



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI

***Annona muricata* (Graviola) EKSTRAKTI YÜKLÜ
NANOPARÇACIKLARIN KANSER HÜCRELERİ
ÜZERİNDE ANTİPROLİFERATİF ETKİSİ**

Rana KÖKSAL

YÜKSEK LİSANS

KIRŞEHİR / 2019



T.C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İLERİ TEKNOLOJİLER ANABİLİM DALI

Annona muricata (Graviola) EKSTRAKTI YÜKLÜ
NANOPARÇACIKLARIN KANSER HÜCRELERİ
ÜZERİNDE ANTİPROLİFERATİF ETKİSİ

Rana KÖKSAL

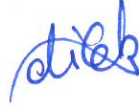
YÜKSEK LİSANS

DANIŞMAN
Doç. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN

KIRŞEHİR / 2019

Bu çalışma 12.06.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından İleri Teknolojiler Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

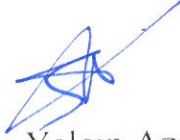
Tez Jürisi



Prof.Dr. Dilek Demirezen Yılmaz

Erciyes Üniversitesi

Fen Fakültesi



Doç.Dr. Serap Yalçın Azarkan

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Fen Edebiyat Fakültesi



Doç.Dr. Fahriye Ercan

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Ziraat Fakültesi

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek yazıldığını, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Tez çalışması Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü tarafından FEF.A4.17.018 kodlu proje ile desteklenmiştir.

RANA KÖKSAL



ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca hem ders hem de tez döneminde yardımını esirgemeyen, tez çalışma konusunu, tez çalışması, kaynak araştırması ve tez yazım süresinde bilgi ve desteğiyle hep yanımda olan sayın danışman hocam Doç. Dr. Serap Yalçın AZARKAN' a, çalışmam boyunca gerekli olanaklarını esirgemeyen Ahi Evran Üniversitesi Merkezi Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı öğretim üyelerine, yüksek lisans eğitimime başlamamda ve devamında yanımda olan, tez yazım süresince her türlü desteğini veren, hayatım boyunca beni yüreklendiren sevgili eşim Şerif Yasin KÖKSAL' a, eğitimimin her aşamasında maddi ve manevi destek olan, başarımla gururlanıp hep daha iyisini yapabileceğime inanan, hayattaki en büyük şansım olan canım annem ve ablama, bu uzun eğitim süresinde katkısı olan saygıdeğer hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Rana KÖKSAL

Haziran, 2019

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
TABLO DİZİNİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT	x
1.GİRİŞ	1
1.1. ANNONA MURICATA	1
1.1.1 <i>Annona muricata</i> 'nın Sitotoksitesisi ve Pericardiyal Antileishmanial Aktivitesi.....	3
1.1.2. <i>Annona muricata</i> 'nın Antiviral Aktivitesi.....	3
1.1.3. <i>Annona muricata</i> Yara İyileştirme Aktivitesi.....	3
1.1.4. <i>Annona muricata</i> 'nın Antimikrobiyal Etkinliği	3
1.2. KANSER	4
1.3. KANSER TEDAVİ YÖNTEMLERİ	5
1.3.1. Radyoterapi.....	5
1.3.2. Kemoterapi.....	6
1.3.3. Cerrahi Yöntemler	6
1.3.4. Nanoteknoloji.....	7
1.4. NANOTEKNOLOJİ'NİN ÜRETİM TEKNİKLERİ	7
1.4.1. Yukarıdan Aşağıya Yaklaşımı	8
1.4.2. Aşağıdan Yukarıya Yaklaşımı	10
1.5. Manyetik Nanoparçacıklar ve Kanser Tedavisinde Kullanımı	16
2.KAYNAK ARAŞTIRMASI	19
2.1. AMAÇ	25
3.MATERYAL METOD	26
3.1 MATERYAL.....	26
3.1.1 <i>Annona muricata</i> Kapsülü	26
3.1.2. Meme Kanseri Hücre Hattı	26
3.1.3. Hela Hücresi	26

3.1.4. Kullanılan Kimyasallar	26
3.1.5. Cihazlar ve Laboratuvar Araçları	26
3.2.METOD.....	27
3.2.1. PHB Kaplı Manyetik Nanoparçacıkların (MNP) Sentezlenmesi	27
3.2.2. Manyetik Nanoparçacıkların Karakterizasyonu	27
3.2.3. PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartiküllerin <i>in Situ</i> Sentezi	27
3.2.4. PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	28
3.3.PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartiküle <i>Annona muricata</i> Yükleme	28
3.4. PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartikülleri Üzerinde <i>Annona muricata</i> 'nın Stabilitesi	29
3.4.1. PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartikülde <i>Annona muricata</i> Salımı	29
3.4.2. PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartiküllerin Hücrelerin İçine Girişi(İnternalization)	30
3.4.3. PHB Kaplamalı Nanopartikülleri Sitotoksitesisi	30
4.BULGULAR VE TARTIŞMA	32
4.1.XRD (X-Işınları Kırınımı) Sonuçları	32
4.2.FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi)	33
4.3.DLS (Dinamik Işık Saçılımı)	35
4.4.SEM (Tarayıcı Elektron Mikroskobu ve TEM (Geçirmeli Elektron Mikroskobu) Sonuçları.....	36
4.5. VSM (Titreşimli Örnek Manyetometresi)	38
4.6.TGA (Termal Gravimetrik Analiz)	39
4.7.PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartiküllere <i>Annona muricata</i> Yükleme Sonuçları	40
4.8. PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartikülde <i>Annona muricata</i> Salımı Sonuçları.....	41
4.9.Sitotoksitesite Sonuçları	41
5.SONUÇ.....	44
6.KAYNAKÇA	47
8. ÖZGEÇMİŞ.....	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. (A) <i>Annona muricata</i> L. görünümü (B) yaprakları; (C) çiçeği ve (D) meyveleri [2].....	1
Şekil 1.2. Bir kanser hücresinin şematik görünümü	4
Şekil 1.3. Kanserde gen ve çevresel faktörler [6].	5
Şekil 1.4. Nanoküre ve Nanokapsül şematik gösterimi [71].	7
Şekil 1.5. Nano boyutta parçacık üretimde kullanılan başlıca yöntemler [17].	8
Şekil 1.6. Mekanik aşındırma ile parçacıkların küçültülmesi [20].	9
Şekil 1.7. Elektromagnetik Spektrum [26].	10
Şekil 1.8. Alev sentezi yöntemiyle nanopartikül üretiminin gösterimi [29].	11
Şekil 1.9. CVD yöntemiyle nano parçacık üretiminin başlıca aşamaları [29].	11
Şekil 1.10. Sol-jel yöntemi ile parçacık üretimi şekil şeması [32].	12
Şekil 1.11. Nano-cantilever [35].	13
Şekil 1.12. NanoShell [72].	14
Şekil 1.13. Biyo transistör [41].	15
Şekil 1.14. Manyetik nanoparçacıklarla hedefe yönelik tedavi [68].	16
Şekil 1.15. Manyetik ilaç hedefleme mekanizması [70].	18
Şekil 2.1. <i>Annona</i> 'nın ilaç olma sürecinin tamamlanması (Clinical Trial [66].	21
Şekil 3.1. PHB kaplı manyetik nanoparçacık sentezi [57].	28
Şekil 3.2. Bitki özütü yüklü nanoparçacıkların manyetik yöntemle yüklenmemi özütünden ayrılması.....	29
Şekil 3.3. XTT assay sonucu 96 well platelerin görünümü.	30
Şekil 4.1. Sentezlenen manyetik demir oksit nanoparçacığının XRD desenleri.....	32
Şekil 4.2. FTIR spektrumu.....	33
Şekil 4.3. PHB kaplı Manyetik nanoparçacıkların FTIR spektrumu.	34
Şekil 4.4. Saf <i>Annona muricata</i> ekstraktının FTIR spektrumu	34
Şekil 4.5. <i>Annona muricata</i> ekstraktı yüklü PHB kaplı manyetik nanoparçacıkların FTIR spekturumu.....	35
Şekil 4.6. MNP' lere ait boyut dağılım grafiği.	36
Şekil 4.7. Fe ₃ O ₄ nanoparçacıkların SEM görüntüleri	37
Şekil 4.8. Fe ₃ O ₄ nanoparçacıkların TEM görüntüleri (farklı çözünürlüklerde 20nm, 10nm, 5nm).....	37
Şekil 4.9. PHB kaplı manyetik nanoparçacıkların TEM görüntüleri.....	37
Şekil 4.10. MNP' lerin manyetizasyon eğrisi.	38
Şekil 4.11. PHB kaplı nanoparçacıkların VSM analizi.....	39
Şekil 4.12. PHB kaplı manyetik nanoparçacıkların TGA analizi.	39
Şekil 4.13. <i>Annona muricata</i> ekstraktının PHB kaplı nanoparçacıklara yüklenme kapasitesi.	40
Şekil 4.14. <i>Annona muricata</i> ekstraktı yüklü manyetik nanoparçacıklardan ekstraktın salınım grafiği.....	41

Şekil 4.15. <i>Annona m.</i> ekstraktının Hela hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi(LD50: 180 ug/ml)	42
Şekil 4.16. <i>Annona m.</i> ekstraktının MDA-MB-231 hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi(LD50: 330 ug/ml).....	42
Şekil 4.17. <i>Annona muricata</i> ekstraktı yüklü manyetik nanoparçacıkların kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi.....	43
Şekil 4.18. <i>Annona muricata</i> yüklü nanoparçacıkların hücre içine girişi	43



TABLO DİZİNİ

Tablo 1.1. <i>Annona muricata</i> bazı etken maddeleri [52].....	2
Tablo 2.1. <i>Annona muricata</i> ' dan izole edilen annonous asetogenin bileşigi [43]..	20
Tablo 2.3. <i>Annona muricata</i> üzerinde antikanser çalışmaları [64]. ..	23
Tablo 4.1. MNP ' lerin manyetik özellikleri	38



SİMGELER VE KISALTMALAR

AGE	: Asetojenik Bileşikler
Ca	: Kalsiyum
Cu	: Bakır
CVD	: Chemical Vapour Deposition
DLS	: Dinamik Işık Saçılımı
DMBA	: 7,12 Dimetilbenzen Antrasen
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DUV	: Deep Ultraviyole
EDTA	: Etilendiamin Tetra Asetik Asit
EUV	: Litografi Aşırı Ultraviyole
FBS	: Fetal Bovine Serum
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
Fe	: Demir
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi
IARC	: Uluslar Arası Kanser Araştırmaları Kurumu
IMRT	: Yoğunluk Aracılı Radyoterapi
IR	: Kızılötesi
K	: Potasyum
Kg	: Kilogram
MDA-MB-231	: İnsan Meme Kanser Hücre Hattı
Mg	: Magnezyum
ml	: Mililitre
MNP	: Manyetik Nanoparçacık

Na	: Sodyum
Nm	: Nanometre
NS	: NanoShell
NIR	: Kızılötesi Işık
NW	: Nanowire
PBS	: Fosfat Tamponu
PHB	: Polihidroksibütirat
RNA	: Ribo Nükleik Asit
RPMI 1640	: Roswell Park Memorial Institute
SEM	: Tarayıcı Elektron Mikroskopu
SLN	: Katı Lipid Nanopartikülleri
TEM	: Geçirmeli Elektron Mikroskopu
TGA	: Gravimetrik Analiz
USP	: Ultrasonik Sprey Piroliz
VSM	: Titreşimli Örnek Manyetometresi
XRD	: X Işını Kırınımı
XTT	: Hücre Proliferasyon Kiti
QD	: Quantum Dot

ÖZET

Annona muricata, Annonaceae familyasına ait ve birçok tıbbi kullanımıyla bilinen tropik bir bitki türüdür. *Annona muricata* 'nın kanser hücreleri üzerindeki toksik etkisi yapılan birçok çalışmada rapor edilmiştir. Bu çalışmada, *Annona muricata* 'nın meme kanseri hücrelerine taşınması için PHB kaplı demir oksit bazlı nanoparçacık tasarlandı ve terapötik etkinliğini *in vitro* olarak analiz edildi. Sentezlenen PHB kaplı manyetik nanoparçacıkların yapısal özellikleri, fonksiyonel grupları, boyut dağılımı ve manyetik özellikleri, X-ışını kırınımı(XRD), Fourier dönüşümü kızılötesi spektrometresi(FTIR), transmisyon ve taramalı elektron mikroskobu(SEM ve TEM), dinamik ışık saçılımı(DLS), titreşimli numune manyetometrisi ve termogravimetrik analiz(TGA) ile karakterize edildi. Bitki özü, PHB-MNP' lere 100, 300, 400 µg/ml oranında yüklenmiştir ve farklı pH'larda salım verimlilikleri *in vitro* koşullar altında çalışılmıştır. En etkili yükleme konsantrasyonu, fosfat tamponlu tuzlu suda (pH 7.4) oda sıcaklığında yaklaşık % 55 bulunmuştur. Bitki ekstraktı yüklü MNP'ler, fizyolojik koşulları taklit etmek için nötr pH'ta, 2 ay süre ile stabil kalmıştır. Salım çalışmaları, endozomal pH'ı taklit eden asetat tamponu (pH 4.2) ile yapılmıştır. Bitki özü yüklü PHB-MNP'ler, HeLa ve MDA-MB-231 hücre hatları üzerinde serbest bitki özü ile karşılaştırıldığında yaklaşık 2,5-3 kat daha sitotoksik olduğu bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre başarılı bir şekilde geliştirilen bu sistem kanser tedavisinde etkili bir şekilde kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: *Annona muricata*, nanoteknoloji, sitotoksisite, kanser

ABSTRACT

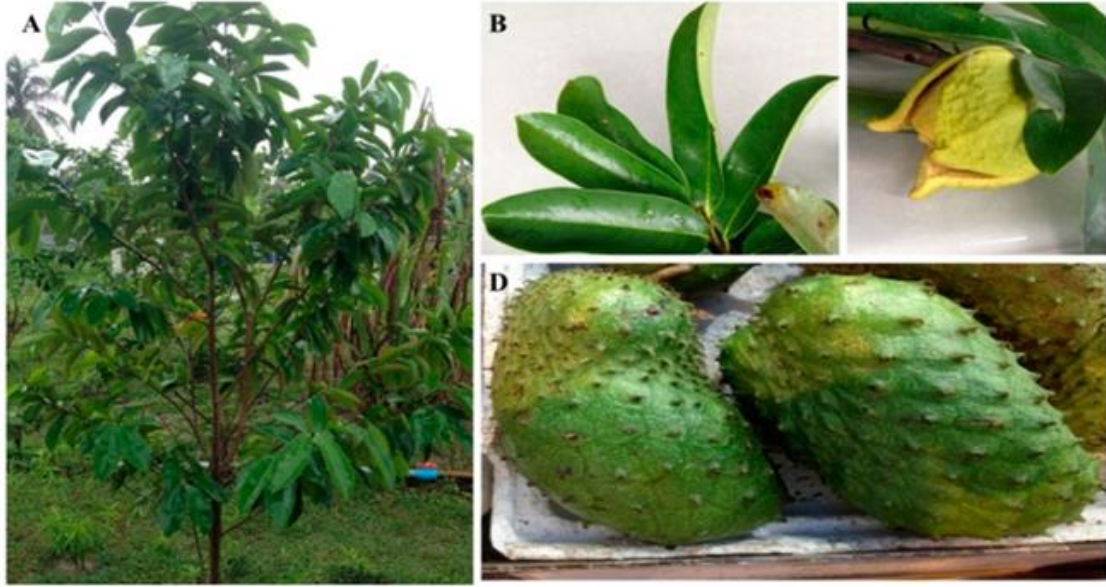
Annona muricata is a tropical plant species belonging to family Annonaceae and known for its many medicinal uses. *Annona muricata*, also known as soursop, has been reported to show cytotoxic activities against cancer cell lines. In this study, we designed PHB coated iron oxide based nanoparticle for the delivery of *Annona muricata* to breast cancer cells and analysed its therapeutic efficacy in vitro. The structural properties, functional groups, size distribution, and magnetic properties of the synthesized PHB coated magnetic nanoparticles were characterized by X-ray diffraction, Fourier transform infrared spectrometer, transmission electron microscopy, dynamic light scattering, vibrating sample magnetometry, and thermogravimetric analysis. The plant extract was loaded onto PHB-MNPs, 100, 300, 400 µg/ml, and the release efficiencies at different pHs were studied under in vitro conditions. The most efficient loading concentration was found about 55% at room temperature in phosphate-buffered saline (pH 7,4). The extract-loaded MNPs were stable up to 2 months in neutral pH for mimicking physiological conditions. The release studies were performed with acetate buffer (pH 4,2) that mimics endosomal pH. The plant extract-loaded PHB-MNPs were about 2,5-3 fold more cytotoxic as compared with free plant extract on HeLa and MDA-MB-231 in vitro, respectively. Based on the results obtained, this system can be used effectively in cancer treatment.

Key words: *Annona muricata* , nanotechnology, cytotoxicity , cancer

1.GİRİŞ

1.1. ANNONA MURICATA

Annona muricata, Annonaceae ailesinin bir üyesidir, uzun bir geçmişi olan bir meyve ağacıdır. A. soursop, graviola ve guanabana olarak da bilinen *Annona muricata*, dünyanın tropikal bölgelerinde çoğunlukla dağılan, yapraklarını dökmeyen bir bitkidir. Yaklaşık 4 kg ağırlığında bir meyvedir. İçerisinde 114 tane uçucu bileşik bulunmaktadır. Meyve olgunlaştıkça kremi, sulu, kendine has bir aroma alarak çeşitli ürünler elde edilmektedir. *Annona muricata* 'nın meyveleri, şuruplar, şekerler, içecekler, dondurmalar hazırlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır [1, 2, 52].



Şekil 1.1. (A) *Annona muricata* L. görünümü (B) yaprakları; (C) çiçeği ve (D) meyveleri [2].

Afrika ve Güney Amerika' daki yerliler bu ilacı kendi halk tıbbında yoğun bir şekilde kullanmaktadır. Meyvesi ağrı, dizanteri, ateş, sıtma ve doğumdan sonra anne sütünü artırmak için kullanılmaktadır. Yaprakları sistit, diyabet baş ağrısı, uykusuzluk için kullanılırken, pişirilmiş yaprakları apse ve romatizma tedavileri için tercih edilmektedir. Hindistan' da, meyve ve çiçekleri nezle karşı ilaç olarak kullanılırken, kök kabuğu ve yaprakların antiflojistik ve antelmintik aktivitelere sahip olduğuna inanılmaktadır.

Malezya' da *Annona muricata* 'nın ezilmiş yaprak karışımı *A. squamosa* ve *Hibiscus rosa-sinensis* ile birlikte bayılmaya karşı korumak için meyve suyu olarak kullanılır. Güney Amerika ve Nijerya da dahil olmak üzere tropikal Afrika' da *Annona muricata* 'nın yaprakları, tümörlere ve kansere karşı bir etnisil olarak adlandırılmaktadır. Antikanser, antikonvülsan, anti-artritik, antiparaziter, antimalaryal, hepatoprotektif ve antidiyabetik aktiviteler de olmak üzere bu faaliyetleri çalışmalarla desteklenmektedir. K, Ca, Na, Cu, Fe ve Mg gibi farklı majör minerallerin varlığı, *Annona muricata* meyvesinin düzenli olarak tüketilmesinin insan vücuduna gerekli besin ve elementlerin sağlanmasına yardımcı olabileceğini düşündürmektedir [1, 2]. Bitki içerisinde bazı etken maddeler tablo 1.1' de gösterilmiştir.

Tablo 1.1. *Annona muricata* bazı etken maddeleri [52].

KİMYASAL	BÖLÜM	DÜŞÜK PMM	YÜKSEK PMM
Asetaldehit	Bitki	-	-
Alüminyum	Meyve	-	5.0
Askorbik asit	Meyve	190.0	1540.0
Beta Karoten	Meyve	-	0.6
Bor	Meyve	-	3.0
Kalsiyum	Meyve	140.0	2600.0
Karbonhidratlar	Meyve	149.000	89400.0
Kolesterol	Bitki	-	-
Sitrik Asit	Bitki	-	-
Bakır	Meyve	-	1.6
Lif	Meyve	6000.0	6500.0
Fruktoz	Bitki	-	-
Glikoz	Bitki	-	-
Demir	Meyve	5.0	33.0
Magnezyum	Meyve	210.0	2400.0
Metionin (a.a yağ yakımı)	Meyve	70.0	370.0
Niasin (vitamin)	Meyve	9.0	77.0
Parafin	Bitki	-	-
Fosfor	Meyve	210.0	3400.0
Protein	Tohum	-	214.300
Protein	Meyve	10000.0	60000.0
Riboflavin (b2 vitamini)	Meyve	0.5	6
Sodyum	Meyve	65.0	1035.0
Sülfür	Meyve	210.0	2700.0
UFA (yağ)	Tohum	-	159.000,0
Su	Meyve	811.600,0	832.000,0
B6 Vitamini	Meyve	0.6	3.0
Ksilosil-selüloz	Bitki	-	-
Çinko	Meyve	-	4.0

1.1.1 *Annona muricata* 'nın Sitotoksitesisi ve Pericardiyal Antileishmanial Aktivitesi

Annona muricata pericarp'ın heksan, etil asetat ve metanol ekstraktları, *Leishmania braziliensis* ve *L. panamensis* promastigotlara karşı ve ayrıca U 937 hücre hattına karşı *in vitro* test edildiğinde, özellikle etil asetat ekstraktının, Glucantime ampülünden daha aktif olduğu bulunmuştur.

1.1.2. *Annona muricata* 'nın Antiviral Aktivitesi

Annona muricata özü virüs-1 (HSV-1) ve klinik izolat (insandan elde edilmiştir) inhibe edip etmediklerini kontrol etmek için HSV-1'in, anti-HSV-1 potansiyelinin göstergesi olan vero hücreleri üzerindeki sitopatik etkisi Herpes simpleks' e karşı taranıp, *Annona muricata* 'nın etanolik ekstraktının minimum inhibitör konsantrasyonu 1 mg / ml olduğu bulunmuştur. Bulunan sonuç *Annona muricata* 'nın potansiyel antiherptik ilaçlar olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

1.1.3. *Annona muricata* Yara İyileştirme Aktivitesi

Yara insanoğlunun neredeyse ilk karşılaştığı tıbbi sorunlardan biridir. Yaralar ve bunların yönetimi hakkında bilgiler halen ilkel aşamada ilerlemektedir. *Annona muricata* 'nın kök ve kabuğunun, yara iyileşme aktivitesi albino sıçanlarda test edilmiş ve yara alanında belirgin bir azalma olduğu gözlemlenmiştir.

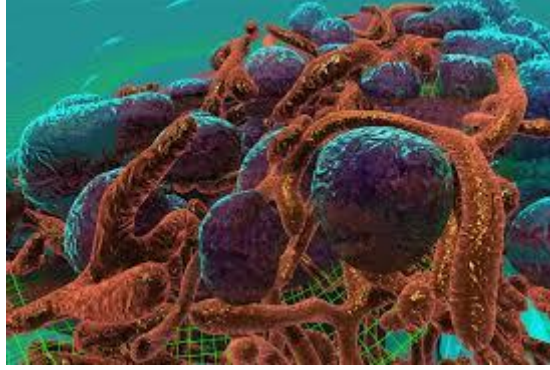
1.1.4. *Annona muricata* 'nın Antimikrobiyal Etkinliği

Annona muricata yapraklarının, *Staphylococcus aureus* ATCC29213, *Escherichia coli* ATCC8739, *Proteus vulgaris* ATCC213315, *Streptococcus pyogenes* ATCC8668, ATC1313115, *Streptococcus pyogenes* ATCC8668; No.2719 ve *Enterobacter aerogenes* NCIM No. 2340 metanolik ve sulu ekstraktının antibakteriyel etkisi görülmüştür. Test edilen yukarıdaki organizmalar arasında, *Bacillus subtilis* ve *S.aureus* en duyarlı Grampozitif bakterilerken, *Klebsiella pneumoniae* ve *Proteus vulgaris* en duyarlı Gram negatif bakteriler olarak bulunmuştur. *Annona muricata* 'nın yaprak ekstresi, zatürree, diyare, idrar yolu enfeksiyonu ve hatta bazı cilt hastalıkları gibi çeşitli bakteriyel bulaşıcı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. *Annona muricata* özü, en yaygın bakteriyel hastalıklardan sorumlu olan bir grup bakteri için geniş bir aktiviteye sahiptir [52].

1.2. KANSER

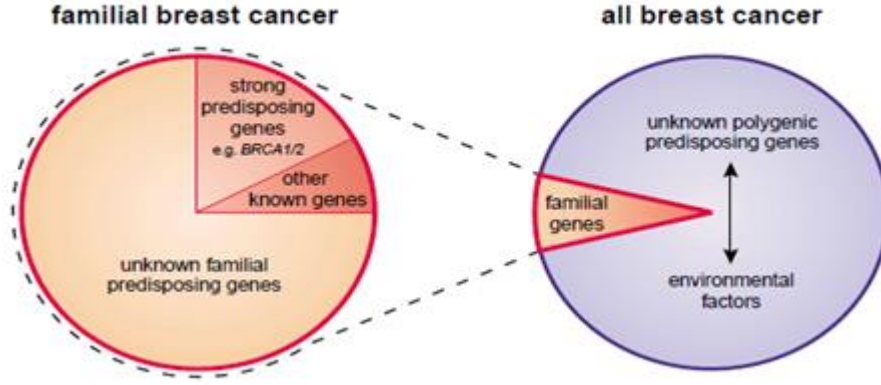
Kanser, günümüz dünyasında büyük sorun teşkil eden hastalıkların en başında gelmektedir. Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumunun (IARC) 2030 yılı için yaptığı çalışma sonucunda, kanser ölüm nedenleri arasında birinci sırada olacağı varsayılmaktadır [4].

Kanser, hücre büyümesini ve bölünmesini aktive eden genlerin zarar görmesi ile ortaya çıkan karmaşık bir hastalıktır. Vücudun çeşitli bölgelerinde ortaya çıkan diğer başka hücrelere yayılabilen anormal hücre bölünmeleridir. Özetle, bir organizmadaki hücrelerin kontrolsüz şekilde bölünmesi, çoğalmasındır. Bu bölünen ve çoğalan hücre topluluğu bulunduğu doku veya organı baskılayarak doku veya organın görevini yapmasını engeller [5].



Şekil 1.2. Bir kanser hücresinin şematik görünümü [74].

Kanserin oluşumunu genel olarak çevresel faktörler ve genetik olarak ikiye ayırabiliriz. Kanserin sadece %1' i genetik taşınım ile olur. Bu genetik taşınım ile oluşan kanserler genellikle çocuk çağında oluşur. %99'luk kısmı çalışma ortamları, yeme içme alışkanlıkları, maruz kaldıkları kanserojen kimyasalları çevresel faktörler diye adlandırılır [6].



Şekil 1.3. Kanserde gen ve çevresel faktörler [6].

1.3. KANSER TEDAVİ YÖNTEMLERİ

Günümüzde sıkça kullanılan kanser tedavi yöntemleri; kemoterapi, radyoterapi, cerrahi operasyonlardır. Bu tedavilere ek olarak, günümüzde hızla ilerleyen nanoteknoloji tedavi yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır.

1.3.1. Radyoterapi

Kanserli hücrelerin iyonizan ışınları ile yok edilmesi ve ya küçültülmesi amaçlanan tedavi yöntemidir. Hastalığın özelliklerine göre; Konformal Proton Işın Radyasyon Terapi, 3 Boyutlu Konformal Radyoterapi (3D / CRT) , Yoğunluk Aracılı Radyoterapi (IMRT), Görüntülü Radyoterapi (IGRT) gibi çeşitleri vardır. Bu çeşitlendirmedeki amaç, kanserli hücre üzerine maksimum etki yaparak sağlıklı hücrelerin minimum zarar görmesini sağlamaktır.

IMRT tedavi edilecek bölgeye farklı kuvvetlerdeki ışınlar gönderilerek sağlıklı hücrelerin korunmasını sağlayan bir sistemdir. Çoğunlukla beyin, prostat ve meme kanserinde kullanılmaktadır [7]. Kanser hücreleri beyinde metastaza yol açarak dolayısıyla büyük sorunlara yol açabilir. Profilaktik Radyoterapi-ışınlama (PCR/PCI) yöntemi kullanılarak bu sorun engellenebilir. Bu tedavide saç dökülmesi, mide bulantısı, halsizlik gibi yan etkiler görülse de görülen bu yan etkiler tedavi sonlandırıldığında ortadan kalkar [8]. Hastanın vücuduna nüfus edip tümörlü hücreyi diğer hücrelerden ayırma yöntemi brakiterapi olarak geçer ve aplikatör diye adlandırılan cihazlar kullanılır. Bu yöntemde serviks, prostat kanserlerin tedavisinde aktif olarak kullanılmaktadır [9].

Radyoterapi daha çok cerrahi işlemden önce uygulanan, belirlenen tümörlü hücrenin küçülmesini hedefleyen yöntemdir. En büyük dezavantajı ise tümörlü hücre öldürülüp veya küçültülürken sağlıklı hücrenin de zarar görmesidir. Bunun yanında hastanın yaşam kalitesini etkileyen yan etkileri olduğu için diğer yöntemler de göz önünde bulundurulmalıdır.

1.3.2. Kemoterapi

Kemoterapi, kemoterapötik ajanlar kullanarak tümörün ilaçla tedavi edilmesidir. Cerrahi işlem öncesi tümörün küçültülmesi amacıyla da kullanılabilir. Bu esnada verilen ilaçlar alkilleyici ajanlar, anti metabolitler, tümör antibiyotikleri gibi sayılabilir [10].

Alkilleyici ajanlar, DNA transkripsiyonunu engelleyip protein üretimini baskırlar. Bu ajanlar akciğer, meme kanserlerinde yoğun olarak kullanılmaktadır [11].

İnsan vücudunda sinyal iletimi, enzimlerin uyarılması ve baskılanmasında görev alan özel kimyasal maddelere anti metabolit denir. Hücrenin normal seyrinde etkide bulunabilir ve hücrenin sentez fazı sürecinde apoptozu etkileyebilir. Birçok grupları vardır. Örneğin 5-florurasil (5-FU) baş, boyun, meme, gastrik gibi kanserlerde kullanılmaktadır.

Tümör antibiyotikler, kanserli hücrelerde DNA/RNA sentezini baskılayarak büyümesini ve bölünmesini aza indirilmesinde rol oynar. Lösemi ve meme kanserlerinde sıkça kullanır [12].

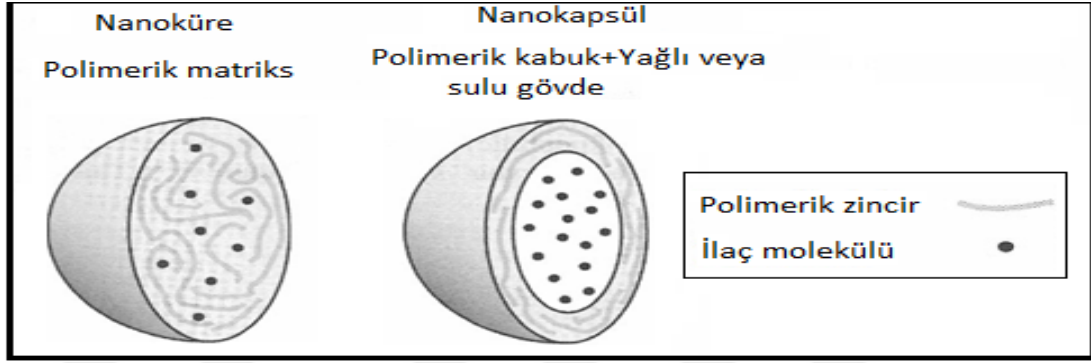
Kemoterapi oral, intratekal, intrakaviter veya intravenöz şekillerde uygulanabilir. Kemoterapide kullanılan ilaçlar sadece tümörlü hücreye değil sağlıklı hücreye de saldırır. Bundan dolayı çeşitli yan etkiler görülmektedir. Bu yan etkiler ilacın çeşidine dozuna göre değişebilir. Genel olarak görülen yan etkiler; mide bulantısı, saç dökülmesi, yorgunluk olarak sıralanabilir [13, 14].

1.3.3. Cerrahi Yöntemler

Oluşan kanserin engellenmesinde profilaktik olarak dokudan bir parça alınıp tanı konmasında veya yayılım olamayan durumlarda kanserli kitlenin vücuttan çıkarılmasında sıklıkla kullanılan yöntemdir. Radyoterapi veya kemoterapiyle birlikte uygulandığı gibi tek başına uygulanabilen tedavi yöntemidir.

1.3.4. Nanoteknoloji

Nanopartiküller; doğal veya sentetik yapıda hazırlanan, boyutları 10-1000 nm arasında değişen, hazırlama yöntemine göre nanoküre veya nanokapsül olarak adlandırılan ve etkin maddenin partikül içinde çözündürüldüğü, hapsedildiği ve/veya yüzeye absorbe edildiği yada bağlandığı sistemlerdir [15].



Şekil 1.4. Nanoküre ve Nanokapsül şematik gösterimi [71].

Günümüzde kullanım alanları giderek artan bir teknolojidir. Gıda, ambalajlama, ziraat, tekstil gibi birçok alanda aktif olarak tercih edilmektedir. Günümüz kanser tedavisinde; cerrahi yöntemler, kemoterapi ve radyoterapi ortak bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler her zaman olumlu yanıt vermemektedir. Bu yöntemlere uygulanan kemoterapi tedavisinde ilaç, kanserli hücre veya bölgeye giderken bazı biyolojik ve kimyasal değişikliklere uğramaktadır, bu da organizmada zararlı etkiye neden olmakta hedefe yönelik çalışma uygulanmamaktadır. Bu noktada devreye nanoteknoloji bilimi girmektedir. Nano ölçekli moleküller üretilerek, üretilen nanoparçacıkların özel reseptörleriyle hedefe yönelik çalışmalar yapılmaya başlanmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır [16].

1.4. NANOTEKNOLOJİ'NİN ÜRETİM TEKNİKLERİ

Nanometre ölçeğinde kontrol sağlamak amacıyla, kullanılan alanlar için uygun olan teknikler ve özel üretim enstrümantasyonları, kontrol ve ölçümler geliştirilmektedir. Üretim iki esas yol izlenerek yapılabilir; “**yukarıdan-aşağıya üretim yaklaşımı**” (özel işleme ve kimyasal aşındırma teknikleriyle - litografi, son derece kusursuz yüzey şekillendirme - mikroskobik elementlerin yapısal boyutlarını nanometre ölçeğine indirmek), “**aşağıdan-yukarıya üretim yaklaşımı**” (atomik ve moleküler agregaların

daha büyük sistemler - kümeler, organik örgüler, supramoleküler yapılar ve sentezlenmiş makro-moleküller - oluşturacak şekilde kontrollü olarak bir arada toplanacak şekilde düzenlenmesi) [17, 18].

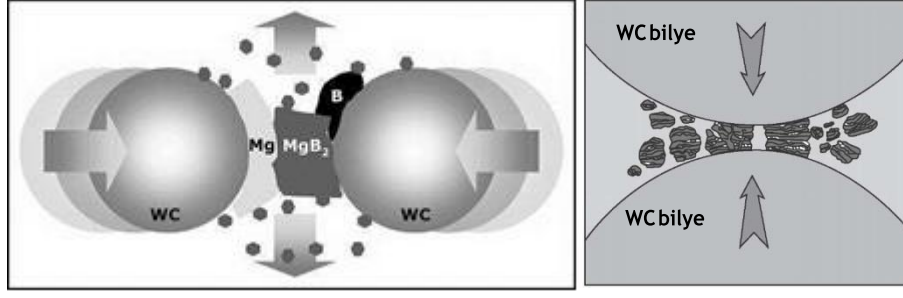


Şekil 1.5. Nano boyutta parçacık üretimde kullanılan başlıca yöntemler [17].

1.4.1. Yukarıdan Aşağıya Yaklaşımı

Makineler, asitler ve kimyasal yöntemler kullanılarak nanoparçacıkların yapılmasıdır. Bu yöntemde kütle malzeme alınarak şekillendirilir, yeniden düzenlenir ve hedef ürüne dönüştürülür [18].

Mekanik Aşındırma: Öğütücü ortam ve numune arasındaki etkileşimler sonucunda enerji uygulamasına dayanan, mekanik öğütücülerde parçacığın boyutunun küçültülmesidir [19].



Şekil 1.6. Mekanik aşındırma ile parçacıkların küçültülmesi [20].

Öğütme işlemi sonrası meydana gelen tozlardan çeşitli nano boyutta malzemeler oluşur. Bu yöntemle 20 nm' ye kadar parçacıklar elde edilmektedir [20].

Elektro Patlama: Soy veya reaktif gaz ortamında yüksek sıcaklık ve kısa zamanda metal tel içerisinde yüksek bir akım oluşturulmaya dayanan bir yöntemdir. Yüksek akım sayesinde metal tel 20.000-30.000°C derecelere kadar ısınır böylece telin direnci kırılmış olur. Daha sonra 106-108°C dereceye kadar olan hızlı soğuma yarı kararlı yapıların oluşması için ideal özelliklerin oluşumunu sağlar. Bu işlemlerle 100 nm boyutunda elde edilen tozlar kimyasal ve metalürjik reaktiviteye sahiptir [21].

Dağlama: Dağlama yönteminde kuvvetli asitlerden yararlanılabilir. Sabit yüzeyler üzerinde bu yöntemle düzenli nanometre boyutlarında parçacıklar oluşturulabilir. Örnek olarak, hidroflorik asitler elektrolit olarak kullanılıp kristalin silikon levha üzerinde dağlanması ile silikon tabakalar oluşturulabilir [22].

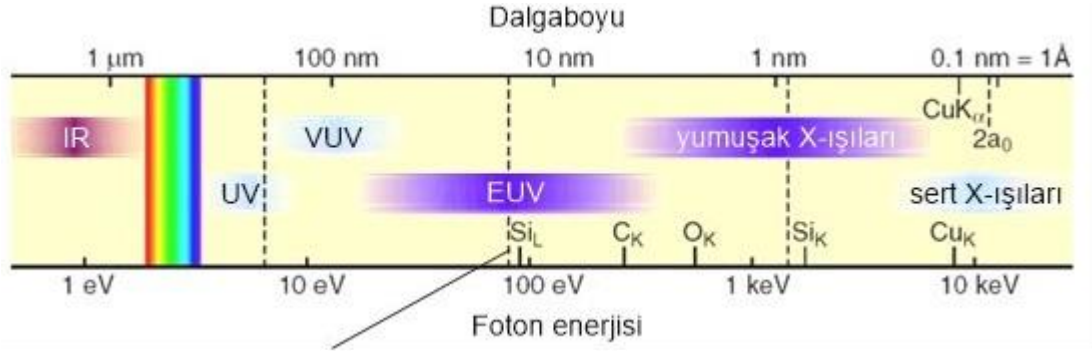
Isıl Yöntem: Bu yöntemde ısıtma işlemi klasik ısıtma işlemidir. Yukarıdan aşağıya yöntemlerine ek olarak belirli bir sıcaklık uygulanarak yapılmaktadır [23].

Dönen Soğuk Yüzeyde Katılaştırma Yöntemi: Bu yöntemde eritilen malzeme bir nozul vasıtasıyla dönen soğuk bir yüzeye püskürtülür. Bu işlemde yüksek hızlarda püskürtme ile malzeme küçük boyutlara inerken, dönen yüzeyde de ani soğuma ile katılaşma meydana gelmiş olur. Yüzey üzerinde yoğunlaşan bu malzeme nano boyuttadır [24].

Gaz Atomizasyonu: Yüksek hızdaki asal gazın metal ergiyikten püskürtülmesi sonucunda meydana gelen çarpışma sonucunu nano ölçekli metal parçacıklar oluşur ve toz haline çevrilir [25].

Yüksek Enerji Yöntemi: Bu yöntemde güneş enerjisinden faydalanılarak yaklaşık 3000-4000°C miktarında sıcaklık elde edilebilmektedir. Monokromatik radyasyon ve güneş radyasyonları katı bir yüzeye gönderilerek nano parçacıklar oluşturulur [23].

Litografi Aşırı Ultraviyole(EUV): Ultraviyole litografi, nanoteknolojik elektronik devrelerin, fotoresitin, derin ultraviyole (DUV-deep ultraviyole) veya aşırı (veya yüksek enerji) ultraviyole (EUV-extreme ultraviyole) radyasyona maruz bırakılarak hazırlandığı litografi tekniğidir.



Aşırı ultraviyole ışın (EUV-extreme ultraviyole, dalgaboyu ~13.5 nm), DUV ile karşılaştırıldığında dalga boyunda yaklaşık 20 kat kadar azalma sağladığı görülmüştür. EUV litografi, 30 nm genişliğine kadar hatları yazdırmayı (print) ve 45 nm' nin altındaki boyutlarda elektronik bileşenleri oluşturmaya olanak vermektedir [26].

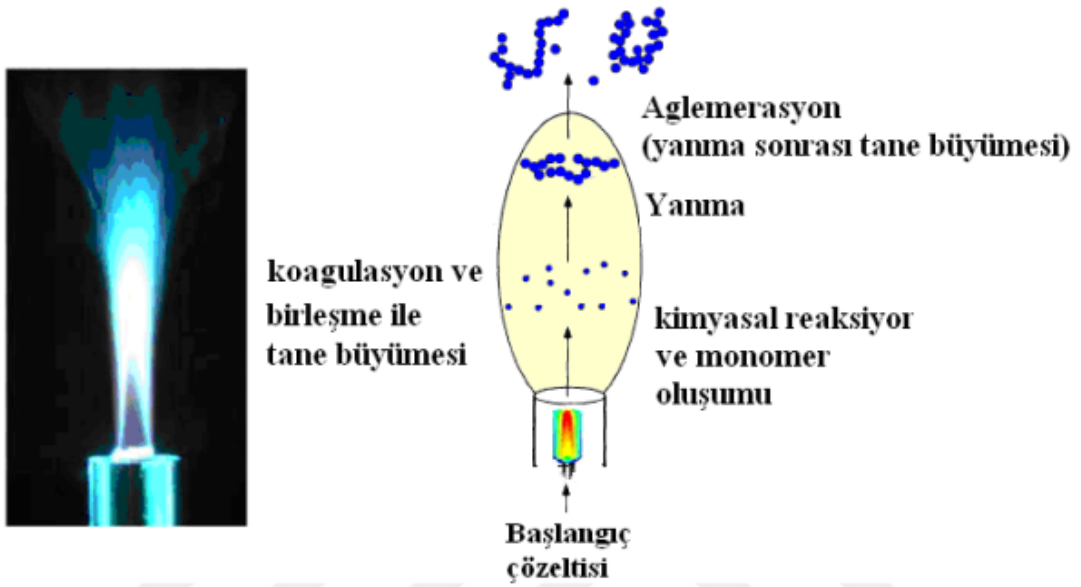
Yumuşak Litografi, Nano-Damgalama: Laboratuvarlarda kullanılabilen hızlı ve ucuz bir yöntemdir. 10 nm boyutlarındaki küçük nano parçacıklar elde etmek için elastomeren meydana gelen damga, yüzey üzerine baskı uygulayarak kendiliğinden düzenlenen bir tane katman oluşturur. Bu katman mürekkep ile çevrilip oyma reaksiyonu gibi diğer işlemlerle maskeleme gerçekleştirilir. Daha sonra damga kalıptan litografi sistemi ile şekillendirilerek dökülür. Yüksek çözünürlük teknikleri kullanılarak nano parçacık elde edilir [18, 27].

1.4.2. Aşağıdan Yukarıya Yaklaşımı

Bu yöntem genellikle organik malzemelerde görülür. Nano malzeme üretiminde önemli bir yöntemdir. Maddenin içindeki bulunduğu faz hali göz önüne alınarak yapılan işlemlerden oluşur [17].

Asal Gaz Yoğunlaştırma Yöntemi: Helyum atmosferinde başlangıç malzemesi buharlaştırılır. Daha sonra buharlaşan başlangıç malzemesi soğutularak nano parçacık elde edilir.[23].

Alev Sentezi: Diğer nano parçacık üretim tekniklerine göre kıyasla çok daha az enerjiye ihtiyaç duyulan ve maliyeti çok daha az olan bir yöntemdir. Alev sentezi yönteminde sıvı çözelti ile işleme başlanıp oksijen ile atomize olarak sprey yapı elde edilir. Sprey yapı buharlaşması alev halka ile sağlanıp buharın yoğunlaşması sonucunda nano parçacıklar oluşur [28].



Şekil 1.8. Alev sentezi yöntemiyle nanopartikül üretiminin gösterimi [29].

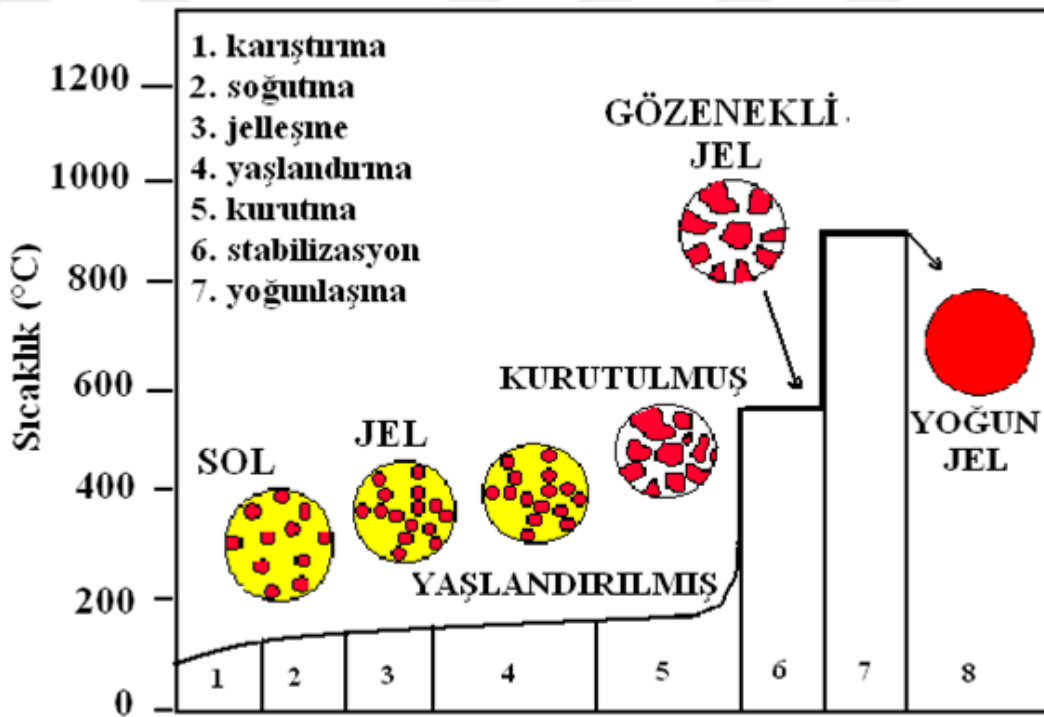
Kimyasal Buhar Yoğunlaştırma Yöntemi: Bu yöntem nano boyutta parçacık üretiminde önemli bir yere sahiptir. Yöntemin neredeyse her türlü malzemeye uygulanabilir olması, diğer üretim yöntemlerine göre avantajını arttırmaktadır. Başlangıç malzemesi olarak kolay ulaşılabilir ve pahalı olmayan malzemeler tercih edilebilir. Taşıyıcı gazın akış hızı, başlangıçta kullanılan malzemenin ayrışma sıcaklığı gibi etkenler, elde edilecek parçacıkların karakteristik özelliklerini etkileyen önemli özelliklerdir [29]. CVD (Chemical Vapour Deposition) yöntemi ile yüksek sıcaklık altında gaz formunda olan bir malzeme plaka üzerinde nano yapıya dönüşür [23]. Bu sistemle yüksek performanslı katı nano malzemeler elde edilebilir [29, 30].



Şekil 1.9. CVD yöntemiyle nano parçacık üretiminin başlıca aşamaları [29].

Atom Tabaka Çökeltmesi: Atom tabaka çöktürme işlemi aynı kimyasal buhar çöktürmedeki gibi hazırlanan yüzey üzerine buharlaşan malzemenin çöktürülmesi işlemine dayanmaktadır. Kullanılan yüzey üzerinde her seferinde bir molekül kalınlığında tabaka oluşturulur.[23].

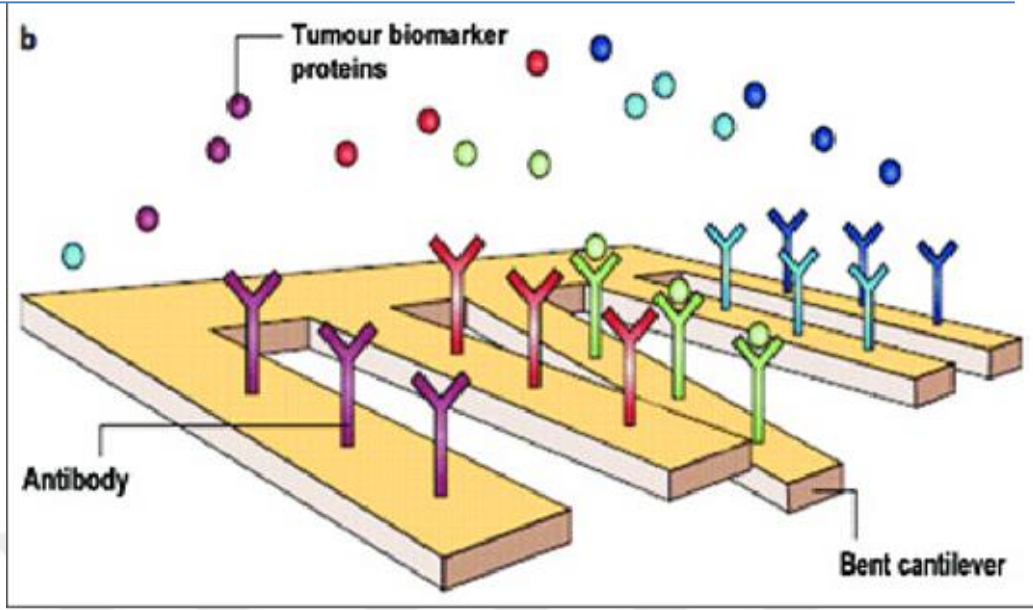
Sol-Jel Yöntemi: Sol-Jel yöntemi, başlangıçta kullanılan maddenin yoğunlaşma ve hidroliz reaksiyonu ile istenilen boyutlarda kontrollü bir şekilde ve moleküler görünümde homojen olan nano parçacıkların elde edilmesidir. Sistemin pahalı ve uğraştırıcı olması dezavantajlarındandır. Bunların dışında en büyük dezavantajı, elde edilen ürün miktarının giren ürüne göre çok küçük olması yani verimin çok az olmasıdır [29, 31].



Şekil 1.10. Sol-jel yöntemi ile parçacık üretimi şekil şeması [32].

Ultrasonik Sprey Piroлиз (USP) Yöntemi: Çok geniş aralıklarda değişen kimyasal forma ve morfolojiye sahip nano parçacıkların üretilmesine imkân veren sistemlerdir. Yöntemde başlangıç malzemesi olarak yüksek saflıkta metal tuzları veya temizlenmiş hammaddenin çözeltileri kullanılmaktadır [33, 34].

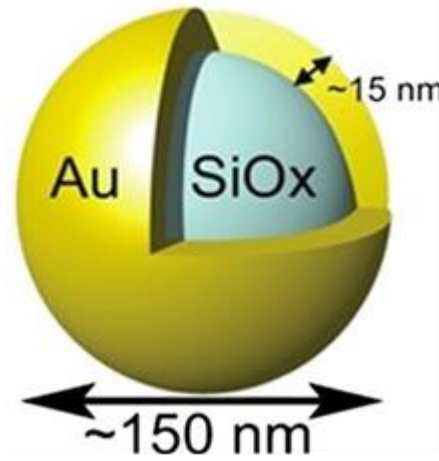
Nano-Cantilever: Litografik yöntemlerle başlangıç malzemesi olarak yarı iletken maddeler kullanılarak üretilen nano parçacıklara denir [35].



Şekil 1.11. Nano-cantilever [35].

DNA proteinleri ile nano-cantilever üzerine moleküller yerleştirilebilir. Ortamda bulunan mevcut proteinler moleküllerle birleşerek yüzeyde mekanik gerilim meydana getirir. Bu mekanik gerilim cantileverlerin eğilmesine sebebiyet verir. Böylece ortamdaki mevcut proteinlerin var olduğunu cantileverdeki eğilimler ile tespit edilebilir. Bu yöntem ile kanser oluşumunun erken evresinde meydana gelen biyolojik işaretleyiciler algılanıp kanser oluşumu geç olmadan görüntülenebilir [35].

NanoShell (NS): NS' ler üzeri altın tabaka ile kaplı, merkezinde silisyum çekirdek bulunan küreciklerdir.



Şekil 1.12. NanoShell [72]

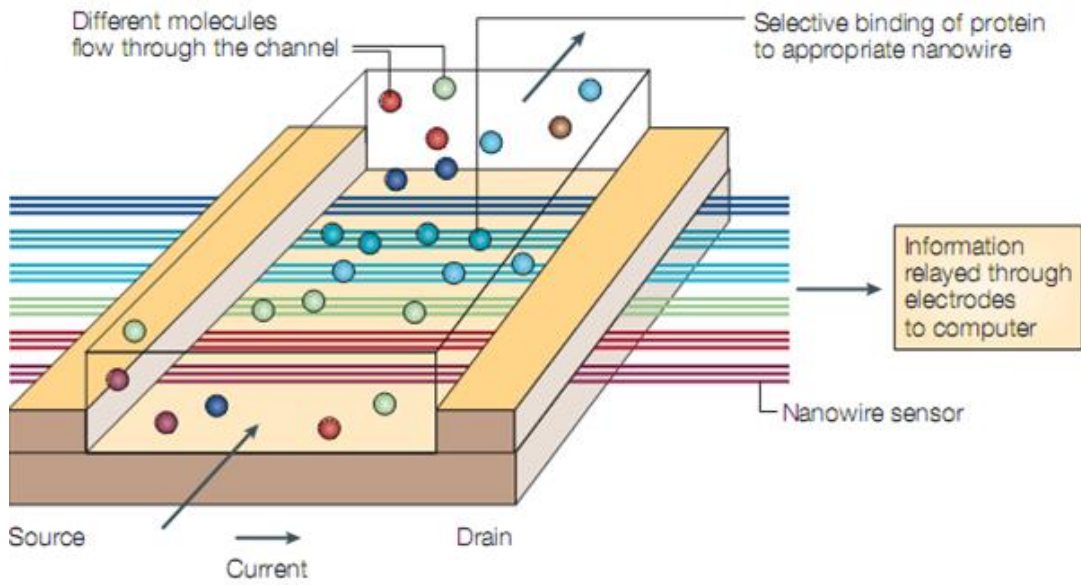
Şekil 1.12'de görünen altın tabaka kalınlığının değiştirilmesi ile istenen dalga boyutundaki ışığın emilmesine olanak verilir. NS kızılötesi (NIR) ışığa maruz bırakılarak çevresindeki sağlıklı hücrelere zarar vermeden bulunduğu hücreyi öldürebilecek ısı yayar. Kanserin teşhis ve tedavisi için tercih edilen sistemlerdir. NS'lerin yüzeyine anti – kanser ilaçlar yerleştirilerek kanserli hücrelere yönlendirilebilir. Isı yayması sağlanan NS'ler, sağlıklı hücrelere zarar vermeden tümör hücrelerini öldürdüğü yapılan laboratuvar çalışmalarında gözlemlenmiştir [36].

Quantum Dot (QD): QD' lar 2 ile 10 nm çapında değişen kadmiyum selenür, kadmiyum tellürid veya indiyum fosfit gibi yarı iletken nanokristallerdir. Kanserin teşhis edilmesinde, görüntülenmesinde ve tedavisinde floresan problemleri olarak kullanılırlar, iyi optik ve elektrik özelliklere sahiptirler [37].

Isıyı emen QD' lar, 5 nano saniyeler sonra parçacıkların farklı kombinasyonu şeklinde geri dağıtır. QD' nun boyutu değiştirilerek dağıttığı ışın dalga boyu ayarlanabilir. Farklı boyutlardaki QD' lar farklı dalga boylarında ışık (400 - 1350 nm) dağıtmaktadır. QD' ların önemli özelliği geniş aralıkta absorpsiyon yapıp dar bantta emisyon yapmalarıdır. Bu da tek bir ışık kaynağı kullanıp aynı anda birden fazla görüntüleme yapılabileceğini göstermektedir [38].

Nanowire(NW): Polimer, yarı iletken veya polimer yapıda oluşan NW' lar, moleküler etkileşimlerin elektriksel düzeyde algılanmasını sağlayan nano yapılarıdır. Oligo nükleotidler veya antikorlarla özellikleri artırılarak tümör biyolojik işaret proteinlerinin tespit edilmesinde kullanılabilirler. Akım, yüzeye çok yakından aktığı için, yüzeyde

oluşabilecek küçük değişimlere bile NW' ların hassasiyeti fazladır. Tümör biyolojik işaret proteinlerinin yüzeydeki antikorlar ile birleşmesi, akan akımda değişiklik olmasını sağlayarak bu değişimin elektriksel yöntemlerle tespit edilmesine olanak sağlar. Biyo uyumluluğu ve eşsiz fiziksel özelliklere sahip bir diğer nano yapı silikon NW' lardır (SiNW) ⁴⁰. Lieber ve ark, bu yarı iletken NW' ların biyolojik makro moleküller ile özelliklerini genişleterek elektriksel devreler ile kullanılabilceğini ortaya koymuşlardır. Yapılan bir çalışmada yarı iletken silikon nano yapılar biotin ile fonksiyonelleştirilerek oluşturdukları nano yapının tampon çözeltisi içerisindeki iletkenliğini 1.600 NS olarak ölçmüşlerdir [39].



Şekil 1.13. Biyo transistör [41].

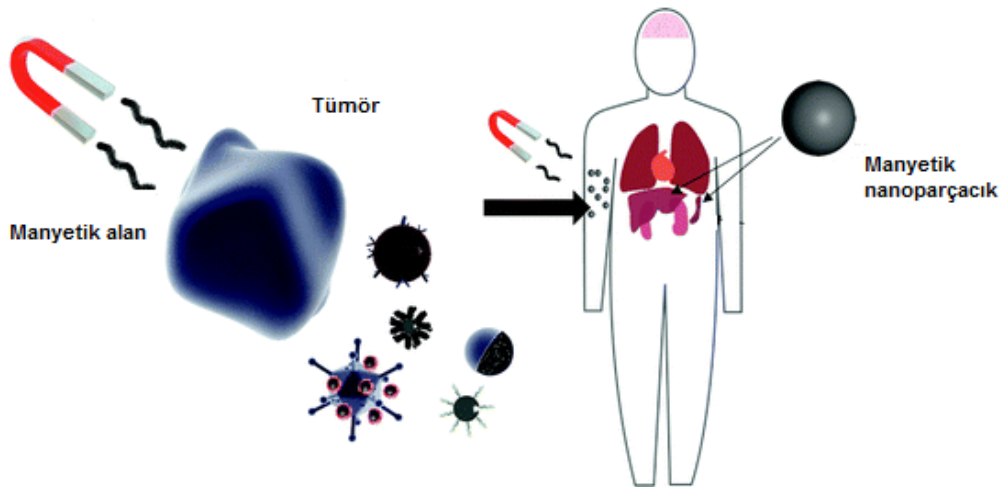
NW sistemiyle, birçok uyarıcı barındıran tek bir çip oluşturulabilir. Aynı anda birden fazla biyolojik işaretleyicilerin tespit edilebilmesi metotla sağlanabilir. Şekil 1.13 NW' ların yer aldığı mikro – akışkan sistemini göstermektedir. Şekilde source ve drain arasında bulunan farklı renkteki çizgiler, farklı antikorlar ile kaplanmış NW' ları göstermektedir. Biyolojik işaretleyici proteinleri Source ve drain arasından akan uygun NW üzerindeki antikorlar ile birleşir. Birleşme sonucunda NW' nun iletkenliğinde meydana gelen değişimler elektronik yöntemlerle gerçek zamanlı olarak algılanabilir [41].

Dendrimer: Doğadaki fonksiyonellikleri kolaylıkla kontrol edilip değiştirilebilen ve basit monomer parçalardan oluşturulan dendirmerler ya da dendirik moleküller olarak adlandırılan üç boyutlu sentetik yapılardır.

10 ile 100 nm çapında olan dendrimer ilaç taşıyıcısı olarak kullanılmaktadır. Yüzeylerinde bulunan çoklu fonksiyonel alanlar, dendrimerlerin hedefe yönelik ilaç taşıma işlemlerinde kullanılmasını sağlamaktadır. Uygun ligandlar (bağlayıcılar) dendirmerlerin yüzeyine yerleştirilerek, kanserli hücreler ile birleşmeleri sağlanmaktadır. İçinde bulunan boş alanlara anti kanser ilaçları eklenerek diğer sağlıklı hücreler zarar görmeden kanserli hücre etkisiz hale getirilebilmektedir. İlaçla beraber dendrimer, kanserli hücreler etkisiz hale geldiğinde tepkime verecek moleküller ilave edilerek yapılan işlemin başarısı hakkında bilgi sağlanabilir[42].

1.5. Manyetik Nanoparçacıklar ve Kanser Tedavisinde Kullanımı

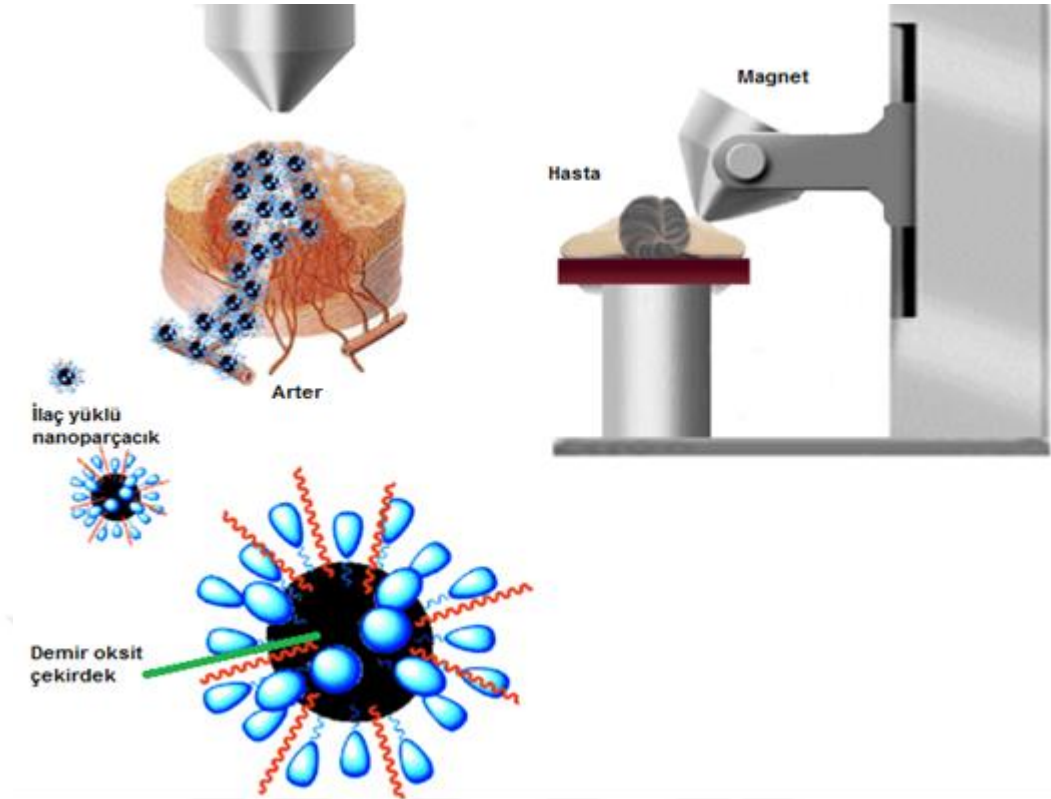
Günümüzde kanser teşhis ve tedavi için kullanılan; radyoterapi, kemoterapi, cerrahi yöntemlerin zararlı yan etkileri görüldüğü için yapılan araştırmalar kanser teşhis ve tedavisinde yeni yöntemleri ortaya çıkarmıştır. Manyetik nanoparçacıklar (MNP), eşsiz fiziksel özellikleri, moleküler ve hücresel düzeydeki biyolojik etkileşim kabiliyeti nedeniyle, kanser hücrelerini manyetik rezonansla görüntülenmesi ve diğer canlı hücrelere zarar vermeden kanserli hücreye hedeflenmiş kontrollü salınımı ile kanser teşhis ve tedavisinde potansiyel nano boyuttaki yapıların önemli bir sınıfıdır.



Şekil 1.14. Manyetik nanoparçacıklarla hedefe yönelik tedavi [68].

Biyomedikal alanında MNP' lerin başarılı bir şekilde uygulanmaları onların manyetik alan uygulaması ile kontrollü salımı ve agregasyon derecesine bağlı olmuştur. Bunlar göz önüne alındığında molekülün kararlılığının artırılması için ya sentez süresinde ya da sentez sonrası biyoyumlu bir polimer kullanarak MNP' lerin kaplanması agregat oluşumunu engellendiği görülmüştür. Gıda ve İlaç Yönetimi (FDA) tarafından onaylanan çeşitli polimerler MNP' lerin kaplanmasında kullanılmıştır. Polikaprolakton (PCL), polietilen glikol (PEG), polilaktik asit (PLA), polihidroksibütirat (PHB), dekstran ve kitosan bu polimerlerden bazılarıdır [67].

MNP' lerle sağlanan kontrollü ilaç salımı, belirlenen sürede ve hızda etkin madde salımının gerçekleştirilmesidir. Kemoterapinin dezavantajlarından biri olan sağlıklı hücrelerin zarar görme durumu, MNP' lerle terapötik maddeleri hedeflenen bölgeye iletilmesi ve dış bir manyetik alan kullanılarak ilaç salınım sırasında hedeflenen bölgede tutulabilir (Şekil 1.15). Böylece yan etkiler azaltılıp fazla doz alımını önleyerek tedavi için gereken konsantrasyonda ilaç seviyesi korunmuş olur [69].



Şekil 1.15. Manyetik ilaç hedefleme mekanizması [70].

2.KAYNAK ARAŞTIRMASI

Annona muricata bitkisinin farklı kısımlarındaki geniş çaplı fitokimyasal değerlendirmelerde, alkaloidler (ALK' ler), megastigmanlar (MG' ler) flavonol triglisositler (FTG' ler), fenolikler (PL' ler), siklopeptidler (CP' ler) ve uçucu yağlar dahil çeşitli fitobileşenlerin ve bileşiklerin varlığı gösterilmiştir. . Bununla birlikte, *Annona muricata* da dahil olmak üzere Annona türlerinin genel olarak zengin bir asetojenik bileşikler (AGE) kaynağı olduğu gösterilmiştir.

Fitokimyasal çalışmalar Annonous asetogeninin *Annona muricata* ' nın başlıca bileşenleri olduğunu ortaya koymaktadır. *Annona muricata* ' nın yapraklarından, kabuklarından, tohumlarından, köklerinden ve meyvelerinden birçok annonous asetogenin izole edilmiştir (Tablo 2.1.). [43].

Tablo 2.1. *Annona muricata* ' dan izole edilen annonous asetogenin (AGE) bileşigi [43].

BİTKİ KISMI	BİLEŞİK	SINIF	BİYOLOJİK AKTİVİTE
Yaprak	Muricatocin C	AGE	Tuzlu su karidesine karşı toksisite, akciğer A549, meme MCF-7 ve kolon HT-29 kanser hücreleri
Yaprak,tohumlar	Gigantetronenin	AGE	-
Yaprak,tohumlar perikarp	Annonacin A	AGE	-
Yaprak	Annopentocin A	AGE	Pankreatiye karşı toksisite, MIA PaCa ₂ kanser hücreleri
Yaprak	Annopentocin B	AGE	Akciğer A549 kanser hücrelerine karşı toksisite
Yaprak	Annopentocin C	AGE	Akciğer A549 kanser hücrelerine karşı toksisite
Yaprak	<i>Cis</i> -annomuricin-D-one	AGE	Akciğer A549, kolon HT-29'a karşı toksisite ve pankreatik MIA PaCa-2 kanser hücreleri
Yaprak	Murihexocin A	AGE	Farklı kanser hücrelerine karşı toksisite
Yaprak	<i>Cis</i> -corosolone	AGE	İnsan hepatoma hücrelerine karşı toksisite
Tohum	Muricatacin	AGE	İkciğer A549, meme MCF7, karşı toksisite kolon HT-29 kanser hücreleri
Tohum,yaprak, perikarp	Annonacin	AGE	Nörotoksik, yumuşakça öldürücü, inhibitör mitokondriyal kompleks I
Tohum,yaprak	Corosolone	AGE	Oral KB kanser hücrelerine karşı toksisite
Tohum	Isoannonacin	AGE	Yumuşakça öldürücü, antikanser
Tohum, yapraklar	Gigantetrocin A	AGE	Kolon HT-29 kanserine

NIH U.S. National Library of Medicine
ClinicalTrials.gov
 Find Studies ▾ About Studies ▾ Submit Studies ▾ Resources ▾ About Site ▾

Home > Search Results

Modify Search Start Over

2 Studies found for: annona | cancer

Not enough studies found? Try these search suggestions:

List By Topic On Map Search Details

Hide Filters Download Subscribe to RSS Show/Hide Columns

Row	Saved	Status	Study Title	Conditions	Interventions	Locations
1	<input type="checkbox"/>	Completed	Effect of Annona Muricata Leaves on Colorectal Cancer Patients and Colorectal Cancer Cells	Colorectal Cancer	Dietary Supplement: Annona muricata extract Dietary Supplement: Placebo	
2	<input type="checkbox"/>	Completed	A New Supplement for the Immune Response to HPV Infection	HPV Infection	Drug: ellagic acid + annona muricata	

Filters

Apply Clear

Status

Recruitment

- Not yet recruiting
- Recruiting
- Enrolling by invitation
- Active, not recruiting
- Suspended
- Terminated
- Completed
- Withdrawn

Şekil 2.16 Annona'nın ilaç olma sürecinin tamamlanması (Clinical Trial (NIH)[66].

Çeşitli çalışmalar, bitkinin farklı özütlerinin ve izole edilen AGE' lerin çeşitli kanser hücre dizilerine yönelik önemli anti-proliferatif etkilerini göstermektedir. Son zamanlarda *in vitro* çalışmalar, *Annona muricata* yapraklarının etil asetat ekstraktının kolon kanseri hücreleri ve akciğer kanseri hücrelerine karşı etkisi gösterilmiştir. Yaprak özütü, mitokondriyal aracılı yol boyunca kolon ve akciğer kanseri hücrelerinde apoptozu indüklemektedir. Bu antiproliferatif etki, hücre döngüsünün G1 evresinde durması ile ilişkilendirilmiştir. Buna ek olarak, kolon kanseri hücrelerinin metaztaz ve invazyonu, yaprak özütü tarafından önemli ölçüde engellenmiştir. Yaprakların etanolik özütünün apoptozda kaspaz 3 aktivasyonuna neden olduğu, TUNEL analizi ile K562 hücrelerinde gösterilmiştir. Son zamanlarda *Annona muricata* yaprakları su özütünün prostatik

hiperplazi (BPH-1) hücre hattı ve prostat kanserli sıçanlar üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir [44]. Kanser üzerindeki çeşitli çalışmalardan sonra Annona ilaç olma sürecini tamamlamıştır (Şekil 2.1).



Tablo 2.3. *Annona muricata* üzerinde antikanser çalışmaları [64].

Bitki Kısımı	Çalışmanın Konusu	Sonuç
Yaprakların etil asetat özü	Akciğer kanser hücreleri(A549)	Mitokondriyal aracılı apoptoz,G1 fazında hücre döngüsün durması
Yaprakların etil asetat özü	Kolon HT-29 ve HCT-116 kanser hücreleri	Mitokondriyal aracılı apoptoz,G1 fazında hücre döngüsün durması, migrosyon ve inavosyonun baskılanması
Yaprakların su özütü	Fare prostatı	Prostat büyüklüğünde azalma
Yaprakların etonolik özü	Farelerin göğüs dokuları	DMBA kaynaklı DNA hasarının önlenmesi
Yaprakların etonolik özü	DMBA / kroton yağı ile indüklenen fareler deri papillomagenes	Tümör başlatma ve çoğalmasının baskılanması
Yaprakların etonolik özü	DMH kaynaklı kolon kanseri	ACF oluşumun azaltılması
Yaprakların etonolik özü	K562 kronik miyeloid lösemi hücreleri	Apoptoz indikasyonu
Suda haşlanmış yapraklar	Metastatik meme kanseri	Hastalığın stabilizasyonu
Yaprakların etil asetatı	Azoksimetan kaynaklı kolon kanseri	ACF oluşumunun azaltılması
Yaprakların etil asetatı	Kolon HT*-29 kanser hücreleri	Annomuricin E'nin bioassay güdümlü izolasyonu ve apoptosis indükleyici etkisi

Son *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar *Annona muricata* yapraklarının benign prostat hiperplazisine (BPH-1) hücre hattına ve sıçanların prostatlarına karşı su özütü üzerine yapılmıştır. Sonuçlar, Bax'ın Yukarı regülasyonu ve mRNA seviyesinde Bcl-2' nin aşağı regülasyonu ile ilişkili 72 saat sonra 1.36 mg/ml' lik bir IC 50 değeri olan BPH-1 hücreleri üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Ekstrakt (30 ve 300 mg/ml doz) ile iki aylık tedaviden sonra sıçanların prostatlarının büyüklüğü azaldığı ve apoptoz indüksiyonu ile ortaya çıktığı görülmüştür. Bu umut verici antitümör etki, farelerin meme dokularında 7,12-dimetilbenzen antrasen (DMBA) kaynaklı hücre proliferasyonu üzerine *in vivo* bir çalışmada da bildirilmiştir. DMBA' nın neden olduğu DNA hasarına karşı koruyucu etki, *Annona muricata* yapraklarının oral uygulamasının meme karsinogenezinin gelişimine karşı koruyucu etkilere sahip olabileceğini göstermiştir. Yapraklar, 30 mg/kg düşük dozda bile, sırasıyla DMBA ve croton yağı ile indüklenen farelerde cilt papillomajenezinin başlama ve tanıtım aşamasını bastırmıştır [45].

Annona muricata üzerinde yapılan anti kanser çalışmaları sadece *in vitro* ve *in vivo* araştırmalarla sınırlı değildir. Metastatik bir göğüs kanserli 66 yaşındaki bir kadının bir vaka incelemesi sonucu, su ekstraktı ve Xeloda (Capecitabine) antikanser ilacı ile birlikte verilen tüketiminin *Annona muricata* ' nın hastalığın stabilize edilmesine neden olduğunu bildirilmiştir. Literatürde bildirilen bu önemli bilimsel çalışmalar sonucunda *Annona muricata* ' nın antitümör özelliğinin keşfedilmesi ile kanser terapisinde kullanılabilen AGE' leri içeren bitkinin etil asetatla çözünür fraksiyonu tablet formülasyonlarına dönüştürülmüştür [46].

Diğer bir çalışmada farklı bölgelerden toplanan *Annona muricata* ' nın on dokuz metabolitinin taranması, meme kanseri hücre hatları üzerinde MTT (Sitotoksisite) analizi ile belirlenmiş ve IC50 (LD50) bulunmuştur. Daha sonra, IC50 değeri esas alınarak, hücre döngüsü analizi, Annexin V / FITC, AO / PI, migrasyon, yayılımı ve yara iyileştirme analizi meme kanseri hücre hattı üzerinde araştırılmıştır. Daha sonra, *in vivo* anti-kanser çalışmaları, tümörlü farelerde gerçekleştirilmiş ve sonunda tümör kesitinin histopatolojisi, tümör nitrik oksit seviyesi, tümör malondialdehit düzeyi, klonojenik test, T hücre immünofotasyon testi ve proteom profiller analizi yapılmıştır. Sonuç olarak; *Annona muricata* ham ekstraktı numuneleri, meme kanseri hücre hatlarına karşı farklı seviyelerde sitotoksisite gösterdiği belirlenmiştir. Seçilen B1 AMCE, tümörün boyut ve ağırlığını azaltmış olup, anti-metastatik özellikler göstermiştir ve 4 T1 hücrelerini hem *in vitro* ve hem *in vivo* ortamda apoptozu götürdüğü rapor edilmiştir. Ayrıca, tümördeki nitrik oksit ve

malondialdehit seviyesini düşürürken, beyaz kan hücresi, T hücresi ve doğal öldürücü hücre popülasyonunu da arttırdığı gözlemlenmiştir [1].

2.1. AMAÇ

Son zamanlarda *Annona muricata* 'nın başlıca kanser olmak üzere birçok hastalığın tedavisi için araştırmalar devam etmektedir. Yapılan tez çalışmamızda ,günümüz kanser tedavi yöntemlerinde görülen yan etkilei azaltıp , etken maddemiz olan *Annona muricata* 'nın da yan etkilerini azaltarak kanser hücreleri üzerindeki etkinliğini artırmak amacıyla *Annona muricata* bitki özütü yüklenmiş PHB kaplı manyetik nanoparçacık sistemleri geliştirilmiştir. Geliştirdiğimiz bu sistemle tümörlü hücreye belirli zamanda ve istenilen dozda ilaç verilmesi sağlanmaya çalışılmıştır.Bu sistemin karakterizasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda sitotoksikite çalışmaları ile *Annona muricata* bitki özütü yüklü nanoparçacıkların kanser hücreleri üzerindeki inhibisyonu analiz edilmiştir.

3.MATERYAL METOD

3.1 MATERYAL

3.1.1 *Annona muricata* Kapsülü

Ticari olarak satın alındı.

3.1.2. Meme Kanseri Hücre Hattı

Bu çalışmada kullanılan insan meme kanser hücre hattı MDA-MB-231 Ahi Evran Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Kanser ve Kök Hücre Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

3.1.3. Hela Hücresi

Bu çalışmada kullanılan hela hücresi hattı Ahi Evran Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Kanser ve Kök Hücre Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

3.1.4. Kullanılan Kimyasallar

- Demir (II) klorür dehidrat ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
- Demir (III) klorid heksahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
- Polihidroksibütirat (PHB)
- RPMI-1640 Medium
- Fetal Bovine Serum (FBS)
- Tripsin-EDTA
- Fosfat Tamponu (PBS)
- Tris ve asetik asit
- XTT(2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfohenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide)
- Amonyak
- Etil alkol, metil alkol

3.1.5. Cihazlar ve Laboratuvar Araçları

- Hassas terazi

- Vortex
- Laminar Flow (Class II kabin)
- Microplate okuyucu
- Inverted Mikroskop
- Karbondioksitli Etüv
- Santrifüj

3.2.METOD

3.2.1. PHB Kaplı Manyetik Nanoparçacıkların (MNP) Sentezlenmesi

PHB kaplı manyetik (Fe_3O_4) nanoparçacıkların sentezi için 90°C çöktürme yöntemi (co-precipitation) bazı değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. Sentez esnasında $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ tuzları (1:2 oranında) ve PHB polimeri 5 boyunlu bir balonda yaklaşık 90°C 'de mekanik bir karıştırıcıyla tamamen çözününceye kadar karıştırılmıştır. Deney esnasında ortamdaki oksijenin uzaklaştırılması için sistemden azot gazı geçirilmiştir. Çözünme gerçekleştikten sonra ortama amonyak çözeltisi damla damla ilave edilmiştir. Amonyak ilave edildikten sonra oluşan siyah çökelek etanol ile yıkanarak ortam pH' sı 8-9'a gelinceye kadar yıkama işlemi yapılmıştır [73].

3.2.2. Manyetik Nanoparçacıkların Karakterizasyonu

MNP'lerin kristal yapıları X-ışını kırınım yöntemi ile belirlenmiştir. Nanoparçacıklarının sentezlerinin her aşamasında parçacık şekil ve büyüklükleri elektron mikroskobu (TEM/SEM) ile gözlemlenmiştir. Manyetik nanoparçacıklar sentezlendikten sonra yapılarında meydana gelen fonksiyonel gruplardaki değişiklikler FTIR spektroskopisi ölçümleri ile tespit edilmiştir. Sentezlenen nanoparçacıkların manyetik özellikleri manyometre (VSM) kullanılarak belirlenmiştir.

Nanoparçacıklarının sentezlerinin her aşamasında boyut dağılımları (DLS), elektriksel ve manyetik özellikleri (Zeta potansiyel ile) incelenmiştir.

3.2.3. PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartiküllerin *in Situ* Sentezi

Demir tuzları 30 ml %1 PHB çözeltisinde azot akışı altında 2500 rpm' de karıştırılarak çözdürüldü. Daha küçük nanopartikül üretmek için amonyak çözeltisi (%32, NH_4OH), çok yavaş eklenerek 2-3 saat karıştırıldı. Kolloidal PHB-MNP'ler etanol ile kapsamlı bir şekilde yıkandı [73].



Şekil 3.17 PHB kaplı manyetik nanoparçacık sentezi [57].

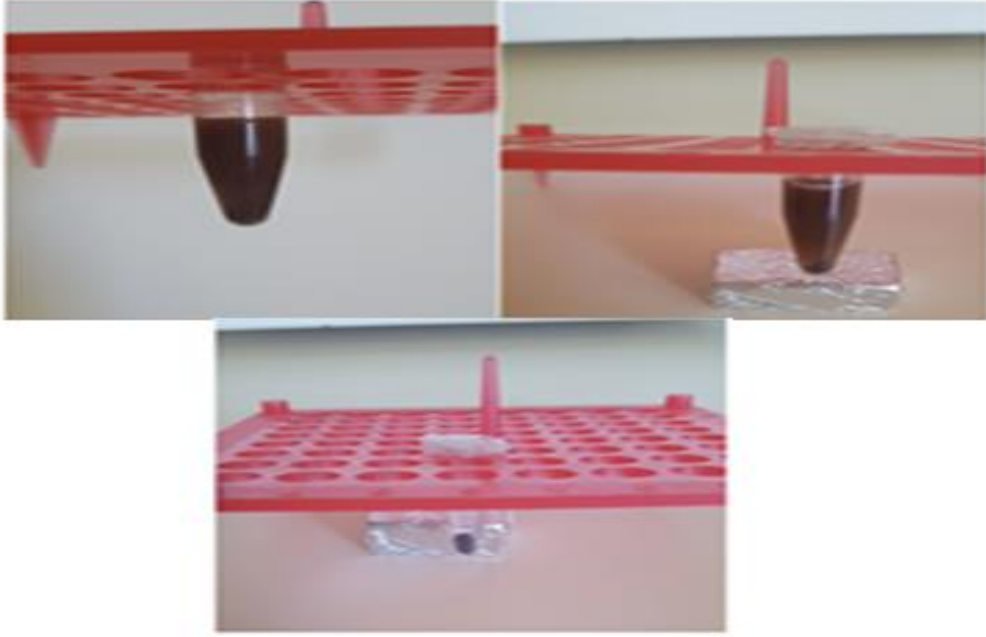
3.2.4. PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Sentezlenen PHB-MNP' ler X-ışını kırınımı ile (XRD) kristal yapı analizleri yapıldı. Kimyasal gruplar ve PHB-MNP' lerde yer alan kimyasal etkileşimler Fourier Kızılötesi Dönüşüm Spektroskopisi (FTIR) kullanılarak tamamlandı. İletim Elektron Mikroskobu (TEM) ile manyetik boyutları ve morfolojik özellikleri gözlemlendi. Işık saçılımı ölçüleri (DLS) dinamik olarak belirlendi. Niteliksel ve uçucu bileşikler hakkındaki nicel bilgilere nanopartiküllerin gravimetrik analizi (TGA) sonucunda ulaşıldı. PHB-MNP' lerin VSM ile manyetik özellikleri belirlendi.

3.3.PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartiküle *Annona muricata* Yükleme

Annona muricata yükleme işlemi farklı ilaç konsantrasyonlarında (200-250-400-500-600 mg/ml) PBS tamponu ile pH 7.2' de gerçekleştirilmiştir. Tampon, bitki özütü ve PHB-

MNPs karışımı ışık geçirmez tüp içerisinde 24 saat karıştırılmıştır. Karıştırma işleminden sonra *Annona muricata* yüklü PHB-MNP' ler manyetik ayırma yöntemi kullanılarak ortamdan ayrıştırılmıştır (Şekil 3.2.). *Annona muricata* yükleme verimliliği UV Spektrofotometre ile 286 nm' de absorbans değeri ölçümü yapıldı. Bu ölçümden sonra *Annona muricata* konsantrasyonu FTIR analizi ile doğrulandı.



Şekil 3.18 Bitki özütü yüklü nanoparçacıkların manyetik yöntemle yüklenmemi özütünden ayrılması

3.4. PHP Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartikülleri Üzerinde *Annona muricata* 'nın Stabilitesi

Annona muricata yüklü PHB-MNP' lerin 37°C' de PBS tampon stabilitesi 8 hafta incelendi. Absorbans değerleri 286 nm' de UV Spektrofotometre ile ölçüldü.

3.4.1. PHP Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartikülde *Annona muricata* Salımı

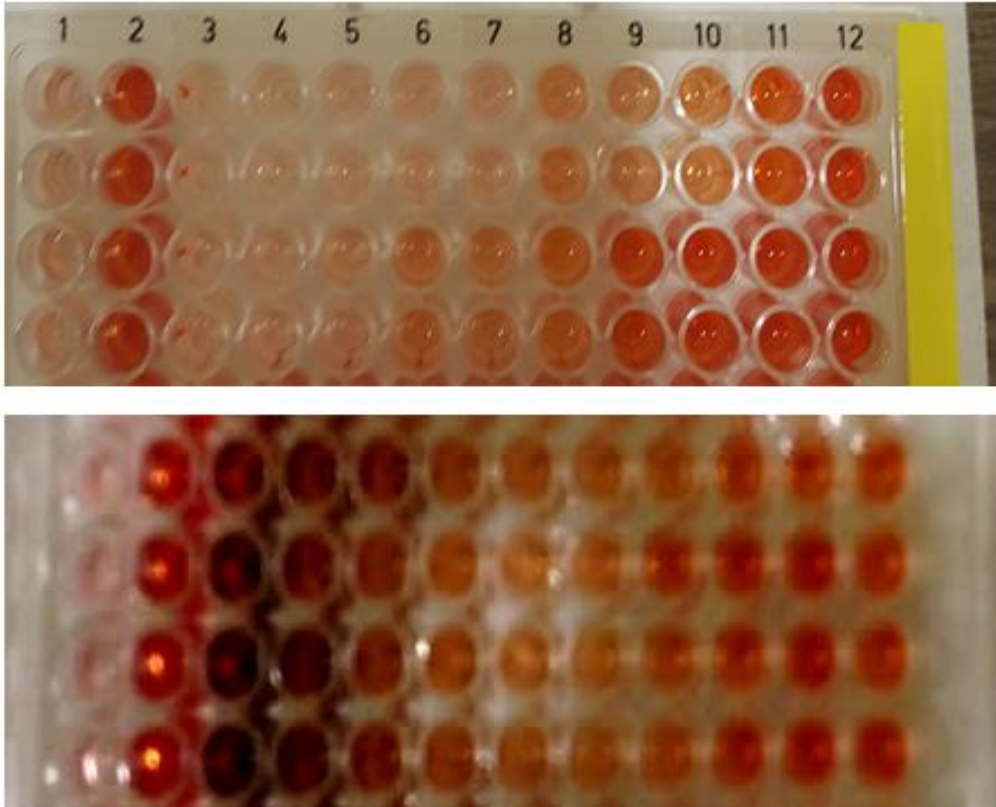
A.Muricata yüklü PHB-MNP' ler pH 4.5 olan asetat tamponunda 65 saat bekletildi. Serbest bırakılan *A.Muricata* ' lar 286 nm' de UV Spektrofotometre ile analiz edildiğinde çözüm miktarlarında azalma olduğu gözlemlendi.

3.4.2. PHP Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartiküllerin Hücrelerin İçine Girişi(Internalization)

A.Muricata yüklü PHB-MNP 'ler 6 oyuklu plakalarda MDA-MB-231 hücre hattına 37°C' de 24 saat inkübe edildi. Sonra hücreler 3 veya 4 kez PBS tamponu ile yıkandı.4 saat sonra hücrelerin içine girişini belirlemek için floresan mikroskobu ile hücre fotoğrafları alındı.

3.4.3. PHP Kaplamalı Nanopartikülleri Sitotoksitesisi

MDA-MB-231 insan meme kanseri hücresi ve hela hücreleri kullanıldı. %10 FBS ve %5 CO₂ altında 37°C' de %1 gentamisin çözeltisi ile desteklediğimiz RPMI / 1640 kültür ortamında 75T kültür şişeleri içerisinde hücreler büyütüldü. %0.25 tripsin – EDTA ile hücreler haftada 2-3 kez pasajlandı. *Annona muricata* ve *Annona muricata* yüklü MDA-MB-231 insan meme kanseri hücresi ve HeLa hücreleri üzerindeki antiproliferatif etkileri PHB-MNP' ler yardımı ile XTT (Hücre Proliferasyon Kitinin) analizi üretici firmanın talimatına göre uygulandı. Kanser hücreleri 5.0× 10⁴ hücre/ml konsantrasyonunda 96 kuyucuklu plakaları içerisine ekilerek 72 saat boyunca farklı nanopartikül dilüsyonları varlığında inkübe edildi.

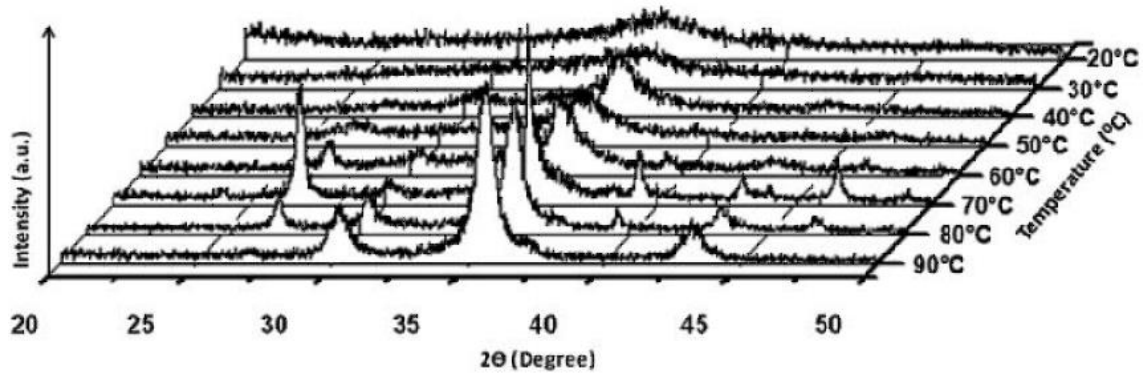


Şekil 19. XTT assay sonucu 96 well platelerin görünümü.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1.XRD (X-Işınları Kırınımı) Sonuçları

Her bir kristal fazının kendine has atomik dizilimlere bağlı olarak, X ışınlarını tipik bir ortam içinde kırması olayıdır. Bu kırınım profilleri her bir kristalin faz için tıpkı parmak izi gibi o kristali anlatır. Bu analiz metodu, çalışma sırasında numuneye zarar vermez ve az miktardaki numune ile çalışmaya olanak verir. X-Işını Kırınım cihazıyla ince filmlerin, kristalin maddelerinin, kayaçların ve polimerlerin nicel ve nitel özelliklerinin incelemesi yapılabilir [47]. X-ışınları ölçümleri ile sentezlenen Fe_3O_4 nanoparçacıklarının kristal yapısı hakkında bilgi vermektedir.

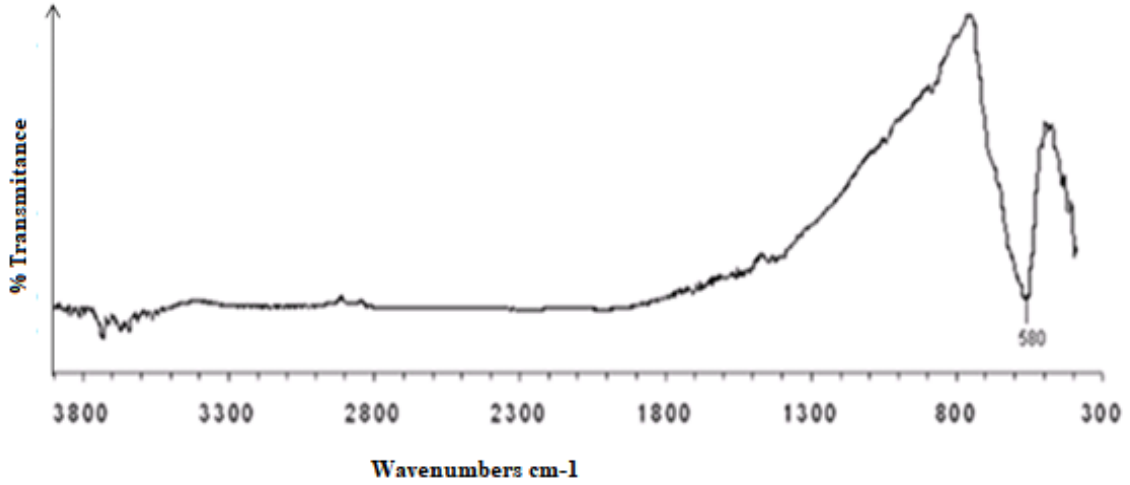


Şekil 20 Sentezlenen manyetik demir oksit (Fe_3O_4) nanoparçacığının XRD desenleri(73).

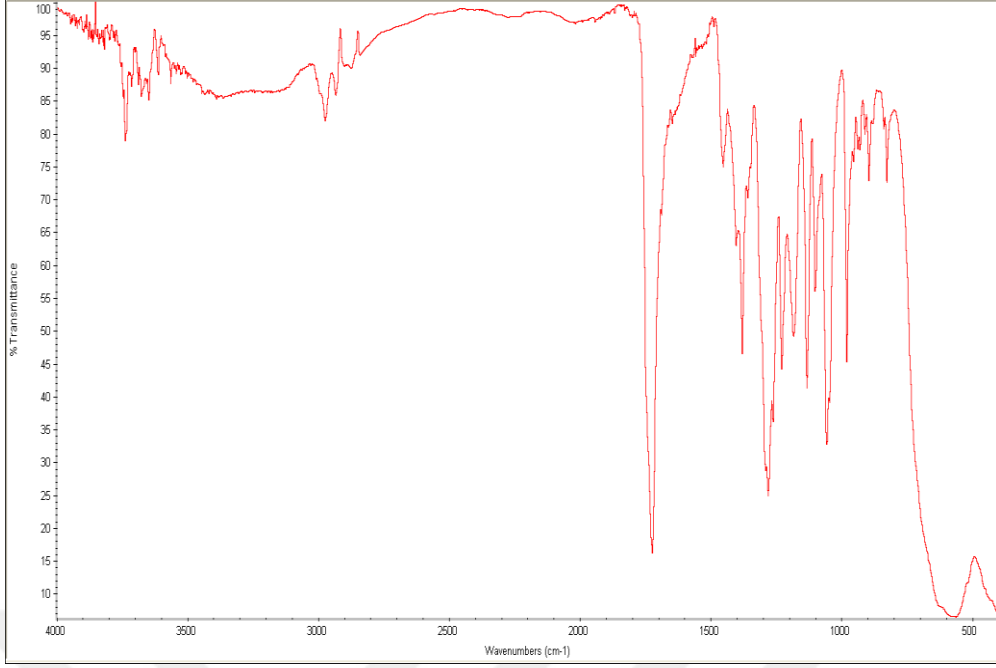
Yaptığımız çalışmada oluşan desen $50^\circ C$ ' ye kadar elde edilen ürünlerin amorf özellikte olduğunu gösterdi. $50^\circ C$ üzerindeki sıcaklıklarda kristal yapı oluşmaya başlamıştır. $60^\circ C$ ve $80^\circ C$ sıcaklıkları arasında Fe_3O_4 ' e ve $FeO(OH)$ ' e ait tepecikler görülmüştür. $FeO(OH)$ ' e ait tepecikler $70^\circ C$ ' de $60^\circ C$ ' ye kıyasla daha yoğundur. $70^\circ C$ üzerindeki sıcaklıklarda Fe_3O_4 ' e ait tepecikler daha yoğun ve keskinken, $FeO(OH)$ ' e ait tepeciklerin sıcaklık artışıyla azaldığı görülmektedir. $90^\circ C$ ' de $FeO(OH)$ ' e ait tepeciklerin tamamen kaybolmasıyla saf Fe_3O_4 elde edildiği anlaşılmaktadır. $90^\circ C$ ' de sentezlenen manyetik Fe_3O_4 nanoparçacıklarının X-ışını kırınım deseni; sırasıyla (220), (311) ve (400) okuma değerlerinde kırınım tepecikleri vermektedir. Bunlar kübik yapıya sahip Fe_3O_4 (manyetit) kristalin karakteristik tepecikleridir [73].

4.2.FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi)

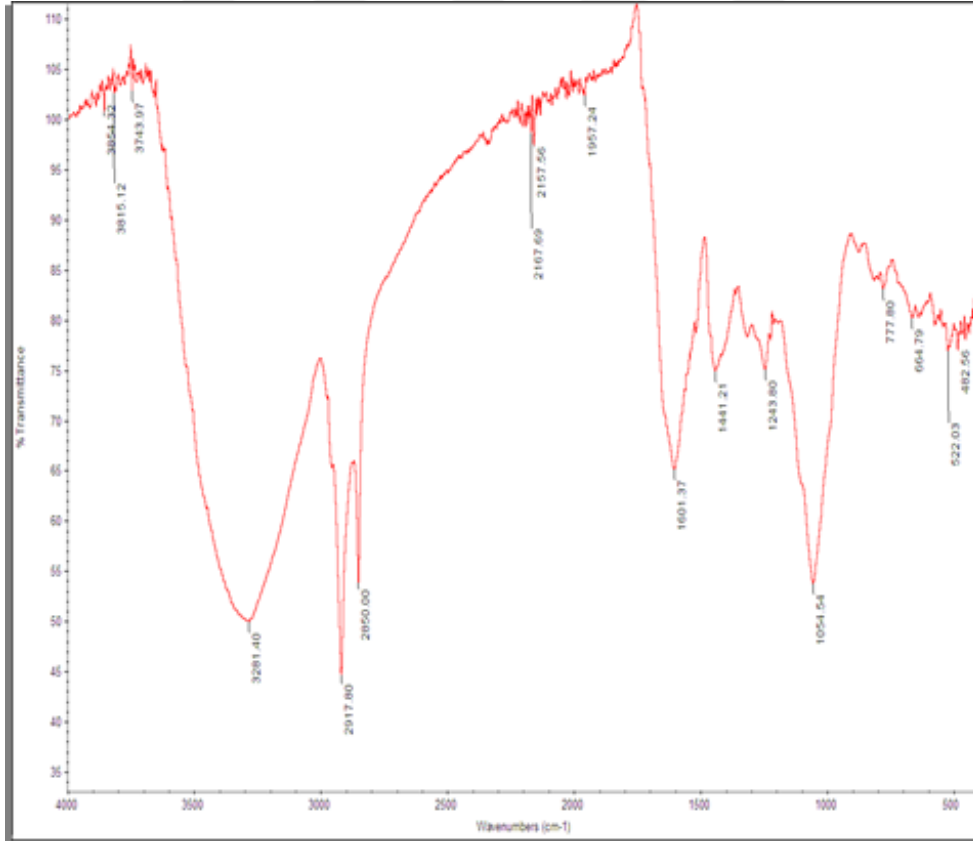
Kızılötesi (IR) spektroskopisi, organik veya inorganik bileşiklerin karakterize edilmesinde kullanılan bir araçtır. IR spektrumu, maddeyi oluşturan atomlar arasındaki bağların titreşimiyle oluşan frekanslarına karşılık gelen absorpsiyon pikleri ile göstermektedir. Kızılötesi ışığın, incelenen örnek tarafından soğurulmasına dayanır. Soğurulma, moleküldeki bağların titreşimi ve dönüşleri için gerekli miktarda dalga enerjisinin, cihaz tarafından elektromanyetik spektrumun kızılötesi bölgesinden gönderilmesiyle gerçekleşir. Bu yöntem içeriği bilinmeyen örneklerde kimyasal grupların belirlenmesine yardımcı olur [48]. Bizde sentezlediğimiz Fe₃O₄ nanoparçacıklarını, FTIR spektrometresi ile inceledik. Fe₃O₄' ün Fe-O bağlarındaki titreşimlere ait 580 cm⁻¹' deki geniş bandı Şekil 4.2.' deki FTIR spektrumunda görülmektedir.



Şekil 4.21. FTIR Spektrumu [73].

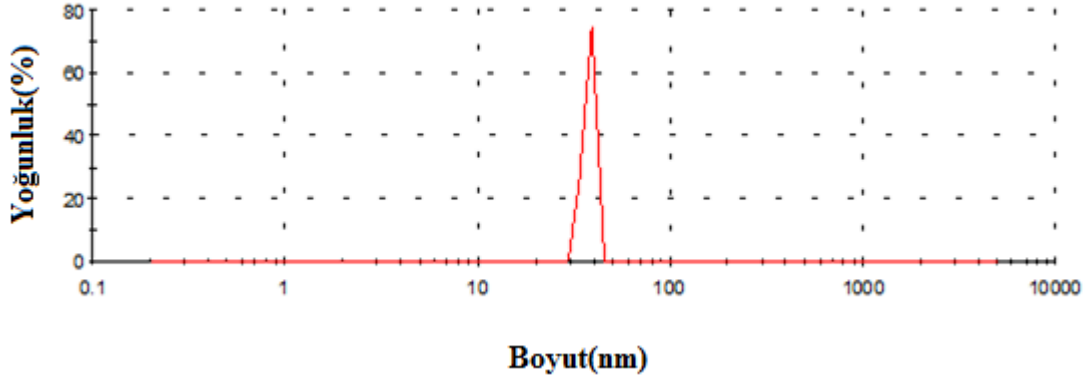


Şekil 22. PHB kaplı Manyetik nanoparçacıkların FTIR spektrumu.



Şekil 23. Saf *Annona muricata* ekstraktının FTIR spektrumu

Şekil 4.6' da verilen ışık yoğunluğuna bağlı boyut dağılımı grafiğinde, en sık görülen MNP boyutu yaklaşık 30 nm olarak gözlemlenmiştir.

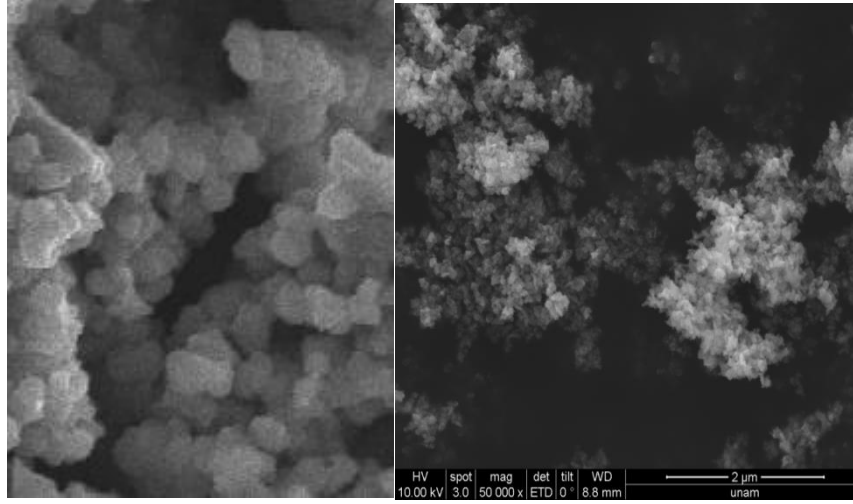


Şekil 25. MNP' lere ait boyut dağılım grafiği.

4.4.SEM (Tarayıcı Elektron Mikroskobu ve TEM (Geçirmeli Elektron Mikroskobu) Sonuçları

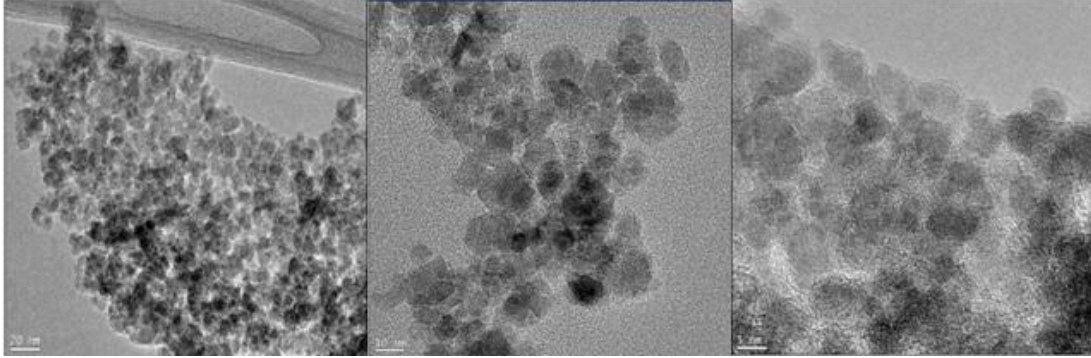
Sentezlediğimiz Fe_3O_4 nanoparçacıkların boyut, şekil ve görünüşleri hakkında bilgi almak için elektron mikroskop ölçümleri (TEM/SEM) kullanıldı.

SEM (Tarayıcı Elektron Mikroskobu): Görüntüsü yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanması, bu elektron demetinin numune yüzeyinde taratılması, taratma sırasında elektron ve numune atomları arasında oluşan girişimler sonucunda meydana gelen etkilerin uygun algılayıcılarda toplanması, bu bilgilerin sinyal güçlendiricilerinden geçirildikten sonra bir katot ışınları tüpünün ekranına aktarılmasıyla elde edilir. Biyolojik botanik, hücre biyolojisi, tıp madde bilimleri ve yeryüzü bilimlerinden elde edilen örnekleri 100.000 kez büyütürken yüzey yapılarını görüntüleyerek yüzeyde meydana gelen farklılıklar değerlendirilir [50]. Çalışmamız sırasında sentezlediğimiz Fe_3O_4 nanoparçacıkların farklı ölçeklerdeki SEM görüntüleri Şekil.4.7' de verilmiştir.

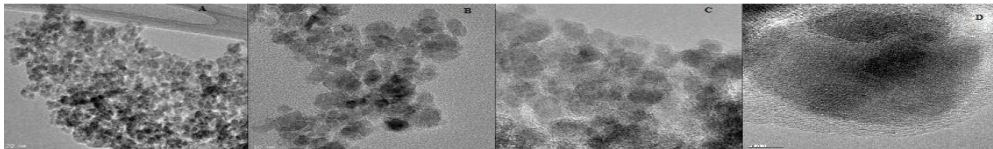


Şekil 26 Fe₃O₄ nanoparçacıkların SEM görüntüleri

TEM(Geçirmeli Elektron Mikroskobu): Geçirmeli elektron mikroskobunda ince katı bir numune yüksek monoenerjili elektrona maruz bırakılır. Bu elektronlar enerji seviyelerine göre numuneden geçerler ve ya kırınımına uğrarlar. Kırınımına uğrayan elektronlar kullanılan numunenin atomik yapısı ile ilgili bilgiler verir. Numuneden geçen elektronlar ise malzeme içindeki etkileşime göre hem atomik yapısı hakkında hem de malzeme kusurları hakkında bilgi verir [51]. Bizimde farklı konsantrasyonlardaki Fe₃O₄ nanoparçacıkların TEM görüntüleri şekil 4.8’ de verilmiştir.



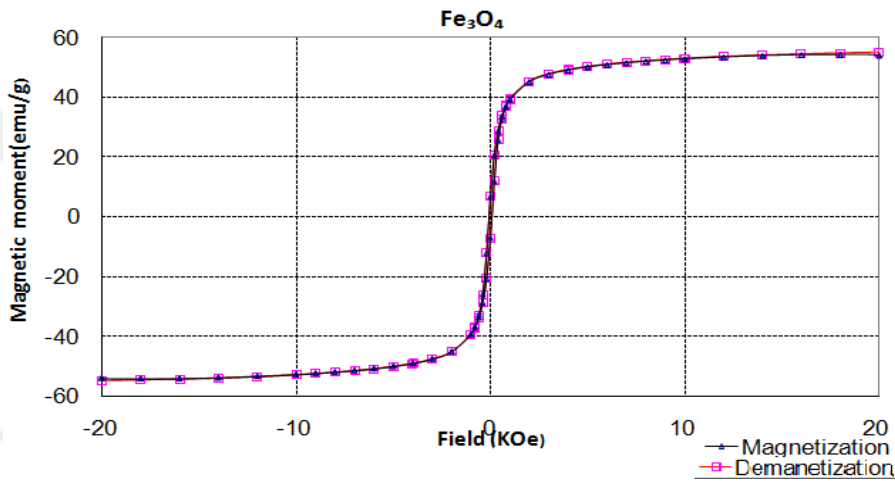
Şekil 27 Fe₃O₄ nanoparçacıkların TEM görüntüleri (farklı çözünürlüklerde 20nm, 10nm, 5nm).



Şekil 28 PHB kaplı manyetik nanoparçacıkların TEM görüntüleri

4.5. VSM (Titreşimli Örnek Manyetometresi)

İncelenen malzemenin manyetik karakterini ortaya koyan manyetizasyon eğrisi Titreşimli Örnek Manyetometresi ile elde edilmektedir. VSM, manyetik alanda titreşen malzemenin manyetik akı değişimi oluşturması ve bunun sonucunda oluşan indüksiyon elektromotor kuvvetinin ölçülmesine dayanır. Sentezlenen Fe_3O_4 nanoparçacıkların manyetizasyonu bu yöntemle ölçülmüştür. MNP'lerin, $37^\circ C$ yapılan mıknatıslanma ölçümünden elde edilen manyetik histeresis eğrisi Şekil 4.10' da gösterilmektedir.



Şekil 29. MNP'lerin manyetizasyon eğrisi.

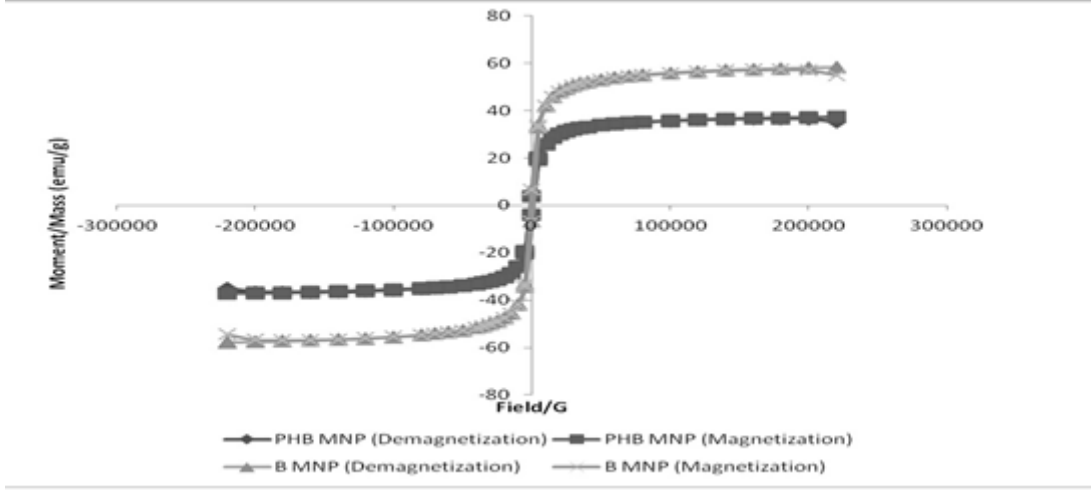
Tablo 4.1. MNP'lerin manyetik özellikleri

Örnek	M_s (emu/g)	M_r (emu/g)	M_r/M_s	H_c (KOe)
MNP	54.5	6.70	0.122	0.065

- M_s : Manyetik doygunluk
- M_r : Artık mıknatıslanma (Remanans)
- M_r/M_s : Manyetik doygunluk kareselliği
- H_c : Giderme kuvveti (Koersitif).

MNP'lerin manyetizasyon eğrisinde, giderme kuvveti (H_c) ve artık mıknatıslanma (M_r) değeri son derece düşük düzeydedir (Şekil 4.10.). Bu sonuçlardan Fe_3O_4 'ün istenilen süperparamanyetik özelliği taşıdığı anlaşılmaktadır.

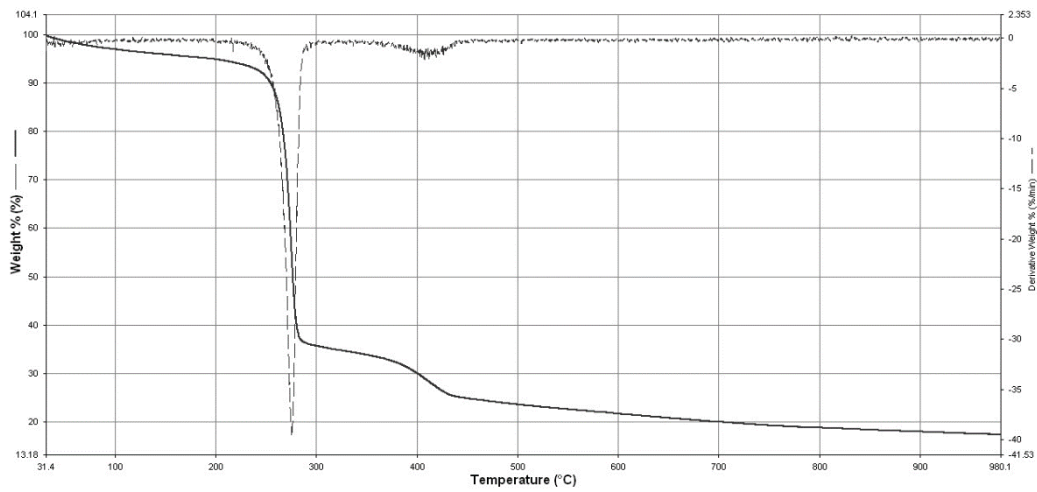
Sentezlenen PHB kaplı manyetik nanoparçacıkların manyetizasyonu bu yöntemle ölçülmüştür. MNP'lerin, 37°C yapılan mıknatıslanma ölçümünden elde edilen manyetik histeresis eğrisi Şekil 4.11' de gösterilmektedir.



Şekil 301. PHB kaplı nanoparçacıkların VSM analizi(73).

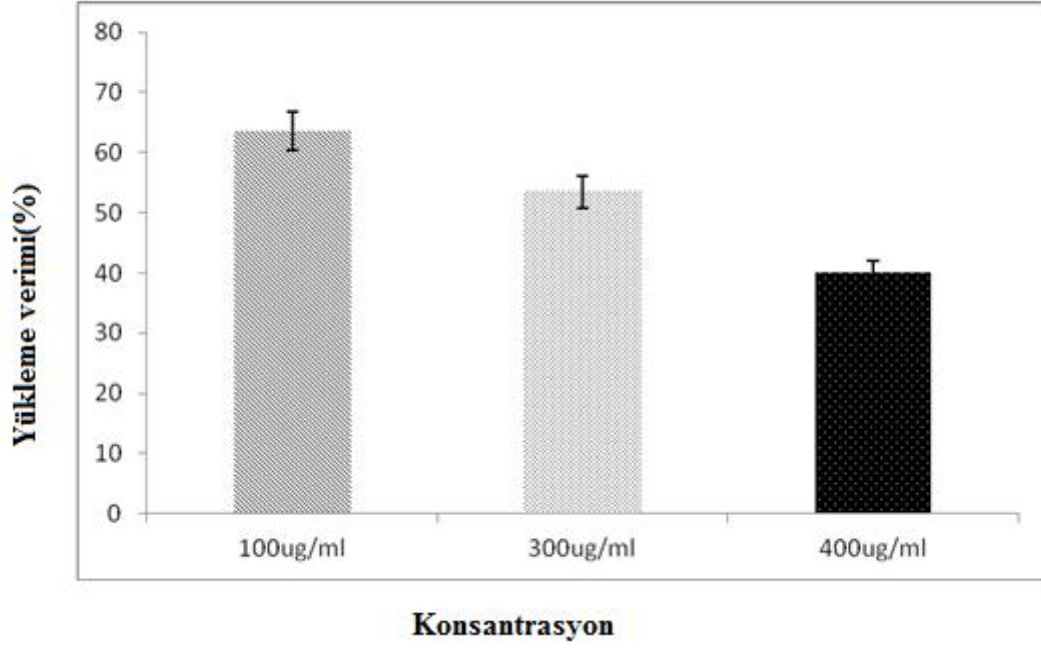
4.6.TGA (Termal Gravimetrik Analiz)

Manyetik nanoparçacıkların yüzeyine kaplanan PHB polimerinin miktarını belirlemek için TGA analizi yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre %80 oranında bir kaplanmanın varlığı Şekil 4.12' de görülmektedir.



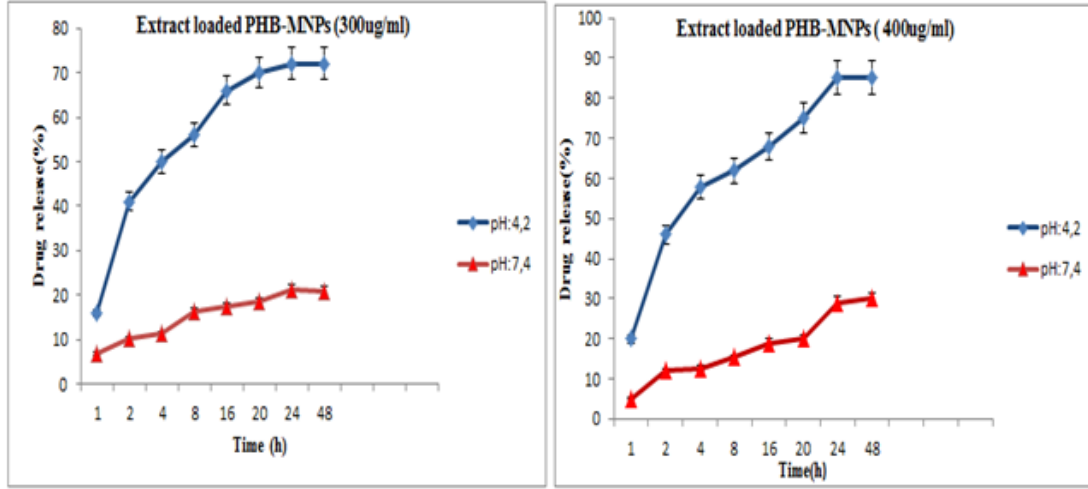
Şekil 312. PHB kaplı manyetik nanoparçacıkların TGA analizi(73).

4.7.PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartiküllere *Annona muricata* Yükleme Sonuçları



Şekil 323. *Annona muricata* ekstratının PHB kaplı nanoparçacıklara yüklenme kapasitesi.

4.8. PHB Kaplı Magnetik Demir Oksit Nanopartikülde *Annona muricata* Salımı Sonuçları

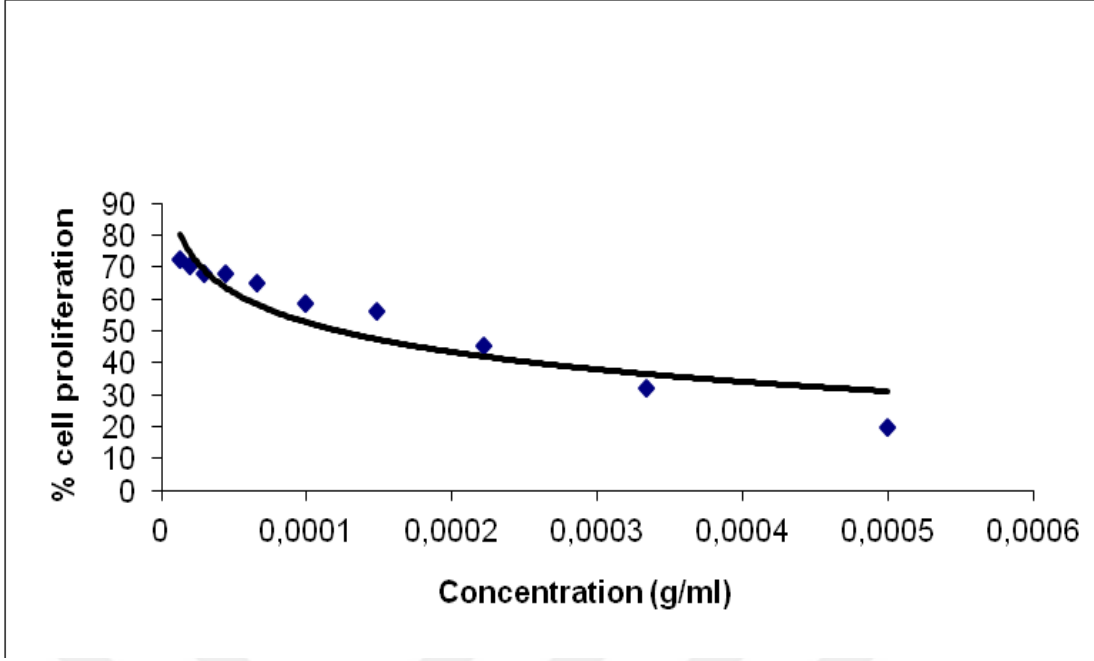


Şekil 334. *Annona muricata* ekstraktı yüklü manyetik nanoparçacıklardan ekstraktın salınım grafiği

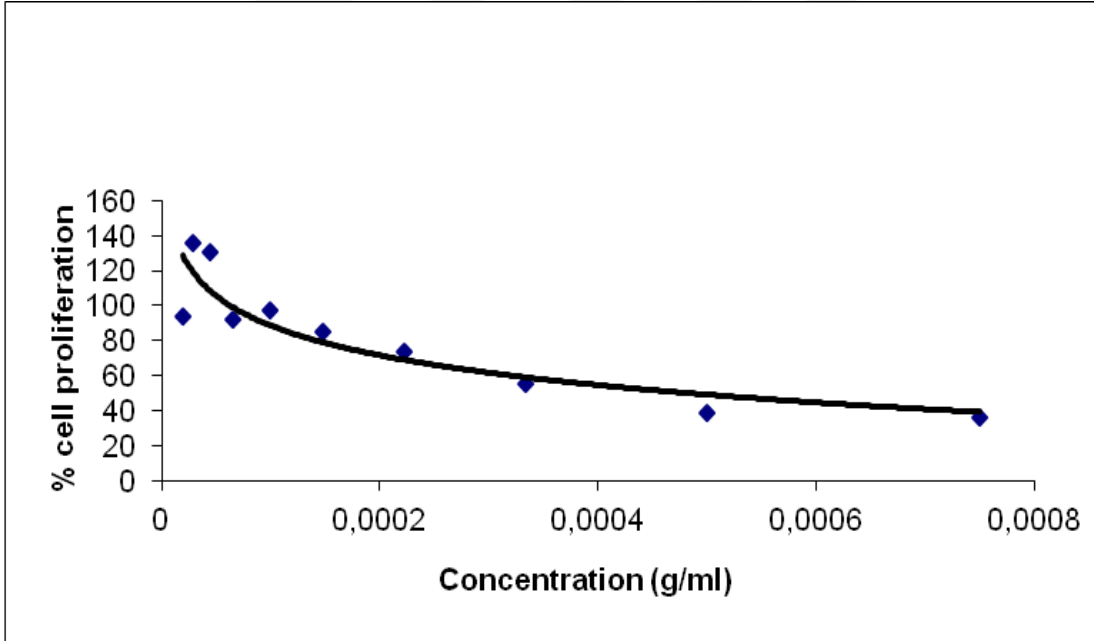
4.9. Sitotoksosite Sonuçları

Sitotoksik maddeler hücrelere toksik şekilde etkileyip hücrenin işleyişini durduran ya da öldüren yapılardır. Bir maddenin sitotoksik etkisinin olup olmadığının belirlenmesi için sitotoksosite araştırmaları yapılmaktadır. Uygulama kolaylığı ve *in vivo* çalışmalarında ulaşılan sonuçlarla uyum göstermesi nedeniyle hücre temelli sitotoksosite çalışmaları, hayvan deneylerine seçenек olmuş ve toksikoloji laboratuvarlarında sıkça tercih edilir olmuştur [54]. Bu yöntemle test edilen numunenin sitostatik ve sitotoksik etkileri hakkında genel bilgilere ölebilirler [55]. Hücre canlılığının saptanmasında yapılan birçok uygulama vardır. Araştırılan bir sitotoksosite çalışmasında en önemli bulgu araştırma sonucundaki canlı/ölü miktarının belirlenmesidir. Sitotoksosite belirleme metotları üç ana başlıkta toplanabilir. Bunlar; kolorimetrik, lüminesans ve enzimatik yöntemlerdir [56].

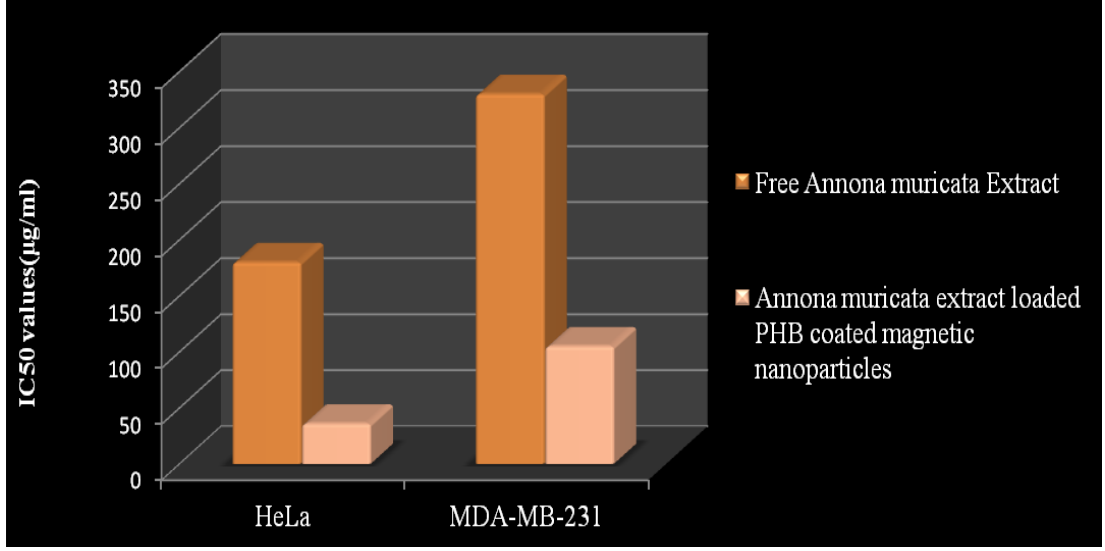
Biz kolirimetrik metodla 2,3-bis-(2- metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilid (XTT) tetrazolyum tuzu kullanarak gerçekleştirdik.



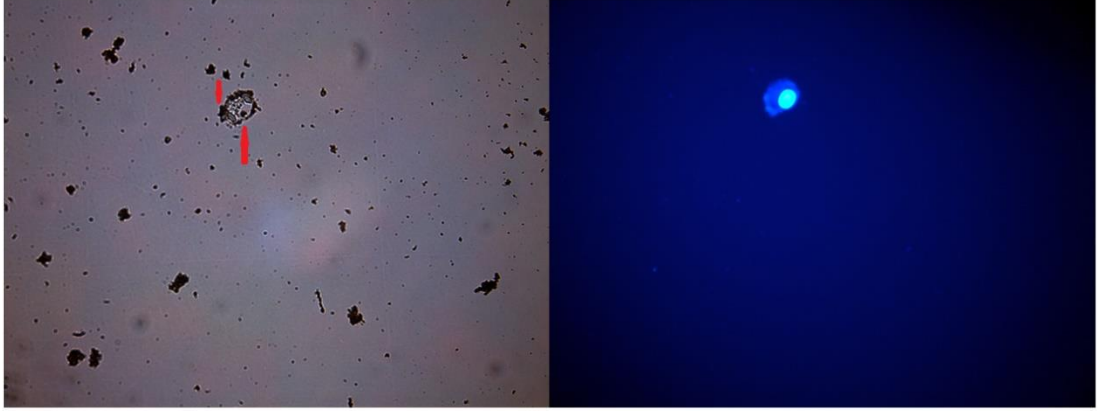
Şekil 345. *Annona m.* ekstraktının Hela hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi(LD50: 180 ug/ml)



Şekil 356. *Annona muricata* ekstraktının MDA-MB-231 hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi(LD50: 330 ug/ml)



Şekil 367. *Annona muricata* ekstraktı yüklü manyetik nanoparçacıkların kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi.



Şekil 378. *Annona muricata* yüklü nanoparçacıkların hücre içine girişi.

5.SONUÇ

Nano yapıların üstün özellikleri çok önceki tarihlerde tahmin edilmekteydi.1960' lı yıllarda Feynman nano yapıların özelliklerini vurgulayarak birçok bilim insanının dikkatini bu noktaya çekmeyi başarmıştı. 1980' li yıllarda Nobel Fizik Ödüllerine konu olan bilimsel çalışmalar hem nano ölçeklerinde saklı olan yeni davranışları ortaya çıkararak atomu istediğimiz yere taşıyabileceğimizi görmemizi sağlamıştır. 20.yy' ın sonlarına doğru doğada bulunmayan nano yapıların atomsal düzeyde biçimlendirilerek sentezlenmesine başlanmıştır. Dünya, 60 yıl içerisinde m-cm-mm büyüklüğündeki malzemeleri yüksek sıcaklıklarda kalıplara dökerek veya döverek şekillendirilen üretim teknolojisinden, atomsal düzeyde malzemeyi tasarlayıp yeni moleküller oluşturmak için yeni üretim yöntemine geçip nanoteknoloji ile tanıştı [58].

Bilimsel gelişmelerle elde edilen sonuçlar nanometre boyutlarındaki malzemelerin teknolojiye çok büyük olanaklar sağladığı gözlemlenmiştir. İlk önce ABD nanoteknolojiyi öncelikli alan ilan etmiş ve bundan sonra tüm dünyada hızla gelişmiştir.

Günümüzde birçok alanda nanoteknoloji kullanılmakta olup maksimum fayda sağlanmaya çalışılmaktadır. Temel olarak endüstriyel, tıp gibi alanlarda bilimsel araştırmalar hızla artmaktadır.

Sağlık alanında teşhis ve tedavi yöntemlerinde nanoteknoloji kullanılmaktadır. Kanserin klasik yöntemlerle teşhisinde, tümörün 1 cm çapa veya yaklaşık 1 kg'a ulaşması gerekmektedir ki bu hastalığın oldukça ilerlemesine neden olmaktadır. Günümüzde nanoteknoloji ile kanser erken dönemde teşhis edilebilir hale gelmiştir. Örneğin mamografi ile meme kanserine klinik teşhisin konması için 1.000.000 tümör hücresinin oluşmuş olması gerekmektedir. Nanoteknoloji yardımı ile 100'den az tümör hücresinin olduğu durumda dahi meme kanserini teşhis etmek mümkündür [59].

Kanser teşhis ve tedavisinde, cerrahi süreç boyunca hastanın değerlendirilmesi, ameliyat planlaması, intraoperatif görüntü rehberliği ve ameliyat sonrası için en önemli gereksinimlerden biridir. 2003 yılında Dunn ve Black "nano-nöroşirürji" terimini ilk defa ortaya atmışlar ve moleküler düzeydeki tedavide nöroşirürji hastalarında gelecekteki rutin tetkik olabileceğini öne sürmüşlerdir [60]. Nanopartiküller, uzun yarılanma ömürleri ve hedef dokuya bağlanma kapasitelerinin ayarlanabilir olması nedeniyle tedavide önem arz

etmektedirler. Bu sebeplerle geliştirilen demir oksit nanopartikülleri (USPIO) çok küçük boyutlarda olmaları ve uzun yarılanma ömürleri nedeniyle üzerinde en çok çalışılan nanoparçacık türlerindedir [61].

Radyoterapi, kemoterapi ve cerrahi uygulamalar kanser tedavisinde kullanılan başlıca yöntemlerdir. Cerrahi yöntem, kanserli dokunun rezeksiyonudur. Kanserın tekrarlama riski, organ kaybı ve tüm kanser türlerine uygulanamaması dezavantajlarındandır. Radyoterapide kanserli hücreler, spesifik frekans bandı ve şiddetinde radyasyon ile yakılır. Bu işlemde kanserli hücre yanında sağlıklı hücrelerin zarar görmesi, verilen radyasyonun tüm kanserli hücrelerine eşit oranda dağılmaması ve radyasyona maruz kalan dokuda fonksiyon kaybının oluşması dezavantajlarındandır. Kemoterapi ise, kanserli hücrelerin toksik etkisi bulunan ilaçlar ile yok edilmesi, kanserli hücrelerin bölünmesini sağlayan mekanizmaların ortadan kaldırılması hedeflenir. Kullanılan kemoterapi ilaçları hedefe yönelik hareket etmediği için kanserli hücrelerin yanında sağlıklı hücrelere de etki etmektedir. Hastanın bağışıklık sistemini azaltmakta ve hasta diğer hastalıklara karşı korunmasız kalmaktadır. Tüm bu yan etkiler ilacın hedefe yönelik çalışmamasından kaynaklanmaktadır [36].

Yapılan bir çalışmada, tropikal meyvelerin tüketimi ile Fransız Batı Hint Adaları'nda "atipik parkinsonizm insidansı" arasındaki olası ilişki araştırılmıştır. Guadeloupe Adası'ndaki bir nörodejeneratif hastalığın etiyolojisi, Acetogeninler(AGE) tüketimi ile bu hastalığın endemisi arasında yakın bir ilişki olduğunu ortaya koyulmuştur.. Bu nedenle, AGE'lerin Guadeloupean atipik parkinsonizm de dahil olmak üzere nörodejeneratif hastalıklardan sorumlu çevresel nörotoksinler olduğu ileri sürülmektedir. Bu çalışmayla beraber AGE'lerin nörodejenerasyon için potansiyel bir risk faktörü olabileceği gösterilmiştir [64].

Mancini ve ark. (2018) çalışmalarında, nano formülasyonların yüklü olan bir ekstraktı serbest bırakacağı için araçların özelliklerine göre *in vitro* deneysel sınırlamalar gelecekte *in vivo* testlerde önemsiz olacağını bildirmişlerdir [62].

Lannuzel ve ark., (2006) yaptıkları bir çalışmada , erkek lewis sıçanlarına kökleri kurutulup toz haline getirilen ve metanol ile ekstrakte edilen *Annona muricata* alzet osmik mini pompalar ile 28 gün boyunca vermişlerdir. *Annona muricata* 'dan ekstrakte edilen annonasin, enerji üretimini azaltarak dopaminerjik nöronal ölümü teşvik ettiği gözlemlenmiştir. *In vitro* toksisitesi nedeniyle, canlı bir hayvanın annonasına kronik

sistemik maruz kalmasının, atipik parkinson hastalarında gözlenenlere benzer şekilde nörodejenerasyona neden olup olmayacağını araştırılmıştır. Bu nedenle, sıçanlarda intravenöz annonasin infüze edip ve annonasinin kan beyin bariyerini sağlam bir şekilde geçebileceğini göstermişlerdir. Annonasin morfolojik değişiklikler ve doza bağlı nigral dopaminerjik nöronlar ve striatal dopaminerjik liflerin kaybına neden olmuştur. Nigral ve striatal nöronal hücre kaybı da dahil olmak üzere lezyonların dağılımı, atipik parkinsonizmi olan hastaların, meyvelerde kompleks I inhibitörlerine sistemik maruz kaldıkları hipotezini ve Annonaceae ekstreleri atipik parkinsonizmi tetikleyebileceğini belirtmişlerdir [65].

Sabati ve ark.(2019) yaptıkları çalışmada *Annona muricata* meyve özü yüklü katı lipid nanopartikülleri (SLN' ler) geliştirmek ve sitotoksik potansiyelini meme kanseri modelindeki *in vitro* modelinde araştırmak amacıyla *Annona muricata* yüklü SLN' leri meme kanseri (MCF7) hücrelerine farklı dozlarda vermişlerdir. Ekstre yüklü SLN' lerin erken apoptoz safhasında kanser hücrelerini tahrip etmekte oldukça etkili olduğunu ortaya koymuşlardır [63].

Son zamanlarda *Annona muricata* ' nın başlıca kanser olmak üzere birçok hastalığın tedavisi için araştırmalar devam etmektedir. Yapılan tez çalışmamızda *Annona muricata* ' nın yan etkisini azaltarak kanser hücreleri üzerindeki etkinliğini artırmak amacıyla *Annona muricata* bitki özü yüklenmiş PHB kaplı manyetik nanoparçacık sistemleri geliştirilmiştir. Bu sistemin karakterizasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda sitotoksikite çalışmaları ile *Annona muricata* bitki özütü yüklü nanoparçacıkların kanser hücreleri üzerindeki inhibisyonu analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular çerçevesinde *Annona muricata* yüklü PHB kaplı manyetik nanoparçacıkların meme kanseri ve ovaryum kanseri tedavisinde potansiyel bir role sahip olduğu bulunmuştur.

6.KAYNAKÇA

- [1] Sun S., Liu J., Zhou N., Zhu W., Dou Q.P., Zhou K., 27 April 2015, Isolation of three new annonaceous acetogenins from graviola fruit (*Annona muricata*) and their anti-proliferation on human prostate cancer cell PC-3, *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 26, 4382-4385.
- [2]. Moghadamtousi S.M., Fadaeinasab M., Nikzad S., Mohan G., Mohd H., Kadir H.A., 2015, *Annona muricata* (Annonaceae) a review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities, *Int. j. mol. sci.*, 16(7) 15625-15658
- [3]. Najmuddin N., Ramli M., Hamid M., Aliheen N., Rahman N., 2016, Anti cancer effect of *anona muricata* linn leaves crude extract (AMCE) on breast cancer cell line, *BMC complemantarry and alternative medicine*, 16-311.
- [4]. Tuncer M. A. , 2007, Türkiye'de kanser kontrolü, Ankara, Sağlık Bakanlığı, 707.
- [5]. Oncol J., 2015, The global burden of cancer 2013, *Special communication*, 1(4), 505-527.
- [6]. Balmain A., Gray J., Punder B., The genetics and genomics of cancer, 2003, *Nature publishing group*, 238-244.
- [7]. Kinhikar R.A., Pawar A.B., Mahantshetty U., Murthy V., Dheshponde D., Shrivastava S.K. , 2014, Rapid arc, helical tomotherapy, sliding window intensity modulated radiotherapy and three dimensional conformal radiation for localized prostate cancer a dosimetric comparison, *J. cancer res ther*, 575-582
- [8]. Salama J.K., Gu L., Wang X., Pang H.H., Bogart J., Crawford J., ve ark., 2016, Positive interaction between prophylactic cranial irradiation and maintenance sunitinib for untreated extensive stage small cell lung cancer patients after standard chemotherapy: A secondary analysis of CALGB 30504, *Jour of thoracic oncology*, 361-369.

- [9]. Wan B., Lang J., CM., Wang P., Ma C-M., 2016, Treatment optimization with concurrent sbrr and intracavitary brachytherapy for locally advanced cervical cancer, *Journal of applied clinical medical physics*, 17.
- [10]. Mian M., Tinelli M., March ED., Turri G., Meneghini V., Pescosta N. ve ark., 2016, Bortezomib, thalidomide and lenalidomide: have they really changed the outcome of multiple myeloma, *Anticancer research*, 36 (3): 1059-1065.
- [11]. Lee CH., Hyun M.K., Jang E.J., Lee N.R., Kim K.,Yim J.J., 2013, İnhaled corticosteroid use and risks of lung cancer and laryngeal cancer, *.Respiratory medicine*, 1222-1233.
- [12]. Patil Y., Amitay Y., Ohana P., Shmeeda H., Gabizon A., 2016, Targeting of pegylated liposomal mitomycin -c to the folate receptor of cancer cells:intracellular activation and enhanced cytotoxicity, *Journal of controlled release*, 87-95.
- [13]. McPartlin A., Grimaldo C., Lyons J., Burke D., Mitra S., Choudhury A., 2014, Successful delivery of chemotherapy to treat small-cell prostate cancer in a patient undergoing haemodialysis, *Clin kidney journal* ,593-594.
- [14]. Lucena S.R., Salazar N., Gracia-Cazana T., Zamarron A., Gonzalez S., Juarranz A., Gilaberte Y., 2015, Combined treatments with photodynamic therapy for non-melanoma skin cancer, *İnt. J. Mol. Sci.*
- [15]. Oylar O., Tekin İ., 2011, Kanserin teşhis ve tedavisinde nanoteknolojinin önemi, *Uludağ üniversitesi mühendislik-mimarlık fakültesi dergisi*, Cilt 16, Sayı 1.
- [16]. Tuncer, S. 2014, “Çoklu İlaça Dirençli Kanser Hücre Hattına Nanopartiküllerle İlaç Aktarımı”. Hacettepe Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi
- [17]. Yazıcı, E. 2009, “Ultrasonik sprey piroliz tekniğiyle küresel gümüş nanoparçacıklarının üretimi, İ.T.Ü. Fen bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- [18]. Menceloğlu, Y. Z., Kırca, M. B., 2008, *Nanoteknoloji ve Türkiye*, TÜSİAD, Yayın No -T/2008-11/474, Kasım.
- [19]. Claudio, L. D. C., Brian, S. M., 2002, *Nanoparticles from Mechanical Attrition, Synthesis, Functionalization and Surface Treatment of Nanoparticles*, M.I. Barton, editor, American Scientific Publishers.

- [20]. Suryanarayana, C., 2004, Mechanical alloying and milling, *Progress in materials science*, 1-84.
- [21]. Panwar V., Sen P., 2005, Nanometre scale surface modification in a needle–plate exploding system, *Journal of pyhsics condensend matter*, 17(35):5327.
- [22]. Mantey K., Shams S., Nayfeh H.M., Nayfeh O., Alhoshan M., Alrokyan S.A., 2010, Synthesis of wirelike silicon nanostructures by dispersion of silicon on insulator using electroless etching, *Journal of applied physics*, 108(12).
- [23]. <http://nanoteknolojinedir.com/upload/files/201303190540Nanoteknoloj-ve-uygulamalari.pdf> [Ziyaret Tarihi: 2 Ekim 2018].
- [24]. Ateş H., 2015, Nano parçacık ve nano teller, *Gazi üniversitesi fen bilimleri dergisi*, 437-442.
- [25]. Randall M., 2005, Toz Metalurjisi ve Parçacıklı Malzeme İşlemleri, *Ankara Türk Toz Metalurjisi Derneği*.
- [26]. <http://bilsenbesergil.blogspot.com/p/ultraviyole-litografi-ultraviolet.html>
- [27]. Luther Dr. W, 2006, *Internayional Strategy and Foresight Report on Nanoscience and Nanotechnology*, Final Report.
- [28]. Stark¹, W.J., Wegner, K., Pratsinis¹, S. E. and Baiker, A., , 2002, Flame synthesis of vanadia/ titania nano-particles for no removal, *Particle & Particle Systems Characterization*, 19, 306 – 311.
- [29]. Yazıcı E., 2009, “*Ultrasonik Sprey Piroлиз Tekniğiyle Küresel Gümüş Nano-Parçacıklarının Üretimi*” İ.T.Ü. Fen bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- [30]. Hahn H., 1997, Gas phase synthesis of nanocrystalline materials, nanostructured materials, *Nanostructured materials*, 3-12.
- [31]. Lee J.S., Soon S., Lee C.W., Yu J.H., Choa Y.H and Oh S.-T. , 2004, Hollow nanoparticles of b-iron oxide synthesized by chemical vapor condensation, *Journal of nanoparticle research*, 627–631.
- [32]. Brinker, C. J. and Scherer, G. W. 1990, *Sol-Gel Science - The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*, New York, Academic Pres.

- [33]. Gürmen S., Ebin B., İ.T.Ü., Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi150/d150_3138.pdf,
- [34]. Tsai S.C., Song Y.L., Tsai C.S., Yang C.C., Chiu W.Y. and Lin H.M., 2004, Ultrasonic spray pyrolysis for nanoparticles synthesis, *J. of mater. science*, 3647-3657.
- [35]. National Cancer Institute, Cancer Nanotechnology. 2004.
- [36]. Nehru M.R., Singh O.M., 2008, Nanotechnology and cancer treatment, *Asian J. Exp. Sci.*, 45-50.
- [37]. Pal D., Nayak A.K., 2010, Nanotechnology for targeted in cancer therapeutics, *Seemanta institute of pharmaceutical sciences*, 1-1
- [38]. Nie S., Xing Y., Kim G.J., Simons J.W., 2007, Nanotechnology applications in cancer, *Annual review of biomedical engineering*, 257-288.
- [39]. Alivisatos P., 2004, The use of nanocrystals in biological detection, *Nature biotechnology*, 47-52.
- [40]. Choi Y.E., Kwak J.W., Park J.W., 2010, Nanotechnology for early cancer detection, *Sensors*, 428-455.
- [41]. Ferrari M., 2005, Cancer nanotechnology : opportunities and challenges, *Nature reviews*, 161-169.
- [42]. Pal D., Nayak A.K., 2010, Nanotechnology for targeted delivery in cancer therapeutics, *Seemanta institute of pharmaceutical sciences*, 1-7.
- [43]. Rupprecht J.K., Hui Y.H., McLaughlin J.L., 1990, Annonaceous acetogenin: a review, *J. Nat. Prod.*, 237-278.
- [44]. Ezirim A., Okachi V., James A., Adebeshi O., Ogunnowo S., Odeghe O., 2013, Induction of apoptosis in myelogenous leukemic k562 cells by ethanolic leaf extract of *annona muricata*, *Indian j. drug dis.*, 142-151.
- [45]. Minari J., Okeke U., 2014, Chemopreventive effect of *annona muricata* on dmba-induced cell proliferation in the breast tissues of female albino mice, *Egypt. j. med. hum. genet.*, 327-334.

- [46]. Hansra D.M., Silva O., Mehta A., Ahn E., 2014, Patient with metastatic breast cancer achieves stable disease for 5 years on graviola and xeloda after progressing on multiple lines of therapy'adv, *Breast Cancer Res.*, 84–87.
- [47]. <https://merlab.metu.edu.tr/tr/system/files/Belgeler/TanitimBrosurleri/XRDL.pdf>
- [48]. Büyüksırt T., Kuleaşan H., 2014, Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ve gıda analizlerinde kullanımı, *Gıda/ the journal of food*, 235-241.
- [49]. Dağlıoğlu Y., Yılmaz H.Ö., 2018, Nanopartikül karakterizasyon yöntemleri ve ekotoksosite deneylerindeki önemi, *Research gate* ,
- [50]. Terim Kapakin TA., 2006, Scanning- elektron mikroskobu, *Yyü vet fak derg*, 55-58.
- [51]. Karakoç Z., Ketani A., Ketani Ş., 2016, Mikroskopların çalışma mekanizması ve çeşitleri, *Dicle üniv. vet fak dergi*, 1(1):1-6.
- [52]. Gajalaksh S., Vijayalakshmi S., Devi Rajeswari V., 2012, Phytochemical and pharmacological properties of annona muricata : a review, *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, Vol 4, Issue 2
- [53]. <https://phytochem.nal.usda.gov/phytochem/plants/show/153.et>
- [54]. Riss T.L., Moravec R.A., 2004, Use of multiple assay endpoints to investigate the effects of incubation time, dose of toxin, and plating density in cell-based cytotoxicity assays, *Assay drug dev technol*, 2(1):51-62.
- [55]. Galluzzi L., 2010, Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring cell death in higher eukaryotes, *Cell death differ*, 1093-1107.
- [56]. Riss T.L., Moravec R.A. ,2006, Cell proliferation assays: improved homogeneous methods used to measure the number of cells in cultur, *Cell biology*, 25-31.
- [57]. Parsian M, 2014, *Synthesis and characterization of polymeric magnetic nanoparticles loaded by gemcitabine* , Yüksek lisans tezi , ODTÜ.
- [58]. *Bilim ve Teknik Dergisi*, Ağustos 2005.
- [59]. Singh, KK, 2005, Nanotechnology in cancer detection and treatment, *Technology in cancer research and treatment*, 583 – 584.

- [60]. Dunn IF., Black PM, 2003, The neurosurgeon as local oncologist: cellular and molecular neurosurgery in malignant glioma therapy, *Neurosurgery*,1411–1422.
- [61]. Corot C, Robert P, Idée JM, Port M, 2006, Recent advance sinironoxide nanocrystal technology for medical imaging, *Adv drug deliv rev*, 1471–1504.
- [62]. Simona M., Luca N., Maria G., İnes R., Francesco M., Cristina M., Massima M., Clara G., 2018, Functionalized liposomes and phytosomes loading annona muricata l. aqueous extract: potential nanoshuttles for brain-delivery of phenolic compounds, *Phytomedicine*, 233-244.
- [63]. Sabapati M., Palei N.N., Molakpogu R.B., Kumar A., 2019, Solid lipid nanoparticles of annona muricata furit extract : formulation optimization and in vitro cytotoxicity studies, *Drung development and industrial pharmacy*, 577-586.
- [64]. Moqhadamtousi SZ., Fadaeinasab M., Nikzad S., Mohan G., Ali HM., Kadir HA., 2015, Annona muricata (annonaceae): a review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities, 15625-58.
- [65]. Lannuzel A., Höglinger G.U., Champy P., Michel P.P., Hirsh E.C. and Ruberg M., 2006,Is atypical parkinsonism in the caribbean caused by the consumption of annonaceae?, *Jneural transm* , 153–157.
- [66]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02439580?term=annona&cond=cancer>
- [67]. Filippousi M., Papadimitriou S.A., Bikiaris D.N., E. Pavlidou, Angelakeris M., Zamboulis D., Tian H. And Van Tendeloo G., 2013, Novel core–shell magnetic nanoparticles for taxol encapsulation in biodegradable and biocompatible block copolymers: Preparation, characterization and release properties, *International journal of pharmaceutics*, 221–230.
- [68]. Colombo M, Carregal-Romero S, Casula MF, Gutiérrez L, Morales MP, Böhm IB, Heverhagen JT, Prospero D, Parak WJ., 2012, Iological applications of magnetic nanoparticles, *Chem soc rev.*, 4306-34.
- [69]. Erdoğan A., 2018, Kanser tanı ve tedavisinde manyetik nanopartiküller, *Natural & applied sciences journal*, 23-30.

- [70]. Janko C, Dürr S, Munoz LE, Lyer S, Chaurio R, Tietze R, Löhneysen Sv, Schorn C, Herrmann M, Alexiou C., 2013, Magnetic drug targeting reduces the chemotherapeutic burden on circulating leukocytes, *Int j mol sci.*,14(4):7341-55
- [71]. Derman Acar S., 2012, *Canine parvovirus'e ait antijenik özellikli Sentetik peptidlerin sentezi ve biyokonjugatlarının geliştirilmesi.* Doktora Tezi , Yıldız Teknik Üniversitesi.
- [72]. <https://statnano.com/nanomaterial/nanoshell>
- [73]. Yalçın S., 2015, Synthesis and characterization of polyhydroxybutyrate coated magnetic nanoparticles: Toxicity analyses on disserent cell lines, *Taylor & Francis Group*, 45, 700-708.
- [74]. Klein A., 2016, *Virtual reality lets you stroll around a breast cancel cell*, <https://www.newscientist.com/article/2095746-virtual-reality-lets-you-stroll-around-a-breast-cancer-cell>, [6 Kasım 2018].

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Rana Köksal
Doğum Yeri	Aksaray/Merkez
Doğum Tarihi	15.08.1989
Uyruğu	T.C.
Telefon	05536087994
E-Posta Adresi	rkavurmaci@hotmail.com
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Çanakkale 18 Mart Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik Fakültesi
Bölümü	Gıda Müh.
Mezuniyet Yılı	2015
Eğitim Bilgileri	
Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Fakülte	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	İleri Teknolojiler A.D.
Mezuniyet Yılı	2016– Devam ediyor

Tez ile ilgili yapılan yayımlar

1. **Rana Kavurmacı and Serap Yalcin.** The Cytotoxic Effect of Annona muricata Leaf Extract on Triple Negative Breast Cancer Cell Line. Proceedings 2017, 1, 1038; doi:10.3390/proceedings1101038.