

**T.C.
İSTİNYE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS)

**YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLEN
NANOPARTİKÜLLERİN ANTİKANSER AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ**

NOURHAN SAMİR

**DANIŞMAN
“DR. ÖĞR. ÜYESİ DİLŞAD ÖZERKAN”**

KANSER BİYOLOJİSİ VE FARMAKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

İSTANBUL-2022

**T.C.
İSTİNYE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS)

**YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLEN
NANOPARTİKÜLLERİN ANTİKANSER AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ**

NOURHAN SAMİR

**DANIŞMAN
“DR. ÖĞR. ÜYESİ DİLŞAD ÖZERKAN”**

KANSER BİYOLOJİSİ VE FARMAKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

İSTANBUL-2022

TEZ ONAYI

Bu tezin Yüksek Lisans derecesi için gereken tüm şartları sağladığını tasdik ederim.

Anabilim Dalı Başkanı
Prof. Dr. Engin ULUKAYA

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans derecesi için gereken tüm şartları sağladığını tasdik ederim.

Dr. Öğr. Üyesi Dilşad ÖZERKAN
Danışman

Okuduğumuz ve savunmasını dinlediğimiz bu tezin bir Yüksek Lisans derecesi için gereken tüm kapsam ve kalite şartlarını sağladığını beyan ederiz.

Prof. Dr. Engin ULUKAYA
[Jüri başkanının ünvan ad ve soyadı]

Dr. Öğr. Üyesi Dilşad ÖZERKAN
[Danışmanın ünvan ad ve soyadı]

Prof. Dr. D. Serap KURUCA
[Jüri üyesi ünvan ad ve soyadı]

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak sunduğum, “Yeşil Sentez Yöntemi ile Elde Edilen Nanopartiküllerin Antikanser Aktivitesinin İncelenmesi” adlı çalışmanın, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Nourhan SAMIR

İTHAF

Anne babama, hayatımın temel dayanağı olduğu, beni bu dünyaya getirdiği, bana iyi değerler aşıladığı ve bana en iyi eğitimi verdiği için.

Tüm kalbimle tezimi anneme adadım çünkü onsuz başaramazdım. Hayatım boyunca günlük kutsamaların beni koruyor ve beni iyilik yoluna götürüyor. Bu yüzden sabrınız ve sevginiz için eserlerimi sunuyorum annem, seni seviyorum.



TEŞEKKÜR

Benim için yepyeni olan Sinirbilim ve Elektrofizyoloji alanına dair bir Őeyler öğrenmeyi sevdirecek, tez danışmanım olmayı kabul eden; zorlandığım her aşamada anlayışla, büyük emek harcayarak bana olan desteklerini esirgemeyen; en yoğun ve yorgun zamanlarında bile sorularımı cevapsız bırakmayan hocam Sn. Dr. Öğr. Üyesi DİLŞAD ÖZERKAN; Tez projemin tasarımını yaparken sahip olduğu bilimsel merak ve teknik bilgisi ile süreci hızlandırmamı sağlayan Çalışmaya katılım sağlayan tüm gönüllülere; Hayatımın her alanında bana inanan ve zorlandığımda elimden tutan aileme; Ve kışıma renk veren dostlarıma teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
ETİK BEYANI	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	Vİİİ
SİMGE VE KISALTIMA LİSTESİ.....	İX
ÖZET	X
ABSTRACT.....	Xİİ
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. NANOPARTİKÜL NEDİR?.....	2
2.1.1. NP'lerin sınıflandırılması	2
2.1.2. Nanopartikül Sentezi	4
2.1.3. NP'lerin karakterizasyonu.....	4
2.1.4. NP'lerin fizikokimyasal özellikleri.....	5
2.1.5. NP uygulamaları	5
2.2. Rutenyum Hakkında	7
2.2.1. Rutenyum Mekanizması.....	10
2.2.2. Rutenyum Nanopartiküllerinin Kontrollü Salımı	12
2.2.3. Kolorektal Kanser Tedavisinde Platin İlaçlarla Rutenyum İlaçların Karşılaştırılması	13
2.3. YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ	14
2.4. KARAYOSUNLARI VE TIBBİ ÖZELLİKLERİ	17
2.5. KOLOREKTAL KANSER.....	18
3. MATERYAL VE METOD.....	21
3.1. Karayosunu Bitki ekstraktının ve Nano Rutenyumun Hazırlanışı	21
3.2. Nanopartikül Karakterizasyonu	21
3.2.1. Zeta Sizer Ölçümleri	21
3.2.2. FTIR Analizleri.....	21
3.2.3. EDX-SEM analizleri	22
3.2.4. Absorpsiyon Ölçümleri	22
3.2.5. Rutenyum tabanlı Nanopartiküllerin Salım Analizi	22

3.3.	Hücre Kültürü	22
3.4.	HOESCHT33342/Propidyum iyodür ikili boyama.....	23
3.5.	İstatistiksel Analiz.....	23
4.	BULGULAR.....	24
4.1.	KARAKTERİZASYON BULGULARI.....	24
4.2.	HOM-RUNP'LERİN SALIM BULGULARI	28
4.3.	HÜCRE CANLILIĞI BULGULARI	29
4.4.	APOPTOZ SONUÇLARI.....	30
5.	TARTIŞMA	32
6.	SONUÇ, ÖNERİLER VE TOPLUMA KATKI	35
7.	KAYNAKÇA.....	37
	EKLER.....	47
	EK 1- TEZ İNTİHAL RAPORU	47
	EK 2- ÖZGEÇMİŞ	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. RuNP'lerin ve HOM-RuNP'lerin UV-VIS Spektrumu.....	18
Şekil 2. HOM-RuNP'lerin FTIR analizi.....	19
Şekil 3. HOM-RuNP'lerin Zeta potansiyel ölçümü.....	20
Şekil 4. HOM-RuNP'lerin FE-SEM görüntüsü.....	20
Şekil 4. HOM-RuNP'lerin FE-SEM görüntüsü.....	20
Şekil 5. RuNP'lerin ve HOM-RuNP'lerin EDX ölçümü.....	21
Şekil 6. Kümülatif HOM-RuNP salım yüzdesi görülmektedir.....	22
Şekil 7. Grafik, 48 saat sonra her bir dozda tüm grupların canlılıkları arasındaki farkı göstermektedir.....	23
Şekil 8. HOM ve HOM-RuNP IC ₅₀ değerleri görülmektedir.....	24
Şekil 9. Hücre ölümü, gruplar halinde immünofloresan görüntülerle tespit edildi. HCT116 gruplarının Hoescht/PI çift boyama görüntülerine göre apoptotik hücreler pembe renk olarak görüldü. Her grup için rakamların büyütülmesi sırasıyla 20x ve 40x'tir.....	25

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

IUAC: International Union Against Cancer
KHAK: Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
KHDAK: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri
KKH +: Kanser Kök Hücre Pozitif
KKH -: Kanser Kök Hücre Negatif
KLF-4: Kruppel-Like Factor 4
KOAH: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
KRAS: Kirsten Rat Sarcoma Virus
LCA: Leber Konjenital Amorozisi
LCC: Large Cell Carcinoma/Büyük Hücreli Karsinom
LCFA: Amerika Akciğer Kanseri Vakfi
LCM: Laser-capture microdissection
LKB1: Liver Kinase B1
MACS: Magnetic Activated Cell Sorting/Manyetik Aktivasyonlu Hücre Ayırma
MCL1: Myeloid Leukemia Cell
MET: Mesenchymal Epithelial Transition
mRNA: Mesajcı RNA
MTT: Cell Viability Assay
NANOG: Nanog Homeobox
OCT-4: Octamer- Binding Transcription Factor 4
OD260/280: Nükleik Asit Saflık ve Konsantrasyon ölçüm değeri
PBS: Posphate Buffered Saline
PCR: Polimerase Chain Reaction
PIK3CA: Phosphoinositide-3-Kinase
PS: Penycillin Streptomycin
qPCR: Real Time Polimerase Chain Reaction
RB: Retinoblastoma
RNA: Ribonükleik asit ix
SCC : Squamous Cell Carcinoma/SquamoZ Hücre Karsinomu
SOX2: Sex determining region Y-box 2
TBE: Tris-Borik Asit- EDTA xii
TNM: Kanser Evreleme Sistemi
TP53: Tümör Protein 53
TSP-1: Trombospondin-1
TTF1: Tiroid Transkripsiyon Faktör-1
UICC: Union Internationale Contre le Cancer
UV: Ultraviyole Işını
VEGF-A: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-A
WHO: World Health Organization/ Dünya Sağlık Örgütü
 $\Delta\Delta CT$: Real Time PCR CT Değeri

ÖZET

Samir, N. (2022). Yeşil Sentez Yöntemi ile Elde Edilen Nanopartiküllerin Antikanser Aktivitesinin İncelenmesi. İstinye Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kanser Biyolojisi ve Farmakolojisi Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Yeşil sentez ile nanoparçacıkların üretiminin uygulanması kolay, maliyeti düşük ve verimi oldukça yüksektir ve son yıllarda çevreye zararı olmaması nedeniyle çok fazla tercih edilmektedir. Bu çalışmada, biyojenik rutenyum nanopartikülleri (RuNP'leri), indirgeyici madde olarak Homalothecium sericeum (HOM) karayosunu etanol ekstraktları kullanılarak sentezlenmiştir. Literatürde Rutenyum tabanlı yeşil sentez yöntemi ile sentezlenmiş başka bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Yeşil sentez yöntemi ile elde edilen RuNP'lerin karakterizasyonları, UV-Vis spektrofotometresi (UV-Vis), Zetasizer, FTIR ve EDX-SEM ile yapılmıştır ve hücre canlılığı üzerine etkinliği HCT-116-insan kolorektal kanseri hücrelerinde denenmiştir. HOM-RuNP'lerin salım analizleri ise UV- spektroskopik ölçümle gerçekleştirilmiştir. Hoescht/PI ikili boyama ile hücrelerin apoptozise gidip gitmediği floresan mikroskop yardımıyla teyit edilmiştir. Yaklaşık 70-80 nm boyutlarında olduğu belirlenen ve 5,71µg/mL dozunda HOM-RuNP uygulanan hücrelerin canlılığının %50'nin altına düştüğü ve apoptoza girdiği belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları dikkate alındığında, yeşil sentez yöntemi ile oluşturulan rutenyum tabanlı nanopartiküllerin farmasötik endüstrisinde potansiyel bir antikanser ajanı olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Yeşil Sentez, Antikanser Aktivitesinin, Nanopartiküllerin, Kanser.

ABSTRACT

Smair, N. (2022). Synthesis And Anticancer Effects Of New Generation Nanoparticle From Plants With Eco-Friendly Methods. Istinye University, Institute of Health Science, Cancer Biology and Pharmacology Department. Master Thesis. Istanbul.

Green synthesis is a simple, low-cost, and high-efficiency method of producing nanoparticles. In this study, we used ethanol extracts of *Homalothecium sericeum* (HOM) moss as a reducing agent to synthesize biogenic ruthenium nanoparticles (RuNPs). The ruthenium-based green synthesis methodology has still not been used in any other work in the literature. UV-Vis spectrophotometer (UV-Vis), Zetasizer, FTIR, and EDX-SEM were used to characterize RuNPs synthesized using the green synthesis method, and their effectiveness on cell viability was tested on HCT116 human colorectal cancer cells. UV spectroscopic measurements were used to examine the release of HOM-RuNPs. The presence of apoptosis in the cells was confirmed using Hoechst/PI double staining and a fluorescence microscope. The viability of the cells, which were estimated to be 70-80 nm in size and given HOM-RuNP at a dosage of 5.71 g/mL, was found to be less than 50%, indicating that they had initiated apoptosis. Based on the findings of this research, ruthenium-based nanoparticles synthesized using a green synthesis technique might be exploited as a possible anticancer drug in the pharmaceutical industry.

Keywords: Green Synthesis, Antikanser Activity, Nanoparticles, Cancer.

1. GİRİŞ

NP'lerin sentezlenmesine yönelik fiziksel ve kimyasal yaklaşımlar gibi geleneksel metodlar toksik metabolitleri nedeniyle çevre kirliliğine sebep olmaktadır. Dolayısıyla bunu önleyecek alternatiflerden olan ve bitkilerin kullanıldığı yeşil sentez yöntemi son yıllarda popüler hale gelmiştir. Yeşil sentez ile nanoparçacıkların üretiminin uygulanması kolay, maliyeti düşük ve verimi oldukça yüksektir. Bitki özütünde bulunan fitokimyasallar indirgeyici ajan olarak kullanılmakta, dolayısıyla NP'lerin toksisitesini azaltmaktadır. Metal-proteinlerin model bileşikler olduklarından, metal kompleksleri ve heterosiklik ligandlar biyoinorganik kimyada özellikle ilgi çekicidir. Son yıllarda inorganik ilaçlar tıbbi terapötiklerin önemli bir bölümünü bir şekilde çalışılmıştır. Rutenyum, normal hücrelere düşük toksisiteye sahip olması, tümör hücreleri tarafından daha kolay emilmesi ve vücuttan kolayca atılması nedeniyle tercih edilmektedir (Schott vd. 2011). Önemli avantajlarından biri de özellikle ligand yapıları sayesinde hasta dokularını seçici olarak bulup bağlamalarıdır (Thangavel vd. 2017). Platinlerin aksine farklı yerlerden DNA çapraz bağlarına bağlanarak sisplatin dirençli tümörlerde terapötik etki göstermiştir (Aird vd. 2002). Şu ana kadar yapılan çalışmalarda yeşil sentez yöntemiyle yapılmış Ru tabanlı nanopartikül bazlı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmada kullanılacak karayosunu bitkisi olan Homalotheciumsericeum'un (HOM) etanol ekstraktı önceki çalışmamızda düşük konsantrasyonda en yüksek sitotoksik etkiyi göstermiş ve bu çalışma da kullanılmasına karar verilmiştir (Ozerkan vd. 2021). Bu sefer, HOM bitkisi kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile elde edilen Ru nanotaşıyıcının HCT116 kolorektal kanser hücre canlılığına ve apoptozuna etkisinin incelenmesi için bu tez çalışması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. NANOPARTİKÜL NEDİR?

Nanopartiküller (NP), 1 ila 100 nm arasında boyut aralığına sahip küçük malzemelerdir. Özelliklerine, şekillerine veya boyutlarına göre farklı sınıflara ayrılabilirler. Farklı gruplar arasında metal NP'ler (Metal nanopartiküller, saf metallere (örn., altın, platin, gümüş, titanyum, çinko, seryum, demir ve talyum) veya bunların bileşiklerinden (örn. oksitler, hidroksitler, sülfürler, fosfatlar, florürler ve klorürler), seramik NP'ler ve polimerik NP'ler bulunmaktadır. NP'ler, yüksek yüzey alanları ve nano ölçekli boyutları nedeniyle benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Optik özelliklerinin, görünür bölgedeki absorpsiyon nedeniyle farklı renkler veren boyuta bağlı olduğu bildirilmektedir. Reaktiviteleri, toklukları ve diğer özellikleri de benzersiz boyutlarına, şekillerine ve yapılarına bağlıdır. Bu özelliklerinden dolayı kataliz, görüntüleme, tıbbi uygulamalar, enerji tabanlı araştırmalar ve çevresel uygulamalar gibi çeşitli ticari ve evsel uygulamalar için uygun adaylardır. Araştırmacılar, boyutun bir maddenin fizyokimyasal özelliklerini etkileyebileceğini keşfettiğinde, bu malzemelerin önemi fark edilmiştir 20 nm altın (Au), platin (Pt), gümüş (Ag) ve paladyum (Pd) NP'ler sırasıyla karakteristik şarap kırmızısı rengine, sarımsı gri, siyah ve koyu siyah renklere sahiptir (Shin vd, 2016).

NP'lerin kendisi basit moleküller değildir ve üç katmandan oluşur:

- (a) Çeşitli küçük moleküller, metal iyonları, yüzey aktif maddeler ve polimerler ile işlevselleştirilebilen yüzey katmanı.
- (b) Her yönüyle çekirdekten kimyasal olarak farklı bir malzeme olan kabuk tabakası.
- (c) NP'nin merkezi kısmı olan ve genellikle NP'nin kendisine atıfta bulunan çekirdek (Shin vd, 2016).

2.1.1 NP'lerin sınıflandırılması

NP'ler genel olarak morfolojilerine, boyutlarına ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak çeşitli kategorilere ayrılır. Fiziksel ve kimyasal özelliklere dayanarak, iyi bilinen NP sınıflarından bazıları verilmiştir. Karbon nanotüpler (KNT'ler), karbon bazlı NP'lerin iki ana sınıfını temsil eder.

Fullerenler, karbonun allotropik formları gibi küresel içi boş kafesten yapılmış nanomalzemeler içerir. Elektriksel iletkenlikleri, yüksek dayanıklılığı, yapıları, elektron

afiniteleri nedeniyle kayda değer ticari ilgi yaratmışlardır. Bu malzemeler, düzenlenmiş beşgen ve altıgen karbon birimlerine sahipken, her bir karbon sp² hibritleşmesi yapar. Bunlar yapısal olarak kendi üzerinde yuvarlanan grafit levhaya benzerler. Haddelenmiş levhalar tek, çift veya çok duvarlı olabilir ve bu nedenle sırasıyla tek duvarlı (SWNTs), çift duvarlı (DWNTs) veya çok duvarlı karbon nanotüpler (MWNTs) olarak adlandırılırlar (Elliott vd, 2013). Metal NP'ler tamamen metal öncülerinden yapılıdır. Alkali ve soy metallerin NP'leri, yani Cu, Ag ve Au, elektromanyetik güneş spektrumunun görünür bölgesinde geniş bir absorpsiyon bandına sahiptir. Gelişmiş optik özellikleri nedeniyle metal NP'ler birçok araştırma alanında uygulamada kullanılmaktadır. Altın NP kaplama, yüksek kaliteli SEM görüntüleri elde etmeye yardımcı olan elektronik akışı geliştirmek için, SEM örnekleme için yaygın olarak kullanılır (Dreaden vd, 2012).

Seramik NP'leri, ısı ve ardışık soğutma yoluyla sentezlenen inorganik metalik olmayan katılardır. Bu NP'ler, kataliz, fotokataliz (Fotokataliz genellikle katı bir yüzeyde, genellikle bir yarı iletken bir fotokimyasal reaksiyonun katalizi olarak tanımlanır) ve görüntüleme uygulamaları gibi uygulamalarda kullanılmaları nedeniyle araştırmacıların büyük ilgisini çekmektedir (Thomas vd, 2015). Amorf, polikristal, yoğun, gözenekli veya içi boş formlarda bulunabilirler (Sigmund vd, 2006).

Yarı iletken NP'ler geniş bant aralıklarına sahiptir, dolayısıyla özelliklerinde önemli değişiklikler göstermiştir. Bu nedenle fotokataliz, foto optik ve elektronik cihazlarda çok önemli malzemelerdir (Sun, 2000).

Polimerik NP'ler normalde organik bazlı NP'lerdir ve literatürde bunun için özel bir terim olan polimer nanoparçacık (PNP) topluluğu kullanılır. Çoğunlukla nanoküreler veya nanokapsüller şekillidirler (Mansha vd, 2017). Toplam kütlesi genellikle katı olan ve diğer moleküller küresel yüzeyin dış sınırında adsorbe edilen matris parçacıklarıdır. Genel olarak, bir lipid NP, çapı 10 ila 1000 nm arasında değişen karakteristik olarak küreseldir. Polimerik NP'ler gibi, lipid NP'ler de lipitten yapılmış katı bir çekirdeğe sahiptir ve bir matris, çözünür lipofilik moleküller içerir (Rao ve Geckeler 2011).

Yüzey aktif maddeler veya emülgatörler, NP'lerin dış çekirdeğini stabilize eder (Rawat vd, 2011). Lipid nanoteknolojisi (Mashaghi vd, 2013), kanser tedavisinde ilaç taşıyıcıları ve dağıtımını (Puri vd, 2009) ve RNA salınımı gibi çeşitli uygulamalar için lipid NP'lerin tasarımına ve sentezine odaklanan özel bir alandır. (Gujrati vd, 2014).

2.1.2. Nanopartikül Sentezi:

NP'lerin sentezi için çeşitli yöntemler kullanılabilir, ancak bu yöntemler genel olarak iki ana sınıfa ayrılır:

- (1) Aşağıdan yukarıya yaklaşım (Bottom-up approach),
- (2) Yukarıdan aşağıya yaklaşım (Top-down approach) (Wang ve Xia, 2004).

Yukarıdan aşağıya sentez (Top-down synthesis): Bu yöntemde yıkıcı yaklaşım kullanılır.

Daha küçük birimlere ayrılan daha büyük moleküllerden başlar ve daha sonra bu birimler uygun NP'lere dönüştürülür. Bu yöntemin örnekleri, öğütme, fiziksel buhar biriktirme (PVD) ve diğer ayrıştırma teknikleridir.

Aşağıdan yukarıya sentez (Bottom-up synthesis): NP'ler nispeten daha basit maddelerden oluştuğu için bu yaklaşım tersine kullanılır, bu nedenle bu yaklaşıma inşa etme yaklaşımı da denir. Bu duruma örnek olarak sedimantasyon ve indirgeme teknikleri verilebilir. Sol jel, yeşil sentez, eğirme ve biyokimyasal sentezi içerir (Iravani, 2011).

2.1.3. NP'lerin karakterizasyonu

NP'lerin çeşitli fizikokimyasal özelliklerinin analizi için farklı karakterizasyon teknikleri uygulanmıştır. Bunlar, X-ışını kırınımı (XRD), X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS), kızılötesi (IR), SEM, TEM, Brunauer–Emmett–Teller (BET) ve parçacık boyutu analizi gibi teknikleri içerir.

Morfolojik çalışmalar için farklı karakterizasyon teknikleri vardır, ancak polarize optik mikroskopi (POM), SEM ve TEM gibi mikroskopik teknikler bunlardan en önemlileridir. SEM tekniği elektron tarama prensibine dayalıdır ve nano ölçekte NP'ler hakkında mevcut tüm bilgileri sağlar. İnsanların bu tekniği yalnızca nanomateryallerin morfolojisini değil, aynı zamanda NP'lerin yığın veya matris içindeki dağılımını da incelemek için kullandığı geniş literatür verisi mevcuttur. Benzer şekilde, TEM elektron geçirgenliği ilkesine dayanmaktadır, bu nedenle çok düşük büyütmeden yüksek büyütme kadar dökme malzeme hakkında bilgi sağlayabilir. Altın NP'lerin farklı morfolojileri bu teknikle incelenir.

Yapısal özellikler, yapıştırma malzemelerinin bileşimini ve doğasını incelemek için birincil öneme sahiptir. XRD, NP'lerin yapısal özelliklerini ortaya çıkarmak için en önemli karakterizasyon tekniklerinden biridir. Ayrıca Debye Scherer formülü ile partikül

boyutu hakkında kabaca fikir verir (Khan, 2017). Bu teknik, hem tek hem de çok fazlı NP tanımlamasında iyi çalışmaktadır (Emery vd,2016). XPS en hassas teknik olarak kabul edilir ve NP malzemelerindeki elementlerin tam element oranını ve tam bağlanma yapısını belirlemek için yaygın olarak kullanılır. Yüzeye duyarlı bir tekniktir ve genel kompozisyonu ve derinlikle kompozisyon varyasyonunu bilmek için çalışmalarda kullanılabilir. UV/VİS- difüz yansıma spektrometresi (DRS), optik absorpsiyon, geçirgenlik ve yansımaya ölçmek için kullanılabilen tam donanımlı bir cihazdır. UV'ye ek olarak, PL, fotoaktif NP'lerin ve diğer nanomalzemelerin optik özelliklerini incelemek için değerli teknikler de dikkate alır. Bu teknik, malzemelerin absorpsiyon veya emisyon kapasitesi hakkında ek bilgi sunar. PL spektrumu, çalışmanın doğasına bağlı olarak emisyon veya absorbans olarak kaydedilebilir (Khan, 2017).

2.1.4. NP'lerin fizikokimyasal özellikleri

Geniş yüzey alanı, mekanik olarak güçlü, optik olarak aktif ve kimyasal olarak reaktif gibi çeşitli fizikokimyasal özellikler, NP'leri çeşitli uygulamalar için benzersiz kılar. NP'lerin optik ve elektronik özellikleri büyük ölçüde birbirine bağlıdır. Örneğin, soy metaller NP'leri boyuta bağlı optik özelliklere sahiptir ve dökme metalin spektrumunda mevcut olmayan güçlü bir UV-görünür sönme bandı sergiler. Metal NP'lerinin katı haldeki sıvılardan daha yüksek termal iletkenliğe sahip olduğu iyi bilinen bir gerçektir. Örneğin, oda sıcaklığında bakırın termal iletkenliği, sudan yaklaşık 700 kat, motor yağından ise yaklaşık 3000 kat daha fazladır. Alüminyum Oksit (Al_2O_3) gibi oksitler bile sudan daha yüksek termal iletkenliğe sahiptir. Nanoakışkanlar, nanometrik ölçekli katı parçacıkların su, etilen glikol veya yağlar gibi sıvılara dağıtılmasıyla üretilir. Son zamanlarda su veya etilen içindeki CuO veya Al_2O_3 NP'lerden oluşan nanoakışkanların ileri termal iletkenlik sergilediği gösterilmiştir. (Cao, 2002).

2.1.5 NP uygulamaları

Basit veya karmaşık yapıdaki nano boyutlu inorganik partiküller, benzersiz, fiziksel ve kimyasal özellikler sergilemekte ve çok sayıda fiziksel, biyolojik, biyomedikal ve farmasötik uygulamada kullanılacak yeni nano cihazların geliştirilmesinde giderek daha önemli bir malzemeyi temsil etmektedir (Loureiro vd, 2016; Martis vd, 2012 ve Nikalje, 2015). NP'ler, genellikle ilaçların terapötik etkinliğinin artması, yan etkilerin

zayıflaması ve hasta uyumunun artmasıyla sonuçlanan optimum dozaj aralığında ilaç verme yetenekleri nedeniyle tıbbın her dalından artan bir ilgi görmüştür (Alexis vd, 2008). Son yıllarda, etkili ilaç dağıtım cihazları olarak biyolojik açıdan parçalanabilen NP'lerin geliştirilmesini sağlamıştır. Ag NP'ler, antimikrobiyal aktivitelerinden dolayı yara örtülerinde, kateterlerde ve çeşitli ev ürünlerinde giderek daha fazla kullanılmaktadır (AshaRani vd, 2009). İlaç salım araştırmalarında, ilaçları hedef bölgeye etkili bir şekilde iletebilen ve böylece yan etkileri en aza indirirken terapötik faydayı artıran çeşitli polimerler kullanılmıştır. Terapötik olarak optimum derece ve doz ile farmakolojik olarak aktif ilaçların hedef bölgesine kontrollü salımını sağlayan bu tür taşıyıcıların tasarlanması, esas amaç olmuştur Nano parçacıkların küçükboyutu nedeniyle onkolojide, özellikle görüntüleme büyük avantaj sağlayabilir. Ayrıca, 10 ila 100 nm'lik küçük boyutlu nanopartiküller, tümörlerin etkili bir lenfatik drenaj sisteminden yoksun olması nedeniyle, seçici olarak tümör bölgelerinde birikmelerine izin verir. Dolayısıyla, gelecekte kanser tedavisinde bir tümörü tespit edecek, görüntüleyecek ve daha sonra tedavi edecek çok işlevli nano parçacıklar üretilebilir (Nie ve Simons 2007). Ayrıca nano aygıtlar, kanser hücrelerinin geride bıraktığı proteinleri ve diğer biyobelirteçleri tespit edebilen ve bir hastanın kanının tek bir damlasından erken evrelerde kanseri tespit edip teşhis edebilen sensör test çiplerini hazırlamak için kullanılabilir (Zheng vd, 2005). Nano partiküller, partikülün vücuttaki tümörün içine yerleştirildiği ve dışarıdan fotoğraf ışığıyla aydınlatıldığı kanser fotodinamik tedavisinde kullanılabilir. Parçacık ışığı emer ve eğer parçacık metal ise, ışıktan gelen enerji nedeniyle ısınır. Diğer vücut hücreleriyle reaksiyona girmeden tümör hücresiyle kimyasal olarak reaksiyona giren ve onu yok eden ışık sayesinde yüksek enerjili oksijen molekülleri üretilir. Fotodinamik terapi, tümörlerle başa çıkmak için noninvaziv bir teknik olarak önem kazanmıştır. 0,5–3 nm çapında ve 20–1000 nm uzunluğunda karbon nano tüpler, DNA mutasyonunun tespiti ve hastalık protein biyobelirteçlerinin tespiti için kullanılır. Boyutu 10 nm'den küçük olan dendrimerler, kontrollü salımlı ilaç dağıtımı için ve görüntü kontrast maddeleri olarak faydalıdır (Nahar M, Dutta T ve ark.2006).

Tümör büyümesi sırasında, anjiyogenez, kusurlu hipervaskülatür ve yetersiz bir lenfatik drenaj sistemi ile sonuçlanır. Bu durum, nanopartiküllerin "EPR: (artan geçirgenlik ve tutulum) yoluyla tümörlere pasif olarak hedeflenmesi kavramına yol açmıştır (Greish, 2007). EPR, makromoleküllerin veya ilaç dağıtım nanoparçacıklarının (>400 nm kesim

boyutu) tercihen tümör dokularında birikmesine ve yayılmasına izin veren benzersiz bir özelliktir (Hobbs vd, 1998). Uzun sirkülasyonlu ilaç taşıyıcı nanopartiküller tümör dokularına ekstrasvazyon yapabilir, birikebilir ve terapötik ilacı hücre dışı alanda lokal olarak serbest bırakabilir. Nanopartiküllerin dokuya difüzyonu, ekstrasvazyon ve hepatik filtrasyondan kaçış yoluyla biyolojik engelleri aşmak için uygun olduğu artık kabul edilmektedir. Nanopartiküller, çeşitli fonksiyonel grupların bir nanopartiküle bağlanmasına ve böylece belirli tümör hücrelerine bağlanmasına izin veren yüksek yüzey alanı / hacim oranı gibi özel bir özelliğe sahiptir. Ayrıca, 10 ila 100 nm küçük boyutlu nanopartiküller, tümörlerin etkili bir lenfatik drenaj sisteminden yoksun olması nedeniyle tercihen tümör bölgelerinde birikmelerine izin verir. Nanoteknolojiye dayalı ilaç dağıtımı üç özelliğe dayanmaktadır: i) ilaçların etkin bir şekilde kapsüllemesi, ii) söz konusu ilaçların vücudun hedeflenen bölgesine başarılı bir şekilde verilmesi, iii) bu ilacın orada başarılı bir şekilde salınması. Altınla kaplanmış 120 nm çapındaki nano kabuklar, Rice Üniversitesi'nden Prof. Jennifer tarafından farelerdeki kanser tümörlerini öldürmek için kullanılmıştır. Bu nano kabukların, nano kabuk yüzeyine antikorlar veya peptitler konjuge edilerek kanserli hücrelere bağlanması hedeflenmiştir. Tümörün bulunduğu bölge, altını yeterince ısıtan ve kanser hücrelerini öldüren kızılötesi bir lazerle ışınlanmaktadır (Loo vd, 2004).

Endüstriyel ve ev uygulamalarında mühendislik NP'lerinin artan alanı, bu tür malzemelerin çevreye salınmasına yol açmaktadır. Mühendislik malzemesi uygulamaları, çevresel risklerin değerlendirilmesinde en önemli maruziyet yollarını sunan yeraltı suyu ve topraktaki NP konsantrasyonunu artırabilir (Golobic vd, 2012). Yüksek yüzey/kütle oranı nedeniyle, doğal NP'ler, kirleticilerin katı/su ayrımında önemli bir rol oynarlar, NP'lerin yüzeyine emilebilir, doğal NP'lerin oluşumu sırasında birlikte çöktülebilir veya kirletici maddelerin adsorbe edildiği NP'lerin toplanmasıyla yakalanabilir. Çevre ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı civa, kurşun, talyum, kadmiyum ve arsenik gibi ağır metallerin doğal sulardan uzaklaştırılması büyük ilgi görmüştür. (Swadeshmukul vd, 2001).

2.2.1 Rutenyum Hakkında

Rutenyum, biyolojik sistemlerde bulunmayan, çok sayıda ligandla kompleks oluşturma yeteneğine sahip, nadir bulunan bir soy metaldir (Gopal vd, 1999). Rutenyum,

umut verici antikanser ve antimetastatik terapötiklerin geliştirilmesine yol açan benzersiz özelliklere sahiptir.

Platinyum (Pt) bazlı antikanser ilaçları kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılmasına rağmen, bunların toksisitesi ve kolorektal kanser hücrelerinin Pt ilaçlarına karşı direnci, alternatif metal bazlı ilaçların araştırılmasına olan ilgiyi artırmıştır. Rutenyum (Ru) bazlı bileşikler, benzersiz kimyasal özelliklerinden dolayı umut verici antikanser aktivite sergilemiştir. Diğer geçiş metalleri arasında rutenyum (Ru), Pt'ye daha iyi bir alternatiftir. Ru, geçiş metali serisinin ikinci sırasındaki merkezi konumu nedeniyle hem erken hem de geç geçiş metali özellikleri gösterir. Ru'nun 4d alt kabuğu kısmen doldurulmuştur ve Ru'nun çeşitli tümör hücre hatlarına karşı antikanser ajanlar olarak işlev görebilen bağ oluşumu yoluyla çok çeşitli kompleksler oluşturmasını sağlayan birçok değer içerir (Kostova vd, 2006). Rutenyum ayrıca değişen kimyasal "sertlik" ve elektronegatifliğe sahip bir dizi farklı elementle güçlü kimyasal bağlar oluşturabilir. Bu özellik, çok çeşitli biyomoleküllere bağlanmayı kolaylaştırır (Santamaria vd, 2013). Ru- komplekslerinin, hücre büyümesi, bölünmesi, çoğalması ve göçü ile ya doğrudan ya da dolaylı olarak ilişkili olan farklı hücre sinyal yollarını düzenleyerek kolorektal kanser hücrelerinde antikanser aktivitelerini uyguladıkları bildirilmektedir. Ayrıca rutenyum komplekslerine ilgi, sisplatine direnç geliştirmiş veya sisplatinin inaktif olduğu tümörler üzerinde terapötik aktivite gösterdikleri zaman başlamıştır (Bianca vd, 2014).

RuIV ve RuIII, aktif olmayan rutenyum türleridir, RuII ise aktif türlerdir. Bu nedenle, bir RuIII veya RuIV merkezi ile sentezlenen kompleksler, RuII'ye indirgenerek vücutta aktive edildiklerinden 'ön ilaçlar' olarak adlandırılır. 'İndirgeme yoluyla aktivasyon' mekanizması, seçici toksisite ve daha düşük genel toksisite sağlayan bazı rutenyum türlerinin özel bir özelliği olarak belirtilmiştir (Han ve Dyson 2006). Bu mekanizma ile hizalanma RuII bileşikleri, RuIII bileşikleri ile karşılaştırıldığında, genellikle belirli bir nükleotide karşı daha yüksek reaktivite göstermiştir (Groessl vd, 2008). İlk olarak, hidroliz yoluyla kompleksi aktive eden bir ikame reaksiyonu meydana gelir. Ardından, ikinci ikame bağlı su ligandını hedef biyomolekül ile değiştirir.

RuIII kompleksleri in vivo olarak RuII'ye indirgenir ve molekül "aktive edilir". Bazı ligandların ayrışmasından sonra biyolojik hedeflerle etkileşime girebilen daha kararsız bir türüretilir. RuII türleri daha sonra nükleik asitleri koordine edebilir. Ru(III)-kompleksleri kararlı termodinamik ve kinetiğe sahiptir ve hipoksik ve asidik koşullar altında çalışmak için bir ön ilaç olarak hareket etmede etkilidir (Lin vd, 2018). RuIII 'ön

ilaçlardan RuII bileşiklerine indirgeme, tümör hipoksik ortamlarda özellikle etkilidir. Tümör hücreleri, sağlıklı dokuya göre daha düşük oksijen içeriğine ve pH'a sahiptir, bu da rutenyumu daha aktif RuII durumuna dönüştürür. Tümör hücrelerinin metabolizması daha yüksektir ve bu nedenle oksijen hızla kullanılır. Hızla büyüyen tümörlerde, yeni kan damarlarının büyümesi (neovaskülarizasyon veya anjiyogenez olarak adlandırılır) sıklıkla ayak uyduramaz, böylece doku hipoksik ve hatta anoksik hale gelir (Clarke vd, 1999). Bu durum, hücrenin apoptozuna yol açan DNA'nın çapraz bağlanmasına izin verir. Alternatif olarak rutenyum, transferrine bağlanarak vücuttaki demiri taklit edebilir. Daha sonra hücre yüzeyindeki transferrin reseptörleri tarafından hücreye alınır (Jakupec vd, 2008). Rutenyum bileşikleri, aşağıdaki özellikleri sundukları için tıbbi uygulamalar için oldukça önemlidir: çoklu oksidasyon durumları (II, III ve IV), biyolojik sıvılarda çözünebilirlik (Antonarakis vd, 2010), selektif antitümörojenik, özellikle antimetastatik (ikincil), hem in vivo hem de in vitro çalışmalarda sitotoksik ve sitostatik aktivite (Ratanaphan vd, 2010). DNA ile eşzamanlı interkalasyon ve kovalent bağlanmayı ve hücre dışı bölgelere bağlanmayı içeren farklı moleküler yollar, antineoplastik bir etkiye sahip olabilen konformasyonel modifikasyonları indükler (Levina vd, 2009). Ru, sisplatinden farklı bir etki ve tepkime modu sağlayan Pt(II) komplekslerinin kare düzlemlerine yerinde oktahedral koordinasyon geometrisi sunar (Motswainyana ve Ajibade 2015). Katı tümörlerdeki düşük oksijen içeriğinin neden olduğu indirgeyici ortam nedeniyle in vivo olarak RuII'ye indirgenen inaktif RuIII merkezinden oluşan ön ilaçların geliştirilmesi ilginçtir. (Bergamo vd, 2012). Son 25 yılda tıbbi uygulamalar için çok sayıda rutenyum kompleksi araştırılmıştır. Özellikle, rutenyum antikanser ilaçları, kanser hastaları için önde gelen ölüm nedeni olan katı tümör metastazlarına karşı spesifik aktivite göstermiştir. Metastazların vücutta birden fazla yerde bulunması, cerrahi ve/veya radyoterapiye erişimlerinin düşük olması ve genellikle kemoterapiye zayıf yanıt vermeleri nedeniyle tedavi edilmesi son derece zordur. Bu geniş multikloro RuIII antitümör ajan sınıfı, sisplatinden, iplikler arası çapraz bağlardan ziyade iplikler arasını tercih ederek farklılık göstererek, umutverici anti kanser ajanlar olarak düşünülmektedir (Clarke vd, 1999).

2.2.1. Rutenyum Mekanizması

DNA replikasyonu kanser gelişiminde temel bir süreçtir. Bu nedenle DNA, metal bazlı antikanser ilaçları için önemli bir biyolojik hedeftir. Hastalıklı hücrelerin, sağlıklı hücrelerin aksine, değiştirilmiş hücre kontrol sistemi nedeniyle DNA hasarı sonucu ölme olasılığı daha yüksektir. Rutenyum ilaçlarının ilk araştırmaları, farklı geometrileri nedeniyle DNA ile sisplatinden daha farklı etkileşeceklerine inanıldığı için yapılmıştır. Rutenyumun DNA'da hücre ölümüyle sonuçlanan bu iplik kopmalarını oluşturmasının çeşitli yolları vardır. DNA, oksitleyici ajanlar, alkilleyici ajanlar ve ayrıca ultraviyole (UV) ışığı ve X ışınları gibi yüksek enerjili elektromanyetik radyasyon tarafından zarar görebilir. İnterkatif bağlanma, DNA baz çifti arasında bir boşluk açar ve bazların üstüne ve altına antikanser ilacının düzlemsel aromatik molekülünü ekler (Liu vd, 2010), bu durum DNA'nın sarmal yapısının çözülmesine ve uzamasına neden olur (Huang vd, 2016). Ru(II)kompleksleri tercihen guanozinin N7'sine ve timidin'in N3'üne, ancak sitidinin N3'üne ve çok az olarak adenezine bağlanır (Liu, 2018). Ayrıca, Ru(III)-kompleksleri tercihen DNA omurgasının fosfat gruplarına bağlanır. Bu durum, tri kationik Ru(III) fragmanı ve anyonik fosfat grupları arasındaki güçlü elektrostatik etkileşime atfedilir. Ru(III)-komplekslerinin de guaninin N7 bölgesine ama fosfattan daha az belirgin bir şekilde bağlandığı rapor edilmiştir. Bununla birlikte, hem Ru(II) hemde (III)-kompleksleri, BDT'ye benzer olan guaninin N7 bölgesine bağlanma konusunda ortak bir eğilime sahiptir (Das vd, 2015). Aren ligandı ile komplekslerin bağlanması: bir aren ligandı içeren kompleksler için, DNA bağlanması, aren ve DNA arasındaki hidrofobik etkileşimler tarafından kolaylaştırılır. Rutenyum etilendiamin organometalik komplekslerinin, nükleik asit bazlarını tanımada oldukça seçici olduğu ve koordineli arene türünün bağlanma kinetiği üzerinde dramatik bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Chen ve Parkinson 2003).

Topoizomeraz tip II: Genom bütünlüğü, DNA iç içe geçmesini çözdükleri için topoizomeraz adı verilen bir enzim sınıfı tarafından korunur. Tip II enzimler, hücre bölünmesi sırasında kromozom çiftlerinin replikasyonu, transkripsiyonu, rekombinasyonu ve ayrılmasında önemli bir rol oynadıkları için hücre döngüsü ilerlemesi ve bölünen hücrelerin hayatta kalması için en önemli olanlardır. Topoizomeraz (Topo) II, özellikle neoplastik koşullarda hızla bölünen hücrelerin çekirdeklerinde majör bir enzim olarak bulunur. Araştırmalar, DNA bağlayıcı ilaçların antitümör aktivitesinin, Topo II'nin katalitik etkisine müdahale etme yeteneklerine bağlı olduğunu göstermektedir. Topo II

enzimini seçici olarak toksisite oluşturarak, neoplastik hücre proliferasyonunu inhibe edebilir ve muhtemelen DNA'yı parçalayarak apoptozu indükleyebilir. RuIII kompleksleri, diğer Topo II zehirlerine benzer bir "bölünme kompleksi" oluşturma yeteneğine sahiptir. Bu nedenle, bu ilaçların varlığında, enzim DNA'da kalıcı çift sarmal kopmalarının birikmesine neden olur ve bu da sonuçta etkilenen hücreleri apoptoza veya nekroza girmeye zorlar (Clarke ve Zhu 1999). [RuII₂(Benzen)(DMSO)] (RuBen), ilaca bağlı bir bölünme kompleksinin oluşumu yoluyla Topo II'nin DNA gevşeme aktivitesini tamamen inhibe ettiği gösterilmiştir (Clarke vd, 1999).

Rutenyum ilaçlarının sitozolik proteinlerle etkileşimi: DNA'nın rutenyum ilaçlarının ana hedefi olduğu yaygın olarak tartışılmaktadır. Ancak son zamanlarda bazı ilaçların DNA'yı hedef alarak toksisiteye neden olmadığı ortaya çıkmıştır. KP1019 ve KP1339 üzerinde ayrıntılı bir çalışma, KP1339'un esas olarak çekirdekte bulunmasına rağmen, KP1019'un esas olarak sitoplazmada lokalize olduğunu ortaya çıkardı. Protein kinazlar, insan genomunda 518 üyeye sahip büyük bir homolog protein üst ailesidir (Horiuchi vd, 2006). Hücresel yaşamın birçok yönünü düzenlerler ve bu nedenle antikanser ilaçları için ana hedeflerden biridir. Protein kinazların güçlü ve seçici inhibitörleri olan birkaç rutenyum kompleksi geliştirilmiştir (Kostova vd, 2006).

MAPK Sinyal Yolu : Mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) sinyal yolu, üç MAPK ailesi proteinini (hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK), c-Jun N-terminal kinazlar (JNK/SAPK) ve p38 MAPK) kontrol ederek kolorektal kanser hücrelerinde apoptozu düzenler (Zhou vd, 2019). Çok sayıda hücre içi sinyal yolu arasında MAPK yolu, hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptoz, anjiyogenez ve tümör metastazında diğer yollardan daha önemli bir rol oynar. ERK/MAPK sinyal yolunun aktivasyonu, çoğalmayı teşvik eder ve anti-apoptotik bir etkiye sahiptir. Tümör hücresi proliferasyonunu inhibe etmek için ERK/MAPK sinyal yolunun ekspresyonunun inhibe edilmesi, hücre döngüsünün inhibisyonunu içerebilir. Sebolt-Leopold, kolon kanseri hücrelerinde ERK1/2 aktivitesini inhibe etmek için MEK1/2 inhibitörlerinin kullanılmasının, hücrelerin G1 fazından S fazına girmesini engelleyebileceğini ve yapışık hücrelerin büyümesini engelleyebileceğini göstermiştir (Sebolt- Leopold vd, 1999). Ru(II) naftalimid N-Heterosiklik karben bileşikleri, [Ru(pipltartin) (1,1-bis(difenilfosfino) ferrosen)(2,20-bipiridin)](heksaflorofosfat)2, [Ru(pipltartin) dahil olmak üzere bazı Ru- (1,4-bis(difenilfosfino)bütan)(2,20-bipiridin)](heksaflorofosfat)2 ve Ru(II)- timin kompleksi [Ru(trifenilfosfin)2(timinat)(2,20-

bipiridin)] heksaflorofosfat MAPK (JNK, p38 MAPK ve ERK1/2) sinyal yolu aracılığıyla kolorektal kanser hücrelerinde apoptozu tetiklemiştir (Shin vd, 2009).

p53 Bağımlı Kaspaz-3 Aracılı Sinyalleşme: p53, hücre döngüsü, apoptoz, yaşlanma ve otofaji ile bağlantılı bir tümör baskılayıcı proteindir (Zilfou vd, 2009). Ru-bazlı 5-FLU kompleksi dahil olmak üzere birkaç Ru-kompleksleri, p53'e bağlı kaspaz-3 aracılı apoptoz yoluyla kolon kanseri hücrelerinin apoptozunu indüklemiştir (Silva vd, 2018). Birkaç Ru-kompleksi, p53 ve antiapoptotik protein Bax ekspresyonunu yukarı regüle ederken, Bcl-2 ekspresyonunu aşağı regüle etmiştir, bu da apoptozu indüklemek için apoptotic protein kaspaz-3'ün aktivasyonu ile sonuçlanmış ve konsantrasyona bağlı bir şekilde G0/G1 fazında HT29 hücrelerini durdurmuştur. PC ve p53 genlerinin kolorektal kanserde genetik değişiklik kazandığı bildirilmektedir. CRC'de yaklaşık %80 APC mutasyonu ve %60 p53 mutasyonu gözlenir (Nakayama ve Oshima 2018).

2.2.3. Rutenyum Nanopartiküllerinin Kontrollü Salımı

İnsan vücudu, yabancı varlıkları hızla tanımak ve ortadan kaldırmak için gelişmiştir. Böylece verilen serbest ilaçlar hızla tanınır ve vücuttan atılır. Bununlabirlikte, böbrekteki glomerüler filtrasyonun moleküler ağırlık sınırı yaklaşık 50.000 g mol⁻¹'dir ve bu nedenle bu boyutun üzerindeki nanopartiküller daha yüksek bir dolaşım süresine sahiptir. Nanopartiküller, özellikle yüzeyde modifiye edildiğinde, polimer partiküllerini tespit edebilen ve bunları kan dolaşımından uzaklaştırabilen retikuloendotelyal sistem (RES) tarafından tanınmayı geciktirebilir veya engelleyebilir (Stenzel, 2008). Nanopartiküller, bir ilacı kontrollü bir şekilde bir hedef bölgeye vermek üzere tasarlanabilir, öyle ki iletim hızı ve süresi terapötik olarak etkili olabilir. Bu durum, yönetilebilir yan etkileri korurken hastalara daha yüksek ilaç konsantrasyonları uygulama yeteneğini de sağlar. Küçük moleküler ağırlıklı ilaçların polimerlere bağlanması, aynı zamanda, uygulamadan sonra ilaçların biyo- dağılımını değiştirerek tümörlerde birikime neden olur (Satchi-Fainaro vd, 2006).

Bir terapötik maddenin katı bir tümöre verilmesi, örneğin tümör kan damarları, lenfatik drenaj ve tümör interstisyel sıvı basıncı ve molekülün fizikokimyasal özellikleri, yüzey özellikleri (yük ve hidrofilitiklik) ve parçacık boyutu gibi fizyolojik faktörler tarafından düzenlenir. Tümör dokusunu hedeflemek, sağlıklı ve kanserli damar sistemini etkili bir şekilde ayırt etme yeteneğine dayanır. Sağlıklı doku ile karşılaştırıldığında, tümör dokusuyla ilişkili bir dizi farklılaştırıcı özellik vardır. Bu özellikler, “Artan Geçirgenlik ve Tutma (AGT)” etkisi ile

gösterilen pasif tümör hedeflemeye izin verir. Hastalıklı dokulardaki kan damarlarının endotel tabakası, büyük moleküllere karşı dahagözeneklidir. Sağlıklı dokudan farklı olarak kanserli doku da lenfatik drenaj sistemine sahip değildir. Bu nedenle, makromoleküllerin hastalıklı dokuya girme ve daha sonra tutulma olasılığı daha yüksektir (Allardyce ve Dorcier, 2005).

2.2.4. Kolorektal Kanser Tedavisinde Platin İlaçlarla Rutenyum İlaçların Karşılaştırılması

Kolorektal kanser (KRK), dünya çapında üçüncü en yaygın kanser olarak kabul edilen, dördüncü önde gelen ölüm nedeni olan (Centelles 2012) ve kolon veya rektum epitel hücre epitelinin bir malign neoplazm türüdür (Siegel ve Miller, 2016). Kolorektal kanser kadınlarda ve erkeklerde sırasıyla ikinci ve üçüncü en yaygın kanser olarak belgelenmiştir. (Dekker ve Tanis, 2019).

Kolorektal kanserin geleneksel tedavi stratejileri cerrahi rezeksiyon, radyasyon ve kemoterapiden oluşur ve bu da sağkalım oranını evre I hastaların %90'ında sadece beş yıl uzatarak IV. evre hastaların %10'una kadar uzatabilir (Grewal ve Oosterling, 2021). Cerrahi, KRK tedavisinin ayrılmaz bir parçası olmasına rağmen, tümör hücrelerinin tekrarlaması ve/veya karaciğer metastazının gelişmesi gibi ameliyat sonrası komplikasyonlarla ortaya çıkmaktadır.

Kemoterapötiklerin ve radyasyonun uzun süreli kullanımı, periferik nöropatiye (Denlinger vd, 2009) ve artan sıklık ve aciliyet sorunlarının eşlik ettiği bağırsak disfonksiyonuna (Knowles vd, 2013) neden olur. Kromozomal instabilite, kromozomların tamamının veya büyük bir kısmının önemli ölçüde kazanılması veya kaybedilmesi ile karakterize edilen KRK'deki genetik instabilitenin çoğundan sorumludur (Malki vd, 2021).

Pt bazlı ilaçlar, KRK dahil çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılmaktadır (Quade vd, 2018). Pt bazlı ilaçlar antikanser ilaçlar olarak çok önemli bir rol oynuyor olsa da bazı önlenemeyen dezavantajlar kanser tedavisinde kullanımlarını sınırlandırmaktadır. Diğer geleneksel kemoterapötik ilaçlar gibi, CIS, OXA ve CAR dahil olmak üzere Pt bazlı ilaçlar, zayıf kanser hücrelerinin seçicilik indeksini gösterir (Apps vd, 2015, Mehmood 2014, Coverdale vd, 2019). Düşük seçicilik nedeniyle hastalar sıklıkla, bazıları ölümcül olan ilaca bağlı komplikasyonlar yaşar (Chiorazzi vd, 2015).

Çok sayıda geçiş elemanı arasında Ru, Pt'ye en iyi alternatif olarak bulunmuştur (Lee vd , 2020). Ru kullanmanın avantajları arasında daha düşük toksisite, daha geniş bir oksidasyon durumu aralığı (2+ , 3+ ve 4+) ve insan serum transferrin ve diğer proteinlere bağlanmasını

kolaylaştıran demiri taklit etme yeteneği yer alır. Ru(IV), daha yüksek oksidasyon durumu nedeniyle dengesizdir. Ru-kompleksleri, reaktif oksijen türlerini (ROS) aşırı üreterek ve hücrenin hayatta kalması için gerekli olan hücresel organelleri tehlikeye atarak apoptozu indükler (Huang vd, 2020).

2.3 YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ

Metalik nanopartiküller, fiziksel, kimyasal ve biyolojik yollardan oluşan çeşitli yollarla üretilebilir (Ravani vd, 2014). Nanoparçacıkların sentezi için yaygın olarak kullanılan fiziksel yöntemler lazer ablasyon (Mafuné vd, 2001), inert gaz yoğunlaştırma (Benelmekki vd, 2015), elektrik ark deşarjı (Tseng vd, 2016) ve radyo frekansı (RF) plazma yöntemi gibi yöntemlerdir (Hiragino vd, 2016). Bu fiziksel yöntemler, termal kararlılığa ulaşmak için çok zaman gerektirir, kaynak malzeme etrafındaki çevre sıcaklığını yükseltirken çok fazla enerji tüketir ve tüp fırınlar söz konusu olduğunda geniş alanlar kaplar. Bu nedenle, nanopartiküllerin üretimi için fiziksel sentez yolu uygun değildir (Kawasaki ve Nishimura, 2006).

Nanopartiküllerin en önemli dezavantajı, organik çözücüler olan sodyum borohidrit, sodyum sitrat, vb. gibi sert indirgeyici maddeler kullanmasıdır (Tarasenko vd, 2006). Bu kimyasal reaktifler, çevresel sorunlarla birlikte toksisite sorunlarına yol açar. Biyolojik sentez yolları, nanopartiküllerin üretimi için fiziksel ve kimyasal sentez yöntemlerine tercih edilir. Nanopartiküllerin üretimi için biyolojik sentez yöntemi, bakteri, mantar, alg ve bitkiler kullanımını içerir. Yavaşlık, patojenite sorunu ve büyük ölçekli kültürlerin bakımı, nanopartiküllerin üretimi için mikroorganizmaların kullanımıyla ilişkili önemli dezavantajlardır (Korbekandi vd, 2009). 1-100 nm boyut aralığında nanopartiküllerin yeşil sentezi, metal iyonlarının temel elementlerine biyolojik olarak indirgenmesi için bitki veya bitki parçalarının kullanımını içerir (Hussain ve Singh, 2016).

Yeşil sentez daha verimli, daha basit ve ekonomiktir ve kolayca yapılabilir. Ayrıca, büyük ölçekli kültürlerin muhafaza edilmesine gerek yoktur ve süreç, mikro-organizmalar kullanılarak nanopartiküllerin sentezlenmesinde olduğu gibi biyolojik tehlike sorununa neden olmaz (Mittal vd, 2013). Farklı nanoparçacıklar gümüş, altın, paladyu, demir ve çinko oksit gibi yeşil sentez yoluyla kolayca sentezlenmiştir. Ajanlar metalik iyonların biyolojik olarak indirgenmesinden sorumlu olanlar, polifenoller gibi bitki özlerinde bulunan fito, terpenoidler ve polioller bileşiklerdir (Kharissova ve Dias 2013).

Son zamanlarda nanopartiküllerin diğer potansiyel yönleri, dünya çapındaki araştırma toplulukları tarafından araştırılmaktadır. Fiziksel yol (örneğin, bir tüp fırın kullanımı) büyük

miktarda alan gerektirir ve kaynak materyalin etrafındaki çevre sıcaklığını yükselterek büyük miktarda ısı üretir ve ayrıca çok zaman alıcıdır. Nanoparçacık üretiminin kimyasal yönteminin en büyük dezavantajı, toksik çözücülerin kullanılmasıdır. Bu nedenle, nanoparçacık üretiminde alternatif farklı bir ihtiyaç hissedilmiş ve bu da yeşil nanoteknolojinin (veya yeşil nanobiyoteknoloji) kavramını ortaya çıkarmıştır. Yeşil sentez, biyomedikal kullanımlar da dahil olmak üzere çeşitli uygulamalar için NP'lerin sentezlenmesinde güvenli, biyoyumlu ve çevre dostu bir yöntemdir (Razavi 2015). Yeşil sentezi gerçekleştirmek için mantarlar, algler, bakteriler ve bitkiler kullanılmaktadır. Bununla birlikte, yapraklar, meyveler, kökler, gövdeler ve tohumlar dahil olmak üzere bitki bileşenleri, farklı NP'leri sentezlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Narayanan ve Sakthivel, 2011).

Bakteriler, gümüş ve altın gibi metalik nanoparçacıkların sentezi için güçlü biyofabrikalardır, çünkü hücre içi veya hücre dışı olarak çeşitli inorganik maddeler üretir. Gümüş, biyosidal özellikleri ile iyi bilinir. Ancak, bazıları bakteriler gümüşe dayanıklıdır (Paulkumar ve Rajeshkumar, 2013). Gümüş nanoparçacıkları sentezleyen bakterilerin ilk kanıtı, bir gümüş madeninden izole edilen *Pseudomonas stutzeri* AG259 suşudur (Prabhu ve Poullose, 2012).

Mantarlar, yüksek tolerans ve metal biyobirikim yeteneği sergilediği için metalik nanoparçacıkları sentezlemek için kullanılır. Bağlama kapasitesi ve hücre içi alımı bakterilerinkine benzer (Ahmad ve Senapati, 2003). Mantarları kullanarak nanoparçacık üretimi daha fazladır, diğer mikroorganizmaları kullanmaktan daha avantajlıdır. Çünkü mantarlar daha hızlı büyür ve işlemesi ve imal edilmesi daha kolaydır. Naftokinonlar ve antrakininonlar gibi hücre dışı enzimlerin indirgemeyi kolaylaştırdığı söylenir (Mandal vb, 2006). Aktinomisetler, mantarlar ile çeşitli özellikleri paylaşan *Actinobacteria* filumunun bir üyesidir ve şu anda kullanımda olan toplam antimikrobiyal bileşiklerin en az üçte ikisinin üretimi. (Bentley ve Chater, 2002). Benzer şekilde, gümüş nanopartiküllerin *Streptomyces sp.* gibi çeşitli aktinomisetler tarafından sentezlendiği bildirilmiştir (Alani ve Moo-Young, 2012), *Thermoactinomyces sp.*(Deepa vd, 2013) ve *Rhodococcus sp.*(Otari ve Patil, 2012). Sentezlenen nanopartiküller çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmış ve başarılı bir şekilde çeşitli patojenlere karşı antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiştir (Golinska ve Wypij, 2014).

Birçok çalışma nanopartiküllerin sentezi için alglerin kullanımını rapor etmiştir. Mavi-yeşil bir alg olan *Spirulina platensis*'in protein aracılı altın nanopartikül sentezinde

kullanıldığı ve bunun sonucunda ortalama boyutu yaklaşık 5 nm olan tek tip boyutlu altın nanopartiküllerin oluştuğu bildirilmiştir. Bunlar *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel deneyler için kullanılmıştır (Suganya vb, 2015). Gümüş nanopartiküllerin üretim montajı için bitkilerin kullanılması, hızlı olması nedeniyle son yıllarda dikkat çekmektedir. Çevre dostu, patojenik olmayan ve ekonomik protokol, biyosentetik süreç için tek adımlı bir teknik sağlar. Gümüş iyonlarının, bitki özlerinde halihazırda bulunan biyomoleküllerin (proteinler, amino asitler polisakkaritler, terpenler, alkaloidler, fenolikler, saponinler ve vitaminler gibi) bir kombinasyonu ile indirgenmesi ve stabilize edilmesi, gümüş nanopartikülleri üretmenin en kolay ve en ucuz yolunu sağlar (Roy ve Das 2015). Gümüş nanopartikül sentezi için bitki özleri kullanmanın başlıca avantajları şunlardır: Kolayca temin edilebilmeleri, güvenli olmaları, çoğu durumda toksik olmamaları ve gümüş iyonlarının indirgenmesine yardımcı olabilecek çok çeşitli metabolitlere sahip olmalarıdır. Fotokimyasallar nedeniyle, bitki destekli indirgeme ana mekanizmadır. Gümüş nanopartiküllere stabilite sağlayan ajanlar, nispeten yüksek seviyelerdeki steroidler, saponinler, karbonhidratlar ve flavonoidler, indirgeyici maddeler ve fitokonstituentler olarak kapak görevi görür. Gümüş nanopartiküller *Oryza sativa*, *Helianthus annuus*, *Saccharum officinarum*, *Sorghum bicolor*, *Aloe vera*, *Zea mays*, *Basella alba* ve *Capsicum annuum* gibi çeşitli tıbbi bitkiler kullanılarak sentezlenmiş ve çeşitli ve biyolojik uygulamalarda kullanılmıştır (Kasthuri vb, 2009). *Alternanthera dentata*'nın sulu ekstresi 50- 100nm boyutunda gümüş nanopartiküllerin hızlı sentezi için kullanılmıştır. Hücre dışı gümüş nanopartiküller 10 dakika içinde sentezlenmiş ve *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı anti-bakteriyel aktivite sergilemiştir (Kumar vb, 2014). Bir çalışmada, *Aloe vera* bitkisinden elde edilen bir çözelti olan indiyum asetilasetonat kullanılarak indiyum oksit (In₂O₃) nanopartikülleri sentezlenmiş ve partiküller yapısal, morfolojik ve optik özellikleri açısından karakterize edilmiştir. *Cymbopogon citratus* yaprak özütü kullanılarak küresel, üçgen, altıgen ve çubuk şeklinde morfolojiler gösteren 20- 25nm boyutlarında altın nanopartiküller sentezlenmiş ve kopepod *Mesocyclops aspericornis*'in sıtma ve dang sivrisineklerine karşı predasyon etkinliğini artırdığı bulunmuştur (Murugan vb, 2015). Ayrıca, demir oksit nanopartikülleri, çözeltide dört farklı pH değerine sahip yonca kullanılarak sentezlenmiş ve 1-10 nm boyutlarında agregatlar elde edilmiştir. Nanopartiküllerin boyutunun optimum pH koşulları altında 1-4 nm arasında değişen aşağıdaki bölgede kontrol edilebileceği öne sürülmüştür (Herrera-Becerra ve Zorrilla, 2008).

pH, sıcaklık ve reaksiyon süresi gibi çeşitli faktörler biyolojik varlıklar tarafından sentezlenen nanopartiküllerin sentezini ve stabilizasyonunu etkiler. Reaksiyon ortamının pH'ı nanopartiküllerin oluşumunda önemli bir rol oynar. Farklı hidrojen iyonu konsantrasyonları nanopartiküllerin boyut ve şekillerinde farklılıklara yol açar. Ayrıca daha düşük asidik pH değerlerinde daha yüksek pH değerlerine göre daha büyük partiküllerin üretildiği gözlemlenmiştir (Dubey vb, 2010). *Avena sativa*'dan pH 2'de büyük çubuk şekilli Au nanopartikülleri (25-85nm) oluşurken, pH 3 ve 4'te nispeten daha küçük nanopartiküller (5-20nm) oluşmuştur (Armendariz vb, 2004). Benzer şekilde, Tarçın zeylanicum kabuğu ekstresi kullanılarak daha yüksek pH değerlerinde (pH 5 ve üzeri) daha küresel gümüş nanopartiküller sentezlenmiştir (Sathishkumar ve Sneha 2009). Sıcaklık, metalik nanopartiküllerin sentezinde çok önemli bir rol oynar ve bunların şeklini ve yapısını etkiler. *Cymbopogon flexosus* yaprak ekstresi kullanılarak altın nanopartiküller sentezlendiğinde düşük reaksiyon sıcaklıklarının nanotriangles oluşumuyulasonuçlandığını, yüksek reaksiyon sıcaklıklarında ise nanotriangles ile daha küresel nanopartiküllerin sentezlendiğini gözlemlemiştir (Raju ve Mehta 2011).

Biyolojik yollarla sentezlenen nanopartiküllerin, diğer sentetik yollarla sentezlenenlerden çok daha üstün olduğu düşünülmektedir (Rai vb, 2006). Son olarak, nanopartikül reaksiyon ortamı ve inkübasyon süresi, nanopartiküllerin kalitesini ve morfolojisini büyük ölçüde etkilemektedir (Darroudi ve Ahmad, 2011).

2.4. KARAYOSUNLARI VE TIBBİ ÖZELLİKLERİ

Karayosunları (Briyofitler), ciğerotları, boynuzotları ve yosunları içeren bilinen en eski kara bitkileri grubuna aittir. Karayosunlarının 22.000 üyesi dünya geneline yayılmış olup, bitki türlerinin yaklaşık %5,5'ini oluşturmaktadır. Briyofitlerin biyolojik olarak aktif kimyasal bileşenlerine ilişkin birkaç çalışma olsa da yayınlanmış olmasına rağmen, kimyası bazı nedenlerden dolayı uzun süre pek çalışılmamıştır. Bu nedenler arasında, morfolojik olarak çok küçük olması, saf örnek olarak büyük miktarlarda toplanmasının ve teşhisinin zor olması ve besinsel olarak insanlar için çok işe yaramamasıdır. Ancak Çinliler, Avrupalılar ve Kuzey Amerikalılar çok eski zamanlardan beri briyofitleri kesikler, yanıklar, dış yaralar, bakteriyozis, akciğer tüberküloz, nevrasteni, kırıklar, konvülsiyonlar, haşlanmalar, üropati, pnömoni vb. hastalıkların tedavisinde geleneksel ilaç olarak kullanmaktadır (Singh vb, 2006). Briyofitlerin hayatta kalmalarına ve günümüz florasındaki yerlerini korumalarına yardımcı olan özelliklerden biri de biyolojik olarak aktif bileşikler içermeleridir. Briyofitlerin prokaryotik hücrelere ve mantarlara

karşı antibiyotik aktivitesini doğrulayan kanıtlar vardır. En fazla aktivite Brachytheciaceae, Dicranaceae, Grimmiaceae, Hypnaceae, Mniaceae, Neckeraceae, Polytrichaceae ve Thuidiaceae'de bulunmuştur. Bu tez çalışmasında kullanılan karayosunu *Homalothecium sericeum*, Brachytheciaceae familyasına aittir. Ayrıca antibakteriyel ve antiproliferatif olduğu tespit edilmiştir (Oztopcu-Vatan vd, 2011).

2.5 KOLOREKTAL KANSER

Kanser heterojen bir genetik ve biyolojik bozukluktur. Kolonda başlayan kanser, kolon kanseri olarak adlandırılırken; rektumdaki kanser rektum kanseri olarak bilinir. Bu organlardan herhangi birini etkileyen kanserler, kolorektal kanser olarak adlandırılabilir. Her durumda doğru olmasa da kolorektal kanserlerin çoğu genellikle adenomatöz (prekanseroz) poliplerden zamanla gelişir. Amerikan Kanser Derneği (ACS), 2022 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde 106.180 yeni kolon kanseri vakası ve 44.850 yeni rektum kanseri vakası olacağını tahmin etmektedir. Kolorektal kanser, ABD'de en sık görülen üçüncü Güvenilir Kaynak kanserdir ve her iki cinsiyeti de etkileyen kanserler arasında ikinci önde gelen Güvenilir Kaynak ölüm nedenidir (Dekker ve Tanis, 2019). Polipler (büyümeler), hücrel DNA'larında bir dizi mutasyon (anormallik) ortaya çıktıktan sonra değişebilir. Kolorektal kanser için risk faktörlerinden bazıları ailede kolon veya rektum kanseri öyküsü, diyet, alkol alımı, sigara kullanımı ve inflamatuvar bağırsak hastalığıdır. Kolorektal kanser (KRK) Batı dünyasında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Kuzey Amerika, Batı Avrupa, Avustralasya ve Japonya'da görülme sıklığı erkeklerde 100.000'de 40'ı, kadınlarda ise 100.000'de 25-30'u aşmaktadır. Afrika ile Orta ve Güney Amerika'da görülme sıklığı tipik olarak 100.000'de 5'ten azdır. İnsidanstaki bu farklılığın bir kısmı genetik değişkenlikle açıklanabilir, ancak büyük ölçüde diyetteki farklılıklardan (lif oranı düşük, yağ oranı yüksek) ve Batı'da gözlemlenen giderek artan hareketsiz yaşam tarzlarından kaynaklanıyor olması muhtemeldir (Hawkey vb, 2012). KRK ile başvuran hastaların çoğu semptomatiktir, ancak asemptomatik olan ve kanserleri tarama ile tespit edilen hastaların sayısı, resmi tarama programlarının kademeli olarak uygulanmaya başlanmasıyla artmaktadır. Kolorektal kanserin belirti ve semptomları, tümörün bağırsaktaki konumuna ve vücudun başka bir yerine yayılıp yayılmadığına (metastaz) bağlıdır. Klasik uyarı işaretleri arasında kötüleşen kabızlık, dışkıda kan, dışkı kalibresinde (kalınlığında) azalma, iştahsızlık, kilo kaybı ve 50 yaşın üzerindeki kişilerde bulantı veya kusma yer alır. Kolorektal kanserli bireylerin yaklaşık %50'si herhangi bir belirti

bildirmez. Rektal kanama veya anemi, 50 yaşın üzerindeki kişilerde yüksek riskli semptomlardır. Kilo kaybı ve kişinin bağırsak alışkanlıklarındaki değişiklikler tipik olarak yalnızca rektal kanamayla ilişkilendirildiklerinde endişe vericidir (Alpers vb, 2008). Tedavi stratejisi uygun evreleme ile yönlendirilir. Yeni teşhis edilen bir kanserin tedavi öncesi incelemesi fizik muayene, metakron bir tümörü ekarte etmek için tam bir kolonoskopi ve metastatik hastalığı tanımlamak için göğüs, karın ve pelvis BT'sini içerir. BT kolonografi tümörün kesin lokalizasyonu için değerlidir ve özellikle laparoskopik rezeksiyona aday olan hastalarda cerrahi yaklaşımlara yardımcı olabilir. FDG- PET ayrıca ameliyat öncesi tedaviye yanıtı tahmin etmek ve böylece rektum kanseri de dahil olmak üzere birçok farklı malignitede sonucu öngörmek için kullanılmıştır (Guillem vb, 2004) . Rektal kanserli hastalarda, lokal tümör yayılımının değerlendirilmesi optimum tedavi için esastır. Yüksek çözünürlüklü MRG, tümörün çevre mezorektumdaki yayılımını doğru bir şekilde ölçmek ve tümörün kenarı ile fasya rekti arasındaki çevresel rezeksiyon marjını değerlendirmek için kullanılabilir. Rektum kanserinin endorektal ultrasonografi (ERUS) ile ameliyat öncesi evrelemesi ilk olarak 1985 yılında Feifel ve Hildebrandt tarafından tanımlanmıştır (Hildebrandt vb, 1985). O zamandan beri, rektum duvarının ultrasonografik görüntülemesi, rektum kanserinin lokal evrelemesi için referans yöntem olarak yaygın bir şekilde kabul edilmiştir ve ana bilimsel toplulukların kılavuzlarında preoperatif evreleme amaçları için zorunlu olarak önerilmektedir (Engstrom, 2009).

Kolorektal kanser için en iyi tedavi yaklaşımı tümörlerin boyutu ve yeri ve kanserin evresi gibi faktörlere bağlıdır. Amerikan Kanser Derneği tarafından belirtildiği gibi, seçenekler arasında kemoterapi, radyasyon tedavisi ve cerrahi yer almaktadır. Palyatif bakım da ağrı gibi semptomların yönetilmesine ve yaşam kalitesinin iyileştirilmesine yardımcı olabilir. Cerrahi, kolonla sınırlı kolorektal kanser için birincil tedavidir. Tümörler ve etkilenen lenf düğümleri de dahil olmak üzere kanserli dokuyu çıkarmayı ve kanserin yayılmasını önlemeyi amaçlar. Ameliyat erken evre kanserin tüm izlerini ortadan kaldırabilir. Daha sonraki aşamalarda, ameliyat kanserin yayılmasını durduramaz, ancak bir tıkanıklığın giderilmesi herhangi bir semptomun hafifletilmesine yardımcı olabilir. Lokal eksizyon, erken kanserli dokuların çıkarılmasını içerir. İşlem sırasında cerrah polipleri ve bir miktar kolon dokusunu çıkarır. Kolektomi, kolonun bir kısmının veya tamamının alınmasını içerir. Ameliyat kısmi ise, cerrahi kalan segmentleri yeniden bağlar. Bu yaklaşımın diğer adları hemikolektomi, kısmi kolektomi veya segmental rezeksiyondur. Bazen kanserli bir büyüme kolonun tamamını veya bir kısmını tıkar. Bu durumda cerrah kolonu açmak için bir stent yerleştirebilir. Kemoterapi ilaçları vücuttaki kanserli hücreleri yok eder. Bu, kolon kanserini tedavi etmeye veya

ameliyattan önce bir tümörü küçültmeye yardımcı olabilir. Ayrıca sonraki aşamalarda semptomların hafifletilmesine de yardımcı olabilir. İlaç bazlı bir tedavi olan immünoterapi, bağışıklık sisteminin kanserli hücreleri tespit etmesine ve ortadan kaldırmasına yardımcı olur. İlerlemiş kolorektal kanseri olan bazı kişilere fayda sağlayabilir. Olası yan etkileri arasında vücudun yanlılıkla kendi hücrelerine saldırdığı bir otoimmün reaksiyon yer alır. Neoadjuvan kemoradyoterapi, lokal olarak ilerlemiş rektum kanseri için standart tedavi haline gelmiştir. Neoadjuvan kemoradyoterapi sadece tümör boyutunu ve nüksü azaltmakla kalmaz, aynı zamanda çok hafif yan etkiyle tümör rezeksiyon oranını ve anüs tutma oranını da artırır. Preoperatif kemoradyoterapi ile karşılaştırıldığında, preoperatif kemoradyoterapi lokal nüks oranını ve alt evreyi daha da azaltabilir (Li vb, 2016).

Kanserin "evresi" ne kadar yayıldığını ifade eder. Evrenin belirlenmesi doktorların en uygun tedaviyi seçmesine yardımcı olur. Evreleme için farklı kılavuzlar vardır:

Evre 0: Bu, karsinoma in situ olarak da bilinen en erken evredir. Kanser sadece kolon veya rektumun iç tabakasındadır.

Evre 1: Kanser kolon veya rektumun iç tabakası boyunca büyümüştür, ancak rektum veya kolon duvarının ötesine yayılmamıştır.

Evre 2: Kanser kolon veya rektum duvarı boyunca veya içine doğru büyümüştür, ancak henüz yakındaki lenf düğümlerine ulaşmamıştır.

Evre 3: Kanser yakındaki lenf düğümlerine ulaşmış ancak vücudun diğer bölgelerine ulaşmamıştır.

Evre 4: Kanser, karaciğer veya akciğerler gibi vücudun diğer bölgelerinde de mevcuttur. (American Joint Committee on Cancer 2017).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Karayosunu Bitki ekstraktının ve Nano Rutenyumun Hazırlanışı

Homalothecium sericeum liyofilize edildi ve ekstraları elde edildi. Ekstraksiyonda kullanılan yosun örnekleri kuru herbaryum örnekleri olduğundan, örnekler steril distile su ile iyice yıkandıktan sonra gölgede kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan numunelerin toz haline getirilmesinde porselen havan ve havanlar kullanılmıştır. Harç ve harç elleri önce getirilmiştir. Üç gün boyunca 120 ila 160 rpm arasında oda sıcaklığında sürekli karıştırılarak toz haline getirilmiş numuneler yapılmıştır. Çözücü olarak mutlak etil alkol (bağlı polarite: 0.654, kaynama noktası: 78,37 °C) kullanıldı. Ekstraksiyonda kullanılan numune/çözücü oranı 1:50'ye ayarlanmıştır. Süre sonunda ekstraktlar Whatman No 1 filtre kağıdı (Merck Cat No: WHA1443090) ile süzülmüştür. Soxhlet aparatında vakum altında hazırlanan çözücülerin kaynama sıcaklıkları 40–45 °C arasında tutularak yüksek sıcaklığa duyarlı bileşiklerin zarar görmesi engellenmiştir. 24 saatlik ekstraksiyon periyodu sonucunda solüsyonlar döner buharlaştırıcıda (Heidolph) vakum altında 40 °C'de tamamen buharlaştırılmış ve kalan su fazları tamamen kuruyana kadar -80 °C'de tutulmuştur. Kuru toz haline getirilmiş özler, dimetil sülfoksit (DMSO) (Sigma Kat. No: D8418) içinde seyreltilmiş ve analizde kullanılmıştır.

Nano Rutenyumun Hazırlanması:

0,1 mM $RuCl_3$ 50 mL suda çözülerek stok çözeltisi hazırlandı. Karayosunu bitki ekstraktından 11,42 mg/mL derişimde hazırlanan stok çözeltiden ve Ru stok çözeltisinden 1'er mL alınarak ultrasonik banyoda 1 saat sonike edildikten sonra yeşil sentez yöntemi ile rutenyum tabanlı nanopartiküller elde edildi.

3.2. Nanopartikül Karakterizasyonu

3.2.1. Zeta Sizer Ölçümleri:

Zetasizer ölçümleri oda sıcaklığında yapıldı. RuNP örneklerinin boyut analizi, 633 nm dalga boyunda ve 173° algılama açısında çalışan 4 mW He – Ne lazer kullanan Zetasizer Nano ZS kullanılarak dinamik ışık saçılımı (DLS) ölçümleriyle yapılmıştır.

3.2.2. FTIR Analizleri:

Fourier Dönüşümü Infrared spektroskopisi (FTIR) çalışmaları BRUKER ALPHA cihazı ile 4 cm x 1 çözünürlükte dağınık yansıma modu ile alındı. İyi sinyal / gürültü oranı elde etmek için 10 kez taramalar kaydedildi.

3.2.3. EDX-SEM analizleri:

SEM ve EDX analizi için RuNP ve HOM-RuNP numuneleri cam altlık üzerine damlatılarak Polaron sc 7620 mini püskürtmeli kaplayıcı cihazı ile 45 A⁰ kalınlığında Au/Pd ile kaplanmıştır. Sıvı numunelerin analizi ile ilgili olarak, cam altlıklar üzerine damlatılarak ve kurutulduktan sonra cihaza takılarak görüntüleme yapılmıştır.

3.2.4. Absorpsiyon Ölçümleri:

Sentezlenen malzemelerin sulu çözeltilerinin absorpsiyonları Hach Lange DR 5000 Spectrophotometer cihazı ile ölçüldü. Spektrofotometrenin referans kısmına referans olarak su, örnek kısmına ise hazırlanan çözeltiler kullanılarak 200-1100 nm dalga boyu aralığında ölçümler alındı.

3.2.5. Rutenyum tabanlı Nanopartiküllerin Salım Analizi

Rutenyum nanotaşıyıcısına yüklenen HOM'un salımını saptamak için diyaliz membranı kullanıldı ve ortam olarak pH:7.4 PBS tampon çözeltisi kullanıldı. 1mg/mL nanotaşıyıcıya yüklenen 2 ml HOM-RuNP diyaliz membranına aktarıldı. Diyaliz membran boyutu yaklaşık 16 cm, ortam sıcaklığı yaklaşık 37±0.5 °C'dir. Diyaliz zarının her iki ucu kapalıydı. Diyaliz membranında nanotaşıyıcıya yüklenen HOM, pH:7.4 olan 50 ml tampon solüsyonunda bırakılmış ve 50 saat boyunca salımı takip edilmiştir. HOM-RuNP'ler ile 5 farklı konsantrasyon hazırlandı ve 290 nm'de UV spektrofotometre ile absorbansları belirlendi.

3.3. Hücre Kültürü

Bu çalışma için insan kolon hücre hattı, HCT116 seçildi. Çünhkoü M etanol ekstraktı, önceki çalışmamızda HCT116 hücreleri üzerinde etkiliydi (Rökezan et al. 2021). Hücreler %10 FBS ve %1 penisilin-streptomisin içeren DMEM'de T75 kültür şişelerinde büyütüldü ve hücre yoğunluğu %80 olarak belirlendi. Daha sonra 5000 hücre 96 kuyuya ekildi ve 37°C'de %5 CO₂ içinde inkübe edildi. Önceki çalışmada en etkili doz olarak belirlenen 11,42 µg/mL, bu çalışma içinde HOM-RuNP'ler 6 doz olacak şekilde 11,42-5,71-2,85-1,42-0,70-0,35 µg/mL olarak ayarlandı, hücrelerin üzerine eklendi ve 48 saat tekrar inkübe edildi. 48 saat sonra, kolon kanseri hücre hattına (HCT116) karşı HOM ve HOM-RuNP'lerin sitotoksik aktivitesi, Sulforhodamine B(SRB) analizi kullanılarak belirlendi. Bu yöntem 3-(4,5- dimetiltiazol-2-il)- 2,5-

difeniltetrazolyum bromür (MTT) gibi metabolik aktivite göstermemektedir. Bu boya ile metabolik aktivite reaksiyonu yerine, SRB esas olarak proteinlere stokiyometrik olarak bağlanarak canlı hücreleri tespit etmektedir. Bileşiklerin IC₅₀'sini (hücrelerin %50'sinin büyümesini engelleyen konsantrasyon) hesaplamak için doz/yanıt eğrileri hazırlandı. Ekstraktların etkinliği bu parametreye göre karşılaştırıldı.

3.3. HOESCHT33342/Propidyum iyodür ikili boyama

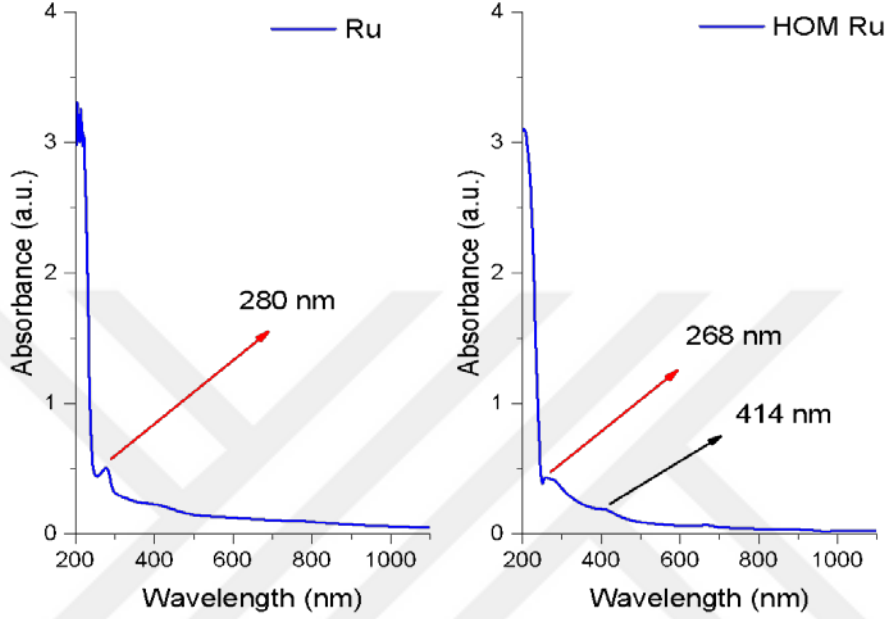
HCT116 hücreleri, her bir kuyucuğa 5000 hücre/100 ul olarak 96 kuyucuklu platelere ekildi. HOM, RuNP'ler ve HOM-RuNP'lerin IC₉₀ (hücre canlılığını %90 azaltan doz) değerleri uygulandı ve 24 saat sonra Hoescht33342 (ThermoFisher) ve Propidium Iodide (PI) (BioLegend) boyama protokolü kullanıldı. 1µg/mL'de hazırlanan çalışma solüsyonundan süpernatantları alınan kuyucuklara her iki boyadan 50 µL ilave edildi ve karanlıkta oda sıcaklığında inkübe edildi. Fotoğraflar Nikon Eclipse Ts2 immüno Floresan mikroskobu ile çekildi.

3.4. İstatistiksel Analiz

Deneyle en az üç kez tekrarlandı ve sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi. Gruplar arasında Kruskal Wallis testi ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA) GraphPad Prism 5 yazılımı kullanılarak belirlendi. $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi ve $p < 0.01$ oldukça önemli olarak kabul edildi. IC₅₀ hesaplaması için IC₅₀ Hesaplayıcı (AAT Bioquest) kullanıldı (<https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator>).

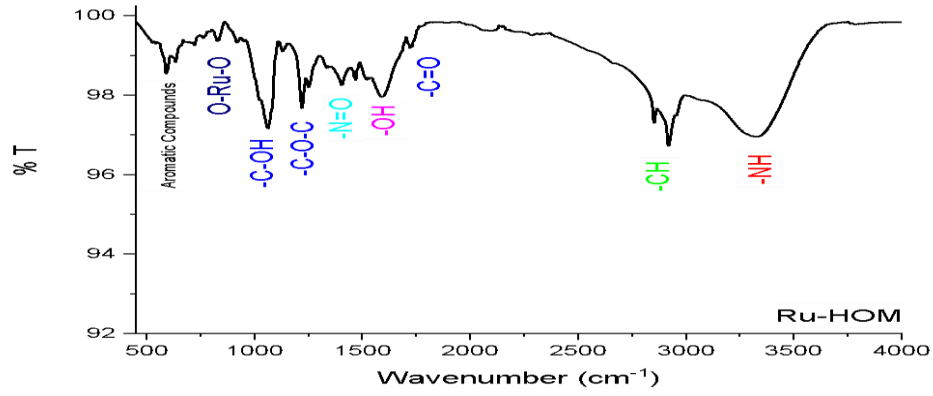
4. BULGULAR

4.1. Karakterizasyon Bulguları



Şekil 1. RuNP'lerin ve HOM-RuNP'lerin UV-VIS Spektrumu

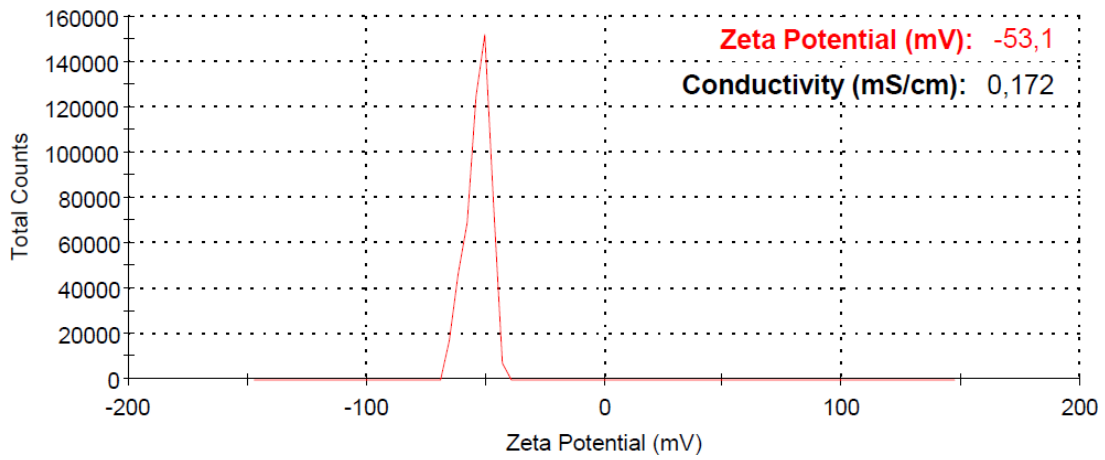
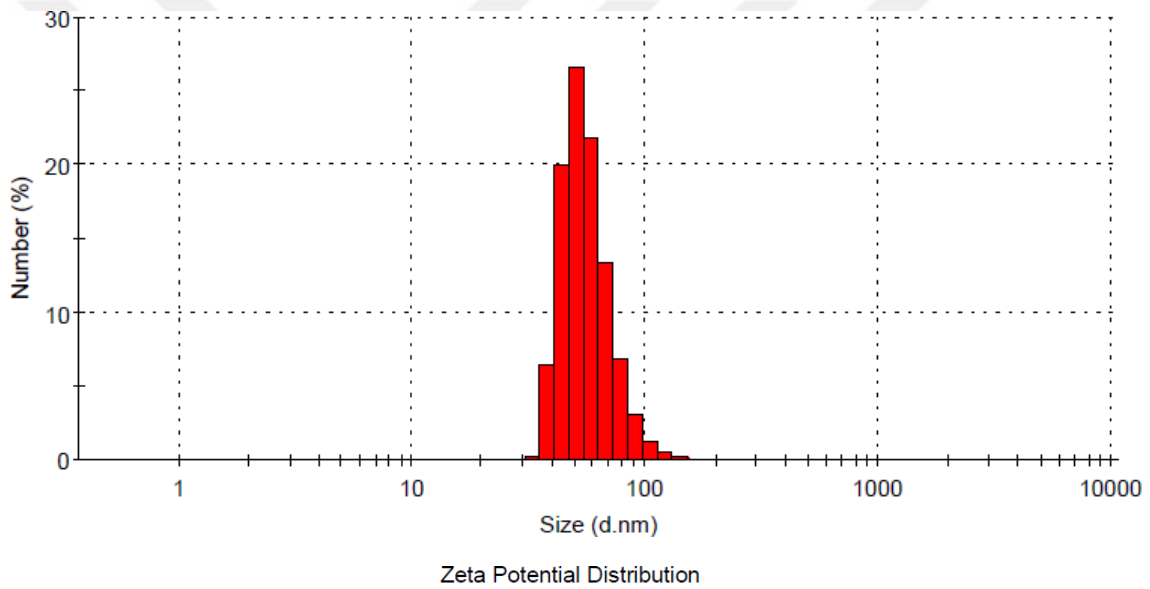
FTIR analizine bakıldığında 3329 cm^{-1} de $-\text{NH}$ piki, $2912\text{-}2852\text{ cm}^{-1}$ de alifatik $-\text{CH}$ pikleri, 1725 cm^{-1} 'de aldehit, amino asit, karboksilli asitler ya da bu tür fonksiyonel gruplara ait $-\text{C}=\text{O}$ bağ titreşimlerinin piki, 1591 cm^{-1} 'de $-\text{OH}$ gerilme pikleri, 1396 cm^{-1} de $-\text{N}=\text{O}$ asimetrik gerilim titreşimleri, 1222 cm^{-1} 'de $-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ester titreşim piki, 1048 cm^{-1} 'de karboksilli asit aldehit gibi gruplara ait $-\text{C}-\text{OH}$ titreşim piki, 840 cm^{-1} de literatürde olduğu gibi Ru metaline bağlı $\text{O}-\text{Ru}-\text{O}$ titreşim pikleri görülürken (Joshi et al. 2017), $700\text{-}450\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısında aromatik bileşiklere ait titreşim sinyalleri tespit edilmiştir (Şekil 2). Bu sonuçlar UV-VIS Absorpsiyonları ile uyumludur. UV-VIS Spektrumuna göre de yapıda karboksilli asitler, aldehitler, amin grupları, hidroksil gruplarının elektronik geçişlerine ait absorpsiyon pikleri tespit edilmiştir.



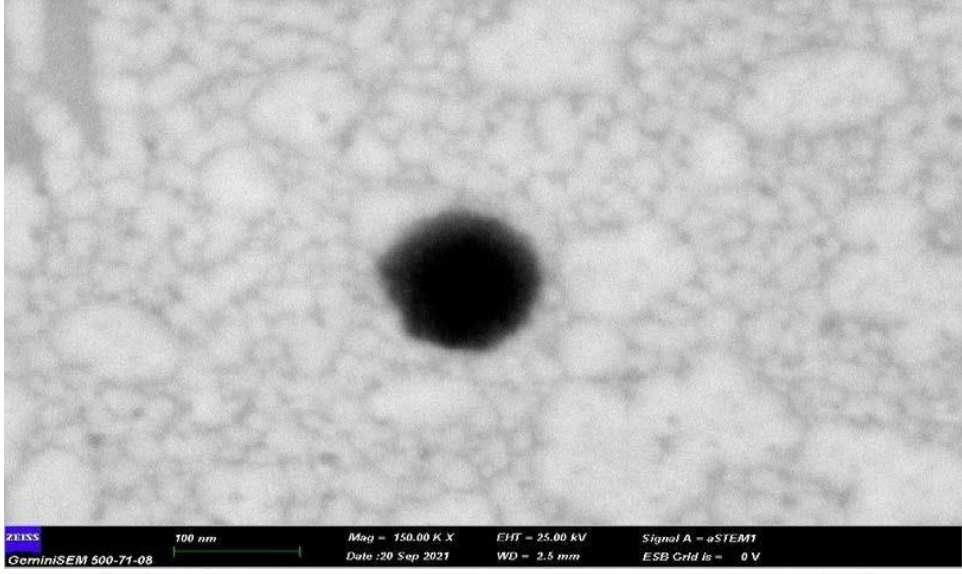
Şekil 2. HOM-RuNP'lerin FTIR analizi

Zetasizer Nano ZS cihazı ile nano partikül çözeltilerinde bulunan nano partiküllerin boyutları ölçülmüştür (Şekil 3). Buna göre kara yosunu bitki ekstraktı ile yeşil sentez yöntemi ile üretilen Ru nanopartikül boyutları 32.67 nm'den başlayarak 164.2 nm'ye kadar dağılmıştır. Ortalama tanecik boyutu 50-60 nm aralığında kalmıştır. Ortamdaki nanopartikül miktarının da göstergesi olan Derived Count Rate (kcps): 255 olarak ölçülürken nanopartiküllerin olgunluğunun bir ölçütü olan PDI değerleri 0.560 gibi bir değer ölçülmüştür. Bunun yanı sıra yüzey potansiyeli -53.1 mV'a çıkarken çözeltinin iletkenliği 0.172 mS/cm olarak ölçülmüştür. Negatif yüzey potansiyelinin kanserli hücrelerde etkili olduğu bilinen bir durumdur.

Size d.nm	Mean Number %	Std Dev Number %	Size d.nm	Mean Number %	Std Dev Number %	Size d.nm	Mean Number %	Std Dev Number %	Size d.nm	Mean Number %	Std Dev Number %
0,4000	0,0		5,615	0,0		78,82	6,8		1106	0,0	
0,4632	0,0		6,503	0,0		91,28	3,0		1281	0,0	
0,5365	0,0		7,531	0,0		105,7	1,2		1484	0,0	
0,6213	0,0		8,721	0,0		122,4	0,4		1718	0,0	
0,7195	0,0		10,10	0,0		141,8	0,2		1990	0,0	
0,8332	0,0		11,70	0,0		164,2	0,1		2305	0,0	
0,9649	0,0		13,54	0,0		190,1	0,0		2669	0,0	
1,117	0,0		15,69	0,0		220,2	0,0		3091	0,0	
1,294	0,0		18,17	0,0		255,0	0,0		3580	0,0	
1,499	0,0		21,04	0,0		295,3	0,0		4145	0,0	
1,736	0,0		24,36	0,0		342,0	0,0		4801	0,0	
2,010	0,0		28,21	0,0		396,1	0,0		5560	0,0	
2,328	0,0		32,67	0,1		458,7	0,0		6439	0,0	
2,696	0,0		37,84	6,4		531,2	0,0		7456	0,0	
3,122	0,0		43,82	19,8		615,1	0,0		8635	0,0	
3,615	0,0		50,75	26,6		712,4	0,0		1,000e4	0,0	
4,187	0,0		58,77	21,8		825,0	0,0				
4,849	0,0		68,06	13,4		955,4	0,0				

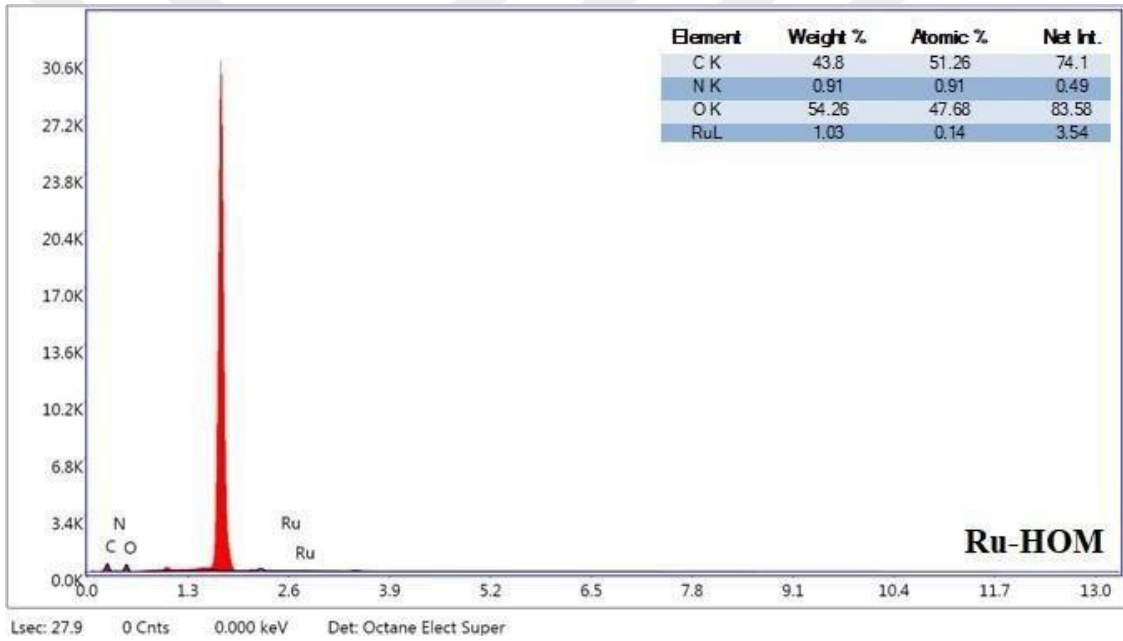
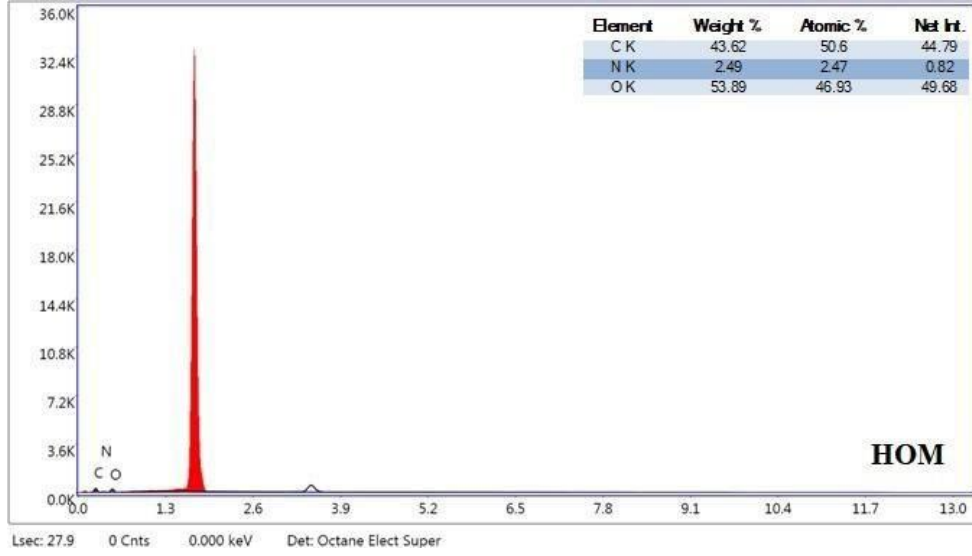


Şekil 3. HOM-RuNP'lerin Zeta potansiyel ölçümü



Şekil 4. HOM-RuNP'lerin FE-SEM görüntüsü

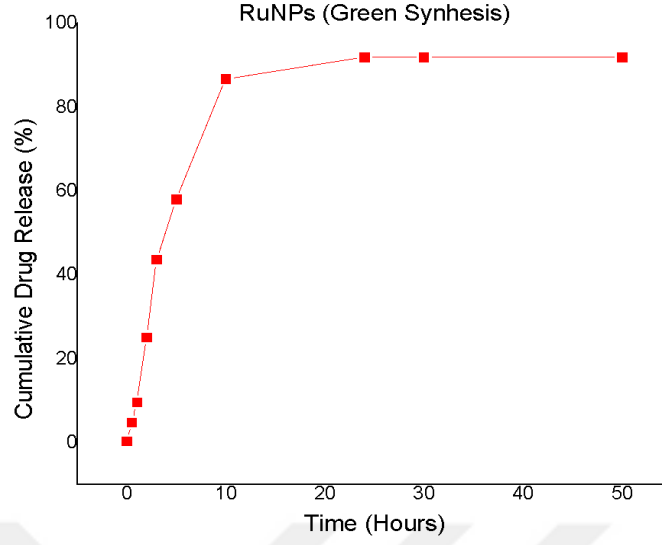
FESEM görüntülerine göre 100 nm skalada yakalanan bir tanecik tanecik boyutunun yaklaşık olarak 70-80 nm olduğunu göstermektedir (Şekil 4). Bu sonuç Zeta Sizer ile alınan ölçümler ile oldukça uyumludur. EDX analizlerinde örneklerde bulunan elementlerin bağlı yüzde oranları verilmiştir (Şekil 5). Numuneler bir gece oda sıcaklığında steril ortamda cam taban malzeme üzerine kurutulduğundan Si ait çok şiddetli bir pik görülmektedir. Karayosununa ait C, N, O elementlerinin % bileşenleri Rutenyuma bağlandığında yapıda % 0.14 Ru'ya da rastlanmıştır. Bu da karayosunun yapısında Rutenyum varlığının kanıtıdır.



Şekil 5. RuNP'lerin ve HOM-RuNP'lerin EDX ölçümü

4.2. HOM-RuNP'lerin salım bulguları

İlaç salım profilini değerlendirmek için HOM yüklü nanotaşıyıcıdan ilaç salım fizyolojik pH, pH 7.4'te gerçekleştirilmiştir. UV sonuçlarına göre HOM karayosunu ektresinin dalgaboyu 480 nm olarak tespit edilmiş ve bu dalga boyunda farklı zamanlarda alınan ölçümlere göre Ru nanotaşıyıcıdan HOM salımının özellikle birinci evrede kümülatif olarak gerçekleştiği görülmektedir. 10-12 saat ve salım yüzdesi 12 saat içinde yaklaşık %85'e ulaşmıştır (Şekil 6).

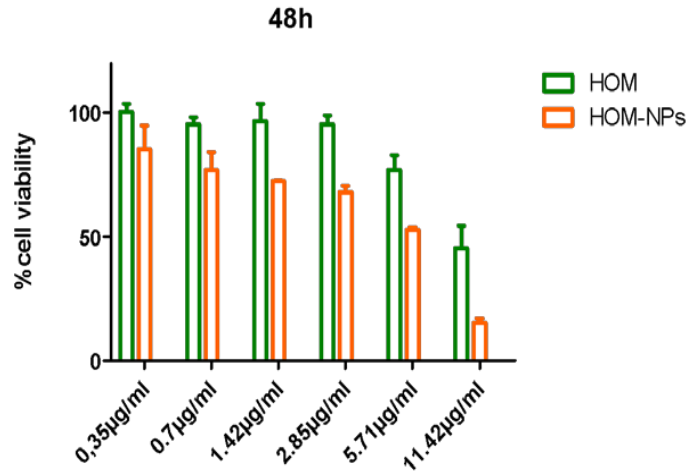


Şekil 6. Kümülatif HOM-RuNP salım yüzdesi görülmektedir.

UV sonuçlarına göre, zaman içinde HOM-RuNP'lerden kümülatif HOM salım hızında kademeli bir artış olduğu görülmektedir. Ayrıca RuNP'lerden HOM'un %85 gibi yüksek bir salım hızına sahip olması, ekstre etkisinin hedeflenen kanser hücrelerine yüksek oranda ulaşması açısından önemlidir.

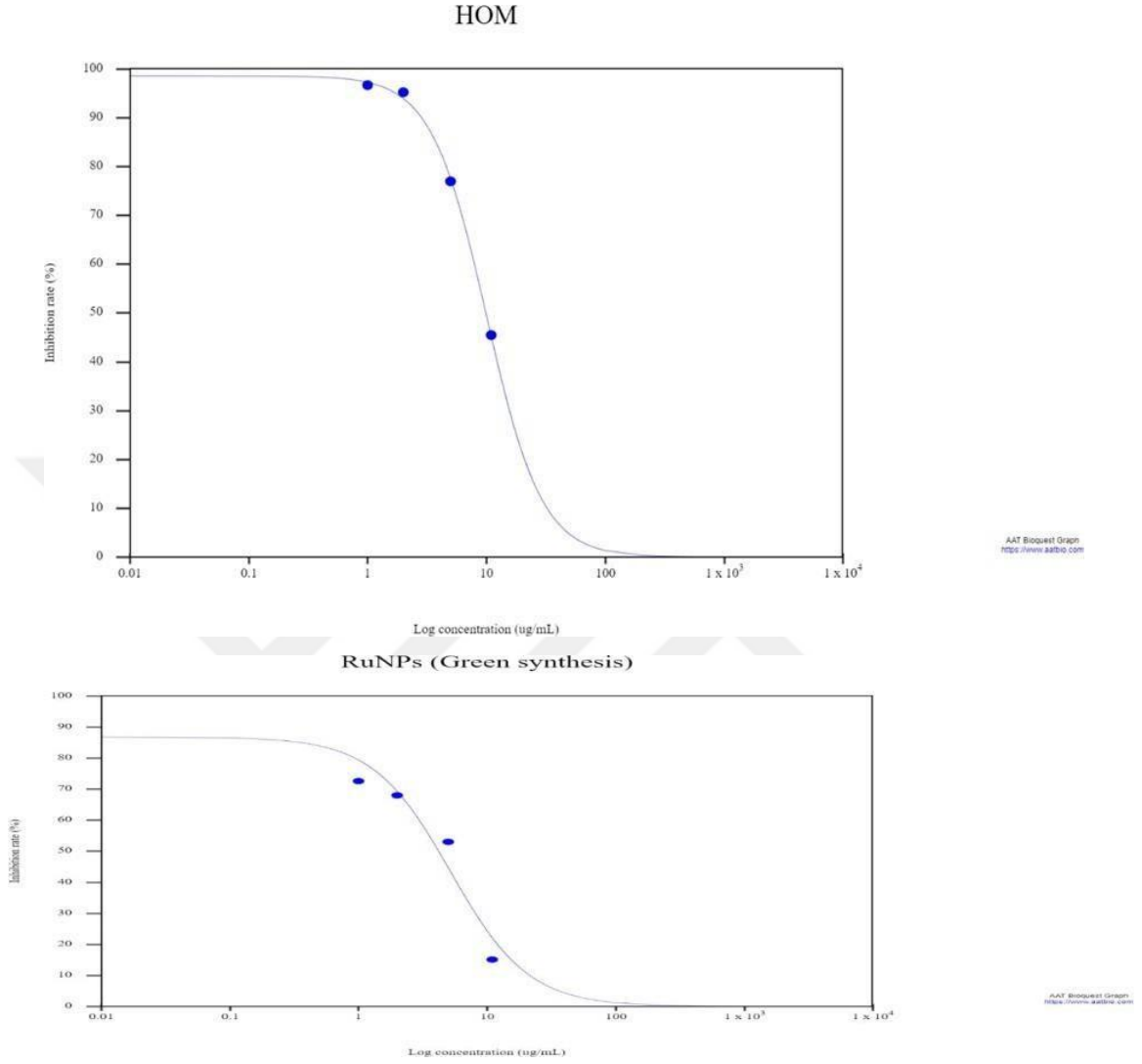
4.3. Hücre Canlılığı Bulguları

HCT116 hücrelerinde hücre büyümesi inhibisyonu üzerinde en etkili doz 5.71µg/mL olarak bulundu (Şekil 7).



Şekil 7. Grafik, 48 saat sonra her bir dozda tüm grupların canlılıkları arasındaki farkı göstermektedir.

HCT116 hücrelerinin IC₅₀ değerlerine göre, HOM'un IC₅₀'si 10,0764µg/ml iken, HOM-RuNP'lerin IC₅₀'si 5,2131 µg/mL olarak bulunmuştur (Şekil 8).



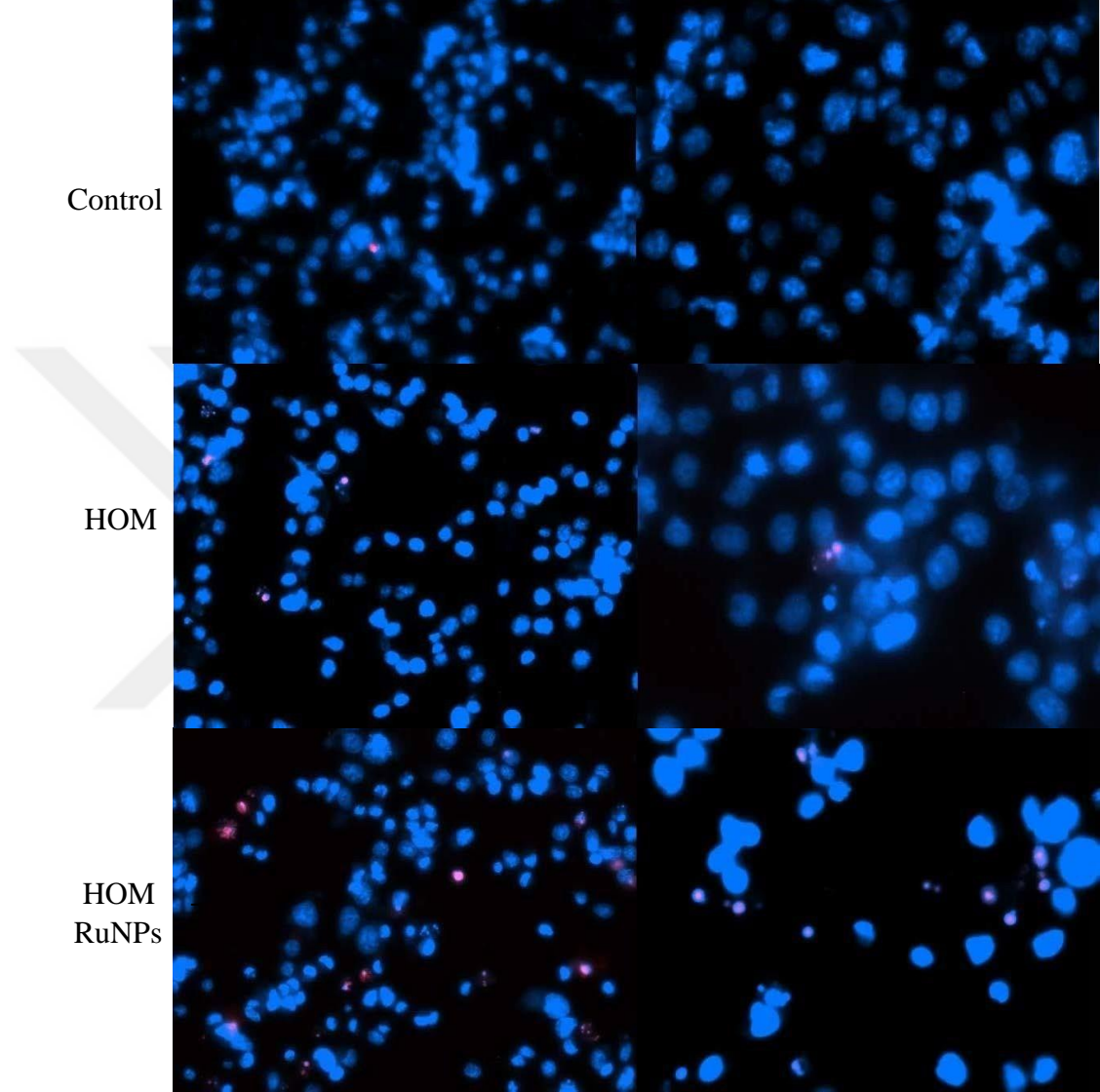
Şekil 8. HOM ve HOM-RuNP IC₅₀ değerleri görülmektedir.

4.4. Apoptoz Sonuçları

Hoechst 33342, canlı hücrelerin çekirdeklerinin boyanmasını ve hücrelerdeki DNA için bir floresan boya olan propidium iyodür (PI) hücrenin hayatta kalmasını belirlemek için kullanılır. PI esas olarak apoptoz, nekroz ve sabit hücrelerde çift sarmallı nükleik asitleri bağlar, ancak canlı hücre zarını geçemediği için sadece ölü hücreleri boyar. HOM-RuNP uygulamasına göre apoptoz, kontrol grubunun aksine belirgin şekilde artmıştır. HOM ile tedavi edilen grup, HOM-RuNP ile tedavi edilen grup ile karşılaştırıldığında, ölü hücre yüzdesi daha düşük bulunmuştur (Şekil 9). Ayrıca yeşil sentez ile elde edilmiş

Ru nanotaşıyıcısında bulunan HOM ekstraktı dozu sadece HOM uygulanmış grubun konsantrasyonundan daha düşük verilmesine rağmen, HCT116 hücrelerinde apoptozun arttığı açıkça görülmektedir.

MERGED



Şekil 9. Hücre ölümü, gruplar halinde immüno Floresan görüntülerle tespit edildi. HCT116 gruplarının Hoescht/PI çift boyama görüntülerine göre apoptotik hücreler pembe renk olarak görüldü. Her grup için rakamların büyütülmesi sırasıyla 20x ve 40x'tir.

5. TARTIŞMA

Nanoteknoloji, malzeme biliminin en aktif araştırma alanlarından biridir. Nanoteknoloji her geçen gün gelişmekte ve hayatımız üzerinde önemli etkiler yaratmaktadır. Nanopartiküllerin, özellikle nanomalzemelerin uygulamaları hızla geliştirilmektedir (Nalwa vd, 2000). Metalnanoparçacıkların biyomoleküler algılama, teşhis, terapötik antimikrobiyaller, kataliz ve mikro elektronik alanında inanılmaz bir duyarlılığa sahip olduğu bulunmuştur (Jain ve ark., 2009; Sundrarajan ve Gowri, 2011). Metal nanoparçacıkların sentezi, özellikle kimyasal, fiziksel, malzeme, biyolojik ve tıbbi, optik, mühendislik ve mekanik bilimler gibi çeşitli alanlardaki bilim adamlarının dikkatini çekmiştir (Jain ve diğerleri, 2009; Sundrarajan ve Gowri, 2011). Nanopartiküllerin özellikleri esas olarak boyutlarına, şekillerine, morfolojilerine, bileşimlerine ve kristal fazlarına ve ayrıca yüzey alanlarına bağlıdır. Metal nanoparçacıkların atomlarının/moleküllerinin yüksek yüzey alanı ve fraksiyonları, elektronik, katalitik ve manyetik aktiviteler gibi olağandışı özelliklerinden ve ayrıca su ve hava temizlemede geniş uygulamalara sahip olmasından sorumludur (Jain ve diğerleri, 2009; Sundrarajan ve Gowri 2011). Titanyum nanoparçacıkları gibi metal oksit nanoparçacıkları, ilginç kimyasal stabiliteye sahiptir ve optik, dielektrik, katalitik ve biyolojik özelliklere sahip olmanın yanı sıra pigment, dolgu maddeleri, katalizör destekleri ve fotokatalizör olarak da kullanılmaktadır (Sundrarajan ve Gowri, 2011). Metal ve metal oksit nanoparçacıkları genellikle çeşitli fizyokimyasal yöntemlerle sentezlenir. Sentetik yöntemlerden bazıları yaygın olarak kullanılanlar sol-jel, püskürtmesiz, indirgeme ve elektrokimyasal tekniklerdir (Sundrarajan ve Gowri, 2011). Bunların yanı sıra, metal nanoparçacıkların sentezi için bir dizi başka yöntem de mevcuttur; örneğin, çözeltilerde indirgeme, kimyasal ve fotokimyasal reaksiyonlar, elektrokimyasal ve termal ayrışma, sono kimyasal ve radyasyon ve mikrodalga destekli işlemler. Ancak bu yöntemlerin maliyetli, toksik ve tehlikeli olmaları ve yüksek enerji ve basınç gerektirmeleri nedeniyle sınırlamaları vardır. Bununla birlikte, rutin fizikokimyasal teknikler, fotokimyasal indirgeme, lazer ablasyon, elektrokimya, litografi ve yüksek enerjili ışınlama gibi nanoparçacık üretimi ya pahalı kalır ya da organik çözücüler ve sodyum borohidrit ve N,Ndimetilformamid gibi toksik indirgeyici maddeler gibi tehlikeli maddeler kullanır. Ek olarak, nanopartiküllerin yüksek yüzey enerjisinden dolayı, bunlar agrega oluşturma eğilimindedir, bu nedenle birleşmeyi önlemek için reaksiyon sistemlerine sıklıkla yüzey pasivasyonu ve kapatma reaktifleri eklenir. Nanoteknoloji ayrıca, bu özellikler üzerinde mükemmel bir kontrol ile farklı kimyasal bileşim, boyut ve morfolojiye sahip nanomalzemelerin sentezini gerektirir.

Nanomalzemelerin sentezi için güvenilir, çevre dostu süreçlerin geliştirilmesi nanoteknolojinin önemli bir yönüdür (Bhattacharya ve Gupta, 2005).

Yeşil kimya ilkelerinin tanımladığı gibi, çevresel risk maddelerinin kullanımını en aza indirmeye veya ortadan kaldırmaya yönelik artan ihtiyaç nedeniyle, biyolojik ajanlar kullanılarak nanoparçacıkların sentezi son on yılda artan bir ilgi görmüştür. Biyosentetik prosedürler ya bakteri, mantar ve bitkiler gibi canlı organizmaları ya da bitki özleri gibi biyokütleyi içerir. Nanoparçacıkların biyolojik sentezleri, nanomalzeme elde etmek için daha karmaşık fiziko-kimyasal yaklaşımlara basit bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Metaller ve mikroorganizmalar arasındaki etkileşimler iyi çalışılmıştır ve mikroorganizmaların metalleri biriktirme yeteneği, biyoremediasyon ve biyoliç gibi biyoteknolojik işlemlerde halihazırda kullanılmaktadır (Gericke ve Pinches, 2006). Çevre dostu yaklaşım, ekonomik avantajı, biyoyoumluluğu ve uzun vadede yaşayabilirliği ve özellikle tıp alanında uygulama sırasında olumsuz etkilerinin olmaması nedeniyle çok daha fazla önem taşımaktadır. Nanopartiküllerin yeşil sentezi, redoksun ana reaksiyon olduğu eşsiz bir yaklaşımdır (Sundrarajan ve Gowri, 2011). Metal nanoparçacıkların hazırlanmasından genellikle antioksidan veya indirgeyici özelliklere sahip fitokimyasallar ve mikrobiyal enzimler sorumludur (Sundrarajan ve Gowri, 2011). Nanopartiküllerin yeşil sentezinin altında yatan çevre dostu ilkeler, çözücü, indirgeyici madde ve toksik olmayan malzeme seçimidir. Bakteriler, mantarlar ve aktinomisetler ile yeşil sentez sağlanmıştır (Sundrarajan ve Gowri, 2011). *Camellia Sinensis*, *Coriandrum sativum*, *Nelumbo nucifera*, *Ocimum sanctum* ve diğer bazı nim ağacı türlerinden elde edilen nanoparçacık sentezi için bitki özlerinin kullanımı incelenmiştir. Bitki özleri, bulunabilirlik kolaylığı ve güvenli kullanım gibi avantajlara sahiptir ve geniş bir doğal ürün canlılığına sahiptirler. Nanopartiküllerin sentezinden sorumlu fitokimyasallar başlıca flavonoidler, terpenoidler, ve amidlerdir (Sundrarajan ve Gowri, 2011). Yeşil sentez, nanoparçacıkların sürdürülebilir güvenli üretiminin yolunu açmış ve daha yavaş kinetiği, manipülasyon kolaylığı ve nanoparçacık stabilizasyonu için kristal büyümesi üzerindeki kontrolü nedeniyle daha iyi bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır. Metal nanoparçacıkların sentezi için özellikle bitki özü, mantar, bakteri ve enzimler gibi çevre dostu malzemelerin kullanılması, farmasötik ve diğer biyomedikal uygulamalarda sayısız faydaya sahiptir. Yeşil sentez, çevre dostu, uygun maliyetli, büyük ölçekli sentez için kolayca büyütülebildiği ve yüksek basınç, enerji, sıcaklık veya tehlikeli kimyasalların kullanılmasına gerek olmadığı için kimyasal ve fiziksel yöntemlerden üstündür (Singh ve diğerleri, 2010). Yeşil sentez, nanoparçacıkların sürdürülebilir güvenli üretiminin yolunu açmış ve daha yavaş kinetiği, manipülasyon kolaylığı ve nanoparçacık stabilizasyonu için kristal büyümesi üzerindeki kontrolü nedeniyle

daha iyi bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır. Metal nanoparçacıkların sentezi için özellikle bitki özü, mantar, bakteri ve enzimler gibi çevre dostu malzemelerin kullanılması, farmasötik ve diğer biyomedikal uygulamalarda sayısız faydaya sahiptir. Yeşil sentez, çevre dostu, uygun maliyetli, büyük ölçekli sentez için kolayca büyütülebildiği ve yüksek basınç, enerji, sıcaklık veya tehlikeli kimyasalların kullanılmasına gerek olmadığı için kimyasal ve fiziksel yöntemlerden üstündür (Singh ve diğerleri, 2010).

Rutenyum, normal hücrelere karşı düşük toksisiteye sahip olması, tümör hücreleri tarafından daha kolay emilmesi ve vücuttan kolayca atılması nedeniyle tercih edilmektedir (Schott vd. 2011). Önemli avantajlarından biri, özellikle ligand yapıları sayesinde hasta dokularını seçici olarak bulup bağlamalarıdır (Thangavel vd. 2017). Platinlerin aksine farklı yerlerden DNA çapraz bağlarına bağlanarak sisplatine dirençli tümörlerde terapötik etki göstermiştir (Aird vd. 2002). Tüm bu özelliklere rağmen, Ru-tabanlı nanopartiküller üzerine yapılan çalışmalar hala ortaya çıkmakta ve oldukça sınırlıdır (He vd. 2014; Xu vd. 2019; Kasinathan vd. 2021; Karges vd. 2021). Bu özelliklerinden dolayı çalışmamızda rutenyumu nano taşıyıcı içerisine koyarak, HOM karayosunu ile yeşil sentez ile oluşturulan 70-80 nm büyüklüğündeki nanopartiküllerin düşük dozda kolorektal kanser hücre canlılığı üzerinde önemli oranda inhibe edici etkisi saptanmıştır. Hatta sadece HOM bitkisi ilave edilen gruba göre 2 kat daha fazla etkiye sahip olmuştur. Dolayısıyla hazırladığımız nanopartikül oldukça başarılı olmuştur. Hücre ölümünün tespiti için Hoechst 33342/PI ikili boyama çok tercih edilmektedir. Çünkü birincisinin mavi floresansı ve ikincisinin kırmızı floresansı güzel bir şekilde birleşmekte ve hem apoptotik hücrelerin fraksiyonunu hem de nekrotik fraksiyonunu (PI-pozitif) tespit etmeyi mümkün kılmaktadır (Kabakov vd. 2011). Çalışmamızda IC50'ye göre seçilen dozda HOM-RuNP'lerin HCT116 kolorektal kanser hücrelerini belirgin şekilde apoptoza ve nekroza götürdüğü gözlenmiştir. Üstelik bu etkinliğin önce yaptığımız çalışmada (Özerkan vd. 2021) sadece HOM uygulananlara göre daha düşük dozda daha fazla olduğu da belirlenmiştir.

6. SONUÇ, ÖNERİLER VE TOPLUMA KATKI

Son yıllarda kemoterapi ilaçlarının hata payını en aza indirmek veya ortadan kaldırmak için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Nanotaşıyıcılar, hedeflenen dokuda kontrollü salımları ile oldukça başarılı sonuçlar vermektedir. Bu tez çalışmasında, yeşil sentez yöntemi ile HOM- RuNP'leri ilk kez başarıyla sentezlenmiştir. HOM-RuNP nanotaşıyıcıların salım profilleri, sitotoksik ve apoptotik etkilerigöz önüne alındığında, kanser tedavisinde umut verici yeni bir antikanser ajanı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca sentezlenen yeni nanoparçacıkların daha sonraki çalışmalara da öncülük edebileceği tahmin edilmektedir. Sentezlenen nanopartikül boyut olarak 70 nm civarında kalmış, düşük dozda HOM-RuNP nanopartikülleri, kolorektal kanser HCT116 hücre canlılığını azaltıcı ve apoptotik etki göstermiştir.

Nanotaşıyıcılar, katı tümörlerde sızıntılı bir damar sistemi ve kusurlu lenfatik drenaj nedeniyle tercihen pasif hedefleme yoluyla tümörde birikir. Bozuk bir damar sisteminin ve tümör mikro- ortamının (TME) geçirgenliği ve tutulması, makromoleküllerin TME'de 70 kat birikmesine yol açabilir. Kötü huylu tümörlerin desteklenmesi için hayati önem taşıyan hızlı vaskülarizasyon nedeniyle oluşturulan sızdıran ve kusurlu damar sistemi, kusurlu lenfatik drenaj ile birleştiğinde EPR etkisine izin verir. Bu, tümörde heterojen perfüzyon, sıvının ekstrasvazasyonundan kaynaklanan yüksek interstisyel sıvı basıncı, hipoksi ve asidik bir ortam gibi çeşitli koşullarla sonuçlanır. EPR tabanlı ilaç dağıtımı, ilaç partiküllerinin boyutuna, şekline ve yüzey özelliklerine bağlı olan dolaşım süresi, hedefleme ve engellerin üstesinden gelme yeteneği gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Pasif hedefleme esas olarak bir yayılma mekanizmasına dayanır. Sonuç olarak boyut, EPR'ye bağlı teslimat sürecinde çok önemli bir faktördür. Çalışmalar, yaklaşık 40 ila 400 nm'lik bir nanoparçacık boyutu aralığının, uzun dolaşım süresi ve azalmış renal klirensli tümörlerde artan birikimi sağlamak için uygun olduğunu göstermiştir. Şekil ve morfoloji de pasif hedeflemede önemli roller oynar. Genel olarak, boyutu 50 ila 200 nm arasında değişen katı, küresel partiküller, karaciğer ve dalak tarafından tutulumu önleyecek kadar uzun dolaşıma daha yüksek eğilim gösterir. Ancak böbrek klirensini önleyecek kadar da boyutça büyüktür. Bu yüzden EPR bazlı ilaç dağıtımı, nanopartiküllerin boyutu, şekli ve bazen yüzey değişikliği ile modifiye edilerek modüle edilebilir. Bu tez çalışmasında HOM-RuNP nanotaşıyıcıların salım profili ve sonuçlar göz önüne alındığında HCT116 hücrelerinde başarılı olduğu saptanmıştır. Yeşil sentez yöntemi kullanılarak rutenyum tabanlı nanopartiküllerin daha sonraki *in vitro* çalışmalara da öncülük

edebileceği tahmin edilmektedir. Dolayısıyla, kanser tedavisinde umut verici yeni bir antikanser ajan olabileceği düşünölmektedir.



7. KAYNAKÇA

Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., ve ark. (2013). Liposome: Classification, preparation, and applications, *Nanoscale Res. Lett.* 8 1-9.

Ahmad, A., Senapati S., Khan, MI., Kumar, R., Sastry M. (2003). Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete, *Thermomonospora* sp. *Langmuir*; 19(8):3550–3.

Alani F., Moo-Young M., Anderson W. (2012). Biosynthesis of silver nanoparticles by a new strain of *Streptomyces* sp. compared with *Aspergillusfumigatus*. *World JMicrobiol Biotechnol*; 28(3):1081–6.

Alexis, F., Pridgen, E., Molnar, L.K., Farokhzad, O.C., (2008). Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Mol. Pharm.* 5, 505–515.

Allardyce, CS., Dorcier, A., Scolaro, C., Dyson, PJ. (2005). Development of organometallic (organo-transition metal) pharmaceuticals. *Appl Organomet Chem* 19:1–10.

Antonarakis ES., and Emadi A. (2010). Ruthenium-based chemotherapeutics: are they ready for prime time *Cancer Chemother Pharm* 66:1–9.

Armendariz V., Herrera I., Jose-yacaman, M., Troiani, H., Santiago, P., Gardea-Torresdey, JL. (2004). Size controlled gold nanoparticle formation by *Avena sativa* biomass: use of plants in nanobiotechnology. *J Nanopart Res*; 6(4):377–82.

AshaRani, P.V., Low Kah Mun, G., Hande, M.P., Valiyaveetil, S., 2009. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano* 3, 279–290.

Bentley, SD., Chater, KF., Cerdeno-Tarraga, AM., Challis, GL., Thomson, NR., James KD., Harris, DE., Quail, MA., Kieser, H., Harper, D., Bateman, A. (2002). Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3 (2). *Nature*; 417(6885):141.

Bergamo, A., Gaiddon, C., Schellens, JHM., Beijnen, JH., Sava, G., (2012). Approaching tumour therapy beyond platinum drugs: status of the art and perspectives of ruthenium drug candidates. *J Inorg Biochem* 106:90–99.

Bhattacharya, D & Gupta, R.K. (2005). Nanotechnology and potential of microorganisms. *Critical Reviews in Biotechnology* 25, 199–204.

Blunden, B. & Stenzel, M. (2014) Incorporating ruthenium into advanced drug delivery carriers – an innovative generation of chemotherapeutics.

- Cao, Y. (2002). Nanoparticles with Raman spectroscopic fingerprints for DNA and RNA detection. *Science* 80 (297), 1536–1540.
- Centelles, J. (2012). General aspects of colorectal cancer. *Int. Sch. Res. Not.* 2012, 139268.
- Clarke, M.J., Zhu, F., ve ark. (1999). Non-Platinum Chemotherapeutic Metallopharmaceuticals. *Chem Rev* 99:2511–2534.
- Quade, R.M., Stojanovska, V., Bornstein, J.C., Nurgali, K. (2018). PARP inhibition in platinum-based chemotherapy: Chemopotential and neuroprotection. *Pharmacol. Res.*, 137, 104–113.
- Darroudi, M., Ahmad, MB., Zamiri, R., ve ark (2011). Time-dependent effect in green synthesis of silver nanoparticles. *Int J Nanomedicine*; 6:677.
- Das, D., Dutta, A., Mondal, P. (2015). Interaction of aquated form of ruthenium (III) anticancer complexes with normal and mismatch base pairs: A density functional theoretical study. *Comput. Theor. Chem.* 1072, 28–36.
- Deepa, S., Kanimozhi K., Panneerselvam, A. (2013). Antimicrobial activity of extracellularly synthesized silver nanoparticles from marine derived actinomycetes. *Int J Curr Microbiol App Sci*; 2(2):223–30.
- Dekker, E., Tanis, P.J., Vleugels, J.L.A., ve ark. (2019). Colorectal cancer. *Lancet*, 394, 1467-1480
- Dreaden, E., Alkilany, A., Huang, X., Murphy, C., El-Sayed, M. (2012). The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. *Chem. Soc. Rev.* 41, 2740– 2779.
- Dubey, SP., Lahtinen, M., Sillanpää, M. (2010). Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles. *Process Biochem* ;45(7):1065–71.
- Elliott, J., Shibuta, Y., Amara, H., Bichara, C., Neyts, E., (2013). Atomistic modelling of CVD synthesis of carbon nanotubes and graphene. *Nanoscale* 5, 6662
- Emery, A., Saal, J., Kirklin, S., Hegde, V., Wolverton, C. (2016). High-throughput computational screening of perovskites for thermochemical water splitting applications. *Chem. Mater.* 28.
- Engstrom, P., Arnoletti, J., ve ark. (2009). NCCN clinical practice in oncology:rectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2009; 7: 838-88
- Gericke, M. & Pinches, A. (2006). Biological synthesis of metal nanoparticles. *Hydrometallurgy* 83, 132–140.

Golinska, P., Wypij, M., Ingle, AP., Gupta, I., Dahm, H., Rai, M. (2014). Biogenic synthesis of metal nanoparticles from actinomycetes: biomedical applications and cytotoxicity. *Appl Microbiol Biotechnol* ;98(19):8083–97.

Golobic, M., Jemec, A., Drobne, D., Romih, T., Kasemets, K., Kahru, A., (2012). Upon exposure to Cu nanoparticles, accumulation of copper in the isopod *Porcellio scaber* is due to the dissolved Cu ions inside the digestive tract. *Environ. Sci. Technol.* 46, 12112–12119.

Gopal, Y., Jayaraju, D., Kondapi, AK. (1999). Inhibition of topoisomerase II catalytic activity by two ruthenium compounds: a ligand-dependent mode of action. *BioChem* 38:4382–4388.

Greish, K. (2007). Enhanced permeability and retention of macromolecular drugs in solid tumors: A royal gate for targeted anticancer nanomedicines. *J. Drug Targeting*.

Grewal, S., Oosterling, S.J., van Egmond, M. (2021). Surgery for Colorectal Cancer: A Trigger for Liver Metastases Development? New Insights into the Underlying Mechanisms. *Biomedicines* 9, 177.

Groessl, M, Hartinger, C., Dyson, P., Keppler, B. (2008). CZE-ICP-MS as a tool for studying the hydrolysis of ruthenium anticancer drug candidates and their reactivity towards the DNA model compound dGMP. *J Inorg Biochem* 102:1060–1065.

Guillem, J., Moore, H., Akhuurst, T. (2004). Sequential preoperative fluorodeoxyglucose-positron emission tomography assessment of response to preoperative chemoradiation: a means for determining long term outcomes of rectal cancer. *J Am Coll Surg.* **199**:1–7.

Ang, W. & Dyson, P. (2006). Classical and Non-Classical Ruthenium Based Anticancer Drugs: Towards Targeted Chemotherapy. *Euro J Inorg Chem* 20:4003–4018.

Hawkey, C., Bosch, J., Richter, J., ve ark. (2012). Textbook of Clinical Gastroenterology and Hepatology (Hawkey/Textbook of Clinical Gastroenterology and Hepatology) || Colorectal Cancer: A Multidisciplinary Approach. 444–454. doi:10.1002/9781118321386.ch59

Herrera-Becerra, R., Zorrilla, C., Rius, J., Ascencio, J. (2008). Electron microscopy characterization of biosynthesized iron oxide nanoparticles. *Appl Phys A* ;91(2):241–6.

Hildebrandt, U., Feifel, G. (1985). Preoperative staging of rectal cancer by intrarectal ultrasound. *Dis Colon Rectum*; 28: 42-46

Hiragino, Y., Tanaka, T., Takeuchi, H., Takeuchi, A., Lin, J., Yoshida, T., Fujita, Y. (2016). Synthesis of nitrogen-doped ZnO nanoparticles by RF thermal plasma. *Solid-State Electron* ;118:41–5.

Hobbs, S. (1998). Regulation of transport pathways in tumor vessels: Role of tumor type and microenvironment. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 95, 4607– 4612.

Horiuchi, K., Wang, Y., Diamond, S. (2006). Microarrays for the functional analysis of the chemical-kinase interactome. *J Biomol Screen* 11:48–56.

Huang, S., Liang, Y., Huang, C., Su, W., ve ark (2016). Systematical investigation of binding interaction between novel ruthenium(II) arene complex with curcumin analogs and ctDNA. *Luminescence* 31, 1384–1394.

Hussain, I., Singh, N., Singh, A., Singh, H., Singh, S. (2016). Green synthesis of nanoparticles and its potential application. *Biotechnol Lett* ;38(4):545–60.

Saeed K., Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities *Arabian Journal of Chemistry* 12, 908–931.

Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chem.* 13, 2638.

Jain, D., Daima, H., Kachhwaha, S., Kothari, S. (2009). Synthesis of plant- mediated silver nanoparticles using papaya fruit extract and evaluation of their anti- microbial activities. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 4, 557–563.

Jakupec, M.A., Galanski, M., Arion, V., Hartinger, C., Keppler, B. (2008). Antitumour metal compounds: More than theme and variations. *Dalton Trans.* 2008, 14, 183–194.

Kasthuri, J., Kathiravan, K., Rajendiran, N. (2009) Phyllanthin-assisted biosynthesis of silver and gold nanoparticles: a novel biological approach. *J Nanopart Res*;11(5):1075–85.

Kawasaki, M., Nishimura, N. (2006). 1064-nm laser fragmentation of thin Au and Ag flakes in acetone for highly productive pathway to stable metal nanoparticles. *Appl Surf Sci*;253(4):2208–16.

Khan, I., Abdalla, A., Qurashi, A. (2017). Synthesis of hierarchical WO₃ and Bi₂O₃/WO₃ nanocomposite for solar-driven water splitting applications. *Int. J. Hydrogen Energy* 42, 3431–3439.

Kharissova, O., Dias, HR., Kharisov, B., Pérez, B., Pérez, V. (2013). The greener synthesis of nanoparticles. *Trends Biotechnol* ;31(4):240–8.

Knowles, G., Haigh, R., McLean, C., Phillips, H.A., Dunlop, M., Din, F. (2013). Long term effect of surgery and radiotherapy for colorectal cancer on defecatory function and quality of life. *Eur. J. Oncol. Nurs.* 2013, 17, 570–577.

Korbekandi, H., Irvani, S., Abbasi, S. (2009). Production of nanoparticles using organisms. *Crit Rev Biotechnol* 2009;29(4):279–306.

Kostova, I. (2006). Ruthenium Complexes as Anticancer Agents. *Curr. Med. Chem.*, 13, 1085–1107

Kumar, D., Palanichamy, V., Roopan, S. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using *Alternanthera dentata* leaf extract at room temperature and their antimicrobial activity. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* ;127:168–71.

He, L., Huang, Y., Zhu, H. ve ark (2014). Cancer- Targeted Monodisperse Mesoporous Silica Nanoparticles as Carrier of Ruthenium Polypyridyl Complexes to Enhance Theranostic Effects, *Adv. Funct. Mater.* 24 2754–2763.

Levina A., Mitra, A., Lay, PA. (2009). Recent developments in ruthenium anticancer drugs. *Metallomics* 1:458–470.

Lin, K., Zhao, Z.-Z., Bo, H.-B., Hao, X.-J., Wang, J. (2018) Applications of Ruthenium Complex in Tumor Diagnosis and Therapy. *Front. Pharmacol.* 9, 1323.

Liu, H.-K., Parkinson, J., Bella, J., Wang, F., Sadler, P. (2010). Penetrative DNA intercalation and G-base selectivity of an organometallic tetrahydroanthracene RuII anticancer complex. *Chem. Sci.* 1, 258–270.

Liu, S., Liang, A., Wu, K., Zeng, W., Luo, Q., Wang, F. (2018) Binding of Organometallic Ruthenium Anticancer Complexes to DNA: Thermodynamic Base and Sequence Selectivity. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 2137.

Loureiro, A., Azoia, N.G., Gomes, A.C., Cavaco-Paulo, A., (2016). Albumin-based nanodevices as drug carriers. *Curr. Pharm. Des.* 22, 1371–1390.

Subhan, M., Yalamarty, S., Filipczak, N., Parveen, F., ve ark (2021) Recent Advances in Tumor Targeting via EPR Effect for Cancer Treatment, *J. Pers. Med.* 2021, Vol. 11, Page 571. 11, 571.

Mafuné, F., Kohno, J., Takeda, Y., ve ark (2001). Formation of gold nanoparticles by laser ablation in aqueous solution of surfactant. *J Phys Chem B* 105(22):5114–20.

Malki, A., ElRuz, R., Gupta, I. ve ark (2021) Molecular Mechanisms of Colon Cancer Progression and Metastasis: Recent Insights and Advancements. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 130.

Mansha, M., Khan, I., Ullah, N., Qurashi, A., (2017). Synthesis, characterization and visible-light-driven photoelectrochemical hydrogen evolution reaction of carbazole-containing conjugated polymers. *Int. J. Hydrogen Energy.*

Martis, E., Badve, R., Degwekar, M., (2012). Nanotechnology based devices and applications in medicine: an overview. *Chron. Young Sci.* 3, 68 .

Mittal ,AK., Chisti ,Y., Banerjee ,UC.,(2013).Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnol Adv*;31(2):346–56.

Motswainyana, W.M., Ajibade, P.A., (2015) . Anticancer Activities of Mononuclear Ruthenium(II) Coordination Complexes. *Adv. Chem.* 2015, 859730 .

Murugan, K., Benelli , G., Panneerselvam, C.,(2015).Cymbopogon citratus-synthesized gold nanoparticles boost the predation efficiency of copepod Mesocyclops aspericornis against malaria and dengue mosquitoes. *Exp Parasitol* ;153:129–38.

Taylor, N.M.I., Manolaridis, I., Jackson, S.M., Kowal , J., ve ark.(2017).Structure of the human multidrug transporter ABCG2, *Nat.* 2017 5467659. 546- 504–509.

Nahar, M., Dutta, T., Murugesan, S., Asthana , A., Mishra , D., ve ark. (2006) Functional polymeric nanoparticles: an efficient and promising tool for active delivery of bioactives. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 23: 259-318.

Nalwa, H.S., (2000).Handbook of Nanostructured Materials and Nanotechnology, Vol. 3 Academic Press, London.

Nie , S., Xing ,Y., Kim, GJ., Simons, JW., (2007) Nanotechnology applications in cancer. *Annu Rev Biomed Eng* 9: 257-288.

O. Schott, J., Ferrando-Soria, A., Bentama, S., Stiriba, J., Pasán, C., Ruiz-Pérez, M., Andruh, F., Lloret, M., (2011). Chromium(III) complexes with 2-(2'- pyridyl)imidazole: Synthesis, crystal structure and magnetic properties, *Inorganica Chim. Acta.* 1 ,358–366.

Otari S., Patil R., Nadaf, N., Ghosh, S., Pawar, S. (2012). Green biosynthesis of silver nanoparticles from an actinobacteria *Rhodococcus* sp. *Mater Lett*;72:92–4.

Joshi, P., Sutrave, D. (2017). A Comparative Study of Structural and Morphological Properties of Pristine and Mn Doped Ruthenium Oxide Thin Films, *Int. J. Thin. Fil. Sci. Tec.* 6, No. 2, 83-86.

Thangavel, P., Viswanath, B., Kim, S. (2017). Recent developments in the nanostructured materials functionalized with ruthenium complexes for targeted drug delivery to tumors, *Int. J. Nanomedicine.* 12 (2017) 2749–2758.

Paulkumar, K., Rajeshkumar, S., Gnanajobitha, G., Vanaja. M., Malarkodi, C., Annadurai, G. (2013). Biosynthesis of silver chloride nanoparticles using *Bacillus subtilis* MTCC 3053 and assessment of its antifungal activity. *ISRN Nanomaterials.*

Prabhu, S. & Poulouse, E. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications and toxicity effects. *Int Nano Lett* ;2(1):32.

Aird, R., Cummings, J., ve ark. (2002). In vitro and in vivo activity and cross resistance profiles of novel ruthenium (II) organometallic arene complexes in human ovarian cancer, *Br. J. Cancer.* 86 (2002) 1652.

Rai, A., Singh, A., Ahmad, A., Sastry, M. (2006). Role of halide ions and temperature on the morphology of biologically synthesized gold nanotriangles. *Langmuir* ;22(2):736–41.

Raju, D., Mehta, U., Hazra, S. (2011). Synthesis of gold nanoparticles by various leaf fractions of *Semecarpus anacardium* L. tree. *Trees* 25(2):145–51.

Ratanaphan, A., Temboot, P., Dyson, P. (2010). In vitro ruthenation of human breast cancer suppressor gene 1 (BRCA1) by the antimetastasis compound RAPTA-C and its analogue CarboRAPTA-C. *Chem Biodivers* 7:1290–1302.

Ravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi S., Zolfaghari, B. (2014) Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Res Pharm Sci*; 9(6):385.

Rawal, I. & Kaur, A. (2013). Synthesis of mesoporous polypyrrole nanowires /nanoparticles for ammonia gas sensing application. *Sens. Actuators A Phys.* 203, 92–102.

Roy, S. & Das, T. (2015) Plant mediated green synthesis of silver nanoparticles-A. *Int J Plant Biol Res* ;3(3):1044.

Kesharwani, S., Kaur, S., Tummala, H., Sangamwar., A. (2018). Overcoming multiple drug resistance in cancer using polymeric micelles, *Expert Opin. Drug Deliv.* 15, 1127–1142.

Santamaria, R., Irace, C., Errico, G., Montesarchio, D., Paduano, L. (2013). Perspectives and Potential Applications of Ruthenium-Based Nanocarriers for Cancer Therapy. *J Pharm Drug Dev* 1:1–4.

Sathishkumar M., Sneha, K., Won, S., Cho, C., Kim, S., Yun, Y. (2009). Cinnamon zeylanicum bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bactericidal activity. *Colloids Surf B Biointerfaces* ;73(2):332–8.

Sebolt-Leopold, J., Dudley, D., Herrera, R., ve ark. (1999). Blockade of the MAP kinase pathway suppresses growth of colon tumors in vivo. *Nat Med.* 5:810–816.

Shin, D., Lee, W., Lu, J., Kang, M. ve ark (2009). Induction of apoptosis in human colon cancer HCT-116 cells by anthocyanins through suppression of Akt and activation of p38-MAPK. *Int. J. Oncol.* 2009, 35, 1499–1504.

Shin, W., Cho, J., Kannan, A.G., Lee, Y., Kim, D., (2016). Cross-linked composite gel polymer electrolyte using mesoporous methacrylate-functionalized SiO₂ nanoparticles for lithium-ion polymer batteries. *Sci. Rep.* 6, 26332.

Siegel, R., Miller, K., Jemal, A. (2016). Cancer statistics, 2016. *Cancer J. Clin.* 66, 7–30.

Sigmund, W., Yuh, J., Park, H., Maneeratana, V., Pyrgiotakis, G., Daga, A., Taylor, J., Nino, J.C., (2006). Processing and structure relationships in electrospinning of ceramic fiber systems. *J. Am. Ceram. Soc.* 89, 395–407.

Silva, V., Corrêa, R., Santos, L., Soares, M., Batista, A., Bezerra, D. (2018). A ruthenium-based 5-fluorouracil complex with enhanced cytotoxicity and 35 apoptosis induction action in HCT116 cells. *Sci. Rep.* 2018, 8, 288.

Singh, A., Jain, D., Upadhyay, M.K., Khandelwal, N. and Verma, H.N. (2010) Green synthesis of silver nanoparticles using *Argemone mexicana* leaf extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 5, 483–489.

Singh, M., Govindarajan, R., Nath, V., Rawat, A.K.S. and Mehrotra, S. (2006) Antimicrobial, wound healing and anti-oxidant activity of *Plagiochasma appndiculatum* Lethm. et Lind. *Journal of Ethnopharmacology* 107(1), 67-72.

Suganya, K., Govindaraju, K., Kumar, V., Dhas T., Karthick, V., Singaravelu, G, Elanchezhian, M. (2015). Blue green alga mediated synthesis of gold nanoparticles and its antibacterial efficacy against Gram positive organisms. *Mater Sci Eng C*; 47:351–6.

Sun, S., (2000). Monodisperse FePt nanoparticles and ferromagnetic FePt nanocrystal superlattices. *Science* 80 (287), 1989–1992 .

Yang, T., Namba, H., Hara, T., Takmura, N., Nagayama, Y., ve ark (1997). p53 induced by ionizing radiation mediates DNA end jointing activity, but not apoptosis of thyroid cells, *Oncogene*. 14 (1997) 1511–1519.

Tarasenko, N., Butsen, A., Nevar, E., Savastenko, N. (2006). Synthesis of nanosized particles during laser ablation of gold in water. *Appl Surf Sci*; 252(13):4439– 44.

Thomas, S., Harshita, B., Mishra, P., Talegaonkar, S., (2015). Ceramic nanoparticles: fabrication methods and applications in drug delivery. *Curr. Pharm. Des.* 21, 6165–6188

Tseng, K., Chou, C., Liu, T., Haung, Y, Chung, M. (2016). Preparation of Ag-Cu composite nanoparticles by the submerged arc discharge method in aqueous media. *Mater Trans* 2016;57(3):294–301.

Wang, Y., Xia, Y., (2004). Bottom-up and top-down approaches to the synthesis of monodispersed spherical colloids of low melting-point metals. *Nano Lett.* 4, 2047– 2050.

Xu, Z., Huang, J., Kong, D., Yang, Y., Guo, L. ve ark (2020). Potent half-sandwich Ru(II) N^N (aryl-BIAN) complexes: Lysosome-mediated apoptosis, in vitro and in vivo anticancer activities. *Eur. J. Med. Chem.* 207, 112763.

Zheng, G., Patolsky, F., Cui, Y., Wang, W., Lieber, C. (2005). Multiplexed electrical detection of cancer markers with nanowire sensor arrays. *Nat Biotechnol* 23: 1294- 1301

Zhou, G., Yang, J., Song, P. (2019). Correlation of ERK/MAPK signaling pathway with proliferation and apoptosis of colon cancer cells. *Oncol. Lett.* 2019, 17, 2266–2270.

Zilfou, J. & Lowe, S. (2018). Tumor suppressive functions of p53. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2009, 1, a001883 Nakayama, M.; Oshima, M. Mutant p53 incolon cancer. *J. Mol. Cell Biol.* 11, 267–276.

Rao, J., Geckeler, K., (2011). Polymer nanoparticles: preparation techniques and size-control parameters. *Prog. Polym. Sci.* 36, 887– 913.

Mashaghi, S., Jadidi, T., Koenderink, G., Mashaghi, A., (2013). Lipid nanotechnology. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 4242–4282.

Puri, A., Loomis, K., Smith, B., Lee, J., Yavlovich, A., Heldman, E., Blumenthal, R., (2009). Lipid-based nanoparticles as pharmaceutical drug carriers: from concepts to clinic. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 26, 523–580.

Gujrati, M., Malamas, A., Shin, T., Jin, E., Sun, Y., Lu, Z.-R., (2014). Multifunctional cationic lipid-based nanoparticles facilitate endosomal escape and reduction-triggered cytosolic siRNA release. *Mol. Pharm.* 11, 2734–2744.

Loo, C., Lin, A., Hirsch, L., Lee, M., Barton, J. ve ark (2004) Nanoshell-enabled photonics-based imaging and therapy of cancer. *Technol Cancer Res Treat* 3: 33- 40.

Swadeshmukul, S., Peng, Z., Kemin, W., Rovelyn, T., Weihong, T., (2001). Conjugation of biomolecules with luminophore-doped silica nanoparticles for photostable biomarkers. *Anal. Chem.* 73, 4988– 4993

Clarke, M, Zhu, F., Frasca, D. (1999). Non-Platinum Chemotherapeutic Metallopharmaceuticals. *Chem Rev* 99:2511–2534.

Stenzel, M. (2008). RAFT polymerization: an avenue to functional polymeric micelles for drug delivery. *Chem Commun* 44:3486–3503.

Satchi-Fainaro, R., Duncan, R., Barnes, C. (2006). Polymer Therapeutics for Cancer: Current Status and Future Challenges. *Adv Polym Sci* 193:1–65.

Apps, M., Wheate, N. (2015) The state-of-play and future of platinum drugs *Endocr. Relat. Cancer* 22, R219–R233.

Mehmood, R. (2014). Review of Cisplatin and oxaliplatin in current immunogenic and monoclonal antibody treatments. *Oncol. Rev.* 2014, 8, 256.

Coverdale, J., Laroia-McCarron, T., Romero-Canelón, I. (2019). Designing Ruthenium Anticancer Drugs: What Have We Learnt from the Key Drug Candidates? *Inorganics* 7, 31.

Chiorazzi, A., Semperboni, S., Marmioli, P. (2015). Current View in Platinum Drug Mechanisms of Peripheral Neurotoxicity. *Toxics* 3, 304–321.

Razavi, M., Salahinejad, E., Fahmy, M., Yazdimamaghani, M., Vashae, D., Tayebi, L. (2005). *Green Processes for Nanotechnology*. Springer; Berlin/Heidelberg, Germany: Green chemical and biological synthesis of nanoparticles and their biomedical applications; pp. 207–235.

Narayanan, K., Sakthivel, N. (2011). Green synthesis of biogenic metal nanoparticles by terrestrial and aquatic phototrophic and heterotrophic eukaryotes and biocompatible agents. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2011;169:59–79.

Li, Y., Wang, J., Ma, X., Tan, L., Yan, Y., Xue, C., Ren, J. et al (2016). A Review of Neoadjuvant Chemoradiotherapy for Locally Advanced Rectal Cancer. *International Journal of Biological Sciences*, 12(8), 1022–1031.

Mandal, D., Bolander, M., Mukhopadhyay, D., Sarkar, G., Mukherjee, P. (2006). The use of microorganisms for the formation of metal nanoparticles and their application. *Appl Microbiol Biotechnol* 2006;69(5):485–92.

Alpers, D., Kalloo, A., Kaplowitz, N., Owyang, C., Powell, D. (2008). Yamada T (ed.). *Principles of clinical gastroenterology*. Chichester, West Sussex: Wiley- Blackwell. p. 381. ISBN 978-1-4051-6910-3. Archived from the original on September 28, 2015.



EKLER

EK - 1 : TEZ İNTİHAL RAPORU

İNTİHAL.docx

ORIGINALITY REPORT

6%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	acikbilim.yok.gov.tr Internet	278 words — 3%
2	tr.hmongwiki.com Internet	65 words — 1%
3	www.diyetasistan.com Internet	40 words — < 1%
4	tur.legatechnics.com Internet	28 words — < 1%
5	BÖLÜKBAŞI, Serap ŞAHİN and ŞAHİN, Neslihan. "Yeni Benzimidazol Rutenyum-(II) Komplekslerinin Sentezi", Cumhuriyet Üniversitesi, 2017. Publications	27 words — < 1%
6	bc684a8e-91cc-4e85-8360-708712c32a9d.filesusr.com Internet	20 words — < 1%
7	www.mynet.com Internet	17 words — < 1%
8	Gaurav Pal, Priya Rai, Anjana Pandey. "Green synthesis of nanoparticles: A greener approach for a cleaner future", Elsevier BV, 2019 Crossref	16 words — < 1%

EK 2 : ÖZGEÇMİŞ

