

**BAZI 4-DİHİDROKSİBORİL-DL-FENİLALANİN TÜREVLERİNİN
Au(III) ve Pt(II) KOMPLEKSLERİNİN SİTOTOKSİK, ANJİYOGENİK VE
ANTIANGİYOGENİK ETKİLERİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR**

Tamer DÖNMEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI 4-DİHİDROKSİBORİL-DL-FENİLALANİN
TÜREVLERİNİN Au(III) ve Pt(II) KOMPLEKSLERİNİN
SİTOTOKSİK, ANJİYOGENİK VE ANTİANJİYOGENİK
ETKİLERİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR**

Tamer DÖNMEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Eskişehir, TEMMUZ 2011

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kadriye BENKLİ

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve soyadı : Tamer DÖNMEZ
Doğum tarihi ve yeri : 09.02.1982 Bursa- Yıldırım
Uyruđu : T.C.
Medeni durumu : Evli
Tel : 0 5324678115
E-posta : donmezt9@hotmail.com
Lisans : Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Yabancı diller : İngilizce
İşyeri : Sölöz Eczanesi / Bursa

ÖNSÖZ

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde tamamlamış olduğum Yüksek Lisans Tez danışmanım Prof. Dr. Kadriye Benkli'ye, aktivite çalışmaları ile verdikleri katkı için Doç. Dr. Ayşe Tansu Kopardal'a, Abdullah Bars'a ve Deniz Zahide Altınşeker'e, ayrıca bu çalışmadaki maddi destekleri için Anadolu Üniversitesi Proje Birimi'ne ve TÜBİTAK Sağlık Bilimleri Araştırma Destek Grubu'na, teşekkürlerimi sunarım.

**BAZI 4-DİHİDROKSİBORİL-DL-FENİLALANİN TÜREVLERİNİN
Au(III) ve Pt(II) KOMPLEKSLERİNİN SİTOTOKSİK, ANJİYOGENİK
VE ANTİANJİYOGENİK ETKİLERİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR**

ÖZET

Kanser tedavisinde, kemoterapi sıklıkla başvurulan bir yöntemdir. Proteinlerin ve enzimlerin pek çoğunun biyolojik aktivitesinin bu yapıların metal merkezlerine bağlı olduğu görüşünden hareketle pek çok metal kompleksi potansiyel kemoterapötik ajan olarak düşünülmüş ve heterosiklik ligandların geçiş-metal kompleksleri konusunda geniş kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Aynı zamanda, bor bileşiklerinin kanser tedavisinde kullanımı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalar antianjiyogenik mekanizmaların gelecekte kanser tedavisinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada, 4-dihidroksiboril-DL-fenilalanin'in 1,8-diaminonaftalen, N,N'-difeniletildiamin ve N,N'-difenilbenzamidin ile kondensasyon ürünlerinin Au(III) ve Pt(II) kompleksleri elde edilmiştir. Bileşiklerin yapıları ¹H NMR, IR, MS ve elementel analiz spektroskopik yöntemleri ile aydınlatılmıştır. Aktivite çalışmalarında, bileşiklerin HUVEC ve A549 hücreleri üzerindeki sitotoksitelerinin belirlenmesinde MTT yöntemi kullanılmıştır. Test maddelerinin anjiyogenik ve antianjiyogenik potansiyelleri HUVEC tüp formasyon yöntemi ile belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bor, Au(III), Pt(II), sitotoksitite

STUDIES ON THE CYTOTOXIC, ANGIOGENIC AND ANTIANGIOGENIC EFFECTS OF SOME 4-DIHYDROXYBORYL-DL-PHENYLALANINE DERIVATIVES

ABSTRACT

Chemotherapy is a rather frequently consulted method in cure of cancer. Thinking that the biological activity is depended of metal centers of most of proteins and enzymes, this synthesized complexes can be a potential chemotherapeutic agents and a lot of research had done. And also there are some studies about antiproliferative activity of the compounds including boron on some cancer cells. Research into experimental angiogenesis shows that this can be a strategy with an important role in cancer therapy in near future.

In this research, Au(III) and Pt(II) complexes of the compounds which are condensation products of 4-Dihydroxyboryl-DL-phenylalanine with 1,8-diaminonaphthalene, N,N'-diphenylethylenediamine and N,N'-diphenylbenzamidine will be synthesized. The characterization of the intermediate and final compounds arising from this work was carried out by means of a variety of spectroscopic methods, which include ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR, MS, IR and elemental analysis. In the activity studies MTT method was used for the cytotoxicities of the compounds on HUVEC and A549. Angiogenic and antiangiogenic properties of the test substances was investigated via HUVEC tube formation assay.

Key words: Bor, Au(III), Pt(II), cytotoxicity

İÇİNDEKİLER	
ÖZGEÇMİŞ	i
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK TARAMASI	2
GEREÇLER ve YÖNTEMLER	17
BULGULAR ve TARTIŞMA	23
KAYNAKLAR	31

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA
Şekil 1 Genel sentez yöntemi	19
Şekil 2 MTT sonuçları	29
Şekil 3 MTT sonuçları	30

ŞİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

E.N.	: Erime noktası
IR	: Infrared (Kızıl ötesi)
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
MS	: Mass spectrometry (Kütle spektrometrisi)
m/z	: Kütle/yük
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
R_f	: Retention factor (Alıkonma faktörü)
TMS	: Tetrametilsilan
Au	: Altın atomu
DNA	: Deoksiribonükleik asit
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
<i>in vitro</i>	: Laboratuar ortamında ya da yapay koşullarda
N	: Azot atomu
Pt	: Platin atomu

GİRİŞ ve AMAÇ

Kanser, insan sağlık sistemi üzerinde önemli sosyal ve ekonomik etkilere sahip ciddi bir problemdir. Teşhis, korunma yöntemleri ve tedavilerindeki gelişimlere rağmen bu hastalık hala bütün dünyada milyonlarca hastayı etkilemekte, onların yaşam kalitesini düşürmekte ve dünyadaki ölüm nedenlerinin başını çekmektedir. Bu hastalığın tedavisinde, kemoterapi sıklıkla başvuru olan bir yöntemdir. Kanseri başlatan ve ilerleten etkenler olarak çeşitli büyüme faktörleri, hormonlar, sitokinler, onkogenler, virüsler, bakteriler ve karsinojenler tanımlanmıştır (Aggarwal ve ark. 2009). Proteinlerin ve enzimlerin pek çoğunun biyolojik aktivitesinin bu yapıların metal merkezine bağlı olduğu görüşünden hareketle pek çok metal kompleksi potansiyel kemoterapötik ajan olarak düşünülmüş ve heterosiklik ligandların geçiş-metal kompleksleri konusunda geniş kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Altın (Au) (III) ve Platin (Pt) (II) ile oluşturulmuş komplekslerin kanser hücreleri üzerinde apoptotik etkiye ve hücre çoğalması üzerinde toksik etkiye sahip olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Benkli ve ark. 2010).

Ülkemizin önemli cevherlerinden olan Bor, sağlık alanında önemli bir yere sahiptir. Son yıllarda bir çeşit kemik iliği kanseri olan multipl myelomun tedavisinde kullanılan borteomib (borik asit polimerlerinden oluşan bir ilaç) hastalığın tedavisinde ve ilerlemesinde yeni umutlar ortaya çıkarmıştır. BNCT (Boron Nötron Yakalama Terapisi) yöntemi ile kanser tedavisinde kullanılan kimyasallar da boronfenilalanin gibi bor içeren bileşiklerdir.

Bu bilgilerden yola çıkarak bazı 4-dihidroksiboril-DL-fenilalanin türevlerinin Au(III) ve Pt(II) komplekslerinin elde edilmesi, yapılarının aydınlatılması ve HUVEC ve A549 hücreleri üzerindeki sitotoksisitesinin, anjiyogenik ve antiangiyojenik potansiyellerinin belirlenmesini amaçlayan bir Yüksek Lisans Tezi çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın amacı; hem ülkemiz için son derece önemli olan Bor metalini hem de pek çok kanser araştırmasında üzerinde çalışılmakta olan altın ve platin metalleri yapılarında bulduran ve aynı zamanda fenil alanin gibi çok önemli bir aminoasit taşıyan moleküllerin elde edilmesidir. Bu proje kapsamında elde edilecek olan bileşikler

bor taşınması ve kimyasal yapısında hem kendisi bir vücut maddesi olan fenil alanin hem de DNA bağlayıcı özellikte olan heteroaromatik halkaları birarada bulundurması sebebiyle, birden fazla etki mekanizmasıyla kanser tedavisinde kullanılabilmesi düşüncesiyle, hem bortezomib benzeri aktivite gösterebileceği hem de BNCT yönteminde kullanılabilmesi için özgün ve umut vericidir.

KAYNAK TARAMASI

Kanser

Kanser insanlığın yüzyüze olduğu en önemli sağlık sorunlarından birisidir ve dünyada her yıl çok sayıda insanın yaşamını yitirmesine neden olmaktadır. Kanseri bu denli önemli ve tehlikeli kılan ana faktörler ise hastalığın sinsi bir nitelik taşıması, maalesef henüz radikal tedavisinin bulunmaması, mevcut ilaçların geniş ölçüde palyatif etki sağlaması ve geliştirilen ilaçlara kanser dokusunun bir süre sonra rezistans (direnc) geliştirmesidir. Bu nedenlerle, kanser tedavisine yönelik olarak sürekli yeni ilaçlar geliştirilmekte ve bunlar hızla klinik uygulamaya geçmektedir ve sağlık alanında kullanılan en fazla sayı ve çeşide sahip ilaç grubu antineoplastik (kanser tedavisinde kullanılan) ilaçlardır. Her geçen gün yan etki profili açısından daha iyi ve daha etkin ilaçlar geliştirilmektedir.

Tümör, normal dokuların gelişmesini aşan, normal dokulara uyum göstermeyen ve kendisini oluşturan uyarının yok olması durumunda bile büyümeye devam eden normal bir doku kitlesidir. Kanser terimi ise, tüm kötü huylu tümörleri kapsayan bir terimdir. (Patoloji 1991; Eisenberg ve ark. 1998; Hesse ve Wagner 2000). Benign (selim, iyi huylu) ya da malign (habis, kötü huylu) tüm tümörlerin çoğalan neoplastik hücreler ile bunlara katkı görevini sağlayan bağ dokusu ve kan damarlarından oluşan iki ana komponenti vardır. İnsan organizmasındaki tüm doku ve hücrelerden tümör gelişebilir (Franks 1990; Patoloji 1991; Yakıcıer ve Akarsu 2007).

Kanser, cevabı hücre biyolojisinin derinliklerinde saklı olan günümüzün ölümcül hastalığıdır ve dünyadaki ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Kanser, hücrenin genetik materyali tarafından kontrol edilen hücre

döngüsünün normal sürecinde ortaya çıkan bir hastalıktır. Kanser gelişimine yanlış beslenme, genetik yatkınlık ya da yaşanan çevre neden olabilir (Reddy ve ark. 2003; Aggarwal ve ark. 2009). Kanser, genellikle bir yığın hücrenin oluşturduğu bir tümör olarak ortaya çıksa da aslında hücrelerin bozulmasıdır. Görülebilir hale gelen tümör, hücrelerde yıllarca süren değişikliklerin sonucudur (Franks 1990; Ruiz ve ark 2000). Moleküler teşhis tekniklerinin gelişmesine imajının değişmesine rağmen bu hastalık hala dünyada milyonlarca insanı etkilemektedir. Bu nedenle ilaç dirençliliğinin üstesinden gelecek yeni maddelere ve farmakoloji profilinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Eisenberg ve ark. 1998; Chen ve ark. 2006).

Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalar antianjiyogenik mekanizmaların gelecekte kanser tedavisinde önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Tümörler büyüebilmek ve metastaz yapabilmek için kan kaynağına ihtiyaç duyarlar (Kahn, 2000; Lin, 2003). Tümör büyümesinin anjiyogeneze bağlı olduğu kabul edilmektedir. Anjiyogenez, önceden var olan damarlardan yeni kapiller kanalların oluşmasıdır (Xin, 1999). Anjiyogenezin engellenmesi, oksijen ve besin kaynağının kesilmesi aracılığıyla tümörün büyümesini durdurduğundan, tümör anjiyogenezi kanser terapisi için yeni hedefler sağlamaktadır. Anti-anjiyogenik terapinin, sitotoksik kanser ilaçlarının sık sık görülen ağır yan etkilerini taşımadığı düşünülmektedir. Ayrıca anti-anjiyogenik terapinin, sadece başlıca tümör dokularını yok etmediği aynı zamanda tümör metastazını da durdurduğu düşünülmektedir. Prensipten olarak anjiyogenik moleküllerin üretilmesinin inhibisyonu ya da bunlara verilen endotel hücre yanıtının engellenmesi tümör tedavisinde yararlı olabilir. Bu yaklaşımlara yönelik çabalar sürmektedir (Jung, 2003).

Hücre kültürü tekniği kullanılarak uygulanan yöntemler ilaç araştırma geliştirme çalışmalarında hızlı ve tekrarlanabilir olması nedeniyle ilaç endüstrisi tarafından geliştirilen yeni ilaç adaylarının kansere karşı etkinliğinin belirlenmesinde yoğun olarak kullanılmaktadır. Kanser oluşumu çok basamaklı bir süreçtir. Metallerin toksik hareketleri bu sürecin farklı basamaklarında hasara veya müdahaleye sebep olabilir.

Kanser ve Metal Kompleksleri

Mineraller ve metaller binlerce yıldır çeşitli şekillerde tıbbi tedavilerde kullanılmaktadır. Antik Yunan ve Mısır'da, ayurvedik tıpta ya da Aztekler tarafından yalın bir şekilde, tuz ya da farmakolojik olarak etkin bazı bileşiklerin, bitkilerden alınması yoluyla kullanılmışlardır. Bu maddeler esas olarak da antienflamatuar özellikleri için kullanılmışlardır. Metal veya metal içeren bileşenlerin tedavi amaçla kullanımı ile ilgili en erken bilgi ülser, kanser ve lösemiye ilişkin kullanımlarda VI. yüzyıla kadar uzanır.

Biyoinorganik kimya hızla, medisinal kimya ve ilaç endüstrisinde yerini genişletmektedir. Metallerin genel olarak toksik olduğu bilinmektedir. Ancak uygun dozlardaki metaller gerek ilaç sanayinde gerek destek gıda maddelerinde kullanılmaktadır. Önermiş olduğumuz proje kapsamında, bileşiklerin amaca uygun doz araştırması da çalışma konusunun bir parçası olarak öngörülmüş ve sitotoksik etkileri de içeren bir araştırma planlanmıştır. Proteinlerin ve enzimlerin pek çoğunun biyolojik aktivitesinin bu yapıların metal merkezlerine bağlı olduğu düşünülmektedir ve bu yüzden, pek çok metal kompleksi potansiyel kemoterapötik ajan (antikanser, antibakteriyel, antiviral, antiartritik vs.) olarak düşünülmüş ve heterosiklik ligandların geçiş metal kompleksleri konusunda geniş kapsamlı çalışmalar yapılmıştır. Biyolojik moleküllerin fonksiyonlarından sorumlu aktif bölgelerinde yer alan ve heteroatom içeren aromatik yapıların, benzimidazol, imidazol, pirazol, piridin, naftalen, benzamidin ve özellikle de fenilalanin gibi vücutta da sentezlenen parçalarının, bu sistemler içerisinde ligand görevi yaparak, özellikle geçiş metalleri ile koordinasyon bağı yapıyor olması pek çok çalışmada belirtilmiştir. Metallerin, farklı ligandlarla yaptıkları koordinasyon bileşikleri biyolojik sistemlerde önemli fonksiyonlara sahiptirler. Metal-imidazol şelat yapılar metalloproteinlerin aktif yörelerinin analogudur. Heterosiklik yapıları pek çok ligandın özellikleri, oluşturdukları metal komplekslerin enzimatik katalizör olarak etkilediği canlı hücrelerde etkilidir. Polipiridil komplekslerin DNA ile etkileşimleri konusunda yaygın olarak yapılan çalışmalara göre interklat özellik gösteren bu tip bileşikler etkilerini DNA yapısını parçalayarak ortaya çıkartmaktadırlar. Örneğin bir antitumor bileşik olan cisplatin, $cis-PtCl_2(NH_3)_2$, canlı sistemde DNA heterosiklik bazları ile reaksiyon verir. Kesin etki

mekanizması bilinmemekle birlikte cis-platin çift fonksiyonlu alkilleyici ajanlara benzer şekilde DNA'da zincirler arası ve zincir içi çapraz bağlar oluşturarak etki yaptığı tahmin edilmektedir, RNA üzerinde de kısıtlı etkisi vardır. Belirgin olarak hücre siklüsü üzerine nonspesifiktir. Konaktaki immün sistemi stimüle etmesi de muhtemeldir. Metal komplekslerinin potansiyel antikanser ajan özellikleri ve Cisplatin'e rezistans geliştirmiş tumorler üzerindeki aktiviteleri yeni metallodrogların geliştirilmesinde yol gösterici olmuştur.

Yapılan birçok çalışmada, metal komplekslerinin kanser hücreleri üzerinde apoptotik etkiye ve hücre çoğalması üzerinde toksik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Örneğin Fialon ve ekibi tarafından 1999 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada, 2-uroilbenzimidazol ve difenilborinik asid'in kondensasyon ürünlerinin, kadmium, çinko, nikel ve kobalt tuzları ile reaksiyon ürünleri elde edilerek yapıları aydınlatılmıştır (Nemoto, 1995). Özellikle Pt ve Au metalleri ile çok sayıda çalışma yayınlanmıştır (Fialon, 1999; Tu, 2004; Fan, 2003; Casini, 2006; Giovagnini, 2005; Messori, 2000; Abbate, 2000; Criado, 2003). Antitümör etkili platin kompleksleri üzerine bir çok araştırma bulunmaktadır (Bloemnik, 1996; Bowler, 1989; Broomhead, 1993; Collins, 2000; Cusumano, 2006). Farklı platin komplekslerinin DNA üzerindeki etkileri araştırılmış ve mono- ve dinükleer geçiş metal komplekslerinin sentez ve aktiviteleri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Polinükleer Pt komplekslerinin potansiyel anti kanser ajan özellikleri ve Cisplatin'e direnç geliştirmiş tümörler üzerindeki aktiviteleri araştırılmıştır (Gust, 1995; Jansen, 2001; Jansen, 2002; Perrin, 2000; Sherman, 1987). Bazı çalışmalarda altın ile hazırlanan komplekslerin de klinik denemeleri yapılmış ve başarılı sonuçlara ulaşılmıştır (Block, 1951; Calamai, 1999; Kostova, 2006; Micklitz, 1989; Monlien, 2002; Shaw, 1999; Yang, 2003). Messori ve grubunun yaptığı çalışmalarda, $[Au(en)_2]Cl_3$, $[Au(cyclam)](ClO_4)_2Cl$, $[AuCl(dien)]Cl_2$, $[Au(phen)Cl_2]Cl$ ve $[Au(terpy)Cl]Cl_2$ gibi bileşikler sentezlenerek sitotoksik özellikleri araştırılmış ve Cis-platin ile karşılaştırılmıştır (Messori, 2001; Marcon, 2002; Marcon, 2003). Literatürde, altın ve platin ile hazırlanan komplekslerin aktivitelerinin karşılaştırılmasını amaçlayan ve ayrıca bu iki metalin bir arada kullanıldığı çalışmalara da rastlanmaktadır (Zhong, 1988; Bell, 1987; Romero, 1988; Uson, 1980; Uson, 1981). Au(III) ve Pt(II) ile oluşturulmuş komplekslerin

kanser hücreleri üzerinde apoptotik etkiye ve hücre çoğalması üzerinde toksik etkiye sahip olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Au(III) ve Pt(II) dinükleer kompleksleri ile yapılan çalışmalar cesaret vericidir. Antitümör etki beklenen bileşiklerde iki metalin aynı molekül içerisinde kullanılmasında molekülün DNA'ya 2 uçtan bağlanarak DNA zincirinin kırılması hedeflenmektedir. Dinükleer metal komplekslerinin DNA üzerine etkisi ve bunların antikanser özellikleri konusundaki çalışmaların ümit verici oluşu bizi farklı ligandlarla benzer çalışmalar yapmaya yönlendirmiştir. Cisplatinin sitotoksik etkisini apoptozu başlatarak ve DNA ile etkileşiminin sonucu olarak hücre döngüsünün bloke etmesiyle gösterdiği kabul edilmiştir (Muscella ve ark. 2007; Bassem ve ark. 2010). Kemoterapötik ilaç olarak kullanılmasına rağmen cisplatin nefrotoksisite, nörotoksisite, bulantı ve kusma gibi çok ağır yan etkiler gösterir ki bu yan etkiler yoğun doz kullanımını engelleyerek tedaviyi sınırlandırır (Bakalova ve ark. 2008). Ayrıca tümör hücrelerinin cisplatin tedavisine direnç geliştirdiği de bilinmektedir (Gonzalez ve ark. 2000; Ortiz ve ark. 2007; Bakalova ve ark. 2008). Antikanser bir ilaç olarak cisplatinin bu dezavantajlarından dolayı en az cisplatin kadar veya ondan daha etkin ancak daha az yan etki gösteren metal veya metal içeren bileşenler antikanser ilacı olarak araştırılmaya başlanmıştır (Deegan ve ark. 2006; Michalke 2010). Kanser tedavisinde ilk kullanılan metal bileşiklerden biri cisplatin'dir. Cisplatin ilk kez Genoa Üniversitesinde kimya profesörü Michele Peyrone tarafından yapılmıştır. Cisplatin, alkilleştirici ajanlara benzer, DNA'ya zarar vererek en aktif antikanser ajanları arasında yer alır (Alama ve ark., 2009). Kansere karşı güçlü bir etkisi olan cisplatin, DNA modifiye edici bir ajan olarak bilinir. Kemoterapide tedavi edici bir ajan olarak çok kullanılmasına rağmen, cisplatin; nefrotoksisite, ototoksisite ve alerji gibi çok ciddi yan etkilere sahiptir. Cisplatinin toksik yan etkilerinin ligand hasarıyla bağlantılı olduğu ortaya çıkarılmıştır (Milacic ve Dou, 2009). Cisplatinin etkinliği, zayıf bir farmakokinetik profile sahip olması, hücrelerde düşük oranda bulunması, hücre içi tiyollerin (glutatyon, metallothionein gibi) üretiminde artışa neden olması ve DNA onarım kapasitesinde artışa sahip olması nedeniyle sınırlıdır (Andrews ve Howell, 1990). Gerçekte bazı tümörler cisplatin'e karşı kendine özgü direnç gösterirken, diğerleri birkaç dizi tedaviden sonra, sonradan kazanılmış bir direnç

gösterir. Bu nedenle toksik etkisi az olan fakat aynı zamanda etkili cisplatin analogları elde edilmeye çalışılmış ve çok sayıda platin ve diğer metal bileşikleri hazırlanmıştır. Tüm bu nedenlerden dolayı metal içeren yeni ilaçların araştırılması çalışmaları hız kazanmıştır (Bloemink, 1996; Cusumano, 2006; Milacic ve Dou, 2009; Benkli, 2010).

Cisplatin, toksik yan etkisine ve tumor hücrelerinin bu ilaca karşı rezistans geliştirmesine rağmen çok iyi satan bir ilaçtır ve bir antikanser ilaç olarak başarısı, yeni metallodrogların geliştirilmesinde yol gösterici olmuştur. Cisplatin'in antikanser etkisinin cis-diklorid platin yapısından kaynaklandığı ve bu grubun diğer bir metal kompleksi ile birleştirilmesiyle kombine etki ortaya çıkartılabileceği düşüncesiyle son yıllarda yalnız platin değil, diğer geçiş metalleri üzerinde de çalışmalar sürmekte, farklı geçiş metalleri kullanılarak yeni koordinasyon yöreleri, farklı oksidasyon durumları ve ligand afiniteleri oluşturulmakta, fotodinamik terapi için fırsatlar yaratılmaktadır. Bu arada pek çok çalışmada rutenyum ile hazırlanan komplekslerin de klinik denemeleri yapılmış ve başarılı sonuçlara ulaşılmıştır. Rutenyum ve platin'in yanı sıra altının mükemmel biyolojik kullanılabilirliği ve yüksek direnci, ilaçta çeşitli kullanımlarını sağlamaktadır. Birçok ülke kültüründe yemeklerde dahi kullanılabilen altın yüzyıllar öncesinde, Mısır, Hindistan ve Çin gibi bazı ülkeler tarafından ilaç yapımında kullanılmıştır. Altın, enjekte edilebilen altın tuzları şeklinde romatoid artritli hastalarda; Psöriyazis vulgarisli hastalarda; Crohn hastalığında; diğer tedavilere cevap vermeyen fistülize vakalarda kullanılmaktadır. Tıp alanında altın kullanımı krizoterapi olarak adlandırılmaktadır ve son yıllarda altın bileşiklerinin HIV ve kanser tedavisinde kullanılabileceği araştırılmaktadır.

Platin antikanser ilaçlar içinde anahtar bir metaldir. Cisplatinin kanser tedavisinde kullanılmaya başlanması ile beraber metal kompleksleri ve organometalik bileşikler onkoloji alanında giderek artan bir öneme sahip olmuşlardır (Alama ve ark., 2009). Platin temelli ilaçların her biri sınırlı sayıda tümöre karşı kemoterapotik etkiye sahiptir (Michalke, 2010). Kadmiyum, iridyum, gümüş gibi metaller kanser tedavilerinde antiangiogenik özellikleri nedeniyle kullanılmaktadırlar (Woods ve ark., 2008, Wilbuer ve ark., 2010,

Gurunathan ve ark., 2009). Son yıllarda Au(III) bileşikleri, cisplatin tedavisine karşı alternatif olarak araştırılmaktadır ve altının da antiangiogenik özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Bhattacharya ve Mukherjee, 2008).

Pek çok yeni araştırma çeşitli metal bileşenlerin özgün niteliklerini, kullanımlarını veya etkilerinin varsayılan özelliklerini izah etmektedir (Messori ve ark. 2001; Lange ve ark. 2008; Bassem ve ark. 2010). Araştırmacılar tarafından tedavi edici olarak saptanmış metal içeren bileşenlerin listesi platini, gümüşü, altını, bizmutu, antimonu, vanadyumu ve demiri kapsamaktadır (Sigel ve ark. 1990; Bal ve ark. 1995; Huang ve ark. 2005; Zhao ve ark. 2008; Kolozsi ve ark. 2009).

Metal ve metal içeren bileşenlerin kullanılması ile ilgili çalışmalarda önemli hedeflerden birisi de kanser tedavisi için ilaç geliştirilmesidir (Sadler ve ark. 1994; Bars 2010). Birçok kanser türünün cisplatin tarafından tedavi edilmesi alternatif metal ilaçların sürekli olarak araştırılmasını teşvik etmiştir (Tiekink 2002).

Daha fazla antikanser aktivitesi gösteren bir ajanın bulunması için değişik metal koordineli bileşiklerle çalışılmaktadır. Bunun için de; altın, titanyum, sodyum, renyum, rutenyum, galyum, kalay, kobalt ve bakırlı metal temelli bileşenler sentezlenmiş ve onların çoğu *in vitro* olarak ümit vadeden antikanser sonuçlar gösterilmiştir (Ortiz ve ark. 2007; Vessieres ve ark. 2009).

Au (III) bileşiklerinin platin bileşiklerine her ikisinin de kare düzlemsel yapıya sahip olmasından dolayı çok benzediği için, yeni antikanser ilaçların oluşturulmasında büyük önem taşımaktadır. Ayrıca Au (III) bileşikleri antimikrobiyal aktivite ve terapötik etki göstermektedir (Fricker 1996; Nomiya ve ark. 2000; Kostava 2006). Son zamanlarda azot atomu (N) verici ligandların Au (III) bileşiklerinin prelinik sonuçlarda antitümör özelliği bulunmuştur (Kelland 2007).

Son yıllarda Au (III) bileşikleri cisplatin tedavisine karşı bir alternatif olarak kullanılmaktadır. Çünkü bunlar yapısal olarak birbirleriyle benzer özellikler gösterir. Au (III), Pt (II) ve tetrakordinat Au (III) ile izoelektroniktir. Yani cisplatinde olduğu gibi yapısal benzerlik gösterirler (Fernandes, E.J. ve ark. 2008; Milacic ve Dou 2009). Altın bileşikleri insan tümör hücrelerine karşı sitotoksik

aktivitesi, *in vitro* yöntemlerle test edildiğinde cisplatinden daha sitotoksik olduğu gözlenmiştir. Örneğin, Au (III) bileşiklerinin insan göğüs kanseri hücre kültüründe apoptozisi indüklediği gözlenmiştir. Au (III) bileşiklerinin belirli kanser tiplerine karşı Pt (II) bileşiklerinden daha fazla umut verici etki göstermiştir. Au (III) bileşikleri antikanser araştırmalarının artmasını sağlamıştır. Au (III) bileşikleri birkaç insan hücre kültüründe sitotoksik etkileri kıyaslanarak cisplatinden daha etkili olduğu gözlenmiştir (Milacic ve Dou 2009). Au (III) bileşiklerin klasik Pt (II) bileşiklerinin aksine, sitotoksik etkilerini DNA-bağımsız mekanizmalar aracılığı ile oluşturduğu ortaya konmuştur (Marcon ve ark. 2002; Ortiz ve ark. 2007). Moleküler çalışmalar sonucunda Au (III) bileşikleri cisplatine göre farklı antikanser mekanizmalardan yararlanmada daha çok önerilebileceği şeklinde onay görmüştür (Carrotti 1998; Padron ve ark. 2000).

Kanser ve Bor

Bor ülkemizin geleceği için çok önemli bir elementtir. Dünya bor rezervinin % 70'nin Türkiye'ye ait olması bu madenin ülkemiz için ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Bor, yerkabuğunun bileşiminde bulunan ve diğerleri kadar yaygın olmayan periyodik cetvelin 3A grubunda bulunan bir elementtir. Atom numarası 5, atom ağırlığı 10.82, erime noktası 2190±20 °C'dir. İzotopları B₁₀ %19.57, B₁₁ %80.43, kristal yapısı tetragonal-hegzagonaldir. Yoğunluğu kristal ise 2.33 g/cm³, amorf ise 2.34 g/cm³, sertliği 9.3 Mohs.'tur. Yerkabuğunun %0.001 ile %0.0003' ünü oluşturmakla beraber, doğada pek çok kayacın yapısında bulunur. Bu oran karalarda 1ppm yakınlarında ise de denizlerde biraz daha fazladır. Az tuzlu kuzey denizlerinde bu oran 3ppm iken, güney denizlerinden Akdeniz'de, okyanus sahillerinde 5-6 ppm' e dek çıkabilmektedir. Doğada serbest olarak bulunmayıp genellikle alkali ve toprak alkali boratlar veya borik asit olarak bulunmaktadır.(DPT, 1995).

Elementel bor ilk olarak 1808 de izole edilmiştir. Bor da karbon gibi çift bağlara ve makromolekül formlarına meyillidir. Borik asit; bir Lewis asididir. Hidroksil iyonunu tutar, protonları bırakır. Borun organik bileşiklerle yaptığı kompleksler, hidroksil grup ihtiva eder. Böylece; şekerler, polisakaritler, adenzin-5-fosfat, piridoksin, riboflavin, dehidroaskorbikasit ve piridin

nükleotidler ile etkileşime girebilir. Bor-karbohidrat komplekslerinde karbohidrat olarak genelde fruktoz tercih edilir. Örneğin; beta-Frukto-Furanosid-Borat, Alfa-Frukto-furanosid-Borat ve Alfa-Frukto-Piranosid-Borat kompleksleri çok kararlıdır. Tam aksine bor, aminoasit ve hidroksi asitlerle kompleks oluşturmaz. Borik asit ve boraks içermeyen kararsız bor kompleksleri, güçlü elektrofilik, seçici olmayan ve ciddi boyutlarda toksik etkileri olan komplekslerdir (Gregory ve Kelly, 1997).

Bor kaynaklarının değerlendirildiği alanlardan birisi de sağlık alanıdır. Bor içeren bileşiklerin kanser tedavisinde kemoterapötik ajan olarak kullanılıp kullanılmayacağına araştırılması özellikle son zamanlarda daha da yaygınlaşmıştır. Bor bileşiklerinin, prostat kanseri, lösemi, beyin kanserleri gibi birçok kanser türünde *in vitro* çalışmalarda etkili olduğu gösterilmiştir. Özellikle beyin kanserlerinin tedavisinde sağlıklı hücelere zarar vermeden BNCT (Boron Neutron Capture Therapy) yöntemiyle kullanılmaktadır. Birçok kanser türünde, deneysel olarak tümörün küçülmesine ve kanserli hücelerin ölümüne neden olduğu gösterilmiştir.

Bazı *in vitro* çalışmalarda, bor bileşiklerinin lösemi, prostat ve beyin kanseri hücelerinde antiproliferatif etkisi olduğu gösterilmiştir. Özellikle borik asitin bazı kanser hücelerinde konsantrasyona bağlı olarak hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ve apoptotik etki gösterdiği açıklanmıştır. Multiple myeloma(MM) tedavisinde kullanılan bortezomib ilacı da yapısında bor içeren önemli bir proteozom inhibitörüdür. Kanser tedavisinde kullanılan proteozom inhibitörleri, hücre içinde proteozom inhibisyonu ve dolayısıyla da NF-kB(Nuclear factor kappa beta) inhibisyonuna neden olarak antiproliferatif etki göstermektedir. Proteozomlar tüm canlılarda bulunan, ATP' ye bağımlı proteolitik sistemi oluşturan büyük bir komplekslerdir. Hücre içinde yanlış sentezlenen proteinleri parçalayarak, hücre mekanizmalarının işleyişini kontrol ederler (Karp, 1999). Proteozom inhibitörleri ise, proteozomların fonksiyonlarını inhibe eder, protein yapımını güçleştirir ve çoklu sinyal iletimini engellerler. Sinyal iletimi kesilince de kanserli hüceler ölür ve tümörün büyümesi baskılanmış olur (Meyn, 1994; Cantürk, 2006). Son zamanlarda, proteozom inhibisyonu kanser tedavisi için ilginç, yeni bir strateji olarak hızla ortaya çıkmıştır. Proteozom

inhibitörlerinin, kanserli ve diğer rahatsızlıkları olan hastaların yaşam kalitelerinin artmasını ve acılarının hafiflemesini sağlayarak gelecekteki çoğu keşifler için verimli bir alan sağlayabileceği belirtilmiştir (Cohen, 1993). Bortezomib'in kanser hücreleri üzerinde proteozom inhibitörü olarak çalıştığı ve ilk 48 saat içinde hücreleri apoptoza götürdüğü açıklanmıştır. Bor'un da benzer proteozomlar üzerine etkisi olduğu ve hematolojik malignansilerin tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Proteozomlar; multikatalitik enzim kompleksidirler. Hücre içinde hasar görmüş ve hatalı yapılmış proteinleri parçalama görevi üstlenmişlerdir. Diğer bir deyişle, ubikuitin'e bağlanarak yıkım için hedeflenmiş proteinleri sindiren çoklu proteaz enzimleridir. Ubikuitin yıkılacak olan proteinlerin lizin kalıntısına bağlanır. Proteozom da ubikuitin sayesinde yıkılacak olan proteini tanır ve onu parçalar. Proteozomların fonksiyonları ise; normal hücrelerde apoptoza karar vermiş hücrelerin proteinlerini parçalamak, kanserli hücrelerde ise apoptoza gidemeyen hücrelerin proteinlerini parçalamaktır.

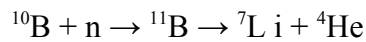
Bor metali içeren bileşikler ve diğer metal kompleksleri ile son yıllarda yapılan çalışmalarda apoptoz ve angiogenez konuları üzerinde durulmuştur. Bor bileşiklerinin, apoptoz mekanizması bozulmuş kontrolsüz olarak çoğalan kanser hücrelerini apoptoza götürerek, kanser hücrelerinin ölümüne yol açtığı, tümörün büyümesini inhibe ettiği ve proteozom inhibitörü olarak etki yaptığını açıklayan çalışmalar mevcuttur. Bu güne kadar bazı bor bileşikleriyle yapılan çalışmalarda, prostat, meme ve akciğer kanser hücreleri, lösemi gibi farklı kanser hücreleri ile çalışılmıştır. Ayrıca bor'un günlük düzenli alımıyla ilgili sağladığı yararları açıklayan çalışmalar da mevcuttur. 2003 yılında Gallardo-Williams tarafından yapılan bir araştırmada, günde 1,7 ya da 9,0 mg/kg borik asit alınımının, tümör ebatını %38 oranında azalttığı gösterilmiştir. Yine bu çalışmada prostat kanserinde yükselen prostat spesifik antijenin de %86 oranında azaldığı görülmüştür. Özellikle tümör hücrelerinde mitoz hızında azalma meydana gelmiş ve mitoz hızı azalınca tümör büyüklüğünde de gerileme olduğu görülmüştür (Gallardo, 2003). 2001 yılında Florida'da Deneysel Biyoloji Konferansında açıklanan, 7651 kanser olmayan erkek ve 76 prostat kanserli erkek üzerinde yapılan bir çalışmada, çok ilginç sonuçları ortaya çıkmıştır. Ne kadar çok içinde bor bulunan besin tüketilirse (sert kabuklu meyveler, kuru meyveler, baklagiller,

üzüm, elma, brokoli, avakado, kiraz, kuru erik, soya fasulyesi), prostat kanseri olma riskinin o kadar azaldığı, özellikle maksimum düzeyde bor tüketen insanlarda prostat kanserinde, %64 oranında azalma meydana geldiği açıklanmıştır (Pan, 1997). 2000 yılında Texas 'da gerçekleştirilen ve etken madde olarak Borato 1–2 diaminocyclohexane platinum kullanılan çalışmada; L210 (leukemia murine cell), MCF–7 (human breast cell), DU–145 (human prostate cell), A–549 (human lung cell), SK-OV–3 (human ovarian cell) hücre hatları kullanılmıştır. Sonuç olarak bu maddenin, kanser hücrelerinde %50–98 oranında DNA sentezini inhibe ettiği ve bu maddenin kanser hücrelerinin çoğalmasını durdurduğu bildirilmiştir (Dibas, 2000). 2001–2002 yıllarında Hindistan'da yapılan lösemi hastaları ve lösemi hücre hatları üzerinde ve yeni bulunan guanidin biborik asid ve dihidroksi bor hidroklorid monohidrat kullanılan bir çalışmada da, bu bileşiklerin tümör hücrelerinin büyümesini engellediği, DNA üzerinde inhibisyon yaptığı rapor edilmiştir. Bor bileşiklerinin uygulanmasından 24 saat sonra hücrelerde apoptotik cisimciklerin oluşmaya başladığı, hücre çekirdeğinin nükleer yapısının bozulmaya başladığı, kromatin yapının yoğunlaştığı, stoplazmik vakuollerin oluştuğu gözlenmiştir (Murmu, 2002; Murmu, 2001; Ralston, 2004; Zhu, 2009; George, 2006; Kinoshita, 1992; Nemoto, 1995; Liao, 1964; Schinazi, 1978; Corder, 1993).

Sağlık alanında birçok bor bileşiğinden yararlanılmaktadır. Borik asit, bor oksit, sodyum perborat ve bileşimine bor elementi giren çok sayıda bileşik sayesinde tıpta osteoporoz tedavilerinde, alerjik hastalıklarda, psikiyatride, kemik gelişiminde ve artiritte, diş hekimliğinde dişlerin beyazlatılmasında, menapoz tedavisinde, MR cihazlarında, yanık tedavilerinde, prostat kanserlerinde, cilt kanserlerinde, anti-HİV çalışmalarında etkili olduğu ve daha denenmemiş birçok kanser türünde de etkili olabileceği rapor edilmiştir (Strum, 2003). Diyet olarak bor alımı ile prostat kanseri riski arasındaki ilişki de incelenmiştir. Prostat kanserinde genetik faktörlerin etkili olmasından çok çevresel faktörlerin etkili olduğu görülmüştür. Beslenme en önemli çevresel faktörlerden biridir. Diyet ile düşük dozda bor alımı prostat kanser riskini azaltır. (Cui ve ark., 2003). Son yıllarda bir çeşit kemik iliği kanseri olan multipl myelomun tedavisinde kullanılan bortezomib (borik asit polimerlerinden oluşan bir ilaç) hastalığın tedavisinde ve ilerlemesinde yeni umutlar ortaya çıkarmıştır. Bu ilaç çeşitli kombinasyonlarda,

kemoterapi tedavisinde kullanılmaktadır. Bortezomib pek çok kanser tipine karşı tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Bersani ve ark., 2008, Mortenson ve ark., 2005, Galimberti ve ark., 2008). Bortezomib antiangiogenik aktiviteye sahiptir (Belloni ve ark., 2010), prostat ve pankreas kanser hücre hatlarında VEGF salınımını ve tümör mikrodamar ağının yoğunluğunu azalttığı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Nawrocki ve ark., 2003, Williams ve ark., 2003). Combretastatin A-4'ün bir boronik asit chalcone analogunun HUVEC (insan göbek kordonu endotel hücreleri) hücreleri üzerinde antiproliferatif ve antiangiogenik etkilere neden olduğu Kong ve arkadaşları (2010) tarafından rapor edilmiştir.

Kanser tedavisinde radyasyonla tedavisi hala yaygın olarak kullanılmaktadır. Dış kaynaklı radyasyonun kullanıldığı tedaviler, klasik tedavi yöntemleri arasında yer almaktadır. Radyoterapide, çevredeki normal dokunun radyasyondan zarar görmesini önlerken aynı zamanda da tümöre yüksek dozda radyasyon verebilmenin yolları araştırılmaktadır. Bu amaca yönelik olarak halen araştırılmakta ve klinik denemeleri yapılmakta olan metotlardan birisi olan "Bor Nötron Yakalama Tedavisi (BNCT) " (BNCT: Boron Neutron Capture Therapy) kanser tedavisinde kullanılmaktadır (Backer ve ark., 2005, Hughes ve ark., 2009). BNCT günümüzde, özellikle yüksek derecede malignant olduğu bilinen glioblastoma multiforme tip beyin tümörlerinde uygulanmaya başlanmıştır. Bor kullanılarak yapılan bu tedavinin temel hedefi; Bor'un ilaç formu olan p-bronofenilalanin, tümörlü dokuya verildikten sonra, nötron bombardımanı yapılmaktadır. Bu yöntem Bor'un hücrelere yerleşip, nötron bombardımanından sonra sadece tümörlü hücrelerin seçici bir şekilde yok edilmesi esasına dayanır. Böylece DNA'sı parçalanan hücre bölünme döngüsüne giremeyeceği için, tümörlü doku ameliyata gerek olmaksızın BNCT (Boron Neutron Capture Therapy) ile tedavi edilmiş olmaktadır. BNCT yönteminde tümörlü dokuya, borun dokuya uygun ilaç formu olan p-boronofenilalanin verilerek nötron bombardımanı yapılmaktadır.



Li ve He vücutta çok kısa bir süre kalmakta ve bu sırada geniş bir alana enerji yaymaktadırlar. Bu partiküller kanser hücrelerini yok ederken sağlıklı dokuya zarar vermemektedirler.

BNCT'nin fiziksel temeli basittir. Nükleer reaksiyon temelinde ikili bileşenli bir sistemdir. Kararlı bor izotopuna (^{10}B), düşük enerjili veya termal nötronlar ışınılandığında Helyum-4 (^4He) (yani α partikülü) ve Lityum-7 (^7Li) çekirdekleri meydana gelir. Bu yüksek enerji yüklü parçacıklar çok uzağa hareket edemezler ve tümör hücresine tüm enerjilerini bırakırlar, böylece direkt DNA'ya zarar vererek hücrelerin yeniden üremesine engel olurlar. ^{10}B 'un ışınlanması sonucu oluşan bu ürünler yüksek doğrusal enerji aktarım (lineer energy transfer) karakteristiklerine sahiptirler (He partikül yaklaşık $150 \text{ keV}\mu\text{m}^{-1}$; Li ise yaklaşık $175 \text{ keV}\mu\text{m}^{-1}$). Bu ürünlerin yol uzunluğu $4.5\text{-}10 \mu\text{m}$ arasındadır ve bu uzunlukta yaklaşık bir hücrenin çapı kadardır. Daha açık olarak; BNCT'de radyoaktif olmayan bor bileşiği (^{10}B taşıyan) intravenöz olarak kana verilir ve hedef tümör hücreleri tarafından tercihli olarak hücre içine alınması sağlanır. Daha sonra tümör hücrelerinin içindeki veya hemen bitişiğindeki ^{10}B , nötron kaynağından gelen nötronları yakaladıktan sonra parçalanır ve yüksek enerji yüklü parçacıklar açığa çıkar (^7Li ve ^4He). Bu parçacıklar sadece tümör hücrelerine zarar verir ve çoğunlukla etraftaki normal hücreler zarar görmez. BNCT'de klinik olarak kullanılan bileşiklerde istenilen özellikler düşük toksiteye, yüksek tümör:beyin bor oranına ve $20\text{-}35 \mu\text{g bor/g } ^{10}\text{B}$ konsantrasyonuna sahip olmasıdır.

Günümüzde halen çok tehlikeli olduğu bilinen beyin tümörlerinde BNCT kullanılmaktadır. 1950'lerin sonlarında ilk polihedral bor anyonları ve onların izoelektrik karboran analogları keşfedilmiştir. Polimerik bazlı bor bileşikleri, Polihedral Bor anyonları ve onların karboranları kolaylıkla organik moleküllere bağlandı, biyomedikal ve diğer yaklaşımlardan elde edilen orjinalleri çok yüksek sayılara ulaştı. 1995'te Hawthorne ve grubu metaller ve bordan metallokarboranlar ve metalloboranlar türettiler ve BNCT uygulamalarında kullanılmaya başlandı. İlk karbon bileşiği analogu olarak hazırlanan carboranylalanine'dir. Streptomycine etkisi göstermektedir, antimikrobial özelliği vardır. Yurdumuzda Hacettepe Üniversitesi'nde yürütülen bir çalışmada bor içeren vinilfenil boronik asit (VFBA) monomeri ile maleik anhidrit (MAH) radikal kopolimerleşme yöntemiyle azot atmosferinde, 65°C silikon banyosunda ve cam reaktörlerde sentezlenmiştir. Dünyanın çeşitli yerlerinde BNCT üzerindeki araştırmalar ve klinik denemeleri uzun süredir devam etmektedir. 1951 ilk klinik BNCT

uygulanması Brookhaven National Laboratory (BNL) tarafından yapıldı. 1959-1961 BNL'den Brookhaven Medical Research(BMRR)'a bir seri hasta kabul edildi. Aynı tarihlerde Massachusetts Institue of Technology (MIT)'de tedaviye alındı. Dört farklı Bor bileşiği ile uygulamalar başladı. 1961 Amerika'da sonuçlandı. 1968 Japonlar da BNCT çalışmaya başladılar. Dr.Hatanaka ve Dr. Sweet, Hitachi Traimng Reaktor'de (HTR) Bor sülfidril kullanarak GBM'li 9 hastayı on yıldan fazla yaşatmayı başardılar. 1969 Hatanaka'mn sonuçlanndan sonra Avrupa ve Amerika yemden BNCT çalışmalarına ağırlık verdi. 1994 Yeni bir yüksek enerjili nötron bombası epitermal nötronlarla birlikte BMRR'de kullanılmaya başlandı. 1994-1999 BPA ilk defa GBM' nin klinik uygulamalarında kullanılmaya başladı. 1980 yılında bu amaçla kullanılmaya başlanan boronophenylalanİne (BPA) aminoasit yapısında olduğu için, hücreler tarafından rahat kabul edilmiştir. BPA ile tümörde küçülme gözlenmiş, akut yan etki tespit edilmemiş ve özellikle kafatası iç basıncında azalma gözlenmiştir. 1996 MİT, BPA kullanmaya başladı, ilk uygulanan 38 hastada toksik etki gözlenmedi. 17 hastanın 13'ünde tümörde küçülme gözlendi. Akut yan etki tespit edilmedi, özellikle kafatası iç basıncında azalma gözlendi. 1997'de Hollanda'da BSH 26 hastada kullanıldı. 1999 Finlandiya'da 18 hastada erken radyasyon olmaksızın uygulandı. Bir yıl için hayatta kalım %61'di. 2001 İlk BNCT çalışması İsveç'te yapıldı. 17 hastada Studsvik R2-0 reaktöründe epitermal nötron bombası kullanıldı 2001-2004.

BNCT Yönteminde kullanılmak üzere geliştirilen Bor bileşikleri arasında; Plasma membranında biriken fosfolipid eterleri, tumor proteinlerine katılabilen amino asitler, DNA ya da RNA ya katılabilen nükleotidlere dönüşebilen nukleozidler, porfirinler ve poliaminler, borlanmış lipozomların sentezi, düşük dansiteli lipoproteinler, antisense oligonukleotidler, monoklonal antikorlar ve onların fragmentleri, bispesifik antikorlar ve Epidermal Growth Factor gibi tümör reseptörlerine bağlanan büyüme reseptörleri bulunmaktadır. BNCT için hazırlanan Bor içeren ilaçlardan; Carborane; Sodium Borocaptate (BSH), Boronated porphyrin (BOPP), sodyum merkaptodekahidrodedekaborat ($\text{Na}_2\text{B}_{12}\text{H}_{11}\text{SH}$, BSH) ve 4-dihidroksiborilfenilalanin (BPA) bileşikleri ve türevleri yaygındır. Son yıllarda seçici tümör hedeflemenin ön plana çıkması ile daha önce tasarlanan ve

sentezlenen yapılardan farklı olarak tümör hücresi seçiciliğini sağlayacak (folik asit gibi) daha çok biyokimyasal ve fizyolojik esaslara (lipozomlar, lipidler, DNA bağlayıcıları, hormonlar) sahip bileşikler sentezlenmektedir. BNCT kullanılmak üzere birçok bor bileşiği sentezlenmiştir ancak ideal bir ^{10}B içeren taşıyıcı molekül sentezlenmesi çalışmaları devam etmektedir.

BNCT'nin önemli diğer bileşeni ise nötron kaynağıdır. BNCT başarılı olması için tavsiye edilen termal nötron akısı $30 \mu\text{g/g } ^{10}\text{B}$ konsantrasyonlu tümör hücresine dağıtılan yaklaşık 10^{12} n/cm^2 'dur. Derinde olan tümör hücreleri için epitermal nötronlar kullanılmaktadır. Bu nötronlar yaklaşık 1 eV ile 10 keV arasında enerjiye sahiptirler. Epitermal nötronlar nükleer reaktörlerden veya yüklü parçacık hızlandırıcılarından sağlanır [4]. MIT-Cambridge, Bariloche-Arjantin, Rez- Çek Cumhuriyeti, Petten-Hollanda, Studswik-İsveç, Helsinki-Finlandiya, Pavia-İtalya, Kyoto ve JAERI- Japonya, Daejon-G. Kore ve İnshas-Mısır'da klinik BNCT uygulamaları için kullanılan nükleer reaktörler vardır.

BNCT'nin başarısı kanıtlandığı ve klinik olarak yaygın olarak kullanıldığı zaman farklı tipteki nötron kaynaklarına ihtiyaç olacaktır. Genelde, hastahane yakınında deneysel nükleer reaktörlerin olması uygun değildir. BNCT amaçlı yeni küçük ölçekli reaktörlerin inşa edilmesi fikri yüksek yatırım maliyetleri ve hastahane çevresindeki kabul edilebilirliğinin düşük olması yüzünden cazip kalmamaktadır. Makul maliyetli, küçük ölçekli, kolay bakım ve yüksek kabul edilebilirlik gereksinimlerini karşılayan nötron kaynakları hızlandırıcıya dayalı nötron kaynaklarıdır.

Bor Nötron Yakalama Tedavisi (BNCT), çeşitli tümörlerin, özellikle glioblastoma ve melanoma beyin tümörlerinin, tedavisinde kullanılan iki bileşenli radyasyon tedavi yöntemidir. Birinci bileşeni tümör hücrelerinde toplanan kararlı bor izotopudur (^{10}B), ikinci bileşeni ise düşük enerjili nötron kaynağıdır. BNCT üzerine yapılan araştırmalar yüksek bor içeren spesifik bileşiklerin tümör hücrelerinde seçici olarak birikebilmesini hedefleyen yeni ajanların sentezlemesi ve kanser hücreleri üzerine maksimum yoğunlukta termal nötronların ulaşması için nötron demetinin ve yoğunluğunun uygun olarak seçilmesi üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Genellikle, tedavi için epitermal nötron aralığındaki (0.4 keV-10 veya 20

keV) nötronlar kullanılmaktadır. Günümüzde BNCT'nin klinik denemeleri nükleer reaktörlerde yapılmaktadır. Bununla birlikte, BNCT için yüksek kalitede, güvenli ve uygun maliyetli epitermal nötron kaynağı sağlamak için yüksek yoğunluklu hızlandırıcıların geliştirilmesi çalışmaları devam etmektedir. BNCT uygulamalarında doğrusal veya dairesel hızlandırıcılar kullanılabilir. Klinik BNCT uygulamalarında kullanılacak dairesel hızlandırıcı tipi siklotron'dur. Doğrusal hızlandırıcılar elektrostatik doğrusal hızlandırıcılar veya radyo frekanslı (rf) doğrusal hızlandırıcılar olarak sınıflandırılabilirler. Elektrostatik lineer hızlandırıcılarda yüklü parçacık demeti elektrostatik alanla hızlandırılırken rf hızlandırıcılarda zamanla değişen indirgenmiş elektrik alanı kullanılır (Kahraman,). 350'den fazla hasta bu yöntemle tedavi edilmiştir (Coderre, 2003). BNCT'nin sonuçlarını daha iyiye ulaştırmak için bor bileşenlerinin özelliklerinin geliştirilmesi çalışmaları devam edecektir.

Bu tedavinin başarısı kanıtlandığı zaman klinik uygulamalarının daha da yaygınlaştırılması için nötron kaynağı olarak nükleer reaktörlerden başka farklı kaynaklar gerekecektir. Hızlandırıcıya dayalı nötron kaynakları hastahane koşulları için olan gereksinimleri karşılayacak özelliktedir.

GEREÇLER VE YÖNTEMLER

GEREÇLER

Kullanılan Kimyasal Maddeler

Aseton	: Merck
Dimetilsülfoksit- d_6 (DMSO- d_6)	: Sigma-Aldrich
Etanol	: Tekel
Etil asetat	: Merck
Petrol eteri	: Merck
Potasyum bromür	: Merck
1,10-Phenanthrolin-5,6-dion 97%	: Fluka
1,8-Diaminonaphthalene	: Fluka
2,2'-Bipyridyl Fluka	: Fluka

4,4'-Diaminobibenzyl Fluka	: Fluka
4,4'-Dimethyl-2,2'-dipyridyl Fluka	: Fluka
Dietil eter	: Sigma-Aldrich
Dimethyl sulfoxide	: Sigma-Aldrich
DL-4-Boronephenylalanine, 95%	: Fluka
Metanol	: Sigma-Aldrich
N,N'-Diphenylbenzamidine	: Fluka
N,N'-Diphenylethylenediamine	: Fluka

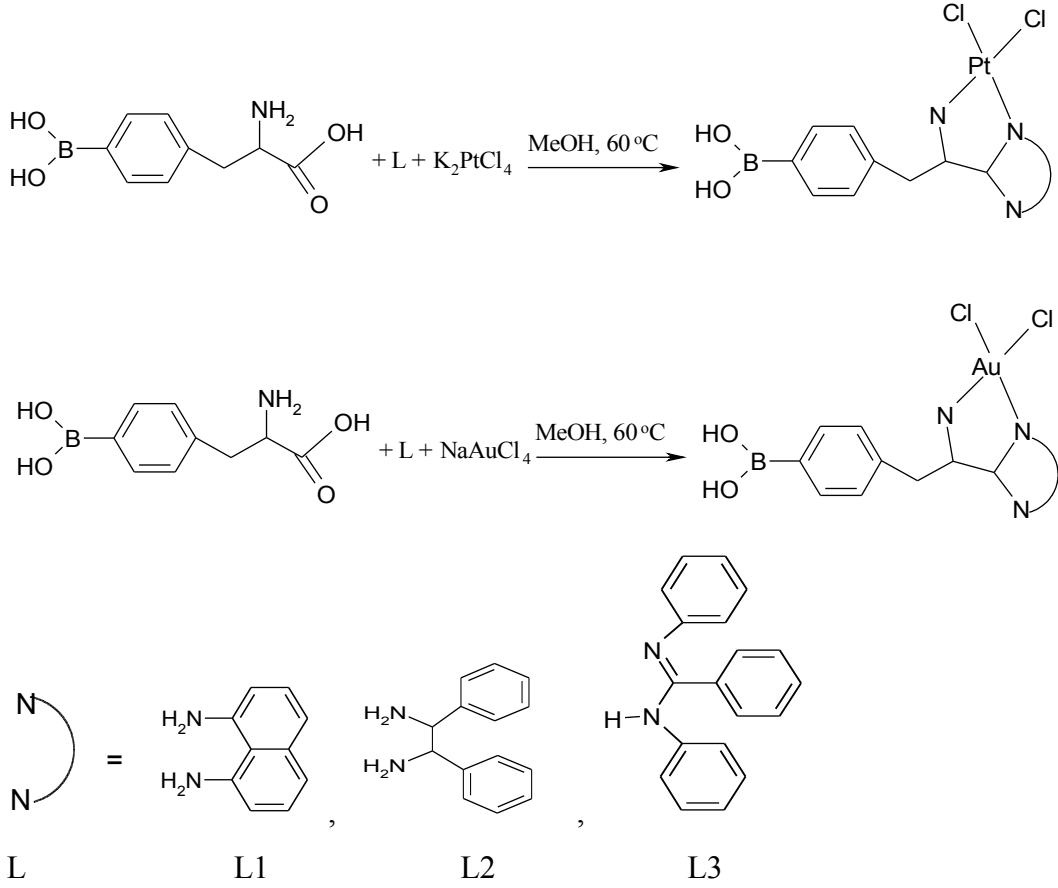
Kullanılan Cihazlar

Erime derecesi tayin cihazı	: Electrothermal 9100 Digital
Elementel analiz aleti	: Perkin Elmer EAL 240
İnfrared spektrofotometresi	: Shimadzu 8400 FTIR
¹ H-NMR spektrometresi	: Bruker, 400 MHz
¹³ C-NMR spektrometresi	: Bruker, 400 MHz
Kütle spektrometresi	: VG Quattro

YÖNTEMLER

Genel Sentez Yöntemi (Yöntem A):

Eşdeğer miktar 4-Dihidroksiboril-DL-fenilalanin, 1,8-diaminonaphthalene (L1) / N,N'-diphenylethylenediamine (L2) / N,N'-diphenylbenzamidine (L3) ve Potassium tetrachloroplatinate(II) / Sodium tetrachloroaurate(III) dehydrate, metanol içerisinde, 60°C'de, vibrasyonlu su banyosunda 2 saat karıştırıldıktan sonra 8 / 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Elde edilen katı madde süzülerek alınmış çok az miktarda dietileter ile yıkanmıştır. Tüm işlemler gerçekleştirilirken reaksiyon ortamının ve maddelerin ışık almamasına özen gösterilmiştir. Reaksiyonlar İTK yöntemi ile izlenmiştir. Bileşiklerin genel sentez yöntemi Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Bileşiklerin genel sentez yöntemi

Biyolojik Etki Testleri

Hücre kültürü yöntemi ile *in vitro* sitotoksik etki belirlenmesi çalışmaları Bu tez kapsamında *in vitro* deneylerin uygulanması sırasında kullanılacak olan A549 (Human Non-small cell lung carcinoma cells: İnsan küçük hücreli olmayan akciğer kanser hücreleri) ve HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells = İnsan göbek bağından elde edilen endotel hücreleri) hücre hatları Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü hücre kültürü laboratuvarının stoklarından çıkarılarak, uygun besiyerlerinde yetiştirilerek deneyler için kullanılmıştır. B1A ve B1P maddeleri için *in vitro* olarak uygun doz ve konsantrasyon aralıkları her iki hücre hattında sitotoksikite deneyleri uygulanarak belirlenmeye çalışılmıştır. Sitotoksikite deneyleri MTT test yöntemi uygulanarak yapılmıştır.

1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler: Nutrient Mikture F-12 (HAMS,

Sigma), RPMI 1640 Medium (Sigma), Penicilin-Streptomycin (Biological Industries), Fetal Bovine Serum (Sigma), Tripsin-EDTA solution (Biological Industries), Sodyum bikarbonat (Sigma), EDTA (Merck), MTT (Biological Industries), Sıvı Azot.

2. Kullanılan Sarf Malzemeleri: 25 cm²'lik ve 75 cm²'lik flasklar, 96 ve 6 kuyucuklu plakalar (TPP), cam mezürler, cam pipetler (1, 2, 5 ve 10 ml hacimlerinde), 250, 500 ve 1000 ml'lik Durham şişeleri, 10 ml'lik tek kullanımlık pipetler. Steril polipropilen santrifüj tüpleri (15 ve 50 ml hacimlerinde), steril tek kullanımlık filtreler (0,2 mikron çapında), Thoma lamı.

3. Kullanılan Aletler: Soğutmalı ve yüksek devirli santrifüj (Heraus), kuru hava sterilizatörü (Nüve), Otoklav, Derin dondurucu (-20, -86), buzdolabı, manyetik karıştırıcı, CO² inkübatörü (Heraus), Steril kabin (Heraus), sıvı azot kapları, otomatik pipetler, kar-buz makinesi (Scotsman), su banyosu (Clifton), Eliza Cihazı (ELx808-IU, Bio-Tek), Olympus BX51 floresan mikroskobu, Inverted Mikroskop (IX71 Olympus), 12 Kanallı mikropipet (eppendorf), dağıtıcı pipet (eppendorf).

4. Test Maddelerinin Dozlarının Hazırlanması: Bütün test maddeleri; dimetil sülfoksit (DMSO; içinde çözülerek 80-100-120-140-160-180-200-220-240-260 µM'lık dozlar hazırlanmıştır. Test maddeleri, DMSO içinde çözüldüğü için; negatif kontrol olarak çözücü madde olan DMSO kullanılmıştır. Stok çalışma solüsyonu her çalışma için yeniden hazırlanarak kullanılmıştır.

5. Kullanılan Araç ve Gerecin Hazırlanması: Çalışmalarda kullanılan bazı cam ve plastik malzemeler ile sıvı solüsyonlar alüminyum folyolara sarılı olarak otoklavda 121°C, 1,5 atm/Hg basınçta 20 dakika, bazı cam ve metal malzemeler de alüminyum folyolara sarılı olarak sterilizatörde 180°C'de 2 saat, süre ile steril edilerek kullanılmıştır. Kullanılan bazı sıvı kimyasallar 0,2 µm aralıklı selüloz nitrat filtreden geçirmek suretiyle steril edilerek kullanılmıştır.

6. Kullanılan Hücreler:

A549 hücre kültürü: 1972 yılında D.J. Giant ve ekibi tarafından 58 yaşında bir Caucasian erkekten alınan akciğer tümöründen üretilmiştir ve 1976 yılında, altmış sekizinci pasajı M:Lieber tarafından American Type Culture Collection'da stok edilmiştir. Japanese Cancer Research Resource Cell Bank (JCRB) ve Riken

Cell Bank (RCB) ATCC'den hücreyi almış ve stoklamış daha sonrada birçok Japon araştırmacıya dağıtmıştır. Projede kullanılan hücreler Institute of Fermentation Osaka (IFO), Japonya'dan satın alınıp stoklanmış hücrelerdir. A549 hücreleri inaktif hale getirilmiş %10'luk Fetal Bovine Serum/Fetal Calf Serum, RPMI 1640, Penicilin-Streptomycin ve %7,5 NaHCO₃ içeren besiyerinin bulunduğu 25 cm²'lik flasklarda %95'lik hava ve %5 CO₂'li gaz ortamında, 37°C'deki CO₂ inkübatöründe (Heraus) kültüre edilmiştir.

HUVEC hücre kültürü: HUVEC (Human Umbilical Vein Endotel Cell) hücreleri ATCC (American Type Culture Collection)'dan satın alınıp stoklanmış hücrelerdir. %20 Fetal Bovine Serum, penisilin-streptomisin, sodyum bikarbonat, heparin, ECGS (Endothelial Cell Growth Supplement) içeren Nutrient Mixture Ham's F-12 K medyumla 37°C'de % 5 CO₂ içeren bir ortamda kültüre edilmişlerdir.

7. Yöntem

Hücre kültürü: A549 ve HUVEC hücreleri uygun besiyerinde ve 25 cm²'lik flasklarda yetiştirilmiş ve %95 hava ve %5 CO₂'li gaz ortamında ve 37°C'deki CO₂ inkübatöründe (Heraus) kültüre edilmişlerdir.

7.1. Hücrelerin testler için hazırlanması: Uygun koşullarda çoğalmaya bırakılan hücreler flask yüzeyini %70 oranında kapladıkları zaman tripsin-EDTA ile muamele edilerek flask tabanından kaldırılmıştır. Trypan blue boyası ile boyanan hücreler, Thoma lamı yardımıyla 3 kez sayılarak MTT testi için 96 kuyucuklu hücre kültürü tabakalarının her kuyucuğunda belirlenen sayıda (HUVEC için 8000, A549 için 5000) hücre olacak şekilde % 10 FBS içeren besiyerinde süspansiyon haline getirildikten sonra 96 kuyucuklu hücre kültürü plakalarına 0,1 ml hücre süspansiyonu aktarılmıştır. Her iki hücrenin üreme hızları farklı olduğu için, yapılan deneyler sonucunda bu sayılar seçilmiştir. Hücrelerin yapışması ve yeni ortama alışması için 37°C'de 24 saat inkübe edilmişlerdir. 24 saat inkübasyon süresi sonunda hücrelerin üzerindeki besiyerleri plakaların ters çevrilmesi suretiyle uzaklaştırılmıştır. Hücrelerin üzerine test maddelerinin sitotoksik etkilerini belirlemek üzere, test maddelerinin istenen konsantrasyonlarını içeren taze besiyerleri ilave edilip 24 ve 48 saat 37°C'de CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir.

Test maddelerinin belirlenen dozları hazırlanmıştır. Maddeler için çözücü olarak DMSO kullanılmıştır. DMSO oranı % 0,3'i geçmeyecek şekilde ve final konsantrasyonları; 80-100-120-140-160-180-200-220-240-260 µM olacak şekilde hazırlanmıştır.

HUVEC ve A549 hücreleri, Thoma lamı ile sayılarak 96 kuyucuklu plakalara her kuyucuğa sırasıyla 8×10^3 , 5×10^3 hücre gelecek şekilde ekilmiştir. 24 saatlik inkübasyonun ardından besiyerleri uzaklaştırılmış ve test maddeleri uygulanmıştır. Hücreler gerekli sürelerde inkübasyona bırakıldıktan sonra, besiyerleri gerekli inkübasyon sürelerinin sonunda hücrelerden uzaklaştırılmış ve MTT ilavesi yapılarak test maddelerinin hücre çoğalmasına olan etkileri saptanmıştır. Hücreler 5mg/ml-1 MTT stok solüsyonu ile 2 saat CO2 inkübatöründe inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda MTT içeren besiyerleri kuyucuklardan uzaklaştırılmış ve her kuyucuğa 100 µl DMSO ilave edilmiş, 5 dakika beklendikten sonra plakalardaki hücrelerin optik dansiteleri ELISA cihazında 570 nm dalga boyunda okunmuştur.

7.2. MTT ölçümü: Test maddeleri ile 24 ve 48 saat muamele edilen hücrelerden inkübasyon süresi sonunda besiyerleri uzaklaştırılmıştır. Hücreler 5 mg/ml-1 MTT solüsyonu ile canlı hücrelerin mitokondrial metabolik aktiviteleri sonucu MTT boyasının suda çözünmeyen formazan tuzuna dönüşebilmesi için 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda hücrelerden MTT boyası uzaklaştırılmıştır. Canlı hücreler tarafından oluşturulan formazan tuzlarının çözünmesi için her bir kuyucuğa 0,1 ml DMSO ilave edilmiştir. Plakalardaki hücrelerin optik dansiteleri ELISA cihazında 570 nm dalga boyunda okutulmuştur. Test maddesi ile muamele edilmeyen kontrol hücre canlılık oranı % 100 olarak kabul edilerek, deney hücrelerinin canlılık oranları yüzde olarak ifade edilmiştir (Mosmann, 1983). Test maddelerinin doz belirleme çalışmaları sonuçlandıktan sonra, MTT testi 2 kez tekrarlanmıştır. Her iki hücre için MTT testi bir kez daha tüm test maddeleri için yapılacaktır.

7.3. İstatistiksel Değerlendirme: MTT deneylerinin sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesinde SPSS programı kullanılmış ve elde edilen verilerin tek yönlü ANOVA ile post-hoc olarak Tukey testi uygulanarak anlamlılıkları belirlenmiştir. Anlamlılık değeri olarak $p < 0.05$ kabul edilmiştir.

Elde Edilen Bileşiklerin Analizi

Erime noktası (E.N.) tayini: Elde edilen bileşiklerin erime noktaları, bir ucu kapalı kılcal tüpler içerisinde erime derecesi tayin cihazı ile saptanmıştır. İşlem her madde için 2 defa tekrarlanmıştır.

Altkonma faktörü (R_f) değerlerinin saptanması: Elde edilen bileşiklerin R_f değerleri, petrol eteri:etil asetat:etanol (2:2:1) ve petrol eteri:metanol (1:1) çözücü sistemlerinin hareketli faz olarak kullanıldığı ince tabaka kromatografisi (İTK) tekniği kullanılarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada, adsorban olarak silikajel 60 F₂₅₄ ile kaplanmış alüminyum plaklar kullanılmıştır. Lekelerin işaretlenmesinde ultraviyole ışığından (254 ve 366 nm) faydalanılmıştır.

C, H, N tayini: Elde edilen bileşiklerin C, H, N yüzdeleri, elementel analiz tekniği ile belirlenmiştir.

IR spektrumlarının alınması: Elde edilen bileşiklerin IR spektrumları, bileşiklerin %1 oranında, potasyum bromür ile karıştırılması ile hazırlanan tabletler kullanılarak, IR spektrofotometresi'nde alınmıştır.

¹H-NMR spektrumlarının alınması: Elde edilen bileşiklerin ¹H-NMR spektrumları, bileşiklerin DMSO-*d*₆ içerisinde çözelti haline getirildikten sonra tetrametilsilan standart maddesi kullanılarak, 400 MHz'lik NMR spektrometresinde alınmıştır.

¹³C-NMR spektrumlarının alınması: Elde edilen bileşiklerin ¹³C-NMR spektrumları, bileşiklerin DMSO-*d*₆ içerisinde çözelti haline getirildikten sonra tetrametilsilan standart maddesi kullanılarak, 400 MHz'lik NMR spektrometresinde alınmıştır.

Kütle spektrumlarının alınması: Bileşiklerin kütle spektrumları, elektron çarpması (EI) yöntemi ile kütle spektrometresinde alınmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Sentez Çalışmaları

1-(4,5-Difenil-4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)-2-(4-dihidroksiboril)-fenil-etilamin Au(III) kompleksi (B1A): 4-Dihidroksiboril-DL-fenilalanin (0,1 mol), 1,8-diaminonaphthalene (0,1 mol) ve Sodyum tetrakloroaurat dihidrat (0,1 mol)

kullanılarak Yöntem A'ya göre elde edilmiştir.

Verim: %45

E.N.: > 300 °C

R_f (Petrol eteri:Etil asetat:Etanol (2:2:1)): 0.5

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 3389, 3358 (amino grubu N-H gerilim bandları), 3079 (aromatik C-H gerilim bandı), 2943 (alifatik C-H asimetric gerilim bandı), 2868 (alifatik C-H simetric gerilim bandı), 1573, 1489, 1460 (C=N, C=C gerilim bandları), 1329, 1277, 1146, 1020 (C-N gerilim bandları), 812, 745 (C-H düzlem dışı eğilme bandları), 710 (M-N gerilim bandı), 644 (M-Cl gerilim bandı).

¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-d₆) δ □(ppm): 3.00-3.20 (2H, d), 4.3-4.4 (1H, t), 6.6-6.8 (4H, dd), 7.0-7.8 (14H, m), 7.8-8.0 (1H, bs), 8.5-8.8 (2H, bs).

MS(EI) (m/z): 653.14 (M⁺).

Elementel analiz : C₂₃H₂₄BN₃O₂ Cl₂Au

Hesaplanan : C: 42.29; H: 3.70; N: 6.43

Bulunan : C: 41.82; H: 3.12; N: 6.54

1-(2,3-Dihidro-1H-perimidin-2-il)-2-(4-dihidroksiboril)-fenil-etilamin

Au(III) kompleksi (B2A): 4-Dihidroksiboril-DL-fenilalanin (0,1 mol), N,N'-difeniletilediamin (0,1 mol) ve Sodyum tetrakloroaurat dihidrat (0,1 mol) kullanılarak Yöntem A'ya göre elde edilmiştir.

Verim: %55

E.N.: > 300°C

R_f (Petrol eteri:Etil asetat:Etanol (2:2:1)): 0.7

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 3470, 3558 (amino grubu N-H gerilim bandları), 3072 (aromatik C-H gerilim bandı), 2935 (alifatik C-H asimetric gerilim bandı), 2851 (alifatik C-H simetric gerilim bandı), 1622, 1567, 1464 (C=N, C=C gerilim bandları), 1335, 1267, 1177, 1025 (C-N gerilim bandları), 814, 746 (C-H düzlem dışı eğilme bandları), 700 (M-N gerilim bandı), 670 (M-Cl gerilim bandı).

¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-d₆) δ □(ppm): 4.1-4.2 (2H, bs), 4.6-4.7 (1H, t), 6.6-7.8 (10H,m), 8.0-8.1 (1H, bs), 8.4-8.6 (2H, bs).

MS(EI) (m/z): 599.05 (M⁺).

Elementel analiz : C₁₉H₁₆BN₃O₂Cl₂Au

Hesaplanan : C: 38.09; H: 3.03; N: 7.01
Bulunan : C: 38.82; H: 3.12; N: 7.54

1-(1,3,4-Trifenil-[1,3]diazetid-2-il-2-(4-dihidroksiboril)-feniletilamin

Au(III) kompleksi (B3A): 4-Dihidroksiboril-DL-fenilalanin (0,1 mol), N,N'-difenilbenzamidin (0,1 mol) ve Sodyum tetrakloroaurat dihidrat (0,1 mol) kullanılarak Yöntem A'ya göre elde edilmiştir.

Verim: %60

E.N.: > 300 °C

R_f (Petrol eteri:Etil asetat:Etanol (2:2:1)): 0.6

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 3441, 3345 (amino grubu N-H gerilim bandları), 3065 (aromatik C-H gerilim bandı), 2924 (alifatik C-H asimetric gerilim bandı), 2855 (alifatik C-H simetric gerilim bandı), 1615, 1568, 1464 (C=N, C=C gerilim bandları), 1335, 1267, 1175, 1029 (C-N gerilim bandları), 817, 742 (C-H düzlem dışı eğilme bandları), 696 (M-N gerilim bandı), 653 (M-Cl gerilim bandı).

¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-d₆) δ (ppm): 4.6-4.8 (2H, m), 5.0-5.2 (1H, m), 6.2-6.3 (1H, m), 8.7-10.0 (19H, m), 10.1-10.2 (1H, bs), 10.4-10.6 (2H, bs).

MS(EI) (m/z): 714.21 (M⁺).

Elementel analiz : C₂₈H₂₆BN₃O₂Cl₂Au

Hesaplanan : C: 47.09; H: 3.53; N: 5.88

Bulunan : C: 41.82; H: 3.12; N: 6.54

1-(2,3-Dihidro-1H-perimidin-2-il)-2-(4-dihidroksiboril)-fenil-etilamin

Pt(II) kompleksi (B1P): 4-Dihidroksiboril-DL-fenilalanin (0,1 mol), 1,8-diaminonaphthalene (0,1 mol) ve Potasyum tetrakloroplatinat (0,1 mol) kullanılarak Yöntem A'ya göre elde edilmiştir.

Verim: %60

E.N.: > 300°C

R_f (Petrol eteri:Etil asetat:Etanol (2:2:1)): 0.8

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 3449, 3368 (amino grubu N-H gerilim bandları), 3066

(aromatik C-H gerilim bandı), 2942 (alifatik C-H asimetric gerilim bandı), 2854 (alifatik C-H simetrik gerilim bandı), 1643, 1555, 1451 (C=N, C=C gerilim bandları), 1338, 1265, 1177, 1028 (C-N gerilim bandları), 820, 745 (C-H düzlem dışı eğilme bandları), 700 (M-N gerilim bandı), 666 (M-Cl gerilim bandı).

¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-d₆) δ (ppm): 3.2-3.3 (2H, d), 4.3-4.4 (1H, bs), 6.6-6.7 (4H, dd), 6.8-8.4 (14H, m), 8.5-8.6 (1H, bs), 8.9-9.1 (2H, bs).

MS(EI) (m/z): 651.26 (M⁺).

Elementel analiz : C₂₃H₂₄BN₃O₂Cl₂Pt

Hesaplanan : C: 42.42; H: 3.71; N: 6.45

Bulunan : C: 42.72; H: 4.02; N: 6.74

1-(4,5-Difenil-4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)-2-(4-dihidroksiboril)-fenil-etilamin Pt(II) kompleksi (B2P): 4-Dihidroksiboril-DL-fenilalanin (0,1 mol), N,N'-difeniletilediamin (0,1 mol) ve Potasyum tetrakloroplatinat (0,1 mol) kullanılarak Yöntem A'ya göre elde edilmiştir.

Verim: %60

E.N.: 302-307°C

R_f (Petrol eteri:Etil asetat:Etanol (2:2:1)): 0.6

IR (KBr) ν_{max} (cm⁻¹): 3419, 3334 (amino grubu N-H gerilim bandları), 3068 (aromatik C-H gerilim bandı), 2927 (alifatik C-H asimetric gerilim bandı), 2857 (alifatik C-H simetrik gerilim bandı), 1617, 1565, 1454 (C=N, C=C gerilim bandları), 1320, 1260, 1170, 1015 (C-N gerilim bandları), 815, 745 (C-H düzlem dışı eğilme bandları), 697 (M-N gerilim bandı), 674 (M-Cl gerilim bandı).

¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-d₆) δ (ppm): 4.7-4.9 (2H, bs), 5.8-5.9 (1H, t), 7.2-8.5 (12H,m), 8.9-9.0 (1H, bs).

MS(EI) (m/z): 597.17 (M⁺).

Elementel analiz : C₁₉H₁₈BN₃O₂Cl₂Pt

Hesaplanan : C: 38.22; H: 3.04; N: 7.04

Bulunan : C: 38.65; H: 3.12; N: 7.64

1-(1,3,4-Trifenil-[1,3]diazetid-2-il)-2-(4-dihidroksiboril)-feniletilamin Pt(II) kompleksi (B3P): 4-Dihidroksiboril-DL-fenilalanin (0,1 mol), N,N'-

difenilbenzamidin (0,1 mol) ve Potasyum tetrakloroplatinat (0,1 mol) kullanılarak Yöntem A'ya göre elde edilmiştir.

Verim: %63

E.N.: 292-297°C

R_f (Petrol eteri:Etil asetat:Etanol (2:2:1)): 0.8

IR (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹): 3426, 3348 (amino grubu N-H gerilim bandları), 3067 (aromatik C-H gerilim bandı), 2928 (alifatik C-H asimetric gerilim bandı), 2841 (alifatik C-H simetric gerilim bandı), 1619, 1564, 1466 (C=N, C=C gerilim bandları), 1336, 1283, 1195, 1029 (C-N gerilim bandları), 818, 749 (C-H düzlem dışı eğilme bandları), 712 (M-N gerilim bandı), 678 (M-Cl gerilim bandı).

¹H-NMR (400 MHz) (DMSO-d₆) δ (ppm): 4.6-4.9 (4H, m), 5.9-8.2 (19H, m), 8.4-8.5 (1H, bs), 8.9-9.0 (2H, bs).

MS(EI) (m/z): 712.32 (M⁺).

Elementel analiz : C₂₈H₂₆BN₃O₂Cl₂Pt

Hesaplanan : C: 47.21; H: 3.54; N: 5.90

Bulunan : C: 47.81; H: 3.97; N: 6.14

Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

Sentezlenen bileşiklerin IR spektrumları, potasyum bromür içinde hazırlanan tabletleri kullanılarak, Shimadzu 8400 FTIR Infrared Spektrofotometresi'nde; NMR spektrumları ise, TMS referans maddesine karşı, maddenin dimetilsülfoksit (DMSO-d₆) içindeki çözeltisi hazırlanarak, Bruker DPX300 Nükleer Magnetik Rezonans Spektrometresi'nde alınmıştır.

Yapılan analiz çalışmalarında, IR spektrumlarının incelenmesi sonucu, bileşikleri karakterize edebilecek bant gruplarının saptanması mümkün olmuştur. Tüm bileşiklerin ana yapısı, benzer olduğundan, spektrumlar birbirine benzemektedir: Aromatik C-H gerilim bantları 3410-3014 cm⁻¹; alifatik C-H gerilim bantları 2996-2798 cm⁻¹; C=N ve C=C gerilim bantları 1615-1402 cm⁻¹; C-N gerilim bantları 1365-1098 cm⁻¹; aromatik yapılara ait düzlem dışı eğilme bantları 896-765 cm⁻¹, metal bağları 280-450 cm⁻¹ civarında görülmektedir.

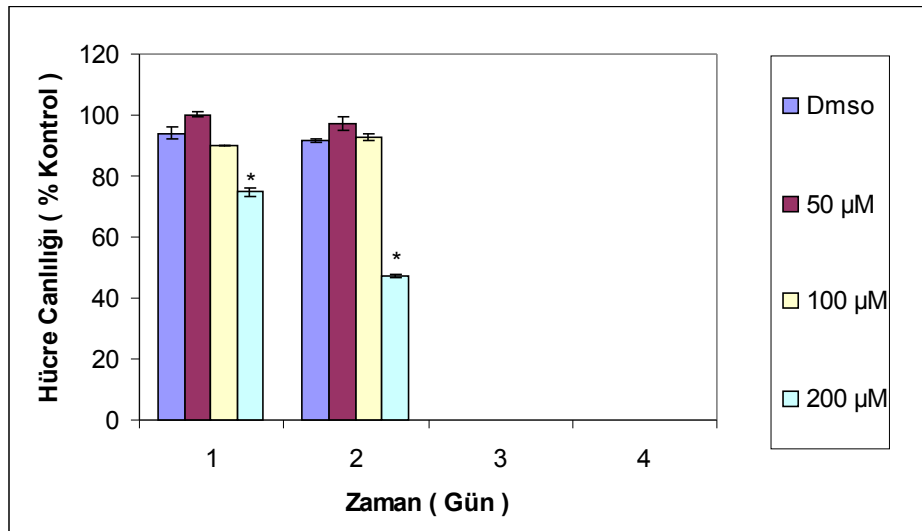
¹H-NMR analiz çalışmalarında elde edilen metal komplekslerinin ligandları ile olan farklılığı; metal iyonlarının protonları gölgelemesinden

kaynaklanan kaymalardır. Ayrıca komplekslerdeki N-H protonlarının kimyasal kaymaları net olarak gözlenememiştir. Çünkü köprü ligandlarda bulunan heterosiklik halkalar üzerindeki N-H protonları çok aktiftir ve azotlar arasında kolayca yer değiştirebilir. Spektrumlarda aromatik bölgede yer alan yoğunluk ve bölünmeler sterik, konjugatif ve indüktif etkilerle açıklanabilmektedir. Bileşiklere ait ¹H-NMR spektrumlarında, halka içindeki N-H protonları ve Bor atomuna bağlı hidroksil gruplarına ait protonlar metallerin etkisiyle genellikle 9-12 ppm'de broad singlet olarak gözlemlenmiştir. Dihidroksiborilfenil halkasına ve heteroaromatik halkalara ait protonlar 6.5-8.0 ppm bölgesinde içiçe soğurma yapmışlardır. Tüm protonlar metal etkisiyle bulunmaları gerekenden daha yüksek ppm'lerde gözlenmiştir. Platin ve altın kompleksleri karşılaştırıldığında ise, platin kompleksi bileşiklerin daha yüksek ppm'lerde gözlendiği ifade edilebilir.

Sonuç bileşiklerinin kütle spektrumları, gaz fazında moleküllerin yüksek enerjili elektronlarla bombardıman edildiği elektron çarpması yöntemi ile alınmış ve oluşan yüklü atom veya gruplar kütle/yük (m/z) oranına göre saptanmıştır.

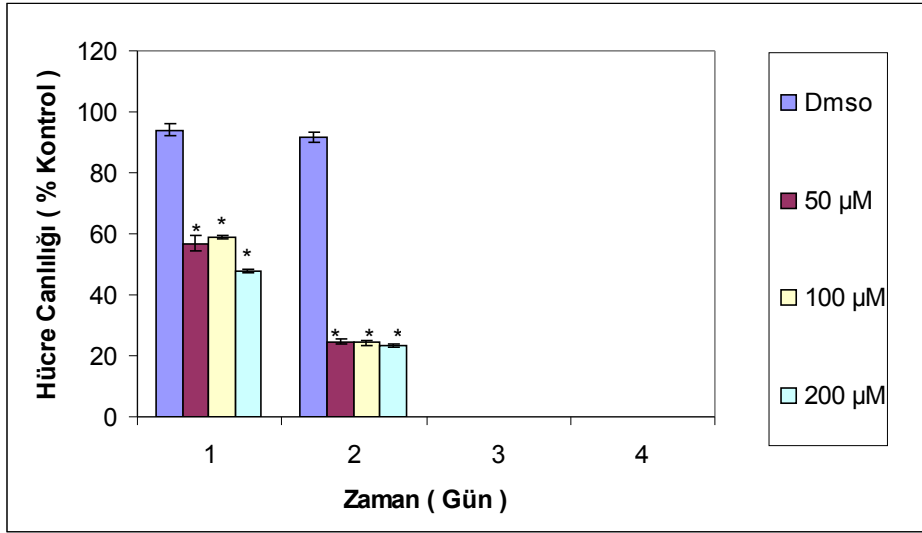
Aktivite Testlerinin Değerlendirilmesi

MTT Sonuçları: Elde edilen bileşiklerden sadece L1 ligandının altın ve platin komplekslerine ait sonuçlar tez çalışması kapsamında verilebilmiştir. Diğer bileşiklere ait çalışmalar sürmektedir.



Şekil 2. B2A bileşiğinin HUVEC hücreleri üzerindeki etkisinin MTT testi ile değerlendirilmesi. (*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri $p < 0,05$

B2A bileşiğinin uygulandığı HUVEC hücreleriyle yapılan MTT testi sonucunda, uygulanan maddenin sadece 200 μM 'lık dozunun hücreler üzerinde sitotoksik etki gösterdiği görülmüştür. Bu dozun hücre canlılığını ilk gün %25 oranında ikinci gün ise % 50-55 oranında azalttığı belirlenmiştir. Maddenin diğer dozlarında ise kontrole göre anlamlı farklılıklar gözlenmemiştir. Maddenin HUVEC hücreleri üzerinde doza ve zamana bağlı olarak sitotoksik etki gösterdiği ve bu etkiyi de yüksek dozlarda ortaya çıkardığı ortaya konmuştur.



Şekil 3. B2P bileşiğinin HUVEC hücreleri üzerindeki etkisinin MTT testi ile değerlendirilmesi. (*) işareti kontrol grubuna göre anlamlı farklılıkları göstermektedir. Anlamlılık değeri $p < 0,05$

B2P bileşiğinin uygulandığı HUVEC hücreleriyle yapılan MTT testi sonucunda, maddenin uygulanan tüm dozlarında zamana bağlı olarak önemli sitotoksik etkiler gösterdiği saptanmıştır. Bu bileşiğin 50 μM 'lık dozunun ilk gün hücre sayısını %45 ikinci gün ise yaklaşık %75 oranında azalttığı, 100 μM 'lık dozun ilk gün hücre sayısını %40 ikinci gün yaklaşık %75 oranında azalttığı, 200 μM 'lık dozun ise ilk gün hücre sayısını %50 ikinci gün ise yaklaşık %80 oranında azalttığı gözlemlenmiştir. Buna göre bu maddenin 50 μM 'lık ve 100 μM 'lık dozlarının etkisinin neredeyse aynı olduğu, artan doz miktarının

hücrelere olan etkisinin önemli bir fark yaratmadığı gözlenmiştir. Ancak 200 µM'lık dozun iki günde de hücreler üzerinde daha sitotoksik etkiler oluşturduğu görülmüştür.

Sonuç olarak HUVEC hücreleri üzerinde yapılan MTT testi, B2P maddesinin B2A maddesine göre tüm dozlarda zamana ve doza bağlı olarak daha etkili sitotoksik yanıtlar oluşturduğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

Abbate, F., Orioli, P., Bruni, B., Marcon, G., Messori, L., (2000), Crystal structure and solution chemistry of the cytotoxic complex 1,2-dichloro(o-phenanthroline)gold(III) chloride, *Inorg. Chim. Acta*, 311(1:2) 1-5.

Aggarwal, B.B., Danda, D., Gupta, S., Gehlot, P., (2009), Models for prevention and treatment of cancer: Problems vs promises, *Biochem. Pharmacol.*, 78, 1083-1094.

Alama, A., Tasso, B., Novelli, F., and Sparatore, F., (2009), Organometallic compounds in oncology: implications of novel organotin as antitumor agents, *Drug Discovery Today*, 14, 500-508.

Al-Maythalony, B. A., Isab, A. A., Wazeer, M. I. M., Ibdah, A., (2010), Investigation of the interaction of gold(III)-alkyldiamine complexes with l-histidine and imidazole ligands by ¹H and ¹³C NMR, and UV spectrophotometry, *Inorg. Chim. Acta.*, 363:13, 3200-3207.

Andrews, P.A., Howel, S.B., (1990), Cellular pharmacology of cisplatin: perspectives on mechanisms of acquired resistance, *Cancer Cells*, 2:2,

35-43.

Backer, M. V., Gaynutdinov, T. I., Patel, V., Bandyopadhyaya, A. K., (2005), Thirumamagal, B.T.S., Tjarks, W., Barth, R.F., Claffey, K., and Backer, J.M., Vascular endothelial growth factor selectively targets boronated dendrimers to tumor vasculature, *Molecular Cancer Therapeutics*, 4:9, 1423-1429.

Bakalova, A., Varbanov, H., Buyukliev, R., Momekov, G., Ferdinandov, D., Konstantinov, S., Ivanov, D., Synthesis, characterization and biological activity of Pt (II) and Pt (IV) complexes with 5-methyl-5-(4-pyridyl)-2,4-imidazolinedione, *Eur. J. Med. Chem.*, 43, 958-965, (2008).

Bal, W., Kozlowski, H., Robbins, R., Pettit, L.D., *Inorg. Chim. Acta*, 231, 7, (1995).

Bandyopadhyay, A. K., Khattar, R., Puga, J., Fehlner, T. P., Rheingold, A. L., (1992), *Inorg. Chem.*, 31, 465.

Bandyopadhyay, A. K., Khattar, R., Fehlner, T. P., (1989), *Inorg. Chem.*, 28, 4437.

Barth, R. F., (2003), A critical assessment of boron neutron capture therapy: an overview, *Journal of Neuro-Oncology*, 62, 1:2, 1-5.

Barth, R. F., Yang, W., Al-Madhoun, A. S., Johnsamuel, J., Byun, Y., Chandra, S., Smith, D.R., Tjarks, W., Eriksson, S., (2005), "Boron-containing nucleosides as potential Backer, M.V., Gaynutdinov, T.I., Patel, V., Bandyopadhyaya, A.K., Thirumamagal, B.T.S., Tjarks, W., Barth, R.F., Claffey, K., and Backer, J.M., Vascular endothelial growth factor selectively targets boronated dendrimers to tumor vasculature, *Molecular Cancer Therapeutics*, 4:9, 1423-1429.

Barth, R. F., Yang, W., Al-Madhoun, A. S., Johnsamuel, J., Byun, Y., Chandra,

S., Smith, D.R., Tjarks, W., Eriksson, S., “Boron-containing nucleosides as potential delivery agents for neutro capture therapy of brain tumors”, *Cancer Research* 64 (2004) 6287-6295.

Bars, A., (2010), Bazı Heterosiklik Ligandların Au(III), Pt(II) Dinükleer Metal Komplekslerinin Sağlam ve Kanserli Hücreler Üzerindeki Apoptotik ve Antiproliferatif Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye, 1-14.

Belloni, D., Veschini, L., Foglieni, C., Dell'Antonio, G., Caligaris-Cappio, F., Ferrarini, M., Ferrero, E., (2010), Bortezomib induces autophagic death in proliferating human endothelial cells, *Experimental Cell Research*, 316, 1010-1018.

Bell, J. D., Norman, R. E., Sadler, P. J., (1987), Coordination chemistry in biological media: reactions of antitumor Pt(II) and Au(III) complexes with cell culture media, *J. Inorg. Biochem.*, 31:4, 241-246.

Benkli, K., Kaplancıklı, Z. A., Koparal, A. T., (2010), Bazı Heterosiklik Ligandların Au(III), Pt(II) Dinükleer Metal Komplekslerinin Sentezi, Yapılarının Aydınlatılması, Sağlam ve Kanserli Hücreler Üzerindeki Sitotoksik ve Apoptotik Etkilerinin in vitro Olarak Araştırılması, Proje No: 070304, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye, 1-8.

Bersani, F., Taulli, R., Accornero, P., Morotti, A., Miretti, S., Crepaldi, T., Ponzetto, C., (2008), Bortezomib-mediated proteasome inhibition as a potential strategy for the treatment of rhabdomyosarcoma, *European Journal of Cancer*, 44, 876-884.

Bhattacharya, R., Mukherjee, P, (2008), Biological properties of “naked” metal nanoparticles, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, 1289-1306.

Block, B. P., Bailar, J. C., (1951), The reaction of gold(III) with some bidentate coordinating groups, *J. Am. Chem. Soc.*, 73, 4722-4725.

Bloemink, M. J., Engelking, H., Karentzpoulos, S., Krebs, B., Reedijk, J., (1996), Synthesis, crystal structure, antitumor activity and DNA-binding properties of the new active platinum compound (bis(N-methylimidazol-2-yl)-carbinol)-dichloroplatinum(II), lacking a NH moiety, and of the inactive analog dichloro(N1,N1'-dimethyl-2,2'-biimidazole)platinum(II)., *Inorg. Chem.*, 35, 619.

Blue, T. E., Yanch, J. C., (2003), "Accelerator-based epithermal neutron sources for boron neutron capture therapy of brain tumors", *Journal of Neuro-Oncology*, 62, 19-31.

Bortner, C.D., (2004), Apoptotic volume decrease and nitric oxide, *Toxicology*, 208, 213-221.

Bowler, B. E., Ahmed, K. J., Sunquist, W. I., Hollis, L. S., Whang, E. E., Lippard, S. J., (1989), Synthesis, Characterization, and DNA-binding properties of (1,2-diaminoethane)platinum(II) complexes linked to the DNA intercalator acridine orange by trimethylene and hexamethylene chains, *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 1299-1306.

Braunschweig, H., Dewhurst, R. D., Schneider, A., (2010), "Electron-Precise coordination models of Boron-Centered ligands", *Chem. Rev.*, 41, 36. DOI: 10.1002/chin.201036220.

Broomhead, J. A., Rendina, L. M., Webster, L. K., (1993), Dinuclear complexes of platinum having anticancer properties. DNA-Binding studies and biological activity of bis(4,4'-dipyrazolylmethane-N,N')-bis[dichloroplatinum(II)] and related complexes, *J. Inorg. Biochem.*, 49, 221-234.

Calamai, P., Guerri, A., Messori, L., Orioli, P., Paolo Speroni, G., (1999),

Structure and DNA binding properties of the gold(III) complex [AuCl(esal)], *Inorg. Chim. Acta*, 285:2, 309-312.

Cantürk Z, (2006), Bor Bileşilerinin Lösemi Hücrelerine ve Normal Lenfositlere Olan Etkisinin Hücre Kültüründe ve Transmission(Geçirimli) Elektron Mikroskopunda İncelenmesi, Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

Cao, Y., Angiogenesis:What can it offer for future medicine? *Experimental Cell Research* 316: (2010) 1304-1308.

Carotti, S., Guerri, A., Mazzei, T., Messori, L., Mini, E., Orioli, P., (1998), Gold (III) compounds as potential antitumor agents: cytotoxicity and DNA binding properties of some selected polyamine-gold (III) complexes, *Inorg. Chim. Acta*, 281, 90-94.

Casini, A., Cinellu, M. A., Minghetti, G., Gabbiani, C., Coronello, M., Mini, E., Messori, L., (2006), Structural and solution chemistry, antiproliferative effects, and DNA and protein binding properties of a series of dinuclear gold(III) compounds with bipyridyl ligands, *J. Med. Chem.*, 49:18, 5524-5531.

Chen, Q., Peng, W., Xu, A., (2002), Apoptoz of a human non-small cell lung cancer (NSCLC) cell line, PLA-801, induced by acutiaporberine, a novel bisalkaloid derived from *Thalictrum acutifolium* (Hand.-Mazz.) boivin, *Biochemical Pharmacology*, 63, 1389-1396.

Chen, Y. L., Lin, S. Z., Chang, J. Y., Chiu S. C., Wang, M. J., Yang, H. H., Huang, S. Y., Harn, H. J., Pang, C. Y., (2006), Activation of NAG-1 via JNK signaling revealed an isochaihulactone-triggered cell death in human LNCaP rostate cancer cells, *Biochem-Pharmacol*, 72:3, 308-319.

Coderre, J. A., Turcotte, J. C., Riley K. J., (2003), "Boron Neutron Capture

Therapy: Cellular Targeting of High Linear Energy Transfer Radiation.”. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 2:5, 153-0346.

Cohen, J. J., (1993), Apoptosis, *Immunol Today*, 14, 126-130.

Collins, J. G., Rixon, R. M., Aldrich-Wright, J. R., (2000), Interaction of [Pt(en)(phen)]²⁺ and [Pt(en)(phi)]²⁺ with the hexanucleotide d(GTCGAC)₂: Evidence for minor groove binding, *Inorg. Chem.*, 39, 4377-4379.

Corder, A., Whittaker, A. K. D. P., Carolan, M., Meriaty, H., Allen, B. J., Martin, R. F., (1993), Evaluation of a ¹⁰B-labeled DNA ligand. In: Soloway AH, Barth RF, Carpenter DE, editors. *Adv Neutron Capture Ther [Proc Int Symp]*. 5th edn. New York, Plenum Press, 377-381.

Criado, J. J., Manzano, J. L., Rodriguez-Fernandez, E., (2003), New organotropic compounds synthesis, characterization and reactivity of Pt(II) and Au(III) complexes with bile acids: DNA interactions and ‘in vitro’ anticancer activity, *J. Inorg. Biochem.*, 96, 311-320.

Current Clinical Oncology, (2007), High-Grade Gliomas, V, 431-459.

Cusumano, M., Di Pietro, M. L., Giannetto, A., (2006), DNA Interaction of Platinum(II) complexes with 1,10-Phenanthroline and extended phenanthrolines, *Inorg. Chem.*, 45, 230-235.

Cui, Y., Winton, M., Zhang, Z. F., Rainey, C., Marshall, J., Kernion, J. B., Eckhert, C. D., (2004), Dietary boron intake and prostate cancer risk, *Oncology Reports*, 11: 887-892.

Deegan, C., Coyle, B., McCann, M., Devereux, M., Egan, D. A., , (2006), In vitro anti-tumor effect of 1,10-phenanthroline-5-6-dione(phendione), [Cu(phendione)₃](ClO₄)₂.4H₂O and [Ag(phendione)₂]ClO₄ using human epithelial cell lines, *Chemico-Biological Interactions*, 164, 115-125.

Dewey, W. C., Ling, C. C., Meyn, R., (1995), Radiation-induced apoptosis: relevance to radiotherapy, *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*, 33, 781-796.

Dibas, A., Howard, J., Anwar, S., Stewart, D., Khan, A., (2000), Borato-1,2-diaminocyclohexane Platinum (II), a Novel Anti-Tumor Drug . *Biochemical and Biophysical Research Comm.*, 270, 383-386.

Downloaded from ict.sagepub.com at ANADOLU UNIV on November 28, 2010
Kalthur and Pathirissery 377.

Eisenberg, D. M., Davis, R. B., Ettner, S. L., et al., (1998), Trends in Alternative Medicine use in the United States, 1990-1997, results of a follow-up national survey, *J. Am Med Assoc*, 280, 1569-1575.

ETİBOR A.Ş. web sitesi (<http://www.etiholding.gov.tr>).

Fan, D. M., Yang, C. T., Ranford, J. D., Vittal, J. J., (2003), Chemical and biological studies of gold(III) complexes with uninegative bidentate N-N ligands, *Dalton Trans.*, 24, 4749-4753.

Fernandez, E. J., Laguna, A., Olmos, M. E., (2008), Modern Supramolecular Gold Chemistry: Gold-Metal Interactions and Applications., *Coord. Chem. Rev.*, 252, 1630.

Fialon, M. P., Garcia-Baez, E., Andrade-Lopez, N., Osorio-Monreal, G., Canseco-Mekhor, G., Velazquez-Montes, I., Barba-Behrens, N., Contreras, R., (1999), Boron and transition metal compounds derived from 2-uroylbenzimidazole Sons, Inc. *Heteroatom Chem*, 10, 577-584.

Franks, L. M., (1990), What is cancer?, *Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer*, Oxford University Press, Oxford, İngiltere, 1-19.

Fricker, S. P., (1996), Medical uses of gold compounds: past, present and future, *Gold Bull.*, 29, 53.

Fuska, J., Fuskova, A., Rosazza, J. P., Nicholas, A. W., (1984), Novel cytotoxic and antitumor agents. IV. Withaferin A: relation of its structure to the in vitro cytotoxic effects on P388 cells, *Neoplasma*, 31, 31-36.

Gahbauer, R., Gupta, N., Blue, T., Goodman, J., Grecula, J., Soloway, A. H., Wambersie, A.,” BNCT: a promising area of research?.www-radonc.med.ohio-state.edu/clinbysite/brain/bnct/crete/CRETE.htm

Galimberti, S., Canestraro, M., Pacini, S., Fazzi, R., Orciuolo, E., Trombi, L., Mattii, L., Battolla, B., Capodanno, A., Collecchi, P., Veroni, F., Simi, P., Piaggi, S., Casini, A., Petrini, M., (2008), PS-341(Bortezomib) inhibits proliferation and induces apoptosis of megakaryoblastic MO7-e cells, *Leukemia Research*, 32, 103-112.

Gallardo-Williams, M. T., Maronpot, R. R., Wine, R. N., Brunssens, H., Chapin, R. E., (2003), Inhibition of the enzymatic activity of prostate-specific antigen by boric acid and 3-nitrophenyl boronic acid, *The Prostate*, 54:1, 44-49.

Galsworthy, J. R., Hattersley, A. D., Housecroft, C. E., Rheingold, A. L., Waller, A., (1995), *Dalton Trans. J. Chem. Soc.*, 549.

Gene Therapy for Myocardial Infarction.

George, W., Kabalka., Min-Liang, Y., (2006), The Synthesis and Use of Boronated Amino Acids for Boron Neutron Capture Therapy, *Anti-Cancer Agents in Med. Chem.*, 6, 111-125.

Giovagnini, L., Ronconi, L., Aldinucci, D., Lorenzon, D., Sitran, S., Fregona, D.,

(2005), Synthesis, characterization, and comparative in vitro cytotoxicity studies of platinum(II), palladium(II), and gold(III) methylsarcosinedithiocarbamate complexes, *J. Med. Chem.*, 48:5, 1588-1595.

Gmelin, "Handbook of Inorganic Chemistry, Boron Supplement", Elemental Boron, Boron Carbides, 2, 242.

Gonzalez, V. M., Fuertes, M. A., Perez, M. J., Cervantes, G., Moreno, V., Alonso, C., Perez, J. M., (2000), Induction of Apoptosis by the bis-Pt(III) Complex [Pt₂(2-mercaptopyrimidine)₄Cl₂], *Biochemical Pharmacology*, 60, 371-379.

Greenwood, N. N., Boron, Pergamon Press, Oxford, (1975), p.327 ; also as Chap. 11 in *Comprehensive Chemistry*, Vol.1 Pergamon Press, Oxford, (1973).

Guisti, V., "Neutron sources for BNCT: a general review".

Gurunathan, S., Lee, K. L., Kalishwaralal, K., Sheikpranbabu, S., Vaidyanathan, R., Eom, S. H., (2009), Antiangiogenic properties of silver nanoparticles, *Biomaterials*, 30, 6341-6350.

Guruprasad Kalthur and Uma Devi Pathirissery.

Gust, R., Niwbler, K., Schonenberger, H., (1995), Investigation of the configurational influences on the hormonal activity of 1,2-Bis(2,6-dichloro-4-hydroxyphenyl)-ethylenediamines and of their platinum(II) complexes. 1. Synthesis, estradiol receptor affinity, and estrogenic activity of diastereomeric N-Alkyl- and N,N'-dialky[-1,2bis(2,6-dichloro-4-hydroxyphenyl)ethylenedi-amine] Dichloroplatinum(II) Complexes, *J. Med. Chem.*, 38, 2070-2079.

Harling, O. K., Riley, K. J., Newton, T. H., Wilson, B. A., Bernard, J.A., Hu, L-W., Fonteneau, E. J., Menadier, P. T., Ali, S. J., Sutharshan, B., Kohse, G. E.,

Ostrovsky, Y., Stahle, P. W., Binns, P. J., Kiger DI, W. S., (2002), "The Fission Converter-Based Epithermal Neutron Irradiation Facility at the Massachusetts Institute of Technology Reactor," Nuclear Science and Engineering, 140, 223-240.

Hawthorne, M. F., Shelly, K., (1997), Journal Article A critical assessment of boron target compounds for boron neutron capture therapy M. Frederick Hawthorne Liposomes as drug delivery vehicles for boron agents, Journal of Neuro-Oncology, 33, 1-2, 53-58.

Hawthorne, M. F., Lee, M. W., (2003), Journal Article Liposomes as drug delivery vehicles for boron agents M. Frederick Hawthorne A Critical Assessment of Boron Target Compounds for Boron Neutron Capture Therapy, Journal of Neuro-Oncology, 62:1, 33-45.

Hesse, F., Wagner, R., (2000), Developments and improvements in the manufacturing of human therapeutics with mammalian cell cultures, Tibtech, 18, 173-180.

Hideghéty, K., Sauerwein, W., de Vries, M., et al., (1998), Postoperative treatment of glioblastoma with Boron Neutron Capture Therapy at the European High Flux Reactor, Petten. Ann Oncol, 2, 129.

Hideghéty, K., Sauerwein, W., Haselsberger, K., et al., (1999), Postoperative treatment of glioblastoma with BNCT at the Petten Irradiation facility (EORTC Protocol 11961)., Strahlenther Onkol, 175, 111-114.

http-1 Ulukaya, E., Apoptozis ders notları, Uludağ üniversitesi, Bursa, biyokimya.uludag.edu.tr/apoptozis_ders_notu.pdf, (30.01.2011).

Huang, R., Wallqvist, A., Covell, D. G., (2005), Anticancer metal compounds in NCI's tumor screening database: putative mode of action, Biochemical

Pharmacology, 69, 1009-1039.

Huan-Huan, C., Li-Li, Y., Shang-Bin, Li., (2004), Artesunate reduces chicken choriallantoic membrane neovascularisation and exhibits antiangiogenic and apoptotic activity on human microvascular dermal endothelial cell, *Cancer Letters*, 211, 163-173.

Hughes, A. M., Heber, E. M., Pozzi, Ea., Nigg, D. W., Calzetta, O., Blaumann, H., Longhino, J., Nievas, S. I., Aromando, R. F., Itoiz, M. E., Trivillin, V. A., Schwint, A. E., (2009), Boron neutron capture therapy (BNCT) inhibits tumor development from precancerous tissue: An experimental study that supports a potential new application of BNCT, *Applied Radiation and Isotopes*, 67, 313-317.

Hu, Q., Kavanagh, M-C., Newcombe, D., Hill, R. P., (1995), Detection of hypoxic fractions in murine tumors by comet assay: comparison with other techniques, *Radiat Res.*, 144, 266-275.

Jakle F., (2010), "Advances in the synthesis of organoborane polymers for optical, electronic, and sensory applications" *Chem. Rev.*, 110, 3985-4022.

Jansen, B. A. J., Van Der Zwan, J., Dulk, H. D., Brouwer, J., Reedijk, J., (2001), Dinuclear alkyl diamine platinum antitumor compounds: A structure-activity relationship study, *J. Med. Chem.*, 44, 245-249.

Jansen, B. A. J., Wieleard, P., Dulk, H. D., Brouwer, J., Reedijk, J., (2002), Oxaza crown ethers as ligands for mixed-ligand cisplatin derivatives and dinuclear platinum anticancer drugs, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 9, 2375-2379.

Jung, H. J., Lee, H. B., Lim, C. H., Kim, C. J., Kwon, H. J., (2003), Cochlioquinone A1, a New Anti-Angiogenic Agent from *Bipolaris zeicola*, *Bioorg. Med. Chem.*, 11, 4743-4747.

Kahn, J., Mehraban, F., Ingle, G., (2000), Gene expression profiling in an in vitro model of angiogenesis, *Am. J. Pathol.*, 156, 1887-900.

Kahraman, G., "Bor nötron yakalama tedavisinde kullanılan hızlandırıcıya dayalı nötron kaynakları", Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Teknoloji Dairesi, 06530 Ankara.

Kalthur, G., Mutalik, S., Pathirissery, U. D., (2009), Effect of withaferin A on the development and decay of thermotolerance in B16F1 melanoma: a preliminary study, *Integr Cancer Ther*, 8, 93-97.

Kampinga, H. H., Dikomey, E., (2001), Hyperthermic radiosensitization: mode of action and clinical relevance, *Int J Radiat Biol.*, 77, 399-408.

Karp, G., (1999), *Cell and Molecular Biology. Concepts and Experiments*. John Wiley & Sons Inc., New York.

Kelland, L., (2007), The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy, *Nature Rev. Cancer*, 7, 573.

Kerr, J. F., Winterford, C. M., Harmon, B. V., (1964), Apoptoz: Its significant in cancer and cancer therapy, *Cancer*, 73, 2013-2016.

Khattar, R., Puga, J., Fehlner, T. P., Rheingold, A. L., (1989), *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 1877.

Kiger HI, W. S., Palmer, M. R., Riley, K. J., Zamenhof, R. G., Busse, P. M., (2003), "Pharmacokinetic modeling for boronophenylalamne-fructose mediated neutron capture therapy: ^{10}B concentration predictions and dosimetric consequences," *J. Neuro-Oncol*, 62, 171-186.

Kinoshita, Y., Yoshino, K., Mori, Y., Kakihana, H., Mishima, Y., (1992), Complex formation of phenylboronic acid and derivatives with aldopentoses and oligosaccharides. In: Allen BJ, Moore DE, Harrington BV, editors. Progress in Neutron Capture Therapy for Cancer. New York, Plenum Press, 243-245.

Kolozsi, A., Vosekalna, I., Martinek, T., Larsen, E., Gyurcsik, B., (2009), Copper(II) and zinc(II) ion binding properties of a MAP type branched ligand with histidines as surface functionalities Dalton Trans., Dalton Trans., 5647.

Kong, Y., Wang, K., Edler, M. C., Hamel, E., Mooberry, S. L., Paige, A. M., Brown, M. L., (2010), A boronic acid chalcone analog of combretastatin A-4 as a potent anti-proliferation agent, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 18, 971-977.

Kostova, I., (2006), Anti-cancer Agents, Med. Chem., 6, 19.

Kostova, I., (2006), Gold coordination complexes as anticancer agents, Anti-Cancer Agents in Med. Chem., 6:1, 19-32.

Kulvik, M., Vahatalo, J., Buchar, E., Farkkila, M., Jarviluoma, E., Jaaskelainen, J., Kriz, O., Laakso, J., Rasilainen, M., Ruokonen, I., Kallio, M., (2003), "Clinical implementation of 4-hydroxyborylphenylalanine synthesised by an asymmetric pathway", Eur. J. Pharm. Sci., 18, 155-163.

Kwon, H. J., Bae, S. Y., Kim, K. H., Han, C. H., Cho, S. H., Nam, S. W., Choi, Y. H., Kim, B. W., (2007), Induction apoptosis in HeLa Cells by ethanolic extract of Coralline Pilulifera, Food Chemistry, 104, 196-201.

Lange, T. S., Kim, K. K., Singh, R. K., Srongin, R. M., McCourt, C. K., Brard, L., (2008), Iron (III) Salophene: An Organometallic Compound with Selective Cytotoxic and Anti-Proliferative Properties in Platinum-Resistant Ovarian Cancer Cells, Plos ONE, 3.

Liao, T. K., (1964), Pondrebaraceh, C.C.C., Boron-substituted pyrimidines., J. Am. Chem. Soc., 86, 1869–1870.

Lin, M. T., Yen, M. L., Lin, C. Y., Kuo, M. L., (2003), Inhibition of Vascular Endothelial Growth Factor-Induced Angiogenesis by Resveratrol through Interruption of Src-Dependent Vascular Endothelial Cadherin Tyrosine Phosphorylation, Mol. Pharmacol, 64, 1029-1036.

Ling, C. C., Chen, C. H., Fuks, Z., (1994), An equation for the dose response of radiation-induced apoptosis: possible incorporation with the LQ model, Radiother Oncol., 33, 17-22.

Maddika, S., Ande, S. R., Panigrahi, S., Paranjothy, T., Weglarczyk, K., Zuse, A., Eshragi, M., Manda, K. D., Wiechec, E., Los, M., (2007), Cell survival, cell death and cell cycle pathways are interconnected: Implications for cancer therapy, Drug Resistance Updates, 10, 13-29.

Maitra, R., Porter, M. A., Huang, S., Gilmour, B. P., (2009), Inhibition of NFkappaB by the natural product withaferin A in cellular models of cystic fibrosis inflammation., J Inflamm (Lond), 13, 15.

Mandal, C., Dutta, A., Mallick, A., et al. (2008), Withaferin A induces apoptosis by activating p38 mitogen-activated protein kinase signaling cascade in leukemic cells of lymphoid and myeloid origin through mitochondrial death cascade, Apoptosis, 13, 1450-1464.

Mohan, R., Hammers, H. J., Bargagna-Mohan, P., et al. (2004), Withaferin A is a potent inhibitor of angiogenesis, Angiogenesis, 7, 115-122.

Marcon, G., Carotti, S., Coronello, M., Messori, L., Mini, E., Orioli, P., Mazzei, T., Cinellu, M. A., Minghetti., (2002), Gold(III) complexes with bipyridyl ligands: solution chemistry, cytotoxicity, and DNA binding properties, G., J. Med.

Chem., 45, 1672-1677.

Marcon, G., Messori, L., Orioli, P., Cinellu, M. A., Minghetti, G., (2003), Reactions of gold(III) complexes with serum albumin, *Eur. J. Biochem.*, 270:23, 4655.

Messori, L., Orioli P., Tempi, C., Marcon, G., (2001), Interactions of selected gold(III) complexes with calf thymus DNA, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 281:2, 352-360.

Messori, L., Abbate, F., Marcon, G., Orioli, P., Fontani, M., Mini, E., Mazzei, T., Carotti, S., O'Connell, T., Zanello, P., (2000), Gold(III) complexes as potential antitumor agents: Solution chemistry and cytotoxic properties of some selected gold(III) compounds, *J. Med. Chem.*, 43:19, 3541-3548.

Meyn, R. E., Stephens, L. C., Hunter, N. R., Milas, L., (1994), Induction of Apoptosis in murine tumors by cyclophosphamide., *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 33, 410-414.

Michalke, B., (2010), Platinum speciation used for elucidating activation or inhibition of Pt-containing anti-cancer drugs, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24, 69-77.

Micklitz, W., Lippert, B., Müller, G., Mikulcik, P., Riede, J., (1989), The molecular structures of $\text{Au}(2,2'\text{-bpy})\text{Cl}_3 \cdot 2.25\text{H}_2\text{O}$ and its 1-methyluracil adduct $[\text{Au}(2,2'\text{-bpy})(1\text{-MeU})_2] \text{ClO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, *Inorg. Chim. Acta*, 165:1, 57-64.

Milacic, V., Ping Dou, Q., (2009), The tumor proteasome as a novel target for gold (III) complexes: Implications for breast cancer therapy., *Coord. Chem. Rev.*, 253, 1649-1660.

Monlien, F. J., Helm, L., Abou-Hamdani, A., Merbach, A. E., (2002), Cyanide

and chloride Exchange on homoleptic gold(III) square-planar complexes: variable pressure kinetic investigation by heteronuclear NMR, *Inorg. Chim. Acta*, 331, 257-269.

Morishita, R., Aoki, M., Matsushita, H., Kaneda, Y., Higaki, J., et al., *Progress in Experimental Cardiology, The Ischemic Heart II*, 1:1, 531-544.

Mortenson, M. M., Schlieman, M. G., Virudachalam, S., Lara, P. N., Gandara, D. G., Davies, A. M., Bold. R. J., (2005), Reduction in BCL-2 levels by 26S proteasome inhibition with bortezomib is associated with induction of apoptosis in small cell lung cancer, *Lung Cancer* , 49, 163-170.

Murmu, N., Ghosh, P., Gomes, A., Mitra, S., Das, M., Besra, S.E., Majumdar, J., Bhattacharya, S., Sur, P., Vedasiromoni, J. R., (2002), Antineoplastic effect of new boron compounds against leukemic cell lines and cells from leukemic patients, *J. Exp. Clinical Cancer Research* , 21:3, 351-356.

Murmu, N., Mitra, S., Das, M., Gomes, A., Vedasiromoni, J. R., Ghosh, M., Bhattacharya, M., Ghosh, P., Biswas, J., Bhattacharya, S, Sur, P., (2001), Boron compounds against human leukemic cells, Chittaranjan National Cancer Institute, Calcutta, India,. *J.Exp.Clinical Cancer Research*, 20:3, 511-5.

Muscella, A., Calabriso, N., De Pascali, S. A., Urso, L., Ciccicarese, A., Fanizzi, F. P., Migoni, D., Marsigliante, S., (2007), New Platinum (II) complexes containing both an O,O'-chelated acetylacetonate ligand and sulfur ligand in the platinum coordination sphere induce apoptosis in hela cervical carcinoma cells, *Biochem. Farmacol.*, 74, 28-40.

Nawrocki, S. T., Sweeney-Gotsch, B., Takamori, R., McConkey, D. J., (2004), The proteasome inhibitor bortezomib enhances the activity of docetaxel in orthotopic human pancreatic tumor xenografts, *Molecular Cancer Therapeutics*, 3:1, 59-70.

Nemoto, H., Cai, J., Asao, N., Iwamoto, S., Yamamoto, Y., (1995), Synthesis and biological properties of water-soluble p-boronophenylalanine derivatives. Relationship between water solubility, cytotoxicity, and cellular uptake., *J Med Chem*, 38, 1673-1678.

Nomiya, K., Noguchi, R., Oda, M., (2000), Synthesis and crystal structure of coinage metal(I) complexes with tetrazole (Htetz) and triphenylphosphine ligands, and their antimicrobial activities. A helical polymer of silver(I) complex $[Ag(tetz)(PPh_3)_2]_n$ and a monomeric gold(I) complex $[Au(tetz)(PPh_3)]$, *Inorg. Chim. Acta*, 24, 298.

Oh, J. H., Lee, T. J., Kim, S. H., et al. (2008), Induction of apoptosis by withaferin A in human leukemia U937 cells through downregulation of Akt phosphorylation, *Apoptosis*, 13, 1494-1504.

Ortiz, A. G., Dulk, H. D., Brouwer, J., Kooijman, H., Spek, A. L., Reedijk, J., (2007), The synthesis, chemical and biological properties of dichlorido(azpy)gold(III)chloride (azpy=2-(phenylazo)pyridine) and the gold-induced conversion of the azpy ligand to the chloride of the novel tricyclic pyrido[2,1-c][1,2,4]benzotriazin-11-ium cation, *J. Inorg. Biochem.*, 101, 1922-1930.

Overgaard, J., Radacic, M. M., Grau, C., (1991), Interaction of hyperthermia and cis-diammine dichloroplatinum (II) alone or combined with radiation in a C3H mammary carcinoma in vivo, *Cancer Res.*, 51, 707-711.

Ozansoy, M., Başak, A. N., (2006), Parkinson hastalığında programlanmış hücre ölümü, *Parkinson Hastalığı ve Hareket Bozuklukları dergisi*, 9, 54-61.

Padron, J. M., Wilt, C. L., Smid, K., Wilms, E. S., Beckus, H. H. J., Pizao, P. E., Giaccone, g., Peters, G. J., (2000), The multilayered postconfluent cell culture as a

model for drug screening, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 36, 141-157.

Pan, H., Yin, C., Van Dyke, T., (1997), *Apoptosis and Cancer Mechanisms, Cancer Surveys*, 29, 305-327.

Patoloji Ders Kitabı, Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi, Eskişehir, 116, 1991.

Perrin, L. C., Prenzler, P. D., Cullinane, C., Phillips, D. R., Denny, W. A., McFadyen, W. D., (2000), DNA Targeted platinum complexes: synthesis, cytotoxicity and DNA interactions of cis-dichloroplatinum(II) complexes tethered to phenazine-1-carboxamides, *J. Inorg. Biochem.*, 81, 111-117.

Ralston, N. V., Hunt, C. D., (2004), Transmembrane partitioning of boron and other elements in RAW 264.7 and HL60 cell cultures, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Grand Forks Human Nutrition Research Center, Grand Forks, *Biol Trace Elem Res.*, 98:2, 181-191.

Rassow, J., Pöller, F., Steinberg, F., et al., (1993), Physical and tumor biological aspects and calculation model of dosage in boron neutron capture therapy (BNCT), *Strahlenther Onkol*, 169, 7-17.

Reddy, L., Odhav, B., Bhoola, K. D., (2003), Natural products for cancer prevention: A global perspective, *Pharmacology & Therapeutics*, 99, 1-13.

Research Center, Grand Forks, *Biol Trace Elem Res.*; 98(2):181-191, 2004

Romero, M. A., Salas, J. M., Lopez, R., Gutierrez, M. D., (1988), Spectrochemical studies on the 4,6-diamine-2-methylthio-5-nitroso pyrimidine complexes of Pd(II), Pt(II), Ag(I), Au(III), Cd(II), Hg(II), *Polyhedron*, 7:8, 659-

664.

Rothman, K. J., (1974), Synergy and antagonism in cause-effect relationships, *Am J Epidemiol*, 99, 385-391.

Ruiz, A. D. V., Muller, A. R., Ramirez, L. R., Kass, G. E. N., Kelland, L. R., Orr, R. M., Dobrota, M., (2000), Induction of Apoptosis by a Novel Copperbased anticancer compound, Casinopeina II, in L1210 Murine Leucaemia and CH1 human Ovarian Carcinoma Cells, *Toxic. in vitro*, 14, 1-5.

Ruman, T., Dlugopolska, K., Kusnierz, A., Rode, w., (2009), "Synthesis and NMR properties of derivatives of 5,6-dihydroborauracil and 5,6-dihydroborathymine" *Bioorg. Chem.*, 37, 180-184.

Sakai, M., Fujimoto, N., Ishii, K., Murata, I., Lee, C. M., Kaneda, Y., Nakamura H., Awazu, K., Basic investigation of boron neutron capture therapy (BNCT) using novel boron agents and accelerator based neutron source.

Sadler, P. J., Sue, R. E., (1994), *Metal Based Drugs*, 1, 107-144.

Sauerwein, W., Moss, R., Rassow, J., et al. (1999), Organisation and management of the first clinical trial of BNCT in Europe (EORTC Protocol 11961), *Strahlenther Onkol*, 175, 108-11.

Sawa, Y., Suzuki, K., Kaneda, Y., Kadoba, K., Bai, H-Z., et al., Transfection of Heat-Shock Protein 70 Enhances Myocardial Tolerance to Ischemia: Evidence for a Role of HSP70 in Ischemia-Reperfusion Injury Progress in Experimental Cardiology, *The Ischemic Heart*, II, 1:1, 399-409.

Schinazi, R. F., Prusoff, W. H., (1978), Synthesis and properties of boron and silicon., *Tetrahedron Lett*, 50, 4981-4984.

Shaw III C. F., (1999), Gold-based therapeutic agents, *Chem Rev.*, 99:9, 2589-2600.

Sharada, A. C., Solomon, F. E., Uma Devi, P., Udupa, N., Srinivasan, K., (1996), Antitumor and radiosensitizing effects of withaferin A on mouse Ehrlich ascites carcinoma in vivo, *Acta Oncol.*, 35, 95-100.

Shohat, B., Gitter, S., Lavie, D., (1970), Effect of withaferin A on Ehrlich ascites tumor cells: cytological observations, *Int J Cancer*, 5, 244-252.

Shohat, B., Joshua, H., (1971), Effect of withaferin A on Ehrlich ascites tumor cells. II. Target tumor cell destruction in vivo by immune activation, *Int J Cancer*, 8, 487-496.

Shohat, B., Shaltiel, A., Ben-Bassat, M., Joshua, H., (1976), The effect of withaferin A, a natural steroidal lactone, on the fine structure of S-180 tumor cells, *Cancer Lett.*, 2, 71-77.

Stan, S. D., Hahm, E. R., Warin, R., Singh, S. V., (2008), Withaferin A causes FOXO3a- and Bim-dependent apoptosis and inhibits growth of human breast cancer cells in vivo, *Cancer Res.*, 68, 7661-7669.

Sherman, S. E., Lippard, S. J., (1987), Structural aspects of platinum anticancer drug interactions with DNA, *Chem. Rev.*, 87, 1153-1181.

Sigel, H., Tribolet, R., Yamauchi, O., (1990), *Comments Inorg. Chem.*, 9, 305.

Sivaev, I. B., Bregadze, V. I., (2008), "L-4-boronophenylalanine (all around the one molecule)" *Arkivoc*, 4, 47-61.

Smythe, N. C., Gordon, J. C., (2010), Ammonia Borane as a Hydrogen Carrier:

Dehydrogenation and Regeneration, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 509–521.

Soloway, A. H., Tjarks, W., Barnum, B. A., Rong, F., Barth, R. F., (1998), “The chemistry of neutron capture therapy”, *Chemical Reviews*, 98:4, 1515-1562.

Staubitz, A., Robertson, A. P. M., Manners, I., (2010), “Ammonia-borane and related compounds as dihydrogen sources” *Chem. Rev.*, 110, 4079-4124.

Staubitz, A., Robertson, A. P. M., Sloan, M. E., Manners, I., (2010), “Amine- and phosphine-borane adducts: New interest in old molecules” *Chem. Rev.*, 110, 4023-4078.

Sudimack, J. J., Adams, D., Rotaru, J., Shukla, S., Yan, J., et al. (2002), *Journal Article* A Critical Assessment of Boron Target Compounds for Boron Neutron Capture Therapy M. Frederick Hawthorne Folate Receptor-Mediated Liposomal Delivery of a Lipophilic Boron Agent to Tumor Cells in Vitro for Neutron Capture Therapy Folate Receptor-Mediated Liposomal Delivery of a Lipophilic Boron Agent to *Pharmaceutical Research*, 19:10, 1502-1508.

Takeuchi, K., Itoh, H., Yonemitsu, Y., Matsumoto, T., Kume, M., et al., (2007), *In Vivo Reduction of the Nuclear Factor- κ B Activity Using Synthetic cis -Element Decoy Oligonucleotides Suppresses Intimal Hyperplasia in the Injured Carotid Arteries in Rabbits* *Surgery Today*, 37:7, 575-583.

Teicher, B. A., Holden, S. A., Khandakar, V., Herman, T. S., (1993), Addition of a topoisomerase I inhibitor to trimodality therapy [cis-diamminedichloroplatinum (II)/heat/radiation] in a murine tumor, *J Cancer Res Clin Oncol.*, 119, 645-651.

Terlizzi, R., Colonna, N., Bisceglie, E., Colongeleo, P., Marrone, S., Raino, A., Tagliente, G., Variale, V., (2004), “Feasibility of an epithermal neutron source for BNCT based on RFQ accelerator”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics*

Research, 213, 210-213.

Tiekink, E. R. T., (2002), Gold derivatives for treatment of cancer,, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 42, 225-248.

Tu, C., Wu, X., Liu, Q., Wang, X., Xu, Q., Guo, Z., (2004), Crystal structure, DNA-binding ability and cytotoxic activity of platinum (II) 2,2'-dipyridylamine complexes., *Inorg. Chim. Acta*, 357, 95-102.

Uma Devi, P., Akagi, K., Ostapenko, V., Tanaka, Y., Sugahara, T., Withaferin, A., (1996), a new radiosensitizer from the Indian medicinal plant *Withania somnifera*, *Int J Radiat Biol.*, 69, 193-197.

Uma Devi, P., Guruprasad, K., (2001), Influence of clamping-induced ischemia and reperfusion on the response of a mouse melanoma to radiation and hyperthermia, *Int J Hyperthermia*, 17, 357-367.

Uma Devi, P., Kamath, R., (2003), Radiosensitizing effect of withaferin A combined with hypothermia on mouse fibrosarcoma and melanoma, *J Radiat Res.*, 44, 1-6.

Uma Devi, P., Kamath, R., Rao, B. S. S., (2000), Radiosensitization of a mouse melanoma by withaferin A: in vivo studies, *Indian J Exp Biol.*, 38, 432-437.

Uma Devi, P., Rao, B. S. S., (1993), Response of mouse sarcoma-180 to bleomycin in combination with radiation and hyperthermia, *Strahlenther Onkol.*, 169, 601-607.

Uma Devi, P., Utsumiz, H., Takata, M., Takeda, S., (2008), Enhancement of radiation induced cell death in chicken B lymphocytes by withaferin A., *Indian J Exp Biol*, 46, 437-442.

Uson, R., Vicente, J., Cirac, A., Chicote, M. T., (1980), Synthesis and reactivity of dibenzometalole complexes of gold(III) and platinum(II), *J. Organomet. Chem.*, 198:1, 105-112.

Uson, R., Vicente, J., Oro, J., (1981), Maleonitriledithiolate complexes of Au(III), Au(I), Pd(II) and Pt(II) containing neutral or anionic ligands, *Inorg. Chim. Acta*, 52, 29-34.

Vasiljeva, O., Boris, T., (2007), Dual Constrasting roles of cysteine chathepsins in cancer progression: Apoptosis versus tumour invasion, *Biochime*, 90, 380-386.

Vessieres, A., Plamont, M. A., Cabestaing, C., Claffey, J., Dieckman, S., Hogan, M., Bunz, H. M., Strohfeltd, K., Tacke, M., (2009), Proliferative and anti-proliferative effects of titanium-and iron-based metallocene anti-cancer drugs, *Journal of Organomet. Chem.*, 694, 874-879.

“What is BNCT”, ISU Research: Boron Neutron Capture Therapy (BNCT) web sayfası. [www. .physics.isu.edu/~rajat/bnct.html](http://www.physics.isu.edu/~rajat/bnct.html)

Wilbuer, A., Vlecken, D. V., Schmitz, D. J., Kraling, K., Harms, K., Bagowski, C. P., Meggers, E., (2010), Iridium Complex with Antiangiogenic Properties, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 49, 3839 –3842.

Williams, S., Pettaway, C., Song, S., Papandreou, C., Logothetis, C., McConkey, D. J., (2003), Differential effects of the proteasome inhibitor bortezomib on apoptosis and angiogenesis in human prostate tumor xenografts, *Molecular Cancer Therapeutics*, 2, 835-843.

Withers, H. R., (1975), The four Rs of radiotherapy. In: Lett JT, Alder H,eds. *Advances in Radiation Biology*, New York, NY: Wiley, 5, 369-375.

Woods, J. M., Leone, M., Klosowska, K., Lamar, P. C., Shakhovskiy, T. J., Prozialeck, W. C., (2008), Direct antiangiogenic actions of cadmium on human vascular endothelial cells, *Toxicology in Vitro*, 22, 643–651.

Xin X., Yang S., Kowalski J., Gerritsen M. E., (1999), Peroxisome Proliferator-activated Receptor Ligands Are Potent Inhibitors of Angiogenesis in Vitro and in Vivo, *J.Biol.Chem*, 274:13, 9116-9121.

Yakıcıer, C., Akarsu, A. A., 2(007), Kanser epidemiyolojisinde ailesel kanserlerin rolü, Türkiye’de Kanser Kontrolü, (Ed: Tuncer A.M.), T.C. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı, Ankara, 155-161.

Yamamoto, T., Yoneda, K., Ueta, E., Doi, S., Osaki, T., (2000), Enhanced apoptosis of squamous cell carcinoma cells by interleukin-2-activated cytotoxic lymphocytes combined with radiation and anticancer drugs, *Eur. J. of Cancer*, 36, 2007-2017.

Yang, T., Zhang, J.-Y., Tu, C., Lin, J., Liu, O., Guo, Z.-J., (2003), Synthesis and characterization of a novel Au(III)-pyridine-carboxamide complex and its reaction with 5'-GMP, *Chin. J., Inorg. Chem.*, 19:1, 45-48.

Zaidlewicz, M., Cytarska, J., Dzielendziak, A., Ziegler-Borowska, M., (2004), “Synthesis of boronated phenylalanine analogues with a quaternary center for boron neutron capture therapy”, *Arkivoc*, 3, 11-21.

Zamenhof, R. G., Busse, P. M., Harling, O. K., Goorley, J. T., (1999), "Boron Neutron Capture Therapy. "In *The Modern Technology of Radiation Oncology*, J.Van Dyk (Ed.), (Madison, Wisconsin. Medical Physics Publishing), 981-1020.

Zhang, X. D., Wu, J. J., Gillespie, S., Borrow, J., Hersey, P., (2006), Cross resistance of melanoma to trail-induced apoptosis and chemotherapy, *Update on Cancer Therapeutics*, 1, 435-441.

Zhao, H., Foss, F. W., Breslow, R., (2008), Artificial Enzymes with Thiazolium and Imidazolium Coenzyme Mimics, *J. Am. Chem. Soc.*, 130, 12590.

Zhong, Z. J., Okawa, H., (1988), Synthesis and properties of one-dimensional heterometal assemblies [Au(TPP)] [M(mnt)₂] (M = Ni, Pt, Au), *Inorg. Chim. Acta*, 144:2, 233-236.

Zhu, Y., Zhao, X., Zhu, X., Wu, G., Li, Y., Ma, Y., Yuan, Y., Yang, J., Hu, Y., Ai, L., Gao, Q., (2009), Design, Synthesis, Biological Evaluation, and Structure-Activity Relationship (SAR) Discussion of Dipeptidyl Boronate Proteasome Inhibitors, Part I: Comprehensive Understanding of the SAR of α -Amino Acid Boronates, *J. Med. Chem.*, 52, 4192–4199.

Zywietz, F., Hahn, L. S., Lierse, W., (1994), Ultrastructural studies on tumor capillaries of a rat rhabdomyosarcoma during fractionated radiotherapy, *Acta Anat (Basel)*, 150, 80-85.

Zywietz, F., , Vascular and cellular damage in a murine tumor during fractionated treatment with radiation and hyperthermia, *Strahlenther Onkol*, 166, 493-501, (1990) .

Zywietz, F., Reeker, W., Kochs, E., (1995), Tumor oxygenation in a transplanted rat rhabdomyosarcoma during fractionated irradiation, *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*, 32, 1391-1400.