



**YENİ SENTEZLENEN PLATİN TEMELLİ N HETEROSİKLİK  
KARBEN KOMPLEKSLERİNİN FARMAKOLOJİK  
ÖZELLİKLERİNİN SİSPLATİN İLE İN VİTRO  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Sümeyye ASLAN**

**İnönü Üniversitesi ve Ankara Üniversitesi  
Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı  
Ortak Doktora Programı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR  
Ortak Tez Danışmanı: Prof. Dr. Benay Can EKE**

**Doktora Tezi-2024**

**T.C**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YENİ SENTEZLENEN PLATİN TEMELLİ N HETEROSİKLİK KARBEN**  
**KOMPLEKSLERİNİN FARMAKOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN SİSPLATİN İLE**  
**İN VİTRO KARŞILAŞTIRILMASI**

**Sümeyye ASLAN**

**İnönü Üniversitesi ve Ankara Üniversitesi**  
**Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı**  
**Ortak Doktora Programı**

**İnönü Üniversitesi ve Ankara Üniversitesi**  
**Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı**  
**Ortak Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı**  
**Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR**

**Ortak Tez Danışmanı**  
**Prof. Dr. Benay Can EKE**

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından TDK-2022/3011 Proje numarası ile ve YÖK 100/2000 Öncelikli Alan Doktora Burs Programı tarafından desteklenmiştir.

**MALATYA**  
**2024**

**T.C.**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne**

**ETİK BEYANI**

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak “Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR ve ortak tez danışmanı Prof. Dr. Benay Can EKE” danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “Yeni Sentezlenen Platin Temelli N Heterosiklik Karben Komplekslerinin Farmakolojik Özelliklerinin Sisplatin ile İn Vitro Karşılaştırılması” başlıklı doktora tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. ..../..../2024

Sümeyye ASLAN

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Kanserin Tanımı ve Nedenleri .....	2
2.2. Meme Kanseri.....	2
2.2.1. Meme Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi.....	2
2.2.2. Meme Kanserinin Tanı ve Tedavi Yöntemleri .....	3
2.2.3. Meme Kanserinin Sınıflandırılması.....	4
2.3. Serviks Kanseri .....	4
2.3.1. Serviks Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi.....	4
2.3.2. Serviks Kanserinin Tanı ve Tedavi Yöntemleri .....	5
2.3.3. Serviks Kanserinin Sınıflandırılması .....	6
2.4. Nöroblastom.....	6
2.4.1. Nöroblastom Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi.....	6
2.4.2. Nöroblastom Tanı ve Tedavi Yöntemleri .....	6
2.4.3. Nöroblastomun Sınıflandırılması.....	7
2.5. Akciğer Kanseri .....	7
2.5.1. Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi .....	7
2.5.2. Akciğer Kanserinin Tanı ve Tedavi Yöntemleri.....	7
2.5.3. Akciğer Kanserinin Sınıflandırılması .....	8
2.6. N-Heterosiklik Karbenler (NHC) ve Kansere Tedavisindeki Önemi.....	9
2.7. Kansere Tedavisinde Siplatinlerin Kullanımı .....	10
3. MATERYAL VE METOT .....	11
3.1. Gereçler.....	11
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	11
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler .....	11
3.2. Yöntem.....	12
3.2.1. Platin Temelli Karben Komplekslerinin Sentezlenmesi .....	12

3.2.2. Platin Temelli Karben Komplekslerinin Karakterizasyonu .....	14
3.2.3. Platin Temelli Karben Komplekslerinin Moleküler Docking Analizi.....	14
3.2.4. Hücre Kültürü Uygulamaları .....	14
3.2.5. Hücre Hatları.....	15
3.2.6. Dondurulmuş Hücrelerin Çözülmesi ve Ekimi.....	15
3.2.7. Hücre Hatlarının Pasajlanması.....	15
3.2.8. Hücrelerin Dondurulması .....	16
3.2.9. Hücre Sayımı .....	16
3.3. Deney Protokolü .....	17
3.4. Sitotoksikite Testi.....	18
3.5. Yara İyileşme Testi.....	21
3.6. Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivite.....	23
3.7. Gen Ekspresyon Analizi .....	25
3.7.1. Total RNA İzolasyonu .....	26
3.7.2. cDNA Sentezi .....	27
3.7.3. RT- PCR Analizi.....	28
3.8. İstatistiksel Analiz.....	28
4. BULGULAR.....	30
4.1. Platin Temelli Karben Komplekslerinin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu .....	30
4.2. Platin Temelli Karben Komplekslerinin Moleküler Docking Analizi.....	32
4.3. Antiproliferatif Aktivite.....	36
4.4. Yara İyileşme Testi.....	39
4.5. Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivite.....	47
4.6. RT- PCR Analizi.....	48
5. TARTIŞMA .....	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	56
KAYNAKLAR .....	57
EKLER.....	67
EK-1. Özgeçmiş.....	67
EK-2. Etik Kurul Onayına Gerek Olmadığına Dair Belge .....	68

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimi süresince bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıda bulunan, kıymetli tecrübelerinden yararlandığım Ankara Üniversitesi ile İnönü Üniversitesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nın tüm değerli öğretim üyesi hocalarıma çok teşekkür ederim.

Tezin tüm aşamalarına katkı sağlayan çok değerli tez danışmanım Doç. Dr. Songül ÜNÜVAR ve ortak tez danışmanım Prof. Dr. Benay Can EKE'ye en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Çalışmada kullanılan bileşiklerin sentez ve karakterizasyonunu sağlayan Prof. Dr. Sedat YAŞAR ve ekibine teşekkür ederim.

Bileşiklerin antimikrobiyal ve antifungal aktivitesini değerlendiren Prof. Dr. Selami GÜNAL'a teşekkür ederim.

Deneysel aşamalarda katkı sağlayan Arş. Gör. Yasemin BERBEROĞLU'na teşekkür ederim.

Doktora eğitim ve öğretimimde bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Doç. Dr. Neşe BAŞAK TÜRKMEN'e teşekkür ederim.

Deneysel aşamalarda maddi ve manevi katkı sağlayan çocukluk arkadaşım Arş. Gör. Hande YÜCE'ye teşekkür ederim.

Tezim süresince yanımda olan, benden sevgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme, dostlarıma destek ve sabırlarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu Araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından TDK-2022/3011 Proje numarası ile ve YÖK 100/2000 Öncelikli Alan Doktora Burs Programı tarafından desteklenmiştir.

## ÖZET

### Yeni Sentezlenen Platin Temelli N Heterosiklik Karben Komplekslerinin Farmakolojik Özelliklerinin Sisplatin ile İn Vitro Karşılaştırılması

**Amaç:** Sentezlenen orijinal sekiz adet platin N-heterosiklik karben (Pt-NHC) kompleksinin farmakolojik araştırmalar ve ilaç geliştirme çalışmalarında öncü moleküller olma potansiyelini değerlendirmek.

**Materyal ve metot:** Pt-NHC komplekslerinin farmakolojik özellikleri SH-SY5Y (insan nöroblastom hücre hattı), A549 (insan akciğer kanseri hücre hattı), MDA-MB-231 (insan meme kanseri hücre hattı) ve HeLa (insan serviks kanseri hücre hattı) hücreleri üzerinde değerlendirildi. Hücelere sisplatin ve Pt-NHC bileşikleri 1 µM, 5 µM, 10 µM, 25 µM, 50 µM, 100 µM dozlarda uygulandı. Bileşiklerin sitotoksik etkileri, kanser hücrelerinde hücre göçü üzerine etkileri, antimikrobiyal, antifungal aktiviteleri ve apoptoz ile ilişkisi değerlendirildi. Sitotoksik etki MTS yöntemi ile, hücre göçü yara iyileşme testi ile, antimikrobiyal ve antifungal aktiviteler rutin yapılan aktivite testleri ile, apoptoz ile ilişkili *Bax* ve *Bcl-2* genlerinin ekspresyon düzeyleri RT-PCR yöntemi ile değerlendirildi.

**Bulgular:** Farklı yapılarla sahip Pt-NHC bileşiklerinin test edilen hücre hatları üzerinde farklı derecelerde antiproliferatif aktivite gösterdiği bulunmuştur. Bileşiklerin hücre göçünü engelleyerek antimigrasyon etki gösterdikleri tespit edildi. *S.aureus*, *C.albicans* ve MRSA'ya karşı antimikrobiyal etkili oldukları bulundu.

**Sonuç:** Bileşiklerden elde edilen veriler sisplatin ile karşılaştırıldığında sisplatine göre anlamlı derecede etkin olan Pt-NHC kompleksleri belirlendi. Bu bileşiklerin ilaç geliştirme çalışmalarında kullanılacak yeni aday moleküller olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Pt-NHC, sisplatin, apoptoz, antikanser aktivite

## ABSTRACT

### **In Vitro Comparison of Pharmacological Properties of Newly Synthesized Platinum-Based N Heterocyclic Carbene Complexes with Cisplatin**

**Aim:** To evaluate the potential of the original eight synthesized platinum N-heterocyclic carbene (Pt-NHC) complexes as leading molecules in pharmacological research and drug development studies.

**Material and method:** The pharmacological properties of Pt-NHC complexes were evaluated on SH-SY5Y (human neuroblastoma cell line), A549 (human lung cancer cell line), MDA-MB-231 (human breast cancer cell line), and HeLa (human cervical cancer cell line) cells. Cisplatin and Pt-NHC compounds were applied to the cells at doses of 1  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 25  $\mu$ M, 50  $\mu$ M, 100  $\mu$ M. The cytotoxic effects of the compounds, their effects on cell migration in cancer cells, their antimicrobial and antifungal activities, and their relationship with apoptosis were evaluated. Cytotoxic effect by MTS method, cell migration by wound healing test, antimicrobial and antifungal activities by routine activity tests, expression levels of *Bax* and *Bcl-2* genes related to apoptosis. It was evaluated by RT-PCR method.

**Results:** Pt-NHC compounds with different structures were found to show various degrees of antiproliferative activity on the tested cell lines. It was determined that the compounds showed antimigration effects by preventing cell migration. They were found to be antimicrobial effective against *S.aureus*, *C.albicans*, and MRSA. PCR.

**Conclusion:** When the data obtained from the compounds were compared with cisplatin, Pt-NHC complexes significantly more effective than cisplatin were identified. We concluded that these compounds may be new candidate molecules for drug development studies.

**Keywords:** Pt-NHC, cisplatin, apoptosis, anticancer activity.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>A549</b>	: Akciğer Kanseri Hücre Hattı
<b>ATCC</b>	: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
<b>BAP</b>	: Bilimsel Araştırma Projeleri
<b>BCS</b>	: Meme Koruyucu Cerrahi
<b>BT</b>	: Bilgisayarlı Tomografi
<b>CDCI3</b>	: Dörlenmiş Kloroform
<b>DDP</b>	: cis-diamindikloroplatinyum
<b>DMEM</b>	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
<b>DMF</b>	: N,N-Dimetilformamidin
<b>DMSO</b>	: Dimetil Sülfoksit
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>EDTA</b>	: Etilendiamintetraasetik Asit
<b>ELISA</b>	: Enzime Bağlı İmmüno-sorbent Testi
<b>FBS</b>	: Fetal Sığır Serum
<b>FDA</b>	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
<b>FIGO</b>	: Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu
<b>HeLa</b>	: Serviks Kanseri Hücre Hattı
<b>IC<sub>50</sub></b>	: Hücre Canlılığının %50'sinin İnhibe Olduğu Konsantrasyon
<b>INPC</b>	: Uluslararası Nöroblastoma Patoloji Sınıflandırması
<b>INRGSS</b>	: Uluslararası Nöroblastom Risk Grup Evreleme Sistemi
<b>L929</b>	: İnsan Kökenli Fibroblast Hücreleri
<b>MDA-MB-231</b>	: Meme Kanseri Hücre Hattı
<b>MIBG</b>	: Metaiyodobenzilguanidin
<b>MİK</b>	: Minimal İnhibitör Konsantrasyon
<b>M-NHC</b>	: Metal-N-heterosiklik Karben
<b>MRG</b>	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>MTS</b>	: 3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-5-(3-Karboksümetoksifenil)-2-(4-Sülfenil)- 2h-Tetrazolyum
<b>N</b>	: Azot
<b>NB</b>	: Nöroblastom
<b>NHC</b>	: N-heterosiklik Karbenler

<b>NMR</b>	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
<b>NSCLC</b>	: Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanseri
<b>PBS</b>	: Fosfat Tamponlu Salin
<b>PMS</b>	: Fenazin Metil Sülfat
<b>Pt-NHC</b>	: Platin N-heterosiklik Karbenler
<b>RT-PCR</b>	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>SCLC</b>	: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
<b>SH-SY5Y</b>	: Nöroblastom Hücre Hattı
<b>TMS</b>	: Tetrametilisilan
<b>TNM</b>	: Tümörün Özellikleri (T), Lenf Nodu (N), Metastaz (M)
<b>UICC</b>	: Uluslararası Kanser Kontrol Birliği



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil No</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 3.1.</b> N-sübstitüe benzimidazol türevleri üzeinden Pt-NHC komplekslerinin sentezi.....	13
<b>Şekil 3.2.</b> 96 kuyucuklu hücre kültürü kaplarına hücre ekimi yapılması .....	17
<b>Şekil 3.3.</b> Pt-NHC komplekslerinin hücre hatlarına uygulanması.....	18
<b>Şekil 3.4.</b> Sitotoksisite testinin yapılması .....	19
<b>Şekil 3.5.</b> ELISA plak okuyucu ile absorbans değerlerinin ölçülmesi .....	20
<b>Şekil 3.6.</b> Hücre canlılığı değerlerinin belirlenmesi .....	20
<b>Şekil 3.7.</b> 12 kuyucuklu plakalara hücre ekimi .....	21
<b>Şekil 3.8.</b> Hücre hatlarının IC <sub>50</sub> konsantrasyonları ile muamele edilmesi.....	22
<b>Şekil 3.9.</b> Yara iyileşme oranının ters ışık mikroskobu ile değerlendirilmesi.....	22
<b>Şekil 3.10.</b> Test kuyucuklarına Müller-Hinton Broth besiyerinin dağıtılması .....	23
<b>Şekil 3.11.</b> Plakların inkübasyonu .....	24
<b>Şekil 3.12.</b> Minimal inhibitör konsantrasyonların belirlenmesi .....	24
<b>Şekil 3.13.</b> Hücre kültürü kaplarının inkübasyonu .....	25
<b>Şekil 3.14.</b> Total RNA izolasyon aşamaları .....	26
<b>Şekil 3.15.</b> Peletten etanolün uzaklaştırılması .....	27
<b>Şekil 3.16.</b> cDNA sentezi .....	27
<b>Şekil 4.1.</b> Sentezlenen Pt-NHC bileşiklerinin açık formülleri.....	30
<b>Şekil 4.2.</b> Pt-NHC'nin NMR spektrumları .....	31
<b>Şekil 4.3.</b> Sentezlenen Pt(II) komplekslerinin DNA 1DNE ile sabitlenmiş modelleri.....	34
<b>Şekil 4.4.</b> Sentezlenen Pt(II) komplekslerinin DNA 1DSC ile yerleştirilmiş modelleri.....	35
<b>Şekil 4.5.</b> L929 hücre hattına 24. saat ve 48. saatte uygulanan Pt-NHC komplekslerinin IC <sub>50</sub> değerleri .....	37
<b>Şekil 4.6.</b> SH-SY5Y hücre hattına 24. saat ve 48. saatte uygulanan Pt-NHC komplekslerinin IC <sub>50</sub> değerleri .....	38
<b>Şekil 4.7.</b> A549 hücre hattına 24. saat ve 48. saatte uygulanan Pt-NHC komplekslerinin IC <sub>50</sub> değerleri .....	38

<b>Şekil 4.8.</b> MDA-MB hücre hattına 24. saat ve 48. saatte uygulanan Pt-NHC komplekslerinin IC <sub>50</sub> değerleri .....	38
<b>Şekil 4.9.</b> HELA hücre hattına 24. saat ve 48. saatte uygulanan Pt-NHC komplekslerinin IC <sub>50</sub> değerleri .....	39
<b>Şekil 4.10.</b> L929 hücre hattında sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin yara iyileştirmesi (% oluk aralığı).....	40
<b>Şekil 4.11.</b> L929 hücre hattına uygulanan sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin 0., 24. ve 48. saatlerdeki oluk aralığı .....	40
<b>Şekil 4.12.</b> A549 hücre hattında sisplatin ve komplekslerinin yara iyileştirmesi (% oluk aralığı). .....	41
<b>Şekil 4.13.</b> A549 hücre hattına uygulanan sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin 0., 24. ve 48. saatlerdeki oluk aralığı .....	42
<b>Şekil 4.14.</b> HeLa hücre hattında sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin yara iyileştirmesi (% oluk aralığı).....	43
<b>Şekil 4.15.</b> HeLa hücre hattına uygulanan sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin 0., 24. ve 48. saatlerdeki oluk aralığı .....	43
<b>Şekil 4.16.</b> MDA-MB hücre hattında sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin yara iyileştirmesi (% oluk aralığı).....	44
<b>Şekil 4.17.</b> MDA-MB hücre hattına uygulanan sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin 0., 24. ve 48. saatlerdeki oluk aralığı .....	45
<b>Şekil 4.18.</b> SH-SY5Y hücre hattında sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin yara iyileştirmesi (% oluk aralığı).....	46
<b>Şekil 4.19.</b> SH-SY5Y hücre hattına uygulanan sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin 0., 24. ve 48. saatlerdeki oluk aralığı .....	46
<b>Şekil 4.20.</b> MDA-MB, SH-SY5Y, A549 ve HELA hücre hatlarında DMEM ve Sisplatin uygulaması sonucu gen ekspresyonları.....	48
<b>Şekil 4.21.</b> MDA-MB, SH-SY5Y, A549 ve HELA hücre hatlarında SY-1804, SY-1558, SY-3745, SY-1552 ve SY-1807 uygulaması sonucu gen ekspresyonları .....	49

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 3.1.</b> Kullanılan kimyasal maddeler .....	11
<b>Tablo 3.2.</b> Kullanılan araç ve gereçler .....	11
<b>Tablo 3.3.</b> Primer gen dizileri .....	28
<b>Tablo 4.1.</b> Sentezlenen komplekslerin bağlanma enerjilerinin DNA yapılarıyla birleştirilmesi .....	33
<b>Tablo 4.2.</b> 24. ve 48. saatlik uygulama sonrası bileşiklerin IC <sub>50</sub> konsantrasyonları .....	36
<b>Tablo 4.3.</b> Pt-NHC komplekslerinin MİK (µg/mL) değerleri.....	47



# 1. GİRİŞ

Kanser, her yaşta insanları etkileyen, insanların hayatlarını tehdit eden bir hastalıktır (1). Kanser, hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalmasıyla anormal hücrelerin bir araya gelmesiyle oluşur. Hücrelerin bu anormal biçimde çoğalması hücrenin kaynağına, tipine ve olduğu organa göre değişkenlik gösterdiği için kanserin çeşitli tipleri bulunmaktadır. Normal hücrelerde hücre siklusu kontrollü bir şekilde meydana gelir ancak bazı hücrelerde oluşan farklı mutasyonlar nedeniyle anormal bölünme ve çoğalma gözlenir. Bu bağlamda meydana gelen kontrolsüz çoğalmalar doku ve organlarda hücresel faaliyetlerin bozulmasına sebep olacak kitleler meydana getirir (2). Kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sıradaki ölüm nedeni olan kanser tedavi protokollerinin zor ve maliyetli olması sebebiyle farmakoekonomik olarak yük oluşturmaktadır (3). Kanser hastalarının tedavisinde farklı yaklaşımlar uygulanmakla birlikte amaç normal hücrelere zarar vermeden anormal olarak çoğalan hücre topluluğunun büyümesini ve çoğalmasını durdurmaktır. Tedavi yaklaşımlarından biri olan kanser kemoterapisinde de kullanılan geleneksel kemoterapötiklerinde mekanizması aynı şekildedir. Bu kemoterapötiklerin yaygın kullanımına ve terapötik indekslerinin dar olmasından dolayı ilaç ile ilişkili toksik etkiler çok sık görülmektedir. Bu toksik ve yan etkiler özellikle hızlı çoğalma özelliği gösteren kan hücreleri ile gastrointestinal sistem organ hücreleri ve çok kanlanan organ hücrelerinde daha çok gözlenmektedir (4). Kanser tedavisinde kullanılacak ilaçların keşfi günümüzde araştırmaların odağı haline gelmiştir. Kanser tedavisinde kullanılacak ilaç etken maddelerinden biri olan N-heterosiklik karben (NHC) komplekslerinin antikanser özellikleri ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Değerliğinde altı elektron bulunduran, iki değerlikli nötral karbon atomuna karben adı verilmektedir. Karbenler karbon atomu üzerinde bağ yapmamış bir elektron çiftine sahip çift değerliği olan bileşiklerdir. Elektron verici sübstitüentler sayesinde karbon atomlarının elektron gereksinimi karşılanarak, karbenlerin kararlılıkları artırılabilir. Oktetini tamamlamadıklarından dolayı genellikle reaktif türler olarak bilinirler. NHC'ler siklik yapıya sahip olan pirimidinyum, imidazolyum ve benzimidazolyum gibi tuzların deprotonasyonu yoluyla elde edilirler (5).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kanserin Tanımı ve Nedenleri

Kanser, anormal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, çevre hücre ve dokulara yayılım göstermesi ile karakterizedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) bir raporuna göre, 2018 yılında dünya çapında yaklaşık 9.6 milyon ölümün nedeni kanserdir. Dünyada ki ölüm nedenleri arasında ikinci sırada kanser yer almasının yanı sıra dünyada biyomedikal araştırma ile uygulamaların uzun süredir devam eden ve hızla gelişen bir odağı haline gelmiştir. Kanser hücrelerinin kökenini, kanserli dokuların oluşumunu, yayılma ve nüksetme mekanizmalarını anlamak için çok büyük çaba sarf edilmiştir, ancak hastalık hala gizemini korumaktadır. Cerrahi, kemoterapi ve radyasyon tedavisini içeren geleneksel tedaviler, yeni geliştirilen immünoterapi ile birlikte kanser hücrelerini yok etmek veya çoğalmalarını engellemek için uygulanmaktadır. Bu tedavilerden sonra kanser hastalarının hayatta kalma süresi artmış olsa da, hastaların büyük bir kısmında nüks yaşanmakta ve uzun süreli bir sağkalım elde edilememektedir. Bu nedenle kanserin başlangıcından metastazına ve nüksetmesine kadar etkin bir tedavi yaklaşımı oluşturmak önemlidir (6).

### 2.2. Meme Kanseri

#### 2.2.1. Meme Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi

Meme kanseri dünya çapında kadınlarda en sık görülen malignitelere dendir ve en yaygın kansere bağlı ölüm sebebidir. 2012 yılında 522.000 meme kanseri ölümünün meydana geldiği tahmin edilmektedir. Bu oran kadınlar arasındaki tüm kanser ölümlerinin %14.7'sine karşılık gelmektedir (7). 2012 yılında, cinsiyete bakılmaksızın, meme kanseri dünya da en sık teşhis edilen kanser olarak yer almaktadır ve sıklığı %11.9'a yükselmiştir. Yeni teşhis edilen tüm kanserlerin de %25.2'sini oluşturmaktadır (8).

Dünyadaki her sekiz kadından birinin meme bezi kanseri geliştireceği varsayılmaktadır. Tüm vakaların %5-10'unun genetik bozukluklardan kaynaklandığı, %90-95'inin ise çevresel faktörlerden ve yaşam tarzına bağlı olduğu varsayılmaktadır (9). Bu nedenle, modern tıbbın temel unsurları arasında, birincil önleme, hastalığın erken tespitinde risk faktörlerinin değerlendirilmesi, tedaviye hızlı başlama gibi multidisipliner

araştırmalar yer almaktadır. Temel amaç, meme kanserinin bir sonucu olarak sürekli artan morbidite, mortalite ve ekonomik maliyetleri azaltmaktır (10).

Amerikan Kanser Derneği'ne göre meme kanserli hastaların 5 yıllık hayatta kalma oranı, kanserin evrelerine göre %22-100 arasında değişmektedir. Ancak bu oran, farklı coğrafik bölgelere göre değişkenlik göstermektedir (11). Amerikan Kanser Derneği, 2008 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde 184.450 yeni invaziv meme kanseri vakasının teşhis edileceğini ve 40.930 hastanın hastalıktan öleceğini ne sürmüş ve aynı yıl yaklaşık 67.770 kadına meme kanseri teşhisi konmuştur. Meme kanseri Amerika Birleşik Devletleri'ndeki kadınlarda en sık görülen malignitedir ve ayrıca kanser ölümlerinde, akciğer kanserinden sonra ikinci sırada yer almaktadır (12). Amerika Birleşik Devletleri'nde son birkaç yılda meme kanseri insidansı istikrarlı bir şekilde artmıştır. Ancak meme kanseri mortalitesi azalmış, bu da erken teşhisin önemini ve daha etkili tedaviden fayda sağlandığını göstermektedir (13).

Meme kanserinin etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, cinsiyet, ileri yaş, ailede geç yaşta meme kanseri öyküsü, erken menarş, geç menopoz, ileri yaş gebelik, uzun süreli hormon replasman tedavisi, daha önce terapötik göğüs duvarı ışınlamasına maruz kalma, iyi huylu proliferatif meme hastalığı ve BRCA1/2 genleri gibi genetik mutasyonlar da dahil olmak üzere hastalık için çok sayıda risk faktörü belirlenmiştir (14).

### **2.2.2. Meme Kanserinin Tanı ve Tedavi Yöntemleri**

Meme kanseri genellikle tarama veya teşhis muayenesini gerektiren bir semptom (rneğin ağrı veya elle tutulur bir kitle) yoluyla teşhis edilir. Meme kanseri taraması, kadınlarda ideal olarak kanser ilerlemeden önceki aşamalarda daha iyi sonuçlara yol açan daha az invaziv tedavilerden geçmelerini sağlamak amacıyla asemptomatik kanserli kadınları tanımlamak için kullanılır (15).

Meme kanseri, diğer yaygın kanserlerden daha geç yaşta teşhis edilme eğilimindedir; medyan tanı yaşı 61dir. Meme kanserleri tanısı olanların yaklaşık %19'u 30-49 yaş arasındaki kadınlar olmakla birlikte%44' 65 yaş ve üstü kadınlardır (16).

Meme kanserinin tedavisi, cerrahi yöntem, radyoterapi veya her ikisi ile tedavisini içermektedir. Ek olarak kemoterapi, endokrin tedavisi, biyolojik tedavi veya bunların kombinasyonlarını içeren tedavileri kapsamaktadır (17). Farklı cerrahi veya kemoterapötik tedavilere duyulan ihtiyaç ve bunların seçimi, çeşitli prognostik ve öngörücü faktörlere dayanmaktadır. Bu faktörler arasında tümör histoloji, primer

tümörün klinik ve patolojik süreçleri, aksiller düğüm durumu, tümör hormonu reseptör içeriği, tümör hormon reseptör varlığı, saptanabilir metastatik hastalığın varlığı veya yokluğu, hasta komorbiditeleri, hasta yaşı ve menopoz durumu yer alır. Hasta tercihi, özellikle mevcut tedavi seçenekleri arasında hayatta kalma oranları eşdeğer olduğunda, karar verme sürecinin önemli bir bileşenidir (18).

Meme kanseri için cerrahi tedavi, meme koruyucu cerrahi (BCS), kısmi mastektomi veya lumpektomi veya mastektomiyi içerir (19). BCS ve ardından memeye radyasyon lokalize veya bölgesel kanserler için uygun şekilde kullanıldığında, uzun süreli sağkalım mastektomi ile aynıdır (20). Lokal ileri evre, büyük veya çoklu tümörler gibi bazı hastalarda tümör özellikleri nedeniyle mastektomi içerir. Çünkü ameliyat sonrası radyasyon kontrendikedir (21). Daha genç kadınların (<40 yaş) ve daha büyük veya daha agresif tümörleri olan hastaların mastektomi ile tedavi edilme olasılığı daha yüksektir (22). BCS'ye uygun kadınlar, radyasyon tedavisine karşı isteksizlik ve nüks korkusu da dahil olmak üzere çeşitli nedenlerle mastektomiye daha fazla tercih etmektedirler (21).

Kontralateral profilaktik mastektomi uygulanan ametastatik hastalığı olan kadınların oranı da 1998'deki toplam mastektomilerin %5'inden 2011'de %30'a kadar artmıştır (23). Meme kanserli hastalar için genel 5 yıllık göreceli sağkalım oranı, tedavideki gelişmeler, artan farkındalık ve mamografinin yaygın kullanımı yoluyla daha erken teşhis ile son 3 yılda iyileşmiştir. Meme kanseri için 5 yıllık, 10 yıllık ve 15 yıllık nispi sağkalım oranları sırasıyla %89, %83 ve %78'dir (24).

### **2.2.3. Meme Kanserinin Sınıflandırılması**

Meme kanseri için iki farklı sınıflandırma yapılmaktadır, Bunlar; in situ karsinom ve invaziv (infiltrate edici) karsinomdur. İn situ meme karsinomu ayrıca duktal veya lobüler olmak üzere alt sınıflandırmalara ayrılırlar. Bunlar büyüme paternleri ve sitolojik özellikler, iki tip arasında ayırım yapmanın temelini oluşturur. Duktal karsinoma in situ, lobüler karsinoma in situ alt tipinden çok daha yaygındır ve heterojen bir tümör grubunu kapsar (25).

## **2.3. Serviks Kanseri**

### **2.3.1. Serviks Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi**

Rahim ağzı kanseri önemli bir küresel halk sağlığı sorunudur. Rahim ağzı kanseri en sık teşhis edilen ikinci kanserdir ve daha az gelişmiş ülkelerde kadınlar arasında kanser

ölümünün üçüncü önde gelen nedenleri arasındadır (26). Kadınlar arasındaki küresel kanser oranının yaklaşık %8'ini oluşturmaktadır (27). Önlenabilir bir kanser olmasına rağmen, Asya, Afrika ve Latin Amerika'daki ülkelerde kadınlar arasında önemli bir ölüm ve erken ölüm nedenidir (28).

Serviks kanseri gelişmekte olan ülkelerde ciddi bir sorun olmaya devam etse de gelişmiş ülkelerde son 50 yılda görülme sıklığı ve ölüm oranları önemli ölçüde azalmıştır. Ancak, tıbbi açıdan yetersiz hizmet alan toplumlarda rahim ağzı kanseri riski hâlâ yüksek orandadır. Bu yüksek riskin bir nedeni, bu popülasyonlarda rahim ağzı kanseri taramasının yeterince yapılmamasıdır (29).

### **2.3.2. Serviks Kanserinin Tanı ve Tedavi Yöntemleri**

Erken dönemdeki rahim ağzı kanseri sıklıkla asemptomatik seyrederken, lokal olarak ilerlemiş vakalarda anormal vajinal kanama, akıntı, pelvik ağrı ve dispareni gibi semptomlarla karşılaşılır. Karsinomlar yüzeyden büyüyen ekzofitik veya minimal yüzey büyümesi ile stromal infiltrasyonlu endofitik olabilir. Bazı erken kanserler kolayca tespit edilemez ve derin invaziv tümörler bile çapraz incelemede yanıltıcı olabilir. Muayene zorsa veya vajinal/parametrial tutulum konusunda belirsizlik varsa, muayene tercihen jinekolojik onkolog ve radyasyon onkoloğundan oluşan multidisipliner bir ekip tarafından anestezi altında yapılmalıdır (30).

Rahim ağzı kanseri, klinik olarak tümör büyüklüğüne, vajinal veya parametrial tutulumuna, mesane/rektum uzantısına ve uzak metastazlara göre evrelenen tek jinekolojik kanserdir. Anestezi altında muayene, göğüs röntgeni gibi radyolojik görüntüleme ve intravenöz pyelografi gerektirir. Diğer görüntüleme çalışmaları, hastalığın kapsamını daha doğru tanımlamak ve tedaviyi uygulamaya izin vermek için rutin olarak kullanılır. Ancak klinik aşamayı etkilemez. Bilgisayarlı tomografi (BT) taraması patolojik lenf nodlarını tespit ederken, manyetik rezonans görüntüleme (MRG) tümör boyutunu, stromal penetrasyon derecesini, parametrial tutulumu, vajinal ekstansiyonu ve korpus ekstansiyonu yüksek doğrulukla belirleyebilir (31).

Rahim ağzı kanserinde cerrahi tedavi, Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu (FIGO) ve Uluslararası Kanser Kontrol Birliği (UICC) sınıflamasına göre hastalığın evresine göre yapılmaktadır (32).

### **2.3.3. Serviks Kanserinin Sınıflandırılması**

DSÖ, serviksin epitelyal tümörlerini üç kategoriye ayırmaktadır; skuamöz, glandüler (adenokarsinom) ve adenoskuamöz karsinom, nöroendokrin tümörler ve farklılaşmamış karsinom dahil diğer epitelyal tümörler. Skuamöz hücreli karsinomlar rahim ağzı kanserlerinin yaklaşık %70-80'ini, adenokarsinomlar ise %20-25'ini oluşturur (31,32).

## **2.4. Nöroblastom**

### **2.4.1. Nöroblastom Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi**

Nöroblastom (NB), otonom sinir sisteminin embriyonik bir tümörüdür, yani orijin hücrelerinin, nöral krest dokularından türetilen gelişmekte olan ve tam olarak işlenmemiş bir öncü hücre olduğu düşünülmektedir (33). Tümörler sempatik sinir sistemi dokularında, tipik olarak adrenal medulla veya paraspinal ganglionlarda ortaya çıkar ve bu nedenle boyun, göğüs, karın veya pelviste kitle lezyonları olarak ortaya çıkabilir (34). Klinik tablo oldukça değişkendir; hiçbir belirtiyeye neden olmayan bir kitleden, lokal invazyon, yaygın yayılmış hastalık veya her ikisinin bir sonucu olarak kritik hastalığa neden olan primer bir tümöre kadar değişir (35). NB tümörleri çocukluk çağı malignitelerinin %7-8'ini oluşturur ve Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 650 NB hastasına teşhis konur. Ancak NB tüm çocukluk çağı kanser ölümlerinin yaklaşık %15'inden sorumludur. Düşük ve orta riskli hastalığı olan hastaların hayatta kalma oranı %100'e yaklaşırken, yüksek riskli NB hastalarında 5 yıllık hayatta kalma oranı %50'nin altındadır (36, 37).

### **2.4.2. Nöroblastom Tanı ve Tedavi Yöntemleri**

Primer nöroblastom veya metastatik yumuşak doku lezyonunun biyopsisi genellikle tanıyı koymak için gereklidir. Ancak tümör biyopsisi riskinin kabul edilemez olduğu durumlarda tanı kemik iliği tutulumuna ve idrar katekolaminlerinin yüksekliğine göre yapılır. Primer bölgenin anatomik görüntülemesinin yanı sıra kemik iliği aspirasyonu ve biyopsileri ve iyot-123 metaiyodobenzilguanidin (MIBG) taraması da gereklidir (38). Günümüzde dünya çapında kullanılan evreleme sistemi Uluslararası Nöroblastom Risk Grup Evreleme Sistemidir (INRGSS) (39). Çocukluk çağında ortaya çıkan nöroblastik tümörlerin biyolojik heterojenliği, tedavi stratejilerinin farklılık göstermesine neden olmuştur. Olumlu biyolojik özelliklere sahip tümörler için net eğilim,

terapötik yoğunluğun azaltılması yönünde olmuştur. Tersine, olumsuz prognostik özelliklere sahip tümörlere yaklaşım, son yirmi yılda kemoradyoterapinin yoğunlaştırılmasına doğru kaymıştır. Son zamanlarda araştırma grupları, tümör hücrelerinde, tümör mikro ortamında veya her ikisinde bulunan temel onkojenik özelliklerden yararlanacak tedaviler tasarlamaya çalışmaktadırlar (40).

### **2.4.3. Nöroblastomun Sınıflandırılması**

Sempatik sinir sisteminde periferik nöroblastik tümörler Uluslararası Nöroblastoma Patoloji Sınıflandırması (INPC) kullanılarak ve evreleme Uluslararası Nöroblastom Evreleme Sistemi kriterlerine göre yapılır. Histolojik olarak alt türleri; nöroblastoma, ganglionnöroblastom ve gangliyonöromdur (41,42).

## **2.5. Akciğer Kanseri**

### **2.5.1. Akciğer Kanserinin Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi**

Akciğer kanseri dünyada en sık görülen kanser türüdür ve 2000 yılında tahminen 1.2 milyon yeni vaka ortaya çıkmıştır (43). Sigara içimi akciğer kanserinin en önemli nedenlerinden biridir ve hastalığın %80-90'ı sigara içenlerde ortaya çıkmaktadır. Görülme sıklığını coğrafik, ırksal ve cinsiyet farklılıkları etkilemektedir. Yaşam boyu sigara içen bir kişinin akciğer kanserine yakalanma riski, yaşam boyu sigara içmeyen birine göre 20-30 kat daha fazladır (44). 2000 yılında akciğer kanserinin dünya çapında 1.1 milyon ölüme, yani tüm kanser ölümlerinin %17.8'ine neden olduğu tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, ağır sigara içenlerin yalnızca %11'inde akciğer kanseri gelişir. Bu da akciğer kanseri riskine zemin hazırlayan genetik faktörlerin olabileceğini düşündürmektedir (45).

### **2.5.2. Akciğer Kanserinin Tanı ve Tedavi Yöntemleri**

Akciğer kanseri vakalarının çoğunluğuna primer, metastatik hastalık veya paraneoplastik sendromla ilişkili bir semptom ortaya çıktığında teşhis konur (46). Akciğer kanseri hastasının değerlendirilmesi, histolojik tanı için materyal elde edilmesini, standart fizik muayene kullanılarak Uluslararası TNM (tümörün özellikleri (T), lenf nodu (N) ve metastaz (M)) evreleme sistemine dayalı olarak hastalığın evresinin belirlenmesini, göğüs ve karın BT taramalarını, akciğer fonksiyon testlerini, rutin laboratuvar testlerini ve hastanın kilo kaybını içerir (47). Lokalize akciğer kanserinin

küratif tedavisi cerrahi olarak yapılmaktadır (48). Küçük hücreli akciğer kanseri tanısı konulan yaklaşık her üç hastadan biri, tedavi amacıyla ameliyat edilmekte ve bu oran dünya çapında yüksek bir oran olarak kabul edilmektedir. Ancak hastalık akciğer tümörü ile aynı taraftaki mediastinal lenf düğümlerine yayıldığında (evre IIIA), cerrahi yalnızca istisnai durumlarda kullanılır ve uzak metastazlar mevcut olduğunda neredeyse hiçbir zaman (evre IV) cerrahi tedavi tercih edilmez (49). Aynı durum mediastinal lenf nodu metastazı primer tümörün karşı tarafında olduğunda da geçerlidir (evre III B) (48). Akciğer ameliyatından sonra evre II hastalığa sahip olduğu tespit edilen hastalara, kanserin nüksetme olasılığını azaltmak için genellikle adjuvan kemoterapi önerilir (50). Sisplatin ve vinorelbin ilaçları genellikle 12 haftalık bir süre boyunca birlikte verilir ve yan etkiler arasında mide bulantısı, saç dökülmesi, iştih kaybı, böbrek yetmezliği ve el ve ayak parmaklarında uyuşma yer alır (51). Evre III dönemdeki hastalar için ameliyat genellikle bir seçenek değildir ve kombine ilaç ve radyasyon tedavisi denenmiş ve test edilmiş bir tedavi yöntemidir (52). Evre IV hasta grubu farklı etki mekanizmaları ve yan etkileri olan spesifik olmayan kemoterapi ilaçlarıyla tedavi edilir. Bunlara karboplatin, pemetrexed, paklitaksel/dosetaksel, gemsitabin ve vinorelbin dahildir. Bağışıklık sistemi uyarıcı ilaçlar arasında pembrolizumab, nivolumab, atezolizumab ve durvalumab yer alır ve bunların tümü benzer etkilere ve yan etkilere sahiptir. Hastanın sağlık durumu izin veriyorsa, ilk kemoterapi çoğunlukla kombinasyon terapisi olarak verilir.

### **2.5.3. Akciğer Kanserinin Sınıflandırılması**

Akciğer kanserinin prognozu ve tedavisi kritik olarak uygun evrelemeye bağlıdır (53). Akciğer kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri (SCLC) ve küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC) olmak üzere iki ana gruba ayrılır (54). SCLC aşaması peri-hiler kitle olarak havayolu sub mukozasından kaynaklanan merkezi bir tümördür. Histolojik çalışmalar, bu kanser türünün bazal bronşiyal epitelyumun nöroendokrin hücrelerinden kaynaklandığını öne sürmektedir (55) ve tüm akciğer kanserlerinin %10-15'ini oluşturur (56). Hücreler küçük, iğ veya yuvarlak, az sitoplazmalı, granüler kromatinli hücrelerdir ve nekrozun gözlemlenmesi yaygın bir bulgudur (57). Bu kanser, beyne, karaciğere ve kemiğe metastaz yapabilme yeteneğiyle karakterize edilir (58). NSCLC aşaması kanser türü histolojik olarak adenokarsinom, büyük hücreli karsinom ve skuamöz hücreli karsinom olarak ayrılırken aşamalar halinde evre IA, IB, IIA, IIB, IIIA, IIIB ve IV olarak sınıflandırılır (59). Normal akciğerde skuamöz epitel bulunmaz ve bu tümörler sigara kullanımına bağlı metaplastik değişikliklerden kaynaklanır (60). Adenokarsinomlar

bronşiyollerin (Clara hücreleri) veya alveollerin (Tip II pnömositler) progenitör hücrelerinden veya müsin üreten hücrelerden kaynaklanır. Adenokarsinom, günümüzde dünyada en sık görülen akciğer kanseri türüdür ve görülme sıklığı hızla artmaktadır. Kadınlarda, hiç sigara içmeyenlerde ve gençlerde en yaygın görülen formdur (61).

## 2.6. N-Heterosiklik Karbenler (NHC) ve Kanser Tedavisindeki Önemi

1950'lerden beri karbenler organik ve organometalik kimya alanında büyük ilgi görmüşlerdir (62). Bu nötr moleküller, değerlik kabuğunda altı elektron bulunan iki değerlikli bir karbon atomu içerir ve tekli veya üçlü halde bulunurlar (63). Karbenler karbon atomu üzerinde bağ yapmamış bir elektron çiftine sahip çift değerliği olan bileşiklerdir. Elektron verici sübstitüentler sayesinde karbon atomlarının elektron gereksinimi karşılanarak, karbenlerin kararlılıkları arttırılabilmektedir. Oktedini tamamlamadıklarından dolayı genellikle reaktif türler olarak bilinirler. Siklik yapılı bileşikler olan pirimidinyum, imidazolyum ve benzimidazolium gibi tuzların deprotonasyonu yoluyla elde edilebilen ve halka atomlarından en az biri azot (N) olan bileşiklere NHC adı verilmektedir (64).

NHC kompleksleri, fosfinlere benzer donör özelliklere sahip bir ligand sınıfıdır. Genellikle iki değerlikli karbonların kararlı bileşikleri olan kalıcı karbenlerden üretilirler (65). NHC yüksek stabiliteleri ve üretim kolaylıkları, onları ilaç geliştirme için uygun adaylar haline getirmiştir (66). Metal bazlı antikanser ilaçlara olan ilginin kökeni, 1960'larda Rosenberg'in metal kompleksleri tarafından hücre bölünmesinin inhibisyonunun keşfi ile bulunmuştur. Bu keşif potansiyel kanser ilaçları olarak metal NHC komplekslerinin araştırılmasına yol açmıştır (67). Sentezledikleri ilk yıllardan günümüze kadar çok çeşitli sübstitüente bağlı karben bileşikleri ve bunların metal kompleksleri sentezlenmiş ve çeşitli özellikleri araştırılmıştır (68). Metal-NHC kompleksleri çoğunlukla katalitik aktivite göstermelerinden, kolaylıkla temin edilebilir olmasından dolayı ve fizikokimyasal özellikleri nedeniyle yoğun ilgi görmüşlerdir. (69). Metal- NHC kompleksleri, son zamanlarda verimli ilaç tasarımı ve hızlı optimizasyonun ön koşullarına mükemmel şekilde uyduklarından sitotoksik metal kompleksleri için taşıyıcı ligandlar olarak odak noktası haline gelmişlerdir (70). Son zamanlarda Ag, Au, Pt, Pd, Cu, Ir, Rh ve Ru'dan oluşan NHC komplekslerinin antiproliferatif aktivitesinin, yeni antitümör ilaçlar olarak umut verici farmakolojik özellikler gösterdiği rapor edilmiştir (71). Kanser tedavisine yönelik kemoterapötik tedavilerin yaklaşık %50'si cisplatin ve türevlerini kapsamaktadır (72). Her ne kadar bu bileşikler bazı solid tümörler

için önemli klinik faydalar sağlasa da, etkinlikleri toksik yan etkiler ve ilaç direncinin gelişmesi nedeniyle sınırlanmıştır (73). Bununla birlikte kanıtlanmış antitümör aktiviteleri, araştırmacıları potansiyel antikanser ilaçlar olarak yeni metal kompleksleri arayışına yönlendirmiştir (74). Ayrıca, suda çözünür NHC ligandlarına kolay erişim, yeni biyoaktif metal NHC bileşiklerinin geliştirilmesi için çekici bir özelliği temsil etmektedir (75). Son zamanlarda Ag, Au, Pt, Pd, Cu, Ir, Rh ve Ru'dan oluşan NHC komplekslerinin antiproliferatif aktivitesinin, yeni antitümör ilaçları olarak umut verici farmakolojik özellikler gösterdiği rapor edilmiştir (76).

## **2.7. Kanser Tedavisinde Sisplatinlerin Kullanımı**

Sisplatin, *cis*-diamindikloroplatin (II), en yaygın kullanılan kemoterapötik ilaçtır. 1978'de kanser tedavisinde kullanılmak üzere Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan ilk platin bileşiğidir. Mesane, akciğer, baş-boyun, yumurtalık ve testis kanserleri dahil olmak üzere çok sayıda kanser türünde kullanılmış ve günümüzde de kullanımına devam edilmektedir. Ayrıca, karsinomlar, germ hücreli tümörler, lenfomalar ve sarkomlar dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerine karşı etkili olduğu gösterilmiştir (78). Etki mekanizmasının DNA üzerindeki pürin bazlarıyla çapraz bağlanma özelliği ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu bağlamda DNA onarım mekanizmalarına etki ederek DNA hasarına neden olur ve ardından kanser hücrelerini apoptoza götürür (79). Ancak kullanımına bağlı olarak meydana gelen ilaç direnci ve ciddi böbrek sorunları, alerjik reaksiyonlar, enfeksiyonlara karşı bağışıklığın azalması, mide-bağırsak bozuklukları, kanama ve özellikle genç hastalarda işitme kaybı gibi çok sayıda yan etki nedeniyle karboplatin gibi platin içeren diğer kanser ilaçları da tercih edilmektedir. Ek olarak sisplatinin diğer kemoterapötikler ile kombine tedavisinin ilaç direncini ve ilaç ile ilişkili istenmeyen etkileri azalttığı düşünülmektedir (80).

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Gereçler

##### 3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

**Tablo 3.1.** Kullanılan kimyasal maddeler

Adı
(3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum)
BlasTaq™ 2X qPCR MasterMix
cDNA sentez kiti
Dimetil sülfoksit
Dulbecco's modified eagle medium
Fosfat tamponlanmış tuz çözeltisi
Fetal sığır serumu
Kloroform
Müller Hinton Agar besiyeri
Potasyum tetrakloroplantin
RNA izolasyon kiti
Sisplatin
Tripsin

##### 3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

**Tablo 3.2.** Kullanılan araç ve gereçler

Mevcut Altyapı/Ekipman Türü, Modeli	Modeli
Buzdolabı	Arçelik
Derin dondurucu/-20°C	Uğur Derin Dondurucu
Derin dondurucu/-80°C	NÜVE
ELISA plak okuyucu	BioTek Synergy HTX Multimode Reader
Enzim-immünoassay plak yıkayıcı	Sorin Biomedica
Floresans mikroskop	Zeiss Axioscope A1
İnverted mikroskop	SopTop Instruments
Karbondioksit inkübatör	NÜVE
Laminar güvenlik kabini	(NÜVE
Manyetik karıştırıcı	Dottingen 7801
Mikrosantrifüj	NÜVE

Mikroskop	SOPTOP
Orbital çalkalayıcı	BOECO, PSU-2T
Otoklav	NÜVE
Otomatik pipetler	Eppendorf
pH metre	Cyberscan pH 500
RT- PCR	BIO-RAD CFX Connect
Santrifüj	NÜVE
Spektrofotometre	PG Instruments-T60
Steril çalışma kabini	NÜVE
Su banyosu	Memmert
Terazi	Mettler H54, AT201
Termal Cycler	TECHNE TC-3000
Vorteks/Minishaker	SCIOLOGEX-MX-S
Yazıcı	HP laser 1310

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Platin Temelli Karben Komplekslerinin Sentezlenmesi

Kullanılan Pt-NHC kompleksleri daha önce hiçbir çalışmada kullanılmamış ve tez çalışması için İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Anorganik Kimya Anabilim dalında sentezlenmiştir.

N-süstitüe benzimidazol türevleri (1a-h) literatüre uygun şekilde sentezlendikten sonra tuz sentezi (2a-h) için, N-süstitüe benzimidazol (1a-h) (1 mmol) ve alkil klorür veya bromür 1 mmol N,N-Dimetilformamidin (DMF) (5 mL) içerisinde çözülerek 24 saat 100 °C'de ısıtılmıştır (Şekil 3.1). Reaksiyon bittikten sonra DMF uzaklaştırılmış ve dietil eter (20 mL) eklenerek katı ürün elde edilmiştir. Katı vakum altında kurutulduktan sonra etanol/eter çözgen sistemi ile kristallendirilmiştir (81).

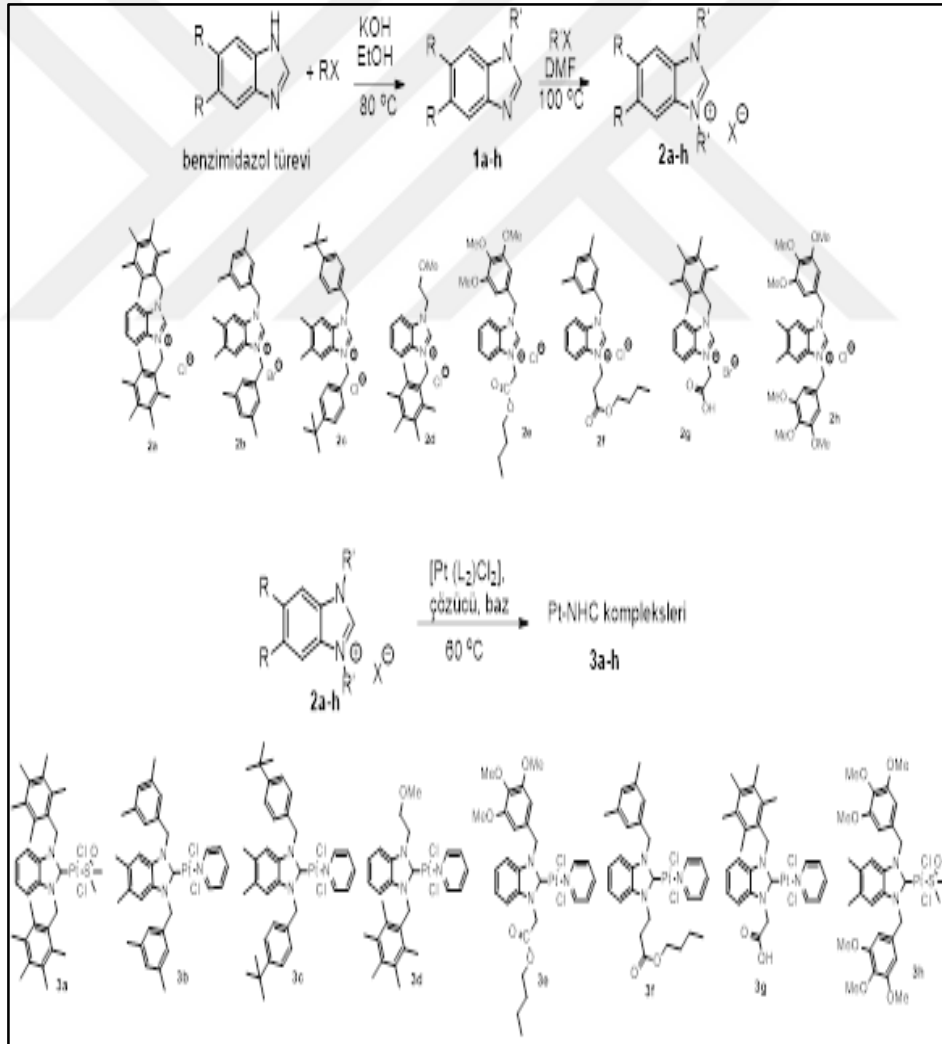
Sentezlenen bileşikler havadaki nem ve oksijene karşı oldukça hassas olmaları nedeniyle, N-heterosiklik karben öncülleri ve karben kompleksleri inert atmosfer düzeneğinde Schlenk tekniği kullanılarak hazırlanmıştır. Kullanılan çözücü ve reaktifler literatür çalışmaları sonucunda belirlenen yöntemlere göre kurutulup inert ortamda saflaştırılmış ve tepkimelerde Schlenk tekniği kullanılmıştır (82).

Nükleer manyetik rezonans (NMR) spektrumları Bruker Ultrashield 300 MHz NMR'sinde İnönü Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında alınmış olup, çözücü olarak dötörlenmiş kloroform ( $CDCl_3$ ), iç standart olarak ise tetrametilsilan (TMS) kullanılmıştır.

Çalışma kapsamında sentezlenen bileşiklere ait genel reaksiyon ve Pt bileşikleri formülleri aşağıda verilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin kapalı formülleri

1.  $C_{33}H_{44}Cl_2N_2OPtS$
2.  $C_{32}H_{35}Cl_2N_3Pt$
3.  $C_{36}H_{43}Cl_2N_3Pt$
4.  $C_{27}H_{33}Cl_2N_3OPt$
5.  $C_{28}H_{33}Cl_2N_3O_5Pt$
6.  $C_{28}H_{33}Cl_3N_2Pt$
7.  $C_{26}H_{29}Cl_2N_3O_2Pt$
8.  $C_{34}H_{39}Cl_2N_3O_6Pt$



Şekil 3.1. N-süstitüe benzimidazol türevleri üzeinden Pt-NHC komplekslerinin sentezi.

### 3.2.2. Platin Temelli Karben Komplekslerinin Karakterizasyonu

Hazırlanan bileşiklerin yapıları, her sentez aşaması sonunda spektroskopik tekniklerle aydınlatıldı. NMR spektrumlarında DMSO-d<sub>6</sub> (dimetil sülfoksit-d<sub>6</sub>), CDCl<sub>3</sub> çözücü ve TMS iç standart olarak kullanıldı ve sonuçlar İnönü Üniversitesi Kataliz Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden alındı.

### 3.2.3. Platin Temelli Karben Komplekslerinin Moleküler Docking Analizi

Docking prosedürü, hedeflenmiş bir bağlanma bölgesinde, ligand yapısının konformasyonunun ve yönlendirilmesinin tahminini içerir. Docking programı kısaca 3 boyutlu yapılardan yola çıkarak, ligandı proteinin hedeflenen bölgesine yerleştirir ve bu yerleşim esnasında meydana gelen enerji terimlerini sıralar. Bu çalışmanın docking analizleri için AutoDock 4.2 programı kullanıldı.

### 3.2.4. Hücre Kültürü Uygulamaları

Hücre kültürü uygulamaları İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı hücre kültürü laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmalar hücre kültürü laboratuvarı kuralları ve biyogüvenlik önlemleri altında yapıldı. CO<sub>2</sub> inkübatörü %70'lik etanol ile silindikten sonra su haznesine 200 mL distile su eklenerek gaz vanası açıldı. 24. saatin sonunda %5 CO<sub>2</sub> ve 37°C'ye sabitlenerek hücreler için uygun ve steril koşullar sağlandı. Çalışma boyunca düzenli olarak temizlenip, su haznesi kontrol edildi. Çalışmada kullanılan serolojik pipetler, pipet uçları, flasklar, enjektörler, şırınga ucu filtreler, falkon tüpleri, cryo tüpler, mikrosantrifüj tüpleri, hücre kazıyıcılar ve hücre kültürü kapları steril ve tek kullanımlık olacak şekilde kullanıldı.

Hücrelerin *in vitro* ortamda çoğalması için DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) kullanıldı. DMEM içerik olarak hücre çoğalması ve büyümesi için gerekli olan aminoasitler, iz elementler, glikoz vb. maddeleri içeren steril ve pH'sı dengelenerek hazırlanmış izotonik çözeltilidir. Kabin içinde 500 mL DMEM içerisine hücrelerin tutunabilmeleri ve çoğalmaları için %10 Fetal Sığır Serum (FBS) ve bakteri kontaminasyonlarına karşı ise %1 Penisilin/Streptomisin (P/S) eklenerek hazırlanan besiyeri homojen hale getirildi ve +4°C'de muhafaza edildi. Hücrelerin bulunduğu yüzeyden kaldırılmasını sağlamak için %0.25 Trypsin/ Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) çözeltisi, hücrelere tampon ortamını sağlamak ve bazı kirlilikleri uzaklaştırmak için de PBS (fosfat tamponu) kullanıldı.

### 3.2.5. Hücre Hatları

SH-SY5Y (Nöroblastom hücre hattı), A549 (Akciğer kanser hücre hattı), MDA-MB-231 (Meme kanseri hücre hattı) ve HeLa (Serviks kanseri hücre hattı) Amerikan Tip Kültür Koleksiyonundan (ATCC) temin edilmiştir. Hücre hatları %10 FBS ve %1 PSA içeren DMEM besiyeri ortamında 37°C ve % 5 CO<sub>2</sub>'li inkübatörde çoğaltılarak kullanıldı. Bu çalışmada sağlıklı hücre hattı olarak fibroblast hücreleri (L929) kullanılmıştır.

### 3.2.6. Dondurulmuş Hücrelerin Çözülmesi ve Ekimi

Cryo tüp içerisinde dondurularak bekletilen hücre hatları -80 °C'den çıkarılarak sıcaklığı 37°C'ye ayarlı su banyosunda hızla çözdürüldü. Çözünen cryo tüp içeriği 15 mL falkon tüpe boşaltılarak üzerine oda sıcaklığında bulunan %10 FBS, %1 PSA içeren DMEM den 4 mL besiyeri eklendi. Ortamda bulunan dimetilsülfoksitin (DMSO) ortamdaki uzaklaştırılması amacıyla 1300-1500 rpm de 5 dakika santrifüj yapılarak süpernatant uzaklaştırıldı. Kalan pelletin üzerine 2 mL besiyeri eklenerek homojen olması için pipetaj yapıldı. İçerisinde besiyeri bulunan flasklara serolojik pipet yardımıyla aktarıldı. Toplam hacim 25 cm<sup>2</sup> flasklar için 5-7 mL, 75 cm<sup>2</sup> flasklar için ise 12-14 mL olarak ayarlandı. Flaskların üzerine yapılan etiketlemede hücre hattının adı ve hücre ekim tarihi yazıldı. Aktarılan hücrelerdeki hücre yoğunluğu mikroskopta bakılarak sonrasında inkübatöre kaldırıldı. Hücrelerin canlılığı, morfolojik görüntüleri ve çoğalma hızları her gün düzenli olarak kontrol edildi.

### 3.2.7. Hücre Hatlarının Pasajlanması

Hücre kültürü çalışmalarında hücreler plato fazına ulaştıklarında büyüme medyumunun yetersizliği ve hücrelerin yüzeye yapışması için yeterli alana sahip olmaması ölüm fazının başlamasına neden olur. Yüzeye yapışan hücrelerin kapladıkları alan %80-90 düzeye ulaştığında hücrelerin pasajlanma işleminin gerçekleştirilmesi gerekir. Hücre hatları CO<sub>2</sub> inkübatöründen çıkarılıp mikroskop altında incelendi. Flasklarda bulunan hücrelerin kapladıkları alan %80-90 oranında yoğunluğa ulaştığında pasajlama işlemi yapılmak üzere kabin içerisine dik konuma getirilerek içerisinde besiyeri serolojik pipet yardımıyla flask tabanına değdirilmeden içindeki besiyeri yavaşça çekildi. Hücre tabakasına değdirilmeden flask içine yeni serolojik pipet yardımıyla hücreler için uygun bir ortam sağlayan ve Ca<sup>+2</sup> ve Mg<sup>+2</sup> içermeyen PBS (Fosfat Tamponlu Salin)'den 2-4 mL eklendi ve flask tamamen PBS ile yıkandıktan sonra serolojik pipet yardımıyla geri çekildi.

Yeni bir serolojik pipet ile flaska 1-3 mL Tripsin-EDTA eklenip, bütün yüzeye nüfuz etmesi için yavaşça sallandı. Daha sonra 2-5 dakika CO<sub>2</sub> inkübatörde bekletildi. İnkübatörden alınan flasklar mikroskop altında incelendikten sonra hücrelerin serbestleşip serbestleşmediği tekrar kontrol edilerek kabin içine alındı. Daha sonra Trypsin-EDTA'yı inhibe etmek için 2-6 mL besiyeri eklenen Tripsin-EDTA hacminin 2 olacak şekilde ilave edildi. Flask içeriği serolojik pipet yardımıyla 15 mL'lik falkon tüpe aktarıldı. Santrifüje yerleştirilen falkon tüpleri 1300-1500 rpm de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj edildikten sonra hücre pelletlerine zarar vermeden süpernatantlar atıldı ve 2-4 mL hücre besiyeri konularak homojen dağılması için pipetaj yapıldı. Falkon tüp içinden hücre sayımı yapmak üzere örnek alınarak hücre sayım işlemi gerçekleştirildi. Sayım yapıldıktan sonra yeterli miktardaki hücre 15 mL besiyeri bulunan T75 cm<sup>2</sup> flaska aktarıldı (eğer T25 cm<sup>2</sup> ise 7 mL besiyeri konulur). Pasajlamadan sonra flask içerisindeki hücre yoğunluğu mikroskopta tekrar kontrol edildi ve hücreler inkübatöre yerleştirildi.

### **3.2.8. Hücrelerin Dondurulması**

Hücre kültürü çalışmalarının uzun süre devam etmesi kontaminasyon ve üreme hızının düşüşü gibi olumsuz durumlara yol açar. Bunun önüne geçebilmek için hücreler dondurulur. Öncelikle hücreleri dondurmak için kullanılan besiyeri %70 DMEM, %20 FBS ve %10 DMSO olacak şekilde hazırlandı. Hücrelerin pasajlama aşamasında santrifüjlenen falkon tüp içindeki süpernatant dikkatlice serolojik pipet ile alınarak kalan pellet üzerine hazırlanan medyumdan hücre yoğunluğu dikkate alınarak eklendi. Pipetaj ile homojen olması sağlanan hücre süspansiyonu cryo tüplere alınarak -80 °C dondurucuya kaldırıldı.

### **3.2.9. Hücre Sayımı**

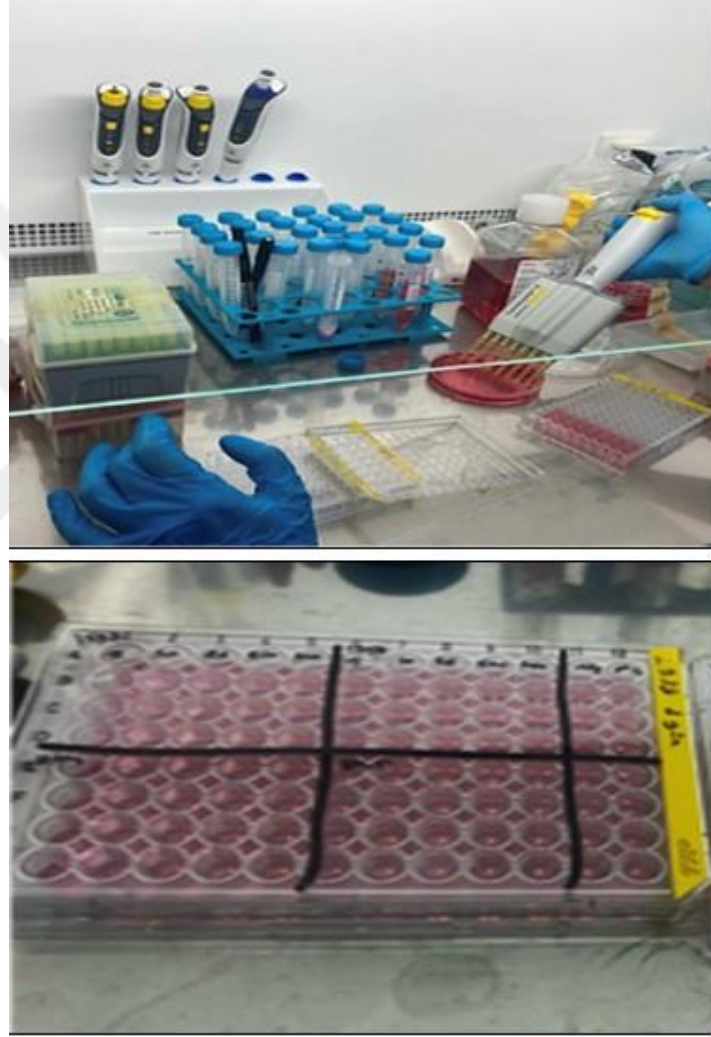
Medyum ile homojen olarak çözünen hücrelerden sayım için 100 µL alınıp içine trypan blue boyasından 100 µL eklenerek karışması sağlandı. Hazırlanan karışımdan 10 µL alınarak hücre sayım lamına aktarıldı ve mikroskop altında hücre sayımı yapıldı. Hücre sayımında 5 farklı bölge içindeki hücreler sayıldı. Karelerin sınır çizgisi üzerinde bulunan hücreler sayıma dahil edilmedi.

Aşağıda belirtilen formüle göre 1 mL'de ki hücre sayısı hesaplandı.

Canlı hücre sayısı= Bir karedeki hücre sayısı X Dilüsyon faktörü X 10<sup>4</sup> (83).

### 3.3. Deney Protokolü

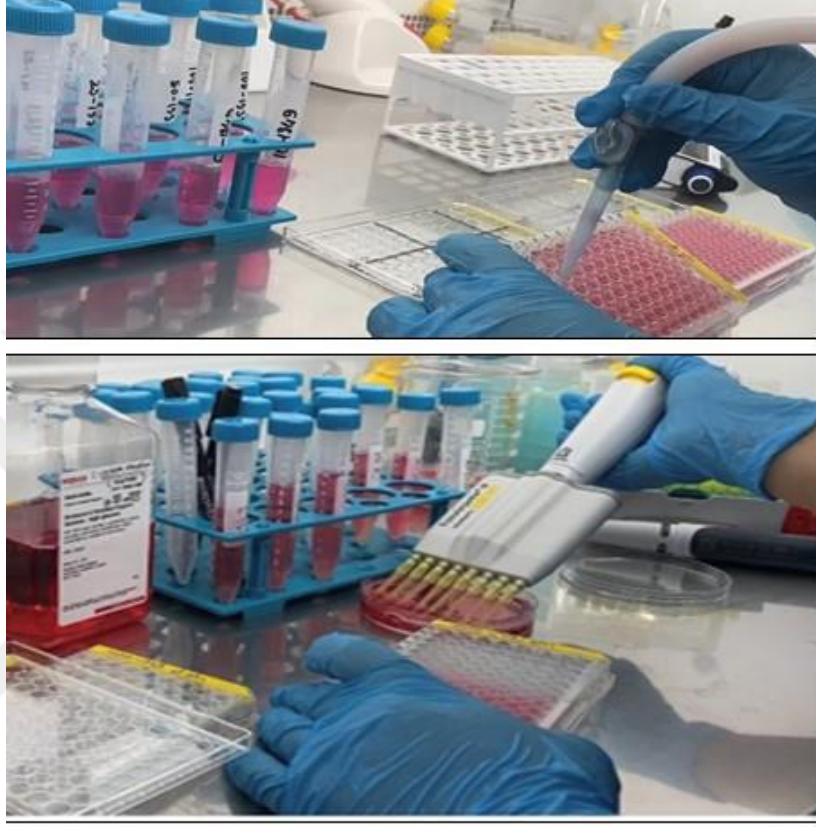
MDA-MB-231, SH-SY5Y, A549, HeLa ve L929 hücre hatları belli bir seviyeye ulaştıktan sonra tripsin enzimi kullanılarak kaldırıldı ve hücre süspansiyonu haline getirildi. Hücre sayımı yapıldıktan sonra 96 kuyucuklu steril hücre kültürü kaplarına kuyucuk başına  $5 \times 10^3$ - $10 \times 10^3$  hücre olacak şekilde 200  $\mu$ L besiyeri içine hücre ekimi yapıldı (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2.** 96 kuyucuklu hücre kültürü kaplarına hücre ekimi yapılması

Sisplatin ve Pt-NHC kompleksleri 1 ml DMSO içinde çözülerek önce 10 mM'lık stok konsantrasyonlar oluşturuldu ve hücrelere verilecek olan konsantrasyonlar ise taze besiyerinde yapıldı. Hücrelerin maruz kaldığı DMSO miktarının 1/1000 olması sağlandı. Bileşikler DMSO içinde çözüldüğü için negatif kontrol olarak 1/1000 oranında DMSO içeren besiyeri, pozitif kontrol olarak ise %20 DMSO kullanıldı ve hazırlanan çözeltiler

+4 °C'de muhafaza edildi. Pt-NHC kompleksleri ve cisplatin 24, 48, 72 saat hücrelere muamele edildi ve konsantrasyonlar 4 tekrar olacak şekilde denendi. Bileşikler hücrelere 1 µM, 5 µM, 10 µM, 25 µM, 50 µM ve 100 µM olmak üzere altı farklı konsantrasyonda uygulandı (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Pt-NHC komplekslerinin hücre hatlarına uygulanması

### 3.4. Sitotoksisite Testi

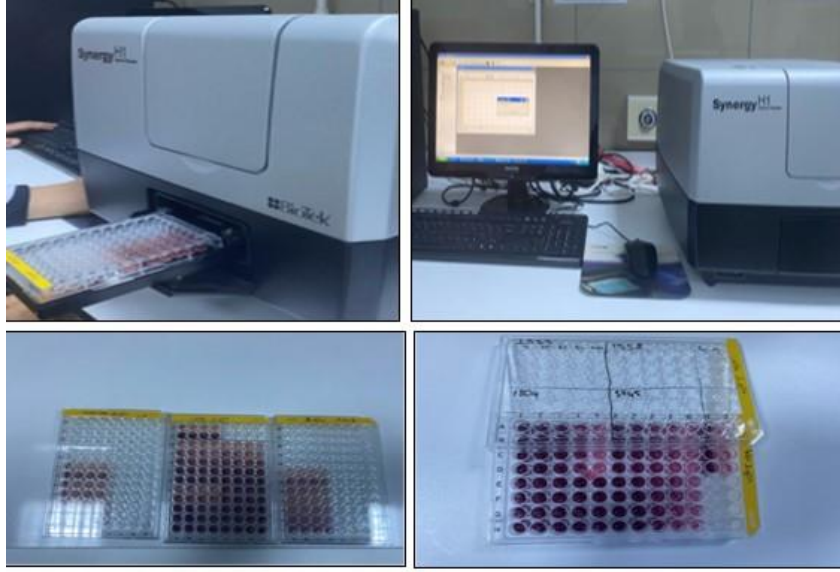
Pt-NHC komplekslerinin uygulandığı 96 kuyucuklu hücre kültürü kapları belirlenen inkübasyon süreleri (24., 48. ve 72. saat) sonrasında kabine alınarak mitokondriyal aktiviteye dayalı 5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4,5-dimetil-tiyazolil)-3-(4-sülfofenil) tetrazolyum yapısında bir tetrazolyum tuzu (MTS) yöntemi ile sitotoksisite deneyi yapıldı (Şekil 3.4). Bir tetrazolyum tuzu olan MTS, elektron bağlanma reaktifi olan fenazin metil sülfat (PMS) ile birlikte canlı olan hücreler tarafından biyolojik olarak indirgenerek mor renkli formazan ürünlerine dönüşür ve bu renkli formazan ürünün miktarı kültürdeki canlı hücrelerin sayısı ile orantılıdır ve 490 nm'de spektrofotometrik olarak plaka okuyucuda ölçülebilir. Karanlık ortamda steril petri kabı içine 10 mL hücre

besiyeri içinde 1 mL MTS solüsyonu olacak şekilde eklendi ve pipetaj işlemi yapıldıktan sonra 24., 48. ve 72. saat inkübasyon süresini tamamlayan hücre hatları için kuyucuklarda bulunan besiyerleri aspire edildi. Ardından her bir kuyucuğa 10 µL MTS solüsyonu ilave edildi.



**Şekil 3.4.** Sitotoksosite testinin yapılması

Plaklar MTS solüsyonu ilavesini takiben 2 saat inkübasyona bırakıldı. Ardından ELISA mikropalak okuyucu ile (BioTek Instruments, Inc. Winooski, Vermont, ABD) 450 nm’de absorbans ölçülerek sonuçlar hesaplandı (Şekil 3.5).



**Şekil 3.5.** ELISA plak okuyucu ile absorbans değerlerinin ölçülmesi

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, ELISA plak okuyucuda negatif kontrollerden elde edilen absorbans değerlerinin, bileşiklere ait absorbans değerlerine % olarak oranlanması ile bulundu. Sadece DMEM verilen hücrelerden alınan absorpsiyon değeri %100 hücre canlılığı olarak kabul edildi.

Sisplatin, SY-1157, SY-1804, SY-1558, SY-3745, SY-1552, SY-1535, SY-1807, SY-1849 için her bir konsantrasyon için 4 tekrar yapıldı. Her bir bileşik için hücre canlılığının %50 inhibe olduğu dozlar (IC<sub>50</sub>) sisplatin, SY-1157, SY-1804, SY-1558, SY-3745, SY-1552, SY-1535, SY-1807, SY-1849 uygulanmış olan hücrelerde ayrı ayrı belirlendi (Şekil 3.6).

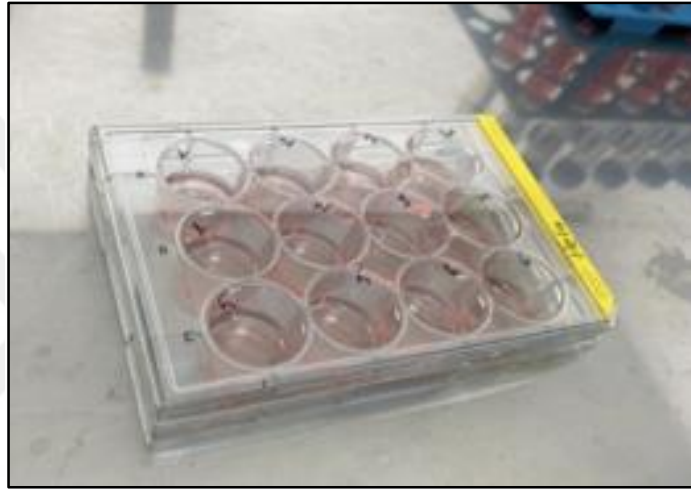
SISPLATİN-SHSY-5Y 1.GÜN							
	5	10	25	50	100	nc	pc
	0,709	0,707	0,672	0,617	0,455	0,816	0,316
	0,702	0,7	0,651	0,667	0,473	0,719	0,33
	0,616	0,7	0,665	0,627	0,459	0,738	0,3
	0,821	0,6	0,673	0,559	0,467	0,759	0,383
	0,662	0,67675	0,66525	0,6175	0,4635	0,758	0,33225
	0,32975	0,3445	0,333	0,28525	0,13125		
	77,45155	80,91603	78,21491	66,99941	30,82795		
SISPLATİN-SHSY-5Y 2.GÜN							
	5	10	25	50	100	nc	pc
	0,868	0,715	0,726	0,703	0,406	0,796	0,297
	0,833	0,963	0,936	0,89	0,405	0,876	0,395
	0,842	0,775	0,86	0,781	0,405	0,926	0,312
	0,789	0,8	0,742	0,673	0,4	0,749	0,292
	0,833	0,81325	0,816	0,76175	0,404	0,83675	0,324
	0,509	0,48925	0,492	0,43775	0,08		

**Şekil 3.6.** Hücre canlılığı değerlerinin belirlenmesi

### 3.5. Yara İyileşme Testi

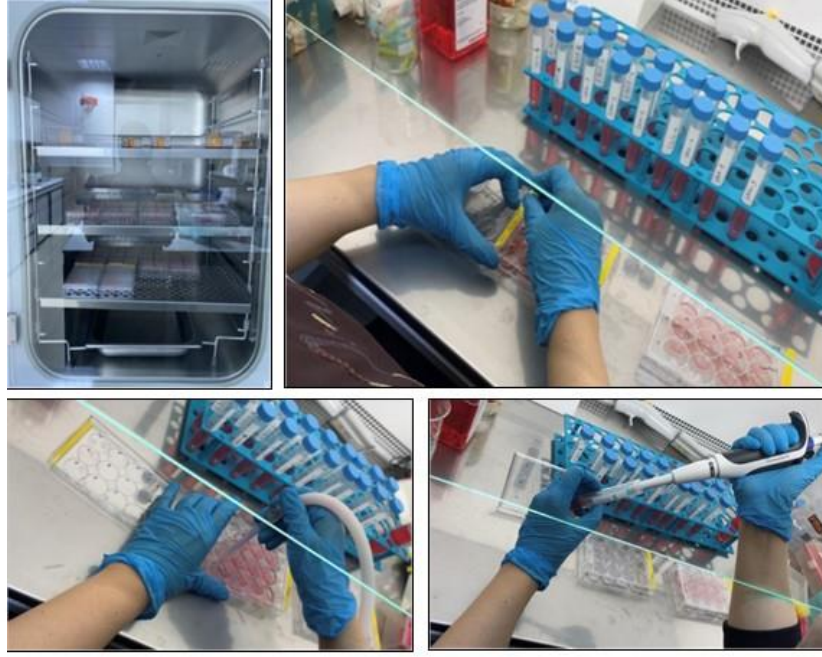
Yara iyileşme) hücrelerin birbiri ile etkileşimi ve hücrelerin göçünün belirlendiği bir testtir. Bu testte, birleşik bir tek tabaka da fiziksel dışlama ve hücrelerin mekanik, termal veya kimyasal hasar yoluyla bölgeden çıkarılmasıyla hücresiz bir alan oluşturulur. Hücresiz alana maruz kalma, hücrelerin boşluğa göç etmesine neden olur (84).

MTS deneyinde belirlenen maddelerin  $IC_{50}$  konsantrasyonlarının hesaplanmasından sonra 12 kuyucuklu plakalara 1 mL içinde  $1 \times 10^5$  hücre olacak şekilde hücre ekimi yapıldı (Şekil 3.7).



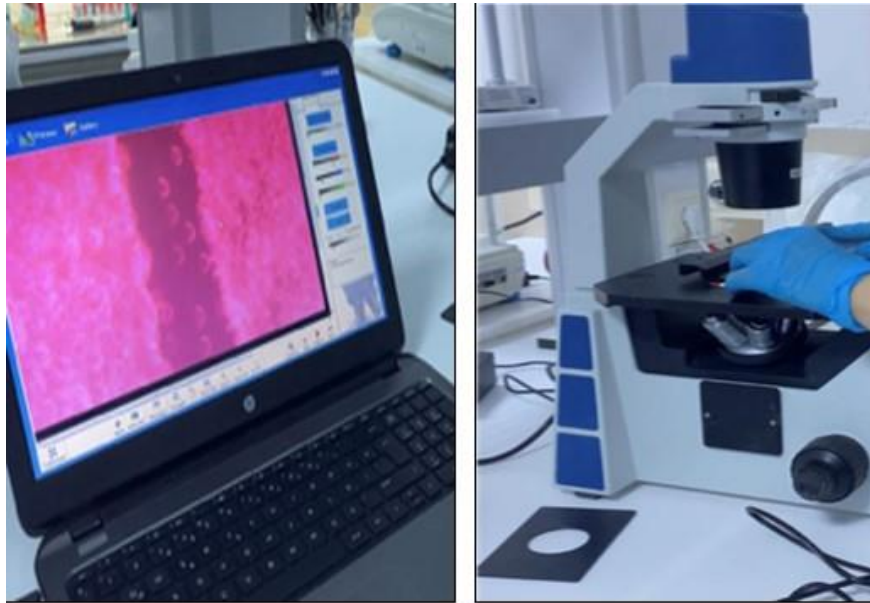
Şekil 3.7. 12 kuyucuklu plakalara hücre ekimi

24 saat standart inkübasyondan (%5  $CO_2$ ,  $37^\circ C$ ) sonra, 200  $\mu L$ 'lik pipet ucu ile kuyucuğun ortasından saat 12 yönünden başlayarak saat 6 yönüne düz bir çizgi çizildi. Sonrasında kuyucuklardaki vasat çekilip PBS ile yıkama yapıldı (Şekil 3.8).



**Şekil 3.8.** Hücre hatlarının IC<sub>50</sub> konsantrasyonları ile muamele edilmesi

Hücre hatları belirlenen IC<sub>50</sub> konsantrasyonlarında sisplatin, SY-1157, SY-1804, SY-1558, SY-3745, SY-1552, SY-1535, SY-1807 ve SY-1849 ile muamele edildi. Yara iyileşme oranı 0., 24. ve 48. saatlik inkübasyondan sonra ters ışık mikroskobu ile değerlendirildi (Şekil 3.9) (85).

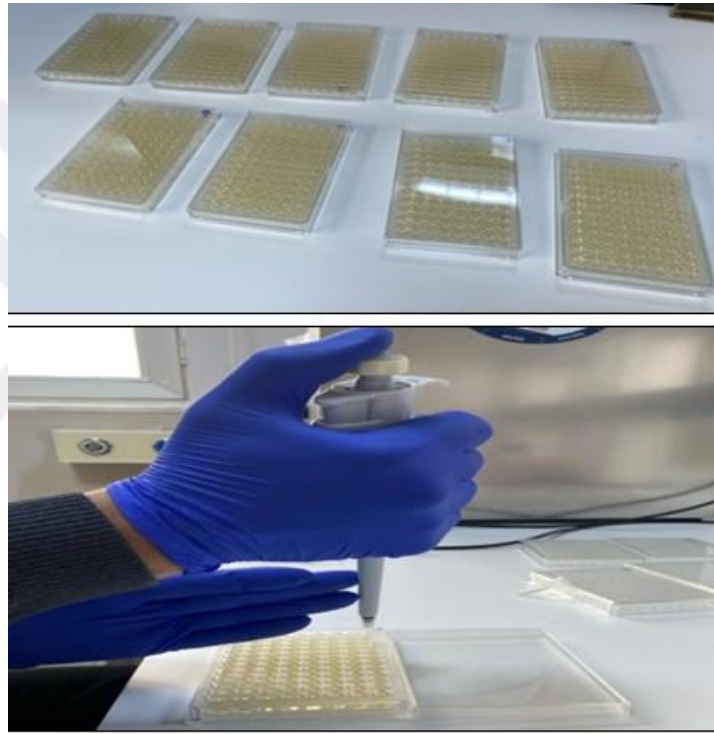


**Şekil 3.9.** Yara iyileşme oranının ters ışık mikroskobu ile değerlendirilmesi

### 3.6. Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivite

Sisplatin ve Pt-NHC bileşikleri Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) standartları doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi ile steril 96 kuyucuklu mikropalaklar ile toplumdaki ve hastane kaynaklı enfeksiyon etkenleri içinde en sık izole edilen suşların Amerikan tip standart kültür koleksiyonlarına karşı 800-1.56 µg/mL konsantrasyonlarda test edildi.

20 mg bileşik 2000 µL DMSO içinde çözüldü ve stok çözelti elde edilmiştir. Test kuyucuklarına 100 µL Müller-Hinton Broth besiyeri eklendi (Şekil 3.10).

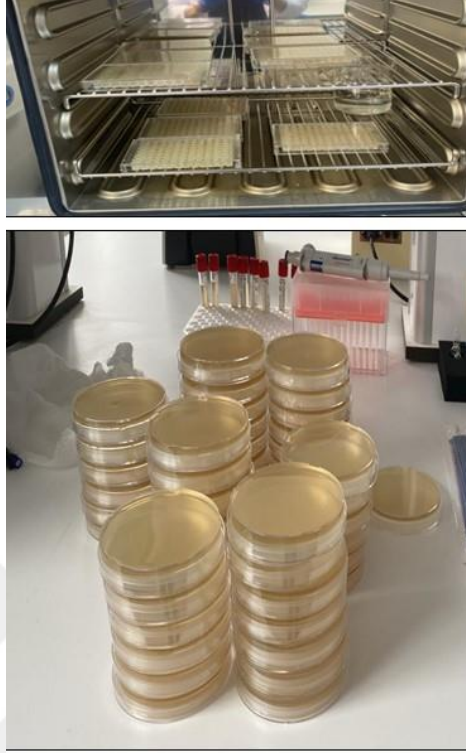


Şekil 3.10. Test kuyucuklarına Müller-Hinton Broth besiyerinin dağıtılması

Bileşiklerin stok çözeltisinden 100 µL alınarak ilk kuyucuktan başlayarak 10. kuyucuğa kadar seri dilüsyon yapıp, son iki kuyucuk kontrol olarak kalması sağlandı. Mcfarland 0.5 bulanıklık eşeline göre hazırlanmış bakteri süspansiyonlarından kontrol kuyucukları dahil tüm örnekler 10'ar µL dağıtıldı.

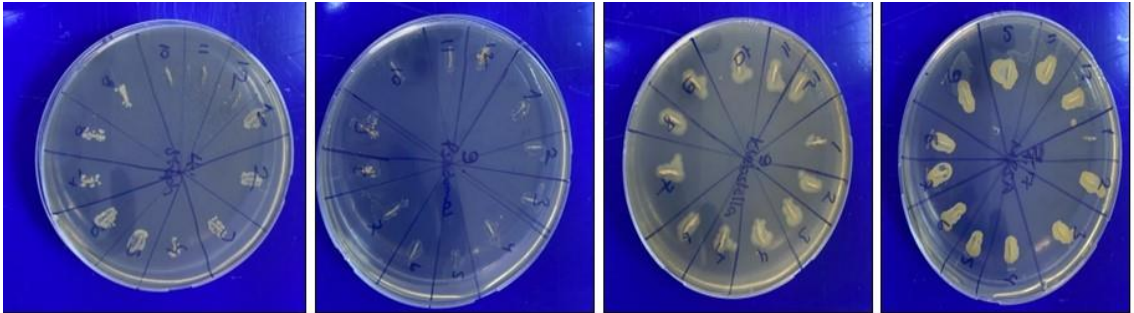
Test edilen bakteri ve mantar suşları: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* MRSA ATCC 43300, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Candida albicans* ATCC 14053 kullanılmıştır.

Bakteri ve bileşiklerin iyice karışması için orbital çalkalayıcı da 5 dakika bekletildi. Mikroplağın kapağı kapatılarak 35°C'de 18-20 saat inkübe edildi (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Plakların inkübasyonu

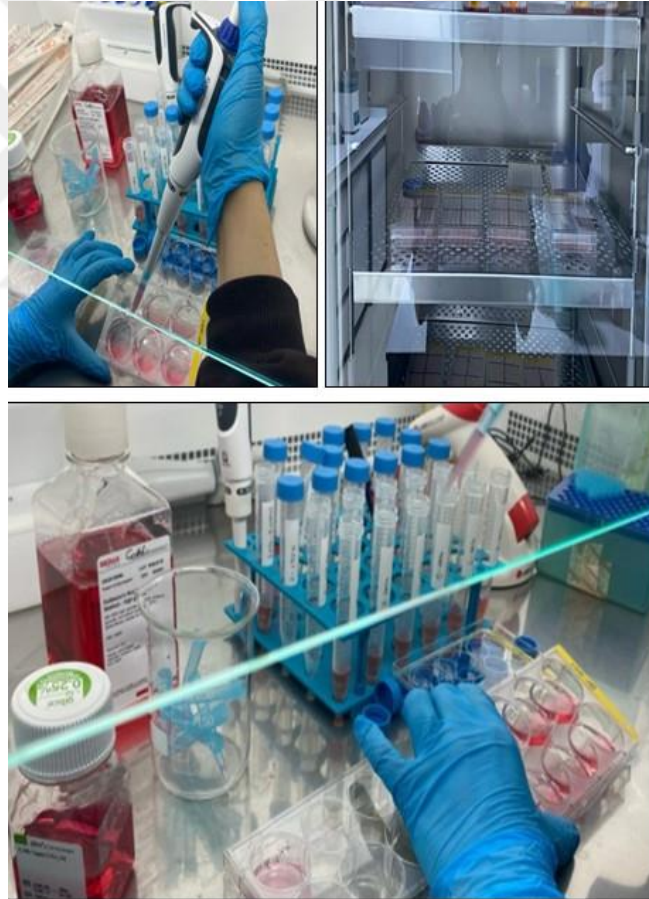
Üremenin anlaşılması için Mülller-Hinton Agar plaklarına steril plastik halka öze kullanılarak her bir kuyucuktan pasaj alınarak, aynı şartlarda inkübe edildi. Üremenin olduğu sulandırımın bir öncesi o maddenin minimal inhibitör konsantrasyonu (MİK) değeri olarak belirlendi (Şekil 3.12) (86).



Şekil 3.12. Minimal inhibitör konsantrasyonlarının belirlenmesi

### 3.7. Gen Ekspresyon Analizi

Apoptotik hücre ölümü ile ilişkili genlerin (*Bax*, *Bcl-2*) ekspresyon seviyelerinin gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile belirlenebilmesi için; 6 kuyucuklu steril hücre kültürü kaplarına kuyucuk başına yaklaşık  $10^5$  hücre olacak şekilde ekim yapıldı (87-88). Hücrelerin kuyucuk tabanlarına tutunması amacıyla 24 saatlik inkübasyon süresi sonrasında Pt-NHC kompleksleri ve sisplatinin belirlenen  $IC_{50}$  konsantrasyonlarında uygulandı. Negatif kontrol olarak yeni hazırlanmış hücre besiyeri ve pozitif kontrol olarak %20 oranında DMSO içeren hücre besiyeri kullanıldı. 6 kuyucuklu steril hücre kültürü kaplarına yapılan etiketlemede Pt-NHC komplekslerinin konsantrasyonları ve sisplatin kontrol gruplarının adı ve uygulama saati yazılarak hücre kültürü kapları inkübatöre yerleştirildi (Şekil 3.13).

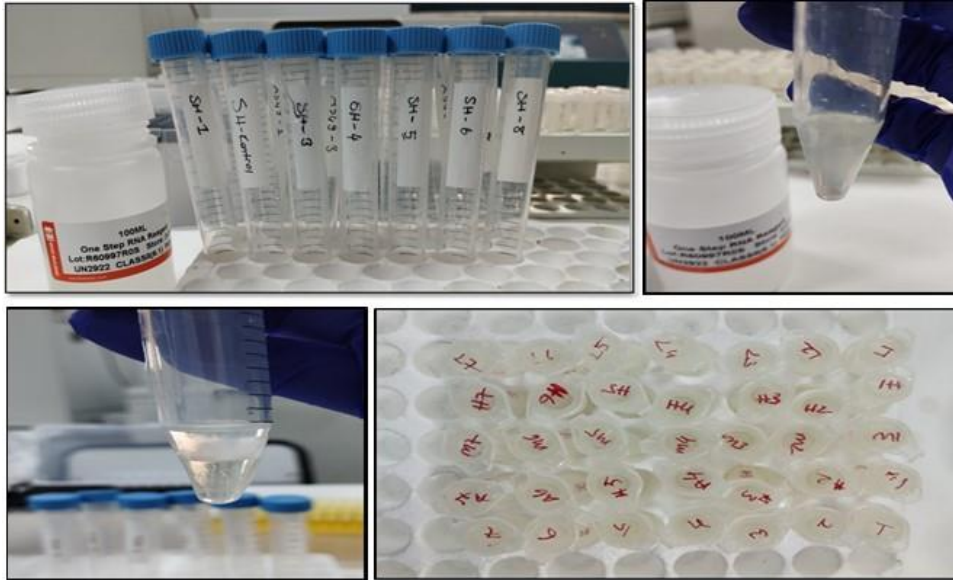


Şekil 3.13. Hücre kültürü kaplarının inkübasyonu

Belirlenen inkübasyon süresi sonrasında sırasıyla total RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve RT-PCR analizi gerçekleştirildi (89).

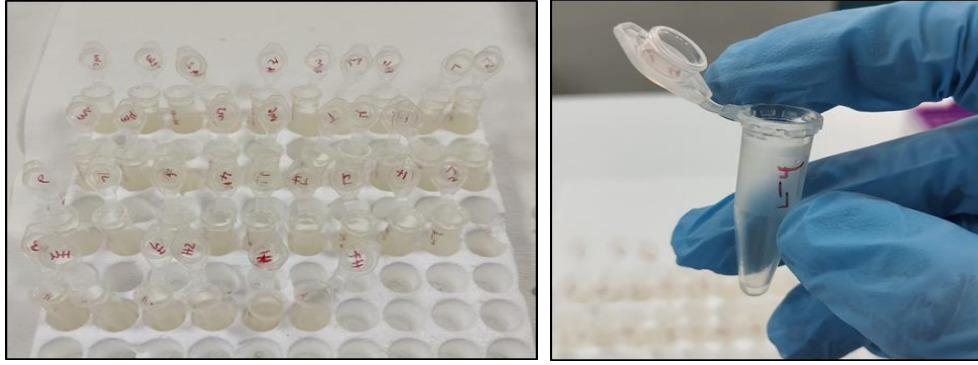
### 3.7.1. Total RNA İzolasyonu

Hücrelerden Total RNA izolasyonu One Step RNA Reagent (BioBasic) (90) protokolüne göre yapıldı. İzolasyon sonrasında saflık ve konsantrasyon kontrolü yapıldı (91). Protokole göre 6 well plate içinde bulunan hücreler üzerine 1 mL One Step RNA Reagent eklendi. 5 dakika inkübasyon sonrasında hücre kazıyıcıyı kullanılarak kaldırıldı ve falkon tüpe alındı. Hücre süspansiyonu üzerine 200 µL kloroform eklenerek pembe renkte elde edilene kadar vortekslendi. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyonu takiben 4°C’de 11.000 rpm’de 15 dakika santrifüj edildi ve oluşan 3 fazdan RNA’nın bulunduğu üst faz alınarak steril ependorf tüplere aktarıldı. Sonraki aşamada ependorf tüplere 500 µL izopropil alkol eklenerek alt üst edildi ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyonu takiben 4°C’de 11.000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. Total RNA izolasyon aşamaları

Santrifüj sonrasında süpernatant kısmı atılarak kalan peletin üzerine 1 mL %70’lik etanol eklenerek 4°C’de 8.800 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı pipetle alınarak kalan peletten etanolün uzaklaştırılması için ependorf tüpler kapakları açık bir şekilde 15 dakika kurutmaya bırakıldı (Şekil 3.15). mRNA peleti üzerine 20 µL RNaz-DNaz içermeyen su eklenerek pipetaj yapıldı ve mRNA peleti tamamen çözdürüldü.



Şekil 3.15. Peletten etanolün uzaklaştırılması

### 3.7.2. cDNA Sentezi

İzole edilen mRNA'lardan, cDNA sentezi One Script Plus cDNA sentez kiti kullanılarak üretici firmanın protokolüne göre yapıldı (Şekil 3.16). 5 µL alınan mRNA üzerine; 1 µL dNTP, 1 µL Oligo (dT), 1 µL OneScript Plus RTase, 4 µL 5x RT Buffer ve 8 µL RNaz-DNaz içermeyen su eklendi. cDNA sentez reaksiyonu için 55°C'de 15 dakika ve 85°C'de 5 dakika inkübe edildi. Sentezlenen cDNA'lar RT-PCR yapmak üzere -20°C'de muhafaza edildi.



Şekil 3.16. cDNA sentezi

### 3.7.3. RT- PCR Analizi

RT- PCR analizi sentezlenen cDNA örneklerinden BlasTaq 2X qPCR MasterMix kiti kullanılarak üretici firmanın protokolüne göre gerçekleştirildi. RT-PCR analizinde kullanılan *Bax*, *Bcl-2* ve referans gen olan  $\beta$ - *actin* primerleri (Bio Basic Canada) custom olarak sentezlendi. (Tablo 1).

**Tablo 3.3.** Primer gen dizileri

Gen	Primer dizisi
<i><math>\beta</math>- actin</i>	F: CACCATTGGCAATGAGCGGTTC
	R: AGGTCTTTGCGGATGTCCACGT
<i>Bax</i>	F: TCAGGATGCGTCCACCAAGAAG
	R: TGTGTCCACGGCGGCAATCATC
<i>Bcl-2</i>	F: ATCGCCCTGTGGATGACTGAGT
	R: GCCAGGAGAAATCAAACAGAGGC

96 well plate içinde 1 kuyucuk için kullanılan hacimler; BlasTaq 2X qPCR 10 $\mu$ L, Primer 1  $\mu$ L, cDNA 1  $\mu$ L ve RNaz-DNaz içermeyen su 8  $\mu$ L'dir. PCR çalışma protokolü ise sırasıyla enzim aktivasyonu için 95°C'de 3 dakika 1 döngü, denatürasyon için 95°C'de 15 saniye 40 döngü ve 60°C'de 1 dakika 40 döngüdür. RT-PCR verilerin analizi GeneGlobe Data Analysis (Qiagen) programında 2' $\Delta\Delta$ CT metodu kullanılarak yapıldı. *Bax* ve *Bcl-2* gen ekspresyonlarının kat değişim değerleri alınarak *Bax/Bcl-2* oranı hesaplandı. Kontrol grubu olarak L929 hücre hattı alındı.

### 3.8. İstatistiksel Analiz

Yara iyileşmesini analiz etmek için Imagej programı kullanıldı. Hücre canlılığı ve yara iyileşmesi % olarak ifade edildi. Tanımlayıcı veriler SPSS 22.0 paket programı (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak analiz edildi. Yara iyileşmesindeki istatistiksel farklılıklar, iki yönlü varyans analizi kullanılarak hesaplandı. IC<sub>50</sub> değerleri GraphPad Prism 8 programı kullanılarak hesaplandı. PCR verilerinin analizinde internet tabanlı Gene Globe platformunda 'RT<sup>2</sup> Profiler™ PCR Array Data Analysis' programında bulunan, Volcano Plot analizleri kullanıldı. Gen ekspresyonunun karşılaştırılmasında kontrol ve farklı konsantrasyonlar arasında ilgili genlerin ekspresyon değerleri rölatif

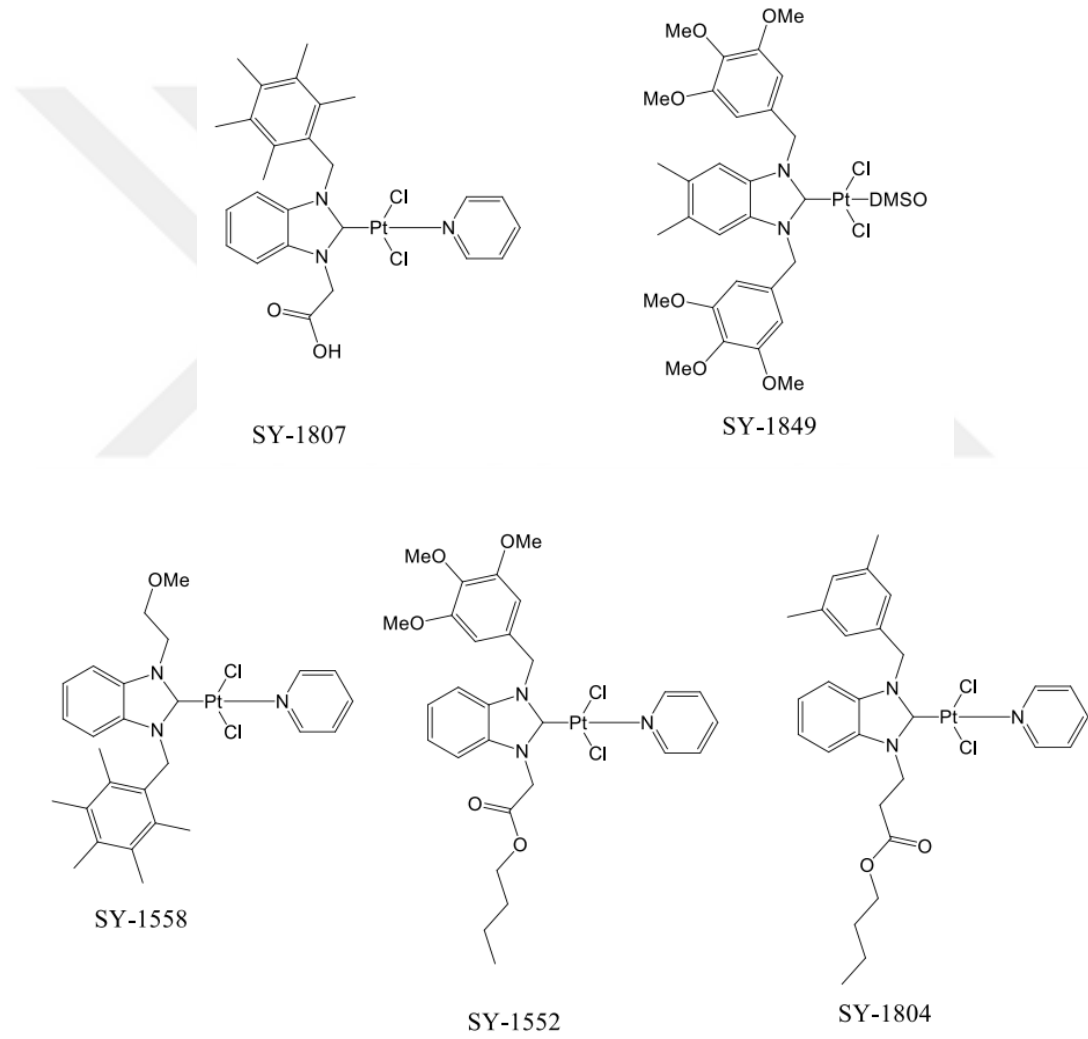
olarak belirlendi. Grupların karşılaştırılmasında ise aynı program üzerinde bulunan 'Student t-test' analizi ile istatistiksel olarak anlamlılıklar değerlendirildi. Yapılan tüm analizlerde istatistiksel olarak anlamlılık değeri  $p<0.05$  olarak alındı.



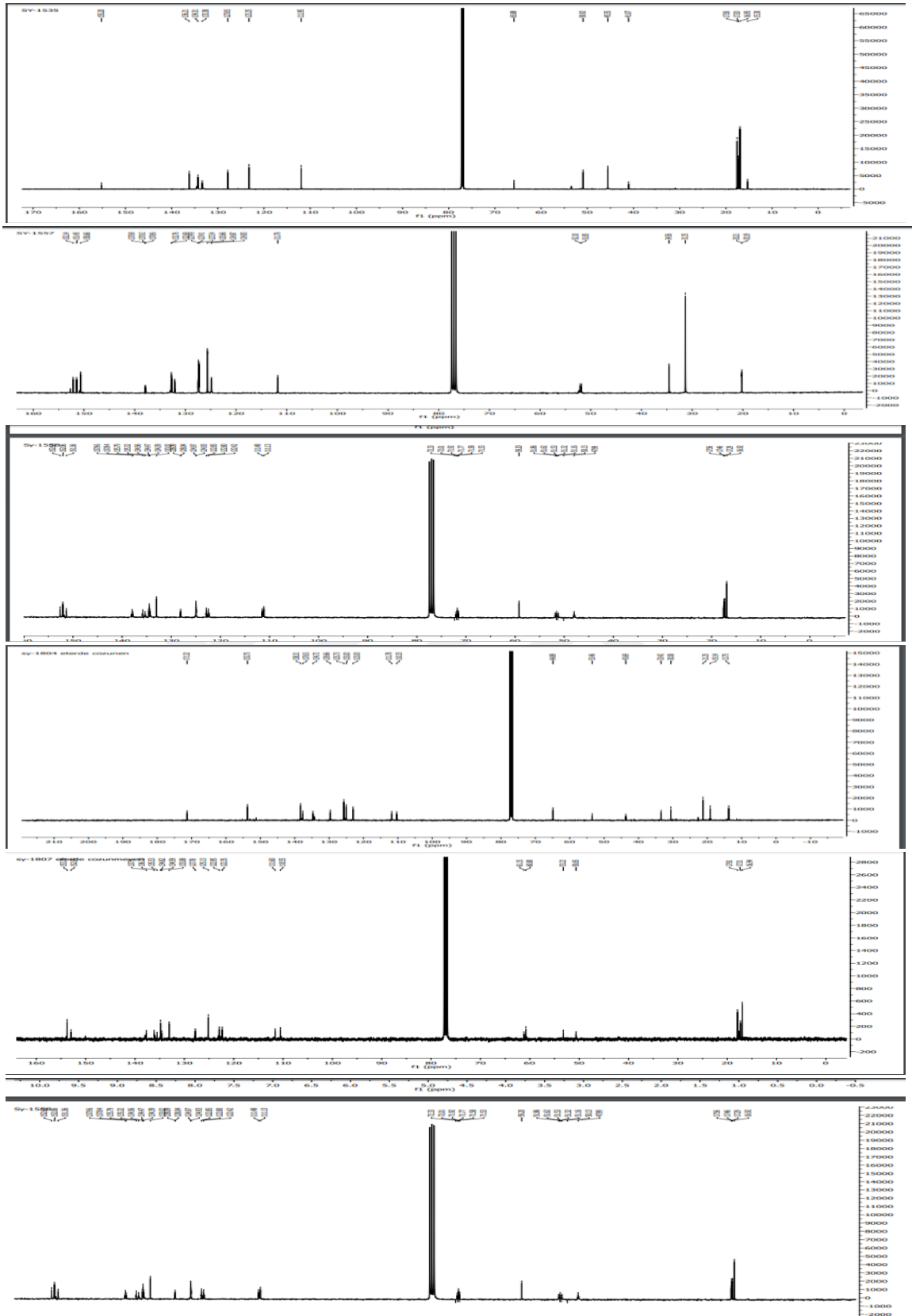
## 4. BULGULAR

### 4.1. Platin Temelli Karben Komplekslerinin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu

Bu komplekslerin sentezi için ilk olarak tuz yapısındaki imidazol temelli NHC öncülleri sentezlenmiş, bu tuzlardan yola çıkarak Pt-NHC kompleksleri sentezlenmiştir (Şekil 4.1). Yapıları spektroskopik teknikler ile aydınlatılmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Sentezlenen Pt-NHC bileşiklerinin açık formülleri



Şekil 4.2. Pt-NHC'nin NMR spektrumları

## 4.2. Platin Temelli Karben Komplekslerinin Moleküler Docking Analizi

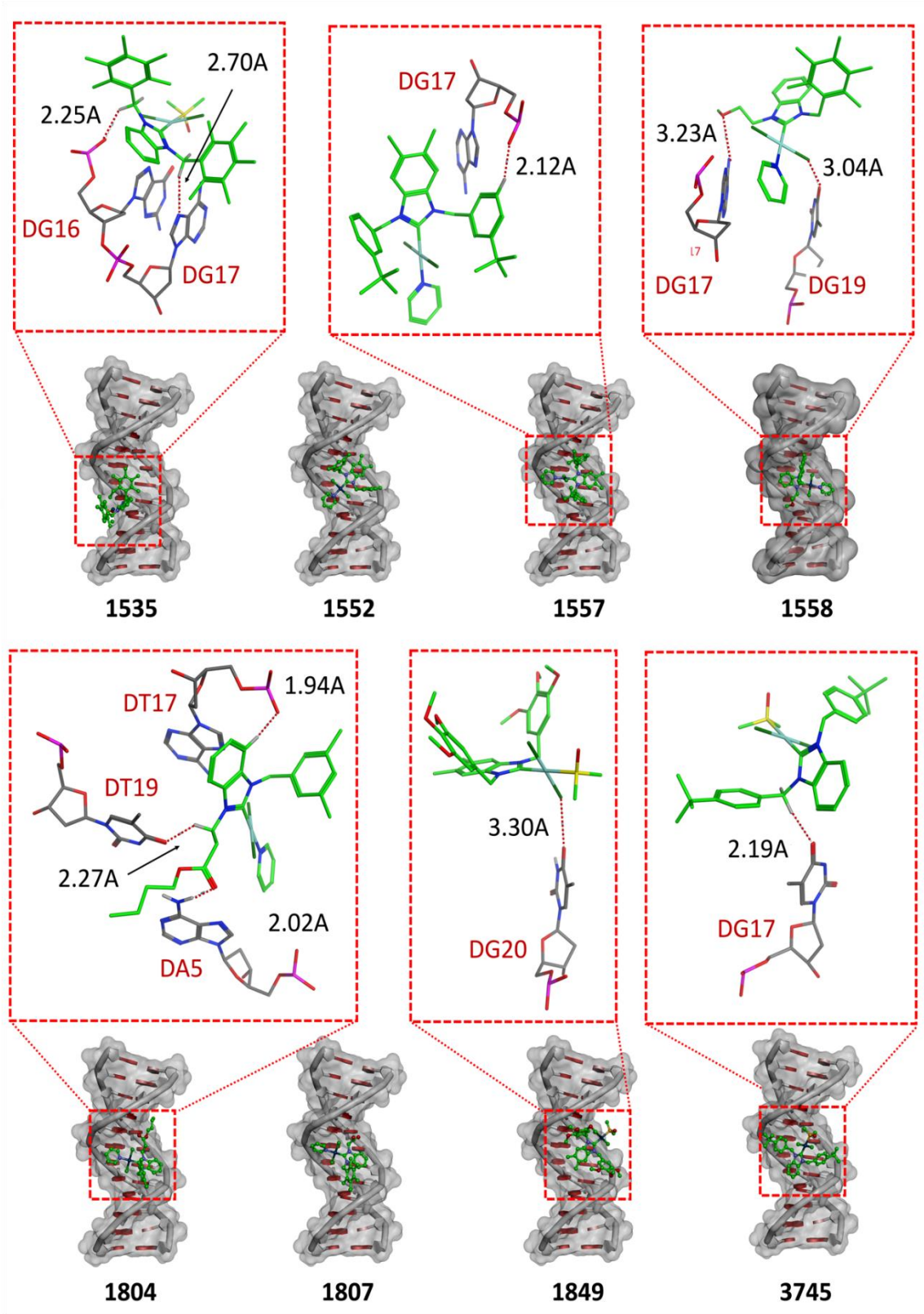
Üç boyutlu DNA yapıları, d(CGCGATATCGCG)<sub>2</sub> ve d(GAAGCTTC)<sub>2</sub> için sırasıyla 1DNE ve 1DSC tanımlama kodlarıyla Protein Veri Bankasından elde edildi. Komplekslerin moleküler yapıları Gaussian 09 yazılımı (92) kullanılarak B3LYP hibrit yaklaşımı kullanılarak DFT yöntemiyle belirlendi. DNA yapılarındaki su molekülleri ve ilgisiz ligandlar çıkarıldı, ardından LePro yazılımı (<http://www.lephar.com>) kullanılarak hidrojenler atandı. Ciltleme cebi 2,025, 19,759'a ayarlandı; -5.411, 6.123; 1DSC için -10.206, 6.549, 1DNE için ise molekülün tamamı seçildi. Moleküler yerleştirme LeDock (<http://www.lephar.com>) yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi ve rakamlar BIOVIA Discovery Studio (<https://3dsbiovia.com/>) yazılımı kullanılarak oluşturuldu.

Platinin antikanser aktivitesinin temel olarak DNA ile etkileşime girme yeteneğinden kaynaklandığı iyi bilinmektedir (93-95). Bu nedenle, sentezlenen tüm platin (II) kompleksleri için, bunların DNA ile etkileşim ve afinite modunu tahmin etmek amacıyla bir moleküler yerleştirme çalışması gerçekleştirildi. Oluk bağlama ve interkalasyon için sırasıyla 1DNE ve 1DSC olmak üzere iki DNA yapısı seçilmiştir (96). İki DNA yapısına sahip tüm komplekslerin bağlanma enerjileri Tablo 4.1.'de gösterilmektedir. Görülebileceği gibi tüm kompleksler, her iki DNA yapısı için -5,04 ila -6,19 kcal/mol arasında değişen negatif kenetlenme bağlanma enerjilerine sahiptir. 1DNE için 1849, -6,19 kcal/mol ile en düşük enerjiyi gösterdi. Ancak 1DSC için en düşük enerji 1558 için -6,17 kcal/mol değeriyle elde edildi. Bu, sentezlenen tüm komplekslerin incelenen iki DNA yapısına bağlanabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, 1DNE ile etkileşim, 1558 dışındaki tüm kompleksler için enerjik olarak 1DSC'den daha uygun görünmektedir; bu, komplekslerin, interkalasyon yerine oluk bağlanmayı tercih edebileceğini ima etmektedir.

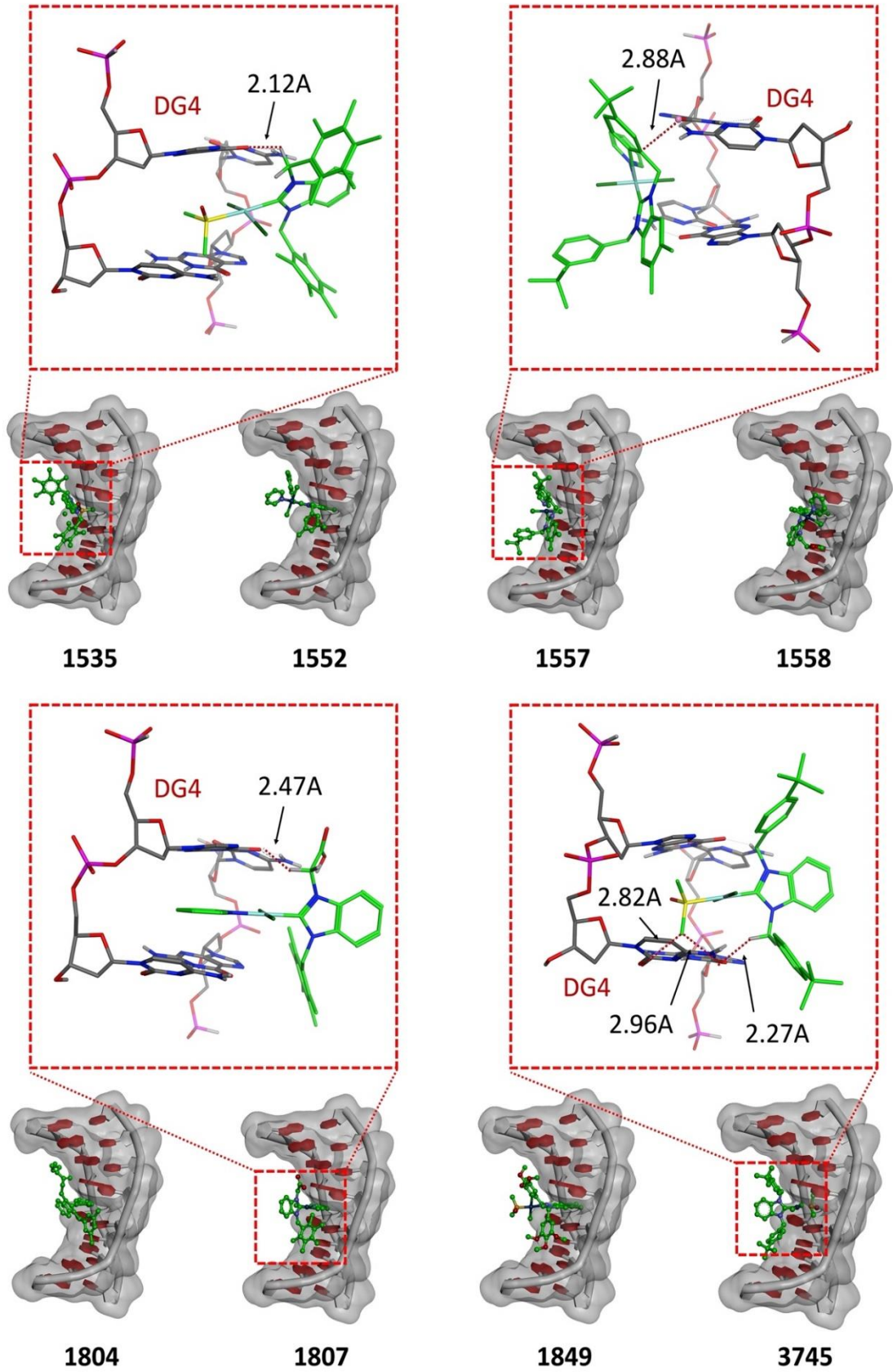
**Tablo 4.1.** Sentezlenen komplekslerin bağlanma enerjilerinin DNA yapılarıyla birleştirilmesi

Pt-NHC	Kcal/mol cinsinden bağlanma enerjisi	
	1DNE	1DSC
<b>1535</b>	-5.39	-5.29
<b>1552</b>	-5.97	-5.24
<b>1557</b>	-5.47	-5.17
<b>1558</b>	-5.68	-6.17
<b>1804</b>	-6.15	-5.57
<b>1807</b>	-5.65	-5.04
<b>1849</b>	-6.19	-5.41
<b>3745</b>	-5.88	-4.89

Sentezlenen komplekslerin incelenen iki DNA fragmanı ile etkileşimi Şekil 4.3. ve Şekil 4.4.'te gösterilmektedir. 1DNE için (Şekil 4.3.), tüm kompleksler DNA'nın küçük oluğunda bulunur ve DNA bazları ile uygun etkileşimler oluşturur. Çoğu kompleks, 1,94Å ile 3,30Å arasındaki mesafelerde DNA bazlarıyla hidrojen bağları oluşturur. Bu etkileşimlere DA5, DG16, DG17, DG19, DG20, DT17 ve DT19 gibi çeşitli DNA parçaları dahil olur. 1DSC ile ilgili olarak (Şekil 4.4.), 1552, 1558, 1804 ve 1849, DG4 ve DC5 DNA bazları ile yalnızca zayıf  $\pi$ - $\pi$  istifleme etkileşimleri oluşturur. Bunun tersine, hidrofobik etkileşimlere ek olarak diğer kompleksler de DG4 DNA bazı ile 2,12 ila 2,96 Å mesafeli hidrojen tipi etkileşimler oluşturur. Genel olarak bu sonuçlar, sentezlenen komplekslerin iyi bir DNA bağlama afinitesine sahip olduğunu göstermektedir; bu, deneysel çalışmada gözlemlenen yüksek sitotoksiteyi açıklayabilir.



Şekil 4.3. Sentezlenen Pt(II) komplekslerinin DNA 1DNE ile sabitlenmiş modelleri



Şekil 4.4. Sentezlenen Pt(II) komplekslerinin DNA 1DSC ile yerleştirilmiş modelleri

### 4.3. Antiproliferatif Aktivite

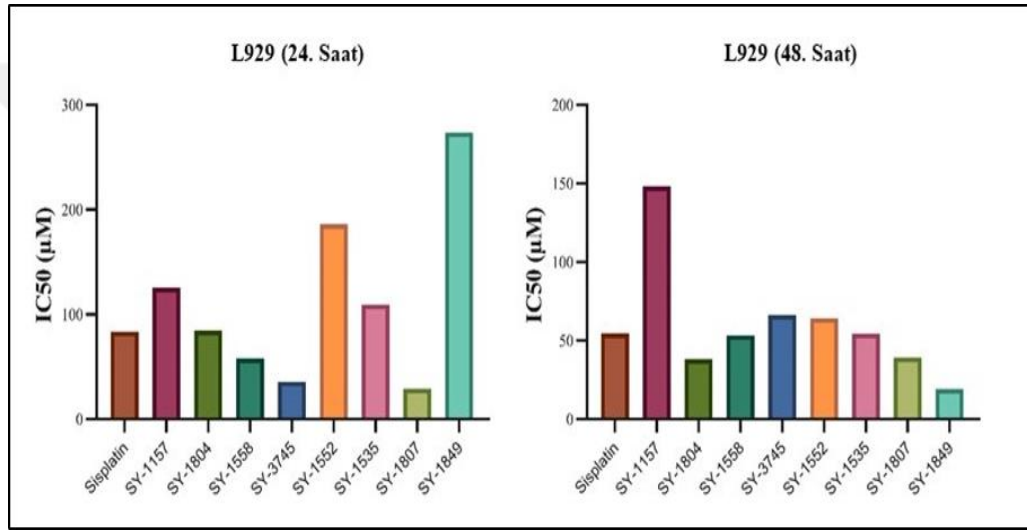
Platin temelli bileşiklerin ve sisplatinin SH-SY5Y, A549, MDA-MB, HeLa ve L929 hücre hatları üzerinde sitotoksik etkileri hücre canlılık testi ile analiz edilmiştir. Sentezlenen bileşikler 200 µL farklı doz aralıklarında (1 µM, 5 µM, 10 µM, 25 µM, 50 µM ve 100 µM) 0., 24. ve 48. saatte hücre hatlarına uygulanmıştır. Sentezlenen bileşikler platin temelli karben bileşikler SY-1157, SY-1804, SY-3745, SY-1552, SY-1535, SY-1807, SY-1849 olarak isimlendirilmiştir. Bileşiklerin 24. ve 48. saatlik uygulaması sonrası elde edilen IC<sub>50</sub> değerleri Tablo 4.2.'de verilmiştir.

**Tablo 4.2.** 24. ve 48. saatlik uygulama sonrası bileşiklerin IC<sub>50</sub> konsantrasyonları

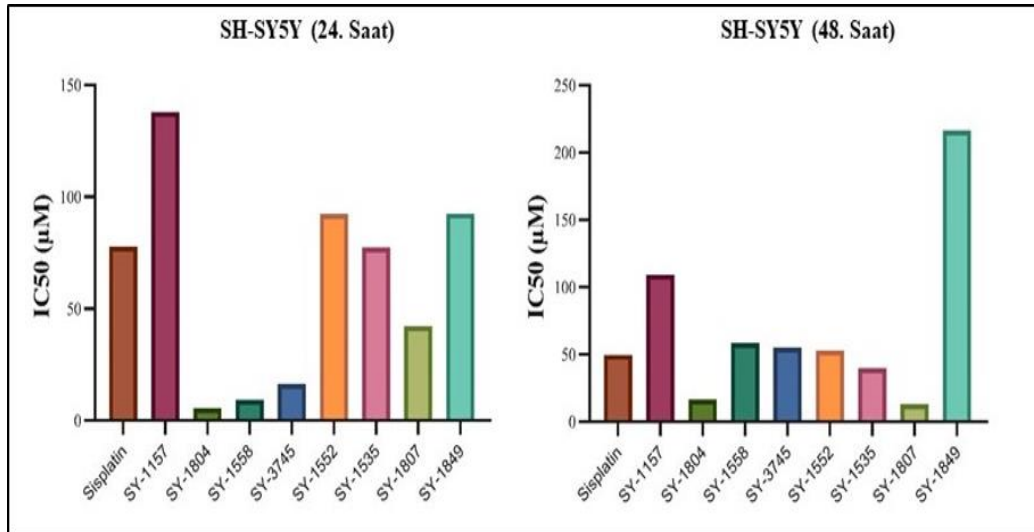
24. saat	IC <sub>50</sub> (µM)								
	Sisplatin	SY-1157	SY-1804	SY-1558	SY-3745	SY-1552	SY-1535	SY-1807	SY-1849
A549	76.5	89.2	13.6	57.1	55.2	84.7	63.3	13.1	472.8
MDA-MB-231	103.6	43.6	37.8	61.5	44.5	123.4	49.6	17.4	165.0
SH-SY5Y	77.8	137.9	5.5	9.3	16.3	92.3	77.4	42.2	92.5
HeLa	68.1	81.2	36.6	78.3	115.6	44.1	35.6	46.9	201.6
L929	83.6	125.7	84.7	57.9	35.8	186.2	109.3	29.0	273.6
48. saat	Sisplatin	SY-1157	SY-1804	SY-1558	SY-3745	SY-1552	SY-1535	SY-1807	SY-1849
A549	10.1	253.2	7.6	18.6	41.8	33.6	57.5	14.1	166.8
MDA-MB-231	39.0	36.1	17.4	35.8	29.8	11.2	12.6	5.6	55.2
SH-SY5Y	49.7	109.3	16.5	58.5	55.1	53.1	39.8	12.9	21.6
HeLa	17.4	74.4	26.3	26.3	50.0	37.9	33.0	22.1	186.8
L929	54.6	148.2	38.2	53.5	66.3	64.3	54.4	39.3	19.3

Pt-NHC komplekslerinin sitotoksosite analizi sonuçlarına göre; SY-1804, SY-1558, SY-3745, SY-1535, SY-1807 bileşikleri, A549 kanser hücre hattında sisplatine göre daha düşük konsantrasyonlarda sitotoksik etki göstermiştir. Sisplatin ile karşılaştırılan sonuçlar doğrultusunda yeni sentezlenen Pt-NHC komplekslerinden SY-1804, SY-1558, SY-3745, SY-1535, SY-1807 bileşiklerinin anti-proliferatif etkinliğinin sisplatininden daha fazla olduğu görülmüştür. Diğer bileşikler SY-1157, SY-1552, SY-

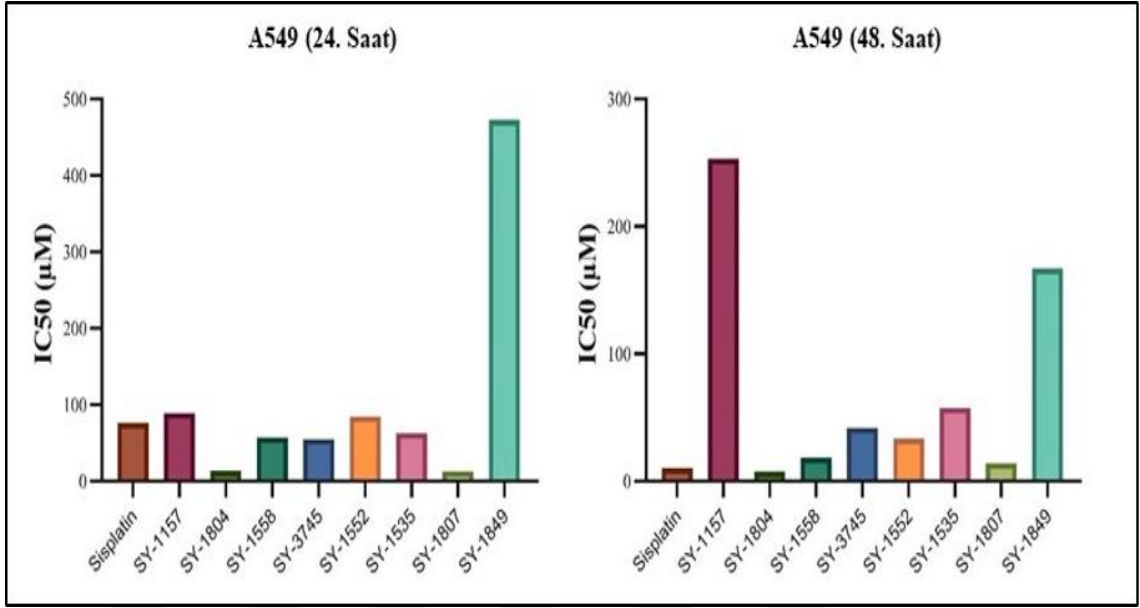
1849 ise cisplatine kıyasla 48 saatlik uygulamada yüksek konsantrasyonda A549, MDA-MB-231, HeLa, SH-SY5Y hücre hatlarında düşük sitotoksosite göstermiştir. L929 sağlıklı hücre hattında ise yüksek konsantrasyonlarda sitotoksosite göstermiştir. SY-1804, SY-1558, SY-3745, SY-1535, SY-1807 sentezlenen madde ise 24 ve 48 saatlik uygulamanın takibinde cisplatine kıyasla 48 saatlik uygulamada düşük konsantrasyonda A549, MDA-MB-231, HeLa, SH-SY5Y hücre hatlarında yüksek sitotoksosite göstermiştir. L929 sağlıklı hücre hattında ise yüksek konsantrasyonda sitotoksosite göstermiştir. Bu sonuçlara dayanarak farklı yapılar sahip Pt-NHC komplekslerinin farklı kanser hücrelerini yok etmede oldukça etkili olduğunu öne sürebiliriz.



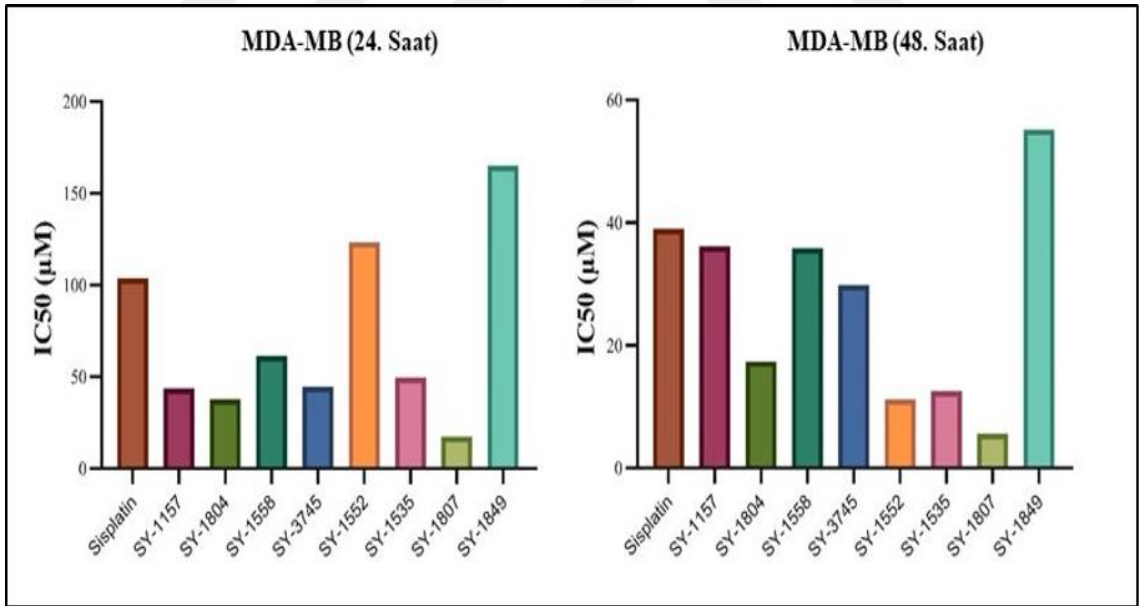
Şekil 4.5. L929 hücre hattına 24. saat ve 48. saatte uygulanan Pt-NHC komplekslerinin IC<sub>50</sub> değerleri



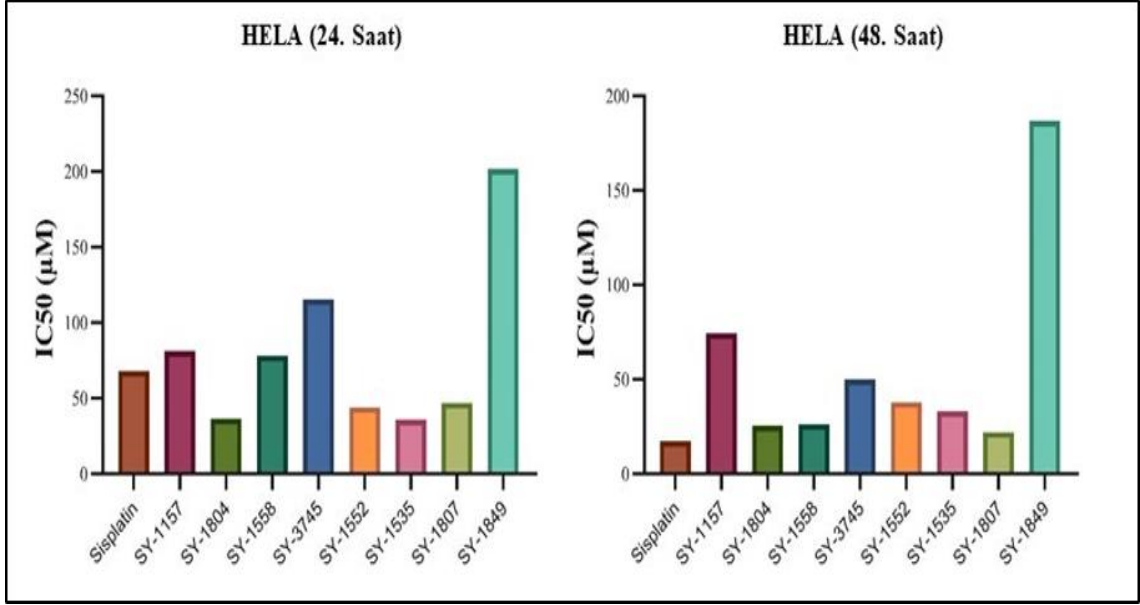
**Şekil 4.6.** SH-SY5Y hücre hattına 24. saat ve 48. saatte uygulanan Pt-NHC komplekslerinin IC<sub>50</sub> değerleri



**Şekil 4.7.** A549 hücre hattına 24. saat ve 48. saatte uygulanan Pt-NHC komplekslerinin IC<sub>50</sub> değerleri



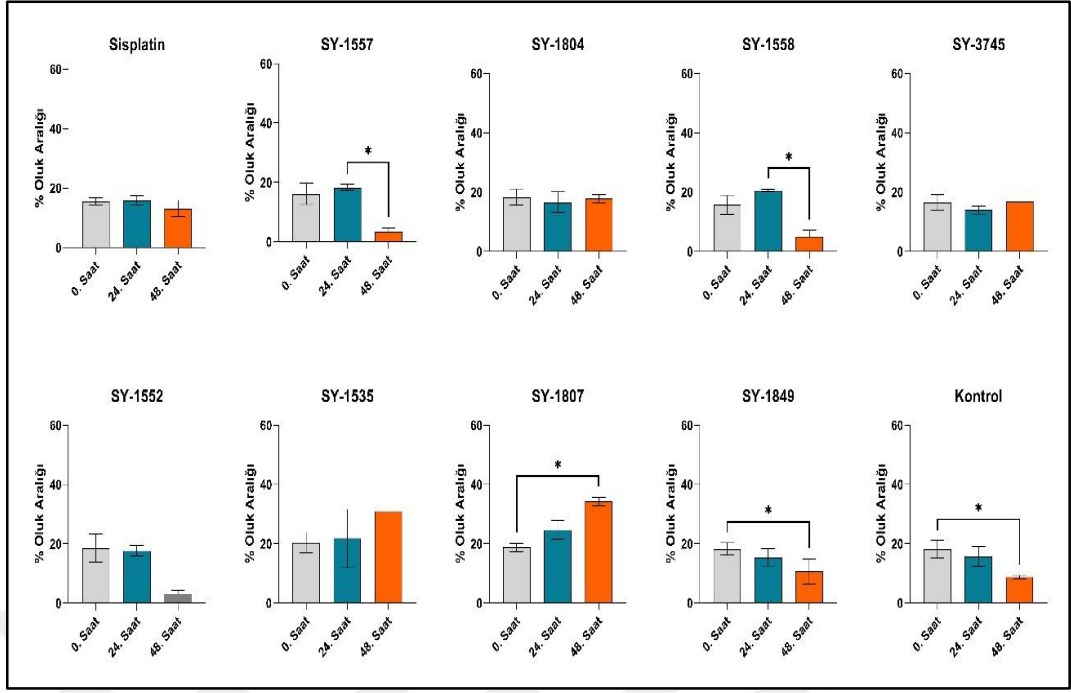
**Şekil 4.8.** MDA-MB-231 hücre hattına 24. saat ve 48. saatte uygulanan Pt-NHC komplekslerinin IC<sub>50</sub> değerleri



**Şekil 4.9.** HeLa hücre hattına 24. saat ve 48. saatte uygulanan Pt-NHC komplekslerinin IC<sub>50</sub> değerleri

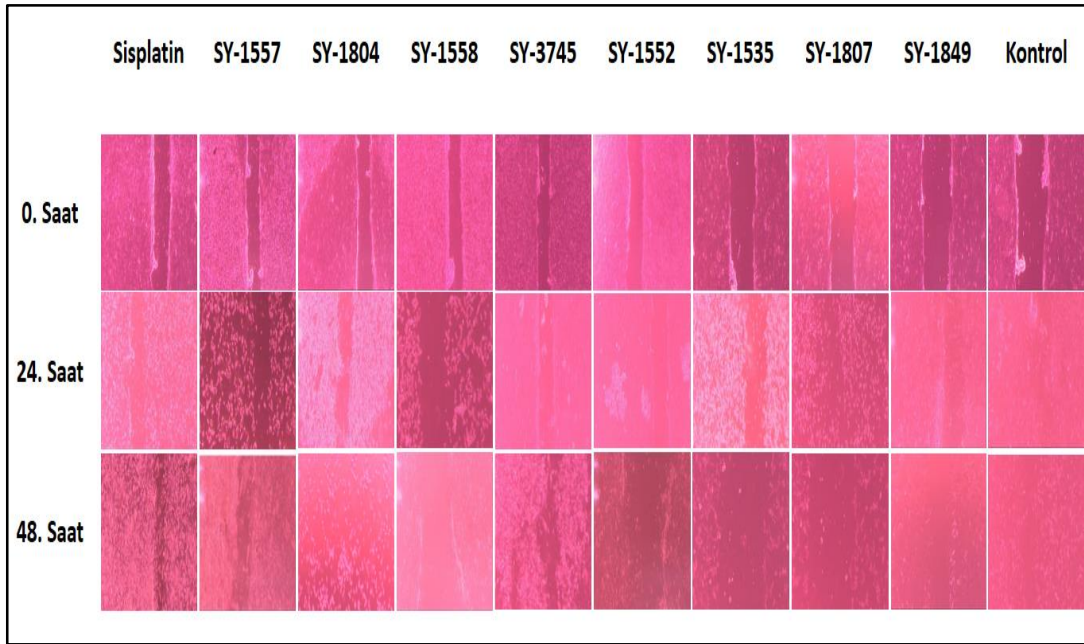
#### 4.4. Yara İyileşme Testi

L929 hücre hattında, cisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin IC<sub>50</sub> konsantrasyonlarının 0, 24 ve 48 saatlik uygulamaları sonucu meydana gelen yara iyileşmesi % oluk aralığı olarak sunulmuştur (Şekil 4.10). L929 hücre hattında SY-1557, SY-1558, SY-1849 bileşiklerinin uygulaması sonrasında gözlenen oluk aralığı kontrol grubundaki oluk aralığına göre 48. saat sonunda 24. saate göre anlamlı düzeyde azalmıştır ( $p < 0.05$ ). SY-1807 bileşiği, oluk aralığını 48. saat sonunda 0. saate kıyasla anlamlı düzeyde arttırmıştır ( $p < 0.05$ ). Cisplatin, SY-1804, SY-3745, SY-1552 ve SY-1535 uygulamalarında oluk aralıklarında 0. veya 24. saate kıyasla 48. saat sonunda herhangi bir anlamlı değişiklik meydana gelmemiştir ( $p \geq 0.05$ ). SY-1804, SY-3745, SY-1552 ve SY-1535 bileşiklerinin % oluk aralığı üzerine etkisi cisplatin ile benzer bulundu (Şekil 4.10. ve Şekil 4.11).



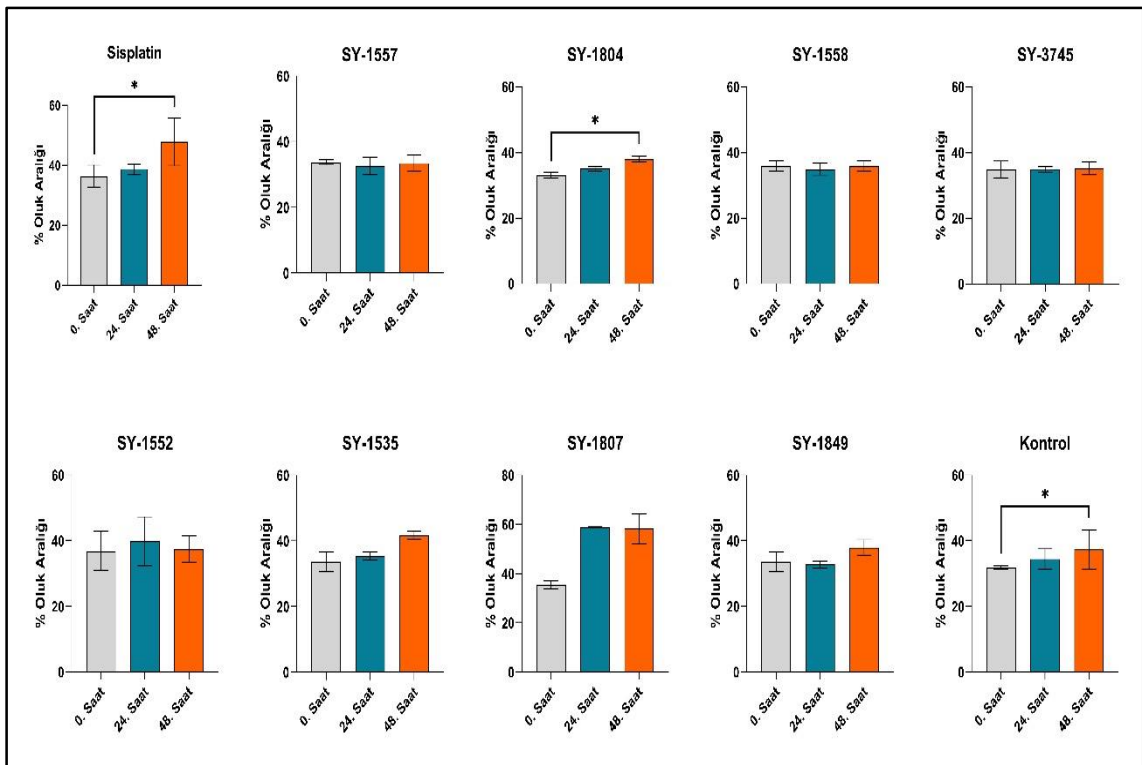
**Şekil 4.10.** L929 hücre hattında sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin yara iyileştirmesi (% oluk aralığı)

Yara iyileşme % oluk aralığı olarak sunulmuştur. (\*:p<0.05, \*\*:p<0.01, \*\*\*: p<0.001)



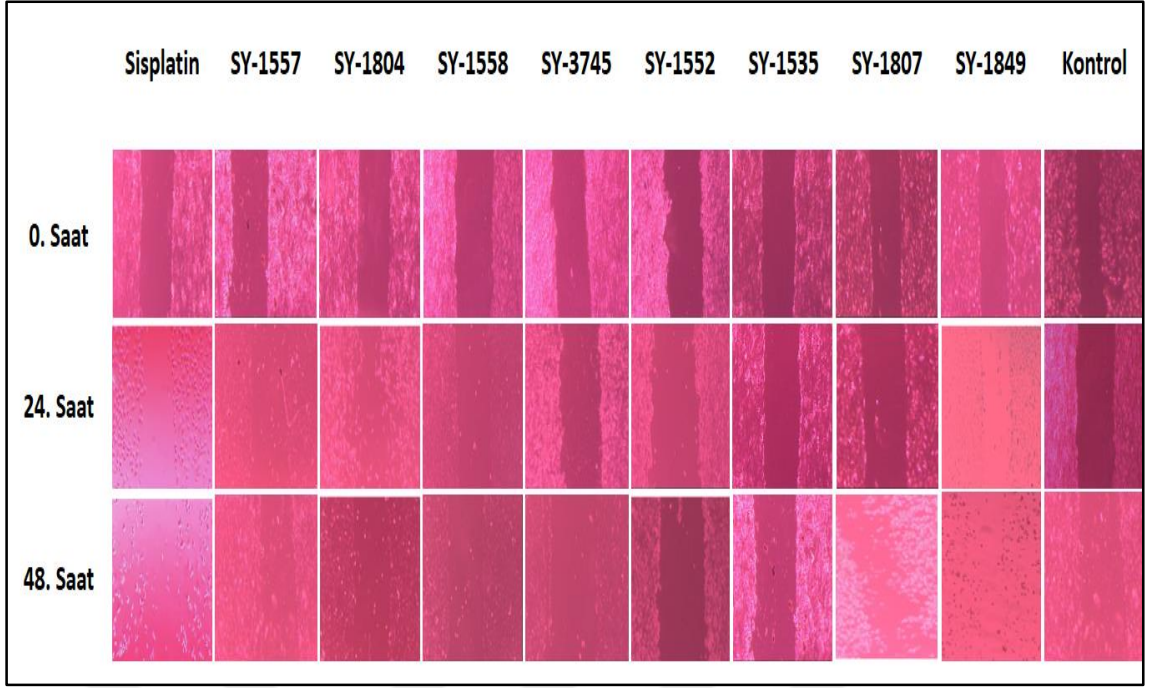
**Şekil 4.11.** L929 hücre hattına uygulanan sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin 0., 24. ve 48. saatlerindeki oluk aralığı

A549 hücre hattında, sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin komplekslerinin IC<sub>50</sub> konsantrasyonlarının 0, 24 ve 48 saatlik uygulamaları sonucu meydana gelen yara iyileşmesi % oluk aralığı olarak sunulmuştur (Şekil 4.12). A549 hücre hattında sisplatin ve SY-1804 bileşikleri kontrole benzer şekilde % oluk aralığı 48. saat sonunda 0. saate kıyasla anlamlı düzeyde artmıştır ( $p<0.05$ ). SY-1557, SY1558, SY-3745, SY-1552, SY-1535, SY-1807 ve SY-1849 bileşiklerinin A549 hücre hattında % oluk aralıkları 0., 24. ve 48. saatlerde benzer bulunmuş ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p\geq 0.05$ ) (Şekil 4.12. ve Şekil 4.13).



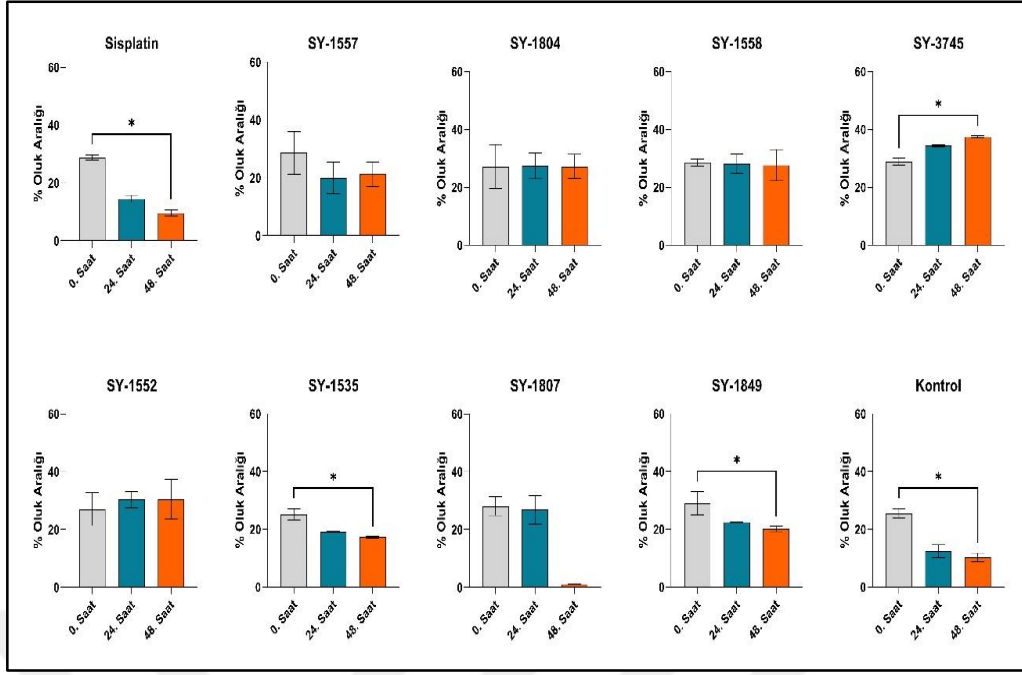
**Şekil 4.12.** A549 hücre hattında sisplatin ve komplekslerinin yara iyileştirmesi (% oluk aralığı).

Yara iyileşme % oluk aralığı olarak sunulmuştur. (\*:p<0.05, \*\*:p<0.01, \*\*\*: p<0.001)



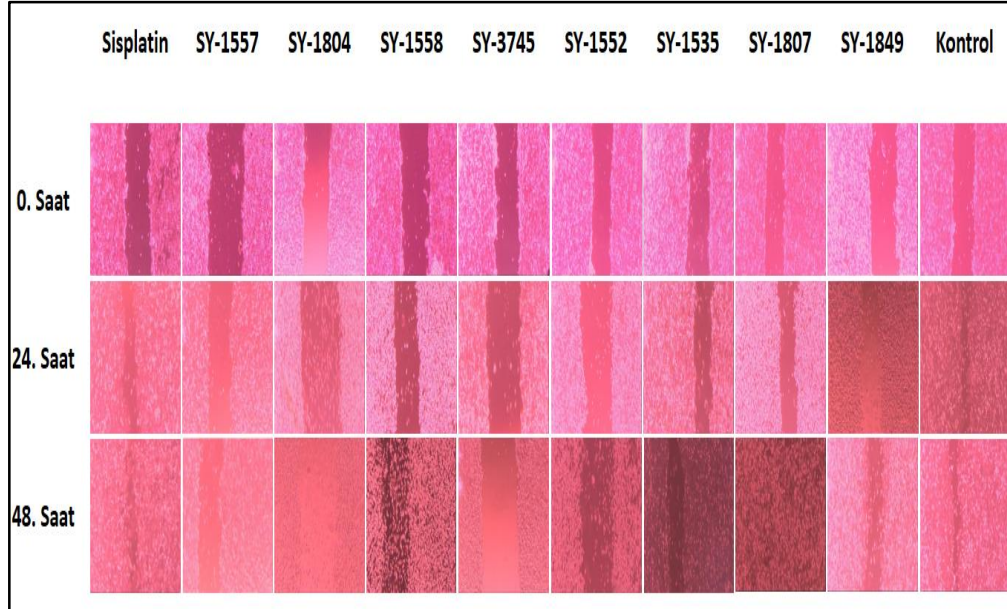
**Şekil 4.13.** A549 hücre hattına uygulanan sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin 0., 24. ve 48. saatlerindeki oluk aralığı

HeLa hücre hattında, sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin  $IC_{50}$  konsantrasyonlarının 0, 24 ve 48 saatlik uygulamaları sonucu meydana gelen yarı iyileşmesi % oluk aralığı olarak sunulmuştur (Şekil 4.14). % oluk aralığı; sisplatin, SY-1535 ve SY-1849 bileşiklerinin uygulaması sonucu 48. saat sonunda 0. saate kıyasla anlamlı düzeyde azalmıştır ( $p < 0.05$ ). Bu sonuç kontrole benzer bulundu. Diğer komplekslerin aksine SY-3745 maddesinin uygulaması 48. saat sonunda 0. saate kıyasla oluk aralığını anlamlı düzeyde arttırmıştır ( $p < 0.05$ ). SY-1557, SY-1804, SY1558, SY-1552 ve SY-1807 komplekslerinin A549 hücre hattında % oluk aralıkları 0., 24. ve 48. saatlerde benzer bulunmuş ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p \geq 0.05$ ) (Şekil 4.14. ve Şekil 4.15).



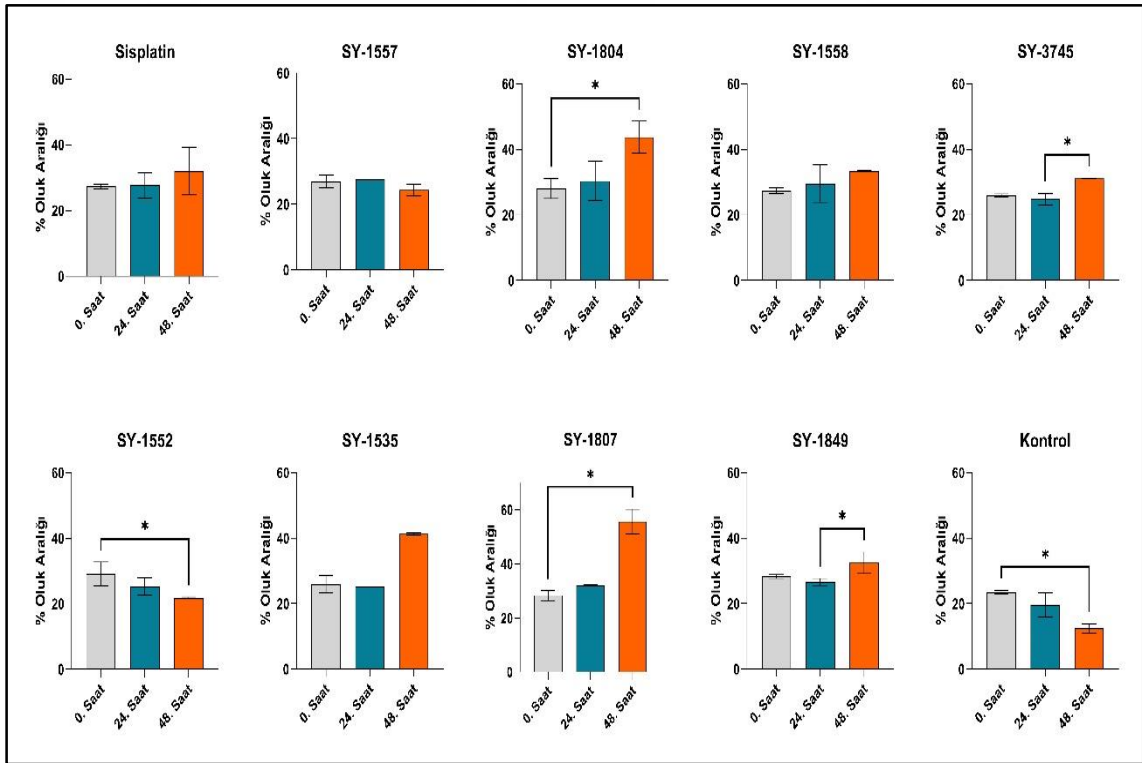
**Şekil 4.14.** HeLa hücre hattında sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin yara iyileştirme (% oluk aralığı)

Yara iyileşme % oluk aralığı olarak sunulmuştur. (\*:p<0.05, \*\*:p<0.01, \*\*\*:p<0.001)



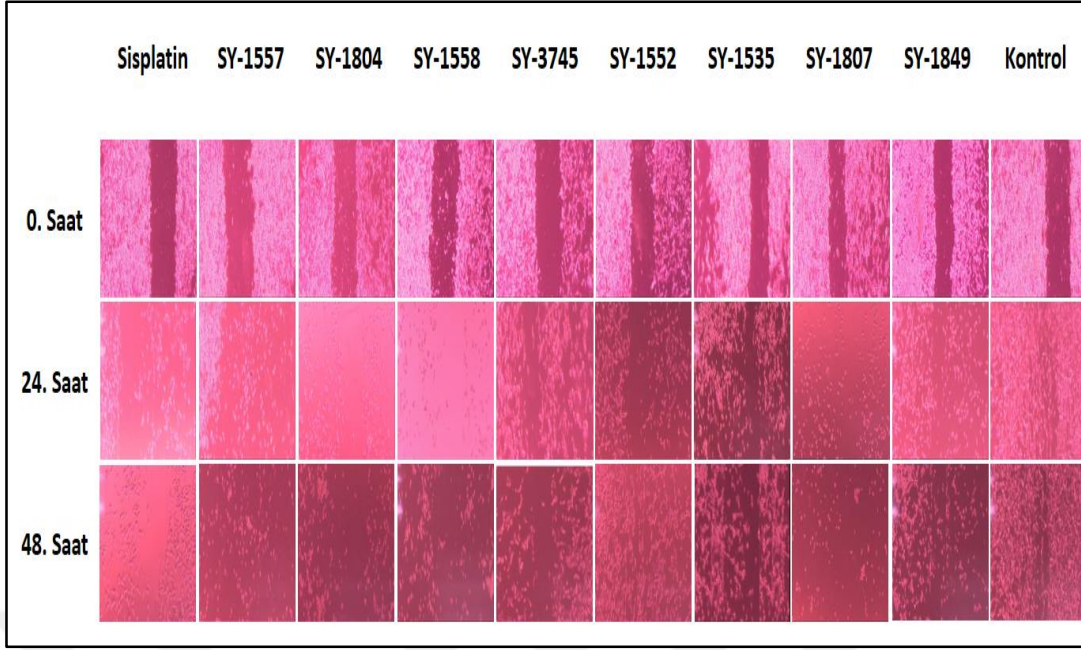
**Şekil 4.15.** HeLa hücre hattına uygulanan sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin 0., 24. ve 48. saatlerindeki oluk aralığı

MDA-MB-231 hücre hattında, sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin IC<sub>50</sub> konsantrasyonlarının 0, 24 ve 48 saatlik uygulamaları sonucu meydana gelen yara iyileşmesi % oluk aralığı olarak sunulmuştur (Şekil 4.16). MDA-MB-231 hücre hattında 0. saate kıyasla 48. saat sonunda SY-1804, SY-3745, SY-1807 ve SY-1849 kompleks uygulamalarının % oluk aralığını anlamlı düzeyde arttırmıştır ( $p<0.05$ ). SY-1552 uygulaması ile 0. saate kıyasla 48. saat sonunda % oluk aralığı anlamlı düzeyde azalmıştır. Bu sonuç kontrole benzer bulundu. Sisplatin, SY-1557, SY-1558, SY-1552 ve SY-1535 komplekslerinin sonuçları benzerdir. Bu maddelerin uygulandığı hücrelerdeki oluk aralığı 0., 24. ve 48. saatlerin sonunda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde değişmemiştir ( $p\geq 0.05$ ) (Şekil 4.16. ve Şekil 4.17).



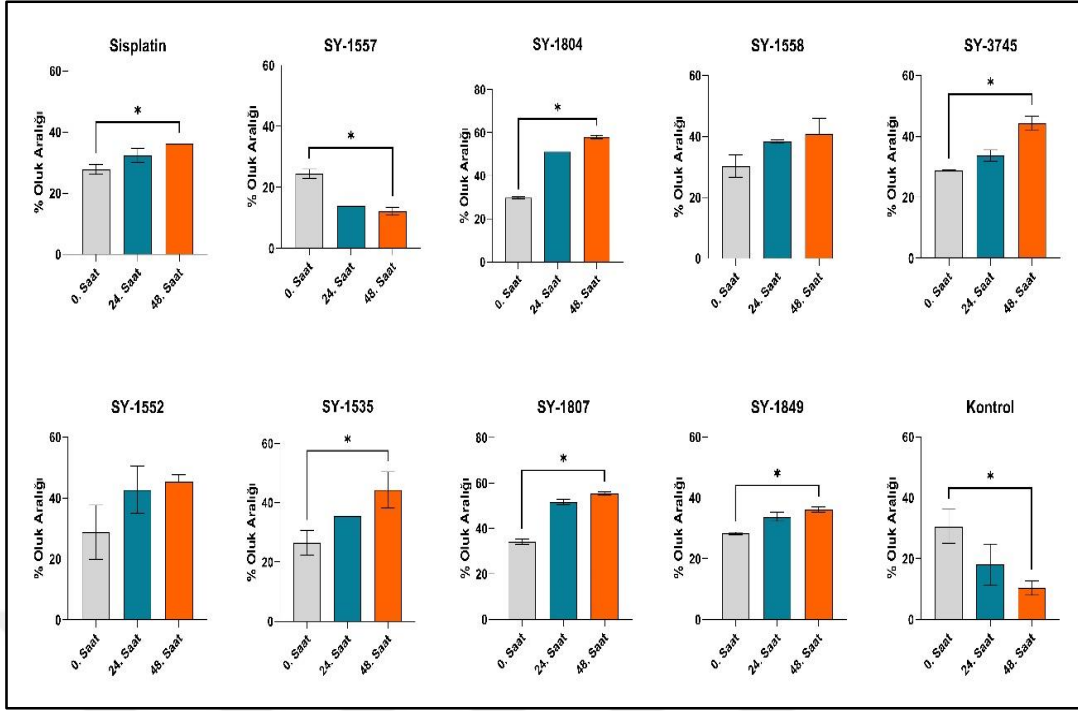
**Şekil 4.16.** MDA-MB-231 hücre hattında sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin yara iyileştirmesi (% oluk aralığı)

Yara iyileşme % oluk aralığı olarak sunulmuştur. (\*: $p<0.05$ , \*\*: $p<0.01$ , \*\*\*: $p<0.001$ )



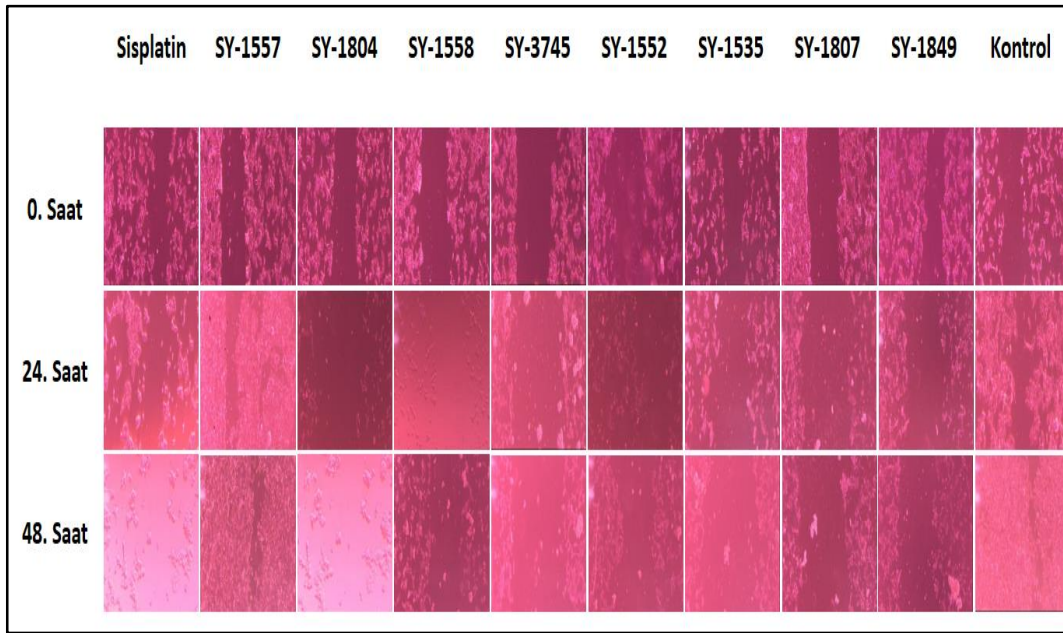
**Şekil 4.17.** MDA-MB-231 hücre hattına uygulanan sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin 0., 24. ve 48. saatlerindeki oluk aralığı

SH-SY5Y hücre hattında, sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin  $IC_{50}$  konsantrasyonlarının 0, 24 ve 48 saatlik uygulamaları sonucu meydana gelen yara iyileşmesi % oluk aralığı olarak sunulmuştur (Şekil 4.18). SH-SY5Y hücre hattında sisplatin, SY-1804, SY-3745, SY-1535, SY-1807 ve SY-1849 komplekslerinin uygulaması sonucunda 0. saate kıyasla 48. saatte % oluk aralığı anlamlı düzeyde artmıştır ( $p < 0.05$ ). SY-1557 maddesi uygulanan ve kontrol hücre hatlarında 0. saate kıyasla 48. saat sonunda % oluk aralığı anlamlı düzeyde azalmıştır ( $p < 0.05$ ). SY-1558 ve SY-1552 komplekslerinde oluk aralığı 0., 24. ve 48. saatlerde benzerdir. Oluk aralıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p \geq 0.05$ ) (Şekil 4.18 ve Şekil 4.19).



Şekil 4.18. SH-SY5Y hücre hattında sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin yara iyileştirmesi (% oluk aralığı)

Yara iyileşme % oluk aralığı olarak sunulmuştur. (\*:p<0.05, \*\*:p<0.01, \*\*\*: p<0.001)



Şekil 4.19. SH-SY5Y hücre hattına uygulanan sisplatin ve platin temelli NHC komplekslerinin 0., 24. ve 48. saatlerindeki oluk aralığı

#### 4.5. Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivite

Sentezlenen Pt-NHC komplekslerinin antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

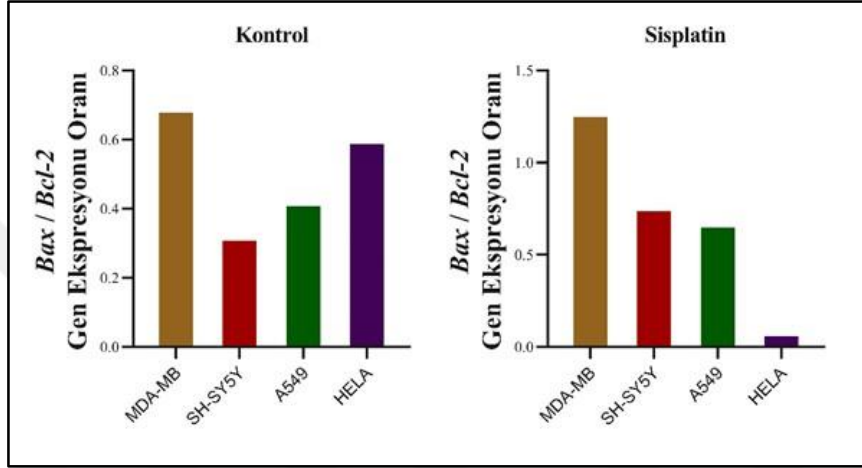
**Tablo 4.3.** Pt-NHC komplekslerinin MİK ( $\mu\text{g/mL}$ ) değerleri

Pt-NHC	S.aureus $\mu\text{g/mL}$	E.coli $\mu\text{g/mL}$	P.aeruginosa $\mu\text{g/mL}$	C.albicans $\mu\text{g/mL}$	Acineto $\mu\text{g/mL}$	Klebs $\mu\text{g/mL}$	MRSA $\mu\text{g/mL}$
SH-1804	250	etkisiz	etkisiz	250	etkisiz	etkisiz	250
SH-1535	125	etkisiz	etkisiz	125	etkisiz	etkisiz	125
SH-1557	500	etkisiz	etkisiz	500	etkisiz	etkisiz	500
SH-1807	250	etkisiz	etkisiz	250	etkisiz	etkisiz	250
SH-3745	500	etkisiz	etkisiz	250	etkisiz	etkisiz	500
SH-1552	250	etkisiz	etkisiz	500	etkisiz	etkisiz	250
SH-1558	250	etkisiz	etkisiz	125	etkisiz	etkisiz	250
Sisplatin	etkisiz	etkisiz	etkisiz	500	etkisiz	etkisiz	etkisiz
SH-1849	62.5	etkisiz	etkisiz	250	etkisiz	etkisiz	62.5
<b>Kontrol</b>	üreme var	üreme var	üreme var	üreme var	üreme var	üreme var	üreme var
<b>REF1</b> (Ampicillin)	1.56	3.12				1.56	
<b>REF2</b> (Amikacin)			1.56		3.12	1.56	
<b>REF3</b> (Ciprofloksacin)		1.56				1.56	
<b>REF4</b> (Fluconazole)				3.12			
<b>REF5</b> (Vankomisin)							3.12
<b>REF6</b> (Tigecycline)					1.56		

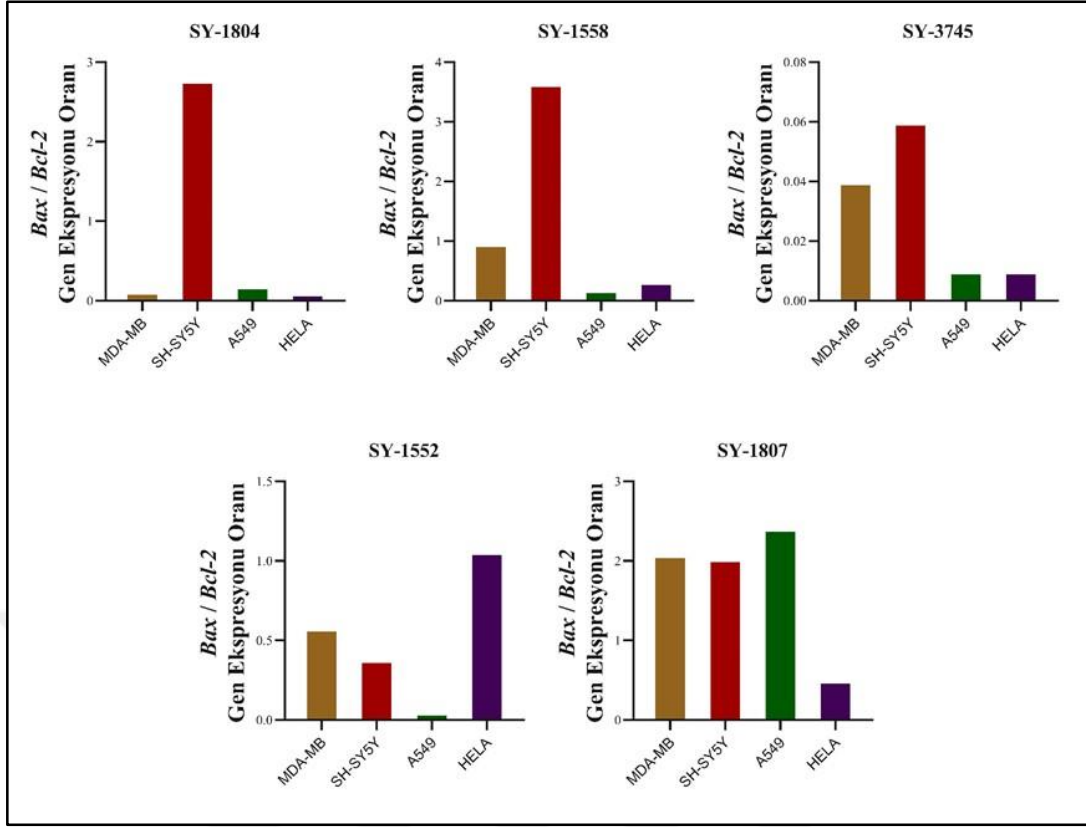
Pt-NHC kompleksleri 62.5-500  $\mu\text{g/mL}$  aralığında MİK değerine sahiptirler. Bileşiklerin S.aureus, C.albicans ve MRSA'ya karşı etkili oldukları gözlemlendi. Antifungal aktivitesi en yüksek olan bileşiklerin SH-1535 ve SH-1558 olduğu tespit edildi. En düşük konsantrasyonlarda etkili olan bileşik ise SH-1849 bulundu.

#### 4.6. RT- PCR Analizi

*Bax* ve *Bcl-2* gen ekspresyon oranları Şekil 4.20 ve 4.21’de verildi. Sadece DMEM uygulanan kontrol grubunda L929 grubuna kıyasla MDA-MB-231, SH-SY5Y, A549 ve HeLa hücre hatlarında *Bax/Bcl-2* gen ekspresyonu oranı azaldı. Sisplatin uygulanan grupta ise kontrol grubuna kıyasla MDA-MB-231 hücre hattında *Bax/Bcl-2* gen ekspresyonu oranı artarken, SH-SY5Y, A549 ve HeLa hücre hatlarında *Bax/Bcl-2* gen ekspresyonu oranı azaldı.



Şekil 4.20. MDA-MB-231, SH-SY5Y, A549 ve HeLa hücre hatlarında DMEM ve Sisplatin uygulaması sonucu gen ekspresyonları



Şekil 4.21. MDA-MB-231, SH-SY5Y, A549 ve HeLa hücre hatlarında SY-1804, SY-1558, SY-3745, SY-1552 ve SY-1807 uygulaması sonucu gen ekspresyonları

SY-1804 ve SY-1558 uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla MDA-MB-231, A549 ve HeLa hücre hatlarında *Bax/Bcl-2* gen ekspresyonu oranı azalırken, SH-SY5Y hücre hattında *Bax/Bcl-2* gen ekspresyonu oranı arttı. SY-3745 uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla MDA-MB-231, SH-SY5Y, A549 ve HeLa hücre hatlarında *Bax/Bcl-2* gen ekspresyonu oranı azaldı. SY-1552 uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla MDA-MB-231, SH-SY5Y ve A549 hücre hatlarında *Bax/Bcl-2* gen ekspresyonu oranı azalırken HeLa hücre hattında *Bax/Bcl-2* gen ekspresyonu oranı arttı. SY-1807 uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla MDA-MB-231, SH-SY5Y ve A549 hücre hatlarında *Bax/Bcl-2* gen ekspresyonu oranı artarken HeLa hücre hattında *Bax/Bcl-2* gen ekspresyonu oranı azaldı.

## 5. TARTIŞMA

Hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçlardan beklenen en önemli özellikler ilacın etkinliğinin yüksek olması ve yan etki potansiyelinin düşük olmasıdır. Ancak ticari olarak piyasaya sürülen ilaç müstahzarlarının pek çoğu bu iki özelliği birlikte taşımamaktadırlar. Başta kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ilaçlar olmak üzere pek çok ilacın yan etkileri, ilacın etkinliğini gölgeleyecek kadar ciddi olabilmektedir. Bu nedenle özellikle medisinal kimyacılar ve anorganik kimyacılar, piyasada satışı olan ilaç müstahzarlarına alternatif yeni ilaç etken maddelerinin sentezine yoğunlaşmış, etkinliği yüksek yan etkileri makul olan moleküller konusunda arayış içine girmişlerdir. Bu moleküllerin aktivite tayinleri yapılırken jenerik ilaçlar referans alınarak, bu ilaçlarla kıyaslanmış ve mevcut ilaçlardan üstünlükleri ve dezavantajları araştırılmıştır.

İlaç direnci, nefrotoksisite, nörotoksisite ve ototoksisite gibi ciddi doz sınırlayıcı yan etkileri nedeniyle sisplatinin yaygın kullanımı kısıtlanmıştır. Bu nedenle, yenilikçi ve daha etkili metal bazlı ilaçların araştırılmasına ihtiyaç duyulmuştur. Araştırmacılar antikanser aktivite gösteren aynı zamanda sisplatinin dezavantajlarını ortadan kaldıran yeni sisplatin analoglarının tasarımına ve sentezine büyük ilgi göstermiştir (97).

Literatür taramalarında medisinal kimyacılar ve anorganik kimyacılar tarafından sentezlenen yeni bileşiklerle ilgili yapılan pek çok çalışma bileşiklerin katalitik aktivite, yapı-aktivite tayini, fizikokimyasal özellikleri gibi analizlerle sınırlandırılmıştır. Sentezlenen bileşiklerin pek çoğunun aktivitesi değerlendirilmemiş veya sadece belirli aktiviteler (antikanser, antimikrobiyal, vb.) değerlendirilmiştir (98).

Sisplatin non-seminomatöz germ hücreli karsinom, metastatik, primer veya ileri evredeki ve refrakter over kanserleri, ileri evredeki ve refrakter mesane kanserleri, baş-boyun skuamöz hücreli kanserlerde, Hodgkin ve non-Hodgkin lenfoma, nöroblastom, sarkoma, mide, akciğer, özefagus, serviks ve prostat kanserlerinde, miyeloma, melanoma, küçük hücreli akciğer kanserleri ve osteosarkomanın tedavisinde endikedir. Bu bilgilere dayanarak sisplatinin etkili olduğu kanser hücreleri (SH-SY5Y, A549, MDA-MB-231 ve HeLa) çalışma kapsamında kullanıldı (99).

Sisplatin ve oksaliplatinin insan nöroblastom hücre hattı SH-SY5Y'de apoptoz ilişkili yollarla hücre ölümünü tetiklediği bildirilmiştir. Pt-temelli NHC bileşiklerinin SH-SY5Y hücreleri üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmaya literatürde

rastlanmamıştır. Bu nedenle bu tez çalışmasının özgünlüğüne katkı sağlaması açısından çalışmamızda SH-SY5Y hücre hattı kullanıldı (100).

A549 kanser hücre hattında Ag-NHC komplekslerinin kaspaz bağımsız bir yolak aracılığıyla erken apoptozu indükleyerek güçlü anti-tümoral ve anti-proliferatif etki gösterdiği çalışmalar yapılmıştır. Çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak Ag-NHC yerine Pt-NHC bileşikler kullanıldı. Ayrıca önceki çalışmadan farklı olarak apoptoz bağımlı etkiler gösterip göstermediği de araştırıldı. Yeni sentezlenen Pt-NHC komplekslerinin akciğer kanseri tedavisinde sisplatine alternatif bir ajan olma potansiyeli ve ilgili moleküler mekanizmaların aydınlatılması amaçlanmıştır (101).

Uluslararası çalışmalar tarandığında farklı Pt (II) komplekslerinin meme kanseri hücre hatları (MCF-7 ve MDA-MB-231 hücreleri) üzerindeki etkisi incelenmiş ve bu komplekslerin sisplatine kıyasla daha güçlü anti-proliferatif etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Buna dayanarak çalışma kapsamında diğer bir kanser hücre hattı olarak MDA-MB-231 hücreleri kullanıldı (102).

Yine başka bir çalışmada farklı platin komplekslerinin sisplatine kıyasla serviks (HeLa) ve prostat (LNCaP ve PC3) kanseri hücre hatlarında sitotoksik özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Dördüncü hücre hattı olarak da HeLa hücreleri kullanıldı (103).

Birçok çalışmada platin türevli ajanların DNA'da hasar oluşturarak anti-proliferatif etkiye neden olduğu ve bununla birlikte apoptotik hücre ölümünün uyarıldığı, bunların yanısıra reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimini tetikleyerek sitotoksositeye neden olduğu bildirilmiştir. Bu tez kapsamında yeni sentezlenen bileşikler dört farklı kanser hücre hattında (SH-SY5Y, A549, MDA-MB-231 ve HeLa) ve sağlıklı hücre hattında (L929) test edildi. Bileşiklerin öncelikle anti-proliferatif etkisi incelenerek kanser hücrelerinde çoğalmayı etkileyen bileşiklerin IC<sub>50</sub> (half-maximal inhibitory concentration) değerleri belirlendi. Belirlenen IC<sub>50</sub> değerleri ile daha sonra ileri çalışmalar yapıldı ve bileşiklerin hücreler üzerindeki apoptotik etkisi belirlendi (104).

Kanserle tedavide hücre göçünü hedeflemek, kanserin metastatik yayılmasını kontrol etmek için destekleyici bir strateji sunabilir. Bu nedenle, platin türevli komplekslerin hücre göçü ve in vitro invazyon üzerindeki etkisi de bu çalışmada incelendi. Seçilen hücre hatları invaziv ve metastatik nitelikte olduğundan, platin türevli komplekslerin, hücresel migrasyon ve invazyon davranışı üzerindeki etkilerini bu hücrelerde araştırmayı planladık.

Farklı metal komplekslerinin kullanıldığı NHC bileşiklerinin antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışma olmakla birlikte, Pt-NHC bileşiklerinin antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamız kapsamında farklı mikroorganizma suşlarına karşı bileşiklerin antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri tayin edildi.

Platin türevli tedavinin başlangıcı, 1965 yılında Rosenberg tarafından yapılan deneyler sırasında beklenmedik bir şekilde keşfedilmiştir. Elektroliz deneyleri sırasında platin elektrotunun E. coli kültürlerinde hücre bölünmesini inhibe etmesinin tesadüfen keşfine dayanmaktadır. Daha sonra elektroliz ortamındaki maddenin cisplatin olduğu ve antikanser aktivitesinin olduğu keşfedilmiştir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) cisplatinin kanser tedavisinde kullanılmasını 1978 yılında onaylamıştır. Cisplatin kemoterapi alanında derin ve geniş kapsamlı bir etkiye sahip olmuş ve birçok kanser hastasının hayatta kalmasına önemli ölçüde katkı sağlamıştır. Bu keşfin ardından, çok sayıda platin türevi sentezlenmiş ve kanser hücrelerini yok etme ve tümör büyümesini inhibe etme yetenekleri açısından test edilmiştir (105).

Günümüzde, cisplatin tek başına veya diğer kemoterapötiklerle birlikte kombine olarak birçok farklı kanser tipine karşı kullanılmaktadır. FDA, cisplatin ve türevlerinin karboplatin ve oksaliplatinin tek ajan olarak veya kombine kemoterapinin bir parçası olarak kullanımını onaylamıştır. Ayrıca diğer beş platin türevi de bölgesel onaylıdır (nedaplatin, lobaplatin, heptaplatin, miriplatin ve disikloplatin). Cisplatin ve türevlerinin klinik başarısına rağmen, doz sınırlayıcı toksik yan etkileri ve onaylanmış platin bileşiklerine karşı doğal ve edinilmiş direnç, yeni nesil antitümör ajanların geliştirilmesine yol açmıştır. Cisplatin, kanser tedavisinde çok başarılı olmasına rağmen, çok sayıda toksik yan etkiye sahiptir. Bu yan etkiler çoğu zaman doz bağımlı olarak gözlenir. Uzun süren kemoterapi tedavisine bağlı olarak birçok hastada, bağışıklık sisteminde zayıflama ve bu durumun sonucu olarak da karmaşık enfeksiyonların görülme olasılığı artar (106).

Kanser, toplumda çok sık görülen ve hayat kalitesini en çok etkileyen hastalıklardan biridir. 2020 verilerine göre kanser vakalarının yaklaşık 20 milyon olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca 20 yıl içinde bu rakamın 28.8 milyon olacağı öngörülmektedir. Cisplatin FDA tarafından onaylandıktan sonra birçok farklı kanser türünü tedavi etme yeteneğiyle birlikte, kanser hastalarının mortalitesinde de önemli bir azalmaya sebep olmuştur. Fakat sonrasında cisplatin bazlı kemoterapide, nefrotoksisite, kümülatif periferik nörotoksisite, ototoksisite ve ayrıca bulantı ve kusma gibi ciddi yan

etkiler ortaya çıkmıştır. Son yıllarda, yenilikçi ve daha etkili platin türevli ilaçların araştırılmasında, çok çeşitli antikanser aktiviteler sergileyen ve eş zamanlı olarak sisplatinin de dezavantajlarının üstesinden gelen yeni analogların tasarımına ve sentezine büyük ilgi gösterilmiştir.(107)

Son verilere göre kadınlarda en çok görülen kanser türü meme kanseri iken, akciğer ve prostat kanseri ise erkeklerde en yaygın görülen kanser tipleridir. Genel olarak, dünyada her iki cinsiyet için de kanser ölümlerinin önde gelen nedeni meme kanseridir. Kansere karşı birçok farklı tedavi yöntemi geliştirilmekle birlikte anti-kanser ilaçların en önemli hedefi DNA'dır. Bu nedenle platin türevli bileşiklerin anti-kanser aktivite göstermeleri için temel olarak ana hedef DNA'dır. Bu ajanlar DNA'da farklı eklentiler oluşturarak DNA transkripsiyonunu ve replikasyonunu inhibe ederler. Dolayısıyla, DNA'ya zarar vererek, programlanmış hücre ölümüne neden olurlar. Bu nedenle son zamanlarda DNA'nın hedef alındığı ve yapısında farklı ligandların yer aldığı yeni platin türevli ilaç adayları sentezlenmektedir (108)

Günümüzde bilim insanlarının üzerinde en çok çalışma yaptıkları konulardan biri de kanser tedavisidir. Metal-N-heterosiklik karben (M-NHC) komplekslerinin antikanser etkileri de araştırmacıların yoğun ilgisini çeken konular arasındadır. Platin (Pt) ve bakır (Cu) başta olmak üzere birçok metalin, NHC ligandları ile oluşturdukları komplekslerin antikanser özellikleri ispatlanmıştır (109)

Bu tez çalışması kapsamında Pt metalinin NHC ligandları ile oluşturduğu M-NHC komplekslerinin farmakolojik özellikleri araştırıldı. M-NHC komplekslerinin antikanser etkilerinin yanı sıra anti-mikrobiyal aktivitelerinin de olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Birinci sıra geçiş metalleri daha az toksik etki ve kuvvetli katalitik aktivite gösterdiğinden gümüş, altın, bakır ve platin gibi geçiş metalleri, metal-NHC komplekslerinin sentezlenmesinde tercih edilen metaller arasında yer almaktadırlar (110).

Rehm ve ark. Pt-NHC komplekslerini kullanarak yedi farklı insan kanser hücre hattına karşı sitotoksik aktivitesini değerlendirmişlerdir. Tüm kompleksler sisplatine dirençli HT-29 (kolon kanseri) ve yüksek ilaç dirençli KB-V1/Vb1 serviks karsinom hücre hattına karşı düşük IC<sub>50</sub> değerleri ile dikkate değer etkinlik göstermiştir (111). Metal-NHC komplekslerinin anti-tümör aktivitesi ile ilgili OVCAR-3 yumurtalık kanseri hücre hattı ve MB157 meme kanseri hücre hatlarında yapılan çalışmalarda da sitotoksik aktivite gösterdiği bulunmuştur (112).

N-Heterosiklik karbenler, organometalik ve kataliz kimyası alanlarında en çok araştırılan ligandlardır. Bu komplekslerin antimikrobiyal ve antikanser etkileri konusunda

pek çok çalışma yapılmıştır. Bazı çalışmalarda metal karben bileşiklerinin sentez ve karakterizasyonu değerlendirilmiş ancak aktivite tayinleri yapılmamıştır. Bazı çalışmalarda ise sentez ve karakterizasyonunun yanı sıra sadece antimikrobiyal aktivite tayin edilmiştir. Bunların yanı sıra sentez ve karakterizasyonu yapılan bileşiklerin sadece antikanser aktivitesinin tayin edildiği çalışmalar da mevcuttur. Örneğin bir tez çalışması kapsamında NHC bileşiklerinin insan meme ve prostat kanser hücreleri MCF-7, MDA-MB-231, DU-145 ve L-929 sağlıklı fibroblast hücreleri üzerindeki antiproliferatif aktivitesi tayin edilmiştir (113). Farklı bir tezde MCF-7 kanser hücreleri üzerinde Pd-NHC komplekslerin antikanser aktivitesi değerlendirilmiştir (114). Ag-NHC komplekslerinin sağlıklı fibroblast hücre hattı (L-929), karaciğer kanseri hücre hattı (HEP3B) ve nöroblastom hücre hattındaki (SHSY5Y) antitümör aktivitelerinin değerlendirildiği bir tez çalışması yapılmıştır (115). Ag-NHC komplekslerinin farklı bir tez çalışmasında nöroblastom hücre hattı (SHSY5Y) ve karaciğer kanseri hücre hattı (HEP3B) üzerinde sitotoksik etkisi incelenmiştir (116). Antimikrobiyal ve antikanser aktivitelerin birlikte değerlendirildiği bir çalışmada insan meme kanser hücre hatları (MCF7, MDA-MB-231) ve ölümsüzleştirilmiş meme epitel hücre hattı (MCF 10A), insan akciğer kanser hücre hattı (A549) ve insan ölümsüzleştirilmiş fibroblast akciğer hücre hattı (CCD-19Lu) kullanılmıştır (117).

N-Heterosiklik karbenler ile ilgili çalışmaların çoğunluğunun sentez, karakterizasyon ve katalitik özellikler ile ilgili olduğu gözlenmiştir. Platin ile ilgili taramalarda ise Pt-NHC komplekslerinin antimikrobiyel, özelliklerinin değerlendirildiği bir çalışma yapılmıştır (118). MCF-7 (meme kanseri) hücre hattına karşı Pt komplekslerinin etkilerinin değerlendirildiği bir çalışma yapılmıştır (119). Platin komplekslerinin, fare fibroblast hücreleri (L929), adenokarsinomik insan alveolar bazal epitelyal hücreleri (A549) ve insan kolon adenokarsinom (CaCo-2) hücrelerine karşı sitotoksik etkilerinin değerlendirildiği bir tez çalışması yapılmıştır (120).

Bu tez projesi kapsamında kullandığımız Pt-NHC komplekslerinin yeni sentezlenecek olması ve daha önceden hiçbir çalışmada kullanılmamış olması çalışmanın özgünlüğüne katkı sağlamıştır. Bunun yanı sıra Pt-NHC komplekslerinin geniş kapsamlı aktivite tayinlerinin yapılmadığı görülmüştür. Tez çalışması kapsamında Pt-NHC komplekslerinin antikanser, antimikrobiyal, antifungal aktivitelerinin, apoptotik yollar ile birlikte değerlendirildiği ilk çalışmadır.

Sitotoksik platin kompleksleri için taşıyıcı ligandlar olarak N-heterosiklik karbenlerin (NHC) kullanımı pek çok avantaj sağlamaktadır. NHC'ler, verimli ilaç

tasarımını ve hızlı optimizasyonu sağlayan bileşiklerdir. Bu nedenle tez kapsamında in vitro aktivite tayinleri yapılan NHC kompleksleri yeni ilaç geliştirme çalışmaları için avantaj sağlayacaktır. Organometalik kimya ve katalizde NHC kompleksleri üzerine kapsamlı araştırmaların yapılmasına rağmen, şimdiye kadar gümüş, altın, palladyum, bakır, rutenyum ve rodyum türevleri için, başlıca antimikrobiyal ve antitümör aktivitelerin değerlendirildiği yalnızca sınırlı bir dizi çalışma yapılmıştır (121). Ancak bizim çalışmamız kapsamında bileşiklerin antimikrobiyal ve antitümör aktivitelerinin yanı sıra antifungal aktiviteleri, antimigrasyon etkileri, apoptoz ile ilişkisi de değerlendirilmiştir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yeni sentezlenen sekiz farklı Pt-NHC kompleksinin yapılan deneyler sonucunda insan nöroblastom, akciğer kanseri, meme kanseri ve HeLa insan serviks kanseri hücreleri üzerinde etkili olduğu ve bu nedenle kanser tedavisinde sisplatine alternatif potansiyel birer ajan olabilecekleri düşünülmektedir. Hücre göçü üzerindeki etkileri nedeniyle tümör metastazına karşı da etkili olabilecekleri sonucuna varılmıştır. Bazı mikroorganizma suşları üzerinde antimikrobiyal etki gösteren bu bileşiklerle ilgili moleküler mekanizmaların aydınlatılmasına yönelik çalışmaların yapılması kanser tedavisine katkı sağlayacaktır.



## KAYNAKLAR

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. Cancer statistics for the year 2020. *Int J Cancer*. 2021.
2. Cooper GM, Hausman RE. *The Cell: A Molecular Approach*, 8<sup>th</sup> ed. Sunderland, Sinauer Associates Inc. 2000:725-66.
3. Nagai H, Kim YH. Cancer prevention from the perspective of global cancer burden patterns. *J Thorac Dis*. 2017;9(3):448–51.
4. Moding EJ, Kastan MB, Kirsch DG. Strategies for optimizing the response of cancer and normal tissues to radiation. *Nat Rev Drug Discov*. 2013;12(7):526-42.
5. Harlepp S, Chardon E, Bouché M, Dahm G, Maaloum M, Bellemin-Lapponnaz S. N-Heterocyclic carbene-platinum complexes featuring an anthracenyl moiety: anti-cancer activity and DNA interaction. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(17):4198.
6. Yin W, Wang J, Jiang L, James Kang Y. Cancer and stem cells. *Experimental biology and medicine (Maywood)*. 2021;246(16):1791-01.
7. Howlader N, Ries LA, Mariotto AB, Reichman ME, Ruhl J, Cronin KA. Improved estimates of cancer-specific survival rates from population-based data. *Journal of the National Cancer Institute*. 2010;102(20):1584-98.
8. Mermer G, Turk M. Assessment of the effects of breast cancer training on women between the ages of 50 and 70 in Kemalpaşa, Turkey. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2014;15(24):10749-55.
9. Castelló A, Martín M, Ruiz A, Casas AM, Baena-Cañada JM, Lope V, et al. Lower breast cancer risk among women following the world cancer research fund and american institute for cancer research lifestyle recommendations: EpiGEICAM case-control study. *PLoS One*. 2015;15(5):e0126096.
10. Coughlin SS, Smith SA. The Impact of the natural, social, built and policy environments on breast cancer. *J Environ Health Sci*. 2015;1(3):10.15436/2378-6841.15.020.
11. Howlader N, Ries LA, Mariotto AB, Reichman ME, Ruhl J, Cronin KA. Improved estimates of cancer-specific survival rates from population-based data. *Journal of the National Cancer Institute*. 2010;102(20):1584-98.
12. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et al. *Cancer statistics, 2008*. CA: A Cancer Journal for Clinicians 2008;58(2):71-96.

13. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*. 2005 May 14-20;365(9472):1687-717.
14. Carlson RW, Allred DC, Anderson BO, Burstein HJ, Carter WB, Edge SB, et al. Breast Cancer Clinical Practice Guidelines Panel. Clinical practice guidelines in oncology. *Journal of The National Comprehensive Cancer*.2009;7(2):122-92.
15. Fuller MS, Lee CI, Elmore JG. Breast cancer screening: an evidence-based update. *The Medical clinics of North America*. 2015;99(3):451-68.
16. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2016;66(4):271-89.
17. Giordano SH, Buzdar AU, Hortobagyi GN. Breast cancer in men. *Annals of Internal Medicine*. 2002;137(8):678-87.
18. Giordano SH, Valero V, Buzdar AU, Hortobagyi GN. Efficacy of anastrozole in male breast cancer. *American Journal of Clinical Oncology* 2002;25(3):235-37.
19. Jatoi I, Proschan MA. Randomized trials of breast-conserving therapy versus mastectomy for primary breast cancer: a pooled analysis of updated results. *American Journal of Clinical Oncology*. 2005;28(3):289-94.
20. Litière S, Werutsky G, Fentiman IS, Rutgers E, Christiaens MR, Van Limbergen E, et al. Breast conserving therapy versus mastectomy for stage I-II breast cancer: 20 year follow-up of the EORTC 10801 phase 3 randomised trial. *The Lancet Oncology*. 2012;13(4):412-19.
21. McGuire KP, Santillan AA, Kaur P, Meade T, Parbhoo J, Mathias M, et al. Are mastectomies on the rise? A 13-year trend analysis of the selection of mastectomy versus breast conservation therapy in 5865 patients. *Annals of Surgical Oncology*. 2009;16(10):2682-90.
22. Freedman RA, Virgo KS, Labadie J, He Y, Partridge AH, Keating NL. Receipt of locoregional therapy among young women with breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2012;135(3):893-06.
23. Kummerow KL, Du L, Penson DF, Shyr Y, Hooks MA. Nationwide trends in mastectomy for early-stage breast cancer. *JAMA surgery*. 2015 ;150(1):9-16.

24. Berry DA, Cronin KA, Plevritis SK, Fryback DG, Clarke L, Zelen M, et al. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. *The New England Journal of Medicine*.2005;353(17):1784-92.
25. Connolly JL, Kempson R, LiVolsi V, Page D, Patchefsky A, Silverberg S. Recommendations for the reporting of breast carcinoma. *Pathology Case Reviews*.1998;3: 241-247.
26. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2015;65(2):87-108.
27. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2005;55(2):74-108.
28. Sankaranarayanan R, Thara S, Esmay PO, Basu P. Cervical cancer: screening and therapeutic perspectives. *Medical Principles and Practice:International Journal of the Kuwait University, Health Science Centre*. 2008;17(5):351-64.
29. Basen-Engquist K, Paskett ED, Buzaglo J, Miller SM, Schover L, Wenzel LB, et al. Cervical cancer. *Cancer*. 2003;98(9):2009-14.
30. Marth C, Landoni F, Mahner S, McCormack M, Gonzalez-Martin A, Colombo N. Cervical cancer:ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*.2017;28(4):iv72-iv83
31. Wagenaar HC, Trimpos JB, Postema S, Anastasopoulou A, Reiber JH, Kenter GG, et al. Tumor diameter and volume assessed by magnetic resonance imaging in the prediction of outcome for invasive cervical cancer.*Gynecologic oncology*. 2001;82(3):474-82.
32. Marth C, Landoni F, Mahner S, McCormack M, Gonzalez-Martin A, Colombo N. ESMO Guidelines Committee. Cervical cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology : Official Journal of The European Society for Medical Oncology*.2017 ;28(4):iv72-iv83.
33. Hoehner JC, Gestblom C, Hedborg F, Sandstedt B, Olsen L, Pålman S. A developmental model of neuroblastoma: differentiating stroma-poor tumors progress along an extra-adrenal chromaffin lineage. *Laboratory Investigation; A Journal of Technical Methods and Pathology*.1996;75(5):659-75.
34. Mlakar V, Jurkovic Mlakar S, Lopez G, Maris JM, Ansari M, Gumy-Pause F. 11q deletion in neuroblastoma: a review of biological and clinical implications. *Molecular cancer*. 2017;16(1):114.

35. Ries LAG, Smith MA, Gurney JG, et al. Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER program 1975–1995. Bethesda, MD:National Cancer Institute,1999:17-35.
36. Gatta G, Botta L, Rossi S, Aareleid T, Bielska-Lasota M, Clavel J, et al. Childhood cancer survival in Europe 1999-2007: results of EUROCARE-5--a population-based study. *The Lancet. Oncology*. 2014;15(1):35-47.
37. Tonini GP, Capasso M. Genetic predisposition and chromosome instability in neuroblastoma. *Cancer Metastasis Reviews*. 2020;39(1):275-85.
38. Chung C, Boterberg T, Lucas J, Panoff J, Valteau-Couanet D, Hero B, et al. Neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2021;68(2):e28473.
39. Cohn SL, Pearson AD, London WB, Monclair T, Ambros PF, Brodeur GM, et al. The international neuroblastoma risk group (INRG) classification system: an INRG task force report. *Journal of clinical oncology:official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2009;27(2):289-97.
40. Maris JM. Recent advances in neuroblastoma. *The New England Journal of Medicine* 2010;362(23):2202-11.
41. Shimada H, Chatten J, Newton WA Jr, Sachs N, Hamoudi AB, Chiba T, et al. Histopathologic prognostic factors in neuroblastic tumors: definition of subtypes of ganglioneuroblastoma and an age-linked classification of neuroblastomas. *Journal of the National Cancer Institute*. 1984;73(2):405-16.
42. Aksoylar S, Varan A, Vergin C, Hazar V, Akici F, Dagdemir A, et al. Treatment of high-risk neuroblastoma: National protocol results of the Turkish Pediatric Oncology Group. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 2017;13(2):284-90.
43. Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000. *European journal of cancer. Eur J Cancer*. 2001;37(8):64-6.
44. Peto R, Darby S, Deo H, Silcocks P, Whitley E, Doll R. Smoking, smoking cessation, and lung cancer in the UK since 1950: combination of national statistics with two case-control studies. *British Medical Journal*. 2000;321(7257):323-9.
45. Lippman SM, Spitz MR. Lung cancer chemoprevention: an integrated approach. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2001;19(18):74-82.
46. Horn L, Iams W.T. Neoplasms of the lung. In: Loscalzo J, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson J.(eds) *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 21st ed. McGraw-Hill Education,2022.

47. Minna JD, Roth JA, Gazdar AF. Focus on lung cancer. *Cancer Cell*. 2002;1(1):49-52.
48. Silvestri GA, Gonzalez AV, Jantz MA, Margolis ML, Gould MK, Tanoue LT, et al. Methods for staging non-small cell lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2013 ;143(5 Suppl):e211S-e250S.
49. Ramnath N, Dilling TJ, Harris LJ, Kim AW, Michaud GC, Balekian AA, et al. Treatment of stage III non-small cell lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2013;143(5 Suppl):e314S-e340S.
50. Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti GV, Douillard JY, Shepherd FA, Stephens RJ, et al. Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. *Journal of clinical oncology. Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2008;26(21):3552-9.
51. Glendenning JL, Barbachano Y, Norman AR, Dearnaley DP, Horwich A, Huddart RA. Long-term neurologic and peripheral vascular toxicity after chemotherapy treatment of testicular cancer. *Cancer*. 2010;116(10):2322-31.
52. Belani CP, Choy H, Bonomi P, Scott C, Travis P, Haluschak J, et al. Combined chemoradiotherapy regimens of paclitaxel and carboplatin for locally advanced non-small-cell lung cancer: a randomized phase II locally advanced multi-modality protocol. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2005;23(25):5883-91.
53. Maghfoor I, Perry MC. Lung cancer. *Annals of Saudi Medicine*. 2005;25(1):1-12
54. Nooreldeen R, Bach H. Current and Future development in lung cancer diagnosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(16):8661.
55. Kuman V, Abbas A, Fausto N, Robbins S, Cotran R. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 8<sup>th</sup> ed, Philadelphia, Elsevier Saunders, 2005:214
56. Horn L, Reck M, Spigel DR. The Future of immunotherapy in the treatment of small cell lung cancer. *The Oncologist*. 2016;21(8):910-21.
57. Travis WD. Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas. *Modern Pathology : An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology*. 2012;25(Suppl 1):S18-30.

58. Chan BA, Coward JI. Chemotherapy advances in small-cell lung cancer. *Journal of Thoracic Disease*. 2013;5 Suppl 5(Suppl 5):S565-78.
59. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Annals of Surgical Oncology*. 2010 ;17(6):1471-4.
60. Horn L, Lovly CM. Neoplasms of the lung. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. *Principles of Internal Medicine*. 20<sup>th</sup> ed, New York, McGraw-Hill, 2000.
61. Nooreldeen R, Bach H. Current and future development in lung cancer diagnosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(16):8661.
62. Herrmann WA, Köcher C. N- Heterocyclic carbenes. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 36(20), 2162-2187.
63. Harlepp S, Chardon E, Bouché M, Dahm G, Maaloum M, Bellemin-Laponnaz S. N-heterocyclic carbene-platinum complexes featuring an anthracenyl moiety: anti-cancer activity and DNA interaction. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(17):4198.
64. Teyssot ML, Jarrousse AS, Manin M, Chevry A, Roche S, Norre F, et al. Metal-NHC complexes: a survey of anti-cancer properties. *Dalton Transactions* . 2009;(35):6894-902.
65. Teyssot ML, Jarrousse AS, Manin M, Chevry A, Roche S, Norre F, et al. Metal-NHC complexes: a survey of anti-cancer properties. *Dalton Transactions* . 2009;(35):6894-902.
66. Liu W, Gust R. Metal N-heterocyclic carbene complexes as potential antitumor metallodrugs. *Chemical Society Reviews*. 2013;42(2):755-73.
67. Wong E, Giandomenico CM. Current status of platinum-based antitumor drugs. *Chemical Reviews*. 1999;99(9):2451-66.
68. Lavallo V, Canac Y, Präsang C, Donnadiu B, Bertrand G. Stable cyclic (alkyl)(amino)carbenes as rigid or flexible, bulky, electron-rich ligands for transition-metal catalysts: a quaternary carbon atom makes the difference. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*. 2005;44(35):5705-9.
69. Liu W, Gust R. Metal N-heterocyclic carbene complexes as potential antitumor metallodrugs. *Chemical Society Reviews*. 2013;42(2):755-73.
70. Liu W, Gust R. Metal N-heterocyclic carbene complexes as potential antitumor metallodrugs. *Chemical Society Reviews*.. 2013;42(2):755-73.

71. Lenis-Rojas OA, Cordeiro S, Horta-Meireles M, Fernández JAA, Fernández Vila S, Rubiolo JA, et al. N-heterocyclic carbene Iron complexes as anticancer Agents: in vitro and In vivo biological studies. *molecules*. 2021;26(18):5535.
72. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer*. 2007;7(8):573-84.
73. Wilson JJ, Lippard SJ. Synthetic methods for the preparation of platinum anticancer complexes. *Chemical Reviews* 2014;114(8):4470-95.
74. Anthony EJ, Bolitho EM, Bridgewater HE, Carter OWL, Donnelly JM, Imberti C, et al. Metallodrugs are unique: opportunities and challenges of discovery and development. *Chemical Science*. 2020 ;11(48):12888-12917.
75. Gautier A, Cisnetti F. Advances in metal-carbene complexes as potent anti-cancer agents. *Metallomics : Integrated Biometal Science*. 2012;4(1):23-32.
76. Tong KC, Hu D, Wan PK, Lok CN, Che CM. Anticancer Gold(III) Compounds With Porphyrin or N-heterocyclic Carbene Ligands. *Front Chem*. 2020;8:87-119.
77. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer*. 2007;7(8):573-84.
78. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology* 2014;740:364-78.
79. Goodsell DS. The molecular perspective: Cisplatin. *Stem Cells*. 2006 ;24(3):514-5.
80. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*. 2014 ;740:364-78.
81. Touj N, Chakchouk-Mtibaa A, Mansour L, Harrath AH, Al-Tamimi J, Mellouli L, et al. Synthesis, spectroscopic properties and biological activity of new Cu (I) N-heterocyclic carbene complexes. *Journal of Molecular Structure*, 2019;1181: 209-19.
82. Maliszewski BP, Tzouras NV, Guillet SG, Saab M, Beliš M, Van Hecke K, et al. A general protocol for the synthesis of Pt-NHC hydrosilylation catalysts. *Dalton Transactions*. 2020 ;49(41):14673-79.
83. Hoffman TL. Counting cells. In: Julio E. Celis. *Cell Biology, Four-Volume Set*. Elsevier. 3<sup>th</sup> ed, ABD, Academic Press, 2006;21-4
84. Jonkman JE, Cathcart JA, Xu F, Bartolini ME, Amon JE, Stevens KM, et al. An introduction to the wound healing assay using live-cell microscopy. *Cell Adhesion & Migration* 2014;8(5):440-51.
85. Liang CC, Park AY, Guan JL. In vitro scratch assay: a convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro. *Nature Protocols*. 2007;2(2):329-33

86. Arendrup MC, Rodriguez-Tudela JL, Lass-Flörl C, Cuenca-Estrella M, Donnelly JP, Hope W; European committee on antimicrobial susceptibility testing - subcommittee on antifungal susceptibility testing (EUCAST-AFST)\*. Technical Note on Anidulafungin. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(11):E18-20.
87. Merck KGaA. Muse™ System Check Kit [Internet]. Merck KGaA. <https://www.luminexcorp.com/muse-system-check-kit/#documentation>. Son erişim tarihi 23 Haziran 2021.
88. Card QR. Muse™ Annexin V & Dead Cell Kit.. <https://www.luminexcorp.com/museannexin> . Son erişim tarihi 23 Haziran 2021.
89. Card QR. Muse™ Annexin V & Dead Cell Kit. <https://www.luminexcorp.com/museannexin-v-dead-cell-kit/#overview>. Son erişim tarihi 23 Haziran 2021.
90. Amirouche A, Ait-Ali D, Nouri H, Boudrahme-Hannou L, Tliba S, Ghidouche A, et al. TRIzol-based RNA extraction for detection protocol for SARS-CoV-2 of coronavirus disease 2019. *New Microbes New Infect.* 2021;41:100874.
91. One Step-RNA Reagent | Bio Basic - Bio Basic.<http://www.biobasic.com>. Son erişim tarihi 23 Haziran 2021.
92. Icel C, Yilmaz VT, Kaya Y, Samli H, Harrison WT, Buyukgungor O. New palladium(II) and platinum(II) 5,5-diethylbarbiturate complexes with 2-phenylpyridine, 2,2'-bipyridine and 2,2'-dipyridylamine: synthesis, structures, DNA binding, molecular docking, cellular uptake, antioxidant activity and cytotoxicity. *Dalton Transactions.* 2015;44(15):680-95.
93. Fereidoonzhad M, Niazi M, Ahmadipour Z, Mirzaee T, Faghieh Z, Faghieh Z, et al. Cyclometalated platinum (II) complexes comprising 2- (Diphenylphosphino) pyridine and various thiolate ligands: synthesis, spectroscopic characterization, and biological activity. *European Journal of Inorganic Chemistry.*2017;(15):2247-54.
94. Fereidoonzhad M, Niazi M, Ahmadipour Z, Mirzaee T, Faghieh Z, Faghieh Z, et al. Cyclometalated platinum (II) complexes comprising 2- (Diphenylphosphino) pyridine and various thiolate ligands: synthesis, spectroscopic characterization, and biological activity. *European Journal of Inorganic Chemistry.*2017;(15):2247-54.
95. Fereidoonzhad M, Niazi M, Shahmohammadi Beni M, Mohammadi S, Faghieh Z, Faghieh Z, et al.. Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies on the DNA binding interactions of platinum(II) rollover complexes containing phosphorus donor ligands. *ChemMedChem.* 2017;12(6):456-465.

96. Ricci CG, Netz PA. Docking studies on DNA-ligand interactions: building and application of a protocol to identify the binding mode. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2009;49(8):1925-35.
97. Moding EJ, Kastan MB, Kirsch DG. Strategies for optimizing the response of cancer and normal tissues to radiation. *Nat Rev Drug Discov*. 2013;12(7):526-42.
98. Moding EJ, Kastan MB, Kirsch DG. Strategies for optimizing the response of cancer and normal tissues to radiation. *Nat Rev Drug Discov*. 2013;12(7):526-42.
99. Pisani P, Airoidi M, Allais A, et al. Metastatic disease in head & neck oncology. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2020;40(SUPPL. 1):S1-S86.
100. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*. 2014;740:364-78.
101. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol*. 2007;35(4):495-16.
102. Hussein MMA, Abdelfattah-Hassan A, Eldoumani H, et al. Evaluation of anti-cancer effects of carnosine and melittin-loaded niosomes in MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells. *Front Pharmacol*. 2023;14:1258387.
103. Horta B, Freitas-Silva J, Silva J, et al. Antitumor effect of chalcone derivatives against human prostate (LNCaP and PC-3), cervix HPV-Positive (HeLa) and lymphocyte (jurkat) cell lines and their effect on macrophage functions. *Molecules*. 2023;28(5):2159.
104. Soni D, Wahi D, Verma S. In vitro study on anti-proliferative and anti-cancer activity of picosides in triple-negative breast cancer. *Med Oncol*. 2024;41(6):143.
105. Rosenberg B, Vancamp L, Krigas T. Inhibition of cell division in escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*. 1965;205:698-99.
106. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*. 2014;740:364-78.
107. Florea AM, Büsselberg D. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. *Cancers (Basel)*. 2011;3(1):1351-1371.
108. Luvero D, Milani A, Ledermann JA. Treatment options in recurrent ovarian cancer: latest evidence and clinical potential. *Ther Adv Med Oncol*. 2014;6(5):229-39.
109. Aktaş A. Anticancer Properties and Mechanisms of Action of Platinum and Copper Based N-Heterocyclic Carbene (NHC) Complexes. *Bitlis Eren University Journal of Science*. 2019;8(2):713-24.

110. Aktaş A. Anticancer Properties and Mechanisms of Action of Platinum and Copper Based N-Heterocyclic Carbene (NHC) Complexes. Bitlis Eren University Journal of Science.2019;8(2):713-24 .
111. Rehm T, Rothemund M, Muenzner JK, Noor A, Kempe R, Schobert R. Novel cis-[(NHC)1(NHC)2(L)Cl]platinum(ii) complexes synthesis, structures, and anticancer activities. Dalton Transactions 2016 ;45(39):15390-98.
112. Medvetz DA, Hindi KM, Panzner MJ, Ditto AJ, Yun YH, Youngs WJ. Anticancer activity of ag(i) n-heterocyclic carbene complexes derived from 4,5-dichloro-1h-imidazole. Metal-Based Drugs. 2008;2008:384010.
113. Yıldız Çevik E, Yeni Ag(I)-N-heterosiklik karben (NHC) bileşiklerinin sentezi, karakterizasyonu ve antiproliferatif aktivitelerinin araştırılması(Yüksek Lisans Tezi). Sivas: Sivas Cumhuriyet Üniversitesi;2019
114. Aktaş A, Ag- n-heterosiklik karben komplekslerinin antitümör aktivitesinin incelenmesi/ (Doktora Tezi). Malatya: İnönü Üniversitesi;2017.
115. Kızrak Ü, Yeni sentezlenen gümüş karben bileşiklerinin sitotoksik ve antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması/Yüksek Lisans Tezi). Malatya: İnönü Üniversitesi;2017.
116. Başak N, Yeni Ag(I)-karben bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri ve antikanser özelliğinin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). ). Malatya: İnönü Üniversitesi;2014
117. Yıldırım I, Yeni pinser tipi N-heterosiklik karben-gümüş, paladyum ve platin komplekslerinin hazırlanması ve antimikrobiyel aktivitelerinin incelenmesi (Doktora Tezi Malatya: İnönü Üniversitesi;2017.
118. Dönmez M, Yeni pinser tipi N-heterosiklik karben-gümüş, paladyum ve platin komplekslerinin hazırlanması ve antimikrobiyel aktivitelerinin incelenmesi (Doktora Tezi) Edirne:Trakya Üniversitesi; 2021.
119. Canbolat E, Sisplatin benzeri platin komplekslerinin sentezi ve antikanser aktivitelerinin araştırılması (Yüksek Lisans Tezi).Mersin:Mersin Üniversitesi; 2021.
120. Eryiğit Ö, Platin (II) komplekslerinin sentezi ve biyolojik aktiviteleri üzerinde çalışmalar (Yüksek Lisans Tezi).Mersin:Mersin Üniversitesi; 2019.
121. Aktaş A. Anticancer Properties and Mechanisms of Action of Platinum and Copper Based N-Heterocyclic Carbene (NHC) Complexes. Bitlis Eren University Journal of Science.2019;8(2):713-24 .

## **EKLER**

### **EK-1. Özgeçmiş**



## **EK-2. Etik Kurul Onayına Gerek Olmadığına Dair Belge**

