



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ECZACILIKTA BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**PİRİDİN GRUBU İÇEREN SUDA ÇÖZÜNÜR
FTALOSİYANİN BİLEŞİKLERİNİN MEME
KANSERİ HÜCRE HATTI ÜZERİNE
FOTODİNAMİK TERAPİ
POTANSİYELLERİNİN İNCELENMESİ**

Ceren BOĞUŞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Doç. Dr. Burak BARUT

TRABZON-2026

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak yapıldığını ve yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

29.12.2025
Ceren BOĞUŞLU
(İmza)

İthaf

Sevgisi ve emeğiyle her daim yanımda olan kıymetli annem ve babama...



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana destek olan, zorlandığım her aşamada sabırla yönlendiren, motive edici yaklaşımıyla bana güç veren, titiz rehberliği ve desteğiyle bu çalışmanın tamamlanmasını sağlayan değerli danışman hocam Doç. Dr. Burak BARUT'a;

Gösterdiği yardımseverlik ve içten desteğiyle süreç boyunca yanımda olan, motivasyonu ve güzel kalbiyle bana destek olan Arş. Gör. Gökçe SEYHAN'a;

Beni her zaman koşulsuz sevgi, sabır ve destekleriyle bugünlere taşıyan; bana inanmaktan hiçbir zaman vazgeçmeyen, varlıklarıyla güç veren kıymetli annem Mutlu BOĞUŞLU, babam Yücel BOĞUŞLU'ya; hayatın içinde güveni, sevgiyi ve dayanışmayı en saf haliyle hissettiren, yorulduğumda güç veren, düştüğümde kaldıran, bu yolculukta beni en iyi anlayan sevgili kardeşim Şevval BOĞUŞLU'ya ve hayatımın en masum köşesinde duran, varlığıyla bana huzur veren miniğim, canım kardeşim Muhammed Emin BOĞUŞLU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Onların sevgisi ve anlayışı olmadan bu yolculuğu yapmak mümkün olmazdı; attığım her adımda yanımda oldukları için minnettarım.

Bu süreç içerisinde hayatıma girerek bana güç veren, yaşamımı güzelleştiren, sevinçlerimi çoğaltan, sabrı ve sevgisiyle bana huzur veren yol arkadaşım Esat MERSİNLİ'ye teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca TÜBİTAK BİDEB'e (2210-A), bana yapmış olduğu burs desteği için teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalışmalarımı TSA-2025-2261 kodlu projeye destekleyen Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Ceren BOĞUŞLU

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
ONAY	
BEYAN	
İTHAF	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Kanser	5
2.2. Meme Kanseri	7
2.2.1. Meme Kanseri Tedavileri ve Dezavantajları	11
2.3. Fotodinamik Terapi (FDT)	14
2.3.1. FDT'nin Tarihçesi	15
2.3.2. FDT'nin Mekanizması	17
2.4. Fotoduyarlaştırıcılar	21
2.4.1. Ftalosiyanınler	22
2.5. Literatür Özeti	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM	30
3.1. Gereç	30
3.1.1. Kullanılan Cihazlar	30
3.1.2. Kimyasal Madde ve Malzemeler	31
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Bileşikler	32
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler	32
3.2. Yöntem	34

3.2.1. Fotokimyasal Ölçümler	34
3.2.1.1. Singlet Oksijen Kuantum Verimi (Φ_{Δ})	34
3.2.1.2. Bileşiklerin Fotokararlılıklarının Ölçülmesi	35
3.2.2. DNA Bağlanma Deneyleri	36
3.2.2.1. UV-Vis Absorbsiyon Bağlanma Çalışması	36
3.2.2.2. Agaroz Jel Elektroforez Bağlanma Çalışması	37
3.2.3. DNA Nükleaz Çalışmaları	37
3.2.3.1. Bileşiklerin Hidrolitik Nükleaz Aktivitesi	37
3.2.3.2. Bileşiklerin Fotonükleaz Aktivitesi	38
3.2.3.3. Bileşiklerin Oksidatif Nükleaz Aktivitesi	38
3.2.3.4. Bileşiklerin Oksidatif Fotonükleaz Aktivitesi	38
3.2.4. Hücre Kültürü Çalışmaları	39
3.2.4.1 Hücre Dizisinin Açılması, Pasajlanması ve Sayılması	39
3.2.4.2. MTT Testi ile Sitotoksitenin Belirlenmesi	40
3.2.4.3. Işık Maruziyeti	40
3.2.5. İstatiksel Analiz	41
4. BULGULAR	42
4.1. Agregasyon Çalışmaları	42
4.2. Fotokimyasal Ölçümler	43
4.2.1. Singlet Oksijen Kuantum Verimi (Φ_{Δ})	43
4.2.2. Fotobozunma Kuantum Verimi	44
4.3. DNA Bağlanma Deneyleri	45
4.3.1. UV-Vis Absorbsiyon Bağlanma Çalışması	45
4.3.2. Agaroz Jel Elektroforez Bağlanma Çalışması	47
4.4. Bileşiklerin Nükleaz Aktivitesi	48
4.4.1. Bileşiklerin Hidrolitik Nükleaz Aktivitesi	48
4.4.2. Bileşiklerin Fotonükleaz Aktivitesi	49
4.4.3. Bileşiklerin Oksidatif Nükleaz/Fotonükleaz Aktivitesi	51
4.5. Hücre Kültürü Çalışmaları	53
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	56
6. KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	70

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
Tablo 1.	Çalışmada kullanılan cihazlar	30
Tablo 2.	Çalışmada kullanılan kimyasal madde ve malzemeler	31
Tablo 3.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin CT-DNA ile bağlanma verileri	46



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	2022 yılında meydana gelen kanser türlerinin insidansı	5
Şekil 2.	2022 yılında meydana gelen kanser türlerinin mortalitesi	6
Şekil 3.	2022 yılında kadınlarda meydana gelen kanser türlerinin insidansı	8
Şekil 4.	2022 yılında kadınlarda meydana gelen kanser türlerinin mortalitesi	9
Şekil 5.	Meme kanserinin moleküler alt tipleri ve tedavi yöntemleri	11
Şekil 6.	FDT'nin mekanizması	19
Şekil 7.	FDT'nin hücre ölümü etki mekanizması	20
Şekil 8.	Silisyum ftalosiyanin (a) ve metal ftalosiyanin (b) temel yapısı	23
Şekil 9.	Bileşik 1 ve Bileşik 2'nin moleküler yapısı	24
Şekil 10.	Bileşik 3 ve Bileşik 4'ün moleküler yapısı	25
Şekil 11.	Bileşik 5'in moleküler yapısı	26
Şekil 12.	Bileşik 6'nın moleküler yapısı	27
Şekil 13.	Bileşik 7'nin moleküler yapısı	27
Şekil 14.	Bileşik 8'in moleküler yapısı	28
Şekil 15.	Bileşik 9'un moleküler yapısı	29
Şekil 16.	Bileşik 10'un moleküler yapısı	29
Şekil 17.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin molekül şekli	32
Şekil 18.	3PY-7a-SiQ bileşiğinin DMSO içinde agregasyon eğilimleri	42
Şekil 19.	3PY-8a-SiQ bileşiğinin DMSO içinde agregasyon eğilimleri	42
Şekil 20.	Işınlama ile 3PY-7a-SiQ varlığında DPBF konsantrasyonu değişimi	43
Şekil 21.	Işınlama ile 3PY-8a-SiQ varlığında DPBF konsantrasyonu değişimi	43
Şekil 22.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ için UV-Vis spektrumlarında, DPBF absorbansının zamana karşı değişimi	44
Şekil 23.	3PY-7a-SiQ bileşiğinin fotokararlılık UV-Vis spektrumu	44
Şekil 24.	3PY-8a-SiQ bileşiğinin fotokararlılık UV-Vis spektrumu	45
Şekil 25.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ için ışınlama ile absorbansının zamana karşı değişimi	45
Şekil 26.	CT-DNA yokluğunda ve varlığında 3PY-7a-SiQ bileşiğinin UV-Vis absorpsiyon spektrumu	46

Şekil 27.	CT-DNA yokluğunda ve varlığında 3PY-8A-SiQ bileşiğinin UV-Vis absorpsiyon spektrumu	46
Şekil 28.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin elektroforez bağlanma çalışması	47
Şekil 29.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA hidrolitik nükleaz aktivitesi	49
Şekil 30.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA fotonükleaz aktivitesi (beyaz ışık)	50
Şekil 31.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA fotonükleaz aktivitesi (kırmızı ışık)	50
Şekil 32.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA oksidatif nükleaz aktivitesi	52
Şekil 33.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA oksidatif fotonükleaz aktivitesi (beyaz ışık)	52
Şekil 34.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA oksidatif fotonükleaz aktivitesi (kırmızı ışık)	53
Şekil 35.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin MCF-7 hücre hattında sitotoksisite ve fototoksisitesi	54
Şekil 36.	3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin MCF-10A hücre hattında sitotoksisite ve fototoksisitesi	55

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

DMEM	Dulbecco's modified eagle medium
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPBF	1,3-Difenilisobenzofuran
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EB	Etidyum bromür
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
ER	Östrojen reseptörü
FBS	Fetal bovin serum
FDT	Fotodinamik terapi
HER2	İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü
HpD	Hematoporfirin türevleri
HR+	Hormon reseptör pozitif
Lc	Çizgisel form
MCF-7	İnsan meme kanseri hücre hattı
MCF-10A	İnsan sağlıklı meme epiteli hücre hattı
MM	Metilen mavisi
MPc	Metal ftalosiyenin
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür
Nc	Kırık form
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
PR	Progestron reseptörü
ROS	Reaktif oksijen türleri
Sc	Süpersarmal form
SiPc	Silisyum ftalosiyenin
TAE	Tris-asetik asit-EDTA
TNBC	Üçlü negatif meme kanseri
UV-Vis	Ultraviyole visible

Simgeler

<i>K_b</i>	Bağlanma sabiti
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar
M	Molar
mL	Mililitre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
ng	Nanogram
W	Watt

Formüller

CO_2	Karbondioksit
$\text{HO}\cdot$	Hidroksil radikali
H_2O_2	Hidrojen peroksit
$\text{HOO}\cdot$	Hidroperoksil radikali
NaCl	Sodyum klorür
$^1\text{O}_2$	Singlet oksijen
O_2^-	Süperoksit anyonu

ÖZET

Piridin Grubu İçeren Suda Çözünür Ftalosiyanin Bileşiklerinin Meme Kanseri Hücre Hattı Üzerine Fotodinamik Terapi Potansiyellerinin İncelenmesi

Bu çalışmada, suda çözünebilen piridin yan grubu içeren silisyum (IV) ftalosiyanin (3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ) bileşiklerinin, meme kanseri tedavisinde kullanılmak üzere uygun FDT ajanı potansiyeli taşıyıp taşımadıkları incelemiştir. Bu amaç doğrultusunda ilk olarak bileşiklerin fotokimyasal özellikleri değerlendirilmiş; agregasyon davranışları, singlet oksijen kuantum verimleri ve fotobozunma kuantum verimleri incelenmiştir. Bileşiklerin singlet oksijen kuantum verimleri 3PY-7a-SiQ için $\Phi_{\Delta} = 0.181$ ve 3PY-8a-SiQ için ise $\Phi_{\Delta}=0.168$ hesaplanmıştır. Agregasyon incelemeleri sonucunda, her iki bileşik için de herhangi bir agregasyon belirtisi gözlenmemiştir. Fotobozunma kuantum verimleri ise 3PY-7a-SiQ için $\Phi_d = 0.64 \times 10^{-5}$ ve 3PY-8a-SiQ için $\Phi_d = 1.28 \times 10^{-5}$ olarak hesaplanmıştır. Bileşiklerin DNA bağlanma özelliklerini değerlendirmek amacıyla UV-Vis spektrofotometri ve agaroz jel elektroforezi deneyleri gerçekleştirilmiştir. UV-Vis spektrofotometri sonuçlarına göre, 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin K_b değerleri sırasıyla $1.51 \pm (0.02) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ve $5.52 \pm (0.07) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Agaroz jel elektroforez bulguları, 3PY-7a-SiQ bileşiğinin 3PY-8a-SiQ bileşiğine göre DNA'ya daha güçlü bağlanma eğiliminde olduğunu göstermiştir. Bileşiklerin hidrolitik nükleaz, fotonükleaz ve oksidatif nükleaz aktiviteleri yine agaroz jel elektroforezi yöntemiyle değerlendirilmiştir. Her iki bileşiğin de en yüksek konsantrasyonlarında, 60 dakika beyaz ışık uygulaması sonrası anlamlı düzeyde oksidatif fotonükleaz aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Son olarak 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin MCF-7 meme kanseri hücre hattı ile MCF-10A sağlıklı meme epitel hücre hattı üzerindeki *in vitro* sitotoksik ve fototoksik etkileri MTT yöntemi ile incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Fotodinamik Terapi, Fototoksisite, Meme Kanseri, Silisyum (IV) Ftalosiyanin, Sitotoksisite

ABSTRACT

Investigation of Photodynamic Therapy Potential of Water Soluble Phthalocyanine Compounds Containing Pyridine on Breast Cancer Cell Line

In this study, the potential of water-soluble silicon (IV) phthalocyanine derivatives containing a pyridine side group (3PY-7a-SiQ and 3PY-8a-SiQ) to serve as suitable PDT agents for breast cancer treatment was investigated. For this purpose, the photochemical properties of the compounds were first evaluated, including their aggregation behavior, singlet oxygen quantum yields, and photodegradation quantum yields. The singlet oxygen quantum yields were calculated as $\Phi_{\Delta} = 0.181$ for 3PY-7a-SiQ and $\Phi_{\Delta} = 0.168$ for 3PY-8a-SiQ. Aggregation studies revealed no signs of aggregation for either compound. The photodegradation quantum yields were determined to be $\Phi_d = 0.64 \times 10^{-5}$ for 3PY-7a-SiQ and $\Phi_d = 1.28 \times 10^{-5}$ for 3PY-8a-SiQ. To assess the DNA-binding properties of the compounds, UV-Vis spectrophotometry and agarose gel electrophoresis experiments were conducted. According to the UV-Vis spectrophotometry results, the K_b values of 3PY-7a-SiQ and 3PY-8a-SiQ were calculated as $1.51 \pm (0.02) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ and $5.52 \pm (0.07) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, respectively. Agarose gel electrophoresis findings indicated that 3PY-7a-SiQ exhibits a stronger tendency to bind DNA compared to 3PY-8a-SiQ. The hydrolytic nuclease, photonuclease, and oxidative nuclease activities of the compounds were also evaluated using agarose gel electrophoresis. At their highest concentrations, both compounds demonstrated significant oxidative photonuclease activity after 60 minutes of white-light irradiation. Finally, the *in vitro* cytotoxic and phototoxic effects of 3PY-7a-SiQ and 3PY-8a-SiQ on the MCF-7 breast cancer cell line and the MCF-10A healthy breast epithelial cell line were assessed using the MTT assay.

Keywords: Breast Cancer, Cytotoxicity, Photodynamic Therapy, Phototoxicity, Silicon (IV) Phthalocyanine

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kanser, dünyanın neredeyse her ülkesinde önde gelen bir ölüm nedeni ve yaşam beklentisini arttırmanın önünde önemli bir engel olarak görülmektedir (1). 21. yüzyılda dünya çapında meydana gelen her altı ölümden birinin sorumlusudur (2). Dünya Sağlık Örgütü tarafından yayınlanan son rapora göre, 2022 yılında 20 milyon yeni kanser vakası görülürken, 9.7 milyon hasta bu nedenle hayatını kaybetmiştir. Kanser vakalarının 2050 yılına kadar yaklaşık %77 artacağı ve sağlık sistemlerini, insanları ve toplulukları daha da zorlayacağı tahmin edilmektedir (3). Bu vakaların artmasına sosyoekonomik gelişmelerle ilişkili olarak nüfusun yaşlanması ve kanser ana risk faktörlerinin artması neden olmaktadır (1).

Meme kanseri, kadınlarda en sık teşhis edilen kötü huylu tümördür ve kötü huylu tümörden kaynaklanan ölüm nedenlerinde ilk sıradadır (4). Erkek meme kanseri nispeten nadirdir ancak daha düşük sağ kalım ve daha yüksek ölüm oranına sahiptir (5). Kanser İstatistikleri'ne göre meme kanseri 2022'de yaklaşık 2.29 milyon yeni vaka ve 666.103 ölümle tüm kanserlerin %24.5'ini oluşturmaktadır (3). Dünya çapında kanser kaynaklı ölümlerin beşinci önde gelen nedenidir ve 2020 yılında küresel kanser vakalarının önde gelen nedeni olan akciğer kanserini de geride bırakarak birinci sırada yerini almıştır. Meme kanseri görülme sıklığı dünya çapında sürekli artmaktadır (6,7).

Meme kanseri, genetik ve kalıtsal yatkınlık dahil olmak üzere birçok risk faktörüyle ilişkili olan heterojen bir hastalıktır (8). Bunlara yaş, üreme risk faktörleri (erken menarş ve geç menopoz), yaşam tarzı faktörleri (menopoz sonrası obezite ve alkol tüketimi), radyasyona maruz kalma, yüksek mamografi yoğunluğu ve atipik hiperplazi gibi histolojik lezyonların varlığı dahildir ve bu faktörlerden bazıları genetik yatkınlıkla da desteklenebilir (9). Bu kanserle ilişkili en iyi bilinen genetik mutasyonlar arasında BRCA1 ve BRCA2 genlerindeki mutasyonlar yer alır. Kromozom 17'de bulunan BRCA1 geni, genom stabilitesini korumaktan sorumlu nükleer proteini kodlayan bir baskılayıcı gendir. BRCA1 proteini, kromozom 13'te bulunan bir baskılayıcı gen olan BRCA2 gen ürünüyle birlikte DNA onarımında rol oynar. Bu genlerde meydana gelen mutasyonlar, DNA hasarlarının onarılmamasına ve hücrelerin kontrolsüz şekilde büyümesine yol açar. BRCA1/BRCA2 mutasyonu taşıyıcıların meme kanseri geliştirme riskinin 10 kat daha fazla olduğu bilinmektedir (4).

Meme kanseri biyolojik açıdan heterojen bir yapıya sahiptir ve östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2'nin (HER2) ekspresyonuna göre sınıflandırılır. Bu doğrultuda hastalık lüminal A (ER+, PR+ ve HER2-), lüminal B (ER+, PR+ ve HER2+), HER2 (ER-, PR- ve HER2+) ve üçlü negatif meme kanseri (TNBC) olmak üzere dört ana alt tipe ayrılmaktadır (10). Moleküler özelliklerine göre bu alt tipler hastalığın seyri, tedaviye yanıtı ve metastaz potansiyeli bakımından farklılıklar gösterir. Lüminal tipler daha iyi prognoza sahipken, HER2 pozitif tümörler daha agresif seyreder. HER2 proteini, tüm meme kanserlerinin yaklaşık %20'sinde aşırı miktarda üretilmekte ve bu durum hızlı tümör büyümesiyle ilişkilendirilmektedir. TNBC ise östrojen, progesteron ve HER2 reseptörlerini taşımayan alt tip olup, vakaların %10–20'sini oluşturmaktadır. Bu alt tip genellikle ileri evrede tanı almakta, tekrarlama riski yüksek seyretmekte ve sağkalım oranı düşük olmaktadır (11,12).

Meme kanseri tedavi stratejileri moleküler alt tipe bağlı olarak değişmektedir ve multidisiplinerdir. Tedaviler lokal ve sistemik olmak üzere ikiye ayrılır. Lokal tedaviler, cerrahi ve radyoterapidir. Sistemik tedaviler, hormon pozitif tedavi için hormon tedavisi, kemoterapi, HER2 pozitif hastalık için anti-HER2 tedavisi ve son zamanlarda immünoterapi olmak üzere çeşitli tedavileri içermektedir (4). Tedavi seçenekleri çeşitli olsa da her tedavinin yan etkileri ve olumsuz olaylara sebep olma özellikleri vardır. Kemoterapi, yorgunluk, alopesi (saç dökülmesi), sitopeni (normal kan hücrelerinin sayısında azalma), kas ağrısı, nörobilişsel işlev bozukluğu, kardiyomiyopati (kalp kasının anormal şekilde büyümesi), ikinci kanserler, erken menopoz, kısırlık ve psikososyal bozukluklar gibi birçok yan etkiye sahiptir. Radyoterapinin en önemli yan etkilerinden biri kardiyotoksisitedir (10). Hormon tedavilerinin yan etkileri arasında yüksek ateş, kilo alımı, kas-iskelet sistemi semptomları ve yorgunluk bulunur. İmmünoterapinin en yaygın yan etkileri cilt reaksiyonları, ishal, titreme, öksürük ve endokrinopatilerdir (endokrin sistemde işlev bozuklukları). Hedefli tedavi türleri arasında monoklonal antikorlar (HER2 pozitif meme kanseri için trastuzumab), kinaz inhibitörleri (hormon pozitif meme kanseri için CDK4/6 inhibitörleri), mTOR inhibitörleri (hormon pozitif meme kanseri için), ve P13K inhibitörleri ve PARP inhibitörleri (BRCA pozitif meme kanseri için) bulunur ancak bu tedaviler de çeşitli cilt problemleri gibi yan etkilere sahiptir. Sonuç olarak, her alt tip farklı biyolojik davranışlar sergiler ve tedaviye yanıtları değişiklik gösterir. Tüm hastalar kişiselleştirilmiş tedaviden yararlanamayacağı için geleneksel tedavilerin ötesine geçilmelidir (13).

Meme kanseri için en iyi tedavi sonuçları, zamanında tanıya ve ardından bakıma yönelik çok disiplinli, bir yaklaşıma bağlıdır ancak birçok düşük ve orta gelirli ülkede, finansal kısıtlamalar, kaynak eksikliği, yeterince eğitilmemiş iş gücü ve zayıf altyapı nedeniyle etkili bakım yönetimi yollarını takip etmek zor olabilir (14). Meme kanseri tedavisinde son yıllarda kaydedilen ilerlemeler, tam anlamıyla tatmin edici çözümler ve sonuçlar vermemiştir. Bu nedenle yeni tedavi yaklaşımları üzerinde çalışmalar yapılması gerekmektedir (4).

Fotodinamik terapi (FDT), kanser tedavisinde yeni bir tedavi olarak son yıllarda büyük ilgi gören minimal invaziv bir terapötik yöntemdir. FDT, belirli bir dalga boyundaki ışıkla uyarıldıktan sonra, hedef dokuda reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturmak için moleküler oksijenle reaksiyona girerek hücre ölümüne neden olan fotoduyarlaştırıcılar kullanır (15). ROS tümör hücrelerinin zarlarına, proteinlerine ve DNA'sına zarar vererek hücre ölümüne yol açar (16). FDT, özellikle meme kanseri gibi yüzeysel ve lokalize kanserlerde umut vaat eden bir tedavi yaklaşımıdır. Geleneksel terapötik yöntemlerle karşılaştırıldığında FDT, tercihen tümör lezyonlarında lokalize olan fotoduyarlaştırıcıların kullanılması ve bu lezyonların hassas bir şekilde ışıkla ışınlanması nedeniyle tümör hücrelerine karşı daha seçicilik sunar (15).

Fotoduyarlaştırıcılar, FDT için anahtar unsurlardır. Bu moleküller tercihen tümörlerde birikmeli, yüksek singlet oksijen kuantum verimine sahip olmalı, karanlıkta düşük aktiviteye sahip olmalı, hasta vücudundan hızla elimine edilmeli, amfifilik özelliğe sahip olmalı ve yaklaşık 600-800 nm arasında bir ışık absorpsiyon zirvesine sahip olmalıdır (15). FDT'de kullanılan fotoduyarlaştırıcılar, porfirin türevleri, fotofrin, klorofinler ve ftalosiyanınler gibi ışığa duyarlı molekülerlerdir. Hematoporfirin ve fotofrin türevi bileşikler hedefe yönelik olmayan dağılım, kısa dalga boylu ışıktaki uyarım ve uzun süre vücutta kalma gibi dezavantajlara sahiptir. Bu özellikleri klinik olarak uygulanmalarını büyük ölçüde engellemektedir (17). Bu nedenle porfirinler, klorofinler ve ftalosiyanınler gibi yeni fotoduyarlaştırıcılar geliştirilmiştir. Bu bileşiklerin emilim spektrumları 650-800 nm aralığında olduğu için daha iyi bir tümör özgünlüğü ve derin yerleşimli dokulara penetrasyon sağlar. Ayrıca vücuttan daha hızlı atılırlar, bu da daha az yan etki ve hastanın karanlık odada geçirdiği sürenin azalmasını sağlar (16). Bu moleküller, kanser hücrelerinde birikme eğilimindedir, bu da tedavisinin hedefe yönelik olmasını sağlar ve çevredeki sağlıklı dokuların zarar görme riskini azaltır (18).

Sonuç olarak, fotodinamik terapi, kanser tedavisinde yenilikçi ve hedefe yönelik bir yaklaşım sunmaktadır. Son zamanlarda klinik çalışmaların sayısının artması, FDT'nin faydalarının cazip ve umut verici olmaya devam ettiğini ve alanının çok aktif olduğunu göstermektedir (19). Gelişen teknoloji ile daha etkili fotoduyarlaştırıcıların ve ışık kaynaklarının kullanılması, FDT'nin klinik uygulamalarda daha geniş bir kullanım alanı bulmasına olanak sağlayacaktır (17). Bu kapsamda en sık tercih edilen molekül gruplarından biri olan ftalosiyanın halkasının merkezinde bulunan metal iyonu, bileşiğin kimyasal ve fiziksel özelliklerini oldukça etkilemektedir. Merkez kavitesinde silisyumun bulunduğu ftalosiyanın bileşiklerinin çeşitli kanser türlerine karşı etkilerinin incelendiği ve etkili olduğu *in vitro*, *in vivo* ve klinik çalışmalar literatürde bulunmaktadır (20-23). Bu çalışmamızda kullanmayı tercih ettiğimiz substitüe grup olan piridin analoglarının zengin biyolojik ve farmakolojik etkiye sahip olduğu bilinmektedir (24-27). Bunun yanı sıra aksiyal konumda konumlandırılan yan grup taşıyan bileşiklerin agregasyonu azaltması ve bu durumun FDT etkisinin arttıracığı düşünülmektedir. Ayrıca, piridin yapısında bulunan kuaterner amonyum yapılarının bileşiklerin suda çözünürlüklerini arttırmaktadır. Suda çözünebilen fotoduyarlaştırıcı bileşikler FDT'de uygulama kolaylığı açısından da tercih edilmektedir.

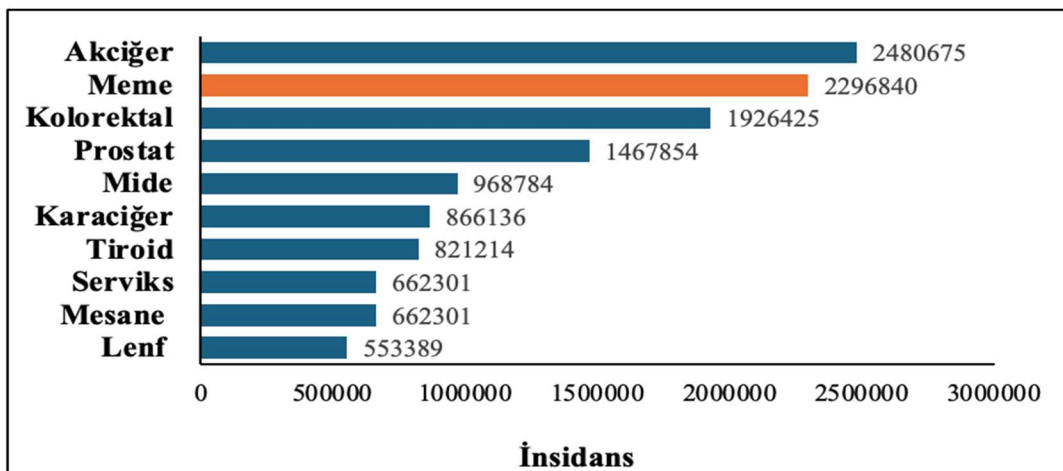
Bu tez çalışmasının amacı; suda çözünebilen piridin yan grubu içeren silisyum (IV) ftalosiyanın türevleri (3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ) bileşiklerinin fotokimyasal özelliklerini, DNA ile etkileşimlerini ve MCF-7 (insan meme kanseri) ile MCF-10A (insan sağlıklı meme epitel) hücre hatları üzerinde *in vitro* fotodinamik tedavi etkinliklerini araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

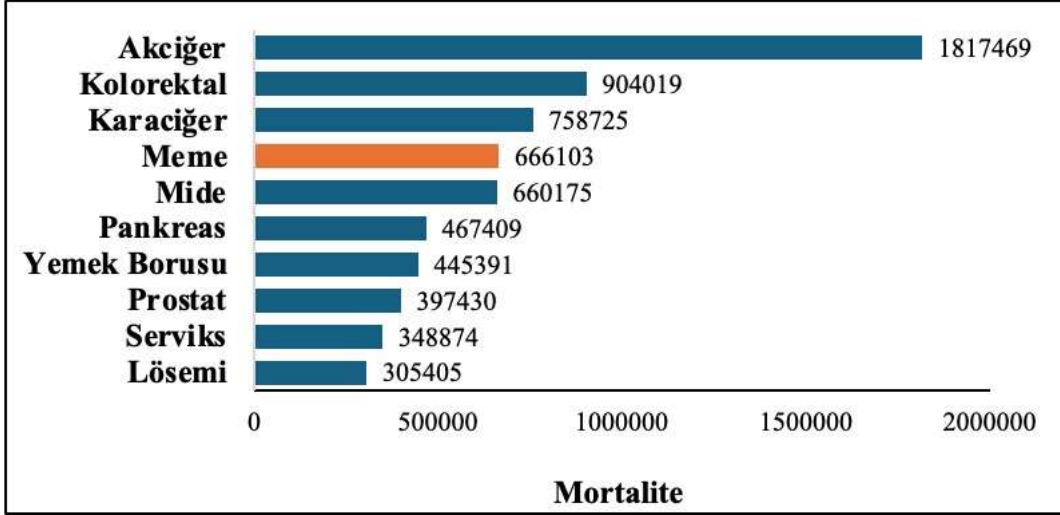
2.1. Kanser

Kanser, vücudun hemen hemen her organında ya da dokusunda ortaya çıkabilen, normal hücrelerin büyüme ve bölünme düzeninin bozulmasıyla karakterize edilen ciddi bir hastalıktır. Sağlıklı bir vücutta hücreler, ihtiyaç doğrultusunda kontrollü bir şekilde çoğalır ve yaşam döngülerini tamamladıklarında doğal yollarla yok olurlar. Ancak kanserde bu denge bozulur ve hücreler, kontrolsüz biçimde çoğalarak çevresindeki dokulara zarar veren kitleler yani tümörler oluştururlar. Bu tümörler yalnızca bulundukları bölgede kalmayıp zamanla komşu dokuları işgal edebilir, hatta kan ve lenf dolaşımı yoluyla uzak organlara da yayılabilirler. Hücrelerin bu şekilde vücudun farklı bölgelerine ulaşmasına metastaz adı verilir ve kanserin ölümcül olmasının en önemli nedenidir (28,29).

Kanser, dünyanın neredeyse her ülkesinde önde gelen bir ölüm nedeni ve yaşam beklentisini arttırmanın önünde önemli bir engel olarak görülmektedir (1). 21. yüzyılda dünya çapında meydana gelen her altı ölümden birinin sorumlusudur (2). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yayınlanan son rapora göre, 2022 yılında yaklaşık 20 milyon yeni kanser vakası görülürken, 9.7 milyon kişi bu nedenle hayatını kaybetmiştir. Kanser türleri arasında en yüksek teşhis oranı akciğer kanserine aittir; ardından sırasıyla meme, kolorektal ve prostat kanserleri gelmektedir (Şekil 1). Ölüm oranları açısından bakıldığında ise akciğer kanseri yine ilk sırada yer alırken, kolorektal, karaciğer ve meme kanserleri onu izlemektedir (Şekil 2). Kanser vakalarının 2050 yılına kadar yaklaşık %77 artacağı ve sağlık sistemlerini, insanları ve toplulukları daha da zorlayacağı tahmin edilmektedir (29).



Şekil1. 2022 yılında meydana gelen kanser türlerinin insidansı (DSÖ'den, 30)



Şekil 2. 2022 yılında meydana gelen kanser türlerinin mortalitesi (DSÖ'den, 30)

Günümüzde kanserin kesin etiyolojisi tam olarak çözülememiştir. Bunun temel nedeni, bu hastalığın gelişiminde tek bir faktörün değil, çok sayıda faktörün yer almasıdır. Kanser oluşumunda hem genetik faktörler hem de çevresel ve yaşam tarzına bağlı faktörler birlikte rol oynamaktadır. Genetik faktörler arasında, bireylerin ailelerinden kalıtım yoluyla aktarılan genetik yatkınlıklar ve belirli tümör baskılayıcı genlerde ya da onkogenlerde meydana gelen mutasyonlar ön plana çıkmaktadır. Genetik olmayan faktörler de kanser riskinde oldukça etkilidir. Özellikle tütün ürünlerinin kullanımı, sağlıksız ve dengesiz beslenme alışkanlıkları, obezite, aşırı alkol tüketimi, kronik stres, yetersiz uyku düzeni ve fiziksel hareketsizlik, kanserin ortaya çıkışını kolaylaştıran başlıca yaşam tarzı unsurlarıdır. Bunların yanında, iyonize radyasyona maruz kalmak, hava kirliliği gibi çevresel etkenler ve bazı enfeksiyöz ajanların (örneğin HIV veya Hepatit virüsleri) neden olduğu kronik enfeksiyonlar hücrelerde DNA hasarına yol açabilmekte ve bu hasar zamanla tümör gelişimini tetikleyebilmektedir. Dolayısıyla kanserin ortaya çıkışı tek bir nedene bağlı değildir; genetik yatkınlık ile çevresel ve yaşam tarzına bağlı faktörlerin karmaşık etkileşimi sonucunda ortaya çıkan çok boyutlu bir hastalıktır (31-33).

Kanser hücreleri, normal hücrelerden farklı olarak bir dizi biyolojik özellik kazanarak kontrolsüz biçimde çoğalma eğilimi gösterirler. Bu hücreler sürekli büyüme ve çoğalma sinyalleri üretme kapasitesine sahiptir. Aynı zamanda, büyümeyi baskılayan sinyalleri görmezden gelerek hücre döngüsünün doğal düzenini bozarlar. Bununla birlikte, normal şartlarda hücrelerin yaşam döngüsünün bir parçası olan programlı hücre ölümü

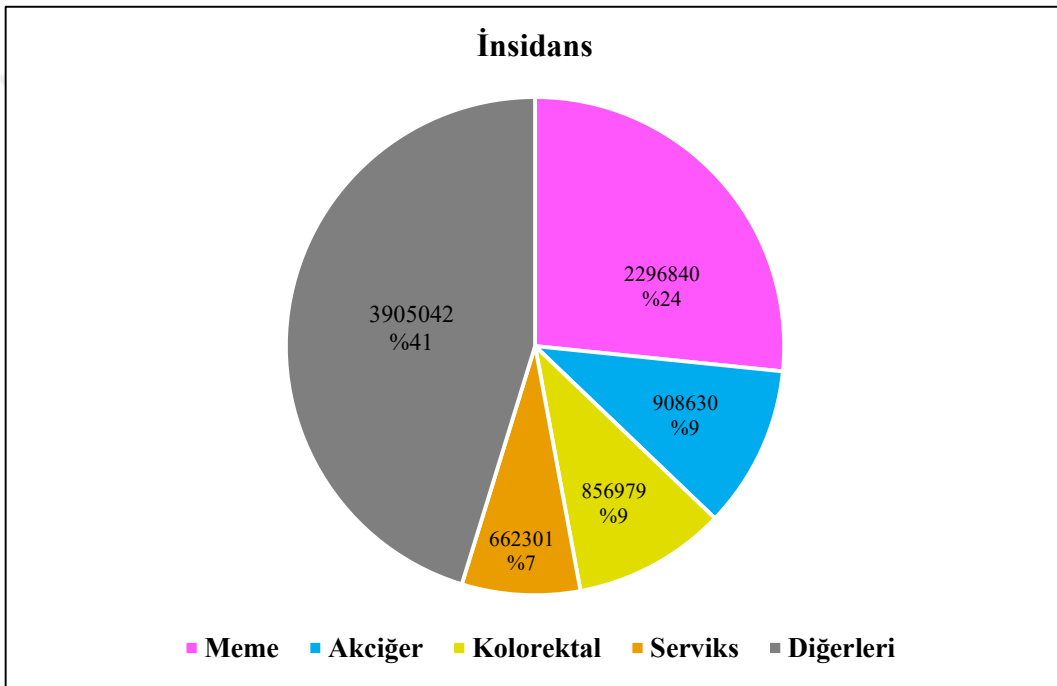
mekanizması, yani apoptoz sürecine karşı direnç kazanarak, yaşamlarını sağlıklı hücrelere kıyasla daha uzun süre devam ettirirler. Kanseri hücrelerinin bir diğer belirgin özelliği, sınırsız çoğalma kapasitesi elde etmeleridir; bu durum normal hücrelerin sahip olduğu yaşam sınırının ötesinde, neredeyse sonsuz bölünme potansiyeline ulaşmaları anlamına gelir. Ayrıca, hayatta kalabilmek için ihtiyaç duydukları oksijen ve besin maddelerini karşılamak üzere anjiyogenez adı verilen yeni damar oluşumunu teşvik ederler. Yalnızca bulunduğu dokuyla sınırlı kalmayıp çevre dokulara invazyon yapma ve uzak organlara metastaz oluşturma yeteneği kazanarak hastalığın yayılmasına neden olurlar. Tüm bu biyolojik özelliklerin yanı sıra, kanser hücrelerinde genom kararsızlığı gözlemlenir; bu durum, DNA’da biriken hasarların artmasına ve genetik materyalde istikrarsızlığa yol açar. Ayrıca, enerji üretim süreçlerinde değişiklikler meydana gelir ve normal metabolik işleyle farklı yollar kullanılır. Ayrıca, bağışıklık sisteminin hücreleri tanıyıp yok etmesine karşı çeşitli mekanizmalar geliştirilerek, bağışıklık sisteminden kaçmayı başarırlar ve böylece yaşam sürelerini uzatırlar (34).

2.2. Meme Kanseri

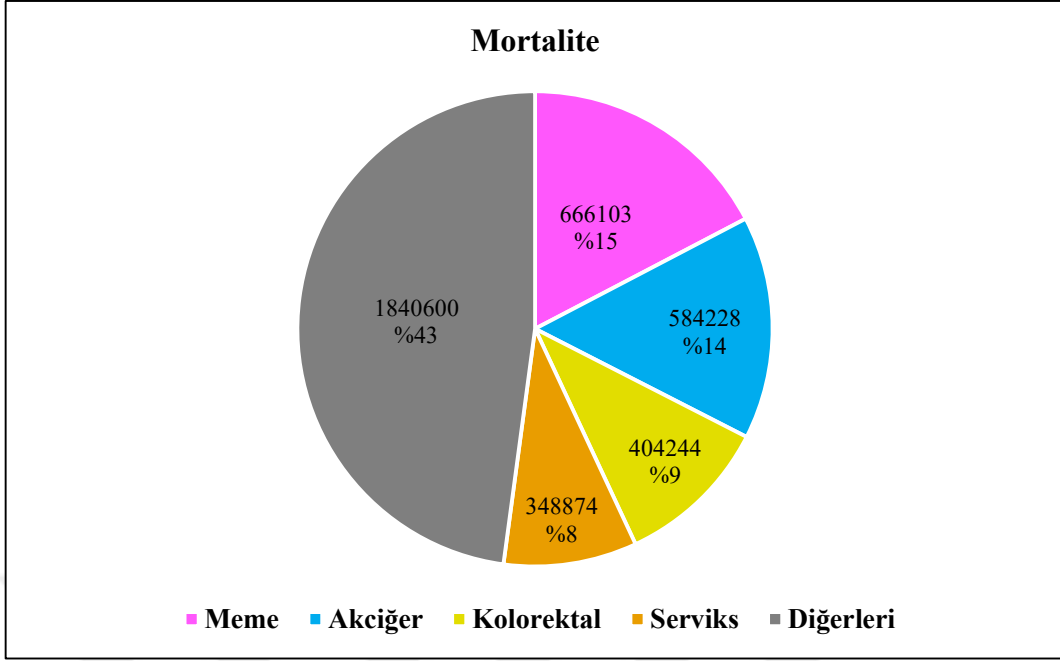
Meme kanseri, anormal meme hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde çoğalması ve tümörler oluşturmalarıyla ortaya çıkan bir hastalıktır. Meme kanseri hücreleri genellikle süt kanalları ve/veya süt üreten lobüller içinde gelişmeye başlar. En erken evresi olan *in situ* formu hayati risk taşımaz ve erken dönemde tespit edilebilir. Ancak zamanla kanser hücreleri çevre meme dokusuna yayılabilir ve bu durum, memede sertlik ya da kitle şeklinde hissedilen tümörlere yol açar. İnvaziv kanser türleri, yakındaki lenf düğümlerine ya da diğer organlara metastaz yapabilir. Bu da yaşamı tehdit eden ciddi bir durumdur ve ölümcül olabilir (35).

Meme kanseri, kadınlarda en sık teşhis edilen kötü huylu tümördür ve kötü huylu tümörden kaynaklanan ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer almaktadır (4). Erkeklerde meme kanseri oldukça nadir görülmesine rağmen, sağkalım oranlarının daha düşük ve mortalitenin daha yüksek olmasıyla dikkat çekmektedir (5). Kanseri İstatistikleri’ ne göre, 2022 yılında dünya genelinde kadınlarda yaklaşık 2.29 milyon yeni vaka (Şekil 3) ve 666.103 ölüm (Şekil 4) ile tüm kanser vakalarının %24.5’ini meme kanseri oluşturmuştur (3). Dünya genelinde, kanser kaynaklı ölümler arasında beşinci sırada yer almakta olup, 2020 yılında küresel insidans açısından akciğer kanserini geride bırakarak ilk sıraya yükselmiştir (6,7).

Son yıllarda meme kanseri vakalarının sayısı küresel ölçekte artış göstermeye devam etmektedir. Bu artışın bir kısmı, tanı yöntemlerinin gelişmesi sayesinde daha fazla vakanın saptanmasına bağlanabilirken; özellikle düşük gelirli ülkelerde, yaşam tarzındaki değişiklikler ve kadınların doğurganlık alışkanlıklarındaki farklılaşmalar da önemli bir rol oynamaktadır. Gelişmiş ülkeler en yüksek meme kanseri insidansına sahipken, mortalite oranları dünya genelinde bölgeden bölgeye belirgin farklılık göstermektedir. Bu durum, sosyo-ekonomik olarak dezavantajlı bölgelerde erken tanı ve zamanında tedaviye erişim yetersizliğini yansıtmaktadır (36).



Şekil 3. 2022 yılında kadınlarda meydana gelen kanser türlerinin insidansı (DSÖ'den, 30)



Şekil 4. 2022 yılında kadınlarda meydana gelen kanser türlerinin mortalitesi (DSÖ'den, 30)

Meme kanserinin gelişiminde hem genetik hem de çevresel faktörlerin etkili olduğu bilinmektedir (8). Risk faktörleri genel olarak değiştirilemeyen ve değiştirilebilir olmak üzere iki grupta toplanabilir. Değiştirilemeyen risk faktörleri arasında ileri yaş, aile öyküsü, erken adet görme (erken menarş), geç menopoza girme ve kalıtsal genetik mutasyonlar yer alır. Değiştirilebilir risk faktörleri ise yaşam tarzı ile ilişkilidir. Bunlar arasında obezite, alkol ve sigara kullanımı, fiziksel hareketsizlik, düşük doğurganlık oranı, kısa süreli emzirme, menopoz sonrası hormon tedavisi, oral kontraseptif kullanımı, UV ve radyasyona maruz kalma sayılabilir. Buna karşın düzenli fiziksel aktivite, kilo kontrolü, uzun süre emzirme, çok sayıda doğum yapma ve gerektiğinde profilaktik cerrahi gibi önlemler riski azaltabilmektedir (6,7,9).

Epidemiyolojik veriler meme kanseri insidansının etnik ve coğrafi farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Kafkas veya İspanyol kökenli olmayan beyaz popülasyonlarda insidans ve mortalite oranları daha yüksektir. İnsan Gelişim Endeksi (HDI) düzeyi yüksek bölgelerdeki yüksek insidans, üreme ve hormonal risk faktörlerinin yaygınlığı ile ilişkilidir. İskandinav ülkelerindeki ikiz çalışmaları kalıtım oranını %31 olarak tahmin ederken, Kafkas kökenli bireylerde yapılan genom çapında ilişkilendirme çalışmalarında (GWAS) bu oran %13'tür. Buna karşın Sahra Altı Afrika'da mortalite oranları dikkat çekici şekilde yüksektir ve bu durum çoğunlukla ileri evrede tanı konmasına bağlanmaktadır (7).

Amerika Birleşik Devletleri'nde her sekiz kadından biri yaşamı boyunca meme kanseri tanısı almakta olup, vakaların yaklaşık %80'i 50 yaş üzerindeki menopoz sonrası dönemdeki kadınlarda görülmektedir. Bu da yaşı önemli bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (36).

Meme kanseri biyolojik açıdan heterojen bir yapıya sahiptir ve östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2'nin (HER2) ekspresyonuna göre sınıflandırılır. Bu doğrultuda hastalık lüminal A (ER+, PR+ ve HER2-), lüminal B (ER+, PR+ ve HER2+), HER2 (ER-, PR- ve HER2+) ve üçlü negatif meme kanseri (TNBC) olmak üzere dört ana alt tipe ayrılmaktadır (18). Moleküler özelliklerine göre bu alt tipler hastalığın seyri, tedaviye yanıtı ve metastaz potansiyeli bakımından farklılıklar gösterir (Şekil 5). Lüminal tipler daha iyi prognoza sahipken, HER2 pozitif tümörler daha agresif seyreder. HER2 proteini, tüm meme kanserlerinin yaklaşık %20'sinde aşırı miktarda üretilmekte ve bu durum hızlı tümör büyümesiyle ilişkilendirilmektedir. TNBC ise östrojen, progesteron ve HER2 reseptörlerini taşımayan alt tip olup, vakaların %10–20'sini oluşturmaktadır. Bu alt tip genellikle ileri evrede tanı almakta, tekrarlama riski yüksek seyretmekte ve sağkalım oranı düşük olmaktadır (11,12). Ayrıca TNBC için günümüzde hedefe yönelik etkin bir tedavi bulunmamakta ve sıklıkla beyin, kemik, akciğer ve karaciğere metastaz yapmaktadır (11).

Genetik yatkınlık meme kanserinde oldukça önemli bir faktördür. En bilinen genetik değişiklikler BRCA1 ve BRCA2 mutasyonlarıdır. Kromozom 17'de bulunan BRCA1 ve kromozom 13'te bulunan BRCA2 genleri, DNA onarımında görevli tümör baskılayıcı genlerdir. Bu genlerde meydana gelen mutasyonlar, DNA hasarının onarılamamasına ve genom stabilitesinin bozulmasına yol açar. BRCA1/BRCA2 mutasyonu taşıyan kadınların meme kanseri riski, genel popülasyona kıyasla yaklaşık 10 kat daha fazladır. BRCA1 mutasyonları genellikle TNBC ile, BRCA2 mutasyonları ise ER+ meme kanseri ile ilişkilendirilmektedir (4). Bunun dışında ATM, BARD1, PALB2 ve CHEK2 gibi orta düzey risk oluşturan genlerdeki mutasyonlar da riski artırabilmektedir. Yüksek ve orta dereceli genetik değişiklikler meme kanseri riskinin yaklaşık %25'ini açıklarken, tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) ise özellikle aile öyküsü olmayan kadınlarda riskin yaklaşık %16'sına katkıda bulunabilmektedir (7).

Moleküler Alt Tip	Lüminal A	Lüminal B	HER2	TNBC
ER/PR	+			-
HER2	-	+		-
Sıklık	% 50-60	% 30	% 10	% 10-20
Seviye	Düşük			Yüksek
Teşhis	İyi			Zayıf
Sağ Kalım	% 94.3	% 90.5	% 84.0	% 76.9
Tedavi	Endokrin Terapi			
	Anti-HER2 Terapi			
	Kemoterapi			

Şekil 5. Meme kanserinin moleküler alt tipleri ve tedavi yöntemleri (Burguin'den, 10)

2.2.1. Meme Kanseri Tedavileri ve Dezavantajları

Meme kanseri tedavi yaklaşımı, hastalığın türüne, evresine ve hastanın genel sağlık durumuna göre kişiselleştirilmiş olarak planlanır. Bu nedenle her hasta için standart tek bir yöntem yerine, farklı tedavi seçeneklerinin bir arada veya sırayla uygulanması gerekebilir. Cerrahi müdahale, radyoterapi, kemoterapi, hormon tedavisi, hedefe yönelik tedavi ve immünoterapi bu süreçte kullanılan başlıca yöntemlerdir. Ayrıca, klinik araştırmalarda yeni tedavi seçeneklerinin sürekli olarak değerlendirilmesi, gelecekte tedavi başarısını artıracak gelişmelere zemin hazırlamaktadır. Tedavinin etkinliği yalnızca uygulanan yöntemlerin niteliğine değil, aynı zamanda düzenli takip süreçlerine, erken tanıya ve hastaların tedaviye uyumuna da sıkı sıkıya bağlıdır (37).

Tedavi yöntemleri genel olarak lokal ve sistemik tedaviler olmak üzere iki ana grupta incelenir. Lokal tedaviler yalnızca tümörün bulunduğu bölgeyi hedef alırken; sistemik tedaviler tüm vücuttaki kanser hücrelerine ulaşma amacını taşır. Lokal tedaviler içinde cerrahi müdahale ve radyoterapi yer almaktadır. Cerrahi, tümörün ve çevresindeki dokuların çıkarılmasını içerir ve çoğu hastada ilk başvuru olan yöntemdir. Bununla birlikte, cerrahi öncesinde tümörü küçültmek ya da cerrahi sonrasında geride kalabilecek hücreleri yok etmek amacıyla başka tedaviler de eklenebilir. Radyoterapi genellikle cerrahi sonrası uygulanır ve kalan kanser hücrelerini yok etmeyi hedefler. Buna karşılık sistemik tedaviler, ağızdan, kas içine ya da damar yoluyla uygulanan ilaçlarla gerçekleştirilir. Sistemik tedavi

seçenekleri arasında kemoterapi, hormon tedavisi, hedefe yönelik ilaçlar ve immünoterapi yer alır. Kemoterapi, hızlı çoğalan kanser hücrelerini ortadan kaldırmaya çalışırken; hormon tedavisi özellikle östrojen veya progesteron reseptörleri pozitif tümörlerde hormonların etkisini azaltarak etki gösterir. Hedefe yönelik tedaviler, kanser hücrelerinin özgün biyomoleküler özelliklerini hedef alır. İmmünoterapi ise bağışıklık sistemini uyatarak kanser hücreleri ile savaşmasına yardımcı olur (38).

Meme kanseri cerrahisinde iki temel yöntem uygulanmaktadır: memenin tamamen alınması (mastektomi) ve meme koruyucu cerrahi (lumpektomi). Lumpektomi, tümörün çevresindeki bir miktar sağlıklı doku ile çıkarılması esasına dayanır ve çıkarılan dokunun kenarında tümör hücreleri kalmaması tedavinin başarısı açısından kritik öneme sahiptir. Yapılan araştırmalar, mastektomi ve lumpektomi sonrası uygulanan radyoterapinin, hastalığın tekrarlama riski ve yaşam süresi bakımından benzer sonuçlar sağladığını göstermektedir. Ancak yaygın mikrokalsifikasyon varlığı, memede kozmetik olarak yeterli doku korunamaması ve ATM geninde mutasyon taşıyan hastalar gibi durumlarda meme koruyucu cerrahi uygun görülmez. Bunun yanı sıra, koltuk altı lenf düğümlerinin değerlendirilmesi de tedavi sürecinin önemli bir parçasıdır. Eskiden standart kabul edilen aksiller lenf düğümü diseksiyonu, kanserli lenf düğümlerini çıkarmada etkili olmakla birlikte, kolda dem ve hareket kısıtlılığı gibi yan etkilere yol açabilmektedir (10).

Radyoterapi, meme kanserinde cerrahi sonrası tüm meme, göğüs duvarı veya bölgesel lenf düğümlerine uygulanabilen bir tedavidir. Yüksek riskli hastalarda belirgin fayda sağlarken, düşük riskli olgularda gerekmebilir. Pozitif lenf düğümü olanlarda nüks ve ölüm riskini azaltır; mastektomi sonrası ek bölgesel radyasyon hastalıksız sağkalımı artırsa da pnömonit ve lenfödem riskini yükseltebilir. En önemli yan etkilere biri kardiyotoksisite olup, kalp ve akciğer maruziyetini azaltmak büyük önem taşır (10).

Hormon reseptör pozitif (HR+) meme kanserlerinde strojen (ER) ve progesteron (PR) reseptörlerinin bulunması, tedavi seçeneklerinin etkinliğini artırır. Bu grupta en sık kullanılan ilaçlar arasında tamoksifen, aromataz inhibitörleri (anastrozol, letrozol, eksemestan ve fulvestrant) yer almaktadır. Bu tedavilerin temel amacı, tümör büyümesini uyaran hormonların etkisini azaltmaktır. Ancak yan etkiler de görülebilir; sıcak basması, kilo artışı, kas-iskelet sistemi sorunları, yorgunluk ve cinsel işlev bozuklukları en yaygın görülenler arasındadır (13).

Hedefe yönelik tedaviler, özellikle ileri evre meme kanseri tedavisinde önemli bir dönüm noktası olarak kabul edilmektedir. Bu tedavi yaklaşımları sayesinde, kanser hücrelerine özgü mekanizmalar hedeflenerek sağlıklı dokulara verilen zarar belirli ölçüde azaltılabilmektedir. Örneğin, HER2 pozitif meme kanseri hastalarında monoklonal antikorlar olan trastuzumab ve pertuzumab yaygın olarak kullanılmaktadır. Benzer şekilde, HR+ tümörlerde CDK4/6 ve mTOR inhibitörleri, BRCA mutasyonu taşıyan hastalarda ise PI3K ve PARP inhibitörleri tedavi seçenekleri arasında yer almaktadır. Bununla birlikte, bu tedaviler tamamen yan etkisiz değildir. En sık görülen yan etkiler arasında cilt reaksiyonları ve gastrointestinal semptomlar bulunmaktadır. Özellikle ciltte kızarıklık, hassasiyet, kuruluk, döküntü ve el-ayak sendromu, hedefe yönelik ajanların kullanımında sık gözlenen klinik bulgular arasında sayılmaktadır (13).

İmmünoterapi, özellikle üçlü negatif meme kanseri (TNBC) gibi tedavisi zor ve agresif alt tiplerde ön plana çıkmaktadır. Kanser hücrelerinin yüzeyindeki PD-L1 proteini, bağışıklık sistemini baskılayarak tümörün bağışıklık hücreleri tarafından tanınmasını engeller. Klinik uygulamalarda PD-1 veya PD-L1'i hedefleyen monoklonal antikorlar (örneğin pembrolizumab) bu mekanizmayı bloke ederek bağışıklık sisteminin tümörle savaşmasını sağlar. İmmünoterapinin yan etkileri genellikle tedavinin ilk haftalarında ya da üç ay içinde ortaya çıkar, ancak bazı durumlarda tedavi kesildikten sonra bile bir yıl boyunca devam edebilir. Bu süreçte cilt reaksiyonları, ishal, endokrin bozukluklar, titreme, iştahsızlık, öksürük, yorgunluk ve infüzyon ilişkili reaksiyonlar yaygın olarak gözlemlenir (13).

Kemoterapi, hızlı çoğalan kanser hücrelerini hedef alan sitotoksik ilaçlarla uygulanır ve meme kanseri tedavisinde uzun süredir kullanılan önemli bir yöntemdir. En sık tercih edilen ilaç grupları alkilleyici ajanlar, antrasiklinler ve taksanlardır. Kemoterapi, neoadjuvan (cerrahi öncesi) veya adjuvan (cerrahi sonrası) olarak uygulanabilir. Neoadjuvan tedavi, büyük tümörlerde tümörün boyutunu küçültmek için tercih edilirken; adjuvan tedavi, cerrahi sonrası nüks riskini azaltmak için uygulanır. Kemoterapinin kısa vadeli yan etkileri arasında saç dökülmesi, yorgunluk, bulantı, iştah kaybı, kabızlık veya ishal, ağız yaraları ve nötropeni bulunur. Uzun vadede ise kardiyomiyopati, ikincil kanserler, erken menopoza, kısırılık ve psikososyal sorunlar görülebilir. Kanser hücrelerinin direnç geliştirme mekanizmaları arasında ABC taşıyıcı proteinlerin aşırı ekspresyonu, mikrotübül yapılarında değişiklikler ve detoksifikasyon enzimlerindeki farklılıklar yer almaktadır. Bu nedenle kemoterapi

çoğunlukla tek başına yeterli olmayıp, hormon tedavisi, hedefe yönelik ilaçlar veya immünoterapi ile kombine edilerek kullanılmaktadır (10,13).

Sonuç olarak, meme kanseri tedavisi multidisipliner ve bireyselleştirilmiş bir yaklaşım gerektirir. Cerrahi, radyoterapi, hormon tedavisi, hedefe yönelik tedavi, immünoterapi ve kemoterapi çoğunlukla birbirini tamamlayıcı şekilde uygulanır. Moleküler testler, genetik mutasyon analizleri ve gen ekspresyon profilleri, her hasta için en uygun yöntemin belirlenmesinde kritik rol oynar. Böylelikle tedavi planı hem sağkalım oranlarını artırır hem de yaşam kalitesini olabildiğince korur. Ancak düşük ve orta gelirli ülkelerde finansal kısıtlamalar, kaynak yetersizliği, eğitilmiş sağlık personeli eksikliği ve altyapı sorunları nedeniyle tedavi yönetimi ciddi zorluklarla karşılaşmaktadır (14).

Meme kanseri tedavisi için son yıllarda kaydedilen ilerlemeler umut verici olsa da hala tam anlamıyla tatmin edici değildir. Bu nedenle, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yönelik araştırmalar yoğun bir şekilde sürdürülmektedir (4).

2.3. Fotodinamik Terapi (FDT)

FDT, kanser tedavisinde giderek daha fazla önem kazanan, minimal invaziv ve hedefe yönelik modern bir tedavi yöntemidir. Bu tedavi, temel olarak üç ana bileşene dayanır: fotoduyarlaştırıcı, belirli dalga boyunda ışık ve moleküler oksijen. Fotoduyarlaştırıcılar ışığa duyarlı moleküller olup tümör dokularında yoğun vaskülarizasyon nedeniyle tercihli olarak birikirler. Belirli dalga boyundaki ışıkla uyarıldıklarında ROS üretirler ve bu reaktif türler kanser hücrelerinde apoptoz, nekroz veya otofaji yoluyla hücre ölümünü tetikler. Bu mekanizma sayesinde FDT, sağlıklı dokulara minimum zarar vererek seçici sitotoksikite sağlayan bir tedavi seçeneği haline gelmektedir (39,40).

Klinik uygulamalarda FDT, geleneksel tedavilere kıyasla daha yüksek hedef özgüllüğü ve doku seçiciliği sunar. Fotoduyarlaştırıcıların tümör lezyonlarında yoğunlaşması ve bu bölgelerin hassas ışık ışınlamıyla aydınlatılması, kötü huylu hücrelerin yok edilmesine olanak tanırken sağlıklı dokuların korunmasını sağlar. Böylece tedavi yalnızca tümör dokusuna odaklanır, hastaların yaşam kalitesi artar ve sağkalım oranlarında anlamlı iyileşmeler elde edilir. FDT'nin bu seçiciliği, onu diğer sistemik tedavi yöntemlerinden farklı ve avantajlı kılar (40,41).

FDT'nin avantajları arasında invaziv olmaması, ayaktan hastalarda uygulanabilmesi, hızlı iyileşme süreci ve uzun dönem yan etkilerinin sınırlı olması öne çıkmaktadır. Ayrıca

aynı bölgede birden fazla seansın güvenle uygulanabilmesi, tedavi sonrası genellikle iz bırakmaması ve çoğu zaman diğer kanser tedavilerine kıyasla daha düşük maliyetli olması yöntemin değerini artırmaktadır. FDT yalnızca tümör hücrelerini hedeflemekle kalmaz, aynı zamanda ilişkili damarları da ortadan kaldırarak tümör yıkımına katkıda bulunur ve kanserin nüks etme riskini azaltır. Uygulama yöntemi de esnek olup, topikal kullanımda fotoduyarlastırıcı doğrudan lezyona uygulanarak seçicilik artırılırken, intravenöz kullanımda ise dolaşım yoluyla tümör dokusunda yoğunlaşarak seçici etki gösterir (42).

Sonuç olarak FDT, klinik etkinliği kanıtlanmış ve son yıllarda artan ilgiyle değerlendirilen yenilikçi bir kanser tedavi yöntemidir. Yüksek seçiciliği, minimal invaziv yapısı, esnek uygulama seçenekleri ve çok yönlü avantajları sayesinde FDT, günümüz kanser çalışmalarında önemli bir yer edinmektedir. Ayrıca kemoterapi, radyoterapi, immünoterapi ve cerrahi gibi geleneksel tedavi yöntemleriyle kombine edildiğinde terapötik etkinliği artırmakta, tümör direncini azaltmakta ve sağkalım oranlarını iyileştirmede güçlü bir potansiyel sunmaktadır. Bu nedenle FDT, gelecekte kanser tedavilerinde öne çıkan yöntemlerden biri olma potansiyelini taşımaktadır (43).

2.3.1. FDT'nin Tarihçesi

Işık, insanlık tarihi boyunca tedavi edici amaçlarla kullanılan en eski yöntemlerden biri olmuştur. Antik Mısır, Hint ve Çin uygarlıkları güneş ışığını vitiligo, sedef ve cilt tümörleri gibi çeşitli deri hastalıklarının tedavisinde kullanmışlardır. Benzer şekilde 18. ve 19. yüzyıllarda Fransa'da güneş ışığı; tüberküloz, raşitizm, iskorbüt, romatizma, felç ve kas güçsüzlüğü gibi birçok hastalığın iyileştirilmesinde yaygın biçimde uygulanmıştır. Modern döneme geçişte ise Danimarkalı hekim Niels Ryberg Finsen'in çalışmaları önemli bir dönüm noktası olmuştur. Finsen, ısı filtreli karbon ark lambasından elde ettiği ışığı lupus vulgaris tedavisinde başarıyla kullanmış ve bu çalışmalarıyla 1903 Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü'ne layık görülmüştür. Onun buluşları, fototerapinin bilimsel bir yöntem olarak kabul edilmesini sağlamış ve modern fotodinamik tedaviye giden yolu açmıştır (15,41).

Fototerapi, ışığın tek başına tedavi amacıyla kullanımını ifade ederken, fotokemoterapi ışığa duyarlı kimyasal bir ajanın verilmesini ve sonrasında ışıkla aktive edilmesini gerektirir. Bu yaklaşımın kökenleri binlerce yıl öncesine dayanır; örneğin Mısırlılar ve Hintliler doğal psoralen türevlerini çeşitli deri hastalıklarının tedavisinde kullanmışlardır. Ancak ışık ve kimyasal maddelerin birlikte oluşturduğu sitotoksik etkinin bilimsel olarak belgelenmesi 20. yüzyılın başlarında gerçekleşmiştir. 1900 yılında Oscar

Raab, akridin kırmızısı ile ışığın protozoalar üzerindeki öldürücü etkisini göstermiş ve toksisitenin ışık aracılığıyla kimyasala enerji aktarımı sonucu ortaya çıktığını açıklamıştır. Aynı yıllarda Hermann von Tappeiner ve A. Jesionek, eozin ve beyaz ışık ile deri tümörlerini tedavi etmiş, Jodlbauer ise bu reaksiyonlarda oksijenin vazgeçilmez rolünü ortaya koymuştur. Tappeiner, 1907’de bu olguyu tanımlamak için “fotodinamik etki” kavramını literatüre kazandırmıştır. Bu çalışmalar, ışık ve kimyasal ajanların birlikte kullanıldığında biyolojik dokular üzerinde güçlü terapötik etkiler oluşturabileceğini göstermiştir (15,42).

Fotoduyarlayıcı bileşiklerin keşfi FDT’nin gelişiminde kritik rol oynamıştır. 1841’de Johann Joseph von Scherer, kandan hematoporfirini izole etmiş ve bu süreç sonraki araştırmalara öncülük etmiştir. 1911’de W. Hausmann, hematoporfirin ve ışığın protozoa ile kan hücreleri üzerindeki etkilerini tanımlamış; 1913’te F. Meyer-Betz kendisine hematoporfirin enjekte ederek insanlar üzerinde fotosensitizasyonu belgeleyen ilk araştırmacı olmuştur. Meyer-Betz, ışığa maruz kalan bölgelerde şiddetli ağrı ve şişlik gözlemlemiş ve böylece bu bileşiğin insanlar üzerindeki güçlü etkilerini ortaya koymuştur (15,41).

FDT’nin modern dönemi 20. yüzyılın ortalarında başlamıştır. 1942’de Hans Auler ve Georg Banzer, hematoporfirinin malign tümörlerde seçici olarak biriktiğini rapor etmişlerdir. 1955’te Taxdal ve arkadaşları, porfirinlerin tümör lokalizasyonu sağlayabildiğini doğrulamış; 1960’lı yıllarda ise Mayo Clinic’te Lipson ve Schwartz, hematoporfirin türevlerinin (HpD) tümörlerin görüntülenmesi ve tedavisinde kullanılabileceğini göstermiştir. Bu gelişmeler, FDT’nin deneysel bir gözlemden klinik olarak uygulanabilir bir yönteme dönüşmesinde kritik rol oynamıştır (42).

1970’li yıllar, FDT açısından gerçek bir atılım dönemi olmuştur. 1975’te Thomas Dougherty ve ekibi, HpD uygulaması ve kırmızı ışık aktivasyonu ile farelerde meme tümörlerini ortadan kaldırmayı başarmıştır. Aynı yıl J. F. Kelly ve arkadaşları, mesane karsinomunu HpD ve ışık kombinasyonu ile tedavi edebilmiş, 1976’da Kelly ve Snell mesane kanserinde FDT’nin etkinliğini araştıran ilk klinik çalışmayı yürütmüşlerdir. Bu dönemde geliştirilen Fotofrin, saflaştırılmış HpD formu olarak 1995 yılında FDA tarafından onaylanmış ve klinikte kullanılan ilk fotoduyarlayıcı olmuştur. Bu onay, FDT’nin yalnızca deneysel bir yaklaşım olmaktan çıkıp dünya çapında kabul gören bir tedavi seçeneğine dönüşmesini sağlamıştır (15).

FDT'nin klinik potansiyeli sonraki yıllarda yapılan çok sayıda çalışma ile pekiştirilmiştir. 1989–1992 yılları arasında Furuse ve arkadaşları, erken evre akciğer kanserinde Fotofrin'in etkinliğini faz II çalışmalarla değerlendirmiştir. Bu bulgular sonucunda 1993'te Kanada'da mesane kanseri tedavisi için onay verilmiş, 1998'de ise küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde etkinliği doğrulanmıştır. Sonraki süreçte FDA, farklı fotoduyarlaştırıcıları klinik kullanım için onaylamıştır: 1999'da 5-aminolevulinik asit (aktinik keratoz), 2001'de temoporfirin (baş-boyun kanserleri), 2004'te metil aminolevulinat (aktinik keratoz) ve 2018'de padeliporfirin (prostat kanseri). Bu gelişmeler, FDT'nin farklı kanser tiplerinde ve prekanseröz lezyonlarda güvenle kullanılabileceğini göstermiştir (41,42).

Günümüzde FDT yalnızca kanser tedavisinde değil, aynı zamanda antimikrobiyal uygulamalarda da değerlendirilmektedir. Çoklu dirençli bakterilere, virüslere ve parazitlere karşı etkili olabilmesi, yöntemi modern tıpta yenilikçi bir tedavi seçeneği haline getirmiştir. Ayrıca lazer teknolojileri ve ışık iletim sistemlerindeki ilerlemeler, FDT'nin daha derin dokulara ulaşmasını mümkün kılmıştır. Böylece tedavi etkinliği artmış, yöntemin hem onkolojik hem de enfeksiyon hastalıklarında daha geniş bir kullanım alanına sahip olacağı öngörülmüştür (15,41,42). Bu süreçte yürütülen klinik araştırmalar da FDT'nin güvenilirliğini ve etkinliğini pekiştirmiştir; bugüne kadar bu alanda 652 klinik çalışma gerçekleştirilmiş olması, FDT'nin bilimsel temellerinin güçlü olduğunu ve gelecekteki uygulamalar için önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (43).

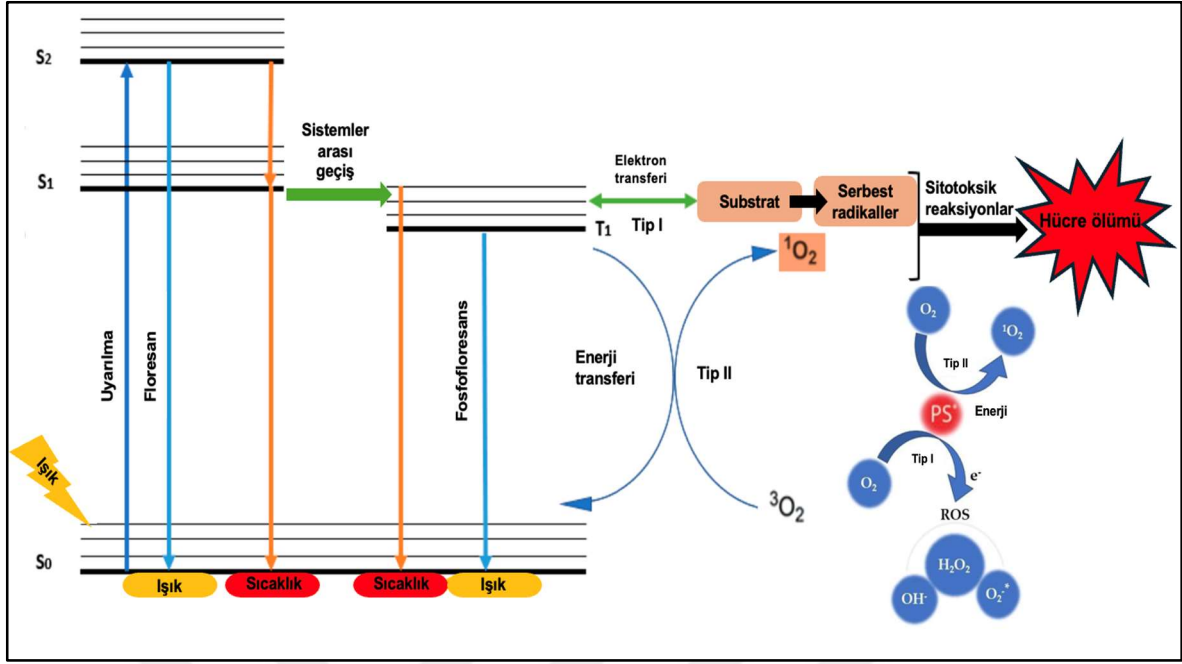
2.3.2. FDT'nin Mekanizması

FDT, fotoduyarlaştırıcı, ışık kaynağı ve moleküler oksijenin ortak etkisine dayanan özel bir ışık temelli tedavi yöntemidir. Bu yöntemde fotokimyasal reaksiyonun başlatılabilmesi için ışık kaynağının emisyon bandı ile fotoduyarlaştırıcının emilim bandı arasında tam bir uyum bulunması gereklidir. FDT uygulamalarında lazerler, filtreli lambalar, lüminesan ve süperlüminesan LED/SLED diyot dizileri gibi çok çeşitli ışık kaynakları kullanılabilmektedir. Hangi ışık kaynağının tercih edileceği ise hedeflenen bölgenin özelliklerine, kullanılan fotoduyarlaştırıcının fotofiziksel yapısına ve uygulanması gereken ışık dozunun büyüklüğüne bağlı olarak değişmektedir. Fotoduyarlaştırıcı molekülleri, hücre içinde mitokondri, lizozom, endoplazmik retikulum, golgi aygıtı ve plazma membranı gibi farklı organel ve yapılarda yerleşim gösterebilir. Uygun dalga boyunda ışık altında, hedef dokuya yönlendirilen ve başlangıçta toksik olmayan fotoduyarlaştırıcı molekül aktive olur;

bu süreçte fotonları emerek enerji kazanır ve elektron aktarımı sırasında ortamda bulunan oksijen molekülleri elektron alıcısı olarak görev yapar. Böylece sitotoksik özellik gösteren ROS meydana gelir ve bu türler hücre zarını parçalayarak hücre ölümüne yol açar; sonuçta mikroorganizmalar ve hedef dokular geri dönüşsüz şekilde hasar görür (16,44,45).

FDT'de ROS üretimi iki temel mekanizma üzerinden gerçekleşmektedir (Şekil 6). Bir fotoduyarlayıcı, foton emilimi ile temel durumdan (S_0) singlet uyarılmış duruma (S_1) geçer ve ardından intersistem geçişiyle triplet uyarılmış duruma (T_1) ulaşır (45). Fotoduyarlayıcının bu triplet durumunda iki farklı yol izlenebilir. Tip I mekanizmasında uyarılmış fotoduyarlayıcı, elektron veya hidrojen transferi yoluyla substratlarla etkileşime girer ve bunun sonucunda süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($HO\cdot$), hidroperoksil radikali ($HOO\cdot$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest radikaller ortaya çıkar. Tip II mekanizmasında ise fotoduyarlayıcı, enerjisini doğrudan moleküler oksijene aktarır ve bunun sonucunda oldukça reaktif singlet oksijen (1O_2) oluşur. Singlet oksijen, lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek hücresel yapılarda oksidatif hasara neden olur ve bu süreç sonunda hücre ölümünü tetikler (16).

ROS üretiminde hangi mekanizmanın baskın olacağı çeşitli faktörlere bağlıdır. Oksijen konsantrasyonu, ortamın pH'ı, dokuların dielektrik sabiti, kullanılan fotoduyarlayıcının kimyasal yapısı ve hücre içi lokalizasyonu bu süreçte belirleyici rol oynar (45). FDT'de genellikle Tip II mekanizması baskındır ve sitotoksik singlet oksijen (1O_2), tedavi etkinliğinin ana aracıdır. Bu nedenle yüzeysel ve iyi oksijenlenmiş tümörler tedaviye daha duyarlı olurken, hipoksik ve derin dokular daha dirençli kalmaktadır (15).



Şekil 6. FDT Mekanizması (Niculescu'dan, 16)

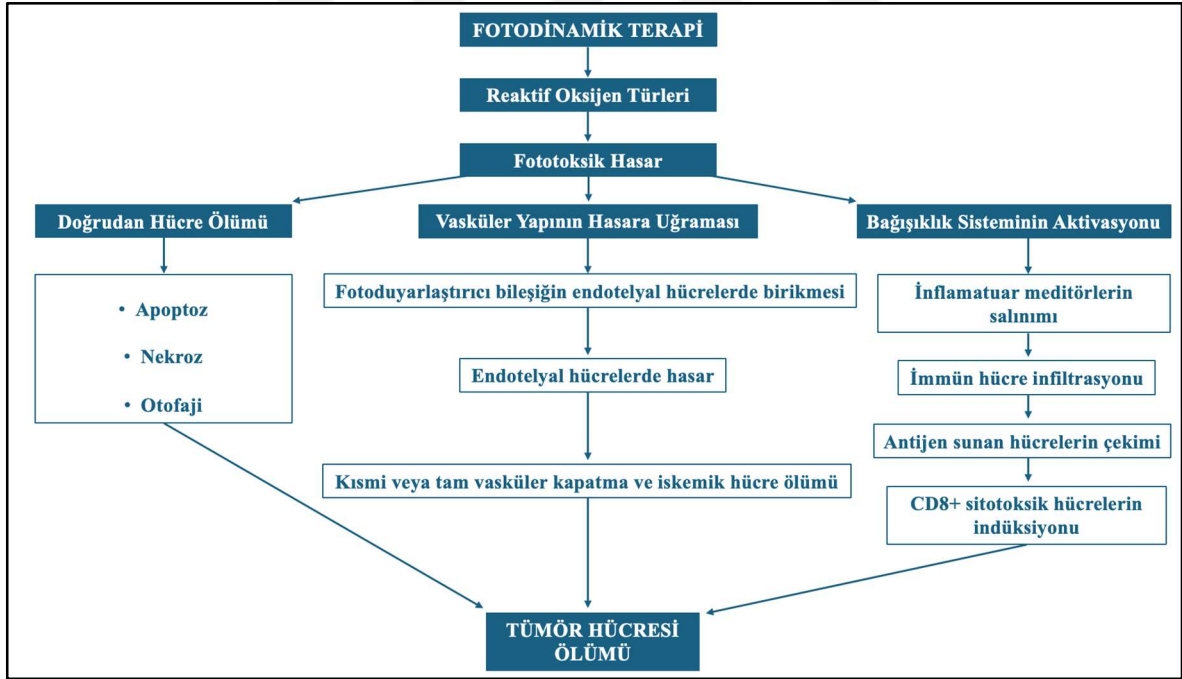
FDT'nin antitümör etkileri üç temel mekanizma üzerinden ortaya çıkmaktadır: (i) ROS aracılığıyla gerçekleşen doğrudan hücre ölümü, (ii) tümörle ilişkili damar yapılarının hasarı sonucu gelişen besin ve oksijen yoksunluğu, (iii) bağışıklık sisteminin aktivasyonu (Şekil 7) (15).

Hücre ölümünün türü, büyük ölçüde fotoduyarlastırıcının hücre içi lokalizasyonuna bağlıdır. Mitokondride biriken fotoduyarlastırıcılar sitokrom c salınımı ve Bcl-2 hasarı yoluyla apoptozu tetiklerken; lizozomlarda lokalize olan fotoduyarlastırıcılar katepsinlerin sitoplazmaya salınmasına yol açar, bu da Bid'in tBid formuna dönüşmesini sağlayarak apoptozu destekler. Endoplazmik retikulumda yerleşen fotoduyarlastırıcılar Beclin-1 ve mTOR aracılığıyla otofajiye başlatır; plazma zarında bulunanlar ise membran bütünlüğünü bozarak nekroza neden olur. Bu nedenle FDT'de apoptoz, nekroz ve otofaji mekanizmaları birlikte gözlemlenebilir. Yüksek ışık yoğunluğunda genellikle hızlı nekroz baskın olurken, düşük ışık dozlarında apoptozun öne çıktığı bilinmektedir (15,39,40).

Ayrıca fotoduyarlastırıcıların damar endotelinde birikmesi ve ışık aktivasyonu sonrasında damar bütünlüğü bozulur; bu durum tümör dokusunda hipoksiye yol açarak beslenme kaynağının ortadan kalkmasına neden olur (15).

Üretilen ROS; DNA, proteinler, lipidler ve organellerde oksidatif hasara neden olarak hücre ölümünü tetiklemenin yanı sıra immünojenik hücre ölümü (ICD) sürecini de başlatır. Bu süreçte salınan Hasar İlişkili Moleküler Desenler (DAMP'ler) ve sitokinler inflamasyonu artırır, antijen sunumunu güçlendirir ve nötrofil ile makrofaj infiltrasyonunu destekler. Makrofajlar ve dendritik hücreler tarafından sunulan tümör antijenleri, CD8⁺ sitotoksik T hücrelerini aktive ederek adaptif bağışıklık yanıtını başlatır. Böylece FDT, yalnızca lokal tümör kontrolü sağlamakla kalmaz, aynı zamanda sistemik antitümör bağışıklık tepkisini de uyatarak uzun süreli tümör baskılanmasına katkı sunar (15,17,39).

FDT'nin bağışıklık sistemini aktive eden bu özelliği, birçok geleneksel kanser tedavisinin aksine immün yanıtı baskılamak yerine güçlendirmesi açısından büyük bir avantaj oluşturmaktadır. Bu nedenle FDT, doğrudan hücre ölümü, damar hasarı ve immün sistem aktivasyonu yoluyla çok yönlü antitümör etki sağlayan umut verici bir tedavi yöntemi olarak değerlendirilmektedir (39-42).



Şekil 7. FDT'nin hücre ölümü etki mekanizması (Akbulut'tan, 46)

2.4. Fotoduyarlaştırıcılar

Fotoduyarlaştırıcılar, FDT'nin temel bileşenleridir. Bu bileşikler belirli dalga boylarındaki ışığı absorbe ederek fotofiziksel ve fotokimyasal reaksiyonları başlatır. İdeal bir fotoduyarlaştırıcının kimyasal olarak saf ve homojen yapıda olması, yüksek singlet oksijen kuantum verimine sahip bulunması, hedef dokuda seçici birikim göstermesi, ışık yokluğunda toksik olmaması, 600–850 nm aralığında ışığı absorbe etmesi, biyolojik ortamlarda stabil kalabilmesi, organizmadan kolay atılması ve ekonomik üretim yöntemine sahip olması gerekir (15,16). Günümüzde 1000'den fazla doğal ve sentetik fotoduyarlaştırıcı tanımlanmıştır ve bunların geliştirilmesi nesiller boyunca evrimsel bir ilerleme göstermiştir (16).

Fotoduyarlaştırıcılar üç nesil altında sınıflandırılmaktadır. Birinci nesil fotoduyarlaştırıcılar hematoporfirin türevlerine dayanır; bunların en bilinenleri HpD ve ticari adıyla Fotofrin®'dir. Fotofrin, küçük hücreli akciğer kanseri, mesane, özofagus ve erken evre serviks kanserlerinin yanı sıra baş-boyun, meme ve beyin tümörlerinde kullanılmıştır. Bununla birlikte, Fotofrin düşük kimyasal saflık, düşük ışık emilim oranı, yalnızca 640 nm'nin altındaki dalga boylarında aktivasyon, sınırlı doku penetrasyonu ve uzun yarı ömrü nedeniyle haftalar süren fototoksikite gibi dezavantajlara sahiptir. Bu sınırlamalar ikinci nesil fotoduyarlaştırıcıların geliştirilmesine yol açmıştır (16,42).

İkinci nesil fotoduyarlaştırıcılar, 1980'lerin başında geliştirilmiş olup benzoporfirinler, klorinler, bakterioklorinler, ftalosiyeninler, teksafirinler, metilen mavisi (MM), toluidin mavisi ve tiyopurin türevlerinden oluşmaktadır. Bu grupta en önemli örneklerden biri, protoporfirin öncüsü olan 5-aminolevulinik asittir (5-ALA) (29,31). İkinci nesil fotoduyarlaştırıcılar, 650–800 nm aralığında ışığı absorbe ederek daha derin doku penetrasyonu sağlar, tümör seçicilikleri yüksektir ve vücuttan hızlı uzaklaştırıldıkları için daha az yan etki oluştururlar. Ancak suda düşük çözünürlükleri ve fizyolojik koşullarda agregasyona eğilimleri, ROS üretim verimliliğini azaltmakta ve intravenöz uygulamalarını sınırlamaktadır. Bu nedenle, bu bileşiklerin geliştirilmesi de kritik bir gereklilik haline gelmiştir (16).

Üçüncü nesil fotoduyarlaştırıcılar, ikinci nesil bileşiklerin modifikasyonu ile geliştirilmiş ve tümör özgüllüğünü artırmayı hedeflemiştir. Bu nesilde fotoduyarlaştırıcılar, antikorlar, amino asitler, karbonhidratlar ve peptitlerle konjuge edilerek ya da lipozom, misel, kuantum noktaları, altın ve silika nanopartikülleri gibi taşıyıcı sistemlere

kapsüllenecek kullanılmaktadır (16,42). Böylece fotoduyarlaştırıcıların hidrofilikliği, stabilitesi, farmakokinetiği ve *in vivo* biyodağılımları iyileştirilmiş, yan etkileri azaltılmış ve karanlık toksisite sınırlandırılmıştır (16,41). Günümüzde 300'den fazla doğal ve sentetik fotoaktif bileşik fotoduyarlaştırıcı olarak tanımlanmış olup, bunların bir kısmı klinik olarak etkinlikleri kanıtlanarak FDA tarafından onaylanmıştır (42). Buna rağmen FDT'nin klinik etkinliği bazı temel sorunlarla kısıtlanmaktadır. Fotoduyarlaştırıcıların düşük çözünürlüğü, hipoksiye bağımlılık ve sınırlı tümör hedeflemesi tedavi başarısını azaltan başlıca dezavantajlardır. Bu nedenle, daha iyi çözünürlük özelliklerine sahip, hipoksiye karşı daha dirençli ve tümör dokularını seçici şekilde hedefleyebilen yeni fotoduyarlaştırıcıların geliştirilmesine hala ihtiyaç duyulmaktadır (15,16,42).

2.4.1. Ftalosiyeninler

Ftalosiyeninler, 18 π elektron içeren aromatik heterosiklik yapıları ve dikkat çekici fotofiziksel ile fotokimyasal özellikleri sayesinde ikinci nesil fotoduyarlaştırıcılar arasında önemli bir yere sahiptir. Porfirinlere benzer şekilde tasarlanmış olan bu sentetik boyalar, dört izoindol grubunun birleşiminden oluşur. Her izoindol birimi, pirollerle kaynaşmış ve azot atomlarıyla köprülenmiş bir benzen halkasından meydana gelmektedir.

Birinci nesil fotoduyarlaştırıcılara kıyasla ftalosiyeninler, terapötik pencere aralığında (~650–800 nm) yüksek molar soğurma katsayılarına ($> 2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) sahip olmalarıyla öne çıkar. Bu dalga boyunda ışığın biyolojik dokularda daha derin penetrasyon sağlaması ve güneş ışığı yoğunluğunun en yüksek olduğu 400–600 nm aralığında minimum absorpsiyon göstermeleri, tedavi sonrası ciltte fotohassasiyet riskini belirgin şekilde azaltmaktadır. Ayrıca, vücuttan nispeten hızlı elimine edilmeleri ve topikal uygulamadan 24 saat sonra dokularda floresans gözlenmemesi, klinik açıdan önemli avantajlar sağlamaktadır.

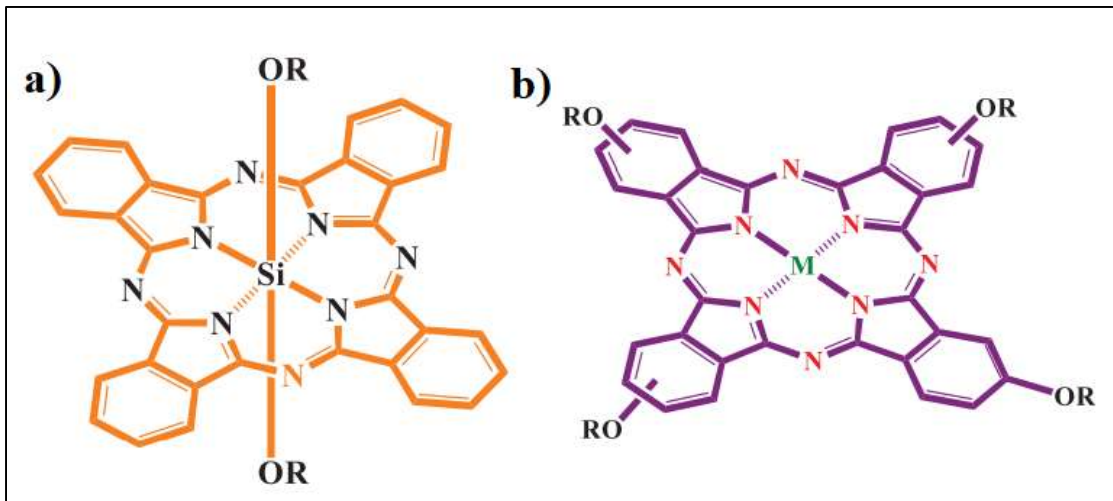
Bununla birlikte, ftalosiyeninlerin hidrofobik yapıları, düşük suda çözünürlükleri ve agregasyona yatkınlıkları fotofiziksel etkinliklerini sınırlamaktadır. Agregasyon, uyarılmış durum ömrünü kısaltarak ROS üretimini azaltır ve biyoyararlanımı düşürür. Bu dezavantajların üstesinden gelmek için molekül yapısındaki esneklikten yararlanılmaktadır. Özellikler; merkezi metal atomu, eksenel bağlanma noktaları ve çevresel substitüentler aracılığıyla modifiye edilebilir. Literatürde, merkezi atom olarak özellikle alüminyum, çinko, silisyum, galyum ve indiyumun yaygın şekilde tercih edildiği bildirilmektedir (47).

Metal ftalosiyeninler (MPc'ler), yapısal koordinasyonun sağladığı üstün elektriksel ve optik nitelikleri sayesinde FDT'de güçlü fotoduyarlaştırıcı adaylarıdır. MPc'lerin

elektronik yapısında gözlenen güçlü π - π^* geçişleri, görünür ve yakın kızılötesi bölgede yoğun ışık absorpsiyonuna yol açar. Özellikle 600–800 nm aralığındaki geniş soğurma bantları, terapötik pencere içerisinde etkin doku penetrasyonu sağlar ve lazerler ile LED’ler gibi farklı ışık kaynaklarıyla verimli şekilde uyarılmalarına imkân verir (48).

Bazı geçiş metali ftalosiyanınların (Fe, Co, Ni, Cu, Pt, Pd) aksine, merkezi atom olarak ana grup elementleri (Al, Ga, In, Si, Ge, P) içeren ftalosiyanınlar, aromatik düzlemin üstüne veya altına eksenel ikame gruplarının eklenmesine imkân tanır. Bu yapısal özellik, sterik engel oluşturarak moleküller arası agregasyonu azaltır ve farklı organik çözücülerde çözünürlüğü artırır. Böylece, geçiş metali ftalosiyanınlarında karşılaşılan bazı temel sınırlamaların aşılmasına katkı sağlar.

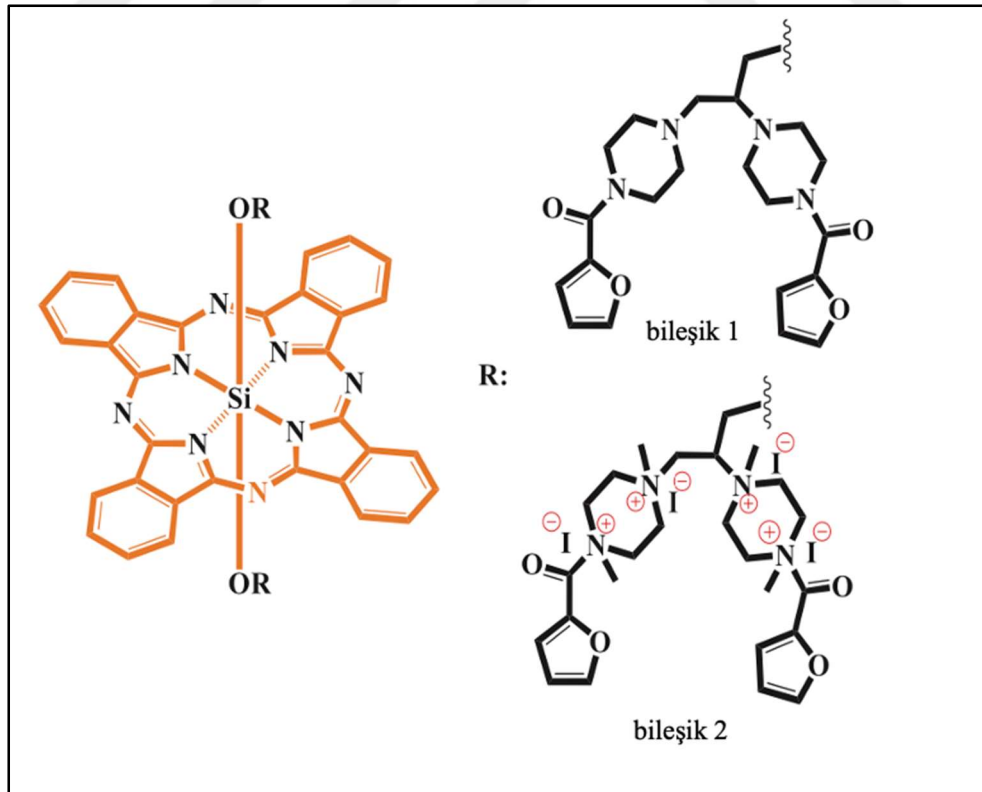
Özellikle, hegzakoordineli makrosiklik halka yapısına sahip silisyum ftalosiyanınlar (SiPc’ler), yüksek çözünürlükleri, yakın kızılötesi floresan görüntüleme imkânı ve yapısal modifikasyonlarla desteklenen verimli singlet oksijen üretimleri sayesinde dikkat çekmektedir. Silisyum çekirdeği, tümör dokularını yüksek hassasiyetle hedefleyerek çevre dokulara verilen zararı azaltırken; eksenel ligand modifikasyonları antikanser etkinliği ve hücre alımı güçlendirmektedir. Bu doğrultuda CGP55847, Pc4, Photosens ve Photocyanine gibi çeşitli ftalosiyanın türevleri, farklı klinik deneme aşamalarında değerlendirilmeye devam etmekte ve biyomedikal uygulamalarda ftalosiyanınların geleceğine yönelik güçlü kanıtlar sunmaktadır (49).



Şekil 8. Silisyum ftalosiyanın (a) ve metal ftalosiyanın (b) temel yapısı (Seyhan’dan, 47)

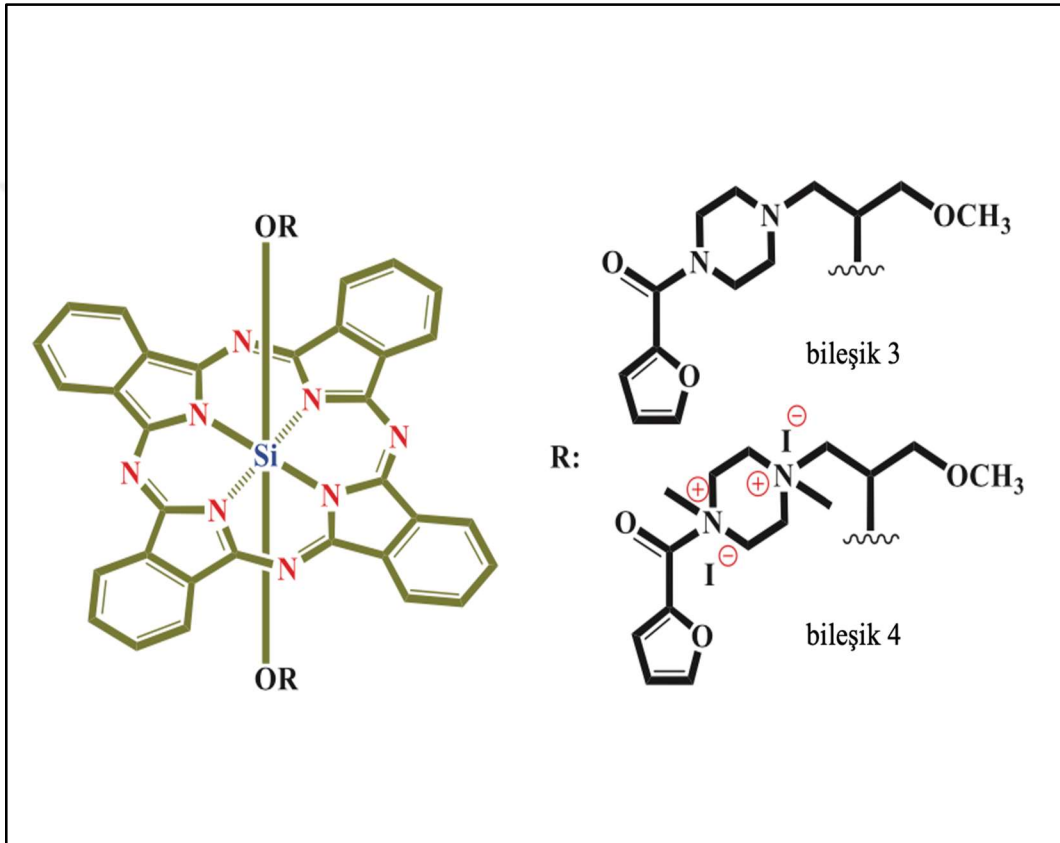
2.5. Literatür Özeti

2021 yılında Sarı ve arkadaşları, piperazin-furan halkası içeren silisyum (IV) ftalosiyanın (Bileşik 1) ve onun kuaternize formunu (Bileşik 2) sentezleyip karakterize ettiklerini bildirmişlerdir (Şekil 9). Daha sonra, MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinde hücre canlılığı ve hücre ölüm mekanizmalarını MTT yöntemi kullanarak (680 nm ışık, 10 J/cm² doz) incelemişlerdir. Çalışmada sağlıklı hücre hattı olarak MCF-10A tercih edilmiştir. IC₅₀ değerleri, Bileşik 1 için MCF-7 hücrelerinde 0.53 µM, MDA-MB-231 hücrelerinde 0.61 µM; Bileşik 2 için ise sırasıyla 0.29 µM ve 0.36 µM olarak bulunmuştur. Her iki bileşiğin FDT etkisinin, sağlıklı hücrelere kıyasla kanser hücrelerinde daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Hücre ölüm mekanizmalarını araştırmak için akış sitometrisi ve western blotlama yöntemleri kullanılmıştır. Akış sitometrisi sonuçları, Bileşik 1'in apoptotik süreçleri tetiklediğini, Bileşik 2'nin ise sekonder nekroza yol açtığını göstermiştir. Western blotlama çalışmaları ise DNA hasar onarımında görevli PARP1 proteininin ekspresyonunu incelemiş ve FDT varlığında Bileşik 1'in parçalanmış PARP1 düzeyini artırarak hücre ölümünün apoptotik yolla gerçekleştiğine dair kanıt sağlamıştır (50).



Şekil 9. Bileşik 1 ve Bileşik 2'nin moleküler yapısı (Sarı'dan, 50)

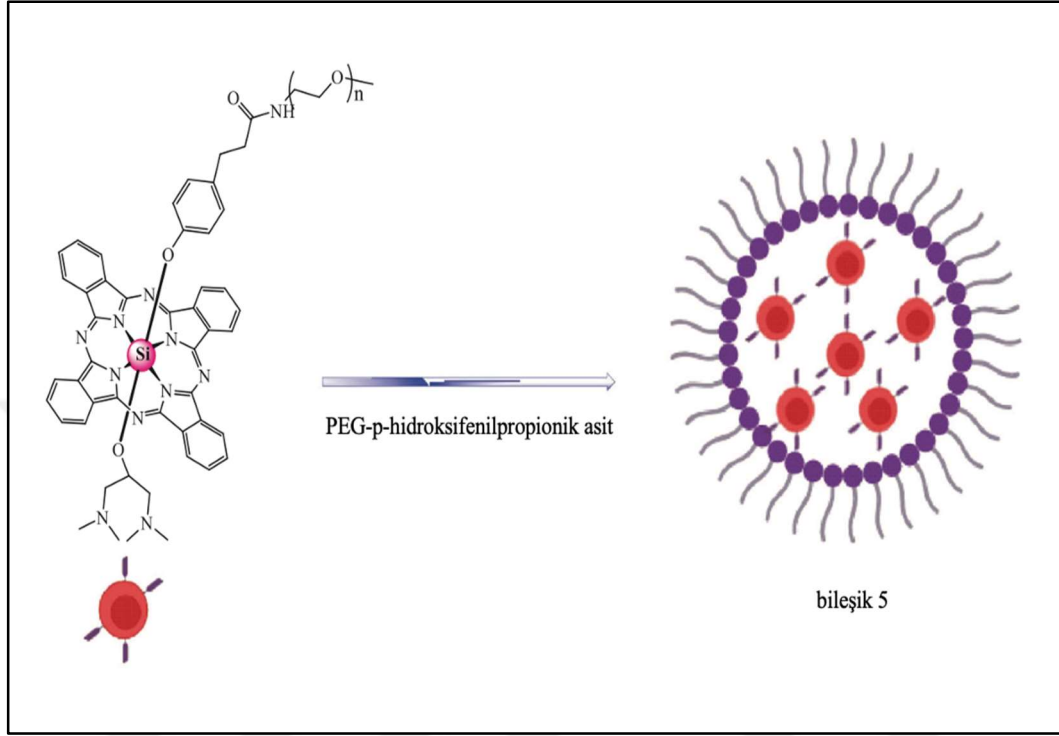
2022 yılında Nalçaoğlu ve arkadaşları, furan-2-yl(4-(2-hidroksi-3-metoksipropil) piperazin-1-yl) metanon ikameli silisyum (IV) ftalosiyanın (Bileşik 3) ile onun kuaternize formunu (Bileşik 4) sentezlemiş (Şekil 10) ve bu bileşiklerin FDT aktivitelerini MDA-MB-231 hücrelerinde (680 nm, 10 J/cm²) incelemişlerdir. Bileşik 3 ve 4'ün IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.18 µM ve 0.22 µM olarak hesaplanmıştır. Her iki bileşiğin de ROS ürettiği ve apoptozu indüklediği belirlenmiştir (51).



Şekil 10. Bileşik 3 ve Bileşik 4'ün moleküler yapısı (Nalçaoğlu'ndan, 51)

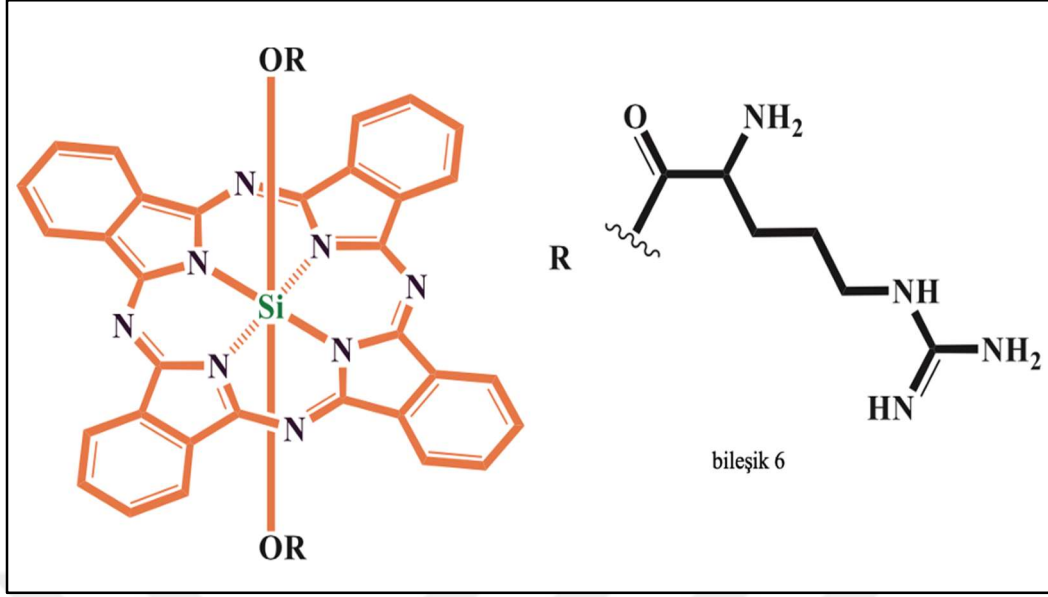
2022 yılında Zhou ve arkadaşları, FDT'de tümör seçici ajan geliştirmek amacıyla ultra küçük pH-duyarlı silisyum ftalosiyanın misellerini (Bileşik 5) sentezlemişlerdir (Şekil 11) (671 nm, 192 J/cm²). 4T1 fare hücrelerinde yapılan incelemelerde, bileşiğin büyük ölçüde tümör dokusunda biriktiği, böbrek ve karaciğerde ise yalnızca düşük seviyelerde bulunduğu gözlemlenmiştir. Tedavi sonrasında, 2 µmol/kg dozda ışık uygulaması ile Bileşik 5'in varlığında tümör hacminin neredeyse tamamen ortadan kalktığı rapor edilmiştir. Bu

sonuçlar, geliştirilen miselin hem seçici hem de yüksek etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir (52).



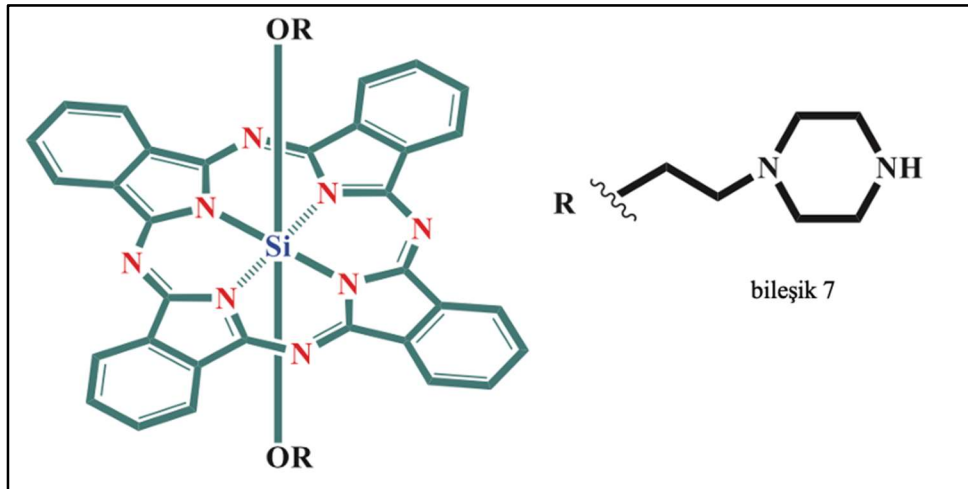
Şekil 11. Bileşik 5'in moleküler yapısı (Zhou'dan, 52)

2023 yılında Balcık-Ercin ve arkadaşları, eksenel di-arjinin ikameli silisyum (IV) ftalosiyanınin (Bileşik 6) (Şekil 12) MCF-7 hücrelerine karşı FDT aktivitesini MTT testi ($2 J/cm^2$) kullanarak değerlendirmiştir. Daha sonra, bileşiğin hücresel alımı, mitokondriyal membran potansiyeli, apoptoz potansiyeli ve PARP ekspresyonu çeşitli tekniklerle incelenmiştir. Sonuçlar, Bileşik 6'nın 5 ve 10 μM konsantrasyonlarında MCF-7 hücre canlılığını baskıladığını ortaya koymuştur. Işık uygulaması sonrasında, Bileşik 6 DNA kırıklarını tetiklemiş ve MCF-7 hücrelerinde mitokondriyal membran potansiyelinde belirgin bir azalma meydana getirmiştir. Western blotlama analizleri ise, ışık ışınlaması sonrasında parçalanmış PARP'ın MCF-7 hücrelerinde düşük düzeyde ekspresyon gösterdiğini ortaya koymuştur (53).

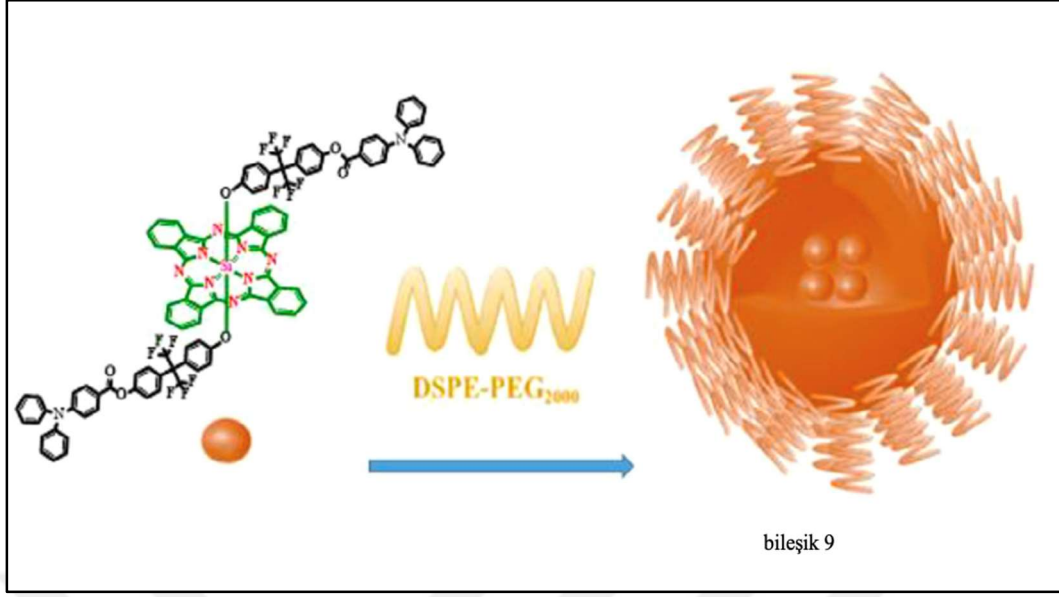


Şekil 12. Bileşik 6'nın moleküler yapısı (Balcık-Ercin'den, 53)

2023 yılında Wu ve arkadaşları, çalışmalarında piperazin türevi bir silisyum ftalosiyanın (Bileşik 7) sentezlemiş (Şekil 13) ve bu bileşiğin MCF-7 hücrelerine karşı FDT aktivitesini incelemişlerdir (671 nm, 5 mW/cm², 5 dk). Sonuçlar, piperazin grubunun varlığının, iki fotonlu konfokal lazer tarama yöntemiyle gösterildiği üzere hücre içi alımı artırdığını ortaya koymuştur. Hücreye alınan bileşik hem mitokondride hem de lizozomlarda tespit edilmiştir. Apoptotik süreç yoluyla hücre ölümüne neden olan bu bileşiğin IC₅₀ değeri, ışık uygulamasıyla MCF-7 hücrelerinde 0.2 µM olarak belirlenmiştir (54).

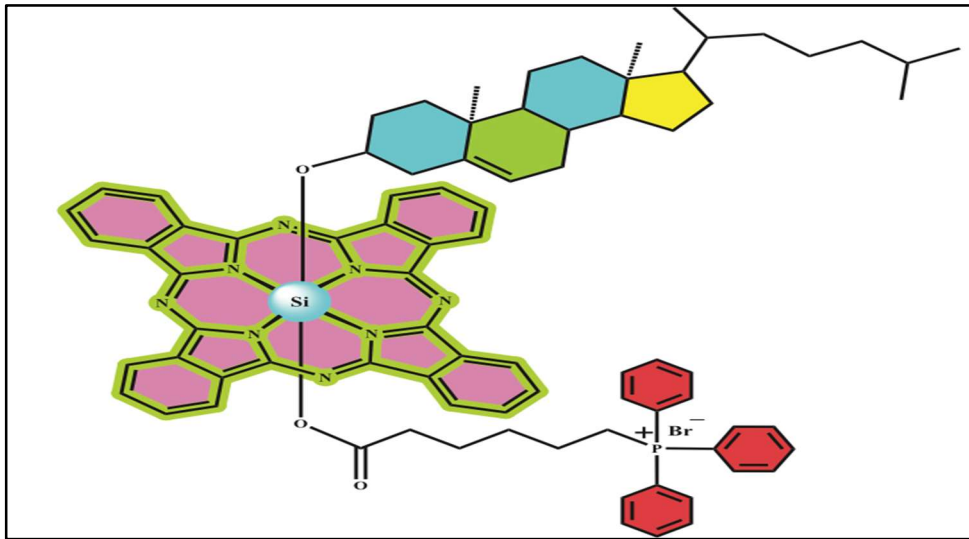


Şekil 13. Bileşik 7'nin moleküler yapısı (Wu'dan, 54)



Şekil 15. Bileşik 9'un moleküler yapısı (Zheng'den, 56)

2024 yılında Huang ve arkadaşları, kolesterol, trifenilfosfin ve asimetrik silisyum ftalosiyani erastin ile ferritine konjuge ederek Bileşik 10'u formüle etmişlerdir (Şekil 16). Daha sonra, bu bileşiğin *in vitro* FDT aktivitesi çeşitli yöntemlerle değerlendirilmiştir (671 nm, 100 mW/cm², 10 dk). Analizler, bileşiğin hücre içinde ağırlıklı olarak mitokondrilerde biriktiğini göstermiştir. Bileşik 10'un MCF-7 hücrelerinde IC₅₀ değeri 1.04 µM olarak belirlenmiştir. Ayrıca, erastinin etkisiyle Bileşik 10'un ROS üretimini artırarak MCF-7 hücrelerini ferroptozaya sürüklediği ortaya konmuştur (57).



Şekil 16. Bileşik 10'un moleküler yapısı (Huang'dan, 57)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Kullanılan cihazlar

Cihazın Adı	Marka/Model
CO ₂ inkübatörü	Esco Lifesciences
Derin dondurucu (-20 °C)	Arçelik
Derin dondurucu (-80 °C)	Thermo Scientific 88400V
Elektroforez güç kaynağı	BioRad Power Pac™ Basic
Faz kontrast mikroskop	Zeis-Primovert
Hassas analitik terazi	Ohaus PA 214C
Isıtıcı	Wisd Hotplate MSH-20A
Işık Kaynağı	Akari Shin
Jel görüntüleme sistemi	Bio Rad Universal Hood Imager Gel
Kırmızı Işık Kaynağı	Akari Shin
Laminar akış kabini	Thermo Fischer
Lazer Güç Ölçer	UNI-T UT385
Manyetik karıştırıcı	Heidolph MR
Otomatik pipetler	Socorex
pH metre	Ohaus Starter 300
Santrifüj	Nüve MF800R
Su banyolu çalkalayıcı	Memmert WNB 7-45
Soğutmalı santrifüj	Sigma 3-30K
UV-Vis spektrofotometre	Thermo Scientific Multiskan Go
Vorteks	Visemix WM-10 Wisd
Yatay DNA elektroforezi	Biorad Wide Mini-Sub Cell GT System

3.1.2. Kimyasal Madde ve Malzemeler

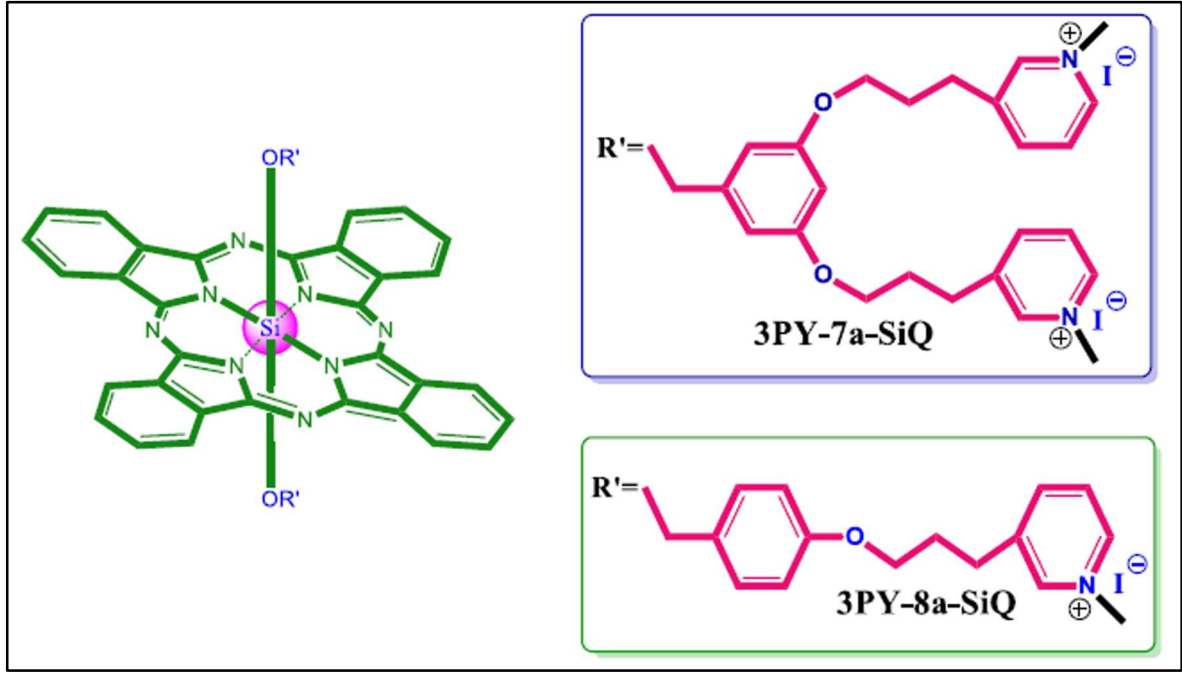
Çalışmada kullanılan kimyasal madde ve malzemeler Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan kimyasal madde ve malzemeler

Kimyasal Adı	Marka, Kodu
1,3-Difenilisobenzofuran (DPBF)	Sigma, 105481
3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-difenil tetrazolyum bromür (MTT)	Sigma, M2128
Agaroz	Sigma, A9539
Asetik asit	Sigma, A6283
Bromofenol mavisi	Sigma, B0126
Calf thymus-DNA (CT-DNA)	Calbiochem, 2618
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Sigma, 472301
Doksorubisin HCl (DOX)	Sigma-Aldrich/ D2975000
Dulbecco’s modified eagle medium (DMEM)	Gibco, 41966-029
Etidyum bromür (EB)	Sigma, E7637
Etilendiamin tetraasetik asit disodyum (EDTA-Na ₄ •2H ₂ O)	ZAG Kimya, 10378-21-1
Fetal bovine serum (FBS)	Gibco, 10500064
Gliserol	Sigma, G5516
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	Sigma, 349887
Ksilen siyanol	Sigma, X4126
Metilen mavisi (MM)	Sigma, M9140
pBR322 plasmid DNA	Thermo Scientific, SD0041
Sodyum klorür (NaCl)	Sigma, 71383
Streptomisin/Penisilin	Gibco, 15140122
Tripsin/EDTA	Gibco, 25200056
Trisma baz	Sigma, T1503

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Bileşikler

Çalışmada kullanılan ve Şekil 17’de sunulan 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin sentezi ve karakterizasyonu Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Zekeriya BIYIKLIOĞLU ve ekibi tarafından gerçekleştirildi (58).



Şekil 17. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin molekül şekli

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Çözeltiler

5 mM Tris-HCl/50 mM NaCl (pH 7.2) tamponu (TBS)

302.86 mg trisma baz ve 1450 mg NaCl tartıldıktan sonra, bir miktar saf su içerisinde çözüldü ve toplam hacim 425 mL’ye tamamlandı. Ardından, çözeltinin pH’ı seyreltik HCl kullanılarak 7.2’ye ayarlandı ve son olarak saf su ile hacim 500 mL’ye tamamlandı.

CT-DNA (Calf thymus-DNA) çözeltisi

Belirli bir miktar katı CT-DNA 5 mM Tris-HCl/50 mM NaCl (pH 7.2) tamponunda 4 °C’de 3 gün boyunca yavaşça karıştırıldı. CT-DNA stok çözeltisinin konsantrasyonu, 260 nm’de ölçülen absorbans değeri ve bu dalga boyundaki molar absorpsiyon katsayısı ($\epsilon_{260} = 6600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılarak Lambert-Beer kanununa göre hesaplandı. Ayrıca çözeltinin protein ile kontamine olmadığından emin olmak için 280 nm’de de absorbans ölçümü

yapıldı; 260/280 nm absorbans oranının 1.8–1.9 aralığında olmasına dikkat edildi. Hazırlanan CT-DNA stok çözeltisi +4 °C’de saklandı ve bir hafta içerisinde kullanıldı.

1 mM EB çözeltisi

1 mM EB çözeltisi yarışmalı EB bağlanma çalışmaları için hazırlandı. 0.5 mg EB tartıldı ve saf su ile çözülerek hacmi 1 mL’ye tamamlandı.

5 mg/mL EB çözeltisi

5 mg EB tartıldı ve saf su ile çözülerek hacmi 1 mL’ye tamamlandı.

Yürütme tamponu (10X TAE) (pH 8)

48.40 g trisma baz, 11.2 mL asetik asit, 20 mL 0.5 M EDTA son hacim 1 L olacak şekilde saf su ile çözülerek 4 °C’de muhafaza edildi.

%0.8’lik agaroz jel

0.8 g agaroz tartılarak 100 mL TAE (1×) çözeltisi eklendi. Isıtıcı yardımıyla kaynatılarak çözünmesi sağlandı. Çözelti soğutulduktan sonra 7 µL EB (5 mg/mL) ilave edildi ve agaroz jel tankına dökülerek soğumaya bırakıldı.

Agaroz jel yükleme boyası

2 g SDS (%10), 40 mg bromofenol mavisi (%0.2), 40 mg ksilen siyanol (%0.2) ve 6 mL gliserol (%30) karıştırılarak son hacim 10 ml olacak şekilde saf su ile tamamlandı.

50 mM Tris-HCl (pH 7) tamponu

1.21 g trisma baz tartıldı. Saf su ile çözülerek hacmi 150 mL’ye tamamlandı. Daha sonra seyreltik HCl ile pH 7’ye ayarlanıp, saf su ile hacmi 200 mL’ye tamamlandı.

0.4 M H₂O₂ çözeltisi

Stok H₂O₂ çözeltisinden 31.274 µL alındı. Daha sonra son hacim saf su ile 1 mL’ye tamamlandı.

0.01 M fosfat tampon çözeltisi (PBS) (10X)

5 adet PBS tableti bir balon jojeye yerleştirildi, ardından son hacim saf su ile 450 mL’ye tamamlandı. Çözeltinin pH’ı 7.4’e ayarlandıktan sonra toplam hacim saf su ile 500 mL’ye tamamlandı. Hazırlanan çözelti otoklavladıktan sonra +4 °C’de saklandı.

Tripsin-EDTA çözeltisi

400 mg tripsin, 80 mg EDTA tartıldıktan sonra PBS çözeltisi ile hacmi 200 mL'ye tamamlandı. Daha sonra hazırlanan çözelti 0.22 µm çapındaki steril filtreden geçirilerek sterilize edildi.

Antibiyotik çözeltisi

0.1 mL streptomisin (10 mg/mL) /penisilin (10.000 U) alınarak saf su ile hacim 1 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan çözelti 0.22 µm çapındaki steril filtreden geçirilerek sterilize edildi.

Hücre stoklama besiyeri

800 µL FBS, 200 µL gliserin ve 10 µL antibiyotik içerecek şekilde besiyeri hazırlandı.

MCF-7 ve MCF-10A hücreleri için besiyeri

10 mL FBS, 1 mL antibiyotik çözeltisi ve 89 mL DMEM çözeltisi içerecek şekilde besiyeri içeriği oluşturuldu.

MTT çözeltisi

1 g MTT tartılarak üzerine 200 mL fosfat tampon çözeltisi (pH 7.4) eklendi. Hazırlanan çözelti +4°C'de karanlıkta muhafaza edildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Fotokimyasal Ölçümler

Suda çözünebilen piridin grubu içeren silisyum (IV) ftalosiyanın türevleri (3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ), FDT'de fotoduyarlastırıcı olarak potansiyellerini değerlendirmek amacıyla incelenmiş; bu kapsamda fotokimyasal ölçümler yapılarak singlet oksijen kuantum verimleri ve fotobozunma oranları belirlenmiştir.

3.2.1.1. Singlet Oksijen Kuantum Verimi (Φ_Δ)

Singlet oksijen kuantum verimini (Φ_Δ) hesaplamak amacıyla, karanlık ortamda 3PY-7a-SiQ, 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin her birine, singlet oksijen söndürücü olarak görev yapan 1,3-difenilisobenzofuran (DPBF) (DMSO çözeltileri için) eklenmiştir. Daha sonra örnekler, 650 ± 20 nm filtre kullanılarak 15 mW/cm^2 şiddetindeki ışığa farklı sürelerle maruz bırakılmış ve UV-Vis spektrofotometre ile DPBF'in 417 nm'deki absorpsiyon bantlarındaki

değişimler incelenmiştir. Çözeltilerin UV-Vis ölçümleri belirli aralıklarla tekrarlanarak, DPBF'in maksimum absorbansa sahip olduğu dalga boyundaki azalma miktarından konsantrasyon değişimi takip edilmiştir. Elde edilen veriler kullanılarak singlet oksijen kuantum verimi aşağıdaki denklem yardımıyla hesaplanmıştır (59).

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta}^{\text{Std}} \frac{R \cdot I_{\text{abs}}^{\text{Std}}}{R^{\text{Std}} \cdot I_{\text{abs}}}$$

(Eşitlik 1)

Bu formülde;

- Φ_{Δ} : Bileşiklerin singlet oksijen kuantum verimi.
- $\Phi_{\Delta}^{\text{Std}}$: Standart bileşiğin singlet oksijen kuantum verimi (DMSO içerisinde) çinko ftalosiyanın: 0.67.
- R : DPBF bileşik varlığında absorbans değişimi.
- R^{Std} : DPBF standart bileşik varlığında absorbans değişimi.
- I_{abs} : Bileşiğin absorpladığı ışık miktarı.
- $I_{\text{abs}}^{\text{Std}}$: Standart bileşiğin absorpladığı ışık miktarı.

3.2.1.2. Bileşiklerin Fotokararlılıklarının Ölçülmesi

Fotobozunma kuantum verimlerinin ölçümünde singlet oksijen kuantum verimi ölçümünde uygulanan düzenek kullanılmıştır. Sentezlenen bileşikler DMSO içerisinde çözüldükten sonra farklı zaman aralıklarında (0-60 dakika) ışığa maruz bırakılmıştır. Ardından spektrofotometre ile UV-Vis spektrumları alınarak bileşiklerin maksimum absorpsiyon gösteren Q bandlarındaki değişim incelenmiştir (60). Bileşiklerin fotobozunma kuantum verimleri Eşitlik 2 yardımı ile hesaplanmıştır.

$$\Phi_d = \frac{(C_0 - C_t) \cdot V \cdot N_A}{I_{\text{abs}} \cdot S \cdot t} \quad (\text{Eşitlik 2})$$

Bu formülde; Φ_d : Numunenin fotobozunma kuantum verimi. C_0 : Numunenin ışık uygulamadan önceki konsantrasyonu. C_t : Numunenin ışık uygulandıktan sonraki konsantrasyonu. V: Kullanılan hacim. N_A : Avagadro sabiti. t: Işınlama zamanı. S: Işınlama için kullanılan UV-Vis küvetinin alanı. I_{abs} : Kullanılan ışığın gücü.

3.2.2. DNA Bağlanma Deneyleri

3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin DNA bağlanma etkileşimlerini incelemek için sıgır timus DNA (CT-DNA) kullanılmıştır. Bu çalışmada CT-DNA'nın stok çözeltisi 5 mM Tris-HCl/ 50 mM NaCl (pH 7.2) (TBS) tamponu yardımıyla hazırlanmıştır. Ardından UV-Vis titrasyon bağlanma ve agaroz jel elektroforez bağlanma deneylerinde kullanılmıştır (61).

3.2.2.1. UV-Vis Absorpsiyon Bağlanma Çalışması

3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşikleri DMSO kullanılarak hazırlanmış ve UV-Vis spektrumları kaydedilmiştir. Daha sonra artan konsantrasyonlarda (2.5, 5, 10, 15 ve 20 μ M) CT-DNA ilavesi gerçekleştirilmiştir. Oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra UV-Vis spektrumları kaydedilmiştir. Bu işlem esnasında CT-DNA'nın absorbansını elimine edilebilmesi amacıyla kör çözelti üzerine de eşit miktarda CT-DNA ilave edilmiştir. Çalışmada pozitif kontrol olarak MM kullanılmıştır. Bileşiklerin, CT-DNA bağlanma sabiti (K_b) değerleri Wolfe-Shimmer eşitliği kullanılarak belirlenmiştir.

$$\frac{[DNA]}{(\epsilon_a - \epsilon_f)} = \frac{[DNA]}{(\epsilon_b - \epsilon_f)} + \frac{1}{K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)} \quad (\text{Eşitlik 3})$$

Yukarıdaki denklemden yararlanılarak DNA konsantrasyonuna ($[DNA]$) karşı ($[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$) değerleri grafiğe geçirilmiştir. Grafikten elde edilen doğrunun eğimi $1/(\epsilon_b - \epsilon_f)$ 'yi, kesim noktası ise $1/K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)$ olarak bulunmuştur. Bu iki değer birbirine oranlanarak K_b değerleri hesaplanmıştır (62).

$[DNA]$: DNA konsantrasyonu

K_b : Bileşiğin DNA'ya bağlanma sabiti

ϵ_a : Bileşiğin absorbansının bileşiğin konsantrasyonuna oranı.

ϵ_f : Serbest haldeki bileşiğin sönüm katsayısı.

ϵ_b : Tam bağlı bileşiğin sönüm katsayısı.

3.2.2.2. Agaroz Jel Elektroforez Bağlanma Çalışması

3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin CT-DNA'ya bağlanma türlerini doğrulamak amacıyla tercih edilen yöntemlerden biri de agaroz jel elektroforez tekniği kullanılarak bağlanma çalışması gerçekleştirilmesidir. Bu çalışmada CT-DNA'nın konsantrasyonu sabit tutulmuş (100 μ M) ve bileşiklerin çeşitli konsantrasyonları (25, 50, 100 ve 250 μ M) ilave edilerek 37°C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Sonra, bu karışım TAE tampon içerisinde agaroz jele yükleme tamponuyla birlikte yüklenip, 100 V, 400 mA uygulanarak 30 dakika jelde yürütülmüştür. Sonuçlar BioRad Gel Doc XR system cihazı yardımıyla görüntülenmiştir (63). Çalışmada pozitif kontrol olarak MM kullanılmıştır.

3.2.3. DNA Nükleaz Çalışmaları

3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin DNA nükleaz aktiviteleri, süpersarmal pBR322 plazmid DNA kullanılarak agaroz jel elektroforez yöntemiyle analiz edilmiştir. pBR322 plazmid DNA, moleküllerin nükleaz aktivitelerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir DNA türüdür. Süpersarmal plazmid DNA elektroforeze maruz kaldığında, süpersarmal formun (Sc) en hızlı şekilde ilerlemektedir. Molekül ışık veya kimyasal maddelerle etkileştiğinde tek zincirde kırılma olursa kırık form (Nc) oluşur ve bu form en yavaş ilerleyen yapıdır. Eğer çift zincir kırılırsa çizgisel form (Lc) ortaya çıkar ve bu form Sc ile Nc arasında bir hıza sahiptir (64). Bu tez çalışmasında 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA üzerindeki nükleaz aktiviteleri, ışık ve oksidatif ajanların varlığında ve yokluğunda değerlendirilmiştir.

3.2.3.1. Bileşiklerin Hidrolitik Nükleaz Aktivitesi

Bileşiklerin hidrolitik nükleaz aktivitelerini değerlendirmek amacıyla, farklı konsantrasyonlarda hidrolitik deneyler yapılmıştır. Agaroz jel deneylerinde her kuyu 10 μ L olacak şekilde hazırlanmıştır. Her kuyuda, 1 μ L 250 ng pBR322 plazmid DNA, 7 μ L 50 mM Tris-HCl tamponu (pH 7) ve 2 μ L bileşiklerin artan konsantrasyonları (1,10, 50 ve 100 μ M) eklenerek ve 37 °C'de 30 ve 60 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon tamamlandıktan sonra, hazırlanan karışımlar jel yükleme boyası eklenerek agaroz jellere yüklenmiştir. Jelde yürütme, TAE tamponu ile gerçekleştirilmiş ve 100 V, 400 mA akım uygulanarak 90 dakika sürdürülmüştür. Deneyde pozitif kontrol olarak MM kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar BioRad Gel Doc XR System ile görüntülenmiş ve bileşiklerin nükleaz yüzdeleri Image Lab Version 4.0.1 yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır (65).

3.2.3.2. Bileşiklerin Fotonükleaz Aktivitesi

FDT’de bileşiklerin kullanılabilirlik potansiyelini değerlendirmek için beyaz ve kırmızı ışık altında süpersarmal pBR322 plazmid DNA’nın fotonükleaz aktiviteleri değerlendirilmiştir. Agaroz jel deneyleri için her kuyu 10 µL olacak şekilde hazırlanmıştır. Kuyulara 1 µL (250 ng) pBR322 plazmid DNA, 7 µL 50 mM Tris-HCl tamponu (pH 7) ve 2 µL bileşiklerin farklı konsantrasyonları (1, 10, 50 ve 100 µM) eklenmiştir. Hazırlanan karışımlar, 30 ve 60 dakika boyunca beyaz (4.9 mW/cm²) ve kırmızı (4.5 mW/cm²) ışığa maruz bırakılmış, ardından 37 °C’de 30 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra örnekler jel yükleme boyası eklenerek agaroz jellere yüklenmiş, TAE tamponu kullanılarak 100 V ve 400 mA ile 90 dakika yürütülmüştür. Deneyde pozitif kontrol olarak MM kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar BioRad Gel Doc XR System ile görüntülenmiş ve nükleaz yüzdeleri Image Lab Version 4.0.1 programı kullanılarak hesaplanmıştır (65).

3.2.3.3. Bileşiklerin Oksidatif Nükleaz Aktivitesi

Bileşiklerin nükleaz aktivitelerinin çeşitli ajanların varlığında değişebildiği bilinmektedir. Bu çalışmada, H₂O₂ (0.4 M) kullanılarak bileşiklerin oksidatif nükleaz aktiviteleri değerlendirilmiştir. Agaroz jel deneyleri için her kuyu 10 µL olacak şekilde hazırlanmıştır. Her kuyuda, 1 µL (250 ng) pBR322 plazmid DNA, 5 µL 50 mM Tris-HCl tamponu (pH 7), 2 µL H₂O₂ ve 2 µL bileşiklerin artan konsantrasyonları (1, 10, 50 ve 100 µM) eklenmiş ve 37 °C’de 30 ve 60 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından karışımlar jel yükleme boyası eklenerek agaroz jellere yüklenmiş, TAE tamponu ile 100 V ve 400 mA akım uygulanarak 90 dakika jelde yürütülmüştür. Deneyde pozitif kontrol olarak MM kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar BioRad Gel Doc XR System ile görüntülenmiş ve nükleaz yüzdeleri Image Lab Version 4.0.1 programı ile hesaplanmıştır (65).

3.2.3.4. Bileşiklerin Oksidatif Fotonükleaz Aktivitesi

Agaroz jel kuyu içerikleri 10 µL olacak şekilde hazırlanmıştır. Her kuyuda 1 µL (250 ng) pBR322 plazmid DNA, 5 µL 50 mM Tris-HCl tamponu (pH 7), 2 µL H₂O₂ ve 2 µL bileşiklerin farklı konsantrasyonları (1, 10, 50 ve 100 µM) eklenmiştir. Hazırlanan karışımlar, 30 ve 60 dakika boyunca beyaz (4.9 mW/cm²) ve kırmızı (4.5 mW/cm²) ışığa maruz bırakılmış, ardından 37 °C’de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyonun tamamlanmasının ardından örnekler jel yükleme boyası eklenerek agaroz jellere yüklenmiş ve TAE tamponu ile 100 V, 400 mA akım uygulanarak 90 dakika yürütülmüştür. Deneyde

pozitif kontrol olarak MM kullanılmıştır. Sonuçlar BioRad Gel Doc XR System ile görüntülenmiş ve nükleaz yüzdeleri Image Lab Version 4.0.1 programı ile hesaplanmıştır (65).

3.2.4. Hücre Kültürü Çalışmaları

3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin insan meme kanseri hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkinliklerinin tespit edilmesi amacıyla [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromür] (MTT) hücre canlılık testi gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.1. Hücre Dizisinin Açılması, Pasajlanması ve Sayılması

-196 °C’de kriyovial tüpler içinde muhafaza edilen hücreler, 37 °C’deki su banyosunda hızlı bir şekilde çözölmüştür. Çözünme sonrası 1 mL hücre süspansiyonu 15 mL’lik falcon tüpüne aktararak ve üzerine besiyeri eklenerek toplam hacim 10 mL’ye tamamlanmıştır. Hücre süspansiyonları 100 rcf’de 3 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından süpernatant uzaklaştırılarak, oluşan hücre pelletine 1 mL taze besiyeri ilave edilerek nazikçe pipetaj yapılmış ve homojen bir süspansiyon elde edilmiştir. Elde edilen hücre süspansiyonu, 10 mL besiyeri içeren T-25 flasklara ekilerek 37 °C’de ve %5 CO₂ içeren inkübatör ortamında kültüre alınmıştır. İnkübasyon süreci sonunda hücrelerin faz kontrast mikroskop altında incelenmesiyle, flask yüzeyinin yaklaşık %70-80 oranında hücrelerle kaplandığı gözlemlendiğinde pasajlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Hücre pasajlama aşamasında öncelikle flasklardaki besiyeri ortamdan uzaklaştırılmıştır. Ardından, hücrelerin yüzeyden ayrılmasını sağlamak için flasklara tripsin-EDTA çözeltisi eklenecek ve 37 °C’deki inkübatörde yaklaşık 5 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, hücrelerin tripsin etkisinden korunması için uygun miktarda besiyeri ilave edilecek ve hücre süspansiyonu 100 rcf’de 3 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından süpernatant kısım, yaklaşık 1 mL kalacak şekilde uzaklaştırılmıştır. Elde edilen hücre süspansiyonundan 10 µL alınarak steril bir ependorf tüp içinde 10 µL tripan mavisi ile karıştırılmıştır. Hazırlanan karışım lam üzerine alınarak Neubauer hematositometre yardımıyla mikroskop altında canlı hücre sayımı gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.2. MTT Testi ile Sitotoksitenin Belirlenmesi

3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin fototoksiste profillerinin değerlendirilmesi amacıyla, %10 fetal sıgır serumu (FBS; h/h) (Gibco, Waltham, MA, ABD) ve %1 penisilin-streptomisin (h/h) içeren renksiz Dulbecco'nun Modifiye Edilmiş Özgöl Ortamında (DMEM) kültürlenmiş insan meme kanseri hücre hattı MCF-7 (ATCC® HTB-22) ile sağlıklı kontrol olarak insan meme epitel hücre hattı MCF-10A (ATCC® CRL-10317) kullanılmıştır. Sitotoksiste profillerinin belirlenmesi için MTT testi uygulanmıştır. MCF-7 ve MCF-10A hücreleri 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş ve 24 saat boyunca 37 °C'de, %5 CO₂ içeren inkübasyon koşullarında tutulmuştur (66). Ardından, hücreler bileşiklerin 0.01, 0.1, 1 ve 5 µM konsantrasyonlarına 24 saat maruz bırakılmıştır. Fototoksiste değerlendirmesi için ise aynı şekilde ekilen hücreler, belirtilen konsantrasyonlara 2 saat maruz bırakıldıktan sonra 1 saat beyaz ışığa maruz bırakılmıştır (67). 24 saatlik inkübasyonun ardından besiyeri uzaklaştırılmış ve ardından her kuyuya MTT (0.5 mg/mL) eklenmiştir. 2 saat 37 °C'de inkübe edilmiştir. Bu sürenin ardından ortam uzaklaştırılıp formazan kristallerini çözmek için kuyulara 100 µL izopropanol ilave edilmiştir (68). Negatif kontrol olarak %0.5 DMSO (h/h), sitotoksiste deneylerinde pozitif kontrol olarak 0.1, 1 ve 10 µM konsantrasyonlarında doksorubisin hidroklorür (DOX), fototoksiste deneylerinde ise pozitif kontrol olarak 1 ve 10 µM konsantrasyonlarında MM kullanılmıştır. 570 nm'de yapılan spektrofotometrik ölçümle absorbans değeri belirlenmiştir. Hücre canlılığı yüzdesi "Eşitlik 4" denklemi ile hesaplanmıştır (69).

$$\%Hücre\ canlılığı = \frac{OD_{kontrol} - OD_{tedavi}}{OD_{kontrol}} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 4})$$

3.2.4.3. Işık Maruziyeti

3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin *in vitro* fototoksik etkinliğini incelemek amacıyla 5 cm uzaklıktan beyaz ve kırmızı ışık kullanılarak bileşikler ışığa maruz bırakılmıştır. Bileşiklerin farklı konsantrasyonlarını içeren besiyerleri plakalara ilave edilip, 2 saat 37 °C'de ve %5 CO₂ inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından plakalar beyaz (4.9 mW/cm²) ve kırmızı (4.5 mW/cm²) ışığa maruz bırakılmıştır. Daha sonra MTT testi yapılmıştır (70).

3.2.5. İstatiksel Analiz

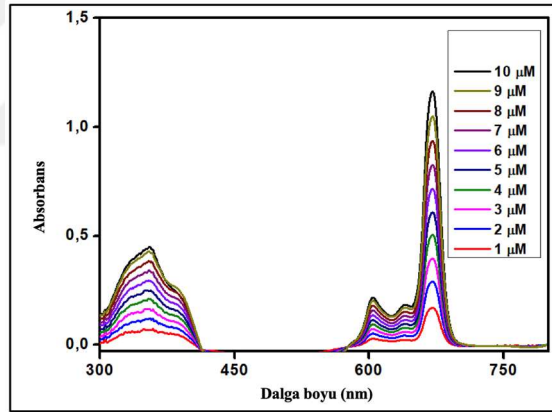
Her bir deney üç bağımsız kez gerçekleştirilmiş ve veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak sunulmuştur. Sitotoksisite verilerinin istatistiksel anlamlılığı, GraphPad Prism (9.0) (La Jolla, California, ABD) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile değerlendirilmiştir. Veri grupları arasındaki farklar, $p \leq 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



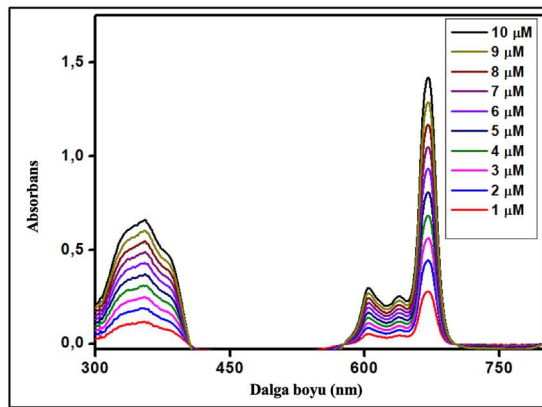
4. BULGULAR

4.1. Agregasyon Çalışmaları

Fotoduyarlaştırıcıların FDT etkinliği, sıklıkla moleküllerin bir araya gelme eğilimi nedeniyle düşer; bu durum, ışık soğurma kapasitesi ve sitotoksik singlet oksijen üretim yeteneğini olumsuz etkiler. Bu sorunu gidermek amacıyla, agregasyon oluşturmeyan ftalosiyanin türevleri araştırmalarda ön plana çıkmaktadır. Özellikle, silisyum ftalosiyaninler gibi aksenel olarak bağlı büyük hacimli gruplar içeren bileşikler, moleküller arası etkileşimleri engelleyerek agregasyon göstermemeleriyle bilinir. Bu yapısal özellikleri, onları yüksek verimli FDT uygulamaları için oldukça cazip adaylar haline getirir. Agregasyon potansiyeli açısından, 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşikler incelenmiştir. Bu doğrultuda, bileşiklerin DMSO çözeltisindeki farklı konsantrasyonlarda (1–10 μ M) UV-Vis spektroskopi analizleri gerçekleştirilmiştir. Her iki bileşik de spektral olarak herhangi bir agregasyon belirtileri göstermemiştir (Şekil 18 ve 19).



Şekil 18. 3PY-7a-SiQ bileşiğinin DMSO içinde agregasyon eğilimleri



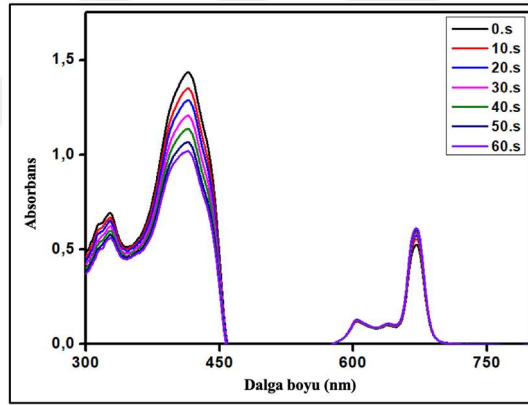
Şekil 19. 3PY-8a-SiQ bileşiğinin DMSO içinde agregasyon eğilimleri

4.2. Fotokimyasal Ölçümler

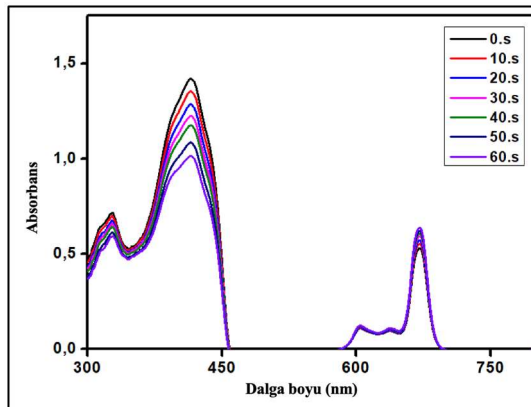
4.2.1. Singlet Oksijen Kuantum Verimi (Φ_{Δ})

FDT, fotoduyarlastırıcı bileşiklerin ışıqla aktive edilerek kanser hücrelerinde reaktif oksijen türler üretmesini içerir. Bu sürecin etkinliği, bileşimin fotokararlılığına ve singlet oksijen üretme kapasitesine bağlıdır. Yüksek fotokararlılık düzeyi, bileşimin fotoaktivasyon sonrası kararlı kalmasını sağlarken; yüksek singlet oksijen üretimi, tedavi sırasında hedef hücreler üzerinde maksimum biyolojik etki elde edilmesine olanak tanır.

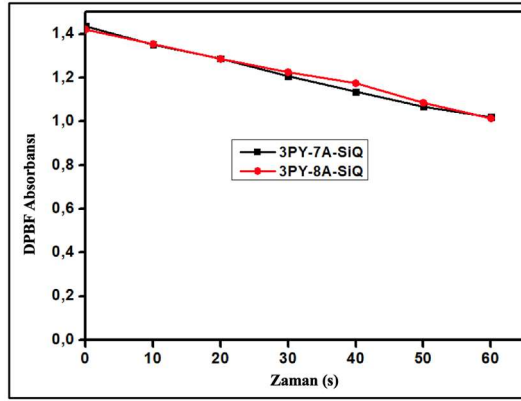
Bu çalışmada, 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin singlet oksijen üretim ölçümleri DMSO ortamında, kimyasal bir singlet oksijen tuzağı olan DPBF kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneyler UV-Vis spektrofotometrisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Zamanla DPBF konsantrasyonundaki azalmaya dayanarak singlet oksijen kuantum verimleri hesaplanmıştır. Sentezlenen bileşiklerin singlet oksijen verimleri 3PY-7a-SiQ için $\Phi_{\Delta} = 0.181$ ve 3PY-8a-SiQ için ise $\Phi_{\Delta} = 0.168$ hesaplanmıştır (Şekil 20 ve 21).



Şekil 20. Işınlama ile 3PY-7a-SiQ varlığında DPBF konsantrasyonu değişimi



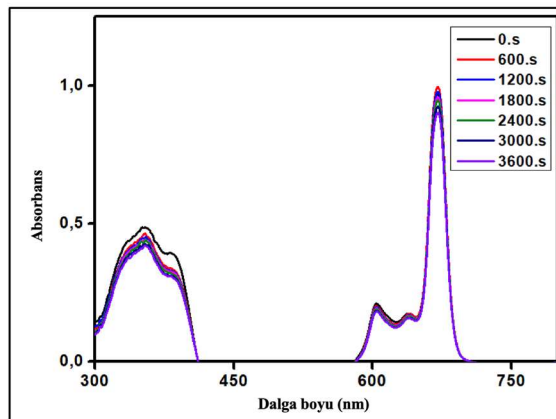
Şekil 21. Işınlama ile 3PY-8a-SiQ varlığında DPBF konsantrasyonu değişimi



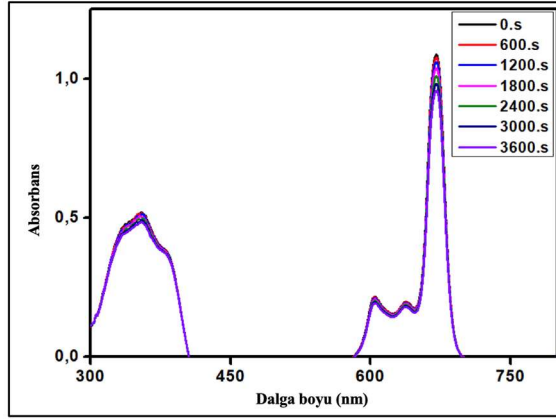
Şekil 22. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ için UV-Vis spektrumlarında, DPBF absorbansının zamana karşı değişimi

4.2.2. Fotobozunma Kuantum Verimi

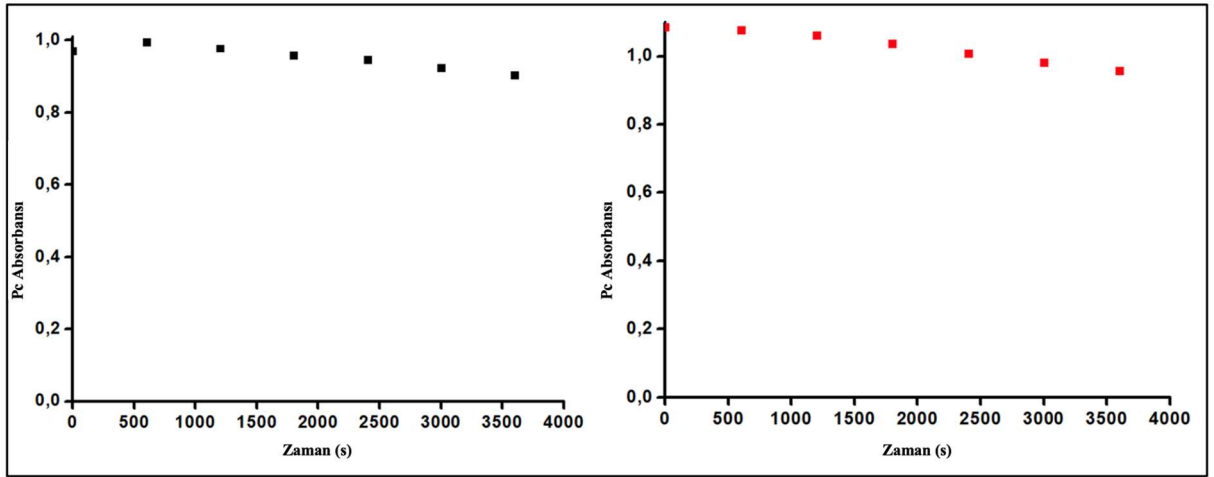
Fotoduyarlastırıcılar için fotokararlılık, singlet oksijen üretme yetenekleri kadar önemlidir. Bu çalışmada, bileşiklerin, ışığa bağlı bozunmaya karşı dirençlerini değerlendirmek amacıyla 3600 saniye boyunca yoğun ışığa maruz bırakılmıştır. Deneyler DMSO ortamında gerçekleştirilmiş ve absorbansın zamana göre değişimi izlenmiştir. UV-Vis spektrumlarında görüldüğü üzere (Şekil 23 ve 24), tüm bileşikler literatürde yer alan benzer ftalosiyanınlarla karşılaştırılabilir düzeyde fotokararlılık sergilemiştir. Işınlama süresi sonunda 3PY-7a-SiQ bileşiğinin Q-band absorbansında %6.9'luk bir azalma gözlemlenirken, 3PY-8a-SiQ bileşiğinin Q-band absorbansında %9.5 oranında bir kayıp göstermiştir (Şekil 25). Her iki bileşik için fotobozunma kuantum verimleri 3PY-7a-SiQ için $\Phi_d = 0.64 \times 10^{-5}$ ve 3PY-8a-SiQ için $\Phi_d = 1.28 \times 10^{-5}$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 23. 3PY-7a-SiQ bileşiğinin fotokararlılık UV-Vis spektrumu



Şekil 24. 3PY-8a-SiQ bileşiğinin fotokararlılık UV-Vis spektrumu



Şekil 25. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ için ışınlama ile absorbansının zamana karşı değişimi

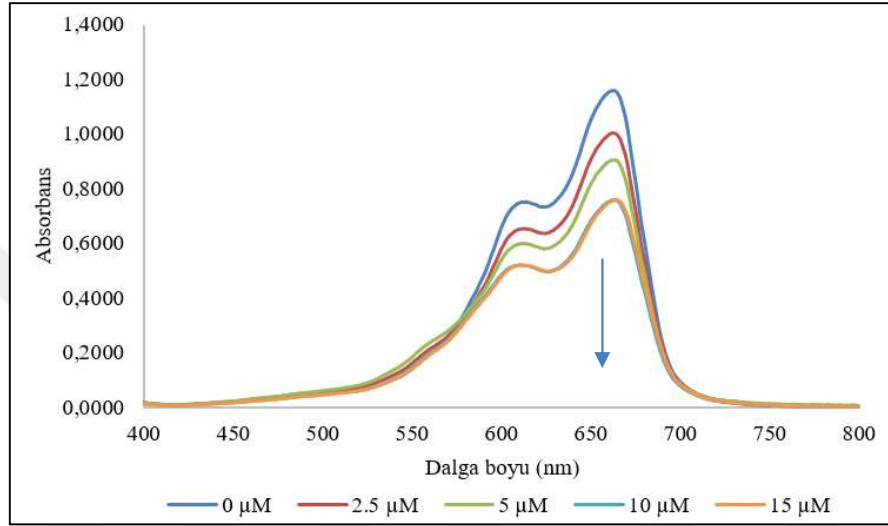
4.3. DNA Bağlanma Deneyleri

4.3.1. UV-Vis Absorbsiyon Bağlanma Çalışması

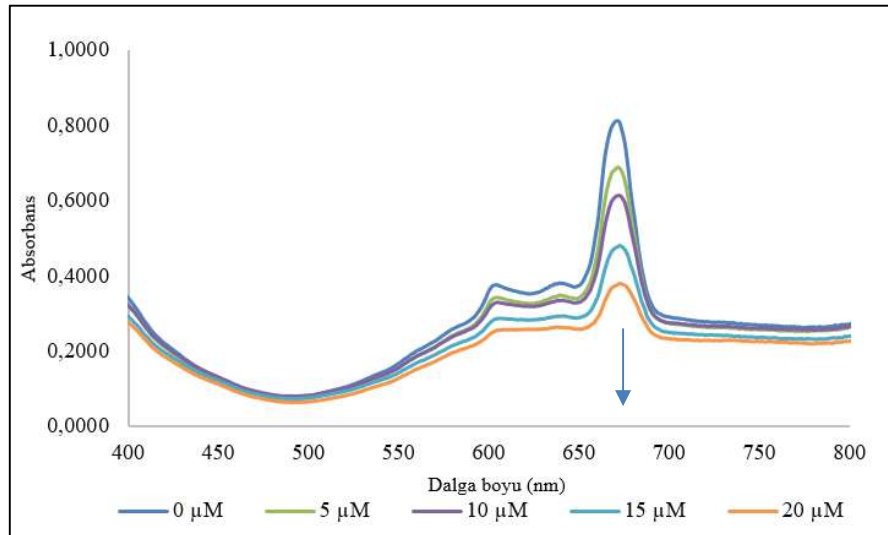
Bu çalışmada, bileşiklerin tampon çözeltisine kademeli olarak artan konsantrasyonlarda CT-DNA eklenmiş ve bu ilavelerin absorpsiyon spektrumları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bileşiklerin CT-DNA ile etkileşim özellikleri, Tablo 3 ve Şekil 26-27’de özetlenmiştir. Deneylerde pozitif kontrol olarak MM kullanılmıştır.

Tablo 3. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin CT-DNA ile bağlanma verileri

Bileşikler	λ (nm)	Absorbans	Kayma (nm)	K_b (M ⁻¹)	%H
Değişim					
3PY-7a-SiQ	663	Hipokromizm	0	$1.51 \pm (0.02) \times 10^5$	$\%34.89 \pm 1.47$
3PY-8a-SiQ	671	Hipokromizm	0	$5.52 \pm (0.07) \times 10^3$	$\%53.66 \pm 1.33$



Şekil 26. CT-DNA yokluğunda ve varlığında 3PY-7a-SiQ bileşiğinin UV-Vis absorpsiyon spektrumu



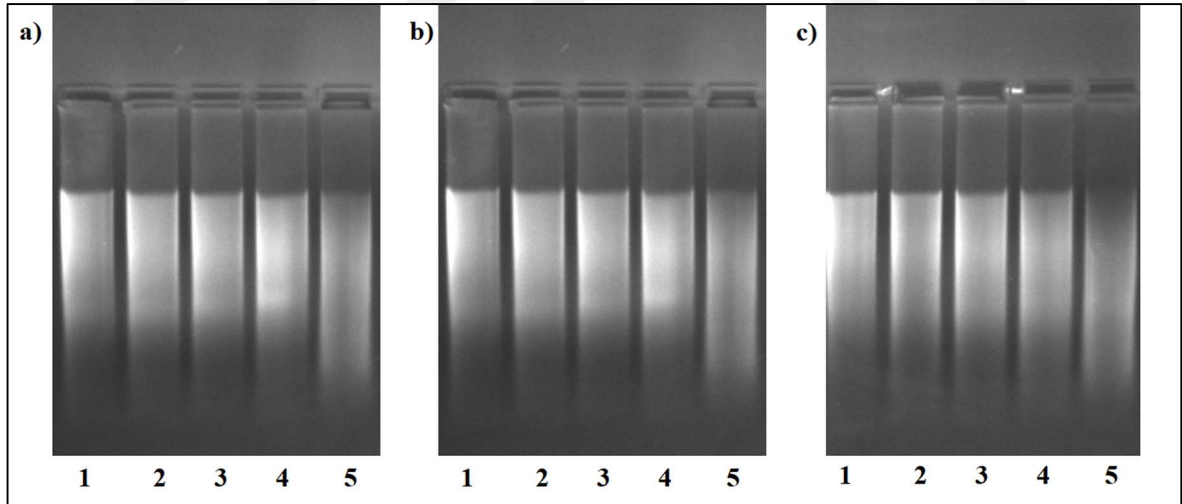
Şekil 27. CT-DNA yokluğunda ve varlığında 3PY-8a-SiQ bileşiğinin UV-Vis absorpsiyon spektrumu

3PY-7a-SiQ bileşiğinin UV-Vis spektrumunda en yüksek absorbands 663 nm’de saptanmıştır. Artan CT-DNA konsantrasyonları, %34.89±1.47 hipokromizm ile sonuçlanmıştır. Bileşiğin K_b sabiti $1.51 \pm (0.02) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Şekil 26). 3PY-8a-SiQ için maksimum absorbands 671 nm’de gözlenmiş ve CT-DNA eklenmesi %53.66±1.33 hipokromizme yol açmıştır. Bu bileşiğin K_b sabiti ise $5.52 \pm 0.07 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır (Şekil 27).

4.3.2. Agaro Jel Elektroforezi Bağlanma Çalışması

Bu çalışmada, bileşiklerin CT-DNA ile etkileşimleri agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. CT-DNA konsantrasyonu sabit tutulmuş (100 μM) ve bileşiklerin artan konsantrasyonları (25-250 μM) ilave edilmiştir; ardından CT-DNA’nın jel üzerindeki bant yoğunlukları gözlemlenmiştir ($r = [\text{bileşik}]/[\text{CT-DNA}]$). Elde edilen sonuçlar Şekil 28’de sunulmuştur. Deneylerde pozitif kontrol olarak MM kullanılmıştır.

3PY-7a-SiQ bileşiğinde, r değeri 2.5 olan kuyucukta CT-DNA bant yoğunluğunda azalma görülmüştür (Şekil 28 (a), bant 5). 3PY-8a-SiQ içinde r değeri 2 olan kuyucukta CT-DNA yoğunluğunda düşüş gözlenmiştir (Şekil 28 (b), bant 5).



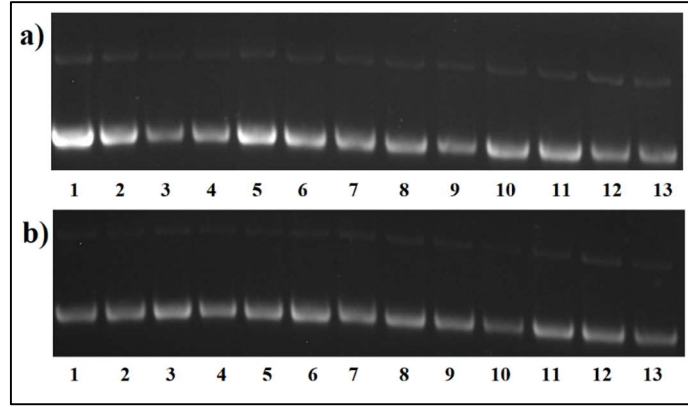
Şekil 28. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin elektroforez bağlanma çalışması. (a) 3PY-7a-SiQ, (b) 3PY-8a-SiQ, (c) MM. (1: $r=0$, 2: $r=0.25$, 3: $r=0.5$, 4: $r=1$, 5: $r=2.5$)

4.4. Bileşiklerin Nükleaz Aktivitesi

Bileşiklerin süpersarmal pBR322 plasmid DNA üzerindeki nükleaz aktivitelerini belirlemek amacıyla agaroz jel elektroforezi yöntemi uygulanmıştır. Nükleaz reaksiyonları, optimize edilmiş uygun koşullar altında yürütülmüştür. Reaksiyon sonucunda oluşan DNA ürünleri BioRad Gel Doc XR system cihazı ile görüntülenmiş ve Image Lab Version 4.0.1 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analizler sırasında DNA bantlarının yoğunluğu ve ayrışma profilleri incelenmiş, bileşiklerin nükleaz aktivitesi karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, bileşiklerin plasmid DNA üzerindeki potansiyel etkilerini detaylı şekilde ortaya koymaktadır.

4.4.1. Bileşiklerin Hidrolitik Nükleaz Aktivitesi

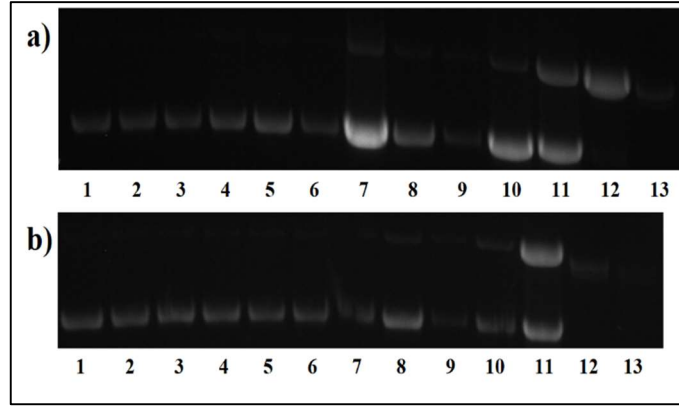
3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plasmid DNA'nın fosfodiester bağlarını hidroliz yoluyla kesebilme yetenekleri, hidrolitik nükleaz denemeleri zamana ve konsantrasyona bağlı olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 29'da sunulmuştur ve deneylerde pozitif kontrol olarak MM kullanılmıştır. 30 ve 60 dakikalık inkübasyon süreleri sonrasında 3PY-7a-SiQ için 1, 10, 50 ve 100 μ M konsantrasyonlarında belirgin bir nükleaz aktivitesi gözlenmemiştir (Şekil 29 (a ve b), bant 2-5). Benzer şekilde, 3PY-8a-SiQ, 1, 10, 50 ve 100 μ M konsantrasyonlarında nükleaz aktivitesi gözlenmemiştir (Şekil 29 (a ve b), bant 6-9). 3PY-7a-SiQ, 3PY-8a-SiQ ve pozitif kontrol MM'nin varlığında ise tüm çalışılan konsantrasyonlarda ve sürede negatif kontrole kıyasla anlamlı bir nükleaz aktivitesi gözlenmemiştir.



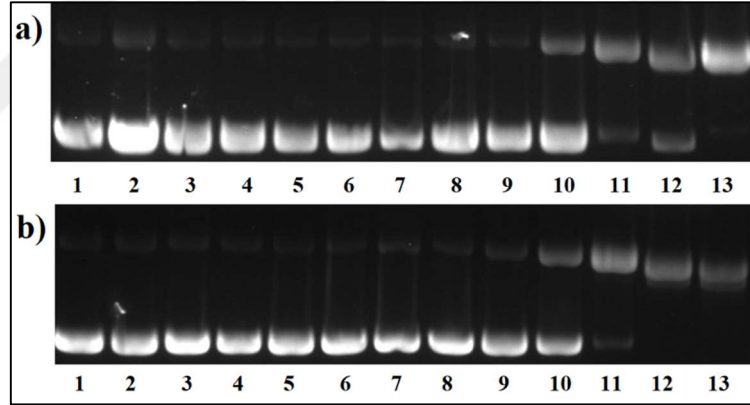
Şekil 29. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA hidrolitik nükleaz aktivitesi. **(a)** 30 dakika inkübasyon ve **(b)** 60 dakika inkübasyon. Bant 1: DNA kontrol; bant 2: DNA + 3PY-7a-SiQ (1 μ M); bant 3: DNA + 3PY-7a-SiQ (10 μ M); bant 4: DNA + 3PY-7a-SiQ (50 μ M); bant 5: DNA + 3PY-7a-SiQ (100 μ M); bant 6: DNA + 3PY-8a-SiQ (1 μ M); bant 7: DNA + 3PY-8a-SiQ (10 μ M); bant 8: DNA + 3PY-8a-SiQ (50 μ M); bant 9: DNA + 3PY-8a-SiQ (100 μ M); bant 10: DNA + MM (1 μ M); bant 11: DNA + MM (10 μ M); bant 12: DNA + MM (50 μ M); bant 13: DNA + MM (100 μ M).

4.4.2. Bileşiklerin Fotonükleaz Aktivitesi

3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plasmid DNA üzerindeki ışığa bağımlı nükleaz etkilerini incelemek amacıyla fotonükleaz denemeleri gerçekleştirilmiştir. Deney sonuçları Şekil 30 ve 31’de sunulmuştur. Deneylerde pozitif kontrol olarak MM kullanılmıştır. 30 ve 60 dakikalık ışık maruziyeti sonrasında 3PY-7a-SiQ için 1, 10, 50 ve 100 μ M konsantrasyonlarında belirgin bir fotonükleaz aktivitesi gözlenmemiştir (Şekil 30 (a ve b), bant 2-5). Benzer şekilde, 3PY-8a-SiQ, 1, 10, 50 ve 100 μ M konsantrasyonlarında nükleaz aktivitesi gözlenmemiştir (Şekil 30 (a ve b), bant 6-9). Pozitif kontrol olarak kullanılan MM’de ise, konsantrasyona bağımlı olarak fotonükleaz etkinlik gözlenirken, çalışmada kullanılan en yüksek konsantrasyon olan 100 μ M’da ise tamamen plasmid DNA bozunmaya uğramıştır (Şekil 30 (a ve b), bant 13). Şekil 31’de ise kırmızı ışık varlığında bileşiklerin fotonükleaz etkinliğine dair sonuçları sunulmuştur. 30 ve 60 dakikalık ışık maruziyeti sonrasında 3PY-7a-SiQ için 1, 10, 50 ve 100 μ M konsantrasyonlarında belirgin bir fotonükleaz aktivitesi gözlenmemiştir (Şekil 31 (a ve b), bant 2-5). Benzer şekilde, 3PY-8a-SiQ, 1, 10, 50 ve 100 μ M konsantrasyonlarında nükleaz aktivitesi gözlenmemiştir (Şekil 31 (a ve b), bant 6-9).



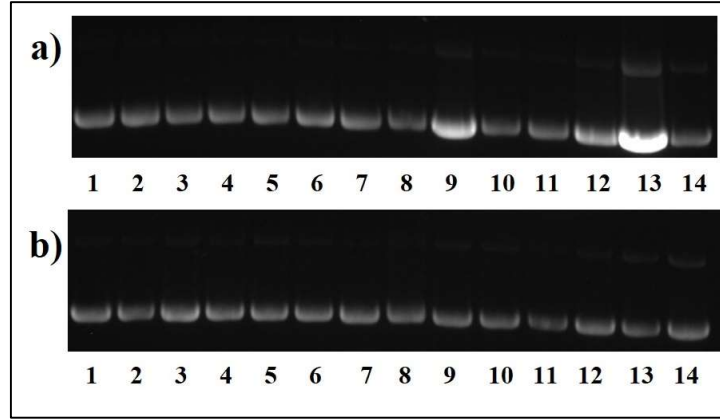
Şekil 30. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA fotonükleaz aktivitesi (beyaz ışık). **(a)** 30 dakika inkübasyon ve **(b)** 60 dakika inkübasyon. Bant 1: DNA kontrol; bant 2: DNA + 3PY-7a-SiQ (1 μ M); bant 3: DNA + 3PY-7a-SiQ (10 μ M); bant 4: DNA + 3PY-7a-SiQ (50 μ M); bant 5: DNA + 3PY-7a-SiQ (100 μ M); bant 6: DNA + 3PY-8a-SiQ (1 μ M); bant 7: DNA + 3PY-8a-SiQ (10 μ M); bant 8: DNA + 3PY-8a-SiQ (50 μ M); bant 9: DNA + 3PY-8a-SiQ (100 μ M); bant 10: DNA + MM (1 μ M); bant 11: DNA + MM (10 μ M); bant 12: DNA + MM (50 μ M); bant 13: DNA + MM (100 μ M).



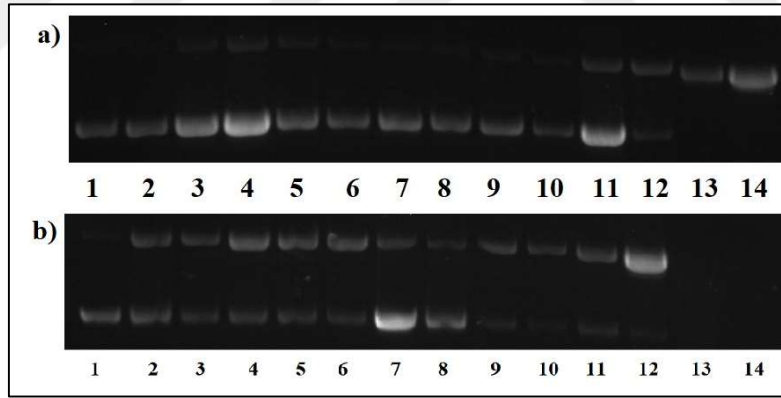
Şekil 31. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA fotonükleaz aktivitesi (kırmızı ışık). **(a)** 30 dakika inkübasyon ve **(b)** 60 dakika inkübasyon. Bant 1: DNA kontrol; bant 2: DNA + 3PY-7a-SiQ (1 μ M); bant 3: DNA + 3PY-7a-SiQ (10 μ M); bant 4: DNA + 3PY-7a-SiQ (50 μ M); bant 5: DNA + 3PY-7a-SiQ (100 μ M); bant 6: DNA + 3PY-8a-SiQ (1 μ M); bant 7: DNA + 3PY-8a-SiQ (10 μ M); bant 8: DNA + 3PY-8a-SiQ (50 μ M); bant 9: DNA + 3PY-8a-SiQ (100 μ M); bant 10: DNA + MM (1 μ M); bant 11: DNA + MM (10 μ M); bant 12: DNA + MM (50 μ M); bant 13: DNA + MM (100 μ M).

4.4.3. Bileşiklerin Oksidatif Nükleaz/Fotonükleaz Aktivitesi

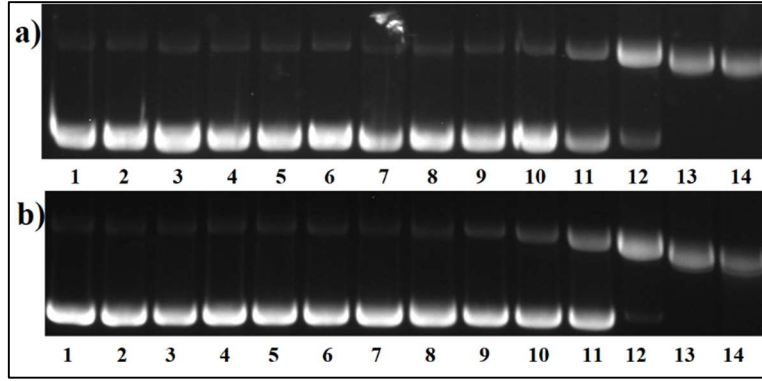
3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin hidrolitik ve fotonükleaz aktivitelerinin belirlenmesinin ardından, oksidatif nükleaz/fotonükleaz etkilerini incelemek amacıyla nükleaz reaksiyonları H_2O_2 ilavesiyle gerçekleştirilmiştir. Deneylerde pozitif kontrol olarak MM kullanılmıştır ve reaksiyonlar 30 ve 60 dakikalık inkübasyon sürelerinde değerlendirilmiştir. 3PY-7a-SiQ için 1, 10, 50 ve 100 μM konsantrasyonlarında herhangi bir belirgin oksidatif nükleaz aktivitesi gözlenmezken (Şekil 33 (a ve b), bant 3–6), 3PY-8a-SiQ için de aynı konsantrasyonlarda oksidatif nükleaz aktivitesi tespit edilmemiştir (Şekil 32 (a ve b), bant 7–10). Bileşiklerin varlığında yapılan ışık maruziyeti sonrası oksidatif fotonükleaz etkinliği analiz edilmiş ve sonuçlar Şekil 33'te sunulmuştur. 30 dakikalık ışık uygulaması sonrasında negatif kontrol bantlarında herhangi bir değişiklik gözlenmezken, 3PY-7a-SiQ bileşiğinde artan konsantrasyonlarla süpersarmal (Sc) DNA yüzdesinde azalma başlamıştır; 3PY-8a-SiQ varlığında ise 30 dakika ışık maruziyetinde herhangi bir değişim kaydedilmemiştir. Işık maruziyeti süresi 60 dakikaya çıkarıldığında, indükleyici ajan H_2O_2 ile her iki bileşik de Form I yüzdesinde belirgin azalmalar yaratmıştır. 3PY-7a-SiQ'de Form I yüzdesi %47.30'dan %27.50'ye düşerken, 3PY-8a-SiQ'de en yüksek konsantrasyonda Form I tamamen bozunmaya uğramıştır. Bu sonuçlar, 60 dakikalık ışık maruziyetinde ve indükleyici ajan varlığında her iki bileşiğin DNA'yı etkili bir şekilde hasarladığını ortaya koymaktadır. Şekil 34'te ise kırmızı ışık uyarılması sonucu bileşiklerin varlığında oksidatif fotonükleaz etkinliği görülmediği belirlenmiştir.



Şekil 32. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA oksidatif nükleaz aktivitesi. **(a)** 30 dakika inkübasyon ve **(b)** 60 dakika inkübasyon. Bant 1: DNA kontrol; bant 2: DNA + H₂O₂; bant 3: DNA + 3PY-7a-SiQ (1 μM) + H₂O₂; bant 4: DNA + 3PY-7a-SiQ (10 μM) + H₂O₂; bant 5: DNA + 3PY-7a-SiQ (50 μM) + H₂O₂; bant 6: DNA + 3PY-7a-SiQ (100 μM) + H₂O₂; bant 7: DNA + 3PY-8a-SiQ (1 μM) + H₂O₂; bant 8: DNA + 3PY-8a-SiQ (10 μM) + H₂O₂; bant 9: DNA + 3PY-8a-SiQ (50 μM) + H₂O₂; bant 10: DNA + 3PY-8a-SiQ (100 μM) + H₂O₂; bant 11: DNA + MM (1 μM) + H₂O₂; bant 12: DNA + MM (10 μM) + H₂O₂; bant 13: DNA + MM (50 μM) + H₂O₂; bant 14: DNA + MM (100 μM) + H₂O₂.



Şekil 33. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA oksidatif fotonükleaz aktivitesi (beyaz ışık) **(a)** 30 dakika inkübasyon ve **(b)** 60 dakika inkübasyon. Bant 1: DNA kontrol; bant 2: DNA + H₂O₂; bant 3: DNA + 3PY-7a-SiQ (1 μM) + H₂O₂; bant 4: DNA + 3PY-7a-SiQ (10 μM) + H₂O₂; bant 5: DNA + 3PY-7a-SiQ (50 μM) + H₂O₂; bant 6: DNA + 3PY-7a-SiQ (100 μM) + H₂O₂; bant 7: DNA + 3PY-8a-SiQ (1 μM) + H₂O₂; bant 8: DNA + 3PY-8a-SiQ (10 μM) + H₂O₂; bant 9: DNA + 3PY-8a-SiQ (50 μM) + H₂O₂; bant 10: DNA + 3PY-8a-SiQ (100 μM) + H₂O₂; bant 11: DNA + MM (1 μM) + H₂O₂; bant 12: DNA + MM (10 μM) + H₂O₂; bant 13: DNA + MM (50 μM) + H₂O₂; bant 14: DNA + MM (100 μM) + H₂O₂.

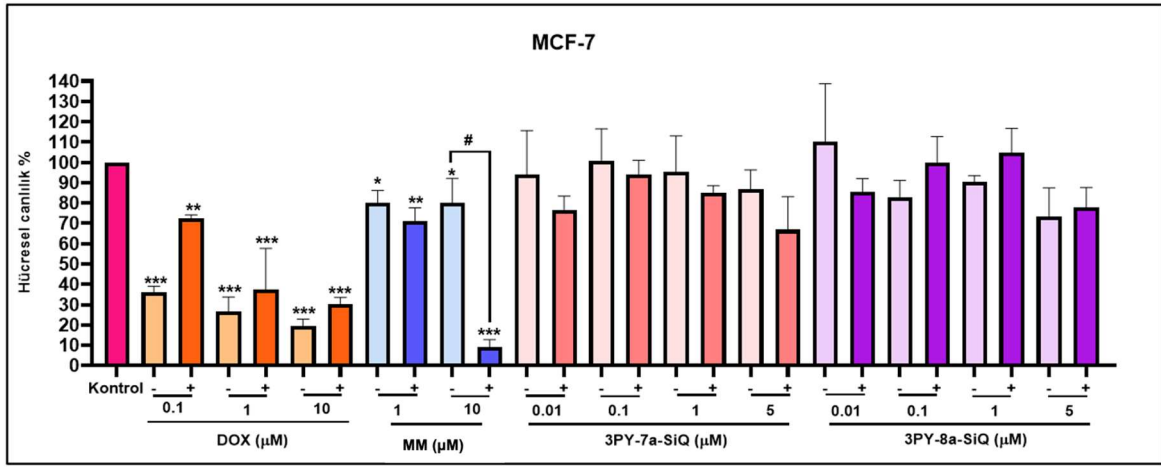


Şekil 34. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plazmid DNA oksidatif fotonükleaz aktivitesi (kırmızı ışık) **(a)** 30 dakika inkübasyon ve **(b)** 60 dakika inkübasyon. Bant 1: DNA kontrol; bant 2: DNA + H₂O₂; bant 3: DNA + 3PY-7a-SiQ (1 µM) + H₂O₂; bant 4: DNA + 3PY-7a-SiQ (10 µM) + H₂O₂; bant 5: DNA + 3PY-7a-SiQ (50 µM) + H₂O₂; bant 6: DNA + 3PY-7a-SiQ (100 µM) + H₂O₂; bant 7: DNA + 3PY-8a-SiQ (1 µM) + H₂O₂; bant 8: DNA + 3PY-8a-SiQ (10 µM) + H₂O₂; bant 9: DNA + 3PY-8a-SiQ (50 µM) + H₂O₂; bant 10: DNA + 3PY-8a-SiQ (100 µM) + H₂O₂; bant 11: DNA + MM (1 µM) + H₂O₂; bant 12: DNA + MM (10 µM) + H₂O₂; bant 13: DNA + MM (50 µM) + H₂O₂; bant 14: DNA + MM (100 µM) + H₂O₂.

4.5. Hücre Kültürü Çalışmaları

3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin de hiçbir konsantrasyonu, MCF-7 ve MCF-10A hücre hatlarında 24 saatlik maruziyet sonrası sitotoksik etki göstermemiştir (Şekil 35 ve 36). MCF-7 hücre hattında fototoksisite profilinin değerlendirilmesi amacıyla pozitif kontrol olarak kullanılan MM, 10 µM konsantrasyonda ışık maruziyeti sonrası istatistiksel olarak anlamlı fototoksisite ortaya koymuştur (*p<0.001). Ayrıca MM'nin 1–10 µM konsantrasyonları, ışık uygulanmayan koşullarda hücresel canlılığı kontrole kıyasla sırasıyla %80.08 ve %80.14'e düşürürken (p<0.05), ışık maruziyeti altında bu değerler sırasıyla %71.31 ve %9.04'e gerilemiştir (p<0.01; p<0.001). MM'nin ışık uygulanan koşullarda MCF-7 hücrelerinde IC₅₀ değeri 4.08 µM olarak belirlenmiştir. Doksorubisin, ışık maruziyeti olmayan koşullarda hücresel canlılığı kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltmıştır (0.1 µM: %35.97 (p<0.001); 1 µM: %26.78 (p<0.001); 10 µM: %19.44 (p<0.001)). Işık maruziyetinin olmadığı koşullar altında DOX için IC₅₀ değeri 0.1 µM'nin altında olduğu tespit edilmiştir. Ancak doksorubisinin ışığa duyarlı bir bileşik olması nedeniyle, ışık maruziyeti sonrasında sitotoksik aktivitesinde azalma gözlenmiş ve bu koşullarda IC₅₀ değeri 0.68 µM olarak bulunmuştur. Bu bulguya ek olarak, beyaz ışık uygulanan koşullarda da doksorubisin, ışık uygulanmayan koşullardaki gibi, kontrole kıyasla hücre canlılığını istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltmıştır (0.1 µM: %72.66

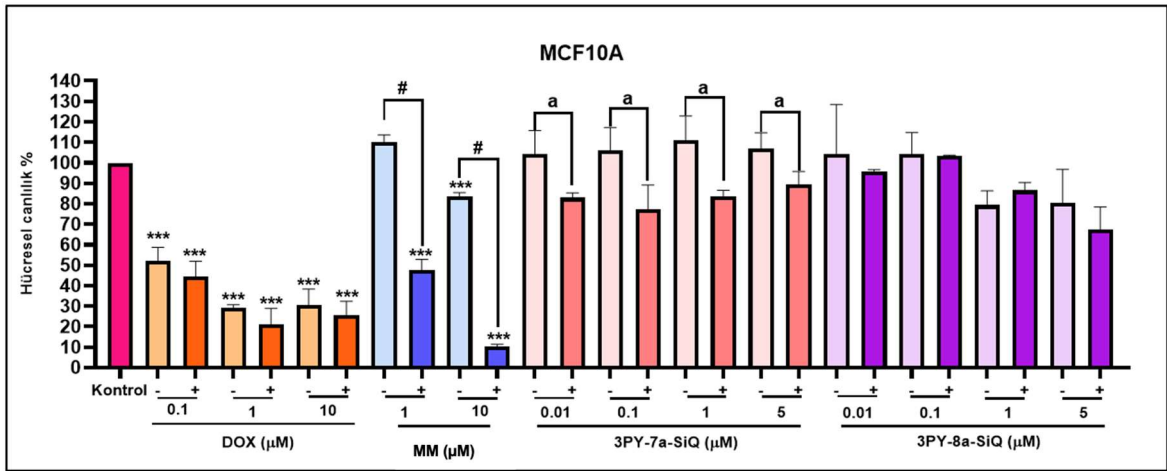
($p < 0.01$); 1 μM : %37.57 ($p < 0.001$); 10 μM : %30.17 ($p < 0.001$)). Ayrıca, 3PY-7a-SiQ bileşiğinin MCF-7 hücre hattına uygulandığı düzenekte tüm konsantrasyonlarda ışık maruziyeti sonrasında hücre canlılığında ışısız koşullara kıyasla bir azalma gözlenmiş olsa da, bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bir fototoksik profil göstermemiştir. 3PY-8a-SiQ bileşiğinde ise yalnızca 0.01 μM konsantrasyonda beyaz ışık uygulanan koşullarda hücresel canlılık, ışık uygulanmayan koşullara kıyasla azalma göstermiştir; ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 35).



Şekil 35. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin MCF-7 hücre hattında sitotoksikite ve fototoksitesisi. MB'nin aynı konsantrasyonunda beyaz ışık varlığı ve yokluğundaki gruplar arasındaki istatistiksel fark $\#p < 0.001$; Kontrol ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$. Kontrol: Negatif kontrol (DMSO %0.5; h/h); DOX: doksorubisin HCL; MB: MM; (-): Beyaz ışısız ortam; (+): Beyaz ışıklı ortam.

Şekil 36'da görüldüğü üzere, doksorubisin MCF-10A hücre hattında ışık uygulanmayan koşullarda hücresel canlılığı kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaltmıştır (0.1 μM : %52.00 ($p < 0.001$); 1 μM : %29.10 ($p < 0.001$); 10 μM : %30.40 ($p < 0.001$)) ayrıca IC_{50} değeri 0.18 μM hesaplanmıştır. Benzer şekilde, ışık maruziyeti altında da hücresel canlılıkta kontrole kıyasla anlamlı düşüşler gözlenmiştir (0,1 μM : %44.40 ($p < 0.001$); 1 μM : %21.00 ($p < 0.001$); 10 μM : %25.50 ($p < 0.001$)). MM, ışık uygulanmayan koşullarda yalnızca 10 μM konsantrasyonda hücresel canlılıkta istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya yol açmıştır (%83.60; $p < 0.001$). Ancak beyaz ışık maruziyeti sonrasında, MM her iki konsantrasyonda da canlılığı anlamlı düzeyde düşürmüştür (1 μM : %47.54 ($p < 0.001$); 10 μM : %10.10 ($p < 0.001$)). Pozitif kontrol olarak kullanılan MM test edilen her iki

konsantrasyonda da belirgin fototoksik etki göstermiştir ($p<0.001$). 3PY-7a-SiQ bileşiği, MCF-10A hücre hattında ışık maruziyeti sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir fototoksik aktivite sergilemiş ($p<0.05$), ancak bu sonuç bileşiğin selektif olmadığını ortaya koymuştur. Aynı zamanda 3PY-8a-SiQ, MCF-10A hücre hattında istatistiksel olarak anlamlı bir etki göstermemiştir. Her iki bileşik için, hem MCF-7 hem de MCF-10A hücrelerinde IC_{50} değerleri çözülebilir en yüksek konsantrasyon aralığında hesaplanamadığından selektivite indeksleri belirlenememiştir.



Şekil 36. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin MCF-10A hücre hattında sitotoksitesite ve fototoksitesitesi. MB'nin aynı konsantrasyonunda beyaz ışık varlığı ve yokluğundaki gruplar arasındaki istatistiksel fark ($^{\#}p<0.001$); Bileşiklerin aynı konsantrasyonlarında beyaz ışık varlığı ve yokluğundaki gruplar arasındaki istatistiksel fark ($^ap<0.05$); kontrol ve gruplar arasındaki istatistiksel farklar $^{***}p<0.001$. Kontrol: Negatif kontrol (DMSO %0.5; h/h); DOX: Doksorubisin HCl; MB: MM; (-): Beyaz ışıksız ortam; (+): Beyaz ışıklı ortam.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Meme kanseri, kadınlarda en sık teşhis edilen kötü huylu tümördür ve kötü huylu tümörden kaynaklanan ölüm nedenlerinde ilk sırada yer almaktadır (4). Meme kanseri için tedavi seçenekleri çeşitli olsa da her tedavinin yan etkileri ve olumsuz olaylara sebep olma özellikleri vardır. Meme kanseri tedavisinde son yıllarda kaydedilen ilerlemeler, tam anlamıyla tatmin edici çözümler ve sonuçlar vermemiştir. Bu nedenle yeni tedavi yaklaşımları üzerinde çalışmalar yapılması gerekmektedir (10). FDT, kanser tedavisinde yeni bir tedavi olarak son yıllarda büyük ilgi gören minimal invaziv bir terapötik yöntemdir. FDT, belirli bir dalga boyundaki ışıkla uyarıldıktan sonra, hedef dokuda ROS oluşturmak için moleküler oksijenle reaksiyona girerek hücre ölümüne neden olan fotoduyarlaştırıcılar kullanır (15).

Fotoduyarlaştırıcılar, FDT için anahtar unsurlardır. Bu moleküller tercihen tümörlerde birikmeli, yüksek singlet oksijen kuantum verimine sahip olmalı, karanlıkta düşük aktiviteye sahip olmalı, hasta vücudundan hızla elimine edilmeli, amfifilik özelliğe sahip olmalı ve yaklaşık 600-800 nm arasında bir ışık absorpsiyon zirvesine sahip olmalıdır (15). Bu kapsamda en sık tercih edilen molekül gruplarından biri olan ftalosiyanın halkasının merkezinde bulunan metal iyonu, bileşiğin kimyasal ve fiziksel özelliklerini oldukça etkilemektedir. Merkez kavitesinde silisyumun bulunduğu ftalosiyanın bileşiklerinin çeşitli kanser türlerine karşı etkilerinin incelendiği ve etkili olduğu *in vitro*, *in vivo* ve klinik çalışmalar literatürde bulunmaktadır (20-23). Bu çalışmamızda kullanmayı tercih ettiğimiz substitüe grup olan piridin analoglarının zengin biyolojik ve farmakolojik etkiye sahip olduğu bilinmektedir (24-27). Bunun yanı sıra aksiyal konumda konumlandırılan yan grup taşıyan bileşiklerin agregasyonu azaltması ve bu durumun FDT etkisinin arttıracığı düşünülmektedir. Ayrıca, piridin yapısında bulunan kuaterner amonyum yapıları bileşiklerin suda çözünürlüklerini arttırmaktadır. Suda çözünebilir fotoduyarlaştırıcı bileşikler FDT’de uygulama kolaylığı açısından da tercih edilmektedir.

Bu tez çalışması kapasamında suda çözünebilir piridin yan grubu içeren silisyum (IV) ftalosiyanın (3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ) bileşiklerinin FDT için uygun fotoduyarlaştırıcı bileşikler olup olmadığını belirlemek için ilk olarak fotokimyasal çalışmalar yapılmıştır. Singlet oksijen kuantum verimi, etkili bir fotoduyarlaştırıcının değerlendirilmesinde dikkate alınan en kritik parametrelerden biri olarak kabul edilmektedir (71). Bu nedenle DMSO içerisinde çözülen 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin

singlet oksijen kuantum verimleri DPBF kullanılarak ölçülmüştür. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerin singlet oksijen verimleri 3PY-7a-SiQ için $\Phi_{\Delta} = 0.181$ ve 3PY-8a-SiQ için ise $\Phi_{\Delta} = 0.168$ hesaplanmıştır. 2017 yılında Ömeroğlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada düz (aksiyalsiz) SiPcCl₂'nin Φ_{Δ} 'si 0.15 olarak belirlenmiştir (72). Bu sonuçla kıyaslandığında piridin yan grubunun singlet oksijen kuantum verimini bir miktar arttırdığı düşünülmektedir. Ayrıca FDT'de kullanılan moleküllerin agregasyon göstermesi nedeniyle singlet oksijen kuantum verimi olumsuz etkilenir. Agregasyon potansiyeli açısından, 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşikleri incelenmiştir. Bu doğrultuda, bileşiklerin DMSO çözeltisinde UV-Vis spektroskopi analizleri gerçekleştirilmiştir. Her iki bileşik de spektral olarak herhangi bir agregasyon belirtileri göstermemiştir.

Fotoduyarlaştırıcılar için fotokararlılık, singlet oksijen üretme yetenekleri kadar önemlidir. Fotoduyarlaştırıcılar, ışığa maruz kaldıklarında fotobozunmaya uğrayabilmektedir (73). Bileşikler, ışığa bağlı bozunmaya karşı dirençlerini değerlendirmek amacıyla 3600 saniye boyunca yoğun ışığa maruz bırakılmıştır. Deneyler DMSO ortamında gerçekleştirilmiş ve absorbansın zamana göre değişimi izlenmiştir. Işınlama süresi sonunda 3PY-7a-SiQ bileşiğinin Q-band absorbansında %6.9'luk bir azalma gözlemlenirken, 3PY-8a-SiQ bileşiğinin Q-band absorbansında %9.5 oranında bir kayıp göstermiştir. Her iki bileşik için fotobozunma kuantum verimleri 3PY-7a-SiQ için $\Phi_d = 0.64 \times 10^{-5}$ ve 3PY-8a-SiQ için $\Phi_d = 1.28 \times 10^{-5}$ olarak hesaplanmıştır. Değirmencioğlu ve arkadaşlarının çalışmasında ise Bileşik 9 ve Bileşik 10'un Φ_d değerleri sırasıyla 1.40×10^{-5} ve 2.19×10^{-5} olarak raporlanmıştır (74). Bu çalışmayla kıyaslandığında 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin daha az fotobozunmaya uğradığı gözlemlenmiştir.

DNA, canlı organizmalarda genetik bilgiyi taşıyan temel biyomoleküldür. Gen mutasyonları, onarım mekanizmalarındaki aksaklıklar ve kontrolsüz hücre çoğalması gibi durumlarda kritik bir rol oynar. DNA'da meydana gelen geri dönüşü olmayan değişiklikler ise kanser gelişiminde önemli etkiler gösterir. Bu nedenle, antikanser ilaç tasarımı, DNA ile bileşikler arasındaki etkileşimlerin incelenmesi büyük bir öneme sahiptir (75, 76). Bu kapsamda bileşiklerin DNA bağlanma etkileşimlerini değerlendirmek için UV-Vis absorpsiyon bağlanma çalışması ve agaroz jel elektroforez bağlanma çalışması gerçekleştirilmiştir. UV-Vis absorpsiyon bağlanma çalışmasında, bileşiklerin tampon çözeltisine kademeli olarak artan konsantrasyonlarda CT-DNA eklenmiş ve bu ilavelerin absorpsiyon spektrumları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, her iki

bileşik için de hipokromizm gerçekleştiği gözlemlenmiştir. 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin K_b değerleri sırasıyla $1.51 \pm (0.02) \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ve $5.52 \pm (0.07) \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar 3PY-7a-SiQ bileşiğinin 3PY-8a-SiQ bileşiğine göre CT-DNA'ya daha iyi bağlandığını göstermektedir. 3PY-7a-SiQ bileşiğinin K_b değerinin 10^5 'ten büyük olması kovalent bir bağlanma olabileceğini gösterirken, 3PY-8a-SiQ bileşiğinin K_b değerinin 10^3 'ten küçük olması kovalent olmayan bir bağlanma olduğunu göstermektedir. 3PY-7a-SiQ bileşiğinde iki piridin yan grubunun bulunmasına karşın, 3PY-8a-SiQ bileşiğinde yalnızca bir piridin yan grubu yer almaktadır; bu durum, piridin grubunun DNA'ya bağlanmayı kolaylaştırıcı bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir.

Bileşiklerin CT-DNA bağlanma özelliklerini belirlemek amacıyla yapılan bir diğer çalışma da agaroz jel elektroforez tekniğidir. Bu çalışmada, CT-DNA konsantrasyonu sabit tutularak bileşiklerin artan konsantrasyonları ilave edilmiştir; ardından CT-DNA'nın jel üzerindeki bant yoğunlukları gözlemlenmiştir. Bileşikler CT-DNA ile kuvvetli etkileşim gerçekleştirdiklerinde, CT-DNA'yı doygunluğa ulaştırıp etidyum bromür ile bağlanmasını engelleyerek CT-DNA'nın elektroforez jeli üzerindeki görünürlüğünü azaltır (77,78). Çalışmada pozitif kontrol olarak MM kullanılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde 3PY-7a-SiQ bileşiğinin bant yoğunluğunda 3PY-8a-SiQ bileşiğine göre daha fazla azalma olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar UV-Vis absorpsiyon bağlanma deneyindeki sonuçları desteklemiştir. Bileşikler pozitif kontrol ile kıyaslandığında pozitif kontrol kadar etkili bir bağlanma gerçekleştirmedikleri gözlemlenmiştir.

DNA zincirinin kesilmesi, DNA'nın modifikasyonu ve kanser gelişiminin önlenmesi açısından önemli bir stratejidir. DNA üzerinde oluşturulan hasar, replikasyon ve transkripsiyon süreçlerini engelleyerek hücreleri apoptoz veya nekroz yoluna yönlendirebilir ve böylece kanserli hücrelerin kontrolsüz çoğalmasını engelleyebilir (75). DNA'nın nükleaz aktivitesi, üç farklı mekanizma ile gerçekleşebilir. Bunlar; fosfodiester bağlarının hidrolizi yoluyla meydana gelen hidrolitik kesim, deoksiriboz veya bazların oksidasyonu ile gerçekleşen oksidatif kesim ve son olarak ışık etkisi altında oluşan fotokesimdir (79). Bileşiklerin nükleaz aktivitelerini belirlemek için agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır. Bu çalışmada bileşiklerin nükleaz aktivitelerini belirlemek için pBR322 plazmid DNA kullanılmıştır. Süpersarmal plazmid DNA elektroforeze maruz kaldığında, süpersarmal form (Sc) en hızlı şekilde ilerlemektedir. DNA ışık veya kimyasal maddelerle etkileştiğinde tek zincirde kırılma olursa kırık form (Nc) oluşur ve bu form en yavaş ilerleyen

yapıdır. Eğer çift zincir kırılırsa çizgisel form (Lc) ortaya çıkar ve bu form Sc ile Nc arasında bir hıza sahiptir (64).

Bu çalışmada, öncelikle 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plasmid DNA'nın fosfodiester bağlarını hidroliz yoluyla kesebilme yetenekleri, hidrolitik nükleaz denemeleri ile zamana ve konsantrasyona bağlı olarak değerlendirilmiştir. 30 ve 60 dakikalık inkübasyon süreleri sonrasında her iki bileşikte de belirgin bir hidrolitik nükleaz aktivitesi gözlenmemiştir. Daha sonra, 3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin süpersarmal pBR322 plasmid DNA üzerindeki ışığa bağımlı nükleaz etkilerini incelemek amacıyla fotonükleaz denemeleri gerçekleştirilmiştir. Bileşikler 30 ve 60 dakika boyunca beyaz (4.9 mW/cm²) ve kırmızı (4.5 mW/cm²) ışığa maruz bırakılmış, ancak her iki bileşikte de belirgin bir fotonükleaz aktivitesi gözlenmemiştir. Hidrolitik ve fotonükleaz aktivitelerinin belirlenmesinin ardından, oksidatif nükleaz ve fotonükleaz etkilerini incelemek amacıyla nükleaz reaksiyonları H₂O₂ ilavesi ile gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, bileşiklerin oksidatif nükleaz aktiviteleri, 30 ve 60 dakika boyunca H₂O₂ ile inkübe edilerek belirlenmiştir. Her iki bileşik için de oksidatif nükleaz aktivitesi tespit edilmemiştir. Daha sonra, oksidatif fotonükleaz aktivitelerini değerlendirmek amacıyla bileşikler 30 ve 60 dakika boyunca beyaz (4.9 mW/cm²) ve kırmızı (4.5 mW/cm²) ışığa maruz bırakılmıştır. 30 dakikalık beyaz ışık uygulaması sonrası negatif kontrol bantlarında herhangi bir değişiklik gözlenmezken, 3PY-7a-SiQ'de artan konsantrasyonlarla süpersarmal (Sc) DNA yüzdesinde azalma başlamıştır. 3PY-8a-SiQ varlığında ise 30 dakikalık beyaz ışık maruziyetinde herhangi bir değişim kaydedilmemiştir. Beyaz ışık maruziyeti süresi 60 dakikaya çıkarıldığında, indükleyici ajan H₂O₂ ile her iki bileşik de Form I DNA yüzdesinde belirgin azalmalar yaratmıştır. 3PY-7a-SiQ'de Form I yüzdesi %47.30'dan %27.50'ye düşerken, 3PY-8a-SiQ'de en yüksek konsantrasyonda Form I tamamen bozunmaya uğramıştır. Bu sonuçlar, 60 dakikalık beyaz ışık maruziyeti ve indükleyici ajan varlığında her iki bileşiğin DNA üzerinde etkili bir şekilde hasar oluşturduğunu göstermektedir. Kırmızı ışık uyarısı altında ise oksidatif fotonükleaz etkinliği gözlenmemiştir.

Bileşiklerin MCF-7 hücre hattı üzerindeki *in vitro* sitotoksik ve fototoksik etkileri MTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. MTT, canlı hücreler tarafından aktif olarak alınan ve mitokondriyal süksinat dehidrogenaz enzimi aracılığıyla suda çözünmeyen mavi-mor formazana indirgenen bir maddedir. Deney sonucu oluşan renk değişimi, 570 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmektedir ve elde edilen değerler, canlı hücre sayısı ile ilgili

bilgi vermektedir (80). İdeal bir fotoduyarlastırıcı karanlıkta düşük, ışık varlığında ise yüksek toksisite göstermelidir. Ayrıca sağlıklı hücrelere de minimal invaziv etki göstermelidir. Bu nedenle bu çalışmada sağlıklı hücre hattı olarak da MCF-10A kullanılmıştır. MCF-7 ve MCF-10A hücre hatları bileşiklerin farklı konsantrasyonlarına 24 saat maruz bırakılmıştır. Fototoksitesite değerlendirmesi için ise aynı şekilde ekilen hücreler, belirtilen konsantrasyonlara 2 saat maruz bırakıldıktan sonra 1 saat beyaz ışığa maruz bırakılmıştır ve 24 saatlik inkübasyonu devam etmiştir.

3PY-7a-SiQ ve 3PY-8a-SiQ bileşiklerinin çalışılan konsantrasyonlarında, MCF-7 ve MCF-10A hücre hatlarında 24 saatlik maruziyet sonrası sitotoksik etki göstermemiştir. 3PY-7a-SiQ bileşiğinin MCF-7 hücre hattına uygulandığı düzenekte tüm konsantrasyonlarda ışık maruziyeti sonrasında hücre canlılığında ışısız koşullara kıyasla bir azalma gözlenmiş olsa da bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bir fototoksik profil göstermemiştir. 3PY-8a-SiQ bileşiğinde ise yalnızca 0.01 μ M konsantrasyonda beyaz ışık uygulanan koşullarda hücresel canlılık, ışık uygulanmayan koşullara kıyasla azalma göstermiştir; ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 3PY-7a-SiQ bileşiği, MCF-10A hücre hattında ışık maruziyeti sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir fototoksik aktivite sergilemiş ($p < 0.05$), ancak bu sonuç bileşiğin selektif olmadığını ortaya koymuştur. Aynı zamanda 3PY-8a-SiQ, MCF-10A hücre hattında istatistiksel olarak anlamlı bir etki göstermemiştir. Her iki bileşik için, hem MCF-7 hem de MCF-10A hücrelerinde IC_{50} değerleri çözülebilir en yüksek konsantrasyon aralığında hesaplanamadığından selektivite indeksleri belirlenememiştir.

Sentezlenen bileşiklerin hedeflenen hücrelerde belirgin sitotoksik ve fototoksik etkiler göstermemesi birkaç olası mekanizmayla açıklanabilir. Yapılan deneyler sonucunda bileşiklerin singlet oksijen kuantum verimlerinin düşük olduğu görülmüş olup, bu durum bileşiklerin FDT potansiyellerini önemli ölçüde sınırlamaktadır. Bileşiklerin kimyasal yapıları, singlet oksijen üretimi için gerekli fotofiziksel özellikleri yeterince desteklememiş ve hedeflenen biyolojik mekanizmaların etkin şekilde gerçekleşmesine olanak sağlamamış olabilir. Ayrıca kullanılan konsantrasyon ve ışık dozu, bileşiklerin gerçek etkinliğini ortaya koyacak düzeyde olmayabilir. Bileşiklerin hücre içine alım verimleri düşük olabilir, bu nedenle yeterli etki göstermemiş olabilirler. İlerleyen çalışmalarda bileşiklerin singlet oksijen kuantum verimlerini ve hücre içine girişlerini arttırmaya yönelik yapısal modifikasyonlar yapılması, FDT açısından daha güçlü sonuçlar elde edilmesini sağlayabilir.

Ayrıca farklı ışık dalga boylarının, ışık yoğunluklarının ve inkübasyon sürelerinin test edilmesi optimum sonuçların belirlenmesine katkı sunacaktır. Bunun yanı sıra bileşiklerin farklı hücre hatlarında değerlendirilmesi, olası biyolojik aktivitelerinin daha kapsamlı şekilde anlaşılmasını sağlayacaktır. Tüm bu iyileştirmeler, bileşiklerin FDT potansiyellerinin daha doğru bir şekilde belirlenmesine katkı sağlayacaktır.



6. KAYNAKLAR

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a Cancer Journal for Clinicians* 71(3): 209-249.
2. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, Jemal A (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a Cancer Journal for Clinicians* 74(3): 229-263.
3. World Health Organization (2025). Available from: <https://gco.iarc.fr/en>. [Accessed 22 October 2025].
4. Smolarz B, Nowak AZ, Romanowicz H (2022). Breast cancer—epidemiology, classification, pathogenesis and treatment (review of literature). *Cancers* 14(10): 2569.
5. Konduri S, Singh M, Bobustuc G, Rovin R, Kassam A (2020). Epidemiology of male breast cancer. *The Breast* 54: 8-14.
6. Lei S, Zheng R, Zhang S, Wang S, Chen R, Sun K, Zeng H, Zhou J, Wei W (2021). Global patterns of breast cancer incidence and mortality: A population-based cancer registry data analysis from 2000 to 2020. *Cancer Communications* 41(11): 1183-1194.
7. da Costa Nunes GG, de Freitas LM, Monte N, Gellen LPA, Santos AP, de Moraes FCA, da Costa ACA, de Lima MC, dos Santos SEB, dos Santos NPC (2024). Genomic variants and worldwide epidemiology of breast cancer: a genome-wide association studies correlation analysis. *Genes* 15(2): 145.
8. Hong R, Xu B (2022). Breast cancer: an up-to-date review and future perspectives. *Cancer Communications* 42(10): 913-936.
9. Nolan E, Lindeman GJ, Visvader JE (2023). Deciphering breast cancer: from biology to the clinic. *Cell* 186(8): 1708-1728.
10. Burguin A, Diorio C, Durocher F (2021). Breast cancer treatments: updates and new challenges. *Journal of Personalized Medicine* 11(8): 808.
11. Park M, Kim D, Ko S, Kim A, Mo K, Yoon H (2022). Breast cancer metastasis: mechanisms and therapeutic implications. *International journal of molecular sciences* 23(12): 6806.

12. Garg P, Singhal G, Horne D, Salgia R, Singhal SS (2025). Metabolic reprogramming in breast cancer: Pathways driving progression, drug resistance, and emerging therapeutics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer* 189396.
13. Boers-Doets CB, Wiseman T, Radia B, Hammond R (2024). Early recognition and management of side effects related to systemic anticancer therapy for advanced breast cancer. In *Seminars in Oncology Nursing* 40(1): 151553.
14. Mutebi M, Anderson BO, Duggan C, Adebamowo C, Agarwal G, Ali Z, ... Eniu A (2020). Breast cancer treatment: A phased approach to implementation. *Cancer* 126: 2365-2378.
15. Correia JH, Rodrigues JA, Pimenta S, Dong T, Yang Z (2021). Photodynamic therapy review: principles, photosensitizers, applications, and future directions. *Pharmaceutics* 13(9): 1332.
16. Niculescu AG, Grumezescu AM (2021). Photodynamic therapy—an up-to-date review. *Applied Sciences* 11(8): 3626.
17. Jiang W, Liang M, Lei Q, Li G, Wu S (2023). The current status of photodynamic therapy in cancer treatment. *Cancers* 15(3): 585.
18. Banerjee SM, El-Sheikh S, Malhotra A, Mosse CA, Parker S, Williams NR, MacRobert AJ, Hamoudi R, Bown SG, Keshtgar MRS (2020). Photodynamic therapy in primary breast cancer. *Journal of Clinical Medicine* 9(2): 483.
19. Algorri JF, Ochoa M, Roldan-Varona P, Rodriguez-Cobo L, Lopez-Higuera JM (2021). Photodynamic therapy: a compendium of latest reviews. *Cancers* 13(17): 4447.
20. Baron ED, Malbasa CL, Santo-Domingo D, Fu P, Millet JD, Hanneman KK, Hsia AH, Oleinick NL, Colussi VC, Cooper KD (2010). Silicon phthalocyanine (Pc 4) photodynamic therapy is a safe modality for cutaneous neoplasms: results of a phase 1 clinical trial. *Lasers in Surgery and Medicine* 42(10): 888-895.
21. Dong W, Li K, Wang S, Qiu L, Liu Q, Xie M, Lin J (2021). Targeted photodynamic therapy (PDT) of lung cancer with biotinylated silicon (IV) phthalocyanine. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 22(3): 414-422.
22. Baş H, Biyiklioglu Z, Barut B, Yalçın CÖ, Özel A (2023). Highly water soluble axial disubstituted silicon(IV) phthalocyanine, naphthalocyanine: Synthesis, DNA interaction and anticancer effects against human lung (A549), liver (SNU-398), melanoma (SK-MEL128), prostate (DU-145), breast (BT-20) cell lines. *Inorganic Chemistry Communications* 156: 111139.

23. Balcik-Ercin P, Ekiner G, Salik N, Aydoğdu B, Yagci T, Göksel M (2023). Arginine mediated photodynamic therapy with silicon(IV) phthalocyanine photosensitizers. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 43: 103667.
24. Paranikyan EG, Noravanyan AS, Dzhagatspany IA, Nazaryan IM (2002). Synthesis and anticovulsant activity of isothiazolo-[5,4-b]-pyrano (thiopyrano)-[4,3-d]-pyridine and isothiazolo [4,5-b]-2,7- naphthyridine derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 36(9): 465–467.
25. Bernardino AMR, da Silva Pinherio LC, Rodrigues CR, Loureiro NI, Castro HC, Lanfredi-Rangel A, Sabatini-Lopes J, Borges JC, Carvalho JM, Romerio GA, Ferreira VF, Frugulhetti ICPP, Vannier-Santos MA (2006). Design, synthesis, SAR, and biological evaluation of new 4- (phenylamino)thieno[2,3- b]pyridine derivatives. *Bioorganic Medicinal Chemistry* 14: 5765–5770.
26. Firke S, Firake B, Chaudhari R, Patil V (2009). Synthetic and pharmacological evaluation of some pyridine containing thiazolidinones. *Asian Journal of Research in Chemistry* 2: 157–161.
27. Vrabel M, Hocek M, Havran L, Fojta M, Votruba I, Klepetarova B (2007). Purines bearing phenanthroline or bipyridine ligands and their ruii complexes in position 8 as model compounds for electrochemical dna labeling e synthesis, crystal structure, electrochemistry, quantum chemical calculations, cytostatic and antiviral activity. *European Journal Inorganic Chemistry* 12: 1752–1769.
28. National Cancer Institute (2025). Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>. [Accessed 22 September 2025].
29. World Health Organization (2025). Available from: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1. [Accessed 22 September 2025].
30. World Health Organization (2025). Available from: <https://gco.iarc.fr/today/en>. [Accessed 22 September 2025].
31. Majérus MA (2022). The cause of cancer: The unifying theory. *Advances in Cancer Biology-Metastasis* 4: 100034.
32. Saini A, Kumar M, Bhatt S, Saini V, Malik A (2020). Cancer causes and treatments. *International Journal Pharmaceutical Sciences Research* 11(7): 3121-3134.
33. Bahrami H, Tafrihi M. (2023). Global trends of cancer: The role of diet, lifestyle, and environmental factors. *Cancer Innovation* 2(4): 290-301.

34. Hanahan D, Weinberg RA (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144(5): 646-674.
35. World Health Organization (2025). Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>. [Accessed 22 September 2025].
36. Arzanova E, Mayrovitz HN (2022). The epidemiology of breast cancer. *Exon Publications* 1-19.
37. National Cancer Institute (2025). Available from: https://www.cancer.gov/types/breast/patient/breast-treatment-pdq#_185. [Accessed 22 September 2025].
38. American Cancer Society (2025). Available from: <https://www.cancer.org/cancer/types/breast-cancer/treatment.html>. [Accessed 22 September 2025].
39. Mokoena DR, George BP, Abrahamse H (2021). Photodynamic therapy induced cell death mechanisms in breast cancer. *International Journal of Molecular Sciences* 22(19): 10506.
40. Shang L, Zhou X, Zhang J, Shi Y, Zhong L (2021). Metal nanoparticles for photodynamic therapy: A potential treatment for breast cancer. *Molecules* 26(21): 6532.
41. Karbasi M, Varzandeh M, Karbasi M, Mobarakeh AI, Falahati M, Hamblin MR (2024). Photodynamic therapy based on metal-organic framework in cancer treatment: A comprehensive review of integration strategies for synergistic combination therapies. *Nano-Structures & Nano-Objects* 40: 101315.
42. Oluwajembola AM, Cleanclay WD, Onyia AF, Chikere BN, Zakari S, Ndifreke E, De Campos OC (2024). Photosensitizers in photodynamic therapy: An advancement in cancer treatment. *Results in Chemistry* 10: 101715.
43. National Library of Medicine Available from: <https://clinicaltrials.gov/>. [Accessed 22 September 2025].
44. Oniszczyk A, Wojtunik-Kulesza KA, Oniszczyk T, Kasprzak K (2016). The potential of photodynamic therapy (PDT)—Experimental investigations and clinical use. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 83: 912-929.
45. Ostańska E, Aebischer D, Bartusik-Aebischer D (2021). The potential of photodynamic therapy in current breast cancer treatment methodologies. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 137: 111302.

46. Akbulut S (2018). Pankreas kanseri tedavisinde photolon güdümlü fotodinamik terapinin uygulaması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul.
47. Seyhan G, Barut B, Keleş T, Biyiklioğlu Z (2025). *In Vitro/In Vivo* Cancer Studies of Phthalocyanines in Photodynamic Therapy: A Review. *ChemistrySelect* 10(26): e01168.
48. Puttaningaiah KPCH, Hur J (2024). Opportunities and challenges of metal phthalocyanines composites in photodynamic therapy as photosensitizers: A comprehensive review. *Inorganic Chemistry Communications* 170: 113491.
49. Liu Z, Lin X, Wang H, Zhang P (2025). Structure-property relationships of main-group element phthalocyanines in photo/sono-driven cancer therapy. *Coordination Chemistry Reviews* 544: 216969.
50. Sarı C, Nalçaoğlu A, Değirmencioğlu İ, Eyüpoğlu FC (2021). Tumor-selective new piperazine-fragmented silicon phthalocyanines initiate cell death in breast cancer cell lines. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 216: 112143.
51. Nalçaoğlu A, Sarı C, Değirmencioğlu İ, Eyüpoğlu FC (2022). Novel piperazine-substituted silicon phthalocyanines exert anti-cancer effects against breast cancer cells. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 37: 102734.
52. Zhou Y, Zeng W, Wang M, Li R, Yue X, Dai Z (2022). Ultrasmall pH-responsive silicon phthalocyanine micelle for selective photodynamic therapy against tumor. *Journal of Innovative Optical Health Sciences* 15(06): 2250035.
53. Balcik-Ercin P, Ekineker G, Salik N, Aydoğdu B, Yagci T, Göksel M (2023). Arginine mediated photodynamic therapy with silicon (IV) phthalocyanine photosensitizers. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 43: 103667.
54. Wu H, Liu G, Chen K, Zhang T, Ye Q, Chen J, Peng Y (2023). A piperazine-substituted phthalocyanine with rapid cellular uptake and dual organelle-targeting for in vitro photodynamic therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 44: 103818.
55. Xu L, Zhang T, Huang B, Zheng F, Huang Y, Li Y, Peng Y, Chen L (2023). Chlorophenyl thiophene silicon phthalocyanine: Synthesis, two-photon bioimaging-guided lysosome target, and in vitro photodynamic efficacy. *Frontiers in Pharmacology* 14: 1168393.
56. Zheng F, Huang Y, Shen Y, Chen G, Peng Y, Zhuang X (2023). Fluorinated triphenylamine silicon phthalocyanine nanoparticles with two-color imaging guided in

- vitro photodynamic therapy through lysosomal dysfunction. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 43: 103734.
57. Huang Y, Liu G, Zheng F, Chen J, Lin Y, Wang J, Huang Y, Peng Y (2024). Asymmetric silicon phthalocyanine based nanoparticle with spatiotemporally targeting of mitochondria for synergistic apoptosis-ferroptosis antitumor treatment. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 238: 113890.
58. Biyiklioglu Z, Baş H, şahin H (2022). Non-aggregated and water soluble axially disubstituted silicon phthalocyanines: Synthesis and inhibitory effect on acetylcholinesterase enzyme. *Applied Organometallic Chemistry* 36: e6668.
59. şakır D, şakır V, Biyiklioglu Z, Durmuş M, Kantekin H (2013). New water soluble cationic zinc phthalocyanines as potential for photodynamic therapy of cancer. *J Organomet Chem* 745: 423-431.
60. Baygu Y, Kabay N, Kabay B, Yıldız B, Ömeroğlu İ, Durmuş M, Gök Y (2023). Synthesis, characterization and investigation of photochemical and in vitro antiproliferative properties of novel Zn (II) phthalocyanine. *Journal of Molecular Structure* 1271: 134010.
61. Barut B, Sofuoğlu A, Bıyıklıoğlu Z, Özel A (2016). The water soluble peripherally tetra-substituted zinc(II), manganese(III) and copper(II) phthalocyanines as new potential anticancer agents. *Dalton Transactions* 45: 14301-14310.
62. Bıyıklıoğlu Z, Barut B, Özel A (2018). Synthesis, DNA/BSA binding and DNA photocleavage properties of water soluble BODIPY dyes. *Dyes Pigm* 148: 417-428.
63. Baş H, Barut B, Biyiklioglu Z, Özel A (2019). Synthesis, DNA interaction, topoisomerase I, II inhibitory and cytotoxic effects of water soluble silicon (IV) phthalocyanine and naphthalocyanines bearing 1-acetylpiperazine units. *Dyes and Pigments* 160: 136-144.
64. Fu X, Zhang J, Liu D, Gan Q, Gao H, Mao Z, Le X (2015). Cu (II)-diptide complexes of 2-(4'-thiazoly)benzimidazole: Synthesis, DNA oxidative damage, antioxidant and in vitro antitumor activity. *J Inorg Biochem* 143: 77-87.
65. Barut B (2016). Suda çözünür Ti (IV) ftalosiyenin bileşiklerinin DNA bağlanma, DNA kesim, antioksidan, antimikrobiyal aktivitelerinin ve topoizomerez I inhibisyonunun incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılıkta Biyokimya Anabilim Dalı, Trabzon.

66. Doğan İS, Sellitepe HE, Kayikci N, Sipahi H, Reis R, Yaylı N, (2018). Synthesis and Anticancer (Mcf-7, Pc-3) activities of new 2-hydroxy-2,2-bis(4-substitutedphenyl)-N'-[(1E)-(3/4-substitutedphenyl)methylene]-acetohydrazides. *Organic Communications* 11(3): 142-148.
67. Keles T, Seyhan G, Biyiklioglu Z, Kolci K, Reis R, Barut B (2024). Dendritic, Water-Soluble, and Nonaggregated Axially Substituted Silicon Phthalocyanine as Potential Endometrial Anticancer Agent. *Applied Organometallic Chemistry* 38(12): e7699.
68. Akkaya D, Barut B, Sari S, Reis R, Fazli H, Biyiklioglu Z, Özel A (2023). Synthesis and biological evaluation of novel zinc (II) and nickel (II) phthalocyanines as cholinesterase inhibitors. *Journal of Organometallic Chemistry* 995: 122742.
69. Reis R, Orak D, Yilmaz D, Cimen H, Sipahi H (2021). Modulation of cigarette smoke extract-induced human bronchial epithelial damage by eucalyptol and curcumin. *Human & Experimental Toxicology* 40(9): 1445–1462.
70. Shivran N, Tyagi M, Mula S, Gupta P, Saha B, Patro BS, Chattopadhyay S (2016). Syntheses and photodynamic activity of some glucose-conjugated BODIPY dyes. *Eur J Med Chem* 122: 352-365.
71. Caruso E, Banfi S, Barbieri P, Leva B, Orlandi VT (2012). Synthesis and antibacterial activity of novel cationic BODIPY photosensitizers. *J Photochem Photobiol B* 114: 44-51.
72. Ömeroğlu, İ., Kaya, E. N., Göksel, M., Kussovski, V., Mantareva, V., & Durmuş, M. (2017). Axially substituted silicon (IV) phthalocyanine and its quaternized derivative as photosensitizers towards tumor cells and bacterial pathogens. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 25(20), 5415-5422.
73. Yanık H, Göksel M, Yeşilot S, Durmuş M (2016). Novel phthalocyanine–BODIPY conjugates and their photophysical and photochemical properties. *Tetrahedron Lett* 57: 2922-2926.
74. Değirmencioğlu İ, İren K, Yalçın İ, Göl C, Durmuş M (2022). Synthesis of axially disubstituted silicon (IV) phthalocyanines and investigation of their photophysical and photochemical properties. *Journal of Molecular Structure* 1249: 131599.
75. Ali A, Bhattacharya S (2014). DNA binders in clinical trials and chemotherapy. *Bioorg Med Chem* 22: 4506-4521.
76. Pradeepa SM, Bhojya Naik HS, Kumar BV, Priyadarsini KI, Barik A, Jayakumar S (2015). Synthesis and characterization of cobalt(II), nickel(II) and copper(II)-based

potential photosensitizer: Evaluation of their DNA binding profile, cleavage and photocytotoxicity. *Inorg Chim Acta* 428: 138-146.

77. Bağda E, Yabaş E, Bağda E (2017). Analytical approaches for clarification of DNA-double decker phthalocyanine binding mechanism: As an alternative anticancer chemotherapeutic. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 172: 199-204.
78. Yabaş E, Bağda E, Bağda E (2015). The water soluble ball-type phthalocyanine as new potential anticancer drugs. *Dyes and Pigments* 120: 220-227.
79. Gowda S, Mathew B, Sudhamani CN Naik HSB (2014). Mechanism of DNA binding and cleavage. *Biomed Biotechnol* 2(1): 1-9.
80. Mosmann T (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 16: 55-63.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ceren BOĞUŞLU
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi :
Telefon :
Yazışma Adresi (İş) :

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılıkta Biyokimya Anabilim Dalı	-
Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2022
Lise	Yıldızlı Anadolu Lisesi	2018

YABANCI DİL

İngilizce

UZMANLIK ALANI

Biyokimya

YAYINLAR

1. Kaya Hİ, Boğuşlu C, Kabak E, Akkol C, Saka ET, Uzuner SÇ (2022). The effect of silicon phthalocyanine on cell death and mitochondrial membrane potential in pancreatic cancer cells. Turkish Journal of Analytical Chemistry 4(2): 111-115.
2. Seyhan G, Boğuşlu C, Yalçın CÖ, Bıyıklıoğlu Z, Barut B (2024). DNA Binding, nuclease/photonic nuclease, and phototoxicity properties of water soluble silicon (IV) phthalocyanine. Farabi Tıp Dergisi 3(4): 126-133.

3. Yalazan H, Seyhan G, Boğuşlu C, Barut B, Kantekin H (2025). Spectrophotometric in vitro cholinergic enzyme inhibitory potentials of novel functional Schiff bases and their peripheral CoII and CuII phthalocyanines in the treatment of Alzheimer's disease. Polyhedron 117567.
4. Yazici N, Yalçın CÖ, Seyhan G, Ali YA, Boğuşlu C, Duru M, Bozalan B, Çağatay NU, Maviş ME, Barut B (2025). Phytochemical analysis, antioxidant, enzyme inhibitory, and cytotoxicity properties of *Cardamine raphanifolia* subsp. acris. Chemistry & Biodiversity e202500133.

BURSLAR

1. TÜBİTAK, 2210 Yurt içi Yüksek Lisans Burs Programları, 2023-1.dönem bursiyeri

BİLDİRİLER

1. Sürmeneli AO, Boğuşlu C, Seyhan G, Gökkaya İ, Barut B, Renda G (2024). Evaluation of agricultural waste parts of Cucurbita species in terms of biological activity potential. 14th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS) (pp.112). Ankara, Türkiye