

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patolojik Anatomi Kürsüsü Başkanı
Prof. Dr. Mahir PAMUKÇU

N-[4-(5-NİTRO-2-FÜRİL) -2-TİYAZOLİL] FORMAMİD (FANFT) VE BUNUN İZOTOPLU ŞEKLİ (FANFT-C¹⁴) İLE SIÇANLARDA SİDİK KESESİ KANSERİNİN MEYDANA GETİRİLMESİ VE ONKOJENİK MEKANİZMASI KONUSUNDA ARAŞTIRMALAR II. FANFT-C¹⁴ İLE BİYOKİMYASAL ÇALIŞMALAR VE ONKOJENİK MEKANİZMA

Erdoğan ERTÜRK*

The induction and the oncogenic mechanism of urinary bladder cancer in rats with N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyI] formamide (FANFT) and its isotop labelled form (FANFT-C¹⁴). Part. 2: Studies including the biochemical work, isotopic distribution and the probable mechanism of tumor induction.

Summary: In this paper, the induction of urinary bladder cancer and its cellular or subcellular mechanism was the main subject of study. The chemical properties and the importance of the different parts of the carcinogenic compound was explained in the previous part. With the results of both parts that were suggesting the N-Hydroxylation as a common pathway, this carcinogenic compound appeared as another model of nitro-amino aromatic chemical carcinogen having selective activity on urinary bladder epithelium.

Özet: Bu çalışmada ana gaye, sidik kesesi kanser meydana getirilmesinde gizli, hücresel veya hücre organellerinde meydana getirilen, özel mekanizmanın aydınlatılmasına çalışmak olmuştur. Birinci kısım yazıda, karsinojenik madde molekülünün kimyasal özellikleri ile üzerindeki değişik grupların biyolojik önemleri üzerinde durulmuştu. Bu araştırma ve birinci çalışma sonuçları beraber ele alındıkta, gerek kimyasal gerekse biyokimyasal olan ortak mekanizmanın Nitro grubunun indirgenmesi ve hidrosillendirilmesi sonu, buraya konjugasyon olması ve daha sonra bu konjuge yapının hücre komponentlerinden DNA, RNA ve Protein gibi makromoleküllerle ilişkiler kurması şeklinde olduğudur. N-Hidroksilasyon mekanizmasına sahip olan bu karsinojen de böylece diğer aromatik nitro-amino grubu kanserojen ajanlar arasında, fakat, sidik kesesi epiteline özel etkiye sahip başka bir model olarak ortaya çıkmaktadır.

* Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patolojik Anatomi Kürsüsü Doçenti

Giriş

Bu kısımda kanserojen özelliğini şüphesiz bir şekilde önceden ortaya koymuş ve sidik kesesinde meydana getirdiği tümörleri etraflıca inceleyerek; patolojik, onkolojik ve biyokimyasal çalışmalar için bir model olabileceğini öne sürdüğümüz FANFT'ın sıçanda sidik kesesi epitel hücrelerine ve diğer ilgili olabilecek bütün doku ve organlardaki değişik hücrelere etki mekanizması üzerine eğinilecektir. Bu amaçlara ulaşmak için FANFT molekülünün C^{14} ile etiketlenmiş olan izotoplu FANFT- C^{14} sentezlenmiş ve önceki iki kısımda açıklanan besi deneylerinde olduğu gibi, aynı ırktan sıçanlara ağızdan mide sondasıyla verilmiştir.

Elde olunan sonuçların tartışması yapılmış ve etki mekanizmasının önceden genel bir yol olarak önerilen N-hidroksilasyon kanalından geçen ve hücrenin önemli komponentlerinden DNA, RNA veya proteinleriyle ilişkiler kurabilen tehlikeli ara ürünleri meydana getirebileceği şeklinde hipotezlenmesine çalışılmıştır.

Hemen bilinen bütün aromatik amino ve nitro bileşimindeki kanserojenler için ortak etkiye yolu olarak önerilmiş bulunan N-hidroksilasyonun FANFT molekülünde, fürana bağlı nitro grubu kadar diğer tiyazole bağlı bulunan ve formik asitle örtülü fakat hidrolizle kolayca serbest hale gelebilecek olan amin grubunda da meydana gelebileceği düşünülürse, bu molekülün neden çok kuvvetli bir kimyasal kanserojen olduğu daha kolay anlaşılacaktır kanısındayız.

Materyal ve Metod

Gerek FANFT gerekse izotoplu şekli FANFT- C^{14} önceden Sherman ve Dickson (73) tarafından bildirilmiş bulunan metoda göre sentezlenmişlerdir. C^{14} ile etiketli bulunan tiyoüre ve 2-Bromoasetil-5-nitro-füran'dan elde edilen (Cetvel.1) FANFT- C^{14} ile analoğu olan asetillenmiş NFTA- C^{14} aynı reaksiyonlar zincirinin iki benzer ürünü olarak elde edilebilmiştir. Bunun için 1 mMol veya 234.1 mg 2-Bromoasetil-5-nitro-füran (I) ile 1 mMol 76.12 mg izotoplu tiyoüre (II) 2 cm³ % 95 lik etil alkolde, magnetik bir karıştırıcıyla karıştırılan ve buharlaşan criticinin tekrar soğutulup ortama döndüğü akarsu ceketiyile sarılı, silikon yağ banyosunda oturtulmuş, 250 cm³ lük bir cam balonda ve 70-75 C° de 5 saat süreyle kaynatılmıştır (refluxing). Ürün (III) buz dolabında soğutulup su trompu aracılığıyla süzülürken kahve rengi -portakal tonunda kristallerin süzgeç kağıdı üstünde toplandığı görüldü. Alçak basınçta ve 55 C° de çalışan kurutma fırınında bir gece bırakıldıktan sonra tartılan ürünün 245

mg olduğu anlaşılmıştır. Molekül ağırlığı 292 mg/mMol olan bu maddenin, reaksiyondan % 84 oranında (245/292) elde edilebildiği hesaplanmıştır. Bu ürünün ve izotopsuz analogunun ince levha kromatografilerinden heriki maddenin aynı madde oldukları ve ikisinin de 226–227 C° de ergidikleri görülmüştür. Bromamid tuzunun (III) 242 mg lık kısmı alındı ve 2 cm³ piridin bazı içerisinde ve yukarıda açıklanmış bulunan kaynatma sisteminde 6 saat kaynatıldı. Hidrobromik asitin Piridin tarafından alınmasıyla serbest hale geçen 2-Amino-4-(5-nitro-2-füril) tiyazol (IV) maddesi azar azar eklenen 2 cm³ hacimdeki metil alkolde eritilerek reaksiyon ortamından iki faz yapılarak ayırıldı ve soğutulup süzöldükten sonra kurutulularak tartılınca 186 mg geldiği ve bunun şekillendiği reaksiyonun da % 88 verim ile çalışmış olduğu anlaşıldı. Bu ürün (IV) hemen 93 er mg lık iki eşit kısma ayrıldı ve yarısı 4 cm³ % 90 lık formik, diğer yarısı da glasiyal asetik asit ile aynı kaynatma sistemlerinde 6 şar saat kaynatıldıkta sarımsı portakal renkte ürün (V) FANFT-C¹⁴ veya asetilli analogu NFTA-C¹⁴ maddeleri elde edilmiş oldu. Tartılan ürün (V) in 80 mg ve bu kimyasal reaksiyon veriminin de % 76 oranında olduğu hesaplanmıştır. Heriki maddenin de izotopsuz analoglarıyla karşılaştırılmaları sonu bunlarla idantik oldukları ergime derecelerinin de aynı olmalarıyla doğrulanmış oldu (*Cetvel.* 1). Bu maddelerin ince levha kromatografilerinde tek nokta görülmesi saf olduklarını göstermiştir.

Burada kullandığımız ince levha kromatografilerinde (TLC, Thin layer chromatography) sabit sistem düzgün bir cam levha üzerine sürölüp kurutulmuş ve sıcakta aktive edilmiş bulunan alüminyum hidroksit tozu (alumina), hareket eden faz ise bir çözücüler karışımıdır (10 cm³ piridin, 50 cm³ sikloheksan ve 50 cm³ kloroform).

Bu analizler sonunda elde edilen Rf değerleri (Rf: kimyasal maddenin katettiği mesafe / hareket edici sistemin katettiği toplam mesafe) de izotoplu ve izotopsuz heriki madde için aynı bulunmuştur, (0.315).

Sentezlediğimiz iki ürünün izotop miktarları ilk basamakta yapı taşı olarak kullandığımız etiketli tiyöürede bulunan (satın alınırken belirtilir) toplam 3.3 miliküri (mC) veya 3,300 mikroküriden hesaplanmıştır. İlk reaksiyondan % 84 oranında elde edilen ürüne (III) (III) 3,300x0.84 yani 2,770 mikroküri; bundan serbest amin (IV) maddesine % 88 oranında ulaşmış 2,770x0.88 yani 2,440 mikroküri taşınmıştır. Bu maddenin yarısı yani 1,220 mikrokürisi FANFT-C¹⁴ için kullanıldığından ve bu reaksiyon da % 76 üran verdiğiinden 1,220x0.76 yani 927 mikroküri sıcaklıkta ya da miligramında 11.6 mC mikroküri C¹⁴ ile etiketlenmiş kanserojen elde edilmiştir.

Böylece sentezlediğimiz FANFT-C¹⁴, karsinojenik mekanizmayı sıçanlarda araştırmak amacıyla kullanıldı. İzotoplu madde, 0, 5, 15 ve 25 inci haftalarda ağızdan verildi. Bu zaman periodlarının seçim nedeni önceki çalışmamızda (42) bu süreler sonunda sidik kesesinde belirgin değişmelerin tesbit edilmiş bulunmasıdır. Çalışmanın 0-25 haftalara yayılmasının sebebi ise FANFT metabolizmasıyla ilgili enzimlerin aktivite derecelerinde zamanla bir değişme meydana gelip gelmediğini anlamak ve şekillenen tümörlerin patojenetik gelişmesini de aynı anda ve paralel bir şekilde etüd ve teyid etmek olmuştur. Her periodda 4 sıçan kullanılmıştır. Her sıçana ağızdan (*Cetvel.* 2) 1-4 x10⁶ DPM (1 mikroküri = 2,22x10⁶ DPM dir) miktarında izotop ihtiva eden FANFT -C¹⁴ süspansiyonu mide sondasıyla verilmiştir. Kimyasal madde ilkin Agate havanda iyice ezilip toz edilerek kristalleri kırılmış ve bundan sonra 2,5 cm³ lük, steril polietilenglikol içinde süspansiyon haline getirilmiş ve yutulabilecek duruma sokulmuştur. Sıçan başına düşmesi istenen izotop miktarının 5 katı FANFT -C¹⁴ süspansiyonu hazırlandı ve bunun 4/5 i 4 sıçana verildikten sonra artan kısım (1/5) her sıçana ortalama ne miktar izotop verildiğini anlamak için sayımlarda kullanıldı. Buna göre verilen toplam DPM ile izotopun organ ve sistemlere dağılışı ile çıkış oranları elde edildi.

Deney sıçanlarının bakım ve beslenmesi kısım 1 de belirtildiği gibidir. Sıçanlardan 4 er adedi daha FANFT karışmış yemle beslenmeğe başlamadan önce (0.hafta) izotoplu FANFT ile izotop dağılım denemelerine alınmıştır. Bunun nedeni kontrol değerlerini saptamaktır. İlk 5. haftanın tamamlanması sonunda gene 4 er sıçana daha FANFT-C¹⁴ verilerek çalışmalar yapılmış ve bu metod 15. ve 25. haftaların tamamlanmasında da tekrar edilmiştir.

İzotop distribüsyonu araştırmalarında izotoplu karsinojen alan her sıçan derhal ayrı bir cam hücreye kondu. Bu hücreler önceden numaralandı. Hücrelerin içerisinde hava sirkülasyonu devamlı çalışan bir motopomp ile sağlandı. Alt kısımlarına idrar ve pisliğin ayrı kaplarda toplanmasını sağlayacak şekilde ayırıcı eklemeler bağlanmıştır. Ayrıca sıçanın solunumuyla çıkardığı karbondioksidi yakalayacak 200 cm³ etanalamin-metanol (1/5) karışımı bulunan cam kulelerle donatılmıştır. Bu kuleler 1, 4, 8, 12, ve 24. saatlerde değiştirilmiş ve içlerindeki sıvıda tutulan izotop miktarları sayılmıştır. Deneme ilkin 72 saatlik uzunca bir süre için plânlanmışsa da teneffüsle çıkan gazlarda izotop bulunmaması ve verilen miktarın büyük kısmının çabucak emilmiş olması ve 2. saatten başlayarak atılmasının anlaşılması izotopun büyük kısmının ilk 24 saat içerisinde çıkarılması denemenin süresini düşürmüştür. Toplanan sidik ve gaitalar da aynı zaman

periodlarında elde edilmiş ve sayıma tabi tutulmuştur. Ancak idrarlar hacmen çok az olduğundan ve çok da fazla izotop ihtiva ettiklerinden yapılabilecek küçük hacim ölçme hatalarının büyük yanlışlıklara yol açabilme olanağından hepsi 25 er cm^3 lük hacmen çıkarılmıştır. Bunun için eldeki miktarlara yeter cm^3 damıtık su eklenmiştir. Gaitalar önce damıtık suda parçalanıp homojenize edilmiş, bundan sonra da 2 N. KOH (2 N.KOH çözeltisi 112 gram KOH ın bir litre damıtık suda tamamen eritilmesiyle elde edilir), çözeltisiyle mümkün mertebe 25 cm^3 lük bir eriyik şekline getirildiler. Burada da hacimler 25 er cm^3 olarak standardize edilmiştir.

Yirmidördüncü saatin tamamlanmasında sıçanlar hücrelerinden alınıp, buraya konarken yapıldığı gibi tartıldı ve iki tartı arasındaki farklar tesbit edildi. (deneme süresinde yem ve su verilmediğinden daima azalma olmuştur). Deneme sonunda ağırlığı tesbit edilen sıçanlar, kan kaybetmemek için başına vurularak öldürüldü. Ölen hayvanlardan ayrı ayrı ve her biri tartılıp kaydedilerek karaciğer, mide ve içeriği, ince barsak ve içeriği ile mezenteriyum ve lenf düğümleri, kalın barsak ve içeriği, körbarsak ve içeriği, dalak, böbrekler (yıkılmış), adrenal bezler, meme dokusu, yumurtalık dahil genital organlar, sidik kesesi (yıkılmış ve boş), akciğerler ve timus bezi, kalp (yıkandı ve kandan arıtıldı) ayrı kaplara alındı, geriye kalan karkas ve yıkama sıvıları bir balonda ve hep birlikte 2000 cm^3 e tamamlandı. Organlardan, küçük olanları 25, daha iricelere 50, en büyükleri de 100 cm^3 hacme ulaşacak şekilde; ilkin bu hacimlerin 1/5 i kadar 2 N.KOH ta eritilip süspansiyon şekline getirildikten sonra, buna yeteri kadar % 95 lik alkol katılarak standart hacimlerdeki eriyikleri yapıldı. Bunların her birisinden yine standart olarak 0.5 cm^3 lük örnekler alındı ve her organ için ikişer defa olmak ve çift sayım yapılmak suretiyle sıvı foton sayıcılarında (Liquidscintillation Counter) izotop miktarları tesbit edildi. Sayımlar için alınan 0.5 cm^3 lük örnekler içlerinde 20 cm^3 ANPO sayım eriyiği (Naftalin 259.2 gm-PPD 18.4 gm-NPO 0.1839 gm-ksilol 1400 cm^3 -dioksan 1400 cm^3 -absolü etil alkol 840 cm^3) bulunan polietilen sayım şişelerine konmuş, iyice karışıp ağızları vidalanmıştır. Doğru sayım sonucu elde etmek için şişeler dıştan iyice silinip temizlendikten sonra Mark-1 Scintillation Counter (Nuclear Chicago Corp. Illinois USA) tarafından 10 ar dakikalık süreler için otomatik olarak sayıldılar. İlkin, denememizden elde edeceğimiz değerlerin inanılır olmasını sağlamak için kozmik etkiler, sıvı ve renk etkilemeleri sonunda ortaya çıkacak olan katkı DPM leri meydana çıkarmak amacıyla öncül bir çalışma yapılmış ve bu eşik sayılar (Background counts, BGC) tesbit edilmiş ve asıl deney sayılarından daima

çıkarılmıştır. Böylece elde edilen CPM ise kullanılan sayıcının efişiyensisiyle (o günkü çalışma yeterliliği) (ortalama % 70 civarındadır) çarpılarak elde edilen rakam (yada elektronik beyin tarafından hazırlanan rakamların uygulandığı bir eğri kullanılarak elde edilen rakamlar) 0.5 cm^3 lük sayımda kullanılan örnek içerisinde bulunan DPM miktarını verir. Bu sayılar da örneğin toplam hacmiyle çarpılınca o organda bulunan toplam izotop miktarını ortaya kor (DPM /organ). Bu sayılar ise organın ağırlığına bölünmekle özel aktiflik derecesi (DPM/mg doku) elde edilir ki bu sayılar FANFT karsinojenin belli dokulara yönelme derecesini belirler. Böylece elde edilen organlara ait toplam izotop sayıları toplanır ve buna ayrıca idrar, kan, gaita ve karkas ile yıkama suyunda kalan toplam izotop sayıları da aynı yoldan elde edilip eklenince bir sıçanın vücudundan tekrar elde edilebilen tüm izotop miktarı hesaplanır. Bu rakam ise en başta o sıçana verilen izotop sayısına oran edilirse izotopun geri alınma oranı (% recovery) saptanmış ve deneyin sağlığı anlaşılabilir olur. Her hayvan için ayrı ayrı tekrarlanan bu hesaplamalardan, her zaman dilimindeki dört sıçanın değerler ortalaması bulunmuş ve karşılaştırmalarda esas olacak istatistik kıymetler olarak değerlendirilmişlerdir.

İdrar üzerinde daha derine inerek muhteva analizleri yapılmıştır. Bunlar kağıt kromatografisi ve izotop muhtevalarının sayılmaları halinde ve paralel bir şekilde yürütülmüştür. Verilen FANFT'nin büyük bir kısmının idrar içerisinde dışarıya atılmakta olduğunun anlaşılması idrar içerisinde izotop ihtiva eden ve normal sıçan idrarından yapılan kromatogramlarda görülemeyen sahaların incelenmesine girişildi. Her hayvanın deneme süresinde verdiği bir günlük idrar (ki sayım için 25 cm^3 lük örnek haline konulmuştu) bilindiği şekilde ve belli saatlerde toplanmıştı. Bu idrar kısımları etiketlenip o zaman dilimlerinin özelliklerini anlamak amacıyla ilkin ayrı ayrı sayım ve kromatografi işlemeine tabi tutuldular. Ancak, idrar kromatogramlarının aynı haftalar sonunda veya beşinci ile 25. haftalar sonunda dahi analiz sonu bir fark göstermemesi, konuyu çok daha sadeleştirmiştir. İdrar örnekleri hacmi önce 2 cm^3 'e indirilmiş ve bunun tamamı önce Whatman No. 3 kromatografi kağıdına, daha sonra arıtmak amacıyla da Whatman No. 1 kağıdına yüklenmiştir. Bu kromatogramlar amonyaklı Berg (5) çıkıcı sistemi (200 cm^3 metanol, 100 cm^3 n-bütanol, 100 cm^3 benzen, 100 cm^3 damıtık su ve 5 cm^3 yoğun amonyak karışımı) ile develope edilmiştir. Kromatogramların büyüklüğüne göre önce cam kavanozun dip kısmındaki tabak içerisine ilkin $250-500 \text{ cm}^3$ çıkıcı çözeltiler sistemi konmuş ve kromatogramın doyup denge meydana gelmesini sağlamak için cam çubuklar üzerine oturması ve 30 dakika

beklemesi gerekmiş ondan sonra 12 saat te developman için beklenmiştir. Buhar basınçları arasında bu dengelenme yapılmadıkta, idrarda bulunan madde sahalalarının gayrimuntazam ve uzun çizgiler halinde ortaya çıktığı görülmüştür. Bu kromatoğramlar ultraviyole lambası altında incelenmiş ve görülen fluoressan sahalaların sınırları kurşun kalemle çizilmiştir. Renk tonları ve şiddetleri de kaydedilen bu spotlar kağıttan kesilerek çıkarılmış ve küçük (0.5 cm^3) parçacıklar haline getirilmişlerdir. Bu parçacıklar amonyaklı su içerisinde (250 cm^3 suya birkaç damla yoğun NH_4OH katılır) konup karıştırılınca, burada etirildiğinden çözeltiye alınmışlardır. Bu çözeltilerin hacmi buharlaştırma ile 25 er cm^3 e indirilmiş ve teker teker her sahanın izotop miktarları önceki gibi sayılıp meydana çıkarılmış ve hangi maddenin en fazla izotoplu FANFT ihtiva ettiği anlaşılmıştır. Bu kromatoğrafilerde Whatman No. 1 kağıdı kullanılmış ve elde edilen fluoressans bölgelerin Rf değerleri hesaplanmıştır (Rf: maddenin yükselme miktarı/çözeltinin çıkış yüksekliği). Bu sahalardan çözeltmekle elde edilen saf kristaller ise daha sonra kimyasal strüktür analizleri için kullanılacaktır.

Bu çalışmadan alınan sonuç ve rakamların mümkün olduğu oranda basitleştirilmesine çalışılmış ve deney sıçanlarıyla kontroller ve O. hafta sıçanlarından elde olunanların birbirleriyle istatistik ve kromatoğrafik karşılaştırılmaları yapılmış ve aralarındaki yakınlık ve aykırılıklar saptanmıştır. Bu aykırılık ve bulgular da literatürler kıyaslanarak FANFT maddesinin etkime yolu yani kanseri meydana getirme mekanizması üzerinde düşünülüp en muhtemel yolun hipotezlenmesine çalışılmıştır.

Sonuçlar

Gerek FANFT gerekse FANFT - C^{14} moleküllerinin biyokimyasal etkisinin aynı olacağını önceden kabul etmek gerektir, zira farkı teşkil eden C ve C^{14} atomları arasında kimyasal etki bakımından bir fark olmadığı kimyaca etkilerinin radyasyon dışında aynı olduğu bilinmektedir. Bu nedenle deneyde kullanılan FANFT- C^{14} ile elde ettiğimiz sonuçların aynen FANFT yedirme denemelerinde cereyan eden olayları (Kısım: 1) meydana getirdikleri anlaşılmalıdır. Ayrıca sentez yollarının da tıpatıp aynı olması (Cetvel. 1) bunu varsaydırmaktadır. İzotoplu maddenin sağladığı olanak ancak sayımın mümkün olması sonu bu maddenin nerelere gittiği ve ne miktarlarda dağıldığını saptayabilmektir.

Cetvel 2 ve 3 in incelenmesinden de kolayca anlaşılacağı gibi, FANFT ağızdan verildikten kısa süre sonra midneyi terk edip ince

barsağa oradan da emilerek vena porta yolundan karaciğere ulaşmaktadır. Bu sonuç midede çok az izotop kalması, barsakta ve karaciğerde bolca izotop bulunmasından anlaşılmaktadır. Birinci saatten sonra idrarda izotop görülmesi ve derhal artmağa başlaması emilme ve metabolizmanın ne kadar hızlı cereyan etmekte olduğunu gösterir. Verilen büyük dozlara rağmen, solunumla çıkarılan karbondioksitte C^{14} bulunmaması, FANFT'ın büyük bir parçalanmaya uğramadığını ortaya koymaktadır. CO_2 içinde izotop bulunmayışı ve bu durumun çalışma süresince, 25 haftada değişmemesi, belirli ve sabit bir metabolizma ve mekanizmanın mevcudiyetini işaret etmektedir. Tiyazol halkasının parçalanmadan; FANFT molekülünün detoksifikasyonu iki yoldan mümkün olabilir. Bunların ilki nitro kısmının enzimatik indirgenmesi ve N-hidroksilasyonunu izleyen esterleştirilmesi diğeri ise bu esterleşmenin tiyazole yüklü formamid kısmında meydana gelebilmesidir. Amid bağının kuvvetli oluşu ikinci ihtimali zayıflatırsa da, ortadan kaldıracak yeterlilikte değildir. N-hidroksilasyon meydana gelmekte ve çeşitli anyonlarla birleşerek eriyebilme yeteneği artmakta ise bu madelerin neticede safra ve kan yoluna alınarak karaciğerden uzaklaşmaları sağlanabilecektir.

Verilen toplam izotopun 1/3 kadarının, daima barsak kanalında bulunması, FANFT molekülünün iyi emilememesinden çok, muhtemel bir safra sirkülasyonu düşündürmektedir. Ancak bunun mevcudiyetinin kati olarak ıspatı ve öneminin ortaya konması için daha özel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Oranların özel aktiflik derecelerine bakıldıkta, içeriklerinden dolayı sindirim kanalı başta gelmekteyse de sidik kesesi; yıkanmış ve böylece idrar içinden gelebilecek bir izotop bulaşması önlenmiş bulunmasına rağmen, en önde yer almaktadır. Bu sonuç FANFT'ın neden kese kanseri meydana getirmekte olduğunu tamamen açıklamasa bile soruya önemli bir cevap vermiştir. Kimyasal maddenin seçiciliği (karsinojenin organotropisi) bunda en önemli faktör olsa gerektir. Sırasıyla karaciğer, adrenal bezler, böbrekler, yumurtalık ve rahim ile dalak, kalp kası ve memeler (Cetvel 3). keseyi izlemiştir. Bu sıralanış karaciğerin metabolizmada görevli adrenal bezlerin de FANFT'ın hormonal düzene ilişkisini düşündürmesi bakımından çok rasyonel bulunmuştur. Memelerde azda olsa adenom yada fibroadenomlar meydana getiren FANFT'ın(42,47,48) hormonal düzene etkisi akla çok yakın gelmektedir. Böbreklerde fazlaca izotop bulunması, pelvis renaliste meydana getirdiği transizyonal hücre hiperplazileri ile kanserlerin nedenini anlamakta çok yardımcı olmuştur. Yumurtalık ve uterusun ihtiva ettiği izotoplar hormonal etkilere dalakta bulun-

ması ise karsinojenin hematopoetik ve immun sistemlere tropizm gösterdiğine bağlanmıştır. Meme, kalp ve karkasta kalan çok az radyoaktivite, buralara önemli etkileri olmadığını işaret etmektedir. Memenin en az izotop ihtiva eden organ olması, çok hacimli ve yağlı özel dokusuna ilgilidir. Karkas içerisinde, bildirilen bu organlar dışında kalanlar ile otopsi sırasında; dökülüp saçılan organ muhtevillerinin yıkanmasıyla alınan izotoplar eklenmiş ve rakamı yükseltmiştir.

Organlar üzerindeki öncül çalışmamızı belli bir noktaya getirdikten ve bazı organların hücre kısımları sitoplazma, çekirdek veya bunların ihtiva ettiği protein, RNA ve DNA üzerinde detaylı ayrı çalışmaları ileri bir tarihe bırakıp, araştırmalarımızı idrar üzerinde derinleştirdik, FANFT ile hiç temase gelmemiş sıçanlarla; bu karsinojeni almakta olanlardan elde edilen, idrar örnekleri karşılaştırılmalı olarak incelendi. Bu kısımda izotopsuz karsinojen ile beslenmenin 0,5,15 ve 25 inci haftalarda bulunan deneme hayvanlarından 4 er tanesinden ayrı ayrı FANFT-C¹⁴ verildikten sonra 24 saat süreyle idrarları toplanıp, kağıt kromatografileri yapıldı. Bu çalışmalarda (*Cetvel. 4*), deneme hayvanı idrarında, normal sıçan idrarı içinde rastlanmayan; iki nokta tesbit edildi (Rf, A-0.076 ve Rf 0. 37). Birinci nokta (A) koyu mavi fluoresans veren, daha küçük bir saha olmasına karşılık, ikinci nokta (B,C) daha büyük ve açık mavinin nüanslarını gösteren iki ayrı noktadan meydana gelmiş hissini vermiştir.

Deneme sıçanı idrarının kromatografik analizi sonunda en önde giden pek küçük bir noktada azda olsa izotop bulunması ve yalnız FANFT ile *Cetvel 2* de 1 inci kolon aynı Rf değerini göstermesi FANFT in pek azının hiç bir değişmeye uğramadan atılabildiğine, yada ester haldeki metabolitin idrarda hidrolize olup, tekrar FANFT ve asitte ayrılmış olmasına delil olabilir. Bunun dışında izotop muhtevalarının karşılaştırılması, yapılan idrar kromatoğramları, test sıçanında görülen noktaların izotoplu olduğunu (*Cetvel. 5*) en fazla radyoaktivitenin de ikinci noktada toplandığını göstermiştir. Bu sonuç muhtemel metabolitin, FANFT metabolizmasında meydana gelen ve kromatoğramda görülen 2 ci noktanın, ürünün büyük kısmını teşkil ettiğini göstermiştir. Bu nokta eğer iki yakın yapıli metabolikle ilgili ise, yine bunlarında daha fazla meydana gelen metabolikler olacağını bildirmektedirki bu hal; çeşitli asit esterlerinin meydana gelme ihtimaline daha uygun gelmektedir.

Tartışma

FANFT'nin sindirim kanalından çabuk emilmesi (*Cetvel. 2,3*) ve derhal karaciğere gidip burada metabolik reaksiyonlara sokulması, benzeri nitrofüran türevlerinin mezenteriyal damarlardan gelişen heman gioendoteliyosarkomlar meydana getirmesiyle de desteklenmiş bulunmaktadır (43,65). Körbarsak ve kolonda fazla izotop sayılması ya hiç emilmemiş FANFT-C¹⁴ ün burada birikmesi, ya da karaciğerden safra yollarına geçip barsak kanalına atılan metabolite ilgili olabilir. İdrar 1. saatten itibaren izotop görülmesi güç emilmeyi ortadan kaldırmakta, ayrıca köpeklerde safra kesesinde meydana getirdiği adenokarsinomlar (37, 44) yüzünden de safra sirkülasyonu daha da uygun düşmektedir. Diğer nitrofüran türevlerinin meydana getirdiği damar tümörleri de keza safradan barsağa çıktıktan sonra tekrar emilen metabolitlere ilgili olabilir (10,11,13-16,27,28,64) FNT ve bazı analogların barsak kanalında karsinom, adenokarsinom ve çeşitli sarkomları (20-28,36,40,41,46) da bu yoldan etkiyerek husule getirmiş olmaları muhtemel görülmektedir (50,51,59,60,62). Diğer bazı nitrofüran derivatiflerinin de karaciğerde, seyrek te olsa, tümör meydana getirmesi (28,37,43,70,72) bu organda metabolizma olaylarının cereyan ettiğini işaret etmekte, ancak; metabolitlerin çok kısa ömürlü, yada çok reaktif olmaları sonu, derhal bir iyonla birleşmelerini ve hücrenin esas komponentlerine atak yapacak yerlere varamamalarını düşündürmektedir (31,33,35). Çeşitli aromatik veya nonöromatik amino, amido ve nitro bileşiklerinin yapıları ile nitrofüranlara pek benzemeleri, ayrıca karaciğerde oksido-redüksiyon enzim ve koenzimleri tarafından katalizlenen metabolik reaksiyonlarda oksit yada indirgenerek N-H İ D R O K S İ L şeklinde ara maddelerine ve bunların da daha sonra glüküronat, sülfat veya fosfat esterlerine çevrildikleri (1,6,7,8,12,34,50,55,59,60,61, 62, 63,66,68,69) böylece zehirsiz hale sokulurken erime yeteneklerinin artırılıp vücuttan atılmalarının sağlandığı (1,2,4,8,11,13,14,15,79,80) defalarca ispatlanmıştır.

FANFT'nin da diğer birçok nitrofüran derivatifi gibi (20,23,25-28, 38,41, 45,46) dışı sıçanda memede tümör meydana getirmesi, bu konuda hormonal düzensizliklerin (1,9,29,52,54,76,78,81) ve özellikle kortikosteroidlerin rol oynadıkları (3,52,78) iddiaları, memeye karsinogen etkili bazı maddelerin adrenal bezde nekrozlara sebep olması (3), nitrofüranlarında benzeri adrenal yıkıma sebep olması gibi noktalar ek olarak izotoplu çalışmalarda adrenin yüksek bir özel aktifliğe sahip bulunması, nitrofüran türevlerinin memeye etkilerini açıklamağa yardımcı olmuştur. Buna göre FANFT ve benzeri karsinogenlerin memeye etkileri, ilkin bir hormonal dengesizlik yaratmak ve bundan sonra tü-

mör meydana gelmesi şeklinde cerayan eden bir mekanizmaya bağlanabilir. FANFT verilen gebe dişi farelerin doğurup, emzirdikleri yavruların midesinde neoplastik üremelerin görülmesi (39) karsinogenik metabolitin süt içerisinde de bulunabileceğini ve bunun mideye dahi etkili olabileceğini düşündürmüştür. Bu soruya verilecek cevabın daha detaylı çalışmalar sonu ortaya çıkması mümkündür.

Nitrofüran türevlerinin sebep olduğu lenforetiküler reaksiyon (20,28,38) ile dalakta bulunan izotop miktarı arasında, nceden bazı hallerde lösemilerin meydana geldiğini (21,22,24) anlamaya yardım edecek yakınlıkta bir ilişki bulunmuştur. Ayrıca nitrofüran türevlerinin diğer birtakım karsinogenik maddeler gibi (24,49,72) bağışıklık meydana getiren sistemi zayıflatıcı etkide oldukları (immunosuppression) da ortaya çıkmaktadır.

FNT molekülünün böbreğin kortikomedüller bölgesindeki kanal epitellerinden (tubuli contorti) köken alan kanserler meydana getirmesine (28,46) karşılık, FANFT çok ilerde bulunan sidik kesesinde aktivite göstermiştir (48). Bu maddelerin formüllerine bakacak olursak FNT de aminin hidrazin olarak yer aldığını, yani ikisi arasında bir N ve H atomundan başka bir fark bulunmadığını görürüz. Halbuki N un Pi orbitalinde bir serbest elektronun bulunduğu ve bunun FNT de formilhidrazit kısmında bir fazla negatif değer ile diğer uçtaki Nitro kısmının pozitifliğini azaltacağını (polarizasyonu azaltacağını) düşünebiliriz ki bu anda, FNT'in daha nötral şartlarda aktivite göstereceği ve nefronun üst kısımlarına atak yapacağı FANFT için ise, şiddetli kutuplaşmanın kuvvetli asitlik isteyip kesede etkili olacağı anlaşılacaktır. Ayrıca, diğer birçok karsinogen (6, 7, 55, 56,59,60,80) veya nitrofüran türevi gibi (2,10,19,33,67,79) esterlerin şekillenip idrarda atılması sırasında hidrolize olup aktif maddelerin tekrar meydana gelebilecekleri ve bunların da en yakın kese epiteline atak yapabilecekleri düşünülebilir (17,18). Böylece karaciğerin detoksifikasyonunun (55) kimyasal karsinogenlerden birçoğunun aktif hale geçmesini sağladığı düşünülebilir. Hemen bütün amino, amido, ve nitro bileşikleri (1,6,7,30,32,34,50,51,53,57,58,62,69,71,75,80) ve en derin detayına kadar incelenmiş olan 2-AAF (59,63,71,76) ve şimdide nitrofüran türevleri, hep karaciğerin mikrozomal fraksiyonu veya protoplazmasında erimiş bulunan çeşitli enzimlerle (59,61,67,74,79) oksidoredüksiyona uğratılmaktadır. Bizim çalışmamızda nitrofüran türevlerindeki nitro kısmının da benzeri enzimlerle hidroksil haline geldiği anlaşılmaktadır. N-Hidroksilasyona tiyazola yüklenmiş olan amino kısmında da gidilebilir. Ancak buranın asite bağlı ve kapatılmış oluşu bu ihtimali zayıflatmaktadır (41) mamafih, formil tran-

sferaz veya karboksilaz enzimleri aracılığıyla formül kısmının çıkarılması ve bundan sonra bir N-hidroksilasyon ihtimali mevcut değildir denemez

İdrar kromatogramında beliren iki noktanın altta olanı (A), izotopu az ihtiva etmesi ve daha polar bir madde olması bakımından sülfat yada fosfat esterine, daha yukarılara tırmanan ve geniş bir saha halinde görünen ikinci noktanın ise daha az polarite gösteren, organik glüküronat esterine karşı gelmeleri akla uygun düşmekte isede bunun tam bir açıklığa kavuşması için daha ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Ancak, bugün için önemli olan nokta, her ne şekil ester olursa olsun, bunların idrarda belli PH şartları sağlandıkta kendiliğinden, yada çıkarılmakta olan bazı enzimler tarafından hidrolize edilebileceği ve meydana gelen N-Hidroksilli ara maddeleri veya aktif diğer kimyasal grupların kese epiteliyle temase gelebilme ihtimali ve bu izleyen çeşitli biyolojik reaksiyonların meydana gelebilmeleri sonucu olarak kansere sebep olmalarının anlaşılması bulunmasıdır. Bu düşünüş yolu muhtemel bir etki mekanizması olarak (*Cetvel. 6*) da şematize edilmektedir.

Literatür

1. **Arcos, J.C., Argus, M.F., and Wolf, G.** (1968): *Chemical Induction of Cancer*. New York London: Academic Press, pp. 303-457.
2. **Bender, R.C., and Paul, H.E.** (1951): *Metabolism of Nitrofurans II. Incubation of Furacin with Mammalian Tissues.*, J. Biol. Chem., 191: 217-22.
3. **Boyland, E., Simes, P., and Huggins, C.** (1965): *Induction of Adrenal Damage and Cancer with Metabolites of 7,12-DMBA.*, Nature (London) 207: 816.
4. **Boyland, E., Wallace, D.M., and Williams, D.C.** (1955): *The Activity of the Enzymes Sulpatase, and β -Glucuronidase in the Urine, Serum, and the Bladder tissue.*, Brit. J. Cancer 9: 62-79.
5. **Brown, R.R., and Price, J.M.** (1956): *Quantitative Studies on Metabolites of Tryptophan in the Urine of the Dog, Cat, Rat, and Man.* J. Biol. Chem. 219: 985-97.
6. **Bryan, G.T., and Ertürk, E.** (1970): *Production of Mouse Urinary Bladder Carcinomas by Sodium Cyclamate.*, Science 167: (3920): 996-98.

7. **Bryan, G.T., Ertürk, E., and Yoshida, O.** (1970): *Production of Urinary Carcinomas in Mice by Sodium Saccharin.*, Science., 168: 1238-1240.
8. **Bryan, G.T., Lower, G.M., Jr., and Ertürk, E.** (1971): *Studies on the urinary bladder carcinogen, N [4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide.*, Intern. Bladder Cancer Conf. The Univ. of Leeds, Bodington Hall, Sept. 22-24.
9. **Burrows, H., and Horning, E.S.** (1952): *Estrogens and Neoplasia.*, Illinois: Thomas Springfield.
10. **Buzard, J.A., Bender, R.C., Nohle, E.G., Humphrey, D.T., and Paul, M.F.** (1962): *Renal Tubular Transport of Nitrofurantoin.*, Amer. J. Physiol. 202: 1136-40.
11. **Buzard, J.A., and Conklin, J.D.** (1961): *The Distribution of Furaladone in the Rat.*, Antib. Chem. 11: 89-96.
12. **Buzard, J.A., and Conklin, J.D.** (1964): *Placental Transfer of Nitrofurantoin and Furaladone.*, Amer. J. Physiol. 206: 189-92.
13. **Buzard, J.A., Conklin, J.D.** (1965): *A Comparison of The Concentrations of Certain Nitrofurans in the Aqueous Humor and Cerebrospinal Fluid of the Dog.*, Brit. J. Pharmacol. 25: 266-73.
14. **Buzard, J.A., Conklin, J.D., and Buller, R.H.** (1961): *Lymphatic Transport of Selected Nitrofurans Derivatives.*, Amer. J. Physiol. 201: 492-94.
15. **Buzard, J.A., Conklin, J.D., O'Keefe, E., and Paul, M.F.** (1961): *Studies on the Absorption, Distribution, and Elimination of Nitrofurantoin in the Rat.*, J. Pharm. Exp. Ther. 131: 38-43.
16. **Conklin, J.D., and Buzard, J.A.** (1965): *Absorption and Distribution of Oxafuradene in the Dog.*, J. Pharm. Sci. 54: 1766-70.
17. **Conklin, J.D., and Hollifield, R.D.** (1967): *Studies on the Movement of Nitrofurantoin Across the Dog Urinary Bladder.*, Invest. Urol. 5: 244-49.
18. **Conklin, J.D., Hollifield, R.D., and Stevens, J.T.** (1967): *The Movement of C 14-Nitrofurantoin Across the Urinary Bladder.*, Invest. Urol. 6: 540-44.
19. **Conklin, J.D., Sobers, R.J., and Wagner, D.L.** (1969): *Urinary Drug Excretion in Dogs during Therapeutic Doses of Different Nitrofurantoin Dosage Forms.*, J. Pharm. Sci. 58: 1365-68.
20. **Cohen, S.M., Ertürk, E., Price, J.M., and Bryan, G.T.** (1970): *Comparative Carcinogenicity in the Rat of Hydrazinotiazoles with Nitro-*

furyl-, Nitrophenyl-, or Aminophenyl-Substituents in the 4- Position., Cancer Res. 30: 897-901.

21. **Cohen, S.M., Ertürk, E., and Bryan, G.T.** (1970): *Carcinogenicity of Formic Acid 2- [4- (5-nitro-2-furyl)-2- thiazolyl] hydrazide in Swiss Mice.*, Cancer Res. 30: 906-912.
22. **Cohen, S.M., Ertürk, E. and Bryan, G.T.** (1970): *Leukemogenicity of N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] acetamide (NFTA) in Mice.*, Abstr. X th Internl. Cancer Congr. Houston, Texas, May.
23. **Cohen, S.M., Ertürk, E. and Bryan, G.T.** (1970): *Carcinogenicity of 5-Nitrofuryl-Pyrimidine, and Triazine Compounds*, Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 11: 17 (65).
24. **Cohen, S.M., Ertürk, E. and Bryan, G.T.** (1970): *Production of Leukemia and Stomach Neoplasms in Swiss, RF, BALB/c, and C3H Female Mice by Feeding N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] acetamide.*, Cancer Res. 30: 2320-2325.
25. **Cohen, S.M., Ertürk, E., Von Esch, A.M., Crovetti, A.J. and Bryan, G.T.** (1973): *Carcinogenicity of 5-Nitrofurans, 5-Nitroimidazoles, 4-Nitrobenzenes, and Related Compounds.*, J. Cancer Inst. 51: 403-417.
26. **Cohen, S.M., Ertürk, E., Von Esch, A.M., Corvetti, A.J., and Bryan, G.T.** (1974): *The Carcinogenicity of 5-Nitrofurans and Related Compounds With Amino-Heterocyclic Substituents.*, J. Natl. Cancer Inst. (Baskıda).
27. **Cohen, S.M., Lower, G.M.Jr., Ertürk, E. and Bryan, G.T.** (1973): *Comparative Carcinogenicity in Swiss Mice of N-[4-(5-Nitro-2-furyl)-2- thiazolyl] acetamide and Structurally Related 5- Nitrofurans and 4- Nitrobenzenes.*, Cancer Res. 33: 1593-1597.
28. **Cohen, S.M., Price, J.M., Ansfield, F.J., and Bryan, G.T.** (1969): *Carcinogenicity of 2-(Formylhydrazino)-4-(5-nitro-2-furyl) thiazole (FNT), and Structurally Related Compounds.*, Proc. Amer Assoc. Cancer Res. 10: 15.
29. **Dao, T.L.** (1969): *Studies on Mechanism of Carcinogenesis in the Mammary Gland.*, Prog. Exp. Tumor Res. 11: 235-61.
30. **Deichmann, W.B., McDonald, W.M., Coplan, M.M., Woods, F.M. and Anderson, W.A.D.** (1958): *Para-Nitrophenyl, A New Bladder Carcinogen in the Dog.*, Indust. Med. Surg., 27: 634-47.

31. **Dodd, M.C. and Stillman, W.B.** (1944): *The In Vitro Bacteriostatic Action of some simple Furan Derivatives.*, J. Pharmacol, 82: 11-18.
32. **Durckrey, H., Schmahl, D. und Mecke, R.Jr.** (1955): *Erzeugung Von Magenkrebs An Ratten Durch 4-Nitrostilben.*, Naturwissenschaften 42: 128.
33. **Ebetino, F.T., Carroll, J.J. and Gever, G.** (1962): *Reduction of Nitrofurans I. Aminofurans.*, J. Med. Pharm. Chem. 5: 513-24.
34. **Endo, H. and Kume, F.** (1965): *Induction of Sarcoma in Rats by a single injection of 4-Hydroxyaminoquinoline-1-oxide.*, Gann 56: 261-65.
35. **Ertürk.E.** (1971): *Nitrofüran Türevi İlaçların Kimyasal Farmakolojik ve Biyolojik Özellikleri Üzerine Düşünceler.* Vet. Fak. Derg. 18: 117-126.
36. **Ertürk, E.** (1973): *4,6-Dimetil-2-(5-Nitro-2-Fünil) Pirimidin (DNFP) ile Sıçanlarda Meydana getirilen tümörlerin patolojik ve histopatolojik özellikleri üzerinde araştırma.*, Vet. Fak. Derg. 20: 64-83.
37. **Ertürk, E., Atassi, S.A., Yoshida, O., Cohen, S.M., Price, J.M., and Bryan, G.T.** (1970): *Induction of Urinary and Gall Bladder Carcinomas in Dogs by Oral Administration of N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamides.*, J. Natl. Cancer Inst. 45: 535-542.
38. **Ertürk, E. Cohen, S.M. and Bryan, G.T.** (1970): *Carcinogenicity of N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] acetamide in Female Rats.*, Cancer Res. 30: 936-941.
39. **Ertürk, E. Cohen, S.M., and Bryan, G.T.** (1970): *Urinary Bladder Carcinogenicity of N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide in Female Swiss Mice.*, Cancer Res. 30: 1309-1311.
40. **Ertürk, E., Cohen, S.M., and Bryan, G.T.** (1970): *Induction, Histogenesis and Transplantability of Renal Tumors Induced by Formic Acid 2-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] hydrazide in Rats.*, Cancer Res. 30: 2098-2106.
41. **Ertürk, E., Cohen, S.M. and Bryan, G.T.** (1970): *Comparative Carcinogenicity of Amino-, and N-Acetylamino-5-Nitrofurans Compounds in the Rat.*, Fed. Proceed. 29: 817 (3227).
42. **Ertürk.E., Cohen, S.M., Price, J.M. and Bryan, G.T.** (1969): *Pathogenesis, Histology, and Transplantability of Urinary Bladder Carcinomas Induced by Oral Administration of N-[4-(5-nitro-2-*

- furyl) -2-thiazolyl] formamide to Albino Rats.*, Cancer Res. 29: 2219-2228.
43. **Ertürk, E., Cohen, S.M., Price, J.M., Vonesch, A.M., Crovetti, A.J., and Bryan, G.T.** (1969): *The Production of Hemangioendotheliasarcoma in Rats by Feeding 5-Acetamido-3-(5-nitro-2-furyl)-6H-1, 2, 4-Oxadiazine*, Cancer Res. 29: 2212-18.
44. **Ertürk, E., Cohen, S.M., Yoshida, O., Price, J.M. and Bryan, G.T.** (1970): *Urinary Bladder Carcinogenicity of N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide (FANFT) in the Rat, Mouse, and Dog.*, Abstr. X th Internl. Cancer Congr. Houston, Texas, May.
45. **Ertürk, E., Morris, J.E., Cohen, S.M., Price, J.M., and Bryan, G.T.** (1970): *Transplantable Rat Mammary Tumors Induced by 5-Nitro-2-furaldehyde Semicarbazone, and by Formic Acid 2-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] hydrazide.*, Cancer Res. 30: 1409-1412.
46. **Ertürk, E., Morris, J.E., Conhen, S.M., Von Esch, A.M., Crovetti, A.J., Price, J.M. and Bryan, G.T.** (1971): *Comparative Carcinogenicity of Formic Acid 2-[4-(5-Nitro-2-furyl) -2-thiazolyl] hydrazide and Related Chemicals in the Rat.*, J. Nat. Cancer Inst. 47: 437-445.
47. **Ertürk, E., Price, J.M. and Bryan, G.T.** (1969): *Pathogenesis and Transplantability of Urinary Tract Carcinomas Induced by N-[4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide (FANFT).*, Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 10: 23.
48. **Ertürk, E., Price, J.M., Morris, J.E., Cohen, S.M., Leith, R.S., Vonesch, A.M. and Crovetti, A.J.** (1967): *The Production of Carcinoma of the Urinary Bladder in Rats by Feeding N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide.*, Cancer Res., 27: 1998-2002.
49. **Furth, J.** (1959): *Radiation, Neoplasia, and Endocrine Systems.*, In M.D. Anderson Symposium on "Radiation Biology and Cancer", pp 7-28.
50. **Griswold, D.P. Jr., Casey, A.E., Weisburger, E.K. and Weisburger, J.H.** (1968): *The Carcinogenicity of Multiple Intra-gastric Doses of Aromatic and Heterocyclic Nitro or Amino Derivatives in Young Female Sprague-Dawley Rats.*, Cancer Res. 28: 924-33.
51. **Hadidian, Z., Fredrickson, T.N., Weisburger, E.K., Weisburger, J.H., Glass, R.M., and Mantel, N.** (1968): *Tests for Chemical Carcinogens. Report on the Activity of Derivatives of Aromatic Amines, Nitrosamines, Quinolines, Nitroalkanes, Amides, Epoxides,*

- Aziridines, and Purine Antimetabolites., *J. Natl. Cancer Ints.* 41: 985-1036.
52. **Huggins, C., Moon, R.C., and Morii, S.** (1962): *Extinction of Mammary Cancer I. Estradiol 17 β and Progesterone.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 48: 379-86.
53. **Hueper, W.C., Wiley, F.H., and Wolfe, H.D.** (1938): *Experimental Production of Bladder Tumors in Dogs by Administration of B-naphthylamine.*, *J. Indust. Hyg. Toxicol.* 20: 46-84.
54. **Kim, U. and Furth, J.** (1960): *Relation of Mammary Tumors to Mammatropes. II. Hormone Responsiveness of 3-Methylcholanthrene Mammary Carcinoma.*, *Proc. Soc. Exp. Biol. (NY)* 103: 643-45.
55. **Kuntzman, R., Mark, L.C. Brand, L., Jacobson, M., Levin, W. and Conney, A.H.** (1966): *Metabolism of Drugs and Carcinogens by Human Liver Enzymes.*, *J. Pharm. Exp. Ther.* 152: 151-56.
56. **Mason, M. and Berg, C.P.** (1951): *A Chromatographic Method for Determination of Tryptophan Metabolites.*, *J. Biol. Chem.* 188: 783-88.
57. **Mathews, J.J and Walpole, M.** (1958): *Tumors of the Liver and Kidney induced in Wistar Rats with 4'-Fluoro-4-aminodiphenyl.*, *Brit. J. Cancer* 12: 234-41.
58. **Melick, W.F., Escue, H.M., Naryka, J.J., Mezara, R.A. and Wheeler, E.P.** (1955): *The First Reported Cases of Human Bladder Tumors due to a New Carcinogen-Xenylemine.*, *J. Urol.*, 74:760-66.
59. **Miller, E.C., Miller, J.A. and Hartmann. H.A.** (1961): *N-Hydroxy-2-Acetylaminofluorene: A Metabolite of 2-Acetylaminofluorene with Increased Carcinogenic Activity in the Rat.*, *Cancer Res.* 21: 815-24.
60. **Miller, J.A., Cramer, J.W. and Miller, E.C.** (1960): *The N-, and Ring-Hydroxylation of 2-Acetylaminofluorene during Carcinogenesis in the Rat.*, *Cancer Res.*, 20: 950-62.
61. **Miller, J.A., Sandin, R.B., Miller, E.C., and Rusch, H.P.** (1955): *The Carcinogenicity of Compounds Related to 2-Acetylaminofluorene. II. Variations in the Bridges and the 2-Substituents*, *Cancer Res.* 15: 188-99.
62. **Miller, J.A., Wyatt, C.S., Miller, E.C. and Hartmann, H.A.** (1961): *The N-Hydroxylation of 4-Acetylaminobiphenyl by the Rat and Dog and the Strong Carcinogenicity of N-Hydroxy-4-Acetylaminobiphenyl in the Rat.*, *Cancer Res.* 21: 1465-73.

63. **Morris, H.P., Dubnik, C.S. and Johnson, J.M.** (1950): *Studies of the Carcinogenic Action in the Rat of 2-Nitro, 2-Amino, 2-Acetylamino, and 2-Diacetylamino-fluorene After Ingestion, and After Painting.*, J. Natl. Cancer Inst., 10: 1201-13.
64. **Morris, J.E., Price, J.M., Lalich, J.J. and Stein, R.J.** (1970): *The Carcinogenic Activity of some 5-Nitrofurans in the Rat.*, Cancer Res. 30: 2145-2156.
65. **Paul, H.E., Ellis, V.R., Kopko, F. and Bender, R.C.** (1960): *Metabolic Degradation of Nitrofurans.*, J. Med. Pharm. Chem., 2: 563-84.
66. **Paul, M.F., Harrington, C.M., Bender, R.C., Nohle, E. and Bryson, M.J.** (1967): *Effects of pH and Urea on Nitrofurantoin Activity.*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 125: 941-47.
67. **Paul, M.F. and Paul, H.R.** (1964): *The Nitrofurans- Chemotherapeutic properties.*, In **R.J. Schutzer and F. Hawking** (Eds) *Experimental Chemotherapy* 2: 307-70.
68. **Paul, M.F., Paul, H.E., Bender, R.C., Kopko, F., Harrington, C.M., Ellis, V.R. and Buzard, J.A.** (1960): *Studies on the Distribution and Excretion of Certain Nitrofurans.*, Antib. Chemo. 10: 287-302.
69. **Price, J.M., Bieva, C.G., Osser, B.L., Vogin, E.E., Steinfeld, J. and Ley, H.L.** (1970): *Bladder Tumors in Rats fed Cyclohexylamine or High Doses of a Mixture of Cyclamate and Saccharin.*, Science 167: (9921): 1131-32.
70. **Price, J.M., Morris, J.E., and Lalich, J.J.** (1966): *Evaluation of the Carcinogenic Activity of 5-Nitrofurans in the Rat.*, Fed. Proc. 25: 419.
71. **Radomski, J.L., Brille, E., and Glass, E.M.** (1967): *Induction of Bladder Tumors and other Malignancies in Rats with 2-Methoxy-3-Aminodibenzofuran.*, J. Nat. Cancer Inst., 39: 1069-1080.
72. **Roe, F.J.C., Rowson, K.E.K., and Salaman, M.H.** (1961): *Tumors of Many Sites Induced by Injection of Chemical Carcinogens into Newborn Mice, A Sensitive Test for Carcinogenesis: The Implications for Certain Immunological Theories.*, Brit. J. Cancer 15: 515-30.
73. **Sherman, W.R., and Dickson, D.E.** (1962): 4- (5-Nitro-2-Furyl) Thiazoles. J. Org. Chem. 27: 1351-55.
74. **Shriner, R.L., Fuson, R.C. and Curtin, D.Y.** (1956): *The Systematic Identification of Organic Compounds.* 4 th Ed. p. 218 New York: John Wiley And Sons Inc.

75. **Skibba, J.L., Ertürk, E. and Bryan, G.T.** (1972): *Induction of Thymic Lymphosarcoma, and Mammary Adenocarcinomas in Rats by Oral Administration of the Anti-Tumor Agent 4 (5)-(3,3-Dimethyl-1-Triazeno) Imidazole-5 (4)-Carboxamide.*, *Cancer* 26: 1000-1005.
76. **Stasney, J., Paschakis, K.E., Cantarow, A. and Rothenberg, M.S.** (1974): *Neoplasms in Rats with 2-Acetylaminofluorene and Sex Hormones. II.*, *Cancer Res.*, 7: 356-62.
77. **Setin, R.J., Yost, O., Petrolunas, F., and Vonesch, A.M.** (1966): *Carcinogenic Activity of Nitrofurans: A Histologic Evaluation.*, *Fed. Proc.*, 25: 291.
78. **Sterental, A., Dominguez, J.M., Wiessman, C., and Pearson, O.H.** (1963): *Pituitary Role in the Estrogen Dependency of Experimental Mammary Cancer.*, *Cancer Res.* 23: 481-84.
79. **Umar, M.T., and Mitchard, M.** (1968): *The Competitive Inhibition of Nitroreductase by some Analogs of Nitrofurantoin.*, *Biochem. Pharmacol.* 17: 2057-60.
80. **Williams, C.H., Taylor, M.J., and Hansen, W.H.** (1969): *B-Glucuronidase Activity in the Urine, Serum, Kidney, and Bladder of Rats Fed 2-Chloro-4-Nitrobenzamide; 3,5-Dinitrobenzamide, or 3,5-Dinitrobenzamide, or 3,5-Dinitrotoluamide.*, *Fd. Cosmet. Toxicol.* 7: 333-38.
81. **Yoshida, O., Ertürk, E., Bryan, G.T. and Lower, G.M. Jr.** (1973): *The Effect of Gonadectomy and Hormone Administration on The urinary Bladder Carcinogenicity of N-[4-(5-Nitro-2-Furyl)-2-Thiazolyl] Formamide in Male and Female Swiss Mice.*, *Invest. Urology* 11: 216-220.

Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 4. 10. 1974 Günü Gelmiştir.

Cetvellerin açıklanması

1. FANFT-C¹⁴ ün ve buna yakın asetil analogunun sentezini özelliyeen reaksiyonlar, bu reaksiyonların gidişi, verimi ve izotopik miktar ve yüzdeleri.

2. FANFT-C¹⁴ ile sıçanlarda yapılan izotop çalışmalarının özeti. Başlangıçta, karsinojen yedirmesinin 5. 15. ve 25. haftaları sonunda verilen izotoplu karsinojenin dağıldığı organlar ve vücut sıvılarındaki bulunuş miktarı. Bu sayılar her devrede kullanılan 4 er sıçandan elde edilen savıların ortalamalarıdır.

3. İzotop denemelerinde organların ağırlıklarına göre ihtiva ettikleri sayıların oranı (özel aktivite derccesi DPM/mg doku) alındıkta sıralanışları, buna sebep genel faktörler. Sidik kesesinin organlar içerisindeki yerine dikkat ediniz.

4. İzotop verildikten sonra sıçan idrarının kromatografisi ve bunun yalnız karsinojen(1), normal sıçan idrarı içine katılmış karsinojen (2), normal sıçan idrarı (3) ile karşılaştırılması. Normal idrarda görülmeyen siyah sahaların test sıçanından elde edilen idrarda görünüşüne dikkat ediniz

5. Test sıçanı idrarının kromatogramı ve bunun tekrar sayımı ile şüpheli ve test sıçanına özel noktaların izotop ihtiva ettiklerinin ortaya çıkarılması.

6. Deney sonuçlarımıza göre teklif ettiğimiz onkojenik mekanizma. FANFT in bu etki yolu diğer aromatik amin ve nitro bileşikleriyle 2-AAF'e benzemektedir.

Legend for the figures

1. FANFT-C¹⁴ and its analog NFTA-C¹⁴ synthesis. The direction, yield and the products are seen with the isotopic contents calculated.

2. Summary of the isotopic studies carried out in rats. Isotopic distributions that were averaged in 4 rats at each step.

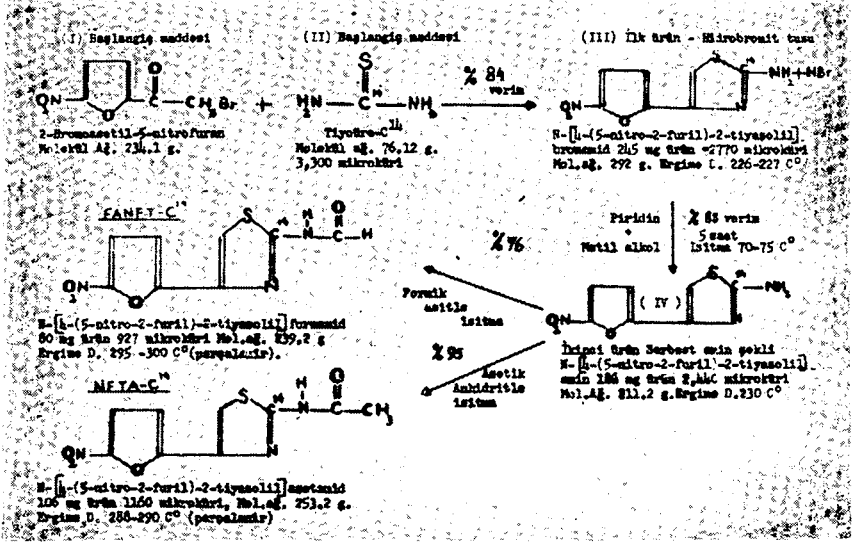
3. Specific activities of organs to show the organotropism of FANFT in rat. The general factors influencing this. Note the isotopic content of bladder.

4. Urine chromatograms obtained from rats fed FANFT, control animals and from the urine of control that later added FANFT to compare the spots seen.

5. Urine chromatogram of a rat fed FANFT-C¹⁴ to demonstrate the isotop content of spots that are not seen in the control rat urine.

6. Propable action mechanism of carcinogenic FANFT similar to the action of 2-AAF and many aromatic nitro-amino carcinogens.

CETVELLER
(TABLES)



Cetvel. 1: FANFT sentez reaksiyonları

Uygulanmış	0.51 haftada		5 el haftada		15 el haftada		25 el haftada	
	DPM/organ	DPY/mg	DPM/organ	DPY/mg	DPM/organ	DPY/mg	DPM/organ	DPY/mg
Larveler	12,500	4.6	14,750	2.7	15,250	2.7	43,000	6.5
Yıd ve iseriği	8,500	10.5	22,400	9.4	8,500	4.8	76,900	32.5
İnce barsak ve iseriği								
NI	24,500	7.9	43,000	5.4	12,000	1.6	48,000	5.0
İnce barsak ve iseriği	128,500	156.0	189,000	37.6	357,000	38.6	999,000	126.0
Kalın barsak ve iseriği	79,500	77.0	128,000	44.5	65,500	23.0	176,500	65.5
Kılıp	390	1.2	565	0.6	392	0.4	1,850	1.2
Yumurtalibrahim	890	6.6	1,150	1.0	523	0.6	1,500	1.1
Akciğer	1,770	1.3	2,930	1.3	5,200	1.8	7,900	2.5
Balık	390	2.1	600	1.3	1,070	1.8	2,300	3.7
Şişekler	2,710	4.0	3,270	2.1	3,650	1.8	12,300	7.0
Şişekletici beşleri	170	3.6	370	4.5	582	2.9	700	6.5
Pembe besli	295	0.7	1,950	1.5	478	0.3	750	1.2
Siyah besli	380	9.8	595	3.7	710	4.2	2,700	30.3
Kudave	90,000	1.8	151,000	0.4	106,000	0.6	270,000	1.2
İdrar (24 saatlik)	400,000		505,000		450,000		1,375,000	
Dişid ve yakanlar	180,000		102,000		161,000		800,000	
Verilen toplam	1,200,000		3,800,000		1,250,000		4,000,000	
Alie edilen	1,120,000		1,178,000		1,198,000		3,545,000	
% İhtarda	% 96.2		% 98.3		% 98.8		% 99.4	

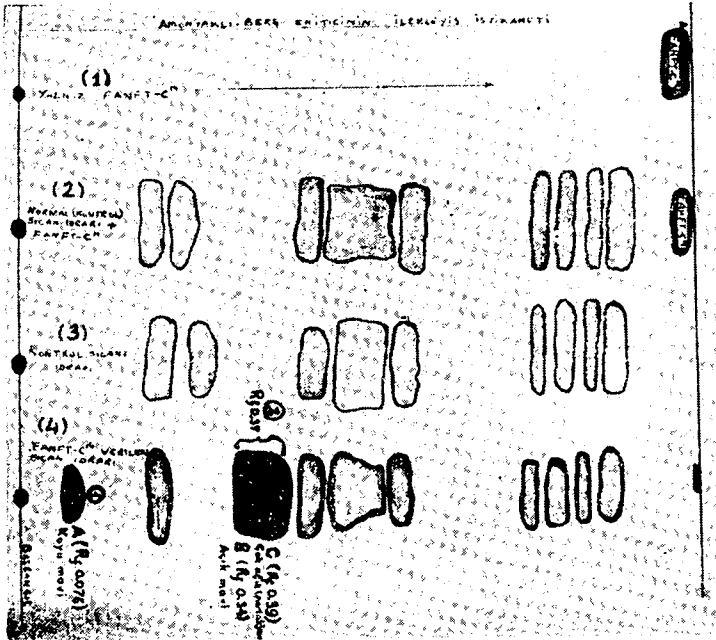
Not: Rakamlar dört hayvandan alınan ortalamaları göstermektedir, ve özel reaktiflik karşılaştırılmadıkça, o hafta yapılan deneyde verilen izotop miktarına göre değişmektedir.

Cetvel. 2: İzotop dağılımı ve özel aktiflik sırası

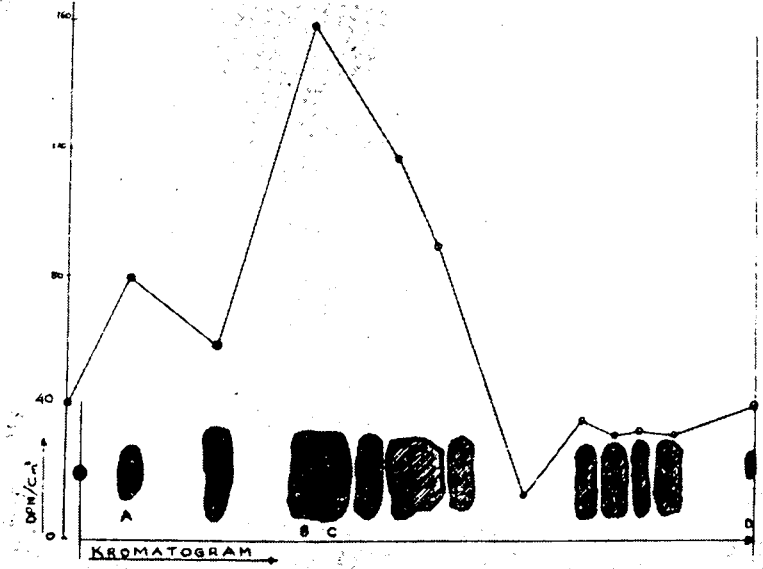
Organ veya sistemin adı	Özel aktivite derecesi	Açıklamalar
Sindirim sistemi		
a.İkincil barsak ve içeriği	60 DRU/mg	safra sirkülasyonu ve emilme yeteneği etkisi aynı etkiler....
b.İkincil barsak + "	23 " "	
c.Üçüncü ve "	14 " "	
d.İkincil barsak + "	5.9 " "	safra sirkülasyonu
Paracıfer	4.2 " "	metabolizma cereyanı
DİAİV sistemi		
a.İdrak kesesi	12.9 " "	Özel ilmi faaliyetleri
b.Öbrenkler	3.9 " "	" " " "
Öbrenküstü bezi	4.1 " "	Hormon düzenleyicileri
Yeme kuzi	0.7 " "	İlmi faaliyeti
Yumurtaçlık-mehir	2.3 " "	
İdraciğer	1.7 " "	
Böbrek	2.2 " "	
Böbreküstü	1.1 " "	
Yakıt	1.0 " "	

Not. Yukarıki ortalamalar rekamlar cetvel 2 den elde edilmiştir.

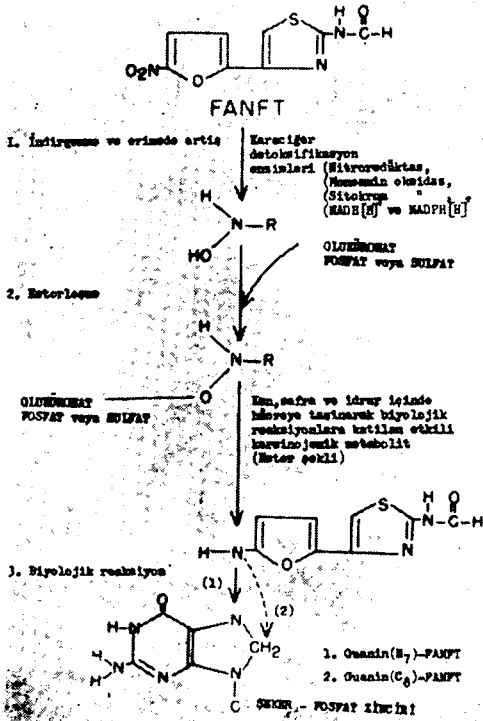
Cetvel. 3: Sistemlerde aktivite



Cetvel. 4. İdrar kromatoğramlarında farklar



Cetvel. 5: İdrar kromatogramının izotop muhtevası



Cetvel. 6: FANFT'in kanserojenik etki mekanizmasının muhtemel şeması