabolizmanın sonunda nötrofiller için kemotaktik ajan olan 5-HETE veya lökotrienlere dönüşür. Lökotrien B₄ güçlü bir kemotaktik ajandır. LTC₄, LTD₄, LTE₄, anafilaksi ve artmış vasküler geçirgenliğin yavaş etkili ajanları olarak bilinir (Harggström JZ., Di Gennaro A., 2012).



Şekil 1.2. Lipoksijenaz yolağı ürünleri
(<https://www.slideserve.com/sai/eikozanoidler-ve-diger-otakoidler>)

Özetle, araşidonik asit metabolitlerinden dolayı oluşan inflamasyon belirtileri şunlardır:

a) Damar geçirgenliğinin artışı, b) Kemotaksis, c) Ağrı.

Aşağıdaki tabloda ise genel olarak iltihabın bazı mediatörleri gösterilmiştir.

Tablo 1.1. İnflamasyonun soluble mediatörleri (Kütanöz inflamasyon, 2011)

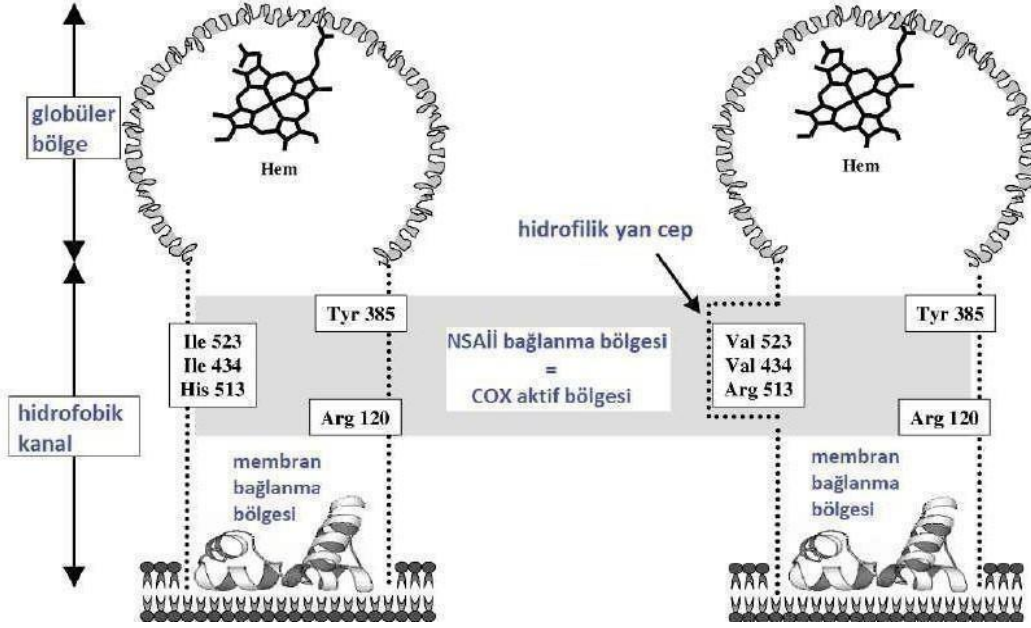
Mediatör	Etkileri	Kaynağı
Sitokinler (İL-1,TNF)	Endotel aktivasyonu, doku hasarı, ateş, ağrı	Mast hücreleri, makrofajlar
Kemokinler	Lökosit kemotaksisi ve aktivasyonu	Mast hücreleri, lökositler
Prostaglandinler	Vazodilatasyon, ağrı, ateş	Mast hücreleri, lökositler
Lökotrienler	Permeabilite artışı, lökosit adezyon ve kemotaksisi	Mast hücreleri, lökositler
Histamin	Vazodilatasyon, permeabilite artışı	Mast hücreleri, bazofiller
Serotonin	Vazodilatasyon, permeabilite artışı	Trombositler
Trombosit aktive edici faktör	Vazodilatasyon, permeabilite artışı, lökosit adezyon ve kemotaksisi	Lökositler, mast hücreleri
Reaktif oksijen araürünleri	Mikrop öldürme ve doku hasarı	Lökositler
Nitrik oksit	Mikrop öldürme, düz kaslarda gevşeme	Makrofajlar, endotel
Kompleman	Lökosit kemotaksisi ve aktivasyonu	Plazms
Kinin	Vazodilatasyon, permeabilite artışı, ağrı	Plazma
Proteazlar	Lökosit toplanması	Plazma

2.2. Siklooksijenaz Enzimleri

COX enzimleri, kofaktörü hem olan önemli zar proteinleridir. Siklooksijenaz enzimleri COX-1 ve COX-2 olarak adlandırılan iki izoforma sahiptir. Siklooksijenaz-1'e endoplazmik retikulumda (ER), Siklooksijenaz-2'ye endoplazmatik retikulum ve nükleer membranda rastlanmaktadır. Bu enzimler, araşidonik asidi prostaglandinlere çevirir, fakat vücutta birçok fonksiyonu ve işlevi vardır. Amino asit dizileri %65 özdeşdir. COX-1 576 amino asit içerir ve COX-2 581 amino asit içerir. COX-1 enzimi, kromozom 9 üzerindeki gen tarafından kodlanır. Fizyolojik koşullarda çoğunlukla tüm dokularda bulunmaktadır. COX-1, trombosit agregasyonundan sorumlu olan tromboksan oluşumunda yer alan trombositler tarafından üretilir. En sık mide mukozasında rastlanmaktadır. Prostaglandinlerin üretiminden ve hücrel savunmadan sorumludur. COX-2'nin ayrıca elektrokonvülsif stimülasyona, beyin hücrelerinde uyarıcı postsinaptik nöronlara, sodyum tükenmesine veya hiperfiltrasyona, ardından kolon adenomlarına ve karsinomlara böbrek tepkisini indüklediği bilinmektedir (Dannhardt G., Kiefer W., 2001; Schindler M. vd., 1995; Michaux vd., 2003; Moreland vd., 1999).

İki enzimin üç boyutlu modelleri, bu enzimlerin homodimerlerde bulunduğu ve her monomerin üç parçaya sahip olduğu X-ışını kristalografisi ile belirlenmiştir.

- N terminal epidermal büyüme faktörüne (EGF) benzer birim,
- Bölge bağlanmasından sorumlu α yapısındaki zar,
- COX sarmalı ve küresel katalitik alanı içeren aktif peroksidazın C terminal bölgesi.



Şekil 2.1. COX-1 ve COX-2 enzimlerinin şematik gösterimi (B.KAYA, 2019)

COX-1 ile COX-2 enzimleri arasında bazı farklar vardır. COX-1'deki İzölösün523, normalde COX-2'deki Valin523 ile değişiklik göstermektedir. COX-2'nin küçük valin molekülleri, kanal duvarında bir boşluk bırakarak çoğu selektif inhibitörlerin bağlandığı yer olarak düşünülen dış cebe girmelerine olanak sağlar. Bu kenar cepler, COX-1'e göre COX-2'nin NSAID'ler tarafından bağlanma oranını artırmaktadır. Sülfon (SO₂) veya sülfonamid (SO₂-NH₂) grubunu içeren kimyasallar, COX-2 aktif bölgesindeki belirli ceplere bağlanabilir, ancak bu moleküller COX-1'e bağlanamaz (Kalgutkar A.S., Zhao Z., 2001).

COX'in her iki modeli de C-terminali küresel katalitik domenin konumunda başlayan ve zarın dışına bağlanan hidrofobik hatlara sahiptir. Plazma, araşidonik asidi aktif bölgeye veya COX kanalına işler ve serbest bırakır ve peroksidazın aktif olan kısmı ile etkileşim, PGG₂'yi PGH₂'ye indirger. Çoğu steroid olmayan antiinflatuar ilaçlar, COX'in aktif bölgesine bağlanmak ve erişimi engellemek amacıyla araşidonik asitle etkileşime girer. X-ışını kristalografisi, bu bloğun Arg120 tarafından hidrojenlendiğini ve bağlanmanın gerçekleştiğini gösterir. COX-2'nin Ser516'sının amini ve COX-1'in Ser530'unun hidroksil grubu, asetilasyon hedefleridir. Böylece aspirin geri dönüşü olmayan bir inhibisyona neden olur. Polar özelliğe sahip bu amino asit aynı zamanda indometasinin benzoil ve diklofenak ve meklofenamat gibi amino grupları içermekte olan inhibitörleri de bağlar (Adak S., 2007; Bertolini A. vd., 2001).

COX-1 ve COX-2 arasındaki diğerk farklar şunlardır: COX-1'deki Ile434, COX-2 enziminde Val434 ile, COX-1'deki His513, COX-2'de Arg513 ile, COX-1'deki Phe503, COX-2'de Leu503 ile yer değıştirir. Fenilalaninden daha az hacme sahip olan Leu503, COX-2 bağının üzerindedir. Enzimin parçası olan Leu384 için ekstra boşluk sağlayarak daha büyük inhibitörlerin enzime bağlanmasına olanak sağlar (Trummlitz vd., 2000).

COX-1'in diğerk izoenzimi olan COX-3'ün varlığını Dan Simmons ve diğerkleri çalışmalarında göstermişlerdir. Bu enzim, insan serebral korteksinde ve kalbinde bol miktarda bulunmakta olup, onun parasetamol, asetaminofen ve s bileşiklerin moleküler hedefi olduğuna dair bilgiler vardır. (Chandrasekharan NV vd, 2002).

1980'lerin sonlarına kadar, siklooksijenazın (COX) (şimdi siklooksijenaz-1 (COX-1) olarak biliniir) yalnızca bir izoformu tanımlanmıştı. 1990'larda, indüklenabilir COX formu tanımlandı ve COX-2 olarak isimlendirildi. Prostaglandinler (PG), iki izoenzim, COX-1 ve COX-2 içermeyen araşidonik asitten sentezlenir. COX-1 ve COX-2, araşidonik asidin prostaglandin G2'ye (PGG2) parçalanmasını başlatır-peroksidaza bağımlıdırlar. Daha sonra PGG2'yi prostaglandin H2'ye (PGH2) dönüştürülür. PGH2'den inflamatuvar sürece dahil olan çeşitli prostaglandin alt tipleri oluşur. Prostaglandinlerin bu alt tipleri; PGI, PGD2, PGE2, PGF2 α ve TXA2 olarak adlandırılır. Prostaglandinlerin bu farklı alt tipleri, farklı hücrelere ve dokulara özel olan mikrozomal veya sitozolik prostaglandin sentazlar tarafından sentez edilirler. Prostaglandin E sentaz (PGES), PGH2'nin PGE2'ye dönüşümünü başlatır. (Kudo I vd., 2004; DuBois RN vd.,2001)

Prostaglandinler çeşitli dokuların farklı bölgelerinde sentez edililerek otokrin ve parakrin faktörler gibi davranmaktadırlar. Prostaglandinlerin farklı alt tipleri belirli hücrelerde alt tipe özel enzime uygun olarak oluşmaktadırlar. Prostaglandinler fonksiyonlarını ligandları bağlayan spesifik prostaglandin reseptörleri aracılığıyla gösterir. Bu reseptörler G-protein reseptörleridir (anjyogenezi başlatan sinyal transdüksiyonu gibi). Prostaglandinler 15- hidroksiprostaglandin dehidrojenaz (15HPDH) tarafından katabolize edilir. Araşidonik asit metabolizmasındaki anahtar enzimler olan COX-1 ve COX-2, inflamatuvar süreçte çok önemli rol oynamaktadırlar. COX-1 eş zamanlı olarak her yerde ifade edilir, ancak tanı için önemli bir faktör değildir. Bununla birlikte, proinflamatuvar bir enzim olarak, çeşitli dokularda eksprese edilir ve inflamatuvar süreçte yer alan büyüme faktörlerinin, kanserojenlerin, sitokinlerin, hormonların ve prostaglandinlerin ekspresyonuna neden olur (Stack E. vd., 2001; Dubois RN., vd., 2001; Herschman HR., 1996).

2.2.1. COX-2 enziminin karsinogenezdeki rolü

Karsinogenez, özellikle neoanjiyogenez ve tümör progresyonu ile ilişkili artan COX-2 ekspresyonu kolon, mide, yemek borusu, akciğerler, karaciğer, pankreas, prostat, yumurtalıklar ve meme gibi bazı epitel benzeri karsinomlarda bulunmuştur. COX-2 transkripsiyon aromatazını artırır ve böylece östrojene duyarlı olan memenin büyümesini destekler. Kanıtlar aspirin ve diğer nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların kolon kanserinde kemopreventif etkilerini açıkça göstermiştir ve ilk çalışmalar aspirin ve ibuprofen kullanımını göstermiştir (Otto F., Baron JA, Zhao YS vd., 2009). Yüksek COX-2 seviyelerine sahip kanser hücrelerinin apoptoza karşı yüksek direnci vardır; bu hücreler proliferasyon, invazyon ve migrasyonda artışa sahiptir ve hatta kemorezistans sergilemektedirler (Eberhart CE., Lemoine, Lala PK., Ristimaski, Zimmerman vd.).

COX-2, PG 'nin sentezi için anahtar enzimdir; yüksek COX-2 seviyeleri, yüksek PG seviyelerine yol açar ve yüksek düzeylerde prostaglandin miktarları, karsinogenez ile ilişkilendirilmiştir. PG, meme epitel hücrelerinin hücre proliferasyonunu ve mitogenezini uyarır. Artmış prostaglandin seviyeleri, neoplastik hücreler içeren lezyonlarda (kan damarları, lenf düğümleri gibi) gösterilmiştir. Hem insan meme kanseri hücre dizilerinde hemde invaziv meme kanseri dokusunda yüksek PGE2 düzeyleri gözlemlenmiştir. PGE2 sitokrom P19 (CYP19) gen aktivitesini yukarı regüle eder, bu da lokal östrojen ürününü artırır, böylece tümör büyümesini etkiler. Yüksek PGE2 seviyeleri, pozitif bir geri besleme mekanizması ile PGE reseptörlerine bağlanır ve COX-2 ekspresyonunu artırır. PGE2 en önemli prostaglandinlerden biridir ve EP14 G protein-bağlı reseptörler için bir ligand görevi görür. EP1 nakavt fareler ve seçici EP1 reseptör antagonistleri ile kolon kanserinde önemli bir rol oynar, anjiyogenez gibi kronik inflamatuvar süreci artırır ve bu da invaziv kanser hücrelerinde bulunur. 15HPDH, baskın prostaglandin olan PGE2'yi etkisiz hale getirir ve böylece tümör baskılayıcı enzimi oluşturur. İyi farklılaşmış MCF7 ER-pozitif meme kanseri hücre dizilerinde 15HPDH'de nispi bir artış gözlenirken, düşük 15HPDH seviyeleri kötü prognostik faktörlerle ilişkilendirilmiştir. COX-2 ayrıca bağırsak tümörlerinin karsinogenezinde de önemli bir rol oynar (Singh Ranger vd., 2008; Karmali RA. vd., 1983; Kawamori T., vd., 2002; Tong M., vd., 2006).

2.2.1.1. COX-2'nin apoptoz ve metastaz ilişkisi

COX-2'nin apoptoz üzerindeki etkilerine ilişkin bir fare modeli çalışmasında, artan COX-2

ekspresyonunun tümörjenezine neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmada, bazı tümörler, proapoptik proteinler Bax ve BclX'in daha düşük ekspresyonu ve antiapoptik protein Bcl2'nin daha yüksek ekspresyonu ile karakterize edildi. Bu nedenle, artan COX-2 ekspresyonu, azalmış apoptoz ile ilişkilendirildi. Ek olarak, COX-2 inhibitörü selekoksib ile tedavi edilen fareler proapoptotikti (Chang SH. vd., 2001; Tinder TL. vd., 2004).

COX-2 enziminin metastazla da ilişkisi olduğu bilinmektedir. Meme kanserinde COX-2 ekspresyonu ile metastaz arasında anlamlı bir ilişki vardır. Meme kanseri hücre dizilerinde artan PGE2 seviyeleri, artan metastaz potansiyeli ile ilişkilidir (Liu XH vd., 1996).

2.2.2. COX-2/PGE-2 sinyal yolağı

NSAID'lerin olumsuz yan etkilerini önlemek ve antikanserojen özelliklerini daha iyi tanımlamak için özellikle proliferasyon, hücre döngüsü ve apoptozda COX-2 ile ilgili sinyal yolaklarını netleştirmek önemlidir. Antikanserojen etkilerinin çoğu COX-2/PGE-2 düzenlemesi ile üretildiğinden, alt gruplara doğrudan müdahale, istenmeyen yan etkileri azaltmak için umut verici bir yaklaşım olabilir (Koçyiğit S., 2021).

PGE2'nin aşağı akış hedefleri, membran üzerinde her biri farklı sinyal sistemleri başlatan dört farklı g-protein bağlı reseptördür (EP1, EP2, EP3 ve EP4). EP1 reseptörü, Gαq protein alt birimine bağlanır ve fosfolipaz C (PLC) yoluyla fosfoinositol sinyalini aktive eder. PLC, ikincil haberciler olan IP3 ve DAG üretmek için fosfatidilinositol 4,5 bifosfat (PIP2)'ı hidrolize eder. Bu sinyal yolu, PLC / IP3 yoluyla hücre içi kalsiyumu düzenler ve DAG yoluyla protein kinaz C'yi (PKC) aktive eder. Klinik gözlemler EP1 ve kanser arasında kesin bir korelasyon olduğunu desteklemez. Bununla birlikte, PLC'nin aktivasyonu sonunda PKC'nin aktivasyonuna yol açtığından, mitojenle aktive edilmiş protein (MAP) kinaz, nükleer faktör kappa B (NFκB) veya Bcl2 / Bad proapoptotik yolakları üzerinden gen transkripsiyonu etkilenecektir (O'Callaghan ve Houston, 2015; Sugimoto ve Narumiya 2007; Bluwstein vd., 2013). EP1'in ayrıca UVB veya kimyasal olarak indüklenen cilt kanserlerinin gelişimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. UVB ile indüklenen yassı epitel hücreli karsinomlar, sağlıklı cilde göre daha yüksek düzeyde EP1 ekspresyonu göstermektedir (Lee vd., 2005). Bu sonuçlara uygun olarak, seçici bir EP1 antagonistinin lokal olarak uygulanması UVB ile indüklenen tümörlere karşı koruma sağlamaktadır (Tober vd., 2006).

EP1'in tümör oluşumunda ikincil bir rolü var gibi görünüyor olsa da, EP2-EP4 reseptörleri ana

kanser sinyal yollarını etkilemektedir. EP2 tarafından aktive edilen sinyaller veya EP4 tarafından aktive edilen Ras/MAPK/ERK sinyali gibi ikincil mesajlaşma sistemleri farklılaşma, hücre hayatta kalması, hücre büyümesi veya çoğalması ve apoptoz gibi hücre fonksiyonları etkileyebilir. EP2 ayrıca Axin ve APC ile PI3K / AKT sistemi aracılığıyla çalışır ve sitoplazmada fosfor şeklinin birikmesine neden olur (O'Callaghan G., Houston A.,2015).

2.2.3. Terapötik ve önleyici stratejilerde siklooksijenazın baskılanması

Selekoksib ve rofekoksib, her ikisi de COX-2'nin selektif blokerleri, coxib olarak sınıflandırılır. Non-steroid antiinflamatuvar ilaçların (NSAID'ler) birkaç alt tipi vardır, asetilsalisilik asit, ibuprofen, indometasin gibi selektif olmayan blokerler, tümör dokularında COX-1'in artan ekspresyonu tarif edilmiş olmasına rağmen, seçici COX-1 inhibitörleri küçük bir rol oynar. *In vitro* bilgiler, hem COX-1 hem de COX-2 olmayan hücrelerin, artık fonksiyonel genlerin artan transkripsiyonundan kaynaklanan yüksek bir PGE2 ürününe sahip olduğunu göstermiştir. COX-2, saf meme tümörleri modellerinde, kanser hücresinin göçünü, istilasını ve tümörün ilerlemesini, seçici olmayan COX-2 inhibitörlerinin tümörünün indüklenmesi veya seçici olmayan kanserin inhibisyonunu ertelemesi için gösterilmiştir (Scollard D. vd., 1998; Raghov R. vd., 1998; Rozic JG, vd., 2001).

Düzenli olarak kullanılan steroid olmayan antiinflamatuvar maddelerin, anti-inflamatuar ve analjezik etkileri nedeniyle kanseri önleme potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir. Etodolac üzerinde moleküler yol çalışmaları ilk kullanılan çalışmalardandır. Etodolak kaynaklı apoptoz Burkitt lenfoma hücrelerinde incelenmiştir ve indüksiyonunun etodolak gibi bir COX-2 inhibitörü olarak sınıflandırılan meloksikamdan daha üstün olduğu bulunmuştur (Khuder SA, vd., 2001; Kobayashi vd., 2005).

COX-2 inhibitörlerinin etkisini anlamak için yapılan moleküler çalışmalar, başlıca iki spesifik coxib, selekoksib ve rofekoksib üzerinde odaklanmıştır. HT29 hücrelerinde selekoksibin, ICAM1 ve VCAM1 adhezyon moleküllerinde bir azalma ile p38 ve p55'in MAPK fosforilasyonunu azalttığı tespit edilmiştir (Dianzani C. vd., 2008) . Veriler, pro-apoptotik tepkinin (Bax ve Bid) doza bağlı bir şekilde indüklendiğini göstermiştir. Kolon kanserlerinde, hücre döngüsü ve apoptoz ile ilgili genlerde modülasyonlar gözlenmiş, ancak bu değişiklikler temel olarak COX-2 (+) ve COX-2 (-) hücre hatlarında olduğu belirlenmiştir (Stauffer S., Yi M. vd., 2008).

Selekoksisib, çeşitli siklin ekspresyonlarının azaltılmış inhibisyonu ile G1 fazında hücre döngüsünün durmasına neden olur. Ayrıca protein kinaz B'yi (PKB/Akt) veya bunun yukarı akışlı fosfoinositid kinazı kinaz 1'i (PDK1) inhibe edebilir. PKB/Akt'nin kısmi inhibisyonu, hücre döngüsü inhibitörleri p21 ve p27'nin nisbi aktivasyonu ile sonuçlanır, bu da siklin CDK komplekslerinin kısmi inaktivasyonu ile sonuçlanabilir (Maier TJ vd., 2006; Tseng PH, vd., 2004).

2.3. Kronik İnflamasyon ve Kanser

İnflamasyon, vücudun içsel ve dışsal çevre uyaranlarına verdiği tepkinin bir parçasıdır, gelen uyaranları ortadan kaldırmak ve doku fizyolojisini düzenlemek gibi olaylarda yer alır. Doku sıvı dengesi (homeostaz) degrade olduğunda, makrofajlar, mast hücreleri, kemokinler, ROS ve histamin gibi biyoaktif olan uyarıcılar serbest bırakılırlar. Bu, inflamatuvar süreçlerle ilişkili lökositlerin işlevini ve penetrasyonunu bozar. Bu tepkilerin çok uzun sürmesi iltihaplanmaya ve kanser de dahil olmak üzere birçok başka hastalığa neden olabilir. Klinik çalışmalar ve bulaşıcı hastalıklar üzerinde yapılan araştırmalar, kronik enfeksiyonla izlenen hastalıkların, inflamasyonu ve kanseri tetiklediğine dair ilişkilerin olduğunu bildirmiştir. Son zamanlarda kanser için önemli olmasına rağmen, tümör çevresinde lökositlerin varlığı ilk olarak Rudolf Virchow'un çalışmalarında gözlemlenmiştir (Visser KE, vd., 2006; Grivennikov vd., 2011; Medzhitov R., 2010)

İnflamasyonun kanser üzerindeki önemli rolüne dair araştırmalar son yıllarda başlamış ve moleküler süreçleri anlamaya odaklanmıştır. Çalışmalarda, protumojenik oluşumun inflamatuvar mekanizmalar tarafından sağlandığı gösterilmiştir. Tümör mikroçevresindeki bağışıklık sistemi hücrelerinin frekansı, TAM ve T hücreleri ile temsil edilir (Mantovani vd., 2008). Condeelis ve Pollard tarafından yayınlanan bir çalışma, tümör büyümesinde artan TAM'nin anjiyogenez, istila ve metastaza yol açabileceğini bulmuştur (Condeelis, Pollard). Diğer çalışmalar, özellikle de aktif CTL ve Th1 hücre sayıları olmak üzere T hücre sayımlarının, bağırsak kanseri, melanom, multipl miyelom, pankreas ve s kanserlerle ilişkisinin olduğuna dair kanıtlar elde edilmiştir (Bianchi P. vd., 2009; Costes A. vd., 2006; Smyth MJ, vd., 2007).

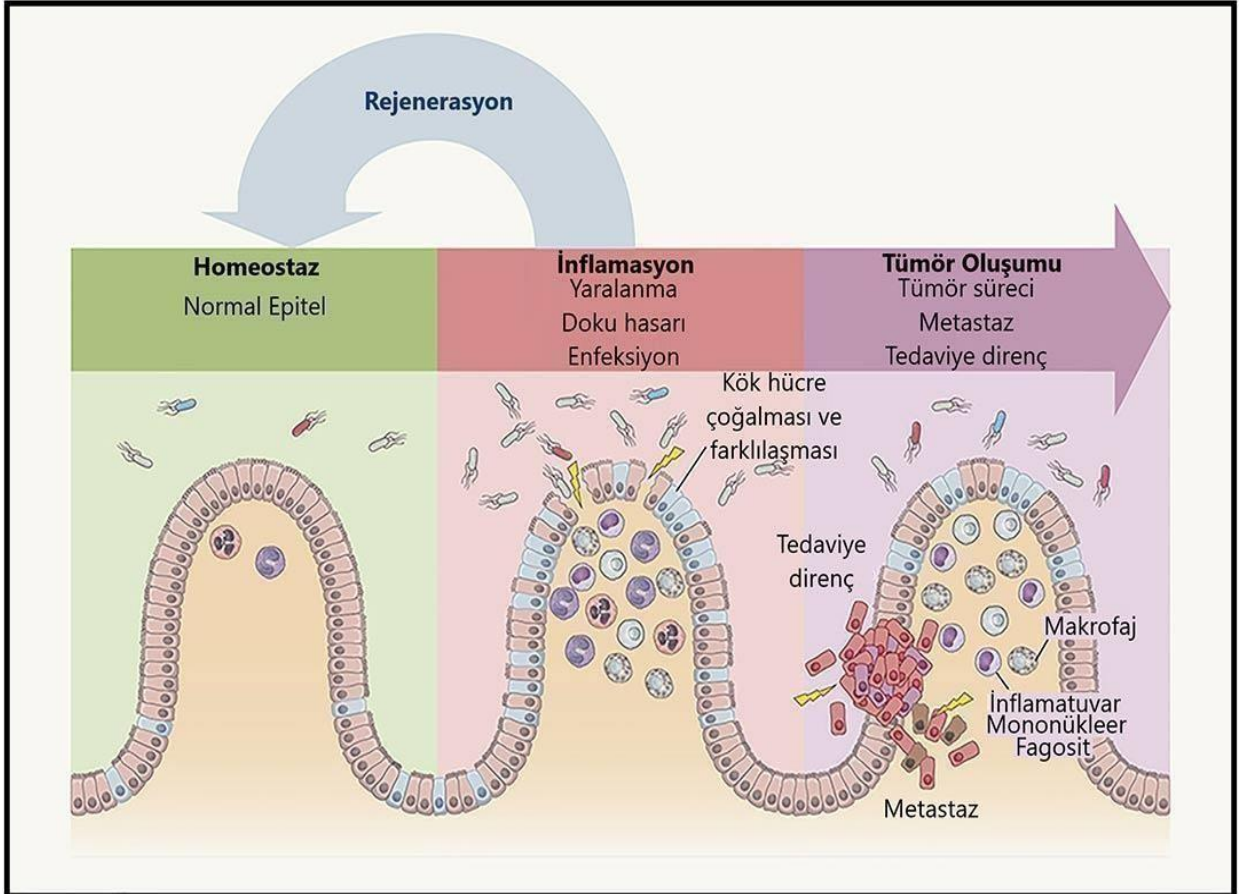
Tümör mikroçevresinde sitokinlerin ve kemokinlerin artan ifadesi, bağışıklık sisteminin özgülüğü ile ilişkilidir. Örneğin, NFkB, AP1, STAT ve SMAD efektörlerinden başka kaspazlar ve sitokinler, bağışıklık yanıtını modüle eder ve çeşitli işlevler yoluyla kanseri önler. IL6, IL17, IL23, tümör büyümesini artırır (Karın M.vd., 2007). TRAIL, FasL, TNFa, EGFR ligandı, TGFb, IL6, tümör hücresi onarımını ve hayatta kalmasını destekler.

Kanser ve inflamasyon ile ilgili diğer mekanizmalar, proinflamatuvar mutajenez ve ROS'dur. Bu mekanizmaların her ikisi de Tgfr2'ye ve Bax'a benzer bazı önemli tümör baskılayıcı genleri etkisiz hale getirerek veya baskılayarak ve terapötik enzimleri etkisiz hale getirerek veya baskılayarak kanser riskini arttırabilir. Tümörlerde erken iltihaplanma ile ilişkili bir başka mekanizma, kök hücrelere benzer fenotip veren, yada kök hücre genişlemesini destekleyen büyüme özelliklerinin ve sitokinlerin üretimine yol açmaktır (Sica A., Yuan P., Wang J. vd).

2.3.1. Kanserde inflamasyonun önemi

Kanser gelişimi 3 aşamada gerçekleşir: başlama, artış ve ilerleme. Enflamasyon bu fazın ilk aşamasından sonra görüldüğü için olaya genomik kararsızlık eşlik eder. Kanser gelişmesine tepki olarak bu aşamada inflamatuvar metabolitler eksprese olur. Bu tepkiler kanser riskini azaltmaya veya hastalık riskinin artmasına katkıda bulunur.

Aşağıda kanser gelişmesinde inflamasyonun rolüne dair görsel verilmiştir.



Şekil 3.1. Kanser gelişiminde inflamasyonun rolü
(<https://www.drozdogan.com/inflamasyon-yangi-iltihaplanma-nedir/>)

2.3.2. Kanser inflamasyon etkili sinyal yolları ve ilgili metabolitleri

IL1'le yapılmış eski araştırmalar göz önüne alındığında, IL1' in tümör hücresi proliferasyonunu indüklemek için tümör büyümesi üzerinde etki gösterdiği gösterilmiştir. Tümör nekrozu faktörü alfa ve de TRAIL'in ekspresyonunun kanser veya nüks riski için önemli etkileri vardır (Dinarello CA, 1991; Dranoff G., 2004; Takeda K. vd., 2001).

Hücre içi/nükleer ve hücre dışı HMGB1 formları kanser, büyüme ve metastaz ve kemoterapiye yanıt ile ilişkilidir ve artmış HMGB1 ekspresyonu cilt kanserlerinden olan melanoma, prostat bez kanseri, pankreas kanseri ve süt bezi kanseri de dahil olmak üzere birçok benign tümörlerde görülebilmektedir.

Dotsert ve diğeri, 2008 yılında, prointerlökin 1b (IL 1b) değişiminin inflamasyon oluşumunu tetiklediği ve bunların tümör oluşumunu sağlayan aktivitelere aracılık ettiği bildirilmiştir (Dotsert vd., 2008). Diğer çalışmalar, COX-2'deki bir artışın, hücre yapışmasını değiştirdiğini ve metastazı artırmak için anjiyogenezi desteklediğini, böylece tümör büyümesini etkilediğini, böylece apoptozu inhibe ettiğini, hücre bölünmesini teşvik ettiğini, antikoru önlediğini ve hücre protein sentezini inhibe ettiğini bildirmiştir. Dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF β), tümör metastazının başlatılması, büyümesi ve kontrolünde rol oynayan salgılanan bir ligandır. Sinyalleme bileşenlerinin (TGFBR1, TGFBR2, SMAD2, SMAD4, TGF β) genel olarak ortadan yitiminin gösterilmesinden dolayı mühim bağlantılı bilgiler elde edilmiştir. Bununla birlikte, tip II mutasyonların idrar yolları, meme, bağırsak, yemek borusu, akciğer, mide, beyin ve s diğer bazı kanserler de dahil olmak üzere çeşitli kanserlerin gelişiminde rol oynadığı da gösterilmiştir. NF κ B ve STAT3, anjiyogenezi, istila, hareketlilik, kemokinlerin ve sitokinlerin üretimini yanı sıra hücrenin hayatta kalması, çoğalması ve büyümesinin gen regülasyonu ile ilgilidir (Kang R. vd., 2009; Vera M. vd., 2007; Volp K. vd., 2003).

TNF α ve IL1, aktif kemokin reseptörü 4, kemokin ligand 12 sinyal yolu (CXC motifi) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi sitokinler ve metabolitlerdeki artışlar, metastazlar, iltihap, hipoksi, anjiyogenezi ile ilişkilidir. İmmünsüpresif hücreler aracılığıyla salgılanmakta olan inflamatuvar özelliğe sahip sitokinler kanser progresyonuna sebebiyet verebilir. Örnek olarak, MDSC, dönüştürücü tümör büyüme faktörü β (TGF β), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve hepatosit Growth faktörü (HGF) yollarını salgılar, bununla da tümörle ilişkili makrofajlarda M1 makrofajların yerini alarak epitelyal- mezenkimal geçişi (EMT) destekler (Carvalho JE, vd., 2012; Bronte V. vd., 2012).

P2X7R, iltihap ve kanser istilasından başka metastazın da önemli bir regülatördür. P2X7R, intrasellüler bir ek C-terminal amino asittir. ATP ile bağlandıktan sonra daha küçük olan katyoniyonları (+) için kanal seçenekleri sunar. ATP konsantrasyonu düşük olduğunda bu

hücre çoğalmasının nedeniyken, ATP konsantrasyonu yüksek olduğunda büyük gözenekler açılarak apoptoz yoluyla hücre ölümüne neden olabilen inflamatuvar sitokinler salınmaktadır. CSF1 reseptörlerinin (CSF1R) modülasyonunun, mononükleer fagositik hücrelerin, özellikle makrofaj (Apolloni S. vd, 2012; Burnstock G., 2017) farklılaşması ve hayatta kalmasında önemli olduğu kabul edilmiştir.

NFκB, COX-2, JAK/STAT ve diğer bazı inflamasyonla ilişkili mühim sinyal yollarının sürekli olarak aktive olması, inflamatuvar meme kanserinin (IBC) başlangıcında önemli olduğu gösterilmiştir. Transformatif tümör büyüme faktörü β (TGFβ), IL 8, IL1β ve TNFa, tümör hücresi proliferasyonu, hayatta kalması, epitelial-mezenkimal geçiş (EMT), istila ve metastazda rol oynar (Kogawa T. vd., 2014).

2.3.3. Akciğer kanseri ve inflamasyon

İnaktive edilmiş serin/treonin kinaz enzimlerinden biri IRAKM'nin TGFβ'le ilgili olarak indükte olması, fare akciğer modellerinde tümörlere bağlı makrofajların (TAM) fenotip M2 formu ile ilişkilendirilmiştir. CxcR2'nin tükenmesinin fare modellerinde pulmöner tümörün büyümesi ve anjiyogenezi baskılaması bilinmektedir. Stat3 tarafından indüklendikten sonra II tipalveolar epitel hücreler üzerinde CxcR2'nin yukarı regülasyonunun muayyen edilmesi, bu molekülün pulmoner tümörizenezdeki yeni rolünü doğrular (Kuick RT., vd, 2011; Jung DB, vd.,2018)

Akciğer P-adenokarsinomu fosforile tirozin STAT3 içerir. Gao ile arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmalarda, sürekli aktive edilmiş mutant EGFR ile eksprese edilen akciğerlerde olana denokarsinom hücreleri, yüksek IL6 seviyelerine sahipti ve IL6/gp130/JAK yolunun inhibisyonu pSTAT3 seviyelerinin azalmasına sebep olmuştur (Gao vd., 2007).

Bir çalışmada, TREM1+'nın inhibisyonu, istatistiksel bir fare ksenograft modelinde tümör büyümesini baskıladı. Diğer çalışmalar, VEGFR1'le ilişkili mekanizma tarafından salınan MMP 9'un, akciğer makrofajlarının endotelial hücrelerindeki etkisinden kaynaklandığını göstermiştir. CXCL8CXCR1/2 eksenini, kanser hücresi büyümesi ve rejenerasyonunu (CSC) kontrol ederek kanser hücresi büyümesinde ve metastazında önemli bir rol oynayabilir (Lin vd.).

2.4. Kanser ve Hücre Ölümü

Hem kanser, hem de benzer diğer hastalıklar için etkili tedaviler geliştirmek amacıyla hücre ölümüne yol açabilecek yolları anlamak gerekmektedir.

2.4.1. Otofaji

Otofaji, vakuoldeki makromoleküller ve intrasellüler organellerin kaynaşması ve birincil lizozomlardan parçalanmasıyla meydana gelen bir süreçtir. Bu olay sayesinde hem anabolik hem de katabolik hücresel fonksiyonlar eşitlenir ve gereksiz ve gelişmemiş organeller elimine edilir. Sindirilen ürünün içeriği geri dönüştürülür ve hücrelerin büyümesinin ve gelişiminin sağlanması için kullanılır. Sitoplazma veya organelin bir kısmı önce ER'nin hücre dışı zarı ile çevrilidir. Birincil lizozomlar bu paternle kaynaşır ve ikincil lizozomlar, yani otofagozom vakuolleri oluşur. Hidrolazlar tarafından parçalanır ve apoptozdan farklı olarak nükleer yoğunlaşma daha sonralar meydana gelir, bu nedenle DNA hasarı, apoptotik cisimciklerin oluşumu izlenmez (Liu X., 2017)

2.4.2. Nekroz

Genlerin kontrol altında tutamadığı rastgele bir süreçtir. En sık görülen neden hipoksi durumudur. Arsenik asit, siyanür, pestisitler ve ağır metaller gibitoksinler nekroza neden olmaktadır. Nekroz oluşumu esnasında mitokondrilerde olan ROS'un üretimi artmakta, apoptotik olmayan proteaz enzimleri aktifleşerek, ATP üretiminin azalmasına ve DNA onarımından sorumlu olan kalsiyum (Ca^{++}) kanallarının aktive olmasına neden olmaktadır. PoliADPriboz polimeraz (PARP), NAD^{+} 'ı yarıya bölerek NAD 'nin azalmasına yol açar. Enflamasyon, nekrozun önemli bir nedenidir (Kroemer G. vd., 2007; Melino G. vd., 2004).

Aşağıdaki tablo apoptoz ve nekrozu karşılaştırmaktadır.

Tablo 2.1. Apoptoz ve nekrozun kıyaslanması
(Coşkun ve Özgür, 2013)

Özellik	Nekroz	Apoptoz
Neden olan faktörler	İskemi, hipertermi, hipoksi, viral enfeksiyonlar, toksik maddeler, ağır metaller, şiddetli oksidatif stres	Büyüme faktörü eksikliği, hücre yaşlanması, HIV, kanser ilaçları, radyasyon, ölüm reseptörleri aktivasyonu, sitotoksik T lenfositler
Morfolojik özellikler	Hücre membranı bütünlüğü bozulur, hücre şişer, büyük vakouller oluşur, organeller parçalanır, hücre lizise uğrar, fosfatidilin translokasyonu gözlenmez.	Hücre membranı sağlamdır, hücreküçülür, blebler oluşur, kromatin kondensasyonu gerçekleşir, organeller sağlamdır, apoptotik cisimler oluşur, erken evrede fosfatidil serin translokasyonu gözlenir.
Biyokimyasal özellikler	Yön dengesi bozulur, ATP gerekmez, DNA rastgele parçalanır	Programlıdır, ATP gereklidir, DNA kırıkları merdivenşeklini alır (jel elektroforezi)
Diğer özellikler	Hücreler gruplar halinde ölür, patolojik etki sonucu gerçekleşir, lizosomal tip enzimler salınır, enflamasyona neden olur	Hücreler tek-tek veya bir arada birkaçı ölür, fizyolojik şartlarda da ola bilir, makrofajlar tarafından fagosite edilirler, enflamasyon yoktur

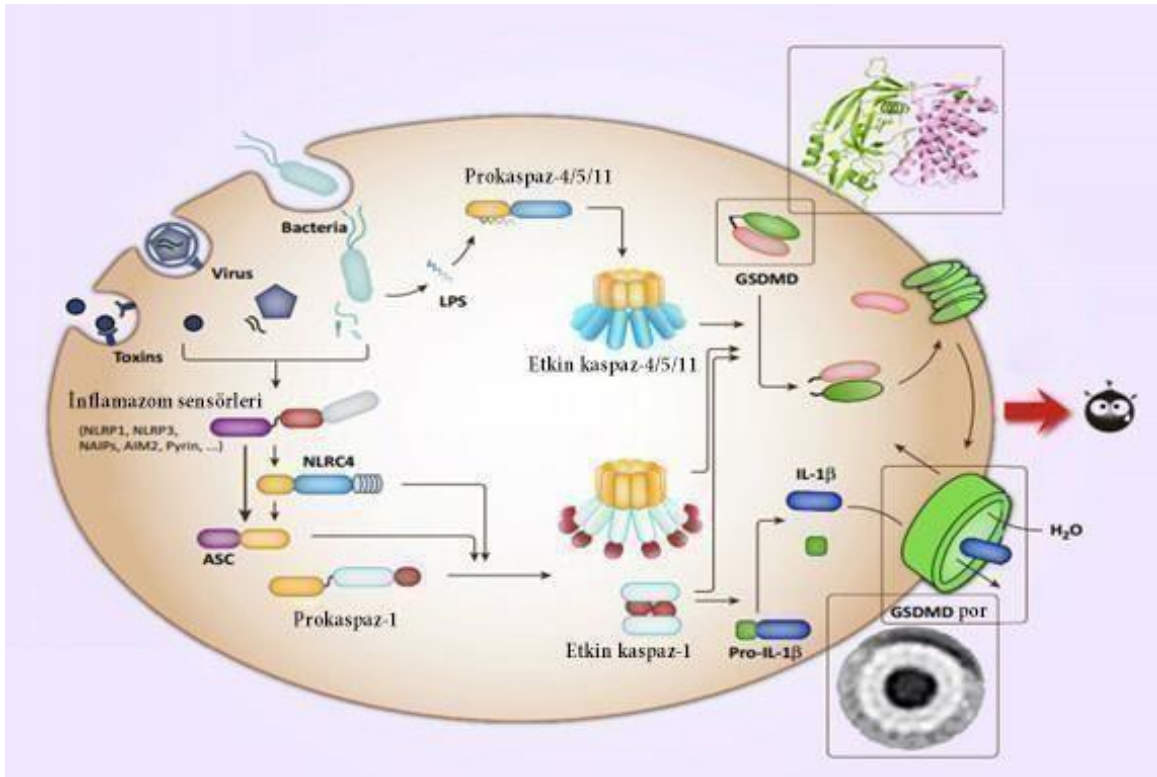
2.4.3. Apoptoz

İnsan vücudundaki her hücre belirli bir ömre sahiptir ve zamanı dolduğunda hücre ölüm yolakları aracılığıyla öldürülmektedir. Apoptoz ve hücre proliferasyonunun dengeli ve kontrollü ilişkisi vardır. Fizyolojik hücre ölüm tiplerinden biri olan apoptoz, bir ağaçtan yaprağın veya çiçekten bir çiçeğin ayrılması, düşmesi anlamlarına gelir. Apo: ayrılmak, Pitoz: düşüş demektir. (Kerr JF. vd.). Apoptozuterim olarak ilk kez 1972 yılında Avustralyalı patolog JF Kerr tanımlamıştır. Apoptoz, genelleme yapılırsa, hücrenin kendi kendini yok ettiği, genler tarafından düzenlenip programlanan ve RNA, protein ve enerji sentezi gerektiren ve vücuttaki homeostazı düzenleyen bir olaydır. Nematod *Caenorhabditis elegans* apoptozu incelemek için kullanılmıştır.

Robert Horvitz, Brenner ve John E. Soston bu basit çok hücreli nematod ile çalışmışlardır. Soston, 2002 yılında "Planlı Hücre Ölümü ve Organ Gelişiminin Genomik Düzenlemesi" konusu ile 2002 Nobel Ödülü'ne layık görülmüştür. Apoptoz, vücudun normal işleyişini etkileyen hücreleri yok etmek için mitoz gibi normal büyüme için de gereklidir (Ellis RE, vd., 1992; Christopher SP, vd., 2001).

Apoptotik ölüm, hücrenin metabolik ve fizyolojik süreçleri tetikleyerek kendi kendine zarar vermesi durumudur. Bu uyarımı alan hücreler çevrelerinden uzaklaşarak komşu hücrelerle temasını kaybeder, büzülür ve kromatin yoğunlaşarak onları tek bir kaynağa getirir. Bununla birlikte, organeller bütünlük modellerini korur. Elektron ve Işık mikroskopisi, apoptozis esnasında oluşan morfolojik değişimleri tanımlamada önemli role sahip olmuştur (Jonker R., vd., 1993; Özol D vd., 2001). Piknoz, kromatin yoğunlaşmasının bir sonucudur ve apoptozun en yaygın şeklidir. Bunlar bir grup hücre veya hücre alt gruplarıdır. Apoptotik hücreler, nükleer kromatin ve koyu eozinofilik sitoplazmanın koyu mor parlamaları ile yuvarlak veya oval kümeler olarak görünür. Elektron mikroskobu intrasellüler değişimleri daha doğru bir şekilde tanımlama özelliğine sahiptir. Kromatin yoğunlaşmasının erken aşamalarında, katı-nükleer madde genellikle zarların ve kümelerin çevresinde bulunur (Kazatchkine MD vd., 2000). Apoptoz sırasında meydana gelen değişiklikler arasında hücre proliferasyonu, plazma membran proliferasyonu, nükleer membran fragmentasyonu olmaksızın periferik nükleer DNA yoğunlaşması ve nükleozom DNA bölünmesi bulunur (apoptozun oluşma yollarından biri şekil 4'te gösterilmiştir). Bu tür hücre ölümü bir yanıt olarak kabul edilmeyen nekrotik hücre ölümünden farklıdır. Plazma zarının yoğun tomurcuklanması, "tomurcuklanma" adı verilen bir süreçte apoptotik vücutta hücreparçalarının hasar görmesine ve dağılmasına yol açar. Apoptotik cisimler, parçalanmış veya parçalanmış sitoplazmadan veya parçalanmış nükleer sitoplazma içeren organellerden oluşur ve bunlar aynı zamanda tüm organizmaların plazma zarında depolanır ve bulunur (Harrison DJ, vd., 1999; Gorospe WC, vd., 1991).

Apoptotik cisimler makrofajlar tarafından tanınır ve fagosite edilir, ancak iltihap görülmez. Genel olarak kalsiyum, seramidler, Bcl2 ailesi ve benzeri moleküller, p53 gibi proteinler, kaspazlar, sitokromlar ve mitokondri apoptozun düzenlenmesinde rol oynar. Apopto zamanı sürekli olarak kalsiyum sağlanır. Hücredeki kalsiyum iyonları endonükleazların, proteazların ve transglutaminazların aktivasyonunda gen ve hücre iskeleti düzenlemesi gibi fizyolojik süreçlerde yer almaktadır (Cory S. vd., 2001).



Şekil 4.1. Apoptozun gelişme mekanizması
(<https://www.bezelyedergi.net/> hücre ölüm mekanizmaları)

2.4.3.1. Kaspaz ailesi

Hücre ölümünde anahtar rol oynayan kaspazlar, sistein partiküllü proteaz tipli enzimlerdir. Bu gruba dahil olan kaspaz proteaz enzimleri, apoptoz sürecinin başlatılması, aynı zamanda da uygulanmasında önemli bir rol oynarlar.

Bu enzimler iki kategoriye ayrılmaktadırlar. Başlatıcı kaspazlar (kaspaz 2, 8, 9, 10) ilk olarak bir sinyale yanıt olarak etkinleşir ve cellat kaspaz (infazcı) (3,6,7'ci kaspazlar) bunlardan oluşur. Mevcut birçok kanser türlerinin tedavisi, bu kaspazlara dolaylı yoldan etki ederek kanser zamanı apoptozu indükler.

İnfazcı kaspazlar olan 3, 6 ve 7 kaspazları etkinleştirildiğinde; Endonükleaz aktivasyonu, DNA parçalanması, nükleer protein bozulması, fagositlerde ligand ekspresi ve apoptoz oluşur. Başlatıcı kaspazlar otonom olabilir ve bu amaçla N-terminal prodomin tarafından aktive edilirken efektör kaspazların aktive olması 8,9,10 başlangıç kaspazları aracılığıyla aktif hale gelmektedir. Burada başlangıç ve efektör kaspaz rolünü kaspaz 2 oynar. Özellikle, efektör kaspaz olan kaspaz 13'ün substrat özelliklerinden dolayı kaspaz 2 bir efektör kaspaz gibi kategorize edilebilir (Adams JM, vd., 2001; Martin SJ, vd., 2001; Vellenga E. vd., 2004).

Kaspaz 2'nin rolü açık olmasına rağmen, son zamanlardaki bazı araştırmalar, genotoksik strese yanıt bağlamında mitokondriyal yollarda yukarı regülasyon değişikliklerinin olduğunu bildirmiştir. İnfazcı kaspaz aktivitesi ayrıca doğrudan granzim/performin yolu ile de başlatabilir. Yürütücü kaspazlar grubu kaspaz 7 ve kaspaz 3'ü içerir. Ayrıca bu grupta kaspaz 6-da vardır, ancak apoptozdaki önemi daha az belirgindir. Multiprotein komplekslerinde öncü kaspazları izleyebilir. Aktivasyon her kaspaz için benzersizdir. Kaspaz 10 ve kaspaz 8 için ölümü indükleyen bir sinyal kompleksine (DISC), apoptotik peptidaz aktive edici faktör 1 (Apaf1) apoptozomunu ve p53'ü ise kaspaz 9 için içerir. Bu, efektör kaspazlardan olan kaspaz 2'den dolayı indüklenen ölüm alanı proteinidir (PIDDosome) (Tschopp ve diğ., 2004).

Her bir kompleks genel olarak bir adet reseptör proteini içerir. Örnek olarak oligomer olan CD95/Fas DISC, CD95/Fas molekülleri Fas ile ilişkili bir protein ölüm alanı (FADD) bağlayıcı protein ile birleştirdiğinde oluşmaktadır.

2.4.3.2. İntresik (içsel) yolak

Apoptozun hücre içi sinyallerle uyarılmasından sonra, apoptozu destekleyen protein, anti-apoptotik protein olan Bcl2'yi inaktif, Bax ve Bak'ı ise aktif duruma getirir. Aktive olunmuş Bak ve Bax, mitokondriyal membran gözenek oluşumunu indükler ve membran kapasitansını değiştirir. Böylece mitokondriyal membran sitokromları, Kaspaz (SMAC), EndoG (EndonükleazG), Ca⁺⁺ ve AIF (apoptoz indükleyici faktör) mitokondrilerinden türetilen ikinci bir aktivatörün salınımını destekler. Arada IAF'nin var oluşu, kaspaz 8 ve kaspaz 3'in aktivitesini inhibe eder. Çekirdeğe doğru AIF yer değiştirir ve bir kompleks oluşturmak için onu birkaç parçaya böler. Apoptozu parçalar ve kaspaz 9 aktif hale gelir. Bundan başka kaspaz 9 prokaspazlardan olan prokaspaz 3'ün de aktive edilmesinde rol oynar (Adams JM, vd., 2001; Hsu Y. vd., 2000; Greengrass PM, vd., 2000).

2.4.3.2.1. BCL-2 ailesi

Bir hücrenin apoptoz alıp almadığı, Bcl2 ailesi genlerinin heterodimerik veya homodimerik formuna bağlıdır. Bcl2 ailesi iki zıt gruptan oluşur. Bunlar pro-apoptotik üyeler ve anti-apoptotik üyelerdir. Hücrelerde yüksek miktarda pro-apoptotik üyeler var olduğunda, daha yüksek eğilimle apoptoz görülür. Yüksek düzeyde anti-apoptotik üyeler varsa, hücreler daha düşük oranda apoptoz eğilim gösterirler.

Proapoptotik üyeler arasında Bax, Bad, BclXs, Bim, Bak, Noxa ve Puma yer alır. Bu proteinlere sitozolde tesadüf edilir ve sitokromlar ve apoptozu indükleyen faktörü (AIF) serbest bırakarak apoptozu indüklerler. Spesifik olarak, hücresel Ca⁺⁺ oranını düzenleyerek ve öncül kaspaz formlarına dayalı olarak AIF ve sitokromların salınımını inhibasyon yolu ile bloke edip apoptozun inhibe ederler. (Adams JM., vd., 2001).

2.4.3.3. Ekstrinsik (Dışsal) yolak

Ekstrinsik yolak, isminden de bilindiği gibi, ölüm reseptörünün ölüm ligandına (BKerr JF, Harmon BV) bağlanmasıyla başlamaktadır. Bilinen birkaç ölüm reseptörünün tanımlanmasına bakmayarak, en iyi şekilde bilinmekte olanlar, TNF reseptör tip 1 (TNFR1) ve ligandları sırasıyla TNF ve Fas ligandı (FasL) olarak adlandırılan Fas (CD95) adlı ilgili proteindir. Bu reseptörler, kaspaz 8 gibi sistein proteazlarını algılayan ara ölü hücrelerin yanı sıra TNF reseptörü ile ilişkili ölüm alanı (TRADD) ve Fas ile ilişkili ölüm alanı (FADD) gibi adaptör proteinleri içerir. Ölüm ligandının ölüm reseptörüne bağlanması, protein için bir bağlanma bölgesi oluşturur; tüm ligand-reseptör-adaptör protein kompleksi, ölümü indükleyen sinyal kompleksi (DISC) olarak adlandırılır. Oluşan bu kompleks daha sonralar pro-kaspaz 8'i almaya ve etkinleştirmeye başlayacaktır. Enzimin aktifleştirilmiş formu olan kaspaz 8, diğer aşağı akış veya efektör kaspazları parçalayarak apoptozu başlatan bir başlangıç kaspazıdır (Vries EG, vd., 2004; Cotter TG, vd., 2003).

Çift yönlü olarak aktive edilmiş kaspaz 3, CAD aktivasyonu ile DNA fragmantasyonunu indükler. Dışsal yolak, sfingolipid yolağıdır. Sfingomyelin hücre zarlarının temelini oluşturan maddelerdendir. Ölüm reseptörleri tarafından aktifleştirilen sfingomiyelinaz enzimi, sfingomiyelinin seramide dönüşmesine neden olur. Seramidaz tarafından seramid sfingosine dönüştürülür. Sfingosin ayrıca duyarlılığı artırır ve apoptozu indükler (Pawlina W., Ross MH, 2011). Ayrıca burada bir başka etkili sistem de Granzim-Perforin sistemidir.

Perforin/granzim yolağı: T-hücreleri aracılı sitotoksikite, duyarlılaştırılmış CD8+ hücrelerinin kanser antijenik hücrelerini öldürdüğü "IV tip" aşırı duyarlılığın bir çeşididir. Sitotoksik T lenfositleri (CTL), hedefleri dışsal olarak öldürebilir. FasL/FasR etkileşimi, CTL ile indüklenen apoptozda önemli bir patojendir (Ziani L. vd., 2015). Bununla birlikte, sitotoksik etkilerini zar-ötesi gözenek oluşturucu bir molekül olan perforin salgılayarak tümör

hücre ve virüsle enfekte hücreler üzerinde de gösterebilirler. Granzim A ve granzim B, peletin en önemli bileşenleridir. Granzim B, prokaspaz 10 aktivasyonunu indükleyerek, aspartat tortusundan proteinlerin bölünmesine neden olur. Sonuç olarak, Acad gibifaktörleri devre dışı bırakabilirler. Bu DNA-az, sayılı tümör hücreleri apoptozunun indüksiyonunu önlemek için önemli bir rol oynar. Bu nedenle, bu kompleksin granzim A tarafından inaktivasyonu, büyük olasılıkla DNA ve kromatinin yapısal bütünlüğünün korunmasını bloke ederek apoptoza katkıda bulunur (Saha G. vd., 2018; Kim-Campbell N. vd., 2019 ; Murphy BM vd., 2005).

2.4.3.4. Ortak yol

Ortak yolak. Kontrollü apoptoz seviyeleri, birkaç kaspazın aktivasyonu ile ilişkilidir. İç yolun üst kaspazı kaspaz 9'dur ve dış yolun üst kaspazı kaspaz 8'dir. Hem iç yol hem de dış yol kaspaz 3'e yakındır. Daha sonra kaspaz 3 nükleer hücre ölümünden sorumlu olan kaspazla aktif edilmiş DNA'nın inhibitör maddesini parçalar. Ek olarak, akış kaspazlarından olan aşağı akış kaspazları protein kinazların, hücrenin yapısını teşkil eden proteinlerinin, DNA'yı onaran proteinlerin ve endonükleaz ailelerinin inhibitör alt birimlerini etkiler. Ayrıca apoptoz gibi morfolojik değişiklikler üreten hücre iskeleti de hücre döngüsünü ve oryantasyonunu etkiler (Witzig TE vd., 2005).

2.4.3.5. TNF (tumor necrosis factor) ailesi

Tumor nekrozü faktörü (TNF), fizyolojik ve patolojik süreçlerde önemli rol oynayan sitokinlerdendir. Savunma sistemi sorunlarında ve tümör büyümesinde önemi büyüktür. TNF hücre nekrozuna (hücre genişlemesini, organellerin yok edilmesini ve nihayetinde hücre hasarını içermekte olan süreç) ve apoptoza (hücre büzülmesini, sıkışma oluşumunu ve DNA yapısının bozulmasını içermekte olan bir süreç) neden olur. Nekroz faktörü ailesine, TNF β , TNF α , ligand CD40, ligand FAS ve TNF'e bağlı apoptozun indüklenmesinde rol alan ligand- TRAIL deait olmakla en önemli sitokinlerin bazılarını içermektedir. TNF β , T hücreleri aracılığıyla üretilmektedir (Chu, 2013) ve saflaştırılmış TNF veya TNF'nin hücre çizgisi ekspresyonu ile yapılan çalışmalar, TNF'nin tümör yapılarında tümör nekrozuna neden olabileceğini göstermiştir.

2.5. Kanser Tedavisi

Kanseri tedavi etmek için kullanılan ana prosedürler radikal tedavi, kemoterapi, immünoterapi ve cerrahidir (Nooshin Banaee vd., 2017). Farklı kanser vakalarında cerrahi, cerrahi rezeksiyon, radikal cerrahi ve palyatif cerrahi olmakla çeşitli amaçlar için kullanılır. Cerrahi tanıda kanserin kesin olarak teşhis edilmesi amacıyla dokudan örnek alınır ve tümörün tipine ve yayılmasına göre sadece lokal düzeyde veya hastalıklı dokunun tamamına biyopsi yapılır. Cerrahi rezeksiyon, tümör olmamasına rağmen kansere neden olduğu bilinen "kansere öncesi lezyon" olarak adlandırılan dokuyu çıkarmak için kullanılmaktadır. Örneğin kolon polipleri, kanser risklerinin artması nedeniyle çıkarılmalıdır. Bunun cerrahi onkolojide bir gereklilik olduğuna dikkat etmek önemlidir. Bununla birlikte, birçok kanser türü, kanser çıkarıldıktan sonra bile görünmeyen mikroskobik metastazlara sahiptir. Bu nedenle cerrahiye ek olarak farmakoterapi ve radyoterapi sıklıkla gereklidir (TezerK., Ayşe K., 1992)

Radyasyon tedavisi, komşu dokuyu korurken tümörü yok etmek için iyonlaştırıcı ışık kullanarak tümörlerin tedavisidir. Burada kullanılan prosedürlerin tümü radyasyon onkolojisi olarak isimlendirilir. Radyobiyojinin bu dalı, iyonlaştırıcı radyasyonun biyolojik etkilerini inceler. Radyasyon tedavisi tek başına veya kanser tedavisinde cerrahi veya ilaçlarla birlikte kullanılabilir. Cerrahi tedaviye benzer yararları olan hastalıklarda, disfonksiyonu engellediği ve organizmanın korunma ilkesine müdahale etmediği için tercih edilen tedavi yöntemidir

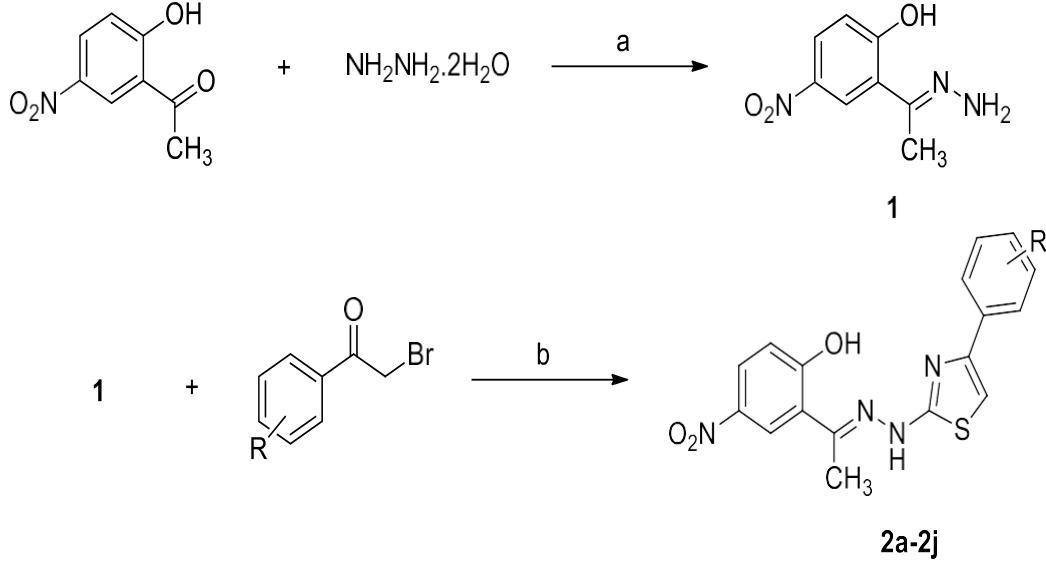
Kemoterapi "sitotoksik" olsa da büyümeyi etkileyen kanseri tedavi etmek için kullanılan bir yöntemdir. Bu amaçla kullanılan ilaçlara da "kansere önleyici ilaçlar" denir. İlacın kullanım amacı kanserin tipine göre değişiklik gösterebilir. Kansere tedavisi, kanser tamamen yok edildiğinde tedavi edilebilir olarak kabul edilir (Greenhalgh TA, Symonds RP, 2014).

Fakat kemoterapi ve radyasyon tedavisi gibi günümüzde kullanılan geleneksel kansere tedavi yöntemleri pahalıdır ve mide bulantısı, ishal, kabızlık ve saç dökülmesi gibi hafif yan etkilerden nörolojik, kardiyak ve kardiyak toksisite gibi ciddi yan etkilere kadar birçok yan etkiye sahiptir. Bu yan etkiler yalnızca hastanın yaşam kalitesini düşürmekle kalmaz, aynı zamanda hastaları tedavi protokollerini kabul etmekten caydırır. Bunun için de mevcut tedavilere alternatif olacak doğal, biyolojik ve sentetik maddelerden geliştirilmiş, daha az toksik, daha seçici ve etkili anti-kansere ilaçlarının araştırılmasına ve etki mekanizmalarının aydınlatılması gerekmektedir.

İnflamasyonun kanser ilerlemesindeki önemine dair belki de en iyi kanıt, uzun süreli aspirin ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler) kullanıcılarında kanser riskinin araştırılmasından gelir. Çok fazla veri, bu ilaçların kullanımının belirli kanserlerin ilerlemesini azalttığını gösterir. Araşidonik asidi, hasarlı dokularda inflamatuvar reaksiyonlara neden olan prostaglandinlere dönüştürür. Aspirin, aynı zamanda siklooksijenaz-1 ve siklooksijenaz-2 üzerinde geri dönüşümsüz olarak inaktive özelliğine sahiptir, fakat trombosit fonksiyonunu inhibe etmede seçici değildir, tromboksan A2 sentezini inhibe eder. Flurbiprofen gibi diğer steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar trombosit agregasyonunu inhibe etme özelliği nedeniyle güçlü antimetastatik etkilere sahip olabilir.

3. Metodlar

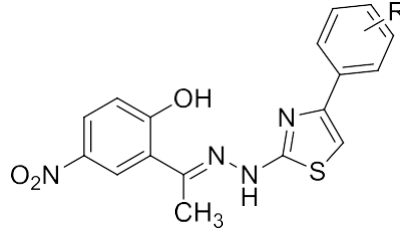
3.1. 2,4 Disubstitüetiyazol Türevlerinin Genel Sentez Yöntemi



Şekil 5.1. 2,4 disubstitüetiyazol türevlerinin sentez şeması. Reaksiyon koşulları ve re ajanlar: a: EtOH, 5 s, 200 °C; b:EtOH, 12 s, 200 °C.

2-(1-Hidrazonoetil)-4-nitrofenol (1) sentezi: 2-Hidroksi-4-nitroasetofenon (0.1 mol) ve hidrazin hidrat (0.2 mol) 5 saat boyunca 200 °C'de 250 mL etanolde kaynatılır. Reaksiyonun bitimi İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile kontrol edilir. Reaksiyon karışımı bir gece soğuk ortamda dinlendirildikten sonra çöken ürün süzülerek alınır, kuruyunca alkolden kristallendirilir.

2-(1-(2-(4-(Süstitüe fenil)tiyazol-2-il)hidrazono)etil)-4-nitrofenol (HAL1-HAL10) türevlerinin sentezi : Eşdeğer oranda (0.005 mol) 2'-bromoasetofenon türevleri ve elde edilen ara ürün (1) 50 mL etanol içerisinde 12 saat boyunca kaynatılır. Reaksiyon İTK ile kontrol edilerek sonlandırılır. Ham ürün reaksiyon karışımından süzülerek alınır, kuruyunca etanolden kristallendirilir.

Tablo 3.1. *Sentezlenen bileşikler*

Bileşik	R	Kapalı formül-Molekül ağırlığı	E.D.
HAL-1	4-NO ₂	Kimyasal formülü: C ₁₇ H ₁₃ N ₅ O ₅ S Tam ağırlığı: 399,06 Molekül ağırlığı: 399,38 g	310
HAL-2	3,4-diOH	Kimyasal formülü: C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₅ S Tam ağırlığı: 386,07 Molekül ağırlığı: 386,38 g	308
HAL-3	2,5-diOCH ₃	Kimyasal formülü: C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₅ S Tam ağırlığı: 414,10 Molekül ağırlığı: 414,44 g	226
HAL-4	Naftalen-2-il	Kimyasal formülü: C ₂₁ H ₁₆ N ₄ O ₃ S Tam ağırlığı: 404,09 Molekül ağırlığı: 404,44 g	250
HAL-5	2,4-diCH ₃	Kimyasal formülü: C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃ S Tam ağırlığı: 382,11 Molekül ağırlığı 382,44 g	250
HAL-6	3,4-diCl	Kimyasal formülü: C ₁₇ H ₁₂ Cl ₂ N ₄ O ₃ S Tam ağırlığı: 422,00 Molekül ağırlığı: 423,27 g	263
HAL-7	2-F	Kimyasal formülü: C ₁₇ H ₁₃ FN ₄ O ₃ S Tam ağırlığı 372,07 Molekül ağırlığı: 372,37 g	261
HAL-8	3-F	Kimyasal formülü: C ₁₇ H ₁₃ FN ₄ O ₃ S Tam ağırlığı: 372,07 Molekül ağırlığı: 372,37 g	262
HAL-9	4-F	Kimyasal formülü: C ₁₇ H ₁₃ FN ₄ O ₃ S Tam ağırlığı 372,07 Molekül ağırlığı: 372,37 g	271
HAL-10	2,4-diF	Kimyasal formülü: C ₁₇ H ₁₂ F ₂ N ₄ O ₃ S Tam ağırlığı 390,06 Molekül ağırlığı: 390,36 g	241

3.2. Enzim İnhibitör Aktivite Çalışmaları

Bileşiklerin siklooksijenaz enzim inhibisyonu etkilerinin belirlenmesi “Cayman COX Inhibitor Screening Assay Kit, (katalog numarası:701050)”, standardize yöntemi kullanılarak yapıldı. Tampon olarak kullanılmış çözelti 3 millilitre 0,1 M Tris-HCL (Hidroksimetil Aminometan) (8 pH 37 ° C), 27 ml HPLC dereceli su ile karıştırılarak hazırlandı ve COX enzimlerinin seyreltilmesi için kullanıldı. Hemin de aynı şekilde tampon çözeltisi ile seyreltilmiştir. KOH ile 100 µL 0,1 M Araşidonik asit karıştırılarak seyreltilmek için dH2O kullanıldı. Mikroplate'in kör kuyucuklarına tampon, çözücü, hem çözeltisi; enzim kuyucuklarına, tampon, hem çözeltisi, siklooksijenaz enzim çözeltisi; test kuyucuklarına tampon, hem çözeltisi, siklooksijenaz enzim çözeltisi, solvent; inhibitör numune kuyucuklarına, tampon, hem çözeltisi, siklooksijenaz enzim çözeltisi ve inhibitör kontrol madde ekledikten sonra 25 °C'de 5 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra bütün kuyucuklara substrat çözeltisinden 20 µL miktar ve araşidonik asit substrat çözeltisinden aynı miktarda ekleyip, her kuyucukta son hacmin 220 µL olması sağlandıktan sonra 2 dakika 25 °C'de mikroplate inkübe edilir. İnkübe edildikten sonra 590 nm dalga boyunda absorbanslar ölçüldü ve inhibisyonlar yüzde olarak hesaplandı. Deneyler üç tekrarlı olarak çalışıldı ve sonuçların ifadesi ortalama ± standart hata olarak gösterildi.

3.3. Biyolojik Etki Çalışmaları

3.3.1. Antikanser etki çalışmaları

Kullanılan 2,4 disubstitüetiyazol türevi bileşiklerin antikanser etkileri değerlendirilirken, ilk olarak MTT metodu ile bu bileşiklerin sitotoksik etkileri belirlenmiştir. Daha sonraki aşamada önemli sitotoksik etkiye sahip olan bileşiklerin apoptotik etkileri tespit edildi

Hücre apoptoz uyarısı almış olduğu zaman hücre membranının sitoplazmik kısmında olan fosfatidilserin hücre membranındaki yerini dış lipid tabakasına doğru değiştirmektedir. Bu yer değişikliği başlangıç apoptoz evresinde gerçekleşmektedir. Anneksin V proteininin fosfatidilserine bağlanabilme özelliğinden faydalanarak floresan bir madde olan (FITC) ile bu protein işaretlenerek apoptotik hücre görülebilir duruma getirilmektedir. Akım sitometrisi yöntemi ile bu bağlanma payı ölçülebilmektedir. Aynı zamanda nekrotik hücrelerde de Anneksin bağlanması görülebildiği için ayrıca non-vital boyalardan biri olan propidyum iyodür (PI) boyaması da yapılmaktadır. Canlı hücrelerde membranlar sağlam olduğu için propidyum iyodür boyası onları boyamamaktadır.

Erken apoptotik hücreler FITC (+/PI (-), geç apoptotik veyanekrotik hücreler FITC (+\PI (+) ve canlı hücreler FITC (-)/PI (-), olarak ayırt edilebilmektedir (Kuş, 2011; Zhang vd., 1997).

3.3.1.1. MTT yöntemi ile in vitro sitotoksik etki çalışmaları

Kullanılan bileşiklerin sitotoksik etkileri *in vitro* olarak MTT (3-(4,5-dimetiltiazol- 2il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür), literatür çalışmalarında gösterildiğinin (Keiser, 2000;Mossman, 1983) üzerinde küçük modifikasyonlar ile ölçüldü. Çalışma zamanı kullanılmış insan akciğer adenokarsinoma epitelyal hücre dizisi (A549) ve normal fibroblast (L929) hücre dizileri sıvı azottan (-196 C) çıkarılıp, santrifüj edildi, A549 hücreleri RPMI ve Eagle's Minimum Essential Medium ve L929 hücreleri Dulbecco's Modified Eagle's Medium ile 37 °C de, % 10 Fetal sığır serumu (FBS) içeren besi ortamının konulduğu flasklarda, % 5 CO₂ içeren CO₂; inkübatöründe kültüre edildi. Deneyin yapıla bilmesi için gereken yeterli miktara ulaşmış hücreler Thoma lamı ile sayılarak 96 kuyucukdan oluşan ve her bir kuyucuğa 2x10⁴miktarda hücre gelecek şekilde ekilerek ve aynı zamanda hücrelere 0,5-500 µg/mL konsantrasyonlarında bileşenler eklenerek 37 °C ısıda inkübe edildi. 1 gün boyunca süren inkübasyon işlemi sonunda her kuyucuğa 20 µL MTT boyası (5 mg/ml.) ekleme yapılarak hücreler 37 °C ısıda daha 2 saat inkübe edildi. Sürenin tamamında, hücreler üzerinden MTT boyası uzaklaştırılır, her kuyuya 200 µL DMSO eklenerek 10 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı. Renk değişimi, ELx808-T1U Bio-Tek plaka okuyucusunda 540 nm dalgaboyu ile belirlenmiştir. Bileşen ile muamele edilmeyen kontrol hücre canlılığı % 100 olarak kabul edilerek, deneyde kullanılan hücrelerin canlılık düzeyleri faiz olarak ifade edildi. Pozitif kontrol olarak sisplatin kullanılarak oluşan sonuçlar bu pozitif kontrolle kıyaslandı. Zaman ve doz aralığı, literatürdeki bu bileşiklerle benzerlik gösteren bileşiklerin farklı kanser hücre tiplerine karşı göstermiş oldukları sitotoksik konsantrasyonlara bağlı olarak belirlendi. Elde edilmiş sonuçlara göre doz aralığı IC₅₀ değerinin belirlenmesine kadar genişletilmiştir.

3.4.1. Apoptotik etki çalışmaları

3.4.1.1. Annexin V-FITC: Erken faz apoptozun belirlenmesi

Kullanılan bileşiklerin Annexin V-FITC: Erken faz apoptozun belirlenmesi testi ölçüm yönteminin uyarlanması şeklinde yapılmıştır. MTT yöntemi aracılığıyla daha yüksek aktifliye sahip bileşikler belirtildikten sonra, A549 hücreleri üzerinde IC₅₀ konsantrasyonlarına bağlı şekilde apoptotik etkiler BD akım sitometrisinde belirlendi.

Hücreler, 1200 rpm'de 4 dakika santrifüj edilerek 2 kez Ix PBS ile yıkandıktan

sonra Ix Annexin V bağlanma çözeltisinde 2-3x10⁶ hücre/mL olacak şekilde süspansiyon edilerek hücre çözeltisinden tüplere aktarılacak için 100 µL alınır. Sonraki aşamada, 5 µL Annexin V-FITC ve 10 µL propidyum iyodür (PI) çözeltisi tüplere ekleniyor ve oda ısısında 15 dakika inkübasyon ardından 400 µL Ix Annexin V bağlanma çözeltisi her bir tüpe eklenerek hücreler akım sitometri (BD FACS Aria) ile 1 saatlik boyama süresi zarfında analiz edildi. Erken ve geç apoptotik hücre miktarları pozitif kontrole kıyasla hesaplandı.

3.4.1.2. Hücrelerin mitokondrial membran bütünlüğünün belirlenmesi

MTT yöntemi aracılığıyla daha aktif bileşikler belirlenerek A549 hücrelerinde IC₅₀ konsantrasyonlarına bağlı olarak mitokondriyal membran bütünlüğünün saptanması Pharmingen akım sitometri kiti prosedürüne göre BD akım sitometride ölçülmüştür. Hücreler optimum yoğunluk miktarında ekilerek test olunacak maddelere uygun konsantrasyon ve uygun zamanda inkübe edildi. Daha sonraki aşama zamanı oda sıcaklığında 5 dakika boyunca santrifüj edilmek için her bir hücre süspansiyonu 15 ml'lik polistiren santrifüj tüpüne alınarak santrifüj edildi ve süpernatant uzaklaştırıldı. Yeni hazırlanan 0,5 ml çalışma solüsyonu her bir pellete eklenip vortekslendikten sonra 10-15 dakika boyunca 37 °C'de JC-1 çalışma solüsyonunda bekletilerek iki defa yıkanmıştır.

İlk yıkama zamanı 2 mL Ix tampon eklenilerek hücreler hassaslıkla süspansiyon edildi. Daha sonra hücreler 5 dakika boyunca santrifüj edilip dikkatli bir şekilde süpernatant uzaklaştırıldı. İkinci yıkama zamanı 1 ml, Ix tampon eklenildi, vortekslenerek 5 dakika sürede santrifüj edildi, sonra her bir hücre pelleti 0,5 ml'lik Ix tamponda süspansiyon edilip tekrar vortekslenerek hücre akım sitometri ile analiz edildi. Pozitif kontrol olarak sisplatin kullanılarak oluşan sonuçlar bupozitif kontrole kıyaslandı.

3.4.1.3. Kaspaz-3 aktivitesinin akım sitometri ile belirlenmesi

MTT yöntemi ile en yüksek aktifliğe sahip bileşikler belirlendi ve daha sonra, IC₅₀ konsantrasyonlarına bağlı olarak Kaspaz-3 aktiviteleri A549 hücreleri üzerinde akım sitometride "BD, Pharmingen FITC Active Caspase-3 Apoptosis Kit ölçüm yöntemiyle tanımlandı.

Belirlenen zaman ve dozda maddeler ile inkübe edilip, soğuk Ix PBS ile iki kez

yıkanmış hücreler BD Cytotfix/Cytoperm solusyonu ile (1×10^6 hücre/0,5 mL olacak şekilde) süspande edilerek 20 dk. buzda bekletildi. Santrifüj edilmiş bu hücreler üzerinden BD Cytotfix/Cytoperm solüsyonu atılarak iki defa BD Perm/Wash™ tampon ile (1×10^6 hücre/0,5 mL) yıkandı. Bu hücreler yeniden BD Perm/Wash™ tampon ve antikor ile süspande edilerek 30 dakikaoda ısısında bekletildi. Sonda bu hücreler her bir test için 1 ml BD Perm/Wash™ tampon içinde yıkanarak 0,5 ml BD Perm/Wash™ tampon içinde süspande edilip akım sitometri ile analiz edildi. Pozitif kontrol olarak sisplatin kullanılıp sonuçlar bu pozitif kontrole göre kıyaslandı.

Kullanılan Kimyasal Maddeler:

- COX Kolorimetrik İnhibitor Tarama Test Kiti, Cayman, ABD.
- Dimethyl Sulfoxide Hybri-max steril, BioFroxx, Germany.
- Fetal Sığır Serum (FBS); Isı inaktive edilmiş, ABD kökenli olmayan, steril filtre edilmiş, hücre kültürü için uygun (500 ml), SigmaAldrich, ABD.
- FITC Annexin V Apoptozis Belirleme Kiti, BD Pharmingen, San Diego.
- Kaspaz-3 kiti, BD Pharmingen PE Caspase-3, San Diego. JIC-1 kiti, BD MitoScreen, San Diego.
- Linoleik asit, Sigma Aldrich, USA.
- Nordihydroguaiaretic Asit (NDGA), Sigma Aldrich, USA.
- Penisilin-Streptomisin çözeltisi; Sigma Aldrich, ABD, hücre kültürü (20 mL) için uygun, % 0.9.
- NaCl içerisinde mL başına 10,000 birim penisilin ve 10 mg streptomisin ile steril filtrelenmiş, BioReagent.
- Potasyum Fosfat dibazik, Sigma Aldrich, USA.
- Potasyum Fosfat monobazik, Sigma Aldrich, USA.
- Fosfat tamponlu salin (PBS); Sigma-Aldrich, Almanya.
- Sisplatin, Sigma Aldrich, USA.

- Tripsin-EDTA çözeltisi-10X steril filtre edilmiş, BioReagent, hücre kültürü için uygun, 5,0 g domuz tripsin ve 2 g EDTA, %0.9 sodyum klorür (20 mL) litrede 4Na, Sigma Aldrich, ABD.

Kullanılan Cihazlar:

- Akım Sitometri, BD.
- CO₂ inkübatörü, Panasonic.
- ELISA spektrometre, BİOTEK.
- Steril kabin, Telstar.
- UV spektrometre, Shimadzu.

4. BULGULAR

4.1. Enzim İnhibitör Aktiviteleri

4.1.1. Siklooksijenaz-I (COX-1) enzimi inhibitör aktivitesi

Tablo 3.1. *Sentezlenen bileşiklerin COX-1 aktivitesi üzerindeki inhibisyon değerleri*

Bileşikler (100 µM)	% inhibisyon ±standart sapma
HAL1	inhibisyon yok
HAL2	24.5±3.54
HAL3	inhibisyon yok
HAL4	11.±1.98
HAL5	inhibisyon yok
HAL6	6.15±0.33
HAL7	inhibisyon yok
HAL8	inhibisyon yok
HAL9	inhibisyon yok
HAL10	23.66±3.06
SC-560 (1 µM)	85.48±3.24

4.1.2. Siklooksijenaz-2 (COX-2) enzim inhibisyon aktivitesi

Tablo 3.2. *Sentezlenen bileşiklerin COX-2 aktivitesi üzerindeki inhibisyon değerleri*

Bileşikler (100 µM)	% inhibisyon ±standart sapma
HAL1	9.02±0.39
HAL2	34.18±1.53
HAL3	inhibisyon yok
HAL4	14.97.±1.45
HAL5	inhibisyon yok
HAL6	inhibisyon yok
HAL7	inhibisyon yok
HAL8	inhibisyon yok
HAL9	inhibisyon yok
HAL10	inhibisyon yok
Rofekoksib (10 µM)	98.26±2.84

4.2. Sitotoksisite (MTT) Testleri

Tablo 4.1. *MTT analizleri sonucu 24 saat sonundaki IC₅₀ değerleri*

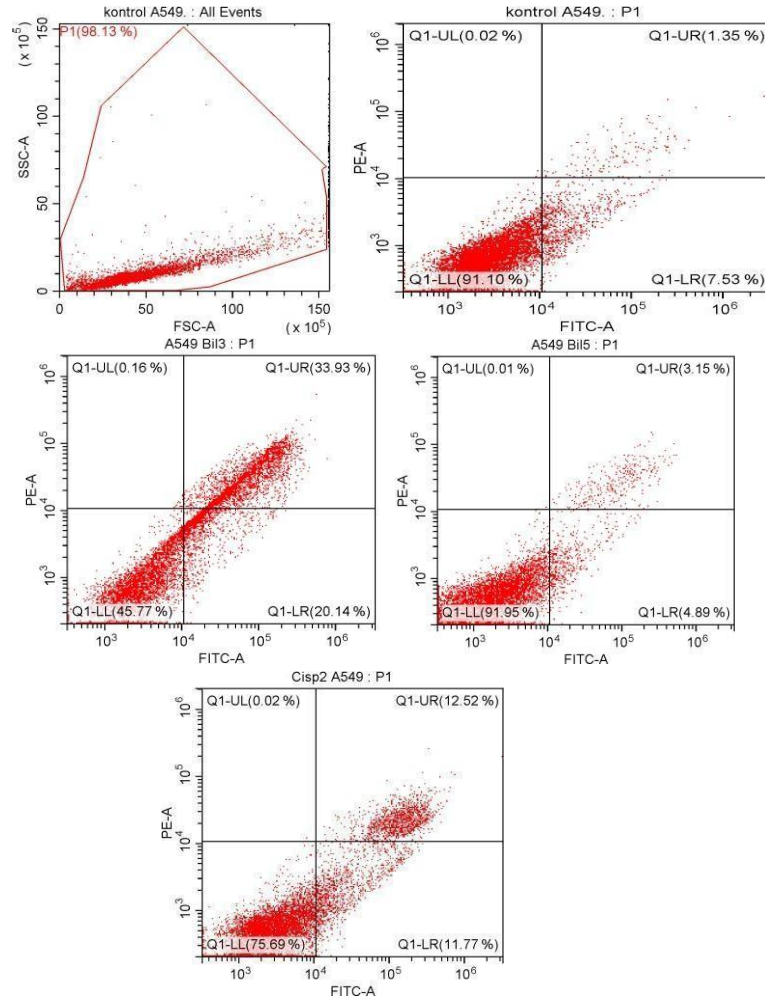
Test maddeleri	A549 hücre hattı (µg/mL)	L929 hücre hattı (µg/mL)
HAL1	229.66±43.59	309.66±10.50
HAL2	432.05±24.75	>500
HAL3	35.66±21.22	107.00±11.26
HAL4	196.66±7.63	>500
HAL5	49.00±11.26	253.00±41.07
HAL6	265.00±73.65	>500
HAL7	57.33±32.65	280.00±52.91
HAL8	67.66±29.73	>500
HAL9	43.66±2.88	>500
HAL10	197.00±2.82	376.33±49.09
Sisplatin	28.33±11.71	N.D.

4.3. Erken/Geç Apoptotik ve Nekrotik Etki testleri

4.3.1. Pozitif kontrol sisplatin, HAL3, HAL5, HAL7, HAL8, ve HAL9 bileşiklerinin A549 hücre dizisi üzerine erken/geç apoptotik ve nekrotik etkileri

Tablo 5.1. Annexin V-FITC ve PI boyaması sonucu A549 hücrelerinde % canlılık. (UL-Nekroz, UR-Geç apoptoz, LL-Canlılık, LR-Erken apoptoz)

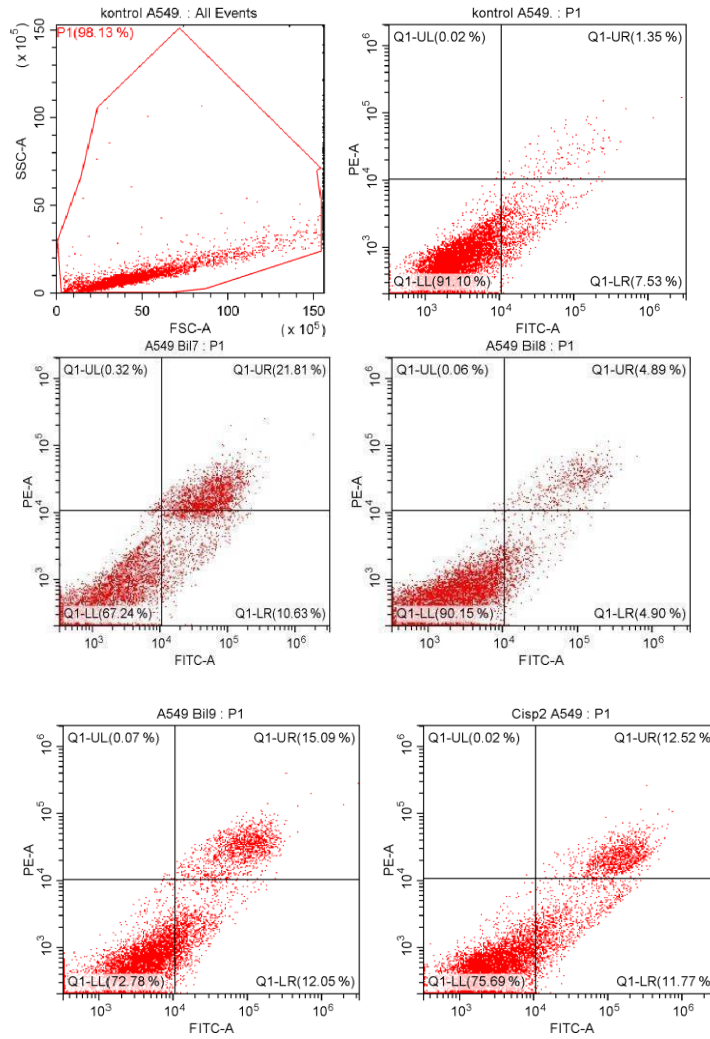
Annexin V-FITC ve PI boyama	Kontrol	Sisplatin (IC50)	HAL3 IC50)	HAL5 (IC50)
LL	91.10	75.69	45.77	91.95
UL	0.02	0.02	0.16	0.01
UR	1.35	12.52	33.93	3.15
LR	7.53	11.77	20.14	4.89



Şekil 6.1. A549 hücrelerinin 24 saat sonunda Annexin V-FITC ve PI (propidyum iyodid) boyaması (HAL3, HAL5)

Tablo 5.2. *Anneksin V-FITC ve PI boyaması sonucu A549 hücrelerinde % canlılık. (UL-Nekroz, UR-Geç apoptoz, LL-Canlılık, LR-Erken apoptoz)*

Annexin V-FITC ve PI boyama	Kontrol	Sisplatin (IC50)	HAL7 (IC50)	HAL8 (IC50)	HAL9 (IC50)
LL	91.10	75.69	67.24	90.15	72.78
UL	0.02	0.02	0.32	0.06	0.07
UR	1.35	12.52	21.81	4.89	15.09
LR	7.53	11.77	10.63	4.90	12.05



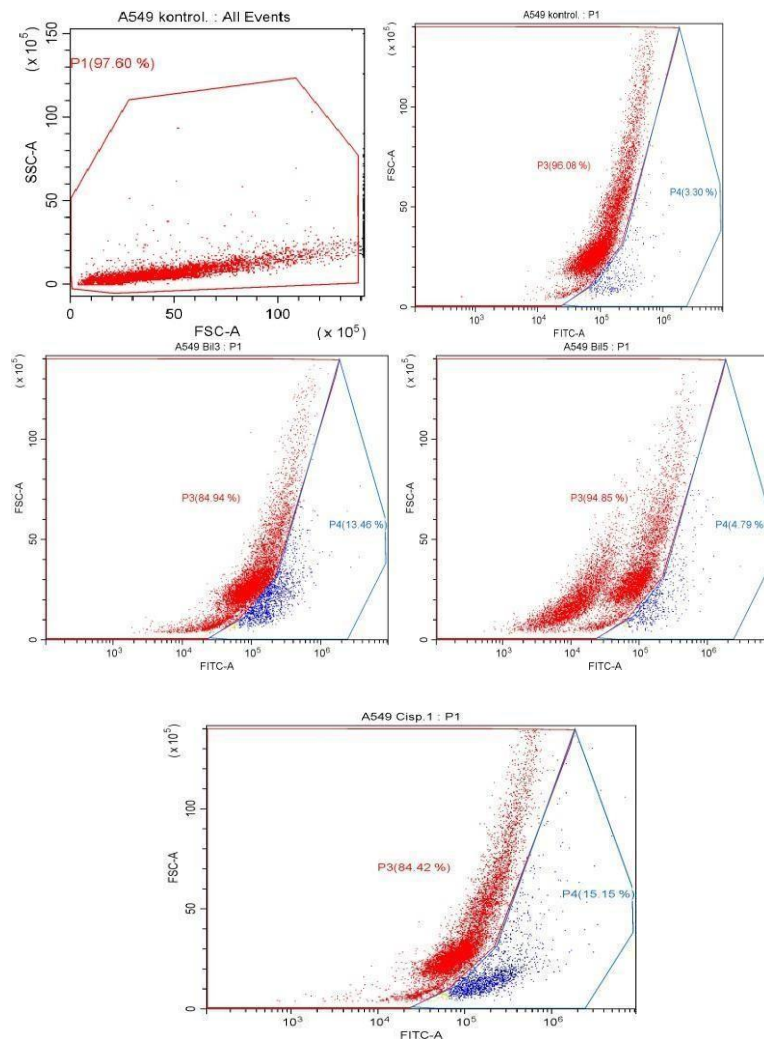
Şekil 6.2. *A549 hücrelerinin 24 saat sonunda Anneksin V-FITC ve PI (propidyum İyodid) boyaması (HAL7, HAL8, HAL9)*

4.4. Mitokondriyal Membran Potansiyeli Aktivitesi

4.4.1. Pozitif kontrol sisplatin, HAL3, HAL5, HAL7, HAL8 ve HAL9 bileşiklerinin A549 hücre dizisi üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli aktivitesi

Tablo 5.3. JC-1 boyaması sonucu A549 hücrelerinde % canlılık (P3- Mitokondriyal aktivite göstermeyen canlılık, P4-Mitokondriyal aktivite gösteren canlılık)

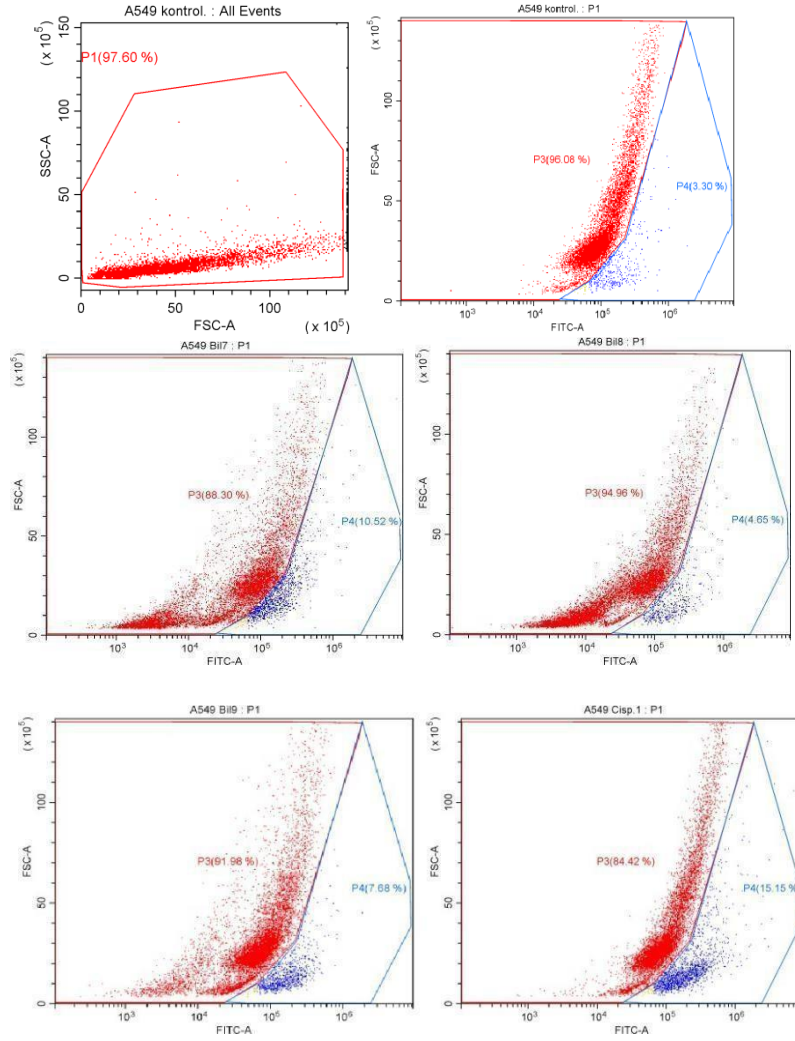
JC-1 boyama	Kontrol	Sisplatin (IC50)	HAL3 (IC50)	HAL5 (IC50)
P3	96.08	84.42	84.94	94.85
P4	3.30	15.15	13.46	4.79



Şekil 6.3. Mitokondriyal membran potansiyeli aktivitesi için A549 hücrelerinin 24saat sonunda JC-1 boyaması

Tablo 5.4. *JC-1 boyaması sonucu A549 hücrelerinde % canlılık (P3- Mitokondriyal aktivite göstermeyen canlılık, P4-Mitokondriyal aktivite gösteren canlılık)*

JC-1 boyama	Kontrol	Sisplatin (IC50)	HAL7 (IC50)	HAL8 (IC50)	HAL9 (IC50)
P3	96.08	84.42	88.30	94.96	91.98
P4	3.30	15.15	10.52	4.65	7.68



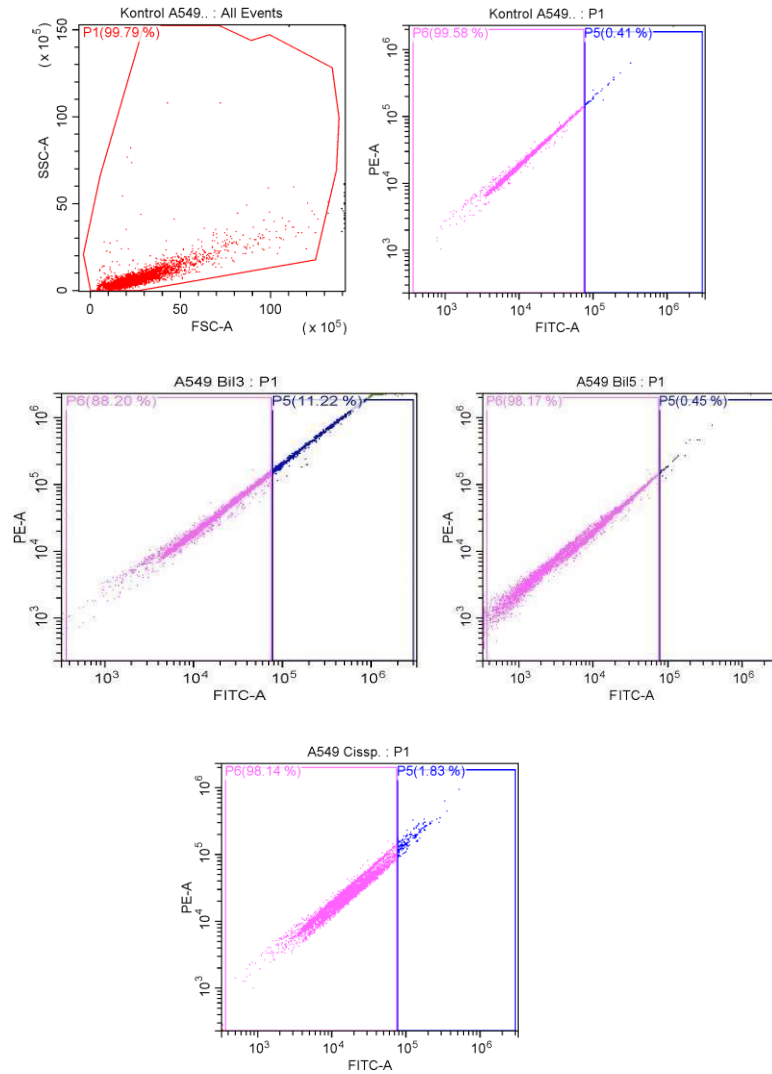
Şekil 6.4. *Mitokondriyal membran potansiyeli aktivitesi için A549 hücrelerinin 24saat sonunda JC-1 boyaması*

4.5. Kaspaz-3 Aktivitesi

4.5.1. Pozitif kontrol sisplatin, HAL3, HAL5, HAL7, HAL8 ve HAL9 bileşiklerinin A549 hücre dizisi üzerinde kaspaz-3 aktivitesi

Tablo 6.5. Kaspaz-3 aktivitesi için A549 hücrelerinin 24 saat sonunda işaretlenmesi (P6-Kaspaz-3 aktivitesi negatif, P5-Kaspaz-3 aktivitesi pozitif)

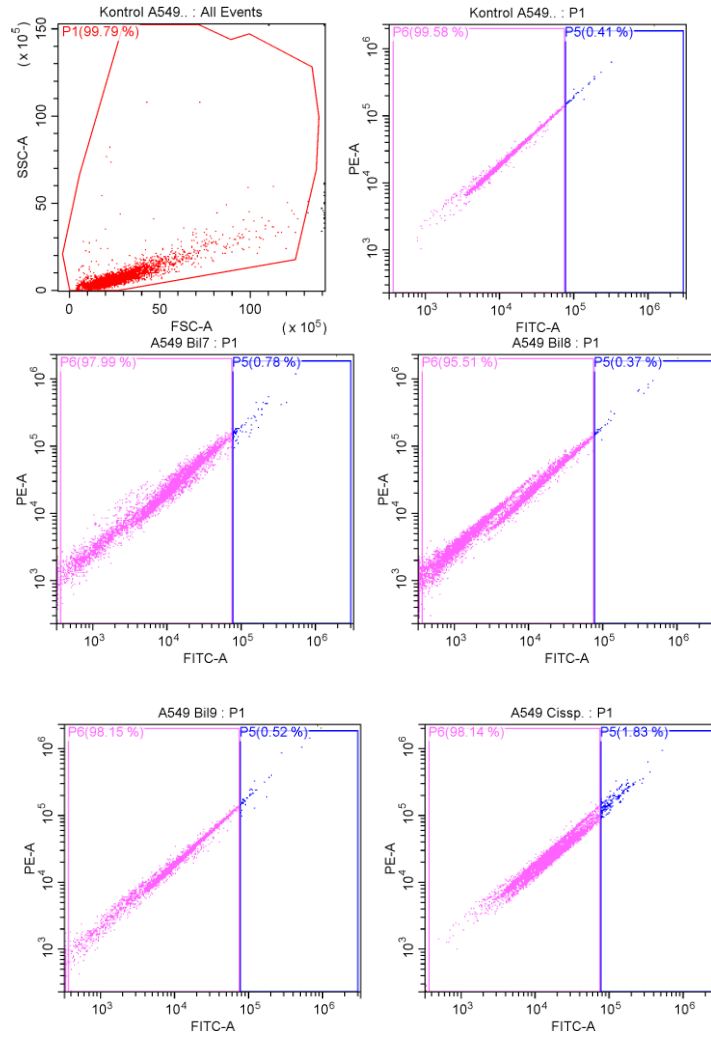
Kaspaz-3 aktivitesi	Kontrol	Sisplatin (IC50)	HAL3 (IC50)	HAL5 (IC50)
P6	99.58	98.14	88.20	98.17
P5	0.43	1.83	11.22	0.45



Şekil 6.5. Kaspaz-3 aktivitesi için A549 hücrelerinin 24 saat sonunda işaretlenmesi

Tablo 6.6. Kaspaz-3 aktivitesi için A549 hücrelerinin 24 saat sonunda işaretlenmesi (P6-Kaspaz-3 aktivitesi negatif, P5-Kaspaz-3 aktivitesi pozitif)

Kaspaz-3 aktivitesi	Kontrol	Sisplatin (IC50)	HAL7 (IC50)	HAL8 (IC50)	HAL9 (IC50)
P6	99.58	98.14	97.99	95.51	98.15
P5	0.41	1.83	0.78	0.37	0.52



Şekil 6.6. Kaspaz-3 aktivitesi için A549 hücrelerinin 24 saat sonunda işaretlenmesi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde dünya çapında kanser, kalp-damar hastalıklarından sonra en çok ölüme neden olan hastalıktır. Özellikle akciğer kanseri erkeklerde kanserin önde gelen nedeni, en sık görülen üçüncü kanser (meme kanseri, kolon ve rektum kanserilerinden sonra) ve kadınlarda en sık görülen ikinci kanserdir (meme kanserinden sonra). (Yang D vd., 2016) Kemoterapide kullanılan ve bilinen moleküllerden biri de sisplatin'dir. Meme kanseri, prostat kanseri, lenfomalar ve sarkomlar dahil birçok kanser türüne karşı etkilidir. Fakat moleküle karşı tolerans gelişmesi ve ciddi böbrek problemleri, alerjik reaksiyonlar, bağışıklığın azalması, mide ülseri, kanama ve hususen de genç yaşlı bireylerde işitme kaybı (Ghosh 2019) gibi birçok yan etki sebebiyle diğer ilaçlarla kombine ederek kullanılıyor. Bu olumsuz etkiler nedeniyle, sağlıklı hücreler için daha spesifik ve daha az toksik olan yeni ilaç potansiyeline sahip bileşikler araştırılmaktadır.

Bugün biyolojik olarak aktifliye sahip bir sıra moleküller vardır ki tiyazol halkasına sahiptir ve bu halka beş üyedir. Doğal moleküllerde büyük öneme sahip tiamin (antinevrit vitamini, aneyrin, vitamin B1), tiaminin pirofosfat tuzu (Krebs siklüsünde TPP solunumda önemli rol oynar), epotilonlar, karboksilaz, penisillin ve geniş makrosiklik tiyopeptit antibiyotikler, tiyosentepton ve mikrokoksik PI ve s benzeri öneme sahip moleküllerde de tiyazol halkasına rastlanmaktadır (Yurttaş ve Cankılıç 2017). Biyolojik önemi ve aynı zamanda da halkasının sentezi işlemleri kolay olduğu için bu halkaya sahip moleküller geniş araştırmalara konu olmuştur (Dvorko vd., 2008; Chourasia vd., 2013; Acar U vd., 2015). Diğer heterosiklik bileşiklerle kaynaştırılmış tiyazol türevleri; Anestezi (Sotiropoulou ve Geronikaki 1989; Theophilidis ve Geronikaki 1992), antibiyotik (Küçükbasmacı ve Ulusoy 2010), tüberküloz tedavisi (Xiaouyun vd., 2012, antikanser aktivite (El-Gamal vd., 2011), asetilkolinesteraz aktivitesinin inhibisyonu (Guardigli vd., 2005), ağrıkesici (Saxena vd., 2009) ve s etkileri çok sayıda biyolojik ve kimyasal çalışma ile aydınlatılmıştır. Literatüre baktığımızda tiyazol halka sistemi üzerinde biyolojik ve kimyasal aktivitesi ile ilişkili birçok çalışma bulunmaktadır.

Başka bir çalışmada sentezlenen 1,3,4-tiyadiazol ve 1,3- tiyazollerin insan hepatoselüler karsinoma hücre dizisi-HepG2 insan meme kanser hücre dizisi-MCF7 ve insan akciğer adenokarsinomu-A549 hücre dizilerine karşı anti- kanser aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Eldebss vd., 2013).

Leite ve diğ erleri tarafından 2016 yılında yapılan araştırmada. 1,3-tiyazol türevi bileşiklerin yalnızca kanser hücrelerinde sitotoksik olmadığını, aynı şekilde apoptoz ve nekrozu indükte ederek kanser hücresinde oluşan hasarları da destekleyebileceğini buldu. Ek olarak, bu moleküller, kanser hücrelerini kontrol etmek için bağışıklık sisteminin kontrol edilmesi mümkün olan tümör nekrozu faktörü ve interlökin 10 ve s benzeri bağışıklık sistemi faktörlerinin regülasyonuna neden olmuştur. Böylece, daha yüksek selektivite ve güce sahip kanser tedavisinde kullanılan molekülleri tanımlayabildiler (da Silva vd., 2016).

2017 yılında Muhammed Y.H.E ve diğ erleri tarafından yapılan bir *in vitro* çalışmada, A549, MCF7, DLA ve EAC hücreleri gibi farklı kökenli birkaç kanser hücresine karşı 4-fenil-2-fenoksiasetamid tiyazol analogları kullanılarak, flo-ro- ve metil-değiştirilmiş bileşik 8f'nin ortalama IC50 değerleri-takriben 13 µM miktarda bulunmuştur (Malojirao vd., 2017).

Bundan başka yapılan çalışmalar arasında 2014 yılında Zhengfang Yi ve diğ erlerinin, bir dizi 2,3-diaril-4-tiazolidinon türevini, iyi bilinen iki kanser hücre hattına (insan akciğer kanseri olarak A549 ve insan meme kanseri olarak MDAMB-231) karşı çoğalma önleyici özellikleri açısından sentezlemiş ve değerlendirmiş olduğu çalışma örnek gösterilebilir. Bileşik 6a ve bileşik 6b'nin, tümör büyümesini ve metastazı baskıladığı ve aynı zamanda hayatta kalma oranını arttırdığı belirtildi. Sonuç olarak yeni bir 2-(3-(arilalkilaminokarbonil)fenil)-3-(2-metoksifenil)-4-tiazolidinon türevinin anti-inflamatuar potansiyelinin olduğu gelecek çalışmalarda gösterilebilir. (Zhengfang Yi vd., 2014).

Başka bir çalışmada Andreas Reichel ve diğ erleri, kanser hücrelerinde Cdc7 kinaz aktivitesinin inhibitörleri olarak yaklaşık 250.000 tiyazol bazlı bileşik kütüphanesini araştırmış ve bileşik 5'in, doğrudan substrat MCM2'nin *in vitro* ve *in vivo* fosforilasyonunu azaltan, *in vitro* hücre canlılığını ve DNA sentezini inhibe eden güçlü, seçici Cdc7 inhibitörü olduğunu buldular (Reichel vd., 2014).

Yapılan çalışmalardan birinde Pinho ve diğ erleri, tiyazol halkasına sahip bileşiklerden 2a ve 2b'nin *in vitro* sitotoksiteleri açısından birkaç insan meme kanseri hücre hattında (HCC1954, HCC1806 ve MCF7) ve ek olarak aktivitesi en yüksek olan bu iki bileşiğin hücre canlılığı, hücre döngüsü, DNA hasarı ve hücre ölüm yollarıyla ilişkili proteinlerin ekspresyonu ve s ü z e r i n d e etkilerini de incelemişler.

4- hidroksifenil türevi için elde edilen sonuçlarda, üçlü negatif bir meme kanseri olan HCC1806 hücre hattı ile ilgili önemli veriler elde edilmiştir (Pinho vd., 2013)

2015 yılında Hirz ve diğerleri tarafından yapılan çalışmada yeni iki tiyazol türevi tasarlanmış ve sentezlenmiştir. Burada bileşik 6b (4-(2-amino-1,3-thiazol-4-yl)-2-methoxyphenol), ve 6a'nın (N-[4-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,3-tiazol-2-il]asetamid) COX izoformları üzerindeki etkileri analiz edilmiştir. Hücre kararlı şekilde aşırı eksprese eden COX-1 ve trombositleri kullanılarak, bileşik 6a'nın seçici olmayan bir COX-1/COX-2 inhibitörü olduğu, 6b'nin ise benzer IC50'lere sahip seçici bir COX-2 inhibitörü olduğu gösterilmiştir (IC50s 9.01 ± 0.01 mM ve 11.65 ± 6.20 mM). Ayrıca bu bileşikler, iltihaplanmanın dorsal hava kesesi modeline göre anti-inflamatuar aktivite göstermiştir. Substitüe çalışmaları hem 6b hem de 6a bileşiklerinin COX-2 aktif bölgesine selektif inhibitör olan selekoksib ile benzer şekilde bağlandığını göstermiştir (Hirz vd., 2015).

2017 yılında yapılan başka bir çalışmada ise Stoica ve diğerleri NSAID'ler olarak yeni, daha güvenli ve daha az toksik bileşikler geliştirmeyi amaçlayan bir dizi yeni 2-(trimetoksifenil)-tiazol türevleri tasarlayıp sentezlediler. Etki mekanizmalarını aydınlatmak için araştırmacılar, COX-1/COX-2 inhibitör potansiyellerinin değerlendirmesini yaptılar. Ayrıca, yerleştirme çalışmaları da yapılarak test edilen on üç bileşikten dördünün (8a-8d) en aktif olduğu bulundu ancak hiçbir bileşik referans ilaçlardan daha yüksek COX-1/COX-2 aktivitesi göstermemiştir. Substitüe çalışmaları, 8a ve 8c kodlu bileşiklerin meloksikama benzeyen oranlarda enzime birleştiğini ve COX-2 enziminin aktif bölgesinin anahtar amino asitleri olan Arg120, Ser530 ile hidrojen bağları oluşturduğunu göstermiştir. COX-1'de de benzer olarak görülen bu durum aktif bölgelerin bir-birine yakın olması ile ilişkilendirilmiştir. SAR çalışmaları, fenil halkasının 4. pozisyonundaki değişikliğin, COX-2 enzimine yönelik seçicilik için çok önemli olduğunu göstermiştir (Stoica vd., 2017).

Bugün halen biyolojik olarak yüksek aktifliğe sahip oldukları için tiyazol halkasına sahip moleküllere önem verilmektedir. Yapılmış çalışmalardan birinde sentezlenmiş bis-tiyazol türevi moleküllerin C6, A549, NIH/3T3 ve SRP7 H- ras hücre hatlarında sitotoksikite potansiyelleri araştırılmış ve bu bileşiklerde bütirilkolinesteraz ve asetikolinesteraz gibi enzimlerde gösterdiği inhibitör etkiler değerlendirilerek bileşiklerden birinin DNA sentezini inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Özdemir A vd., 2016).

Son zamanlardan birinde yapılmış diğer çalışmada 2-J(4-Klorobenzil) amino)-4-metil-1, 3-tiyazol-5- karboksilik asitin, antioksidan, antiinflamatuvar ve antidiyabetik özellikleri araştırılmıştır. Sentezlenmiş bu yeni tiyazol türü bileşik, insülden bağımsız yenidoğan şekerli diabetli farelerde 21 gün süresince uygulandığında, kandaki glukoz değerlerinde önemli miktarlarda azalmaya neden olduğu, insülin düzeyini arttırdığı ve insülin sensitivitesi düzeylerini de arttırdığı belirlenmiştir. Ek olarak, bileşiklerde interlökin-6 ve serum tümör nekroz faktörü-a düzeylerini azalttığı ve birkaç inflamatuvar sitokin oluşmasına da inhibe edici etki gösterdiğini ve bundan dolayı da güçlü bir antioksidan ve iltihap önleyici etkisinin olması gözlemlenmiştir (Shah S. vd., 2017). Diğer bir çalışmada ise farklı terapötik ajanların fonksiyonel gruplarından olan tiyazol halka yapısına sahip bileşiklerin hepato hücrelere olan toksisite ve mikrozomal epeksit hidrolaz enzim ekspresyonu ile indüksiyonu fare karaciğerinde değerlendirilmiş, yüksek inhibitör ve düşük sitotoksik etki bulunmuştur (Kim ve Cho 2000).

Çalışmış olduğumuz bu tezde, yeni sentezlenmiş 2,4 disubstitüetiyazol türevlerinin A549 hücre hattı üzerinde sitotoksikite ve apoptoz testleri ve pozitif bir kontrol olan sisplatin kullanılarak *in vitro* tahlil ile değerlendirilmiştir. Yürütülen çalışmada öncelikle kullandığımız bileşikler ve sisplatinin sitotoksik etkileri ve IC50 değerleri A549 (insan akciğer adenokarsinomu) ve L929 (normal fare fibroblastı) hücre hatları kullanılarak MTT tahlili aracılığıyla belirlenmiştir. Bu değere göre kanser hücrelerine toksik olan fakat sağlam hücrelere karşı toksik olmayan bileşikler belirtilmiş ve Annexin-V FITC, Kaspaz-3, JC-1 deneyleri kullanılarak akım sitometrisi yöntemi ile belirlenmiştir.

Kullandığımız bileşiklerin sitotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla MTT (3-(4,5-dimetilltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür testi kullanılmıştır. Özellikle HAL3 ve HAL5 kodlu bileşikler'in sisplatin pozitif kontrolle kıyaslandığı zaman A549 hücre hattı üzerinde, daha yakın sitotoksik etki değerlerine sahip oldukları görülmüştür. HAL3, HAL5 ve HAL9 koduna sahip bileşiklerin A549 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etki değerleri sırasıyla 35.66 ± 21.21 , 49 ± 11.26 ve 43.66 ± 2.88 olarak belirlenmiştir A549 hücre dizisi üzerinde sisplatin pozitif kontrolün sitotoksik etki değeri ise 28.33 ± 11.71 olarak belirlenmiştir. Bu üç bileşiğin A549 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etki değerlerinin, sisplatin pozitif kontrolün sitotoksik etki değerine daha yakın olduğu görülmektedir.

Bundan başka HAL7 ve HAL8 için de iyi sitotoksik değerler gözükse de, IC50 konsantrasyonlarının sisplatine oranda daha yüksek olması bu bileşiklerin antikanser moleküller olarak kullanımı için kısıtlamalara neden olabilmektedir (Tablo 4). Bu durumda, diğer bileşikler ve sisplatin pozitif kontrolle karşılaştırıldığında, HAL3, HAL5 ve HAL9 koduna sahip bileşikler'in A549-insan akciğer adenokarsinomu üzerinde daha iyi sitotoksik etki değerlerine sahip oldukları görülmektedir. L929 hücre dizisi üzerinde yapılan MTT deneylerinde ise beş bileşik arasında HAL8 ve HAL9 koduna sahip bileşiklerin daha iyi selektivite ve sitotoksik etki değerlerine sahip oldukları görülmüştür. Bu iki bileşiğin L929 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etki değerleri maksimum konsantrasyonun üzerinde olmuştur. Bundan başka, HAL5 ve HAL7 koduna sahip bileşiklerde de daha yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik etkiler görülmüştür. (Tablo 4). Bu da HAL8, HAL9, HAL5 ve HAL7 koduna sahip bileşiklerin sağlıklı hücreler üzerinde diğer bileşiklere oranla daha yüksek konsantrasyonlarda etki gösterdiklerini göstermektedir. MTT deneylerinin sonucu olarak, A549 hücreleri üzerinde sisplatin pozitif kontrole kıyasla dahaiyi sitotoksik değerlere sahip bileşiklerin HAL3, HAL5 ve HAL9, L929 hücreleri üzerinde olan sitotoksik etki değerlerine bakıldığında ise, en iyi sonucu HAL8 ve HAL9 koduna sahip bileşiklerin gösterdiğini söylemek mümkündür.

Deneysel veriler değerlendirildiğinde, HAL3, HAL7 ve HAL9 kodlu bileşiklerin A549 hücre hattında apoptoz mekanizmasını desteklediği belirlenmiştir. A549 hücre dizisi üzerinde apoptoz tahlilinin sonuçları analiz edildiğinde, HAL3, HAL7 ve HAL9 kodlarına sahip bileşiklerin, A549 hücrelerinde erken ve geç apoptoz oranları pozitif kontrol sisplatine daha yakın değerlerde olmuştur. Bu değerler sırasıyla, yüzde 20.14 ve 33.93, 10.63 ve 21.81, 12.05 ve 15.09 olmuştur (Tablo 5.1, 5.2). Öte yandan, pozitif kontrol olan sisplatinin, A549 hücre hattında erken ve geç apoptoz oranları sırasıyla, yüzde 11.77 ve 12.52 olmuştur. Bu anlamda, pozitif kontrol sisplatinile karşılaştırıldığında, HAL3, HAL7 ve HAL9'u kodlayan bileşiklerin, A549 kanser hücrelerinde apoptoza neden olarak antikanser etkiye sahip olabilecekleri düşünülmektedir.

Tez çalışmasında sentez olunmuş bileşiklerin tümü için COX-I enziminin inhibitör etkisinin test edilmesinin ardından, HAL2 ve HAL10'u koduna sahip bileşiklerde 100 µM konsantrasyonda COX-I enzimi üzerinde inhibitör etki değerleri sırasıyla 24.5±3.54 ve 23.66±3.06 olmuştur. Seçici bir COX-I inhibitörü olan SC-560'in 1 µM konsantrasyonunda inhibitör etkisi ise 85.48±3.48 olarak tespit edildi. Bu anlamda

COX-I'in HAL2 ve HAL10 kodlu bileşiklerde diğer bileşiklere göre daha fazla inhibe edici etkiye maruz kalması, bu bileşiklerde az da olsa antiinflamatuvar potansiyelin olduğu söylenebilir. Bu iki bileşiğin dışında diğer bileşikler arasında çok düşük miktarlarda HAL4 ve HAL6'da inhibisyon gözlemlenmiştir (Tablo 3.1). Seçici bir COX-2 inhibitörü olan Rofecoxib, 10 µM'lik bir konsantrasyonda 98.26±2.84 değerine sahip inhibitör etki göstermiştir. COX-2 enziminin 100 µM konsantrasyonda sentezlenen tüm bileşikler için inhibitör etkisinin değerlendirilmesi zamanı, yine HAL2 koduna sahip bileşikte 34.18±1.53 değerinde inhibitör etki belirlenmiştir. Bundan başka HAL1 ve HAL4 koduna sahip bileşiklerde de çok az miktarlarda inhibitör etki tesbit edildi (Tablo 3.2). Bu anlamda bileşiklerde yüzde olarak inhibe edici etki değerlerinin incelenmesi, zamanı düşük değerlerde ve zayıf etkiye sahip oldukları bilinmektedir. Bahsi geçen bileşiklerin dışında, diğer bileşikler için COX-2 inhibisyonuna dair veri bulunamamıştır (Tablo 3.2).

Bu tez kapsamında sentezlenmiş bileşikler 2-(1-(2-(4-R-tiyazol-2-il)hidrazono)etil)-4-nitrofenol yapısına sahip olup, substitüe ediciler olarak farklı heterosikllere sahiptir.

HAL1 substitüe olarak nitro grubu taşımaktadır. Nitro bileşikleri polar özelliğe sahip olmasına rağmen suda çözünürlülüğü azdır. Bunun nedeni, elektronların çok sıkı tutunmuş olmasıdır. Hidrojene göre daha elektronegatifdir. daha fazladır. Yaptığımız çalışmalarda bu bileşik düşük miktarlarda COX-2 inhibisyonu göstermiştir. Sitotoksisite ve apoptotik etki etki çalışmalarında ise kayda değer etki gözlemlenmemiştir.

HAL2 substitüe olarak dihidroksi grubu taşımaktadır. Alköl grupları genellikle nötral özellik taşımaktadır. Suda yüksek çözünürlülüğe sahiptirler. Yaptığımız çalışmalarda bu bileşik hem COX-1, hem de COX-2 üzerinde standart inhibitörlere kıyasla az da olsa inhibe edici etki göstermiştir. Bunun nedeni olarak bileşiğin hidrofil özellikli olması gösterilebilir. Aynı zamanda bu bileşik MTT deneylerinde L929 hücreleri için ölçüm yapılan en yüksek konsantrasyondan büyük dozlarda etki göstermiştir. Enzim inhibisyonunun nedeni olarak COX-2 enziminin aktif bölgesinin anahtar amino asitleri olan Arg120, Ser530 ile hidrojen bağları oluşturması gösterilebilir. COX-1'de de benzer olarak görülen bu

durum aktif bölgelerin bir-birine yakın olması ile ilişkilendirilebilir. Hidrojene göre daha elektronegatiftir.

HAL3 substitüte olarak dimetoksi grubu taşımaktadır. Dimetoksi grubu eterlere ait bir yapıdır. Sudaki çözünürlükleri alkollerden azdır. Bunun nedeni yapılarındaki hidrokarbon miktarının artmasıdır. Yapılarında alkil radikallerinin sayının artması lipofilikliyi artırmaktadır. Bu bileşik, A549 hücrelerinde MTT deneyleri zamanı sisplatine en yakın sitotoksik değere sahip olmuştur. Aynı zamanda yapılan tüm apoptotik etki deneylerinde pozitif kontrol sisplatine yakın etkideğerleri göstermiştir. Elektronegatifliye baktığımız zaman yapısında oksijen atomutaşdığı için -1 etkili elektronegatifliye sahip olduğunu görebiliriz.

HAL4 yapısında naftalen-2-il grubu taşımaktadır. Suda çözünürlüğü azdır. Bu bileşik, COX inhibisyon çalışmalarında düşük miktarlarda inhibe edici etkilere sahip olmuştur. Bu bileşik aynı zamanda L929 hücreleri için sitotoksisite açısından yüksek selektifliye sahip olmuştur.

HAL5 yapısında dimetil grubu taşımaktadır. Dimetil grubu alkillere ait bir yapıdır. Alkil grubu lipofiliktir, suda az çözünür. Alkil grupları ilaç moleküllerinin parçalarını birarada tutarak, diğer fonksiyonel grupların yerleşimini oluştururlar. Bu bileşik hem sitotoksisite deneylerinde hem de apoptotik etki deneylerinde belirli düzeylerde etki değerlerine sahip olmuştur. Dimetil grubunun elektronegatifliyi hidrojenin elektronegatifliyinden daha azdır. Bunun nedeni alkil zincirinin uzun ve dallanmış olmasıdır.

HAL6 yapısında diklorür grubu taşımaktadır. Kuvvetli elektronegatiftir. Yüksek lipofilik özelliğe sahiptir. Bu bileşik, çok düşük düzeylerde COX-1 üzerinde inhibe edici etki göstermiştir. Aynı zamanda bu bileşik L929 için selektif olup, A549 hücreleri için aynı seçiciliği göstermemiştir. Kullandığımız bileşikler arasında HAL2, HAL4 ve HAL6 L929 hücrelerinde en yüksek konsantrasyonlarda bile sitotoksisite göstermemiş olup, A549 hücrelerinde ise sisplatin pozitif kontrolle kıyaslandığı zaman IC50 konsantrasyonlarına yüksek dozlarda ulaşmışlardır.

HAL7, HAL8 ve HAL9 yapılarında sırasıyla 2-floro, 3-floro ve 4-floro grubu taşımaktadırlar. Flor atomu en güçlü elektronegatif elementdir. Elektronegatifliği 4,0'dür. Yüksek lipofiliktir. Lipofilik özelliğinden dolayı, vücuttaki yarı ömrü uzayabilir; bunun nedeni, yağlı dokulara dağılımın artması ve metabolik enzimlere reaktivitenin azalmasıdır. Yapıda hidrolize olunabilen halojenlerin olması hipohalöz asidin oluşmasına ve sitotoksik etkinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Organik bir yapıdaki karbona doğrudan bağlı olan halojenlerden klor, brom ve iyodun aktiviteye net bir etkileri olmamasına rağmen, flor etkindir. Bunun nedeni karbon ile flor arasındaki mesafenin, flor atomundan dolayı kısa olması ve molekülde güçlü bir delokalizasyon etkisinin ortaya çıkmasıdır. Bu bileşikler hem sitotoksikite deneylerinde, (özellikle L929 hücrelerinde) hem de apoptotik etki çalışmalarında cisplatine kıyasla yakın değerler göstermiştir. Genel olarak baktığımızda, sitotoksikite deneyleri ve apoptotik etki çalışmalarında daha iyi sonuçlara sahip olan bileşiklerin tümü yüksek lipofilik özelliğe sahip olmuştur. Bu da, bu bileşiklerin hücre membranını kolaylıkla geçerek daha iyi sonuçlar gösterebileceğini düşündürmektedir.

HAL10 yapısında difloro grubu taşımaktadır. En elektronegatif gruptur. Çok yüksek lipofilikliye sahiptir. Bu bileşik, COX-I üzerinde inhibe edici etki göstermesine rağmen, COX-2 üzerinde inhibe edici etki gözlemlenmiştir. Kullandığımız bileşikler arasında kısmen daha fazla COX inhibisyonuna neden olan HAL2 ve HAL10'dan yalnız HAL2 hem COX-I, hem de COX-2 üzerinde etkiye sahip olmuştur. Bunun nedeni HAL2'de olan hidroksil grubunun, yani fenil halkasının 4. pozisyonundaki değişikliğin, COX-2 enzime yönelik seçicilik bakımından daha önemli olması ile ilişkilendirilebilir. Bu bileşik MTT ve apoptotik etki çalışmalarında ise önemli etkiler göstermemiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmamızda kullandığımız 2,4 disubstitüetiyazol türevi bileşiklerimizin hepsi ilk defa sentezlenmiş ve pozitif kontrol, yaygın olarak kemoterapide kullanılan sisplatin kullanılmıştır.

Sentezlenmiş bu bileşiklerde yapı ve sitotoksik aktivitelerin analizlerine dayanarak, siklooksijenaz enzim inhibisyonu aktivitelerinin taşıdıkları radikallere bakılarak, 3,4-dihidroksi (HAL2) ve 2,4-difloro (HAL10) taşıyan bileşiklerde daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu bileşikler arasında substitüte olarak diğer radikalleri taşıyan türevlerde, selektif siklooksijenaz enzimlerine kıyasla çok düşük düzeylerde antiinflamatuvar özelliklerin olduğu tanımlanmıştır (Tablo 3) Sitotoksisite ve Apoptotik etki deneylerine baktığımızda ise, HAL3, HAL5, HAL7, HAL8 ve HAL9 koduna sahip bileşiklerde diğerlerine oranda daha iyi değerlerin olduğu görülmüştür. Bahs edilen bileşiklerin sahip oldukları substitütlere bakıldığında sırasıyla, 2,5-dimetoksi, 2,4-dimetil, 2-floro, 3-floro ve 4-floro gruplarını taşıdıkları görülmektedir (Tablo 3). MTT sonuçları incelendiğinde bu bileşikler arasında A549 hücre dizisi üzerinde en iyi sitotoksik değere sahip bileşiklerin HAL3, HAL5 ve HAL9, L929 sağlıklı fare fibroblastı hücre hattı üzerinde ise daha selektif etkiye sahip bileşiklerin HAL5, HAL7, HAL8 ve HAL9 koduna sahip bileşikler olduğu görülmektedir. Apoptotik etki deneylerinin sonuçlarına bakıldığında erken/geç apoptotik ve nekrotik etki testlerinde HAL3, HAL7 ve HAL9'un, mitokondriyel membran potansiyeli aktivitelerine bakıldığında yine HAL3 ve HAL7'nin, kaspaz-3 ile yapılan deneyin sonuçlarına bakıldığında ise HAL3 ve HAL7'nin sisplatine daha yakın değerlerde etkilere sahip bileşikler olduğu tesbit edilmiştir.

Sonuç olarak; bu tez kapsamında yapılan çalışmalardan elde edilen verilerin analizi, yapısında 2,4-dimetil substitüte taşıyan HAL3, HAL5 ve HAL7 koduna sahip bileşiklerin hem sitotoksisite hem de apoptotik etki deneylerinde daha iyi sonuçlar gösterdiğini kanıtlamıştır. Bu üç bileşiğin siklooksijenaz enzimi üzerinde ise herhangi inhibisyon etkisinin olduğuna dair veri bulunamamıştır. Çalışmamızın sonucunda elde edilmiş veriler, HAL3, HAL5 ve HAL7 koduna sahip bileşiklerin antikanser özelliklerini araştırarak *in vivo* çalışmalardan önemli bulguların elde edilebileceğini göstermektedir. Bundan dolayı HAL3, HAL5 ve HAL7 kodlu bileşiklerin farklı biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi ve ilaç olarak kullanılabilmesi için yeni kanser ve

inflamasyon çalışmaların yapılması gerekmektedir. Aynı şekilde, HAL3, HAL5 ve HAL7 koduna sahip bileşikler baz alınarak daha etkili antikanser, molekoller sentezlenebilir.

KAYNAKÇA

- Adak, S. (2007). Bazı 5-kloro-6-(tiyazol-4-İl)-2-okso-3H-benzotiyazol türevlerinin sentezi ve cox inhibitör etkileri üzerinde çalışmalar. Yayınlanmamış Doktora Tezi, *Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*.
- Adams JM, Cory S. Life or death decions by the Bcl-2 family. *Trends. Biochem Sci* 2001;26:61-6.
- Adrain C, Martin SJ. The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends Biochem Sci* 2001; 26:390-7.
- Adrain C, Murphy BM, Martin SJ. Molecular ordering of the caspase activation cascade initiated by the cytotoxic T lymphocyte/natural killer CTL/NK protease granzyme B. *J Biol Chem* 2005;280:4663-73.
- Aggarwal BB, Shishodia S, Sandur SK, Pandey MK, Sethi G. Inflammation and cancer: *Biochem Pharmacol* 2006; 72: 1605-21.
- Akbarzadeh, A., Soleymani, R., Miladtaheri Synthesis New and Novel Aryl Thiazole Derivatives Compounds, *Orient. J. Chem.*, 28 (1), 153-64 (2012).
- Ali-Fehmi R, Morris RT, Bandyopadhyay S, Che M, Schimp V and Malone JM Jr. : Expression of cyclooxygenase-2 in advanced stage ovarian serous carcinoma: correlation with tumor cell proliferation, apoptosis, angiogenesis, and survival. *Am J Obstet Gynecol* 192(3): 819-825, 2005.
- Alonso-Castro, A. J., Villarreal, M. L., Salazar-Olivo, L. A., Gomez-Sanchez, M., Dominguez, F., & Garcia-Carranca, A. (2011). Mexican medicinal plants used for cancer treatment: pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. *Journal of ethnopharmacology*, 133(3), 945-972.
- Andreani, A., Granaiola, M., Guardigli, M., Leoni, A., Locatelli, A., Morigi, R., & Roda, A. (2005). Synthesis and chemiluminescent high throughput screening for inhibition of acetylcholinesterase activity by imidazo (2, 1-b) thiazole derivatives. *Ewropean Journal of Medicinal Chemistry*, 40 (12), 1331-1334.
- Andreas Reichel et al. Synthesis and structure activity relationship of trisubstituted thiazoles as Cdc7 kinase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014; 80: 364-382.
- Andrew GR, Catherine B, Christopher SP. Education and debate, What is apoptosis, and why is it important, *BMJ* 2001;322:1536-1538.
- Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment, Rebecca SY Wong. Wong *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 2011, 30:87. <http://www.jeccr.com/content/30/1/87>.
- Apoptoz ve Apoptotik Yolların Gözden Geçirilmesi, Salih CELEPLİ1, İrem BİGAT, Pınar CELEPLİ, Peren Hatice KARAGİN. *Güncel gastroenteroloji* 24/3.
- Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması Arş. Gör. Gülfidan COŞKUN Yrd.Doç.Dr. Hülya ÖZGÜR *ARŞIV* 2011; 20:145.
- Barman J, Kumar R, Saha G, Tiwari K, Dubey VK. Apoptosis: mediator molecules,

- interplay with other cell death processes and therapeutic potentials. *Curr Pharm Biotechnol* 2018;19:644-63.
- Basu GD, Pathangey LB, Tinder TL, Lagioia M, Gendler SJ and Mukherjee P: Cyclooxygenase-2 inhibitor induces apoptosis in breast cancer cells in an in vivo model of spontaneous metastatic breast cancer. *Mol Cancer Res* 2(11): 632-642, 2004. (6):1412-1419, 1995.
- Bazı 2-hidrazinotiyazol Türevlerinin Biyokimyasal Etki Mekanizmalarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Zennure Şevval Çiyancı, Eskişehir 2021.
- Bağların atomlar arası polarizasyonu, <https://acikders.ankara.edu.tr/>.
- Bazı Tiyazol Türevlerinin Sentezi ve Aromataz İnhibisyonu ve Antikanser Etkilerinin Araştırılması, Zafer ŞAHİN, Yüksek Lisans Tezi, ANADOLU ÜNİVERSİTESİ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Eskişehir, Haziran 2015.
- Bellamy COC, Malcomson RDG, Harrison DJ and Wyllie AH. Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Seminar in Cancer Biol.* 6: 3-16, 1995.
- Bertolini, A., Ottani, A., Sandrini, M. (2001). Dual acting anti-inflammatory drugs: a reappraisal. *Pharmacol Res*, 44 (6), 437-450.
- Blackadar CB. Historical review of the causes of cancer. *World J Clin Oncol.* 2016;7(1):54-86.
- Brezniceanu ML, Volp K, Bossler S, Solbach C, Lichter P, Joos S, Zörnig M. HMGB1Inhibits cell death in yeast and mammalian cells and is abundantly expressed in human breast carcinoma. *FASEB J* 2003; 17: 1295–97.
- Burnstock G. Purinergic signalling: therapeutic developments. *Front Pharmacology*2017; 8: 1-55.
- Cankılıç, M. Y., & Yurttaş, L. (2017). Study on the Antimicrobial Effects of Novel Thiazole Derivatives. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21. Cell 2008; 133: 1106–1117.
- Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, Simmons DL (October 2002). "COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 99 (21): 13926– 31.
- Charlier, C., Michaux, C. (2003). Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidalanti-inflammatory drugs. *Eur J Med Chem*, 38 (7-8), 645-659.
- Chou, D. S., Hsiao, G., Lai, Y. A., Tsai, Y. J., & Sheu, J. R. (2009).Baicalein induces proliferation inhibition in BI6F10 melanoma celis by generating reactive oxygen species via 12-lipoxygenase. *Free Radical Biology & Medicine*46 (2009) 1197–1203.
- Chu, W. M. (2013). Tumor necrosis factor. *Cancer Letters*, 328(2), 222–225.

- Choo Z, Loh A, Chen Z. Destined to die: apoptosis and pediatric cancers. *Cancers (Basel)*. 2019;11:1623.
- Cook, A. H., Heilbron, I., MacDonald, S.F., Mahadevan, A.P., *J. Chem. Soc.*, 1064 (1949).
- Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1073–1081.
- Coussens LM Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002; 420: 860–867.
- Curtin JF, Cotter TG. Live and let die: regulatory mechanism in Fas mediated apoptosis. *Cell Signal* 2003;15:983-92.
- Cuzick J, Otto F, Baron JA, Brown PH, Burn J and Greenwald P: Aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs for cancer prevention: an international consensus statement. *Lancet Oncol* 10(5): 501-507, 2009.
- Çapan, G., Ulusoy, N., Ergenç, N., & Kiraz, M. (1999). New 6- phenylimidazo (2, l-bJ thiazole derivatives: Synthesis and antifungal activity. *Monafshefte fir Chemie/Chemical Monihly*, 130 (11), 1399-1407.
- Dannhardt, G., Kiefer, W. (2001). Cyclooxygenase inhibitors – current status and future prospects. *Eur J Med Chem*, 36 (2), 109-126.
- Dayan Y B, Kaveri S V, Kazatchkine M D, Shoenfeld Y (2000): Is cancer an autoimmune process dependent on anti-apoptotic autoantibodies?. *Medical Hypotheses*, 55 (2): 103–108.
- Di Gennaro A, Haeggström JZ. The leukotrienes: immune-modulating lipid mediators of disease. *Adv Immunol* 2012;116:51-92.
- Dilek Erdaş, Metiltiyazol Türevlerinin Antikanser ve Antiinflamatuvar Aktivitelerinin Değerlendirilmesi*, Yüksek lisans tezi, Eskişehir, 2019.
- Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991; 77: 1627-1652.
- Dobrovolskaia MA, Kozlov SV. Inflammation and cancer: when NF-kappaB amalgamates the perilous partnership. *Curr Cancer Drug Targets* 2005; 5: 325–344.
- Doç.Dr. Tezer Kutluk, Doç.Dr. Ayşe Kars. Kanser konusunda genel bilgiler*, Ankara,1992.
- Doğan, H. Neşe, Farmasötik kimyaya giriş ,2007. Nobel Tıp Kitapevleri.*
- Dostert C, Petrilli V, Van Bruggen R, Steele C, Mossman BT, Tschopp J. Innate immune activation through nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica. *Science* 2008; 320: 674–677.
- dos Santos, T. A. R., da Silva, A. C., Silva, E. B., de Moraes Gomes, P. A. T., Espíndola, J. W. P., de Oliveira Cardoso, M. V., Moreira, D. R. M., Leite, A. C. L., & Pereira, V. R. A. (2016). Antitumor and immunomodulatory activities of thiosemicarbazones and 1,3-Thiazoles in Jurkat and HT-29cells. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 82, 555–560.

- Dranoff G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 11–22.
- Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FM, Ferrenbach S and DuBois RN: Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology* 107(4): 1183-1188, 1994.
- El-Achkar, G.A. Jouni, M.; Mrad, M.F.; Hirz, T.; El, H.; Khalaf, A.; Hammoud, S.; Fayyad-Kazan, H.; Eid, A.A.; Badran, B.; et al. Thiazole derivatives as inhibitors of cyclooxygenases in vitro and in vivo. *Eur. J. Pharmacol.* 2015, 750, 66–73.
- Elham Hosseinzadeh, Nooshin Banaeab and Hassan Ali Nedaiee, Cancer and Treatment Modalities, *Current Cancer Therapy Reviews*, 2017, 13, 17-27.
- Ellerman JE, Brown CK, de Vera M, Zeh HJ, Billiar T, Rubartelli A, Lotze MT. Masquerader: high mobility group box-1 and cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2836-48.
- Ellis, RE, Yuan, J and Horvitz, HR. Mechanisms and functions of cell death. *Annu. Rev. Cell Biol.* 7: 663-698, 1991.
- Fang, S., Lin, C., Zhang, Q., Wang, L., Lin, P., Zhang, J., & Wang, X. (2012). Anticancer potential of aqueous extract of *Alocasia macrorrhiza* against hepatic cancer in vitro and in vivo. *Journal of ethnopharmacology*, 141(3), 947-956.
- Fatima N, Yi M, Ajaz S, Stephens RM, Stauffer S, Greenwald P, et al. Altered gene expression profiles define pathways in colorectal cancer cell lines affected by celecoxib. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(11):3051-61.
- Fouad TM, Kogawa T, Reuben J.M, Ueno NT. The role of inflammation in inflammatory breast cancer. *Adv Exp Med Biol* 2014; 816: 53-73. Golstein P, Kroemer G. Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Trends Biochem Sci* 2007;32:37-43.
- Fitzmaurice C, Dicker D, Pain A, Hamavid H, Moradi-Lakeh M, MacIntyre MF, Allen C ve ark. *The Global Burden of Cancer* 2013. *JAMA Oncol.* 2015;1(4):505-27.
- fox j.g. wang tc. inflammation, atrophy, and gastric cancer. *J Clin Invest* 2007; 117: 60–69.
- Francisci S, Capocaccia R, Grande E, et al. The cure of cancer: A European perspective. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1067-79.
- Funk, Colin D. (30 November 2001). "Prostaglandins and Leukotrienes: Advances in Eicosanoid Biology". *Science*. 294 (5548): 1871–1875. Bibcode:2001 Sci.
- Gabrilovich DI, Ostrand-Rosenberg S, Bronte V. coordinated regulation of myeloid cells by tumours. *Nat Rev Immunol* 2012; 12(4): 253–68.
- Gallicchio M, Rosa C, Dianzani C, Brucato L, Benetti E, Collino M, et al. Celecoxib decreases expression of the adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 in a colon cancer cell line (HT29). *Br J Pharmacol.* 2008;153(5):870-8.
- Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Page`s C, Tosolini M, Camus M, Berger A, Wind P, Zinzindohoué F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* 2006; 313: 1960–1964.

- Gao SP, Mark K. G, Leslie K, Pao W, Motoi N, Gerald WL, Travis V.D, Bornmann W, Veach D, Clarkson B, Bromberg JF. Mutations in the egfr kinase domain mediate 15(5): 787-800, 2001. Geronikaki, A., Sotiropoulou, E., & Kourounakis, P. (1989). Synthesis of some thiazole derivatives with prospective local anaesthetic activity. *Die Pharmazie*, 44 (5), 349.
- Geronikaki, A. & Theophilidis, G. (1992). Synthesis of 2-(aminoacetyl-amino)thiazole derivatives and comparison of their local anaesthetic activity by the method of action potential. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 27 (1), 709-716.
- Ghorab, MM., & El-Batal, A. I. (2002). Synthesis of some new thiazole derivatives. antifungal activity and ultrastructure changes of some mycotoxin-producing fungi. *Bollettino Chimico Farmaceutico*, 141 (2), 110-117.
- Ghosh, S. (2019). Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorganic Chemistry*, 88, 102925.
- Glotova, T. E., Dvorko, M. Y., Albanov, A. I., Kazheva, O. N., Shilov, G. V., & D'yachenko, O. A. (2008). 1, 3-Dipolar cycloaddition of 3-phenylamino-5-phenylimino-1, 2, 4-dithiazole to 1-acyl-2-phenylacetylenes—a new route to functionalized 1, 3-thiazole derivatives. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 44 (10), 1532-1537.
- Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA: Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *CA Cancer J Clin* 2005, 55:178-194.
- Greenhalgh TA, Symonds RP. Principles of chemo-therapy and radiotherapy. *Obstet Gynaecol Reprod Med* 2014; 24: 259-65.
- Grivennikov S, Karin E, Greten, Terzic J, Mucida D, Yu G.Y, Vallabhapurapu S, Scheller J., Rose-John S, Cheroutre H, Eckmann L, Karin M. IL-6 and Stat3 are Required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer. *Cancer Cell* 2009; 15: 103–113.
- Grösch S, Maier TJ, Schiffmann S, Geisslinger G. Cyclooxygenase-2 (COX-2)-independent anticarcinogenic effects of selective COX-2 inhibitors. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98(11):736-47.
- Hantzsch, A.R., Weber, J.H., Ueberbindungen des Thiazols (Pyridins der Thiophenreihe). *Dtsch. Chem. Ges.*, 20, 3118–32 (1887).
- Hasan AKŞİT, Ayşegül BİLDİK, Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye. *YYÜ VET FAK DERG* (2008) 19(1): 55-63 Derleme Apoptozis.
- Heinonen PK and Metsä-Ketela T: Prostaglandin and thromboxane production in ovarian cancer tissue. *Gynecol Obstet Invest* 18(5): 225-229, 1984.
- Hengartner MO, Ellis RE. and Horvitz HR. *Caenorhabditis elegans* gene ced-9 protects cells. *Nature volume 356*, pages 494–499 (1992).
- Hussein, Y., Mohammed, E., Malojirao, V. H., Thirusangu, P., Al-ghorbani, M., Prabhakar, B. T., & Khanum, S. A. (2017). The critical role of novel benzophenone analogs on tumor growth inhibition targeting angiogenesis and apoptosis. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 9, 639-656

- Herschman HR: Prostaglandin synthase 2. *Biochim Biophys Acta* 1299(1): 125-140, 1996.
- Hirata T, Narumiya S. Prostanoids as regulators of innate and adaptive immunity. *Adv Immunol* 2012;116:143-74.
- http-2: <https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers> *Global Cancer Observatory*.
- <https://evrimagaci.org/programli-hucre-olumu-apoptosis-apoptoz-nedir-canlilar-neden-hucrelerini-bilerek-oldururler-257>.
- Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. Radical causes of cancer, *nat rev cancer* 2003; 3: 276–285.
- Hwa, John; Martin, Kathleen A.; Midgett, Charles; Stitham, Jeremiah (13 May 2011). "Prostacyclin: an inflammatory paradox". *Frontiers in Pharmacology*. Frontiers Media S.A. :<https://doi.org/10.3389/fphar.2011.00024>.
- Hwang D, Scollard D, Byrne J and Levine E: Expression of cyclooxygenase-1 in human Breast Cancer, *J Natl Cancer Inst* 1998;90:455–60.
- İnflamatuvar Meme Kanserinde Moleküler Alt Tip Dağılımı Ve Siklooksijenaz-2 Ekspresyon Durumu* Uzmanlık Tezi, Dr. Püsem Patır, İzmir, 2012.
- Kalgutkar, A.S., Zhao, Z. (2001). Discovery and design of selective cyclooxygenase-2 inhibitors as non-ulcerogenic, anti-inflammatory drugs with potential utility as anti-cancer agents. *Curr Drug Targets*, 2 (1), 79-106.
- Kanser Gelişiminde İnflamasyonun Rolü. Işıl Yıldırım, Eskişehir Technical University Journal Of Science And Technology C- *Life Sciences And Biotechnology* 2019, 8(1), Syf. 121 - 140, Doi:10.18036/aubtdc.412520.
- Kanser Hücre Hatlarında Etodolak Ve Türevlerinin Siklooksijenaz (cox-2) Sentezi Üzerine Etkilerinin Araştırılması* Sevgi Koçyiğit Sevinç, Doktora Tezi, İstanbul,2021.
- Kanser Tedavisinde Güncel yaklaşımlar, Current Modalities in Treatment of Cancer*, Onur Baykara. doi: 10.5505/bsbd.2016.93823.
- Karin M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature* 2006; 41: 431–436.
- Karmali RA, Thaler HT and Cohen LA: Prostaglandin concentrations and prostaglandin synthetase activity in Nnitrosomethylurea-induced rat mammaryadenocarcinoma. *Eur J Cancer Clin Oncol* 19(6): 817-823, 1983.
- Keiser, K., Johnson, C. C., & Tipton, D. A. (2000). Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts. *Journal of Endodontics*, 26 (5), 288-291.
- Kerr JF, Wylie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-257.
- Khuder SA, Mutgi AB: Breast cancer and NSAID use: a metaanalysis. *Br J Cancer*84(9): 1188-1192, 2001.
- Kim-Campbell N, Gomez H, Bayir H. Cell death pathways: Apoptosis and regulated necrosis. *Critical Care Nephrology*, Elsevier 2019;113-21.e112.

- Kirtikara K, Morham SG, Raghow R, Laulederkind SJ, Kanekura T. The involvement of NF- κ B in the constitutive overexpression of cyclooxygenase-2 in cyclooxygenase-1 null cells *Biochimica et Biophysica Acta* 1542 (2002).
- Kumar T., Gupta, Anjali, Kashaw, Varsha, Shukla Gunjan, Mishra Vikas, & Kashaw, S. K. (2012). Synthesis and anticancer evaluation of some novel 3-[5-(4-substituted) phenyl-1, 3, 4-oxadiazole-2yl]-2-phenylquinazolin-4(3H)-ones. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4, 502-506.
- Kumar V. Abbas AK. Aster JC. "Inflammation and repair" Robbins Basic Pathology (9th edition) *Saunders (Elsevier)* 2013;43:1781-5.
- Kumar, A., Lata, S., Saxena, K. K., & Chandra, TI. (2009). Synthesis and evaluation of new substituted indolyl pyrazolines as anti-inflammatory and analgesic activities. *Indian Drugs*, 46 (9), 43- 48.
- Kütanöz inflamasyon- Nilgün Şentürk Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, *Türkderm* 2013; 47: Özel Sayı 1: 28-36, DOI: 10.4274/turkderm.47.s5.
- Laghi L, Bianchi P, Miranda E, Balladore E, Pacetti V, Grizzi F, Allavena P, Torri V, Repici A, CD3+ cells at the invasive margin of deeply invading (pT3–T4) colorectal cancer and risk of post-surgical metastasis: a longitudinal study. *Lancet Oncol* 2009; 10: 877–84.
- Letai A. Pharmacological manipulation of Bcl-2 family members to control cell death. *J Clin Invest* 2005; 115:2648–2655.
- Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest* 2007; 11: 1175–1183.
- Liu CH, Chang SH, Narko K, Trifan OC, Wu MT and Smith E: Overexpression of cyclooxygenase-2 is sufficient to induce tumorigenesis in transgenic mice. *J Biol Chem* 276(21): 18563-18569, 2001.
- Liu XH, Rose DP: Differential expression and regulation of cyclooxygenase-1 and -2 in two human breast cancer cell lines. *Cancer Res* 56(22): 5125-5127, 1996.
- Liu X. 2017. Molecular Mechanisms of Autophagosome-Vacuole Fusion and Degradation of Peroxisomes by Autophagy. Doktora Tezi, Michigan Üniversitesi, Moleküler, Hücresel ve Gelişimsel Biyoloji, Michigan
- Mao, Y., Yang, D., He, J., & Krasna, M. J. (2016). *Epidemiology of Lung Cancer. Surgical Oncology Clinics of North America*, 25(3), 439–445.
- McAllister F, et al. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med*. 2009a; 15: 1016–1022.
- Medzhitov R. Inflammation: New adventures of an old flame. *Cell* 2010; 140: 771-76.
- Memeli Hücrelerinde Otofajinin Moleküler Mekanizması, *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.* 2017, 5(2): 205-218
- Morita, I., Schindler, M., Regier, M.K., Otto, J.C., Hori, T., DeWitt, D.L., Smith, W.L. (1995). Different intracellular locations for prostaglandin endoperoxide synthase-1 and -2. *J Biol Chem*, 270 (18), 10902-10908.
- Murakami M and Kudo I: Recent advances in molecular biology and physiology of the prostaglandin E2-biosynthetic pathway. *Prog Lipid Res* 43(1): 3-35, 2004.

- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *Journal of Immunological Methods*, 65 (1-2), 55-63.
- Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F (2007). "Prostanoid receptors: structures, properties, and functions". *Physiological Reviews*. 79 (4): 1193–226.
- Narumiya S, Sugimoto Y, Ushikubi F (October 1999). "Prostanoid receptors: structures, properties, and functions". *Physiological Reviews*. 79 (4): 1193–226.
- Nakamura S, Kobayashi M, Shibata K, Sahara N, Shigeno K, Shinjo K, Naito K, Hayashi H, Ohnishi K. Etodolac induces apoptosis and inhibits cell adhesion to bone marrow stromal cells in human myeloma cells. *Leuk Res*. 2006;30(2):123-35.
- Nicotera P, Bernassola F, Melino G. Regulation of the apoptosis-necrosis switch. *Oncogene* 2004;23:2757-2765.
- O'Callaghan G, Houston A (November 2015). "Prostaglandin E2 and the EP receptors in malignancy: possible therapeutic targets?". *British Journal of Pharmacology*. 172 (22): 5239–50.
- Oniga, S.; Pacureanu, L.; Stoica, C.; Palage, M.; Craciun, A.; Rusu, L.; Crisan, E.; Aranciu, C. COX Inhibition Profile and Molecular Docking Studies of Some 2-(Trimethoxyphenyl)-Thiazoles. *Molecules* 2017, 22, 1507–1821.
- Osiri, M., Moreland, L.W. (1999). Specific Cyclooxygenase 2 Inhibitors: A New Choise of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Therapy. *Arthritis Rheum*, 12 (5), 351-362.
- Öktem S, Özhan M H, Özol D (2001): Apoptozisin önemi. *Toraks Dergisi*, 2 (1): 91-95.
- Palmer AM, Greengrass PM, Cavalla D. The role of mitochondria in apoptosis. *Drug News Perspect* 2000, 13(6): 378.
- Paudel, Y. N., Ali, M.R., Shah, S., Adil, M., Akhtar, M. S., Wadhwa R., Sharma, M. (2017). 2-((4-Chlorobenzyl) amino)-4-methyl-1, 3-thiazole-5-carboxylic acid exhibits antidiabetic potential and raises insulin sensitivity via amelioration of oxidative enzymes and inflammatory cytokines in streptozotocin- induced diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 651-659.
- Pavlopoulou A, Spandidos DA, Michalopoulos I. Human cancer databases (review). *Oncol Rep*. 2015 Jan;33(1):3-18.
- Programlı Hücre Ölümü; Apoptoz Programmed Cell Death; Apoptosis Tuğba Dağdeviren, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2021;13(3): 120-135.
- Ranger GS, Thomas V, Jewell A and Mokbel K: Elevated cyclooxygenase-2 expression correlates with distant metastases in breast cancer. *Anticancer Res* 24(4): 2349-2351, 2004.

- Ristimaki A, Jaatinen R and Ritvos O: Regulation of prostaglandin F₂ alpha receptor expression in cultured human granulosa-luteal cells. *Endocrinology* 138(1): 191-195 1997.
- Ristimaki A, Sivula A, Lundin J, Lundin M, Salminen T and Haglund C: Prognostic significance of elevated cyclooxygenase-2 expression in breast cancer. *Cancer Res* 62(3): 632-635, 2002.
- Rolland PH, Martin PM, Jacquemier J, Rolland AM and Toga M: Prostaglandin in human breast cancer: Evidence suggesting that an elevated prostaglandin production is a marker of high metastatic potential for neoplastic cells. *J Natl Cancer Inst* 64(5): 1061-1070, 1980.
- Rozic JG, Chakraborty C and Lala PK: Cyclooxygenase inhibitors retard murine mammary tumor progression by reducing tumor cell migration, invasiveness and angiogenesis. *Int J Cancer* 93(4): 497-506, 2001.
- Safta TB, Ziani L, Favre L, et al. Granzyme B-activated p53 interacts with Bcl-2 to promote cytotoxic lymphocyte-mediated apoptosis. *J Immunol* 2015;194: 418-28.
- Santoro A, et al. CD3⁺ cells at the invasive margin of deeply invading (pt3-t4) colorectal cancer and risk of post-surgical metastasis: a longitudinal study. *Lancet Oncol* 2009; 10: 877-884.
- Schrey MP and Patel KV: Prostaglandin E₂ production and metabolism in human breast cancer cells and breast fibroblasts. Regulation by inflammatory mediators. *Br J Cancer* 72.
- Shacter E, Weitzman SA. Chronic Inflammation and Cancer. *Oncology* 2002; 16: 217-226.
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(1):5-29
- Singh-Ranger G, Salhab M and Mokbel K: The role of cyclooxygenase-2 in breast cancer: review. *Breast Cancer Res Treat* 109(2): 189-198, 2008.
- Sinicrope FA, Lemoine M, Xi L, Lynch PM, Cleary KR and Shen Y: Reduced expression of cyclooxygenase 2 proteins in hereditary nonpolyposis colorectal cancers relative to sporadic cancers. *Gastroenterology* 117(2): 350-358, 1999.
- Smaili S, Hsu Y et al. Mitochondria in Ca²⁺ signaling and apoptosis. *J. Bioener and Biomem.* 2000; 32(1):35-46.
- Smyth MJ, Cretney E, Takeda K, Wiltout RH, Sedger LM, Kayagaki N, Yagita H, Okumura, K. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (trail) contributes to interferon-gamma-dependent natural killer cell protection from tumor metastasis. *J Exp Med* 2001; 193: 661-670.
- Sohn EJ, Jung DB, Lee H, Han I, Lee J, Lee H, Kim SH. CNOT2 promotes proliferation and angiogenesis via VEGF signaling in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Cancer Lett* 2018; 1(412):88-98.

- Sparvero LJ, Asafu-Adjei D, Kang R, Tang D, Amin N, Im J, Rutledge R, Lin B, Amoscato AA, Zeh HJ, et al. RAGE (Receptor For Advanced Glycation Endproducts), rage ligands, and their role in cancer and inflammation. *J Transl Med* 2009; 7: 17.
- Spierings DC, de Vries EG, Vellenga E. et al: Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. *J Histochem Cytochem* 52(6): 821-831; 2004.
- Stack E and DuBois RN: Regulation of cyclo-oxygenase-2. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 15(5): 787-800, 2001.
- Standiford TJ, Kuick RT, Bhan U, Chen J, Newstead M, Keshamouni VG. TGF- β -induced IRAK1 expression in tumor-associated macrophages regulates lung tumor growth. *Oncogene* 2011;30(21): 2475–2484.
- Subbaramaiah K and Dannenberg AJ: Cyclooxygenase 2: a molecular target for cancer prevention and treatment. *Trends Pharmacol Sci* 24(2): 96-102, 2003.
- Swami S, Krishnan AV, Moreno J, Bhattacharyya RB, Peehl DM and Feldman D: Calcitriol and genistein actions to inhibit the prostaglandin pathway: potential combination therapy to treat prostate cancer. *J Nutr* 137(1 Suppl): 205S-210S, 2007.
- Swann JB, Smyth MJ. Immune surveillance of tumors. *J Clin Invest* 2007; 117: 1137–1146.
- Teresa M.V.D. Pinho e Melo et al. Chiral 6,7 bis(hydroxymethyl)-1H,3H-pyrrolo[1,2-c]thiazoles with anti-breast cancer properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013; 60: 254-262.
- Tezer Kutluk, Türkiye'de ve Dünyada Kanser istatistikleri *Türk Kanser Haberleri Bülteni*. 119: 15-20, 1989.
- Thill M, Fischer D, Becker S, Cordes T, Dittmer C, Diedrich K, Salehin D and Friedrich M: Prostaglandin metabolizing enzymes in correlation with vitamin D receptor in benign and malignant breast cell lines. *Anticancer Res* 29(9): 3619- 3625, 2009.
- Tober KL, Wilgus TA, Kusewitt DF, Thomas-Ahner JM, Maruyama T, Oberyszyn TM. Importance of the EP1 receptor in cutaneous UVB-induced inflammation and tumor development. *J Invest Dermatol*. 2006;126(1):205- 11.
- Turan-Zitouni, G., Altıntop, M. D., Özdemir, A., Kaplancıklı, Z. A., Çiftçi, G. A., & Temel, H. E. (2016). Synthesis and evaluation of bithiazole derivatives as new anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 107, 288-294.
- Theivendren Panneer Selvam, Apeksha Phatde, Evaluation of Thiazole Heterocycles against Cancer – A Review *Importance of Thiazole*.
- Thiazoles and Thiazolidinones as COX/LOX Inhibitors. Konstantinos Liaras ID Maria Fesatidou and Athina Geronikaki. *Molecules* 2018, 23(3), 685; <https://doi.org/10.3390/molecules23030685>.
- Tinel A, Tschopp J. The piddosome, a protein complex implicated in activation of caspase-2 in response to genotoxic stress. *Science*. 2004;304:843-6.
- Umar S, Sarkar S, Wang Y, Singh P. Functional cross-talk between beta-catenin and nf-kappaB signaling pathways in colonic crypts of mice in response to progastrin. *J Biol Chem* 2009; 284: 22274–22284.

- Vendramini-Costa DB, Carvalho JE. Molecular link mechanisms between inflammation and cancer. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 3831–52.
- Vernin, G., General synthetic methods for thiazole and thiazolium salts. In: Vernin G, editor. The chemistry of heterocyclic flavouring and aroma compounds, *Ellis Horwood Ltd., England*, 35, 375 (1982).
- Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 24-37.
- van Ryn, J., Trummlitz, G., Pairet, M. (2000). COX-2 selectivity and inflammatory processes. *Curr Med Chem*, 7 (11), 1145-1161.
- Volonté C, Apolloni S, Skaper S. D, Burnstock G. P2X7 Receptors: Channels, pores and more, cns neurology disorder. *Drug Targets*. 2012; 11: 705–721.
- Wijsman J H, Jonker R R, Keijzer R, Velde C J H, Cornelisse C J, Dierendonck JHV (1993): A new method to detect apoptosis in paraffin sections; in situ endlabeling of fragmented DNA. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 41 (1): 7-12.
- Williams CS, DuBois RN: Prostaglandin endoperoxide synthase: why two isoforms? *Am J Physiol* 270(3 Pt 1): G393-400, 1996.
- Wolf I, O’Kelly J, Rubinek T, Tong M, Nguyen A and Lin BT: 15-Hydroxyprostaglandin dehydrogenase is a tumor suppressor of human breast cancer. *Cancer Res* 66(15): 7818-7823, 2006.
- Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, Rabizadeh S, Wu X, Yen HR, Huso DL, Brancati FL, Wick E, A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nature Medicine* volume 15, pages 1016–1022 (2009).
- Yadlapalli, R. K., Chourasia, O. P., Jogi, M.P., Podile, A. R., & Perali, R. S. (2013). Design, synthesis and in vitro antimicrobial activity of novel phenylbenzamido-aminothiazole-based azasterol mimics. *Medicinal Chemistry Research*, 22 (6), 2975-2983.
- Yeni Siklooksijenaz İnhibitörü Bileşiklerin Tasarımı, Sentezi Ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları*, Doktora Tezi, Betül Kaya Çavuşoğlu Eskişehir 2019.
- Yong-Jin Wu, B.W., Five-Membered Ring Systems: With N and S (Se) Atoms. In: Gribble Gordon W. JJA, editor. Progress in Heterocyclic Chemistry. First ed.: Elsevier; USA, 26, 279-300 (2014).
- Yurttaş, L., Özkay, Y., Karaca Gençer, H., & Acar, U. (2015). Synthesis of some new thiazole derivatives and their biological activity evaluation. *Journal of Chemistry*, 2015.
- Zhao YS ZS, Li XW, Wang F, Hu FL, Li DD, Zhang WC and Li X: Association between NSAIDs use and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res* 2009.
- Zhu J, Huang JW, Tseng PH, Yang YT, Fowble J, Shiao CW, Shaw YJ, Kulp SK, Chen CS. From the cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib to a novel class of 3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 inhibitors. *Cancer Res*. 2004;64(12):4309-18.
- Zhengfang Yi et al. Optimization of 2-(3-(arylalkyl amino carbonyl) phenyl)-3-(2-

methoxyphenyl)-4-thiazolidinone derivatives as potent antitumor growth and metastasis agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014; 80: 340-351.

Zimmermann KC, Sarbia M, Weber AA, Borchard F, Gabbert HE and Schror K: Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma. *Cancer Res* 59(1): 198-204, 1999.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Emil MAMÍZADA