MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ELEKTRO-PÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE PLA İÇİNE KAPSÜLE EDİLEN *Tamarindus indica* EKSTRELERİNİN MEME KANSERİ HÜCRELERİNİN CANLILIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

RÜMEYSA EREN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ajda ÇOKER GÜRKAN

İSTANBUL,2023

MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ELEKTRO-PÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE PLA İÇİNE KAPSÜLE EDİLEN *Tamarindus indica* EKSTRELERİNİN MEME KANSERİ HÜCRELERİNİN CANLILIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

RÜMEYSA EREN

520120012

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ajda ÇOKER GÜRKAN

İSTANBUL,2023

ÖNSÖZ

FYL-2022-10718 proje numarası ile tez çalışmama verdiği maddi destekten dolayı Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ ne teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ajda Çoker Gürkan’ a, tez çalışma sürecimin her aşamasında her daim yanımda olan engin bilgileriyle ve güler yüzüyle beni destekleyen başarısını ve çalışma etiğini akademik hayatım boyunca örnek alacağım değerli hocam Sayın Dr. Songül Ulağ' a minnettarım.

Tez çalışmalarım sırasında sunduğu laboratuvar imkânlarından dolayı tezimin oluşmasına büyük katkı sağlayan Sayın Prof. Dr. Oğuzhan Gündüz' e ve NBUAM ekibine çok teşekkür ederim. Tez çalışmam boyunca benden desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Bülent Ekici'ye müteşşekkirim. Tez çalışma sürecim boyunca desteklerini eksik etmeyen Sayın Dr. Sevda Bilim'e teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın gerçekleşmesi için deneysel süreçte destek veren Sayın Prof. Dr. Nüzhet Cenk Sesal'e ve laboratuvar ekibine, desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Yıldız Aydın'a ve laboratuvar ekibine teşekkür ederim. Marmara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Kanser Araştırma Laboratuvar ekibine çok teşekkür ederim.

Bugüne kadar her zaman maddi ve manevi desteklerinden dolayı aileme ve dostlarıma sonsuz teşekkür ederim...

Desteklerini hiç esirgemeyen annem ve babama ithafen...

İÇİNDEKİLER/

ÖNSÖZ iii

İÇİNDEKİLER vi

ÖZET x

ABSTRACT xii

SEMBOLLER xiv

KISALTMALAR xv

ŞEKİL LİSTESİ xvi

TABLO LİSTESİ xiii

1.GİRİŞ 1

1.1. Kanser 3

1.1.2. Kanser çeşitleri ve prevalansı 5

1.2. Meme Kanseri 7

1.2.1. Meme Kanseri Epidemiyolojisi 9

1.2.2. Meme Kanseri Risk Faktörleri 12

1.2.2.1 Kalıtsal faktörler (Aile Hikayesi) 12

1.2.2.2. Yaş, Cinsiyet ve Etnik Köken 13

1.2.2.3. Yaşam Tarzı 13

1.3. Meme Kanseri Sınıflandırılması 14

1.3.1. Meme Kanseri Alt Tipleri 15

1.3.1.1. Luminal A 15

1.3.1.2. Luminal B 15

1.3.2. Tedavi Yöntemleri 15

1.3.2.1. Nanoterapi 15

1.3.2.2. Cerrahi Yöntemler 16

1.3.2.3. Kemoterapi ve Radyoterapi 16

1.4. Meme Kanseri Moleküler Mekanizması 17

1.5. *Tamarindus indica* 21
1.5.1 1.5.1 *Tamarindus indica* Yapısında Bulunan Fenoller 22
1.5.2. *Tamarindus indica* Anti-inflamatuar Özelliği 22
1.5.3. *Tamarindus indica* Anti diyabetik Aktivite 23
1.5.4. *Tamarindus indica*'nın Steroid Hormonlarına Etkisi 23
1.5.5. Bitkilerden elde edilen Ekstraksiyonu Nanoteknolojide Kullanımı 23
1.5.6. *Tamarindus indica*'nın Anti-Kanser Etkisi 24
1.6. Biyomalzemeler 25
1.6.1. Biyomalzemelerin Sınıflandırılması 26
1.6.1.1. Metal Biyomalzemeler 26
1.6.1.2. Seramik Biyomalzemeler 26
1.6.1.3. Kompozit Biyomalzemeler 26
1.6.1.4. Doğal Malzemeler 26
1.6.1.5. Polimerler 27
1.7. PLA (Polilaktik Asit) 28
1.7.1. Elektrosprey 31
2. MATERYAL VE YÖNTEM 33
2.1. Hücre Kültürü 33
2.1.1. Hücre Canlılığının Belirlenmesi 33
2.1.2. Koloni Oluşumunun Kristal Viyole ile Gösterilmesi 33
2.1.3. Hücre Büyümesinin Tripan Mavi ile Boyanması 33
2.1.4. Dioc6 ve DAPI Floresan Boyama 33
2.1.5. İstatistiksel Analiz 33
2.2. Hücre Kültürü ve Nanopartikül Sentezi İçin *Tamarindus indica* Ekstrelerinin Hazırlanması 35
2.2.1. *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstraksiyonu 35
2.2.2. Nanopartikül Sentezinde Kullanılan *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstraksiyonu 36

2.2.3. PLA Partikülü Sentezi Solüsyonlarının Hazırlanması 37
2.2.4. %3'lük PLA Solüsyonu 38
2.2.5. *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstresi Solüsyonun Hazırlanması 39
2.2.6. *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstresi Solüsyonun Hazırlanması 39
2.2.7. Elektrosprey Cihazında Nanopartikül ile Kaplanmış *Tamarindus indica* Ekstrelerinin Sentezi 40
2.3. PLA ve PLA ile Kapsüle Edilmiş Ekstrelerin Karakterizasyonu 41
2.3.1. PLA ve PLA ile Kaplı *Tamarindus indica* Ekstrelerin Kimyasal Analizi 41
2.3.2. PLA ve PLA ile Kaplı *Tamarindus indica* Ekstrelerin Termal Özelliğinin Analiz Edilmesi 42
2.3.3. PLA ile Kaplı *Tamarindus indica* Ekstrelerin İn -Vitro Ortamında İlaç Salınımın İncelenmesi 43
2.4. %3 PLA ve %3 PLA ile Kapsüle Edilmiş Ekstrelerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Cihazıyla Görüntülenmesi 44
3. SONUÇLAR 45
3.1. *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstrelerinin Doza Bağlı Meme Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin Gösterilmesi 45
3.2. *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstresi Meme Kanseri Doza Bağlı Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin Gösterilmesi 46
3.3. *Tamarindus indica* Çekirdeğinin MDA MB- 231 Meme Kanseri Hücresinde Floresan Boyama Yöntemi Kullanarak Gösterilmesi 47
3.4. PLA ile kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstresinin Meme Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin Gösterilmesi 48
3.5. PLA ile kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstresinin Meme Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin Gösterilmesi 49

3.6. PLA ile Kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstrelerinin Meme Kanser Hücrelerinde Hücre Büyümesinin Tripan Mavi Boyama ile Gösterilmesi 50
3.7. *Tamarindus indica* PLA ile Kapsüle Edilmiş Çekirdek Ekstrelerinin Meme Kanser Hücrelerinde Hücre Büyümesinin Tripan Mavi Boyama ile Gösterilmesi 52
3.8. PLA ve PLA ile kapsüle edilmiş *Tamarindus indica* Çekirdeğinin MDA-MB 231 Meme Kanser Hücresinde Koloni Oluşumunun Gösterilmesi 53
3.9. *Tamarindus indica* Çekirdeğinin MCF-7 Meme Kanser Hücre Hattında Koloni 24 - 48 Saat Koloni Oluşumunun Gösterilmesi 54
3.10. *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstresinin MCF-7 meme kanseri hücre hattında 24 Saat Floresan Boyama ile Gösterilmesi 55
3.11. *Tamarindus indica* Ekstrelerinin FTIR Sonuç Analizi 56
3.12. %3 PLA ile Kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Ekstrelerinin Termal Analizi 58
3.13. %3 PLA ve *Tamarindus indica* Ekstrelerinin SEM Analizleri 60
3.14. Ekstre ve Çekirdeğin Partiküllerden Salım Davranışının İncelenmesi 61
4.TARTIŞMA **63**
KAYNAKLAR 67
EKLER **78**
EK-1 Polimer Üretiminde Kullanılan Cihazlar 78
EK-2 Hücre Deneylerinde Kullanılan Cihazlar 79
ÖZGEÇMİŞ **81**

ÖZET

ELEKTRO-PÜSKÜRTME YÖNTEMİ İLE PLA İÇİNE KAPSÜLE EDİLEN *Tamarindus indica* EKSTRELERİNİN MEME KANSERİ HÜCRELERİNİN CANLILIĞI ÜZERİNE ETKİLERİ

Meme kanseri, kadınlar arasında kansere bağlı ölümlerin ikinci önde gelen nedenidir. Bu güncel araştırmada, bitkisel ilaç tercih etmemizin nedeni kemoterapide kullanılan ilaçların halsizlik, iştahsızlık, kusma, saçların dökülmesi gibi olumsuz yan etkilerinden dolayı bitkisel tedavi üzerinde durulmuştur. Farmakolojik açıdan önemli bir bitki olan *Tamarindus indica'nın* anti inflamatuar, anti oksidan, anti viral, anti kanser, anti bakteriyel ve anti diyabetik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. *Tamarindus indica* bitkisinin meme kanseri başta olmak üzere birçok kanser hücrelerinde etkisi gösterilmiştir. Fakat elektrosprey yöntemiyle kapsüle edilerek kanser hücrelerine etkisi bakılmamıştır. Bu çalışmada amacımız elektrosprey ile *Tamarindus indica* ekstrelerini PLA ile kapsüle ederek meme kanseri hücrelerinde , hücre canlılığı ve proliferasyonu üzerine etkisini modellemektir. *Tamarindus indica* ekstrelerinin PLA ile kapsüllenmesi hem indirgeyici hem de stabilize edici bir madde olarak hareket ettiği, çevre dostu olduğu, steril ortam olmadan çalışılabilmesi, toksik olmayan sentetik nanopartikül olduğu bilinmektedir. Kapsülayonun nedeni, PLA'nın biyouyumlu bir polimer olması ve hücreler için toksisitesi olmamasıdır. *Tamarindus indica* ekstrelerinin direkt verilmesi yerine partikül içine alınarak hücreye verilmesi kanser hücresine ve normal hücrelere de zarar vermeden kontrollü bir şekilde salınım gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Kanser tedavilerinde kullanılan kemoterapötik ilaçların yan etkilerinin yanı sıra normal dokularda çok fazla hasara yol açtığı bilinmektedir. Bu anti tümör ilaçlar olarak geliştirilecek yeni bileşiklerle ilgili çalışmaların artması gerektiğinden farmasötik ajan olarak *Tamarindus indica* kullanılmıştır. Halk arasında demirhindi ağacı olarak bilinen *Tamarindus indica*, Leguminosae (Fabaceae) familyasına ait olup geleneksel tıpta kullanılan meyve ağacı türlerinden biridir. *Tamarindus indica*'nın anti-tümör ve antioksidan etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada PLA ile kapsüle edilmiş *Tamarindus indica* ekstrelerinin zamana bağlı apoptotik hücre ölümünü indüklediği meme kanseri hücre hatlarında bakılmıştır. PLA'nın normal hücrelere karşı toksisitesi olmadığı hücre canlılığı testiyle test edilmiştir. PLA ile kapsüle edilmiş *Tamarindus indica* ekstreleri dokularının fizikokimyasal ve kimyasal karakterizasyonu, taramalı elektron mikroskop (SEM), Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopi (FTIR) kullanılarak araştırılmıştır. UV-spektrofotometre kullanılarak insan vücudunda ilacın ne kadar sürede salındığı gösterilmiştir. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile kimyasal reaksiyonda veya fiziksel değişimde açığa çıkan ısıya bakılmıştır.

ABSTRACT

EFFECTS OF *Tamarindus indica* EXTRACTS ENCLOSED IN PLA BY ELECTROSPRAY METHOD ON THE VITALITY OF BREAST CANCER CELLS

Breast cancer is the second leading cause of cancer-related death among women. In this current study, herbal treatment was emphasized because of the negative side effects of drugs used in chemotherapy such as fatigue, loss of appetite, vomiting, and hair loss. *Tamarindus indica*, a pharmacologically important plant, is known to have anti-inflammatory, anti-oxidant, anti-viral, anti-cancer, antibacterial and anti-diabetic activities. The effect of *Tamarindus indica* plant has been shown in many cancer cells, especially breast cancer. However, it was encapsulated with the electrospray method and its effect on cancer cells was not examined. In this study, our aim is to model the effect of encapsulating *Tamarindus indica* extracts with PLA by electrospray on cell viability and proliferation in breast cancer cells. It is known that the encapsulation of *Tamarindus indica* extracts with PLA acts as both a reducing and stabilizing agent, is environmentally friendly, can be worked without a sterile environment, and is a non-toxic synthetic nanoparticle. The reason for encapsulation is that PLA is a biocompatible polymer and has no toxicity to cells. It has been shown that *Tamarindus indica* extracts are given into the cell by taking them into particles instead of giving them directly, and it releases them in a controlled manner without harming the cancer cell and normal cells. It is known that chemotherapeutic drugs used in cancer treatments cause a lot of damage to normal tissues as well as their side effects. *Tamarindus indica* has been used as a pharmaceutical agent since studies on new compounds to be developed as these anti-tumor drugs should increase. *Tamarindus indica*, popularly known as tamarind tree, belongs to the Leguminosae (Fabaceae) family and is one of the fruit tree species used in traditional medicine. *Tamarindus indica* has been shown to have anti-tumor and antioxidant effects. In this study, it was investigated in breast cancer cell lines that *Tamarindus indica* extracts encapsulated with PLA induced time-dependent apoptotic cell death. It has been tested by cell viability assay that PLA has no toxicity to normal cells. Physicochemical and chemical characterization of PLA-encapsulated *Tamarindus indica* extracts tissues were investigated using scanning electron microscope (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). How long the drug is released in the human body has been demonstrated using UV-spectrophotometer. The heat released in the chemical reaction or physical change was examined with the differential scanning calorimeter (DSC).

SEMBOLLER

°C : Santigrad derece

µg : Mikrogram

µl : Mikrolitre

µm : Mikrometre

µM : Mikromolar

cm : Santimetre

ml : Mililitre

mm : Milimetre

nm : Nanometre

mg : Miligram

ml/h: Mililitre/saat

V : Volt

Tg : Camsı geçiş sıcaklığı

Tm : Ergime sıcaklığı

KISALTMALAR

ATCC : Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu

$DiOC_6$: 3, 3'-diheksiloksakarbosianin iyodür

DAPI : 4',6-diamidino-2-fenilindol

DSC : Diferansiyel taramalı kalorimetre

DMSO : Dimetil sülfoksit

DNA : Deoksiribonükleik asit

FBS : Fetal sığır serumu

FTIR : Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi

MTT : Metiltiazol difeniltetrazolyum bromür

PLA : Poli laktik asit

PBS : Fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi

RPM : Dakikadaki devir sayısı

SEM : Taramalı elektron mikroskobu

UV : Ultraviyole

ROS : Reaktif oksijen türevleri

Tripsin-EDTA : Etilen diamin tetra asetik asit

PLA: Poli Laktik Asit

ŞEKİL

ŞEKİL 1.1. Kanserli hücrede matris yapısı 3

ŞEKİL 1.2. Ductal karsinoma ve Lobüler Karsinoma Kanser Oluşum Şeması 7

ŞEKİL 1.2.1. Dünya'da 2012 yılına ait 100.000 Başına Düşen Yaşa Göre belirlenmiş oran (erkekler ve kadınlar) 11

ŞEKİL 1.4. PI3K/AKT/mTOR ve AMPK yolları. 19

ŞEKİL 1.5. *Tamarindus indica* Bitkisi 21

ŞEKİL 1.7. PLA Polimerinin (Poli Laktik Asit) Yapısı :a: PLA Polimeri, b: PLA Moleküler Yapısı, c: PLA 3 Boyutlu Moleküler Yapısı 28

ŞEKİL 1.7.1. Elektrosprey Bölümleri 32

ŞEKİL 2.2.1. *Tamarindus indica* Meyve Kabuklarından Elde Edilen Ekstre 35

ŞEKİL 2.2.2.*Tamarindus indica* havanda dövülerek toz haline getirilme aşaması 36

ŞEKİL 2.2.4. PLA'nın Hassas Terazide Ölçüm Aşamaları 38

ŞEKİL 2.2.6. Demirhindi (meyve kabuğu) Solüsyonun Hazırlanma Aşamaları. 39

ŞEKİL 2.2.7. Elektrosprey Bölümleri 40

ŞEKİL 2.3.1. Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrofotometre (FTIR) 41

ŞEKİL 2.3.2. DSC (Diferansiyel Taramalı Kalorimetri) Cihazı 42

ŞEKİL 2.3.3. UV-1280 Spektrofotometre ve Thermo Çalkalayıcı İnkübatör BIOSAN TS-100 43

ŞEKİL 2.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) 44

ŞEKİL 3.1. *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstrelerinin MDA-MB- 231 Meme Kanseri Hücre Hattında Doza Bağlı Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin MTT Testi ile Gösterilmesi (p verileri ***p<0.001'dir **p<0.01 ve *p<0.05). 45

ŞEKİL 3.2. PLA ile kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstresi MDA-MB-231 Meme Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin MTT Testi ile Gösterilmesi (p verileri ***p<0.001'dir **p<0.01 ve *p<0.05). 46

ŞEKİL 3.3. PLA ile Kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Çekirdeğinin MDA-MB 231 Kanser Hücrelerinde 24-48 Saat Floresan Boyama ile Gösterilmesi, (a: 24 Saat Kontrol, b:24 Saat Çekirdek Ekstresi ; c:48 Saat Kontrol , d: 48 Saat Çekirdek Ekstresi). 47

ŞEKİL 3.4. PLA ile Kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstrelerinin MDA-MB- 231 Meme Kanseri Hücre Hattında Doza Bağlı Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin MTT Testi ile Gösterilmesi (p verileri ***p<0.001'dir **p<0.01 ve *p<0.05). 48

ŞEKİL 3.5. PLA ile Kapsüle Edilmiş Sıvı Ekstratın MDA-MB 231 Meme Kanser Hücre Hattında Hücre Canlılığının MTT Testi ile Gösterilmesi 24-48 saat (p değerleri*p<0.05, **p<0.01 ve ***p<0.001'dir). 50
ŞEKİL 3.6. *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstrelerinin Meme Kanser Hücrelerinde Hücre Büyümesinin Tripan Mavi Boyama ile Gösterilmesi, Canlı ve Tripan Mavisi - Boyanmış Cansız Hücre Sayısı (y ekseni) ve Zaman (x ekseni) göstermektedir 51
ŞEKİL 3.7. *Tamarindus indica* PLA ile Kapsüle Edilmiş Çekirdek Ekstrelerinin Meme Kanser Hücrelerinde Hücre Büyümesinin Tripan Mavi Boyama ile Gösterilmesi Canlı ve Tripan Mavisi Boyanmış Cansız Hücre Sayısı (y ekseni) ve Zaman (x ekseni) göstermektedir 53
ŞEKİL 3.8. PLA ve PLA ile kapsüle edilmiş Tamarindus indica Çekirdeğinin MDA-MB 231 Meme Kanser Hücre Hattında Koloni Oluşumu 72 Saat 53
ŞEKİL 3.9. *Tamarindus indica* Çekirdeğinin MCF-7 Meme Kanser Hücre Hattında Koloni 24-48 Saat Koloni Oluşumu 54
ŞEKİL 3.10. *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstresinin MCF-7 meme kanseri hücre hattında 24 Saat Floresan Boyama ile Gösterilmesi (a: Kontrol 24 saat, b: Çekirdek Ekstresi 24 saat , c : Kontrol 24 saat d: Çekirdek Ekstresi 24 saat 4X Büyütme) 55
ŞEKİL 3.11. a) %3 PLA ile Kapsüle Edilmiş Tamarindus İndica Çekirdekleri, b) %3 PLA ile Kapsüle Edilmiş Meyve Kabuklarından Üretilen Sıvı Ekstrat, c) Sadece %3 PLA Partikülü İçermektedir. d) Tamarindus İndica Çekirdekleri İçermektedir, e) Tamarindus İndıca Meyve Kabuklarından Elde Edilen Sıvı Ekstrat İçermektedir. 57
ŞEKİL 3.12.%3 Pla ve %3 Pla ile Kapsüle Edilmiş Tamarindus İndıca Ekstrelerinin DSC Termogramları: Saf Sıvı Ekstrat (a), Saf Çekirdek (b), %3 Saf PLA (c), %3 PLA+ Ekstrat (d), %3 PLA + Çekirdek (e) 58
ŞEKİL 3.13. %3 PLA 500 X büyütmedeki SEM görüntüleri, %3 PLA 3KX büyütmedeki SEM görüntüleri, %3 PLA 5KX büyütmedeki SEM görüntüleri (a), %3 PLA + Ekstrat 500 X büyütmedeki SEM görüntüleri, %3 PLA+ Ekstrat 3KX büyütmedeki SEM görüntüleri, %3 PLA + Ekstrat 5KX büyütmedeki SEM görüntüleri (b), %3 PLA + Çekirdek 500 X büyütmedeki SEM görüntüleri, %3 PLA+ Çekirdek 3KX büyütmedeki SEM görüntüleri, %3 PLA + Çekirdek 5KX büyütmedeki SEM görüntüleri (c). 60

ŞEKİL 3.14. *Tamarindus indica* Meyve Kabuğundan Elde Edilen Sıvı Ekstratın Kalibrasyon (a) ve Absrobans (b) Eğrileri, Ekstratın Partikülden Kümülatif Salım Grafiği (c). 61
ŞEKİL 3.15. *Tamarindus indica* Elde Edilen Saf Çekirdeğin Kalibrasyon (a) ve Absrobans (b) Eğrileri, Çekirdeğin Partikülden Kümülatif Salım Grafiği (c). 62

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Dünyada Kanser Çeşitlerinin Dağılımı 6

Tablo 2. Dünya'da 2012 Yılına Ait 100.000 Başına Düşen Yaşa Göre Belirlenmiş Oran (Erkekler ve Kadınlar) 10

Tablo 3. Kullanılan Malzeme Miktarları 37

Tablo 4. Hücre Deneylerinde Kullanılan Cihazlar Listesi 79

Tablo 5. Hücre Kültüründe Kullanılan Malzemeler 80

1. GİRİŞ

Kanser, genetik gibi birçok faktöre sahip karmaşık bir hastalıktır; epigenetik, çevre ve yaşam tarzı kanser sürecinde güçlü bir şekilde etkileşime girer. Başlıca kanser tedavi stratejileri kemoterapi, radyoterapi ve cerrahiyi içerir ve bazı durumlarda eklem stratejileri kanser sağkalımını iyileştirmek için en iyi sonuçları göstermiştir. Bununla birlikte, kanser hücrelerinin yüksek heterojenliği nedeniyle, hangi hücrelerin tedaviye cevap vereceğini tahmin etmek son derece zordur, bu da tedaviye direncin hastalar için önemli bir sorun olduğunu göstermektedir [1]. Kanser hücreleri için çoklu ilaç direnci (MDR), anti kanser ilaçların terapötik etkisini sınırlar ve kanser tedavisinin önündeki önemli bir engeldir. Çoklu ilaca dirençli hücreler, tümör gelişimi için farklı metabolik yolları hedefleyen karmaşık adımları içerir. En klasik MDR direnç mekanizmalarından biri, detoksifikasyon enzimlerinin seviyelerinin artması, ilaç alımı ve akışındaki değişiklikler ve apoptoz yolaklarının deaktivasyonudur [2]. Bitki kökenli polifenoller veya sentetik türevleri, nispeten düşük toksisiteye sahip redoks-aktif moleküller olarak tanımlanmıştır. Anti-inflamatuar, anti-mutajenik ve anti-kanserojen etkiler de dahil olmak üzere çok çeşitli yararlı etkilere sahiptirler [3]. *Tamarindus indica* L. esas olarak gıda ve şekerlemede kullanılan tropikal bir bitkidir. Dünyanın geleneksel bitkisel ilaçlarından biridir. Bitki tohumları genellikle kırılgan ve zevkli özelliklerinden dolayı atık madde olarak bertaraf edilir; ancak, besleyici olarak bol miktarda bulunurlar. Tohum ekstraktlarının güçlü antioksidan potansiyele ve anti-strese sahip olduğu bulunmuştur. *Tamarindus indica* yaprak ekstraktı anti-apoptotik etkilere sahipken, tohum çekirdeğinden türetilen ve kattan elde edilen tam tohum ekstraktları antioksidan, sitotoksik ve bağışıklığa sahiptir [4]. *Tamarindus indica*; Son derece ticarileştirilmiş şifalı bitkilerden biri olan güçlü anti-inflamatuar aktiviteleri ile bilinir. Bu tropikal ağaç, geleneksel tıpta iltihaplanma, mide ağrısı, boğaz ağrısı ve romatizmayı tedavi etmek için kullanılmıştır. Bitki ayrıca yara iyileşmesi, ishal, dizanteri, paraziter, istila, ateş, sıtma, solunum koşulları, helmint enfeksiyonları, kabızlık, hücre sitotoksisitesi, bel soğukluğu, göz hastalıkları ve afrodizyak dahil olmak üzere sayısız diğer hastalık durumunu yönetmek için kullanılmıştır ve ayrıca bir gıda takviyesi olarak da oldukça değerlidir [5]. Çok sayıda ekonomik ve sağlık yararı nedeniyle, *Tamarindus indica* dünya çapında yaygın olarak işlem görmektedir. Aslında, *Tamarindus indica* 'nın tıbbi aktiviteleri ve geleneksel halk tıbbında kullanımı, flavonoidler, alkaloidler, tanenler, fenoller, triterpenoidler, yağ asitleri, saponinler ve steroidler dahil olmak üzere bitkinin farklı kısımlarında fitokimyasalların varlığına atfedilir [6].

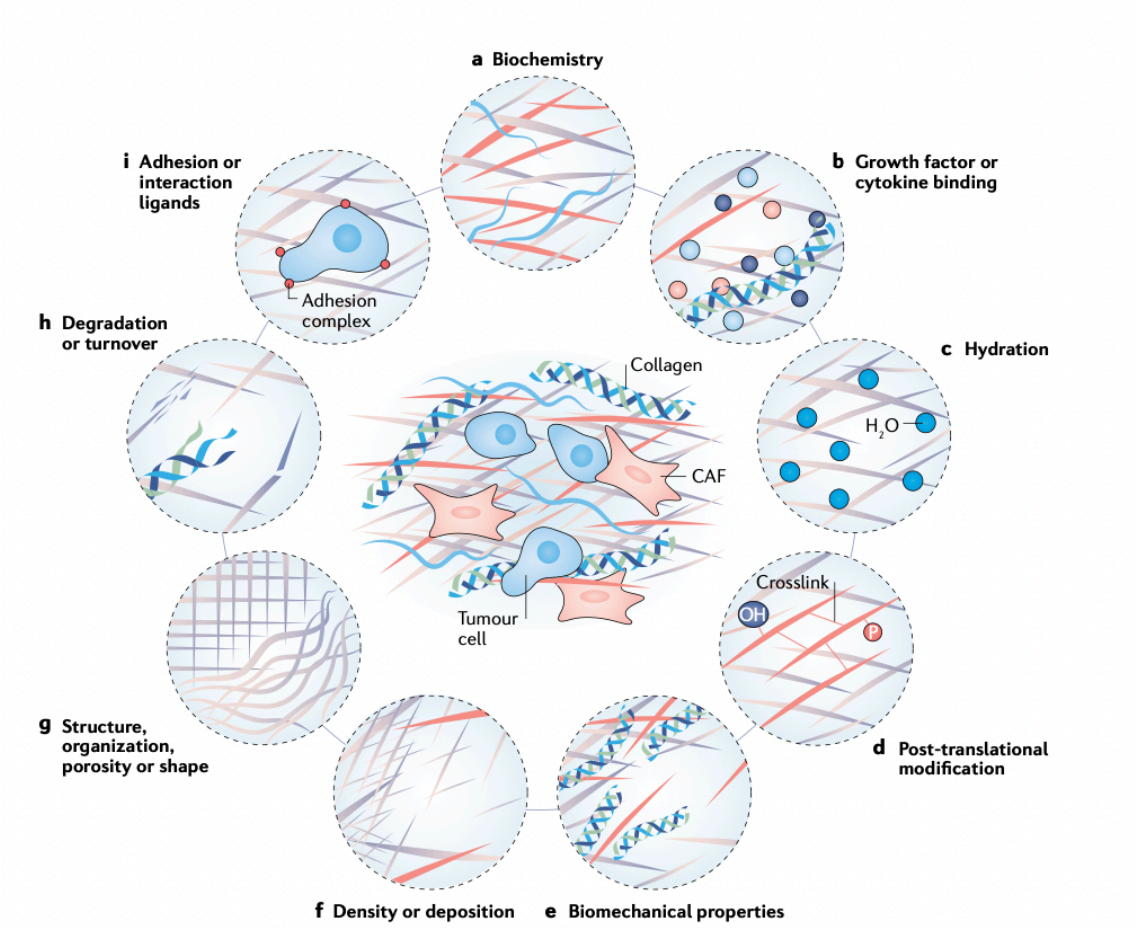
Biyomalzemeler sağlık alanında ve yaşam kalitesinin arttırılmasında önemli bir etken haline gelmiştir. Biyomalzemeler gen dizileme ,biyosensör, tıbbi malzemeler, implantlar, doku mühendisliği gibi birçok uygulama alnında kullanılmaktadır. Biyomalzemeler 4 alt başlıkta toplanır :metaller, seramikler ,kompozitler ve polimerlerdir [7]. PLA karbonhidratlardan elde edilen yenilenebilir , çok yönlü, biyolojik olarak parçalanabilen biyouyumlu lineer alifatik bir polyesterdir [8]. Aynı zamanda PLA laktitilerin polimerazasyonu ile hazırlanabilir. Karbonhidratların fermantasyonu sonucunda da elde edilir [9]. PLA, polietilen tereftalat (PET) ile benzeyen bir polimerdir aynı zamanda geri dönüştürülebilir polimerdir [10].

TEZİN AMACI

Bu tez ile amacımız, MCF-7 ve MDA-MB 231 meme kanseri hücre hattında PLA(poli laktik asit) ile kapsüllenmiş *Tamarindus indica* bitki özlerinin hücre canlılığı ve çoğalması üzerindeki etkisinin incelenmesidir.

1.1.KANSER

Kanser, vücutta homoestasiyi bozan hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla meydana gelen anormal hücre topluluğudur. Genetik olarak yatkınlık ,epigenetik faktörler, sinyal yolaklarının bozulması gibi faktörler rol oynar. Kanser hücrelerinin normal hücrelerden ayırt edilememesi, geç tanı ve tedavi yöntemlerinde yetersizlik gibi etkenler kanserin ilerlemesine neden olur. Kanser ölümlerinin %90'ı metastazdan kaynaklanır. Bunun altında yatan nedenle ise tedavide kullanılan yöntemlerin metastazı yönetmede etkili olamamasıdır. Son zamanlarda bitkilerden izole edilen polisakkaritlerin hiç yan etki göstermeden anti tümör-anti metastatik aktivite sergilemesi bu tedavi yöntemler için umut olacaktır [11].



ŞEKİL 1.1. Kanserli hücrede matris yapısı [12].

Hücre dışı matris (Şekil 1.1' de) vücudun doku ve organların tamamında bulunan hücre içermeyen bölümdür. Hücre dışı matrisler organizmanın gelişmesi, büyümesi, onarımı, korunması ve hemoestasi gibi birçok önemli faaliyeti yerine getiren ve düzenleyen yapı birimidir. Normal hücrelerin matrisine göre kanser hücrelerinin matrisi daha düzensizdir. Tümör hücrelerine bakıldığında daha düzensiz ve homoestasi kaybı yaşandığı görülür. Tümör hücreleri matrisin birikmesine ve yeniden şekillenmesine neden olurlar. Son zamanlarda matrisin kansere olan etkisinin araştırılmasıyla tümörün başlaması, ilerlemesi ve metastatik yayılmasını etkilemektedir [12].

Kanser, sağlıklı bir hücrenin kısıtlamalardan kurtulduğunda kontrolsüz bir şekilde bölünmesiyle başlar. Proto-onkogenler dediğimiz genler hücre bölünmesinde görev alan genlerdir. Bu genler hücre bölünmesini uyararak gerekli proteinlerin üretilmesini sağlar. Proto-onkogenler meydana gelen mutasyonla proteinler aşırı aktif hale gelerek hücrenin kontrolsüz bölünmesine neden olur. Tümör baskılayıcı genler ise tam tersi işleve sahiptirler. Hücre bölünmesini inhibe eden proteinlerine kodlarlar. Mutasyonlar bu genler üzerinde etkili olunca gerekli kısıtlamaların yapılamaz ve hücre kontrolsüz büyümeye devam eder. Vücudumuz da bulunan bazı yapıların onkogenleri ; platelet (trombosit) kaynaklı büyüme faktörü olarak adlandırılan (PDGF) Glioma hücrelerinize birikime neden olarak beyin kanserine neden olur. Epidermal büyüme faktörü geni erb-B Glioblastomalarda ve meme kanserinde etkili gendir. Ki-ras genleri yumurtalık, kolon ve pankreas kanserinde önemli rol oynamaktadır. Bcl-1 PRAD1 olarak tanınan gen meme kanserinde etkilidir. Tümör baskılayıcı genler sitoplazmadaki proteinler için NF-1 Ras proteinini baskılar genelde çevresel sinir sistemi ve lösemi ile ilgilidir. Bu genlerden en çok tanınan p53 geni hücre bölünmesini durduran protein sentezler ve birçok kanserin nedenidir.BRCA1, BRCA2 meme kanseriyle ilgilidir [13]

1.1.2. Kanser çeşitleri ve prevalansı

Kanser, Yunanca ‘da karkinos kelimesinden gelmektedir. Hipokrat'ın (MÖ460-370) karsinom tümörlerini açıklamak için verdiği isimdir. Kanserin daha da eskilere dayandığı söylenmektedir. İlk teşhis edilen kanserin meme kanseri olduğu Mısır'da yazıtlara kaydedilmiştir. Kanser vücudun doku ve organlarında sağlıklı olan hücrelerin kontrolsüz bölünmeye başlamasıyla gelişmektedir. Farklı kanser türleri bulunur bunlardan bazıları meme kanseri, kolon kanseri, akciğer kanser, cilt kanseri, pankreas kanseri ve yemek borusu kanseridir. Kanser hücreleri zamanını doldurunca ölmek yerine bölünmeye devam eder. Bölünmenin sonucunda büyümeye devam eder. Kanser hücreleri genellikle katı tümörlerdir. Fakat bazı kanser türleri tümör oluşturmaz. Kan kanserini (lösemi) bu duruma örnek olarak verebiliriz. Bazı kanser tiplerinde vücudun dolaşım sistemine girerek bütün vücuda yayılabilir buna metastaz denir. Ne kadar vücuda yayılsa da hangi kanser türüyse o kanser türü olmaya devam eder. Kanserin nedenleri genetik veya çevresel faktörlerden gelişebilir [14]. Dünyada genelinde en fazla ölüme neden olan kanser insanlar için büyük sorun teşkil etmektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) verilerine göre yılda 8 milyondan fazla insan kanserden ölmektedir. Bu veriler 2012 yılında 8,2 milyon kişi olduğunu ve 2030 kadar bu sayının 13 milyona kadar yükselmesini beklemektedirler. Bu rakamların kanser türlerine göre dağılımı; % 20 akciğer kanseri, %9 karaciğer kanseri, %9 kolon kanseri,%9 mide kanseri, %7 meme kanser ve %46 diğer kanserlerden ortaya çıkan ölüm yüzdeleridir [15]. Kadınlarda görülen meme kanserinin 2020 yılında akciğer kanserinin önüne geçti. Prostat kanseri üçüncü, cilt kanseri dördüncü ve kolon kanseri beşinci sırada yer alırken ardından mide karaciğer ve rektum kanserleri takip etmiştir. 2020'de mide kanserinden dolayı ölüm oranı 14.000 vaka azaldığı sonucuna ulaşılmıştır. 14 kanser türünden en fazla meme kanserine bağlı ölümlerin olduğu görülmüştür[16].

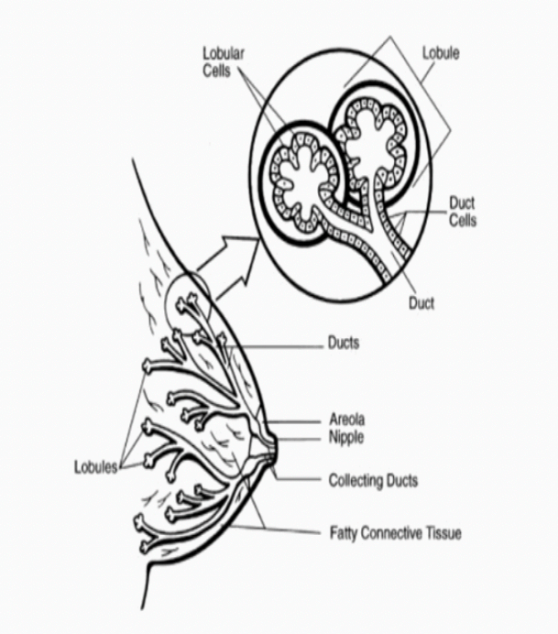
Kanser dünya genelinde insanları etkileyen ciddi bir sorundur. Amerika Birleşik Devletleri’nde ikinci ölüm sebeplerinden biridir. Korona virüs 2019 (Covid -19) salgınından dolayı sağlık kurumlarının kapasitesinin dolu olması, istihdam ve sağlık sigortalarında yaşanan problemler ve Covid-19' a yakalanma korkusundan dolayı kanserin teşhis ve tedavisinde aksamalara neden olmuştur. GLOBACAN,2020 verilerine göre tablo 1 'de tüm kanserlerin risk oranları ve dağılımı verilmiştir [17], [18], [19].

Kanser	Sayı	Dünya Genelinde	Risk
Melanom kanseri hariç tüm kanserler	18094716	190	36.52
Meme	2261419	48	7.97
Akciğer	2206771	22	6.08
Kolorektum	1931590	19	-
Prostat	1414259	31	9.27
Mide	1089103	11	3.03
Karaciğer	905677	10	2.20
Rahim ağzı	604127	13	1.82
Özafagus	604100	6	1.52
Tiroit	586202	7	0.87
İdrar Kesesi	573278	6	1.88
Hodgkin Olmayan Lenfoma	544352	6	1.35
Pankreas	495773	5	1.63
Lösemi	474519	5	1.07
Böbrek	431288	5	1.06
Korpus uteri	417367	9	1.61
Dudak, ağız boşluğu	377713	4	0.79
Melanomaofskin	324635	3	0.86
Yumurtalık	313959	7	1.18
Beyin, merkezi sinir sistemi	308102	4	0.61
Gırtlak	184615	2	0.42
Multipil myeloma	176404	2	0.52
Nazofarenks	133354	2	0.21
Safra kesesi	115949	1	0.35
Orofarinks	98412	1	0.20
Hipofarenks	84254	0.90	0.18
Hodgkin lenfoma	83087	0.98	0.13
Testis	74458	1.8	0.17
Tükürük bezleri	53583	0.57	0.12
Vulva	45240	0.85	0.25
Penis	36068	0.80	0.21
Kaposi Sarkomu	34270	0.40	0.05
Mezotelyoma	30870	0.30	0.10
Vajina	17908	0.36	0.08

Tablo 1: Dünyada Kanser Çeşitlerinin Dağılımı [17] , [18], [19].

1.2. MEME KANSERİ

Kanserler ortaya çıktığı bölgenin adını alır. Meme kanseri meme dokusunda bulunan hücrelerin kontrolsüz büyümesiyle ortaya çıkar. Meme yapısı süt üreten bezler ve süt kanallarından oluşmaktadır. Bu yapılar glandüler doku ve stromal doku olarak adlandırılır. Stromal dokusunda ise yağ ve lif dokuları bulunur. Genellikle meme kanserleri kanallarda bulunan hücrelerde başlar bu tür kanserlere duktal karsinoma, lobüllerde meydana gelirse lobüler karsinoma denir. Dokuda meydana gelen kanser çevresinde bulunan yağ ve bağ dokularına yayılmadan kanal içinde kaldıysa bu duruma Ductal karsinoma in situ denir (DCIS). Bu hücreler çoğalarak kanal dışına çıkarak yağ ve bağ dokularına yayılırsa invaziv duktal karsinoma adını alır. Lobüler karsinoma in situ (LCIS) ileride meme kanseri olma riskini taşır [20].



ŞEKİL 1.2. Ductal karsinoma ve Lobüler Karsinoma Kanser Oluşum Şeması [20].

Meme kanseri, dünyada kadınlar arasında en sık görülen kanser türüdür. Meme kanserinde gelişen metastaz, kansere bağlı ölümlerin %90'ını kapsamaktadır. Yapılan çalışmalara göre meme kanseri hastalarının %30-60'ında kemikte, %21'i taramalarda, %15'i gelişmede ve %10'u beyinde metastaza neden olduğu saptanmıştır. Meme kanseri yüksek derecede karışık metabolik programlar içerir. Bu programları dört ana başlıkta inceleriz: Luminal A, luminal B, HER2-pozitif ve üçlü negatif meme kanseri (TNBC)'dir. Her alt tip farklı proliferasyona ve metastaza neden olur [21].

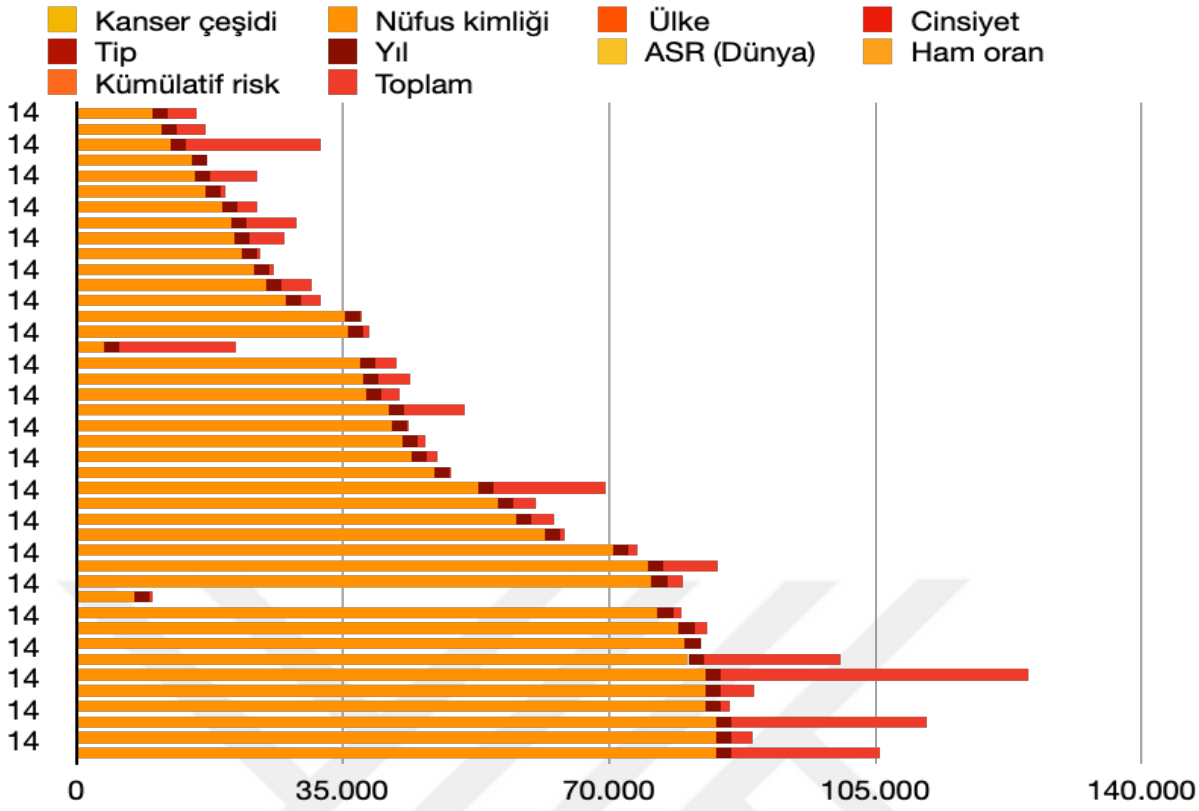
Meme kanseri morfolojik olarak farklılık içeren kanser çeşididir. Bu gen ekspresyon profillerinden en agresifleri TNBC alt tipidir. Yapılan çalışmalarda glikoz metabolizmasının tümör metabolizmasındaki rolü çok önemlidir. Glikoz metabolizmasında meydana gelen değişimler glikolitik enzimlerin ve glikoliz metabolik yoluyla ilişkilendirilir. Glikoz metabolizmasındaki değişimle glikoz alımının artması, hiperaktif glikoliz, azalmış oksidatif fosforilasyon (OXPHOS) bileşeni ve laktat birikimi sonucunda meydana gelir. Glikotik enzim yolakları ashekzokinaz, laktat dehidrogenaz ve enolaz gibi enzimlerle düzenlenir, sisplatin, paklitaksel, tamoksifen ve doksorubisin gibi ilaçlara direnç kazandırılır. Buna bağlı olarak yeni ilaç tasarımlarıyla ve bitkilerde bulunan doğal bileşiklerle glikoliz ilişkili bölümlerin baskılanmasıyla kanser hücrelerinin yok edilmesini amaçlamaktadır [22]. Meme kanseri 52-71 yaşlarında görülme sıklığı artar. Meme kanseri için kemoterapi ve tedavilerinden yararlanılır. Gelişmiş ülkelerde meme kanseri tedavi yöntemleri sayesinde hastaların sayısının azalarak her 8 kadından biri kansere yakalanacağı söylenmiştir [23], [24].

1.2.1 Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Kanser, ölüm sebeplerinin önde gelen unsurlarından birisidir. 2008 yılında yapılan çalışmalara göre kansere bağlı ölümlerin 8 milyona ulaştığı kaydedilmiştir. 2030 yılına kadar toplam ölümlerin 11 milyona ulaşması beklenmektedir. GLOBACAN'ın 2020 yılında yaptığı çalışma raporuna göre toplam kanser vakası 19,3 milyondu ,bu sayı içinden 10 milyon kişi kanserden öldüğü rapor edilmiştir. Bu çalışmaya göre 2040 yılına kadar bu sayının 28,4 milyona ulaşması bekleniyor. Dünya çapında meme kanserine yakalanma akciğer kanserine göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Kansere bağlı ölümlerin dağılımına bakıldığında akciğer kanseri 1,8 milyon ölümden %18'inden sorumlu olduğu kolorektal %9,4'ünü, karaciğer %8,3'ünü, mide %7,7'sini ve kadın memesi %6,9'unu oluşturmaktadır. Erkeklerde akciğer, prostat ve kolorektal kanser türleri yaygınken, kadınlarda meme, kolorektal ve akciğer kanseri daha yaygın olduğu görülmüştür. Meme kanseri kadınların en sık yakalandığı ve görülme riskinin e fazla olduğu kanser tipidir. Yakalanma riski ne kadar yüksek olsa da bazı faktörler bu riski indirgeyebilir. Örnek olarak gelişmişlik seviyesi yüksek olan bölgelerde kadınların meme kanserine yakalanma riski gelişmişlik düzeyi düşük olan ülkelere göre oranı daha düşüktür. Kişinin yaşadığı yerin nüfus yapısı, yaşam tarzı, genetik faktörleri, çevresel faktörleri gibi diğer faktörlerde sıralanabilir. Bu da meme kanseri prevalansı etkilemektedir[25], [26]. Meme kanseri toplam kanserlerin %10,4'lük oranını kapsamaktadır. 20-50 ile yaş aralığında kansere yakalanma riski bulunmaktadır. Çin ve Japonya gibi Asya ülkeleri Amerika ve Avrupa ülkelerine göre daha düşük risk taşımaktadır. Kadınlarda kansere bağlı ölümlerin %30 meme kanseri oluştururken, %23'ü akciğer kanseri, %8'i kolekteral kanseri oluşturmaktadır [27].

Kanser kimliği	Kanser çeşidi	Nüfus kimliği	Ülke	Cinsiyet	Tip	Yıl	ASR (Dünya)	Ham oran	Toplam
14	Meme	10000	Bulgaristan	2	0	2012	55.20039362	101.8943387	3821
14	Meme	11200	Belarus	2	0	2012	44.80785653	75.04068322	3802
14	Meme	12400	Kanada	2	0	2012	78.34905535	131.292628	17638
14	Meme	15200	Şili	2	0	2012	30.4293218	41.23948132	79
14	Meme	15600	Çin	2	0	2012	50.84165139	87.84696857	6110
14	Meme	17000	Kolombiya	2	0	2012	43.05840059	50.69172915	607
14	Meme	19100	Hırvatistan	2	0	2012	63.38355732	117.436303	2594
14	Meme	20300	Çekya	2	0	2012	66.98378486	123.7198677	6617
14	Meme	20800	Danimarka	2	0	2012	91.57993749	161.7613269	4555
14	Meme	21800	Ekvador	2	0	2012	44.1564925	43.03275361	371
14	Meme	23300	Estonya	2	0	2012	54.46998792	100.4899772	709
14	Meme	25000	Fransa	2	0	2012	95.63809997	157.4798115	3941
14	Meme	27600	Almanya	2	0	2012	91.18772892	173.2903899	2468
14	Meme	35200	İzlanda	2	0	2012	92.44596838	134.6367001	215
14	Meme	35600	Hindistan	2	0	2012	36.07900106	38.21141482	893
14	Meme	3600	Avustralya	2	0	2012	88.36846597	134.4776396	15358
14	Meme	37200	İrlanda	2	0	2012	89.49314118	123.7890414	2867
14	Meme	37600	Israil	2	0	2012	86.28586931	104.0213841	4155
14	Meme	38000	Italya	2	0	2012	91.89312107	175.69544	2423
14	Meme	41000	Kore	2	0	2012	47.13324113	70.10124927	8085
14	Meme	41400	Kuveyt	2	0	2012	59.96647208	41.22092775	251
14	Meme	42800	Letonya	2	0	2012	53.17832462	99.12805369	1094
14	Meme	44000	Litvanya	2	0	2012	52.39898941	94.25579496	1519
14	Meme	47000	Malta	2	0	2012	80.18151245	143.3344724	302
14	Meme	52800	Hollanda	2	0	2012	101.0014846	173.1117755	14645
14	Meme	55400	Yeni Zelanda	2	0	2012	89.96856954	134.5423806	3032
14	Meme	57800	Norveç	2	0	2012	73.27662747	117.4246225	2937
14	Meme	61600	Polonya	2	0	2012	45.39759176	74.94551507	489
14	Meme	70500	Slovenya	2	0	2012	69.49791519	124.5610522	1294
14	Meme	75200	İsveç	2	0	2012	82.37551008	146.4167195	7043
14	Meme	75600	İsviçre	2	0	2012	85.02162551	151.9326639	2002
14	Meme	7600	Brezilya	2	0	2012	52.70271764	56.89627251	397
14	Meme	76400	Tayland	2	0	2012	26.1759004	37.22170285	1075
14	Meme	79200	Türkiye	2	0	2012	44.89467208	55.71122249	1694
14	Meme	80000	Uganda	2	0	2012	36.5458028	12.91795455	165
14	Meme	80400	Ukrayna	2	0	2012	42.87734236	73.28809959	17914
14	Meme	82610	İngiltere	2	0	2012	87.7196542	149.0227586	40475
14	Meme	82620	İskoçya	2	0	2012	88.96872055	159.2203065	4357
14	Meme	82630	Kuzey İrlanda	2	0	2012	84.85092403	136.9087469	1272
14	Meme	84000	ABD	2	0	2012	83.66700433	128.6293821	25782
14	Meme	84002	ABD:Siyah	2	0	2012	86.76618395	114.6956188	2895
14	Meme	84001	ABD:Beyaz	2	0	2012	84.89709427	135.4023339	19644

Tablo 2. Dünya'da 2012 Yılına Ait 100.000 Başına Düşen Yaşa Göre Belirlenmiş Oran (Erkekler ve Kadınlar) [25], [26].



ŞEKİL 1.2.1. Dünya'da 2012 Yılına Ait 100.000 Başına Düşen Yaşa Göre Belirlenmiş Oran (Erkekler ve Kadınlar) [25], [26].

1.2.2 Meme Kanseri Risk Faktörleri

Meme kanseri yakalanma riskini arttıran çokça faktör açıklanmıştır. Bu faktörleri 2 alt başlıkta incelenmiştir. Birinci grup yaş, cinsiyet, etnik köken, genetik faktörler(aile öyküsü) gibi doğal faktörlerdir. İkinci grup ise yaşam tarzı (obezite, aşırı alkol tüketimi, fiziksel aktivite) ya da tedavilerde görülen mutasyonlara maruz kalma gibi dışsal faktörleri içermektedir [28].

1.2.2.1 Kalıtsal faktörler (Aile Hikayesi)

Kanser genlerde mutasyon sonucu anormal ve kontrolsüz hücre büyümesine neden olan hastalıktır. Bu mutasyonlar sonucu homoestasiyi etkileyen genlerde meydana gelir. Kalıtsal faktörlerin araştırılmasıyla hücrelerde meydana gelen kanser genlerinin araştırılmasıyla kanser tedavileri için öncü olmuştur. 1800'lerin sonuna doğru kanserin kalıtsal faktörlerden dolayı gerçekleştiğini bildiren bir rapor yayınladı.1900'lerin başında Thedor Boveri kanserin yanlış kromozom kombinasyonlarından dolayı gerçekleştiğini öne sürmüştür. DNA dizilimi ile ilgili keşiflerle insan genomunun çözülmesiyle beraber 518 kinaz kodlayan genlerden meme kanseriyle ilgili hücre dizilerinde 76 sessiz olmayan mutasyon meydana geldiği bulunmuştur. Diğer bir çalışmaya göre meme kanserinde 13.023 geni sıralandı 519 mutasyona uğramış gen bulmuştur [29].

Meme kanserinin diğer biri aile öyküsüyle ilgilidir. Kişinin anne veya kız kardeşinde meme kanseri görülen kişiler bu hastalığa yakalanma riskleri vardır. Meme kanserine olan yatkınlık BRCA1 ve BRCA2 genlerde görülen mutasyonlardan dolayı olduğu söylenmektedir. Birinci dereceden yakınlarında meme kanseri teşhisi konulan kadınların diğer kadınlara göre yakalanma riski iki kat daha fazla olduğu belgelenmiştir. Meme kanseri teşhisi koyulan kadınların %5-10'u aileden miras kalan genlerle ilgilidir. BRCA1, BRCA2 genlerinde mutasyon riski taşıyan kadınların hayatı boyunca yakalanma riski %55-65'tir. Bu genlerde mutasyona sahip bir kadının 80 yaşına kadar meme kanserine yakalanma riski yaklaşık %70'tir [30], [31].

1.2.2.2 Yaş, Cinsiyet ve Etnik Köken

Ülkelerin gelişmişlik düzeyine göre kanser oranları değişmektedir. Tedavide eksiklik, geç tanı koyma ve bütçe yetersizliği gibi faktörlerden dolayı ölüm oranı daha yüksektir. Meme kanserine neden olan birçok faktör incelenmiştir. Bunlardan en önemlisi yaş ve cinsiyet faktörüdür. Meme kanserine yakalanma riski yaşın ilerlemesiyle artar ve 50 yaşında zirveye ulaşır. Yumurtalık hormonlarının ergenlikten menopoza kadar meme bezleri üzerinde etkisi vardır. Bu nedenle kadınlarda menopoz yaşının kanser üzerinde etkileyebilmektedir. Erken menars ve menopoz başlangıcı meme kanserinin gelişmesinde önemli bir etkiye sahiptir. Cinsiyet prevalansı erkeklere oranla kadınlarda önemli bir faktör olduğu bilinmektedir. Yapılan araştırmalara göre Asyalı ve Hintli Amerikalı kadınların meme kanserine yakalanma riski beyaz ve siyah Amerikalı kadınlara göre daha düşüktür [32].

1.2.2.3. Yaşam Tarzı

Kadınlarda aşırı alkol alımı, sigara içme, yağlı beslenme gibi modern yaşam ayak uydurma meme kanseri riskini artmasına neden olur. Fazla alkol tüketimi, kanda bulunan östrojen düzeyini arttırabilmektedir. Doğum yapan kadınlara göre hiç doğum yapmamış kadınların meme kanserine yakalanma riski daha fazladır. Klinik ve epidemiyolojik çalışmalara göre, prolaktin, insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) ve 10 yıldan daha uzun süre kullanılan oral kontraseptiflerin(doğum kontrol hapı) tümü meme kanseri için risk faktörü teşkil etmektedir [32], [33]. Obezitenin kanserle ilişkisi olsa da meme kanseri ile ilgisi hala araştırılmaktadır. Obezite sitokin/adipokin düzeylerini indükler. Bu düzeyler insülin düzeyini, insülin büyüme faktörü(IGF) I, steroid içeren hormonları etkiler. Obezitenin neden olduğu değişikler meme kanserinin epitel doku hücrelerinde ve çevre hücrelerde doğrudan veya dolaylı etkisi olabilmektedir. Aksine dengeli beslenme bu durumun tersine neden olabilmektedir [34]. Kadınlarda menarş (ilk adet görme) yaşı, ilk gebelik yaşı, parite (doğum sayısı), menapoz yaşı, adet döngüsü sayısı, kilo alımı, hormon tedavisi, erken yaşlarda kontraseptif kullanımı gibi faktörler meme kanserini etkileyebilmektedir. Menapoz öncesi radyasyona maruz kalma, üreme ve genetik faktörler önemliyken, obezite menapoz sonrası etki eden faktörlerdir [35].

1.3. Meme Kanseri Sınıflandırılması

Meme kanserinde kötü huylu hücreler geliştiği bölgeden dışarıya taşmıyorsa buna 'in situ' denir. Lobüler karsinom in situ (LCIS), memede bulunan süt kanallarında bulunan hücrelerin sayısında çokça artmasıyla ortaya çıkan durumdur. Duktal karsinom in situ (DCIS), invaziv olmayan meme kanseri türüdür. Kanal ile sınırlıdır. Medüller karsinom, normal doku ile tümörlü doku arasında oluşan invaziv özellikte bir kanser türüdür. Müsinöz karsinom, mukus üreten kanser hücrelerinin oluşturduğu nadir bir meme kanser türüdür. Tübüler karsinom, kanser hücre oluşumu meme dokusundaki lenf damarlarını veya süt kanallarının tıkamasıyla oluşan kanser türüdür hızlı yayıldığı bilinmektedir. Medüllerkarsinom, müsinöz karsinom, tübüler karsinom nadir görülen kanser türleridir[36]. Meme kanseri çoklu histolojik yapıya sahip karmaşık bir kanser çeşididir. Histolojik çeşitlerine göre invaziv duktal karsinom (IDC)ve invaziv lobüler karsinom (ILC) ikiye ayrılmaktadır. IDC daha yaygın türken, ILC sadece meme kanserinin çok az bir kısmını oluşturmaktadır. IDC meme kanserinde daha baskın olduğu bulunmuştur. IDC ve ILC arasında histolojik olarak farklılıklar bulunmaktadır. ILC' nin teşhisi zordur [37]. 2017 yılında Amerika'da yapılan araştırmalara göre kadınlarda ölüme neden olan invaziv duktal karsinom tipi olduğu bulunmuştur. Bu kanser türünde, hücreler kanallarda çoğalarak zamanla çevre dokuya yayılır [38]. ILC meme kanserinin en sık görülen ikinci alt tipidir. Yapısal olarak IDC den farklılık gösterir. E-kaderin genin çalışmamasından dolayı ortaya çıkan meme kanseri türüdür. ILC' nin büyük bir çoğunluğu e-kaderin geni işlev görmez. ILC 'ler IDC' ye göre diğer dokulara yayılma oranı yüksektir [39].

Duktal karsinoma in situ (DCIS), kötü huylu hücrelerin meme kanallarından bazal membranların içine tutunduğu evredir. DCIS dokunun daha düşük dereceli bozulma halidir. Fakat ilerlemesi durumunda invaziv meme kanserine dönüşebilmektedir [40].

DCSI invaziv olmayan kanalın içinde kalan meme kanseri çeşididir. Tarama sonucunda bulunan meme kanserlerinin %12-25'ini oluşturmaktadır. DCSI' nin tedavisinin avantajı kanserin nüks etmesini engeller [41].

1.3.1.Meme Kanseri Alt Tipleri

1.3.1.1. Luminal A

Luminal A meme kanserinin en yaygın türüdür. Lümenlerde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanır. in situ lobüler karsinoma vakalarının tümü, infiltratif lobüler karsinomların çoğunda olduğu gibi, lümen A tümörleridir. Luminal A immüno histokimya (IHC) profili, ER, PGR, Bcl-2 ve sitokeratin CK8/18 ekspresyonu, HER2 ekspresyonunun olmaması, Ki67 mekanizmasından anlaşılmaktadır. Bu tür kanser türüne yakalanan bireylerin hayatta kalma şansı yüksektir [42].

1.3.1.2. Luminal B

Luminal B alt tipi meme kanserine yakalanan bireylerin yaklaşık %10-20'sini oluşturur. Hayatta kalma oranı çok düşüktür. Bu iki alt tipin farkı Ki67 mekanizmasının olmasıdır. Luminal B, A ya göre daha kötü prognoza sahiptir [42].

1.3.2.Tedavi Yöntemleri

Metastatik meme kanseri tedavisinde önemli olan hastalığın daha fazla yayılmadan kişinin yaşam kalitesini iyileştirmek ve yaşamını uzatmaktır. Bu nedenle hasta için seçilecek tedavi yöntemi, hastanın özelliklerine bakılarak seçilmelidir. Tedaviler birbirini takip edebilir. Örnek olarak tedavi için kullanılan hormon reseptörü sonucunda hastalık tekrar ederse sıralı kemoterapi veya kombinasyon kemoterapisi kullanılabilir. Meme kanserinde birçok tedavi mevcuttur bunları sıralarsak; endokrin tedavisi, kemoterapi, nano terapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemlerdir [43].

1.3.2.1.Nanoterapi

Kanser tedavilerinde yeni bir yöntem olan ilaç hedefli salım sisteminde kullanılan Nanopartiküller ilaçlar kanser tedavisinde hızla gelişmekte ve umut verici olmaktadır. Nano parçacıklar biyouyumlu olup, sağlıklı hücrelere zarar vermeden ilaç moleküllerini hedef bölgeye yavaşça ulaştırır. Nanopartiküllerle kanser ilaçlarıyla kombine edilerek yan etkileri en aza indirgeyerek kullanım sağlamaktadır. NP'ler silika, lipozomal, polimer, metal, karbon ve protein bazlı olabilirler [44]. Meme kanseri tedavisinde sık kullanılan kemoterapötik ilaçlar ER ve HER2 tedavilerinde etki gösterirken, TNBC hücrelerinde etki göstermezler bu nedenle bu agresif hücreler için yeni yaklaşımlar denenmektedir. Nano teknoloji sayesinde TNBC hücrelerine etki sağlandığı görülmüştür. Bilim insanları geleneksel terapilerin etkisiz kaldığı noktada nanopartiküllle kaplanmış ilaç sistemleriyle (nano ilaçlar) denemektedirler. Bulgular sonucunda nanopartiküllerin biyouyumlu olmasıyla kanser hücreleri tarafından hücre içine alınmıştır.

TNBC tedavisi için kurkumin poli laktik-ko-glikolik asit (PLGA) kaplanarak hücreye verilmiştir. Sonuçlarda membranın bozulduğu ve apoptozun indüklendiği gözlemlenmiştir [45].

1.3.2.2. Cerrahi Yöntemler

Mastektomi ve lumpektomi olmak üzere iki çeşittir. Matektomi'de meme dokusunu neredeyse tamamı çıkarılır. Kaslar korunur. Lumpektomi de ise meme korunarak tümör bölgesi alınır [46].

1.3.2.3. Kemoterapi ve Radyoterapi

Kemoterapi meme kanserinin erken ve geç evrelerinde de kullanılmaktadır. Kemoterapi hızlı büyüyen hücrelerde daha etkili olmaktadır. Kemoterapi kanser hücreleri için anti-kanser ajan olarak kullanılır. Çalışmalara göre kanserin bütün evrelerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. Radyoterapi, normal hücrelere verilen hasarı en aza indirgeyerek yüksek enerjili ışınlarını kullanarak yapılan tedavi yöntemidir. Genellikle kemoterapi ve cerrahi yöntem kullanıldıktan sonra gerçekleştirilir. Kemoterapi ve radyoterapinin avantajı olduğu kadar dezavantajı da kemiğin yapısını bozarak bağışıklık sistemine ciddi zararlar vermektedir. Sonuç olarak fiziksel ve zihinsel olarak hastayı yıpratmaktadır [47].

Kanser tedavilerinde en sıklıkla rastlanılan yöntemlerden biri kemoterapi ve radyoterapidir. Radyoterapi kanser hücrelerini öldürmek veya kontrolsüzce çoğalan kanser hücresini kontrol altına almak amacıyla ışın radyasyonuyla yapılan tedavi yöntemidir. Radyoterapi tek başına kullanılabilir ancak çoğunlukla cerrahi yöntemlerle veya ilaç tedavisiyle desteklenir. Radyoterapi Röntgen tarafından bulunan X ışınlarının, Becquerel'in doğal radyoaktivitenin bulması ve Curie'nin radyumu keşfetmesiyle hızla gelişmeye başlamıştır. Radyoterapi tedavisiyle çoğu insanın kurtulma oranı artmasının yansıra oldukça ekonomiktir. Kanser tedavisine engel olan Radyoterapi direnci hastaların tedavisine engel olarak kanserin nüksetmesine neden olur [48]. Kemoterapi, kanserde kullanılan önemli tedavi yöntemlerden biridir. Kemoterapide kullanılan ajanlar normal hücreler için toksiktir. Bu nedenle araştırmalar daha doğal yöntemlerle elde edilen ajanlar geliştirerek normal hücrelere zarar vermeden kanserli hücreleri indirgemektir. Son yıllarda birçok bitkiden elde edilen polisakkaritler izole edilerek farklı yöntemlerle hücreler de ki toksisitesine bakılmıştır.

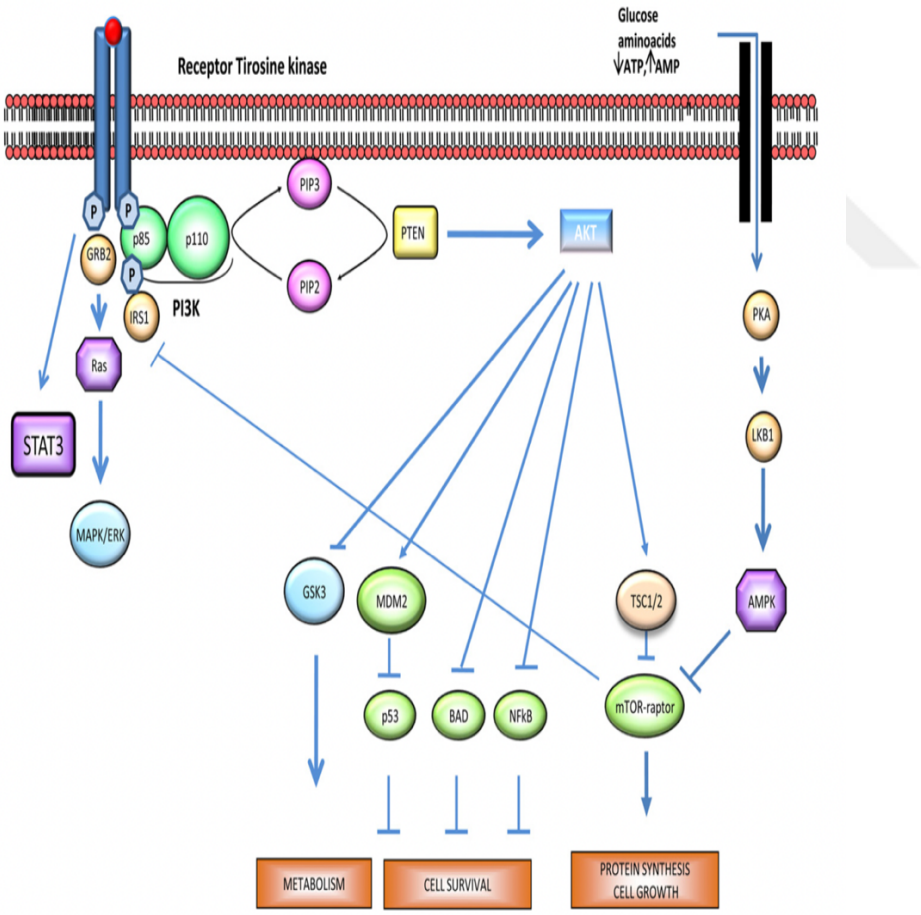
Tamarindus indica yaygın adıyla demirhindi bitkisinden elde edilen polisakkaritler ajan olarak hücreler üzerinde test edilmektedir. Demirhindi(T.indica) , Orta ve Güney Hindistan da ve ayrıca diğer Güneydoğu Asya ülkelerinde bol miktarda yetişen çok yaygın ve ticari açıdan büyük önemi olan, yaprak dökmeyen bir ağaçtır. Demirhindi ürünleri, Asya'da ve Afrika'nın bazı bölgelerinde yaygın olarak geleneksel tıpta ve endüstride çokça kullanılmaktadır [49].

1.4. MEME KANSERİ MOLEKÜLER MEKANİZMASI

Transkripsiyon faktörleri (TF) genlerin promotor bölgelerinin DNA'sına bağlanan prtoteinlerdir.TF geni meme kanserinin gelişiminde rol oynayan gendir. Bu gen ailelerinden biri STAT ‘tır. Bu gen ailesi yedi üyeden oluşur ve birbirlerine yapısal olarak benzerler. STAT3 'ün keşfedilmesiyle beraber kanserin ilerlemesi metastazı çoğalması ve ilaç direncine odaklanılmıştır.STAT3 yolakları büyüme faktörleriyle aktive edilmektedir. Bu faktörler karşılık gelen uyarıcılara bağlanarak Janus kinaz (JAK) aktivasyonunu gerçekleştirir. Fosforillenen STAT3 çekirdek ve sitoplazma arasında sinyal alışverişini başlatır. PSTAT3, p68 koaktivatörle kompleks oluşturarak transkripsiyonu etkinleştirmek için promotor bölgelere bağlanırlar.STAT3'ün meme kanserinde apoptozu baskılamak için siklinD-1,c-myc ve bcl2 regüle edebilmektedir. IL6/JAK yolu tarafından aktive edilen STAT3,Bax/Bcl-2 apoptozu inhibe edebilir. Araştırmalara göre mi RNA’ların STAT3/IL-6 yolaklarını inhibe ettiğini bulmuşlardır [50]. İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü-2 (HER2), meme kanserinde fazlaca eksprese edilir. HER-2 epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ailesinin üyesidir. EGFR ailesinde dört reseptör bulunur. Bunlar HER-1, HER-2, HER-3 ve HER-4'tür.HER-2 meme kanserinin ilerlemesinde ve hayatta kalmasını sağlayan reseptördür. HER-2 diğer EGFR' lerle heterodimerizasyonu hücre içi korunmuş tirozin kalıntılarının fosforilasyonunu indükleyerek diğer sinyal yolakları olan ekstraselüler ilişkili MAPK/ERK1/2 ve fosfatidilinoditol PI3K yolaklarını düzenler [51]. Östrojen, progesteron ve HER2 reseptörlerini yokluğu ile ilişkilendirilir. Bu yolaklardan en riskli olanı TNBC (üçlü negatif meme kanseri)'dir. Göğüs kanserine neden olan yolakların %75'i hormon reseptörü (HR), %15'i HER2 + ve %10'u TNBC'den kaynaklanmaktadır. Hormon tedavisi HR için kullanılan yöntemlerden biridir. TNBC hastalar için kemoterapi almaları gerekmektedir fakat yeni tedavi yöntemleri geliştirmek gereklidir [51].

Meme kanserinde iki moleküler mekanizma tanımlanmıştır. Biri invaziv meme kanserinde görülen östrojen reseptörü (ERα) alfadır. ERα meme kanseri hücrelerinde bulunan steroid hormon ve transkripsiyon faktörü olarak kabul edilir. Aynı zamanda bu reseptöre bağlı Progesteron reseptörü (PR) bulunmaktadır. Tümör hücrelerinde bu faktörlerden en az biri bulunuyorsa HR + olarak adlandırılır. Bu tarz tümörlerde endokrin terapi kullanılabilir. Meme kanserinde iki moleküler mekanizma tanımlanmıştır. Biri invaziv meme kanserinde görülen östrojen reseptörü (ERα) alfadır. ERα meme kanseri hücrelerinde bulunan steroid hormon ve transkripsiyon faktörü olarak kabul edilir. Aynı zamanda bu reseptöre bağlı Progesteron reseptörü (PR) bulunmaktadır. Tümör hücrelerinde bu faktörlerden en az biri bulunuyorsa HR + olarak adlandırılır. Bu tarz tümörlerde endokrin terapi kullanılabilir [52]. TNBC meme kanserinde metastaz ve nüks etme oranı en fazla olan hücre alt tipidir. Akciğer kanseri en sık nüks ettiği kanser çeşididir. TNBC'nin agresifliği tümör nekröz faktörü (TNF) α ve interlökin (IL)-1 β ile olan ilişkisinin düzensiz olmasından kaynakladığı gözlemlenmiştir. TNBC ve p53 arasında ilişki olduğu bulunmuştur. TNBC tedavisinde diğer PI3K/AKT/mTOR (PAM), RAS/MAPK, poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP), önemli faktörlerdir [53]. Bazal benzeri tümörlerin nüks derecesi oldukça yüksektir. Bu tümörler Duktal karsinomları invaziv durumuna getirebilirler. Bu tümörün özelliklerinden biri meme kanserinde HER2, ER ve PGR'nin baskılanmasıdır. TNBC ve bazal tümörler birbirinin yerine ifade edilir ancak aynı durum değildir. Bazal tümörler, yüksek derecede p53 mutasyonu geçirir. Bu nedenle kötü prognoza sahiptirler. BRCA1 de görülen mutasyon çeşitleri de bu grupta yer alır. Mutasyon sonucunda BRCA1 genini de işlevsel bozulmalar meydana gelir. Bu durum ER ekspresyonun baskılanmasına nenden olur.BRCA1 DNA'nın onarımında önemli role sahiptir. Bu genlerde oluşan mutasyonlar DNA'nın oluşan hataların artmasına ve oluşan proteinlerin birikmesine neden olur. Bu tümörler poli-ADP riboz-polimeraz -1 (PARP)inhibitörleriyle kontrol altına alınır. DNA'nın sarmalında meydana gelen hasarları onarmada görev alır. PARP-1 BRCA1 tarafından baskılanmasıyla DNA' sarmalında hatalar çoğalır bunun sonucun da hücre ölüme doğru gider. Meme kanserinde BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları üzerinde çalışılmaktadır [42]. Kanser hücreleri hayatta kalabilmek için normal bir hücre gibi bölünme ve yayılma özelliklerine sahiptir. Tümör baskılayıcı genlerin inaktif olmasıyla kanser hücreleri bu özellikleri kazanırlar. Bu genler bozulması durumunda hücrede hatalar çoğalır ve işlev kaybına neden olur. BRCA1-2 ve PARP arasında bu durumu özetleyen örneklenendir. BRCA1 genin çalışmamasıyla PARP işlevini yerine getiremez ve DNA da hatalar birikir.

Hücre zarında bulunan reseptör proteinlerin yapısında meydan gelen mutasyonlar sinyaller serbest bırakılabilir. Meme kanserinde HER2 3 ana sinyal yolağını aktif hale getirir. Bunlar Ras/Raf/MAPK, JAK/Stat ve PI3K/AKT/mTOR yolaklarıdır. Bu sinyal yolakları hücrenin büyümesi ve gelişmesi, hücrede göç olaylarını kontrol etme ,apoptoz gibi hücrenin hayatta kalması için önemli olayları kontrol ederler. HER2'de oluşan mutasyonlar kanserin gidişatını kötü etkilemekteydi. Adjuvan ortamda kemoterapi ve trastuzumabın keşfedilmesiyle vakalarda ölüm oranını %50'den %30'a düşürmüştür [42].



ŞEKİL 1.4. PI3K/AKT/mTOR ve AMPK yolları. [42]

HER ailesi ve IGF1R membran tirozin kinaz reseptörlerini (RTK) aktive eder. AKT, PI3K yolağıyla aktif hale gelir. RTK'da meydana gelen aktivasyon MAPK, STAT3 ve diğer yolakları da aktif hale getirerek hücrenin yaşam döngüsünde önemli faaliyetleri yerine getirirler [42].

1.5. *Tamarindus indica*

Doğada buluna bitkilerden ele edilen ilaçlar farmakolojik anlamda güçlüdür. Birçok ilacın yan etkisi vücutta kötü sonuçlara yol açmaktadır. Fakat bitkilerde elde edilen ilaçların yan etkisi çok az olması hatta hiç olmaması bitkileri araştırmaların odağı haline getirmiştir. *Tamarindus indica* güçlü bir antioksidan olduğu kanıtlanmıştır. İndica'nın meyve özlerinin ateş dürücü, bağırsak düzenleyici olduğu gözlemlenmiştir. *Tamarindus indica'*nın özü safra sorunlarına, boğaz iltihaplarına, romatizma tedavisinde, güneş çarpmalarında, alkol zehirlenmeleri gibi birçok hastalıkta iyileştirici etkisi olduğu bulunmuştur. *Tamarindus indica* tropik ve subtropik bölgelerde yetişen geniş dağılıma sahip bir türdür. Hindistan, Sudan, Nijerya, Bangladeş ve tropikal ülkelerin çoğunda geleneksel tıpta kullanımı yaygındır. Gıda, kimya, ilaç ve tekstil ürünleri gibi birçok alanda kullanımı vardır. *Tamarindus indica* tohumları fenolik bileşikler, polimerik tanenler, yağ asitleri, glikozitler gibi birçok kimyasal açısından zengin bileşikleri içerir. *Tamarindus indica* (Demirhindi) 'nın kabuğu yaraları ülserleri deride oluşan kabuklara iyi geldiği için losyonlarda ve yemeklerde de kullanılmıştır. Diş eti iltihaplarında, göz iltihaplarında, diyabet hastalarında, astım hastalarında tedavi edilmektedir [54].



ŞEKİL 1.5 *Tamarindus indica* Bitkisi [54].

*Tamarindus indica'*nın çeşitleri vardır ve bunlar asitli ve tatlı olmak üzere ikiye ayrılır. Asidik çeşitler çoğu ülkede yaygındır, tatlı türün çeşitleri yaygın bulunmaz bu nedenle çok sayıda çalışma yoktur [55]. Bitkisel ilaçların anti inflamatuar, anti oksidan, anti viral, anti kanser, anti bakteriyel ve anti diyabetik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir [56].

Kanser hücrelerinin çoklu heterojen yapıya sahip olması nedeniyle tedavisi zordur. Kanser hücrelerinin yapısında bulunan çoklu ilaç direnci tedavileri daha da zor hale getirmektedir. Çoklu ilaç direnci mekanizmasında bulunan enzimler apoptoz yolaklarını devre dışı bırakmaktadır. Bitki kökenli polifenollerin kullanılması MDR etkisini azaltarak kemoterapinin etkinliği arttırmaktadır [57].

1.5.1 *Tamarindus indica* Yapısında Bulunan Fenoller

Tamarindus indica şifalı bir bitki olduğu bilinmektedir. Şifalı bitkiler geleneksel tıp da oldukça önem taşımaktadır. Sentetik ilaçlara göre maliyetinin düşük olması ve yan etkisinin olmamasından dolayı tıbbi bitkilerle ilgili araştırmalarda kullanılır. Fito kimyasalların ve esansiyel amino asitlerin çoğu bulunur ve bu nedenle anti-diyabetik, anti-mikrobiyal, anti-sıtma, anti-oksidan, anti-astım ve anti hiperlipidemik aktiviteye sahiptir. Tohumlarından elde deline ekstreler antioksidan enzime sahiptir, indüksiyon özellikleri ve kanserle ilgili çeşitli sinyal yolakları bloke eder [58]. Serbest radikallerin oksidatif hasarı, kanser ve kalp hastalıkları başta olmak üzere birçok hastalığın nedeni olmaktadır. Vücutta serbest radikallerin artmasıyla oksidatif stres çoğalmaktadır. Antioksidanlar bu oksidatif hasara karşı hücreleri korumaktadır. Bitkilerde antioksidan kaynağı bakımından zengin oldukları için hastalıkların tedavilerinde kullanılmaktadırlar [59].Fenolik bileşikler biyolojik açıdan birçok etkiye sahiptir. Canlılarda mutajenez, karsinojenez, yaşlanma ve aterosklerozla ilişkili lipit metabolizmasından kaynaklı oksidatif hasarın azaltılmasında etkilidir. Bitkide bulunan flavonoidler gibi bileşikler oksido-redüktazların inhibisyonu ile reaktif oksijen türlerinin (ROS) temizleyicileri olarak bilinir [60].

1.5.2. *Tamarindus indica* Anti-inflamatuar Özelliği

Tamarindus indica fito kimyasallar bakımından çok zengin bir bitkidir. Güçlü anti-inflamatuar özelliği vardır. Bu özellik sayesinde çeşitli kinaz enzimlerinin aktivitesini bloke ederek enfeksiyonların azalmasına neden olur [61].

1.5.3. *Tamarindus indica* Anti diyabetik Aktivite

T. indica tohum kabuğunun, fito bileşenleri sayesinde güçlü hipoglisemik etkiye sahip olduğunu ve diyabet için bitkisel bir ilaç olarak kullanılabileceği bulunmuştur [54].

Gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde şeker hastalığı tedavisinde tıbbi bitkilere olan ilgiyle beraber araştırmaların sayısı da artamaya başlamıştır. Bu bitkiden elde edilen ekstrelerin hipoglisemik özelliği olduğu ve vücuttaki karbonhidratların küçük moleküllerine parçalanmasında görevli olan enzimlerin inhibe ederek sindirimin uzamasını sağlar. Şifalı bitkiler, diyabet veya diyabetle ilişkili oksidatif stres, metabolik hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde yan etkisi daha az olduğu için tercih edilmektedir. Bu bitkiler, anti diyabetikler ve antioksidanlar gibi terapötik amaçlar için yararlı olabilecek fito kimyasal bileşenler içermektedir. *Tamarindus indica* şifalı bitkiler kategorisine girmektedir. Bu bitki güçlü bir antioksidan ve anti diyabetik özellik gösterir [62]. Diyabetin kontrolü için doğal anti-diyabetik ajanlar önemli hale gelmiştir. Hipoglisemiyi kontrol etmek için kullanılan ilaçların yerine doğal ajanlar kullanımı artmaya başlamıştır. *T.indica* içeriğinde bulunan fenolik bileşikler sayesinde hipoglisemik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir [63].

1.5.4. *Tamarindus indica*'nın Steroid Hormonlarına Etkisi

Steroid hormon yapısına sahip östrojen ve progesteron meme kanserine yakalanma sebeplerinden biridir. Fito-östrojenler, bir fenolik halkaya sahip olan ve östrojen reseptörüne bağlanabilen bitki türevli bileşiklerdir, memelilerde bulunan β estradiole benzer oldukları için östrojen genlerinin ekspresyonunu etkilemektedirler [64].

1.5.5. Bitkilerden elde edilen Ekstraksiyonu Nanoteknoloji de Kullanımı

Bitki özleriyle nanopartikül sentezi son zamanlarda çok çalışma yapılan bir konudur. Bitki özlerinin partiküllerle kaplanmasıyla istenilen ajanlar elde edilmektedir. Biyouyumlu olmasıyla nanoparçacıklar büyük ölçüde fayda sağlamaktadır. Metal partiküller, doğal partiküller ,sentetik partiküller bu alanda kullanılmaktadır. Ayrıca Nanopartiküller, hedeflenen bölgeye ilaç olarak verildiğinde kontrollü salınım yaparak normal hücrelere zarar vermemektedir. Nanopartiküller normal hücrelere toksisite göstermezken kanserli hücreler için oldukça toksisite sağlamaktadır. Tümör hücrelerini baskılayarak anti-tümör ajanlar olarak göreve yaparlar [65].Gümüş nanopartikülle kapsüle edilmiş demirhindi tohumunun kansere karşı anti tümör ve antioksidan aktivite sergilediği bulunmuştur [66].

Nanoteknolojide mikroorganizmalar, enzimler ve bitki özleri kullanılarak temiz, biyouyumlu, toksik olmayan ve çevreye zarar vermeyen yöntemler önem kazanmaktadır. Bitki ekstrelerinde bulunan fitokimyasallar nanopartikül sentezinde önemli rol oynamaktadır [67].

1.5.4. *Tamarindus İndica*'nın Anti-Kanser Etkisi

Yapılan çalışmalara göre *Tamarindus indica* MCF-7 meme kanseri hücre hattında gümüşten elde edilen nanopartiküller denenmiştir. Nanomalzemelerin anti kanser ajan olarak kullanılması kanser tedavileri için yapılan umut verici yaklaşım olduğu sonucuna varılmıştır. Nanoteknolojiyi kullanmanın avantajlarından birisi biyouyumlu malzemeler elde ederken diğer yandan kontrollü bir şekilde salınım gerçekleştirmektir. Literatürde yapılan çalışmaya göre *Tamarindus indica* meyve kabuğu ekstresi gümüş nanopartikülle birlikte MCF-7 kanser hücresinde bakılmıştır. Kanser hücrelerinin büyümesini engellediği görülmüştür. *Tamarindus indica* meyve kabuğundan elde edilen gümüş nanopartiküllerin ROS ve RHO123 aktivitesini baskılayan potansiyel terapötik ajan olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalara göre gümüş nanopartiküllerin doza bağlı hücre deneylerinde MCF-7 hücrelerinin canlılığını azalttığı ve anti kanser etkisi olduğu gözlemlenmiştir [68].

1.6. BİYOMALZEMELER

Günümüzde kullanılan çoğu plastik ambalajlar fosil kaynaklıdır. Çevreye atıldıklarında bozunması oldukça zaman almaktadır. Geri dönüşümü zor olan bu bileşikler günümüz ve gelecek için önemli derecede sorun teşkil etmektedir. Bu nedenle çevrede daha çabuk çözünen ve doğaya daha az zarar veren malzemeler üretilmelidir. Fosil kaynaklı malzemelerin yenilenemeyen özellikte olması çabuk tükenmesine yol açmaktadır. Sürdürülebilirlik açısından günümüzde petrol bazlı elde edilen ürünlerin yerine sentetik ve bozunmayan biyomalzemelerin kullanımı önem kazanmıştır. Biyomalzemelerin, birçok elde edilme yöntemi bulunmaktadır. Bunlardan biri polisakkaritlerden elde edilmektedir. Proteinlerden elde edilebilir. Biokütlelerden elde edilebilmektedir. Polisakkartilerden elde edilen polimerle suda ve plastiklerde çözünebilirken, proteinden oluşan polimerler ise doğada bulunur ve uyumludur, çözünmesine gerek kalmadan veya ayrışmadan toprağa karışabilirler. Bu polimerler aynı zamanda ilaç endüstrilerinde kapsülasyon için kullanılmaktadır [69]. Biyomalzemeler ve doku mühendisliği yapay doku ve organlara artan ilgiyle beraber son yıllarda çalışmaların hızını arttırmıştır. Biyoaktif seramikler ve dokuda parçalanan biyouyumlu polimerler tıpta kullanımı geliştirilerek tasarlanmıştır. Polimerler ilaç salımını hedefleyen ajanlar olarak davranırlar. İdeal taşıyıcılar belirli süre içerisinde belli bir oranda istenen seviyeye taşıyabilmelidir [70]. Biyomalzemeler kendi arasında doğal ve sentetik olmak üzere ikiye ayrılır. Doğal biyomalzemeler normal hücrelere zarar vermeden dokuya uyum sağlarken, yüksek bozunma özelliği olumsuz yönüdür [71].

Biyomalzemeler vücutta bulunan herhangi bir dokunun veya organın işlevine yardımcı olmak, tedavisinde kullanılma gibi biyolojik sistemlerde kullanılan malzemelerdir. Tıp alnında kullanılmaktadır. İlk kullanımları Mısır da dişlerde implant olarak kullanılmıştır. Biyomalzemeler kimya, tıp, biyoloji, doku mühendisliği malzeme mühendisliği gibi birçok alan da kullanılmaktadır. Biyomalzemeler doğadan elde edilebilir veya metaller alaşımlar polimerler seramikler kompozit malzemelerden üretilebilir. Bu malzemelerden elde edilen bileşikler kalp kapakçığı kornea kemik dokularında cerrahi yöntemlerde ilaç dağıtımında olmak üzere birçok alanda işlev görmektedir [72].

1.6.1. Biyomalzemelerin Sınıflandırılması

Biyomalzemeler sağlık alanında ve yaşam kalitesinin arttırılmasında önemli bir etken haline gelmiştir. Biyomalzemeler gen dizileme ,biyosensör, tıbbi malzemeler, implantlar, doku mühendisliği gibi birçok uygulama alnında kullanılmaktadır. Geniş bir sınıf olan biyomalzemeler 5 alt başlıkta toplanır :metaller, seramikler ,kompozitler, polimerler ve doğal malzemelerdir [73], [74].

1.6.1.1. Metal Biyomalzemeler

Metalik malzemeler yük taşıma kapasitesi yüksek olduğundan dolayı dokuda taşıyıcı sistemlerde kullanılmaktadır. Örnek olarak kalça protezlerinde, diz eklemi protezi, diş imalatlarında, tıpta kullanılan birçok cihaz ve aletlerin yapısında da bulunmaktadır. Metalik biyomalzemeler yüksek çekme özelliği, çabuk bozulmama metalik biyomalzemeler kullanılmaktadır. Metalik biyomalzemelerin dezavantajı dokuda kimyasal tepkimeye girerek dokulara zarar verebilmektedir [74],[75].

1.6.1.2. Seramik Biyomalzemeler

Seramikler metalik özellik göstermeyen basınca dayanıklı ve biyolojik inertliğe sahiptir. Genellikle seramikler yüksek basınca dayanıklı olmaları nedeniyle sert dokular için kullanılır. Dezavantaj olarak kırılgandırlar. Örnek olarak alümina, zirkonya, trikalsiyum fosfat verilebilir. Özellikle kemik dokuda büyüme ve onarım rolü üstlenebilmektedir [74].

1.6.1.3. Kompozit Biyomalzemeler

Kompozit iki veya daha fazla bileşiğin birleşmesi anlamına gelmektedir. Kompozit biyomalzemeler sürekli ve süreksiz evreleri bulunmaktadır. Sürekli fazın molekül ağırlığı ve tane boyutu, süreksiz fazın şekli, boyutu ve dağılımı kompozit yapıları etkilemektedir [74].

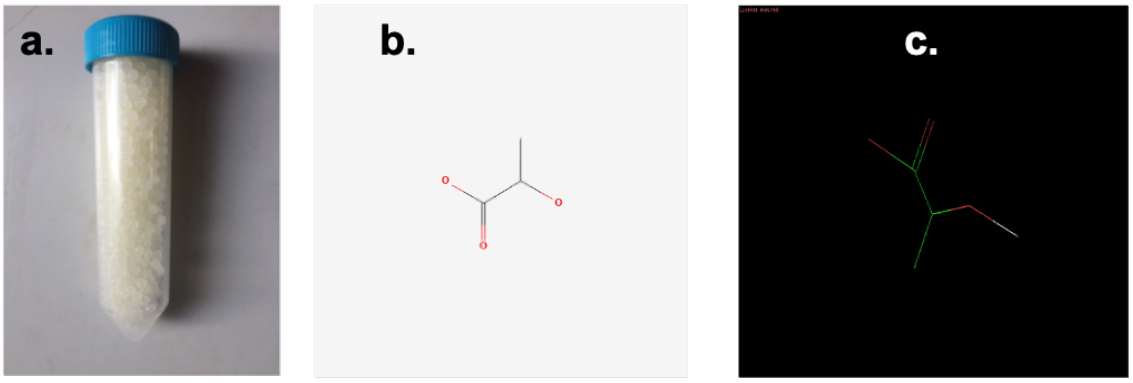
1.6.1.4.Doğal Malzemeler

Doğal malzemeler çoğunlukla tıpta kullanılan polimerlerdir. Kolajen ve glikozaminoglikan gibi polimerler örnek verilebilir. Vücutta fazlaca bulunan polimerlerdir. Dokularla uyumlu ve toksik etkisi yoktur [74].

1.6.1.5. Polimerler

Polimerler, biyomalzemelerin önemli bir diğer sınıfıdır. Çok sayıda monomerin bir araya gelmesiyle polimerler oluşturulur. Doğal ve sentetik olmak üzere kendi arasında ayrılmaktadır. Polimerler optik ve elektriksel özellik gösterebilmektedir. Kolay sentezlenmesi, çeşitli kompozitler oluşturabilmesi avantajlarından olup; sterile etme zorluğu, su toplama özelliği, bazı dezavantajlarındandır. Doğal biyomalzemelerin biyouyumluluk seviyesi yüksektir. Hücreye kolayca yapışabilme özelliği sayesinde doku mühendisliğinde kullanılmaktadır. Sentetik biyomalzemelerin ise bozunma oranı düşük olmaktadır [71],[74].

1.7. PLA (Polilaktik Asit)



ŞEKİL 1.7. PLA Polimerinin (Poli Laktik Asit) Yapısı :a: PLA Polimeri, b: PLA Moleküler Yapısı, c: PLA 3 Boyutlu Moleküler Yapısı [115].

PLA karbonhidratlardan elde edilen yenilenebilir , çok yönlü, biyolojik olarak parçalanabilen biyouyumlu lineer alifatik bir polyesterdir [76].Aynı zamanda PLA laktitilerin polimerazasyonu ile hazırlanabilir. Karbonhidratların fermantasyonu sonucunda da elde edilir [77]. PLA, polietilen tereftalat (PET) ile benzeyen bir polimerdir aynı zamanda geri dönüştürülebilir polimerdir [78]. PLA biyolojik olarak çözünebilen, yeniden kullanılabilir, dayanaklı ve yüksek verimliliğe sahiptir [79]. PLA polilaktik asit endüstriyel üretimi karbonhidrat fermantasyonun sonucudur. Kimyasal ve ekonomik olarak uygundur ve saf laktik asit üretimini sağlar. Laktik asitin halka biçimi dimer laktik halka açma polimerazasyonu yüksek molar kütleli PLA üretiminde kullanılır. Laktik asit. L-laktit, D-laktit ve D-L laktit 3 farklı biçimde bulunur [80]. Çevresel sorunlar için kemik cerrahisinde veya ilaç salınımında parçalanabilir polimerler kullanılmaktadır. Biyobozunurluk açısından umut verici malzemeler ester bağlarının kimyasal hidrolize karşı duyarlılığı nedeniyle polyesterlerdir .Bu polimer ailesinde laktik asit örnek verilebilir [81]. Son zamanlarda biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerin malzemeler yapımında kullanımı araştırılmaktadır. Bu polimerlerden biri laktik asitten üretilen alifatik polyester poli laktik asittir (PLA). PLA molekülü ilk olarak Carothers tarafından 1932 yılında sentezlenmiştir. PLA üretmek için iki faklı yöntem geliştirilmiştir. Kimyasal sentez ve karbonhidrat fermantasyonuna dayanmaktadır. Datta ve Henry'nin çalışmaları sonucunda L ve D laktik asitin kimyasal yolla da üretilebileceğini göstermişlerdir [82].

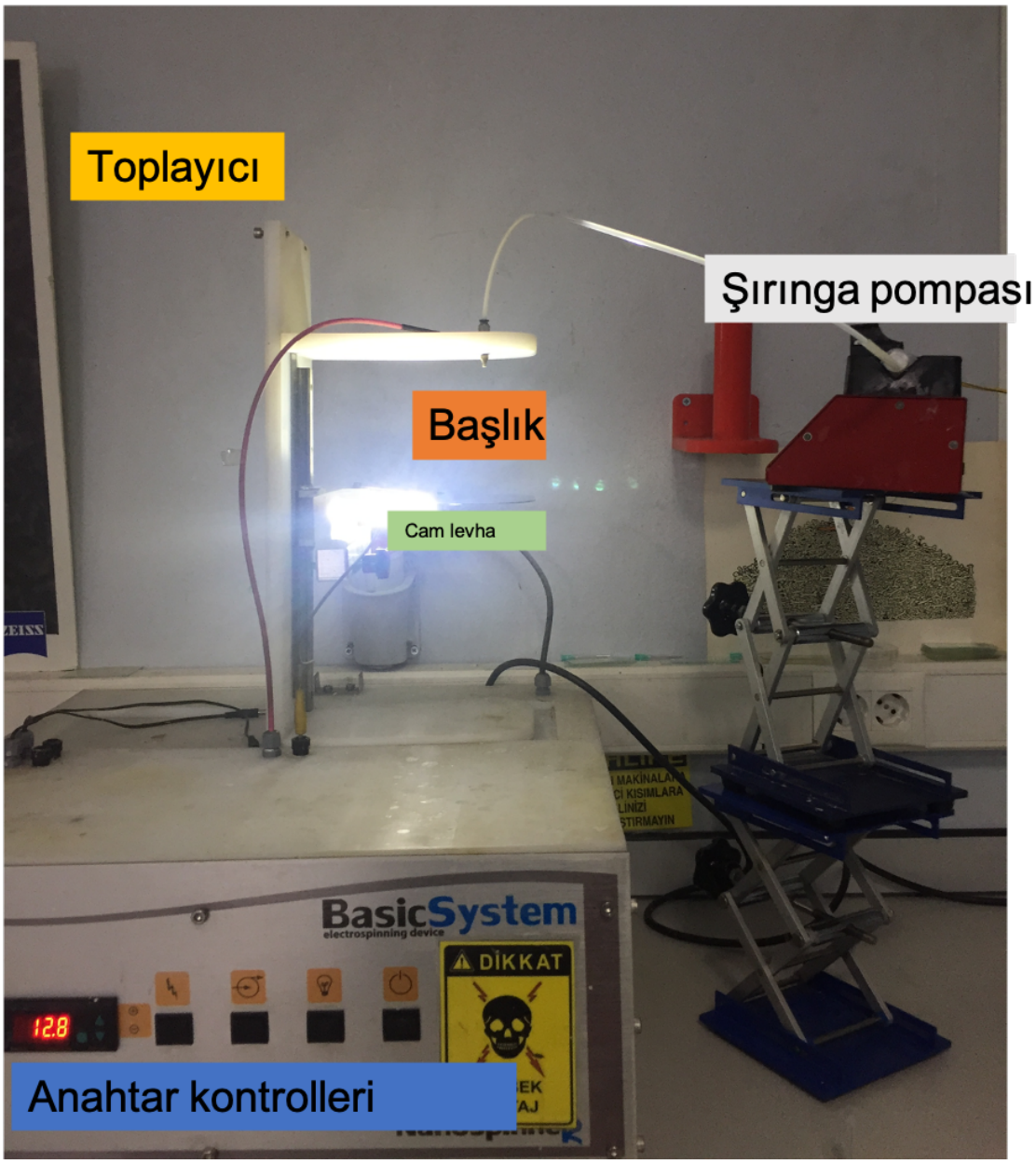
Polilaktik asit (PLA), mısır ve şeker pancarı gibi %100 yenilenebilir kaynaklardan elde edilen, çok yönlü, biyolojik olarak parçalanabilen, alifatik bir polyesterdir. PLA, birçok alanda umut vaat ediyor PLA, laktik asidin doğrudan yoğunlaştırılmasıyla ya da siklik laktit dimerin halka açma polimerizasyonuyla hazırlanabilmektedir [76].

İlaç yüklü taşıyıcılarla, hedefe yönelik tedavi klinik uygulamalarda kullanımı artmıştır. İlaç yüklü partiküller organik çözücüler içermektedir PLA'nın L-formunun içeriğinde oynamalar yaparak erime sıcaklığını (Tm) ve camsı geçiş sıcaklığını (Tg) ayarının yapılmasını kolaylaştırır. Saf L-PLA formunun yüksek kristalliği sonucundan dolayı ilaç endüstrisinde ilgi odağını artırmıştır. PLA da doğal yollarla meydana gelen bozunma hidroliz veya enzimatik reaksiyonlarla ester bağlarını kırmaktadır. Bu sayede nanotıpta ilaçların taşıyıcılığına yapabilme özelliğine sahip olur. Yüksek elastikiye ve gerilme kuvveti sayesinde doku mühendisliğinde ve replasmna cihazlarında kullanılır. Laktik asitin glikolik asitle eşleşmesiyle PLA'nın kopolimer türevi PLGA oluşmaktadır. PLA ve PLGA in vivo ve in vitro sistemler de biyouyumluluk, biyobozunurluk, partikül boyutu morfoloji ilaç salım özellikleri sayesinde ilaç salım sistemlerinde kullanılmaktadırlar [83]. Kemoterapötik ilaçlar bağışıklığı baskılayarak kanser hastalarını enfeksiyonlara karşı güçsüz hale getirir. Vücutta kanserin hızlı yayılmasının sebeplerinden biri tedavi sürecinde kullanılan ilaçların bağışıklık faktörlerinin baskılamasıdır. Farmasötik ilaçların kullanımı tedavilerde umut haline gelmektedir. *Tamarindus indica* (Ti) içeriğinde bulunan çeşitli polisakkaritlerin antioksidan, anti tümör, immünomodülatör, anti mikrobiyal, anti ülser gibi farmakolojik etkisinin olduğu gözlenmiştir. İçeriğindeki bu farmotik ajanlar bağışıklığa karşı olumlu etkilerinin olduğu bilinmektedir. *Tamarindus indica* içeriğindeki polisakkaritlerin modern tıpta yapay gözyaşı, kanser çalışmalarında daha birçok tıp alanında yaygın kullanılmaktadır. *Tamarindus indica* ekstratlarının çeşitli partiküllerle kombine ederek yapılan çalışmalarda tümörlerde in vivo ve in vitro sitotoksisteye ve anti kansere neden olmuştur [84].Polilaktik asit (PLA), tıp, biyoloji, kimya, mühendislik alanlarında ve endüstriyel sektörlerde de kullanımı yaygındır. PLA termoplastik alifatik polyesterdir. Biyouyumluluk, sertlik termoplastisite özellikleri bulunmaktadır. Bu nedenle geride dönüştürülebilir malzemelerde kullanımı denenmiştir. Daha birçok alanda kullanımı mevcuttur. Yenilenebilir ve sürdürülebilir bir kaynak olarak PLA ekonomik kalkınma açısından önemlidir. Yenilenebilir ambalaj üretiminde arıtmada gıda alanında kozmetikte kullanımı bulunmaktadır [69].

PLA polimerinin olumlu yönleri varken olumsuz yönleri de bulunmaktadır örnek olarak kristalleşme hızı yavaştır, kırılgan olması ve yırtılma gibi özelliklerdir [85]. PLA biyokomünikasyon özelliği sayesinde insan vücudun da parçalanabilir. PLA öncelikle hidroliz yoluyla bozunmaya başlar [86]. Protein yüklü nano partikül ilaç salınım sistemleri biyolojik olarak parçalanabilen ve biyolojik olarak uyumlu olan polimerler sprey ve dondurarak kurutma, koaservasyon, polimerazasyon, buharlaştırma gibi tekniklerle elde edilmektedir [87]. PLA kullanılmadan önce sitrat esterler, poli etilen, gliserol gibi bileşiklerle plastikleştirilmektedir [88]. PLA toksik olmayan biyolojik olarak uyumlu ve dokulara zarar vermeden parçalanabilen polimerdir [89].

1.7.1. ELEKTROSPREY

Geleneksel yöntemlerle elde edilen nanopartiküllerin üretimini uzun sürmesi, kaynaşma, taneciklerin homojen olmaması gibi sorunları elektrosprey ortadan kaldırır. Elektrosprey yüksek moleküler ağırlıktaki polimerleri düşük maliyette ve kısa sürede üretmeyi sağlar. Elektrosprey, elektriksel alan altında şırınga ve tüpler yardımıyla yüksek potansiyele geçirilerek monodispers damlacıkların oluşturulduğu işlemdir. Elektrosprey sayesinde yoğunluğu farklı birçok çözeltiden değişik boyutlarda ve şekillerde üretim sağlanabilir. Belirli parametlerle voltaj ve akış hızı ayarlanarak farklı solüsyonlardaki çözeltilerin atışı sağlanabilir. Üretilen partiküllerin küçük olması homojen dağılması ve topaklanma oranının düşük olmasıyla medikal uygulamalarda çokça kullanılmaktadır. Elektrosprey diğer yöntemlere göre hidrofilik ve hidrofobik kapsülleme özelliği bulunmaktadır. Elektrosprey yönteminde polimerler elektriksel alan(voltaj), akış hızı (flow rate), iletkenlik, yoğunluk gibi özelliklerden etkilenebilmektedir. Bu yöntemle partiküllerin boyutu akış hızı rahatça kontrol edilerek istenilen parametler edilir ve o parametlerle atış sağlanır. Kolay ve basit uygulanabilir [90].Elektrosprey (ES) seçilen malzemelere önemli derecede esneklik sağlar.ES aynı zamanda farklı bileşiklerin çeşitli dokularda ve boyutlarda üretimini sağlamaktadır [91]. Elektrospreyleme yönteminde belli bir değere ulaşan bileşikler yüzey gerilimini yenerek nano boyutuna bölünerek oluşmaktadır. Damlacıklar toplayıcıya hareket ederek çözücü içindeki buharlaşan yapılardan kurtulan parçacıklar katılaşarak lam üzerinde toplanır [92]. Koaksiyel elektrospreyler geleneksellere göre yüksek kapsülleme ve homojen boyut dağılımına sahiptir [93].



ŞEKİL 1.7.1. Elektrosprey Bölümleri

2.MATERYAL VE YÖNTEM

2.1.Hücre Kültürü

Tez kapsamında kullanılan tüm hücreler %10 sığır fetal serum (FBS) ve 10 µ/ml penisilin/streptomisin antibiyotiği içeren DMEM besiyeri içerisinde %5CO_2 ve 37 ℃ olan inkübatör de etüv edilmiştir. Hazırlanmış olan besiyeri hücre kültürü ile uyumlu 0,22 µM filtreden geçirilerek steril hale getirilerek 50 ml'lik falkonlarda +4 ℃ saklanmıştır. Hücreler 25 ve 75 cm²'lik hücre kültürlerde büyütülmüştür. Protein izolasyonu için 60 mm'lik , Colony Assay ve Growth Assay için 6 kuyucuklu MTT Assay için 96 kuyucuklu hücre kültürü petrilerine ekim yapılmıştır. Hücreler tutunma sürelerine göre bekledikten sonra ilaçlar uygulanmıştır. İnkübatör (%5CO_2, 37^oC) içinde deneye göre süreleri belirlenerek beklenilmiştir. Hücre pasajlama için hücrelerin yoğunlaşması için beklenen süre sonunda ilk önce 25 mm' lik hücre kültürü petrisindeki besiyeri uzaklaştırılmıştır. Daha sonra 3 ml fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) ile yıkanmıştır. Bu işlemden sonra PBS uzaklaştırılmıştır. Petri kabı içerisine 1 ml tripsin EDTA (etilen diamin tetra asetik asit %0,25) eklenerek inkübatöre (%5 CO_2 , 37^oC) kaldırılmıştır. 3 dk beklendikten sonra hücreler kalkar sonra tripsin aktivitesini durdurmak için 2 ml besiyeri (DMEM +) eklenmiştir. İnkübatörden aldığımız petri kabına 2 ml besiyeri eklenmiştir. Petri içerisindeki besiyeri 15 ml'lik falkona alınmıştır. 2500 rpm'de 5 dk süre santrifüje kaldırılmıştır. Santrifüjden gelen falkondan süpernatant atılmıştır. 1 ml besiyeri girilerek homojen hale gelene kadar pipetaj yapılmıştır. Bu işlemden sonra hücre sayımı için hemositometri' ye (Neubauer) 10 µl yüklenmiştir. Hücre sayımı için hemositometri de bulunan kare içindeki hücrler sayılarak 10^4 ile çarpılmıştır. 25 cm²'lik petri kabına ekilmiştir.

2.1.1. Hücre Canlılığının Belirlenmesi

Meme kanseri hücre hatlarının kuyu başına $1x10^4$ olarak 96 kuyucuklu petriye ekilmiştir. 1 gün inkübatöre bırakılmıştır. 24 saat sonunda kuyucuklardaki besiyeri hücrelerden uzaklaştırılmıştır. Doza bağlı hücre canlılığın belirlenmesinde 5 µg/ml 12,5 µg/ml, 25 µg/ml, 37,5 µg/ml ve 50 µg/ml olmak üzere 5 farklı konsantrasyon uygulanmıştır. Uygulama sonrasında 24 saat inkübatöre bırakılmıştır. 24 - 48 saat süreyle ilaçlı 96'lık plaka inkübe edilmiştir. MTT ajanı uygulanarak 4 saat inkübe edilmiştir ve dimetil sülfoksit (DMSO) ile formazan tuzları çözündürülüp, absorbans değeri 570 nm dalga boyunda konfokal görüntüleme mikroplaka (BioTek ,Cytation™ C10) okuyucusunda ölçüm yapılmıştır.

2.1.2. Koloni Oluşumunun Kristal Viyole ile Gösterilmesi

6 kuyucuklu petriye 5 x10^4 hücre olacak şekilde ekim yapılmıştır. 24 saat süre sonunda ilaç ile muamele yapılmıştır. 24 saat ilaç uygulamasının sonunda hücrelerin normal medya ile değişimi yapılmıştır10-14 gün sonunda medya uzaklaştırılmıştır. Kuyucuklar 2 X PBS ile yıkama yapılmıştır. 3 ml %100 methanol, 1 ml asetik asit ile 5 dakika inkübe edilmiştir. Kristal viole yüzeyi sarıcak miktarda eklenip 20 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Bir kaba çeşme suyu alınarak petrilerler 10 dk boyunca daldırılıp çıkartılmıştır. Kurumaya bırakılmıştır. Çekimi yapılarak kaldırıl.

2.1.3. *Hücre Büyümesinin* Tripan Mavi ile Boyanması

Optimize ettiğimiz değerler 25 5 µg/ml dilüsyon oranı kullanarak ekim yapılmıştır. 1 x10^5 hücreyi 6 kuyucuklu petri kabına ekilmiştir. Hücreler yapıştıktan sonra 24-48-72 saat süre sonlarında kontrol medyaları atılmıştır. İlaçlı medyalar ependorflara alınmıştır ve 4°C soğutmalı santrifüje kaldırılmıştır. Soğutmalı santrifüjde 12.000 rpm de 4°C 5 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüjden gelen ependorflardan üst faz atılmıştır. Kuyucuklar 500 µl PBS ile yıkanmıştır. 500 µl tripsinle kaldırılmıştır. 3 dk. 37 C inkübatöre kaldırılmıştır. 500 µL medya eklenmiştir. İlaçlı kuyucuklar eski ependorflara alınmıştır kontrol olanlar yeni ependorflara alınmıştır Santrifüj edilmiştir. Temiz medya girerek pipetaj yapılmıştır. Tripan Blue ile boyanmıştır. Canlılar daha parlak renkte görülürken ölü hücreler boyanarak daha koyu renkte görülmüştür. Canlı hücreler sayılarak yaşam eğrisi çizilmiştir.

2.1.4. Dioc6 ve DAPI Floresan Boyama

Meme kanseri hücreleri 1000-5000 hücre / kuyucuk olacak şekilde uygun kültür besiyeri içinde 96'lık kuyucuklara ekilmiştir. 24 saatlik hücre yapışmasının beklenmesinin ardından *Tamarindus indica* ekstreleri uygulanmıştır.0-24-48 saat hücreler 37 ºC inkübe edilip, DioC6, DAPI boyaması 15 dk., konfokal görüntüleme mikro plaka okuyucu ile görüntüleme yapılmıştır.

2.1.5. İstatistiksel Analiz

Yapılan hücre canlılığı deneyi GraphPad Prism 6 kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı kabul edilen p değerleri sırasıyla * $p<0.05$, ** $p< 0.01$, **** $p<0.001$ olarak verilmiştir. MTT hücre canlılığı analizi üç kez tekrarlanan deney ortalamasına göre belirlenmiştir.

2.2.Hücre Kültürü ve Nanopartikül Sentezi İçin *Tamarindus indica* Ekstrelerinin Hazırlanması

2.2.1. *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstraksiyonu

Tamarindus indica preslenmiş bir şekilde Türkiye, Kocaeli'nde bulunan bir aktardan satın alınmıştır. *Tamarindus indica* kabuğu elle çekirdeğinden ayrılarak 10 g olacak şekilde tartılmıştır. Tartılan kabuk saf su ile yıkanmıştır. Beher içine 100 ml distile su eklenerek kabuklar su banyosunda 60-80 C 25 dk. kaynatılmıştır. Filtre kağıdında süzme işlemi yapılmıştır. Bu süzme işlemi yeni filtre kağıdıyla tekrar yapıldıktan sonra 50'lik falkonlara alınmıştır. Hücrelere uygulanmadan önce UV altında 15 dk. bekletilmiştir [68].



ŞEKİL 2.2.1. *Tamarindus İndica* Meyve Kabuklarından Elde Edilen Ekstre

2.2.2. Nanopartikül Sentezinde Kullanılan *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstraksiyonu

Preslenmiş, *Tamarindus indica'nın* meyve kabuğundan çekirdekleri elle ayrılarak satın alınan aktarda bulunan değirmenden geçirilmiştir. İstenilen büyüklüğe ulaşması için havanda dövülmüştür. Daha küçük parçalara ayrılması için elekten geçirilmiştir. Kahve tozu haline gelmesi sağlanmış ve 5 mg çekirdek tozu için 1000 µl DMSO eklenmiştir ve meme kanseri hücrelerine uygulanmadan önce UV altında 15 dk. bekletilmiştir.



ŞEKİL 2.2.2.*Tamarindus indica* havanda dövülerek toz haline getirilme aşaması

2.2.3.PLA Partikülü Sentezi Solüsyonlarının Hazırlanması

Malzemeler	%3 PLA	ÇEKİRDEK	EKSTRAT	KLOROFORM	DMSO
% 3 PLA	0,3 g	Yok	Yok	10 ml	Yok
%3 PLA+EKSTRAT	0,3 g	Yok	1 ml	9 ml	Yok
%3 PLA+ÇEKİRDEK	0,3 g	1,7 mg	Yok	9 ml	1 ml

Tablo 3:Kullanılan malzeme miktarları

2.2.4. %3'lük PLA Solüsyonu

0,3 g tartılan PLA 10 ml kloroform içinde çözünmesi için manyetik karıştırıcıda (Wise Stir®, MSH-20A, Wertheim, Almanya) 200 rpm'de sıcaklık olmadan 1 saat boyunca tamamen homojenize olana kadar karıştırılmıştır. %3'lük hazırlanan solüsyon hücreler için toksisitesini ölçmek için elektrosprey cihazında (NS24,Inovenso Co, Türkiye) 9 V(voltaj), pompanın (NE-300, New Era Pump Systems, Inc.,USA) akış hızı (FR) 0,4 ml/h ayarlanarak (Flow rate) biriktirilmiştir. Daha sonra hücrelere uygulanmak için küçük ependorflara alınmıştır.



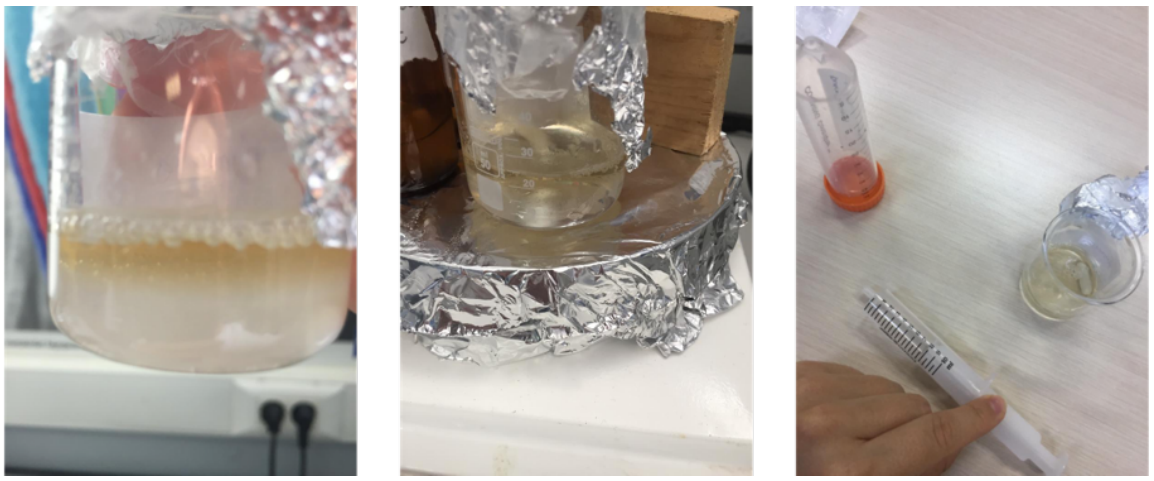
ŞEKİL 2.2.4. PLA'nın Hassas Terazide Ölçüm Aşamaları

2.2.5. *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstresi Solüsyonun Hazırlanması

1,7 mg ölçülen *Tamarindus indica* çekirdekleri havanda dövülerek iyice toz haline getirilmiştir.1000 µl DMSO (dimetilsülfoksit) ile karıştırılarak manyetik karıştırıcıda 500 rpm ‘de 1 saat boyunca karıştırılmıştır. Önceden hazırlanan %3'lük PLA ile karıştırılarak tekrar manyetik karıştırıcıda 1 saat boyunca karıştırılmıştır. Hazırlanan solüsyon elektrosprey cihazında (NS24,Inovenso Co, Türkiye) 12-12,8 V (voltaj), pompanın (NE-300, New Era Pump Systems, Inc.,USA) akış hızı (FR) 1.0 ml/h (Flow rate) ayarlanarak lamelde biriktirilmiştir. Biriktirilen partiküller kazıtılarak toz haline getirilmiştir. Daha sonra tartılarak ependorflara alınmıştır.

2.2.6. *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstresi Solüsyonun Hazırlanması

Meyve kabuklarından elde edilen ekstreden 1000 µl alınmış ve daha önceden çözdürülmüş %3'lük PLA solüsyonuna eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 500 rpm' de 1 saat kadar karıştırılmıştır. Hazırlanan solüsyon elektrosprey cihazında (NS24,Inovenso Co, Türkiye) 26,5 V (voltaj), pompanın (NE-300, New Era Pump Systems, Inc.,USA) akış hızı (FR) 1.0-2.0 ml/h(Flow rate) ayarlanarak lamelde biriktirilmiştir. Biriktirilen partiküller kazıtılarak toz haline getirilmiştir. Daha sonra tartılarak ependorflara alınmıştır.



ŞEKİL 2.2.6. Demirhindi (Meyve Kabuğu) Solüsyonun Hazırlanma Aşamaları

2.2.7. Elektrosprey Cihazında Nanopartikül ile Kaplanmış *Tamarindus indica* Ekstrelerinin Sentezi

Hazırlanan PLA ve PLA ile kaplı ekstre solüsyonları 'NS24,Inovenso Co', Türkiye markalı elektrosprey ve güç pompası 'NE-300, New Era Pump Systems, Inc., USA' markalı cihazlardan atış için belli parametler denendikten sonra, partikül boyutu için en iyi parametler belirlenmiştir. PLA için 9 voltaj(V), 0,4 ml/s akış hızı parametresi belirlenmiştir. PLA ile *Tamarindus indica* çekirdeğinden hazırlanan solüsyon atışlarında 12-12,8 voltaj(V), 1.0 ml/s akış hızı belirlenmiştir. PLA ve demirhindi meyve kabuğunda elde edilen ekstrat 26,5 voltaj(V), 1.0-2.0 ml/s olarak belirlenmiştir. Elektrosprey cihazının atış uzaklığı 17 cm olarak belirlenmiştir. Güç pompasında akış hızı mililitre/saat olarak ayarlanmıştır.



ŞEKİL 2.2.7. Elektrosprey Bölümleri

2.3.PLA ve PLA ile Kapsüle Edilmiş Ekstrelerin Karakterizasyonu

2.3.1. PLA ve PLA ile Kaplı *Tamarindus indica* Ekstrelerin Kimyasal Analizi

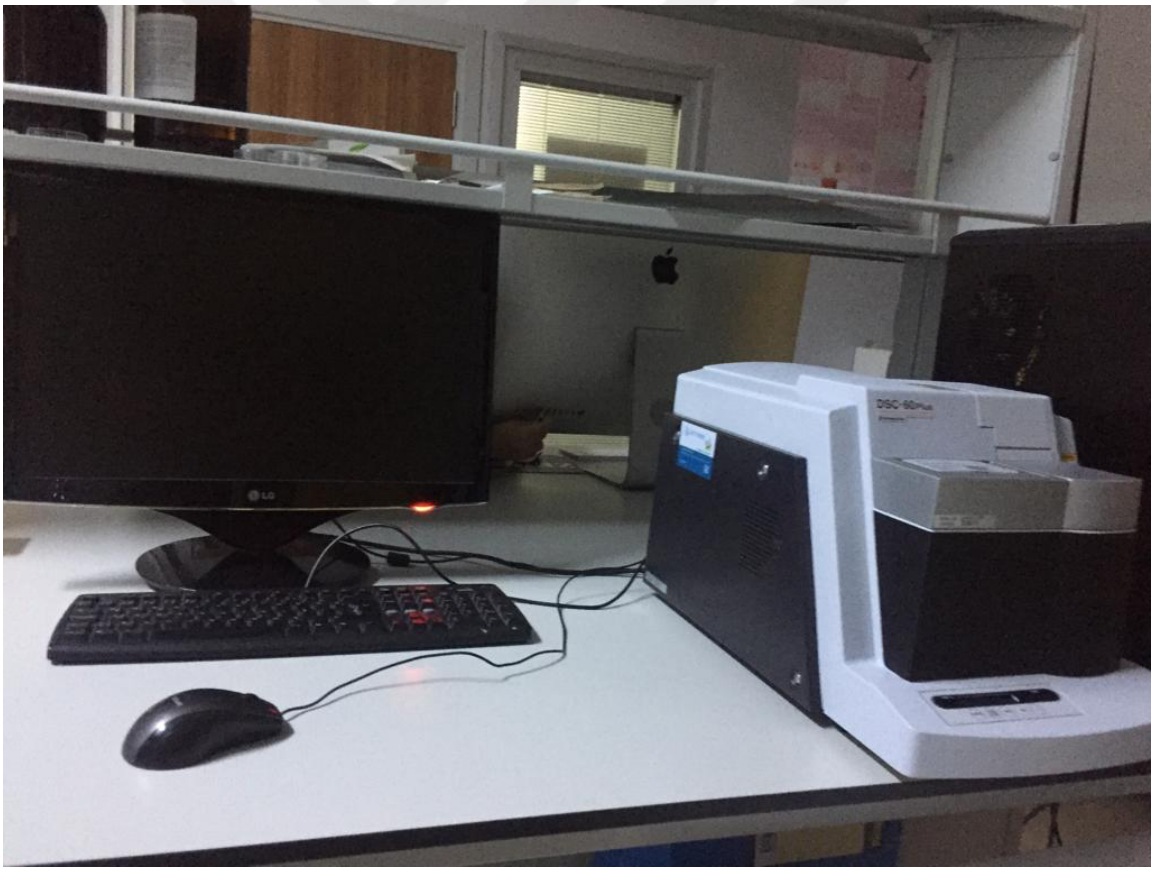
PLA ve PLA ile kaplı *T.indica* ekstrelerinin kimyasal karakterizasyonu ve moleküler yapısı Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektrofotometre (FTIR, 4700 Jasco, Japonya) uygulanarak 4000-400 cm^{-1} tarama aralığında ve 4 cm^{-1} çözünürlükte analiz işlemi standart Ge/KBr detektör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçülen dalga boyları, SpectraManager® cihazıyla kaydedilmiştir.



ŞEKİL 2.3.1.Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrofotometre (FTIR)

2.3.2. PLA ve PLA ile Kaplı *Tamarindus indica* Ekstrelerin Termal Özelliğinin Analiz Edilmesi

PLA ve PLA ile kaplı *Tamarindus indica* ekstrelerinin termal davranışını belirlemek için diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) kullanılarak analiz edilmiştir. 25 °C ila 300 °C arasında değişen bir sıcaklıkta bir alüminyum pinlere yerleştirildikten sonra yapılarının termal cam geçiş noktası (Tg), erime noktası (Tm) ve ısı davranışlarını Shimadzu DSC-60Plus cihazıyla tespit edilmiştir. Daha sonra tarama hızı dakikada 25 °C olan ve ısısal analizleri elde edilen tüm veriler bilgisayar yazılımı ile grafiğe dönüştürülmüştür.



ŞEKİL 2.3.2. DSC (Diferansiyel Taramalı Kalorimetri) Cihazı

2.3.3. PLA ile Kaplı *Tamarindus indica* Ekstrelerin İn -Vitro Ortamında İlaç Salınımın İncelenmesi

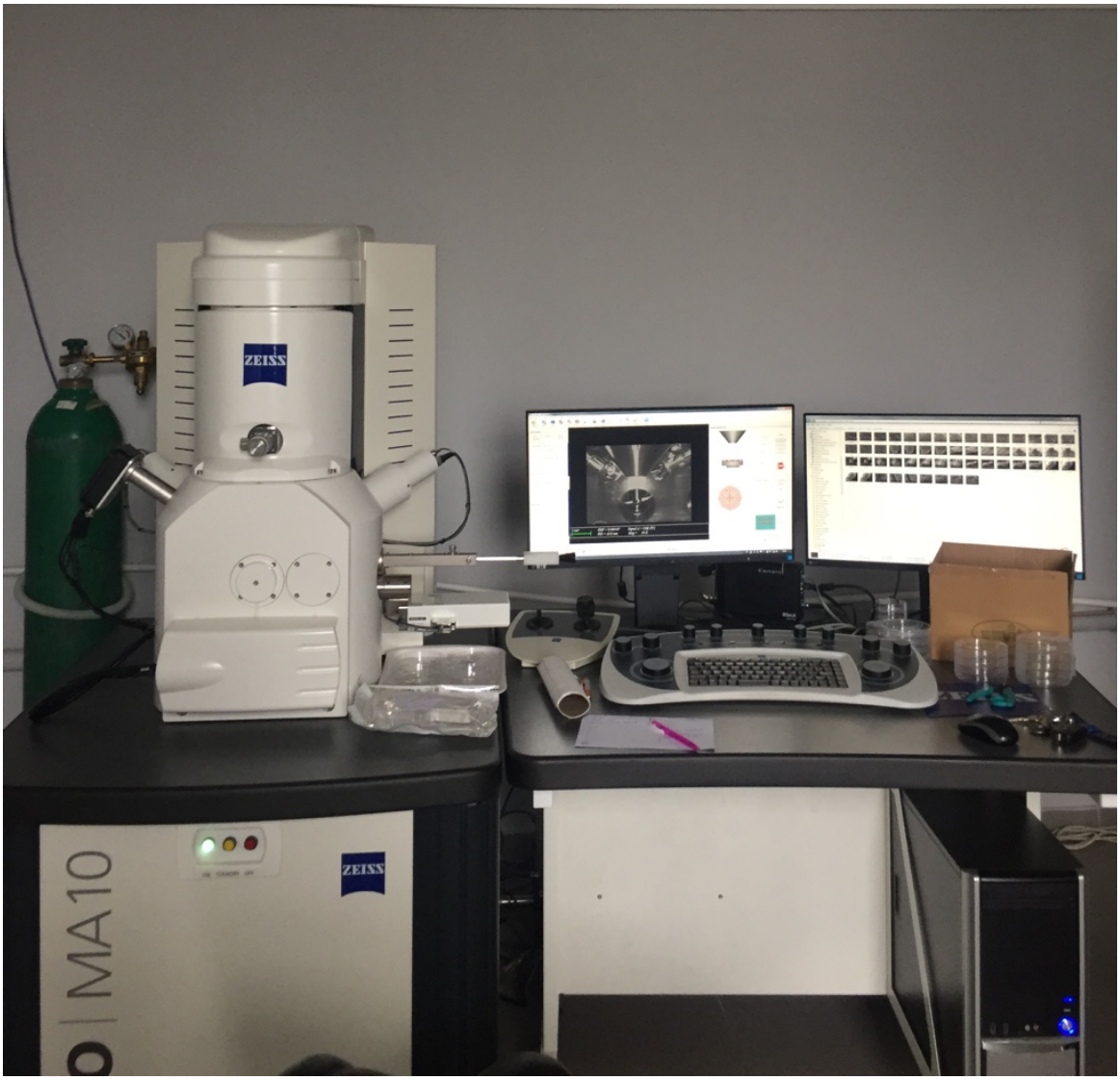
Tamarindus indica ekstreleri ana stok çözeltileri meyve kabuğundan elde edilen ekstrat için 100 ml distile su içerisinde 1 ml ekstrat eklenerek manyetik karıştırıcıda 1 saat çözünmüştür. *Tamarindus indica* çekirdeği 1 mg çekirdek tozu tartılarak 100 ml DMSO içerisinde manyetik karıştırıcıda 1 saat çözünmüştür. Farklı oranlarda *Tamarindus indica* ekstreleri içeren ilaç salınımının incelenmesi için vücut ortamına benzer thermo çalkalayıcı inkübatör (BIOSAN TS-100) sıcaklığı 37 °C'ye ve çalkalama hızı ise 400 rpm olarak ayarlanmıştır. 5 mg tartılan *Tamarindus indica* ekstreleri 2 ml fosfat tampon çözeltisi (PBS) içeren eppendorf tüplere eklenmiştir ve farklı zamanlarda sıvı çözelti karışımı alınarak salınım incelenmiştir. Suare olarak 15 dk., 30 dk., 60 dk. ve her bir saat artan aralıklarla ölçümler UV-1280 spektrofotometre ile 190 ve 1100 nm aralıklarında gerçekleştirilmiştir. Her ölçüm sonrası ekstrelerin üzerine yeni 2 ml PBS solüsyonu eklenerek, yeni ölçümler için thermo çalkalayıcı inkübatöre yerleştirilmiştir. Konsantrasyonları belirleyebilmek için standart kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır ve standart kalibrasyon eğrisini çizebilmek için *Tamarindus indica* ekstreleri karışımı 5 farklı oran (0,1, 0,5, 1, 1,5 ve 2 µg/ml) olacak şekilde stok çözeltiden hazırlanmıştır.



ŞEKİL 2.3.3. UV-1280 Spektrofotometre ve Thermo Çalkalayıcı İnkübatör BIOSAN TS-100

2.4. %3 PLA ve %3 PLA ile Kapsüle Edilmiş Ekstrelerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Cihazıyla Görüntülenmesi

PLA ve PLA ile kapsüle edilmiş ekstrelerin SEM ’de, yüksek enerjili elektronlar ile etkileşerek elektron ve foton sinyalleri oluşturularak görüntü elde edilmiştir.

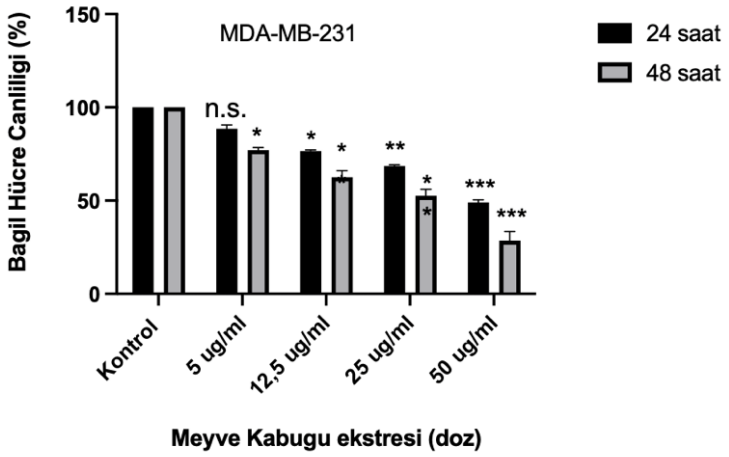


ŞEKİL 2.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

3.SONUÇ

3.1. *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstrelerinin Doza Bağlı Meme Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin Gösterilmesi

Tamarindus indica meyve kabuğu ekstresi (0-50 µg/ml) MDA-MB 231 meme kanseri hücre hattına 24 - 48 saat uygulanmıştır. Meyve kabuğundan elde edilen ekstrenin hücre canlılığına etkisi doza bağlı MTT testi kullanılarak belirlenmiştir. Bu dozlar 5 µg/ml 12,5 µg/ml 25 µg/ml , ve 50 µg/ml olarak 4 doz belirlenmiştir. MDA-MB 231 doğal tip meme kanseri hücre hattında, 24 saat 5 µg/ml meyve kabuğu ekstresinin uygulaması hücre canlılığına %13 ket vurmuştur ($p<0.2019$). 24 saat meyve kabuğu ekstresinin 12,5 µg/ml dozu %23 canlılığa ket vurmuştur ($*p<0.0176$). 24 saat meyve kabuğu ekstresinin 25 µg/ml dozu % 32 canlılığa ket vururken,% 68 hücre canlılığı görülmüştür($**p<0.0058$). 24 saat meyve kabuğu ekstresinin 50 µg/ml dozu % 50 canlılığa ket vururken, %50 hücre canlılığı görülmüştür($***p<0.0009$). 48 saat 5 µM meyve kabuğu ekstresinin uygulaması hücre canlılığına %24 canlılığa ket vururken %76 hücre canlılığı görülmüştür ($*p<0.0191$). 48 saat 12,5 µg/ml meyve kabuğu ekstresinin uygulaması hücre canlılığına %35 canlılığa ket vururken %65 hücre canlılığı görülmüştür.($**p<0.0029$). 48 saat 25 µg/ml meyve kabuğu ekstresinin uygulaması hücre canlılığına % 50 canlılığa ket vururken %50 hücre canlılığı görülmüştür($**p<0.0012$). 48 saat 50 µg/ml meyve kabuğu ekstresinin uygulaması hücre canlılığına % 68 canlılığa ket vururken %32 hücre canlılığı görülmüştür($***p<0.0002$). Şekil 3.1.'te gösterilmiştir.

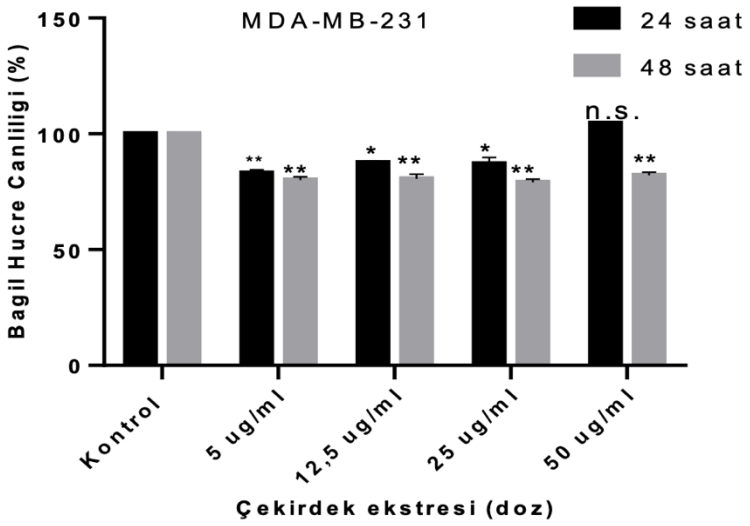


ŞEKİL 3.1.*Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstrelerinin MDA-MB- 231 Meme Kanseri Hücre Hattında Doza Bağlı Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin MTT Testi ile (p verileri ***p<0.001'dir **p<0.01 ve *p<0.05).

3.2. *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstresi Meme Kanseri Doza Bağlı Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin Gösterilmesi

Tamarindus indica çekirdek ekstresi (0-50 µg/ml) MDA-MB 231 meme kanseri hücre hattına 24 - 48 saat uygulanmıştır. Çekirdekten elde edilen ekstrenin hücre canlılığına etkisi doza bağlı MTT testi kullanılarak belirlenmiştir. Bu dozlar 5 µg/ml 12,5 µg/ml 25 µg/ml , ve 50 µg/ml olarak 4 doz belirlenmiştir. MDA-MB 231 doğal tip meme kanseri hücre hattında, 24 saat 5 µg/ml çekirdek ekstresinin uygulaması hücre canlılığına %18 ket vurmuştur (**p<0.0053). 24 saat çekirdek ekstresinin 12,5 µg/ml dozu %12 canlılığa ket vurmuştur (*p<0.0170). 24 saat çekirdek ekstresinin 25 µg/ml dozu %11 canlılığa ket vururken,% 89 hücre canlılığı görülmüştür(*p<0.0147). 24 saat çekirdek ekstresinin 50 µg/ml dozu canlılığa ket vurulmadığı görülmüştür (p<0.4302). 48 saat 5 µM çekirdek ekstresinin uygulaması hücre canlılığına %19 canlılığa ket vururken %81 hücre canlılığı görülmüştür (*p<0.0191).

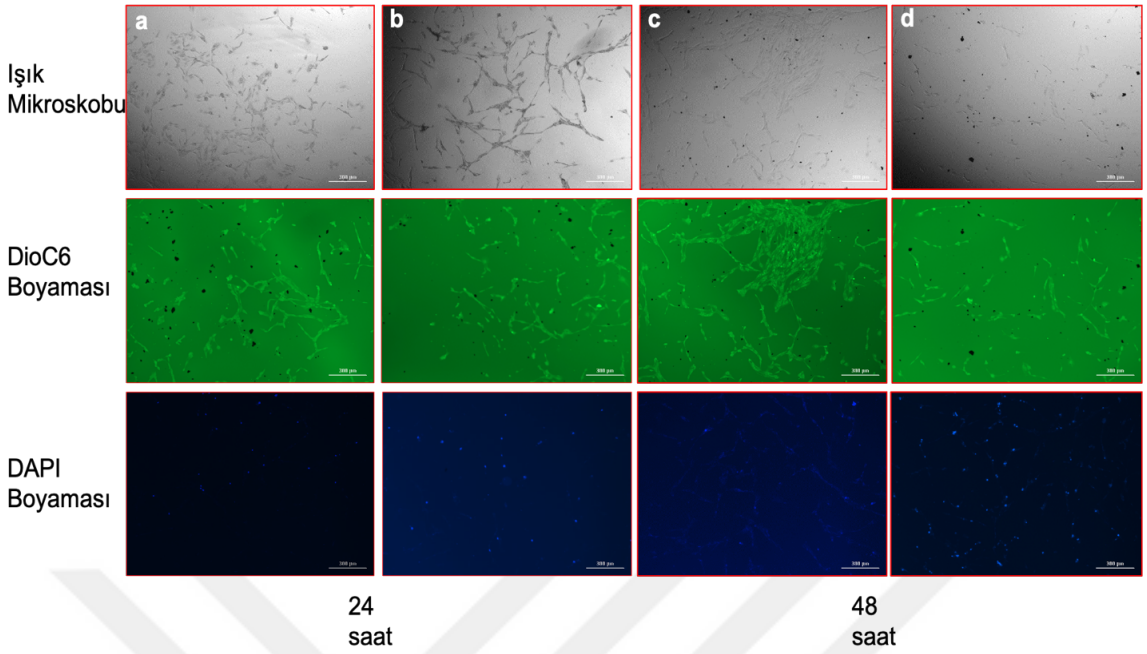
48 saat 12,5 µg/ml çekirdek ekstresinin uygulaması hücre canlılığına %21 canlılığa ket vururken %79 hücre canlılığı görülmüştür.(**p<0.0029). 48 saat 25 µg/ml çekirdek ekstresinin uygulaması hücre canlılığına % 20 canlılığa ket vururken %80 hücre canlılığı görülmüştür(**p<0.0012). 48 saat 50 µg/ml çekirdek ekstresinin uygulaması hücre canlılığına % 17 canlılığa ket vururken %83 hücre canlılığı görülmüştür(***p<0.0002). Şekil 3.2.'te gösterilmiştir.



ŞEKİL 3.2. PLA ile kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstresi MDA-MB-231 Meme Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin MTT Testi ile Gösterilmesi (p verileri ***p<0.001'dir **p<0.01 ve *p<0.05).

3.3. *Tamarindus indica* Çekirdeğinin MDA MB- 231 Meme Kanseri Hücresinde Floresan Boyama Yöntemi Kullanarak Gösterilmesi

25 ug/ml çekirdek ekstresi MDA-MB-231 hücrelerine uygulanmıştır. Daha sonra DioC6 ile 24 ve 48 saat boyanmıştır. DioC6boyamasına göre 24 saat uygulaması mitokondriyel membran potansiyeline ket vurduğu gözlemlenmiştir. Bu etki 48 saat sonunda daha fazla olarak gösterilmiştir.25 ug/ml çekirdek ekstresinin MDA-MB-231 hücrelerine zamana göre nükleer kondenzasyon üzerine etkisi DAPİ boyamasıyla gerçekleştirilmiştir. 25 ug/ml çekirdek hücrelerde nükleer kondenzasyona neden olduğu tespit edilmiştir. Bu etki 48 saatte daha fazla olarak gösterilmiştir. Böylece 48 saat çekirdek uygulaması hem mitokondriyel hücre membran potansiyeli düşürdüğü hem de nükleer kondenzasyon arttırdığı tespit edilmiştir. Floresan boyama 24 ve 48 saat olarak şekil 3.3' de gösterilmiştir.

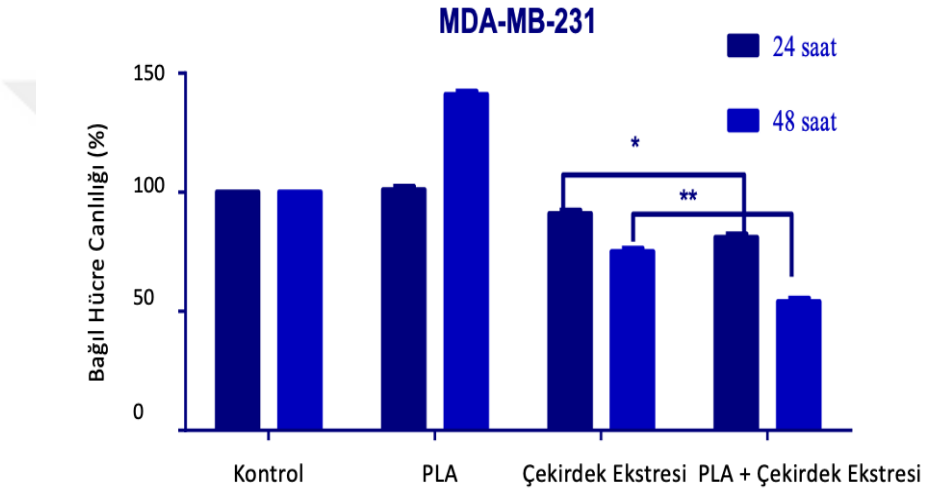


ŞEKİL 3.3. PLA ile Kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Çekirdeğinin MDA-MB 231 Kanser Hücrelerinde 24-48 Saat Floresan Boyama ile Gösterilmesi, (a: 24 Saat Kontrol, b:24 Saat Çekirdek Ekstresi ; c:48 Saat Kontrol , d: 48 Saat Çekirdek Ekstresi).

3.4. PLA ile kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstresinin Meme Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin Gösterilmesi

PLA ile kapsüllenmiş *Tamarindus indica* çekirdek ekstrelerinin MDA-MB 231 kanser hücre hattına uygulanmıştır. PLA ile sentezlenen çekirdek ekstresinin doza bağlı MTT testi kullanılarak hangi doz uygulanacağı seçilmiştir. Bu doz 25 µg/ml olarak belirlenmiştir. 24 saat MDA-MB 231 doğal tip meme kanseri hücre hattında 25 µg/ml PLA'nın hücre canlılığına ket vurmadığı görülmüştür. Kontrol gibi hücre büyümesi gerçekleşmiştir. PLA'nın hücre üzerinde toksisitesi olmadığı görülmüştür ($p<0.9490$). 24 saat 25 µg/ml çekirdek ekstresi uygulaması %8 canlılığa ket vurmuştur ($*p<0.0172$). 24 saat 25 µg/ml PLA + çekirdek ekstresi uygulaması %18 canlılığa ket vurmuştur ($**p<0.0019$). 24 saat 25 µg/ml uygulaması PLA'ya kıyasla çekirdek ekstresi p değeri $*p<0.0127$ değerini göstermiştir. 24 saat 25 µg/ml uygulaması PLA'ya kıyasla PLA+ çekirdek ekstresi p değeri $**p<0.0016$ değerini göstermiştir. 24 saat 25 µg/ml uygulaması çekirdek ekstresi' ne kıyasla PLA + çekirdek ekstresi p değeri $*p<0.0127$ değerini göstermiştir. 48 saat 25 µg/ml PLA uygulaması hücre canlılığına ket vurmadığı görülmüştür ($***p<0.0002$).48 saat 25 µg/ml çekirdek ekstresi uygulaması %24 hücre canlılığına ket vurmuştur ($***p<0.0008$).

48 saat 25 µg/ml PLA + çekirdek uygulaması %45 hücre canlılığına ket vurmuştur (***p<0.0001). 48 saat 25 µg/ml uygulaması PLA'ya kıyasla çekirdek ekstresi p değeri ****p<0.0001 değerini göstermiştir. 48 saat 25 µg/ml uygulaması PLA'ya kıyasla PLA+ çekirdek ekstresi p değeri ****p<0.0001 değerini göstermiştir. 48 saat 25 µg/ml uygulaması çekirdek ekstresi' ne kıyasla PLA + çekirdek ekstresi p değeri **p<0.0014 değerini göstermiştir. Şekil 3.4' de gösterilmiştir.

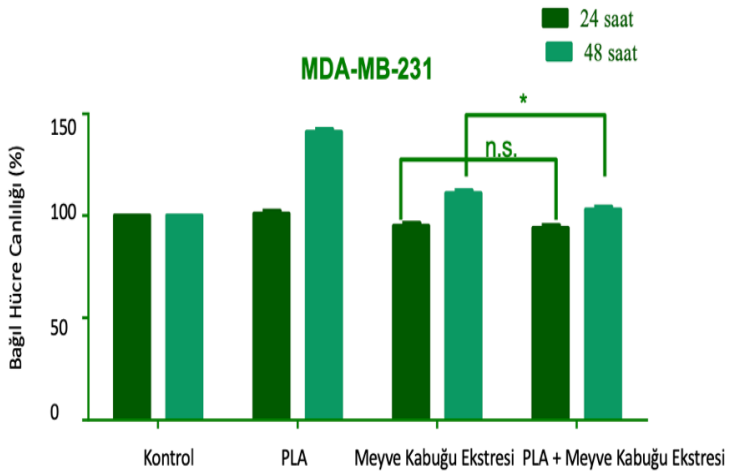


ŞEKİL 3.4. PLA ile Kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstrelerinin MDA-MB- 231 Meme Kanseri Hücre Hattında Doza Bağlı Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin MTT Testi ile Gösterilmesi (p verileri ***p<0.001'dir **p<0.01 ve *p<0.05).

3.5. PLA ile kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstresinin Meme Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine Etkisinin Gösterilmesi

PLA ile kapsüllenmiş *Tamarindus indica* meyve kabuğu MDA-MB 231 kanser hücre hattına uygulanmıştır. PLA ile sentezlenen çekirdek ekstresinin doza bağlı MTT testi kullanılarak hangi doz uygulanacağı seçilmiştir. Bu doz 25 µg/ml olarak belirlenmiştir. 24 saat MDA-MB 231 doğal tip meme kanseri hücre hattında 25 µg/ml PLA'nın hücre canlılığına ket vurmadığı görülmüştür. Kontrol gibi hücre büyümesi gerçekleşmiştir. PLA'nın hücre üzerinde toksisitesi olmadığı görülmüştür (p<0.7618). 24 saat 25 µg/ml meyve kabuğu uygulaması %4 canlılığa ket vurmuştur (*p<0.0455). 24 saat 25 µg/ml PLA + meyve kabuğu uygulaması %5 canlılığa ket vurmuştur (*p<0.0277). 24 saat 25 µg/ml uygulaması PLA'ya kıyasla meyve kabuğu p değeri *p<0.0277 değerini göstermiştir.

24 saat 25 µg/ml uygulaması PLA'ya kıyasla PLA+ meyve kabuğu p değeri **p<0.0180 değerini göstermiştir. 24 saat 25 µg/ml uygulaması meyve kabuğu kıyasla PLA + meyve kabuğu p değeri *p<0.7618 değerini göstermiştir. 48 saat 25 µg/ml PLA uygulaması hücre canlılığına ket vurmadığı görülmüştür (****p<0.0001).48 saat 25 µg/ml meyve kabuğu uygulaması hücre canlılığına ket vurmadığı görülmüştür (**p<0.0049). 48 saat 25 µg/ml PLA + meyve kabuğu hücre canlılığına ket vurmadığı görülmüştür (p<0.1606). 48 saat 25 µg/ml uygulaması PLA'ya kıyasla meyve kabuğu p değeri ***p<0.0002 değerini göstermiştir. 48 saat 25 µg/ml uygulaması PLA'ya kıyasla PLA+ meyve kabuğu p değeri ****p<0.0001 değerini göstermiştir. 48 saat 25 µg/ml uygulaması meyve kabuğu kıyasla PLA + meyve kabuğu p değeri *p<0.0123 değerini göstermiştir. Şekil 3.5' de gösterilmiştir.

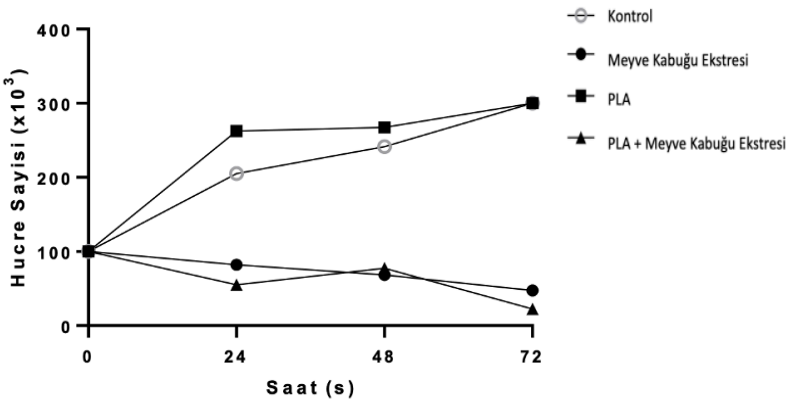


ŞEKİL 3.5. PLA ile Kapsüle Edilmiş Sıvı Ekstratın MDA-MB 231 Meme Kanser Hücre Hattında Hücre Canlılığının MTT Testi ile Gösterilmesi 24-48 saat (p verileri ***p<0.001'dir **p<0.01 ve *p<0.05).

3.6. PLA ile Kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstrelerinin Meme Kanser Hücrelerinde Hücre Büyümesinin Tripan Mavi Boyama ile Gösterilmesi

PLA kapsüllü *Tamarindus indica* meyve kabuğu ekstraktının MDA-MB-231 hücrelerinin hücre büyümesi üzerindeki etkisi, tripan mavisi dışlama deneyi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.9). 25 µg/ml *Tamarindus indica* meyve kabuğu ekstresi hücre büyümesini inhibe ettiği görülmüştür. Ayrıca, *Tamarindus indica* ekstraktları PLA ile kapsüllendiğinde baskılayıcı etki arttığı gözlenmiştir.

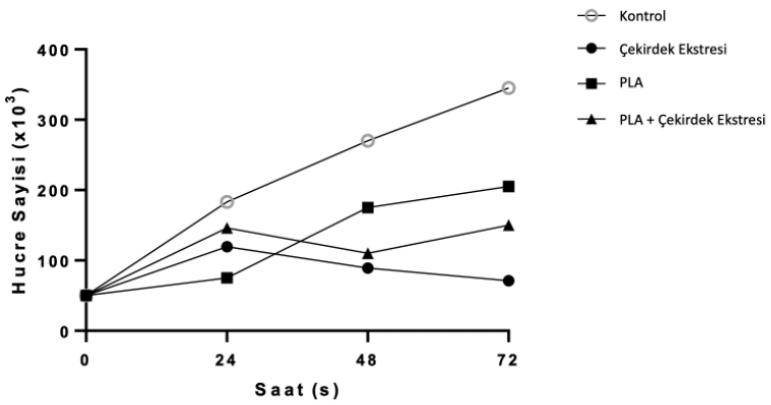
MDA-MB 231 kanser hücresini 6 kuyucuklu petrilere (TPP, İsviçre) 1 x10^5 yoğunlukta ekildi ve 72 saat içinde 25 µg/ml *Tamarindus indica* özütleri ile işlendi. İlk önce hücreler tripsinize edildi (Tripsin EDTA (%0,25), (Gibco), MDA-MB-231 hücreleri 6 kuyulu plakalara (TPP, ABD) 1 x10^5 yoğunlukta ekildi ve santrifüjlendi. Daha sonra hücreler %0,4'e maruz bırakıldı. (w/v) Trypan Blue (Gibco, ABD) (50 µl) ve İsviçre) ve 72 saat içinde 100 nM PTX ile işlenmiştir. İlk olarak, hücreler 1:1 oranında tripsinize edilmiştir. (Tripsin EDTA DMEM (50 µl) 1:1 oranında eklenmiştir. Bundan sonra, 10 µl hücre, 0,1 mm derinliğinde (%0,25), (Gibco, ABD) çift hazneli bir cihazla sayıldı ve santrifüjlenmiştir. Daha sonra hücreler %0,4 (a/h) Tripan Mavisine (Gibco, Neubauer geliştirilmiş hemositometreye) maruz bırakılmıştır. Canlı ve tripan mavisi ile boyanmış cansız hücreler kaydedilmiştir. Hücre süspansiyonu (50 µl) ve DMEM (50 µl) 1 :1 oran Daha sonra 10 µL hücre çift odacıklı canlı hücre bazında sayılarak, bir grafik oluşturulmuştur. Elde edilen veriler hücre için 0,1 mm derinliğinde Neubauer geliştirilmiş hemositometre grafiğine çizilmiştir. Canlı ve tripan mavisi -boyanmış cansız hücre sayısı (y ekseni) ve zaman (x ekseni) göstermektedir.



ŞEKİL 3.6. *Tamarindus indica* Meyve Kabuğu Ekstrelerinin Meme Kanser Hücrelerinde Hücre Büyümesinin Tripan Mavi Boyama ile Gösterilmesi, Canlı ve Tripan Mavisi - Boyanmış Cansız Hücre Sayısı (y ekseni) ve Zaman (x ekseni) göstermektedir

3.7. *Tamarindus indica* PLA ile Kapsüle Edilmiş Çekirdek Ekstrelerinin Meme Kanser Hücrelerinde Hücre Büyümesinin Tripan Mavi Boyama ile Gösterilmesi

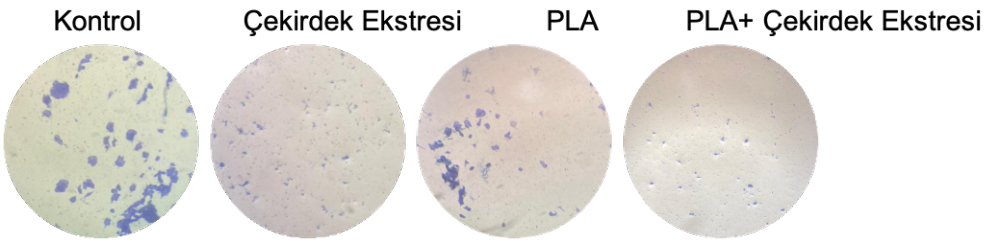
PLA kapsüllü *Tamarindus indica* çekirdek ekstraktının MDA-MB-231 hücrelerinin hücre büyümesi üzerindeki etkisi, tripan mavisi dışlama deneyi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.10). 25 µg/ml *Tamarindus indica* çekirdek ekstresi hücre büyümesini inhibe ettiği görülmüştür. Ayrıca, *Tamarindus indica* çekirdek ekstraktları PLA ile kapsüllendiğinde baskılayıcı etki arttığı gözlenmiştir.MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri, 6 kuyucuklu plakalara (TPP, İsviçre) 1 $x10^5$ yoğunlukta ekildi ve 72 saat içinde 25 25 µg/ml *Tamarindus indica* özütleri ile işlendi. İlk önce hücreler tripsinize edildi (Tripsin EDTA (%0,25), (Gibco), MDA-MB-231 hücreleri 6 kuyulu plakalara (TPP, ABD) 1 $x10^5$ yoğunlukta ekilmiştir ve santrifüjlenmiştir. Daha sonra hücreler %0,4'e maruz bırakıldı. (w/v) Tripan Blue (Gibco, ABD) (50 µl) ve İsviçre) ve 72 saat içinde 100 nM PTX ile işlenmiştir. İlk olarak, hücreler 1:1 oranında tripsinize edilmiştir. (Tripsin EDTA DMEM (50 µl) 1:1 oranında eklenmiştir. Bundan sonra, 10 µl hücre, 0,1 mm derinliğinde (%0,25), (Gibco, ABD) çift hazneli bir cihazla sayıldı ve santrifüjlenmiştir. Daha sonra hücreler %0,4 (a/h) Tripan Mavisine (Gibco, Neubauer geliştirilmiş hemositometreye) maruz bırakılmıştır. Canlı ve tripan mavisi ile boyanmış cansız hücreler kaydedilmiştir. Hücre süspansiyonu (50 µl) ve DMEM (50 µl) 1 :1 oran Daha sonra 10 µl hücre çift odacıklı canlı hücre bazında sayılarak, bir grafik oluşturulmuştur. Elde edilen veriler hücre için 0,1 mm derinliğinde Neubauer geliştirilmiş hemositometre grafiğine çizilmiştir. Canlı ve tripan mavisi -boyanmış cansız hücre sayısı (y ekseni) ve zaman (x ekseni) göstermektedir.



ŞEKİL 3.7. *Tamarindus indica* PLA ile Kapsüle Edilmiş Çekirdek Ekstrelerinin Meme Kanser Hücrelerinde Hücre Büyümesinin Tripan Mavi Boyama ile Gösterilmesi Canlı ve Tripan Mavisi Boyanmış Cansız Hücre Sayısı (y ekseni) ve Zaman (x ekseni) göstermektedir

3.8.PLA ve PLA ile kapsüle edilmiş *Tamarindus indica* Çekirdeğinin MDA-MB 231 Meme Kanser Hücresinde Koloni Oluşumunun Gösterilmesi

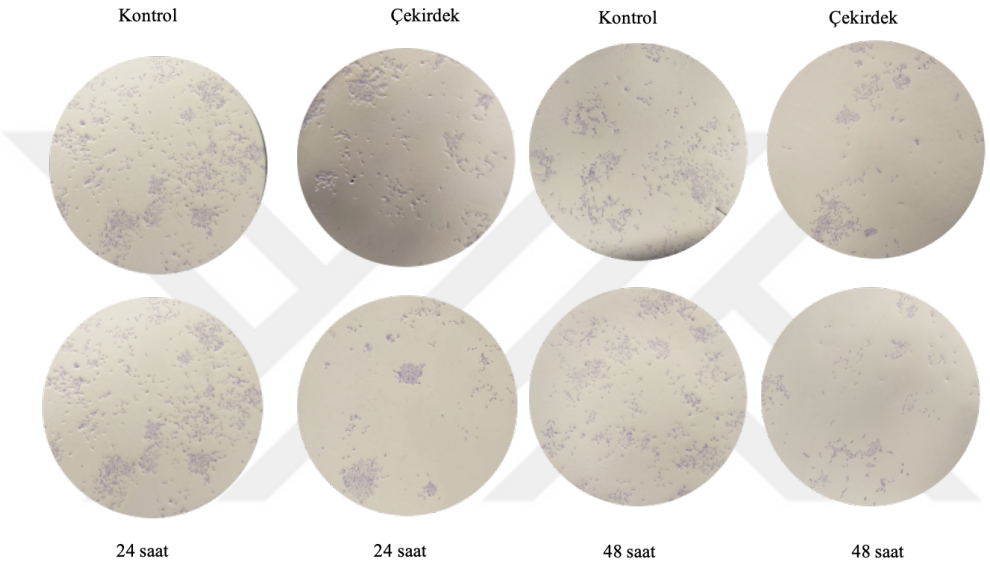
MDA-MB 231 meme kanseri hücresinde Tamarindus ekstrelerinin koloni oluşumunda etkisine bakılmıştır. Tamarindus ekstrelerinin koloni üzerinde baskılayıcı etkisi olduğu gözlemlenmiştir.PLA ile kapsüle edilmiş Tamarindus ekstreleri daha uzun sürede daha fazla etki göstererek koloni üzerinde baskılayıcı etki göstermiştir.



ŞEKİL 3.8. PLA ve PLA ile kapsüle edilmiş *Tamarindus indica* Çekirdeğinin MDA-MB 231 Meme Kanser Hücre Hattında Koloni Oluşumu 72 Saat

3.9. *Tamarindus indica* Çekirdeğinin MCF-7 Meme Kanser Hücre Hattında Koloni 24-48 Saat Koloni Oluşumunun Gösterilmesi

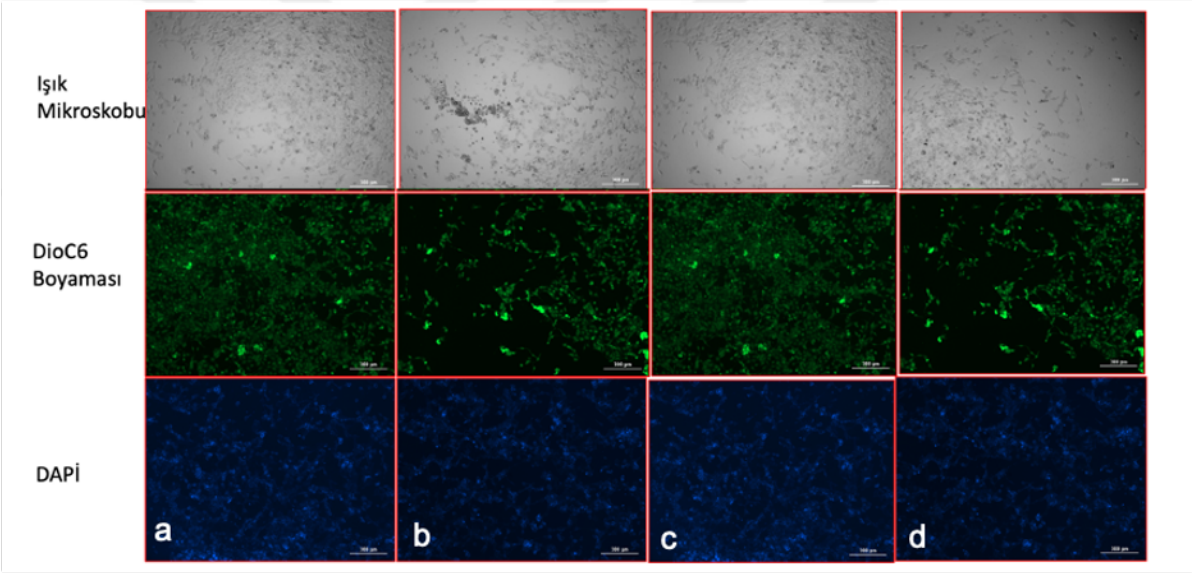
MCF-7 meme kanseri hücre hattında *Tamarindus indica* çekirdeğinin koloni oluşumunda etkisine bakılmıştır. *Tamarindus indica* ekstrelerinin koloni üzerinde baskılayıcı etkisi olduğu gözlemlenmiştir.PLA ile kapsüle edilmiş Tamarindus ekstreleri daha uzun sürede daha fazla etki göstererek koloni üzerinde baskılayıcı etki göstermiştir.



ŞEKİL 3.9. *Tamarindus indica Çekirdeğinin* MCF-7 Meme Kanser Hücre Hattında Koloni 24-48 Saat Koloni Oluşumu

3.10. *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstresinin MCF-7 meme kanseri hücre hattında 24 Saat Floresan Boyama ile Gösterilmesi

25 µg/ml *Tamarindus indica* çekirdek ekstresi MCF-7 meme kanseri hücrelerine uygulanmıştır. Daha sonra DioC6 ile 24 saat boyanmıştır. DioC6boyamasına göre 24 saat uygulaması mitokondriyel membran potansiyeline ket vurduğu gözlemlenmiştir. 25 µg/ml çekirdek ekstresinin MCF-7 hücrelerine zamana göre nükleer kondenzasyon üzerine etkisi DAPİ boyamasıyla gerçekleştirilmiştir. 25 µg/ml çekirdek hücrelerde nükleer kondenzasyona neden olduğu tespit edilmiştir. Böylece 24 saat çekirdek uygulaması hem mitokondriyel hücre membran potansiyeli düşürdüğü hem de nükleer kondenzasyon arttırdığı tespit edilmiştir. Floresan boyama 24 saat uygulama şekil 3.9' da gösterilmiştir.

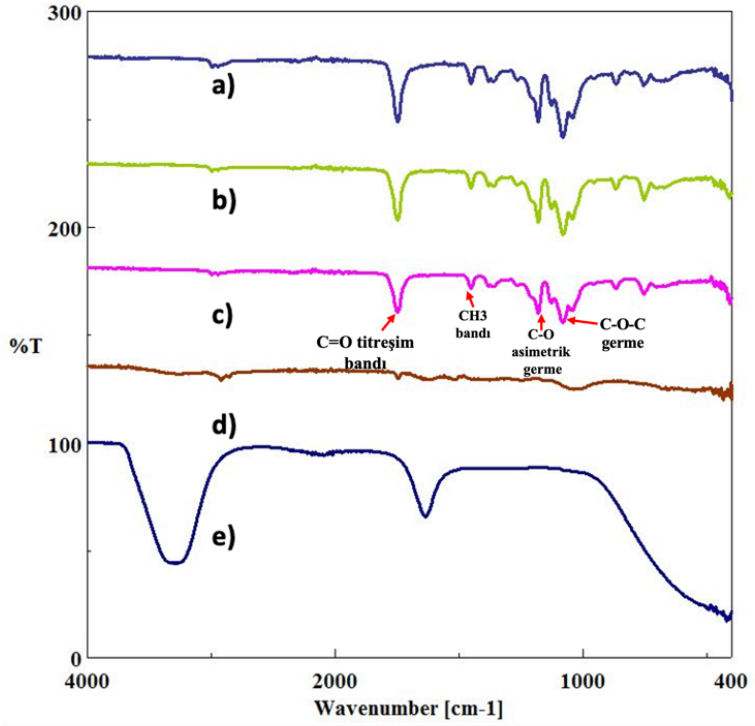


ŞEKİL 3.10. *Tamarindus indica* Çekirdek Ekstresinin MCF-7 meme kanseri hücre hattında 24 Saat Floresan Boyama ile Gösterilmesi (a: Kontrol 24 saat, b: Çekirdek Ekstresi 24 saat , c : Kontrol 24 saat d: Çekirdek Ekstresi 24 saat 4X Büyütme)

3.11. *Tamarindus indica* ekstrelerinin FTIR Sonuç Analizi

Tamarindus indica tohum ekstresinin en yüksek 2923 , 1646, 1623, 1517, 1375, 1241, 1037 değerlerinde görülmüştür.%3 PLA ile kapsüllenmiş tohum ekstraktının pikleri.3390 tepe değeri OH bandına karşılık gelir. 1751 C=O bandına, 1646 CH-OH bandına ,1452-1267 , CH 1182, CO 1128 CO-O /C-OH, 1085 CO-O/ C-OH, 1014 CO-O/ C-OH, 950.73: CC, 867 CC, 671 CH3 [94],[95].%3 PLA parçacığında oluşan zirveler 1741 C=O titreşimi,1452 CH3 asimetrik kayma bandı,1380, 1366, 1267, 1180, 1126, 1081 C–O ve C–O–C için çekme bandı ,1043,956-865-754-701 C –COO gergi bandı görüldü. Sıvı ekstrat pikleri, 3303 OH alkol ,1635 dorukları, C=C alken bağlarına karşılık gelir. %3 PLA 1747 COOH,1452 C=C-C,1382 CH,1079 C-O-C,1043 C-O-C ile kapsüllenmiş sıvı özütün tepe noktaları ve ilgili bantlar elde edilmiştir [94].%3 PLA ait 1741, 1081 cm^{-1}' de C=O titreşim bandı, CH3 asimetrik, -CH3 simetrik ve C-O için karakteristik germe frekansları gösterir. -CH3 asimetrik ve CH3 simetrik için bükme frekansları sırasıyla 1452 cm^{-1} ve 1366 cm^{-1} de tanımlanmıştır. 1043 cm^{-1} 'de C-CH3 germe bandı görülmektedir. 1180 cm^{-1}'de C-O asimetrik germe ve CH3 burulma, 1081cm'de C-O-C esneme, 1043 cm^{-1} C-CH3 esnemesi, 865'de C-COO germe bandı görülmektedir. %3 PLA ile kaplı ilaç ekstrelerinin verdiği pikler , %3 PLA pikleriyle örtüşmektedir [90], [96], [97]. %3 PLA ile kapsüle edilmiş çekirdeklerin verdiği pik değerleri 3390 cm^{-1}, 1751 cm^{-1}, 1646 cm^{-1}, 1452 cm^{-1},1267 cm^{-1},1182 cm^{-1}, 1128 cm^{-1} 1085 cm^{-1}, 1014 cm^{-1}, 950 cm^{-1} ve 867 cm^{-1} noktalarında pik değerleri vermiştir. Bu pikler 3390~ OH bandına, 1751 cm^{-1} C=O, 1646 cm^{-1} CH-OH, 1452-1267 cm^{-1} arası pik değerleri CH bandına, 1182 cm^{-1} CO bandına, 1128 cm^{-1} CO-O /C-OH, 1085 cm^{-1} CO-O/ C-OH,1014 cm^{-1} CO-O/ C-OH, 950 cm^{-1} C-C , 867 cm^{-1} C-C bağı, 671 cm^{-1} CH3 bağlarına denk gelmektedir [98],[94].Sadece *Tamarindus indica* çekirdeğinin verdiği pikler ise 2923 cm^{-1} yüksek pikler, 1646 cm^{-1}, 1623 cm^{-1}, 1517 cm^{-1}, 1375 cm^{-1} , 1241 cm^{-1},1037 cm^{-1} pik değerleri vermiştir. Bu pik değerleri 2923 cm^{-1} CH bandına, 1646 cm^{-1} CH-OH bandına,1623 cm^{-1} CH-OH bandına, 1517 cm^{-1} N-H / C-N bantlarına ,1375 cm^{-1} N-H/C-N bantlarına, 1241 cm^{-1} C-OH bandına, 1037 cm^{-1} C-OH bandına karşılık gelmektedir [99], [100].

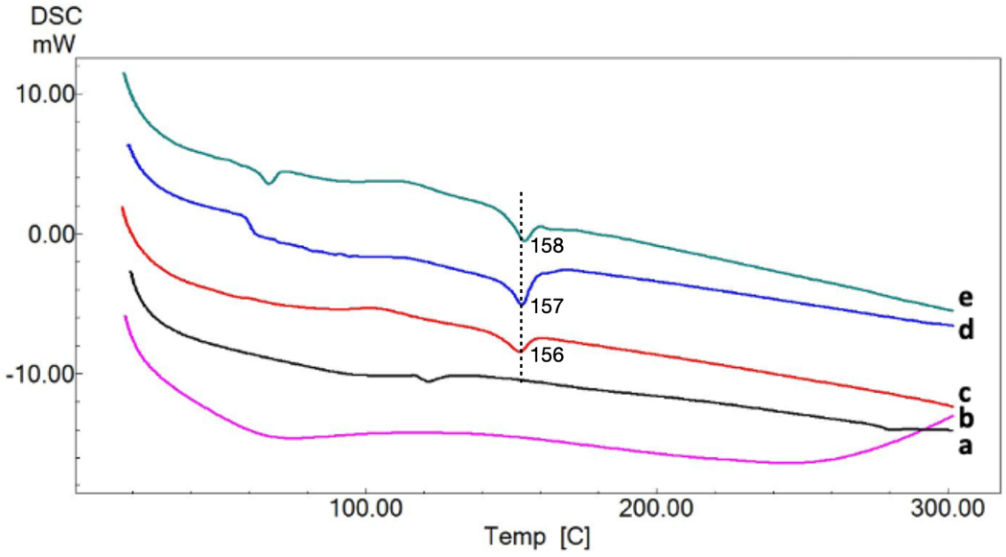
Sadece sıvı ekstratın verdiği pik değerleri 3303, 1635 şeklindedir. 3303 noktasındaki pik değeri OH bandına denk gelmektedir. 1635 cm^{-1} C=C bandına denk gelmektedir.%3 PLA ile kapsüle edilmiş sıvı ekstrat ise sadece %3 PLA'nın verdiği piklerle örtüşmektedir. Bu değerler ; 1747 cm^{-1} COOH, 1452 cm^{-1} C=C, 1382 cm^{-1} CH,1361-1265 cm^{-1} C-O germe bandı,1180 cm^{-1} / 1079 cm^{-1} C-O-C bandı şeklindedir [94].



ŞEKİL 3.11. a) %3 PLA ile Kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Çekirdekleri, b) %3 PLA ile Kapsüle Edilmiş Meyve Kabuklarından Üretilen Sıvı Ekstrat, c) Sadece %3 PLA Partikülü İçermektedir. d) *Tamarindus indica* Çekirdekleri İçermektedir, e) *Tamarindus indica* Meyve Kabuklarından Elde Edilen Sıvı Ekstrat İçermektedir.

3.12. %3 PLA ile Kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Ekstrelerinin Termal Analizi

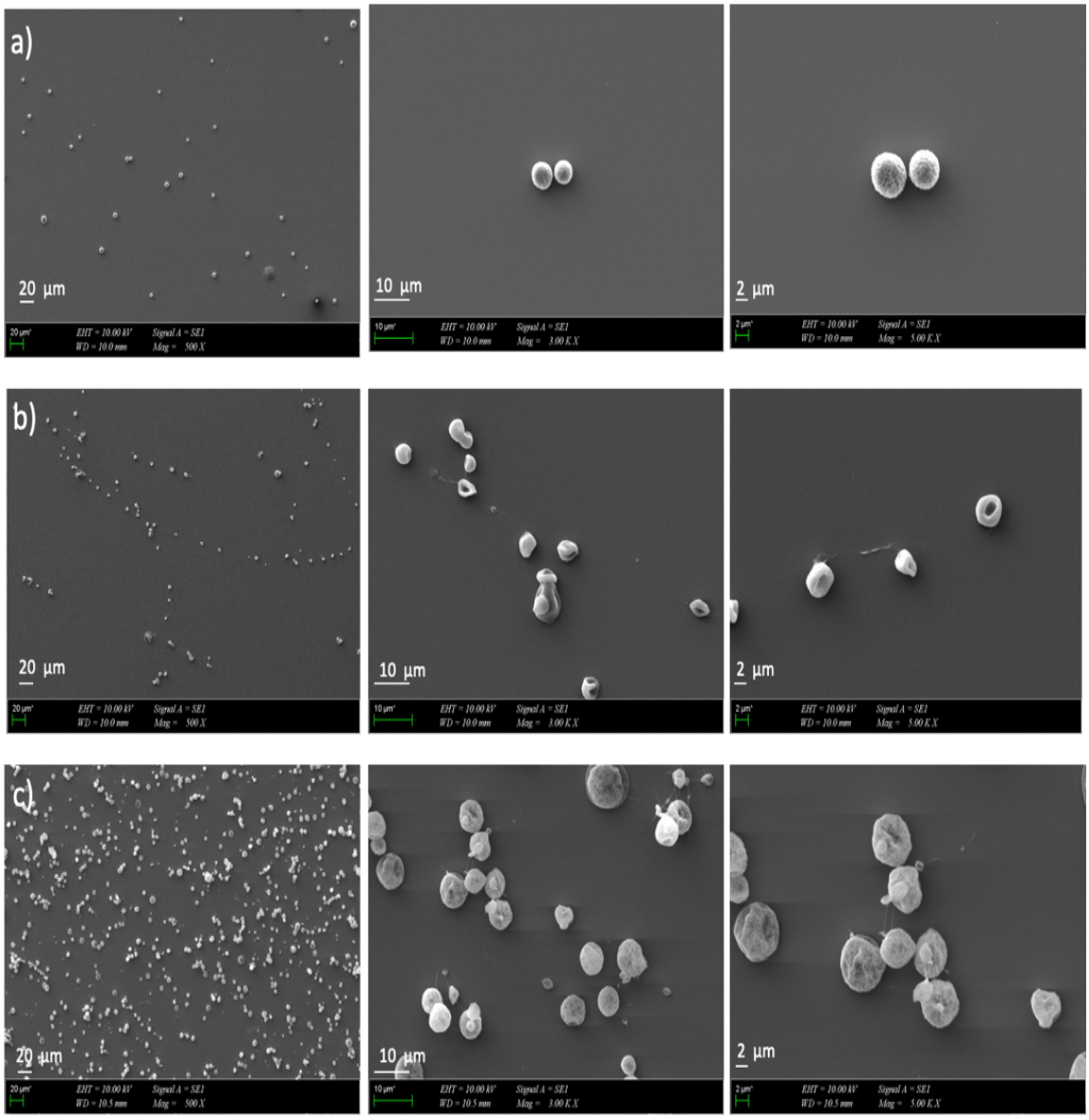
Hücrede kullanılması için üretilen saf PLA, PLA ile kapsüle edilmiş ekstreler ve saf malzemelerin etkileşimleri ve bağların oluşturacağı termal yapılarına DSC kullanılarak bakılmıştır. Saf PLA, saf *Tamarindus indica* ekstreleri ve PLA ile kapsüle edilmiş ekstrelerin termal özelliklerine bakılmıştır. DSC sonuçları Şekil 3.12. 'de gösterilmiştir. Elde edilen grafik sonucuna göre *Tamarindus indica* ekstreleri ve saf PLA'nın erime sıcaklığı (T_m) ve camsı geçiş sıcaklığı (T_g) değerleri belirlenmiştir. Şekil 3.12. sonuçlara göre saf PLA'ya eklenen ekstreler sonucunda T_m ve T_g noktaları sağa kaymıştır. Saf ekstrelerin (çekirdek ve sıvı ekstrat) T_m ve T_g değerlerinde PLA dan uzak değerler çıkmıştır. PLA ile kapsüle edilmiş ekstrelerin T_m ve T_g değerleri PLA değerlerine yakın çıkmıştır. Sonuç olarak değerler de düşme meydana gelmiştir [101].



ŞEKİL 3.12.%3 Pla ve %3 Pla ile Kapsüle Edilmiş *Tamarindus indica* Ekstrelerinin DSC Termogramları: Saf Sıvı Ekstrat (a), Saf Çekirdek (b), %3 Saf PLA (c), %3 PLA+ Ekstrat (d), %3 PLA + Çekirdek (e).

3.13. %3 PLA ve *Tamarindus indica* Ekstrelerinin SEM Analizleri

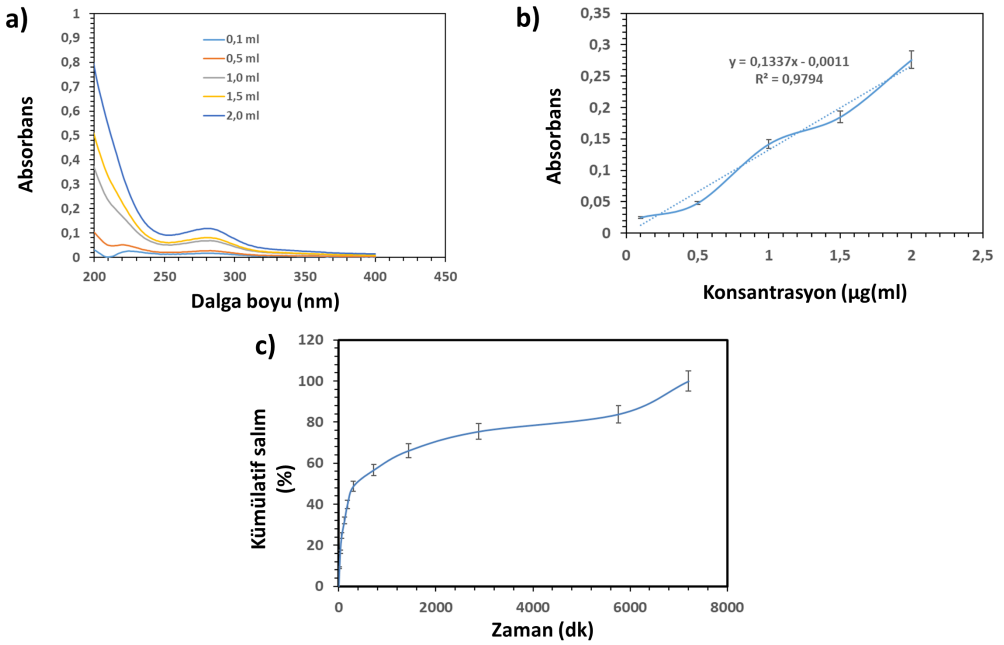
Bu çalışmada üretilen mikro partiküllerin SEM görüntüleri Şekil 3.13. 'de verilmiştir. Şekil (a), %3 PLA mikro parçacıklarının SEM görüntüleri verilmiştir. %3 PLA sırasıyla mikro partiküllerinin sırasıyla 500 X, 3KX ve 5KX boyutlarında büyütmeleri verilmiştir. Şekil (b) % 3 PLA + Ekstrat mikro partiküllerinin sırasıyla 500 KX, 3 KX ve 5 KX boyutunda büyütmeleri verilmiştir. Şekil (c) %3 PLA+ Çekirdek mikro partiküllerinin sırasıyla 500 KX, 3 KX ve 5 KX boyutların da büyütmeleri verilmiştir. Uzak (500 KX) görüntülemede partiküllerin homojen dağıldığı görülmüştür. Daha yakınlaşınca partiküllerin küresel şekil aldığı görülmektedir. *Tamarindus indica* ekstrelerinin eklenmesiyle birlikte PLA partikülü küresel form oluşturmaya devam etmiştir. Deney sonucunda PLA partikülünde küresel form oluşturduğu görülmektedir SEM görüntülerinde en iyi partikülleri elde etmek için farklı parametreler denenmiştir. PLA için en iyi parametre 9 voltaj ve 0,4 akış hızı olarak belirlenmiştir. PLA ile kapsüle edilmiş ekstrat (sıvı) için 26,5 voltaj ve 1.0 ml/s-2.0 ml/s akış hızı olarak belirlenmiştir. PLA ile kapsüle edilmiş çekirdek partikülleri için 12 - 12,8 voltaj, 1.0 ml/s akış hızı belirlenmiştir. Bu parametrelerde istenilen partikül boyutu elde edilmiştir.



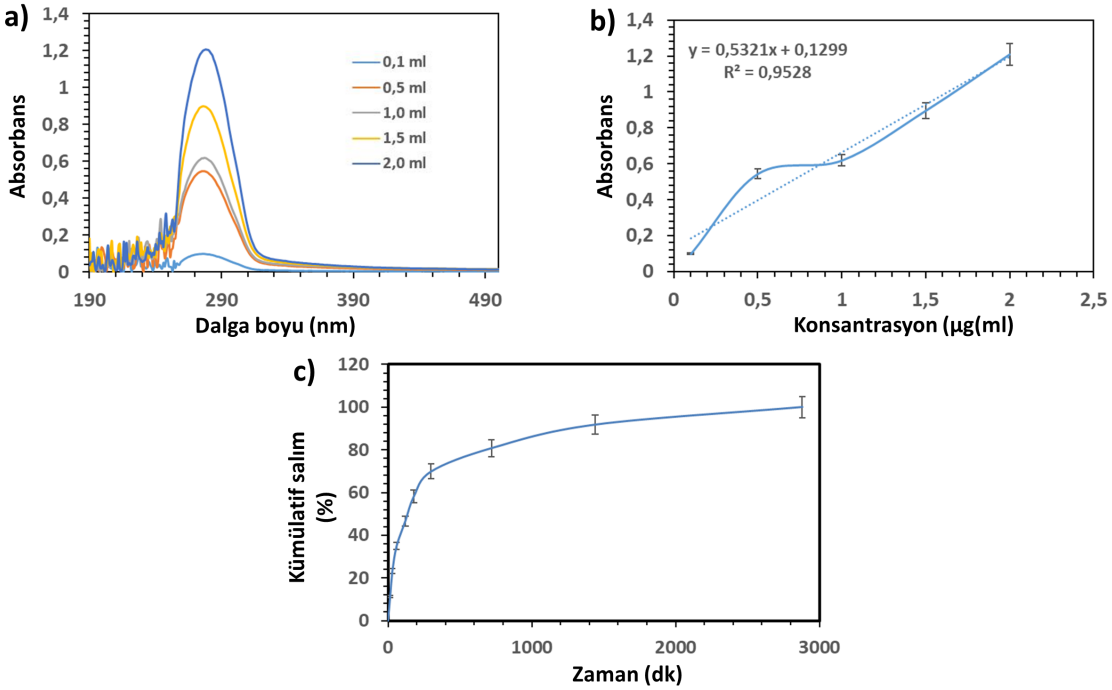
ŞEKİL 3.13. %3 PLA 500 X büyütmedeki SEM görüntüleri, %3 PLA 3KX büyütmedeki SEM görüntüleri, %3 PLA 5KX büyütmedeki SEM görüntüleri (a), %3 PLA + Ekstrat 500 X büyütmedeki SEM görüntüleri, %3 PLA+ Ekstrat 3KX büyütmedeki SEM görüntüleri, %3 PLA + Ekstrat 5KX büyütmedeki SEM görüntüleri (b), %3 PLA + Çekirdek 500 X büyütmedeki SEM görüntüleri, %3 PLA+ Çekirdek 3KX büyütmedeki SEM görüntüleri, %3 PLA + Çekirdek 5KX büyütmedeki SEM görüntüleri (c).

3.14 Ekstre Ve Çekirdeğin Partiküllerden Salım Davranışının İncelenmesi

Şekil 3.14 (a) sıvı estratın farklı konsantrasyonlarda (0.1, 0.5, 1, 1.5, 2 ml) hazırlanıp UV-spektrometre ile elde edilen absorbans değerlerinden oluşan kalibrasyon eğrisini temsil etmektedir. Şekil 3.14 (b), kalibrasyon eğrisinin maksimum pik noktasından (224 nm) elde edilen lineer absorbans grafiğini göstermektedir. Şekil 3.14 (c) ise PLA partiküllere eklenen ekstratın belli zaman aralıklarında partiküllerden salım davranışını temsil etmektedir. Grafiğe bakıldığında, ilk 15 dk içerisinde ekstratın sadece %9'unun salındığı görünmektedir. Bir saatlik inkübasyon sonrası bu miktar %24.73 olarak bulunmuştur. 12 saatlik inkübasyon sonrası kümülatif salım değeri %56.62'ye ulaşmış ve 5. günde (7200 dk) %100'de bitmiştir.



ŞEKİL 3.14. *Tamarindus indica* Meyve Kabuğundan Elde Edilen Sıvı Ekstratın Kalibrasyon (a) ve Absrobans (b) Eğrileri, Ekstratın Partikülden Kümülatif Salım Grafiği (c). Şekil 3.15 (a) saf çekirdeğin farklı konsantrasyonlarda (0.1, 0.5, 1, 1.5, 2 ml) hazırlanıp UV-spektrometre ile elde edilen absorbans değerlerinden oluşan kalibrasyon eğrisini temsil etmektedir. Şekil 3.15 (b), kalibrasyon eğrisinin maksimum pik noktasından (278 nm) elde edilen lineer absorbans grafiğini göstermektedir. Şekil 3.15 (c) ise PLA partiküllere eklenen saf çekirdeğin belli zaman aralıklarında partiküllerden salım davranışını temsil etmektedir. Grafiğe bakıldığında, ilk 15 dk içerisinde ekstratın %11.3'ünün salındığı görünmektedir. Bir saatlik inkübasyon sonrası bu miktar %34.95 olarak bulunmuştur. 12 saatlik inkübasyon sonrası kümülatif salım değeri %80.74'e ulaşmış ve 2. günde (2880 dk) %100'de bitmiştir.



ŞEKİL 3.15. *Tamarindus indica* Elde Edilen Saf Çekirdeğin Kalibrasyon (a) ve Absrobans (b) Eğrileri, Çekirdeğin Partikülden Kümülatif Salım Grafiği (c).

4.TARTIŞMA

Fenolik bileşikler kaynak, biyolojik fonksiyon ve kimyasal yapıya göre kategorize edilmiştir. Aromatik halkaların sayısına ve farklı bileşiklere bağlanma afinitelerine bağlı olarak flavonoid ve flavonoid olmayan (örneğin, fenolik asitler, fenolik alkoller ve tanenler) olmak üzere iki ana sınıfa ayrılabilirler [102]. Flavonoidler, heterosiklik halkanın oksidasyon derecesine bağlı olarak farklı alt sınıflara ayrılabilir: antosiyaninler, flavonoller, flavanlar, flavanol, flavonlar ve izoflavonlar [103]. Fenolik ve flavonoid bileşikler, GST'lerin aktivitesini ve / veya ekspresyonunu modüle etme potansiyeline sahiptir. GST'ler üzerindeki bu etki, bileşime, konsantrasyona, uygulama uzunluğuna ve ayrıca GST izoformuna ve kökenine bağlıdır [104].Bazı fenolik bileşikler, klorojenik asit, ellajik asit, quercetin, curcumin, tanenler ve stilben gibi GST aktivitesini inhibe etme yeteneğine sahiptir, bu da MDR'nin üstesinden gelmek ve kemoterapinin etkinliğini artırmak için umut verici bir hedef olarak görülmüştür [105] Fenolik bileşikler pro-oksidan ve sitotoksik etkiye sahip olabilir. Bu tür bileşiklerin pro-oksidan özellikleri, fenolik sınıf, oksijen veya geçiş metal iyonlarının varlığı, alkali pH, konsantrasyonları ve çözünürlük özellikleri [106], dahil olmak üzere çeşitli değişkenlere bağlıdır. Örneğin, fenolik pro-oksidan davranış üzerine yapılan çalışmaların çoğunda, bakırın oksidatif reaksiyonlar için güçlü bir katalizör olduğu düşünülmektedir. Fenolik pro-oksidan aktivite hücresel lipit peroksidasyonuna, DNA hasarına neden olabilir [107]. Tamarindus *indica* meyve kabuğundan elde edilen gümüş nanopartiküllerin ROS ve RHO123 aktivitesini baskılayan potansiyel terapötik ajan olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalara göre gümüş nanopartiküllerin doza bağlı hücre deneylerinde MCF-7 hücrelerinin canlılığını azalttığı görülmüştür. Yapılan diğer çalışmalarda ise ; 0-120µg/ml konsantrasyonu denenmiştir. [68]. Bazı polifenollerin pro-oksidan potansiyeli, kemoterapinin sitotoksik etkilerini seçici olarak teşvik ettikleri ve normal hücreleri etkilemeden kanser hücrelerini seçici olarak yok etme yeteneklerine dayanarak bazı kanser türlerinin önlenmesinde önemli bir rol oynadıkları için kemoterapötik adjuvanlar olarak kurulmuştur [108].

Yapılan çalışmalara göre bitkilerden elde edilen polisakkaritler kanser hücrelerine dolaylı yoldan etki ettikleri görülmektedir. Anti tümör etkilerini farklı immün yolaklarını aktive ederek gerçekleştirmektedirler. Literatürde yapılan çalışmalara göre *Tamarindus indica* bitkisinde elde edilen PST001 polisakkaritin anti tümör etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Yapısında bulunan bu polisakkaritin yaşam süresini arttırdığı ve tümör büyümesini engellediği görülmüştür [109].

Diğer bir çalışmaya göre *Tamarindus indica* ekstraktı HT-29 kanser hücre hattına karşı hücre büyümesini azalttığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte ROS/RNS, hücre döngüsünün durdurulması, kaspaz aktivasyonu gibi birçok etkisinin olduğu gösterilmiştir. İçinde bulunan polifenolik bileşikler sayesinde tedavi edilen hücre hatlarında belirli bir dereceye kadar etki ettiği görülmüştür [110]. *Tamarindus indica* tohumu antioksidan etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Tohumda bulunan polifenol bileşikler kanser ilgili sinyalleri bloke ettiği gözlemlenmiştir. Antioksidan özelliği sayesinde oksidatif hasarları ortadan kaldırdığı gösterilmiştir. Bu nedenle antioksidan özelliğe sahip olduğu kanıtlanmıştır [111]. Tamarindus ekstrelerini nanopartikül ile kaplandığında kanser hücrelerinin çoğalmasının baskılanmasında ve tümör büyümelerinde daha etkili olduğu görülmüştür. Polisakkaritlerin terapötik etkisi sayesinde ve bu etkinin nanopartiküller birleştirilmesiyle beraber istenilen tümör ve kanser hücrelerini hedeflemekte önemli bir yaklaşım olmaktadır. Böylece kanser için umut verici bir yaklaşım sergilemektedir. Nanopartiküllerin toksisitesinin olmaması iyi hedefleme özelliği sayesinde hücreler için uygun ilaç olduğunu göstermektedir. Bu tez çalışmamızda *Tamarindus indica* çekirdekleri ve meyve kabuğunda elde edilen ekstrelerin MCF-7 ve MDA-MB-231 hücre hattında 0-50 µg/ml konsantrasyon değerleri denenmiştir. Bu değerler arasından 25 µg/ml konsantrasyonu en etkili seçilmiştir. PLA ile kapsüle edilen konsantrasyonların saf konsantrasyonlara göre daha etkili olduğu saptanmıştır. Literatürde olduğu gibi bu çalışmamızda da *Tamarindus indica* ekstrelerinin etkisinin nanopartikül ile kaplı ekstrelere kıyasla daha az etki gösterdiği hücre testlerinde gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalara göre biyouyumlu olan nanopartikülleri kanser tedavisi için suda çözünmesi zor olan ilaç tedavilerini kolaylaştırmaktadır. Tamoksifen ilacını kapsüllü elde edilerek SEM görüntülerine bakılmıştır. Nanopartikül boyutları 57 ile 159 verileri elde edilmiştir. Yapılan bu çalışmada elde edilen partikül bu tez çalışmasında olduğu gibi antikanser etkisi ve sitotoksisitesini araştırmıştır. MCF-7 kanser hücre hattında tamoksifen nanokapsülerinin sitotoksisitede artış olduğu bulguları saptanmıştır[112]. Bu tez çalışmasında elde edilen nanopartikül SEM görüntülerinde sadece partikül oluşumuna bakılmıştır. Bu tez çalışmasında PLA ile kapsüle edilen Tamarindus indica ekstrelerinin meme kanseri hücreleri hattında hücre sitotoksisitesini arttırdığı ve antikanser etkisinin olduğu gözlemlenmiştir.

Diğer çalışmaya göre PLA ile 3D teknolojisiyle polimerik iskeleler elde edilmiştir. Bu çalışmada %12 ve %15'lik PLA çözeltisi hazırlanarak 12kV ve 7,5 ml/saat atış hzıı belirlenerek elektrospin yöntemi kullanılarak yapılmıştır. TNBC hastalarında EGFR gen ifadesine bakılmıştır. 3D katmanlı PLA polimerinin yapılan çalışmalara göre EGFR gen ifadesinde önemli bir azalma olduğu sonucuna varmışlardır[113]. Bu tez çalışmasında ise %3'lük PLA çözeltisi hazırlanarak elektro püskürtme yöntemiyle parametreleri PLA için 9 voltaj(V), 0,4 ml/s akış hızı parametresi belirlenmiştir. PLA ile Tamarindus indica çekirdeğinden hazırlanan solüsyon atışlarında 12-12,8 voltaj(V), 1.0 ml/s akış hızı belirlenmiştir. PLA ve demirhindi meyve kabuğunda elde edilen ekstrat 26,5 voltaj(V), 1.0-2.0 ml/s olarak belirlenmiştir. Tüm meme kanseri hastalarının %70 'i kanında östrojen oranı yüksektir. Bu nedenle östrojen baskılayıcı yöntemlerle tedavi geliştirilmektedir. Bunlar anti-östrojenler ve Al'ler meme kanserini hem adjuvan hem de ilerlemiş hastalığı inhibe ederek östrojen üretimini engeller. Tümör büyümesini engeller. Yapılan bu çalışmada aromataz inhibitörü PLA-PEG-PLA ile kapsüllenerek ilaç salınımına bakılmış. Çalışmaya göre ilacın 144 saat boyunca sürekli salındığı bulgularını kaydetmişlerdir. Bu uzun süre salım polimer ile ilaç arasında afiniteden kaynaklı olduğunu veya polimerin ilacı kendisine katmasında dolayı olduğu bulgularını elde etmişlerdir. Önceki çalışmalardan bakıldığında hidrofobik ilaçların hidrofilik ilaçlara göre daha düşük salım gösterdiği bulunmuştur.

Bu çalışmada ilacın hücresel alım, floresan yöntemiyle MCF-7 hücrelerinin sitoplazmasına girmesiyle kaydedilmiştir. MCF-7 hücrelerindeki c-MYC, MAPK3 (ERK1) ve MCL-1 genlerinin gen ekspresyon davranışları rapor edilmiştir. Bu genler, önceki çalışmaların ANS'nin bu apoptotik genlerin ekspresyonu üzerinde bir etkiye sahip olduğunu gösterdiği bulunmuştur[114]. Bu tez çalışmasında PLA ile kapsüle edilen *Tamarindus indica* ekstrelerinden, meyve kabuğu ekstresi ilk 15 dk içerisinde ekstratın sadece %9'unun salındığını gözlemledik. Bir saatlik inkübasyon sonrası bu miktar %24.73 olarak bulunmuştur. 12 saatlik inkübasyon sonrası kümülatif salım değeri %56.62'ye ulaşmış ve 5. günde (7200 dk) %100'ünün bittiği kaydedilmiştir. PLA ile kapsüle edilmiş çekirdek ekstresinin ilk 15 dk içerisinde ekstratın %11.3'ünün salındığı görünmektedir. Bir saatlik inkübasyon sonrası bu miktar %34.95 olarak bulunmuştur. 12 saatlik inkübasyon sonrası kümülatif salım değeri %80.74'e ulaşmış ve 2. günde (2880 dk) %100'ünün bittiği kaydedilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Klionsky DJ. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007;8:931–937.

2. The Nobel Assembly. The Nobel Assembly at Karolinska Instiutet has today decided to award the 2016 Nobel Prize in Physiology or Medicine to Yoshinori Ohsumi. 2016 < https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2016/press.html>.

3. Amaravadi R, Kimmelman AC, White E. Recent insights into the function of autophagy in cancer. Genes Dev. 2016;30:1913–1930. doi: 10.1101/gad.287524.116.

4. Klionsky DJ, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition) Autophagy. 2016;12:1–222. doi: 10.1080/15548627.2015.1100356. The definitive consensus of experimental methods appropriate for the study of autophagy.

5. Bago R, et al. Characterization of VPS34-IN1, a selective inhibitor of Vps34, reveals that the phosphatidylinositol 3-phosphate-binding SGK3 protein kinase is a downstream target of class III phosphoinositide 3-kinase. The Biochemical journal. 2014;463:413–427. doi: 10.1042/BJ20140889.

6. Dowdle WE, et al. Selective VPS34 inhibitor blocks autophagy and uncovers a role for NCOA4 in ferritin degradation and iron homeostasis in vivo. Nat Cell Biol. 2014;16:1069–1079. doi: 10.1038/ncb3053.

7. He, W., & Benson, R. (2017). Polymeric biomaterials. In Applied plastics engineering handbook (pp. 145-164). William Andrew Publishing.

8. Drumright, R. E., Gruber, P. R., & Henton, D. E. (2000). Polylactic acid technology. Advanced materials, 12(23), 1841-1846.

9. Martin, O., & Avérous, L. (2001). Poly (lactic acid): plasticization and properties of biodegradable multiphase systems. Polymer, 42(14), 6209-6219. 10. Griffith, L. G. (2000). Polymeric biomaterials. Acta materialia, 48(1), 263-277.

11. Varghese, S., Joseph, M. M., Aravind, S. R., Unnikrishnan, B. S., Pillai, K. R., & Sreelekha, T. T. (2019). Immunostimulatory plant polysaccharides impede cancer progression and metastasis by avoiding off-target effects. International Immunopharmacology, 73, 280–292. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.05.025

12. Cox, T. R. (2021). The matrix in cancer. In Nature Reviews Cancer (Vol. 21, Issue 4, pp. 217–238). Nature Research. https://doi.org/10.1038/s41568-020-00329-7

13. Weinberg, R. A. (1996). How Cancer Arises. 275(3), 62–70. https://doi.org/10.2307/24993349

14. Sudhakar, A. (2009). History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. Journal of Cancer Science & Therapy, 01(02), i–iv. https://doi.org/10.4172/1948-5956.100000e2

15. Gurunathan, S., Kang, M.-H., Qasim, M., & Kim, J.-H. (n.d.). Molecular Sciences Nanoparticle-Mediated Combination Therapy: Two-in-One Approach for Cancer. https://doi.org/10.3390/ijms19103264

16. Cao, W., Chen, H. Da, Yu, Y. W., Li, N., & Chen, W. Q. (2021). Changing profiles of cancer burden worldwide and in China: a secondary analysis of the global cancer statistics 2020. Chinese Medical Journal, 134(7), 783–791. https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000001474

17. Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2018). Cancer statistics, 2018. CA: a cancer journal for clinicians, 68(1), 7-30.

18. Miller, K. D., Fidler-Benaoudia, M., Keegan, T. H., Hipp, H. S., Jemal, A., & Siegel, R. L. (2020). Cancer statistics for adolescents and young adults, 2020. CA: a cancer journal for clinicians, 70(6), 443-459.

19. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians, 71(3), 209-249.

20. Sharma, G. N., Dave, R., Sanadya, J., Sharma, P., & Sharma, K. K. (n.d.). Varıous Types And Management Of Breast Cancer: An Overvıew. J. Adv. Pharm. Tech. Res, 1(2). www.japtr.org

21. Wang, L., Zhang, S., & Wang, X. (2021). The Metabolic Mechanisms of Breast Cancer Metastasis. In Frontiers in Oncology (Vol. 10). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.602416

22. Varghese, E., Mathews Samuel, S., Líšková, A., Samec, M., Kubatka, P., & Büsselberg, D. (2020). cancers Targeting Glucose Metabolism to Overcome Resistance to Anticancer Chemotherapy in Breast Cancer. Cancers, 12, 2252. https://doi.org/10.3390/cancers12082252

23. Britt, K. L., Cuzick, J., & Phillips, K. A. (2020). Key steps for effective breast cancer prevention. In Nature Reviews Cancer (Vol. 20, Issue 8, pp. 417–436). Nature Research. https://doi.org/10.1038/s41568-020-0266-x

24. Fentiman, I. S., Fourquet, A., & Hortobagyi, G. N. (2006). Male breast cancer. In thelancet.com (Vol. 367). www.thelancet.com

25. Deo, S. V. S., Sharma, J., Kumar, S., & Oncol, A. S. (2022). GLOBOCAN 2020 Report on Global Cancer Burden: Challenges and Opportunities for Surgical Oncologists. https://doi.org/10.1245/s10434-022-12151-6

26. Momenimovahed, Z., & Salehiniya, H. (2019). Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. In Breast Cancer: Targets and Therapy (Vol. 11, pp. 151–164). Dove Medical Press Ltd. https://doi.org/10.2147/BCTT.S176070

27. Iacoviello, L., Bonaccio, M., de Gaetano, G., & Donati, M. B. (2021). Epidemiology of breast cancer, a paradigm of the "common soil" hypothesis. In Seminars in Cancer Biology (Vol. 72, pp. 4–10). Academic Press. https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.02.010

28. Kamińska, M., Ciszewski, T., Łopacka-Szatan, K., Miotła, P., & Starosławska, E. (2015). Breast cancer risk factors. In Przeglad Menopauzalny (Vol. 14, Issue 3, pp. 196–202). Termedia Publishing House Ltd. https://doi.org/10.5114/pm.2015.54346

29. Martínez-Jiménez, F., Muiños, F., Sentís, I., Deu-Pons, J., Reyes-Salazar, I., Arnedo-Pac, C., Mularoni, L., Pich, O., Bonet, J., Kranas, H., Gonzalez-Perez, A., & Lopez-Bigas, N. (2020). A compendium of mutational cancer driver genes. In Nature Reviews Cancer (Vol. 20, Issue 10, pp. 555–572). Nature Research. https://doi.org/10.1038/s41568-020-0290-x

30. Feng, Y., Spezia, M., Huang, S., Yuan, C., Zeng, Z., Zhang, L., Ji, X., Liu, W., Huang, B., Luo, W., Liu, B., Lei, Y., Du, S., Vuppalapati, A., Luu, H. H., Haydon, R. C., He, T. C., & Ren, G. (2018). Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. In Genes and Diseases (Vol. 5, Issue 2, pp. 77–106). Chongqing yi ke da xue, di 2 lin chuang xue yuan Bing du xing gan yan yan jiu suo. https://doi.org/10.1016/j.gendis.2018.05.001

31. Owens, D. K., Davidson, K. W., Krist, A. H., Barry, M. J., Cabana, M., Caughey, A. B., Doubeni, C. A., Epling, J. W., Kubik, M., Landefeld, C. S., Mangione, C. M., Pbert, L., Silverstein, M., Tseng, C. W., & Wong, J. B. (2019). Medication use to reduce risk of breast cancer: Us preventive services task force recommendation statement. In JAMA - Journal of the American Medical Association (Vol. 322, Issue 9, pp. 857–867). American Medical Association. https://doi.org/10.1001/jama.2019.11885

32. Miricescu, D., Totan, A., Stanescu-Spinu, I.-I., Constantin Badoiu, S., Stefani, C., & Greabu, M. (2020). Molecular Sciences PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway in Breast Cancer: From Molecular Landscape to Clinical Aspects. https://doi.org/10.3390/ijms

33. Sun, Y. S., Zhao, Z., Yang, Z. N., Xu, F., Lu, H. J., Zhu, Z. Y., Shi, W., Jiang, J., Yao, P. P., & Zhu, H. P. (2017). Risk factors and preventions of breast cancer. In International Journal of Biological Sciences (Vol. 13, Issue 11, pp. 1387–1397). Ivyspring International Publisher. https://doi.org/10.7150/ijbs.21635

34. Andò, S., Gelsomino, L., Panza, S., Giordano, C., Bonofiglio, D., Barone, I., & Catalano, S. (n.d.). cancers Obesity, Leptin and Breast Cancer: Epidemiological Evidence and Proposed Mechanisms. https://doi.org/10.3390/cancers11010062

35. Terry, M. B., Nahvijou, A., Mcdonald, J. A., Olsson, H. L., & Olsson, M. L. (2020). The Menstrual Cycle and Risk of Breast Cancer: A Review. Frontiers in Oncology | Www.Frontiersin.Org, 1. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00021

36. Sharma, G. N., Dave, R., Sanadya, J., Sharma, P., & Sharma, K. K. (n.d.). Varıous Types And Management Of Breast Cancer: An Overvıew. J. Adv. Pharm. Tech. Res, 1(2). www.japtr.org

37. Chen, Z., Yang, J., Li, S., Lv, M., Shen, Y., Wang, B., Li, P., Yi, M., Zhao, ai, Zhang, L., Wang, L., & Yang, J. (2017). Invasive lobular carcinoma of the breast: A special histological type compared with invasive ductal carcinoma. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182397

38. Abdolahi, M., Salehi, M., Shokatian, I., & Reiazi, R. (n.d.). Artificial intelligence in automatic classification of invasive ductal carcinoma breast cancer in digital pathology images. Med J Islam Repub Iran, 2020. https://doi.org/10.47176/mjiri.34.140

39. Barroso-Sousa, R., & Metzger-Filho, O. (2016). Differences between invasive lobular and invasive ductal carcinoma of the breast: Results and therapeutic implications. In Therapeutic Advances in Medical Oncology (Vol. 8, Issue 4, pp. 261–266). SAGE Publications Inc. https://doi.org/10.1177/1758834016644156

40. Nickel, B., McCaffery, K., Houssami, N., Jansen, J., Saunders, C., Spillane, A., Rutherford, C., Dixon, A., Barratt, A., Stuart, K., Robertson, G., & Hersch, J. (2020). Views of healthcare professionals about the role of active monitoring in the management of ductal carcinoma in situ (DCIS): Qualitative interview study. Breast, 54, 99–105. https://doi.org/10.1016/j.breast.2020.09.002

41. King, M. T., Winters, Z. E., Olivotto, I. A., Spillane, A. J., Chua, B. H., Saunders, C., Westenberg, A. H., Mann, G. B., Burnett, P., Butow, P., & Rutherford, C. (2017). Patient-reported outcomes in ductal carcinoma in situ: A systematic review. In European Journal of Cancer (Vol. 71, pp. 95–108). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.ejca.2016.09.035

42. Eroles, P., Bosch, A., Pérez-Fidalgo, J. A., & Lluch, A. (2012). Molecular biology in breast cancer: intrinsic subtypes and signaling pathways. Cancer treatment reviews, 38(6), 698-707

43. Gralow, J. R. (2005). Optimizing the treatment of metastatic breast cancer. In Breast Cancer Research and Treatment (Vol. 89, Issue SUPPL.). https://doi.org/10.1007/s10549-005-0143-z

44. Herdiana, Y., Wathoni, N., Shamsuddin, S., Joni, I. M., & Muchtaridi, M. (2021). Chitosan-based nanoparticles of targeted drug delivery system in breast cancer treatment. Polymers, 13(11), 1717.

45. Khan, M. A., Jain, V. K., Rizwanullah, M., Ahmad, J., & Jain, K. (2019). PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors in triple-negative breast cancer: a review on drug discovery and future challenges. Drug Discovery Today, 24(11), 2181-2191.

46. Ynn, L., Artmann, C. H., Chaid, A. J. S., Ohn, J., Oods, E. W., Rotty, H. P. C., Effrey, J., Yers, L. M., Rnold, P. G. A., Etty, A. M. P., Ellers, H. A. S., Oanne, J., Ohnson, L. J., Hannon, S., Onnell, D., Rost, A. H. F., Obert, R., & Enkins, B. J. (1999). Efficacy Of Bılateral Prophylactıc Mastectomy In Women Wıth A Famıly Hıstory Of Breast Cancer A Bstract Background Options for women at high risk for (Vol. 340).

47. Chang-Qing, Y., Jie, L., Shi-Qi, Z., Kun, Z., Zi-Qian, G., Ran, X., ... & Chen-Yan, Z. (2020). Recent treatment progress of triple negative breast cancer. Progress in biophysics and molecular biology, 151, 40-53.

48. Huang, R. X., & Zhou, P. K. (2020). DNA damage response signaling pathways and targets for radiotherapy sensitization in cancer. Signal transduction and targeted therapy, 5(1), 60.

49. Aravind, S. R., Joseph, M. M., Varghese, S. H. E. E. J. A., Balaram, P. R. A. B. H. A., & Sreelekha, T. T. (2012). Polysaccharide PST001 isolated from the seed kernel of Tamarindus indica induces apoptosis in murine cancer cells. Int J Life Sci Pharm Res, 2, 159-172.

50. Ma, J. H., Qin, L., & Li, X. (2020). Role of STAT3 signaling pathway in breast cancer. Cell Communication and Signaling, 18, 1-13.

51. Dong, Y., Li, W., Gu, Z., Xing, R., Ma, Y., Zhang, Q., & Liu, Z. (2019). Inhibition of HER2-Positive Breast Cancer Growth by Blocking the HER2 Signaling Pathway with HER2-Glycan-Imprinted Nanoparticles. *Angewandte Chemie*, *131*(31), 10731–10735. https://doi.org/10.1002/ange.201904860

52. Waks, A. G., & Winer, E. P. (2019). Breast cancer treatment: a review. Jama, 321(3), 288-300.

53. Khan, M. S., Ahmad, D., & Khan, M. A. (2015). Utilization of genes encoding osmoprotectants in transgenic plants for enhanced abiotic stress tolerance. Electronic Journal of Biotechnology, 18(4), 257-266.

54. Soni, N., & Singh, V. K. (2019). Traditional, nutraceutical and pharmacological approaches of Tamarindus indica (Imli). European Journal of Biological Research, 9(3), 141-154.

55. Reis, P. M. C. L., Dariva, C., Vieira, G. Â. B., & Hense, H. (2016). Extraction and evaluation of antioxidant potential of the extracts obtained from tamarind seeds (Tamarindus indica), sweet variety. Journal of Food Engineering, 173, 116-123.

56. Saxena, M., Prabhu, S. V., Mohseen, M., Pal, A. K., Alarifi, S., Gautam, N., & Palanivel, H. (2022). Antidiabetic Effect of Tamarindus indica and Momordica charantia and Downregulation of TET-1 Gene Expression by Saroglitazar in Glucose Feed Adipocytes and Their Involvement in the Type 2 Diabetes-Associated Inflammation In Vitro. BioMed Research International, 2022.

57. Guneidy, R. A., Gad, A. M., Zaki, E. R., Ibrahim, F. M., & Shokeer, A. (2020). Antioxidant or pro-oxidant and glutathione transferase P1-1 inhibiting activities for Tamarindus indica seeds and their cytotoxic effect on MCF-7 cancer cell line. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 18(1), 1-16.

58. Gholap, S., & Waykar, M. Tamarindus Indica L. A Plant with Multiple Medicinal Purposes.

59. Razali, N., Mat-Junit, S., Abdul-Muthalib, A. F., Subramaniam, S., & Abdul-Aziz, A. (2012). Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of Tamarindus indica L. Food Chemistry, 131(2), 441-448.

60. Sudjaroen, Y., Haubner, R., Würtele, G., Hull, W. E., Erben, G., Spiegelhalder, B., ... & Owen, R. W. (2005). Isolation and structure elucidation of phenolic antioxidants from Tamarind (Tamarindus indica L.) seeds and pericarp. Food and chemical toxicology, 43(11), 1673-1682.

61. Komakech, R., Kim, Y. G., Matsabisa, G. M., & Kang, Y. (2019). Anti-inflammatory and analgesic potential of Tamarindus indica Linn.(Fabaceae): a narrative review. Integrative Medicine Research, 8(3), 181-186.
62. Chigurupati, S., Yiik, E. W. K., Vijayabalan, S., Selvarajan, K. K., Alhowail, A., Nanda, S. S., & Das, S. (2020). Antioxidant and antidiabetic properties of Tamarindus indica leaf ethanolic extract from Malaysia. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, 51(4), 559-569.
63. Krishna, R. N., Anitha, R., & Ezhilarasan, D. (2020). Aqueous extract of Tamarindus indica fruit pulp exhibits antihyperglycaemic activity. Avicenna Journal of Phytomedicine, 10(5), 440.
64. Krishna, A. S., Benny, B., Samraj, S., John, P., & Radhakrishnan, U. (2022). Modulatory potential of Tamarindus indica seed coat on oestrogen and progestogen secretion in MCF-7 cell lines. J. Phytopharmacol, 11, 75-78.
65. Gomathi, A. C., Rajarathinam, S. X., Sadiq, A. M., & Rajeshkumar, S. (2020). Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit shell extract of Tamarindus indica on MCF-7 human breast cancer cell line. Journal of drug delivery science and technology, 55, 101376.
66. Sidhu, J. S., & Zafar, T. A. (2020). Indian herbal medicine and their functional components in cancer therapy and prevention. In Functional Foods in Cancer Prevention and Therapy (pp. 169-194). Academic Press.
67. Rehana, D., Mahendiran, D., Kumar, R. S., & Rahiman, A. K. (2017). Evaluation of antioxidant and anticancer activity of copper oxide nanoparticles synthesized using medicinally important plant extracts. Biomedicine & Pharmacotherapy, 89, 1067-1077.
68. Gomathi, A. C., Rajarathinam, S. X., & Sadiq, A. M. (2019). Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles using aqueous extract of Tamarindus indica fruit Shell. Journal of Emerging Technologies and Innovative Research, 6(5), 415-424.
69. Elsawy, M. A., Kim, K. H., Park, J. W., & Deep, A. (2017). Hydrolytic degradation of polylactic acid (PLA) and its composites. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 79, 1346-1352.
70. Kim, H. W., Lee, H. H., & Knowles, J. C. (2006). Electrospinning biomedical nanocomposite fibers of hydroxyapatite/poly (lactic acid) for bone regeneration. Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 79(3), 643-649.

71. Ulag, S., Ilhan, E., Sahin, A., Karademir Yilmaz, B., kalaskar, D. M., Ekren, N., Kilic, O., Nuzhet Oktar, F., & Gunduz, O. (2020). 3D printed artificial cornea for corneal stromal transplantation. European Polymer Journal, 133, 109744. https://doi.org/10.1016/J.EURPOLYMJ.2020.109744.
72. Williams, D. F. (2009). On the nature of biomaterials. Biomaterials, 30(30), 5897-5909.
73. He, W., & Benson, R. (2017). Polymeric biomaterials. In Applied plastics engineering handbook (pp. 145-164). William Andrew Publishing.
74. Rezaie, H. R., Bakhtiari, L., & Öchsner, A. (2015). Biomaterials and their applications (pp. 15-19). Berlin, Germany: Springer International Publishing.
75. Parida, P., Behera, A., & Mishra, S. C. (2012). Classification of Biomaterials used in Medicine.
76. Drumright, R. E., Gruber, P. R., & Henton, D. E. (2000). Polylactic acid technology. Advanced materials, 12(23), 1841-1846.
77. Martin, O., & Avérous, L. (2001). Poly (lactic acid): plasticization and properties of biodegradable multiphase systems. Polymer, 42(14), 6209-6219.
78. Griffith, L. G. (2000). Polymeric biomaterials. Acta materialia, 48(1), 263-277.
79. Wang, B., Mao, J. H., Wang, B. Y., Wang, L. X., Wen, H. Y., Xu, L. J., ... & Yang, H. (2020). Exosomal miR-1910-3p promotes proliferation, metastasis, and autophagy of breast cancer cells by targeting MTMR3 and activating the NF-κB signaling pathway. Cancer letters, 489, 87-99.
80. Inkinen, S., Hakkarainen, M., Albertsson, A. C., & Södergård, A. (2011). From lactic acid to poly (lactic acid)(PLA): characterization and analysis of PLA and its precursors. Biomacromolecules, 12(3), 523-532.
81. Fouquet, T. N., Amalian, J. A., Aniel, N., Carvin-Sergent, I., Issa, S., Poyer, S., ... & Charles, L. (2021). Reactive desorption electrospray ionization mass spectrometry to determine intrinsic degradability of poly (lactic-co-glycolic acid) chains. Analytical Chemistry, 93(35), 12041-12048.
82. Fares, M. Y., Salhab, H. A., Khachfe, H. H., & Khachfe, H. M. (2019). Breast cancer epidemiology among Lebanese women: an 11-year analysis. Medicina, 55(8), 463.
83. Gangapurwala, G., Vollrath, A., De San Luis, A., & Schubert, U. S. (2020). PLA/PLGA-based drug delivery systems produced with supercritical CO2—A green future for particle formulation?. Pharmaceutics, 12(11), 1118.
84. Joseph, M. M., Aravind, S. R., George, S. K., Pillai, K. R., Mini, S., & Sreelekha, T. T. (2014). Antitumor activity of galactoxyloglucan-gold nanoparticles against murine ascites and solid carcinoma. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 116, 219-227.

85. Zhou, Y. X., Huang, Z. G., Diao, X. Q., Weng, Y. X., & Wang, Y. Z. (2015). Characterization of the effect of REC on the compatibility of PHBH and PLA. Polymer Testing, 42, 17-25.
86. Li, W., Ying, X., Guo, Y., Yu, Z., Zhou, X., Deng, Z., ... & Tao, M. (2006). Identification of a gene negatively affecting antibiotic production and morphological differentiation in Streptomyces coelicolor A3 (2). Journal of bacteriology, 188(24), 8368-8375.
87. Caliceti, P., Salmaso, S., Elvassore, N., & Bertucco, A. (2004). Effective protein release from PEG/PLA nano-particles produced by compressed gas anti-solvent precipitation techniques. Journal of Controlled Release, 94(1), 195-205.
88. Turan, D., Sirin, H., & Ozkoc, G. (2011). Effects of POSS particles on the mechanical, thermal, and morphological properties of PLA and plasticised PLA. Journal of Applied Polymer Science, 121(2), 1067-1075.
89.Aydoğdu, M. O. 3 boyutlu biyo baskı yöntemi ile hidrojel katkılı doku iskeleti üretimi (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
90 Tasci, M. E., Dede, B., Tabak, E., Gur, A., Sulutas, R. B., Cesur, S., ... & Gunduz, O. (2021). Production, optimization and characterization of polylactic acid microparticles using electrospray with porous structure. Applied Sciences, 11(11), 5090.
91. Boda, S. K., Li, X., & Xie, J. (2018). Electrospraying an enabling technology for pharmaceutical and biomedical applications: A review. Journal of aerosol science, 125, 164-181.
92. Maedeh, Z., Prabhakaran, M. P., San, T. E., & Ramakrishna, S. (2015). Controlled delivery of stromal derived factor-1? from poly lactic-co-glycolic acid core-shell particles to recruit mesenchymal stem cells for cardiac regeneration.
93. Ghaffarzadegan, R., Khoee, S., & Rezazadeh, S. (2020). Fabrication, characterization and optimization of berberine-loaded PLA nanoparticles using coaxial electrospray for sustained drug release. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 28, 237-252.
94. Mehdi, M. A. H., Alawi, A. H., Thabet, A. Z. A., Alarabi, F., Omar, G. M. N., & Pradhan, V. (2021). Analysis of bioactive chemical compounds of leaves extracts from Tamarindus indica using FT-IR and GC-MS spectroscopy. Asian Journal of Research in Biochemistry, 8(1), 22-34.
95. Chacón-Fernández, M. G., Hernández-Medel, M. R., Bernal-González, M., Durán-Domínguez-de-Bazúa, M. C., & Solís-Fuentes, J. A. (2019). Composition, properties, stability and thermal behavior of tamarind (Tamarindus indica) seed oil. Grasas y Aceites, 70(4), e333-e333.

96. Liu, C., Shen, J., Yeung, K. W. K., & Tjong, S. C. (2017). Development and antibacterial performance of novel polylactic acid-graphene oxide-silver nanoparticle hybrid nanocomposite mats prepared by electrospinning. ACS Biomaterials Science & Engineering, 3(3), 471-486.
97. Topsakal, A., Midha, S., Yuca, E., Tukay, A., Sasmazel, H. T., Kalaskar, D. M., & Gunduz, O. (2021). Study on the cytocompatibility, mechanical and antimicrobial properties of 3D printed composite scaffolds based on PVA/ Gold nanoparticles (AuNP)/ Ampicillin (AMP) for bone tissue engineering. Materials Today Communications, 28, 102458. https://doi.org/10.1016/J.MTCOMM.2021.102458
98. Ashok, B., Naresh, S., Reddy, K. O., Madhukar, K., Cai, J., Zhang, L., & Rajulu, A. V. (2014). Tensile and thermal properties of poly (lactic acid)/eggshell powder composite films. International journal of polymer analysis and characterization, 19(3), 245-255.
99. Huanbutta, K., & Sittikijyothin, W. (2018). Use of seed gums from Tamarindus indica and Cassia fistula as controlled-release agents. Asian journal of pharmaceutical sciences, 13(5), 398-408.
100. Alpizar-Reyes, E., Carrillo-Navas, H., Gallardo-Rivera, R., Varela-Guerrero, V., Alvarez-Ramirez, J., & Pérez-Alonso, C. (2017). Functional properties and physicochemical characteristics of tamarind (Tamarindus indica L.) seed mucilage powder as a novel hydrocolloid. Journal of Food Engineering, 209, 68-75.
101. Aydogdu, A., Sumnu, G., & Sahin, S. (2018). A novel electrospun hydroxypropyl methylcellulose/polyethylene oxide blend nanofibers: Morphology and physicochemical properties. Carbohydrate polymers, 181, 234-246.
102. White E. Deconvoluting the context-dependent role for autophagy in cancer. Nature reviews Cancer. 2012;12:401–410. doi: 10.1038/nrc3262.
103. Galluzzi L, et al. Autophagy in malignant transformation and cancer progression. The EMBO journal. 2015 doi: 10.15252/embj.201490784.
104. Levy JM, Thorburn A. Targeting autophagy during cancer therapy to improve clinical outcomes. Pharmacol Ther. 2011;131:130–141. doi: 10.1016/j.pharmthera.2011.03.009. S0163-7258(11)00075-1 [pii] [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
105. Towers CG, Thorburn A. Therapeutic Targeting of Autophagy. EBioMedicine. 2016 doi: 10.1016/j.ebiom.2016.10.034. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
106. Mizushima N. Autophagy: process and function. Genes Dev. 2007;21:2861–2873. doi: 10.1101/gad.1599207.

107. Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi Y. The role of Atg proteins in autophagosome formation. Annu Rev Cell Dev Biol. 2011;27:107–132. doi: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154005. A detailed discussion of the protein and membrane interactions required for autophagosome formation.

108. Liang XH, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. Nature. 1999;402:672–676. doi: 10.1038/45257. Beclin 1 is identified as a putative tumor suppressor gene.

109. Gomathi, A. C., Rajarathinam, S. X., & Sadiq, A. M. (2017). Phyto chemical screening of aqueous extract of Tamarind (Tamarindus indica L.) Shell. International journal of basic and applied research, 7(11), 65-70.

110. Mahmoud, I. F., Kanthimathi, M. S., & Aziz, A. A. (2020). ROS/RNS-mediated apoptosis in HT-29 colorectal cancer cells by methanolic extract of Tamarindus indica seeds. European Journal of Integrative Medicine, 40, 101244.

111. Pal, D., & Mukherjee, S. (2020). Tamarind (Tamarindus indica) seeds in health and nutrition. In Nuts and seeds in health and disease prevention (pp. 171-182). Academic Press.

112. Behdarvand, N., Bikhof Torbati, M., & Shaabanzadeh, M. (2020). Tamoxifen-loaded PLA/DPPE-PEG lipid-polymeric nanocapsules for inhibiting the growth of estrogen-positive human breast cancer cells through cell cycle arrest. J Nanopart Res, 22, 262. https://doi.org/10.1007/s11051-020-04990-9

113. Khan, M. I., Abdelhakim Bouyahya, ·, Naoufal, ·, Hachlafi, E. L., Naoual, ·, Menyiy, E., Akram, · Muhammad, Sabira Sultana, ·, Zengin, · Gokhan, Lilya Ponomareva, ·, Mohammad, ·, Shariati, A., Oluwafemi, ·, Ojo, A., Dall'acqua, S., Tobiloba, ·, Elebiyo, C., Bouyahya, A., & Zengin, G. (n.d.). Anticancer properties of medicinal plants and their bioactive compounds against breast cancer: a review on recent investigations Breast cancer MAPK Mitogen-activated protein kinase NF-κB Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells Responsible editor: Lotfi Aleya. 1, 3. https://doi.org/10.1007/s11356-021-17795-7

114. Alyafee, Y. A., Alaamery, M., Bawazeer, S., Almutairi, M. S., Alghamdi, B., Alomran, N., ... & Massadeh, S. (2018). Preparation of anastrozole loaded PEG-PLA nanoparticles: evaluation of apoptotic response of breast cancer cell lines. International Journal of Nanomedicine, 199-208. https://doi.org/10.2147/IJN.S151139

115. Figure 1a. Chemical structure of "Polylactic acid» (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=%22Polylactic%20acid%22

EKLER

EK-1 Polimer Üretiminde Kullanılan Cihazlar

Solüsyonların ve ekstrelerin homojen olarak karışıp hazırlanması için manyetik karıştırıcı (Wise Stir®, MSH-20A, Wertheim, Almanya) kullanılmıştır.

Tüm tartım işlemlerinde hassas terazi (Precisa XB 220A SCS, Almanya) kullanıldı. PLA ile kapsüle edilmiş Tamarındus indıca ekstrelerinin morfolojik yapılarını incelemek için optik mikroskop (BX51M, Olympus, Japonya) ve taramalı elektron mikroskop (SEM) (EVO MA-10, Carl Zeiss, ABD) kullanımıştır.

Morfolojik yapı incelenmesi öncesi tüm numuneler püskürtmeli kaplama cihazı (Quorum SC7620, ABD) kullanılarak elektron mikroskop cihazında görüntülenmiştir. PLA ile kapsüle edilmiş Tamarindus indica ekstrelerinin kimyasal yapısını ve tüm kimyasal bağlarını detaylı incelemek adına Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR, 4600 Jasco, Japonya) kullanılmıştır.

Tamarindus ekstrelrinin termal davranışlarını incelemek için diferansiyel taramalı kalorimetre cihazı (DSC60-Plus, Shimadzu, Japonya) kullanılarak ölçümler gerçekleşmiştir.

Tamarindus ekstrelrinin salınımı incelemek amacıyla spektrofotometre cihazı (UV- VIS Shimadzu UV-1280, 190 nm-600 nm) kullanıldı.

Vücut bulunan sıvıların hareketini ve sıcaklığına ayarlı, Tamarindus ekstrelerinin salınımının incelenmesinde ve biyobozunum çalışmalarında thermo çalkalayıcı inkübatör (BIOSAN TS-100) kullanıldı.

Nanopartikül üretmek için Elektrosprey cihazı NS24,Inovenso Co, Türkiye kullanıldı.

Nanopartikül akış hızını ayarlamak için Elektrosprey güç pompası NE-300, New Era Pump Systems, Inc., USA kullanıldı

EK-2 Hücre Deneylerinde Kullanılan Cihazlar

Tablo 4: Hücre Deneylerinde Kullanılan Cihazlar

CİHAZ ADI	**FİRMA ADI**
Santrifüj	Nüve
Santrifüj(büyük)	Nüve
Mikropipet(0,5 µl-10 µl)	Thermo
Mikropipet(20 µl-200 µl)	Thermo
Mikropipet(200 µl-1000 µl)	Thermo
İnkübatör	ESCO Celculture
Laminar flow	ESCO Celculture
Soğutmalı santrifüj	SIGMA/3- 30KS
Mikroskop	Zeiss AXIO

Tablo5: Hücre Kültüründe Kullanılan Malzemeler

ADI	FİRMA ADI
12 kuyucuklu petri	TPP
6 kuyucuklu petri	TPP
96 kuyucuklu petri	TPP
$25cm^2$ hücre büyütme kapları	TPP
Fetal Bovine Serum	Gibco
DMEM Medium	Gibco
MDA-MB-231 hücreleri	ATCC
hemastometre	Neubauer
Laminar flow	Thermo
Pipet uçları	Thermo

ÖZGEÇMİŞ

Ad/Soyad: Rümeysa Eren

Poster Sunumu:

19-22 Eylül 2022 : Rümeysa Eren1*, Songül Ulağ, Ajda Coker - Gurkan, "The Apoptotic Effect Of PLA-Capsulaed Tamarindus İndica Extracts İn MDA-MB-231 Breast Cancer Cells"1.International Advances İn Molecular Biology Congress. 1Marmara University, Department of Biology, Istanbul, Türkiye ; Marmara Unversity, Department of Metallurgical and Materials Engineering, Istanbul, Türkiye.