



**SİKLİK- VE BİSİKLİK EPOKSİTLERİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE ANTİKANSER
POTANSİYELLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Elif Tuğçe AKYOL

Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Hasan TÜRKEZ**

Yüksek Lisans Tezi-2025



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

**SİKLİK- VE BİSİKLİK EPOKSİTLERİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE ANTİKANSER
POTANSİYELLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Elif Tuğçe AKYOL

**Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Hasan TÜRKEZ**

**ERZURUM
2025**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Kanser	5
2.1.1. Kanser Hücrelerinin Özellikleri.....	6
2.1.2. Kanserin Ayırt Edici Özellikleri	7
2.1.3. Kanserin Genetik Temeli	7
2.2. Beyin Tümörleri.....	8
2.2.1. Glioma	9
2.2.2. Glioblastoma.....	10
2.2.2.1. Epidemiyoloji.....	11
2.2.3. Nöroblastoma.....	12
2.2.3.1. Epidemiyoloji.....	14
2.3. Epoksitler ve Epoksitlerin Sentezi	15
2.3.1. Fourier-Transform Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi	23
2.3.2. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)	24
2.3.3. Erime Noktası Tayin Cihazı	24
2.3.3.1. Gaz Kromatografisi (GS).....	24

2.3.3.2. Kütle Spektrometresi (MS)	25
2.4. Hücre Kültürü	25
2.4.1. Sitotoksosite.....	25
2.4.2. MTT Testi	26
2.4.3 Toplam Oksidan Seviye (TOS).....	27
2.4.4. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK).....	27
2.4.5. Akış Sitometrisi	28
2.4.6. Hoechst 33258 Floresan Boyama ile Çekirdek Yapısı Analizi	28
3. MATERYAL VE METOT.....	30
3.1. Siklik ve Bisiklik Epoksitlerin Sentezi	30
3.2. Hücre Canlılık Analizleri.....	30
3.2.1. MTT Testi	30
3.2.2. Hoechst 33258 Floresan Boyama ile Çekirdek Yapısı Analizi	31
3.2.3. TAK ve TOS Analizi	31
3.2.4. Akış Sitometre Analizi.....	31
3.3. İstatiksel Analizler	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. Sentezlenen Epoksitlerin Biyolojik Aktiviteleri	33
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR	46
EKLER	64
EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu	64
EK-2. Etik Kurul Onay Formu	65
EK-3. Tez Adı Değişikliği Bildirim Formu.....	67

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimiyle bana rehberlik eden, değerli görüş ve katkılarıyla çalışmamın her aşamasına yön veren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hasan TÜRKEZ’e içtenlikle teşekkür ederim.

Bu süreçte bana yalnızca akademik değil, aynı zamanda manevi destek sunan Sayın Prof. Dr. Nermin Şimşek Kuş’a (Mersin Üniversitesi, Mersin) en derin teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecimde bilgi ve rehberlikleriyle bana destek olan Sayın Prof. Dr. Hasan Doğan’a, Doç. Dr. Eda Balkan’a (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), Doç. Dr. Mehmet Enes Arslan’a (Erzurum Teknik Üniversitesi, Erzurum), Arş. Gör. Muhammet Ali Gürbüz’e ve doktora öğrencisi Elif Arslan’a (Atatürk Üniversitesi, Erzurum), Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü yüksek lisans öğrencisi Mehtap Salatan’a ve Fen Fakültesi Kimya Bölümü lisans öğrencisi Gülüstan Çolak’a emekleri için teşekkür ederim.

Beni her daim koşulsuz sevgi, destek ve sabırla büyüten, her anımda yanımda olan sevgili anneme ve babama, hayatımın en değerli destekçisi olan sevgili kardeşime teşekkür ederim.

Ulu Önder Mustafa Kemal Atatürk’e, bağımsız ve çağdaş bir Türkiye inşa ederek bizlere bilim ve eğitim yolunda ilerleme fırsatı sunduğu için sonsuz minnetle teşekkür ederim.

Bu çalışmayı TYL-2024-13710 proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü’ne teşekkür ederim.

Elif Tuğçe AKYOL

ÖZET

Siklik- ve Bisiklikepoksitlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antikanser

Potansiyellerinin Değerlendirilmesi

Amaç: Glioblastoma multiforme (GBM) ve nöroblastoma, agresif ve ölümcül beyin tümörleri olup, mevcut tedavilere karşı direnç göstermeleri ve kötü prognozları nedeniyle etkili tedavi sağlanmasında önemli zorluklar sunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, bisiklikepoksit ve siklikepoksit türevlerinin biyolojik aktivitelerini değerlendirerek, bu bileşiklerin GBM ve nöroblastoma gibi kanser türleri üzerindeki potansiyel antikanser etkilerini araştırmaktır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada, siklik ve bisiklik epoksitlerin sentezi daha önceki çalışmalara dayanarak yapılmış ve biyolojik aktiviteleri MTT testi ile incelenmiştir. U87MG ve SHSY-5Y hücre hatlarında, sentezlenen epoksit türevlerinin sitotoksik etkileri MTT testi ile değerlendirilmiştir. Ayrıca, Hoechst 33258 floresan boyama, flow sitometri ve antioksidan kapasite ölçümleri gibi çeşitli biyolojik analizler kullanılmıştır.

Bulgular: Sentezlenen epoksit türevlerinden **Siklikepoksit 9**, U-87 MG ve SH-SY5Y hücre hatlarında anlamlı sitotoksik ve apoptotik etki göstermiştir. MTT testi ile hücre canlılığı azalmış, Hoechst boyaması ve akım sitometrisi ile apoptoz doğrulanmıştır. TOS/TAK analizleriyle oksidatif stres artışı izlenmiştir. Ancak bazı bileşiklerin (**Bisiklikepoksit 7**, **Bisiklikepoksit 8**) etkisi sınırlı kalmış, belirgin biyolojik aktivite göstermemiştir.

Sonuç: Tespit edilen epoksit türevlerinin kanser hücreleri üzerinde olumlu biyolojik etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, seçici antikanser potansiyel taşıyan bileşiklerin varlığını ortaya koymakla birlikte, tüm türevlerin aynı düzeyde etkili olmadığını da göstermektedir. Bulgular, ileri farmakolojik çalışmalar için yol göstericidir.

Anahtar Kelimeler: Antikanser, Diels-alder, Epoksidasyon, Epoksit, Glioblastoma, Halkalı bileşikler, Nöroblastoma, SH-SY5Y, Siklohekzen epoksit, U-87 MG.

ABSTRACT

Synthesis, Characterization, and Evaluation of the Anticancer Potential of Cyclic and Bicyclic Epoxides

Aim: Glioblastoma multiforme (GBM) and neuroblastoma represent highly aggressive and lethal forms of brain tumors, characterized by poor prognosis and notable resistance to conventional therapeutic approaches. These malignancies pose substantial clinical challenges, underscoring the urgent need for novel and more effective treatment strategies. In this context, the present study aims to explore the potential anticancer properties of synthesized bicyclic and cyclic epoxide derivatives. To this end, the biological activities of these compounds were systematically evaluated in order to assess their efficacy against GBM and neuroblastoma cell lines.

Material and Method: In the present study, the synthesis of cyclic and bicyclic epoxides was performed based on established protocols from previous literature. The biological activities of the synthesized compounds were assessed through the MTT assay to determine their cytotoxic effects on U87MG (glioblastoma) and SH-SY5Y (neuroblastoma) cell lines. Furthermore, a range of complementary biological analyses—including Hoechst 33258 fluorescent staining, flow cytometry, and measurements of antioxidant capacity—were employed to gain deeper insight into the potential anticancer mechanisms of these epoxide derivatives.

Results: Among the synthesized epoxide derivatives, Cyclic Epoxide 9 demonstrated significant cytotoxic and apoptotic effects on U-87 MG and SH-SY5Y cell lines. A decrease in cell viability was observed through the MTT assay, while apoptosis was confirmed by Hoechst staining and flow cytometry analyses. An increase in oxidative stress was also detected via TOS/TAS assays. However, certain compounds, such as Bicyclic Epoxide 7 and Bicyclic Epoxide 8, exhibited limited effects and did not show notable biological activity.

Conclusion: The identified epoxide derivatives exhibited favorable biological effects on cancer cells. These findings not only highlight the presence of compounds with selective anticancer potential but also indicate that not all derivatives exert the same level of efficacy. Overall, the results provide valuable insights that may guide future pharmacological investigations.

Key Words: Anticancer, Cyclohexene epoxide, Diels-alder, Epoxidation, Epoxide, Glioblastoma, Neuroblastoma, Ring compounds, SH-SY5Y, U-87 MG.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APT	: Bağlı Proton Testi (Attached Proton Test)
¹H NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
¹³C-NMR	: Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans
ATCC	: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection)
Bisiklikepoksit 7	: BE7 (<i>ras</i> -Dimetil 3,8-dioksatrisiklo[3.2.1.0 ^{2,4}]okta-6-en-6,7-dikarboksilat)
Bisiklikepoksit 8	: BE8 (1a,7a-dimetil-1a,2,2a,6a,7,7a-heksahidronafto[2,3-b]oksiren-3,6-dion)
CIMP	: CpG Ada Metilatör Fenotipi
DMSO	: Dimetil Sülfoksit (Dimethyl Sulfoxide)
FDA	: Floresein Diasetat (Fluorescein Diacetate)
FITC	: Floresan İzotiyosiyanat (Fluorescein Isothiocyanate)
FSC	: İleri Yönlü Işık Saçılımı (Forward Scatter)
FT-IR	: Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi (Fourier Transform Infrared Spektroskopisi)
GBM	: Glioblastoma Multiforme
GC-MS	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (Gas Chromatography–Mass Spectrometry)
GFP	: Yeşil Floresan Protein (Green Fluorescent Protein)
HDF-a	: İnsan Dermal Fibroblast
I-tip	: Aracı Fenotip (Intermediate Tip)
IR	: Kızılötesi Spektroskopi (Infrared)
MKPBA	: <i>meta</i> -Kloroperbenzoik Asit
MS	: Kütle Spektrometresi (Mass Spectrometry)
MTT	: Metil Tiyazol Tetrazolyum (Methyl Thiazolyl Tetrazolium)
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid (Nicotinamide Adenine Dinucleotide)
NB	: Nöroblastoma
N-tip	: Nöronal Hücre Fenotipi (Neuronal Tip)
NCC	: Nöral Krest Hücreleri
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans

OD	: Optik Yoğunluk (Optical Density)
PI	: Propidyum İyodid (Propidium Iodide)
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi (Phosphate Buffered Saline)
PBT	: Primer Beyin Tümörü
S-tip	: Schwann Hücresi Benzeri Fenotip (Schwannian Tip)
Siklikepoksit 9	: SE9 (Dimetil 1,6-dimetil-7-oksabisiklo[4.1.0]hepta-3-en-3,4-dikarboksilat)
SSC	: Yan Yönlü Işık Saçılımı (Side Scatter)
TAK	: Toplam Antioksidan Kapasite
TOK	: Toplam Oksidan Kapasite
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. İlaç olarak kullanılan epoksitler	4
Şekil 1.2. Biyolojik aktif epoksitler	4
Şekil 2.1 ras-Dimetil 3,8-dioksatrisiklo[3.2.1.0 ^{2,4}]okta-6-en-6,7-dikarboksilat'ın (Bisiklikepoksit 7) sentezi.....	15
Şekil 2.2. Bisiklikepoksit 7'nin 400 MHz ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃)	16
Şekil 2.3. Bisiklikepoksit 7'nin 100 MHz ¹³ C-NMR spektrumu (CDCl ₃)	16
Şekil 2.4. Bisiklikepoksit 7'nin FT-IR spektrumu	17
Şekil 2.5. Bisiklikepoksit 7'nin GC-MS spektrumu.....	17
Şekil 2.6. 1a,7a-dimetil-1a,2,2a,6a,7,7a-heksahidronafto[2,3-b]oksiren-3,6-dion'un (Bisiklikepoksit 8) Sentezi.....	18
Şekil 2.7. Bisiklikepoksit 8'in 400 MHz ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃)	18
Şekil 2.8. Bisiklikepoksit 8'in ¹³ C NMR spektrumu (CDCl ₃).....	19
Şekil 2.9. Bisiklikepoksit 8'in 100 MHz APT spektrumu (CDCl ₃)	19
Şekil 2.10. Bisiklikepoksit 8'in FTIR Spektrumu	20
Şekil 2.11. Bisiklikepoksit 8'in GC-MS Spektrumu	20
Şekil 2.12. Dimetil 1,6-dimetil-7-oksabisiklo[4.1.0]hepta-3-en-3,4-dikarboksilat'ın (Siklikepoksit 9) sentezi.....	21
Şekil 2.13. Siklikepoksit 9'un 400 MHz ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃)	21
Şekil 2.14. Siklikepoksit 9'un 100 MHz APT spektrumu (CDCl ₃).....	21
Şekil 2.15. Siklikepoksit 9'un FT-IR spektrumu.....	22
Şekil 2.16. Siklikepoksit 9'un GC-MS spektrumu	23
Şekil 4.1. İnsan fibroblast hücre hattında (HDFa) BE7, BE8 ve SE9'un 24 saat uygulaması sonucunda oluşan hücre canlılık oranları (MTT)	34

Şekil 4.2. İnsan nöroblastoma hücre hattında (SHSY-5Y) BE7, BE8 ve SE9'un 24 saat uygulaması sonucunda oluşan hücre canlılık oranları (MTT)	35
Şekil 4.3. İnsan glioblastom hücre hattında (U87MG) BE7, BE8 ve SE9'un 24 saat uygulaması sonucunda oluşan hücre canlılık oranları (MTT)	36
Şekil 4.4. Floresan canlılık analizi ile SE9'un U87MG hücre hattı üzerinde 24 saat sonunda farklı konsantrasyonlardaki (25 µg/ml ve 50 µg/ml) etkileri.	38
Şekil 4.5. Hoechst 33258 floresan çekirdek boyama analizi ile SE9'un HDFa hücre hattı üzerinde 24 saat sonunda farklı konsantrasyonlardaki (25 µg/ml ve 50 µg/ml) etkileri.	38
Şekil 4.6. Flow sitometri analizi ile SE9'un U87MG hücre hattı üzerinde 24 saat sonunda farklı konsantrasyonlardaki (25 µg/ml ve 50 µg/ml) etkileri.	40

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 4.1. Hücre canlılığı analizleri sonucunda elde IC_{50} değerleri ile hesaplanan selektivite endeksleri (SE).	37
Tablo 4.2. Hoechst 33258 floresan çekirdek boyama analizi sonucunda HDFa hücre hattında oluşan çekirdek anomalileri.	39
Tablo 4.3. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) ve Toplam Oksidan Seviyesi (TOS) Ölçümleri	39

1. GİRİŞ

Kanser, son yıllarda önemli bir toplumsal sağlık sorunu haline gelmiş ve en ölümcül hastalıklar arasında yer almaktadır. Dünya genelinde ölüm nedenleri sıralamasında ikinci sırada bulunan kanserin, yapılan araştırmalara göre 2030 yılı itibariyle hızla artarak birinci sıraya çıkması beklenmektedir. Ayrıca, mevcut kanser vakalarının %56.8'inin ve kanserle ilişkili ölümlerin %64.9'nun gelişmekte olan ülkelerde görüldüğü tespit edilmiştir. Kanser, büyüme kontrol mekanizmalarında bozulmalar sonucu hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıyla ortaya çıkan ve karmaşık bir somatik genetik hastalık olarak tanımlanabilir (Çevik & Pirinçci, 2017; Futreal ve ark., 2001). Kanser terimi ilk olarak MÖ 460-370'da Yunan hekim Hipokrat tarafından "karkinos" ve "karkinoma" terimlerini malign tümörleri tanımlamak için kullanılmıştır (Diamandopoulos, 1996).

Beyin tümörü ise ülkemizde ve dünyada artış gösterme eğiliminde olan merkezi sinir sisteminin ölümcül bir hastalığıdır. Benign veya malign olarak sınıflandırılan beyin tümörü, beyin dokusunda, meninkslerde, hipofiz bezinde ya da kan damarlarında olmak üzere anormal hücre büyümesi sonucu meydana gelmektedir (McFaline-Figueroa & Lee, 2018).

Beyin tümörleri ayrıca köken aldıkları hücre gruplarına göre primer ve sekonder olarak ikiye ayrılmaktadır. Primer beyin tümörü (PBT), tüm beyin tümörü türlerinin %85-90'ını oluşturmaktadır. Sekonder tümörlerin görülme oranı ise yaklaşık %8-10 arasında değişiklik göstermektedir (Çetin, 2020). Primer beyin tümörü olan hastalarda temel tedavi yöntemleri hastanın durumuna, tümörün tipine ve bulunduğu bölgeye göre değişmektedir ancak tek başına veya kombine tedavi olarakta kullanılabilir. Bu tedavi yöntemleri arasında; cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gibi metotlar bulunmaktadır (Kural, 2017).

Glioblastoma Multiforme (GBM); en yaygın primer beyin tümörü olarak bilinir ve yetişkinlerde insidansı ve nüks oranı yüksektir (Hao ve ark., 2020) Bu tümör, intrakraniyal tümörlerin %12-15'ini ve astrositik tümörlerin %50-60'ını teşkil eder. (Soomro ve ark., 2017).

GBM, kontrolsüz bir şekilde gelişme, dokuya invazyon yapma, apoptotik sinyallere direnç gösterme ve anjiyonez yapabilme gibi malign fenotiplerle karakterizedir (Sathornsumetee & Rich, 2008).

Aynı tümör dokusunda ve farklı hastalardaki tümör örneklerinde genetik yapı değişiklik gösterdiği için hastalığın "multiform" olarak adlandırıldığı bilinmektedir (Krakstad & Chekenya, 2010).

İnsan U-87 MG hücre hattı, astrositomaya ait hücrelerden türetilmiş, epitel kökenli bir glioblastomadır ve IV evre özellikleri gösteren malign bir yapıya sahiptir. U-87 MG (Uppsala 87 Malignant Glioma) olarak bilinen, U-87 hücre hattı epitelyal morfolojiye sahiptir ve 1966 yılında Uppsala Üniversitesi'nde 44 yaşındaki bir kadın hastadan elde edilmiştir (Ohgaki & Kleihues, 2005).

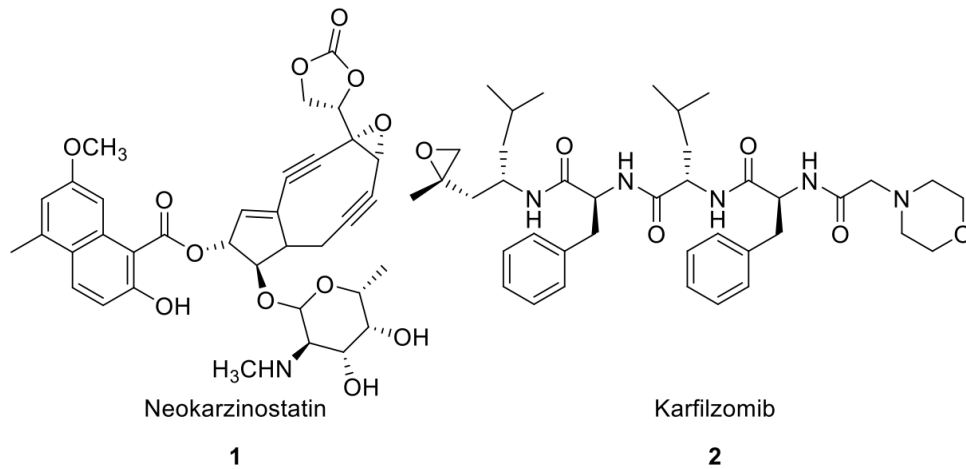
Nöroblastoma (NB); ilkel krest hücrelerini orijin alan, adrenal medulla ve sempatik ganglionlarda görülen bir tümördür (Demirkaya & Sevinir, 2006). Nöroblastoma tümörleri, belirgin bir heterojenite gösteren bir tümör türü olup, düşük, orta ve yüksek olmak üzere üç farklı risk grubuna ayrılmaktadır (Maris ve ark., 2007) Yüksek riskli nöroblastomalarda, cerrahi müdahale, radyoterapi, kemoterapi ve kemik iliği transplantasyonu gibi çok yönlü tedavi yöntemleri uygulanmasına rağmen, agresif hastalık süreci ve ilaçlara karşı gelişen direnç nedeniyle hastaların %70'i yaşamını yitirmektedir (Goldsmith & Hogarty, 2005a).

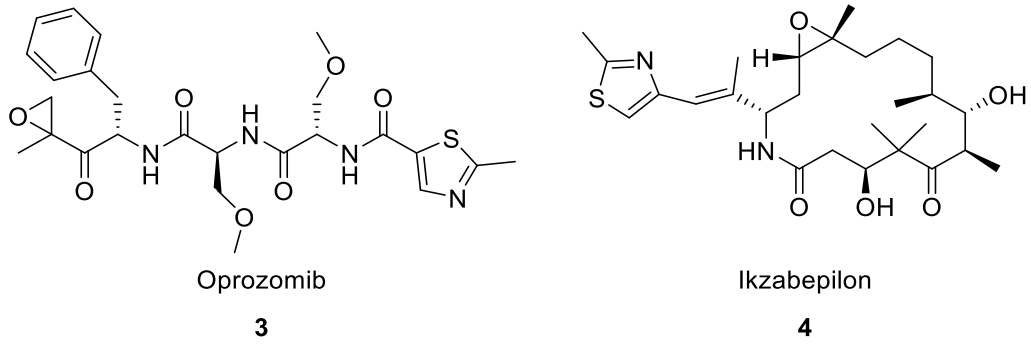
SH-SY5Y hücre hattı, SK-N-SH hücre hattının bir alt klonu olup, 1970 yılında 4 yaşındaki bir nöroblastoma hastasından elde edilen kemik iliğinden türetilmiştir; (Xicoy

ve ark., 2017a), nöronal (N-tip), Schwannian (S-tip) ve aracı (I-tip) olmak üzere üç farklı fenotipte hücre içermektedir (Joshi ve ark., 2006) SH-SY5Y hücre hatları, genellikle N-tip fenotipteki hücrelerdir. 47 kromozoma sahip olan SH-SY5Y hücreleri, nispeten stabil bir karyotipe sahiptir (Xie ve ark., 2010a).

SH-SY5Y hücreleri tümör kaynaklı bir hücre hattı olduğundan sürekli bölünme yeteneği ile farklı deneyler için, kendi içinde büyük varyasyonlar göstermeyen, yeterli miktarda hücre yoğunluğuna erişebilmektedirler (Nagatsu ve ark., 1964).

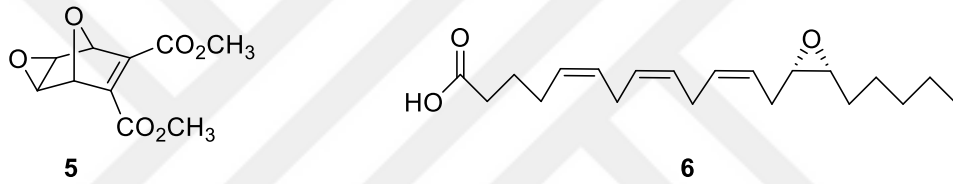
Epoksitler, bitkilerde ve memelilerde çeşitli bileşiklerin metabolizmasında yer alan, biyolojik sistemlerde de üretilen bileşiklerdir (Held ve ark., 2014) Biyolojik sistemlerde epoksitler hem bölgesel hem de stereospesifikliği sağlayan enzimler kullanılarak sentezlenir (Saini & Sareen, 2019). Halkalı halojen veya karbonil grubu içeren epoksitler doğrudan veya dolaylı yolla ilaç etken maddesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Hughes ve ark., 2015). Neokarzinostatin (1) (W. Liu ve ark., 2005), karfilzomib (2) (Groen ve ark., 2019), oprozomib (3) (Hari ve ark., 2019), and ixabepilone (4) (Gupta & Middleton, 2011) gibi epoksit molekülleri hem anti-kanser ilaç olarak hem de antikanser ilaç olarak kullanılan moleküller için ara moleküller olarak kullanılmaktadır (Şekil 1.1).





Şekil 1.1. İlaç olarak kullanılan epoksitler

Bunun yanısıra literatürde sentetik olarak elde edilen epoksit türevi **5**'in (Yılmaz ve ark., 2015), antibiyotik özellik gösterdiği, yine epoksit **6**'nın da anti-inflamatuvar etkili olduğu bulunmuştur (Şekil 1.2) (Ren, 2019).



Şekil 1.2. Biyolojik aktif epoksitler

Çalışma kapsamında bazı siklik- ve bisiklikepoksitlerin (Yılmaz ve ark. 2015; Salatan ve ark., 2023; Sevinçoğlu, 2024) insan U-87 MG glioblastoma ve insan SH-SY5Y nöroblastoma hücre hatlarındaki anti kanser etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Yaşamsal faaliyetlerin sürdürülebilmesi için hücreler sürekli olarak kendilerini yeniler (Çevik & Pirinçci, 2017). Çok hücreli organizmalarda, normal gelişim sırasında çeşitli sinyallere tepki olarak yeni hücrelerin oluşumu ve eski hücrelerin ölümü arasında bir denge bulunur. Hücre bölünmesinin sürekli devam ettiği bazı yetişkin dokular (örneğin deri epitel) haricinde, çoğu yetişkin doku hücreleri, iyileşme süreçleri dışında normal bölünme göstermez (Lodish ve ark., 2021). Yaşam döngüsünü tamamlayan hücreler apoptoz yoluyla ölür ve yerine yeni hücreler gelir. Bu süreç, genler tarafından düzenlenir. Hücre bölünmesinden sorumlu genler, aşırı hücre çoğalmasını engelleyerek anormal gelişimlerin önüne geçerler. Ancak bazı durumlarda, çeşitli etkenlerin yol açtığı DNA ve genetik değişiklikler nedeniyle hücreler kontrolsüz bir şekilde bölünmeye başlayabilir ve normalde var olmayan yapılar oluşabilir. Bu durum, kanser olarak adlandırılmaktadır (Çevik & Pirinçci, 2017).

Kanser, genetik kararsızlığın yanı sıra değişen hücresel davranışlar ve hücre ile hücre dışı matriks arasındaki etkileşimlerin hastalığı olarak tanımlanabilir. Bu süreçler, anormal hücre çoğalmasına ve sonunda invazyon ile metastazın gerçekleşmesine neden olur. Hücrelerin çoğalması ile ölümü arasındaki denge, birden fazla genin ekspresyonunda meydana gelen değişikliklerle bozulur. Kontrolsüz hücre bölünmeleri sonucunda, tümör adı verilen kitleler oluşur. Bu kitleler benign (iyi huylu) ya da malign (kötü huylu) olabilir. Kötü huylu tümörlerin iyi huylu olanlardan farkı, çevresindeki dokuları istila etme, bölgesel lenf düğümlerine yayılma ve uzak organlara metastaz yapabilme yetenekleridir. Malign kanser hücreleri, tedavi edilmediği takdirde organizmada ciddi sağlık sorunlarına yol açarak ölümcül bir hale gelebilir (Ruddon, 2007).

Kanser, "asla iyileşmeyen bir yara" olarak tanımlanır ve anormal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması ile bağışıklık sisteminin anormal tanınması ile karakterizedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün bir raporuna göre, 2020 yılında kanser dünya genelinde yaklaşık 10 milyon ölüme yol açmıştır (Ferlay ve ark., 2020).

Kanser hücrelerinin kökenini derinlemesine anlamak, kanserin tedavisi veya önlenmesi için etkili stratejiler geliştirmek ve kanser riskini değerlendirmek adına büyük bir önem taşımaktadır. Son birkaç on yılda yapılan birçok araştırma, kanser hücrelerinin kendilerini yenileyebilme, çoğalabilme ve tümör oluşturabilme yeteneği kazandığını gösteren bir dizi genetik ve epigenetik mutasyona uğramış "dönüştürülmüş hücreler" olduğu sonucuna ulaşmıştır. Bu hücrelerin davranışları yalnızca konakçının genotipine bağlı olmakla kalmaz, aynı zamanda aşırı kalori ve besin alımı, enfeksiyonlar, sigara gibi çevresel etmenlerle de şekillenebilir; bu faktörler tümör gelişimini teşvik edebilir ve belirli kanser türlerinin oluşma riskini artırabilir (Calle & Kaaks, 2004; Sudo ve ark., 2008).

2.1.1. Kanser Hücrelerinin Özellikleri

Kanser hücreleri, normal vücut hücrelerinden farklı olan kendine özgü karakteristik özellikler taşır. Bu özelliklerin bir kısmı, kanser hücrelerinin edindiği yeteneklerdir. Bunlar arasında büyüme sinyallerine bağımlı olmadan çoğalma, sınırsız bölünme kapasitesi (ölümsüzlük), çevre dokuları istila etme ve metastaz yapma yetenekleri bulunur. Diğer özellikler ise normal hücre işleyişinden sapmayı sağlayan mekanizmalarla kazanılmıştır. Bu mekanizmalar, büyümeyi baskılayan sinyallere karşı duyarsızlık ve apoptozun engellenmesini içerir. Bu özellikler, tüm kanser türlerinin ortak noktalarını oluşturan ayırt edici niteliklerdir (Rajawat & Misra, 2021).

2.1.2. Kanserin Ayırt Edici Özellikleri

Karsinogenez, kanserin oluşum süreci olup, hayati öneme sahip düzenleyici yollarda biriken hatalardan kaynaklanan çok aşamalı bir mekanizmadır. Bu süreç, tek bir hücrenin değişim göstermesiyle başlar, ardından bu hücre çoğalarak çevresindeki hücrelere göre hayatta kalma üstünlüğü sağlayan ek özellikler kazanır. Kanserin ortaya çıkabilmesi için bu değişime uğramış hücrelerin, milyarlarca kanserli hücre oluşturacak şekilde çoğalması gerekir (King & Robins, 2006). Bu nedenle, bir tümörün oluşumu çok aşamalı bir süreçtir ve hücrelerin kazanması gereken altı temel kanser özelliği bulunur. Bunlar; proliferatif sinyalizasyonun devamlılığı, büyüme karşıtı sinyallerden kaçış, hücre ölümüne karşı direnç, sınırsız replikasyon kapasitesi, anjiyogenezin uyarılması, doku invazyonu ve metastazın aktive edilmesini içerir. Son yıllarda yapılan kavramsal ilerlemelerle bu listeye iki yeni özellik daha eklenmiştir: enerji metabolizmasının yeniden yapılandırılması ve immün tahribattan kaçınmak. Tüm bu özelliklerin gelişiminde, genetik çeşitlilik oluşturarak süreci hızlandıran genom kararsızlığı ile birden fazla karakteristik özelliği destekleyen inflamasyon önemli rol oynar (Hanahan & Weinberg, 2011).

2.1.3. Kanserin Genetik Temeli

Proto-onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve genom tamir-onarım genleri olmak üzere üç geniş gen sınıfında meydana gelen mutasyonlar, kanserin oluşumunda kritik bir rol oynar. Bu genler, hücre büyümesi ve çoğalmasını düzenleyen çeşitli protein türünü kodlar. Neredeyse tüm insan tümörlerinde bu genlerde mutasyonlara rastlanmaktadır (Lodish ve ark., 2021).

Tümör baskılayıcı genler, hücre büyümesini engelleyen ve hücrelerin malign hale gelmesini önleyen proteinleri kodlar, bu nedenle hücrenin fren mekanizması olarak işlev görürler. Onkogenler ise genetik kararsızlığa yol açabilen, apoptozu engelleyebilen,

metastazı teşvik edebilen, genel büyüme kontrolünü bozabilen ve bir hücrenin malign hale gelmesini tetikleyebilen proteinleri kodlar. Çoğu onkogen, hücre bölünmesini hızlandırma görevini üstlenir. Hem onkogenlerin hem de tümör baskılayıcı genlerin varlığı, hücre büyümesini normal sınırlarda tutan pozitif ve negatif kontrol mekanizmasına işaret eder (Nandi & Roy, 2022).

Kanserde, proto-onkogenler ya da onkogenlerdeki aktive edici mutasyonlar (fonksiyon kazanımı) hücre bölünmesinin kontrolsüz hale gelmesine ve kanser hücrelerinin hayatta kalma oranlarının artmasına yol açar. Tümör baskılayıcı genlerde ise işlev kaybına yol açan mutasyonlar, kanser hücrelerinin hücre ölümüne karşı direnç göstermesine katkıda bulunur (Pierron, 2015).

2.2. Beyin Tümörleri

Beyin tümörü terimi, her biri kendine özgü biyolojik özellikleri, prognozu ve tedavi yöntemleriyle farklılık gösteren neoplazmaları tanımlar. Bu tümörler, tamamının beyin dokusundan kaynaklanmaması nedeniyle intrakraniyal neoplazmalar olarak da bilinir. İntrakraniyal tümörler, primer ve sekonder beyin tümörleri olarak iki grupta sınıflandırılır. Primer beyin tümörleri, glial hücrelerden ya da meninkslerdeki hücrelerden kaynaklanırken, sekonder beyin tümörleri, metastaz yoluyla beyine yayılan farklı dokulara ait kanser hücrelerinden oluşur (DeAngelis, 2001).

Beyin tümörleri, beyin hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde çoğalması sonucu ortaya çıkar. Akciğer, böbrek, meme ve kolon gibi periferik kanserlerin metastatik lezyonlarından meydana gelir. Tümörün büyüme hızına ve konumuna bağlı olarak belli semptomlarla ortaya çıkabilir. Tümörler, biyolojik özelliklerine göre iyi huylu (benign) veya kötü huylu (malign) olarak kategorize edilmektedir. Bu tümörler konumlarına bağlı olarak primer ve metastatik beyin tümörleri olarak kategorize edilir (Binder & Steinhäuser, 2021; Lehto & Stein, 2009; Pehlivan ve ark., 2020). Primer beyin tümörü

doğrudan beyinde gelişirken, sekonder beyin tümörü farklı organdan gelişen tümörün metastaz yapmasıyla meydana gelmektedir (Kheirollahi ve ark., 2015)

2.2.1. Glioma

Glioma, tümörle ilişkili genlerdeki heterojenlik ve tümör duyarlılığı özelliklerine sahip olan, primer malign beyin tümörlerinin en yaygın türüdür. Gliomalar genel olarak sınırlı gliomalar ve diffüz gliomalar olarak iki gruba ayrılır. Sınırlı gliomalar, iyi huylu olup, tamamen cerrahi olarak çıkarıldığında tedavi edilebilirken, diffüz gliomalar daha kötü huyludur ve yalnızca cerrahi müdahale ile tedavi edilemez. Glial hücrelerden köken alan ve glioma olarak bilinen primer beyin tümörleri, santral sinir sistemi tümörleri arasında en büyük grubu oluşturur. Glioma kategorisine giren tümörler arasında astrositomlar, oligodendrogliomlar, oligoastrositomlar ve ependimomlar yer alır. Astrositik tümörler, tüm gliomaların %80-85'ini oluşturur ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflamasına göre dört dereceye ayrılırlar (Louis ve ark., 2007, 2021; Yang ve ark., 2022).

Tümör derecesindeki artış, anjiyogenez ve tümör büyüme potansiyelini artırarak hastalığın ilerlemesini olumsuz etkiler. Derece I astrositomlar, subependimal dev hücreli astrositom ile pilositik astrositom olarak iki gruba ayrılır. Derece II astrositomlar ise diffüz astrositomlar olarak adlandırılır. Derece III seviyesindeki astrositik tümörler, anaplastik astrositom olarak bilinir ve genellikle malign astrositom ya da yüksek dereceli astrositom şeklinde tanımlanır. GBM, derece IV astrositomlar içinde yer alır ve en agresif astrositik tümör olarak kabul edilir. Bu tümörlerin ortaya çıkış yaşı ve görülme sıklığı birbirinden farklılık göstermektedir. Beyin tümörlerinin oluşum mekanizmaları tam olarak anlaşılamamış olsa da risk oluşturabilecek bazı faktörler belirlenmiştir. Araştırmalar, genetik yatkınlık, çevresel etkiler, viral enfeksiyonlar, sigara ve alkol kullanımı ile cep telefonu gibi teknolojik cihazların kullanımının bu risk faktörleri

arasında yer alabileceğini göstermektedir (Lapointe ve ark., 2018). Saç boyaları, solventler, hava kirliliği gibi kimyasal maddeler ve düşük frekanslı elektromanyetik alanların potansiyel etkilerinin belirlenebilmesi için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (ZainEldin ve ark., 2022).

2.2.2. Glioblastoma

Gliomlar, tüm beyin tümörlerinin %29'unu oluşturur ve bunlar arasında en iyi prognoza sahip olanlar, 5-10 yıllık sağkalım oranıyla pilositik astrositomlardır (WHO derece I) (Philips ve ark., 2018). En malign glioma türü olan glioblastoma (GB, WHO derece IV), tanıdan sonra ortalama 15 aylık bir sağ kalım süresi ile ilişkilidir (Louis ve ark., 2016). Glioblastoma (GBM; WHO derece IV gliom), en sık rastlanan ve en ölümcül primer beyin tümörüdür (Ostrom ve ark., 2015; Stupp ve ark., 2009).

GBM tedavisinde temel yaklaşım, cerrahi işlem ile tümörlü dokunun çıkarılmasıdır. Cerrahi uygulanamayan durumlarda ise, kemoterapi ve radyoterapi kullanarak tümör büyümesinin kontrol altına alınması amaçlanmaktadır. GBM, farklı hücre tiplerinden oluşan heterojen bir yapıda olduğu için tedavi edilmesi güç ve yüksek morbidite ve mortalite oranlarına sahip bir kanser türüdür. Son yıllarda uygulanan tedavi yöntemleri çoğunlukla istenen başarıyı sağlayamamıştır. Bununla birlikte gen tedavisi, anti-anjiyenez tedavi ve lokal polimer bazlı ilaç uygulamaları gibi deneysel yaklaşımlar, bazı vakalarda hastaların yaşam süresinin uzatılmasında etkili olmuştur (Mason ve ark., 2007).

Geleneksel tedavi yöntemleri, GBM'li hastalara genellikle kabul edilebilir bir yaşam kalitesi ile ek hayatta kalma süresi sağlasada kesin bir tedavi henüz bulunamamıştır. GBM, transkripsiyon profilleri (pronöral, nöral, klasik ve mezenkimal), genetik (izositrat dehidrojenaz 1 [IDH1] mutasyonları) ve epigenetik (CpG ada metilatör fenotipi [CIMP]) ile tanımlanan tümör gruplarının tanınmasına olanak tanıyan, genomik

olarak en kapsamlı şekilde karakterize edilen kanser türlerinden biridir (Weller ve ark., 2013).

2.2.2.1. Epidemiyoloji

Glioblastoma, merkezi sinir sistemi tümörlerinin yaklaşık %16'sını ve gliomaların %54'ünü oluşturur. Bu tümör her yaşta görülebilir, ancak genellikle yaşlı yetişkinlerde daha yaygındır. İnsidansı yaşla birlikte artar, 75-84 yaş arasında zirveye ulaşır ve tanı anındaki ortalama yaş 64'tür. Glioblastoma erkeklerde kadınlara göre daha sık görülür. GBM tanısı almış hastaların ortalama hayatta kalma süresi 14 aydır ve yalnızca %2'si cerrahiden sonra 3 yıl hayatta kalmayı başarır. GBM tedavisinde karşılaşılan en büyük zorluk, tümör gelişim mekanizmalarını aydınlatmaya yardımcı olabilecek yeterli prognostik ve prediktif biyomarkerlerin eksikliğidir (Roda ve ark., 2024).

U-87 MG

Glioblastoma multiforme üzerine yapılan çoğu araştırmada, özellikle preklinik araştırmalarda, iyi tanımlanmış ve oluşturulmuş tümör hücre hatları tercih edilmektedir. U87, U373, U251, U118 ve T98G gibi insan kökenli glioblastoma hücre hatları, bu tür araştırmalarda sıkça kullanılır ve ticari olarak temin edilebilir (Jacobs ve ark., 2011). Ayrıca, sıçanlardan (CNS1 ve C6) ve farelerden (GL261) türetilen hayvan kökenli glioblastoma hücre hatları da mevcuttur; ancak bu hücre hatları, spontan gelişen tümörler değil, kimyasal olarak indüklenmiş glial tümörlerdir (Jacobs ve ark., 2011; Urbńska & Mandal, 2014).

Nöro-onkoloji çalışmalarında en çok kullanılan U-87 MG hücre hattı (Uppsala 87 malignant glioma), 1966 yılında İsveç'in Uppsala Üniversitesi'nde, 44 yaşındaki bir kadın hastadan alınan glioblastoma tümör dokusundan geliştirilmiştir (Dolgin, 2016). U-87 MG hücre hattı, U-251 MG ve U-373 MG gibi yaygın olarak kullanılan diğer hücre hatlarıyla birlikte, 1977 yılında Fogh ve ekibinin yönetimindeki bir hücre deposunda

muhafaza edilmiş, daha sonra ise Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu'na (American Type Culture Collection, ATCC) devredilmiştir. 2016 yılında gerçekleştirilen genetik profillemeye analizleri, ATCC gibi hücre koleksiyonları tarafından dağıtılan bu hücre hattının, orijinal hücre hattıyla bazı farklılıklar içerdiğini göstermiştir (Allen ve ark., 2016).

U-87 insan malign glioma hücre hattının yanı sıra, birçok farklı glioma hücre hattı da bulunmaktadır. Bu glioma hücre hatları, moleküler düzeyde birbirinden farklı özellikler sergileyebilmektedir. Bir çalışmada, non-steroid anti-inflamatuar bir ilaçla indüklenen NAG-1 gen anlatımının, U-87 MG, U-118 MG, T98G ve U-251 MG hücre hatlarında apoptozu artırdığı, ancak A172 ve LN-229 hücre hatlarında herhangi bir değişikliğe yol açmadığı ifade edilmiştir (Dolgin, 2016).

Hücreler epiteliyal yapıda olup, yapışkan (adherent) özellik sergilerler. Karakteristik olarak 44 kromozom taşıyan bu hücreler hipodiploid yapıdadır. Yapılan mutasyon analizlerinde, 154 gende tek nükleotid 21 varyasyonu, 178 gende küçük insersiyon ve delesyon, 145 gende büyük mikrolelesyon ve 35 gende interkromozomal translokasyon tespit edilmiş; toplamda 512 genin homozigot mutasyon taşıdığı belirlenmiştir (Clark ve ark., 2010).

2.2.3. Nöroblastoma

Nöroblastoma (NB), adrenal medulla ve sempatik ganglionlarda gelişen, nöral kista kökenli bir tümördür. Bu hastalık, nöroblast adı verilen olgunlaşmamış sinir hücrelerinin kontrolsüz çoğalması sonucu meydana gelir. Adrenal bezler, karın, göğüs, boyun ve pelvis gibi vücudun farklı bölgelerinde tümörlerin oluşumu, nöroblastların anormal büyümesiyle ilişkilidir (Shohet & Foster, 2017).

NB, çocuklarda en yaygın görülen ekstrakraniyal solid tümördür. Bu tümörler genellikle karın bölgesinde ortaya çıkar ve en sık adrenal bezlerde lokalize olur (Mlakar ve ark., 2017; Twist ve ark., 2019).

NB, çocukluk çağı malignitelerinin %7-8'ini oluşturur ve Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 650 yeni vaka teşhis edilmektedir. Bununla birlikte, NB tüm pediatrik kanser ölümlerinin yaklaşık %15'ini kapsamaktadır. Düşük ve orta risk grubundaki hastalarda sağkalım oranı %100'e yakınken, yüksek riskli NB vakalarında 5 yıllık sağkalım oranı %50'nin altına düşmektedir (Gatta ve ark., 2014; Matthay ve ark., 2016; Mlakar ve ark., 2017; Tonini & Capasso, 2020). NB, çoğunlukla yaşamın ilk yılında teşhis edilir, bu da hastalığın daha iyi bir prognoza sahip olmasını sağlar. Ancak, daha ileri yaşlardaki hastalarda genellikle daha kötü bir prognoz görülmektedir (Maris, 2010a).

Bebeklik döneminde spontan gerileme gösteren bazı vakalar dışında, hastaların yaklaşık %65'inde tanı anında metastatik bulgular bulunmaktadır. Terapötik müdahalelere rağmen, çoğu vakada ya hastalığa direnç ya da relaps eğilimi gözlemlenmektedir (Ladenstein ve ark., 2018). Kanser hücrelerinin bölünme hızındaki değişiklikler, büyük ölçüde bu hücrelerin mikroçevresiyle ilişkilidir (Yu ve ark., 2021).

Nöroblastomada bazı etnik farklılıklar mevcuttur; hastalık, Avrupa kökenli bireylerde daha sık görülürken, Afrikalı-Amerikalı çocuklar daha yüksek riskli hastalık geliştirme eğilimindedir (Henderson ve ark., 2011). NB, erkeklerde kızlara oranla daha sık görülür, ancak bu cinsiyet farkının genetik ve epigenetik temeli hala netleşmemiştir (Ward ve ark., 2014). Şu ana kadar açıkça belgelenmiş ve bağımsız olarak doğrulanmış hiçbir çevresel faktörün NB riskini artırdığı gösterilmemiştir. Ancak, anne ilaç kullanımı ve hamilelik sırasında saç boyası kullanımı gibi çevresel maruziyetlerin hastalıkta belirli bir rolü olabileceği düşünülmektedir, ancak bu etkiler yetişkinlerdeki malignitelerden çok

daha düşük bir seviyededir (Bluhm ve ark., 2006; McCall ve ark., 2005). Ayrıca, nöroblastoma genetik, biyolojik, klinik ve morfolojik açıdan büyük bir heterojenliğe sahip karmaşık bir hastalıktır, bu da etkili bir tedaviyi güçleştirir (Bosse & Maris, 2016; Luksch ve ark., 2016; Pinto ve ark., 2015).

NB tümörleri, embriyonik tümörler arasında yer alır çünkü mevcut kanıtlar, bu tümörlerin fetal gelişim sırasında nöral krest hücrelerinden (NCC'ler) türediğini ortaya koymaktadır (Delloye-Bourgeois & Castellani, 2019).

2.2.3.1. Epidemiyoloji

Nöroblastomlar, bebeklerde en yaygın görülen solid tümörlerdir. Çocuklar ve gençlerde ise, beyin tümörlerinden sonra en sık karşılaşılan ekstrakranial solid tümörlerdir (Brodeur, 2003; Maris, 2010b; Radic-Sarikas ve ark., 2017; Vella ve ark., 2015). Bu hastaların yaklaşık %90'ı 5 yaşın altındadır. Genel popülasyonda, nöroblastom tanısı konan çocukların ortalama yaşı 18 ayağıdır ve bu durum özellikle 10 yaşın altındaki çocuklarda görülür. Ailesel nöroblastom öyküsü bulunan hastaların ortalama tanı yaşı ise 9 ayağıdır. 1 yaşını geçmiş çocuklarda, nöroblastomlar hızla büyüyerek lenfatik sistem aracılığıyla kemik iliğı, kemikler, karaciğer ve deriye metastaz yapabilir (Alexander, 2000; DuBois ve ark., 1999).

SH-SY5Y

Embriyonik merkezi sinir sisteminden köken alan primer memeli nöronları, olgun nöronlara farklılaştıktan sonra bölünme yeteneklerini kaybettikleri için kullanımda sınırlamalar vardır. Bu sebeple *in vitro* araştırmalarda, genellikle modifiye edilmiş nöron benzeri hücre hatları tercih edilmektedir. İnsan nöroblastomasının metastatik kemik tümöründen elde edilen SH-SY5Y hücre hattı, merkezi sinir sistemi üzerine yapılan *in vitro* çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Kovalevich & Langford, 2013a).

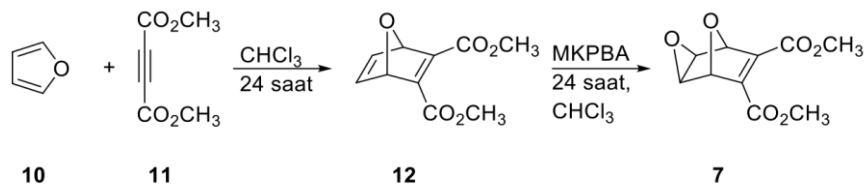
SH-SY5Y, 1970 yılında, metastatik kemik tümörüne sahip 4 yaşındaki bir kız çocuğundan elde edilmiştir. Bu nöroblastom hücre hattı, SK-N-SH (ATCC HTB-11) hattının üç kez pasajlanmasıyla elde edilmiş bir alt tiptir (Shipley ve ark., 2016).

NB hücre hatları üç farklı fenotipe ayrılmaktadır: nöroblastik (N-tipi), düz veya substrata yapışan (S-tipi) ve ara tip (I-tipi) (Campos Cogo ve ark., 2020). Farklılaşmamış formda, SH-SY5Y hücreleri, nöroblast benzeri morfolojiye sahip olup polarizasyon göstermeyen hücre gövdeleri ile kısa ve kesik uzantılarla karakterize edilir. Bu hücreler, genellikle kümeler halinde büyür ve merkezde yoğunlaşan bir yapıda toplanabilir (Kovalevich & Langford, 2013b). SH-SY5Y hücreleri, çevresel koşullara bağlı olarak kolinergik, adrenergik veya dopaminerjik gibi farklı nöronal fenotiplere doğru yönlendirilebilir (Xie ve ark., 2010b)

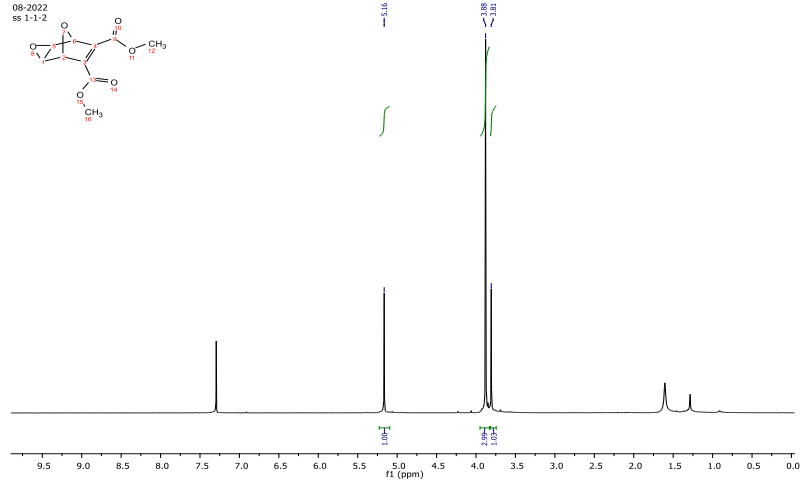
SH-SY5Y hücre hattı, 1970 yılında 4 yaşındaki bir kız çocuğunun metastatik nöroblastomunun kemik iliği biyopsisinden elde edilerek kültür ortamında çoğaltılan ve üç kez klonal seçimden geçirilen SK-N-SH hücre dizisinin bir alt hattıdır (JL, 1978). SH-SY5Y hücre hattının ilk karakterizasyon çalışmalarında, orta seviyede dopamin- β -hidroksilaz aktivitesi ve düşük düzeylerde kolin asetiltransferaz, asetilkolinesteraz ve butirilkolinesteraz aktiviteleri ile birlikte bazal noradrenalin salınımı ve tirozin hidroksilaz aktivitesi sergilediği bildirilmiştir (Xicoy ve ark., 2017b).

2.3. Epoksitler ve Epoksitlerin Sentezi

Grubumuzun gerçekleştirdiği sentezler;

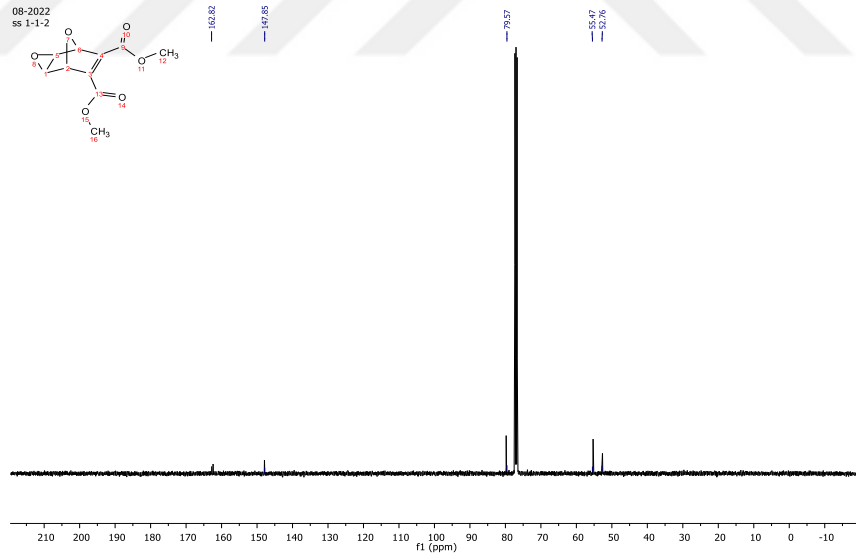


Şekil 2.1 ras-Dimetil 3,8-dioksatisiklo[3.2.1.0^{2,4}]okta-6-en-6,7-dikarboksilat'ın (Bisiklikepoksit 7) sentezi



Şekil 2.2. Bisiklikepoksit 7'nin 400 MHz ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)

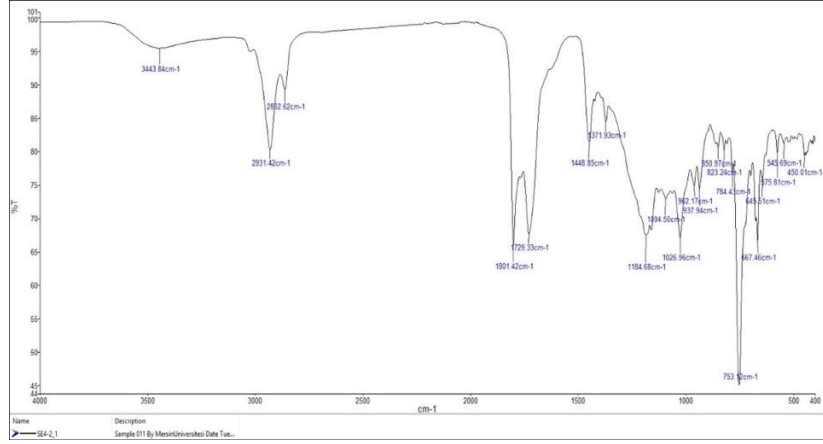
Bisiklikepoksit 7'ye ait ^1H -NMR spektrumunda; metoksit grubu protonları δ 3.88 ppm'de, epoksit grubu karbonlarına bağlı protonlar singlet şeklinde δ 3.81 ppm'de ve köprübaşı protonları ise δ 5.16 ppm'de gözlemlenmiştir (Şekil 2.2) (Yılmaz ve ark., 2015).



Şekil 2.3. Bisiklikepoksit 7'nin 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3)

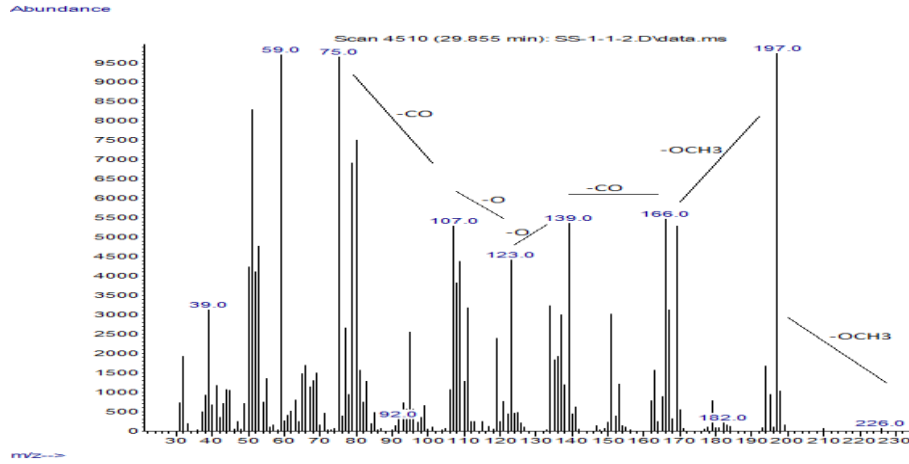
Bisiklikepoksit 7'nin ^{13}C - NMR spektrumunda; çift bağlarının dört bağlı karbonları δ 147.8 ppm'de, karbonil grupları ise δ 162.8 ppm'de rezonans yapmıştır.

Köprübaşı karbonları δ 79.6 ppm’de, epoksit karbonları δ 55.5 ppm’de ve metoksi grubu karbonları ise δ 55.8 ppm’de rezonans göstermektedir (Şekil 2.3) (Yılmaz ve ark., 2015).



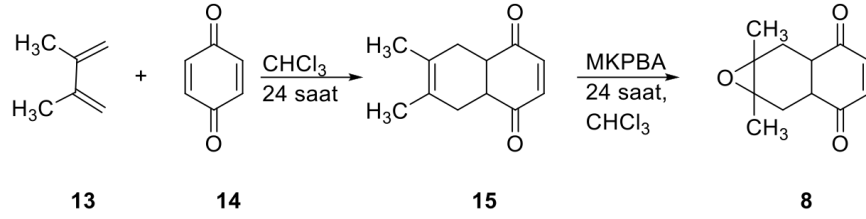
Şekil 2.4. Bisiklikepoksit 7’nin FT-IR spektrumu

Bisiklikepoksit 7’ye ait FT-IR spektrumunda; 2971-723 cm⁻¹ aralığındaki bantlar alkan zincirine bağlı CH bağlarının gerilmesiyle 1801 cm⁻¹’deki bant ise C=O karbonil grubuyla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, 1448 cm⁻¹ ve 1184 cm⁻¹’deki bantlar ester grubunun karbonil gerilmesi olarak yorumlanmıştır (Şekil 2.4) (Yılmaz ve ark., 2015).

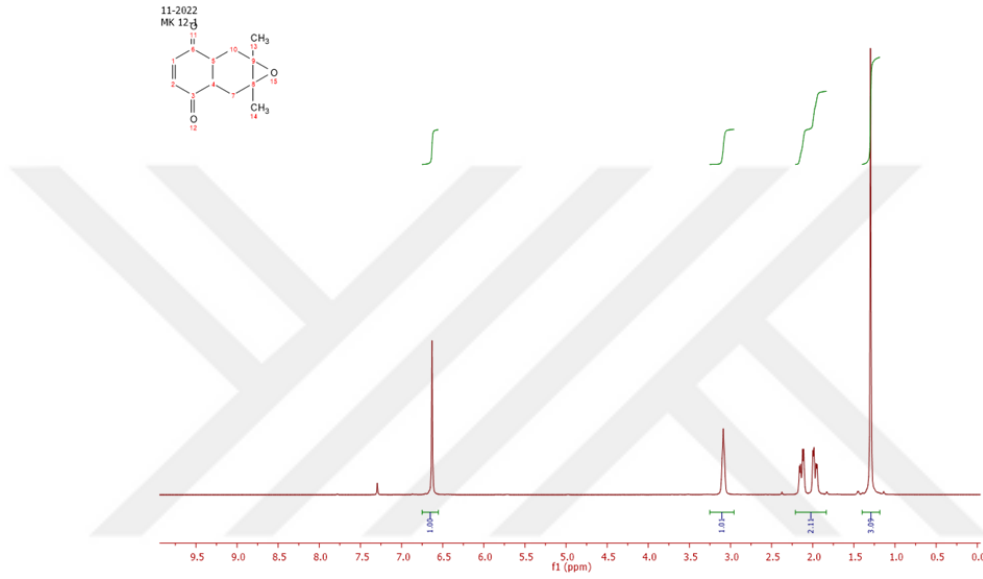


Şekil 2.5. Bisiklikepoksit 7’nin GC-MS spektrumu

Bisiklikepoksit 7’nin GC-MS spektrumunda, parçalanmaların yapıyla uyumlu olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 2.5) (Yılmaz ve ark., 2015).

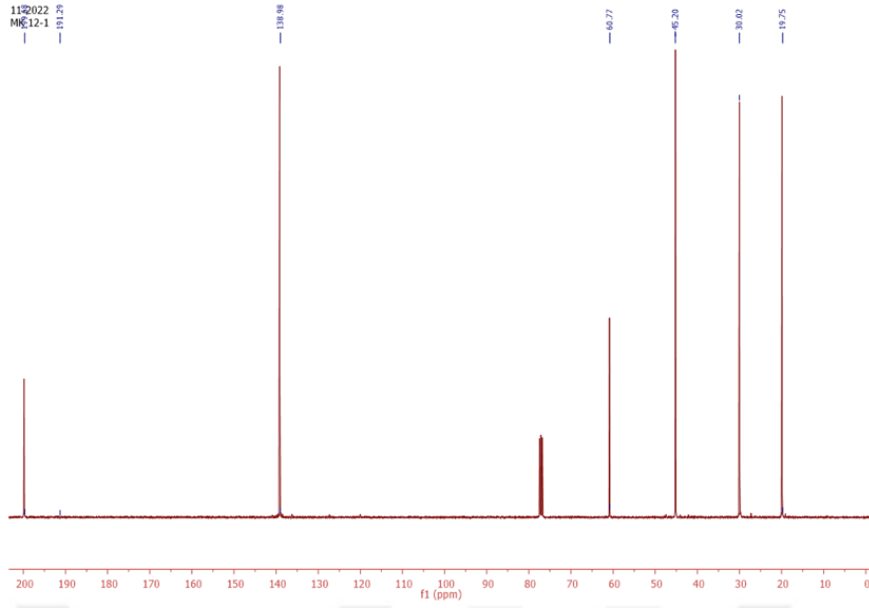


Şekil 2.6. 1a,7a-dimetil-1a,2,2a,6a,7,7a-heksahidronafto[2,3-b]oksiren-3,6-dion'un (Bisiklikepoksit 8) Sentezi

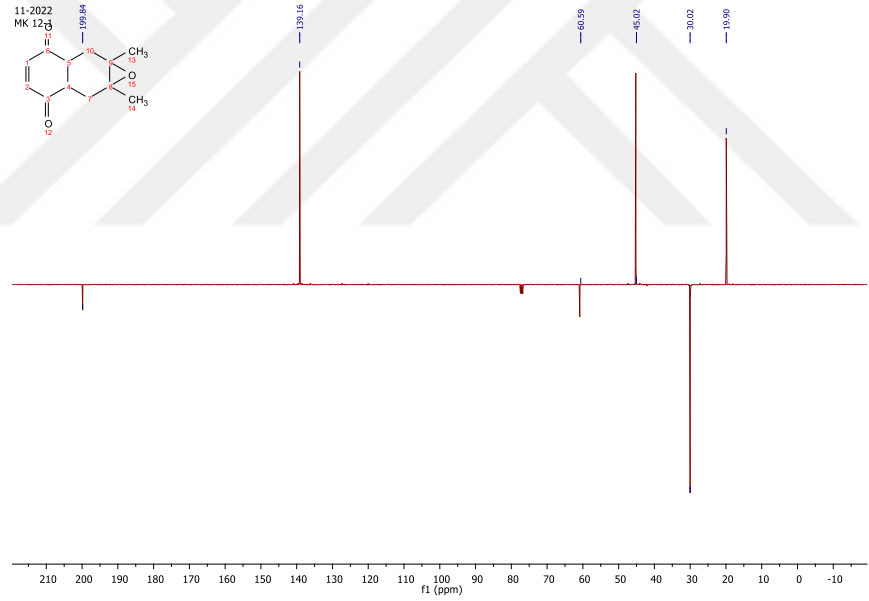


Şekil 2.7. Bisiklikepoksit 8'in 400 MHz ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)

Bisiklikepoksit 8'in ^1H NMR spektrumu, yapının doğruluğunu desteklemektedir; spektrumda çift bağ protonu 6.66 ppm, metin protonu 3.20 ppm, metilen protonları 2.42–2.10 ppm aralığında ve metil protonları ise 1.63 ppm'de gözlemlenmiştir (Şekil 2.7) (Salatan ve ark., 2023).

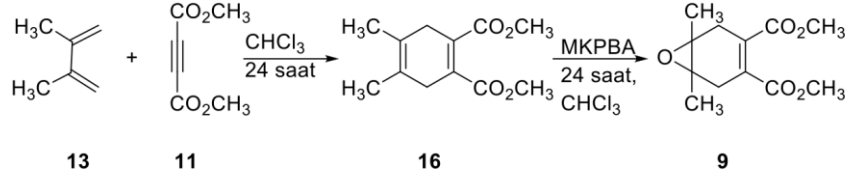


Şekil 2.8. Bisiklikepoksit 8'in ^{13}C NMR spektrumu (CDCl_3)

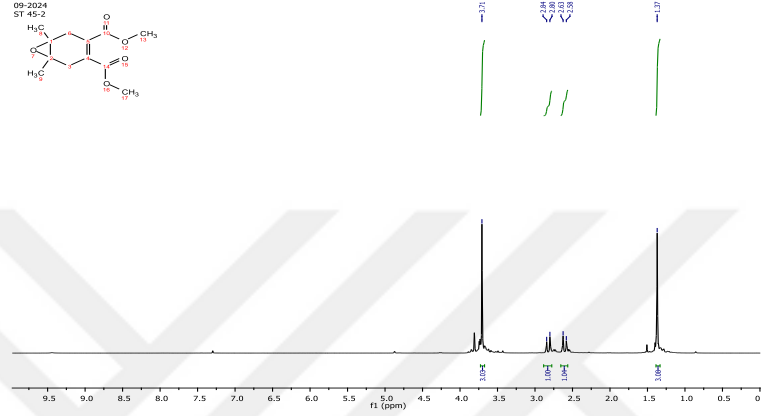


Şekil 2.9. Bisiklikepoksit 8'in 100 MHz APT spektrumu (CDCl_3)

Bisiklikepoksit 8'in ^{13}C ve APT NMR spektrumlarında, yapıyla uyumlu olarak karbonil karbunu 200.1 ppm, çift bağ karbonları 139.2 ve 123.3 ppm, metin karbonu 47.3 ppm, metilen karbonu 30.4 ppm ve metil karbonları 18.8 ppm'de gözlenmiştir (Şekil 2.9) (Salatan ve ark., 2023).

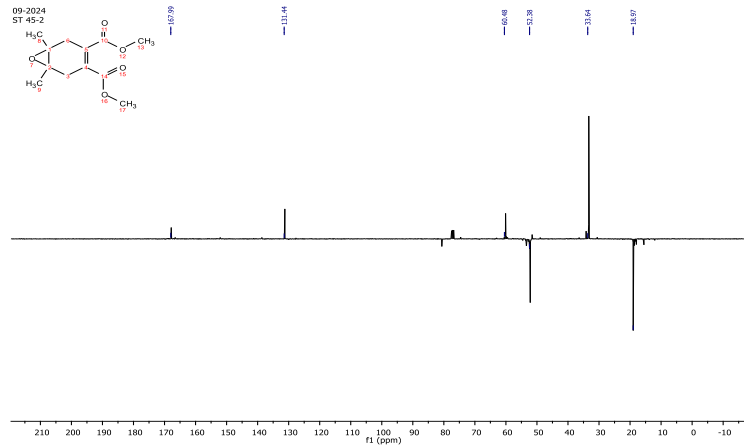


Şekil 2.12. Dimetil 1,6-dimetil-7-oksabisiklo[4.1.0]hepta-3-en-3,4-dikarboksilat'ın (Siklikepoksit 9) sentezi



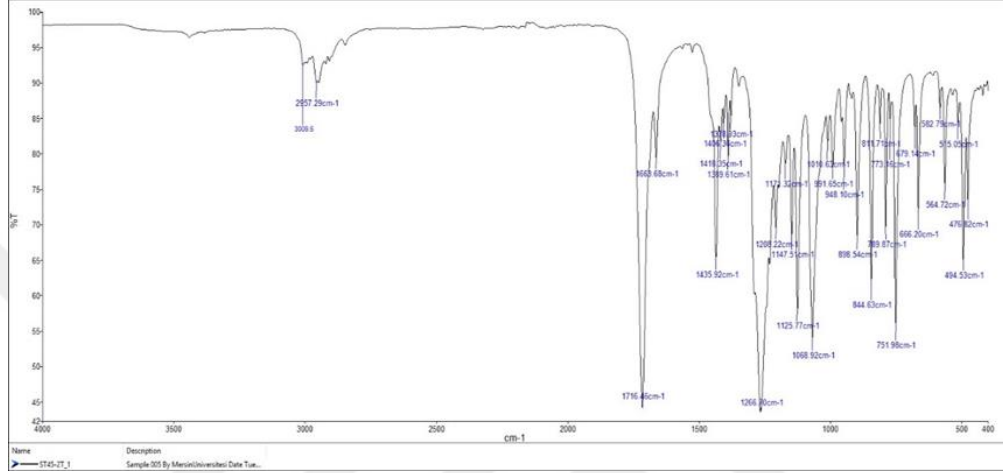
Şekil 2.13. Siklikepoksit 9'un 400 MHz ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)

Siklikepoksit 9'un ^1H -NMR spektrumunda, metil grupları δ 1.37 ppm'de, metoksit protonları ise δ 3.71 ppm'de singlet olarak gözlemlenmiştir. Metilen protonları δ 2.84-2.58 ppm aralığında AB sistemi oluşturmuştur. A kısmı 2.84-2.80 ppm'de dublet ($J = 17.23$ Hz) olarak, B kısmıysa 2.63 ve 2.58 ppm'de dublet şeklinde ayrılmıştır (Şekil 2.13) (Sevinçoğlu, 2024).



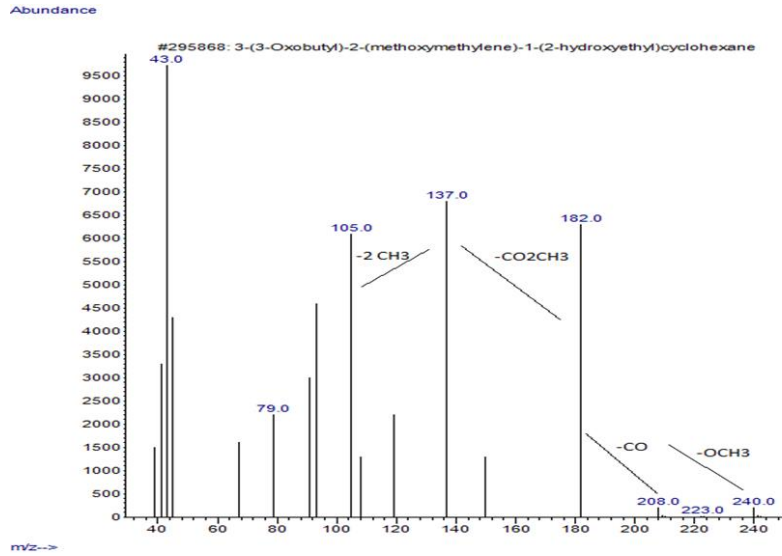
Şekil 2.14. Siklikepoksit 9'un 100 MHz APT spektrumu (CDCl_3)

Siklikepoksit 9'un APT NMR spektrumunda, çift bağ karbonu δ 131.4 ppm'de, ester grubu karbonları δ 167.9'de pozitif sinyal göstermiştir. Metoksit karbonu δ 52.4 ppm'de negatif, oksijene bağlı kuvarterner karbon ise δ 60.5 ppm'de pozitif sinyal göstermiştir. Metil karbonları δ 18.9 ppm'de negatif, metilen karbonları ise δ 33.6 ppm'de pozitif sinyal göstererek rezonans yapmıştır (Şekil 2.14) (Sevinçoğlu, 2024).



Şekil 2.15. Siklikepoksit 9'un FT-IR spektrumu

Siklikepoksit 9'un FT-IR spektrumunda, 2957 cm⁻¹'de gözlemlenen bant alifatik C-H gerilme titreşimine aittir. 1716 cm⁻¹'de belirgin zirve, karbonil grubuna (C=O) ait bir pik olarak görülmektedir. Ayrıca, 1000-1300 cm⁻¹ aralığındaki pik, C-O titreşimleriyle ilişkilidir ve molekülün ester grubuna aittir (Şekil 2.15) (Sevinçoğlu, 2024).



Şekil 2.16. Siklikepoksit 9'un GC-MS spektrumu

Siklikepoksit 9'a ait GC-MS spektrumunda, parçalanmaların yapı ile uyumlu olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 2.16) (Sevinçoğlu, 2024).

2.3.1. Fourier-Transform Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi

Kızılötesi (IR) spektroskopisi, bir örneğin kimyasal yapısını analiz etmek amacıyla kullanılan bir titreşimsel spektroskopi yöntemidir (Skoog ve ark., 2019). Kızılötesi radyasyonu emebilen moleküller, sıfırdan farklı bir dipol momentine sahip olanlardır ve bu özellik, malzemeyi oluşturan moleküllerin kızılötesi ışığı emme özelliğine dayanır. Fourier-dönüşüm kızılötesi (FT-IR) spektroskopisinin temel bilimsel prensibi ise, 1880'lerin sonlarında Albert A. tarafından ortaya konmuştur (Baker ve ark., 2014; Navas ve ark., 2008).

FT-IR, analistler tarafından malzemeler ve ürünler hakkında analitik testlerle derinlemesine bilgi edinmek için yaygın olarak tercih edilen bir tekniktir. Bu yöntem, numunede iletim, yansıma veya transflektans yoluyla uygulanabilir ve elde edilen spektral veriler, numunenin kimyasal bileşimini belirlemekte kullanılır. FT-IR, boyalar, gıda maddeleri, ilaçlar, polimerler gibi farklı malzeme türlerinin yanı sıra doku ve

biyoakışkanlar gibi biyolojik örneklerin analizinde de etkili bir şekilde kullanılabilir (Baker ve ark., 2014).

2.3.2. Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)

Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi (NMR spektroskopisi), atom çekirdeklerinin çevresindeki manyetik alanlarla olan etkileşimlerini inceleyen bir analitik kimya tekniğidir. Bu teknik, özellikle organik kimya ve biyokimya alanlarında yaygın olarak uygulanır. NMR, atom çekirdeklerinin manyetik bir alan içindeki davranışlarını inceler ve bu süreç genellikle güçlü bir sabit manyetik alan üreten bir NMR spektrometresi ile gerçekleştirilir. Atom çekirdekleri, manyetik bir momente sahiptir (bir tür manyetik çubuk gibi düşünülebilir) ve bu moment, çevresindeki manyetik alanla etkileşim halindedir. Çekirdekler, manyetik alanda rezonans durumuna ulaştığında enerji emisyonu gerçekleşir ve bu rezonans frekansı, çekirdeğin manyetik alanla olan etkileşimine bağlıdır. Bu frekans, molekül yapısının belirlenmesinde kullanılır. Çekirdekler, kimyasal olarak farklı ortamlarda bulunabilir ve bu da manyetik alanla etkileşimlerinde farklılıklara yol açar. Bu farklılıklar spektrum üzerinde çeşitli sinyaller olarak ortaya çıkar ve kimyasal kayma olarak adlandırılır. NMR, organik moleküllerin yapısını çözümlmek için son derece etkili bir tekniktir (Holme & Perlin, 1989).

2.3.3. Erime Noktası Tayin Cihazı

2.3.3.1. Gaz Kromatografisi (GS)

Kromatografi, maddelerin hareketli bir faz yardımıyla sabit bir faz üzerinde farklı hızlarla taşınması veya hareket etmesi ilkesine dayanan etkili bir ayırma tekniğidir. Bu yöntem, hedeflenen numunenin ayrılmasını ve miktarının ölçülmesini sağlar (Eser & Dınçel, 2018). Ayrılması oldukça zor hatta imkânsız olan maddeler bu yöntem ile saf bir şekilde elde edilebilmektedir.

Gaz Kromatografisi, gaz formundaki karışımların veya kolayca buharlaşabilen bileşenlerin ayrıştırılması ve analiz edilmesinde sıkça kullanılan bir yöntemdir. Bu teknikte hareketli faz, karışımı sabit bir ortam olan kolon boyunca taşımaya yarayan bir çözücü olarak görev yapar (Aydın, 2013; Kaur & Sharma, 2018; Özden Üzmez, 2013). Bu teknikte hareketli faz (mobil) çözücüdür ve hareketli fazın görevi, karışımı sabit ortam (kolon) boyunca taşımaktadır (Stuart, 2007). Helyum (He), azot (N₂), argon (Ar) ve hidrojen (H₂) gibi inert gazlar, gaz kromatografisinde hareketli faz olarak tercih edilen gazlardır. Gaz kromatografisinin diğer kromatografi türlerine göre avantajları arasında; hızlı ayırma, çok küçük miktarların tespit edilebilmesi hem kalitatif hem de kantitatif analizlerin yapılabilmesi, kompleks karışımların ayrıştırılabilmesi, basit ve ekonomik bir yöntem olması ile güvenilir sonuçlar sağlaması gibi özellikler bulunmaktadır (Kaur & Sharma, 2018).

2.3.3.2. Kütle Spektrometresi (MS)

Kütle spektrometresi, analizi yapılacak numunenin önce gaz fazına dönüştürüldüğü, ardından iyonlaştırılarak bu iyonların kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayrılıp kaydedildiği bir cihazdır. MS, uçucu organik bileşiklerin analizinde sıklıkla tercih edilen bir dedektördür. Gaz kromatografisinden dedektöre ulaşan bileşiklerin kromatogramları oluşturularak kütle spektrumları elde edilir ve bu sayede kaalitativ analiz daha kesin bir şekilde gerçekleştirilebilir (Özden Üzmez, 2013).

2.4. Hücre Kültürü

2.4.1. Sitotoksiste

Sitotoksiste, hücresel, işlevsel ve yapısal hasarları tetikleyen moleküler olayların aşamalarını tanımlamak için kullanılır. Bu olguyu karakterize etmek, hücreyi tahrip eden pek çok farklı faktör bulunduğu için oldukça zorlu bir süreçtir. Ancak bu karmaşıklık, hücre sağkalımını destekleyen hücresel proteinlerin işlevleri ile hücre ölümüne yol açan

belirli mekanizmaları tetiklemek için hücresel genetik yapılarla dengelenmesiyle aşmaktadır (Martins & Earnshaw, 1997; Murray ve ark., 2007).

2.4.2. MTT Testi

Bu test yöntemi, 1950’lerde tanıtılmış olup, hücre çoğalmasını ölçmek için 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromide (MTT) tuzunun kullanıldığı hassas bir yöntemdir. Bu yöntemde, apoptoz inhibitörleri ve büyüme inhibitörlerinin etkisiyle değişikliğe uğrayan hücrelerin çoğalma aktiviteleri MTT testi aracılığıyla değerlendirilmektedir (Berridge ve ark., 2005; Marshall ve ark., 1995). MTT testinde, soluk sarı renkli boya tetrazolium halkasının parçalanmasıyla renk değiştirerek mavi-mor formazan oluşturur. Bu reaksiyon, mitokondriyal bir enzim olan süksinat dehidrogenazın aktif olmasına bağlıdır. Test sonucunda canlı hücreler mor renge boyanırken, ölü ya da işlevini yitirmiş hücreler boyanmaz. Oluşan mor formazan ürününü belirlemek için optik yöntemler (500-600 nm dalga boyunda Elisa reader) veya elektron mikroskobu kullanılabilir (Uzun & Bayındır, 2011). Elde edilen absorbans değerinin yüksek olması, hücre canlılığının artışı, düşük olması ise azaldığını ifade eder. Bu yöntem, diğer *in vitro* testlere kıyasla bazı üstünlüklere sahiptir. Bu avantajlar arasında testin hızlı sonuç vermesi, yüksek hassasiyet göstermesi ve düşük seviyedeki sitotoksitenin tespit edilebilmesi sayılabilir (Kılıç ve ark., 2010).

MTT testi, ilk olarak Mosmann (1983) tarafından tanımlanan bir kolorimetrik analiz yöntemidir (Mosmann, 1983). Canlı hücrelerin metabolik aktivitelerini ölçmek amacıyla uygulanır. Testin temelinde, metabolik olarak aktif hücrelerin suda çözünür sarı tetrazolyum tuzu MTT'yi, suda çözünmeyen mor formazan kristallerine indirgeyebilme özelliği yatmaktadır. Bu dönüşüm, aktif mitokondrilerdeki süksinat dehidrojenaz sistemi tarafından gerçekleştirilir (Altman, 1976; Kalina & Palmer, 1968). Ayrıca, son dönemlerde sitoplazmada glikoliz ve mitokondride oksidatif fosforilasyon sonucu oluşan

indirgenmiş formdaki koenzim nikotinamid adenin dinükleotidin (NADH), MTT indirgenmesinde temel indirgeyici ajan olduğu ileri sürülmüştür (G. Diaz ve ark., 2007; Van den Berg, 2015). İğne benzeri formazan kristalleri, organik çözücülerde veya yağlarda çözünür. Bu işlem sonucunda elde edilen renkli çözelti, 500 ile 600 nm arasındaki belirli bir dalga boyunda optik yoğunluğu (OD) ölçmek için spektrofotometre veya plaka okuyucu ile analiz edilir (Lin ve ark., 2019; Morgan, 1998). Formazan renginin yoğunluğu, canlı ve metabolik olarak aktif hücre sayısı ile doğru orantılıdır ve bu, farklı hücre tiplerinin canlılık durumlarını tahmin etmek için kullanılabilir (Aziz, 2006; Lin ve ark., 2019).

2.4.3 Toplam Oksidan Seviye (TOS)

Serum ya da plazmadaki farklı oksidan türleri çeşitli yöntemlerle tek tek ölçülebilir. Ancak bu yöntemler hem maliyetli hem de zaman açısından verimsiz olabilir. Bu nedenle, tüm oksidanların toplam düzeyini yansıtan Total Oksidan Seviyesi (TOS) ölçümü tercih edilmektedir (Erel, 2005).

2.4.4. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK)

Plazma ve diğer vücut sıvılarında yer alan tüm antioksidanların toplam etkisi, Total Antioksidan Kapasite (TAK) ölçümüyle değerlendirilir. Plazmadaki antioksidan bileşenler birbirleriyle etkileşim halindedir ve bazıları birlikte çalışarak, tek başlarına göstereceklerinden daha güçlü bir antioksidan etki oluştururlar; bu durum sinerjik etki olarak tanımlanır. Bu nedenle, oksidan-antiosidan dengesinin değerlendirilmesinde, bireysel antioksidan düzeylerinin ölçülmesinden, total antioksidan kapasitenin belirlenmesi daha doğru ve anlamlı sonuçlar verir (Bustamante ve ark., 1991; Tuma, 2002).

2.4.5. Akış Sitometrisi

Akış sitometrisi, hücrelerin veya parçacıkların bir tamponlu tuz çözeltisinde asılı haldeyken bir veya daha fazla lazer ışığının önünden geçerek hızlı bir şekilde analiz edilmesini sağlayan bir tekniktir. Her bir parçacık, görünür ışık saçılımı ve bir veya daha fazla floresan parametresi açısından değerlendirilir. Görünür ışık saçılması, hücrenin boyutuyla ilgili bilgi sağlayan ileri yöndeki dağılım (İleri Dağılım veya FSC) ve hücrenin iç yapısal karmaşıklığını veya tanecik yapısını gösteren 90°'deki dağılım (Yan Dağılım veya SSC) olmak üzere iki farklı açıdan ölçülür. Işık saçılımı, floresandan bağımsızdır. Numuneler, floresan proteinlerin transfeksiyonu ve ekspresyonu yoluyla (örneğin, Yeşil Floresan Protein, GFP), floresan boyalarla (örneğin, Propidyum İyodür, DNA) veya floresan konjuge antikorlarla (örneğin, CD3 FITC) boyama işlemleri ile floresan ölçümleri için hazırlanır.

Akış sitometrisi, immünoloji, viroloji, moleküler biyoloji, kanser biyolojisi ve bulaşıcı hastalık izleme gibi birçok alanda geniş uygulama imkanına sahip güçlü bir tekniktir. Özellikle bağışıklık sisteminin ve bu sistemin enfeksiyonlar ile kanser gibi hastalıklara karşı gösterdiği yanıtların incelenmesinde oldukça faydalıdır. Kan ve kemik iliğinden gelen karmaşık hücre gruplarının yanı sıra, lenf düğümleri, dalak, mukozal dokular ve katı tümörler gibi tek hücrelere ayrışabilen katı dokuların aynı anda incelenmesine imkân tanır (McKinnon, 2018).

2.4.6. Hoechst 33258 Floresan Boyama ile Çekirdek Yapısı Analizi

Hoechst 33258, bisbenzimid DNA bağlayıcı bir bileşen olup, UV emilim yöntemlerine duyarlı bir florometrik görüntüleme yöntemidir. Bu yöntem, DNA, hücresel yapılar, belirli proteinler ve apoptotik çekirdeklerin aynı anda görselleştirilmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu boyama tekniğiyle, tüm hücreler işaretlenir ve

floresan mikroskop kullanılarak ölü ve canlı hücrelerin ayırt edilmesine olanak tanır (Bainbridge & Macey, 1983).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Siklik ve Bisiklik Epoksitlerin Sentezi

Daha önce sentez grubumuz tarafından sentezlenen (Yılmaz vd., 2015) siklik ve bisiklik epoksitlerin antikanser özelliği incelendi. Biyolojik aktivite çalışması yapılarak moleküller tasarlanırken küçük ve bisiklik yapıda olması, epoksit halkasına sahip olması ve karbonil grubunun bulunmasına önem verildi.

3.2. Hücre Canlılık Analizleri

3.2.1. MTT Testi

MTT molekülü (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide); canlı hücrelerin mitokondriyal membranında bulunan mitokondriyal süksinat dehidrogenaz enzimine bağlandığında formazan kristalleri oluşturmaktadır. MTT testinde formazan kristallerinin çözülmesi sonucu elde edilen absorbans derecesi ile canlı hücre sayısı arasındaki doğru orantı kullanılarak optik yoğunluk ölçülmektedir (Gerlier & Thomasset, 1986). U-87 MG insan glioblastoma ve SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hatlarında, sentezlenen siklik ve bisiklik epoksitlerin sitotoksik etkisi MTT yöntemi kullanılarak belirlendi. U87MG ve SHSY-5Y hücreleri, 48'lik plate'in her bir bölmesine 100 µL kültür besiyeri içinde 10^4 hücre olacak şekilde ekilmiş ve doxorubicin ile muamele edilen gruplar ile kontrol grubu oluşturulmuştur. Daha sonra hücreler, 37°C'de CO₂ etüvünde 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin ardından, her bir bölmeye 10 µL MTT çözeltisi eklenmiş, ardından dairesel karıştırıcıda 1 dakika boyunca hafifçe karıştırılmıştır. Sonrasında, hücreler 37°C'de CO₂ etüvünde 3-4 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon tamamlandıktan sonra, kültür besiyeri hücre tabakasına zarar vermeden dikkatlice aspire edilmiştir. Daha sonra, her bir bölmeye 100 µL DMSO eklenerek çözündürme işlemi gerçekleştirilmiş ve her bir numunenin 570 nm dalga boyunda absorbansı mikropate okuyucu ile ölçülmüştür.

3.2.2. Hoechst 33258 Floresan Boyama ile Çekirdek Yapısı Analizi

Hoechst 33258 boyası, mutasyona uğramış çekirdekleri tespit etmek amacıyla kullanılmıştır. Hücre kültürlerine belirlenen dozlarda manyetik alan ve doxorubicin uygulanmış, negatif kontrol grubu olarak ise herhangi bir ilaç verilmeyen hücre kültürü kullanılmıştır. Hücre çekirdeklerinin morfolojisini değerlendirebilmek için hücreler 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra, hücreler fosfat tamponlu tuzlu çözeltide (PBS) %4 paraformaldehit ile 4°C'de 30 dakika süreyle fikse edilmiştir. Fiksasyon işleminin ardından, hücreler PBS ile yıkanmış ve nükleer DNA'ları boyamak amacıyla oda sıcaklığında 1 µM Hoechst 33258 floresan boyası ile 5 dakika inkübe edilmiştir. Son olarak, hücreler floresan mikroskobu (Leica® DM IL LED) ile incelenmiş ve görüntülenmiştir.

3.2.3. TAK ve TOS Analizi

Optimize edilmiş kitler yardımıyla TAK ve TOS tahlilleri, kültürlerden alınan numuneler üzerinde piyasaya sürülen kitler (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) tarafından üreticisi tarafından tarif edildiği gibi gerçekleştirildi. Sentezlenen moleküllerin hücre canlılığı etkisi yüksek olan bir molekül konsantrasyonunun uygulandığı hücre kültürlerinden süpernatantlar alınarak TAK ve TOS kitleri uygulandı. Sonuç olarak ortamdaki antioksidan değer değişimleri ve oksidatif stres durumları tespit edildi.

3.2.4. Akış Sitometre Analizi

Flow sitometre kullanılarak henüz nükleer değişiklikler meydana gelmemişken, hücre membranındaki erken değişiklikler esnasında dahi apoptoz ölçülebilmektedir. Bu amaçla, apoptoz sırasında hücre membranının iç kısmında yer alan ancak apoptoz ile hücre yüzeyine çıkan fosfatidil serine bağlanma özelliği gösteren Annexin V kullanılmaktadır (D. Diaz ve ark., 2015). Propidyum iyodid (PI) ise floresan nükleik asit boyası olup yalnızca membranı hasarlı hücelere girebilir, bu nedenle primer nekrotik

veya geç apoptotik/sekonder nekrotik hücreleri boyama yeteneğine sahiptir. l-canlı hücre ayrımı için hücrelerin eř zamanlı olarak propidyum iyodid ile boyanması elde edilen sonuçları daha güvenilir hale getirmektedir (Diaz ve ark., 2015).

Deneysel işlemlerin uygulandığı hücre kültürleri, oda sıcaklığında 5 dakika boyunca tripsin ile muamele edilerek kültür plakasının tabanından ayrılması sağlanmıştır. Ardından, 5×10^4 hücre santrifüj edilerek toplanmış ve 500 μL 1X bağlama tamponu içerisinde yeniden süspanse edilmiştir. Daha sonra, her bir kültüre 5 μL Annexin V-FITC ve 5 μL propidyum iyodür (PI, 50 $\mu\text{g/mL}$) eklenerek karanlık ortamda 5 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Son aşamada, hücre kültürleri FITC ve rodamin için uygun çift filtre seti kullanılarak akış sitometri cihazı ile analiz edilmiştir.

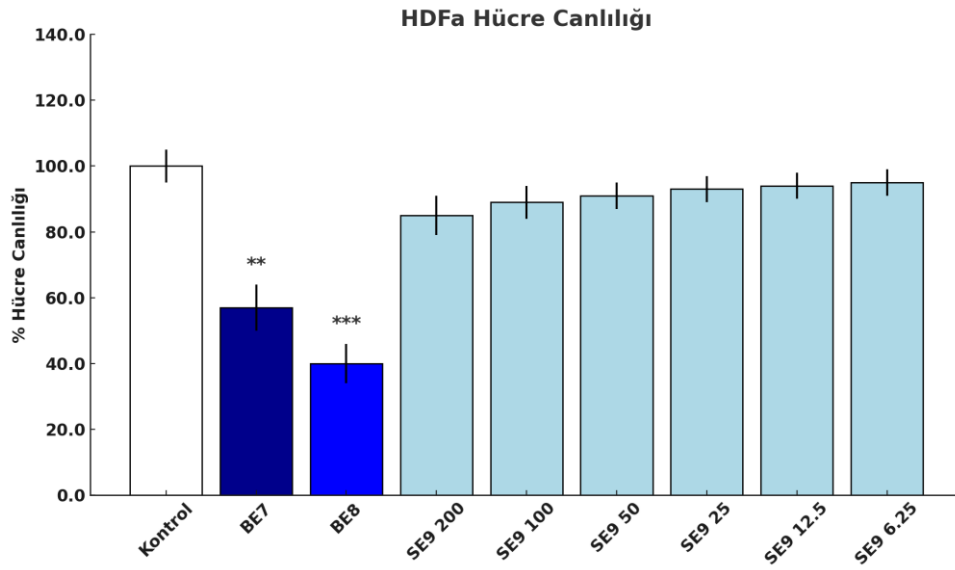
3.3. İstatiksel Analizler

Grupların analizleri, Two-Way ANOVA yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İlaçların hücreler üzerindeki toksik etkileri, Dunnett testi (kontrol grubuna karşı) ve Tukey oklu karşılaştırma testleri ile değerlendirilmiştir. Anlamlılık düzeyi %5 olarak kabul edilmiş ($p < 0.05$) ve tüm hesaplamalar GraphPad Prism sürüm 7.0 yazılımı ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

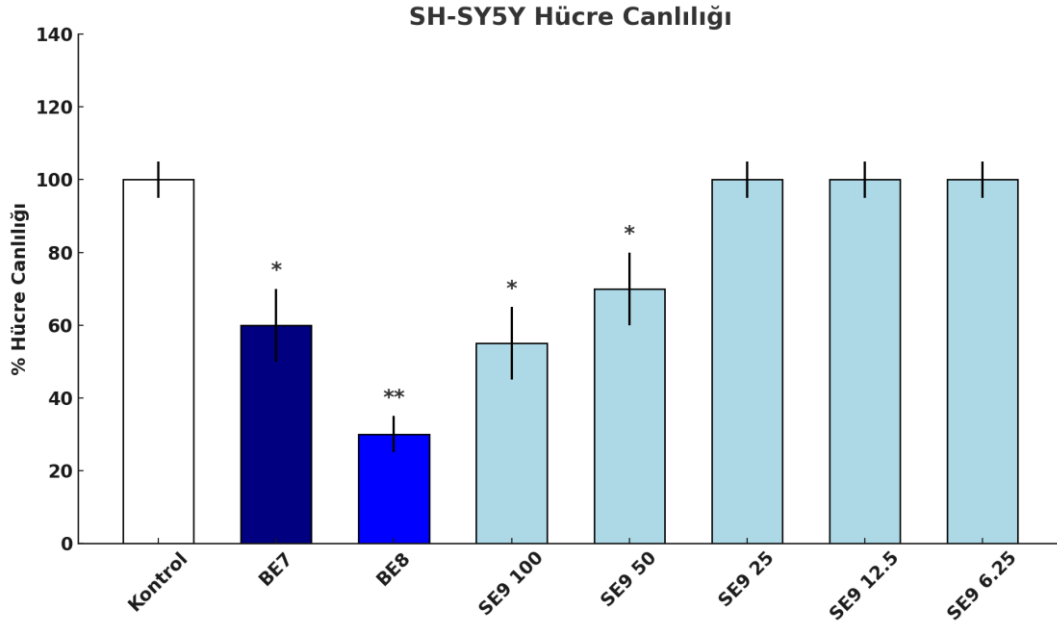
4.1. Sentezlenen Epoksitlerin Biyolojik Aktiviteleri

İnsan fibroblast hücre hattı (HDFa) üzerinde bisiklikepoksit **7** ve **8**, siklikepoksit **9**'un sitotoksik etkileri 24 saatlik MTT testi ile değerlendirilmiştir. Siklikepoksit **9** (SE9) diğer moleküllere kıyasla hücre canlılığını daha yüksek seviyede koruyarak daha az toksik etki göstermiştir. Özellikle siklikepoksit **9**, 200 µg/ml ve altındaki konsantrasyonlarda hücre canlılığını %80'in üzerinde tutarak toksik olmayan bir profil sergilemiştir. Buna karşılık, bisiklikepoksit **8** (BE8) ve bisiklikepoksit **7** (BE7) hücre canlılığını özellikle yüksek dozlarda belirgin şekilde düşürmüştür. Bisiklikepoksit **8** için 50 µg/ml ve üzerindeki dozlarda hücre canlılığı önemli ölçüde azalırken, bisiklikepoksit **7** için ise bu düşüş 25 µg/ml ve üzerinde belirgin hale gelmiştir. Pozitif kontrol grubu hücre canlılığını önemli ölçüde azaltırken, negatif kontrol grubunda hücre canlılığı %100'e yakın seviyede kalmıştır. Bu bulgular, siklikepoksit **9**'un fibroblast hücreleri üzerinde daha iyi bir biyouyumluluğa sahip olduğunu ve özellikle 200 µg/ml ve altındaki dozlarda güvenli bir profil sunduğunu göstermektedir (Şekil 4.1). Bisiklikepoksit **8** ve **7** ise daha düşük konsantrasyonlarda bile sitotoksik etki göstererek hücre canlılığını azaltmıştır. Bu nedenle, ileri çalışmalar için siklikepoksit **9**'un biyouyumluluk açısından daha avantajlı bir aday olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.1. İnsan fibroblast hücre hattında (HDFa) BE7, BE8 ve SE9'un 24 saat uygulaması sonucunda oluşan hücre canlılık oranları (MTT)

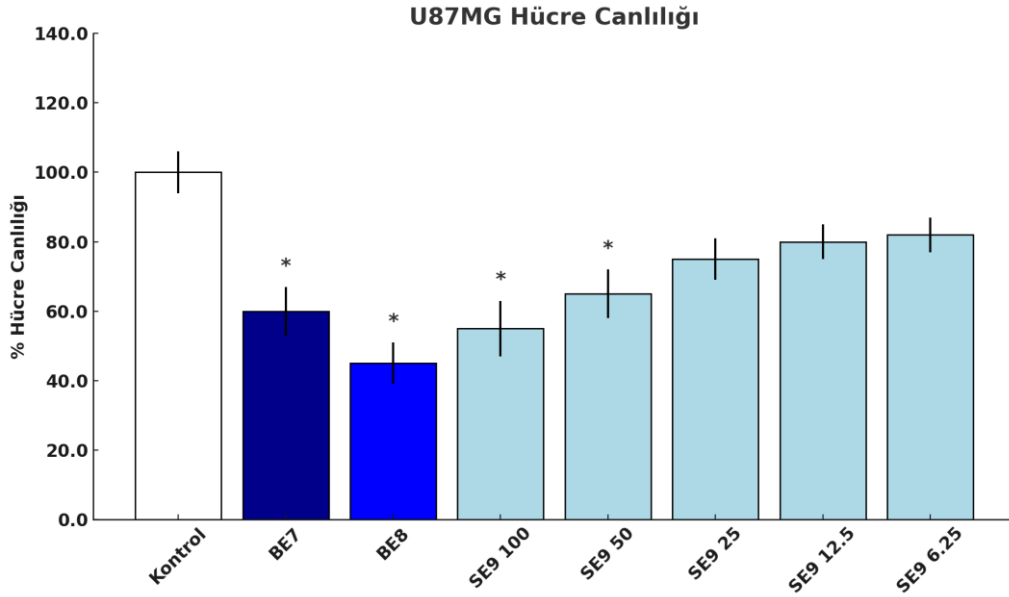
Bisiklikepoksit 7 ve 8, siklikepoksit 9'un insan nöroblastom (SHSY-5Y) hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri 24 saatlik MTT testi ile değerlendirildi. Bisiklikepoksit 8'in HDFa ve SHSY-5Y hücre hatlarında belirgin bir sitotoksik etki gösterdiği görülmektedir. Özellikle 50 µg/ml ve üzerindeki dozlarda HDFa hücrelerinde hücre canlılığı ciddi şekilde azalırken, SHSY-5Y hücrelerinde de en yüksek konsantrasyonlarda benzer bir azalma gözlenmiştir. Ancak, bisiklikepoksit 8'in hem sağlıklı fibroblast hücreleri hem de nöroblastom hücreleri üzerinde benzer düzeyde toksisite göstermesi, onun seçici bir antikanser ajan olmadığını ortaya koymaktadır. Kanser tedavisinde hedeflenen ideal antikanser bileşikler, kanser hücrelerini seçici olarak öldürürken sağlıklı hücreleri korumalıdır. Fakat bu çalışmada bisiklikepoksit 8'in hem normal hem de kanser hücrelerine zarar verdiği görülmüştür. Buna ek olarak, siklikepoksit 9 fibroblast hücrelerinde daha az toksik bir profil sergilerken, nöroblastom hücrelerinde belirgin bir sitotoksik etki göstermemiştir. Bisiklikepoksit 7 ise her iki hücre hattında da bisiklikepoksit 8'e kıyasla daha düşük düzeyde toksisite göstermiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. İnsan nöroblastoma hücre hattında (SHSY-5Y) BE7, BE8 ve SE9'un 24 saat uygulaması sonucunda oluşan hücre canlılık oranları (MTT)

Bisiklikepoksit 7 ve 8, siklikepoksit 9'un insan glioblastom hücre hattı (U87MG) üzerindeki sitotoksik etkileri MTT analizi ile incelendiğinde, siklikepoksit 9 yüksek konsantrasyonlarda (100-25 µg/ml) belirgin bir sitotoksik etki göstererek hücre canlılığını azaltmıştır. Bu durum, siklikepoksit 9'un glioblastom hücrelerinde belirli bir antikanser potansiyel gösterebileceğini düşündürmektedir. Ancak, bisiklikepoksit 8 ve bisiklikepoksit 7 için benzer bir sitotoksik etki gözlemlenmemiştir. Bu moleküller, HDFa fibroblast hücre hattında (Şekil 4.1) gösterdikleri toksik profili burada da sergileyerek hem sağlıklı hem de kanser hücrelerinde benzer etki göstermiştir. Özellikle bisiklikepoksit 8, düşük konsantrasyonlarda bile canlılık oranlarını belirgin şekilde azaltırken, bisiklikepoksit 7'nin etkisi daha hafif olmuştur. Bu sonuçlar, bisiklikepoksit 8 ve 7'nin glioblastom hücreleri üzerinde seçici bir antikanser etki göstermediğini, yalnızca genel sitotoksik etki ile hücre canlılığını düşürdüğünü göstermektedir. Buna karşılık, siklikepoksit 9'un yüksek dozlarda glioblastom hücrelerinde daha belirgin bir canlılık

kaybına neden olması, bu molekülün antikanser potansiyelinin araştırılmaya değer olduğunu göstermektedir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. İnsan glioblastom hücre hattında (U87MG) BE7, BE8 ve SE9'un 24 saat uygulaması sonucunda oluşan hücre canlılık oranları (MTT)

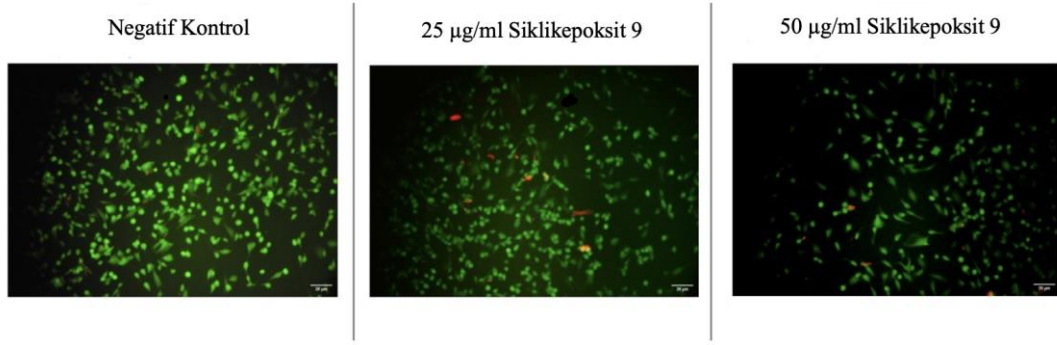
Bu çalışmada, bisiklikepoksit 7 ve 8, siklikepoksit 9'un insan glioblastom (U87MG) ve nöroblastom (SHSY-5Y) hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri değerlendirilmiş ve elde edilen IC_{50} değerleri kullanılarak selektivite indeksleri (SE) hesaplanmıştır. Tablo 4.1'de görüldüğü üzere, siklikepoksit 9'un U87MG hücre hattında oldukça yüksek bir selektivite indeksine sahip olması ($SE = 38,29$), bu molekülün sağlıklı hücrelere zarar vermeden glioblastom hücrelerine karşı etkili olabileceğini göstermektedir. Buna karşılık, bisiklikepoksit 7 ve bisiklikepoksit 8'in U87MG hücrelerinde düşük selektivite indeksine sahip olması, bu bileşiklerin glioblastom hücrelerine karşı seçici olmadığını ve genel bir sitotoksikite profili sergilediğini ortaya koymaktadır. SHSY-5Y nöroblastom hücre hattı için hesaplanan selektivite indeksleri incelendiğinde, siklikepoksit 9'un burada anlamlı bir seçicilik göstermediği ($SE = 2,50E-15$) gözlemlenmiştir (Tablo 4.1). Bisiklikepoksit 7 ve 8 için de benzer şekilde düşük selektivite indeksleri hesaplanmış olup, bu bileşiklerin nöroblastom hücreleri üzerinde

antikanser özellik göstermediği anlaşılmaktadır. Siklikepoksit **9**'un glioblastom hücre hattında yüksek selektivite indeksi göstermesi, bu bileşiğin glioblastom tedavisinde potansiyel bir aday olabileceğini düşündürmektedir. Buna karşın, bisiklikepoksit **7** ve **8**'in hem sağlıklı hem de kanser hücreleri üzerinde benzer sitotoksik etkiler göstermesi, bu bileşiklerin spesifik bir antikanser ajan olarak değerlendirilmesini sınırlandırmaktadır.

Tablo 4.1. Hücre canlılığı analizleri sonucunda elde IC₅₀ değerleri ile hesaplanan selektivite endeksleri (SE).

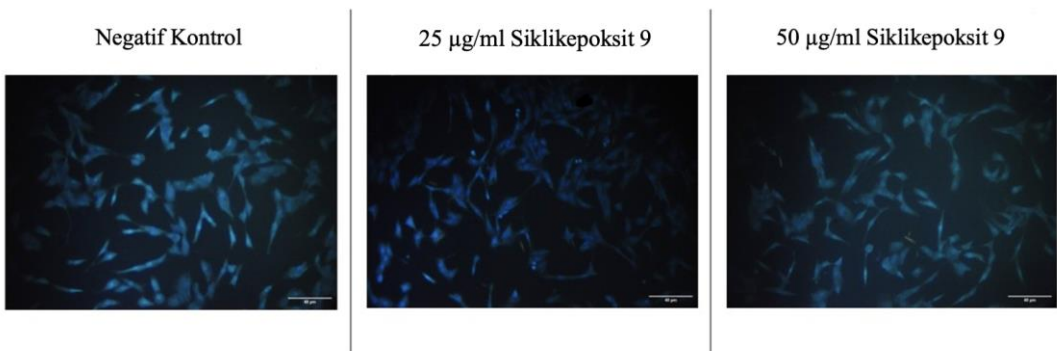
Hücre Hattı	BE7	BE8	SE9
U87MG	2.62E-05	38.29391	0.291101
SHSY-5Y	2.57E-05	9.59E-14	0.098066

Floresan canlılık analizi (FDA/PI boyaması) sonuçlarına göre, siklikepoksit **9**'un U87MG glioblastom hücre hattı üzerindeki etkisi konsantrasyona bağlı olarak belirgin şekilde artmıştır. Şekil 4.4'de görüldüğü gibi, negatif kontrol grubunda hücrelerin büyük çoğunluğu canlı (yeşil) olarak gözlenirken, siklikepoksit **9**'un 25 µg/ml ve 50 µg/ml konsantrasyonlarında uygulandığı gruplarda canlı hücre sayısında azalma ve ölü hücre sayısında (kırmızı) artış meydana gelmiştir. Özellikle 50 µg/ml konsantrasyonunda, yeşil floresan sinyalinin önemli ölçüde azaldığı ve kırmızı floresanla gösterilen ölü hücrelerin belirgin şekilde arttığı görülmektedir (Şekil 4.4). Bu bulgular, siklikepoksit **9**'un U87MG hücre hattında doza bağlı sitotoksik bir etki gösterdiğini ve yüksek konsantrasyonlarda hücre ölümüne neden olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 4.4. Floresan canlılık analizi ile SE9'un U87MG hücre hattı üzerinde 24 saat sonunda farklı konsantrasyonlardaki (25 µg/ml ve 50 µg/ml) etkileri.

Siklikepoksit 9'un insan fibroblast hücre hattı (HDFa) üzerindeki genotoksik potansiyeli, Hoechst 33258 boyama yöntemi kullanılarak çekirdek anomalileri açısından değerlendirilmiştir. Negatif kontrol grubu ile siklikepoksit 9'un 25 µg/ml ve 50 µg/ml konsantrasyonlarında uygulandığı hücre grupları arasında çekirdek anomalileri (mikro nükleus, loblu çekirdek ve çentikli çekirdek) açısından anlamlı bir fark bulunmadığını göstermektedir. Özellikle, çekirdek anomalilerinin ortalama değerleri (NA/1000 hücre) negatif kontrol ile karşılaştırıldığında benzer seviyelerde kalmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmemiştir (Şekil 4.5 ve Tablo 4.2). Bu durum, siklikepoksit 9'un DNA bütünlüğü açısından güvenli bir profil sergilediğini ve fibroblast hücrelerinde mutajenik bir risk taşımadığını düşündürmektedir.



Şekil 4.5. Hoechst 33258 floresan çekirdek boyama analizi ile SE9'un HDFa hücre hattı üzerinde 24 saat sonunda farklı konsantrasyonlardaki (25 µg/ml ve 50 µg/ml) etkileri.

Tablo 4.2. Hoechst 33258 floresan çekirdek boyama analizi sonucunda HDFa hücre hattında oluşan çekirdek anomalileri.

Molekül	MN	L	N	Ortalama NA/1000 Hücre $\pm$ SD
(-) Kontrol	3	5	4	0.012 $\pm$ 0.002 ^a
SE9 (25 μ g/ml)	5	4	4	0.013 $\pm$ 0.001 ^a
SE9 (50 μ g/ml)	7	2	5	0.014 $\pm$ 0.002 ^a

MN: Mikro Nükleus, L: Loblu, N: Çentikli ve NA: Çekirdek Anormallığı, her bir üst simge harf (a) istatistiksel olarak benzer grupları temsil eder.

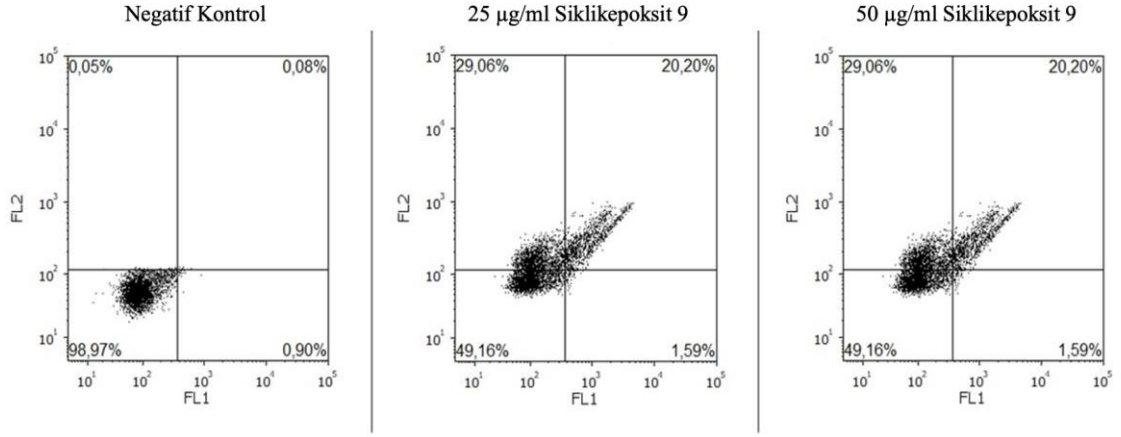
Tablo 4.3. Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) ve Toplam Oksidan Seviyesi (TOS) Ölçümleri

Tedavi	TAC (mmol Trolox Equiv./l)	TOS (μ mol H ₂ O ₂ Equiv./l)
(-) Kontrol	1,78 $\pm$ 0,07 ^a	14,8 $\pm$ 0,5 ^a
SE9 (25 μ g/ml)	1,93 $\pm$ 0,06 ^a	13,5 $\pm$ 0,6 ^a
SE9 (50 μ g/ml)	1,63 $\pm$ 0,08 ^a	15,6 $\pm$ 0,8 ^a

Farklı dozlarda uygulanan Siklikepoksit 9'da U87MG hücre hattında toplam antioksidan kapasitede artış, toplam oksidan seviyesinde ise azalma görülmüştür.

Flow sitometri analizi ile yapılan değerlendirmeye göre, siklikepoksit 9'un U87MG hücre hattında konsantrasyona bağlı olarak apoptotik hücre oranını artırdığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.6). Negatif kontrol grubunda erken ve geç apoptotik hücre oranları oldukça düşük olup, toplam apoptotik hücre oranı %0.08 olarak belirlenmiştir. Buna karşın, siklikepoksit 9'un 25 μ g/ml konsantrasyonunda toplam apoptotik hücre oranı %20.2'ye çıkarken, 50 μ g/ml konsantrasyonunda bu oran daha da artarak %30'un üzerine ulaşmıştır. Sonuçlara göre, siklikepoksit 9'un glioblastom hücrelerinde apoptoz yoluyla hücre ölümünü indüklediğini ve bu etkinin doza bağımlı olduğunu göstermektedir. 50 μ g/ml konsantrasyonunda, erken ve geç apoptotik hücre oranlarındaki

belirgin artış, siklikepoksit **9**'un glioblastom hücrelerinde sitotoksik etki mekanizmasının programlanmış hücre ölümü (apoptoz) ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 4.6. Flow sitometri analizi ile SE9'un U87MG hücre hattı üzerinde 24 saat sonunda farklı konsantrasyonlardaki (25 µg/ml ve 50 µg/ml) etkileri.

5. TARTIşMA

Bu tez çalışmasında, U-87 MG glioblastoma hücre hattı, SH-SY5Y nöroblastoma hücre hattı ve HDFa fibroblast hücre hattı üzerinde sıklık ve bısıklık epoksit türevlerinin biyolojik etkileri araştırılmıştır.

Kanser, dünya çapında önemli bir sağlık sorunu teşkil etmekte olup, yüksek ölüm oranlarıyla gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerdeki sağlık sistemlerini ciddi şekilde zorlamaktadır. Moleküler hücre biyolojisi alanındaki ilerlemeler, tümör hücrelerinin karsinogenez sürecindeki gelişimini ve metastatik özelliklerini nasıl kazandıklarını anlamada önemli adımlar atılmasını sağlamıştır. Ancak, karsinogenez ve metastaz süreçleriyle ilgili hala yanıtlanmamış pek çok soru bulunmaktadır. Kanser biyolojisi üzerine elde edilen bilgiler ile henüz etkili tedavi yöntemleri veya uzun vadeli yönetim stratejileri geliştirilememiştir ve bu nedenle kanserin tedavisi, hala önemli bir zorluk teşkil etmektedir. Özellikle GBM ve NB, tedavi edilmesi son derece güç kanser türleridir. Bu tür kanserlerin tedavisinde geleneksel yöntemlerin çoğu, tümörlerde yetersiz kalmaktadır (Gyamfi ve ark., 2022; Sathornsumetee & Rich, 2008). Bu nedenle, alternatif tedavi stratejilerinin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

GBM, merkezi sinir sistemi için en sık rastlanan ve en agresif beyin tümörlerinden biridir. GBM, tümör hücrelerinin hızlı bir şekilde büyüdüğü, invaziv özellikler gösterdiği ve tedaviye karşı dirençli olduğu bir yapıya sahiptir. Bu zellikleri nedeniyle, GBM tedavisinde geleneksel yöntemler sıkça başarısız olmaktadır (Sathornsumetee & Rich, 2008). Glioblastomanın görülme oranı, yıllar içinde 100.000 kişi başına 0,59 ile 5 arasında bir artış göstermiştir. Bu artışı, genellikle 12-18 aylık tahmini bir hayatta kalma süresi takip etmektedir ve tanı konulan hastaların yalnızca %5'i beş yıl veya daha uzun süre hayatta kalabilmektedir. Glioblastoma genellikle ileri evrede teşhis edildiğinden cerrahi müdahalelerin etkinliğini de sınırlamaktadır (Thomas ve ark., 2014). Ayrıca

GBM'nin geniş yayılımı ve yüksek agresifliği nedeniyle, cerrahi müdahaleyle tümör tamamen uzaklaştırılmaz, bu da nüks oranını artırır. GBM radyasyon ve kemoterapiye karşı da dirençlidir ve kan-beyin bariyerinin varlığı kemoterapinin etkinliğini önemli ölçüde kısıtlar. Buna ek olarak, radyoterapi ve kemoterapi genellikle ciddi yan etkilere yol açar ve tümör hücrelerine karşı düşük seçicilikleri nedeniyle sağlıklı hücreleri de tahrip eder (He ve ark., 2024).

NB ise genellikle çocuklarda görülen ve sinir dokusundan kaynaklanan bir kanser türüdür. Bu kanser türü, yüksek metastatik potansiyeli ve tedaviye karşı gösterdiği direnç ile dikkat çekmektedir (Goldsmith & Hogarty, 2005b). Kanserli çocukların yaklaşık 1/10'i nöroblastomdan etkilenmektedir ve nöroblastomlu hastaların %90'ı beş yaşın altındadır. Bu hastalarda en sık görülen primer tümör yeri adrenal medulladır ve vakaların %47'sinde yer alırken; %24'ü karın bölgesinde, %15'i toraks bölgesinde, %3'ü ise pelvis ve boyunda bulunur (Polychronopoulos ve ark., 2024). Ayrıca, nöroblastom, pediatrik kanser ölümlerinin yaklaşık %15'ini oluşturmaktadır (Zafar ve ark., 2021). Hem GBM hem de NB, tedaviye dirençli özellikleri nedeniyle yeni tedavi ajanlarına olan ihtiyacı artırmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan U-87 MG hücre hattı, IV evre özellikleri gösteren malign glioblastoma hücrelerinden türetilmiştir ve bu hücreler, kanser tedavisi ve mekanizmalarının araştırılmasında sıklıkla kullanılan model hücrelerdir (Ohgaki & Kleihues, 2005).

SH-SY5Y hücre hattı ise nöroblastoma için yaygın olarak kullanılan bir hücre hattıdır ve bu tümörler, tedavi edilmesi güç ve heterojenite gösteren kanserlerdir (Maris ve ark., 2007; Xicoy ve ark., 2017b). Bu hücreler üzerinde yapılan testler, epoksit türevlerinin bu tür malign hücrelerde nasıl etki gösterdiği hakkında önemli bilgiler sunmuştur.

Epoksit bileşikleri, biyolojik sistemlerde etkili olan ve kanser tedavisinde umut verici potansiyele sahip moleküller olarak öne çıkmaktadır. Epoksitler, biyolojik sistemlerde çeşitli metabolik yollarda rol oynayan ve biyolojik aktivite gösteren bileşiklerdir (Held ve ark., 2014). Bu bileşiklerin, halkalı yapıları ve özellikle karbonil grubu gibi fonksiyonel grupların biyolojik aktiviteye katkı sağladığı literatürde yer almaktadır (Saini & Sareen, 2019). Bu tür bileşiklerin tedavi edici etkileşimler için önemli bileşenler olabileceğini ortaya koyan pek çok çalışma mevcuttur (Hughes ve ark., 2015) Bu çalışmada, sentezlenen epoksit bileşiklerin hücre canlılığı üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

Sentezlenen bisiklik epoksit türevlerinden **siklikepoksit 9 (SE9)**, diğer türevlere kıyasla daha düşük toksik etki göstererek fibroblast hücreleri üzerinde daha iyi biyouyumluluk sergilemiştir. 200 µg/ml ve altındaki konsantrasyonlarda **SE9**, hücre canlılığını %80'in üzerinde tutmuş ve güvenli bir biyolojik profil sunmuştur. Bu, **SE9**'un potansiyel olarak kanser hücreleri üzerinde selektif bir etki göstermesi ve sağlıklı hücrelere minimum zarar vermesi açısından önemli bir bulgudur.

Diğer taraftan, **bisiklikepoksit 7 (BE7)** ve **bisiklikepoksit 8 (BE8)**, hücre canlılığını belirgin şekilde düşürerek toksik etkiler gösterdi. **BE7**'in sağlıklı hücrelerdeki toksik etkileri, bu bileşiğin sınırlı bir tedavi profiline sahip olduğunu göstermektedir. Ek olarak, **BE8**'in her iki hücre tipi üzerinde benzer şekilde toksik etkiler sergilemesi, bu bileşiğin hedefe yönelik tedavi için potansiyelinin zayıf olduğunu ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada sentezlenen epoksit türevlerinin kanser tedavisinde potansiyel taşıyan bileşikler olduğu, ancak bu bileşiklerin toksisite profillerinin daha detaylı bir şekilde incelenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Özellikle **SE9**, biyouyumluluğu ve kanser hücrelerine etkisiyle klinik kullanım için umut verici bir adaydır. Bununla

birlikte, **BE7** ve **BE8** gibi bileşiklerin toksisite profilleri, bunların terapötik uygulamalarını sınırlamakta olup, daha fazla optimizasyon gerektirmektedir. Bu tür epoksit türevlerinin daha kapsamlı biyolojik testlerle değerlendirilmesi ve farklı kanser türleri üzerinde etkilerinin daha geniş çapta incelenmesi, tedavi seçeneklerinin çeşitlenmesine katkı sağlayabilir. Ayrıca, moleküler düzeyde yapılan araştırmalar, epoksitlerin mekanizmalarını daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir ve kanser tedavisinde yeni hedeflerin belirlenmesine olanak tanıyabilir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında siklik- ve bisiklikepoksitlerin antikanser etkileri değerlendirilmiştir. Moleküllerin tasarımında, biyolojik aktivitenin artmasına katkı sağlayabileceği düşünülen yapısal özellikler, özellikle epoksit halkası ve karbonil grubunun varlığı, temel kriter olarak belirlenmiştir. Çalışma sonuçları, bileşiklerin tasarlandığı gibi hem yapısal hem de fonksiyonel özellikler taşıdığını göstermiş ve biyolojik aktivite potansiyelini ortaya koymuştur.

Bisiklikepoksit 7 (BE7), bisiklikepoksit 8 (BE8) ve siklikepoksit 9 (SE9) bileşikleri için gerçekleştirilen hücre canlılığı testleri, siklikepoksit 9'un daha iyi bir biyouyumluluk sergilediğini ve sağlıklı hücreler üzerinde daha düşük toksisite gösterdiğini ortaya koymuştur. Buna karşılık, bisiklikepoksit 7 ve 8'in hem sağlıklı hem de kanser hücreleri üzerinde belirgin sitotoksik etkiler gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu çalışmayla elde edilen epoksit türevlerinin antikanser etkinlikleri daha kapsamlı *in vitro* ve *in vivo* deneylerle incelenmeli ve biyolojik mekanizmaları detaylandırılmalıdır. Bileşiklerin, farklı tür kanser hücre hatları üzerindeki seçici etkilerinin ve sitotoksisitelerinin belirlenmesi için genetik ve moleküler biyoloji teknikleri kullanılmalıdır. Yeni sentez metotları geliştirilerek epoksit türevlerinin kimyasal çeşitliliği artırılabilir ve farklı yapıların biyolojik aktiviteleri karşılaştırılabilir. Biyolojik aktiviteleri destekleyen bileşiklerin, prelinik düzeyde toksisite çalışmaları yapılmalı ve ilaç geliştirme sürecine entegrasyonu değerlendirilmelidir. Bu çalışmanın bulguları, sentez ve biyolojik aktivite arasındaki ilişkiyi ortaya koyarak ilaç kimyası alanında önemli bir temel oluşturmuştur.

KAYNAKLAR

- Alexander, F. (2000). NEUROBLASTOMA. *Urologic Clinics of North America*, 27(3), 383-392. [https://doi.org/10.1016/S0094-0143\(05\)70087-2](https://doi.org/10.1016/S0094-0143(05)70087-2)
- Allen, M., Bjerke, M., Edlund, H., Nelander, S., & Westermarck, B. (2016). Origin of the U87MG glioma cell line: Good news and bad news. *Science translational medicine*, 8(354), 354re3-354re3.
- Altman, F. P. (1976). Tetrazolium salts and formazans. *Progress in histochemistry and cytochemistry*, 9(3), III-51.
- Aydın, B. Ö. (2013). İç Ortam Havasında Uçucu Organik Bileşiklerin Derişimlerinin Belirlenmesi ve Maruziyet Risklerinin Değerlendirilmesi (Doktora Tezi). *Kocaeli Üniversitesi*.
- Aziz, D. M. (2006). Assessment of bovine sperm viability by MTT reduction assay. *Animal Reproduction Science*, 92(1-2), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.05.029>
- Bainbridge, D. R., & Macey, M. M. (1983). Hoechst 33258: a fluorescent nuclear counterstain suitable for double-labelling immunofluorescence. *Journal of immunological methods*, 62(2), 193-195. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90246-6](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90246-6)
- Baker, M. J., Trevisan, J., Bassan, P., Bhargava, R., Butler, H. J., Dorling, K. M., Fielden, P. R., Fogarty, S. W., Fullwood, N. J., & Heys, K. A. (2014). Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nature protocols*, 9(8), 1771-1791. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.110>
- Berridge, M. V, Herst, P. M., & Tan, A. S. (2005). Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. *Biotechnology annual review*, 11, 127-152. [https://doi.org/10.1016/S1387-2656\(05\)11004-7](https://doi.org/10.1016/S1387-2656(05)11004-7)

- Binder, D. K., & Steinhäuser, C. (2021). Astrocytes and Epilepsy. *Neurochemical Research*, 46(10), 2687-2695. <https://doi.org/10.1007/s11064-021-03236-x>
- Bluhm, E. C., Daniels, J., Pollock, B. H., & Olshan, A. F. (2006). Maternal use of recreational drugs and neuroblastoma in offspring: a report from the Children's Oncology Group (United States). *Cancer Causes & Control*, 17, 663-669. <https://doi.org/10.1007/s10552-005-0580-3>
- Bosse, K. R., & Maris, J. M. (2016). Advances in the translational genomics of neuroblastoma: From improving risk stratification and revealing novel biology to identifying actionable genomic alterations. *Cancer*, 122(1), 20-33. <https://doi.org/10.1002/cnrc.29706>
- Brodeur, G. M. (2003). Neuroblastoma: biological insights into a clinical enigma. *Nature reviews cancer*, 3(3), 203-216. <https://doi.org/10.1038/nrc1014>
- Bustamante, J., Guerra, L., Bredeston, L., Mordoh, J., & Boveris, A. (1991). Melanin content and hydroperoxide metabolism in human melanoma cells. *Experimental cell research*, 196(2), 172-176. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(91\)90247-R](https://doi.org/10.1016/0014-4827(91)90247-R)
- Calle, E. E., & Kaaks, R. (2004). Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nature Reviews Cancer*, 4(8), 579-591. <https://doi.org/10.1038/nrc1408>
- Campos Cogo, S., Gradowski Farias da Costa do Nascimento, T., de Almeida Brehm Pinhatti, F., de Franca Junior, N., Santos Rodrigues, B., Cavalli, L. R., & Elifio-Esposito, S. (2020). An overview of neuroblastoma cell lineage phenotypes and *in vitro* models. *Experimental Biology and Medicine*, 245(18), 1637-1647. <https://doi.org/10.1177/1535370220949237>

- Clark, M. J., Homer, N., O'Connor, B. D., Chen, Z., Eskin, A., Lee, H., Merriman, B., & Nelson, S. F. (2010). U87MG decoded: the genomic sequence of a cytogenetically aberrant human cancer cell line. *PLoS genetics*, 6(1), e1000832. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000832>
- Çetin, N. K. (2020). Santral Sinir Sistemi Tümörlerinin Histopatolojik Dağılımı ve İnsidansı: Tek Merkezin 10 yıllık Retrospektif Analizi. *Dicle Tıp Dergisi*, 47(1), 178-193. <https://doi.org/10.5798/dicletip.706130>
- Çevik, B. A., & Pirinçci, E. (2017). Beslenme ve Kanser. *Firat Tıp Dergisi*, 22(1).
- DeAngelis, L. M. (2001). Brain tumors. *New England journal of medicine*, 344(2), 114-123. <https://doi.org/10.1056/NEJM200101113440207>
- Delloye-Bourgeois, C., & Castellani, V. (2019). Hijacking of embryonic programs by neural crest-derived neuroblastoma: from physiological migration to metastatic dissemination. *Frontiers in molecular neuroscience*, 12, 52. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00052>
- Demirkaya, M., & Sevinir, B. (2006). Nöroblastom. *Güncel Pediatri*, 4(1), 128-132. <https://dergipark.org.tr/en/pub/pediatric/issue/51308/667559>
- Diamandopoulos, G. T. (1996). Cancer: an historical perspective. *Anticancer research*, 16(4A), 1595-1602.
- Diaz, D., Prieto, A., Reyes, E., Barcenilla, H., Monserrat, J., & Alvarez-Mon, M. (2015). Flow cytometry enumeration of apoptotic cancer cells by apoptotic rate. *Apoptosis and Cancer: Methods and Protocols*, 11-20. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1661-0_2
- Diaz, G., Melis, M., Musinu, A., Piludu, M., Piras, M., & Falchi, A. M. (2007). Localization of MTT formazan in lipid droplets. An alternative hypothesis

- about the nature of formazan granules and aggregates. *European journal of histochemistry*, 51(3), 213-218.
- Dolgin, E. (2016). Venerable brain-cancer cell line faces identity crisis. *Nature*, 537(7619). <https://doi.org/10.1038/nature.2016.20515>
- DuBois, S. G., Kalika, Y., Lukens, J. N., Brodeur, G. M., Seeger, R. C., Atkinson, J. B., Haase, G. M., Black, C. T., Perez, C., Shimada, H., Gerbing, R., Stram, D. O., & Matthay, K. K. (1999). Metastatic Sites in Stage IV and IVS Neuroblastoma Correlate With Age, Tumor Biology, and Survival. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 21(3). https://journals.lww.com/jpho-online/fulltext/1999/05000/metastatic_sites_in_stage_iv_and_ivs_neuroblastoma.5.aspx <https://doi.org/10.1097/00043426-199905000-00005>
- Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*, 38(12), 1103-1111. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008>
- Eser, B., & Dınçel, A. S. (2018). Kromatografiye giriş, yüksek performanslı sıvı kromatografi kullanımında basit ipuçları. *Sağlık Hizmetleri ve Eğitimi Dergisi*, 2(2), 51-57. <https://doi.org/10.26567/JOHSE.2018250150>
- Ferlay, J., Ervik, M., Lam, F., Colombet, M., Mery, L., Piñeros, M., Znaor, A., Soerjomataram, I., & Bray, F. (2020). Global cancer observatory: cancer today. *Lyon: International agency for research on cancer*, 20182020.
- Futreal, P. A., Kasprzyk, A., Birney, E., Mullikin, J. C., Wooster, R., & Stratton, M. R. (2001). Cancer and genomics. *Nature*, 409(6822), 850-852. <https://doi.org/10.1038/35057046>
- Gatta, G., Botta, L., Rossi, S., Aareleid, T., Bielska-Lasota, M., Clavel, J., Dimitrova, N., Jakab, Z., Kaatsch, P., & Lacour, B. (2014). Childhood cancer

- survival in Europe 1999–2007: results of EUROCare-5—a population-based study. *The lancet oncology*, 15(1), 35-47. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70548-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70548-5)
- Gerlier, D., & Thomasset, N. (1986). Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. *Journal of immunological methods*, 94(1-2), 57-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(86\)90215-2](https://doi.org/10.1016/0022-1759(86)90215-2)
- Goldsmith, K. C., & Hogarty, M. D. (2005a). Targeting programmed cell death pathways with experimental therapeutics: opportunities in high-risk neuroblastoma. *Cancer letters*, 228(1-2), 133-141. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.01.048>
- Goldsmith, K. C., & Hogarty, M. D. (2005b). Targeting programmed cell death pathways with experimental therapeutics: opportunities in high-risk neuroblastoma. *Cancer letters*, 228(1-2), 133-141. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.01.048>
- Groen, K., Van De Donk, N., Stege, C. A. M., Zweegman, S., & Nijhof, I. S. (2019). Carfilzomib for relapsed and refractory multiple myeloma. *Cancer management and research*, 2663-2675. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S150653>
- Gupta, A., & Middleton, M. (2011). Cytostatic and cytotoxic drugs. İçinde *Side effects of drugs annual* (C. 33, ss. 935-962). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53741-6.00045-3>
- Gyamfi, J., Kim, J., & Choi, J. (2022). Cancer as a metabolic disorder. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1155. <https://doi.org/10.3390/ijms23031155>

- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, 144(5), 646-674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hao, C., Chen, G., Zhao, H., Li, Y., Chen, J., Zhang, H., Li, S., Zhao, Y., Chen, F., & Li, W. (2020). PD-L1 expression in glioblastoma, the clinical and prognostic significance: a systematic literature review and meta-analysis. *Frontiers in oncology*, 10, 1015. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01015>
- Hari, P., Matous, J. V, Voorhees, P. M., Shain, K. H., Obreja, M., Frye, J., Fujii, H., Jakubowiak, A. J., Rossi, D., & Sonneveld, P. (2019). Oprozomib in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood cancer journal*, 9(9), 66. <https://doi.org/10.1038/s41408-019-0232-6>
- He, W., Wang, N., Wang, Y., Liu, M., Qing, Q., Su, Q., Zou, Y., & Liu, Y. (2024). Engineering Nanomedicine for Non-Viral RNA-Based Gene Therapy of Glioblastoma. *Pharmaceutics*, 16(4), 482. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16040482>
- Held, F. E., Wei, S., Eder, K., & Tsogoeva, S. B. (2014). One-pot route to β -adrenergic blockers via enantioselective organocatalysed epoxidation of terminal alkenes as a key step. *RSC advances*, 4(62), 32796-32801. <https://doi.org/10.1039/C4RA04011B>
- Henderson, T. O., Bhatia, S., Pinto, N., London, W. B., McGrady, P., Crotty, C., Sun, C.-L., & Cohn, S. L. (2011). Racial and ethnic disparities in risk and survival in children with neuroblastoma: a Children's Oncology Group study. *Journal of clinical oncology*, 29(1), 76-82. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.29.6103>
- Holme, K. R., & Perlin, A. S. (1989). Nuclear magnetic resonance spectra of heparin in admixture with dermatan sulfate and other glycosaminoglycans. 2-D spectra

- of the chondroitin sulfates. *Carbohydrate research*, 186(2), 301-312.
[https://doi.org/10.1016/0008-6215\(89\)84044-3](https://doi.org/10.1016/0008-6215(89)84044-3)
- Hughes, T. B., Miller, G. P., & Swamidass, S. J. (2015). Modeling epoxidation of drug-like molecules with a deep machine learning network. *ACS central science*, 1(4), 168-180. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.5b00131>
- Jacobs, V. L., Valdes, P. A., Hickey, W. F., & De Leo, J. A. (2011). Current review of *in vivo* GBM rodent models: emphasis on the CNS-1 tumour model. *ASN neuro*, 3(3), AN20110014. <https://doi.org/10.1042/AN20110014>
- JL, B. (1978). Multiple neurotransmitter synthesis by human neuroblastoma cell lines and clones. *Cancer Res*, 38, 3751-3757.
- Joshi, S., Guleria, R., Pan, J., DiPette, D., & Singh, U. S. (2006). Retinoic acid receptors and tissue-transglutaminase mediate short-term effect of retinoic acid on migration and invasion of neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Oncogene*, 25(2), 240-247. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209027>
- Kalina, M., & Palmer, J. M. (1968). The reduction of tetrazolium salts by plant mitochondria. *Histochemie*, 14(4), 366-374.
<https://doi.org/10.1007/BF00304260>
- Kaur, G., & Sharma, S. (2018). Gas chromatography-a brief review. *International Journal of Information and Computing Science*, 5(7), 125-131.
- Kheirollahi, M., Dashti, S., Khalaj, Z., Nazemroaia, F., & Mahzouni, P. (2015). Brain tumors: Special characters for research and banking. *Advanced biomedical research*, 4(1), 4. <https://doi.org/10.4103/2277-9175.148261>
- Kılıç, K., Kesim, B., Sümer, Z., Polat, Z., & Öztürk, A. (2010). Tam seramik materyallerinin biyouyumluluğunun MTT testi ile incelenmesi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 19(2), 125-132.

- King, R. J. B., & Robins, M. W. (2006). *Cancer biology*. Pearson Education.
- Kovalevich, J., & Langford, D. (2013a). Considerations for the use of SH-SY5Y neuroblastoma cells in neurobiology. *Neuronal cell culture: methods and protocols*, 9-21. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-640-5_2
- Kovalevich, J., & Langford, D. (2013b). Considerations for the use of SH-SY5Y neuroblastoma cells in neurobiology. *Neuronal cell culture: methods and protocols*, 9-21. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-640-5_2
- Krakstad, C., & Chekenya, M. (2010). Survival signalling and apoptosis resistance in glioblastomas: opportunities for targeted therapeutics. *Molecular cancer*, 9, 1-14. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-9-135>
- Kural, E. (2017). *Primer beyin tümörü nedeniyle cerrahi tedavi uygulanan hastalarda yaşanan semptomlar ve şiddetinin belirlenmesi*. <http://acikerisim.akdeniz.edu.tr/xmlui/handle/123456789/3177>
- Ladenstein, R., Pötschger, U., Valteau-Couanet, D., Luksch, R., Castel, V., Yaniv, I., Laureys, G., Brock, P., Michon, J. M., & Owens, C. (2018). Interleukin 2 with anti-GD2 antibody ch14. 18/CHO (dinutuximab beta) in patients with high-risk neuroblastoma (HR-NBL1/SIOPEN): a multicentre, randomised, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, 19(12), 1617-1629. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30578-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30578-3)
- Lapointe, S., Perry, A., & Butowski, N. A. (2018). Primary brain tumours in adults. *The Lancet*, 392(10145), 432-446. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30990-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30990-5)
- Lehto, R., & Stein, K. F. (2009). *Death anxiety: An analysis of an evolving concept*. <https://doi.org/10.1891/1541-6577.23.1.23>

- Lin, H. L., Liaw, R. B., Chen, Y. H., Kang, T. C., Lin, D. Y., Chen, L. R., & Wu, M. C. (2019). Evaluation of cockerel spermatozoa viability and motility by a novel enzyme based cell viability assay. *British poultry science*, 60(4), 467-471. <https://doi.org/10.1080/00071668.2018.1426832>
- Liu, W., Nonaka, K., Nie, L., Zhang, J., Christenson, S. D., Bae, J., Van Lanen, S. G., Zazopoulos, E., Farnet, C. M., & Yang, C. F. (2005). The neocarzinostatin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces carzinostaticus* ATCC 15944 involving two iterative type I polyketide synthases. *Chemistry & biology*, 12(3), 293-302. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2004.12.013>
- Lodish, H. F., Berk, A., Kaiser, C., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H. L., Martin, K. C., Yaffe, M. B., & Amon, A. (2021). *Molecular cell biology* (C. 1). WH Freeman New York.
- Louis, D. N., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Cavenee, W. K., Burger, P. C., Jouvet, A., Scheithauer, B. W., & Kleihues, P. (2007). The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta neuropathologica*, 114, 97-109. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0243-4>
- Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., Von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W. K., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Kleihues, P., & Ellison, D. W. (2016). The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta neuropathologica*, 131, 803-820. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
- Louis, D. N., Perry, A., Wesseling, P., Brat, D. J., Cree, I. A., Figarella-Branger, D., Hawkins, C., Ng, H. K., Pfister, S. M., & Reifenberger, G. (2021). The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Neuro-oncology*, 23(8), 1231-1251. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab106>

- Luksch, R., Castellani, M. R., Collini, P., De Bernardi, B., Conte, M., Gambini, C., Gandola, L., Garaventa, A., Biasoni, D., & Podda, M. (2016). Neuroblastoma (Peripheral neuroblastic tumours). *Critical reviews in oncology/hematology*, 107, 163-181. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2016.10.001>
- Maris, J. M. (2010a). Recent advances in neuroblastoma. *New England Journal of Medicine*, 362(23), 2202-2211. <https://doi.org/10.1056/NEJMr0804577>
- Maris, J. M. (2010b). Recent advances in neuroblastoma. *New England Journal of Medicine*, 362(23), 2202-2211. <https://doi.org/10.1056/NEJMr0804577>
- Maris, J. M., Hogarty, M. D., Bagatell, R., & Cohn, S. L. (2007). *Neuroblastoma Lancet* 369 (9579): 2106–2120. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60983-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60983-0)
- Marshall, N. J., Goodwin, C. J., & Holt, S. J. (1995). A critical assessment of the use of microculture tetrazolium assays to measure cell growth and function. *Growth regulation*, 5(2), 69-84.
- Martins, L. M., & Earnshaw, W. C. (1997). Apoptosis: alive and kicking in 1997. *Trends in cell biology*, 7(3), 111-114. [https://doi.org/10.1016/S0962-8924\(96\)10053-2](https://doi.org/10.1016/S0962-8924(96)10053-2)
- Mason, W. P., Del Maestro, R., Eisenstat, D., Forsyth, P., Fulton, D., Laperrière, N., Macdonald, D., Perry, J., Thiessen, B., & Committee, C. G. B. M. R. (2007). Canadian recommendations for the treatment of glioblastoma multiforme. *Current oncology*, 14(3), 110. <https://doi.org/10.3747/co.2007.119>
- Matthay, K. K., Maris, J. M., Schleiermacher, G., Nakagawara, A., Mackall, C. L., Diller, L., & Weiss, W. A. (2016). *Neuroblastoma Nat Rev Dis Primers* 2: 16078. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.78>

- McCall, E. E., Olshan, A. F., & Daniels, J. L. (2005). Maternal hair dye use and risk of neuroblastoma in offspring. *Cancer Causes & Control*, 16, 743-748. <https://doi.org/10.1007/s10552-005-1229-y>
- McFaline-Figueroa, J. R., & Lee, E. Q. (2018). Brain tumors. *The American journal of medicine*, 131(8), 874-882. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2017.12.039>
- McKinnon, K. M. (2018). Flow cytometry: an overview. *Current protocols in immunology*, 120(1), 1-5. <https://doi.org/10.1002/cpim.40>
- Mlakar, V., Jurkovic Mlakar, S., Lopez, G., Maris, J. M., Ansari, M., & Gumy-Pause, F. (2017). 11q deletion in neuroblastoma: a review of biological and clinical implications. *Molecular cancer*, 16, 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0686-8>
- Morgan, D. M. L. (1998). Tetrazolium (MTT) assay for cellular viability and activity. *Polyamine protocols*, 179-184. <https://doi.org/10.1385/0-89603-448-8:179>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of immunological methods*, 65(1-2), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Murray, P. E., García Godoy, C., & García Godoy, F. (2007). How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated? *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal (Internet)*, 12(3), 258-266.
- Nagatsu, T., Levitt, M., & Udenfriend, S. (1964). Tyrosine hydroxylase. The initial step in norepinephrine biosynthesis. *The Journal of biological chemistry*, 239, 2910-2917. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:6680748> [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)93832-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)93832-9)

- Nandi, P., & Roy, S. (2022). Tumor biology: An introduction. İçinde *Cancer Diagnostics and Therapeutics: Current Trends, Challenges, and Future Perspectives* (ss. 43-55). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-16-4752-9_3
- Navas, N., Romero-Pastor, J., Manzano, E., & Cardell, C. (2008). Benefits of applying combined diffuse reflectance FTIR spectroscopy and principal component analysis for the study of blue tempera historical painting. *analytica chimica acta*, 630(2), 141-149. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.10.008>
- Ohgaki, H., & Kleihues, P. (2005). Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 64(6), 479-489. <https://doi.org/10.1093/jnen/64.6.479>
- Ostrom, Q. T., Gittleman, H., Fulop, J., Liu, M., Blanda, R., Kromer, C., Wolinsky, Y., Kruchko, C., & Barnholtz-Sloan, J. S. (2015). CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2008-2012. *Neuro-oncology*, 17(suppl_4), iv1-iv62. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov189>
- Özden Üzmez, Ö. (2013). *Atmosferik uçucu organik bileşiklerin ölçümü için pasif örnekleyici geliştirilmesi ve kullanımı*.
- Pehlivan, S., Lafçı, D., Vatansever, N., & Yıldız, E. (2020). Relationship between death anxiety of Turkish nurses and their attitudes toward the dying patients. *OMEGA-journal of Death and Dying*, 82(1), 128-140. <https://doi.org/10.1177/0030222819895122>
- Philips, A., Henshaw, D. L., Lamburn, G., & O'Carroll, M. J. (2018). Authors' Comment on "Brain Tumours: Rise in Glioblastoma Multiforme Incidence in

- England 1995–2015 Suggests an Adverse Environmental or Lifestyle Factor”.
Journal of Environmental and Public Health, 2018.
<https://doi.org/10.1155/2018/2170208>
- Pierron, G. (2015). Basis for Molecular Genetics in Cancer. *Pan-cancer Integrative Molecular Portrait Towards a New Paradigm in Precision Medicine*, 15-30.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-22189-2_3
- Pinto, N. R., Applebaum, M. A., Volchenboum, S. L., Matthay, K. K., London, W. B., Ambros, P. F., Nakagawara, A., Berthold, F., Schleiermacher, G., & Park, J. R. (2015). Advances in risk classification and treatment strategies for neuroblastoma. *Journal of clinical oncology*, 33(27), 3008-3017.
<https://doi.org/10.1200/JCO.2014.59.4648>
- Polychronopoulos, P. A., Bedoya-Reina, O. C., & Johnsen, J. I. (2024). The neuroblastoma microenvironment, heterogeneity and immunotherapeutic approaches. *Cancers*, 16(10), 1863. <https://doi.org/10.3390/cancers16101863>
- Radic-Sarikas, B., Halasz, M., Huber, K. V. M., Winter, G. E., Tsafou, K. P., Papamarkou, T., Brunak, S., Kolch, W., & Superti-Furga, G. (2017). Lapatinib potentiates cytotoxicity of YM155 in neuroblastoma via inhibition of the ABCB1 efflux transporter. *Scientific Reports*, 7(1), 3091.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-03129-6>
- Rajawat, J., & Misra, G. (2021). Overview of cancer assessment, diagnostics, and therapeutics. İçinde *Protocol Handbook for Cancer Biology* (ss. 1-6). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90006-5.00004-5>
- Ren, Q. (2019). Soluble epoxide hydrolase inhibitor: a novel potential therapeutic or prophylactic drug for psychiatric disorders. *Frontiers in pharmacology*, 10, 420. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00420>

- Roda, D., Veiga, P., Melo, J. B., Carreira, I. M., & Ribeiro, I. P. (2024). Principles in the Management of Glioblastoma. *Genes*, 15(4), 501. <https://doi.org/10.3390/genes15040501>
- Ruddon, R. W. (2007). *Cancer biology*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780195175448.001.0001>
- Saini, P., & Sareen, D. (2019). Epoxide Hydrolase for the Synthesis of Chiral Drugs. *Nanoscience and Biotechnology for Environmental Applications*, 141-198. https://doi.org/10.1007/978-3-319-97922-9_6
- Sathornsumetee, S., & Rich, J. N. (2008). Designer therapies for glioblastoma multiforme. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1142(1), 108-132. <https://doi.org/10.1196/annals.1444.009>
- Shipley, M. M., Mangold, C. A., & Szpara, M. L. (2016). Differentiation of the SH-SY5Y human neuroblastoma cell line. *Journal of visualized experiments: JoVE*, 108. <https://doi.org/10.3791/53193>
- Shohet, J., & Foster, J. (2017). Neuroblastoma. *BMJ* 357, j1863. <https://doi.org/10.1136/bmj.j1863>
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2019). Textbook" principles of instrumental analysis.". *Cengage learning. core. ac. uk*. <https://core.ac.uk/download/pdf/232277508.pdf>.
- Soomro, S. H., Ting, L. R., Qing, Y. Y., & Ren, M. (2017). Molecular biology of glioblastoma: Classification and mutational locations. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 67(9), 1410-1414. <http://europepmc.org/abstract/MED/28924284>
- Stuart, B. H. (2007). *Analytical techniques in materials conservation*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9780470060520>

- Stupp, R., Hegi, M. E., Mason, W. P., Van Den Bent, M. J., Taphoorn, M. J. B., Janzer, R. C., Ludwin, S. K., Allgeier, A., Fisher, B., & Belanger, K. (2009). Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *The lancet oncology*, 10(5), 459-466. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70025-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70025-7)
- Sudo, H., Li-Sucholeiki, X.-C., Marcelino, L. A., Gruhl, A. N., Herrero-Jimenez, P., Zarbl, H., Willey, J. C., Furth, E. E., Morgenthaler, S., & Collier, H. A. (2008). Fetal–juvenile origins of point mutations in the adult human tracheal–bronchial epithelium: absence of detectable effects of age, gender or smoking status. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 646(1-2), 25-40. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2008.08.016>
- Thomas, A. A., Brennan, C. W., DeAngelis, L. M., & Omuro, A. M. (2014). Emerging therapies for glioblastoma. *JAMA neurology*, 71(11), 1437-1444. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.1701>
- Tonini, G. P., & Capasso, M. (2020). Genetic predisposition and chromosome instability in neuroblastoma. *Cancer and Metastasis Reviews*, 39, 275-285. <https://doi.org/10.1007/s10555-020-09843-4>
- Tuma, D. J. (2002). Role of malondialdehyde-acetaldehyde adducts in liver injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(4), 303-308. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00742-0](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00742-0)
- Twist, C. J., Schmidt, M. Lou, Naranjo, A., London, W. B., Tenney, S. C., Marachelian, A., Shimada, H., Collins, M. H., Esiashvili, N., & Adkins, E. S. (2019). Maintaining outstanding outcomes using response-and biology-based therapy for intermediate-risk neuroblastoma: A report from the Children’s

- Oncology Group study ANBL0531. *Journal of Clinical Oncology*, 37(34), 3243-3255. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.00919>
- Urbańska, K., & Mandal, C. C. (2014). Advanced views of glioblastoma multiforme U-87 cells for therapy of brain tumor. *Int J Clin Biochem Res*, 1, 59-66.
- Uzun, İ. H., & Bayındır, F. (2011). Dental materyallerin biyouyumluluk test yöntemleri. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 28(2), 115-122.
- Van den Berg, B. M. (2015). Microscopic analysis of MTT stained boar sperm cells. *Open veterinary journal*, 5(1), 58-63. <https://doi.org/10.5455/OVJ.2015.v5.i1.p58>
- Vella, S., Penna, I., Longo, L., Pioggia, G., Garbati, P., Florio, T., Rossi, F., & Pagano, A. (2015). Perhexiline maleate enhances antitumor efficacy of cisplatin in neuroblastoma by inducing over-expression of NDM29 ncRNA. *Scientific reports*, 5(1), 18144. <https://doi.org/10.1038/srep18144>
- Ward, E., DeSantis, C., Robbins, A., Kohler, B., & Jemal, A. (2014). Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. *CA: a cancer journal for clinicians*, 64(2), 83-103. <https://doi.org/10.3322/caac.21219>
- Weller, M., Pfister, S. M., Wick, W., Hegi, M. E., Reifenberger, G., & Stupp, R. (2013). Molecular neuro-oncology in clinical practice: a new horizon. *The lancet oncology*, 14(9), e370-e379. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(13\)70168-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(13)70168-2)
- Xicoy, H., Wieringa, B., & Martens, G. J. M. (2017a). The SH-SY5Y cell line in Parkinson's disease research: a systematic review. *Molecular Neurodegeneration*, 12(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0149-0>

- Xicoy, H., Wieringa, B., & Martens, G. J. M. (2017b). The SH-SY5Y cell line in Parkinson's disease research: a systematic review. *Molecular neurodegeneration*, 12, 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0149-0>
- Xie, H., Hu, L., & Li, G. (2010a). SH-SY5Y human neuroblastoma cell line: *in vitro* cell model of dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Chinese medical journal*, 123(08), 1086-1092.
- Xie, H., Hu, L., & Li, G. (2010b). SH-SY5Y human neuroblastoma cell line: *in vitro* cell model of dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Chinese medical journal*, 123(8), 1086-1092.
- Yang, K., Wu, Z., Zhang, H., Zhang, N., Wu, W., Wang, Z., Dai, Z., Zhang, X., Zhang, L., & Peng, Y. (2022). Glioma targeted therapy: insight into future of molecular approaches. *Molecular Cancer*, 21(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s12943-022-01513-z>
- Yilmaz, Ö., Şimşek Kuş, N., Küce, P., Coral, G., Celik, A., & Gültekin, M. S. (2015). Simple and convenient preparation of some bicyclic alcohols and epoxide derivatives: promising antibiotic activities of (rac)-dimethyl 3, 8-dioxatricyclo [3.2. 1.0 2, 4] oct-6-ene-6, 7-dicarboxylate. *Medicinal Chemistry Research*, 24, 2709-2716. <https://doi.org/10.1007/s00044-015-1324-x>
- Yu, J.-L., Chan, S., Fung, M. K.-L., & Chan, G. C.-F. (2021). Mesenchymal stem cells accelerated growth and metastasis of neuroblastoma and preferentially homed towards both primary and metastatic loci in orthotopic neuroblastoma model. *BMC cancer*, 21, 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08090-2>
- Zafar, A., Wang, W., Liu, G., Wang, X., Xian, W., McKeon, F., Foster, J., Zhou, J., & Zhang, R. (2021). Molecular targeting therapies for neuroblastoma: Progress

and challenges. *Medicinal research reviews*, 41(2), 961-1021.

<https://doi.org/10.1002/med.21750>

ZainEldin, H., Gamel, S. A., El-Kenawy, E.-S. M., Alharbi, A. H., Khafaga, D. S., Ibrahim, A., & Talaat, F. M. (2022). Brain tumor detection and classification using deep learning and sine-cosine fitness grey wolf optimization. *Bioengineering*, 10(1), 18. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10010018>



EKLER

EK-1. Etik Bildirim ve İntihal Beyan Formu

 SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ Graduate School of Health Sciences		
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹		
Öğrencinin Adı ve Soyadı	Elif Tuğçe AKYOL	
Öğrencinin Numarası		
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Biyoloji	
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans	
Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.		
Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	%9	% 15
II. Genel Bilgiler	%17	% 35
III. Materyal ve Metod	%17	% 35
IV. Bulgular	%2	% 15
V. Tartışma	%7	% 20
Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.		

1. Bu form, Atıf ve Kaynaklar bölümü Ek-1 olarak eklenmelidir.

EK-2. Etik Kurul Onay Formu



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Bölümü : Dekanlık
Servisi : Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/189
Konu : Etik Kurul Kararı

29.03.2024

Sayın: Prof. Dr. Hasan TÜRKEZ
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Değerlendirilmek üzere Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'na başvuruda bulunduğunuz **"Halo-Halkalı Epoksitlerin Sentezi, Karakterizasyonu Ve Antikanser Potansiyellerinin Değerlendirilmesi "** isimli bilimsel tez çalışmasına ait Kurul Kararı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Başkanlık Kararı



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK
ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

KARAR

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Atatürk Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
	TELEFON	
	FAKS	
	E-POSTA	
SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI		Prof. Dr. Hasan TÜRKEZ
ARAŞTIRMACININ AÇIK ADI		Halo-Halkalı Epoksitlerin Sentezi, Karakterizasyonu Ve Antikanser Potansiyellerinin Değerlendirilmesi
KARAR BİLGİLERİ	Toplantı Sayısı:2 Karar No:10	Tarih:29.03.2024
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın bütçesinin BAP tarafından karşılanması koşulu ile yapılmasında bilimsel ve etik açıdan sakınca olmadığına oy birliği ile karar verildi. Araştırmacıya çalışmalarında başarılar dileriz.	

EK-3. Tez Adı Değişikliği Bildirim Formu



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

TEZ ADI DEĞİŞİKLİĞİ BİLDİRİM FORMU

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Elif Tuğçe AKYOL
Ana Bilim Dalı	Tıbbi Biyoloji
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans

Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı Başkanlığına

Danışmanlığımı yürüttüğüm ve yukarıda bilgileri yazılı olan ana bilim dalımız öğrencisinin tez adı aşağıda belirtilen şekilde değiştirilmiştir. Bilgilerinize arz ederim. 18.04.2025

Değişiklik Türü	Tez adı değişikliği ☒
Tezin Eski Adı	Halo-Halkalı Epoksitlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antikanser Potansiyellerinin Değerlendirilmesi
Tezin Yeni Adı	Siklik- ve Bisiklik Epoksitlerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antikanser Potansiyellerinin Değerlendirilmesi
Tezin İngilizce Adı	Synthesis and Characterization of Cyclic- and Bicyclic Epoxides; Evaluation of Their Anticancer Potential
Değişikliğin Gerekçesi	Tez çalışmasına ek moleküller eklendi.