



T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YENİ SALEN GRUP İÇEREN BOR BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ,
YAPILARININ FARKLI ANALİTİKSEL TEKNİKLERLE
AYDINLATILMASI VE MEME KANSERİNE KARŞI ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ

ARZU DÖLEK

TIBBİ BİYOLOJİ

Şanlıurfa
2025



T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YENİ SALEN GRUP İÇEREN BOR BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ,
YAPILARININ FARKLI ANALİTİKSEL TEKNİKLERLE
AYDINLATILMASI VE MEME KANSERİNE KARŞI ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ

ARZU DÖLEK

TIBBİ BİYOLOJİ
Tez Danışmanı: Prof. Dr. FERİDUN AKKAFA

Şanlıurfa
2025

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında, bilgi, tecrübe ve yol göstericiliğiyle her zaman yanımda olan, akademik gelişimime büyük katkı sağlayan danışmanım Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Feridun AKKAFI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, bilimsel katkıları ve destekleriyle çalışmamın ilerlemesine değerli katkılar sağlayan Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Halit AKBAŞ'a, Harran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Anorganik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Ahmet KILIÇ'a, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. İsmail KOYUNCU'ya ve laboratuvar sürecindeki katkıları için HÜBTAM personeli Uzman Biyolog Özgür YÜKSEKDAĞ'a ve Yüksek Kimyager Dr. Eyyüp YAŞAR'a teşekkür ederim.

Bu süreçte, manevi destekleriyle daima yanımda olan; sevgisi ve desteğiyle güç bulduğum canım aileme; sabrıyla ve dualarıyla bana daima destek olan sevgili anneme ve babama; varlığıyla bana huzur veren, her koşulda yanımda duran değerli kardeşim Sakine DÖLEK'e ayrıca teşekkür ederim. Bu yola çıkmama vesile olan, dostluğu ve desteğiyle bana güç veren çok sevgili arkadaşım Öğretim Görevlisi Nalin GÜMÜŞÇÜ'ye, tez sürecimde bilgi ve dostluğuyla yanımda olan çok kıymetli arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Fatma TELCİ'ye ve son olarak, hayatımın her anında desteğini hissettiğim; sabrıyla ve sevgisiyle en büyük motivasyon kaynağım olan canım eşime sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
SİMGELER	v
KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ	1
1.1. GENEL BİLGİLER	2
1.1.1. Bor Elementi ve Özellikleri	2
1.1.2. Bor'un Kullanım Alanları	3
1.1.3. Bor'un Sağlıkta Kullanım Alanları	5
1.1.4. Bor'un Toksik Etkileri	7
1.2. Kanser	8
1.2.1. Kanserin Tanımı	8
1.2.2. Kanser Tedavisi	9
1.2.3. Kanserde Tedavi Yöntemleri	10
1.3. Meme Kanseri	13
1.3.1. Meme Kanseri Risk Faktörleri	14
1.3.2. Meme Kanseri Biyobelirteçleri ve Alt Tipleri	15
1.3.3. Meme Kanseri Tanı ve Tedavisi	16
1.4. Apoptozis	17
1.4.1. Apoptozisin Moleküler Mekanizmaları ve Kanserle İlişkisi	17
1.5. Kanser Tedavisinde Bor	20
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	22
2.1. Bor'un Bazı Hastalık ve Bazı Kanser Türlerinde Kullanılması	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1. Kronolojik Olarak Yapılan Deneylerin Sıralaması;	33
3.2. Yeni Bor Bileşiklerinin Sentezi	33
3.2.1. Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) sentezlenmesi:	33
3.2.2. Salen grup içeren bor bileşiklerinin (SB1-SB6) sentezlenmesi:	34
3.3. Hücre Kültürü ve Koşulları	37
3.3.1. Sterilizasyon	37
3.3.2. Hücre Kültürü	37
3.3.2.1. Besiyerinin Hazırlanması	37
3.3.2.2. Hücrelerin Çözülmesi	38
3.3.2.3. Hücre Sayımı	39
3.4. MTT Analizi	39
3.5. Akım Sitometri Yöntemi ile Apoptotik Hücrelerin Belirlenmesi	39
3.6. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	40
3.7. Akridin Oranj / Etidyum Bromür (AO/EB) Boyaması	40
3.8. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar;	40
3.8.1. Bor Bileşiklerinin Sentezi	40
3.8.2. Hücre Kültürü	41
4. BULGULAR	42
4.1. Yeni Bor Bileşiklerinin Yapısal Karakterizasyonu ve Analizi	42
4.2. Hücreler Üzerindeki Sitotoksik Etkinin İncelenmesi	59
4.3. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücresinin hücre morfolojisi üzerindeki etkileri ve hücre DNA'sı üzerindeki etkilerinin floresan boyama yöntemiyle incelenmesi	62
4.4. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücresinin hücre apoptozisi üzerindeki etkilerinin Flow Sitometrik Annexin-V Apoptoz/Nekroz Analizi ile incelenmesi	63
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇLAR	75

7. ÖNERİLER	76
KAYNAKLAR	77
ÖZGEÇMİŞ	86



ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YENİ SALEN GRUP İÇEREN BOR BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ, YAPILARININ FARKLI ANALİTİKSEL TEKNİKLERLE AYDINLATILMASI VE MEME KANSERİNE KARŞI ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ARZU DÖLEK

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ

Tez Danışman: Prof. Dr. FERİDUN AKKAFA

Yıl: 2025, Sayfa : 86

Kanser, genetik ve çevresel faktörlerin tetiklediği, malign fenotip kazanmış hücrelerin organizmada kontrolsüz bir şekilde bölünmesi, birikmesi, çoğalması ve yayılması ile meydana gelen ve her geçen yıl sıklığı giderek artan heterojen bir hastalık grubudur. Meme kanseri, dünya çapında kadınlar arasında en sık görülen kanser olup, aynı zamanda önemli ölüm nedenlerinden biridir. Bu alanda günümüzde genel ve hedefe yönelik çeşitli tedaviler kullanılarak sağkalım oranı artırılmaktadır.

Son yıllarda, bor içeren bileşiklerin sağlık alanında kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Özellikle yapılan çalışmalar kapsamında, bor bileşiklerinin anti-kanser etkileri de araştırılmakta ve hatta elde edilen bazı bor bileşikleri ilaç olarak tedavide kullanılmaktadır. Güncel çalışmalar, bor bazlı bileşiklerin lösemi, meme kanseri, akciğer kanseri, prostat kanseri, yumurtalık kanseri ve glioblastoma multiforme gibi belirli kanser türlerine karşı etkili olabileceğini göstermiştir.

Bu nedenle, bazı bor içeren bileşiklerin anti-kanser ajanlar olarak potansiyele sahip olduğunun bilinmesinden yola çıkılarak, çalışmamızda yeni salen grup içeren altı farklı (SB1-SB6) bor bileşikleri sentezlendi. Bu bileşiklerin; FT-IR, NMR, UV-Vis, LC-MS/MS ve elementel analiz gibi spektroskopik tekniklerle yapıları aydınlatıldıktan sonra, anti-kanser aktiviteleri MDA-MB-231, MCF-7 ve CRL-4010 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi MTT yöntemiyle ve apoptotik etkisi Annexin-V yöntemiyle hücre kültürü ortamlarında incelendi.

Sentezlenen yeni bor bileşiklerinden SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında IC50 değeri 47,3 µg/ml olarak ölçüldü. SB6 bileşiğinin 50 µg/ml dozunun morfolojik olarak incelendiğinde, MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında %30,6 oranında apoptozise neden olduğu gözlemlendi.

Elde ettiğimiz bulgulara göre, SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında sitotoksik etki göstermesi sebebiyle daha kapsamlı araştırmalar yapılarak farklı çalışmalara yön verme potansiyeline sahip olabileceği sonucuna varıldı.

ANAHTAR KELİMELER: Meme kanseri, Bor bileşikleri, Apoptozis, antikanser

ABSTRACT

MASTER THESIS

SYNTHESIS OF NEW SALEN GROUP-CONTAINING BORON COMPOUNDS, ELUCIDATION OF THEIR STRUCTURES WITH DIFFERENT ANALYTICAL TECHNIQUES AND INVESTIGATION OF THEIR EFFECTS AGAINST BREAST CANCER

ARZU DÖLEK

HARRAN UNIVERSITY
INSTITUTE OF GRADUATE EDUCATION
MEDICAL BIOLOGY

Thesis Supervisor: Prof. Dr. FERİDUN AKKAFA

Year: 2025, Page : 86

Cancer is a heterogeneous group of diseases characterized by uncontrolled division, accumulation, proliferation, and spread of cells that have acquired a malignant phenotype due to genetic and environmental triggers, with its incidence increasing progressively each year. Breast cancer is the most frequently diagnosed cancer among women worldwide and remains one of the leading causes of cancer-related mortality. In this field, various general and targeted therapies are currently being utilized, resulting in improved survival rates.

In recent years, boron-containing compounds have seen increasingly widespread applications in healthcare. Notably, research investigations have explored their anti-cancer effects, with certain boron-based compounds now being employed as therapeutic agents in clinical treatment. Current research demonstrates that boron-based compounds show promising activity against specific cancer types, including leukemia, breast cancer, lung cancer, prostate cancer, ovarian cancer, and glioblastoma multiforme. Therefore, based on the recognized potential of certain boron-containing compounds as anti-cancer agents, we synthesized six novel salen-group-containing boron derivatives (SB1–SB6) in this study.

After structural characterization using FT-IR, NMR, UV-Vis, LC-MS/MS, and elemental analysis, we evaluated their anti-cancer activity. The cytotoxic effects were assessed via MTT assay on MDA-MB-231, MCF-7, and CRL-4010 cell lines, while apoptotic activity was examined using the Annexin-V method in cell culture models.

Among the synthesized compounds, SB6 demonstrated notable activity against the MDA-MB-231 breast cancer cell line, with an IC_{50} value of 47.3 $\mu\text{g/mL}$. Morphological analysis revealed that SB6 at 50 $\mu\text{g/mL}$ induced apoptosis in 30.6% of MDA-MB-231 cells.

Our findings demonstrate that compound SB6 exhibits cytotoxic effects against the MDA-MB-231 breast cancer cell line, suggesting its potential as a lead compound worthy of further comprehensive investigation to guide future therapeutic development.

KEYWORDS: Breast cancer, Boron compounds, Apoptosis, anticancer

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bor'un genel yapısı (Eti Maden, 2017).	3
Şekil 1.2. Bor'un ürünlerinin kullanım alanları (Eti Maden, 2017).	5
Şekil 1.3. Bor bileşiklerinin çeşitli hastalıklarda kullanımı (Kuru ve Yarat, 2017).	7
Şekil 2.1. İlaç olarak onaylanmış olan bor içeren bileşikler (Plescica ve Moitessier, 2020).	23
Şekil 2.2. Doğrudan C-B bağ oksidasyonu/yeniden düzenleme stratejisi kullanılarak aktif ön ilacın bor maskeleyişinden salınma mekanizması (Al-Omari ve ark., 2023)	25
Şekil 2.3. Benzoksaborolün tRNA'ya bağlanması (Zhang ve ark., 2013).	25
Şekil 2.4. Meme kanseri ve multiple miyeloma araştırmaları yapılan boronat ester (Lei ve ark., 2019).	26
Şekil 2.5. Klinik etkinlikleri araştırılan benzoksaborol türevleri (Akama ve ark., 2013).	27
Şekil 2.6. Yumurtalık kanseri çalışmalarında klinik etkinlikleri araştırılan bir benzoksaborol türevi (Zhang ve ark., 2019).	28
Şekil 2.7. Anti-kanser çalışmaları için tasarlanan bor temelli bileşikler (Psurski ve ark., 2018).	28
Şekil 2.8. Anti-fungal çalışmaları için sentezlenen bor içeren bileşikler (Liu ve ark., 2021)	29
Şekil 2.9. Aromatik sülfonil naftalin ve boronik asit gruplar içeren proteazom inhibitörleri (Liu ve ark., 2018).	30
Şekil 2.10. Üre ve peptid boronik asit gruplarını içeren proteazom inhibitörleri (Han ve ark., 2016).	30
Şekil 2.11. 1,4-naftokinon iskelesini ve boronik asit grupları içeren olmayan proteazom inhibitörü (Ge ve ark., 2017).	32
Şekil 3.1. Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) sentezi	33
Şekil 3.2. Salen grup içeren bor bileşiklerinin (SB1-SB6) sentezi	34
Şekil 4.1. Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) FT-IR spektrumu	42
Şekil 4.2. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB1) FT-IR spektrumu	43
Şekil 4.3. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB2) FT-IR spektrumu	43
Şekil 4.4. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB3) FT-IR spektrumu	44
Şekil 4.5. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB4) FT-IR spektrumu	44
Şekil 4.6. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB5) FT-IR spektrumu	45
Şekil 4.7. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB6) FT-IR spektrumu	45
Şekil 4.8. Salen grup içeren bor (SB5) bileşiğinin C ₂ H ₅ OH (a) ve CH ₃ CN (b) çözücülerinde alınmış UV-Vis spektrumları	46
Şekil 4.9. Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) ¹ H NMR spektrumu	47
Şekil 4.10. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB1) ¹ H ve ¹³ C NMR spektrumları	48
Şekil 4.11. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB2) ¹ H ve ¹³ C NMR spektrumları	49
Şekil 4.12. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB3) ¹ H ve ¹³ C NMR spektrumları	50
Şekil 4.13. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB4) ¹ H ve ¹³ C NMR spektrumları	51
Şekil 4.14. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB5) ¹ H ve ¹³ C NMR spektrumları	52
Şekil 4.15. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB6) ¹ H ve ¹³ C NMR spektrumları	53
Şekil 4.16. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB1) ¹¹ B NMR spektrumu	54
Şekil 4.17. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB2) ¹¹ B NMR spektrumu	54
Şekil 4.18. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB3) ¹¹ B NMR spektrumu	55
Şekil 4.19. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB4) ¹¹ B NMR spektrumu	55
Şekil 4.20. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB5) ¹¹ B NMR spektrumu	56
Şekil 4.21. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB6) ¹¹ B NMR spektrumu	56
Şekil 4.22. Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) LC-MS/MS spektrumu	57
Şekil 4.23. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB1) LC-MS/MS spektrumu	57
Şekil 4.24. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB2) LC-MS/MS spektrumu	58
Şekil 4.25. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB3) LC-MS/MS spektrumu	58
Şekil 4.26. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB4) LC-MS/MS spektrumu	58
Şekil 4.27. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB5) LC-MS/MS spektrumu	59
Şekil 4.28. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB6) LC-MS/MS spektrumu	59

Şekil 4.29. Sentezlenen Yeni Bor Bileşiklerinin IC50 Grafiği	60
Şekil 4.30. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkilerinin MTT tahlili ile değerlendirilmesi. Tüm veriler üç bağımsız deneyden elde edilen ortalama \pm SD olarak ifade edilmiştir. IC50 değeri Graph Pad Prism 9 programı kullanılarak hesaplandı.	61
Şekil 4.31. SB6 bileşiğinin CRL-4010 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkilerinin MTT tahlili ile değerlendirilmesi. Tüm veriler üç bağımsız deneyden elde edilen ortalama \pm SD olarak ifade edilmiştir. IC50 değeri Graph Pad Prism 9 programı kullanılarak hesaplandı.	61
Şekil 4.32. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücre hattı üzerindeki morfolojik gösterimi ve akridin oranj-etidyum bromür boyamasındaki görüntüleri	63
Şekil 4.33. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücre hattı üzerindeki Annexin-V Apoptoz/Nekroz analizi	64
Şekil 4.34. SB6 bileşiğinin MDA-MD-231 Hücre Hattının Annexin-V Sonucunun Demografik Grafiği	64



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Besiyeri kimyasal ve miktarları	37
Çizelge 3.2. Hücre soyları	38
Çizelge 4.1. Sentezlenen Yeni Bor Bileşiklerinin MDA-MB-231, MCF-7 ve CRL-4010 Hücre Hatları Üzerindeki IC50 Değerleri	60



SİMGELER

%	Yüzde
%	Yüzde oranı
	Büyüktür
@	mail simge
C	Derece
c	karbon
C	Celsius
g	Gram
h	hidrojen
L	Litre
m	milimetre
o	oksijen
α	Alfa
β	Beta
μ	Micro

KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADT	Androjen Yoksunluk Tedavisi
AIF	Apoptoz İndükleyici Faktör
APAF1	Apoptotic Protease Activating Factor 1
BAD	Bcl-2 ile ilişkili ölüm indükleyici protein
BAK	Bcl-2 homolog antagonist/killer
Bax	Bcl-2-associated X protein
Bcl-2	B-cell lymphoma gene-2
BID	BH3 interacting-domain death agonist
BIM	BCL-2 Interacting Mediator of death
BIRC-2	Apoptoz İnhibitörü 2
BIRC-5	Survivin (Apoptozu önleyici protein)
BNTC	Bor Nötron Yakalama Terapisi
BRCA1	Meme Kanseri 1 Gen Mutasyonu
BRCA2	Meme Kanseri 2 Gen Mutasyonu
c-FLIP	Cellular FLICE-Inhibitory Protein
CD95	Cluster of Differentiation 95
DISC	Death-Inducing Signaling Complex
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ER-α	Östrojen reseptörü alfa
ER-β	Östrojen reseptörü beta
FADD	FAS-Associated via Death Domain
FASL	First Apoptosis Signal Ligand
FDA	Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç Dairesi)
GLOBOCAN	Küresel Kanser İnsidansı, Mortalite ve Prevalans
HER2	nsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HThF	Human Thyroid Fibroblast
IC50	Inhibitory Concentration 50
IHC/IP	İmmünohistokimya/Immunopresipitasyon
Kaspaz-3	Sistein Aspartat Spesifik Proteaz
Ki-67	Hücre proliferasyon belirteci
MOMP	Mitochondrial Outer Membrane Permeabilization
MTC	Medullary Thyroid Cancer

MTT	Metil Tetrazolium Testi
NF-κB	Nükleer faktör-Kappa B
NK	Natural Killer
NOXA (PMAIP1)	Phorbol-12-Myristate-13-Acetate-Induced Protein 1
P53	Tümör Protein P53
PDE4	Fosfodiesteraz Tip 4
PI3K	Fosfatidilinositol 3-Kinaz
PR	Progesteron Reseptörleri
PUMA	p53 Upregulated Modulator of Apoptosis
ROS	Reaktif oksijen türleri
SAR	Sodyum adsorbsiyon oranı
SMAC/DIABLO	Second Mitochondria-derived Activator of Caspases/ Direct IAP-Binding protein
TENMAK	Türkiye Enerji, Nükleer ve Maden Araştırma Kurumu
TMMOB	Türk Mühendis ve Mimar Odaları Birliği
TNBC	Üçlü Negatif Meme Kanseri
TNF-α	Tumor Necrosis Factor alpha
TNFR1	Tumor Necrosis Factor Receptor 1
TRADD	TNF (Tumor Necrosis Factor) R1 (Receptor Type 1)-Associated Death Domain
TRAIL	Tumor Necrosis Factor-Alpha-Related Apoptosis-Inducing Ligand
tRNA	Transfer RNA
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick End Labeling
XRCC2	X-Işını Onarım Kesici Gen 2 XRCC3 : X-Işını Onarım Kesici Gen 3
XRCC2	X-Işını Onarım Kesici Gen 2
XRCC3	X-Işını Onarım Kesici Gen 3
XTT	2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium5-carboxanilide

1. GİRİŞ

Borun besin değeri ve tıbbi özelliklerine dair yapılan çalışmalar sonucunda borun sağlık açısından önemi yeniden keşfedilmektedir. Bor içeren bileşikler, uzun yıllardır antiseptik olarak kullanılmış olup özellikle harici kullanımda önem kazanmıştır. Örneğin; cerrahi alanları sterilize etmek, cilt yaralarının enfeksiyon kapmaması için iyileştirilmesi ve ev ile iş yerlerinin temizliğinde kullanılması gibi. Ancak son araştırmalar, bor bileşiklerinin dahili olarak da kullanılabilceğini göstermiştir.

Son zamanlarda, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan Bortezomid gibi ilaçlar, borun biyolojik etkilerini güçlendirerek potansiyel toksisite endişelerini azaltmıştır. Bor, insan vücudunda makrolidlerin katlanmasında, D vitamini seviyelerinin düzenlenmesinde, kemik sağlığının iyileştirilmesinde ve kanser riskinin azaltılmasında kritik bir rol oynamaktadır. Ayrıca, borun fizyolojik pH'da stabil olduğu ve geniş çapta farmasötik uygulamalar için uygun olduğu belirtilmektedir.

Bor; kanser, HIV, romatoid artrit, bakteriyel enfeksiyonlar ve mantar enfeksiyonları gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde terapötik bir ajan olarak kullanılmıştır. Bu nedenle, borun tıbbi bileşiklerinin keşfedilmesi ve geliştirilmesi sürecine önemli bir hız kazandırdığı ifade edilmektedir.

Ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer alan kanser, vücuttaki anormal hücrelerin kontrolsüz çoğalması ve bu hücrelerin vücudun diğer bölgelerine metastaz yapması sonucu ortaya çıkan genetik bir hastalıktır (Nagai vd., 2017) ve meme kanseri en yaygın türlerden biridir. Meme kanseri, dünya çapında kadınlar arasında önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, başta meme kanseri olmak üzere çeşitli kanserlerin tedavisinde bor türevli bileşiklerin kullanımına odaklanmaktadır. Kemo-ilaçlara kıyasla minimum yan etkiye neden olduklarından, bu durum diğer tedavi yöntemlerine bir alternatif olabilir (Redig vd., 2013). Günümüzde, bor türevli bileşiklerden elde edilen bazı ilaçlar, kanserin bazı türlerinin tedavisinde kullanılmaktadır.

Bu çalışmanın amacı ve hedefi; yeni bir dizi salen grup içeren bor bileşiklerini sentezlemek, FT-IR, UV-Vis, NMR ve LC-MS/MS, elementel analiz gibi farklı tekniklerle bu bileşiklerin spektroskopik özelliklerini ortaya koymak ve sentezlenen yeni bor bileşiklerinin farklı derişimlerdeki dozlarının; MDA-MB231, MCF-7 (meme kanseri), CRL-4010 (normal meme dokusu) hücre hatlarına uygulanması

sonucu sitotoksik etkileri ölçülerek, bu hücre hatları üzerindeki anti-kanser aktivitelerini belirlemektir.

1.1. GENEL BİLGİLER

1.1.1. Bor Elementi ve Özellikleri

Bor, bir element olarak ilk kez 1808 yılında İngiliz kimyager Humphry Davy, Fransız kimyagerler Louis Joseph Gay-Lussac ve Louis Jacques Thenard tarafından bulunmuştur (Uluisik vd., 2018). Element olarak bulunmadan önce bor, uzun yıllardır çeşitli uygarlıklar tarafından kullanılmıştır. Babillilerin, 4000 yıl kadar önce, altını işlerken akışkan madde olarak kullanılmak üzere Uzak Doğu'dan bor ithal ettikleri bilinmektedir. Borun mumyalama, tıbbi ve metalurjik uygulamaları eski Mısırlılara kadar dayandığı belirtilmektedir. Boru Çinliler cam yapımında, Roma İmparatorluğu ise cam üretimi ve arena temizliğinde kullanmıştır (Woods, W. G., 1994).

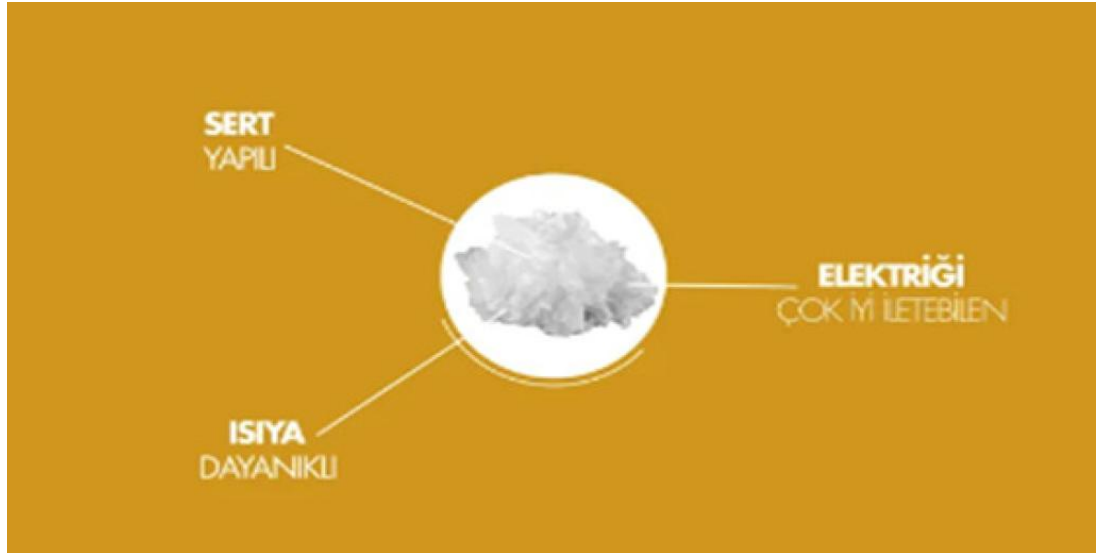
Dünyanın en zengin bor rezervleri, 2020 yılı itibarıyla %73 kapasite ile Türkiye'de bulunmaktadır. Türkiye bu nedenle "Bor'un başkenti" olarak nitelendirilebilir. Dünyanın en yüksek ikinci bor rezervine sahip olan diğer ülkeler, 40 milyon mt ile Amerika Birleşik Devletleri ve Rusya'dır. 2021 yılı itibarıyla, dünyanın önde gelen bor üreticileri Türkiye ve Şili'dir. Ancak Türkiye, Şili'ye kıyasla yaklaşık altı kat daha fazla bor üretmektedir (Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü, 2017).

Bor, periyodik cetvelde 3A grubunun tek metal olmayan ve metal ile ametal arası yarı iletken özellik gösteren ilk ve en hafif üyesidir. Atom numarası 5 olan borun atom ağırlığı 10,81'dir. 'B' sembolü ile gösterilir. Bor elementinin periyodik cetvelde en yakın komşusu karbon elementidir. Bor, doğada serbest halde bulunamaz; genellikle amorf ve kristal formlarda (borik asit ve bor tuzları) yer alır. Dünya genelinde yaklaşık 230 farklı bor minerali tanımlanmıştır. Endüstriyel açıdan en önemli olanlar arasında boraks, turmalin, tinkal, kemit, razolit, kolemanit ve üleksit bulunmaktadır. Türkiye'de ise tinkal, kolemanit ve üleksit gibi bor mineralleri en yaygın olarak bulunanlardır (Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü, 2017).

Elektronik yapı olarak, temel borun elektron dizilimi $1s^2 2s^2 2p^1$ 'dir. Atomik bor, üç değerlik elektron sayısına sahiptir; ancak moleküler ve kristal yapılarında boş bir p-orbitaline sahiptir. Bu özellik, bor bileşiklerindeki elektron eksikliğinin doğasını oluşturur ve borun malzeme dünyasında eşsiz kılınmasının karakteristik özelliklerinden biridir. Bu özellikler, genellikle temel bor katılarının yarıiletken bir

davranış sergilemesine yol açar. Bor, yüksek elektronegatifliğe sahiptir ve bu nedenle elektronca zengin bileşiklerle kolayca bağ yapabilir. Kısa kovalent yarıçapı ve yüksek koordinasyon sayıları, borun bileşiklerinde güçlü kimyasal bağlar oluşturmasını sağlar. Ayrıca, bor bileşiklerinde çok sayıda sekiz merkezli bağ oluşturabilmesi, elektronlarının sp^2 hibridizasyonu yapabilmesi; düşük yoğunluk, yüksek erime ve kaynama noktaları gibi ilginç özelliklere sahiptir. Borun izotopları 8B , ^{10}B , ^{11}B , ^{12}B ve ^{13}B 'dir. En kararlı izotopları ise ^{10}B ve ^{11}B 'dir. Doğada %19,1 ile %20,3 arasında ^{10}B izotopu, %79,7 ile %80,9 arasında ise ^{11}B izotopu bulunur. ^{10}B izotopu, yüksek termal nötron tutma özelliğine sahiptir. Bu özelliği nedeniyle nükleer enerji santrallerinde ve nükleer malzemelerin yapımında yaygın olarak kullanılır. Türkiye'de yüksek oranda ^{10}B izotopuna sahip bor mineralleri bulunmaktadır (TENMAK, 2017.).

Bor, $2,34 \text{ g/cm}^3$ yoğunluğa sahip, $2200 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de eriyen ve eritildiğinde oldukça sert ve kırılğan bir ürün elde edilen bir elementtir. Oda sıcaklığında zayıf bir iletken; ancak sıcaklık arttıkça iletkenliği de artar. Sıvı bor, $2550 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de kaynar. Bor, havada ısıtıldığında yeşil alevle yanar ve bor oksit (B_2O_3) oluşur. Bor, çeşitli metal veya ametal elementlerle birleşerek farklı özellikler gösteren bileşikler oluşturur. Bu nedenle bor bileşikleri, birçok endüstriyel alanda kullanılır. Bor, bileşiklerinde metal dışı bileşikler gibi davranır. Ancak saf bor, elektriği ileten bir özelliğe sahip olduğu gibi karbon gibi davranır (Şekil 1.1) (TENMAK, 2017.).



Şekil 1.1. Bor'un genel yapısı (Eti Maden, 2017).

1.1.2. Bor'un Kullanım Alanları

Bor, çok geniş bir yelpazede 400'den fazla alanda kullanılmaktadır. Dünya

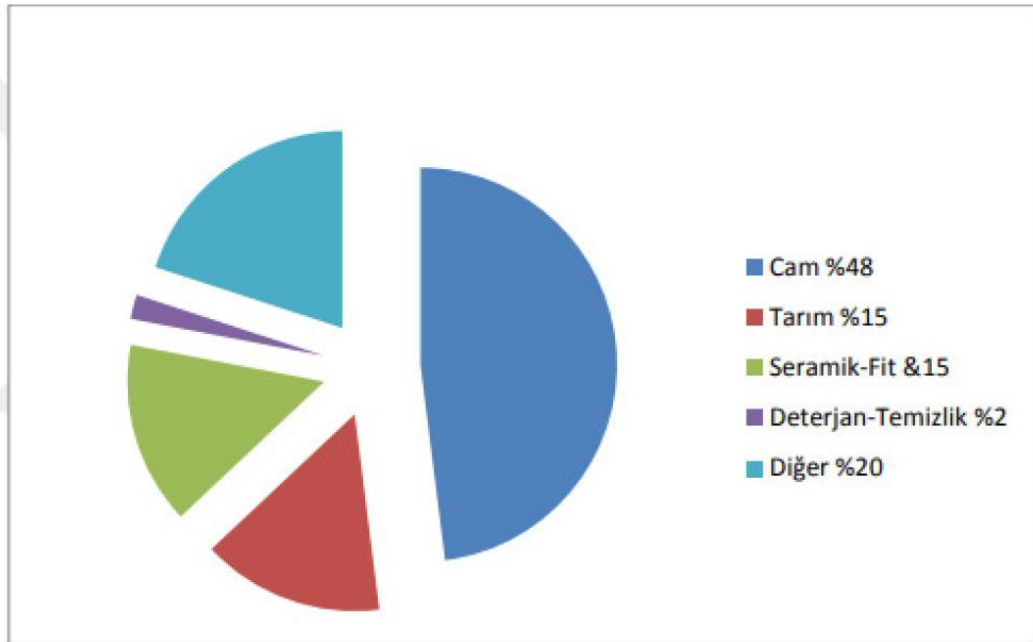
çapında bor tüketimi oldukça yüksektir ve kullanım alanları ülkelere göre değişiklik gösterir. Örneğin, ABD’de ana tüketim sektörü izolasyon ve cam sanayisiyken, Avrupa ülkelerinde sabun ve deterjan sektörü öne çıkar. Japonya’da ise fiberglas ve tekstil sektörü ön plandadır. Borun başlıca kullanım alanları arasında cam, seramik, kimya, nükleer enerji, temizlik, beyazlatma, uzay ve havacılık, ilaç, kozmetik, silah, çimento ve otomobil sanayileri yer alır. Ayrıca tarım, gıda, enerji, inşaat sektörleri ile yanmayı önleyici (geciktirici) maddelerin üretimi; metalurji, süper iletkenler, iletişim, elektronik, bilgisayar ve tıp alanlarında da önemli rol oynar (Şekil 1.2). Bor, çok yönlü bir element olup birçok endüstride temel malzeme ve işleve sahiptir (TMMOB Kimya Mühendisleri Odası, 2017).

Son yıllarda insanlar için de önemi anlaşılan ve kanser tedavisi, kemik erimesi, prostat tedavisi, antibakteriyel olarak kullanılmaya başlanan borun diğer başlıca kullanım alanları aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- İnşaat malzemeleri olarak; bor ürünleri Türkiye’de tekstil cam elyafı üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, çatı kaplama malzemeleri, selülozik izolasyon malzemeleri ve çimento katkı maddesi olarak da tercih edilmektedir. Özellikle ABD ve İskandinav ülkelerinde, atık gazete kağıtları, pamuk vb. malzemelerin borik asit veya borik asit + boraks karışımı ile işlenerek elde edilen selülozik izolasyon malzemeleri geniş bir kullanım alanına sahiptir.
- Tarım alanında, bor birçok bitki için mikro besleyici olarak önemlidir. Meyve ve sebzelerde bor takviyesi, bitkilerin gelişimini destekler ve optimum miktar ve kalitede ürün elde edilmesine yardımcı olur. Suda yüksek çözünürlüğe sahip bor kristalleri, farklı ebatlarda ve zengin içerikleri ile bu amaçla kullanılabilir.
- Tıp alanında, kemik gelişiminde, psikiyatride, osteoporoz tedavisinde, alerjik hastalıklarda ve BNCT (Bor ile Nötron Yakalamalı Terapi) yöntemiyle beyin tümörlerinin tedavisinde olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılır. Ayrıca, manyetik rezonans görüntüleme cihazlarında da kullanılmaktadır.
- Ahşap koruma alanında, bor bileşikleri ahşap malzemelerin empenye edilmesinde kullanılır. Bu işlemle ahşabın böceklenme ve diğer zararlı etkenlere karşı direnci artırılırken aynı zamanda alevlenme süresi de geciktirilebilir. Ülkemizde bu tür ürünlerin üretimi henüz

gerçekleştirilmemektedir.

- Cam endüstrisindeki kullanımı, boratların önemli bir kullanım alanını oluşturur. Dünya genelinde borun %42'si cam endüstrisinde kullanılır. Bor oksit; borosilikat camlar, tekstil cam elyafı ve yalıtım cam elyafının ana bileşenlerindedir. Bor bileşikleri, camın dayanıklılığını artırır ve kristallenmeyi önler; bu da camın genleşme özelliklerini iyileştirir.
- Cam elyafı, inşaat, otomotiv, elektrik ve elektronik, denizcilik, savunma gibi birçok sektörde yaygın olarak kullanılan bir malzemedir. Bor içeren cam elyafı, yüksek dayanıklılık, hafiflik ve anti-korozif özellikleri nedeniyle tercih edilir.
- Uzay ve havacılık sanayisinde, aşınmaya ve ısıya dayanıklı malzemeler; uçaklar, uydular, zeplinler, roket yakıtı, balonlar ve helikopterlerde kullanılır.
- Metalurji sanayinde bor, erime sıcaklığını düşürme, çeliği sertleştirme ve fırın tuğlalarının aşınma direncini artırma gibi özellikleri nedeniyle kullanılır. Ayrıca bor, kaplama sanayisinde elektrolitlerin oluşturulmasında ve lehimleme işlemlerinde de önemli bir rol oynar (TMMOB, 2016).



Şekil 1.2. Bor'un ürünlerinin kullanım alanları (Eti Maden, 2017).

1.1.3. Bor'un Sağlıkta Kullanım Alanları

Bor'un benzersiz bir kimyası olması nedeniyle, yeni ilaçların tasarımında yararlı olan özel özellikleri vardır. Bor, hayatın bel kemiğini oluşturan üç temel atom olan karbon, oksijen ve azot ile periyodik tablonun aynı periyodunda yer alır ve ilaç tasarımında önemli bir rol oynama potansiyeline sahiptir. Ancak ilaç tasarımında tıbbi kimyagerler boru gözden kaçırmışlardır. Bu durumun sebebi kısmen tıbbi kimyagerlerin borun toksik olduğuna dair inancına bağlanıyor. Ancak pek çok çalışma ve veri, bu inanışın büyük ölçüde asılsız olduğunu ve borun doğası gereği toksik bir element olmadığını, tıbbi kimyagerler tarafından ilaç tasarımında dikkate alınabileceğini göstermiştir (Fernandes ve vd., 2019).

Kimyasal olarak bor, güçlü bir Lewis asididir. Boş bir p-orbitaline sahiptir ve elektrofiliktir. Bor, boş p-orbitalinden dolayı enzim kalıntılarında, karbonhidratlarda ve nükleik asitlerde bulunan hidroksil ve amin grupları gibi biyolojik nükleofillerle koordinatlı kovalent bağlar oluşturabilir. Bor içeren bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin birçoğu, bor atomunun bu özelliğine dayanmaktadır. Ayrıca bor merkezi, belirli fizyolojik koşullar altında nötr trigonal düzlemsel sp^2 'den tetrahedral sp^3 hibridizasyonuna kolayca dönüştürülebilir (TMMOB, 2016).

Bor bileşiklerini içeren ilaç tasarımı nispeten yenidir ve bor bileşiklerinin büyük çoğunluğu ile bunların biyolojik aktiviteleri yalnızca son on yılda rapor edilmiştir. Bu alan, multipl miyelom tedavisine yönelik bir dipeptid boronik asit olan bortezomib dahil olmak üzere bor içeren ilaçların Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylanmasıyla ün kazanmıştır. Tavaborol onikomikoz (tırnak mantarı), egzama ve hafif ile orta dereceli atopik dermatitin tedavisi için bor içeren ilaçlar kullanılmaktadır. Ayrıca bor içeren çeşitli bileşikler şu anda klinik faz çalışmaları kapsamında olup, sedef hastalığı, insan Afrika tripanozomiyazi (uyku hastalığı) ve hepatit C dahil olmak üzere farklı terapötik uygulamalar için araştırılmaktadır (Şekil 1.3) (Fernandes ve vd., 2019).



Şekil 1.3. Bor bileşiklerinin çeşitli hastalıklarda kullanımı (Kuru ve Yarat, 2017).

1.1.4. Bor'un Toksik Etkileri

Bor'a yüksek miktarlarda maruz kalınması durumunda zehirleyici etkileri mevcuttur. Tek seferde alınması veya küçük miktarlarda alınması durumunda ise öldürücülük riski oldukça düşüktür. Bor, vücuda alındıktan kısa bir süre sonra değişmeden vücuttan atıldığı için, sadece kan dolaşım bozukluğu, böbrek yetmezliği veya kronik hastalıkları olan bireylerde yüksek miktarda bor alımı birkaç gün içinde ölümle sonuçlanabilir. Borik asidin en düşük öldürücü dozu oral yolla kilogram başına 640 mg, intravenöz yolla 29 mg ve haricen ise 8600 mg olarak belirlenmiştir (Kuru ve Yarat, 2017).

Bor'a akut olarak maruz kalınması durumunda kusma, mide bulantısı, ishal, karın ağrısı, ateş, baş dönmesi, deride kızarıklık, sarılık ve karaciğer fonksiyonunda değişiklikler gözlemlenir. Kronik olarak bor maruz kalındığında ise anoreksi, halsizlik, anemi, saçkıran, dermatit, konvülziyon ve gastrointestinal bozukluklar gibi semptomlar ortaya çıkabilir (Khaliq vd., 2018).

1.2. Kanser

1.2.1. Kanserin Tanımı

Kanser, vücut hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde büyümesi ve çoğalması sonucu oluşan bir grup hastalığı ifade eder (Nagai vd., 2017). Normalde hücrelerin büyümesi, bölünmesi ve ölmesi belirli bir düzen içerisinde gerçekleşir. Ancak kanser, bu düzenin bozulmasıyla ortaya çıkar. Kanser, genetik mutasyonlar veya çevresel faktörlerin etkisiyle normal hücrelerde meydana gelen değişiklikler sonucunda oluşur. Bu mutasyonlar, hücrelerin normal büyüme düzenini kaybetmesine ve kontrolsüz bir şekilde çoğalmasına neden olur. Kontrolsüz hücre büyümesi zamanla bir tümör oluşturabilir. Tümör, kanserin yapıtaşısıdır ancak her tümör kanserli değildir. Tümörler benign (iyi huylu tümör) ve malign (kötü huylu tümör) olarak iki şekilde adlandırılır. Kanser, zamanla diğer vücut dokularına yayılabilir. Bu yayılma metastaz olarak adlandırılır. Bu süreç, kanserin tedavisini zorlaştırabilir ve hastalığın yayılmasına yol açabilir. Kanser, çeşitli türlerde olabilir ve vücuttaki farklı organ ve dokularda başlayabilir. Örneğin, meme kanseri, karaciğer kanseri, akciğer kanseri, prostat kanseri gibi belirli organlarda başlayan kanser türleri vardır. Her kanser türü, belirli semptomlar ve tedavi seçenekleri gösterebilir (National Cancer Institute, 2017).

Kanser, sağlıklı hücrelerin kötü huylu hücrelere dönüşmesiyle meydana gelen çok aşamalı bir biyolojik süreçtir. Bu dönüşüm sırasında, hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalmasına neden olan onkogenlerdeki aktivasyon ya da artışlar ile, normalde hücre büyümesini düzenleyip sınırlayan tümör baskılayıcı genlerin işlev kaybı gibi önemli genetik değişiklikler görülebilir. Bu tür genetik değişimlerin oluşumunda, hem organizmanın iç yapısına bağlı faktörler hem de çevresel etkenler rol oynayabilmektedir (National Cancer Institute, 2017).

İç faktörler, kısmi hasara ya da hasara yol açabilen nokta ve çerçeve kayması mutasyonlarını içerir. Yine protein fonksiyonunda tam kayıp, kromozomal kırılmalar veya yeniden düzenlemeler, belirli DNA bazlarının içsel kimyasal kararsızlığı, epigenetik değişiklikler, hormon seviyeleri, metabolik süreçler tarafından üretilen serbest radikaller ve bağışıklık sistemi değişiklikleri kötü huylu tümör oluşumunun nedenlerindedir. Dış faktörler ise viral veya bakteriyel enfeksiyonlar, iyonlaştırıcı veya UV radyasyonu, kimyasal kanserojenlere maruz kalmak ve sigara içmek arasında sayılabilir. Hem iç hem de dış faktörler, kanser büyümesini başlatmak veya teşvik etmek için genetik ve hücresel sistemleri değiştirir (American Cancer Society, 2023).

Amerikan Kanser Derneği, yalnızca ABD’de yaklaşık 1,5 milyon yeni kanser vakasının ortaya çıkacağını ve farklı kanser türleriyle ilişkili çoklu organ yetmezliği nedeniyle yarım milyon ölümün gerçekleşeceğini tahmin etmişti (American Cancer Society, 2023). Dünya Sağlık Örgütü, kanserin dünya çapında başlıca ölüm nedeni olduğunu ve 2008 yılında 7,6 milyon ölümün (tüm ölümlerin %13’ü) gerçekleştiğini açıkladı. Sağlık Bakanlığı 2020 yılı verilerine göre, Türkiye’de yaşa göre standardize edilmiş kanser görülme sıklığı erkeklerde her 100.000 kişide 233,6, kadınlarda ise 162,8 olarak kaydedilmiştir. Bu verilere dayanarak, toplam kanser insidansı 100.000 kişide 198,2 olarak hesaplanmaktadır. Aynı yıl içerisinde ülke genelinde 195.581 kişiye yeni kanser tanısı konmuştur (T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, 2022).

1.2.2. Kanser Tedavisi

Kanserin hangi aşamada olduğuna ve türüne bağlı olarak birçok kanser tedavi yöntemi bulunmaktadır. Kanser tedavisinde özel bir teknik veya yöntem yoktur. Kansere yakalanan kişinin tanı ve durumuna göre birden fazla tedavi seçeneği bulunur. Bu seçenekler arasında kemoterapi, cerrahi, radyoterapi, hormonal tedavi, immünoterapi ve hedefe yönelik tedaviler yer alır. Bazı durumlarda tedavi planında, tedavi için maksimum etkiyi elde etmek amacıyla çoğu tedavide bu yöntemler birleştirilebilir (Colbert ve Jhingran, 2020).

Kanser için uygulanan tedavilerin her birinin hastaya özgü yan etkileri vardır. Böyle durumlarda doktorun tedavi planıyla birlikte hasta ve ailesiyle konuyu tartışması ve tedaviden önce hasta ve yakınlarının onayını alması gereklidir. Bazı durumlarda, tedaviye başlamadan önce ikinci bir görüş almak da faydalı olabilmektedir (Colbert ve Jhingran, 2020).

Kanser tedavisinde amaç, kanserli olan bölgenin bitişik doku ve hücrelere zarar vermeden tamamen ortadan kaldırılmasını sağlamaktır. Ancak kanser hücrelerinin yayılma eğilimi yüksektir; bu nedenle bu hedefe ulaşmak genellikle zor olabilir. Örneğin, kemoterapi ve radyoterapi gibi tedavi yöntemleri sağlıklı olan normal dokular üzerinde olumsuz yan etkilere neden olabilir (Crane ve Baker, 1999).

Kanser tedavisinin temel amacı, kanseri tedavi etmek ve mümkünse tamamen ortadan kaldırarak iyileştirmektir. Bu amaç mümkün olmadığında, tedavi planı kanseri kontrol altına almayı ve hastanın yaşam kalitesini en üst düzeyde tutmayı hedefler (Crane ve Baker, 1999).

1.2.3. Kanserde Tedavi Yöntemleri

Kanser tedavileri, teknolojik gelişmelerle birlikte, altında yatan biyolojik süreçlerin anlaşılması artmış; böylelikle büyük değişikliklere uğramıştır. Geçmişte kanser tedavilerinde çeşitli yöntemler uygulanmış olup, günümüzde de hedefe yönelik tedavi gibi birçok yenilikçi tedavi yöntemi uygulanmaktadır. Kanser dokularının biyolojik süreçlerine ilişkin yeni bilgiler ve anlayışlar düzenli olarak ortaya çıktığı için, tedavinin etkinliğini ve kesinliğini artıracak; böylece hastaların hayatta kalmalarını sağlayacak ve yaşam kalitelerini artıracak yeni tedavi prosedürleri ve planları geliştirilmekte ve değiştirilmektedir. Kanser cerrahi, kemoterapi, hormonal tedavi, radyasyon tedavisi, immünoterapi, hedefe yönelik tedavi vb. yöntemlerle tedavi edilebilir (Wang vd., 2018).

- Cerrahi

Kanserin cerrahi yöntemle tedavisi, hematolojik olmayan kanserlerde yaygın olarak uygulanmaktadır. Cerrahi yöntemle cerrah, kanserli dokuları vücuttan uzaklaştırır. Cerrahi prosedür, kanseri tamamen veya kısmen tedavi edebilir. Kanserin türüne ve kişinin sağlık durumuna bağlı olarak cerrahi işlemin yan etkileri olabilir. Kanser vücudun diğer bölgelerine metastaz yapmışsa cerrahi işlemle kanserin tamamen ortadan kaldırılması mümkün değildir. Kanserin cerrahi işlemle tedavisi, lokalize ve tümör boyutu küçük olan kanserlere yapılabilmektedir. Cerrahi işlemlerle kanser tedavilerinin bazıları; örneğin meme kanserinin mastektomisi, beyin cerrahisi ile beyin tümörü, prostat kanseri için prostatektomi, böbrek kanseri, akciğer kanseri, karaciğer kanseri vb. yapılabilmektedir. Cerrahide amaç, lokal olarak büyümüş tümörün çıkarılması ya da bölgenin çıkarılmasıdır. Eğer organa tamamen yayılmışsa, tüm organ çıkarılmalıdır. Kanser hücreleri cerrahi prosedürle tamamen ortadan kaldırılamaz ve gözle görülmeyen tek bir kanser hücresinin varlığı bile yeniden büyüyerek yeni bir tümöre dönüşebilir ve vücudun diğer bölgelerine yayılabilir. Patolog tarafından biyopsi yapılarak kanserin yeniden ortaya çıkma olasılığı değerlendirilebilir (Wang vd., 2018).

Cerrahi olarak çıkarılan dokular, sağlıklı dokuların varlığı açısından analiz edilir. Sağlıklı veya kanserli dokuların varlığı değerlendirilerek hastada kalan kanserli doku miktarı analiz edilebilir; ki bu analiz, kanserin hangi evrede olduğunun

belirlenmesinde faydalıdır. Kemoterapi gibi diğer tedavi yöntemi, cerrahi işlemle etkilenen dokuların çıkarılmasından önce ya da sonra yapılabilir (Wang vd., 2018).

- Kemoterapi

Kemoterapi, antikanser ilaçları olarak bilinen ve genellikle kanser hücrelerini öldürmek ve yok etmek için kullanılan bir tedavi yöntemidir. Bu ilaçlar tümörlerin büyümesine müdahale eder ve hatta kanser hücrelerini yok eder. Kemoterapi, genellikle kanser tedavilerinde etkili bir yöntem olarak kabul edilir; ancak sağlıklı hücreleri veya dokuları da yok edebileceğinden dolayı ciddi yan etkilere neden olabilir. Kemoterapi tedavisinin neden olduğu yan etkiler, kanserin türüne, bulunduğu yere, tedavide kullanılan ilaçların türüne ve kişinin kemoterapi tedavisine verdiği cevaba bağlıdır. Kanser hastalarında görülen yan etki, tedavinin etkisi ile ilgili değildir; tedavi süresi tamamlandığında etkileri de ortadan kalkar. Kemoterapi tedavileri genellikle bir kişiye belirli sayıda aralıklarla veya belirli bir süre boyunca ölçülen miktarda reçete edilir. Bazı durumlarda kemoterapi, iki ya da daha fazla ilaçla aynı anda uygulanır. Bu tedavi yöntemine kombinasyon kemoterapisi denir (Crane ve Baker, 1999).

- Hormonal Tedavi

Hormon tedavisi, büyümesi ve yayılması bu kimyasallara bağlı olan belirli kanser türlerini tedavi etmek için vücuttaki hormon miktarını değiştirerek kanserle savaştır. Bu tedavi yöntemi meme, üreme sistemi ve prostat kanserlerinin tedavisinde kullanılmaktadır. Hormon tedavisinin yan etkileri kanserin türüne, hasta kişinin yaşına, cinsiyetine ve tedavilerinde kullanılan ilacın türüne bağlıdır (Loibl vd., 2021).

- Radyasyon Tedavisi

Radyasyon tedavisi yöntemi, kanser tedavilerinde kanser hücrelerini öldürmek ve tümör dokularını yok etmek için yüksek dozda radyasyondan yararlanır. Kullanılan radyasyon genellikle iyonlaştırıcı radyasyondur. Bu tedavi yöntemi genellikle tümörlerin çıkarılması veya boyutunun küçültülmesi için yapılan ameliyatla birlikte kullanılır. Radyasyon terapisi genellikle harici veya dahili olarak istenilen bölgeye iletilir. Dahili veya harici olarak verilen radyasyon tedavisinde iyonlaştırıcı radyasyonlar nedeniyle normal hücreler zarar görebilir. Kanserli bölgeye veya tümöre verilecek radyasyonun dozu kişinin yaşına, tümörün yerine, radyasyon kaynağının yakınındaki doku ve organların olası yan etkilerine bağlı olarak değişir. Kanser hücreleri normal hücrelere göre daha hızlı bölünür ve büyür. Radyasyon terapisi, ölçülen verileri sağlamak için özel ekipmanlar kullanır. Tedavi kanser hücrelerine radyasyon dozları verilerek gerçekleştirilir. DNA'ya doğrudan ya da serbest radikaller yaratarak hücrelerin içerisine girer, tümürlü hücre DNA'sına zarar vererek onları öldürür. Bu tedavide X-ışınları gibi yüksek enerjili iyonlaştırıcı radyasyon kullanılır. Bu tedaviler genellikle sadece yetişkinlerde ve çocuklarda kullanılır (Baskar vd., 2012).

- İmmünoterapi

Bağışıklık sisteminin kanserle savaşmasına yardımcı olan kanser tedavisi yöntemidir. Aynı zamanda hastanın vücudundaki hastalıkla mücadele mekanizmasını kanserle savaşmak için uyaran biyolojik tedavi yöntemi olarak da bilinir. Kanser hücrelerine bağlanarak spesifik protein fonksiyonunu bloke eden ve bağışıklık sistemini kanser hücrelerini tanıması ve saldırması için eğiten monoklonal antikorlar gibi immünoterapi yoluyla kanseri tedavi etmek için çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu tedavi yöntemi güvenlidir ve önemli bir yan etkisi yoktur (Wang vd., 2022).

- Hedefe Yönelik Tedavi

Hedefe yönelik tedavi, kanser hücrelerinin büyümesini, bölünmesini ve yayılmasını yeniden sağlayan hücreleri hedef alır. Hedefe yönelik tedavi, kanser hücrelerinin düzensiz proteinleri için spesifik ajanlar kullanır. Küçük molekül hedefli tedavi ilaçları genellikle kanser hücreleri içindeki mutasyona uğramış, aşırı eksprese edilmiş veya başka türlü kritik proteinler üzerindeki enzimatik alanların inhibitörleridir (Jachowski vd., 2023).

1.3. Meme Kanseri

Meme kanseri, Dünya Sağlık Örgütü'nün son verilerine göre, dünya çapında en yaygın teşhis edilen kanser olarak sıralanmaktadır ve milyonlarca kadının sağlığını ve yaşamlarını etkilemektedir (Zeng vd., 2021). Kadınlar arasında görülen heterojen bir hastalık örneğidir. Meme kanserinin en saldırgan türü TNBC'dir ve tüm türlerin yaklaşık %15-25'ini oluşturur. TNBC'nin tedavisi zordur çünkü ER, PR ve HER2 reseptörlerinin ekspresyonundan yoksun oldukları için HER2 terapileri ve hormonlar üzerinde herhangi bir etkisi yoktur. Meme kanseri sistemik metastatik bir hastalıktır ve metastaz kaynaklı mortalite yüksektir (Kondov vd., 2018).

Meme kanseri çeşitli fiziksel, kimyasal ve çevresel faktörlere bağlı olarak tetiklenebilir. Ayrıca nesiller boyunca aktarılan genetik değişimler de kanserin ortaya çıkmasına neden olabilir. Kanser iyi huylu olduğunda, tedavi etmek için çeşitli terapötik yaklaşımlar mevcuttur. Kötü huylu olması durumunda ise kanser, vücudun diğer bölgelerine yayılabilir ve ölüme yol açabilir. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, başta meme kanseri olmak üzere çeşitli kanserlerin tedavisinde bor türevli bileşiklerin kullanımına odaklanmaktadır. Bu ilaçlar kemo-ilaçlara kıyasla minimum yan etkiye neden olduklarından, diğer tedavi yöntemlerine iyi bir alternatif olabilir (Redig vd., 2013).

Dünya çapında kadınlar arasında en yüksek morbiditeye sahip olmasıyla birlikte, nadiren erkeklerde de ortaya çıkabilir. Meme kanseri genellikle memedeki süt kanalları veya süt bezlerinde başlar. Meme kanserinde erken tanı ve kombine kemoterapi yaklaşımları sayesinde bu kanser türünün ölüm oranları azalmaktadır. 2020 Global Cancer Statistics (GLOBOCAN) verilerine göre, meme kanseri tüm kanser vakalarının %11,7'sini oluşturmakta ve 685.000 ölümlerle kanserden ölüm nedenleri arasında beşinci sırada yer almaktadır. Meme kanseri, dünyada her yaşta kadın arasında görülme sıklığı %24,5 olup, ölüm oranı %15,5 ile kadınlar arasındaki en yüksek kanser türüdür (Sung vd., 2021).

Meme kanserinin prevalansı ve mortalitesi yaşa bağlı olarak artmakla beraber, yeni meme kanseri vakalarının yaklaşık %95'i 40 yaş ve üzeri kadınlarda ve çoğunlukla gelişmiş ülkelerde görülmektedir. Ayrıca gelişmiş ülkelerde ölüm oranları da daha düşük olmaktadır. Bu durumun sebebi, gelişmiş ülkelerde düzenli olarak yapılan tarama programlarının neticesinde erken teşhisle beraber tedavi olanaklarının sunulmasıdır (Sung vd., 2021).

1.3.1. Meme Kanseri Risk Faktörleri

Meme kanserinin genetik ve çevresel risk faktörlerine ilişkin pek çok önemli epidemiyolojik çalışma bulunmaktadır. Kadınların meme kanserine yakalanma oranlarının erkeklere göre çok daha yüksek olduğu bilinmektedir; bu nedenle kadın olmak başlı başına bir risk faktörüdür. 2019 yılında Amerika'da kadınlarda 266.120 invaziv (çevre dokulara yayılmış) ve 63.960 invaziv olmayan (çevre dokulara yayılmamış) yeni meme kanseri vakası teşhis edilmiştir. Bu duruma karşılık, sadece 2.550 erkek meme kanseri tanısı almıştır; bu da toplam vakanın yaklaşık olarak %1'ine denk gelmektedir. Bu cinsiyet farkının temel nedenlerinden biri, kadınlarda hormonal uyarımın erkeklere göre daha fazla olmasıdır (Kaaks vd., 2005).

Vücut kitle endeksinin yüksek olması, yetersiz fiziksel aktivite, obezite, hormon düzeyleri, yüksek alkol tüketimi ve sigara kullanımı gibi faktörler, meme kanseri riskini artıran köklü risk faktörleri olarak kabul edilmektedir (Torabi vd., 2021).

DeneySEL ve epidemiyolojik çalışmalarda hormonal seviyeler göz önüne alındığında, androjenler ve östrojenler gibi endojen seks steroidlerinin düzeylerinin yüksek olması, meme kanseri gelişimini artırabileceğini göstermiştir. Menopoz sonrası hormon replasman tedavisi sırasında artan östrojen seviyelerine uzun süre maruz kalmak, meme kanseri riskinin artmasıyla ilişkilidir (Kaaks vd., 2005).

Erken yaşta menarş (ilk adet döngüsü), ileri yaşta hamilelik ve hiç doğum yapmama, hormonal seviyelere uzun süre maruz kalmanın bir sonucu olarak meme kanseri için bilinen risk faktörlerindedir. Bunun aksine, genç yaşta doğum yapmak ve emzirmek, meme kanseri riskini azaltmada koruyucu bir rol oynamaktadır (Russo vd., 2005).

Epidemiyolojik çalışmalar, BRCA1 ve BRCA2 genlerinin yüksek penetranslı genetik mutasyonlar olarak meme kanserine neden olduğunu göstermektedir. Bu genler, meme dokusunda yüksek düzeyde eksprese edilir ve DNA'nın çift sarmallı

kırılma onarımında önemli bir rol oynar. BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları, ailesel meme kanseri vakalarının %15-20'sinden sorumludur (Loibl vd., 2021).

Aile öyküsü önemli bir risk faktörüdür; meme kanseri hastalarının yaklaşık olarak %20'sinin birinci derece akrabalarında bu hastalık bulunmaktadır. Ayrıca genetik polimorfizmler de meme kanseri için risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Örneğin, XRCC2 ve XRCC3'ün tek nükleotid polimorfizmleri, DNA çift zincir kırılmasının homolog rekombinasyonunda rol oynar ve meme kanseri riskini etkileyebilir (Turnbull ve Rahman, 2008).

Değişmeyen genetik risk faktörlerine rağmen, yaşam tarzı değişiklikleriyle birçok meme kanseri risk faktörü azaltılabilir. Hormon tedavilerinden kaçınmak, sağlıklı kiloda kalmak, alkol ve tütün kullanımını sınırlamak ve besleyici gıdalar tüketmek, meme kanseri riskini azaltmada yardımcı olabilir (Torabi vd., 2021).

1.3.2. Meme Kanseri Biyobelirteçleri ve Alt Tipleri

Östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR), insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) ve Ki67, meme kanserinin prognozunda önemli tanısal ve öngörücü biyobelirteçlerdir. ER, ER α ve ER β olarak iki formda bulunur; ancak ER α formu, ER fonksiyonunun en sık doğrulandığı form olduğundan genellikle sadece ER olarak anılır. Östrojen reseptörü alfa (ER α), invaziv meme kanserlerinin %70'inde eksprese edilir ve kanserin onkolojik büyümesiyle ilişkilidir (Loibl vd., 2021).

Endokrin tedavide, ER ve PR pozitif hastalar tamoksifen (seçici östrojen reseptör modülatörü), anastrozol, letrozol, eksemestan ve fulvestrant gibi östrojen reseptör baskılayıcılarla tedavi edilir. Bu nedenle ER ve PR, endokrin tedavi belirteçleri olarak hedeflenir. Yapılan birçok çalışma, ER veya PR pozitif hastaların tüm meme kanseri vakalarının %60'ını oluşturduğunu ve reseptör pozitif tümörlerin endokrin tedaviye daha iyi yanıt verdiğini göstermektedir (Shi vd., 2019).

HER2 (ERBB2) ise meme kanserlerinin %20'sinde aşırı eksprese edilir ve bu tür kanserlerde farklı tedavi yaklaşımları gerekmektedir. Üçlü negatif meme kanseri, meme kanseri vakalarının %15'ini oluşturur ve ER, PR, HER2 negatif olan bu tür, en invaziv meme kanseri türü olarak bilinir (Abd El-Rehim vd., 2005).

Klasik immünohistokimya (IHC) belirteçleri olan ER, PR, HER2 ve Ki67 düzeyleri, meme kanseri alt tiplerinin belirlenmesinde anahtar rol oynar. Meme

kanseri sınıflandırması ve alt tiplendirilmesi, 456 meme kanseri cDNA klonu kullanılarak belirlenmiş ve tümörler, gen ekspresyon modellerine göre altı alt tipe ayrılmıştır. Bu alt tipler şunlardır: Luminal A, Luminal B, HER2 aşırı ekspresyonlu, bazal benzeri, normal benzeri ve klaudin düşük alt tipleri (Shi vd., 2019).

1.3.3. Meme Kanseri Tanı ve Tedavisi

Meme kanseri genellikle ağrı ya da elle hissedilebilen bir kitle gibi belirtilerle ortaya çıkması durumunda yapılan tarama veya tanı muayeneleri sonucunda teşhis edilir. Sağlıklı bireylerde yapılan düzenli taramalar, daha küçük boyutlu, metastaz riski düşük, meme koruyucu cerrahi ve sınırlı aksiller müdahalelerle tedavi edilebilecek tümörlerin saptanmasına olanak tanır. Ayrıca bu şekilde tespit edilen tümörlerde kemoterapiye duyulan ihtiyaç da azalabilir. Erken tanı, tedaviye bağlı yan etkilerin hafiflemesini sağlarken, hastaların yaşam süresini ve kalitesini artırır (McDonald vd., 2016).

Meme kanserine bağlı ölüm oranını azalttığı bilimsel olarak kanıtlanmış tek tarama sistemi mamografidir. Yapılan çalışmalar, tarama mamografisinin genel olarak meme kanseri ölüm oranında %19 oranında bir azalma sağladığını göstermektedir. Bu etki yaş gruplarına göre farklılık göstermektedir; örneğin 40'lı yaşlardaki kadınlar için fayda %15 düzeyindeyken, 60'lı yaşlardaki kadınlarda bu oran %32'ye kadar çıkmaktadır. Amerikan Kanseri Derneği, mamografi taramasına 45 yaşından itibaren başlanmasını veya tercihe bağlı olarak daha erken yaşlarda yapılmasını önermektedir. Klinik uygulamalarda hastalıklı dokular genellikle ince iğne aspirasyonu, çekirdek biyopsisi veya cerrahi eksizyon yöntemiyle elde edilir. Ayrıca immünohistokimyasal ve moleküler testler, belirsiz morfolojik özelliklerin değerlendirilmesine yardımcı olabilir (McDonald vd., 2016).

Doku işleme sürecinin çeşitli aşamaları, örneğin iskemik süre, yakma, dondurulmuş kesitlerin kullanımı, fiksasyon, dekalsifikasyon ve doku işleme yöntemleri; mikroskopik değerlendirme ile immünohistokimya (IHC), in situ hibridizasyon ve ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu gibi moleküler testlerin başarısı açısından kritik öneme sahiptir. Histolojik kesitlerin kalitesini doğrudan etkileyen bu faktörler, tanı koyma sürecinde kullanılan yöntemlerin güvenilirliğini artırmak için dikkatle yönetilmelidir (National Cancer Institute, 2017).

Tümör boyutu, dikkatli bir klinik ve patolojik korelasyonla belirlenir. Meme kanserinde tümör bir başlangıç noktasından dışa doğru belirgin bir kitle oluşturduğunda, boyut genellikle görüntüleme yöntemleri ve brüt patolojik inceleme

ile kolayca değerlendirilebilir. Ancak tümör, genetik instabilitenin belirgin olmadığı bir bölgede ortaya çıkmışsa ve içinde normal doku bulunuyorsa doğru boyutlandırma zorlaşabilir (National Cancer Institute, 2017).

Meme kanseri tedavisinde cerrahi yöntem, radyasyon tedavisi, kemoterapi, hormon tedavisi, hedefli terapi ve immünoterapi, yukarıda kanserde tedavi yöntemlerinde belirtildiği gibi, bu tedavi yöntemlerinden biri hastanın durumuna uygun olarak doktor kontrolünde belirlenerek uygulanabilir (McDonald vd., 2016).

1.4. Apoptozis

Apoptoz, hücre doğumu ve hücre ölümü arasındaki homeostatik dengeyi sağlamak için düzenli olarak meydana gelen programlanmış hücre ölümüdür. Apoptoz, bir embriyonun gelişiminden bir organizmanın büyümesine kadar olan süreçte, dokuların yenilenmesine ve iltihaplı hücrelerin ortadan kaldırılmasına katkıda bulunduğu kritik öneme sahiptir (Obeng, 2020).

Morfolojik olarak apoptozun belirlenmesi, DNA parçalanması, kromatin yoğunlaşması ve sitoplazmanın sıkışması ile kendini gösterir. Hücrede karyokinez (çekirdek bölünmesi) ile plazma membranının kabarcıklaşması sonucu çekirdeğin kırılması gerçekleşir; ardından hücrelerin çevresindeki dokulardan ayrılmasına ve sitoplazmada sıkıca paketlenmiş organellerle gömülü hücre parçalarına ayrılmasına yol açar. Daha sonra apoptozik gövde olarak adlandırılan bu sıkı cisimler tomurcuklanma sürecini üstlenir. Son olarak, hücre zarından hücre yüzey işaretlerinin (fosfatidilserin) salınması, bazı hücrelerin makrofajlar ve parankima gibi bu cisimleri fagosite etmelerini ve ayrıca ikincil nekrozu önlemelerini destekler (Moyer vd., 2025).

1.4.1. Apoptozisin Moleküler Mekanizmaları ve Kanserle İlişkisi

Protein parçalanması, DNA yıkımı ve fagositik parçalanma gibi olaylar biyokimyasal süreçler aracılığıyla gerçekleşir. Bu süreçteki temel aktörler kaspazlardır. Kaspazlar, aktive olduklarında aspartik kalıntıların parçalanmasından sorumlu sistein proteazlar olup, dolayısıyla sisteine bağımlı aspartat-spesifik proteazlardır. Aktif hale geldiklerinde diğer pro-kaspazları da aktive ederek proteaz kaskadını başlatır ve hücre ölümü sürecini yürütürler (Holler vd., 2000).

Apoptoz, içsel ve dışsal olmak üzere iki farklı yoldan aktive edilir. Her iki yol da, işlevlerine göre sınıflandırılan kaspazların aktivasyonu ile gerçekleşir (Moyer vd., 2025).

İçsel Apoptotik Yolak (Mitokondriyal Yol)

Mitokondriyal yolak, hücre içi stres faktörlerinin tetiklemesiyle mitokondri aracılığıyla ilerleyen programlı hücre ölüm mekanizmasıdır. Bu yol genellikle DNA hasarı, oksidatif stres, büyüme faktörü eksikliği, hipoksi veya endoplazmik retikulum stresi gibi içsel bozulmalar sonucunda aktive olur (Obeng, 2020). Sürecin başında, hücre içi stres sinyalleri BH3-only proteinlerini (örneğin BIM, PUMA, NOXA) aktive eder. Bu proteinler, BCL-2 ailesi üyeleri arasındaki dengeyi düzenleyen pro-apoptotik (BAX, BAK) ve anti-apoptotik (BCL-2, BCL-XL) proteinlerle etkileşir (Youle ve Strasser, 2008). Pro-apoptotik BAX ve BAK, mitokondrinin dış zarında oligomerleşerek mitokondri dış membran geçirgenliğini (MOMP) oluşturur. Sonuçta mitokondriden sitokrom c, SMAC/DIABLO ve AIF gibi pro-apoptotik faktörler sitoplazmaya salınır (Elmore, 2007).

Sitoplazmaya salınan sitokrom c, Apaf-1 ve ATP ile birleşerek apoptozom adlı heptamerik protein kompleksini oluşturur. Apoptozom, prokaspaz-9'un aktif formuna dönüşmesini tetikler ve böylece kaspaz kaskadının başlatıcısı olan kaspaz-9 aktive olur. Sonrasında yürütücü kaspazlar olan kaspaz-3, -6 ve -7 aktifleşerek hücre iskeleti proteinlerini ve DNA'yı parçalayan mekanizmaları devreye sokar (Fulda ve Debatin, 2006). Bu süreç sonunda hücre küçülür, çekirdek yoğunlaşır, DNA fragmente olur ve apoptotik cisimcikler oluşarak fagositik hücreler tarafından temizlenir. Ayrıca, p53 tümör baskılayıcı proteini DNA hasarını algılayarak BAX ve PUMA gibi pro-apoptotik genlerin ekspresyonunu artırmak suretiyle mitokondriyal yolağı düzenler (Hanahan ve Weinberg, 2011).

İçsel apoptotik yolun düzgün işleyişi homeostaz için yaşamsaldır. Bu yolaktaki bozukluklar, kanser gibi hücre ölümüne direnç gelişen hastalıklarda görülür. Örneğin, BCL-2'nin aşırı ekspresyonu hücrelerin apoptozdan kaçmasına ve tümör oluşumuna zemin hazırlar (Youle ve Strasser, 2008). Bu nedenle, içsel yolak molekülleri hedefe yönelik kanser tedavilerinde yoğun biçimde araştırılmaktadır (Wong, 2011).

Dışsal Apoptotik Yolak

Dışsal apoptotik yolak, hücre dışı sinyallerle tetiklenen bir ölüm mekanizmasıdır. Fas (CD95), TNFR1 veya TRAIL reseptörleri (DR4/DR5) gibi tümör nekroz faktör süperfamilisi üyeleri, ilgili ligantları (FasL, TNF- α , TRAIL) ile etkileşerek reseptör trimerizasyonu sağlar (Moyer vd., 2025). Bu trimerleşme, ölüm alanı (death domain, DD) adaptör proteinleri FADD veya TRADD'in bağlanmasını

sağlar. Adaptörler DISC (death-inducing signaling complex) adlı kompleks oluşturur ve inaktif prokaspaz-8 ve/veya prokaspaz-10'u çeker. DISC içinde, prokaspaz-8 "induced proximity" mekanizması ile aktive olur ve ardından kaspaz-8, efektör kaspazlar olan kaspaz 3, 6 ve 7'yi aktive ederek hücre yıkımını başlatır (Fulda ve Debatin, 2006).

Ayrıca, kaspaz-8 tarafından kesilen BID proteini (tBID), mitokondriye geçerek mitokondri dışı membran geçirgenliğini indükler ve içsel yolakla çapraz etkileşimi sağlar (Elmore, 2007; Moyer ve ark., 2025). Bu, ölüm sinyalinin etkinliğini artırır ve hücre ölümünü pekiştirir. DISC oluşumunun bozulması veya adaptörlerin (örneğin c-FLIP) aşırı ekspresyonu, dışsal apoptotik yolda hücre direncine yol açabilir; bu mekanizma bazı kanser hücrelerinde tedavi direncinin temel nedenlerindedir (Wong, 2011).

Doğal öldürücü (NK) hücreler ve CD8+ sitotoksik T hücreleri, FasL veya TRAIL gibi ligantlar aracılığıyla dışsal apoptotik yolu tetikleyerek enfekte veya transformasyona uğramış hücreleri ortadan kaldırır. Bu yolak, bağışıklık sistemi ile doku homeostazının korunmasında kritik rol oynar (Obeng, 2020).

Apoptoz ve Kanser İlişkisi

Apoptoz, doku homeostazının korunması ve anormal hücrelerin elimine edilmesi için kritik bir biyolojik süreçtir (Obeng, 2020). Hasar görmüş veya mutasyona uğramış hücreler apoptoz yoluyla yok edilir. Bu sürecin bozulması, özellikle apoptoz sinyal yollarının inaktivasyonu veya anti-apoptotik proteinlerin aşırı ekspresyonu, kanserin temel patofizyolojik mekanizmalarındandır (Hanahan vd., 2011). Örneğin, BCL-2'nin aşırı ifadesi hücreleri ölüm sinyallerine dirençli kılarak tümör oluşumuna zemin hazırlar (Youle ve Strasser, 2008). Ayrıca, p53 tümör baskılayıcı geninin inaktivasyonu, hücrelerin apoptozdan kaçmasına yol açar (Hanahan ve Weinberg, 2011). p53, DNA hasarını tespit ettiğinde hücre döngüsünü durdurur, onarım ya da apoptoz mekanizmalarını tetikler. Bu nedenle p53 mutasyonları birçok kanserde sık görülür ve hücre kontrolsüz çoğalır. Bazı kanser hücreleri ise ölüm reseptörlerini baskılayarak dışsal apoptotik yoldan kaçabilir (Moyer vd., 2025).

Kemoterapi ve radyoterapi gibi kanser tedavileri genellikle apoptozu indükleyerek etkisini gösterir (Fulda ve Debatin, 2006). Ancak apoptoz yollarındaki bozukluklar tedaviye direnç gelişimine yol açabilir (Wong, 2011). Bu nedenle, günümüzde hedefe yönelik terapilerde BCL-2 inhibitörleri, p53 aktivatörleri

ve kaspazları aktive eden ajanlar önemli araştırma alanlarıdır. Sonuç olarak, apoptozun baskılanması kanser gelişimi ve ilerlemesinde temel bir faktör olarak kabul edilirken, bu yolun yeniden aktive edilmesi tedavi başarısı için kritik görülmektedir (Hanahan vd., 2011).

1.5. Kanser Tedavisinde Bor

1932 yılında ilk kez Sir James Chadwick, Boron-10'un (^{10}B) nötronu yakalayabildiğini keşfetti. Borun çeşitli yapısal özellikleri ve esnekliği, 1936'da Gordon tarafından bir antikanser ajanı olarak kullanılarak ilk kez anlaşılmasını sağlamıştır. L. Locher ise mevcut kemoterapiye alternatif olan Bor Nötron Yakalama Terapisi'ni (BNCT) keşfetmiştir. Bu terapide prosedür olarak radyoaktivite teorileri kullanılmaktadır ve onkolojide de uygulamaları vardır. Başlangıçta terapötik bir ajan olarak başlayan şey, kanserden sorumlu çeşitli vücut reseptörlerini hedef alan bor içeren küçük moleküllerin sentezlenmesiyle kısa sürede fizyolojik alanda geniş bir çalışma dalı haline gelmiştir. Kimyanın gelişmesiyle birlikte daha yeni sentetik prosedürler, borun birden fazla izoformunu içeren daha benzersiz moleküllerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Borik asidin antiseptik ve antibakteriyel olduğu konusundaki ön bilgiler sayesinde bor içeren bileşikler kanser immünoterapisinde de kullanılmıştır (Seneviratne vd., 2023).

Meme kanserinin en saldırgan türü TNBC'dir ve tüm türlerin yaklaşık %15-25'ini oluşturur. TNBC'nin tedavisi zordur; çünkü ER, PR ve HER2 reseptörlerinin ekspresyonundan yoksun oldukları için HER2 terapileri ve hormonlar üzerinde herhangi bir etkisi yoktur. Meme kanseri sistemik metastatik bir hastalıktır ve metastaz kaynaklı mortalite yüksektir (Kondov vd., 2018). Meme kanseri çeşitli fiziksel, kimyasal ve çevresel faktörlere bağlı olarak tetiklenebilir. Ayrıca nesiller boyunca aktarılan genetik değişimler de kanserin ortaya çıkmasına neden olabilir. Kanser iyi huylu olduğunda tedavi etmek için çeşitli terapötik yaklaşımlar mevcuttur; kötü huylu olması durumunda ise kanser vücudun diğer bölgelerine yayılabilir ve ölüme yol açabilir (Redig vd., 2013).

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, başta meme kanseri olmak üzere çeşitli kanserlerin tedavisinde bor türevli bileşiklerin kullanımına odaklanmaktadır. Bu ilaçlar, kemo-ilaçlara kıyasla minimum yan etkiye neden olduklarından diğer tedavi yöntemlerine iyi bir alternatif olabilir (Redig vd., 2013).

Prostat kanseri, 2020 yılında tahminen 1.414.000 yeni kanser vakası ve 375.304 ölüm ile dünya çapında erkekler arasında en sık teşhis edilen ikinci kanser

ve beşinci önde gelen kanser ölüm nedenidir (Sung vd., 2021). Nüfusun yaşlanması ve ekonomik büyüme nedeniyle prostat kanseri yükünün artacağı düşünülmektedir (Culp vd., 2020). Erken evrelerde prostat kanseri için standart tedavi radikal prostatektomi ve lokal radyoterapidir, ancak bu tedavi çoğunlukla tümör nüksü ve kemik ile akciğer gibi vücut bölgelerine metastaz ile sonuçlanır. Metastazı takiben hastalar sistemik kemoterapi ve androjen deprivasyon tedavisi (ADT) ile tedavi edilir (Teo vd., 2019). Başlangıçtaki başarılı yanıtı rağmen tümör hücreleri bu tedavilere dirençli hale gelir. Bu nedenle hastalık daha agresif bir fenotiple nüksederek sonunda ölüme yol açar (Heidenreich vd., 2014). Bu zorluklar göz önüne alındığında, klasik tedavi yaklaşımlarını optimize etmek ve yeni stratejiler geliştirmek oldukça zorunlu hale gelmiştir.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Bor'un Bazı Hastalık ve Bazı Kanser Türlerinde Kullanılması

Borun biyolojik etkilerinin; şekerin sindirimi, minerallerin metabolizması, enzim aktiviteleri ve hematolojik parametreler gibi çeşitli mekanizmalar üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. Bor, insan vücuduna bağırsak epitel yoluyla, mukoza dokuları aracılığıyla (gözler, ağız, idrar yolu gibi) etkili bir şekilde girer. Dokulardaki bor seviyeleri genellikle homeostatik mekanizmalarla kontrol edilir. Daha sonra böbrekler yoluyla vücuttan atılır. Bor, asimilasyon sonrasında kemik dokusunda kandan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bu nedenle diyetle bor alımının durdurulması, kemikteki bor içeriğinde hızlı bir düşüşe neden olabilir. Borun plazma yarı ömrü, ağızdan veya damardan alındığında yaklaşık 21 saat olarak belirlenmiştir (Khaliq vd., 2018).

Bor, Hodgkin dışı lenfoma, prostat kanseri, rahim ağzı kanseri, akciğer kanseri, yumurtalık kanseri ve çeşitli kanser türlerinin tedavisinde ve önlenmesinde etkili olmuştur (Şekil 1.3). Bor içeren bileşiklerin antikanser etkinliği genellikle apoptoz (programlı hücre ölümü) indüksiyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu süreç, hücre proliferasyonunu düzenleyen NF-kappa B, PI3K ve P53 sinyal yollarının inhibisyonu yoluyla gerçekleşir (Liu ve vd., 2021).

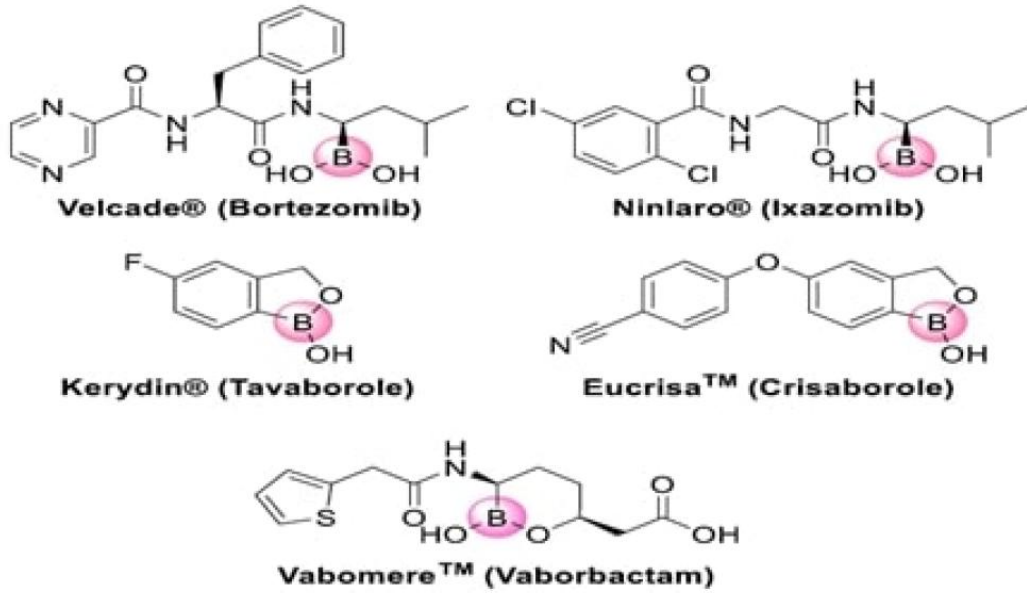
Bu bulgular, borun sağlık üzerindeki çeşitli etkilerini ve potansiyel terapötik kullanımlarını anlamak için yapılan çalışmaların önemini vurgulamaktadır.

Borun kanserli hücrelerde apoptozu indüklediğine dair kanıtlar; akış sitometrisi, ELISA, western blot ve hücre döngüsü analizi gibi çeşitli çalışmalarla desteklenmiştir. Bu çalışmalar, borun DNA hasarı, tümör baskılayıcı genlerin yukarı regülasyonu ve pro-apoptotik faktörler (örneğin; BAX, BAK, CASP-3) gibi mekanizmalar aracılığıyla kanserli hücrelerde apoptozu tetiklediğini göstermektedir. Bor, BCL-2 ile ilişkili hücre ölümü agonisti (BAD) aracılığıyla mitokondriyal membran geçirgenliğini artırarak çalışırken, anti-apoptotik genlerin (BIRC-2, BIRC-5, BCL-2 gibi) aşağı regülasyonunu sağlar. Ayrıca hücre döngüsü üzerinde etkileri vardır; G2/M fazında duraklama, alt G1 fazında artış gibi etkiler gösterir (Liu vd., 2021).

Bor içeren ilaç araştırmaları nispeten geç başlamasına rağmen, çeşitli hastalıkların tedavileri için onaylanmış ilaçlar geliştirilmiştir (Şekil 2.1). İlk onaylanan bor içeren ilaç, Velcade adı altında piyasada bulunan ve 2005 yılında ABD FDA tarafından, 2008 yılında ise Health Canada tarafından multipl miyelom

tedavisi için onaylanan Bortezomid'dir. Ninlaro veya Ixazomib, Bortezomib'e benzer şekilde, 2015 yılında FDA tarafından ve 2016 yılında Health Canada tarafından multipl miyelomun tedavisi için onaylanan ilk oral proteazom inhibitörüdür. Kerydin veya Tavaborole, bir mantar enfeksiyonu olan onikomikozu tedavi etmek için 2014 yılında ABD FDA tarafından onaylanmıştır. Eucrisa™ veya Crisaborole, hafif ila orta dereceli egzamayı tedavi etmek için 2016 yılında ABD FDA ve Health Canada tarafından 2018 yılında onaylandı. Vabomere™, bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için ABD FDA ve Kanada Sağlık Bakanlığı tarafından 2017'de onaylanan bir kombinasyondur. Bir beta-laktamaz inhibitörü olan Vaborbaktam ile bakteriyel hücre duvarı sentezinin bir inhibitörü olan Meropenem'in kombinasyonu halinde kullanılmaktadır (Plescia vd., 2020).

Gelecekte borun antikanser etkilerini daha ayrıntılı olarak anlamak ve terapötik seçiciliğini doğrulamak için ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir.



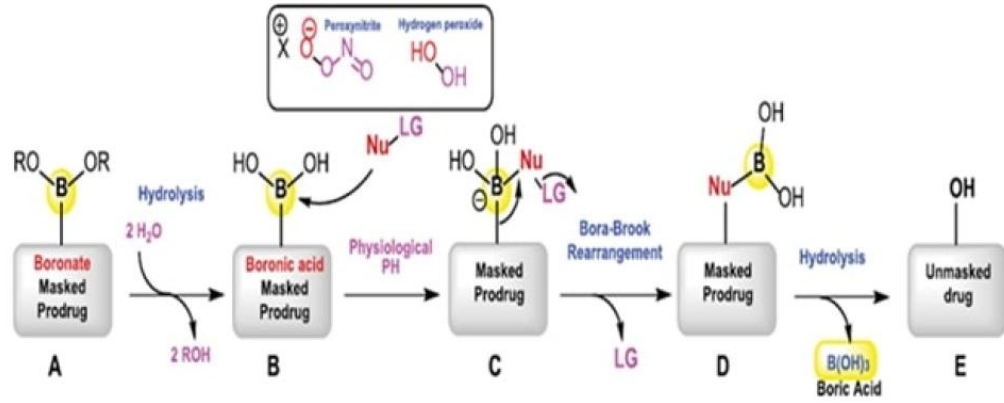
Şekil 2.1. İlaç olarak onaylanmış olan bor içeren bileşikler (Plescia ve Moitessier, 2020).

İlaç yapımında bor, genel olarak boronik asit, boronat ester, benzoksaborol ve heterohalkalı bor formatlarında kullanılmaktadır. Boronik asit türevleri, organik sentezdeki önemli uygulamaya ek olarak, son yıllarda rapor edilen biyoaktif boronik asit içeren bileşiklerin sayısı artmıştır. Bu yeni terapötik ajanların başlıca hedefleri bulaşıcı hastalıklar ve kanserdir. Halihazırda yayınlanmış bileşiklerin çoğu bu uygulamalar için tasarlanmıştır (Fernandes vd., 2019).

Boronik asit/ester işlevsellikleri, glikoproteinlerde ve şeker moleküllerinde yaygın olarak bulunan aromatik veya alifatik alkoller, enoller veya cis-diol sistemleriyle geri dönüşümlü olarak reaksiyona girebilir. Ek olarak, ilaç iskelelerindeki alifatik veya aromatik hidroksillenmiş kısımların boronik asit/ester içeren ön ilaçları da ilk geçiş metabolizmasını azaltarak biyoyumluluğunu artırmak üzere tasarlanmıştır. Bu tür maskeleyen genellikle geçici kısımlar olarak kullanılır ve fizyolojik koşullar altında kolayca çıkarılabilir. Ön ilacın çekirdek yapısına doğrudan amino veya hidroksil işlevselliği kullanılarak karbonat veya karbamat gibi bir ara ürün yoluyla bağlanabilir. Ara parçanın uzunluğu ve hacmi, oksidasyonla giderilebilen biyolojik aktiviteyi etkilemeden daha iyi maskeleyen katkıında bulunmalıdır; bunu takip eden yeniden düzenleme işlemi, fizyolojik pH'ta ana ön ilacın serbest salınımıyla sonuçlandığı gözlemlenmiştir.

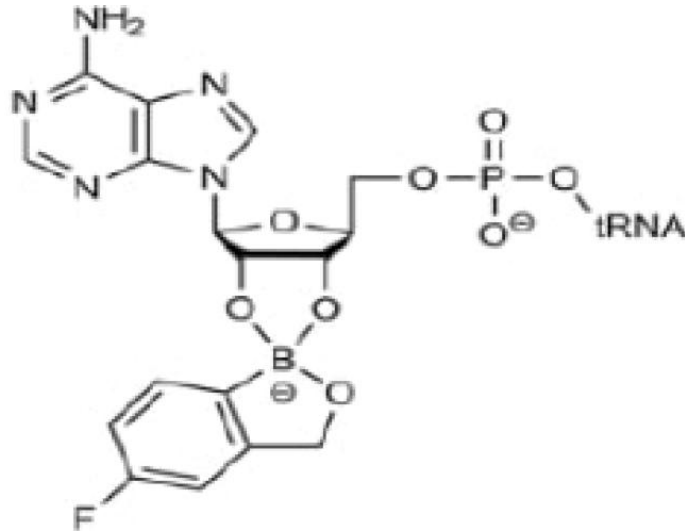
Yapılan bu çalışmada boronik asitler/esterler, ilaç rezervuarı olarak görev yapan ve yüksek seviyelerde reaktif oksijen türleri (ROS) ile aşırı ekspres edilen enzimler gibi tümör mikroçevresel anormalliklerini tetikleyebilen grupların korunması ve maskelenmesi için ilaç tasarımında ve keşfinde yaygın olarak geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Boronat esterleri A (Şekil 2.2), genellikle sulu biyolojik koşullar altında hidrolize edilir ve serbest boronik asit B (Şekil 2.2) ile alkol türevleri elde edilir. Boronik asitler/esterlerdeki karbon-bor bağı, hidrojen peroksit, peroksinitrit ve hipoklorit anyonu gibi reaktif türler kullanılarak daha da oksitlenebilir.

Boronun boş bir p yörüngesine sahip bu olağanüstü oksofilliği, onu reaktif türlerin oksijeni tarafından nükleofilik saldırı için uygun hale getirerek aktifleştirilmiş bir tetrahedral boronat ara ürünü C (Şekil 2.2) oluşturur. Bora-Brook yeniden düzenlemesi, bir borat türevi D (Şekil 2.2) vererek karbonun oksijene geçişini içerir; bu daha sonra istenen alkol ilacı E'yi (Şekil 2.2) ve borik asidi vermek üzere hidrolize edilir (Al-Omari vd., 2023).



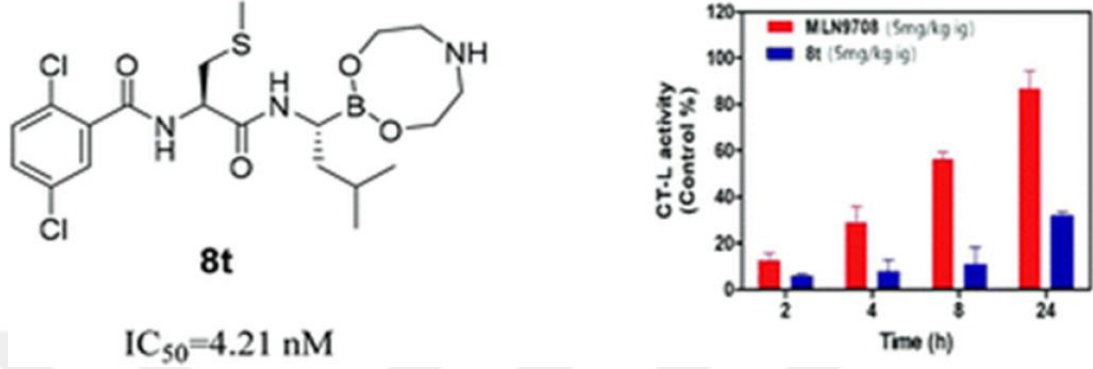
Şekil 2.2. Doğrudan C-B bağ oksidasyonu/yeniden düzenleme stratejisi kullanılarak aktif ön ilacın bor maskelemesinden salınma mekanizması (Al-Omari ve ark., 2023)

Sentezlenen yirmi aminoasit-tRNA yapılarından yedisinin hem düzenleme bölgesi hem de sentetik bölgesinin var olduğu ortaya konulmuştur. Sentetik bölge, karşılık gelen tRNA'nın terminaline doğru aminoyu yüklerken, düzenleme alanı ise aminoasit-tRNA'nın prova okumasından sorumlu olduğu belirtilmiştir. Benzoksaborollerdeki bor atomu, düzenleme cebinde (Şekil 2.3), tRNA'nın 3'-terminal adenosinin 2'- ve 3'-hidroksi grupları ile kovalent bir tetrahedral geometrideki bir yapı oluşturarak mantar leucyl-tRNA sentetazını hedefleyerek protein sentezini bloke eder. Böylece tRNA'nın düzenleme bölgesini ve sonuç olarak protein sentezini bloke etmektedir (Zhang vd., 2013).



Şekil 2.3. Benzoksaborolün tRNA'ya bağlanması (Zhang ve ark., 2013).

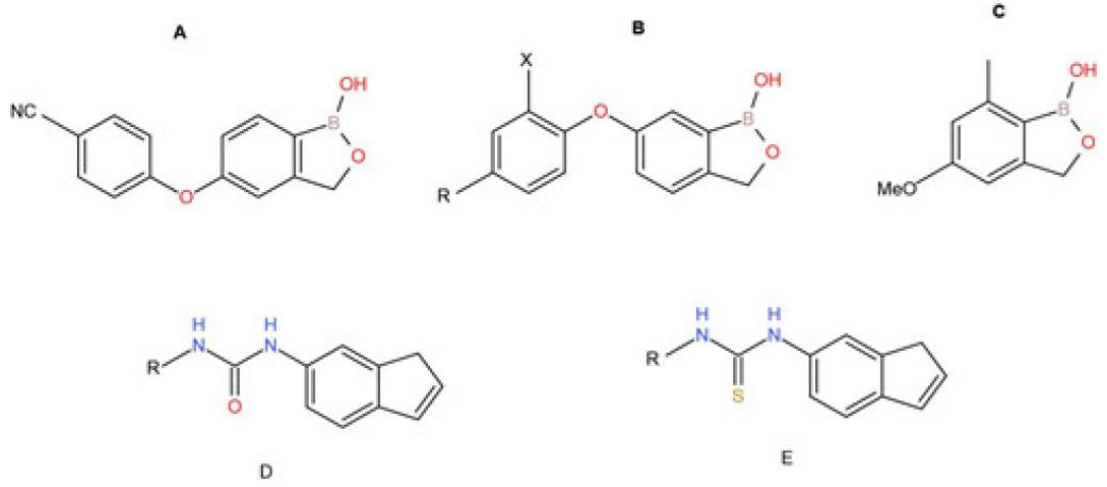
Hem bortezomib hem de iksazomib analoglarını birleştiren bir SAR testi ile, üçlü negatif meme kanserine ek olarak MM tedavisi için bir proteozom inhibitörü rapor edilmiştir (Şekil 2.4) (Lei vd., 2019). Sekiz üyeli halka içeren boronik ester yapısındaki bu ilaç adayının, in vitro, in siliko ve selüloda, FDA onaylı bu iki ilaca çok benzeyen düşük nanomolar aktiviteler gösterdiği bildirilmiştir (Lei vd., 2019).



Şekil 2.4. Meme kanseri ve multiple miyeloma araştırmaları yapılan boronat ester (Lei ve ark.,2019).

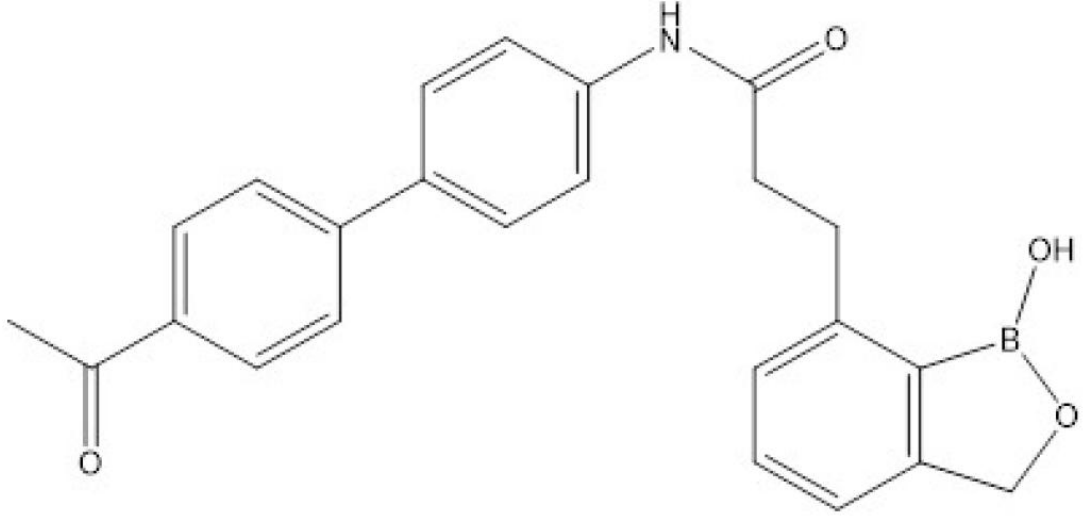
Akama ve arkadaşları, fenoksi benzoksaborol türevlerinin (Şekil 2.5 A) ve PDE4 yapılarının sitokin salınımına karşı inhibe edici aktivitelerini araştırmışlardır. Yapılan bu çalışmada, 5-(4-siyano-fenoksi)-2,3-dihidro-1-hidroksi-2,1-benzoksaborolün (Crisaborole, AN2728), sedef hastalığının topikal tedavisinde güçlü aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Akama vd., 2009). Bu hedef bileşiğin şu an için klinik geliştirme aşaması tamamlanmış ve FDA tarafından 14 Aralık 2016'da atopik dermatitin topikal tedavisi olan Eucrisa olarak onaylanmıştır. Ayrıca, Akama ve arkadaşları, 6-(aminometilfenoksi) benzoksaborol türevlerinin lipopolisakkarit ile uyarılan periferik kan mononükleer hücrelerinden TNF-alfa ve IL-6'nın inhibisyonunu araştırmışlardır (Şekil 2.5 B). Bu bileşiklerin, bu üç sitokinin tümüne karşı güçlü anti-enflamatuvar etkinlik gösterdiğini ortaya koymuşlardır (Akama vd., 2013). Alterio ve araştırma grubu, üre ve tioüre süstitüe benzoksaborol türevlerinin karbonik anhidrazilara karşı inhibisyon özelliklerini araştırmışlardır (Şekil 2.5 D ve E); benzoksaborollerin, karbonik anhidrazların aktif bölgesine bağlanarak karbonik anhidraz inhibitörleri olarak etkinlik gösterdiğini ortaya koymuştur (Alterio vd., 2016). Al-Zoubi ve arkadaşları, iyodo ve metoksi süstitüe benzoksaborollerini (Şekil 2.5 C), iki gram pozitif ve iki gram negatif bakteri suşuna karşı anti-mikrobiyal aktivite çalışmasında değerlendirmiş; 4-iyodo-6-metoksibenzo[c][1,2]oksaborol-1(3H)-ol'ün gram pozitif suşlara karşı güçlü anti-bakteriyel aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuşlardır (Al-Zoubi vd.,

2017).



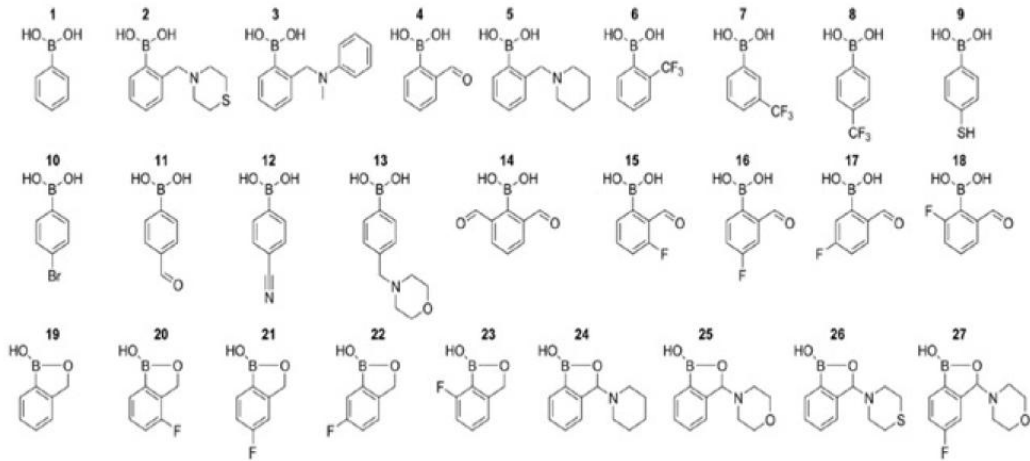
Şekil 2.5. Klinik etkinlikleri araştırılan benzoksaborol türevleri (Akama ve ark., 2013).

Zhang ve arkadaşları, yapı-reaktivite ilişkisi çalışmalarında bir dizi yeni benzoksaborol türevini tasarlamışlar ve bunlar arasında en iyi etkinliğin, 21 nmol/L IC_{50} değeriyle yumurtalık kanseri hücrelerine karşı dikkat çekici bir çoğalma önleyici aktivite gösterdiğini rapor etmişlerdir (Şekil 2.6). Daha sonra yapılan ileri düzeydeki çalışmalarda, bu bileşiğin kanser hücrelerine karşı yaklaşık 200 kat seçicilik gösterdiği, koloni oluşumunu etkili bir şekilde inhibe ettiği ve kanser hücresi apoptozunu indüklediği ortaya konmuştur. Ayrıca, bu hedef bileşiğin yapılan *in vivo* araştırmalarında, 2 ve 10 mg/kg dozajlarla fareler üzerinde yapılan tümör çalışmalarında iyi etkinlik gösterdiği ve düşük toksisite sağladığı ifade edilmiştir (Zhang vd., 2019).



Şekil 2.6. Yumurtalık kanseri çalışmalarında klinik etkinlikleri araştırılan bir benzoksaborol türevi (Zhang ve ark., 2019).

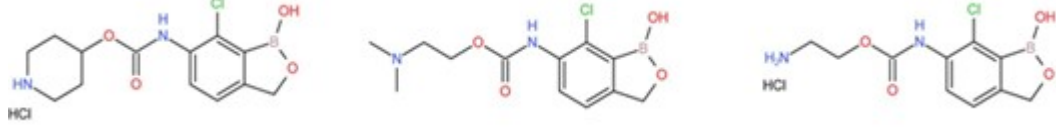
Psurski ve arkadaşları, fenilboronik asit ve benzoksaborol türevlerinin (Şekil 2.7) hücre döngüsüne özgü bir etki tarzına sahip olduğunu ve bu bileşiklerin son derece umut verici antiproliferatif ve proapoptotik bileşikler olduğunu bildirmiştir. Sunulan veriler ışığında, potansiyel anti-kanser ajanlarının yeni bir sınıfı olarak daha ileri çalışmalar için ilaç adayı olabileceğini ifade etmişlerdir (Psurski vd., 2019).



Şekil 2.7. Anti-kanser çalışmaları için tasarlanan bor temelli bileşikler (Psurski ve ark., 2018).

Liu ve arkadaşları, farklı grup içeren yeni bazı benzoksaborol türevlerini sentezleyerek modern tarımda potansiyel uygulamalarını araştırmışlardır. Yapılan bu çalışmada, benzoksaborolün bor merkezinin geranil transferazı hedeflediğini ve böylece protein prenilasyonunu inhibe ettiğini açıklamışlardır (Şekil 2.8). Bu

bileşiklerin, tarımsal açıdan önemli mantar patojenleri olan *Mycosphaerella fijiensis* ve *Colletotrichum sublineolum*'a karşı mükemmel anti-fungal etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir (Liu vd., 2021).

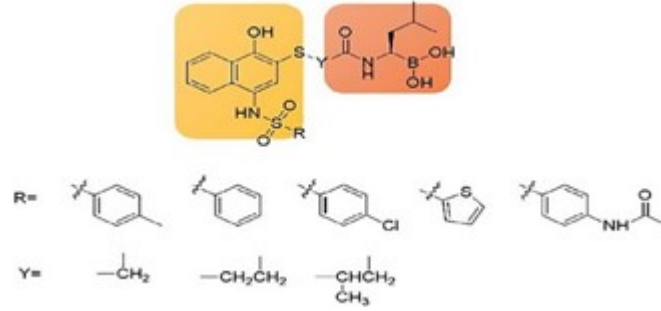


Şekil 2.8. Anti-fungal çalışmaları için sentezlenen bor içeren bileşikler (Liu ve ark., 2021)

Boronik asit içeren bileşiklerin anti-kanser aktivitesi, genel olarak proteozomu inhibe etme yetenekleriyle ilişkili olduğu literatür çalışmalarında ortaya konulmuştur. Bu çalışma kapsamında sentezlenen farklı yapıdaki bor bileşikleri, hücre içi proteinlerin parçalanmasından sorumlu olan büyük ve oldukça karmaşık bir enzim kompleksi görevi görmüştür. Ubiquitin, proteinleri yok edilmek üzere işaretler ve proteozom için bir bozunma sinyali görevi görür. Bu seçici ve etkili bozunma sistemi, hücre döngüsünü ve apoptozu kontrol eden proteinlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar ve bu nedenle kanser tedavisinde önemli bir terapötik hedefdir (Fernandes vd., 2019). Bununla birlikte, boronik asit grubu içeren Bortezomib ve Ixazomib ilaçları bor temelli olup, piyasada proteozom inhibitörü olarak hâlihazırda ticari olarak satılmakta ve anti-kanser tedavisinde kullanılmaktadır (Raedler, 2016). Diğer taraftan, Scarbaci ve grubu, multipl miyelom tedavisinde onaylanmış bir ajan olan 20S proteozom inhibitörleri olarak peptidomimetik boronatların tasarımını, sentezini ve biyolojik etkinliğini incelemiştir. Sentezlenen bileşiklerin 20S proteozomun ChT-L aktivitesine karşı iyi bir inhibitör profili gösterdiğini ortaya koymuştur (Scarbaci vd., 2014).

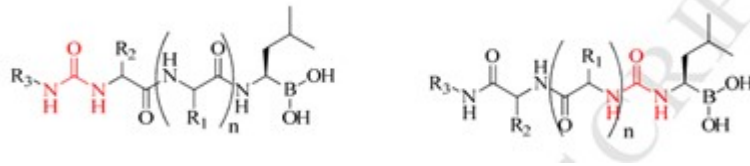
Liu ve arkadaşları, proteozomun kimotripsin benzeri (ChT-L) üzerinde etkili olan, yeni bir dizi 4-aromatik sülfonil naftalin bazlı kovalent bağlanmış boronik asit gruplarını içeren proteozom inhibitörünü (PI) sentezlemişlerdir (Şekil 2.9). Sentezlenen bu bileşiklerin bir kısmının, 20S proteozomun ChT-L aktivitesine karşı oldukça iyi aktivite gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Özellikle hücresel proliferasyon inhibisyonu analizinde, bu bor bileşiklerinin bazılarının test edilen tümör hücrelerine karşı pozitif kontrol Bortezomib'e göre çok daha yüksek anti-proliferatif aktiviteler sergilediğini bildirmişlerdir. Ayrıca, yapılan mikrozomal kararlılık çalışmalarında Bortezomib'e kıyasla bu hedef bileşiklerin çok daha gelişmiş metabolik kararlılık sergilediğini ve peptit olmayan PI'lerin daha ileri tasarımı için umut verici bir öncü bileşik olarak ortaya çıktığını bildirmişlerdir (Liu

vd., 2018).



Şekil 2.9. Aromatik sülfonil naftalin ve boronik asit gruplar içeren proteazom inhibitörleri (Liu ve ark., 2018).

Han ve arkadaşları, proteazom inhibitörleri olarak üre içeren ve yapıdaki amido bağının yerini alacak bir üre iskelesinin eklenmesi sonucu tasarlanan yeni bir peptid boronik asit türevini başarılı bir şekilde sentezlemişlerdir (Şekil 2.10). Bu bileşiklerin yapıları farklı spektroskopi teknikleriyle aydınlatıldıktan sonra, anti-tümör aktiviteleri detaylı olarak değerlendirilmiştir. Tasarlanan bu bileşiklerin standart bileşik olarak Bortezomib ile etkinlikleri karşılaştırıldığında güçlü bir proteazom inhibitörü olduğu, insan 20S proteazomun ChT-L aktivitesine karşı daha yüksek etkili olduğu ($IC_{50} < 1$ pM), dört farklı kanser hücre dizisine karşı benzer etki gösterdiği ($IC_{50} < 10$ nM) ve daha iyi farmakokinetik görüntü sunduğu ortaya koyulmuştur (Han vd., 2016).



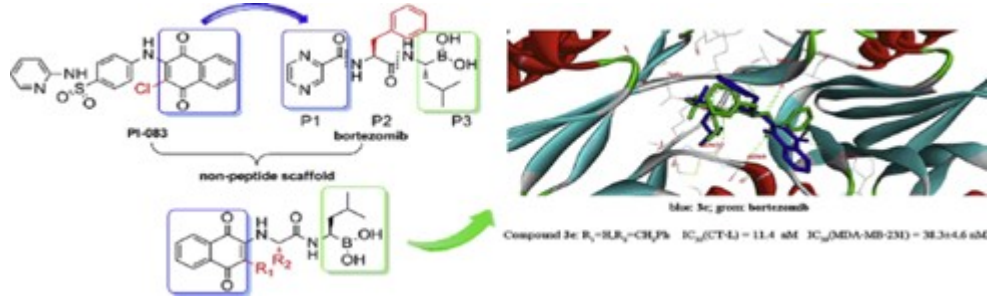
Şekil 2.10. Üre ve peptid boronik asit gruplarını içeren proteazom inhibitörleri (Han ve ark., 2016).

Troiano ve arkadaşları, P3 fragmanı olarak bisiklik 1,6-naftiridin-5(6H)-on iskelesi taşıyan yeni bir psödopeptid boronat proteazom inhibitörleri serisini sentezlemişlerdir. İnsan 20S proteazomu üzerinde yapılan biyolojik değerlendirme, özellikle ChT-L aktivitesi için nano molar aralıkta K_i değerleri ve proteazom için kayda değer seçicilik sergileyen, P2 etilen fragmanı taşıyan bileşiklerin umut verici bir inhibisyon profili gösterdiğini bildirmişlerdir. Maya 20S proteozomuna yerleştirme deneyleri, ligandların ağırlıklı olarak ChT-L bölgesine yerleştirildiğini ve

aktif bölgedeki treonin kalıntısına bor atomu yoluyla kovalent olarak bağlandıklarını ifade etmiştir. 60'lık bir kanser hücre dizisi paneline karşı gerçekleştirilen hücresel analizlerde, bileşiklerin bir kısmının aynı zamanda iyi bir antiproliferatif aktivite sergilediği ve melanoma ile küçük hücreli olmayan akciğer kanserini hedef alan anti-kanser ajanların geliştirilmesinde umut verici öncü bileşik olabileceği ortaya konmuştur (Troiano vd., 2014).

Shi ve arkadaşları, $\alpha\alpha$ ve $\alpha\beta$ -amino asitlerden oluşturulan bir dizi yeni dipeptidil boronik asit proteazom inhibitörü hazırlamışlardır. Bu çalışma kapsamında sentezlenen bileşikler, insan proteazomundaki $\beta 5$ alt birim önleyici aktiviteleri açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, $\alpha\alpha$ amino asitlerden oluşan dipeptidil boronik asit inhibitörleri bortezomib kadar aktifken, $\alpha\beta$ -amino asitlerden türetilenlerin aktiviteleri tamamen kaybolmuştur. En iyi bileşiğin IC_{50} değeri 4.82 nM seviyesinde proteazom aktivitesinin inhibisyonunu sergilemiştir. Aynı zamanda, hücre büyümesinin engellenmesi deneylerinde IC_{50} değerleri 5 nM'den düşük olan üç multipl miyelom hücre çizgisine karşı en iyi aktifliği gösterdiği bildirilmiştir. Moleküler doking çalışmalarında ise en aktif bileşiğin proteazomun $\beta 5$ alt birim aktif cebine çok iyi uyum sağladığı ortaya konmuştur (Shi vd., 2016).

Ge ve arkadaşları, 1,4-naftokinon ve boronik asit grubunu taşıyan yeni bir peptit olmayan proteazom inhibitörü serisi geliştirmişlerdir (Şekil 2.11). İnsan 20S proteazomunun kimotripsin benzeri aktivitesine ilişkin yapılan biyolojik değerlendirmede beş bileşiğin nano molar aralıkta IC_{50} değerleri gösterdiği ve maya 20S proteazomuna yapılan deneylerin biyolojik aktivitelerini rasyonelleştirdiği açıklanmıştır. Ayrıca, hazırlanan bu ilginç inhibitör sınıfının optimizasyon çalışmalarına daha da olanak sağladığı ifade edilmiştir. Bu çalışmada ayrıca, hücresel proliferasyon inhibisyonu tahlili ve western blot analizi kapsamında katı tümör hücrelerine karşı mükemmel anti-proliferatif aktivite gösterdiği ortaya konmuştur. Diğer taraftan, yapılan mikrozomal kararlılık analizinde, bortezomib ile karşılaştırıldığında bu hedef bileşiğin çok daha gelişmiş metabolik kararlılık sergilediği ve peptit olmayan proteazom inhibitörlerine göre daha ileri düzeyde umut verici bir öncü bileşik olabileceği ortaya konmuştur (Ge vd., 2017).



Şekil 2.11. 1,4-naftokinon iskelesini ve boronik asit grupları içeren olmayan proteazom inhibitörü (Ge ve ark., 2017).

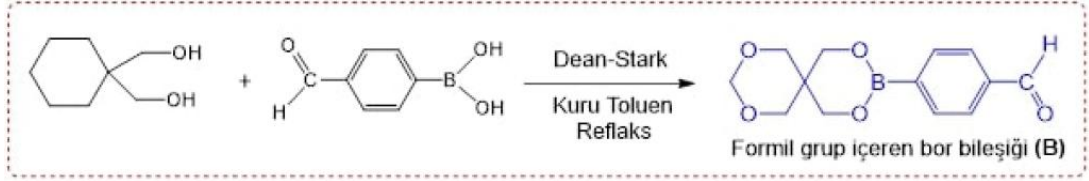
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kronolojik Olarak Yapılan Deneylerin Sıralaması;

- Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) sentezlenmesi:
- Salen grup içeren bor bileşiklerinin (SB1-SB6) sentezlenmesi:
- Hücrelerin kültüre edilmesi
- Kültüre edilen hücrelerin MTT analizi
- Kültüre edilen hücrelerin morfolojik görüntülemesi ve akridin oranj ve etidyum bromür boyaması
- Kültüre edilen hücrelerin Annexin-V analizi

3.2. Yeni Bor Bileşiklerinin Sentezi

3.2.1. Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) sentezlenmesi:



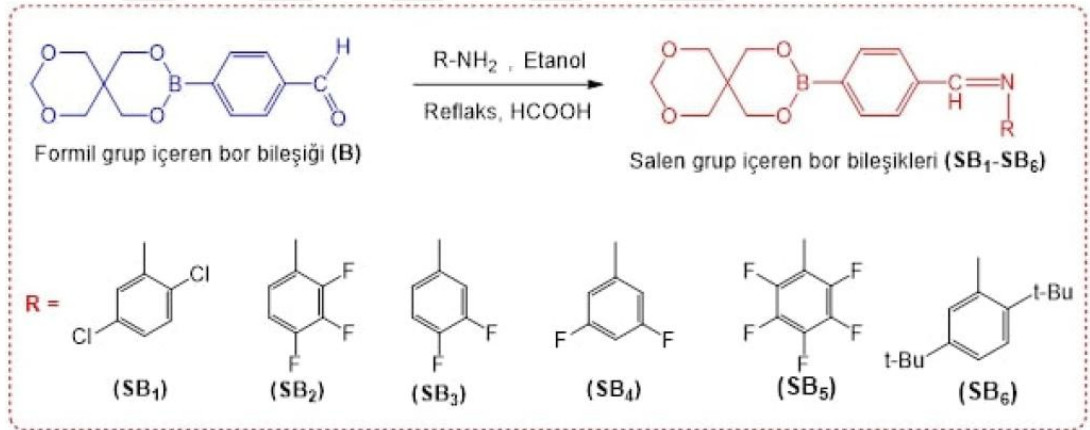
Şekil 3.1. Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) sentezi

Bu tez çalışması kapsamında ilk olarak formil grup içeren yeni bir bor bileşiği (B) aşağıda belirtilen yöntemle sentezlenmiştir (Degirmenci vd., 2024; Kilic vd., 2024). Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) sentezinde 1,3-dioksan-5,5-dimetanol ve 4-formilfenilboronik asitin esterleşme reaksiyonu sonucu oluşan su molekülleri nedeniyle reaksiyonun geri dönüşünü engellemek için reaksiyon Dean-Stark sisteminde yapıldı (Şekil 3.1). Bu bağlamda formil grup içeren bor bileşiği (B) için 6,7 mmol (0,99 g) 1,3-dioksan-5,5-dimetanol alınarak iki boyunlu reaksiyon balonundaki 10 mL kuru toluene eklenip manyetik karıştırıcı ile çözünmesi sağlandı. Bunun üzerine 6,7 mmol (1,0 g) 4-formilfenilboronik asit yavaş yavaş eklendi. Reaksiyon oda sıcaklığında 2 saat karıştırıldıktan sonra 8 saat reflüks sıcaklığında kaynatıldı. Daha sonra reaksiyon sıcaklığı oda koşullarına getirilip, çözücünün fazlası evaporatör ile uçuruldu. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra elde edilen ürün 3 defa hekzan ile yıkandı. Saf olarak elde edilen hedef formil grup içeren bor bileşiğinin (B) karakterizasyonu için erime noktası, elementel analiz, UV-Vis, FT-IR,

NMR (^1H , ^{13}C ve ^{11}B) ve LC-MS/MS analiz teknikleri kullanıldı. Yapı detaylı karakterize edildikten sonra anti-kanser çalışmaları için uygun ortamda saklandı.

Bor (B): Verim (%): 92, E.N. = 182 °C, Elementel Analiz ($\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{BO}_5$) (M. A: 262.10 g/mol) (%): Teorik: C, 59.58; H, 5.77. Deneysel: C, 59.82; H, 5.74. FT-IR (ATR, ν_{max} cm^{-1}): 3047 $\nu(\text{Ar-CH})$, 2947–2840 $\nu(\text{Alif-CH})$, 1693 $\nu(\text{HC=O})$, 1475–1423 $\nu(\text{C=C})$, 1307 $\nu(\text{B-O})$, 1164 $\nu(\text{C-O})$ ve 1072 $\nu(\text{B-C})$. LC-MS/MS (Scan ESI+): $m/z = 262.10$ $[\text{M}]^+$ ve 263.10 $[\text{M}+1]^+$. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; DMSO-d_6): $\delta = 9.99$ (s, 1H, $-\text{HC=O}$), 7.94 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, Ar-CH), 7.83 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, Ar-CH), 4.58 (s, 2H, O-CH₂-O), 4.08 (s, 4H, CH₂-O), 3.83 (s, 4H, O-CH₂). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; DMSO-d_6): $\delta = 193.91$ (OC=N), 138.14, 134.97, 134.51 ve 128.92 (Ar-CH), 94.04 (O-CH₂-O), 68.99 (O-CH₂), 65.14 (CH₂-O) ve 35.15 ($-\text{CH}_2-\text{C}-$). $^{11}\text{B-NMR}$ (192.5 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 28.43$. UV-Vis (λ_{max} /nm): 254, 290 ve 352 (CH_3CN); 256, 288 ve 340 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).

3.2.2. Salen grup içeren bor bileşiklerinin (SB1-SB6) sentezlenmesi:



Şekil 3.2. Salen grup içeren bor bileşiklerinin (SB1-SB6) sentezi

Bu tez çalışması kapsamında formil grup içeren bor bileşiği (B) ile farklı kimyasal yapılarıdaki primer aminlerin, etil alkol içinde ve katalizör olarak formik asitin varlığında kondenzasyon reaksiyonları sonucu salen grup içeren bor bileşikleri (SB₁-SB₆) sentezlendi (Şekil 3.2). Bu sentezler için 0,4 mmol formil grup içeren bor bileşiği (B) alınarak reaksiyon oda koşullarında, iki boyunlu reaksiyon balonunda manyetik karıştırıcı ile 15 mL etanol içinde çözüldü. Daha sonra her bir reaksiyona sırasıyla 0,4 mmol primer aminler yavaş yavaş eklendi. Reaksiyonun yüksek verimde gerçekleşmesi için katalizör olarak 2 damla formik asit eklendi. Daha sonra her bir reaksiyon, oda sıcaklığında 1 saat daha karıştırıldıktan sonra geri soğutucu altında kaynama sıcaklığında 8 saat refluks edildi. Bu sürenin sonunda elde edilen ürün

beherlere aktarılıp oda sıcaklığında kurutulmaya bırakıldı. Daha sonra 3 kez dietil eter ve n-hekzan ile yıkandı. Elde edilen saf haldeki salen grup içeren bor bileşiklerinin (SB1–SB6) yapılarının aydınlatılması amacıyla erime noktası, elementel analiz, UV-Vis, FT-IR, NMR (^1H , ^{13}C ve ^{11}B) ve LC-MS/MS analiz teknikleri kullanıldı. Hedef salen grup içeren bor bileşiklerinin yapıları detaylı karakterize edildikten sonra anti-kanser çalışmaları için uygun ortamda saklandı.

Bor (SB1): Verim (%): 90, E.N. = 155 °C, Elementel Analiz ($\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{BCl}_2\text{NO}_4$) (M.A: 405.05 g/mol) (%): Teorik: C, 56.20; H, 4.47; N, 3.45. Deneysel: C, 56.17; H, 4.43; N, 3.41. FT-IR (ATR, ν_{max} cm^{-1}): 3071 $\nu(\text{Ar-CH})$, 2951–2854 $\nu(\text{Aliph-CH})$, 1625 $\nu(\text{HC=N})$, 1486–1431 $\nu(\text{C=C})$, 1313 $\nu(\text{B O})$, 1164 $\nu(\text{C-O})$, 1075 $\nu(\text{B-C})$ ve 461 $\nu(\text{C-Cl})$. LC-MS/MS (Scan ESI+): $m/z = 405.05$ $[\text{M}]^+$ ve 406.05 $[\text{M}+1]^+$. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; DMSO-d_6): $\delta = 8.61$ (s, 1H, $-\text{HC=N}$), 7.92 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, Ar-CH), 7.83 (t, 1H, $J = 10.0$ Hz, Ar-CH), 7.54 (d, 2H, $J = 4.0$ Hz, Ar-CH), 7.42 (s, 1H, Ar-CH), 7.30 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, Ar-CH), 4.79 (s, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-O}$), 4.03 (s, 4H, $\text{CH}_2\text{-O}$) ve 3.74 (s, 4H, O-CH_2). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; DMSO-d_6): $\delta = 164.52$ (HC=N), 150.28, 137.80, 134.52, 134.40, 132.79, 131.43, 128.93, 128.71, 126.94, 126.64 ve 120.71 (Ar-CH), 94.07 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 69.06 (O-CH_2), 65.14 ($\text{CH}_2\text{-O}$) ve 35.19 ($-\text{CH}_2\text{-C-}$). $^{11}\text{B NMR}$ (192.5 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 23.47$. UV-Vis (λ_{max} /nm): 206, 270, 290 ve 360 (CH_3CN); 212, 270 ve 342 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).

Bor (SB2): Verim (%): 86, E.N. = 171 °C, Elementel Analiz ($\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{BF}_3\text{NO}_4$) (M.A: 391.12 g/mol) (%): Teorik: C, 58.34; H, 4.38; N, 3.58. Deneysel: C, 58.31; H, 4.35; N, 3.35. FT-IR (ATR, ν_{max} cm^{-1}): 3070 $\nu(\text{Ar-CH})$, 2957 2851 $\nu(\text{Aliph-CH})$, 1618 $\nu(\text{HC=N})$, 1491–1426 $\nu(\text{C=C})$, 1311 $\nu(\text{B-O})$, 1168 $\nu(\text{C-O})$, 1076 $\nu(\text{B-C})$ ve 644 $\nu(\text{C-F})$. LC MS/MS (Scan ESI+): $m/z = 391.12$ $[\text{M}]^+$ ve 392.12 $[\text{M}+1]^+$. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; DMSO-d_6): $\delta = 8.71$ (s, 1H, HC=N), 7.91 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, Ar-CH), 7.82 (d, 2H, $J = 4.0$ Hz, Ar-CH), 7.40–7.33 (m, 1H, Ar-CH), 7.28–7.22 (m, 1H, Ar-CH), 4.79 (s, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-O}$), 4.03 (s, 4H, $\text{CH}_2\text{-O}$) ve 3.73 (s, 4H, O-CH_2). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; DMSO-d_6): $\delta = 164.87$ (HC=N), 137.77, 134.43, 128.93, 128.61, 126.24, 115.91 ve 112.86 (Ar-CH), 94.07 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 69.05 (O-CH_2), 65.12 ($\text{CH}_2\text{-O}$) ve 35.18 ($-\text{CH}_2\text{-C-}$). $^{11}\text{B NMR}$ (192.5 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 26.91$. UV-Vis (λ_{max} /nm): 218, 270 ve 324 (CH_3CN); 206, 274 ve 332 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).

Bor (SB3): Verim (%): 88, E.N. = 180 °C, Elementel Analiz ($\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{BF}_2\text{NO}_4$) (M.A: 373.13 g/mol) (%): Teorik: C, 61.16; H, 4.86; N, 3.75. Deneysel: C, 61.13; H, 4.82; N, 3.78. FT-IR (ATR, ν_{max} cm^{-1}): 3054 $\nu(\text{Ar-CH})$, 2976–2854 $\nu(\text{Aliph-CH})$,

1625 $\nu(\text{HC}=\text{N})$, 1506–1428 $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1315 $\nu(\text{B}-\text{O})$, 1162 $\nu(\text{C}-\text{O})$, 1071 $\nu(\text{B}-\text{C})$ ve 643 $\nu(\text{C}-\text{F})$. LC-MS/MS (Scan ESI+): $m/z = 373.13 [\text{M}]^+$ ve $374.13 [\text{M}+1]^+$. ^1H -NMR (400 MHz; DMSO- d_6): $\delta = 8.65$ (s, 1H, $-\text{HC}=\text{N}$), 7.89 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, Ar-CH), 7.80 (d, 2H, $J = 4.0$ Hz, Ar-CH), 7.50–7.41 (m, 3H, Ar-CH), 4.79 (s, 2H, O-CH₂-O), 4.03 (s, 4H, CH₂-O) ve 3.73 (s, 4H, O-CH₂). ^{13}C -NMR (100 MHz; DMSO- d_6): $\delta = 162.54$ (HC=N), 138.05, 134.88, 134.38, 128.41, 118.91, 118.30, 118.12, 110.52 ve 110.34 (Ar-CH), 94.07 (O-CH₂-O), 69.05 (O-CH₂), 65.12 (CH₂-O) ve 35.18 ($-\text{CH}_2-\text{C}-$). ^{11}B NMR (192.5 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 21.66$. UV-Vis ($\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$): 218, 268 ve 338 (CH₃CN); 204, 223, 272 ve 323 (C₂H₅OH).

Bor (SB4): Verim (%): 90, E.N. = 150 °C, Elementel Analiz (C₁₉H₁₈BF₂NO₄) (M.A: 373.13 g/mol) (%): Teorik: C, 61.16; H, 4.86; N, 3.75. Deneysel: C, 61.14; H, 4.84; N, 3.76. FT-IR (ATR, $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$): 3082 ve 3013 $\nu(\text{Ar-CH})$, 2955–2851 $\nu(\text{Aliph-CH})$, 1605 $\nu(\text{HC}=\text{N})$, 1479–1425 $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1311 $\nu(\text{B}-\text{O})$, 1166 $\nu(\text{C}-\text{O})$, 1076 $\nu(\text{B}-\text{C})$ ve 641 $\nu(\text{C}-\text{F})$. LC-MS/MS (Scan ESI+): $m/z = 373.13 [\text{M}]^+$ ve $374.12 [\text{M}+1]^+$. ^1H -NMR (400 MHz; DMSO- d_6): $\delta = 8.65$ (s, 1H, $-\text{HC}=\text{N}$), 7.87 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, Ar-CH), 7.81 (d, 2H, $J = 4.0$ Hz, Ar-CH), 7.12–7.02 (m, 3H, Ar-CH), 4.79 (s, 2H, O-CH₂-O), 4.03 (s, 4H, CH₂-O) ve 3.73 (s, 4H, O-CH₂). ^{13}C -NMR (100 MHz; DMSO- d_6): $\delta = 163.87$ (HC=N), 137.77, 134.39, 128.93, 128.61, 105.34, 105.08 ve 101.53 (Ar-CH), 94.07 (O-CH₂-O), 69.05 (O-CH₂), 65.12 (CH₂-O) ve 35.18 ($-\text{CH}_2-\text{C}-$). ^{11}B NMR (192.5 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 22.76$. UV-Vis ($\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$): 224, 270 ve 326 (CH₃CN); 206, 220, 270 ve 326 (C₂H₅OH).

Bor (SB5): Verim (%): 89, E.N. = 135 °C, Elementel Analiz (C₁₉H₁₅BF₅NO₄) (M.A: 373.13 g/mol) (%): Teorik: C, 53.43; H, 3.54; N, 3.28. Deneysel: C, 53.40; H, 3.51; N, 3.31. FT-IR (ATR, $\nu_{\text{max}} \text{ cm}^{-1}$): 3031 ve 3002 $\nu(\text{Ar-CH})$, 2975–2851 $\nu(\text{Aliph-CH})$, 1632 $\nu(\text{HC}=\text{N})$, 1502–1424 $\nu(\text{C}=\text{C})$, 1308 $\nu(\text{B}-\text{O})$, 1166 $\nu(\text{C}-\text{O})$, 1077 $\nu(\text{B}-\text{C})$ ve 642 $\nu(\text{C}-\text{F})$. LC-MS/MS (Scan ESI+): $m/z = 427.10 [\text{M}]^+$ ve $428.10 [\text{M}+1]^+$. ^1H -NMR (400 MHz; DMSO- d_6): $\delta = 8.82$ (s, 1H, $-\text{HC}=\text{N}$), 7.86 (s, 4H, Ar-CH), 4.79 (s, 2H, O-CH₂-O), 4.03 (s, 4H, CH₂-O) ve 3.73 (s, 4H, O-CH₂). ^{13}C -NMR (100 MHz; DMSO- d_6): $\delta = 170.95$ (HC=N), 138.17, 137.60, 137.09, 134.98, 134.52, 133.88, 128.93, 126.24, 105.08 ve 102.98 (Ar-CH), 94.07 (O-CH₂-O), 69.02 (O-CH₂), 65.18 (CH₂-O) ve 35.18 ($-\text{CH}_2-\text{C}-$). ^{11}B NMR (192.5 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 25.33$. UV-Vis ($\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$): 256, 302 ve 332 (CH₃CN); 258, 298 ve 334 (C₂H₅OH).

Bor (SB6): Verim (%): 88, E.N. = 205 °C, Elementel Analiz (C₂₇H₃₆BNO₄) (M.A: 449.27 g/mol) (%): Teorik: C, 72.16; H, 8.07; N, 3.12. Deneysel: C, 72.12; H,

8.05; N, 3.15. FT-IR (ATR, ν_{max} cm^{-1}): 3065 $\nu(\text{Ar-CH})$, 2955–2861 $\nu(\text{Aliph-CH})$, 1620 $\nu(\text{HC=N})$, 1479–1423 $\nu(\text{C=C})$, 1313 $\nu(\text{B O})$, 1168 $\nu(\text{C-O})$ ve 1074 $\nu(\text{B-C})$. LC MS/MS (Scan ESI+): $m/z = 449.27$ $[\text{M}]^+$ ve 450.26 $[\text{M}+1]^+$. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; DMSO- d_6): $\delta = 8.43$ (s, 1H, HC=N), 7.91 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, Ar-CH), 7.82 (d, 2H, $J = 4.0$ Hz, Ar-CH), 7.25 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz, Ar-CH), 7.16 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz, Ar-CH), 6.89 (s, 1H, Ar-CH), 4.79 (s, 2H, O-CH₂-O), 4.03 (s, 4H, CH₂-O), 3.74 (s, 4H, O-CH₂), 1.36 (s, 9H, C-(CH₃)₃) ve 1.28 (s, 9H, C-(CH₃)₃). $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; DMSO- d_6): $\delta = 158.83$ (HC=N), 150.94, 149.94, 139.63, 138.92, 134.44, 128.21, 125.91, 122.78 ve 116.73 (Ar-CH), 94.07 (O-CH₂-O), 69.05 (O-CH₂), 65.12 (CH₂-O), 35.29 (-CH₂-C-), 34.56 (-C-(CH₃)₃), 31.56 ve 30.79 (-C-(CH₃)₃). $^{11}\text{B NMR}$ (192.5 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 27.31$. UV-Vis (λ_{max} /nm): 202, 272 ve 338 (CH₃CN); 210, 274 ve 336 (C₂H₅OH).

3.3. Hücre Kültürü ve Koşulları

3.3.1. Sterilizasyon

Hücreler açılmadan ve besiyeri hazırlanmadan önce laminar kabin sterilizasyonu için 30 dk UV ve %70'lik etil alkol (Sigma Aldrich, ABD) kullanıldı. Steril edilen laminar kabinde kullanılacak malzemeler %70 alkolle silinerek içeri alındı. Hücre kültürü çalışmaları için temin edilen sarf malzemeler, 0,22 μm ve 0,45 μm por çapına sahip filtreler (Sartorius AG, Almanya) kullanılarak, kullanılacak olan sıvı malzemelerin (Fetal Bovine Serum, Penicillin/Streptomycin ve L-Glutamin) (Sigma Aldrich, ABD) sterilizasyonu sağlandı.

3.3.2. Hücre Kültürü

3.3.2.1. Besiyerinin Hazırlanması

Hücreleri kültür kaplarında büyütmek için gerekli olan kimyasallar çizelge 3.1.'deki miktarlara göre hazırlandı. Her hücre hattı için besiyeri ortamı (DMEM-F12 ve RPMI 1640) ayrı ayrı hazırlanarak kullanıldı.

Çizelge 3.1. Besiyeri kimyasal ve miktarları

Besiyeri İçeriği	Hacim
DMEM-F12/RPMI 1640 FBS(Fetal Bovine Serum) Penicillin/Streptomycin (Antibiyotik) L-Glutamine	500ml 50ml (%10) 5ml (%1) 5ml (%1)

3.3.2.2. Hücrelerin Çözülmesi

Çalışmada ATCC'den temin edilip stokladığımız, çizelge 3.2'de belirtilen hücreler kullanıldı. Sıvı azot tankından çıkarılan donmuş haldeki hücreler 37 °C'de çözülerek laminar kabin içerisine alındı. Hücrelerin büyümesi için hazır hale getirilen DMEM-F12/RPMI 1640 (Sigma Aldrich, ABD) besiyerine hücreler aktararak 1200 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip süpernatant uzaklaştırıldı.

Pellet el yardımı ile hafifçe vurularak homojenize edilip 4 ml besiyerinde süspanse hale getirildi. Süspansiyondan alınan hücreler (10 µl) ve %5'lik Tripin-Blue (10 µl) (Sigma Aldrich, ABD) karıştırılarak Thoma lamında (Marienfeld, Almanya) hücre canlılığı değerlendirilip, 25 cm²'lik flaska 5 ml DMEM-F12/RPMI 1640 besiyeri eklenerek 37 °C'de, %5 CO₂ ve %95 nemli ortam içeren inkübatörde kapağı hafif açık olacak şekilde inkübasyona bırakıldı. Hücreler tüm flaskın yüzeyini kapladıktan sonra, 75 cm²'lik flaska almak için 25 cm²'lik flask içerisindeki besiyeri çekilerek flaskın yüzeyine yapışmış halde bulunan hücreler 2 ml HBSS (Sigma Aldrich, ABD) ile yıkandı. HBSS uzaklaştırıldıktan sonra 1 ml tripsin-EDTA (Sigma Aldrich, ABD) ilave edilerek flask yaklaşık 2 dakika inkübatörde bekletilip, mikroskopik olarak hücrelerin flask yüzeyinden ayrılıp ayrılmadıkları kontrol edildi. Hücrelerin yüzeyden ayrıldığı mikroskopik olarak gözlemlendikten sonra besiyeri eklenerek hücrelerin flask yüzeyinden kalkması sağlandı.

Falkon tüpe aktararak 1200 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip süpernatant uzaklaştırılarak pellet el yardımı ile hafifçe vurularak homojenize edildi. Falkon tüpe yaklaşık 10-12 ml besiyeri eklenip 75 cm²'lik flaska aktararak 37 °C'de, %5 CO₂ ve %95 nemli ortam içeren inkübatörde %80-90 konfluens olana kadar inkübe edildi. Hücre çoğalması tamamlandıktan sonra deney grupları oluşturmak için ilgili plakalara ekim yapıldı.

Çizelge 3.2. Hücre soyları

Hücre Soy	ATCC Adı	Kanser	Histopatolojisi	Besiyeri
MDA-MB-231	HTB-26	Meme Kanseri	Adenocarsino ma	DMEM-F12
MCF-7	HTB-22	Meme Kanseri	Adenocarsino ma	RPMI-1640
CRL-4010	hTERT-HME1	Meme normal	Normal	DM

3.3.2.3. Hücre Sayımı

Santrifüj işleminin ardından elde edilen pellet, tüpün kenarlarına yavaşça vurularak homojenize hale getirilip üzerine 5 ml besiyeri eklendi. Hücre sayımı için 10 µl hücre süspansiyonu ve 10 µl %0,5'lik Trypan-Blue karışımı hazırlanarak Thoma lamında ışık mikroskobu altında boyanmamış (canlı) hücreler sayıldı. Elde edilen hücre sayısı kullanılarak, hücre süspansiyonunun mililitresindeki (ml) hücre sayısı belirlendi. Sonuca göre DMEM-F12/RPMI 1640 besiyeri ile seyreltilerek deney için uygun steril plaklara ekim yapıldı.

$$1 \text{ ml'deki hücre sayısı} = A \times B \times 10^4$$

A: Canlı hücre sayısı

B: Dilüsyon faktörü (Trypan-Blue) ($\times 2$)

3.4. MTT Analizi

MTT testi, sentezi yapılan yeni bor bileşiklerinin etkilerini optimize edilmiş koşullar altında değerlendirmek için kullanıldı. MDA-MB-231, MCF-7 ve CRL-4010 hücreleri, 96 kuyucuklu plaklara ekilerek sentezlenen bor bileşiklerin (0, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100 ve 200 µg) ile 24 saat boyunca inkübe edildi. Daha sonra absorbans değerleri 450 nm ve 630 nm'de ölçüldü. (Koyuncu vd., 2018; Koyuncu vd., 2019).

3.5. Akım Sitometri Yöntemi ile Apoptotik Hücrelerin Belirlenmesi

Akım sitometrik ölçümlerde kullanılan Annexin V boyası, apoptotik hücrelerin plazma zarının dış yüzeyinde bulunan ve bir apoptozis belirteci olarak bilinen fosfatidilserine bağlanma özelliğinden dolayı kullanılmaktadır. Transfekte edilen hücrelerde apoptozisi tespit etmek için Annexin V ve PI (Propidium İyodide) boyalarını içeren BD FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I (Cat No./ID: 556547) (BD, New Jersey, ABD) kullanıldı.

Kit prosedürüne göre;

1. 6 kuyucuklu steril plakalara $1-6 \times 10^5$ hücre/ml ekim yapılarak, hücreler yaklaşık 1 gün sonrasında belirlenen dozda uygulanan bileşikler ile 24 saat inkübe edildi.

2. Hücreler tripsin ile kaldırılarak 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant uzaklaştırılarak süspanse edildi.

3. Hücre süspansiyonlarının üzerine 1 ml PBS eklenip 2 kez yıkandı.

4. 1X binding buffer (boyalara bağlanması için) eklenip 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek 500 µl 1X binding buffer ile süspansiyon edildi.

5. 100 µl hücre süspansiyonu üzerine 5 µl Annexin V, 5 µl PI eklenip hafifçe karıştırılarak 15 dk karanlık ortamda inkübe edildi.

6. Hücreler 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip süpernatant uzaklaştırılarak 500 µl 1X binding buffer içerisinde BD FACS Via (BD, New Jersey, ABD) akım sitometri cihazında analiz edildi.

3.6. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- UV-Vis spektrofotometre
- FT-IR spektrometre
- NMR spektrometre
- LC MS/MS spektrometre
- Sınıf II biyogüvenlik kabini (Tel Star)
- CO₂'li 37°C inkübatör (Thermo Scientific)
- İverted ışık mikroskobu (Olympus CKX41)
- Su banyosu (Mettler)
- 37°C inkübatör (Mettler)
- Floresans mikroskop ve görüntüleme sistemi (Olympus U-RFL-T)
- Soğutmalı santrifüj (Thermo Scientific)
- Vorteks ve Mini santrifüj (Isolab)
- -80 Buzdolabı (Nüve)
- -20 Buzdolabı (Arçelik)
- BD FACS Via (New Jersey, USA).

3.7. Akridin Oranj / Etidyum Bromür (AO/EB) Boyaması

Sentez edilen yeni bor bileşiklerin uygulandığı hücrelerde apoptozisin morfolojik olarak tespit edilmesi için kullanıldı. Bor bileşiği uygulanan hücreler inkübasyon sonrasında PBS ile yıkanarak %70 etanol ile fiksasyon edildi. Fiksasyonun sonunda hücreler distile su ile yıkanarak Akridin orange/Ethidium bromide (Cat No./ID: A6014-E1510) (Sigma Aldrich, Almanya) çalışma solüsyonu ile boyanarak floresans mikroskobu altında görüntü alındı. (Koyuncu ve ark., 2018; Koyuncu ve ark., 2019).

3.8. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar;

3.8.1. Bor Bileşiklerinin Sentezi

- 1,3-dioksan-5,5-dimetanol
- Kuru toluene
- 4-formilfenilboronik asit
- Hekzan
- Etanol
- Formik asit
- Dietil eter

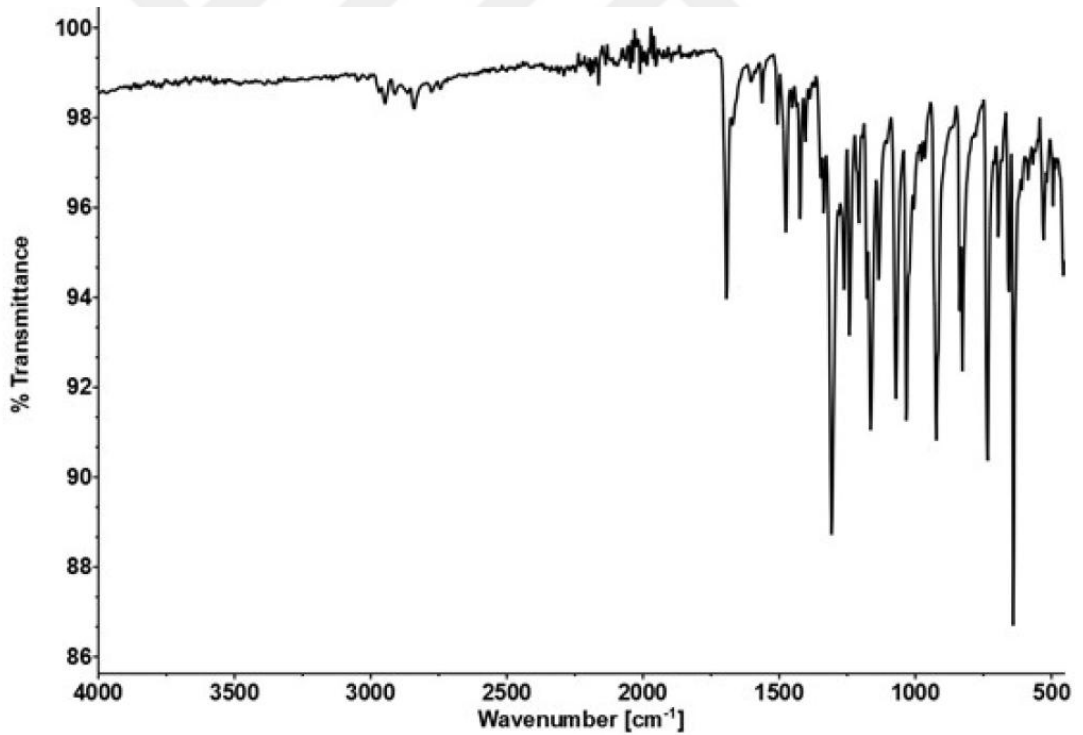
3.8.2. Hücre Kültürü

- Dulbecco's Modified Eagle's Medium-High Glucose-DMEM (Sigma Aldrich)
- RPMI 1640 (Sigma Aldrich)
- Hank's Balanced Salt Solutions-HBSS (Sigma Aldrich)
- Fetal Bovine Serum-FBS (Sigma Aldrich)
- Penicillin/Streptomycin (Sigma Aldrich)
- L-Glutamine (Sigma Aldrich)
- Tripsin EDTA (%2.5)(Sigma Aldrich)
- %0,5'lik Trypan-Blue (Sigma Aldrich)

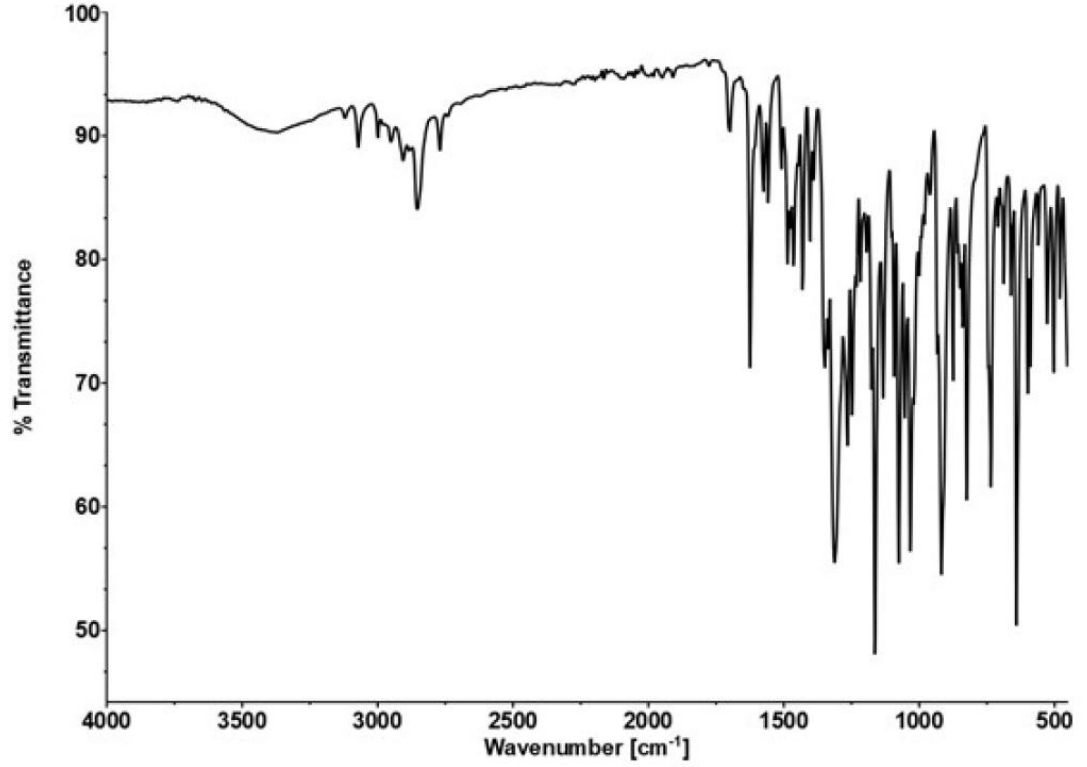
4. BULGULAR

4.1. Yeni Bor Bileşiklerinin Yapısal Karakterizasyonu ve Analizi

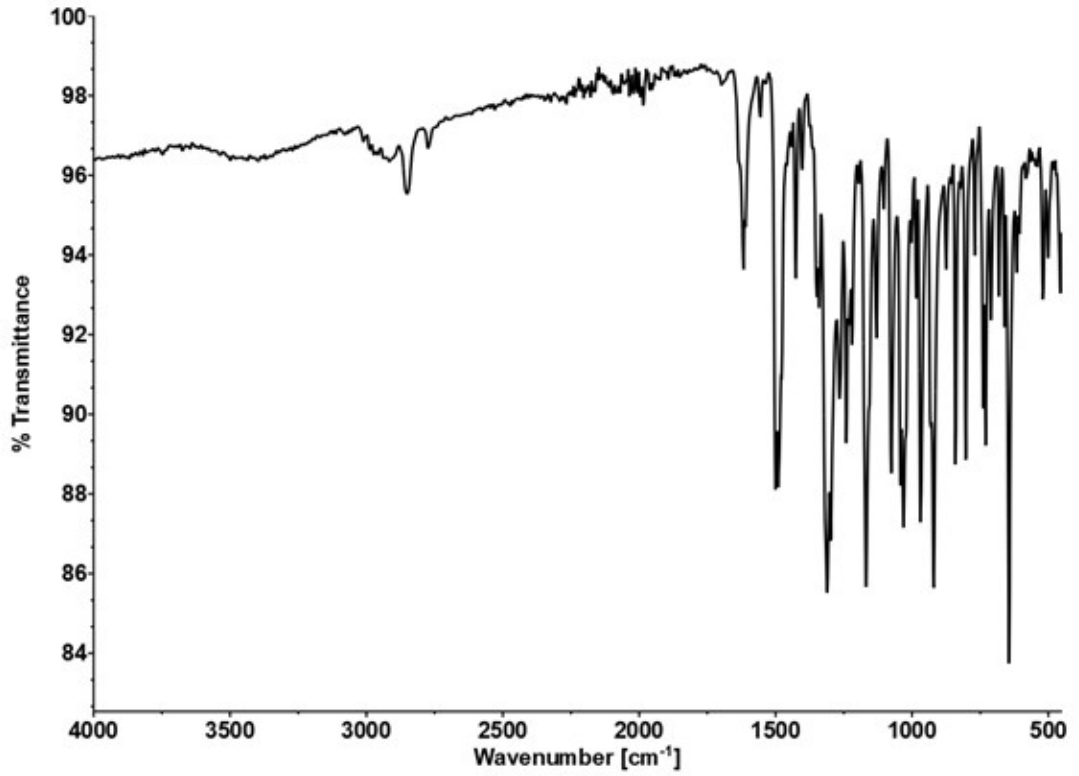
Anti-kanser çalışmaları için uygun koşullarda sentezlenen farklı bor bileşiklerinin (SB1-SB6) yapısal karakterizasyonu için çeşitli analitik teknikler (FT-IR, UV-Vis, NMR, LC-MS/MS, elementel analiz ve erime noktası) kullanıldı. Hedef bor bileşiklerinin yapısal analizi için ilk olarak FT-IR spektroskopisi kullanıldı (Şekil 4.1–4.7). Bu tez çalışmasının ilk aşamasında sentezlenen formil grup içeren bor bileşiğinin (B) titreşim frekanslarına karşılık gelen karakteristik pik, 1,3-dioksan-5,5-dimetanol ve 4-formilfenilboronik asitin esterleşme reaksiyonu sonucu $\nu(\text{O-H})$ pikleri kayboldu ve bunun yerine $\nu(\text{B-O})$ ve $\nu(\text{B-C})$ gruplarına ait piklerin 1307 ve 1072 cm^{-1} 'de ortaya çıktığı gözlemlendi (Şekil 4.1). Salen grup içeren bor bileşiklerinde (SB1–SB6) ise bu karakteristik piklerin (B–O ve B–C) 1315–1308 ve 1077–1071 cm^{-1} 'de tespit edildi. Salen grup içeren bor bileşiklerinin (SB1–SB6) FT-IR spektrumları incelendiğinde (Şekil 4.2–4.7) göze çarpan bir diğer karakteristik pikin 1632–1605 cm^{-1} 'de gözlemlendiği tespit edildi.



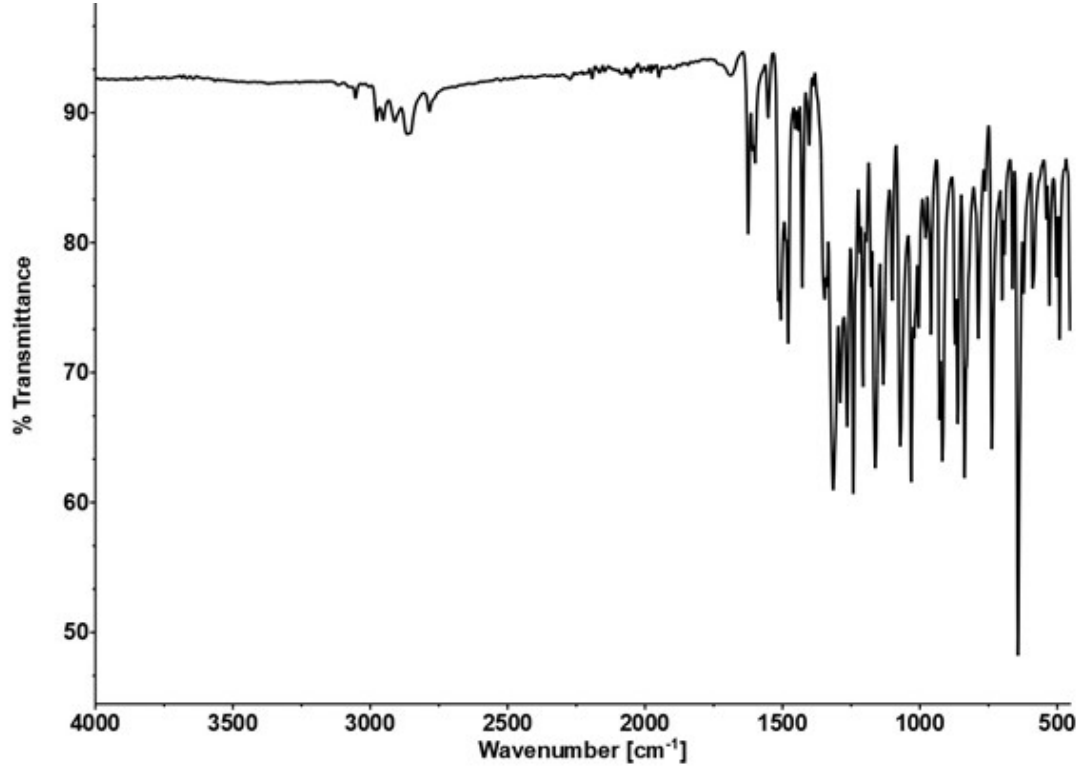
Şekil 4.1. Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) FT-IR spektrumu



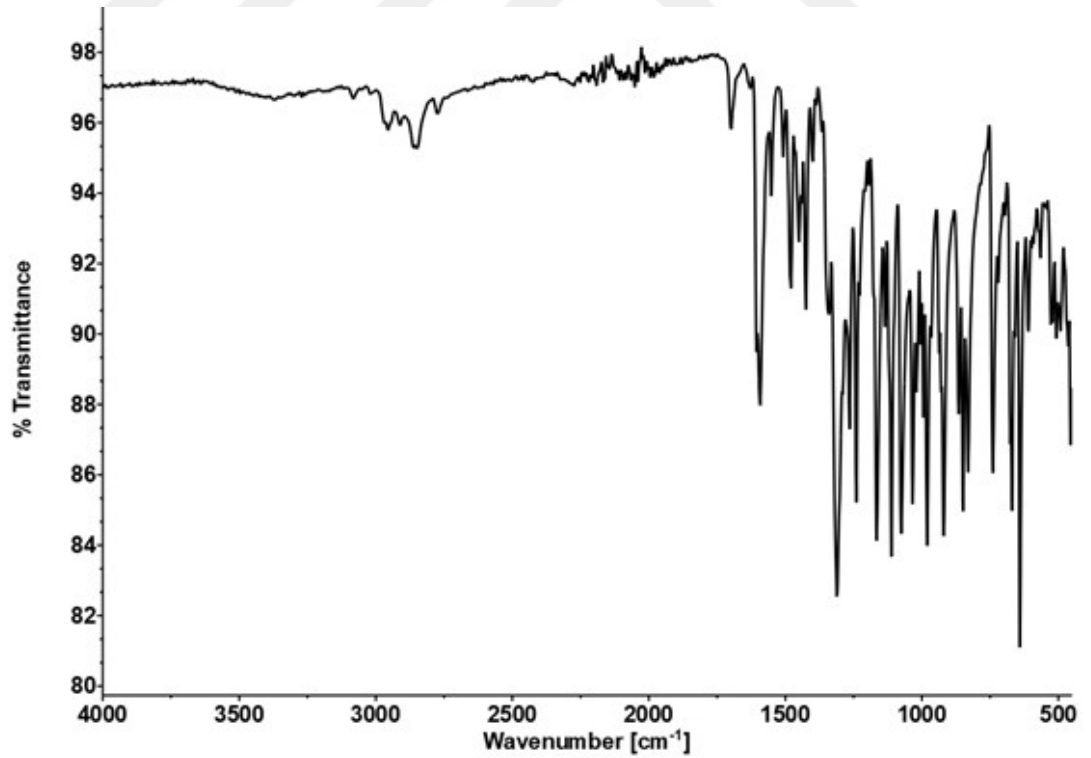
Şekil 4.2. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB1) FT-IR spektrumu



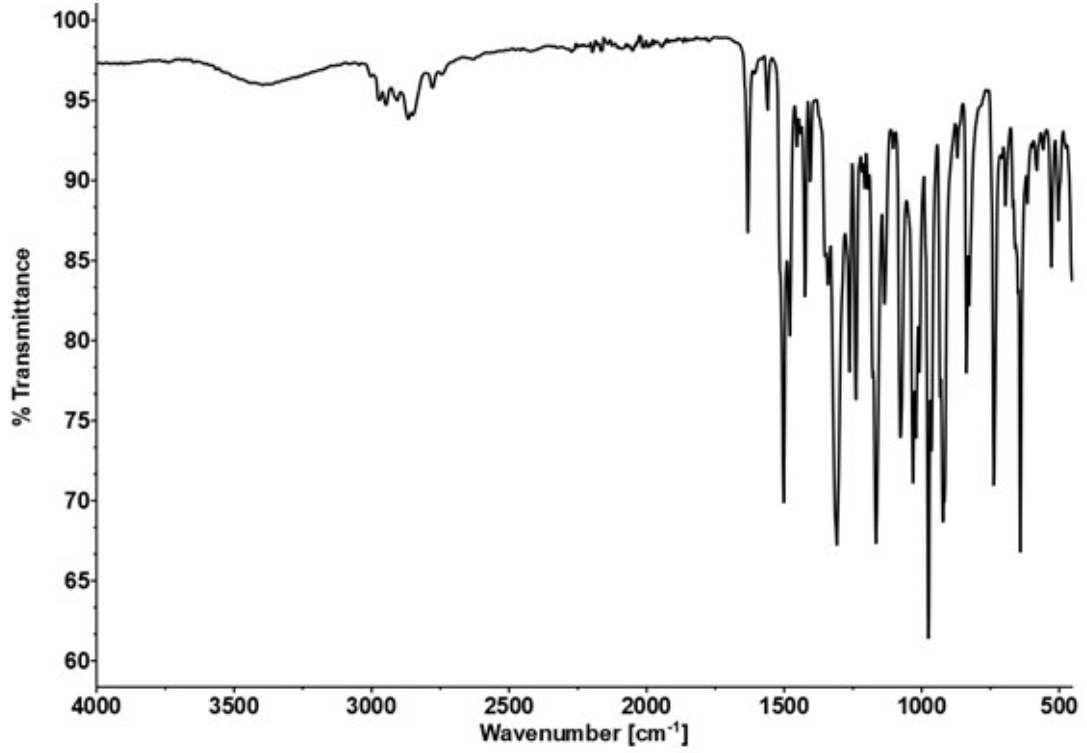
Şekil 4.3. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB2) FT-IR spektrumu



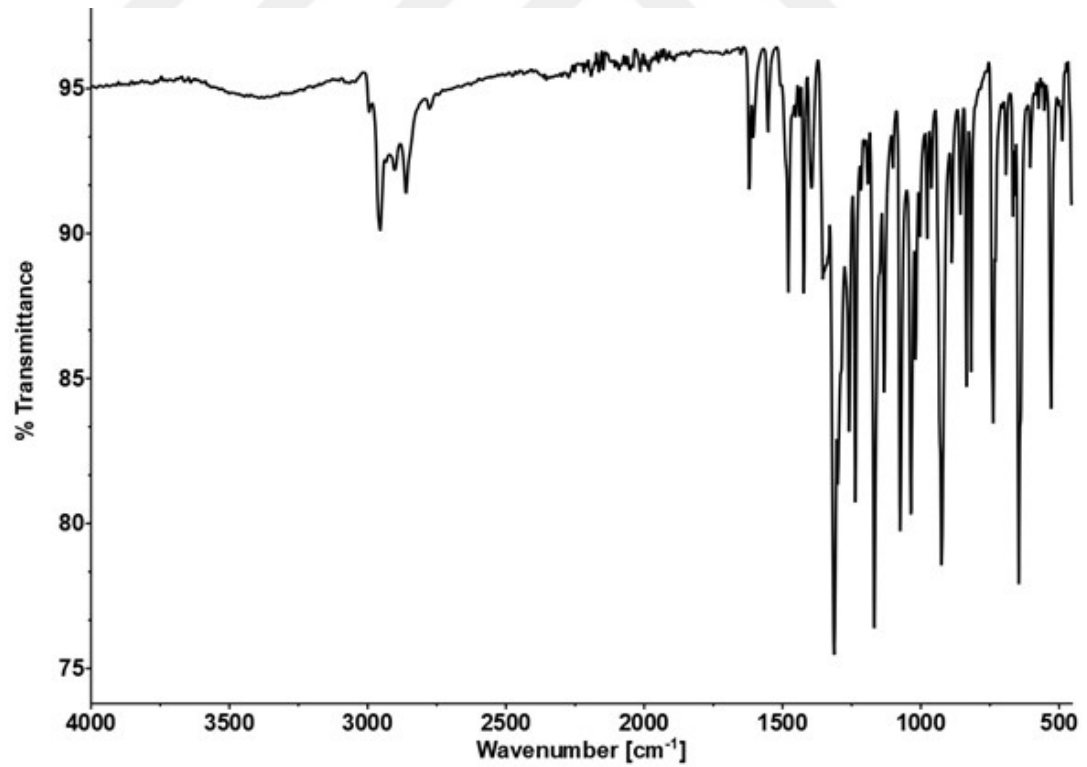
Şekil 4.4. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB3) FT-IR spektrumu



Şekil 4.5. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB4) FT-IR spektrumu



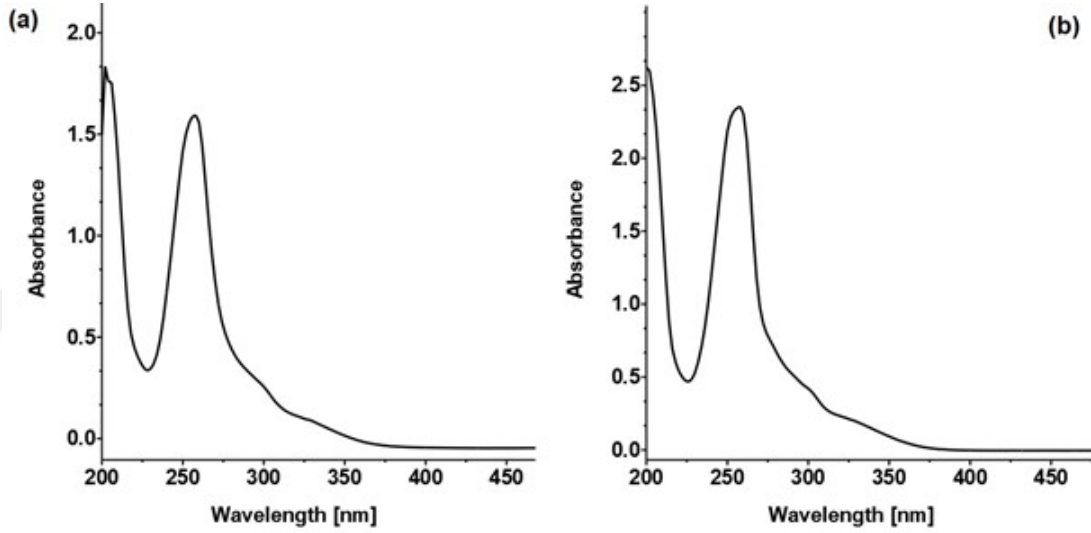
Şekil 4.6. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB5) FT-IR spektrumu



Şekil 4.7. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB6) FT-IR spektrumu

Sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1–SB6) elektronik geçişlerden

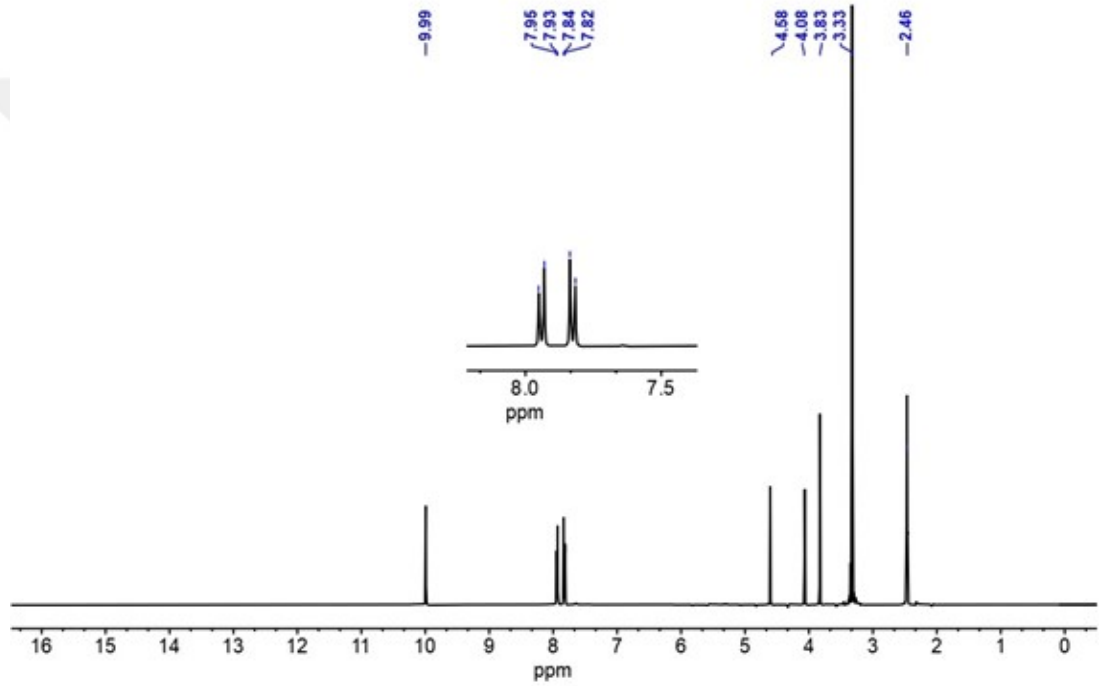
kaynaklanan UV-Vis spektroskopisinde elde edilen veriler deneysel kısımda ve Şekil 4.8'de verilmiştir. Sentezlenen hedef bor bileşiklerinin UV-Vis spektrum davranışı, moleküler bileşenlerin tanımlanması amacıyla 200–1100 nm dalga boyu aralığında ve CH₃CN ile C₂H₅OH çözücülerinde ölçülmüştür. Sentezlenen bor bileşikleri (B ve SB1–SB6), C₂H₅OH çözücüsünde 204–345 nm, CH₃CN çözücüsünde ise 206–360 nm aralığında tespit edilmiştir.



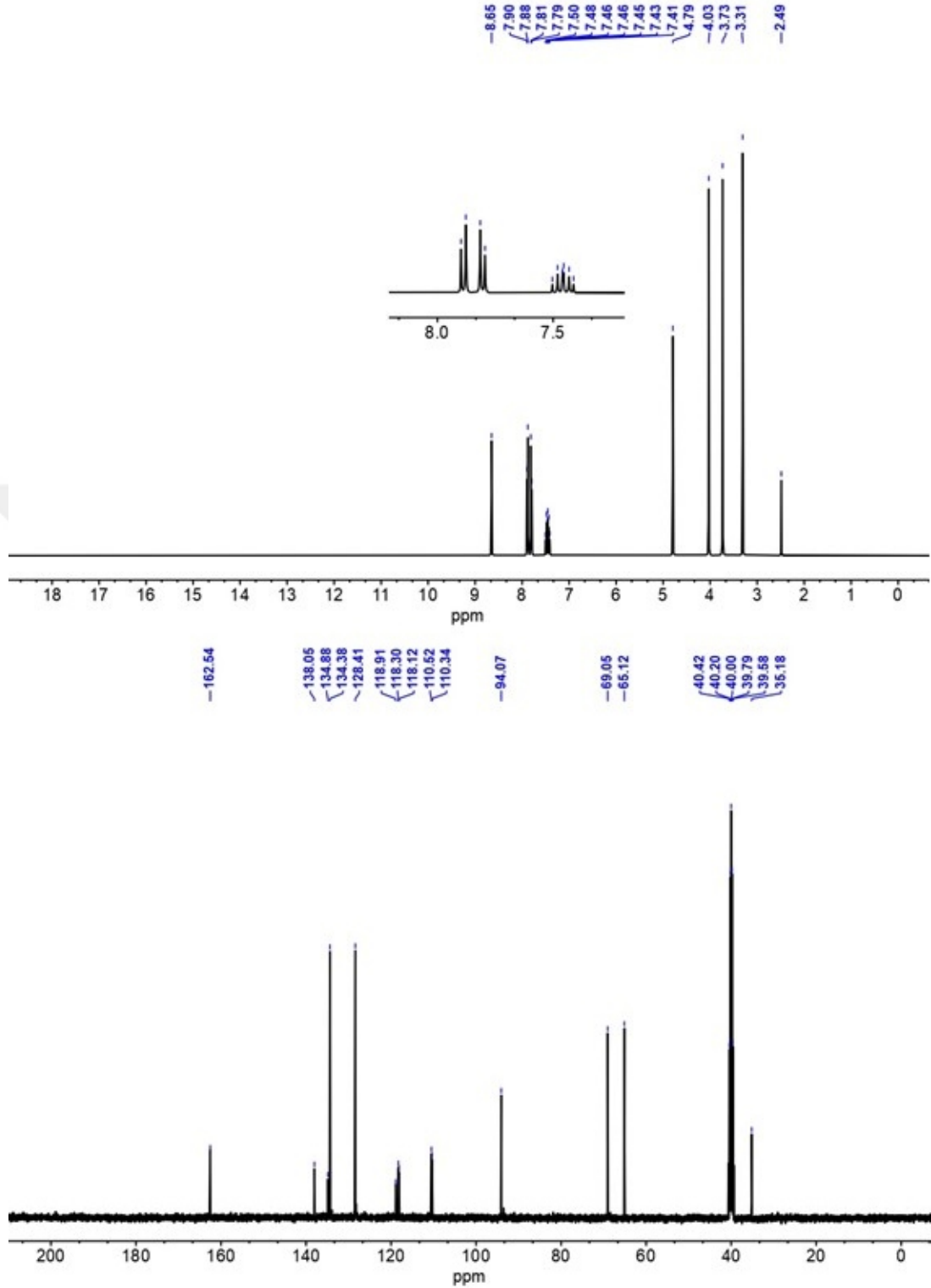
Şekil 4.8. Salen grup içeren bor (SB5) bileşiğinin C₂H₅OH (a) ve CH₃CN (b) çözücülerinde alınmış UV-Vis spektrumları

¹H, ¹³C ve ¹¹B NMR spektroskopisi kullanılarak hedef bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) oluşumu, referans reaktif olarak TMS veya BF₃·Et₂O kullanılarak DMSO-d₆ çözücüsünde incelenmiş ve elde edilen NMR spektral sonuçlarına göre istenilen yapıların oluştuğu ve bunların beklendiği gibi trigonal düzlemsel geometriye sahip olduğu tespit edildi (Şekil 4.9-4.21). Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) ¹H NMR spektrumu incelendiğinde HC=O protonuna ait pikin 9.99 ppm, Ar-CH protonlarına ait piklerin 7.94-7.83 ppm aralığında ortaya çıktığı tespit edildi. Diğer taraftan, O-CH₂-O, CH₂-O ve O-CH₂ protonlarına ait kimyasal rezonansların ise sırasıyla 4.58, 4.08 ve 3.83 ppm'de ortaya çıktığı tespit edildi. Formil grup içeren bor bileşiğinden yolla çıkılarak sentezlenen salen grup içeren bor bileşiklerinin (SB1-SB6) ¹H NMR spektrumu incelendiğinde ise formil grup içeren bor bileşiğindeki HC=O protonuna ait pikin kaybolduğu ve bunun yerine azometin grubuna ait singlet piklerin 8.61-8.82 ppm aralığında çıktığı tespit edildi. O-CH₂-O, CH₂-O ve O-CH₂ protonlarına ait kimyasal kaymalarda beklenen aralıkta gözlemlendi. Bu tez kapsamında sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) ¹³C NMR spektrumları incelendiğinde azometin (HC=N) karbonuna ait karakteristik pikin 170.95-162.54 ppm aralığında ortaya

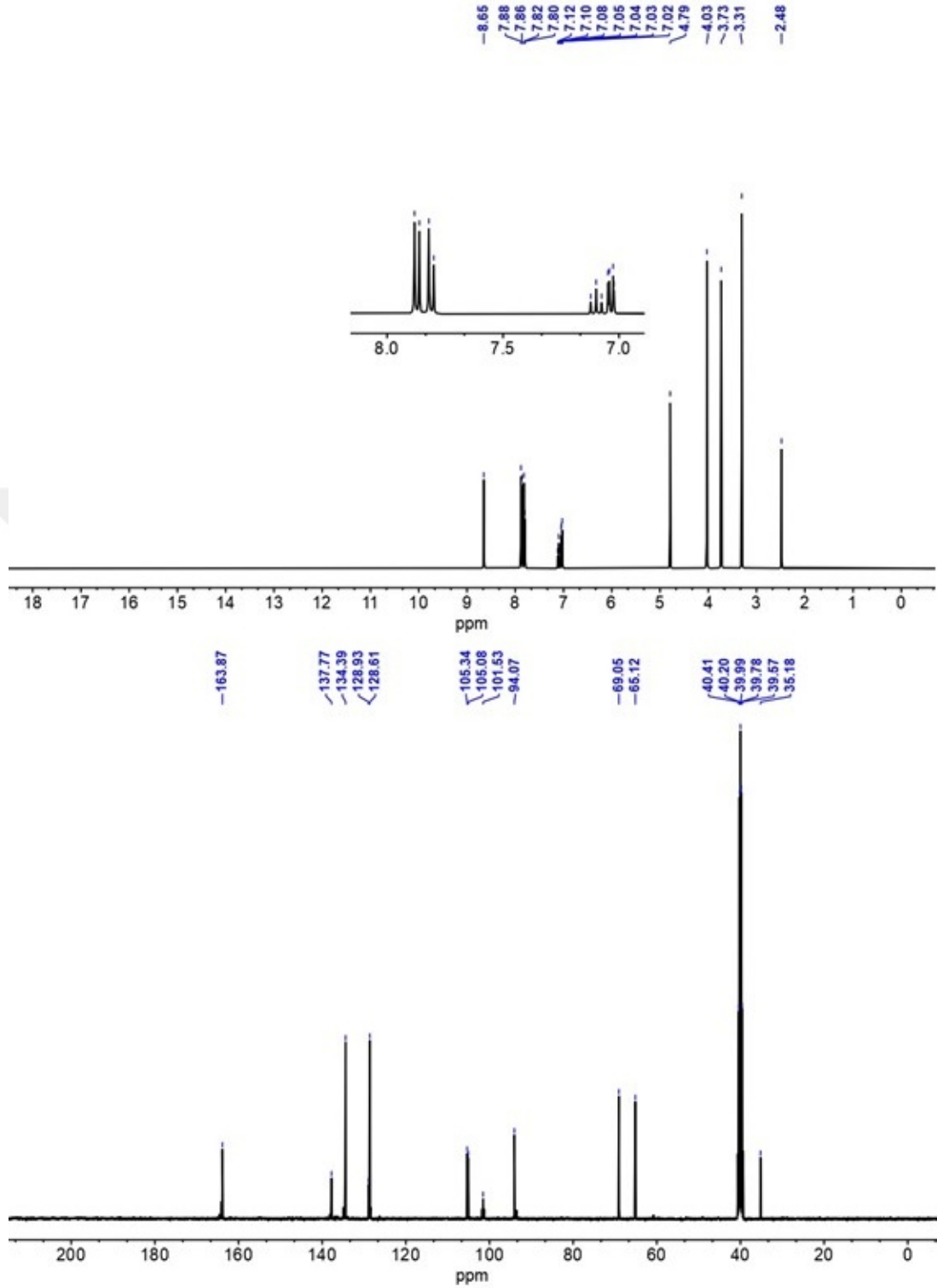
çıkıldığı tespit edildi. Bir diğer karakteristik pik olan ve aromatik karbonlara (Ar-CH) karşılık gelen kimyasal kaymalar ise 150.28-101.53 ppm aralığında tespit edildi. Sentezlenen formil ve salen grup içeren bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) kimyasal yapılarını ve geometrilerini doğrulamak için, referans madde olarak $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ kullanılarak DMSO-d_6 çözücüsünde ve oda sıcaklığında ^{11}B NMR spektroskopisi ile ölçüm yapıldı. Elde edilen ^{11}B NMR spektral sonuçları deneysel kısımda ve Şekil 4.16-4.21'de verilmiştir. Sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB5) bor merkezlerinin benzer kimyasal çevresi nedeniyle, ^{11}B NMR spektrumlarında tek bir pik olarak $\delta = 27.21\text{-}21.66$ ppm aralığında karakteristik bir kimyasal kayma ortaya çıktığı gözlemlendi.



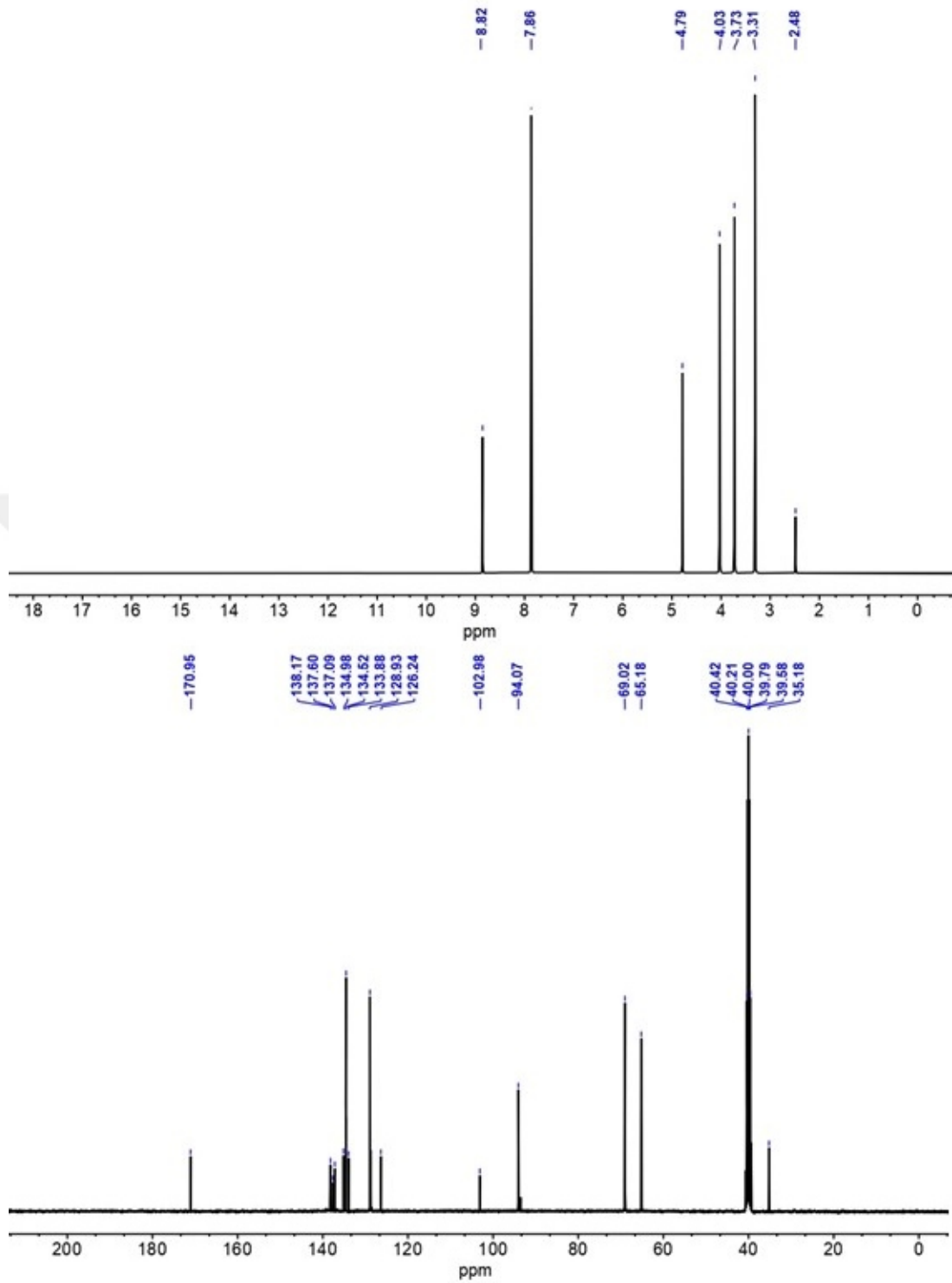
Şekil 4.9. Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) ^1H NMR spektrumu



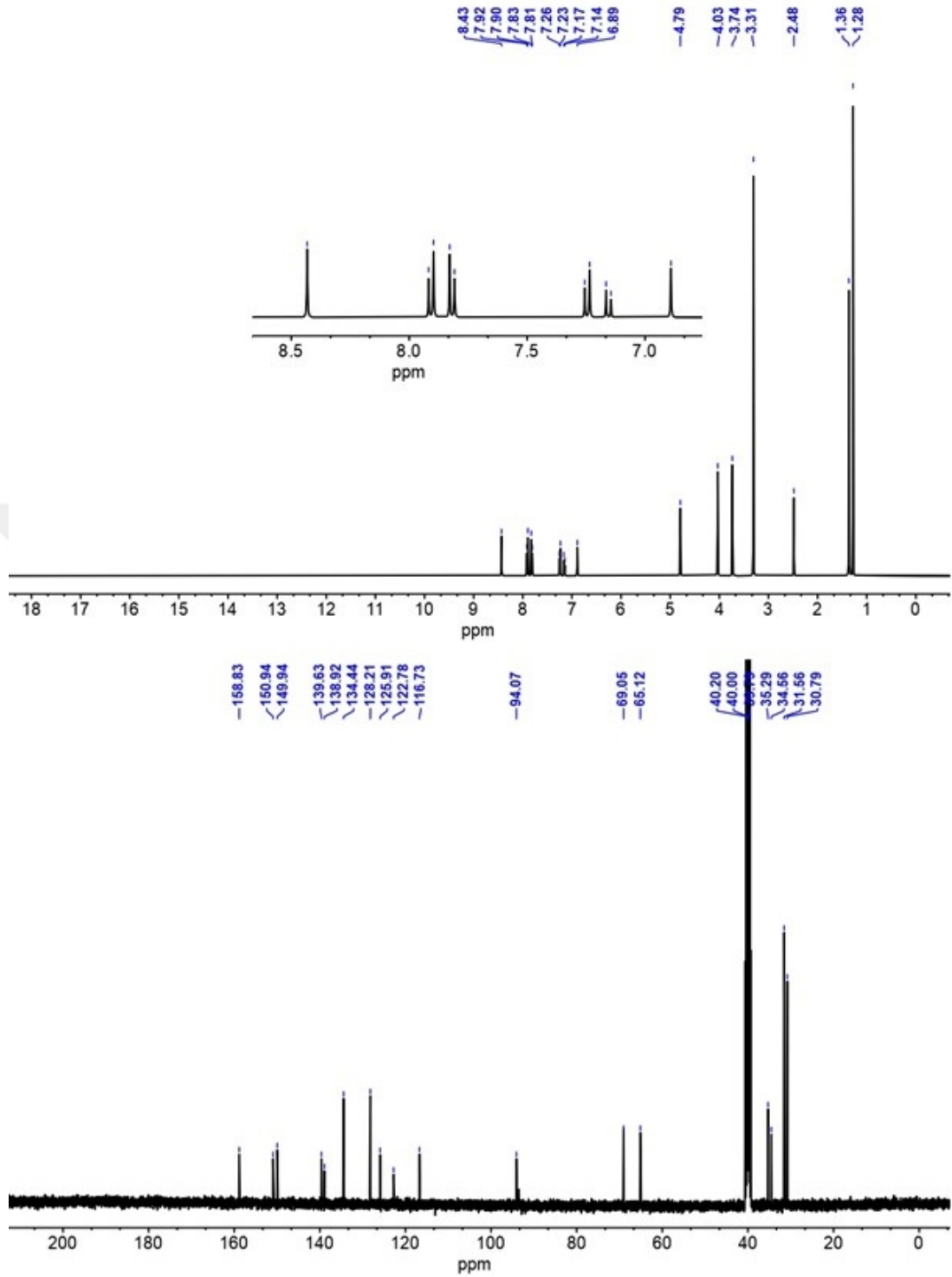
Şekil 4.12. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB3) ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları



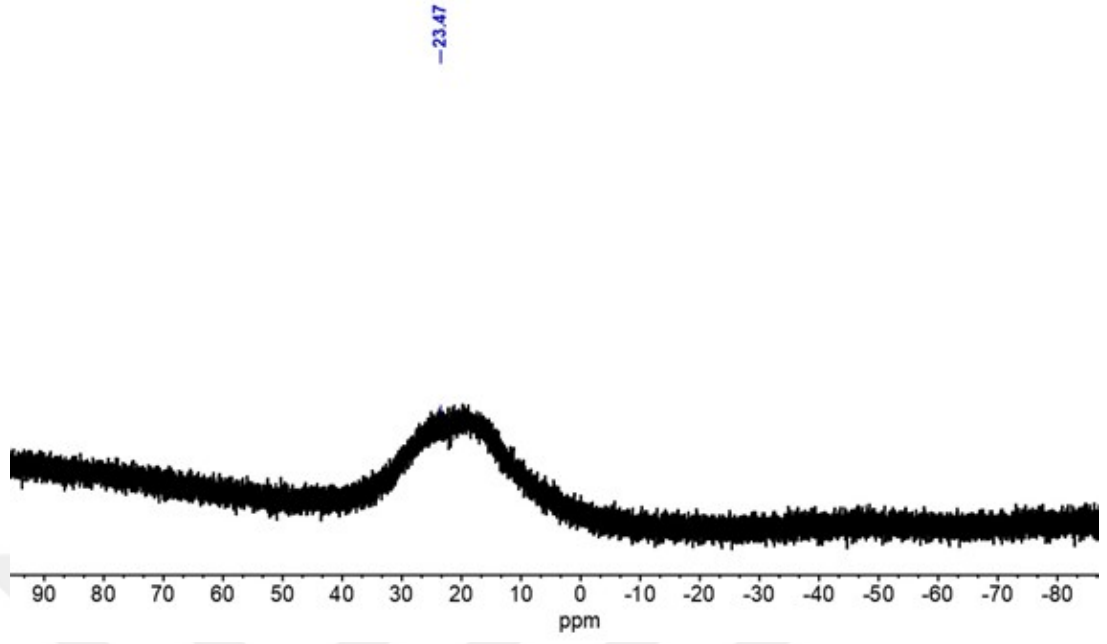
Şekil 4.13. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB4) ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları



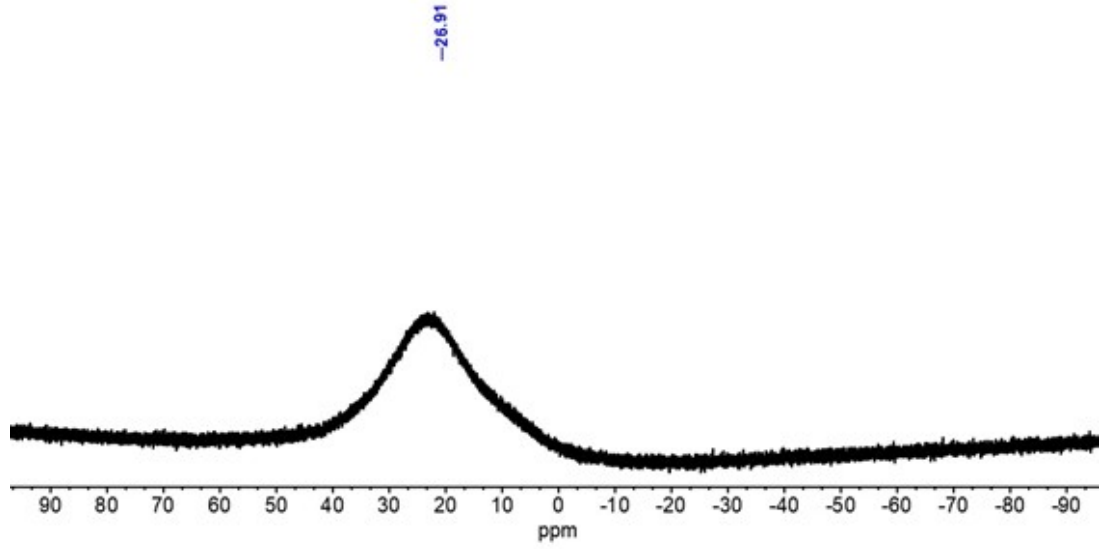
Şekil 4.14. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB5) ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları



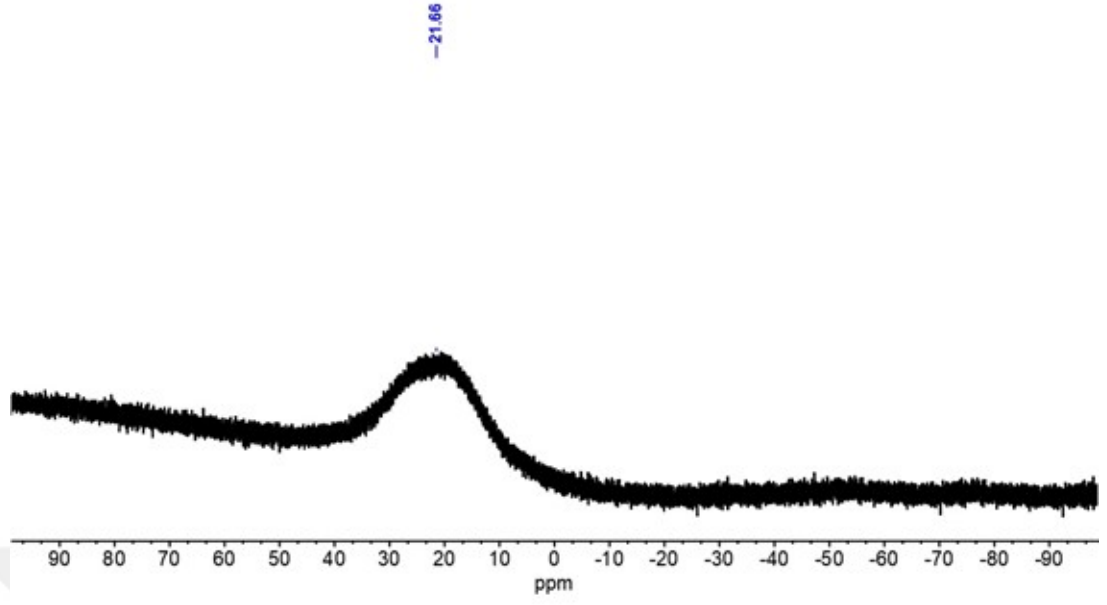
Şekil 4.15. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB6) ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları



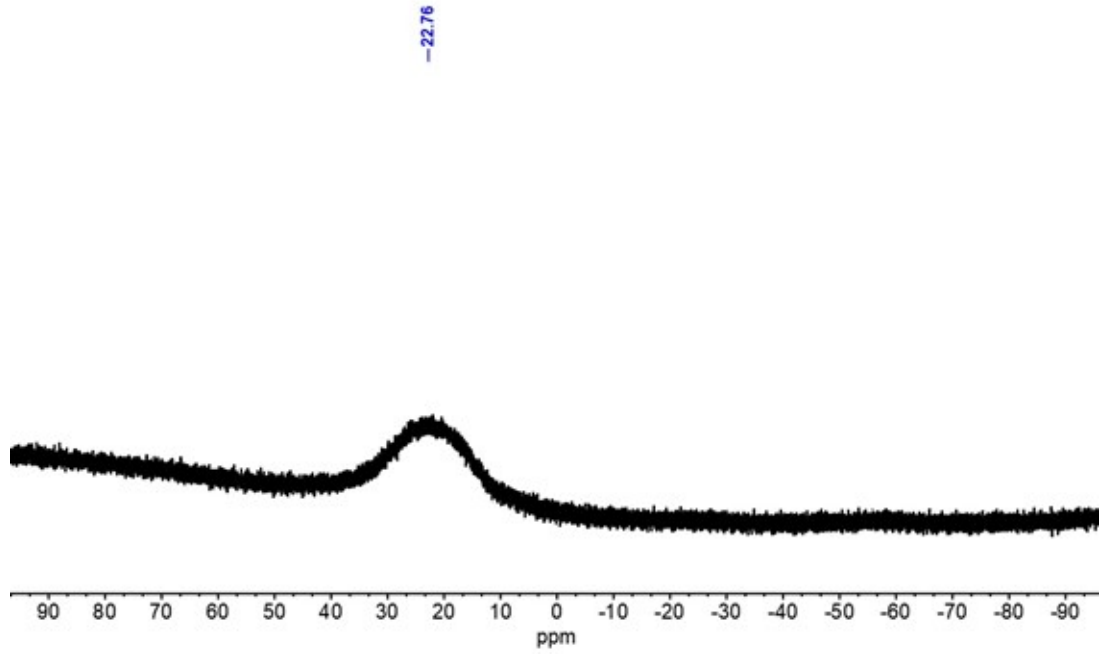
Şekil 4.16. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB1) ^{11}B NMR spektrumu



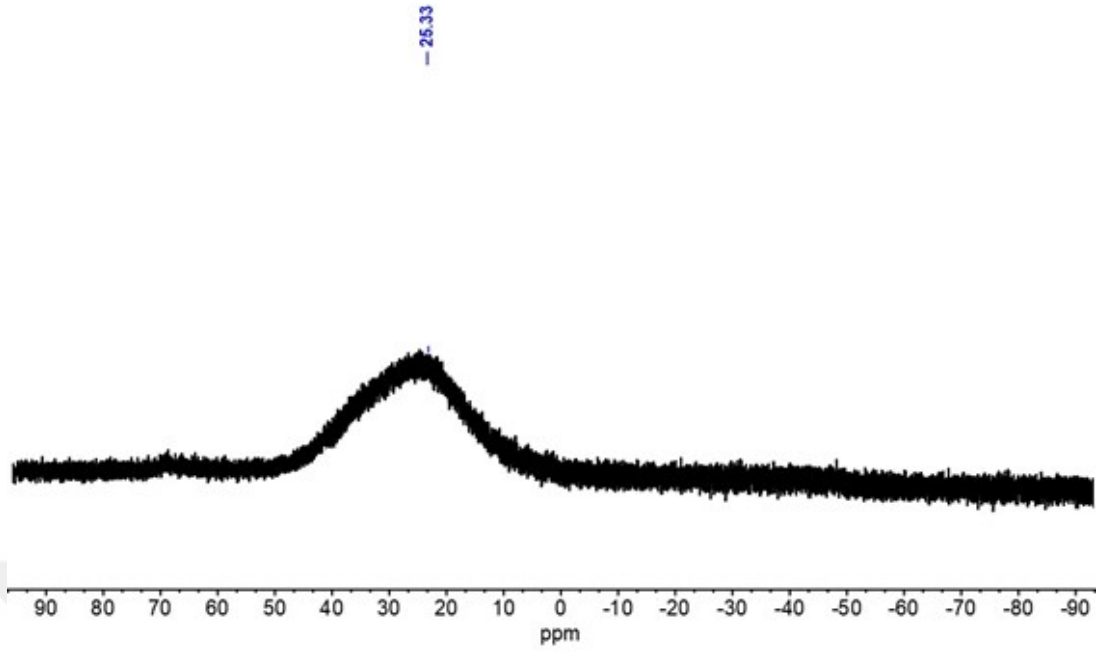
Şekil 4.17. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB2) ^{11}B NMR spektrumu



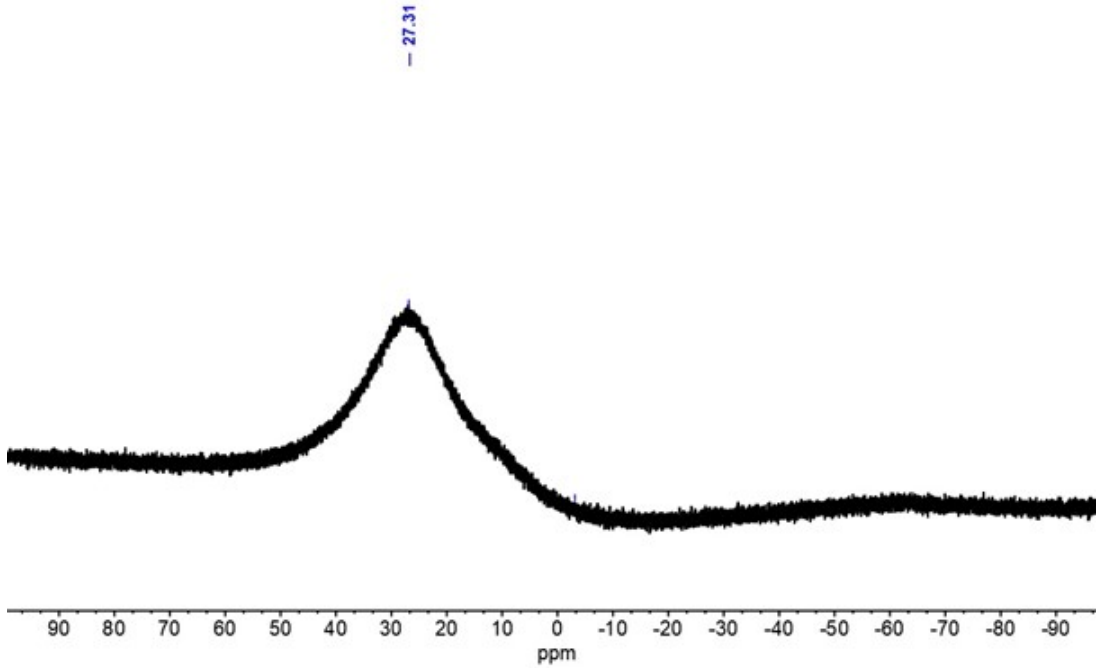
Şekil 4.18. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB3) ^{11}B NMR spektrumu



Şekil 4.19. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB4) ^{11}B NMR spektrumu



Şekil 4.20. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB5) ^{11}B NMR spektrumu

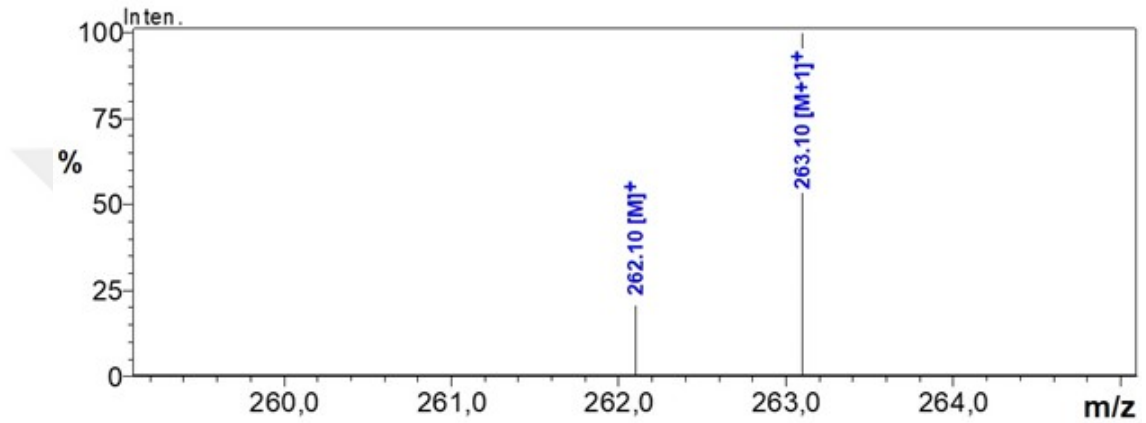


Şekil 4.21. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB6) ^{11}B NMR spektrumu

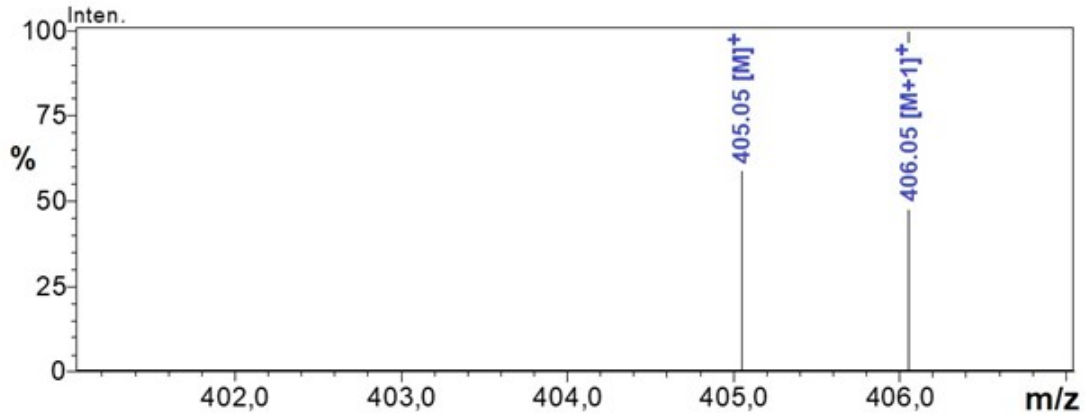
Hedef bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) oluşumunu desteklemek ve kimyasal yapılarını daha iyi anlamak için metil alkol içinde pozitif ESI-MS tekniği kullanılarak LC-MS/MS spektrometresi analiz edildi. Bu bağlamda, sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) tanımlanması ve yapılarının aydınlatılması için LC-

MS/MS spektrumlarının analizleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen spektrumlar sırasıyla Şekil 4.22-4.28’de verilmiştir.

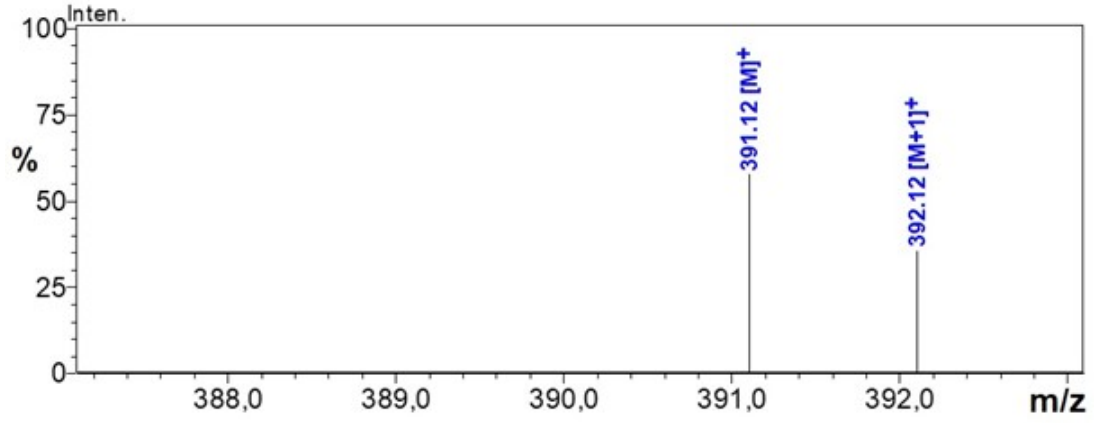
LC-MS/MS’den toplanan veriler analiz edildikten sonra, kaydedilen LC-MS/MS sonuçlarının sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB5) oluşumuyla uyumlu olduğu ve (B) için $m/z = 262.10$ ve 263.10 amu, (SB1) için $m/z = 405.05$ ve 406.05 amu, (SB2) için $m/z = 391.12$ ve 392.12 amu, (SB3) için $m/z = 373.13$ ve 374.13 amu, (SB4) için $m/z = 373.13$ ve 374.12 amu, (SB5) için $m/z = 427.10$ ve 428.10 amu ve (SB6) için $m/z = 449.27$ ve 450.26 amu olduğu rapor edildi.



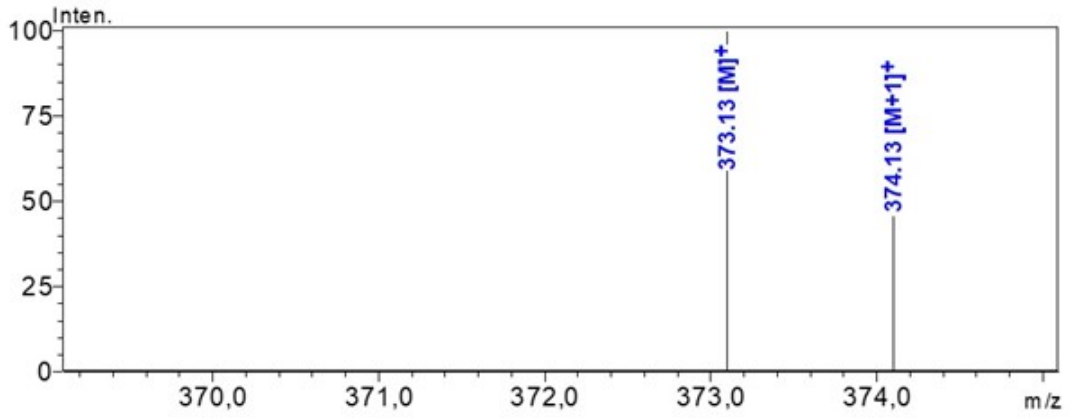
Şekil 4.22. Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) LC-MS/MS spektrumu



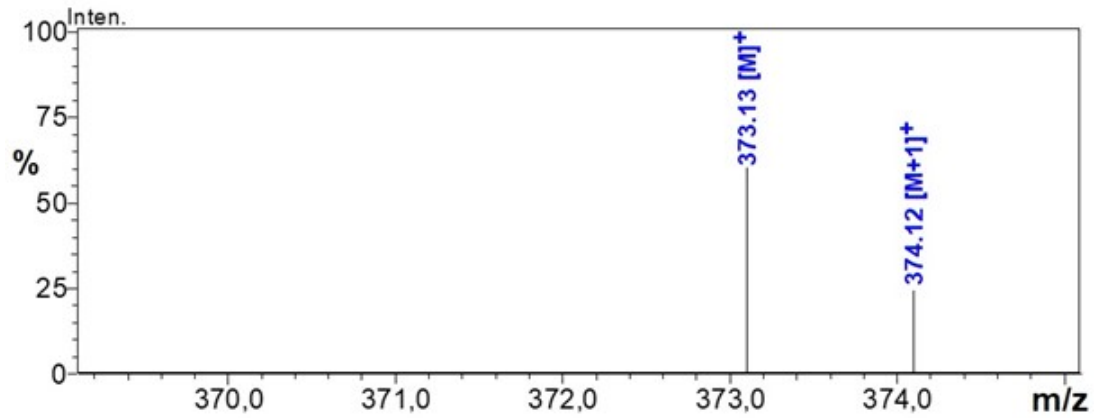
Şekil 4.23. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB1) LC-MS/MS spektrumu



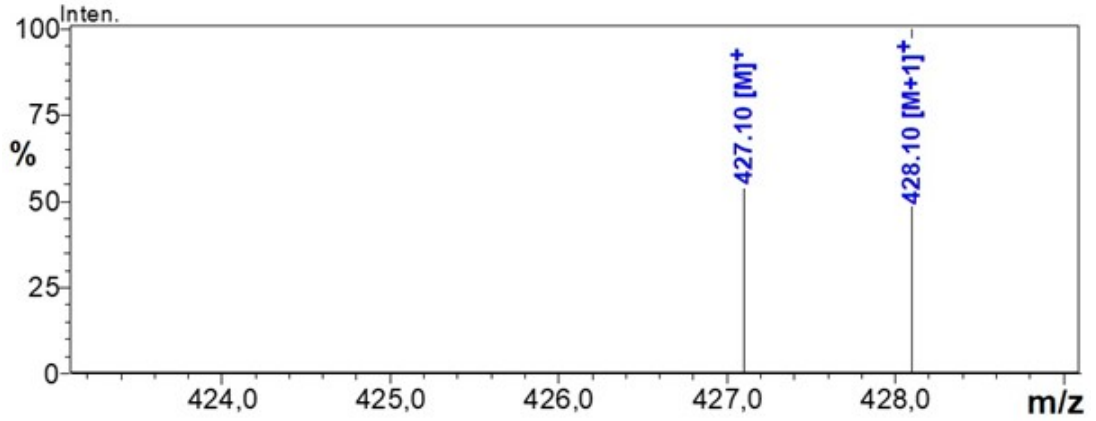
Şekil 4.24. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB2) LC-MS/MS spektrumu



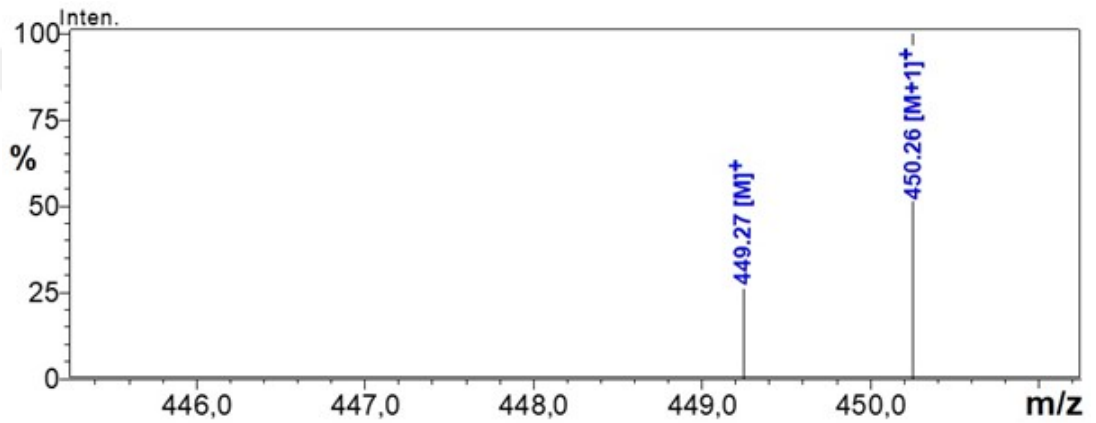
Şekil 4.25. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB3) LC-MS/MS spektrumu



Şekil 4.26. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB4) LC-MS/MS spektrumu



Şekil 4.27. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB5) LC-MS/MS spektrumu



Şekil 4.28. Salen grup içeren bor bileşiğinin (SB6) LC-MS/MS spektrumu

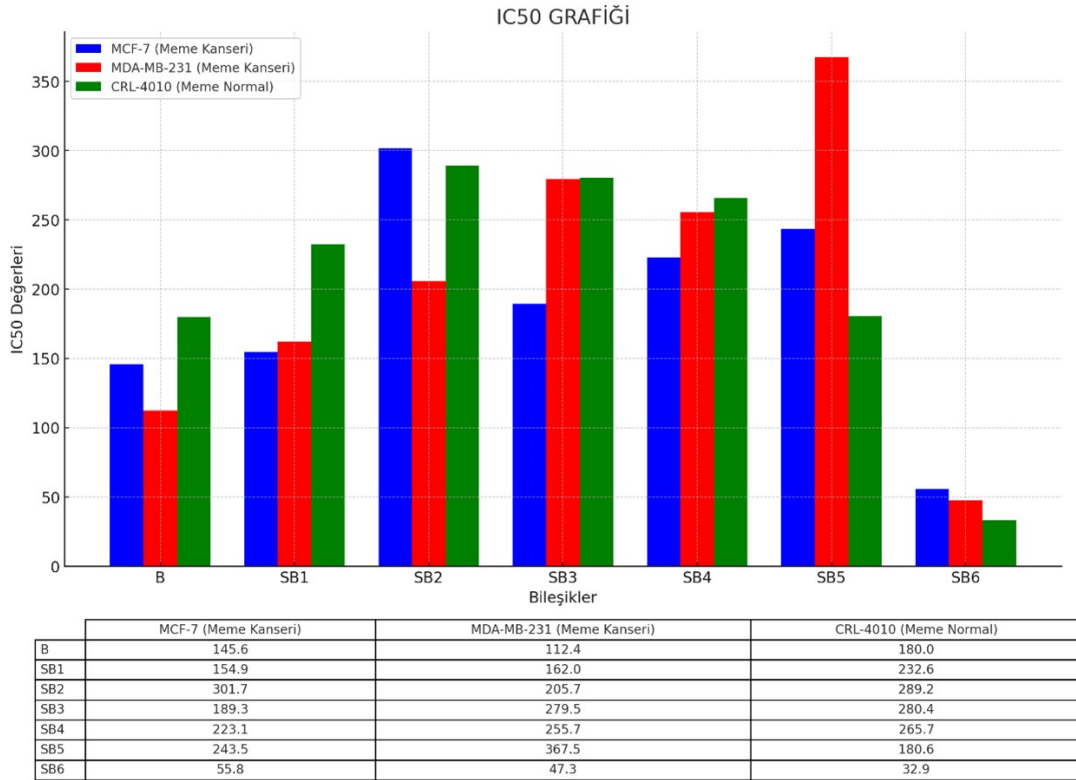
4.2. Hücreler Üzerindeki Sitotoksik Etkinliğin İncelenmesi

Sentezlenen yeni bor bileşiklerinin hücreler üzerindeki sitotoksik etkileri MTT metodu ile incelendikten sonra IC₅₀ değerleri belirlenip tüm sonuçlar çizelge 4.1'de gösterilmiştir. Hücre canlılığının değişimi doz ve zamana bağlı olarak incelendi.

MDA-MB-231 (Meme Kanseri), MCF-7 (Meme Kanseri), ve CRL-4010 (Meme Normal) hücreleri 96-well plaklarda kuyucuk başına 1x10⁴ hücre olacak şekilde ekilerek, hücrelerin yapışması ve dublikasyonu için 24 saat beklendikten sonra besiyerleri değiştirildi. Hücrelere sentezi yapılmış bor bileşikleri ekstraktlarının; 0, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 200, µg/ml dozlarında uygulandıktan, 24 saat sonra sitotoksik etkileri incelendi. Bor bileşiği ilave edilmeyen (0µM) kontrol grubu hücrelerinin canlılığı tüm zaman dilimleri için %100 kabul edildi ve diğer örneklerle ait canlılık değerleri oransal olarak absorbans değerlerinden hesaplandı.

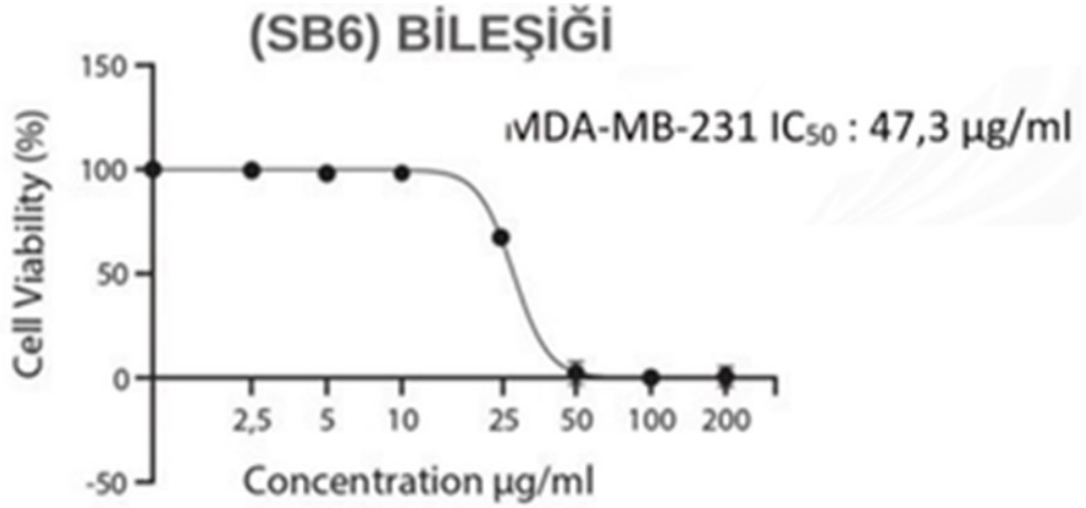
Çizelge 4.1. Sentezlenen Yeni Bor Bileşiklerinin MDA-MB-231, MCF-7 ve CRL-4010 Hücre Hatları Üzerindeki IC50 Değerleri

Sentezlenen Yeni Bor Bileşikleri	MCF-7 (Meme Kanseri)	MDA-MB-231 (Meme Kanseri)	CRL-4010 (Meme Normal)
(B)	145.6	112.4	180.0
(SB ₁)	154.9	162.0	232.6
(SB ₂)	301.7	205.7	289.2
(SB ₃)	189.3	279.5	280.4
(SB ₄)	223.1	255.7	265.7
(SB ₅)	243.5	367.5	180.6
(SB ₆)	55.8	47.3	32.9



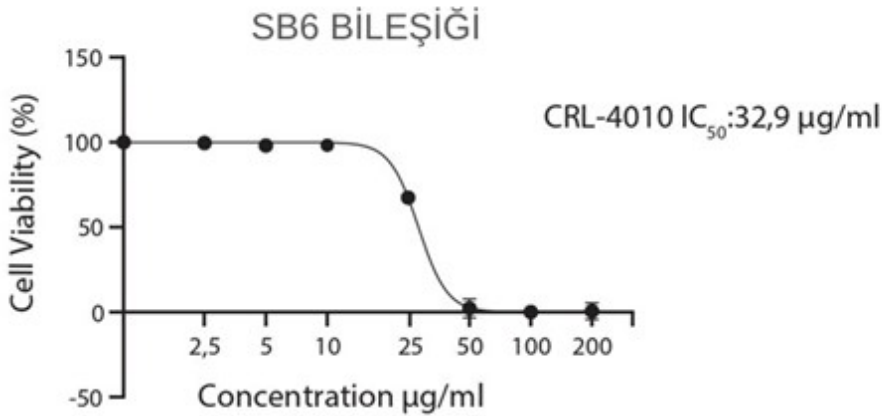
Şekil 4.29. Sentezlenen Yeni Bor Bileşiklerinin IC50 Grafiği

Yeni Bor Bileşiklerinin MDA-MB-231 (Meme Kanseri), MCF-7 (Meme Kanseri), ve CRL-4010 (Meme Normal) hücreleri üzerinde doza bağlı olarak sitotoksik etkileri incelendi, IC50 sonuçları hesaplandı.



Şekil 4.30. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkilerinin MTT tahlili ile değerlendirilmesi. Tüm veriler üç bağımsız deneyden elde edilen ortalama \pm SD olarak ifade edilmiştir. IC₅₀ değeri Graph Pad Prism 9 programı kullanılarak hesaplandı.

SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 (Meme Kanseri), hücresi üzerinde farklı dozlarda sitotoksik etki gösterdiğini tespit ettik. SB6 bileşiği 24 saatte MDA-MB-231 (Meme Kanseri) hücresi üzerinde IC₅₀ değerinin 50 µg/ml altında sitotoksik etki gösterdiğini tespit ettik.



Şekil 4.31. SB6 bileşiğinin CRL-4010 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkilerinin MTT tahlili ile değerlendirilmesi. Tüm veriler üç bağımsız deneyden elde edilen ortalama \pm SD olarak ifade edilmiştir. IC₅₀ değeri Graph Pad Prism 9 programı kullanılarak hesaplandı.

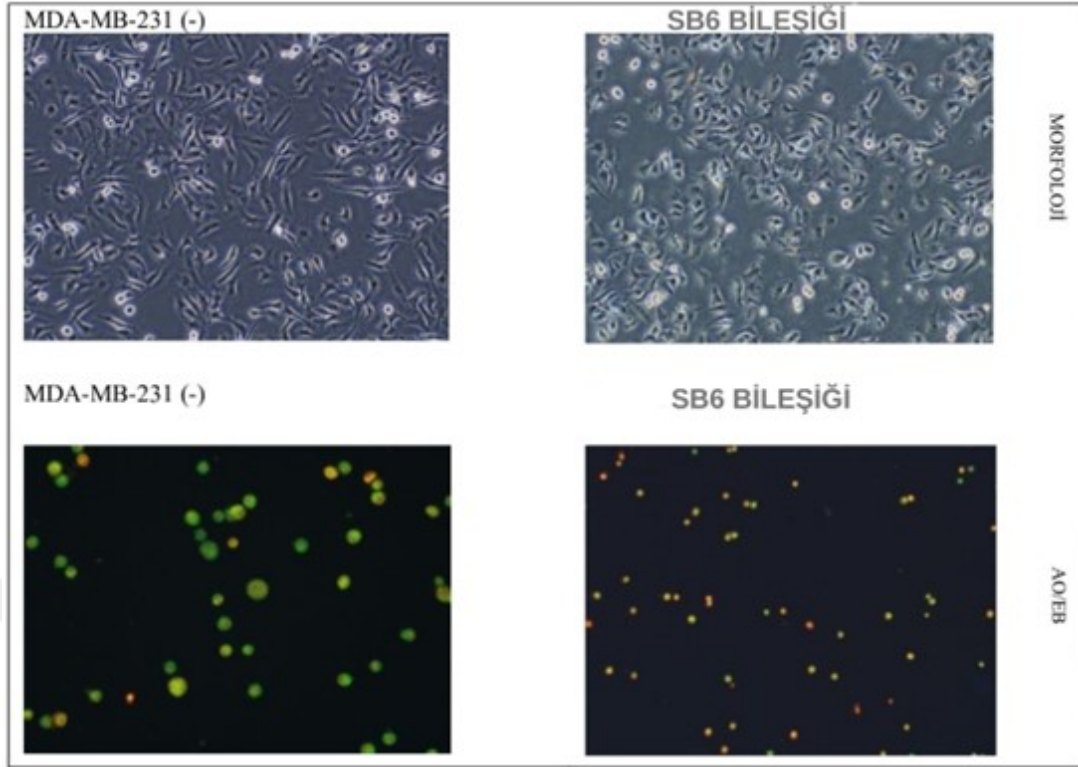
SB6 bileşiğinin CRL-4010 (Meme Normal) hücresi üzerinde doza bağlı olarak sitotoksik etkilerini arttırdığı tespit edildi, IC₅₀ sonuçları hesaplandı.

SB6 bileşiğinin CRL-4010 (Meme Normal) hücresi üzerinde farklı dozlarda sitotoksik etki gösterdiğini tespit ettik. SB6 bileşiğinin 24 saatte CRL-4010 (Meme Normal) hücresi üzerinde IC50 değerinin 50 µg/ml altında sitotoksik etki gösterdiğini tespit ettik.

4.3. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücrenin hücre morfolojisi üzerindeki etkileri ve hücre DNA'sı üzerindeki etkilerinin floresan boyama yöntemiyle incelenmesi

SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücre morfolojisi üzerindeki etkileri incelendi. Sonuçlar şekil 4.32'de verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde 50 µg/ml SB6 bileşiğinin hücreleri apoptozise yönlendirdiği gözlemlendi. Morfolojik görüntülerde doza bağlı olarak hücre sayısının azaldığı, hücrelerin membran yapılarının değiştiği tipik apoptotik hücre görüntüsü verildiği tespit edildi (Şekil 4.32).

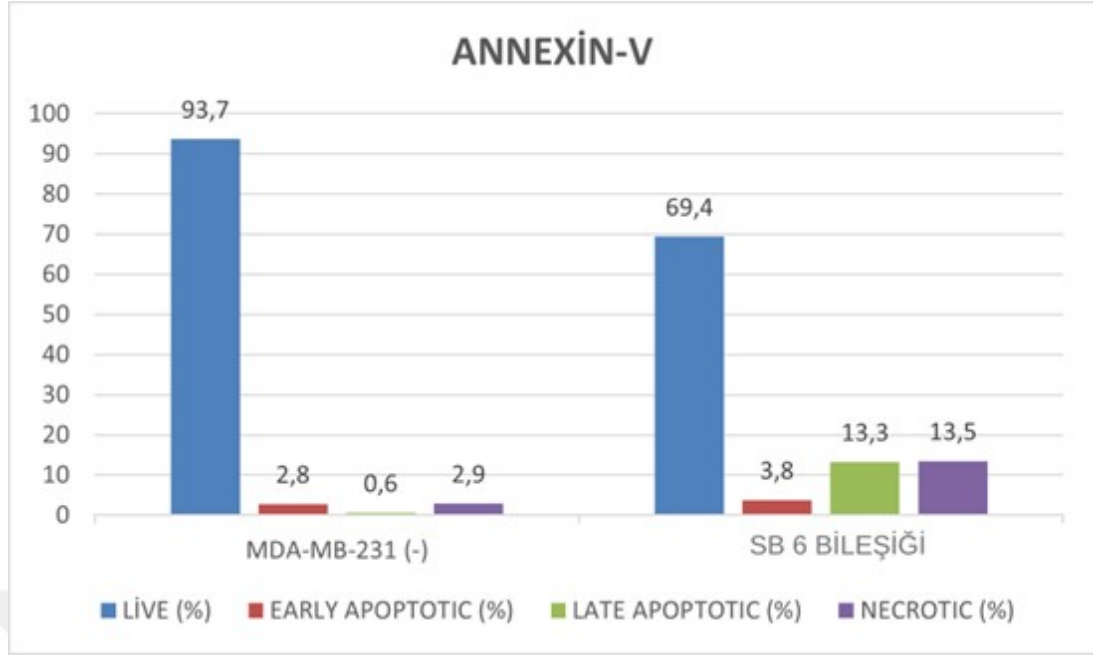
Çalışmada hücreler etidyum bromür akrinin oranj boyaları ile boyandıktan sonra floresan mikroskop kullanılarak morfolojik olarak değerlendirildi. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücreleri üzerindeki apoptotik ve nekrotik etkilerinin gözlenmesi amacıyla bu boyama metodu kullanıldı. Canlı hücreler homojen yeşil boyanmış kromatin, nekrotik hücreler homojen turuncu boyanmış kromatin, erken apoptotik hücreler kondanse ve fragmante yeşil boyanmış kromatin ve geç apoptotik hücreler kondanse ve fragmante turuncu boyanmış kromatin şeklinde gözlemlendi (Şekil 4.32).



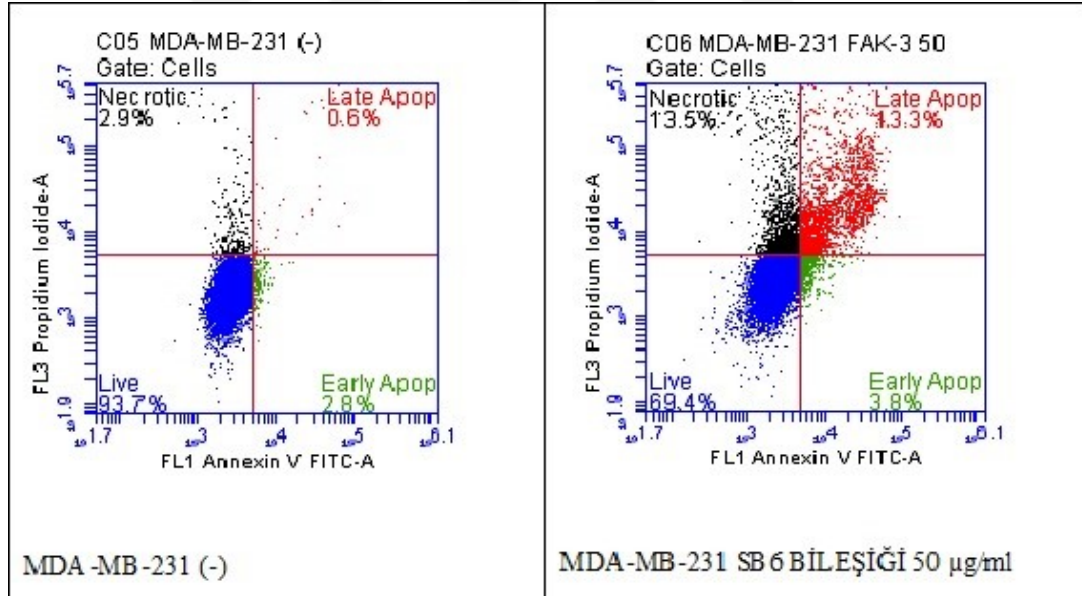
Şekil 4.32. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücre hattı üzerindeki morfolojik gösterimi ve akridin oranj-etidyum bromür boyamasındaki görüntüleri

4.4. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücresinin hücre apoptozisi üzerindeki etkilerinin Flow Sitometrik Annexin-V Apoptoz/Nekroz Analizi ile incelenmesi

SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücresi üzerinde 50 µg/ml dozunun %30,6 oranında hücre ölümlerinin neden olduğu gözlemlendi. Bu ölümün %3,8 sinin erken apoptozis, %13,3 sinin geç apoptozis, %13,5'nin ise nekrotik kaynaklı olduğu gözlemlendi (Şekil 4.33-4.34).



Şekil 4.33. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücre hattı üzerindeki Annexin-V Apoptoz/Nekroz analizi



Şekil 4.34. SB6 bileşiğinin MDA-MD-231 Hücre Hattının Annexin-V Sonucunun Demografik Grafığı

MDA-MB-231 hücrelerine SB6 bileşiğinin (50 µg/ml) uygulandıktan sonra Annexin-V/PI boyama sonuçları. Mavi: Canlı-[(FITC-)/(PI-)]; Yeşil: Erken apoptotik

[(FITC+)/(PI-)]; Kırmızı: Geç apoptotik [(FITC+)/(PI+)]; Siyah: Nekrotik [(FITC+)/(PI+)] hücreleri göstermektedir.



5. TARTIŞMA

Kanser hem ülkemiz hem de dünya çapında oldukça yaygın bir hastalıktır. Her geçen gün gelişen teknoloji ve yapılan araştırmalar ile bilim dünyası kanser için yeni tedavi yaklaşımları aramaya devam etmektedir. Bor bileşiğinin; düşük toksisiteye sahip olmasının sağladığı avantajla kanser tedavisinde sağlıklı dokulara zarar verme riskinin düşük olması, hedefe yönelik taşıyıcı sistemlerle doğrudan tümöre doğru tutunması, yan etkileri azaltarak önemli bir rol oynaması ve antibakteriyel ve antioksidan özelliklerine sahip olması kanser tedavisi için yeni araştırmalara olanak sağlamıştır. Son birkaç yılda, bor (B) bileşikleri, yüksek maligniteye sahip bazı kanser türlerinin ve ameliyat edilemeyen kanserlerin kemoterapisinde giderek daha sık kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca bor elementi, Bor Nötron Yakalama Terapisinde (BNCT) kullanılır. Bu terapi ile bor elementi kanserli dokulara özgü bir şekilde taşınır. Daha sonra bir nötron ışınıyla ışınlanarak kanser oluşumunu hedef alan yüksek enerjili alfa üreterek kanserli dokunun parçalanmasını ve yok olmasını hedefler. Bu çalışmada sentezlediğimiz yeni bor bileşiklerinin (B, SB1-SB6) meme kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini araştırdık.

Anti-kanser çalışmaları için uygun koşullarda sentezlenen farklı bor bileşiklerinin (B, SB1-SB6) yapısal karakterizasyonu için çeşitli analitik teknikler (FT-IR, NMR, UV-Vis, LC-MS/MS, elementel analiz ve erime noktası) kullanıldı.

Hedef bor bileşiklerinin yapısal analizi için ilk olarak FT-IR spektroskopisi kullanıldı. Bu tez çalışmasının ilk aşamasında sentezlenen formil grup içeren bor bileşiğinin (B) titreşim frekanslarına karşılık gelen karakteristik pik, 1,3-dioksan-5,5-dimetanol ve 4-formilfenilboronik asitin esterleşme reaksiyonu sonucu $\nu(\text{O-H})$ piklerinin kaybolması ve bunun yerine $\nu(\text{B-O})$ ve $\nu(\text{B-C})$ gruplarına ait piklerin 1307 ve 1072 cm^{-1} 'de ortaya çıkmasıdır. Salen grup içeren bor bileşiklerinde (SB1-SB6) ise bu karakteristik piklerin (B-O ve B-C) 1315-1308 ve 1077-1071 cm^{-1} 'de tespit edilmesi, hedef bileşiklerin sentezlendiğini ortaya koymaktadır (Kilic ve ark., 2024; Akdemir ve ark., 2023). Salen grup içeren bor bileşiklerinin (SB1-SB6) FT-IR spektrumları incelendiğinde göze çarpan bir diğer karakteristik pikin 1632-1605 cm^{-1} 'de gözlemlendiği ve bu piklerin imin (CH=N) gruplarına ait olduğu düşünülmektedir. Bu tez çalışması kapsamında sentezlenen farklı bor bileşiklerine (B ve SB1-SB6) ait diğer aromatik ve alifatik grupların eğilme ve gerilme pik sonuçları da istenilen frekanslarda gözlenmesi, hedef bor bileşiklerinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini desteklemektedir.

Sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) elektronik geçişlerden kaynaklanan UV-Vis spektroskopisinde, UV-Vis spektral sonuçları, sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) ayırt edici elektronik geçişlerini belirlemek ve kimyasal yapılarını doğrulamak için kullanılır. Sentezlenen hedef bor bileşikleri için UV-Vis spektrum davranışı, moleküler bileşenlerin tanımlanması hakkında bilgi için 200-1100 nm dalga boyu aralığında ve CH₃CN ile C₂H₅OH çözücülerinde ölçülmüştür. Sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) C₂H₅OH'de 204-345 nm ve CH₃CN'de ise 206-360 nm aralığında bölgede önemli elektronik geçişler, sırasıyla aromatik halkaların, karbonil grubu yalnız çiftlerinin, (B-O) ve (C-O) fonksiyonel gruplarının UV radyasyon bölgesindeki olası $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$ veya π -boş B p-orbital elektronik geçişlerinden kaynaklanmaktadır. R sübstituent gruplarındaki farklılığın yanı sıra çözücülerin polaritesinin değişmesi nedeniyle absorpsiyon spektrumlarında küçük farklılıklar gözlenmiştir. Bu geçişler hedeflenen bor bileşiklerinin başarılı bir şekilde hazırlandığını ortaya koymaktadır (González-Flores vd., 2023; Kilic vd., 2023).

¹H, ¹³C ve ¹¹B NMR spektroskopisi kullanılarak hedef bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) oluşumu, referans reaktif olarak TMS veya BF₃.Et₂O kullanılarak DMSO-d₆ çözücüsünde incelenmiş ve elde edilen NMR spektral sonuçlarına göre istenilen yapıların oluştuğu ve bunların beklendiği gibi trigonal düzlemsel geometriye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Formil grup içeren bor bileşiğinin (B) ¹H NMR spektrumu incelendiğinde HC=O protonuna ait pikin 9.99 ppm, Ar-CH protonlarına ait piklerin 7.94-7.83 ppm aralığında ortaya çıktığı tespit edilmiştir (Zhan ve ark., 2016; Kilic ve ark., 2022). Diğer taraftan, O-CH₂-O, CH₂-O ve O-CH₂ protonlarına ait kimyasal rezonansların ise sırasıyla 4.58, 4.08 ve 3.83 ppm'de ortaya çıkması bu bor bileşiğinin sentezlendiğini ortaya koymuştur. Formil grup içeren bor bileşiğinden yola çıkılarak sentezlenen salen grup içeren bor bileşiklerinin (SB1-SB6) ¹H NMR spektrumu incelendiğinde ise formil grup içeren bor bileşiğindeki HC=O protonuna ait pikin kaybolduğu ve bunun yerine azometin grubuna ait singlet piklerin 8.61-8.82 ppm aralığında çıktığı tespit edilmiştir. Bu durum, salen grup içeren bor bileşiklerinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir. O-CH₂-O, CH₂-O ve O-CH₂ protonlarına ait kimyasal kaymalar beklenen aralıkta gözlenmiştir. Bu tez kapsamında sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) ¹³C NMR spektrumları incelendiğinde azometin (HC=N) karbonuna ait karakteristik pikin 170.95-162.54 ppm aralığında ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Bir diğer karakteristik pik olan ve aromatik karbonlara (Ar-CH) karşılık gelen kimyasal kaymalar ise 150.28-101.53 ppm aralığında tespit edilmiş, bu da hedeflenen bileşiklerin oluştuğunu ortaya koymaktadır (Zhan vd., 2016; Kilic vd., 2022). Sentezlenen farklı bor bileşiklerinde

(B ve SB1-SB6) diğer karbonlara ait kimyasal rezonanslarda da beklenen kimyasal kaymalar gözlenmiş ve bu durum hedef bor bileşiklerinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini desteklemiştir.

Sentezlenen formil ve salen grup içeren bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) kimyasal yapılarını ve geometrilerini doğrulamak için, referans madde olarak $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ kullanılarak DMSO-d_6 çözücüsünde ve oda sıcaklığında ^{11}B NMR spektroskopisi ile ölçüm yapıldı. ^{11}B NMR kimyasal kayma rezonansları, koordine edilmiş üç veya dört bor bileşiğinin Lewis asit kuvvetini belirlemek için yeterli bilgi sağlamasa da, sentezlenmiş organobor bileşiklerinin geometrilerinin trigonal düzlemsel veya tetrahedral geometri hakkında değerli bilgiler sağlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bor bileşiklerindeki bor merkezinin koordinasyon sayısı üçten dörde çıktığında veya sp^2 'den sp^3 hibridizasyonuna geçtiğinde, ^{11}B NMR kimyasal kayma rezonansında genellikle yüksek alan kayması gözlenir (Weiss ve Bryce, 2010; Nöth ve Wrackmeyer, 1978). Bu bağlamda, sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB5) bor merkezlerinin benzer kimyasal çevresi nedeniyle, ^{11}B NMR spektrumlarında tek bir pik olarak $\delta = 27.21\text{-}21.66$ ppm aralığında karakteristik bir kimyasal kayma ortaya çıkmıştır ve hedef bileşiklerin trigonal düzlemsel geometri olduğunu ortaya koymaktadır.

Hedef bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) oluşumunu desteklemek ve kimyasal yapılarını daha iyi anlamak için metil alkol içinde pozitif ESI-MS tekniği kullanılarak LC-MS/MS spektrometresi analiz edildi. Bu bağlamda sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) tanımlanması ve yapılarının aydınlatılması için LC-MS/MS spektrumlarının analizleri gerçekleştirilmiş ve elde edilen spektrumlar sırasıyla verilmiştir. LC-MS/MS'den toplanan veriler analiz edildikten sonra, kaydedilen LC-MS/MS sonuçlarının sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB5) oluşumuyla uyumlu olduğu ve (B) için $m/z = 262.10$ ve 263.10 amu, (SB1) için $m/z = 405.05$ ve 406.05 amu, (SB2) için $m/z = 391.12$ ve 392.12 amu, (SB3) için $m/z = 373.13$ ve 374.13 amu, (SB4) için $m/z = 373.13$ ve 374.12 amu, (SB5) için $m/z = 427.10$ ve 428.10 amu ve (SB6) için $m/z = 449.27$ ve 450.26 amu olduğu rapor edilmiştir. Elde edilen bulgularla birlikte deneysel bölümde de gösterildiği gibi doğal bor atomunun iki izotopu olduğundan, bu baz piklerinin konumu ve izotopik dağılım modeli bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) $[\text{M}]^+$ ve $[\text{M}+1]^+$ bor fragmanına karşılık geldiği düşünülmektedir. Hesaplanan teorik LC-MS/MS iyon parçalanma modelinin m/z değerleri, sentezlenen bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) için belirlenen deneysel değerlerle iyi uyum göstermiştir.

Şimşek ve arkadaşları, bor bileşiklerini (Borik asit (BA), Boraks pentahidrat (BP) ve Disodyum pentaborat dekahidrat (DPD)) insan meme kanseri (MDA-MB-231) hücrelerine uygulayıp, immünohistokimyasal yöntemle VEGF, eNOS, iNOS ekspresyon seviyelerine bakarak tümör anjiyogenezi üzerindeki etkisini test etmişler. Hücreler, %10 fetal sığır serumu (FBS), %1 ile desteklenmiş RPMI-1640, L-glutamin ve %1 penisilin/streptomisin ile rutin hücre kültürü koşulları altında (37 °C, %5 CO₂ ve %100 nem) her 2-3 günde bir pasajlamışlar. İlgili bor bileşiklerinin MDA-MB-231 kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisini ve IC₅₀ değerini MTT yöntemiyle belirlemişler. Yapılan hücre büyüme analizi sonucunda; BA ve BP bileşiklerinin (1 mM), meme kanseri hücre büyümesinde çok sınırlı bir azalmaya neden olduğunu, hücre canlılığını fazla etkilemediğini, ancak DPD'nin ise 5 ve 7. günlerdeki uygulamalarda, uygulamadan 72 saat sonra MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinin büyümesinde önemli bir azalmaya neden olduğunu, kanser hücre canlılığını belirgin bir şekilde azalttığını tespit etmişler. Elde ettikleri verilerle BP'nin özellikle DPD'nin antianjiyogenik ve antioksidan özelliklere sahip olduklarını, dolayısıyla bu bileşiklerin meme kanseri hücrelerinin proliferatif ve metastatik potansiyellerini azaltabileceğini ve bunun meme kanserinde yeni bir tedavi yaklaşımı sağlayabileceğini ileri sürmüşler. Ayrıca, bu bileşiklere karşı gözlemlenen hücresel yanıtlardan sorumlu olan altta yatan mekanizmanın belirlenmesi ve meme kanseri hastalarında klinik uygulamaya uygun olup olmayacağını belirlenebilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç duyulacağını belirtmişlerdir (Şimşek, 2019).

Scorei ve arkadaşları, borik asit (BA) ve kalsiyum fruktoboratın (CF) insan meme kanseri hücrelerinde (MDA-MB-231) apoptotik yolun aktivasyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlar. Hücreler, %5 CO₂ içeren bir atmosferde, %98 bağıl nemde 37 °C'de büyütülmüş. Plakaya yerleştirildikten 24 saat sonra, MDA-MB-231 hücreleri taze MEM plus'ta, farklı CF veya BA konsantrasyonları ile 24 saat daha inkübe edilmiş. 24 saatlik BA ve CF maruziyetinden sonra meme kanseri hücrelerinin canlılığını doğrulamak için MTT yöntemi ile BA ve CF'nin MDA-MB-231 hücrelerinde konsantrasyona bağlı bir sitotoksiteyi indüklediğini gözlemlemişler. Spesifik olarak, 0.45, 2.25, 5, 11.25 ve 22.5 mM'lik BA ve CF konsantrasyonları, MDA-MB-231 hücrelerinin sırasıyla %98.2, 86.1, 78.2, 71.5, 52.6 ve %94.9, 86, 75, 66, 60 nispi sağkalımını indüklediklerini tespit etmişler. Apoptotik hücre ölümünü, Terminal deoksinükleotidil transferaz dUTP Nick-End Labeling (TUNEL) testi ile bir kit kullanarak ölçmüşler. BA'nın apoptoz üzerinde çok az etkisi olduğunu ancak CF'nin TUNEL pozitif hücrelerinin sayısının doza bağlı bir şekilde 2.25 mM konsantrasyonun üzerinde arttırdığı sonucuna ulaşmışlar. CF'nin MDA-MB-231

hücrelerinde apoptozu indüklediği bulgusunu doğrulamak için, sitozolik sitokrom c proteinlerinin seviyesini ELISA testi ile incelemişler. Yapılan bu çalışmada, BA ve CF'nin meme kanseri hücreleri MDA-MB-231'in çoğalmasını doza bağlı bir şekilde inhibe ederek büyümesini engellerken, yalnızca CF'nin apoptozu indüklediği sonucuna varmışlar. BA ve CF'nin meme kanseri hastalarında klinik uygulamaya uygun olup olmayacağını belirlemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulacağını ileri sürmüşlerdir (Scorei vd., 2008).

Hacioğlu ve arkadaşları, DU-145 insan prostat kanser hücrelerine borik asiti belirli konsantrasyonlarda uygulayarak, hücre hattında oksidatif stres, apoptotik yollar ve morfolojik değişiklikleri incelemişler. Bu çalışmada; besin alımıyla kanda elde edilebilecek konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyonlarda borik asidin DU-145 insan prostat kanseri hücreleri üzerinde 24 saat boyunca etkilerini değerlendirmişler. İlk olarak, borik asidin (0 ila 12,5 mM) DU-145 insan prostat kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesini MTT yöntemiyle belirlemişler ve borik asidin IC₅₀ konsantrasyonunu tanımlamışlar. Daha sonra, MTT'de bulunan dozları kullanarak, antioksidan-oksidan moleküllerinin ve apoptotik proteinlerin seviyelerini ölçmüşler ve morfolojik değişiklikleri değerlendirmişler. Borik asidin DU-145 hücrelerinde konsantrasyona bağlı olarak oksidatif stres, hücre büyümesinin inhibisyonu, apoptoz ve morfolojik değişikliklere neden olduğu sonucuna varmışlar. Ayrıca, artan borik asit konsantrasyonları ile yapılan tedavilerin, hücrelerdeki antioksidan seviyelerini düşürdüğünü gözlemlemişler. Elde ettikleri bu sonuç ile, antioksidan olarak bilinen borik asidin, belirli dozlarda oksidan olarak hareket ederek hücre çoğalmasını engelleyebileceğini ortaya koyduklarını ve borik asidin yüksek IC₅₀ konsantrasyonu olumsuz olarak algılansa da, bunun sonraki çalışmalar için önemli bir arka plan sağladığını düşündüklerini ileri sürmüşlerdir (Hacioğlu vd., 2020).

Barranco ve Eckhert, borik asidin inhibisyon mekanizmasını, DU-145 hücre hattının; hücre döngüsü, apoptoz ve mitokondriyal aktivitesi üzerindeki etkisini araştırmışlar. Borik asidin hücre proliferasyonu üzerindeki etkisini üç prostat kanseri ve iki tümörjenik olmayan prostat hücre hattı kullanarak incelemişler. Bu hücreler, androjene duyarlı fenotipi koruyan bir lenf nodu metastazından türetilen LNCaP ve androjenden bağımsız fenotipi gösteren biri beyin metastazından türetilen DU-145, diğeri ise alt lomber iskelet metastazından türetilen PC-3. Hormona bağımlı LNCaP ve hormondan bağımsız DU-145 kanser hatlarının proliferasyonunun, doza bağlı bir şekilde borik asit tarafından azaltıldığını tespit ederek, inhibisyondan sorumlu mekanizmanın androjen reseptörüne ihtiyaç duymadığına dair kanıt sağlamışlar.

PC-3 ve daha sonra tümörjenik olmayan hücre hatları PWR-1E ve RWPE-1'de %50 büyüme inhibisyonu elde etmek için dört kat daha yüksek borik asit konsantrasyonlarının gerektirdiğini ve bunun da borik aside duyarlılığın LNCaP ve DU-145'te diğer hücre hatlarına göre daha yüksek oranda ifade edilen hücresel mekanizma(lar)a bağlı olduğunu ileri sürmüşler. DU-145 hücrelerinin propidyum iyodür kullanılarak yapmış oldukları hücre döngüsü analizinde, borik asit kaynaklı proliferatif inhibisyonun belirgin bir hücre döngüsü aşaması kaymasına neden olmadığını göstergesi olduğunu yorumlamışlar. Apoptoza genellikle bir döngü aşaması kaymasının eşlik ettiğini, ancak tespit edilen bu durumun hücre proliferasyonunun inhibisyonunun hücre ölümü olmaksızın gerçekleştiğini düşündürmüştür. Ayrıca, yapılan bu çalışmada, borik asidin G0 aşamasında tutulan hücrelerin yapışmasını etkilemediğini ve apoptozun göstergeleri olan fark edilebilir kaspaz-3 ifadesini veya aktivitesini indüklediğini gözlemlemişler. MTT azalmasının olmaması ile mitokondriyal aktivitenin akut borik asit maruziyetleri sırasında etkilenmediğini de tespit etmişler. Elde etmiş oldukları bu sonuçlar ile, borik asidin; DU-145 ve LNCaP prostat kanseri hücre hatlarının proliferasyonunu doza bağımlı bir şekilde inhibe ettiğini ancak bu inhibisyonun, hücre ölümü indüksiyonundan ziyade proliferatif inhibisyon yoluyla büyümeyi azalttığını ileri sürmüşler (Barranco ve Eckhert, 2004).

Zeng ve arkadaşları, etkili meme kanseri tedavisi için *in vitro* ve *in vivo* olarak hidrojen peroksidi katalize ederek hidroksil radikallerini verimli bir şekilde üretebilen, biyolojik olarak parçalanabilir bor oksinitür (BON) yapısına dayalı yepyeni bir peroksidaz nanozim geliştirmişler. *In vitro* deneylerle, BON'un hidrojen peroksidi etkili ve sürekli bir şekilde katalize ederek yüksek reaktif hidroksil radikallerini üretebildiğini göstermişlerdir. Geliştirdikleri BON'u 4T1 (fare meme bezi dokusundan türetilen bir meme kanseri hücre dizisi) tümörlü fareler üzerindeki terapötik etkisini araştırmışlar. Akış sitometrisi, BON nanozimin Annexin V-FITC/PI testi ile antikanser mekanizmasını araştırmak için kullanılmış. Kolokalisasyon deneyi ile, mavi floresan BON nanozimin lizozomlarda spesifik olarak birikebildiğini ve 4T1 kanser hücrelerinin apoptozunu indükleyen ve 48 saat içinde hücre canlılığını %82 oranında azaltan sitotoksik hidroksil radikallerini katalitik olarak ürettiğini ortaya koymuşlar. Yapmış oldukları *in vivo* deney grupları arasında BON'un, 14 günlük tedaviden sonra meme tümörü inhibisyonlarında yüksek potansiyele sahip olduğunu, tümör büyümesini %97 oranında baskıladığını ve şaşırtıcı bir şekilde BON grubundaki bir faredeki tümör dokusunun görsel inceleme ile tamamen ortadan kaldırıldığını gözlemlemişler. Tedavi sırasında, deney gruplarındaki farelerin vücut ağırlıklarında kontrol grubuyla karşılaştırıldıklarında

önemli bir fark olmadığını, bunun sonucunda da BON örneklerinin biyomedikal uygulamalar için yüksek biyoyoumlu olduğunu göstermişlerdir. Daha sonra tümör dokularını, farklı gruplardaki terapötik etkilerini değerlendirmek için H&E ve trifosfat çentik uç etiketleme (TUNEL) ile boyamışlar. BON grubundaki tümör dokusunun apoptozunu/nekrozunu en ciddi şekilde gözlemlemişler. Ek olarak her fare grubunun ana organ dokularının (akciğer, kalp, böbrek, karaciğer ve dalak) H&E boyama sonuçlarına göre bu organ ve dokularda belirgin bir hasar olmadığını, bu durumun BON nanoenziminin biyogüvenliğinin bir kanıtı olduğunu belirtmişler. Sonuç olarak; BON'un 4T1 hücreleri için apoptozu etkili bir şekilde indükleyebileceğini ve güçlü bir kanser karşıtı ilaç olarak işlev görebileceğini, peroksidaz benzeri nanozimin, bor salınlı tedavinin ve ilaç izlemenin çoklu işlevlerini biyolojik olarak parçalanabilir BON nanomalzemeye entegre edilerek, güçlü kanser teşhisi ve tedavileri için çok modlu boron nitrit (BN) nanotıp platformunun rasyonel tasarımlarına yol açtığını ileri sürmüşler (Zeng vd., 2021).

Scorei ve Popa, bor bazlı tedavi kimyasalları geliştikçe, bor ile farklı kanser türlerinin görülme sıklığı arasındaki korelasyonu, borun etkilediği biyokimyasal ve moleküler mekanizmaları gözden geçirmek ve borun kanserin kemoprevensiyonundaki önemini araştırmışlar. Bor bileşiklerinin kimyasına dayanan beslenme ve tedavi ilkelerini analiz etmişler. Bor açısından zengin diyetleri borun kimyasına dayalı olarak belirli kanser türlerinin bölgesel riskleriyle ilişkilendiren çalışmaları, doğal ve sentetik bor içeren bileşiklerin antikanser ajanları olarak kullanımıyla ilgili çalışmaları özetlemişler. Bor içeren bileşiklerin kanser hücrelerinin fizyolojisi ve üremesini engelleyen mekanizmaları incelemişler. Bor içeren bileşiklerden en sık etkilenen kanser türleri arasında prostat, rahim ağzı, akciğer ve meme kanseri olduğunu belirtmişler. Kanser hücrelerine karşı bor kimyası kullanıldığında, belirli bir metodolojiye sahip diyet temelli, kemoprevensiyon ve kemoterapi olmak üzere iki yol olduğunu belirtmişler. Bor takviyeli beslenme ile bazı kanser türlerinin görülme sıklığı arasında negatif bir korelasyon olduğunu tespit etmişler. Bor içeren kimyasalların kanser hücrelerine karşı aktivitesiyle ilgili potansiyel mekanizmalar arasında serin proteazlar, NAD-dehidrojenazlar, mRNA ekleme, DNA polimerizasyonu, timidilat sentezi, S-adenosilmetiltransferaz, histon olmayan kromatin metilasyonu, DNaz, RNaz, katepsin ve diğerleri gibi çok sayıda enzimatik sürecin inhibisyonunu içerdiğini belirtmişler. Bor içeren kimyasalların ayrıca Ca²⁺ reseptörlerini etkileyerek, hücre bölünmesini inhibe ederek, nükleer reseptör bağlanma taklidi ve apoptoz indüksiyonu yoluyla da etki ettiğini belirtmişler. Borun atom kütlesi küçük olduğundan ve kimyasal yapısı nötrofilik ve elektrofilik reaktivite içerdiğinden, kemoprevensiyon ve kemoterapi için çok çeşitli

bor bazlı kimyasalların üretilebileceğini ve test edilebileceğini ve sonuç olarak bor bazlı bileşiklerin, belirli kanser türlerinin kemoterapisinde umut verici etkiler gösterdiğini, ancak belirli faydaları nedeniyle kanser kemopreventif stratejilerine de dahil edilmeleri gerektiği fikrini ileri sürmüşlerdir (Scorei ve Popa, 2010).

Yerlikaya ve arkadaşları, proteazom inhibitörü sınıfına ait olan genellikle multipl miyelomlu hastaların tedavisinde kullanılan ve bor içeren ilk FDA onaylı ilaçlardan biri olan bortezomib'i sırasıyla tek başına ve kanser tedavisinde kullanılan iki farklı kemoterapi ilacı olan sisplatin ve 5-florourasil ile kombinasyon halinde etkinliklerini yüksek derecede metastatik bir fare kanseri hücre hattı olan 4T1 meme kanseri hücrelerinde incelemişler. MTT testi kullanarak, sisplatin ve 5-florourasilin IC50 değerlerini, sisplatin ve 5-florourasil için sırasıyla 14,2 ve 8,9 μM olarak tespit etmişler. Farklı konsantrasyonlardaki sisplatin ve 5-florourasil ile iki farklı konsantrasyondaki bortezomib kombinasyonunun etkileri 4T1 hücrelerinde incelemişler. 1 veya 5 μM sisplatin, 10 veya 50 nM bortezomib kombinasyonunda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulmuşlar. Benzer şekilde, 1 μM 5-florourasil veya 5 μM 5-florourasil ile 10 nM bortezomib kombinasyonunun, tekli ajanlarla tedaviye kıyasla önemli ölçüde hücre ölümüne neden olduğunu gözlemlemişler. Ancak, 1 veya 5 μM 5-florourasil, daha yüksek konsantrasyonlardaki bortezomibin (50 nM) etkilerini güçlendirmedeğini tespit etmişler. Sisplatin, 5-florourasil ve bortezomib kombinasyonunun etkisini yumuşak agar testi ile belirlemişler. Sisplatin ve bortezomib kombinasyonunun, her bir ilacın tek başına kullanımından daha etkili olduğunu doğrulamışlar. Kombinasyon tedavileri açısından, sisplatin + bortezomibin, 5-florourasil + bortezomib ile kombinasyonundan daha güçlü olduğu sonucuna ulaşmışlar. Bu nedenle, sisplatin ve bortezomib kombinasyonunun, klinik ortamlarda daha fazla test edilmesini önermişler (Yerlikaya vd., 2013).

Yıldırım ve arkadaşları, borik asidin medüller tiroid kanser (MTC) hücrelerinde hücre döngüsü, apoptoz ve miRNA'lar üzerindeki in vitro etkilerini incelemişler. Hücre kültürü deneyleri için TT medüller tiroid karsinomu hücre hattı (TT hücreleri) ve insan tiroid fibroblastı (HThF hücreleri) kullanılmış. Hücre canlılığını, 2,3-bis(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolium-5-karboksanilid (XTT) testi kullanılarak değerlendirmişler. Ters transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yoluyla gen ekspresyonu ve mikroRNA (miRNA) analizi için Trizol reaktifi kullanılarak toplam RNA ekstrakte edilmiş. Borik asit tarafından indüklenen apoptozun derecesini, terminal deoksinükleotidil transferaz dUTP nick end labeling (TUNEL) testi kullanılarak belirlemişler. Koloni oluşumu testlerini, borik asidin MTC hücrelerinin koloni oluşturma yeteneği üzerindeki etkisini

değerlendirmek için gerçekleştirmişler. 48 saatte, borik asidin %50 inhibisyon konsantrasyonu (IC50) 35 µM olarak tespit etmişler. Borik asit ile tedavinin, apoptoz ile ilişkili genler ve miRNA'larda önemli modülasyonlara yol açtığını; bunlar arasında forbol-12-miristat-13-asetat ile indüklenen protein 1 (NOXA), apoptoz proteaz aktive edici faktör 1 (APAF-1), Bcl-2 ile ilişkili X proteini (Bax), kaspaz-3 ve kaspaz-9'un ekspresyonunda artışların olduğunu tespit etmişler. Buna karşılık, MTC'nin agresifliği ile bağlantılı olan B hücreli lenfoma 2 (Bcl2), B hücreli lenfoma-ekstra büyük (Bcl-x1) ve mikroRNA-21 (miR-21) ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığını gözlemlemişler. TUNEL testi %14 apoptoz oranı gösterdiğini ve koloni oluşumu testinde koloni oluşumunda %67,9 azalma olduğunu tespit etmişler. Sonuç olarak, borik asidin apoptoz yollarını modüle ederek MTC'de antikanser aktiviteye sahip olabileceğini gösterdiğini tespit etmişler. Elde ettikleri bulgular ile, borik asidin MTC ve muhtemelen benzer patojenik mekanizmalara sahip diğer maligniteler için potansiyel bir terapötik ajan olabileceğini düşündüğünü ileri sürmüşlerdir (Yıldırım vd., 2025).

Çalışmamızda, ilk kez yeni sentezlenen salen grubu içeren bor bileşiklerinin, sırasıyla (B, SB1, SB2, SB3, SB4, SB5 ve SB6); MDA-MB-231, MCF-7 kanser ve CRL-4010 normal hücre hatları üzerinde doza bağlı bir şekilde sitotoksik etkileri MTT metodu ile incelendi. Hücreler 96-well plaklarda kuyucuk başına 1×10^4 hücre olacak şekilde ekildi. Daha sonra hücrelerin yapışması ve dublikasyonu için 24 saat beklenildikten sonra besiyerleri değiştirildi. Hücrelere sentezi yapılmış bor bileşikleri sırasıyla 0, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 200 µg/ml dozlarında uygulandıktan 24 saat sonra sitotoksik etkileri incelendi ve IC50 değeri GraphPad Prism 9 programı kullanılarak hesaplandı. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücresi üzerinde doza bağlı olarak sitotoksik etki gösterdiği tespit edildi. IC50 değeri 47,3 µg/ml olarak hesaplandı. Ayrıca SB6 bileşiğinin CRL-4010 hücresi üzerinde 24 saatte farklı dozlarda sitotoksik etki gösterdiği ve IC50 değerinin 50 µg/ml'nin altında sitotoksik etki gösterdiği tespit edildi. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücre morfolojisi üzerindeki etkileri florasan boyama yöntemiyle incelendi. Görüntüler incelendiğinde, 50 µg/ml SB6 bileşiğinin hücreleri apoptozise yönlendirdiği gözlenmiştir. Morfolojik görüntülerde doza bağlı bir şekilde hücre sayısının azaldığı, hücrelerin membran yapılarının değiştiği tipik apoptotik hücre görüntüsü verdiği tespit edildi. Son aşamada ise SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücresinin hücre apoptozisi üzerindeki etkileri Flow Sitometrik Annexin-V Apoptoz/Nekroz analizi ile incelendi. SB6 bileşiğinin MDA-MB-231 hücresi üzerinde 50 µg/ml dozunun %30,6 oranında hücre ölümüne neden olduğu gözlenmiştir.

6. SONUÇLAR

Mevcut çalışmalarda borun antimikrobiyal, antioksidan ve anti-kanser etkisinin yüksek olduğu belirtilmektedir. Anti-kanser çalışmaları için uygun koşullarda sentezlenen farklı bor bileşiklerinin (B ve SB1-SB6) yapısal karakterizasyonu yapıldı. Bu tespitler için; FT-IR, UV-Vis, NMR, LC-MS/MS, elementel analiz ve erime noktası gibi çeşitli analitik teknikler kullanıldı.

Sentezlenen farklı bor bileşiklerine (B ve SB1-SB6) ait karakteristik piklerin ve diğer aromatik ve alifatik grupların eğilme ve gerilme pik sonuçlarının da istenilen frekanslarda gözlenmesi, hedef bor bileşiklerinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini desteklemiştir.

Yapmış olduğumuz laboratuvar çalışmalarından elde ettiğimiz bulgulara göre, sentezlenen yeni bor bileşiklerinden SB6'nın MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında sitotoksik etki oluşturarak 50 µg/ml dozunun %30,6 oranında hücreleri apoptoza sürüklediği tespit edilmiştir.

SB6 bileşiğinin antikanser etkisi ile ilgili olarak elde edilen bu tespitler, kanser tedavisi alanında yeni yaklaşımların geliştirilmesine temel oluşturacak, daha ileri araştırmalara yön verecek olması açısından önemlidir.

7. ÖNERİLER

Elde etmiş olduğumuz bulgulara göre, yeni sentezlenen salen grubu içeren SB6 bileşiğinin, MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerinde sitotoksik etki göstermesi ve hücreleri apoptozis yolağına sürüklemesi nedeniyle, anti kanser ajan olarak, diğer kanser hücre hatlarında da denenerek, bu yolaktaki etkisini nasıl yaptığı ile ilgili moleküler mekanizmaları da içine alacak şekilde, daha kapsamlı proje çalışmalarına yön verme potansiyeline sahip olduğu kanaatine varılmıştır.

Çalışmanın en önemli kısıtı bütçenin yeterli olmamasıydı.



KAYNAKLAR

- Abd El-Rehim, D. M., Ball, G., Pinder, S. E., Rakha, E., Paish, C., Robertson, J. F., ... Ellis, I. O. (2005). High-throughput protein expression analysis using tissue microarray technology of a large well-characterised series identifies biologically distinct classes of breast cancer confirming recent cDNA expression analyses. *International Journal of Cancer*, *116*(3), 340–350. <https://doi.org/10.1002/ijc.21004>
- Akama, T., Baker, S. J., Zhang, Y. K., Hernandez, V., Zhou, H., Sanders, V., Freund, Y., Kimura, R., Maples, K. R., & Plattner, J. J. (2009). Discovery and structure-activity study of a novel benzoxaborole anti-inflammatory agent (AN2728) for the potential topical treatment of psoriasis and atopic dermatitis. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, *19*(8), 2129–2132. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.03.007>
- Akama, T., Virtucio, C., Dong, C., Kimura, R., Zhang, Y.-K., Nieman, J. A., Sharma, R., Lu, X., Sales, M., Singh, R., Wu, A., Fan, X.-Q., Liu, L., Plattner, J. J., Jarnagin, K. Y., & Freund, R. (2013). Structure-activity relationships of 6-(aminomethylphenoxy)-benzoxaborole derivatives as anti-inflammatory agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *23*(6), 1680–1683. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.01.075>
- Akdemir, M., Kivrak, H. D., Kilic, A., Beyazsakal, L., Kaya, M., & Horoz, S. (2023). Boron-containing compounds as a new candidate for supercapacitor electrode: Simplified synthesis and structural identification properties. *Desalination and Water Treatment*, *304*, 140–149. <https://doi.org/10.5004/dwt.2023.29314>
- Al-Omari, M. K., Elaarag, M., Al-Zoubi, R. M., Al-Qudimat, A. R., Zarour, A. A., Al-Hurani, E. A., Fares, Z. E., Alkharraz, L. M., Shkoor, M., Bani-Yaseen, A. D., Aboumarzouk, O. M., Yassin, A., & Al-Ansari, A. A. (2023). Organoboronic acids/esters as effective drug and prodrug candidates in cancer treatments: Challenge and hope. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, *38*(1), 2220084. <https://doi.org/10.1080/14756366.2023.2220084>
- Al-Zoubi, R. M., Al-Zoubi, M. S., Jaradat, K. T., & McDonald, R. (2017). Design, synthesis and X-ray crystal structure of iodinated benzoboroxole derivatives by consecutive metal-iodine exchange of 3,4,5-triiodoanisole. *European Journal of Organic Chemistry*, *2017*(34), 5800–5808. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201700961>
- Alterio, V., Cadoni, R., Esposito, D., Vullo, D., Di Fiore, A., Monti, S. M., Caporale, A., Ruvo, M., Sechi, M., Dumy, P., Supuran, C. T., De Simone, G., & Winum, J.-Y. (2016). Benzoxaborole as a new chemotype for carbonic anhydrase inhibition. *Chemical Communications*, *52*, 11983–11986. <https://doi.org/10.1039/C6CC05597A>
- American Cancer Society. (2023, October 12). *Breast cancer facts & figures 2023–2024*. <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/breast-cancer-facts-and-figures/2023-2024-breast-cancer->

facts-and-figures.pdf

- Baker, G. F. S., Denny, W. A., & Santos, J. L. D. (2019). Boron in drug design: Recent advances in the development of new therapeutic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 179, 791–804. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.07.010>
- Baker, S. J., Ding, C. Z., Akama, T., Zhang, Y.-K., Hernandez, V., & Xia, Y. (2009). Therapeutic potential of boron-containing compounds. *Future Medicinal Chemistry*, 1(7), 1275–1288. <https://doi.org/10.4155/fmc.09.91>
- Barranco, W. T., & Eckhert, C. D. (2004). Boric acid inhibits human prostate cancer cell proliferation. *Cancer Letters*, 216(1), 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2004.06.001>
- Barth, R. F., Soloway, A. H., & Fairchild, R. G. (1990). Boron neutron capture therapy of cancer. *Cancer research*, 50(4), 1061–1070.
- Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R., & Yeoh, K. W. (2012). Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *International journal of medical sciences*, 9(3), 193–199. <https://doi.org/10.7150/ijms.3635>
- Colbert, L. E., & Jhingran, A. (2020). Immunotherapy and radiation. In *Advances in experimental medicine and biology* (Vol. 1244, pp. 205–213). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41008-7_9
- Crane, R., & Baker, C. R. (1999). Breast cancer treatment. *Nurse practitioner forum*, 10(3), 145–153.
- Culp, M. B., Soerjomataram, I., Efstathiou, J. A., Bray, F., & Jemal, A. (2020). Recent global patterns in prostate cancer incidence and mortality rates. *European Urology*, 77, 38–52. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.08.005>
- Das, B. C., Thapa, P., Karki, R., Schinke, C., Das, S., Kambhampati, S., Banerjee, S. K., Veldhuizen, P. V., Verma, A., Weiss, L. M., & Evans, T. (2013). Boron chemicals in diagnosis and therapeutics. *Future Medicinal Chemistry*, 5(6), 653–676. <https://doi.org/10.4155/fmc.13.24>
- Degirmenci, U., Kilic, A., Söylemez, R., & Yildirim, M. (2024). Tetrahedral boronate ester as regulators of inflammation and adhesion in ox-LDL induced atherosclerotic model. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 50(1), 106–115.
- Elmore, S. (2007). Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicologic Pathology*, 35(4), 495–516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü. (2017.). *Türkiye'de bor*. <https://www.etimaden.gov.tr/turkiyede-bor>
- Fernandes, G. F. S., Denny, W. A., & Dos Santos, J. L. (2019). Boron in drug design: Recent advances in the development of new therapeutic agents. *European journal of medicinal chemistry*, 179, 791–804. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.092>

- Fulda, S., & Debatin, K. M. (2006). Extrinsic versus intrinsic apoptosis pathways in anticancer chemotherapy. *Oncogene*, 25(34), 4798–4811. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209608>
- Ge, Y., Li, A., Wu, J., Feng, H., Wang, L., Liu, H., Xu, X. Y., Zhao, Q. L., & Li, Y. (2017). Design, synthesis and biological evaluation of novel non-peptide boronic acid derivatives as proteasome inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 128, 180–191. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.01.033>
- González-Flores, V. E., León-Negrete, A., Morales-Cueto, R., Portillo, P. S., & Barba, J. V. (2023). Heterocyclic boronates as colorimetric and chemical sensors for dialkyltin derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 1285, 135515. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.135515>
- Hacıoğlu, C., Kar, F., Kacar, S., Sahintürk, V., Kanbak, G. (2020). High concentrations of boric acid trigger concentration-dependent oxidative stress, apoptotic pathways and morphological alterations in DU-145 human prostate cancer cell line. *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01739-x>
- Han, L.-Q., Yuan, X., Wu, X.-Y., Li, R.-D., Xu, B., Cheng, Q., Liu, Z.-M., Zhou, T.-Y., An, H.-Y., Wang, X., Cheng, T.-M., Ge, Z.-M., Cui, J.-R., & Li, R.-T. (2016). Urea-containing peptide boronic acids as potent proteasome inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 125, 925–939. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.10.023>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Heidenreich, A., Bastian, P. J., Bellmunt, J., Bolla, M., Joniau, S., Kwast, T., Mason, M., Matveev, V., Wiegel, T., Zattoni, F., & Mottet, N. (2014). EAU guidelines on prostate cancer. Part II: Treatment of advanced, relapsing, and castration-resistant prostate cancer. *European Urology*, 65(2), 467–479. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2013.06.003>
- Holler, N., Zaru, R., Micheau, O., Thome, M., Attinger, A., Valitutti, S., Bodmer, J. L., Schneider, P., Seed, B., & Tschoop, J. (2000). Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule. *Nature immunology*, 1(6), 489–495. <https://doi.org/10.1038/82732>
- Jachowski, A., Marcinkowski, M., Szydłowski, J., Grabarczyk, O., Nogaj, Z., Marcin, Ł., Pławski, A., Jagodziński, P. P., & Słowikowski, B. K. (2023). Modern therapies of nonsmall cell lung cancer. *Journal of applied genetics*, 64(4), 695–711. <https://doi.org/10.1007/s13353-023-00786-4>
- Jiao, Y., Ma, F., Bell, J., Bilic, A., & Du, A. (2016). Two-Dimensional Boron Hydride Sheets: High Stability, Massless Dirac Fermions, and Excellent Mechanical Properties. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 55(35), 10292–10295. <https://doi.org/10.1002/anie.201604369>

- Kaaks, R., Rinaldi, S., Key, T. J., Berrino, F., Peeters, P. H., Biessy, C., Dossus, L., Lukanova, A., Bingham, S., Khaw, K. T., Allen, N. E., Bueno-de-Mesquita, H. B., van Gils, C. H., Grobbee, D., Boeing, H., Lahmann, P. H., Nagel, G., Chang-Claude, J., Clavel-Chapelon, F., Fournier, A., ... Riboli, E. (2005). Postmenopausal serum androgens, oestrogens and breast cancer risk: the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Endocrine-related cancer*, *12*(4), 1071–1082. <https://doi.org/10.1677/erc.1.01038>
- Khaliq, H., Juming, Z., & Ke-Mei, P. (2018). The physiological role of boron on health. *Biological Trace Element Research*, *186*(1), 31–51. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1284-3>
- Kilic, A., Aytar, E., Okcu, C., & Durgun, M. (2024). An improved boron-catalyzed cycloaddition of CO₂ to epoxides for the production of five-membered cyclic carbonates under atmospheric versus high-pressure conditions. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, *39*, 101620. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2024.101620>
- Kilic, A., Soylemez, R., Akdemir, M., Kivrak, H. D., Kaya, M., & Horoz, S. (2023). A study on supercapacitor electrode material from trigonal planar and (N→B) dative bond stabilized tetrahedral boron-containing compounds. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, *34*(7), 609. <https://doi.org/10.1007/s10854-023-10609-3>
- Kilic, A., Soylemez, R., & Okumus, V. (2022). Design, spectroscopic properties and effects of novel catechol spiroborates derived from Schiff bases in the antioxidant, antibacterial and DNA binding activity. *Journal of Organometallic Chemistry*, *960*, 122228. <https://doi.org/10.1016/j.jorgchem.2022.122228>
- Kondov, B., Milenkovikj, Z., Kondov, G., Petrushevska, G., Basheska, N., Bogdanovska-Todorovska, M., Tolevska, N., & Ivkovski, L. (2018). Presentation of the molecular subtypes of breast cancer detected by immunohistochemistry in surgically treated patients. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, *6*, 961–967. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2018.202>
- Koyuncu, I., Gönel, A., Akdağ, A., & Yilmaz, M. A. (2018). Identification of phenolic compounds, antioxidant activity and anticancer effects of the extract obtained from the shoots of *Ornithogalum narbonense* L. *Cellular and Molecular Biology*, *64*(1), 75–83.
- Koyuncu, I., Tülüce, Y., Qadir, H. S., Durgun, M., & Supuran, C. T. (2019). Evaluation of the anticancer potential of a sulphonamide carbonic anhydrase IX inhibitor on cervical cancer cells. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, *34*(1), 703–711. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1581865>
- Kupperman, E., Lee, E. C., Cao, Y., et al. (2010). Evaluation of the proteasome

- inhibitor MLN9708 in preclinical models of human cancer. *Cancer Research*, 70(5), 1970–1980. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-2766>
- Kuru, R., & Yarat, A. (2017). Bor ve sağlığımıza olan etkilerine güncel bir bakış. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 7, 107–114. <https://doi.org/10.5152/clinexphealthsci.2017.7>
- Lei, M., Feng, H., Bai, E., Zhou, H., Wang, J., Qin, Y., Zhang, H., Wang, X., Liu, Z., Hai, O., Liu, J., & Zhu, Y. (2019). Discovery of a novel dipeptidyl boronic acid proteasome inhibitor for the treatment of multiple myeloma and triple-negative breast cancer. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 17(4), 683–691. <https://doi.org/10.1039/C8OB02754C>
- Liu, C., Steere, L., McGregor, C., Frederick, B. H., Pastoor, T., Zhou, Y., Liu, C. T., Cai, Y., Zhou, H., Xu, M., Wang, J., Kim, S. H., Whitesell, L., Cowen, L. E., & Zhang, Y.-K. (2021). Exploring boron applications in modern agriculture: A structure–activity relationship study of a novel series of multi-substitution benzoxaboroles for identification of potential fungicides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 43, 128089. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.128089>
- Liu, H., Wu, J., Ge, Y., Li, A., Li, J., Liu, Z., Xu, Y., Xu, Q., & Li, Y. (2018). Novel aromatic sulfonyl naphthalene-based boronates as 20S proteasome inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 26(5), 1050–1061. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.12.050>
- Liu, Z., & Marder, T. B. (2008). B-N versus C-C: how similar are they?. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 47(2), 242–244. <https://doi.org/10.1002/anie.200703535>
- Loibl, S., Poortmans, P., Morrow, M., Denkert, C., & Curigliano, G. (2021). Breast cancer. *Lancet (London, England)*, 397(10286), 1750–1769. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32381-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32381-3)
- McDonald, E. S., Clark, A. S., Tchou, J., Zhang, P., & Freedman, G. M. (2016). Clinical diagnosis and management of breast cancer. *Journal of Nuclear Medicine*, 57(Supplement 1), 9S–16S. <https://doi.org/10.2967/jnumed.115.157834>
- Moyer, A., Tanaka, K., & Cheng, E. H. (2025). Molecular regulation of extrinsic apoptosis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 20, 303–328. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis051222-115023>
- Nagai, H., & Kim, Y. H. (2017). Cancer prevention from the perspective of global cancer burden patterns. *Journal of Thoracic Disease*, 9(3), 448–451. <https://doi.org/10.21037/jtd.2017.02.24>
- National Cancer Institute. (n.d.). *Cancer statistics*. National Institutes of Health. <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/statistics>
- Nielsen, F. H. (2017). Historical and recent aspects of boron in human and animal health. *Journal of Boron*, 2(3), 153–160.

- Nocentini, A., Supuran, C. T., & Winum, J.-Y. (2018). Benzoxaborole compounds for therapeutic uses: A patent review (2010–2018). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 28(6), 469–479. <https://doi.org/10.1080/13543776.2018.1491982>
- Nöth, H., & Wrackmeyer, B. (1978). *Nuclear magnetic resonance spectroscopy of boron compounds* (Vol. 464). Springer-Verlag.
- Obeng, E. (2020). Apoptosis (programmed cell death) and its signals – A review. *Brazilian Journal of Biology*, 80(4), e228437. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.228437>
- Plescia, J., & Moitessier, N. (2020). Design and discovery of boronic acid drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 195, 112270. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112270>
- Psurski, M., Słowik, A. Ł., Woźniak, A. A., Wietrzyk, J., & Sporyński, A. (2019). Discovering simple phenylboronic acid and benzoxaborole derivatives for experimental oncology - Phase cycle-specific inducers of apoptosis in A2780 ovarian cancer cells. *Investigational New Drugs*, 37, 35–46. <https://doi.org/10.1007/s10637-018-0729-4>
- Raedler, L. A. (2014). Ninlaro (Ixazomib): First oral proteasome inhibitor approved for the treatment of patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *American Health & Drug Benefits*, 9, 102–105.
- Redig, A. J., & McAllister, S. S. (2013). Breast cancer as a systemic disease: A view of metastasis. *Journal of Internal Medicine*, 274, 113–126. <https://doi.org/10.1111/joim.12088>
- Russo, J., Moral, R., Balogh, G. A., Mailo, D., & Russo, I. H. (2005). The protective role of pregnancy in breast cancer. *Breast cancer research : BCR*, 7(3), 131–142. <https://doi.org/10.1186/bcr1029>
- Scarbaci, K., Troiano, V., Ettari, R., Pinto, A., Micale, N., Giovanni, C., Cerchia, C., Schirmeister, T., Novellino, E., Lavecchia, A., Zappal, M., & Grasso, S. (2014). Development of novel selective peptidomimetics containing a boronic acid moiety, targeting the 20S proteasome as anticancer agents. *ChemMedChem*, 9(9), 1801–1816. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201400311>
- Scorei, R., Ciubar, R., Ciofrangeanu, C. M., Mitran, V., Cimpean, A., & Iordachescu, D. (2008). Comparative effects of boric acid and calcium fructoborate on breast cancer cells. *Biological trace element research*, 122(3), 197–205. <https://doi.org/10.1007/s12011-007-8081-8>
- Scorei, R. I., & Popa, R., Jr. (2010). Boron-containing compounds as preventive and chemotherapeutic agents for cancer. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 10(4), 346–351. <https://doi.org/10.2174/187152010791162289>
- Seneviratne, D. S., Saifi, O., Mackeyev, Y., Malouff, T., & Krishnan, S. (2023). Next-generation boron drugs and rational translational studies driving the revival of BNCT. *Cells*, 12(10), 1398. <https://doi.org/10.3390/cells12101398>

- Shi, J., Lei, M., Wu, W., Feng, H., Wang, J., Chen, S., Zhu, Y., Hu, S., Liu, Z., & Jiang, C. (2016). Design, synthesis and docking studies of novel dipeptidyl boronic acid proteasome inhibitors constructed from $\alpha\alpha$ - and $\alpha\beta$ -amino acids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26(23), 5645–5650. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.10.029>
- Shi, X. Y., Wang, H., Wang, W., & Gu, Y. H. (2019). MiR-98-5p regulates proliferation and metastasis of MCF-7 breast cancer cells by targeting Gab2. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 23(7), 2847–2855. https://doi.org/10.26355/EURREV_201904_17562
- Söylemez, R., Kilic, A., Karaca, E. Ö., & Özdemir, İ. (2024). Metal-free, a simple and versatile N→B dative bond stabilized boron-based catalysts for transfer hydrogenation of aromatic ketones. *Catalysis Letters*, 154(1), 314–327.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Şimşek, F. (2019). *An in vitro study in which new boron derivatives may be an option for breast cancer treatment. Eurasian Journal of Medicine and Oncology*. <https://doi.org/10.14744/ejmo.2018.0020>
- T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. (2022). *Türkiye Kanser İstatistikleri 2020*. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/Dokumanlar/Istatistikler/Turkiye_Kanser_Istatistikleri_2020.pdf
- Teo, M. Y., Rathkopf, D. E., & Kantoff, P. (2019). Treatment of advanced prostate cancer. *Annual Review of Medicine*, 70, 479–499. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-042217-105129>
- TMMOB. (2016, Mayıs). *TMMOB Bor Raporu*. https://www.tmmob.org.tr/sites/default/files/bor_0.pdf
- TMMOB Kimya Mühendisleri Odası. (2017, Şubat). *Bor madenleri ve işletmeleri neden özelleştirilmek isteniyor? Altı soruda Türkiye'nin bor gerçeği*. https://www.kmo.org.tr/resimler/ekler/93a57874b7145d3_ek.pdf?dergi=180
- Torabi Dalivandan, S., Plummer, J., & Gayther, S. A. (2021). Risks and Function of Breast Cancer Susceptibility Alleles. *Cancers*, 13(16), 3953. <https://doi.org/10.3390/cancers13163953>
- Troiano, V., Scarbaci, K., Ettari, R., Micale, N., Cerchia, C., Pinto, A., Schirmeister, T., Novellino, E., Grasso, S., Lavecchia, A., & Zappala, M. (2014). Optimization of peptidomimetic boronates bearing a P3 bicyclic scaffold as proteasome inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 83, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.04.045>
- Turnbull, C., & Rahman, N. (2008). Genetic predisposition to breast cancer: past, present, and future. *Annual review of genomics and human genetics*, 9,

321–345. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.9.081307.164339>

- Türkiye Enerji, Nükleer ve Maden Araştırma Kurumu (TENMAK). (n.d.). *Boren - Bor Araştırma Enstitüsü*. <https://boren.tenmak.gov.tr/tr/>
- Uluisik, I., Karakaya, H. C., & Koc, A. (2018). The importance of boron in biological systems. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 45, 156–162. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.10.008>
- Wang, I., Song, L., Wang, B. Y., Rezazadeh Kalebasty, A., Uchio, E., & Zi, X. (2022). Prostate cancer immunotherapy: a review of recent advancements with novel treatment methods and efficacy. *American journal of clinical and experimental urology*, 10(4), 210–233.
- Wang, J. J., Lei, K. F., & Han, F. (2018). Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments. *European review for medical and pharmacological sciences*, 22(12), 3855–3864. https://doi.org/10.26355/eurrev_201806_15270
- Weiss, J. W. E., & Bryce, D. L. (2010). A solid-state ^{11}B NMR and computational study of boron electric field gradient and chemical shift tensors in boronic acids and boronic esters. *The Journal of Physical Chemistry A*, 114(15), 5119–5131. <https://doi.org/10.1021/jp9114683>
- Wong, R. S. (2011). Apoptosis in cancer: From pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 30, 87. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-30-87>
- Woods W. G. (1994). An introduction to boron: history, sources, uses, and chemistry. *Environmental health perspectives*, 102 Suppl 7(Suppl 7), 5–11. <https://doi.org/10.1289/ehp.94102s75>
- Yerlikaya, A., Altıkat, S., Irmak, R., Cavga, F. Z., Kocacan, S. A., & Boyacı, I. (2013). Effect of bortezomib in combination with cisplatin and 5-fluorouracil on 4T1 breast cancer cells. *Molecular Medicine Reports*, 8(1), 277–281. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1466>
- Yıldırım, O., Seçme, M., Dodurga, Y., Abban Mete, G., Fenkçi, SM.(2025). In Vitro Effects of boric acid on cell cycle, apoptosis, and miRNAs in medullary thyroid cancer cells. *Biol Trace Elem Research*, 203(2):799-809. <https://doi.org/10.1007/s12011-024-04188-3>.
- Youle, R. J., & Strasser, A. (2008). The BCL-2 protein family: Opposing activities that mediate cell death. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(1), 47–59. <https://doi.org/10.1038/nrm2308>
- Zeng, L., Han, Y., Chen, Z., Jiang, K., Golberg, D., & Weng, Q. (2021). Biodegradable and peroxidase-mimetic boron oxynitride nanozyme for breast cancer therapy. *Advanced Science*, 8(16), e2101184. <https://doi.org/10.1002/advs.202101184>
- Zhan, Y., Xu, Y., Yang, P., Zhang, H., Li, Y., & Liu, J. (2016). Carbazole-based salicylaldehyde difluoroboron complex with crystallization-induced emission

enhancement and reversible piezofluorochromism characteristics. *Tetrahedron Letters*, 57(48), 5385–5389. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2016.10.076>

Zhang, J., Zhang, J., Hao, G., Xin, W., Yang, F., Zhu, M., & Zhou, H. (2019). Design, synthesis, and structure–activity relationship of 7-propanamide benzoxaboroles as potent anticancer agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(12), 5523–5535. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00736>

Zhang, J., Zhu, M. Y., Lin, Y., & Zhou, H. (2013). The synthesis of benzoxaboroles and their applications in medicinal chemistry. *Science China Chemistry*, 56(10), 1372–1381. <https://doi.org/10.1007/s11426-013-5002-1>

