

**BAZI YENİ 2-SÜBSTİTÜE BENZOTİYAZOL
TÜREVLERİNİN AMES TEST SİSTEMİ İLE MUTAJENİK
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**DETERMINATION OF MUTAGENIC EFFECTS OF SOME
NOVEL 2- SUBSTITUTED BENZOTHIAZOLE
DERIVATIVES BY AMES TEST SYSTEM**

SİBEL SARI

Prof. Dr. NURAN DİRİL
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
BİYOLOJİ Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2014

Sibel SARI' nin hazırladığı, “**Bazı Yeni 2-Süstitüe Benzotiyazol Türevlerinin Ames Test Sistemi İle Mutajenik Etkilerinin Belirlenmesi**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Esin AKI ŞENER

.....

Başkan

Prof Dr. Nuran DİRİL

.....

Danışman

Prof. Dr. Afife İZBIRAK

.....

Üye

Prof. Dr. Sibel SÜMER

.....

Üye

Yrd. Doç. Dr. Emine ÖKSÜZOĞLU

.....

Üye

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma Sevin DÜZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Canım BABAM' a

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

28/01/2014

Sibel SARI

ÖZET

BAZI YENİ 2-SÜBSTİTÜE BENZOTİYAZOL TÜREVLERİNİN AMES TEST SİSTEMİ İLE MUTAJENİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

SİBEL SARI

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. NURAN DİRİL

Ocak 2014, 67 sayfa

Çalışmada kemoterapötik etkili olabileceği düşünülen 15 adet yeni sentezlenmiş 2-sübstitüe benzotiyazol türevi bileşiğin kısa zamanlı bakteriyel test sistemlerinden biri olan Ames test sistemi ile mutajenik potansiyelleri araştırılmıştır.

Çalışmada kullanılan *Salmonella typhimurium* TA98 suşu çerçeve kaymasına yol açan mutajenlerin, *S. typhimurium* TA100 suşu ise baz çifti değişimine yol açan mutajenlerin belirlenmesi için kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak *S. typhimurium* TA98 için danomisin (6 µg/plak), *S. typhimurium* TA100 için sodyum azit (1,5 µg/plak) kullanılmıştır.

Sitotoksosite testinde 1, 5 ve 6 nolu bileşikler 200 µg/plak; 8 nolu bileşik 150 µg/plak dozunda sitotoksik etkili bulunmuştur.

SPSS 16. 0 programı ile yapılan Anova çözümlmelerine göre ($p < 0,05$), 3 no' lu (50-75 µg/plak) ve 4 no' lu (50-150 µg/plak) bileşikler *S. typhimurium* TA98 suşunda mutajenik etki göstermiştir. *S. typhimurium* TA100 suşunda 6 ve 12 no' lu bileşikler 75-100-150 µg/plak dozlarında, 10 no'lu bileşik ise denenen tüm dozlarda (50-200 µg/plak) mutajenik etkili bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Ames testi, benzotiyazol türevleri, mutajenite.

ABSTRACT

DETERMINATION OF MUTAGENIC EFFECTS OF SOME NOVEL 2-SUBSTITUTED BENZOTHAZOLE DERIVATIVES BY AMES TEST SYSTEM

SİBEL SARI

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. NURAN DİRİL

January 2014, 67 pages

In this study, the mutagenic potentials of 15 newly synthesized 2- substituted benzothiazole derivatives those are thought to have chemotheropatic effect, were investigated by using short time bacterial mutagenicity test system namely Ames test system.

In this study *Salmonella typhimurium* TA98 strain was used to detect frameshift mutagens and *S. typhimurium* TA100 strain was used to detect for base-pair substitution mutagens. Daunomicina (6 µg/plate) was used as a positive control for *S. typhimurium* TA98 and sodium azide (1,5 µg/plate) was used for *S. typhimurium* TA100.

In the cytotoxicity assay 1, 5 and 6 numbered compounds (200 µg/plate) and 8 numbered compound (150 µg/plate) were found to have cytotoxic effect.

The results were statistically analysed with ANOVA by SPSS 16. 0 ($p < 0,05$). It was found that 3 numbered (50-75 µg/plate) and 4 numbered compounds (50-150 µg/plate) have mutagenic effect on *S. typhimurium* TA98. 75-100-150 µg/plate doses of two compounds (6 and 12) were found mutagenic on *S. typhimurium* TA100. Also one compound (10) was mutagenic at all doses (50-200 µg/plate) tested in *S. typhimurium* TA100.

Keywords: Ames Test, benzothiazole derivatives, mutagenicity.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca maddi manevi desteğini, değerli bilgilerini, yardım ve önerilerini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Nuran Diril'e;

Çalışmalarım süresince yardımları, güler yüzleri ve güzel sohbetleri ile yanımda olan sayın Yrd. Doç. Dr. Emine Öksüzoğlu ve Yrd. Doç. Dr. Özden Korkmaz' a;

Tez çalışmalarım boyunca her an beraber olduğum ve birlikte çok eğlendiğim en yakın arkadaşım Ömür Bostancı' ya;

Çalışmamda test ettiğim kimyasal maddelerin sağlanmasında yardımcı olan Prof. Dr. Esin Akı Şener, Prof. Dr. İlkay Yıldız ve değerli çalışma arkadaşlarına;

Çalışmada deneylerin istatistiksel olarak planlanması ve değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Tülay Saraçbaşı' na;

Çalışmalarım süresince deneyin standardize edilmesi sırasında yardımcı olan çalışma arkadaşlarım Zeliha Aydoğan, Egemen Foto, Fatma Zilifdar ve Derya Akyürek'e;

Deneylerim süresince yardımlarını esirgemeyen Tek. Yrd. Vedat Mutlu' ya;

Sonsuz destekleri ve sevgileriyle her zaman yanımda olan dostlarım Fehmi Ceylan ve İpek Türk'e;

Büyük özveriyle beni bugünlere getiren gurur kaynağım canım babam Ahmet Sarı' ya ve yaşamım boyunca karşılaştığım bütün zorlukların üstesinden gelmeme yardımcı olan her şeyim güzel annem Şükriye Sarı' ya, her zaman en yakınım olan canım kardeşlerim Sinem ve Hasan Hüseyin Sarı'ya;

Öğrenim hayatım boyunca bana hep güvenen ve dualarını hiç eksik etmeyen büyükbabam Mehmet Canlı ve anneannem Perihan Canlı' ya;

Desteklerini her zaman hissettiğim başta Yunus Canlı ve Adnan Canlı olmak üzere bütün aileme sonsuz Teşekkürler...

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ÇİZELGELER.....	vii
ŞEKİLLER	ix
KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Genetik Toksikoloji	2
1.2. Kısa Zamanlı Mutajenite Test Sistemleri	5
1.2.1. Ames Test Sistemi	7
1.3. Kemoterapi	13
1.3.1. Kemoterapi ve Hücre Döngüsü	13
1.3.2. Kemoterapötik Ajanlar ve Etki Mekanizmaları	14
1.4. Benzotiyazol Türevleri	17
2. MATERYAL VE YÖNTEM	19
2.1. Kullanılan Test Suşları.....	19
2.2. Kimyasal Maddeler	19
2.2.1. Test Edilen Kimyasal Maddeler	19
2.2.2. Çözücüler	21
2.2.3. Pozitif Mutajenler	21
2.2.4. Diğer Kimyasal Maddeler	21
2.2.5. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddelerin Hazırlanması	22
2.2.6. Çalışmada Kullanılan Besi Ortamları ve Çözeltiler	22
2.3. Çalışmada Kullanılacak Test Suşlarının Üretilmesi	25
2.3.1. Çalışmada Kullanılacak Test Suşlarının Genetik İşaretlerinin Kontrolü	25
2.3.2. Histidin Gereksinimi Kontrolü	25
2.3.3. pKM101 Plazmit Varlığının Kontrolü	26
2.3.4. <i>rfa</i> Mutasyonu Kontrolü	26
2.3.5. <i>uvrB</i> Mutasyonu Kontrolü	27
2.3.6. Kendiliğinden Geri Dönen Koloni Sayısının Belirlenmesi	27

2.3.7. Çalışmada Kullanılacak Test Suşlarının Dondurulması ve Saklanması	28
2.3.8. Master Plakların Hazırlanması	28
2.4. Ames Test Sistemi	28
2.4.1. Sitotoksik Etkinin Saptanması	28
2.4.2. Mutajenik Etkinin Saptanması	29
2.5. Sonuçların Değerlendirilmesi.....	29
3. BULGULAR	30
3.1. Test Suşlarının Üreme Durumları	30
3.2. Ames Testi Sonuçları	30
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	48
KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ	67

ÇİZELGELER

Sayfa

Çizelge 1.1. Genotoksinlerin DNA Üzerindeki Doğrudan ve Dolaylı Etki Mekanizmaları	4
Çizelge 1.2. Standart Genotoksisite Bateria Test Sistemi	6
Çizelge 1.3. Bateria Test Sistemini Destekleyici Diğer Toksisite Testleri	6
Çizelge 1.4. <i>S. typhimurium</i> Mutant Suşlarının Genetik Özellikleri	8
Çizelge 1.5. <i>S. typhimurium</i> Mutant Suşlarının DNA Dizi Özgüllükleri	10
Çizelge 1.6. Kemoterapi ve Hücre Döngüsü.....	16
Çizelge 2.1. Deney Sisteminde Test Edilen Kimyasal Maddeler	19
Çizelge 3.1. 1 Numaralı Bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Dönen Koloni Sayılarına Etkisi.....	31
Çizelge 3.2. 2 Numaralı Bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Dönen Koloni Sayılarına Etkisi.....	32
Çizelge 3.3. 3 Numaralı Bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Dönen Koloni Sayılarına Etkisi.....	33
Çizelge 3.4. 4 Numaralı Bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Dönen Koloni Sayılarına Etkisi.....	34
Çizelge 3.5. 5 Numaralı Bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Dönen Koloni Sayılarına Etkisi.....	35
Çizelge 3.6. 6 Numaralı Bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Dönen Koloni Sayılarına Etkisi.....	36
Çizelge 3.7. 7 Numaralı Bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Dönen Koloni Sayılarına Etkisi.....	37
Çizelge 3.8. 8 Numaralı Bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Dönen Koloni Sayılarına Etkisi.....	38
Çizelge 3.9. 9 Numaralı Bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Dönen Koloni Sayılarına Etkisi.....	39
Çizelge 3.10. 10 Numaralı Bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Dönen Koloni Sayılarına Etkisi.....	40
Çizelge 3.11. 11 Numaralı Bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Dönen Koloni Sayılarına Etkisi.....	41

Çizelge 3.12. 12 Numaralı Bileşiğın <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Döner Koloni Sayılarına Etkisi.....	42
Çizelge 3.13. 13 Numaralı Bileşiğın <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Döner Koloni Sayılarına Etkisi.....	43
Çizelge 3.14. 14 Numaralı Bileşiğın <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Döner Koloni Sayılarına Etkisi.....	44
Çizelge 3.15. 15 Numaralı Bileşiğın <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Mutant Suşlarında Geriye Döner Koloni Sayılarına Etkisi.....	45
Çizelge 3.16. Test Edilen Bileşiklerin Ortak Halka Yapıları ve <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 Suşlarında Mutajenik Etkili Dozları.....	47

ŞEKİLLER

Sayfa

Şekil 1.1. Karsinogenez Gelişiminde Genotoksik ve Genotoksik Olmayan Mekanizmalar	5
Şekil 1.2. Benzotiyazolün Kimyasal Yapısı	17
Şekil 1.3. Adenin ve Guaninin Yapısı	18
Şekil 2.1. <i>S. typhimurium</i> TA100 Suşunun MGA ve Histidin İçeren Besi Ortamlarında Üreme Durumları	26
Şekil 2.2. <i>S. typhimurium</i> TA100 Suşunda <i>rfa</i> Mutasyonunun Kontrolü	27

KISALTMALAR

Rb	Retinablastoma
TK	Timidin Kinaz
HGPRT	Hipoksantin-Guanin Fosforibozil Transferaz
CHO	Chinese Hamster Ovary (Çin Hamster Yumurtalıkları)
CHL	Chinese Hamster Lung (Çin Hamster Akciğer Hücreleri)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi)
SHE	Syrian hamster embryo (Suriye Hamster Embriyo)
Balb/c3T3	Balb/c fare embriyo hücre hattı
LPS	Lipopolisakkarit
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

1. GİRİŞ

Kimyasal maddelerin birçoğu, canlıların kalıtsal yapısında değişikliğe sebep olan, genotoksik ve karsinojenik etkilere sahiptir [1]. Doğrudan veya dolaylı olarak karsinojenik etki gösteren bu kimyasallar aynı zamanda mutajenik olarak da kabul edilmektedir. Karsinojenlerin %90'ının mutajen olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, kimyasal maddeleri mutajen ve karsinojen olarak ayırmak yerine, mutajen/karsinojen olarak tek grupta incelemenin daha doğru olacağı belirtilmektedir [2, 3].

Mutajen olduğu bilinen kimyasal maddelerin, kalıtsal doğum bozukluklarına, kalp hastalıklarına ve yaşlanmaya sebep olduğu bilinmektedir [4, 5]. Aynı zamanda kanser oluşumunu indüklediği ve bazı hücre hatlarını zarara uğratarak üreme bozukluklarına yol açtığı düşünülmektedir. Böylece gelecek nesillerde genetik hasarların ortaya çıkması söz konusu olacaktır [6].

Gerek hastalık etkeni olan gerekse hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılan kimyasal bileşikler doğal olabilecekleri gibi, laboratuvar ortamında da sentezlenebilirler. Günümüzde birçok ilaç ön maddesi, hastalıkları tedavi etmek amacıyla sentetik olarak üretilmektedir. Sentez aşamasında gelecekteki ilacın, vücutta etkilemesi beklenen hedef moleküler yapının (reseptör, enzim vb.) veya mekanizmanın moleküler özelliklerine göre tasarımına ve ilacın molekül yapısı ile etkisi arasındaki ilişkiye (yapı-etki ilişkisi) oldukça önem verilmektedir [7]. Laboratuvarlarda sentezlenen benzoksazin, benzimidazol ve benzotiyazol türevi bileşiklerin geniş bir spektrumda farmakolojik etki gösterdiği bilinmektedir [8].

Benzotiyazol türevleri, antifungal ve antinematod ilaçlar gibi çeşitli ilaçların aktif bileşeni olarak rol oynamaktadır [9]. Benzotiyazol halka sistemi nükleik asitlerin yapısında yer alan heterosiklik bazlardan adenin ve guaninin yapısal benzerleridir [10]. Benzotiyazol halka sistemi organizmadaki biyomoleküllerle kolayca etkileşmesi bakımından oldukça önemli bir halka sistemi olarak değerlendirilmektedir. Benzotiyazol türevi bileşiklerin mikrobiyolojik aktivitelerini, nükleik asit sentezini inhibe ederek gösterebilecekleri düşünülmektedir [11, 12, 13].

Antibakteriyel ve antifungal etki çalışmalarının yanı sıra, kuvvetli antitümoral [14] aktiviteye sahip benzotiyazol halkası taşıyan türevlerin belirlenmesi bu halka sisteminin önemini artırmıştır. Son yıllarda benzotiyazollerin mutajen olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır [15, 16]. Dolayısıyla yeni sentezlenen benzotiyazol türevlerinin insan sağlığı üzerindeki etkilerinin araştırılması gerekmektedir. Bunun için kısa zamanlı mutajenite test sistemlerinin kullanımı en akılcı yaklaşımdır. Araştırmacılar kimyasal maddelerin mutajenik potansiyellerini belirlemeye yönelik, çok kısa sürede sonuç veren ve düşük maliyetli birçok kısa zamanlı mutajenite test sistemi geliştirmişlerdir (rec yöntemi, SOS-Kromotest, umu testi, komet testi vb.) [17]. Ames-*Salmonella*/mikrozom test sistemi kısa zamanlı test sistemlerinden biri olup mutajen/karsinojenlerin belirlenmesinde oldukça yaygın olarak kullanılan [18].

Bu çalışmada Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı tarafından, ilaç etken maddesi olarak yeni sentezlenen 15 adet benzotiyazol türevi bileşiğin mutajenik potansiyelleri Ames test sistemi ile *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşları kullanılarak değerlendirilmiştir.

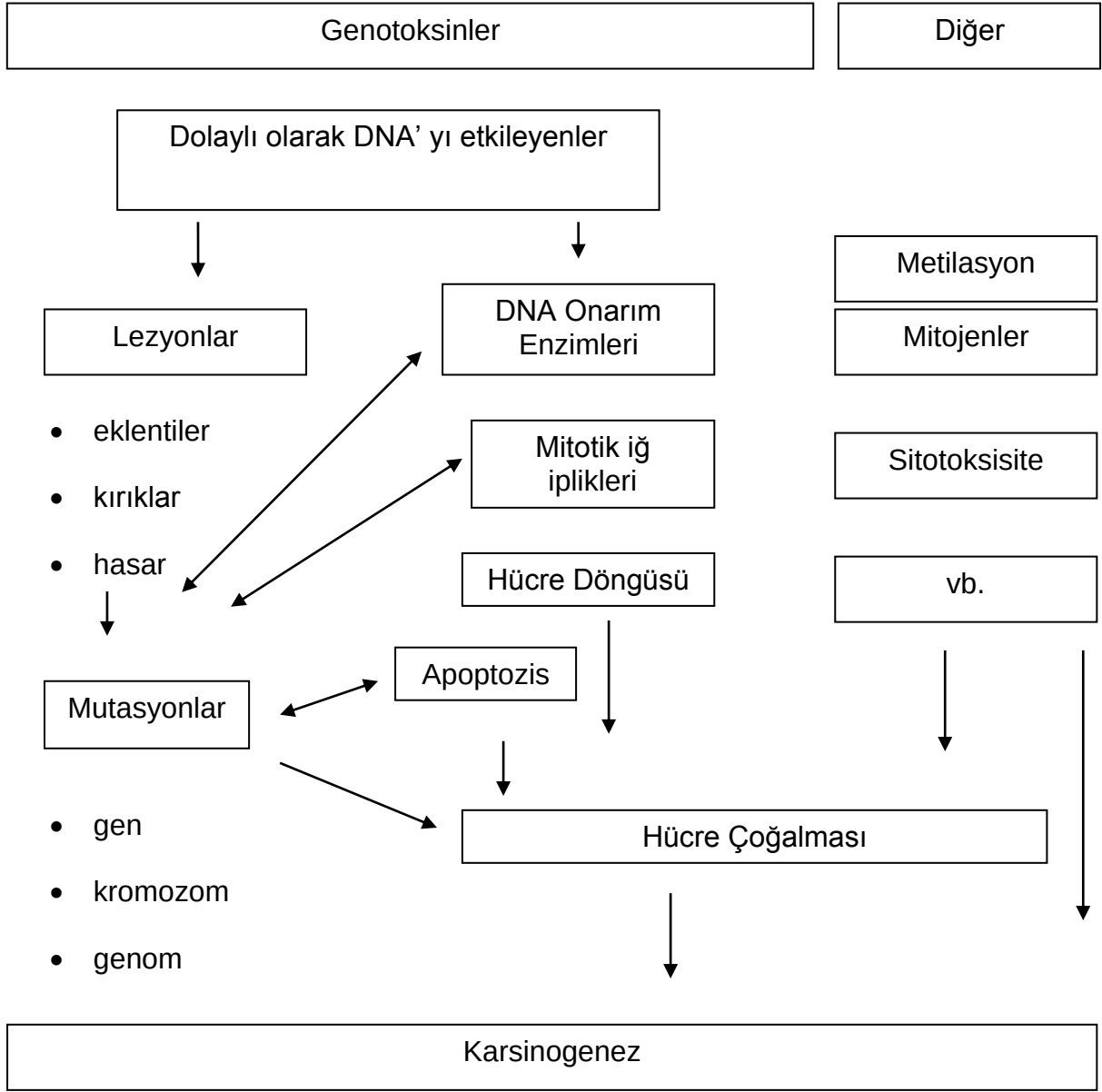
1.1. Genetik Toksikoloji

Genotoksisite, kalıtım materyali olan DNA'nın yapısında meydana gelen, gen mutasyonları, zincir kırıkları, DNA katım ürünleri ile kromozomlarda oluşan yapısal ve sayısal değişiklikler gibi çeşitli hasarları kapsayan genel bir terimdir [19]. Bu bağlamda genetik toksikoloji, organizmanın genetik işaretlerinde kalıtsal bir değişiklik meydana getiren fiziksel, kimyasal ve biyolojik ajanların (genotoksinlerin) etkilerinin incelendiği bir bilim dalıdır [20]. Young [20] genetik toksikoloji alanındaki gelişmelerin ilk olarak 1927 yılında Amerikalı genetikçi Hermann J. Muller (1890-1967) tarafından X-ışınlarının *Drosophila*' da gen mutasyonları ve kromozom değişikliklerinin oranını arttırdığını saptamasıyla başladığını belirtmektedir. Bu ilk gözlemler sonucu temelleri atılan genetik toksikoloji çalışmaları mutajenlerin tanımlanması, insanda risk değerlendirmesi ve bu maddelere gereksiz maruziyetin önlenmesi gibi pek çok konuda önem arz etmektedir [21].

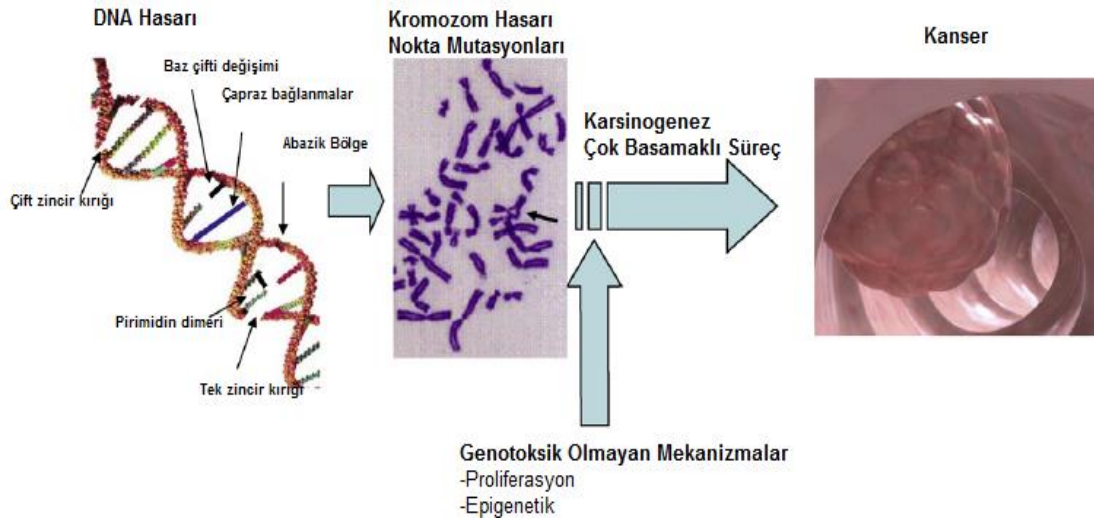
Endüstrinin gelişmesiyle birlikte giderek artan genotoksik ajanlara maruziyet sonucu ya da kendiliğinden genomda hasarlar oluşabilmektedir. DNA dizisinde meydana gelen kalıtsal değişim "mutasyon" adını almaktadır. Mutasyonlar somatik hücrelerde veya eşey hücrelerinde meydana gelebilirler. Eşey hücrelerinde meydana gelen mutasyonlar gelecek nesillere aktarıldıkları için önem taşır. Somatik hücrelerde meydana gelen mutasyonlar ise direkt olarak organizmanın kendisini etkilerken, karsinogenez için zemin oluşturmaları sebebiyle önemlidirler [22]. DNA onarım sistemi tarafından düzeltilebilen genotoksik hasarın sonraki nesile aktarılması önlenmektedir. Genotoksisite bu yönüyle mutajeniteden ayrılmaktadır [23].

Mutasyona sebep olan maddelerin genotoksik etkileri hücresel hedeflerine bağlıdır. Bazı kimyasal maddelerin mutajenik aktivite göstermeleri metabolize edilmeleri sonucu gerçekleşmektedir. Mutajenler ya doğrudan DNA ile etkileşime girerek ya da dolaylı olarak genom bütünlüğünün korunmasında görev alan proteinlere bağlanarak, genomik değişikliklere neden olabilirler (Çizelge 1. 1). Örneğin, iyonizan radyasyon DNA ile direkt olarak etkileşime girerek tek veya çift zincir kırıklarının oluşumuna sebep olmaktadır [24]. Dolaylı olarak DNA hasarı oluşturan genotoksik ajanların hedefleri özellikle genom bütünlüğünün sağlanmasında görevli olan proteinlerdir. Bu konuda son yıllarda yapılan çalışmalar, DNA onarım sistemi enzimleri, hücre döngüsünü kontrol eden proteinler (örn: p53, Rb, siklinler), apoptozis ile ilişkili gen ürünleri (örn: p53, bax, bcl-2), nükleer laminler, mitotik ve mayotik iğ iplikleri, oksidatif hasara karşı savunma sağlayan proteinler (örn: glutatyon) üzerine yoğunlaşmıştır [25].

Çizelge 1. 1. Genotoksinlerin DNA üzerindeki doğrudan ve dolaylı etki mekanizmaları [25]



Genotoksisite ve karsinojenite arasındaki ilişki, onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerde yapılan pek çok moleküler çalışma ile desteklenmiştir [26]. Birçok karsinojen maddenin gen mutasyonları ve amplifikasyonlarına, kromozomal kayıplara ve yeniden düzenlenmelere neden olduğu bilinmektedir. Karsinogenez çok basamaklı uzun bir süreç olup, genotoksik ve genotoksik olmayan birçok mekanizmanın etkisiyle oluşmaktadır (Şekil 1.1). Protoonkogenlerin onkogenlere dönüşmesine ve tümör baskılayıcı genlerin inaktif hale gelmesine sebep olan gen mutasyonları ve/veya kromozomal değişiklikler, karsinogenezin başlangıcında ve gelişmesinde merkezi bir rol oynamaktadır [27].



Şekil 1. 1. Karsinogenez gelişiminde genotoksik ve genotoksik olmayan mekanizmalar [27]

Kimyasal maddelerin genotoksik/mutajenik etkileri ile karsinojenite arasındaki doğrusal ilişki, genotoksikite/mutajenite testlerinin kimyasal maddelerin karsinojenik potansiyellerinin araştırılmasında tarama testleri olarak kullanılmaları sonucunu doğurmuştur. Bu amaçla geliştirilen birçok kısa zamanlı test sistemi mevcuttur [26].

1.2. Kısa Zamanlı Mutajenite Test Sistemleri

Karsinojenite potansiyeline sahip olan kimyasalların bu etkilerini öngörmede kısa zamanlı mutajenite test sistemlerinin kullanımı en akılcı yaklaşımdır. 200' den fazla kısa zamanlı test sistemi; bakterileri, kültüre edilmiş memeli hücrelerini, böcekleri ve memelileri kullanarak çeşitli kimyasal maddelerin mutajenik aktivitelerini test etmek amacıyla geliştirilmiştir. Bu test sistemleri mutajen ve karsinojenlerin tanımlanmasında oldukça hızlı sonuç vermeleri ve ekonomik açıdan düşük maliyete sahip olmaları sebebiyle sıklıkla tercih edilmektedirler [26].

Tek bir kısa zamanlı test sistemi herhangi bir bileşiğin mutajenik/karsinojenik aktivitesinin öngörülmesinde tek başına yeterli olmamaktadır. Bu yüzden bir kimyasalın mutajenik ve/veya karsinojenik olarak adlandırılması için bateri test sistemleri uygulanmaktadır. Uluslararası geçerliliği olan rehberlerde basamaklandırılmış standart bir bateri test sistemi genel olarak 4 ana kategoriden oluşmaktadır [28, 29] (Çizelge 1. 2).

Çizelge 1. 2. Standart Genotoksisite Bateri Test Sistemi [29]

Standart Genotoksisite Bateri Test Sistemi

- Bakteriyel geri mutasyon testleri (S9 varlığında ve yokluğunda) örneğin; Ames testi *S.typhimurium* suşları ile
- *in vitro* memeli hücre kültüründe gen mutasyon testleri (S9 varlığında ve yokluğunda) örneğin; fare lenfoma TK ya da CHO- HGPRT yöntemi
- *in vitro* memeli kromozom hasar testleri örneğin; CHO ya da CHL hücrelerinde kromozomal hatalar ve kültüre edilmiş lenfositler
- *in vivo* genetik hasar testleri örneğin; kemirgenlerde kemik iliğinde mikronükleus testi

Gıda, ilaç, kozmetik ve daha birçok endüstriyel alanda kullanılan tüketiciye yönelik her türlü kimyasal maddenin potansiyel mutajenik, genotoksik ve/veya karsinojenik aktivitesi standart bateri test sistemlerine ilave olarak farklı test sistemlerinin kullanılmasıyla detaylı bir şekilde tanımlanabilmektedir [29] (Çizelge 1. 3).

Çizelge 1. 3. Bateri Test Sistemini Destekleyici Diğer Toksisite Testleri [29]

Bateri Test Sistemini Destekleyici Diğer Toksisite Testleri

- ³²P işaretleme yöntemi ya da HPLC-kütle spektrometresi ile DNA eklenme ürünlerinin belirlenmesi
- Kemirgen hepatositlerinde *in vivo/in vitro* programlanmamış DNA sentezi
- *in vivo* organ spesifik genotoksisite testleri örneğin; transgenik kemirgenler, komet testi ile DNA zincir kırıklarının tespiti
- Eşey hücrelerinde genotoksisite testleri örneğin; kemirgen spermatogonial hücrelerinde kromozomal hasar testleri, dominant letal yöntem
- Kalıtsal mutasyon testleri örneğin; kalıtsal translokasyon test, özgül lokus mutasyon testi.
- Hücre transformasyon testleri örneğin; SHE hücreleri veya Balb/c3T3 hücreleri ile hücre transformasyon testleri

Kimyasal maddelerin mutajenitesinin taranmasında ilk basamak bakteriyel test sistemlerinin kullanımını gerektirir. Bakterilerin basit üreme ortamlarında hızlı üremeleri sebebiyle bakteriyel testler rutin ön tarama testlerinde kullanılmaktadırlar. Basit, çabuk ve ucuz uygulanabilir olduğundan dolayı tüm kısa zamanlı bakteriyel test sistemleri arasında Ames testi en çok önerilen testtir [17].

1.2.1. Ames Test Sistemi

Salmonella/mikrozom test sistemi olarak da adlandırılan Ames testi, potansiyel genotoksik ajanların belirlenmesinde kullanılan temel toksikolojik bir testtir. Dr. Bruce N. Ames tarafından geliştirilmiş olan Ames test sistemi, kimyasal maddelerin mutajenik potansiyellerinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan, test parametreleri açısından çok iyi standardize edilmiş, geçerliliği pek çok araştırma ile gösterilmiş, mutajenlere yüksek hassasiyet gösteren kısa zamanlı test sistemlerinden biridir. Kolay uygulanabilir ve maliyetinin ucuz olması sebebiyle birçok araştırma laboratuvarında uygulanan bir sistemdir [4].

Ames test sistemi özellikle kimyasal maddeler tarafından oluşturulan mutasyonları saptamak amacıyla geliştirilmiştir. Yıllardır birçok bilimsel topluluk, devlet kurumları ve şirket tarafından kabul edilmiş olup, kemirgen karsinogenitesi için yüksek öngörü potansiyeli taşıdığından, yeni kimyasalların ve ilaçların mutajenik potansiyellerini belirlemek için ön tarama testi olarak dünya çapında kullanılan bir testtir [17].

Bu test sisteminde *S. typhimurium*' un atasal LT2 suşundan *in vitro* mutasyonlar sonucu elde edilen histidin sentezleme yeteneklerini kaybetmiş (his⁻) mutant suşlar kullanılmaktadır. Histidin amino asidini kodlayan gen bölgesinde veya yakınında meydana gelen yeni mutasyonlar, ilgili gen bölgesinin fonksiyonunun düzelmesine ve histidin amino asidi sentezleyen kolonilerin oluşumuna olanak tanımaktadır. Bu sebeple Ames testi sıklıkla bir geri mutasyon testi olarak da adlandırılmaktadır [17].

Testte kullanılan *Salmonella* mutant suşları, histidin operonunun çeşitli genlerinde farklı mutasyonlara sahiptir. Bu mutasyonlar, her biri farklı mekanizmalar üzerinden etki eden mutajenlere duyarlı olacak şekilde tasarlanmıştır. Bu suşlar *S. typhimurium* TA1535, TA1537, TA1538, TA97, TA98, TA100, TA102, TA104... suşlarıdır [30].

S. typhimurium' un yaygın olarak kullanılan bu mutant suşlarına ek olarak, farklı genetik özellikler taşıyan yeni suşlar da test organizması olarak kullanılmaktadır.

S.typhimurium YG1041 ve YG1042 suşları sırasıyla *S.typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarından köken almaktadırlar. Her iki suş da taşıdıkları nitroredüktaz ve O-asetiltransferaz enzim aktiviteleri sebebiyle nitroaren ve aminoarenlere karşı oldukça hassas suşlardır [31].

Özgül baz çifti değişimi mutasyonlarını daha kolay saptamak amacıyla Gee ve arkadaşları [32] tarafından 6 yeni *Salmonella* suşu geliştirilmiştir (TA7001-TA7006). Bu suşlardan;

TA7001 AT → GC

TA7002 TA → AT

TA7003 TA → GC

TA7004 GC → AT

TA7005 CG → AT

TA7006 CG → GC baz çiftlerindeki değişimleri saptamaktadır. Böylece her bir test suşu olası altı baz çifti değişiminden yalnız birini tespit ederek, daha hassas bir tarama gerçekleştirmektedir.

S. typhimurium' un yaygın olarak kullanılan mutant suşlarının genetik özellikleri Çizelge 1. 4' de verilmiştir [17].

Çizelge 1. 4. *S. typhimurium* mutant suşlarının genetik özellikleri [17]

Suş	Histidin Mutasyonu	LPS	Onarım	Plazmit
TA1535	<i>hisG46</i>	rfa	$\Delta uvrB$	plazmit yok
TA1537	<i>hisC3076</i>	rfa	$\Delta uvrB$	plazmit yok
TA1538	<i>hisD3052</i>	rfa	$\Delta uvrB$	plazmit yok
TA97	<i>hisD6610</i>	rfa	$\Delta uvrB$	pKM101
TA98	<i>hisD3052</i>	rfa	$\Delta uvrB$	pKM101
TA100	<i>hisG46</i>	rfa	$\Delta uvrB$	pKM101
TA102	<i>hisG428</i>	rfa	+	pKM101,pAQ1

Histidin mutasyonu: Her test suşu, histidin operonunun değişik bölgelerinde ya DNA' daki tek bir bazın değişimi ya da bir bazın eklenmesi veya çıkarılması ile kendini gösteren çerçeve kayması mutasyonları ile mutant hale getirilmiştir [33]. Mutasyonların yerleri ve karakterleri, *S. typhimurium* mutant suşlarının DNA baz dizi analizleri yapılarak saptanmıştır [30].

hisG46 mutasyonu, *S. typhimurium* TA100 ve *S. typhimurium* TA1535 suşlarında histidin biyosentez yolundaki ilk enzimi kodlayan gen bölgesi üzerindedir. Bu mutasyon his G geninde lösin amino asidinin (GAG/CTC) kodonu olan -CUC- yerine prolin amino asidinin (GGG/CCC) kodonu olan -CCC-' nin gelmesine neden olmaktadır. *S. typhimurium* TA100 ve *S. typhimurium* TA1535 suşları baz çifti değişimine neden olan mutajenler tarafından geri döndürülmektedir.

hisD3052 mutasyonu, *S. typhimurium* TA98 ve *S. typhimurium* TA1538 suşlarında mevcuttur. Bu mutasyon histidin biyosentezindeki son enzimi kodlayan his D geni üzerindedir. Bu mutasyon his D genindeki tek bir nükleotidin eksikliği sonucu ortaya çıkmış olan çerçeve kayması tipinde bir mutasyondur [17].

hisD3052 mutasyonu his D geni içerisinde -CGCGCGCG- dizilimi olan 8 tekrarlı GC dizisine sahip olup, -1 çerçeve kayması mutasyon bölgesi yanındadır [34]. 2-nitrofloren ve çeşitli aromatik nitroso türevleri gibi çerçeve kayması tipi mutasyonlara sebep olan amino mutajenler tarafından hisD3052 mutasyonu geri çevrilmektedir [17].

hisC3076 mutasyonu *S. typhimurium* TA1537 suşunda mevcut olup -CCC- tekrarlanan dizisine bir nükleotidin eklenmesiyle oluşan çerçeve kayması tipinde bir mutasyondur. Çerçeve kaymasına neden olan mutajenlerin taranmasında *S. typhimurium* TA1537 suşundan daha hassas olduğu belirtilen *S. typhimurium* TA97 suşunda ise hisD6610 mutasyonu görülmektedir. Bu mutasyonda etkilenen bölge olan 6 tekrarlı sitozin dizisi (C-C-C-C-C-C-) yanına bir sitozin bazının eklenmesi çerçeve kayması mutasyonuna neden olmaktadır [17].

hisG428 gen bölgesinde oluşan mutasyon ochre mutasyonu olarak adlandırılır ve *S. typhimurium* TA102 suşunda görülmektedir. His G genindeki TAA dizisi altı muhtemel baz çifti değişiminin tümü ile, yani hem transversiyon hem de transisyon ile geri döndürülebilir. Bu mutasyon ayrıca oksidatif hasara neden olan mutajenler tarafından

da geri çevrilebilir [17]. Çizelge 1. 5' de *S. typhimurium* mutant suşlarının DNA dizi özgüllükleri verilmiştir.

Çizelge 1. 5. his⁻ *S. typhimurium* mutant suşlarının DNA dizi özgüllükleri [17]

Allel/suş	Hedef DNA Dizisi	Geri Dönüşüm Tipi
<u>hisG46</u> TA100 TA1535	–G–G–G–	baz çifti değişimi
<u>hisD3052</u> TA98 TA1538	–C–G–C–G–C–G–G–	çerçeve kayması
<u>hisC3076</u> TA1537	–C.....C– (yanına +1)	çerçeve kayması
<u>hisD6610</u> TA97	–C–C–C–C–C–C– (yanına +1 sitozin)	çerçeve kayması
<u>hisG428</u> TA102 TA104	TAA (ochre)	transisyon ve transversiyon

S.typhimurium' un his⁻ mutantlarını kimyasal mutajenlere karşı daha hassas bir hale getirmek için eklenen bazı mutasyonlar aşağıda belirtilmiştir.

rfa mutasyonu: Bu mutasyon bakteri hücre duvarının lipopolisakkarit tabakasını kodlayan genlerde meydana gelmiştir. Lipopolisakkarit tabakasında meydana gelen bu hasar, hücre duvarının geçirgenliğinin artmasına sebep olarak büyük moleküllerin geçmesine izin vermektedir [35].

uvrB mutasyonu: DNA onarım sisteminde, nükleotid kesme çıkarma onarım sisteminde görev alan ekzinükleaz enziminin *uvrB* geninde meydana gelen delesyon sonucu oluşur. *uvrB* geninin kesilerek uzaklaştırılması sırasında “bio” geni de çıkarılmıştır. *bio* geni H vitamini de deneni biyotinin sentezinden sorumludur. Dolayısıyla mutant bakteriler üreyebilmek için histidin amino asidine ek olarak biyotini de ihtiyaç duyarlar [30]. *uvrB* delesyonu sebebiyle nükleotid kesip çıkarma onarım sistemi inaktive olacağından, hata oranı yüksek SOS onarım sistemi tarafından daha fazla DNA lezyonunun onarılması mümkün olacaktır [17].

pKM101 plazmiti: *S. typhimurium* TA1538 suşuna ampiciline direçlilik geni taşıyan pKM101 R plazmidinin aktarılmasıyla *S. typhimurium* TA98 suşu, *S. typhimurium* TA1535 suşuna aynı plazmidin aktarılması sonucu *S. typhimurium* TA100 suşu elde edilmiştir. Mutajen olduğu bilinen ajanlara karşı plazmit içeren suşların cevapları, içermeyenlere göre oldukça yükselmiştir. pKM101 plazmidi, bu suşların mutajenlere daha duyarlı olmasından sorumlu olan, replikasyon sonrası onarım sistemlerinden hata oranı yüksek onarım sistemleriyle bağlantılı genler içermektedir. pKM101 plazmidinin eklenmesiyle hata oranı yüksek SOS onarımı ve rekombinasyonel DNA onarım yolları daha fazla devreye gireceğinden UV ve kimyasallarla indüklenen mutajenite de artmış olur [36].

Memelilerde detoksifikasyon mekanizmasını gerçekleştiren enzim sistemlerinin bakterilerde olmayışı, Ames test sistemi için sorun yaratan bir unsur olarak algılanabilir. Ancak bu sorun memeli hayvanlardan izole edilen detoksifikasyon enzimlerinin bakteriyel sisteme ilave edilmesiyle aşılmaktadır [37]. Yaygın olarak kullanılan enzim sistemi, sıçanların enzim aktivasyonu uyarılmış olan karaciğer dokularından elde edilen mikrozomal enzim fraksiyonlarıdır. Sitokrom P-450 bağımlı monooksijenazlar, sitokrom P-450 bağımsız oksidazlar, azo ve nitro-redüktazlar, esterazlar ve transferazları içeren enzim özütüne eklenen kofaktörler, tuzlar ve tampon sistemi S9 karışımı adını almaktadır. Metabolik aktivasyon sistemi olarak da adlandırılan bu sistem varlığında, biyolojik olarak aktif bir madde inaktif bir metabolitine dönüşebileceği gibi, inaktif bir madde de aktif bir metabolitine dönüşebilmektedir [38, 39].

1973 yılında Ames ve arkadaşları tarafından geliştirilen standart plak inkorporasyon test yöntemi, zaman içinde testin duyarlılığını artırmak amacıyla farklı araştırmacılar tarafından modifiye edilerek geliştirilmiştir. Böylece çok az miktardaki veya suda az çözünen gaz ya da sıvı bileşikler de kapsayan geniş spektrumdaki birçok kimyasal maddenin mutajenik potansiyelini belirlemek mümkün hale gelmiştir [17]. *Salmonella*/mikrozom test sistemiyle, uçucu ve gaz halindeki kimyasal maddelerin mutajenik özelliklerini desikatör kullanarak belirlemek mümkündür. Yapılan bir çalışmada karmustin, siklofosamid, ifosfamid, thiotepa ve mustargen gibi antineoplastik ajanların gaz fazında mutajenik etkili olduğu desikatör yöntemi kullanılarak belirlenmiştir [40].

Sigara ana dumanının mutajenik potansiyeli, modifiye edilmiş Ames sistemi ile farklı test suşları kullanılarak araştırılmış ve pKM101 plazmidi taşıyan suşlarda sigara ana dumanının mutajenik etkili olduğu gösterilmiştir [41].

Kompleks karışımların ve oldukça az miktarlardaki test bileşenlerinin mutajenik potansiyellerinin belirlenmesinde Ames mikropak format (MPF) yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntem ilaç adaylarının genotoksik potansiyellerinin taranması için birçok büyük ilaç şirketi tarafından 10 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır [42].

Aromatik aminler metabolik aktivasyona gereksinimi olan prokarsinojenlerdendir [43]. Nötral red birçok biyolojik sistemde indikatör boya olarak kullanılan bir aromatik amindir. Guérard ve arkadaşları [44] tarafından yapılan bir çalışmada nötral red' in mutajenik aktivitesi Ames test sistemi ile metabolik aktivasyon varlığında ve yokluğunda test edilmiş olup, S9 varlığında mutajenitenin kuvvetle arttığı belirtilmiştir.

Noushad ve arkadaşlarının [45] yaptığı bir çalışmada ise dişçilikte kullanılan dental porselenin metabolik aktivasyon sistemi varlığında ve yokluğunda mutajenik etkili olmadığı gösterilmiştir.

Endüstri ve tarım alanındaki gelişmelere paralel olarak su kirliliği de önemli ölçüde artış göstermiştir. Tatlı su kaynaklarından alınan örnekler Ames test sistemi ile değerlendirildiğinde, polisiklik hidrokarbonların ve yüksek konsantrasyonlardaki ağır metallerin mutajenik etkili olduğu saptanmıştır [6, 46, 47]. Ayrıca yeraltı kaynaklarından elde edilen suyun içme suyu olarak arıtılması sırasında elde edilen klorlu suda, mutajen bileşiklerin varlığı Ames test sistemi ile gösterilmiştir [48, 49]. Kentsel ve endüstriyel bölgelerde hava kirliliğine sebep olan polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) mutajenik etkileri de bu test sistemi ile belirlenmiştir [50, 51, 52]. Ames test sistemi ile bir kimyasal maddenin mutajenik etkisi belirlenebileceği gibi antimutajenik etkisi de belirlenebilmektedir. Çilek, üzüm böğürtlen gibi bir çok meyvede doğal olarak bulunan ellagic asidin antimutajenik ve antikarsinojenik etkisi, karsinojen olduğu bilinen polisiklik aromatik hidrokarbonlar, nitrozaminler ve aflatoksin B1 gibi mikotoksinler kullanılarak saptanmıştır [53, 54].

1.3. Kemoterapi

Kemoterapi ya da 'kimyasal tedavi' antik Yunanlılar zamanından beri kullanılan bir terimdir. Ancak kanser tedavisi için kemoterapi nitrojen mustard (hardal gazı) kullanımı ile 1940'lı yıllarda başlamıştır. I. Dünya Savaşı sırasında kükürtlü hardal bileşiklerinin kullanılmasının lökosit sayısında azalmaya sebep olduğu tespit edilmiş ve lösemi tedavisinde kullanılmalarının faydalı olabileceği düşünülmüştür [55, 56].

Kanser hücrelerini yok etmek ya da büyüme ve çoğalmalarını önlemek için, anti-kanser (antineoplastik) ilaçlarla yapılan tedavi kemoterapi adını almaktadır. Birçok kemoterapi ajanı doğal olarak bakteri ya da bitkilerden elde edilmiş bileşikler olabileceği gibi, sitotoksik etkileri için geliştirilen sentetik kimyasal maddeler de olabilmektedir [57].

1.3.1. Kemoterapi ve Hücre Döngüsü

Kemoterapinin temel ilkesi kanserli hücrelerin bölünme ve çoğalmalarını inhibe etmektir. Kanser hücreleri büyüme ve gelişme yeteneklerine göre normal hücrelerden farklılık göstermektedirler. Proto-onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar hücre bölünmesini teşvik eder ve normal hücre döngüsünde kontrol kaybı olur. Birçok sitotoksik kemoterapötik ajan, etkisini çeşitli yollarla hücre döngüsüne müdahale ederek göstermektedir. Antikanser ilaçlarının seçimi etki ettikleri hücre döngüsü aşamalarına göre yapılmaktadır [58].

Hücre döngüsü temel olarak 5 aşamadan oluşmaktadır.

1. G0 (Dinlenme fazı): Mitozdan sonra hücreler bu fazda dinlenme evresine geçerler. G0 evresinde hücreler canlı ve metabolik olarak aktiftirler fakat çoğalmazlar. Bu fazda kemoterapötik ajanların etkisi yok denecek kadar azdır.
2. G1 (post mitotik gap): Bu faz DNA sentezine hazırlık fazı olup DNA sentezi için gereken birçok enzim ve spesifik hücre fonksiyonları için gereken proteinler sentezlenmektedir. Hücre bu dönemde kemoterapiye hassastır.
3. S (sentez fazı): Bu fazda yeni DNA sentezlenir. Birçok antikanser ilacı, bu aşamada DNA'ya etki ederek hücre ölümüne neden olmaktadır
4. G2 (pre mitotik gap): Mitoz için gerekli olan özel proteinler ve RNA sentezi gerçekleşmektedir. Bu fazda etkili olan antikanser ilaçları bulunmaktadır.

5. M (mitoz): S fazında oluşan genetik materyal iki yeni hücreye dağılır. Bu iki yeni hücre ya hücre döngüsüne girer (G1) ya da kemoterapiye dirençli olarak G0 fazında dinlenmeye çekilir [59].

Aktif olarak çoğalan hücreler kemoterapi için oldukça hassastırlar. Buna karşın bölünmeyen hücreler üzerinde antikanser ilaçlarının daha az etkili olduğu bilinmektedir [60]. Kemoterapötik ilaçlar bu ilke temel alınarak geliştirilmektedir. Hücre döngüsünün belli bir fazına etki eden faz spesifik ilaçlar ya da bütün fazlara etkili faz spesifik olmayan ilaçlar geliştirilebilmektedir. Kemoterapi ilaçları ya doğrudan doğruya DNA ile etkileşerek ya da hücre bölünmesi için gerekli olan proteinlere etki ederek hücreyi apoptoza taşıyabilirler [58].

1.3.2. Kemoterapötik Ajanlar ve Etki Mekanizmaları

Alkilleyici ajanlar: Bu gruptaki ilaçlar DNA'nın yapısındaki bazlara kovalent olarak bağlanarak DNA replikasyonunu inhibe etmektedir. Ayrıca DNA çift zincirine etki ederek çapraz bağlanmalara, tek ve çift zincir kırıklarına da neden olabilmektedirler [61]. Alkilleyici ajanlar hücre döngüsünde faz spesifik olmadıkları için herhangi bir fazda etki gösterebilirler. Bu nedenle geniş bir etki spektrumuna sahiptirler. Örneğin: Nitrojen mustard, siklofosfamid, sisplatin.

Antimetabolitler: Antimetabolitler DNA ve RNA sentezinde rol oynayan metabolitlerin analogları oldukları için etkilerini onların yerine geçerek göstermektedirler. Etkilerini ya nükleik asit sentezini gerçekleştiren enzimleri inhibe ederek ya da nükleik asit yapılarında yer alıp erken zincir sonlanmasına sebep olarak göstermektedirler [62]. Bu grup ilaçlar özellikle hücre döngüsünün S fazında etkilidirler. Örneğin: Methotrexate, 6-mercaptopurine, 5 fluorouracil.

Antitümör Antibiyotikler: Bu grupta yer alan bileşikler çok çeşitli olup farklı mekanizmalarla etki göstermektedirler. Etkilerini DNA ile interkalasyon yaparak, tek zincir ve çift zincir kırıklarına yol açarak ya da hücre proteinlerinde hasara neden olabilecek serbest radikaller üreterek göstermektedirler [62]. Örneğin: Bleomycin, daunorubicin, doxorubicin.

Mitotik inhibitörler: Mitotik inhibitörler 2 sınıfta incelenmektedir.

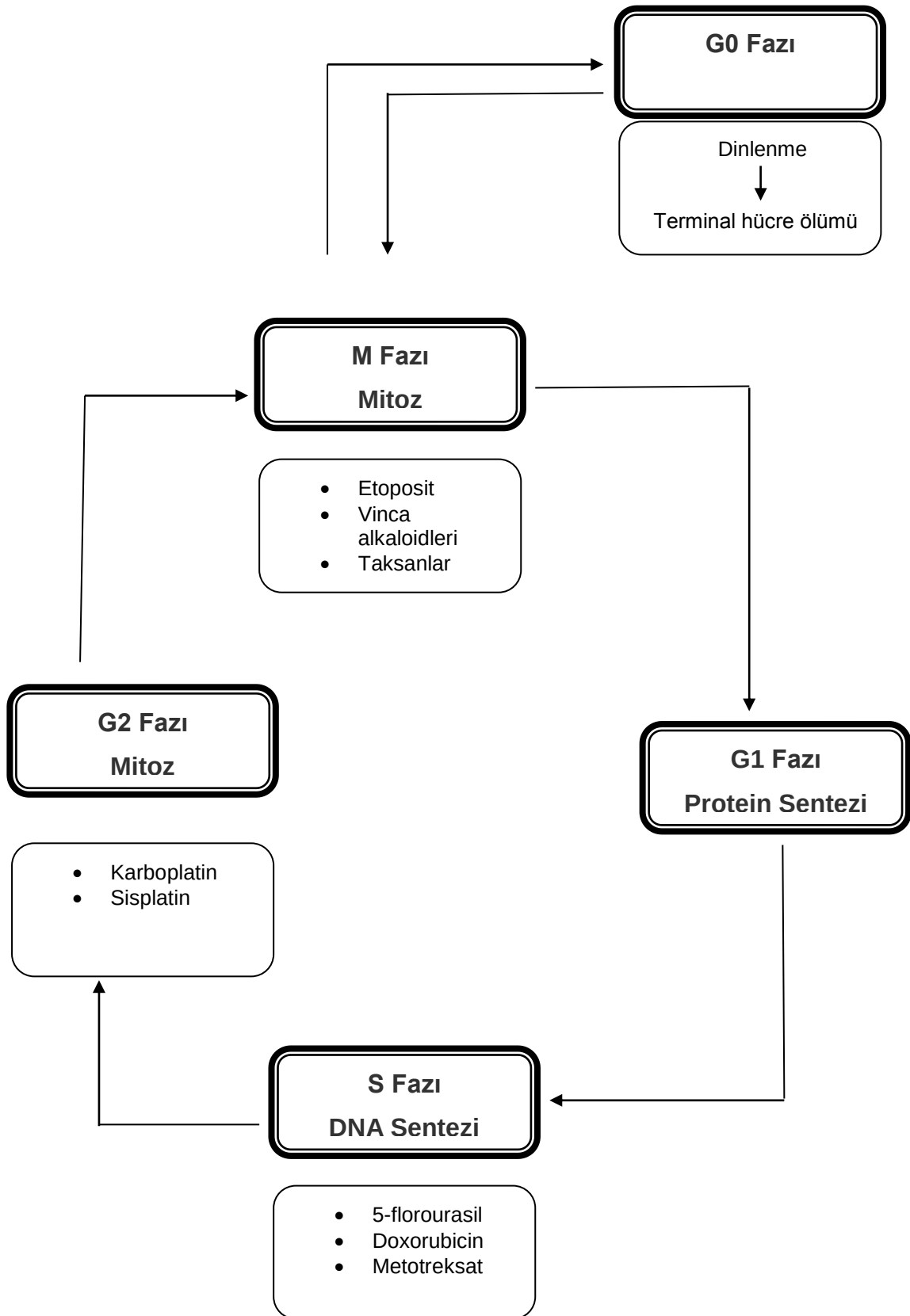
a- Tübülin Bağlayıcı İlaçlar: Vinka alkaloidleri tübüline spesifik olarak bağlanarak mikrotübüllerin sentezini inhibe etmektedir. Taksanlar ise, mikrotübüllerin ayrılmalarını önleyerek normal fonksiyonunu engellemektedir.

b- Topoizomerez İnhibitorleri: DNA' nın 3 boyutlu yapısını kontrol altında tutmakla görevli olan topoizomerez I ve topoizomerez II enzimlerinin aktivitelerini inhibe ederler. Örneğin: İrinotecan (topo I), etoposide (topo II) [58].

Diğer İlaçlar: L-asparajinaz protein sentezini önlerken, prokarbazin DNA' yı metilleyerek etki etmektedir [63].

Kemoterapötik ajanlar sitotoksik etkilerini hücre döngüsünün çeşitli fazlarında göstermektedirler. Bazı kemoterapötik ajanların hücre döngüsünde etki ettikleri basamaklar Çizelge 1. 6' da gösterilmektedir [60].

Çizelge 1. 6. Kemoterapi ve hücre döngüsü [60]



1.4. Benzotiyazol Türevleri

Benzotiyazoller C_7H_5NS moleküler formülüne sahip, benzen ve tiyazol halkalarının kondanse olmasıyla oluşmuş aromatik organik bileşiklerdir. Benzotiyazol halkasının kimyasal yapısı Şekil 1. 2' de gösterilmiştir [64].



Şekil 1. 2. Benzotiyazolün kimyasal yapısı [64]

Benzotiyazoller, yapılarında elektronca zengin kükürt ve azot atomları taşıyan antibakteriyel, antifungal ve antiviral özellikler gibi çok geniş biyolojik aktiviteye sahip moleküllerdir [14, 64-70].

Benzotiyazol iskeleti biyolojik olarak aktif bir şekilde kullanılan birçok bileşik için önemli bir şablon oluşturmaktadır. Bu molekül ve türevlerinin güçlü antitümoral ajanlar, kalmodulin antagonistleri, nörotransmisyonu bloke eden ve nöroprotektif ajan oldukları bilinmektedir. Benzotiyazol tipi bileşiklerin antikanser ilaç geliştirilmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Ek fonksiyonel grupların eklenmesiyle modifiye edilen benzotiyazol türevlerinin büyük olasılıkla bu bileşiklerin biyolojik potansiyellerini arttırdığı düşünülmektedir [71].

Yapılan çalışmalar benzotiyazol halka sisteminin en fazla 2. konumundan sübstitüe edildiğini ortaya koymaktadır [8, 72-74]. 2 sübstitüe benzotiyazol ilk olarak 1887 yılında A. Wilhelm Hofmann tarafından sentezlenmiş olup sonrasında biyolojik aktivitelerinin çeşitliliğinden ve siklizasyon mekanizmasının basitliğinden dolayı çeşitlendirilmiştir [75].

Bazı 2-amino benzotiyazol türevlerinin tümör hücreleri üzerinde sisplatin ile benzer bir şekilde etki eden sitotoksositeye sahip olduğu belirtilmiştir [76]. Ayrıca sentetik olarak elde edilebilen 2-arilbenzotiyazol iskeletinin son yıllarda farklı etki mekanizmalarına sahip antitümöral ajanların geliştirilmesine olanak sağladığı bilinmektedir [71]. Choi ve arkadaşlarının [77] yaptıkları bir çalışmada 2-fenoksimetil

benzotiyazol' ün çok yüksek topoizomerez II inhibitör aktivitesine sahip olduğu rapor edilmiştir.

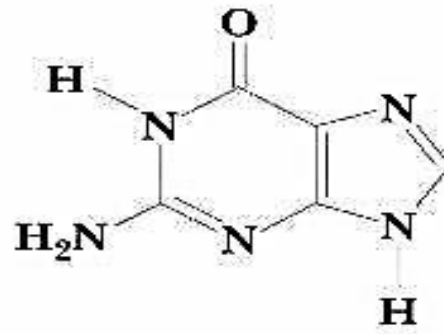
Heterosiklik bileşiklerde, 2. konumdan süstitüe gruplar biyolojik aktiviteyi belirlerken [78-80] diğ er konumlardaki grupların etki ş iddetinde rol oynadığı düşünölmektedir [81-84].

Heterosiklik bileşiklerin önemli bir sınıfını teşkil eden benzotiyazoller, nükleik asitlerin yapısında yer alan pürin bazlarından adenin ve guaninin (Ş ekil 1. 3) yapısal analoglarıdır. Nükleik asit sentezinin inhibisyonu kemoterapötik aktivitenin etki mekanizmalarından biridir [10]. Bu yönde etki eden bileşikler DNA ile kompleks oluşturarak deoksiguanozin kalıntılarına bağlanmaktadır. Oluş an DNA-ilaç kompleksleri DNA' ya bağımlı RNA polimerazı inhibe ederek, mRNA oluşumunu engellemektedir. Benzotiyazol türevi bileşikler de nükleik asitlerin yapısındaki heterosiklik bazların halka eşdeğ erleri olduğ undan, kemoterapötik işlevlerini bu yolla gösterebilecekleri düşünölmektedir [74].

a)



b)



Ş ekil 1. 3. Adenin (a) ve guaninin (b) yapısı [74]

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Test Suşları

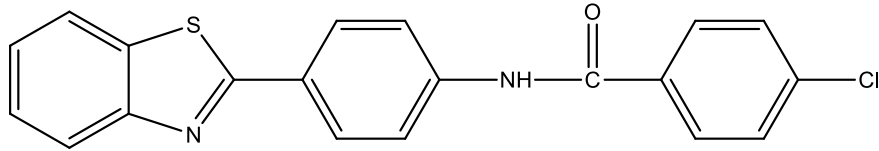
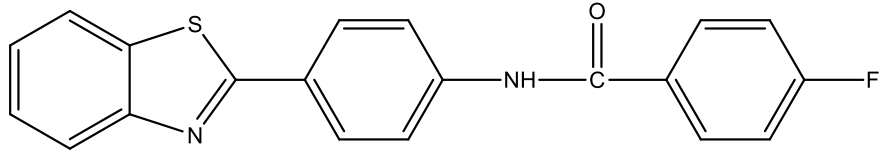
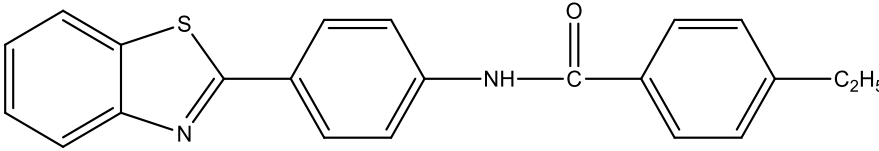
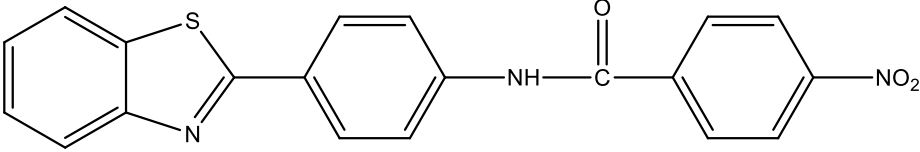
Ames test sisteminde kullanılan *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları Dr. Bruce N. Ames' ten sağlanmıştır (Kaliforniya Üniversitesi, Berkeley).

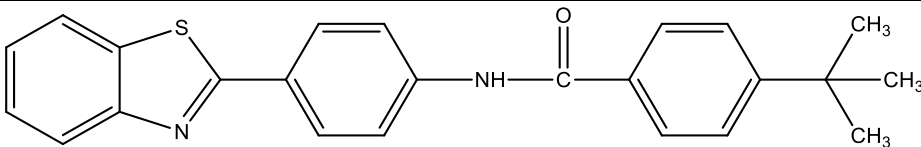
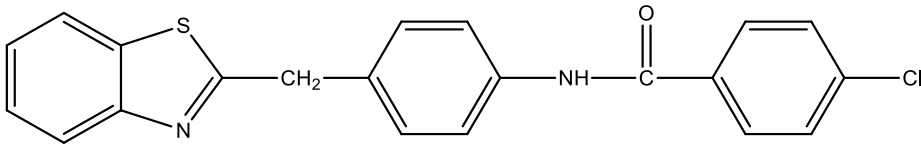
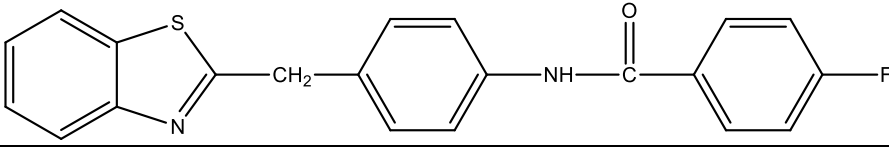
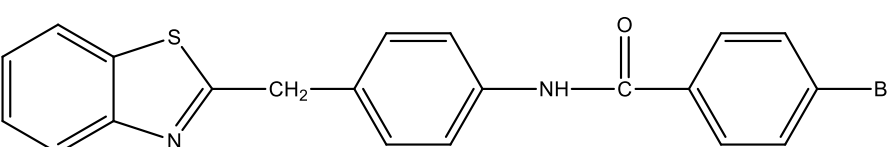
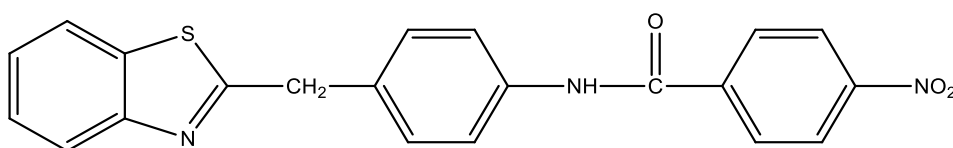
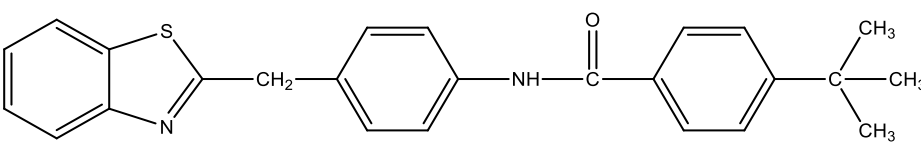
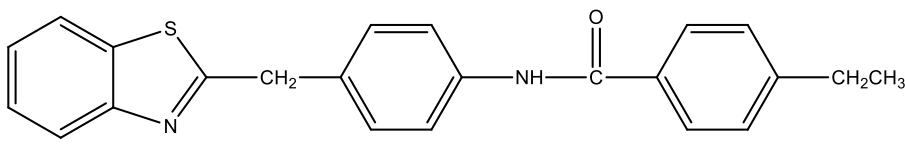
2.2. Kimyasal Maddeler

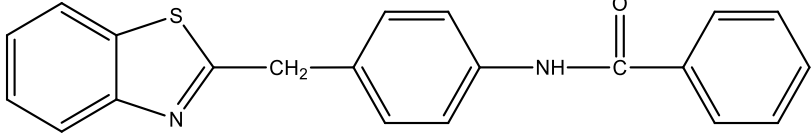
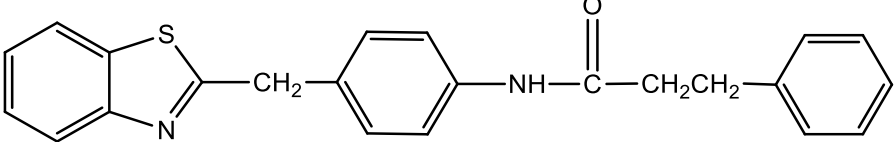
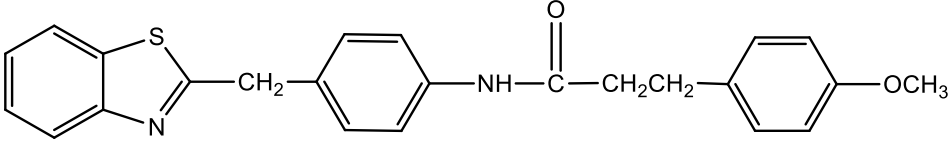
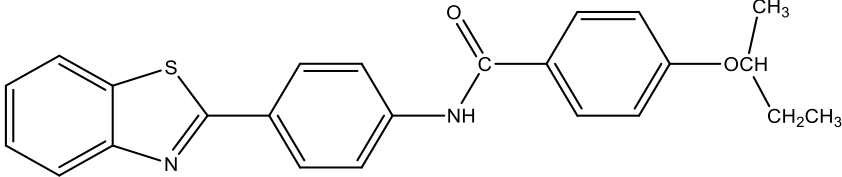
2.2.1. Test Edilen Kimyasal Maddeler

2. konumdan süstitüe edilmiş benzotiyazol türevi bileşikler Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasotik Kimya Anabilim Dalı' nda sentezlenmiştir. Kimyasal maddelerin formülleri ve molekül ağırlıkları Çizelge 2. 1' de verilmiştir.

Çizelge 2. 1. Deney sisteminde test edilen kimyasal maddeler

No	Formül	M.A.
1		364,85
	2-[4-[4-Klorobenzamido] fenil] benzotiyazol	
2		348,39
	2-[4-[4-Florobenzamido] fenil] benzotiyazol	
3		358,46
	2-[4-[4-Etilbenzamido] fenil] benzotiyazol	
4		375,40
	2-[4-[4-Nitrobenzamido] fenil] benzotiyazol	

5		386,51
	2-[4-[4-<i>tert</i>-Butilbenzamido] fenil] benzotiyazol	
6		378,87
	2-[4-[4-Klorobenzamido] benzil] benzotiyazol	
7		362,42
	2-[4-[4-Florobenzamido] benzil] benzotiyazol	
8		423,33
	2-[4-[4-Bromobenzamido] benzil] benzotiyazol	
9		389,43
	2-[4-[4-Nitrobenzamido] benzil] benzotiyazol	
10		400,54
	2-[4-[4-<i>tert</i>-Butilbenzamido] benzil] benzotiyazol	
11		372,48
	2-[4-[4-Etilbenzamido] benzil] benzotiyazol	

12		344,43
	2-[4-Benzamidobenzil] benzotiyazol	
13		372,48
	2-[4-[3-Fenilpropanamido] benzil] benzotiyazol	
14		402,51
	2-[4-[3-[4-Metoksifenil] propanamido] benzil] benzotiyazol	
15		402,51
	2-[4-[4-sec-Butoksibenzamido] fenil] benzotiyazol	

2.2.2. Çözücüler

Ames test sistemine uyumlu organik çözücü dimetilsülfoksit (DMSO) kullanılmıştır.

2.2.3. Pozitif Mutajenler

Ames test sisteminde metabolik aktivasyon yokluğunda *S. typhimurium* TA100 suşu için sodyum azit (1,5 µg/plak) (Sigma) *S. typhimurium* TA98 suşu için danomisin (6 µg/plak) (Deva Holding A.Ş.) kullanılmıştır.

2.2.4. Diğer Kimyasal Maddeler

D-biyotin, L-histidin-HCl monohidrat, kristal viyole, sitrik asit monohidrat, D- glukoz, ve sodyum amonyum fosfat Sigma' dan; Oxoid agar, Oxoid broth No: 2 Oxoid' den; ampisilin trihidrat ve DMSO Fluka' dan; magnezyum sülfat Riedel-de Haën' den, potasyum fosfat ve NaCl Merck'ten sağlanmıştır.

2.2.5. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddelerin Hazırlanması

Test edilen kimyasal maddelerin tümü %100 DMSO içerisinde çözüldü.

2.2.6. Çalışmada Kullanılan Besi Ortamları ve Çözeltiler

Vogel Bonner Tuz Çözeltisi (50xVB)

1000 ml için

Magnezyumsülfat ($MgSO_4 \cdot H_2O$)	10 g
Sitrik asit monohidrat	100 g
Potasyumfosfat (K_2HPO_4)	500 g
Sodyumamonyumfosfat ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$)	175 g
Distile su	670 ml

Tuzlar tabloda verilen sırayla sıcak distile suya eklendi. Son hacim 1000 ml' ye tamamlanarak otoklavda steril edildi. Minimal agarlı ve histidin/biyotin/ampisilinli ortamların hazırlanmasında kullanıldı.

(0.05 mM) Histidin/Biyotin Çözeltisi

250 ml için

D-Biyotin (MA: 247,3)	0.0309 g
L- Histidin. HCl (MA: 191, 7)	0.024 g
Distile su	250 ml

Mutajenite deneylerinde 100 ml' lik üst agara 10 ml histidin/biyotin çözeltisi eklendi. *S. typhimurium* mutant suşlarının histidin oksotrofu olmaları sebebiyle, ortamda histidin/biyotin çözeltisinin olmadığı durumda üremeleri gerçekleşmeyecektir. Bu nedenle ortama konan çok az miktardaki histidin/biyotin çözeltisi bakterilerin birkaç bölünme geçirmelerine izin vermektedir.

Üst (yumuşak) Agar**100 ml için**

Agar	0.6 g
NaCl	0.5 g
Distile su	100ml

Bu karışım 20 dakika 121 °C' de steril edildi. Mutajenite deneylerinde homojen bir ortam sağlamak amacıyla kullanıldı.

Ampisilin Çözeltisi (8 mg/ml)**100 ml için**

Ampisilin trihidrat	0.8 g
Sodyum hidroksit (0.02N)	100 ml

Bu çözelti pKM101 plazmiti taşıyan her iki suşun genetik işaretlerinin kontrolünde ve master plakların hazırlanmasında kullanıldı.

Kristal Viyole çözeltisi (% 0, 1)**100ml için**

Kristal viyole	0.1g
Distile su	100 ml

Suşların kristal viyole duyarlılıklarını, dolayısıyla *rfa* mutasyonu taşıyıp taşımadıklarını kontrol etmek amacıyla kullanıldı.

Minimal Glukoz Agarlı Ortam (MGA)**1000 ml için**

Agar	15 g
50xVB tuzları	20 ml
% 20 glukoz çözeltisi	100 ml
Distile su	880 ml

Agar ve distile su karıştırılarak otoklavlandı. Üzerine steril edilen % 20 glukoz çözeltisi ve 50xVB tuzları yavaşça karıştırılarak eklendi. Bu ortam suşların kendiliğinden geri dönen koloni sayılarının saptanması ve mutajenite deneylerinde kullanıldı.

Histidin/Biyotin/Ampisilinli Ortam

1000 ml için

Agar	15 g
50xVB tuzları	20 ml
% 20 glukoz çözeltisi	100 ml
Steril histidin. HCl. H ₂ O (% 0. 5)	10 ml
Steril 0. 5 mM biyotin	6 ml
Steril ampisilin çözeltisi	3.15 ml
Distile su	860 ml

15 g agar tartılıp distile suya eklendi ve otoklavda steril edildi. 45° C' ye soğutulan, % 20 glukoz çözeltisi, 50xVB tuzları, histidin, biyotin ve ampisilin çözeltileri bu karışıma eklendi. Bu ortam pKM101 plazmiti taşıyan suşların dirençlilik özelliklerinin test edilmesi amacıyla kullanıldı.

Nutrient Agarlı Ortam (NA)

1000 ml için

Oxoid Nutrient Broth No:2	15 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Bu ortam bakteri üretmek için kullanılan katı ortamdır. Test suşlarının kristal viyole ve UV' ye duyarlılık özelliklerinin test edilmesi, sitotoksik etkinin belirlenmesi amacıyla kullanıldı.

Nutrient Broth Sıvı Kültür Ortamı (NB)

1000 ml için

Oxoid Nutrient Broth No:2

15 g

Distile su

1000 ml

Bu ortam bakterileri üretmek amacıyla gecelik kültürlerin hazırlanmasında kullanıldı.

2.3. Çalışmada Kullanılacak Test Suşlarının Üretilmesi

-80 °C' de dondurulmuş olarak veya liyofilize olarak saklanan mutant *S. typhimurium* suşları başlangıçta nutrient broth içeren sıvı ortamlara ekilerek üretildi. Bir damla sulandırılmış kültürden nutrient agar plağına tek koloni ekimi yapıldı. 37 °C' de bir gecelik inkübasyonun ardından üreyen tek koloniler alınarak ayrı ayrı histidin, biyotin ve ampisilin ile desteklenmiş minimal glukoz agarlı plaklara ekildi. Zengin besiyeri olan nutrient agarlı plaklar yerine, histidin ve biyotinle zenginleştirilmiş minimal glukoz agarlı plaklara ekim yapılması kontaminasyon riskini azaltmaktadır [17].

Ames testinde, sitotoksosite ve mutajenite deneylerinde gecelik kültür yoğunluğunun $1-2 \times 10^9$ bakteri/ml olması öngörülmektedir. Bu amaçla bakterinin üreme durumu, nutrient agarlı plaklarda canlı hücre sayımı yapılarak kontrol edildi.

2.3.1. Çalışmada Kullanılacak Test Suşlarının Genetik İşaretlerinin Kontrolü

Ames testinin güvenilirliği açısından test suşlarının orijinal mutasyonlara sahip olup olmadığı kontrol edildi.

2.3.2. Histidin Gereksinimi Kontrolü

Test suşlarının *his⁻* karakteri, suşların MGA plaklarına ekilmeleri yoluyla kontrol edildi. Tüm test suşları *uvrB* delesyonu nedeniyle, histidine ek olarak biyotine de gereksinim duymaktadırlar. Bu karakterin kontrolü için suşlar; MGA' 1ı, histidin içeren, biyotin içeren ve histidin/biyotin içeren plaklara ekildi. 37 °C' de 48 saatlik inkübasyonun ardından, suşların histidin varlığında üreyip, histidin yokluğunda ürememeleri sonucunda *his⁻* karakterlerini doğrulandı (Şekil 2.1).



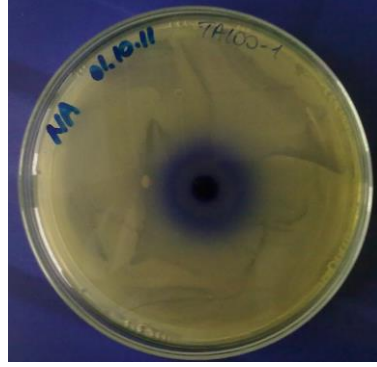
Şekil 2.1. *S. typhimurium* TA100 Suşunun MGA ve Histidin İçeren Besi Ortamlarında Üreme Durumları

2.3.3. pKM101 Plazmit Varlığının Kontrolü

Test suşlarının pKM101 plazmitlerini kaybedip kaybetmedikleri, ampisiline dirençliliğinin ölçülmesi ile tespit edildi. Bunun için histidin/biyotin/ampisilin içeren MGA' lı plaklar hazırlanarak suşların ekimi yapıldı. 37 °C' de 48 saatlik bir inkübasyon sonucu, pKM101 plazmidi taşıyan her iki suşun da ampisilinli plaklarda ürediği gözlemlendi.

2.3.4. *rfa* Mutasyonu Kontrolü

Bakteri hücre duvarının lipopolisakkarit tabakasının sentezinde görev alan enzimleri kodlayan genlerde meydana gelen bu mutasyon ile hücre zarının geçirgenliği arttırılmıştır. Böylelikle hücre duvarından geçemeyen büyük moleküllerin hücre içine girişi kolaylaştırılmış olur. Histidin ve ampisilin dirençlilik karakterleri doğrulanan kolonilerin gecelik kültürlerinden alınan 0.1 ml' lik örnekler nutrient agarlı plaklara ekilip yayıldı. Filtre kağıdından hazırlanmış 10 µl kristal viyole çözeltisi (1 mg/ml) emdirilmiş steril diskler plağın ortasına yerleştirildi. Plaklar bir gece 37 °C' de inkübe edildikten sonra diskin etrafında inhibisyon zonu gözlemlendi. Diskin çevresindeki şeffaf bölge büyük bir molekül olan kristal viyolenin bakteri içerisine girip onu öldürmesine izin veren *rfa* mutasyonunun varlığının göstergesidir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. *S. typhimurium* TA100 Suşunda *rfa* Mutasyonunun Kontrolü

2.3.5. *uvrB* Mutasyonu Kontrolü

Bu mutasyon DNA onarım sisteminde kesip çıkarma işleminde görevli enzimi kodlayan *uvrB* genindeki delesyon sonucu oluşmuştur. *uvrB* mutasyonu taşıyan suşlar mutajenite taramalarında daha hassastır. Ancak bu mutasyon oluşturulurken, *uvrB* geninin kesilerek uzaklaştırılması sırasında bu delesyon biotin (bio) genine kadar uzanmaktadır. Bu nedenle, bakteriler üreyebilmeleri için histidinin yanında biyotine de gereksinim duymaktadırlar. Bu mutasyonun kontrolü amacıyla daha önce diğer karakterleri doğrulanan koloniler, steril kürdanlarla alınarak nutrient agarlı iki plağa çizgi ekim yöntemi ile ekildi. Bu plaklardan bir tanesi kontrol plağı olarak kullanıldı, diğeri ise kapağı açılıp 15 watt'lık germisidal UV lambası altında 33 cm uzaklıktan 8 sn süreyle ışınlandı. Kontrol plağı ve UV'ye maruz bırakılan plak 37 °C'de bir gece inkübe edildi. *uvrB* delesyonu taşıyan suşların kontrol plağında üreyip UV ile ışınlanmış plaklarda ürememeleri bu mutasyonun varlığını doğrulamıştır.

2.3.6. Kendiliğinden Geri Dönen Koloni Sayısının Belirlenmesi

Test suşlarının geçirdikleri mutasyonlar sonucu histidinsiz ortamda üreyebilmelerini mümkün kılan kendiliğinden geri dönüş frekansı mutajenite deneyleriyle ölçüldü. Her test suşu kendine özgü bir frekansla geriye dönmektedir. Bu frekans *S. typhimurium* TA100 suşu için 75-200 koloni aralığındayken, *S. typhimurium* TA98 suşu için 20-50 koloni aralığındadır. Kendiliğinden geri dönüş frekanslarını saptayabilmek için MGA'lı plaklar hazırlandı. %0.6 Oxoid agar ve %0.5 NaCl içeren 100 ml'lik üst agar 48 °C'lik su banyosunda eritilerek üzerine 10 ml steril 0.5 mM L-histidin. HCl/biotin çözeltisi eklendi ve tüplere 2.5 ml olacak şekilde dağıtıldı. Bu tüplere her suşun gecelik kültüründen 0.1 ml eklendi ve MGA plaklarının üzerine homojen bir şekilde dağılması

sağlandı. 37 °C’ de 48 saatlik inkübasyonun ardından kendiliğinden geri dönen kolonilerin sayımı yapıldı.

2.3.7. Çalışmada Kullanılacak Test Suşlarının Dondurulması ve Saklanması

Tüm genetik işaretleri doğrulanan test suşlarının, uzun süre genetik işaretlerini muhafaza ederek saklanabilmesi için dondurulmuş örnekler hazırlandı. Bu amaçla ilk olarak suşlar sıvı üreme ortamında $1-2 \times 10^9$ bakteri/ml olacak şekilde üretildi. Bakteri kültürlerine, kültürün her 1 ml’ si için 0.09 ml olacak şekilde DMSO eklendi ve yavaşça karıştırıldı. Hazırlanan kültürler 1-2 ml’ lik steril ependorf tüplere dağıtıldı. Dağıtımdan hemen sonra tüpler sıvı azot kullanılarak -20 °C’ de donduruldu ve -80 °C’ lik derin dondurucuya kaldırıldı. Bu şekilde dondurulmuş örneklerin, genetik özelliklerini kaybetmeden üç yıl saklanabileceği belirtilmektedir [17].

2.3.8. Master Plakların Hazırlanması

Mutajenite çalışmalarında kullanılmak üzere her iki suş için master plaklar hazırlandı. İyi izole olmuş bir koloni seçilip histidin, biyotin ve ampisilin ile desteklenen bir MGA plağı üzerine transfer edildi. Bu plaklar 37 °C’ de 48 saat inkübe edildi. Hazırlanan master plaklar ile *S. typhimurium* TA98 ve *S. typhimurium* TA100 suşları +4 °C’ de 2 ay süreyle saklanabilmektedir [17].

2.4. Ames Test Sistemi

2.4.1. Sitotoksik Etkinin Saptanması

Ames test sisteminde kullanılan test bileşiklerinin bakteri için öldürücü olmayan dozunun saptanması amacıyla 2.5 ml üst agara 0.1 ml bakteri kültürü ve 0.1 ml’ den fazla olmamak şartıyla test bileşiklerinin farklı konsantrasyonları eklendi. Tüpteki karışım nutrient agarlı plaklara dökülerek plaklar 37 °C’ de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra plaklardaki koloniler sayıldı ve kontrol plakları ile karşılaştırılarak sitotoksik doz belirlendi.

2.4.2. Mutajenik Etkinin Saptanması

Test edilecek kimyasal maddenin farklı derişimleri ve bakteri suşunun bir araya getirilerek homojen bir şekilde MGA' lı plaklara yayılması sağlandı. Suşlar için pozitif ve negatif kontrol plakları varlığında mutajenite deneyleri yapıldı. Pozitif kontrol olarak, *S. typhimurium* TA98 için danomisin, *S. typhimurium* TA100 için sodyum azit kullanıldı. Çalışma sırasında test suşundan 0.1 ml ve test edilen kimyasal maddenin farklı miktarlardaki dozlarından 0.1 ml, histidin-biyotin çözeltisi içeren 2.5 ml üst agara eklendi ve karışım vortekslendi. Tüp içeriği MGA' lı plaklara yayılarak 2 gece inkübasyona bırakıldı. 37 °C' de 2 gece inkübasyonun ardından his⁺ olan koloniler sayıldı. Kimyasal maddelerin her dozu için 3' er plak kullanıldı. Her deneyde suşların geri dönme özgülüklerini doğrulamak amacıyla pozitif mutajen kontrolleri yapıldı. Test edilen kimyasal maddeyi ve pozitif mutajeni içermeyen, yalnızca bakteri ve çözücü içeren negatif kontrol plakları, her iki suş için kendiliğinden geri dönen koloni sayısının saptanmasında kullanıldı.

2.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

Bu çalışmada uygulanan her kimyasal maddenin etkisiyle geri dönen koloni sayıları kaydedildi. Ames test sisteminde bir maddeye mutajen denilebilmesi için histidin prototroflarının sayısının, kendiliğinden geriye dönen koloni sayısının en az iki katı olması gerekmektedir. Bununla birlikte bu sayı kendiliğinden geri dönen koloni sayısının iki katından az olup, doza bağlı bir artış söz konusu olursa, bu durumda da bu maddeye mutajen denilebilmektedir [30, 17].

Kontrol plakları ile kimyasal maddenin farklı konsantrasyonlarının denendiği plaklar arasında farklılık olup olmadığı SPSS 16. 0 paket programı yardımıyla ANOVA çözümlemesine göre yorumlandı. Kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösteren grup/gruplar kontrol grubu değerlerinden yüksek ise bu grup/grupların mutajenik potansiyele sahip olabileceği kabul edildi.

3. BULGULAR

Tez çalışması kapsamında, kemoterapötik etkili olabileceği düşünülen yeni sentezlenmiş 2. konumdan süstitüe 15 adet benzotiyazol türevi bileşiğın mutajenik potansiyelleri Ames test sistemi ile değeriendirildi. Deneylere başlamadan önce her iki test suşunun genetik işareti kontrol edildi.

3.1. Test Suşlarının Üreme Durumları

Ames test sisteminde kullanılan bakteri kültürlerrinin mililitresinde $1-2 \times 10^9$ canlı bakteri sayısı olması önerilmektedir [30]. *S. typhimurium* TA98 suşu için kültür yoğunluğunun mililitresinde bulunması gereken canlı bakteri sayısına inkübasyonun 5. saatinde ulaşılmaktadır [85]. Bu sebeple gece boyunca üretilen *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları sabah taze üreme ortamlarına alınarak 5 saat inkübasyonun ardından %0.9' luk NaCl çözeltisi ile uygun oranlarda seyreltilip 0. 01 ml hacminde nutrient agarlı plaklara nokta şeklinde ekildi. 37 °C' de 1 gecelik inkübasyonun ardından plaklardaki koloniler sayıldı ve *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları için kültürlerin mililitresinde olması gereken canlı bakteri sayısı doğrulandı.

3.2. Ames Testi Sonuçları

Plak inkorporasyon mutajenite testi öncesinde, test edilen kimyasal maddelerin sitotoksik dozları değeriendirildi. 1, 5 ve 6 numaralı bileşikler için 200 µg/plak; 8 numaralı bileşik için ise 150 µg/plak dozu sitotoksik bulundu. Kimyasal maddelerin çözünebildikleri, sitotoksik olmayan en yüksek dozdan başlanarak 5 farklı dozda mutajenite deneyleri gerçekleştirildi. 2, 3, 4, 7, 9, 10, 11 12, 13, 14, 15 numaralı bileşikler için 50-200 µg/plak; 1, 5 ve 6 numaralı kimyasallar için 25-150 µg/plak ve 8 numaralı bileşik için ise 25-100 µg/plak dozlardaki mutajenik etkinlikleri araştırıldı. Test edilen her doz için 3' er plak kullanılarak ve farklı günlerde en az 2 tekrar olmak üzere mutajenite deneyleri gerçekleştirildi (n=3). *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarına ait mutajenite deney sonuçları Çizelge 3. 1- 15' de gösterilmiştir.

Çizelge 3. 1. 1 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Döner Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	27,0 ± 2,6	162,3 ± 21,2
25	22,0 ± 9,5	143,6 ± 11,5
50	23,3 ± 8,1	153,6 ± 30,6
75	26,3 ± 4,1	114,3 ± 1,1*
100	26,0 ± 6,2	112,3 ± 9,6*
150	24,3 ± 5,7	149,0 ± 9,5
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

* : $p < 0,05$ (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan gruplar)

Çizelge 3. 2. 2 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Dönen Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	28,0 ± 2,5	161,3 ± 3,0
50	28,0 ± 4,1	158,3 ± 18,2
75	25,0 ± 0,5	139,6 ± 20,0
100	28,0 ± 1,5	162,6 ± 34,5
150	27,0 ± 5,5	125,3 ± 14,5
200	26,0 ± 2,6	148,6 ± 20,7
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

p < 0, 05 (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan grup bulunmamaktadır)

Çizelge 3. 3. 3 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Dönen Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	26,7 ± 0,6	143,6 ± 6,0
50	38,7 ± 5,7*	157,0 ± 3,6
75	39,3 ± 2,1*	142,3 ± 10,6
100	23,7 ± 2,9	127,3 ± 5,5
150	31,3 ± 4,5	120,3 ± 12,5
200	21,7 ± 1,5	112,0 ± 21,7*
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

* : $p < 0,05$ (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan gruplar)

Çizelge 3. 4. 4 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Dönen Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	26,7 ± 0,6	124,0 ± 3,5
50	39,6 ± 2,1*	99,0 ± 3,6
75	36,3 ± 7,4	96,0 ± 14,0
100	29,7 ± 6,7	115,7 ± 5,6
150	40,3 ± 4,5*	115,3 ± 25,0
200	29,3 ± 1,1	89,3 ± 14,2*
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

* : p < 0, 05 (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan gruplar)

Çizelge 3. 5. 5 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Dönen Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	27,0 ± 2,6	127,3 ± 4,5
25	33,3 ± 9,2	162,0 ± 33,8
50	26,6 ± 0,5	118,6 ± 30,0
75	24,6 ± 2,0	143,3 ± 4,9
100	25,6 ± 5,1	138,6 ± 4,7
150	19,6 ± 4,1	107,6 ± 6,8
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

p < 0, 05 (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan grup bulunmamaktadır)

Çizelge 3. 6. 6 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Döner Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	32,3 ± 4,0	126,0 ± 13,2
25	29,6 ± 2,3	127,3 ± 4,0
50	30,6 ± 5,5	150,6 ± 12,8
75	33,3 ± 9,6	251,3 ± 24,5*
100	31,6 ± 5,5	299,3 ± 14,0*
150	31,0 ± 12,1	401,6 ± 67,2*
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

* : p < 0, 05 (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan gruplar)

Çizelge 3. 7. 7 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Dönen Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	31,6 ± 6,1	161,3 ± 3,1
50	27,3 ± 5,5	117,6 ± 5,0
75	27,3 ± 8,9	109,6 ± 35,8
100	24,6 ± 7,0	130,6 ± 9,3
150	30,3 ± 3,5	133,0 ± 17,1
200	21,6 ± 4,9	143,0 ± 19,0
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

p < 0, 05 (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan grup bulunmamaktadır)

Çizelge 3. 8. 8 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Döner Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	27,0 ± 2,6	140,0 ± 22,9
25	25,0 ± 1,0	131,6 ± 15,9
50	22,0 ± 10,4	122,3 ± 11,9
75	22,6 ± 3,7	146,3 ± 2,1
100	20,0 ± 5,5	118,0 ± 8,5
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

p < 0, 05 (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan grup bulunmamaktadır)

Çizelge 3. 9. 9 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Dönen Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	32,3 ± 4,0	90,6 ± 17,4
50	39,0 ± 7,5	123,3 ± 5,6
75	32,6 ± 6,5	106,6 ± 24,9
100	32,0 ± 6,0	95,0 ± 17,3
150	23,0 ± 7,8*	119,3 ± 2,8
200	20,6 ± 5,8*	85,3 ± 27,5
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

* : $p < 0,05$ (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan gruplar)

Çizelge 3.10. 10 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Döner Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	37,6 ± 1,5	126,0 ± 13,2
50	39,0 ± 4,5	641,3 ± 28,1*
75	38,3 ± 16,2	936,3 ± 41,2*
100	45,3 ± 9,6	1070,7 ± 166,1*
150	41,0 ± 12,3	1046,6 ± 218,0*
200	32,6 ± 2,5	1287,6 ± 172,7*
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

* : p < 0, 05 (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan gruplar)

Çizelge 3.11. 11 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Döner Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	40,0 ± 8,1	131,0 ± 23,3
50	40,3 ± 1,1	114,3 ± 21,3
75	35,0 ± 5,5	122,3 ± 22,3
100	35,6 ± 8,3	121,0 ± 6,5
150	46,6 ± 9,6	109,0 ± 10,4
200	31,3 ± 6,5	148,0 ± 48,4
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

p < 0, 05 (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan grup bulunmamaktadır)

Çizelge 3.12. 12 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Döner Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	27,0 ± 2,6	143,3 ± 23,6
50	28,3 ± 10,4	181,3 ± 24,9
75	30,0 ± 10,1	227,6 ± 10,7*
100	23,3 ± 7,6	254,3 ± 12,9*
150	25,3 ± 6,6	337,3 ± 29,5*
200	23,0 ± 8,5	127,3 ± 8,1
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

* : p < 0, 05 (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan gruplar)

Çizelge 3.13. 13 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Döner Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	32,3 ± 4,0	90,6 ± 17,4
50	34,0 ± 17,5	115,6 ± 7,0
75	29,6 ± 7,2	96,3 ± 14,2
100	28,6 ± 4,5	106,6 ± 21,8
150	27,3 ± 4,0	109,6 ± 15,5
200	31,0 ± 2,6	107,6 ± 13,2
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

p < 0, 05 (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan grup bulunmamaktadır)

Çizelge 3.14. 14 numaralı bileşğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Döner Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	31,6 ± 6,1	143,6 ± 6,0
50	24,7 ± 1,5	186,3 ± 26,4
75	24,3 ± 8,1	162,3 ± 13,4
100	24,7 ± 2,5	172,7 ± 54,1
150	27,0 ± 2,6	185,6 ± 21,2
200	22,7 ± 4,8	160,0 ± 30,3
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

p < 0, 05 (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan grup bulunmamaktadır)

Çizelge 3.15. 15 numaralı bileşiğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşlarında geriye dönen koloni sayılarına etkisi

Denenen doz µg/plak	Geriye Döner Koloni Sayısı	
	TA98	TA100
0	25,3 ± 3,7	131,0 ± 14,4
50	23,3 ± 8,5	143,0 ± 6,0
75	25,0 ± 6,9	153,3 ± 23,4
100	23,0 ± 2,6	125,3 ± 11,8
150	26,3 ± 2,5	147,0 ± 3,6
200	25,3 ± 2,0	132,0 ± 12,2
Pozitif Kontroller		
Danomisin 6 µg/plak	211,3 ± 83,2	-
Sodyum azit 1,5 µg/plak	-	2650,3 ± 574,2

$p < 0,05$ (Dunnett t-testine göre farklılık yaratan grup bulunmamaktadır)

SPSS 16.0 programı kullanılarak yapılan ANOVA çözümlemesine göre;

1 no' lu bileşik için, *S. typhimurium* TA100 suşunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 75 ve 100 µg/plak dozlarında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir ($p < 0,05$). Ancak anlamlı farklılığı yaratan grupların geriye döner koloni sayıları, kontrol grubuna göre düşük olduğundan bu farklılık mutajenik etki olarak değerlendirilmemiştir. *S. typhimurium* TA98 suşunda ise bu bileşiğin denenen dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p < 0,05$).

3 no' lu bileşik için yapılan Dunnett t testine göre, *S. typhimurium* TA100 suşunda 200 µg/plak dozunda, *S. typhimurium* TA98 suşunda ise 50 ve 75 µg/plak dozlarında kontrol grubu ile deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p<0,05$). Bu farklılık *S. typhimurium* TA100 suşunda mutajenik etki olarak değerlendirilmezken, *S. typhimurium* TA98 suşunda kontrol grubuna göre artış gözleendiğinden mutajenik etki olarak kabul edilmiştir.

4 no' lu bileşik için, *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında kontrol grubu ile deney grupları arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). Analiz sonuçlarına göre *S. typhimurium* TA100 suşundaki farklılık mutajenik etki olarak değerlendirilmemiştir. Ancak *S. typhimurium* TA98 suşunda kontrol grubu ile kıyaslandığında 50 ve 150 µg/plak dozlarında görülen geriye dönen koloni sayısındaki anlamlı artış mutajenik etki olarak değerlendirilmiştir ($p<0,05$).

6 no' lu bileşik için, *S. typhimurium* TA100 suşunda denenen tüm dozlar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, 75, 100 ve 150 µg/plak dozlarında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). Dunnett t analizine göre farklılığı yaratan gruplar, kontrol grubu verilerine göre daha yüksek olduğundan bu derişimler *S. typhimurium* TA100 suşu için mutajenik etkili olarak değerlendirilmiştir ($p<0,05$). Denenen bütün dozlar *S. typhimurium* TA98 suşunda geriye dönen koloni sayısını artırmadığı için mutajenik etkili olarak yorumlanmamıştır.

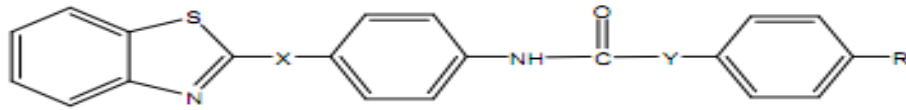
9 no' lu bileşiğin sonuçları analiz edildiğinde *S. typhimurium* TA100 suşuna ait değerlerde kontrol grubuna göre anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p<0,05$). TA98 suşu için Dunnett t analizi yapıldığında 150 ve 200 µg/plak dozlarında anlamlı bir farklılığın olduğu ancak bu farklılığın mutajenik etkili olmadığı gözlenmiştir ($p<0,05$).

10 no' lu bileşik için *S. typhimurium* TA100 suşunun denenen tüm dozlarında (50, 75, 100, 150 ve 200 µg/plak) kontrol ve dozlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). Tüm dozlarda geriye dönen koloni sayıları kontrol grubuna göre yaklaşık 5. 1 – 10. 2 kat arasında değişen oranlarda artış sergilediğinden, bu derişimlerde kuvvetli mutajenik etkiden söz edilmektedir. TA98 suşunda ise bu bileşiğin denenen dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p<0,05$).

12 no' lu bileşiğin *S. typhimurium* TA100 suşunda denenen tüm dozlar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 75, 100 ve 150 µg/plak dozlarında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). 75, 100 ve 150 µg/plak derişimlerinde gözlenen bu farklılık mutajenik etki olarak değerlendirilmiştir. Oluşan mutajenitenin doza bağlı olarak arttığı söylenebilir. *S. typhimurium* TA98 suşunda ise denenen dozlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p<0,05$).

2, 5, 7, 8, 11, 13, 14 ve 15 no'lu bileşiklerin denenen bütün dozları *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında geriye dönen koloni sayısını artırmadığı için bu kimyasal maddeler mutajenik etkili olarak değerlendirilmemiştir ($p< 0,05$). Test edilen tüm bileşiklerin ortak halka yapıları ve *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında mutajenik etkili dozları Çizelge 3.16' da verilmiştir.

Çizelge 3.16. Test Edilen Bileşiklerin Ortak Halka Yapıları ve *S. typhimurium* TA98 ve TA100 Suşlarında Mutajenik Etkili Dozları



BİLEŞİK NO	SUBSTİTÜENTLER			SUŞLAR/MUTAJENİTE	
	-X-	-Y-	-R-	TA98	TA100
1	-	-	-Cl-	-	-
2	-	-	-F-	-	-
3	-	-	-C ₂ H ₅ -	50 ve 75 µg/plak	-
4	-	-	-NO ₂ -	50 ve 150 µg/plak	-
5	-	-	-C(CH ₃) ₃ -	-	-
6	-CH ₂ -	-	-Cl-	-	75,100 ve 150 µg/plak
7	-CH ₂ -	-	-F-	-	-
8	-CH ₂ -	-	-Br-	-	-
9	-CH ₂ -	-	-NO ₂ -	-	-
10	-CH ₂ -	-	-C(CH ₃) ₃ -	-	50, 75,100, 150 ve 200 µg/plak
11	-CH ₂ -	-	-C ₂ H ₅ -	-	-
12	-CH ₂ -	-	-H-	-	75,100 ve 150 µg/plak
13	-CH ₂ -	-C ₂ H ₄ -	-H-	-	-
14	-CH ₂ -	-C ₂ H ₄ -	-OCH ₃ -	-	-
15	-	-	-OCH(CH ₃)C ₂ H ₅	-	-

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser, hücrelerin çeşitli değişmeler sonucu anormalleşerek kontrolsüz çoğalmaları ve yayılmaları olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde ölüme neden olan hastalıklar arasında, dünyanın birçok ülkesinde ve Türkiye’ de kalp hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır [86]. Dünya Sağlık Örgütü ve Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu’ nun verilerine göre 2008 yılında dünya genelinde 12 milyon kişiye kanser teşhisi konulurken, bu sayının 2030 yılında 26 milyonu aşacağı tahmin edilmektedir [87].

Kanser tedavileri içinde genellikle ilk olarak tercih edilen ve en sık kullanılan yöntem kemoterapidir [88]. Mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlarda ilaç tedavisinin başarılı sonuçlar vermesi, memeli hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde büyümelerine bağlı olan malign oluşumların kimyasal etkenler tarafından düzeltilebileceği olasılığını doğurmuştur. Bu fikirden yola çıkarak kemoterapötik ilaçlar konusunda birçok araştırma yapılmış ve çok çeşitli sentetik veya doğal kaynaklı ilaç tedaviye sokulmuştur [89].

Antikanser ilaçların kullanımındaki amaç, kanser hücrelerinin büyüme ve çoğalmalarını önleyerek, bu hücreler üzerinde sitotoksik etki oluşturmaktır. Ancak kullanılan ilaçlar yalnızca kanser hücrelerini etkilemek yerine, sağlıklı hücreler üzerinde de etkili olmaktadır. Bu da kemoterapötik ilaç kullanımına bağlı istenmeyen yan etkilerin oluşumuna sebep olmaktadır. Ayrıca, antikanser ilaçların terapötik etkinliği, ilaca karşı geliştirilen direnç mekanizmaları ile kısıtlanmaktadır. Bu amaçla daha etkili ve geniş spektruma sahip kemoterapötik etkili yeni ilaçlar bulmaya yönelik çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır [90, 91].

İlaç geliştirmek amacıyla sentezlenen kimyasal maddeler, ilacın öngörülen terapötik etkisine uyan temel etkilerini ya da toksisitesini ortaya koyan *in vitro* tarama testlerinden geçtikten sonra, *in vivo* deney hayvanlarında beklenen etki bakımından detaylı bir şekilde incelenir. Bu prelinik çalışmalarda, etkili ve geliştirilme amacına uygun bulunan ve düşük toksisitesi sebebiyle güvenli görünen maddelerin klinik denemelerine geçilir. Klinik çalışmaların ilk basamağı olan faz I denemelerinde, sağlıklı gönüllü kişilere (20-80 kişi), ilacın artan dozları verilerek ilaca tolerans, ilacın güvenilirliği, güvenli doz aralığı ve insandaki farmakokinetiği belirlenir. Faz II

denemelerinde, kısıtlı sayıda hastada (150-300 kişi) ilacın optimal dozu, terapötik doz aralığı ve etki derecesi ile yan etki profili saptanır. Faz III denemelerinde çok sayıda hastada (2000-3000 kişi) ilacın terapötik etkinliği plasebo ve yerleşmiş ilaçlarla karşılaştırılarak yarar/zarar oranı saptanır. Faz III denemelerinde uygun bulunan araştırma ilacı, ruhsatlandırılıp pazarlandıktan sonra, yan etkileri bakımından izlenerek, klinik etkinlik ve farmakoekonomik açılardan diğer ilaçlarla karşılaştırılır. Bu çalışmalar faz IV denemelerini oluşturmaktadır [7].

Azot, kükürt ve oksijen içeren beş üyeli heterosiklik bileşikler ilaç keşif sürecinde oldukça önemli bir yer teşkil etmektedirler. Bu bileşiklerin önemli bir sınıfını teşkil eden benzotiyazoller ve izosterleri benzimidazol ve benzoksazoller, kemoterapötik etkilerinin birçok çalışma ile gösterilmesi sebebiyle yıllardır pek çok araştırmanın hedefi olmuştur [92-94].

Benzotiyazol yapısı içeren bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi 1950' li yıllarda 2-merkaptobenzotiyazolün antibakteriyel ve antitüberküloz aktivitesinin incelenmesi ile başlamış ve bu bileşiğin tüberküloz etkeni *Mycobacterium tuberculosis* üzerinde *in vitro* olarak etkili olduğu belirtilmiştir [72]. Yapılan başka bir çalışmada 2-mercapto-1,3-benzotiyazol' ün antibakteriyel aktivitesi Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli*) ve Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ve *Enterococci spp.*) bakteriler üzerinde incelenmiş ve bu bileşiğin özellikle Gram pozitif bakterilerde sitotoksik etkili olduğu belirtilmiştir [95].

Soni ve arkadaşları [96] schiff bazı taşıyan benzotiyazol türevi bileşikler sentezlemişler ve bu bileşiklerin *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ve *Streptomyces griseus* a karşı antibakteriyel aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmada test edilen kimyasalların yapı-etki ilişkilerinin incelenmesi sonucunda, elektron verici grupların *para* pozisyonunda bulunmasının antibakteriyel aktiviteyi artırdığını belirtmişlerdir. Yine aynı araştırmacıların yaptıkları bir çalışmada, 2-sübstitüe benzimidazol, benzoksazol ve benzotiyazol türevlerinin *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* üzerinde antifungal etkileri değerlendirilmiş ve 2-sübstitüe benzotiyazol türevi bileşiklerin benzimidazol ve benzoksazol türevlerine göre daha geniş bir spektrumda etkili olduğu belirtilmiştir.

Ogilvie ve arkadaşları [68] benzotiyazol türevlerinin antiviral aktiviteleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, 2-sübstitüe benzotiyazol türevlerinin herpesvirus grubu üyesi olan insan sitomegalo virüsün (HCMV) proteaz aktivitesini inhibe ettiğini

belirtmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada da üre ve tiyoüre türevleri ile kombine edilen benzotiyazol türevi bileşiklerin HIV ters transkriptaz enzim inhibitörü olduğu rapor edilmiştir [97].

Son yıllarda çeşitli konumlardan süstitüe edilen benzotiyazol türevleri özellikle antikanser aktivitelerinden dolayı sıklıkla çalışılmaktadır [93, 98, 99]. Örneğin, 2-(4-aminofenil)-benzotiyazol türevi bileşiklerin tümör hücreleri üzerine güçlü ve seçici sitotoksik etkili olduğu belirtilmiştir [100]. Bu bileşikler ve onların N-asetilli türevleri in vitro göğüs, kolon ve yumurtalık kanser hücre hatlarında güçlü antitümoral aktivite göstermişlerdir (Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü Antikanser Bileşik Tarama Programı) [77, 101]. Bu moleküllerin DNA'ya kovalent olarak bağlanan reaktif ara ürün oluşumuyla antikanser aktivitelerini gösterdikleri düşünülmektedir [102].

Al-Soud ve arkadaşları [103] yaptıkları bir çalışmada, 2-(4-amino-3-metilfenil) benzotiyazol, 2-(4-aminofenil)-benzotiyazol ve 2-(3,4-dimetoksifenil)-5-fluoro-benzotiyazol yapısındaki bileşiklerin arilhidrokarbon reseptörü için potansiyel ligand olabileceklerini ve böylece tümör hücrelerinin büyümesini önemli derecede inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Chaudhary ve arkadaşları [104] aminometilfenil ve karbonitril türevi benzotiyazollerin insan kanser hücre hatlarında güçlü sitotoksisite ve DNA sentez inhibisyonu gösterdiklerini, ayrıca klor ve flor fonksiyonel grupları içeren benzotiyazol türevlerinin in vitro ve in vivo' da iyi derecede antitümoral aktivite gösterdiklerini saptamışlardır. Buna ek olarak pirimidobenzotiyazol, benzotiyazolo quinolin ve imidazobenzotiyazol türevi bileşiklerin önemli ölçüde antitümoral aktivite gösterdikleri ve bu bileşiklerin sitostatik aktiviteleri malignant hücre hatlarına karşı test edildiğinde, tüm bileşiklerin uygulandıkları hücre tipine ve konsantrasyonlarına bağlı olarak farklı inhibitör etki gösterdikleri rapor edilmiştir [105, 106, 107].

Genomik kararlılığın korunması için gerekli enzimlerden olan topoizomerazların inhibisyonu sonucu DNA sentezinin bozulması kemoterapotiklerin etki mekanizmalarından biridir. Pinar ve arkadaşları [108] yaptıkları bir çalışmada 2-fenoksimetilbenzotiyazolün ökaryotik DNA topoizomeraz II enzimi üzerinde önemli derecede inhibitör etki gösterdiğini ve bu etkinin referans inhibitör etopositten daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.

Ames test sistemi, kimyasal maddelerin mutajenik potansiyellerinin belirlenmesinde ilk basamak olarak kullanılan, basit formatı, çok kısa sürede sonuç vermesi ve nispeten az miktarda test bileşeni gerektirmesi sebebiyle yaygın olarak kullanılan bakteriyel test sistemlerinden birisidir. *Salmonella* geri mutasyon testi olarak da adlandırılan Ames testi, in vitro kemirgen ve insan karsinogenitesi hakkında güçlü öngörü değeri taşıdığı için en çok tercih edilen mutajenite testidir. Öyle ki, bu test sisteminden elde edilen sonuçların kemirgen karsinogenitesi ve in vivo genetik toksisite testlerinden elde edilen sonuçlarla %65 oranında uyum gösterdiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [30, 109].

Mutajenite taramalarında kullanılan *S. typhimurium* suşlarının DNA hasarlarına karşı hassasiyetlerini artırmak amacıyla bu suşlar, büyük moleküllere karşı geçirgenliği artırma, DNA onarım mekanizmalarının indirgenmesi ve SOS onarım sistemini indükleyen R plazmitinin eklenmesi gibi çeşitli modifikasyonlara uğratılmıştır. Ames test sisteminde çerçeve kayması mutasyonlarının belirlenebilmesi için *S. typhimurium* TA98, TA1537 ve TA1538 suşları, baz çifti değişimi mutasyonlarını saptamak için *S. typhimurium* TA100, TA102 ve TA1535 suşlarının kullanılması önerilmektedir. Böylece Ames test sistemi kullanılarak bir kimyasal maddenin neden olabileceği mutasyonların tipi de spesifik olarak belirlenebilmektedir [17, 109].

Tez çalışmasında Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalınca yeni sentezlenmiş olan 15 benzotiyazol türevi bileşiğin mutajenik potansiyelleri *S. typhimurium* TA98 ve *S. typhimurium* TA100 suşları kullanılarak değerlendirildi.

Bu çalışmada mutajenite deneylerine geçilmeden önce tüm kimyasal maddelerin sitotoksik etki değerlendirmeleri yapıldı. Sitotoksik olmayan dozların belirlenebilmesi için plak inkorporasyon metodu kullanıldı. 2, 3, 4, 7, 9, 10, 11 12, 13, 14,15 no' lu bileşikler için 200 µg/plak; 1, 5 ve 6 no' lu kimyasallar için 150 µg/plak ve 8 no' lu bileşik için 100 µg/plak etkinliği araştırılan en yüksek dozlardır.

Ames testinde bir maddeye mutajen denilebilmesi için histidin prototroflarının sayısının kendiliğinden geriye dönen koloni sayısının en az iki katı olması ya da iki katından az olduğu durumlarda doza bağlı bir artış göstermesi gerekmektedir [30].

Literatür taramalarına göre, mutant bakteri suşlarının kendiliğinden his⁻ durumundan his⁺ durumuna dönüşmesi, belirli sınırlar içinde mümkündür. Bu sınırlar *S.*

typhimurium TA98 suşu için 20-50 revertant koloni/plak iken *S. typhimurium* TA100 suşu için 75-200 revertant koloni/plaktır. Yapılan deneyler sonucunda negatif kontrol olarak kullanılan kendiliğinden geri dönüş frekanslarının ortalamaları değerlendirildiğinde, *S. typhimurium* TA98 suşu için $30,16 \pm 4,3$; *S. typhimurium* TA100 suşu için ise bu değer $133,46 \pm 21,8$ koloni olarak bulunmuştur. Elde edilen bu değerler literatürde belirlenen aralıklarda yer almaktadır. Bu sayı değerleri; glukoz ve tuz çözeltilerinin derişimi, petrilerdeki üst agarın miktarı ve yayılma şekli, ortamın sıcaklığı ve hava sirkülasyonu, etüvdeki nem oranı, minimal glukoz agarlı ortamın hacmi ve hazırlanmasındaki farklılıklar gibi faktörlerden dolayı değişiklik gösterebilmektedir [110, 111]. *S. typhimurium* TA98 suşu için, pozitif kontrol olarak kullanılan danomisinin 6 µg/plak dozunda, *S. typhimurium* TA100 suşu için ise sodyum azitin 1,5 µg/plak dozunda mutajenik etkili olduğu literatürde belirtilmektedir [30]. Deney sonuçları incelendiğinde, danomisin varlığında *S. typhimurium* TA98 suşu için ortalama $211,3 \pm 83,2$ geriye dönen koloni, sodyum azit varlığında *S. typhimurium* TA100 suşunda ise $2650,3 \pm 574,2$ geriye dönen koloni elde edilmiştir. Elde edilen bu değerler negatif kontrollerden elde edilen verilerle karşılaştırıldığında literatürdeki veriyi doğruladığı görülmektedir.

Ames test sistemi ile yapılan birçok çalışma incelendiğinde, *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarının diğer suşlara göre daha çok tercih edildiği görülmektedir. Bunun nedeni de bu iki suşun çeşitli mutajenlere karşı hassasiyetinin diğer suşlara göre daha fazla olmasından kaynaklanmaktadır [112, 113].

Yapılan deneyler sonucunda elde edilen veriler SPSS 16. 0 paket programı kullanılarak ANOVA çözümlemesine göre değerlendirilmiştir. Farklılık yaratan gruplar, ortalamalar arası farkı araştıran çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Dunnett t testi ($p < 0, 05$) ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Bu tez çalışmasında test edilen kemoterapötik etkili olabileceği düşünülen benzotiyazol türevi bileşikler Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Kimya Anabilimdalı tarafından sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin mikrobiyolojik aktiviteleri çalışılmış olup, tez çalışması kapsamında da mutajenik aktiviteleri değerlendirilmiştir.

Ames test sisteminde metabolik aktivasyon yokluğunda 1, 2, 5, 7, 8, 9, 11, 13, 14 ve 15 no' lu bileşikler negatif sonuç vermiştir. Bu kimyasalların *hisD3052* ve *hisG46* gen

bölgelerinde çerçeve kayması ve baz değişimi mutasyonlarına neden olmadıkları söylenebilir.

S. typhimurium TA98 suşunda 3 no' lu bileşiğin, 50 ve 75 µg/plak dozlarında mutajenik etkili olduğu gözlenmiştir. Yapısında -CH₂- köprüsü bulundurmeyen ve R grubu olarak etil gibi hacimli bir grup taşıyan 3 no' lu bileşiğin, çerçeve kayması mutasyonuna sebep olan bir mutajen olduğu söylenebilir. Bilindiği gibi çerçeve kayması mutasyonuna sebep olan bileşikler düzlemsel bir yapıya sahip olmaları nedeniyle DNA' ya bağlanarak bu etkiyi gösterebilmektedirler [4].

S. typhimurium TA98 suşunda 4 no' lu bileşik için kontrol grubuna göre 50 ve 150 µg/plak dozlarındaki farklılık mutajenik etki olarak değerlendirilmiştir. Radikal grup olarak NO₂ bulunduran benzamid türevi bu bileşiğin neden olduğu mutajenitenin nitro grubundan kaynaklandığı düşünülebilir. Yapılan çalışmalarda, aromatik bileşiklerin nitro gibi halkadan elektron çekici gruplarla süstitüe edilmesinin aktiviteyi arttırdığı belirtilmiştir [8].

6 no' lu bileşiğin *S. typhimurium* TA100 suşunda 75, 100 ve 150 µg/plak dozlarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı farklılık olduğu görülmektedir. 75, 100 ve 150 µg/plak derişimlerinde oluşan mutajenitenin doza bağlı olarak arttığı saptanmıştır. Bu sonuca göre, 6 no' lu bileşiğin *hisG46* gen bölgesinde baz çifti değişimi mutasyonuna neden olduğu söylenebilir. Clayton ve Abbott [114], benzimidazol analogları olan benzoksazol ve benzotiyazol türevlerinde antitümöral etkiyi incelediklerinde en fazla antitümöral etkiyi 2-klorobenzotiyazol yapısında gözlemlemişlerdir. Bu bileşiğin mutajenik aktivite göstermesi, fonksiyonel grup olarak Cl atomu ile birlikte-CH₂- köprüsünün bulunmasından kaynaklanabilir.

10 no' lu bileşik *S. typhimurium* TA100 suşunda denenen tüm konsantrasyonlarda (50, 75, 100, 150 ve 200 µg/plak) mutajenik etkili olarak değerlendirilmiştir (p<0,05). Tüm dozlarda geriye dönen koloni sayıları kontrol grubuna göre yüksek oranda artış sergilemiştir. Denenen en düşük dozda (50 µg/plak) geriye dönen koloni sayısı kontrol grubunun yaklaşık 5.1 katı iken, en yüksek dozda (200 µg/plak) 10.2 katıdır. Bu derişimlerde 10 no' lu bileşiğin TA100 suşu üzerinde kuvvetli mutajenik etkisi olduğu görülmektedir. Fonksiyonel grup olarak tert-bütıl gibi hacimli bir grubun bulunmasının baz çifti değişimini indüklediği düşünülebilir. Benzotiyazol türevi bileşiklerin mikrobiyolojik aktivite değerlendirme çalışmalarında R grup olarak tert-

bütıl ve -CH₂- köprüsünün bulunmasının antibakteriyel aktiviteyi artırdığı gözlenmiştir [115].

12 no' lu bileşiğin *S. typhimurium* TA100 suşunda denenen tüm dozlar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, 75, 100 ve 150 µg/plak dozları farklı gruplar oluşturduklarından, bu konsantrasyonlarda mutajenik etkinin doza bağlı olarak arttığı söylenebilir. Bu sonuca göre metabolik aktivasyon yokluğunda, bu bileşiğin baz çifti değişimine neden olurken, çerçeve kayması mutasyonuna neden olmadığı söylenebilir.

Uygulanan istatistiksel yöntem sonuçlarına göre, mutajenik etkili bulunan kimyasal maddelerden -CH₂- köprüsü bulundurmayanlar *S. typhimurium* TA98 suşunda mutajenik etkili iken, -CH₂- köprüsü bulunduranlar *S. typhimurium* TA100 suşunda etkili olmuşlardır. Bu sonuca göre kimyasal maddelerin taşıdıkları fonksiyonel grupların da etkisiyle -CH₂- köprüsünün bulunması baz çifti değişimini indüklerken, bu köprünün olmayışı çerçeve kayması mutasyonunu indüklediği düşünülebilir. Çünkü -CH₂- köprüsünün bulunması, bileşik yapısında kısmi bir bükülmeye sebep olduğundan, düzlemsel yapıdan bir miktar uzaklaşmaktadır. Çerçeve kaymasına neden olan mutajenlerin genellikle düzlemsel bir yapıda olması da bu düşüncayı güçlendirmektedir.

Ames test sistemiyle denenen kimyasal maddelerin kemirgen karsinogenitesiyle %77-98 oranında uyum gösterdiği birçok çalışma ile desteklense de, %2-23 oranında hatalı sonuç elde edilmiştir. Yani bir kimyasal maddenin Ames test sisteminde pozitif sonuç vermesi, o maddenin kesinlikle mutajenik veya karsinogenik olduğu anlamına gelmemektedir. Örneğin, yapılan bir çalışmada, Ames test sisteminde pozitif sonuç veren, dioxathionun (S, S'-(1,4-dioxane-2, 3-diyl) O, O, O',O'-tetraethyl bis (phosphorodithioate) CHO hücrelerinde kromozomal hata ve fare lenfoma mutasyon (L5178Y Fare lenfoma hücreleri) testlerinde negatif sonuç verdiği belirtilmiştir [116].

Vücuda alınan herhangi bir kimyasal maddenin ve metabolitlerinin emilimini, doku dağılımını, metabolizmasını ve atılımını *in vitro* testlerle birebir olarak belirlemek imkansızdır. Ancak memelilerdeki biyotransformasyon olaylarını deney ortamında taklit edebilmek amacıyla, ortama metabolik aktivasyon sistemi eklenir. Böylece kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin metabolik aktivasyonları sonucunda değişip değişmediğini belirlemek mümkün hale gelmektedir [17, 117]. Kaplan ve arkadaşlarının [118] yaptıkları bir çalışmada, diş hekimliğinde kullanılan simanlardan

biri olan Aqualox' un *S. typhimurium* TA98 suşunda metabolik aktivasyon sistemi yokluğunda mutajenik etki göstermediği ancak bu sistem varlığında mutajenik potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir.

Benzotiyazol iskeleti taşıyan bileşiklerin ve metabolize edilmeleri sonucu oluşan türevlerin, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antitüberküloz, antiviral, antioksidan, antifungal ve antidiyabetik aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir [94]. Wilson ve arkadaşlarının [119] yaptıkları bir çalışmada, domuzların idrar örneklerinde rastlanan 2-metil-mercaptoanilin, 2-metilsülfinilanilin ve 2-metilsülfonilanilin metabolitlerinin varlığı ve yalnızca sülfatazların katalizlediği hidroliz reaksiyon sonucu oluşan 2-metilsülfinilfenilhidroksilamin ve 2-metilsülfonilfenilhidroksilamin metabolitlerinin varlığı da benzotiyazollerin metabolize edildiklerini göstermektedir.

Sato ve arkadaşları [9], 6-aminobenzotiyazol'un mutajenik/karsinojenik aktivitesini ancak sitokrom P-450, asetiltransferaz ve sülfotransferaz enzimleri içeren metabolik aktivasyon sistemi varlığında gösterebileceğini rapor etmişlerdir. Dolayısıyla tez çalışmasında kullanılan benzotiyazol türevi bileşiklerin, metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan metabolitlerinin de mutajenik potansiyelleri hakkında bilgi sahibi olabilmek amacıyla, metabolik aktivasyon sistemi varlığında da sonuçların değerlendirilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak test edilen kimyasal maddelerden negatif sonuç veren 1, 2, 5, 7, 8, 9, 11, 13, 14 ve 15 no' lu bileşiklerin kesinlikle mutajenik ya da karsinojenik etkili olmadığını söylemek doğru olmayacağı gibi, pozitif sonuç verenler için de kesinlikle karsinojenik etkili demek yanlış olacaktır. DNA' da hasar oluşturma özelliği olan 3, 4, 6 10 ve 12 no' lu bileşiklerin kanser hücreleri üzerinde de aynı etkiyi göstererek kontrolsüz hücre büyümesine neden olan genleri mutasyona uğratarak tümör gelişimini inhibe edebileceği düşünülebilir. Kimyasal bileşiklerin mutajenik potansiyellerinin belirlenmesinde tek bir test sistemi yeterli olmadığından, Ames test sistemini tamamlayıcı testlerin kombine edilerek bateri test sistemlerinin kullanımı mutajenite/karsinojenite tahmininde daha doğru sonuçlar verecektir. Ayrıca bu çalışmanın yalnızca kısa zamanlı bir test dahilinde mutajenite değerlendirmeye olanak sağlaması nedeniyle, mutajen çıkan kimyasal maddelerin mutajenik aktifliği konusunda uzun zamanlı test sistemleri olarak bilinen kemirgenlerde tümör indüksiyonu deneylerinin de kullanıldığı daha kapsamlı incelemelerin yapılması uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Tejs, S., The Ames test: a methodological short review, *Environmental Biotechnology*, 4,1, 7-14, **2008**.
- [2] Mccann, J., Choi, E., Yamasaki, E., Ames, B.N., Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: Assay of 300 chemicals, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 72, 12, 5135-5139, **1975**.
- [3] Pounikar, R., Dawande, A.Y., Detection of potential carcinogens by Ames test, *Asiatic Journal of Biotechnology Resources*, 01, 57-64, **2010**.
- [4] Ames, B. N., Gurney, E.G., Miller, J. A., Bartsch, H., Carcinogens as Frameshift Mutagens: Metabolites and Derivatives of 2-Acetylaminofluorene and Other Aromatic Amine Carcinogens, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 69, 11, 3128-3132, **1972**.
- [5] Murray, R. K., Mayes, P. A., Granner, D. K., Rodwell, U. W., *Harper's Biochemistry*, 818-835, **1990**.
- [6] Czyz, A., Szpilewska, H., Dutkiewicz, R., Kowalska, W., Biniewska-Godlewska, A., Wegrzyn, G., Comparison of the Ames test and a newly developed assay for detection of mutagenic pollution of marine environments, *Mutation Research*, 519 67–74, **2002**.
- [7] Kayaalp, S.O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 11. Basım, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, Türkiye, **2005**.
- [8] Yalçın, İ., Ören, İ., Şener, E., Akın, A., Uçartürk, N., The Synthesis and the Structure-Activity Relationships of Some Substituted-benzoxazoles, Oxazolo (4,5-b) pyridines, Benzothiazoles and Benzimidazoles as Antimicrobial Agents, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 27, 401-406, **1992**.
- [9] Sato, G., Asakura, S., Hakura, A., Tsutsui-Hiyoshi, Y., Kobayashi, N., Tsukidate, K., Assessment of potential mutagenic activities of a novel benzothiazole MAO-A inhibitor E2011 using *Salmonella typhimurium* YG1029, *Mutation Research*, 472, 163–169, **2000**.
- [10] Meyers, F. H., Jawetz, E., Goldfien, A., Part VII. Chemotherapeutic Agents, 5th ed, *Review of Medical Pharmacology*, 470-522, **1976**.
- [11] Elnima, E. I., Zubair, M. U., Al-Badr, A. A., Antibacterial and antifungal activities of benzimidazole and benzoxazole derivative, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 19, 29-32, **1981**.
- [12] Yalçın, İ., Şener, E., QSARs of some novel antibacterial benzimidazoles, benzoxazoles, and oxazolopyridines against an enteric

- gram-negative rod; K.Pneumoniae, *International Journal of Pharmaceutics*, 98, 1-8, **1993**.
- [13] Fuse, I., Higuchi, W., Uesugi Y., Aizawz, Y., Pathogenic analysis of three cases with a bleeding disorder characterized by defective platelet aggregation induced by Ca^{+2} ionophores. *British Journal of Haematology*, 112, 3, 603-608, **2001**.
 - [14] Mortimer, C. G, Wells, G., Crochard, J.-P., Stone, E. L., Bradshaw, T. D., Stevens, M. F. G., Westwell, A. D., Antitumor Benzothiazoles. 26. 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-fluorobenzothiazole (GW 610, NSC 721648), a Simple Fluorinated 2-Arylbenzothiazole, Shows Potent and Selective Inhibitory Activity against Lung, Colon, and Breast Cancer Cell Lines. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49, 1: 179-185, **2006**.
 - [15] Tüylü, B.A., Zeytinoğlu, H.S., Isikdag, I., Synthesis and mutagenicity of 2-aryl-substitute (o-hydroxy -, m-bromo -, o-methoxy -, o-nitro-phenyl or 4-pyridyl) benzothiazole derivatives on *Salmonella typhimurium* and human lymphocytes exposed in vitro, *Biologia*, 62/5: 626-632, **2007**.
 - [16] Hinderer, R.K., Myhr, B., Jagannath, D.R., Galloway, S.M., Mann, S.W., Riddle, J.C., Brusick, D.J., Mutagenic evaluations of four rubber accelerators in a battery of in vitro mutagenic assays, *Environmental Mutagenesis*, 193-215, **2006**.
 - [17] Mortelmans, K., Zeiger, E., The Ames *Salmonella*/microsome mutagenity assay, *Mutation Research*, 455, 29-60, **2000**.
 - [18] Abdulaev, F.I., Riveron-Negrete, L., Caballero-Orgeta, H., Hernandez, J.M., Perez-Lopez, I., Pereda-Miranda, R., Espinosa-Aguirre, J.J., Use of in vitro assay to assess the potential antigenotoxic and cytotoxic effects of saffron (*Crocus sativus* L.), *Toxicology in Vitro*, 17, 731-736, **2003**.
 - [19] Butterworth, B. E., A classification framework and practical guidance for establishing a mode of action for chemical carcinogens, *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 45, 9–23, **2006**.
 - [20] Young RR., Genetic toxicology: Web Resources, *Toxicology*, 173, 1-2:103-21, **2002**.
 - [21] Madle, S., Von Der Hude, W., Broschinski, L., Janig, G.R., Threshold effects in genetic toxicity: perspective of chemicals regulation in Germany, *Mutation Research*, 464, 117–121, **2000**.
 - [22] Friedberg, E.C., A comprehensive catalogue of somatic mutations in cancer genomes, *DNA Repair*, 9, 468–469, **2010**.
 - [23] COM, Guidance On A Strategy For Genotoxicity Testing Of Chemical Substances, **2011**.

- [24] Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P.V., Decordier, I., Kirsch-Volders, M., Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring, *Biochimie*, 88, 1515–1531, **2006**.
- [25] Kirsch-Volders, M., Vanhauwaert, A., Eichenlaub-Ritter, U., Decordier, I., Indirect mechanisms of genotoxicity, *Toxicology Letters*, 140-141, 63-74, **2003**.
- [26] Bajpayee, M., Pandey, A. K., Parmar, D., Dhawan, A., Current status of short-term tests for evaluation of genotoxicity, mutagenicity, and carcinogenicity of environmental chemicals and NCEs, *Toxicology mechanisms and methods*, 15, 3, 155-180, **2005**.
- [27] Ellinger-Ziegelbauer, H., Aubrecht, J., Kleinjans, J.C., Ahr, H.J., Application of toxicogenomics to study mechanisms of genotoxicity and carcinogenicity, *Toxicology Letters*, 186, 36–44, **2009**.
- [28] Müller, L., Kasper, P., Human biological relevance and the use of threshold-arguments in regulatory genotoxicity assessment: experience with pharmaceuticals, *Mutation Research*, 464, 19–34, **2000**.
- [29] Gollapudi, B. B., Krishna, G., Practical aspects of mutagenicity testing strategy:an industrial perspective, *Mutation Research*, 455, 21–28, **2000**.
- [30] Maron, D. M., Ames, B. N., Revised methodsfor the mutagenicity test, *Mutation Research*, 113, 173-215, **1983**.
- [31] Azuma, S. I., Kishino, S., Katayama, S., Akahori, Y., Matsushita, H., Highly sensitive mutation assay for mutagenicity monitoring of indoor air using *Salmonella typhimurium* YG1041 and a microsuspension method, *Mutagenesis*, 12, 5, 373-377, **1997**.
- [32] Gee, P., Maron, D. M., Ames, B. N., Detection and classification of mutagens: a set of base-specific *Salmonella* tester strains, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91, 11606–11610, **1994**.
- [33] Ames, B.N., Lee, F.D., Durston, W.E., An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 70, 782-786, **1973**.
- [34] Isono, K., Yourna, J., Chemical carcinogens as frame shift mutagens: *Salmonella* DNA sequence sensitive to mutagenesis by polycyclic carcinogens, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 71, 1612-1617, **1974**.
- [35] Claxton, L.D., Allen, J., Auletta, A., Mortelmans, K., Nestmann, E., Zeiger, E., Guide for *Salmonella typhimurium* / mammalian microsome test for bacterial mutagenicity., *Mutation Research*, 189, 83-91, **1987**.

- [36] Levin, D. E., Yamasaki, E., Ames, B.N., A new *Salmonella* tester strain, TA 97 for the detection of framshift mutagens. A run of cytosines as a mutational hot-spot, *Mutation Research*, 94, 315-330, **1982**.
- [37] Erdinger, L. Haack. T., Boche, G., Mutagenicity in *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100 of nitrose and respective hydroxylamine compounds., *Mutation Research*, 491, 183-193, **2001**.
- [38] Paolini, M., Forti, G.C., On the metabolizing systems for short-term genotoxicity assays: a review, *Mutation Research*, 387, 17-34, **1997**.
- [39] Inami, K., Okazawa, M., Mochizuki, M., Mutagenicity of aromatic amines and amides with chemical models for cytochrome P450 in Ames assay, *Toxicology in Vitro* 23, 986–991, **2009**.
- [40] Connor, T.H., Shults, M., Fraser, M.P., Determination of the vaporization of solutions of mutagenic antineoplastic agents at 23 and 37 °C using a desiccator technique *Mutation Research*, 470, 85–92, **2000**.
- [41] Aufderheide, M., Gressmann, H., Mutagenicity of native cigarette mainstream smoke and its gas/vapour phase by use of different tester strains and cigarettes in a modified Ames assay, *Mutation Research*, 656, 82–87, **2008**.
- [42] Flückiger-Isler S, Kamber M., Direct comparison of the Ames microplate format (MPF) test in liquid medium with the standard Ames pre-incubation assay on agar plates by use of equivocal to weakly positive test compounds, *Mutation Research*, 747, 36-45, **2012**.
- [43] Turesky, R., Heterocyclic aromatic amine metabolism, DNA adduct formation, mutagenesis, and carcinogenesis, *Drug Metabolism Reviews*, 34, **2002**.
- [44] Guérard,M., Zeller, A., Singer, T., Gocke, E., In vitro genotoxicity of neutral red after photo-activation and metabolic activation in the Ames test, the micronucleus test and the comet assay, *Mutation Research*, 746, 15– 20, **2012**.
- [45] Noushad, M., Kanan, T.P., Husein, A., Abdullah, H., Ismail, A.R., Genotoxicity evaluation of locally produced dental porcelain – An in vitro study using the Ames and Comet assays, *Toxicology in Vitro*, 23, 1145–1150, **2009**.
- [46] Monarca S, Richardson SD, Feretti D, Grottolo M, Thruston AD Jr, Zani C, Navazio G, Ragazzo P, Zerbini I, Alberti A., Mutagenicity and disinfection by-products in surface drinking water disinfected with peracetic acid, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 2, 309-18, **2002**.
- [47] Courty, B., Curieux, F.L., Belkessam, L., Laboudigue, A., Mutagenic potency in *Salmonella typhimurium* of organic extracts of soil samples originating

- from urban, suburban, agricultural, forest and natural areas, *Mutation Research*, 653 1–5, **2008**.
- [48] Monarca, S., Zanardini, A., Feretti, D., Dalmiglio, A., Falistocco, E., Manica, P., Nardi, G., Mutagenicity Of Extracts Of Lake Drinking Water Treated With Different Disinfectants in Bacterial And Plant Tests, *Water Research*, 32, 9, 2689-2695, **1998**.
 - [49] IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Chlorinated Drinking-water; Chlorination By-products; Some Other Halogenated Compounds; Cobalt and Cobalt Compounds, **1991**.
 - [50] Vargas, V.M.F., Mutagenic activity as a parameter to assess ambient air quality for protection of the environment and human health, *Mutation Research*, 544, 313–319, **2003**.
 - [51] Yang Yang, X., Igarashi, K., Tang, N., Ming Lin, J., Wang, W., Kameda, T., Toriba, A., Hayakawa, K., Indirect-and direct-acting mutagenicity of diesel, coal and wood burning-derived particulates and contribution of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic hydrocarbons, *Mutation Research*, 695, 29–34, **2010**.
 - [52] Pereira, T.S., Gotor, G.N., Beltrami, L.S., Nolla, C.G., Rocha, J.A.V., Brotob, F.P., Comellas, L.R., Vargas, V.M.F., *Salmonella* mutagenicity assessment of airborne particulate matter collected from urban areas of Rio Grande do Sul State, Brazil, differing in anthropogenic influences and polycyclic aromatic hydrocarbon levels, *Mutation Research*, 702, 78–85, **2010**.
 - [53] Pina, G.L., Kuzmicky, P.A., Gonzalez de Mejia, E., Kado,N.Y., Inhibitory effects of ellagic acid on the direct-acting mutagenicity of aflatoxin B in the *Salmonella* microsuspension assay, *Mutation Research*, 398, 183–187, **1998**.
 - [54] Stavric, B., Antimutagens and anticarcinogens in foods, *Food and Chemical Toxicology*, 32, 79–90, **1994**.
 - [55] Solberg, Y., Alcalay, M., Belkin, M., Ocular Injury by Mustard Gas, *Survey Of Ophthalmology*, 41, 6, 461-466, **1997**.
 - [56] Shen Feng, S., Chien, S., Chemotherapeutic engineering: Application and further development of chemical engineering principles for chemotherapy of cancer and other diseases, *Chemical Engineering Science*, 58, 4087 – 4114, **2003**.
 - [57] Bhosle, J., Hall, G., Principles of cancer treatment by chemotherapy, *Surgery (Oxford)*, 27, 4, 173–177, **2009**.
 - [58] Caley, A., Jones, R., The principles of cancer treatment by chemotherapy, *Surgery (Oxford)*, 30, 186-190, **2012**.

- [59] Dua, P., Dua, V., Pistikopoulos, E. N., Optimal delivery of chemotherapeutic agents in cancer, *Computers and Chemical Engineering* 32, 99–107, **2008**.
- [60] Sridhar, T., Symond, R. P., Principles of chemotherapy and radiotherapy, Obstetrics, *Gynaecology & Reproductive Medicine*, 19, 3, 61-67, **2009**.
- [61] Symonds, R. P., Foweraker, K., Principles of chemotherapy and radiotherapy, *Current Obstetrics & Gynaecology*, 16, 100–106, **2006**.
- [62] Lind, M. J., Principles of cytotoxic chemotherapy, *Medicine*, 32, 3, 1, 20-25, **2004**.
- [63] Parnell, C., Woll, P. J., Principles of cancer treatment by chemotherapy, *Surgery (Oxford)*, 21, 11, 272-276, **2003**.
- [64] Brantley, E., Trapani, V., Alley, M. C., Hose, C. D., Bradshaw, T. D., Stevens, M. F. G., Sausville, E. A., Stinson, S. F., Fluorinated 2- (4-amino-3-methylphenyl) benzothiazoles Induce Cyp1a1 Expression, Become Metabolized, and Bind To Macromolecules in Sensitive Human Cancer Cells. *Drug Metabolism and Disposition*, 32, 392-1401, **2004**.
- [65] Li, Z., Chu, T., Liu, X., Wang, X., Synthesis and in vitro and in vivo Evaluation of Three Radioiodinated Nitroimidazole Analogues as Tumor Hypoxia Markers, *Nuclear Medicine and Biology*, 32: 225-231, **2005**.
- [66] Wang, M., Gao, M., Mock, B. H., Miller, K. D., Sledge, G. W., Hutchins, G. D., Zheng, Q.-H., Synthesis of Carbon-11 Labeled Fluorinated 2-Arylbenzothiazoles as Novel Potential PET Cancer Imaging Agents, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14, 24, 8599-8607, **2006**.
- [67] Anand, R. M., Sumathi, K., Sharma, S. V., Murugan, V., 3-D QSAR CoMFA Study of Nitrogen Mustards Possessing New Chemical Entities as Possible Anticancer Agents. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68, 3, 323-326, **2006**.
- [68] Ogilvie, W. W., Yoakim, C., Dô, F., Haché, L., Lagacé, L., Naud, J. A., O'meara, J. A., Déziel, R., Synthesis and Antiviral Activity of Monobactams Inhibiting the Human Cytomegalovirus Protease, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 7, 8: 1521-1531, **1999**.
- [69] Edwards, P., Benzothiazoles Derivatives as Antitumor Agents *Molecules*, 11, 13-14, 671-672, **2006**.
- [70] Kamal, A., Khan, M.N.A., Reddy, K.S., Srikanth, Y.V.V., Srdhar, B., Synthesis, Structural Characterization And Biological Evaluation Of Novel (1,2,4) Triazolo (1,5-B) (1,2,4) Benzothiadiazine-Benzothiazole Conjugates As Potential Anticancer Agents, *Chemical Biology & Drug Design*, 71: 78–86, **2008**.

- [71] Khan, K. M., Rahim, F., Halim, S.A., Taha, M., Khan, M., Perveen, S., Haq, Z., Mesaik, M. A., Choudhary, M. I., Synthesis of novel inhibitors of β -glucuronidase based on benzothiazole skeleton and study of their binding affinity by molecular docking, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19, 4286–4294, **2011**.
- [72] Mayer, R. L., Investigations on the Chemotherapy of Mycoses and of Tuberculosis. *Rev. Médicale France*, 3-19, 36: 51993, **1942**.
- [73] Khan, R. H., Rastogi, R. C., Synthesis and Biological Activity of 2- (4-Aryl-2 – thiazolylamino) benzothiazoles/ benzoxazoles/ benzimidazoles/ imidazolidines. *Indian Journal of Chemistry-Section B*, 28B, 6: 529-531, **1989**.
- [74] Ören, İ., Temiz, Ö., Yalçın, İ., Şener, E., Altanlar, N., Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Novel 2-, 5-and/or 6-Substituted Benzoxazole and Benzimidazole Derivatives, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7: 153-160, **1998**.
- [75] Gupta, A., Rawat, S., Synthesis and Cyclization of Benzothiazole: Review, *Journal of Current Pharmaceutical Research*, 3, 1: 13-23, **2010**.
- [76] Lung Kok, S.H., Gambari, R., Chui, C.H., Yuen, M. C. W., Lin, E., Wong, R. S. M., Lau, F. Y., Cheng, G. Y. M., Lam, W. S., Chan, S. H., Lam, K. H., Cheng, C.H., Lai, P. B. S., Yu, M.W.Y., Cheung, F., Tang, J. C. O., Chana, A. S. C., Synthesis and anti-cancer activity of benzothiazole containing phthalimide on human carcinoma cell lines, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16, 2008, 3626–3631, **2008**.
- [77] Choi, S.-J., Park, H. J., Lee, S. K., Kim, S. W., Han, G., Choo, H.-Y. P., Solid Phase Combinatorial Synthesis of Benzothiazoles and Evaluation of Topoisomerase II Inhibitory Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14, 4, 1229-1235, **2006**.
- [78] Katz, L., Antituberculous Compounds. III. Benzothiazole and Benzoxazole Derivatives, *Journal of the American Chemical Society*, 75: 712-714, **1953**.
- [79] Perçiner, H., Yıldır, İ., Abbasoğlu, U., Şahin, M. F., Noyanalpan, N., Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Substituted Benzothiazole Derivatives. *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University*, 10,2: 117-126, **1993**.
- [80] Bhusari, K. P., Khedekar, P. B., Umathe, S. N., Bahekar, R. H., Rao, R. A. S., Synthesis and antitubercular activity of some substituted 2 – (4-aminophenyl sulfonamido) benzothiazoles, *Indian Journal of Heterocyclic Chemistry*, 9, 213, **2000**.
- [81] Freedlander, B. L., French, F. A., Chemotherapy of experimental tuberculosis with benzothiazole derivatives, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 66, 362, **1947**.

- [82] Boev, V. I., Maslenkova, T. N., Pilko, E. I., Lyubich, M. S., Alperovich, M. A., Daeva, E. D., Synthesis and Antimicrobial Activity of 5 (6)-Isothiocyanatobenzazoles, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 24, 11, 40-44, **1990**.
- [83] Sreenivasa, M.V., Nagappa, A.N., Nargund, L.V.G., Various benzothiazolotriazole derivatives possess good antimicrobial activity, *Indian Journal of Heterocyclic Chemistry*, 8, 23, **1998**.
- [84] Hilal, H. S., Ali-Shtayeh, M. S., Arafat, R., Al-Tel, T., Voelter, W., Barakat, A., Synthesis of a New Series of Heterocyclic Scaffolds for Medicinal Purposes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 41, 8: 1017-1024, **2006**.
- [85] Öksüzoğlu E, Diril N, Durusoy M., Mutagenic effects of plant growth hormones with the *Salmonella*/microsome test and the SOS chromotest, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 65, 6:691-8, **2000**.
- [86] T.C.S.B. Kanser Savaş Daire Başkanlığı 1998 yılı Kanser İstatistikleri, **2002**.
- [87] Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu, 150 cours Albert Thomas, 69372 Lyon Cedex 08, Fransa, **2008**.
- [88] Palumbo MO, Kavan P, Miller WH Jr, Panasci L, Assouline S, Johnson N, Cohen V, Patenaude F, Pollak M, Jagoe RT, Batist G., Systemic cancer therapy: achievements and challenges that lie ahead, *Frontiers in Pharmacology*, 7,4:57, **2013**.
- [89] Türker, F.A., Kayaalp, S.O., *Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar*, (Kayaalp, S.O. Eds), Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Ankara, Feryal Matbaacılık, 380-415, **2002**.
- [90] Gordon, R. R., Nelson, P.S., Cellular senescence and cancer chemotherapy resistance, *Drug Resistance Updates* 15, 123–131, **2012**.
- [91] Tozkoparan, B., Aytaç, S. P., Kanser Kemoterapisinde Terapötik Hedef Olarak Glutasyon S-Transferazlar, *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi*, Cilt 27, 2, 139-164, **2007**.
- [92] Schnur RC, Fliri AF, Kajiji S, Pollack VA., N- (5-fluorobenzothiazol-2-yl)-2-guanidinothiazole-4-carboxamide. A novel, systemically active antitumor agent effective against 3LL Lewis lung carcinoma, *Journal of Medicinal Chemistry*, 34, 914-8, **1991**.
- [93] Hutchinson I, Bradshaw TD, Matthews CS, Stevens MF, Westwell AD., Antitumour benzothiazoles. Part 20: 3'-cyano and 3'-alkynyl-substituted 2- (4' aminophenyl) benzothiazoles as new potent and selective analogues, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13, 3, 471-4, **2003**.

- [94] Prabhu, P. P., Panneerselvam, T., Shastry, C.S., Sivakumar, A., Pande, S.S., Synthesis and anticancer evaluation of 2-phenylthiaolidinone substituted 2-phenyl benzothiazole-6-carboxylic acid derivatives, *Journal of Saudi Chemical Society*, **2012**.
- [95] Franchini, C., Muraglia, M., Corbo, F., Florio, M.A., Di Mola, A., Rosato, A., Matucci, R., Nesi, M., Bambeke, F., Vitali, C., Synthesis and Biological Evaluation of 2-Mercapto-1,3-benzothiazole Derivatives with Potential Antimicrobial Activity, *Archiv der Pharmazie-Chemistry in Life Sciences* 342, 605 – 613, **2009**.
- [96] Soni, B., Ranawat, M. S., Sharma, R., Bhandari, A., Sharma, S., Synthesis and evaluation of some new benzothiazole derivatives as potential antimicrobial agents, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 7, 2938-42, **2010**.
- [97] Saeed, S., Rashid, N., Jones, P.G., Ali, M., Hussain, R., Synthesis, characterization and biological evaluation of some thiourea derivatives bearing benzothiazole moiety as potential antimicrobial and anticancer agents, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 1323–1331, **2010**.
- [98] Shi XH, Wang Z, Xia Y, Ye TH, Deng M, Xu YZ, Wei YQ, Yu LT., Synthesis and biological evaluation of novel benzothiazole-2-thiol derivatives as potential anticancer agents, *Molecules*, 17, 4, 3933-44, **2012**.
- [99] Kumbhare RM, Kosurkar UB, Janaki Ramaiah M, Dadmal TL, Pushpavalli SN, Pal-Bhadra M., Synthesis and biological evaluation of novel triazoles and isoxazoles linked 2-phenyl benzothiazole as potential anticancer agents, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1,22 (17) :5424-7, **2012**.
- [100] Dubey R, Shrivastava PK, Basniwal PK, Bhattacharya S, Moorthy NS., 2- (4-aminophenyl) benzothiazole: a potent and selective pharmacophore with novel mechanistic action towards various tumour cell lines, *Mini Rev Med Chem*. 6: 633-7, **2006**.
- [101] Leong, C-O., Gaskell, M., Martin, E. A., Heydon, R. T., Farmer, P. B., Bibby, M. C., Cooper, P. A., Double, J. A., Bradshaw, T. D., Stevens M. F. G., Antitumour 2- (4-aminophenyl) benzothiazoles generate DNA adducts in sensitive tumour cells in vitro and in vivo, *British Journal of Cancer*, 88, 470 – 477, **2003**.
- [102] Kamal, A., Reddy, A. S., Khan, M.N.A., Reddy, K.S., Shetti, R. V. C. R. N. C., Ramaiah, M. J., Pushpavalli, S. N. C. V. L., Srinivas, C., Pal-Bhadra, M., Chourasia, M., Sastry, G. N., Juvekar, A., Zingde, S., Barkume, M., Synthesis, DNA-binding ability and anticancer activity of benzothiazole/benzoxazole–pyrrolo (2,1-c) (1,4) benzodiazepine conjugates, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 8, 4747–4761, **2010**.
- [103] Al-Soud, Y. A., Al-Sa'doni, H. H., Saeed, B., Jaber, I. H., Beni-Khalid, M. O., Al-Masoudi, N. A., Abdul-Kadir, T., Colla, P., Busonera, B., Sanna, T.,

- Loddo, R., Synthesis and in vitro antiproliferative activity of new benzothiazole derivatives, *Arkivoc* 2008,15, 225-238, **2008**.
- [104] Chaudhary, P. Sharma, P. K., Sharma, A., Varshney, J., Recent Advances In Pharmacological Activity Of Benzothiazole Derivatives, *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 2, 4, **2010**.
- [105] Trapani G, Franco M, Latrofa A, Reho A, Liso G., Synthesis, in vitro and in vivo cytotoxicity, and prediction of the intestinal absorption of substituted 2-ethoxycarbonyl-imidazo (2,1-b) benzothiazoles, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14, 209-16, **2001**.
- [106] El-Sherbeny MA., Synthesis of certain pyrimido (2,1-b) benzothiazole and benzothiazolo (2,3-b) quinazoline derivatives for in vitro antitumor and antiviral activities, *Arzneimittelforschung*. 50: 848-53, **2000**.
- [107] Racanè, L., Tralić-Kulenović, V., Fišer-Jakić, L., Boykin, D.W., Karminski-Zamola, G. Synthesis of bis-substituted amidinobenzothiazoles as potential anti-HIV agents. *Heterocycles*, 55, 2085-2098, **2001**.
- [108] Pinar A, Yurdakul P, Yildiz I, Temiz-Arpaci O, Acan NL, Aki-Sener E, Yalcin I., Some fused heterocyclic compounds as eukaryotic topoisomerase II inhibitors, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 317, 2:670-4, **2004**.
- [109] Escobar, P.A., Kemper, R.A., Tarca, J., Nicolette, J., Kenyon, M., Glowienke, S., Sawant, S. G., Christensen, J., Johnson, T. E., C. McKnight, C., Ward, G., Galloway, S. M., Custer, L., Gocke, E., O'Donovan, M. R., Braun, K., Snyder, R. D., Mahadevan, B., Bacterial mutagenicity screening in the pharmaceutical industry, *Mutation Research/Reviews*, 8048, 20, **2013**.
- [110] Belser, Jr., Shaffer, W.B., Bliss, S.D., Hynds, E.D., Yamamoto, H.M., Pitts L., Winer, J.A., A standardized procedure for quantification of the Ames/*Salmonella*/Mammalian-Microsome mutagenicity test, *Environmental Mutagenesis*, Vol.3 pp.123-139, **1981**.
- [111] Boath, S.C., Welch, A.M., Garner, R.C., Some factors affecting mutant numbers in the *Salmonella*/microsome assay, *Carcinogenesis*, 1, 11, 911-923, **1980**.
- [112] Asal, S., Bazı pestisitlerin mutajenik etkileri üzerinde araştırmalar, *Doğa Bilim Dergisi*, 9, 1, 72-78, **1985**.
- [113] Lemos, A. T., Rosa, D. P., Rocha, J. A. V., Vargas, V. M. F., Mutagenicity assessment in a river basin influenced by agricultural, urban and industrial sources, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 2058–2065, **2009**.
- [114] Clayton., C.C., Effect of certain benzimidazoles and related compounds upon azo dye destruction by liver homogenates (23789), *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 97 : 510-512, **1958**.

- [115] Bolelli, K., *Bazı Yeni 2- (4- (4-Sübstiüebenzamido / Fenilasetamido) Fenil) Benzotiyazol Türevlerinin Sentezi, Yapılarının Aydınlatılması ve Mikrobiyolojik Aktivite Çalışmaları*, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2007**.
- [116] Zeiger E., Mutagens that are not carcinogens: faulty theory or faulty tests?, *Mutation Research*, 492, 1-2, 29-38, **2001**.
- [117] World Health Organization, Environmental Health Criteria 233: Transgenic Animal Mutagenicity Assays, **2006**.
- [118] Kaplan C, Diril N, Sahin S, Cehreli MC., Mutagenic potentials of dental cements as detected by the *Salmonella*/microsome test, *Biomaterials*, 25, 4019-4027, **2004**.
- [119] Wilson, K., Chissick, H., Fowler, A.M., Frearson, F.J., Gittins M. & Swinbourne, F.J., Metabolism of benzothiazole. I. identification of ring-cleavage products. *Xenobiotica*, 21, 9, 1179-1183, **1991**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Sibel SARI
Doğum Yeri : İstanbul
Medeni Hali : Bekar
E-Posta : sibelsari@sakarya.edu.tr
Adresi : Tunahan Mahallesi Soyak Sitesi Eryaman-Ankara

Eğitim

Lise : Halide Edip Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi
Lisans : Ankara Üniversitesi, Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Sakarya Üniversitesi

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce : ÜDS: 81,25 KPDS: 86

İş Deneyimi

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji A. D. Araştırma Görevlisi

Deneyim Alanları –

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi –

Bazı Benzotiyazol Türevi Bileşiklerin *Salmonella*/Mikrozom Yöntemi İle Mutajenik Potansiyellerinin Belirlenmesi, Hacettepe Üniversitesi BAB, 11.000 TL

Tezden Üretilmiş Yayınlar –

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu İle Katıldığı Toplantılar

Benzotiyazol Türevi Bileşiklerin Ames Test Sistemi ile Mutajenik Potansiyellerinin Değerlendirilmesi, 21.Ulusal Biyoloji Kongresi, 3-7 Eylül 2012, Ege Üniversitesi.

Benzotiyazol Türevi Bileşiklerin Ames Test Sistemi İle Mutajenik Etkilerinin Değerlendirilmesi, IV. Multidisipliner Kanser Araştırma Kongresi, 13-16 Aralık 2012, Uludağ Üniversitesi.