

**BAZI BENZOTİYAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN  
MUTAJENİK POTANSİYELLERİNİN AMES TEST SİSTEMİ  
İLE BELİRLENMESİ**

**DETERMINATION OF MUTAGENIC POTENTIALS OF  
SOME BENZOTHIAZOLE DERIVATIVES BY AMES TEST  
SYSTEM**

**ŞERİFE ÖMÜR BOSTANCI**

**PROF. DR. NURAN DİRİL**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2014

**ŞERİFE ÖMÜR BOSTANCI'** nın hazırladığı, “Bazı Benzotiyazol Türevi Bileşiklerin Mutajenik Potansiyellerinin Ames Test Sistemi ile Belirlenmesi”**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'**nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Esin AKI YALÇIN

Başkan .....

Prof. Dr. Nuran DİRİL

Üye (Danışman) .....

Prof. Dr. Afife İZBIRAK

Üye .....

Prof. Dr. Sibel SÜMER

Üye .....

Yrd. Doç. Dr. Emine ÖKSÜZOĞLU

Üye .....

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

Prof. Dr. Fatma Sevin DÜZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

*Canım aileme,*

## ETİK

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

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

beyan ederim.

28/01/2014

ŞERİFE ÖMÜR BOSTANCI

## ÖZET

### BAZI BENZOTİYAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN MUTAJENİK POTANSİYELLERİNİN AMES TEST SİSTEMİ İLE BELİRLENMESİ

Şerife Ömür BOSTANCI

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nuran DİRİL

Ocak 2014, 68 sayfa

Çalışma kapsamında, kematerapötik etkili olabileceği düşünülen 15 adet 2 substitue benzotiyazol türevi bileşiğin Ames test sistemi ile mutajenik aktiviteleri araştırılmıştır.

Benzotiyazol türevi kimyasal bileşikler *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşları kullanılarak Ames /*Salmonella* test yöntemi ile mutajenik etkileri açısından değerlendirilmiştir.

Elde edilen sonuçlar kontrol grupları ile beraber SPSS programında *ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi)* ve Dunnett T çoklu karşılaştırma testi kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Değerlendirme sonucunda 9 ve 15 numaralı bileşiklerde *S.typhimurium* TA100 suşunda kuvvetli mutajenik etki söz konusuysen, 7 numaralı bileşik hem *S.typhimurium* TA98 (150 ve 200 µg/plak) hem de TA100 (50 µg/plak) suşları için mutajenik etki göstermiştir. 13 numaralı bileşikte zayıf mutajenik etki (150 ve 200µg/plak) gözlemlenmiş, 4 numaralı bileşik *S.typhimurium* TA98 (50µg/plak) suşunda mutajenik etki göstermiştir. 1,2,3,5,6,8,10,11,12,14 numaralı bileşiklerin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında mutajenik etkili olmadığı gözlemlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Benzotiyazol türevleri, Ames Test, *Salmonella typhimurium*, mutajenite

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF MUTAGENIC POTENTIALS OF SOME BENZOTHIAZOLE DERIVATIVES BY AMES TEST SYSTEM

Şerife Ömür BOSTANCI

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Nuran DİRİL

January 2014, 68 pages

In this study, the mutagenic potentials of 15 numbers of 2 substituted benzothiazole derivatives which might be effective as chemotherapeutic agents were investigated with Ames test system.

Mutagenic potential of benzothiazole derivatives was evaluated with Ames /*Salmonella* test system by using *Salmonella typhimurium* strains TA 98 and TA 100.

The obtained results were analyzed statistically by using ANOVA (One-Way ANOVA) test in SPSS programme with the control groups.

As a result of 9 and 15 numbered compounds have shown strong mutagenic effect on *S.typhimurium* TA100 strain at every dose, 7 numbered compound was found to be mutagenic on both *S.typhimurium* TA 98 (150 and 200 µg/plaque) and *S. typhimurium* TA 100 (50 µg/plaque) strains while, 4 numbered compound has mutagenic shown only on *S. typhimurium* TA98 (50 µg/plaque) strains, 13 numbered compound has shown weak mutagenic effect at 150 and 200 µg/plaque. Benzothiazole derivatives numbered 1,2,3,5,6,8,10,11,12 and 14 numbered have not shown mutagenic effect on the *S.typhimurium* TA 98 and *S.typhimurium* TA 100 strains.

**Key words:** Benzothiazole derivatives, Ames Test, *Salmonella typhimurium*, mutagenicity.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesinde, değerli bilgilerini, yardım ve önerilerini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof.Dr.Nuran DİRİL'e;

Değerli katkılarından ve güler yüzünden dolayı Yrd. Doç. Dr. Emine ÖKSÜZOĞLU'na;

Özellikle çalışmamın her aşamasında birlikte olduğum, kahkalarla deney yapmamı sağlayan can arkadaşım Sibel SARI'ya;

Çalışmada deneylerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve planlanmasında yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Tülay SARAÇBAŞI' na;

Çalışmamda test ettiğim kimyasal bileşiklerin temin edilmesinde yardımcı olan Uzm. Ecz. Kayhan BOLELLI, Uzm.. Ecz. Serap YILMAZ'a ve değerli çalışma arkadaşlarına;

Çalışmalarım boyunca desteğini esirgemeyen Tek.Vedat MUTLU' ya;

Her zaman fikir ve bilgilerinden yararlandığım; Fatma ZİLİFDAR, Egemen FOTO, Zeliha AYDOĞAN ve oda arkadaşım Derya AKKURT'a

Yazım aşamasında teknik bilgilerini esirgemeyen Ömer Cihangir TAŞKAN, Tolga TUGAYTİMUR ve emeği geçen tüm arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

Bugünlere gelmemde en büyük emeğin sahibi olan, hayatımın her aşamasında yanımda olan, en değerlilerime; aileme sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürler...

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER .....	IV
ÇİZELGELER.....	VI
ŞEKİLLER.....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	IX
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1 Mutasyonlar .....	3
1.1.1. Kendiliğinden (Spontan) Mutasyonlar.....	4
1.1.2. Yapay (İndüklenmiş) Mutasyonlar.....	5
1.1.2.1. Biyolojik Mutajenler.....	6
1.1.2.2. Fiziksel Mutajenler.....	6
1.1.2.3. Kimyasal Mutajenler.....	7
1.2. Kısa Zamanlı Mutajenite Test Sistemleri .....	10
1.3. Ames Test Sistemi .....	15
1.4. Ames Test Sistemindeki Gelişmeler .....	22
1.5. Benzotiyazoller.....	24
<b>2. MATERYAL METOT.....</b>	<b>26</b>
2.1. Kullanılan Test Suşları .....	26
2.2. Kimyasal Maddeler.....	26
2.2.1. Test Edilen Kimyasal Maddeler .....	26
2.2.2. Pozitif Mutajenler .....	29
2.3. Deneyde Kullanılan Ortamların İçerikleri ve Hazırlanmaları .....	32
2.4. Çalışmada Kullanılacak Test Suşlarının Üretilmesi.....	32
2.5. Çalışmada Kullanılacak Test Suşlarının Genetik İşaretlerinin Kontrolü .....	32
2.5.1. Histidin Gereksiniminin Kontrolü .....	32
2.5.2. Biotin Gereksiniminin Kontrolü.....	33
2.5.3. pKM101 Plazmid Varlığının Kontrolü.....	33
2.5.4. <i>rfa</i> Mutasyon Varlığının Kontrolü.....	34



2.5.5. <i>uvrB</i> Mutasyonunun Kontrolü.....	34
2.5.6. Kendiliğinden Geriye Dönen Koloni Sayısının Belirlenmesi .....	34
2.6. Master Plakların Hazırlanması .....	35
2.7. Çalışmada Kullanılacak Test Suşlarının Dondurulması ve Saklanması.....	35
2.8. Ames Test Sistemi ile Mutajenik Potansiyellerinin Belirlenmesi .....	36
2.8.1. Sitotoksik Etkinin Saptanması.....	36
2.8.2. Mutajenik Etkinin Saptanması .....	36
2.8.3. Sonuçların Değerlendirilmesi .....	36
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>37</b>
<b>4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>55</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>61</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>67</b>

## ÇİZELGELER

### Sayfa

Çizelge 1.1. Karsinojenite,mutajenite ve genotoksisite testleri .....	14
Çizelge 1.2. <i>S. typhimurium</i> mutant suşlarının genetik özellikleri .....	17
Çizelge 1.2. <i>S. typhimurium</i> mutant suşlarının DNA dizi özellikleri .....	20
Çizelge 1.4 <i>S.typhimurium</i> YG suşlarının genotipik özellikleri.....	22
Çizelge 1.5 <i>S.typhimurium</i> TA700X suşlarının genotipik özellikleri .....	23
Çizelge 2.1 Mutajenite deneylerinde kullanılan benzotiyazol türevi bileşikler .....	27
Çizelge 3.1. 1 no'lu bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	40
Çizelge 3.2. 2 no'lu bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	41
Çizelge 3.3. 3 no'lu bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	42
Çizelge 3.4. 4 no'lu bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	43
Çizelge 3.5. 5 no'lu bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	44
Çizelge 3.6. 6 no'lu bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	45
Çizelge 3.7. 7 no'lu bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	46
Çizelge 3.8. 8 no'lu bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	47
Çizelge 3.9. 9 no'lu bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	48
Çizelge 3.10. 10 no'lu bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	49
Çizelge 3.11. 11 no'lu bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	50
Çizelge 3.12. 12 no'lu bileşiğin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	51

Çizelge 3.13. 13 no'lu bileşimin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	52
Çizelge 3.14. 14 no'lu bileşimin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	53
Çizelge 3.15. 15 no'lu bileşimin <i>S. typhimurium</i> TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları .....	54

## ŞEKİLLER

### Sayfa

Şekil 1.1 Benzotiyazol Bileşiğinin Yapısı .....	24
Şekil 2.1 Histidin içermeyen ortamda <i>S.typhimurium</i> suşlarının üreme durumları.....	33
Şekil 2.2. Histidin ve biyotin içeren ortamda <i>S.typhimurium</i> suşlarının üreme durumları .	33
Şekil 2.3. Histidinsiz ortamda üreyen <i>S.typhimurium</i> TA100 suşuna ait revertant koloniler .....	35

## SİMGELER VE KISALTMALAR

COM	The Committee on Mutagenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment
WHO	World Health Organisation (Dünya sağlık Örgütü)
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development ( <i>Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü</i> )
ICH	The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (Beşeri İlaç Ruhsatlandırma Teknik Gereksinimleri Uyumlu Uluslararası Konferansı)

# 1.GİRİŞ

Dünya üzerindeki kimyasal kirlenme, sanayi devrimiyle gelişen teknolojinin en büyük yan etkisidir. Canlılar da bu kirlilikle her geçen gün artan bir sıklıkla yüz yüze gelmektedir. Gıdalardan, sigaradan, solunan havadan ve hatta iyileşmek adına kullanılan ilaçların içeriğindeki katkı maddeleri kimyasal kirlilik havuzu oluşturmaktadır. Yaşadığımız çevrede bulunan kimyasal maddelerin, insanlarda görülen kanser vakaları yüzdesinin büyük bir kısmını oluşturduğu düşünülmektedir [1]. Bu kirleticilerin bazıları organizmanın genetik yapısında herhangi bir değişikliğe sebep olmamakta ya da ortaya çıkan hasaralar DNA onarım enzimleri ile tamir edilebilmekte iken bazıları da mutasyonlara, yapısal kromozom hatalarına veya rekombinasyonel değişimlere sebep olabilmektedir. Bu değişimler üreme hücrelerinde meydana geldiğinde daha sonraki diğer nesillere aktarılır. Somatik hücrelerde meydana gelen mutasyonlar ise kansere sebebiyet verebilir [2].

Kimyasal maddelerinin canlı üzerindeki etkisini araştırmak üzere çeşitli toksisite, mutajenite, karsinojenite ve teratojenite belirleyici test sistemleri geliştirilmiştir. Kimyasal madde içerikli ilaç, kozmetik gibi ürünlerin ekosistem ve insan sağlığı üzerine etkisini anlayabilmek için geliştirilen bu çalışmalar birer güvenlik testi niteliğindedir. Kromozom hatalarının belirlenmesi, geri mutasyon testleri, *in vivo* genotoksisite çalışmaları bu güvenliğin sağlanmasında birer basamaktır. İlk basamak olarak geri mutasyon testleri (örn; Ames), daha sonra ökaryot hücrelerdeki etkilerin belirlenebilmesi amacı ile *in vitro*'da memeli hücreleri üzerinde yapılacak testler(Örn; Mikronükleus) ve *in vivo*'da memeliler kullanılarak yapılacak testler bunlardan bazılarıdır. Kısa zamanlı test sistemlerinden en yaygın olarak kullanılan bakteriyel testlerdir [3].Bakteriler, basit üreme ortamlarında hızla ürediklerinden, çabuk ve ucuz uygulanabilir olmalarından dolayı tercih edilmektedir. Kısa zamanlı test sistemleri tek basına olası karsinojenleri mutajen olarak tanımlamada yeterli değildir. Çünkü bu testlerin her biri yalnızca birkaç mutajeni tanımlayabilir ve sadece kullanılan test organizmasının özelliklerine göre mutajenik potansiyel gösterir. Bu nedenle özellikle birkaç test sisteminin bir arada kullanıldığı “bateri” test sistemleri, karsinojenlerin saptanmasında oldukça yüksek oranda seçici olmaktadır [4].

Piyasaya sürülen binlerce ilacın, kullanıma girmeden önce insan sağlığına ve çevreye verebileceği etki düşünülerek, keşif aşamasından pazarlama aşamasına gelinceye kadar birçok

güvenlik testinden geçmesi gerekmektedir. Tedavi edici özelliğe ulaşınca kadar ilaç üretimi birçok aşamadan geçer [5].

Bu çalışmada ileride piyasaya sürülmeyi bekleyen ilaçların etken maddesini oluşturacak pürin ve pirimidin analogu olarak kullanılan benzotiyazol türevi bileşikler kullanılmıştır.

İlaç etken maddesi olarak sentezlenen benzotiyazol türevi bileşikler halkasal yapıya sahip olup, içeriğinde azot ve kükürt maddesi bulundurur. Yapısında bulunan halka sistemi DNA ve RNA'nın içeriğinde bulunan adenin ve guanin bazlarının analogudur [6,7]. Benzotiyazol, organizmadaki biyomoleküllerle kolayca etkileşmesi bakımından oldukça önemli bir halka sistemi olarak değerlendirilmektedir. Benzotiyazol birçok antifungal ve antiviral ilaçlar gibi fizyolojik olarak oldukça aktif bileşiklerin iskelet yapısını oluşturmaktadır [8,9] Benzotiyazol türevi bileşiklerin mikrobiyolojik aktivitelerini, nükleik asit sentezini engelleyerek gösterebilecekleri düşünülmektedir [7,10]. Antibakteriyel, antiviral ve antifungal etki çalışmalarının yanı sıra, kuvvetli antitümoral aktiviteye sahip benzotiyazol halkası taşıyan türevlerin belirlenmesi bu halka sisteminin önemini artırmıştır [11,12,13,14,15].

Bu çalışma kapsamında öncü ilaç etken maddesi olarak sentezlenen benzoksazol analogu benzotiyazol türevi bileşiklerin mutajenik potansiyelleri Ames test sistemi ile belirlenmiştir. Çalışmada 15 adet kimyasal madde ile *Salmonella typhimurium*TA98 ve TA100 suşlarında kullanılarak histidin oksotrofu bakterilerin geri dönüş frekansları esas alınarak mutajenite değerlendirilme yapılmıştır.

## 1.1.MUTASYONLAR

DNA molekülü hücre içerisinde oldukça kararsızdır. Çift sarmalın yapısında bulunan her bir baz çifti mutasyon geçirme ihtimali taşır. Mutasyon bir canlının DNA diziliminde meydana gelen kalıcı değişimlerdir. Mutasyonlar tek bir nükleotitten büyük bir kromozom parçasına kadar farklı büyüklüklerdeki DNA molekülünü etkileyebilir. Hücreler DNA'daki bir hasarı tanıyıp onarabilecek şekilde evrimleşmiştir ve oluşan mutasyonlar DNA onarım enzimleri tarafından düzeltilebilir. Örneğin; yanlış nükleotit çıkarılır ve yerine tamamlayıcı iplik göz önüne alınarak yeni bir nükleotit getirilir. Bu onarım, mutasyonu etkisiz hale getirebilir. Ancak onarımın olmadığı ya da yetersiz olduğu durumlarda lezyonlar genetik yapıda değişikliğe sebep olabilir. Düzeltilmeyen kısımlar DNA'nın yapısını değiştirerek gelişimi ve metabolizmayı olumsuz etkileyebilir [16].

Mutasyonlar, DNA molekülünde ortaya çıkardıkları hasara göre; genomik yapıda kararsızlığa sebep olan gen mutasyonları ve kromozom sayı ve yapılarındaki değişiklikleri oluşturan mutasyonlar olarak iki grupta sınıflandırılabilir. Birincisi; nokta mutasyonları olarak da adlandırılan gen mutasyonlarıdır. Genom üzerinde oldukça küçük bir bölgede meydana gelirler. DNA'yı oluşturan bazlarda oluşan değişiklikler, bir nükleotidin kazanılması, kaybedilmesi ya da yer değiştirmesi şeklinde ya da normal DNA dizisi içinde birkaç nükleotidin eklenme ya da çıkarılması şeklinde meydana gelebilir. Genetik şifrede bir hata olduğunda, bu hata kodlanan proteinin amino asit dizisine yansımaktadır. Eğer değişen amino asit molekülün yapısı veya biyolojik aktivitesi için kritik olan bir pozisyonda ise fonksiyonel bir değişiklik ortaya çıkar. İkinci grup mutasyonlar kromozom yapı ve sayılarında meydana gelen değişikliklerdir ve bunlara kromozom değişimleri adı verilmektedir. Kromozomlar kromatit çifti şeklinde bulunur ve hücre döngüsünde gerçekleşen mayoz ya da mitoz bölünme esnasında birbirlerinden ayrılırlar. Bazen bu ayrılma tam anlamıyla gerçekleşmez ve farklı sayıda kromozom içeren hücreler meydana gelebilir. Bu şekilde birçok genin oranı değişeceğinden dolayı kalıtsal açıdan birçok sorun (Mongolizm, Turner sendromu, Klinefelter sendromu vb...) oluşur. Kalıtsal bilgide değişimlere yol açan olaylar kromozomların yapılarındaki değişimler sonucunda da oluşabilirler. Bu olaylarda kromozom sayısı aynı kalır. Ancak kromozomlarda bazı parçaların kaybolması, artması ya da yer değiştirmesi sonucunda kalıtsal madde değişikliğe uğrar [17].

Mutasyonlar oluşum şekillerine göre iki grupta incelenir. DNA'nın yüksek onarım kapasitesine rağmen ortaya çıkan mutasyonlar kendiliğinden oluşabildikleri gibi dışarıdan (sigara dumanı, sanayi artıkları, ilaçlar, UV gibi ajanlar) bir etmenle de oluşabilirler.



### 1.1.1.Kendiliğinden (Spontan) Mutasyonlar

Bu mutasyonlar hücre içinde meydana gelen işlemlerin sonucu olarak ortaya çıkar. Oluşumlarıyla ilgili olarak hiçbir özgün etken yoktur, birçok kaynaktan oluşabilir. Bunlar DNA'nın bir etkenle etkileşmesi sonucu ya da replikasyon esnasındaki hatalardan da kaynaklanabilir. Kendiliğinden mutasyonlar, baz çifti değişimi (transisyon, transversiyon) ve baz eklenmesi ya da çıkarılması şeklinde gerçekleşir. Çerçeve kayması mutasyonları bu yollarla ortaya çıkar [17].

DNA'daki bazların yapılarındaki atomların uzaydaki dağılışının değişimi, amino gruplarının kaybı, bazlara metil grubunun eklenmesi, reaktif oksijen moleküllerinin varlığı, bazların kendiliğinden zincirden uzaklaşması ve polimerizasyonda oluşan hatalar kendiliğinden oluşan mutasyonların kaynakları olarak düşünülmektedir [16].

Baz tautomerizmi, DNA'yı oluşturan azotlu organik bazların yapısında bulunan H atomunun yer değiştirmesi sonucu bazın form değiştirmesidir. Bu değişiklik yanlış eşleşme olasılığını artırır ve transisyon tipi mutasyona sebep olabilir.

Deaminasyon, bazların yapısında bulunan amino gruplarının kaybı olarak nitelendirilir. Amino grubunu kaybeden baz hipoksantin, ksantin ve urasil gibi normal şartlarda DNA'nın yapısında olmayan bazlara dönüşerek yanlış eşleşmeye sebep olurlar. Deaminasyon sonucu oluşan hata onarılmazsa transversiyon tipi mutasyon gözlenir.

Metillenme, enzimatik olmayan yollarla S-adenozil methioninin metil grubunu DNA'daki bazlara aktarmasıyla oluşur. Bu yolla metillenmiş bazlar onarım sistemi tarafından DNA'dan uzaklaştırılır ve abazik bölge oluşur. Zincir üzerinde oluşan abazik bölgeye onarım sistemi tarafından uygun baz getirilir. Onarım sisteminin hatayı tanıyamadığı durumlarda ise molekülün kararlılığı bozulur [18].

Oksidatif DNA hasarı ise serbest radikaller ile oluşur. Serbest radikaller, vücutta metabolizma sırasında meydana gelen son derece etkin kimyasal ürünlerdir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir ve bunlara reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species, ROS) adı verilmektedir. Bu grup içerisinde radikal olmayan  $H_2O_2$  gibi moleküller de vardır. [19]. Vücutta doğal metabolik yollarla oluşan serbest radikaller normalde radikal parçalayan antioksidan sistemlerle ortadan kaldırılmaktadır. Ancak, çeşitli nedenlerle reaktif oksijen türlerinin artması ve antioksidan mekanizmaların yetersiz kalması sonucu oksidatif stres adı verilen bir dizi patolojik olay meydana gelmektedir. Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift

zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım lezyonlara neden olarak hasara yol açtığı bilinmektedir [20,21].

Pürin ve pirimidinlerin zincir üzerinden uzaklaşması; baz ve deoksiriboz şekeri arasındaki bağın engellenmesi ile bazların zincire olan bağlantısı kopar ve abazik bölge oluşur. Abazik bölgeye dNTP havuzundaki uygun olan bazlardan birisi gelebilir. Onarılmadığında ise hasar kalıcı olur ve o bölgede delesyon tipi mutasyon gözlenir.

Polimerizasyon hataları; polimeraz enzimi dNTP havuzunda bulunan bazlara aynı Km değeri ile ilgi duyar. Enzim ilgisine bağlı olarak dNTP havuzundaki bazların bağlı oranları değişirse, bu durum polimerazın yanlış bazı seçmesine neden olabilir. Kofaktör olarak kullanılan  $Mg^{+2}$  iyonunun yerine başka iyonların geçmesi, yanlış girmiş bazların varlığı veya tekrar eden dizilerde yanlış eşleşme gibi durumlarda olduğunda genom kararsızlığına ve sonuçta mutasyonlara yol açabilir [16,22].

### **1.1.2.Yapay (İndüklenmiş) Mutasyonlar**

Mutasyonların oluşum mekanizmaları içinde yapay mutasyonların yeri çok fazladır. Belirli bir dış etki olmaksızın mutasyonların kendiliğinden olma olasılığı çok düşüktür. Çevrede bulunan ve mutajen adı verilen biyolojik, fiziksel ve kimyasal ajanların varlığında genetik materyalde hasar oluşabilir. Her bir ajanın kendine özgü hasar mekanizması vardır bu sayede DNA molekülünde özgül hasarlar meydana getirirler.

Mutasyonların yapay olarak indüklendiklerine dair ilk örnek, 1927 yılında Hermann J. Muller tarafından gerçekleştirilmiştir. X ışınları kullanarak yaptığı deneyde bu ışınların *Drosophila* 'da mutasyon hızını arttırdığını göstermiştir [22].

İndüklenmiş mutasyonlar; mutasyonları oluşturan etmenlerine göre 3 grupta incelenebilir;

- \* biyolojik mutajenler
- \* fiziksel mutajenler ve
- \* kimyasal mutajenler.

Mutajenler, mutasyonları farklı mekanizmalarla tetiklerler.

### **1.1.2.1.Biyolojik Mutajenler**

Biyolojik mutajenler olarak virüsler ve genomda yer değiştirebilen hareketli DNA parçaları (transposable element) bilinmektedir. Virüsler konak hücreye girdiğinde konağın DNA'sına kendi DNA'sını entegre ederek konak hücrenin genetik yapısını değiştirdiğinden dolayı biyolojik mutajen olarak kabul edilir. Hareketli DNA parçaları ise genom içinde bir pozisyondan diğerine hareket eder ve kromozom kopması gibi genetiksel değişikliklere neden olurlar. Bu değişiklikler de genomik kararlılığı etkileyeceğinden hareketli DNA parçaları mutajen olarak değerlendirilir [23].

### **1.1.2.2. Fiziksel Mutajenler**

Sıcaklık, pH, UV radyasyon ve iyonize radyasyon gibi çevresel etmenler DNA'da bazı değişikliklere sebep olurlar. Mutasyon olarak değerlendirilen bu değişiklikler etki süreleri ve şiddetine göre kalıcı veya geçici olarak hücre kararlılığını bozarlar.

Radyasyonlar etki mekanizmasına göre iki grupta incelenir: İyonizan (iyonlaştırıcı) ve iyonizan olmayan radyasyon. Her iki tip radyasyon da hücre içine etki eder ve ikisi de aynı hıza sahiptir; fakat frekansları ile doğru, dalgaboyları ile ters orantılı olan enerji seviyelerine göre farklı spektrumlara ayrılırlar. Bu dizilimde dalgaboyu en yüksekten en düşüğe yani enerji seviyesi en düşükten en yükseğe doğru elektrik dalgaları, radyo dalgaları, mikro dalgalar, kızıl ötesi, görünür ışık, morötesi (Ultraviyole), X ışınları ve gama ışınları yer almaktadır. Spektrum içinde X ve gama ışınları iyonizan radyasyon, spektrumdaki diğer dalgalar ise iyonlaşma yeteneğinden yoksun zayıf enerjili radyasyon etkisi yaratırlar [24].

İyonizan radyasyon; madde içerisinden geçerken enerjisini ortama aktarmak suretiyle, ortamdaki atomları doğrudan veya dolaylı yollarla iyonlaştıran radyasyon türüdür. Bu radyasyon; düşük dalgaboyu ve yüksek enerji seviyesine sahip radyasyon formudur. Enerji seviyesi yükseldikçe, ışınların hücre içine girişi daha yoğun olur ve hücreye verilen tahribat artar. Hücre içinde eşit olarak absorbe edilen iyonizan radyasyon hücrede DNA dahil bütün moleküllerin iyonize olmasına sebep olur. İyonizan radyasyon DNA molekülü üzerinde; imidazol halkasının açılması ve hasarlı baz oluşumu, DNA-DNA ve DNA-protein çapraz bağ oluşumu, şeker – fosfat omurgasında değişiklik, tek ve çift zincir kırıkları, farklı özellikteki bazların oluşumu gibi olumsuz sonuçlar ortaya çıkarır.

İyonizan olmayan radyasyon, UV etkisi olarak bilinir. Yeteri kadar enerjiye sahip olmadığı için ultraviyole ışık iyonizan olmayan radyasyon olarak isimlendirilir. UV ışınları nükleer radyasyon değildir ve enerji aktarımını elektromanyetik dalgalarla yapar [25]. Güneşten gelen UV ışınlarının dalga boyları 200-400 nm (nanometre) arasında değişmektedir. Spektrumun bu aralığındaki UV radyasyonu dalga boylarına göre UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm) ve UV-C (200-280 nm) olarak ayrılabilir [26].

Mutasyonda UV'nin en fazla etkili olan 250-260 nm dalga boyu yani UV-C, DNA'nın maksimum emme gösterdiği dalga boyudur. Ancak, bu radyasyonun önemli bir kısmı atmosferdeki ozon tabakası tarafından emildiği için canlılara kadar ulaşmamaktadır. Ozon tabakasının incilmesi ile yeryüzüne ulaşan UV radyasyonunun özellikle deri kanseri, katarakt ve bağışıklık yetmezliği gibi hastalıkları artıracağı tahmin edilmektedir. Literatür taramasında, UV ışınlarının memelilerin deri, bağ dokusu, karaciğer, tiroit bezi ve kan hücreleri üzerindeki etkilerine ait çalışmalara rastlanmıştır [27]. DNA molekülleriyle etkileşime girdiklerinde, bazlarda hasar, tek zincir kırıkları, çapraz bağlanmalar ve pirimidin dimerleri gibi değişik özellikte hasarlara sebep olurlar [28]. Pirimidin dimerleri arasında timin dimerleri en kararlı dimer yapısıdır. Timin dimerleri DNA konformasyonunu ve DNA polimerazın aktivitesini bozarak replikasyonu durdurur [29].

### **1.1.2.3. Kimyasal Mutajenler**

DNA hasarına neden olan bir diğer çevresel etmen ise kimyasal mutajenlerin varlığıdır. Kimyasal mutajenler genellikle 4 grupta incelenir.

#### **Baz Analogları**

Bazı kimyasal maddeler DNA'daki azotlu bazların yapısal olarak benzerleridir bu yapısal benzerliklerinden dolayı replikasyon esnasında DNA'daki orijinal bazların yerine geçebilirler. Bu bileşiklere baz analogları adı verilir. Baz analogları DNA'da bir bölgeye girdiklerinde normal bazlardan farklı özellikler gösterirler ve eşleşme sırasında normal bazın karşısına gelmesi gerekenden farklı bir baz gelmesini sağlayarak mutasyon oluşumuna sebep olurlar.

Urasilin bir türevi olan 5-bromourasil (5-BU) timin analogu olarak davranır. Pirimidin halkasının 5 numaralı pozisyonunda bulunan CH<sub>3</sub> yerine bromun bağlanması ile oluşur. Metil grubu yerine brom atomunun bulunması, tautomerik bir kaymanın gerçekleşme olasılığını

arttırır. Bromun varlığı bazların arasındaki bağların oluşumunu engellemez, ancak adeninle eşleşmesi beklenen timin bazı, guanin ile eşleşir ve transisyona sebep olur.

Mutajenik olan diğer baz analogları da vardır. Örneğin, 2- amino pürin (2-AP), adenin analogu olarak davranır. Timinle eşleşme yatkınlığına ek olarak, replikasyonu takiben sitozin ile de eşleşerek transisyonlara yol açar Baz analogları ile DNA molekülü etkileşimde bulunursa genellikle transisyonel mutasyona ve kendiliğinden tautomerizasyona sebep olurlar [16,28].

### **DNA'daki Bazların Değişimine Neden Olan Kimyasallar**

Bu kimyasallar, bazların yapısını ve eşleşme özelliklerini değiştirirler. Doğrudan doğruya DNA bazlarından amino gruplarını çıkarırlar ve baz diziliminin değişmesine sebep olurlar. Nitröz asit gibi kimyasallar varlığında ; guanine, ksantine dönüşerek timinle, sitozin, urasile dönüşerek adeninle, adenin ise hipoksantine dönüşerek sitozinle bağ yapar ve transisyonel mutasyona neden olur.

Onun dışında, metil metan sulfanat, etil metan sulfanat gibi alkilleyici ajanlar bazlarla reaksiyona girerek nükleotidlerdeki amino veya keto gruplarına  $CH_3$  veya  $CH_3-CH_2$  gibi bir alkil grubu eklerler. Alkilleiyici ajanlar, dNTPdeki bazları modifiye edebilirler. Bu modifikasyon da DNA sentezini etkiler bundan dolayı kanser tedavisinde antimör etkili olarak kullanılabilirler [16]. Etilmetan sülfonat (EMS), guaninin 6 numaralı ve timinin 4 numaralı pozisyonundaki keto gruplarını alkiler. Alkilenmiş guanin sitozin yerine timinle eşleşme yapar. Alkilenmiş timin ise guanin ile eşleşme yaparak transisyona neden olurlar.

### **DNA'ya Bağlanan Kimyasallar**

İnterkalasyon etkenleri olarak da bilinen bu tip kimyasallar, DNA'daki bazların arasına girerek sarmalın gerilemesine ve DNA polimerazın hata yapmasına neden olan moleküllerdir. DNA onarımı, rekombinasyon gibi olaylar sırasında aktif olabilirler. Delesyon veya insersiyon tipi mutasyona sebep olurlar.

Akridin boyaları adını alan bazı kimyasal mutajenler çerçeve kayması mutasyonlarına neden olur. Proflavin ve akridin sarısı (oranj) akridin boyalarından en çok çalışılan mutajenlerdir ve aromatik organik moleküller grubuna girerler. Bu maddeler genellikle C-G...A-T veya A-

T...T-A şeklinde transversiyonlara yol açar. Akridin boyalarının mutasyona yol açtıkları noktalar DNA üzerinde gelişî güzel dağıtılmıştır [29].

### **DNA'dan Bazların Uzaklaşmasına Sebep Olan Kimyasallar**

Bu kimyasallar, DNA'yı modifiye eden ajan olarak davranırlar. *Aspergillus*'un doğal olarak ürettiği aflatoksin B-1 bunlardan bir tanesidir. Guanin bazına N-7 pozisyonuna bağlanan güçlü bir karsinojendir. Bu bağlanma, guaninin kararlılığını bozarak, baz ve şeker arasında kırılma oluşturur ve zincirde abazik bölgeye sebep olur.

Bir diğeri bilinen mutajen ise sigarada bulunan benzo (a) pyrene bileşîğidir. Oksidasyonu sonucu DNA'ya guanin bazı üzerinden kovalent olarak bağlanır. Guanin bazının sitozin bazı ile eşleşme yapmasını engelleyerek DNA'nın çift sarmal yapısının bozulmasına sebep olur [16].

## 1.2. KISA ZAMANLI MUTAJENİTE TEST SİSTEMLERİ

Yaklaşık 80 yıl önce “ Hangi kimyasal madde canlılar ve çevre için tehlikelidir?” sorusuna cevap aranmaya başlandı [31]. 1969’larda, Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü (IARC), kimyasal maddelerin canlılar üzerindeki karsinojen risklerini değerlendirmek amacıyla, monograf programı geliştirdi. Bu program ile birlikte mutajen olarak düşünülen kimyasal maddeler 1970’lerin ortasına kadar kısa zamanlı test sistemleri ile belirlendi. Son 20 yıl içinde yapılan çalışmalarda; mutajenik olmayan karsinojenler belirlendi. Ancak yine de kısa zamanlı testler potansiyel insan karsinojenlerini ve karsinojen mekanizmasını anlaşılmasında ana bilgiyi sağladı [32]. Daha sonra yapılan çalışmalar mutajenite ve karsinojenite arasında bir ilişki olduğunu göstermiş ve kısa zamanlı testler de dolayısıyla karsinojenite taramalarında kullanışlı olmuştur. Karsinojen olarak tanımlanan maddelerin yaklaşık %90’ının mutajen olduğu bilinmektedir [33]. Karsinojenite ve mutajenite arasındaki bağlantı, mutasyonların birikerek karsinojeniteye sebebiyet vermesi ve dolayısıyla kanserleşmede rol oynaması esasına dayanmaktadır [34].

Son yüzyılda nüfusun artması ve gelişen teknoloji ile birlikte tüketilen ürünlerin ham maddesini oluşturan kimyasal maddelerin sayısında bir artış gözlenmiştir. Piyasaya giren pestisitler, endüstriyel kimyasallar, çözücüler, ilaçlar vs. gibi maddelerin birçoğu canlı organizmaları etkilemektedir. İlaçların piyasaya sürülmeden önce tam bir etkiyle güvenlik araştırmasından geçmesi gerekmektedir. Artan kimyasal madde çeşitleri çalışmaların da hız kazanmasına sebep olmuş ve bu amaçla da daha hızlı testlere ihtiyaç duyulmuştur. İlacın güvenilirliğinin test edilmesindeki ilk basamak, toksisite belirleyici testlerdir. Çünkü toksik değer insanlar için sağlık problemlerine yol açabilir. Yeni bir ilaç keşfi karışık bir işlemdir ve birçok aşamayı barındırır. Gelişim sürecinde aynı anda ya da ard arda işlemler uygulanır ve en son terapötik ajan olarak kullanılır. Kimyasal değerlendirme eğer ciddi bir biyolojik ters etki ile karşılaşırsa, ilaç gelişimi iptal edilebilir ya da en başa dönülerek ilaç modifiye edilir, böylelikle risk minimize edilmiş olur. İlaçların ya da kimyasal maddelerin biyolojik aktivitelerini ve sağlığımız üzerindeki etkilerini belirlemek için çeşitli test sistemleri geliştirilmiştir. Kimyasal maddelerin çokluğu ve çeşitliliği, onların yapı ve aktivitelerini araştıran test sistemlerinin de gelişmesine ve farklılaşmasına neden olmuştur. Kimyasal maddelerin mutajenik etkileri çeşitli test yöntemleri ile araştırılmakta ve bu maddelerin Dünya Sağlık Örgütü’ nün (WHO) belirlemiş olduğu sınırlar içerisindeki yeri ve özellikleri belirlenmektedir [30].

Genetik toksisite ya da genotoksisite; kromozom ve DNA yapısında meydana gelen DNA katım ürünleri, DNA kırıkları, gen mutasyonları, kromozom anormallikleri, klastojenite ve anöploidi gibi hasarları kapsayan genel bir terimdir. DNA veya genomun kopyasının çıkarılmasını sağlayan enzimlerle etkileşime giren ve mutasyona neden olan genotoksik maddelerin DNA'da hasar meydana getirmesi veya bazı değişimlere yol açması ise genotoksik etki olarak tanımlanmaktadır [35]. Bu değişiklikler de eşey hücrelerinde kalıtsal etkilere ve bunların gelecek nesillere aktarılma riskini oluşturur. Bu etkilere ek olarak somatik mutasyonlar da kötü huylu tümör oluşumunda önemli rol oynar[36].

Piyasaya sürülecek kimyasal maddelerin biyolojik aktivitelerini tayin etmek amacıyla da genotoksisite testleri uygulanır. Genotoksisite testleri, genellikle DNA hasarı ve onun onarımında oluşabilecek hasara sebep olan kimyasal maddenin tanımlaması amacıyla kullanılır. Genotoksisite testlerinin kullanımındaki ilk hedef kimyasal maddenin canlılarda genetik değişikliğe sebep olup olmadığını bulmaktır[37]. Mutagenesisin; karsinogenesis, teratogenesis ve yaşlanma gibi diğer önemli sonuçlarla ilişkisi bilinmektedir. Bu yüzden kimyasal maddenin insanlar üzerindeki potansiyel etkisini tahmin edebilmek amacıyla hayvanlar üzerinde denenerak elde edilen kantitatif sonuçlara ihtiyaç vardır. Klinik gözlemler, epidemiyolojik çalışmalar ve deneysel sonuçlar kimyasalları mutajen/kanserojen olarak tanımlamada kullanılmaktadır[38].

İnsan sağlığı ile ilgili olarak geliştirilmiş kimyasal maddelerin genotoksik etkilerinin tek bir test yöntemiyle test edilmesi yeterli olmamaktadır çünkü, farklı test yöntemleri ya da farklı organizmalar kullanılarak yapılan testlerde farklı sonuçlar alınabilmektedir. Bu testler uzun zamanlı, orta zamanlı ve kısa zamanlı testler olmak üzere ayrılmıştır. Uzun zamanlı testlerin temeli kullanılan deney hayvanının ömrünün uzun bir süresinin belirli aralıklarla ve belirli dozlarda kimyasal maddeyle yüz yüze gelmesine dayanmaktadır. İyi bir tasarım, yürütme, analiz, rapor, planlama, iyi hayvan bakımı, yüksek standartlarda patoloji ve istatistiksel analiz gerektirir. Orta zamanlı testler genellikle sıçanlar kullanılarak yapılmaktadır, denenecek kimyasal maddenin hedef organı olarak karaciğer kullanılabilirdiği gibi bütün vücut da kimyasal maddenin hedefi olabilir[39]. Uzun zamanlı testlerdeki zaman kaybını aza indirmek için geliştirilmişlerdir. Kimyasal karsinogenlerin taranmasında etkili olan İto modeli ( 8 hafta) ve yeni doğan fare modeli ( yaklaşık 12 ay) bilinen orta zamanlı testlerdir. Orta zamanlı ve uzun zamanlı testler maliyetinin fazla olması, sonuçların hemen elde edilememesi, kullanılacak deney hayvanın fizyolojik şartları ve kalifiye eleman yetersizliği gibi sebeplerden dolayı daha az tercih edilmektedir. Kolay



uygulanabilen, maliyeti daha düşük olan ve daha az zaman alan kısa zamanlı testlerin kullanımı daha yaygındır. Bakterilerde de, memeli hücrelerinde ve mantarlarda olmak üzere 200'den fazla kısa zamanlı test geliştirilmiştir. Çizelge 1.1'de görüldüğü üzere; mutajen/karsinojen ajanların belirlenmesinde DNA'daki mutasyonların *in vivo* ve *in vitro* şartlarda indüklenmesiyle çalışmalar yürütülmektedir [2].

Standart bir test uygulandığında; testin yapıldığı şartlara göre farklı sonuçlar ortaya çıkabilir. Bu durumu gidermek ve risk faktörlerini minimize etmek için bateri testler geliştirilmiştir. Kimyasal maddeyi mutajen/kanserojen olarak nitelendirmeden önce bateri test sistemlerinin uygulanması gereklidir. Farklı modellemeler olmakla beraber, bu testler bakteri hücrelerini ve memeli hücrelerini içerir [5]. Bateri testlerin sonuçları uzun zamanlı bir testin sonucuyla paraleldir. 3'lü bateri olarak adlandırılan bu sistemin ilk testini bakterilerde gerçekleştirilen gen mutasyon testleri oluşturur. Bu testler test sürecinde kullanılan bakterideki nokta mutasyonları belirler. Genotoksik hasara sebep olan karsinojenlerin büyük bir çoğunluğu bu testlerle belirlenmektedir. Bateri sisteminin ikinci basamağını; memeli hücrelerinde oluşabilecek DNA hasarını belirlemede bakteriyel testlerin yetersiz kalması dolayısıyla memeli hücrelerinde hasarı tanımlayabilecek gen mutasyon testleri oluşturur. Bunlar *in vitro* da hem gen mutasyonlarını hem de kromozomal hataları tanımlarlar. Bir *in vivo* test ise baterinin son basamağını oluşturur. Bir kimyasal maddenin genotoksik aktiviteyi indüklenmesinin yanı sıra emilimi, dağılımı, metabolizması ve uzaklaştırılması hakkında bilgi verebilir. Böylelikle *in vivo* testler bazı sonradan oluşan genotoksik ajanların belirlenmesinde kullanılabilir [40].

Ancak testlerin ülkeden ülkeye farklılık göstermesinden dolayı kimyasal maddelerin genotoksik potansiyellerinin belirlenmesinde COM (The Committee on Mutagenicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment) 2010 yılında izlenilmesi gereken ortak bir strateji yayınladı. Bu stratejiye göre kimyasal madde piyasaya sürülmeden önce aşama aşama değerlendirmeden geçmek zorundadır. Bu değerlendirmeye göre,

1. Aşama: kimyasal madde test edilmeden önce;

- \* kimyasal maddenin yapı-etki ilişkisi
- \* tarama testleri
- \* fiziko-kimyasal özellikleri belirlenmelidir.

Bu aşamada kimyasal maddenin özellikleri göz önüne alınarak hangi testin, çözücünün uygulanacağına karar verilmektedir.

## 2. Aşama: *in vitro* çalışmalar;

\*bakteriyel gen mutasyon testleri (Ames testi)

\*klastojenite ve kromozom değişimleri testleri ( *In vitro* mikronükleus testi)

## 3. Aşama: *in vivo* çalışmalar;

\*Mikronükleus testi

\*Komet testi

\*Transgenik fare mutasyon testi [41].

Kısa zamanlı testler karsinogenesis basamaklarını tamamen taklit edemez sadece başlangıç fazıyla ilgili bilgi verebilir. Bu testlerin esas amacı; belirli şartlar altında kimyasalların genotoksik olup olmadığını ve karsinogenesis başlangıcı oluşturup oluşturmadığını belirleyebilmektir.

Çizelge 1.1.Karsinojenite, mutajenite ve genotoksisite testleri [2].

Test Sistemleri		Referans Kurum
Kısa zaman testleri (zaman aralığı—Birkaç Hafta,1-3 ay)		
<b>1.Gen Mutasyon Testleri</b>		
<b><i>In vitro</i></b>		
<i>In vivo</i> prokaryotik mutagenез	Özel bakteri suşlarında geri veya ileri mutasyon	OECD (471), ICH, COM
<i>Salmonella typhimurium</i> (Ames test)		
Fare lenfoma timidin kinaz (TK)	TK'daki mutasyon	OECD (476), ICH, COM
Çin Hamster Ovary (CHO)	HGPRT'deki mutasyon	OECD (476), COM
V79 hypoksantin guanin fosforibosil transferaz (HGPRT)		
<b><i>In vivo</i></b>		
Fare spot test	Somatik hücre mutasyonu	OECD (484), COM
Fare spesifik odak testi	Üreme hücre mutasyonu	COM
Baskın öldürücülük testi	Memelilere implante edilen zigot ölümü	OECD (478), COM
Transgenlerin mutasyon indüksiyonu	Fare veya sıçanlarda <i>LacZ</i> gen, <i>LacI</i> geninde mutasyon	ICH, COM
<b>2.Kromozomal Anomaliler</b>		
Maya içerisinde mitotik rekombinasyon, mitotik parça değişimi, mitotik gen geçişi( <i>in vitro</i> )	Heterozigot allellerin homozigot durumuna dönüşümü	OECD 481
Kromozomal hasarlar ( <i>in vitro</i> )	Görünür karyotip değişiklikleri	
( <i>in vivo</i> )	Hücre hatları (SHE, V79 vb.) ve lenfosit kültürleri	OECD (473),ICH, COM
	Fare kemik iliği hücreleri ve Spermatogonial hücreler	OECD (475,483), ICH,COM
Kardeş kromatid değişimleri	Diferansiyel etiketli gözlemlenebilir kardeş kromatid değişimi	OECD (479)
Kalıtımsal translokasyon Testi(fare)( <i>in vivo</i> )	Eşey hücrelerinde indüklenmiş translokasyon	OECD (485) ICH, COM
Mikronükleus test		
<i>In vivo</i>	Kemik iliğinde mikronükleus oluşumu	OECD (474), ICH, COM
<i>In vitro</i>	Hücre hatlarında mikronükleus oluşumu	OECD (487)
<b>3.Birincil DNA Hasarı</b>		
<i>In vitro</i> DNA onarımı	Programsız DNA sentezi (UDS)	OECD (482), ICH, COM
Kemirgen karaciğerinde programsız DNA sentezi ( <i>in vivo</i> )	Primer sıçan hepatositlerde UDS	OECD (486), ICH, COM
<i>In vivo</i> veya <i>in vitro</i> olarak DNA hasarı	Comet testi, alkali elüsyon testi, DNA hasarı için lenfosit veya hücre hatlarında P-postlabeling	ICH, COM
<b>4.Hücre Dönüşümü</b>		
Hücrelerin indüklenmiş neoplastik dönüşümü	Suriye hamster embriyo (SHE) hücreleri, <i>Balb/c</i> 3T3	OECD (taslak)
<b>5. <i>Drosophila melanogaster</i> Çalışmaları</b>		
	Somatik mutasyonlar ve eşey hücreleri	OECD (477)
<b>6.Flow Sitogenetiği</b>		
	Orta zamanlı testlerde flow sitometri kullanılarak DNA hasarının belirleyen testler (Zaman:2-8 ay)	
ITO rat modeli	GST için karaciğer adenom ve karsinom boyaması(pi)	
Yeni doğan fare modeli	Farelerde karaciğer,akciğer ve lenfoid organların neoplazmi	
Hayvanlarda kronik çalışmalar	Uzun zamanlı testler (zaman dilimi-18-24 Ay)	
	Tüm organlarda tümör	OECD (451), ICH
Doku spesifik çalışmalar; karaciğer ve akciğer (fare), beyin (sıçan), meme bezi (sıçan / fare)	Sıçan ve farelerde akciğer adenom,gliom Hepatomas,ve karsinom	OECD (451), ICH

### 1.3. AMES TEST SİSTEMİ

20. yüzyılın ortalarında, mutasyonun kansere sebep olduğuna dair kesin bir kanıt yoktu. Birkaç kanserojen maddenin mutajen olduğu biliniyordu. Kanser hastalığının yaygınlaşmasıyla birlikte kanserojen madde taramaları ve diğer kimyasalların mutajenite çalışmaları hız kazandı. Demerec [42] ve Szybalski [43] tarafından *Escherichia coli* ile gerçekleştirilen spot test ile 400 madde tarandı. Daha sonra Whitfield [44] tarafından *S.typhimurium* kullanılarak farklı gen mutasyonlarına sahip test suşları geliştirildi. Ancak Malling ve Miller'ın [45] çalışmalarıyla daha sonra da Ames [46] tarafından geliştirilen *Salmonella/* mikrozom olarak da bilinen Ames test sistemi ile *in vitro* mutajenite testlerine yeni bir bakış açısı getirildi [1].

Ames test sistemi; kimyasal maddelerin mutajenik etkilerini belirleyen, kısa zamanlı bakteriyel test sistemlerinden birisidir. Adını testi geliştiren kişi olan Bruce N. Ames'ten almıştır. Bakteriyel geri mutasyon testi olan Ames test sistemi; baz eklenmesi, çıkarılması ya da DNA'daki baz çiftlerinin değişimi gibi nokta mutasyonları belirlemek için kullanılan bir test sistemidir. Bu testte *S. typhimurium* bakterisinin histidin amino asidinin sentezini engelleyen mutasyon içeren suşlar kullanılır. Prensipli, araştırılan kimyasal maddenin mutasyon teşkil eden bölgelerde esansiyel amino asidin tekrar sentezlenmesini sağlayan geri bir mutasyon oluşturma potansiyelini belirlemektir [47].

21. yüzyıl genetik toksikolojisinin stetoskopu olarak değerlendirilen Ames test sistemi bir stetoskop gibi kesin bir tanı koymada yetersizdir. Ancak bir şeylerin yolunda olup olmadığını belirlemede Ames test sistemi genetik toksikolojide bir stetoskop özelliği gösterir. Mutajenite belirlemede kullanılan bu test sistemi aynı zamanda kanserojen maddelerin de habercisi olarak düşünülebilir. Mutajenite ve karsinojenite çalışmalarının beraber yürütülmesindeki temel prensip karsinojenitenin üst üste gelen mutasyonlar sonucu ortaya çıkması ve bu mutasyonların kanserleşmede yer almasıdır. Yapılan çalışmalarda mutajenite ve kanserojenitenin %90 oranında paralellik gösterdiği görülmüştür [1].

Ames test sisteminde; *S. typhimurium* atasal LT2 suşundan *in vitro*'da indüklenerek elde edilen, histidin amino asidinin sentezine engel teşkil eden mutasyonlar içeren suşlar kullanılır. Mutasyon geçirmiş gen bölgelerinde meydana gelebilecek yeni mutasyonlar, gene histidin sentezleme özelliğini yeniden kazandırabilir ve histidin amino asidinin sentezine izin verir. Test edilen kimyasal maddenin *S. typhimurium* his<sup>-</sup> (histidin okzotrofu) mutantlarını his<sup>+</sup>

(prototrof; yabani tip) haline çevirme potansiyeli ölçülmektedir. Bu nedenle, *Salmonella*/mikrozom testi geri dönüşüm testlerinde iyi bir başvuru yöntemidir [48].

Bu test sisteminde *S. typhimurium*'a ait TA1535, TA1537, TA1538, TA97, TA98, TA100, TA102... suşları kullanılmaktadır. Yaygın olarak kullanılan *S. typhimurium* suşlarının genotipik özellikleri Çizelge 1.2'de gösterilmiştir. Bu suşların her birisi histidin operonundaki çeşitli genlerde farklı mutasyonlara sahiptir. Bu mutasyon laboratuvar ortamında, her biri farklı mekanizmalar ile etki gösteren mutajenlere karşı cevap oluşturmak için tasarlanmıştır [46].

**Çizelge 1.2.** *S. typhimurium* mutant suşlarının genetik özellikleri [48].

Mutasyon

(strain)	bio chlD <i>uvrB</i> gal	LPS hasarı	Plasmid
<u><i>hisG46</i></u>			
TA1535	Delesyon mutasyonu (baz çifti değişimi)	<i>rfa</i>	plazmid yok
TA100	Delesyon mutasyonu (baz çifti değişimi)	<i>rfa</i>	pKM101
<u><i>hisD3052</i></u>			
TA1538	Delesyon mutasyonu (çerçeve kayması)	<i>rfa</i>	plazmid yok
TA98	Delesyon mutasyonu (çerçeve kayması)	<i>rfa</i>	pKM101
<u><i>hisC3076</i></u>			
TA1537	Delesyon mutasyonu (çerçeve kayması)	<i>rfa</i>	plazmid yok
<u><i>hisD6610</i></u>			
TA97	Delesyon mutasyonu (çerçeve kayması)	<i>rfa</i>	pKM101
<u><i>hisG428</i></u>			
TA104	Delesyon mutasyonu (Transisyon/transversiyon)	<i>rfa</i>	plazmid yok
TA102		<i>rfa</i>	pKM101, pAQ1

*S.typhimurium* test suşlarında mutasyonun belirlenmesini kolaylaştıracak hassasiyeti sağlayan farklı özellikleri taşır. Bütün suşlar histidin bağımlı olmakla beraber, kimyasal mutajenlere karşı duyarlı olmasını sağlayan bir dizi ek mutasyonlara sahiptirler.

***uvrB* mutasyonu:** TA102 suşu hariç bütün suşlarda bulunan *uvrB-bio* genlerinde meydana gelen delesyon sonucu oluşur. *uvrB* delesyon mutasyonu ile DNA onarım sisteminde kesip çıkarma görevini üstlenen enzim mekanizması hasara uğratılır. Bu hasardan kaynaklı olarak DNA lezyonları oluştuğunda hataya meyilli onarım sistemi (S.O.S.) tarafından onarım sağlanır. Delesyon teknik nedenlerden dolayı biotin olarak bilinen H vitamini sentezinden sorumlu geni de etkilediğinden bakteri biotine de gereksinim duyar [48].

***rfa* mutasyonu:** *rfa* mutasyonu bakteri hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit(LPS) tabakasının oluşumunu kodlayan genlerde meydana gelir. Hücre duvarının geçirgenliği artırılarak büyük moleküllerin hücre içine girişi kolaylaşmış olur [46].

**pKM101 plazmidi:** *S.typhimurium* TA1535 ve TA1538 suşlarına ampisiline direçlilik geni taşıyan pKM101 R plazmidinin aktarılmasıyla *S. typhimurium* TA100 suşu ve *S.typhimurium* TA98 suşu elde edilmiştir. pKM101 plazmidi replikasyon sonrası onarım sistemi ve hata oranı yüksek onarım sistemleriyle bağlantılı gen bölgesini içermektedir bu yüzden pKM101 plazmidinin eklenmesiyle hataya meyilli onarım sistemi (S.O.S.) ve rekombinasyonel DNA onarım yolları daha fazla devreye girer ve böylece UV ve kimyasallarla indüklenen mutajenite frekansı artar. Mutajen olduğu bilinen ajanlara karşı plazmit içeren suşların cevapları, içermeyenlere göre oldukça yükselmiştir. Ayrıca plazmit ampisiline direnç geni taşıdığı için bakteri ampisiline direnç kazanmış olur [48].

**Histidin mutasyonu:** Her test suşu, histidin operonunun değişik bölgelerinde ya DNA 'daki tek bir bazın değişimi ya da bir bazın eklenmesi veya çıkarılması ile kendini gösteren çerçeve kayması mutasyonları ile mutant hale getirilmiştir. Mutasyonların yerleri ve karakterleri, *S.typhimurium* mutant suşlarının DNA baz dizi analizleri yapılarak saptanmıştır [46].

*S.typhimurium* TA100 ve *S.typhimurium* TA1535 suşlarında bulunan *hisG46* mutasyonu, histidin biyosentezinde ilk enzimi kodlayan gen gölgesi üzerindedir. Bu mutasyon *hisG* geninde lösin aminoasidinin (GAG/CTC) kodonu olan -CUC- yerine prolin aminoasidinin (GGG/CCC) kodonu olan -CCC- 'nin gelmesine neden olur. *S.typhimurium* TA100 ve *S.typhimurium* TA1535 suşları GC baz çiftinde meydana gelecek değişime neden olan mutajenler tarafından geri döndürülmektedir.

*hisD3052* mutasyonu, *S.typhimurium* TA98 ve TA1538 suşlarında histidin biyosentezinde son enzimi kodlayan *hisD* geni üzerinde bulunur. *hisD* geni histidinolün histidine çevrilmesini sağlayan L-histidinol dehidrogenazı kodlar. Tek bir nükleotidin eksikliği sonucu ortaya çıkmış olan çerçeve kayması tipinde bir mutasyon sonucu histidin sentezi tamamlanamaz [49]. *hisD3052* mutasyonu *S.typhimurium* TA98 ve TA1538 suşlarında *hisD* geni içerisinde, -1 çerçeve kayması mutasyon bölgesi yanında –CGCGCGCG- dizisini etkiler. 2-nitrofloren ve çeşitli aromatik nitroso türevleri gibi çerçeve kayması tipi mutasyonlara sebep olan amino mutajenler tarafından *hisD3052* mutasyonu geri çevrilmektedir [48].

*S.typhimurium* TA1537 suşunda *hisC3076* mutasyonu oluşur. –CCC- tekrarlanan dizisine bir nükleotidin eklenmesiyle oluşan çerçeve kayması tipinde bir mutasyondur. Çerçeve kaymasına neden olan mutajenlerin taranmasında *S.typhimurium* TA1537 suşundan daha hassas olduğu belirtilen *S.typhimurium* TA97 suşunda ise *hisD6610* mutasyonu görülür. Bu mutasyonda etkilenen bölge olan 6 tekrarlı sitozen dizisi (C-C-C-C-C-C-) yanına bir sitozen bazının eklenmesi çerçeve kayması mutasyonuna neden olmaktadır [48].

*hisG428* gen bölgesinde oluşan mutasyon ochre mutasyonu olarak adlandırılır ve *S.typhimurium* TA 102 suşunda görülmektedir. *his G* genindeki TAA dizisi altı muhtemel baz çifti değişiminin tümü ile, yani hem transversiyon hem de transisyon ile geri döndürülebilir. Bu mutasyon ayrıca oksidatif hasara neden olan mutajenler tarafından da geri çevrilebilir [48].

Çizelge 1.3’de *S.typhimurium* mutant suşlarının DNA dizi özellikleri verilmiştir.



**Çizelge 1.3.** *S.typhimurium* mutant suşlarının DNA dizi özellikleri [48].

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

Memelilerde detoksifikasyon mekanizmasını gerçekleştiren enzim sisteminin bakterilerde olmayışı Ames test sistemine metabolik aktivasyon sisteminin eklenmesini gerektirmiştir. Bu sistem pek çok kimyasal grubu reaktif olmayan hale getirirken, bazı bileşikleri de DNA ile etkileşime girebilen yüksek ölçüde elektrofilik, mutajenik hatta kanserojenik forma dönüştürmektedir [49]. Mutajenik etkisi test edilen herhangi bir ajanın bu enzim aktivasyonunun etkisi ile nasıl bir potansiyele sahip olacağını belirlemek kaçınılmazdır. Bu yöndeki sakıncanın giderilmesi için memeli laboratuvar hayvanlarından izole edilen karaciğer enzim özütü bakteriyel sisteme dahil edilerek testler yöntemlere uygun olarak tekrarlanmaktadır.

Ames yönteminde pozitif sonuç veren bir ajan için, insan ya da diğer memeliler de mutajenik veya kanserojeniktir denilemez. Bakteriyel mutasyonun pozitif olması, ajanın potansiyel zararı konusunda bir ön uyarı anlamı taşır. Ayrıca yüksek organizmalarda yapılacak olan daha kapsamlı çalışmaları yönlendiren önemli bir belirteçdir. Uygulanma kolaylığı, tekrar edilebilirliği, düşük maliyeti ve kısa zamanda sonuç vermesi gibi özellikleriyle Ames testi dünya çapında pek çok laboratuvarında rutin olarak uygulanmaktadır.

#### 1.4. AMES TEST SİSTEMİNDEKİ GELİŞMELER

Standart Ames test sisteminde kullanılan suşların yanı sıra daha çok sayıda kimyasal maddenin, daha yüksek hassasiyetle taranmasına imkan oluşturan yeni suşlar geliştirilmiştir. Bu suşların, ya temel Ames test sistemindeki suşlara eklenen yeni plazmitler sayesinde belirli kimyasal gruplarına karşı hassasiyetleri artırılmıştır ya da baz çifti değişiminde özgülüğü yüksek suşların karışım halinde kullanımıyla farklı özellikler taranabilmiştir.

Hücre içerisine girdiğinde ilk aşamada mutajen olarak davranmayan nitroarenler veya aromatik aminler asetiltransferaz enzimi varlığında mutajenik aktivite gösterebilmektedir. Asetiltransferaz enzimi; bu kimyasal maddelerin hücre içi metabolik aktivasyonlarından sorumludur. Hassasiyeti artırmak amacıyla -asetiltransferaz ve nitroreduktaz enzim sentezinden sorumlu gen bölgesini içeren plazmidler standart Ames test sisteminde kullanılan suşlara ilave edilmiştir. Plazmid eklenerek elde edilen suşlar YG grubunu oluştururlar. *S.typhimurum*'da plazmidin içerdiği genler O-asetiltransferaz ve nitroreduktaz enzim aktivitesini artmıştır bu da suşlardaki hassasiyeti yaklaşık 10 kat artırır. Çizelge 1.4' de suşlara ait özellikler verilmiştir [50]. Genellikle mikrosuspansiyon yöntemi ile çalışılan teste standart Ames test sistemine göre daha az kimyasal madde kullanılarak (yaklaşık 10'da 1'i) daha az zamanda kimyasal madde taranmasına yardımcı olur. Mikrosuspansiyon yöntemi nitroarenlerin ve aminoarenlerin taranmasında sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Bu deney standart Ames test sisteminde bulunan öninkübasyon deneyinin modifikasyonu ile gerçekleştirilir.

**Çizelge 1.4.** *S.typhimurium* YG suşlarının genotipik özellikleri

Suş	Özellik	Referans
TA98	<i>hisD3052</i> (pKMI01)	[46]
TA100	<i>hisG46</i> (pKM101)	[46]
YG1021	TA98 (pYG216): nitroreduktaz enzim aktivitesi fazla	[50]
YG1024	TA98 (pYG219): O-asetittransferaz enzim aktivitesi fazla	[50]
YG1026	TA100 (pYG216): nitroreduktaz enzim aktivitesi fazla	[50]
YG1029	TA100 (pYG219): O-asetittransferaz enzim aktivitesi fazla	[50]
YG1041	TA98 (pYG216): nitroreduktaz ve O-asetiltransferaz enzim aktivitesi fazla	[50]
YG1042	TA100 (pYG219): nitroreduktaz ve O-asetiltransferaz enzim aktivitesi fazla	[50]

Ames II test sistemi olarak bilinen bir diğer modifikasyon ise baz çifti değişiminde hassasiyeti artırılmış suşların kullanıldığı bir yöntemdir. Standart Ames test sisteminde baz değişim mutasyonları her baz için ayrı olarak belirlenmemektedir. Bu baz değişimlerini kolayca tanımlayabilmek için 6 adet suş geliştirilmiştir [51]. Bu suşlardan her birisi altı olası baz değişimlerinden yalnızca birini tanımlayabilmektedir. Kullanılan suşlar standart suşlara göre daha az revertant koloni verir, bu yüzden baz çifti değişimi spesifik olarak tarayan bu suşlar genellikle karışım olarak kullanılır. Mikroplak yöntemi olarak da bilinen bu yöntem geleneksel Ames ile paralellik gösterir. Bu yönteminin standardizasyonu tamamlandıktan sonra ile yaklaşık bir ay içinde yüzlerce kimyasal taranabilir. TA700x serisi olarak kullanılan suşların genotipik özellikleri Çizelge 1.5’de gösterilmiştir.

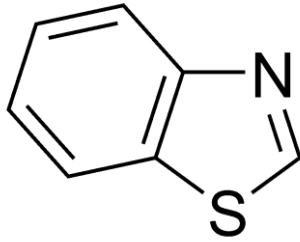
**Çizelge 1.5.** *S.typhimurium* TA700X suşlarının genotipik özellikleri [52].

Suş	Operon	Mutasyon	Hedef Dizi	Hücre Zarı	Tamir	pKM101
TA98	<i>hisD3052</i>	Çerçeve Kay.	GCGCGCGC	<i>rfa</i>	<i>uvrB</i>	+
<b>TA içeriği:</b>						
TA7001	<i>hisG1775</i>	Baz çifti deę.	A:T>G:C	<i>rfa</i>	<i>uvrB</i>	+
TA7002	<i>hisC9138</i>	Baz çifti deę.	T:A>A:T	<i>rfa</i>	<i>uvrB</i>	+
TA7003	<i>hisG9074</i>	Baz çifti deę.	T:A>G:C	<i>rfa</i>	<i>uvrB</i>	+
TA7004	<i>hisG9133</i>	Baz çifti deę.	G:C>A:T	<i>rfa</i>	<i>uvrB</i>	+
TA7005	<i>hisG9130</i>	Baz çifti deę.	C:G>A:T	<i>rfa</i>	<i>uvrB</i>	+
TA7006	<i>hisC9070</i>	Baz çifti deę.	C:G>G:C	<i>rfa</i>	<i>uvrB</i>	+

## 1.5. BENZOTİYAZOLLER

Heterosiklik bileşikler doğada bulunan ve yaşam için gerekli olan maddelerin ana yapısını oluşturduklarından dolayı organik kimyada önemli bir yere sahiptirler. Hücrelerin metabolik faaliyetlerini gerçekleştirebilmeleri için yapılarında bulunan halkasal yapılu bu bileşiklere ihtiyaçları vardır.

Benzotiyazol türevi bileşikler bir benzen ve tiyazol halkasının birleşmesinden oluşan heterosiklik bileşiklerdir. Kapalı formülü  $C_7H_5NS$ 'dir. Şekil 1.1'de benzotiyazol bileşiğinin kimyasal yapısı gösterilmiştir. Elektronca zengin sülfür ve azot atomları içeren aromatik moleküllerdir. İskelet yapılarından dolayı geniş biyolojik aktivite gösterirler. Benzotiyazoller; DNA'da bulunan azotlu bazlarla benzer halka sistemine sahip olduğundan bu bazların yerini alabilme özelliğine sahiptir, baz analogu olarak davranabilirler ve kimyasal ajan olarak mutasyon oluşumuna sebep olurlar.



**Şekil 1.1:** Benzotiyazol bileşiğinin kimyasal yapısı

Bu bileşiklerin kullanımı geniş araştırma alanlarına yayılmıştır. Endüstri alanında kullanımının yanı sıra canlı sistemlerindeki etkilerinden dolayı birçok biyolojik reaksiyonda görev almaktadır [53].

Benzotiyazol türevleriyle yapılan biyolojik çalışmalar 1950'li yıllarda kendini göstermeye başlamıştır. İkinci konumundan substitüe olmuş amino benzotiyazoller kullanılarak kas gevşetici bazı ilaçlar üzerinde çalışılmıştır. Ancak daha sonra medikal kimyacılar dikkatlerini bir süreliğine benzotiyazollerden ayırıp diğer bileşiklere yönlendirmişlerdir. Benzotiyazollerin etkin olarak kullanılması ise Amyotrofik lateral skleroz (ALS) tedavisinde kullanılan Riluzole ilacının keşfi ile başlamıştır. Bu keşifle birlikte, benzotiyazol türevleri eczacılık alanında kullanılmaya başlamıştır. Daha sonra yapılan araştırmalarda, benzotiyazollerin antimikrobiyal, antifungal, antiviral özellik gösterdikleri bulunmuştur. Bilinen bu etkilerinin yanı sıra antihelminstik, antiinflamatuvar ve antilayşman aktivite gösterdiği de araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır [54].

*S. typhimurium*, *B. subtilis* ve *S. dysentry* gibi bakteri türleri üzerinde yapılan çalışmalarla benzotiyazol türevlerinin antimikrobiyal etkisi değerlendirilmiştir. R grubu brom (Br) ve R' grubu metil (CH<sub>3</sub>), NH<sub>2</sub> ve iyot olan grupların antimikrobiyal etkilerinin diğerlerine göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Çalışılan farklı fonksiyonel gruplara sahip benzotiyazol türevi bileşiğin, R grupları CH<sub>3</sub> ve Br içerenlerin antimikrobiyel etki potansiyelleri diğer gruplara göre öne çıkmıştır. NO<sub>2</sub>, COOH ve halojen içeren gruplarla substitüe edilmiş bileşikler substitüe edilmemiş bileşiklere göre, daha iyi aktivite göstermişlerdir [55].

Dünyanın hemen her yerinde kanser hastalığı, insan popülasyonunun azalmasına sebep olan hastalıkların başında gelir. Kalp hastalıklarından sonra ikinci sırada bulunan kanserin tedavisi için birçok yöntem denenmiştir. Tedavi için üç ana metot belirlenmiştir; cerrahi müdahale, radyoterapi ve kemoterapi. Moleküler biyolojideki gelişmelerin kullanılan ilacın etki mekanizmasının belirlenmesini anlaşılabilir kıldığı için kemoterapi en önemli yöntemlerden birisi olmuştur. Kemoterapide kullanılan ilaçların etken maddeleri değerlendirildiğinde antitümöral aktivitelerinden dolayı benzotiyazol türevlerine de rastlanmaktadır [56].

Birçok ilacın etken maddesi olarak kullanılan benzotiyazol türevlerinin son yıllarda görülme frekansı oldukça yüksek olan kanser hastalığı için de kullanılabilceği düşünülmektedir. Benzotiyazoller, nükleik asitlerin yapısında yer alan pürin bazlarından adenin ve guaninin yapısal analoglarıdır. Kemoteropatik etki mekanizmalarından biri de, nükleik asit sentezinin inhibisyonu olduğundan benzotiyazollerin biyolojik aktivitelerini nükleik asit sentezini inhibe ederek gösterebilecekleri düşünülmektedir. Yeni jenerasyon benzotiyazollerin biyolojik profillerinin, önceden bilinen birçok etkili bileşikten daha etkiliği olacağı düşünülmektedir [61]. Yapılan antitümöral aktivite çalışmalarında özellikle 2. konumdan substitüe amino benzotiyazollerin yumurtalık, göğüs, kolon kanseri gibi birçok kanser türünde etkili olduğu gözlenmiştir [57]. Ayrıca pirimido [58] ve imidazo benzotiyazollerin [59], polimerize benzotiyazollerin [60] ve benzotiyazol quinolin derivatilerinin de [61] antitümör aktivitesi gösterdiği bulgular arasındadır. 2. konumdan substitute fenil benzotiyazoller; doğal ürünlerin ATP antagonistik etkilerini ve tirozin kinaz durdurucu özelliklerini taklit edebilirler[15].

## **2. MATERYAL METOT**

### **2.1. Kullanılan Test Suşları**

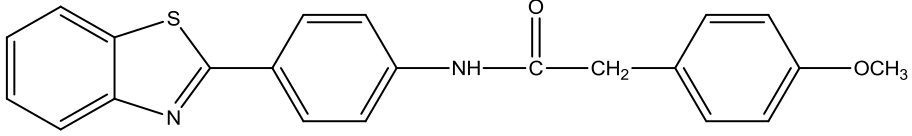
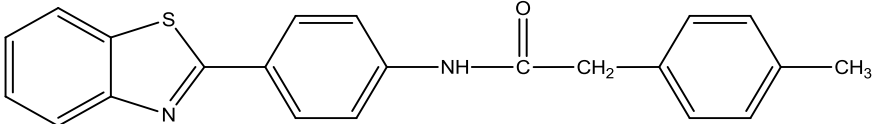
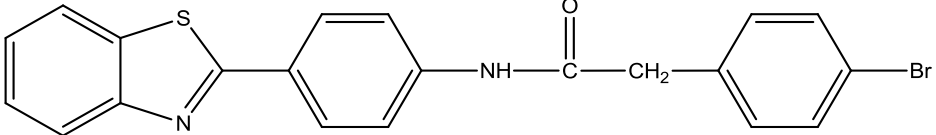
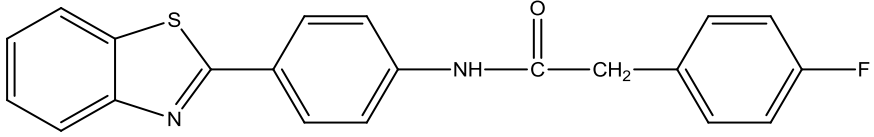
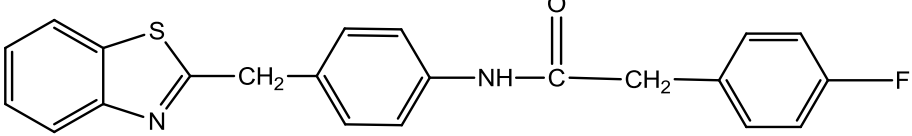
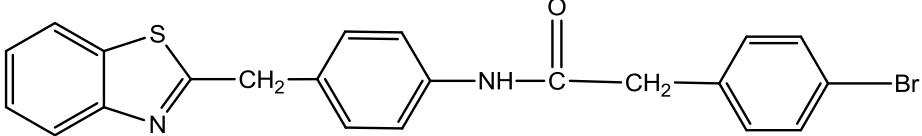
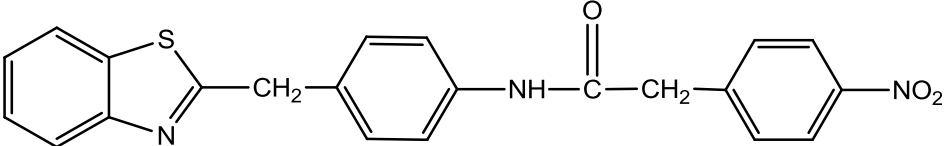
*Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşları kullanılmıştır. Bakteriler Dr.Bruce Ames'in laboratuvarından (California Üniversitesi, Berkeley) elde edilmiştir.

### **2.2. Kimyasal Maddeler**

#### **2.2.1. Test Edilen Kimyasal Maddeler**

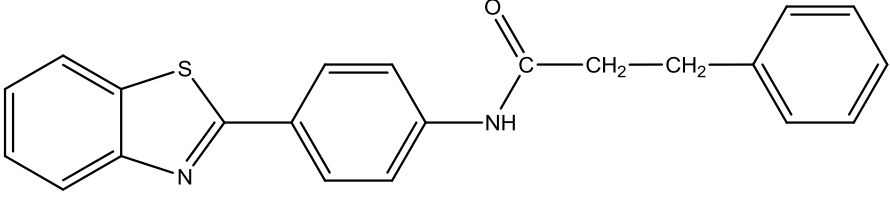
Ankara Üniversitesi Farmasötik Kimya Anabilim dalı tarafından sentezlenen 2-substitüe benzotiyazol türevi bileşikler kullanılmıştır. Kullanılan bileşiklerin açık ve kapalı formülleri Çizelge 2.1.de gösterilmiştir.

**Çizelge 2.1.** Mutajenite deneylerinde kullanılan benzotiyazol türevi bileşikler

1.	 <chem>COC1=CC=C(C=C1)CC(=O)Nc2ccc(cc2)c3nc4ccccc4s3</chem>
	<b>2-[4-(4-Metoksifenilasetamido)fenil]benzotiyazol</b>
2.	 <chem>CC1=CC=C(C=C1)CC(=O)Nc2ccc(cc2)c3nc4ccccc4s3</chem>
	<b>2-[4-(4-Metilfenilasetamido)fenil]benzotiyazol</b>
3.	 <chem>BrC1=CC=C(C=C1)CC(=O)Nc2ccc(cc2)c3nc4ccccc4s3</chem>
	<b>2-[4-(4-Bromofenilasetamido)fenil]benzotiyazol</b>
4.	 <chem>Fc1ccc(cc1)CC(=O)Nc2ccc(cc2)c3nc4ccccc4s3</chem>
	<b>2-[4-(4-Florofenilasetamido)fenil]benzotiyazol</b>
5.	 <chem>Fc1ccc(cc1)CC(=O)Nc2ccc(cc2)Cc3nc4ccccc4s3</chem>
	<b>2-[4-(4-Florofenilasetamido)benzil]benzotiyazol</b>
6.	 <chem>BrC1=CC=C(C=C1)CC(=O)Nc2ccc(cc2)Cc3nc4ccccc4s3</chem>
	<b>2-[4-(4-Bromofenilasetamido)benzil]benzotiyazol</b>
7.	 <chem>O=[N+]([O-])c1ccc(cc1)CC(=O)Nc2ccc(cc2)Cc3nc4ccccc4s3</chem>
	<b>2-[4-[3-(4-Nitrofenil)asetamido]benzil]benzotiyazol</b>



8.	
	<b>2-[4-(4-Metoksifenilasetamido)benzil]benzotiyazol</b>
9.	
	<b>2-[4-[3-(4-Metilfenil)asetamido]benzil]benzotiyazol</b>
10.	
	<b>2-[4-(Fenilasetamido)benzil]benzotiyazol</b>
11.	
	<b>2-[4-(Fenilasetamido)fenil]benzotiyazol</b>
12.	
	<b>2-[4-(Benzamido)fenil]benzotiyazol</b>
13.	
	<b>2-[4-(4-sec-Butoksibenzamido)benzil]benzotiyazol</b>
14.	
	<b>2-[4-[3-(4-Metoksifenil)propionamido]fenil]benzotiyazol</b>

15.	
	2-[4-(3-Fenilpropionamido)fenil]benzotriazol

### 2.2.2. Pozitif Mutajenler

Suların pozitif kontrollerini sağlamak amacıyla daha 6nceden mutajenik oldukları tespit edilen kimyasal maddeler kullanılmıştır. *S. typhimurium* TA100 için pozitif mutajen olarak sodyum azid (1,5µg/plak) (Sigma) ve *S. typhimurium* TA98 için danomisin (6µg / plak) (Deva Holding A..) kullanılmıştır.

### 2.3. Deneyde Kullanılan Ortamların İçerikleri ve Hazırlanmaları:

<b>Vogel Bonner Tuz özeltisi (50xVB)</b>	<u>250 ml için</u>
Magnezyum sülfat (MgSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O)	2.5 g
Sitrik asit monohidrat	25g
Potasyumfosfat (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	125 g
Sodyum amonyum fosfat (NaH <sub>2</sub> NH <sub>4</sub> (PO <sub>3</sub> .4H <sub>2</sub> O))	43.75g

Tuzlar yukarıda verilen sırayla sıcak distile suya eklendi ve manyetik karıştırıcı yardımıyla çözüldü. Son hacim 250 ml olacak şekilde distile su ile tamamlandı. Otoklavda steril edilip minimal agarlı ve histidin-biyotin-ampisilinli ortamların hazırlanmasında kullanıldı.

#### **( 0.05 mM ) Histidin / Biyotin özeltisi**

D-Biyotin (F.W 247,3)	0.0309 g
L- Histidin.HCI (F.W.191,7)	0.024 g

Maddeler ilk 6nce biyotin daha sonra histidin olmak üzere distile suyun içinde çözüldü. Karışım otoklavda steril edildi. Deney sisteminde 100 ml'lik üst agara 10 ml his/bio çözeltisi eklendi. Ortama konan çok az miktardaki his/bio çözeltisi bakterilerin birkaç b6lnme geçirmesine izin vermektedir.

**Yumuşak (üst) Agar** 100 ml için

Bacto agar 0.6g

NaCl 0.5g

Distile su 100ml

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

Ampisilin trihidrat 0.8 g

Sodyum hidroksit(0.02N) 100 ml

Bu çözelti R faktör plazmidi taşıyan suşların master plakları için kullanıldı.

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

Kristal viyole 0.1 g

Distile su 100 ml

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

**Biyotin Çözeltisi (%0.01w/v)** 50ml için

D-Biyotin 5mg

Distile su 50 ml

**Histidin Çözeltisi** 50ml için

L-Histidin 250mg

Distile su 50ml

**Histidin / Biotin / Ampisilinli Katı Ortam** 1000 ml için

Agar	15g
50xVB Tuzları	20ml
% 20 Glukoz	100ml
Steril Histidin.HCl.H <sub>2</sub> O	10ml
Steril 0.5 mM Biotin	6ml
Steril Ampisilin çözeltisi	3.15ml
Distile su	860ml

Agar ve su otoklavda steril edildi ve 45° C' ye soğutulup, % 20 steril glukoz çözeltisi, 50xVB tuz çözeltileri histidin, biyotin ve ampisilin çözeltileri eklendi.

Bu ortam suşların genetik işaretlerinin kontrolünde kullanıldı.

**Minimal Glukoz Agarlı Ortam (MGA)** 500 ml için

Agar	7.5 g
50xVB tuz çözeltisi	10 ml
% 20 glukoz	50 ml
Distile su	440 ml

Agar ve su karıştırılıp çözüldü ve otoklav edildi. 45 °C' ye soğutulup % 20 glukoz ve 50xVB tuzları yavaş yavaş karıştırılarak eklendi ve petrilere aktarıldı. Bu ortam suşların kendiliğinden geri dönen koloni sayılarının saptanması ve mutajenite deneylerinde kullanıldı.

**Nutrient Agarlı Ortam (NA)** 1000 ml için

Oxoid nutrient broth no:2	15g
Bacto agar	15g
Distile su	1000 ml

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

<b>Nutrien Broth sıvı kültür ortamı (NB)</b>	<u>1000 ml için</u>
Oxoid nutrient broth no:2	15g
Distile su	1000 ml

Bu ortam gecelik kültürde bakterileri üretmek amacıyla kullanıldı.

#### **2.4. Çalışmada Kullanılacak Test Suşlarının Üretilmesi**

-80°C'de saklanmış veya liyofilize haldeki *S.typhimurium* suşlarından alınan örneklerin canlılıklarını kontrol etmek amacıyla nutrient agarlı plaklara ve sıvı ortama ekimleri yapıldı. Bir gece boyunca sıvı ortamda üretilen bakteriler taze kültüre alınarak yaklaşık 5 saat inkübasyona bırakıldı. 5 saat sonra canlı hücre sayısının belirlenmesi amacıyla nutrient agarlı plaklara seri sulandırma tekniği uygulandı ve plaklar 1 gece inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda elde edilen koloni sayısı değerlendirildi. Nutrient agar üzerinde 37°C'de bir gecelik inkübasyonun ardından üreyen tek koloniler alınarak ayrı ayrı histidin ,biyotin, ampisilin ile desteklenmiş minimal glukoz agarlı plaklara çizgi ekimleri yapıldı. Çizgi ekim sonrası üreme durumları değerlendirildi. Ampisiline dirençlilik plazmidini içeren suşların histidin/ biyotin / ampisilin içeren ortamlarda ürediği gözlemlendi.

#### **2.5. Çalışmada Kullanılacak Test Suşlarının Genetik İşaretlerinin Kontrolü**

##### **2.5.1. Histidin Gereksiniminin Kontrolü**

Kullanılacak bütün test suşlarının histidin okzotrofu olması sebebiyle (his<sup>-</sup>) histidin varlığında ve yokluğunda üreme durumları test edildi. Test suşlarının gecelik kültüründen öze ile alınan örnekler, nutrient agarlı plaklara tek koloni oluşturacak şekilde ekildi. 37°C'de bir gece inkübasyondan sonra üreyen tek koloniler, steril kürdanlarla alınarak histidin içeren ve histidin içermeyen minimal glukoz agarlı plaklara çizgi ekim yöntemiyle ekildi. 2 günlük inkübasyonun ardından suşların histidin varlığında üreyip (Şekil 2.2.), histidin yokluğunda ürememeleri (Şekil 2.1.), his<sup>-</sup> karakterini doğrulanmasını sağladı.



Şekil 2.1. Histidin içermeyen ortamda *S.typhi*. suşlarının üreme durumları (üreme gözlenmedi).



Şekil 2.2. Histidin ve biyotin içeren ortamda *S.typhi*. suşlarının üreme durumları (üreme gözlendi).

### 2.5.2. Biyotin Gereksiniminin Kontrolü

*S.typhimurium* TA98 ve TA100 suşları histidinin yanı sıra biyotine de ihtiyaç duyarlar. Çünkü deney sisteminde kullanılan bu suşlarda *uvrB* delesyonu vardır ve bu delesyon *bio* genini de kapsamaktadır. Histidin/ biyotin ve sadece biyotin içeren minimal glukoz agarlı plaklara ekimi yapıldı ve biyotin içeren plaklarda üreme olması beklenmedi. *bio* geninin kontrolü çok gerekli değildir; çünkü bu gende meydana gelen mutasyon geri döndürülemez [48].

### 2.5.3. pKM101 Plazmid Varlığının Kontrolü

Deney sisteminde kullanılacak *S.typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında pKM101 plazmid varlığı ampisilin dirençliliğini belirtir. Bu plazmid oldukça kararsız olduğu için kaybedilebilir. O yüzden sıvı ortamda hücreler üretilirken ortama ampisilin eklendi.

pKM101 plazmidi hataya meyilli onarım sistemi olan SOS onarım sistemine ait genler taşıdığından, kimyasal mutajenlere ve UV ile indüklenen mutasyonlara karşı hassasiyeti artırır. Daha önceden *his<sup>-</sup>* işareti doğrulanmış koloniler histidin/biyotin/ampisilin içeren minimal glukoz agarlı plaklara çizgi testi yöntemiyle ekildi. R faktörü olarak pKM101 bulunduran suşlardan *S.typhimurium* TA98 ve TA100'ün ampisilin dirençliliği doğrulandı ve histidin/biyotin/ampisilin ile desteklenmiş plaklarda üreme gözlendi. Genetik işaretleri doğrulanmış olan koloniler seçilerek kendiliğinden geri dönüş frekanslarına bakılmak üzere işaretlendi.

#### **2.5.4. *rfa* Mutasyon Varlığının Kontrolü**

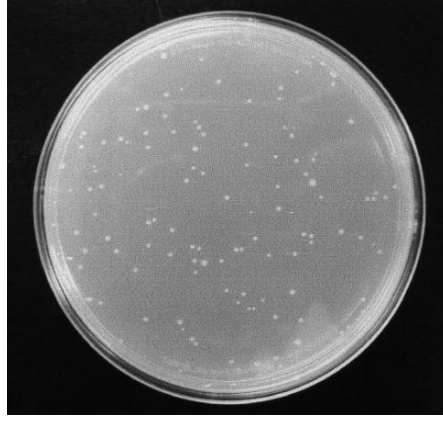
Daha önceden his<sup>-</sup> ve plazmid taşıma özellikleri doğrulanmış kolonilerin gecelik kültürlerinden bir miktar alınıp (yaklaşık 0,1ml) nütrient agarlı plaklara aktarıldı. Yayma ekim tekniği ile agar üzerine iyice yayıldı. Plağın orta kısmına, filtre kağıdından hazırlanmış, 10µl kristal viyole çözeltisi emdirilmiş (1mg/ml) steril diskler yerleştirildi. Plaklar 1 gece 37°C'de inkübe edildikten sonra diskler etrafında inhibisyon zonu gözlenmesi beklendi. Diskin çevresinde oluşan inhibisyon zonu, oldukça büyük bir molekül olan kristal viyolenin, bakteri hücresi içerisine girdiği ve bakterinin ölümüne neden olduğu gözlemlendi.

#### **2.5.5. *uvrB* Mutasyonunun Kontrolü**

Daha önce his<sup>-</sup>, *rfa* mutasyonu, plazmid taşıma karakterleri doğrulanmış koloniler (20 koloni/plak) steril kürdanlarla alınıp çizgi tekniğiyle nütrient agarlı besiyerlerine ekildi. Her suş için plaklardan bir tanesi kontrol plağı olarak kullanıldı, diğeri ise kapağı açılıp 15 watt'lık germisidal UV lambası altında 33 cm uzaklıktan 8 sn. süreyle ışınlandı. Kontrol plağı ve UV'ye maruz bırakılan plak, 37°C'de bir gece inkübe edildi. *uvrB* delesyonu taşıyan suşların kontrol plağında ürediği, UV ile ışınlanmış plaklarda ise üremediği gözlemlendi.

#### **2.5.6. Kendiliğinden Geriye Dönen Koloni Sayısının Belirlenmesi**

Test suşlarının, histidinsiz ortamda üreyebilmelerine yol açan kendiliğinden geriye dönüş, mutajenite deneylerinde rutin olarak ölçülür ve her plakta kendiliğinden geriye dönen bakteri sayısı olarak ifade edilir. Kendiliğinden geriye dönüş frekanslarını saptayabilmek için minimal glukoz agarlı plaklar hazırlandı. Agar ve NaCl içeren 100 ml'lik yumuşak agar içine steril 10 ml 0,05mM L-histidin/D-biyotin çözeltisi eklendi ve her bir tüpte 2,5ml üst agar olacak şekilde steril tüplere dağıtıldı. Üzerine gecelik kültürden alınan 100µl örnek ilave edildi. Tüpler glukoz agarlı plaklara dökülüp dağılması sağlandı. 37°C'de 48 saatlik inkübasyondan sonra geriye dönen koloni sayımı yapıldı (Şekil 2.3.).



**Şekil 2.3.** Histidinsiz ortamda üreyen *S.typhimurium* TA100 suşuna ait revertant koloniler

## **2.6. Master Plakların Hazırlanması**

Mutajenite çalışmalarında daha sonra kullanılmak üzere tüm suşlar için master plaklar hazırlandı. Tek koloni ekimi yapılan plaklardan alınan örnekler geriye dönüş frekansları ve pozitif mutajene verdikleri cevaplar doğrulandıktan sonra MGA ve antibiyotiklerle desteklenen bir MGA plağı üzerine transfer edildi. *S. typhimurium* TA102 suşunun master plakları +4 °C’de 2 hafta süreyle canlılığını koruyabilirken, *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları ise 2 ay süreyle saklanabilir.

## **2.7. Çalışmada Kullanılacak Test Suşlarının Dondurulması ve Saklanması**

Test suşlarının uzun süre canlılığını ve mutant özelliklerini koruyabilmek amacıyla dondurulmuş örnekler hazırlandı. Bunun için master plaklardan histidin-biyotin-ampisilin ve histidin- biyotin içeren minimal glukoz agarlı besiyerinde üremiş olan *Salmonella* suşlarından iyi izole olmuş bir koloni öze ile alınıp 10 ml sıvı kültür içeren tüplerde süspanse edilerek 37 °C’ de bir gece inkübe edildi. Bu sürenin sonunda steril ependorf tüp içine ml’de  $1.2 \times 10^9$  hücre olacak şekilde 1 ml sıvı bakteri kültürü ve 0,09 ml DMSO ile yavaşça karıştırıldı. Sıvı azot kullanılarak -196 °C’ de donması sağlandıktan sonra -80 °C lik derin dondurucuya kaldırıldı. Bu şekilde dondurularak hazırlanan örneklerin, genetik özelliklerini kaybetmeden, üç yıl saklanabileceği belirtilmektedir. [46].



## **2.8. Ames Test Sistemi ile Mutajenik Potansiyellerinin Belirlenmesi**

### **2.8.1. Sitotoksik Etkinin Saptanması**

Kullanılacak olan kimyasal maddenin ve çözücülerinin sitotoksik olmayan dozlarının belirlenmesi amacıyla, üst agar her bir steril tüpe 2,5 ml olacak şekilde dağıtıldı. *Salmonella*'nın gecelik kültürlerinden 0,1 ml ve çözücüden belirli derişimlerde ve kimyasalların belirlenen konsantrasyonlarından 0,1 ml olacak şekilde üst agara eklendi. Bu karışım vortekslenerek nutrient agarlı plaklar üzerine yayıldı ve 37°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası plaklardaki koloni sayısı ve kimyasal ya da çözücü eklenmemiş kontrol plaklarındaki koloni sayıları karşılaştırılarak bileşiklerin sitotoksik etkileri saptandı. Mutajenite çalışmalarında kullanılacak kimyasal madde miktarları sitotoksosite çalışmalarıyla belirlendi [62].

### **2.8.2. Mutajenik Etkinin Saptanması**

Test edilecek kimyasalın farklı derişimleri ve bakteri suşu bir araya getirilerek homojen bir şekilde MGA'lı plaklara yayılması sağlandı. Suşlar için pozitif ve negatif kontrol plakları hazırlandı. Pozitif mutajen olarak *S. typhimurium* TA98 suşu için danomisin (6µg/plak) *S. typhimurium* TA100 suşu için sodyum azid (1,5 µg/plak) kullanılarak pozitif kontrol oluşturuldu. 37°C'de 2 gece inkübasyon ardından oluşan koloniler sayıldı. Çalışma sırasında test suşunda 0,1ml, kullanılacak kimyasalın farklı miktarlardaki dozlarından 0,1 ml olacak şekilde histidin-biyotin çözeltisi içeren 2,5 ml üst agara eklendi ve vorteks yardımıyla karıştırıldı. MGA'lı plaklara yayılarak 2 gece inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından oluşan koloniler sayıldı ve negatif kontrol plakları, pozitif kontrol plakları ile karşılaştırıldı.

### **2.8.3. Sonuçların Değerlendirilmesi.**

Mutajenik etki kimyasal madde varlığında test suşlarının koloni sayılarında negatif kontrole göre oluşan farklılığa bakılarak değerlendirilir. Test edilen kimyasal maddeye mutajen denilebilmesi için, histidin prototroflarının sayısının kendiliğinden geri dönen koloni sayısının en az iki katı olması gerekmektedir. Eğer kimyasal madde ile muamaleden sonra kendiliğinden geri dönen koloni sayısındaki artış kontroldeki koloni sayısının iki katından az ise, bu durumda koloni sayısındaki doza bağlı artış göz önünde bulundurulur [48]. Sonuçların değerlendirilmesi yapılırken SPSS 16.0 paket programı kullanılarak, tek yönlü varyans analizi uygulandı. Dunnett T çoklu karşılaştırma testi ile de kimyasal maddelere verilen cevaplar karşılaştırıldı.

### 3. BULGULAR

Bu çalışmada 15 adet 2- substitütö benzotiyazol türevinin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları ile mutajenik potansiyellerine bakılmıştır. Deney süresince suşların üreme durumları, hücre sayıları sıvı kültürdeki hücre sayısı ile incelenmiştir.  $1-2 \times 10^9$  hücre/ml yoğunluğuna ulaşan kültürler kullanılmıştır. Plak inkorporasyon deneyine geçilmeden önce, kimyasal maddelerin sitotoksik etkisi belirlenmiştir. Deneyler her madde için 50 µg/ plak, 75 µg/ plak, 100 µg/ plak, 150 µg/ plak ve 200 µg/ plak olmak üzere beş dozda ve her bir doz için 3 petri kullanılarak yapılmıştır. DMSO içerisindeki maksimum çözünürlükleri 2mg/ml olarak belirlenen kimyasal maddelerin 200 µg/ plak üzerindeki dozları bakteriler için toksik etki gösterdiğinden kullanılmamıştır. Test edilen kimyasal bileşiklere ait mutajenite testi sonuçları çizelgeler halinde gösterilmiştir. Pozitif mutajen olarak; *S. typhimurium* TA98 için danomisin, *S. typhimurium* TA 100 için sodyum azid kullanılmıştır.

*S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarıyla yapılan deney sonuçları Dunnett T çoklu karşılaştırma yöntemine göre 3 (Çizelge 3.3), 6 (Çizelge 3.6), 12 (Çizelge 3.12), 14 (Çizelge 3.14) numaralı bileşikler için anlamlı farklılık göstermemiştir ( $p > 0,05$ ). Her iki suş için de mutajenik etkili olarak değerlendirilmemiştir.

Dunnett T çoklu karşılaştırma testine göre *S. typhimurium* TA100 suşunda Çizelge 3.1.'de sonuçları verilen 1 numaralı bileşik için denenen dozlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir. *S. typhimurium* TA98 suşunda ise 75 µg/plak derişiminde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlenmiştir. Geriye dönen koloni sayılarında kontrol grubuna göre azalma gözlendiğinden bu farklılık mutajenik etki olarak yorumlanmamıştır.

2 numaralı bileşiğın (Çizelge 3.2), *S. typhimurium* TA100 suşunda verdiği koloni sayıları analiz edildiğinde, 200 µg/plak derişiminin istatistiksel olarak farklılık gösterdiği ancak mutajenik etkili olmadığı belirlenmiştir. Aynı bileşiğın TA98 suşuyla verdiği sonuçlar değerlendirildiğinde ise herhangi bir mutajenik etkiden söz edilememektedir.

Anova çözümlemesine göre Çizelge 3.4.'de sonuçları verilen 4 numaralı bileşik için *S. typhimurium* TA100 suşuna ait kontrol grubu verileri ile denenen dozlar arasında anlamlı farklılık olduğu söylenebilir ( $p < 0,05$ ). Bu bileşik için 200 µg/plak derişiminde geriye dönen koloni sayısında kontrole göre azalma olduğundan, bu farklılık mutajenik etki olarak değerlendirilmemiştir. *S. typhimurium* TA98 suşunda ise anlamlı farklılık yaratan grup 50

$\mu\text{g/plak}$  dozudur. Bu dozda, geri dönen koloni sayısında kontrol grubuna göre artış gözlemlendiği için bu kimyasal madde mutajenik etkili olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.5’de dozlara bağlı geriye dönen koloni sayıları verilen 5’nci bileşiğin *S. typhimurium* TA100 suşunda verdiği sonuçlar analiz edildiğinde 200  $\mu\text{g/plak}$  *S. typhimurium* TA98 suşunda ise 100  $\mu\text{g/plak}$  derişiminde istatistiksel olarak farklılık gösterdiği ancak mutajenik etkili olmadığı belirlenmiştir.

*S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında yapılan Dunnett T çoklu karşılaştırma yöntemine göre, 7 numaralı bileşiğin (Çizelge 3.7), *S. typhimurium* TA100 suşunda 50  $\mu\text{g/plak}$  derişiminde, *S. typhimurium* TA98 suşunda 50, 150 ve 200  $\mu\text{g/plak}$  dozlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ). *S. typhimurium* TA100 suşunda 50  $\mu\text{g/plak}$  derişimi mutajenik etkiliyken, *S. typhimurium* TA98 suşunda 150 ve 200  $\mu\text{g/plak}$  derişimlerinin doza bağlı mutajenik etkili olduğu saptanmıştır. *S. typhimurium* TA98 suşunda 50  $\mu\text{g/plak}$  farklılık yaratan grup olmasına rağmen mutajenik etkili olarak değerlendirilmemiştir.

Çizelge 3.8.’de sonuçları verilen 8 numaralı bileşiğin TA100 suşunda kontrol grubu ile dozlar arasında anlamlı farklılık olduğu söylenebilir. 50,100 ve 150  $\mu\text{g/plak}$  dozlarının anlamlı farklılık gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Ancak anlamlı farklılığı yaratan grupların geriye dönen koloni sayıları kontrol grubuna göre düşük olduğundan mutajenik etki olarak değerlendirilmemiştir. TA 98 suşunda ise 8 numaralı bileşiğin denenen dozlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir.

Anova çözümlemesine göre 9 numaralı bileşik için (Çizelge 3.9), *S. typhimurium* TA100 suşunun denenen tüm dozlarında (50, 75, 100, 150 ve 200  $\mu\text{g/plak}$ ) kontrol ve dozlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu söylenebilir ( $p < 0,05$ ). Tüm dozlarda geriye dönen koloni sayıları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 2 katından daha fazla bir artış göstermesinden dolayı bu derişimlerde kuvvetli mutajenik etkiden söz edilebilir. TA 98 suşunda ise bu bileşiğin denenen dozlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir.

Anova çözümlemesine göre Çizelge 3.10.’da test sonuçları verilen 10 numaralı bileşiğin denenen bütün dozları *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında geriye dönen koloni sayısını artırmadığı için mutajenik etkili olarak değerlendirilmemiştir.

Çizelge 3.11.'de sonuçları verilen 11 numaralı bileşik için kimyasal maddenin denenen bütün dozları *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında geriye dönen koloni sayısını artırmadığı için mutajenik etkili olarak değerlendirilmemiştir.

Anova çözümlemesine göre; 13 numaralı bileşik için (Çizelge 3.13), *S. typhimurium* TA100 suşu için kontrol ve dozlar arasında farklılık olduğu söylenebilir. ( $p < 0,05$ ) *S. typhimurium* TA100 suşunda yapılan Dunnett T çoklu karşılaştırma yöntemine göre 150 ve 200 µg/plak derişimleri farklı grup oluşturduklarından bu derişimlerde mutajenik etkinin doza bağlı olarak arttığı söylenebilir. *S. typhimurium* TA98 suşunda ise bu bileşiğin denenen dozlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı farklılık olmadığı gözlenmiştir.

İstatistiksel yorumlamalara göre; 15'nci bileşiğin (Çizelge 3.15), *S. typhimurium* TA100 suşunda kontrol ile dozlar arasında farklılık olduğu söylenebilir. ( $p < 0,05$ ) Yapılan Dunnett T çoklu karşılaştırma yöntemine göre, 15 no'lu bileşiğin 50, 75, 100, 150 ve 200 µg/plak derişimlerinde mutajenik etki gösterdiği belirlenmiştir. *S. typhimurium* TA98 suşunda 15 numaralı bileşiğin 100 ve 200 µg/plak dozunda anlamlı farklılık gösterdiği gözlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Ancak geriye dönen koloni sayısında kontrole göre azalma gözlendiğinden, bu farklılık mutajenik etki olarak değerlendirilmemiştir.

**Çizelge 3.1.** 1 no'lu bileşiğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	31,6 ± 6,1	128,6± 6,0
50	27,6 ± 4,1	158,6± 22,1
75	23,0 ± 1,7*	143,0± 21,0
100	24,6 ± 1,5	150,0± 33,6
150	37,6 ± 5,0	156,0± 35,3
200	32,0 ± 8,8	109,3± 8,3
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	309,6 ± 40,2	>1000

\*: p <0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar)

**Çizelge 3.2.** 2 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	31,6 ± 6,1	127,3± 4,5
50	25,3 ± 3,1	128,6± 3,5
75	31,3 ± 4,1	131,6± 10,1
100	28,3 ± 0,5	122,6± 17,8
150	26,3 ± 2,5	110,0± 25,3
200	21,6 ± 5,6	87,3± 18,3*
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	309,6 ± 40,2	>1000

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

**Çizelge 3.3.** 3 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz $\mu\text{g}/\text{plak}$	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	$31,6 \pm 6,1$	$131,0 \pm 14,4$
50	$30,6 \pm 9,0$	$143,3 \pm 10,2$
75	$29,0 \pm 2,6$	$137,3 \pm 4,7$
100	$34,0 \pm 3,0$	$129,3 \pm 21,9$
150	$26,3 \pm 1,5$	$128,3 \pm 22,5$
200	$34,0 \pm 5,0$	$128,6 \pm 6,6$
Pozitif Mutajen	Danomisin( $6\mu\text{g}/\text{plak}$ )	Sodyum Azid( $1,5\mu\text{g}/\text{plak}$ )
	$309,6 \pm 40,2$	$>1000$

$p < 0,05$  (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar) bulunamamıştır.

**Çizelge 3.4.** 4 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	22,6 ± 0,5	143,6± 6,0
50	33,3 ± 6,4*	167,6± 12,5
75	31,0 ± 2,0	139,3± 12,2
100	22,6 ± 6,0	133,3± 8,0
150	26,0 ± 3,6	162,6± 20,0
200	24,3 ± 4,1	127,6± 7,3*
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	143,6 ± 46,8	>1000

\*: p <0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar)



**Çizelge 3.5.** 5 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	22,6 ± 0,5	143,6± 6,0
50	27,6 ± 4,5	147,0± 9,5
75	24,6 ± 2,5	145,0± 8,8
100	13,3 ± 1,1	131,6± 23,8
150	26,3 ± 5,5	116,0± 11,7
200	29,3 ± 0,5	109,0± 13,4*
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	143,6 ± 46,8	>1000

\*: p <0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar)

**Çizelge 3.6.** 6 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	31,6 ± 6,1	162,3± 21,2
25	31,3 ± 3,2	133,3± 8,0
50	31,0 ± 4,5	142,6± 17,3
75	32,0 ± 3,4	140,3± 15,0
100	32,6 ± 8,7	141,3± 24,0
150	25,3 ± 1,1	153,6± 19,0
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	309,6 ± 40,2	>1000

p <0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar) bulunamamıştır.

**Çizelge 3.7.** 7 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	37,6 ± 1,5	90,6± 17,4
50	26,0 ± 4,0*	202,0± 19,0*
75	39,3 ± 2,5	106,6± 31,5
100	36,6 ± 3,2	107,6± 21,5
150	47,3 ± 7,7*	107,6± 13,3
200	49,0 ± 6,2*	97,6± 2,1
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	277,0 ± 23,5	>1000

\*: p <0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar)

**Çizelge 3.8.** 8 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	34,0 ± 6,2	161,3± 3,1
50	27,3 ± 3,2	107,6± 23,4*
75	28,3 ± 6,0	139,6± 4,0
100	35,0 ± 6,9	125,3± 9,2*
150	39,6 ± 3,7	118,3± 7,7*
200	26,0 ± 5,1	140,6± 12,1
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	107,0 ± 4,3	>1000

\*: p <0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar)

**Çizelge 3.9.** 9 no'lu bileşiğin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	37,6 ± 1,5	126,0± 13,2
50	47,0 ± 10,8	321,3± 31,7*
75	37,6 ± 4,0	327,6± 30,4*
100	46,3 ± 9,0	281,6± 2,0*
150	37,6 ± 10,0	369,3± 113,3*
200	41,6 ± 1,5	508,0± 63,2*
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	277,0 ± 23,6	>1000

\*: p <0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar)

**Çizelge 3.10.** 10 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	34,0 ± 6,2	143,6± 6,0
50	37,0 ± 9,5	154,6± 22,3
75	36,6 ± 5,8	137,6± 29,1
100	27,6 ± 5,0	137,3± 19,6
150	34,0 ± 10,8	136,6± 16,5
200	25,0± 8,8	135,0± 9,2
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	107,0 ± 4,3	>1000

p <0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar) bulunamamıştır.

**Çizelge 3.11.** 11 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	40,0 ± 8,1	131,0± 23,3
50	44,0 ± 5,5	115,0± 3,0
75	33,6 ± 6,6	154,3± 23,7
100	42,6 ± 1,5	117,0± 12,1
150	40,0 ± 12,3	105,6± 8,1
200	31,0± 8,0	118,0± 14,4
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	173,3 ± 18,5	>1000

p <0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar) bulunamamıştır.

**Çizelge 3.12.** 12 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	43,3 ± 7,1	90,6 ± 17,4
50	41,6 ± 9,2	82,3 ± 14,5
75	46,6 ± 8,6	120,6 ± 12,7
100	37,3 ± 2,5	120,6 ± 22,7
150	45,0 ± 9,5	95,6 ± 16,0
200	43,6 ± 6,0	81,6 ± 9,2
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	112,7 ± 2,1	>1000

p < 0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar) bulunamamıştır.



**Çizelge 3.13.** 13 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	32,3 ± 4,0	126,0±13,2
50	30,3 ± 3,5	156,6± 36,1
75	29,9 ± 6,2	175,3± 22,5
100	37,0 ± 8,5	181,0± 35,5
150	34,0 ± 6,2	234,3± 20,2*
200	37,3 ± 2,5	254,6± 9,0*
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	112,7 ± 2,1	>1000

\*: p <0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar)

**Çizelge 3.14.** 14 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	25,3 ± 3,7	118,3 ± 7,5
50	16,3 ± 6,1	93,0 ± 13,4
75	24,6 ± 2,8	84,6 ± 3,1
100	21,3 ± 3,2	85,6 ± 13,7
150	13,0 ± 3,0	98,3 ± 15,5
200	15,3 ± 1,5	89,6 ± 14,9
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	112,7 ± 2,1	>1000

p <0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar) bulunamamıştır.

**Çizelge 3.15.** 15 no'lu bileşimin *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında verdiği geriye dönen koloni sayıları

Denenen doz µg/ plak	<i>S. typhimurium</i> TA98 Geriye Dönen Koloni sayısı	<i>S. typhimurium</i> TA100 Geriye Dönen Koloni Sayısı
0	25,3±3,78	143,3±23,6
50	18,6±1,5	336±40,4*
75	18,3±2,5	542,3±45,4*
100	18,0±2,0*	435,6±24,8*
150	18,3±2,8	456,6±39,0*
200	15,3±2,8*	367,6±62,4*
Pozitif Mutajen	Danomisin(6µg/plak)	Sodyum Azid(1,5µg/plak)
	112,7 ± 2,1	>1000

\*: p <0,05 (Dunnett T testine göre farklılık yaratan gruplar)

#### 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çalışmada Ankara Üniversitesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı tarafından ilaç etken maddesi olarak kullanılmak üzere sentezlenmiş 15 adet benzotiyazol türevi bileşiğin Ames/Salmonella test sistemi ile mutajenik etkileri araştırılmıştır.

Heterosiklik bileşiklerin kimyası, organik kimyanın en çok araştırılan konuların başında gelir. Bunların bir kısmı düzenli olarak klinikte kullanılmakla beraber, farmakolojik olarak etkili birçok heterosiklik bileşik vardır. Özellikle ilaç keşif alanında azot, sülfür ve oksijen içeren 5 üyeli heterosiklik bileşikler büyük bir yer kaplar [63].

Benzotiyazoller, bir benzen ve tiyazol halkasından oluşan heterosiklik bileşiklerdir. Yapısında bulunan benzen,  $C_6H_6$  moleküler formülüne sahip aromatik bir hidrokarbondur. Endüstriyel birçok maddenin yapısında bulunduğu için çevrede sıklıkla karşılaşılır. Karaciğerde ve kemik iliğinde metabolize edilir. Birçok genetik hasara sebep olmasına rağmen Ames test sistemine göre mutajen olarak değerlendirilmemiştir. Ancak yapılan çalışmalarda lösemi, aplastik anemi, myeloma gibi kemik iliği kökenli hastalıklarda etkili olduğu gösterilmiştir [64]. Tiyazol halkası ise bileşiğe kükürt ve azot atomu vericisidir.  $C_3H_3NS$  moleküler formülüne sahiptir. B1 vitamini olarak bilinen tiyaminin yapısında bulunur ve genellikle benzen türevler ile birleşerek benzotiyazollerini oluşturur [65].

Benzotiyazol halka sistemi nükleik asitlerin yapısında yer alan pürin bazlarından adenin ve guanininin yapısal analogudur. Organizmadaki makromoleküllerle etkileşme potansiyeli bakımından önemli bir halka sistemi olarak değerlendirilmektedir. Konformasyonel pozisyonu sebebi ile nükleik asitlerde bulunan bazların yerine geçebilen bu kimyasal maddeler, nükleik asit sentezini inhibe edebilirler. Bu bileşikler genetik materyal ile etkileşime girerek kompleks oluştururlar. Kimyasal madde ve DNA'dan oluşan kompleks RNA polimerazın aktivasyonunu inhibe ederek, mRNA oluşumunu engeller [66]. Benzotiyazol halka sistemi nükleik asitlerin yapısında yer alan heterosiklik bazların yapısal benzerleri oldukları için, kemoterapötik aktivitelerini bu yolla gösterebilecekleri düşünülmektedir.

Benzotiyazolün iskelet yapısından dolayı, biyolojik olarak aktif olan bileşiklerin yapısında sıklıkla kullanılmaktadır. Yapıya eklenen farklı fonksiyonel gruplar modifiye benzotiyazol türevlerinin oluşturulmasını sağlar. Antitümoral [67,68,69,70] antimikrobiyal [71,72], antitüberkular [73,54], antiviral [59,75] antifungal [54,76], antimalaryal [54,77]

immünbaskılayıcı ve immüdüzenleyici özelliğe sahip birçok bileşiğin yapısında bulunan benzotiyazoller, kimyasal özelliklerinden dolayı farmakolojide oldukça yaygın olarak kullanılan bileşiklerdir. Ayrıca hücresel işlemlerde kalsiyum düzenleyici protein(Calmodulin) antagonisti, nörotransmisyon bloklayıcı ve sinir hücrelerini ajan olarak da kullanılmaktadır [77].

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler benzotiyazol halkasına 2. konumundan fenil ya da benzil grubu eklenmiş benzotiyazol türevleridir. Yapılan çalışmalarda 2. konumundan substitue olmuş fenil benzotiyazollerin doğal ürünlerin ATP antagonistik etkilerini taklit edebileceği ve tirozin kinaz inhibitörü olarak davranabilecekleri düşünülmektedir. Ayrıca Mortimer ve arkadaşları 2 fenil benzotiyazollerin etkili ve seçici antitümoral faaliyet göstereceği hipoteziyle yeni sentezlenmiş bir grup benzotiyazol türevi ile çalışmalar yapmışlardır. 2,3,4 dimetoksifenil grubunun 5. konumuna flor eklenerek elde edilen 2,3,4 dimetoksifenil 5 florobenzotiyazoller kullanılarak göğüs, kolon ve akciğer kanser hatlarıyla yapılan çalışmalarda antitümoral aktivite referans alınarak; 2. konumdan substitue olmuş fenil benzotiyazol halkasının özellikle 5. pozisyonunda bulunan florun oldukça önemli bir antitümoral etki gösterdiği saptanmıştır [15].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, benzoksazol, benzimidazol, benzotiyazol ve oksalopiridin gibi kondanse edilmiş heterosiklik bileşiklerin ökaryotik topoizomeraz 2 aktivitesini inhibe ettiği gözlenmiştir. Özellikle 2 fenoksi metil benzotiyazoller oldukça yüksek topoizomeraz 2 inhibitör aktivitesine sahiptir. 2-(4-aminophenyl) benzotiyazollerin göğüs, yumurtalık, renal ve kolon kanser hücre hatlarıyla yapılan çalışmalarda etkili ve seçici antitümoral aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Biyolojik profilleri çalışmaya açık bir alan olmakla beraber, daha önceden çalışılan antikanser ilaçların kemoterapötik etkilerini DNA topoizomerazların inhibisyonunu sağlayarak gösterdikleri bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda benzotiyazollerin bağlı olduğu üst sınıf olan benzoksazollerin DNA topoizomeraz 1 ve 2 enzimlerinin çalışmasını inhibe ettiklerini gösterilmiştir [78]. Choi ve arkadaşları [57] yaptıkları çalışmalarda 2.nci konumundan substitue edilmiş, fenil benzotiyazollerin sitotoksik etkili olduğunu ve topoizomeraz 2 aktivitesini inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Bu bileşiklerin yapı analiz çalışmalarını içeren literatur incelendiğinde, 2- (4-aminofenil) benzotiyazoller ile benzotiyazol çekirdeğinin etkili bir sitotoksitate gösterdiği ve 3. konumdan substitue edilmiş, alkil ya da halojen grubu içeren fenil halkasının antitumor benzotiyazoller arasında sitotoksik etkili olduğu saptanmıştır [78].

Benzimidazolün sülfür izoesteri olan benzotiyazollerin özellikle 9. konumdan substitue olmuş 8 floro benzotiyazollerde helmint enfeksiyonlarına karşı etkili olduğu gözlemlenmiştir. Radikal grup olarak nitro içeren bileşiklerin ise içermeyenlere oranla daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [79].

Görülme sıklığı % 1 ile 4 arasında değişen epilepsi rahatsızlığı için kullanılan ilaçların yapısında da benzotiyazol halka sistemine rastlanır. Antikonvulsant olarak bilinen ilaçlar epilepsi nöbetlerinin giderilmesinde kullanılırlar. Yapılan çalışmalarda birçok sayıda benzotiyazol türevi bileşiğin çeşitli epilepsi nöbetlerine karşı etkili antikonvulsant aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Rana ve arkadaşları [54] tarafından benzotiyazol guanidinlerle yürütülen deneyler sonucunda özellikle değişken grubunda 4-CH<sub>3</sub> ve 4-Cl olan bileşiklerde maksimum antikonvulsant aktivite gözlemlenmiştir.

Kemoterapötik olarak etkili olduğu bilinen benzotiyazol türevlerinin, antimikrobiyal ve antifungal özellikleri de yapılan çalışmalarda değerlendirilmiştir. 2 substitue fenil sulfanamido-6 substitue benzotiyazol ile yapılan çalışmalar sonucu. *B.subtilis*, *S.typhimurium* ve *S.dysentry* bakterilerinde radikal grubu brom, CH<sub>3</sub>, nitro ve iyot olan bileşiklerde güçlü antimikrobiyal aktivite gözlemlenmiştir [54].

Kimyasal maddelerin piyasaya sürülmeden önce risk faktörlerinin belirlenmesi gerekir. Ames test sistemi bakteriyel gen mutasyon testleri arasında birçok ülkede kabul görmüş, yaygın bir mutajenite testidir. Piyasaya sürülecek yeni bir kimyasal maddenin mutajenik potansiyelinin belirlenmesinde başvurulan yöntemlerin başında gelir [48].

Ames testi, gen düzeyinde meydana gelen mutasyonların taranmasında kullanılan bakteriyel mutasyon testidir. Uygulama kolaylığı, kısa zamanda sonuç vermesi, düşük maliyeli oluşu gibi sebeplerden dolayı birçok laboratuvarında standardize edilmiş bir yöntemdir. *S.typhimurium* bakterisinin kullanıldığı bu yöntemde belirli gen bölgelerinde oluşan mutasyonların kimyasal madde varlığında koloni sayılarında meydana gelen geri dönüş potansiyeli esas alınır.

Test organizması olarak kullanılan *S.typhimurium*, histidin geninde oluşturulan farklı mutasyonlarla (*hisG*, *hisC* ya da *hisD*) gelişmek için histidin gereksinimi duyan değişik tipte oksotrofik mutantlara dönüştürülmüştür. Ayrıca histidin mutantlarına ek olarak bu mutantlara bazı diğer mutasyonlar ilave edilir.

Sato ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda benzotiyazol grubu bileşiklerin hassasiyeti artırılmış suşlarla mutajenik potansiyeline araştırmışlardır. Çalışmalarında benzotiyazol türevlerinden aromatik amin grubunda sınıflandırılan 6 amino benzotiyazollerini hassasiyeti artırılmış YG suşları ile test etmişlerdir. Sonuç olarak Sato ve arkadaşları karbon 6. pozisyonundan amino grubu eklenmiş benzotiyazollerde S9 varlığında mutajenik aktivite bulunmuştur [9].

Denelerimizde, benzotiyazol türevi kimyasal maddelerin mutajenik potansiyelleri *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları ile değerlendirilmiştir. Dene her madde için 50 µg/ plak, 75 µg/ plak, 100 µg/ plak, 150 µg/ plak ve 200 µg/ plak olmak üzere beş dozda yapılmıştır. Kimyasal maddelerin DMSO içerisinde maksimum çözünürlük değerleri ve dozların sitotoksik etkileri göz önüne alınarak plak başına düşecek olan kimyasal madde miktarları belirlenmiştir. Sadece 6 numaralı bileşik için 200 µg/ plak dozu sitotoksik etki gösterdiğinden plak inkorporasyon testinde en yüksek doz olarak 150 µg/ plak kullanılmıştır. Diğer bileşiklerin değerlendirilmesinde ise en yüksek doz olarak DMSO içerisinde maksimum çözünürlük sağlayan 200 µg/ plak dozu kullanılmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen bulgular SPSS 16.0 paket programı kullanılarak ANOVA çözümlemesi ve Dunnett T çoklu karşılaştırma testine göre değerlendirilmiştir. Test sisteminde kullanılan mutant bakteri suşlarının kendiliğinden his<sup>-</sup> durumundan his<sup>+</sup> durumuna geri dönüş frekansı; *S. typhimurium* TA98 suşu için 20–50 geri dönen koloni / plak iken *S. typhimurium* TA100 suşu için 75–200 geri dönen koloni / plaktır [48]. Geri dönen koloni frekanslarına göre anlamlı farklı gösteren gruplar, (p< 0,05) ile gösterilmiştir.

*S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşlarında denenilen, 1,2,3,5,6,8,10,11,12 ve 14 numaralı bileşiklerin mutajenik etkili olmadığı gözlemlenmiştir. Bu bileşikler için bu test sisteminde histidin amino asidinin sentezini düzenleyen gen bölgelerinde bir mutasyona sebep olmadığı söylenebilir.

*S. typhimurium* TA98 suşunda 4 numaralı bileşik, 50 ve 75 µg/ plak plak dozlarda mutajenik etkili iken, TA100 suşunda mutajenik etki gözlemlenmemiştir. 4 numaralı bileşiğin suşlara göre mutajenik etkisi değerlendirildiğinde, bu bileşiğin çerçeve kayması mutasyonu, baz çifti değişimi mutasyonuna göre daha yüksek bir etkiyle indüklendiği söylenebilmektedir. Kimyasal maddenin –R- yapısında bulunan florun halojeniteye bağlı elektronegatiflikten dolayı mutasyonu indüklendiği düşünülebilir. Ayrıca kimyasal

maddenin yapısında –X- konumunda herhangi bir bileşiğin olmaması nedeniyle düzlemsel bir yapı sergilemektedir. Ames ve Gurmey tarafından yapılan çalışmalarda çerçeve kayması mutasyonuna sebep olan bileşikler düzlemsel bir yapıya sahip olmaları nedeniyle DNA ‘ya bağlanarak bu etkiyi gösterebildikleri saptanmıştır [80].

7 nolu bileşik ile yapılan deneylerde, *S. typhimurium* TA98 suşunda 150 ve 200µg/ plak dozlarında, *S. typhimurium* TA100 suşunda ise 50µg/ plak dozunda kontrol grubuna göre mutajeniteye bağlı anlamlı bir farklılık gözlemlenmektedir. *S. typhimurium* TA100 suşu ile elde edilen sonuç değerlendirildiğinde baz çifti değişimine neden olan zayıf bir mutajenik etkiden söz edilebilir. Ancak *S. typhimurium* TA98 ile elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde doza bağlı olarak artan çerçeve kayması mutasyonun indüklendiği söylenebilir. Bileşiğin yapısında fonksiyonel grup olarak NO<sub>2</sub> bulunması bileşiğin mutajenik aktivitesini artırmış olabilir. Literatür tarandığında aromatik bileşiklerin nitro gibi ana halkadan elektron çekici gruplarla süstitüe edilmesinin aktiviteyi arttırdığı belirtilmiştir [81].

*S.typhimurium* TA98 suşunda 9 numaralı bileşik ile yapılan deney sonucunda bu suşta mutajenik etki gözlemlenmemiştir. Ancak *S.typhimurium* TA100 suşu ile yapılan çalışmalarda, tüm dozlarda negatif kontrol değerlerine göre kuvvetli mutajeniteden söz edilebilir. Bileşiğin yapısında –X- konumunda bulunan –CH<sub>2</sub>- köprüsü ve bileşiğin –R- grubunda bulunan metil halkasından dolayı baz çifti mutasyonu indüklediği düşünülebilir.

13 numaralı bileşik ile yapılan çalışmalarda, bileşiğin sadece *S.typhimurium* TA100 suşunun 150 ve 200 µg/ plak derişiminde mutajenik etkili olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla bileşik için baz çifti değişimini indüklediği söylenebilir.

*S.typhimurium* TA100 suşu ile yapılan çalışmalarda 15 no’lu bileşik kuvvetli mutajenik etki gösterirken, *S.typhimurium* TA98 suş ie yapılan çalışmalarda negatif kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık yaratan herhangi bir veri elde edilmemiştir. Bu bileşik içinde baz çifti değişimini indüklediği söylenebilir.

İnsan sağlığı ile ilgili olarak geliştirilmiş kimyasalların mutajenik etkilerinin sadece tek bir test yöntemiyle test edilmesi yeterli olmamaktadır. Çünkü farklı test yöntemleri ya da farklı organizmalar kullanılarak yapılan testler farklı sonuçlar verebilmektedir. Yapılan bu çalışma benzotiyazol türevi bileşiklerin mutajenitesi için kesin bir sonuç vermede yeterli değildir; ancak devam eden deneyler için ilk basamaktır [2].



Ames test sistemine göre bakteriyel mutasyonun pozitif olması, ajanın potansiyel zararı konusunda bir ön uyarı anlamı taşır. Bakteriyel test sistemine memeli hücrelerinden elde edilen metabolik aktivasyon sistemi eklenerek taranacak kimyasal maddenin metabolitlerin mutajenitesinin de değerlendirilmesi için bir kılavuz olacaktır [48].

Kısa zamanlı testler karsinogenesiz basamaklarını tamamen taklit edemez sadece başlangıç fazıyla ilgili bilgi verebilir. Bu testlerin esas amacı; belirli şartlar altında kimyasalların genotoksik olup olmadığını ve karsinogenesiz başlangıcı oluşturup oluşturmadığını belirleyebilmektir. Yüksek organizmalarda yapılacak olan daha kapsamlı çalışmalarla kimyasal maddelerin karsinogenesiz basamaklarını tanımlamada daha belirleyici olacaktır.

## KAYNAKLAR

- [1] Claxton, L.D., Umbuzeiro G., DeMarini D.M., The *Salmonella* mutagenicity assay: the stethoscope of genetic toxicology for the 21st century, *Environmental Health Perspectives* volume 118, number 11, **2010**.
- [2] Bajpayee, M., Pandey, A. K., Parmar, D., Dhawan, A., Current status of short-term tests for evaluation of genotoxicity, mutagenicity, and carcinogenicity of environmental chemicals and NCEs, *Toxicology Mechanisms and Methods*, 15, 3, 155-180, **2005**
- [3] Czyz, A., Szpilewska, H., Dutkiewicz, R., Kowalska, W., Biniewska-Godlewska, A., Wegrzyn, G., Comparison of the Ames test and a newly developed assay for detection of mutagenic pollution of marine environments, *Mutation Research*, 519 67–74, **2002**.
- [4] Mc Daniels, C.C., and Stelma G.N., Comparison of the *Salmonella* test, Umu Test and Sos chromotest for detection genotoxins, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 16, 204-215, **1990**
- [5] Jena G.B., Kaul P., Ramarao P., Genotoxicity testing, a regulatory requirement for drug discovery and development: impact of ICH guidelines, *Indian Journal of Pharmacology* 34: 86-99, **2002**.
- [6] Meyers, F. H., Jawetz, E., Goldfien, A., Part VII. Chemotherapeutic Agents, 5th ed, *Review of Medical Pharmacology*, 470-522, **1976**.
- [7] Yalçın, İ., Şener, E., QSARs of some novel antibacterial benzimidazoles, benzoxazoles, and oxazolopyridines against an enteric gram-negative rod; *K.Pneumoniae*, *International Journal of Pharmaceutics*, 98, 1-8, **1993**.
- [8] Küçükbay, H. and Durmaz, R., Antifungal activity of organic and organometallic derivatives of benzimidazole and benzothiazole, *Arzneimittelforschung*, 47(5), 667-670, **1997**.
- [9] Sato, G., Asakura, S., Hakura, A., Tsutsui-Hiyoshi, Y., Kobayashi, N., Tsukidate, K., Assessment of potential mutagenic activities of a novel benzothiazole MAO-A inhibitor E2011 using *Salmonella typhimurium* YG1029, *Mutation Research*, 472, 163–169, **2000**.
- [10] Fuse, I., Higuchi, W., Uesugi Y., Aizawz, Y., Pathogenic analysis of three cases with a bleeding disorder characterized by defective platelet aggregation induced by Ca<sup>+2</sup> ionophores. *British Journal of Haematology* , 112, 3, 603-608, **2001**.
- [11] Li, Z., Chu, T., Liu, X., Wang, X., Synthesis and *in vitro* and *in vivo* evaluation of three radioiodinated nitroimidazole analogues as tumor hypoxia markers, *Nuclear Medicine and Biology* , 32: 225-231, **2005**.
- [12] Wang, M., Gao, M., Mock, B. H., Miller, K. D., Sledge, G. W., Hutchins, G. D., Zheng, Q.-H., Synthesis of carbon-11 labeled fluorinated 2-arylbenzothiazoles as novel potential pet cancer imaging agents, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14, 24, 8599-8607, **2006**.

- [13] Anand, R. M., Sumathi, K., Sharma, S. V., Murugan, V., 3-D QSAR CoMFA study of nitrogen mustards possessing new chemical entities as possible anticancer agents. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68, 3, 323-326, **2006**.
- [14] Edwards, P., Benzothiazoles derivatives as antitumor agents *Molecules*, 11, 13-14, 671-672, **2006**.
- [15] Mortimer, C. G, Wells, G., Crochard, J.-P., Stone, E. L., Bradshaw, T. D., Stevens, M. F. G., Westwell, A. D., Antitumor benzothiazoles. 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5-fluorobenzothiazole (GW 610, NSC 721648), a simple fluorinated 2-arylbenzothiazole, shows potent and selective inhibitory activity against lung, colon, and breast cancer cell lines. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49, 1: 179-185, **2006**.
- [16] Griffiths, A.J.F., Miller, J.H, Suzuki, D.T., Lewontin, R.C.ve Gelbart, W.M, *An Introduction To Genetic Analysis*, W.H. Freeman and Company Newyork, USA, **2008**.
- [17] Temizkan, G.O., *Moleküler Genetik*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, 281, **1996**.
- [18] Smith K.C., Spontaneous mutagenesis: Experimental, genetic and other factors, *Mutation Research.*, 277, 139-162, **1992**.
- [19] Gülbahar Ö., Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi. *Turkish Journal of Geriatrics*, 10 (1): 43-48, **2007**.
- [20] Williams GM, Jeffrey A.M., Oxidative DNA damage: Endogenous and chemically induced. *Regul Toxicol Pharmacol*, 32 (3): 283-92, **2000**.
- [21] Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J., Oxidative DNA damage: Mechanism, mutation and disease. *FASEB J*, 17(10): 1195- 214, **2003**
- [22] Klug, W.S. ve Cummings, M.R., *Concept of Genetics*, 6 th Edition, Prentice Hall 0-13-081626-4, (2000), Çev. ÖNER, C., *Genetik Kavramlar*, Palme Yayıncılık, 816, **2002**
- [23] Therman, E., *Human Chromosomes Structure behavior effects*, Second Edition, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York, Tokyo, **1986**
- [24] Oyar, O., *Radyolojide Temel Fizik Kavramlar. Nobel Tıp Kitapevleri*, S: 3-13, **1998**.
- [25] Özalphan, A., *Temel Radyobiyojoloji. Haliç Üniv. Fen. Edebiyat Fak. Yayınları*, **2002**.
- [26] WHO, Environmental Health Criteria 160: Ultraviolet Radiation, Geneva, **1994**.
- [27] Türker, H. , effect of ultraviolet radiation on total plasma T3, total plasma T4 and TSH hormones in molar rat (*Spalax leucodon*). *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 17 (2): 1-8, **2004**.
- [28] Bütüner B.D., Kantarcı G., Mutasyon , DNA hasarı ,onarım mekanizmaları ve kanserle ilişkisi., *Journal of Faculty of Pharmacy , Ankara* 35 (2) 149 - 170 , **2006**.
- [29] Onur E., Tuğrul B., Bozyiğit F., DNA hasarı ve onarım mekanizmaları, *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*; 7(2): 61-70 **2009**.

- [30] Gollapudi, B. B., Krishna, G., Practical aspects of mutagenicity testing strategy:an industrial perspective, *Mutation Research*, 455, 21–28, **2000**.
- [31] Hartung T., Toxicology for the twenty-first century, *Nature*, Vol 460, July **2009**.
- [32] Michael D.W., Stack H.F., Jackson M.A., Genetic toxicology data in the evaluation of potential human environmental carcinogens, *Mutation Research* 437, 21–49, **1999**.
- [33] Pounikar, R., Dawande, A.Y., Detection of potential carcinogens by Ames test, *Asiatic Journal of Biotechnology Resources*, 01, 57-64, **2010**.
- [34] Ellinger-Ziegelbauer, H., Aubrecht, J., Kleinjans, J.C., Ahr, H.J., Application of toxicogenomics to study mechanisms of genotoxicity and carcinogenicity, *Toxicology Letters*, 186, 36–44, **2009**.
- [35] Şekeroğlu Z.A., Şekeroğlu V., Genetik toksisite testleri, *Tübav Bilim Dergisi*, Cilt:4, Sayı:3, Sayfa:221-229, **2011**.
- [36] Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P.V., Decordier, I., Kirsch-Volders, M., Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring, *Biochimie*, 88, 1515–1531, **2006**.
- [37] Benigni, R., and Bossa, C. Structure alerts for carcinogenicity, and the Salmonella assay system: a novel insight through the chemical relational databases technology. *Mutation Research* 659, 248-261, **2008**.
- [38] Madle, S., Von Der Hude, W., Broschinski, L., Janig, G.R., Threshold effects in genetic toxicity: perspective of chemicals regulation in Germany, *Mutation Research*, 464, 117–121, **2000**.
- [39] Butterworth, B. E., A classification framework and practical guidance for establishing a mode of action for chemical carcinogens, *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 45, 9–23, **2006**.
- [40] Kirkland D, M Aardema, L Henderson, L Müller; Evaluation of the ability of a battery of three *in vitro* genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens I. Sensitivity, specificity and relative predictivity, *Mutation Research* 584, 1-256 **2005**.
- [41] COM, Guidance On A Strategy For Genotoxicity Testing Of Chemical Substances, **2011**.
- [42] Demerec M, Bertani G, Flint J. A survey of chemicals for mutagenic action on *E. coli*. *The American Naturalist* 85:119–136. **1951**.
- [43] Szybalski W. Special microbiological systems. II. Observations on chemical mutagenesis in microorganisms. *Annals of the New York Academy of Sciences* 76:475–489. **1958**.
- [44] Whitfield HJ, Martin RG, Ames BN. Classification of aminotransferase (*C* gene) mutants in the histidine operon. *The Journal of Molecular Biology* 21:335–355, **1966**.

- [45] Malling HV. Dimethylnitrosamine: formation of mutagenic compounds by interaction with mouse liver microsomes. *Mutation Research* 13:425–429, **1971**.
- [46] Maron, D. M., Ames, B. N., Revised methods for the mutagenicity test, *Mutation Research*, 113, 173-215, **1983**.
- [47] OECD guideline for testing of chemicals, 471, **1997**.
- [48] Mortelmans, K., Zeiger, E., The Ames Salmonella/microsome mutagenity assay, *Mutation Research*, 455, 29-60, **2000**.
- [49] Byran, B., Timothy, M., Paul, T., *General Applied Toxicology*, Vol 2 Macmiian, pp:897-898, **1993**.
- [50] Azuma, S., Kishino, S, Katayama, S., Akahari, Y., Matsushita, H., Highly sensitive mutation assay for mutagenicity monitoring of indoor air using *Salmonella typhimurium* YG1041 and a microsuspension method, *Mutagenesis*, vol.12 no.5 pp.373-377, **1997**.
- [51] P. Gee, C.H. Sommers, A.S. Melick, X.M. Gidrol, M.D. Todd, R.B. Burris, M.E. Nelson, R.C. Klemm, E. Zeiger, Comparison of responses of base-specific *Salmonella* tester strains with the traditional strains for identifying mutagens: the result of a validation study, *Mutation Research* 412 (1998) 115–130.
- [52] ANIARA., Instructions for use - version 4.5\_L, **2012**.
- [53] El-Bassi, L., Iwasaki, H., Oku, H., Shinzato, N., Matsui, T., Biotransformation of benzothiazole derivatives by the *Pseudomonas putida* strain HKT554, *Chemosphere* 81 109–113, **2010**.
- [54] Rana, A., Siddiqui, N., Khan S.A., Benzothiazoles: A new profile of biological activities. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* ;69:10-7 **2007**.
- [55] Bhusari, K. P., Khedekar, P. B., Umathe, S. N., Bahekar, R. H., Rao, R. A. S., Synthesis and antitubercular activity of some substituted 2-(4-aminophenyl sulfonamido) benzothiazoles, *Indian Journal of Heterocyclic Chemistry*, 9, 213, **2000**.
- [56] Shen, Y., Chen, J., Qian, L., Chen, L., Zheng, K., 3d-QSAR of benzothiazole derivatives as potent anticancer agents, *Chinese Journal Of Chemical Physics*, volume 20, number 2 **2007**.
- [57] Choi, S.-J., Park, H. J., Lee, S. K., Kim, S. W., Han, G., Choo, H.-Y. P., Solid Phase Combinatorial Synthesis of Benzothiazoles and Evaluation of Topoisomerase II Inhibitory Activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* , 14, 4, 1229-1235, **2006**.
- [58] El-Sherbeny M. A., Synthesis of certain pyrimido[2,1-b]benzothiazole and benzothiazolo[2,3-b] quinaoline derivatives for *in vitro* antitumor and antiviral activities, *Arzneimittelforschung*. 50(9):848-53, **2000**.
- [59] Srimanth, K., Rao, V.R. and Krishna, D.R., *Arzneimittelforschung*., 52, 388, **2002**
- [60] Watson, K.J., Anderson, D.R. and Nguyen, S.T., *Macromolecules*, 34, 3507, **2001**.

- [61] Chaudhary P., Sharma P.D., Sharma A., Varshney J., Recent advances in pharmacological activity of benzothiazole derivatives, *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, vol: 2 issue :4, **2010**
- [62] Kaplan, Ç., Diril N., Şahin S., Cehreli M.C., Mutagenic potential of dental cements as detected by the *Salmonella*/ mikrosome test. *Biomaterials* 25; 4019–4027, **2004**.
- [63] Tomi, I.H.R., Tomma J.H., Ali H.R., Al-Daraji, Al-Dujaili A.H., Synthesis, characterization and comparative study the microbial activity of some heterocyclic compounds containing oxazole and benzothiazole moieties, *Journal of Saudi Chemical Society*, **2012**.
- [64] Yardley-Jones, Anderson, P., Parke, D.V., The toxicity of benzene and its metabolism and molecular pathology in human risk assessment, *British Journal of Industrial Medicine* 48:437-444, **1991**.
- [65] Shao, H., Shi, S., Huang, S., Hole, A.J., Abbas, A.Y., Baumli, S., Liu, X., Lam, F., Foley, D.W., Fischer, P.M., Noble, M., Endicott, J.A., Pepper, C., Wang, S., substituted 4-(thiazol-5-yl)-2-(phenylamino)pyrimidines are highly active cdk9 inhibitors: synthesis, x-ray crystal structures, structure–activity relationship, and anticancer activities, *Journal Of Medical Chemistry*, 56, 640–659, **2013**.
- [66] Meyers, F. H., Jawetz, E., Goldfien, A., Part VII. Chemotherapeutic Agents, 5th ed, *Review of Medical Pharmacology*, 470-522, **1976**.
- [67] D. Shi, T. D. Bradshaw, S. Wrigley, C. J. McCall, P. Lelieveld, I. Fichtner and M. F. G. Stevens, Antitumor benzothiazoles. 3. Synthesis of 2-(4-aminophenyl)benzothiazoles and evaluation of their activities against breast cancer cell lines *in vitro* and *in vivo*, *The Journal of Medicinal Chemistry*. 39 3375– 3384, **1996**.
- [68] A. I. Loaiza-Pérez, V. Trapni, V. Patel, C. Hose, S. S. Singh, J. B. Trepel, M. F. G. Stevens, T. D. Bradshaw and E. A. Sauville, The aryl hydrocarbons receptor mediates sensitivity of MCF-7 breast cancer cells to the antitumor agent 2-(4-amino-3-methylphenyl) benzothiazole, *Molecular Pharmacology*. 13–19, **2002**.
- [69] Akhtar T., Hameed S., Al-Masoudi N.A., Loddo R., Colla P.L., *In vitro* antitumor and antiviral activities of new benzothiazole and 1,3,4 oxadiazole 2-thione derivatives. *Acta Pharmaceutica*, 58(2): 135-149, **2008**.
- [70] Kamal, A., Khan, M.N.A., Reddy, K.S., Srikanth, Y.V.V., Srđdhar, B., synthesis, structural characterization and biological evaluation of novel [1,2,4]triazolo[1,5-b][1,2,4]benzothiadiazine-benzothiazole conjugates as potential anticancer agents, *Chemical Biology & Drug Design*, 71: 78–86, **2008**.
- [71] Ören, İ., Temiz, Ö., Yalçın, İ., Şener, E., Altanlar, N., synthesis and antimicrobial activity of some novel 2-, 5- and/or 6-substituted benzoxazole and benzimidazole derivatives, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7: 153-160, **1998**.

- [72] Perçiner, H., Yıldır, İ., Abbasoğlu, U., Şahin, M. F., Noyanalpan, N., synthesis and antimicrobial activity of some substituted benzothiazole derivatives. *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University*, 10,2: 117-126, **1993**.
- [73] Katz, L., Antituberculous Compounds. III. benzothiazole and benzoxazole derivatives, *Journal of the American Chemical Society*, 75(3): 712-714, **1953**.
- [74] Patel R.V., Kumari P., Rajani D. P., Chikhalia K.H., Synthesis of coumarin-based 1,3,4, ozalodiazole-2ylthio-N-phenyl/ Benzothiazolyl acetamides as antimicrobial and antituberculosis agents. *Medicinal chemistry Research*, **2012**.
- [75] Ogilvie, W. W., Yoakim, C., Dô, F., Haché, L., Lagacé, L, Naud, J. A., O'meara, J. A., Déziel, R., synthesis and antiviral activity of monobactams inhibiting the human cytomegalovirus protease, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 7, 8: 1521-1531, **1999**.
- [76] Elnima, E. I., Zubair, M. U., Al-Badr, A. A., Antibacterial and antifungal activities of benzimidazole and benzoxazole derivative, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 19,29-32, **1981**.
- [77] Khan, K. M., Rahim, F., Halim, S.A., Taha, M., Khan, M., Perveen, S., Haq, Z., Mesaik, M. A., Choudhary, M. I., Synthesis of novel inhibitors of bglucuronidase based on benzothiazole skeleton and study of their binding affinity by molecular docking, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 19, 4286–4294, **2011**.
- [78] Öksüzoğlu E., Tekiner-Gulbas B, Alper S, Temiz-Arpaci O, Ertan T, Yildiz I, Diril N, Sener-Aki E, Yalcin I., Some benzoxazoles and benzimidazoles as DNA topoisomerase I and II inhibitors, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 23(1):37-42 **2008**.
- [79] Trapani G, Franco M, Latrofa A, Reho A, Liso G., Synthesis, *in vitro* and *in vivo* cytotoxicity, and prediction of the intestinal absorption of substituted 2-ethoxycarbonyl-imidazo [2,1-b] benzothiazoles, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14, 209-16, **2001**.
- [80] Ames, B. N., Gurney, E.G., Miller, J. A., Bartsch, H., Carcinogens as frameshift mutagens: metabolites and derivatives of 2-acetylaminofluorene and other aromatic amine carcinogens, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 69, 11, 3128-3132, **1972**.
- [81] Yalçın, İ, Ören, İ., Şener, E., Akın, A., Uçartürk, N., The synthesis and the structure-activity relationships of some substituted-benzoxazoles, oxazolo(4,5-b)pyridines, benzothiazoles and benzimidazoles as antimicrobial agents, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 27, 401-406, **1992**.

# ÖZGEÇMİŞ

## Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Şerife Ömür BOSTANCI

Doğum Yeri: ANKARA

Medeni Hali: Bekar

E-Posta: omurbostanci@gmail.com

Adresi: Akçay Mah. Tepebaşı Sok. No: 14/A Kızılcahamam/ANKARA

## Eğitim

Lise: Kızılcahamam (Y.D.A.) Lisesi

Lisans: Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji (İngilizce)

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi

## Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce: ÜDS: 76,25 KPDS: 76.25

## İş Deneyimi

Yıldırım Beyazıt Dışkapı Eğitim ve Araştırma Hastanesi- Biyolog

Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu- Kozmetik Ürün Denetmen Yardımcısı

## Deneyim Alanları

### Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

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

### Tezden Üretilmiş Yayınlar -

### Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

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

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



\*Yeni Sentezlenen 2,4 Substitue Benzotiyazol Türevlerinin Mutajenik Özellikleri, 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 10-14 Eylül 2013, Hacettepe Üniversitesi.

\*Bazı Heterosiklik Bileşiklerin Ames Testi İle Mutajenik Potansiyellerinin Saptanması, 39. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 10-14 Eylül 2013, Hacettepe Üniversitesi.