

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ HÜCRELER ÜZERİNE BENZİMİDAZOL METAL (Zn, Co)
KOMPLEKS BİLEŞİKLERİN SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Merve ASMA

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Elif APOHAN

NİSAN 2025

T.C
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ HÜCRELER ÜZERİNE BENZİMİDAZOL METAL (Zn, Co)
KOMPLEKS BİLEŞİKLERİN SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Merve ASMA
(36203611003)

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Elif APOHAN

NİSAN 2025

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının her aşamasında bilgi, tecrübe ve desteklerini esirgemedi beni her konuda yönlendiren,büyük bir sabır göstererek her konuda yardımcı olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Elif APOHAN'a

Laboratuvar çalışmaları esnasında desteklerini benden esirgemeyen Dr.Ayfer KILIÇ'a, Dr.Özgür YILMAZ'a,doktora öğrencisi Eray TATLICI ve yüksek lisans öğrencisi Esra ÖNER'e

Yaptığı her işte başarılı ve mükemmel bir insan olan,hayattaki idolüm,örnek aldığım canım babam merhum Yusuf KÖSEN'e ve bugünlere gelmemde hiçbir zaman desteğini esirgemeyen etik bir insan olmam için yetiştiren annem Nuray KÖSEN'e

Hayattaki en büyük şansım, bu süreçteki tüm yükü benimle birlikte taşıyan, hissettiğim tüm yorgunlukları beraber aştığım sevgili eşim Akif ASMA'ya

teşekkür ederim.

ONUR SÖZÜ

Doktora veya yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Çeşitli Hücreler Üzerine Benzimidazol Metal (Zn, Co) Kompleks Bileşiklerin Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığına ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Merve ASMA



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ	i
ONUR SÖZÜ	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Kanser.....	1
1.1.1 Kanserin sınıflandırılması.....	2
1.1.2 Kanser hücre hatları.....	2
1.2 Meme Kanseri	4
1.2.1 Meme kanseri hücre hatları	5
1.3 Apoptoz	6
1.3.1 Apoptozun morfolojisi.....	7
1.3.2 Apoptozun biyokimyasal özellikleri.....	8
1.4 Benzimidazoller.....	9
1.4.1 Benzimidazollerin kimyasal özellikleri	10
1.4.2 Benzimidazollerin biyolojik özellikleri	10
1.4.3 Benzimidazollerin antikanser aktivitesi	13
2. KAYNAK ÖZETLERİ	16
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1 Hücre Kültürü	23
3.2 Hücre Çözme ve Dondurma	23
3.3 Hücre Pasajlama ve Hücre Sayımı	24
3.4 Tripan Mavisi Testi ve MTT Testi	24
3.5 Optimizasyon Çalışmaları	26
3.6 Tezde Kullanılan Benzimidazol Bileşikleri.....	26
4. BULGULAR	28
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1: Bileşiklerin (MCF-7) meme kanseri hücrelerinin zamana bağlı IC ₅₀ değerleri(μg/mL).....	32
Çizelge 4.2: Bileşiklerin (L929) fibroblast hücrelerinin zamana bağlı IC ₅₀ değerleri (μg/mL).....	37



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1: Benzimidazol molekülünün yapısı	9
Şekil 1.2: Benoxaprofen bileşiği	11
Şekil 1.3: Candesartan bileşiği	11
Şekil 1.4: Kanseri tedavilerinde kullanılan benzimidazol türevi bileşik.....	12
Şekil 1.5: Antiviral aktiviteye sahip benzimidazol türevleri.....	13
Şekil 3.1: Tetrazolyum tuzunun formazona dönüşümü	25
Şekil 3.2: Çalışmada kullanılan çinko ve kobalt bağlı benzimidazol bileşikleri.	27
Şekil 4.1: Bileşik 1'in MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi	28
Şekil 4.2: Bileşik 2'nin MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi	28
Şekil 4.3: Bileşik 3'ün MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi.....	29
Şekil 4.4: Bileşik 4'ün MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi.....	29
Şekil 4.5: Bileşik 5'in MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi	30
Şekil 4.6: Bileşik 6'nın MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi	30
Şekil 4.7: Bileşik 7'nin MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi	31
Şekil 4.8: Bileşik 8'in MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi	31
Şekil 4.9: Bileşik 9'un MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi.....	32
Şekil 4.10: Bileşik 1'in L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi.....	33
Şekil 4.11: Bileşik 2'nin L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi.....	33
Şekil 4.12: Bileşik 3'ün L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi.....	34
Şekil 4.13: Bileşik 4'ün L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi.....	34
Şekil 4.14: Bileşik 5'in L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi.....	35
Şekil 4.15: Bileşik 6'nın L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi.....	35
Şekil 4.16: Bileşik 7'nin L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi.....	36
Şekil 4.17: Bileşik 8'in L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi.....	36
Şekil 4.18: Bileşik 9'un L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi.....	37

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	: Dimetilsülfoksit (Dimethyl sulphoxide)
FBS	: Fetal sığır serumu (Fetal bovine serum)
IC₅₀	: Hücre proliferasyonunda % 50 azalmaya neden olan konsantrasyon (İnhibisyon konsantrasyonu 50)
L929	: Sağlıklı fibroblast hücre hattı
MCF-7	: İnsan meme kanser hücre hattı
mL	: Mikro litre
MTT	: 3-[4,5-dimethyl-2-thiazolyl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromid
µg	: Mikro gram

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇEŞİTLİ HÜCRELER ÜZERİNE BENZİMİDAZOL METAL (Zn, Co) KOMPLEKS BİLEŞİKLERİN SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Merve ASMA

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

53+viii sayfa

2025

Danışman: Prof. Dr.Elif APOHAN

Kanser, insan hayatını fiziksel, duygusal, sosyal ve ekonomik birçok açıdan derinden etkileyen bir hastalıktır. Türkiye’de ve dünyada en yaygın görülen ve ölüm oranı yüksek olan sağlık sorunlarından biri olarak insan sağlığını tehdit etmektedir. Kanser, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde artan bir yük oluştururken, özellikle erken teşhis ve tedaviye erişimdeki eşitsizlikler ciddi bir problem oluşturmaktadır. Benzimidazol türevi bileşikler, kimya ve biyomedikal alanlarda büyük bir öneme sahip olup, ilaç geliştirme sürecinde dikkat çeken biyolojik özellikler sergiler. Bu bileşiklerin birçok farmakolojik etkisi bulunur ve çeşitli hastalıkların tedavisinde potansiyel adaylar olarak değerlendirilmektedir. Bu metal kompleksleri antikanser ilaç geliştirme sürecinde umut vaat etmektedir. Özellikle MCF-7 ve L929 hücre hatlarında yapılan araştırmalar, bu türevlerin seçici toksisite gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu bileşikler modern ilaç geliştirme süreçlerinde büyük potansiyel taşımaktadır.

Bu çalışmada, sentezlenen dokuz benzimidazol türevi bileşiğin, meme kanseri hücreleri (MCF-7) ve sağlıklı fibroblast hücreleri (L929) üzerine sitotoksik etkileri, MTT ve Tripan mavisi testi ile incelenmiştir. Elde edilen bulgular, bazı benzimidazol türevlerinin MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksitenin yüksek olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, Benzimidazol, Sitotoksik etki, Kanser

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF CYTOTOXIC EFFECTS OF BENZIMIDAZOLE METAL (Zn, Co) COMPLEX COMPOUNDS ON VARIOUS CANCER CELLS

MERVE ASMA

İnönü University
Institute of Science and Technology
Department of Biology

53+viii pages

2025

Supervisor: Prof. Dr.Elif APOHAN

Cancer is a disease that deeply affects human life in many aspects such as physical, emotional, social and economic. It threatens human health as one of the most common health problems with a high mortality rate in Turkey and the world. While cancer is an increasing burden in both developed and developing countries, inequalities in early diagnosis and access to treatment pose a serious problem. Benzimidazole derivative compounds are of great importance in the fields of chemistry and biomedicine and exhibit remarkable biological properties in the drug development process. These compounds have many pharmacological effects and are considered as potential candidates in the treatment of various diseases. These metal complexes are promising in the anticancer drug development process. Studies conducted especially on MCF-7 and L929 cell lines reveal that these derivatives exhibit selective toxicity. These compounds have great potential in modern drug development processes. In this study, the cytotoxic effects of the synthesized nine benzimidazole derivative compounds on breast cancer cells (MCF-7) and healthy fibroblast cells (L929) were investigated by MTT and Trypan blue tests. The findings showed that some benzimidazole derivatives had high cytotoxicity on the MCF-7 cell line.

Keywords: Breast cancer, Benzimidazole, Cytotoxic effect, Cancer

1. GİRİŞ

1.1 Kanser

Hücre büyümesi insan vücudunda fizyolojik bir süreçtir. Vücudumuzdaki hücreler hızla bölünerek yenilenmektedir. Yaşlandıkça bu süreç yavaşlar ve hücreler genellikle yalnızca hasarlı veya ölü hücrelerin yerine geçmek için bölünmektedir [1]. Normal hücreler sıklıkla sinyallere maruz kalmakta ve kontrol altında tutulmaktadır. Bu sinyaller hücrenin bölünmesi, başka bir hücreye farklılaşması veya ölmesi gerekip gerekmediğine karar vermekte, böylece hücreler uygun olmayan zamanlarda bölünmemektedir. Hasarlı hücreler bu kontrollerden kaçabilmekte, bu da kontrolsüz büyüme ve çoğalmaya sebep olarak tümör oluşumuna yol açabilmektedir [2].

Kanser vücutta bulunan bazı hücrelerin kontrolsüz olarak bölünmeye başlaması sonucunda vücudun diğer bölgelerinde bulunan sağlıklı dokulara yayılması durumudur [3] ve vücuttaki çoğu dokuyu etkileyebilen bir hastalıktır. Genellikle kontrolsüz hücre büyümesi ve katı bir tümör durumunda çevre dokunun invazyonu ile tanımlanmaktadır [4]. Ek bir özellik olarak, hepsi olmamak ile birlikte, birçok kanserde tümör hücreleri birincil bölgeden (yani birincil tümörden) uzak bir bölgeye göç edebilmekte ve yerleşebilmektedir. Bu olay metastaz olarak bilinmekte ve ölümcül sorunun çoğundan (yaklaşık %90) sorumludur. Kanser bu ilk tanımı, kötü huylu tümörler olarak adlandırılan tümörleri kapsamaktadır. Bu tanıma, hematopoetik dokulardan kaynaklanan ve kanda dolaşan tümör hücrelerine yol açan lösemi de dahil edilmektedir. İkinci ve daha geniş bir tanım ise, kontrolsüz hücre büyümesi gösteren ancak invazyon göstermeyen ve çoğu durumda hastanın hayatını tehdit etmeyen iyi huylu tümörleri de içermektedir [5].

Kanserli tümörler diğer adıyla kötü huylu tümörler, yeni tümörler oluşturmak üzere yakında bulunan dokulara yayılabilir. Yakın dokulardan da uzak dokulara yayılma gerçekleşebilir. Kötü huylu tümörlerin uzak dokulara yayılmasına ise metastaz denir [6]. İyi huylu tümörler ise vücutta bulunan sağlıklı dokulara yayılmaz. Kanser 100'den fazla çeşidi olduğu bilinmektedir. Kanser türleri ortaya çıkmaya başladıkları organa ya da dokuya göre adlandırılmaktadır [7].

1.1.1 Kanserin sınıflandırılması

Kanserler, genellikle oluştukları doku ve hücre tipine göre sınıflandırılmaktadır. Karsinomalar epitelyal hücrelerden kaynaklanan ve insanlarda en sık görülen kanser türleridir. Yumuşak doku kanserleri olarak da adlandırılan sarkomlar nadiren görülen kanserlerdir [8]. Sarkomlar, kemiklerde, kaslarda, tendonlarda, sinirlerde, kıkırdakta, yağ dokusunda veya kan damarlarında meydana gelebilir. Yetmişden fazla sarkom tipi vardır [9].

Kan, kemik iliği ve lenf bezinde ortaya çıkan kanserler hematopoietik kanserlerdir. Lösemi, lenfoma ve multiple myeloma gibi kanserler hematopoietik kanserler grubuna dâhil edilir [10]. Lösemiler kan hücrelerinin üretildiği kemik iliğindeki kök hücrelerin kontrolsüz çoğalması neticesinde oluşan hematopoietik bir kanserdir. Bu kanserlerde normal kan hücrelerinin üretimi bozulur ve buna bağlı olarak vücutta bazı belirtiler ortaya çıkar [11].

Lenfomalar, lenf bezlerinde lenfositlerin kontrolsüz çoğalması sonucu meydana gelen kanserlerdir. Lenfomalar Hodgkin ve non-Hodgkin (Hodgkin olmayan) olmak üzere iki grupta incelenir. Bu iki kanser türü arasındaki en temel fark, lösemi hem kan hücrelerini hem de kemik iliğini etkilemesidir [12].

Nöroektodermal kanserler ise merkezi ve periferik sinir sisteminin hücrelerinden kaynaklanır. Tanımlanan kanserlerin %1,3'ü nöroektodermal kökenlidir ve kansere bağlı ölümlerin %2,5'inden sorumludur [13].

Bazı kanserler ise yukarıda belirtilen ana kanser sınıflandırmasında yer almaz. Melanomlar bunlardan biridir. Melanom deri ve gözlere rengini veren melanin pigmentinin üretildiği melanositlerden kaynaklanan en ciddi deri kanseri türüdür [14]. Küçük hücreli akciğer karsinomları da ana sınıflandırma dışında kalır [15]. Teratom ise embriyonik gelişim sırasında germ hücre öncüllerinin ektopik bölgelere göçü sonucu üretilir. Saç, diş ve kemik gibi tanınabilir bir doku içerir [16]. Anaplastik kanserler ise kökeni bilinmeyen ve kaynaklandığı dokunun özelliklerini taşımayan kanser hücreleridir. Bu tip kanserler, farklılaşmamış ve ileri derecede agresif kanserlerdir [17].

1.1.2 Kanser hücre hatları

Günümüzde canlı dokularla çalışmalar bilimsel etik yönünden kısıtlanmasıyla birlikte hücre hatları ile çalışmak çok önemli bir yer tutmaktadır. *İn vitro* olarak hücre hatları üzerinde denenmiş birçok ilaç model organizmalarla da denenerek insan üzerinde kullanılmaya başlanır. Bu yüzden hücre kültürü yapılan bilimsel yayınların temelini oluşturmaktadır [18].

Yeni bir hücre dizisinin oluşturulması, hala tam olarak anlaşılamayan çok karmaşık bir süreçtir. Oluşturulmasında başarı oranı düşüktür ve kaynağını tahmin etmek zordur [19]. Bu ifade, bir hücre hattının stabilizasyonunun, hücre döngüsünün ve apoptoz yoluyla hücre ölümünün kontrolünde yer alan tüm hücresel mekanizmalardan kaçan, *in vivo* olarak kuvvetli bir şekilde büyüeyebilen tümörlerin bir örneğiyle başladığı göz önüne alındığında paradoksal görünebilir [20, 21, 22, 23]. Ancak bu zorluğun birçok nedeni ve yeni bir hücre hattının kurulmasındaki rastlantısal durum, aşırı farklılıklar (büyüme faktörü bağımlılığı, oksijen yüzdesi, stroma ve bağışıklık hücreleriyle etkileşim vb. gibi) dikkate alındığında anlaşılabilir [19].

Bu sorun, örneğin kronik fazda kronik miyeloid lösemiden sürekli bir hücre dizisi oluşturmanın imkansızlığı ile kanıtlanmaktadır. Bu hematolojik bozukluk, *in vivo* lösemili hücrelerin çok yüksek oranda çoğalması ile karakterize edilir, ancak aynı lösemili hücreler birkaç hafta sonra ölür [19]. Ayrıca, *in vitro* sürekli büyümenin başarısı göz önüne alındığında, yeni bir hücre dizisinin oluşturulması prosedürü her halükarda zor ve zaman alıcıdır ve hatta bir veya iki yıldan daha fazlasını gerektirir [24, 25, 26]. Bununla birlikte, her hücre dizisi hastanın muzdarip olduğu hastalıktan türetildiği için, geleneksel klinik teşhis ayarlarıyla başka türlü tanımlanamayan patolojik özelliklerin ortaya çıkarılmasına ve gerçekleştirilmesi mümkün olmayan deneylerin gerçekleştirilmesine fırsat sunar [27].

Yeni bir hücre hattını stabilize etme ve karakterize etme işlemleri, yayınlanmış kılavuzlara uygun olarak gerçekleştirilmelidir. Özellikle, 1999'da Drexler ve Matsuo, yeni oluşturulan her hücre dizisi için ölümsüzlüğün, orijinalliğin ve doku veya hücre menşesinin doğrulanmasının önemini vurgulamaktadır [24]. Bu kılavuzlar hala geçerlidir ve Geraghty ve arkadaşları tarafından yayınlanan, biyomedikal araştırmalarda kanser hücre dizilerinin kullanımına ilişkin güncellenmiş Birleşik Krallık Kanser Araştırmaları Koordinasyon Komitesi (UKCCCR) kılavuzlarına dahil edilmiştir [26]. Aslında ayrıntılı bir karakterizasyon, kültürün ölümsüzlüğü, neoplastikliğin kanıtı, hücrelerin gerçek kökeninin doğrulanması, bilimsel önem ve hücre dizisinin diğer araştırmacılar için kullanılabilirliği, yeni bir hücre dizisi yayınlarken büyük önem taşımaktadır. Bu şekilde, doğru koşullar altında ve uygun kontrollerle, doğru şekilde doğrulanmış kanser hücre dizileri, menşeli kanserin özelliklerinin çoğunu korur [28] ve tıbbi araştırmanın ilerlemesi için yararlı model sistemler haline gelirler [29, 30].

1.2 Meme Kanseri

Meme kanseri kadınlarda en sık teşhis edilen kanser türüdür ve dünya çapında kadınlarda kanserden kaynaklanan ikinci en yaygın ölüm nedenidir [31]. Memeler, pektoralis majör kasının yüzeyinde bulunan değişken büyüklük ve yoğunluktaki çift bezlerdir. Lobüller halinde düzenlenmiş süt üreten hücreler içerirler; çok sayıda lobül, yağın serpiştirildiği loblara bir araya gelmiştir. Süt ve diğer salgılar asinüslerde üretilir ve meme ucundan çıkan süt kanalları aracılığıyla dışarı atılır. Göğüsler, göğsü destekleyen Cooper bağları ile alttaki kas fasyasına bağlanır [32].

Meme kanseri en sık duktal epitelde (yani duktal karsinom) ortaya çıkar ancak meme lobüllerinde de (yani lobüler karsinom) gelişebilir. Meme kanseri için çeşitli risk faktörleri iyi tanımlanmıştır. Batı ülkelerinde, tarama programları çoğu meme kanserini semptomlara göre değil tarama yoluyla tespit etmeyi başarmıştır. Ancak, gelişmekte olan ülkelerin çoğunda, meme kitlesi veya anormal meme başı akıntısı sıklıkla görülen semptomdur [33]. Meme kanseri fizik muayene, meme görüntüleme ve doku biyopsisi ile teşhis edilir. Tedavi seçenekleri arasında cerrahi, kemoterapi, radyasyon, hormonal tedavi ve daha yakın zamanda immünoterapi yer alır. Histoloji, evre, tümör belirteçleri ve genetik anormallikler gibi faktörler kişiselleştirilmiş tedavi kararlarına rehberlik eder [31].

Kadınları etkileyen sık ve çok sayıda kötü huylu tümörden biri meme kanseridir. Meme kanseri, çeşitli iç ve dış faktörlerin bir sonucu olarak gelişir ve ortaya çıkar [34, 35, 36]. Kötü yaşam tarzı seçimleri, çevresel faktörler ve sosyal-psikolojik faktörlerin hepsi oluşumuyla bağlantılıdır. Meme kanserlerinin %5-%10'unun genetik mutasyonlara ve aile geçmişine atfedilebileceği ve meme kanserlerinin %20-%30'unun değiştirilebilir faktörlere bağlanabilir [37]. Meme kanseri ilk olarak meme hücrelerinde gelişir. Kanserli tümör olarak adlandırılan kanser hücresi kümeleri, yakındaki dokulara yayılabilir ve onları tahrip edebilir. Vücuda yayılmanın yanı sıra, meme hücreleri bazen normal büyüme ve davranışa müdahale eden değişikliklere uğrar. Bu değişikliklere kanserli olmayan meme hastalıkları, atipik hiperplazi ve kistler neden olabilir. Ayrıca intraduktal papillomlar gibi iyi huylu tümörlere de neden olabilirler [38].

İnvaziv meme kanseri, dünyada kadınlarda en yaygın olarak görülen kanser olmaya devam etmektedir ve 2020'de yeni vakaların yaklaşık %11,7'sini oluşturmaktadır [39]. Meme kanseri insidans oranı yaş ile beraber artmış; 20-24 yaşlarındaki kadınlarda 100.000'de 1,5 vakadan 75-79 yaşlarındaki kadınlarda 100.000'de 421,3 vakaya ulaşmıştır. Yeni vakaların

%95'i 40 yaş ve üzeri kadınlarda görülmektedir. Kadınların meme kanseri teşhisi sırasında ortalama yaşı 61'dir [40].

1.2.1 Meme kanseri hücre hatları

Kanser ve birçok hastalığın mekanizmalarını araştırmak için hücre kültür yöntemi kullanılmaktadır. Hücre hatları kullanımları olarak kolay, çoğalma olarak sınırsız bir çoğalma göstermesiyle oldukça avantajlı kaynaklardır [41].

Meme kanseri, çeşitli klinik özellikler gösteren genetik ve epigenetik olarak farklı bir hastalık grubunu kapsayan oldukça heterojendir [42]. Meme karsinomları konusundaki güncel bilginin önemli bir bölümü, basit ancak standart yaklaşımlar ve ortamlar kullanarak sınırsız bir kendi kendini kopyalayan homojen materyal kaynağı sağlayabilecekleri göz önüne alındığında, meme kanseri hücre hatları kullanılmasıyla gerçekleştirilen *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla elde edilmiştir [43]. Bu sebeple, bu hücre hatlarının moleküler özellikleri iyi yakalama durumu ve ilgili tümörlerin heterojenliğini yansıtmayı yansıtmadığı, klinik açıdan herhangi bir netice elde etmeden önce çözüm bulunması gerekmektedir. Meme kanseri hücre hatlarının büyük ölçüde meme karsinomunu temsil ettiği ve ER ve HER2'nin ayrımları için önemli tabakalaştırıcılar olduğu sonucuna varılmış olsa da, sürekli kanıtlar ilk hücre hattı kurulması ve sonraki seri pasajlar esnasında dramatik genetik ve epigenetik değişiklikler olduğunu ve ortaya çıkan hücre hatlarının birincil tümörlerden önemli ölçüde evrimleşmiş olabileceğini ileri sürmektedir [44]. Ayrıca, farklı çalışmalar meme kanseri hücre hatlarını farklı gruplara kategorilere ayırarak hücre hattı sınıflandırması ve tümörlerle olan ilişkileri konusundaki anlayışımızı karmaşıktırmaktadır [42, 45, 46, 47, 48, 49].

Oluşturulan ilk meme kanseri hücre hattı 1958'de BT-20 idi ve meme kanseri hücre hatları MD Anderson serisi de dahil olmak üzere daha yaygın hale gelene kadar 20 yıllık bir boşluk vardı. Dünyada en sık kullanılan meme kanseri hücre hattı olan MCF-7, 1973'te Michigan Kanser Vakfı'nda kuruldu. MCF-7'nin popülaritesi büyük ölçüde östrojen reseptörü (ER) ekspresyonu yoluyla hormon duyarlılığından kaynaklanmaktadır ve bu da onu hormon yanıtını incelemek için ideal bir model haline getirmektedir. Yakın geçmişte nispeten az sayıda meme kanseri hücre hattı oluşturulmuştur; bunun başlıca nedeni, önemli stromal ve metastatik kontaminasyon olmadan homojen popülasyonların kültürlenmesindeki zorluklar ve en azından Birleşik Krallık'ta, kısmen araştırma için insan dokusu elde etmeyi çevreleyen katı etik düzenlemelerdir. Hücre hatları, primer meme tümörlerinden, plevral efüzyonlardan veya bireysel hastalardaki çeşitli metastatik bölgelerden türetilmiştir. Bu hücre hatları artık

ticari hücre bankaları aracılığıyla yaygın olarak temin edilebilmektedir. Meme kanseri hücre sınıflandırması histolojik tip, tümör derecesi, lenf nodu durumu, ER ve daha kısa sürede insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) gibi öngörücü belirteçlerin varlığına dayanır. DNA mikrodizileri bu heterojenliği kanıtlayarak ER α , progesteron reseptörü (PR) ve HER2'nin gen ekspresyonunu ve IHC ekspresyonunu gösterir. Meme kanseri en az beş alt tipe sınıflandırılabilir: Bunlar lüminal A, lüminal B, HER2, bazal ve normal hücredir. Hücre hatları yıllar içinde birçok belirsizlikle birlikte yüksek bir mutasyon sıklığına maruz kalır. Meme kanseri hatları artık aynı alt tipteki tümörler için yalnızca ham modeller olarak kabul edilmektedir [50].

1.3 Apoptoz

Hücre ölümleri, çok hücreli organizmaların gelişmesi, doku homeostazisi ve bütünlüğünde temel bir süreç olarak görülmektedir. Hücre çoğalması ve ortadan kaldırılması, yetişkin organizmada homeostaz fizyolojik süreçlerin devamlılığında önemli olmaktadır [51, 52]. Apoptoz, normal hücre dönüşümü, bağışıklık sisteminin normal bir şekilde gelişmesi ve işleyişi, hormona bağlı atrofi, embriyonik gelişim ve kimyasal sebeplerle hücre ölümü benzeri çeşitli süreçlerin önemli bir bileşeni olmaktadır [53]. Hücre ölümü tipik olarak iki genel olarak tanımlanmış mekanizmayı içerir: Bunlar programlı hücre ölümü ve nekrozdur [54].

Belirli sinyallerin yanıtı şeklindeki hücre intiharının genetik olarak programlı bir süreci içeren hücre ölümüne programlanmış hücre ölümü denir [55]. Genellikle, hücrenin çevresi ve hücre içi sinyaller tarafından yönlendirilen çeşitli hücre dışı ve hücre içi sinyaller tarafından kontrol edilen programlanmış hücre ölümüdür [56]. Programlı hücre ölümü, hücre nekrozundan farklı morfolojik özelliklerinin bulunması, doku homeostazını koruması ve istenmeyen hücreleri ortadan kaldırarak çok hücreli organizmalarda uygun hücre sayısının düzenlenmesi sebebiyle farklıdır [57]. Farklı endojen dokuya özgü ajanlar ve ekzojen hücre hasarı veren ajanlar, kritik fizyolojik koşullar altında belirli hücre tiplerinde programlanmış hücre ölümünü başlatır [58]. Programlanmış hücre ölümünün ekzojen aktivasyonları, çoğu hücre tipinde etki eden fiziksel ajanları ve enfeksiyöz ajanları içerir. Fiziksel ajanlar arasında radyasyon, fiziksel travma ve kemoterapi ilaçları bulunurken enfeksiyöz ajanlar arasında virüsler ve bakteriyel toksinler bulunur [59].

Apoptoz terim olarak ilk kez Kerr, Wyllie ve Currie tarafından 1972'de hücre ölümünde morfolojik olarak değişik bir formunu tanımlamak için artık klasikleşmiş bir makalede dile

getirilmiştir; ancak apoptozis kavramının belirli bileşenleri yıllar önce açıkça tanımlanmıştır [60, 61]. Memeli hücrelerindeki apoptozis sürecinde yer alan mekanizmalar hakkındaki bilgiler, nematod *Caenorhabditis elegans*'ın gelişimi esnasında meydana gelen programlı hücre ölümünün incelenmesinden ortaya çıkmıştır [62]. Bu organizmada erişkin solucanın oluşumunda 1090 somatik hücre üretilmekte ve bu hücrelerden 131'i apoptozis ya da "programlanmış hücre ölümü"ne uğrar. Bu 131 hücre, solucanların aralarında temelde değişmeyen gelişme süreci boyunca belirli zamanlarda ölür ve bu sistemde dikkat edilmesi gereken değer doğruluk ve kontrolü gösterir. Apoptoz o zamandan beri tanınır ve genetik açıdan belirlenen hücre yok edilmesini içermekte olan "programlanmış" hücre ölümünde belirgin ve etkili bir modu olarak kabul edilir. Ancak, programlı hücre ölümünün diğer formlarının tanımlandığını ve diğer programlanmış hücre ölümü formlarının henüz keşfedilebileceğini belirtmek önemlidir [63, 64, 65].

Apoptoz, kaspaz ailesinin proteazlarını içeren düzenlenmiş hücre ölümü biçimidir. Memeli sistemlerinde apoptozu deneysel olarak engelleyen veya geciktiren farmakolojik ve genetik stratejiler, bu sürecin yalnızca (post-)embriyonik gelişime ve yetişkin doku homeostazına değil, aynı zamanda çok sayıda insan rahatsızlığının etiyolojisine de temel katkısını açıklığa kavuşturmuştur. Bu kavramla tutarlı olarak, apoptotik hücre ölümü için moleküler makinedeki kusurlar organizma gelişimini bozar ve onkogenezi teşvik ederken, apoptozisin haksız aktivasyonu çeşitli nörolojik, kardiyovasküler, renal, hepatik, enfeksiyöz, neoplastik ve inflamatuvar durumlar bağlamında hücre kaybını ve doku hasarını teşvik eder [66].

1.3.1 Apoptozun morfolojisi

Apoptozis geçiren hücrelerde, hücre içi bir sinyal yolu hücrenin ölümünü ve yok edilmesini gerçekleştirmek için hücreyi otonom olarak çalıştırır. Farklı durumlarda apoptozis sırasında biyokimyasal olayların benzerliği, doğal olarak oluşan veya deneysel olarak indüklenen hücre ölümünün birçok durumunda morfolojik değişikliklerin yüksek düzeyde tekdüzeliğiyle yansıtılır [67]. Programlı hücre ölümü veya apoptoz süreci sıklıkla benzersiz morfolojik özelliklere ve enerjiye bağlı biyokimyasal mekanizmalara sahiptir [53].

Apoptozun erken süreci boyunca, hücre büzülmesi ve piknozis ışık mikroskopuyla görülebilmektedir [60]. Hücre büzülmesiyle hücreler nispeten küçük boyuttadır, sitoplazma yoğun olmaktadır ve organeller daha sıkı paketlenmiştir. Piknozis, kromatin yoğunlaşmasından kaynaklanmaktadır ve bu, apoptozisin en karakteristik özelliğidir. Hematoksilen ve eozin boyasıyla yapılmakta olan histolojik değerlendirmede, apoptozis tek

hücreleri ya da küçük hücre kümelerini içermektedir. Apoptotik hücre, koyu eozinofilik sitoplazma ve yoğun mor nükleer kromatin parçalarıyla yuvarlak ya da oval bir kitle şeklinde görünür. Elektron mikroskobu, hücre altı değişimlerini daha iyi bir şekilde tanımlayabilmektedir. Kromatin yoğunlaşma aşamasının başlarında, elektron yoğun nükleer materyal, nükleer membranın altında çevresel olarak karakteristik olarak toplanır, fakat bunun yanında düzgün yoğun çekirdekler de olabilmektedir [53].

Apoptotik hücre ölümünü doğrulamak için birden fazla morfolojik özelliği belirlemek gereklidir, çünkü apoptozis, otofaji ve nekrozun ölüm programları arasında belirli örtüşme alanları vardır. Nekrozla ölen hücreler genellikle nükleer morfolojide değişiklikler gösterirler ancak apoptozun karakteristiği olan organize kromatin yoğunlaşması ve 200 bp DNA parçalarının oluşumu görülmez, bu nedenle dikkatli bir inceleme bu durumda ölüm tipini kolayca ayırt edebilir [68].

1.3.2 Apoptozun biyokimyasal özellikleri

Apoptotik hücreler, DNA parçalanması, protein bölünmesi, protein çapraz bağlanması, ve fagositik tanıma benzeri daha önce açıklanan belirgin yapısal patolojiye yol açan çeşitli biyokimyasal değişiklikler sergiler [69]. Kaspazlar, bir çok hücrede inaktif bir proenzim formunda yaygın şekilde ifade edilir ve bir defa aktive olduklarında çoğunlukla öbür prokaspazları aktive eder ve bir proteaz kaskadı başlatabilir. Bazı prokaspazlar ayrıca kümeleşebilir ve kendi kendini aktive edebilir. Bir kaspazın öbür kaspazları aktive ettiği bu proteolitik kaskad, apoptotik sinyal yolunu güçlendirmekte ve bu şekilde hızlı hücre ölümüne sebep olmaktadır [53].

Kaspazların proteolitik aktivitesi bulunmaktadır ve aspartik asit kalıntılarındaki proteinleri kesebilirler, fakat farklı kaspazlar komşu amino asitlerin tanınmasını içeren farklı özgüllüklere sahiptir. Bugüne kadar, on ana kaspaz tanımlanmakta ve genel olarak başlatıcılar (kaspaz-2,-8,-9,-10), etkililer ya da infazcılar (kaspaz-3,-6,-7) ve inflamatuvar kaspazlar (kaspaz-1,-4,-5) olarak kategorize edilmektedir [70, 71]. Tanımlanan öbür kaspazlar arasında septik şok esnasında apoptozu ve sitokin olgunlaşmasını düzenlediği bildirilen kaspaz-11, amiloid- β ile endoplazmik-spesifik apoptozu ve sitotoksisteyi aracılık etmekte olan kaspaz-12, sığır geni olduğu öne sürülen kaspaz-13 ve embriyonik dokularda yüksek oranda ifade edilen ancak yetişkin dokularda ifade edilmeyen kaspaz-14 yer almaktadır [72, 73, 74, 75].

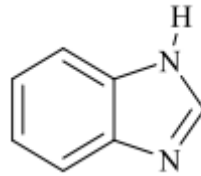
Geniş protein çapraz bağlanması apoptotik hücrelerin farklı bir özelliği olmaktadır ve doku transglutaminazının ekspresyonu ve aktivasyonu ile elde edilmektedir [76]. Ca^{2+} ve Mg^{2+} bağımlı endonükleazlar kaynaklı olarak DNA parçalanması da oluşmakta ve 180 ila 200 baz çiftinden oluşan DNA parçalarıyla sonuçlanır [77]. Karakteristik bir DNA merdiveni, etidyum bromür boyası ve ultraviyole aydınlatma ile agar jel elektroforezi ile görselleştirilebilmektedir [53].

Bitişik hücrelerce apoptotik hücrelerin erken fagositik tanınması ile neticelenen hücre yüzeyi belirteçlerinin ekspresyonudur ve çevreleyen dokuya minimum zararla hızlı fagositosa izin verir. Bu, hücrenin lipid çift katmanının normal içe dönük fosfatidilserinin plazma membranının dış katmanlarında ekspresyona hareket etmesiyle elde edilir [78].

1.4 Benzimidazoller

Monosiklik bir yapıda olan imidazol halkası 4 ve 5 pozisyonları üzerinden benzen halkasının kaynaşması ile oluşan heterosiklik yapı olan benzimidazol halka sistemi oldukça iyi bilinen ve sıklıkla farmasötik ve medisinal yapılarda karşılaşılan heterosiklik bileşiklerdir [79]. Benzen ve imidazol halkalarının kaynaşmasıyla oluşan bisiklik yapı 1H-benzimidazol, 1H-benzo[d]imidazol veya 1,3-benzodiazol olarak bilinir. Benzimidazol halka sistemi numaralandırılma işlemi yapılırken imidazol halkasının hidrojen atomu taşıyan azotundan başlanmakta ve diğer azota doğru gidilmektedir.

Benzimidazol halka sistemi yapısında 2 farklı azot atomu bulunmaktadır.



Şekil 1.1: Benzimidazol molekülünün yapısı

Benzimidazol halkasında yer alan iki azot atomu hem farmakolojik etkilerin ortaya çıkmasında hem de kimyasal reaksiyon yollarının yürütmesinde oldukça önemlidir. Hidrojen atomunun bağlı olduğu ve imino azotu ya da pirol azotu olarak isimlendirilen azot, piridin azot veya tersiyer azot olarak adlandırılan tersiyer yapıdaki diğer azot atomu bir birinden farklı özellikler göstermektedir [80].

Azot içeren hidrojen atomlarına "imino nitrojen" veya "pirol nitrojen", üçüncül yapıdaki diğer nitrojenlere ise "piridin nitrojen" veya "üçüncül nitrojen" adı verilir. Aynı zamanda imino nitrojenin taşıdığı hidrojen atomuna da "imino hidrojen" olarak adlandırılmaktadır [81].

Benzimidazol halkası amfifilik özelliklere sahip kimyasal bir yapıdır. Reaksiyona girdikleri bileşiklere ve atomlara aktarılabilen üçüncül nitrojen üzerinde paylaşılmamış bir elektron çifti içerdikleri için temel özellikler gösterirler ve imino hidrojenleri proton olarak çevreye taşıdıkları için asidik özellikler gösterirler. Bu nedenle benzimidazoller elektron çekici gruplarla ikame edildiğinde asidik özellikleri artar [82].

1.4.1 Benzimidazollerin kimyasal özellikleri

Benzimidazoller, imidazol halkasının benzen halkasına 4. ve 5. konumlardan kaynaşmasıyla oluşmuş aromatik ve organik bileşiklerdir. Bu grup bileşikler geniş ve çeşitli farmakolojik aktiviteleri nedeniyle büyük önem taşımaktadır. Fakat son yıllarda benzimidazol türevi etken maddelerden aktif ilaç formu geliştirmek üzerine de ayrıca yoğunlaşmak gerektiği düşünülmüştür [83].

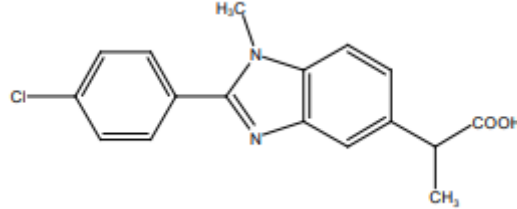
Benzimidazol, 170-172 °C erime noktasına sahip olup, 3-azaindol, azindol, benzoglioksalin, 3-benzodiazol, 1,3 diazainden olarak da adlandırılabilir [84]. Benzimidazol türevleri, geniş biyolojik aktiviteleri sebebiyle tıbbi kimyada önemli bir farmakofordur. Kanser tedavisinde kemoterapi gibi alanlarda önemli bir heterosiklik bileşik sınıfı olarak ilgi çekmektedir [85]. Ayrıca bu heterosiklik bileşik sınıfı kaynaşmış nitrojen çekirdekleri nedeniyle nükleotit bazlarının yapısal izosterleridir. Bu sayede proteinler, enzim reseptörleri ve nükleik asitler gibi biyolojik makromoleküllerle kolayca etkileşime girerler [86].

1.4.2 Benzimidazollerin biyolojik özellikleri

Benzimidazollerin biyolojik özelliklerinin kullanılması eskilere dayanırken, yapılan araştırmalarda benzimidazollerin antimikrobiyal, antitüberküler, antiinflamatuvar, antioksidan, antiviral, antihipertansif, antidiyabetik ve antitümör aktivite gösterdiklerini ortaya koymuştur. Benzimidazolün yapısında bulunan bağlanma bölgelerinin tamamı farklı kimyasal türlerle bağlanmaya elverişli olsa da biyolojik bakımdan aktif olan türevlerinden çoğunluğu 1., 2., 5. ve 6. konumlarında fonksiyonel grup taşır [87].

Benzimidazollerin Antiinflamatuvar Aktivitesi

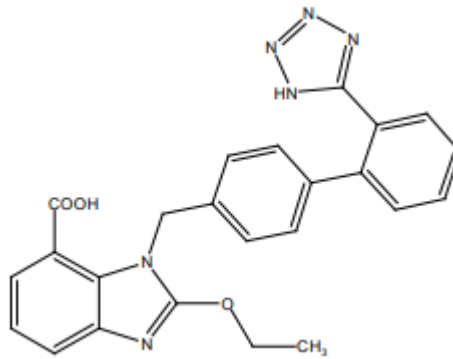
Hiperinflamasyon hem bulaşıcı hem de bulaşıcı olmayan hastalıkların semptomlarını kötüleştirir. Bu nedenle, anti-inflamatuvar bileşikler geniş bir terapötik uygulamaya sahip olabilir. Benzimidazol ayrıcalıklı bir iskeledir ve ilaç geliştirmedeki başarısından dolayı geniş uygulama yelpazesine sahiptir [88].



Şekil 1.2: Benoxaprofen bileşiği

Benzimidazollerin Antihipertansif Etkisi

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre en yaygın ölüm nedeni, zamanla yüksek tansiyona (hipertansiyon) bağlı kalp yetmezliği anlamına gelen koroner kalp hastalığıdır. Hipertansiyon zamanla kalp yetmezliğine ve felce neden olabilir. Bu nedenle kan basıncını düşüren antihipertansif etkileri olan farmasötik ilaçlar üzerinde durulmuştur [89]. Benzimidazol, özellikle antihipertansif ajanların geliştirilmesinde önemli bir temel çekirdek olarak sıklıkla kullanılmıştır [90].

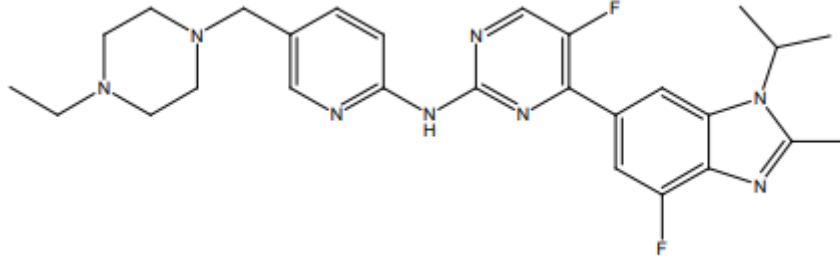


Şekil 1.3: Candesartan bileşiği

Benzimidazollerin Antioksidan Aktiviteleri

Antioksidan savunma mekanizmaları, çeşitli hastalıklarda oksidatif stresin neden olduğu hücresel hasarı önleyerek hücresel homeostaziyi ve sağkalımı korumak için canlı hücrelerde mevcuttur [91, 92]. Antioksidan mekanizmaların bozulması, antioksidan savunmalar ile oksijen kaynaklı serbest radikaller arasındaki dengenin serbest radikaller lehine değişmesine

ve bunun sonucunda oksidatif strese neden olur [93]. Antioksidanların kullanımının kanser, Alzheimer ve diğer nörodejeneratif hastalıklar ve ateroskleroz dahil olmak üzere oksidatif stresle ilişkili çok sayıda hastalığın önlenmesinde veya geciktirilmesinde faydalıdır ve benzimidazol bazlı bileşikler antioksidan aktiviteye sahiptir [94].



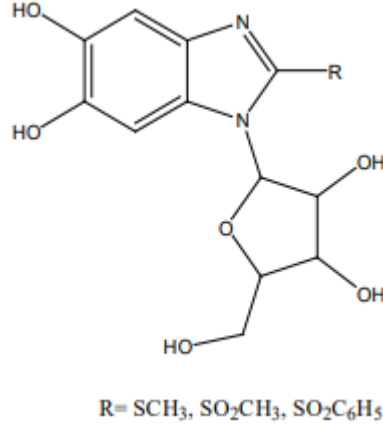
Şekil 1.4: Kanser tedavilerinde kullanılan benzimidazol türevi bileşik

Benzimidazollerin Antitüberkilör Aktiviteleri

Tüberküloz, önemli bir küresel sağlık sorunu olmaya devam eden yaygın bir bakteriyel enfeksiyondur [95]. 2 pozisyonunda sikloheksil grubu bulunan benzimidazol türevlerinin anti-tüberküloz etkisi test edilmiş ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle amid ve karbamat türevlerinin çok yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir [96].

Benzimidazollerin Antiviral Aktiviteleri

Antiviral etkiye sahip benzimidazoller arasında, Cocksackie Virüsü B3'e karşı aktiviteye sahip olan veya spesifik hepatit C virüsü enzimlerini hedef alan 2-aril/heteroarilbenzimidazol türevleri önemli bir konuma sahiptir. Bu nedenle, *N*-(2-florofenil)-2-(2-piridil)benzimidazol-4-karboksamid, Cocksackie Virüsü B3'e karşı 1,69 μM 'lik bir IC_{50} değeri gösterirken, 1 - sikloheksil-2-heteroarilbenzimidazol-5 -karboksilik asitler ve bunların amido türevleri nanomolar konsantrasyonlarda HCV NS5B polimerazını inhibe eder [97].



Şekil 1.5: Antiviral aktiviteye sahip benzimidazol türevleri

Benzimidazollerin Antidiyabetik Aktiviteleri

Benzimidazol türevi bileşikler sentezlendiği ve bu bileşiklerin farklı çalışmalarda antidiyabetik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [87].

1.4.3 Benzimidazollerin antikanser aktivitesi

Dünya çapında en ölümcül hastalıklardan biri olan kanser, hala insan refahı için önemli bir zorluktur. Bu nedenle, çeşitli kanser türlerini tedavi etmek için modern protokollerin tasarlanması ve geliştirilmesi son derece gerekli görünmektedir. Öte yandan, temel bir farmakofor olan benzimidazol, çeşitli biyolojik ve terapötik potansiyeller sergiler. Bu bileşik, antifungal, antiviral, antibakteriyel ve antikanser aktiviteleri de dahil olmak üzere farmasötik özellikleriyle iyi bilinmektedir. Bu nedenle, benzimidazol türevleri, olağanüstü antikanser yetenekleri, apoptotik etkileri ve inhibe edici potansiyelleri nedeniyle önemli bir rol oynamıştır. Son yıllarda, çok sayıda antikanser ilaç türü araştırması, benzimidazol bazlı bileşikler kullanmak için yeni ve pratik stratejiler bulmaya yoğunlaşmıştır [98].

Son yıllarda keşfedilen antikanser ilaçları arasında, çeşitli biyolojik aktiviteleri ve klinik uygulamaları nedeniyle çeşitli benzimidazol türevleri antikanser ajanı geliştirmede dikkat çekmiştir. Benzimidazolün benzersiz çekirdek yapısı ve minimal toksisite özelliği, onu antikanser ilaç geliştirmede mükemmel bir iskele haline getirmiştir. Benzimidazol (1 H - benzimidazol, 1,3-benzodiazol, benzoglioksalin, iminazol ve imidazol olarak da bilinir), 4,5 pozisyonunda bir imidazol halkasına kaynaşmış bir benzen halkası içeren ve bisiklik bir halka oluşturan aromatik bir organik bileşiktir [99, 100].

Tarihsel olarak, benzimidazol (yani 2,6-dimetilbenzimidazol) ilk olarak Hoebrecker tarafından sentezlenmiş, ardından 1870'lerde Ladenberg ve Wundt tarafından

sentezlenmiştir [101]. Benzimidazolün moleküler ağırlığı 118,14 g/mol'dür ve beyaz tablet kristaller olarak görünür. Benzimidazol, 1-pozisyonunda azota bağlı bir hidrojen atomu içerir ve su veya birden fazla benzimidazol molekülünün varlığı gibi aprotik çözücülerle etkileşime girdiğinde bir tautomer oluşturabilir [99]. Benzimidazol halkası oldukça kararlıdır ve konsantre bir sülfürik asit çözeltisinde 270 °C'ye kadar basınç altında ısıtılma veya sıcak hidroklorik asit veya alkalilerle şiddetli işlem gibi aşırı koşullara dayanabilir [100].

Birçok ilaç ve doğal bileşik heterosikller içerir. Heterosikller nitrojen, kükürt ve oksijen gibi atomları içerir. Bu atomlardan bir veya daha fazlasının yerini halkadaki karbon atomları alır. Benzimidazol de bu gruba ait olup halka yapısında farklı konfigürasyonlarda iki nitrojen atomu bulunan heterosiklik aromatik organik bir bileşiktir[102]. Benzimidazolün elektron açısından zengin azot heterosiklikleri, protonları kolayca kabul edebilir ve çeşitli zayıf etkileşimlerin oluşumuna kolayca izin verebilir, bu da geniş bir terapötik hedef yelpazesine bağlanma avantajı sunarak geniş kapsamlı farmakolojik aktiviteler sergiler [103].

Benzimidazoller, canlı sistemdeki biyopolimerlerle kolayca temas etmelerini sağlayan, doğal olarak oluşan purin nükleotidlerine benzeyen bir yapıya sahiptir [104]. Benzimidazol farmakoforu, hedeflerle hidrojen bağları, amid halkası ve aromatik halka etkileşimleri, hidrofobik etkileşimler, van der Waals kuvvetleri, polar temas ve pi bağları oluşturabilir. Benzimidazol ve türevlerinin topoizomeras inhibitörleri, DNA interkalasyon ve alkilleyici ajanlar, androjen reseptör antagonistleri, poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP) inhibitörleri, protein kinaz inhibitörleri, dihidrofolat redüktaz inhibitörleri ve mikrotübül inhibitörleri olarak önemli roller oynadığı bildirilmiştir [105, 106]. Benzimidazol türevlerinin ayrıca umut verici antikanser aktiviteleri gösterilmiş epigenetik düzenleyiciler olarak hareket ettiği bildirilmiştir [107, 108, 109, 110].

Benzimidazol türevi bileşiklerin antikanser özellikleri, hücrenin moleküler mekanizmasındaki birçok farklı hedefe olan ilgilerinden kaynaklanmaktadır. Bu hedefler apoptotik yollardan hücre döngüsü yollarına ve hücre iskeleti oluşumuna kadar birçok hücre sinyal yolunda mevcuttur. Bu özellik, benzimidazol türevlerini etkili antikanser ilaçları olarak öne çıkarmaktadır [111]. Kanser hücrelerinde benzimidazol türevli bileşiklerin hedef proteinleri veya protein kompleksleri arasında başlıcaları tip I-II topoizomeras, protein tirozin kinaz, mikrotübüller ve β -glukuronidazdır [112, 113, 114, 115, 116] Benzimidazol ilaçlarının kanser tedavisinde etkili ilaç olma potansiyeline sahip olmasının nedenlerinden biri de çok hedefli ilaç olma potansiyelleridir. Günümüzde tek hedefli kemoterapi ilaçları

pek etkili değildir. Kanser hücreleri bu ilacın etkilerinden kaçabilir ve büyümek ve çoğalmak için diğer hücre içi sinyal yollarını kullanabilir. Benzimidazolün heterosiklik yapısı, hücre içi sinyallemenin birden fazla hedefi üzerinde etkili olan ilaçların geliştirilmesi için iyi bir potansiyele sahiptir [117].



2. KAYNAK ÖZETLERİ

Shao vd. (2014) Potansiyel antikanser ajanları olarak yeni pirimidin-benzimidazol hibritlerinin sentezi ve biyolojik değerlendirmesini yapmak amacıyla yaptıkları araştırmada, pirimidin-benzimidazol hibriti sentezlenmiş ve MCF-7, MGC-803, EC-9706 ve SMMC-7721 olmak üzere dört insan kanser hücre hattında antikanser aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. Sentezlenen bileşiklerden bazıları MGC-803 ve MCF-7'ye karşı orta ila güçlü aktivite gösterirken, bunlar arasında 5a - b ve 6a - b bileşikleri en etkili aktiviteyi göstermiştir. 5b ve 6b bileşiklerinin, test edilen dört insan kanser hücre hattının tümüne karşı 5-florourasilden daha sitotoksik olduğu; IC₅₀ değerleri sırasıyla 2,03 ila 10,55 µM ve 1,06 ila 12,89 µM arasında değiştiği belirlenmiş, akış sitometrisi analizi, MGC-803'ün 6b ile tedavisinin G2/M fazında hücre döngüsü durmasına ve apoptotik hücre ölümünde artışa yol açtığı bildirilmiştir [118].

Poyraz vd., (2016) yaptıkları araştırmada Tiyosemikarbazon 1-(1H-Benzimidazol-2-il)etan-1-on tiyosemikarbazonun (BzimetTSCH) yeni platin(II) bileşikleri, (1) [Pt(BzimetTSCH)Cl] merkez nokta 2H(2)O ve (2) [Pt(BzimetTSCH)(tpp)]Cl merkez nokta H₂O merkez nokta MeCN sentezlenmiştir. Kompleksler FT-IR spektroskopisi ve H-1 NMR spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. 1 ve 2'nin kristal yapıları tek kristal X-ışını kırınımı analizi ile belirlenmiştir. Her iki komplekste de platin etrafındaki koordinasyon kare düzlemdir. 1 ve 2 bileşikleri insan adenokarsinomu meme (MCF-7) ve serviks (HeLa) hücrelerine karşı *in vitro* sitotoksik aktiviteleri açısından değerlendirilmiş, hücre ölümünün apoptotik yolu hücre döngüsü durma testi ile doğrulanmıştır. Glutasyon (GSH) tarafından oluşturulan sisplatin deaktivasyonu sitotoksik etkilerinin önemli bir belirleyicisi gibi görüldüğünden, 1 ve 2'nin GSH ile reaksiyonları UV-absorpsiyon spektroskopisi ile araştırılmıştır. 1 ve 2'nin normal insan fetal akciğer fibroblast hücrelerinde (MRC-5) oluşturduğu genotoksisiteler floresan mikroskopisi ile değerlendirilmiş, MRC-5 hücrelerinde mikronükleus bulunmaması bileşiklerin *in vitro* toksik olmayan davranışını doğrulamış ayrıca, 1 ve 2'nin *in vivo* genotoksisiteleri Allium cepa testi ile değerlendirilmiş, sisplatine benzer ihmal edilebilir genotoksik etki ve yüksek antitümör aktivitesi nedeniyle,

2 mitotik indeks değişmediğinden potansiyel ilaç olarak daha fazla çalışmaya aday olabileceği belirtilmiştir [119].

Yapılan bir çalışmada tanımlanan türevler arasında, bileşik 7 , test edilen kanser hücre dizilerinin çoğuna karşı 0,07–0,41 $\mu\text{mol/L}$ aralığında GI50 değerlerine sahip olan PI3K-AKT-mTOR yolağının dikkate değer inhibisyonunu gösterdi ve bu da antikanser ajanı olarak kullanım potansiyelini göstermektedir [120].

Farklı bir çalışmada sırasıyla 5. pozisyonda hidrojen, benzoil ve karboksil sübstitüentleri taşıyan 2 –anthril benzimidazol türevlerini (8–10) sentezlediler. Bileşik 9 ve 10, MCF-7 hücre hatlarına ve HL-60 hücre hatlarına etki ettiği bulunmuştur [121].

Varshney ve ark (2015) yaptıkları araştırmada bileşik 11, doksorubisin ve 5-fluorourasil standartlarına kıyasla HELA hücre hatlarına karşı en dikkate değer aktiviteyi sergilemiştir [122]

Farklı bir çalışmada aralarında 13-15 bulunan bileşiklerinin mikromolar aralıkta K-562 ve MCF-7 hücre hatlarına karşı inhibisyon gösterdiği bir floroaril benzimidazol türevleri (12-15) kütüphanesi sentezlemiştir. Bileşik 13 ve 15, kanserli hücrelerin apoptozunda önemli rol oynayan kaspazların aktivatörleri olarak bildirilmiştir. Bramhananda Reddy ve ark. bir benzimidazol kaynaşık eliptisin türevleri (16–20) kütüphanesi tasarladı ve sentezledi ve GI50 değerleri <0,1–34,6 μM olan insan kanser hücre hatları HELA, Zr-75–1, MCF7 ve A-549'a karşı tanımlanmış antiproliferatif potansiyel bulunmuştur [123].

Acar Çevik ve arkadaşları (2018) kanserin dünya çapında önde gelen ölüm nedenlerinden biri olduğunu, mevcut tedavi seçenekleri, yan etkiler ve ilaç direnci gibi önemli sınırlamalar bulunduğunu, u nedenle, daha yeni ve daha güvenli kanser önleyici ilaçlar için devam eden arayışlar kritik öneme sahip olmaya devam etmekte olması sebebiyle yaptıkları araştırmada güçlü kanser önleyici ajanlar olarak yeni kimyasal varlıkların tanımlanması hedeflenerek benzimidazol-hidrazon türevleri sentezlemeyi amaçladıklarını belirtmişlerdir. Araştırmada 4-(5(6)-substitüe-1 H -benzimidazol-2-il)-N ' tiofen/furan-2-il-metilen) benzohidrazit türevlerinin 12 yeni bileşiğinden oluşan bir seri sentezlenmiş, elde edilen bileşiklerin yapıları IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR, kütle spektroskopisi ve element analizleri kullanılarak aydınlatılmış, bileşiklerin A549, MCF-7 ve NIH/3T3 hücre hatlarına karşı *in vitro* sitotoksik aktivitesi MTT testi ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda test edilen bileşikler arasında, bileşik 3e, sisplatin ile karşılaştırıldığında MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine karşı daha yüksek sitotoksikite gösterdiği, ayrıca, sağlıklı hücre hattı NIH/3T3'e karşı daha

yeteneğini gösterdiği, çalışılan CK2 inhibitörlerinin 5-FU ile etkileşiminin farklı bir moleküler mekanizmasına işaret etmekte olduğu bildirilmiştir [126].

Alioğlu (2019) araştırmasında Zn(II) komplekslerinin insan meme kanseri hücreleri üzerindeki antikanser etkilerini ve bu etkilerden sorumlu mekanizmaları araştırmıştır. Araştırma sonucunda, Zn(II) kompleksinin insan meme kanseri hücreleri üzerinde doza ve zamana bağlı sitotoksik etkiler gösterdiğini ancak protein ve gen seviyelerinde sağlıklı hücreler için toksik olmadığı belirlenmiştir. Zn(II) kompleksi kanser hücrelerinde apoptozu indükler. Zn(II) komplekslerinin kanser hücrelerinin migrasyon kabiliyetini önemli ölçüde inhibe ettiği ve ayrıca kanser kök hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiş olup, Zn(II) komplekslerinin kanser kök hücrelerine umut verici bir kanser tedavi edici ajan olarak karşı sitotoksik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir [127].

John vd. (2020) *M. pudica* bitkisinin tamamından elde edilen metanol özütünün (MMP) MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarındaki antikanser aktivitesini değerlendirmek için yaptıkları araştırmada MMP'nin antitümör aktivitesi, MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarında 3-(4,5-dimetil thazol-2-il)-2, 5-difenil tetrazolyum bromür testi kullanılarak analiz edilmiştir. MMP'ye bağlı sitolojik ve metabolik değişiklikler akridin turuncusu/etidyum bromür ikili boyama, hoechst 33258 ve floroprob, benzimidazol-karbosiyanin iyodür 5, 5', 6, 6'-tetrakloro-1, 1', 3,3'-tetra etil (JC-1) boyama kullanılarak değerlendirilmiştir. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ve Western blotting, sırasıyla antiapoptotik gen olan Bcl-2 ve protein ekspresyonunu değerlendirmek için gerçekleştirilmiştir. Çeşitli fitokimyasalların varlığı için nitel analiz ve gaz kromatografisi yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisi gerçekleştirilmiş, metanol özütü her iki hücre hattında da *in vitro* güçlü bir antitümör aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir [128].

İçsel vd. (2020) Zn(ii), Cd(ii) ve Hg(ii) sakarinat kompleksleri 2,6-bis(2-benzimidazolil) piridin ile ROS kaynaklı apoptoz yoluyla meme ve akciğer kanseri hücre hatlarında antikanser ajanları olarak kullanılmasını incelemişlerdir. Sakkarinat (sakkarin) ve 2,6-bis(2-benzimidazolil)piridin (bzimpy), [Zn (bzimpy) (2)] (sakkarin) (2) center dot 2H(2)O (Zn), [Cd (sakkarin) (2) (bzimpy)] (Cd) ve [Hg (sakkarin) (2) (bzimpy)] (Hg)'nin yeni Zn(ii), Cd(ii) ve Hg(ii) kompleksleri hazırlanmış ve spektroskopik yöntemler ve X-ışını kristalografisi ile tam olarak karakterize edilmiştir. A549 (akciğer), MCF-7 (meme) ve HT29 (kolon) hücre hatlarında yapılan *in vitro* antikanser tarama, Zn'nin sırasıyla 1,74 +/- 0,06 ve 3,15 +/- 0,10 mu M'lik IC50 değerleriyle A549 ve MCF-7 hücrelerine karşı oldukça sitotoksik olduğu görülmüş ve Hg, MCF-7 hücrelerinde (8.61 +/- 0.98 mu M) güçlü

sitotoksik, Cd ve bzipmy tüm hücre hatlarında orta düzeyde büyüme inhibe edici aktivite gösterdiği, normal insan meme epitelyal MCF10A hücrelerine karşı önemli ölçüde daha düşük toksisite gösterdiği, kompleksler plazmid DNA'sına karşı önemli ölçüde yüksek nükleaz aktivitesi gösterdiği ve DNA ile etkileşimleri jel elektroforezi ve DNA yerleştirme ile değerlendirilmiştir. Zn ve Hg, A549 ve MCF-7 hücrelerinde tipik DNA yoğunlaşması/parçalanması, annexin V boyama ve kaspaz 3/7 aktivitesi yoluyla tespit edilen G0/G1 hücre durmasını ve apoptotik hücre ölümünü indüklediği, bu komplekslerin ayrıca reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretiminin ardından mitokondrinin depolarizasyonuna ve genomik DNA'nın oksidatif hasarına neden olgu tespit edilmiştir [129].

John vd. (2021) insan meme karsinomu hücre hatlarında *Erythrina variegata* L. gövde kabuğunun apoptoz aracılı sitotoksik potansiyelini incelemiştir. Araştırmada MCF-7 ve MDA-MB-231 insan meme karsinomu hücre hatlarında 3-(4,5-dimetil thazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür (MTT) testi kullanılarak *E. variegata* gövde kabuğunun (MEV) metanol özütünün sitotoksik değerlendirmesi yapılmıştır. MEV'e bağlı sitolojik ve metabolik değişiklikler akridin turuncusu/etidyum bromür (AO/EB) ikili boyama, hoechst 33258 ve floroprob, benzimidazol-karbosiyanin iyodür 5,5',6,6'-tetrakloro-1,1',3,3'-tetra etil (JC-1) boyama kullanılarak değerlendirilmiştir. Antiapoptotik gen ve protein Bcl-2 ekspresyonu sırasıyla gerçek zamanlı PCR ve Western blotting kullanılarak analiz edilmiştir. Metanol özütü, gaz kromatografisi yüksek çözünürlüklü kütle spektrometrisi (GC-HRMS) kullanılarak çeşitli fitokimyasalların varlığı açısından araştırılmıştır. Araştırma sonucunda MDA-MB-231 ve MCF-7 meme karsinomu hücre hatlarında *in vitro* doz bağımlı sitotoksik aktivite gösterdiği, bitki özütü, mitokondriye bağlı içsel yol aracılığıyla apoptotik hücre ölümünü indüklemeye etkili olduğu ve kansere karşı terapötik molekülleri izole etmek için güçlü bir kaynak olarak düşünülebileceği belirtilmiştir [130].

Ergün ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada, benzimidazol bazlı N-heterosiklik karben (NHC) ligandları ve ligandların gümüş(I) (Ag(I)) komplekslerinin PC-3 insan prostat kanseri hücre hattı üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) yöntemiyle belirlenmiş ve MTT analiz sonuçları ayrıca ligandın (1a) kansere karşı daha düşük sitotoksik aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. (I)-NHC kompleksi (2a) Ligand (1a) ve Ag(I)-NHC kompleksinin (2a), WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblastlarında PC-3 insan Düşük sitotoksik aktiviteye göre daha yüksek ekspresyon gösterdiği belirlenmiştir. Kompleks (2a) uygulamasından sonra PC-3 prostat kanseri hücreleri ile sağlıklı hücreler arasındaki seçicilik indeksi yaklaşık 2, 24 ve 48 saat

olarak belirlenirken, 72 saatlik uygulama sonrası seçicilik indeksi yaklaşık 3 olarak tespit edilmiştir. Kompleks (2a)'nın sitotoksitenin moleküler mekanizmaları üzerindeki etkilerini araştıran *in vitro* ve *in vivo* çalışmaların sağlıklı hücrelere karşı daha az sitotoksik aktivite sergileyen yeni ilaç adayı moleküllerin geliştirilmesi açısından önemli olacağı bildirilmiştir [131].

Kowalkowska vd. (2022) *N*-fenasildibromobenzimidazollerin sentez koşullarının optimizasyonunu ve saflaştırma yöntemlerini sundukları araştırmada reaksiyonlar, baz olarak K_2CO_3 , NaH, KOH, *t*-BuOK, MeONa, $NaHCO_3$, Et_3N , Cs_2CO_3 , DBU, DIPEA veya DABCO ve çözücü olarak MeCN, DMF, THF, DMSO veya dioksan dahil olmak üzere çeşitli baz çözücü sistemlerinde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonun ilerleyişi HPLC analizi kullanılarak izlenmiştir. En iyi sonuçlara, reaksiyonlar 24 saat boyunca geri akışta bir $NaHCO_3$ -MeCN sisteminde gerçekleştirildiğinde ulaşılmış, sentezlenen bileşiklerin MCF-7 (meme adenokarsinomu), A-549 (akciğer adenokarsinomu), CCRF-CEM (akut lenfoblastik lösemi) ve MRC-5'e (normal akciğer fibroblastları) karşı sitotoksik aktivitesi değerlendirildi. İncelenen hücre hatlarının test edilen bileşiklere karşı duyarlılıklarının farklı olduğunu, MCF-7 hücrelerinin en duyarlı, A-549 hücrelerinin ise en az duyarlı olduğunu gözlemledik. Dahası, test edilen türevlerin CCRF-CEM hücrelerine karşı sitotoksitesi, klor veya flor ikamelerinin sayısı ile arttı. Ayrıca, aktif bileşiklerden bazıları, yani 2-(5,6-dibromo-1*H*-benzimidazol-1-il)-1-(3,4-diklorofenil)etanon (4f), 2-(4,6-dibromo-1*H*-benzimidazol-1-il)-1-(2,4,6-triklorofenil)etanon (5g) ve 2-(4,6-dibromo-1*H*-benzimidazol-1-il)-1-(2,4,6-triflorofenil)etanon (5j), lösemik hücrelere karşı proapoptotik özellikler gösterdi ve türevi 5g en etkili olanı olduğu tespit edilmiştir [132].

Mansour vd. (2022) *N,N*-bidentat benzimidazol koligand taşıyan iki floresan fac-Re(CO)₃ kompleksinin sitotoksik özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla yaptıkları araştırmada 1*H*-benzimidazol-2-ilmetil-(*N*-aril)amin türevleri (LR) ve [ReBr(CO)₅] arasındaki reaksiyon, [ReBr(CO)₃LR] (R = 4-Cl ve 4-COOCH₃) genel formülüne sahip oktahedral Re(i) komplekslerini vermiştir. Re(i) kompleksleri, üç kötü huylu hücre hattına ve farklı kökenlere sahip bir normal hücre hattına karşı potansiyel sitotoksiteleri açısından taranmıştır. Komplekslerin solvatokromik özellikleri, zaman bağımlı yoğunluk fonksiyonel teorisi hesaplamalarının yardımıyla UV/vis spektroskopisi ile incelenmiştir. İki Re(i) kompleksinde 460 ve 488 nm arasında güçlü otofloresan emisyonu görüldüğü, hücreler arası bağlantılar ve çevreleyen hücre zarlarının içinde birikmiş gibi görüldüğü, maddelerin ayrıca

hücre zarı boyunca toplanarak girişler beklenmiştir. Araştırma sonucunda hücre ölüm boyama yöntemi ve DNA parçalanma analizi, 4-Cl kompleksinin MCF-7 ve Caco-2 hücre hattında apoptotik değişikliklerde artış gösterdiği, HepG2 hücre hattında ise çok az apoptotik değişiklik gösterdiği belirlenmiştir [133].

Hekmatshoar vd. (2023) yaptıkları çalışmada bazı 2-[4-(1H-benzimidazol-1-il) fenil]-1H-benzimidazol türevlerinin K562S (IMA-duyarlı) ve K562R (IMA-dirençli) hücreler üzerindeki antikanser etkilerini araştırmayı amaçlamışlardır. Bileşiklerin sitotoksik ve apoptotik etkilerini analiz etmek için, K562S, K562R ve L929 hücreleri türevlerin artan konsantrasyonlarına maruz bırakıldı. Bileşiklerin hücre canlılığı üzerindeki sitotoksik etkileri MTT testi ile analiz edilmiştir. Apoptozis indüksiyonu, kaspaz3/7 aktivitesi akım sitometrisi ile araştırılmış ve BAX, BIM ve BAD gen ekspresyon seviyeleri qRT-PCR ile analiz edilmiştir. Bileşiklerin P-glikoprotein (P-gp) aktivitesi üzerindeki etkisini değerlendirmek için Rhodamine123 (Rho-123) boyama çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Hit bileşikleri moleküler yerleştirme kullanılarak tarandı ve her bileşiğin BCR-ABL proteinine bağlanma tercihi değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda bileşiklerin K562S ve K562R hücrelerinde sitotoksikiteyi ve kaspaz3/7 aktivasyonunu tetiklediği, Rho-123 boyama bileşiklerin K562R hücrelerinde P-gp aktivitesini inhibe ettiği, KML'de IMA direncini aşmak için bazı benzimidazol türevlerinin potansiyel antikanser ajanları olduğu bildirilmiştir [134].

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Hücre Kültürü

Çalışılan bu deneyde, meme kanseri (MCF-7) ve fibroblast hücreleri (L929) hücre hatları kullanılmıştır. Hücreler, %10 fetal bovin serumu (FBS) ve %1 penisilin-streptomisin içeren RPMI ve DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) besiyeri ortamında 75 cm²'lik kültür flasklarında, %5'lik CO₂ olan inkübasyon ortamında, 37°C'de tutularak gelişimleri sağlanmıştır. Kültür flasklarında konfluent olan hücreler uygun zaman aralıklarında yüzeyden alıp başka ortamlara aktarma işlemi(pasajlama) yapılmıştır. Pasajlama, hücrelerin çoğaltılıp devamlılığının sağlanması amacıyla ve hem de deneylerde kullanılmak üzere devamlılığının sağlanması amacıyla yapıldı. Konfluent hücreler, tripsin kullanılarak toplanmış ve 1000 rpm'de 5 dk süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrası ise süpernatant kısmı atılmış kalan pelet kısmının üzerine 10 ml besiyeri eklenmiş, Thoma lamında canlı hücre sayımı işlemi gerçekleştirilmiştir. MTT Test analizi için 96 kuyucuklu platelerde hücre ekim işlemi yapıp 24 saat, 48 saat ve 72 saat çoğalması sağlanmıştır. Plakelere yapışan hücreler daha sonra benzimidazol bileşikleriyle muamele edilmiştir.

3.2 Hücre Çözme ve Dondurma

Hücreler, -80°C'den çıkarılıp alınarak 37 °C'ye ayarlanmış su banyosunda çözündürülmüştür. Vial içinde çözünmüş haldeki hücreler, besiyeri ile dilüe edilerek, 1000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra, hücrelerin süpernatant kısmı atılıp pelet kısmı streil flask içerisinde karıştırılıp 37 °C'de, %5'lik CO₂ içeren inkübatörde inkübe edilmiştir.

Pasajlama işlemi yapılırken hücrelerin sıklığına göre bir kısmı bir sonraki deney çalışmalarında kullanılmak üzere dondurulup -80°C'de saklanmış bir kısmı ise yeni besiyerine alınıp devamlılığı sağlanıp diğer çalışmalarda kullanılmıştır.

Dondurma işleminde tripsin uygulamasından sonra hücelere besiyeri eklenerek santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi ardından süpernatant kısmı atılıp, pelet kısmına FBS %90, DMSO

(Dimetilsülfoksit)%10 dondurma solüsyonu eklenmiştir.Krio tüplere,hazırlanan karışım 1'er mL olacak şekilde alınarak 80°C'de saklama işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.3 Hücre Pasajlama ve Hücre Sayımı

Pasajlama işlemi için besiyeri ve tripsin 37 °C'ye ayarlanmış su banyosunda çözündürülmüştür.İnkübatörden alınan hücreler, streil kabin içerisine alıp,atık kutusuna boşaltıp uzaklaştırılır.Hücelere PBS ile yıkama işlemi yapıp serumdan arındırılır ve PBS'ide atık kutusuna döküp uzaklaştırma işlemi yapılır..Hücreleri tripsin ile 5 dakika boyunca inkübatörde inkübe edilir.

Hücre tiplerine göre tripsinin duyarlılığı değişkenlik gösterdiğinden mikroskop ile ara ara kontrol edilmesi gerekmektedir.Tripsin ile toplanan hücreler 1000 rpm de 5 dakika santrifüj edilir ve pelet üzerine yeni besiyeri eklenir pipetleme işlemi yapılarak karışım homojenize hale getirilir ve hücreleri çoğaltmak için farklı flask içindeki besiyerine bu karışımdan eklenerek tekrar 37 °C'de, %5'lik CO₂ içeren inkübatörde inkübe edilir.

Hücre kültürü çalışmalarında deney kurulabilmesi için,hücrelerin belli bir sayıda olması gerekmektedir.Çalışmalarda toplam canlı hücre sayısı yaklaşık olarak hesaplanmalıdır. Hücre sayımı birçok boyama yöntemi ile yapılır. Bu çalışma için trypan blue boyama yöntemi ve Hemositometre lamı ile yapılmaktadır. Hemositometre lamı 1 mm karelerden ve bu karelerinde içerisinde bulunan ekstra küçük karelerden meydana gelmektedir.Lam üzerine dökülen solüsyon mikroskop altında sayım yapılmasına ve hücre sayısının mililitredeki karşılığının hesaplanmasına imkan sağlar. Hesaplama için kare başına ortalama hücre sayısı x dilüsyon faktörü x 10⁴ formülü kullanılmıştır (Nazlibilek ve diğ, 2014; Prof. Dr. Velittin Gürgün, 1990).

3.4 Tripan Mavisi Testi ve MTT Testi

Trypan blue boyası, canlı hücre zarından geçemediğinden canlı hücreler boyanmaz sadece hücre zarı geçirgenliği bozulan ve ölü hücreler mavi renge boyanır.Geçirgenliği bozulan ve mavi renge boyanmış hücreler aynı zamanda mat,yuvarlak olmayan ve şiş halde görünürler.Bu yöntemle canlı ve cansız hücreler kolaylıkla sayılabilmektedir.Hücre kültürü zamanı dolan ve belirli bir yoğunluğa ulaşan hücreler tripsin ile kaldırılıp toplanır santrifüj işlemi yapılır.Santrifüj işlemi sonrası süpernatant atılıp üzerine 100 µl PBS ve 5 µl Tripan

Mavisi boyası eklenir ve ölü hücrelerin boyanması için 5 dakika beklenir ve sayım işlemi yapılır.



Şekil 3.1: Tetrazolyum tuzunun formazona dönüşümü

MTT testi,(Tetrazolyum bazlı kolorimetrik analiz) in vitro canlı hücreleri ölçen bir yöntemdir.Hücre metabolik aktivitesini değerlendirir.Tetrazolyum tuzları elektron indirgenmesiyle formazan kristalleri oluşturur.Bu kristaller sulu çözeltide çözünmeyip, DMSO'da çözünür.Çözünme sonrasında mor renkli çözeltiyi bu sayede spektrofotometrik olarak ölçeriz.Formazan konsantrasyonunun yüksekliğine göre absorbans yüksek olur ve çözelti koyu mor renk olur. Hücre sayısının az olduğu ortamlarda düşük renk ve düşük absorbans verir sebebi ise ölü hücrelerin mitokondriyel faaliyet gerçekleştirememesidir. ELISA cihazı tarafından renk değişimine bağlı,hücre miktarı belirlenmektedir. Tripan Mavisi Testi yaptığımız ve sitotoksik etki gösteren hücre hattına MTT testi yapılmıştır. 37 °C'de, %5'lik CO₂ içeren inkübatörde inkübe edilen hücreler,flask içinden alınıp MTT testi için tripsinle toplanıp sayım yapılmıştır.Sayımın ardından 96 kuyucuklu plate içine kuyucukların hepsinde ayrı ayrı 5000 hücre olacak şekilde hesaplanmış ve hazırlanan solüsyondan her bir kuyucuğa 100'er µL besiyeri ekim yapıp 37 °C'de inkübatöre alınmıştır.Kullanılan her bir madde için 3 adet plate 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonda ve 5,10,30,50 ve 100 µL konsantrasyonlarda olacak şekilde hazırlanmıştır.Her plate'e karanlık bir ortamda, belirlenen saatlerin sonunda MTT çözeltisinden kuyucuklara 20 µL thiazole eklenmiş ve alüminyum folyo kağıda sarılarak 2-4 saat arası 37 °C'de inkübe edilmiştir.Belirlenen süre sonunda inkübatörden alınan plateler içindeki solüsyonlar dökülerek uzaklaştırılmış ve platelerdeki kuyucuklara 100 µL DMSO eklenip solüsyon homojen bir hale gelinceye kadar 15 dakika 150 rpm'de ve yine karanlık ortamda çalkalanmıştır.Absorbans değerlerinin ölçülmesi için 570 nm dalga boyunda spektrofotometreler de ölçüm yapılmıştır.Bu yapılan işlemler 48. saat ve 72. saatler için de ayrı ayrı yapıp ölçümler yapılmıştır. 570 nm dalga boyunda ölçüm yapılan absorbans

değerleri 100'lük değerlere çevrilip microsoft office programı excel'de grafik hesaplamaları yapılmış ve canlılığın %50'nin altına düştüğü nokta IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

3.5 Optimizasyon Çalışmaları

Sentezlenen benzimidazol metal bileşikleri, MCF-7 hücreleri ve L929 hücrelerine 5,10,30,50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında uygulanarak,bileşiklerin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.Optimum maruz kalma süresinin belirlenmesi açısından yapılacak olan çalışmada benzimidazol metal bileşikleri ile hücreler 24 saat, 48 saat ve 72 saat muamale edilmiştir. MTT ve Tripan Mavisi testleri yapılarak kanser hücreleri üzerinde; benzimidazol metal bileşikleri ve türevlerinin, optimum konsantrasyon ve maruziyet süresi belirlenmiştir.

3.6 Tezde Kullanılan Benzimidazol Bileşikleri

Bu çalışmada kullanılan benzimidazol bileşikleri, çinko ve kobalt bağlı dokuz farklı benzimidazol türevi bileşiklerdir (Şekil 3.2). Bu bileşikler İnönü Üniversitesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Hasan Küçükbay ve arkadaşları tarafından sentezlenmiştir. Bileşikler bu çalışmada numaralar verilerek ifade edilmiştir. Bu bileşiklerin açık adları ve bu çalışmada ifade edilen numaraları şöyledir;

Bileşik 1:1-(4-Metilbenzil)-5(6)-nitrobenzimidazol

Bileşik 2: Diklorobis[1-(4-klorobenzil)-1H-benzimidazol-KN3]çinko(II)

Bileşik 3:Diklorobis[1-(4-tolilbenzil)-1H-benzimidazol-KN3]çinko(II)

Bileşik 4:Diklorobis(1-(4-klorobenzil)-5(6)-metil-1H-benzimidazol-KN3)çinko(II)

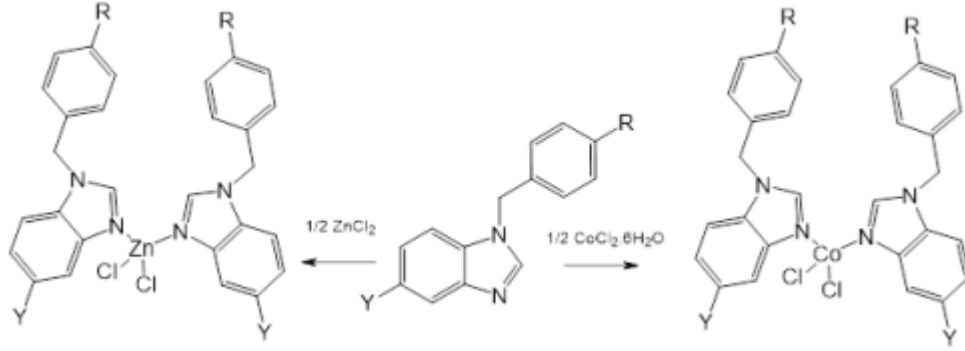
Bileşik 5: Diklorobis(1-(4-metilbenzil)-5(6)-nitro-1H-benzimidazol-KN3)çinko(II)

Bileşik 6: Diklorobis(1-(4-metilbenzil)-5(6)-metil-1H-benzimidazol KN3)çinko(II)

Bileşik 7:Diklorobis[1-(4-bromobenzil)-1H-benzimidazol-KN3]kobalt(II)

Bileşik 8: Diklorobis(1-(4-metilbenzil)-5(6)-nitro-1H-benzimidazole KN3)kobalt(II)

Bileşik 9: Diklorobis(1-(4-metilbenzil)-5(6)-metil-1H-benzimidazol-KN3)kobalt(II)



Bileşik 2. R: Cl, Y:H

Bileşik 3. R: CH₃, Y:H

Bileşik 4. R: Cl, Y:CH₃

Bileşik 5. R: CH₃, Y:NO₂

Bileşik 6. R: CH₃, Y:CH₃

Bileşik 1. R: CH₃, Y:NO₂

Bileşik 7. R: BR, Y:H

Bileşik 8. R: CH₃, Y:NO₂

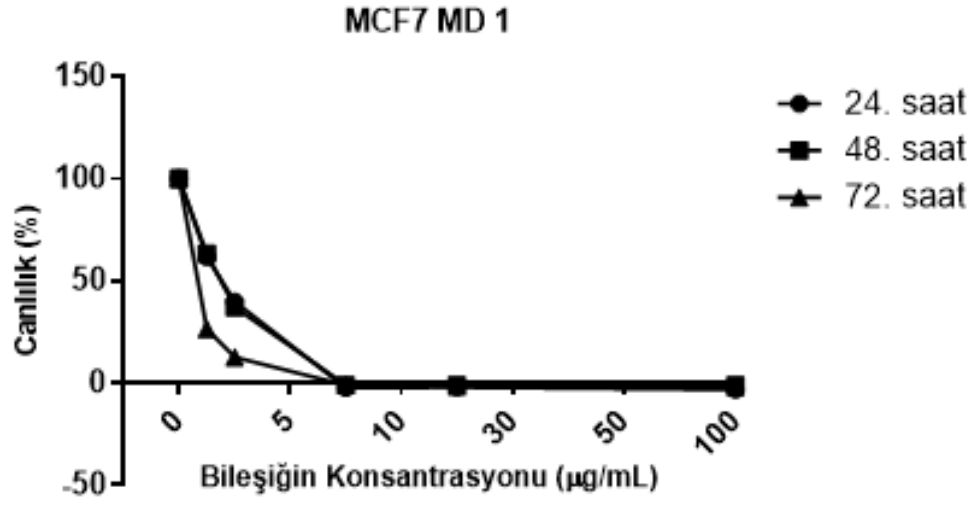
Bileşik 9. R: CH₃, Y:CH₃

Şekil 3.2: Çalışmada kullanılan çinko ve kobalt bağlı benzimidazol bileşikleri.

Bileşikler 5000 µg/100 µL konsantrasyonda olacak şekilde DMSO'da çözülürülerek stok çözelti hazırlanmıştır. Bileşiklerin konsantrasyon optimizasyonu farklı konsantrasyonlarda olacak şekilde hesaplanmış ve stok çözeltiden besiyeri ile sulandırılarak kullanılmıştır.

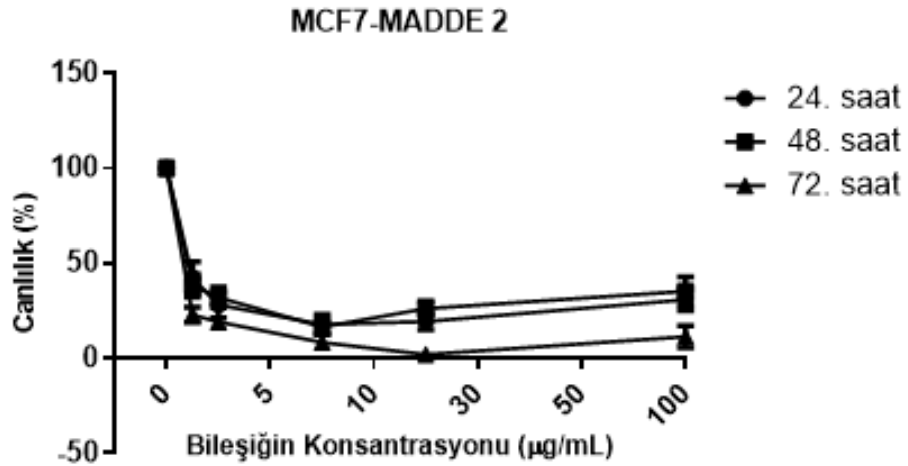
4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında sentezlenen 9 farklı benzimidazol metal bileşiklerinin meme kanseri (MCF-7) ve fibroblast hücresi (L929) üzerine sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir.



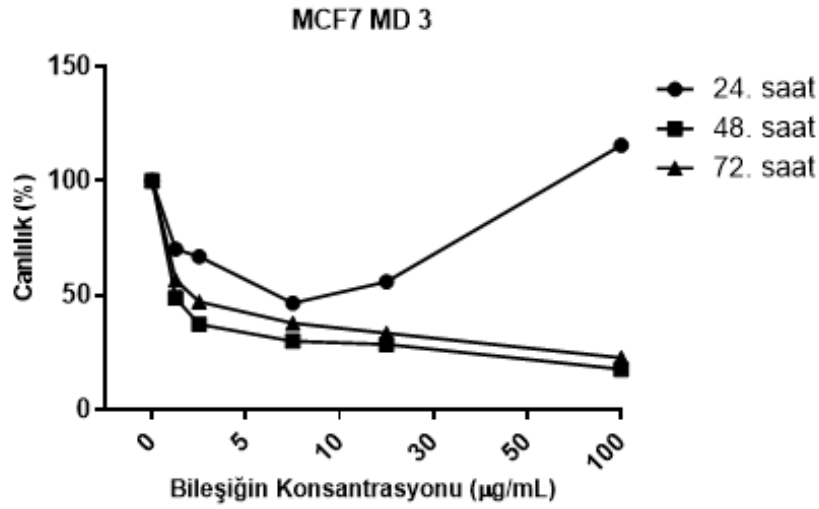
Şekil 4.1: Bileşik 1'in MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

MCF-7 hücreleri üzerine bileşik 1'in 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri 7,68 mg/mL, 48. saatte 7,52 µg/mL, 72. saatte 1,68 µg/mL'dir (Şekil 4.1).



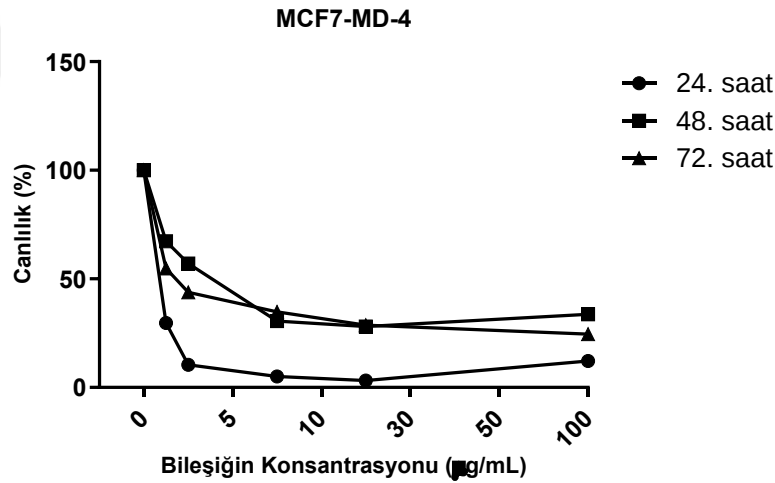
Şekil 4.2: Bileşik 2'nin MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

MCF-7 hücreleri üzerine bileşik 2'nin 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri 1,91 $\mu\text{g/mL}$, 48. saatte 5,01 $\mu\text{g/mL}$, 72. saatte 1,67 $\mu\text{g/mL}$ 'dir (Şekil 4.2).



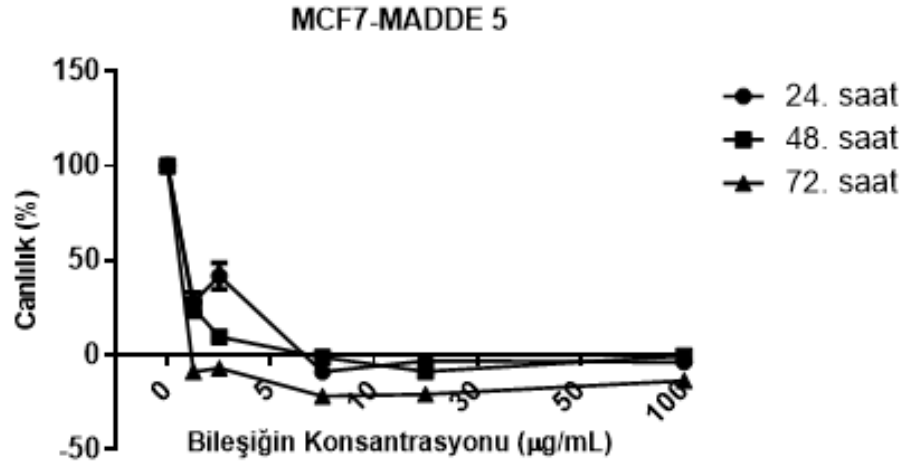
Şekil 4.3: Bileşik 3'ün MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

MCF-7 hücreleri üzerine bileşik 3'ün 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri 26,5 $\mu\text{g/mL}$, 48. saatte 1,97 $\mu\text{g/mL}$, 72. saatte 8,49 $\mu\text{g/mL}$ 'dir (Şekil 4.3).



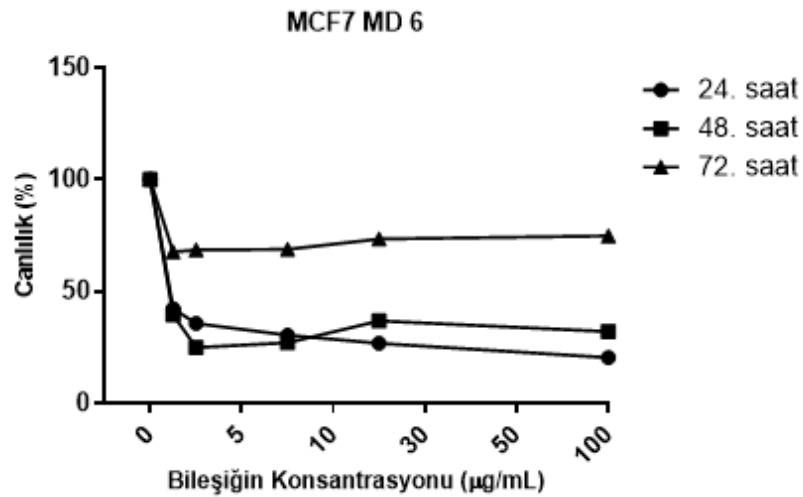
Şekil 4.4: Bileşik 4'ün MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

MCF-7 hücreleri üzerine bileşik 4'ün 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri 1,71 $\mu\text{g/mL}$, 48. saatte 15,3 $\mu\text{g/mL}$, 72. saatte 7,18 $\mu\text{g/mL}$ 'dir (Şekil 4.4).



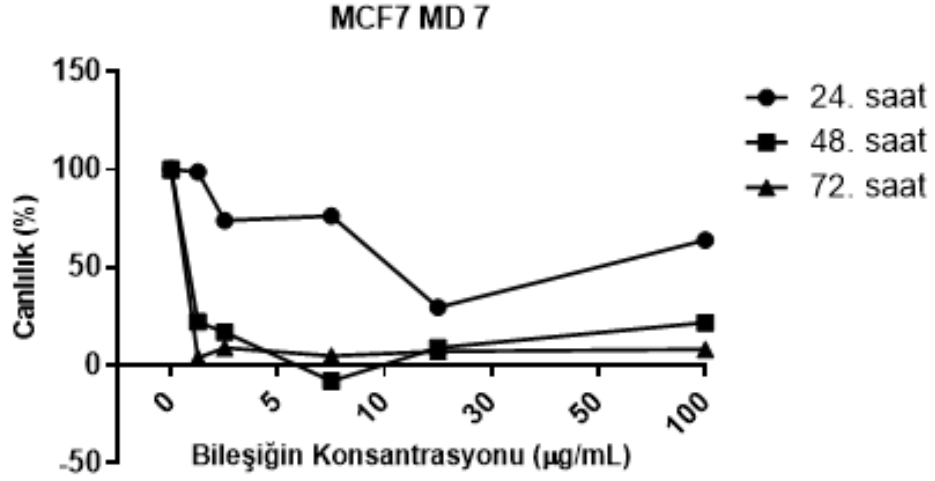
Şekil 4.5: Bileşik 5'in MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

MCF-7 hücreleri üzerine bileşik 5'in 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri 22 µg/mL, 48. saatte 1,86 µg/mL, 72. saatte 1,53 µg/mL'dir (Şekil 4.5).



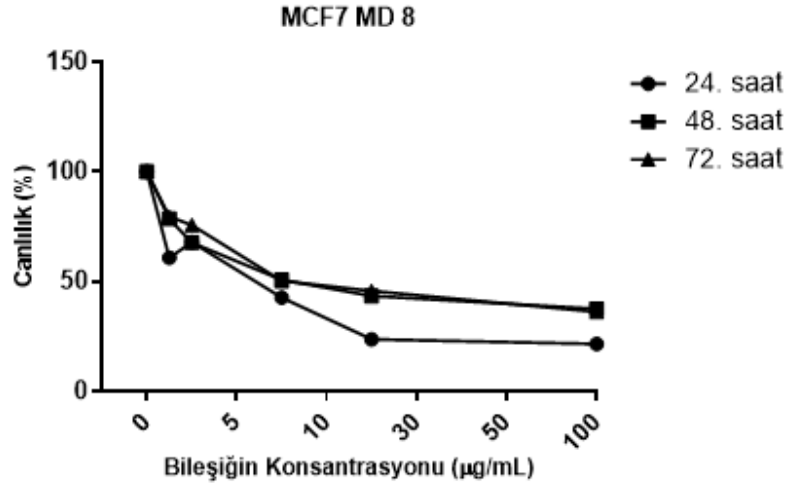
Şekil 4.6: Bileşik 6'nın MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

MCF-7 hücreleri üzerine bileşik 6'nın 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri 1,86 µg/mL, 48. saatte 1,82 µg/mL, 72. saatte 7,52 µg/mL'dir (Şekil 4.6).



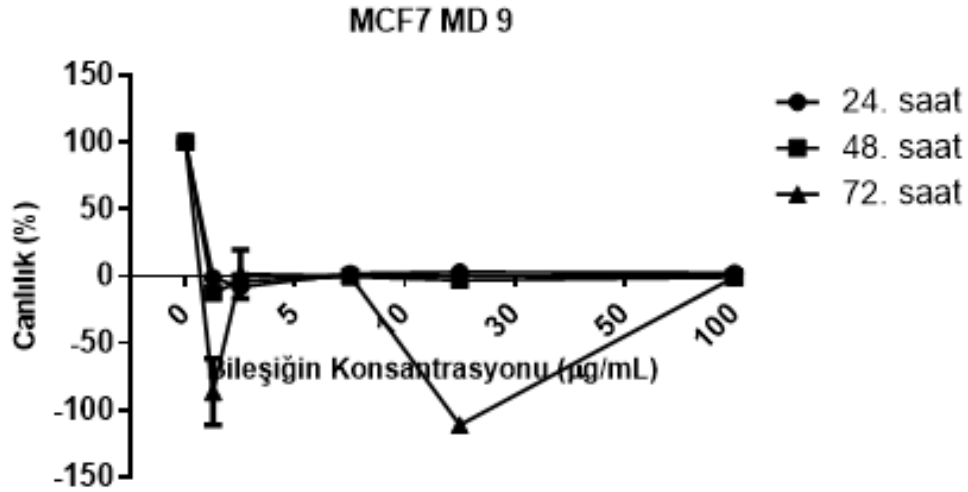
Şekil 4.7: Bileşik 7'nin MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

MCF-7 hücreleri üzerine bileşik 7'nin 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri 41,2 µg/mL, 48. saatte 1,64 µg/mL, 72. saatte 1,51 µg/mL'dir (Şekil 4.7).



Şekil 4.8: Bileşik 8'in MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

MCF-7 hücreleri üzerine bileşik 8'in 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri 24,2 µg/mL, 48. saatte 30,9 µg/mL, 72. saatte 30,2 µg/mL'dir (Şekil 4.8).



Şekil 4.9: Bileşik 9'un MCF-7 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

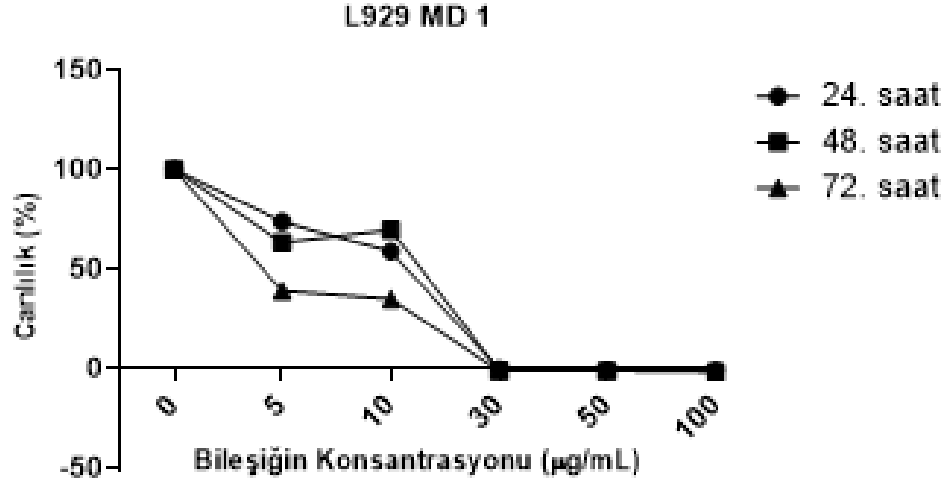
MCF-7 hücreleri üzerine bileşik 9'un 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri 1,01 µg/mL, 48. saatte 1,43 µg/mL, 72. saatte 1,23 µg/mL'dir (Şekil 4.9).

Çalışmalar da kullanılan bileşiklerin, MCF-7 hücrelerine karşı sitotoksik etkileri ;5 µg/mL, 10 µg/mL, 30 µg/mL, 50 µg/mL ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda uygulandı.

24. 48. Ve 72. saatlerde MTT sonuçları alınıp IC_{50} değerleri Çizelge 4.1'de gösterildi.

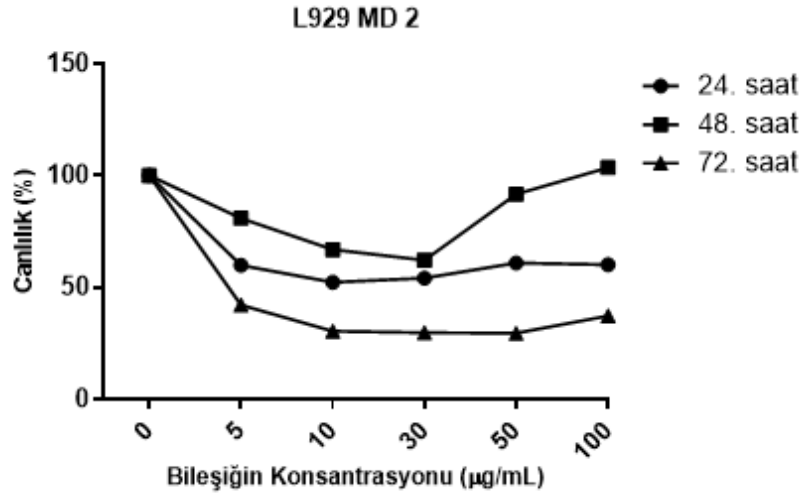
Çizelge 4.1: Bileşiklerin (MCF-7) meme kanseri hücrelerinin zamana bağlı IC_{50} değerleri(µg/mL)

Bileşikler	24. saat	48. saat	72. saat
Bileşik 1	7,6869	7,52066	1,68018
Bileşik 2	1,9146	5,01697	1,6776
Bileşik 3	26,596	1,97618	8,49525
Bileşik 4	1,7106	15,3457	7,1820
Bileşik 5	22,005	1,86439	1,53132
Bileşik 6	1,8667	1,82654	7,52
Bileşik 7	41,254	1,6416	1,51908
Bileşik 8	24,201	30,9704	30,2735
Bileşik 9	1,0171	1,43752	1,23033



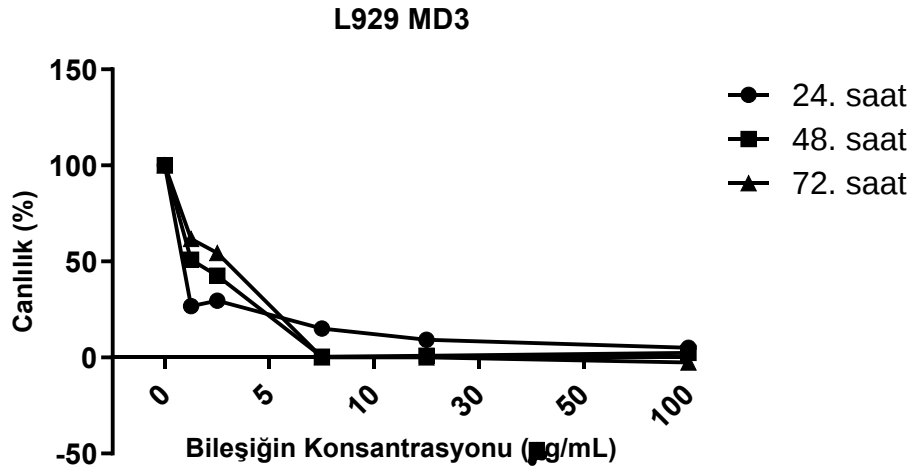
Şekil 4.10: Bileşik 1'in L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

L929 hücreleri üzerine bileşik 1'in 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri 56,4 µg/mL, 48. saatte 1,59 µg/mL, 72. saatte 5,87 µg/mL'dir (Şekil 4.10).



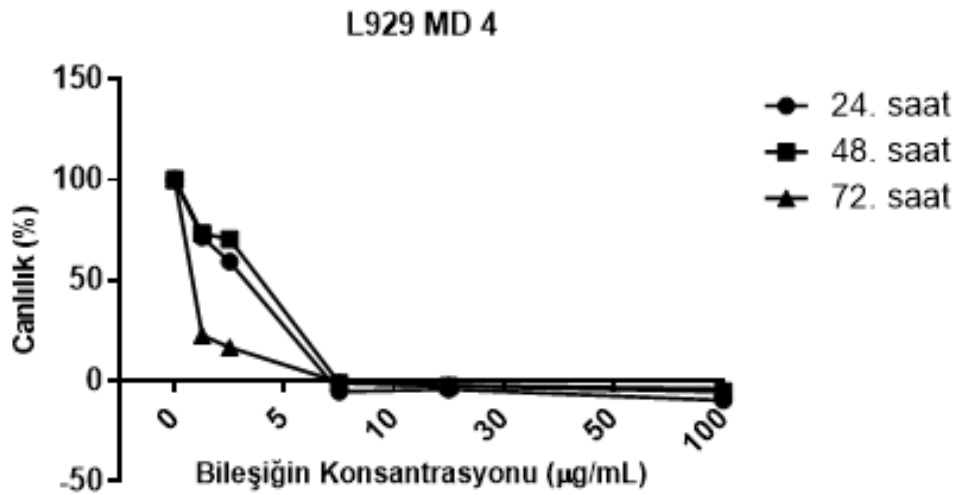
Şekil 4.11: Bileşik 2'nin L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

L929 hücreleri üzerine bileşik 2'nin 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri 10,1 µg/mL, 48. saatte 10,5 µg/mL, 72. saatte 1,86 µg/mL'dir (Şekil 4.11).



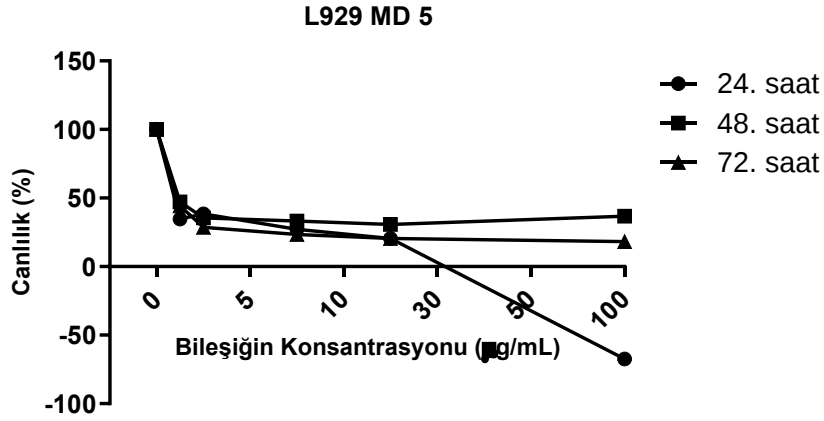
Şekil 4.12: Bileşik 3'ün L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

L929 hücreleri üzerine bileşik 3'ün 24. saatte hesaplanan IC₅₀ değeri 1,68 µg/mL, 48. saatte 2,01 µg/mL, 72. saatte 11,6 µg/mL'dir (Şekil 4.12).



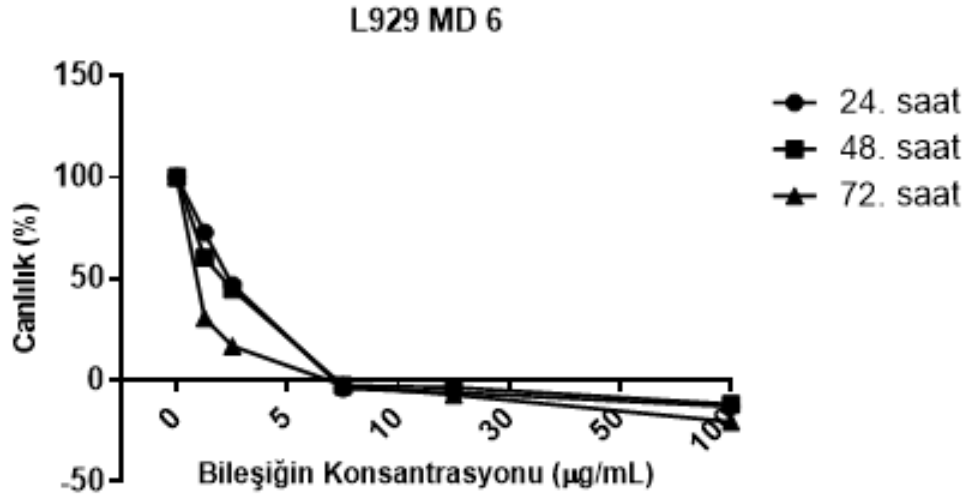
Şekil 4.13: Bileşik 4'ün L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

L929 hücreleri üzerine bileşik 4'ün 24. saatte hesaplanan IC₅₀ değeri 12,8 µg/mL, 48. saatte 16,2 µg/mL, 72. saatte 1,64 µg/mL'dir (Şekil 4.13).



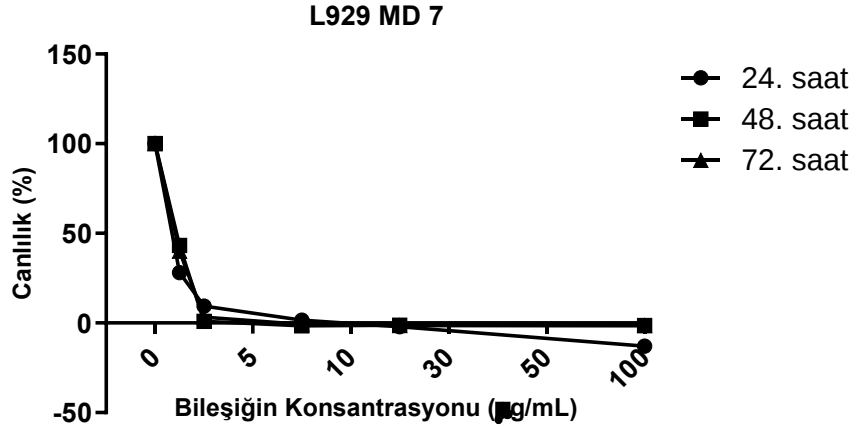
Şekil 4.14: Bileşik 5'in L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

L929 hücreleri üzerine bileşik 5'in 24. saatte hesaplanan IC₅₀ değeri 1,76 µg/mL, 48. saatte 1,94 µg/mL, 72. saatte 1,89 µg/mL'dir (Şekil 4.14).



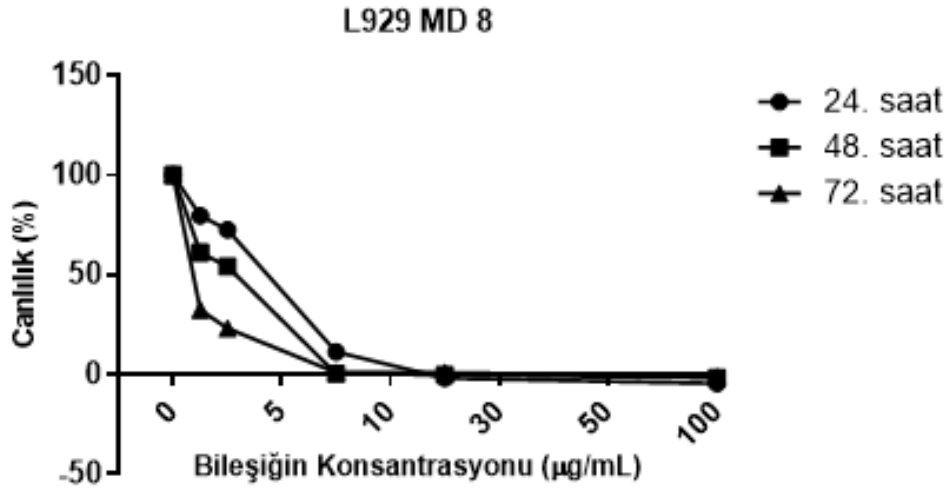
Şekil 4.15: Bileşik 6'nın L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

L929 hücreleri üzerine bileşik 6'nın 24. saatte hesaplanan IC₅₀ değeri 9,6 µg/mL, 48. saatte 8,2 µg/mL, 72. saatte 1,72 µg/mL'dir (Şekil 4.15).



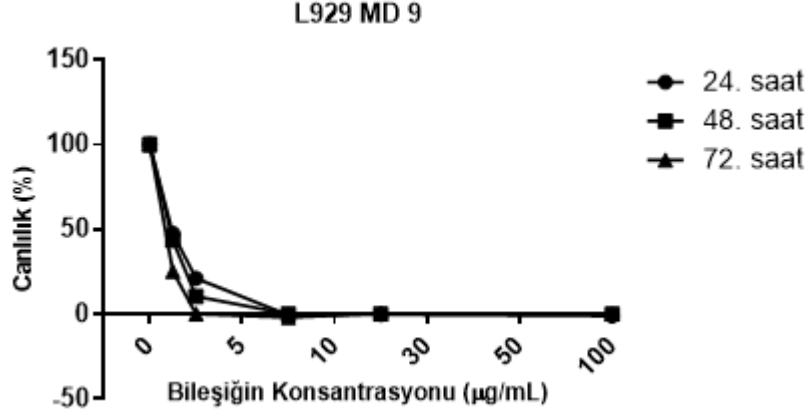
Şekil 4.16: Bileşik 7'nin L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

L929 hücreleri üzerine bileşik 7'nin 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri $1,69 \mu\text{g/mL}$, 48. saatte $1,88 \mu\text{g/mL}$, 72. saatte $1,83 \mu\text{g/mL}$ 'dir (Şekil 4.16).



Şekil 4.17: Bileşik 8'in L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

L929 hücreleri üzerine bileşik 8'in 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri $17,3 \mu\text{g/mL}$, 48. saatte $11,5 \mu\text{g/mL}$, 72. saatte $1,73 \mu\text{g/mL}$ 'dir (Şekil 4.17).



Şekil 4.18: Bileşik 9'un L929 hücreleri üzerine zamana bağlı sitotoksik etkisi

L929 hücreleri üzerine bileşik 9'un 24. saatte hesaplanan IC_{50} değeri 1,95 µg/mL, 48. saatte 1,88 µg/mL, 72. saatte 1,66 µg/mL'dir (Şekil 4.18).

Çizelge 4.2: Bileşiklerin (L929) fibroblast hücrelerinin zamana bağlı IC_{50} değerleri (µg/mL)

Bileşikler	24. saat	48. saat	72. saat
Bileşik 1	12,97813	15,60784	1,818182
Bileşik 2	10,16655	10,53525	1,865639
Bileşik 3	1,6829	2,0175	11,6045
Bileşik 4	12,86725	16,24657	1,645848
Bileşik 5	1,7647	1,9455	1,8967
Bileşik 6	9,688022	8,29405	1,720565
Bileşik 7	1,6954	1,8821	1,8343
Bileşik 8	17,36523	11,5052	1,739806
Bileşik 9	1,954708	1,883548	1,668538

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında yeni sentezlenmiş 9 farklı benzimidazol metal kompleks bileşiklerinin, metal merkezleri ve benzimidazolün içerdiği farklı fonksiyonel grupların sitotoksik etkisi MCF-7 ve L929 hücre hatları üzerinde değerlendirilmiştir. Benzimidazoller bir çok doğal bileşiğin yapısında bulunan, kimyasal olarak kararlı, genellikle fizyolojik aktivite gösterebilen ve bu nedenle de bir çok farmasötik preparatın bünyesinde yer alan önemli bileşiklerdir [135, 136, 137]. Benzimidazoller çok değişik fizyolojik özelliklerine ilaveten metal ligantı olarak da kullanılır olmaları ve özellikle geçiş metali içeren kompleks bileşiklerinin sitotoksik aktivitelerinin ortaya çıkması, bu konudaki çalışmaları son on yılda önemli bir şekilde ivmelemiştir [138, 139, 140, 141, 142, 143]. Kanseri hücrelerine sitotoksik etkisi yüksek ancak sağlıklı hücrelere sitotoksik etkisi düşük bileşiklerin bulunması bu konudaki çalışmaların temel amacını oluşturmaktadır.

Bu çalışmada, benzimidazol türevleri içeren çinko (Zn) ve kobalt (Co) komplekslerinin meme kanseri (MCF-7) ve sağlıklı fibroblast (L929) hücre hatları üzerindeki sitotoksik ve apoptotik etkileri araştırılmıştır. Elde edilen bulgular, bazı benzimidazol türevlerinin MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksik etkisinin yüksek olduğunu göstermiştir.

Yapılan bu çalışmada hücre hatlarına 5-100 µg/mL konsantrasyon aralıklarında bileşikler uygulanmış 24, 48 ve 72. saatlerdeki IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde bileşiklerin çoğunun MCF-7 hücre hattı üzerinde sitotoksik etki gösterdiği görülmüştür (Çizelge 4.1). Bileşiklerin ayrıca sağlıklı hücreler üzerindeki etkisi de değerlendirilmiş ve IC₅₀ değerleri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Genel olarak bileşiklerin hem MCF-7 hem de L929 hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin olduğu ifade edilebilir. Bileşik 1’in MCF-7 için 24 ve 48. saatlerde IC₅₀ değerleri sırasıyla 7.68 µg/mL, 7,52 µg/mL ve L929 için ise 12.97 µg/mL, 15,60 µg/mL’dir (Şekil 4.1).

Bileşik 7 ‘nin MCF hücreleri üzerinde 24.saatteki IC₅₀ değeri 41,2 µg/mL, L929 hücreleri üzerinde ise 1,69 µg/mL olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.7).

Bazı benzimidazol türevi bileşiklerin, A549(insan akciğer adenokarsinomu) ve MCF-7 (insan meme adenokarsinomu) hücrelerine karşı antikanser aktiviteleri değerlendirilmiş ve

test edilen bileşiklerin özellikle MCF-7 kanser hücrelerine karşı yüksek sitotoksik etki gösterdiği gözlenmiştir [144].

Başka bir benzer çalışmada ise, MCF-7 ve HT29 (kolon) hücre hatlarına karşı Zn'nin oldukça yüksek sitotoksik etki gösterdiği gözlenmiştir. A549'a karşı ve MCF-7 sırasıyla 1,74 +/- 0,06 ve 3,15 +/- 0,10 mM IC₅₀ değerleri gözlenmiştir [145].

Bu sonuçlar, literatürdeki diğer çalışmalarla da uyumlu olup, benzer mekanizmaların farklı biyolojik ajanlarla da sağlanabildiğini göstermektedir.

Taherian vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada benzimidazol türevi bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri, MTT yöntemi kullanılarak MCF-7 ve HeLa hücre hatlarına karşı 100, 200, 300, 400 ve 500 mM'de değerlendirilmiş ve tüm bileşiklerin her iki hücre hattına karşı sitotoksik aktivite gösterdiği görülmüştür [146].

Bakır kompleksi ile yapılan bir çalışmada anti-mikrobiyal ve anti-tümör özellikleri gibi çeşitli biyolojik aktiviteler test edilmiş, Cu kompleksinin anti-proliferatif aktivitesi MTT yöntemi ile L929 ve MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerinde araştırılmıştır. Hücrelerin Cu kompleksi ile 24 ve 48 saat muamele edilmesinin ardından, MCF-7 için IC₅₀ değerlerinin L929 için kaydedilenlerden önemli ölçüde daha düşük olduğunu ve normal hücrelerin kanserli hücrelerden daha az duyarlı olduğunu göstermiştir. Cu kompleksi, MCF-7 ve L929 hücreleri ile zamana ve konsantrasyona bağlı bir sitotoksik yanıt göstermiştir. Ayrıca Cu kompleksinin apoptozis yoluyla kanser hücresi canlılığını azalttığını ve nekroz sürecini etkin bir şekilde aktive etmediğini göstermektedir [147].

Santhanam ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, doğal bir bileşik olan fucoidan'ın MCF-7 ve A549 kanser hücre hatlarına karşı belirgin sitotoksik etki gösterdiği, ancak sağlıklı fibroblast hücre hattı olan L929'da herhangi bir sitotoksik etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir [148]. Bu durum, çalışmamızda kullanılan benzimidazol türevlerinin de benzer şekilde kanser hücreleri üzerinde seçici toksisite gösterdiğini desteklemektedir.

Benzimidazol ve metal kompleksleri gibi farklı moleküler ajanların kanser hücrelerine karşı etkinliği literatürde de sıklıkla vurgulanmaktadır. Örneğin, Paino ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, nanoyapılı çinko oksit (ZnO) nanoparçacıklarının insan servikal karsinom hücre hattı (HeLa) ve L929 hücre hattı üzerinde toksikolojik etkileri araştırılmış ve ZnO nanoyapılarının HeLa hücrelerinde daha yüksek sitotoksik etki sergilediği gösterilmiştir [149]. Bu bulgu, Zn bazlı komplekslerin kanser hücrelerine karşı seçici

toksisite gösterebildiğini ve bu tip bileşiklerin antikanser ajan olarak değerlendirilebileceğini desteklemektedir.

Yazdani ve arkadaşlarının [150] yaptığı çalışmada ise, kanser tedavisinde kullanılan bir teknoloji olan soğuk atmosferik plazmanın (CAP), malign melanom hücre dizisi (B16) ve sağlıklı fibroblast hücre dizisi (L929) üzerindeki etkileri karşılaştırılmış ve CAP'ın B16 hücrelerinde daha fazla sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde, test edilen bazı benzimidazol türevleri MCF-7 hücre hattında L929 hücre hattına kıyasla daha yüksek toksisite göstermiştir. Bu durum, çalışmamızda değerlendirilen bileşiklerin de hedeflenmiş kanser tedavisinde potansiyel taşıyabileceğini göstermektedir.

Ek olarak, Elsayed ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, çöl mantarı *Phaeangium lefebvrei*'nin farklı solvent ekstraktlarının MCF-7, HepG2 ve L929 hücre hatları üzerindeki anti-proliferatif etkileri incelenmiş ve özellikle etil asetat ekstraktının L929 hücre hattında büyüme inhibisyonuna neden olduğu, MCF-7 hücreleri üzerinde ise yüksek oranda hücre büyümesini engellediği tespit edilmiştir [151]. Bu bulgular, doğal bileşiklerin kanser hücreleri üzerinde gösterdiği sitotoksik etkilerin, çalışmamızda kullanılan benzimidazol türevleri gibi sentetik bileşiklerle de sağlanabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak bu çalışma, benzimidazol türevi metal komplekslerinin MCF-7 meme kanseri hücre hattında belirgin sitotoksik etki gösterdiğini, ancak sağlıklı fibroblast hücre hattı (L929) üzerindeki etkilerinin sınırlı olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular, literatürdeki benzer çalışmalarla desteklenmekte olup, özellikle Zn ve Co içeren benzimidazol komplekslerinin kanser tedavisinde potansiyel bir antikanser ajan olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Bu nedenle, bu bileşiklerin mekanizmasının daha detaylı olarak araştırılması, apoptotik yollar üzerindeki etkilerinin belirlenmesi ve *in vivo* modellerde test edilmesi, gelecekteki çalışmalar için önemli bir adım olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1]. Zakrzewski, W., Dobrzyński, M., Szymonowicz, M., & Rybak, Z. (2019). Stem cells: past, present, and future. *Stem cell research & therapy*, 10(1), 1-22.
- [2]. Fidler, I. J. (1989). Origin and Biology of Cancer. *Cytometry*, 10, 673-680.
- [3]. Merlo, L. M. F., Pepper, J. W., Reid, B. J., & Maley, C. C. (2006). Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nature Reviews Cancer* 6(12), 924-935. <https://doi.org/10.1038/nrc2013>
- [4]. Jiang, W. G., Sanders, A. J., Katoh, M., Ungefroren, H., Gieseler, F., Prince, M., ... & Santini, D. (2015). Tissue invasion and metastasis: Molecular, biological and clinical perspectives. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 35, pp. S244-S275). Academic Press.
- [5]. Rusciano, D., & Burger, M. M. (1992). Why do cancer cells metastasize into particular organs? *BioEssays*, 14(3), 185-194.
- [6]. Martin, T. A., Ye, L., Sanders, A. J., Lane, J., & Jiang, W. G. (2013). Cancer invasion and metastasis: molecular and cellular perspective. In *Madame Curie Bioscience Database* Landes Bioscience.
- [7]. Croce, C. M. (2008). Oncogenes and Cancer. *N Engl J Med*. 358(5), 502-511.
- [8]. Hoang, N. T., Acevedo, L. A., Mann, M. J., & Tolani, B. (2018). A review of soft-tissue sarcomas: translation of biological advances into treatment measures. *Cancer management and research*, 1089-1114.
- [9]. Jain, S., Xu, R., Prieto, V. G., & Lee, P. (2010). Molecular classification of soft tissue sarcomas and its clinical applications. *International journal of clinical and experimental pathology*, 3(4), 416.
- [10]. Lanier, O. L., Pérez-Herrero, E., PD'Andrea, A., Bahrami, K., Lee, E., Ward, D. M., ... & Peppas, N. A. (2022). Immunotherapy approaches for hematological cancers. *Iscience*, 25(11), 105326.
- [11]. Greim, H., Kaden, D. A., Larson, R. A., Palermo, C. M., Rice, J. M., Ross, D., & Snyder, R. (2014). The bone marrow niche, stem cells, and leukemia: impact of drugs, chemicals, and the environment. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1310(1), 7-31.
- [12]. Sapkota, S., & Shaikh, H. (2023). Non-hodgkin lymphoma. In *StatPearls* StatPearls Publishing.
- [13]. Keka-Sylaj, A., Ramosaj, A., Baloku, A., Zogaj, L., Mushica, F., & Kurshumliu, F. (2022). Peripheral primitive neuroectodermal tumor: a case report. *Journal of Medical Case Reports*, 16(1), 128.
- [14]. Krasowska, D., Małek, A., Kurzepa, J., Kapka-Skrzypczak, L., Krasowska, D., & Kurzepa, J. (2023). Melanin—The Éminence Grise of Melanoma and Parkinson's Disease Development. *Cancers*, 15(23), 5541.
- [15]. Wen, J., Fu, J. H., Zhang, W., & Guo, M. (2011). Lung carcinoma signaling pathways activated by smoking. *Chinese journal of cancer*, 30(8), 551.

- [16]. Moraru, L., Mitranovici, M. I., Chiorean, D. M., Coroş, M., Moraru, R., Oală, I. E., & Turdean, S. G. (2023). Immature teratoma: diagnosis and management—a review of the literature. *Diagnostics*, 13(9), 1516.
- [17]. Nagaiah, G., Hossain, A., Mooney, C. J., Parmentier, J., & Remick, S. C. (2011). Anaplastic thyroid cancer: a review of epidemiology, pathogenesis, and treatment. *Journal of oncology*, 2011. 542358
- [18]. Landry, J. J., Pyl, P. T., Rausch, T., Zichner, T., Tekkedil, M. M., Stütz, A. M., ... & Steinmetz, L. M. (2013). The genomic and transcriptomic landscape of a HeLa cell line. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 3(8), 1213-1224.
- [19]. Drexler, H. G., Matsuo, Y., & MacLeod, R. A. (2000). Continuous hematopoietic cell lines as model systems for leukemia-lymphoma research. *Leukemia research*, 24(11), 881-911.
- [20]. Asfari M., Janjic D., Meda P., Li G.D., Halban P.A., Wollheim C.B. (1992). Establishment Of 2-mercaptoethanol-dependent differentiated insulin-secreting cell-lines. *Endocrinology*. 130:167–178. doi: 10.1210/endo.130.1.1370150.
- [21]. Sramkoski R.M., Pretlow T.G., Giaconia J.M., Pretlow T.P., Schwartz S., Sy M.S., Marengo S.R., Rhim J.S., Zhang D.S., Jacobberger J.W. (1999). A new human prostate carcinoma cell line, 22R upsi1on 1. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Animal*. 35:403–409. doi: 10.1007/s11626-999-0115-4.
- [22]. Komatsu N., Nakauchi H., Miwa A., Ishihara T., Eguchi M., Moroi M., Okada M., Sato Y., Wada H., Yawata Y., et al. (1991). Establishment And characterization of a human leukemic-cell line with megakaryocytic features—dependency on granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, interleukin-3, or erythropoietin for growth and survival. *Cancer Res*. 51:341–348.
- [23]. Sudo H., Kodama H.A., Amagai Y., Yamamoto S., Kasai S. (1983). In vitro differentiation and calcification in a new clonal osteogenic cell-line derived from newborn mouse calvaria. *J. Cell Biol*. 96:191–198. doi: 10.1083/jcb.96.1.191.
- [24]. Drexler H.G., Matsuo Y. (1999). Guidelines for the characterization and publication of human malignant hematopoietic cell lines. *Leukemia*. 13:835–842. doi: 10.1038/sj.leu.2401428.
- [25]. Matsuo Y., Drexler H.G. (1998). Establishment and characterization of human B cell precursor leukemia cell lines. *Leuk. Res*. 1998;22:567–579. doi: 10.1016/S0145-2126(98)00050-2
- [26]. Geraghty R.J., Capes-Davis A., Davis J.M., Downward J., Freshney R.I., Knezevic I., Lovell-Badge R., Masters J.R.W., Meredith J., Stacey G.N., et al. (2014). Guidelines for the use of cell lines in biomedical research. *Br. J. Cancer*. 111:1021–1046. doi: 10.1038/bjc.2014.166.
- [27]. Monks A., Scudiero D., Skehan P., Shoemaker R., Paull K., Vistica D., Hose C., Langley J., Cronise P., Vaigrowolff A., et al. (1991). Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor-cell lines. *J. Natl. Cancer Inst*. 83:757–766. doi: 10.1093/jnci/83.11.757.

- [28]. **Masters J.R.W.** (2000). Human cancer cell lines: Fact and fantasy. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 1:233–236. doi: 10.1038/35043102.
- [29]. **Rockwell S.** (1980). In vivo-in vitro tumor-cell lines—Characteristics and limitations as models for human cancer. *Br. J. Cancer.* 41:118–122.
- [30]. **Goodspeed A., Heiser L.M., Gray J.W., Costello J.C.** (2016). Tumor-Derived Cell Lines as Molecular Models of Cancer Pharmacogenomics. *Mol. Cancer Res.* 14:3–13. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-15-0189.
- [31]. **Watkins, E. J.** (2019). Overview of breast cancer. *Jaapa*, 32(10), 13-17.
- [32]. **Alex, A., Bhandary, E., McGuire, K. P.** (2020). Anatomy and Physiology of the Breast during Pregnancy and Lactation. *Diseases of the Breast during Pregnancy and Lactation*, 3-7.
- [33]. **Kashyap, D., Pal, D., Sharma, R., Garg, V. K., Goel, N., Koundal, D., ... & Belay, A.** (2022). [Retracted] Global Increase in Breast Cancer Incidence: Risk Factors and Preventive Measures. *BioMed research international*, 2022(1), 9605439.
- [34]. **Obeagu, E. I., Babar, Q., Vincent, C. C. N., Udenze, C. L., Eze, R., Okafor, C. J., ... & Amaeze, F. N.** (2021). Therapeutic targets in breast cancer signaling: a review. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(56A), 82-99.
- [35]. **Aizaz, M., Khan, M., Khan, F. I., Munir, A., Ahmad, S., Obeagu, E. I.** (2023). Burden of breast cancer: developing countries perspective. *International Journal of Innovative and Applied Research*, 11(1), 31-37.
- [36]. **Ibekwe, A. M., Obeagu, E. I., Ibekwe, C. E., Onyekwuo, C., Ibekwe, C. V., Okoro, A. D., Ifezue, C. B.** (2022). Challenges of exclusive breastfeeding among working class women in a teaching hospital South East, Nigeria. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 34(46A), 1-10.
- [37]. **Sun, Y. S., Zhao, Z., Yang, Z. N., Xu, F., Lu, H. J., Zhu, Z. Y., ... Zhu, H. P.** (2017). Risk factors and preventions of breast cancer. *International journal of biological sciences*, 13(11), 1387.
- [38]. **Obeagu, E. I., Obeagu, G. U.** (2024). Breast cancer: A review of risk factors and diagnosis. *Medicine*, 103(3), e36905.
- [39]. **Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., Bray, F.** (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209-249.
- [40]. **Alkabban, F. M., Ferguson, T.** (2024). Continuing Education Activity. **StatPearls**
- [41] **Özkul, S.** (2024). Ferulik Asitin Meme Kanser Hücrelerinde Apoptotik Hücre Ölümüne Etkisinin Araştırılması. Erciyes Üniversitesi Gevher Nesibe Genom ve Kök Hücre Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri.
- [42]. **Riaz, M., van Jaarsveld, M. T., Hollestelle, A., Prager-van der Smissen, W. J., Heine, A. A., Boersma, A. W., ... & Martens, J. W.** (2013). miRNA expression profiling of 51 human breast cancer cell lines reveals subtype and driver mutation-specific miRNAs. *Breast cancer research*, 15, 1-17.

- [43]. Lacroix, M., Haibe-Kains, B., Hennuy, B., Laes, J. F., Lallemand, F., Gonze, I., ... & Sotiriou, C. (2004). Gene regulation by phorbol 12-myristate 13-acetate in MCF-7 and MDA-MB-231, two breast cancer cell lines exhibiting highly different phenotypes. *Oncology reports*, 12(4), 701-707.
- [44]. Cope, L. M., Fackler, M. J., Lopez-Bujanda, Z., Wolff, A. C., Visvanathan, K., Gray, J. W., ... & Umbricht, C. B. (2014). Do breast cancer cell lines provide a relevant model of the patient tumor methylome?. *PloS one*, 9(8), e105545.
- [45]. Elstrodt, F., Hollestelle, A., Nagel, J. H., Gorin, M., Wasielewski, M., Van Den Ouweland, A., ... & Schutte, M. (2006). BRCA1 mutation analysis of 41 human breast cancer cell lines reveals three new deleterious mutants. *Cancer research*, 66(1), 41-45.
- [46]. Neve, R. M., Chin, K., Fridlyand, J., Yeh, J., Baehner, F. L., Fevr, T., ... & Gray, J. W. (2006). A collection of breast cancer cell lines for the study of functionally distinct cancer subtypes. *Cancer cell*, 10(6), 515-527.
- [47]. Hollestelle, A., Nagel, J. H., Smid, M., Lam, S., Elstrodt, F., Wasielewski, M., ... & Schutte, M. (2010). Distinct gene mutation profiles among luminal-type and basal-type breast cancer cell lines. *Breast cancer research and treatment*, 121, 53-64.
- [48]. Charafe-Jauffret, E., Ginestier, C., Monville, F., Finetti, P., Adelaïde, J., Cervera, N., ... & Bertucci, F. (2006). Gene expression profiling of breast cell lines identifies potential new basal markers. *Oncogene*, 25(15), 2273-2284.
- [49]. Kao, J., Salari, K., Bocanegra, M., Choi, Y. L., Girard, L., Gandhi, J., ... & Pollack, J. R. (2009). Molecular profiling of breast cancer cell lines defines relevant tumor models and provides a resource for cancer gene discovery. *PloS one*, 4(7), e6146.
- [50]. Honour, J. W. (2023). *Steroids in the Laboratory and Clinical Practice*. Elsevier.
- [51]. Galluzzi, L., Vitale, I., Abrams, J.M., Alnemri, E.S., Baehrecke, E.H., Blagosklonny MV., ... & Kroemer, G. (2012). Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ.* 19(1), 107–120. doi: 10.1038/cdd.2011.96.
- [52]. Galluzzi, L., Maiuri, M.C., Vitale, I., Zischka, H., Castedo, M., Zitvogel, L., Kroemer, G. (2007). Cell death modalities: classification and pathophysiological implications. *Cell Death Differ.* 14(7), 1237–43. doi: 10.1038/sj.cdd.4402148.
- [53]. Elmore, S. (2007). Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35(4), 495-516.
- [54]. Fuchs, Y., Steller, H. (2011). Programmed cell death in animal development and disease. *Cell*. 147(4), 742–758. doi: 10.1016/j.cell.2011.10.033.
- [55]. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). Programmed cell death (apoptosis). In *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. Garland Science.

- [56]. **LeBlanc, A.C.** (2003). Natural cellular inhibitors of caspases. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 27(2), 215–229. doi: 10.1016/s0278-5846(03)00017-4.
- [57]. **Giorgi, C., Romagnoli, A., Pinton, P., Rizzuto, R.** (2008). Ca²⁺ signaling, mitochondria and cell death. *Curr Mol Med*. 8(2), 119–130. doi: 10.2174/156652408783769571.
- [58]. **Neuman, M.G., Katz, G.G., Malkiewicz, I.M., Mathurin, P., Tsukamoto, H., Adachi, M... Casey, C. A.** (2002). Alcoholic liver injury and apoptosis-- synopsis of the symposium held at ESBRA 2001: 8th Congress of the European Society for Biomedical Research on Alcoholism, Paris, September 16, 2001. *Alcohol*. 28(2), 117–128. doi: 10.1016/S0741-8329(02)00243-
- [59]. **Duckett, C.S., Li, F., Wang, Y., Tomaselli, K.J., Thompson, C.B., Armstrong, R.C.** (1998). Human IAP-like protein regulates programmed cell death downstream of Bcl-xL and cytochrome c. *Mol Cell Biol*. 18(1), 608–615. doi: 10.1128/mcb.18.1.608
- [60]. **Kerr, J.F., Wyllie, A.H., Currie, A.R.** (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 26, 239–257.
- [61]. **Kerr, J.F.** (2002). History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept. *Toxicology*. 181–182, 471–474.
- [62]. **Horvitz, H.R.** (1999). Genetic control of programmed cell death in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Cancer Res*. 59, 1701–1706.
- [63]. **Formigli, L., Papucci, L., Tani, A., Schiavone, N., Tempestini, A., Orlandini, G.E., Capaccioli, S., Orlandini, S.Z.** (2000). Aponecrosis: morphological and biochemical exploration of a syncretic process of cell death sharing apoptosis and necrosis. *J Cell Physiol*. 182, 41–49.
- [64]. **Sperandio, S., de Belle, I., Bredesen, D. E.** (2000). An alternative, non- apoptotic form of programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci USA*. 97, 14376–14381.
- [65]. **Debnath, J., Baehrecke, E.H., Kroemer, G.** (2005). Does autophagy contribute to cell death? *Autophagy*. 1, 66–74.
- [66]. **Vitale, I., Pietrocola, F., Guilbaud, E., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., ... & Pasparakis, M.** (2023). Apoptotic cell death in disease—Current understanding of the NCCD 2023. *Cell Death & Differentiation*, 30(5), 1097-1154.
- [67]. **Hacker, G.** (2000). The morphology of apoptosis. *Cell Tissue Res*. 301, 5–17.
- [68]. **Doonan, F., & Cotter, T. G.** (2008). Morphological assessment of apoptosis. *Methods*, 44(3), 200-204.
- [69]. **Hengartner, M.O.** (2000). The biochemistry of apoptosis. *Nature*. 407, 770–776.
- [70]. **Cohen, G.M.** (1997). Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J*. 326(Pt 1), 1–16.
- [71]. **Rai, N. K., Tripathi, K., Sharma, D., & Shukla, V. K.** (2005). Apoptosis: a basic physiologic process in wound healing. *The international journal of lower extremity wounds*, 4(3), 138-144.

- [72]. Hu, S., Snipas, S.J., Vincenz, C., Salvesen, G., Dixit, V.M. (1998). Caspase- 14 is a novel developmentally regulated protease. *J Biol Chem.* 273, 29648–29653.
- [73]. Nakagawa, T., Zhu, H., Morishima, N., Li, E., Xu, J., Yankner, B.A., Yuan, J. (2000). Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature.* 403, 98–103.
- [74]. Koenig, U., Eckhart, L., Tschachler, E. (2001). Evidence that caspase-13 is not a human but a bovine gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 285, 1150–1154.
- [75]. Kang, S.J., Wang, S., Kuida, K., Yuan, J. (2002). Distinct downstream pathways of caspase-11 in regulating apoptosis and cytokine maturation during septic shock response. *Cell Death Differ.* 9, 1115–1125.
- [76]. Nemes, Z., Jr, Friis, R.R., Aeschlimann, D., Saurer, S., Paulsson, M., Fesus, L. (1996). Expression and activation of tissue transglutaminase in apoptotic cells of involuting rodent mammary tissue. *Eur J Cell Biol.* 70, 125–133.
- [77]. Bortner, C.D., Oldenburg, N.B., Cidlowski, J.A. (1995). The role of DNA fragmentation in apoptosis. *Trends Cell Biol.* 5, 21–26.
- [78]. Bratton, D.L., Fadok, V.A., Richter, D.A., Kailey, J.M., Guthrie, L.A., Henson, P.M. (1997). Appearance of phosphatidylserine on apoptotic cells requires calcium-mediated nonspecific flip-flop and is enhanced by loss of the aminophospholipid translocase. *J Biol Chem.* 272, 26159–26165.
- [79]. Tahlan, S., Kumar, S., & Narasimhan, B. (2019). Pharmacological significance of heterocyclic 1 H-benzimidazole scaffolds: A review. *BMC chemistry*, 13, 1-21.
- [80]. Ertürk, B. G. (2017). 2-Alkil/Alkiloksi Köprülü Sübstitübenzimidazol Türeveli Bileşiklerin Sentezi, Yapılarının Tayini ve Antiproliferatif Etkilerinin Belirlenmesi Çalışması. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Mersin
- [81]. Hoffmann, K. (1953). Imidazole and Its Derivatives. Interscience Publishers, INC, New York.
- [82]. Pathare, B., & Bansode, T. (2021). biological active benzimidazole derivatives. *Results in Chemistry*, 3, 100200.
- [83]. Akhtar W., Khan M. F., Verma G., Shaquiquzzaman M., Rızvı M., (2017). Therapeutic evolution of benzimidazole derivatives in the last quinquennial period. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 126: 705-753.
- [84]. Tahlan, S., Kumar, S., Kakkar, S., & Narasimhan, B. (2019). Benzimidazole scaffolds as promising antiproliferative agents: A review. *BMC chemistry*, 13, 1-16.
- [85]. Lee, Y. T., Tan, Y. J., & Oon, C. E. (2023). Benzimidazole and its derivatives as cancer therapeutics: The potential role from traditional to precision medicine. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 13(2), 478-497.
- [86]. Erdem, A. (2021). Benzimidazol Halkası Taşıyan Rutenyum Komplekslerinin Sentezi Ve Özelliklerinin İncelenmesi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Denizli.

- [87]. Moharana, A. K., Dash, R. N., Mahanandia, N. C., & Subudhi, B. B. (2022). Synthesis and anti-inflammatory activity evaluation of some benzimidazole derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 56(8), 1070-1074.
- [88]. Aracena-Solem, M. (2021). *The antihypertensive activity of benzimidazoles and the binding of its derivatives to the AT1 receptor* (Bachelor's thesis, NTNU).
- [89]. Iqbal, H., Verma, A. K., Yadav, P., Alam, S., Shafiq, M., Mishra, D., ... & Chanda, D. (2021). Antihypertensive effect of a novel angiotensin II receptor blocker fluorophenyl benzimidazole: Contribution of cGMP, voltage-dependent calcium channels, and BKCa channels to vasorelaxant mechanisms. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 611109.
- [90]. Grune, T. (Ed.). (2005). *Oxidants and antioxidant defense systems* (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
- [91]. Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- [92]. Basaran, R., Kilcigil, G., & Eke, B. (2020). Evaluation of the Antioxidant Activity of Some Imines Containing 1H-Benzimidazoles/1H-Benzimidazol Iceren Bazi Iminlerin Antioksidan Aktivitesinin Degerlendirilmesi. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 17(6), 626-631.
- [93]. Baldisserotto, A., Demurtas, M., Lampronti, I., Tacchini, M., Moi, D., Balboni, G., ... & Onnis, V. (2020). In-vitro evaluation of antioxidant, antiproliferative and photo-protective activities of benzimidazolehydrazone derivatives. *Pharmaceuticals*, 13(4), 68.
- [94]. Thapa, S., Biradar, M. S., Nargund, S. L., Ahmad, I., Agrawal, M., Patel, H., & Lamsal, A. (2024). Synthesis, Molecular Docking, Molecular Dynamic Simulation Studies, and Antitubercular Activity Evaluation of Substituted Benzimidazole Derivatives. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2024(1), 9986613.
- [95]. Gobis, K., Foks, H., Bojanowski, K., Augustynowicz-Kopeć, E., & Napiórkowska, A. (2012). Synthesis of novel 3-cyclohexylpropanoic acid-derived nitrogen heterocyclic compounds and their evaluation for tuberculostatic activity. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 20(1), 137-144.
- [96]. Tonelli, M., Simone, M., Tasso, B., Novelli, F., Boido, V., Sparatore, F., ... & La Colla, P. (2010). Antiviral activity of benzimidazole derivatives. II. Antiviral activity of 2-phenylbenzimidazole derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 18(8), 2937-2953.
- [97]. Mavvaji, M., & Akkoc, S. (2023). Recent advances in the anticancer applications of benzimidazole derivatives. *ChemistrySelect*, 8(35), e202302561.
- [98]. Keri, R. S., Hiremathad, A., Budagumpi, S., & Nagaraja, B. M. (2015). Comprehensive review in current developments of benzimidazole- based medicinal chemistry. *Chemical biology & drug design*, 86(1), 19-65.
- [99]. Singh, P. K., & Silakari, O. M. (2018). Benzimidazole: journey from single targeting to multitargeting molecule. In *Key heterocycle cores for designing multitargeting molecules* (pp. 31-52). Elsevier.
- [100]. Wright, J. B. (1951). The chemistry of the benzimidazoles. *Chemical reviews*, 48(3), 397-541.

- [101]. Gümrükçüoğlu, T. İ., Akgün, H., Sökmen, B. B., & Bektaş, H. (2024). Karbotiyoamidin Süstitüye Benzimidazol Bileşiklerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi. *ALKÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 6(1), 1-15.
- [102]. Gaba, M., & Mohan, C. (2016). Development of drugs based on imidazole and benzimidazole bioactive heterocycles: recent advances and future directions. *Medicinal Chemistry Research*, 25, 173-210.
- [103]. Kamanna, K. (2019). Synthesis and pharmacological profile of benzimidazoles. *Chemistry and applications of benzimidazole and its derivatives*. London, UK: IntechOpen, 51-69.
- [104]. Shrivastava, N., Naim, M. J., Alam, M. J., Nawaz, F., Ahmed, S., & Alam, O. (2017). Benzimidazole scaffold as anticancer agent: synthetic approaches and structure–activity relationship. *Archiv der Pharmazie*, 350(6), e201700040.
- [105]. Shimomura, I., Yokoi, A., Kohama, I., Kumazaki, M., Tada, Y., Tatsumi, K., ... & Yamamoto, Y. (2019). Drug library screen reveals benzimidazole derivatives as selective cytotoxic agents for KRAS-mutant lung cancer. *Cancer letters*, 451, 11-22.
- [106]. Bressi, J. C., de Jong, R., Wu, Y., Jennings, A. J., Brown, J. W., O'Connell, S., ... & Gangloff, A. R. (2010). Benzimidazole and imidazole inhibitors of histone deacetylases: synthesis and biological activity. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 20(10), 3138-3141.
- [107]. Tan, Y. J., Lee, Y. T., Yeong, K. Y., Petersen, S. H., Kono, K., Tan, S. C., & Oon, C. E. (2018). Anticancer activities of a benzimidazole compound through sirtuin inhibition in colorectal cancer. *Future Medicinal Chemistry*, 10(17), 2039-2057.
- [108]. Tan, Y. J., Lee, Y. T., Petersen, S. H., Kaur, G., Kono, K., Tan, S. C., ... & Oon, C. E. (2019). BZD9L1 sirtuin inhibitor as a potential adjuvant for sensitization of colorectal cancer cells to 5-fluorouracil. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 11, 1758835919878977.
- [109]. Carter, D. M., Specker, E., Malecki, P. H., Przygodda, J., Dudanec, K., Weiss, M. S., ... & Gohlke, U. (2021). Enhanced properties of a benzimidazole benzylpyrazole lysine demethylase inhibitor: Mechanism-of-action, binding site analysis, and activity in cellular models of prostate cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(19), 14266-14282.
- [110]. Yılmaz, Ö. (2021). Çeşitli Kanser Hücreleri Üzerine Bazı Benzimidazol Metal Kompleks (Zn, Co) Bileşiklerinin Sitotoksik/Apoptotik Ve Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Malatya.
- [111]. Alpan, A.S., Gunes, H.S. ve Topcu, Z. (2007). 1H-Benzimidazole derivatives as mammalian DNA topoisomerase I inhibitors, *Acta Biochim Pol.* 54 (3), 561-5
- [112]. Tolner, B., Hartley, J.A. ve Hochhauser, D. (2001). Transcriptional regulation of topoisomerase II alpha at confluence and pharmacological modulation of expression by bis-benzimidazole drugs, *Mol Pharmacol.* 59 (4), 699-706.

- [113]. Habala, L., Bartel, C., Giester, G., Jakupec, M.A., Keppler, B.K. ve Rompel, A. (2015). Complexes of N-hydroxyethyl-N benzimidazolyl methylethylenediamine diacetic acid with group 12 metals and vanadium-Synthesis, structure and bioactivity of the vanadium complex, *J Inorg Biochem.* 147, 147-52.
- [114]. Wang, W., Kong, D., Cheng, H., Tan, L., Zhang, Z., Zhuang, X., Long, H., Zhou, Y., Xu, Y., Yang, X. ve Ding, K. (2014). New benzimidazole-2-urea derivatives as tubulin inhibitors, *Bioorg Med Chem Lett.* 24 (17), 4250-3.
- [115]. Taha, M., Ismail, N.H., Imran, S., Selvaraj, M., Rahim, A., Ali, M., Siddiqui, S., Rahim, F. ve Khan, K.M. (2015). Synthesis of novel benzohydrazono-oxadiazole hybrids as beta-glucuronidase inhibitors and molecular modeling studies, *Bioorg Med Chem.* 23 (23), 7394-404
- [116]. Chu, B., Liu, F., Li, L., Ding, C., Chen, K., Sun, Q., Shen, Z., Tan, Y., Tan, C. ve Jiang, Y. (2015). A benzimidazole derivative exhibiting antitumor activity blocks EGFR and HER2 activity and upregulates DR5 in breast cancer cells, *Cell Death Dis.* 6, e1686.
- [117]. Özçelik, A. B., Gümüş, F., Kılıç Süloğlu, A., & Selmanoğlu, G. (2019). Cytotoxic activity studies of some platinum (II) complexes with 2-substituted benzimidazole ligands. *Revue Roumaine de Chimie*, 64(9), 829-834.
- [118]. Shao, K. P., Zhang, X. Y., Chen, P. J., Xue, D. Q., He, P., Ma, L. Y., ... & Liu, H. M. (2014). Synthesis and biological evaluation of novel pyrimidine-benzimidazole hybrids as potential anticancer agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 24(16), 3877-3881.
- [119]. Poyraz, M., Demirayak, S., Banti, C. N., Manos, M. J., Kourkoumelis, N., & Hadjikakou, S. K. (2016). Platinum (II)-thiosemicarbazone drugs override the cell resistance due to glutathione; Assessment of their activity against human adenocarcinoma cells. *Journal of Coordination Chemistry*, 69(23), 3560-3579.
- [120]. Liu, H. B., Gao, W. W., Tangadanchu, V. K. R., Zhou, C. H., & Geng, R. X. (2018). Novel aminopyrimidinyl benzimidazoles as potentially antimicrobial agents: Design, synthesis and biological evaluation. *European journal of medicinal chemistry*, 143, 66-84.
- [121]. Sontakke, V. A., Kate, A. N., Ghosh, S., More, P., Gonnade, R., Kumbhar, N. M., ... & Shinde, V. S. (2015). Synthesis, DNA interaction and anticancer activity of 2-anthryl substituted benzimidazole derivatives. *New Journal of Chemistry*, 39(6), 4882-4890.
- [122]. Varshney, H., Ahmad, A., Rauf, A., Sherwani, A., & Owais, M. (2015). Multistep synthesis of 1-[(5-alkenyl/hydroxyalkenylsubstituted)-1, 3, 4-oxadiazol-2-yl]-methyl-2-methyl-1 H-benzimidazole series and in vitro anticancer screening, SAR studies. *Medicinal Chemistry Research*, 24, 944-953.
- [123]. Bhambra, A. S., Edgar, M., Elsegood, M. R., Horsburgh, L., Kryštof, V., Lucas, P. D., ... & Zeinali, F. (2016). Novel fluorinated benzimidazole-based scaffolds and their anticancer activity in vitro. *Journal of Fluorine Chemistry*, 188, 99-109.

- [124]. Acar Çevik, U., Sağlık, B. N., Ardiç, C. M., Özkay, Y., & Atlı, Ö. (2018). Synthesis and evaluation of new benzimidazole derivatives with hydrazone moiety as anticancer agents. *Turkish Journal of Biochemistry*, 43(2), 151-158.
- [125]. Güngüneş, C. D., Alpsoy, L., Baykal, A., Nawaz, M., & Akal, Z. Ü. (2018). The effect of folic acid-and caffeic acid-functionalized SPION on different cancer cell lines. *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism*, 31, 3579-3588.
- [126]. Wińska, P., Skierka, K., Łukowska-Chojnacka, E., Koronkiewicz, M., Cieśla, J., & Bretner, M. (2018). Effect of simultaneous inhibition of protein kinase CK2 and thymidylate synthase in leukemia and breast cancer cells. *Anticancer Research*, 38(8), 4617-4627.
- [127]. Alioğlu, İ. (2019). Zn(II) Kompleksinin Sitotoksik ve Apoptotik Etkilerinin Kansere Hücrelerinde Araştırılması. Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Bursa.
- [128]. John, R., Kariyil, B. J., Usha, P. A., Surya, S., Anu, G., John, P., ... & Zarina, A. (2020). In vitro antitumor potential of methanol extract of *Mimosa pudica* in human breast cancer cell lines. *Pharmacognosy Magazine*, 16(70), 396-403.
- [129]. Icel, C., Yilmaz, V. T., Aydinlik, S., & Aygun, M. (2020). Zn (II), Cd (II) and Hg (II) saccharinate complexes with 2, 6-bis (2-benzimidazolyl) pyridine as promising anticancer agents in breast and lung cancer cell lines via ROS-induced apoptosis. *Dalton Transactions*, 49(23), 7842-7851.
- [130]. John, R., Kariyil, B. J., & PTA, U. (2021). Apoptosis mediated cytotoxic potential of *Erythrina variegata* L. stem bark in human breast carcinoma cell lines. *Indian Journal of Experimental Biology*, 59, 437-447.
- [131]. Ergün, G., Şahin-Bölükbaşı, S., & Şahin, N. (2021). PC-3 İnsan Prostat Kansere Hücre Hattı Üzerine [1-(2-Metil-2-Propenil)-3-(2-Metilbenzil) Benzimidazolyum Klorür Ligandı ve Bu Ligandın Gümüş (I) Kompleksinin Sitotoksik Aktivitesi. *Int J Acad Med Pharm*, 3(2), 163-168.
- [132]. Kowalkowska, A., Chojnacki, K., Multan, M., Maurin, J. K., Łukowska-Chojnacka, E., & Wińska, P. (2022). N-Phenacyldibromobenzimidazoles—Synthesis Optimization and Evaluation of Their Cytotoxic Activity. *Molecules*, 27(14), 4349. doi: 10.3390/molecules27144349.
- [133]. Mansour, A. M., Ibrahim, N. M., Farag, A. M., & Abo-Elfadl, M. T. (2022). Evaluation of cytotoxic properties of two fluorescent fac-Re (CO) 3 complexes bearing an N, N-bidentate benzimidazole coligand. *RSC advances*, 12(47), 30829-30837.
- [134]. Hekmatshoar, Y., Ozkan, T., Alp, M., Gurkan- Alp, A. S., & Sunguroglu, A. (2023). Some 2- [4- (1H- benzimidazol- 1- yl) phenyl]- 1H- benzimidazole derivatives overcome imatinib resistance by induction of apoptosis and reduction of P- glycoprotein activity. *Chemical Biology & Drug Design*, 102(6), 1521-1533.

- [135]. Easmon, J., Puerstinger, G., Roth, T., Fiebig, H.H., Jenny, M., Jaeger, W., Heinisch, G., Hofmann, J. (1957). 2-Benzoxazolyl and 2-benzimidazolyl hydrazones derived from 2-acetylpyridine: A novel class of antitumor agents. *Int. J. Cancer*, 2001, 94, 89-96; *Heterocyclic Compounds*, Ed: R. C. Elderfield, John Wiley & Sons, Inc.
- [136]. Küçükbay, H., Durmaz R, Okuyucu N, Günal, S, Kazaz, C. (2004). Synthesis and antibacterial activities of new bis-benzimidazoles. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 54(1), 64-68.
- [137]. Carlsson, E., Lindberg, P., Unge, S. (2002). Two of a kind. *Chemistry in Britain*, 5, 42-45.
- [138]. Sanchez-Guadarrama, O., Lopez-Sandoval, H., Sanchez-Bartez, F., Gracia-Mora, I., Höpfl, H., Barba-Behrens, N. (2009). Cytotoxic activity, x-ray crystal structures and spectroscopic characterization of cobalt(II), copper(II) and zinc(II) coordination compounds with 2-substituted benzimidazoles. *J. Inorg. Chem.*, 103, 1204-1213.
- [139]. Lukevics, E., Arsenyan, P., Shestakova, I. Domracheva, I., Nesterova, A., Pudova, O. (2001). Synthesis and antitumor activity of trimethylsilylpropyl substituted benzimidazoles. *Eur. J. Med. Chem.* 36, 507-515.
- [140]. Galal, S.A., Hegab, K.H., Kassab, A.S., Rodriguez, M.L., Kerwin, S.M., El-Khamry, A.-M. A., Diwani, H. I. E. (2009). New transition metal ion complexes with benzimidazole-5-carboxylic acid hydrazides with antitumor activity. *Eur. J. Med. Chem.* 44, 1500-1508.
- [141]. Gümüş, F., Eren, G., Açık, L., Çelebi, A., Öztürk, F., Yılmaz, Ş., Sağkan, R.I., Gür, S., Özkul, A., Elmalı, A., Elerman, Y. (2009). Synthesis, cytotoxicity and DNA interactions of new cisplatin analogues containing substituted benzimidazole ligands. *J. Med. Chem.*, 52, 1345-1357.
- [142]. Buczkowska, M., Bodtke, A., Lindequist, U., Gdaniec M., Bednarski, P.J. (2011). Cytotoxic and antimicrobial activities of Cu(II), Co(II), Pt(II) and Zn(II) complexes with N,O-chelating heterocyclic carboxylates. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 344, 605-616.
- [143]. Loganathan, R., Ramakrishnan, S., Suresh, E., Riyasdeen, A., Akbarsha, M. A. (2012). Planandavar, Mixed ligand copper(II) complexes of N,N'-bis(benzimidazol-2-ylmethyl)amine (BBA) with diimine Co-ligands: Efficient chemical nuclease and protease activities and cytotoxicity. *Inorg. Chem.*, 51, 5512-5532.
- [144]. Acar Çevik, U., Sağlık, B. N., Korkut, B., Özkay, Y., & İlgin, S. (2018). Antiproliferative, cytotoxic, and apoptotic effects of new benzimidazole derivatives bearing hydrazone moiety. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 55(1), 138-148.
- [145]. İçsel, C., Yılmaz, V., Aygün, M. Aydınlık, Ş. (2020). "Zn(ii), Cd(ii) and Hg(ii) saccharinate complexes with 2,6-bis(2-benzimidazolyl)pyridine as promising anticancer agents in breast and lung cancer cell lines via ROS-induced apoptosis". *Dalton Transactions*, 49(29), 7842-7851.

- [146]. Taherian, E., Khodarahmi, G., Khajouei, M. R., Hassanzadeh, F., & Dana, N. (2019). Synthesis and cytotoxic evaluation of novel quinozalinone derivatives with substituted benzimidazole in position 3. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 14(3), 247-254.
- [147]. Mohammadizadeh, F., Falahati-Pour, S. K., Rezaei, A., Mohamadi, M., Hajizadeh, M. R., Mirzaei, M. R., ... & Mahmoodi, M. (2018). The cytotoxicity effects of a novel Cu complex on MCF-7 human breast cancerous cells. *Biometals*, 31, 233-242.
- [148]. Santhanam, R. C., Yacoob, S. A. M., & Venkatraman, A. (2022) In vitro cytotoxicity assay of Fucoidan extracted from *Turbinaria conoides* against cancer cell lines MCF7, A549, and normal cell line L929. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, e19542.
- [149]. Paino, I. M., J. Gonçalves, F., Souza, F. L., & Zucolotto, V. (2016). Zinc oxide flower-like nanostructures that exhibit enhanced toxicology effects in cancer cells. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(48), 32699-32705.
- [150]. Yazdani, Z., Pasandi, M. S., Golpour, M., Eslami, M., & Rafiei, A. (2024). Effect of cold atmospheric plasma on changing of biomolecular structures involved in apoptosis pathways of melanoma cancer. *Skin Research and Technology*, 30(1), e13544.
- [151]. Elsayed, E. A., Alsahli, F. D., Amr, A. E., El Enshasy, H. A., & Wadaan, M. A. (2019). In vitro anti-proliferative potentials of *Phaeangium lefebvrei* desert truffle towards MCF-7, HepG2 and L929 cell lines. *Journal of Scientific & Industrial Research*. 78, 858-862.

ÖZGEÇMİŞ

Ad- Soyad : Merve ASMA

ÖĞRENİM DURUMU :

Lisans : 2013, İnönü Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Sertifikalar:

1. Fırat Üniversitesi Pedagojik Formasyon Sertifikası, 2014,Elazığ

Stajlar:

1. İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 40 iş günü staj.