

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YENİ KİNOLİN PEPTİT KONJUGATLARININ SİTOTOKSİK VE
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Emine ADIYAMAN**

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Elif APOHAN

HAZİRAN 2022

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YENİ KİNOLİN PEPTİT KONJUGATLARININ SİTOTOKSİK VE
ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Emine ADIYAMAN
(36193611018)**

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Elif APOHAN

Eş Danışman: Prof.Dr. Özfer YEŞİLADA

HAZİRAN 2022

TEŞEKKÜR VE ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının her aşamasında değerli bilgilerini benimle paylaşan, kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük ilgiyle elinden gelenen fazlasını sunan,güler yüzünü ve samimiyetini esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana her konuda yönlendirme yapan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Elif APOHAN'a ve eş danışman hocam Sayın Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA'ya;

Tez çalışmasında kullandığım kimyasalları sentezini yapan İnönü Üniversitesi Kimya Bölümünden Prof. Dr. Hasan KÜÇÜKBAY'a;

Laboratuvar çalışmaları sürecinde fikir alışverişinde bulunduğum, yardımlarıyla bana her türlü destek olan çalışma arkadaşlarım İnönü Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Anabilim Dalı doktora öğrencisi Eray TATLICI ve İnönü Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Anabilim Dalında Dr. Özgür YILMAZ'a İnönü Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Anabilim Dalı yüksek lisans öğrencisi Murat ERSOY'a;

Laboratuvar çalışmalarına yardımda bulunan diğer bütün çalışma arkadaşlarım ve hocalarıma,

Hayatım boyunca olduğu gibi tez çalışmalarım sırasında da desteklerini esirgemeyen değerli Ailem'e,

Bu çalışmayı 2021/2623 no'lu proje olarak destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine;

teşekkür ederim.

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Yeni Kinolin Peptit Konjugatlarının Sitotoksik ve Antimikrobiyal Özelliklerinin 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.

Emine Adıyaman



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 Hücre Hatları	3
1.1.1 Akciğer kanseri (A549).....	3
1.1.2 Karaciğer kanseri (Hep 3B).....	3
1.1.3 Endotelial hücre (HUVEC)	4
1.1.4 Sağlıklı akciğer epitel hücresi (BEAS2B).....	4
1.2 Antikanser Çalışmalarında Kullanılan Bazı İnorganik Terapötikler	5
1.2.1 Kinolin.....	7
1.2.1.1 Bazı kinolin türevleri	8
1.3 Apoptoz.....	9
1.3.1 Apoptozun morfolojisi	10
1.3.2 Apoptozun biyokimyasal özellikleri	11
1.3.3 Apoptozun mekanizmaları	12
1.3.3.1 Dışsal yol	13
1.3.3.2 İçsel yol	13
1.3.3.3 Yürütme yolu.....	14
2. KAYNAK ÖZETLERİ	16
3. MATERYAL VE METOT	20
3.1 Kullanılan Hücre Hatları ve Üretim Koşulları.....	20
3.2 Hücre Çözme, Pasajlama ve Dondurma	20
3.3 Hücre Sayımı	21
3.4 Optimizasyon Çalışmaları.....	21
3.5 MTT Testi	21
3.6 Bileşiklerin Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi.....	22
3.7 Çalışmada Kullanılan Kinolin ve Türevleri.....	23
4. BULGULAR	26
4.1 Bileşiklerin Hücre Hatları Üzerine Sitotoksik Etkisi.....	26
4.1.1 Bileşiklerin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	26
4.1.2 Bileşiklerin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	30
4.1.3 Bileşiklerin Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	34
4.1.4 Bileşiklerin Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	39
4.2 Kinolin ve Türevlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri	43
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	44
6. KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1: Dünya üzerindeki bazı kanser vakalarının cinsiyete bağlı dağılımları ve 0-75 yaş arası risk %'leri	1
Çizelge 1.2: Dünya üzerindeki kanser türlerinin cinsiyete bağlı ölüm oranları ve 0-75 yaş arası risk %'leri (Ferlay ve diğ, 2021).....	2
Çizelge 4.1: Bileşiklerin akciğer kanser hücreleri (A549) üzerine zamana bağlı IC ₅₀ değerleri (µg/mL)	30
Çizelge 4.2: Bileşiklerin sağlıklı akciğer epitelyum hücreleri (BEAS2B) üzerine zamana bağlı IC ₅₀ değerleri (µg/mL).....	34
Çizelge 4.3: Bileşiklerin endotelial hücreleri (Huvec) üzerine zamana bağlı IC ₅₀ değerleri (µg/mL)	38
Çizelge 4.4: Bileşiklerin karaciğer kanser hücreleri (Hep 3B) üzerine zamana bağlı IC ₅₀ değerleri (µg/mL)	42
Çizelge 4.5: Kinolin ve kinolin türevi bileşiklerin antimikrobiyal aktivite sonuçları (µg/mL)	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1: Kanser hücrelerinin ayırt edici özellikleri	2
Şekil 1.2: Kinolinin halkasal modeli.....	7
Şekil 1.3: Apoptozun morfolojisi.....	11
Şekil 1.4: Apoptozun işleyiş mekanizması	12
Şekil 1.5: Apoptozun dışsal, içsel ve yürütme yolu basamakları.....	15
Şekil 3.1: Tetrazolyum tuzunun formazona dönüşümü	22
Şekil 3.2: Kinolin (Bileşik 1)	23
Şekil 3.3: Fmoc-Gly-Kinolin (Bileşik 2)	23
Şekil 3.4: Boc-Phe-Phe-Kinolin (Bileşik 3).....	24
Şekil 3.5: Boc-Phe-Leu-Kinolin (Bileşik 4)	24
Şekil 3.6: H-Phe-Leu-Kinolin (Bileşik 5)	24
Şekil 3.7: Z-Phe-Val-Kinolin (Bileşik 6).....	25
Şekil 3.8: Boc-Phe-Ala-Kinolin (Bileşik 7).....	25
Şekil 4.1: Bileşik 1'in A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	26
Şekil 4.2: Bileşik 2'nin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	27
Şekil 4.3: Bileşik 3'ün A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	27
Şekil 4.4: Bileşik 4'ün A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	28
Şekil 4.5: Bileşik 5'in A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	28
Şekil 4.6: Bileşik 6'nın A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	29
Şekil 4.7: Bileşik 7'nin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	29
Şekil 4.8: Bileşik 1'in BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	30
Şekil 4.9: Bileşik 2'nin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	31
Şekil 4.10: Bileşik 3'ün BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	31
Şekil 4.11: Bileşik 4'ün BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	32
Şekil 4.12: Bileşik 5'in BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	32
Şekil 4.13: Bileşik 6'nın BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	33
Şekil 4.14: Bileşik 7'nin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	33
Şekil 4.15: Bileşik 1'in Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	35
Şekil 4.16: Bileşik 2'nin Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	35
Şekil 4.17: Bileşik 3'ün Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	36
Şekil 4.18: Bileşik 4'ün Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	36
Şekil 4.19: Bileşik 5'in Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	37
Şekil 4.20: Bileşik 6'nın Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	37
Şekil 4.21: Bileşik 7'nin Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	38
Şekil 4.22: Bileşik 1'in Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	39
Şekil 4.23: Bileşik 2'nin Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	39
Şekil 4.24: Bileşik 3'ün Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	40
Şekil 4.25: Bileşik 4'ün Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	40
Şekil 4.26: Bileşik 5'in Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	41
Şekil 4.27: Bileşik 6'nın Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	41
Şekil 4.28: Bileşik 7'nin Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	42

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

A549	: Küçük hücre dışı akciğer karsinomu
BEAS2B	: Sağlıklı akciğer epitel hücre hattı
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	: Dimetilsülfoksit(Dimethyl sulphoxide)
FBS	: Fetal sığır serumu (Fetal bovine serum)
Hep3B	: Hepatosellüler karaciğer karsinom
Huvec	: Endotelial hücre hattı
IC₅₀	: Hücre proliferasyonunda % 50 azalmaya neden olan konsantrasyon (İnhibisyon konsantrasyonu 50)
MTT	: 3-[4,5-dimethyl-2-thiazolyl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromid
nm	: Nanometredalga boyu
µg	: Mikro gram
mL	: Mikro litre
µM	: Mikro molar

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YENİ KİNOLİN PEPTİT KONJUGATLARININ SİTOTOKSİK VE ANTİMİKROBİYAL ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

EMİNE ADIYAMAN

İnönü Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji Anabilim Dalı

57 +viii sayfa

2022

Danışman: Prof. Dr. Elif APOHAN

Eş Danışman: Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

Kanser, Türkiye’de ve dünyada olmak üzere ölüme neden olan önemli sağlık sorunlarından biridir. Günümüzde radyoterapi ve kemoterapi gibi bir çok tedavi yöntemi kanser hastalarında uygulanmaktadır. Heterosiklik bileşikler arasında olan kinolin ve türevleri ilaçların geliştirilmesi açısından birçok biyolojik tür ve özelliği bulundurmaktadır. Kinolin bileşikleri, antikanser aktivite gösterdikleri için antikanser ilaç gelişiminde önemli bir rolü vardır.

Bu çalışmada, sentezlenen yedi farklı kinolin türevlerinin akciğer kanseri (A549) ve sağlıklı akciğer epitel hücresi (BEAS2B), karaciğer kanseri (Hep 3B), ve endotelial hücre (Huvec) üzerine sitotoksik etkisi belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlar uygulanmış ve farklı zaman aralıklarında IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. A549 hücre hattı üzerine bileşik 2’nin IC₅₀ değerleri 10.48 µg/mL, 9.738 µg/mL, 10.14 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Bileşik 6’nın aynı hücre hattı üzerine IC₅₀ değerleri 7.307 µg/mL, 9.888 µg/mL, 10.63 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bu iki bileşiğin BEAS2B hücre hattı üzerine de sitotoksik etkisi görülmüştür. Bileşiklerin antimikrobiyal etkileri çeşitli bakteri ve maya suşları üzerine minimum inhibisyon konsantrasyonu yöntemi ile belirlenmiştir. Bileşiklerin bakteri ve maya üzerine antimikrobiyal etkisinin güçlü olmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kinolin-Peptid konjugatı, Sitotoksosite, Antimikrobiyal

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF THE CYTOTOXIC AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF NEW QUINOLINE PEPTIDE CONJUGATES

Emine ADIYAMAN

Inonu University

Graduate School of Nature and Applied Sciences

Department of Biotechnology

57 +viiiipage

2022

Supervisor: Prof. Dr. Elif APOHAN

Co-Supervisor: Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

Cancer is one of the important health problems that cause death in Turkey and in the world. Today, many treatment methods such as radiotherapy and chemotherapy are applied in cancer patients. Quinoline and its derivatives, which are among heterocyclic compounds, have many biological species and properties for the development of drugs. Quinoline compounds have an important role in anticancer drug development as they show anticancer activity.

In this study, the cytotoxic effects of seven different quinoline derivatives synthesized on lung cancer (A549) and healthy lung epithelial cell (BEAS2B), liver cancer (Hep 3B), and endothelial cell (Huvec) were determined. Different concentrations were applied and IC₅₀ values were calculated at different time courses. The IC₅₀ values of compound 2 on the A549 cell line were determined as 10.48 µg/mL, 9.738 µg/mL, and 10.14 µg/mL. IC₅₀ values of Compound 6 on the same cell line were determined as 7.307 µg/mL, 9.888 µg/mL, 10.63 µg/mL. The cytotoxic effects of these two compounds were also observed on the BEAS2B cell line. The antimicrobial effects of the compounds were determined by the minimum inhibition concentration method on various bacteria and yeast strains. It was determined that the antimicrobial effect of the compounds on bacteria and yeast was not strong.

Keywords: Quinoline-peptide conjugates, cytotoxic, antimicrobial

1. GİRİŞ

Kanser, hücrenin homeostasisinin bozulması sonucunda ortaya çıkan, hücre dışı sinyallere yanıt verme yeteneğinin ve hücreler arası iletişimin etkilendiği, bazı hücre içi olayların tetiklenmesi sonucunda ortaya çıkan kontrolsüz olarak hücre bölünmesine sebep olan bir dizi mekanizmalar ürünüdür (Gakhar ve diğ. 2008). Kanser yıllardır araştırılmayı ve sonuca kavuşturulmayı bekleyen önemli hastalıkların başında gelmektedir. Her yıl kanser vakalarının büyük çoğunluğuna bağlı olarak ölüm sayısında önemli artışlar görülmektedir. Şu anda, kanser hastalıkları Polonya ve ABD'de ikinci ölüm sebeplerinin başında gelmektedir (Lewandowska ve diğ, 2021; Siegel ve diğ, 2021). Türkiye verileri incelendiğinde ise erkeklerde en sık akciğer ve prostat kanserleri görülürken, kadınlarda bu istatistik meme kanserini göstermektedir. Teşhis konulan kadın kanser hastalarının yaklaşık yüzde 25'i meme kanseridir. Türkiye İstatistik Kurumu'nun (TÜİK) verilerine göre ise, Türkiye'de rapor edilen ölüm nedenlerinin %20'sinin kanser sebebi olduğu belirtilmektedir. Kanser, hem hastayı hem de hasta yakınlarını psikolojik olarak etkileyen hastalıklardandır. Günümüzdeki biyomedikal ilerlemelere rağmen kanser hastalıkları halen ölüm ve acı çekme ile yan yana anılmaktadır(Güleç ve Büyükkınacı, 2011). 2020 yılında yapılan bir araştırmada, ülkemizde de en yaygın olan bazı kanser türlerinin, dünya çapında görülme sıklığı ve cinsiyete bağlı dağılımları Çizelge 1.1'de ve cinsiyete bağlı ölüm oranları Çizelge 1.2'de verilmiştir (Ferlay ve diğ, 2021).

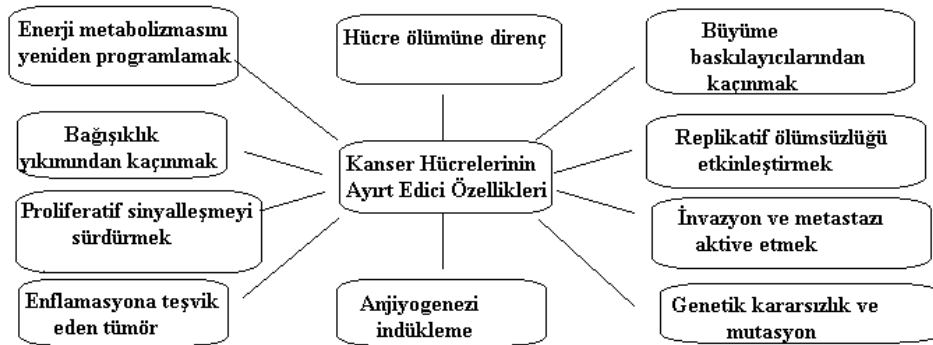
Çizelge 1.1: Dünya üzerindeki bazı kanser vakalarının cinsiyete bağlı dağılımları ve 0-75 yaş arası risk %'leri (Ferlay ve diğ, 2021).

Kanser türleri	Erkek X 1000	0-75 yaş arası birikim %'si	Kadın X 1000	0-75 yaş arası birikim %'si
Akciğer	1435.9	3.78	770.8	1.77
Karaciğer	632.3	1.65	273.4	0.60
Mide	719.5	1.87	369.6	0.79
Kolon	600.9	1.49	547.6	1.12
Böbrek	271.2	0.70	160.0	0.36
Prostat	1414.3	3.86	-	-
Meme	-	-	2261.4	5.20
Testis	74.5	0.14	-	-
Tükürük bezi	29.7	0.07	23.9	0.05
Tiroid	137.3	0.33	448.9	1.02

Çizelge 1.2: Dünya üzerindeki kanser türlerinin cinsiyete bağlı ölüm oranları ve 0-75 yaş arası risk %'leri (Ferlay ve diğ, 2021).

Kanser türleri	Erkek X 1000	0-75 yaş arası birikim %'si	Kadın X 1000	0-75 yaş arası birikim %'si
Akciğer	1188.7	3.08	607.5	1.34
Karaciğer	577.5	1.49	252.7	0.55
Mide	502.8	1.29	266.0	0.55
Kolon	302.1	0.66	274.7	0.45
Böbrek	115.6	0.28	63.8	0.12
Prostat	375.3	7.7	-	-
Meme	-	-	685.0	1.49
Testis	9.3	0.02	-	-
Tükürük bezi	29.7	0.07	23.9	0.05
Tiroid	15.9	0.04	27.7	0.05

Yapılan çalışmalar sonucu ulusal tahminler, popülasyona dayalı kanser kayıtlarından (PBCR) kanser insidansı ve Dünya Sağlık Örgütü ölüm veri tabanından elde edilen bilgiler doğrultusunda hesaplanmıştır (Ferlay ve diğ, 2021). Normal hücrelerin kanser hücrelerine dönüştürülmesinde kanser hücrelerinin farklı özellikleri sonucu hücreSEL, genetik ve epigenetik değişiklikler meydana gelir. Bu süreçte hücrede görülen değişiklikler yavaş bir zaman diliminde gerçekleşir. Mutasyonun bu süreçte rol alması kanser hücrelerine dönüşümüne neden olur (Roy ve Datta, 2019). Kanser hücrelerinin sağlıklı hücrelere nazaran belirli farklılıkları vardır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1: Kanser hücrelerinin ayırt edici özellikleri

Kanser hücrelerinin ayırt edici özelliklerinden dolayı hücrelerin özelleşmiş özelliklerini kaybetmesiyle doku organizasyonu engellenir. Normal hücrelerin kontrolü;

hücreyi bölünme, yavaşlatma, durdurma, hasarlı hücrelerdeki değişiklikleri düzeltme ve apoptoza girme gibi büyüme baskılayıcıları tarafından kontrolü sağlanır. Büyüme baskılayıcılarında meydana gelen mutasyon sonucu baskılayıcı özellikler etkisini kaybederek kanser hücreleri bölünmeye başlar (Roy ve Datta, 2019).

1.1 Kanser Hücre Hatları

Tez çalışmasında kullanılan hücre hatları: A549 (küçük hücre dışı akciğer adenokarsinom), Hep3B (karaciğer kanseri), HUVEC (endotelial hücresi) ve BEAS2B (sağlıklı akciğer epitel hücre hattı) çalışmalarda kullanılmaktadır.

1.1.1 Akciğer kanseri (A549)

Akciğer kanseri, dünyada ilk sırada yer alan kanser türleri arasındadır. Ulusal Akciğer Tarama Çalışmaları (NLST) bir grup sigara içen kişilerin akciğer kanserine yakalanma riskinin yüksek olduğu sonucuna ulaşmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan kanser taramaları ise tomografi kullanılarak göğüs röntgeni görselleri ile belirlenmektedir (Flores, 2014). Birleşik Devletlerde, teşhis edilen en yaygın kötü huylu tümörlerden olan akciğer kanseri diğer kanser türlerine oranla en önlenebilirler arasında bulunmaktadır. Akciğer kanserinde de erken teşhis ve tedavi oldukça önemlidir (Cersosimo, 2002).

Erkeklerde birinci sırada görülen kanser türü akciğer kanseridir. Akciğer kanserleri küçük hücreli karsinomlar ve küçük hücre dışı karsinomlar olarak iki grupta sınıflandırılır. İlk defa 58 yaşındaki bir erkek hastadan izole edilen A549 hücre hattı adenokarsinoma insan alveolar epitelyum hücresidir. Adjuvanın sisplatin veya karboplatin içermesi kanser tedavi yöntemi olan kemoterapide büyük bir avantaj sağlamaktadır. Radyasyon tedavisinde ise paklitaksel, dosetaksel, gemsitabin, vinorelbin, irinotekan ve topotekan, gibi ajanların yer alması tedavi sırasında önemli etkinlik göstermektedir (Cersosimo, 2002; Cooper ve diğ, 2016; Giard ve diğ, 1973).

1.1.2 Karaciğer kanseri (Hep 3B)

Primer karaciğer kanseri, Hepatosellüler karsinom (HCC) ve hepatoblastoma (HB) beşinci ve üçüncü sırada yer alan dünyada yaygın olarak görülen katı tümörler arasındadır (Calvisi ve diğ, 2006). Bu özel kanserlerin *in vitro* çalışmaları sırasında HepG2 ve Hep 3B hücre hatları kullanılmaktadır (Qiu ve diğ, 2015). Hepatosellüler karsinomuna hem gelişmekte olan ülkelerde hem de bazı gelişmiş ülkelerde oldukça fazla rastlanmaktadır.

Kronik karaciğer hastalıkları, viral hepatitler, aflatoksinler ve nitrosoaminler gibi diyet kanserojenleri HCC'nin vaka sayısını artırmaktadır. Kanser türünde tedavi yöntemi olarak karaciğer nakli ve cerrahi teknikler uygulanmaktadır. Antioksidan ve anti-inflamatuar özellik içeren mekanizmalar tedavide avantaj sağlamaktadır (S Darvesh ve diğ, 2012).

1.1.3 Endotelial hücre (HUVEC)

Kardiyovasküler hastalık (KVH) dünyada yaygın olarak meydana ölüm nedenlerindedir ve bu hastalığı araştırmak için deneysel yöntemler kullanılmıştır. Endotel, monositler ve trombositler gibi kan dolaşımı bileşenleri ve diğer arter duvarı bileşenleri arasında bir arayüz olduğundan, CVD'nin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Göbek kordonundan insan göbek damarı endotel hücresi (HUVEC) ilk olarak 1973'te tanımlanmıştır. HUVEC, kardiyovasküler ve metabolik hastalıklar olmak üzere birçok hastalığın araştırılmasında etkili olması nedeniyle en önemli modeller arasında bulunmaktadır (Medina-Leyte ve diğ, 2020). KVH hastalığıyla ilgili aterogenez birincil patolojik mekanizma olarak ele alınır. Bu mekanizma ise vasküler endotelin bütünlüğünün kaybıyla veya endotel disfonksiyonu ile başlar ve ilerlemesi sonucunda arter duvarında tromboz, doku ve dokuların yaralanması, disfonksiyon gibi damar hasarına ve tıkanmasına neden olur (Marchio ve diğ, 2019). Endotel hücreleri, besinlerin, hormonların ve beyaz kan hücrelerinin transferine ve anti-inflamatuar yanıtla katılmasının yanı sıra kan ve organlar arasında bir bariyer görevi de görmektedir (Onat ve diğ, 2011).

1.1.4 Sağlıklı akciğer epitel hücresi (BEAS2B)

BEAS2B, insan bronş epitelinden ölümsüzleştirilen tümörojenik olmayan bir epitel hücre hattıdır. Bronş epitelial kökenin biliniyor olması, BEAS2B hücre hattının solunum yolu ile ilgili hastalıkların çalışılmasında *in vitro* hücre modeli olarak kullanılmasının temel nedenlerinden biridir(Han ve diğ, 2020).

Ölümsüzleştirilmiş ancak tümörojenik olmayan ve çalışmalarda yaygın bir şekilde kullanılan BEAS2B, 1988 yılında Curtis C. Harris ve ark. tarafından kanser hastası olmayan bir bireyin normal insan bronş epitelinden elde edilerek oluşturulmuş bir hücre hattıdır. Hücre hattının elde edilmesinde adenovirüs 12-SV40 hibrit virüsü ile transfeksiyon gerçekleştirilmiş daha sonra ardışık hücre geçişi yöntemi aracılığıyla ölümsüzleştirme yolu kullanılmıştır (Reddel ve diğ, 1988). Bu hücre hattı, akciğer karsinogenezini ve hatta akciğer karsinogenezinde epitelial-mezenkimal geçişin (EMT) rolünü de anlamak için oldukça sık bir şekilde kullanılmaktadır (Veljkovic ve diğ, 2011). BEAS2B hücre hattı, potansiyel

pulmoner toksisite veya akciğer kanserojenitesi olan çeşitli kimyasalları ve biyolojik ajanları test etmek veya taramak için bir *in vitro* hücre modeli olarak kullanılmıştır (Ha ve diğ, 2007; Vallabani ve diğ, 2011).

1.2 Antikanser Çalışmalarında Kullanılan Bazı İnorganik Terapötikler

Terapötik ajanların lösemik hastalıklarda etkinlik göstermesi, farklılaşma terapisine olan ilgiyi arttırmıştır. Umut verici bir potansiyele sahip olan antikanser ajanların doğal ve sentetik bileşiklerinden protein kinaz analogları, bütirik asit, vitamin D-3, pürin ve pirimidin türevleri gibi farklı sınıflar üzerinde çalışmalar yapılmıştır (Rephaeli ve Nordenberg, 1994).

Günümüzde inorganik kimya çalışmaları tıbbi alanlarda çok geniş yer tutmaktadır. İnorganik kimya metotları ile terapötik ajanların, tanısal metal ve metal komplekslerinin üretilmesi ve tıbbi uygulamalarda kullanımının önemli pozitif etkileri vardır. Kanser tedavisinde metal kompleks içeren ilaçlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Metallerin, su ortamında negatif biyolojik moleküllere bağlanarak pozitif iyonlar üretme potansiyelinden dolayı antikanser çalışmalarında tercih edilmektedir (Haas ve Franz, 2009; Sun ve diğ, 2007). Farmakolojik ve antitümör aktivite özelliğine sahip toksik etkileri azaltan koordinasyon bileşikleri geliştirilmiştir. Lantanit bazlı kompleksler fenantrolin, plumbagin, kersetin, kinolon, Schiff bazları, kumarin, transferrin, 5-florourasil, akridin, benzotiyazol, porfirinler ve kokainler farklı ligandlara göre sınıflandırılmaktadır. Lantanitlerin kompleksleri, antitümör aktivite spektrumu sağlamakla birlikte, radyo immünoterapi ve fotodinamik terapide ajan olarak görev almaktadır (Chundawat ve diğ, 2021).

Kanser, anormal hücre büyümesi nedeniyle ortaya çıkan kötü huylu bir hastalıktır. İnsan vücudu trilyonlarca canlı hücreden oluşmaktadır ve vücut hücreleri, yeni hücreler oluşturmak için bir hücre bölünmesini gerçekleştirmektedir. Sağlıklı bir hücre bölünmesinde bölünme süreci hızlıdır ancak belirli bir yaştan sonra bu olay yavaşlar ve eski hücrelerin yıpranmasını onarmak ve yok olan hücrelerin yerini almak için ortaya çıkar. Ancak kanser sırasında hücre büyümesi, normal hücre bölünmesinden tamamen farklıdır. Kanser hücrelerinin sürekli bölünmesi sonucu yeni kanserli hücrelerin üretilmesiyle farklı dokular da etkilenmektedir. Sisplatin, oksaplatin ve karboplatin gibi platin bileşikleri, metal bazlı kemoterapi anti-kanser ilaçlarıdır. Birkaç Ln(III) kompleksinin, DNA'ya bağlanma ve antioksidan aktivite gibi biyolojik aktiviteleri bulunmaktadır (Wang ve diğ, 2007; Xu ve diğ, 2009). Lantanit komplekslerinin sitotoksik etkisi lantanit-DNA etkileşimleri, mitokondride

kalsiyum taşınmasının inhibisyonu ve apoptoza dayanmaktadır (Chundawat ve diğ, 2021; Kwong ve diğ, 2013).

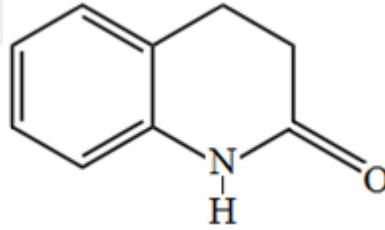
Birçok gıda kaynaklı fitokimyasallar ve türevlerinin fazla olması yeni kanser karşıtı bileşiklerin keşfine olanak sağlamaktadır. Luteolin (3,4,5,7-tetrahidroksi flavon), sebzeler, şifalı otlar ve meyveler gibi farklı bitkilerin yapısında bulunan bir flavonoiddir. Akciğer, meme, glioblastoma, prostat, kolon ve pankreas kanserleri gibi çeşitli insan malignitelerine karşı bir antikanser ajanı görevi görür. Aynı zamanda, tümör hücrelerinin çoğalmasının inhibisyonu, kanserojen uyarılardan korunma ve hücre döngüsünü durdurma aktivasyonu ve farklı sinyal yollarıyla apoptozu indükleyerek kanser gelişimini *in vitro* ve *in vivo* bloke etme özelliğine sahiptir (Imran ve diğ, 2019).

Sisplatinin, bir antikanser kemoterapötik ajan olduğunun rapor edilmesinin ardından potansiyel antikanser ajan olarak metal ilaçların üretimi alanında ciddi atılımlar gerçekleşmiştir. Antikanser ajan olarak sisplatin, oksaliplatin, karboplatin vb. metal bazlı ilaçlar üretilerek kanserleri tedavi etmek için kullanılmıştır. Klasik olmayan metal bazlı kemoterapötikler arasında rutenyum merkezli antikanser ilaçları olarak NAMI-A“(imidazol)RuCl₄(DMSO)(imidazol)”ve KP1019 “(indazol)RuCl₄(DMSO) (indazol)” klinik deneylerde uygulanmasına rağmen bu tür ilaçların üretimi maliyetli olduğu için kanser tedavisinin kullanımında engel olmuştur. Bu nedenle, bilim insanları yeni metal bazlı antikanser ajanlar geliştirmek üzere çalışmalarını geçiş metallerinden biyoesansiyel element olan özellikle bakır ve çinko üzerine yoğunlaştırmışlardır (AlAjmi ve diğ, 2018; Qiao ve diğ, 2011). Bakır, hem endojen DNA hasarı hem reaktif oksijen türleri (ROS) hem de nükleobaz affinitesi oluşturur. Bu durum ise proliferasyon aktivitesini destekler (Khodade ve diğ, 2012). Büyüme ve gelişme için çinko iyonu gereklidir; hücrelerin metabolizmasını düzenler ve ayrıca çeşitli antikanser ilaçları ile ilişkili kardiyotoksisite ve hepatotoksisiteyi azaltan hücre metabolizmasında önemli bir düzenleyici iyondur (Ali ve diğ, 2002).

Bakır ve çinko metalleri, DNA'ya ve proteine karşı ilgiye (affiniteye) sahip olmakla birlikte tutunma eğilimleri çoğunlukla organik motiflere bağlıdır. Bu bağlamda, benzimidazol parçaları, metal merkezleri, düzlemsellik için koordinasyon potansiyeli taşıdıkları ve proteinlerdeki imidazol fonksiyonlarını taklit ettikleri için farklılık göstermektedir (Gupta ve diğ, 2013). (AlAjmi ve diğ, 2018; Kahveci ve diğ, 2015). İmidazol ve benzimidazol gibi azot içeren heterosiklik bileşikler, farmakofor sınıfının bir çerçevesini oluşturur.

1.2.1 Kinolin

Kinolin, C_9H_7N formülüne sahip benzen halkası içeren bir çift halkalı yapısı olan heterosiklik aromatik organik bir bileşiktir (Şekil 1.2). Molekül ağırlığı 129,16 g/mol olan kinolinin kaynama noktası $237,2^{\circ}C$ 'dir. Kinolin, nitrojenle birlikte sekiz pozisyona sahiptir ve bu özelliği ile antikanser etki göstermektedir. Kimyasal olarak türetilmesi belirli farmakolojik özelliklere yol açan en temel farmakoforlar olarak adlandırılmaktadır. Kinolin ayrıca benzopiridin, benzo[b]piridin, 1-benzazin ve benzazin olarak da bilinmektedir. Suda az çözünür, alkol, eter ve diğer birçok organik çözücüde çözünür, higroskopik, sarımsı yağlı bir sıvıdır (Ferlin ve diğ, 2005). Kinolin, antibakteriyel, antifungal, anti-leishmanial, antimalarial, anti-protozoal, antimalaryal, antikanser, kardiyovasküler antioksidan, antikonvülsan, analjezik, anti-inflamatuar, antelmintik antioksidan ve antikanser özellikleri içermesiyle biyolojik olarak etkinliği fazladır. Antikanser ilaç üretimi ve geliştirilmesinde kanser önleme potansiyeli olan kinoline araştırmalarda öncelik verilmiştir (Dorababu, 2020; Jain ve diğ, 2019).



Şekil 1.2: Kinolinin halkasal modeli (Yernale, 2021)

Heterosiklik bileşikler arasında olan kinolin ve biyolojik türevleri, yeni ilaç geliştirme çalışmalarında önemli bir bileşik sınıfını oluşturmaktadır (Yernale, 2021). Saf olmayan bir kinolin ilk olarak Rungel tarafından kömür katranından elde edilmiştir. 1834'de Gerhardt onu bir bozunma ürünü olarak elde edilen kinin ve cinchonin daha sonra ise kinolin olarak adlandırmıştır. Kömür katranı ise izokinolin alkil kinolin ve alkil izokinoli içermektedir. Bu bileşiklerin özelliklerinin araştırılması ise saf kinolinin üretiminin öncesine dayanmaktadır. Saf kinolin veya benzo [b] piridin (1), $20^{\circ}C$ 'de suda pKa 4.85 olan, renksiz yağlı higroskopik bir sıvıdır. Işığa maruz kaldığında kararır, ancak bunun dışında çok kararlıdır ve yüksek kaynama noktasına sahip bir çözücü olarak kullanılır. logP değeri 2.04'tür ve asidik pKa'sı 4.85'tir. Zayıf bir üçüncül baz olmakla birlikte kinolin, asitlerle tuz oluşturarak piridin ve benzen benzeri reaksiyonlar göstermektedir. Hem elektrofilik hem de nükleofilik özellikleri içeren reaksiyonları gösterir. Birçok indirgenmiş kinolin; 1-2

dihidrokinolin (2); 1, 2, 3, 4-tetrahidrokinolin (3) ve dekahidrokinolin (4) olarak bilinmektedir. Kinolin kalay ve hidroklorik asit ile 1, 2, 3, 4- tetrahidrokinolin'e indirgenir. 1, 2-Dihidrokinolin, ise aromatik yapıya kolayca oksitlenen renksiz bir katıdır. 1, 2-Dihidrokinolin, kinolinin sıvı amonyak içerisinde lityum alüminyum hidrit ve sodyum ile indirgenmesi yoluyla elde edilmiştir. 1, 2-Dihidrokinolinler, Skaurp sentezinde ara ürünler olarak oluşturulur (Yernale, 2021).

Kinolin halka sistemi çeşitli doğal ürünlerde, özellikle alkaloidlerde bulunur ve farmakolojik özelliklere sahip birçok sentetik bileşiğin hazırlanmasında da kullanılmaktadır. İlaç olarak kullanılan kinolin bileşikleri bazı doğal ürünlerde de bulunmaktadır. Kinolin türevlerinin patojenlere ve çeşitli hastalıklara karşı ilaç molekülleri olarak kullanılmasına artan bir ilgi vardır.

1.2.1.1 Bazı kinolin türevleri

Heterosiklik bileşikler arasında olan kinolin ve türevleri ilaçların geliştirilmesi açısından birçok biyolojik tür ve özelliği bulundurmaktadır. Kinolin bileşikleri, antikanser aktivite gösterdikleri için antikanser ilaç gelişiminde önemli bir rolü vardır (Jain ve diğ, 2019). Kinolin türevleri, mono-, di-, tri-, tetra- ve heterosiklik yapıda sentezlenmiş olup sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir. Kinolinin hücre döngüsünü durdurma, apoptoz, anjiyogenezin inhibisyonu, hücre göçünün bozulması ve modülasyon yoluyla büyüme inhibitörleri gibi farklı etki mekanizmaları etkilemesi üzerine çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Gasparotto ve diğ, 2006; Jain ve diğ, 2019). İzokinolin, nitrojen pozisyonunda kinolinden farklı olan bir kinolin türevidir (Gasparotto vd., 2006). Kinolin bileşiklerini sentezlemek amacıyla kullanılan yöntemler temelde anilin türevlerinin gliserin ve karbonil bileşikleri ile asitle katalize edilmesi reaksiyonlarına dayanmaktadır. Kinolinin yapısal motifini sentezlemek için çeşitli sentetik yollar bulunmaktadır. Bunlar:

- Combes,
- Skraup,
- Conrad-Limpach,
- Povarov,
- Doebner,
- Doebner-Miller,
- Gould-Jacobs ve
- Riehm Reaksiyonu'dur.

Bu reaksiyonlar dışında Friedländer, Knorr, Pfitzinger, Niementowski, Meth-Cohn ve Camps Reaksiyonları kullanılarak da kinolin bileşikleri elde edilebilir (Bharate ve diğ, 2015).

Kinolin ve izokinolin alkaloidleri çiçekli bitkilerden, hayvanlardan ve mikroorganizmalar gibi doğal kaynaklardan elde edilmektedir. Doğal kaynaklardan elde edilen kinolin ve türevleri biyokimya, biyomedikal alanında kullanılmaktadır. Kinolin ve türevleri antimikrobiyal, antitümör, antifungal, hipotansif, anti HIV, antiinflamatuvar aktiviteye sahiptir. Kinolin ve analogları, tirozin kinazlar, proteazom, tübülün polimerizasyonu, topoizomeraz ve DNA onarımı üzerindeki inhibisyon işlevinin incelenmesi sonucunda biyoaktif bir molekülün uygun bir pozisyonunda yer değiştirmesiyle bir farmakolojik etki gösterdiği ortaya çıkmıştır (Gasparotto ve diğ, 2006). İnterkalasyon, farklı türde atomların molekülleri veya grupları (katmanları) arasına, moleküler, iyonlar veya atomların geri dönüşümlü olarak bir girişidir (Richards ve Rodger, 2007). Araya giren ligandlar, uzatılmış bir şekilde elektron eksikliği olan bir düzlemsel aromatik halka sistemiyle karakteristik özellik göstermektedir. Bağlandıktan sonra, deoksiriboz – fosfat omurgasını uzatır ve çözerler ve düzlemsel aromatik bazlarla ise p – p şeklinde dizilerek etkileşime girmektedirler. Ara katlanma sırasında, baz çifti katmanları arasındaki bükülmenin ve DNA'nın uzamasına, sarmalın sertleşmesine ve birim uzunluk başına kütle azalmasına neden olarak DNA'da hidrodinamik değişikliklere yol açmaktadır (Richards ve Rodger, 2007).

Kinolin türevleri, DNA interkalasyonu yoluyla sitotoksiste özelliği gösteren ve replikasyon sürecinde girişime neden olan çok sayıda antiproliferatif ajanı temsil eder (Ryckebusch ve diğ, 2008). Aktinomisin D, doksorubisin ve streptonigrin, DNA interkalasyonu yoluyla antibakteriyel veya anti-kanser aktivitesine sahip kinolin analoglarıdır. Bu ilaçların çoğu insan malignitelerini hedef alan topoizomeraz (tip II) enzimlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. "Zehirler" olarak adlandırılan topoizomeraz inhibitörleri, bölünebilir kompleksler oluşturmak için DNA ile etkileşime girerek, bir dizi hücresel olayı tetikleyen kalıcı DNA hasarına neden olarak, sonunda apoptozu veya diğer hücre ölümlerini indükler (Schmidt ve diğ, 2008).

1.3 Apoptoz

Programlanmış hücre ölüm şeklidir. İlk olarak Kerr, Wyllie ve Currie tarafından 1972 yılında kullanılmıştır. (Kerr, 2002). Apoptoz süreci, farklı morfolojik özellikler ve

enerji temelli biyokimyasal mekanizmalarla ifade edilir. Apoptoz; normal hücre döngüsünde, immün sisteminin gelişiminde, embriyonik gelişim basamaklarında, hormona bağlı atrofi ve hücrelerin kimyasal kaynaklı ölümü gibi çeşitli mekanizmaların önemli bir bileşeni olarak bilinmektedir. Çok az veya çok fazla olarak gerçekleşen apoptoz nörodejeneratif hastalıklar, iskemik hasar, otoimmün bozukluklar ve birçok kanser türü olmak üzere insanlar üzerinde önemli bir yere sahiptir. Bu durumu ortaya koymak için bilim insanları hücre döngüsü mekanizmasının aydınlatılmasına analizine ve hücre döngüsünün durması ve apoptozu kontrol eden sinyal yolları üzerinde çalışmalara yönelmişlerdir (Kerr, 2002). Memeli hücrelerinde apoptoz süreci, nematod *Caenorhabditis elegans* Horvitz, gelişimi sırasındaki meydana gelen değişimlerinin incelenerek programlanmış hücre ölümü araştırılmıştır. Bu organizmanın yetişkin oluşumunda 1090 somatik hücre ürettiği ve bu hücrelerin 131'inin apoptozu veya "programlanmış hücre ölümüne" maruz kalarak belirli noktalarda ölüm gerçekleştiği görülmüştür (Debnath ve diğ, 2005; Formigli ve diğ, 2000).

Apoptoz, hücre gelişimi ve yaşlanma sırasında dokulardaki hücre popülasyonlarını korumak için homeostasi görevini üstlenirken, bağışıklık reaksiyonlarında hücrelerin hastalık veya zararlı ajanlar tarafından hasar durumunda savunma mekanizmasını oluşturur (Norbury ve Hickson, 2001). Apoptozu tetikleyen fizyolojik ve patolojik uyaranlar, tüm hücrelerde aynı uyarana yanıt olarak ölüm gerçekleştirmez. Örneğin, kanser kemoterapisi için kullanılan ilaçlar veya ışınlama, bazı hücrelerde DNA'yı hasara uğratarak p53 yolunu kullanarak hücreyi apoptotik ölüme sürükler. Bunun yanı sıra bazı hücreler ise ligand bağlama ve protein çapraz bağlama yoluyla Fas veya TNF reseptörlerinin ekspresyonu aracılığıyla apoptozu yol açabilirler (Hirsch ve diğ, 1997; Zeiss, 2003).

1.3.1 Apoptozun morfolojisi

Apoptoz sırasında, meydana gelen çeşitli morfolojik değişiklikler ışık ve elektron mikroskopu, kullanılarak incelenmiştir (Häcker, 2000; Kerr, 2002). Hücre küçülmesi ile hücrelerin boyutu küçülür, sitoplazma miktarı yoğundur ve organeller sıkı bir şekilde paketlenmiş halde bulunurlar. Apoptozun karakteristik özelliklerinden biri olan piknoz, kromatinin yoğunlaşması sonucu oluşur.

Apoptotik hücre, yoğun mor nükleer kromatin fragmanları ile yuvarlak veya oval bir kütle görünümündedir. Kromatinin yoğunlaşma basamağının başlarında, elektron bakımından yoğun nükleer materyal nükleer membranın altında periferde toplanmaktadır. Plazma zarının kabarmasının ardından apoptotik cisimlerde ayrılma gerçekleşir. Apoptotik cisimler, nükleer fragmanlı veya nükleer fragmansız olarak sıkıca paketlenmiş organellere

sahip sitoplazmadan oluşur. Daha sonra bu apoptotik cisimler makrofajlar, parankimal hücreler veya neoplastik hücrelerle fagosite edilir ve fagolizozomlar içinde parçalanırlar (Şekil 1.3). Apoptoz süreciyle veya apoptotik hücrelerin uzaklaştırılmasında inflamasyon olayı gerçekleşmez hücreler kendi kendini yok eder (Fadok ve diğ, 2001; Kurosaka ve diğ, 2003; Savill ve Fadok, 2000).



Şekil 1.3: Apoptozun morfolojisi

Apoptoz, kaspaz aktivasyonunun bir hücreyi ölüme götürmesi ve ölü hücreyi uzaklaştırma amacına hizmet eden yutma genleri ile geri dönüşü olmayan bir süreçtir.

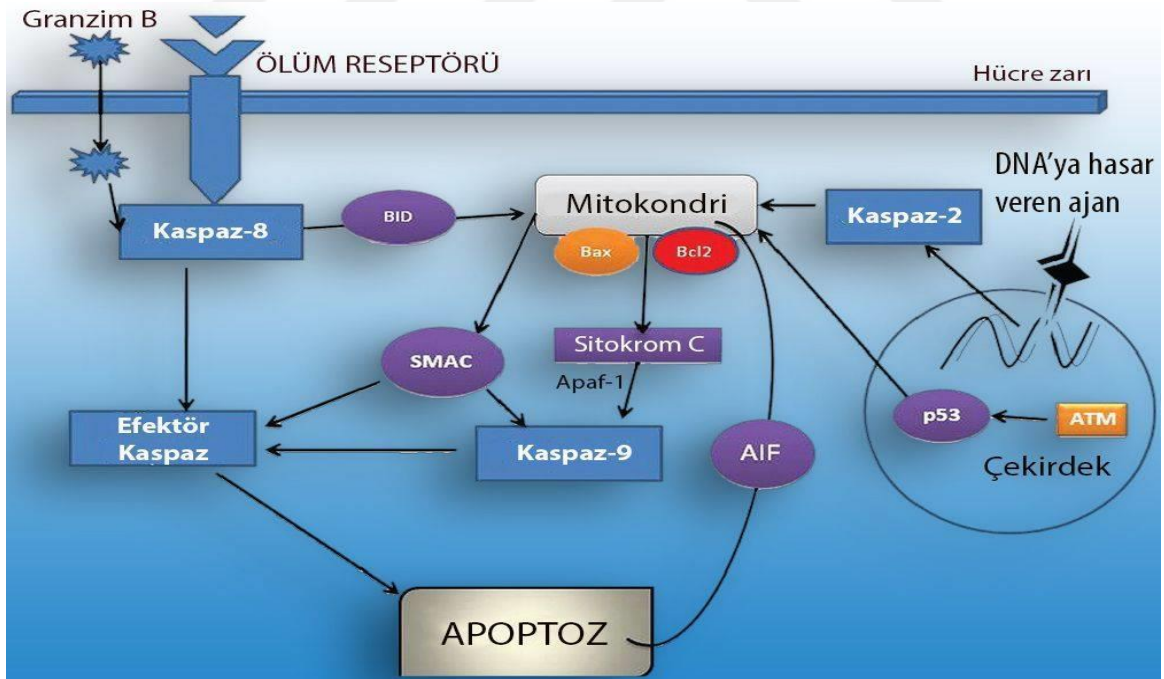
1.3.2 Apoptozun biyokimyasal özellikleri

Apoptotik hücreler, protein bölünmesi, proteine çapraz bağlanma, DNA parçalanması ve fagositik tanıma vb. biyokimyasal modifikasyon özelliklerine sahiptir (Hengartner, 2000). Kaspazlar, birçok hücrede aktif olmayan bir proenzim biçiminde yaygın bir şekilde eksprese edilir ve bir kez aktive edildiklerinde diğer prokaspazları aktive ederek bir proteaz kaskadının başlatırlar. Proteolitik kaskad, apoptotik sinyal yolunu güçlendirerek hücre ölümü olayını gerçekleştirir.

Kaspazlar, proteolitik aktiviteye sahiptir ve aspartik asit kalıntılarındaki proteinlerin parçalanmasının yanı sıra farklı kaspazların komşularının tanınmasını içeren farklı özgüllükleri vardır. Kaspazlar başlatıcı (kaspaz-2,-8,-9,-10), efektörler veya uygulayıcılar (kaspaz-3,-6,-7) inflamatuvar kaspazlar (kaspaz-1,-4,-5) olarak sınıflandırılır (Cohen, 1997; Rai ve diğ, 2005).

1.3.3 Apoptozun mekanizmaları

Apoptoz mekanizmaları, enerji bağımlı moleküler olaylar zincirinden oluşan son derece kompleks bir süreçtir. Günümüzde araştırmalar, iki ana apoptotik yol olduğunu göstermektedir: Bunlardan ilki “Dışsal veya ölüm reseptör yolu” iken ikincisi “içsel veya mitokondriyal yol”dur. İki yol da birbirleri ile bağlantılı olmakla birlikte bir yoldaki moleküller diğer yolu etki etmemektedir (Igney ve Krammer, 2002). Perforin/granzim yolu T-hüresi aracılı sitotoksisiteyi ve hücrenin perforin-granzime bağımlı bir şekilde öldürülmesini içeren ve apoptozu tetikleyen bir yoldur. Kaspaz, apoptozu kontrol eden gen olmakla birlikte aspartik asitten sonraki peptid bağımlı kırıncı sistein proteazlarıdır. Kaspaz aktivasyonu, hücre ölüm tipleri arasında apoptozda kilit rol oynar. Apoptozun mitokondriye bağımlı içsel yolunda, mitokondri zarının etkilenmesine bağlı olarak Bcl-2 ailesi proteinleri prokaspaz-9’u aktifleştirir ve reseptör bağımlı dışsal yolda hücre zarındaki reseptörler aracılığı ile prokaspaz-8 aktifleştirilir. Apoptozun içsel yolundaki kaspaz-9, dışsal yolda ise kaspaz-8 aracılığı ile ortak yoldaki kaspaz-3 aktive edilir ve hücre apoptozu sevk edilir (Metzstein ve diğ., 1998; Mirkes, 2002). Apoptozun işleyiş mekanizması kısaca şekil 1.4’te gösterilmiştir.



Şekil 1.4: Apoptozun işleyiş mekanizması (Giampazolias ve diğ., 2017)

Dışsal ve içsel granzim B yollarındaki etkinlik kaspaz-3'ün bölünmesiyle başlar. DNA parçalanması, hücre iskeleti ve nükleer proteinlerin bozulması, proteinlerin çapraz bağlanması, apoptotik cisimlerin oluşumu, fagositik hücre reseptörleri için ligandların

ekspresyonu ile devam eden süreç, apoptotik hücrenin fagositoz yapan hücreler tarafından alınması ile son bulur(Martinvalet ve diğ, 2005).

1.3.3.1 Dışsal yol

Apoptozu başlatan dışsal sinyal yolları, transmembran reseptör aracılı etkileşimler olan tümör nekroz faktörü (TNF) reseptör gen süper ailesinin üyeleri olan ölüm reseptörlerini içerir (Locksley ve diğ, 2001). TNF reseptör ailesinin üyeleri sistein amino asidi açısından zengin olup benzer hücre dışı alanları paylaşırlar ve bu alanlar 80 amino asitlik bir sitoplazmik alana sahip olduğu için ölüm alanı olarak adlandırılmaktadır (Ashkenazi ve Dixit, 1998). Bu ölüm alanı, ölüm sinyalini hücre yüzeyinden içi sinyal yollarına iletilmesinde rol oynar (Ashkenazi ve Dixit, 1998; Chicheportiche ve diğ, 1997; Peter ve Krammer, 1998; Rubio-Moscardo ve diğ, 2005; Suliman ve diğ, 2001).

Apoptozun dışsal fazı FasL/FasR ve TNF- α /TNFR1 modellerini içeren olaylar dizisi ile tanımlanmaktadır. Bu modellerin, homolog trimerik liganda bağlanması ile reseptöre karşılık gelen ölüm alanlarını sergileyen sitoplazmik adaptör proteinleri toplanır (Hsu ve diğ, 1995; Wajant, 2002). FADD, ölüm efektör alanının dimerizasyonu yoluyla prokaspaz-8 ile birleşerek oto-katalitik aktivasyonla sonuçlanan bir ölüme neden olan sinyal kompleksini (DISC) oluşturur (Kischkel ve diğ, 1995). Kaspaz-8 etkinleştirildiğinde, apoptozun yürütme aşaması tetiklenir. Ölüm reseptör aracılı apoptoz, c-FLIP adı verilen, FADD ve kaspaz-8'e bağlanacak, onları etkisiz hale getirecek bir protein tarafından inhibe edilmektedir (Kataoka ve diğ, 1998; Scaffidi ve diğ, 1999). Kaspaz-8 işleminin inhibisyon yoluyla T hücrelerinde Fas kaynaklı apoptozu bloke eden Toso adlı proteinler apoptozun düzenlemesini gerçekleştirmektedir (Hitoshi ve diğ, 1998).

1.3.3.2 İçsel yol

Apoptoz mekanizmasını başlatan içsel sinyal yolları, hücre içindeki hedeflere doğrudan etki eden ve mitokondriyal başlatılmış olaylar olan hücre içi sinyaller üreterek reseptör aracılı olmayan çeşitli uyarınları ihtiva eder. Negatif sinyaller, ölüm programlarının baskılanmamasına ve apoptozu tetikleyebilecek belirli büyüme faktörlerinin, hormonların ve sitokinlerin yokluğudur. Pozitif uyarınlara ise radyasyon, toksinler, hipoksi, hipertermi, viral enfeksiyonlar ve serbest radikalleri içerir ancak elbette bunlarla sınırlı kalmamaktadır. Tüm bu uyarınlara, mitokondriyal geçirgenlik geçişi (MPT) gözeneginin açılması, mitokondriyal transmembran potansiyelinin kaybı ve normal olarak sekestre edilmiş pro-

apoptotik iki ana grubun salınması ile sonuçlanan iç mitokondriyal zar da değişikliklere neden olur. Proteinler zarlar arası boşluktan sitozole geçer (Saelens ve diğ, 2004).

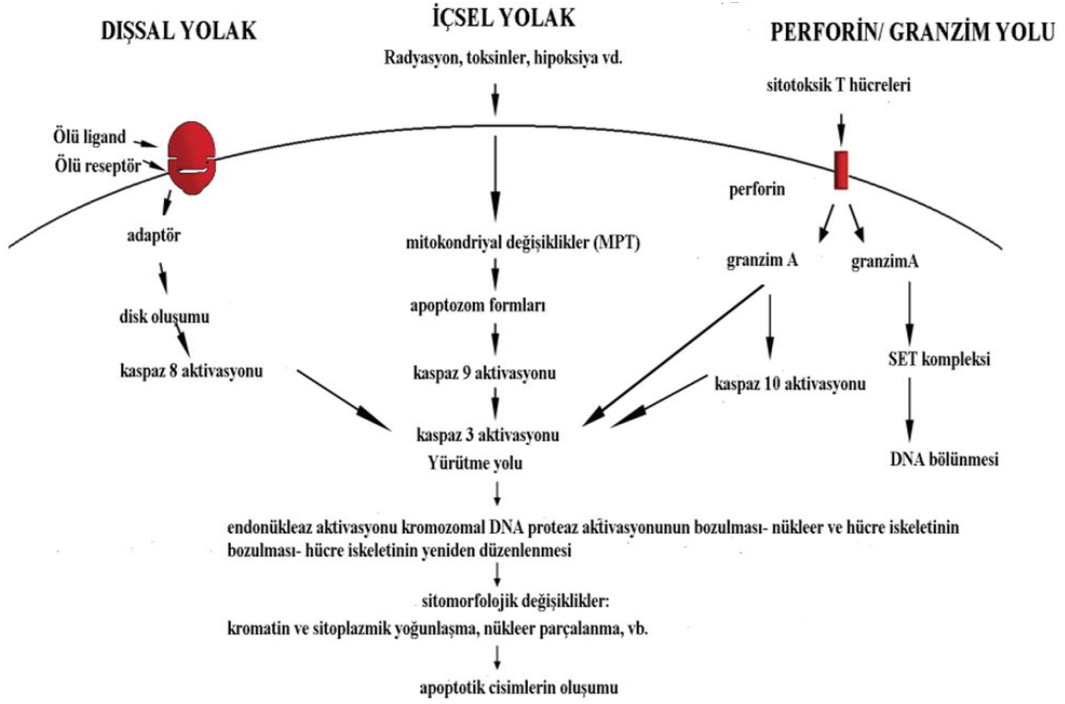
Birinci grup sitokrom c, Smac/DIABLO ve serin proteaz HtrA2/Omi'den oluşur (Du ve diğ, 2000). Sitokrom c, Apaf-1'i ve prokaspaz-9'u bağlar ve aktif hale getirerek "apoptosom" oluşturur (Chinnaiyan, 1999; Hill ve diğ, 2004). Prokaspaz-9'un kümelenmesi, kaspaz-9 aktivasyonuna neden olur. Proapoptotik proteinlerin ikinci grubu, AIF, endonükleaz G ve CAD olarak sınıflandırılır. AIF çekirdekle yer değiştirerek DNA'nın ~50-300 kb parçalara bölünmesine ve periferik nükleer kromatinin yoğunlaşmasına neden olur (Joza ve diğ, 2001). Endonükleaz G, oligonükleozomal DNA fragmentleri üretmek için nükleer kromatini parçaladığı çekirdekle yer değiştirir (Li ve diğ, 2001). CAD mitokondriden salınır ve çekirdekle yer değiştirir, kaspaz-3 ile bölünmesinden sonra, oligonükleozomal DNA parçalanmasına, belirgin ve gelişmiş bir kromatin yoğunlaşmasına neden olur(Enari ve diğ, 1998).

Mitokondriyal apoptotik mekanizmaların kontrol edilmesi ve düzenlenmesi, Bcl-2 protein ailesinin üyeleri ile gerçekleşir (Cory ve Adams, 2002). Tümör baskılayıcı protein p53, Bcl-2 protein ailesinin düzenlenmesinde önemlidir (Schuler ve Green, 2001). Bcl-2 protein ailesi proapoptotik veya anti-apoptotik mitokondriyal membran geçirgenliğini yönetir. Bcl-2 protein ailesinin temel etki mekanizması, mitokondriyal membran geçirgenliğinin değiştirilmesiyle mitokondriden sitokrom-c salınımının düzenlenmesidir (Degli Esposti, 2002; Li ve diğ, 1998). Bcl-X1, sitokrom C'nin mitokondriden salınmasını engeller (Newmeyer ve diğ, 2000). "Aven" olarak isimlendirilen ek bir protein hem Bcl-X1 hem de Apaf-1'i bağlayarak, prokaspaz-9'un aktive edilmesini önlemektedir(Chau ve diğ, 2000).

1.3.3.3 Yürütme yolu

Hem dışsal yol hem de içsel yolun her ikisi, apoptozun son yolu olan yürütme aşaması noktasında biter ve bu aşama yürütme kaspazlarının aktivasyonu ile gerçekleşmektedir. Yürütme kaspazları, nükleer materyali, sitoplazmik endonükleazı ve hücre iskeleti proteinlerini bozan proteazları aktive eder. Kaspaz-3, kaspaz-6 ve kaspaz-7, efektör veya "yürütücü" kaspazlar olarak işlev görmektedir (Slee ve diğ, 2001). Kaspaz-3, başlatıcı kaspazlar tarafından aktive edilerek hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesini ve hücrenin apoptotik cisimlere parçalanmasını indükler. Kaspaz-3, endonükleaz CAD'yi aktive ederek çoğalan hücrelerde CAD inhibitörü olan ICAD ile kompleks bir yapı meydana getirir. Apoptotik hücrelerde, aktive edilmiş kaspaz-3, CAD'yi serbest bırakmak için

ICAD'yi ayırır (Sakahira ve diğ, 1998). CAD çekirdek içindeki kromozomal DNA'yı bozarak kromatinin yoğunlaşmasına neden olur. Kaspaz-3, jelsolin fragmentlerini ve aktin filamentlerini kalsiyumdan bağımsız olarak parçalar ve sonuçta hücre iskeleti, hücre içi taşıma, hücre bölünmesi ve sinyal iletiminin bozulmasına sebep olur (Kothakota ve diğ, 1997). Apoptotik hücrelerin fagositik alımı, apoptozun son bileşenidir (Bratton ve diğ, 1997). Apoptozun dışsal, içsel ve yürütme yolu basamakları şekil 1.5'te verilmiştir.



Şekil 1.5: Apoptozun dışsal, içsel ve yürütme yolu basamakları

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Shi ve arkadaşları tarafından 2008 yılında yeni kinolin türevleri sentezlenmiş ve bu türevlerin T47D meme kanseri hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. Tripan mavisi metodu ile kinolin türevlerinin sitotoksik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Shi ve diğ, 2008).

Steroid çekirdeğine heterosikliklerin dahil edilmesi ile yeni steroidal-kinolin ajanları sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. 2019 yılında yapılan çalışmada, sentezlenen yeni steroidal-kinolinin akciğer kanseri hücre hattına karşı antiproliferatif aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden biri olan 2f bileşiğinin IC_{50} değeri $< 10 \mu M$ altında olduğu Yang ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (Yang ve diğ, 2019).

Yeni kinolin türevlerini geliştirmek amacıyla, bir dizi N'-İkameli metilen 4-(kinolin-4-amino) benzoilhidrazid sentezlenmiş ve sentezlenen komplekslerin sitotoksik etkileri test edilmiştir. 5h ve 5j bileşiklerinin Hep G2 hücre hattı üzerine IC_{50} değerleri sırasıyla $12.6 \pm 0.1 \mu M$ ve $27.3 \pm 1.7 \mu M$ olarak belirlenmiştir (Li ve diğ, 2020).

Xanthohumol (XN), şerbetçiotu türevli prenylflavonoiddir. XN'in kanser hücrelerinin DNA sentezini ve proliferasyonunu inhibe ettiği, oksijen radikallerinin oluşumunu önlediği ve apoptozu indüklediği *in vitro* olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada XN'nin karaciğerde amino-3-metil-imidazo[4,5-f]kinolin (IQ) ile indüklenen preneoplastik bölgelerin oluşumunda etkili olduğu gözlemlenmiştir (Ferk ve diğ, 2010).

Yeni biyoaktif kurşun bileşikleri elde etmek için 2-siyano-3-(4-ikameli)-N-(kinolin-3-il) akrilamid türevleri olan kromenler ve benzokromler sentezlenmiştir. Yapılan çalışmalarda sentezlenen bu bileşiklerin, meme kanseri (MCF-7) hücre hattı üzerine sitotoksik aktiviteleri araştırılmıştır. Bileşiklerin IC_{50} değerleri $29.8 \mu g/mL$ ve $39.0 \mu g/mL$ olarak hesaplanmış ve referans ilaç olarak doksorubisine (IC_{50} : $47.9 \mu g/mL$) oranla daha yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Ghorab ve Alsaïd, 2015).

Bispo ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada yeni bir 4-kinolinil hidrazon türevi sentezlenmiş ve farklı kanser hücre hattına karşı sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. %90'dan fazla üreme inhibisyonu sergileyen kinolin bileşiklerinin, kolon kanseri (HCT-116)

hücre ve insan yumurtalık karsinomu hücre hattı (OVCAR-8) üzerine sitotoksik aktiviteleri incelenmiştir. Bileşiklerin IC₅₀ değerlerinin sırasıyla 0.314 µg/cm³ ve 4.65 µg/cm³ olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar sentezlenen bileşiklerin kolon kanseri ve insan yumurtalık karsinomu hücre hatları üzerine sitotoksik etkisinin görüldüğü tespit edilmiştir (Bispo ve diğ, 2015).

Bir dizi 2-(2-Metil-kinolin-4-ilamino)-N-fenilasetamidinkinolin konjugatları (S4) sentezlenerek bu bileşiklerin dört farklı hücre hatları (HeLa, HCT-116, CCRF-CEM ve CEM/ADR 5000) üzerine sitotoksik etkileri araştırılmıştır. S4'ün doksorubisine dirençli T lenfoblastik lösemi hücrelerine ve CEM/ADR hücrelerine sitotoksik etkisinin olduğu diğer hücre hatları üzerinde ise sitotoksik etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Ganguly ve diğ, 2011).

Kanser hastalarına ve hastalığa yönelik hedefli dokular için, Amberlite IRA 402(OH) aracılı benzotiazolil kinolin bazlı floresan yapı iskeleleri (6a-1) yeşil sentezle üretilmiştir. Yapılan çalışmada sentezlenen bileşiklerden, 6b (8-[2-(2-benzotiyazol-2-il-fenoksi)-etoksi]-5,7-dibromo- kinolin), 6d (8-[2-(2-benzotiyazol-2-il-fenoksi)-etoksi]-5-kloro-7-iyodokinolin) ve 6g (8-[2-(2-benzotiyazol-2-il-fenoksi)-propoksi]-5-klorokinolin) elde edilen sonuçlara göre bileşiklerin kanser hücrelerine karşı daha fazla sitotoksik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Chhabra ve diğ, 2017).

Yeni kinolin asetohidrazid (QA_h) türevleri (9a-n) sırasıyla COX1 ve COX2 inhibisyonu ve NF-kappa B, HDAC ve insan topoizomeras I yolları yoluyla anti-inflamatuar ve anti-kanser etkileri Manohar ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. 2018 yılında yapılan çalışmada, QA_h türevleri olarak (E)-N'-(4-(trifloro metil) benziliden)-2-(7-floro-2-metoksi kinolin-8-il) asetohidrazid ve (E)- N'-(3-(trifloro metil) benziliden)-2-(7-floro-2-metoksi kinolin-8-il) asetohidrazid kullanılmıştır. Deneysel çalışmalarında COX-2 inhibitörleri olarak, meme ve cilt kanseri hücre hatları üzerine çalışılmış, sitotoksik aktivite sonuçları bildirilmiştir (Manohar ve diğ, 2018).

Yeni bir kinolin türevi olan 6-[[2-(dimetilamino)etil]lamino]-3-hidroksi-7H-indeno[2,1-c]kinolin-7-on dihidroklorür (TAS-103) sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Bu bileşiğin topoizomeras I ve II aktivitelerini etkili bir şekilde inhibe ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca, anti-tümör aktivitesini arttırmak ve ajanın yan etkilerini azaltmak amacıyla TAS-103'ün lipozomalizasyon çalışmalarının yapıldığı belirtilmiştir (Shimizu ve diğ, 2002).

Kinolin, pirimido[4,5-b]kinolin, [1,2,3]triazino[4,5-b]kinolin ve [1,2,4]triazolo [2',3':3'ün yeni serileri, 4]pirimido[6,5-b] kinolin türevleri analitik ve spektrometrik yöntemlerle sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Yeni sentezlenen bileşiklerden bazılarının, sitotoksik etkileri test edilmiştir. Bileşiklerden 4b ve 10f'nin test edilen tümör hücre hatlarının çoğuna karşı geniş spektrumlu sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (El-Gohary, 2013).

Çalışmada, başlangıç malzemeleri olarak 4-kloro-2-fenil-2H-kromen-3 karbaldehit ve çeşitli aromatik anilinler kullanılarak yeni kinolin türevleri (6-fenil-6H-kromeno [4,3-b] kinolin) sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiğin malign melanoma hücreleri (B16F10) ve meme kanseri (MCF-7) üzerine, anti-proliferatif etkinliğinin IC₅₀ değeri sırasıyla 14.8 µM ve 21.32 µM olarak hesaplanmıştır (Kumar ve diğ, 2017).

Ghods ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, bazı yeni kinolin türevleri, aromataz inhibitörü ve meme kanseri önleyici maddeler olarak sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Kinolin türevlerinden 8a-g'nin insan meme kanseri (MCF-7) ve (T47D) hücre hatlarına karşı sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Tüm 8a-g bileşikleri aromataz mRNA'yı T47D hücre hattına göre daha çok eksprese eden MCF-7 hücreleri ile karşılaştırıldığında sitotoksik ve aromataz aktivitesinin daha fazla olduğu belirlenmiştir (Ghods ve diğ, 2016).

Benzo[h]kinolinlerin sitotoksik aktivitesi, insan cilt kanseri (G361), akciğer kanser hücresi (H460), meme kanseri (MCF-7) ve kolon kanseri (HCT-116) hücre hatları üzerinde değerlendirilmiştir. Bu bileşiklerin hücre çoğalması üzerindeki inhibitör etkisi, test edilmiştir. Bu çalışmada kanser hücre hatları üzerine 3e, 3f, 3h ve 3j bileşiklerinin sitotoksik etkisinin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca test edilen bileşiklerin, DNA oksidasyonu ve apoptoz ile ilgili genlerin ekspresyonu üzerindeki etkisi de tespit edilmiştir (Yadav ve diğ, 2016).

Pratap ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, beş adet 2-amino-benzo[h]kinolin-6-karbonitril türevleri sentezlenmiş ve farklı konsantrasyonlarda kolon kanser hücre hattı (HCT-116) üzerine sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Bileşiklerin HCT-116 hücre hattı üzerine IC₅₀ değerleri sırasıyla 9.6±0.9 µM (3a), 7.6± 1.1 µM (3b), 10.7±1.0 µM (3c), 7.2±1.6 µM (3d) ve 9.2±1.2 µM (3e) gösterdiği ve doksorubisine (2.1±0.5) µM oranla sitotoksik etkinin daha az olduğu bildirilmiştir (Pratap ve diğ, 2015).

Biyolojik olarak aktif sülfonamid içeren kinolinlerin ve pirimidokinolinlerin antikanser aktiviteleri nedeniyle, yeni bir dizi kinolin ve pirimidokinolin türevleri

sentezlenmiştir. Sentezlenen kinolinlerin karaciğer kanseri (HepG2) hücrelerine karşı sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Bileşiklerin IC₅₀ değerleri sırasıyla 29.8 µM, 39.0 µM ve 40.0 µM, olarak bulunmuştur. Tüm bileşiklerin, HepG2 hücre hattı üzerindeki sitotoksik aktivitesinin çalışmanın kontrolünde kullanılan doksorubisine kıyasla daha etkili olduğu belirtilmiştir (Ghorab ve diğ, 2015).

Pallavi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, bir dizi hedeflenmiş 4,6-O-etiliden-beta-D glukopiranozilamin glikokonjugat kinolin 4-karboksilik asit türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin anti-inflamatuar ve sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sitotoksik çalışmalara göre C8'in rahim ağzı kanser hücresi (HeLa)'ne karşı etkili bir çözüm olabileceği belirlenmiştir (Pallavi ve diğ, 2020).

Tiazolo[5,4-b]kinolinler, DNA'ya bağlanan ve hücre ölümünü indükleyen topoizomera II'yi inhibe eden güçlü bir antilösemik ilaç olan m-Amsakrin (m-Amsa) ile yapısal olarak ilişkili bileşiklerdir. Çalışmada, bir tiazolo[5,4-b] kinolin türevi olan 9-[(3-kloro)fenilamin]-2-[3(diethylamin) propilamin]thiazolo[5,4-b] kinolin sentezlenerek tasarlanmıştır. 9-anilinoakridinler ile izosterik bileşikler kullanılarak D3CLP tarafından K-562 insan lösemi hücreleri üzerinde indüklenen hücre ölüm mekanizmasını belirlemek için çalışmalar yapılmıştır. D3CLP'nin tümör hücreleri için periferik kan monosit hücrelerinden (PBMC'ler) dört kat daha fazla sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir (González-Sánchez ve diğ, 2011).

Angelisinin heteroanalogları olan yeni bir pirazolo[3,4-h]kinolin serisi, 2015 yılında Spano ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, uygun bir şekilde hazırlanarak çok sayıda türevi elde edilmiştir. Hücrel fotositotoksikite, nanomolar seviyeye (14.52-0.04 nM) ulaşan GI(50) değerleri ile farklı insan tümör hücre hattına karşı sitotoksik aktivitesi değerlendirilmiştir (Spanò ve diğ, 2015).

Bir dizi yeni 3-Feniltriflorometil kinolin türevi sentezlenmiş ve sitotoksik aktivitesi araştırılmıştır. Sentezlenen bu bileşiğin meme kanseri (MCF-7) hücre hattı üzerine yüksek sitotoksik etkisinin olduğu belirlenmiştir (Patel ve diğ, 2020).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Kullanılan Hücre Hatları ve Üretim Koşulları

Bu çalışmada, akciğer kanseri (A549), karaciğer kanseri (Hep 3B), endotelial hücre (HUVEC) ve sağlıklı akciğer epitel (BEAS2B) hücre hatları kullanılmıştır. Hücreler, %10 fetal bovin serumu (FBS) ve %1 penisilin-streptomisin içeren RPMI ile DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) besiyeri ortamında 75 cm²'lik kültür flaskları içerisinde %5'lik CO₂ içeren nemli atmosferde, 37°C'de inkübe edilerek çoğaltılmış ve devamlılığı sağlanmıştır. Hücreler, yapılacak deneylerde gerekli sayıya ulaşmak amacıyla belirli zaman aralıklarında pasajlanmıştır.

3.2 Hücre Çözme, Pasajlama ve Dondurma

Donmuş hücreler, -80°C'den alınarak 37 °C'ye ayarlanan benmaride çözündürülmüş ve vial içerisinde çözünmüş olarak bulunan hücreler besiyeri ile seyreltilerek 1000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi uygulanan hücrelerin süpernatant kısmı atılarak pellet kısım içerisinde besiyeri olan flaskta 37 °C'de, %5'lik CO₂ içeren nemli etüvde inkübe edilmiştir. Hücrelerin konfluent olup olmadıkları stereo mikroskopla kontrol edilmiştir.

Konfluent olan hücreler flasklardan alınıp çalışmalar için kullanıldıktan sonra geriye kalan hücreler miktara bağlı olarak hem pasajlama hem de dondurma işleminde kullanılmıştır.

Pasajlama işleminde hücreler alınıp taze besiyerine eklenerek devamlılığı sağlanmıştır. Dondurma işleminde ise inkübatörden alınan hücrelere tripsin ve besiyeri karışımı eklendikten sonra santrifüj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj sonrası süpernatant kısmı uzaklaştırılmış ve pellet kısmına yıkama işlemi yapılarak santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılarak dondurma solüsyonlarından olan FBS %90 ve %10 DMSO (Dimetilsülfoksit) sırasıyla pelletlerin üzerine homojenize olacak şekilde süspanse edilmiştir. Bu süspansiyondan 1'er mL alınarak viallerde -80 °C'de saklanmıştır (Jeyaraj ve diğ, 2013; Altuner ve diğ, 2021).

3.3 Hücre Sayımı

Hücre kültürü çalışmalarında hücre sayımı için ilk basamak hücrelerin, belirli bir sayıda elde edilmesidir. Çalışılacak hücre sayısını belirlemek için toplam canlı hücre sayısı yaklaşık olarak hesaplanmalı ve istenilen sayıda hücreler elde edilmelidir. Hemositometre özel bir lam çeşididir. Bu lam üzerinde çizgi ile işaretlenmiş 1 mm karelerden ve onların içindeki daha küçük karelerden oluşan üzerinde iki adet sayma alanının bulunmaktadır. Üzerine kapatılan lamel ile içerisinde belirli bir hacimde hücre örneğini tutar. Bu alanlardaki hücreler ışık mikroskobu yardımı ile sayılarak, hücre süspansiyonunun sahip olduğu toplam hücre sayısı bulunmaktadır. Bu sayımla birlikte süspansiyondaki hücre sayısının mililitredeki karşılığı hesaplanabilmektedir. Hesaplama için kare başına ortalama hücre sayısı x dilüsyon faktörü x 10^4 formülü kullanılmıştır (Nazlibilek ve diğ, 2014; Prof. Dr. Velittin Gürgün, 1990).

3.4 Optimizasyon Çalışmaları

Yürütülen tez çalışması için sentezlenen kinolin ve türevleri, kanser hücreleri ile farklı konsantrasyonlarda (5-10 -30-50-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) uygulama yapılarak bu türevlerin IC_{50} değerleri hesaplanmıştır. Optimum maruz kalma süresinin belirlenmesi için yapılacak olan çalışmalarda kinolin ve türevleri, hücrelerin üzerine 24 saat, 48 saat ve 72 saat olmak üzere farklı zamanlarda uygulama yapılmıştır. MTT analizleri yapılarak kanser hücreleri üzerinde; kinolin ve türevlerinin, en uygun konsantrasyonu ve maruziyet süresi belirlenmiştir.

3.5 MTT Testi

MTT, hücre metabolik aktivitesini değerlendirmek için uygulanan NADH'ya bağlı, hücresel oksidoredüktaz enzimleriyle canlı hücrelerin sayısını yansıtan renk ölçümüne bağlı bir testtir. Enzimatik aktivitenin kolorimetrik ölçümüne dayanan hücre çoğalma miktarının tespit edildiği bir yöntemdir. Hücresel aktivite sonucu oluşan formazon ise mor renklidir. Tetrazolyum tuzlarının, elektron alarak indirgenmeleri sonucu, formazon yapılarına dönüşmesi ile renk değişikliği meydana gelmektedir. Tetrazolyum halkasının, aktif mitokondri tarafından kırılması ile yalnızca canlı hücrelerde renk reaksiyonu meydana gelmektedir (Şekil 3.1). Ölü hücreler, tetrazolyum bileşiklerini indirgeme yeteneklerini kaybederek renk değişimine neden olmazlar. Platelere gözlenen mor renk mitokondriyel aktivitenin fazla olduğunu, şeffaf renk ise hücrelerin çoğalmadığını göstermektedir.



Şekil 3.1: Tetrazolyum tuzunun formazona dönüşümü

MTT testi için hücreler, 37 °C’de inkübe edilip çoğaltıldıktan sonra flask içerisinde tripsin ile toplanarak hemositometrede toplam hücre sayısı belirlenmiştir. Hücre sayımı sonucunda, 96 kuyucuklu plateler içerisine, her bir kuyucukta 5×10^3 hücre olacak şekilde hesaplanmış ve hücre solüsyonundan bu kuyucuklara 100’er μL besiyeri ile ekim yapılmıştır. Platelere 37 °C’de, 24 saat inkübe edildikten sonra, üzerlerine 5 farklı konsantrasyonda olacak şekilde bileşikler uygulanıp 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyonda ayrı ayrı olacak şekilde bırakılmıştır. 24. saatin sonunda hazırlanan platelere karanlık ortamda her kuyucuğa 20 μL thiazole eklenerek plateler alüminyum folyoya sarılıp 2-4 saat arası inkübe edilmiştir. İnkübatörden çıkartılan plate içerisinde bulunan thiazole dökülerek uzaklaştırılır ve her kuyucuğa 100 μL DMSO eklenerek 5 dakika 150 rpm’de karanlık ortamda oda sıcaklığında çalkalamaya bırakılmıştır. Platelere bulunan formazon bileşikler homojenize hale geldikten sonra absorbans değerlerinin hesaplanması 570 nm dalga boyundaki spektrofotometrede yapılmıştır. Bu işlem sırasıyla 48. ve 72. saat içinde tekrarlanmış ve ölçümleri yapılmıştır. Okunan absorbans değerleri yüzdelik değerlere çevrilmiş ve Microsoft Office Excel yazılım programında logaritmik eğim grafikleri çıkarılarak canlılığın %50’nin altına düştüğü noktada 24. 48. ve 72. saatlerdeki IC_{50} değerleri hesaplanmıştır (Apohan ve diğ, 2017; Ökçesiz ve Ündeğer Bucurgat, 2017).

3.6 Bileşiklerin Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi

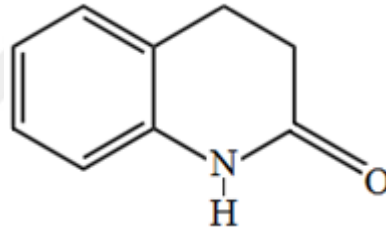
Çalışmalarda kullanılan kinolin türevi bileşiklerin antibakteriyel aktivitesini belirlemek için gram negatif bakterilerden *Escherichia coli* ile gram pozitif bakteri türü olan *Staphylococcus aureus* kullanılmıştır. Bakteriler nutrient agar besiyerinde 37°C’de 18-24 saat süreyle inkübe edilmiştir. *Candida albicans* maya türü ise bileşiklerin antifungal etkisini test etmek için sabouraud dekstroz agar besiyerinde 24-48 saat süreyle inkübe edilmiştir(Kumar ve diğ, 2022; Diaconu ve diğ, 2020;Apohan ve diğ, 2017). Çalışmadaki

bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerini saptamak için minimum inhibe edici konsantrasyon (MİK) yöntemi uygulanmıştır.

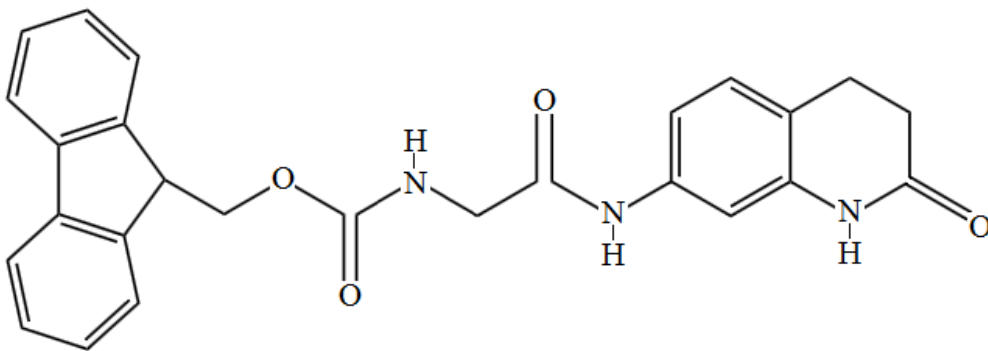
Kinolin türevi bileşiklere uygulama yapılmadan önce mikroorganizmalar DMSO'da çözdürülerek stok çözeltiler hazırlanmıştır. 96 kuyucuklu platalere çözeltiler alınarak seri sulandırma işlemi yapılmıştır. Çalışma için üretilen bakteri ve maya türleri, koloni süspansiyon yöntemiyle hazırlanmıştır. Süspansiyon bulanıklığı, 0,5 McFarland standartına uygun eşdeğer aralıkta sulandırıldıktan sonra kuyucuklara eklenmiştir. Kinolin türevi bileşik içermeyen besiyerine ise kontrol amacıyla hücre ekimi yapılmıştır. Bakteriler 37° C'de 24 saat süreyle, mayalar 30°C'de 48 saat süreyle inkübe edilmiştir.

3.7 Çalışmada Kullanılan Kinolin ve Türevleri

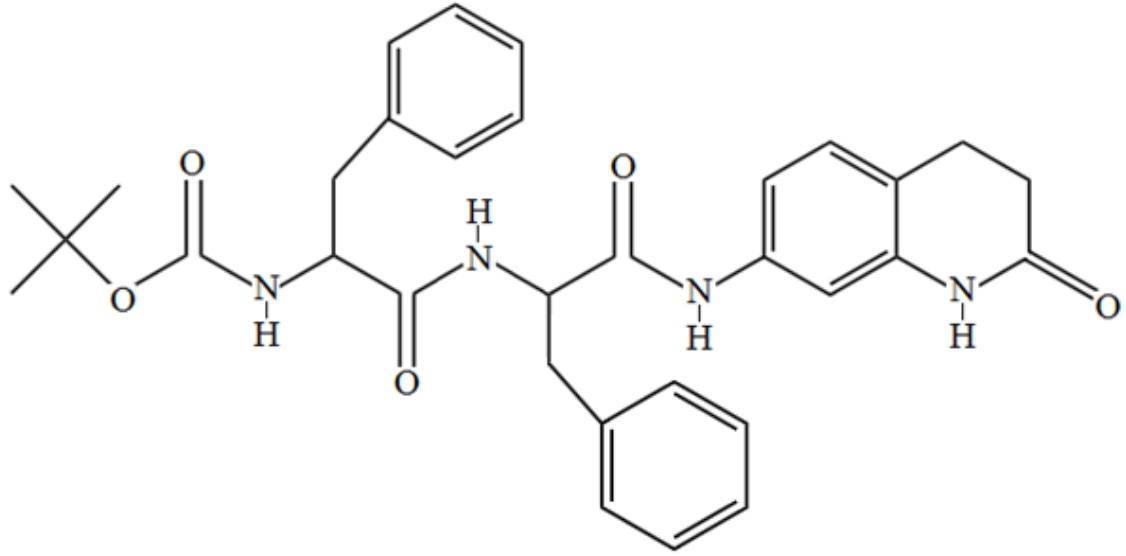
Çalışmada kullanılan kinolin türevi bileşikler İnönü Üniversitesi Kimya Bölümünden Prof. Dr. Hasan KÜÇÜKBAY ve ekibi tarafından sentezlenmiştir. Çalışmada kullanılan kinolin ve türevlerinin açık adları ve formülleri şekil 3.2-3.8'de verilmiştir.



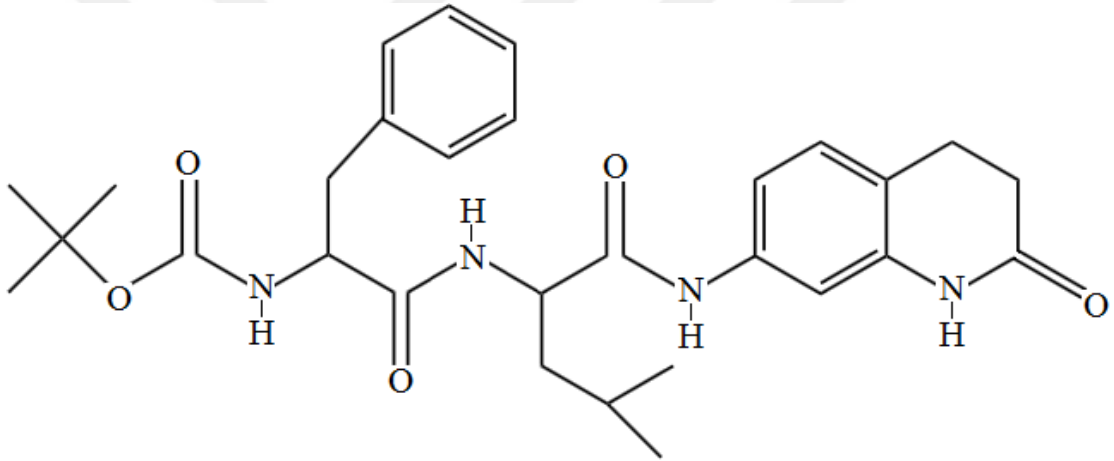
Şekil 3.2: Kinolin (Bileşik 1)



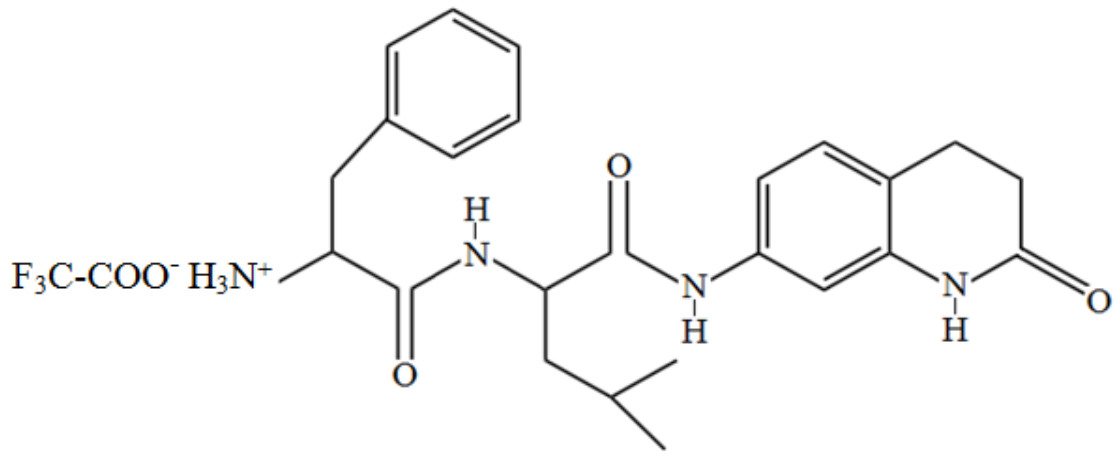
Şekil 3.3: Fmoc-Gly-Kinolin (Bileşik 2)



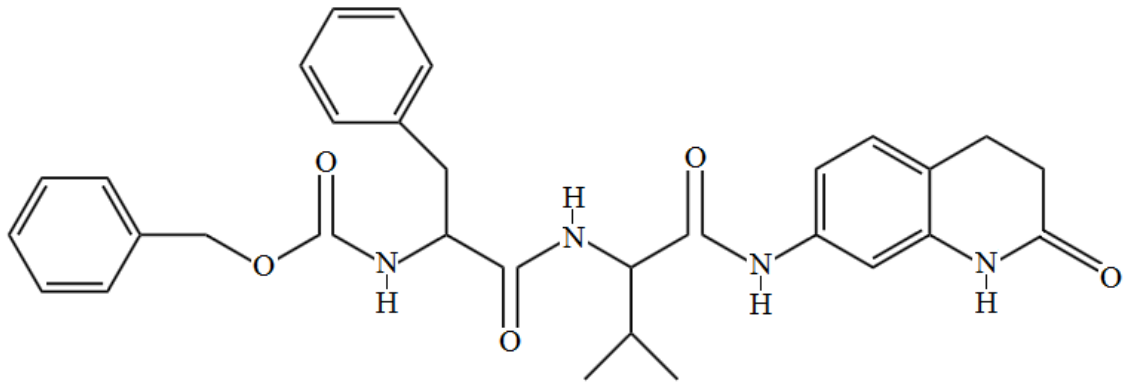
Şekil 3.4: Boc-Phe-Phe-Kinolin (Bileşik 3)



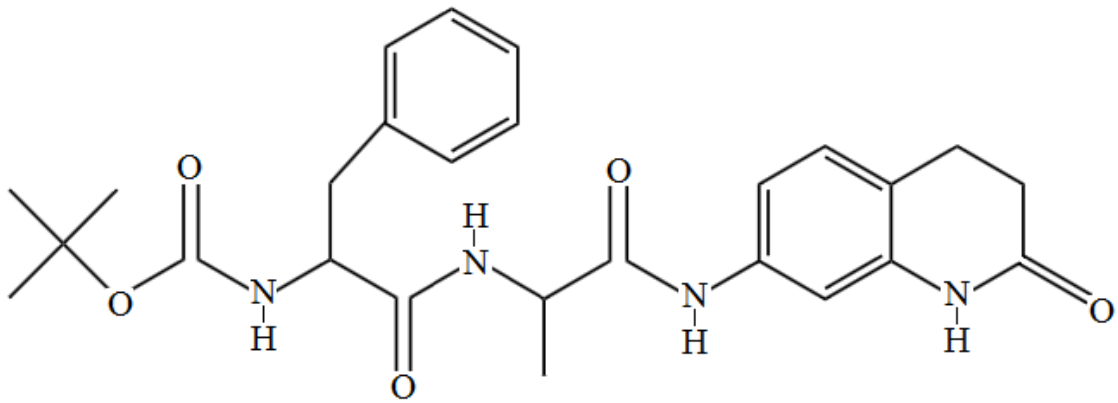
Şekil 3.5: Boc-Phe-Leu-Kinolin (Bileşik 4)



Şekil 3.6: H-Phe-Leu-Kinolin (Bileşik 5)



Şekil 3.7: Z-Phe-Val-Kinolin (Bileşik 6)



Şekil 3.8: Boc-Phe-Ala-Kinolin (Bileşik 7)

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında, sentezlenen yedi farklı kinolin türevlerinin akciğer kanseri (A549) ve sağlıklı akciğer epitel hücresi (BEAS2B), karaciğer kanseri (Hep3B), ve endotelial hücre (Huvec) üzerine sitotoksik etkisi değerlendirilmiştir. Bileşiklerin aynı zamanda antimikrobiyal etkileri gram pozitif, gram negatif ve mayalar üzerine belirlenmiştir.

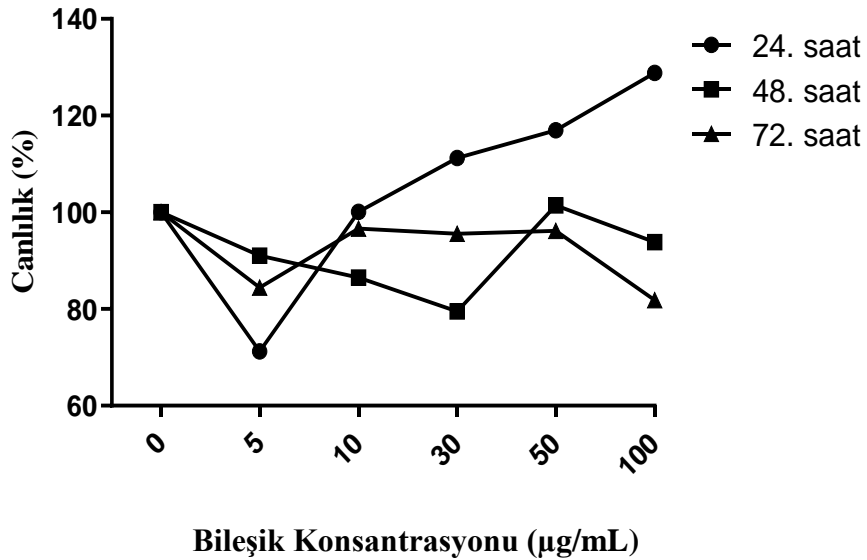
4.1 Bileşiklerin Hücre Hatları Üzerine Sitotoksik Etkisi

Kinolin ve türevlerinin farklı konsantrasyonları (5-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) A549, BEAS2B, Hep 3B ve Huvec hücreleri üzerine uygulanmış ve IC_{50} değerleri hesaplanmıştır.

4.1.1 Bileşiklerin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

A549 hücreleri üzerine bileşik 1'in 24. 48. ve 72. saatlerde IC_{50} değerleri hesaplanamamıştır (Şekil 4.1).

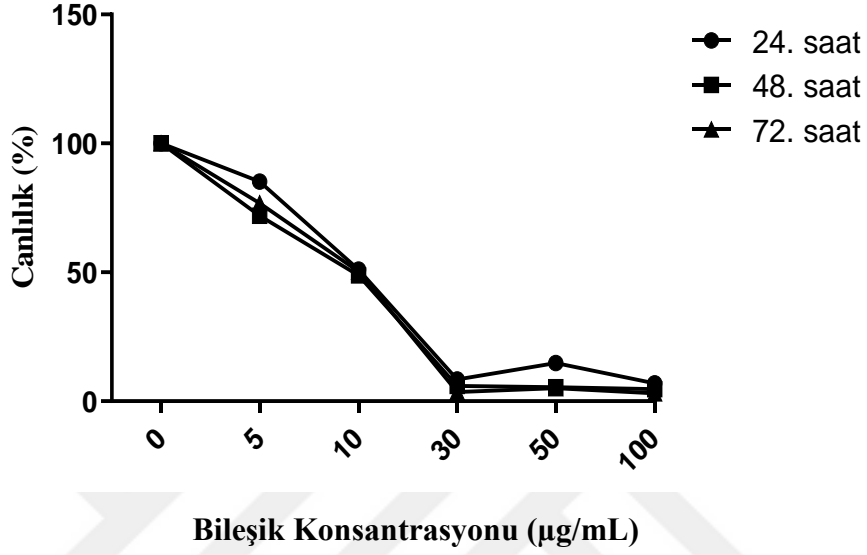
Bileşik 1 A549



Şekil 4.1: Bileşik 1'in A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

A549 hücreleri üzerine bileşik 2'nin 24. saatte hesaplanan IC₅₀ değeri 10.48 µg/mL, 48. ve 72. saatlerde hesaplanan IC₅₀ değeri ise sırasıyla 9.738 µg/mL ve 10.14 µg/mL'dir (Şekil 4.2).

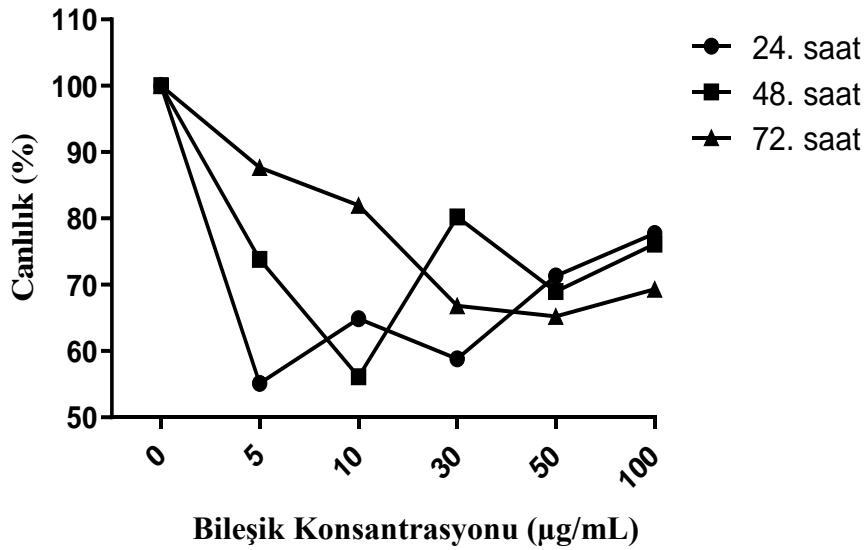
Bileşik 2 A549



Şekil 4.2: Bileşik 2'nin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 3'ün A549 hücreleri üzerinesitotoksik etkisinin zamana bağlı grafiği Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Bileşik 3'ün A549 hücreleri üzerine 24. 48. ve 72. saatlerdeki IC₅₀ değerleri hesaplanamamıştır.

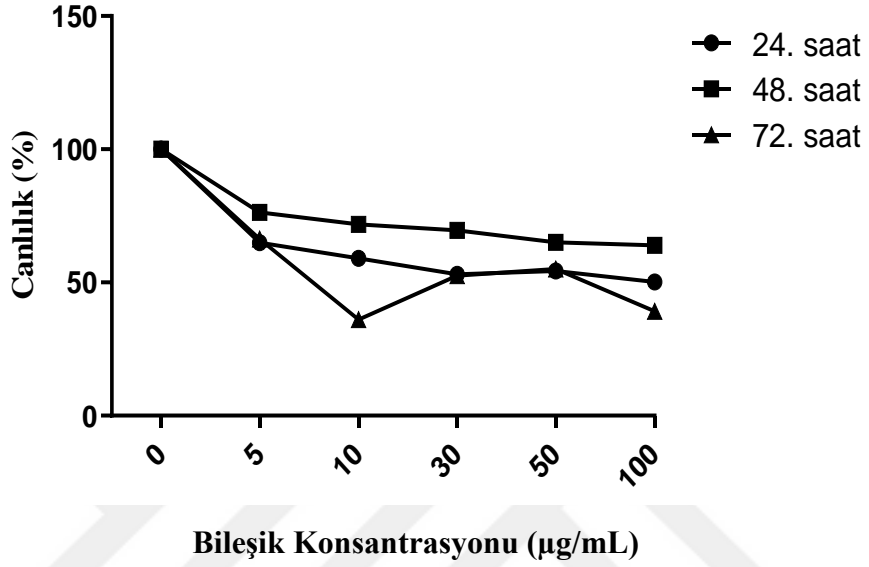
Bileşik 3 A549



Şekil 4.3: Bileşik 3'ün A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Şekil 4.4’de bileşik 4’ün A549 hücreleri üzerine 24. 48. ve 72. saatlerdeki konsantrasyon bağımlı canlılık (%) değerleri grafiği görülmektedir. 24. ve 48. saatte IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. 72. saatte ise IC₅₀ değeri 7.690 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

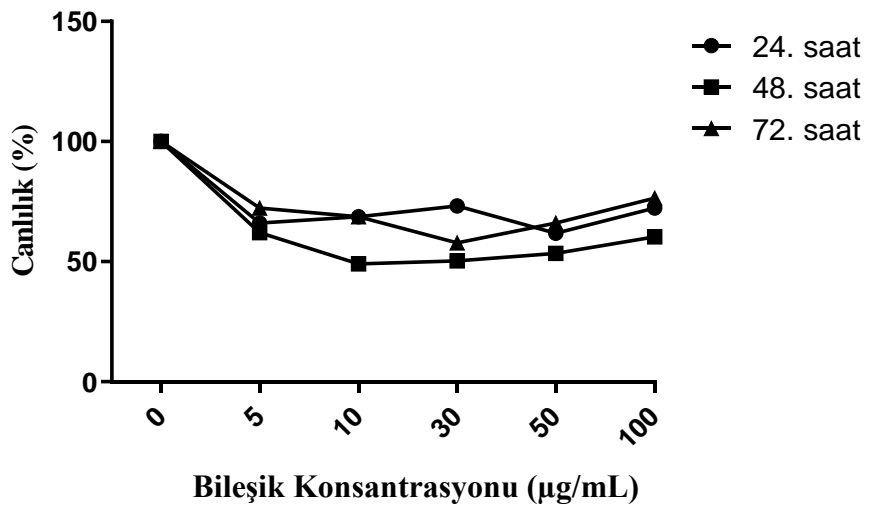
Bileşik 4 A549



Şekil 4.4: Bileşik 4’ün A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

A549 hücreleri üzerine bileşik 5’in 24. ve 72. saatte IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. 48. saatteki IC₅₀ değeri ise 9,654 µg/mL olarak tespit edilerek Şekil 4.5’de gösterilmiştir.

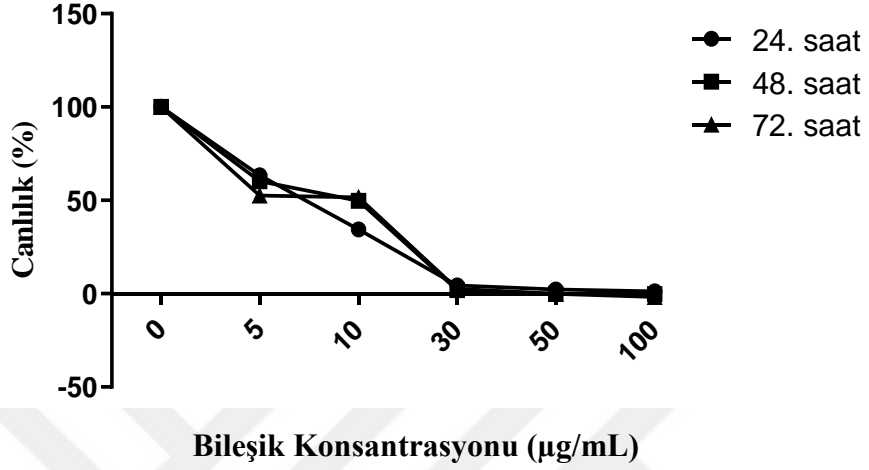
Bileşik 5 A549



Şekil 4.5: Bileşik 5’in A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

A549 hücreleri üzerine bileşik 6'nın sitotoksik etkisinin zamana bağlı grafiği Şekil 4.6'da gösterilmiştir. 24. saatte IC₅₀ değeri 7.307 µg/mL olarak hesaplanmışken, 48. ve 72. saatlerde hesaplanan IC₅₀ değeri ise sırasıyla 9.888 µg/mL ve 10.63 µg/mL'dir.

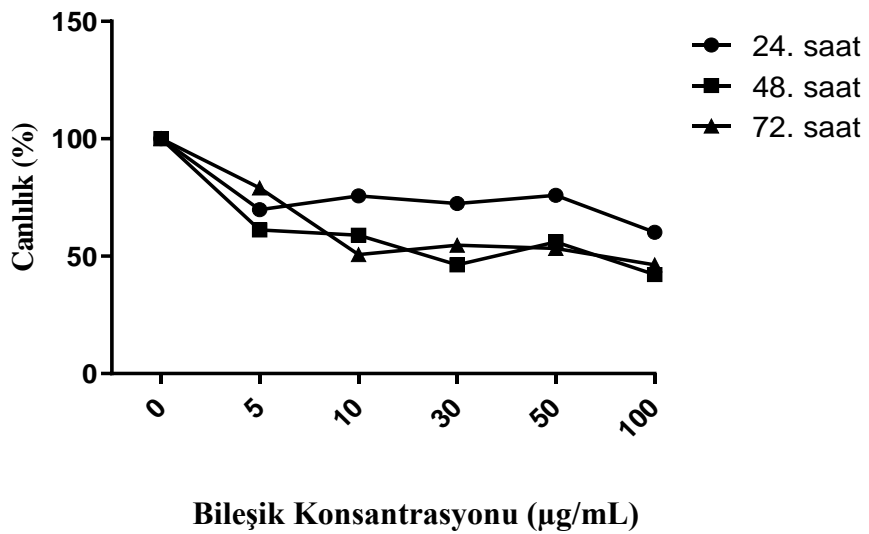
Bileşik 6 A549



Şekil 4.6: Bileşik 6'nın A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Şekil 4.7'de bileşik 7'nin 24. saatte A549 hücreleri üzerine IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. 48. ve 72. saatlerde IC₅₀ değerleri sırasıyla 24.22 µg/mL ve 65.10 µg/mL olarak tespit edilmiştir.

Bileşik 7 A549



Şekil 4.7: Bileşik 7'nin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Çalışmada kullanılan bileşiklerin A549 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi, 5-100 µg/mL değişen konsantrasyonlarda uygulanmış ve MTT analiz sonuçları 24. 48. ve 72. saatte alınarak IC₅₀ değerleri hesaplanarak Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1: Bileşiklerin akciğer kanser hücreleri (A549) üzerine zamana bağlı IC₅₀ değerleri (µg/mL)

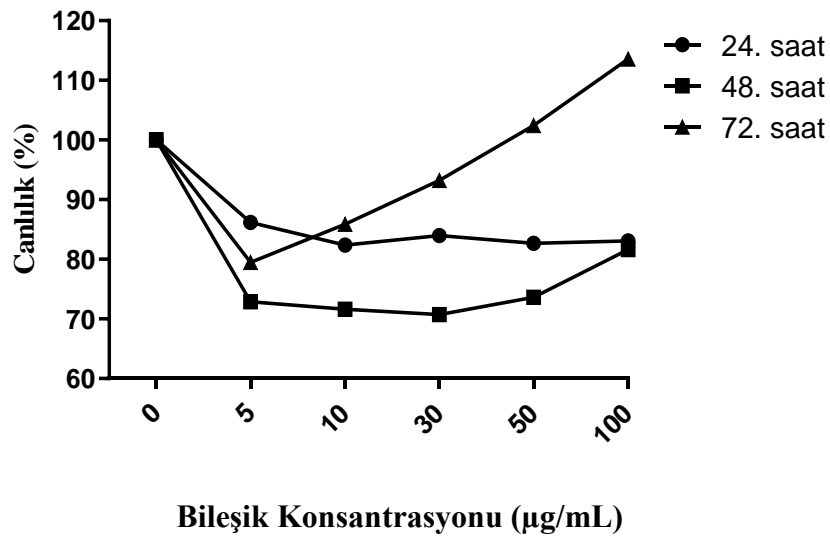
Bileşikler	24.saat	48.saat	72.saat
Bileşik 1	>100	>100	>100
Bileşik 2	10,48	9,738	10,14
Bileşik 3	>100	>100	>100
Bileşik 4	>100	>100	7,690
Bileşik 5	>100	9,654	>100
Bileşik 6	7,307	9,888	10,63
Bileşik 7	>100	24,22	69,09

Çizelge incelendiğinde bileşik 2’nin 24. 48. ve 72. saatlerde IC₅₀ değerleri sırasıyla 10.48 µg/mL, 9.738 µg/mL ve 10.14 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Bileşik 6’nın IC₅₀ değerleri sırasıyla 7.307 µg/mL, 9.888 µg/mL ve 10.63 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Bileşik 1 ve bileşik 3’ün, A549 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri hesaplanamamıştır.

4.1.2 Bileşiklerin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

BEAS2B hücreleri üzerine bileşik 1’in 24. 48. ve 72. saatlerde IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır (Şekil 4.8).

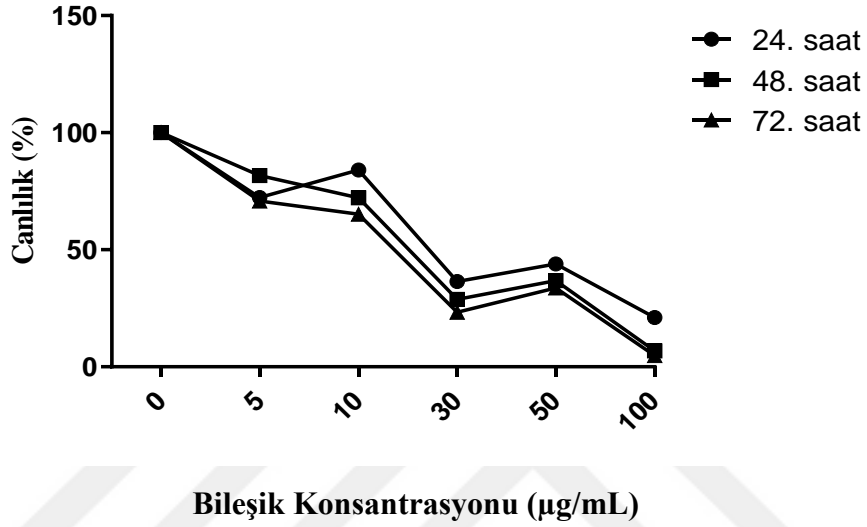
Bileşik 1 BEAS 2B



Şekil 4.8: Bileşik 1’in BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Şekil 4.9’da bileşik 2’nin BEAS2B hücreleri üzerine 24. 48. ve 72. saatlerdeki konsantrasyon bağımlı canlılık (%) değerleri grafiği görülmektedir. 24. saatte IC₅₀ değerleri 24.31 µg/mL olarak hesaplanmış, 48. ve 72. saatte ise belirgin bir azalma gözlenen IC₅₀ değerleri sırasıyla önce 20.23 µg/mL, sonrada 17.25 µg/mL ‘ye düşmüştür.

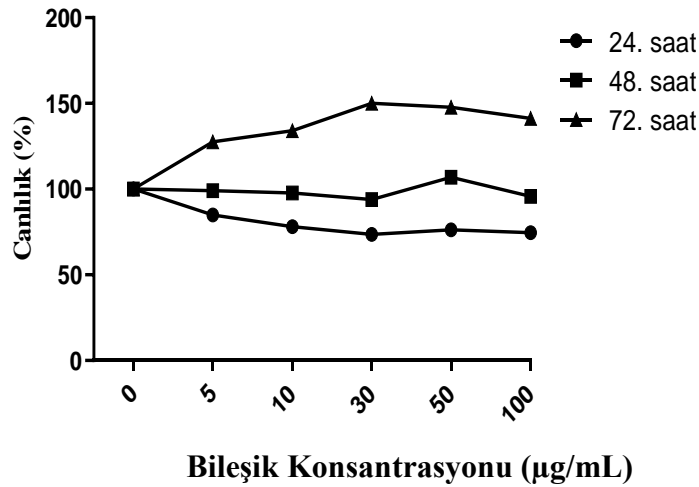
Bileşik 2 BEAS2B



Şekil 4.9: Bileşik 2’nin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

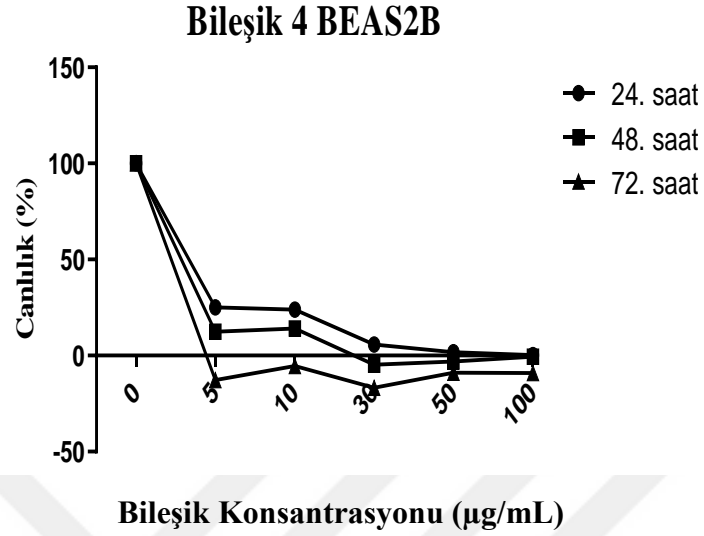
Şekil 4.10’da bileşik 3’ün BEAS2B hücreleri üzerine 24. 48. ve 72. saatlerde IC₅₀ değerleri hesaplanamamıştır (Şekil 4.10).

Bileşik 3 BEAS2B



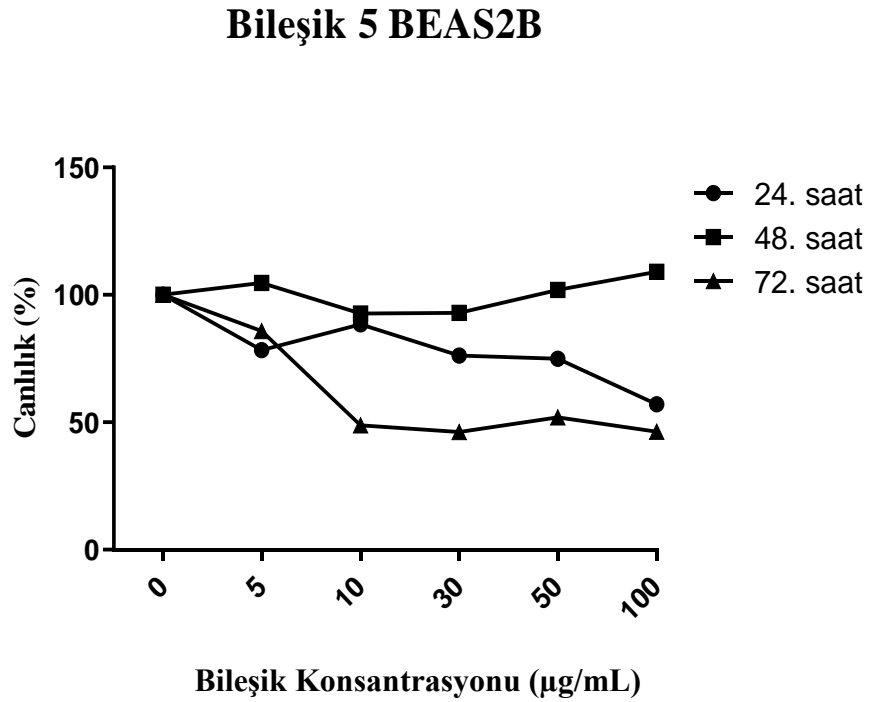
Şekil 4.10: Bileşik 3’ün BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 4'ün BEAS2B hücreleri üzerine 24. saatteki IC₅₀ değerleri 1.666 µg/mL, 48. saatteki IC₅₀ değerleri 1.570 µg/mL ve 72. saatte IC₅₀ değerleri ise 1.443 µg/mL olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11: Bileşik 4'ün BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

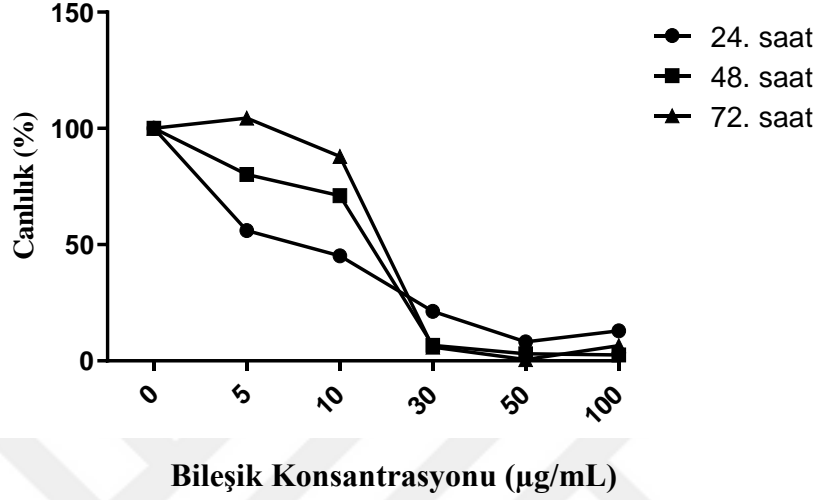
Bileşik 5'in BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin zamana bağlı grafiği Şekil 4.12'de gösterilmiştir. 24. saat ve 48. saatlerinde IC₅₀ değerleri hesaplanamamıştır. 72. saatteki IC₅₀ değeri ise 9.839 µg/mL olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.12: Bileşik 5'in BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 6'nın BEAS2B hücreleri üzerine 24. saatteki IC₅₀ değerleri 7.792 µg/mL, 48. saatteki IC₅₀ değerleri 16.54 µg/mL ve 72. saatte IC₅₀ değerleri ise 19.24 µg/mL olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.13).

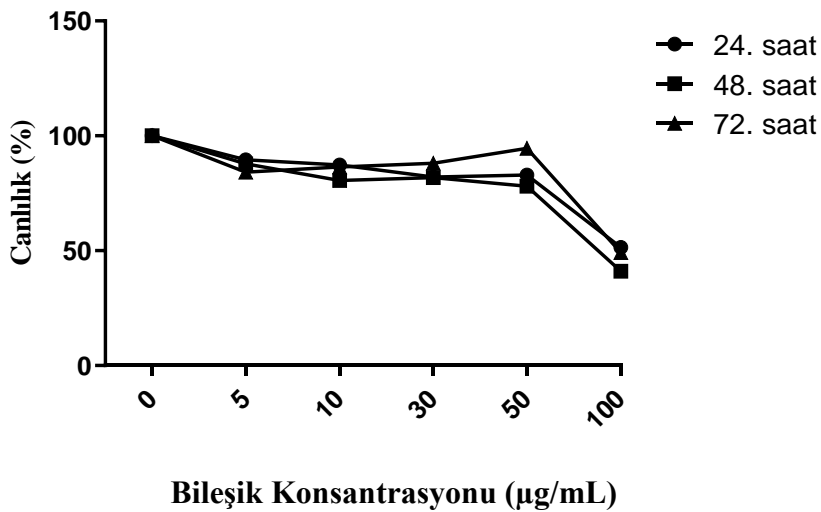
Bileşik 6 BEAS2B



Şekil 4.13: Bileşik 6'nın BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 7'nin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin zamana bağlı grafiği Şekil 4.14'de gösterilmiştir. Bileşik 7'nin BEAS2B hücreleri üzerine 24. saatte IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. 48. ve 72. saatlerde ise IC₅₀ değerleri sırasıyla 87.85 µg/mL 99.11 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Bileşik 7 BEAS2B



Şekil 4.14: Bileşik 7'nin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Çalışmada kullanılan bileşiklerin BEAS2B hücrelerine karşı sitotoksik etkisi, 5-100 µg/mL değişen konsantrasyonlarda uygulanmış ve MTT analiz sonuçları 24. 48. ve 72. saatte alınarak IC₅₀ değerleri hesaplanarak Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2: Bileşiklerin sağlıklı akciğer epitelyum hücreleri (BEAS2B) üzerine zamana bağlı IC₅₀ değerleri (µg/mL)

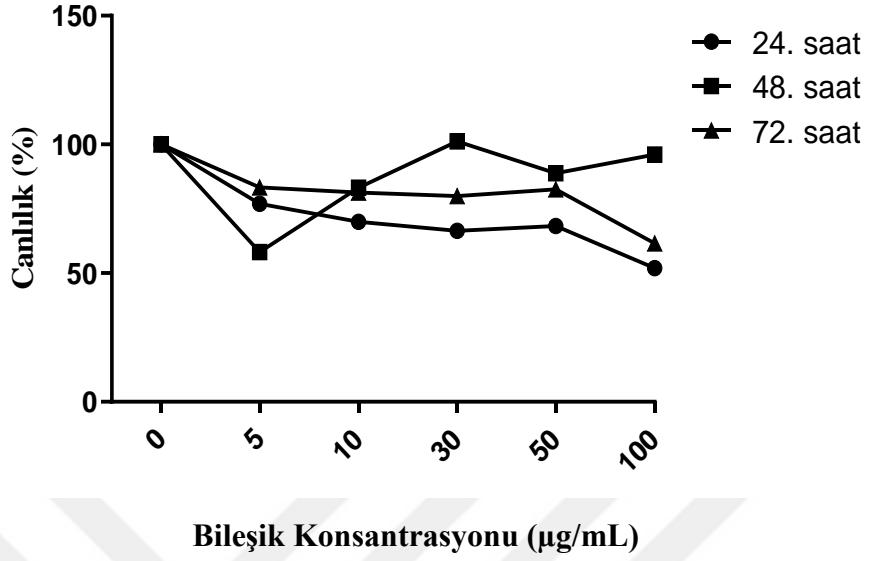
Bileşikler	24.saat	48.saat	72.saat
Bileşik 1	> 100	> 100	> 100
Bileşik 2	24,31	20,23	17,25
Bileşik 3	> 100	> 100	> 100
Bileşik 4	1,666	1,570	1,443
Bileşik 5	> 100	> 100	9,839
Bileşik 6	7,792	16,54	19,24
Bileşik 7	> 100	87,85	99,11

Çizelge incelendiğinde bileşik 2’nin IC₅₀ değerlerinin sağlıklı hücelere karşı çok yüksek bir sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Kemotöröpötik ajanlarda aranan özellik sağlıklı hücelere kanserli hücelerden daha az sitotoksik etki göstermesidir. Çizelge incelendiğinde bileşik1, bileşik 3 ve bileşik 7’nin BEAS2B hüceleri üzerine IC₅₀ değerleri hesaplanamamıştır.

4.1.3 Bileşiklerin Huvec hüceleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 1’in Huvec hüceleri üzerine 24. 48. ve 72. saatlerde IC₅₀ değerleri hesaplanamamıştır (Şekil 4.15).

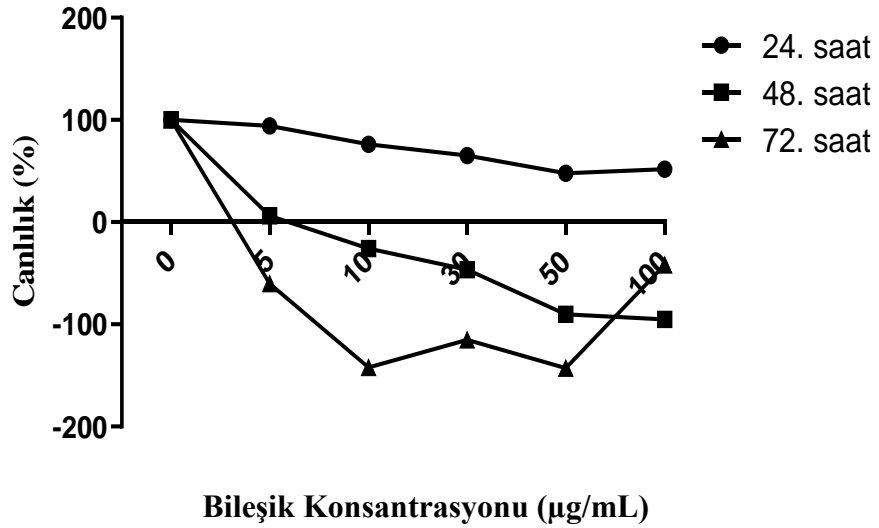
Bileşik 1 HUVEC



Şekil 4.15: Bileşik 1'in Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 2'nin Huvec hücreleri üzerine 24. saatteki IC_{50} değerleri 1.795 µg/mL, 48. saatteki IC_{50} değerleri 1.532 µg/mL ve 72. saatte IC_{50} değerleri ise 95.94 µg/mL olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.16).

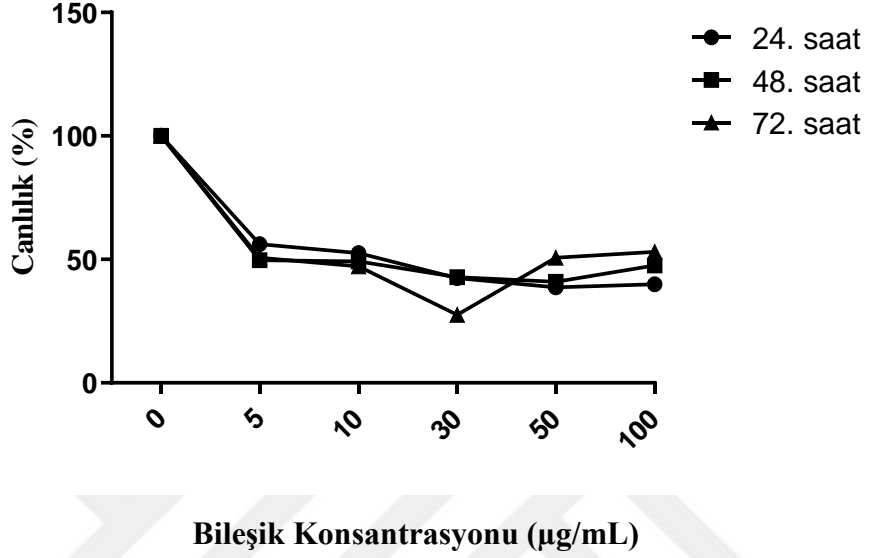
Bileşik 2 HUVEC



Şekil 4.16: Bileşik 2'nin Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 3'ün Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin zamana bağlı grafiği Şekil 4.17'de gösterilmiştir. 24. saatte 14.96 µg/mL olarak hesaplanan IC₅₀ değeri, 48. saatte 1.994 µg/mL ve 72. saatte ise 6.047 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

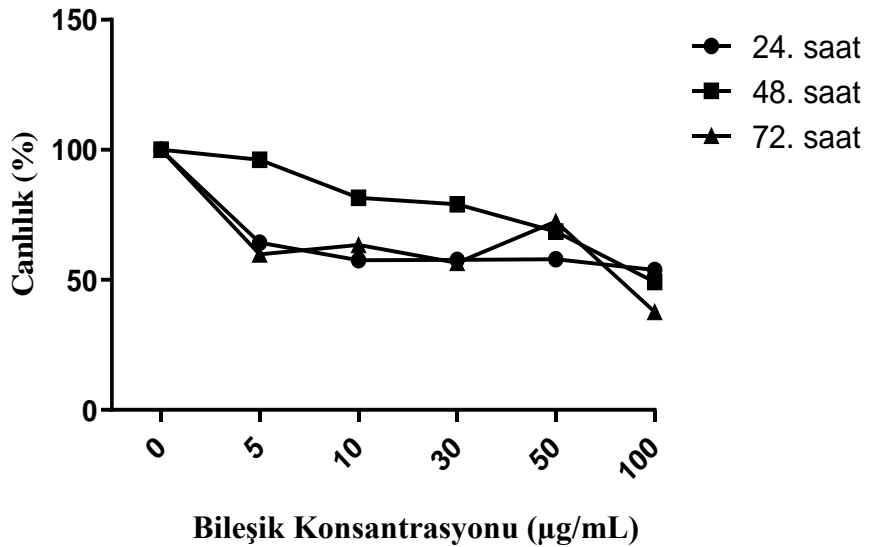
Bileşik 3 HUVEC



Şekil 4.17: Bileşik 3'ün Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

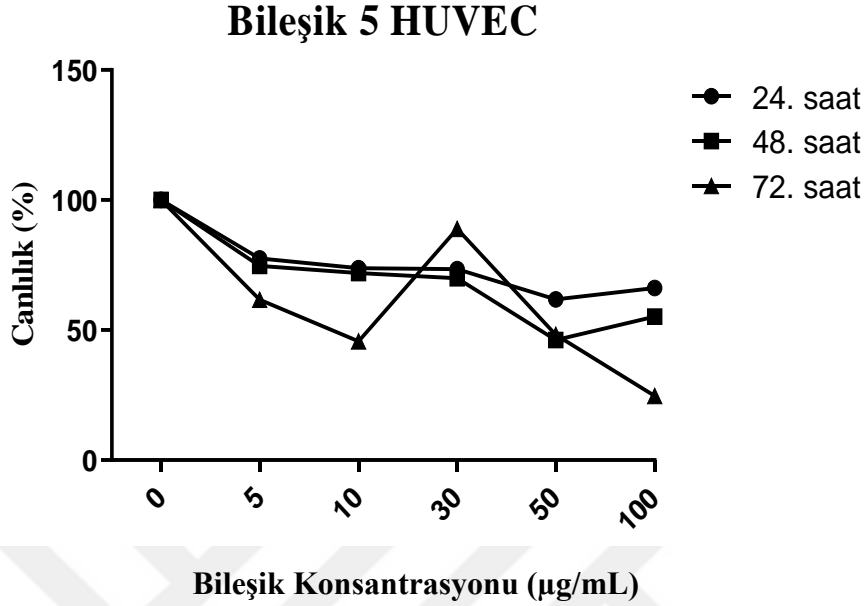
Bileşik 4'ün Huvec hücreleri 24. saatte IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. 48. saatlerde 97.30 µg/mL ve 72. saatlerde ise IC₅₀ değerleri sırasıyla 82.18 µg/mL olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.18).

Bileşik 4 HUVEC



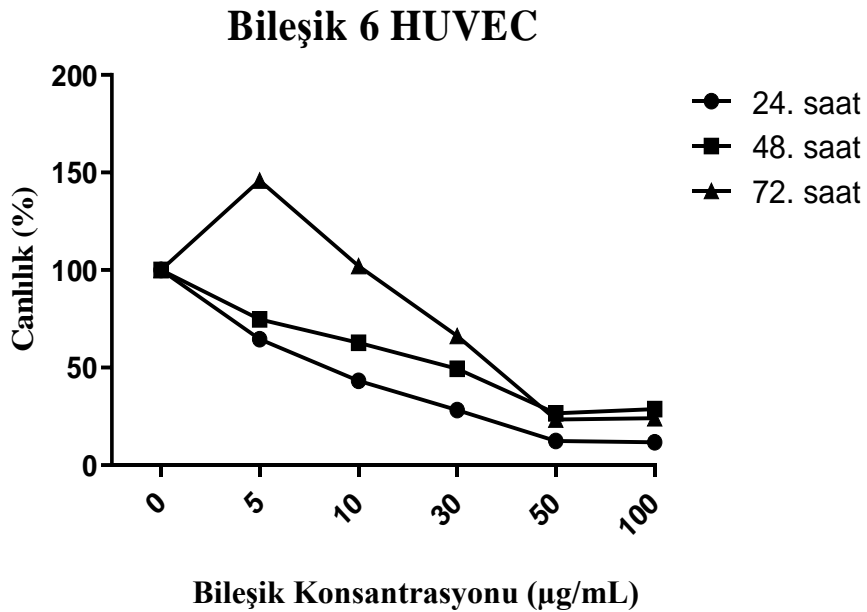
Şekil 4.18: Bileşik 4'ün Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 5'in Huvec hücreleri üzerine 24. saatte IC₅₀ değeri hesaplanamamıştır. 48. saatte 46.78 µg/mL, 72. saatte 8.644 µg/mL olarak tespit edilmiş ve Şekil 4.19'da gösterilmiştir.



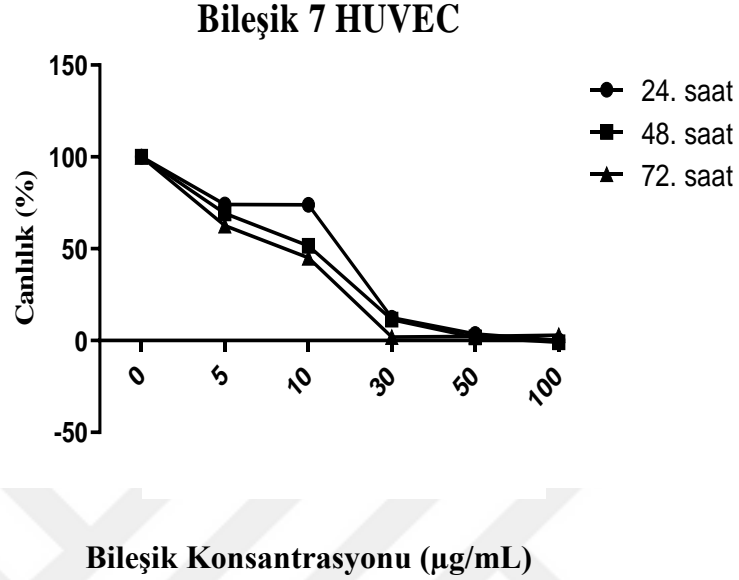
Şekil 4.19: Bileşik 5'in Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 6'nın Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin zaman ve konsantrasyon bağımlı grafiği Şekil 4.20'de gösterilmiştir. 24. saatte 8.430 µg/mL olarak hesaplanan IC₅₀ değeri, 48. saatte 29.04 µg/mL ve 72. saate ise 37.58 µg/mL olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.20: Bileşik 6'nın Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 7'nin Huvec hücreleri üzerine 24. saatteki IC₅₀ değerleri 17.78 µg/mL, 48. saatteki IC₅₀ değerleri 10.78 µg/mL ve 72. saatte IC₅₀ değerleri ise 8.584 µg/mL olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.21).



Şekil 4.21: Bileşik 7'nin Huvec hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Çalışmada kullanılan bileşiklerin Huvec hücrelerine karşı sitotoksik etkisi, 5-100 µg/mL değişen konsantrasyonlarda uygulanmış ve MTT analiz sonuçları 24. 48. ve 72. saatte alınarak IC₅₀ değerleri hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.3'de gösterilmiştir.

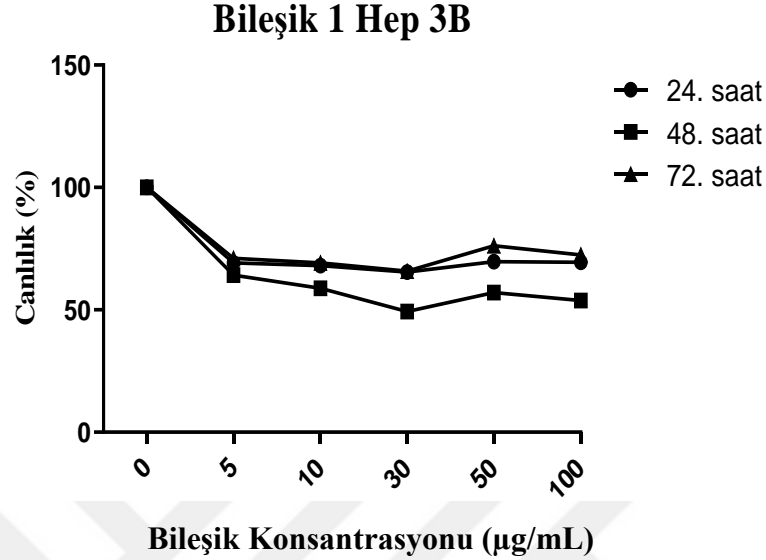
Çizelge 4.3: Bileşiklerin endotelial hücreleri (Huvec) üzerine zamana bağlı IC₅₀ değerleri (µg/mL)

Bileşikler	24.saat	48.saat	72.saat
Bileşik 1	96,89	>100	>100
Bileşik 2	1,795	1,532	95,94
Bileşik 3	14,96	1,994	6,047
Bileşik 4	>100	97,30	82,18
Bileşik 5	>100	46,78	8,644
Bileşik 6	8,430	29,04	37,58
Bileşik 7	17,78	10,78	8,584

Çizelge incelendiğinde bileşik 4'ün Huvec hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri hesaplanamamıştır.

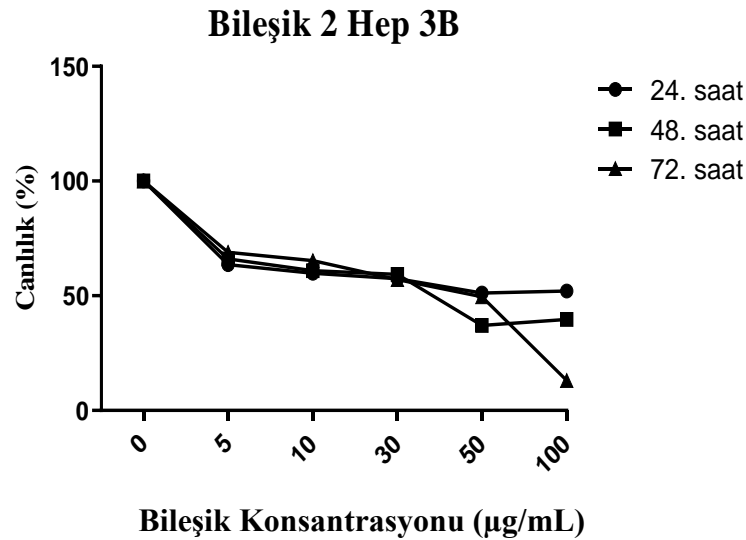
4.1.4 Bileşiklerin Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 1'in Hep 3B hücreleri üzerine 24. ve 72. saatlerde IC_{50} değeri hesaplanamamıştır. 48. saatte IC_{50} değeri 28,49 $\mu\text{g/mL}$ 'dir (Şekil 4.22).



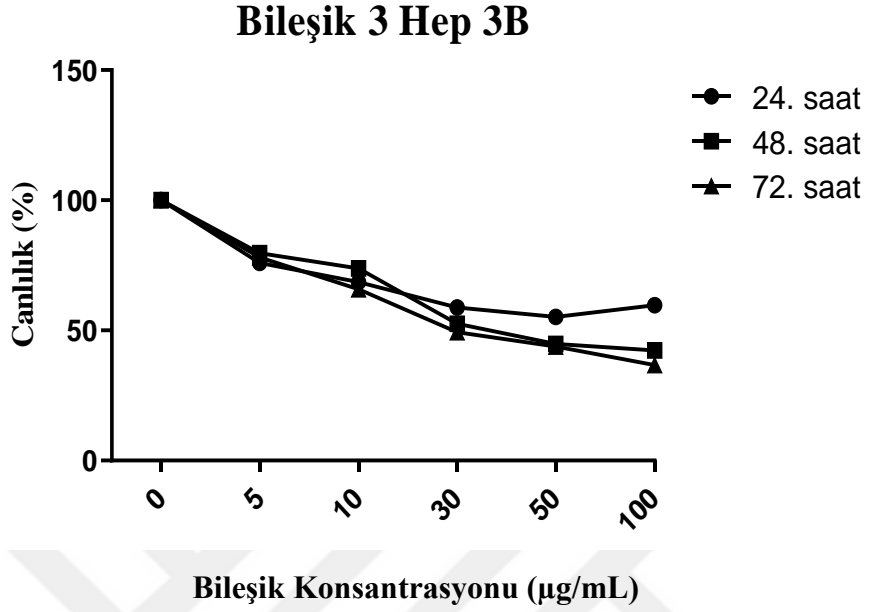
Şekil 4.22: Bileşik 1'in Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 2'nin Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin zaman ve konsantrasyon bağımlı grafiği Şekil 4.23'de gösterilmiştir. 24. saatte IC_{50} değeri hesaplanamamıştır. 48. ve 72. saate ise IC_{50} değeri sırasıyla 38,35 $\mu\text{g/mL}$ ve 48,90 $\mu\text{g/mL}$ olarak tespit edilmiştir.



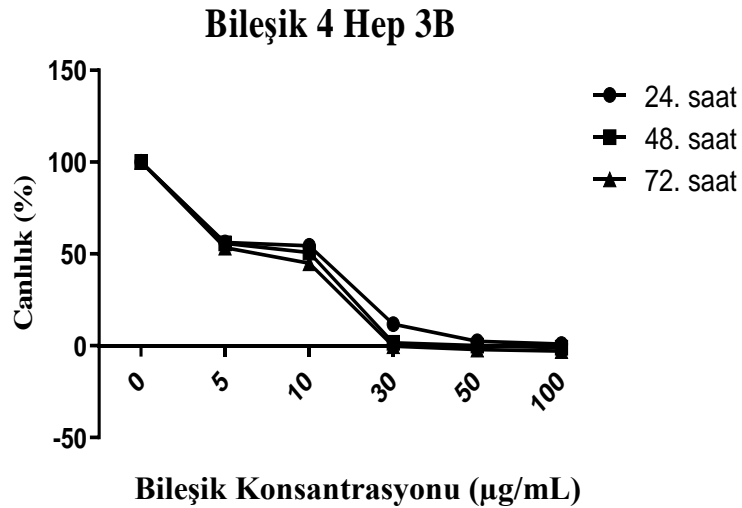
Şekil 4.23: Bileşik 2'nin Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 3'ün Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi 24. saatte IC_{50} değeri hesaplanamamıştır. 48. ve 72. saatte ise belirgin bir azalma gözlenen IC_{50} değerleri sırasıyla önce 36.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$, sonrada 29.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'ye düşmüştür (Şekil 4.24).



Şekil 4.24: Bileşik 3'ün Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

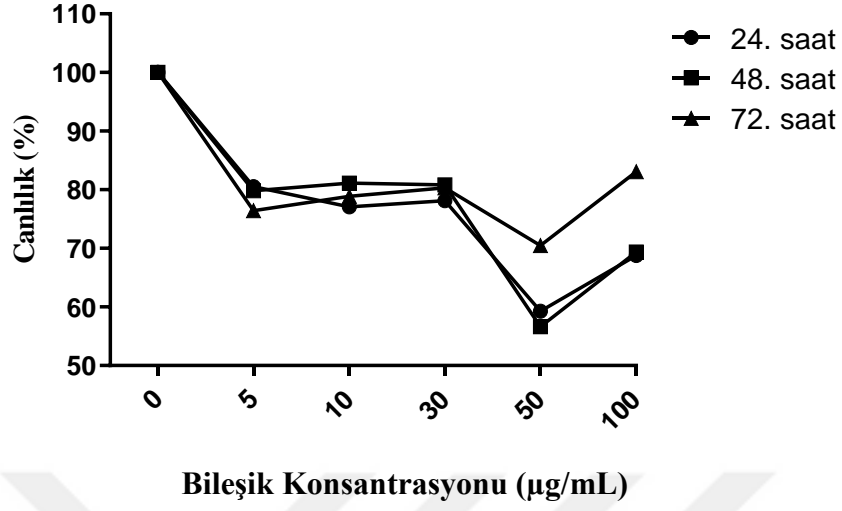
Bileşik 4'ün Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin zamana bağlı grafiği Şekil 4.25'de gösterilmiştir. 24. saatte 12,08 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak hesaplanan IC_{50} değeri, 48. saatte 10,30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ve 72. saate ise 7.048 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.25: Bileşik 4'ün Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Şekil 4.26'da bileşik 5'in Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi 24. saatte 48. ve 72. saatte IC_{50} değerleri hesaplanamamıştır.

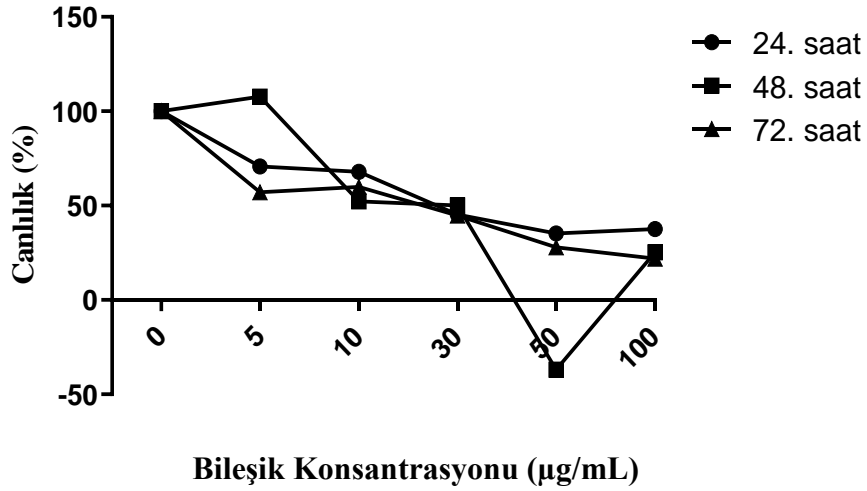
Bileşik 5 Hep 3B



Şekil 4.26: Bileşik 5'in Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 6'nın Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin zamana bağlı grafiği Şekil 4.27'de gösterilmiştir. 24. saatte 25.78 µg/mL olarak hesaplanan IC₅₀ değeri, 48. saatte 30.03 µg/mL ve 72. saatte ise 23.04 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

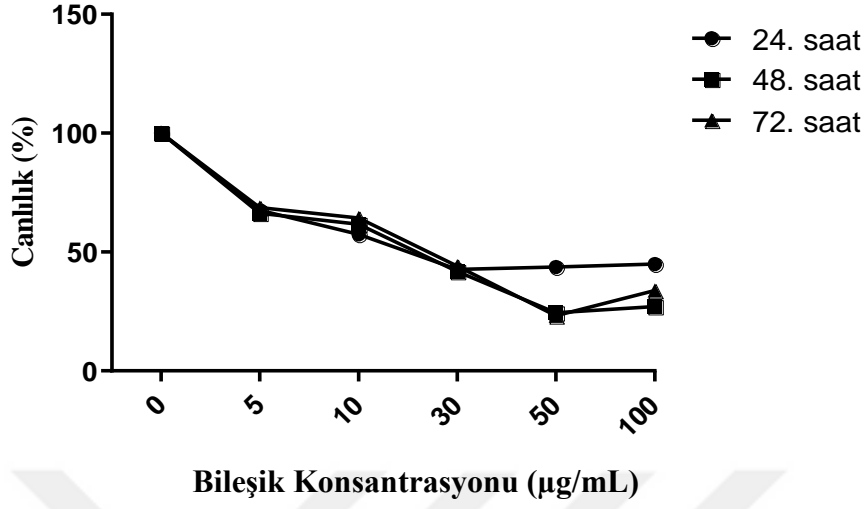
Bileşik 6 Hep 3B



Şekil 4.27: Bileşik 6'nın Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Bileşik 7'nin Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin zaman ve konsantrasyon bağımlı grafiği Şekil 4.28'de gösterilmiştir. 24. saatte 20.05 µg/mL olarak hesaplanan IC₅₀ değeri, 48. saatte 21.73 µg/mL ve 72. saate ise 24.09 µg/mL olarak tespit edilmiştir.

Bileşik 7 Hep 3B



Şekil 4.28: Bileşik 7'nin Hep 3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

Çalışmada kullanılan bileşiklerin Hep 3B hücrelerine karşı sitotoksik etkisi, 5-100 µg/mL değişen konsantrasyonlarda uygulanmış ve MTT analiz sonuçları 24. 48. ve 72. saatte alınarak IC₅₀ değerleri hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4: Bileşiklerin karaciğer kanser hücreleri (Hep 3B) üzerine zamana bağlı IC₅₀ değerleri (µg/mL)

Bileşikler	24.saat	48.saat	72.saat
Bileşik 1	>100	28,49	>100
Bileşik 2	>100	38,35	48,90
Bileşik 3	>100	36,56	29,12
Bileşik 4	12,08	10,30	7,048
Bileşik 5	>100	>100	>100
Bileşik 6	25,78	30,03	23,04
Bileşik 7	20,05	21,73	24,09

Çizelge incelendiğinde bileşik 3 ve bileşik 6'nın IC₅₀ değerlerinin Hep 3B hücrelerine karşı çok yüksek bir sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Çizelge incelendiğinde ve bileşik 5'in Hep 3B hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri hesaplanamamıştır.

4.2 Kinolin ve Türevlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri

Sentezlenen kinolin ve bileşiklerinin antimikrobiyal analizleri de yapılmıştır. Çalışmada gram negatif bakterilerinden *E. coli*, gram pozitif bakterilerinden *S. aureus* ve maya türü olan *C. albicans* mikroorganizmaları kullanılmıştır. Kinolin ve bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri 96 kuyucuklu plakeler kullanılarak mikrodilüsyon yöntemi yapılmış ve MİK değerleri hesaplanmış olup sonuçlar Çizelge 4.5’de gösterilmiştir. Kullanılan mikroorganizmaların üremesini engelleyen minimum inhibe edici konsantrasyon $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur (Apohan ve diğ, 2017).

Çizelge 4.5: Kinolin ve kinolin türevi bileşiklerin antimikrobiyal aktivite sonuçları ($\mu\text{g/mL}$)

Bileşikler	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C.albicans</i>
Bileşik 1	>3200	>3200	>3200
Bileşik 2	>3200	>3200	>3200
Bileşik 3	>3200	>3200	>3200
Bileşik 4	>3200	>3200	>3200
Bileşik 5	>3200	>3200	>3200
Bileşik 6	>3200	>3200	>3200
Bileşik 7	>3200	>3200	>3200
Gentamisin	0.78	0.39	----
Flukonazol	----	----	0.39

Çizelge 4.5 incelendiğinde çalışmada kullanılan kinolin türevi bileşiklerin Gr(-) bakterilerinden *E. coli*, Gr(+) bakterilerinden *S. aureus* ve maya türü olan *C. albicans* üzerinde antimikrobiyal etkisinin yeterli düzeyde olmadığı tespit edilmiştir. *E. coli*, *S. aureus* bakterileri ve *C. albicans* mayasındaki MİK değerleri $>3200 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada yeni sentezlenen yedi farklı kinolin türevi bileşiğin hücre canlılığı üzerine etkisini belirlemek için MTT analizi yapılmıştır. Bütün bileşiklerin A549 (küçük hücre dışı akciğer karsinomu), Hep 3B (karaciğer kanseri), HUVEC (endotelial hücresi) ve BEAS2B (sağlıklı akciğer epitel hücre hattı) hatları üzerindeki sitotoksik etkilerinin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan bileşikler, hücre hatlarına 5, 10, 30, 50 ve 100 µg/mL konsantrasyon aralığında uygulanmıştır. Tüm bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri, minimum inhibe konsantrasyon yöntemi ile belirlenmiştir.

Kinolin türevi bileşiklerin sonuçları değerlendirildiğinde A549 hücre hattı üzerine sitotoksik aktivite gösterdiği görülmektedir (Çizelge 4.1). Çalışmada kullanılan bileşiklerin sağlıklı hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi araştırılmıştır (Çizelge 4.2). Bileşik 2'nin 72.saatte IC₅₀ değeri A549 için 10.14 µg/mL BEAS2B için 17.25 µg/mL'dir. Bütün bileşiklerin sitotoksik etkisinin güçlü olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda bileşik 2 ve bileşik 6'nın BEAS2B hücresi üzerinde de sitotoksik etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Kanser hastalarının tedavisi sırasında kullanılan kemoterapötik ilaçlarda aranan temel özellik kanser hücrelerini öldürmesi ancak sağlıklı hücreye ya hiç zarar vermemesi ya da kanser hücrelerine oranla çok daha az zarar vermesidir. Bu nedenle yeni sentezlenen bileşiklerin sitotoksik etkisi sağlıklı hücreler üzerinde de değerlendirilmiştir.

Çalışmalarda elde edilen bulgulara göre bileşik 2'nin A549 hücre canlılığı üzerine etkisi 24. 48 ve 72. saatlerde konsantrasyona bağlı olarak IC₅₀ değeri sırasıyla 10.48 µg/mL 9.738 µg/mL, 10.14 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Bileşik 6'nın A549 hücre canlılığı 24. saatte 7.307 µg/mL, 48. Saatte 9.888 µg/mL, 72. saatte 10.63 µg/mL konsantrasyona bağlı olarak IC₅₀ değeri sırasıyla hesaplanmıştır. Huvec hücre hattı için bileşik 6'nın sitotoksik etkisinin IC₅₀ değeri ise sırasıyla 8.430 µg/mL, 29.04 µg/mL, 37.58 µg/mL olarak belirlenmiştir. Bileşik 6'nın Hep 3B için 24, 48 ve 72. saatlerde sırasıyla IC₅₀ değeri 25.78 µg/mL, 30.03 µg/mL, 23.04 µg/mL'dir. Bileşik 6'nın bütün hücre hatlarında sitotoksik etkisi olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

A549 hücre hattı üzerinde bileşik 7'nin sitotoksik etkisi 24.saatte IC₅₀ değeri >100 µg/mL iken 48. ve 72. saatlerde sırasıyla 24.22 µg/mL, 69.09 µg/mL olarak ölçülmüştür.

Aynı bileşiğin BEAS2B hücre canlılığı üzerine etkisi 24.saatte IC₅₀ değeri >100 µg/mL iken 48 ve 72. saatlerde 87.85 µg/mL, 99.11 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Bileşik 7'nin A549 hücre hattı üzerinde 24.saatteki sitotoksik etkisi görülmezken maruz kaldığı saate göre sitotoksik etkinin görüldüğü tespit edilmiştir.

Kinolin türevi bileşiklerin sitotoksik etkisini inceleyen çalışmalarla ilgili yapılan kaynak araştırmalarında çok farklı kanser hücre hatlarının bu amaçla kullanıldığı görülmüştür. Alonso ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada yeni kinolin türevi bileşikler sentezlenerek bu bileşiklerin insan akciğer adenokarsinomu (A549), insan yumurtalık karsinomunu (SKOV03) ve insan embriyonik böbreği (HEK293) gibi farklı hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisi araştırılmıştır.A549 hücre hattı üzerine 1,2,3,4-tetrahidrokinolinilfosfinoksit'in 0.25± 0.03 mM IC₅₀ değeri sitotoksik aktivite gösterirken, aynı hücre hattı üzerinde 1,2,3,4-tetrahidrokinolinilfosfinin 9c'nin 0,08 ± 0.01 mM IC₅₀ değeri ile 1,2,3,4 tetrahidrokinolinilfosfin sülfür türevi 10f'nin 0.03 ± 0.04 mM IC₅₀ değerinin sitotoksik aktivitesinin daha etkili olduğu belirlenmiştir (Alonso ve diğ, 2018).Bu çalışmada ise yeni kinolin türevi bileşiklerin A549 hücreleri üzerine uygulanan bileşik 2'nin sitotoksik etkisinin güçlü olduğu belirlenmiştir. Bileşik 1 ve bileşik 3'ün A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin olmadığı görülmüştür.

Haiba ve arkadaşları tarafından sentezlenen kinolin türevi bileşiklerin, karaciğer kanser hücreleri (HepG-2) ve meme kanseri hücreleri üzerine (MCF-7) sitotoksik aktivitesi değerlendirilmiştir. Sonuç olarak bileşik 4 ve 11'in, HepG-2 karaciğer kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivitesinin olduğu belirlenmiştir. Çalışılan tüm bileşiklerin MCF-7 hücrelerine karşı önemli ölçüde sitotoksik aktivitesinin olduğu belirtilmiştir (Haiba ve diğ,2019).

Yapılan bir diğer çalışmada yeni sentezlenen kinolin türevlerinin A549 hücreleri üzerine sitotoksik aktivitesi değerlendirilmiştir. Bileşiklerden bileşik 1'in A549 hücreleri üzerine 29.3 µg mL⁻¹ IC₅₀ değeri ile sitotoksikite gösterdiği belirlenmiştir (Wang ve diğ, 2011).Bu çalışmada iseA549 hücreleri üzerine bileşik 2'nin sitotoksik etkisinin olduğu görülmüştür.

Hep G2 ve Hep 3B gibi insan kanser hücre hatlarına karşı sitotoksik aktiviteleri belirlemek için yapılan bir diğer çalışmada yeni bir kinolin-azetidion hibrit, sentezlenmiştir. Bileşik 6f (IC₅₀ = 0.04 ± 0.01 mM) ve6j bileşiği (IC₅₀ = 0.66 ± 0.01 mM), Hep G2 hücre hattına karşı proliferasyonu durdurucu sitotoksik aktivite sergilemiştir (Alegaon ve diğ, 2017). Bu çalışmada kinolin türevi bileşiklerden bileşik 6'nın Hep 3B hücreleri üzerine güçlü sitotoksik aktivitesinin olduğu bulunmuştur.

Sultana ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada birbirinden farklı 18 adet yeni kinolin türevi bileşikler sentezlenmiş ve bileşiklerin sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bileşikler arasından bileşik 6b'nin kolon kanserine karşı (HT29) daha iyi sitotoksik aktivitesinin olduğu IC₅₀ değeri ile 2.61±0.34 µM hesaplanmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda kinolin türevi bileşiklerin sitotoksik aktivitelerinin güçlü olduğu ifade edilmiştir (Sultana ve diğ, 2021).

Bu çalışmada yeni sentezlenen kinolin bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek için gram negatif *E. coli*, gram pozitif *S. aureus* bakterileri ile *C. albicans* maya suşları kullanılmıştır. Çalışmadaki bileşiklerin bakteri ve mayalar üzerindeki etkileri minimum inhibe edici konsantrasyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. MİK değerleri yüksek bulunduğundan antimikrobiyal özellik göstermediği tespit edilmiştir.

Thakare ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada yeni 4-{1-fenil-4-[(4-fenil-1,2,3-triazol-1-il)metil]pirazol-3-il}kinolin (7a-l) türevi bileşikler sentezlenmiş ve bu bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri gram negatif bakteriler, *E. coli* (NCIM 2574) ve

P. mirabilis (NCIM 2388), gram pozitif bakteriler, *B. subtilis* (NCIM 2063) ve *S. albus* (NCIM 2178), maya olan *C. albicans* (NCIM 3100) ve küf olan *A. niger*'e (ATCC 504) karşı değerlendirilmiştir. Beş farklı 1,2,3-triazolil-pirazolil-kinolin türevi bileşiklerin (7d, 7g, 7h, 7k ve 7l) 62.5 µg/mL MİK değeri ile *A. niger*'e karşı antifungal aktivitelerinin etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Thakare ve diğ, 2020). Bu çalışmada gram negatif bakteriler, gram pozitif bakteriler ve mayalar üzerinde uygulanan kinolin türevi bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerinin olmadığı görülmüştür.

Yapılan başka bir çalışmada triazol/kinolin hibrit ürünleri ve ((prop-2-yn-1-yloxy)metil) benzen ara bağlayıcıların antimikrobiyal ve sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiştir. MDA-MB-231 ve Hep-G2 hücre hatları üzerine sitotoksik aktivitelerinin olmadığı belirtilmiştir. En iyi antifungal aktiviteye sahip bileşiklerin *S. cerevisiae*'ye karşı MİK değerleri 0.35-0.63 µM aralığındadır (Jamshidi ve diğ, 2022). Yapılan tez çalışmasında *E. coli*, *S. aureus* bakterileri ve *C. albicans* mayasına uygulanan bileşiklerin antimikrobiyal etkileri tespit edilememiştir.

Yapılan bu çalışma sonucunda kinolin türevi bileşiklerin bakteri ve mayalar üzerinde mikrodilüsyon yöntemi ile elde edilen veriler doğrultusunda antimikrobiyal aktivitesi >3200 µg/mL üzerinde olduğu saptanmıştır.

Heterosiklik kinolin türevi bileşiklerin biyolojik olarak etkinliğinin olması diğer çalışmalarda antikanser ilaç üretimi ve geliştirilmesinde öncülük edecek bir potansiyele

sahip olduğunu göstermektedir. Çalışmada kullanılan kinolin türevi bileşiklerinin iki tanesinin kullanılan tüm hücre hatları üzerine sitotoksik etki göstermiş olması nedeniyle bu bileşiklerin sitotoksik etki mekanizmasını anlamaya yönelik çalışmaların planlanması gerekmektedir.



6. KAYNAKLAR

- AlAjmi, M. F., Hussain, A., Rehman, M., Khan, A. A., Shaikh, P. A. & Khan, R. A.** (2018). Design, synthesis, and biological evaluation of benzimidazole-derived biocompatible copper (II) and zinc (II) complexes as anticancer chemotherapeutics, *International journal of molecular sciences*, 19(5), 1492.
- Alegaon, S. G., Parchure, P., Araujo, L. D., Salve, P. S., Alagawadi, K. R., Jalalpure, S. S. & Kumbar, V. M.** (2017). Quinoline-azetidinone hybrids: Synthesis and in vitro antiproliferation activity against Hep G2 and Hep 3B human cell lines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 27(7), 1566-1571.
- Ali, M. M., Frei, E., Straub, J., Breuer, A. & Wiessler, M.** (2002). Induction of metallothionein by zinc protects from daunorubicin toxicity in rats, *Toxicology*, 179(1-2), 85-93.
- Alonso, C., Fuertes, M., Martín-Encinas, E., Selas, A., Rubiales, G., Tesauero, C. & Palacios, F.** (2018). Novel topoisomerase I inhibitors. Syntheses and biological evaluation of phosphorus substituted quinoline derivatives with antiproliferative activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 149, 225-237.
- Altuner, D., Ekşi, S., Süleyman, H. & Turumtay, E. A.** (2021). The Effect of Usnea Longissima Extract on Lung Cancer Cell Line (A549), *ABCResearch*, 3(1), 1-5.
- Apohan, E., Yilmaz, U., Yilmaz, O., Serindag, A., Küçükbay, H., Yesilada, O. & Baran, Y.** (2017). Synthesis, cytotoxic and antimicrobial activities of novel cobalt and zinc complexes of benzimidazole derivatives, *Journal of Organometallic Chemistry*, 828, 52-58.
- Ashkenazi, A. & Dixit, V. M.** (1998). Death receptors: signaling and modulation, *science*, 1305-1308.
- Bharate, J. B., Vishwakarma, R. A. & Bharate, S. B.** (2015). Metal-free domino one-pot protocols for quinoline synthesis, *RSC advances*, 5(52), 42020-42053.
- 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, *Journal of Biological Chemistry*, 272(42), 26159-26165.
- Calvisi, D. F., Ladu, S., Gorden, A., Farina, M., Conner, E. A., Lee, J. S., Factor, V. M. & Thorgeirsson, S. S.** (2006). Ubiquitous activation of Ras and Jak/Stat pathways in human HCC, *Gastroenterology*, 130(4), 1117-1128.
- Cersosimo, R. J.** (2002). Lung cancer: a review. *American journal of health-system pharmacy*, 59(7), 611-642.
- Chau, B. N., Cheng, E. H.-Y., Kerr, D. A. & Hardwick, J. M.** (2000). Aven, a novel inhibitor of caspase activation, binds Bcl-xL and Apaf-1, *Molecular cell*, 6(1), 31-40.

- Chicheportiche, Y., Bourdon, P. R., Xu, H., Hsu, Y.-M., Scott, H., Hession, C., Garcia, I. & Browning, J. L.** (1997). TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis, *Journal of Biological Chemistry*, 272(51), 32401-32410.
- Chinnaiyan, A. M.** (1999). The apoptosome: heart and soul of the cell death machine, *Neoplasia*, 1(1), 5-15.
- Chundawat, N. S., Jadoun, S., Zarrintaj, P. & Chauhan, N. P. S.** (2021). Lanthanide complexes as anticancer agents: A review, *Polyhedron*, 115387.
- Cohen, G. M.** (1997). Caspases: the executioners of apoptosis, *Biochemical Journal*, 326(1), 1-16.
- Cooper, J. R., Abdullatif, M. B., Burnett, E. C., Kempell, K. E., Conforti, F., Tolley, H., Collins, J. E. & Davies, D. E.** (2016). Long term culture of the A549 cancer cell line promotes multilamellar body formation and differentiation towards an alveolar type II pneumocyte phenotype, *PLoS One*, 11(10), e0164438. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164438>
- Cory, S. & Adams, J. M.** (2002). The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch, *Nature Reviews Cancer*, 2(9), 647-656.
- Debnath, J., Baehrecke, E. H. & Kroemer, G.** (2005). Does autophagy contribute to cell death?, *Autophagy*, 1(2), 66-74.
- Degli Esposti, M.** (2002). The roles of Bid, *Apoptosis*, 7(5), 433-440.
- Diaconu, D., Mangalagiu, V., Amariuca-Mantu, D., Antoci, V., Giuroiu, C. L. & Mangalagiu, I. I.** (2020). Hybrid quinoline-sulfonamide complexes (M2+) derivatives with antimicrobial activity, *Molecules*, 25(12), 2946.
- Dorababu, A.** (2020). Report on Recently (2017–20) Designed Quinoline-Based Human Cancer Cell Growth Inhibitors, *ChemistrySelect*, 5(44), 13902-13915.
- Du, C., Fang, M., Li, Y., Li, L. & Wang, X.** (2000). Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition, *Cell*, 102(1), 33-42.
- Enari, M., Sakahira, H., Yokoyama, H., Okawa, K., Iwamatsu, A. & Nagata, S.** (1998). correction: A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD, *Nature*, 393(6683), 396-396.
- Fadok, V. A., de Cathelineau, A., Henson, P. M., Bratton, D. L. & Daleke, D. L.** (2001). Loss of phospholipid asymmetry and surface exposure of phosphatidylserine is required for phagocytosis of apoptotic cells by macrophages and fibroblasts, *Journal of Biological Chemistry*, 276(2), 1071-1077.

- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A. & Bray, F.** (2021). Cancer statistics for the year 2020: An overview, *International Journal of Cancer*.
- Ferlin, M. G., Chiarello, G., Gasparotto, V., Dalla Via, L., Pezzi, V., Barzon, L., Palù, G. & Castagliuolo, I.** (2005). Synthesis and in vitro and in vivo antitumor activity of 2-phenylpyrroloquinolin-4-ones, *Journal of medicinal chemistry*, 48(9), 3417-3427.
- Flores, R. M.** (2014). Lung cancer survivors need lung cancer screening, *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 149(1), 53-54.
- Fonkui, T. Y., Ikhile, M. I., Njobeh, P. B. & Ndinteh, D. T.** (2019). Benzimidazole Schiff base derivatives: synthesis, characterization and antimicrobial activity, *BMC chemistry*, 13(1), 1-11.
- Formigli, L., Papucci, L., Tani, A., Schiavone, N., Tempestini, A., Orlandini, G., Capaccioli, S. & Zecchi Orlandini, S.** (2000). Aponecrosis: morphological and biochemical exploration of a syncretic process of cell death sharing apoptosis and necrosis, *Journal of cellular physiology*, 182(1), 41-49.
- Gakhar, G., Ohira, T., Shi, A. B., Hua, D. H. & Nguyen, T. A.** (2008). Antitumor Effect of Substituted Quinolines in Breast Cancer Cells, *Drug Development Research*, 69(8), 526-534.
- Gasparotto, V., Castagliuolo, I., Chiarello, G., Pezzi, V., Montanaro, D., Brun, P., Palù, G., Viola, G. & Ferlin, M. G.** (2006). Synthesis and biological activity of 7-phenyl-6, 9-dihydro-3 H-pyrrolo [3, 2-f] quinolin-9-ones: a new class of antimitotic agents devoid of aromatase activity, *Journal of medicinal chemistry*, 49(6), 1910-1915.
- Giampazolias, E., Zunino, B., Dhayade, S., Bock, F., Cloix, C., Cao, K., Roca, A., Lopez, J., Ichim, G. & Proïcs, E.** (2017). Mitochondrial permeabilization engages NF- κ B-dependent anti-tumour activity under caspase deficiency, *Nature cell biology*, 19(9), 1116-1129.
- Giard, D. J., Aaronson, S. A., Todaro, G. J., Arnstein, P., Kersey, J. H., Dosik, H. & Parks, W. P.** (1973). In vitro cultivation of human tumors: establishment of cell lines derived from a series of solid tumors, *Journal of the National Cancer Institute*, 51(5), 1417-1423.
- Gupta, R. K., Sharma, G., Pandey, R., Kumar, A., Koch, B., Li, P.-Z., Xu, Q. & Pandey, D. S.** (2013). DNA/protein binding, molecular docking, and in vitro anticancer activity of some thioether-dipyrrinato complexes, *Inorganic chemistry*, 52(24), 13984-13996.
- Güleç, G. & Büyükkıncı, A.** (2011). Kanser ve psikiyatrik bozukluklar, *Psikiyatride güncel yaklaşımlar*, 3(2), 343-367.

- Ha, M.-H., Ham, S.-Y., Lee, D.-H. & Choi, J.** (2007). In vitro toxicity assay using human bronchial epithelial cell, Beas-2B, for the screening of toxicological risk of dioxin-like compounds sampled from small sized Korean waste incineration plants, *Chemosphere*, 70(1), 20-28.
- Haas, K. L. & Franz, K. J.** (2009). Application of metal coordination chemistry to explore and manipulate cell biology, *Chemical reviews*, 109(10), 4921-4960.
- Häcker, G.** (2000). The morphology of apoptosis, *Cell and tissue research*, 301(1), 5-17.
- Haiba, M. E., Al-Abdullah, E. S., Ahmed, N. S., Ghabbour, H. A. & Awad, H. M.** (2019). Efficient and easy synthesis of new Benzo [h] chromene and Benzo [h] quinoline derivatives as a new class of cytotoxic agents. *Journal of Molecular Structure*, 1195, 702-711.
- Han, X., Na, T., Wu, T. & Yuan, B.-Z.** (2020). Human lung epithelial BEAS-2B cells exhibit characteristics of mesenchymal stem cells, *PLoS One*, 15(1), e0227174.
- He, J., Liang, X., Luo, F., Chen, X., Xu, X., Wang, F. & Zhang, Z.** (2016). P53 is involved in a three-dimensional architecture-mediated decrease in chemosensitivity in colon cancer, *Journal of Cancer*, 7(8), 900.
- Hengartner, M. O.** (2000). The biochemistry of apoptosis, *Nature*, 407(6805), 770-776.
- Hill, M. M., Adrain, C., Duriez, P. J., Creagh, E. M. & Martin, S. J.** (2004). Analysis of the composition, assembly kinetics and activity of native Apaf-1 apoptosomes, *The EMBO journal*, 23(10), 2134-2145.
- Hirsch, T., Marchetti, P., Susin, S. A., Dallaporta, B., Zamzami, N., Marzo, I., Geuskens, M. & Kroemer, G.** (1997). The apoptosis-necrosis paradox. Apoptogenic proteases activated after mitochondrial permeability transition determine the mode of cell death *Oncogene*, 15(13), 1573-1581.
- Hitoshi, Y., Lorens, J., Kitada, S.-I., Fisher, J., LaBarge, M., Ring, H. Z., Francke, U., Reed, J. C., Kinoshita, S. & Nolan, G. P.** (1998). Toso, a cell surface, specific regulator of Fas-induced apoptosis in T cells, *Immunity*, 8(4), 461-471.
- Hsu, H., Xiong, J. & Goeddel, D. V.** (1995). The TNF receptor 1-associated protein TRADD signals cell death and NF- κ B activation, *Cell*, 81(4), 495-504.
- Igney, F. H. & Krammer, P. H.** (2002). Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis, *Nature Reviews Cancer*, 2(4), 277-288.
- Imran, M., Rauf, A., Abu-Izneid, T., Nadeem, M., Shariati, M. A., Khan, I. A., Imran, A., Orhan, I. E., Rizwan, M. & Atif, M.** (2019). Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112, 108612.
- Jain, S., Chandra, V., Jain, P. K., Pathak, K., Pathak, D. & Vaidya, A.** (2019). Comprehensive review on current developments of quinoline-based anticancer agents, *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8), 4920-4946.

- Jamshidi, H., Naimi-Jamal, M. R., Safavi, M., RayatSanati, K., Azerang, P. & Tahghighi, A.** (2022). Synthesis and biological activity profile of novel triazole/quinoline hybrids, *Chemical Biology & Drug Design*.
- Jeyaraj, M., Rajesh, M., Arun, R., MubarakAli, D., Sathishkumar, G., Sivanandhan, G., Dev, G. K., Manickavasagam, M., Premkumar, K. & Thajuddin, N.** (2013). An investigation on the cytotoxicity and caspase-mediated apoptotic effect of biologically synthesized silver nanoparticles using *Podophyllum hexandrum* on human cervical carcinoma cells, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 102, 708-717.
- Kahveci, B., Yilmaz, F., Mentese, E. & Ülker, S.** (2015). Microwave-assisted synthesis of some new coumarin derivatives including 1, 2, 4-triazol-3-one and investigation of their biological activities, *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 51(5), 447-456.
- Kataoka, T., Schröter, M., Hahne, M., Schneider, P., Irmeler, M., Thome, M., Froelich, C. J. & Tschopp, J.** (1998). FLIP prevents apoptosis induced by death receptors but not by perforin/granzyme B, chemotherapeutic drugs, and gamma irradiation, *The Journal of Immunology*, 161(8), 3936-3942.
- Kerr, J. F.** (2002). History of the events leading to the formulation of the apoptosis concept, *Toxicology*, 181, 471-474.
- Khodade, V. S., Dharmaraja, A. T. & Chakrapani, H.** (2012). Synthesis, reactive oxygen species generation and copper-mediated nuclease activity profiles of 2-aryl-3-amino-1, 4-naphthoquinones, *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 22(11), 3766-3769.
- Kischkel, F. C., Hellbardt, S., Behrmann, I., Germer, M., Pawlita, M., Krammer, P. H. & Peter, M. E.** (1995). Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor, *The EMBO journal*, 14(22), 5579-5588.
- Kothakota, S., Azuma, T., Reinhard, C., Klippel, A., Tang, J., Chu, K., McGarry, T. J., Kirschner, M. W., Kothe, K. & Kwiatkowski, D. J.** (1997). Caspase-3-generated fragment of gelsolin: effector of morphological change in apoptosis, *science*, 278(5336), 294-298.
- Kumar, S., Shah, P., Tripathi, S. K., Khan, S. I. & Singh, I. P.** (2022). Synthesis and In Vitro Evaluation of Hydrazonomethyl-Quinolin-8-ol and Pyrazol-3-yl-Quinolin-8-ol Derivatives for Antimicrobial and Antimalarial Potential, *Medicinal Chemistry (Shariqah (United Arab Emirates))*.
- Kuppusamy, P., Yusoff, M. M., Maniam, G. P., Ichwan, S. J. A., Soundharrajan, I. & Govindan, N.** (2014). Nutraceuticals as potential therapeutic agents for colon cancer: a review, *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4(3), 173-181.
- Kurosaka, K., Takahashi, M., Watanabe, N. & Kobayashi, Y.** (2003). Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages, *The Journal of Immunology*, 171(9), 4672-4679.

- Küçükbay, H., Gönül, Z., Küçükbay, F. Z., Tekin, Z., Angeli, A., Bartolucci, G. & Yeşilada, Ö.** (2021). Synthesis of new 7-amino-3, 4-dihydroquinolin-2 (1H)-one-peptide derivatives and their carbonic anhydrase enzyme inhibition, antioxidant, and cytotoxic activities. *Archiv der Pharmazie*, 354(11), 2100122.
- Kwong, W.-L., Sun, R. W.-Y., Lok, C.-N., Siu, F.-M., Wong, S.-Y., Low, K.-H. & Che, C.-M.** (2013). An ytterbium (III) porphyrin induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis in cancer cells: cytotoxicity and transcriptomics studies, *Chemical Science*, 4(2), 747-754.
- Lewandowska, A. M., Lewandowski, T., Rudzki, M., Rudzki, S. & Laskowska, B.** (2021). Cancer prevention - review paper, *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 28(1), 11-19.
- Li, H., Zhu, H., Xu, C.-j. & Yuan, J.** (1998). Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the Fas pathway of apoptosis, *Cell*, 94(4), 491-501.
- Li, L. Y., Luo, X. & Wang, X.** (2001). Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria, *Nature*, 412(6842), 95-99.
- Locksley, R. M., Killeen, N. & Lenardo, M. J.** (2001). The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology, *Cell*, 104(4), 487-501.
- Marchio, P., Guerra-Ojeda, S., Vila, J. M., Aldasoro, M., Victor, V. M. & Mauricio, M. D.** (2019). Targeting early atherosclerosis: a focus on oxidative stress and inflammation, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.
- Martinvalet, D., Zhu, P. & Lieberman, J.** (2005). Granzyme A induces caspase-independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis, *Immunity*, 22(3), 355-370.
- Medina-Leyte, D. J., Domínguez-Pérez, M., Mercado, I., Villarreal-Molina, M. T. & Jacobo-Albavera, L.** (2020). Use of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) as a model to study cardiovascular disease: A review, *Applied Sciences*, 10(3), 938.
- Metzstein, M. M., Stanfield, G. M. & Horvitz, H. R.** (1998). Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: past, present and future, *Trends in genetics*, 14(10), 410-416.
- Mirkes, P. E.** (2002). 2001 Warkany lecture: to die or not to die, the role of apoptosis in normal and abnormal mammalian development, *Teratology*, 65(5), 228-239.
- Nazlibilek, S., Karacor, D., Ercan, T., Sazli, M. H., Kalender, O. & Ege, Y.** (2014). Automatic segmentation, counting, size determination and classification of white blood cells, *Measurement*, 55, 58-65.
- Newmeyer, D., Bossy-Wetzell, E., Kluck, R., Wolf, B., Beere, H. & Green, D.** (2000). Bcl-x L does not inhibit the function of Apaf-1, *Cell Death & Differentiation*, 7(4), 402-407.

- Norbury, C. J. & Hickson, I. D.** (2001). Cellular responses to DNA damage, *Annual review of pharmacology and toxicology*, 41(1), 367-401.
- Onat, D., Brillon, D., Colombo, P. C. & Schmidt, A. M.** (2011). Human vascular endothelial cells: a model system for studying vascular inflammation in diabetes and atherosclerosis, *Current diabetes reports*, 11(3), 193-202.
- Ökçesiz, A. & Ündeğer Bucurgat, Ü.** (2017). Stem cells in cytotoxicity studies Sitotoksosite çalışmalarında kök hücre.
- Peter, M. E. & Krammer, P. H.** (1998). Mechanisms of CD95 (APO-1/Fas)-mediated apoptosis, *Current opinion in immunology*, 10(5), 545-551.
- Qiao, X., Ma, Z.-Y., Xie, C.-Z., Xue, F., Zhang, Y.-W., Xu, J.-Y., Qiang, Z.-Y., Lou, J.-S., Chen, G.-J. & Yan, S.-P.** (2011). Study on potential antitumor mechanism of a novel Schiff Base copper (II) complex: synthesis, crystal structure, DNA binding, cytotoxicity and apoptosis induction activity, *Journal of inorganic biochemistry*, 105(5), 728-737.
- Qiu, G.-H., Xie, X., Xu, F., Shi, X., Wang, Y. & Deng, L.** (2015). Distinctive pharmacological differences between liver cancer cell lines HepG2 and Hep3B, *Cytotechnology*, 67(1), 1-12.
- 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.
- Reddel, R. R., Ke, Y., Gerwin, B. I., McMenamin, M. G., Lechner, J. F., Su, R. T., Brash, D. E., Park, J.-B., Rhim, J. S. & Harris, C. C.** (1988). Transformation of human bronchial epithelial cells by infection with SV40 or adenovirus-12 SV40 hybrid virus, or transfection via strontium phosphate coprecipitation with a plasmid containing SV40 early region genes, *Cancer research*, 48(7), 1904-1909.
- Rephaeli, A. & Nordenberg, J.** (1994). Cytodifferentiation inducers as anticancer agents, *Oncology reports*, 1(3), 481-487.
- Richards, A. D. & Rodger, A.** (2007). Synthetic metallomolecules as agents for the control of DNA structure, *Chemical Society Reviews*, 36(3), 471-483.
- Roy, M. & Datta, A.** (2019). *Cancer genetics and therapeutics: focus on phytochemicals*, Springer Nature.
- Rubio-Moscardo, F., Blesa, D., Mestre, C., Siebert, R., Balasas, T., Benito, A., Rosenwald, A., Climent, J., Martinez, J. I. & Schilhabel, M.** (2005). Characterization of 8p21. 3 chromosomal deletions in B-cell lymphoma: TRAIL-R1 and TRAIL-R2 as candidate dosage-dependent tumor suppressor genes, *Blood*, 106(9), 3214-3222.

- Ryckebusch, A., Garcin, D., Lansiaux, A., Goossens, J.-F., Baldeyrou, B., Houssin, R., Bailly, C. & Hénichart, J.-P.** (2008). Synthesis, cytotoxicity, DNA interaction, and topoisomerase II inhibition properties of novel indeno [2, 1-c] quinolin-7-one and indeno [1, 2-c] isoquinolin-5, 11-dione derivatives, *Journal of medicinal chemistry*, 51(12), 3617-3629.
- S Darvesh, A., B Aggarwal, B. & Bishayee, A.** (2012). Curcumin and liver cancer: a review, *Current pharmaceutical biotechnology*, 13(1), 218-228.
- Saelens, X., Festjens, N., Walle, L. V., Van Gurp, M., Van Loo, G. & Vandenabeele, P.** (2004). Toxic proteins released from mitochondria in cell death, *Oncogene*, 23(16), 2861-2874.
- Sakahira, H., Enari, M. & Nagata, S.** (1998). Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis, *Nature*, 391(6662), 96-99.
- Savill, J. & Fadok, V.** (2000). Corpse clearance defines the meaning of cell death, *Nature*, 407(6805), 784-788.
- Scaffidi, C., Schmitz, I., Krammer, P. H. & Peter, M. E.** (1999). The role of c-FLIP in modulation of CD95-induced apoptosis, *Journal of Biological Chemistry*, 274(3), 1541-1548.
- Schmidt, F., Knobbe, C. B., Frank, B., Wolburg, H. & Weller, M.** (2008). The topoisomerase II inhibitor, genistein, induces G2/M arrest and apoptosis in human malignant glioma cell lines, *Oncology reports*, 19(4), 1061-1066.
- Schuler, M. & Green, D.** (2001). Mechanisms of p53-dependent apoptosis, *Biochemical Society Transactions*, 29(6), 684-688.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E. & Jemal, A.** (2021). Cancer statistics, 2021. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(1), 7-33.
- Slee, E. A., Adrain, C. & Martin, S. J.** (2001). Executioner caspase-3,-6, and-7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phase of apoptosis, *Journal of Biological Chemistry*, 276(10), 7320-7326.
- Suliman, A., Lam, A., Datta, R. & Srivastava, R. K.** (2001). Intracellular mechanisms of TRAIL: apoptosis through mitochondrial-dependent and-independent pathways, *Oncogene*, 20(17), 2122-2133.
- Sultana, R. & Tippanna, R. R.** (2021). Chromene, Quinoline Hybrids as Potential Anti-Cancer Agents: A Novel and Distinct Approach for the Synthesis of Quinoline Derivatives, *Letters in Organic Chemistry*, 18(4), 265-272.
- Sun, R. W.-Y., Ma, D.-L., Wong, E. L.-M. & Che, C.-M.** (2007). Some uses of transition metal complexes as anti-cancer and anti-HIV agents, *Dalton Transactions*(43), 4884-4892.

- Thakare, P. P., Shinde, A. D., Chavan, A. P., Nyayanit, N. V., Bobade, V. D. & Mhaske, P. C.** (2020). Synthesis and Biological Evaluation of New 1, 2, 3-Triazolyl-Pyrazolyl-Quinoline Derivatives as Potential Antimicrobial Agents, *ChemistrySelect*, 5(15), 4722-4727.
- Vallabani, N., Mittal, S., Shukla, R. K., Pandey, A. K., Dhakate, S. R., Pasricha, R. & Dhawan, A.** (2011). Toxicity of graphene in normal human lung cells (BEAS-2B), *Journal of biomedical nanotechnology*, 7(1), 106-107.
- Veljkovic, E., Jiricny, J., Menigatti, M., Rehrauer, H. & Han, W.** (2011). Chronic exposure to cigarette smoke condensate in vitro induces epithelial to mesenchymal transition-like changes in human bronchial epithelial cells, BEAS-2B, *Toxicology in Vitro*, 25(2), 446-453.
- Wajant, H.** (2002). The Fas signaling pathway: more than a paradigm, *science*, 296(5573), 1635-1636.
- Wang, B.-d., Yang, Z.-Y., Crewdson, P. & Wang, D.-q.** (2007). Synthesis, crystal structure and DNA-binding studies of the Ln (III) complex with 6-hydroxychromone-3-carbaldehyde benzoyl hydrazone, *Journal of inorganic biochemistry*, 101(10), 1492-1504.
- Wang, C.-H., Shih, W.-C., Chang, H. C., Kuo, Y.-Y., Hung, W.-C., Ong, T.-G. & Li, W.-S.** (2011). Preparation and characterization of amino-linked heterocyclic carbene palladium, gold, and silver complexes and their use as anticancer agents that act by triggering apoptotic cell death, *Journal of medicinal chemistry*, 54(14), 5245-5249.
- Wang, X. J., Gong, D. L., Wang, J. D., Zhang, J., Liu, C. X. & Xiang, W. S.** (2011). A new quinoline derivative with cytotoxic activity from *Streptomyces* sp. neu50. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 21(8), 2313-2315.
- Xu, Z. H., Xi, P. X., Chen, F. J. & Zeng, Z. Z.** (2009). Synthesis, characterization, and DNA-binding of Ln (III) complexes with 2-hydroxybenzylidene-2-phenylquinoline-4-carbonylhydrazone, *Journal of Coordination Chemistry*, 62(13), 2193-2202.
- Yernale, G.** (2021). A comprehensive review on the biological interest of quinoline and its derivatives, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 32, 115973.
- Zeiss, C.** (2003). The apoptosis-necrosis continuum: insights from genetically altered mice, *Veterinary pathology*, 40(5), 481-495.

ÖZGEÇMİŞ

Ad- Soyad : Emine ADIYAMAN

ÖĞRENİM DURUMU :

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

Mesleki Deneyim :

Katıldığı Konferanslar:

1. Orta Doğu Teknik Üniversitesi Biyoloji ve Genetik Topluluğu tarafından düzenlenen uluslar arası katılımlı 7. Ulusal Evrim Konferansı katılım belgesi.

Yapılan Çalışmalar:

1. Mersin ilinde Bitkisel Ürünlerin Tüketimi ve Kullanım Şekilleri çalışmasında Gaziantep' teki VIII. Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Kongresi çalışmasında yer aldım.

Sertifikalar:

1. Mersin Üniversitesi Pedagojik Formasyon Sertifikası, 2015,MERSİN
2. Milli Eğitim Bakanlığı onaylı Bilgisayar Sertifikası, 2008,ADIYAMAN

Stajlar:

1. Gölbaşı / ADIYAMAN Devlet Hastanesi'nde 3 ay (iş günü) staj.

Diğer:

1. Milli Eğitim Bakanlığına Bağlı kurumlarda altı yıl ücretli öğretmenlik
2. Mersin Üniversitesi 2009- 2010, 2011-2012 Eğitim Öğretim Yılı Yüksek Onur Belgesi