



TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**BOR TRİOKSİT (B_2O_3) ESASLI İYONİK SIVILARIN, KANSER HÜCRELERİ
ÜZERİNDEKİ ANTİ-PROLİFERATİF ÖZELLİKLERİNİN VE KEMİK
ONARIMINDAKİ ETKİLERİNİN IN VITRO KOŞULLARDA
ARAŞTIRILMASI**

DERYA ATASOY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
DR. ÖĞR. ÜYESİ SEÇİL ERDEN TAYHAN**

Aralık - 2022

Her hakkı saklıdır.

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BOR TRİOKSİT (B_2O_3) ESASLI İYONİK SIVILARIN, KANSER
HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTI-PROLİFERATİF
ÖZELLİKLERİNİN VE KEMİK ONARIMINDAKİ ETKİLERİNİN
IN VITRO KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI**

DERYA ATASOY

TOKAT
Aralık - 2022

Her hakkı saklıdır.



Bu tez çalışması;

2021/10 no'lu proje ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü ve 120Z175 no'lu proje ile 3501-Kariyer Geliştirme Programı kapsamında TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

DERYA ATASOY tarafından hazırlanan “**Bor Trioksit (B₂O₃) Esaslı İyonik Sıvıların, Kanser Hücreleri Üzerindeki Anti-Proliferatif Özelliklerinin ve Kemik Onarımındaki Etkilerinin İn Vitro Koşullarda Araştırılması**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 8 Aralık 2022 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim dalında da Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmzası

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Seçil ERDEN TAYHAN

.....

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Nesrin KORKMAZ

.....

Yozgat Bozok Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Hüseyin AKBAŞ

.....

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Sema BİLGİN

.....

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Rizvan İMAMOĞLU

.....

Bartın Üniversitesi

ONAY

...../...../.....

Prof. Dr. Mehmet GÜNEŞ
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Dr. Öğr. Üyesi Seçil ERDEN TAYHAN danışmanlığında hazırlamış olduğum “Bor Trioksit (B_2O_3) Esaslı İyonik Sıvıların, Kansere Hücreleri Üzerindeki Anti-Proliferatif Özelliklerinin ve Kemik Onarımındaki Etkilerinin İn Vitro Koşullarda Araştırılması” adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

Derya ATASOY

08/12/2022

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının planlanmasında, araştırılmasında ve yürütülmesinde maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen gerek tez çalışmam sürecinde gerek tez çalışması dışındaki kariyerim için bana yol gösteren, güvenip laboratuvarına kabul eden ve her daim aile şefkati ile yaklaşan kıymetli hocam ve tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Seçil ERDEN TAYHAN'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen tecrübe ve önerilerinden yararlandığım, bana her zaman rehber olan ve daima motive eden değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sema BİLGİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Değerli çalışmaları ile tezime katkı sağlayan ikinci danışmanım Sayın Doç. Dr. Nesrin KORKMAZ'a ve 120Z175 nolu TÜBİTAK projesinde bilgi ve deneyimlerinden faydalanma fırsatı bulduğum sayın hocam Doç. Dr. Hüseyin AKBAŞ'a teşekkür ederim.

Lisans-Yüksek lisans eğitim süresince ihtiyacım olan her anımda yanımda olan, kendimi geliştirme olanağı sağlayan ve bu kıymetli ekibin bir parçası olmama vesile olan kıymetli ablam Aslı YILDIRIM'a teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım. Tez çalışmalarımnda bana yardım eden ve desteğini hiç esirgemeyen Şeyma MENEVŞE'ye teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasını TÜBİTAK 3501-Kariyer Geliştirme Programı (Proje No:120Z175) kapsamında destekleyen TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam için maddi destek sağlayan Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Başkanlığı'na (BAP) (Proje No:2021/10) teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca maddi, manevi bütün destekleri sağlayıp beni bu günlere getiren, ilgisi ve sevgisiyle her zaman yanımda olan, daima bana güvenen aileme sonsuz teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

Bu tezi kıymetli babama ithaf ediyorum...

Derya ATASOY

8 Aralık 2022

ÖZET

BOR TRİOKSİT (B_2O_3) ESASLI İYONİK SIVILARIN, KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTİ-PROLİFERATİF ÖZELLİKLERİNİN VE KEMİK ONARIMINDAKİ ETKİLERİNİN *IN VITRO* KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI

Atasoy, Derya

Yüksek Lisans, Biyomühendislik Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Seçil ERDEN TAYHAN

İkinci Danışman: Doç. Dr. Nesrin KORKMAZ

Aralık 2022, xi + 116 sayfa

Bor doğada serbest olarak bulunmaz, diğer elementlerin oksitleriyle birlikte B_2O_3 halinde bulunur. Canlı beslenmesinde bor mikro besin elementidir. Mikro elementlerin çok yüksek etki katsayıları vardır ve çok az miktarlarda dahi en iyi etkiyi sağlamak için yeterlidirler. İyonik sıvı terimi, 100 °C'nin altında eriyen tuzlar için kullanılmaktadır. Tuzun erime noktası oda sıcaklığının altında ise bu tuzlar oda sıcaklığında iyonik sıvı olarak adlandırılır. İyonik sıvıların, yağ, protein, plastik gibi çok çeşitli maddeleri çözmelerinin yanında polar organik ve aromatik çözücülerin çözdüğü birçok metal katalizörlerini de çözmeleri, onların birçok reaksiyonda kullanılmasını kaçınılmaz kılmıştır. Çok düşük buhar basınçlarına sahip olmaları iyonik sıvıların çözücü olarak kullanımını da arttırmıştır. Bu tez çalışmasında, kation kaynağı olarak B_2O_3 , anyon kaynağı olarak da N-metiletanolamin (N-Mea), amino-2-propanol (Apro), 2-amino-1-butanol (Abut), N,N,N',N'-tetrakis(2-hidroksietil)etilendiamin N-(Teta), bis(2-hidroksipropil)amin (Bishypa) ve etanolamin gibi altı farklı ligant kullanılarak halojen içermeyen yeni B_2O_3 içerikli iyonik sıvılar (**BİS**) kullanılmıştır. Dolayısıyla bu tez kapsamında söz konusu bileşikler ve SAOS-2 kemik hücre hattı kullanılarak rejenerasyon modeli oluşturulmuştur. Bunun yanında **BİS**'lerin, dünya üzerinde yaygın şekilde görülen çeşitli kanser tipleri (prostat, kolon, meme) üzerindeki etkileri, *in vitro* koşullarda modellenerek araştırılmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Kanser, Kemik Onarımı, Proliferatif Aktivite, Migrasyon, Bor, İyonik sıvı

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE ANTI-PROLIFERATIVE CHARACTERISTICS ON CANCER CELLS AND THE EFFECTS ON BONE REPAIR IN VITRO CONDITIONS OF BORON TRIOXIDE (B₂O₃) BASED IONIC LIQUIDS

Atasoy, Derya

Master's Thesis, Department of Bionengineering

Advisor: Assit.Prof.Dr. Seil ERDEN TAYHAN

Second Advisor: Assoc.Prof.Dr. Nesrin KORKMAZ

December 2022, xii + 116 pages

Boron is not found free in nature, it exists as B₂O₃ together with oxides of other elements. Boron is a micronutrient in live nutrition. Microelements have very high coefficients of action and are sufficient to provide the best effect even in very small quantities. The term ionic liquid is used for salts that melt below 100 °C. If the melting point of the salt is below room temperature, these salts are called ionic liquids at room temperature. In addition to ionic liquids dissolving a wide variety of substances such as oil, protein, plastic, they also dissolve many metal catalysts dissolved by polar organic and aromatic solvents, making them inevitable to be used in many reactions. Having very low vapor pressures has also increased the use of ionic liquids as solvents. In this study, B₂O₃ as cation source, N methylethanolamine (N-Mea), amino-2-propanol (Apro), 2-amino-1 butanol (Abut), N,N,N',N'-tetrakis as anion source. By using six different ligands such as (2-hydroxyethyl)ethylenediamine N (Theta), bis(2-hydroxypropyl)amine (Bishypa) and ethanolamine, new ionic liquids (**BIS**) containing halogen compounds were used. Therefore, this thesis includes a regeneration model using the aforementioned house and the SAOS-2 bone cell line. In addition, the effects of **BISs** on various cancer types (prostate, colon, breast) that are common in the world have been investigated by modeling in vitro conditions.

KEYWORDS: Cancer, Bone Repair, Proliferative Activity, Migration, Boron, Ionic liquids

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
TABLO LİSTESİ.....	xii
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanser Çeşitleri.....	3
2.1.1. Prostat kanseri	3
2.1.2. Meme kanseri	3
2.1.3. Kolorektal kanser.....	4
2.2. Kanser ve Metastaz.....	5
2.3. Borlu İyonik Sıvılar ve Kanser	6
2.4. Bor ve Kemik Onarımı	6
3. MATERYAL ve YÖNTEM	8
3.1 Materyal.....	8
3.1.1. Kullanılan cihazlar.....	8
3.1.2. Kullanılan kimyasallar.....	9
3.1.3. Kullanılan sarf malzemeler.....	10
3.2. Yöntem	10
3.2.1. Hücre hatlarının kültüre edilmesi	11
3.2.2. Hücre hatlarının pasajlanması	12
3.2.3. Hücre hatlarının stoklanması	13
3.2.4. BİS'lerin MTT yöntemi ile kanser hücre hatları üzerindeki anti-proliferatif etkilerinin ve kemik rejenerasyon kapasitesinin belirlenmesi	13
3.2.5. Hücre göçü analizi ile antimetastatik etkilerin ve kemik rejenerasyon kapasitesinin belirlenmesi	16
4. BULGULAR	18
4.1. BİS'lerin Kanser Hücre Hatları Üzerindeki Antiproliferatif Etkilerinin Değerlendirilmesi	18

4.2. BİS'lerin SAOS-2 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi	58
4.3. Hücre Göçü Migrasyon ve Yara İyileşme Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi	70
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	111
6. KAYNAKLAR	113
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.



SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

°C: Santigrat Derece

μM: mikromolar

μg: Mikrogram

gr: gram

m: Molar

mg: miligram

ml: mililitre

mM: Milimolar

nm: Nanometre

rpm: Dakikadaki devir sayısı

s: saniye

5-Fu: 5-Fluorourasil

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMSO: Dimetil sülfoksit

EDTA: Etilendiamintetraasetik asit

FBS: Fötal sığır serum

HT-29: İnsan kolon adenokarsinoma hücre hattı

IC₅₀: Minimum inhibisyon konsantrasyonu

MCF-7: İnsan meme karsinomu hücre hattı

MTT: 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium

PBS: Fosfat tamponu

PC-3: İnsan Prostat adenokarsinoma hücre hattı

SAOS-2: İnsan osteosarkoma hücre hattı

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Hücre hatlarının ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (A. SAOS-2, B. PC-3, C. HT-29, D. MCF-7, 4x büyütme)	12
Şekil 4.1.1. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	19
Şekil 4.1.2. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	20
Şekil 4.1.3. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005 vs. Kontrol grubu hücreler).	21
Şekil 4.1.4. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	22
Şekil 4.1.5. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005 vs. Kontrol grubu hücreler).	23
Şekil 4.1.6. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B ₂ O ₃ , BİS-6) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	24
Şekil 4.1.7. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	25
Şekil 4.1.8. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	26
Şekil 4.1.9. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	27
Şekil 4.1.10. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler). ...	28
Şekil 4.1.11. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler). ...	29
Şekil 4.1.12. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B ₂ O ₃ , BİS-6) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler). ...	30
Şekil 4.1.13. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	31

Şekil 4.1.14. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler). ...	32
Şekil 4.1.15. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler). ...	33
Şekil 4.1.16. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	34
Şekil 4.1.17. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	35
Şekil 4.1.18. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B ₂ O ₃ , BİS-6) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	36
Şekil 4.1.19. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005 vs. Kontrol grubu hücreler).	37
Şekil 4.1.20. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	38
Şekil 4.1.21. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	39
Şekil 4.1.22. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	40
Şekil 4.1.23. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	41
Şekil 4.1.24. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B ₂ O ₃ , BİS-6) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	42
Şekil 4.1.25. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	43
Şekil 4.1.26. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	44
Şekil 4.1.27. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	45
Şekil 4.1.28. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	46
Şekil 4.1.29. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	47

Şekil 4.1.30. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B ₂ O ₃ , BİS-6) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	48
Şekil 4.1.31. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	49
Şekil 4.1.32. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	50
Şekil 4.1.33. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	51
Şekil 4.1.34. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	52
Şekil 4.1.35. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	53
Şekil 4.1.36. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B ₂ O ₃ , BİS-6) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	54
Şekil 4.1.37. A) PC-3 hücrelerinin pozitif kontrol (5-FU) ile etkileşiminden 24 ve 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları, B) MCF-7 hücrelerinin pozitif kontrol (5-FU) ile etkileşiminden 24 ve 48 saat sonra belirlenen yüzde canlılık oranları, C) HT-29 hücrelerinin pozitif kontrol (5-FU) ile etkileşiminden 24 ve 48 saat sonra belirlenen yüzde canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	55
Şekil 4.2.1. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	58
Şekil 4.2.2. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	59
Şekil 4.2.3. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	60
Şekil 4.2.4. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).	61
Şekil 4.2.5. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	62
Şekil 4.2.6. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B ₂ O ₃ , BİS-6) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	63
Şekil 4.2.7. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	64

Şekil 4.2.8. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	65
Şekil 4.2.9. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).....	66
Şekil 4.2.10. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	67
Şekil 4.2.11. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	68
Şekil 4.2.12. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B ₂ O ₃ , BİS-6) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).	69
Şekil 4.3.1. Bileşiklerin (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası PC-3 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	71
Şekil 4.3.2. Bileşiklerin (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1), PC-3 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	71
Şekil 4.3.3. Bileşiklerin (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası PC-3 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	72
Şekil 4.3.4. Bileşiklerin (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2), PC-3 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	73
Şekil 4.3.5. Bileşiklerin (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası PC-3 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	74
Şekil 4.3.6. Bileşiklerin (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3), PC-3 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	75
Şekil 4.3.7. Bileşiklerin (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası PC-3 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	76
Şekil 4.3.8. Bileşiklerin (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4), PC-3 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	77
Şekil 4.3.9. Bileşiklerin (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası PC-3 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	78
Şekil 4.3.10. Bileşiklerin (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5), PC-3 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	79
Şekil 4.3.11. Bileşiklerin (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası MCF-7 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	80

Şekil 4.3.12. Bileşiklerin (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1), MCF-7 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	81
Şekil 4.3.13. Bileşiklerin (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası MCF-7 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	82
Şekil 4.3.14. Bileşiklerin (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2), MCF-7 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	83
Şekil 4.3.15. Bileşiklerin (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası MCF-7 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	84
Şekil 4.3.16. Bileşiklerin (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3), MCF-7 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	85
Şekil 4.3.17. Bileşiklerin (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası MCF-7 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	86
Şekil 4.3.18. Bileşiklerin (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4), MCF-7 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	87
Şekil 4.3.19. Bileşiklerin (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası MCF-7 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	88
Şekil 4.3.20. Bileşiklerin (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5), MCF-7 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	89
Şekil 4.3.21. Bileşiklerin (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası HT-29 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	90
Şekil 4.3.22. Bileşiklerin (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1), HT-29 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	91
Şekil 4.3.23. Bileşiklerin (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası HT-29 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	92
Şekil 4.3.24. Bileşiklerin (N-Mea B ₂ O ₃ , BİS-2), HT-29 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	93
Şekil 4.3.25. Bileşiklerin (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası HT-29 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	94
Şekil 4.3.26. Bileşiklerin (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3), HT-29 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	95
Şekil 4.3.27. Bileşiklerin (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası HT-29 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	96

Şekil 4.3.28. Bileşiklerin (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4), HT-29 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	97
Şekil 4.3.29. Bileşiklerin (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5) etkin konsantrasyonları (IC ₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası HT-29 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	98
Şekil 4.3.30. Bileşiklerin (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5), HT-29 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	99
Şekil 4.3.31. Bileşiklerin (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1) etkin konsantrasyonları ile gerçekleştirilen yara iyileşme analizi sonrası SAOS-2 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	100
Şekil 4.3.32. Bileşiklerin (Abut, B ₂ O ₃ , BİS-1), SAOS-2 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %kapanma değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	101
Şekil 4.3.33. Bileşiklerin (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2) etkin konsantrasyonları ile gerçekleştirilen yara iyileşme analizi sonrası SAOS-2 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	102
Şekil 4.3.34. Bileşiklerin (N-Mea, B ₂ O ₃ , BİS-2), SAOS-2 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %kapanma değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	103
Şekil 4.3.35. Bileşiklerin (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3) etkin konsantrasyonları ile gerçekleştirilen yara iyileşme analizi sonrası SAOS-2 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	104
Şekil 4.3.36. Bileşiklerin (Apro, B ₂ O ₃ , BİS-3), SAOS-2 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %kapanma değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	105
Şekil 4.3.37. Bileşiklerin (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4) etkin konsantrasyonları ile gerçekleştirilen yara iyileşme analizi sonrası SAOS-2 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	106
Şekil 4.3.38. Bileşiklerin (Etam, B ₂ O ₃ , BİS-4), SAOS-2 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %kapanma değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	107
Şekil 4.3.39. Bileşiklerin (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5) etkin konsantrasyonları ile gerçekleştirilen yara iyileşme analizi sonrası SAOS-2 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	108
Şekil 4.3.40. Bileşiklerin (Bishypa, B ₂ O ₃ , BİS-5), SAOS-2 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %kapanma değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	109
Şekil 4.3.41. Bileşiklerin (N-Teta, B ₂ O ₃ , BİS-6) etkin konsantrasyonları ile gerçekleştirilen yara iyileşme analizi sonrası SAOS-2 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)	110
Şekil 4.3.42. Bileşiklerin (N-Teta, B ₂ O ₃ , BİS-6), SAOS-2 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %kapanma değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).	111

TABLO LİSTESİ

Tablo

Sayfa

Tablo 2.1 Ligandların isimleri ve çalışma sırasında kullanılan kısaltmaları	14
Tablo 4.1. HT-29, PC-3 ve MCF-7 hücrelerinin, bileşiklerle etkileşiminden 24 ve 48 saat sonra belirlenen IC ₅₀ değerleri verilmiştir. (* ile gösterilen değerlere ait hücre canlılıkları negatif kontroldeki hücrelerin canlılığından yüksek olduğu için herhangi bir inhibisyon değeri hesaplanamamıştır. 5-Fu pozitif kontrol ajanı olarak kullanılmıştır.)	56



1.GİRİŞ

Bor (B) atom numarası 5, atom ağırlığı 10.81g, erime noktası 2300 °C olan, metal ametal arası bileşik yapabilen yarı iletken özelliklere sahip bir elementtir. Canlı beslenmesinde bor mikro besin elementidir. Mikro elementlerin çok yüksek etki katsayıları vardır ve çok az miktarlarda dahi en iyi etkiyi sağlamak için yeterlidirler. Bu elementlerin az bir eksikliği veya az bir fazlalığı bazı zararlar meydana getirmektedir (Yılmaz, 2002). Tabiatıta 230 çeşit bor minerali bulunmaktadır. Bor doğada serbest olarak değil, diğer elementlerin oksitleriyle birlikte B_2O_3 halinde bulunmaktadır (Kemp, 1956). Oksijenle bağ yapmaya eğilimli olması sebebiyle birçok değişik bor-oksijen bileşiği bulunmaktadır. Metal-bor oksijen bileşiklerine genellikle borat denilir. Bor mineralleri genellikle Na, Ca, Mg gibi metallerle bileşik halinde bulunmaktadır. Kolemanit, uleksit, tinkal gibi kalsiyum veya sodyum boratlar en önemlileridir (Boncukoğlu ve ark., 2003). Bor mineralleri ve türevlerinin kendilerine özgü birçok özellikleri bunların yerlerinin doldurulmasını olanaksız kılacak niteliktedir. Suda hızlı bir şekilde eriyen boratlar kokusuz beyaz kristal granüler ve toz halindedirler. Bor oksit aynı zamanda sık sık rastlanan bor bileşikleri olup, özellikle okyanuslardan buharlaşarak havaya karışan borik asit, yağmur ve karla toprağa inip yeraltı ve yerüstü sularıyla geniş alanlara yayılmaktadır. Doğal sular yoluyla da insanlara geçmektedir (Göncü, 1982).

Tamamen iyonlardan meydana gelen bileşikler iyonik sıvı olarak adlandırılmaktadır. NaCl (e.n.: 801 °C), KCl (e.n.: 770 °C), $MgCl_2$ (e.n.: 714 °C) gibi yüksek sıcaklıklarda eriyerek sıvı oluşturan tuzlarda, 100 °C'nin altında eriyerek sıvı oluşturan tuzlarda iyonik sıvı tanımına uymaktadır. Aralarında büyük sıcaklık farkı olan iki grubu aynı isim altında toplanmasının nedeni bu iki grup arasındaki esas farkın sadece sıcaklık olmadığı, aynı zamanda erime noktası 500 °C üzerinde olan tuzların viskoz ve korozyif, oda sıcaklığında sıvı olan tuzların, - 96 °C'ye kadar düşük sıcaklıklarda akıcı, antikorozyif ve düşük viskoziteye sahip olduğu da bilinmektedir (Seddon, 1997). Bugün genelde iyonik sıvı terimi, 100 °C'nin altında eriyen tuzlar için kullanılmaktadır. Tuzun erime noktası oda sıcaklığının altında ise bu tuzlar oda sıcaklığında iyonik sıvı olarak adlandırılmaktadır (Welton, 2002).

İyonik sıvıların, yağ, protein, plastik gibi çok çeşitli maddeleri çözmelerinin yanında polar organik ve aromatik çözücülerin çözdüğü birçok metal katalizörlerini de çözmeleri, onların birçok reaksiyonda kullanılmasını kaçınılmaz kılmıştır. Çok düşük buhar basınçlarına sahip olmaları onların çözücü olarak kullanımını da arttırmıştır (Marsh ve ark., 2002).

Bu tez çalışması, tezin ikinci danışmanı olan Yozgat Bozok Üniversitesi öğretim üyesi Doç. Dr. Nesrin KORKMAZ'ın yürütücülüğünü yaptığı, üniversitemiz öğretim üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Seçil Erden TAYHAN ve Doç. Dr. Hüseyin AKBAŞ'ın araştırmacı olarak görev aldığı **“Bor Trioksit (B_2O_3) Esaslı Halojensiz Yeni İyonik Sıvıların Sentezi, Karakterizasyonu; Tribolojik ve Kemik Hücrelerindeki Anti-aşınma Özelliklerinin İncelenmesi”** başlıklı TÜBİTAK Kariyer Projesi temelinde gerçekleştirilmiştir. Bu tez kapsamında söz konusu bileşikler ve SAOS-2 kemik hücre hattı kullanılarak oluşturulan rejenerasyon modelleri üzerinde söz konusu bileşiklerin etkileri araştırılmıştır. Bunun yanında *BİS*'lerin, dünya üzerinde yaygın şekilde görülen çeşitli kanser tipleri (prostat, kolon, meme) üzerindeki etkileri, *in vitro* koşullarda modellenerek incelenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser Çeşitleri

2.1.1. Prostat kanseri

Prostat bezi idrar kesesinin altında yer alarak üretrayı çevrelemekte ve rektumun önünde bulunmaktadır (Basu ve Tindall 2010). Erkek genital sistemine aittir ve meninin bir bileşeni ve sıvılaşmasından sorumlu olan glikoproteini (prostata özgü antijen, PSA) üretir. Üst sınırları, mesane ve seminal vezikülleri içerir ve ürogenital diyafram, alt sınırını çizer. Bez, önde pelvisin iki pubis kemiği arasındaki eklem ve arkadan rektumla sınırlanmıştır. Prostat kolayca rektal muayene ile dokunarak muayene edilebilir (Palmeri ve ark. 2016).

Kanser, dünya çapında ölümün ana nedenlerinden biri haline gelmesi nedeniyle günümüzde ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Tümör mikroçevresi oksidatif stresten etkilendiğinden dolayı prostat kanseri için kötü klinik prognoz, kanser hücrelerinin metabolizmasına bağlıdır. Bu olay yeterli hücresel yanıtı tetikler ve böylece kanser ilerlemesi için uygun koşulları yaratır (Siwecka ve ark. 2019).

Prostat kanseri, hastalığın erken evresinde asemptomatiktir, çeşitli klinik ve patolojik ilerleme özelliklerinden oluşur ve ağrısız kanser tipinin büyük bir alt kümesiyle karakterize edilir. Bu nedenle, prostat kanseri için erken teşhis, hastalığın sınıflandırması (ağrıya karşı agresif) ve tedavi yanıtının tahmini için kişiselleştirilmiş bir yaklaşım geliştirmek çok önemlidir. Ancak sürekli olarak yüksek PSA seviyelerine sahip bireyler sonunda biyopsi geçirse bile, bu kanser riski için kesin olmayan bir belirteçtir. Çünkü yüksek serum PSA seviyeleri her zaman kanser varlığına karşılık gelmez. Prostatit ve iyi huylu prostat hiperplazisi (BPH) gibi kanserli olmayan patolojik durumlar da serum PSA seviyesinin yükselmesini tetikleyerek gereksiz biyopsilere yol açabilir (Kohaar ve ark. 2019).

2.1.2. Meme kanseri

Meme veya meme bezi, memelilerin tanımlayıcı özelliğidir. Meme bezleri embriyoda gelişir ve gelişimden sonra vücut büyümesiyle orantılı olarak gelişim gösterir. Pubertede, steroid hormonlarına yanıt olarak bez, duktal ağacın büyümesi ve yağ yastığının sınırlarına kadar dallanması ile hızlı bir genişlemeye uğrar (Caffarel ve ark. 2011).

Sağlıklı meme hücrelerinin tümör hücrelerine dönüşümünü etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Yaş ve cinsiyet, genetik yatkınlık, beslenme tarzı, çevresel etmenler, hormonlar, varlığı bilinen iyi huylu meme hastalıkları bu faktörler arasında sayılabilir (Haallaa ve ark. 2017).

Meme kanserinin kadınlarda erkeklere göre 100 kat daha fazla görülmesi cinsiyetin meme kanseri için ana risk faktörü olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca 55 yaş ve üzeri 5 kadınlarda teşhisi daha sık olduğundan yaşlanmanın da meme kanseri insidansını artırdığı belirlenmiştir (Feng ve ark. 2018). Ailesinde meme kanseri öyküsü olan kadınlarda kansere yakalanma riskinin 2 kat arttığı belirlenmiş ve çoğu meme kanseri hastasında edinilmiş mutasyonların varlığı tespit edilmiştir. Meme kanserlerinin % 10'u aileden gelen mutasyonların varlığına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Kamel ve ark. 2016). Fazla kilolu olan kişilerde kandaki insülin seviyelerinin artışına bağlı olarak meme kanseri de dahil olmak üzere belirli kanser türlerinde artış söz konusudur. Ayrıca kadınlarda menopoza sonrası artan yağ dokusu östrojen seviyelerini artırarak meme kanserine yakalanma riskini arttırmaktadır. Bununla birlikte alkol tüketim miktarının meme kanserini doğru orantılı bir şekilde arttırdığı da tespit edilmiştir (Feng ve ark. 2018). Meme kanseri görülme riski, ergenlik ve erişkinlik dönemlerinde vücutta salgılanan östrojen, prolaktin, progesteron ve insülin hormonlarının ekspresyonundaki artışa bağlı olarak artmaktadır. Bu durum, subklinik tümör hücrelerinde büyüme ve genişlemeyi etkileyen risk altındaki hücre popülasyonunun artmasıyla açıklanabilir (Haallaa ve ark. 2017). İyi huylu meme neoplazisinde tümör baskılayıcı genler inaktif olabilir, heterozigotluk kaybı meydana gelebilir ve bu nedenle kanser gelişme riski artabilmektedir. Ayrıca hücre proliferasyonunda meydana gelen anormal artış meme kanseri riskini de arttırmaktadır (Haallaa ve ark. 2017).

2.1.3. Kolorektal kanser

Kolorektal kanser, dünya çapında en yaygın kötü huylu tümörlerden biridir. Kolorektal kanser erkeklerde en sık teşhis edilen üçüncü, kadınlarda en yaygın ikinci kanser türünde olup dünya çapında kanser ölümlerinde dördüncü sırada gelir (Wang vd., 2017). Genetik mutasyonlar, diyet, bağışıklık sistemi ve mikrobiyota kanserin gelişimi ve ilerlemesini etkiler (Nojadeh vd., 2018). Dünya Kanser Araştırma Fonu ve Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü'nün yaptığı çalışmalara göre diyet ve fiziksel aktivite kolorektal kanserin önlenmesindeki iki önemli etmendir. Diyet, kolorektal kanser gelişimine etki

eden önemli dış faktörlerden biridir (Labianca vd., 2010). Klasik kolorektal kanser oluşum mekanizmasında, kanserlerin büyük çoğunluğu anormal bir kript ile başlayan ve daha sonra erken adenoma dönüşen bir polipten kaynaklanır. Adenom daha sonra gelişmiş adenoma dönüşür. Bu süreç, mutasyonların ve epigenetik değişikliklerin birikimi ile oluşması 10-15 yıl sürer ancak belirli ortamlarda örneğin, Lynch sendromlu hastalarda daha hızlı ilerleyebilir. Kolonda, normal epitel hücrelerin adenokarsinomaya evrimi, büyük ölçüde histolojik ve eşzamanlı epigenetik ve genetik değişikliklerin birikmesi sonucu oluşur (Kuipers vd., 2015). Kolon kanseri genomlarının dizilenmesi, kolon kanseri genomunda bulunan yüzlerce mutasyondan yalnızca az sayıdaki gen mutasyonlarının işlevsel olarak önemli olduğunu ortaya çıkarmıştır. Mutasyon görülen genlerden 12 genlik bir alt kümenin, tek tek kanserlerde kanser oluşumuyla ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Lao ve Grady, 2011). Kolorektal tümörler ile ilgili yapılan bir çalışmada, sağlıklı hücrenin kanser hücresine dönüşümünün başlangıç aşamalarında APC tümör baskılayıcı geninin mutasyonu ile hiperplastik morfolojinin ön plana çıktığı, daha sonra ise K-ras onkogen mutasyonu ile aşırı yolak aktivasyonunu gerçekleştirdiği, 18. kromozomda bulunan tümör baskılayıcı genlerde ve hücre döngüsünün durdurulmasında rol oynayan p53 geninde oluşan mutasyonlar sonucunda, hücrenin malign fenotip kazandığı belirtilmektedir (Vogelstein vd., 1988).

2.2. Kanser ve Metastaz

Birçok kanser türünün erken veya geç evrelerinde primer tümör kitlesinden ayrılan hücreler komşu dokulara veya farklı yollarla uzak dokulara ulaşarak yeni odaklar oluştururlar. Bu süreçte hücrelerin mikroçevresi ile olan bağlantılarının çeşitli ekstraselüler proteazlar ile yıkımı ön plana çıkmaktadır ve hücre adezyon molekülleri (CAM /cellular adhesion molecules), kalsiyum bağımlı kaderin ailesi ve integrinler önemli hedefler arasındadır (Valastyan ve ark. 2011). Ek olarak BA ve özellikle fruktoborat, Vitamin D3 üzerinden indirekt olarak etki göstermektedir. Vitamin D3 hücre döngüsünü durdurmakta, apoptozu indüklemekte ve metastazı inhibe etmektedir. Bunun da hücre içi vitamin D3 konsantrasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Anormal hücre göçü, birçok metastatik tümörün önemli bir özelliğidir. Metastaz için en önemli hücresel hedefler, GTP bağlayıcı proteinlerin Rho ailesinin en iyi karakterize edilmiş üyeleri olan RhoA, Rac1 ve CDC42'dir. Bu moleküller birçok malign kanser türünde aşırı eksprese edilir ve fokal adhezyon regülasyonu, aktin hücre iskeleti organizasyonu, epitelyal yara

iyileşmesi ve hücre göçü ve inflamasyonda önemli roller oynar. Çalışmalar, fenilboronik asidin (PBA), farelerde prostat ve meme kanseri hücrelerinin *in vivo* göçü ve tümör metastazı üzerinde seçici inhibitör etkisi olan önemli bir borik asit türevi olduğunu bildirmiştir (Van Zijl ve ark. 2011).

2.3. Borlu İyonik Sıvılar ve Kanser

Deneysel çalışmalar borun prostat kanserine karşı koruyucu özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Cui Y ve ark. 2004). Düşük konsantrasyonlardaki borik asitin, prostat spesifik antijenleri (PSA) 'nin proteolitik aktivitesini kısmen baskıladığı gösterilmiştir. Bu nedenle, PSA aktivitelerini düzenlemek için bor bileşiklerinin kullanılabileceği ve ayrıca, bor kaynaklı PSA aktivitelerinin baskılanmasının, prostat karsinomunun artışı ve gelişimini önlemeye yardımcı olabileceği öne sürülmüştür (Gallardo-Williams M.T. ve ark., 2003). Borik asitin, prostat kanseri hücre kültürleri üzerine etkilerini inceleyen çalışmalarda, belirli konsantrasyonlarda, çeşitli mekanizmalar sonucu, prostat kanseri hücrelerindeki proliferasyonu inhibe ettiğini gösterilmiştir (Barranco WT ve ark., 2007). ABD Teksas'ta yapılan bir araştırma, yeraltı sularındaki bor konsantrasyonlarının, prostat kanserine yakalanma ve ölüm oranlarıyla ters bir korelasyona sahip olduğunu göstermiştir (Barranco WT ve ark., 2004). Korkmaz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, sırasıyla borondan fakir ve borondan zengin bölgelerde yaşayan 587 ve 472 kadından alınan smear örnekleri karşılaştırılmıştır. Borondan zengin bölgede yaşayan kadınlardan alınan smear örneklerinde, sitopatolojik olarak serviks kanseri kanıtına rastlanmazken, borondan fakir bölgede yaşayan kadınlardan alınan örneklerden, 15 'inde sitopatolojik olarak serviks kanseri bulgularına rastlanmıştır (Korkmaz M ve ark., 2007). Borun, akciğer, meme kanseri ve malign melanom üzerine, mekanizmaları net olmamakla birlikte, anti-proliferatif etkileri olduğu yapılan bazı çalışmalarla gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar bor ve bor içeren moleküllerin günlük diyetle doğal anti kanser ajanı olarak kullanılabileceğini ve borun, kanser tedavisi amaçlı, potansiyel ilaçlar için kaynak olarak sunulabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, borun uygun bir şekilde kullanılabilmesi için, etki mekanizmaları ve toksisite riski hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak yeni yaklaşımlarla aydınlatılmalıdır (Mahabir S. ve ark., 2008).

2.4. Bor ve Kemik Onarımı

Kemiğin mineral yapısının ana bileşenleri kalsiyum ve fosfattır. Bor; vücuttaki D vitamini, fosfor, magnezyum, kalsiyum gibi minerallerin emilimini dengeler. Bu

minerallerin eksikliğinde ve emiliminde azalma plazmadaki konsantrasyonlarda değişiklik meydana getirir. Borun, kandaki magnezyum miktarını artırırken fosfor miktarını azalttığı yapılan çalışmalarda gözlenmiştir (Pizzorno, 2015). Bor, kemik gücünü artırır ve kemik yapısındaki mineral bileşimini değiştirir (Gaffney-Stomberg, 2019). Borun, antioksidan etkinliği, immün sistem fonksiyonlarını regüle ettiği, mineral ve vitamin metabolizmasını kontrol ettiği, steroid hormon metabolizmasını düzenlediği yapılan çalışmalarla desteklenmiştir. Yüksek miktarlarda bor ile beslenen farelerde, femoral kırılma gücünün ve kaval kemiğinin sıkıştırma gücünün arttığı gözlenmiştir (Hakki ve ark., 2010). Borun özellikle osteoartrit ve osteoporoz tedavilerinde kullanımı söz konusudur. Menopoz sonrası kadınların günlük 3 mg bor almasının, östrojen etkisini artırarak, osteoporoz tedavisinde olumlu etki yaptığı bildirilmiştir (Kara, 2017). Aynı şekilde, diyabetli fareler 30 gün boyunca bor takviyeli beslenerek izlendiğinde, kemiklerinin gücüne ait parametrelerin geliştiği gözlenmiştir ki diyabet, osteoporozun gelişimi için bir risktir (Dessordi vd., 2017). Biyoaktif camın geliştirilmesine, borun kemik oluşumu ve onarımındaki etkileri önderlik etmiştir. Biyoaktif cam, doğal kemik yenilemesi için doku iskeleti olarak kullanılır. 45S5 biyocama bor ilave edilerek değişiklik yapıldığında, kemik oluşumunu artırdığı görülmüştür (Gorustovich vd., 2006).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1. Kullanılan cihazlar

Bu tez çalışmasında kullanılan cihazlar, markaları ve kullanım amaçları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Markası	Kullanım Amacı
8 Kanallı Otomatik Pipet	Eppendorf	MTT analizinde kullanıldı.
-86 °C Derin Dondurucu	Symphony VWR	Hücrelerin saklanması için kullanıldı.
Buzdolabı	Beko	Besi ortamları ve bazı kimyasalların saklanması için kullanıldı.
CO ₂ 'li İnkübatör	Esco	Hücrelerin uygun sıcaklıkta çoğalmaları ve muhafaza edilmesi için kullanıldı.
ELISA Okuyucu	Tecan	MTT analizinde kullanıldı.
Hassas Terazı	Radwag	Çalışmada kullanılacak maddelerin tartılmasında kullanıldı.
İnverted Işık Mikroskobu	Olympus CKX41	Hücre kültürlerinin büyümelerini gözlemlemede ve sayım uygulamalarında kullanıldı.
Otomatik Pipet Seti	Eppendorf	Maddelerin küçük miktarlarda eklenmesinde kullanıldı.
Pipet Tabancası	Greiner	Serolojik pipetlerin kullanılmasında kullanıldı.
Soğutmalı Santrifüj Cihazı	Nüve NF 800R	Hücre süspansiyonlarının çöktürülmesinde ve hücre pelletinin eldesinde kullanıldı.
Sıvı Azot Tankı	Thermo Scientific	Hücrelerin daha uzun ömürlü sağlıklı koşullarda stoklanması için kullanıldı.

Steril Laminar Kabin	Esco	Sterilizasyon için MTT hariç tüm çalışmalarda kontaminasyon riskini en aza indirmek için kullanıldı.
Sirkülatörlü Su banyosu	Nüve BM 30	Besi ortamı için hazırlanan kimyasalların oda sıcaklığına getirilmesi için kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan kimyasallar

Bu tez çalışmasında kullanılan kimyasallar, markaları ve kullanım amaçları Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Tez çalışmasında kullanılan kimyasallar

Kimyasal Adı	Markası	Kullanım Amacı
Dimetil Sülfoksit(DMSO)	Carlo Erba	Hücreleri dondurma ortamında ve MTT analizlerinde kullanıldı.
Dulbecco's Medified Eagle Medium (DMEM HG)Besi Ortamı	Biological Industries	MCF-7 hücrelerinin büyümesini sağlayacak besi ortamı hazırlanmasında kullanıldı.
Fetal Sığır Serum (FBS)	Sigma	Hücrelerin çoğalması için besi ortamı hazırlanmasında kullanıldı.
5-Fluorourasil (5-Fu)	Koçak Farma	MTT analizinde pozitif kontrol olarak kullanıldı.
Gentamisin	Biological Industries	Besi ortamı hazırlarken hücrede oluşabilecek herhangi mikroorganizmalardan hücreyi korumak için kullanıldı.
L-Glutamin	Gibco	İçerisinde hücreler için gerekli esansiyel aminoasitler bulundurduğu için besi ortamı hazırlanmasında kullanıldı.
McCoy's 5A Medium (Modified)	Biological Industries	SAOS-2 hücrelerinin büyümesini sağlayacak besi ortamı hazırlanmasında kullanıldı.
MTT	Serva	Hücre canlılığını belirlemede kullanıldı.
PBS	Biochrom	Hücrelerin pasajlanmasında hücre yüzeyini yıkamak için kullanıldı.
RPMI-1640 Besi Ortamı	Biological Industries	HT-29 ve PC-3 hücrelerinin büyümesini sağlayacak besi ortamı hazırlanmasında kullanıldı.
Tripan Mavisi Solüsyonu	Biological Industries	Hücre canlılığını belirlemek için hücre sayımında kullanıldı.

Trypsin-EDTA	Biological Industries	Hücrelerin yüzeyden kalkması için kullanıldı.
--------------	-----------------------	---

3.1.3. Kullanılan sarf malzemeler

Bu tez çalışmasında kullanılan sarf malzemeler, markaları ve kullanım amaçları Çizelge 3.3.'de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Tez çalışmasında kullanılan sarf malzemeler

Malzeme Adı	Marka	Kullanım Amacı
6 ve 96 Kuyucuklu Mikroplakalar	TPP	Migrasyon ve MTT analizinde kullanıldı.
Enjektör	Ayset	Sterilizasyon amacıyla maddelerin filtreden geçirilmesinde kullanıldı.
Filtre	Isolab	Maddelerin filtre edilmesinde kullanıldı.
Filtreli 25 ve 75 cm ² 'lik Flasklar	Greiner Bio-one	Hücreleri kültüre etmek için kullanıldı.
Kriyo Tüp	Corning Incorporated	Hücrelerin saklanması için kullanıldı.
Neubauer Lamı	Hawksley England	Hücre sayımında kullanıldı.
Serolojik Pipetler	Greiner Bio-one	Tüm hücre kültürü çalışmalarında sıvıların aktarılmasında kullanıldı.
Steril 15-50 ml'lik Falcon	Isolab	Hücrelerin toplanmasında kullanıldı.

3.2. Yöntem

Bu tez çalışmasında, BİS'lerin kanser hücreleri üzerindeki anti-proliferatif özelliklerinin ve kemik onarımındaki etkilerinin araştırılmasında, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Hayvan Hücre ve Doku Kültürü Laboratuvarı stoklarında bulunan, PC3 (prostat kanseri), MCF7 (meme kanseri) HT29 (kolon kanseri) ve SAOS-2 (insan osteosarkoma) hücre hatları kullanılmıştır.

3.2.1. Hücre hatlarının kültüre edilmesi

MCF-7 hücreleri, DMEM HG besi ortamı içerisinde, SAOS-2 hücreleri McCoy's 5A Medium (Modified), PC-3 ve HT-29 hücreleri ise RPMI 1640 besi ortamı içerisinde kültüre edilmiştir.

RPMI-1640 besi ortamı içeriği

- %10 FBS
- %1 L-glutamin
- %0,1 Gentamisin
- %88,9 RPMI 1640 Ham Besi Ortamı

DMEM-HG besi ortamı içeriği

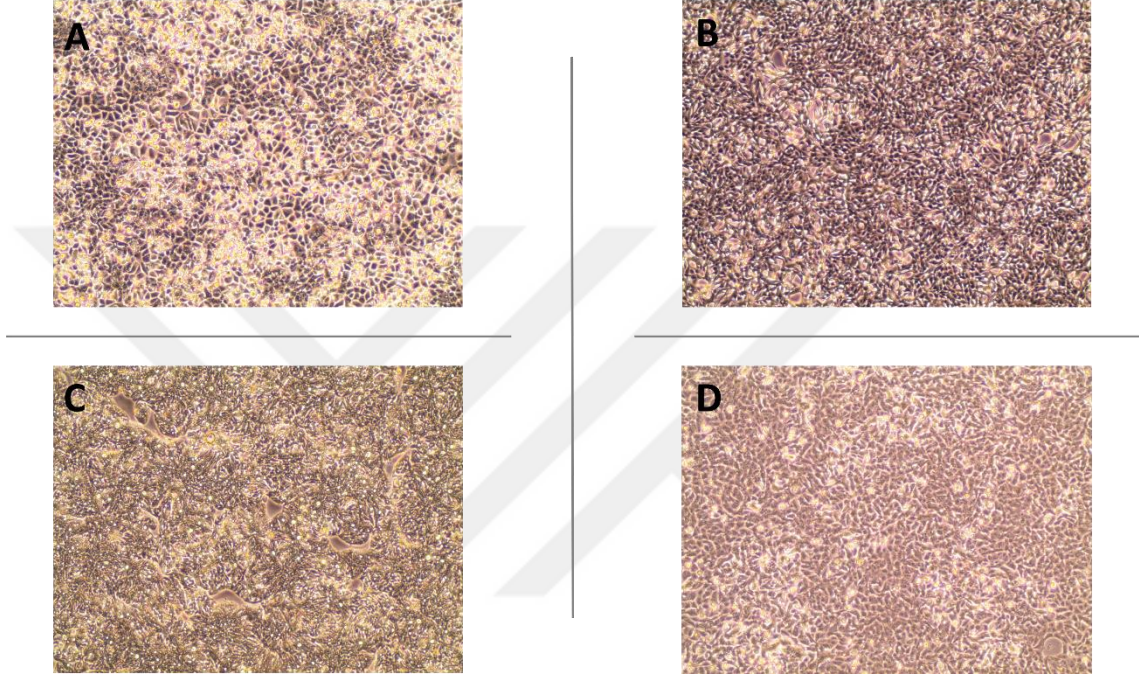
- %10 FBS
- %1 L-glutamin
- %0,1 Gentamisin
- %88,9 DMEM HG Ham Besi Ortamı

McCoy's 5A medium (modified) içeriği

- %10 FBS
- %0,1 Gentamisin
- %88,9 McCoy's 5A Medium (Modified) ham besi ortamı

1. Sıvı azot tankında muhafaza edilen kriyotüpler içerisinde bulunan hücreler, çıkarılarak hızlıca 37 °C'deki su banyosu içerisinde çözündürülmüştür.
2. İçeriği çözünen kriyotüp %70'lik alkol ile silinerek steril laminar akışlı kabine alınıp üzerine hazırlanan besi ortamı yavaşça eklenmiş ve tüp içeriği dikkatlice toplanarak 15 ml'lik santrifüj tüpüne aktarılmıştır.
3. Hücreler 800 rpm (devir/dakika)'de 4 °C'de 5 dakika santrifüjlendikten sonra oluşan üst faz atılarak, dipteki pellet alınmıştır.
4. Pellet üzerine ilgili besi ortamı eklenerek homojenize edilmiştir.

5. Homojenize edilen hücreler 75 cm²'lik flasklara alınmıştır.
6. Uygun etiketleme yapıldıktan sonra hücreler 37 °C'de, %5 CO₂ içeren ortamda inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 1.1. Hücre hatlarının ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (A. SAOS-2, B. PC-3, C. HT-29, D. MCF-7, 4x büyütme)

3.2.2. Hücre hatlarının pasajlanması

1. Hücrelerin morfolojileri inverted mikroskobunda incelenip besi ortamları iki günde bir değiştirilmiştir.
2. %80-90 konfluensiye ulaşan hücrelerin pasajlanması sırasında flask içerisinde bulunan kullanılmış besi ortamı uzaklaştırıldıktan sonra DPBS ilave edilerek hücrelerin yüzeyi yıkanmıştır.
3. Daha sonra hücrelerin üzerine tripsin-EDTA çözeltisi eklenerek CO₂'li inkübatörde 4-5 dakika bekletilmiş ve hücrelerin yüzeyden kalkması sağlanmıştır.
4. Mikroskop ile tüm hücrelerin yüzeyden kalktığı gözleendiğinde hücrelerin üzerine ilgili serumlu besi ortamı ilave edilip hücrelerin yıkanarak toplanması

sağlanmıştır, toplanan hücreler 15 ml'lik santrifüj tüplerine aktarılmıştır ve 800 rpm 4 °C'de 5 dakika santrifüjlenmiştir.

5. Santrifüj sonrasında üst faz atıldıktan sonra, pellet üzerine besi ortamı eklenip hücreler homojenize edilmiştir.
6. Hücre süspansiyonundan, hücrelerin pasaj oranına göre seyreltilerek, yeni hücre süspansiyonu 75 cm²'lik flasklara alınmıştır ve hücreler 37 °C'de, %5 CO₂ içeren ortamda inkübe edilmiştir.

3.2.3. Hücre hatlarının stoklanması

Çalışmanın devamlılığının sağlanması için hücreler stoklanmıştır.

1. %80-90 konfluensiye ulaşan hücreler tripsinizasyon yöntemi ile kaldırılmıştır.
2. Hücreler santrifüj edildikten sonra elde edilen hücre pelleti üzerine hazırlanan dondurma ortamı (%90 FBS, %10 DMSO) eklenip hücreler kriyotüplere 1'er ml paylaştırılmıştır.
3. Kriyotüpler önce -80 °C bir gece bekletildikten sonra daha uzun süre saklanması için -196 °C'ye (sıvı azot) kaldırılmıştır.

3.2.4. BİS'lerin MTT yöntemi ile kanser hücre hatları üzerindeki anti-proliferatif etkilerinin ve kemik rejenerasyon kapasitesinin belirlenmesi

Bu tez çalışmasında kullanılan BİS bileşikler, TÜBİTAK 3501-Kariyer Geliştirme Programı kapsamında 120Z175 no'lu proje ile desteklenen “Bor Trioksit (B₂O₃) Esaslı Halojensiz Yeni İyonik Sıvıların Sentezi, Karakterizasyonu; Tribolojik ve Kemik Hücrelerindeki Anti-aşınma Özelliklerinin İncelenmesi” başlıklı proje kapsamında, Doç. Dr. Nesrin KORKMAZ ve Doç. Dr. Hüseyin AKBAŞ tarafından sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. İlgili bileşikler bu tez ile biyolojik aktivite özellikleri açısından değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlar ayrıntılı bir biçimde grafik ve şekiller ile sunulmuştur.

Söz konusu BİS'ler (BİS 1-6), çeşitli ligand bileşikler ile B₂O₃'ün tepkimesi ile sentezlenmiştir. Bu ligand bileşikler ve isimleri Tablo 2.1'de belirtilmiştir. Bu BİS'lerin kanser hücre hatları üzerindeki anti-proliferatif etkilerinin belirlenmesi için meme kanseri (MCF-7), kolon kanseri (HT29), ve prostat kanseri (PC-3) hücre hatları kullanılmış ve in

vitro koşullarda modellemeler yapılmıştır. Bunun yanında *BİS*'lerin tribolojik özelliklerinden ilham alarak kemik yüzeylerindeki aşınmayı engelleyici ve rejenerasyonunu kolaylaştırıcı etkilerinin araştırılmasında SAOS-2 (insan osteosarkoma) hücre hattı ile rejenerasyon modeli oluşturulmuştur.

Tablo 2.1 Ligandların isimleri ve çalışma sırasında kullanılan kısaltmaları

BİLEŞİK ADI	KOD
N-metiletanolamin	N-Mea
Amino-2-propanol	Apro
2-amino-1-butanol	Abut
N,N,N',N'-tetrakis(2-hydroxyethyl)ethylenediamine	N-Teta
Bis(2-hydroxypropyl)amine	Bishypa
Etanolamin	Etam
Bor Trioksit	B ₂ O ₃

Sentezi gerçekleştirilen BİS'lerin çözelti haline getirilmesi için kullanılan çözgen sudur ve 1,5 mg/ml konsantrasyonda madde ana stokları distile su kullanılarak hazırlanmıştır. Ardından en derişik konsantrasyonda (1500 µg/ml) ham besi ortamı ile ara stoklar hazırlanarak 0.02 µM gözenek çapına sahip filtrelerden geçirilerek maddeler steril hale getirilmiştir.

1. Kültür yüzeyini %80-90 oranında kaplamış hücrelerin üzerinde bulunan kullanılmış besi ortamı uzaklaştırdıktan sonra DPBS ile hücrelerin yüzeyi yıkanmıştır.
2. Daha sonra hücrelerin üzerine tripsin –EDTA özeltisi eklenerek hücrelerin yüzeyden kalkması sağlanmıştır.
3. Kalkan hücrelerin üzerine besi ortamı ilave edilerek süspansiyon homojenize hale getirilip 15 ml'lik santrifüj tüplerine aktarılmıştır.
4. Bu aşamada hücre sayısını hesaplamak için hücre süspansiyonundan 100 µl mikrosantrifüj tüpüne alınarak Neubauer Lamı aracılığıyla hücre sayımı gerçekleştirilmiştir.

$$\text{Hücre sayısı (h/ml)} = \frac{\text{canlı hücre sayısı} \times \text{dilüsyon faktörü} \times 10^4}{\text{sayılan kare sayısı}}$$

5. Santrifüj tüpünde bulunan hücre süspansiyonu +4 °C' 800rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda süpernatant uzaklaştırılmış ve hücre pelletinin besi ortamı içinde homojenizasyonu sağlanmıştır.
6. Homojenize edilen HT-29, MCF-7 ve SAOS-2 hücreleri 5×10^4 hücre/mL, PC-3 ise 4×10^4 hücre/ mL konsantrasyonda olacak şekilde üç tekrarlı (n=3), olarak 96 gözlü kültür kaplarına ekilmiştir.
7. Hücreler %5 CO₂ içeren 37 °C'deki nemli inkübatörde 24 saat boyunca inkübe edilmiştir.
8. 24 saatlik inkübasyonun ardından PC-3, HT-29 ve MCF-7 hücreleri üzerine sentezlenen bileşikler 6 farklı konsantrasyonlarda (46.9 µg/ml, 93.8 µg/ml, 187.5 µg/ml, 375 µg/ml, 750 µg/ml, 1500 µg/ml), SAOS-2 hücrelerine ise 7 farklı konsantrasyonda (23.44 µg/ml, 46.9 µg/ml, 93.8 µg/ml, 187.5 µg/ml, 375 µg/ml, 750 µg/ml, 1500 µg/ml) eklenmiştir.
9. Hücreler ilgili bileşenler ile 24 ve 48 saat inkübe edilmiştir. Bu sürelerin sonunda MTT (3-(4,5- dimetilthiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromid, sarı tetrazolyum tuzu) ile canlılık testi uygulanır. MTT analizi hücre kültürü çalışmalarında hücresel sitotoksitenin, canlılığının ya da proliferasyonunun ölçülmesinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Stockert ve ark., 2012). MTT'nin mitokondriyal suksinat dehidrogenaz enzimi ile indirgenerek MTT-formazan kristallerine dönüşmesi temeline dayanan MTT testi, aslen mitokondriyal aktiviteyi ölçmesine rağmen dolaylı yoldan hücre canlılığının belirlenmesinde sıkça kullanılan bir yöntemdir (Erden Tayhan, 2019). MTT testi için, pleytteki kullanılmış besi ortamı çekilip ve hücrelerin üzerine %10 MTT (5 mg/mL konsantrasyonda, PBS içerisinde hazırlanmış) içeren besi ortamı eklenmiştir.
10. Hücreler karanlıkta 37°C'de %5 CO₂'li inkübatörde 3 saat süreyle inkübe edilmiştir.
11. 3 saat inkübasyonun sonunda MTT içeren ortam çekilip ve hücrelerin üzerine DMSO eklenerek oluşan formazan kristallerinin çözünmesi sağlanmıştır.

12. Formazan kristalleri çözüldükten sonra pleyt, ELISA okuyucusunda 570 nm dalga boyunda okutularak absorbans değerleri kaydedilmiştir.
 13. Elde edilen absorbans değerleri dikkate alınarak, GraphPad Prism 9.0.0 programıyla kanser hücrelerin IC₅₀ değerleri (hücre canlılığında %50 azalmaya neden olan inhibisyon konsantrasyonu) hesaplanmış ve ek olarak maddelerin yüzde hücre canlılık grafikleri oluşturulmuştur.
- Diğer taraftan, BİS'lerin SAOS-2 hücreleri üzerindeki etkileri ve olası sitotoksik özellikleri de yine aynı şekilde MTT analizi ile araştırılmıştır.

3.2.5. Hücre göçü analizi ile antimetastatik etkilerin ve kemik rejenerasyon kapasitesinin belirlenmesi

Bir önceki basamakta ayrıntılı olarak açıklanan MTT analizinde hesaplanan kanser hücreleri için 48.saat IC₅₀, SAOS-2 hücreleri için etkin konsantrasyon değerleri dikkate alınarak hücre göçü / yara iyileşme analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz hücre göçünü ölçmek için kolay ve düşük maliyetli bir yöntemdir (Liang ve ark., 2007). Çizik veya migrasyon tahlili, farklı yeni ilaç adaylarına yanıt olarak migrasyon, anjiyogenez, proliferasyon ve iyileşme oranlarının *in vitro* araştırmaları için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Suarez, 2020; Arnedo ve ark., 2020). Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında, *in vitro* çizik analizi özellikle hücre-matriks ve hücre-hücre etkileşimlerinin hücre göçü üzerindeki etkileri üzerine yapılan çalışmalar için uygundur. Bu bağlamda, *in vitro* çizik yara iyileştirme deneyi, hücreler şartlandırılmış ortamda mevcut metabolitlere maruz bırakılırken çoğalma ve göç sürecini değerlendirmek için faydalıdır. Bunun nedeni, bu yaklaşımın hücre göçü sürecini taklit eden bir ortam sağlamasıdır. Böylece, ilgili bileşiklerin kanser hücreleri üzerindeki anti-metastatik ve kemik rejenerasyonu üzerine etkileri modellenmiş olacaktır. Bu testin ayrıntıları aşağıda özetlenmiştir:

1. SAOS-2, MCF7, PC3 ve HT29 hücreleri 6 gözlü kültür plakalara ekildikten sonra hücrelerin %80-90 konfluensiye gelmesi beklenmiştir.
2. Belirtilen konfluensideki hücrelerin üzerine steril P200 pipet ucu ile bir 'çizik' oluşturulup, kanser hücreleri için IC₅₀ değerlerinde ve SAOS-2 için EC₅₀

konsantrasyonlarında hazırlanan maddeli besi ortamları eklenerek inkübasyona bırakılmıştır.

3. Hücreler ilgili bileşenlerle 48 saat kültüre edilmiş ve her 24 saatte bir inverted mikroskop altında fotoğraflanmıştır.
4. 48 saat sonunda görüntüler, Image J yazılımı aracılığıyla kanser hücreleri için migrasyon ve kemik onarımındaki etkisi için SAOS-2'de yara iyileşme oranları alansal olarak hesaplanmıştır.
5. Elde edilen kantitatif değerler negatif kontrolle oranlanarak kanser hücreleri için % migrasyon ve SAOS-2 için de % yara iyileşme oranları, GraphPad Prism 9.0.0 programıyla grafiklendirilmiştir.



Şekil 1.2. Yara modeli oluşturma aşamaları

İstatistiksel analiz

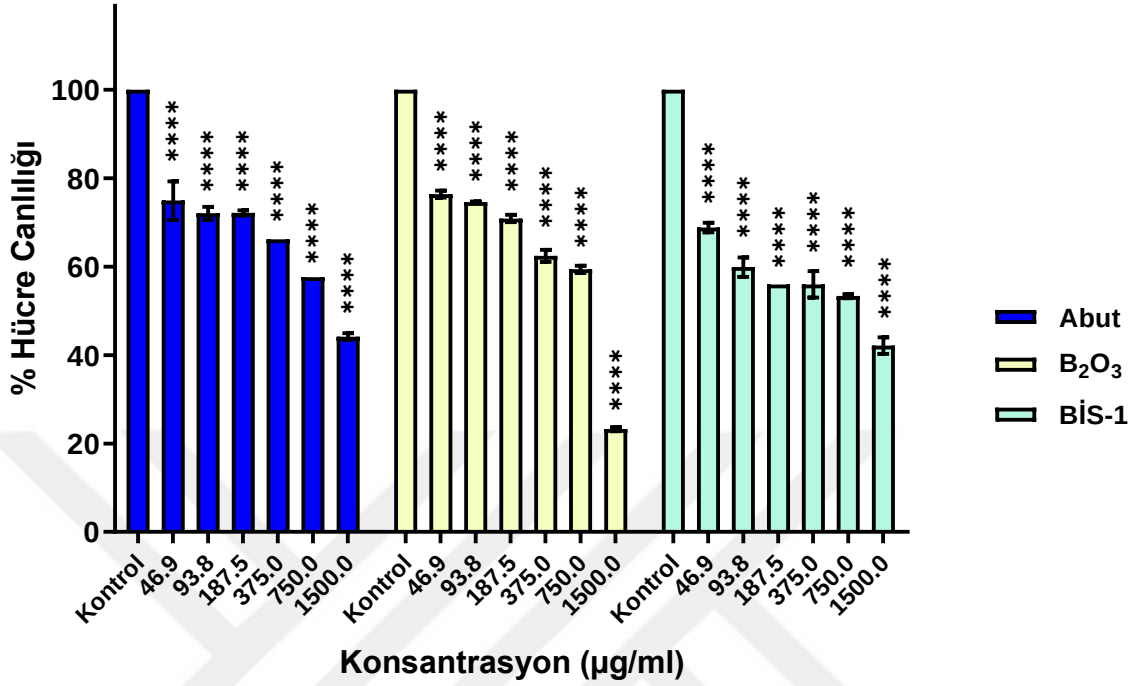
MTT testlerinde, deney ve kontrol grupları kıyaslandı. İstatistiksel analiz GraphPad Prism 9.0 yazılımı kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen verilerin sonuçlarının istatistiksel analizleri için iki yönlü ANOVA testi kullanıldı. Tüm sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak verildi. Elde edilen verilerin istatistiksel analizinde $p \leq 0.05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. BİS'lerin Kanser Hücre Hatları Üzerindeki Antiproliferatif Etkilerinin Değerlendirilmesi

Hücre kültürü çalışmalarında ilk olarak, sentezi gerçekleştirilen ve anti-kanser aktivitesi olduğu düşünülen BİS'lerin (**BİS-1, BİS-2, BİS-3, BİS-4, BİS-5, ve BİS-6**) kanser hücre hatları üzerindeki anti-proliferatif etkilerinin belirlenmesi için MCF-7, HT29 ve PC-3 hücre hatları kullanılarak MTT analizi uygulanmıştır. Böylelikle, ilgili bileşiklerin antiproliferatif etkileri araştırılmıştır. Negatif kontrol olarak maddesiz ortam kullanılmıştır ve bileşikler 6 farklı konsantrasyon (187,5–46.9 µg/ml) aralığında çalışılmıştır. Sentezlenen bor türevli iyonik sıvıların etkinliklerini daha iyi kıyaslayabilmek için bileşiklerin sentezinde kullanılan ligand bileşikler (**Abut, N-Mea, Apro, Etam, Bishypa ve N-Teta**) ve B₂O₃, kontrol grubu olarak çalışılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen absorbans değerleri dikkate alınarak verilerin anlamlılık derecelerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve IC₅₀ konsantrasyonlarının belirlenmesi için GraphPad 9.0.0 Prism programı kullanılmıştır. Oluşturulan yüzde canlılık grafiklerinde maddelerin konsantrasyonları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı Two-way ANOVA testi uygulanarak belirlenmiştir. Elde edilen veriler aşağıdaki şekillerde ayrıntılı bir şekilde sunulmuştur.

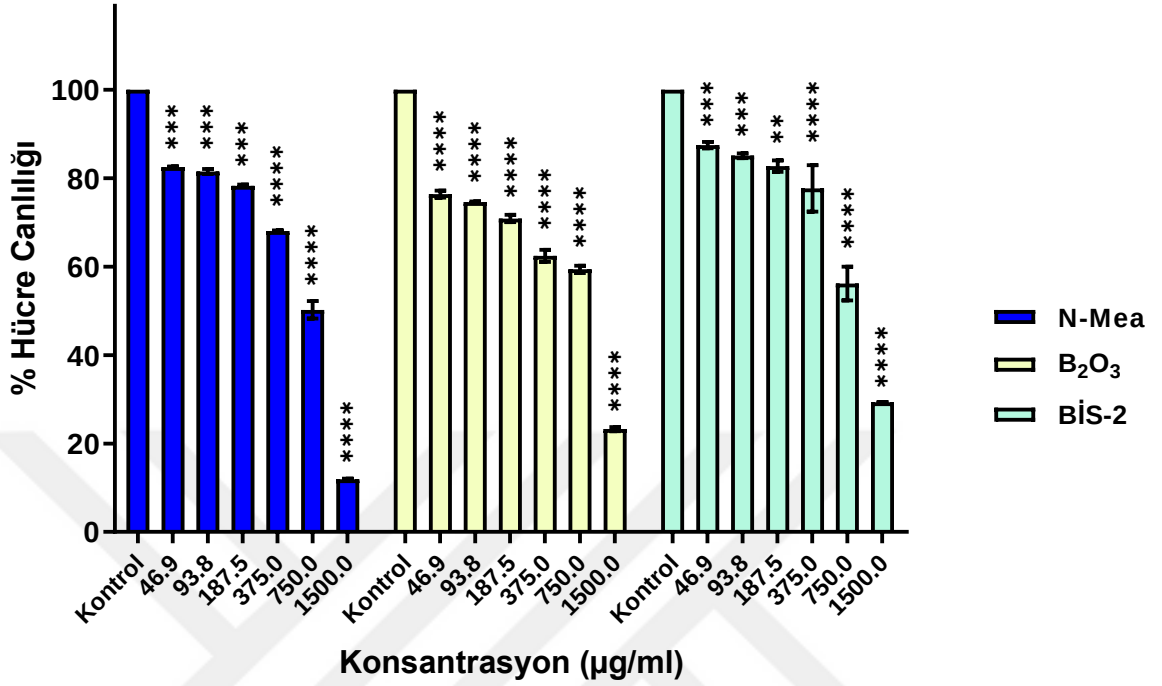
PC-3 24. Saat



Şekil 4.1.1. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.1.'de PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Grafikte görüldüğü üzere, negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin, tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Proje kapsamında Abut olarak adlandırılan ligant bileşiğin, B₂O₃ bileşiği ile kombinasyonu sonucunda BİS-1 bileşiği sentezlenmiştir. Sentezi gerçekleştirilmiş olan bu bileşiğin kanser hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkisinin doğru bir şekilde değerlendirilebilmesi için kontrol grubu olarak ligand bileşik Abut ve B₂O₃ kullanılmıştır. Üç bileşiğin PC-3 prostat kanseri üzerindeki etkisi karşılaştırılarak BİS-1 bileşiğinin biyolojik aktivitesi belirlenmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, bileşikler özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) PC-3 prostat kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif etki göstermektedir. Madde konsantrasyonu azaldıkça bileşiklerin etkinliğinin azaldığı görülmektedir. Ayrıca, BİS-1 bileşiğinin kontrol grupları ile kıyaslandığında düşük konsantrasyonlarda daha etkili olduğu belirlenmiştir.

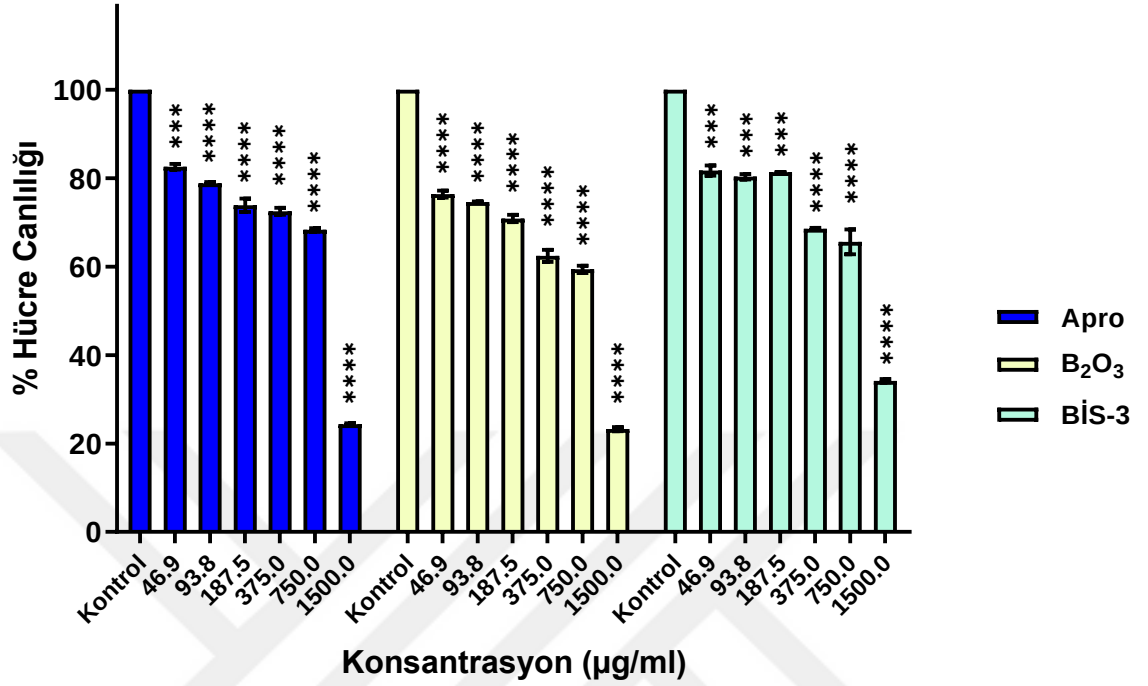
PC-3 24. Saat



Şekil 4.1.2. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.2.'te görüldüğü üzere PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Grafikte görüldüğü üzere negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin, tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Konsantrasyon azaldıkça bileşiklerin etkinliğinin azaldığı görülmektedir. Ligant bileşiği N-Mea, özellikle en yüksek konsantrasyon olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %10 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Kontrol bileşiği B₂O₃ ve çıkış bileşiği BİS-2'nin ise en yüksek konsantrasyonda hücre canlılığını %25 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. BİS-2 bileşiğinin kontrol grupları ile kıyaslandığında antiproliferatif etkisinin daha az olduğu belirlenmiştir. Ligand bileşiği N-Mea'nın PC-3 prostat kanseri hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, B₂O₃ ile kombinasyonunun ligand bileşiğinin antiproliferatif etkisini azalttığı tespit edilmiştir.

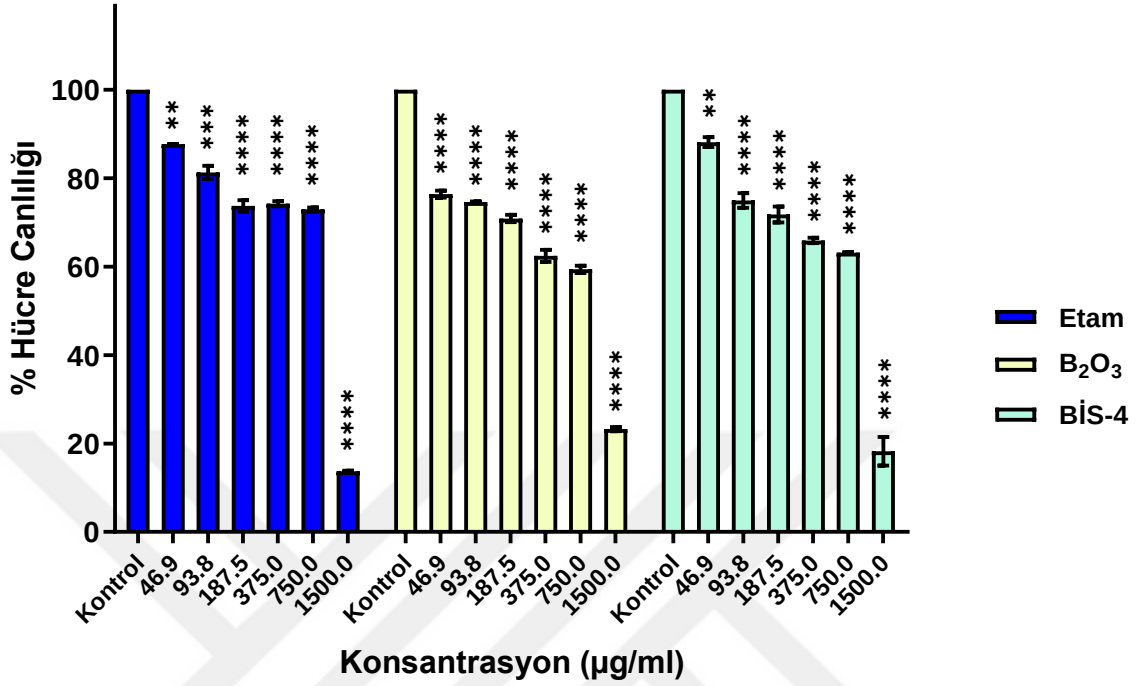
PC-3 24. Saat



Şekil 4.1.3. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.3.'te görüldüğü üzere PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra, hücre canlılığının doza bağımlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. Tüm konsantrasyonlarda bileşiklerin antiproliferatif etkisinin olduğu görülmektedir. Madde konsantrasyonu azaldıkça ise antiproliferatif etkinliğin azaldığı belirlenmiştir. Ligant bileşiği olan Apro, özellikle en yüksek konsantrasyon olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %25 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-3'in ise en yüksek konsantrasyonda hücre canlılık oranının %35 seviyesinde olduğu görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-3'ün PC-3 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında kontrol grupları ile kıyaslandığında antiproliferatif etkisinin daha az olduğu belirlenmiştir.

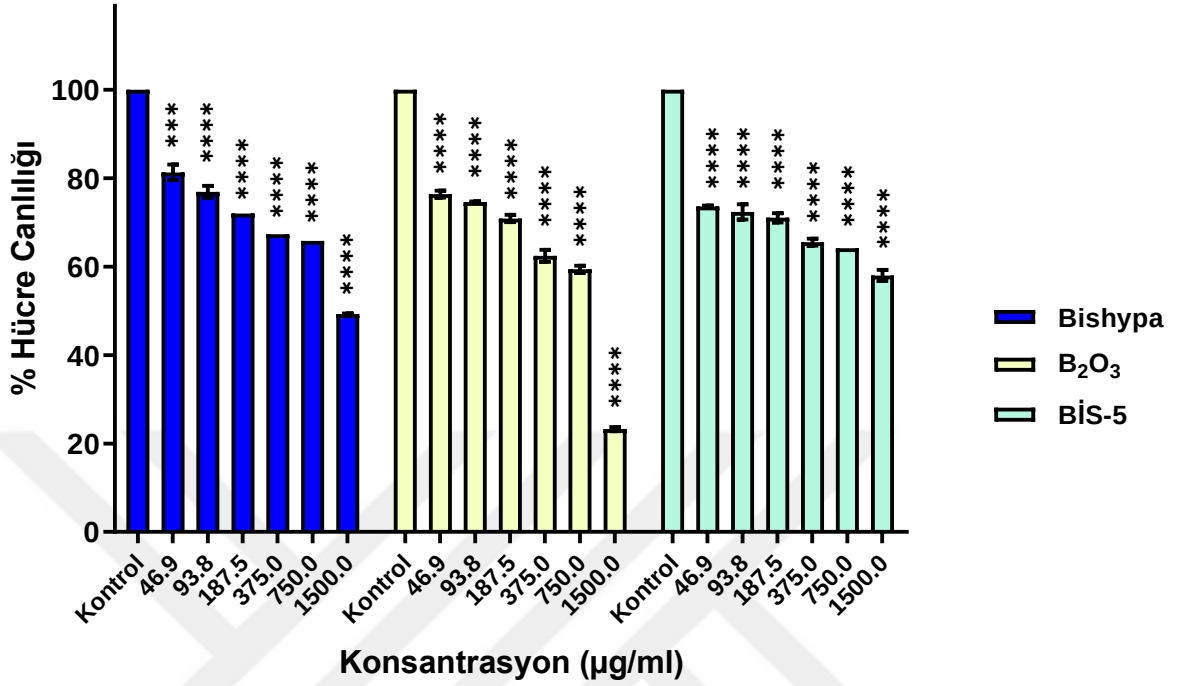
PC-3 24. Saat



Şekil 4.1.4. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.4.'te görüldüğü üzere PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Grafikte görüldüğü üzere negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin, tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Ligand bileşiği Etam, özellikle en yüksek doz olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %10 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-4, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %15 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Tüm bileşiklerde madde konsantrasyonu azaldıkça antiproliferatif etkinin azaldığı görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-4, ligand bileşiği Etam'dan 750 µg/ml ve 93.8 µg/ml konsantrasyonları arasında daha iyi antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir.

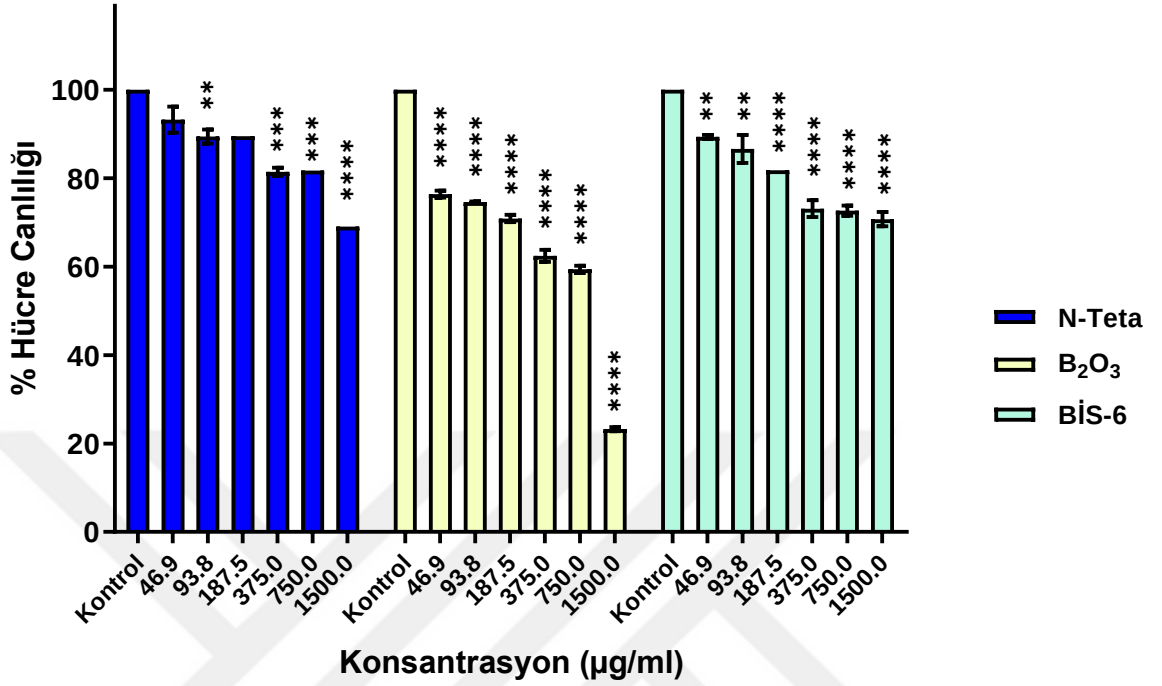
PC-3 24. Saat



Şekil 4.1.5. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.5.'te görüldüğü üzere PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Grafikte görüldüğü üzere negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin, tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Ligant bileşiği Bishypa'nın en yüksek doz olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %50 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-5, yüksek konsantrasyonlarda yaklaşık hücre canlılığını %60 seviyesine düşürdüğü görülmektedir. Tüm bileşiklerde madde konsantrasyonu azaldıkça antiproliferatif etkinin azaldığı görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-5'in PC-3 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında ligant bileşiği Bishypa ile kıyaslandığında düşük konsantrasyonlarda antiproliferatif etkisinin daha iyi olduğu görülmektedir.

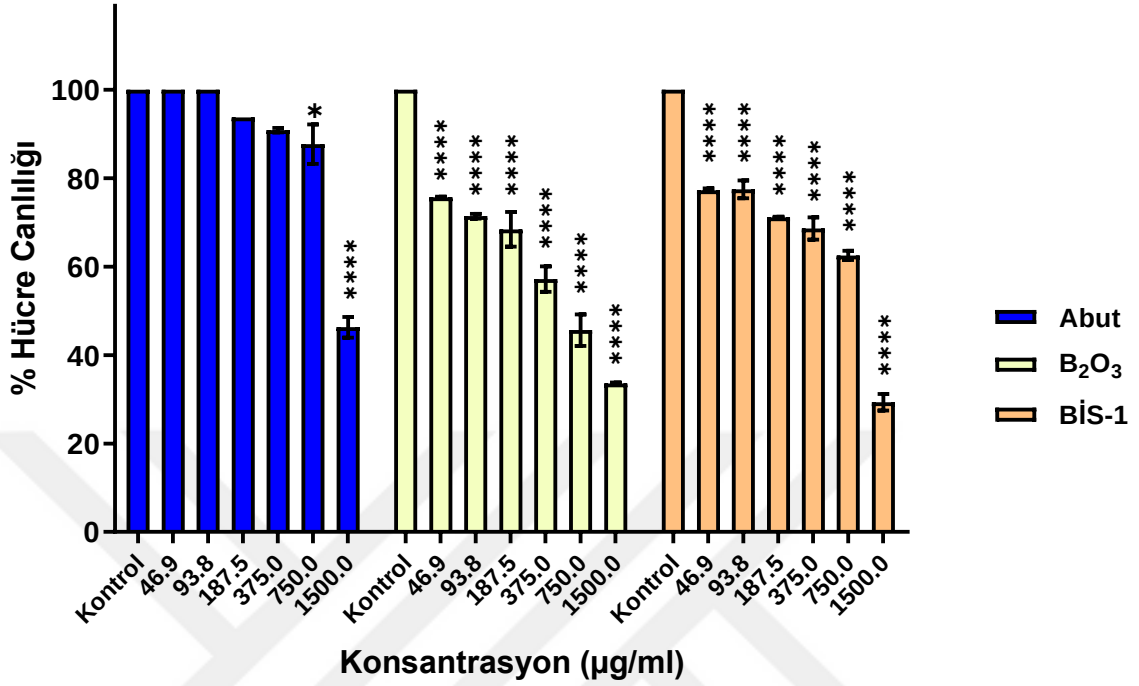
PC-3 24. Saat



Şekil 4.1.6. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.6.'da görüldüğü üzere PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Grafikte görüldüğü üzere ligand bileşiği, N-Teta en yüksek konsantrasyon olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %70 seviyesine düşürdüğü görülmektedir. Yine N-Teta bileşiğinin 375 ve 187.5 µg/ml dozları hariç diğer konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatiki olarak anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-6, tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığını doza bağımlı bir şekilde azalttığı görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-6'nın PC-3 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında ligant bileşiği N-Teta ile kıyaslandığında, antiproliferatif etkisinin daha iyi olduğu görülmektedir.

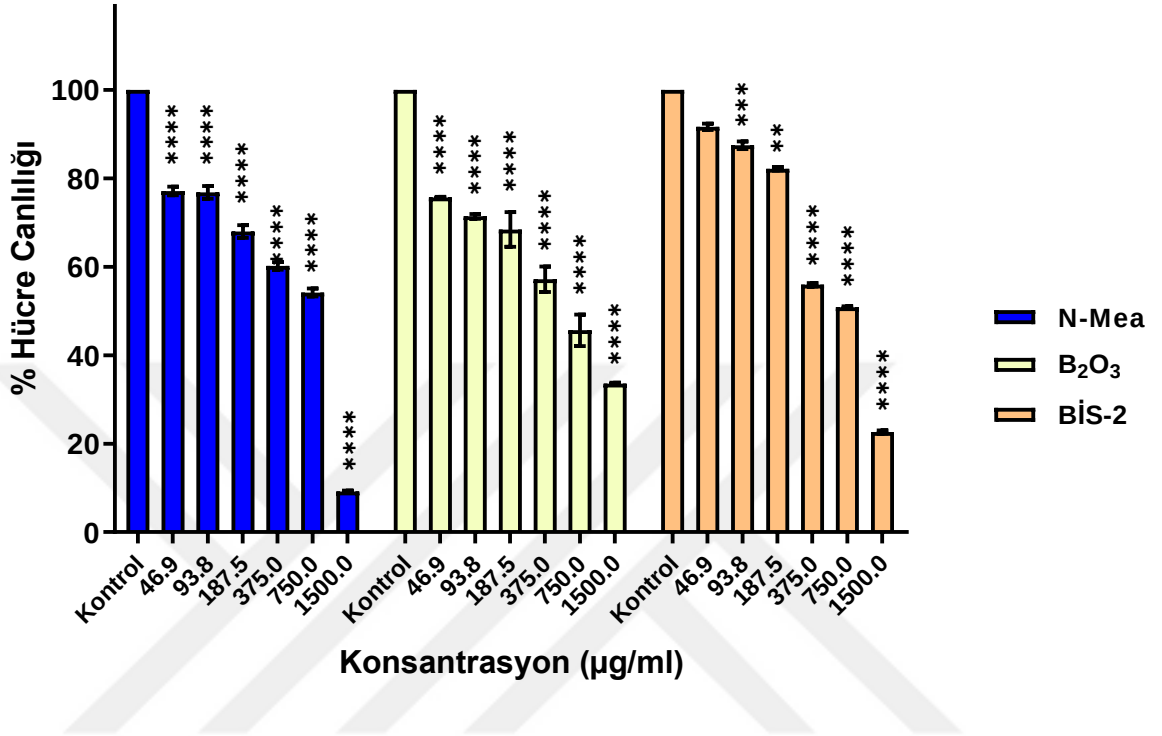
MCF-7 24. Saat



Şekil 4.1.7. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.7.'de görüldüğü üzere MCF-7 hücrelerinin, bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 24 saat sonra, hücre canlılığının doza bağımlı bir şekilde azaldığı görülmektedir. Ligand bileşiği olan Abut, en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %50 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Ancak Abut bileşiğinin son iki doz olan 93.8 µg/ml ve 46.9 µg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılık oranlarında doza bağlı bir azalmanın olmadığı ve uygulanan bu konsantrasyonlarda canlılık değerlerinin negatif kontrol ile aynı olduğu görülmektedir. Kontrol bileşiği B₂O₃, özellikle 750 µg/ml'lik dozdan sonra hücre canlılığını %45 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-1, en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %30 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Şekilde görüldüğü üzere, bileşikler özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) MCF-7 hücreleri üzerinde antiproliferatif etki göstermektedir. Konsantrasyon azaldıkça bileşiklerin etkinliğinin azaldığı ya da tamamen yok olduğu görülmektedir. Ayrıca, çıkış bileşiği olan BİS-1, ligand bileşiği Abut ile kıyaslandığında antiproliferatif etkisinin daha iyi olduğu görülmektedir.

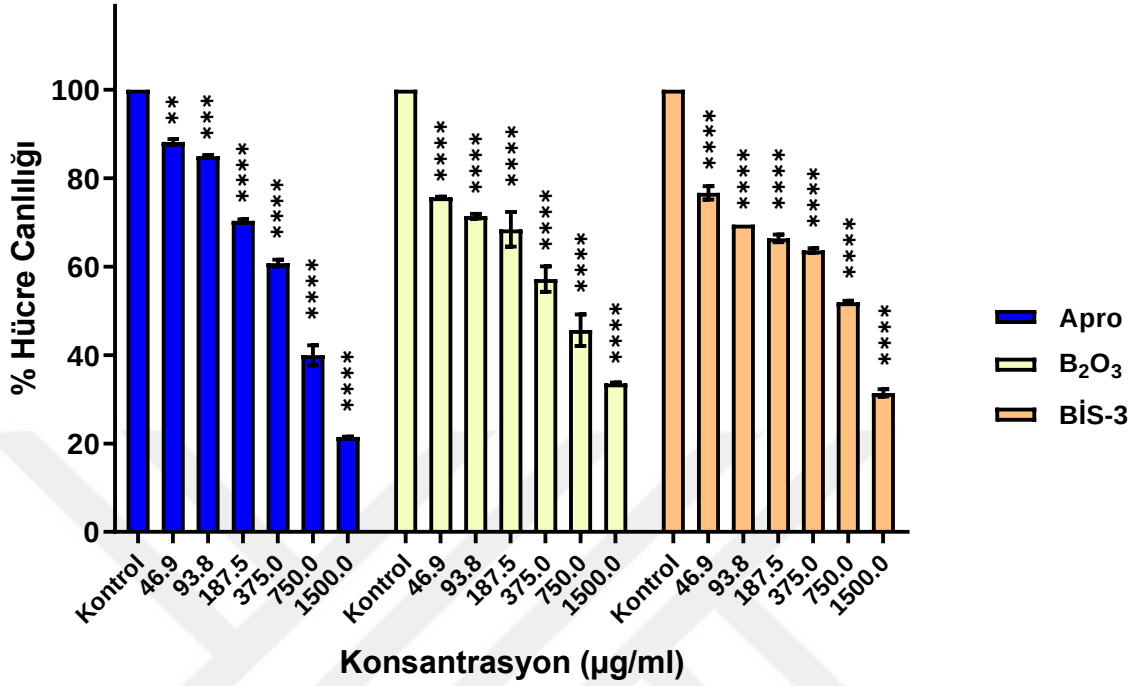
MCF-7 24. Saat



Şekil 4.1.8. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.8.'te görüldüğü üzere MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 24 saat sonra tüm konsantrasyonlarda maddelerin antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir. Ligant bileşiği olan N-Mea, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %10 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-2 ise uygulanan en yüksek 1500 µg/ml konsantrasyonunda hücre canlılığını %20 seviyesine kadar düşürmektedir. Konsantrasyon azaldıkça bileşiklerin etkinliğinin azaldığı görülmektedir. Ligand bileşiği N-Mea'nın MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, B₂O₃ ile kombinasyonunun ligand bileşiğinin antiproliferatif etkisini azalttığı tespit edilmiştir.

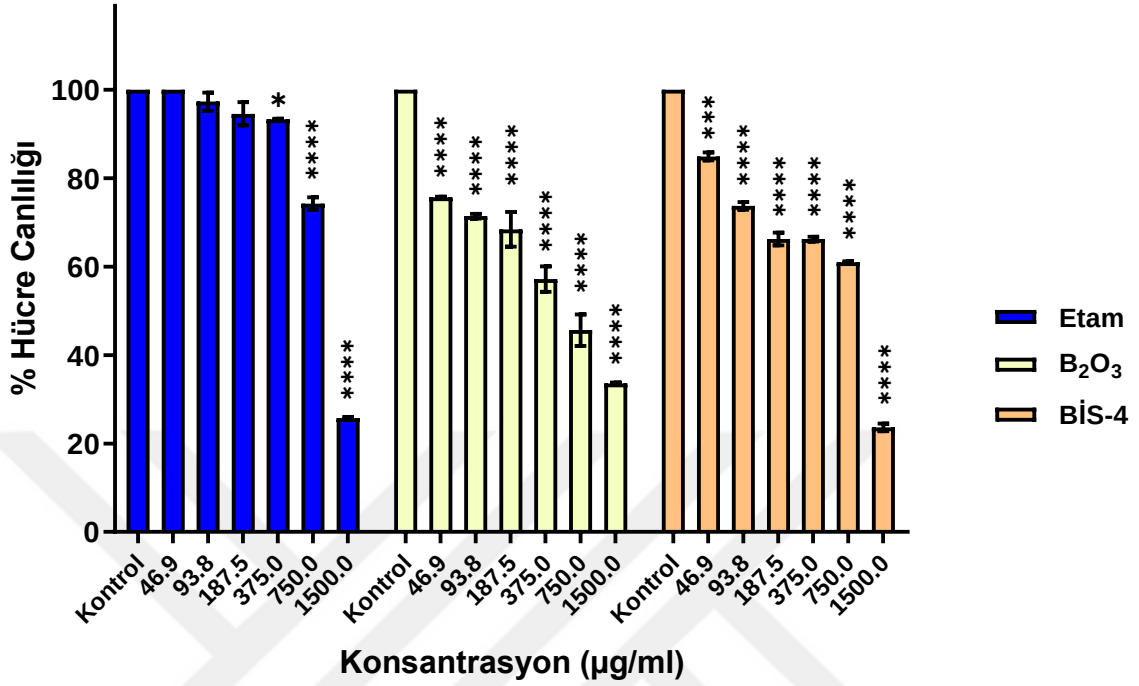
MCF-7 24. Saat



Şekil 4.1.9. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.9.'da MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Grafikte görüldüğü üzere bileşiklerin tüm konsantrasyonlarda antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir. Ligant bileşiği olan Apro, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %20 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-3 ise uygulanan en yüksek 1500 µg/ml konsantrasyonunda hücre canlılığını %30 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-3'ün MCF-7 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında ligant bileşiği Apro ile kıyaslandığında düşük konsantrasyonlarda daha etkili olduğu belirlenmiştir.

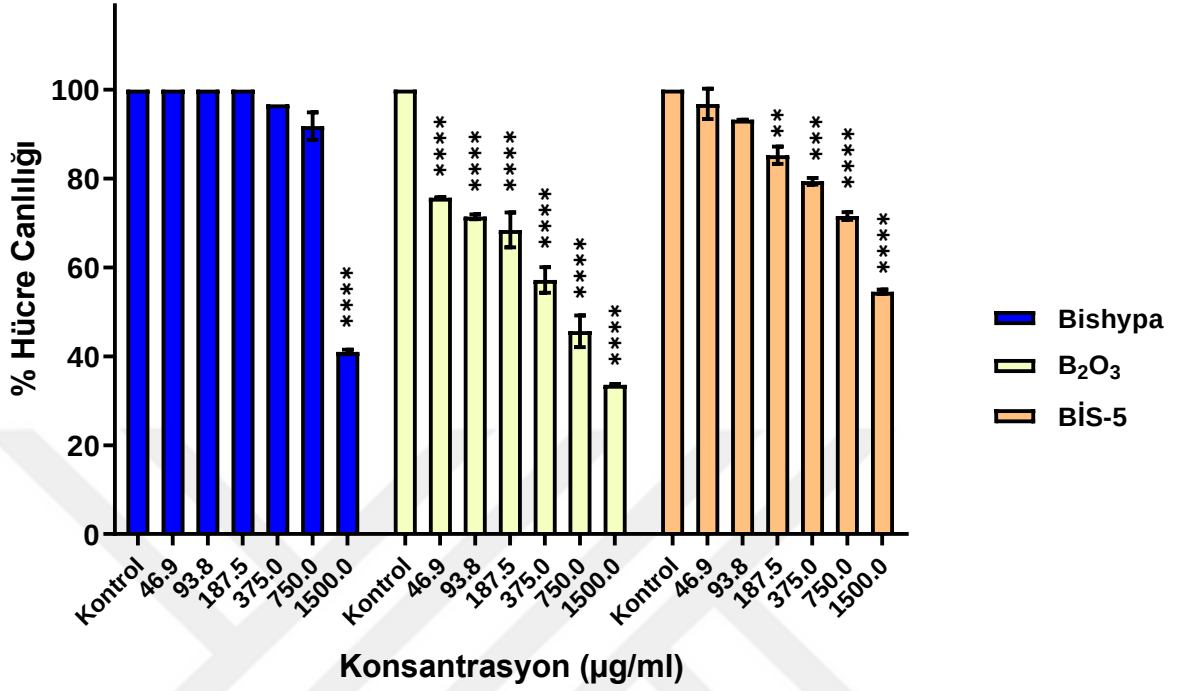
MCF-7 24. Saat



Şekil 4.1.10. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.10.'da MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Grafikte görüldüğü üzere, MCF-7 hücrelerinin ligand bileşiği Etam ile etkileşiminden 24 saat sonra en yüksek konsantrasyon olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %25 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine Etam bileşiğinin 750 ve 375 µg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılığında istatiki olarak anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Düşük konsantrasyonlarda ise hücre canlılık oranlarında doza bağlı bir azalmanın olmadığı ve uygulanan bu konsantrasyonlarda canlılık değerlerinin negatif kontrol ile aynı olduğu görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-4, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %23 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine çıkış bileşiği BİS-4'ün diğer tüm konsantrasyonlarda da antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-4'ün MCF-7 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında ligant bileşiği Etam ile kıyaslandığında antiproliferatif etkisinin daha iyi olduğu görülmektedir.

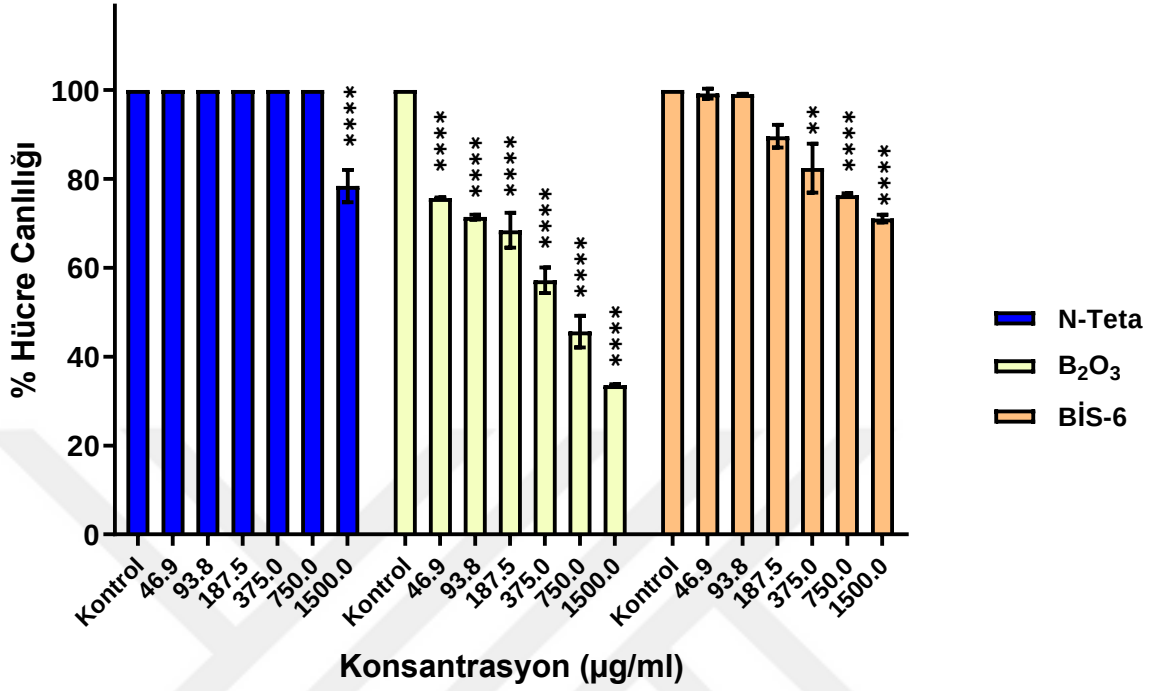
MCF-7 24. Saat



Şekil 4.1.11. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.11.'de MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Grafikte görüldüğü üzere, ligand bileşiği olan Bishypa, en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %40 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Ancak Bishypa bileşiğinin 750 µg/ml dozundan sonra hücre canlılık oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olmadığı ve düşük konsantrasyonlarda canlılık değerlerinin negatif kontrol ile aynı olduğu görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-5, en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %55 seviyesine düşürdüğü görülmektedir. Şekilde görüldüğü üzere, bileşikler özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) MCF-7 hücreleri üzerinde antiproliferatif etki göstermektedir. Konsantrasyon azaldıkça bileşiklerin etkinliğinin azaldığı ya da tamamen yok olduğu görülmektedir. Ayrıca, çıkış bileşiği olan BİS-5, ligand bileşiği Bishypa ile kıyaslandığında en yüksek konsantrasyon (1500 µg/ml) hariç daha iyi antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir.

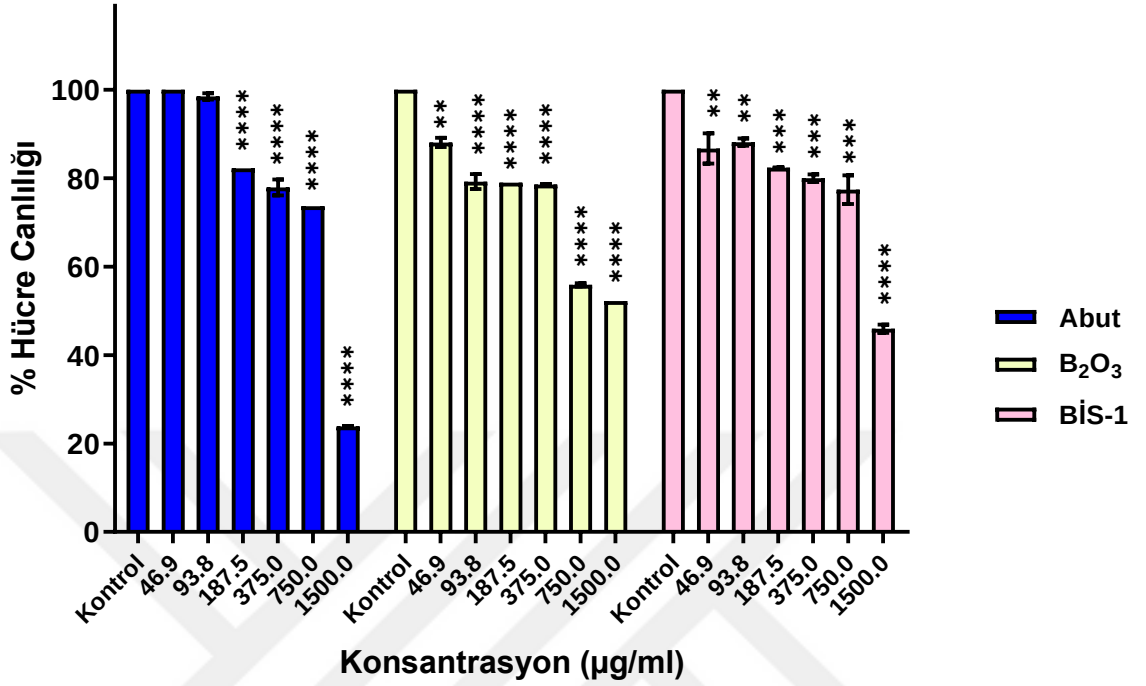
MCF-7 24. Saat



Şekil 4.1.12. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.12.'de MCF-7 hücrelerinin, ligant bileşiği N-Teta ile 24 saat etkileşiminden sonra uygulanan en yüksek 1500 µg/ml konsantrasyonda hücre canlılığının yaklaşık %75 seviyesinde olduğu görülmektedir. Yine ligant bileşiği N-Teta'nın 750-46.9 µg/ml arası değişen konsantrasyonlarda, hücre canlılık oranlarında doza bağlı bir azalmanın olmadığı ve uygulanan bu konsantrasyonlarda canlılık değerlerinin negatif kontrol ile aynı olduğu görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-6'nın ise en yüksek konsantrasyonda 1500 µg/ml'de canlılık oranının %70 seviyesinde olduğu görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-6'nın, MCF-7 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, ligant bileşiği N-Teta'dan daha iyi antiproliferatif etki gösterdiği tespit edilmiştir.

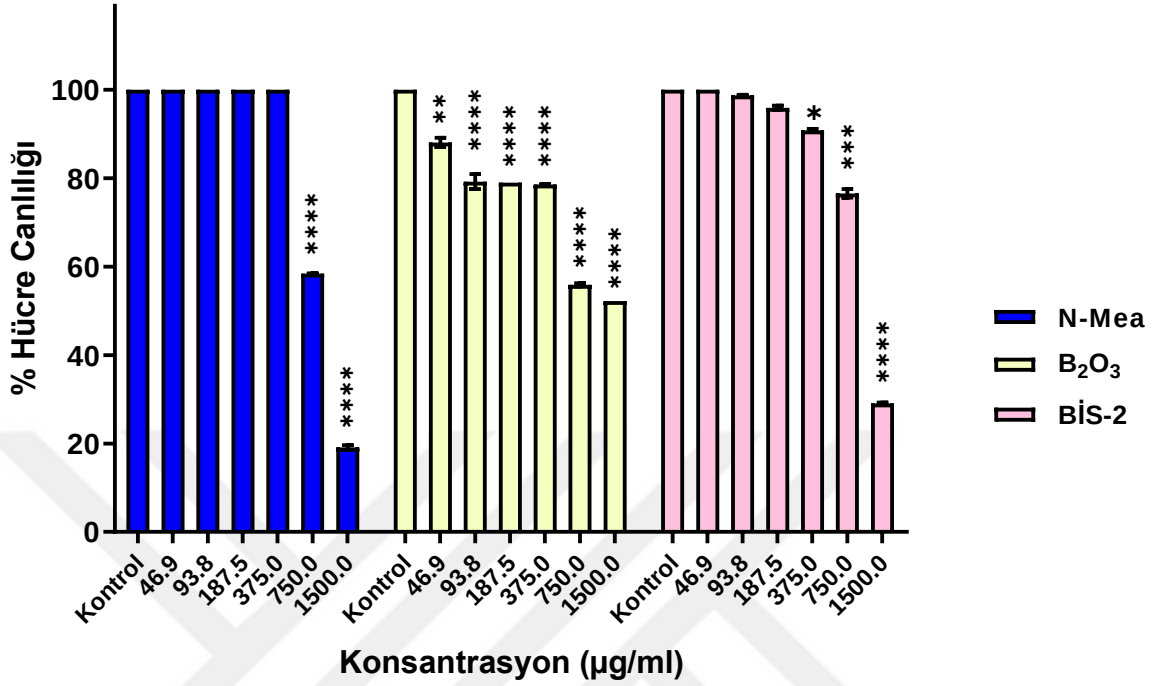
HT-29 24. Saat



Şekil 4.1.13. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.13.'te HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, ligand bileşiği olan Abut, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %23 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Kontrol bileşiği B₂O₃, en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %50 seviyesine kadar düşürmektedir. Yine B₂O₃ bileşiği, diğer konsantrasyonlarda ise hücre canlılığını %80 civarında etkilemektedir. Çıkış bileşiği BİS-1 ise tüm konsantrasyonlarda, hücre canlılığını doza bağımlı bir şekilde azalttığı görülmektedir. BİS-1, en yüksek konsantrasyonda hücre canlılığını %45 seviyesine kadar düşürmektedir. Madde konsantrasyonu azaldıkça antiproliferatif etkinin azaldığı görülmektedir.

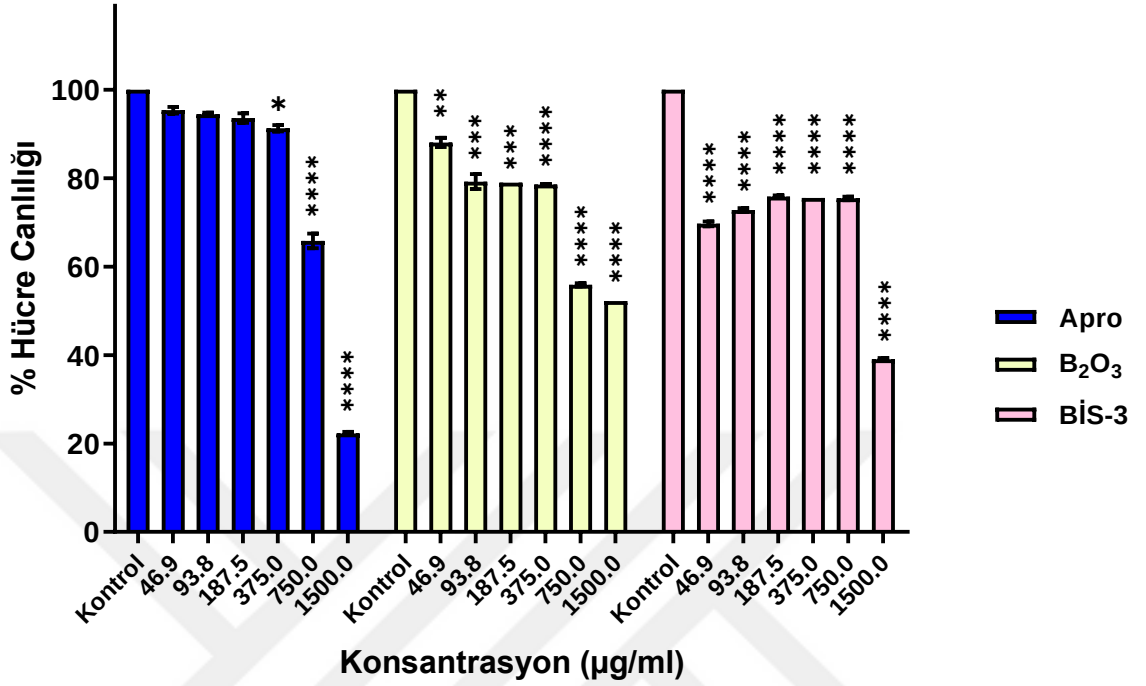
HT-29 24. Saat



Şekil 4.1.14. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P 0.0001; ***P 0.0005; **P 0.01; *P 0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.14.'te HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir.  ekilde görüldüğü üzere, HT-29 hücrelerinin, ligant bileşiği N-Mea ile etkileşiminden sonra uygulanan en yüksek 1500  g/ml konsantrasyonda hücre canlılığını yaklaşık %20 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine ligant bileşiği N-Mea'nın 375-46.9  g/ml arası değişen konsantrasyonlarda, hücre canlılık oranlarında doza bağlı bir azalmanın olmadığı ve uygulanan bu konsantrasyonlarda canlılık değerlerinin negatif kontrol ile aynı olduğu görülmektedir.  ıkı  bileşiği BİS-2 ise 375  g/ml ve üzeri konsantrasyonlarda hücre canlılığını istatiki olarak anlamlı bir şekilde azalttığı görülmektedir. BİS-2, uygulanan en yüksek konsantrasyonda (1500  g/ml) hücre canlılığını %30 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine BİS-2 bileşiğinin 187.5-46.9  g/ml konsantrasyonlarda hücre canlılığında anlamlı bir azalma göstermediği görülmektedir.

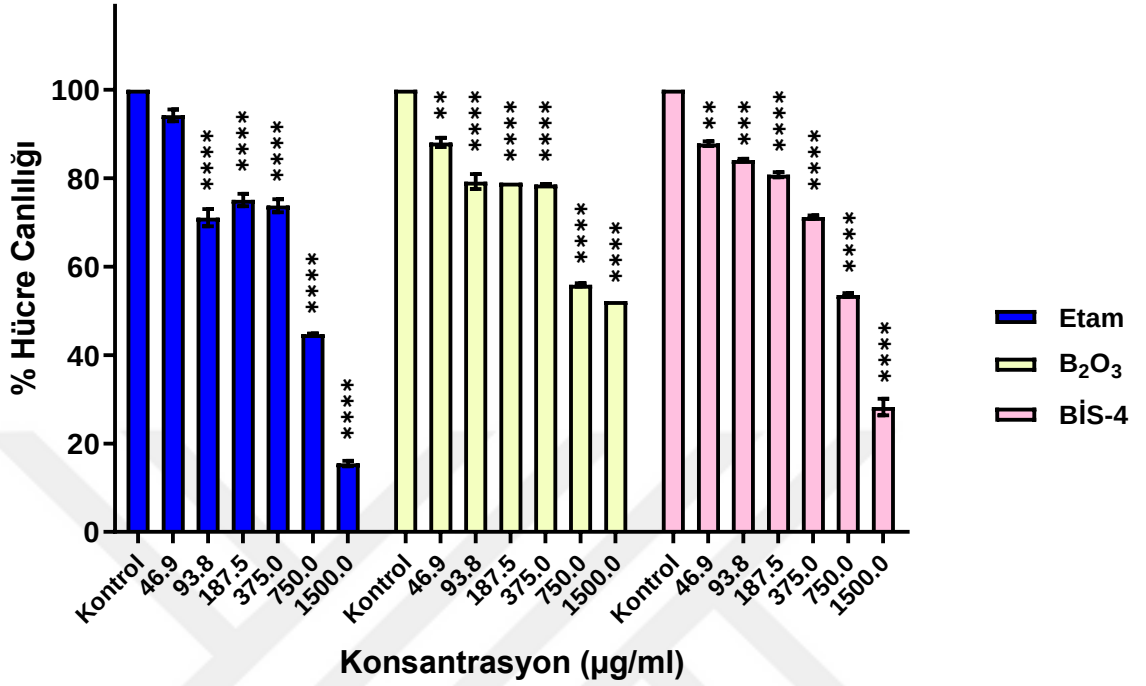
HT-29 24. Saat



Şekil 4.1.15. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.15.'te HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, HT-29 hücreleri ligand bileşiği Apro ile etkileşiminden sonra uygulanan en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %22 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine Apro bileşiğinin 187.5-46.9 µg/ml konsantrasyonları arasında hücre canlılığında istatistiki olarak anlamlı bir azalma göstermediği görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-3, 750-46.9 µg/ml konsantrasyonları arasında hücre canlılık oranlarının yaklaşık %75 seviyesinde olduğu görülmektedir. Uygulanan en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) ise hücre canlılığının %40 seviyesine kadar düştüğü görülmektedir. Ayrıca, çıkış bileşiği olan BİS-3, ligand bileşiği Apro ile kıyaslandığında en yüksek ilk iki konsantrasyon (1500-750 µg/ml) hariç daha iyi antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir.

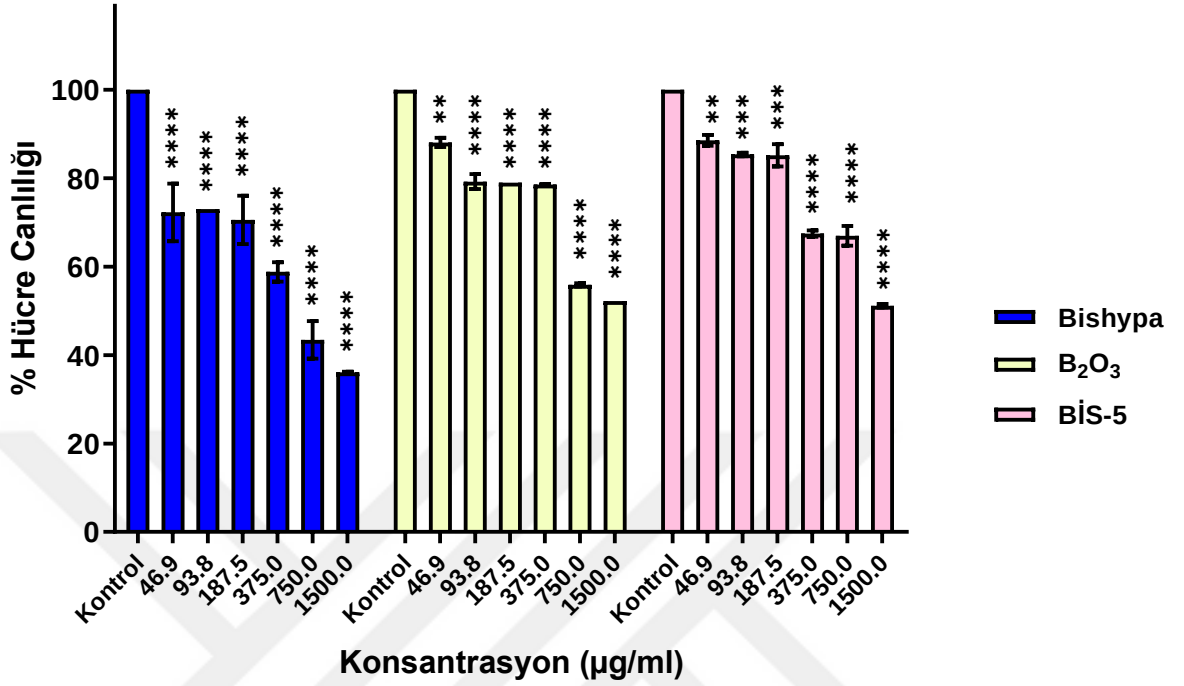
HT-29 24. Saat



Şekil 4.1.16. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.16.'da HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere HT-29 hücreleri ligand bileşiği Etam ile etkileşiminden sonra, 93.8 µg/ml ve üzeri konsantrasyonlarda hücre canlılığının istatistiki olarak anlamlı biçimde azaldığı görülmektedir. Özellikle 750 µg/ml'lik dozdan sonra hücre canlılığının %45'in altına düştüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-4, tüm konsantrasyonlarda istatistiki olarak anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Özellikle uygulanan en yüksek konsantrasyonda ise hücre canlılığını %30 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir.

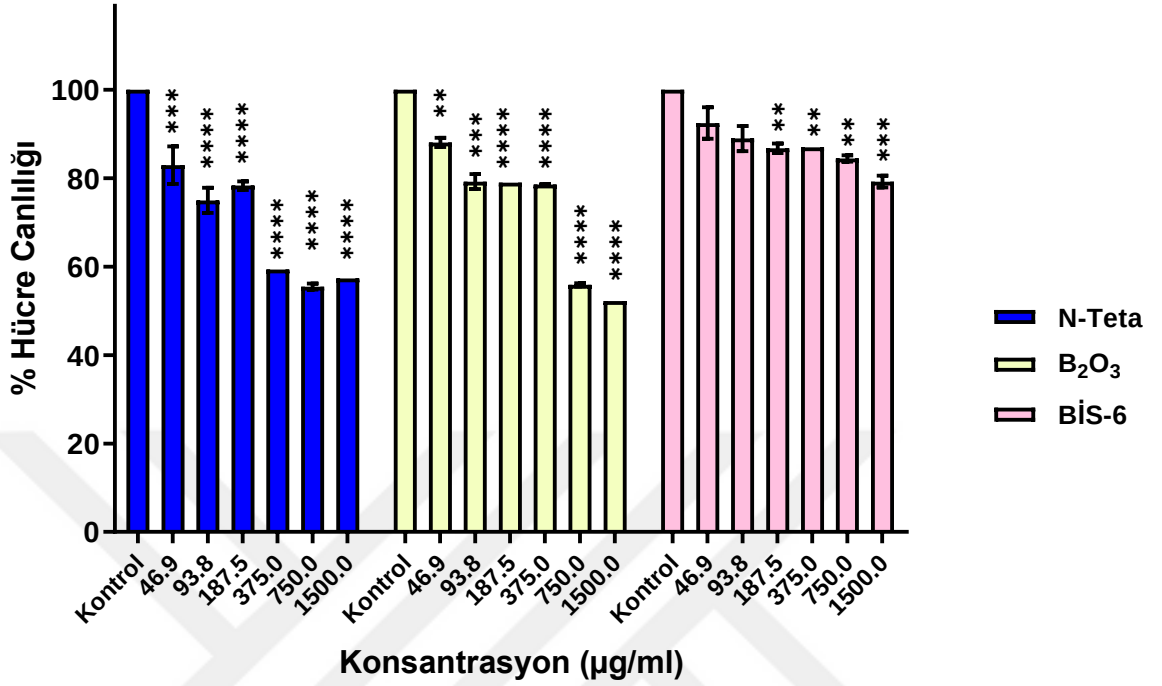
HT-29 24. Saat



Şekil 4.1.17. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.17.'de HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere ligand bileşiği Bishypa, uygulanan en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %36 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Ligand bileşiği Bishypa'nın HT-29 kolon kanseri hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, B₂O₃ ile kombinasyonunun ligand bileşiğinin antiproliferatif etkisini azalttığı tespit edilmiştir.

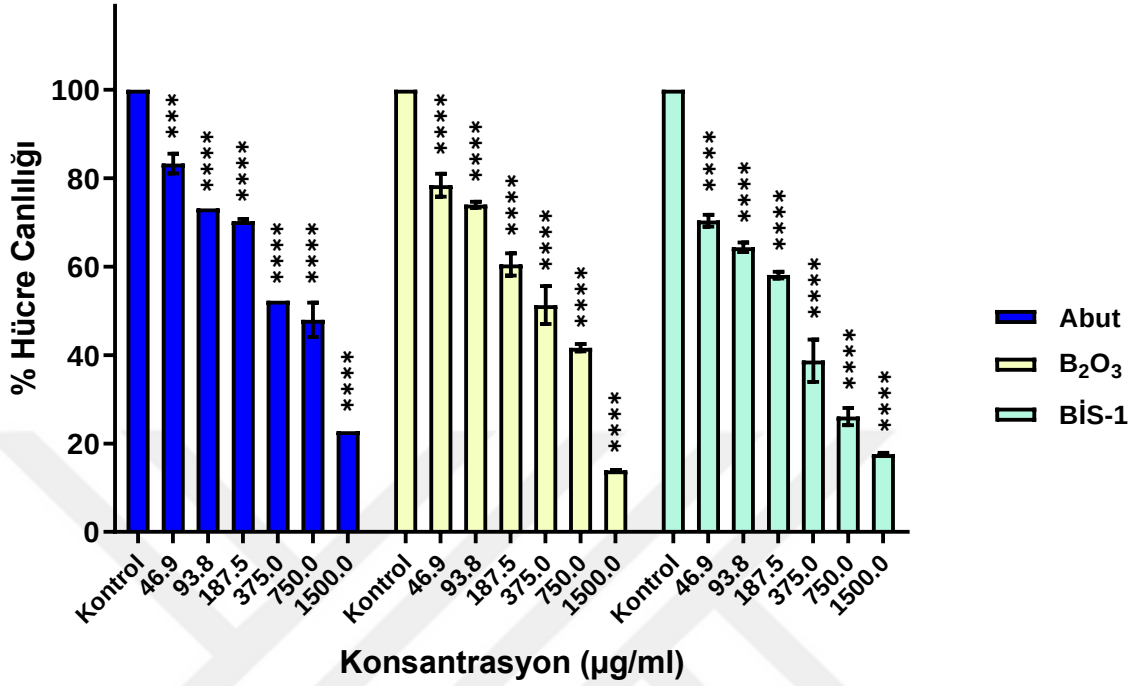
HT-29 24. Saat



Şekil 4.1.18. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.18.'de görüldüğü üzere, HT-29 hücreleri ligant bileşiği N-Teta ile etkileşiminden 24 saat sonra, en yüksek üç konsantrasyonda (1500, 750 ve 375 µg/ml) hücre canlılık oranlarının yaklaşık %55 seviyesinde olduğu görülmektedir. Diğer konsantrasyonlarda ise hücre canlılığının yaklaşık %80 civarında olduğu görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-6'da ise uygulanan en yüksek konsantrasyonda hücre canlılığında istatiki olarak anlamlı bir azalma olmadığı görülmektedir. Uygulanan en düşük konsantrasyonda ise hücre canlılığını %65 seviyesine düşürdüğü görülmektedir. Diğer konsantrasyonlarda ise hücre canlılığının yaklaşık %85 civarında olduğu görülmektedir. Ligand bileşiği N-Teta'nın HT-29 kolon kanseri hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, B₂O₃ ile kombinasyonunun ligand bileşiğinin antiproliferatif etkisini azalttığı tespit edilmiştir.

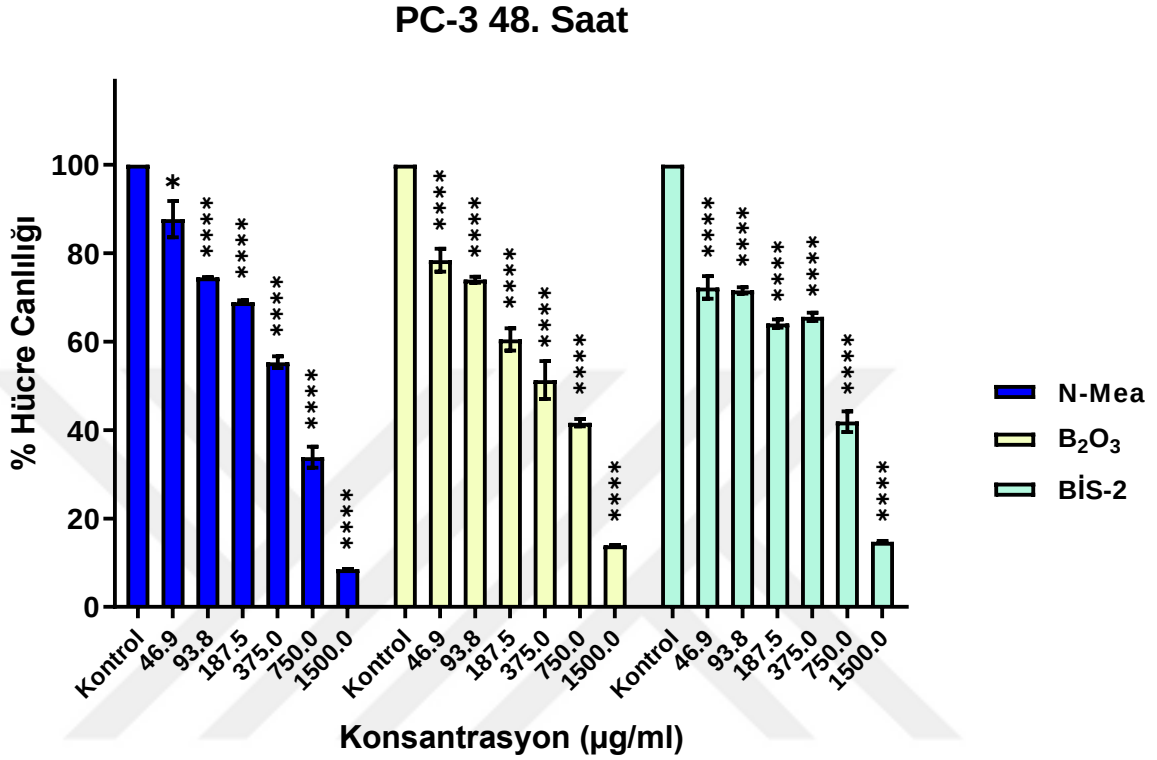
PC-3 48. Saat



Şekil 4.1.19. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.0005 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.19.' da görüldüğü üzere, PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 48 saat sonra, negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin, tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Ligand bileşiği olan Abut, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %23 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine Abut bileşiğinin 750 µg/ml ve 375 µg/ml arası değişen konsantrasyonlarında hücre canlılık seviyesini %50'lere kadar düşürdüğü görülmektedir. Kontrol bileşiği B₂O₃, özellikle en yüksek doz olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %14 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-1, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %18 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine çıkış bileşiği BİS-1'in 750 µg/ml ve 375 µg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılık seviyesini sırası ile %25 ve %40'a kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-1'in, PC-3 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne

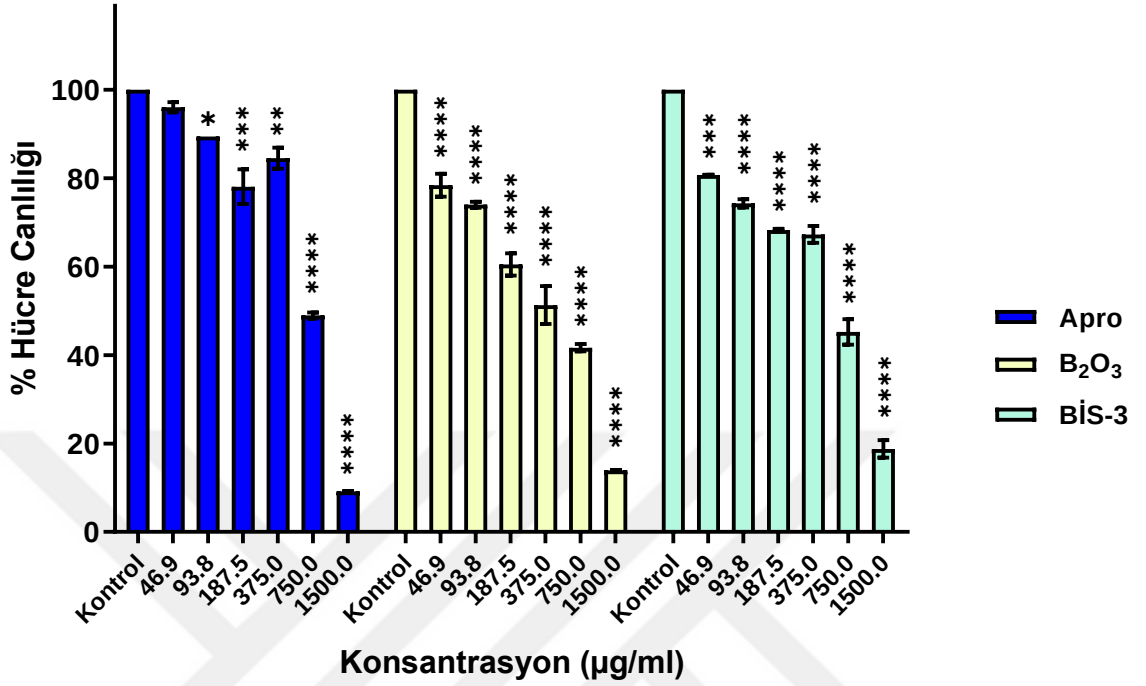
alındığında ligand bileşiği Abut ile kıyaslandığında antiproliferatif etkisinin daha iyi olduğu görülmektedir.



Şekil 4.1.20. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.20.'de PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, PC-3 hücrelerinin ligand bileşiği N-Mea ile etkileşiminden 48 saat sonra, negatif kontrol ile kıyaslandığında tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Ligand bileşiği olan N-Mea, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %10 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-2, özellikle 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %15 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Konsantrasyon azaldıkça bileşiklerin etkinliğinin azaldığı görülmektedir. Ayrıca, BİS-2 bileşiğinin PC-3 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, kontrol grupları ile kıyaslandığında düşük konsantrasyonlarda daha etkili olduğu belirlenmiştir.

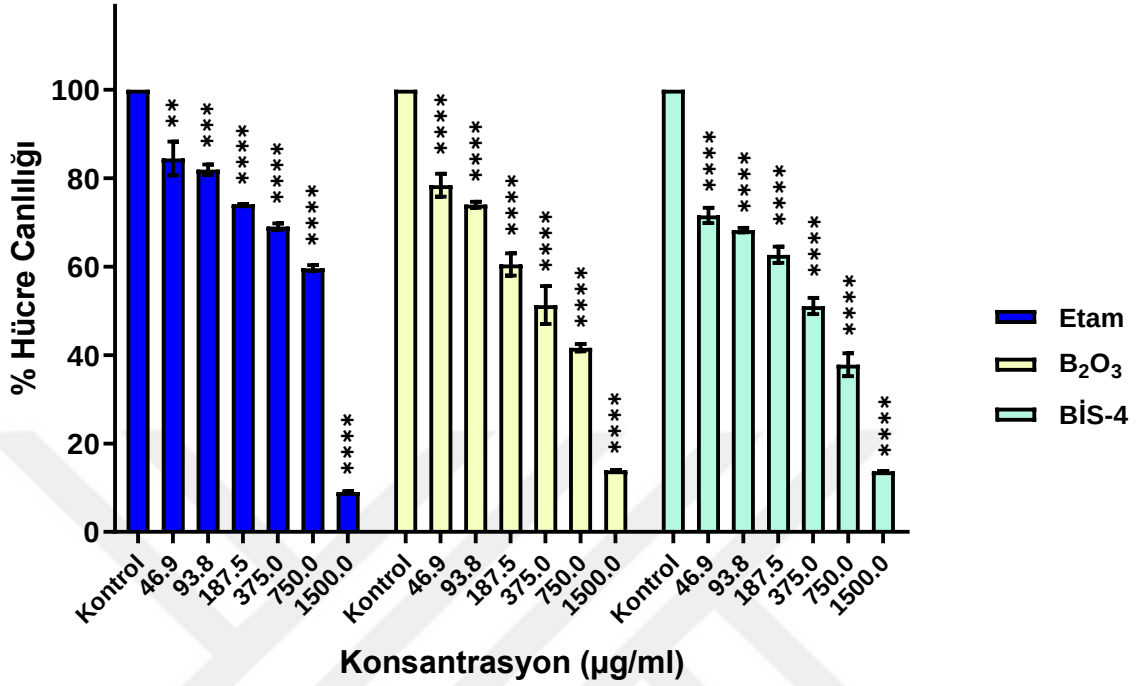
PC-3 48. Saat



Şekil 4.1.21. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.21.'de PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, PC-3 hücrelerinin ligand bileşiği Apro ile etkileşiminden 48 saat sonra özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %10 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine Apro bileşiğinde, konsantrasyon azaldıkça bileşiğin etkinliğinin azaldığı görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-3, negatif kontrol ile kıyaslandığında tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %20 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-3'ün, PC-3 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında ligand bileşiği Abut ile kıyaslandığında, en yüksek konsantrasyon (1500 µg/ml) hariç daha iyi antiproliferatif aktivite gösterdiği görülmektedir.

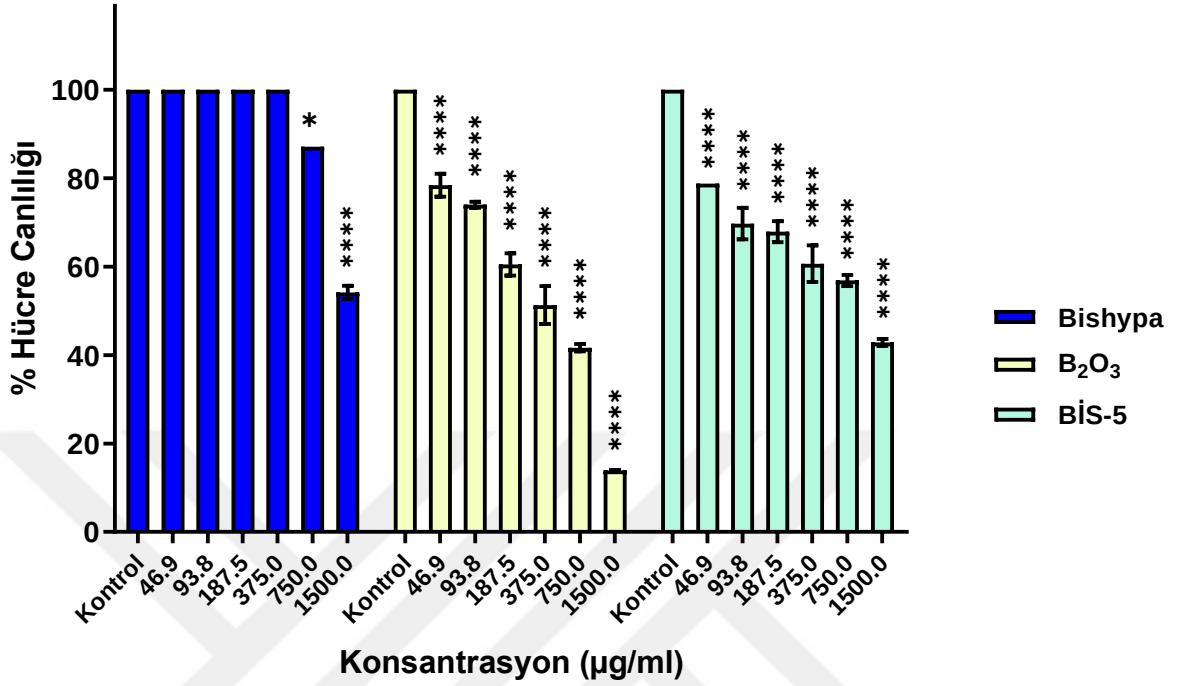
PC-3 48. Saat



Şekil 4.1.22. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.22.' de görüldüğü üzere, PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 48 saat sonra, negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin, tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Ligand bileşiği olan Etam, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %10 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-4, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %13 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine çıkış bileşiği BİS-4'ün 750 µg/ml ve 375 µg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılık seviyesini sırası ile %40 ve %50 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-4'ün, PC-3 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında ligant bileşiği Etam ile kıyaslandığında en yüksek konsantrasyon olan 1500 µg/ml hariç daha iyi antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir.

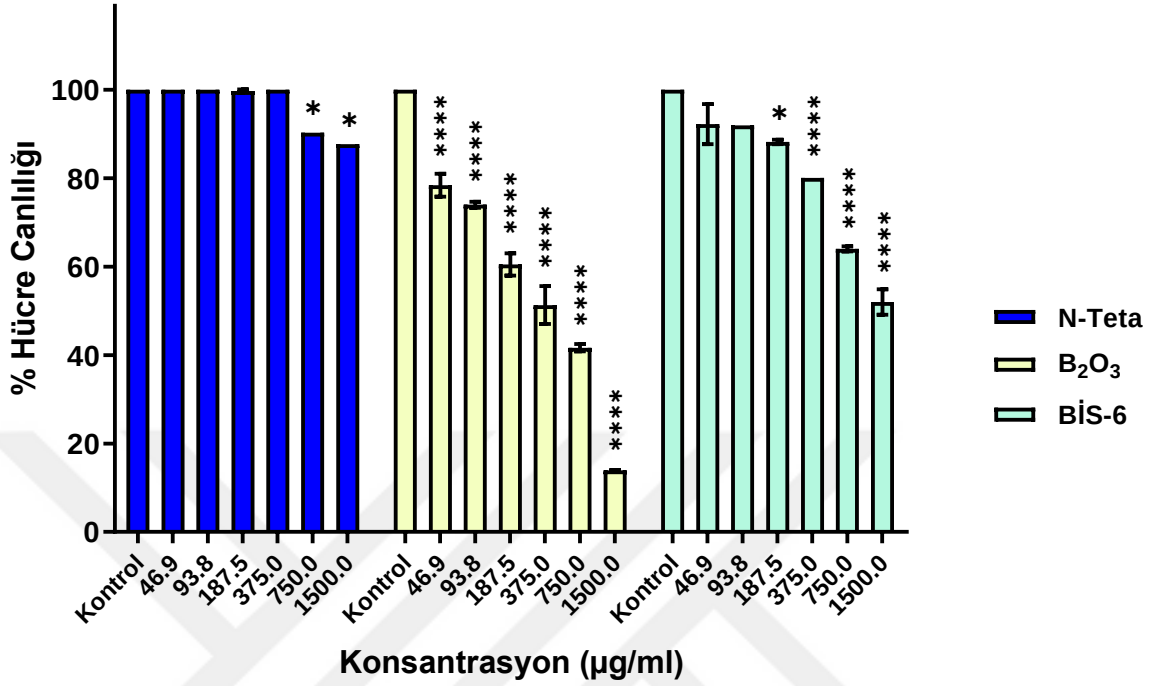
PC-3 48. Saat



Şekil 4.1.23. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.23.'te PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, PC-3 hücrelerinin ligand bileşiği Bishypa ile etkileşiminden 48 saat sonra en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %50 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Diğer konsantrasyonlarda ise 375 µg/ml hariç, hücre canlılık oranlarında doza bağlı bir azalmanın olmadığı ve uygulanan bu konsantrasyonlarda canlılık değerlerinin negatif kontrol ile aynı olduğu görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-5, en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %40 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-5'in, PC-3 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında ligand bileşiği Bishypa ile kıyaslandığında antiproliferatif etkisinin daha iyi olduğu görülmektedir.

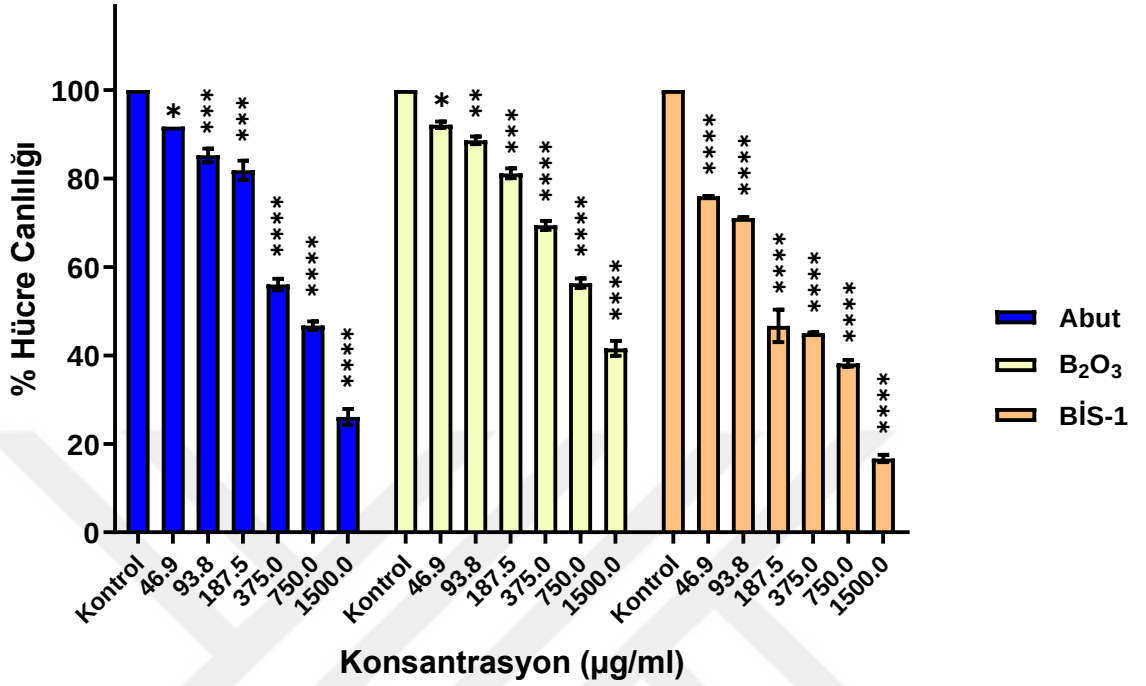
PC-3 48. Saat



Şekil 4.1.24. PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.24.'de PC-3 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, PC-3 hücrelerinin ligand bileşiği N-Teta ile etkileşiminden 48 saat sonra 1500 µg/ml ve 375 µg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılığında istatiki olarak anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Yine N-Teta bileşiğinin, diğer değişen konsantrasyonlarında hücre canlılık oranlarında doza bağlı bir azalmanın olmadığı ve uygulanan bu konsantrasyonlarda canlılık değerlerinin negatif kontrol ile aynı olduğu görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-6, en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %50 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-6'nın PC-3 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında ligand bileşiği N-Teta ile kıyaslandığında antiproliferatif etkisinin daha iyi olduğu görülmektedir.

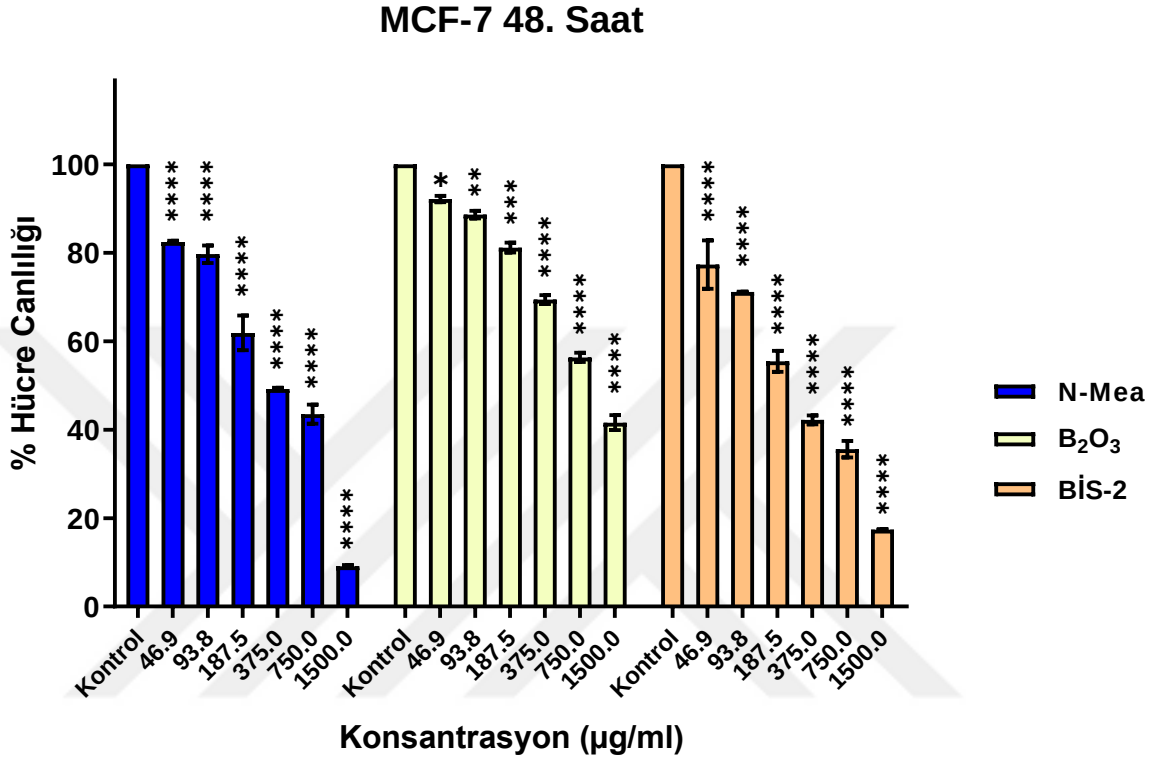
MCF-7 48. Saat



Şekil 4.1.25. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.25.'de görüldüğü üzere, MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 48 saat sonra, negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin, tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı bir şekilde anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Ligand bileşiği olan Abut, en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %23 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine Abut bileşiğinin 750 µg/ml ve 375 µg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılık seviyesini %50'lere kadar düşürdüğü görülmektedir. Kontrol bileşiği B₂O₃, en yüksek doz olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %40 seviyesine kadar düşürdüğünü, diğer dozlarda ise konsantrasyon azaldıkça antiproliferatif aktivitenin azaldığı görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-1, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %17 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine çıkış bileşiği TİLB-1'in 750-187.5 µg/ml konsantrasyonları arasında hücre canlılık seviyesini %45'lere kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-1'in, MCF-7 hücreleri

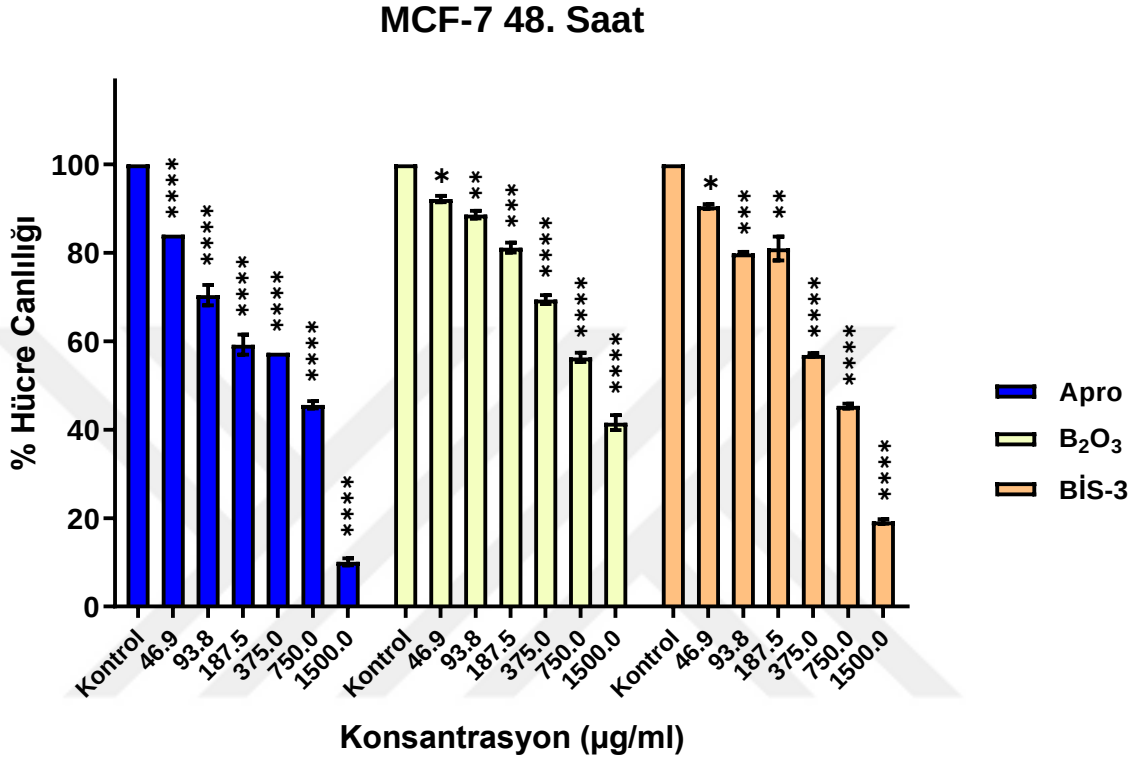
üzerindeki etkisi göz önüne alındığında tüm konsantrasyonlarda ligand bileşiği olan Abut'dan daha iyi antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir.



Şekil 4.1.26. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.26.'da görüldüğü üzere, MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 48 saat sonra, negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin, tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı bir şekilde anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Ligand bileşiği olan N-Mea, özellikle en yüksek doz olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %10 seviyesine kadar düşürmektedir. Yine N-Mea bileşiği, 750 ve 375 µg/ml'de hücre canlılığını %50'lere kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-2, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %13 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine çıkış bileşiği BİS-2'nin 750 µg/ml ve 375 µg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılık seviyesini sırası ile %40 ve %50'lerde olduğu görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-2'nin, MCF-7 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne

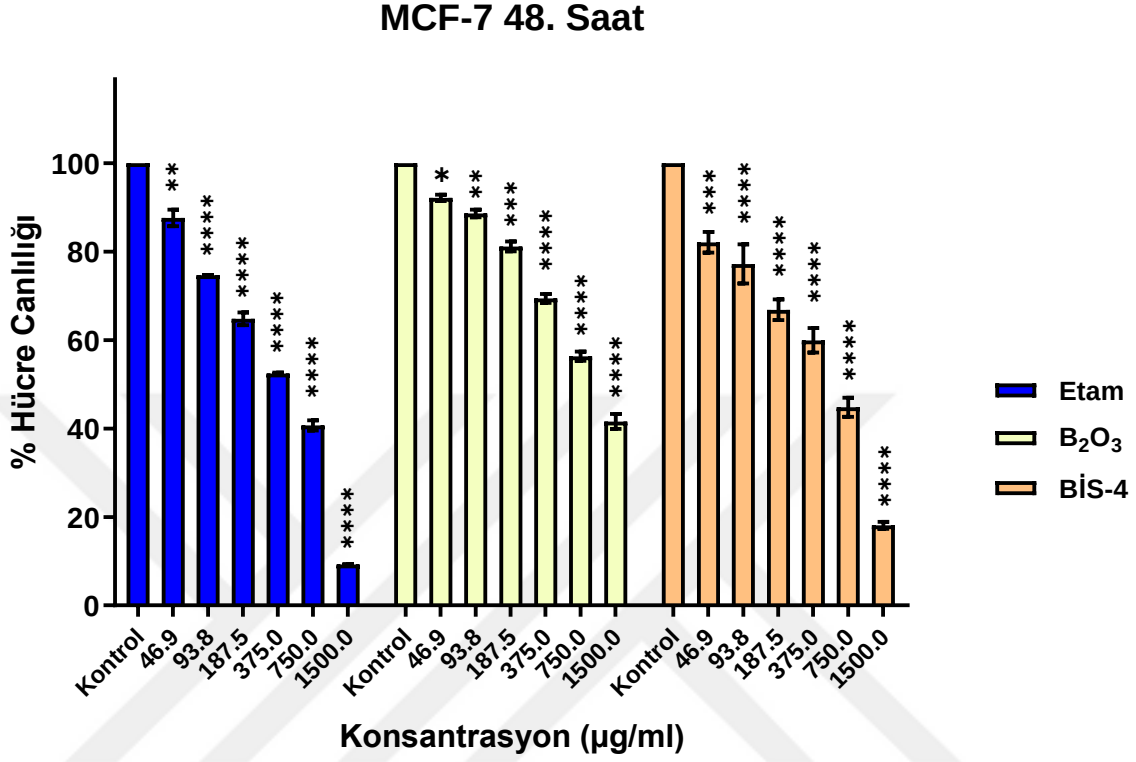
alındığında ligand bileşiği N-Mea ile kıyaslandığında en yüksek konsantrasyon olan 1500 µg/ml hariç daha iyi antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir.



Şekil 4.1.27. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.27.'de MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, MCF-7 hücrelerinin ligand bileşiği Apro ile etkileşiminden 48 saat sonra, negatif kontrol ile kıyaslandığında tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Apro bileşiği özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %10 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-3'ün, en yüksek doz olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %20 seviyesine kadar düşürdüğünü, diğer dozlarda ise konsantrasyon azaldıkça antiproliferatif aktivitenin azaldığı görülmektedir. Ligand bileşiği Apro'nun MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne

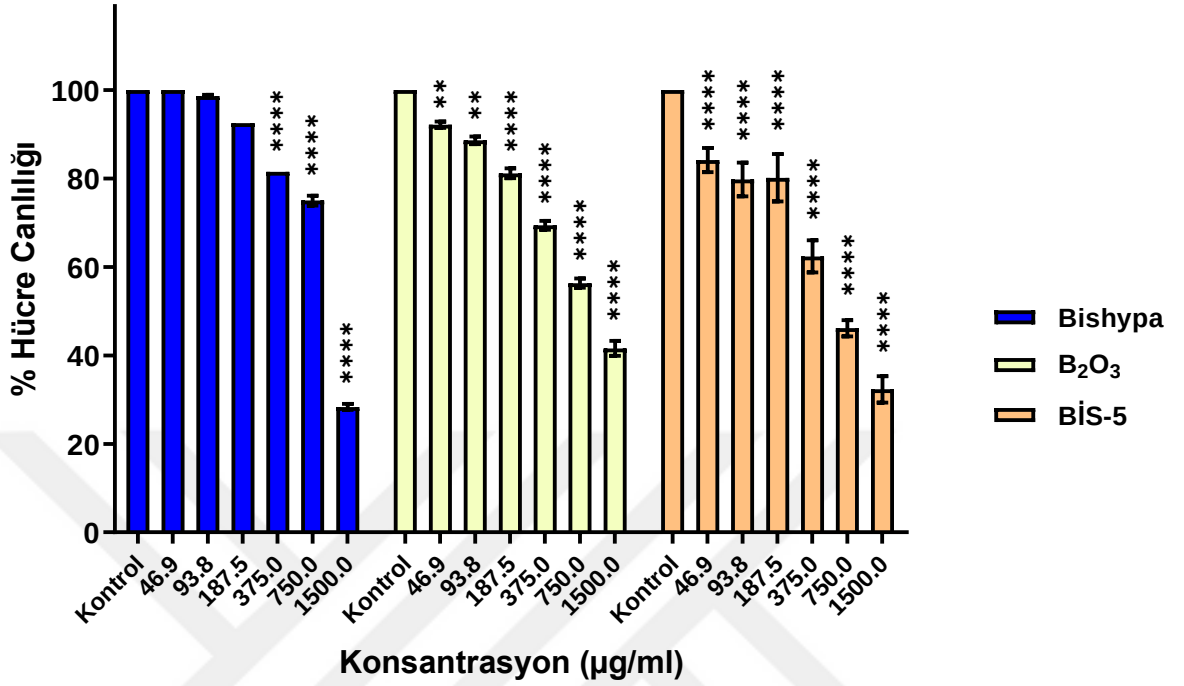
alındığında, B₂O₃ ile kombinasyonunun ligand bileşiğinin antiproliferatif etkisini azalttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.1.28. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.28.'te görüldüğü üzere, MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 48 saat sonra, negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin, tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı şekilde anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Ligand bileşiği olan Etam, en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %10 seviyelerine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine ligand bileşiği Etam, 750 µg/ml ve 375 µg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılık seviyesini sırası ile %40 ve %50'lere kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-4, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %18 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Ligand bileşiği Etam'ın MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, B₂O₃ ile kombinasyonunun ligand bileşiğinin antiproliferatif etkisini azalttığı tespit edilmiştir.

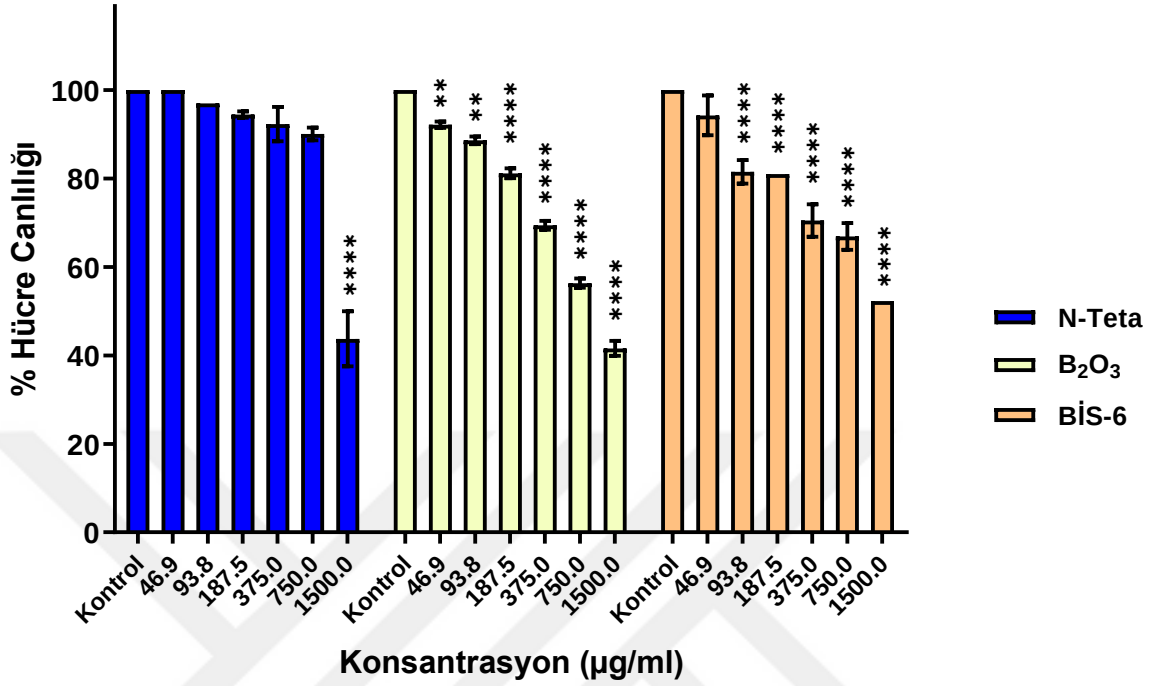
MCF-7 48. Saat



Şekil 4.1.29. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.29.'da MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, MCF-7 hücrelerinin ligand bileşiği Bishypa ile etkileşiminden 48 saat sonra en yüksek konsantrasyon olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %30 seviyesine kadar düşürmektedir. Madde konsantrasyonu azaldıkça antiproliferatif etkinin azaldığı ya da tamamen yok olduğu görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-5, en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %35 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine çıkış bileşiği BİS-5'in diğer tüm konsantrasyonlarda da antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-5'in MCF-7 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında ligand bileşiği Bishypa ile kıyaslandığında antiproliferatif etkisinin daha iyi olduğu belirlenmiştir.

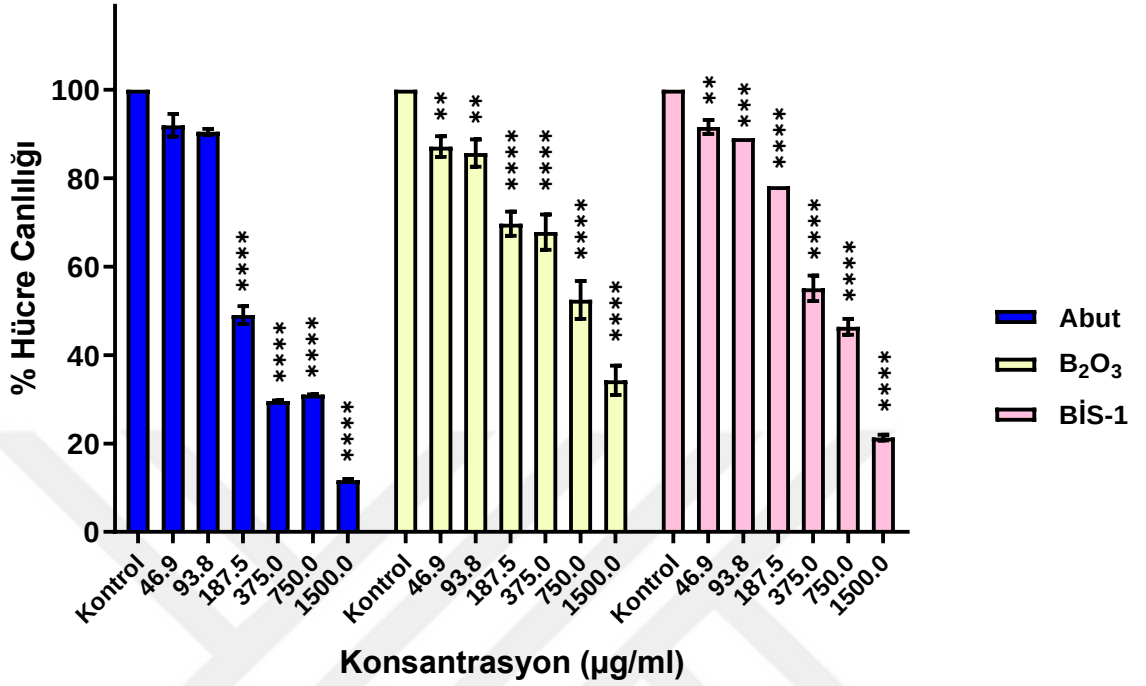
MCF-7 48. Saat



Şekil 4.1.30. MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.30.'da MCF-7 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, MCF-7 hücrelerinin ligand bileşiği N-Teta ile etkileşiminden 48 saat sonra en yüksek konsantrasyon olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %45 seviyesine kadar düşürmektedir. Çıkış bileşiği BİS-6'nın ise en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %50 seviyesine düşürdüğü görülmektedir. En düşük doz olan 46.9 µg/ml hariç diğer konsantrasyonlarda da antiproliferatif etkisinin olduğu görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-6'nın, MCF-7 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında ligand bileşiği N-Teta ile kıyaslandığında en yüksek konsantrasyon (46.9µg/ml) hariç daha iyi antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir.

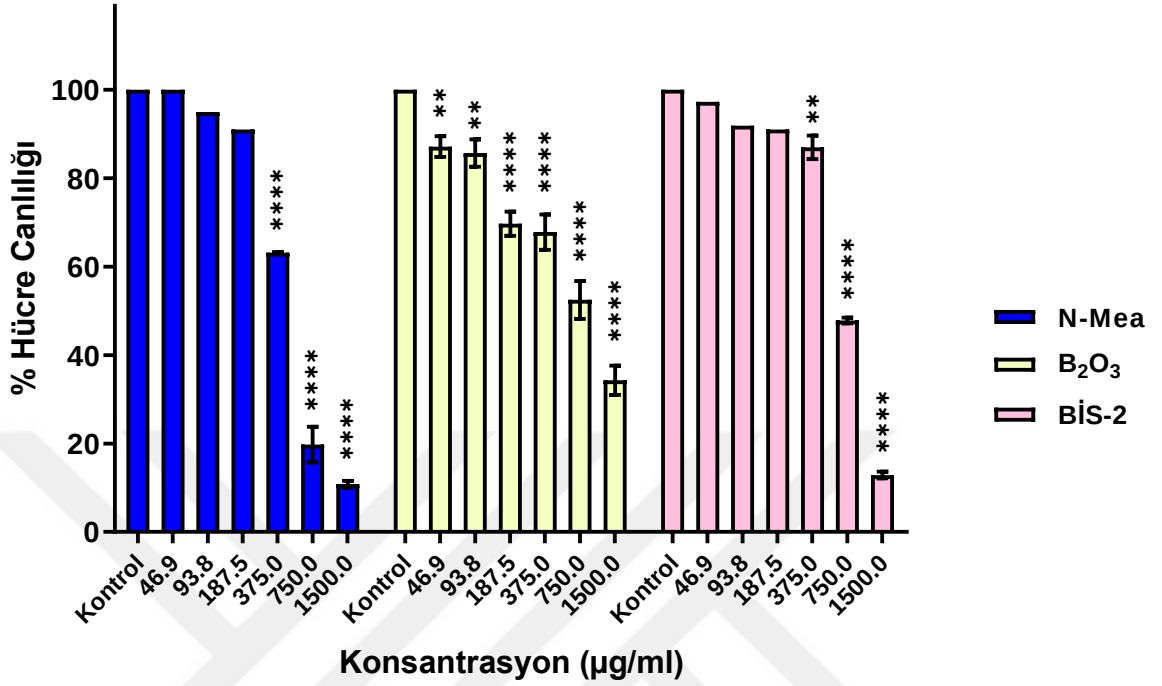
HT-29 48. Saat



Şekil 4.1.31. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.31.'de HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, HT-29 hücrelerinin ligand bileşiği Abut ile etkileşiminden 48 saat sonra en yüksek konsantrasyon olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %12 seviyesine kadar düşürmektedir. Yine Abut bileşiği, 750 ve 375 µg/ml'de hücre canlılığını %30'lara kadar düşürdüğü görülmektedir. Kontrol bileşiği B₂O₃ ve çıkış bileşiği BİS-1, kontrol ile kıyaslandığında tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Kontrol bileşiği B₂O₃, en yüksek doz olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %35 seviyesine kadar düşürdüğünü, diğer dozlarda ise konsantrasyon azaldıkça antiproliferatif aktivitenin azaldığı görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-1, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %20 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine BİS-1 bileşiği, 750 ve 375 µg/ml'de hücre canlılığını %50'lere kadar düşürdüğü görülmektedir.

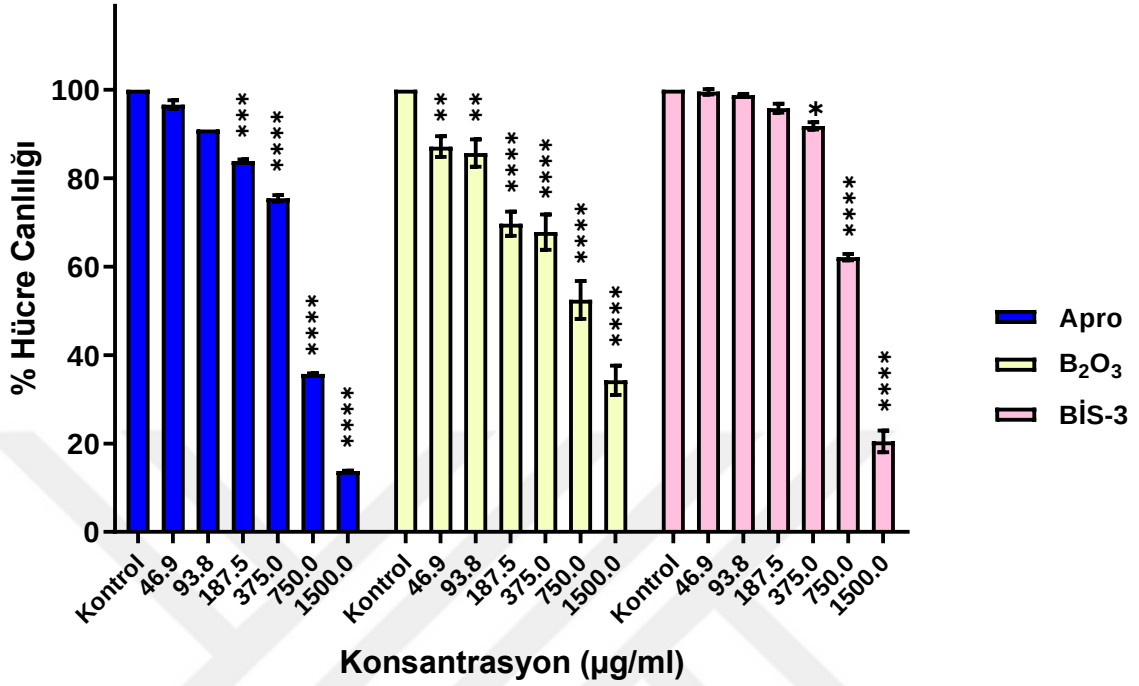
HT-29 48. Saat



Şekil 4.1.32. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.32.'te HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, HT-29 hücrelerinin ligand bileşiği N-Mea ile etkileşiminden 48 saat sonra en yüksek iki konsantrasyon olan 1500-750 µg/ml'de sırasıyla hücre canlılığını önemli derece azaltarak %10 ve %20 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-2'nin ise en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %13 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Ligand bileşiği N-Mea'nın HT-29 kolon kanseri hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, B₂O₃ ile kombinasyonunun ligand bileşiğinin antiproliferatif etkisini azalttığı tespit edilmiştir.

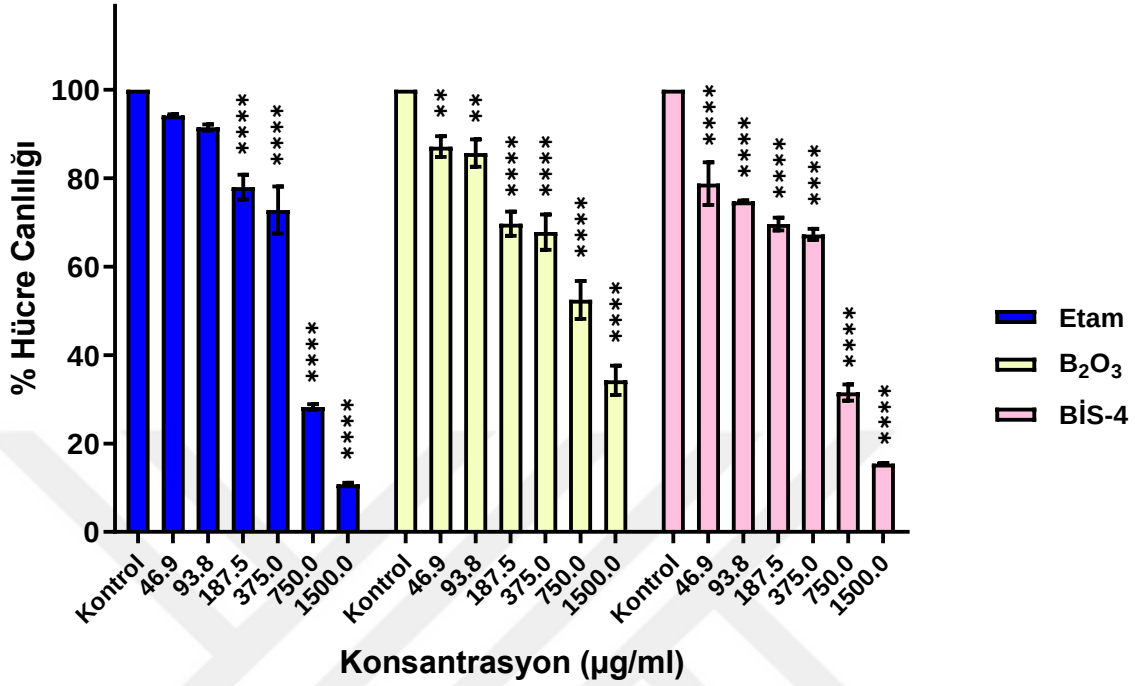
HT-29 48. Saat



Şekil 4.1.33. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.33.'te HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, HT-29 hücreleri ligand bileşiği Apro ile etkileşiminden sonra uygulanan en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %14 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-3, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %20 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Yine BİS-3 bileşiğinin 187.5-46.9 µg/ml konsantrasyonları arasında hücre canlılığında istatistiki olarak anlamlı bir azalma göstermediği görülmektedir. Bileşiklerde madde konsantrasyonu azaldıkça antiproliferatif etkinin azaldığı ya da tamamen yok olduğu görülmektedir.

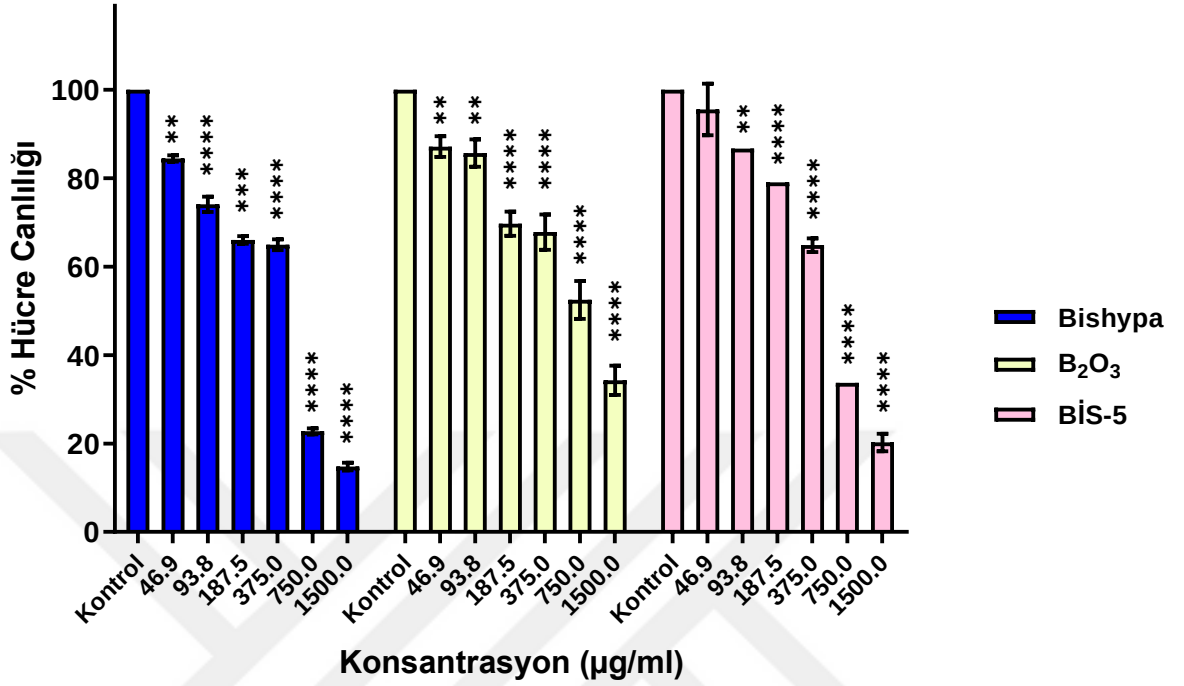
HT-29 48. Saat



Şekil 4.1.34. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.34'te HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, HT-29 hücrelerinin ligand bileşiği Etam ile etkileşiminden 48 saat sonra en yüksek konsantrasyon olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %12 seviyesine kadar düşürmektedir. Çıkış bileşiği BİS-4, kontrol ile kıyaslandığında tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Yine çıkış bileşiği BİS-4, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %15 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Bileşiklerde madde konsantrasyonu azaldıkça antiproliferatif etkinin azaldığı ya da tamamen yok olduğu görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-4'ün, HT-29 hücreleri üzerindeki etkisi göz önüne alındığında ligand bileşiği Etam ile kıyaslandığında en yüksek konsantrasyon (1500 µg/ml) hariç daha iyi antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir.

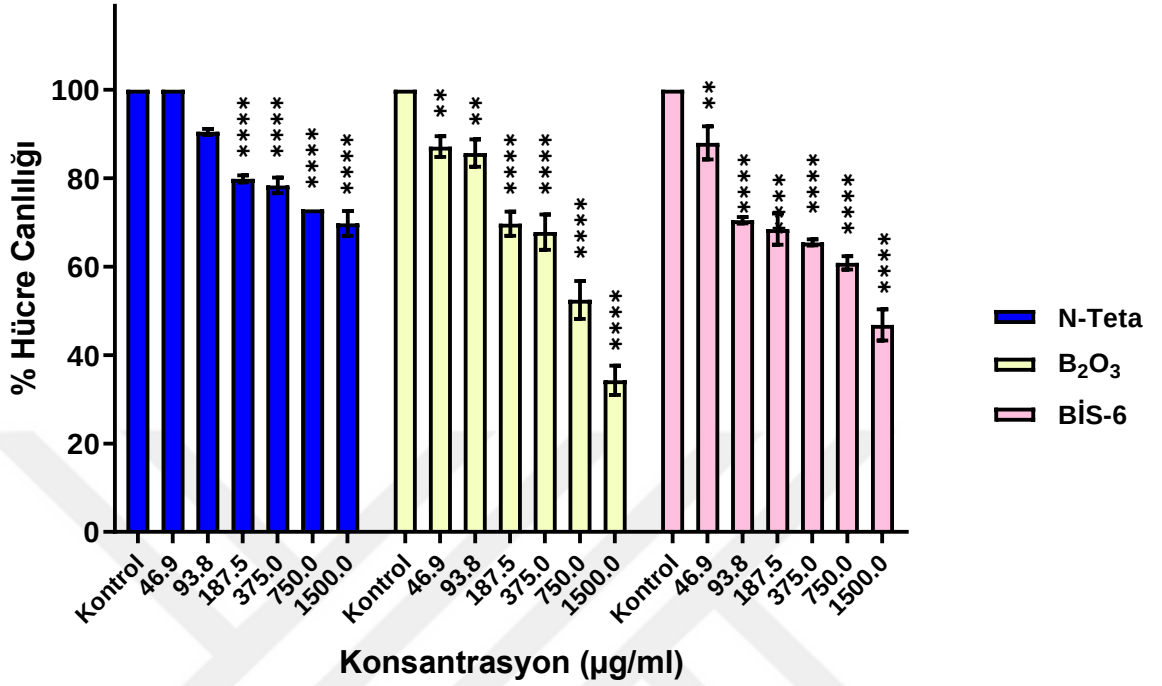
HT-29 48. Saat



Şekil 4.1.35. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; ***P≤0.001; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

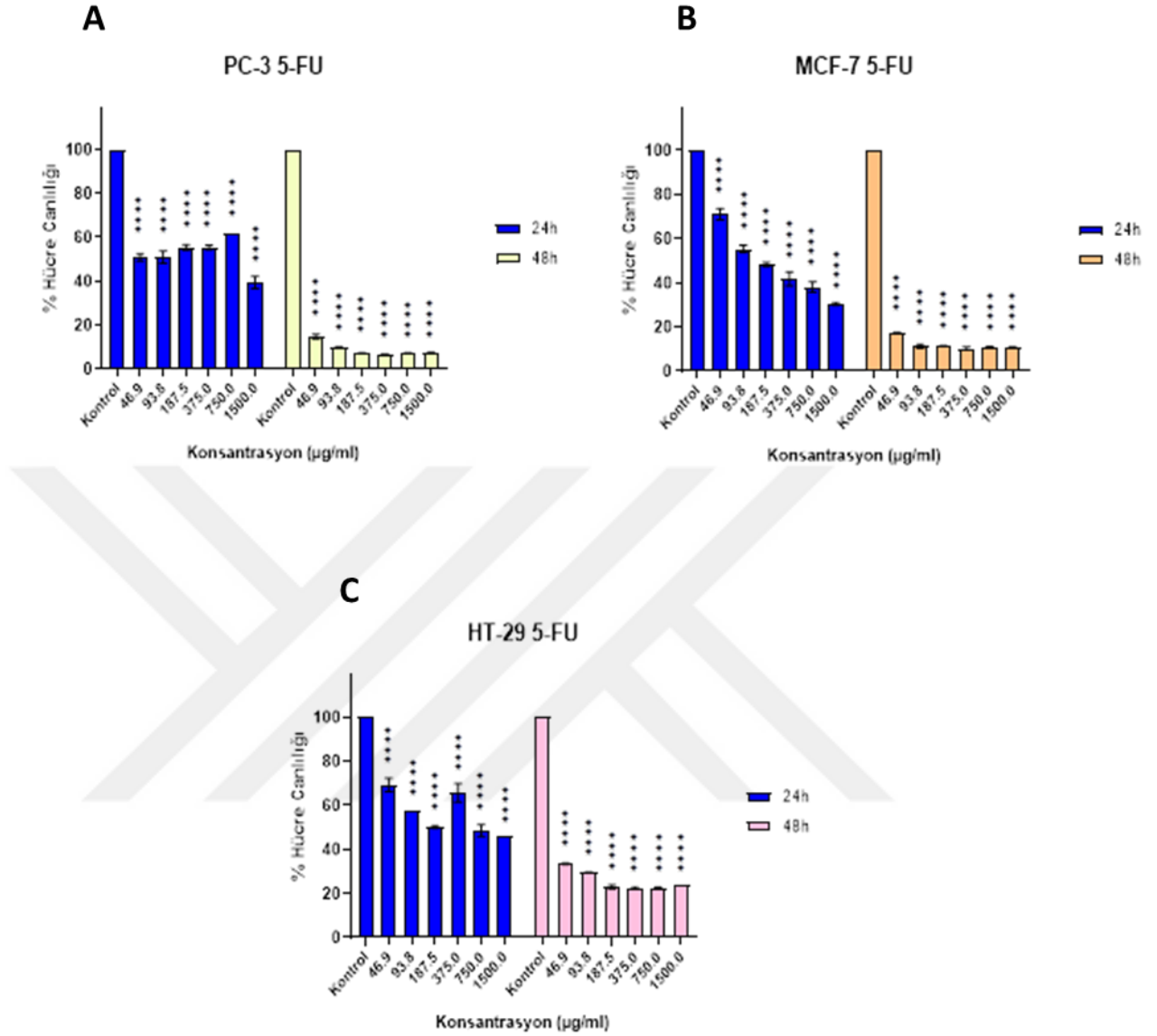
Şekil 4.1.35'te HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, HT-29 hücrelerinin ligand bileşiği Bishypa ile etkileşiminden 48 saat sonra en yüksek iki konsantrasyon olan 1500-750 µg/ml'de sırasıyla hücre canlılığını önemli derece azaltarak %15 ve %25 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-5, kontrol ile kıyaslandığında tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. Yine çıkış bileşiği BİS-5, özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını önemli derecede azaltarak %25 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Bileşiklerde madde konsantrasyonu azaldıkça antiproliferatif etkinin azaldığı görülmektedir.

HT-29 48. Saat



Şekil 4.1.36. HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.36.'de HT-29 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, HT-29 hücrelerinin ligand bileşiği N-Teta ile etkileşiminden 48 saat sonra 375 ve 93.8 µg/ml konsantrasyonları hariç diğer konsantrasyonlarda hücre canlılık oranlarının yaklaşık %75 seviyesinde olduğu görülmektedir. Uygulanan en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) ise hücre canlılığının %40 seviyesine kadar düştüğü görülmektedir. Çıkış bileşiği BİS-6, en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) hücre canlılığını %50 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. Ayrıca, çıkış bileşiği olan BİS-6, ligand bileşiği N-Teta ile kıyaslandığında daha iyi antiproliferatif etki gösterdiği görülmektedir.



Şekil 4.1.37. A) PC-3 hücrelerinin pozitif kontrol (5-FU) ile etkileşiminden 24 ve 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları, B) MCF-7 hücrelerinin pozitif kontrol (5-FU) ile etkileşiminden 24 ve 48 saat sonra belirlenen yüzde canlılık oranları, C) HT-29 hücrelerinin pozitif kontrol (5-FU) ile etkileşiminden 24 ve 48 saat sonra belirlenen yüzde canlılık oranları (*** $P \leq 0.0001$ vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.1.37’de görüldüğü üzere, A) PC-3 hücrelerinin pozitif kontrol ile etkileşiminden 24 saat sonra, negatif kontrol ile kıyaslandığında, tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığını yaklaşık %50’lere kadar düşürdüğü, 48 saat sonra ise hücre canlılığını yaklaşık

%10'lara kadar düşürdüğü görülmektedir. B) MCF-7 hücrelerinin pozitif kontrol ile etkileşiminden 24 ve 48 saat sonra, negatif kontrol ile kıyaslandığında, tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel açıdan doza bağımlı şekilde anlamlı bir azalma gösterdiği görülmektedir. MCF-7 hücrelerinin pozitif kontrol ile etkileşiminden 24 saat sonra, negatif kontrol ile kıyaslandığında, özellikle en yüksek doz olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %30 seviyesine kadar düşürdüğü, 48 saat etkileşiminden sonra ise tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığını önemli derecede azaltarak yaklaşık %10 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir. C) HT-29 hücrelerinin pozitif kontrol ile etkileşiminden 24 saat sonra, negatif kontrol ile kıyaslandığında, özellikle en yüksek doz olan 1500 µg/ml'de hücre canlılığını %40 seviyesine kadar düşürdüğü, 48 saat etkileşiminden sonra ise tüm konsantrasyonlarda hücre canlılığını önemli derecede azaltarak yaklaşık %15 seviyesine kadar düşürdüğü görülmektedir.

Tablo 4.1. HT-29, PC-3 ve MCF-7 hücrelerinin, bileşiklerle etkileşiminden 24 ve 48 saat sonra belirlenen IC₅₀ değerleri verilmiştir. (* ile gösterilen değerlere ait hücre canlılıkları negatif kontroldeki hücrelerin canlılığından yüksek olduğu için herhangi bir inhibisyon değeri hesaplanamamıştır. 5-Fu pozitif kontrol ajanı olarak kullanılmıştır.)

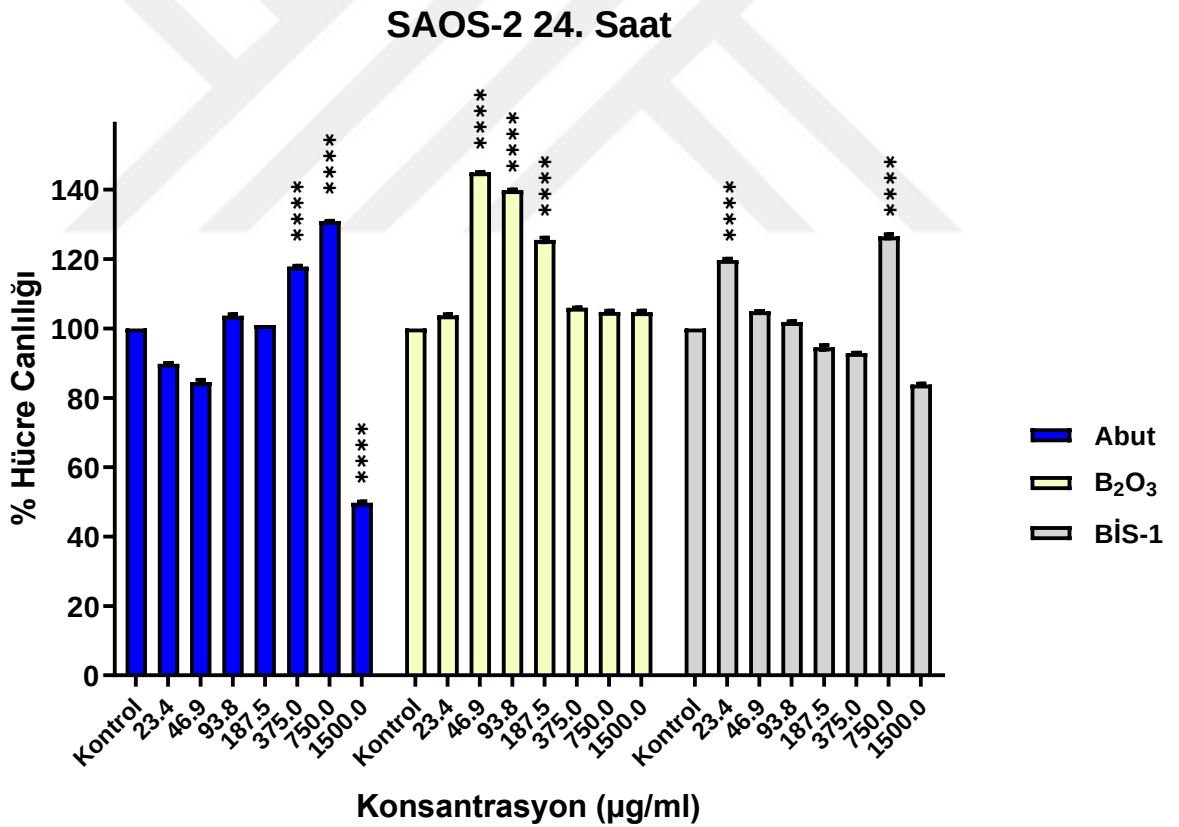
	24.Saat IC ₅₀ (µM)			48.Saat IC ₅₀ (µM)		
	HT-29	PC-3	MCF-7	HT-29	PC-3	MCF-7
BİS-1	*	643,7±10,67	848,6±7,651	532,3±3,708	208,8±3,625	249,0±5,269
BİS-2	1103±2,873	857,3±7,240	604,4±6,121	732,3±6,069	377,6±9,126	265,5±3,199
BİS-3	1484±3,309	1047±6,746	653,5±6,753	903,7±1,462	497,6±7,094	522,9±4,664
BİS-4	758,9±4,368	656,6±9,559	752,8±11,72	411,2±8,286	296,8±5,998	454,1±5,387
BİS-5	*	*	*	531,2±3,309	979,4±4,890	658,9±4,422
BİS-6	*	*	*	*	*	*
Abut	1048±12,76	1175±4,872	1433±9,125	236,0±15,36	508,4±4,435	584,0±3,626
N-Mea	897,7±8,698	540,5±8,492	460,0±13,00	470,0±5,700	361,8±5,490	339,9±6,923

Apro	942,4±3,497	775,3±10,14	523,8±8,746	618,1±7,461	683,1±8,390	363,6±8,167
Etam	544,6±8,979	784,0±13,03	1057±3,301	534,8±8,738	565,8±11,35	360,8±5,670
Bishypa	568,8±8,984	*	1369±10,12	343,0±12,24	1482±7,470	1079±5,294
N-Teta	1452±6,899	*	*	*	*	*
B₂O₃	*	641,9±8,626	540,4±3,401	766,0±3,989	337,8±5,387	1009±0,9087
5-FU	33,91±12,61	20,66±14,69	61,46±3,507	16,04±1,940	14,49±0,6414	17,63±0,6179



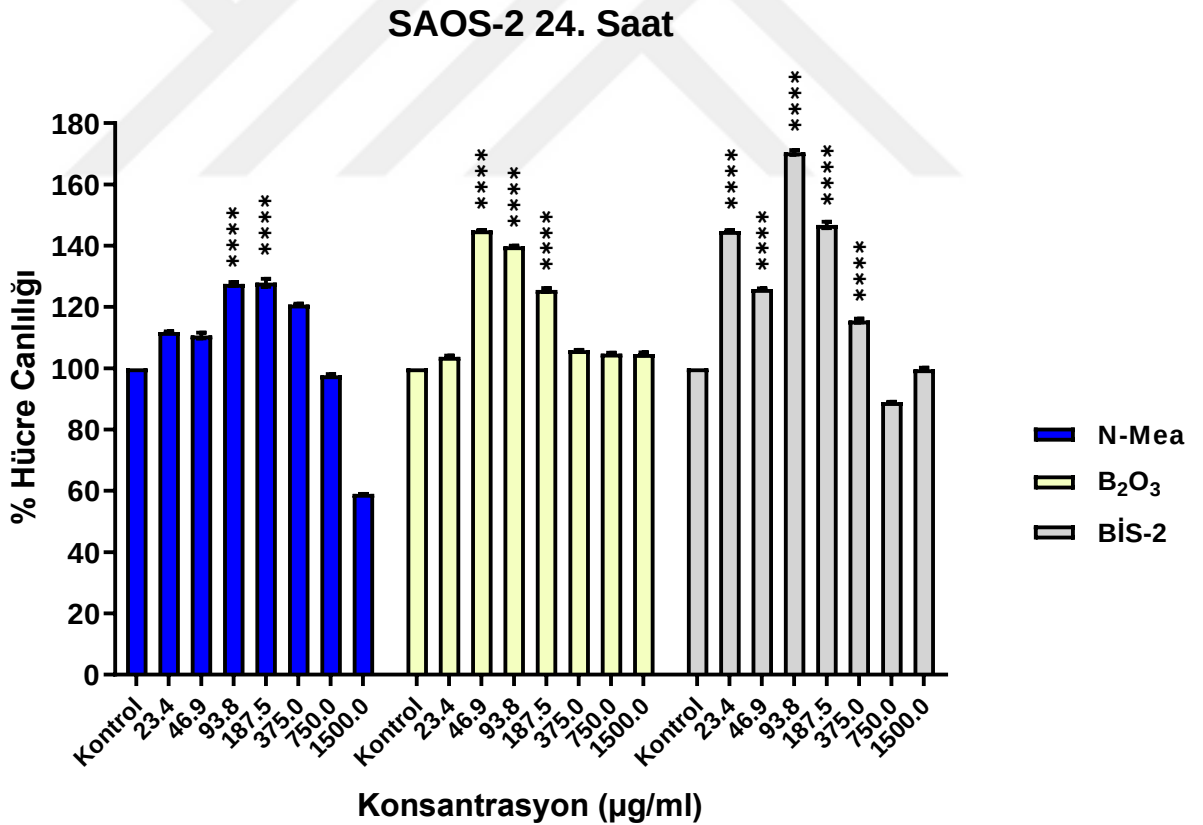
4.2. BİS'lerin SAOS-2 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Etkilerinin Belirlenmesi

Sentezi yapılan BİS'lerin (BİS-1, BİS-2, BİS-3, BİS-4, BİS-5, ve BİS-6), osteoblast benzeri hücre hattı olan SAOS-2 hücreleri üzerindeki sitotoksik açıdan aktiviteleri MTT analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. Böylelikle, ilgili bileşiklerin kemik onarımındaki etkileri araştırılmıştır. Negatif kontrol olarak maddesiz ortam kullanılmıştır. Sentezlenen bor türevli iyonik sıvıların etkinliklerini daha iyi kıyaslayabilmek için bileşiklerin sentezinde kullanılan ligand bileşikler (Abut, N-Mea, Apro, Etam, Bishypa ve N-Teta) ve B₂O₃ kontrol grubu olarak çalışılmıştır. Bileşiklerin çeşitli konsantrasyonlarda (187,5–23,4 µg/ml) hücre canlılığı üzerindeki etkisi GraphPad Prism 9.0.0 yazılımı kullanılarak belirlenmiştir.



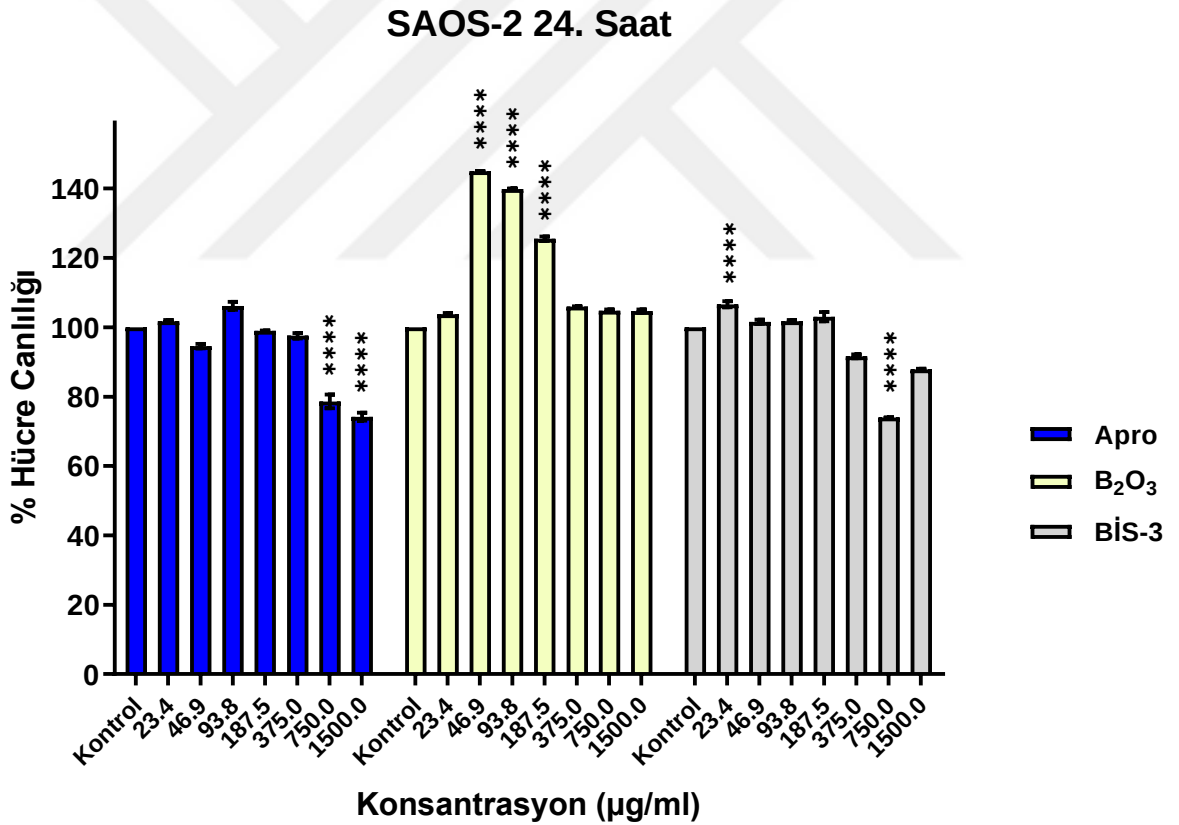
Şekil 4.2.1. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.2.1.'te SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. SAOS-2 hücrelerinin MTT analizi sonucunda oluşturulan hücre canlılık grafiği incelendiğinde, kontrol bileşiği Abut ve çalışmamızda sentezlenen BİS-1 bileşiğinin ilk konsantrasyon hariç (1500 µg/ml) SAOS-2 hücreleri üzerinde negatif kontrol ile kıyaslandıklarında toksik bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Özellikle kontrol bileşiği olan B₂O₃ bütün çalışma konsantrasyonlarında hücre proliferasyonunu artırıcı yönde etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bileşiğin hücre üzerindeki etkinliğinin daha iyi anlaşılabilmesi için kontrol bileşikleri ve ürün bileşik olan BİS-1'in sonuçları istatistiksel olarak da karşılaştırılmıştır. BİS-1 bileşiğinin kontrol bileşikleri ligand Abut ve B₂O₃ ile arasında hücre proliferasyonunu artırması bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir.



Şekil 4.2.2. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

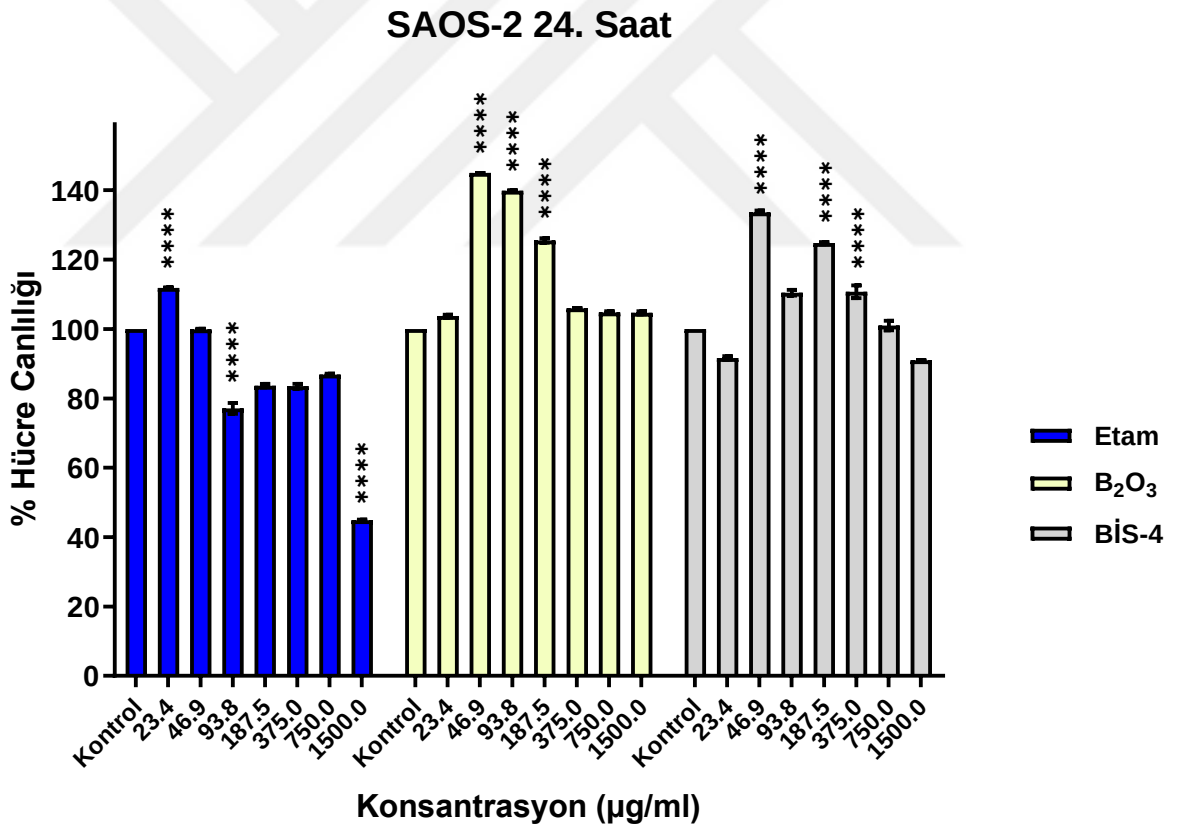
Şekil 4.2.2.'te SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. Kontrol bileşiği olan N-Mea ilk konsantrasyon hariç SAOS-2 hücreleri üzerinde negatif kontrol ile kıyaslandıklarında toksik bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Çalışma kapsamında sentezlenen BİS-2 bileşiğinin, kontrol bileşiklerine (N-Mea, B₂O₃) kıyasla hücre proliferasyonunu artırmada istatistiksel olarak anlamlı olduğu yüzde canlılık grafiklerinde görülmektedir.



Şekil 4.2.3. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

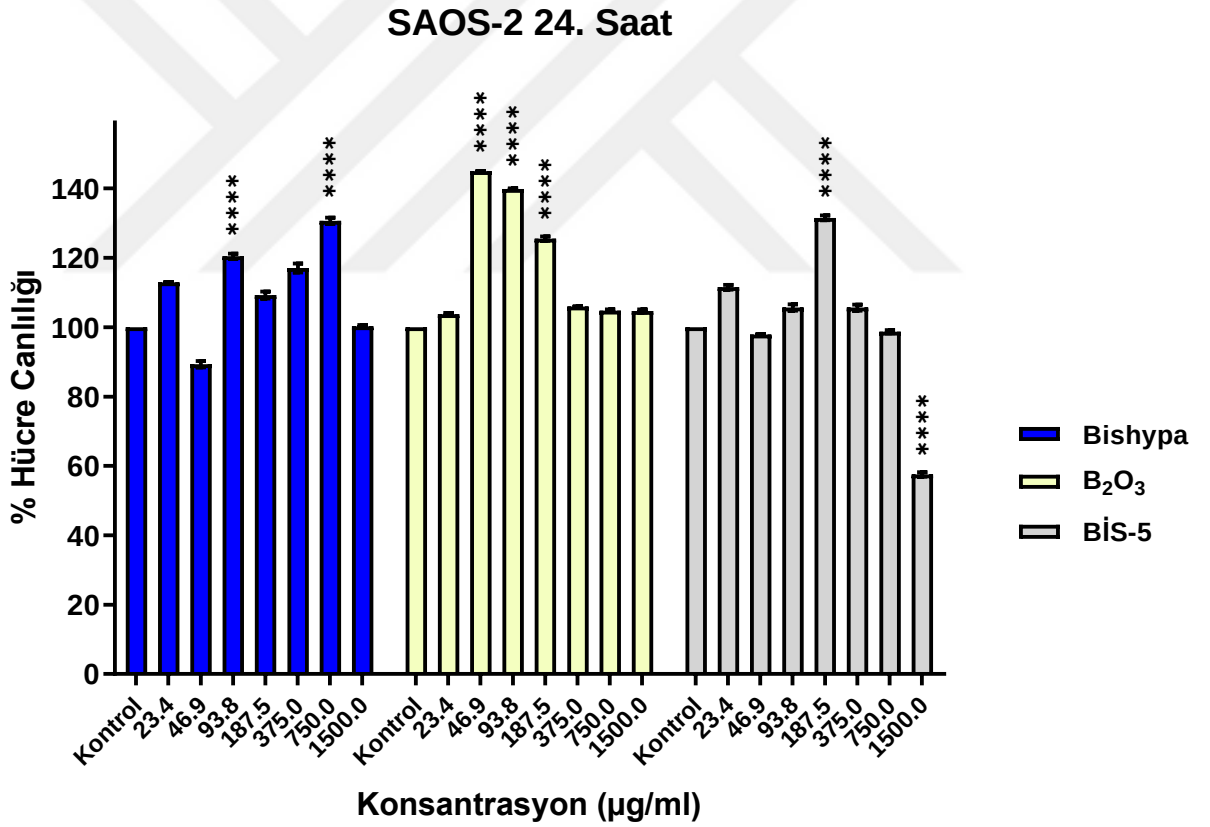
Şekil 4.2.3.'te SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. SAOS-2 hücrelerinin MTT

canlılık analizi sonucunda oluşturulan hücre canlılık grafikleri negetaif kontrol ile kıyaslandığında en yüksek iki konsantrasyon hariç (1500-750 $\mu\text{g/ml}$) toksik etkisi olmadığı belirlenmiştir. Özellikle en düşük ikinci dozda (46,9 $\mu\text{g/ml}$) çıkış bileşiği BİS-3'ün ligand Apro ve B_2O_3 'e göre hücre proliferasyonunu artırmada daha etkili olduğu görülmüştür ve istatistiksel olarak da kıyaslandığında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir.



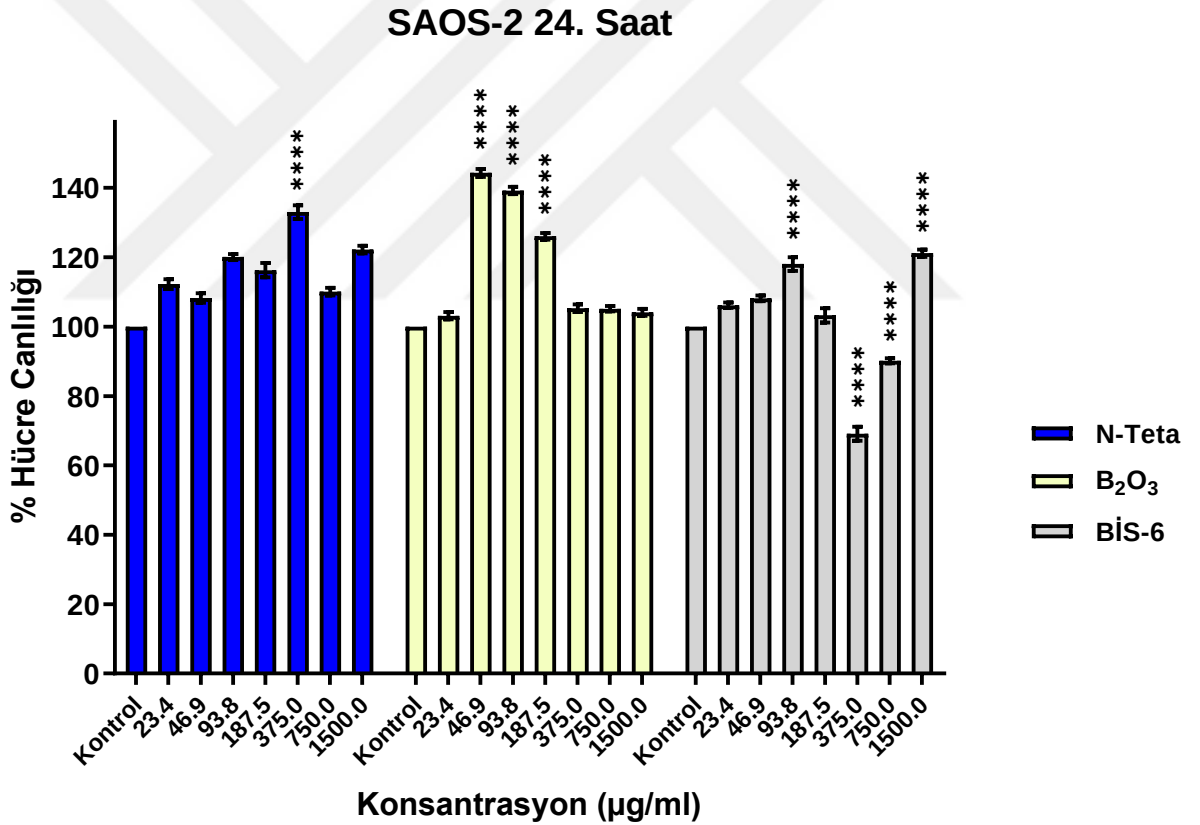
Şekil 4.2.4. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B_2O_3 , BİS-4) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (**** $P \leq 0.0001$; ** $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$ vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.2.4.'te SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 24 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. SAOS-2 hücrelerinin MTT canlılık analizi sonucunda oluşturulan hücre canlılık grafikleri negetaif kontrol ile kıyaslandığında Etam bileşiğinin en düşük konsantrasyon hariç (23,4 µg/ml) bileşiklerin SAOS-2 hücrelerine karşı toksik bir etkisinin olduğu belirlenmiştir. Ürün bileşiği olan BİS-4 bütün çalışma konsantrasyonlarında hücre proliferasyonunu artırıcı yönde etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bileşiğin hücre üzerindeki etkinliğinin daha iyi anlaşılabilmesi için kontrol bileşikleri ve ürün bileşik olan BİS-4'in sonuçları istatistiksel olarak da karşılaştırılmıştır. BİS-4 bileşiğinin kontrol bileşikleri ligand (Etam) ve B₂O₃ ile arasında hücre proliferasyonunu artırması bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir.



Şekil 4.2.5. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

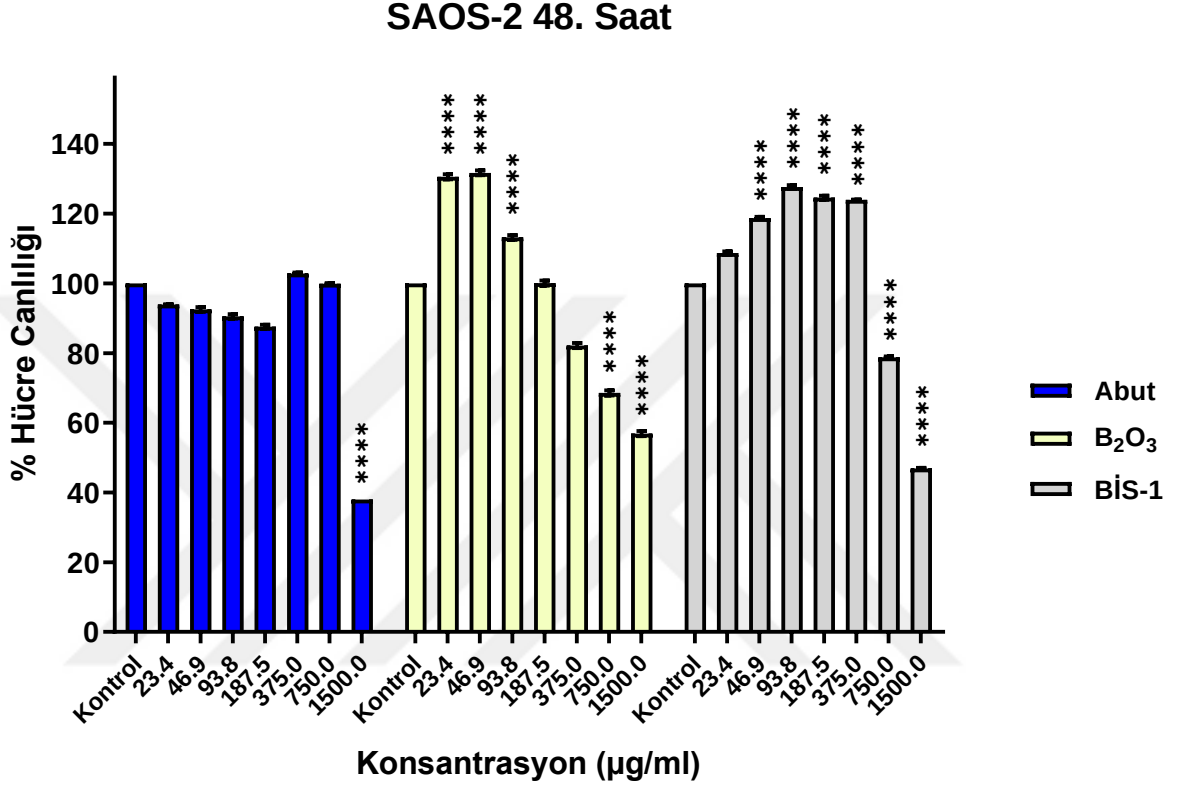
Şekil 4.2.5.'de SAOS-2 hücreleri ile bileşiklerin (Bishypa, B₂O₃, ve BİS-5) etkileşiminden 24 saat sonra yapılan MTT canlılık analizi sonucunda oluşturulan hücre canlılık grafikleri görülmektedir. Özellikle 187.5 µg/ml çalışma konsantrasyonunda sentez bileşiği BİS-5'in ligand (Bishypa) ve B₂O₃'e göre hücre proliferasyonunu artırmada daha etkili olduğu görülmüştür ve istatistiksel olarak da kıyaslandığında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.2.6. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 24 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.2.6.'da SAOS-2 hücreleri ile bileşiklerin (N-Teta, B₂O₃, ve BİS-6) etkileşiminden 24 saat sonra yapılan MTT canlılık analizi sonucunda oluşturulan hücre canlılık grafikleri görülmektedir. Özellikle en düşük ikinci dozda (46,9 µg/ml) sentez bileşiği BİS-6'nın

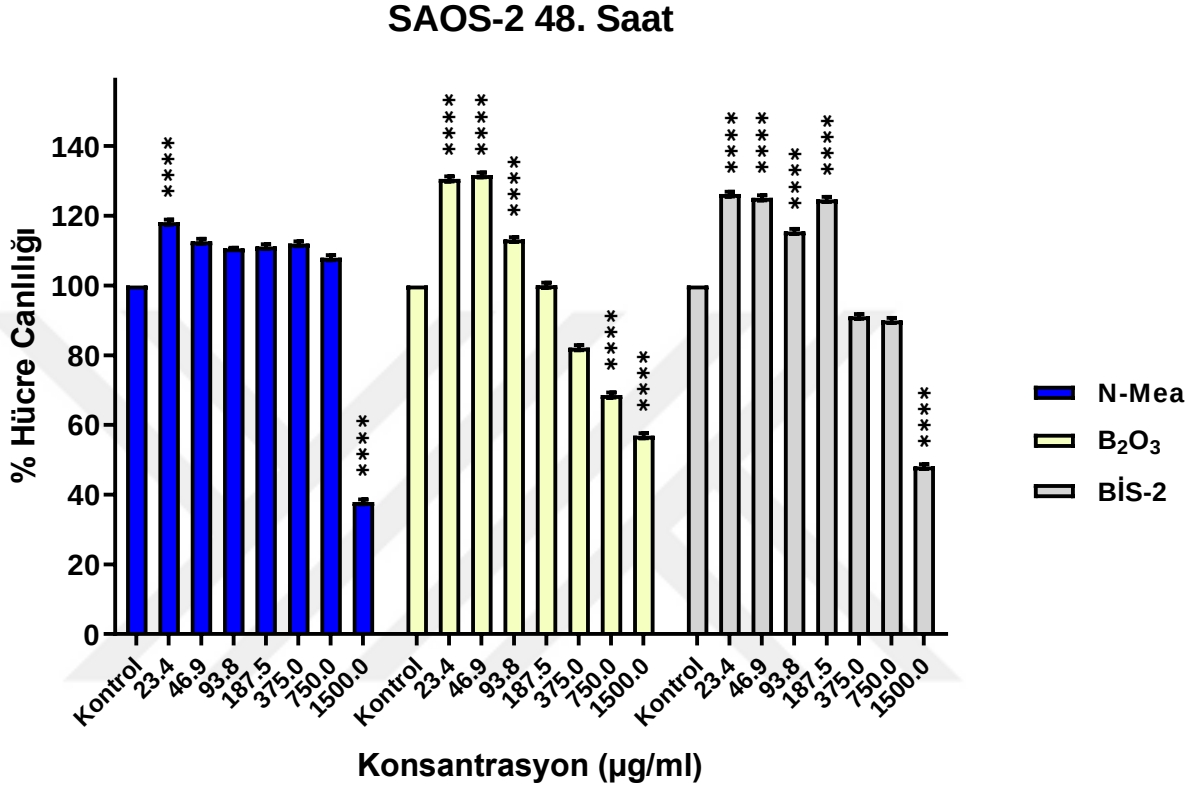
ligand (N-Teta) ve B₂O₃'e göre hücre proliferasyonunu artırmada daha etkili olduğu görülmüştür ve istatistiksel olarak da kıyaslandığında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.2.7. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.2.7’de SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. SAOS-2 hücrelerinin MTT analizi sonucunda oluşturulan hücre canlılık grafiği incelendiğinde, kontrol bileşiği Abut ve çalışmamızda sentezlenen BİS-1 bileşiğinin en yüksek ilk iki konsantrasyon hariç (1500-750 µg/ml) SAOS-2 hücreleri üzerinde negatif kontrol ile kıyaslandıklarında toksik bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Kontrol bileşiği olan B₂O₃ ise düşük çalışma konsantrasyonlarında hücre proliferasyonunu artırıcı yönde etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bileşiğin hücre üzerindeki etkinliğinin daha iyi anlaşılabilmesi için kontrol bileşikleri ve ürün bileşik olan BİS-1’in sonuçları istatistiksel olarak da karşılaştırılmıştır. BİS-1 bileşiğinin kontrol bileşikleri ligand (Abut) ve B₂O₃ ile arasında hücre

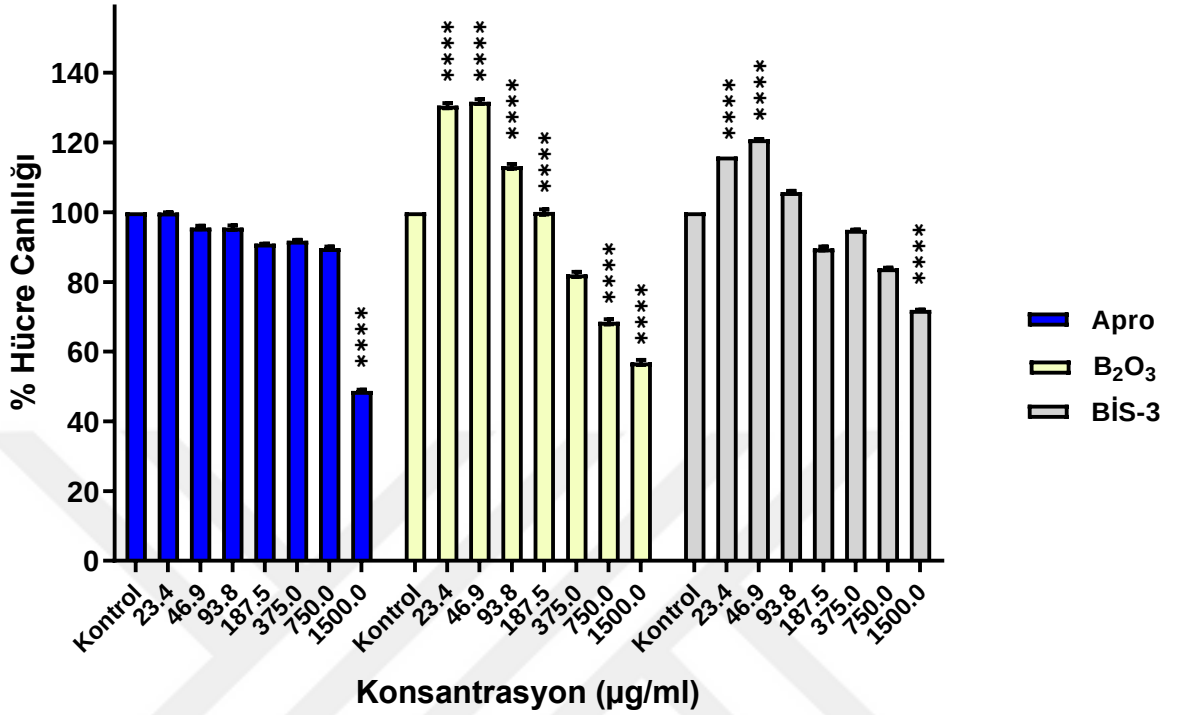
proliferasyonunu artırması bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir.



Şekil 4.2.8. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.2.8’te SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. SAOS-2 hücrelerinin MTT canlılık analizi sonucunda oluşturulan hücre canlılık grafikleri negetaif kontrol ile kıyaslandığında N-Mea bileşiğinin en düşük konsantrasyon hariç (23,4 µg/ml) bileşiklerin SAOS-2 hücrelerine karşı toksik bir etkisinin olduğu belirlenmiştir. Ürün bileşiği olan BİS-2 en yüksek ilk üç çalışma konsantrasyonu hariç hücre proliferasyonunu artırıcı yönde etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bileşiğin hücre üzerindeki etkinliğinin daha iyi anlaşılabilmesi için kontrol bileşikleri ve ürün bileşik olan BİS-2’in sonuçları istatistiksel olarak da karşılaştırılmıştır. BİS-2 bileşiğinin kontrol bileşikleri ligand (N-Mea) ve B₂O₃ ile arasında hücre proliferasyonunu artırması bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir.

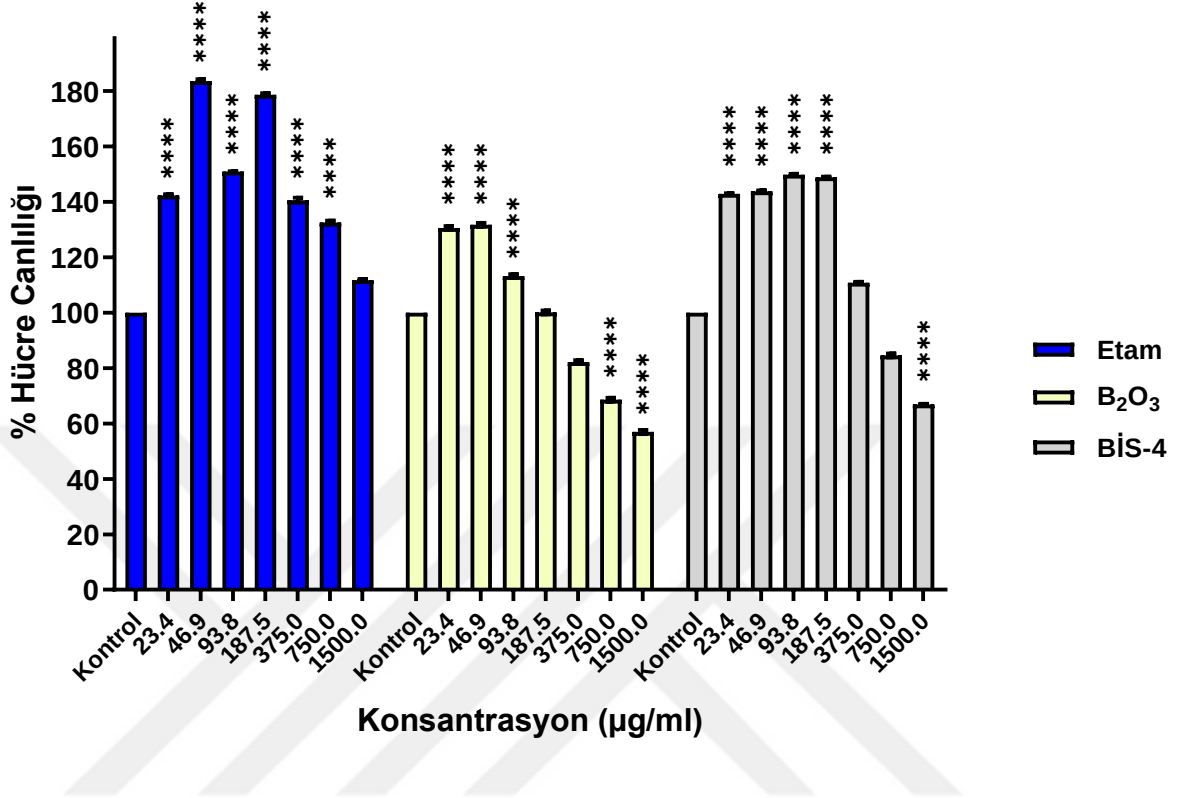
SAOS-2 48. Saat



Şekil 4.2.9. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; *P≤0.05 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.2.9'da SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. SAOS-2 hücrelerinin MTT canlılık analizi sonucunda oluşturulan hücre canlılık grafikleri negetaif kontrol ile kıyaslandığında en yüksek iki konsantrasyon hariç (1500-750 µg/ml) toksik etkisi olmadığı belirlenmiştir. Özellikle en düşük son iki dozda (46,9-23,4 µg/ml) çıkış bileşiği BİS-3'ün liganda (Apro) göre hücre proliferasyonunu artırmada daha etkili olduğu görülmüştür ve istatistiksel olarak da kıyaslandığında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir.

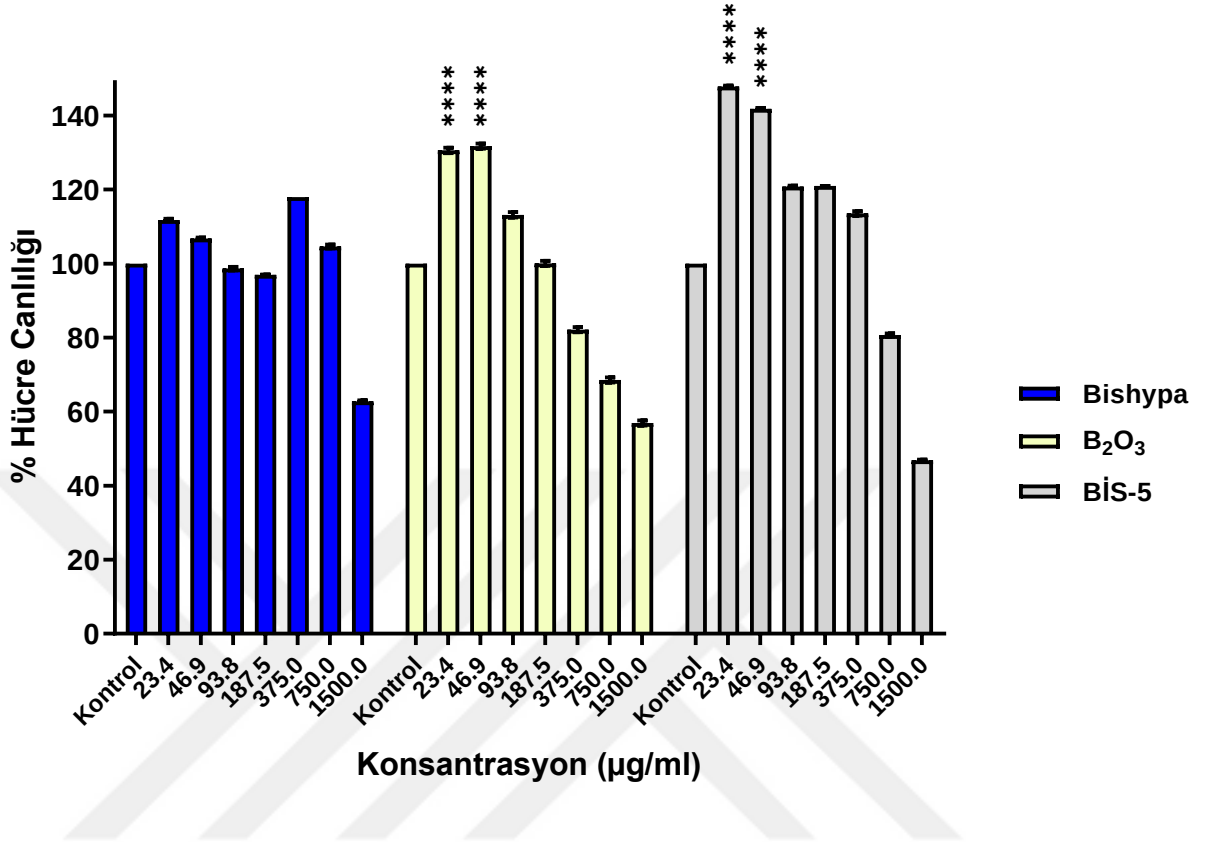
SAOS-2 48. Saat



Şekil 4.2.10. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.2.10’da SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. SAOS-2 hücrelerinin MTT canlılık analizi sonucunda oluşturulan hücre canlılık grafikleri negetaif kontrol ile kıyaslandığında Etam bileşiğinin en yüksek konsantrasyon hariç (1500 µg/ml) bileşiklerin SAOS-2 hücrelerine karşı toksik bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ürün bileşiği olan BİS-4 en yüksek ilk iki çalışma konsantrasyonu hariç hücre proliferasyonunu artırıcı yönde etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bileşiğin hücre üzerindeki etkinliğinin daha iyi anlaşılabilmesi için kontrol bileşikleri ve ürün bileşik olan BİS-4’ün sonuçları istatistiksel olarak da karşılaştırılmıştır. BİS-4 bileşiğinin kontrol bileşikleri ligand (Etam) ve B₂O₃ ile arasında hücre proliferasyonunu artırması bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmektedir.

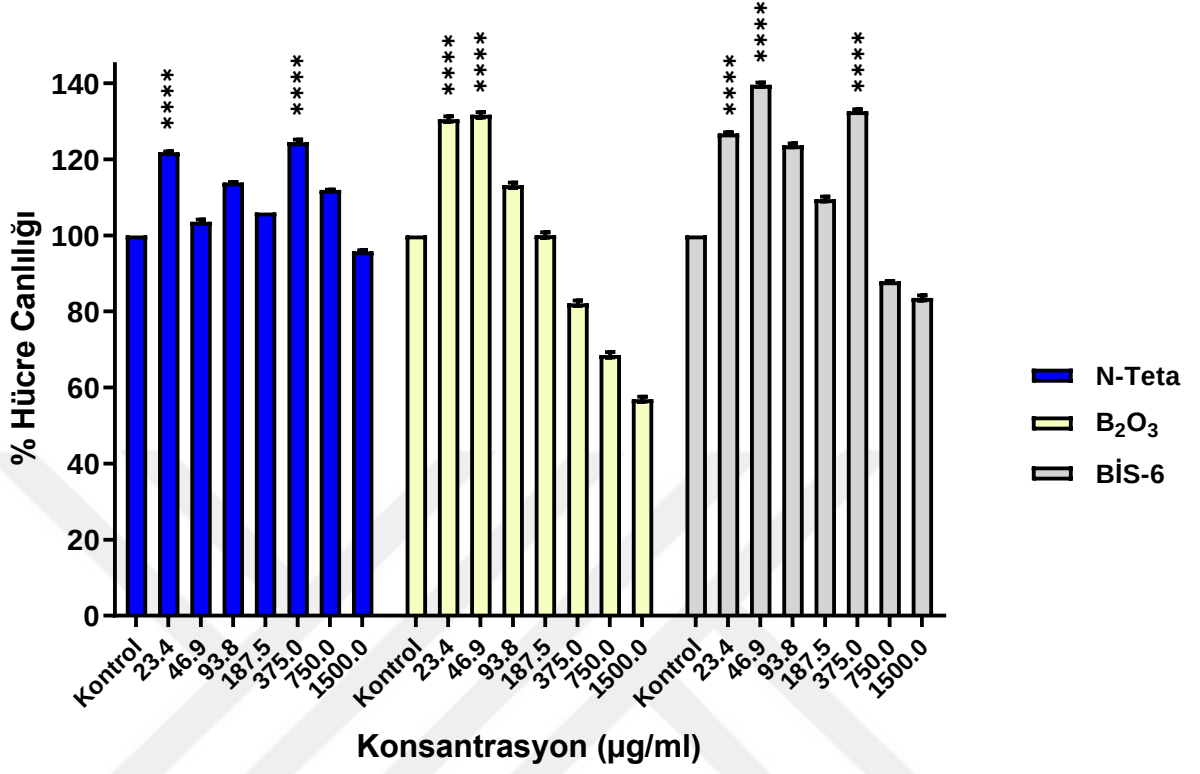
SAOS-2 48. Saat



Şekil 4.2.11. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.2.11.'de SAOS-2 hücreleri ile bileşiklerin (Bishypa, B₂O₃, ve BİS-5) etkileşiminden 48 saat sonra yapılan MTT canlılık analizi sonucunda oluşturulan hücre canlılık grafikleri görülmektedir. Özellikle 48. Saatte en düşük iki dozda (46,9-23,4 µg/ml) sentez bileşiği BİS-6'nın ligand (N-Teta) ve B₂O₃'e göre hücre proliferasyonunu artırmada daha etkili olduğu görülmüştür ve istatistiksel olarak da kıyaslandığında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir.

SAOS-2 48. Saat

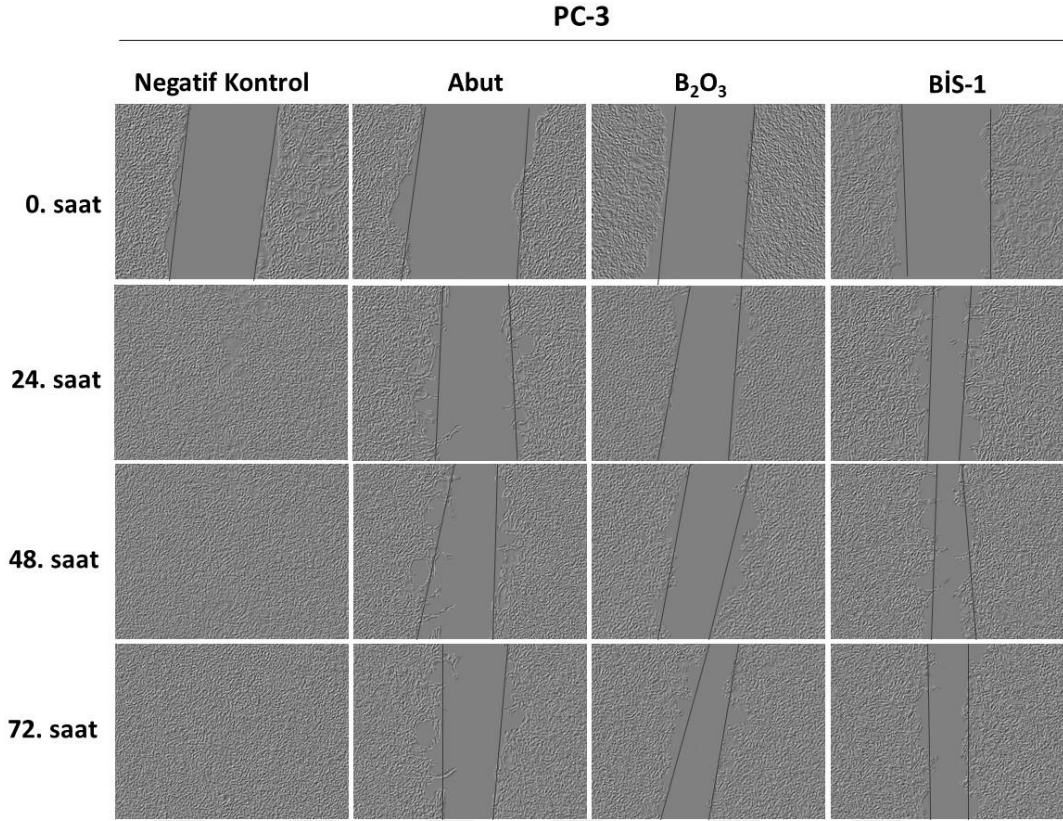


Şekil 4.2.12. SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 48 saat sonra belirlenen yüzde hücre canlılık oranları (****P≤0.0001; **P≤0.01 vs. Kontrol grubu hücreler).

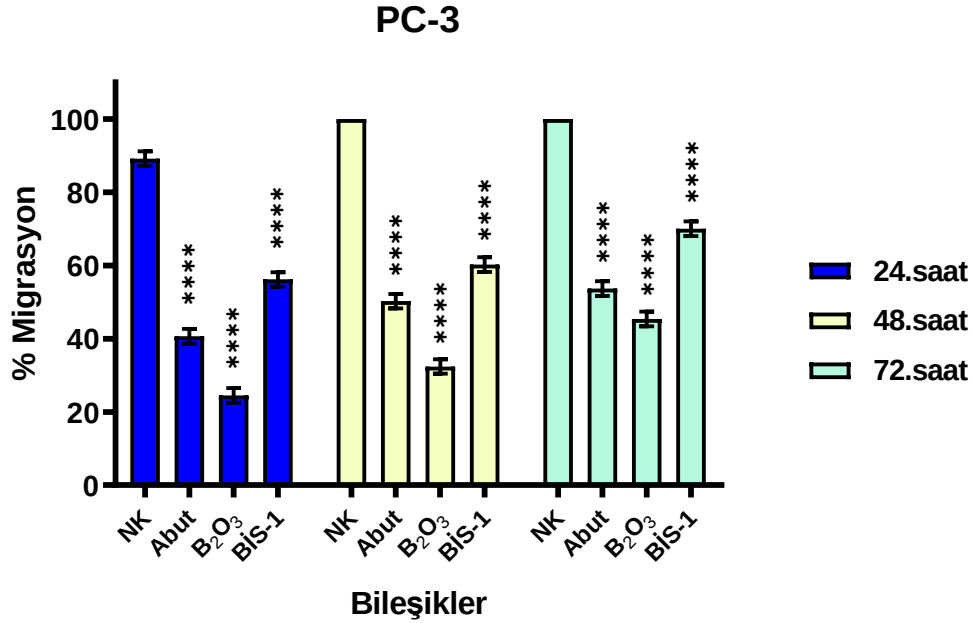
Şekil 4.2.12.'de SAOS-2 hücrelerinin bileşiklerle (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkileşiminden 48 saat sonra oluşturulan yüzde hücre canlılık grafiği verilmiştir. SAOS-2 hücrelerinin MTT canlılık analizi sonucunda oluşturulan hücre canlılık grafikleri negetaif kontrol ile kıyaslandığında en yüksek iki konsantrasyon hariç (1500-750 µg/ml) toksik etkisi olmadığı belirlenmiştir. Özellikle en düşük son iki dozda (46,9-23,4 µg/ml) çıkış bileşiği BİS-6'nın liganda (N-Teta) göre hücre proliferasyonunu artırmada daha etkili olduğu görülmüştür ve istatistiksel olarak da kıyaslandığında anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir.

4.3.Hücre Göçü Migrasyon ve Yara İyileşme Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bu tez çalışmasında, HT29, PC-3, MCF-7 ve SAOS-2 hücre hatları kullanılarak gerçekleştirilen MTT analizinde elde edilen verilerle hesaplanan 48.saat IC_{50} ve etkin konsantrasyon değerleri dikkate alınmış ve söz konusu değerler çerçevesinde hücre göçü / yara iyileşme analizi gerçekleştirilmiştir. Yara modeli oluşturulan hücrelere, etkinliği belirlenen dozlar uygulanarak bileşikler eklendikten hemen sonra 0.saatte, 24. saatte ve 48. saatte olacak şekilde inverted ışık mikroskobu altında fotoğrafları çekilmiştir. 48 saat sonunda görüntüler, Image J yazılımı aracılığıyla analiz edilmiş, kanser hücreleri için migrasyon ve kemik rejenerasyon kapasitesini belirlemek için yara iyileşme oranları alansal olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan alanlar negatif kontrolle oranlanarak kanser hücreleri için % migrasyon ve SAOS-2 hücre hattı için de % yara iyileşme oranları, GraphPad Prism 9.0.0 programıyla grafik haline getirilmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığı Two-way ANOVA testi uygulanarak belirlenmiştir.

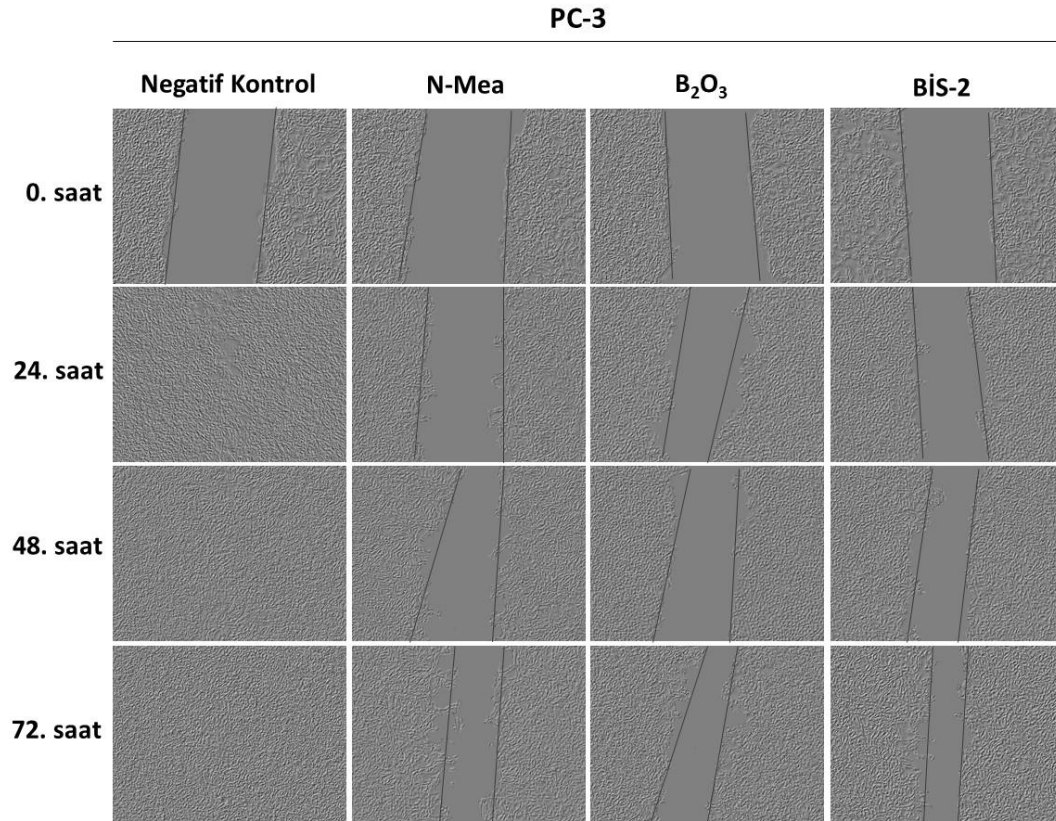


Şekil 4.3.1. Bileşiklerin (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası PC-3 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

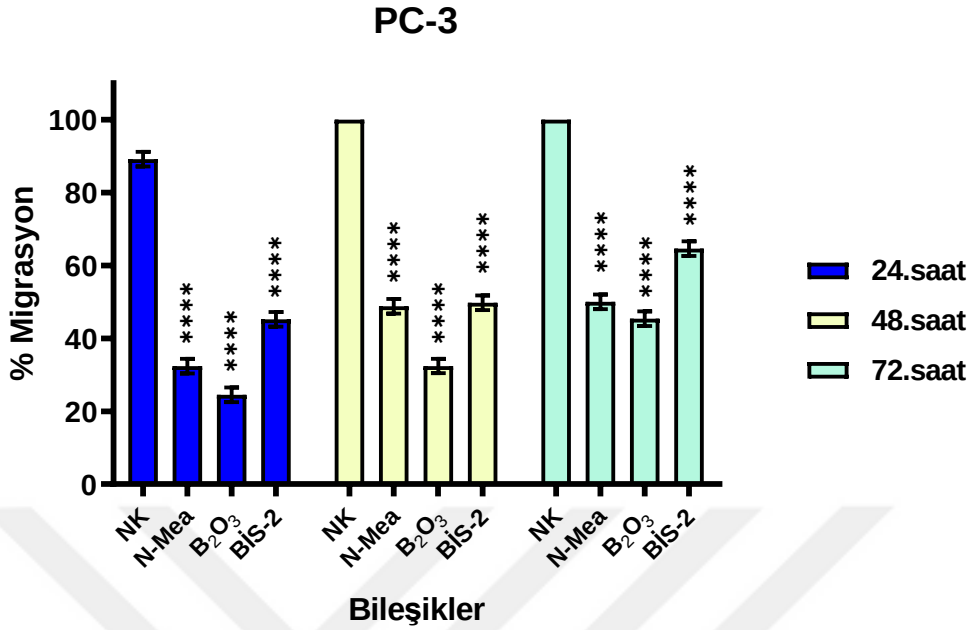


Şekil 4.3.2. Bileşiklerin (Abut, B₂O₃, BİS-1), PC-3 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.3.1. ve 4.3.2.'de bileşiklerin (Abut, B₂O₃, BİS-1) migrasyon analizi sonrası PC-3 hücresi üzerindeki etkileri verilmiştir. Abut bileşiğinin mikroskop görüntüsü (şekil 4.3.1.) negatif kontrol ile kıyaslandığında migrasyon analizinde oldukça etkili olduğu görülmektedir. Ürün bileşiği olan BİS-1 ise 24. 48. ve 72. saatlerde negatif kontrol ile kıyaslandığında etkili olduğu ve her saatte benzer migrasyon etkisine ve aynı zamanda B₂O₃ bileşiği ile de benzer etkiye sahip olduğu görülmektedir. Image J programı kullanılarak elde edilen verilerin GraphPad Prism 9.0.0 yazılımı ile çizilen grafiği şekil (4.3.2.)'de verilmiştir. Sonuçlar negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.



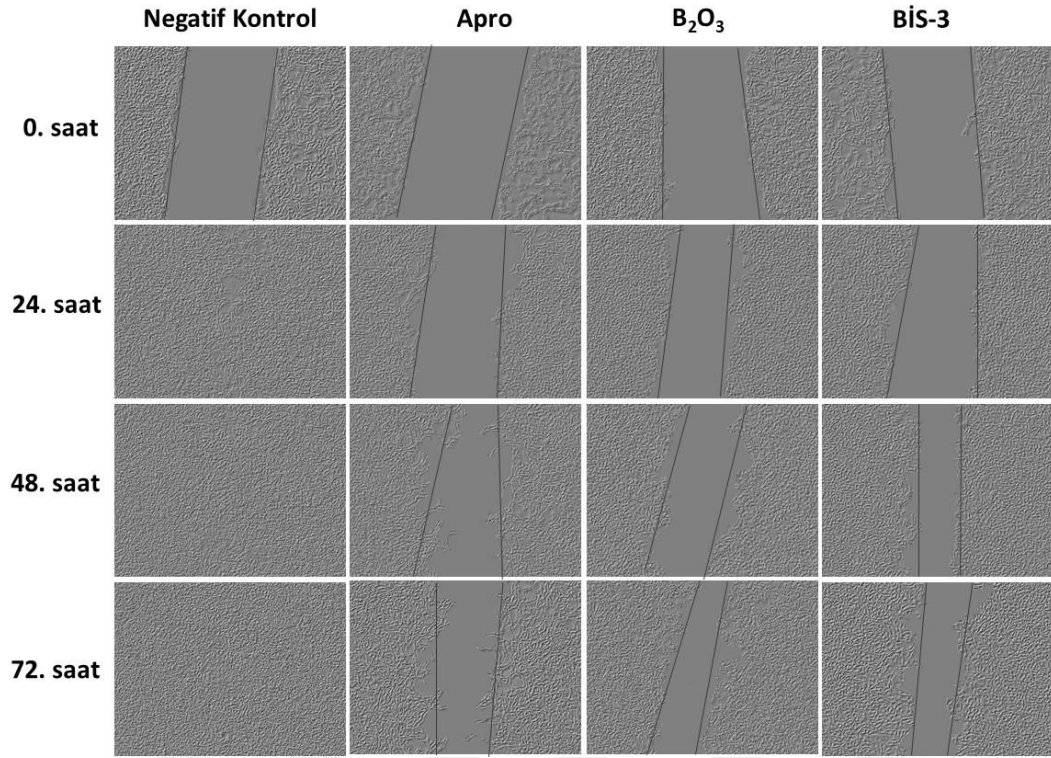
Şekil 4.3.3. Bileşiklerin (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası PC-3 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)



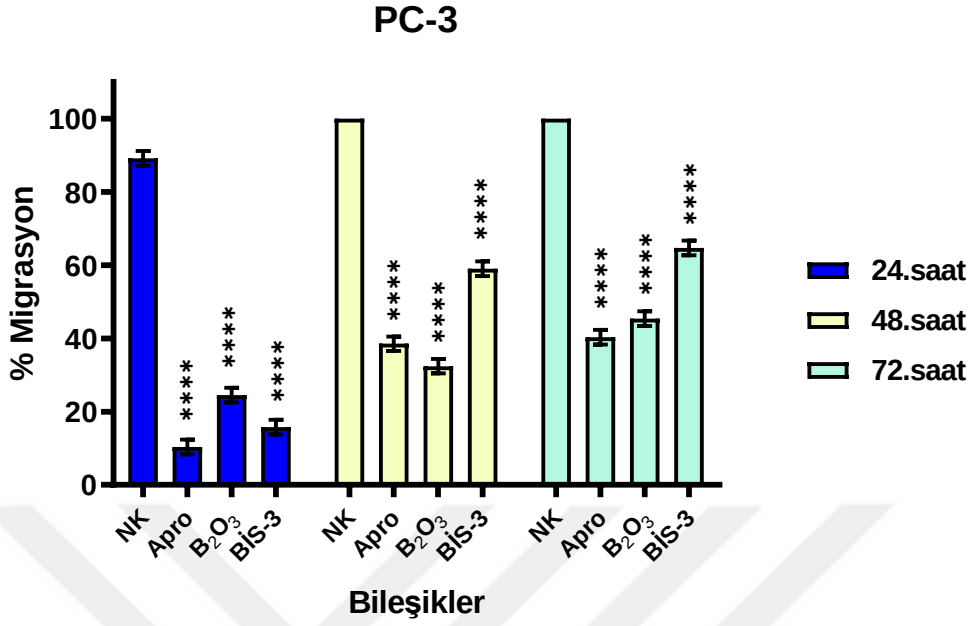
Şekil 4.3.4. Bileşiklerin (N-Mea, B₂O₃, BİS-2), PC-3 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

PC-3 hücrelerinin, MTT canlılık analizi sonucunda hesaplanan 48.saat IC₅₀ değerleri dikkate alınarak (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) migrasyon üzerindeki etkileri çizik testi ile araştırılmıştır. 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri şekil 4.3.3.'de verilmiştir. Negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin migrasyon üzerindeki olumlu etkileri görülmektedir. Ancak çalışmamızda sentezlenen BİS-2 bileşiğinin kontrol bileşikleri (N-Mea, B₂O₃) ile kıyaslandığında, beklenildiğinin aksine kontrol bileşiklerinden daha etkili olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca kapanma yüzdeleri negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin 24, 48 ve 72 kapanma verilerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir (Şekil 4.3.4).

PC-3



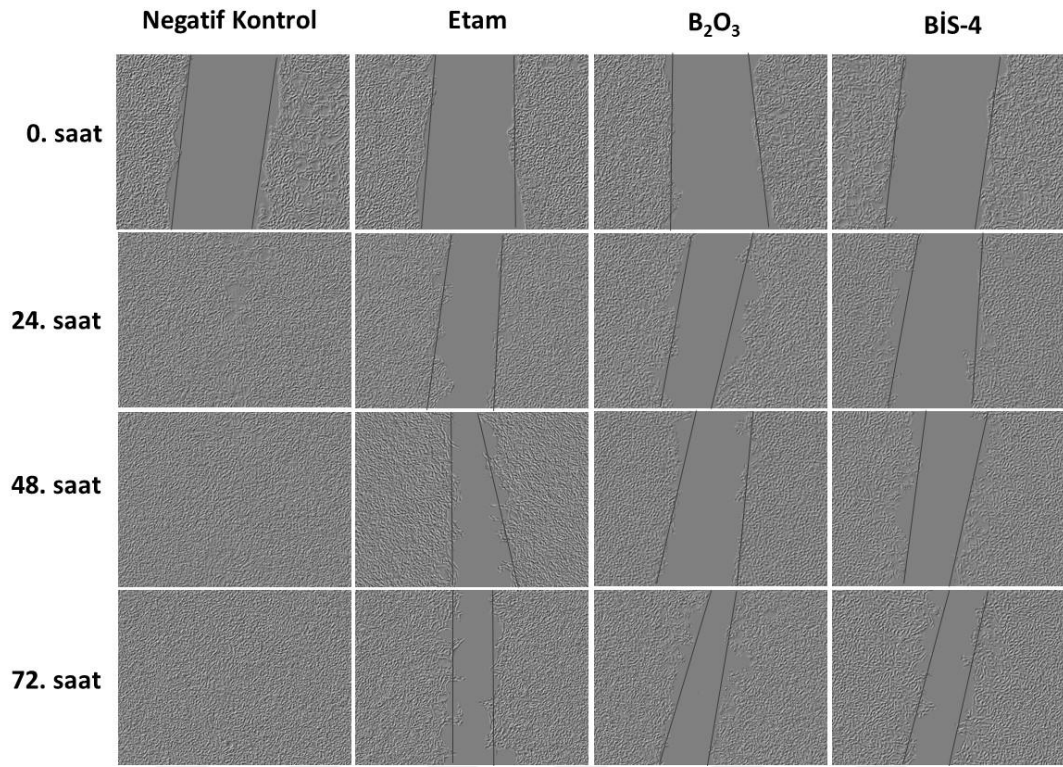
Şekil 4.3.5. Bileşiklerin (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası PC-3 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)



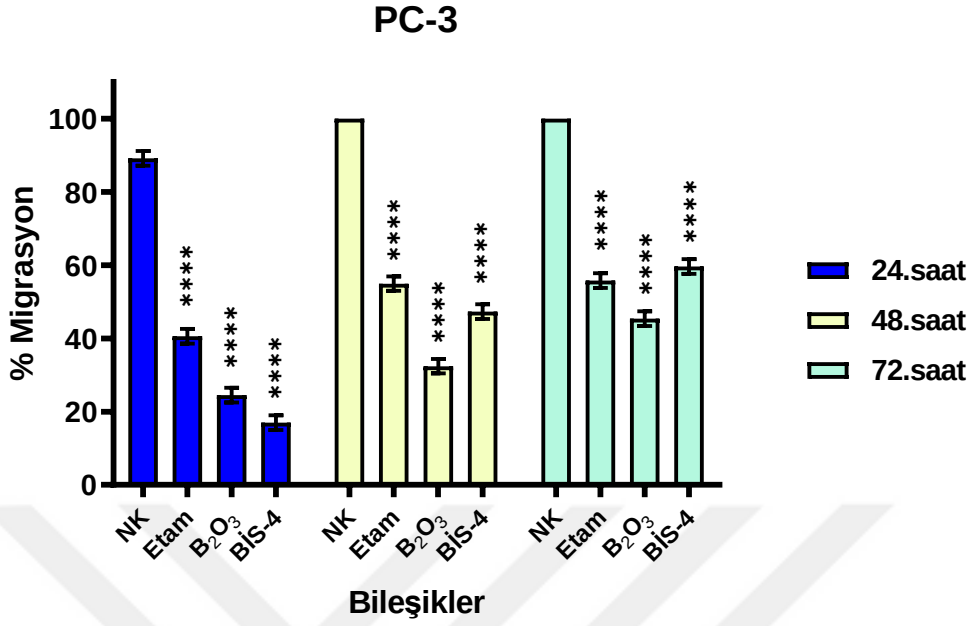
Şekil 4.3.6. Bileşiklerin (Apro, B₂O₃, BİS-3), PC-3 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

PC-3 hücrelerinin, MTT canlılık analizi sonucunda hesaplanan 48.saat IC₅₀ değerleri dikkate alınarak (**Apro**, **B₂O₃**, **BİS-3**) migrasyon üzerindeki etkileri çizik testi ile araştırılmıştır. 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri şekil 4.54.'de verilmiştir. Kontrol bileşiği olan Apro'un mikroskop görüntüsü (**şekil 4.3.5.**) negatif kontrol ile kıyaslandığında migrasyon analizinde oldukça etkili olduğu görülmektedir. Ancak şekil 4.3.6'da migrasyon modellerinde görüldüğü üzere elde edilen BİS-3 bileşiğinin kontrol bileşiği B₂O₃ ile benzer etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Migrasyon yüzdeleri negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin antimigratif üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.

PC-3



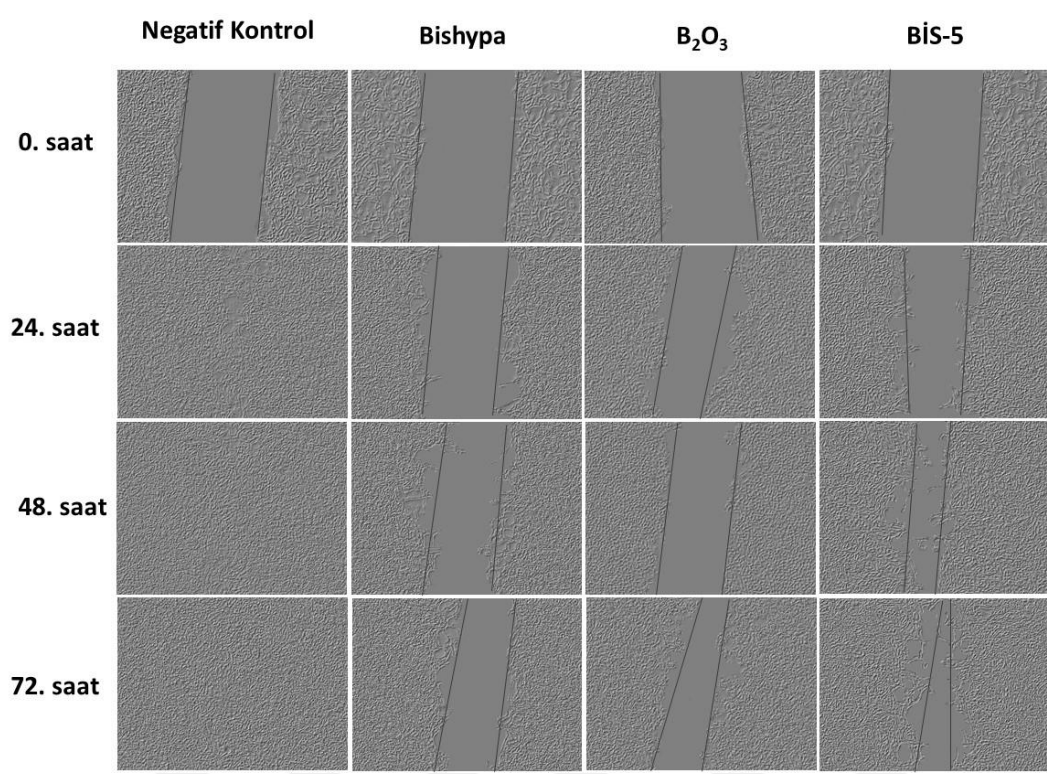
Şekil 4.3.7. Bileşiklerin (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası PC-3 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)



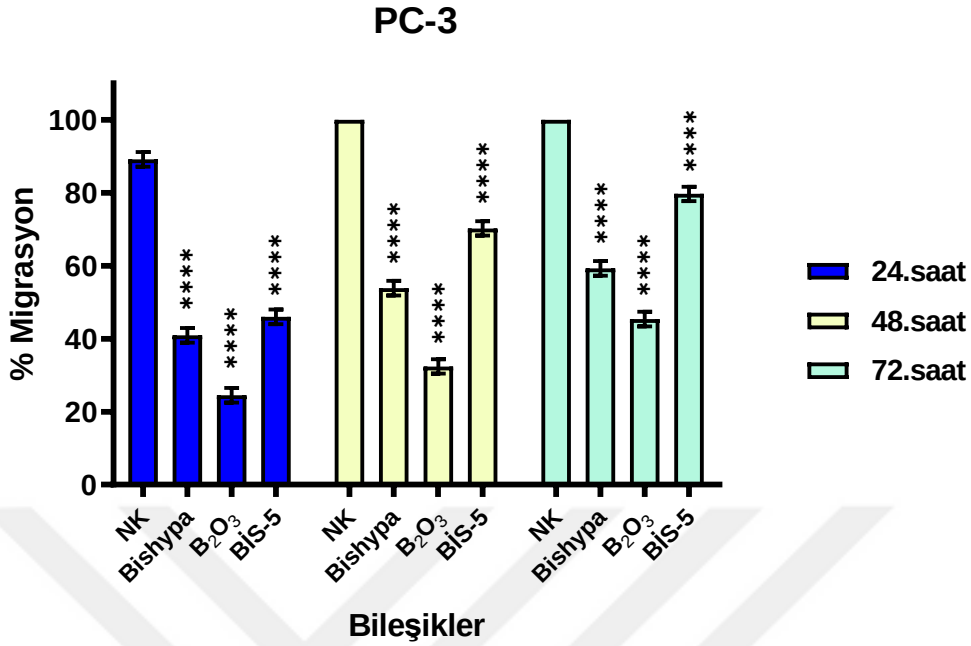
Şekil 4.3.8. Bileşiklerin (Etam, B₂O₃, BİS-4), PC-3 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.3.7. ve 4.3.8.'de bileşiklerin (Etam, B₂O₃, BİS-4) migrasyon analizi sonrası PC-3 hücresi üzerindeki etkileri verilmiştir. Ürün bileşiği olan BİS-1 ve kontrol bileşiği Etam'ın 48. ve 72. Saatlerdeki etkileri negatif kontrol ile kıyaslandığında benzer migrasyon etkisine sahip olduğu görülmektedir. Image J programı kullanılarak elde edilen verilerin GraphPad Prism 9.0.0 yazılımı ile çizilen grafiği şekil (4.3.8.)'de verilmiştir. Sonuçlar negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.

PC-3

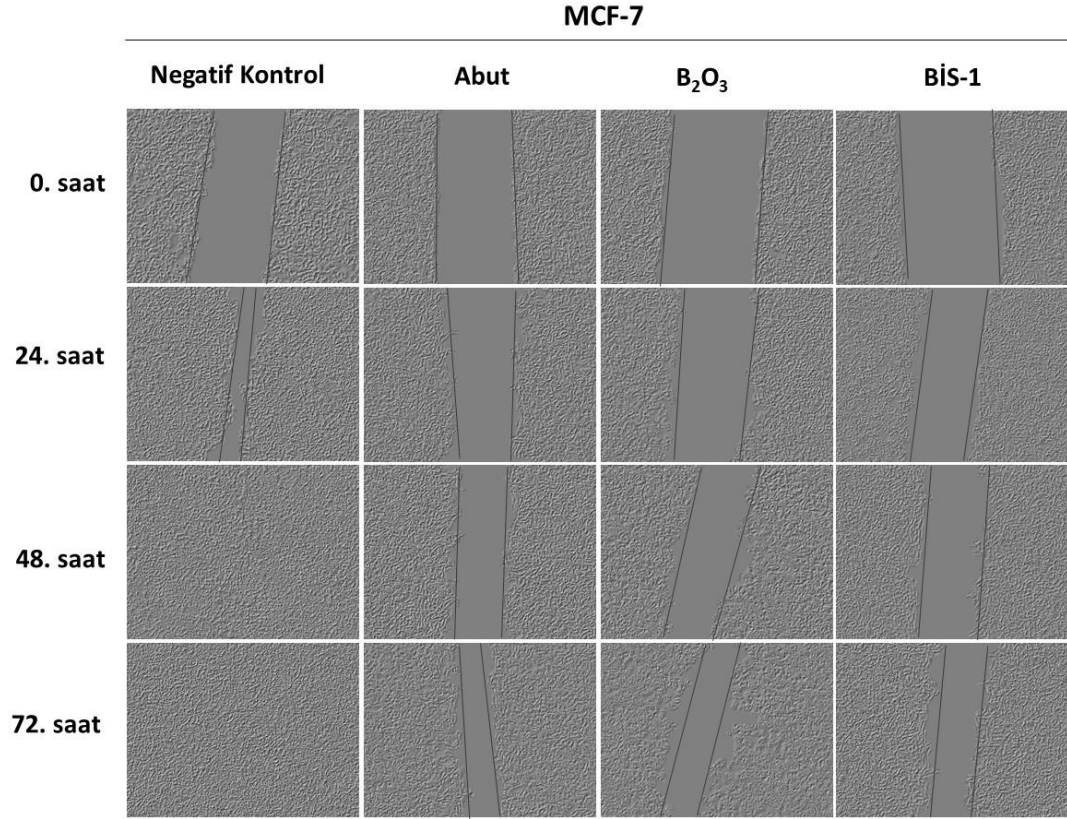


Şekil 4.3.9. Bileşiklerin (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası PC-3 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

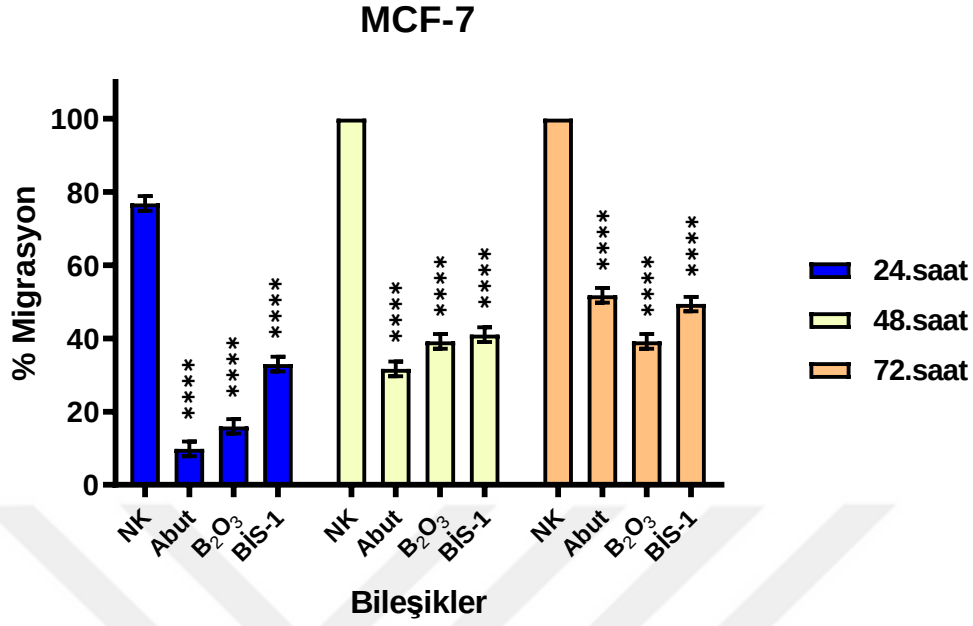


Şekil 4.3.10. Bileşiklerin (Bishypa, B₂O₃, BİS-5), PC-3 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

PC-3 hücrelerinin, MTT canlılık analizi sonucunda hesaplanan 48.saat IC₅₀ değerleri dikkate alınarak (**Bishypa**, **B₂O₃**, **BİS-5**) migrasyon üzerindeki etkileri çizik testi ile araştırılmıştır. 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri şekil 4.3.9.'da verilmiştir. Negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin migrasyon üzerindeki olumlu etkileri görülmektedir. B₂O₃ bileşiğinin mikroskop görüntüsü negatif kontrol ile kıyaslandığında migrasyon analizinde oldukça etkili olduğu görülmektedir Ancak çalışmamızda sentezlenen BİS-5 bileşiğinin kontrol bileşikler (Bishypa, B₂O₃) ile kıyaslandığında, beklenildiğinin aksine kontrol bileşiklerinden daha etkili olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca kapanma yüzdeleri negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin 24, 48 ve 72 kapanma verilerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir (Şekil 4.3.10.).



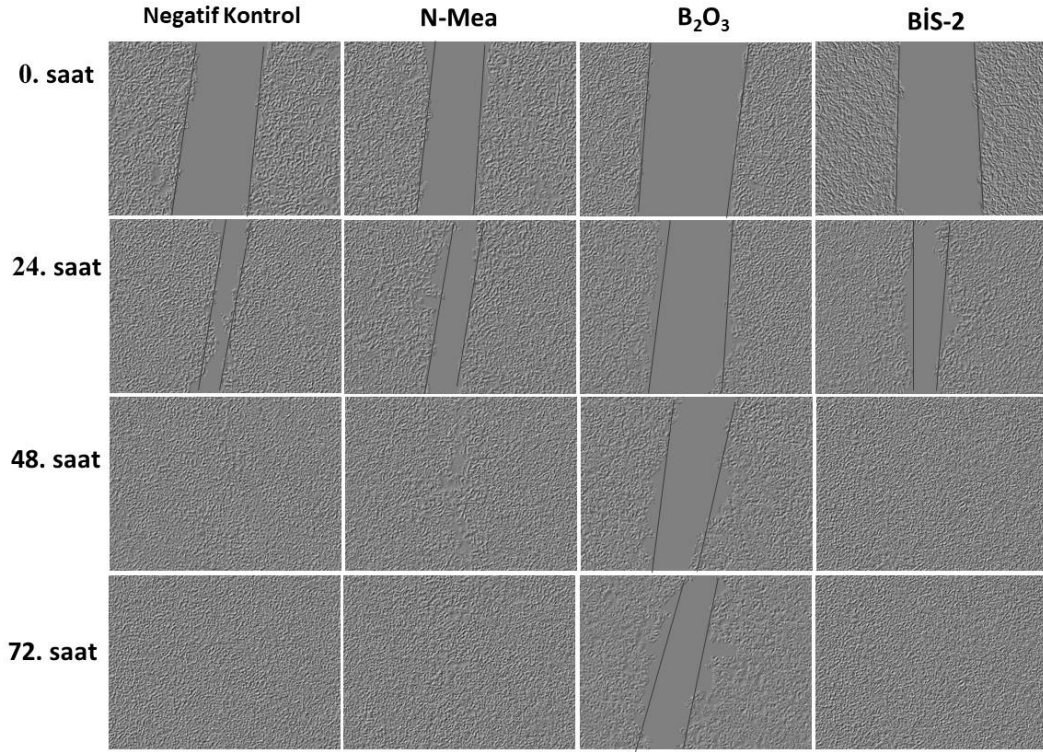
Şekil 4.3.11. Bileşiklerin (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası MCF-7 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)



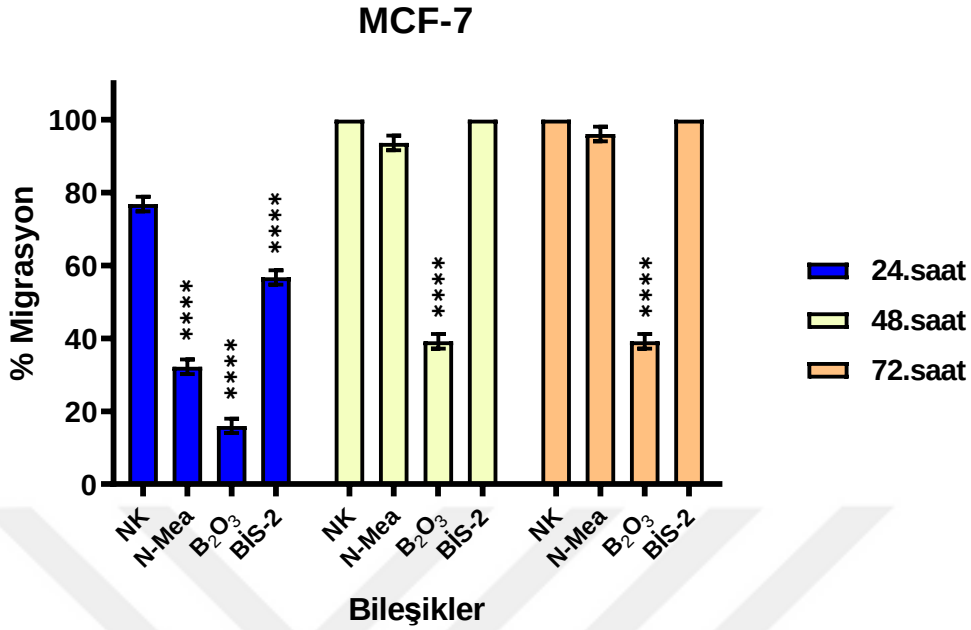
Şekil 4.3.12. Bileşiklerin (Abut, B₂O₃, BİS-1), MCF-7 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.3.11. ve 4.3.12’de bileşiklerin (**Abut, B₂O₃, BİS-1**) migrasyon analizi sonrası MCF-7 hücresi üzerindeki etkileri verilmiştir. Migrasyon analizinde negatif kontrol olarak kullanılan hücrenin mikroskop görüntüsünün 48. ve 72. saatte tamamen kapandığı görülmektedir. Abut bileşiğinin mikroskop görüntüsü negatif kontrol ile kıyaslandığında migrasyon analizinde 24. ve 48. saatte oldukça etkili olduğu görülmektedir. Ürün bileşiği olan BİS-1 ise 24. 48. ve 72. saatlerde negatif kontrol ile kıyaslandığında etkili olduğu görülmektedir. Image J programı kullanılarak elde edilen verilerin GraphPad Prism 9.0.0 yazılımı ile çizilen grafiği şekil (4.3.12.)’de verilmiştir. Sonuçlar negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.

MCF -7

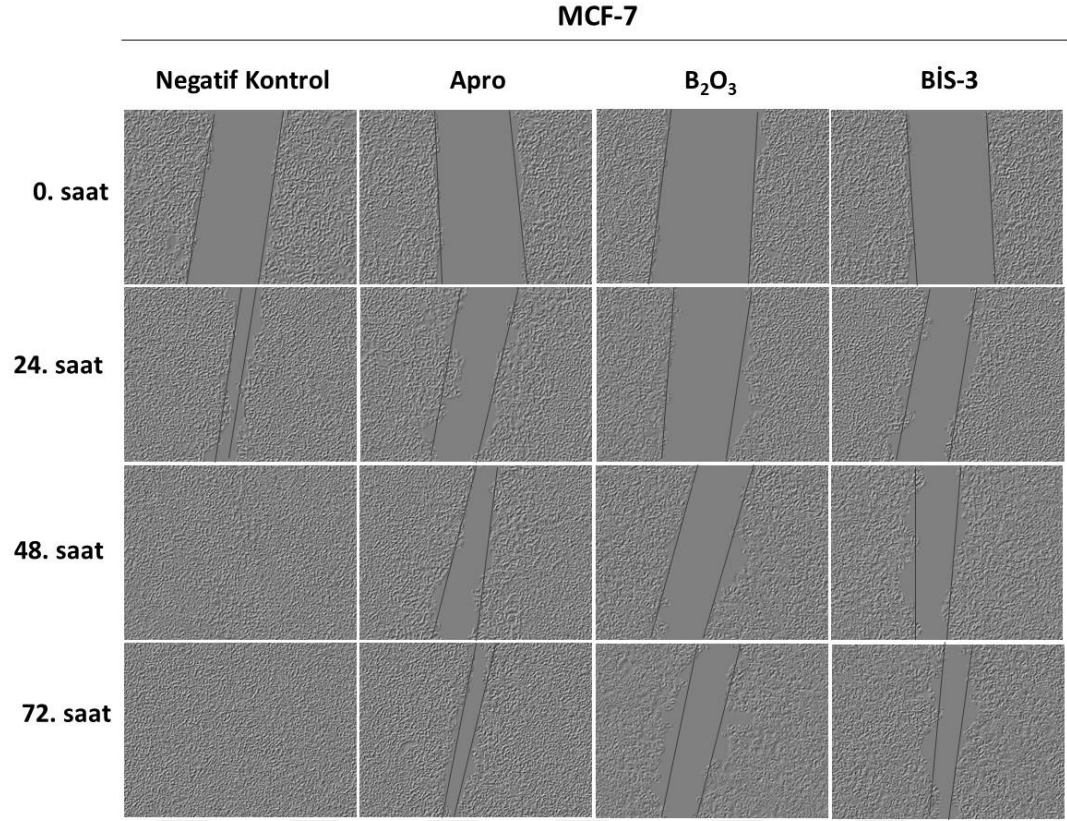


Şekil 4.3.13. Bileşiklerin (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası MCF-7 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

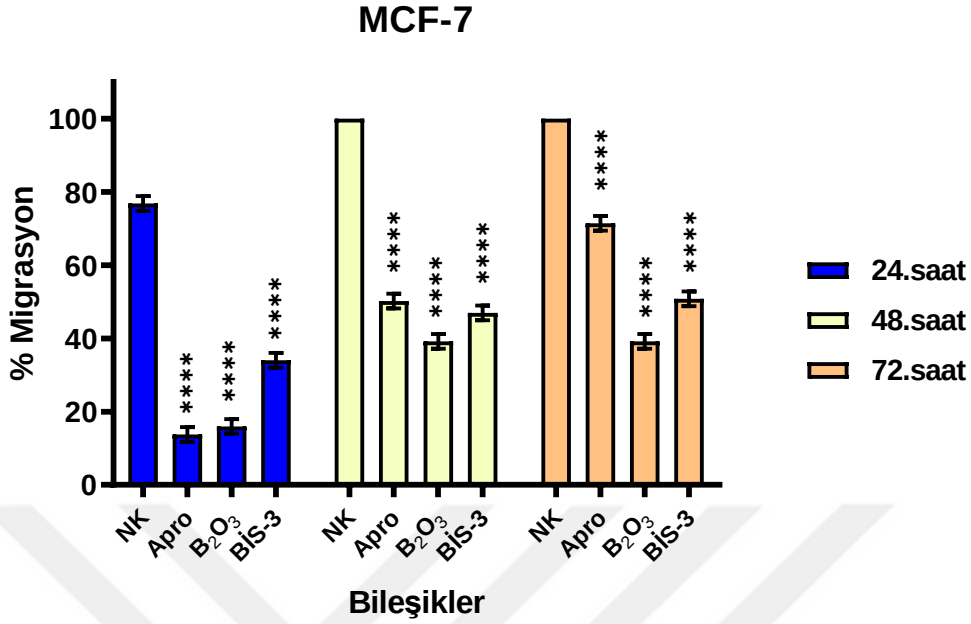


Şekil 4.3.14. Bileşiklerin (N-Mea, B₂O₃, BİS-2), MCF-7 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

MCF-7 hücrelerinin, MTT canlılık analizi sonucunda hesaplanan 48.saat IC₅₀ değerleri dikkate alınarak (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) migrasyon üzerindeki etkileri çizik testi ile araştırılmıştır. Kontrol bileşiği olan B₂O₃'ün mikroskop görüntüsü negatif kontrol ile kıyaslandığında migrasyon analizinde oldukça etkili olduğu görülmektedir. Ancak şekil 4.3.13'te migrasyon modellerinde görüldüğü üzere elde edilen BİS-2 bileşiği ve kontrol bileşiği N-Mea'nın 48. ve 72.saatte etkili olmayıp negatif kontrol ile aynı etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Yara kapanma yüzdeleri negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin migrasyon üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.



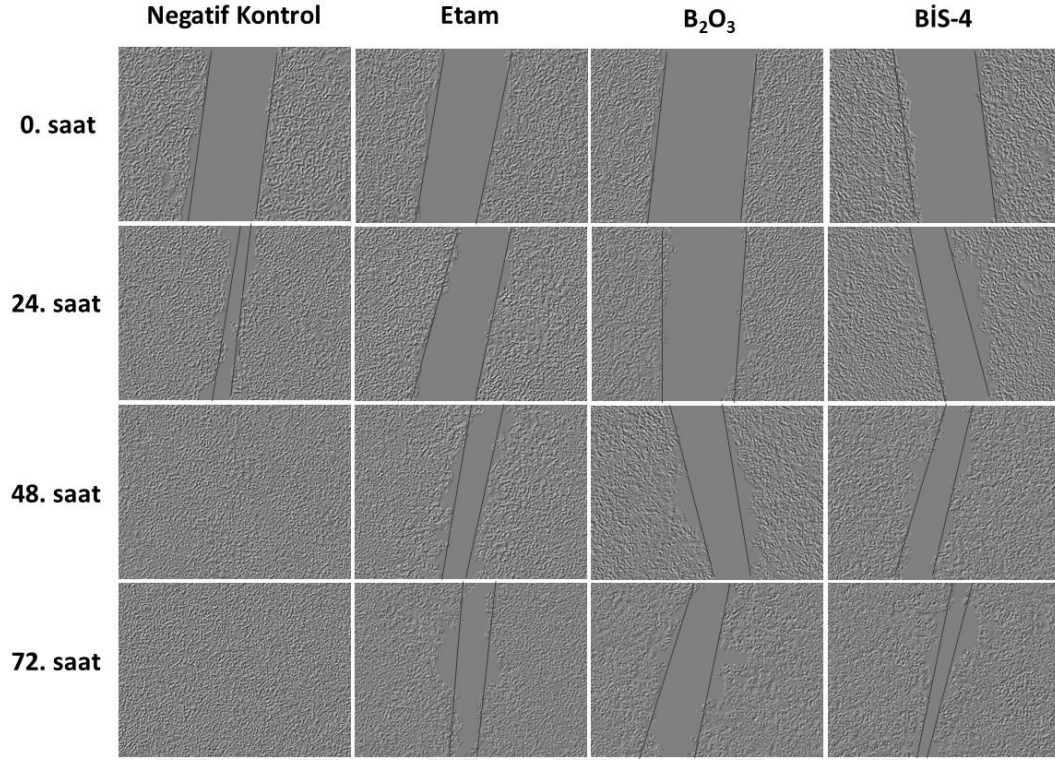
Şekil 4.3.15. Bileşiklerin (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası MCF-7 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)



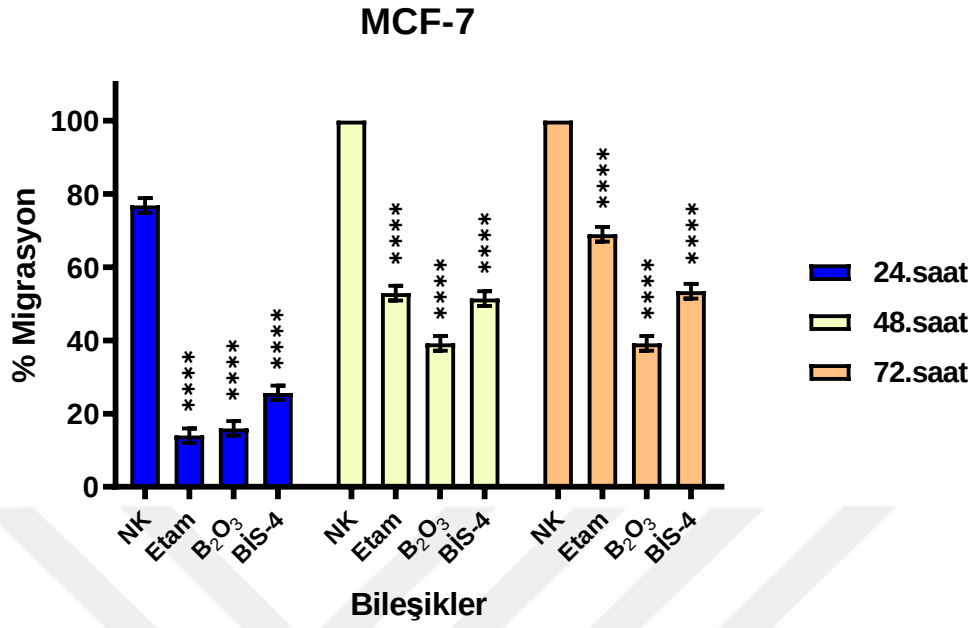
Şekil 4.3.16. Bileşiklerin (Apro, B₂O₃, BİS-3), MCF-7 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

PC-3 hücrelerinin, MTT canlılık analizi sonucunda hesaplanan 48.saat IC₅₀ değerleri dikkate alınarak (**Bishypa**, B₂O₃, BİS-5) migrasyon üzerindeki etkileri çizik testi ile araştırılmıştır. 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri şekil 4.3.15.'de verilmiştir. Negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin migrasyon üzerindeki olumlu etkileri görülmektedir. B₂O₃ bileşiğinin mikroskop görüntüsü negatif kontrol ile kıyaslandığında migrasyon analizinde oldukça etkili olduğu görülmektedir. Ancak çalışmamızda sentezlenen BİS-5 bileşiğinin kontrol bileşikler (**Bishypa**, B₂O₃) ile kıyaslandığında, beklenildiğinin aksine kontrol bileşiklerinden daha etkili olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca kapanma yüzdeleri negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin 24, 48 ve 72 kapanma verilerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir (Şekil 4.3.16.). Şekilde görüldüğü üzere, bileşikler özellikle en yüksek konsantrasyonda (1500 µg/ml) PC-3 prostat kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif etki göstermektedir. Madde konsantrasyonu azaldıkça bileşiklerin etkinliğinin azaldığı görülmektedir. Ayrıca, BİS-1 bileşiğinin kontrol grupları ile kıyaslandığında düşük konsantrasyonlarda daha etkili olduğu belirlenmiştir.

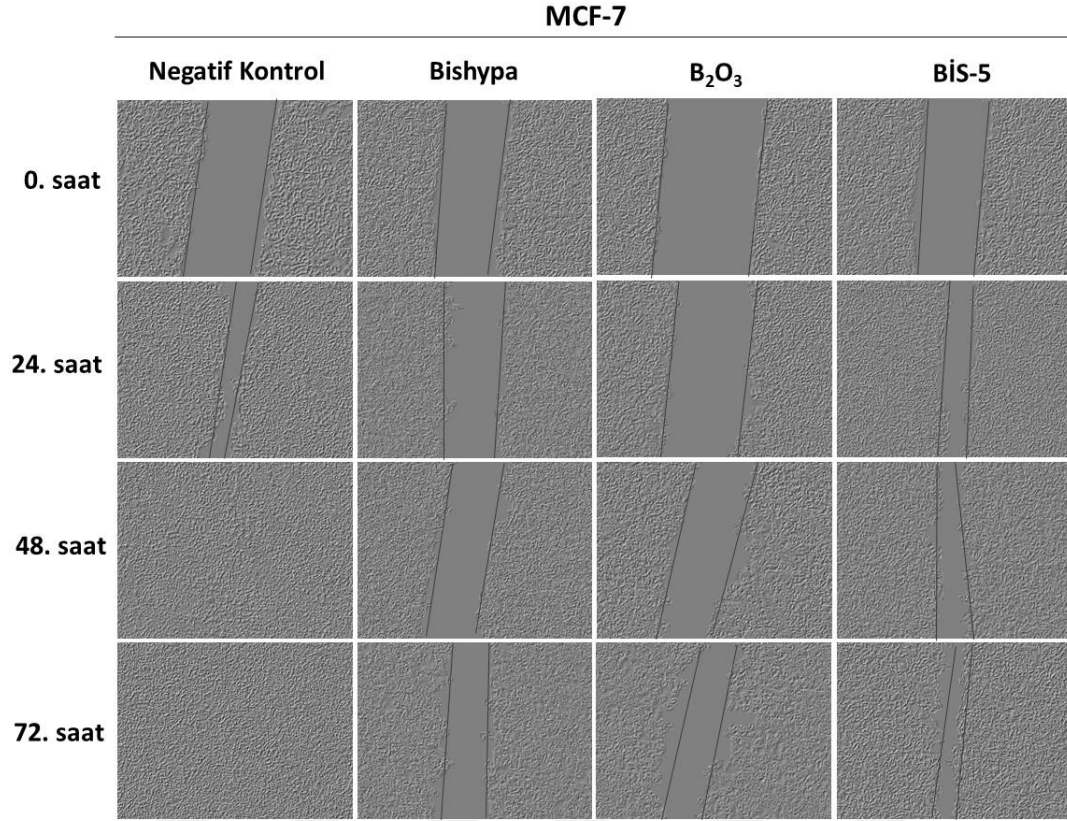
MCF-7



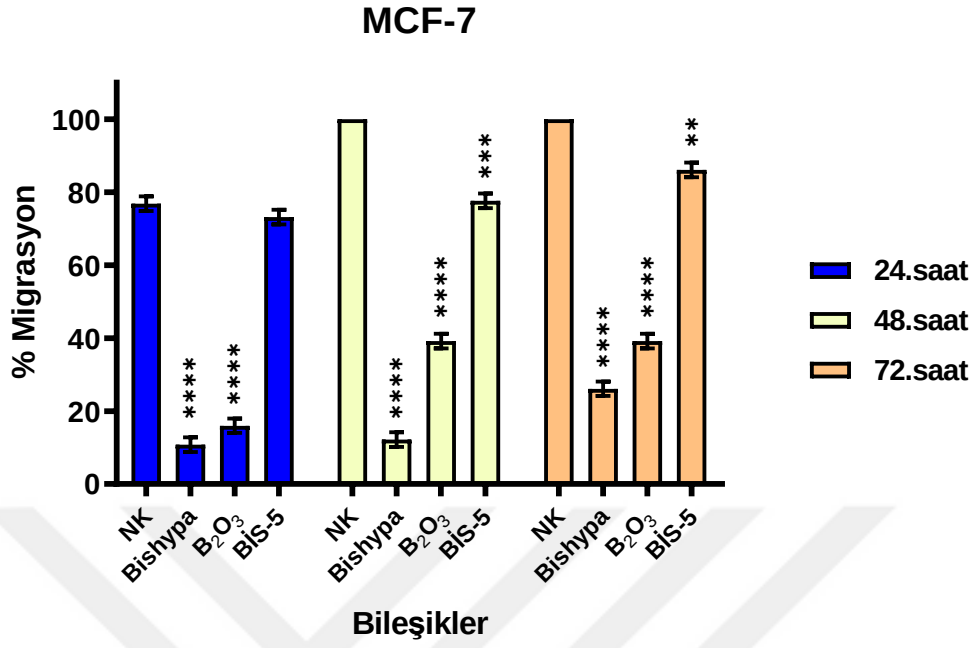
Şekil 4.3.17. Bileşiklerin (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası MCF-7 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)



Şekil 4.3.18. Bileşiklerin (Etam, B₂O₃, BiS-4), MCF-7 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

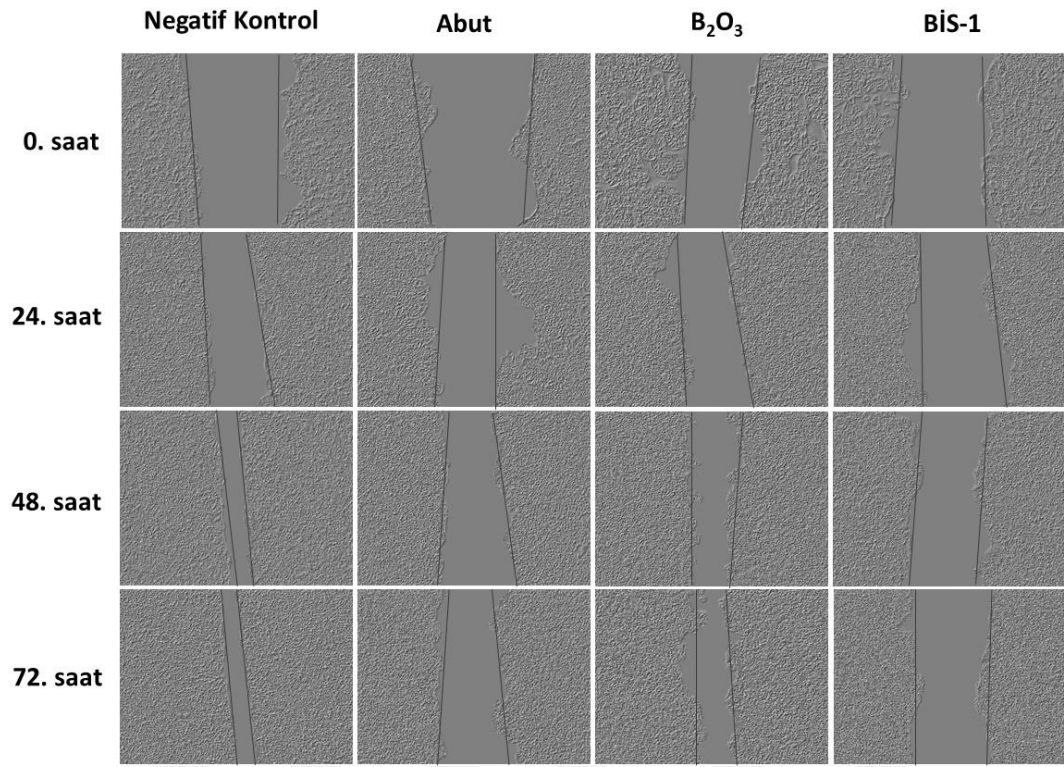


Şekil 4.3.19. Bileşiklerin (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası MCF-7 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)



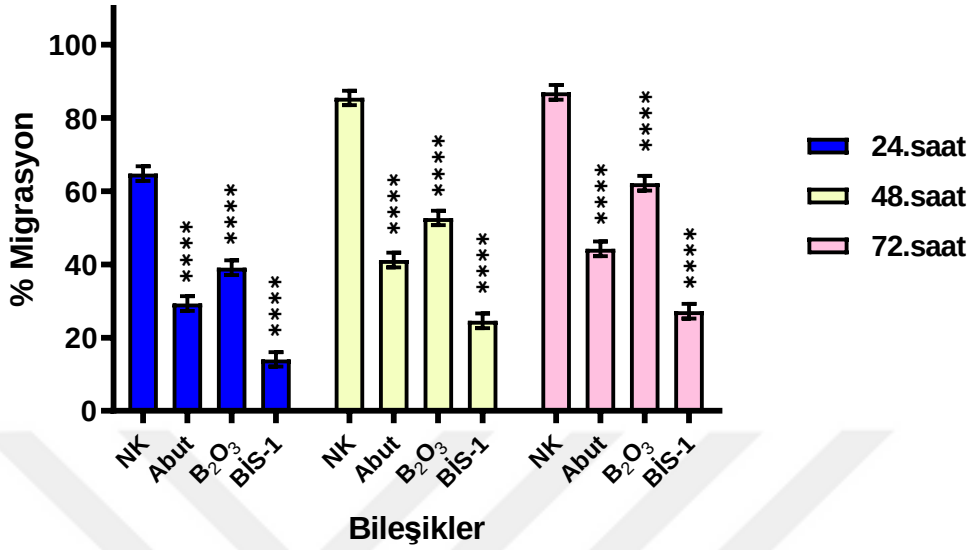
Şekil 4.3.20. Bileşiklerin (Bishypa, B₂O₃, BIS-5), MCF-7 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

HT-29



Şekil 4.3.21. Bileşiklerin (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası HT-29 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

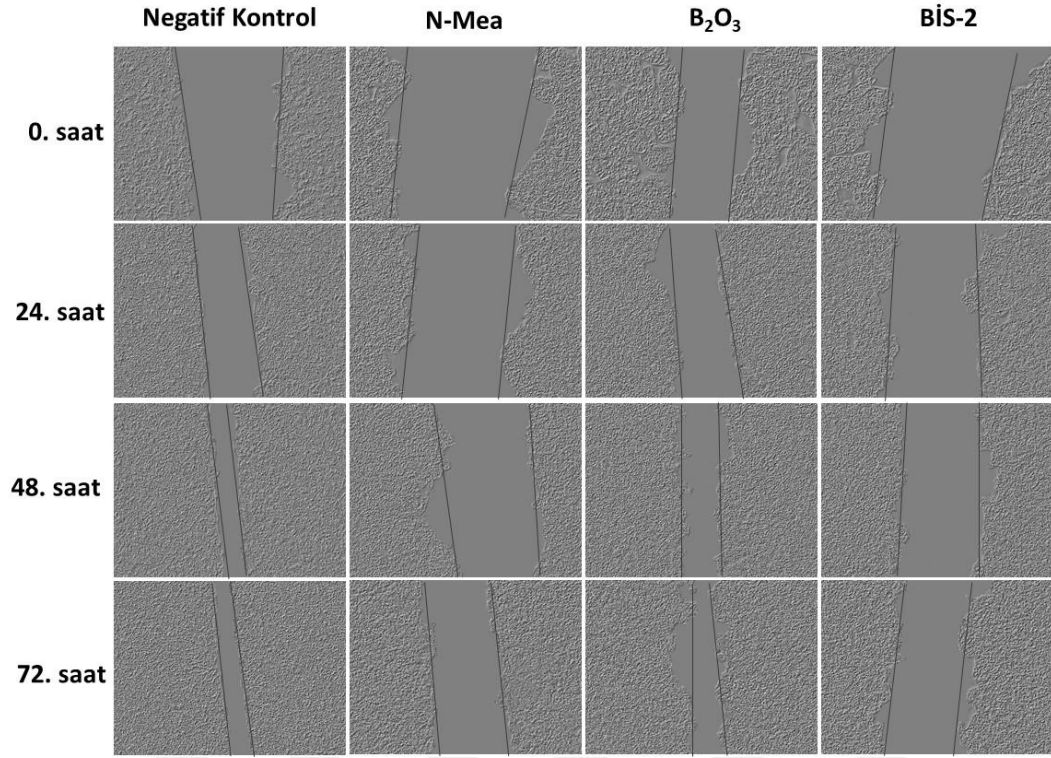
HT-29



Şekil 4.3.22. Bileşiklerin (Abut, B₂O₃, BİS-1), HT-29 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

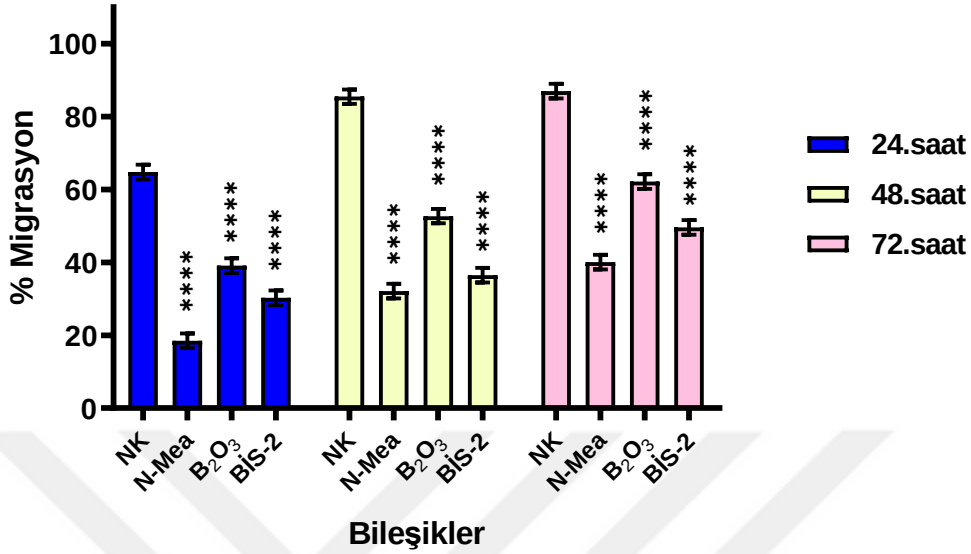
Şekil 4.3.21. ve 4.3.22’de bileşiklerin (Abut, B₂O₃, BİS-1) migrasyon analizi sonrası HT-29 hücresi üzerindeki etkileri verilmiştir. Ürün bileşiği olan BİS-1’in mikroskop görüntüsü (şekil 4.3.21.) negatif kontrol ile kıyaslandığında migrasyon analizinde oldukça etkili olduğu görülmektedir. Kontrol bileşiklerinin (Abut, B₂O₃) ise benzer migrasyon etkisine sahip olduğu görülmektedir. Maddelerin hepsinin antimigratif etkisinin olduğu görülmektedir. Image J programı kullanılarak elde edilen verilerin GraphPad Prism 9.0.0 yazılımı ile çizilen grafiği şekil (4.3.22.)’de verilmiştir. Sonuçlar negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.

HT-29



Şekil 4.3.23. Bileşiklerin (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası HT-29 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

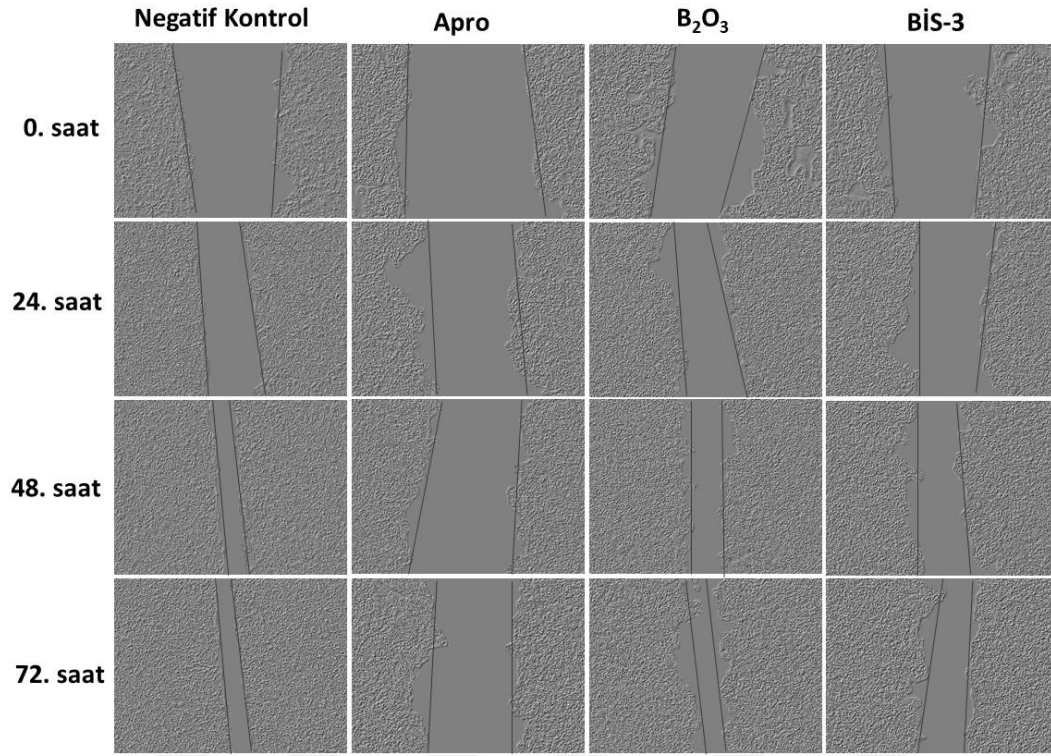
HT-29



Şekil 4.3.24. Bileşiklerin (N-Mea B₂O₃, BİS-2), HT-29 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

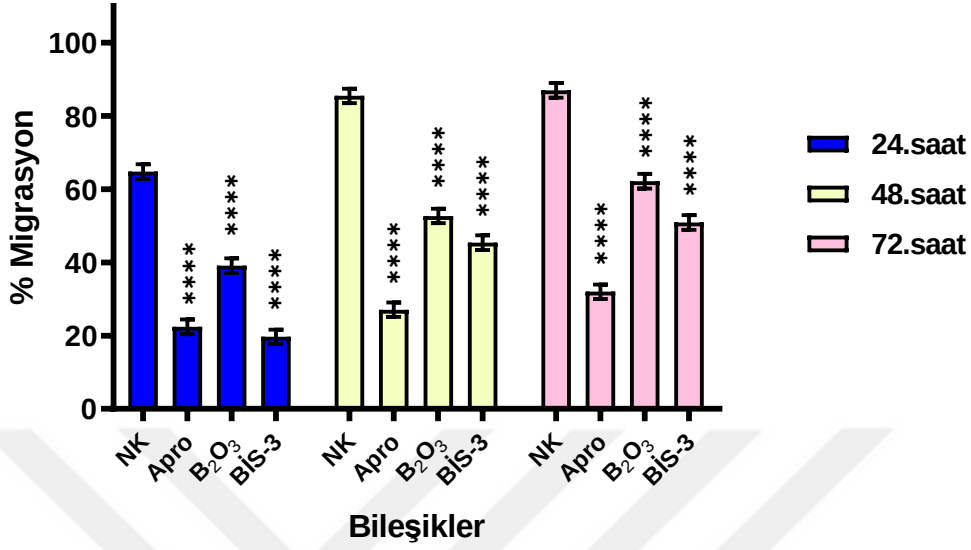
HT-29 hücrelerinin, MTT canlılık analizi sonucunda hesaplanan 48.saat IC₅₀ değerleri dikkate alınarak (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) migrasyon üzerindeki etkileri çizik testi ile araştırılmıştır. 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri şekil 4.3.23.'de verilmiştir. Kontrol bileşiği olan N-Mea'nın ve ürün bileşiği olan BİS-2'nin mikroskop görüntüsü incelendiğinde oldukça etkili oldukları ve benzer antimigratif etki gösterdikleri görülmektedir. Image J programı kullanılarak elde edilen verilerin GraphPad Prism 9.0.0 yazılımı ile çizilen grafiği şekil 4.3.24.'te verilmiştir. Sonuçlar negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.

HT-29



Şekil 4.3.25. Bileşiklerin (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası HT-29 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

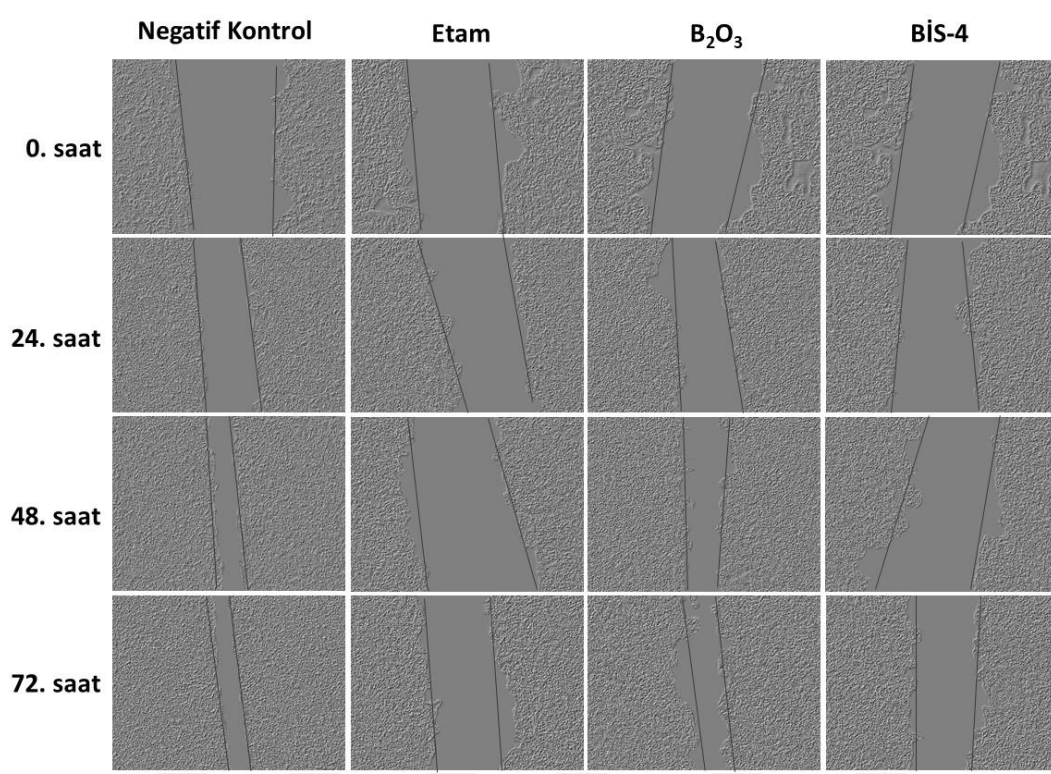
HT-29



Şekil 4.3.26. Bileşiklerin (Apro, B₂O₃, BİS-3), HT-29 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

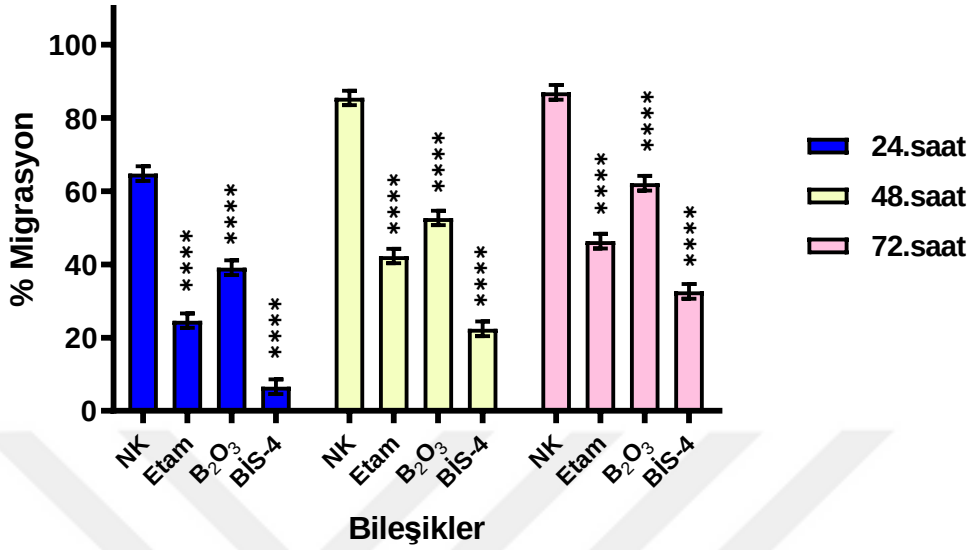
HT-29 hücrelerinin, MTT canlılık analizi sonucunda hesaplanan 48.saat IC₅₀ değerleri dikkate alınarak (**Apro**, **B₂O₃**, **BİS-3**) migrasyon üzerindeki etkileri çizik testi ile araştırılmıştır. 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri şekil 4.3.25.'de verilmiştir. Kontrol bileşiği olan Apro'nun mikroskop görüntüsü negatif kontrol ile kıyaslandığında migrasyon analizinde oldukça etkili olduğu görülmektedir. Çalışmada sentezlenen BİS-3 bileşiğinin kontrol bileşiği (**B₂O₃**) ile kıyaslandığında, daha etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kapanma yüzdeleri negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin 24, 48 ve 72 kapanma verilerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.

HT-29



Şekil 4.3.27. Bileşiklerin (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası HT-29 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

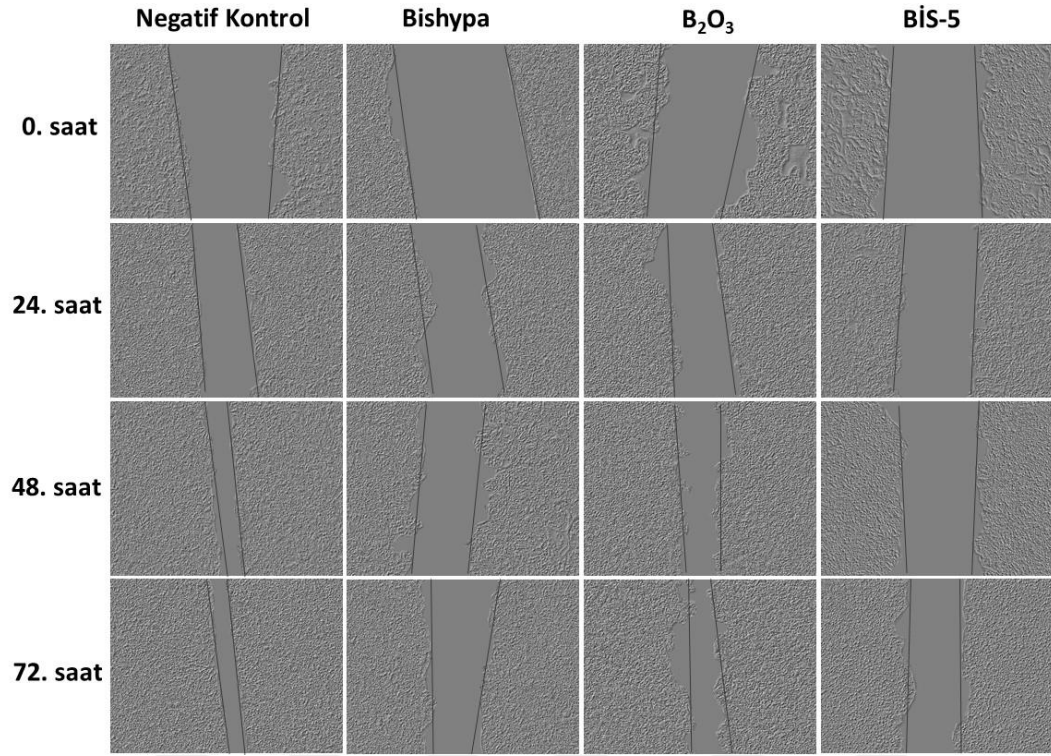
HT-29



Şekil 4.3.28. Bileşiklerin (Etam, B₂O₃, BİS-4), HT-29 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

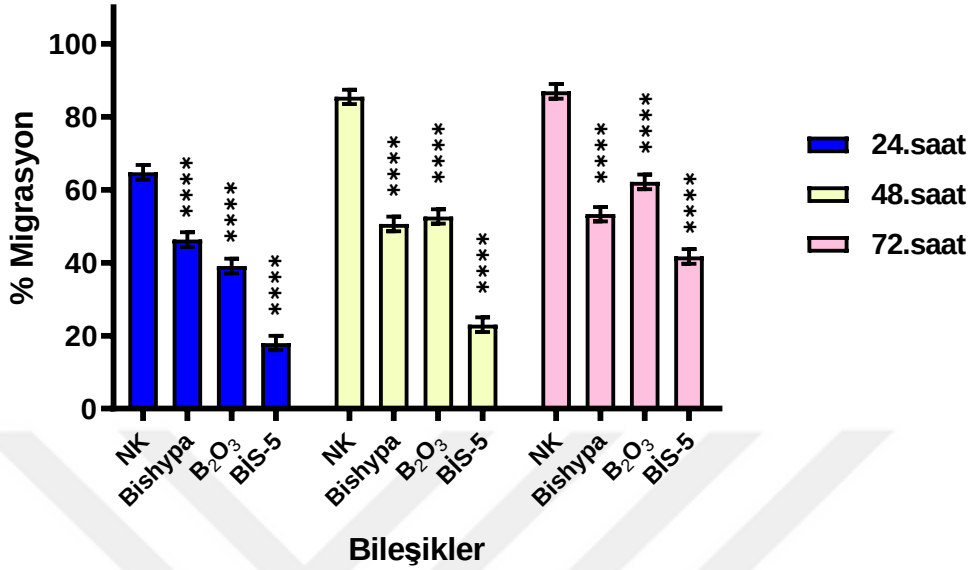
HT-29 hücrelerinin, MTT canlılık analizi sonucunda hesaplanan 48.saat IC₅₀ değerleri dikkate alınarak (**Etam, B₂O₃, BİS-4**) migrasyon üzerindeki etkileri çizik testi ile araştırılmıştır. 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri şekil 4.3.27.'de verilmiştir. Negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin migrasyon üzerindeki olumlu etkileri görülmektedir. BİS-4 bileşiğinin mikroskop görüntüsü incelendiğinde, 24, 48 ve 72. saat sonunda migrasyon analizinde oldukça etkili olduğu görülmektedir. Image J programı kullanılarak elde edilen verilerin GraphPad Prism 9.0.0 yazılımı ile çizilen grafiği şekil 4.3.28.'de verilmiştir. Sonuçlar negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.

HT-29



Şekil 4.3.29. Bileşiklerin (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkin konsantrasyonları (IC₅₀) ile gerçekleştirilen migrasyon analizi sonrası HT-29 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

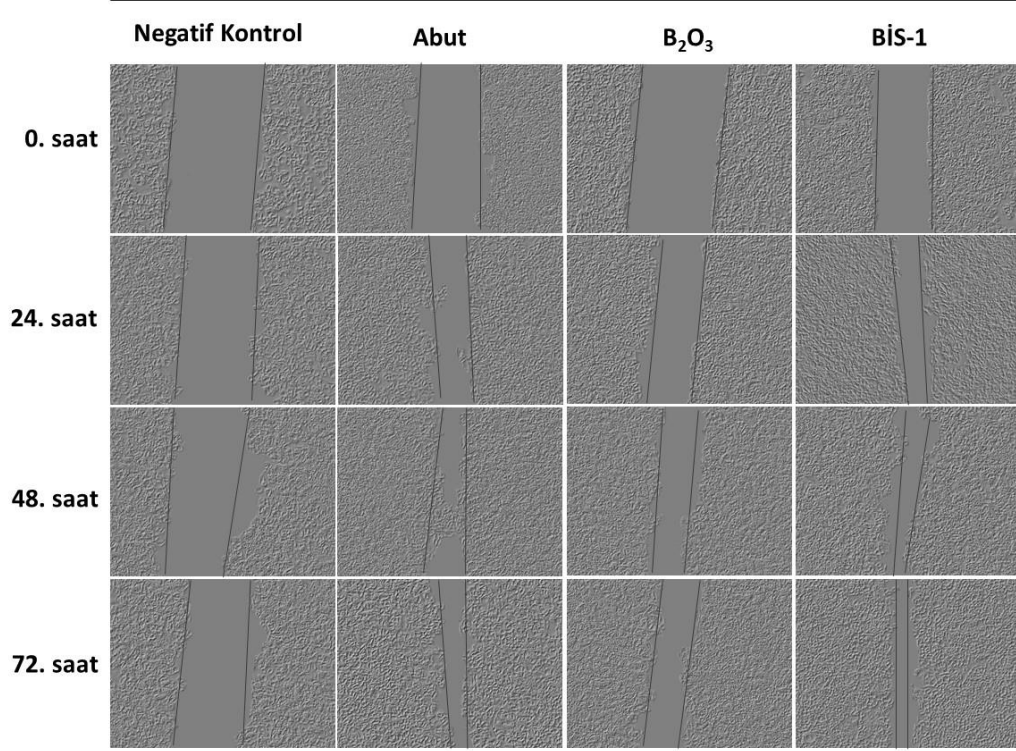
HT-29



Şekil 4.3.30. Bileşiklerin (Bishypa, B₂O₃, BİS-5), HT-29 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %migrasyon değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

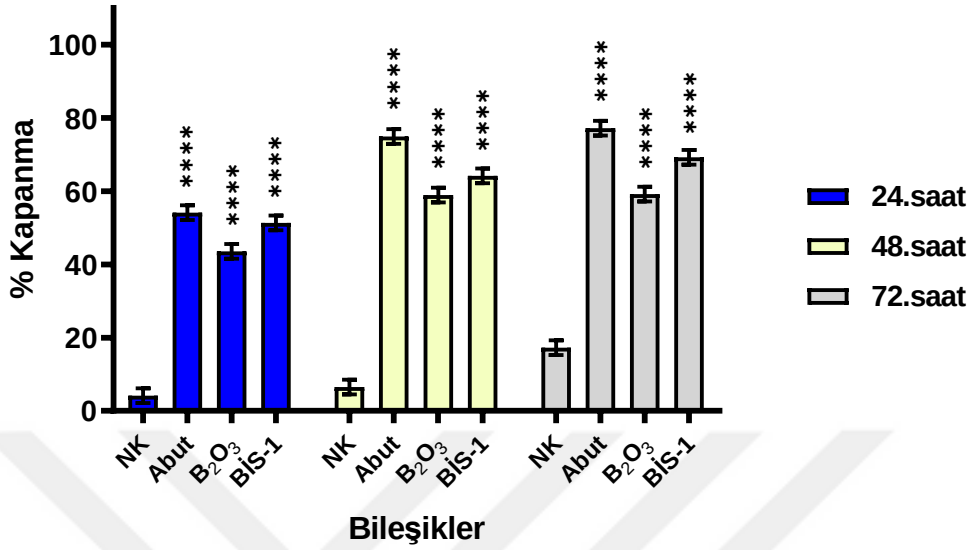
HT-29 hücrelerinin, MTT canlılık analizi sonucunda hesaplanan 48.saat IC₅₀ değerleri dikkate alınarak (**Bishypa**, **B₂O₃**, **BİS-5**) migrasyon üzerindeki etkileri çizik testi ile araştırılmıştır. 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri şekil 4.3.29.'da verilmiştir. Kontrol bileşiği olan Bishypa'nın mikroskop görüntüsü (şekil 4.3.29.) negatif kontrol ile kıyaslandığında migrasyon analizinde oldukça etkili olduğu görülmektedir. Çalışmada sentezlenen BİS-5 bileşiğinin kontrol bileşikleri (**Bishypa**, **B₂O₃**) ile kıyaslandığında, daha etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kapanma yüzdeleri negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin 24, 48 ve 72 kapanma verilerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.

SAOS-2



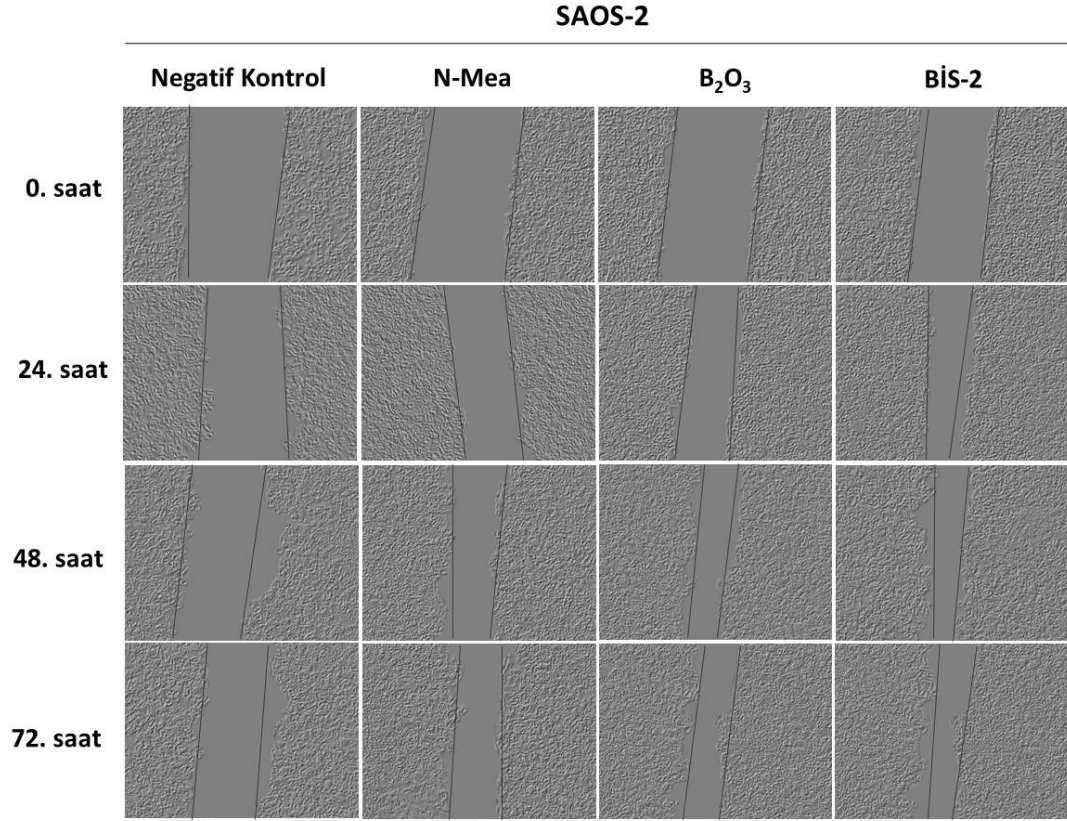
Şekil 4.3.31. Bileşiklerin (Abut, B₂O₃, BİS-1) etkin konsantrasyonları ile gerçekleştirilen yara iyileşme analizi sonrası SAOS-2 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

SAOS-2



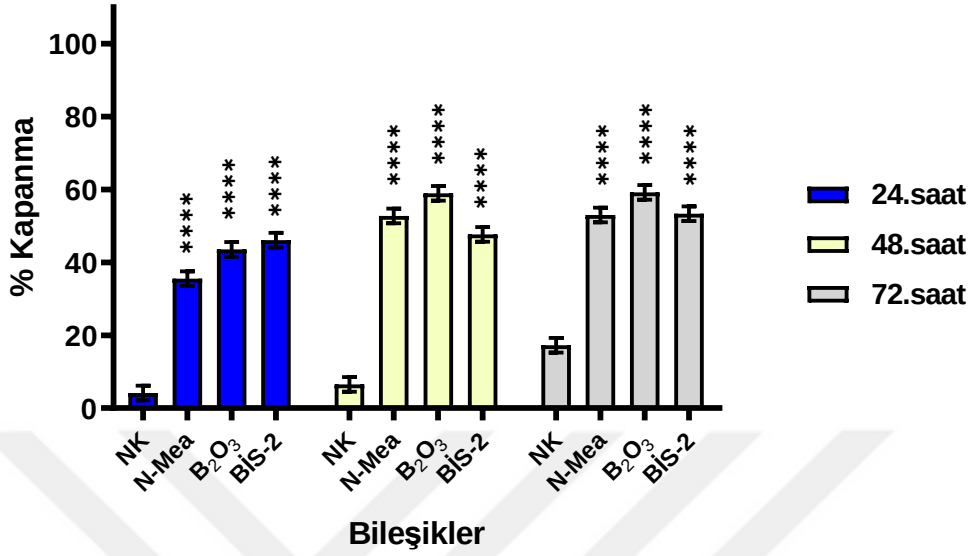
Şekil 4.3.32. Bileşiklerin (Abut, B₂O₃, BİS-1), SAOS-2 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %kapanma değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

BİS-1 bileşiğinin mikroskop görüntüsü (şekil 4.3.31.) incelendiğinde, MTT canlılık analizi grafikleri ile benzer etki gösterdiği görülmektedir. BİS-1 bileşiği negatif kontrol ile kıyaslandığında 72 saatin sonunda yara iyileşmede oldukça etkili olduğu görülmektedir. Image J programı kullanılarak elde edilen verilerin GraphPad Prism 9.0.0 yazılımı ile çizilen grafiği şekil 4.3.32.'de verilmiştir. Sonuçlar negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir.



Şekil 4.3.33. Bileşiklerin (N-Mea, B₂O₃, BİS-2) etkin konsantrasyonları ile gerçekleştirilen yara iyileşme analizi sonrası SAOS-2 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

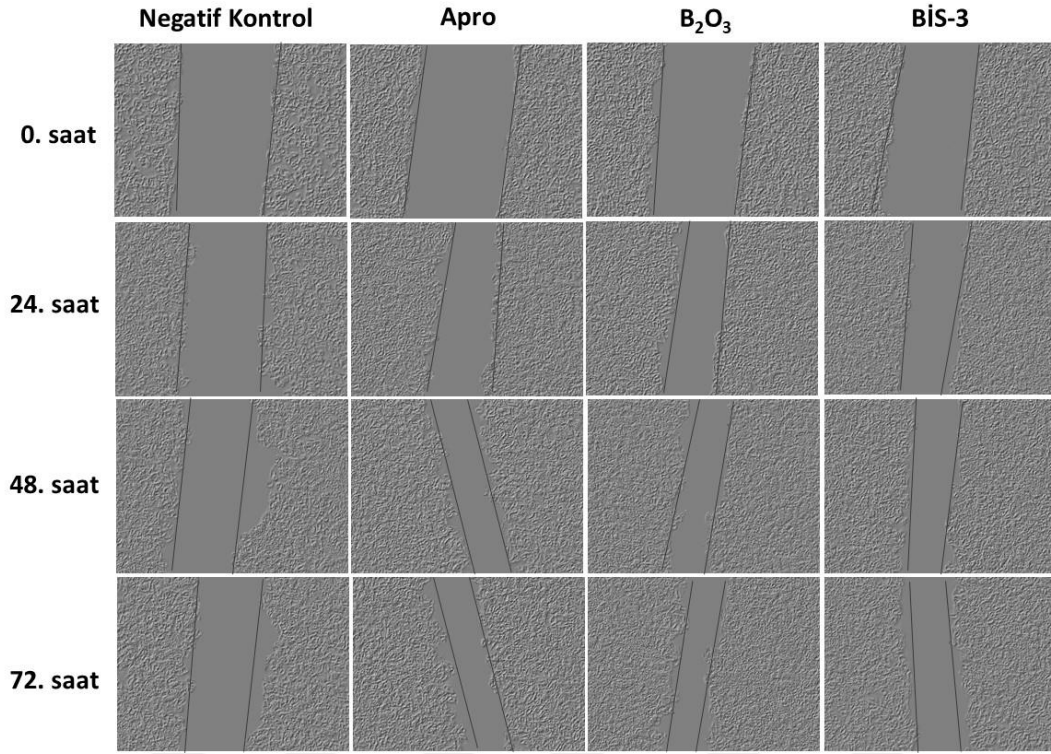
SAOS-2



Şekil 4.3.34. Bileşiklerin (N-Mea, B₂O₃, BİS-2), SAOS-2 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %kapanma değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

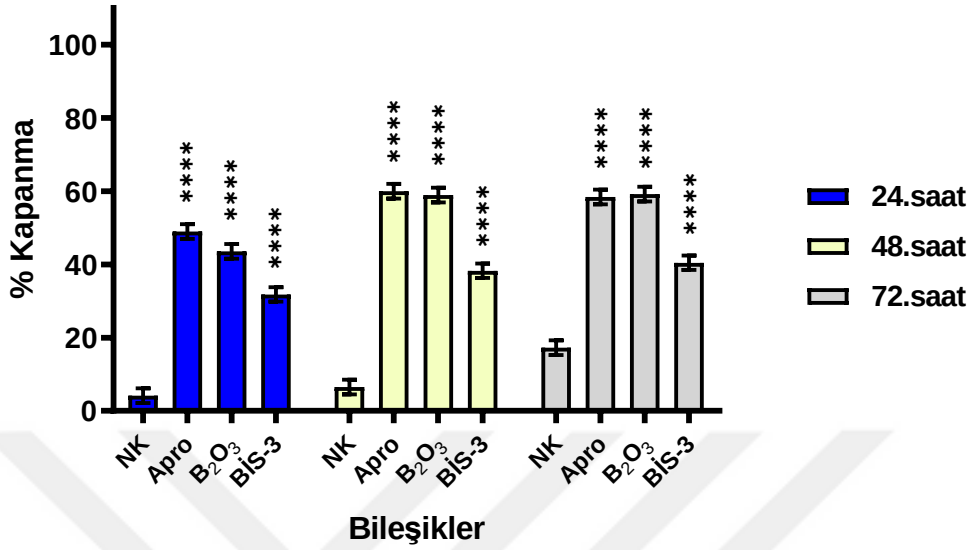
Şekil 4.3.33. mikroskop görüntüleri incelendiğinde, BİS-2 bileşiğinin 24, 48 ve 72 saat sonunda yara iyileştirmedeki etkisinin negatif kontrole kıyasla oldukça etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca kontrol bileşikler N-Mea ve B₂O₃'ün de kemik rejenerasyonunda etkili olduğu belirlenmiştir. Bileşiklerin (**N-Mea, B₂O₃, ve BİS-2**) 24, 48 ve 72 saat sonucunda kapanma yüzdeleri negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

SAOS-2



Şekil 4.3.35. Bileşiklerin (Apro, B₂O₃, BİS-3) etkin konsantrasyonları ile gerçekleştirilen yara iyileşme analizi sonrası SAOS-2 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

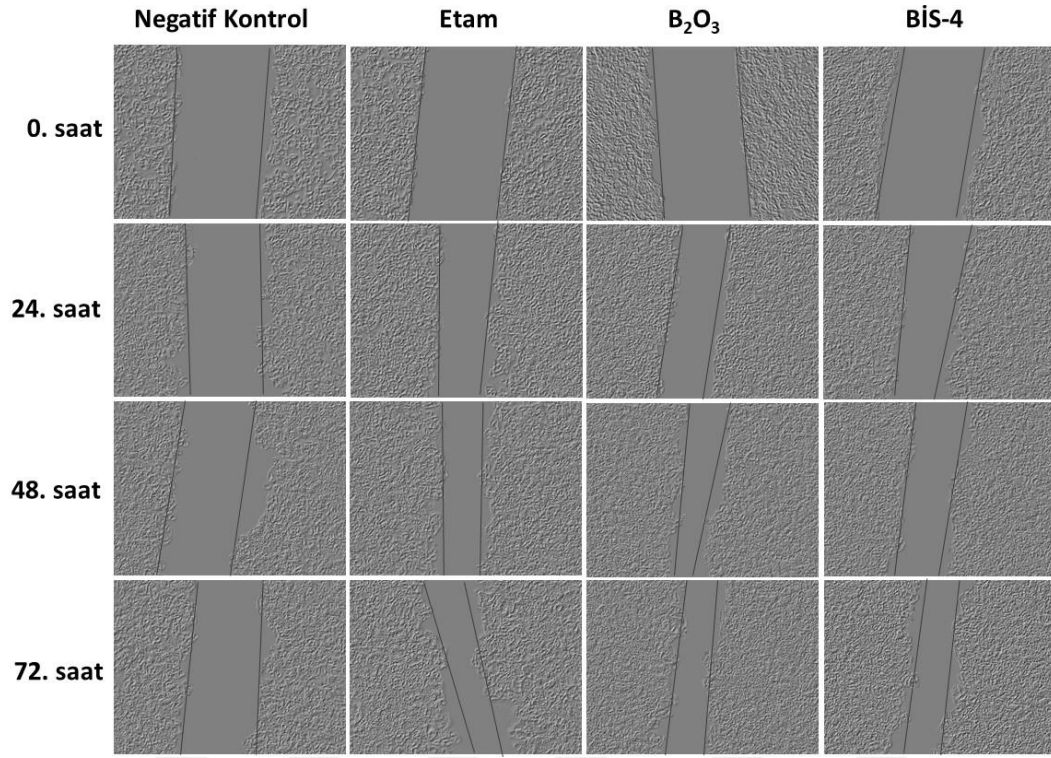
SAOS-2



Şekil 4.3.36. Bileşiklerin (Apro, B₂O₃, BİS-3), SAOS-2 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %kapanma değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

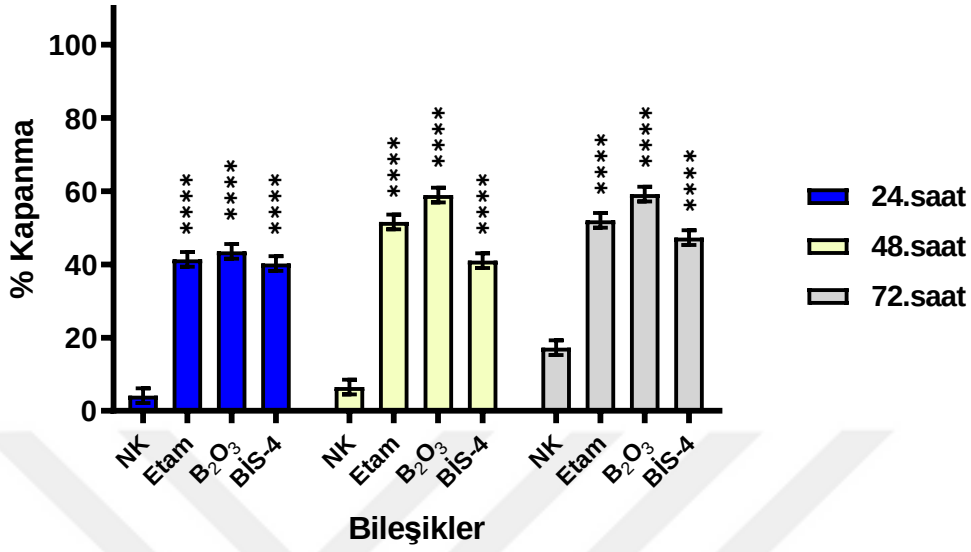
MTT canlılık analizi sonucunda belirlenen en etkili dozlarla bileşiklerin (**Apro, B₂O₃, ve BİS-3**) yara iyileşme üzerindeki etkileri çizik testi ile araştırılmıştır. 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen mikroskop görüntüleri 4.3.35.'de verilmiştir. Negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin yara iyileşme üzerindeki olumlu etkileri görülmektedir. Ancak çalışmamızda sentezlenen BİS-3 bileşiğinin kontrol bileşikleri (**Apro, B₂O₃**) ile kıyaslandığında, beklenildiğinin aksine kontrol bileşiklerinden daha etkili olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca kapanma yüzdeleri negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin 24, 48 ve 72 kapanma verilerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir (**şekil 4.3.36.**)

SAOS-2



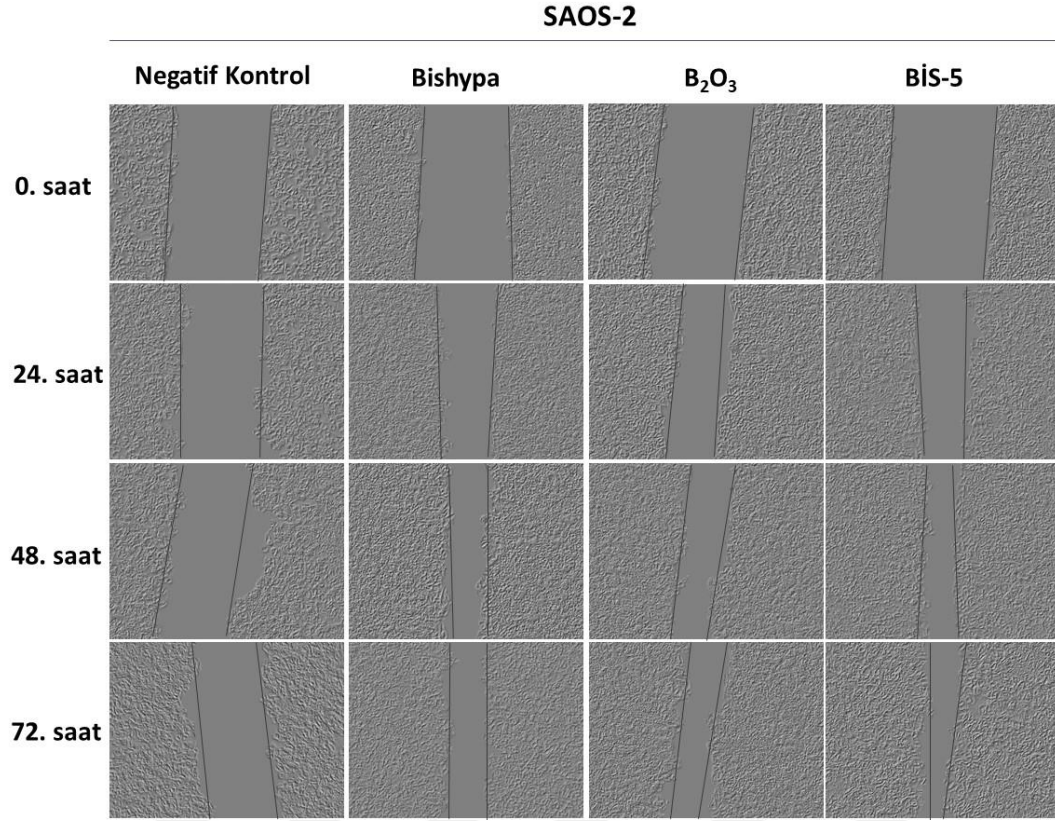
Şekil 4.3.37. Bileşiklerin (Etam, B₂O₃, BİS-4) etkin konsantrasyonları ile gerçekleştirilen yara iyileşme analizi sonrası SAOS-2 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

SAOS-2



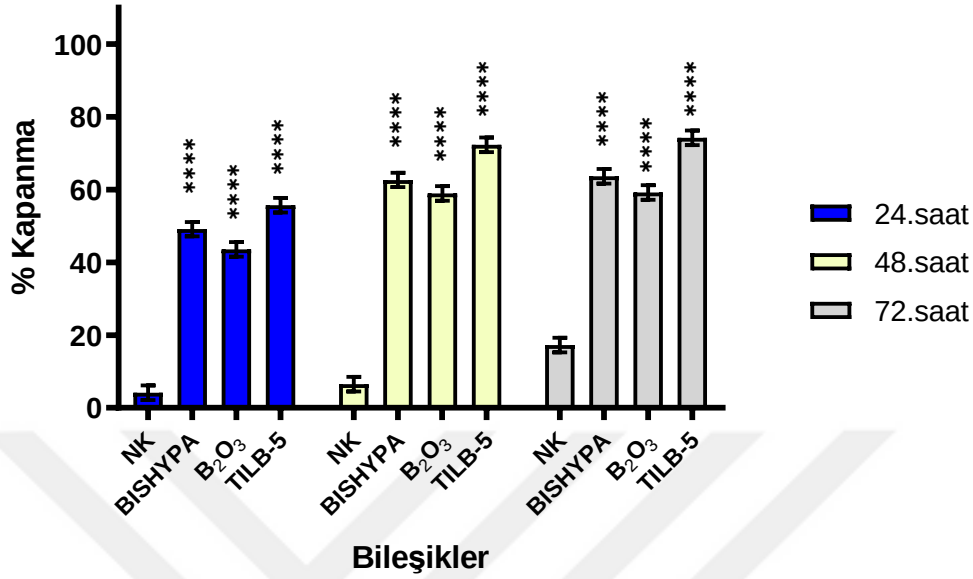
Şekil 4.3.38. Bileşiklerin (Etam, B₂O₃, BİS-4), SAOS-2 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %kapanma değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.3.37. mikroskop görüntüleri incelendiğinde, elde edilen BİS-4 bileşiğinin kontrol bileşikleriyle benzer etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Yara kapanma yüzdeleri negatif kontrol ile kıyaslandığında bileşiklerin yara iyileşme üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir (şekil 4.3.38.)



Şekil 4.3.39. Bileşiklerin (Bishypa, B₂O₃, BİS-5) etkin konsantrasyonları ile gerçekleştirilen yara iyileşme analizi sonrası SAOS-2 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

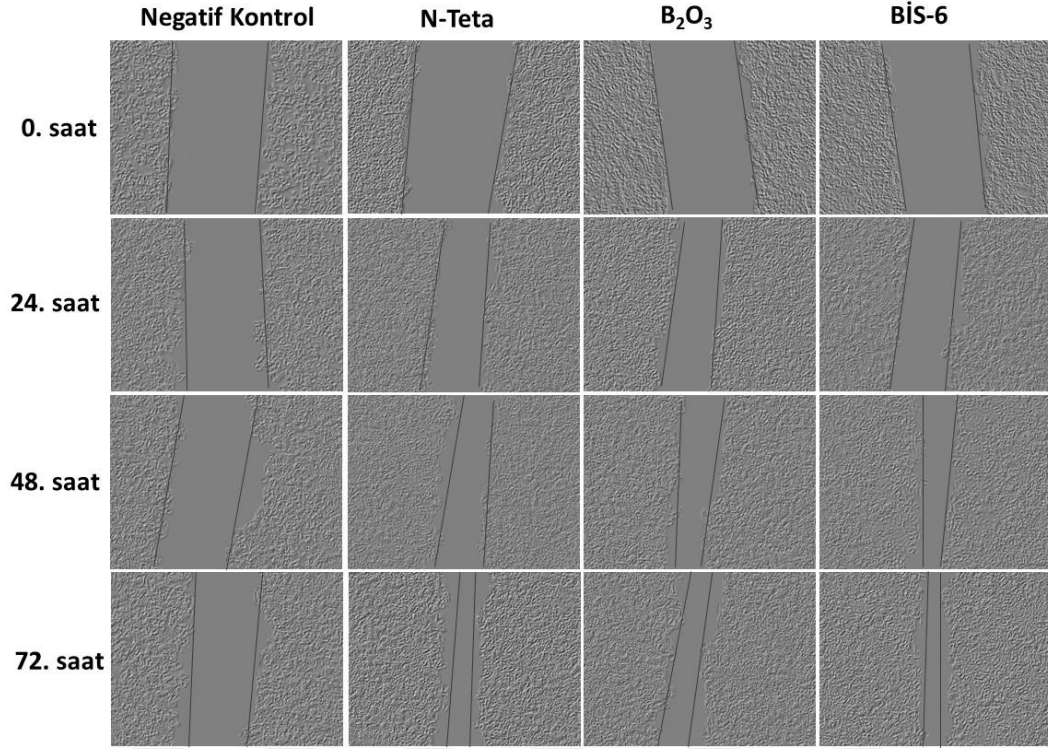
SAOS-2



Şekil 4.3.40. Bileşiklerin (Bishypa, B₂O₃, BİS-5), SAOS-2 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %kapanma değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

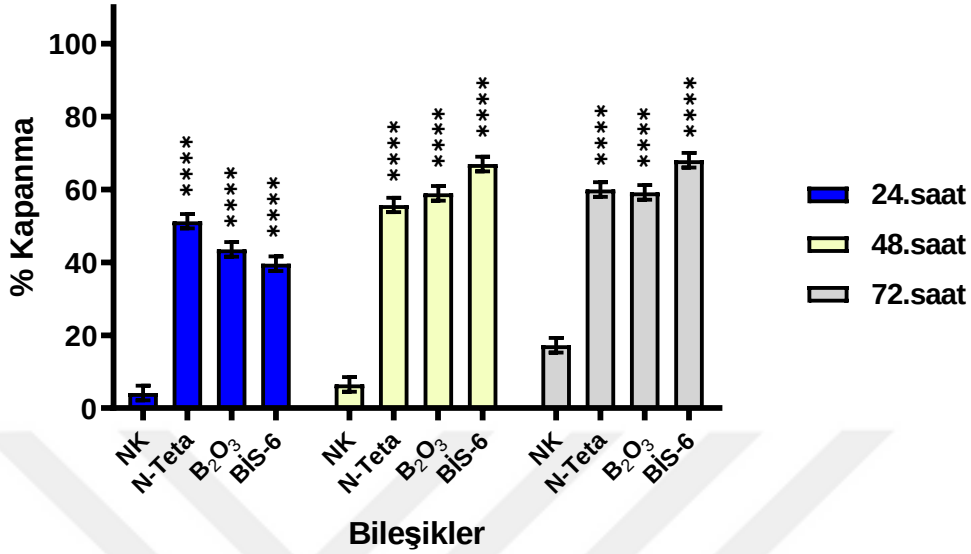
Yara iyileşme deneyine en etkili konsantrasyon ile geçilmiştir. 24, 48 ve 72 saat sonunda elde edilen görüntüler şekil 4.3.39.'da verilmiştir. BİS-5 bileşiği kontrol bileşikleri Bishypa ve B₂O₃'ten daha etkili olduğu görülmektedir. Bu etki istatistiksel olarak da anlamlı kabul edilmiştir.

SAOS-2



Şekil 4.3.41. Bileşiklerin (N-Teta, B₂O₃, BİS-6) etkin konsantrasyonları ile gerçekleştirilen yara iyileşme analizi sonrası SAOS-2 hücrelerinin 24. 48. ve 72. saat ters faz ışık mikroskobu görüntüleri (4X büyütme)

SAOS-2



Şekil 4.3.42. Bileşiklerin (N-Teta, B₂O₃, BİS-6), SAOS-2 hücreleri ile oluşturulan yara alanı ile inkübasyonunun 24. 48. ve 72. saatindeki %kapanma değerleri (****P≤0.0001 vs. Kontrol grubu hücreler).

Şekil 4.3.41. mikroskop görüntüleri incelendiğinde, BİS-6 bileşiğinin 24, 48 ve 72 saat sonunda yara iyileştirmedeki etkisinin negatif kontrole kıyasla etkili olduğu görülmüştür. Bileşiklerin (N-Teta, B₂O₃, ve BİS-6) 24, 48 ve 72 saat sonucunda kapanma yüzdeleri negatif kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan MTT analizi sonuçlarına göre B₂O₃ esaslı iyonik sıvıların negatif kontrol, ligand bileşikler (Abut, N-Mea, Apro, Etam, Bishypa and N-Teta) ve B₂O₃ ile kıyaslaması yapılmış ve ilgili grupların kemik hücre (SAOS-2) proliferasyonunu artırıcı yönde etki göstermiş oldukları doz ve süreler tespit edilmiştir. BİS bileşiklerinin çalışmada kullanılan konsantrasyonlarda (187,5–23,4 µg/ml) osteoblast benzeri hücre hattı SAOS-2 hücrelerine toksik olmadığı ve hücre proliferasyonunu artırıcı etki gösterdikleri belirlenmiştir. Negatif kontrol ve kontrol bileşikleri ile kıyaslandığında bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu oluşturulan yüzde canlılık grafiklerinde görülmektedir. **BİS'lerin tribolojik özelliklerinden yola çıkarak oluşturulan tez kapsamında, ilgili**

bileşiklerin kemik rejenerasyon potansiyelini arttırma eğiliminde olduğu açıktır. Bu durum, çalışmanın özgün değerini arttırmakta, ilgili bileşiklerin ortopedik alanda kullanılabilmesi için ileri analizlere götürülebileceğini desteklemektedir.

İlave olarak insanda bulunan eklem sıvısının (sinoviyal sıvı) viskozitesi, suyun viskozitesinden (1cp) 50-200 misli daha fazladır. Kullanılan amin ligantlarının viskozitesi suyun viskozitesine oldukça yakındır. Bu çıkış maddelerinin kemik aşınmalarında kullanılabilecek viskozitede olmadığı için B_2O_3 ile reaksiyonundan elde edilen yeni iyonik sıvının viskozite değeri kemik aşınması çalışmalarında kullanılması için uygun olmaktadır. Bu sebeple yapılan öncül çalışmada BİS'lerin biyolojik etkisinin çıkış maddelerinden biraz düşük olması (bütüne bakıldığında; vizkozitesinin çıkış maddelerinden daha iyi olması gibi) göz ardı edilebilir. Öte yandan bu sonuçlar kantitatif olarak anlamlı olsa da kemik doku rejenerasyonunda kullanılabilecek bir ilaç etken madde adayı olabilmek için ilgili bileşiklerin geliştirilmesi gerektiği düşünülmüştür. Bor trioksit bazlı iyonik sıvıların sitotoksik olmaması ve hücre proliferasyonunu ve migrasyonunu artırma özelliğine sahip olması, ilaç maddesi geliştirme sürecini destekleyen ilk adımların iyi kurgulandığını göstermektedir.

Elde edilen söz konusu sonuçlar, proje ekibi tarafından sentezlenen bileşiklerin medikal biyoteknolojik alanda kullanılabilir bir bileşik olduğu yönündeki hipotezi doğrulamaktadır.

Sonuç olarak, bu proje kapsamında sentezlenen bor trioksit esaslı iyonik sıvıların (BİS1-6), çeşitli kanser tipleri üzerinde hücre çoğalmasını ve migrasyonunu inhibe edici özellikler sergilediği bulunmuştur. Ancak bu özelliklerin, farklı bileşik gruplarında farklı düzeylerde kendisini gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum, ilgili bileşiklerin geliştirilebilir nitelikte olduğunu göstermektedir. Böylelikle söz konusu iyonik sıvıların kanser (meme, prostat, kolon) tedavisinde kullanılabilir nitelikte ilaç etken maddesi olma potansiyelinin bulunduğu söylenebilir.

6. KAYNAKLAR

- Dessordi, R., Spirlandeli, A. L., Zamarioli, A., Volpon, J. B., & Navarro, A. M. (2017). Boron supplementation improves bone health of non-obese diabetic mice. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 39, 169-175. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.09.011>
- Gaffney-Stomberg, E. (2019). The Impact of Trace Minerals on Bone Metabolism. *Biological Trace Element Research*, 188(1), 26-34. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1583-8>
- Gorustovich, A. A., López, J. M. P., Guglielmotti, M. B., & Cabrini, R. L. (2006). Biological performance of boron-modified bioactive glass particles implanted in rat tibia bone marrow. *Biomedical Materials*, 1(3), 100-105. <https://doi.org/10.1088/1748-6041/1/3/002>
- Guerfi, A., Dontigny, M., Charest, P., Petitclerc, M., Lagacé, M., Vijh, A., & Zaghib, K. (2010). Improved electrolytes for Li-ion batteries: Mixtures of ionic liquid and organic electrolyte with enhanced safety and electrochemical performance. *Journal of Power Sources*, 195(3), 845-852. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2009.08.056>
- Hakki, S. S., Bozkurt, B. S., & Hakki, E. E. (2010). Boron regulates mineralized tissue-associated proteins in osteoblasts (MC3T3-E1). *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24(4), 243-250. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2010.03.003>
- Kara, D. A. (t.y.). Kültür Ortamında Kemik Rejenerasyonu Deneysel Modelinde Mezenkimal Kök Hücre Tedavisine Borik Asitin Etkisi Ve Kemik Dokusunun Katkısı. <https://orcid.org/0000-0001-8762-987X>
- Marsh, K. N., Deev, A., Wu, A. C. T., Tran, E., & Klamt, A. (2002). Room Temperature Ionic Liquids as Replacements for Conventional Solvents - A Review. İçinde *Korean Journal of Chemical Engineering* (C. 19, Issue 3, ss. 357-362). Korean Institute of Chemical Engineers. <https://doi.org/10.1007/BF02697140>
- Pizzorno, L. (2015). Nothing Boring About Boron. İçinde *Integrative Medicine* • (C. 14, Issue 4).
- Seddon, K. R. (1997). Review Ionic Liquids for Clean Technology *. İçinde *J. Chem. T ech. Biotechnol* (C. 68).
- Wilkes, J. S. (2002). A short history of ionic liquids - From molten salts to neoteric solvents. İçinde *Green Chemistry* (C. 4, Issue 2, ss. 73-80). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/b110838g>
- Anonim, 2007. İyonik Sıvılar. http://en.wikipedia.org/wiki/Ionic_liquid. (22.05.2010).

Basu, S., Tindall, D.J. (2010). Androgen action in prostate cancer. *Hormones and Cancer*, 1(5), 223-8.

Bowen, C., Bubendorf, L., Voeller, H.J., Slack, R., Willi, N., Sauter, G., Gasser, T.C., Koivisto, P., Lack, E.E., Kononen, J., Kallioniemi, O.P., Gelmann, E.P. (2000). Loss of NKX3.1 expression in human prostate cancers correlates with tumor progression. *Cancer Res.*, 60, 6111-6115.

Caffarel, M., Pensa, S., Wickenden, J., Watson, C. (2011). *Molecular Biology of Breast Cancer*. Encyclopedia of Life Sciences (ELS), John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. DOI: 10.1002 / 9780470015902.a0023164 Camarillo I., Xiao F., Madhivanan S., Salameh T., Nichols M., Reece L., Leary J., Otto K., Natarajan A., Ramesh A., Sundararajan R. (2014).

Low and high voltage electrochemotherapy for breast cancer: an in vitro model study. *Electroporation-Based Therapies for Cancer From Basics to Clinical Applications*, 2014, 55-102

Eroles, P., Bosch, A., Pérez-Fidalgo, J.A., Lluch, A. (2011). Molecular biology in breast cancer: Intrinsic subtypes and signaling pathways. *National Library of Medicine*, 38(6), 698-707

Fasoulakis Z., Kolios G., Papamanolis V., Kontomanolis E. (2018). Interleukins Associated with Breast Cancer. *Cureus*, 10(11), 3549. Feng, Y., Spezia, M. (2018). Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes & Diseases*, 5, 77-106.

Francis, J.C., Swain, A. (2018). Prostate Organogenesis. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 8(7), a030353.

Herzig, T., Schreiner, C., Gerhard, D., Wasserscheid, P., Gores, H.J. 2007. Characterisation and properties of new ionic liquids with the difluoromono [1,2-oxalato (2-)-O-O']borate anion. *Journal of Fluorine Chemistry*, 128, 612–618.

Huang, Q., Elkhooly, T. A., Liu, X., Zhang, R., Yang, X., Shen, Z., Feng, Q., 2016.

Johnson, M.G., Kiyokawa, H., Tani, S., Koyama, J., 1997. "Antitumor agents-CLXVII. Synthesis and structure-activity correlations of the cytotoxic anthraquinone 1,4-bis-(2,3-epoxypropyl-amino)-9,10-anthracenedione, and of related compounds", *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 5, 1469-1479.

Newnham, R. E., 1994, Essentially of boron for healthy bones and joints, *Environ. Health Respect.*, 102 (7), 83-85

Oganov, A.R., Solozhenko, V.L. 2009. Boron: a hunt for superhard polymorphs. *J. Superhard Mater.* 31, 285–291.

Pors, K., Plumb, J. A., Brown, R., Teesdale-Spittle, P., Searcey, M., Smith, P. J., Patterson, L. H., 2005. "Development of nonsymmetrical 1,4-disubstituted anthraquinones that are potently active against cisplatin-resistant ovarian cancer cells", *Journal of Medicinal Chemistry*, 48, 6690-6695.

SAOS-2 cell response to macro-porous boron incorporated TiO₂ coating prepared by micro-arc oxidation on titanium. *Materials Science And Engineering*, 67, 195-204.

Valastyan, S., Weinberg, R.A. (2011). Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. *Cell*, 147, 275-292. Van Zijl, F., Krupitza, G., Mikulits, W. (2011). Initial steps of metastasis: cell invasion and endothelial transmigration. *Mutation Research*, 728, 23-34.

Velloso, F., Bianco, A., Farias, J., Torres, N., Ferruzo, P., Anschau, V., JesusFerreira, H., Chang, T., Sogayar, M., Zerbini, L., Correa, R. (2017). The crossroads of breast cancer progression: insights into the modulation of major signaling pathways. *Journals*, 10, 5491-5524.

Wang W., Mani A., Wu Z. (2017). DNA damage-induced nuclear factor-kappa B activation and its roles in cancer progression. *J Cancer Metastasis Treat*, 3, 45-59

Welton, T. 1999. Room-temperature ionic liquids. Solvents for synthesis and catalysis. *Chem. Rev.*, 99, 2071–2083.

White, C.W., Xie, J.H., Ventura, S. (2013). Age-related changes in the innervation of the prostate gland: implications for prostate cancer initiation and progression. *Organogenesis*, 9(3): 206–215.

Yang, F., Zhu, M., Zhang, J., & Zhou, H. 2018. Synthesis of biologically active boron-containing compounds. *MedChemComm*, 9(2), 201-211.

Zhao, D., Wu, M., Kou, Y., Min, E. 2002. Ionic liquids: applications in catalysis. *Catal. Today*, 74, 157-189.

Zhuo, J. C., Cai, J., Soloway, A. H., Barth, R. F., Adams, D. M., Ji, W., & Tjarks, W. 1999. Synthesis and biological evaluation of boron-containing polyamines as potential agents for neutron capture therapy of brain tumors. *Journal of medicinal chemistry*, 42(7), 1282-1292.