

T.C.



KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER TIP ANA BİLİM DALI

**YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ UYGULANARAK *Primula vulgaris* EKSTRAKTI YÜKLÜ GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN MCF-7 HÜCRELERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Burcu YAZICI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ**

**KIRŞEHİR / 2021**

T.C.



KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER TIP ANA BİLİM DALI

**YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ UYGULANARAK *Primula vulgaris* EKSTRAKTI YÜKLÜ GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN MCF-7 HÜCRELERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Burcu YAZICI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ**

**Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem ER ÇALIŞKAN (2. Danışman)**

**KIRŞEHİR / 2021**

## KABUL VE ONAY

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Moleküler Tıp Anabilim Dalı Yüksek Lisans 171212004 numaralı öğrencimiz Burcu YAZICI tarafından hazırlanan *“Yeşil Sentez Yöntemi Uygulanarak Primula vulgaris Ekstraktı Yüklü Gümüş Nanopartiküllerinin MCF-7 Hücrelerine Etkisinin Araştırılması”* adlı tez çalışması 19.01.2021 tarihinde AYDEP (Ahi Yeterliliğe Dayalı Eğitim Projesi) uzaktan eğitim kapsamında yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

### Tez Jürisi

**Prof. Dr. Mustafa KAVUTÇU**

Gazi Üniversitesi

Tıp Fakültesi

(Başkan)

**Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ**

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Tıp Fakültesi

(Danışman)

**Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ**

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Tıp Fakültesi

(Üye)

**Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem ER ÇALIŞKAN**

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Ziraat Fakültesi

(2. Danışman)

**Doç. Dr. Akın TEKCAN**

Amasya Üniversitesi

Tıp Fakültesi

(Üye)

## **TEZ BİLDİRİMİ**

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



**Burcu YAZICI**

## ÖNSÖZ

Bu araştırma için beni yönlendiren, yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren değerli danışman hocam Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ'ye, tezimin her aşamasında bilgi, tecrübe ve sabrıyla bana destek olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem ER ÇALIŞKAN'a ve laboratuvar çalışmalarım da emeklerini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Akın TEKCAN'a, ayrı ayrı teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan ve desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Ramazan YAZICI'ya, değerli aileme ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ocak, 2021

Burcu YAZICI

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ .....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTIMA LİSTESİ.....	xi
ÖZET .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>4</b>
2.1. Kanser Genelleştirilmiş Tanımı ve Epidemiyolojisi.....	4
2.2. Hücre Siklusu.....	5
2.3. Hücre Ölüm Mekanizmaları .....	6
2.3.1. Apoptoz .....	6
2.3.2. Nekroz .....	7
2.3.3. Otofaji.....	7
2.4. Meme Kanseri.....	8
2.4.1. Meme Kanseri Çeşitleri .....	8
2.4.1.1. Noninvaziv Meme Kanseri.....	9
2.4.1.2. İnvaziv Meme Kanseri .....	9
2.4.2. Meme Kanseri Metastazı .....	9
2.4.3. Meme Kanseri Risk Faktörleri .....	10
2.4.4. Meme Kanseri Tedavisi.....	10
2.5. Cisplatin .....	11
2.6. MCF-7 Hücre Hattı ve Tarihçesi .....	12
2.7. Hücre Kültürü .....	13
2.8. Sitotoksitesite.....	13
2.9. <i>Primula vulgaris</i> (çuha çiçeği) Bitkisi ve Genel Özellikleri .....	13
2.10. Bitki Ekstraksiyonu .....	17
2.11. Nanoteknoloji.....	19
2.12. Nanopartikül.....	19
2.13. Gümüş Nanopartikül (AgNP).....	20
2.13.1. Gümüş Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri .....	20

2.13.1.1.	Fiziksel sentez .....	21
2.13.1.2.	Kimyasal sentez.....	21
2.13.1.3.	Biyolojik (Yeşil) sentez.....	22
2.13.1.4.	Bitki Ekstraktı Kullanarak Gümüş Nanopartikül Sentezi .....	22
2.14.	Biyojenik Nanopartiküllerin Avantajı.....	23
2.15.	Nanopartiküllerin Kanser Tedavisinde Kullanımı .....	24
2.16.	Bitki Ekstraktlı AgNP'lerin <i>in-vitro</i> Sitotoksik Etkileri .....	25
2.17.	Literatür Araştırması .....	26
<b>3.</b>	<b>GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>30</b>
3.1.	Bitki Örneklerinin Elde Edilmesi ve Hazırlanması .....	30
3.2.	<i>Primula vulgaris</i> Bitki Ekstraktlarının (PVE) Hazırlanması .....	31
3.3.	<i>Primula vulgaris</i> Yüklü Gümüş Nanopartikül (PVLAgNP) Sentezi.....	31
3.4.	AgNP Tozunun Uygulamaya Hazırlanması.....	33
3.5.	Cisplatin Çözeltisinin Uygulamaya Hazırlanması .....	33
3.6.	Sentezlenen PVLAgNP'lerin Karakterizasyonu.....	34
3.6.1.	UV-Vis Spektrum Analizi .....	34
3.6.2.	FT-IR (Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi) Analizi .....	34
3.6.3.	ZETA Potansiyeli .....	35
3.6.4.	SEM.....	35
3.6.5.	XRD.....	35
3.7.	Hücre Kültürü .....	35
3.7.1.	Hücre Kültür Medyumunun Hazırlanışı .....	35
3.7.2.	Hücre Kültürü İnkübasyon Koşulları .....	35
3.7.3.	Hücrelerin Pasajlanması .....	36
3.7.4.	Hücrelerin Besin Değişimi .....	37
3.7.5.	Hücrelerin Dondurulma ve Saklanma İşlemleri .....	37
3.7.6.	Hücrelerin Çözdürülme İşlemi .....	38
3.7.7.	Hücre Sayılarının Hesaplanması .....	38
3.8.	Hücre Sitotoksitesinin Belirlenmesi.....	39
3.8.1.	iCELLigence Sistemi ile Gerçek Zamanlı Hücre Canlılığı Tayini.....	39
3.8.2.	Hücrelerin E-platelere Ekilmesi .....	40
3.8.3.	iCELLigence Hücre İndeksi Ölçümü ve Madde Eklenmesi .....	41
<b>4.</b>	<b>BULGULAR.....</b>	<b>42</b>
4.1.	<i>Primula vulgaris</i> yüklü AgNP'lerin Karakterizasyonu (PVLAgNP) .....	42
4.1.1.	UV-Vis Sonuçları .....	42

4.1.2.	SEM Analiz Sonuçları .....	43
4.1.3.	FT-IR Analizi Sonuçları .....	46
4.1.4.	Zeta Potansiyeli Sonuçları .....	50
4.1.5.	XRD Sonuçları .....	51
4.2.	MCF-7 Hücre Çalışması Sonuçları .....	52
4.2.1.	MCF-7 hücre serisi üzerine (PVLAgNP) <sub>ç</sub> uygulamaları .....	52
4.2.2.	MCF-7 hücre serisi üzerine (PVLAgNP) <sub>y</sub> uygulamaları .....	55
4.2.3.	MCF-7 hücre serisi üzerine (PVLAgNP) <sub>k</sub> uygulamaları .....	57
<b>5.</b>	<b>TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>61</b>
	<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>68</b>
	<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>88</b>
	<b>EKLER .....</b>	<b>89</b>



## ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1: Tek anormal orijinden kanser meydana gelmesi (30).....	4
Şekil 2.2: Normal hücre ve kanserli hücrelerin çoğalması (47).....	7
Şekil 2.3: Memenin dokusu bölümlerinin şematik görünümü (59). ....	8
Şekil 2.4: <i>Primula vulgaris</i> bitkisi. ....	14
Şekil 2.5: Nanopartikül sentezinde top-down ve bottom-up yaklaşımı (139). ....	21
Şekil 2.6: Metal nanopartiküllerinin biyolojik sentezi ve uygulamaları (152). ....	22
Şekil 2.7: Bitki ekstraktında bulunan polifenollerle kaplı AgNP'ler (155). ....	23
Şekil.3.1: <i>Primula vulgaris</i> bitki örnekleri (A: taze çiçek, B: kurutulmuş çiçek C: kurutulmuş yaprak, D: kurutulmuş kök). ....	30
Şekil.3.2: Bitki ekstraksiyonu sonrası yaprak, çiçek ve kök örneklerinin filtrasyonu. ....	31
Şekil 3.3: AgNO <sub>3</sub> çözeltisi konsantrasyonunun AgNP oluşumlarına etkisi. ....	32
Şekil 3.4: AgNO <sub>3</sub> eklenmiş ekstraksiyon örneklerinin 24 saat sonundaki görüntüleri. ....	32
Şekil 3.5: Filtrasyon sonrası santrifüjlenen bitki örneği (A), Liyofilize edilmek için ependorf tüplere aktarılmış örnekler (B). ....	33
Şekil.3.6: AGNP tozu. ....	33
Şekil.3.7: Cisplatin çözeltisi. ....	34
Şekil 3.8: CO <sub>2</sub> İnkübatörü. ....	36
Şekil 3.9: MCF-7 hücre hattının invert mikroskop görüntüsü (A: pasaj öncesi, B: pasaj sonrası). ....	37
Şekil 3.10: MCF-7 hücre hattının besin değişimi. ....	37
Şekil 3.11: Thoma Lamı görüntüsü. ....	39
Şekil 3.12: Mikroskop altında Thoma Lamı hücre görüntüsü (40x Büyütme). ....	39
Şekil.3.13: iCELLigence cihazı (A), iCELLigence cihazı E-plateleri (B). ....	40
Şekil 4.1: (PVLAgNP) <sub>k</sub> 'nin UV-Vis spektrumu. ....	42
Şekil 4.2: (PVLAgNP) <sub>ç</sub> 'nin UV-Vis spektrumu. ....	42
Şekil 4.3: (PVLAgNP) <sub>y</sub> 'nin UV-Vis spektrumu. ....	43
Şekil 4.4: <i>Primula vulgaris</i> yaprak örneğinin SEM görüntüsü. ....	43
Şekil 4.5: (PVLAgNP) <sub>y</sub> 'nin SEM görüntüsü. ....	44
Şekil 4.6: <i>Primula vulgaris</i> çiçek örneğinin SEM görüntüsü. ....	44
Şekil 4.7: (PVLAgNP) <sub>ç</sub> 'nin SEM görüntüsü. ....	45
Şekil 4.8: <i>Primula vulgaris</i> kök örneğinin SEM görüntüsü. ....	45
Şekil 4.9: (PVLAgNP) <sub>k</sub> 'nin SEM görüntüsü. ....	46
Şekil 4.10: (LPE) <sub>y</sub> FT-IR spektrumu. ....	47
Şekil 4.11: (PVLAgNP) <sub>y</sub> 'nin FT-IR spektrumu. ....	47
Şekil 4.12: (LPE) <sub>ç</sub> FT-IR spektrumu. ....	48
Şekil 4.13: (PVLAgNP) <sub>ç</sub> 'nin FT-IR spektrumu. ....	48
Şekil 4.14: (LPE) <sub>k</sub> FT-IR spektrumu. ....	49
Şekil 4.15: (PVLAgNP) <sub>k</sub> 'nin FT-IR spektrumu. ....	49
Şekil 4.16: (PVLAgNP) <sub>y</sub> 'nin Zeta potansiyeli. ....	50
Şekil 4.17: (PVLAgNP) <sub>ç</sub> 'nin Zeta potansiyeli. ....	50
Şekil 4.18: (PVLAgNP) <sub>k</sub> 'nin Zeta potansiyeli. ....	51
Şekil 4.19: (PVLAgNP) <sub>y</sub> 'nin XRD grafiği. ....	51
Şekil 4.20: (PVLAgNP) <sub>ç</sub> 'nin XRD grafiği. ....	51
Şekil 4.21: (PVLAgNP) <sub>k</sub> 'nin XRD grafiği. ....	52
Şekil 4.22: (PVLAgNP) <sub>ç</sub> 'nin 24 saatlik doz uygulaması. ....	53
Şekil 4.23: (PVLAgNP) <sub>ç</sub> 'nin IC <sub>50</sub> değerinin grafiği (24 saat). ....	53

Şekil 4.24: (PVLA <sub>g</sub> NP) <sub>ç</sub> 'nin 48 saatlik doz uygulaması.....	54
Şekil 4.25: (PVLA <sub>g</sub> NP) <sub>ç</sub> 'nin IC <sub>50</sub> değerinin grafiği (48 saat). ....	54
Şekil 4.26: (LPE) <sub>ç</sub> / (PVLA <sub>g</sub> NP) <sub>ç</sub> / AgNP tozu/ cisplatin ve hücre grubu 48 saatlik doz uygulaması karşılaştırması. ....	55
Şekil 4.27: (PVLA <sub>g</sub> NP) <sub>y</sub> 'nin 24 saatlik doz uygulaması.....	56
Şekil 4.28: (PVLA <sub>g</sub> NP) <sub>y</sub> 'nin IC <sub>50</sub> değerinin grafiği (24 saat). ....	56
Şekil 4.29: (LPE) <sub>y</sub> / (PVLA <sub>g</sub> NP) <sub>y</sub> / AgNP tozu/ cisplatin ve hücre grubu 48 saatlik doz uygulaması karşılaştırması. ....	57
Şekil 4.30: (PVLA <sub>g</sub> NP) <sub>k</sub> 'nin 24 saatlik doz uygulaması.....	58
Şekil 4.31: (PVLA <sub>g</sub> NP) <sub>k</sub> 'nin IC <sub>50</sub> değerinin grafiği (24 saat). ....	58
Şekil 4.32: (PVLA <sub>g</sub> NP) <sub>k</sub> 'nin 48 saatlik doz uygulaması.....	59
Şekil 4.33: (PVLA <sub>g</sub> NP) <sub>k</sub> 'nin IC <sub>50</sub> değerinin grafiği (48 saat). ....	59
Şekil 4.34: (LPE) <sub>k</sub> / (PVLA <sub>g</sub> NP) <sub>k</sub> /AgNP tozu/ cisplatin ve hücre grubu 48 saatlik doz uygulaması karşılaştırması. ....	60



## TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
<b>Tablo 2.1:</b> <i>Primula vulgaris</i> bitkisinin fenolik madde içeriği (109).....	17
<b>Tablo 2.2:</b> <i>Primula vulgaris</i> bitkisinin yağ asidi içeriği (101). ....	17



## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

### Kısaltmalar Açıklama

<b>AgNP</b>	: Gümüş nanopartikül
<b>BRCA<sub>1</sub></b>	: Meme kanseri tip 1 duyarlılık proteini
<b>BRCA<sub>2</sub></b>	: Meme kanseri tip 2 duyarlılık proteini
<b>DMSO</b>	: Dimetil sülfoksit
<b>FBS</b>	: Fetal sığır serumu
<b>FT-IR</b>	: Fourier dönüşüm kızılötesi
<b>IC<sub>50</sub></b>	: Yüzde Elli Hücre Ölüm Oranı için Gereken Doz
<b>LPE</b>	: Liyofilize bitki örneği
<b>MCF-7</b>	: İnsan Meme Adenokarsinoma Kanseri Hücre Hattı
<b>PVLA<sub>g</sub>NP</b>	: <i>Primula vulgaris</i> yüklü gümüş nanopartikül
<b>PVE</b>	: <i>Primula vulgaris</i> ekstraktı
<b>SEM</b>	: Taramalı elektron mikroskobu
<b>UV-vis</b>	: Ultraviyole görünür spektrofotometresi
<b>XRD</b>	: X-ışını kırınımı

# ÖZET

## YÜKSEK LİSANS TEZİ

### YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ UYGULANARAK *Primula vulgaris* EKSTRAKTI YÜKLÜ GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN MCF-7 HÜCRELERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI Burcu YAZICI

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Moleküler Tıp Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ

Bu çalışmada, *Primula vulgaris* bitkisinin kurutulmuş kök, yaprak ve çiçek ekstraktı kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartikül (AgNP)'ler sentezlenmiştir. Elde edilen *Primula vulgaris* ekstraktı yüklü gümüş nanopartiküller (PVLAgNP)'in MCF-7 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi değerlendirilmiştir. PVLAgNP'lerin sentez ve karakterizasyon işlemlerinde Görünür bölge spektrofotometresi (U-Vis), X-Işını Kırınımı (XRD), Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi (FTIR), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Zeta Potansiyel ölçüm teknikleri kullanılmıştır. Kök, çiçek ve yapraktan sentezlenmiş AgNP çözeltileri için maksimum absorpsiyon dalga boyu 440 nm olarak bulunmuştur. PVLAgNP'lerin XRD spektrumlarına göre kristal yapı olduğu belirlenmiştir. PVLAgNP'lerin Zeta potansiyel değerleri ortalama -14 ila -28 mV aralığında olduğu tespit edilmiştir. SEM analizi, sentezlenen PVLAgNP'lerin ağırlıklı olarak küresel şekilli ve parçacık boyutunun 22 nm ila 52 nm aralığında olduğunu göstermiştir. PVLAgNP'lerin MCF-7'ye karşı sitotoksik aktivite için iCELLigence (gerçek zamanlı hücre analiz sistemi) kullanılmıştır. PVLAgNP'lerin inhibitör konsantrasyonlarının (IC<sub>50</sub>), 24 saatlik inkübasyonda yaprak, kök ve çiçek için sırasıyla 30.37, 36.74 ve 57.64 µg/mL olduğu bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde, PVLAgNP'in MCF-7 kanser hücre hatları üzerine önemli bir sitotoksik etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Aralık 2020, xiii+90 Sayfa

**Anahtar Kelimeler:** *Primula vulgaris*, Yeşil Sentez, Gümüş Nanopartikül, MCF-7, Sitotoksikite.

## ABSTRACT

M.Sc. THESIS

### INVESTIGATION OF THE EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES WITH *Primula vulgaris* EXTRACT ON MCF-7 CELLS BY APPLYING THE GREEN SYNTHESIS METHOD

Burcu YAZICI

Kırşehir Ahi Evran University

Health Sciences Institute

Department of Molecular Medicine

Supervisor: Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ

In this study, silver nanoparticles (AgNP) were synthesized by green synthesis method using dried root, leaf and flower extract of *Primula vulgaris* plant. The cytotoxic effect of the obtained silver nanoparticles loaded with *Primula vulgaris* extract (PVLAgNP) on the MCF-7 cell line was evaluated. Visible Spectrophotometry (U-Vis), X-Ray Diffraction (XRD), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Scanning Electron Microscopy (SEM) and Zeta Potential measurement techniques were used in the synthesis and characterization processes of PVLAgNPs. The maximum absorption wavelength for AgNP solutions synthesized from root, flower and leaf was found to be 440 nm. It was determined that PVLAgNPs are crystalline structures according to XRD spectra. Zeta potential values of PVLAgNPs were found to be in the range of -14 to -28 mV on average. SEM analysis showed that synthesized PVLAgNPs were predominantly spherical in shape and particle size ranged from 22 nm to 52 nm. For the cytotoxicity activity of PVLAgNPs against MCF-7, iCELLigence (real time cell analysis system) was used. Inhibitory concentrations (IC<sub>50</sub>) of PVLAgNPs were found to be 30.37, 36.74 and 57.64 µg / mL for leaf, root and flower at 24 hours of incubation, respectively. When the results of this study were evaluated, it was determined that PVLAgNP has a significant cytotoxic effect on MCF-7 cancer cell lines.

December 2020, xiii+90 Pages.

**Keywords:** *Primula vulgaris*, Green Synthesis, Silver Nanoparticle, MCF-7, Cytotoxicity.

# 1. GİRİŞ

Kanser, geri bildirim mekanizmasının kontrolünden çıkmış olan hücrelerin sürekli ve hızlı olarak çoğalması ile karakterize edilen ve normal dokuyu istila ederek ölüme yol açabilen bir hastalık olarak tanımlanmıştır. Bu hastalığın aşamaları, kontrolsüz hücre çoğalması, apoptoza karşı duyarsızlık, sürekli oluşan anjiogenez, invazyon ve metastaz yeteneğini kapsamaktadır (1, 2). Kanser çeşitleri, köken aldıkları dokuya göre sınıflandırılırlar. Kanser, doku ve organları kaplayan epitelyal hücrelerde meydana gelirse karsinoma, kas, kemik vb. dokularda meydana gelen çeşidine sarkoma, kemik iliği, lenfatik sistem ve periferal kan boyunca yayılan çeşidi lösemi ve lenfositlerde başlayan çeşidi ise lenfoma olarak adlandırılır (3). Dünya Sağlık Örgütünü verilerine göre dünya genelinde meydana gelen ölümlerde kardiyovasküler hastalıklardan sonra kanser ikinci sırada yer almaktadır. 2018'de 9,6 milyon insanın kanserden kaynaklanan hastalıklardan dolayı öldüğü tahmin edilmektedir (4). Dünyada en çok görülen kanser türleri sırasıyla; mide, akciğer, meme, kolon, rektum, serviks ve orofarenks kanserleriyken; ülkemizde en sık görülen kanser türleri, erkeklerde akciğer, prostat, kalın bağırsak, rektum, mide ve pankreas; kadınlarda ise meme, serviks, kalın bağırsak, rektum, akciğer, yumurtalık, mide ve pankreas kanserleridir (5). Kadınlarda dünya genelinde meme kanseri en yaygın görülen kanser çeşididir ve kansere bağlı ölümlerin yaklaşık %18'i meme kanseri kökenlidir ve meme kanserine bağlı ölümler; akciğer ve kolorektal kanserlerinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır (6, 7). Meme kanserinde ana risk faktörleri, kalıtım yolu ile aktarılabilen yatkınlık genleri (özellikle *BRCA1* ve *BRCA2*), yüksek östrojen miktarı, alkol kullanımı, obezite ve yaştır. *BRCA1* ve *BRCA2* genleri, DNA onarım mekanizmasında rol oynayan tümör baskılayıcı genlerdir. Bu iki genin meme kanseri vakalarının yaklaşık %10'unda mutasyona uğradığı yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (8). Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi, hormon terapisi, radyoterapi, biyolojik ve cerrahi tedaviler tek başına veya kombinasyon olarak uygulanabilmektedir. Kanser kişiye özgü olduğundan, tercih edilen tedavi yöntemleri kişiler arası farklılık göstermektedir. Meme kanserinin tedavisinde kullanılan yöntemler hastalığın safhasına, hücrenin tipine ve kişinin özelliklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Ancak, kanser tedavisinde kullanılan bu yöntemler ciddi hepsi yan etkilere sahip olduğundan hastaların yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (9). Meme kanseri için kullanılan mevcut yöntemler metastaz ve edinilmiş içsel endokrin direnci, meme kanseri tedavisinde klinik zorluklar oluşturmaya devam etmektedir. Bu nedenle, meme kanserinde hücre ölümünü tetikleyen yeni mekanizmalara sahip kemoterapötik ajanlara ihtiyaç vardır.

Kemoterapideki ilerlemeler, hastalığın tekrarlamasını ve ölüm riskini önemli ölçüde azaltmış olsa da meme kanserinin nüksetmesi klinik ortamda önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu nedenle, bu zorluğun üstesinden gelmek için, meme kanseri tedavisinde kullanılabilecek yeni ilaçların bulunması gerekmektedir (10, 11). Kanser ilaçlarının yan etkilerinden dolayı uygulanan tedavilerine destek olarak bitkisel kaynaklı ve sitotoksitesini az olan doğal biyoaktif maddelerin kullanımı önem kazanmıştır. Kanser tedavisinde nanoteknolojiye dayalı kullanılan terapiler düşük oranlı yan etkiler ve yüksek özgünlükleri ile son yıllarda oldukça ilgi çekmektedir. Özellikle tıbbi bitkilerden sentezlenerek üretilen nanopartiküller, antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser etkileri nedeniyle dikkat çekmektedir (12, 13). Yapılan çalışmalarda, yeşil sentez yöntemiyle sentezi sağlanan gümüş nanopartiküllerin farklı kanser türlerinde hücre canlılığını azaltma ve apoptoz oranını artırma yetenekleri yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bu nedenle araştırmalar daha çok kanser hücrelerine karşı yüksek aktiviteye sahip ancak normal hücrelerde düşük toksisite gösteren yeni gümüş nanopartiküllerin sentezi için antikanser etkili doğal bileşiklerin seçilmesine odaklanmıştır (14, 15).

Son yıllarda nanoteknoloji, benzersiz özellikleri ve biyolojik olarak da uygulanabilen, nano boyutlu parçacıkları üretme ve kullanma konusunda hızla büyüyen bu alan üzerinde çalışmaktadır. Nanopartiküller kimyasal, fiziksel ve biyolojik yöntemler gibi çeşitli yaklaşımlarla üretilir. Nanopartiküllerin sentezi için fiziksel ve kimyasal yöntemler arasında yer alan lazer ablasyonu, piroliz, kimyasal veya fiziksel buhar biriktirme, sol-jel, litografi ve elektro-biriktirme işlemlerin çoğunun insan sağlığına zararlı etkileri vardır. Nanopartiküllerin biyolojik sentezi ise diğer fiziksel ve kimyasal yöntemlerle karşılaştırıldığında temiz, toksik olmayan, ekonomik ve çevre dostu bir yöntem olarak kabul edilir (16). Bu nedenle, sağlık alanında kullanılacak AgNP üretimi için basit, güvenilir, düşük maliyetli, zehirli olmayan, çevre dostu ve yeşil sentez olarak bilinen teknoloji ve yöntemlerin tasarımı ve geliştirilmesi, biyoteknoloji ve biyomedikal uygulamalar için büyük önem arz etmektedir (17). AgNP'lerin işlevi endositozla veya hücre membranından partikülün çözünmesiyle ortama saldıgı Ag<sup>+</sup> iyonların hücreye alınmasıyla mitokondri ve çekirdek başta olmak üzere hedef organellere translokasyon gerçekleştirdiği ve oksidatif stres, kanserli hücrenin çoğalma döngüsünü bozması, mitokondriyal disfonksiyon, DNA hasarı ve daha sonra apoptoz gibi mekanizmalarla sitotoksisiteye neden olduğu bildirilmiştir (18).



Bitkiler, geleneksel tıpta en çok kullanılan doğal ürünlerdendir (19). Bitkisel ajanlar anormal hücre çoğalmalarını engelleyen ve oksidasyondan dolayı zarar gören hücreleri koruyan bir görev üstlenirler (20, 25). Bitki kimyasallarının etki mekanizmaları, hücre kültürleri ve moleküler hedefler düzeyinde araştırılabilmektedir. Özellikle sitotoksikite görüntüleme modelleri, anti-kanser ve sitotoksik özelliklere sahip olan bitkisel ekstraktların seçimi için başlangıç verilerini sağlamaktadırlar (21). Bitkiler aleminde yüksek antioksidan içeriğe sahip olan birçok familya vardır. Bu bitki ailelerinden bazıları; Primulaceae (çuhaçiçeğigiller), Asteraceae (papatyagiller), Cornaceae (kızılcıkçiller), Rosaceae (gülçiller) ve Ericaceae (fundagiller) familyalarıdır. Bu familyalardan biri olan Primulaceae familyasında yer alan *Primula*, Kuzey Yarımküre’de nemli ve ılıman iklim bölgelerinde yetişen 400’den fazla tür içermektedir (22). Ülkemizde de nemli alanlarda, fındık bahçelerinde, dere kenarlarında, açık ya da gölgeli taşlık ya da çimenlik yamaçlarda yayılış gösterir. *Primula* türlerinin saponinler, alkaloidler, taninler, terpenler ve fenolik bileşiklerce zengin olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (23, 24).

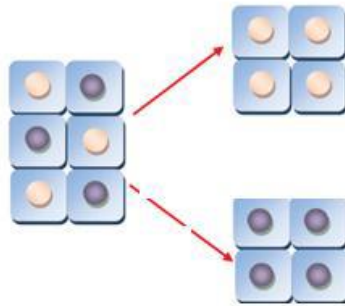
*Primula vulgaris* ile ilgili literatür incelendiğinde bu bitki ekstraktının gümüş nanopartikül sentezinde kullanılmadığı ve dolayısıyla PVLAGNP’lerin sitotoksik etkisini inceleyen bir çalışmanın da yapılmadığı belirlenmiştir. Bu yönleriyle çalışma özgün değer taşımaktadır. Bu çalışmada AgNP’lerin sentezlenmesi için Samsun ilinden toplanan, *Primula vulgaris* bitkisinin yaprak, çiçek ve kök kısımlarından elde edilen PVLAGNP’lerin sentezi, karakterizasyonu ve *in-vitro* olarak MCF-7 kanser hücre serisi üzerindeki sitotoksik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kanserin Genelleştirilmiş Tanımı ve Epidemiyolojisi

Organizmaya ait hücrelerin farklı nedenlerden dolayı kontrolsüz şekilde çoğalması kanser olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenler, DNA hasarı tamir mekanizmalarında meydana gelen genetik değişiklikler, bazı tümör baskılayıcı genlerin işlevlerinde meydana gelen kayıplar, proto-onkogenlerin mutasyon sebebiyle onkogenlere dönüşmesi ve apoptozda görev alan genlerin ekspresyon düzeyinde değişiklik meydana gelmesi olarak sıralanabilir (28).

Kanser kalıtsal ve genetik faktörler, mutasyonlar, tütün kullanımı, obezite, hormonlar ve otoimmün sisteme bağlı anomaliler nedeniyle ortaya çıkabilmektedir (29). Sağlıklı hücreler, hücrenin bölünmesi veya yok olması gerekip gerekmediğini belirten sinyallere sürekli maruz kalarak kontrol altında tutulabilirken, kanser hücreleri bu sinyallerden bağımsız olarak kendi kendini yöneterek, kontrolsüz biçimde büyüme ve çoğalma özelliğine sahiptirler (Şekil 2.1). Kanser hücrelerindeki kontrolsüz biçimde çoğalma ve otokontrol mekanizmasından bağımsız hareket etme gibi durumlar kanser türlerinin tümünde görülen ortak özelliklerdir (30). Kanser premalign lezyonların yıllar içerisinde malign tümöre dönüşümüyle oluşur. Tümörler benign ve malign olarak iki gruba ayrılır. Benign tümörler bulunduğu dokuya yayılmayan ve metastaza uğramayan, büyüme hızı yavaş ve çok az tehdit oluşturan iyi huylu tümörlerdir. Bunun yanında birçok benign tümörün, malign tümöre dönüşme riski vardır. Malign tümörler, hızlı büyüme potansiyeline sahip, çevresindeki normal dokuya yayılabilen ve metastaz yapabilen kötü huylu tümör çeşididir (31).



**Şekil 2.1:** Tek anormal orijinden kanser meydana gelmesi (30).

Kanser hücrelerinin, olduğu organdan kan ve lenfatik sistem aracılığıyla farklı doku ve organlara yayılmasına “metastaz” denir. Metastaz yapan bu hücreler ulaştıkları doku ve

organlarda yeni tümörler oluşturarak büyümeye devam ederler (32). Kanser sebepli ölümlerin çoğu metastaz sürecinin ilerleyişine bağlıdır (30). Metastaz süreci, tümör hücrelerinin ilk olduğu kitleden ayrılıp farklı dokulara invazyonu ile başlar ve kolonizasyon aşamasıyla devam eder (33, 34). İnvazyon, doku ve organların tamir ve yenilenmesinde, fetüsün gelişimi gibi fizyolojik olaylarda görev almaktadır. Kanserli hücreler, kontrol mekanizmasından bağımsız hareket ettikleri için dokulardan gelen sinyallere ihtiyaç duymadan kendi sinyalleriyle invazyona sürekli gerçekleştirirler. İnvazyon olayı, tümör hücrelerinin bazal membrana adezyonuyla başlar, bazal membranın enzimlerle eritilerek tümörün doku içine geçişiyle devam eder. Metastaz olayının meydana gelmesi için invazyon, tümör hücrelerinin çoğalması ve anjiyogenezis olmalıdır (35). Tümör büyümesinde hem hücrenin kontrolsüz çoğalması hem de düşük apoptoz etkilidir. Bu olaylar arasındaki denge tümörün çoğalması veya gerilemesinde etkilidir (36, 37). Tümör çeşitlerinin çoğu bulunduğu organa özgü bir yayılma çeşidi meydana getirir (34, 38). Örneğin meme kanseri metastazına bakıldığında, sıklıkla akciğer, karaciğer, kemik ve beyin gibi organlara yayıldığı görülür (39, 40). Kanser çeşitleri köken aldıkları dokuya göre sınıflandırılırlar. Epitel hücrelerden köken alan çeşidi karsinom, mezenşimal dokulardan köken alan çeşidi sarkoma, kemik iliğinden köken alan çeşidi lösemi ve lenfoma olarak gruplandırılır (3).

Kanser 2018 yılı Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, 9,6 milyon ölüm oranı ile kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci ölüm nedenidir (4). Ülkemizde en sık görülen kanser türleri; erkeklerde akciğer, prostat, kalın bağırsak, rektum, mide ve pankreas; kadınlarda ise meme, serviks, kalın bağırsak, rektum, akciğer, yumurtalık, mide ve pankreas kanseri'dir (5). Türkiye'de en çok karşılaşılan ilk 5 kanser türü, diğer ülkelerde karşılaşılan kanser türleri ile benzerlik gösterdiği yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir.

## **2.2. Hücre Siklusu**

Hücre döngüsü, hücrenin bölünmesi, çoğalması ve büyümesi için programlanmış bir mekanizmadır (41). Hücre döngüsü G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub> ve M (Mitoz) evrelerinden meydana gelir. Hücreler bölünme sinyali almadıkları zaman G<sub>0</sub> evresinde kalırlar. Hücre siklusu; G<sub>1</sub> evresinin sonu, S evresi, G<sub>2</sub> evresinden Mitoza geçiş sırasında ve Metafaz evresinden Anafaz evresine geçişte toplamda 4 farklı noktada denetlenir (42). Denetim noktalarının görevi, ilgili proteinlerce döngünün devam etmesi veya durmasına karar verilmektedir. Bu kararlar, hücre döngüsünün işleyişini kontrol eden siklin adlı proteinler ve hedef proteinleri seçerek

fosforile eden protein kinazlar tarafından yapılır (43). İlk kontrol noktasının geçilebilmesi için DNA'nın hasarsız olması gerekmektedir. DNA'da hasar varsa bu hasar onarılmaya kadar hücre bu kontrol noktasında bekler. Hasar onarılamayacak durumda olursa p53 geni kontrol noktasındaki bekleme süresinin uzatılmasını sağlar (44, 45). DNA hasarı tamir edilemezse hücre apoptoza uğrayarak hasarlı hücrelerin S evresinde DNA replikasyonunu engellemiş olur (45).

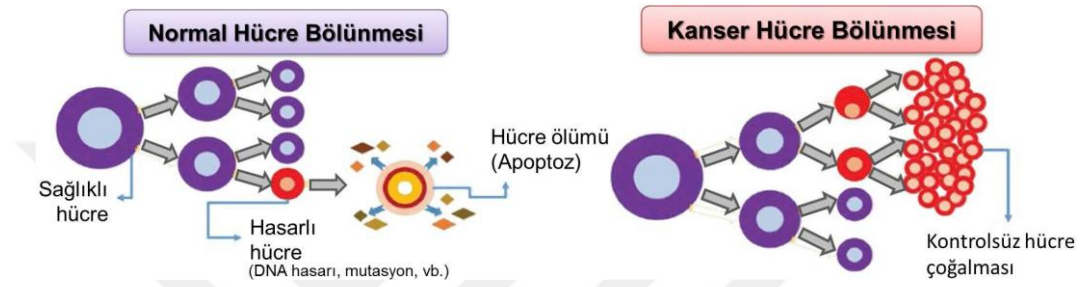
Hücre döngüsünün kontrol noktalarında meydana gelebilecek hatalar kanser gelişimine neden olabilmektedir (46). Hücreler normal şartlarda proliferatif uyarılara bağlı olarak gereken durumlarda bölünürler. Kanserli hücreler ise mutasyonlar sonucunda normal hücrelerde görülen kontrollü büyüme süreci yok olmuştur (1). Mutasyonlar kanser hücrelerinde hücre döngüsünün kontrol basamaklarından herhangi birinin bozulmasına sebep olur (43). Sonuç olarak, kontrol noktaları genetik aksaklıkların düzeltilmesi için hataların saptanmaya çalışıldığı önemli noktalardır. Böylece, normal hücrelerde DNA'sını sadece doğru bir şekilde replike etmiş hücrelerin döngüde ilerlemesine izin verilmiş olur. Kanserli hücrelerde ise bu kontrol mekanizması olmadığından hızlı bir hücre çoğalması ve dokunun büyümesi söz konusudur (43).

### **2.3. Hücre Ölüm Mekanizmaları**

#### **2.3.1. Apoptoz**

Apoptoz; DNA'sında hasar olan, fonksiyonlarını kaybetmiş, yaşlanmış hücrelerin, genetik olarak kontrol edilerek güvenli bir şekilde yok edilmelerini sağlayan hücre ölüm şeklidir (48). Apoptoz; gelişim, yaşlanma ve dokulardaki hücrelerin devamlılığını sağlamak için denge mekanizması, çeşitli hastalık ya da zararlı ajanlar nedeniyle hücreler zarar gördüğünde de savunma mekanizması olarak görev yapar. Apoptoz, hücre içi kalsiyum dengelerinin bozulması, reaktif oksijen türlerinin artışı, hücre içi stres artışı, bağışıklık sistemi hastalıkları, tümör oluşumu, X ışınları ve radyasyon gibi sebepler nedeniyle meydana gelir. Bu olaylar kontrol altında tutulmazsa, hücre içi dengesizlik, genetik bozukluklar ve hatta kanser oluşumu ile sonuçlanabileceği için apoptoz bu tür hücreleri yok ederek homeostatik dengeyi korumuş olur (49). Kısaca, normal hücreler DNA baz dizisinde oluşan hasarlı nükleotidleri olması gereken dizilime getirme, onarımı olanaksız DNA hasarında ya da herhangi bir bozukluğu olan DNA söz konusu olduğunda ise apoptoz mekanizmasını devreye sokan ve hataları saptayan, yok etmeye çalışan mekanizmalara sahiptir (Şekil 2. 2).

Mekanizmada ortaya çıkan bir aksaklıktan dolayı apoptoz meydana gelmezse, neoplastik hücre popülasyonunun kontrolsüz artışı ve tümör hücrelerinin bağışıklık sisteminin denetimi dışına çıkması meydana gelir (50). Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi ve radyoterapi apoptozu tetikleyerek etki eder. Fakat apoptoza karşı direnç kazanan kanser hücreleri terapiye de cevap vermeyebilir. Bu nedenle kanser hücrelerinin hangi yollarla apoptoza karşı direnç kazandığı ve apoptoz yolağındaki bozuklukların kansere nasıl yol açtığını üzerine araştırmalar yapmak mevcut tedavi yöntemlerinin gelişmesine ve yeni yöntemlerin oluşturulmasına katkı sağlayabilir (51).



Şekil 2.2: Normal hücre ve kanserli hücrelerin çoğalması (47).

### 2.3.2. Nekroz

Nekroz; hücre zarının veya hücrenin metabolizmasının hasar görmesi ve zar geçirgenliğinin bozulmasıyla şişen hücrelerin, hücre membranını patlatarak içindeki maddelerin dışarı dağılmasıyla hücrenin yok olmasıdır (52). Apoptozda, hücre ölüm mekanizmasına aktif olarak katılırken, nekrozda, hücre için uygun olmayan ortamlardaki değişiklikler sebebiyle hücre ölümü gerçekleşmektedir. Bir hücrenin apoptoza ya da nekroza gideceği ortamdaki uyarıcının çeşidi ve miktarına bağlı olarak belirlenir. Hipoksi, radyasyon, sıcaklık ve sitotoksik antikanser ilaçlar gibi uyaranlara hücre düşük oranlarda maruz kaldığında apoptoz, yüksek oranda maruz kaldığında ise nekroza neden olabilmektedir (53).

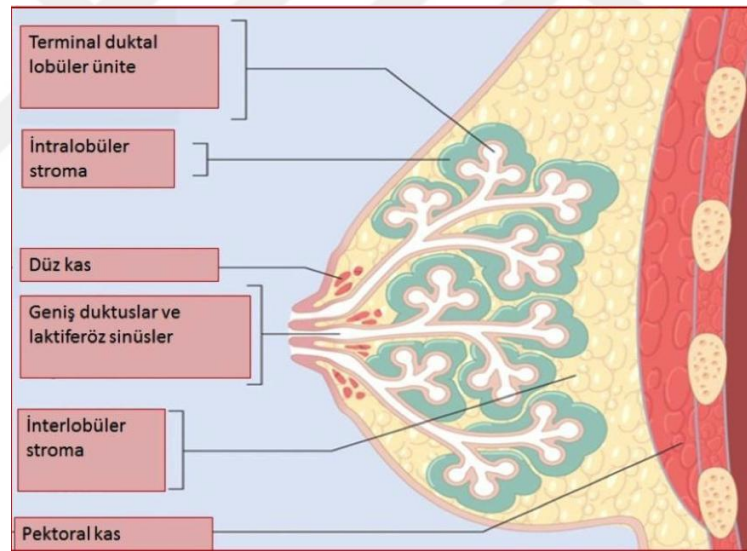
### 2.3.3. Otofaji

Otofaji, hücre içinde bulunan organel ve makro moleküllerin bir kesecik içine alınarak lizozomlara transferi ve lizozomla birleşerek burada parçalanmasına neden olan bir mekanizmadır. Kısa ömürlü proteinler ubiquitin-proteozom sisteminde parçalanırken, hücre içi organeller ve uzun ömürlü proteinler ise otofaji sistemi tarafından parçalanırlar ve oluşan yapı taşları hücre kullanımı için değerlendirilirler (116, 174). Otofaji anormalliklerinin,

kanser, enfeksiyon hastalıkları ve norodejeneratif hastalıklar gibi önemli sağlık sorunlarının da nedenleri arasında yer aldığını göstermektedir (99).

## 2.4. Meme Kanseri

Meme Kanseri; meme dokusunda yer alan süt bezlerini ve süt kanallarını kaplayan hücrelerin, kontrolsüz bir şekilde çoğalması ile hem bulunduğu dokuda hem de metastaz yoluyla çevre dokulara yayılarak farklı dokularda çoğalmaya devam eden sistemik bir hastalıktır. Meme kanseri lobüller ve duktal kanser olmak üzere iki çeşittir. Kanserli meme hücreleri, kan dolaşımına sızmadan önce sağlıklı olan komşu hücreleri ve yakındaki lenf düğümlerine yerleşebilir. Meme kanseri hücreleri kan yoluyla da metastaza uygun olan akciğer ve kemik dokularını istila edebilir (56). Ülkemizde yapılan çalışmalarda, meme kanserinin kadınlarda en sık görülen kanser çeşidi olduğu, en çok 50 yaş üstündeki bireylerde görüldüğü ve yaşın artmasıyla birlikte ortaya çıkma olasılığının da arttığı bildirilmiştir (57, 58).



Şekil 2.3: Memenin dokusu bölümlerinin şematik görünümü (59).

### 2.4.1. Meme Kanseri Çeşitleri

Kanserli hücrelerin oluşturduğu tümörlü hücreler çoğaldıkları dokularda kalıyorsa bu in sute ya da noninvaziv meme kanseri olarak tanımlanır. İn sute kanser türü duktal ve lobüller olmak üzere iki çeşittir. Kanserli hücrelerin süt kanalları ve lobülleri geçerek vücuttaki diğer organlara yayılmasına invaziv meme kanseri denir (55).

#### **2.4.1.1. Noninvaziv Meme Kanseri**

Memenin süt salgılayan bölümünden gelişen kansere lobüller kanser, süt kanallarında gelişen kanser çeşidine ise duktal kanser adı verilmiştir. En yaygın görülen meme kanseri çeşidi duktal kanserdir ve tüm meme kanserlerinin %75'ini meydana getirmektedir (54). Duktal karsinoma meme kanserinin erken evresinde ortaya çıkar ve tümör hücreleri meme içindeki süt kanallarında gelişir. Meme dokusunu çevreleyen kanalların duvarlarını aşma yetenekleri olmadığından lenf ve dolaşım sistemiyle diğer dokulara yayılma yetenekleri yoktur. Duktal karsinomanın metastaz yeteneği olmasada, meme kanseri olarak kabul edilir. Kullanılan tedavi yöntemi invaziv meme kanseri ile benzerdir. Duktal karsinoma metastaz yapamayan lokal bir hastalık olması nedeniyle kişinin hayatını değil meme dokusunu tehdit eder (60). Diğer noninvaziv meme kanseri olan lobüller karsinoma ise süt bezleri içinde gelişen kanser çeşididir (61).

#### **2.4.1.2. İnvaziv Meme Kanseri**

İnvaziv meme kanseri, meme kanserinin en sık görülen türüdür. Duktal karsinoma ve lobüller karsinoma en çok görülen çeşitleridir. Süt bezleri veya süt kanallarına yayılabilen ve metastazla vücudun diğer kısımlarına da yayılabilen kanserlerdir (62, 63). Meme dokusundaki hücrelerin kontrolden çıkmasıyla ortaya çıkan bu hastalık, genellikle röntgende görülebilen bir yumru ya da tümör meydana getirebilir. Meme kanseri türlerinin bir kısmı memede yumruya yol açabilirken bir kısmı da herhangi bir belirti vermeyip mamografi taramalarında kendini göstermektedir. Ayrıca meme dokusunda görülen her yumru kanserli doku olmayıp kontrolsüz büyüme ve yayılım göstermemektedirler. Hastalığın toplumda sıklıkla gözlemlenmesi, günümüzde tanısının mümkün olması, hastalığın erken evrede tedavi edilebilir olması meme kanserinin önemini arttırmaktadır. Son yıllarda teknoloji sayesinde ortaya çıkan gelişmelerle meme kanseri tedavisinde pek çok yeni tedavi fırsatlarına ulaşılmıştır (64).

#### **2.4.2. Meme Kanseri Metastazi**

Meme kanserinin metastazında üç aşama görülmektedir. Bu aşamalar kanser hücrelerinin meme dokusuna ve dolaşım sistemine invazyonu ve vaskülatürde sağ kalımı kolaylaştıran, uzak organ bölgelerinde kolonizasyonu sağlayan bir epitelyal-mezenşimal geçiş olayı, ikinci olarak ekstrasvazyon olayı ve son olarak proliferasyon ile daha büyük tümörlere doğru ilerleyen mikrometastatik lezyonların oluşumudur (65). Meme dokusundaki

tümör hücreleri, birincil tümör göçünden kaçmalarına ve çevre dokuları işgal etmelerine, damar sistemine girmelerine, dolaşmasına ve ikincil bölgelere ulaşmalarına, ekstremitelere ve metastatik odaklara ulaşmalarına imkân veren bu özellikleri kazandıktan sonra metastatik potansiyellerini yerine getirirler (66).

Kanser ilerlediğinde veya metastaz yapabilecek evreye ulaştığında, tümör hücreleri, karaciğer, akciğerler ve beyin gibi uzak organlarda ya da kemik ve deriye yeni tümörler yayma ve oluşturma potansiyeline sahiptir. Bu hedef organlardaki malign hücrelerin durdurulması ve büyümesi, tercihli bir dağıtım ve konumun var olması, ‘organ tropizmi’ olarak adlandırılan bir süreç meydana getirir (65). Meme kanserinden ölümlerin çoğunluğu meme dokusunda meydana gelen kanserleşmeden değil, bu dokuda oluşan kanserli hücrelerinin vücuttaki diğer organlara metastazı ile meydana gelir (67).

### **2.4.3. Meme Kanseri Risk Faktörleri**

Meme kanseri aile öyküsü, elektromanyetik alanlara ve radyasyona maruz kalma, obezite, yaş, tütün kullanımı, menopoz sonrası hormon kullanımı, alkol kullanımı, uzun menstürasyon öyküsü, oral kontraseptif kullanımı ve yaşlılıkta doğum gibi birçok faktör nedeniyle ortaya çıkabilmektedir (68). Meme kanseri vakalarının çoğu kendiliğinden gelişebilir ancak aile öyküsü ve genetik eğilim de meme kanseri oluşum oranını da etkilemektedir. Yapılan çalışmalar, kalıtsal *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyonları olan kadınlarda meme kanseri riskinin yaklaşık %80 civarında olduğu ortaya konulmuştur (69-71).

### **2.4.4. Meme Kanseri Tedavisi**

Kanser tedavisi, öncelikle kanserli dokunun küçülmesi için kemoterapi uygulanması, ameliyat gerektiren durumlarda tümörlü dokunun çıkartılması, ardından daha fazla kemoterapi ve radyasyon tedavisi uygulanması gibi yöntemlerden meydana gelir. Kemoterapi ve radyasyon tedavisi uygulanmasının amacı, kanserli hücrelerin sağlıklı hücrelere göre çok daha hızlı büyümeleri nedeniyle, bu yöntemlerin etkilerine daha duyarlı olduğu için tümör hücrelerini yok etmektir. Son yıllarda kemoterapi uygulamasını geliştirmek için yapılan çalışmalar, hastanın hayatta kalma oranında artış sağlamış, ancak hala geliştirmeye ihtiyaç duyulan bir alandır. Yapılan araştırmalar, alternatif dozlama yollarına izin vermek için taşıyıcıların geliştirilmesini, tümör büyümesini besleyen kan damarları gibi yeni terapötik hedefleri ve aktivitelerinde daha spesifik olan hedefe yönelik terapötikleri içermektedir. Kemoterapötik tedavinin amacı, tedavinin mümkün olduğu kadar



az sayıda sağlıklı hücreyi etkilemesi ve kanser hücrelerini hedefleme ve öldürme kabiliyeti ile doğrudan ilişkilidir (72). Bu açıdan kemoterapinin, kanser tedavisinde önemli bir yer tuttuğu ve çeşitli kanser türlerinin tedavisi ve kanserin gerilemesi yönündeki önemi unutulmamalıdır (73). Tümör hücreleri sağlıklı hücrelere göre daha hızlı büyüme eğrisi gösterdiğinden, antikanser ilaçlar tümörlü hücrelere sağlıklı hücrelere göre yüksek oranda etki ederler. Bununla birlikte bölünme hızı diğer sağlıklı hücrelere göre daha hızlı olan mide-bağırsak mukozası, kıl folikülleri, kemik iliği ve deri gibi sağlıklı dokularda kemoterapi uygulamasıyla etkilenirler. Bu yan etkiler, tedavi sırasında ve sonrasında çeşitli komplikasyonları beraberinde getirir (74, 75). Piyasaya daha güçlü antikanser ilaçları tanıtmak amacıyla yeni antikanser ajanlarının oluşturulması üzerine araştırmalar halen devam etmektedir. Bununla birlikte, tüm mevcut ve tasarlanacak olan antikanser ilaçları aynı seçicilik dışı problemle karşı karşıyadır. Bu nedenle güncel çalışmalarda hedeflenen kemoterapi için nanoteknolojinin tanıtımı, kanser biyo belirteçlerinin kullanımı ve fiziksel parametrelerin araştırılması gibi yeni trendler üzerinde durulmaya başlanmıştır (76). Hedeflenen kemoterapinin daha etkili bir şekilde uygulanması için polimer ilaçların ve nanopartiküllerin yüzey modifikasyonları da kullanılmaktadır (77). Kemoterapideki ilerlemeler, hastalık nüksü ve ölüm riskini önemli ölçüde azaltmış olsa da meme kanserinin nüksetmesi klinik ortamda önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu nedenle, bu zorluğun üstesinden gelmek için, meme kanseri tedavisinde kullanılabilecek yeni ilaçların bulunması gerekmektedir (11).

## 2.5. Cisplatin

Cisplatin ( $Cl_2H_6N_2Pt$ ), meme, akciğer, kolon, rahim ve testis gibi pek çok kanserin tedavisinde, tek başına veya başka kemoterapötik ilaçlar ile kombinasyon şeklinde uygulanarak sıklıkla kullanılan bir ajandır. Moleküler yapısında, merkezde bir platin ve bu platine bağlı iki klorür ile iki metil grubu yer almaktadır. Cisplatin, klor miktarına karşı kararlı yapısı sayesinde ve pasif difüzyon ve CTR1 gibi taşıyıcı proteinler aracılığı ile hücre içerisine giriş sağlar. Hücrenin sitoplazmadaki düşük klorür konsantrasyonu ile cisplatin hidrolize uğramaktadır. Cisplatin nükleofilik olan moleküller ile etkileşime girerek hücre hasara neden olmaktadır. Cisplatinin hücre içi hedefleri, metallotiyonein, indirgenmiş glutatyon, proteinler, metiyonin ve pürin bazlarıdır (78, 79). Pürinlerin N7 reaktif merkezine bağlantı kurarak, DNA'da sarmal içi ve sarmallar arası çapraz bağlar meydana getirerek sitotoksik etkisini ortaya çıkartır. Meydana gelen bu DNA hasarı nedeniyle hücre siklusunu

G<sub>2</sub> ve S fazında durdurarak, yanlış eşleşme onarımı ve nükleotid eksizyon onarımı gibi tamir mekanizmalarının devreye sokulmasını sağlar. DNA tamir edilemeyecek kadar hasarlı ise Fas, p73, p53 ve Chk2 proteinlerinin aktivasyonu sağlanmakta olup, hücrenin apoptoz ile ölümü gerçekleştirilir (80-82). Cisplatinin sitotoksik etkisinin bir diğer nedeni de hücrelerde doz ve uygulanma süresi ile doğru orantılı bir şekilde oksidatif stres meydana getirmesidir (83).

## 2.6. MCF-7 Hücre Hattı ve Tarihçesi

MCF-7, *in vitro* meme kanseri çalışmalarında kullanılan bir hücre hattıdır. MCF-7 hücreleri ilk defa 1970 yılında 69 yaşında invaziv duktal karsinomalı beyaz ırktan bir kadının plevral efüzyonundan izole edilerek alınmıştır (84). Michigian Kanser Vakfı'nın kısaltması olarak MCF-7 ismi verilmiştir. Epitelyal morfolojiye sahip hücrelerdir (85). Soule ve arkadaşları, vücuttaki bölgesel nüksetmeler için hastaya 3 yıl boyunca radyoterapi ve hormon tedavisi uygulamışlardır. Bu uyguladıkları tedavide; hastaya tamoksifen uygulanmadan önceki günlerde, hasta yüksek dozlarda sentetik estrogen ve dietilstilbestrol ile tedavi edilerek tümörün hormona duyarlı olduğunu kanıtlamak için beklenenden daha uzun süre kontrol edilmiştir. Bu çalışma sonucunda hastalığın hormona duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Yaygın olarak görülen nodüler tekrarlama olaylarından iki ay sonra, 1970 yılının haziran ayında, laboratuvar çalışmaları için plevral efüzyondan örnekler alınmıştır ve MCF-7 hücrelerinin insan kaynaklı olduğunu kanıtlamışlardır. Sitogenetik açıdan yapılan çalışmalar sonucunda, 88 kromozomun kök hücre hattı olduğu tespit edilmiştir (85, 86). Kanser hücre hatları, kanser araştırmalarının moleküler tanısında kullanılan temel unsurlardandır çünkü hücre hatları neredeyse sınırsız bir şekilde kendi kendini çoğaltma avantajına sahiptir. Ayrıca, yüksek derecede homojen özellik göstermekte ve kontaminasyon oluşması sebebiyle hücre hattı araştırmalarda kullanılmayacak hale gelirse donmuş stoklardan kolayca tekrar kullanım imkânı sağlamaktadır (86, 87). Çeşitli antikanser ilaçlar ile ilgili olanlar da dahil olmak üzere, dünya çapında meme kanseri araştırmalarında kullanılmaya devam etmektedir. Çoğunlukla kullanılan bu MCF-7 hücre hattı; östrojen reseptörü (ER)-pozitif ve progesteron reseptörü (PR)-pozitif olup, lümen A moleküler alt tipinde olan hücre hattı çeşididir. Metastaz potansiyeli düşüktür, zayıf agresif ve istilacı olmayan bir hücre hattıdır (86).

## 2.7. Hücre Kültürü

Hücre kültürü, laboratuvar ortamında; uygun sıcaklık, kültüre uygun cihazlar ve özel besin maddeleriyle ortam şartlarının kontrolü sağlanarak, çok hücreli organizmalara ait hücrelerin kontaminasyona uğramasını önleyerek yaşatılması ve çoğaltılmasıdır. Hücre kültürü çalışmaları, canlılardan alınan hücrelerin laboratuvar şartlarında yaşatılabilmesi ve birçok etik kaygıyı gidermesi açısından *in vitro* çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir (88, 89).

## 2.8. Sitotoksisite

Hücre ölümüne neden olan anlamına gelen sitotoksisite, ilaç, bitki gibi maddelerin hücre ölüm potansiyelinin olup olmadığının belirlenmesinde rol oynamaktadır. Sitotoksisite, araştırılan maddenin doz ve maddenin hücreye uygulandığı süreye bağlı olarak hücrelere farklı miktarlarda zarar veren bir olaydır. Hücreler, sitotoksik maddeye maruz kaldığı zaman apoptoz, otofaji ve nekroz gibi olaylar sonucu ölebilir ya da çoğalabilme özelliklerini kaybedebilirler (89). Sitotoksisite çalışmalarının en önemli basamağı hücrelerin *in vitro* şartlarda bazı etkenlere maruz bırakılarak bu hücrelerin canlılıklarının belirlenmesidir (90). Hücre canlılığının belirlenmesinde kullanılan farklı yöntemlerin amacı, çalışma sonundaki canlı/ölü hücre miktarının belirlenmesidir (91). Sitotoksisite araştırma yöntemleri genel olarak kolorimetrik, lüminesans ve enzimatik metodlardan oluşmaktadır (89, 92-94).

## 2.9. *Primula vulgaris* (çuha çiçeği) Bitkisi ve Genel Özellikleri

*Primula vulgaris*, Primulaceae familyasının *Primula L.* cinsine ait bir üyesidir. Yaprakları tabanda rozet şeklinde toplanmış, öbek halinde büyüyen, soğuğa dayanıklı, çok yıllık otsu bir bitkidir. Çiçekleri beyaz, sarı, pembe, leylak ve mor gibi değişik renk yelpazesine sahiptir (Şekil 2. 4). Direk güneş ışığı, aşırı asidik ve aşırı su çekmiş topraklardan çoğalmaktan kaçınır (96). *P. vulgaris*' in çiçeklerine renk veren; epidermal hücrelerin vakuol özsuyunda bulunan, ortamın pH durumuna göre kırmızı, mavi, mor renkli tepkime verebilen ve suda çözünen bir flavonoid olan antosiyanindir (97).



Şekil 2.4: *Primula vulgaris* bitkisi.

*P. vulgaris* türünün kökeni Avrupa-Sibiryaya olup, Batı, Güney ve Orta Avrupa, Kuzeybatı Afrika, Transkafkasya ve Lübnan'a kadar uzanan geniş bir coğrafyada yayılış sergilemektedir (98). *P. vulgaris* türü dünyada beş alttürle temsil edilirken ülkemizde iki alt türü bulunmaktadır. Bu alt türlerden *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* taksonu Türkiye'nin Kuzey ve Güney kıyı kesimlerinde, *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* (Hoffmanns) W.W.Sm. & Forrest taksonu ise Türkiye'nin yalnızca kuzey kesimlerinde yayılış gösterir (98). Türün yayılışı Avrupa'da genellikle deniz seviyesinden 1500 m'yi aşmazken, ülkemizde deniz seviyesinden 2400 m'ye kadar yayılış gösterebilir. Türün çiçeklenme zamanı bulunduğu çevrenin iklim şartlarına bağlı olarak genellikle Mart-Mayıs ayları arasında gerçekleşir. *P. vulgaris* subsp. *vulgaris* çoğunlukla çimenlik yamaçlar, ormanlık bölgeler ve alpin çayırlardaki nemli alanlarda 500-2100 m yükselti aralığında yetişirler. Buna karşılık alttür *sibthorpii* maki bölgeleri, meşe ormanları, fındık bahçeleri, çayırılık alanlar ve çalılık yamaçlardaki nemli alanlarda 0-850 m yükselti aralığında yer almaktadır (98). *P. vulgaris*' in Samsun ilinde yetişen popülasyonlarıyla yapılan bir çalışmada, toprağın fiziksel ve kimyasal özellikleri bu iki alttürün fenotipik plastisitelerinin karşılaştırılmasında ayırt edici bir parametre olarak kullanılmıştır. Çalışma sonucuna göre *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii*' nin *P. vulgaris* subsp. *vulgaris*'e oranla pH ve topraktaki kireç açısından daha geniş bir toleransa sahip olduğu, her iki alttüründe yayılış gösterdiği toprakların N (azot) ve organik madde yönünden zengin, K (potasyum) yönünden fakir ve killi topraklar olduğu tespit edilmiştir (100).

*P. vulgaris* türünün sistematığı aşağıda sunulmuştur.

<b>Alem</b>	: Plantae (Bitkiler)
<b>Bölüm</b>	: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
<b>Sınıf</b>	: Magnoliopsida (İki çenekliler)
<b>Takım</b>	: Ericales
<b>Familya</b>	: Primulaceae (Çuha çiçeğigiller)
<b>Cins</b>	: <i>Primula</i>
<b>Tür</b>	: <i>Primula vulgaris</i>
<b>Alttür 1</b>	: <i>Primula vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>
<b>Alttür 2</b>	: <i>Primula vulgaris</i> subsp. <i>sibithorpii</i>

*P. vulgaris*; ekonomik değerinin olması, halk arasında tıbbi kullanımının olması, doğal olarak hibritleşebilmesi, dünyanın değişik yerlerinde yayılış gösterebilmesi, farklı iklim şartlarına uyum sağlayabilmesi gibi pek çok önemli özelliğinden dolayı başta sistematikçiler olmak üzere, ekologlar ve genetikçiler tarafından araştırılmış ve halen araştırılmaya devam eden bir türdür (101). *Primula* türlerinin kaempferol, kuersetin, 5-hidroksi pirogallol, apigenin, kateşin türevleri, gallik asit, rosmarinik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit ve ellagik asit gibi fenolik bileşikler yönünden zengin oldukları yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (23, 102). Bu bileşiklerin çeşitli kanser türleri üzerine antikanser özelliklerine dair literatürler de mevcuttur (103). Bu bileşiklere sahip çeşitli doğal ürünlerden hazırlanan ekstraktların sitotoksik özelliklerinin incelendiği çalışmalarda, ekstraktın bütün haldeki etkisinin incelenmesiyle içeriğindeki maddelerin sinerjik durumuyla, sitotoksik etki gösterdiği görülmüştür. İlerleyen çalışmalarda ise etkinin görüldüğü fraksiyondan çeşitli izolasyonlar yapılarak içerikteki bileşenlerin bireysel etkileride değerlendirilerek maddelerin sitotoksik durumları değerlendirilmiştir (104). Buradan hareketle *P. vulgaris* yaprak ekstraktının sitotoksik etkinliğinin içerdiği bütün bu fenolik bileşiklerin katkı verdiği düşünülmüştür.

Türün yaprak ve köklerinden elde edilen özütlerin bazı hastalıklarının tedavisinde eski tarihlerden bu yana kullanıldığı bilinmektedir (105). Çiçek ve yapraklarından elde

edilen özütlerin idrar ve balgam söktürücü, öksürük giderici, sakinleştirici ve uyku verici, göğüs yumuşatıcı, terletici olarak ve romatizmaya karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Bitkinin, sıvı ekstrakt ve şurup halinde uygulandığı bildirilmiştir. Rizom kısımları toz halinde aksırtıcı ilaç olarak kullanılmaktadır. Ezilmiş rizomların iltihaplanmayı azaltmak için kompres yapıldığı da bazı çalışmalarda bildirilmiştir (106-108). *Primula vulgaris* fenolik bileşiklerden zengin bir doğal ürün olup, yapısında bulunan protokatekuik asit, *p*-oh benzoik asit, gallik asit, *p*-kumarik asit, kateşin, kaffeik asit, vanilik asit ve rutince zengin antioksidan yapılarından dolayı biyolojik değeri yüksek bir ürün olduğu yapılan çalışmalarda görülmüştür (Tablo 2. 1) (109). Bitkinin sahip olduğu bu içeriklerden olan polifenoller sekonder bitkisel metabolitlerin önemli bir sınıfı olup kuvvetli antioksidan özellik sergileyebildikleri bildirilmektedir. Polifenolik bileşiklerin antioksidan özellikleri; reaktif oksijen türlerine elektron verebilmeleri, radikal oluşumunu hızlandıran ağır metal iyonlarını şelatlayabilmeleri ve antioksidan/detoksifikasyon enzimlerini uyarabilmeleri mekanizmaları ile açıklanmaktadır (110, 111). Özellikle son yıllarda polifenollerin kanser hücrelerinin çoğalmasını engelleyebildiğine ve bu hücrelerde kontrollü hücre ölümü olan apoptozu arttırabildiğine dair çalışmalar hız kazanmıştır. Fenolik bileşiklerin antikanser etkinliklerinin ise; hücre sinyalizasyonunu ve antioksidan enzimleri modüle edebilmeleri, hücre döngüsünü durdurabilmeleri ve apoptozu indükleyebilmeleri özelliklerinden kaynaklandığı ileri sürülmektedir (112). Bu bileşiklerin özellikle DNA sentezini inhibe edebilme özellikleri ile mitozu durdurabilmeleri sonucunda antiproliferatif etki gösterdikleri de bildirilmektedir (113). Yapılan bir çalışmada *P.vulgaris* subsp. *vulgaris* taksonuna ait bireylerde salisilik asit, *P. vulgaris* subsp. *sibthorpii* taksonuna ait bitkilerde ise palmitik asitin yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir. Her iki alttürde de en düşük oranda bulunan yağ asidinin laurik asit olduğu belirlenmiştir. Salisilik asit, laurik asit, araşidik asit alttür *vulgaris*'de alttür *sibthorpii*'ye oranla daha yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir. Miristik asit, palmitik asit ve stearik asitin ise alttür *sibthorpii*'de daha yüksek oranda bulunduğu tespit edilmiştir (Tablo 2. 2) (101).

*Primula* türlerinin yapısında bulunan saponinler, alkaloidler, tanninler, terpenler ve fenolik bileşiklerin antioksidan, antimikrobiyal, antigenotoksik, anti-inflamatuvar, hipoglisemik ve yara iyileştirici özellikleri çeşitli çalışmalarla araştırılmış ve bu faydalı biyolojik özelliklerin bu bileşiklerin varlığından kaynaklandığı ortaya konulmuştur (24, 114, 115, 117). *Primula* türleri, faydalı biyolojik özelliklerinin belirlenmesinin ardından özellikle

son yıllarda başta gıda ve kozmetik sanayi olmak üzere çeşitli ticari çevrelerin ilgisini çekmiştir (118).

**Tablo 2.1:** *Primula vulgaris* bitkisinin fenolik madde içeriği (109).

Standart (µg feollk/g numune)	TSB (ç)e	TSB (y-d)e	ASM (y-d)e	ASM (ç)e	MVS (y-d)e	MVS (ç)e	MVM (y-d)e	MVM (ç)e
1.Gallik Asit	3.23±0.06	3.32±0.01	3.07±0.18	3.23±0.76	2.12±0.10	3.43±0.26	4.76±0.14	11.13±0.41
2.Protokatekuik Asit	30.71±0.03	17.41±0.04	17.19±1.42	20.49±1.80	18.20±1.60	25.11±2.3	17.89±0.41	20.16±0.01
3.p-OH benzoik Asit	76.56±0.17	56.74±1.67	46.76±1.93	52.94±0.90	45.22±0.78	57.87±0.75	45.32±0.12	63.17±1.59
4.Katesin	53.97±1.31	T.E.	T.E.	T.E.	45.19±1.26	39.45±4.92	T.E.	T.E.
5.Vanilik Asit	65.01±0.10	37.99±0.42	33.44±1.51	T.E.	31.57±0.42	51.53±4.05	44.33±0.53	38.50±0.70
6.Kaffeik Asit	53.19±0.27	42.18±0.19	T.E.	T.E.	74.70±0.36	46.63±1.98	39.48±3.10	59.86±0.05
7.Şiringik Asit	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
8.Epikatesin	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.
9.p-Kumarik Asit	848.03±2.7	T.E.	T.E.	29.13±0.61	74.68±3.71	450.84±3.20	T.E.	T.E.
10.Ferulik Asit	T.E.	T.E.	31.5 ±1.86	13.84±1.20	T.E.	T.E.	36.05±9.50	42.77±1.57
11.Rutin	336.52±15.32	226.82±15.97	199.07±1.39	540.38±8.32	132.10±4.12	219.10±6.33	T.E.	102.19±5.66
12.t-sinamik Asit	T.E.	T.E.	15.63±4.26	12.20±0.09	33.57±0.25	13.91±0.11	85.88±18.67	21.87±0.60
13.Luteolin	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.	T.E.

T.E: Tespit Edilemedi, MVM(ç): Maçka bölgesi mor çiçekli *Primula vulgaris* subsp. *vulgaris* çiçek kısmı, MVM(y-d): Maçka bölgesi mor çiçekli *Primula vulgaris* subsp. *vulgaris* yaprak-dal kısmı, MVS(ç): Maçka bölgesi sarı çiçekli *Primula vulgaris* subsp. *vulgaris* çiçek kısmı, MVS(y-d): Maçka bölgesi sarı çiçekli *Primula vulgaris* subsp. *vulgaris* yaprak-dal kısmı, TSB(ç): Bostancı bölgesi beyaz çiçekli *Primula vulgaris* subsp. *sibthorpii* çiçek kısmı, TSB(y-d): Bostancı bölgesi beyaz çiçekli *Primula vulgaris* subsp. *sibthorpii* yaprak-dal kısmı, ASM(ç): Akçaabat bölgesi mor çiçekli *Primula vulgaris* subsp. *sibthorpii* çiçek kısmı, ASM(y-d): Akçaabat bölgesi mor çiçekli *Primula vulgaris* subsp. *sibthorpii* yaprak-dal kısmı.

**Tablo 2.2:** *Primula vulgaris* bitkisinin yağ asidi içeriği (101).

Takson	Yükseklik(m)	Renk	Salisilik Asit	Laurik Asit	Mirisistik Asit	Palmitik Asit	Stearik Asit	Araşidik Asit	Behenik Asit
<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>sibthorpii</i>	8	B	8.88	0.45	1.93	6.6	3.2	1.15	0.7
	8	M	2.67	0.1	1.07	7.43	3.33	1	0.47
	211	B	5.3	0.55	1.15	4.35	2	1	0.7
	211	M	4.23	0.23	0.93	4.27	2.23	0.67	0.57
	404	B	5.93	0.53	1.5	5.6	3.03	1	0.63
	404	M	1.3	0.2	1.1	11.4	6.4	1.3	1
	685	M	6.55	0.3	2.36	6.4	3.9	0.95	0.37
<b>Ortalama</b>			<b>5.6±4.9</b>	<b>0.35±0.29</b>	<b>1.56±1.36</b>	<b>6.20±2.24</b>	<b>3.23±1.14</b>	<b>0.99±0.39</b>	<b>0.60±0.29</b>
<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i>	211	S	9.7	0.7	1.7	7.95	3.45	0.75	0.85
	404	S	11.5	0.45	0.9	5.1	2.4	0.8	0.55
	600	S	2.2	0.2	1.2	3.25	1.7	1.25	0.25
	600	B	0.9	0.3	1.5	5.2	3.1	1.6	0.6
	923	S	1.2	0.2	1.5	5.4	2.9	0.7	0.6
	923	B	6.4	0.3	1	5.1	2.4	1.2	0.8
	1300	S	12.5	0.5	0.65	3.95	2.6	1.35	0.6
	1300	B	11.6	0.5	0.5	3.7	1.4	1.1	0.5
	1686	S	9.67	0.87	0.9	8.33	3.3	1.57	0.4
	1686	B	0.8	0.5	1.1	9	3.1	1.7	0.8
2120	S	10.43	0.45	0.48	5.5	2.3	0.8	0.63	
<b>Ortalama</b>			<b>8.17±5.87</b>	<b>0.50±0.32</b>	<b>0.96±0.51</b>	<b>5.80±2.51</b>	<b>2.62±0.93</b>	<b>1.13±0.82</b>	<b>0.58±0.63</b>

M: mor, B: beyaz, S: sarı

## 2.10. Bitki Ekstraksiyonu

Bitkilerden özel yöntemlerle elde edilen özütler ekstrekt denir. Bitki ekstraksiyonunda birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler geleneksel ve geleneksel olmayan ekstraksiyon teknikleri olarak iki gruba ayrılır. Geleneksel ekstraksiyon

teknikleri, Soxhlet ekstraksiyonu, Maserasyon ve Hidrodistilasyon olarak 3 ana başlık altında incelenebilir. Ultrason Destekli Ekstraksiyon, Darbeli-Elektrik Alan Çıkarma, Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu, Enzim Destekli Ekstraksiyon, Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon teknikleri de günümüzde kullanılan geleneksel olmayan ekstraksiyon yöntemleridir (120).

Bilimsel çalışmalarda istenilen verilerin elde edilebilmesi için en önemli adımlardan birincisi örneklerin ekstraksiyon yönteminin belirlenmesidir. Ekstraksiyon bilimsel çalışmanın ilk adımıdır ve sonuç üzerinde önemli rol oynar. Bitkisel ürünlerden istenilen bileşenlerin ekstraksiyonu için zaman içinde çok çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Ancak fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için standart olarak tek bir yöntem kabul edilememektedir (121).

Geleneksel ekstraksiyon; katı veya sıvı fazda bulunan bileşenlerin, farklı çözünürlük özellikleri yardımı ile sıvı faza aktarılmasıdır. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu ve katı-sıvı ekstraksiyonu olarak iki şekildedir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonunda; birbirine karışmayan iki sıvının yoğunluk farkından yararlanılarak ayırma hunisinde yoğun olan sıvının alta, daha az yoğun olan sıvının ise üste çıkması prensibi uygulanır. Katı- sıvı ekstraksiyonunda öğütülmüş katı örneğin sıvı çözücü ile birleştirilmesiyle katı örneğin bileşenlerinin sıvı çözücüye geçmesinin sağlanmasıdır. Katı-sıvı ekstraksiyonun ana aşamaları şu şekildedir;

1. Çözücünün katı örneğin içine girişi,
2. Sıvı yardımıyla bileşenlerin çözünmesi,
3. Çözünen bileşenlerin katı örneğin dışına çıkması,
4. Çözünen bileşenlerin katı örneğin dış yüzeyinden çözeltiliye geçişi,
5. Ekstraktın katıya göre hareketi,
6. Ekstrakt ve katının ayrılmasıdır (122).

Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde kullanılan çözücünün seçimi, fenolik bileşiğin özelliğine, kullanılacak kromatografik yöntem için çözücü eşleşmesine ve ekstraktın işleneceği son ürün göz önünde bulundurulmalıdır. Kullanılacak olan çözücüler tercih edilirken özellikle sağlık ve gıda sektöründe gliserol ve su gibi toksik olmayan çözücülerin ekstraksiyonda kullanımı daha uygun olmaktadır. Hidrofilik karakterli fenolik



bileşikler için genellikle su veya sulu tamponlar kullanılabilir. Suda sınırlı çözünürlüğe sahip analitler için, bazik bileşiklerin ekstraksiyon verimini arttırmak için  $pH < 7$  olan sulu tamponlar kullanılır. Bu şekilde analit molekülleri ayrışır ve sulu çözücü içindeki çözünürlüğü artar (123). Çözücüler dışında ekstraksiyon işleminde zaman önemli bir kriterdir. Bu nedenle zaman kaybını önlemek için ekstraksiyon öncesi difüzyon hızı, katı fazın hazırlanması, sıcaklık ve katı materyalin nemi de belirlenmesi gereken ve ekstraksiyon hızına etkileyen faktörlerdir (124).

## **2.11. Nanoteknoloji**

Nanoteknoloji, moleküler boyutlardaki maddelere yeni ve gelişmiş özellikler kazandırmak amacıyla, gelişmeye açık bir teknoloji dalıdır (125). Fiziksel, biyolojik ve kimyasal sistemlerin üretimini ve uygulanmasını, ayrıca nano boyutlardaki materyallerin daha büyük sistemlere entegrasyonunu sağlayan bir alandır (126). “Nano” kelimesi, fiziksel bir büyüklüğün milyarda biri anlamına gelmektedir. Nanoteknolojide ölçme birimi nanometre (nm)’dir. Bu teknoloji alanında 100 nm’den daha küçük materyallerin karakterizasyonu, kullanım alanları, üretimi ve işlenmesi üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (127-129).

## **2.12. Nanopartikül**

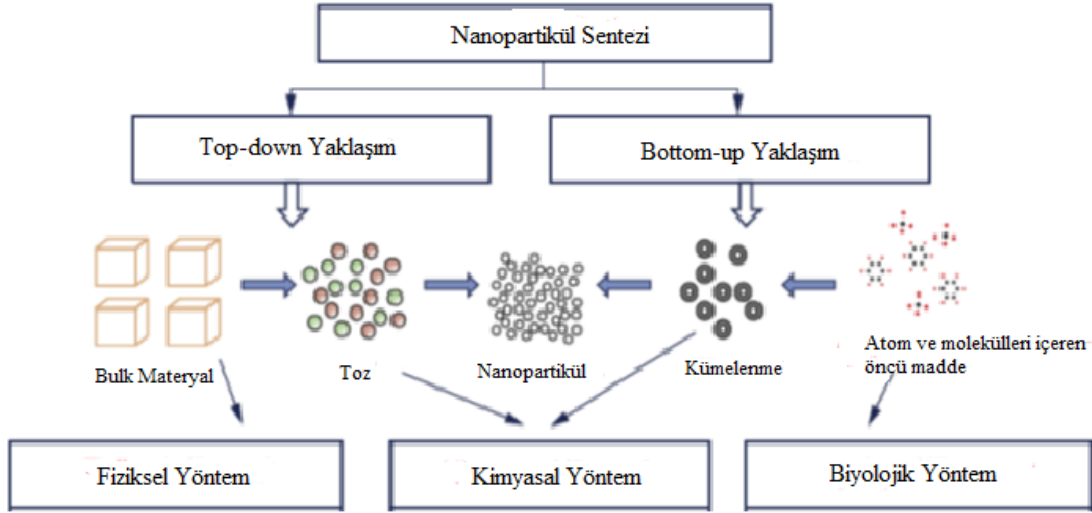
1-100 nm aralığında boyutlara sahip maddeler nanopartikül olarak adlandırılır. Nanopartiküller, dökme malzemenin daha büyük partiküllerine oranla tamamen yeni veya geliştirilmiş özellikler ortaya çıkartırlar ve bu yeni özellikler, partiküllerin büyüklüğü, dağılımı ve morfolojisi gibi spesifik özelliklerde meydana gelen değişiklik nedeniyle elde edilir (130, 131). Bu moleküller, hacimsel yapı malzemelerden çok daha farklı ve üstün olarak kabul edilen özellikler sergilemelerinden dolayı, günümüzde biyoteknoloji, tıp, biyomedikal, kozmetik, eczacılık ve kimya sektörleri başta olmak üzere birçok alanda aktif ve etkili olarak kullanılmaktadırlar (132). Nanopartiküller, nano ölçekli boyutlara yaklaştıkça makro boyutlardaki özelliklerine kıyasla farklı ve üstün kabul edilen ve makro boyuttayken sahip olmadığı yeni kimyasal ve fiziksel özellikler kazanmaktadırlar (133). Nanopartiküllerin nano boyutta olmaları hücre membranını daha kolay geçmelerini, hücre içi materyallerle etkileşmelerini ve buna bağlı olarak hücreye zarar vermelerini sağlamaktadır (134).

## 2.13. Gümüş Nanopartikül (AgNP)

Metalik gümüş, beyaz renkli, parlak görünümde dövülebilir geçiş metali olan bir elementtir. Tüm metaller arasında gümüş, en yüksek elektriksel iletkenliğe, en düşük temas direncine, termal iletkenliğe, yüksek optik yansıma özelliğine sahip olan metaldir. Saf gümüş hava ve suda kararlı bir yapı gösterir.  $Ag^0$ ,  $Ag^+$ ,  $Ag^{2+}$ ,  $Ag^{3+}$  olmak üzere dört farklı yükseltgenme basamağına sahiptir. Ag suda çözünmez, ancak metalik tuzları olan  $AgNO_3$  ve  $AgCl$  suda çözünme özelliğine sahiptir (13). Yüzey etkileri ve kuantum etkileri NP'leri yığın formundan ayıran iki önemli faktördür. Bu etkilerden dolayı, malzemelerin optik, kimyasal, elektrik, mekanik ve manyetik özelliklerinde önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Bu nedenle nano-gümüş, yığın haldeki gümüş de bulunmayan ve tıbbi uygulamalarda çok faydalı olan benzersiz optik ve fiziksel özelliklere sahiptir (135). Gümüş nanopartiküller hücrede, radikal oluşumu teşvik etme, hücre duvarı tahribi, protein sentezi engellenmesi, elektron taşıma sistemini olumsuz yönde etkileme, DNA ve enzim sistemini hasara uğratma gibi durumlarla etkilerini gösterirler (134). Son yıllarda sahip olduğu özelliklerinden ötürü, endüstriyel, evsel ve sağlıkla ilgili ürünlerde, gıda endüstrisinde, optik sensörler ve kozmetik ürünlerinde, klavyeler, yara bantları ve biyomedikal cihaz kaplamalarında, ilaç endüstrisinde, ortopedilerde, ilaç salınımlarında ve antikanser ajan çalışmalarında kullanılmaktadır (136, 137).

### 2.13.1. Gümüş Nanopartiküllerin Sentez Yöntemleri

$AgNP$ 'lerin sentezi için fiziksel, kimyasal veya biyolojik yöntemler kullanılabilir. Yapısal olarak bakıldığında, NP'lerin sentez yöntemlerinde "yukarıdan aşağı (top down)" ve "aşağıdan yukarı (bottom up)" olarak adlandırılan iki ana yaklaşım kullanılmaktadır (Şekil 2. 5.). NP'lerin biyolojik ve kimyasal sentezi, atom veya moleküllerden nano boyutta yapı oluşumunu sağlayan aşağıdan yukarıya (bottom up) yöntemine dayanmaktadır. Metalik NP'lerin fiziksel sentezinde ise, hacimsel malzemeye dışarıdan mekaniksel veya kimyasal işlemler ile enerji verilmesi sonucunda malzemenin nano boyuta kadar küçük parçalara ayıran yukarıdan aşağı (top down) yöntemine dayanmaktadır. NP'lerin üretimi için "aşağıdan yukarıya" tekniği hata oranı düşük monodispers nanoyapıların elde edilmesi için daha uygun bir yöntem olarak kabul edilmektedir (13, 138).



Şekil 2.5: Nanopartikül sentezinde top-down ve bottom-up yaklaşımı (139).

### 2.13.1.1. Fiziksel sentez

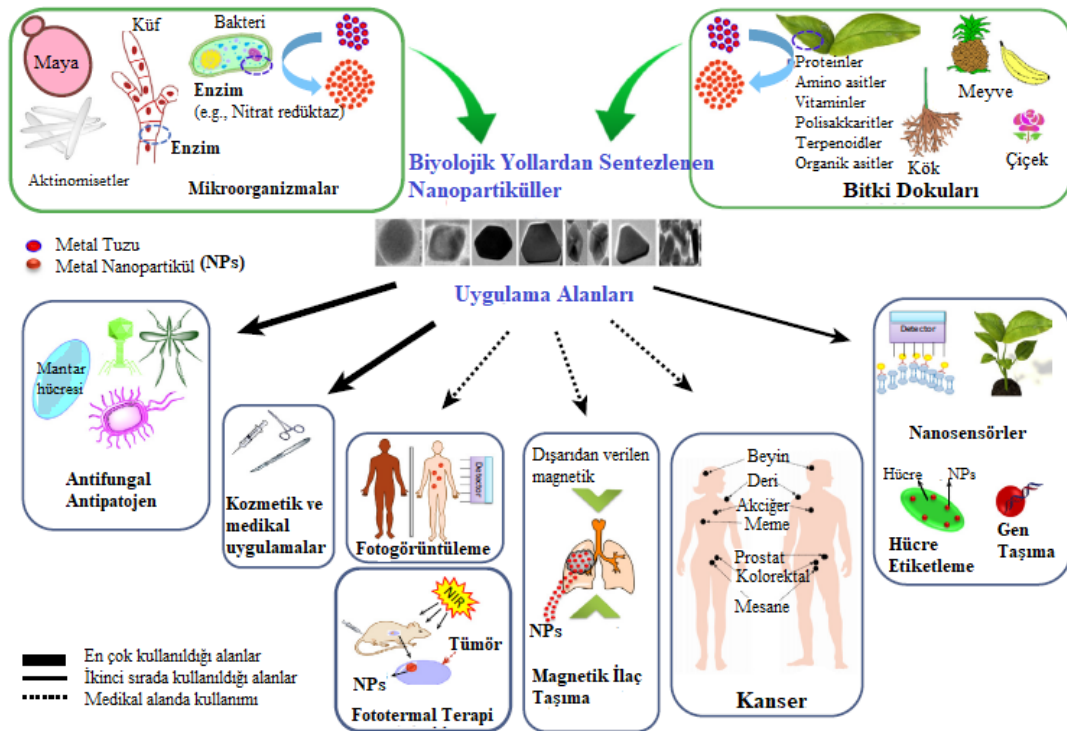
Nanopartiküllerin fiziksel sentezinde, atmosferik basınç altında tüp fırını kullanılarak buharlaşma yoğunlaştırma yoluyla gerçekleştirilir (140, 141). Fiziksel yöntemler sayesinde dar boyutta NP elde edilmesi, üretimin hızlı olması, indirgeyici ajan olarak ışın kullanılması ve tehlikeli kimyasallar içermemesi gibi avantajları olması yanında, üretimi sırasında pahalı ekipmanlara ihtiyaç duyulması, düşük verim ve ekonomik olmayan yüksek enerji tüketimi, çözücü kirliliği ve homojen dağılım görülmemesi nedeniyle birçok dezavantajı da mevcuttur (142, 143).

### 2.13.1.2. Kimyasal sentez

Nanopartiküllerin kimyasal sentezinde, sol-jel prosesi, elektrikle biriktirme, kimyasal buhar biriktirme, kimyasal çözelti biriktirme ve çökeltme gibi yöntemler kullanılır (144). Kimyasal sentez sonucunda, dallanmış polietilenimin pozitif yüklü nanopartiküller meydana gelir (145, 146). Bu sentez yöntemi fiziksel senteze göre büyük ölçekte üretim daha ucuzdur ancak çevreye zararlı toksik kimyasalların kullanılması yöntemin dezavantajıdır. Kullanılan bu kimyasallar NP yüzeyine adsorbe olduğundan medikal kullanıma sınır oluşturmaktadır (147, 148).

### 2.13.1.3. Biyolojik (Yeşil) sentez

Biyosentez diğer adıyla yeşil sentez; mantar, alg, maya ve bitkilerden elde edilen ekstraktlar indirgeme, kaplama ve stabilize edici ajan olarak kullanılarak gerçekleştirilen nanopartikül sentezidir (149, 150). Nanopartiküllerin sentezi için biyolojik materyaller kullanımıyla ekonomik, çevresel açıdan güvenli ve biyolojik olarak uyumlu prosedürlerin geliştirilmesi arzu edilmektedir. Biyolojik yöntemler ile nanopartiküllerin sentezi, çevre dostu, ekonomik ve toksik olmayan özellikleri sayesinde fiziksel ve kimyasal yöntemlere göre daha avantajlıdır (151). Yeşil sentez yöntemiyle üretilen nanopartiküllerin birçok uygulama alanı olduğundan ve çevresel olarak artan ihtiyaç nedeniyle geniş ilgi görmüştür (Şekil 2. 6.).

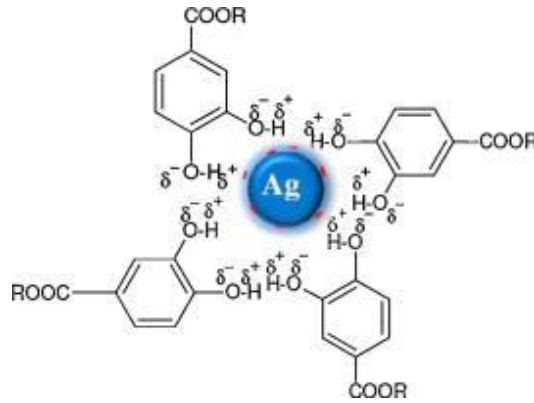


Şekil 2.6: Metal nanopartiküllerinin biyolojik sentezi ve uygulamaları (152).

### 2.13.1.4. Bitki Ekstraktı Kullanarak Gümüş Nanopartikül Sentezi

AgNP sentezinde bitki ekstraktlarının kullanımı oldukça yaygın olan çevre dostu üretim yöntemidir (153). AgNP'ler bitkinin tümünden, kök, gövde, yaprak ve tohum gibi bitkinin belirli kısımlarının ekstraktı kullanılarak sentezi sağlanabilir. Bitki ekstraktının kullanıldığı sentez çalışmalarının sayısı 2009'dan bu yana giderek artmıştır (154). Özellikle tıbbi bitkiler kullanılarak AgNP'lerin biyolojik sentezleriyle ilgili rapor edilen çalışmalar

gelecek vadetmektedir. Bitki ekstraktında suda çözülmüş olarak bulunan flavonoidler, terpenoidler, ketonlar, aldehitler, fenol türevleri, amitler, karboksilik asitler, organik asitler, kinonlar gümüşün indirgenmesinden sorumlu temel fitokimyasallardır (155). Bilimsel araştırmalar bitkilerin yüksek seviyede suda çözünür polifenol ve antioksidanlar içerdiğini ortaya çıkarmıştır. Fenolik bileşikler, metallere bağlanabilen ve şelat etkisi gösteren hidroksil ve ketonik gruplara sahiptir (156). Bazı araştırmacılar, quercetin gibi flavonoidlerde bulunan -OH gruplarının, gümüş iyonlarının AgNP'lere indirgenmesinden sorumlu olabileceğini belirtmiştir (Şekil 2. 7). Muhtemelen flavonoidler enol formundan keto forma tatomerik dönüşüm sırasında, gümüş iyonlarını AgNP'lerine indirgeyen reaktif hidrojen atomu salımı yapmaktadır (157). Bitkiler diğer canlı organizmalara nazaran NP sentezinde daha hızlı bir reaksiyon çizgisine ve verimine sahip olduklarından, biyolojik sentezde kullanımları ayrıntılı aşamalara, hücre içi sentez veya çoklu saflaştırma adımlarına gerek duyulmadığı içinde avantajlıdır (158, 159). Bitki ekstraktının bioindirgeme potansiyeli mikrobiyal senteze göre daha yüksektir. Bununla birlikte AgNP sentez işleminden sonra elde edilen atık ürünler genellikle çevre ile uyumludur. Bitki aracılı sentez neredeyse sıfır kirliliğe sahiptir. Ayrıca bitki ekstraktında bulunan fitokimyasalların metal iyonlarını indirgemesi dışında oluşan NP'leri stabilize ettiği bilinmektedir (154, 160). Bu yöntem çevre dostu, güvenli, sağlıklı yapılara toksik olmayan ve düşük maliyetli üretimiyle, terapatik kullanım için ideal olmaktadır. Bu olumlu özellikleri sayesinde diğer sentez yöntemlerine alternatif oluşturmuştur (161-163).



Şekil 2.7: Bitki ekstraktında bulunan polifenollerle kaplı AgNP'ler (155).

#### 2.14. Biyojenik Nanopartiküllerin Avantajı

Biyolojik yollardan elde edilen nanopartiküller biyoyumlu ve düşük sitotoksitesitelyken, fiziksel ve kimyasal yöntemlerle üretilen nanopartiküller, sentez

sırasında nanopartiküllere bağlanan yan ürünlerin toksik olmaları nedeniyle biyomedikal uygulamalarda biyolojik olarak sentezlenmiş nanopartikülleri kullanmak daha avantajlıdır (165). Biyosentez yöntemiyle üretilen bu moleküller hızlı bir şekilde, çevreye zararsız ve ekonomik olarak üretiminin sağlanması yönüyle de avantajlıdır. Bu avantajların yanı sıra, bitki, mantar ve alg gibi biyolojik yapılar ile sentez sağlandığında, bu yapıların kendi kendilerine kaplama ve stabilize etme ajanları olarak hareket ettiği için, bu yollardan sentezlenen nanopartiküller başka stabilize edici ajanlara ihtiyaç duymadan üretilebilir (152). Başka bir özellikleri ise, biyolojik nanopartiküllerin yüzeylerinde bulunan ve biyolojik sistemler ile etkileşim halinde olan korona tabakaları, çıplak biyolojik nanopartiküller üzerinde etki oranını arttırarak, nanopartiküllerin kompleks biyolojik sıvılar ile temas ettiği zaman kademeli ve seçici olarak biyomolekülleri yüzeylerinde toplama özelliği kazandırır (167). Bu sayede biyolojik kaynaklardan sentezlenen nanopartiküllerin aktif bileşenlere bağlanması daha kolaydır. Tıbbi bitkilerde, farmakolojik özelliklere sahip metabolitlerin sentezlenen nanopartiküllere bağlanarak daha etkili hale geldiğini ve nanopartiküllere daha fazla özellik kattığını yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (168). Nanopartiküllerin biyolojik sentezinin bir diğer avantajı da fizikokimyasal sentezde nanopartiküllerin aktif hale gelebilmesi için yüzeylerine bazı fonksiyonel grupların eklenmesi gerekirken biyolojik yollarda sentezlenen nanopartiküllerde bu durumun gerçekleşmesine gerek duyulmamaktadır (165).

## **2.15. Nanopartiküllerin Kansere Tedavisinde Kullanımı**

Kanser tedavisinde kullanılan ajanların etkilerini maksimuma çıkarmak ve oluşan yan etkileri minimuma indirmek için nanoteknoloji alanından yararlanılmaktadır (169). Matsumura ve Maeda tarafından 1986'da yapılan çalışmada, nanopartiküllerin tümör dokusu içine girerek burada biriktiğini keşfetmişlerdir (170). Bu gelişme ile araştırmacıların dikkatini çeken nanopartiküllerin antikanser ilaçların taşınması konusunda araştırmacıları yeni çalışmalar yapmaya teşvik etmiştir. Sağlıklı dokularda, vasküler endotelial tabaka yabancı moleküllerin hücre içerisine geçişini engeller. Ancak kanserleşen dokularda neovasküler yapı yüksek oranda bozulduğundan ve vasküler endotelial tabaka üzerinde geniş boşluklar meydana geldiğinden, hücre içinden madde çıkışı ve hücre içine yabancı moleküllerin girişi meydana gelir (169). Normal sağlıklı dokunun üzerinde bulunan porların çapı yaklaşık 9 nm ve 50 nm arası olan sıkı duvarlara sahiptir. Ancak, kanserli dokular, gevşek kılcal duvarlara sahiptir ve 100 nm'den küçük yabancı partiküllerin geçişine

kolaylıkla izin verirler. Kanserli dokularda lenf sistemi de bulunmaz. Bu durum sonucunda da nanopartiküller tümörlü dokuya nüfuz ettikten sonra bir daha buradan kolayca çıkarılamazlar ve kanserli dokunun yapısını bozarlar (171).

## 2.16. Bitki Ekstraktlı AgNP'lerin *in-vitro* Sitotoksik Etkileri

Hücre kültürü çalışmaları, çok hücreli organizmalara ait hücrelerin, laboratuvar ortamında, flasklarda, uygun nem, ısı, besin gibi ortam şartlarının sağlanmasıyla kontaminasyondan uzak bir şekilde çoğaltılmasının sağlanmasıdır. Herhangi bir canlı organizmadan alınan hücrelerin laboratuvar ortamında yaşatılabilmesi, alınan bu hücrelerin çalışmalarda kullanılabilmesi ve birçok etik kaygıyı gidermesi hücre kültürü çalışmalarının tercih edilme sebeplerindedir. Sitotoksikite testi, bir maddenin toksik potansiyelinin olup olmadığının belirlenmesi amacıyla yapılır. Hücre düzeyinde yapılan sitotoksikite çalışmaları, uygulamasının kolay olması ve *in vivo* çalışmalardan elde edilen verilerle uyum göstermesi sebebiyle, hayvan deneylerine alternatif olarak ortaya çıkmıştır ve sıkça tercih edilir hale gelmiştir (89). Son yıllarda, NP'ler ve NP bazlı ilaç salım sistemleri, biyomedikal alanda tanı ve tedavi amaçlı yaygın olarak kullanılmaktadır. Öncelikle NP'lerin güvenli kullanımı için *in vitro* test uygulamaları yapılmalıdır. Bu yapıların hücreler üzerinde hafif sitotoksikite bile göstermesi, terapötik çalışmalarda NP'lerin kullanımını sınırlayabilir. Bir NP'nin toksisitesi, büyük ölçüde fiziksel, kimyasal ve yapısal özelliklerine bağlı olarak ortaya çıkar. AgNP'ler ile ilgili yapılan çalışmalarda birçok yarar sağladığı görülmüş, genel toksisiteleri hakkında çok az şey bilinmektedir. AgNP'lerin bakteri, virüs veya insan hücreleri üzerindeki toksik etkileri üzerine yayınlanmış az sayıda çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmaların bazılarında farklı ve çelişkili sonuçlar ortaya çıktığı bildirilmiştir. Bu nedenle NP'lerin toksisitesini incelemek için yeni yöntemler geliştirilmesi ve farklı biyolojik sistemler üzerindeki etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi bu moleküllerin etkisinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. Yapılan çalışmalarda genel olarak NP'lerin toksisitesinin biyolojik sistemlerin karmaşıklığı arttıkça hassasiyetin azaldığı varsayılmaktadır. Bununla birlikte çalışmalarda AgNP'lerin etkisi araştırılırken kullanılan biyolojik grupların sayısının az olması, kültür ortamı ve koşullarının farklılığı, sentezde farklı kaplama ajanlarının kullanılması toksisite karşılaştırmalarında zorluklara sebep olmaktadır (172).

## 2.17. Literatür Araştırması

Farklı bitki ekstraktları kullanılarak sentezlenen AgNP ile ilgili yapılan bazı çalışmalar aşağıda sunulmuştur.

Ramar ve arkadaşları (173), *Solanum trilobatum* meyve ekstraktından sentezledikleri AgNP'lerin yüksek antibakteriyel ve antikanser özelliklerini, patojenik bakteriler ve MCF-7 hücre hattı üzerinde incelemişlerdir. Gümüş nanopartiküllerin *in vitro* sitotoksitesi, farklı konsantrasyonlarda (5-50 µg/mL) MCF-7 hücrelerine karşı değerlendirdikleri çalışmalarında, 24 saat maruziyette bu AgNP'lerin MCF-7 hücre hattına karşı sitotoksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Mukherjee ve arkadaşları (174), yaptıkları antikanser çalışmalarında, *Olaescandens* yaprağından elde edilen biyolojik gümüş nanopartiküllerin ilaç dağıtımını, biyo-uyumluluk ve görüntüleme hızlandırıcı aktivite açısından kimyasal olarak sentezlenen gümüş nanopartiküller ile kıyaslandığı zaman daha iyi etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Bu biyolojik nanopartiküller A549 (insan akciğer kanseri), B16 (fare melanom), ve MCF-7 (insan meme kanseri) kanser hücresi hatlarında yüksek antikanser aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Ivan ve arkadaşları (175), yaptıkları çalışmada gümüş nanopartiküllerin hem meme kanseri (MCF-7) hem de akciğer kanseri (A549) hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisini tespit etmişlerdir. Sonuçlar, bu çalışma sırasında kullanılan AgNP'lerin, her iki hücre hattı üzerine sitotoksik etkisinin olduğunu göstermiştir. Bu sitotoksik etkinin, canlılığı ve proliferasyonu azalttığı, apoptoz yoluyla hücre ölümünü gerçekleştirdiği saptanmıştır.

Khorrami ve arkadaşları (176), yapmış oldukları çalışmada yeşil sentez yöntemi kullanılarak *Juglans regia* ekstraktı ile oluşturdukları gümüş nanoparçacıkların MCF-7 kanser hücre hattına karşı sitotoksik etki ettiğini gözlemlemişlerdir. 60 µg/mL konsantrasyonda AgNP'ler ve bitki ekstraktının MCF-7 hücrelerine karşı sırasıyla %70 ve %42 sitotoksikite sergilediği bildirilmiştir.

Jang ve arkadaşları (177), *Lonicera hypoglauca* bitkisinin sulu ekstraktıyla oluşturdukları gümüş nanopartiküllerin MCF-7 hücre hattına sitotoksik etkisini araştırmışlardır. Gümüş NP'lerin apoptoz indüksiyonu ile MCF-7 hücrelerine önemli ölçüde toksik iken, normal bağışıklık sistemi hücrelerine toksik etki oluşturmadığını bildirmişlerdir.



Vivek ve arkadaşları (178), *Annona squamosa* ekstraktı kullanarak elde ettikleri gümüş nanopartikülleri HBL-100 ve MCF-7 hücre hattı üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, MCF-7 hücrelerine karşı biyosentezlenmiş AgNP'lerin inhibitör konsantrasyonu (IC<sub>50</sub>) 24 saatte 50 µg/mL ve 48 saatte 30 µg/mL olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte, biyosentezlenmiş AgNP'lerin HBL-100'e (normal meme epitel hücreleri) karşı daha düşük konsantrasyonda anlamlı sitotoksikite göstermediğini, 24 saatte 80 µg/mL ve 48 saatte 60 µg/mL dozlarda arttığında sitotoksikitenin arttığını bildirmişlerdir.

Rashidipour ve Heydari 'nin (179) yapmış oldukları çalışmada, Zeytin yaprağı ekstraktı kullanarak sentezledikleri AgNP'lerin, MCF-7 kanser hücre hattına karşı sitotoksik etkisini incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan saflaştırılmış AgNP'lerin (dozlar 10 -50 µg/mL) ve zeytin yaprağı ekstresini içeren AgNP'lerin (dozlar 0.008-0.040 µg/mL) MCF-7 hücre hattına karşı 24 saatlik inkübasyonunda inhibe edici konsantrasyonun (IC<sub>50</sub>), sırasıyla 50 ve 0.024 µg/mL olduğunu bildirmişlerdir.

Deveraj ve arkadaşları (180), *Couroupita guianensis* bitkisinin yapraklarını kullanarak sentezledikleri AgNP'leri doza bağlı olarak (0–100 µg/mL) MCF-7 hücre hattına karşı sitotoksik etkisini değerlendirmişlerdir. Yüksek oranda sitotoksik olduğunu tespit edilen AgNP'lerin 24 saat sonucunda MCF-7 hücreleri üzerindeki minimum inhibitör konsantrasyonu (IC<sub>50</sub>) 20 µg/mL'de olduğu bildirilmiştir.

Şahin ve arkadaşları (181), nar ekstraktı ile sentezledikleri gümüş nanoparçacıkların kombinasyon tedavisinin MCF-7 hücre kültürü üzerinde etkili olup olmadığını araştırdıkları çalışmalarında, sentezlemiş oldukları nanopartiküllerin sitotoksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, biyosentezlenmiş AgNP'lerin, (IC<sub>50</sub>) 12.85 µg/mL'lik bir dozda MCF-7'nin proliferasyonunu inhibe edebileceğini ve anti-büyüme durdurucu MCF-7 hücre hattına karşı AgNP'lerin proliferasyonunu inhibe edebildiğini bildirmişlerdir.

Anand ve arkadaşları (182), AgNP sentezi için *Malus domestica* ekstraktı kullandıkları çalışmalarında, AgNP'lerin MCF-7 hücre hattına karşı sitotoksik aktivite gösterdiğini, antibakteriyel ve radikal süpürücü potansiyele de sahip olduklarını bildirmişlerdir. Hücre büyümesi üzerindeki sitotoksikite etkisi farklı konsantrasyonlarda (10-100 µg/mL) gözlenen MdAgNP'lerin IC<sub>50</sub> değeri, MCF-7 hücrelerinde 3.45 µg/mL ve HEK-293 hücrelerinde 6.01 µg/mL olarak tespit etmişlerdir.

Venugopal ve arkadaşları (183), *Beta vulgaris* ekstraktı kullanarak sentezledikleri AgNP'lerin MCF-7, A549 ve Hep-2 hücre dizisine karşı doza bağlı sitotoksitesini (10-100 µg / mL) araştırdıkları çalışmalarında, *Beta vulgaris* sulu ekstresinin MCF7, A549 ve Hep-2 hücre hattına karşı sitotoksik aktivitesi, 48 saatlik inkübasyon için IC<sub>50</sub> değerleri yaklaşık 70 µg/mL olarak bulunmuşken, *Beta vulgaris*'ten sentezlenen AgNP'lerin MCF7, A549 ve Hep2 hücre hattına karşı sitotoksitesisi ise 48 saatlik inkübasyon için IC<sub>50</sub> değerleri 47.6, 48.2 ve 47.1 µg/mL olduğunu tespit etmişlerdir.

Sudha ve arkadaşları (184), yaptıkları çalışmada gümüş nanopartikülleri sentezlemek için indirgeyici ajan olarak *Lippia nodiflora*'nın hava kısımlarından yapılan sulu ekstraktlarını kullanmışlardır. Sentezlenen gümüş nanopartiküllerin 5-100 µg/mL dozlarında MCF-7 meme kanseri hücre soylarına karşı doza bağımlı bir şekilde sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Biyosentezlenmiş AgNP'lerin 24 saatlik uygulamasında elde edilen IC<sub>50</sub> değerini 40 µg/mL olarak tespit etmişlerdir.

Krishnan ve arkadaşları (185), *Piper nigrum* özütü kullanılarak indirgedikleri AgNP'leri, MCF-7 ve Hep-2 hücrelerine karşı doza bağlı (10-100 µg/mL) sitotoksik etkisini araştırmışlardır. MCF-7 hücre hattına karşı inhibe edici konsantrasyon (IC<sub>50</sub>) *Piper nigrum* bitki ekstraktı için 54 µg/mL, fitom aracılı AgNP'ler için 52 µg/mL , Hep-2 hücreleri için 43 µg/mL olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Kelkawi ve arkadaşları (186), AgNP sentezi için *Mentha pulegium* özütlerini indirgeyici ve stabilize edici ajanlar olarak kullandıkları çalışmada AgNP'lerin MCF-7 ve HeLa kanser hücreleri üzerine antikanser etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir .48 saat olarak 5- 100 µg/mL arasında uyguladıkları dozlarda %58'den fazla ölüm tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Sathishkumar ve arkadaşları (187), yaptıkları çalışmada *Alternanthera tenella*'nın sulu yaprak ekstraktı kullanılarak AgNP sentezini gerçekleştirmişlerdir. Fitosentezlenmiş AgNP'lerin IC<sub>50</sub> değeri 67 µg/mL olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Aydın ve Pehlivanoğlu'nun (95) gümüş nanopartiküllerin sentezi için biberiye özütü kullandıkları çalışmada, AgNP'lerin MCF-7 meme kanseri hücrelerinde sitotoksik etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Gümüş nanopartiküllerin farklı konsantrasyonlarda (0-10µg/mL) MCF-7 hücreleri üzerinde *in vitro* sitotoksitesisi MTT testi ile

değerlendirmişlerdir. İnkübasyonun 24. saatinde AgNP'lerin 5µg/mL ve daha yüksek konsantrasyonlarının %100 sitotoksik olduğu bildirmişlerdir.

Kajani ve arkadaşları (188), *Taxus baccata* ekstresi kullanılarak sentezledikleri anizotropik gümüş nanopartiküllerin, MCF-7 hücre hattına karşı güçlü antikanser etkilerini inceledikleri çalışmalarında, 48 saatlik inkübasyon süresinden sonra AgNP'lerin IC<sub>50</sub> değerini 0,25 µg/mL olarak tespit etmişlerdir.

Venugopal ve arkadaşları (189), *Syzygium aromaticum* bitki ekstraktı kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin, *in vitro* ortamda MCF-7 ve A549 hücrelerine karşı farklı dozlar (10-100µg/mL) uygulanarak sitotoksik etkisini araştırmışlardır. Bitki ekstraktının uygulanmasıyla elde edilen IC<sub>50</sub> değerleri MCF-7 hücreleri için 70 µg/mL, A549 hücreleri için 70µg/mL , fitom aracılı AgNP'lerin IC<sub>50</sub> değerleri ise MCF-7 hücre hattı için 60 µg/mL, A549 hücrelerine karşı 50 µg/mL olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Sre ve arkadaşları (190), AgNP'lerin yeşil sentezi için *Erythrina indica* kök ekstresi kullandıkları çalışmalarında, AgNP'lerin *in vitro* antikanser ve antibakteriyel aktivitesini araştırmışlardır. Sentezlenmiş AgNP'lerin 25 µg/mL dozda uygulanmasıyla, hücrelerin yaşama yüzdesini MCF-7 hücre hattı için 23,89 ± 0,39 ve HEP G2 için 13,86 ± 0,95 olarak tespit etmişlerdir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Bitki Örneklerinin Elde Edilmesi ve Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan *Primula vulgaris* bitki örnekleri 2019 yılı İlkbahar mevsiminde Samsun'un Salıpazarı (enlem 41° 4' 50" N, boylam 36° 49' 36' E) ilçesinden toplandı. Tür teşhisi, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Öğretim Üyesi taksonomi uzmanı Dr. Ekrem AKTOKLU tarafından yapıldı.

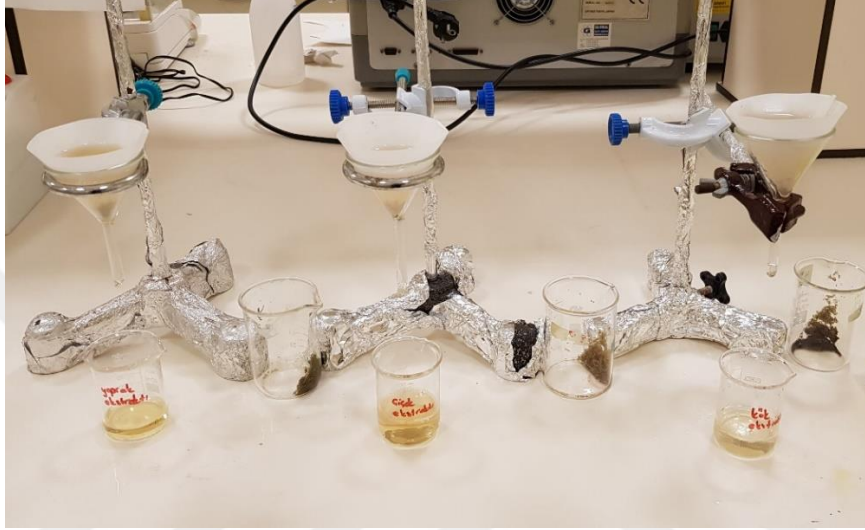
Bitki örnekleri kurutma işlemine geçilmeden önce musluk suyu, sonrasında ise saf su ile yıkanarak temizlendi (Şekil 3. 1). Bitki numuneleri yaprak, kök ve çiçek kısmı ayrılarak 50 °C'de 24 saat etüvde kurutuldu ve mekanik müller kullanılarak toz haline getirildi.



**Şekil.3.1:** *Primula vulgaris* bitki örnekleri (A: taze çiçek, B: kurutulmuş çiçek C: kurutulmuş yaprak, D: kurutulmuş kök).

### 3.2. *Primula vulgaris* Bitki Ekstraktlarının (PVE) Hazırlanması

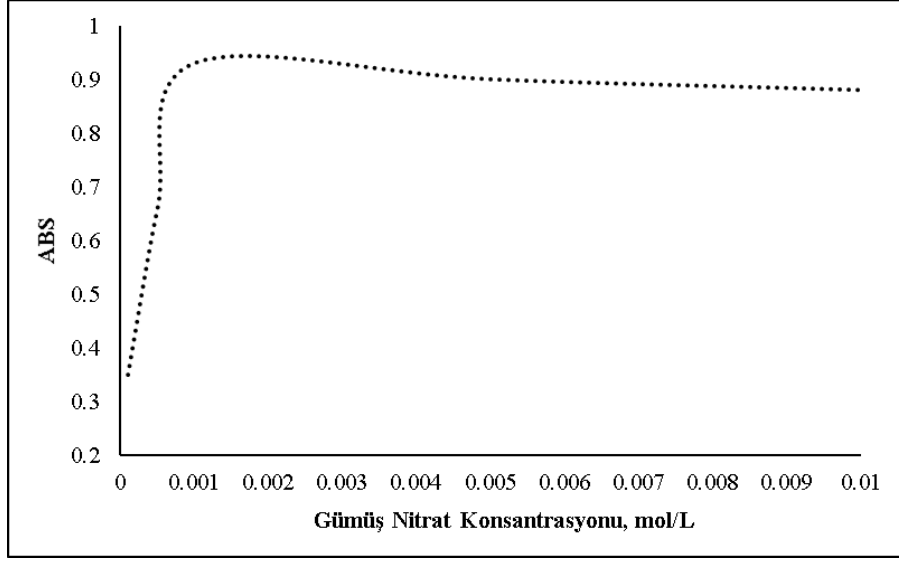
Bitki ekstraksiyonu için 10 g toz haline getirilmiş bitki örneği 100 mL saf su ile 15 dakika kaynatıldı (191). Kaynatma işleminden sonra 15 dakika bekletildi. Whatman Grade No.1 (11 µm) filtre kağıdından süzülerek (Şekil.3. 2) beherlere aktarıldı ve sonraki işlemlerde kullanılıncaya kadar ağızları kapalı şekilde +4 °C'de saklandı. Bu işlemler kök, yaprak ve çiçek için ayrı ayrı uygulandı.



Şekil.3.2: Bitki ekstraksiyonu sonrası yaprak, çiçek ve kök örneklerinin filtrasyonu.

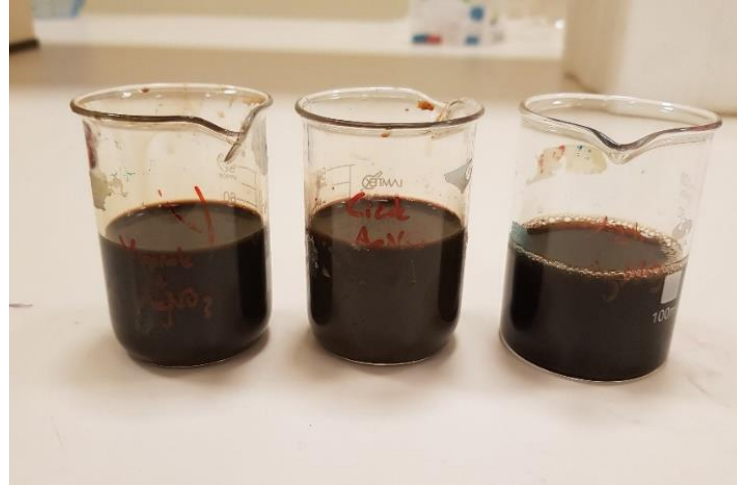
### 3.3. *Primula vulgaris* Yüklü Gümüş Nanopartikül (PVLAgNP) Sentezi

10 mL PVE süzüntüsüne kademeli olarak ( $10^{-4}$  ila  $10^{-2}$  mol/L) 90 mL  $AgNO_3$  (Merck, Almanya) çözeltisi eklendi (Şekil 3. 3). Hazırlanmış olan örnek ışık almayacak şekilde oda koşullarında 24 saat bekletildi. Bu süre sonunda örneklerin renginin kahverengiye dönüştüğü (Şekil 3. 4) makroskobik olarak gözlemlendi. Renk değişimi PVLAgNP'lerin oluşumunu kanıtlamaktadır (192, 193). İndirgenme işlemi tamamlanmış olan bitki ekstraktı yüklü AgNP'ler falkon tüplere aktarılarak 4500 rpm hızda 1 saat sentrifüj edildi. Ardından falkon tüpün üst kısmındaki sıvı kısım atıldı ve tüpün dip kısmında biriken katı örnek ependorf tüplere (Şekil 3. 5) aktarıldı. Bu adımlardan sonra liyofilizasyon işlemiyle (Labconco/FreeZone Plus 12 Liter) PVLAgNP'ler katı olarak elde edildi. Liyofilizasyon, biyolojik ürünlerin bozulmadan kalmasını sağlamak ve oda sıcaklığında daha kolay depolayabilmek amacıyla azaltılmış basınç altında dondurulan numuneden suyun uzaklaştırılması prensibine dayanan bir kurutma yöntemidir (194, 195).



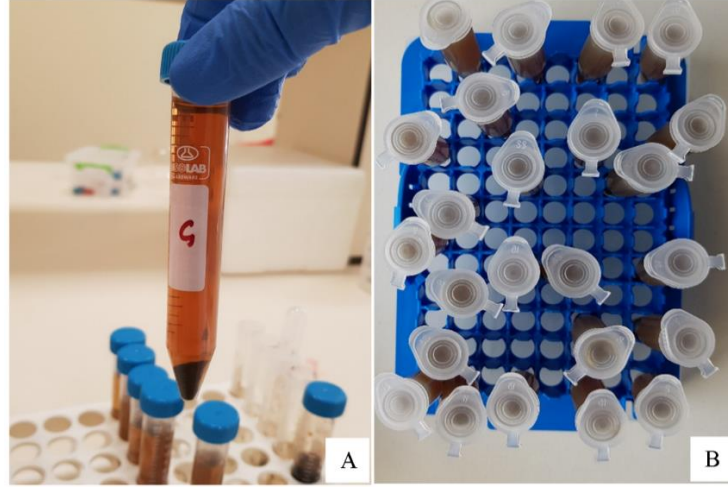
**Şekil 3.3:** AgNO<sub>3</sub> çözeltisi konsantrasyonunun AgNP oluşumlarına etkisi.

Liyofilize bitki örnekleri (LPE), 10 mL PVE süzüntüsüne AgNO<sub>3</sub> çözeltisi eklenmeden yukarıda belirtilen işlemler uygulandı ve liyofilizasyona tabi tutularak elde edildi. Uygulamalar için PVLA<sub>g</sub>NP'ler ve LPE'ler den 10 mg alınarak 50 mL'lik balon jöjeye aktarıldı. 20 mL saf su eklenerek ultrasonik su banyosunda 2 dk boyunca sonikasyona tabi tularak partiküllerin su içerisinde homojen dağılması sağlandı. Böylece PVLA<sub>g</sub>NP'lerin ve LPE'lerin 500 µg/mL konsantrasyonunda uygulama çözeltileri elde edildi.



**Şekil 3.4:** AgNO<sub>3</sub> eklenmiş ekstraksiyon örneklerinin 24 saat sonundaki görüntüleri.

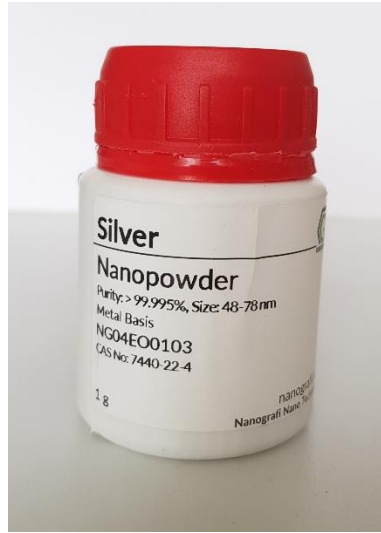




**Şekil 3.5:** Filtrasyon sonrası santrifüjlenen bitki örneği (A), Liyofilize edilmek için ependorf tüplere aktarılmış örnekler (B).

### 3.4. AgNP Tozunun Uygulamaya Hazırlanması

Gümüş nanopartikülünün tek başına etkisini araştırmak amacıyla AgNP tozu (Şekil 3. 6) kıyaslamada kullanıldı. Toz halinde hazır olarak satın alınmış AgNP tozu (partikül boyutu, 48 nm-78 nm) (Nanografi,ABD), 10 mg tartılarak 20 mL saf suda çözdürüldü, böylece 500 µg/mL konsantrasyonunda uygulama çözeltisi elde edildi.



**Şekil.3.6:** AGNP tozu.

### 3.5. Cisplatin Çözeltisinin Uygulamaya Hazırlanması

Meme kanseri tedavisinde kullanılan bir kemoterapi reaktifi olan Cisplatin (Şekil 3. 7) çözeltisi (25 mg/50 mL-KOÇAK FARMA) pozitif kontrol grubu olarak kullanılmak üzere

satın alındı. Çözelti halinde temin edilen cisplatinden 0,5 mL alınarak saf suyla 20 mL'ye tamamlandı ve böylece 500 µg/mL konsantrasyonunda uygulama çözeltisi elde edildi.



Şekil.3.7: Cisplatin çözeltisi.

### 3.6. Sentezlenen PVLAgNP'lerin Karakterizasyonu

Bu çalışmada AgNP'lerin karakterizasyonu için temel teknikler olan SEM, UV-Vis, XRD, FT-IR, ZETA Potansiyeli testleri kullanılmıştır.

#### 3.6.1. UV-Vis Spektrum Analizi

UV-Vis spektrometre ile nanopartiküllerin yüzey plazmon rezonans (SPR) özelliklerini belirlemek amacıyla kullanılan önemli ve güvenilir bir yöntemdir. Bunun sebebi, her metalin SPR özelliği nedeniyle benzersiz ve ayırt edici optik özellikler göstermesidir (196). Bu çalışmadaki UV-Vis spektrometre analizleri Kırıkkale Üniversitesi KÜBTUAM'de hizmet alımı şeklinde yaptırıldı. 1.0 mL indirgenmiş AgNP çözeltileri alınarak 300-700 nm arasındaki dalga boyu aralığında UV-Vis spektrofotometre (Perkin Elmer, Lambda 35) ile ölçüldü.

#### 3.6.2. FT-IR (Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi) Analizi

FT-IR, ışığın dalga boyuna göre nanopartiküller ile biyolojik ekstraktların ilişkili fonksiyonel grupların yapısını ve yapısal özelliklerini belirlemek için kullanılan bir ölçüm yöntemidir (197). Bu çalışmadaki FT-IR analizleri (Thermo Scientific, Nicolet 6700) Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi AHİLAB'e hizmet alımı şeklinde yaptırıldı.



### **3.6.3. ZETA Potansiyeli**

Zeta potansiyeli, kayma düzlemindeki elektrik potansiyeli olarak tanımlanmaktadır (198). Bu çalışmadaki Zeta Potansiyel analizleri (Malvern/Zetasizer, Nano ZSP) Kırıkkale Üniversitesi KÜBTUAM’de hizmet alımı şeklinde yaptırıldı.

### **3.6.4. SEM**

SEM, nanopartiküllerin doğrudan görselleştirilmesiyle boyut, yüzey ve şekil morfolojisini belirleyen bir görüntülemedir (199). SEM görüntüleri (FEI/Quanta FEG450) Bozok Üniversitesi’nde hizmet alımı şeklinde yaptırıldı. Görüntüleme için, çift taraflı yapışkan karbon iletken bandın bir tarafına 0,5 mg örnek koyularak, 8 mm çapındaki alüminyum plakaya monte edildi. Örnek farklı büyütmede gözlemlenerek numunenin resimleri alındı.

### **3.6.5. XRD**

XRD, doğal ve yapay olarak sentezlenen nanopartiküllerin elemental bileşimi veya kristalografik yapısı hakkında bilgi almak için kullanılan bir yöntemdir (200). XRD analizi (PANanalytical, Empyrean) Bozok Üniversitesi’nde hizmet alımı şeklinde yaptırıldı. XRD cihazı ile 10° ile 90° arasında 2θ aralığında 0,02 adım büyüklüğü ile analiz edildi.

## **3.7. Hücre Kültürü**

### **3.7.1. Hücre Kültür Medyumunun Hazırlanışı**

%10 FBS (Fetal Bovin Serum, HyClone™), %1 Penisilin-Streptomisin (HyClone™), RPMI-1640 (25mM HEPES, L-glutamin medium, HyClone™) maddeleri oda sıcaklığında steril ortamda eklenerek kullanıma hazır final hücre kültür medyumunu elde edildi.

### **3.7.2. Hücre Kültürü İnkübasyon Koşulları**

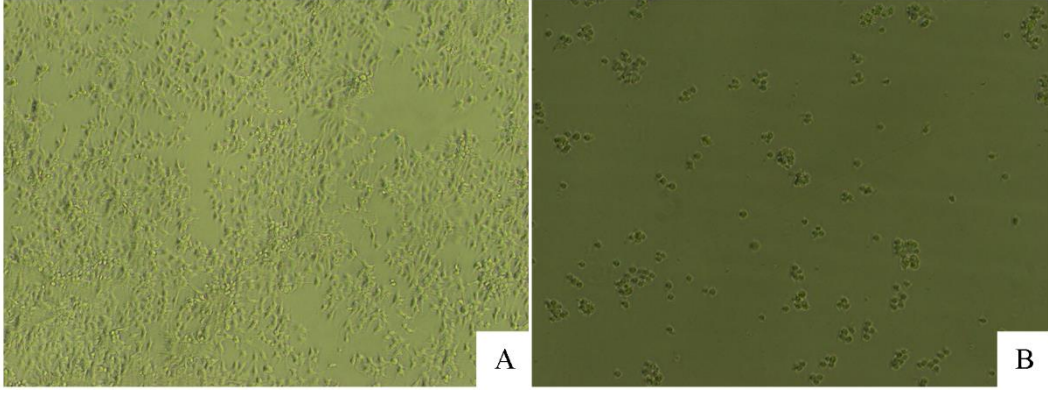
MCF-7 hücre hattı 14. pasaj olarak Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı’ndan temin edildi. RPMI-1640 besiyeri medyumunu içerisinde %5 CO<sub>2</sub> ve 37 °C sıcaklıktaki inkübatörde (Biotek NB-203XL (Şekil 3. 8)) T 75 cm<sup>2</sup> flasklarda steril şartlarda inkübe edilerek hücrelerin çoğalması sağlandı.



Şekil 3.8: CO<sub>2</sub> İnkübatörü.

### 3.7.3. Hücrelerin Pasajlanması

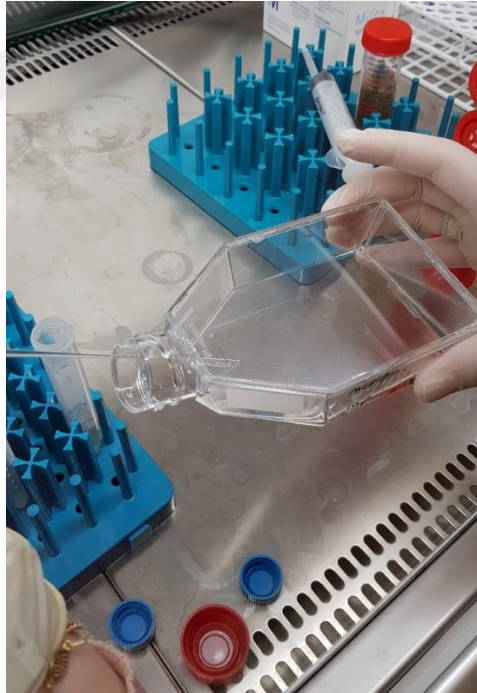
Çoğalmakta olan hücreler flaskların zemininin %80'ini kapladığında hücreler pasajlandı. Bu amaçla üremekte olan hücreler yeteri kadar çoğaldığında flask içindeki tüm besin steril koşullarda pipet yardımıyla ortamdan çekildi. Zemine yapışan hücreleri kaldırmak için 5 ml tripsin-EDTA (Capricorn) solüsyonu ilave edildi ve inkübatörde 5 dk bekletildi. 5 dk sonunda flask invert mikroskopta (OLYMPUS CKX53/ DP22) incelenerek hücrelerin zeminden kalktığı gözlemlendi (Şekil 3. 9). Solüsyonun üzerine tripsin-EDTA'nın inhibisyonu için tripsin-EDTA hacminin 2 katı medyum eklendi. Falcon tüpe aktarılan süspansiyonun 1200 rpm'de 10 dk.'lik santrifüj (BECKMAN COULTER/Microfuge® 20 R) işlemine tabi tutulmasının ardından üst kısımda bulunan tripsin-EDTA solüsyonu uzaklaştırıldı. Tüpün dibinde pellet şeklinde bulunan hücrelerin üzerine taze medyumdan ilave edilerek oluşan süspansiyon 2 adet T 75 cm<sup>2</sup> flasklara bölünerek her flaskın medyum miktarı 15 mL'ye tamamlanarak tekrar ekim işlemi sağlandı. Pasaj işlemi tamamlanan hücreler 37 °C'de %5 CO<sub>2</sub> ortamında inkübasyona bırakıldı.



Şekil 3.9: MCF-7 hücre hattının invert mikroskop görüntüsü (A: pasaj öncesi, B: pasaj sonrası).

#### 3.7.4. Hücrelerin Besin Değişimi

Flasklardaki besin renginin değişimi baz alınarak, rengin turuncudan sarıya dönüşümüyle birlikte, 2 günde 1 besin değişimi sağlandı (Şekil 3. 10). Kültür içerisindeki tüm besin steril ortamda pipet yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra 15 mL taze besin flasklara eklendi ve hücreler 37 °C'de %5 CO<sub>2</sub> ortamında inkübasyona bırakıldı.



Şekil 3.10: MCF-7 hücre hattının besin değişimi.

#### 3.7.5. Hücrelerin Dondurulma ve Saklanma İşlemleri

Hücrelerin dondurulabilmesi için öncelikle pasajlama prosedürü uygulandı. Bu işlem sonunda santrifüj edilmiş hücrelerin üzerinden tripsin-EDTA solüsyonu uzaklaştırıldı.

Falkon tüpteki hücreler cryo tüplere aktarıldı. Hücrelerin üzerine 450 µL hücre medyumunu, 450 µL FBS ve 100 µL DMSO (dimetil sülfoksit) 'den oluşan 1 mL 'lik solüsyon eklendi. Tüpler dondurma kabinine yerleştirilerek -80 °C'de derin dondurucuda gerektiğinde kullanılmak üzere saklandı.

### **3.7.6. Hücrelerin Çözdürülme İşlemi**

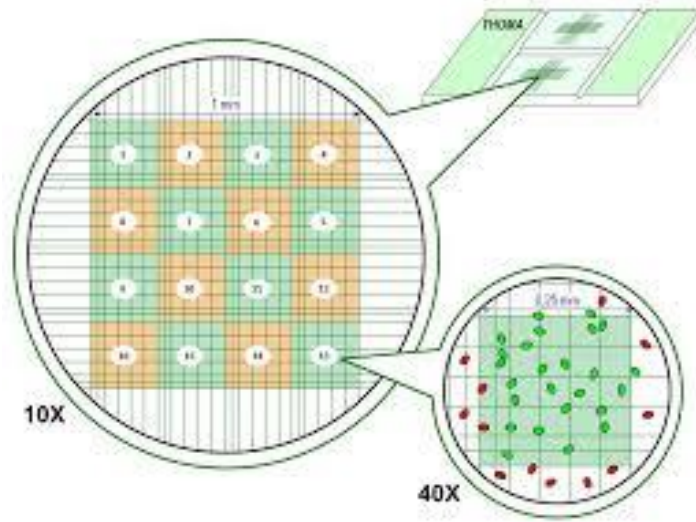
Çözdürme işlemi için hücreler -80°C derin dondurucudan çıkarılarak 37°C'lik su banyosunda yaklaşık 1- 2 dk boyunca çözülene kadar bekletildi. Cryo tüpteki hücrelerin üzerindeki süpernatant uzaklaştırılarak dipteki pellet ependorf tüpe aktarıldı. Oda sıcaklığındaki hücre medyumundan 1 mL pellet üzerine eklendi. 13000 rpm de 5 dk santrifüj (BECKMAN COULTER/Microfuge®20 R) edildi. Santrifüj işleminden sonra T-75 cm<sup>2</sup> flaslara ekilerek üzeri 15 mL taze hücre medyumunu ile tamamlandı.

### **3.7.7. Hücre Sayılarının Hesaplanması**

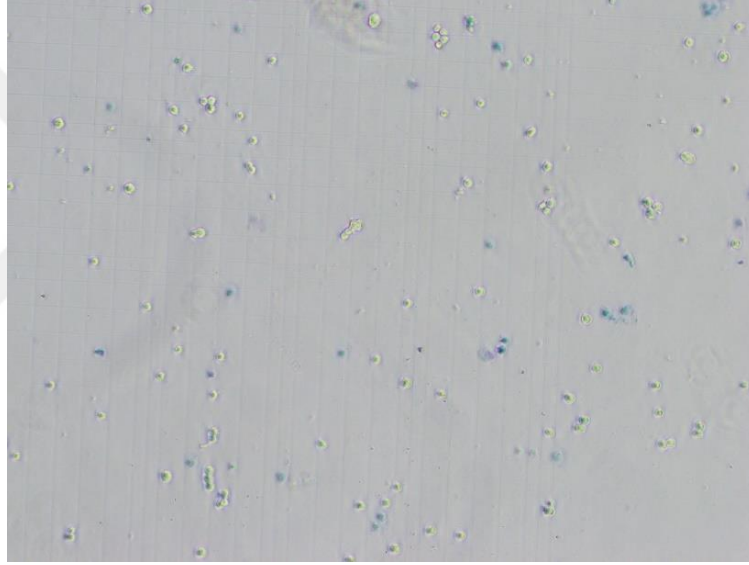
Pasajlama prosedürü uygulanan falkon tüpteki hücre kültürünün üzerindeki süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pelletin üzerine 5 mL taze hücre medyumunu eklendi. Pipetaj yapıldıktan sonra 1 mL örnek alınarak ependorf tüpe aktarıldı. Örneğin üzerine %0,1'lik metilen mavisinden 1 mL eklendi. Metilen mavisi gibi bazı boyalar hücre membranının zarar görmesi durumunda sitoplazmaya geçerek hücrenin maviye boyanmasını sağlamaktadır. Thoma lamının her iki yanında bulunan kanalların arasında kalan sayım alanına 50 µL hücre süspansiyonu pipetlendi. Mikroskopta 40 x büyütmede görülen canlı hücrelerin sayımları 3 tekrarlı şekilde yapıldı. Thoma lamında 16 büyük kare, her büyük karede 25 küçük kare olmak üzere toplam 400 küçük kare vardır (Şekil.3. 11). 16 büyük karede bulunan canlı hücreler (Şekil 3. 12) sayıldı ve aşağıdaki formüle göre hücre sayısı belirlendi.

$$\text{Canlı Hücre Sayısı} = \text{Hücre sayısı} \times \text{Dilüsyon katsayısı} \times 10.000$$

Çıkan sonuç 1 mL medyumda kaç milyon hücre olduğunu gösterdi. Böylece sitotoksisite testi için e-plakalara ekilecek hücre sayısı belirlendi.



Şekil 3.11: Thoma Lamı görüntüsü.



Şekil 3.12: Mikroskop altında Thoma Lamı hücre görüntüsü (40x Büyütme).

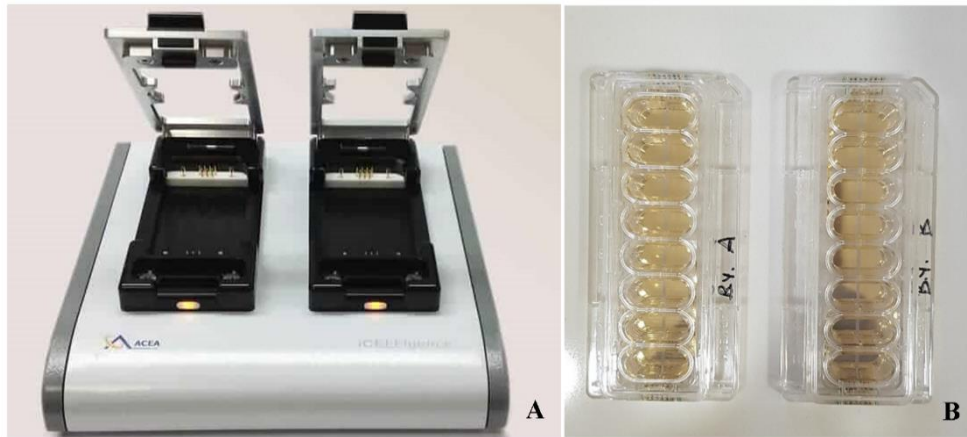
### 3.8. Hücre Sitotoksitesinin Belirlenmesi

Bu çalışmada sitotoksitesite analizi için iCELLigence Sistemi kullanılmıştır.

#### 3.8.1. iCELLigence Sistemi ile Gerçek Zamanlı Hücre Canlılığı Tayini

iCELLigence sistemi (Şekil 3. 13), mikroelektronik biyosensör içeren, gerçek zamanlı ve sürekli sonuç almayı sağlayan ilaç geliştirmelerinden toksikolojiye, kanser araştırmalarından tıbbi mikrobiyolojiye vb. birçok farklı uygulama alanları olan bir sistemdir (201). iCELLigence sisteminde, sisteme özel e-plateler kullanılmaktadır. 8’li kuyucuklar içeren e-plateler tek kullanımlıktır. E-plakaların tabanında altın elektrodlar bulunmaktadır.

Bu elektrodlar mikroelektrod sensörler içerirler ve bu elektrodların üzerine yapışan hücreler bir empedans oluşturmaktadır. Mikroelektrod sensörleri sayesinde hücrelerin büyümesi, hücre morfolojisinin değişimi ve hücre ölümü hakkında empedans bilgileri vermektedir (202). iCELLigence sisteminin çalışma prensibi; adherent (yapışan) hücrelerin bu e-platelere eklenmesi ve ardından platelere tutunması, e-platelere tutunan adherent hücrelerin plateler üzerinde bulunan mikroelektrodlardan geçen empedans (öz direnç) değerinde değişiklik oluşturmasıdır (203). Hücre kaplaması, hücre indeksi değeri 0,5'ten az olmayacak ve ideal olarak hücre indeksi değeri 1 veya daha yüksek olarak belirlenmiştir (204). Çalışmada kullanılacak hücre sayısının belirlenmesi hücre indeksi ile ilişkili olup her hücre hattının morfolojilerinin birbirinden farklı olmasından dolayı farklı hücre sayıları seçilebilir. E-platelerdeki kuyucuklardan alınan empedans değerleri; kuyucuğa tutunan hücre miktarına kuyucuğun elektrod yapısına ve kuyucuktaki iyon konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir (205).



Şekil.3.13: iCELLigence cihazı (A), iCELLigence cihazı E-plateleri (B).

### 3.8.2. Hücrelerin E-platelere Ekilmesi

Hücrelerin e-platelere ekilmesinde aşağıdaki süreçler sırasıyla izlenmiştir.

1. E-platenin her bir kuyucuğuna 200  $\mu\text{L}$  komplet medyum pipetlendi.
2. E-plateler cihaza kondu ve 2 dakika süreyle arka plan ölçümü yapıldı.
3. Pasajlama prosedürüne uygun olarak MCF-7 hücreleri hazırlandı.
4. Thoma lamı ile 3 tekrarlı olarak hücre sayımı yapıldı ( $0,64 \times 10^3 / \mu\text{L}$  hücre).
5. E-plate de her kuyucuğa 40  $\mu\text{L}$  hücre pipetlendi ve nazikce al ver yapıldı.
6. Her kuyunun toplam volümü 240  $\mu\text{L}$  'ye ayarlandı.



7. Hücre ekimi bittikten sonra e-plateler cihaza konmadan önce 30 dk inkübatörde bekletildi.

### 3.8.3. iCELLigence Hücre İndeksi Ölçümü ve Madde Eklenmesi

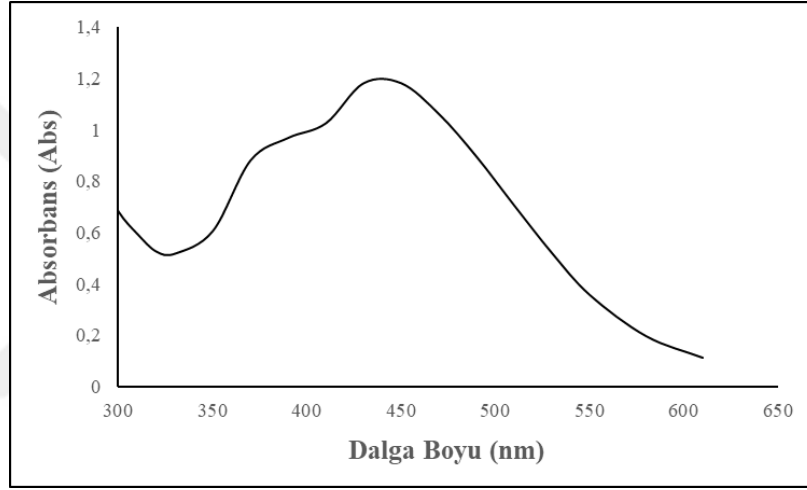
iCELLigence cihazının yazılımını içeren iPad cihazı ile hücre indeks değerlerine bakıldı. Hücre indeks değerleri 24 saat sonunda istenilen seviyeye ulaştığında hücrelere 2 tekrarlı PVLA<sub>g</sub>NP'lerin çözeltileri farklı dozlarda (12,50-120 µg/mL) uygulandı. PVLA<sub>g</sub>NP'ler 20 mg tartılarak hacimsel şişelerde 50 mL saf su ile tamamlandı. Böylece 500 µg/mL konsantrasyonda PVLA<sub>g</sub>NP çözeltisi elde edildi. Çözeltiden 500 g/mL konsantrasyonda farklı dozlarda (12,50-120 µg/mL) kullanıldı ve hücrelere 2 tekrarlı uygulandı. Son hacimler hücre medyumumu ile 600 µL 'ye tamamlandı. Ekstreler uygulandıktan sonra her 15 dakikada bir iCELLigence cihazı ile ölçüm yapılarak 96 saat boyunca gerçek zamanlı hücre canlılığı analizi gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar RTCA yazılımında hücre indeks değerleri baz alınarak değerlendirildi. PVLA<sub>g</sub>NP'ler uygulandıktan sonra RTCA yazılımı (RTCA Data Analysis Software 1.0) kullanılarak 24. ve 48. saatlerde zamana bağlı empedans değerleri ile hücre indeksi değerleri (IC<sub>50</sub>: hücrelerin yarısını inhibe eden doz değeri) elde edildi. Pozitif kontrol için kullanılan Cisplatin, LPE ve AgNP tozunun uygulama dozları, *Primula vulgaris* bitkisinden sentezlenen PVLA<sub>g</sub>NP'lerden ön çalışma yapılarak elde edilen en düşük etken dozu olan 57.64 µg/mL olarak iki tekrarlı olacak şekilde uygulandı. Normal hücre büyüme eğrisini görmek için herhangi bir madde uygulanmayan sadece MCF-7 hücresi ekili 2 kuyucuk oluşturuldu. iCELLigence sistemi ile sitotoksosite tayini yapıldı.

## 4. BULGULAR

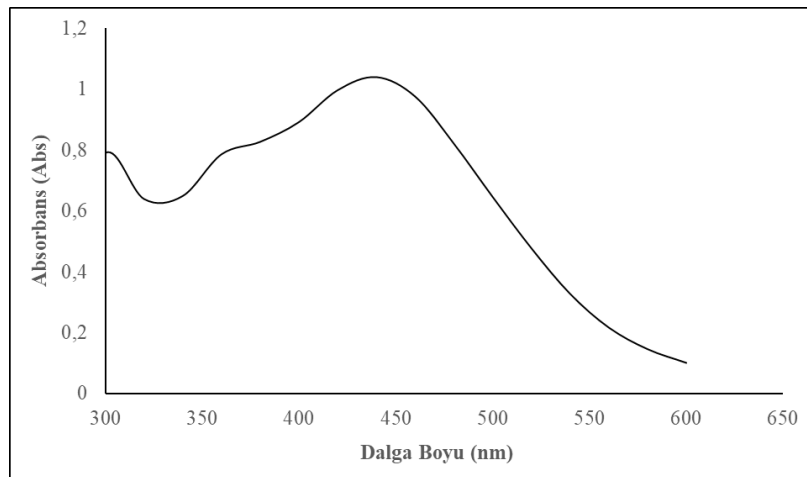
### 4.1. *Primula vulgaris* yüklü AgNP'lerin Karakterizasyonu (PVLAgNP)

#### 4.1.1. UV-Vis Sonuçları

Yeşil sentez yöntemiyle *Primula vulgaris* bitkisinin kök, çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen PVLAgNP'lerin UV-Vis spektrumları Şekil 4. 1, 4. 2 ve 4. 3'te gösterilmektedir. PVLAgNP'lerin UV spektrumlarında maksimum absorpsiyonun olduğu dalga boyları kök örneği için 430 nm, çiçek örneği için 440 nm ve yaprak örneği için 440 nm olarak belirlenmiştir.

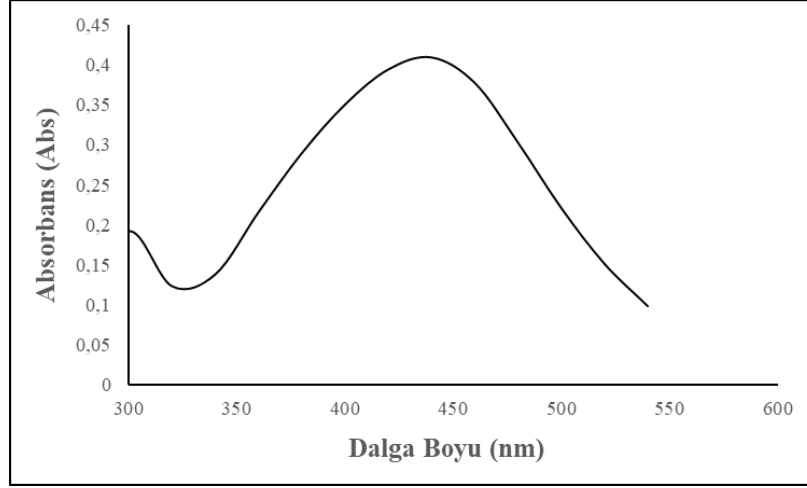


Şekil 4.1: (PVLAgNP)<sub>k</sub>'nin UV-Vis spektrumu.



Şekil 4.2: (PVLAgNP)<sub>c</sub>'nin UV-Vis spektrumu.

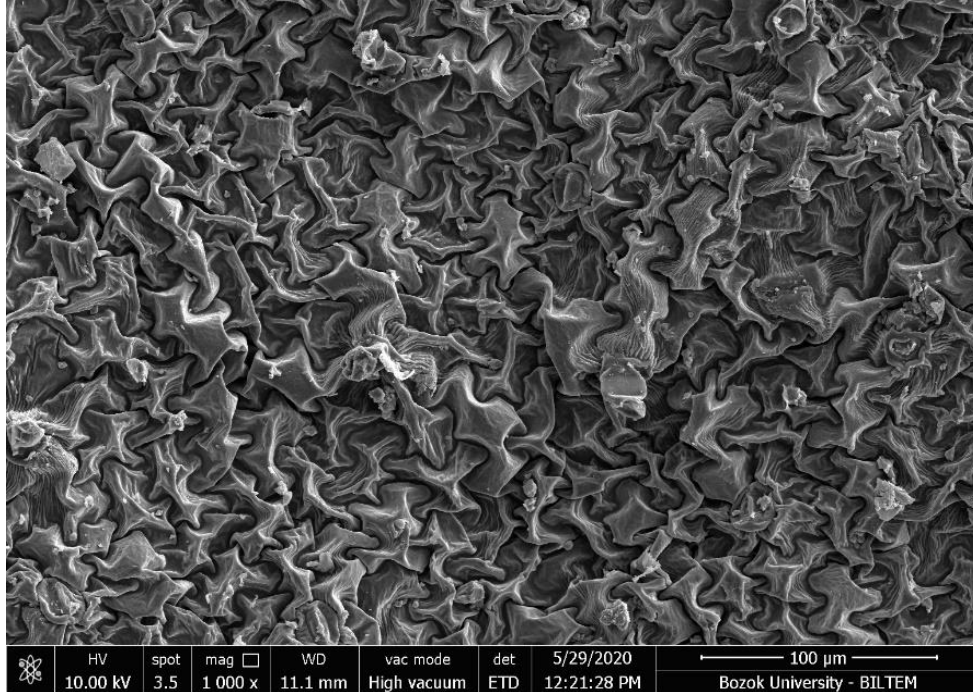




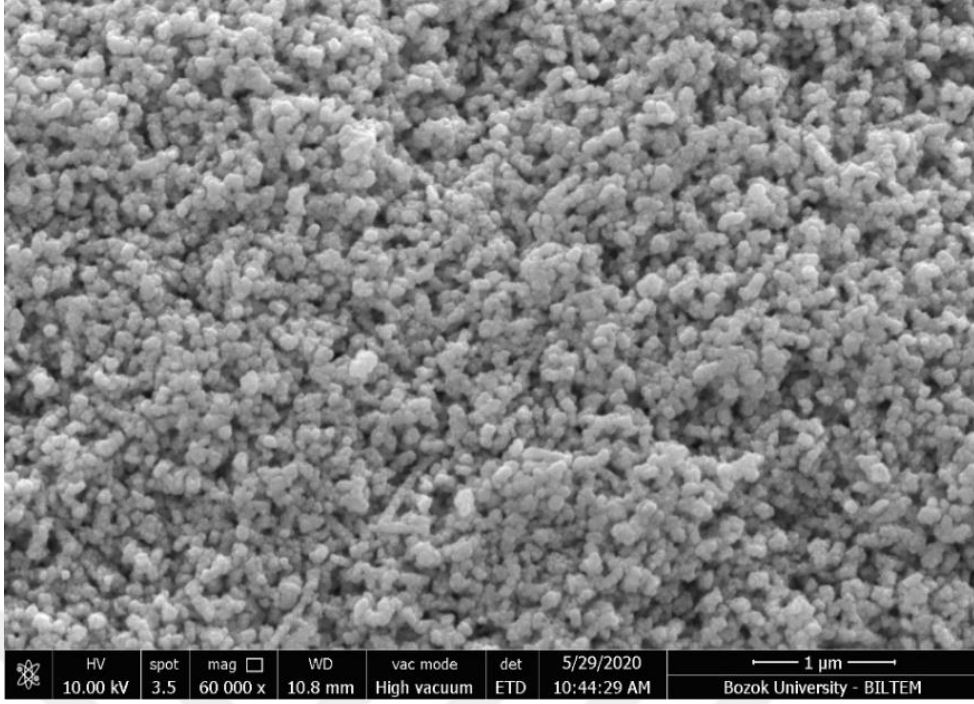
Şekil 4.3: (PVLAgNP)<sub>y</sub>'nin UV-Vis spekturumu.

#### 4.1.2. SEM Analiz Sonuçları

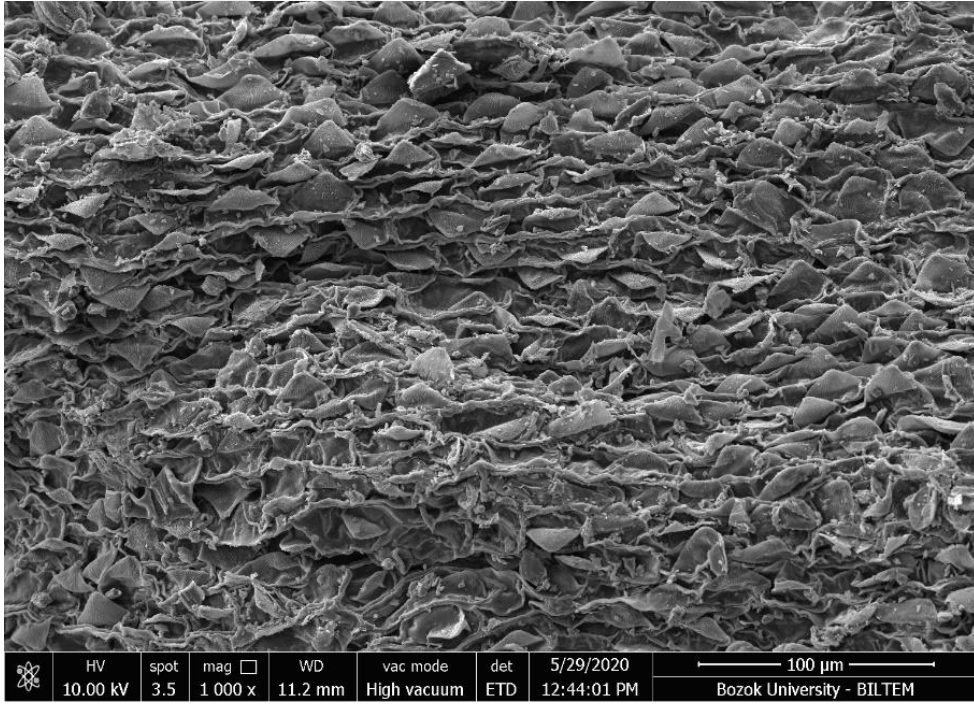
*Primula vulgaris* bitkisinin kök, çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen PVLAgNP'ler ve toz bitki örneklerine ait SEM görüntüleri Şekil 4.5-4.9'da verilmiştir. AgNP'lerin küresel şekilde oldukları ve boyutlarının kök, çiçek ve yaprak için sırasıyla 22.93-39.28 nm, 22.48-49.46 nm, 22.48-52.44 nm arasında olduğu tespit edilmiştir.



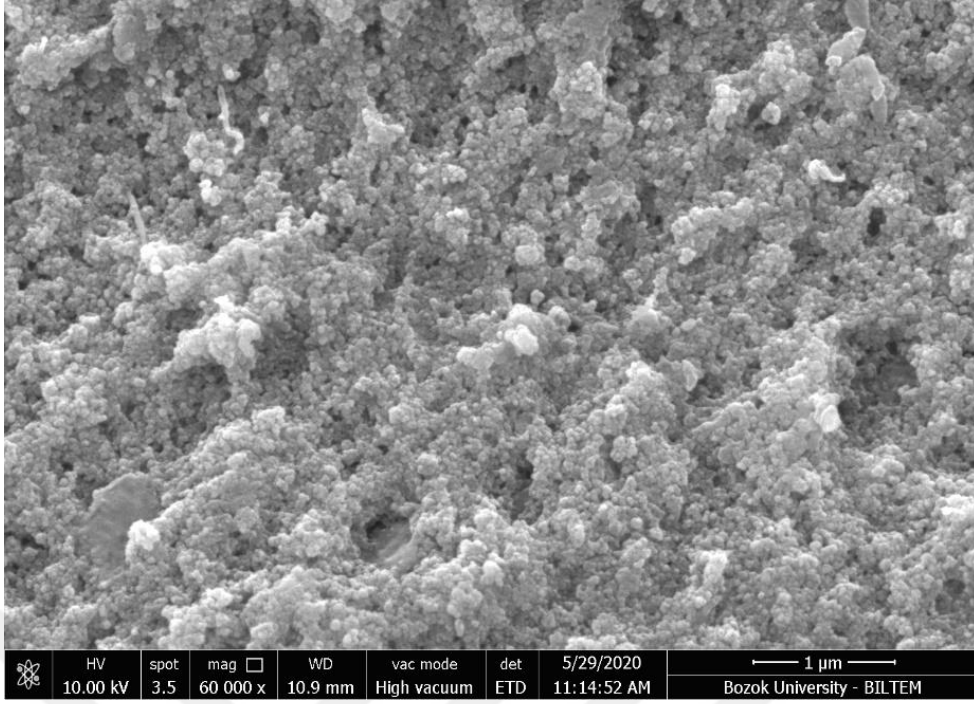
Şekil 4.4: *Primula vulgaris* yaprak örneğinin SEM görüntüsü.



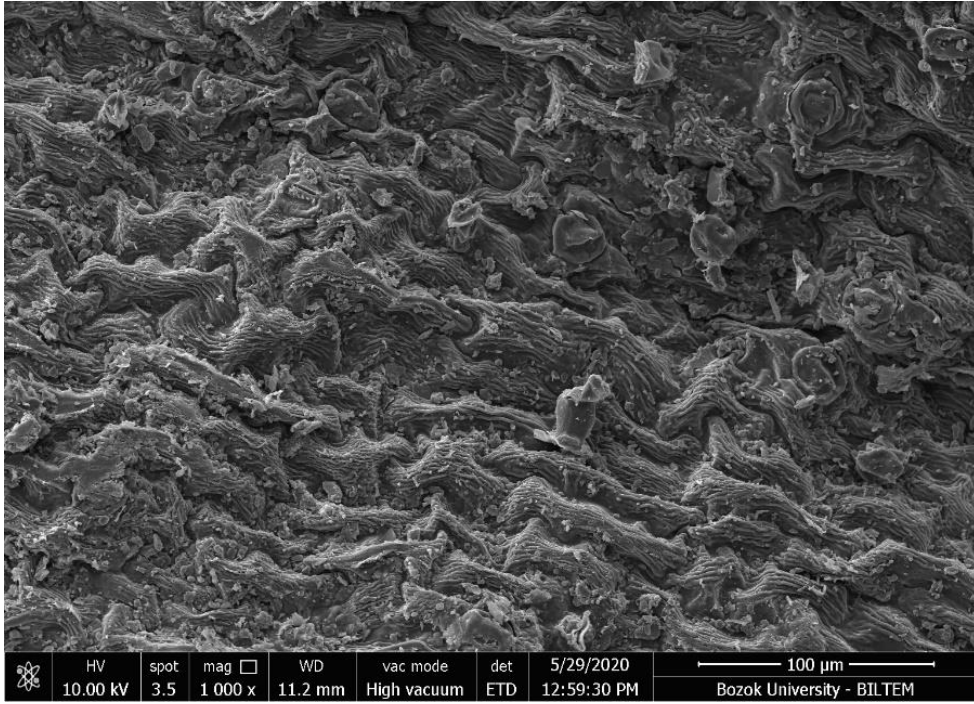
Şekil 4.5: (PVLAgNP)<sub>y</sub>'nin SEM görüntüsü.



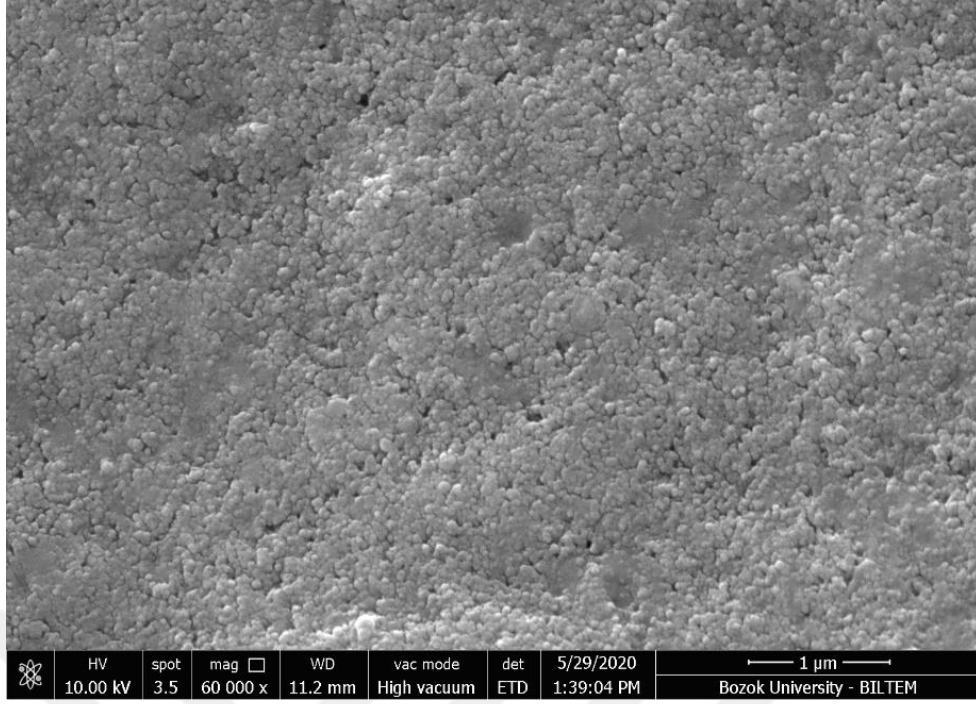
Şekil 4.6: *Primula vulgaris* çiçek örneğinin SEM görüntüsü.



Şekil 4.7: (PVLAgNP)<sub>ç</sub>'nin SEM görüntüsü.



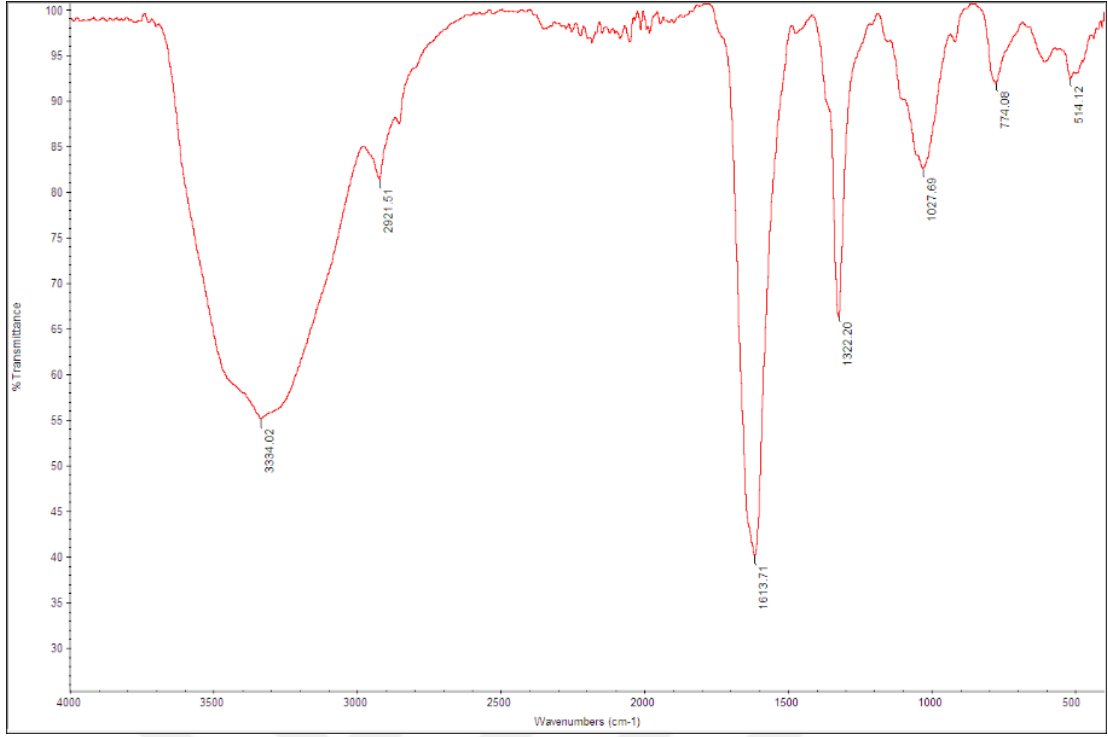
Şekil 4.8: *Primula vulgaris* kök örneğinin SEM görüntüsü.



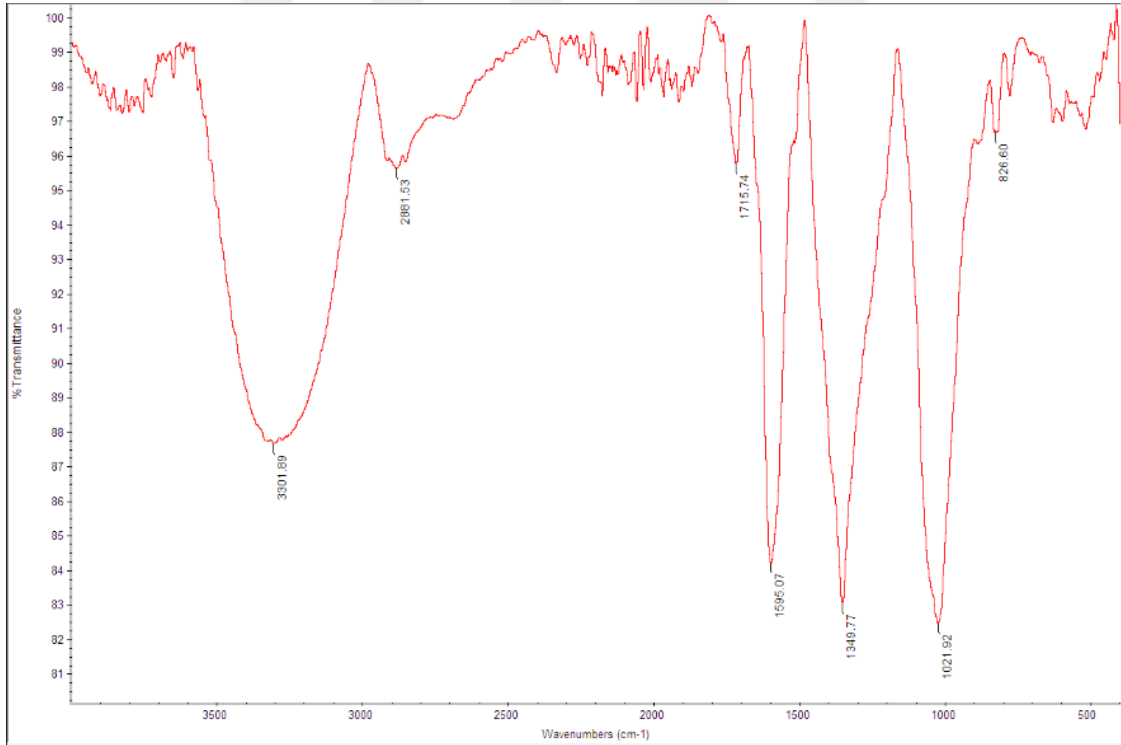
Şekil 4.9: (PVLAgNP)<sub>k</sub>'nin SEM görüntüsü.

#### 4.1.3. FT-IR Analizi Sonuçları

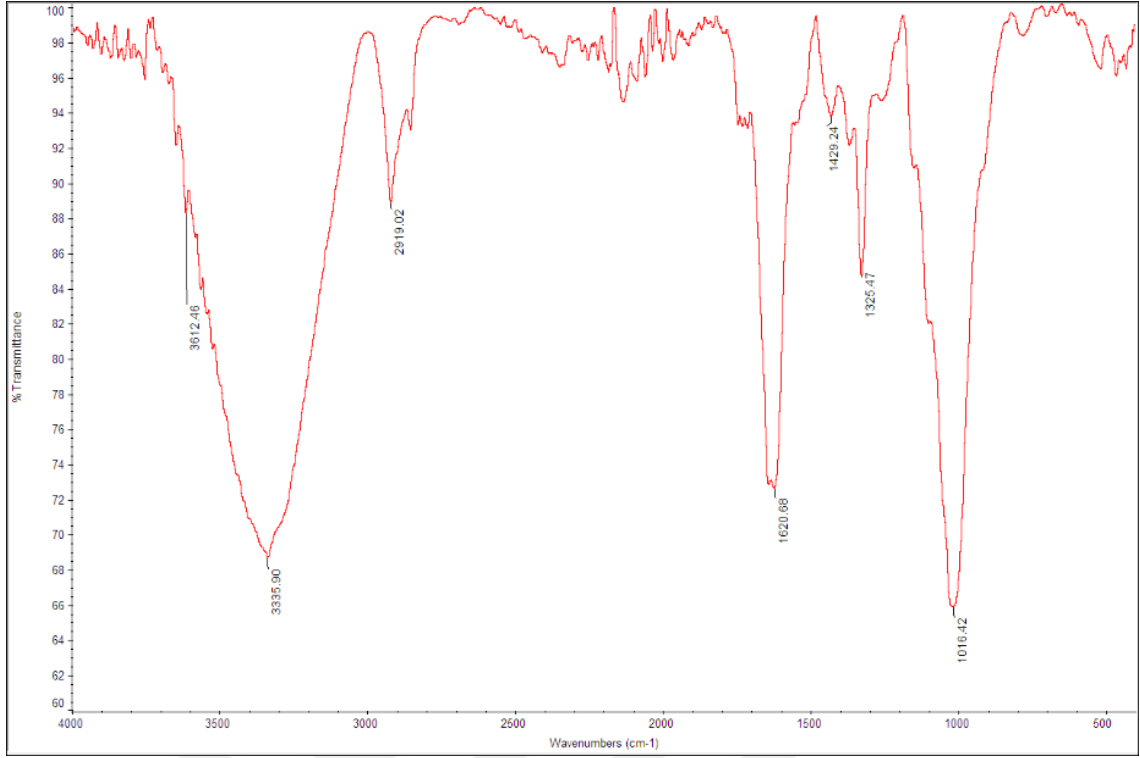
FT-IR spektral analizi ile, standart kızılötesi (IR) tablosu baz alınarak, AgNP'lerin sentezinde kullanılan bitki ekstraktlarında bulunan ve NP'lerin indirgenmesinde ve kaplanmasında sorumlu olan fitokimyasallara ait olası fonksiyonel grupların varlığı gösterilmiştir. AgNP'lerin sentez öncesi bitki örneklerinin (PVE) ve AgNP sentezinden sonra yüzey yapısını karakterize etmek için gerçekleştirilen FT-IR analiz sonuçları Şekil 4.10- 4.15'te gösterilmiştir. *Primula vulgaris* yaprak, çiçek ve kök kısmından elde edilen AgNP'lerin pik değerleri sırasıyla 3301, 2881, 1715, 1595, 1349, 1021, 826 cm<sup>-1</sup>, 3336, 2919, 1607, 1355, 1147, 1075 1018 cm<sup>-1</sup>, 3306, 2882, 1715, 1594, 1350, 1021 cm<sup>-1</sup> dalga sayısındadır.



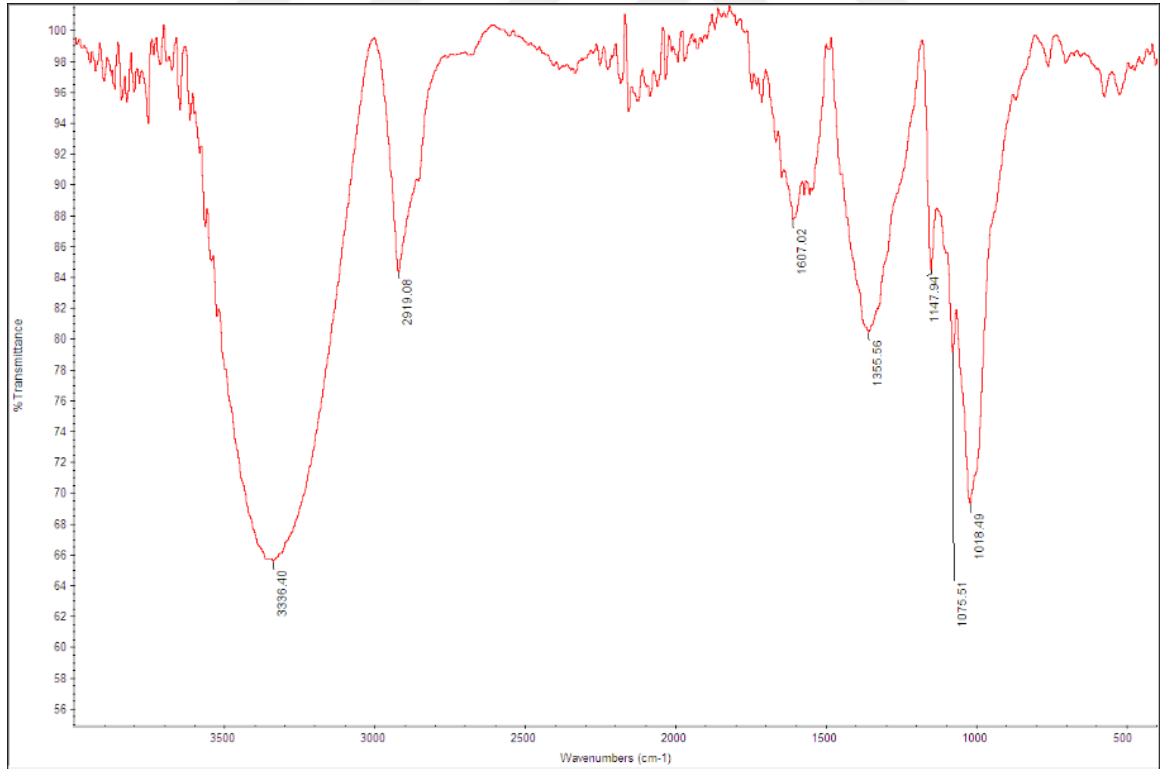
Şekil 4.10: (LPE)<sub>y</sub> FT-IR spektrumu.



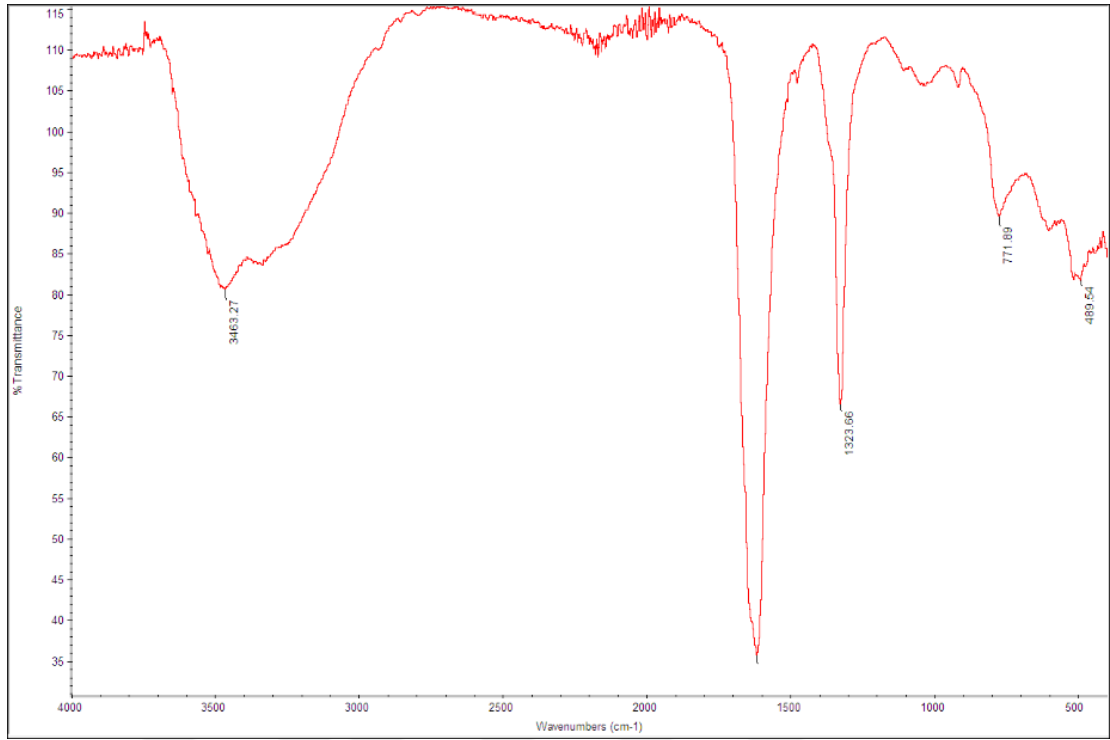
Şekil 4.11: (PVLAgNP)<sub>y</sub>'nin FT-IR spektrumu.



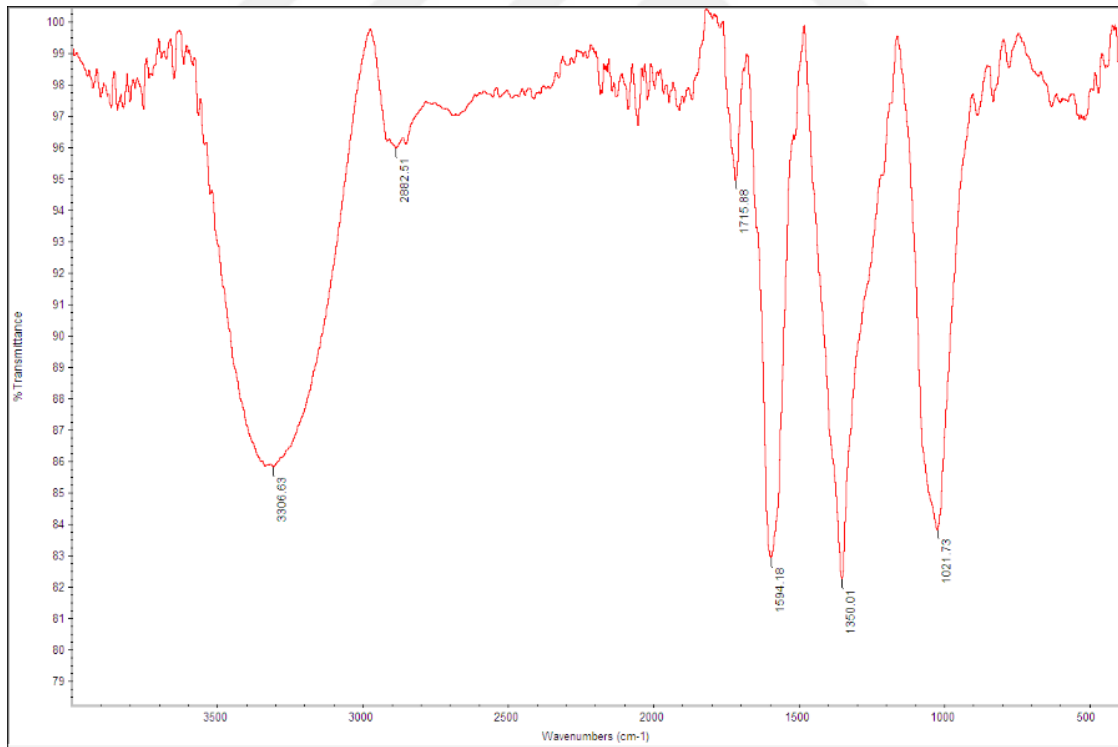
Şekil 4.12: (LPE)<sub>6</sub> FT-IR spektrumu.



Şekil 4.13: (PVLAgNP)<sub>6</sub>'nin FT-IR spektrumu.



Şekil 4.14: (LPE)<sub>k</sub> FT-IR spektrumu.



Şekil 4.15: (PVLAgNP)<sub>k</sub>'nin FT-IR spektrumu.

#### 4.1.4. Zeta Potansiyeli Sonuçları

Sentezlenen nanopartiküllerin elektriksel yükü zeta potansiyeli analizi sonuçları Şekil 4. 16-4. 18’de verilmiştir. Yapılan ölçüm sonuçlarına göre *Primula vulgaris* bitkisinin yaprak, çiçek ve kök kısımlarından sentezlenen AgNP’lerin elektriksel yükü sırasıyla -14 mV, -16.9 mV ve -28.3 mV olarak tespit edilmiştir.

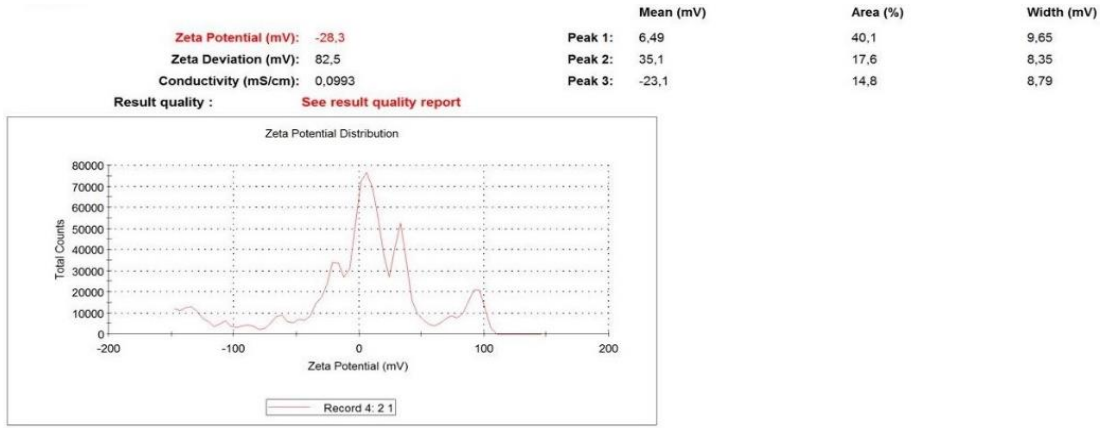


Şekil 4.16: (PVLAgNP)<sub>y</sub>'nin Zeta potansiyeli.



Şekil 4.17: (PVLAgNP)<sub>ç</sub>'nin Zeta potansiyeli.

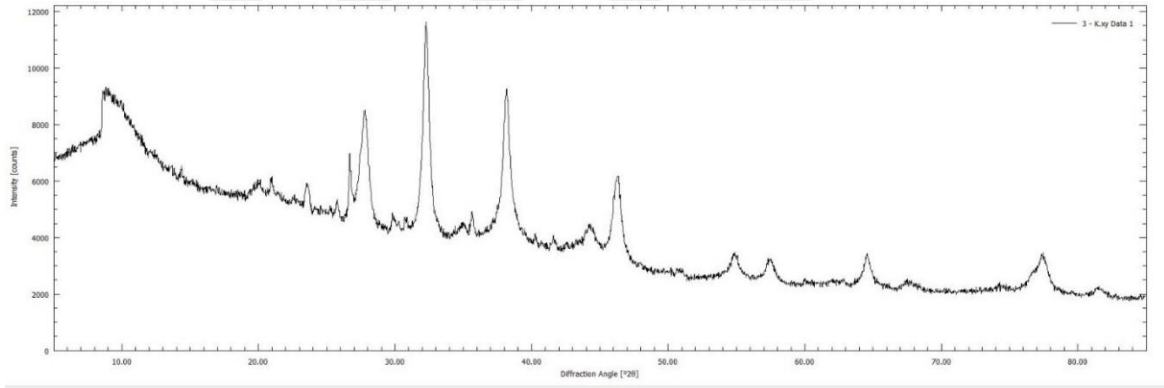




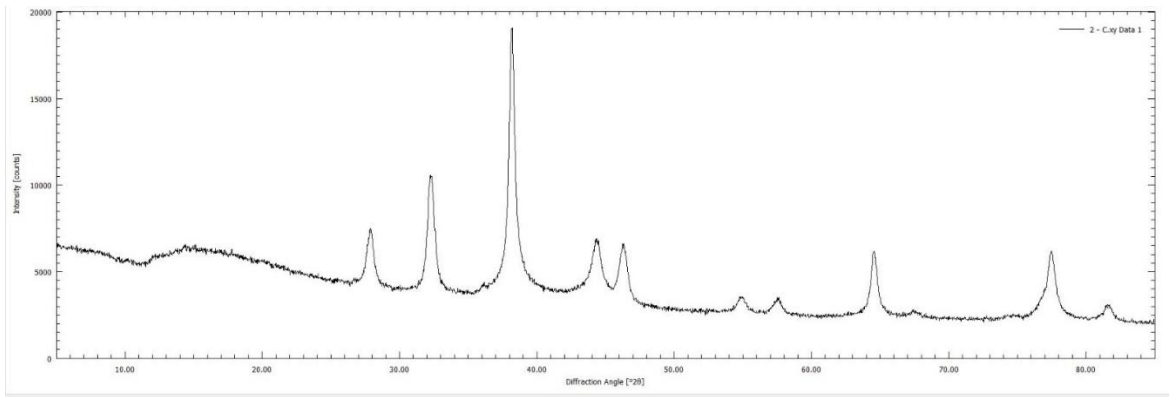
Şekil 4.18: (PVLAgNP)<sub>k</sub>'nin Zeta potansiyeli.

#### 4.1.5. XRD Sonuçları

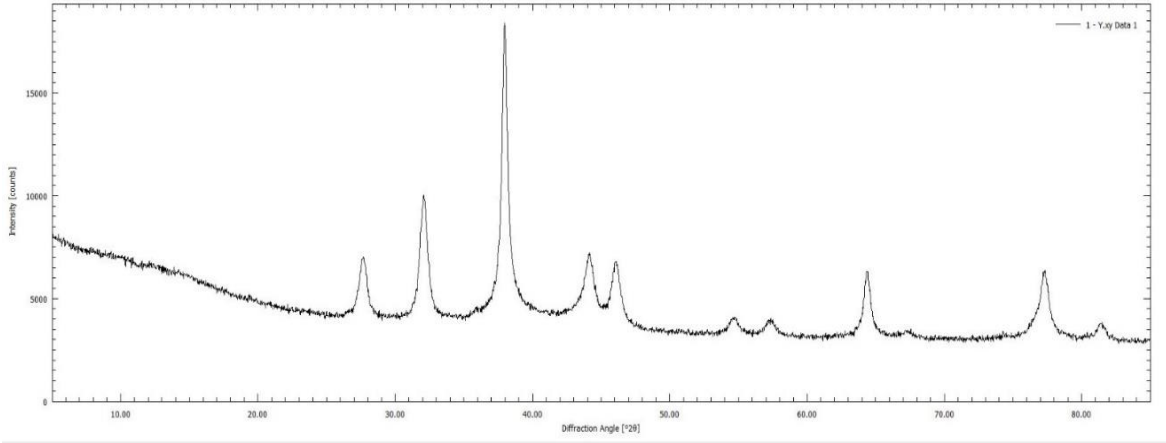
PVLAgNP'lere ait X-ışını kırınım desenleri  $2\theta = 20-80$  açı aralığında elde edilmiştir. XRD grafikleri Şekil 4. 19-4. 21'de verilmiştir.



Şekil 4.19: (PVLAgNP)<sub>y</sub>'nin XRD grafiği.



Şekil 4.20: (PVLAgNP)<sub>c</sub>'nin XRD grafiği.



**Şekil 4.21:** (PVLAgNP)<sub>k</sub>'nin XRD grafiği.

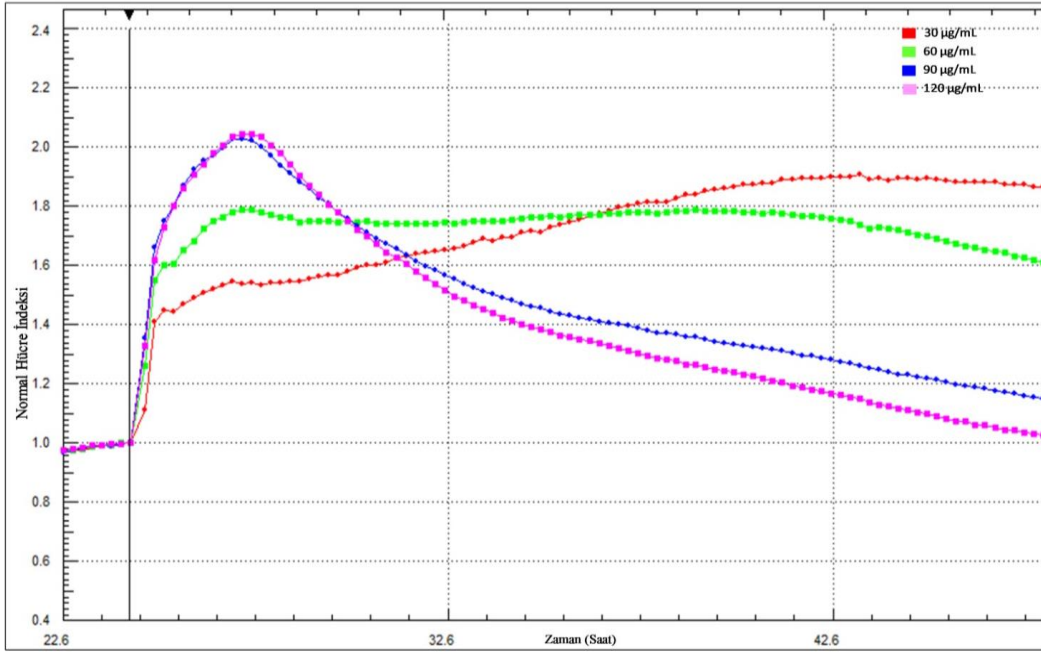
## 4.2. MCF-7 Hücre Çalışması Sonuçları

PVLAgNP'lerin MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksik etkileri iCELLigence sistemi ile değerlendirilmiştir. Hücrelere uygulanan dozlar *in vitro* salım çalışması 24 ve 48 saat sonuçları uygulanan maddelerin ön çalışmaları ile konsantrasyonu ve nanopartiküllerin etken madde yükleme kapasitesi yardımıyla hesaplanarak belirlenmiştir. iCELLigence sisteminde 16 kuyucuklu e-platelere ekilen MCF-7 hücre soylarına, *Primula vulgaris* bitkisi kök, yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen LPE'ler ve bu bitki kısımlarından elde edilen PVLAgNP'ler için koşullar sağlandıktan sonra hazırlanan (12.5-120 µg/mL) farklı konsantrasyonun uygulandığı grafikler verilmiştir. Bu konsantrasyonların hücreler üzerindeki canlılık tayini Sigmoidal dose response (variable slope) yöntemiyle hesaplanmıştır ve IC<sub>50</sub> değerleri elde edilmiştir.

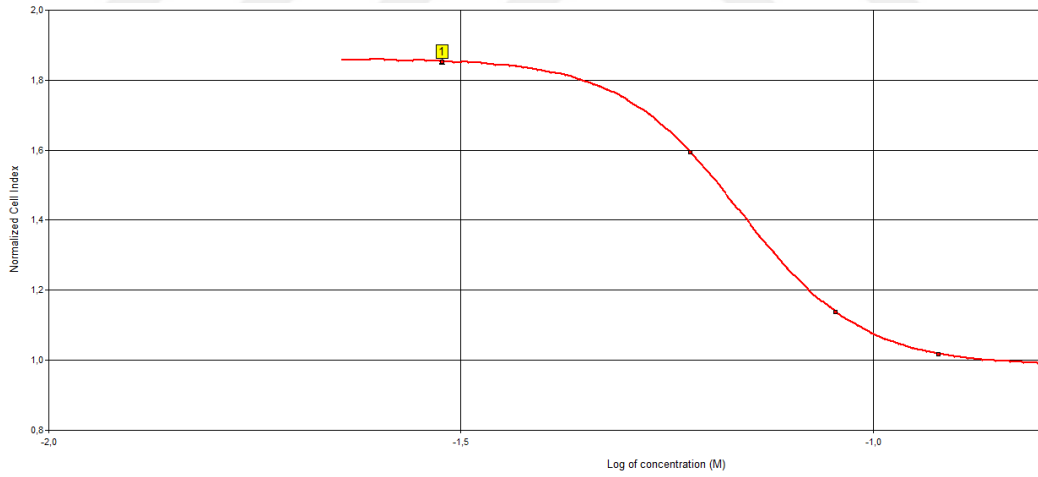
### 4.2.1. MCF-7 hücre serisi üzerine (PVLAgNP)<sub>ç</sub> uygulamaları

*Primula vulgaris* bitkisinin çiçek kısmından elde edilen AgNP'lerin farklı konsantrasyonda oluşturulan (30- 120 µg/mL) dozlarının 24 saatlik uygulamaları Şekil 4.22'de, 48 saatlik doz uygulamaları Şekil 4.24'te verilmiştir. Hücre ekimini takiben 24. Saatinde madde ilavesi yapılmıştır. Madde ilavesinin yapılmasından 24 saat sonra (kültürün 48. saati) Sigmoidal dose response (variable slope) yöntemiyle hesaplanan IC<sub>50</sub> değeri 57.64 µg/mL'dir ( $r^2= 1$ ). Normalize edilmiş hücre indeksinin madde konsantrasyonunun logaritmik dağılımı Şekil 4. 23'te verilmiştir (Normalizasyon süresi 24. saatten itibaren). Madde ilavesinin yapılmasından 48 saat sonra (kültürün 72. saati) Sigmoidal dose response (variable slope) yöntemiyle hesaplanan IC<sub>50</sub> değeri 64,72 µg/mL'dir ( $r^2= 1$ ). Normalize

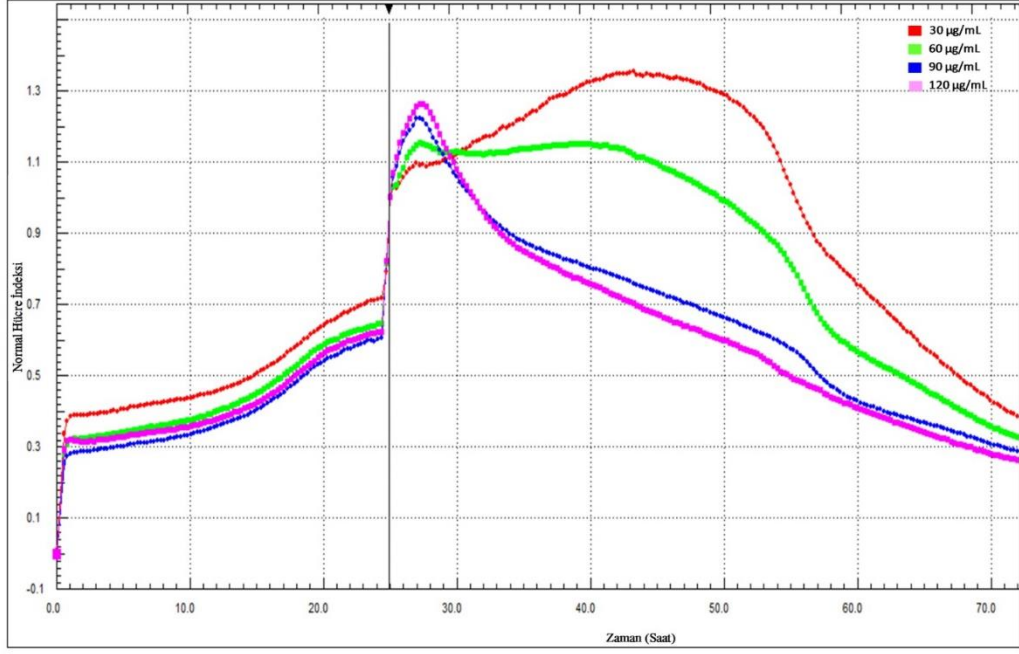
edilmiş hücre indeksinin madde konsantrasyonunun logaritmik dağılımı Şekil 4. 25'te verilmiştir (Normalizasyon süresi 24. saatten itibaren).



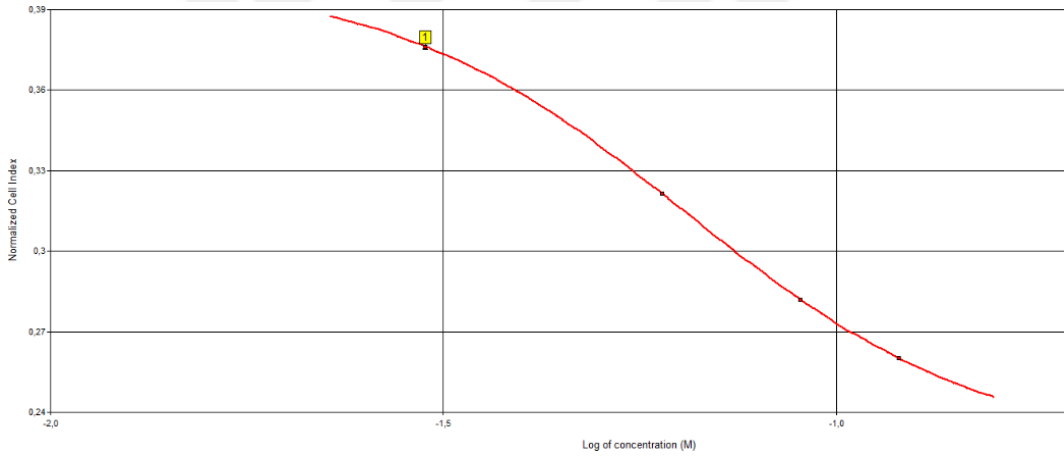
Şekil 4.22: (PVLAgNP)<sub>ç</sub>'nin 24 saatlik doz uygulaması.



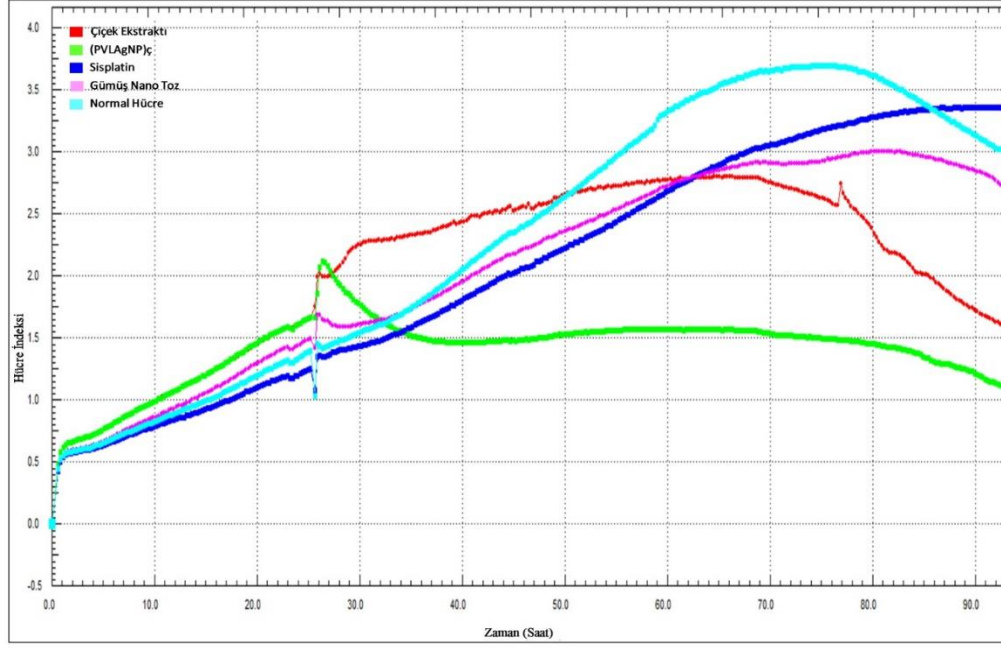
Şekil 4.23: (PVLAgNP)<sub>ç</sub>'nin IC<sub>50</sub> değerinin grafiği (24 saat).



Şekil 4.24: (PVLAgNP)<sub>ç</sub>'nin 48 saatlik doz uygulaması.



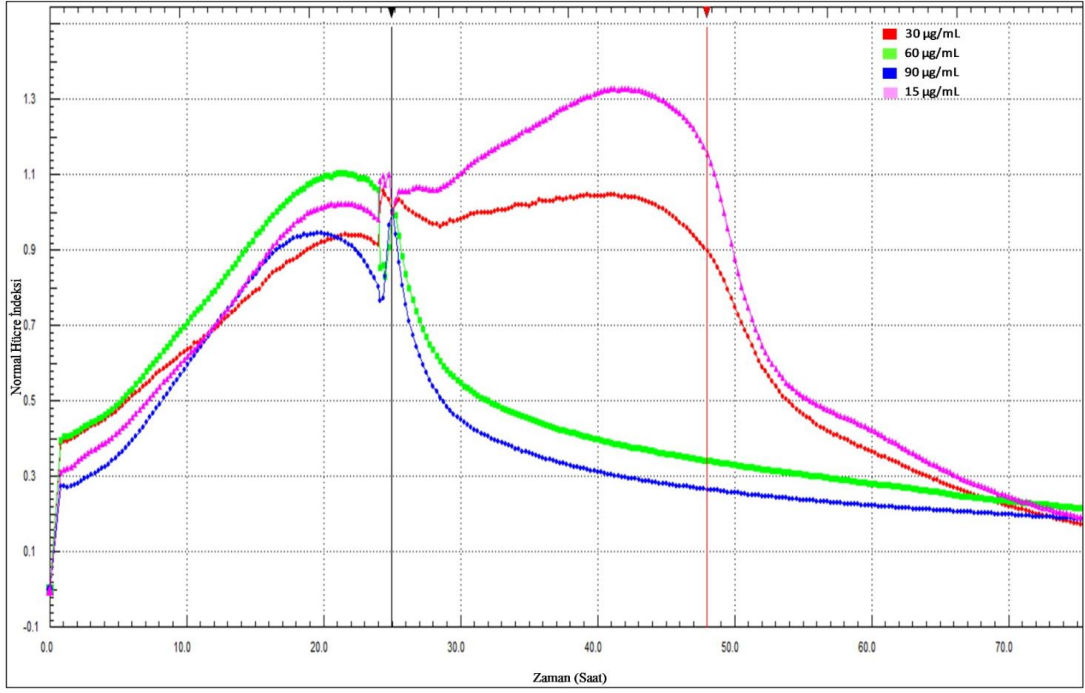
Şekil 4.25: (PVLAgNP)<sub>ç</sub>'nin IC<sub>50</sub> değerinin grafiği (48 saat).



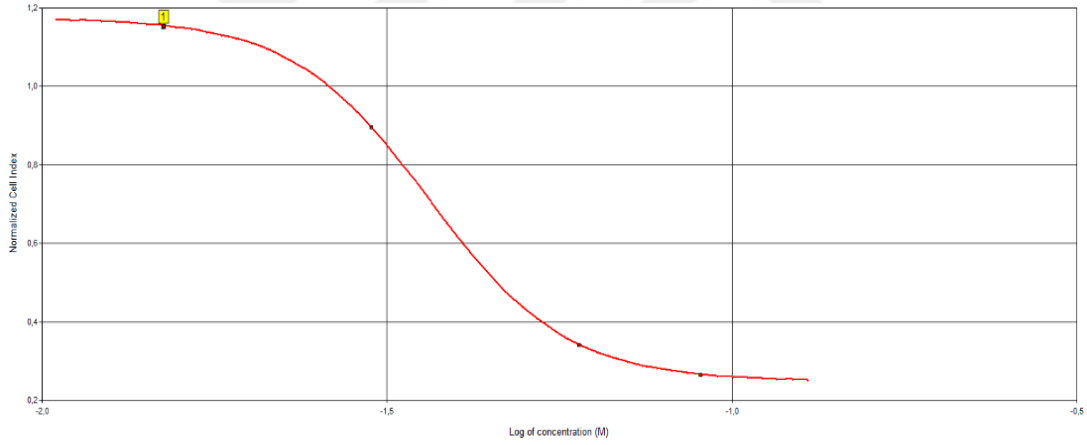
Şekil 4.26: (LPE)<sub>ç</sub>/ (PVLAgNP)<sub>ç</sub>/ AgNP tozu/ cisplatin ve hücre grubu 48 saatlik doz uygulaması karşılaştırması.

#### 4.2.2. MCF-7 hücre serisi üzerine (PVLAgNP)<sub>y</sub> uygulamaları

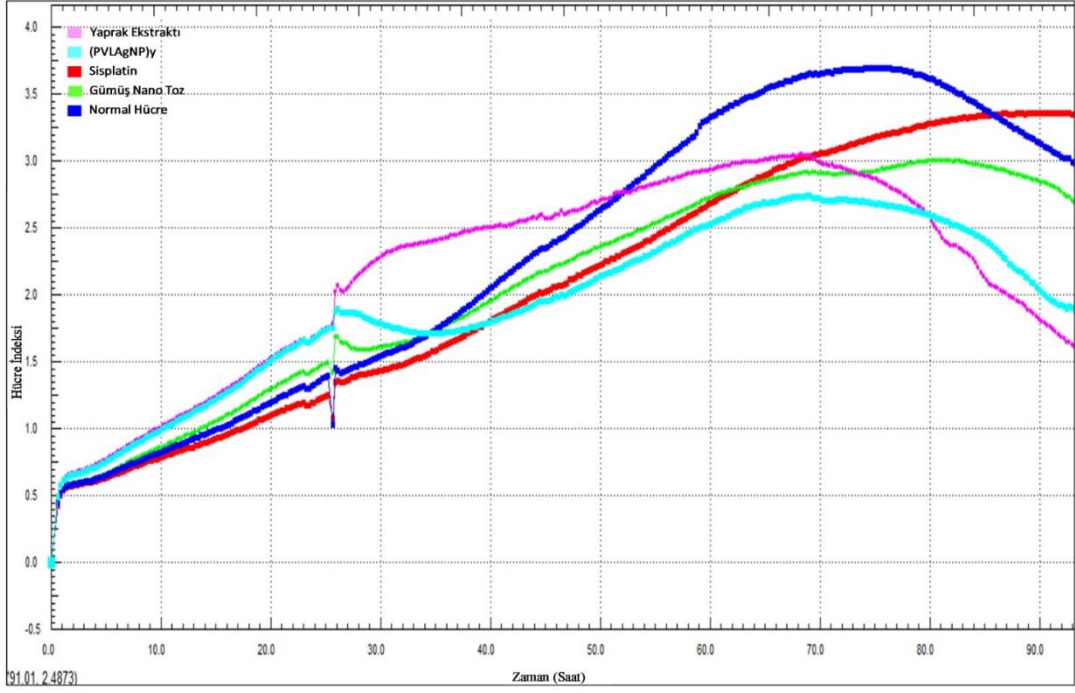
*Primula vulgaris* bitkisinin yaprak kısmından elde edilen AgNP'lerin (30-120 µg/mL) dozlarının 24 saatlik uygulamaları Şekil 4. 27'de verilmiştir. Hücre ekimini takiben 24. Saatinde madde ilavesi yapılmıştır. Madde ilavesinin yapılmasından 24 saat sonra (kültürün 48. saati) Sigmoidal dose response (variable slope) yöntemiyle hesaplanan IC<sub>50</sub> değeri 30.37 µg/mL'dir ( $r^2= 1$ ). Normalize edilmiş hücre indeksinin madde konsantrasyonunun logaritmik dağılımı Şekil 4. 28'de verilmiştir (Normalizasyon süresi 24. saatten itibaren). 48 saatlik IC<sub>50</sub> sonucu %100 ölümden dolayı elde edilememiştir.



Şekil 4.27: (PVLAgNP)<sub>y</sub>'nin 24 saatlik doz uygulaması.



Şekil 4.28: (PVLAgNP)<sub>y</sub>'nin IC<sub>50</sub> değerinin grafiği (24 saat).

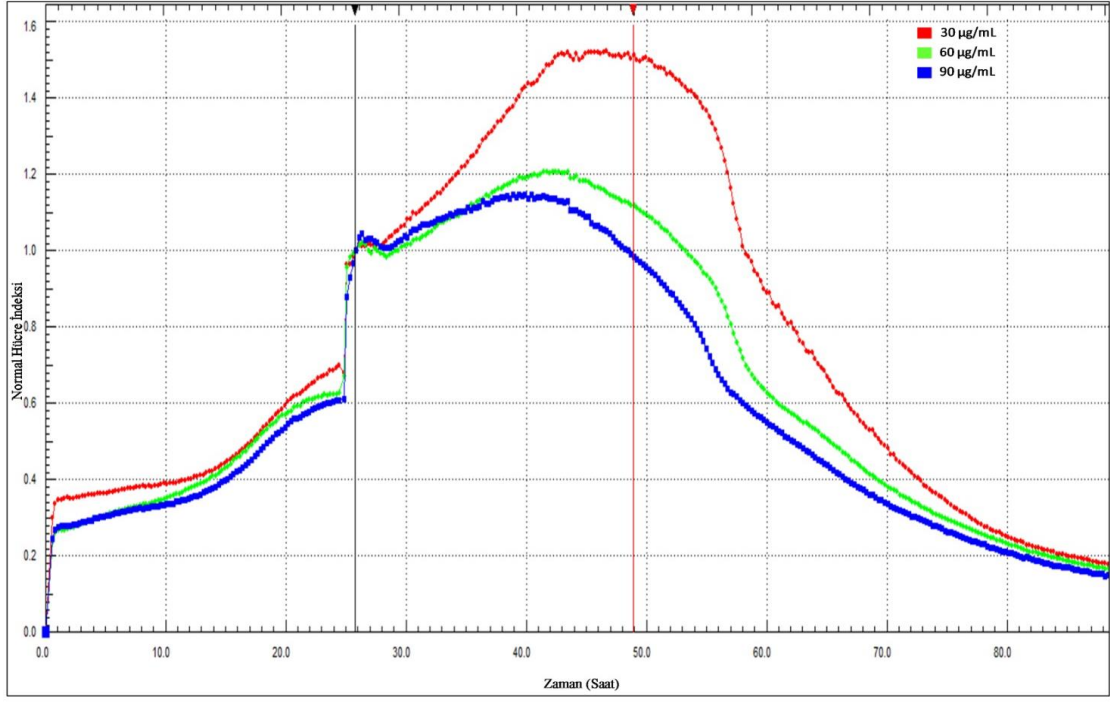


Şekil 4.29: (LPE)<sub>y</sub>/ (PVLAgNP)<sub>y</sub>/ AgNP tozu/ cisplatin ve hücre grubu 48 saatlik doz uygulaması karşılaştırması.

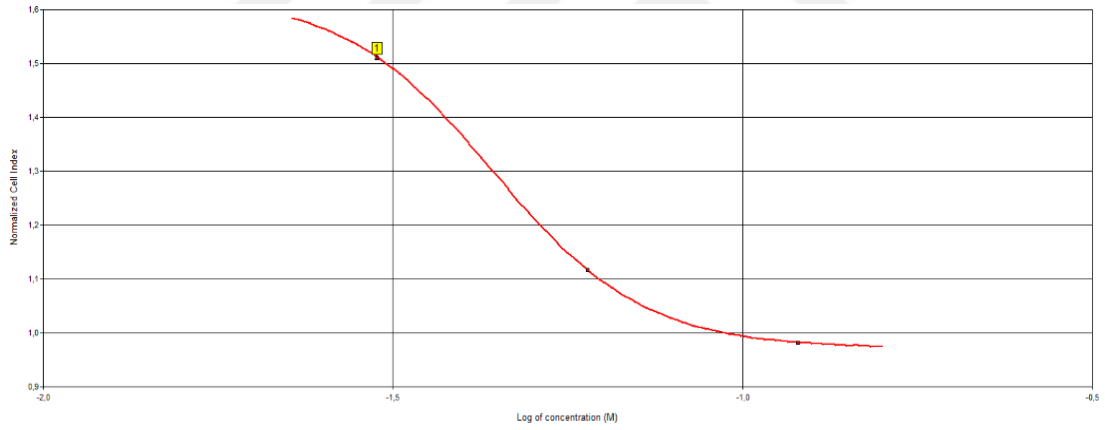
#### 4.2.3. MCF-7 hücre serisi üzerine (PVLAgNP)<sub>k</sub> uygulamaları

*Primula vulgaris* bitkisinin kök kısmından elde edilen AgNP'lerin (30-120 µg/mL) dozlarının 24 saatlik uygulamaları Şekil 4. 30'da 48 saatlik doz uygulamaları Şekil 4. 32'de verilmiştir. Hücre ekimini takiben 24. Saatinde madde ilavesi yapılmıştır. Madde ilavesinin yapılmasından 24 saat sonra (kültürün 48. saati) Sigmoidal dose response (variable slope) yöntemiyle hesaplanan IC<sub>50</sub> değeri 36.74 µg/mL'dir ( $r^2= 1$ ). Normalize edilmiş hücre indeksinin madde konsantrasyonunun logaritmik dağılımı Şekil 4. 31'de verilmiştir (Normalizasyon süresi 24. saatten itibaren). Madde ilavesinin yapılmasından 48 saat sonra (kültürün 72. saati) Sigmoidal dose response (variable slope) yöntemiyle hesaplanan IC<sub>50</sub> değeri 54,55 µg/mL'dir ( $r^2= 1$ ). Normalize edilmiş hücre indeksinin madde konsantrasyonunun logaritmik dağılımı Şekil 4. 33'te verilmiştir (Normalizasyon süresi 24. saatten itibaren).



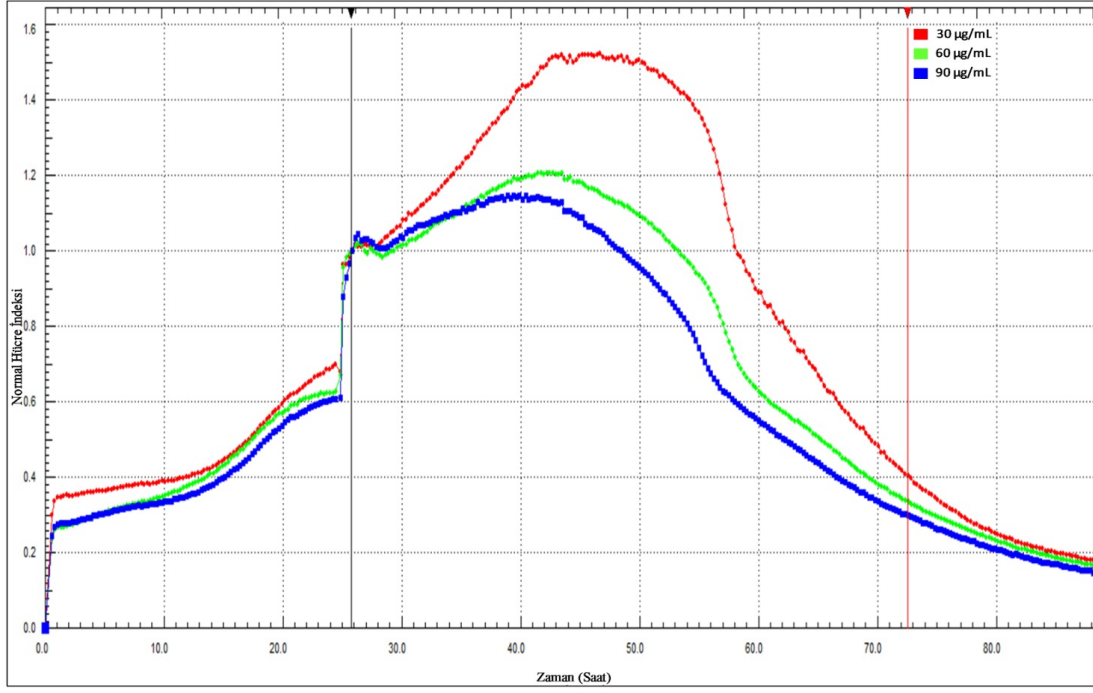


Şekil 4.30: (PVLAgNP)<sub>k</sub>'nin 24 saatlik doz uygulaması.

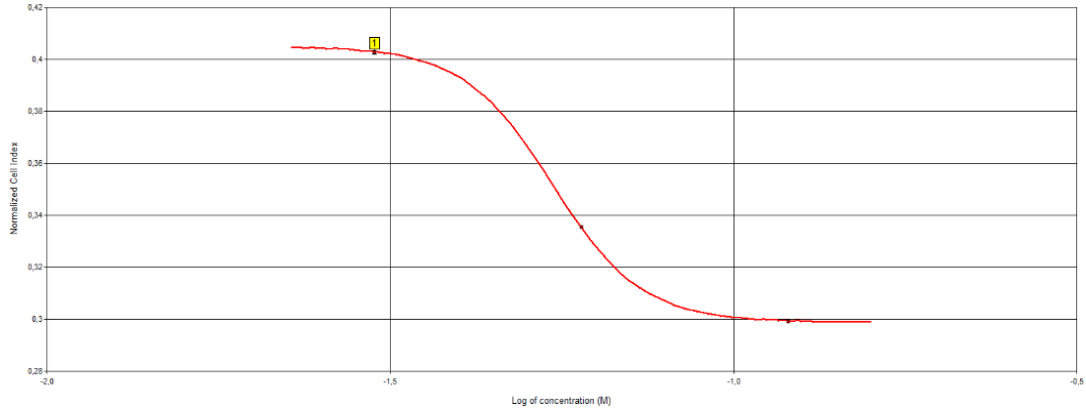


Şekil 4.31: (PVLAgNP)<sub>k</sub>'nin IC<sub>50</sub> değerinin grafiği (24 saat).

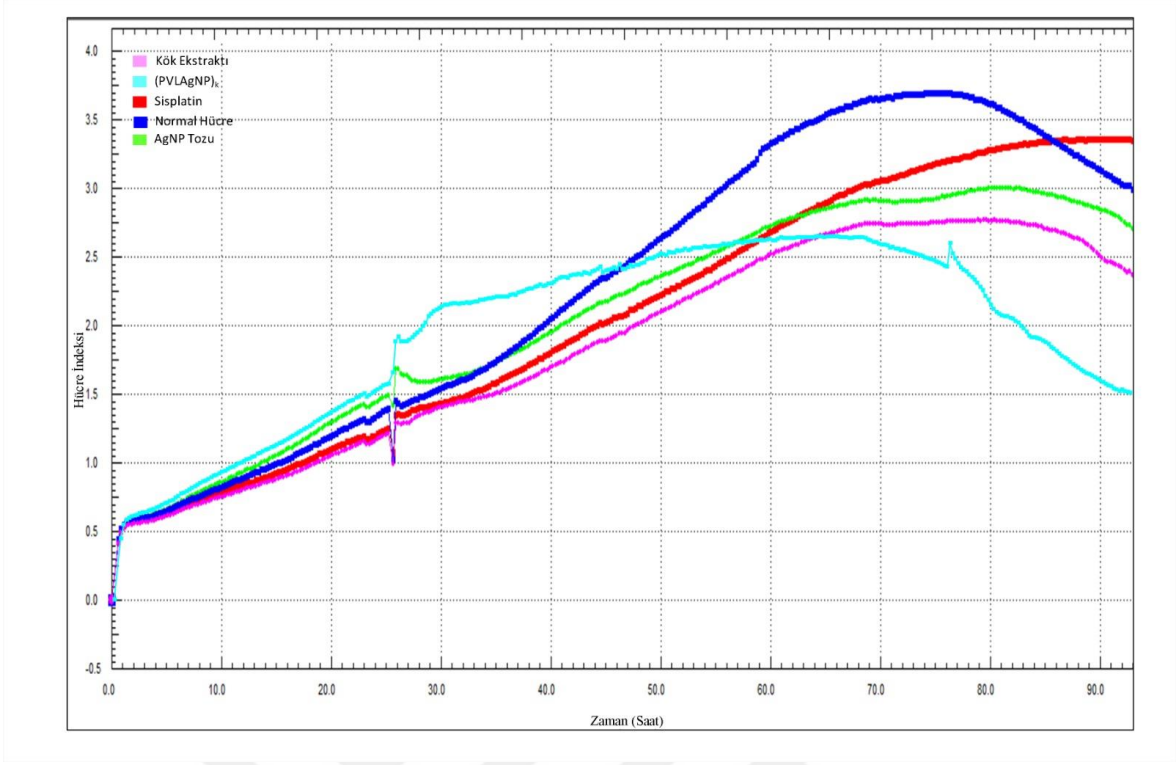




Şekil 4.32: (PVLAgNP)<sub>k</sub>'nin 48 saatlik doz uygulaması.



Şekil 4.33: (PVLAgNP)<sub>k</sub>'nin IC<sub>50</sub> değerinin grafiği (48 saat).



Şekil 4.34: (LPE)<sub>k</sub>/ (PVLAgNP)<sub>k</sub>/AgNP tozu/ cisplatin ve hücre grubu 48 saatlik doz uygulaması karşılaştırması.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, *Primula vulgaris* bitkisinin çiçek, yaprak ve kök kısımlarının sulu ekstraktı kullanılarak PVLA<sub>g</sub>NP'lerin yeşil sentezi gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın ilk bölümünde yeşil sentez yöntemiyle oluşumu sağlanan PVLA<sub>g</sub>NP'lerin karakterizasyonunun sağlanması, ikinci kısmında ise bu PVLA<sub>g</sub>NP'lerin MCF-7 hücre hattına sitotoksik etkisinin incelenmesi yer almaktadır.

Araştırmada sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonu, SEM, UV-Vis, FT-IR, Zeta Potansiyeli analizi ve XRD analizleri kullanılarak yapılmıştır. Bitki özütlerinde bulunan biyomoleküllerin metal iyonlarıyla reaksiyona girerek metalik nanopartikülleri indirgeme özellikleri olduğu bilinmektedir (206). *Primula vulgaris* ekstraktında bulunan biyomoleküllerin, Ag<sup>+</sup> iyonlarının tek bir adımda Ag<sup>0</sup>'a indirgenmesinden sorumlu olduğu rapor edilmiştir. Bu indirgeme, reaksiyonu takiben çözeltinin renginin sarıdan kahverengiye değişiminin olmasıyla AgNP'lerin meydana geldiğinin makroskobik göstergesi olduğu kabul edilmektedir. Çözeltinin renk değişiminin AgNP'lerin sentezini destekleyen bir delil olduğu daha önce yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (207, 208, 210).

AgNP'lerin UV-vis spektrofotometre ile karakterizasyonu oldukça önemli bir tekniktir (207-209). Ölçüm sonucunda sentezlenen AgNP'lerin UV spektrumları kök örneği için 430 nm, yaprak örneği için 440 nm ve çiçek örneği için 440 nm olarak belirlenmiştir (Şekil 4.1-4. 3). Güçlü ve geniş yüzeyli plazmon pikleri, 2-100 nm genişliğinde çeşitli metal nanopartiküllerin oluşması durumunda gözlemlendiği farklı çalışmalarda bildirilmiştir (207, 208). Kelkawi ve arkadaşları (186), *Mentha pulegium* özütlerini kullanarak sentezledikleri AgNP'lerin maksimum absorbansın olduğu dalga boyunu 450 nm olarak tespit etmişlerdir. Jang ve arkadaşları (177), *Lonicera hypoglauca* çiçeğinden sentezledikleri nanopartiküllerin maksimum absorbansın olduğu dalga boyunun 437 nm olduğunu tespit etmişlerdir.

Sentezlenen AgNP'lerin şekil ve boyutları SEM analizi ile belirlenmiştir. Görüntüleme sonucu AgNP'lerin küresel şekilde oldukları ve boyutlarının kök, çiçek ve yaprak için sırasıyla 22.93-39.28 nm, 22.48-49.46 nm, 22.48-52.44 nm arasında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4. 5, 4. 7, 4. 9). Deveraj ve arkadaşları (180), *Couroupita guianensis* bitkisinin yapraklarını kullanarak sentezledikleri AgNP'lerin SEM analizinde bu moleküllerin küresel şekilde olduklarını ve 13 nm ile 61 nm arası değişen boyutlarda bulduklarını tespit etmişlerdir. Logeswari ve arkadaşları (211), *Ocimum tenuiflorum*,

*Solanum trilobatum*, *Syzygium cumini*, *Centella asiatica* ve *Citrus sinensis* bitki özütlerini kullanarak sentezledikleri AgNP'lerin SEM analiz sonucunda *O. tenuiflorum*, *S. cumini*, *C. sinensis*, *S. tricobatum* ve *C. asiatica* bitkileri ile elde edilen nanopartiküllerin ortalama olarak sırasıyla 28 nm, 26,5 nm, 65 nm, 22,3 nm ve 28,4 nm boyutunda olduğu belirlenmişlerdir. Premkumar ve arkadaşları (212), *Sterculia foetida* özütü ile sentezledikleri AgNP'lerin SEM analizi sonucunda 20-30 nm arasında değişen boyutlarda küresel görünümde nano partiküller oluştuğunu tespit etmişlerdir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde çalışmamızdaki SEM sonuçlarının uyumlu olduğu görülmüştür.

AgNP'lerin çeşitli fonksiyonel grupların varlığını tespit etmek için FT-IR analizi yapılmıştır. Gözlenen şiddetli bantlar fonksiyonel grupları belirlemek için standart değerlerle karşılaştırılmıştır. *Primula vulgaris* yaprak, kök ve çiçek kısmından elde edilen AgNP'lerin pik değerleri sırasıyla 3301, 2881, 1715, 1595, 1349, 1021, 826  $\text{cm}^{-1}$ ; 3306, 2882, 1715, 1594, 1350, 1021  $\text{cm}^{-1}$  ve 3336, 2919, 1607, 1355, 1147, 1075 1018  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısındadır (Şekil 4. 11, 4. 13 ve 4. 15). *Primula vulgaris* bitkisinin kurutulmuş yaprak, kök ve çiçek kısımlarının FT-IR spektrumlarıyla, sentezlenen AgNP 'lere ait spektrumlarda görülen değişiklik fenolik grupların iyon değişim reaksiyonuna katılmasından kaynaklanmaktadır. Çalışmada, AgNP'lerin sentezi için kullanılan bitkilerdeki, fitokimyasallara ait farklı fonksiyonel grupların varlığı doğrulanmıştır. Bitkide bulunan hidroksil, karboksil, fenol ve amin grupları metalle bağ oluşturarak  $\text{Ag}^+$  iyonunu Ag 'ye indirgesinde etkili olmuş ve oluşan AgNP'lerin kaplayıcı ve stabilize edici ajan olarak davranmıştır. Bu nedenle, bitki içeriğinde bulunan fitokimyasalların ve biyomoleküllerin, yeşil sentezlenen AgNP'lerin oluşumunda ve stabilizasyonunda ikili bir rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Mevcut literatürlerde, FT-IR çalışmalarının sonucunda farklı metabolitlerin fonksiyonel gruplarının metal iyonlarıyla reaksiyona girdiği ve büyüklüklerini nano aralığına indirgediği tespit edilmiştir (150). *Lonicera hypoglauca* çiçeğinin sulu ekstraktı kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin FT-IR sonuçlarında 3432'de bulunan keskin bantlar -OH esnemesine ve 1621  $\text{cm}^{-1}$  N-H bükülmesine, 2924, 1384, 1071, 803 ve 566  $\text{cm}^{-1}$ 'de bulunan küçük pikler C -H gerilmesine, N=O kıvrımı; C-N gerilmesi; C-H ve C-Cl gerilmesi tespit edilmiş bu grupların gümüş NP'lerin oluşumundan veya stabilizasyonundan sorumlu olabileceğini bildirilmiştir (177). Birçok araştırmada bitki ekstraktı kullanılarak AgNP sentezi yapılmış ve *Primula vulgaris* yüklü AgNP'lerin FT-IR sonuçları literatürle benzer özellik göstermiştir (149, 213).

AgNP'lerin elektriksel yükü Zeta potansiyeli analiziyle belirlenmiştir. AgNP'lerin elektriksel yükü kök, yaprak ve çiçek örnekleri için sırasıyla, -28.3 mV, -14.0 mV ve -16.9 mV olarak tespit edilmiştir (Şekil 4. 16-4. 18). Yüksek negatif potansiyel değerin olması negatif-negatif itme kuvvetinden dolayı AgNP'lerde yüksek dağılım, uzun süreli kararlılık ve iyi kolloidal yapının oluştuğunu göstermektedir (166). Deveraj ve arkadaşları (180), nanopartiküller ile ilgili yaptıkları çalışmada sentezlenen nanopartiküllerin -34.8 mV Zeta potansiyeline sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Rashidipour ve Heydari (179), *Olea europaea* yaprağı ekstraktı kullanarak yeşil sentez yöntemiyle gümüş nanoparçacıkların hazırladıkları AgNP'lerin Zeta potansiyelini, -25.3 mV olarak tespit etmişlerdir. Anand ve arkadaşları (182), gümüş nanopartiküllerin sentezi için *Malus domestica* özütü kullandıkları çalışmada Zeta potansiyelini -12.9 mV olarak tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda sentezlediğimiz AgNP'lerin XRD sonuçlarında kristal yapıda olduğu 20 ile 80 derece arasında değişen  $2\theta$  değerlerinin tüm spektrumlarda karakteristik pik değerleri olan (111), (200), (220) ve (311) piklerini sergilediği gözlenmiştir (Şekil 4. 19-4. 21). Ramar ve arkadaşları (173), *Solanum trilobatum* bitkisinin kullanıldığı AgNP sentezinin XRD analizinde (111), (220) ve (311) Braggs yansımalarına karşılık gelen yoğun pik değerlerini rapor etmişlerdir. Vivek ve arkadaşları (178), *Annona squamosa* ekstraktı kullanarak elde ettikleri gümüş nanopartiküllerin XRD analizlerinde benzer sonuçlar bildirmişlerdir. XRD analizlerinde pikin yoğunluğu, AgNP'lerin yüksek kristallik derecesini yansıtmaktadır. Bununla birlikte, piklerde görülen genişleme kristalit boyutun küçük olmasından kaynaklanmaktadır. (200), (220), (311) ve (222) Bragg yansımaları, yoğun (111) yansımaya göre zayıf ve geniş olduğu görülmektedir. Bu özellik nanokristallerin anizotropik olduğunu göstermektedir. Braggs piklerinin genişlemesi nanopartiküllerin oluşumunu ve elde edilen XRD desenlerinin önceki çalışmalarla tutarlı olduğunu göstermektedir (164).

*Primula vulgaris* bitkisinin kuru kök, çiçek ve yaprak kısımlarının yeşil senteziyle elde edilen AgNP'lerin farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış (12.5-120  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) özütleri 24 ve 48 saatlik periyotlarda MCF-7 hücre hattı üzerine sitotoksik etkisi incelenmiştir. PVLAGNP'lerin MCF-7 hücre hattı üzerine doza bağlı sitotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Tüm dozlar uygulandıktan 24 saat sonu  $\text{IC}_{50}$  değerlerinin kökte 36.74  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , yaprakta 30.37  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , çiçekte 57.64  $\mu\text{g}/\text{mL}$  olduğu saptanmıştır (Şekil 4. 22, 4. 27, 4. 30). 48 saat sonu  $\text{IC}_{50}$  değerlerinin kökte 54,55  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , çiçekte 64,72  $\mu\text{g}/\text{mL}$  olarak hesaplanırken yaprak örneği uygulanan hücre grubunda %100 ölüm meydana geldiğinden 48 saat sonu  $\text{IC}_{50}$

değeri hesaplanamamıştır (Şekil 4. 24, 4. 32). Hücre gruplarına uygulanan diğer doz grupları çiçek, kök ve yaprak örneklerinden elde edilen LPE'ler, AgNP tozu ve pozitif kontrol grubu olan cisplatin çözeltisidir. Bu örnek grupları, PVLAGNP'lerden elde edilen en düşük etken doz olan 57.64 µg/mL dozu baz alınarak MCF-7 hücre gruplarına uygulanmıştır. Tek doz uygulanan (57.64 µg/mL) Cisplatin, AgNP tozu ve LPE'ye göre PVLAGNP'lerin aynı dozda daha etkili olduğu saptandı (Şekil 4. 26, 4. 29, 4. 34). En yüksek sitotoksosite yaprak ekstraktından sentezlenen AgNP'lerde görülürken, en düşük sitotoksosite çiçek ekstraktından elde edilen AgNP'lerde görüldü.

Demir ve arkadaşları (26), *Primula vulgaris* bitki özütünü 0-500 µg/mL dozlarında, pozitif kontrol grubu cisplatin 0-10 µg/mL dozlarında hücrelere karşı 72 saat muamelesi sonucu, S fazında hücre döngülerini durdurarak ve apoptotik hücre sayısını indükleyerek insan serviks (HeLa) kanser hücreleri üzerinde seçici bir sitotoksik etkiye sahip olduğunu, uygulanan özütün IC<sub>50</sub> değeri 182.4 µg/mL, cisplatinin IC<sub>50</sub> 0,73 µg/mL olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Turan ve arkadaşları (27), *Primula vulgaris* yaprak ekstraktının sitotoksik etkisi ise insan akciğer (A549), karaciğer (HepG2), meme (MCF-7), prostat (PC-3) ve kolon (WiDr) kanser hücre serileri ile normal insan fibroblast hücre serisi üzerinde MTT yöntemi kullanılarak değerlendirdikleri çalışmalarında, ekstraktın çalışılan tüm kanser hücre serileri üzerinde normal fibroblast hücrelerine göre seçici sitotoksik etki gösterdiğini ve IC<sub>50</sub> değerleri 133.3-253.8 µg/mL arasında hesaplandığını bildirmişlerdir.

Demir ve arkadaşları (118), *P. vulgaris* çiçek ekstraktlarının DMSO ile farklı dozlarda (0-500 µg/mL) hazırlanan ve cisplatin çözeltisi (0-10 µg/mL) farklı dozlarda 72 saat boyunca uygulanmış insan karaciğeri (HepG2), prostat (PC-3), akciğer (A549), meme (MCF-7) ve kolon (WiDr) kanser hücreleri ile normal insan fibroblast hücre serisi üzerinde MTT yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Ekstraktın çalışılan tüm kanser hücre serileri üzerinde normal fibroblast hücrelerine göre seçici sitotoksik etki gösterdiği belirlendi *Primula vulgaris* çiçek ekstraktının kuvvetli antioksidan özelliklerini ve kanser hücre serileri üzerindeki seçici sitotoksik etkisini ve IC<sub>50</sub> değerleri 191.8-375.3 µg/mL arasında hesaplandığını bildirmişlerdir.

Behzad ve arkadaşları (119), *Primula auriculata*'nın metanollü ekstraktını 100 µg/mL konsantrasyona kadar A549, MCF-7, HepG2 ve HT-29 hücre serilerinde ve normal bovin böbrek hücrelerine karşı sitotoksik etkisini değerlendirmişlerdir. *Primula*

*auriculata*'dan elde edilen ekstrakt, 25.79 µg/mL IC<sub>50</sub> değeri ile en yüksek sitotoksiteyi MCF-7 hücre hattına gösterdiği, HepG2 ve HT-29 hücrelerine karşı ise sırasıyla 35.79 ve 43.34 µg/mL IC<sub>50</sub> değerine sahip olduğunu, A549 hücre serisinde herhangi bir sitotoksik etkisi görülmediğini ve normal bovin böbrek hücrelerine toksisite göstermediğini bildirmişlerdir.

Rashidipour ve Heydari (177), *Olea europaea* yaprağı ekstraktı kullanarak sentezledikleri AgNP'lerin insan meme kanseri hücresi (MCF-7) üzerine 24 saat sonraki etkisini MTT testi ile değerlendirmiş ve IC<sub>50</sub> değerlerinin, saflaştırılmış AgNP'ler için 50 µg/mL, ekstrakt yüklü AgNP'ler için ise 0.024 µg/mL olduğunu tespit etmişlerdir (179). Jang ve arkadaşları, *Lonicera hypoglauca* çiçeğinin sulu ekstraktı kullanarak sentezledikleri AgNP'lerin MCF-7 hücrelerine karşı %80'e yakın toksisite meydana getirdiğini, RAW264.7 (normal bağışıklık sistemi hücreleri) hücrelerine karşı ise toksik olmadığını rapor etmişlerdir.

Ramar ve arkadaşları (173), yeşil sentez yöntemiyle ürettikleri *Solanum trilobatumun* sulu ekstraktı sentezlenen AgNP'lerin gümüş nanoparçacıkların in vitro sitotoksitesini belirlemek amacıyla farklı konsantrasyonlarda (5-50 µg/ml) MCF-7 hücrelerine karşı uygulamışlardır. Biyolojik olarak sentezlenmiş AgNP'lerin konsantrasyonu 5 µg/mL'den 50 µg/mL'ye artırıldığında MCF-7'nin hücre canlılığında yüksek oranda düşüş tespit etmişlerdir. Venugopal ve arkadaşları (189), *Syzygium aromaticum*'den sentezlenen AgNP'lerin konsantrasyonlarının artmasıyla birlikte kanser hücrelerinin büyümelerinin inhibe edildiğini, bitki ekstratlarından sentezlenen AgNP'lerin IC<sub>50</sub> değerlerinin MCF-7 hücrelerine karşı 50 µg/mL, A549 hücrelerine karşı 60 µg/mL olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca sadece bitki ekstraktlarının uygulandığı deneysel çalışmada elde etmiş oldukları IC<sub>50</sub> değerlerinin, MCF7'ye karşı 70 µg/mL ve A549 hücreleri için 70 µg/mL olarak rapor etmişlerdir. Venugopal ve arkadaşları (183), *Beta vulgaris* ekstraktı ile sentezlenmiş AgNP'lerin MCF-7, A549 ve Hep2 hücre dizilerinin sitotoksitesini belirlemek için kanser hücrelerine nanopartiküllerden 10 -100 µg/mL arası dozları uygulamışlardır. *Beta vulgaris* bitkisinin sulu ekstraktının MCF7, A549 ve Hep2 hücre dizisine karşı IC<sub>50</sub> değerini, 48 saatlik inkübasyon için 70 µg/mL olarak belirlemişlerdir. *Beta vulgaris*'ten sentezlenmiş AgNP'lerin MCF-7, A549 ve Hep2 hücre dizisine karşı sitotoksik aktivitesinin IC<sub>50</sub> değerlerini 48 saatlik inkübasyon için sırasıyla 47.6, 48.2 ve 47.1 µg/mL olarak tespit etmişlerdir. Aydın ve Pehlivanoglu (95), Biberiye özütünden sentezledikleri AgNP'leri farklı konsantrasyonlarda hazırlayarak MCF-7 hücreleri üzerinde 24 saat boyunca muamele

etmişlerdir. AgNP'lerin MCF-7 hücrelerinde doza bağımlı olarak hücre canlılığını azalttığını, inkübasyonun 24. saatinde AgNP'lerin 5 µg/mL ve daha yüksek konsantrasyonlarının %100 sitotoksik olduğu belirlemişlerdir. Sre ve arkadaşları (190), *Erythrina indica* kök ekstresinden sentezledikleri nanopartiküllerin MCF-7 ve HEP G2 hücreleri üzerindeki sitotoksitesini MTT deneyi ile incelemişlerdir. MCF-7 ve HEP G2 hücreleri konsantrasyon artışı ile hücrelerin canlılığında azalma olduğunu tespit etmişlerdir. AgNP'lerin IC<sub>50</sub> değerlerini, MCF-7 için 23.89 ± 0.39 µg/mL ve HEPG2 için 13.86 ± 0.95 µg/mL olarak bildirmişlerdir.

Kelkawi ve arkadaşları (186), HeLa ve MCF-7 hücrelerini 100 µg/mL dozda *Mentha pulegium* özütlerini kullanarak sentezledikleri AgNP'lere 48 saat boyunca maruz bırakmışlar ve sırasıyla %47 ve %58'den fazla mortalite elde etmişlerdir. Nanopartiküllerin MCF-7 hücrelerinde HeLa hücrelerine göre daha yüksek mortalite sağladığı ve AgNP'lerin antikanser aktivitesinin konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Açık literatürler dikkate alındığında bu tez çalışmasının sonuçlarına paralel olarak bitki özütlerinden sentezlenen AgNP'lerin kanser hücreleri üzerine sağaltıcı etkisi olduğu görülmektedir. Buna karşın diğer çalışmalarda kullanılan madde miktarları, bitki türü farklılıkları, kullanılan analiz yönteminin farklı olması ve pozitif kontrol grubunun değişkenliği gibi etmenlerden dolayı birtakım uyumsuzluklar göze çarpmaktadır. *Primula vulgaris* bitkisinden elde edilen AgNP'lerin kullanıldığı antikanser çalışmaları olmadığından bu araştırma literatürde ilk olma niteliği taşımaktadır.

*Primula vulgaris* ekstraktıyla hazırlanan AgNP'lerin, meme kanseri tedavisinde tedaviyi destekleyici ajanlar olarak kullanılabilmesi, ancak elde edilen sonuçların tam anlamıyla uygulanabilmesi ve insan vücudunda nasıl bir etki göstereceğinin belirlenebilmesi için deney hayvanlarında *in vivo* çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu söylenebilir. Ayrıca bu çalışmada kullanılan iCELLigence sisteminin klasik yöntemlere (MTT, XTT vb.) göre daha az hataya mahal vermesi sebebi ile yapılacak antikanser çalışmalarında kullanılması önerilmektedir. Kanser tedavisi alanındaki yeni yaklaşımlardan biri olan nanopartiküller sayesinde biyoyumlu tedaviyi destekleyici ajanların geliştirilebileceği düşünülmektedir. Nanopartikül üretiminde bitki ekstraktlarının kullanımı toksik kimyasallar içermemesi, üretimlerinin daha ucuz ve kolay olması biyolojik yöntemle üretilmesi nedeniyle oldukça avantajlıdır. *Primula vulgaris* yüklü gümüş nanopartiküllerin sitotoksik etkisinin hangi mekanizmalar üzerinden gerçekleştiğinin belirlenebilmesi için genetik materyal ve fizyolojik açıdan daha kapsamlı çalışmalar gerekmektedir. Kullanılan



numunelerin içeriğinin aydınlatılıp, çalışmaların farklı kanser hücre serilerinde ve deneysel yaklaşımlarla devam ettirilmesinin, klinik çalışmaların önünü açabileceği düşünülmektedir. Özellikle destekleyici tedavide yeni etken maddelerin geliştirilmesine katkı sağlayacağı ön görülmektedir. Bu konu ile ilgili yapılacak olan detaylı çalışmalar ile nanopartiküllerin kullanım alanları daha da genişletilebilir.



## KAYNAKLAR

1. Evan GL, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature*. 2001;411. (6835): 342-348.
2. Mitchell RN, Kumar V. Neoplazi, Çevikbaş U. Robbins temel patoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kıtabevleri; 2003.
3. Schulz W. Molecular biology of human cancers: an advanced student's textbook. Netherlands: Springer Science & Business Media; 2005.
4. Cancer [İnternet]. 2018 [Erişim tarihi 26 Aralık 2020]. Erişim Adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
5. Kelle İ. Kanser tedavisinde biyotoksinler. *Dicle Tıp Dergisi*. 2007; 34(3): 226-232.
6. Çakır S, Kafadar MT, Arslan ŞN, Türkan A, Kara B, İnan A. Meme kanseri tanısı konmuş kadınlarda risk faktörlerinin güncel veriler ışığında gözden geçirilmesi. *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Tıp Dergisi*. 2016; 2(3): 186-194.
7. Çapanoğlu G, Bakar E. 2018. Meme kanseri ve meme kanseri metastazında rol oynayan moleküler prognostik faktörler. *Cumhuriyet Üniv. Sağ. Bil. Enst. Derg.*2018; 3(2): 40-44.
8. Klevos GA, Ezuddin NS, Vinyard A, Ghaddar T, Gort T, Almuna A, et al. A breast cancer review: through the eyes of the doctor, nurse, and patient. *Journal of Radiology Nursing*. 2017; 36(3): 158–165.
9. Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU. Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biol Res*. 2017; 50(1):33.
10. Deng Li, Qi M, Peng QL, Chen MF, Qi Q, Zhang JY. et al. Arenobufagin induces MCF-7 cell apoptoz by promoting JNK-mediated multisite phosphorylation of Yesassociated protein. *Cancer Cell Int*. 2018; 10: 12935-018.
11. Zhang A, Sheng Y, Zou M. Antiproliferative activity of Alisol B in MDAMB- 231 cells is mediated by apoptosis, dysregulation of mitochondrial functions, cell cycle arrest and generation of reactive oxygen species. *Biomed Pharmacother*. 2017; 87: 110-117.

12. Doria G, Conde J, Veigas B, Giestas L, Almeida C, Assunção M et al. Noble metal nanoparticles for biosensing applications. *Sensors*. 2012; 12(2): 1657-1687.
13. Singh P, Kim YJ, Wang C, Mathiyalagan R, El-Agamy Farh M, Yang DC. Biogenic silver and gold nanoparticles synthesized using red ginseng root extract, and their applications. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 2016; 44(3): 811-6.
14. Sankar R, Karthik A, Prabu A, Karthik S, Shivashangari KS, Ravikumar V. *Origanum vulgare* mediated biosynthesis of silver nanoparticles for its antibacterial and anticancer activity. *Colloids Surf B: Biointerfaces*. 2013; 108: 80-4.
15. Vasanth K, Ilango K, MohanKumar R, Agrawal A, Dubey GP. Anticancer activity of *Moringa oleifera* mediated silver nanoparticles on human cervical carcinoma cells by apoptosis induction. *Colloids Surf B: Biointerfaces*. 2014; 117: 354-9.
16. Raj S, Mali SC, Trivedi R. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Enicostemma axillare* (Lam.) leaf extract. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018; 503(4): 2814-2819.
17. Mukherjee S, Chowdhury D, Kotcherlakota R, Patra S. Potential theranostics application of bio-synthesized silver nanoparticles (4-in-1 system). *Theranostics*. 2014; 4(3): 316.
18. Ahmed KBR, Nagy AM, Brown RP, Zhang Q, Malghan SG, Goering PL. Silver nanoparticles: significance of physicochemical properties and assay interference on the interpretation of in vitro cytotoxicity studies. *Toxicology in Vitro*. 2016; 38: 179–192.
19. Akpolat M, Topçu Tarladaçalşır Y, Uz YH, Sapmaz Metin M, Kızılay G. Kanser Tedavisinde Curcuminin Yeri. *Yeni Tıp Dergisi*. 2010;27: 142-147.
20. Brown JE. *Nutrition Now*. 2th edt, West Wadswort: Belmont; 1999.
21. Itharat A, Houghton PJ, Eno-Amooquaye E, Burke PJ, Sampson JH, Raman A. In vitro cytotoxic activity of Thai medicinal plants used traditionally to treat cancer. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004; 90: 33-38.
22. Aslam K, Nawchoo IA, Bhat MA, Ganie AH, Aslam N. Ethno-pharmacological review of genus *Primula*. *Int. J. Adv. Res.* 2014; 2(4): 29-34

23. Mostafa FA, Gamal MA, Sabrin IRM, Ehab ES. Antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolic constituents from *Primula elatior* L. aerial part. *Int. J. Pharmacognosy and Phytochem. Res.* 2014; 6(1): 74-78.
24. Aslam K, Nawchoo IA, Ganai BA. In vitro antioxidant, antibacterial activity and phytochemical studies of *Primula denticulata*-an important medicinal plant of Kashmir Himalaya. *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.* 2015; 5(3): 49-56.
25. Turker AU, Usta C. Biological screening of some Turkish medicinal plant extracts for antimicrobial and toxicity activities. *Nat. Prod. Res.* 2008; 22(2): 136-146.
26. Demir S, Turan I, Aliyazicioglu R, Yaman SO, Aliyazicioglu Y. *Primula vulgaris* extract induces cell cycle arrest and apoptosis in human cervix cancer cells. *J. Pharm. Anal.* 2018; 8(5): 307-311.
27. Turan I, Demir S, Aliyazicioglu R, Aliyazicioglu Y. Evaluation of antioxidant and cytotoxic properties of *Primula vulgaris* leaf extract. *KSU J Nat Sci.* 2017; 20(4): 361-367.
28. Kreeger PK, Lauffenburger DA. Cancer systems biology: a network modeling perspective. *Carcinogenesis.* 2010; 31(1): 2-8.
29. Cancer Facts Figures [Internet]. 2014 [Erişim Tarihi: 12 Kasım 2020]. Erişim Adresi: <https://www.cancer.org/research/cancer-factsstatistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2014.html>.
30. Hejmadi M. Introduction to cancer biology. Denmark: Ventus Publishing; 2013.
31. Alison MR. Cancer. London: Encyclopedia Of Life Sciences' Nature Publishing Group; 2001.
32. Tavassoli, FA, Devilee P. World Health Organization Classification of Tumours, Pathology and Genetics of the Breast And Female Genital Organs," Lyon IARC. 2003; 4: 227-228.
33. Svokos K, Salhia B, Toms S. Molecular biology of brain metastasis. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15(6): 9519-9530.
34. Göksu E, Kazan S. Metastazların Moleküler Mekanizmaları. *Türk Nöroşirürji Dergisi.* 2017; 27(2):137-142.

35. Taşdemiroğlu E. Tümör- Metastaz İlişkisi; 154 *Pediatric Solid Malign Tumor Olgusunun Analizi. Türk Nöroşirürji Dergisi.* 2003; 13: 8-11.
36. Reed JC. Dysregulation of apoptoz in cancer. *J Clin Oncol.* 1999; 17: 2941-2953.
37. Tamm I, Schriever F, Dorken B. Apoptoz: Implications of basic research for clinical oncology. *Lancet Oncol.* 2001; 2: 33-42.
38. Eichler AF, Chung E, Kodack DP, Loeffler JS, Fukumura D, Jain RK. The biology of brain metastases—translation to new therapies. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2011; 8(6): 344.
39. Ustaalioglu BB, Bilici A, Seker M, Salman T, Gumus M, Barisik N, et al. Metastasis of lobular breast carcinoma to the uterus in a patient under anastrozole therapy. *Onkologie.* 2009; 32(7): 424-426.
40. Yetimalar MH, Çallı AO. İnvaziv Duktal Meme Kanserinde Geç Genital Nüks: Olgu Sunumu. *Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi.* 2014; 17(4): 144-147.
41. HO A, Dowdy SF. Regulation of G1 cell-cycle progression by onkogenes and tumor suppressor genes. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2002; 1: 47-52.
42. Weinberg R. *The biology of cancer.* New York: Garland Science; 2006.
43. Fışkın K. Genetik ve kanser, genetik ve davranış. Öner C. Editör. *Genetik Kavramlar.* Ankara: Palme; 2002.
44. Kastan M, Bartek J. Cell cycle check points and cancer. *Nature.* 2004; 432: 316-323.
45. Cabadak H. Hücre Siklusu ve Kanser. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi.* 2008; 9(3): 51-61.
46. Arpacı N. TGFβ ve D Vitamininin MCF-7 Hücresinin Plazminojen Aktivatör Sistemi Üzerine Etkisi [Yüksek Lisans Tezi]. Konya: Selçuk Üniversitesi; 2015.
47. Taheri-Kafrani A, Shirzadfar H, Tavassoli-Kafrani E. Dendrimers and dendrimers-grafted superparamagnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, characterization, functionalization, and biological applications in drug delivery systems. Grumezescu A, editor. *Nano-and Microscale Drug Delivery Systems.* London: Elsevier; 2017.

48. Korkmaz Ş. MDA-MB-231 ve MCF-7 İnsan Meme Kanseri Hücre Soylarında Zeytin Yaprağı Ekstresinin Anti-Kanser İlaçlarla Kombinasyonunun Araştırılması [Uzmanlık Tezi]. Bursa: Uludağ Üniversitesi; 2012.
49. Eröz R, Karataş A, Alkoç OA, Baltacı D, Oktay M, Çolakoğlu S. Apoptozis hakkında bilinenler (Literatür Taraması). Düzce Tıp Dergisi. 2012; 14: 87-101.
50. Öztürk F. Apoptoz. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2002; 9(2): 143-148.
51. Baran Y. Kanser moleküler biyolojisi. Ankara: Kısayol Yayıncılık; 2018.
52. Solakoğlu Z. Apoptoz varlığı ya da yokluğu bir hastalık nedeni. Klinik Gelişim. 2009; 22(3): 20-25.
53. Rosser BG, Gores GJ. Liver cell necrosis: cellular mechanisms and clinical implications, Gastroenterology. 1995; 108(1): 252-75.
54. Erdim A. 2014. Meme Kanseri [İnternet]. 2014 [Erişim Tarihi: 20 Aralık 2020]. Erişim Adresi: [http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/anasayfalinkler/belge/meme\\_ca\\_2014.pdf](http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/anasayfalinkler/belge/meme_ca_2014.pdf).
55. İnanç S. Meme Kanserinin Doğal Seyri ve Prognostik Faktörler. Topuz E, editör. Meme Kanseri: Biyoloji, Tanı, Evreleme, Tedavi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü; 1997.
56. Keen A, Lennan E. Women's cancers. West Sussex: John Wiley & Sons Inc.; 2011.
57. Silvenberg E, Lubera J. Cancer Statistics. Cancer J Clin. 1987; 37(1): 2-19.
58. Alim Erzurum N. Türkiye'de ve Dünya'da kanser epidemiyolojisi [İnternet]. 2018 [Erişim Tarihi: 15 Aralık 2020]. Erişim Adresi: [https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/yayinlar/sunular/ulusal\\_kanser\\_haftasi\\_2018/Dr.\\_Dyt.\\_NURAL\\_ERZURUM\\_ALiM.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/yayinlar/sunular/ulusal_kanser_haftasi_2018/Dr._Dyt._NURAL_ERZURUM_ALiM.pdf)
59. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Aster J. Robbins and cotran pathologic basis of disease, Professional Edition: Expert Consult.Canada: Saunders; 2014.
60. Cengiz A. İn Situ Meme Kanserinde Cerrahi Tedavi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Sempozyum Dizisi; 4 Aralık 2006; İstanbul.

61. Ganz PA, Casillas JN, Coscarelli A. Estimating the human costs of cancer survivorship in children. *Ann Intern Med.* 2010; 152(7): 465.
62. Rosai J, Ackerman LV, Rosai J, Ackerman LV. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology.* 9th ed. Edinburg: Mosby; 2004.
63. Lester SC, Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JS. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease,* 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2010.
64. Smith RA, Andrews KS, Brooks D, Fedewa SA, Manassaram-Baptiste D, Saslow D, et al. Cancer screening in the United States, 2017: a review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening. *CA Cancer J Clin.* 2017; 67(2): 100-121.
65. Custodio-Santos T, Videira M, Brito MA. Brain metastasization of breast cancer, *Biochim. Biophys. Acta.* 2017; 1868(1): 132-147.
66. Deryugina EI, Quigley JP. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis, *Cancer Metast. Rev.* 2006; 25(1): 9-34.
67. Weigelt B, Peterse JL, Van 't Veer LJ. Breast cancer metastasis: markers and models, *Nat. Rev. Cancer.* 2005; 5(8): 591-602.
68. Tyczynski JE, Bray F, Parkin D. M. Breast cancer in europe. *ENCR Cancer Fact Sheets.* 2002; 2: 8.
69. King MC, Marks JH, Mandell JB; The New York Breast Cancer Study Group. Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations of *BRCA1* and *BRCA2*. *Science.* 2003;302(5645): 643-646.
70. Foulkes WD. Germline *BRCA1* mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *JNCI.* 2003; 95(19): 1482-1485.
71. Serova OM, Mazoyer S, Puget N, Dubois V, Tonin P, Shugart Y. et al. Mutations in *BRCA1* and *BRCA2* in breast cancer families: are there more breast cancer-susceptibility genes? *Am J Human Gen.* 1997; 60(3): 486-95.
72. Brannon-Peppas L, Blanchette JO. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012; 64: 206-212.

73. Chabner BA, Roberts Jr TG. Chemotherapy and the war on cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 2005; 5: 65.
74. Livshits Z, Rao RB, Smith SW. An Approach to Chemotherapy- Associated Toxicity. *Emerg. Med. Clin. N. Am.* 2014; 32(1): 167-203.
75. Makin, G. Principles of chemotherapy, *J. Paediatr. Child Health.* 2014; 24(4): 161-165.
76. Joo WD, Visintin I, Mor G. Targeted cancer therapy–Are the days of systemic chemotherapy numbered? *Maturitas.* 2013;76(4): 308-314.
77. Wang YC, Liu XQ, Sun TM, Xiong MH, Wang J. Functionalized micelles from block copolymer of polyphosphoester and poly( $\epsilon$ -caprolactone) for receptor-mediated drug delivery, *J Control Release.* 2008; 128(1): 32- 40.
78. Galluzzi L, Senovilla L, Vitale I, Michels J, Martins I, Kepp O, et al. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene,* 2012;31(15): 1869–1883.
79. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy : molecular mechanisms of action. *Eur. J. Pharmacol.* 2014; 5: 364–378.
80. Eastman A. The formation, isolation and characterization of DNA adducts produced by anticancer platinum complexes. *Pharmacol. Ther.* 1987; 34(2): 155–166.
81. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Ünsal-Kaçmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of Mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu. Rev. Biochem.* 2004; 73(1): 39–85.
82. Vitale I, Galluzzi L, Castedo M, Kroemer G. Mitotic catastrophe: a mechanism for avoiding genomic instability *Nat. Rev. Mol.* 2011; 12: 385.
83. Brozovic A, Ambriović-Ristov A, Osmak M. The relationship between cisplatin-Induced reactive oxygen species, glutathione, and BCL-2 and resistance to cisplatin *Crit. Rev.* 2010; 40(4): 347–359.
84. Soule H, Vazquez J, Long A, Albert S, Brennan M. A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 1973; 51(5): 1409-1416.
85. Chodosh LA. Ekspression of BRCA1 and BRCA2 in normal and neoplastic cells. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* 1998; 3: 389-402.



86. Comşa Ş, Cimpean A. The story of MCF-7 breast cancer cell line: 40 years of experience in research. *Anticancer Res.* 2015; 35: 3147-3154.
87. Burdall SE, Hanby AM, Lansdown MR, Speirs V. Breast cancer cell lines: friend or foe?, *Breast Cancer Res.* 2003; 5(2): 89.
88. Zucco F, De Angelis I, Stammati A. Cellular models for in vitro toxicity testing. Clynes M, editor. *Animal Cell Culture Techniques.* Berlin: Springer; 1998,
89. Tokur O, Aksoy A. In vitro sitotoksosite testleri. *Harran Üniversitesi Vet. Fakültesi Derg.* 2017; 6: 112-118.
90. Niles AL, Moravec RA, Hesselberth PE, Scurria MA, Daily WJ, Riss TL. A homogeneous assay to measure live and dead cells in the same sample by detecting different protease markers. *Anal. Biochem.* 2007; 366(2): 197-206.
91. Riss TL, Moravec RA, O'Brien MA, Hawkins EM, Niles A. Homogeneous multiwell assays for measuring cell viability, cytotoxicity and apoptosis. Minor L, editor. *Handbook of Assay Development in Drug Discovery.* Florida: Taylor & Francis Group; 2006.
92. Crouch S, Kozlowski R, Slater K, Fletcher J. The use of ATP bioluminescence as a measure of cell proliferation and cytotoxicity. *J. Immunol. Methods.* 1993; 160(1): 81-88.
93. Longo-Sorbello G, Saydam G, Banerjee D, Bertino J. Cytotoxicity and cell growth assays. Celis JE, editor. *Cell biology: a laboratory handbook.* Burlington: Elsevier Academic Press; 2006.
94. Fan F, Wood KV. Bioluminescent assays for high-throughput screening. *Assay Drug Dev Technol.* 2007; 5(1): 127-136.
95. Aydın Ç, Pehlivanoğlu S. Green synthesis of silver nanoparticles using *Rosmarinus officinalis* and cytotoxic effect on MCF-7 human breast cancer cells. *SdÜ Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2019; 10(2): 172-176.
96. Richards J. *Primula.* 2nd ed. Portland: Timber Press; 2003.
97. Öz G, Sarsağ Gümüş M, Kösesakal T, Yentür S. *Primula vulgaris* L.'nin Çiçek Renklerinin Fizyolojik ve Anatomik İncelenmesi. XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi; 04 Eylül 2002; Malatya.

98. Davis PH Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Vol. 6). Edinburg: Edinburg Univ. Press; 1978.
99. Yang Z, Klionsky D. Eaten alive: a history of macroautophagy. Nat Cell Biol. 2010; 12: 814-822.
100. Hatır-Türken Y. *Primula vulgaris* Huds.'Un (Primulaceae) İki Alttürünün Fenotipik Plastisitelerinin Karşılaştırılması [Yüksek Lisans Tezi]. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi; 2003.
101. Çolak Z. *Primula vulgaris* Huds.'un Moleküler, Yağ Asidi ve Toprak Özelliklerinin Alttür Düzeyinde Değerlendirilmesi [Yüksek Lisans Tezi]. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi; 2012.
102. Shostak LG, Marchyshyn SM, Kozachok SS, Karbovska RV. Investigation of phenolic compounds of *Primula veris* L. J. Educ. Health Sport. 2016; 6(5): 424-432.
103. Ravishankar D, Rajora AK, Greco F, Osborn HM. Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. Int. J. Biochem. Cell Biol. 2013; 45(12): 2821-2831.
104. Bufalo MC, Candeias JM, Sforcin JM. In vitro cytotoxic effect of Brazilian green propolis on human laryngeal epidermoid carcinoma (HEp-2) cells. Evid.-Based Complementary Altern. Med. 2009; 6(4): 483-487.
105. Prajapati DN, Knox JF, Emmons J, Saeian K, Csuka ME, Binion DG. Leflunomide treatment of Crohn's disease patients intolerant to standard immunomodulator therapy, J. Clin. Gastroenterol. 2003; 37: 125- 133.
106. Chiej R. The mcdonald encyclopedia of medicinal plants.London: Macdonald&Co. Ltd.; 1988.
107. Baytop T. Türkiye'de bitkiler ile tedavi geçmiste ve bugün. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 1999.
108. Najmus-Saqib Q, Alam F, Ahmad M. Antimicrobial and cytotoxicity activities of the medicinal plant *Primula macrophylla*. J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 2009; 24(3): 697-701.

109. Özkan MT. *Primula vulgaris* (Çuha Çiçeği) Ekstraktlarının Hplc ile Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitesinin İncelenmesi [Yüksek Lisans Tezi]. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi; 2015.
110. Surh YJ. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat. Rev. Cancer.* 2003; 3(10): 768- 780.
111. Turan I, Deger O, Aliyazicioglu Y, Demir S, Kilinc K, Sumer A. Effects of Turkish propolis on expression of hOGG-1 and NEIL-1. *Turk J Med Sci.* 2015; 45: 804-811.
112. Hu ML. Dietary polyphenols as antioxidants and anticancer agents: more questions than answers. *Chang Gung Med. J.* 2011; 34(5): 449-460.
113. Tokalov SV, Kind B, Wollenweber E, Gutzeit HO. Biological effects of epicuticular flavonoids from *Primula denticulata* on human leukemia cells. *J. Agric. Food Chem.* 2004; 52(2): 239-245.
114. Orhan DD, Ozcelik B, Hosbas S, Vural M. Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. *Turk. J. Biol.* 2012; 36: 672-686.
115. Singh S, Ali S, Singh M. Biological screening of plants extract showing hypoglycaemic and wound healing properties: *Capparis zeylanica* and *Primula denticulata*. *A. J. P. C. T.* 2014; 2(12): 1338-1345.
116. Ohsumi Y. Molecular dissection of autophagy: two ubiquitin-like systems. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2001; 2: 211-6.117. Demir N, Alayli Gungor A, Nadaroglu H, Demir Y. The antioxidant and radical scavenging activities of Primrose (*Primula vulgaris*). *Eur. J. Exp. Biol.* 2014; 4(2): 395-401.
118. Demir S, Turan I, Aliyazıcıoğlu Y. Antioxidant properties of *Primula vulgaris* flower extract and its cytotoxic effect on human cancer cell lines. *KSU J. Agric Nat.* 2019; 22(1): 78-84.
119. Behzad S, Pirani A, Mosaddegh M. Cytotoxic activity of some medicinal plants from Hamedan district of Iran. *Iran. J. Pharm. Sci.* 2014; 13: 199-205.

120. Herrero M, Cifuentes A, Ibanez E. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae: a review. *Food Chem.* 2006; 98(1): 136-148.
121. Azmir J, Zaidul I, Rahman M, Sharif K, Mohamed A, Sahena F, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *J. Food Eng.* 2013; 117(4): 426-436.
122. Aguleira JM. Solid-Liquid Extraction. In: *Extraction optimization in food engineering.* Florida: CRC Press; 2003.
123. Moldoveanu S, David V. Solvent Extraction. Moldoveanu S, David V, editors. *Modern sample preparation for chromatography.* Amsterdam: Elsevier; 2015.
124. Takeuchi TM, Pereira CG, Braga MEM, Marostica MR, Leal PF, Meireles MAA. Low pressure solvent extraction, microwave assisted, and ultrasound from condimentary plant. Angela M, Meireles A, editors. *Extracting bioactive compounds for food products.* Florida: CRC Press; 2008.
125. Beykaya M, Çağlar A. Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma. *AKU J. Sci. Eng.* 2016; 16(3): 631-641.
126. Bhushan B. *Hand Book of Nanotechnology* Springer. Berlin: Springer; 2010.
127. Çıracı S, Özbay E, Gülseren O, Demir HV, Bayındır M, Oral A, et al. Türkiye’de nanoteknoloji. *TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi.* 2005; 453.
128. Dahl R, Chung KF, Buhl R, Magnussen H, Nonikov V, Jack D, et al. Efficacy of a new once-daily long-acting inhaled  $\beta$ 2-agonist indacaterol versus twice-daily formoterol in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2010; 65: 473-479.
129. Chen W, Cai W, Zhang L, Wang G. Sonochemical processes and formation of gold nanoparticles within pores of meso porous silica. *J. Colloid Interface Sci.* 2001; 238: 291-295.
130. Knoll B, Keilmann F. Near-field probing of vibrational absorption for chemical microscopy. *Nature.* 1999; 399: 134-137.

131. Wiley BJ, Sun Y, Xia Y. Synthesis of silver nanostructures with controlled shapes and properties. *Acc. Chem. Res.* 2007; 40: 1067-1076.
132. Nartop P. Biyosentetik gümüş nanopartiküllerinin *Pyracantha coccinea* bitkisinin gövde eksplantlarının yüzey sterilizasyonunda kullanımı. *Pamukkale Univ Muh Bilim Derg.* 2016; 23(6): 759-761.
133. Miralles P, Church TL, Harris AT. Toxicity, Uptake, and Translocation of Engineered Nanomaterials in Vascular plants. *Environ. Sci. Technol.* 2012; 46: 9224-9239.
134. Patil MP, Kim GD. Eco-friendly approach for nanoparticles synthesis and mechanism behind antibacterial activity of silver and anticancer activity of gold nanoparticles. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2017; 101: 79-92.
135. Roduner E. Size matters: why nanomaterials are different. *Chem. Soc. Rev.* 2006; 35(7): 583-592.
136. Mukherjee P, Ahmad A, Mandal D, Senapati S, Sainkar SR, Khan MI, Sastry M. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: a novel biological approach to nanoparticle synthesis. *Nano Letters.* 2001; 1(10): 515-519.
137. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case, study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J. Colloid Interface Sci.* 2004; 275(1): 177-182.
138. De Matteis V, Rinaldi R. Toxicity assessment in the nanoparticle era. Saquib Q, Faisal M, Al-Khedhairy AA, Alatar AA, editors. *Cellular and molecular toxicology of nanoparticles.* Cham: Springer; 2018.
139. Devatha CP, Thalla AK. Green synthesis of nanomaterials. Bhagyaraj SM, Oluwafemi OS, Kalarikkal N, Thomas S, editors. *Synthesis of inorganic nanomaterials.* Sawstom: Woodhead Press; 2018.
140. Gurav AS, Kudas TT, Wang LM, Kauppinen EI, Joutsensaari J. Generation of nanometer-size fullerene particles via vapor condensation. *Chem. Phys. Lett.* 1994; 218(4): 304-308.

141. Magnusson MH, Deppert K, Malm JO, Bovin JO, Samuelson L. Size selected gold nanoparticles by aerosol technology. *Nanostructured Materials*. 1999; 12(1-4): 45-48.
142. Shameli K, Ahmad MB, Yunus WMZW, Rustaiyan A, Ibrahim NA, Zargar M, et al. Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity. *Int J Nanomedicine*. 2010; 5: 875.
143. El-Nour KMA, Eftaiha AA, Al-Warthan A, Ammar RA. Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arab. J. Chem*. 2010; 3(3): 135-140.
144. Rajput N. Methods of preparation of nanoparticles-A review. *IJAET*. 2015; 7(6): 1806.
145. Note C, Kosmella S, Koetz J. Poly (ethyleneimine) as reducing and stabilizing agent for the formation of gold nanoparticles in w/o microemulsions. *Colloids Surf, A Physicochem Eng Asp*. 2006; 290(1-3): 150-156.
146. Nguyen DT, Kim DJ, So MG, Kim KS. Experimental measurements of gold nanoparticle nucleation and growth by citrate reduction of H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub>. *Adv. Powder Technol*. 2010; 21(2): 111-118.
147. Lalitha A, Subbaiya R, Ponmurugan P. Green synthesis of silver nanoparticles from leaf extract *Azadirachta indica* and to study its anti-bacterial and antioxidant property. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 2013; 2(6): 228-235.
148. Schröfel A, Kratošová G. Biosynthesis of metallic nanoparticles and their applications. Devarajan P, Dandekar P, D'Souza A, editors. *Intracellular delivery*. Cham: Springer; 2011.
149. Yıldız N. Gümüş nanopartiküllerinin liken özü ile biyosentezi. Ankara: Ankara Üniversitesi; 2011. Rapor No: 10ö4343004.
150. Rajan R, Chandran K, Harper SL, Yun SI, Kalaichelvan PT. Plant extract synthesized silver nanoparticles: an ongoing source of novel biocompatible materials. *Ind Crops Prod*. 2015;70: 356-373.
151. Ahmed S, Annu, Ikram S, Yudha S. Biosynthesis of gold nanoparticles: A green approach, *J. Photochem. Photobiol. B Biol*. 2016; 161: 141–153.
152. Singh P, Kim YJ, Zhang D, Yang DC. Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms, *Trends Biotechnol*. 2016; 34(7): 588-599.

153. Bapat RA, Chaubal TV, Joshi CP, Bapat PR, Choudhury H, PandeyM, et al. An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry. *Mater. Sci. Eng.* 2018; 91: 887-898.
154. Iravani S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chem.* 2011; 13(10): 2638-2650.
155. Rao KJ, Paria S. Green synthesis of silver nanoparticles from aqueous *Aegle marmelos* leaf extract. *Mater. Res. Bull.* 2013; 48(2): 628-634.
156. Saxena A, Tripathi RM, Zafar F, Singh P. Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous solution of *Ficus benghalensis* leaf extract and characterization of their antibacterial activity. *Mater. Lett.* 2012; 67(1): 91-94.
157. Jain S, Mehata MS. Medicinal plant leaf extract and pure flavonoid mediated green synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial property. *Scientific reports.* 2017; 7(1): 15867.
158. Akhtar MS, Panwar J, Yun YS. Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 2013; 1(6): 591-602.
159. Kharissova OV, Dias HR, Kharisov BI, Pérez BO, Pérez VMJ. The greener synthesis of nanoparticles. *Trends Biotechnol.* 2013; 31(4): 240-248.
160. Dahl JA, Maddux BL, Hutchison JE. Toward greener nanosynthesis. *Chem. Rev.* 2007; 107(6): 2228-2269.
161. Gan PP, Li SFY. Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver nanoparticles and their applications. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 2012; 11: 169-206.
162. Kumar V, Yadav SK. Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2009; 84: 151-157.
163. Mittal AK, Kaler A, Banerjee UC. Free radical scavenging and antioxidant activity of silver nanoparticles synthesized from flower extract of *Rhododendron dauricum*. *Nano Biomed. Eng.* 2012; 4: 118-124.

164. Philip D. *Mangifera indica* leaf-assisted biosynthesis of well-dispersed silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2011; 78(1): 327-331.
165. Baker S, Rakshith D, Kavitha KS, Santosh P, Kavitha HU, Rao Y, et al. Plants: Emerging as Nanofactories towards Facile Route in Synthesis of Nanoparticles. *BioImpacts*. 2013; 3(3): 111-117.
166. Wagner AJ, Bleckmann CA, Murdock RC, Schrand AM, Schlager JJ, Hussain SM. Cellular interaction of different forms of aluminum nanoparticles in rat alveolar macrophages. *J. Phys. Chem. B*. 2007; 111(25): 7353-7359.
167. Monopoli MP, Åberg C, Salvati A, Dawson KA. Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials. *Nat. Nanotechnol*. 2012; 7(12): 779-786.
168. Sintubin L, Verstraete W, Boon N. Biologically produced nanosilver: Current state and future perspectives. *Biotechnol. Bioeng*. 2012; 109(10): 2422-2436.
169. Ajnai G, Chiu A, Kan T, Cheng CC, Tsai TH, Chang J. Trends of gold nanoparticle-based drug delivery system in cancer therapy. *J Exp Clin Cancer Res*. 2014; 6: 172-178.
170. Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer res*. 1986; 46: 6387-6392.
171. Tan G, Onur MA, Sağlam N. Utilization of gold nanostructures in biomedical applications. *Turk J Biol*. 2012; 36: 607-621.
172. Vazquez-Muñoz R, Borrego B, Juárez-Moreno K, García-García M, Morales JDM, Bogdanchikova N, et al. Toxicity of silver nanoparticles in biological systems: Does the complexity of biological systems matter? *Toxicol. Lett*. 2017; 276: 11-20.
173. Ramar M, Manikandan B, Marimuthu NP, Raman T, Mahalingam A, Subramanian P et al. Synthesis of silver nanoparticles using *Solanum trilobatum* fruits extract and its antibacterial, cytotoxic activity against human breast cancer cell line MCF 7. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2015; 140: 223–8.
174. Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science*. 2004; 306: 990-5.



175. MfouoTynga I, ElHusseini A, AbdelHarith M, Abrahamse H. Photodynamic ability of silver nanoparticles in inducing cytotoxic effects in breast and lung cancer cell lines. *Int J Nanomed.* 2014; 9(1):3771-3780
176. Khorrami S, Zarrabi A, Khaleghi M, Danaei M, Mozafari MR. Selective cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles against the MCF-7 tumor cell line and their enhanced antioxidant and antimicrobial properties. *Int J Nanomedicine.* 2018;13: 8013-8024.
177. Jang SJ, Jun YI, Tettery CO, Mo KK, Mook SH. In-vitro anticancer activity of green synthesized silver nanoparticles on MCF-7 human breast cancer cells. *Mater. Sci. Eng. C.* 2016; 68: 430-435.
178. Vivek R, Thangam R, Muthuchelian K, Gunasekaran P, Kaveri K, Kannan S. Green biosynthesis of silver nanoparticles from *Annona squamosa* leaf extract and its in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells. *Process Biochem.* 2012; 47: 2405-2410.
179. Rashidipour M, Heydari R. Biosynthesis of silver nanoparticles using extract of olive leaf: synthesis and in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells. *J Nanostruct Chem.* 2014; 4: 112.
180. Devaraj P, Kumari P, Aarti C, Renganathan A. synthesis and characterization of silver nanoparticles using cannonball leaves and their cytotoxic activity against MCF-7 cell line. *J Nanotechnol.* 2013; 2013: 1-5.
181. Şahin B, Demir E, Aygün A, Gündüz H, Şen F. Investigation of the effect of pomegranate extract and monodisperse silver nanoparticle combination on MCF-7 cell line. *J. Biotechnol.* 2017; 260: 79-83.
182. Mariadoss AVA, Ramachandran V, Shalini V, Agilan B, Franklin JH, Sanjay K, et al. Green synthesis, characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles by *Malus domestica* and its cytotoxic effect on (MCF-7) cell line. *Microbial Pathogenesis.* 2019; 135: 103609.
183. Venugopal K, Ahmad H, Manikandan E, Thanigai Arul K, Kavitha K, et al. The impact of anticancer activity upon *Beta vulgaris* extract mediated biosynthesized silver nanoparticles (ag-NPs) against human breast (MCF-7), lung (A549) and pharynx (Hep-2) cancer cell lines. *J. Photochem. Photobiol. B.* 2017; 173: 99-107.

184. Sudha A, Jeyakanthan J, Srinivasan P. Green synthesis of silver nanoparticles using *Lippia nodiflora* aerial extract and evaluation of their antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects. *Resource-Efficient Technologies*.2017; 3(4): 506-515.
185. Krishnan V, Bupesh G, Manikandan E, Thanigai AK, Magesh S, Kalyanaraman R, et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Piper nigrum* concoction and its anticancer activity against MCF-7 and Hep-2 cell lines. *J Antimicro*. 2016; 2: 123.
186. Kelkawi AHA, Abbasi Kajani A, Bordbar AK. Green synthesis of silver nanoparticles using *Mentha pulegium* and investigation of their antibacterial, antifungal and anticancer activity. *IET Nanobiotechnology*. 2017; 11(4): 370-376.
187. Sathishkumar P, Vennila K, Jayakumar R, Yusoff ARM, Hadibarata T, Palvannan T. Phyto-synthesis of silver nanoparticles using *Alternanthera tenella* leaf extract: an effective inhibitor for the migration of human breast adenocarcinoma (MCF-7) cells. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2016; 39(4): 651-659.
188. Kajani AA, Bordbar AK, Esfahani SHZ, Khosropour AR, Razmjou A. Green synthesis of anisotropic silver nanoparticles with potent anticancer activity using *Taxus baccata* extract. *RSC Adv*. 2014; 4: 61394-61403.
189. Venugopal K, Rather HA, Rajagopal K, Shanthi MP, Sheriff K, Illiyas M, et al. Synthesis of silver nanoparticles (Ag NPs) for anticancer activities (MCF 7 breast and A549 lung cell lines) of the crude extract of *Syzygium aromaticum*. *J. Photochem. Photobiol. B*. 2017; 167: 282-289.
190. Rathi Sre PR, Reka M, Poovazhagi R, Axeldota Kumar M, Murugesan K. Antibacterial and cytotoxic effect of biologically synthesized silver nanoparticles using aqueous root extract of *Erythrina indica lam*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*.2015; 135: 1137-1144.
191. Mata AT, Proença C, Ferreira AR, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, Araújo MEM. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices, *Food Chem*. 2007; 103(3): 778-786.
192. Gurunathan S, Han J, Park JH, Kim JH. A green chemistry approach for synthesizing biocompatible gold nanoparticles. *Nanoscale Res. Lett*. 2014; 9: 248.

193. Paul S, Sasikumar CS, Singh A. Fabrication of silver nanoparticles synthesized from *Ganoderma lucidum* into the cotton fabric and its antimicrobial property. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2015; 7: 53-6.
194. Nireesha GR, Divya L, Sowmya C, Venkateshan N, Niranjan Babu M, Lavakumar V. Lyophilization/ Freeze Drying: An Review. *Int J Nov Trends Pharma Sci.* 2013; 3(4): 87-98.
195. Pržić Dejan S, Ružić Nenad Lj, Petrović Slobodan D. Lyophilization: The process and industrial use. *Chem Ind.* 2004; 58(12): 552-562.
196. Bindhu MR, Umadevi M. Synthesis of monodispersed silver nanoparticles using *Hibiscus cannabinus* leaf extract and its antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* 2013; 101: 184-190.
197. Shobha G, Moses V, Ananda S. Biological synthesis of copper nanoparticles and its impact. *Int. j. pharm. Sci. Invent.* 2014; 3(8): 6-28.
198. Hunter RJ. Zeta potential in colloid science: principles and applications. San Francisco: Academic Press; 1981.
199. Ali A, Zafar H, Zia M, U<sub>1</sub> Haq I, Phull AR, Ali JS, et al. Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. *Nanotechnol Sci Appl.* 2016; 19(9): 49-67.
200. Wang ZL. Transmission electron microscopy and spectroscopy of nanoparticles. *Characterization of nanophase materials.* 2000; 3: 37-80.
201. ACEA Biosciences. Quantitative assessment of cell quality, viability and proliferation. California: Biosciences inc: 2012.
202. Anthony DF, Sin YY, Vadrevu S, Advant N, Day JP, Byrne AM, et al.  $\beta$ -Arrestin 1 inhibits the GTPase-activating protein function of ARHGAP21, promoting activation of RhoA following angiotensin II type 1A receptor stimulation. *Mol Cell Biol.* 2011; 31(5): 1066-1075.
203. Roche Diagnostics. GmbH. introduction of the RTCA SP instrument. RTCA SP instrument operator's manual. A. California: Acea Biosciences Inc.; 2008. 14-16.

204. Atienzar FA, Tilmant K, Gerets HH, Toussaint G, Speeckaert S, Hanon E, et al. The use of real-time cell analyzer technology in drug discovery defining optimal cell culture conditions and assay reproducibility with different adherent cellular models. *J. Biomol. Screen.* 2011; 16(6): 575-587.
205. Urcan E, Haertel U, Styllou M, Hickel R, Scherthan H, Reichl FX. Real-time xCELLigence impedance analysis of the cytotoxicity of dental composite components on human gingival fibroblasts. *Dent. Mater.* 2010; 26(1): 51-58.
206. Kuppusamy P, Yusoff MM, Maniam GP, Govindan N. Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications: An updated report. *Saudi Pharm J.* 2016; 24(4): 473-84.
207. Sastry M, Mayya KS, Bandyopadhyay K. pH Dependent changes in the optical properties of carboxylic acid derivatized silver colloidal particles. *Colloids and Surfaces A.* 1997; 127(1-3): 221-8.
208. Sastry M, Patil V, Sainkar SR. Electrostatically controlled diffusion of carboxylic acid derivatized silver colloidal particles in thermally evaporated fatty amine films. *J Phys Chem B.* 1998; 102(8): 1404-10.
209. Shahverdi AR, Minaeian S, Shahverdi HR, Jamalifar H, Nohi AA. Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of Enterobacteria: a novel biological approach. *Process Biochem.* 2007; 42(5): 919-23.
210. Kalimuthu K, Babu RS, Venkataraman D, Bilal M, Gurunathan S. Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*. *Colloids and Surfaces B.* 2008; 65(1): 150-3.
211. Logeswari P, Silambarasan S, Abraham J. Synthesis of silver nanoparticles using plants extract and analysis of their antimicrobial property. *J. Saudi Chem. Soc.* 2012; 19(3): 311-317.
212. Premkumar J, Sudhakar T, Dhakal A, Shrestha JB, Krishnakumar S, Balashanmugam P. Synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) from cinnamon against bacterial pathogens. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2018; 15: 311-316.

213. Jyoti K, Baunthiyal M, Singh A. Characterization of Silver Nanoparticles Synthesized Using *Urtica dioica* Linn. Leaves and Their Synergistic Effects with Antibiotics. J. Radiat. Res. Appl. Sci. 2016; 9: 217-227.



## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Burcu YAZICI
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
E-Posta Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fakülte	Eğitim Fakültesi
Bölümü	Biyoloji Öğretmenliği
Mezuniyet Yılı	2013

Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Moleküler Tıp
Mezuniyet Tarihi	-

Makale ve Bildiriler	
Yazıcı B., Çiftçi H., Er Çalışkan Ç., Karakoç H. Y. Bitki Ekstraktları Kullanılarak Metal Esaslı Nanopartiküllerin Sentezi ve Biyoaktif Özellikleri. 1st International Ahi Evran Medicine Congress, 11-14 April 2019, KIRŞEHİR (Ek 1).	
Çiftçi H., Er Çalışkan Ç., Öztürk K., Yazıcı B. Yeşil Yöntemle Sentezlenen Biyoaktif Nanopartiküller BSJ Eng Sci. 2021; 4(1): 29-42. (Ek 2).	

## EKLER

EK 1. Tez çalışmasından uluslararası bilimsel toplantıda sunulmuş özet metin.



SS-257

### BİTKİ EKSTRAKTARI KULLANILARAK METAL ESASLI NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ

Burcu Yazıcı<sup>1</sup>, Harun Çiftçi<sup>2</sup>, Çiğdem Er Çalışkan<sup>3</sup>, Hilal Yıldız Karakoç<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Kırşehir

<sup>2</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kırşehir

<sup>3</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Kırşehir

<sup>4</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Kırşehir

**Amaç:** Bitkilerin; sağlıklı yaşam, hastalıklardan korunma, hastalıkların tedavisine yardımcı olma, yaşam kalitesini ve süresini yükseltme gibi amaçlarla kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Son yıllarda sentetik ilaçların kullanımı sonucu meydana gelen ciddi yan etkiler ve bunların yol açtığı medikal ve ekonomik sorunlar, endüstrileşmiş ülkelerin çevre kirliliğini önlemek amacıyla ekolojik dengeyi koruyucu yaklaşımları ve ayrıca doğal ilaçların etkin ve aynı zamanda yan etkiden arınmış olduğu düşüncesi gibi faktörler sonucu bitkilerle tedavi tekrar popüler hâle gelmiştir.

**Tartışma:** Tıbbi bitkilerde bulunan flavonoidler, fenolik asitler ve tanenler gibi fenolik bileşiklerin büyük çoğunluğu serbest radikal süpürücü özelliği, dolayısıyla antioksidan fonksiyonu sayesinde biyoaktif maddeler olarak adlandırılmaktadır. Tıbbi bitki ekstraktları, kurutulmuş veya taze bitkilerin yapraklarından, meyvelerinden, çiçeklerinden, çekirdeklerinden, reçinelerinden ve odunlarından bir takım metotlarla elde edilen karışımlardır. Bitkilerden değişik yöntemlerle elde edilen ekstraktları hem indirgeyen hem de stabilizatör olarak kullanarak 100 nm'den daha küçük boyutta, suda çözülebilen, çevreci, biyo-uyumlu, toksik olmayan ve çekimleri kontrol edilebilen altın, gümüş ve paladyum nanopartiküllerde sentezlenebilir. Yeşil sentez olarak da bilinen biyolojik sentez; yüksek basınç, sıcaklık, enerji ve zehirli kimyasalların kullanılmasına gerek olmadan nanopartiküllerin kolay ve çevre dostu olarak elde edilmesi için kullanılan en pratik yöntemdir. Boyutu 100 nanometrenin altında olan nanopartiküller, hacimsel yapılı malzemelerden çok daha farklı ve üstün olarak kabul edilen özellikler sergilemelerinden dolayı, günümüzde tıp, biyoteknoloji, biyomedikal, ve kimya sektörleri başta olmak üzere birçok alanda etkili olarak kullanılmaktadır.

**Sonuç:** Bu çalışmada, tıbbi ve aromatik bileşikler, bitki ekstrasyon yöntemleri, nanopartikül senteziyle ilgili çalışmalar ve bitki ekstraktı yüklü nanopartiküllerin yeşil senteziyle ilgili konularda literatürdeki güncel çalışmalar araştırılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Nanopartikül, Yeşil Sentez, Bitki Ekstrasyonu, Biyoaktivite

SS-257

### SYNTHESIS AND BIOACTIVE PROPERTIES OF METAL-BASED NANOPARTICLES USING PLANT EXTRACTIONS

**Introduction:** Plants; It has been increasing day by day for healthy life, protection from diseases, helping to treatment of diseases, improving the quality of life and duration. In recent years, serious side effects caused by the use of synthetic drugs and medical and economic problems caused by them, industrialized countries to prevent environmental pollution to protect the ecological balance as well as the effect of natural drugs as well as effective and also free from side effects has become.

**Discussion:** The majority of phenolic compounds, such as flavonoids, phenolic acids and tannins found in medicinal plants, are called bioactive substances due to their free radical scavenging properties and therefore antioxidant function. Medicinal plant extracts are the mixtures obtained from a number of methods from the leaves, fruits, flowers, seeds, resins and wood of dried or fresh plants. It can be synthesized in gold, silver and palladium nanoparticles that are less than 100 nm in size, water-soluble, environmentally-biocompatible, non-



## YEŞİL YÖNTEMLE SENTEZLENEN BİYOAKTİF NANOPARTİKÜLLER

Harun ÇİFTÇİ<sup>1\*</sup>, Çiğdem ER ÇALIŞKAN<sup>2</sup>, Kübra ÖZTÜRK<sup>3</sup>, Burcu YAZICI<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD, 40100, Kırşehir, Türkiye

<sup>2</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 40100, Kırşehir, Türkiye

<sup>3</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Proje Yönetim Ofisi, 40100, Kırşehir, Türkiye

<sup>4</sup>Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Tıp ABD, 40100, Kırşehir, Türkiye

**Özet:** Nanoteknoloji, bilimin tüm alanlarında uygulanan umut verici teknolojilerden biri haline gelmiştir. Biyoteknolojik olarak üretilen metalik nanopartiküller (NP), biyomedikal ve fizyokimyasal alanlardaki kapsamlı uygulamaları nedeniyle bilimsel uygulama ve teknoloji platformlarında ilgi görmektedir. Son yıllarda sentetik ilaçların kullanımı sonucu meydana gelen yan etkiler ve bunların yol açtığı medikal ve ekonomik sorunlar tedavilerde bitki kullanımını tekrar popüler hale getirmiştir. Bitkilerden değişik yöntemlerle elde edilen bitki ekstraktları ile 100 nm'den daha küçük boyutta, ekolojik, toksik olmayan metal esaslı (altın, gümüş, palladyum, mangan, çinko gibi) NP'ler sentezlenebilmektedir. NP'lerin boyutları ve şekilleri değiştikçe partiküllerin fiziksel, kimyasal, biyoaktif, optik, elektriksel, katalitik ve toksisite özellikleri de değişmektedir. Yeşil sentez olarak da bilinen biyolojik sentez; yüksek basınçta, yüksek sıcaklık değerlerine ve toksik kimyasallara gerek duyulmadan NP'lerin kolay ve ekolojik olarak elde edilmesinde kullanılan pratik yöntemdir. NP'lerin yeşil sentezi bakteri, mantar, maya, virüs, mikroalg ve bitki biyokütlesi/özütü gibi farklı biyomateriyaller kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Metalik NP'lerin bitki aracılı biyosentezi, bitkide bulunan organik fonksiyonel gruplar içeren biyomoleküller (proteinler, vitaminler, amino asitler, enzimler, polisakaritler, sitratlar, organik asitler gibi) aracılığıyla gerçekleşir. Medikal alanlarda NP'lerin artan uygulaması, NP'lerin biyolojik etkileşimlerinin mekanizmalarının ve potansiyel toksisitelerinin daha iyi anlaşılmasını gerekli kılmaktadır. Bu derlemede, fiziksel, kimyasal ve yeşil sentez dâhil NP'lerin sentez yolları açıklanmaktadır. Ayrıca literatürde güncel çalışmalarda verilen partikül karakterizasyonu yöntemleri ve partiküllerin antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktivite gibi özellikleri ayrıntılı olarak tartışılmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Nanopartikül, Yeşil sentez, Nanopartiküllerin etki mekanizmaları, Biyoaktif özellikler

### Bioactive Nanoparticles Synthesized By Green Method

**Abstract:** Nanotechnology has become one of the promising technologies applied in all fields of science. Biotechnologically produced metallic nanoparticles (NP) attract attention in scientific application and technology platforms due to their extensive in applications biomedical and physicochemical fields. In recent years, the side effects caused by the use of synthetic drugs the medical and economic problems caused by them have made the use of plants in the treatment popular again. Non-toxic, ecological, metal-based and size of less than 100 nm NPs (such as gold, silver, palladium, manganese, zinc) using obtained plant extracts from plants by different methods can be synthesized. As the size and shape of the NPs change, the physical, chemical, bioactive, optical, electrical, catalytic and toxicity properties of the particles also change. Biological synthesis, also known as green synthesis; It is the preferred practical method for obtaining NPs easily and ecologically without the need for high pressure, high temperatures values and toxic chemicals. Green synthesis of NPs is performed using different biomaterials such as bacteria, fungi, yeast, viruses, microalgae and plant biomass/extract. Plant-mediated biosynthesis of metallic NPs occurs through biomolecules (such as proteins, vitamins, amino acids, enzymes, organic acids, polysaccharides and citrates) containing organic functional groups in the plant. Increasing application of NPs in medical fields requires a better understanding of the mechanisms of biological interactions and potential toxicities of their. In this review, synthesis ways of NPs including physical, chemical and green synthesis are explained. In addition, the particle characterization methods given in current studies in the literature and the properties of particles such as antibacterial, antifungal and antiviral activity are discussed in detail.

**Keywords:** Nanoparticle, Green synthesis, Mechanisms of effect nanoparticles, Bioactive properties

\*Sorumlu yazar (Corresponding author): Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD, 40100, Kırşehir, Türkiye

E-mail: harunciftci@yahoo.com (H. ÇİFTÇİ)

Harun ÇİFTÇİ <https://orcid.org/0000-0002-3210-5566>

Gönderi: 25 Ekim 2020

Received: October 25, 2020

Çiğdem ER ÇALIŞKAN

<https://orcid.org/0000-0001-5821-7489>

Kabul: 26 Kasım 2020

Accepted: November 26, 2020

Kübra ÖZTÜRK

<https://orcid.org/0000-0002-4408-0164>

Yayınlanma: 01 Ocak 2021

Published: January 01, 2021

Burcu YAZICI

<https://orcid.org/0000-0003-2087-1361>

Cite as: Çiftçi H, Çalışkan ÇE, Öztürk K, Yazıcı B. 2021. Bioactive nanoparticles synthesized by green method. BSJ Eng Sci, 4(1): 29-42.

### 1. Giriş

Nanoteknoloji; fizik, kimya, biyoloji, çevre, malzeme bilimi, tıp ve eczacılık gibi çeşitli bilim alanlarındaki

teknolojik ilerlemeler ve ileri düzeydeki araştırmaların desteğiyle kilit disiplinlerden biri olarak ortaya çıkmıştır (Çiftçi ve ark., 2019). Nanoteknoloji, madde boyutunun 1-100 nm aralığına düşecek şekilde manipüle edilmesi ve

