

## PC-3 İnsan Prostat Kanseri Hücre Hattı Üzerine [1-(2-Metil-2-Propenil)-3-(2-Metilbenzil)Benzimidazolium Klorür Ligandı ve Bu Ligandın Gümüş(I) Kompleksinin Sitotoksik Aktivitesi

Cytotoxic Activity of [1-(2-Methyl-2-Propenyl)-3-(2-Methylbenzyl)Benzimidazolium Chloride and its Silver(I) Complex on PC-3 Human Prostate Cancer Cell Line

Gurbet Ergün<sup>1</sup>, Serap Şahin-Bölükbaşı<sup>2</sup>, Neslihan Şahin<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup> Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

<sup>3</sup> Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Sınıf Eğitimi Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

ORCID; 0000-0000-0000-0000, 0000-0003-1057-2558, 0000-0000-0000-0000

**Özet:** Bu çalışmada, benzimidazol temelli N-heterosiklik karbon (NHC) ligandı ve ligandın gümüş(I) (Ag(I)) kompleksinin PC-3 insan prostat kanseri hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür (MTT) yöntemi ile belirlendi. Ayrıca ligand ve kompleks, WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücrelere uygulanarak kanserli ve sağlıklı hücreler arasındaki seçicilikleri açısından test edildi. Hücreler, 96 oyuklu plakalara  $1 \times 10^5$  hücre/ml yoğunluğunda ekilerek, ligand ve kompleksin farklı derişimleri ile (1-20  $\mu$ M) ve 24, 48 ve 72 saat boyunca inkübe (doğrumu bu) edildi. MTT analiz sonuçları, ligandın (**1a**) kanser hücreleri üzerinde Ag(I)-NHC kompleksinden (**2a**) daha düşük sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, benzimidazol ligandı (**1a**) ve Ag(I)-NHC kompleksinin (**2a**) WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücrelerinde, PC-3 insan prostat kanseri hücrelerine göre daha düşük sitotoksik aktivite gösterdiği saptandı. Kompleks (**2a**), uygulamasından 24 saat ve 48 saat sonra PC-3 prostat kanseri hücreleri ve sağlıklı hücreler arasındaki seçicilik indeksi yaklaşık 2 olarak belirlenirken, 72 saat uygulama sonrasında seçicilik indeksi ise yaklaşık 3 olarak belirlenmiştir. Kompleksin (**2a**) sitotoksik moleküler mekanizmaları üzerine etkilerinin araştırılacağı *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalar, sağlıklı hücreler üzerine daha düşük sitotoksik aktivite gösteren yeni ilaç adayları geliştirilmesinde önemli olacaktır.

**Abstract:** In this study, the cytotoxic activity of the benzimidazole-based N-heterocyclic carbene (NHC) ligand and the silver(I) (Ag(I)) complex of the ligand were determined by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay on the PC-3 human prostate cancer cell line. In addition, the ligand and complex were tested for selectivity between cancer and healthy cells by applying to human healthy lung fibroblast cells, WI-38. The cells were seeded at a density of  $1 \times 10^5$  cells/ml in 96-well plates and incubated with different concentrations (1-20  $\mu$ M) of ligand and complex for 24, 48 and 72 hours. MTT analysis results showed that the ligand (**1a**) has lower cytotoxic activity on cancer cells than Ag(I)-NHC complex (**2a**). Also, the benzimidazole ligand (**1a**) and Ag(I)-NHC complex (**2a**) showed lower cytotoxic activity against WI-38 human healthy lung fibroblast cells than PC-3 human prostate cancer cells. The selectivity index between PC-3 prostate cancer cells and healthy cells after 24 and 48 hours was determined as approximately 2, while the selectivity index after 72 hours application was determined as approximately 3. *In-vitro* and *in-vivo* studies in which the effects of the complex (**2a**) on cytotoxic molecular mechanisms will be important in developing a new drug candidate molecule with lower cytotoxic activity on healthy cells.

### GİRİŞ

Kontrolsüz bölünebilme özelliği kazanmış hücrelerden kaynaklanan bir hastalık olan "kanser" erken tanı ve tedavi gerçekleştirilmediği sürece genellikle ölümlü sonuçlanan oldukça ciddi bir hastalıktır. Gelişmiş ülkelerde meydana gelen ölümlerin yaklaşık %25'in oluşturduğu kanser, tüm dünyada iskemik kalp rahatsızlığından sonra ölüme sebep olan ikinci sıradaki hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Dünya genelinde, %13.5'lik bir oranla erkeklerde en sık görülen ürogenital kanserlerden biri olan prostat kanseri (PCa), dördüncü sırada en sık teşhis edilen kanser türü olup, kansere bağlı

Alındı : 19.01.2021  
Revize makale alındı : 25.03.2021  
Kabul : 02.04.2021  
Online yayım : 03.05.2021

#### Anahtar Kelimeler:

N-heterosiklik karbon  
Prostat kanseri  
Sitotoksik aktivite  
Gümüş(I)

Received : 19.01.2021  
Received in revised form : 25.03.2021  
Accepted : 02.04.2021  
Available online : 03.05.2021

#### Keywords:

N-Heterocyclic carbene  
Prostate cancer  
Anticancer activity  
Silver(I)

Sorumlu Yazar/ Corresponding Author:  
Serap Şahin Bölükbaşı  
E-mail; wserap@yahoo.com  
http://dx.doi.org/10.29228/jamp.49540

Int J Acad Med Pharm,  
2021; 3 (2); 163-168



ölüm nedenleri arasında % 7.3'lük oranla sekizinci sırada yer almaktadır. Prostat kanserinin, erkeklerde en fazla görülen ikinci kanser türü ve beşinci önde gelen kanser ölüm nedeni olduğu bildirilmiştir. 2020 yılında tüm dünyada 19 292 789 milyon yeni kanser vakası ve 9 938 133 milyon kanser kaynaklı ölüm belirtilmiştir. 2020 yılında dünya genelinde yaklaşık 1 414 259 milyon yeni prostat kanseri vakası ve bunlardan 375 304 vakanın ölümlle sonuçlandığı bildirilmiştir<sup>1</sup>. 2020 yılında 233 834 yeni kanser vakasının gözlemlendiği Türkiye'de ise 126 335 kanser vakasının ölümlle sonuçlandığı; 19 444 yeni prostat kanser olgusu ve 5464 prostat kanseri kaynaklı ölüm gözlenmiştir<sup>2</sup>.

Prostat kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan antikanser ilaçların ciddi yan etkilere sahip olmaları, prostat kanserinin uzamış tedavisinde yaşam kalitesinin iyileştirilmesi ve bu yan etkilerin yanı sıra ilaca karşı direncin giderilmesi amacıyla var olanlardan kimyasal olarak farklı, geniş spektrumlu ve aynı zamanda düşük sitotoksiteye sahip yeni anti-kanser ajanlar dizayn edilmesi ve bu bileşiklerin sentezlenmesi önemli hale gelmektedir. Son yıllarda organometalik bileşikler, tıbbi tedavi edicilerin önemli bir kısmını oluşturmakta olup, metal içeren N-heterosiklik karben bileşikleri (M-NHC) koordinasyon kimyasında önemli bir bileşik grubudur<sup>3-5</sup>. NHC bileşiklerinin sağlıklı hücreler üzerinde kanserli hücrelere göre daha az toksik etki göstermeleri, tümör hücreleri tarafından daha kolay absorbe edilmeleri ve vücuttan atılmalarının daha kolay olmaları gibi özelliklerinden dolayı tıbbi kimyada önemli bir yeri bulunmaktadır<sup>6-9</sup>. Gümüş, memeli hücreleri için düşük toksik etkiye sahip metallere birisi olup yıllardan beri tıbbi amaçla kullanılmaktadır<sup>10,11</sup>. Benzimidazol yapısı birçok ilacın temel yapısını oluşturmakta olup farklı grupların bağlanması sonucunda oluşan benzimidazol türevlerinin farklı ve önemli biyolojik aktivitelere sahip oldukları bilinmektedir<sup>12-15</sup>. Hem NHC'lerin hem de gümüş ve benzimidazolün bu pozitif biyolojik özelliklerinden dolayı benzimidazol temelli Ag(I)-NHC bileşikleri ilgi odağı olmaya devam etmektedir.

Bu çalışmada, kloro[1-(2-metil-2-propenil)-3-(2-metilbenzil) benzimidazolyum klorür] ligandının (**1a**) ve bu ligandın Ag(I)-NHC kompleksinin (**2a**), PC-3 insan prostat kanseri hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca ligand ve ligandın Ag(I)-NHC kompleksi WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücre hattı üzerine uygulanarak ligand ve Ag(I)-NHC kompleksinin PC-3 insan prostat kanseri ve WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücreler arasında seçici davranış davranmadığı da incelenmiştir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

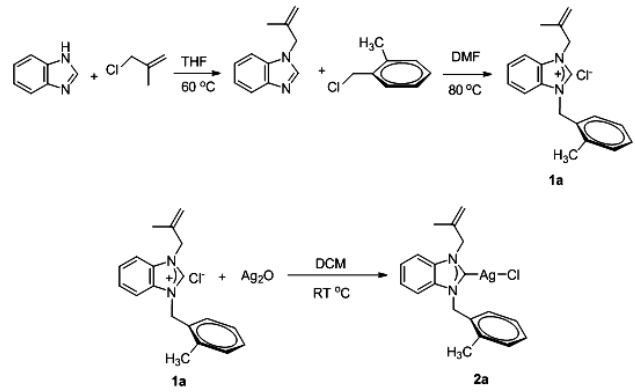
### Malzeme

Bileşikler inert atmosferde Şilenk tekniği ile sentezlendi. Sentez için kullanılan benzimidazol, NaH, 2-metil-2-propenil klorür, 2-metilbenzilklorür, Ag<sub>2</sub>O, tetrahidrofur, diklorometan, dimetilformamid, dietileteri Aldrich ve Merck firmalarından temin edildi. PC-3 insan prostat kanser hücre hattı (ATCC CRL-1435™) ve WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücre hattı (ATCC® CCL-75™) (Manassas, VA, ABD)'den, Dulbecco's modified Eagle media (DMEM), Fetal bovine serum (FBS), antibiyotik çözeltisi, tripsin/EDTA, MTT ve DMSO Sigma-Aldrich den ticari olarak satın alınmıştır.

### NHC ligandı (1a) ve Ag(I)-NHC kompleksinin (2a) sentezi

Ligand ve kompleks literatüre göre sentezlenmiştir<sup>16</sup>. Bir şilenk içinde hekzan ile yıkanıp kurutulmuş sodyum hidrür (0.48 g, 20 mmol) üzerine (tetrahidrofur) THF (30 mL) eklendi ve oda sıcaklığında 1 saat karıştırıldı. Karışım üzerine benzimidazol (2.36 g, 20 mmol) azar azar ilave edildi. Çözeltiye 2-metil-2-propenil klorür (1.82 g, 20 mmol) eklendi ve 60 °C'de 24 saat karıştırıldı. Çözelti soğutuldu ve THF vakumda uzaklaştırıldı. Elde edilen katı üzerine diklorometan (DCM) (50 mL) ilave edildi ve filtreden selit üzerinde süzülür. Vakum altında

önce DCM uzaklaştırıldı, kalan sıvı kısım ise damıtılarak sıvı halde N-(2-metil-2-propenil)benzimidazol (% 76, 2.62 g) elde edildi. N-(2-metil-2-propenil)benzimidazol (0.34 g, 2 mmol) ve 2-metilbenzilklorür (0.32 g, 2 mmol) (dimetilformamid) DMF (5 mL) içinde 80 °C'de 24 saat karıştırıldı. Soğutulan çözelti üzerine Et<sub>2</sub>O eklendi ve çöken beyaz katı filtreden süzülür. Elde edilen [1-(2-metil-2-propenil)-3-(2-metilbenzil) benzimidazolyum klorür (**1a**) ligandı birkaç defa Et<sub>2</sub>O ile yıkandı ve vakumda kurutuldu. [1-(2-metil-2-propenil)-3-(2-metilbenzil)benzimidazolyum klorür (**1a**) (0.30 g, 1 mmol) ve Ag<sub>2</sub>O (0.12 g, 0.5 mmol) DCM (30 mL) içerisinde 2 gün oda sıcaklığında alüminyum folyoya sarılı olarak karıştırıldı. Bu süre sonunda, reaksiyon karışımı selit üzerinden süzülür ve çözücü vakumda uzaklaştırıldı. Ham ürün DCM / Et<sub>2</sub>O karışımında kristallendirildi ve kloro[1-(2-metil-2-propenil)-3-(2-metilbenzil) benzimidazol-2-iliden]gümüş(I) (**2a**) kompleksi elde edildi (Şema 1).



Şema 1. NHC ligandının (**1a**) ve Ag(I)-NHC kompleksinin (**2a**) sentezi

### Sitotoksik aktivite

Ligand (**1a**) ve kompleksin (**2a**) PC-3 insan prostat kanser hücreleri ve WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücreleri üzerine sitotoksik aktiviteleri MTT testi ile belirlendi<sup>17</sup>. PC-3 insan prostat kanser hücreleri ve WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücreleri %10 fetal bovin serum (FBS) ve % 1 penicilin/streptomycin içeren DMEM besi yerinde, % 5 CO<sub>2</sub> ve % 95 nem içeren 37 °C'lik inkübatörde kültüre edildi. 1x10<sup>5</sup> hücre/mL olacak şekilde 96 kuyulu plakalara ekilen PC-3 prostat kanser hücreleri ve WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücreleri bir gün boyunca yukarıda koşulları verilen inkübatör içerisinde inkübe edilerek hücrelerin plaka yüzeylerinde %80-90 oranında çoğalmaları sağlandı. Ligand (**1a**) ve kompleksin (**2a**) farklı derişimlerinin (1, 5, 10, ve 20 µM) plakadaki hücrelere uygulamasından (her bir kuyudaki DMSO derişimi % 0.5) 24, 48 ve 72 saat sonra kuyuların her birine 10'ar µL MTT (5 mg/mL PBS) eklenerek plakalar tekrar 2 saat inkübe edildi. Plakalar inkübatörden alınarak, besi yerleri 100'er µL DMSO ile değiştirildi ve oda sıcaklığında 15 dk orbital çalkalayıcı ile çalkalandı. Daha sonra örneklerin absorpsanları, 570 nm dalga boyunda BioTek mikropilaka okuyucu kullanılarak belirlendi. % 0.5 DMSO içeren kuyular kontrol olarak kullanıldı ve GraphPad Prism7 programı (GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) kullanılarak IC<sub>50</sub> değerleri saptandı.

### İstatistiksel yöntem

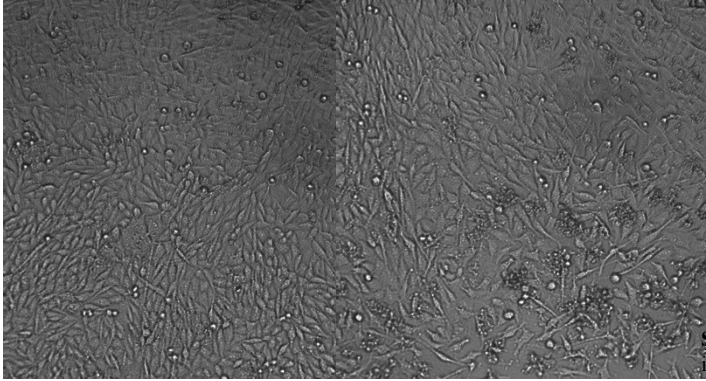
Araştırma kapsamında yapılan tüm deneysel çalışmalar yedi tekrarlı yapıldı (n=7), IC<sub>50</sub> değerlerinin saptanması ve istatistiksel analizler için GraphPad Prism7 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) programı kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde one way ANOVA ve çoklu karşılaştırmalarda Dunnett's çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Nicel veriler, ortalama ± standart sapma (Ort. ± SS) olarak verildi ve anlamlılık için; \*p<0.05, \*\*p<0.005, ##p<0.0005, ###p<0.0001 kabul edildi.

## BULGULAR

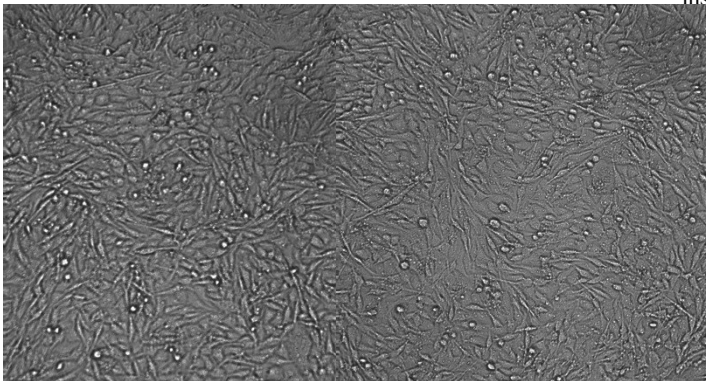
Ligant (**1a**) ve kompleksin (**2a**) PC-3 prostat kanseri hücre morfolojileri üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla, hücelere ligand (**1a**) ve kompleks (**2a**) uygulamasından 72 saat sonra gerçek zamanlı hücre görüntüleme cihazı ile alınan görüntüleri Şekil 1 ve 2’de verilmiştir. Kontrol hücrelerine bileşiklerin çözülmesinde kullanılan DMSO (son derişim % 0.5) eklenmiştir. PC-3 insan prostat kanser hücrelerinin, ligandın (**1a**) farklı derişimleri ile 72 saat inkübasyonu sonucunda yüksek derişimlerde hücre canlılığında kontrole göre anlamlı bir azalış gözlenmiştir (Şekil 1). PC-3 insan prostat kanser hücre hattının kompleksin (**2a**) farklı derişimleri ile 72 saat inkübasyonunda ise tüm derişimlerde hücre canlılığında kontrole göre anlamlı bir azalış gözlenmiştir (Şekil 2).



(a)

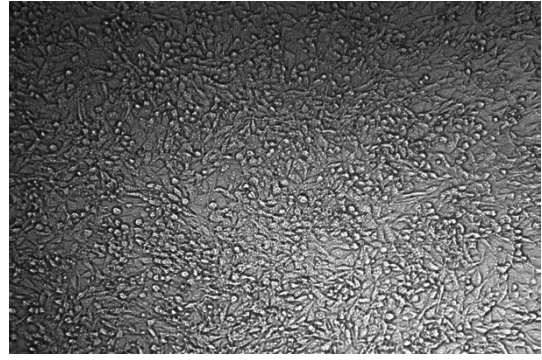


(b)

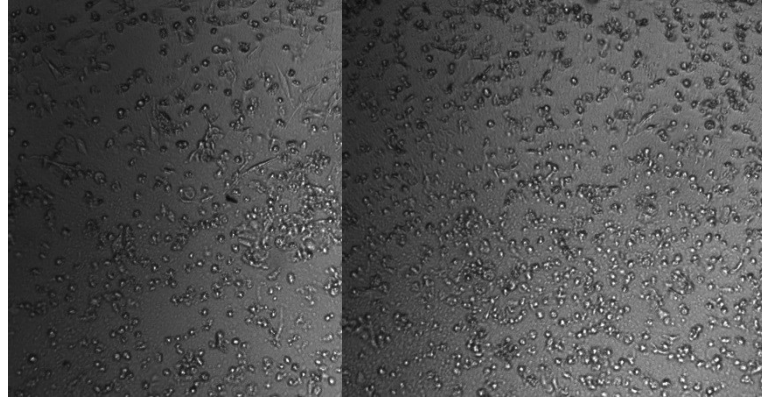


(d)

Şekil 1. [1-(2-metil-2-propenil)-3-(2-metilbenzil)benzimidazol-2-ildin]Ag(I) kompleksinin (**2a**) PC-3 prostat kanser hücre hattı morfolojisi üzerine etkisi (a) kontrol (b) 1 μM (c) 5 μM, (d) 10 μM, (e) 20 μM

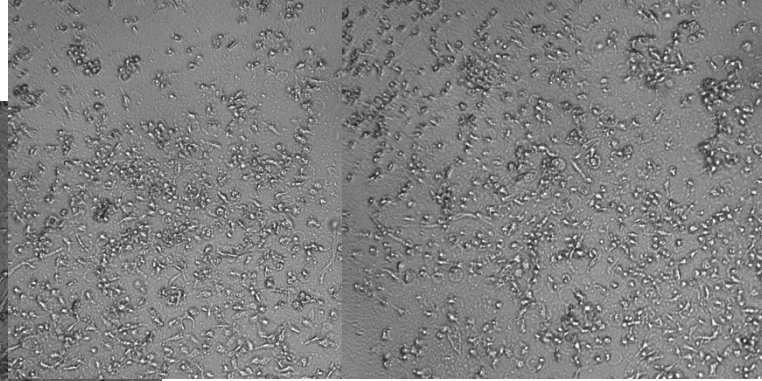


(a)



(b)

(c)

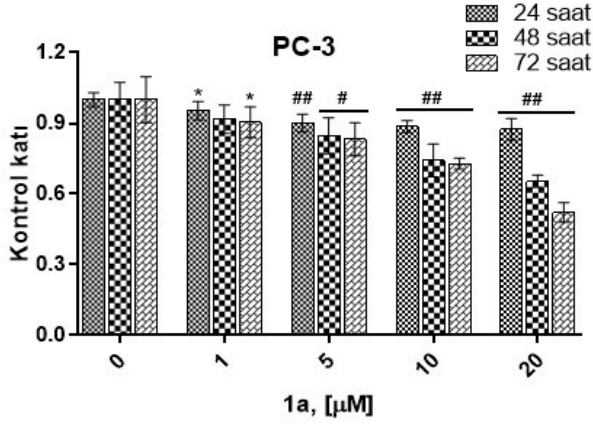


(d)

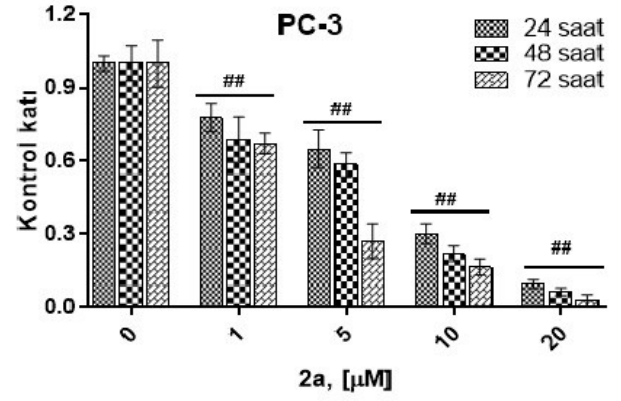
(e)

Şekil 2. Kloro[1-(2-metil-2-propenil)-3-(2-metilbenzil)benzimidazol-2-ildin]Ag(I) kompleksinin (**2a**) PC-3 prostat kanser hücre hattı morfolojisi üzerine etkisi (a) Kontrol (b) 1 μM (c) 5 μM, (d) 10 μM, (e) 20 μM

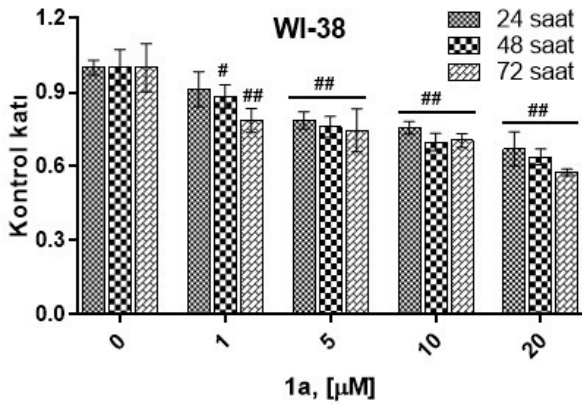
Ligand (**1a**) ve kompleksin (**2a**) PC-3 prostat kanseri ve WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücrelerindeki sitotoksik aktiviteleri saptanmıştır (Şekil 3- Şekil 6). MTT, mitokondrial DNA’ya bağlı olarak canlı hücrelerin belirlenmesini sağlamaktadır. Şekil 3’te x eksenini ligand (**1a**) derişimlerini, y eksenini ise hücre oranlarını ifade etmektedir. Ligand (**1a**) PC-3 prostat kanser hücreleri ve WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücrelerinde azalma gözlenmiştir. Benzer olarak Şekil 4’de x eksenini kompleks (**2a**) derişimlerini, y eksenini ise hücre oranlarını ifade etmektedir. Kompleks (**2a**) PC-3 prostat kanser hücreleri ve WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücrelerinin (Şekil 6) canlılık oranlarında azalma gözlenmiştir. Hem ligand (**1a**) hem de kompleks (**2a**) uygulaması sonucunda gözlenen hücre canlılık oranları karşılaştırıldığında; kompleksin (**2a**), PC-3 insan prostat kanser hücreleri üzerinde liganda (**1a**) göre daha yüksek hücre ölüm oranlarına neden olduğu gözlenmiştir. Bu sebeple kompleksin (**2a**), liganda (**1a**) göre daha yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır.



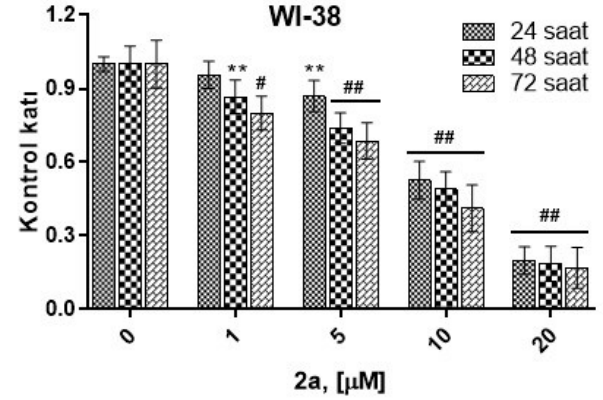
**Şekil 3.** [1-(2-metil-2-propenil)-3-(2-metilbenzil)benzimidazolyum klorür] ligandının (**1a**) PC-3 insan prostat kanser hücre hattı üzerine sitotoksik etkisi (n=7). (\*p< 0.05, #p< 0.0005, ##p<0.0001, Kontrolle göre)



**Şekil 4.** Kloro[1-(2-metil-2-propenil)-3-(2-metilbenzil)benzimidazol-2-iliden]Ag(I)'in (**2a**) PC-3 insan prostat kanser hücre hattı üzerine sitotoksik etkisi (n=7) (##p<0.0001, Kontrolle göre)



**Şekil 5.** [1-(2-metil-2-propenil)-3-(2-metilbenzil)benzimidazolyum klorür] ligandının (**1a**) WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücre hattı üzerine sitotoksik etkisi. (n=7). (#p< 0.0005, ##p<0.0001, Kontrolle göre)



**Şekil 6.** Kloro[1-(2-metil-2-propenil)-3-(2-metilbenzil)benzimidazol-2-iliden]Ag(I)'in (**2a**) WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücre hattı üzerine sitotoksik etkisi (n=7). (\*\*p< 0.005, #p< 0.0005, ##p<0.0001, Kontrolle göre)

Şekil 2- Şekil 6'dan yararlanılarak, ligand (**1a**) ve kompleksin (**2a**) PC-3 insan prostat kanseri ve WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücrelerinin % 50'sinin ölmesi için gerekli olan derişimleri ( $IC_{50}$ ) hesaplanmıştır (Tablo 1). Ligandın (**1a**) hem PC-3 insan prostat kanser hücreleri hem de WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücreleri için 24, 48 ve 72 saatlerdeki  $IC_{50}$  değerleri; >20  $\mu$ M belirlenmiştir (Tablo 1). Kompleksin (**2a**) PC-3 insan prostat kanser hücreleri için 24, 48 ve 72 saatlerdeki  $IC_{50}$  değerleri sırasıyla; 8.07, 5.84 ve 1.82  $\mu$ M olarak saptanırken; WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücreleri için  $IC_{50}$  değerleri ise sırasıyla; 13.1, 10.2, ve 5.34  $\mu$ M olarak hesaplanmıştır (Tablo 1).

**Tablo 1.** NHC Ligandı (**1a**) ve Ag(I)-NHC kompleksinin (**2a**) PC-3 prostat kanser ve WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücre hatlarındaki 24, 48 ve 72 saat için  $IC_{50}$  değerleri

	$IC_{50}$ ( $\mu$ M) <sup>a</sup>				
	PC-3			WI-38 <sup>b</sup>	
	<b>1a</b>	<b>2a</b>	SI ( <b>2a</b> ) <sup>c</sup>	<b>1a</b>	<b>2a</b>
24 saat	>20	8.07 ± 0.02	1.62	>20	13.1 ± 0.02
48 saat	>20	5.84 ± 0.09	1.74	>20	10.2 ± 0.06
72 saat	>20	1.82 ± 0.03	2.93	>20	5.34 ± 0.07

<sup>a</sup>24, 48 ve 72 saat için hesaplanan  $IC_{50}$  derişimlerini ifade etmektedir ve sonuçlar ± SD olarak verilmiştir (n=7), <sup>b</sup>Sağlıklı hücre. <sup>c</sup> Seçicilik indeksi (SI); **2a** kompleksinin WI-38 sağlıklı hücreler için hesaplanan  $IC_{50}$  değerinin PC-3 için hesaplanan  $IC_{50}$  değerine oranlanmasıyla elde edildi.

Kompleksin (**2a**) PC-3 insan prostat kanser hücresi için gözlenen  $IC_{50}$  derişimleri zamana bağlı olarak azalmaktadır.  $IC_{50}$  değerindeki düşüş sitotoksik aktivitedeki artışı göstermektedir. Kompleks (**2a**), her üç uygulama zamanı için de günümüzde hali hazırda kullanılan kemoterapötik bir ajan olan cisplatinden daha yüksek sitotoksik aktivite göstermiştir<sup>18-20</sup>. Kompleksin (**2a**), PC-3 insan prostat kanser hücrelerinde 24, 48 ve 72 saat için elde edilen  $IC_{50}$  değerleri WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücreleri için elde edilen  $IC_{50}$  değerinden daha küçüktür. Bu nedenle kompleks (**2a**), PC-3 insan prostat kanser hücrelerine 24, 48 ve 72 saat için WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücrelerine göre daha yüksek sitotoksik aktivite göstermiştir. Seçicilik indeksi sağlıklı hücre  $IC_{50}$  değerinin kanser hücresi  $IC_{50}$  değerine oranlanmasıyla hesaplanmaktadır. Yüksek seçicilik indeksi (özellikle >3) ilaç aday olabilecek moleküller için oldukça önemli bir özelliktir. Çünkü hali hazırda kullanılan kemoterapötik ajanların en önemli yan etkilerinden birisi kanserli hücrelerin yanı sıra sağlıklı hücreleri de öldürmeleridir<sup>21</sup>. Kompleks (**2a**) uygulamasından 24 saat ve 48 saat sonra seçicilik indeksi yaklaşık 2, 72 saat uygulama sonrasındaki seçicilik indeksi yaklaşık 3 olarak tespit edilmiştir.

## TARTIŞMA

Metal-N-heterosiklik karben (M-NHC) komplekslerinin katalitik aktivitelerinin yanı sıra son yıllarda biyolojik özellikleri oldukça ilgi çekmektedir. Farklı biyolojik aktivitelere sahip olan M-NHC bileşikleri sentezlenmektedir. Kanser de günümüzdeki en önemli hastalıklardan birisi olup tedavisinde kullanılabilir ilaç aday

yapıların keşfi önemini korumaktadır. Antikanser aktiviteye sahip olan gümüş (I) içeren M-NHC kompleksleri, bu komplekslerin en önemli arasında yer almaktadır. Ghost ve ark., tarafından altın (Au), paladyum (Pd) ve gümüş (Ag) bağlı, [1-benzil-3-tert-butylimidazol-2-iliden] yapısı içeren bileşikler sentezlenmiş ve 1 µM, 5 µM ve 10 µM derişimlerindeki Ag(I)-NHC kompleksinin HeLa kanser hücre çoğalmasını sırasıyla % 1.3, % 1.7 ve % 3 oranlarında inhibe ettiği belirlenmiştir<sup>22</sup>. Bu çalışmadan çok sayıda yeni gümüş (I)-NHC kompleksi sentezlenmiş ve farklı kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteleri araştırılmıştır<sup>23</sup>. Başka bir çalışmada da amino bağlı paladyum, altın ve gümüş heterosiklik karben kompleksleri sentezlenerek MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanser hücreleri ile U-87 glioblastom hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri incelenmiştir<sup>24</sup>. Gümüş içeren kompleksin 48 saat süreyle MCF-7, MDA-MB-23 ve U-87 kanser hücrelerine uygulanmasından sonra, kompleksin kanser hücreleri için IC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 28.68 ± 0.69 µM, 46.58 ± 2.13 µM ve 25.24 ± 0.21 µM olarak hesaplanmıştır<sup>23</sup>. Haque ve ark., tarafından yapılan çalışmada ise farklı ligandlar içeren benzimidazol temelli N-heterosiklik gümüş kompleksleri sentezlenerek hem ligandların hem de gümüş komplekslerinin *in vitro* antikanser ve antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır<sup>25</sup>. Ligandların HCT-116 ve HT-29 kolon kanser hücre hatları için IC<sub>50</sub> değerlerinin 4.8 ± 0.6 µM ile 31.8 ± 1.9 µM ve 8.7 ± 0.8 µM ve 245 ± 4.6 µM arasında değişirken, komplekslerin HCT-116 ve HT-29 kolon kanser hücre hatları için IC<sub>50</sub> değerlerinin 1.2 ± 0.3 µM ile 10.5 ± 1.0 µM ve 5.5 ± 0.8 µM ve 103.0 ± 2.3 µM arasında değiştiği bildirilmiştir. Gümüş içeren komplekslerin HCT-116 ve HT-29 kolon kanser hücreleri için ligandlarına göre daha küçük IC<sub>50</sub> değerlerine sahip oldukları ve bu nedenle, gümüş komplekslerinin ligandlara göre daha yüksek *in vitro* antikanser aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir<sup>25</sup>. Çalışmamızda da benzer şekilde gümüş kompleksi ligandına göre 24, 48 ve 72 saat uygulama zamanlarında PC-3 prostat kanser hücreleri için daha düşük IC<sub>50</sub> değerlerine sahip olup daha yüksek sitotoksik etki gösterdiği saptanmıştır. 2015 yılında yapılan bir çalışmada iki adet gümüş(I)-N-heterosiklik karben kompleksi sentezlenerek anti-inflamatuvar aktivitelerinin yanı sıra HT-116 kolon kanseri ve PC-3 prostat kanser hücreleri üzerine antikanser aktiviteleri araştırılmıştır<sup>26</sup>. Komplekslerin kanser hücreleri üzerinde doza bağlı antikanser aktiviteye sahip oldukları gözlenmiş ve HT-116 kolon kanser hücrelerine 48 saat uygulama zamanı için IC<sub>50</sub> değerleri 4.4 ve 1.7 µM, PC-3 prostat kanser hücreleri için IC<sub>50</sub> değerleri ise; 159 ve 50.21 µM hesaplanmıştır<sup>26</sup>. Çalışmamızda kullanılan gümüş kompleksinin 48 saat uygulama zamanı için PC-3 prostat kanser hücreleri üzerine IC<sub>50</sub> değeri 5.84 ± 0.09 µM hesaplanmıştır. Ligand (**1a**) ve kompleks (**2a**) MCF-7, MDA-MB-231 meme DU-145 prostat kanser hücreleri ve L-929 sağlıklı fare fibroblast hücreleri üzerine uygulanarak sitotoksik aktiviteleri değerlendirilmiş ve kompleksin (**2a**), MCF-7, MDA-MB-231 ve DU-145 kanser hücreleri üzerine, liganda (**1a**) göre daha yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğu, ayrıca kompleksin (**2a**), MCF-7, MDA-MB-231 meme ve DU-145 prostat kanseri hücreleri üzerinde L-929 sağlıklı fare fibroblast hücrelere göre daha etkili olduğu saptanmıştır<sup>16</sup>. Deneysel sonuçlar göstermektedir ki; bileşiklerin antikanser aktiviteleri kanser hücre türüne, bileşiğin yapısına ve zaman bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu nedenle çalışmamızın, prostat kanseri tedavisinde kullanılabilir yeni ve etkili ilaç adayı moleküllerin sentezlenmesine yönelik ileride yapılacak çalışmalar için katkı sağlayabileceği öngörülmektedir.

## SONUÇ

Bu çalışmada, [1-(2-metil-2-propenil)-3-(2-metilbenzil) benzimidazolyum klorür] ligandının ve bu ligandın Ag(I)-NHC kompleksinin, PC-3 insan prostat kanseri hücre hattı üzerine sitotoksik aktivitesi araştırılmıştır. Ayrıca ligand ve ligandın Ag(I)-NHC

kompleksi WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücre hattı üzerine uygulanarak ligand ve Ag(I) kompleksinin PC-3 insan prostat kanseri ve WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücreler arasında seçici davranıp davranmadığı da araştırılmıştır.

Çalışma sonucunda; PC-3 insan prostat kanser hücreleri ligand (**1a**) ve kompleksin (**2a**) farklı derişimleri ile 72 saat inkübe edildiklerinde, yalnızca kompleksin hücre canlılığında anlamlı azalışa neden olduğu gözlenmiştir. Düşük IC<sub>50</sub> değeri yüksek sitotoksik aktiviteye işaret etmektedir. Kompleksin (**2a**), PC-3 insan prostat kanser hücrelerine karşı 24, 48 ve 72 saat için WI-38 insan sağlıklı akciğer fibroblast hücrelerine göre daha düşük IC<sub>50</sub> değerlerine sahip olduğu ve bu nedenle yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Kompleks (**2a**), uygulamasından 24 saat ve 48 saat sonra seçicilik indeksi yaklaşık 2 olarak belirlenirken, 72 saat uygulama sonrasındaki seçicilik indeksi yaklaşık 3 olarak belirlenmiştir.

## Finansal destek

Bu çalışma, TÜBİTAK-Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında ‘‘1919B011803058’’ proje numarası ile desteklenmiştir. Sitotoksik aktivite deneyleri Sivas Cumhuriyet Üniversitesi İleri Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (CÜTAM)’da yapılmıştır.

## Çıkar çatışması

Yazar bu makalede bildirilen çalışmayı etkileyebilecek hiçbir mali çıkar veya kişisel çatışmalarının olmadığını beyan eder.

## KAYNAKLAR

1. <https://gco.iarc.fr> (Erişim tarihi: 15 Şubat 2021)
2. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/792-turkey-factsheets.pdf> (Erişim tarihi: 15 Şubat 2021).
3. Liu Y, Zhang X, Zeng R, Zhang Y, Dai QS, Leng HJ et al. Recent Advances in the Synthesis of Spiroheterocycles via N Heterocyclic Carbene Organocatalysis. *Molecules*. 2017;22(11):1882.
4. Yun BS, Kim JH, Kim SY, Son HJ, Cho DW, Kang SO. Photophysical properties of structural isomers of homoleptic Ir-complexes derived from xylenyl-substituted N-heterocyclic carbene ligands. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2019;21(13):7155-7164.
5. Shen W, Yang L, Wu Y, Bao L, Li Y, Jin P, et al. Reactions between N-Heterocyclic Carbene and Lutetium-Metallofullerenes: High Regioselectivity Directed by Electronic Effect in Addition to Steric Hindrance. *The Journal of Organic Chemistry*. 2019;84;2:606-612.
6. Boselli L, Carraz M, Mazeret S, Paloque L, Gonzalez G, Benoit-Vical F, et al. Synthesis, structures, and biological studies of heterobimetallic Au (I)-Ru (II) complexes involving n-heterocyclic carbene-based Multidentate ligands. *Organometallics*. 2015;34(6):1046-1055.
7. Haque RA, Choo SY, Budagumpi S, Abdullah AAA, Ahamed MBK, Majid AMA. Synthesis, crystal structures, characterization and biological studies of nitrile-functionalized silver (I) N-heterocyclic carbene complexes. *Inorganica Chimica Acta*. 2015;433:35-44.
8. Garner ME, Niu W, Chen X, Ghiviriga I, Abboud KA, Tan W. et al. N-heterocyclic carbene gold (I) and silver (I) complexes bearing functional groups for bio-conjugation. *Dalton Transactions*. 2015;44(4):1914-1923.
9. Dahm G, Bailly C, Karmazin L, Bellemin-Lapponnaz S. Synthesis, structural characterization and *in vitro* anti-cancer activity of functionalized N-heterocyclic carbene platinum and palladium complexes. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2015;794:115-124.
10. Graham C. The role of silver in wound healing. *British Journal of Nutrition*. 2015;14(19):22-26.
11. Garrison JC, Youngs WJ. Ag(I) N-heterocyclic carbene complexes: synthesis, structure, and application. *Chemical Reviews*. 2005;105(11):3978-4008.
12. Khan MT, Razi MT, Jan SU, Mukhtiar M, Gul R, IzharUllah – Hussain A. et al. Synthesis, characterization and antihypertensive activity of 2-phenyl substituted benzimidazoles. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018;31(3):1067-1074.

13. Kaur G, Silakari O. Benzimidazole scaffold based hybrid molecules for various inflammatory targets: Synthesis and evaluation. *Bioorganic Chemistry*. 2018;80:24-35.
14. Al-Blewi FF, Almeahdi MA, Aouad MR, Bardaweel SK, Sahu PK, Messali M et al. Design, synthesis, ADME prediction and pharmacological evaluation of novel benzimidazole-1,2,3-triazole-sulfonamide hybrids as antimicrobial and antiproliferative agents. *Chemistry Central Journal*. 2018;12(1):110.
15. Vausselin T, Seron K, Lavie M, Mesalam AA, Lemasson M, Belouzard S. et al. Identification of a New Benzimidazole Derivative as an Antiviral against Hepatitis C Virus. *Journal of Virology*. 2016;90(19):8422-8434.
16. Şahin N, Şahin-Bölükbaşı S, Marsan H. Synthesis and antitumor activity of new silver(I)-N-heterocyclic carbene complexes. *Journal of Coordination Chemistry*, 2019;72(22-24):3602-3613.
17. Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D. et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *Journal of the National Cancer Institute*. 1990;82(13):1107-1112.
18. de la Cueva-Alique I, Sierra S, Muñoz-Moreno L, Pérez-Redondo A, Bajo AM, Marzo I. et al. Biological evaluation of water soluble arene Ru (II) enantiomers with amino-oxime ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2018;183:32-42.
19. Wang HJ, Zhou YY, Liu XL, Zhang WH, Chen S, Liu XW. et al. Regioselective synthesis and evaluation of 2-amino 3-cyano chromene chrysin hybrids as potential anticancer agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2020;30(9):127087.
20. Jäger S, Gude L, Arias-Pérez, MS, 4,5-Diazafluorene N-glycopyranosyl hydrazones as scaffolds for potential bioactive metallo-organic compounds: Synthesis, structural study and cytotoxic activity. *Bioorganic Chemistry*. 2018;81:405-413.
21. Nurgali K, Jagoe TR, R. Editorial: Adverse Effects of Cancer Chemotherapy: Anything New to Improve Tolerance and Reduce Sequelae? *Front Pharmacology*. 2018; 9: 245.
22. Ray S, Mohan R, Singh JK, Samantaray MK, Shaikh MM, Panda D. et al. Anticancer and antimicrobial metallopharmaceutical agents based on palladium, gold, and silver N-heterocyclic carbene complexes. *Journal of the American Chemical Society*. 2007;129 (48):15042-15053.
23. Tacke M. Benzyl-substituted carbene-metal complexes: Potential for novel antibiotics and anticancer drugs? *Journal of Organometallic Chemistry*. 2015;782:17-21.
24. Wang CH, Shih WC, Chang HC, Kuo YY, Hung WC, Ong TG. et al. Preparation and characterization of amino-linked heterocyclic carbene palladium, gold, and silver complexes and their use as anticancer agents that act by triggering apoptotic cell death. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2011;54(14):5245-5249.
25. Haque RA, Choo SY, Budagumpi S, Iqbal MA, Al-Ashraf Abdullah A. Silver(I) complexes of mono- and bidentate N-heterocyclic carbene ligands: synthesis, crystal structures, and in vitro antibacterial and anticancer studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;90:82-92.
26. Iqbal MA, Umar MI, Haque RA, Khadeer Ahamed MB, Asmawi MZ, Majid AM. Macrophage and colon tumor cells as targets for a binuclear silver(I) N-heterocyclic carbene complex, an anti-inflammatory and apoptosis mediator. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2015;146:1-13