

دراسة تأثير مركبات ثيازولية جديدة في الخط الخلوي السرطاني MDA-MB-231

لونا النكود*

رامز ونوس**

المخلص

خلفية البحث وهدفه: نظراً للتأثيرات الجانبية المرافقة للأدوية المستخدمة في علاج سرطان الثدي المتاحة حالياً، فإنه من التحديات الملحة للباحثين في المجال الطبي تطوير أدوية سرطانية أكثر أماناً وانتقائيةً. ومن بين استراتيجيات التصميم المُتَّبعة في اكتشاف الأدوية، أُولى اهتمام خاص للجزيئات المتغايرة التي تحتوي على الكبريت في هيكلها. وصُمِّمت مجموعة من المركبات في كلية العلوم بجامعة دمشق عبر تغيير مجموعات الاستبدال *substituent groups* في حلقة الثيازول. ودرسنا تأثير هذه المركبات في نمو *growth* وهجرة *migration* الخلايا السرطانية الثديية البشرية MDA-MB-231.

مواد وطرائق البحث: قُيِّمت السمية الخلوية للمركبات تجاه الخط الخلوي السرطاني MDA-MB-231 بتركيز مختلفة وضمن فترات حضان مختلفة باستخدام مقياسية MTT. كما تمت دراسة تأثير المركبات في هجرة الخلايا السرطانية في الزجاج باستخدام مقياسية الخدش *scratch assay*.

النتائج: أظهر المركب 2-امينو، 5-نترو الثيازول تأثيراً مثبطاً لهجرة الخلايا السرطانية بينما لم يظهر أي تأثير سمي في الخط الخلوي السرطاني MDA-MB-231 بالتركيز المستخدمة (1، 5، 10، 25، 50، 100 ميكرومول/لتر) بعد فترات الحضان (24، 48، 72 ساعة) ($p.value=0.1076$). وأظهر المركب المشتق 4-كlorو-1-(5-نترو، 3-ثيازول-2-يل)-3-اوكسازيتيدين-2-يل [بنزالدهيد، إضافة إلى التأثير المثبط لهجرة الخلايا، تأثيراً سميّاً يعتقد به إحصائياً على نمو الخلايا السرطانية MDA-MB-231 بتركيز 100 ميكرومول/لتر بعد فترة حضان 72 ساعة ($p.value=0.0164$)، بينما لم يظهر أي تأثير بعد فترة حضان 24، 48 ساعة.

الاستنتاج: تعد مركبات نترو الثيازول نقطة بداية ممتازة للحصول على مرشحات مستقبلية للأدوية المستخدمة في علاج سرطان الثدي. فقد أدى إدخال حلقة اوكسوزيتيدين الحاوية على ذرة الكلور في الموقع 4 لنواة الثيازول إلى اكتساب المركب تأثيراً مثبطاً لنمو الخلايا السرطانية في الزجاج. كما أنّ لهذه المركبات تأثيراً مثبطاً لهجرة الخلايا السرطانية في الزجاج.

*طالبة ماجستير - قسم تأثير الأدوية - كلية الصيدلة - جامعة دمشق.

**أستاذ - قسم تأثير الأدوية - كلية الصيدلة - جامعة دمشق.

The Effect of New Thiazole Derivatives on MDA-MB-231 Cancer cell line

Luna Al-Nackoud*

Ramez Wannous**

Abstract

Background and aim: Due to the side effects associated with available breast cancer treatments, it is an urgent challenge for medicinal research to develop more safe and selective anticancer drugs. Among the design strategies in drug discovery, special attention has been paid to molecules containing sulfur heterocycles in their structures. A series of thiazole derivatives is designed by the Faculty of Science in Damascus University through changing the substituents groups in the Thiazole ring. We are testing the effect of two compounds on the growth of MDA-MB-231 cell line and its migration in vitro.

Materials and methods: Cytotoxicity of the compounds against the MDA-MB-231 cell line was assessed using MTT assay within different incubation times and different concentrations. Scratch assay was used to determine possible effects of compounds on the migratory capacity of MDA-MB-231.

Results: The compound 5-nitro-1,3-thiazol-2-amine showed an inhibitory effect on cancer cell migration while showing no effect on the cytotoxicity of the cancer cell line MDA-MB-231 using different concentrations (1, 5, 10, 25, 50, 100 μ M/L) after incubation periods (24, 48, 72 h) (p. value = 0.1076). While the derived compound 4-[4-chloro-1-(5-nitro-1,3-thiazol-2-yl)-3-oxoazetidin-2-yl]benzaldehyde showed, in addition to the inhibitory effect of cell migration, a statistically significant cytotoxic effect on MDA-MB-231 cell line at a concentration of 100 μ M/L after incubation for 72 h (p.value=0.0164), while no effect was shown after incubation for 24,48h.

Conclusion: Nitrothiazole compounds are considered as an excellent starting point to achieve future drug candidates in breast cancer management. The addition of an oxoazetidin ring - containing a chlorine atom- at position 2 gives the thiazole ring a cytotoxic effect towards MDA-MB-231 cell line. These compounds also have an inhibitory effect on the migration of MDA-MB-231 cancer cells in vitro.

* Master's student - Department of Drug Effects - Faculty of Pharmacy - Damascus University.

** Professor - Department of Medicines - Faculty of Pharmacy - University of Damascus.

المقدمة:

يعد سرطان الثدي أكثر السرطانات شيوعاً لدى النساء والسبب الثاني الأكثر شيوعاً للوفيات الناجمة عن السرطان (بعد سرطان الرئة). وفق إحصائيات الجمعية الأمريكية للسرطان (ACS: American Cancer Society)، سيتم تشخيص سرطان الثدي النقلي لدى 1 من أصل 8 نساء (13%) خلال حياتهم كما ستموت واحدة من أصل 39 من النساء بسبب سرطان الثدي (Labrèche et al., 2020).

إن لدراسة هجرة الخلايا في أبحاث السرطان اهتمام خاص باعتبار السبب الرئيسي للوفاة بين مرضى السرطان يرتبط بتقدّم المرض النقلي. لهجرة الخلايا دور في التطور الجنيني، الاستجابة المناعية والعديد من العمليات المرضية مثل تشكيل النقائل في السرطان والالتهاب (Vagima & Lapid, 2011).

ولكي ينتشر السرطان في أنحاء الجسم، لابد للخلايا السرطانية من الهجرة والغزو من خلال المصفوفة خارج الخلية (ECM)، دخول الأوعية الدموية، الارتباط بموقع بعيد، وأخيراً الخروج من الأوعية لتكوين بؤر بعيدة (Justus et al., 2014).

نظراً للتأثيرات الجانبية المُرَاقَبة للعلاجات المتاحة حالياً لسرطان الثدي، فإنه من التحديات الملحة للباحثين في المجال الطبي تطوير أدوية مضادة لهذا السرطان أكثر أماناً وانتقائيةً.

ومن بين استراتيجيات التصميم المُتَبَعَة في اكتشاف الأدوية السرطانية، أولي اهتماماً خاصاً للمركبات الحلقية المتغايرة التي تحتوي على الكبريت في هياكلها (Ramos-Inza et al., 2020). وأهمها مركبات الثيازول التي هي عبارة عن مركبات عطرية متغايرة مُكوّنة من حلقة خماسية تحتوي على ذرات الكبريت والنيتروجين في المواقع 1 و 3 من الحلقة، على التوالي.

توجد حلقة الثيازول في العديد من الأدوية المضادة للسرطان مثل البليوميسين، السلفاثيازول، الثيازوفورين، والداستينيب، وقدمت مشتقاته تأثيرات دوائية ممتازة، مما يجعل هذا الهيكل مرشحاً مثالياً لتطوير مركبات دوائية أكثر فعالية وأماناً، وخاصة في علاج السرطان (Ramos-Inza et al., 2020).

وقد تم العمل خلال العقود الماضية على حلقة الثيازول من أجل اصطناع مشتقات قد تكون بمثابة أدوية جديدة. حيث أظهرت بعض المركبات فائدة علاجية في الزجاج. لذا تبقى حلقة الثيازول واحدة من النوى الهامة للأبحاث الصيدلانية الكيميائية، التي يمكن أن تُستَخدم لتصميم مركبات دوائية جديدة وخاصة في الحالات التي يكون فيها الهدف معروفاً (Leoni et al., 2017).

كما أظهرت الدراسات أن مركبات الثيازول لها فعالية في تثبيط نمو وهجرة الخلايا السرطانية (Zheng et al., 2013). دفعت هذه الملاحظات إلى تصميم سلسلة من المشتقات من خلال تغيير مجموعات الاستبدال في حلقة الثيازول. حيث تم تصميم مركب 4-4-4-كلورو-1-5-نترو-1,3-ثيازول (2-يل)-3-اوكسازيتيدين-2-يل-بنزالدهيد انطلاقاً من المركب الأم 2-امينو، 5-نترو الثيازول من قبل كلية العلوم-قسم الكيمياء الشكل (1). وسندرس في هذا البحث تأثير هذه المركبات على نمو growth الخلايا السرطانية الثديية البشرية MDA-MB-231 وعلى هجرتها migration.

القسم العملي:

المواد المستخدمة:

توصيف المركبات:

▪ **المركب الأول:** مستورد من شركة Sigma-Aldrich الأمريكية على شكل بودرة، الوزن الجزيئي 145.14 غ/مول، النقاوة 97%، درجة الانصهار 195-200^o، الانحلالية: قليل الانحلالية في الماء، منحل في الايتانول 95% (1 غ/150 غ) ودي ايتيل الايتر (1 غ/250 غ)، منحل في محلول دي ميثيل سلفوكسيد DMSO.

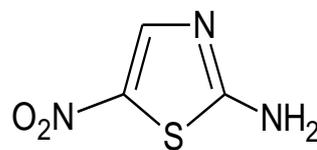
▪ **المركب الثاني:** مُصنَّع من قبل كلية العلوم على شكل بودرة، الوزن الجزيئي 337.73 غ/مول، درجة الانصهار 175^o، الانحلالية: قليل الانحلال في الماء والايثانول، منحل في محلول دي ميثيل سلفوكسيد DMSO.

مقايصة MTT:

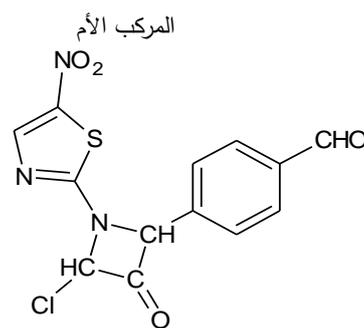
تعتمد مقايصة MTT على الإرجاع الأنزيمي لأملح التترازوليوم ضعيفة التلون إلى بلورات الفورمازان بواسطة إنزيم dehydrogenase في الخلايا الحية. تتناسب شدة اللون مع عدد الخلايا الحية (Daniel F. Gilbert, 2017).

زُرِعت الخلايا السرطانية MDA-MB-231 ضمن عبوات بلاستيكية في وسط RPMI-1640 الحاوي على 10% من مصل الجنين البقري (Fetal Bovine Serum, FBS)، و 100 وحدة دولية/مل من البنسلين، و 100 وحدة دولية/مل من الستربتومايسين. ووُضِعَت الخلايا في الحاضنة ضمن شروط حفظ مناسبة (درجة حرارة 37^o، نسبة رطوبة 10%)، CO₂ 5%. رُوَقِبَ نمو الخلايا يومياً بواسطة فحصها بالمجهر الضوئي المقلوب وعند الوصول إلى نسبة نمو 80-90% في عبوات الزرع الخلوي، تم فك التصاق الخلايا بالتريسين وإجراء تعداد لها. وُزِعَت بعد ذلك الخلايا على صحيفة مكونة من 96 بئر بكثافة خلوية 12,000 خلية / 100 ميكرو لتر في البئر. بعد الحضانة لليلة كاملة،

- وسط مغذي RPMI-1640 (Roswell Park) (Euroclone, Italy)
- محلول MTT (Sigma-Aldrich, America)
- المصل البقري الجنيني FBS (Fetal bovine) (Euroclone, Italy) (serum)
- Phosphate buffered saline (PBS) منزوع الكالسيوم والمغنيزيوم
- Trypsin/EDTA (Euroclone, Italy)
- بنسلين/ستربتومايسين (Biowest, USA)
- خط خلوي لسرطان الثدي النقيلي MDA-MB-231 (تم الحصول عليه من هيئة الطاقة الذرية)
- مركبات الثيازول مُصمَّمة من قبل كلية العلوم - قسم الكيمياء في جامعة دمشق.



5-nitro-1,3-thiazol-2-amine



4-[4-chloro-1-(5-nitro-1,3-thiazol-2-yl)-3-oxoazetidin-2-yl]benzaldehyde

المركب المشتق

الشكل (1): صيغ المركبات المستخدمة

أزيل الوسط وأضيف 100 ميكرو لتر من الوسط النقي الحاوي على تراكيز مختلفة (1، 5، 10، 25، 50، 100 ميكرومول/لتر) من كلا المركبين. وبعد مدة 72 ساعة، أُضيف 10 ميكرو لتر من محلول MTT (بتركيز 5ملغ/مل) إلى كل بئر. وحُضِنَت الخلايا لمدة 4 ساعات إضافية. أُزيلَ بعد ذلك الوسط من كل بئر ثم أُضيفَ 100 ميكرو لتر من مادة DMSO إلى كل بئر لحل بلورات فورمازان. قيسَت الامتصاصية اللونية عند طول موجة 570 نانومتر، باستخدام قارئ أطباق microplate reader (Mirza et al., 2017).

يجب التنويه إلى أنه تم اعتماد البروتوكول المذكور أعلاه وهو الأمثل لضمان دقة وموثوقية التجربة بعد إجراء تجارب مقايسة MTT عديدة وذلك بعدد مختلف من الخلايا المزروعة في كل تجربة (10,000، 12,000، 15,000، 20,000 خلية)، وملاحظة تأثير التراكيز المختلفة من المركبات عليها ضمن أزمنة حضانة مختلفة (24، 48، 72 ساعة).

التحليل الإحصائي:

أُجريَ التحليل الإحصائي بواسطة برنامج GraphPad Prism 7.

عَبِّرَ عن النتائج بواسطة الوسطي الحسابي \pm الانحراف المعياري للتجارب المنفصلة وحساب p.value الإجمالية باستخدام اختبار one-way ANOVA. اعتُمدت القيمة (p.value < 0.05) في جميع الاختبارات الإحصائية المطبقة للدلالة على وجود أثر ذو دلالة إحصائية للاختبار المدروس. إضافة إلى ذلك، فُورِنَ الاختلاف بين التراكيز المختلفة وبين التركيز والشاهد باستخدام اختبار Dunn's multiple comparison.

نتائج اختبار تأثير المركبات على نمو الخلايا-MDA

MB-231:

بالمقارنة مع خلايا شاهدة غير معالجة، لم يظهر المركب الأم أي سمية على الخلايا السرطانية MDA-MB-231

أزيل الوسط وأضيف 100 ميكرو لتر من الوسط النقي الحاوي على تراكيز مختلفة (1، 5، 10، 25، 50، 100 ميكرومول/لتر) من كلا المركبين. وبعد مدة 72 ساعة، أُضيف 10 ميكرو لتر من محلول MTT (بتركيز 5ملغ/مل) إلى كل بئر. وحُضِنَت الخلايا لمدة 4 ساعات إضافية. أُزيلَ بعد ذلك الوسط من كل بئر ثم أُضيفَ 100 ميكرو لتر من مادة DMSO إلى كل بئر لحل بلورات فورمازان. قيسَت الامتصاصية اللونية عند طول موجة 570 نانومتر، باستخدام قارئ أطباق microplate reader (Mirza et al., 2017).

يجب التنويه إلى أنه تم اعتماد البروتوكول المذكور أعلاه وهو الأمثل لضمان دقة وموثوقية التجربة بعد إجراء تجارب مقايسة MTT عديدة وذلك بعدد مختلف من الخلايا المزروعة في كل تجربة (10,000، 12,000، 15,000، 20,000 خلية)، وملاحظة تأثير التراكيز المختلفة من المركبات عليها ضمن أزمنة حضانة مختلفة (24، 48، 72 ساعة).

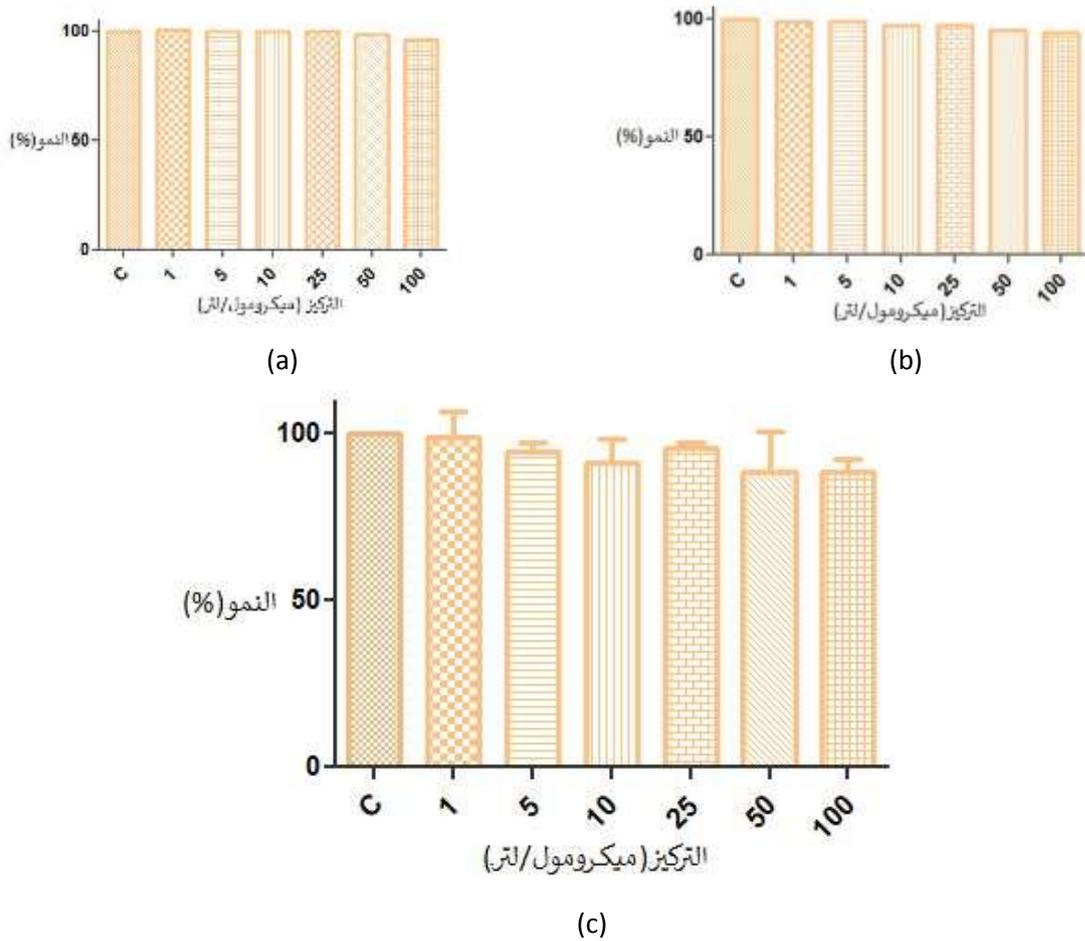
مقايسة الخدش Scratch assay:

من بين الطرق العديدة لدراسة هجرة الخلايا، تعتبر مقايسة الخدش scratch assay واحدة من أبسط الطرق. تدرس هذه المقايسة هجرة صفيحة من الخلايا باتجاهين استجابة لتشكيل خدش أولي في الطبقة الخلوية الملتصقة بالعبوة البلاستيكية. يؤدي إحداث الخدش إلى بدء الهجرة من حافة الخدش حيث تهاجر الخلايا إلى الفراغ المحدث تدريجياً حتى تُغلق الفراغ. يتم رصد تقدُّم هذه الأحداث عن طريق التصوير اليدوي للعينات عند فواصل زمنية معينة، ولاحقاً تُحلَّل هذه الصور باستخدام برامج التصوير.

لإنجاز هذه المقايسة، تم زرع 3×10^6 خلية في كل بئر من أبار طبق زرع حاوي على ستة آبار، ووُضِعَت الأطباق في الحاضنة لمدة 24 ساعة. باستخدام أداة الخدش، تم

رغم استعمال تراكيز مختلفة (1، 5، 10، 25، 50، 100 ميكرومول/لتر) والحضن لفترات الحضن دامت (24، 48، 72 ساعة). ولم تُظهر قيمة ال p.value (p=0.1076) وجود فارق إحصائي يعتد به الشكل (2). بينما أبدى هذا المركب تأثيراً مثبطاً للنمو الخلوي بعد فترة حضن دامت 72 ساعة وكان هذا التأثير ذو دلالة إحصائية عند التركيز 100 ميكرومول/مل (p=0.0164) الشكل (3).

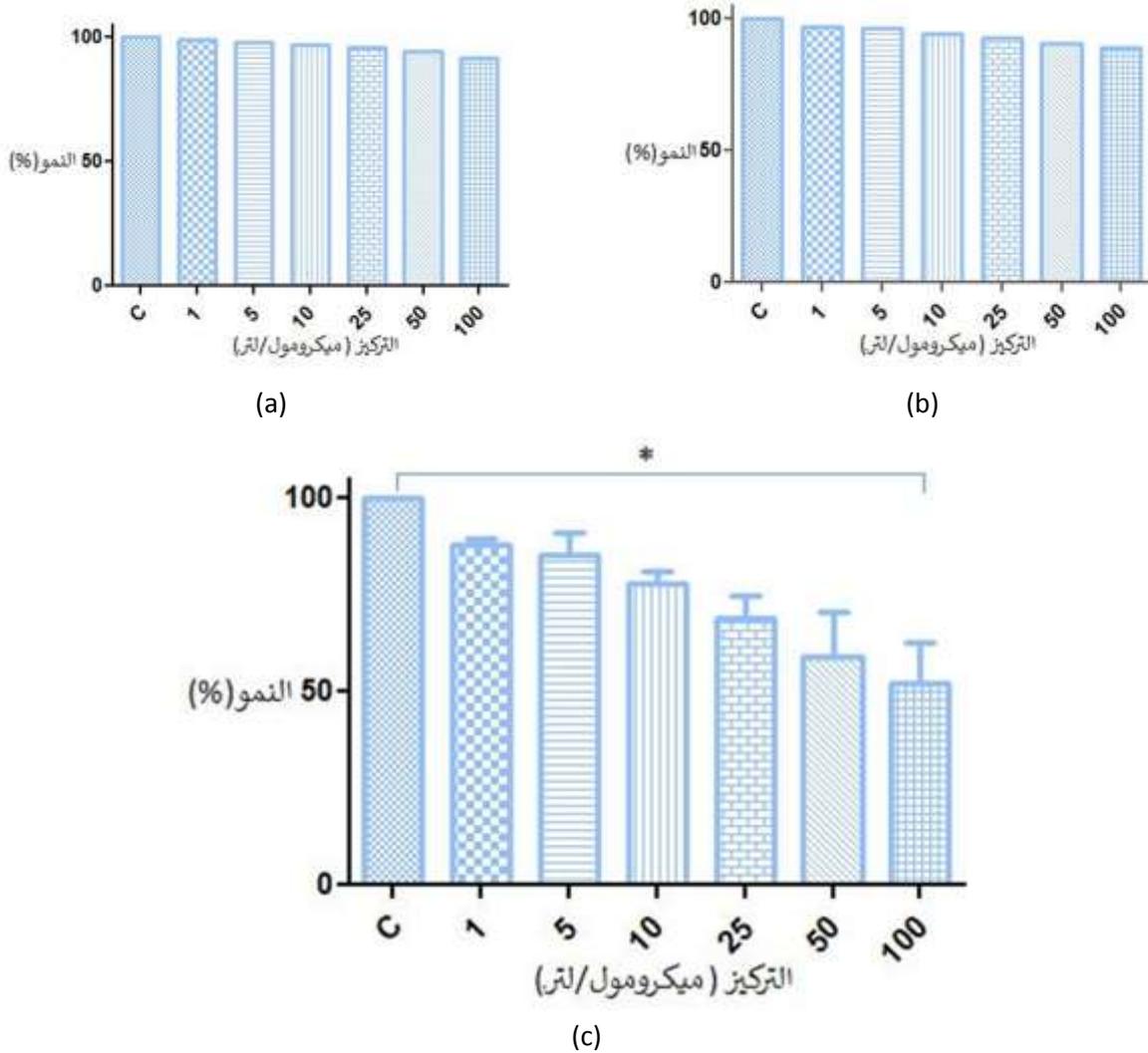
وبالمثل لم تظهر التراكيز السابقة من المركب المشتق أي تأثير على الخلايا السرطانية MDA-MB-231 بعد فترة



الشكل (2): تأثير المركب الأم على نمو الخط الخلوي MDA-MB-231

(a): فترة حضن 24 ساعة (n=1)، (b): فترة حضن 48 ساعة (n=1)، (c): فترة حضن 72 ساعة (n=3)

تم مقارنة الوسط الحسابي للتجارب المختلفة وتقدير انحرافها المعياري، واعتُبرَ هذا الفارق ذو دلالة إحصائية (*) عند قيمة (P.value ≤ 0.05)



الشكل (3): تأثير المركب المشتق على نمو الخط الخلوي MDA-MB-231

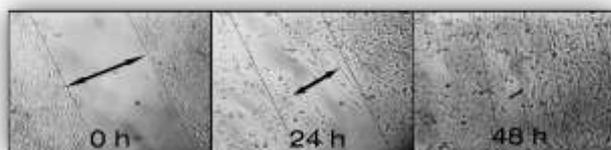
(a): فترة حضن 24 ساعة (n=1)، (b): فترة حضن 48 ساعة (n=1)، (c): فترة حضن 72 ساعة (n=3)

تم مقارنة الوسط الحسابي للتجارب المختلفة وتقدير انحرافها المعياري، واعتبر هذا الفارق ذو دلالة إحصائية (*) عند قيمة

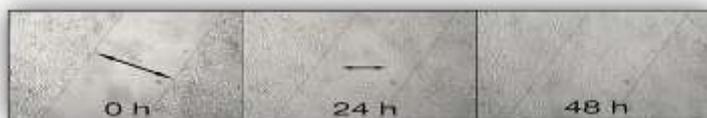
(P.value ≤ 0.05)



الشاهد



المركب الأم



المركب المشتق

الشكل (4): نتائج اختبار المركبين الأم والمشتق على هجرة الخلايا السرطانية MDA-MB-231

نتائج اختبار الهجرة:

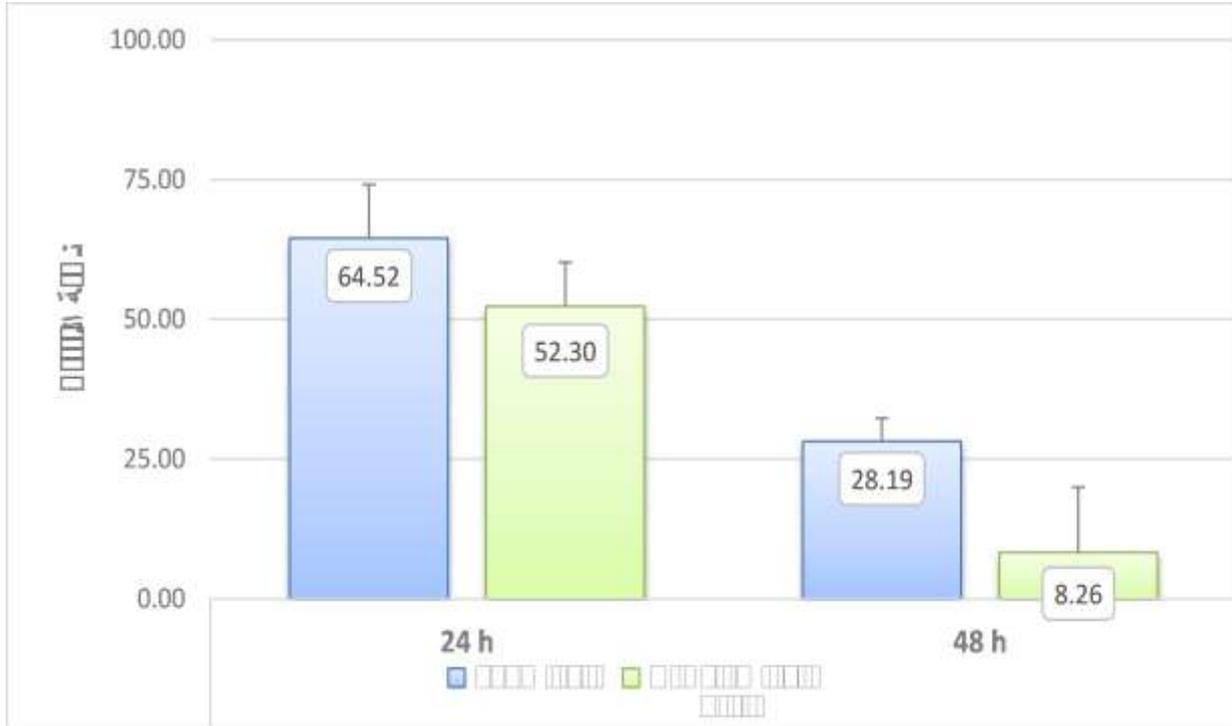
بالنسبة لمجموعة الشاهد غير المعالجة، تم إغلاق الخدش كاملاً بعد 24 ساعة من إحدائه ولم يتبقى أي دليل على الخدش الشكل (4).

أما فيما يخص المركبين المدروسين، فقد أظهرتا تأثيراً مثبطاً لهجرة الخط الخلوي السرطاني MDA-MB-231 في الزجاج الشكل (5).

حيث أظهر المركب الأم التأثير الأكبر على تثبيط هجرة الخلايا حيث بلغت نسبة التثبيط 64.25% بعد 24 ساعة و 28.19% بعد 48 ساعة في مقايصة الخدش. أما بالنسبة للمركب المشتق، بلغت نسبة التثبيط 52.30% بعد 24 ساعة و 8.62% بعد 48 ساعة.

المناقشة:

أظهرت الدراسات أن دمج حلقة الثيازول كحلقة أحادية أو مندمجة مع حلقات أخرى في جزيئات مختلفة أو في معقدات معدنية يعطي أدوية مضادة للسرطان أكثر أماناً وفعاليةً (Petrou et al., 2021). وأظهرت نتائجنا أن تعديلات بنيوية طفيفة كإدخال حلقة اوكسوازيتيدين -الحاوية على ذرة الكلور في الموقع 4- إلى المركب الأم (2-امينو، 5-نترو الثيازول) يعطي مركبات ذات تأثيرات مختلفة على مستوى النمو والهجرة للخلايا السرطانية MDA-MB-231، مما يكشف عن بعض الاتجاهات المثيرة للاهتمام التي قد تساعد في فهم أعمق لعلاقة البنية بالتأثير بالتالي تحسين المؤشر الدوائي لمشتقات الثيازول إلى الحد الأمثل (Zheng et al., 2014).



الشكل (5): نسبة تثبيط هجرة خلايا MDA-MB-231 بعد الحضانة مع المركبين الأم والمشتق تم مقارنة الوسط الحسابي للتجارب المختلفة (n=3) وتقدير انحرافها المعياري

يُظهر أي سمية خلوية واضحة في مقاييسات النمو الخلوي فهذا يجعل منه مرشحاً جيداً للاستعمال في حالات سرطان الثدي كدواء مساعد يقلل تشكل النقائل بالمشاركة مع أدوية أخرى سامة لخلايا سرطان الثدي بأقل آثار سمية على الخلايا الطبيعية.

ووجدنا أن تعديل المركب الأم أعطى مركباً قادراً على تثبيط النمو الخلوي و محافظاً على قدرة تثبيط هجرة خلايا سرطان الثدي المدروسة، مما يجعله مرشحاً للاستعمال في علاج سرطان الثدي في الأطوار المتقدمة كدواء يسبب تراجع الكتلة الورمية ويمنع تشكل النقائل السرطانية.

المُلخَص:

تُعتبر مركبات نثرو الثيازول نقطة بداية ممتازة للحصول على مُرشّحات دوائية مستقبلية أكثر أماناً وفعاليةً تستخدم في علاج سرطان الثدي. حيث أدى إدخال حلقة اوكسوازيتيدين الحاوية على ذرة الكلور في الموقع 4 لنواة الثيازول إلى مركب مثبط لنمو خلايا سرطان الثدي MDA-MB-231 و يحافظ على قدرة المركب الأم على تثبيط هجرة هذه الخلايا السرطانية في الزجاج. تحتاج هذه المركبات لمتابع دراسة تأثيرها على نماذج حيوانية *in-vivo* ودراسات سريرية للتأكد من أمانها وفعاليتها.

الشكر والتقدير:

- إلى الدكتور فاروق قنديل لتقديمه المركبات المُصنّعة من قبل طالب الماجستير مصطفى الحكيم.
- إلى مخبر الدراسات البيولوجية والوبائية لطفيليات اللاشمانيا، جامعة دمشق.
- إلى مخبر الدراسات العليا، قسم علم الحياة الحيوانية، جامعة دمشق.
- إلى هيئة الطاقة الذرية في سوريا.

أخْبُر تأثير المركبين بتركيز مختلفة و ضمن فترات حضن مختلفة لمتابعة تغيرات التأثير مع الزمن في اختبار النمو الخلوي. كما اختير تركيز 10 ميكرومول/ مل كونه لا يؤثر على الانقسام الخلوي وبالتالي لا يشوش النتائج عند دراسة الهجرة الخلوية.

لم يظهر المركب الأم أي تأثيراً سميّاً مثبّطاً لانقسام خلايا سرطان الثدي MDA-MB-231 المعروفة بقدرتها العالية على الانقسام والغزو وتشكيل النقائل، بينما أبدى تثبيطاً لقدرة هذه الخلايا على الهجرة بنسبة مرتفعة حيث وصلت نسبة تأخيرها للالتئام إلى 65% تقريباً بعد 24 ساعة، مما يعكس قدرة هذا المركب على إنقاص تشكل النقائل السرطانية المسببة للموت في سرطان الثدي. وقادت إضافة حلقة اوكسوازيتيدين -الحاوية على ذرة الكلور في الموقع 4- إلى اكتساب المركب تأثيراً مثبّطاً لنمو هذه الخلايا السرطانية في الزجاج محافظاً على قدرة هذه المركبات على تثبيط الهجرة الخلوية (بنسبة تأخيرها للالتئام 52.30% تقريباً بعد 24 ساعة).

وجب التنويه إلى أن تأثير مركباتنا على نمو الخلايا السرطانية يختلف باختلاف نوع الخط الخلوي المستخدم. حيث تم استخدام خط خلوي لخلايا سرطان الدم النقوي المزمن K562 كشاهد إيجابي في تجاربنا. أظهرت النتائج المبدئية في اختبار العيوشية الخلوية تأثيراً مثبّطاً لكلا للمركبين على نمو الخط الخلوي K562 في الزجاج. وقد كان هذا التأثير واضحاً مما يفتح أبواب أمام مزيد من الدراسات لمركبات 2-أمينو، 5-نثرو الثيازول على الخط الخلوي K562.

إن تثبيط تكاثر الخلايا المنخفض أو القابل للإهمال خاصية مرغوب في المشتقات المثبّطة للهجرة لأنها تُعد بسمية منخفضة للخلايا السليمة عند استعمالها كعوامل علاجية محتملة (Zheng et al., 2013)، وبما أن المركب الأم لم

References

1. CC, L., AY, P., & JL, G. (2007). In vitro scratch assay: a convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro. *Nature Protocols*, 2(2), 329–333. <https://doi.org/10.1038/NPROT.2007.30>
2. Daniel F. Gilbert, O. F. (2017). Cell Viability Assays: Methods and Protocols. *Humana Press, 1601*, 1–6.
3. Justus, C. R., Leffler, N., Ruiz-Echevarria, M., & Yang, L. V. (2014). In vitro cell migration and invasion assays. *Journal of Visualized Experiments*, 88(88), 51046. <https://doi.org/10.3791/51046>
4. Labrèche, F., Goldberg, M. S., Hashim, D., & Weiderpass, E. (2020). Breast cancer. *Occupational Cancers*, 417–438.
5. Leoni, A., Locatelli, A., Morigi, R., & Rambaldi, M. (2017). A Patent Review on Thiazole Derivatives (2008-2013). *Acta Chimica and Pharmaceutica Indica*, 7(1), 1–35.
6. Mirza, S., Asma Naqvi, S., Mohammed Khan, K., Salar, U., & Choudhary, M. I. (2017). Facile synthesis of novel substituted aryl-thiazole (SAT) analogs via one-pot multi-component reaction as potent cytotoxic agents against cancer cell lines. *Bioorganic Chemistry*, 70, 133–143. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2016.12.003>
7. Petrou, A., Fesatidou, M., & Geronikaki, A. (2021). Thiazole Ring—A Biologically Active Scaffold. *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 3166, 26(11), 3166. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26113166>
8. Ramos-Inza, S., Aydillo, C., Sanmartín, C., & Plano, D. (2020). Thiazole Moiety: An Interesting Scaffold for Developing New Antitumoral Compounds. In *Heterocycles - Synthesis and Biological Activities* (pp. 1–12). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.82741>
9. Vagima, Y., & Lapid, K. (2011). Cell Migration: Methods in Molecular Biology. *Humana Press*, 277–289.
10. Zheng, S., Zhong, Q., Jiang, Q., Mottamal, M., Zhang, Q., Zhu, N., Burow, M. E., Worthylake, R. A., & Wang, G. (2013). Discovery of a series of thiazole derivatives as novel inhibitors of metastatic cancer cell migration and invasion. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 4(2), 191–196. <https://doi.org/10.1021/ml300322n>
11. Zheng, S., Zhong, Q., Xi, Y., Mottamal, M., Zhang, Q., Schroeder, R. L., Sridhar, J., He, L., McFerrin, H., & Wang, G. (2014). Modification and biological evaluation of thiazole derivatives as novel inhibitors of metastatic cancer cell migration and invasion. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(15), 6653–6667. <https://doi.org/10.1021/jm500724x>

