

**T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KURKUMİN ETKEN MADDESİ İLE HAZIRLANAN
SÜPERMANYETİK DEMİR NANOPARTİKÜLERİN H₂O₂ İLE
İNDÜKLENMİŞ SH-SY5Y NÖROBLASTOMA HÜCRE
HATLARINDA OKSİDATİF STRESE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AHMET TEKİNAY

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ BÜLENT KAYA**

BİNGÖL-2021



T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KURKUMİN ETKEN MADDESİ İLE HAZIRLANAN SÜPERMANYETİK
DEMİR NANOPARTİKÜLERİN H₂O₂ İLE İNDÜKLENMİŞ SH-SY5Y
NÖROBLASTOMA HÜCRE HATLARINDA OKSİDATİF STRESE ETKİSİ**

Dr. Öğr. Üyesi Bülent KAYA danışmanlığında, Ahmet TEKİNAY tarafından hazırlanan bu çalışma 02/09/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan	: Prof. Dr. Serpil OĞUZTÜZÜN	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Bülent KAYA	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Fatma CAF	İmza	:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun// tarih ve/
nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer ŞİAR
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖNSÖZ

“Kurkumin Etken Maddesi İle Hazırlanan Süpermanyetik Demir Nanopartikülerin H₂O₂ İle İndüklenmiş SH-SY5Y Nöroblastoma Hücre Hatlarında Oksidatif Strese Etkisi” adlı yüksek lisans tez çalışmamda bilgi ve tecrübeleriyle bana destek olan ve yardımını esirgemeyen danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Bülent KAYA’ya derin minnet ve şükranlarımı sunarım. Ayrıca yüksek lisans tezim boyunca desteklerini esirgemeyen her konuda yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Fatma CAF’a, Tuba ELHAZAR’a, Semih GÖKDAĞ’a, Murat POLAT’a ve diğer çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli eşime, aileme sonsuz saygı ve sevgimi sunarak yüksek lisans tezimi değerli aileme ithaf ederim.

Ahmet TEKİNAY

Bingöl 2021

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. Materyal.....	21
3.2. Yöntem.....	21
3.2.1. Demir Nanopartikül Sentezi.....	21
3.2.2. Hücre Kültürü.....	22
3.2.2.1. SH-SY5Y Hücre Kültürü Hazırlanması.....	23
3.2.2.2. SH-SY5Y Canlı Hücrelerin Sayımı.....	24
3.2.2.3. WST-1 İle Sitotoksisite Testi.....	24
3.2.2.4. H ₂ O ₂ ile <i>n Vitro</i> Nörodejenerasyon Modelinin Oluşturulması.....	25
3.2.2.5. <i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı FeNP'lerin doz aralıklarının belirlenmesi.....	26
3.2.2.6. Toplam Antioksidan Seviyesi (TAS).....	26
3.2.2.7. Toplam Oksidan Seviyesi (TOS).....	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	28
4.1. Demir Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu	28

4.1.1 UV-Vis (Ultraviyole-Görünür Spektroskopisi).....	28
4.1.2 XRD (X-Işını Difraksiyonu).....	29
4.1.3 Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM).....	30
4.1.4 Zeta Potansiyeli	31
4.1.5 FT-IR Spektroskopisi.....	32
4.1.6 SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu).....	33
4.2. Hücre Canlılık Testleri Sonuçları	35
4.2.1. WST-1 Testi Sonuçları	35
4.2.1.1. SH-SY5Y hücre hattında <i>in vitro</i> hidrojen peroksit nörotoksisitesi sonuçları.....	35
4.2.1.2. <i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı kullanılacak Kur@FeNP1, Kur@FeNP2, Kur@FeNP3, Kur@FeNP4 ve Kurkumin doz konsantrasyonlarının belirlenmesi.....	36
4.2.1.3. <i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı Kur@FeNP1, Kur@FeNP Kur@FeNP3, Kur@FeNP4 ve Kurkumin doz konsantrasyonlarının sonuçları	39
4.2.2. TAS ve TOS Kitleri ile Yapılan Oksidan ve Antioksidan Seviye Ölçümleri	43
4.2.2.1. TAS(Toplam Antioksidan Seviyesi)sonuçları.....	43
4.2.2.2. TOS(Toplam Oksidan Seviyesi) Sonuçları.....	44
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR.....	50
ÖZGEÇMİŞ.....	60

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzde
Fe ₂ O ₃	: Demir (III) Oksit
mM	: Milimolar
°C	: Santigrat derece
µg/ml	: Mikrogram/Mililitre
4-HNE	: 4-hidroksinonenal
8-OHdG	: 8-Okso-2'-deoksiguanozin
Ab1-42	: Amyloid β-Peptide (1–42)
AKT/PKB	: Akt sinyal yolu
ALE	: İleri lipid peroksidasyon son ürünleri
AO	: Amidoksim
ATM	: Ataksi Telenjiektazi Mutated
ATPase	: Adenilpirofosfataz
BET	: Brunauer-Emmett-Teller
BHA	: Bütillenmiş Hidroksianisol
BHT	: Bütillenmiş Hidroksitoluen
C	: Protein kinaz
C ₂₁ H ₂₀ O ₆	: Kurkumin
CAT	: Katalaz
cm	: Santimetre
CO ₂	: Karbondioksit
DG	: Dentat girus
dH ₂ O	: Disitile su
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMSO	: Dimetilsulfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 1,1-Difenil 2-Pikril Hidrazil

EDTA	: Etilendiamin Tetra Asetik Asit
EDX	: Enerji Dağıtıcı X Işını Spektroskopisi
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörü sinyal yolu
FBS	: Fetal Bovine Serum
FBS	: Fetal bovine serum
Fe	: Demir
Fe ₃ O ₄	: Demir (II, III) Oksit
FeCl ₂	: Demir(II) Klorür
FeCl ₃	: Demir(III) Klorür
FeNP	: Demir nanopartikül
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi
G	: Gram
g/mol	: Gram/Molarite
GA	: Gallik Asit
GSH	: Glutasyon
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HER2	: İnsanlarda ERBB2 geni tarafından kodlanan bir protein
HOCl	: Hipokloröz asit
ICP-OES	: Endüktif olarak birleştirilmiş optik emisyon spektroskopisi
IR	: Raman spektroskopisi, kızılötesi spektroskopisi
L·	: Karbon merkezli lipid radikali
LD50	: Ortalama letal doz
LOO·	: Lipit peroksil radikali
LOOH	: Lipit hidroperoksit
M	: Molar
MAPK'ler	: Mitojenle aktive olan protein kinazlar
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
mg / kg	: Miligram / Kilogram
MİK	: Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mmol/L	: Milimol/Litre

MTT	: 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2
NADPH	: Nikotinamid adenin dinökleotit fosfat
NER	: Nökleotid eksizyon onarımı
NH ₄ OH	: Amonyum hidroksit
NiFe ₂ O ₄	: Nikel Demir Oksit
nm	: Nanometre
Np	: Nanopartikül
O ₂	: Oksijen
OH	: Hidroksil
OSI	: Oksidatif stres indeksi
p53	: Tümör protein 53
PBS	: Fosfat tamponu
Pd@Fe ₃ O ₄	: Paladyum demir nanopartikül
PH	: Power of Hydrogen
PI3K	: Fosfoinositid-3 Kinaz
PI3K	: Fosfatidil inositol 3-kinaz
ppm	: Parts per million
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
R	: Dirençli
R-1	: Reaktif 1
RAS	: G-Proteini türünde bir proto-onkogen ve bunu kodlayan gen
RB	: Retinoblastoma Protein
RC	: Racine Scale
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu Analizi
SH-SY5Y	: İnsan Kaynaklı Nöroblastoma Hücre Hattı
SOA	: Serum Oksidasyon Aktivitesi
SOD	: Süperoksit Dismutaz
STM	: Tarama tünelleme mikroskopisi
TAS	: Total antioksidan status
TBA	: Tiyoarbitürik asit

TEM	: Transmisyon Elektron Mikroskobu
TOS	: Total oksidan status
TP	: Toplam peroksit
UV-Vis	: UV-Vis Spektroskopisi
WST-1	: Water-soluble tetrazolium salt estern
XPS	: X-Işını Fotoelektron Spektrometresi
XRD	: X-Işını Kırınımı
Δ Abs	: Absorbans
M	: Mikron
μ g/mL	: Mikrogram/mililitre
μ L	: Mikrolitre
μ M	: mikromolar

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Nanopartiküllerin bazı kullanım alanları	1
Şekil 1.2.	Nanopartiküllerin örnek yapıları	2
Şekil 1.3.	Nano boyutta Fe_3O_4	3
Şekil 1.4.	Kurkumin	7
Şekil 1.5.	Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Kaynakları	8
Şekil 4.1.	Kur@FeNP'nin UV-Vis alan taraması.....	28
Şekil 4.2.	Kur@FeNP'nin XRD grafiği.....	29
Şekil 4.3.	Kur@FeNP'nin TEM görüntüleri	30
Şekil 4.4.	Kur@FeNP'nin boyut histogram grafiği.....	30
Şekil 4.5.	Kur@FeNP'nin Zeta potansiyel grafiği	31
Şekil 4.6.	Kur@FeNP'nin FT-IR spektroskopi grafiği	32
Şekil 4.7.	Kur@FeNP'nin SEM görüntüleri	33
Şekil 4.8.	Kur@FeNP'lerinin EDX analizi	34
Şekil 4.9.	Kur@FeNP'nin yapısındaki Fe ve O' nin pik grafiği.....	34
Şekil 4.10.	SH-SY5Y hücre hattında <i>in vitro</i> hidrojen peroksit nörotoksitesi sonuçları	35
Şekil 4.11.	<i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı kullanılacak Kur@FeNP1, doz konsantrasyonlarının belirlenmesi	36
Şekil 4.12.	<i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı kullanılacak Kur@FeNP2 doz konsantrasyonlarının belirlenmesi.....	37
Şekil 4.13.	<i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı kullanılacak Kur@FeNP3 doz konsantrasyonlarının belirlenmesi.....	38
Şekil 4.14.	<i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı kullanılacak Kur@FeNP4 doz konsantrasyonlarının belirlenmesi.....	38
Şekil 4.15.	<i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı kullanılacak Kurkumin doz konsantrasyonlarının belirlenmesi.....	39

Şekil 4.16. <i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı Kur@FeNP1 doz konsantrasyonlarının sonuçları.....	39
Şekil 4.17. <i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı Kur@FeNP2 doz konsantrasyonlarının sonuçları.....	40
Şekil 4.18. <i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı Kur@FeNP3 doz konsantrasyonlarının sonuçları.....	41
Şekil 4.19. <i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı Kur@FeNP4 doz konsantrasyonlarının sonuçları	41
Şekil 4.20. <i>In vitro</i> nörodejenerasyona karşı Kurkumin doz konsantrasyonlarının Sonuçları.....	42
Şekil 4.21. Kur@NP' lerin SH-SY5Y hücre hatlarındaki Toplam Antioksidan Seviyesi	43
Şekil 4.22. Kur@NP' lerin SH-SY5Y hücre hatlarındaki Toplam Oksidan Seviyesi	44

KURKUMİN ETKEN MADDESİ İLE HAZIRLANAN SÜPERMANYETİK DEMİR NANOPARTİKÜLERİN H₂O₂ İLE İNDÜKLENMİŞ SH-SY5Y NÖROBLASTOMA HÜCRE HATLARINDA OKSİDATİF STRESE ETKİSİ

ÖZET

Bu çalışmada kurkumin etken maddesi kullanılarak yeşil sentez metodu ile farklı molaritelerde 4 farklı kurkumin demir nanopartikül (Kur@FeNP) sentezlenmiştir. Manyetik özelliği en iyi olan Kur@FeNP1'in karakterizasyonu üzerinden devam edilmiştir. Bu NP'lerin yapısal, morfolojik ve optik özellikleri UV-Vis, FTIR, XRD, SEM, TEM, EDX ve Zeta potansiyeli kullanılarak karakterize edilmiştir. Sentezlenen nanopartikülün boyutları değişiklik göstermekle birlikte ortalama 18 nm boyutunda olduğu belirlenmiştir. Kur@FeNP'lerin *in vitro* ortamda nörodejenerasyonunu (H₂O₂) belirlemek için nöroblastoma (SH-SY5Y) hücre hatında uygun doz konsantrasyonları belirlenmiştir. 300 µM H₂O₂ konsantrasyonunda (LD₅₀) sitotoksik değer olduğu tespit edilmiştir. H₂O₂ varlığında Ku@FeNP'lerin hücre canlılığı üzerine etkilerini tespit edilmesi için belirlenen LD₅₀ (300 µM) H₂O₂ varlığında SH-SY5Y hücreleri (250-1,90 µg/ml) konsantrasyon aralığında Ku@FeNP'ler ile muamele edilmiştir. Bununla birlikte, (E_{max}) Ku@FeNP'lerin 250 µg/ml oksidatif stres kaynaklı nörodejenerasyona karşı en etkili nöroprotektif etkiye sahip olduğu görülmektedir. Bu durum H₂O₂'i güçlü bir şekilde detoksifiye etme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Hücre hatında H₂O₂'e karşı oluşan oksidatif stres belirteci olarak TAS ve TOS ticari kitleri kullanılmıştır. Antioksidan aktivite (TAS) çalışmalarında, SH-SY5Y hücre hatında Kur@NP'lerde en yüksek düzeyde artış diğer grup konsantrasyonlarına oranla Kur@NP1 250 µg/ml, Kur@NP2 250 µg/ml, Kur@NP3 250 µg/ml, Kur@NP4 250 µg/ml ve Kurkumin 250 µg/ml konsantrasyonlarında antioksidan seviyesinde artış gözlenmiştir. SH-SY5Y hücre lizatlarından total oksidan durumu incelendiğinde (TOS); H₂O₂ ile muamele edilen gruplardan en fazla total oksidan düzeyinde azalma gösteren Kur@NP1 250 µg/ml nanopartikülü olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yeşil sentez, nanopartikül, H₂O₂, oksidatif stres, SH-SY5Y, kurkumin.

EFFECT OF SUPERMAGNETIC IRON NANOPARTICULAR PREPARED WITH CURCUMIN ON OXIDATIVE STRESS ON H₂O₂ INDUCED SH-SY5Y NEUROBLASTOMA CELL LINES

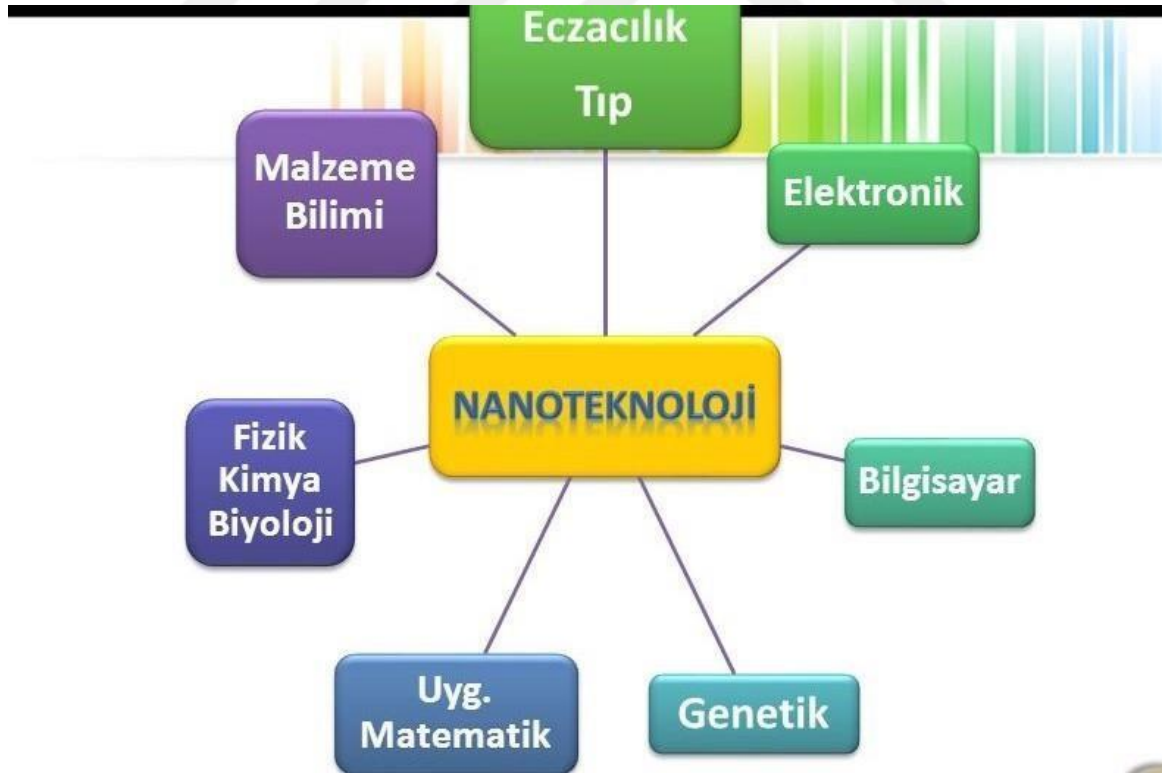
ABSTRACT

In this study, 4 different curcumin iron nanoparticles (Kur@FeNP) in different molarities were synthesized by green synthesis method using curcumin active ingredient. Since Kur@FeNP1 has the best magnetic property, the studies continued on the characterization of Kur@FeNP1. The structural, morphological and optical properties of these NPs were characterized using UV-Vis, FTIR, XRD, SEM, TEM, EDX and Zeta potential. Although the sizes of the synthesized nanoparticles vary, it was determined to be 18 nm in average. Appropriate dose concentrations were determined in the neuroblastoma (SH-SY5Y) cell line to determine the neurodegeneration (H₂O₂) of Kur@FeNPs in vitro. Cytotoxic value was determined at 300 µM H₂O₂ concentration (LD50). In order to determine the effects of Ku@FeNPs on cell viability in the presence of H₂O₂, SH-SY5Y cells were treated with Ku@FeNPs in the concentration range (250-1.90 µg/ml) in the presence of LD50 (300 µM) H₂O₂. It has been observed that all these concentrations provide a neuroprotective effect against 300 µM H₂O₂. However, (Emax) Ku@FeNPs appear to have the most effective neuroprotective effect against oxidative stress-induced neurodegeneration at 250 µg/ml. This indicates that it has the capacity to strongly detoxify H₂O₂. TAS and TOS commercial kits were used as oxidative stress markers against H₂O₂ in the cell line. In antioxidant activity (TAS) studies, the highest increase in Kur@NPs in SH-SY5Y cell line compared to other group concentrations was Kur@NP1 250 µg/ml, Kur@NP2 250 µg/ml, Kur@NP3 250 µg/ml, Kur An increase in antioxidant levels was observed at the concentrations of @NP4 250 µg/ml and Curcumin 250 µg/ml. When the total oxidant status of SH-SY5Y cell lysates is examined (TOS); Among the groups treated with H₂O₂, it was determined that Kur@NP1 250 µg/ml nanoparticle showed the greatest decrease in total oxidant level.

Keywords: Green synthesis, nanoparticle, H₂O₂, oxidative stress, SH-SY5Y, curcumin.

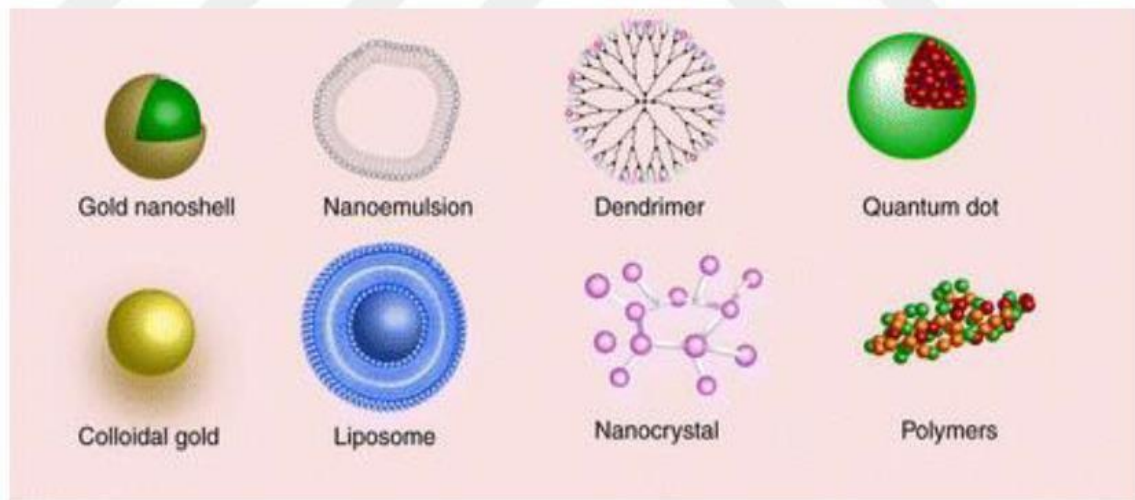
1. GİRİŞ

Nanoteknoloji, biyosentetik ve çevre dostu olarak kullanılan en önemli ve hızla büyüyen araştırma alanlarından biridir. Son yıllarda, nano materyallerin gelişimi fizik, kimya, biyotıp, optik, elektronik ve kataliz gibi birçok alanda potansiyel uygulama nedeniyle büyük ilgi görmektedir (Sarkar and Sil 2014). Nanoteknoloji, madde yapısının atomik ve moleküler boyutta oluşan değişimler ile fiziksel ve kimyasal olarak yeni ve farklı özelliklerin ortaya çıkarılması ile fizik, kimya, biyoloji gibi temel alanlarda kullanım açısından avantajlı ve benzersiz özellikteki yapıların ortaya çıkarılmasını sağlamaktadır. Başka bir ifadeyle; nanometre ölçekli yapıların analizi, nano hassasiyette cihazların geliştirilmesi, imalatı, tasarımı, sentezi, karakterize edilmesi ve uygulamasıyla ilgili bir bilim dalıdır (Kut ve Güneşoğlu 2005).



Şekil 1.1. Nanopartiküllerin bazı kullanım alanları (Nalcı, 2017)

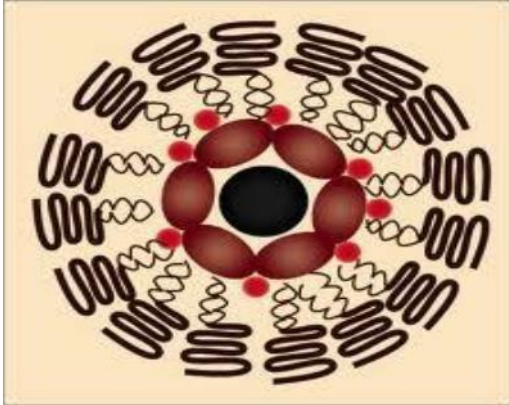
Bu nanomalzemelerin birçok çalışmayı motive etmesinin nedeni, yüksek termal ve elektrik iletkenlikleri gibi sergilenen olağanüstü özellikleri, katalitik aktivite ve biyouyumluluk göstermeleridir. Bu da morfolojinin optimizasyonunu ve malzemelerin boyutunun dağılımını, belirtilen özelliklere göre koşullandırır. Spesifik olarak demir oksit nanopartikülleri, hidrotermal, solvotermal, elektrotermal ve birlikte çökeltme yöntemi gibi birçok sentez metodolojisi rapor edilmiştir, bu metodolojilerde sıcaklık, PH, yüzey aktif cismi konsantrasyonu ve azaltıcı faktör ajanlar olarak ifade edilebilir (Gonçalves et al. 2019). NP'lerin boyutları çok küçüktür (<100 nm) ve yüzey / hacim oranı çok yüksektir. NP'ler fiziksel, mekanik, optik, manyetik, elektronik, algılama dahil olmak üzere büyüleyici özellikleri nedeniyle bilim camiasının özel ilgisini çekmiştir ve toplu muadillerine göre birçok yönden önemli ölçüde farklılık göstermektedir (Naz et al. 2019). NP'lerin bu geniş yelpazedeki uygulamaları benzersiz biyolojik, kimyasal ve fiziksel özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bu özellikler; yüksek kararlılık, yüksek yüzey alanı ve küçük bant aralığı gibi önemli faktörlerdir. Şu anda, mikroorganizma, bitkiler ve alg gibi farklı biyolojik kaynaklar kullanılarak NP'lerin biyofabrikasyonunda büyük gelişmeler kaydedilmiştir. NP'lerin biyosentezi çevre dostu, enerji tasarruflu, toksik değildir ve pahalı kimyasallara ihtiyaç duymaz (Sharma et al. 2019). Son yıllarda, benzersiz özellikleri ve sayısız alandaki faaliyetleri nedeniyle nanomalzemelere karşı artan bir ilgi vardır. Nanomalzemelerin bu değerli yetenekleri, araştırmacıları yeni materyaller geliştirmek için yöntemler aramaya itmiştir.



Şekil 1.2. Nanopartiküllerin örnek yapıları (Hall et al. 2007)

Şimdiye kadar yapılan araştırmalar ışığında, farklı kompozisyonlar ve kristal yapılar ile çok çeşitli istisnai morfolojilerde çok sayıda farklı malzeme sentezlendi.

Geçiş metal oksitleri ile hazırlanan nanomalzemeler temel olarak fiziksel yöntem olarak yukarıdan aşağıya ve hem fiziksel hem de kimyasal yöntem olarak aşağıdan yukarıya olmak üzere iki ana yolla üretilir. Yukarıdan aşağıya, neredeyse malzemeleri toz haline getirmek kadar basittir. Bu küçültme prosedürü, litografi veya ilgili teknikler kullanılarak gerçekleştirilebilir. Yine de yukarıdan aşağıya yöntemin atom ölçeğinde toplanan düzensiz ve pürüzlü parçacıklar, tekrarlanamayan prosedürler ve istenen boyuttaki parçacıklar üzerinde zorlukla kontrol gibi bazı kısıtlamaları vardır (Niederberg and Pinna 2009). Tersine, aşağıdan yukarıya tekniği kullanılarak kristalitin boyutu ve şekli atomlar veya moleküller veya nanoparçacıklar gibi yapı taşları tarafından kontrol edilebilir (Niederberg and Pinna 2009). Ayrıca aşağıdan yukarıya tekniği, temelde katı-faz, çözelti-fazı ve buhar-fazı sentezi olarak adlandırılan çok çeşitli farklı yöntemlere sahiptir.



Şekil 1.3. Nano boyutta Fe_3O_4 (Sakallıoğlu 2013)

Yeşil sentezde çeşitli organizmalar, kararlı ve iyi işlevselleştirilmiş nanoparçacıkları üretmek için, çevre dostu, sürdürülebilir ve toksik olmayan öncüler olarak hareket eder. Bunlar arasında bakteri, aktinomisetler, mantarlar, maya, virüsler vb. yer alır (Saif et al. 2016). Bunlar arasında bitki özleri ile sentez, reaksiyon süresini azaltması ve hücre yapısını koruyarak daha fazla kontaminasyon riskini azaltması gibi birçok avantaj sağlamıştır.

Bu nedenle, çevre dostu, uygun maliyetli ve daha az toksik nanopartikül sentezleme yöntemine artan bir talep olduğundan, yeşil sentezin geleneksel yöntemlere uygun bir alternatif aday olduğu önerilmektedir (Devatha et al. 2016).

Ayrıca Yeşil sentez ile sentezlenen nanopartiküller ucuz ve ekonomiktir ve bilimde birçok uygulamaya sahiptir. Bitki özleri birçok farklı biyomolekül açısından zengin bir kaynak olduğundan, Fe@NP sentezi sırasında bitki özlerinin eklenmesi daha farklı avantajlar sağlar (Jin et al. 2018). Bitki özlerinde bulunan ketonlar, aldehitler, polifenoller, kafein, izoverbaskozitler ve karbonhidratlar gibi biyoaktif bileşikler metal iyonları ile kaplayıcı görevi görerek çeşitli şekil, boyut ve kimyasal özellikler kazandırır. Her bitkinin kendine özgü fitokimyasalları vardır ve bu nedenle farklı bitkiler kullanılarak farklı fizikokimyasal özelliklere sahip nanopartiküller üretilir (Ebrahimezhad et al. 2018). Bitki özü aracılığıyla metal ve metal oksit Np'ler oldukça kararludur ve bu kararlılık onların uzun bir süre bozulmadan kalmasını sağlar. Bitki türevleri, nanoparçacık üretimi sürecinde ikili bir rol oynar; hem indirgeyici hem de stabilize edici ajanlar olarak işlev görürler ve böylece metalik tuzları nanopartiküllere indirgerler ve stabilizatör olarak hareket ederek sentezlenen nanopartiküllerin agregasyonunu engellerler. Her bir ekstraktta indirgeyici ve stabilize edici ajanların çeşitli konsantrasyonu ve bileşimi bulunur, bu nedenle biyojenik fabrikasyon nanoparçacığının özellikleri ve özüt bileşimine bağlıdır (Alam et al. 2019).

Demir metalik nanopartiküller arasında, demir nanopartiküller (FeNP'ler), çevre kirliliği ile mücadele edebilecek umut verici avantajlara sahiptir. Çevresel iyileştirmede nano ölçekli sıfır değerli demire (nZVI) olan ilgi, geniş bir yüzey alanı/hacim oranına sahip nano ölçekli demirin reaktivitesi nedeniyle artmaktadır (Saif et al. 2016). Demir nanopartiküller (FeNP'ler) genellikle yüksek maliyetli ve çevresel olarak toksik olan agregasyonlu sodyum borohidrit kullanılarak sentezlenir. Bu nedenle, en önemli nokta, çevreye zarar vermeyen yaklaşımlar kullanarak NP tasarlamaktır. Bunlar, çevredeki biriken toksisite ve kirliliğe karşı çözümler sunar (Sharma et al. 2019). Demir oksit nanoparçacıkları, klinik tıp, biyotıp, malzeme ve mühendislik, foto kataliz ve biyoremediasyon gibi etkileyici uygulamalarda kullanılabilmesi nedeniyle oldukça etkileyicidir (Mirza et al. 2018). Ayrıca Demir nanopartiküller, içsel antifungal ve antibakteriyel potansiyele de sahiptir. Antibakteriyel etkinliği nedeniyle, demir nanopartiküller bakteri direnciyle mücadele için etkili bir çözüm sunar (Alam et al. 2019). Bunun yanı sıra bazı araştırmalarda demir oksit nanoparçacıklarının önemli mahsullerin büyümesi, verimi ve kalitesi üzerindeki etkisi rapor edilmiştir (Tovar et al. 2020).

Demir oksit nanopartiküller'in (FeO-NP'ler) önemli özelliklerinden birisi de kanser tedavisi için ilaç dağıtımı yoluyla biyomedikal, biyomühendislik ve farmasötik endüstrilerinde geniş uygulamaları olan birçok araştırmacının çok büyük bir ilgiyle ayırt edilmiştir (Aisida et al. 2020).

Sentezlenen nanoparçacıklar, esasen, nanoparçacıkların istenen özelliklerde elde edilip edilmediğini netleştirmek için analitik tekniklerle karakterize edilir. Nanopartiküllerin karakterizasyonu, belirli bilgilere sahip olmak için yapı, morfoloji ve bileşime odaklanır. Karakterizasyon için yaygın olarak kullanılan teknikler vardır. Elektron mikroskobu, nanoparçacıkların yüzey topografisini, morfolojisini, boyutunu ve şeklini tespit etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Taramalı elektron mikroskobu, yüzey topografisi analizi sağlar, ancak atomik ölçek bilgisi vermek için çözünürlük eksikliği vardır.

Bu nedenle nanopartiküller hakkında boyut, şekil, kompozisyon gibi daha detaylı bilgilere ulaşmak için transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılmaktadır. SEM ve TEM ile birlikte, temel bir element analizine sahip olmak için enerji dağılımlı x-ışını spektroskopisi (EDX) kullanılabilir. Nanoparçacıkların kristal yapısı ve kimyasal bileşimi bilgisine ulaşmak için X-Ray kırınım (XRD) analizi de uygulanmaktadır. Malzeme, x-ışını desenlerinden elde edilen karakteristik kafes yay setleri kullanılarak da tanımlanabilir. Ek olarak, kristalit boyutu Debye- kullanılarak XRD ile belirlenebilir (Loiha et al. 2009).

Nanoparçacıkların yüzey özelliklerinin araştırılması için X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) uygulanmaktadır. Yüzeyden yayılan fotoelektronlar, malzemedeki elementlerin kimyasal ve elektronik durumunu ve ayrıca konsantrasyonlarını ve yüzey dağılımlarını ortaya çıkaran belirli enerji seviyelerine sahiptir. Bu nedenle, XPS, nanoparçacıkların yüzey yapısı hakkında hem nicel hem de nitel bilgi sağlaması nedeniyle oldukça faydalıdır. Yüzey alanı, gözenek hacmi ve boyutu ile malzeme bilgisinin gözenekliliği, Brunauer-Emmett-Teller (BET) izotermi gibi adsorpsiyon-desorpsiyon teknikleri ile elde edilebilir.

Ayrıca, endüktif olarak birleştirilmiş optik emisyon spektroskopisi (ICP-OES), Raman spektroskopisi, kızılötesi spektroskopisi (IR) ve tarama tünelleme mikroskopisi (STM), nanoparçacıkların daha fazla karakterizasyonu için temel analiz olarak kullanılabilir.

Hidrojen peroksit H_2O_2 eşleşmemiş elektron içermez, ancak $HOCl$ ve $OH\bullet$ gibi daha reaktif radikallerin üretimini tetikleme kabiliyeti nedeniyle ROS terimine dahil edilir (Nordberg and Arner 2001). H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ 'nin SOD enzimi tarafından katalizlenmesinden oluşur. Biyolojik zarlardan geçme yetenekleri nedeniyle hücreler için de önemlidir. H_2O_2 DNA'nın kendisi ile reaksiyona girmez ancak Fenton Reaksiyonu ile hidroksil radikali üreterek DNA'ya zarar verebilir (Halliwell et al. 2000). Süperoksit radikali ayrıca hidroksil radikali oluşturmak için H_2O_2 ile reaksiyona girebilir (Haber 1934). H_2O_2 ayrıca peroksizomlarda ksantin oksidaz ve NADPH oksidaz gibi çeşitli enzimler tarafından üretilir (Dupuy et al. 1991). H_2O_2 sadece zararlı etkilere sahip olmakla kalmaz, aynı zamanda hücre içi sinyal yollarında da önemli bir role sahiptir (Rhee 1999). H_2O_2 , katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler olmak üzere üç ana antioksidan tarafından oksijene ve iki molekül suya katalize edilir (Mates et al. 1999).

Kurkumin, *Curcuma longa* L. (zerdeçal, hint safranı) rizomlarından elde edilen kurkumin sarı-turuncu renkte, yağda çözünebilir bir bileşiktir. Moleküler formülü $C_{21}H_{20}O_6$ olan Kurkumin dimetilsülfoksit, etanol ve asetonunda çözünebilir ve moleküler ağırlığı 368,37 g/mol olan sarı-turuncu renginde bir tozudur. Aynı zamanda, erime noktası da $183^\circ C$ dir (Iqbal et al. 2003). Geleneksel tıpta anti-enflamatuar özelliğinden dolayı yüzyıllardır kullanılmaya devam edilmektedir (Sharma et al. 2005) Yapılan bazı araştırmalara göre başlangıçta Anti-tümoral, anti-enflamatuar, antioksidan ve E vitaminine kıyasla 8 kat daha güçlü antioksidan özelliğine sahip olduğu bildirilmiştir.(Amani et al. 2010; Ak ve Gülçin 2008). Farklı miktarda karbonhidrat, protein, yağ, lif, kurkuminoid (kurkumin), esansiyel yağ ve rezin içermektedir. Coğrafi bölgeye bağlı olarak kurkuminin turmerikteki içeriği %2-9 arasında değişebilmektedir (Esatbeyoglu vd. 2012).

Son yıllarda yapılan araştırmalar Parkinson, Alzheimer gibi merkezi sinir hastalıklarında kurkuminin koruyucu etkisi üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda Alzheimer hastalığının belirteci olan amyloid beta proteininin birikimi ve hastalık yapıcı maddelerin azaltılmasında kurkuminin faydalı etkilerinden bahsedilmiştir (Wang et al. 2005; Wang et al. 2009). Uğuz vd. (2016) Tarafından yapılan bir çalışmada, güçlü antioksidan etkiler gösteren maddenin oksidatif hasarın önlenmesinde terapötik etkisi olabileceğini vurgulamışlardır.

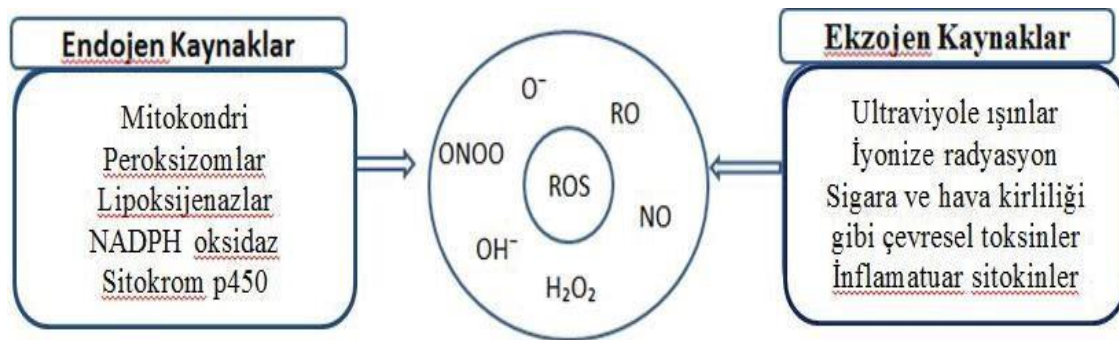


Şekil 1.4. Kurkumin

Turmerik ailesinden olan zencefil önceleri Çin ve Hindistan'da birçok hastalığının tedavisinde alternatif ilaç olarak kullanılmıştır (Kuttan et al. 1985). Tumerik geleneksel olarak Hindistanda yara ve inflamasyonlarla ilişkili hastalıkların tedavisi için kullanıldığı bilinmektedir (Lodha and Bagga 2000). Kurkuminin beyin mikrozomlarında sodyum ve potasyum ATPase aktivitesi üzerinde etkileri vardır (Kaul and Krishnakanth, 1994). Hipokampuste antioksidan, antiapoptotik, antienflamatuvar, immunomodülatör ve nöroportektif etkilere neden olduğu bildirilmiştir (Cole et al. 2007; Sumanont et al. 2006). Kurkuminin yüksek konsantrasyonları direkt olarak serbest radikallerin süpürülmesini aktive ederken, daha az konsantrasyonlar hücreler içerisinde bir ya da daha fazla sinyal transfer yolağını aktive edebilir ya da bloke edebilmektedir.

Kurkuminin ekstraselüler regüle kinazlar (Duvoix et al. 2005; Suh et al. 2007) ve protein kinaz C dahil olmak üzere tümör hücrelerinde büyüme faktörü aracılı sinyal yollarını engellediği gösterilmiştir (Lin 2007). Kurkuminin nöronlar üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar hem oksijenaz-1 gibi sitoportektif proteinlerin ekspresyonunu uyarabileceğini bildirmektedir (Scapagnini et al. 2006).

Oksidatif Stres: Canlıların antioksidan ve oksidan dengesinin korunması ve sağlıklı bir yaşam döngülerini devam ettirebilmesi için gereklidir. Serbest radikaller metabolik yolda hücre içi üretilbildiği gibi aynı zamanda güneş ışınları, sigara, çevre kirliliği, radyasyon gibi dış kaynaklar bu oluşuma neden olmaktadır (Sarma et al. 2010). Serbest radikaller, hücre ve hücre zarının temel bileşeni olan biyopolimerler ki başta lipitler, proteinler, nükleik asitler olmak üzere reaksiyona girme kapasitesinde oldukları için organizma üzerinde ciddi zararlar oluşturabilmektedir. Bunlar; proteinlerle kovalent bağ oluşturabildikleri için enzim etkinliklerinde de değişiklik yapabilmektedirler. Beyin dokusu, merkezi sinir sistemi lipid bakımından zengin oluşu sebebi ile oksidatif hasara oldukça duyarlı yapılardır. Ayrıca hücrelerin zar yapısında bozulmaya, koenzimlerin aktivitelerini yavaşlatıp, sinir iletisini azaltırlar, DNA mutasyonlarını oluştururlar, lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedirler. Bu sebeple; serbest radikallerin artışı veya antioksidan savunma sisteminin yetersizliği organizmada oksidatif stresin oluşmasına sebebiyet vermektedir (Lobo et al. 2010; Valko et al. 2007). Oksidatif stresin, Kanser, diyabet, kardiyovasküler bozukluk, Alzheimer, immün sistem bozuklukları, Parkinson, Huntington, Amyotrofik lateral skleroz, immün sistem bozuklukları gibi birçok hastalığın oluşumuna neden olduğu bilinmektedir (Pisoschi and Pop 2015). Ayrıca, oksidatif hasarın ilerlemesiyle yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı dejeneratif hastalıkların (katarakt, ateroskleroz) ortaya çıkmasına neden olduğu düşünülmektedir (Pelcival 1998).



Şekil 1.5. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Kaynakları (Aslankoç vd. 2019)

Organizmanın normal fizyolojik davranışında ROS düzeyi düşük konsantrasyonlar da antioksidan savunma sistemi tarafından dengelenir. Ancak bazen ROS ve antioksidan savunma sistemi arasındaki denge bozulur. ROS ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik çeşitli nedenlerden kaynaklanabilir: endojen ve eksojen bileşiklerin neden olduğu artan

ROS üretimi; düşük moleküler kütleli antioksidanların tüketimi; aktif olmayan antioksidan enzimler; antioksidan seviyesini düşürür. Oksidatif stres, ROS ve antioksidanlar arasındaki bozulan dengenin önemli biyomoleküller için zararlı hale geldiği bir durumdur (Kovacic and Jacintho 2001; Valko et al. 2001). Artan ROS seviyesinin sonuçları değişir ve ROS üretiminin seviyesine ve konumuna, antioksidan sistemlerin etkinliğine ve reaksiyona girdikleri biyomoleküllere bağlıdır (Lushchank 2014). Aşırı ROS üretimi, anormal fonksiyonlara neden olan lipidler, proteinler ve DNA için zararlı olabilir. Bu nedenle, oksidatif stresin kanser ve yaşlanma gibi çok sayıda patofizyolojik durumda rol oynadığına işaret edilmektedir (Sullivan and Chandel 2014). Canlı organizmaların ROS'un faydalı rollerini kullanmak için ROS seviyesini dengelemesi çok önemlidir. Bu denge “redoks düzenlemesi” (Droge 2002) adı verilen mekanizmalar tarafından sağlanır. Kanser ayırt edici özellikleri göz önüne alındığında, RAS, PI3K, AKT/PKB ve HER2 gibi birçok gendeki mutasyonların yanı sıra p53, RB, ATM gibi genlerdeki mutasyonlar redoks regulasyonunda dağılıma neden olur. Bu nedenle oluşan redoks durumu apoptozu inhibe ederek proliferasyon, anjiyogenez ve metastaza yol açar. Hep birlikte ele alındığında, tümörjenez için redoks homeostazı ve sinyalizasyon gereklidir (Hornsveld and Dansen 2016).

Lipid Hasarı; membran lipidlerinin ROS saldırısına en duyarlı kısmı, çok sayıda çift bağın bulunduğu çoklu doymamış yağ asitleridir (Siems et al. 1995). Lipid peroksidasyonu, ROS'un lipidler içindeki çoklu doymamış yağ asitlerine saldırdığı çok adımlı bir süreçtir (Yin et al. 2011). Lipid peroksidasyonu üç adımdan oluşur: başlatma, yayılma ve sonlandırma (Girotti 1998). Başlatma adımında, $\text{OH}\cdot$ radikalleri gibi ROS, karbon merkezli lipid radikalini ($\text{L}\cdot$) oluşturan hidrojeni soyutlar. Yayılma adımında, $\text{L}\cdot$, bir lipid peroksil radikali ($\text{LOO}\cdot$) oluşturan O_2 ile reaksiyona girer, ayrıca yeni bir $\text{L}\cdot$ ve lipid hidroperoksit (LOOH) oluşumuna neden olan başka bir lipitten bir hidrojeni soyutlar. Yeni bir $\text{L}\cdot$ 'nin üretilmesi ile başka bir $\text{L}\cdot$ 'nin üretildiği zincirleme reaksiyonuna ilerletir. Sonlandırma adımında, E vitamini gibi antioksidanlar $\text{LOO}\cdot$ 'ye bir hidrojen atomu bağışlar ve daha sonra radikal olmayan ürünler oluşturan başka bir $\text{LOO}\cdot$ ile reaksiyona girebilen bir E vitamini radikali oluşur (Kanner et al. 2014). Lipid hidroperoksitler (LOOH), lipid peroksidasyonunun birincil ürünleri, malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (4-HNE) ise lipid peroksidasyonunun ikincil ürünleridir (Ayala et al. 2014). MDA, enzimatik veya enzimatik olmayan işlemler yoluyla araşidonik asit ve çoklu doymamış yağ

asitlerinden (PUFA'lar) ikincil bir yan ürün olarak üretilir. MDA enzimatik olarak metabolize edilebilir. Bununla birlikte, bazı durumlarda MDA, biyolojik hasarlara neden olan proteinler veya DNA ile eklentiler yapar. Histidin, lisin ve arginin gibi temel amino asitler, MDA'nın elektrofilikliği nedeniyle MDA'ya karşı hassastır. MDA ve serbest amino asitler arasındaki bu reaksiyonlardan Schiff-baz eklentileri üretilir (Pizzimenti et al. 2014), hasar ve mutasyon DNA'nın en hayati nedenlerindendir. MDA-DNA eklentileri, nükleotid eksizyon onarımı (NER) 20 yolu ile onarılır. Bununla birlikte, MDA-DNA eklentileri, onarım sistemi çalışmadığında iplik kopmalarına, nokta ve çerçeve kayması mutasyonlarına, hücre döngüsü durmasına ve apoptoz indüksiyonuna neden olur. Örneğin M1dG, insan ve kemirgen genomik DNA'sında bulunan guanine ekzosiklik bir eklentidir. M1dG, DNA replikasyonu sırasında yanlış kodlanır ve baz çifti değişimine neden olur ve çerçeve kayması mutasyonları (VanderVeen et al. 2003). MDA-DNA eklentilerinin neden olduğu bu değişiklikler kansere ve diğer genetik hastalıklara yol açabilir (VonderVeen et al. 2003; Marnett 1999). MDA, görselleştirmeyi mümkün kılan tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girme yeteneğinden dolayı lipid peroksidasyonunun bir biyobelirteç olarak kullanılır (Esterbauer 1990).

Protein Hasarı; ROS, amino asit oksidasyonuna, peptit zincirinin parçalanmasına ve proteinlerin çapraz bağlanmasına yol açabilir. Bu nedenle, bu değişiklikler proteinlerin proteazlar tarafından bozulmasına neden olabilir (Kelly and Mudway 2003; Butterfield 1998). Amino asit yan zincirleri, özellikle proteinlerin sistein ve metionin kalıntıları, $O_2^{\bullet-}$, $OH^{\bullet}$ ve H_2O_2 gibi ROS'a karşı daha savunmasızdır (Dean et al. 1997). Bu kalıntılara ROS saldırısının bir sonucu olarak, konformasyonel değişikliklere, protein açılmasına ve bozulmasına neden olabilir (Davies 1997). Aktif bölgelerinde metal içeren enzimler oksidasyona daha duyarlıdır. Oksitlendiğinde, enzimler artık işlev göremez ve aktiviteleri inhibe edilir (Stadtman 1990). ROS amino asitlere saldırdığında karbonil grupları üretilir. Proteinlerdeki karbonil grupları, ROS aracılı protein oksidasyonunun bir belirteci olarak belirtilir (Chevion et al. 2000). Artan protein karbonil seviyesi, Alzheimer hastalığı (Smith et al. 1991), diyabet (Jones and Hothersall 1993) ve yaşlanma (Oliver et al. 1987) gibi çok sayıda hastalıkta değerlendirilmiştir.

DNA Hasarı; aşırı ROS üretimi, nükleik asitlere zarar verebilir. ROS, çeşitli değişikliklere neden olan DNA'ya saldırısı nedeniyle mutajenik olarak bilinmektedir. DNA onarım

sistemleri DNA'yı yenileyemediğinde, mutasyon, replikasyon sırasında yanlış baz eşleşmesinden kaynaklanır. ROS'un işlevlerinden biri, DNA hasarının neden olduğu apoptozdur. ROS'un ayrıca mitokondriyal DNA hasarı nedeniyle yaşlanma sürecine katkıda bulunduğu öne sürülmüştür (Nordberg and Arner 2001; Cortopassi and Wang 1999). Buna karşılık, SOD ve CAT mimetiklerinin *C. elegans*'ın ömrünü uzattığı bildirilmiştir (Melav et al. 2000). ROS, çoğunlukla mitokondride üretilir. Bu nedenle mitokondriyal DNA, nükleer DNA'ya kıyasla ROS'un neden olduğu değişikliklere daha fazla maruz kalmaktadır. OH• radikali, deoksiriboz şeker omurgası, pürin ve pirimidin bazları gibi DNA'nın tüm bileşenleri ile reaksiyona girme yeteneğine sahiptir. ROS saldırısı durumunda, modifiye edilmiş pürin ve pirimidin bazı yan ürünleri ve DNA-protein çapraz bağları üretilir. Pirimidine OH• radikal saldırısı, timin glikol, urasil glikol ve 5-hidroksideoksi üridin gibi pirimidin eklentilerine neden olur. OH• radikali purine saldırdığında, 8-OHdG ve 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin oluşur. Bu eklentiler, genomda eşleşmeyen eşleşmelere ve nükleotid yer değiştirmelerine neden olur. Örneğin, 8-OHdG, özellikleri nedeniyle mutajenez, karsinogenez ve yaşlanmada rol oynar ve oksidatif DNA hasarının bir biyobelirteci olarak bilinir.

Oksidatif stres, kanser, nörojeniz, kardiyovasküler hastalıklar, katarakt, romatoid artrit ve yaşlanma gibi çok sayıda patolojik durumda yer alır (Phaniendra et al. 2015). Oksidatif stresin karsinogenezde ve kanser insidansında rol oynadığı bilinmektedir. DNA'da serbest radikaller tarafından indüklenen kimyasal modifikasyonlar mutajenik olarak kabul edilir ve kanserin ilerlemesinde rol oynar (Goldstein and Witz 1990; Dreher and Junadn 1996). Oksidatif stresin hücre proliferasyonu bağlamında çeşitli sinyal yollarını etkilediği bildirilmiştir (Soliman et al. 2014). Örneğin, epidermal büyüme faktörü reseptörü sinyal yolu (EGFR), mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK'ler), fosfatidil inositol 3-kinaz (PI3K) ve protein kinaz C'nin oksidatif stres sinyal yollarından etkilendiği bilinmektedir (Valko et al. 2007). ROS ayrıca apoptozda önemli olan p53 ekspresyonunu da indükler. Bu nedenle, oksidatif stresin neden olduğu gen ekspresyonu, hücre proliferasyonu ve apoptozdaki çeşitli değişiklikler, tümörün başlaması ve ilerlemesinde bir işleve sahiptir (Matsuzama and Ichijo 2008; Barrena 2012). Timidin fosforilaz enzimi, laktoperoksidaz enzimi, inflamasyon ve matriks metalloproteinaz meme kanserinde oksidatif stresi indükleyen mekanizmalardan bazılarıdır. ROS düzeyinin artmasının yanı sıra meme kanseri, antioksidan durumundaki değişikliklerle de ilişkilidir.

Oksidatif stres, yaşlanma ve nörojenez, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet gibi yaşa bağlı hastalıklar dahil olmak üzere çok sayıda patolojik durumda rol oynar. Ek olarak, sayısız araştırma, CR'nin kanser de dahil olmak üzere oksidatif stresle ilgili bu hastalıklara karşı korunmak için bir yöntem olabileceğini öne sürdü. CR'nin önleyici etkileri ile ilişkili olduğu öne sürülen üç mekanizma vardır; CR, ROS oluşumunu azaltabilir, antioksidan savunma sistemini indükleyebilir veya oksitlenmiş makromoleküllerin dönüşümünü artırabilir. CR'nin genellikle oksidatif stresi inhibe ettiği ve antioksidan kapasiteyi arttırdığı bilinmesine rağmen, bu mekanizmalar karmaşık ve birbiriyle ilişkilidir. Örneğin, CR bir antioksidan enzimin aktivitesini azaltabilir. Ancak, bu azalma ROS seviyesinin azalmasıyla ilişkili olabilir. Ayrıca, CR'nin cinsiyet, tür, kullanılan doku türleri, incelenen ROS türleri ve antioksidanların yanı sıra CR süresi gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak oksidatif stres durumu üzerindeki etkilidir. MDA, lipidlere radikal saldırıyı takiben peroksidasyonun ikincil bir yan ürünü olarak üretilir ve TBA ile reaksiyona girme yeteneğinden dolayı yaygın olarak lipid peroksidasyonunun bir biyobelirteci olarak kullanılır (Ayala et al. 2014). Antioksidanlar, serbest radikallere ve ROS'a karşı bir detoksifikasyon sistemi görevi görür. Katalaz, oksidatif hasara karşı birincil savunma hatlarından biridir. Çok sayıda çalışma, farklı tür ve miktarlarda CR'nin CAT aktivite düzeyi üzerindeki etkisini bildirmiştir. MDA seviyesine benzer şekilde, CR'nin etkilerini gösteren CAT aktivitesi verileri de çeşitli kısıtlama protokolleri nedeniyle tutarlı değildir. Bu çalışmalar incelenen doku ve kullanılan türler açısından da farklılık göstermiştir. Örneğin, 6 ay boyunca yüzde 30 CR uygulamasının karaciğer CAT aktivitesi üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı bildirildi (Schloesser et al. 2015). Benzer şekilde, başka bir çalışma, sıçanlara 17 hafta boyunca yüzde 30 CR uygulandığında CAT aktivitesi üzerinde anlamlı bir etki olmadığını bildirirken, aynı çalışmada başka bir artmış CAT aktivitesi rapor edilmiştir (Dutra et al. 2012). SOD, antioksidanların savunma sisteminin bir parçası olan başka bir enzimdir. Çok sayıda çalışma, farklı tip ve miktarlarda CR'nin SOD aktivite seviyesi üzerindeki etkisini bildirmiştir. CR'nin etkilerini gösteren SOD aktivitesi verileri, çeşitli kısıtlama protokolleri nedeniyle de tutarlı değildir. Örneğin, Doğuç ve diğerleri (2013) tarafından yapılan bir çalışma, 10 hafta boyunca yüzde 60 CR uygulanan sıçanların eritrositlerinde SOD aktivitesinin arttığını gösterirken (Dogu vd. 2013). Stanković et al. (2013) karaciğerinde SOD aktivitesinin azaldığını bildirmiştir. Sıçanlara beş hafta boyunca yüzde 50-60 CR uygulandı (Stankovic et al. 2013). Ayrıca, sıçanlara alternatif gün açlığının uygulandığı IF'nin etkilerinin, AL ile beslenen farelere kıyasla böbrekteki SOD

aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir. CR'nin SOD aktivitesi üzerinde değişken etkileri vardır. Bu farklılıklar, incelenen doku ve kullanılan türlerdeki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Glutasyon bir tripeptittir ve en hayati antioksidanlardan biridir. Çok sayıda çalışma, farklı tip ve miktarlarda CR'nin GSH düzeyi üzerindeki etkisini bildirmiştir. GSH'nin CR'nin etkilerini gösteren verileri de çeşitli kısıtlama protokolleri nedeniyle tutarlı değildir. Bununla birlikte, çalışmaların çoğu CR uygulamasından dolayı önemli bir değişiklik göstermemektedir. Örneğin, Doğuç vd. (2013) çalışması, 10 hafta boyunca yüzde 60 CR uygulanan sıçanların eritrositlerinde GSH düzeyinde önemli bir değişiklik göstermedi (Doğuç vd. 2013). Benzer şekilde, Stankoviç et al. (2013) de karaciğer örneklerinde beş hafta boyunca yüzde 50-60 CR'nin önemli bir etkisi olmadığını bildirmiştir (Stankovic et al. 2013).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kátaı et al. (2016), yaptıkları çalışmada, H_2O_2 'nin neden olduğu oksidatif stresin ardından nöronal SH-SY5Y hücre hattında O-GlcNAc'taki dinamik değışimi araştırmışlardır. Hücre içi O-GlcNAc'ın 30 dakika boyunca 0,5 mM H_2O_2 ile muameleden sonra hızla yükseldiğini, pik seviyeye ulaştığını, sonra bazal seviyeye yakın düştüğünü vurgulamışlardır. Ayrıca, oksidatif stres sonrası O-GlcNAc ile tau proteininin fosforilasyonu arasındaki karşılıklı ilişki doğrudan gösterilmiş ve bu bulgular nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinin hücrel stres adaptasyon mekanizmalarına bağı olabileceğini vurgulamışlardır.

Sarkar and Sil (2014) arkadaşının yaptıkları çalışmalarda; Fe_2O_3 NP'lerin (demir oksit nanoparçacıkları) son zamanlarda tıbbi görüntülemelerde ve endüstride de yaygın olarak kullanıldığını ve sonuç olarak, insanlar bu nanoparçacıklara her geçen gün daha fazla maruz kaldığını söylemişlerdir. Fe_2O_3 NP'lerin olumsuz etkisi daha düşük dozlarda o kadar önemli olmadığını, ancak daha yüksek dozlarda Fe_2O_3 NP'leri hücrelere önemli zarar verdiğini kanıtlamışlardır. Çalışma modeli olarak farelerin hepatositlerini kullanarak Fe_2O_3 NP'lerin indüklediği oksidatif stres ve sitotoksisiteye bağı hücre sinyal mekanizmasını araştırmışlardır. Ek olarak, bu patofizyolojide quercetin'in sitoprotektif etkisini de araştırmışlardır.

Zhang et al. (2010), geleneksel Çin tıbbi bitkisi *Rhodiola rosea* L.'den izole edilen aktif bir bileşik olan salidrostin (Sald), SHSY5Y insan nöroblastom hücrelerinde Ab-kaynaklı oksidatif strese karşı koruyucu etkilerini ve altta yatan mekanizmaları değerlendirmek için araştırmışlardır.

Khan et al. (2019) bir çalışmalarında SP-CUR'nin (SHH) yolunun baskılanması ve çift yönlü tümör-stromal hücre etkileşimini engelleyen onkolojik bir CXCR4/CXCL12 sinyal eksenı yoluyla tümör mikro ortamını hedeflendiğini göstermişlerdir.

İnsan nükleosit taşıyıcı genlerinin (DCK, Hcnt) yukarı regülasyonu ve ribonükleotid redüktaz alt birimlerinin (RRM1/RRM2) bloke edilmesi nedeniyle artan GEM alımı gözlemlenmiştir. Ek olarak, SP-CUR ve GEM'in birlikte tedavisi, kök faktörlerini koruyan pluripotensi düzenleyerek ve tümör küresi oluşumunu kısıtlayarak kanser kök hücrelerini hedeflediğini bildirmişlerdir. Ortotopik bir fare modelinde, pankreasta, tümör büyümesini ve metastazı azaltmak için GEM'i güçlendiren gelişmiş bir SP-CUR birikimi bulmuşlardır. Tümör dokularının analizi, tedavinin tümör stromasını (α -SMA, Desmin ve Hyluronik Asit) inhibe ettiğini ve Atomik Kuvvet Mikroskobu ile ölçüldüğü üzere hücre sertliğinde değişikliklere neden olduğunu göstermişlerdir. Buna, İmmünoiblotlama ve İmmünohistokimyas tarafından belirtildiği gibi SHH, Gli-1, Gli-2, Sufu ve NF κ B-65 gibi SHH sinyalleşmesinin anahtar hücre proteinlerinin değiştirilmesi eşlik ettiğini ve bu sonuçların, SP-CUR'nin pankreas kanseri tedavisinde gelecekteki klinik kullanım için büyük bir potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Büyüksü vd. (2015) obeziteye neden olan etkenlerden biri olan oksidatif stres, reaktif oksijen türleri ile hücrenin antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlikten ortaya çıkar. Obezitede artış gösteren ROT'lar hipotalamik nöronlar üzerinde etkili olarak, açlık ve tokluğun kontrolünde ve buna bağlı olarak vücut ağırlığının kontrolünde etkili olurlar. ROT arttığında, DNA, protein ve lipitlerin oksidasyonu yoluyla hücre zedelenmesi, nekroz ve apoptoz oluşur. Adipoz dokuda oksidatif stresin artışı obez kişilerde metabolik sendrom gelişmesine sebep olur. Diğer taraftan kalori kısıtlaması ve egzersiz sebebiyle kilo kaybı oksidatif stresi azaltır. ROT oluşumundan sorumlu enzim sistemleri ve antioksidan sistemlerin hücrede yerleşimi farklılık gösterse de mitokondri ROT oluşumunun en önemli kaynağı olup elektron transfer sisteminde, oksidatif fosforilasyon tepkimeleri sonucu oluşan ROT'lar, hücre sinyal mekanizması, hücre çoğalması ve farklılaşması gibi çeşitli fizyolojik olaylarda yer aldıklarını ve obezitede artan oksidatif stresin nedenlerini literatürlere dayalı olarak derlemede güncellemişlerdir.

Karademir vd. (2019) yaptıkları çalışmalarında; Wistar Albino cinsi erkek ratlara PTZ enjeksiyonundan yirmi dört saat sonra pasif kaçınma testi yapıldı ve daha sonra biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirme için beyin dokuları çıkarıldı. Hipokampal Cornu Ammonis 1 (CA1), CA3 ve dentat girus (DG) bölgeleri, nöronal hasar açısından histopatolojik olarak değerlendirmişlerdir.

Ayrıca, beyin dokularında oksidatif stres belirteçleri total antioksidan status (TAS), total oksidan status (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI) ölçüldü. Ayrıca ATX' in PTZ'nin neden olduğu nörotoksisiteye olan etkisini değerlendirmek için *in vitro* SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre kültürü gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak; Epileptik davranışlar değerlendirildiğinde, ATX, RC ve FMJ'yi etkilememiştir ($p > 0,05$). Bununla birlikte, ATX hem pasif kaçınma testinde bilişsel bozulmayı hem de hipokampüsteki nöronal hasarı azaltmıştır ($p < 0,05$). Ayrıca, ATX beyindeki hem TOS düzeylerini hem de OSI'yi düşürmüştür ($p < 0,05$). *In vitro* SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre kültüründe ATX' in *in vitro* nöronal canlılığı arttırdığını bildirmişlerdir.

Doğan vd. (2020) yaptıkları çalışmalarında; XTT hücre canlılığı deneyinde PTZ' nin neden olduğu nörotoksisiteyi değerlendirmek için kaptopril *in vitro* SH-SY5Y hücre kültüründe uygulandı. Hücre süpernatantlarındaki doku TOS konsantrasyonları otomatik test yöntemi ile ölçüldü. Analizin kalibrasyonu için hidrojen peroksit kullanıldı. Sonuç olarak; XTT hücre canlılığı sonuçları değerlendirildiğinde, kaptopril, SH-SY5Y hücre hattında nöronal canlılığı etkilemedi. Ayrıca, kaptoprilin TOS seviyeleri üzerinde de önemli bir etkisi olmadığını ($P > 0,001$) ve kaptoprilin, PTZ ile indüklenen SH-SY5Y hücre hattı nörotoksisitesinde sinir koruyucu etkiye sahip olmadığını bildirmişlerdir.

Ghanbari and Niasari (2015), yaptıkları çalışmada; $\text{CdS.Fe}_3\text{O}_4$ nano bir yüzey aktif madde içermeyen hidrotermal reaksiyonu kullanılarak sentezlemişlerdir. Bu sıcaklık, zaman ve molar oran olarak çeşitli parametrelerin etkisi büyüklüğü ve ürünün morfolojisi araştırmış, nano selüloz ilave edildiği ve nano yapılar ısı transferi ve dolayısıyla ürünü yavaşlatmak engellerin rolü hareket ayrışma işlemi sırasında uçucu hale getirmeye çalışılmış olduğunu bildirmişlerdir.

Veisi et al. (2015) yaptıkları bir çalışmada; Fe_3O_4 nanopartiküller amidoksim gruplarının aşılama ile yeni bir Fe_3O_4 /amidoksim (AO)/Pd Nano katalizör sentezini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada amidoksim (AO) aşılmasından önce, 2-siyanoetiltrioksolan ve Fe_3O_4 'ün birleştirilmesiyle hazırlanan 2-siyanoetil-fonksiyonelleştirilmiş Fe_3O_4 nanoparçacıkları, hidroksilamin ile muamele etmişlerdir. AO-aşılı Fe_3O_4 nanopartikülleri, Pd nanopartiküllerin elde edilmesi için bir platform olarak kullanmışlardır.

Sentezlenen nano parçacıkların yapılarının aydınlatılması için X-ışını kırınımı, TEM, SEM ve ICP teknikleri kullanılmıştır. Bu çalışmada katalizör olarak tercih edilen $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AO}/\text{Pd}$ Sonogashira reaksiyonları için fosfin içermeyen geri dönüştürülebilir heterojen katalizörü olarak kullanılmıştır. Yeni bir katalizör olarak kullanılan $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AO}/\text{Pd}$ yedi kez bir dış mıknatıs uygulanarak reaksiyon tekrarlanabildiğini gözlemlemişlerdir. Bu katalizör, iyi bir stabilite gösterdiği ve katalitik aktivitesinde sadece küçük bir azalma ile birkaç kez geri dönüştürülebildiklerini bildirmişlerdir.

Dadras et al. (2018) yaptıkları çalışmalarında; yeniden kullanılabilir bir katalizör olarak modifiye edilmiş manyetik Fe_3O_4 nanopartiküller üzerinde sabitlenmiş sağlam paladyum içeren yeni tip katalizör hazırlamışlar ve bu katalizörleri suyun varlığında Suzuki-Miyaura eşleşme reaksiyonlarında test etmişlerdir. Yaptıkları bu katalitik çalışmalarda aril halürler ve özellikle inaktif aril klorürler, organik çözücüler ve toksik fosfin ligandların yokluğunda bir Suzuki-Miyaura eşleşme reaksiyonunda benzenoid aromatik halkalara bağlandığını ortaya koymuşlardır. Bu katalitik reaksiyon, sulu ortamda bir geri kazanılabilir manyetik nanokatalist, $\text{Pd}@\text{Fe}_3\text{O}_4$ ile katalize olmuştur. Bu çalışmada tercih edilen yöntem yeşil kimyaya uygun olup ve $\text{Pd}@\text{Fe}_3\text{O}_4$ katalizörü harici bir manyetik alan kullanılarak reaksiyon ortamından kolaylıkla ayrılabilirdiği ve aktivitesinde önemli bir kayıp olmadan en az 10 kez tekrar kullanılabilirdiği belirlemişlerdir. Sentezi başarılı bir şekilde gerçekleştirilen $\text{Pd}@\text{Fe}_3\text{O}_4$ nano katalizörü tarama ve transmisyon elektron mikroskobu, termogravimetrik analiz, indüktif eşleşmiş plazma spektroskopisi, Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi, CHN analizi, X ışını kırınımı ve titreşimli örnek manyetometri kullanılarak karakterize edildiğini bildirmişlerdir.

Heidarneshad and Zamani (2015) çalışmalarında, Fe_3O_4 /poliakrilonitril-etilendiamin içeren yeni bir krom nanopartikülünü, akrilonitrilin manyetik nanopartiküllerin yüzeyine in situ polimerizasyonu yoluyla hazırlanmışlardır ve hazırlanan polimer manyetik nanokompozit, bir çok aromatik alkolün oksidasyonunda yeniden kullanılabilir bir katalizör olarak test etmişlerdir. Uygun aldehitler, yumuşak koşullar altında kısa reaksiyon süresi içinde yüksek verimlerde elde edilmiş, ayrıca bu manyetik katalizör, yeniden kullanılabilir bakımdan mükemmel seviyede olup, sanayi de farklı oksidasyon reaksiyonlarında endüstriyel katalitik amaçlar için iyi bir aday olduğunu bildirmişlerdir.

Saikia et al. (2016) çalışmalarında sentetik bir çapraz bağlayıcı olan glutaraldehit, genipin ve sitrik asit olmak üzere üç farklı çapraz bağlayıcı ajanın, kurkumin yüklü aminli nişasta kaplı demir oksit manyetik nanoparçacıklardan kurkuminin salım özellikleri üzerindeki etkilerini karşılaştırmak için girişimlerde bulunulmuştur.

Ferrar et al. (2014) bazı kurkumin türevlerini, fizyolojik pH'da gelişmiş stabilite ve kurkumin ile ilgili olarak artan sitotoksik aktivite ile metal şelatlayıcılar olarak hareket eden potansiyel nöroprotektif ajanlar olarak tasarlamış ve bu bileşiklerin Ga^{3+} ve Cu^{2+} iyonları ile etkileşime girme yeteneklerini deneysel ve teorik yaklaşımla araştırarak, sonuçları kurşun bileşik kurkumin ile karşılaştırarak ve terapötik olarak potansiyel uygulamalarını değerlendirmişlerdir.

Khadrawy et al. (2021) bir çalışmada, kurkumin kaplı demir oksit nanoparçacıklarının (Cur-IONP'ler) antidepresan etkisi, reserpin ile indüklenen sıçan depresyon modeli kullanarak araştırdı ve Cur-IONP'ler ile tedavi edilen depresif sıçanların ve depresif sıçanların korteks ve hipokampusündeki davranış değişiklikleri ve nörokimyasal değişiklikleri değerlendirilmiştir.

Pettine et al. (1999) çalışmalarında As(III)'ün H_2O_2 ile oksidasyonu geniş bir pH, iyonik kuvvet, sıcaklık ve oksidan konsantrasyonu aralığında NaCl çözeltilerinde incelemiştir. As(III)'ün H_2O_2 ile oksidasyonu için çoğu doğal su için geçerli olan bir oran ifadesi verilmiş ve bu işlemin çevresel önemi eleştirel olarak değerlendirmiştir.

Chandraker et al. (2020) *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) yaprak ekstresini kullanarak AgNP'leri sentezlemeyi ve fotokatalitik, DNA bağlama, H_2O_2 algılama, serbest radikal süpürme, antimitotik ve sitotoksik aktivite potansiyellerini araştırmıştır.

Chandraker et al. (2019) *A. conyzoides*'in sulu yaprak ekstresini kullanarak AgNP'leri sentezlemek ve karakterize etmişlerdir. Ek olarak, AgNP'lerin DNA bağlama, serbest radikal süpürme, MB'nin fotokatalitik bozunması ve H_2O_2 algılama özelliklerini araştırmışlardır.

Mirza et al. (2018) çalışmalarında *Agrewia optiva* (Dhaman veya Biul) ve *Prunuspersica* (Şeftali) yaprağı ekstresi kullanarak, biyojenik sentez yoluyla tehlikeli toksik kimyasallar kullanılmadan, kapatma ve stabilize etme ajanı olarak demir oksit nanoparçacıkları sentezlenmiş, çeşitli karakterizasyonları yapılmış ve antibiyotik Siprofloksasin ve Gentamisin, sırasıyla gram pozitif ve gram negatif bakteriler için referans standart ilaçlar olarak kullanılmıştır. Fito ekstraktlarının ve hazırlanan nanopartiküllerin antioksidan aktivitesi, standart olarak L askorbik asit kullanılarak 2,2 difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikal analizi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Iqbala et al. (2020) Biogenic synthesis of green and cost effective iron nanoparticles and evaluation of their potential biomedical properties adlı çalışmalarında IONP'leri, hem indirgeyici hem de stabilize edici maddeler olarak *Rhamnella gilgitica* yaprak özütü kullanılarak basitçe sentezlemiş ve SEM, TEM, XRD, DLS, FT-IR, EDX ve Raman spektroskopisi kullanarak karakterize etmiştir. HepG2 kanser hücrelerine karşı antikanser aktivitesini incelemiş ve disk difüzyon yöntemi ile önemli antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri incelenmiştir.

Radinia et al. (2018) çalışmalarında *Trigonella foenum-graecum* ekstraktı ile sıfır değerli demir nanoparçacıkları (Fe₀) (ZV-Fe NP'ler) sentezlemiş ve bu nanoparçacıkları sulu bir ortamda stabilize etmişlerdir. Ayrıca Fe NP'ler UV-görünür spektrometri, X-ışını kırınımı (XRD), termogravimetrik analiz-türev termo-gravimetrik (TGA/DTG), manyetizasyon, Fourier transform kızılötesi (FTIR) spektroskopisi ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) görüntüleri ile karakterize etmişler ve ayrıca *E. coli* ve *S.aureus* gibi mikroorganizmalarla Fe NP'lerin antibakteriyel etkinlikleri belirlenmiştir

Gündoğdu ve ark. (2019) çalışmalarında, SH-SY5Y hücrelerini *in vitro* nörodejeneratif hastalık modeli olarak kullanmışlardır. SH-SY5Y hücreleri, tek başına çeşitli hcy konsantrasyonları, tek başına sft (kuyudaki nihai konsantrasyonlar sırasıyla 10-250 µM ve 0,1-5 mM idi) ve her ikisinin bir kombinasyonu (hcy + sft) ile muamele edilmiş ve sitotoksiteleri ve genotoksik etkileri, XTT testi ve Comet testi kullanılarak ve oksidatif stres üzerindeki etkileri araştırmışlardır. Toplam antioksidan-oksidan durum (TAS-TOS) kitleri kullanılarak incelemiş ve en yüksek toksik dozlarda hcy ve sft bulduklarını ve sırasıyla 250 µM ve 5 mM olabilir, ancak maksimum toksik etki hcy + sft için

gözlendiklerini, ayrıca, tüm gruplarda DNA hasarında belirgin bir artış olduğunu ancak hcy+sft'de kullanıldığında maksimum hasar NS oksidatif stres indeksi hcy+sft'de anlamlı olarak arttığını bildirmiştir. Sft ve hcy düzeylerindeki artışın belirlenmesi, nörodejeneratif hastalık semptomları ortaya çıkmadan hastalıkların ortaya çıkmasının geciktirilmesine katkıda bulunabilir olduğunu ön görmüşlerdir.

Oğuz ve ark.(2021) çalışmalarında, likopenin As_2O_3 kaynaklı nöronal hasar ve ilgili mekanizmalar üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamışlardır. Likopen, SH-SY5Y insan nöroblastom hücrelerinde 2 μM As_2O_3 maruziyetinden bir saat önce farklı konsantrasyonlarda (2, 4, 6 ve 8 μM) uygulanmış ve likopenin antioksidan etkisi, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) hidrojen peroksit (H_2O_2), malondialdehit (MDA), toplam antioksidan durumu (TAS) ve toplam oksidan durumu (TOS) ölçülerek belirlenmiştir. MTT sonuçları ve LDH sitotoksikite analizleri, 8 μM likopen ile ön işlemin As_2O_3 'e bağlı toksisiteyi önemli ölçüde iyileştirdiğini gösterdiklerini ve likopen ile ön tedavi uygulanarak, As_2O_3 'e maruz kalan hücrelerde toplam antioksidan durumunun yanı sıra anti-oksidatif enzimlerin aktivitelerini önemli ölçüde arttırdı ve toplam oksidatif durumunu azalttığını ve likopenin kansere karşı güçlü bir nöroprotektif olabileceğini göstermişler ve oksidatif stres ve çeşitli nörolojik hastalıklarda nöronal hasarı veya ölümü önlemek için kullanılabilir olduğunu kaydetmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

FeCl₂, FeCl₃, NaOH, fosfat tamponu (PBS), Kurkumin(Chem-Imlex Int'l Inc) , Tripsin-EDTA, Tripan-blue, WST-1 canlılık testi, penisilin-streptomisin solüsyonu, FBS (fetal bovine serum), SDS, DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Media), %70'lik ve %95'lik etil alkol, metanol, DMSO (Dimetil sülfoksit), PBS, (Phosphate buffer saline), Total antioksidant status (TAS) kiti (Rel Assay Diagnostics, Ref#RL0017), Total oksidant status (TOS) kiti (Rel Assay Diagnostics, Ref#RL0024) Thoma lamı, 25 ve 75 cm'lik flasklar, çeşitli ebatlarda serolojik pipetler, 96-kuyucuklu küvetler, 15 ml santrüfuj tüpleri, 50 ml santrüfuj tüpleri, çeşitli ebatlarda edendorf tüpleri, çeşitli ebatlarda otomatik pipetler, Homojenizatör (Hücre parçalama tüpü).

Kullanılan cihazlar ise Mikrobiyolojik emniyet kabini, Isıtmalı su banyosu, otomatik pipetler, derin dondurucu, vorteks, sonikatör, hassas terazi, buzdolabı (+4°C), otoklav, saf su cihazı, Etüv, %5 CO₂ inkübatörü'dür. Blender cihazı (waring) manyetik karıştırıcı (IKA C MAG HS7), etüv (memmert), santrifuj cihazı (Hettich Universal 320 R), UV-Visible Spektrofotometre (Shimadzu UV-3600), X-Işını Difraktometresi(Rigaku Ultima), fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (Perkin Elmer Spectrum 100), Taramalı elektron mikroskobu(SEM), (Jeol JSM 6510), ELİSA cihazı (Spektramax 384 Plus).

3.2. Yöntem

3.2.1. Demir Nanopartikül Sentezi

Nanopartiküllerin sentezlenmesi için farklı molariterlerde; Kur@NP1' den: 0,01 M FeCl₂, 0,02 M FeCl₃ ve 0,001 M kurkumin kullanıldı, Kur@NP2' den: 0,01M FeCl₂, 0,02 M

FeCl₃ ve 0,001 M kurkumin ile hazırlandı, Kur@NP₃' den: 0,005 M FeCl₂ ardından 0,01 M FeCl₃ ve 0,001 M kurkumin kullanıldı, Kur@NP₄'den: 0,005 M FeCl₂, 0,01 M FeCl₃ 0,01 M kurkumin hazırlandı. (FeCl₂, FeCl₃ ve Kurkumin her biri 100 ml olacak şekilde). Ardından 500 ml'lik behere alınıp manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Ardından 60°C'ye geldikten sonra belirlenen molaritelerde kurkumin eklenerek 10 dk. bekletildi. Daha sonra karışıma, hazırlanan 2M NaOH eklenerek uygun Ph ile (Ph 10,45'i geçmeyecek şekilde) eklendi. Ardından 30 dk. 60°C'de manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Hazırlanan karışım 24 saat bekletildikten sonra çöken nanopartiküller falkon tüplere alınarak distile su ile yıkanıp 4500 rpm de 6 dakika boyunca santifüj edildi.(bu işlem 2 defa distile su 1 defa 3/1 oranında distile su ve etil alkol,1 defada etanol eklenerek aynı işlemde santifüj edildi.) Santifüj işleminden sonra falkon tüpteki nanopartiküller vakum altında 70°C'de sıcaklıkta kurutuldu.

3.2.2. Hücre Kültürü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Hücre Kültürü Laboratuvarında bulunan DMEM besiyerinde SH-SY5Y hücre hattı kullanılarak yapılan çalışmada hücre kültürü %5 CO₂'li inkübatörde 37°C'de hücre kültür flasklarında belli bir yoğunluğa ulaşana kadar hücreler inkübe edildi. Belirli yoğunluğa ulaşana kadar bu hücrelerin besiyerleri değiştirildi ve akabinde fosfat tamponu ile yıkama işlemi yapıldı. Yıkanan hücreleri kaldırmak için flaska 2 ml tripsin enzimi eklenip %5 CO₂'li inkübatörde 4 dk. inkübe edildi. Hücreler kaldırıldıktan sonra santrifüj işlemi yapılarak tripsin uzaklaştırılacaktır ve 2 ml temiz besiyeri eklendi. Daha sonra falkon tüpten 20 µL örnekler alınıp ependorf tüpe konulduktan sonra 10 µL tripan blue eklenerek ve hücre sayımı yapıldı.

SH-SY5Y, bilimsel çalışmalarda kullanılmak üzere izole edilmiş insan kaynaklı bir hücre hattıdır. Bu hücre ilk kez 1973'te nöroblastomlu bir hastadan kemik iliği biyopsisinden izole edilen SK-N-SH hücre hattından 1978 yılında klonlanlama yapılarak elde edilmiştir. Morfolojik olarak *in vitro* nöroblast hücrelerine benzer fenotipe sahiptir ve nöronal hücre benzeri özellikleri nedeniyle nörodejeneratif hastalık çalışmalarında kullanılmaktadır (Xie et al. 2010; Cheng et al. 2013).

SH-SY5Y hücre hattında oksidatif stres ajanı olarak kullanılacak H_2O_2 'in LD_{50} değeri ve etkin doz değerleri H_2O_2 varlığında farklı molaritelerde sentezlenen FeNP'ler, herbirinin hücre canlılığı üzerine etkileri (250 $\mu g/ml$, 125 $\mu g/ml$, 62,5 $\mu g/ml$, 31,25 $\mu g/ml$, 15,62 $\mu g/ml$, 7,81 $\mu g/ml$, 3,91 $\mu g/ml$, 1,95 $\mu g/ml$) konsantrasyonda hücre kültürü ortamında seyreltilerek ve hücrelerle muamele edilerek 24-48 saat inkübe edilmiştir.

3.2.2.1. SH-SY5Y Hücre Kültürü Hazırlanması

Çalışmalarımızda, insan nöroblastoma SH-SY5Y hücre hattı kullanılmıştır. Morfolojik olarak hücreler yapışkan karakterde olup, iğ şeklinde tek tabaka halinde üremektedirler. SH-SY5Y hücre hattı DMEM (Dulbecco Modified Eagle Medium) ile birlikte %10 fetal bovine serumu (FBS), %1 Penisilin-streptomisin içeren besiyerinde, %5 CO_2 içeren $37^\circ C$ 'ye ayarlı karbondioksit inkübatöründe nemli atmosfer altında kültüre alınmıştır. SH-SY5Y hücre kültürü aşağıdaki protokole göre hazırlanmıştır. $-80^\circ C$ 'de %10 DMSO ile dondurulmuş SH-SY5Y karyotüpler içindeki hücreler, çözünmesi için $37^\circ C$ 'de su banyosuna konulmuştur. Hücreler çözündükten sonra üzerine 3-4 ml yeni DMEM besiyeri eklenerek, hemen 15 ml'lik santrifüj tüpüne alınmıştır. Tüpler, 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant kısım atılarak hücre pelletinin üzerine, 1 ml besiyeri eklenmiş ve pipetaj yapılarak hücrelerin medium içerisinde homojen olarak dağılması sağlanmıştır. Steril T25 flasklara toplam 8 ml DMEM besiyeri eklenerek homojen haldeki hücrelerden eşit hacimde 3 ayrı flaska ekim yapılmıştır. Ekim yapılan flasklar, $37^\circ C$, %95 nem ve %5 CO_2 olacak şekilde karbondioksit inkübatörüne konulmuştur. Gün aşırı, invert mikroskop altında hücreler yoğunlukları ve morfolojileri bakımından değerlendirilmiş ve gerektiğinde eski besiyeri ortamı 8 ml taze besiyeri ile değiştirilmiştir. Hücreler, %70-80 yoğunluğa ulaştıklarında pasajlanmıştır. SH-SY5Y hücrelerinin pasajlama işlemi; Hücrelerin bulunduğu flasklardaki besiyeri, hücrelere dikkat edilerek serolojik pipet yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Hücreler üzerine, 4 ml PBS eklenmiş ve hücrelere zarar vermeyecek şekilde şekilde yıkanmıştır. 1-2 dk sonra PBS ortamdan uzaklaştırılmıştır. Hücrelerin üzerine flask yüzeyinden ayrılmasını sağlamak için 1 ml %0,05 tripsin-EDTA solüsyonu eklenmiştir. Tripsinin etkisini gösterebilmesi için $37^\circ C$ 'ye ayarlı karbondioksit inkübatörüne konulan flaskta hücrelerin zeminden kalktığından emin oluncaya dek (~1-2 dk) beklenmiştir. Daha sonra tripsinin etkisini inhibe etmek amacıyla flaska 4 mL besiyeri eklenmiştir. Pipet yardımıyla, flask tabanından kaldırılan hücreler 15 ml'lik santrifüj tüpüne toplanmış ve tüp, 1500 rpm'de 5 dk. süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi

sonunda süpernatant atılarak hücre peleti üzerine 1 ml besiyeri eklenmiş ve pipetaj yapılarak hücrelerin medium içerisinde homojen olarak dağılması sağlanmıştır.

Flaskların içerisine toplam 8 ml besiyeri eklenmiş ve 3 ayrı flaska bir önceki basamaktaki hücre süspansiyonundan ekim yapılmıştır. Ekim yapılan flasklar, %95 nem ve %5 CO₂ olacak şekilde 37°C'ye ayarlı, karbondioksit inkübatörüne konulmuştur.

3.2.2.2. SH-SY5Y Canlı Hücrelerin Sayımı

Pasajlama işleminde anlatıldığı gibi tripsinizasyon işlemi sonrası hücrelere besiyeri eklenerek, 15 ml'lik santrifüj tüp içerisine alınmış ve 1500 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan süpernatant uzaklaştırılmış ve hücre peletinin üzerine pelet miktarına göre (~2-5 ml) besiyeri eklenerek pipetaj işlemi ile homojenizasyon elde edilmiştir. Hazırlanmış hücre süspansiyonundan 50 µl ve tripan mavisi boyasından 50 µl alınarak pipetaj yoluyla karışım hazırlanmıştır. Bu karışımdan, 10 µl alınıp Thoma Lamina konularak ışık mikroskobu altında hücre sayıma gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.3. WST-1 İle Sitotoksiste Testi

WST-1 testi, suda çözülebilir bir bileşik olan {4-[3-(4-Iodofenil)-2-(4-nitrofenil)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzen disulfonat} maddesinin, canlı hücreler tarafından formazan bileşimine indirgemesi prensibine dayanmaktadır. Çalışmamızda, sitotoksiste yöntemi için kolorimetrik bir yöntem olan WST-1 sitotoksiste testi kullanılmıştır. WST-1 sitotoksiste testi kitin temin edildiği firmanın belirlediği protokole göre gerçekleştirilmiştir. SH-SY5Y hücre hattında oksidatif stres ajanı olarak kullanılmış H₂O₂'in LD₅₀ değeri ve etkin doz değerleri H₂O₂ varlığında FeNP'ler ve saf kurkumin kullanılarak herbirinin hücre canlılığı üzerine etkileri (250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml, 31,25 µg/ml, 15,62 µg/ml, 7,81 µg/ml, 3,91 µg/ml, 1,95 µg/ml) konsantrasyon da hücre kültür ortamı ile seyreltilerek ve hücrelerle muamele edilerek 24-48 saat inkübe edilmiştir. Hücre canlılığı üzerine etkilerini WST-1 testi ile belirlenmiştir.

WST-1 testi ışığı 450 nm'de absorbe eden koyu kırmızı formazanı oluşturmak üzere mitokondriyal dehidrogenazlar tarafından tetrazolyum tuzu WST-1'in parçalanmasına dayanmaktadır. WST-1 toksiste testinde canlı hücreler sarı renk oluşturur ve ölü hücrelerde renk oluşumu spektrofotometrik olarak 450 nm'de ve boyanın WST-1 varlığı 600 nm'de negatif girişim olarak belirlenerek absorbans değerleri okutularak grafiğe geçirilmiştir. İnkübasyona bırakılan plakalara 24 saatlik bekleme süresinden sonra her bir

kuyucuğa 10 µl WST-1 solüsyonundan eklenmiştir. Orbital çalkalayıcıda 96-kuyucuklu plakalar düşük hızda karıştırılmış ve karbondioksit inkübatöründe 4 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin bitiminde, mikrolaka okuyucuda 450 nm dalga boyunda ve 600 nm referans dalga boylarında okuma işlemi gerçekleştirilmiştir.

SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerinde H₂O₂'in ortalama letal doz (LD₅₀) değeri; H₂O₂ varlığında FeNP'ler maksimum nöroprotektif etki gösterdiği (E_{max}) doz konsantrasyon değerleri, E_{max} değerlerindeki FeNP'lerin nöroprotektif etkisi; H₂O₂ yokluğunda E_{max} değerlerindeki FeNP'ler hücre canlılığı üzerine etkileri WST-1 testi ile belirlendi. Hücre canlılığı yüzdesi her bir kuyucukta ölçülen optik dansite değerinin kontrol optik dansite değerine bölünmesi ve yüz ile çarpılması ile aşağıdaki formüle uygun olarak hesaplanmıştır.

Hücre Canlılık Yüzdesi = [Doz grubu Absorbansı 450-600 / Kontrol Grubu Absorbansı 450-600] x 100

3.2.2.4. H₂O₂ ile *In Vitro* Nörodejenerasyon Modelinin Oluşturulması

SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerinde oksidatif stres kaynaklı nörodejenerasyon modeli oluşturmak için 75 µM, 87,5 µM, 125 µM, 150 µM, 175 µM, 250 µM, 300 µM 350 µM, 500 µM, 700 µM, 1000 µM konsantrasyonlarda H₂O₂ ile hücreler 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra WST-1 hücre canlılık testi yapıldı. Hücre canlılık testi sonunda en az %50 oranında hücre ölümüne yol açan konsantrasyon (LD₅₀) değeri belirlendi. Daha sonraki çalışmalarda SH-SY5Y hücrelerinde nörodejenerasyon modelini oluşturmak için bu LD₅₀ değeri ile çalışılmaya devam edildi.

3.2.2.5. *In Vitro* Nörodejenerasyona Karşı FeNP'lerin Doz Aralıklarının Belirlenmesi

SH-SY5Y hücreleri 96 kuyucuklu plakların her bir kuyusuna 100 µl'de 1×10^4 yoğunlukta olacak şekilde ekildi. Hücrelerin tutunabilmesi için ilk 24 saat besiyeri içinde 37°C'de %5 CO₂ içeren etüvde inkübe edildi. İnkübasyondan sonra kuyucuklarda bulunan besiyeri dikkatli bir şekilde çekilerek atıldı. Daha önceden (250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml, 31,25 µg/ml, 15,62 µg/ml, 7,81 µg/ml, 3,91 µg/ml, 1,95 µg/ml) konsantrasyonlarda besiyeri ile seyreltilerek hazırlanan kurkumin ve FeNP'ler çözeltileri kuyucuklara eklenerek SH-SY5Y hücrelerine muamele edildi ve 37°C'de %5 CO₂ içeren etüvde 24 saat inkübe edildi ardından 24 saat geçtikten sonra kuyucuklarda bulunan besiyeri çekilerek atıldı. WST-1 canlılık kiti ile belirlendi.

Nörodejenerasyona karşı kullanılacak uygun konsantrasyonlar belirlendikten sonra daha önceden belirlenen (LD₅₀) değeri 300 µM H₂O₂ içeren besiyeri ile seyreltilerek hazırlanan FeNP'ler çözeltileri kuyucuklara eklenerek SH-SY5Y hücreleri ile muamele edildi ve 37°C'de %5 CO₂ içeren nemlendirilmiş etüvde tekrar 24 saat inkübe edildi. Eş zamanlı olarak kontrol gruplarını oluşturmak için hücrelere sade besiyeri eklendi ve 24 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerinde *in vitro* oksidatif stres kaynaklı nörodejenerasyon modeline karşı FeNP'ler maksimum nöroprotektif etki (E_{max}) gösterdiği doz konsantrasyon değerleri WST-1 hücre canlılık testi ile belirlendi. Daha sonraki denemelerde SH-SY5Y hücrelerinde *in vitro* oksidatif stres kaynaklı nörodejenerasyon modeline karşı FeNP'ler bu E_{max} gösterdiği doz konsantrasyon değerleri ile çalışılmaya devam edildi.

3.2.2.6. Toplam Antioksidan Seviyesi (TAS)

Çeşitli antioksidan moleküllerin bağımsız olarak ölçümü zaman alıcı, yoğun emek gerektiren, pahalı, karmaşık teknikler gerektirebilir. Bu nedenle, toplam antioksidan durumu (TAS) olarak bilinen bir numunenin toplam antioksidan potansiyeli ölçülür. Örnekte, antioksidanlar radikal koyu mavi-yeşil renkli ABTS'yi renksiz indirgenmiş ABTS formuna düşürür. 660 nm'de numune absorbansındaki değişiklik, toplam numune antioksidan seviyesi ile ilişkilidir. Test kiti, geleneksel olarak bir E vitamini analogu olan

Trolox Eşdeğeri olarak tanımlanan stabil bir antioksidan standart solüsyonla kalibre edilir. İlk aşamada; 18 µl numune, standart ve dH₂O, 96 kuyucuklu plakalarda belirli kuyucuklara konuldu. Tüm kuyucuklara 300 µl Reaktif 1 (R-1) solüsyonu eklendi. Plakanın 660 nm'sindeki absorbans, Elise Reader cihazı ile [İlk ölçüm: A1] ile ölçüldü. Daha sonra kuyucuk başına 45 µl Reaktif 2 (R-2) solüsyonu eklenir ve plakta Reaktif 1 ile karıştırılır. Plaka oda sıcaklığında 10 dakika beklemiştir. İnkübasyondan sonra plakanın 660 nm'sindeki absorbans tekrar ölçüldü [İkinci ölçüm: A2]. ΔAbs, A1'den A2 eksi ile her kuyu için hesaplandı. TAS'ın formülasyonu aşağıda mevcuttur.

$$\text{TAS (mmol/L)} = [\Delta\text{Abs H}_2\text{O} - \Delta\text{Abs Sample}] / [\Delta\text{Abs H}_2\text{O} - \Delta\text{Abs Sample}]$$

3.2.2.7. Toplam Oksidan Seviyesi (TOS)

Metabolik ve fizyolojik süreçlerde reaktif oksijen üretilir ve bunları enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidatif mekanizmalar yoluyla uzaklaştıran organizmalarda zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana gelebilir. Belirli koşullar altında oksidanların artması ve antioksidanların azalması önlenemez duruma gelirse, oksidatif stres veya birçok metabolik bozukluk gelişir. Çalışmada 45 µl numune, dH₂O ve standartlar 96 kuyucuklu plaklardaki kuyucuklara konuldu. Tüm kuyucuklara 300 µl Reaktif 1 (R-1) solüsyonu eklendi. Plakanın 530 nm'sindeki absorbans, Elisa Reader cihazı ile [İlk ölçüm: A1] ile ölçüldü. Daha sonra kuyucuk başına 15 µl Reaktif 2 (R-2) solüsyonu eklenir ve plakta Reaktif 1 ile karıştırılır. Plaka oda sıcaklığında 10 dakika beklemiştir. İnkübasyondan sonra plakanın 660 nm'sindeki absorbans tekrar ölçüldü [İkinci ölçüm: A2]. ΔAbs, A1'den A2 eksi ile her kuyu için hesaplandı. TOS'un formülasyonu aşağıda mevcuttur.

$$\text{TOS (µmol/L)} = [\Delta\text{Abs Sample}] / [\Delta\text{Abs Standard}] * 10$$

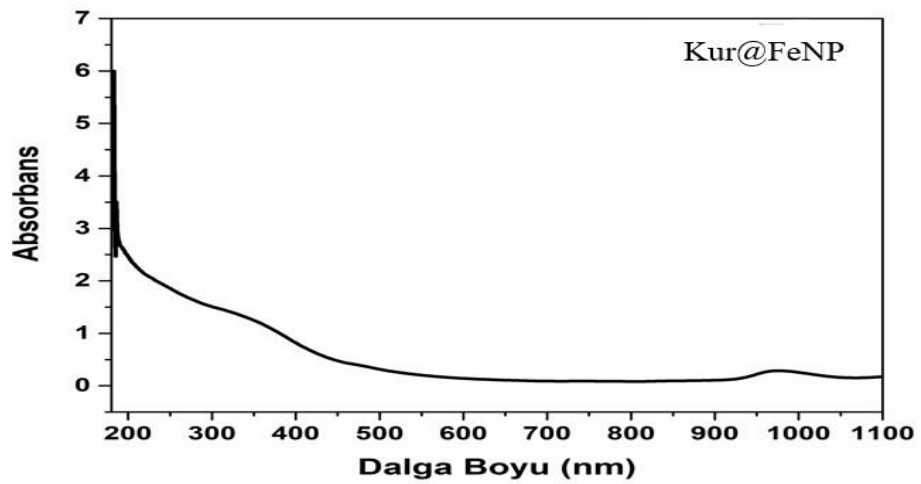
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Demir Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu

Biyolojik bir sentez olan yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen Kur@FeNP1'nin topografik, yapısal, morfolojik ve optik özellikleri UV-Vis, FTIR, XRD, SEM, TEM, EDX, ve Zeta potansiyeli kullanılarak karakterizasyonları yapıldı.

4.1.1. UV-Vis (Ultraviyole-Görünür Spektroskopi)

Yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen Kur@FeNP1'leri oluşturan bileşenlerin 200-1100 nm dalga boyu aralığında alan taraması UV-VİS spektromu ile karakterize edilmiştir. 350 nm'de nanopartiküllerin gösterdiği maksimum pik absorbans değeri olarak okunmuş ve yüksek bir enerji soğurması görülmüştür. Demir elektronlarının yüzey plazmasında oluşturduğu rezonanslarından kaynaklanan bantların 205 nm ve 350 nm aralığında olduğu bilinmektedir (Gierschner et al. 2012).



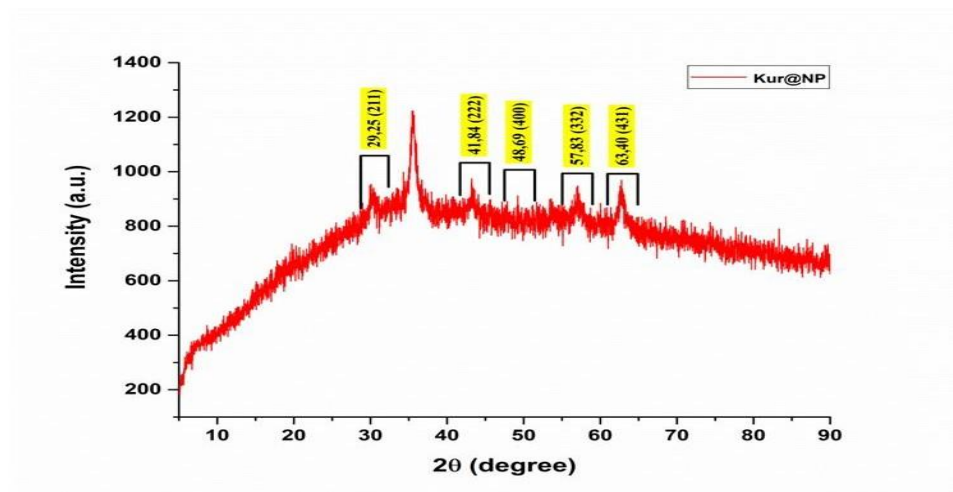
Şekil 4.1. Kur@FeNP1'nin UV-Vis alan taraması

Kurkumin kullanılarak yeşil sentezle elde edilen demir nanoparikül UV-Visible spektrofotometrede 445 nm’de absorpsiyon spektrumu 200-1100 nm dalga boyu aralığında alan taraması yapılmıştır (Şekil 4.1).

4.1.2. XRD (X-Işını Difraksiyonu)

Kur@FeNP1’nin kristal yapısı ve faz tanımlaması, XRD ile karakterize edildi. XRD analizi sonucu Şekil 4.2. de görüldüğü gibi 2θ ölçeğinde yapılan XRD analizinde Kur@FeNP1’ler $29,2^\circ$, $41,8^\circ$, $48,6^\circ$, $57,8^\circ$ ve $63,4^\circ$ ’de karakteristik pikler vermiştir. Elde edilen bu piklerin Kur@FeNP1’lerin manyetite ait olan karakteristik pikler olduğunu ve kübik spinel yapıda olduğu tespit edilmiştir (Lan et al. 2007; Palanisamy et al. 2013; Gautam et al. 2015). Yansıma veren düzlemler sırasıyla (211), (222), (400), (332) ve (431) olarak indekslenmiştir.

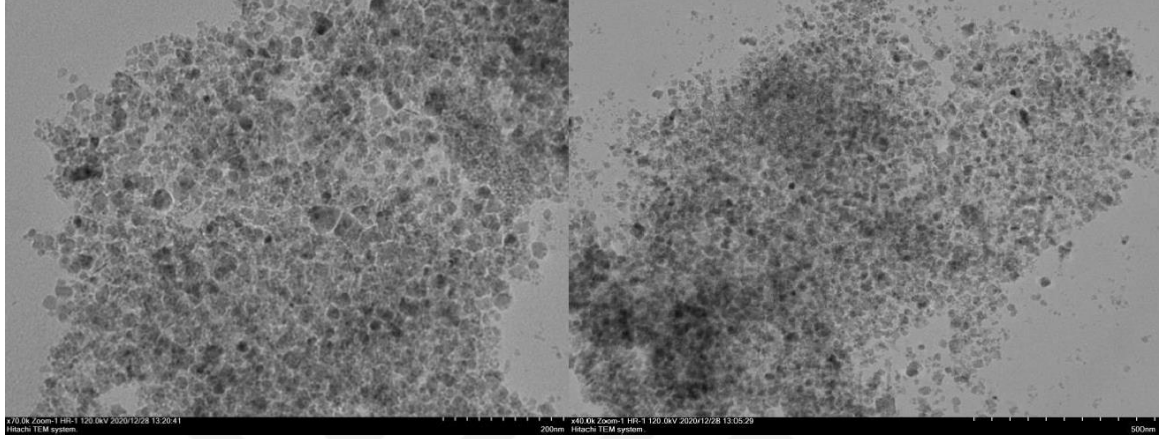
Kur@FeNP1’nin XRD analizi sonucu, manyetite nanopartiküllerinin sentezini doğrulamakla beraber Kur@FeNP1’nin XRD analizinde farklı difraksiyon piklerinin olmaması elde edilen ürünlerin manyetit olmayan safsızlıklar olmadığı görülmüştür. Elde edilen Kur@FeNP1’nin nanoapartiküldeki pikler demir oksite ait kristal yapıdaki piklerdir ve bu pikler sentezlenen manyetite (Fe_3O_4) formudur. Kur@FeNP1’nin referans modeline (Reference kodu: 00-032-0469/ Kübik) uymaktadır.



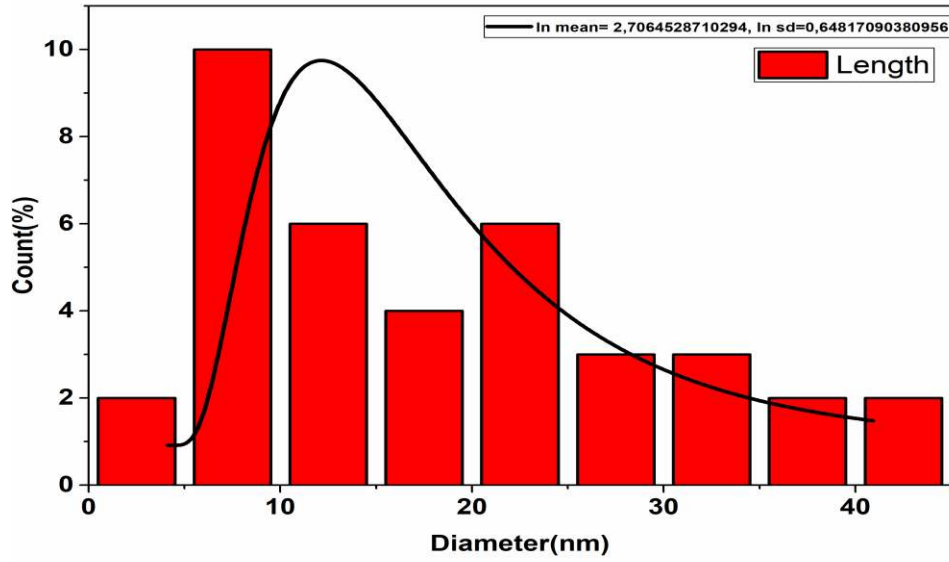
Şekil 4.2. Yeşil sentez metodu ile sentezlenen Kur@FeNP1’nin XRD grafiği

4.1.3. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)

Yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen Kur@FeNP1'nin yapısal, morfolojik şekilleri TEM kullanılarak incelenmiştir. Boyut histogram grafiğinde nanopartikülün boyutu 18 nm olarak ölçüldü.



Şekil 4.3. Kur@FeNP1'nin TEM görüntüleri

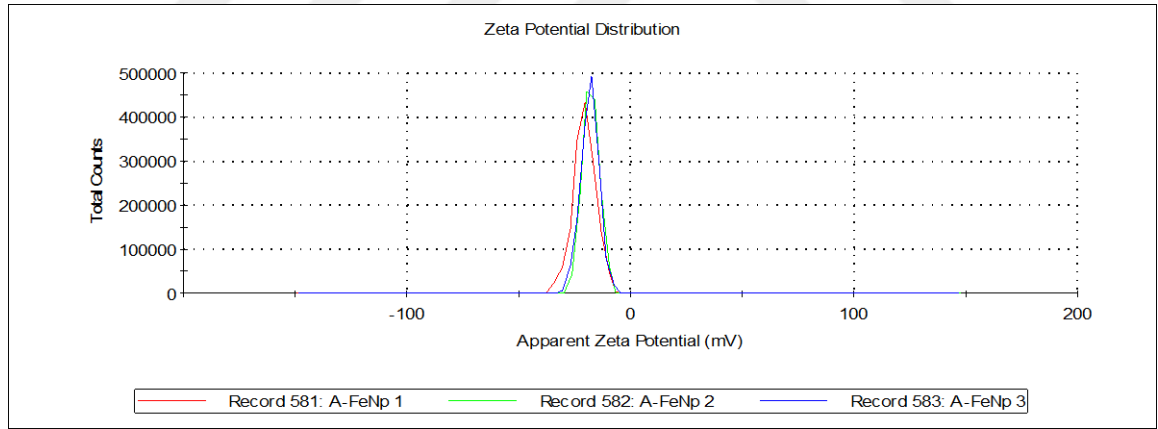


Şekil 4.4. Kur@FeNP1'nin boyut histogram grafiği

4.1.4. Zeta Potansiyeli

Yeşil sentez metodu ile elde edilen Kur@FeNP1'nin elektriksel yükü zeta potansiyeli ile belirlenmiştir.

			Mean (mV)	Area (%)	Std Dev (mV)
Zeta Potential (mV):	-18,9	Peak 1:	-18,9	100,0	0,063
Zeta Deviation (mV):	1,51	Peak 2:	0,00	0,00	0,00
Conductivity (mS/cm):	0,063	Peak 3:	0,00	0,00	0,00
Result quality:	Good				



Şekil 4.5 Kur@FeNP1'nin Zeta potansiyel grafiği

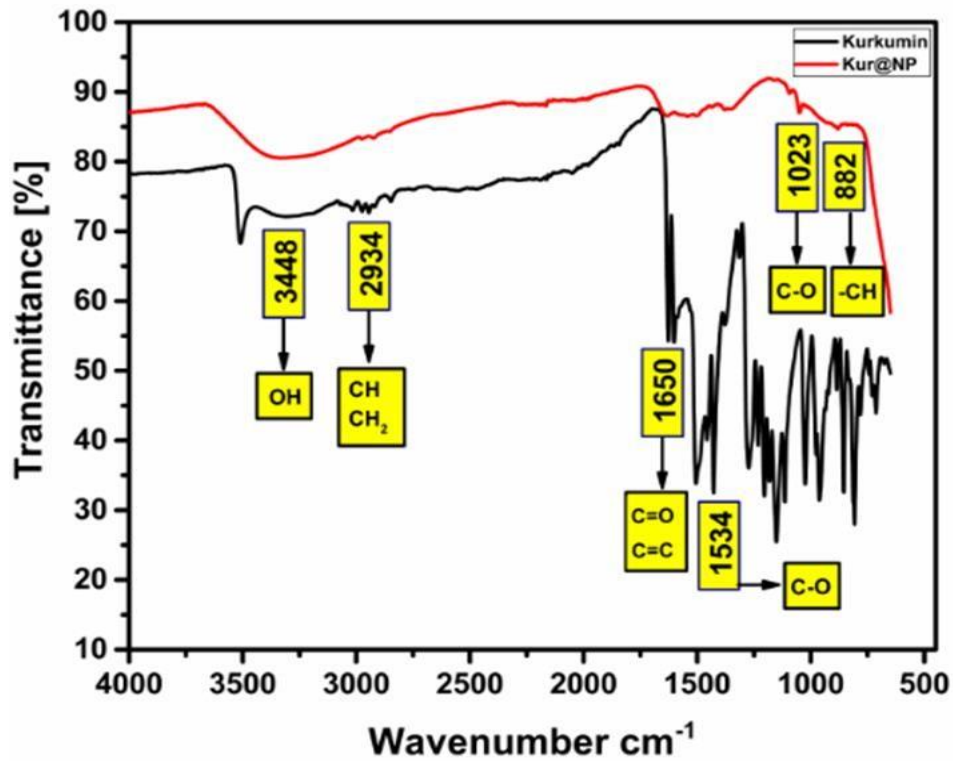
Kur@FeNP1'nin elektriksel yükü Zeta potansiyeli analiz sonucu $-18,9$ mV olduğu tespit edilmiştir. Kur@FeNP1'nin bu değeri orta derecede kararlı olduğunu göstermektedir (Bhattacharjee, 2016; Duman vd. 2021). Demir nanopartiküllerde organik bileşiklerin demir nanopartiküllerin yüzeyine tutunmasından dolayı negatif değer göstermektedir (Singh et al. 2020).

4.1.5. FT-IR Spektroskopisi

Yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen manyetik Kur@FeNP1'nin diğer elementlerle oluşturduğu bağlarının tespiti amacıyla 4000-500 cm^{-1} dalga boyu aralığında FT-IR (Four Dönüşümlü Infrared) spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. FT-IR tekniğinin amacı nanopartikül yapısının içerisinde bulunan bağların belirli frekanslarda yaydıkları titreşimleri ölçmektir. (Veisi vd. 2016)

FT-IR Spektroskopisi metoduna göre Kurkumin etken maddesi Kur@FeNP1'nin spektrumları karşılaştırıldı. FT-IR analizi, Kurkumin-FeNP'nin biyomoleküllerini belirlemek ve aktif bileşenlerin fonksiyonel grupları tanımlandı (Athar 2015).

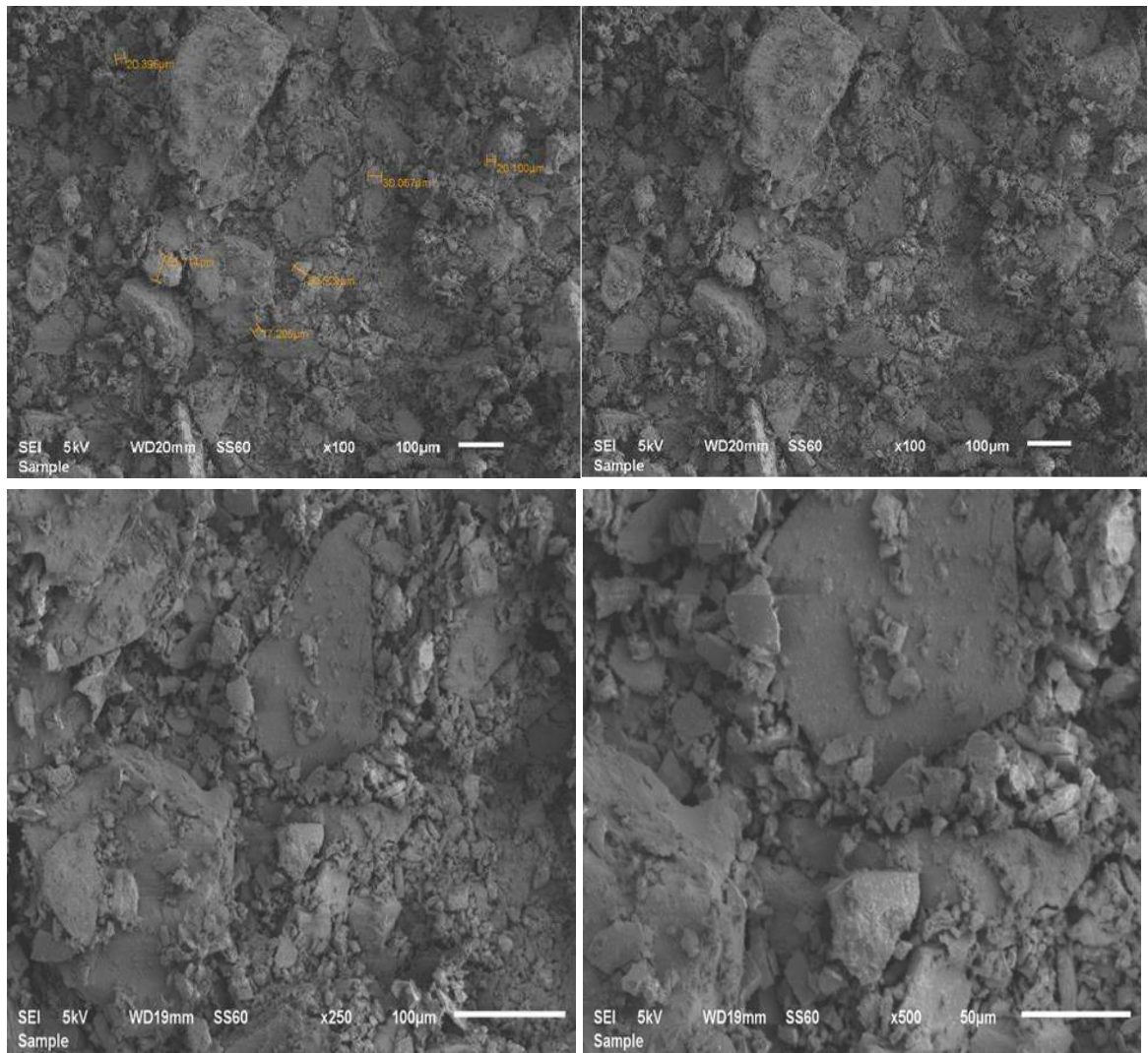
Kur@FeNP1'nin FT-IR Spektroskopisi 882 cm^{-1} , 1023 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} , 2934 cm^{-1} , 3448 cm^{-1} değerli pikler elde edilmiştir.



Şekil 4.6. Kur@FeNP1'nin FT-IR spektroskopi grafiği

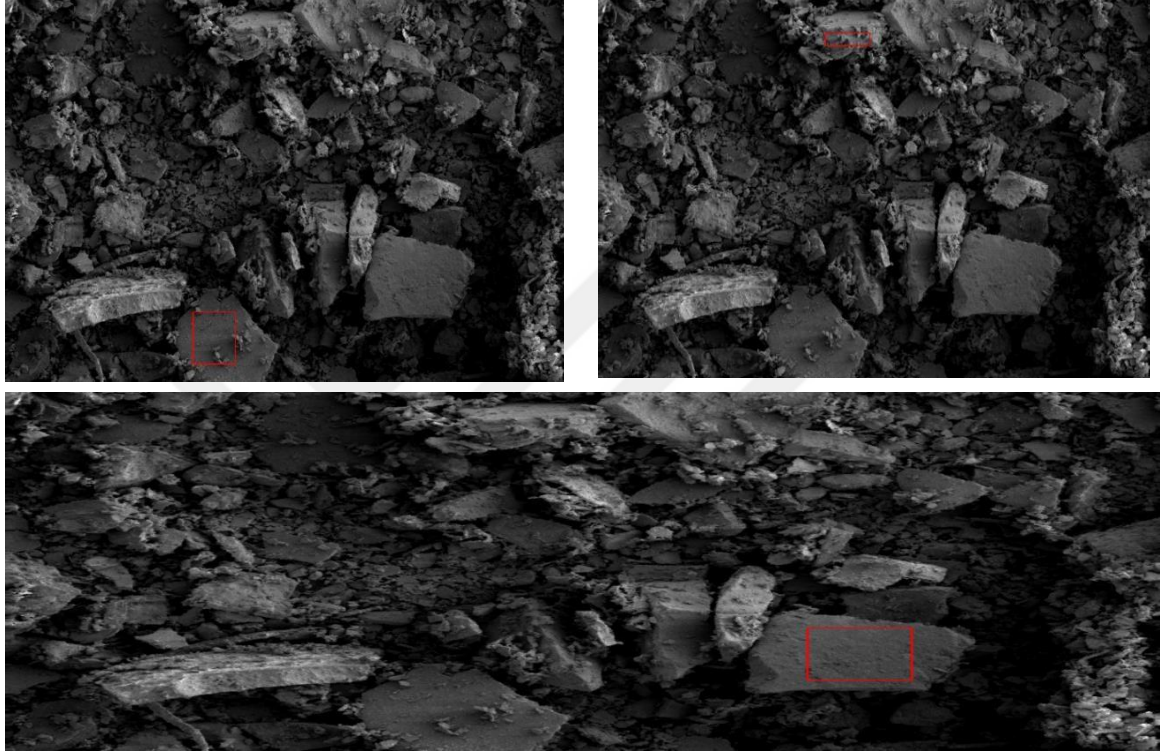
4.1.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Yeşil sentez metodu ile elde edilen manyetik Kur@FeNP1'lerin karakterizasyonu için şekil ve boyut analizi SEM kullanılarak incelenmiştir. SEM kullanılarak sentezlenen nanopartikül morfolojik özelliklerine ait alınan görüntüler incelendiğinde Kur@FeNP1'lerin, yaklaşık 20-60 nm çapında zincirler ve birbirleriyle temas halinde olduğu tespit edilmiştir. (Yoonus vd. 2021). Elde edilen SEM görüntüleri Şekil 4.7'de verilmiştir.

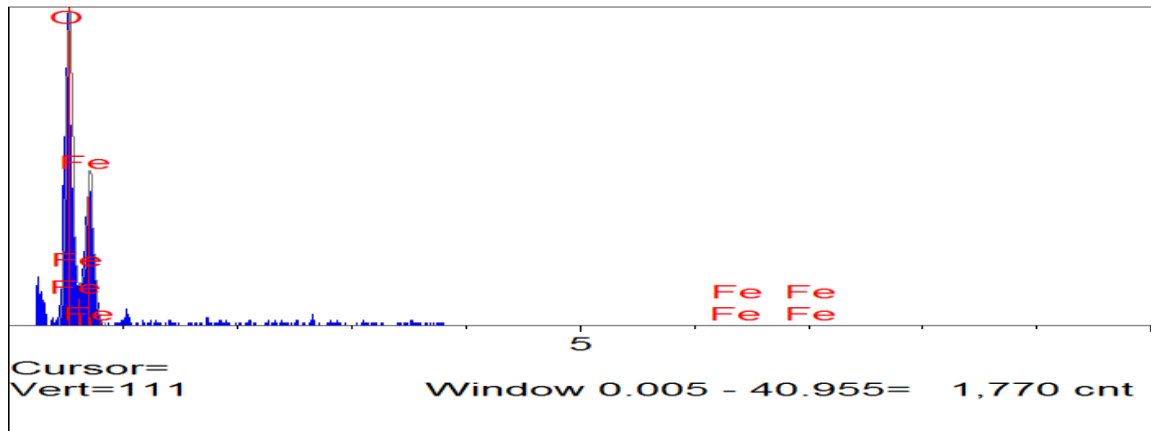


Şekil 4.7. Kur@FeNP1'nin SEM görüntüleri

SEM'den elde edilen görüntülerden alınan sonuçlara göre Kur@FeNP1'lerin morfolojik yapılarının kübik olmakla beraber boyutlarında farklılık da gözlemlenmektedir. EDX yöntemi kullanılarak, Kur@FeNP1'nin yapısında bulunan elementler tespit edilmiştir (Şekil 4.8). Sentezlenen nanopartikül'ün yapısındaki Fe ve O elementlerinin pikleri verilmiştir.



Şekil 4.8. Kur@FeNP1'lerinin EDX analizi

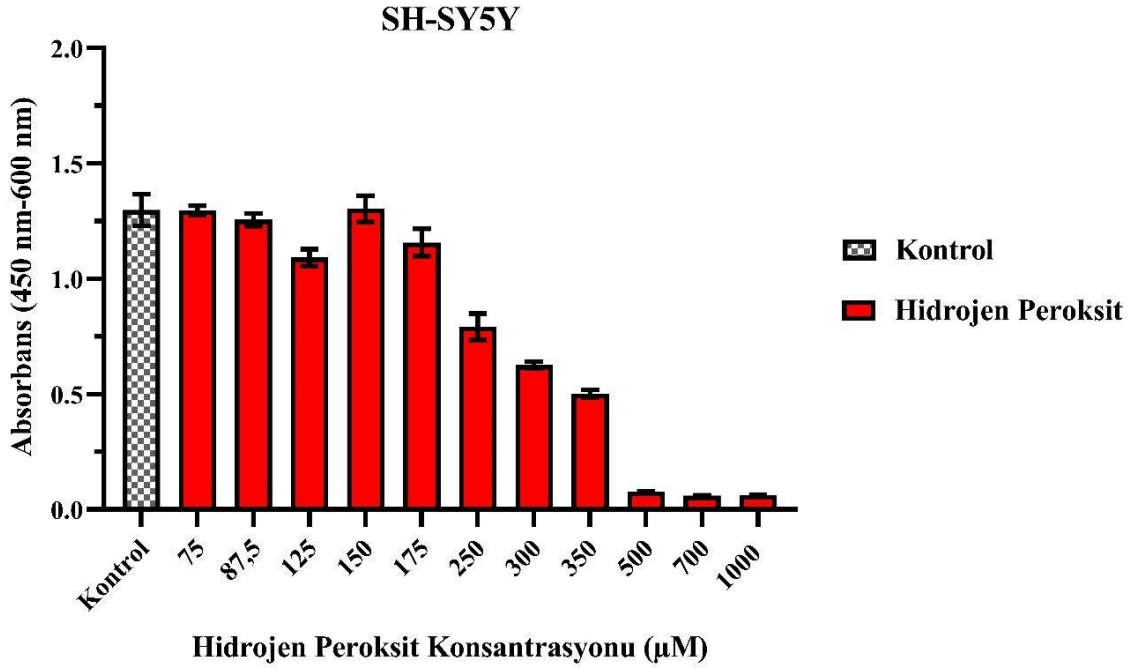


Şekil 4.9. Kur@FeNP1' nin yapısındaki Fe ve O' nin pik grafiği

4.2. Hücre Canlılık Testleri Sonuçları

4.2.1. WST-1 Testi Sonuçları

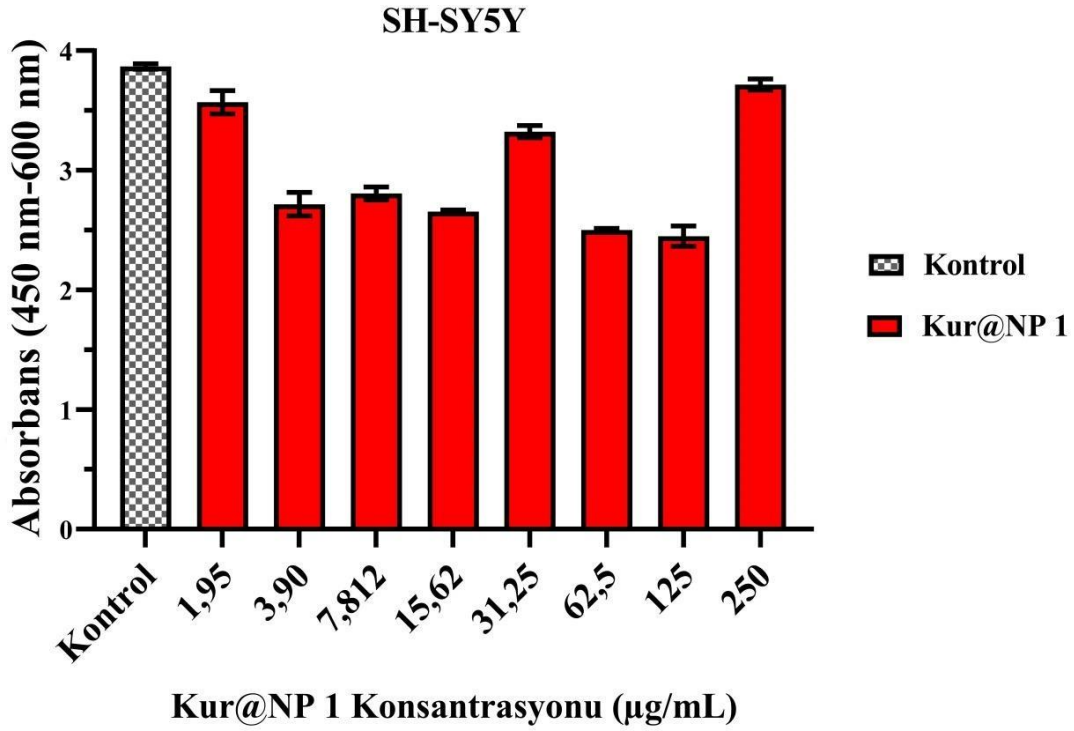
4.2.1.1. SH-SY5Y Hücre Hattında *In Vitro* Hidrojen Peroksit Nörotoksitesitesi Sonuçları



Şekil.4.10. SH-SY5Y hücre hattında *in vitro* hidrojen peroksit nörotoksitesitesi sonuçları

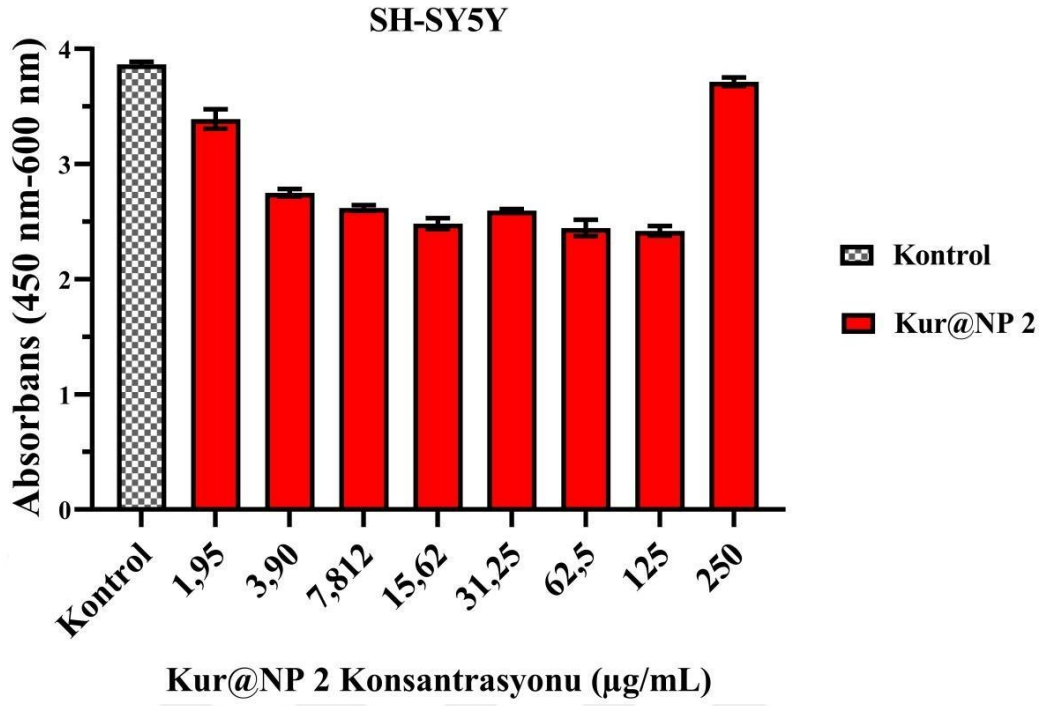
SH-SY5Y hücrelerine uygulanan H_2O_2 doz konsantrasyonları arttıkça hücrelerin canlılık oranlarının (175 µM, 150 µM, 87,5 µM, 75 µM H_2O_2 hariç) doza bağlı bir şekilde önemli derecede azaldığı gözlemlendi. Buna göre kontrol grubu ve artan konsantrasyonlardaki H_2O_2 gruplarında hücre canlılık oranları sırasıyla %100, %95,29, %94,98, %93,90, %50,24, %44,21, %37,04, %13,19 olarak tespit edildi. H_2O_2 'in LD_{50} değeri %50 oranında hücre ölümüne yol açan 300 µM doz konsantrasyon değeri olarak belirlendi ve daha sonraki deneylerde SH-SY5Y hücre hattında *in vitro* nörodejenerasyon oluşturmak için 300 µM doz konsantrasyon değeri kullanıldı.

4.2.1.2. *In Vitro* Nörodejenerasyona Karşı Kullanılacak Kur@FeNP1, Kur@FeNP2, Kur@FeNP3, Kur@FeNP4 ve Kurkumin Doz Konsantrasyonlarının Belirlenmesi



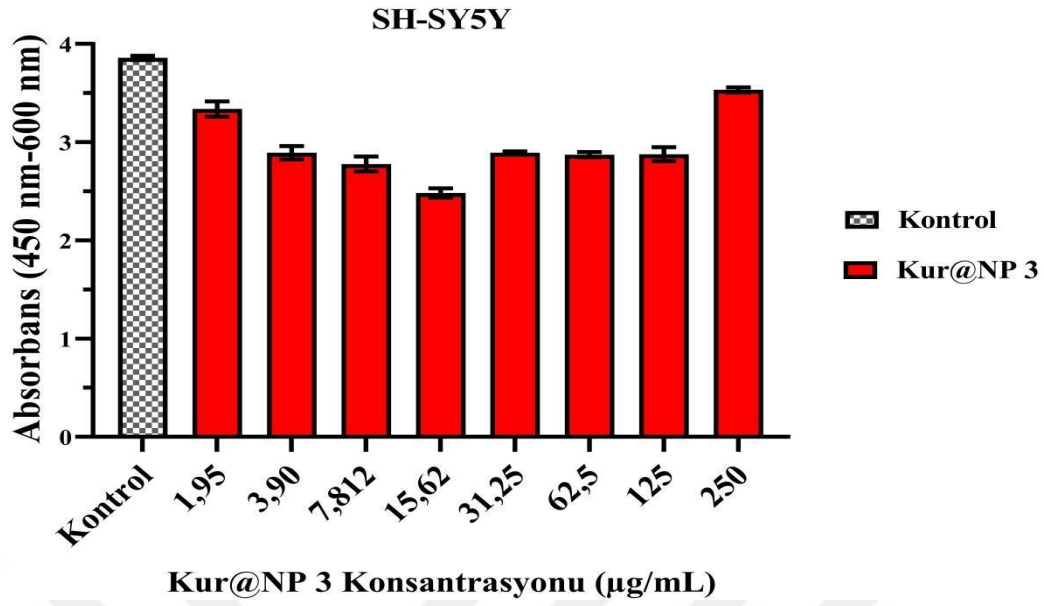
Şekil 4.11. *In vitro* nörodejenerasyona karşı kullanılacak Kur@FeNP1, doz konsantrasyonlarının belirlenmesi

SH-SY5Y hücrelerinde Kur@FeNP1 kontrolle birlikte hücre proliferasyonunda artış gösteren konsantrasyonlar 250 µg/ml, 31,25 µg/ml ve 1,95 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar *in vitro* nörodejenerasyona karşı kullanılacak dozlar olarak belirlenmiştir.



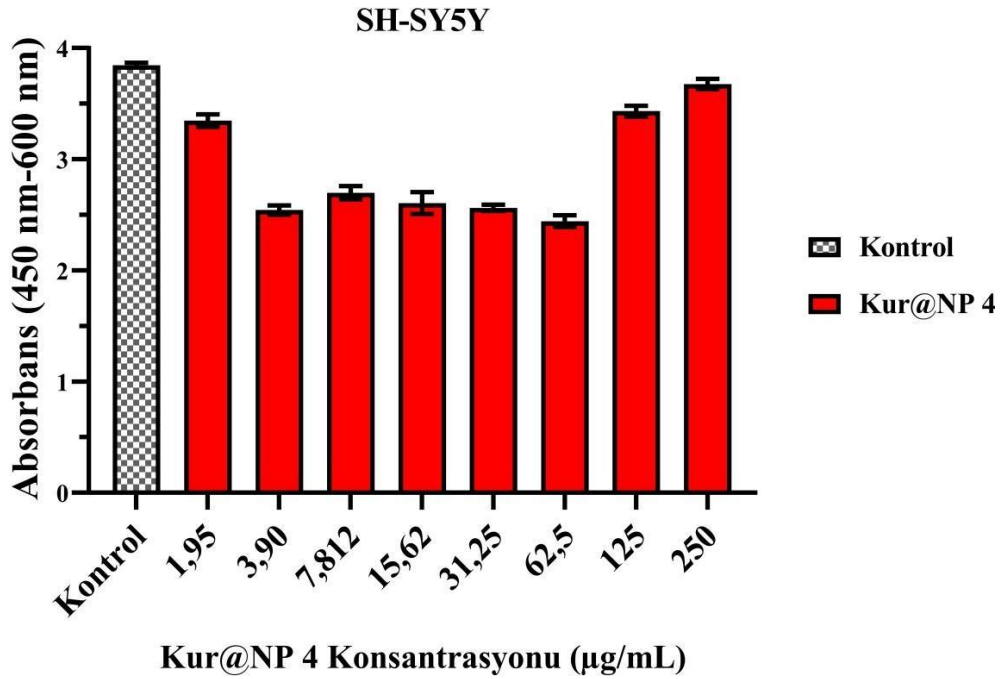
Şekil 4.12. *In vitro* nörodejenerasyona karşı kullanılacak Kur@FeNP2 doz konsantrasyonlarının belirlenmesi

SH-SY5Y hücrelerinde Kur@FeNP2 kontrolle birlikte hücre proliferasyonunda artış gösteren konsantrasyonlar 250 µg/ml ve 1,95 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar *in vitro* nörodejenerasyona karşı kullanılacak dozlar olarak belirlenmiştir.



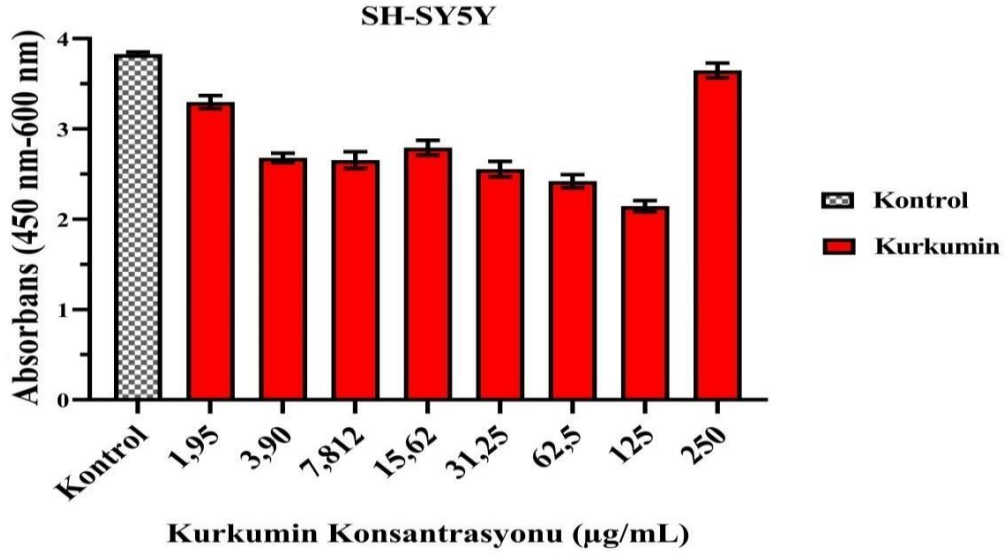
Şekil 4.13. *In vitro* nörodejenerasyona karşı kullanılacak Kur@FeNP3 doz konsantrasyonlarının belirlenmesi

SH-SY5Y hücrelerinde Kur@FeNP1 kontrolle birlikte hücre proliferasyonunda artış gösteren konsantrasyonlar 250 µg/ml ve 1,95 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar *in vitro* nörodejenerasyona karşı kullanılacak dozlar olarak belirlenmiştir.



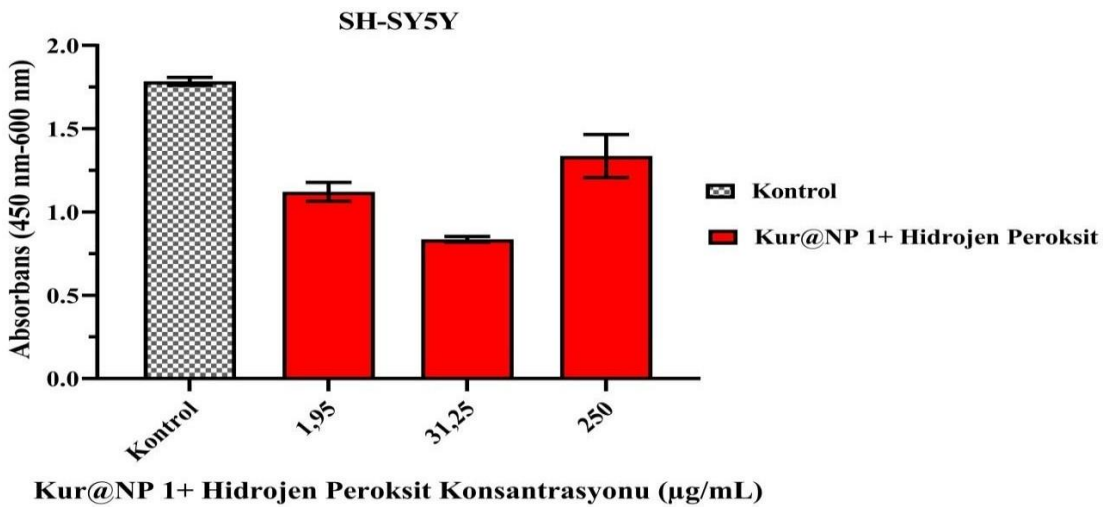
Şekil 4.14. *In vitro* nörodejenerasyona karşı kullanılacak Kur@FeNP4 doz konsantrasyonlarının belirlenmesi

SH-SY5Y hücrelerinde Kur@FeNP4 kontrolle birlikte hücre proliferasyonunda artış gösteren konsantrasyonlar 250 µg/ml, 125 µg/ml ve 1,95 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar *in vitro* nörodejenerasyona karşı kullanılacak dozlar olarak belirlenmiştir.



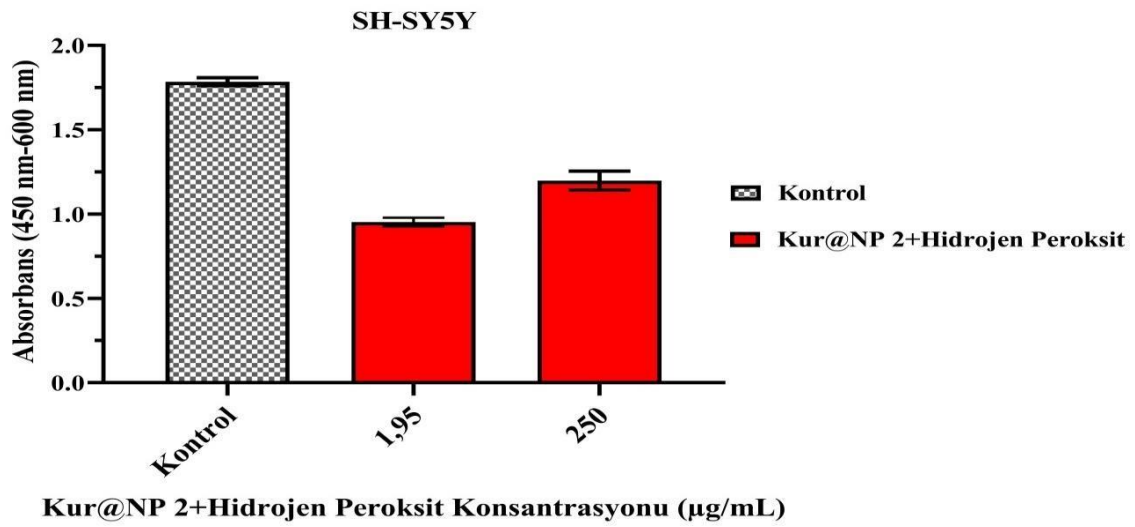
Şekil 4.15. *In vitro* nörodejenerasyona karşı kullanılacak Kurkumin doz konsantrasyonlarının belirlenmesi SH-SY5Y hücrelerinde kurkumin kontrolle birlikte hücre proliferasyonunda artış gösteren konsantrasyonlar 250 µg/ml ve 1,95 µg/ml olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlar *in vitro* nörodejenerasyona karşı kullanılacak dozlar olarak belirlenmiştir.

4.2.1.3. *In Vitro* Nörodejenerasyona Karşı Kur@FeNP1, Kur@FeNP2, Kur@FeNP3, Kur@FeNP4 ve Kurkumin Doz Konsantrasyonlarının Sonuçları



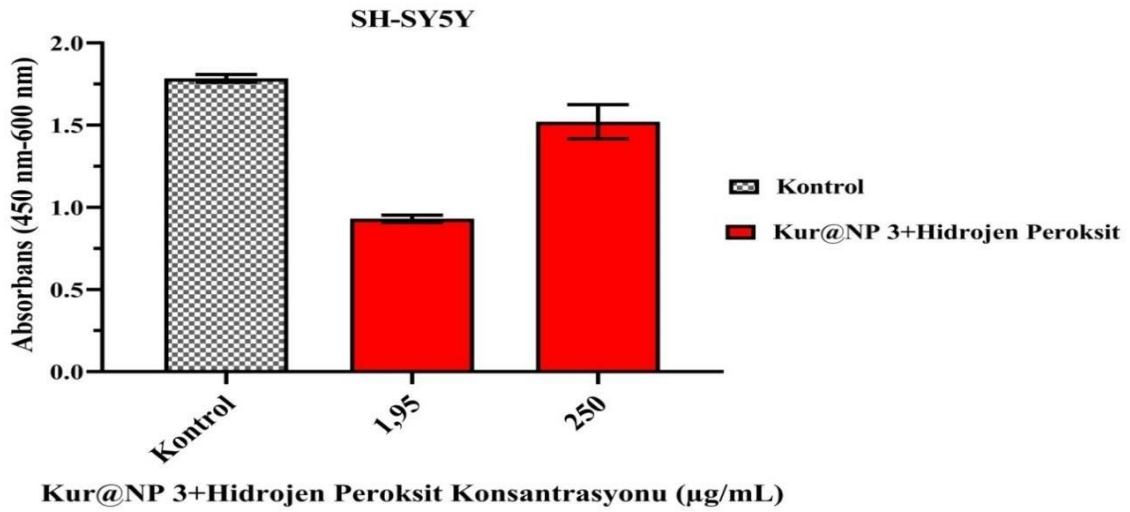
Şekil 4.16. *In vitro* nörodejenerasyona karşı Kur@FeNP1 doz konsantrasyonlarının sonuçları

SH-SY5Y hücrelerinde 300 μM H_2O_2 varlığında oksidatif stres kaynaklı nörodejenerasyona karşı artan konsantrasyonlarda (1,95 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 31,25 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$) Kur@NP1 in etkili olduğu konsantrasyon değerleri belirlendi. Hücre canlılık testi sonunda 300 μM H_2O_2 varlığında Kur@NP1 ile muamele edilen SH-SY5Y hücrelerinde maksimum nöroprotektif etki (Emax) 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonda gözlemlenmiş olup 300 μM H_2O_2 'e göre hücre canlılığında %74,86 oranında artış sağlamıştır.



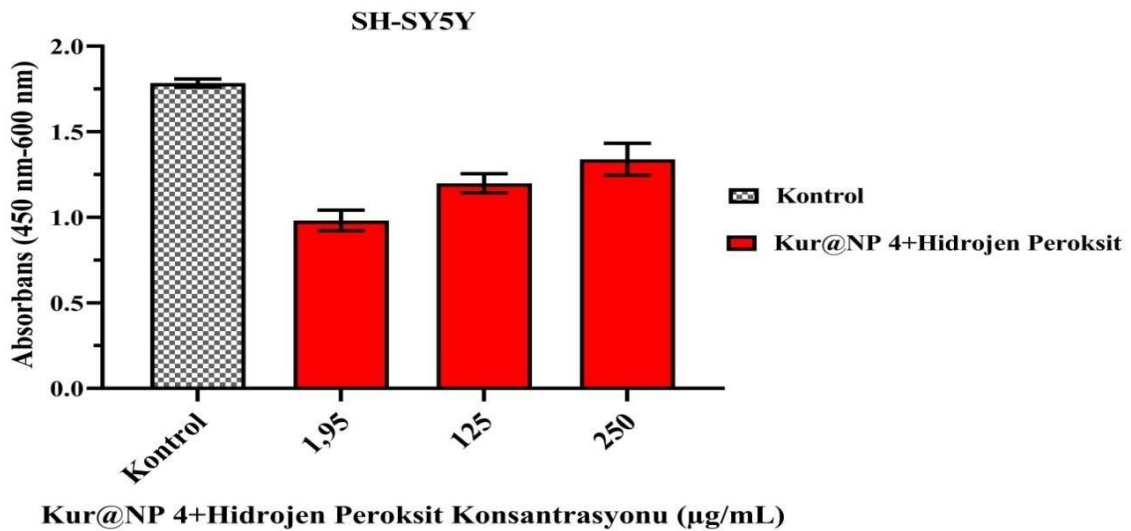
Şekil 4.17. *In vitro* nörodejenerasyona karşı Kur@FeNP2 doz konsantrasyonlarının sonuçları

SH-SY5Y hücrelerinde 300 μM H_2O_2 varlığında oksidatif stres kaynaklı nörodejenerasyona karşı artan konsantrasyonlarda (1,95 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$) Kur@NP2'in etkili olduğu konsantrasyon değerleri belirlendi. Hücre canlılık testi sonunda 300 μM H_2O_2 varlığında Kur@NP2 ile muamele edilen SH-SY5Y hücrelerinde maksimum nöroprotektif etki (Emax) 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonda gözlemlenmiş olup 300 μM H_2O_2 'e göre hücre canlılığında %67,17 oranında artış sağlamıştır.



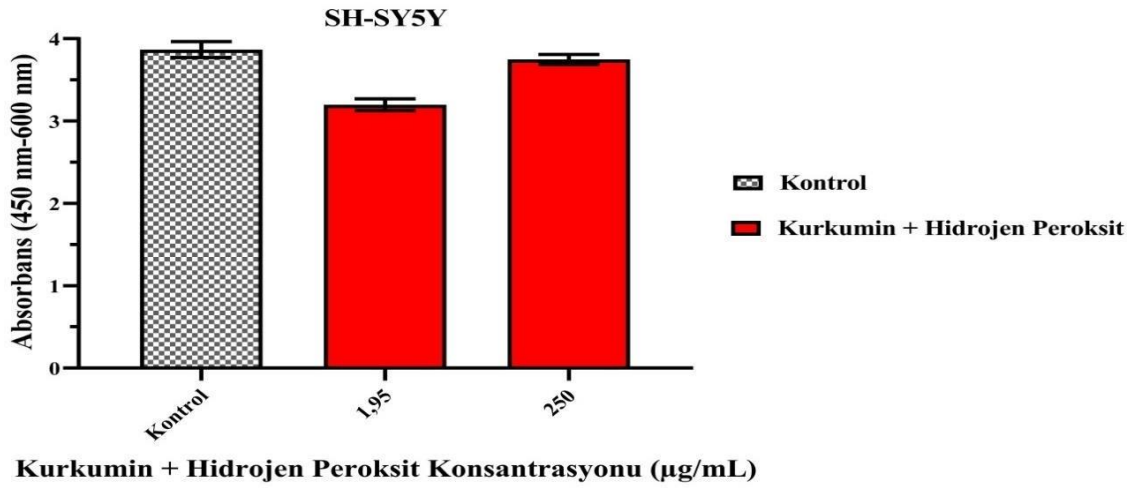
Şekil 4.18. *In vitro* nörodejenerasyona karşı Kur@FeNP3 doz konsantrasyonlarının sonuçları

SH-SY5Y hücrelerinde 300 µM H₂O₂ varlığında oksidatif stres kaynaklı nörodejenerasyona karşı artan konsantrasyonlarda (1,95 µg/ml, 250 µg/ml) Kur@NP3 in etkili olduğu konsantrasyon değerleri belirlendi. Hücre canlılık testi sonunda 300 µM H₂O₂ varlığında Kur@NP3 ile muamele edilen SH-SY5Y hücrelerinde maksimum nöroprotektif etki (Emax) 250 µg/ml konsantrasyonda gözlemlenmiş olup 300 µM H₂O₂'e göre hücre canlılığında %69,4 oranında artış sağlamıştır.



Şekil 4.19. *In vitro* nörodejenerasyona karşı Kur@FeNP4 doz konsantrasyonlarının sonuçları

SH-SY5Y hücrelerinde 300 μM H_2O_2 varlığında oksidatif stres kaynaklı nörodejenerasyona karşı artan konsantrasyonlarda (1,95 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$) Kur@NP4'lerin etkili olduğu konsantrasyon değerleri belirlendi. Hücre canlılık testi sonunda 300 μM H_2O_2 varlığında Kur@NP4 ile muamele edilen SH-SY5Y hücrelerinde maksimum nöroprotektif etki (Emax) 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonda gözlemlenmiş olup 300 μM H_2O_2 'e göre hücre canlılığında %70,68 oranında artış sağlamıştır.

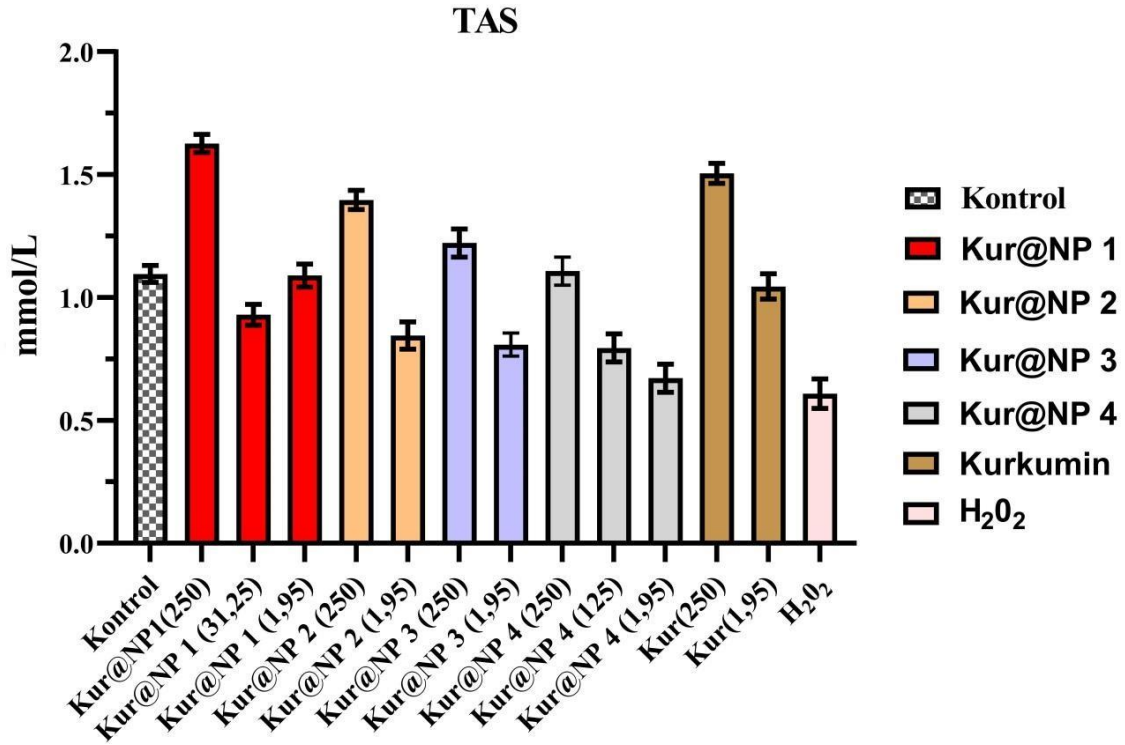


Şekil 4.20. *In vitro* nörodejenerasyona karşı Kurkumin doz konsantrasyonlarının sonuçları

SH-SY5Y hücrelerinde 300 μM H_2O_2 varlığında oksidatif stres kaynaklı nörodejenerasyona karşı artan konsantrasyonlarda (1,95 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ve 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$) kurkuminin etkili olduğu konsantrasyon değerleri belirlendi. Hücre canlılık testi sonunda 300 μM H_2O_2 varlığında kurkumin ile muamele edilen SH-SY5Y hücrelerinde maksimum nöroprotektif etki (Emax) 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonda gözlemlenmiş olup 300 μM H_2O_2 'e göre hücre canlılığında % 72,9 oranında artış sağlamıştır.

4.2.2. TAS ve TOS Kitleri ile Yapılan Oksidan Ve Antioksidan Seviye Ölçümleri

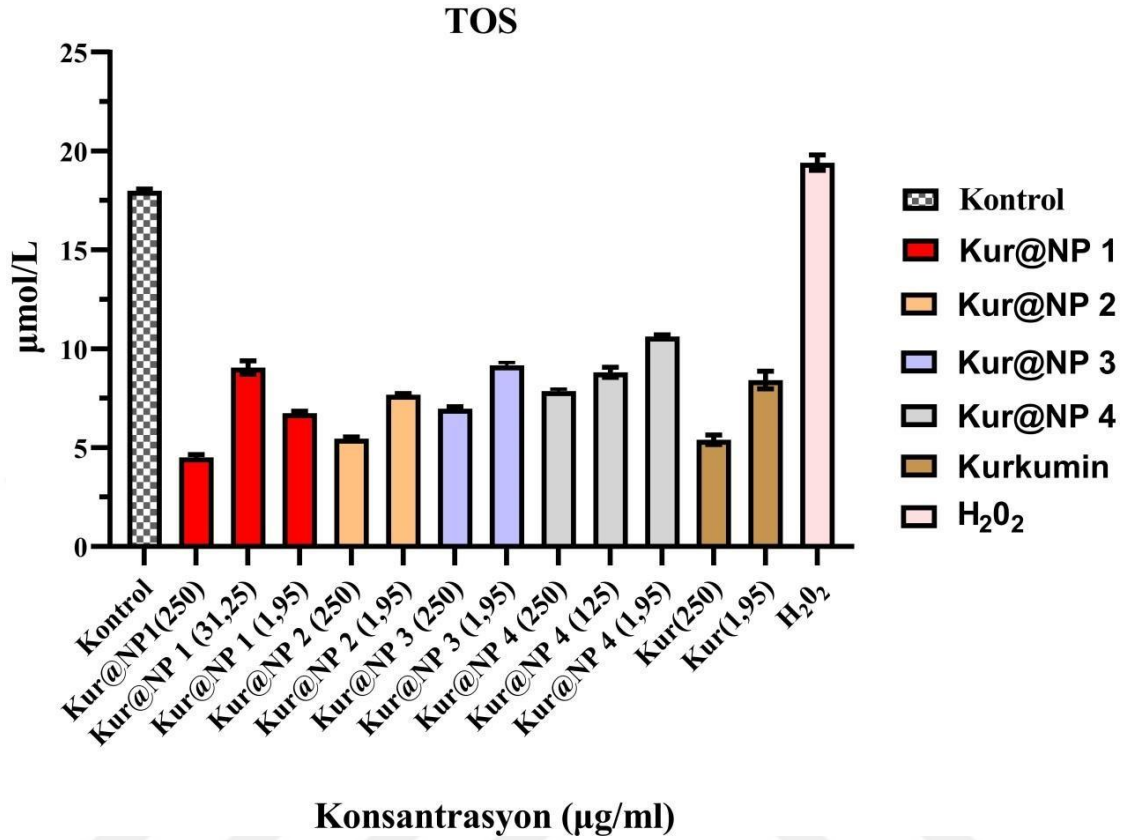
4.2.2.1. TAS (Toplam Antioksidan Seviyesi) Sonuçları



Şekil 4.21. Kur@NP' lerin SH-SY5Y hücre hatlarındaki Toplam Antioksidan Seviyesi

Elde edilen TAS değerlerine göre; artış diğer grup konsantrasyonlarına oranla en yüksek antioksidan seviyesindeki artış Kur@NP1 250 µg/ml dir. Bunu takiben sırasıyla Kurkumin 250, Kur@NP2 250 µg/ml, Kur@NP3 250 µg/ml, Kur@NP4 250 µg/ml ve µg/ml konsantrasyonlarında antioksidan seviyesinde artış gözlenmiştir. Diğer grup konsantrasyonlarında ise anlamlı olarak kabul edebileceğimiz Kur@NP1 31,25, Kur@NP1 1,95, Kur@NP2 1,95, Kur@NP3 1,95, Kur@NP4 1,95, Kurkumin 1,95 konsantrasyonlarıdır. H₂O₂ kontrole göre düşük çıkmıştır. Total antioksidan aktivite en fazla 250 µg/ml konsantrasyonda Kur@FeNP'lerde arttığı (Demircan ve ark 2019) tarafından yapılan çalışmamızı destekler niteliktedir.

4.2.2.2. TOS (Toplam Oksidan Seviyesi) Sonuçları



Şekil 4.22. Kur@NP' lerin SH-SY5Y hücre hatlarındaki Toplam OksidanSeviyesi

Elde edilen TOS değerlerine göre; en yüksek oksidan düzeylerinde artış diğer grup konsantrasyonlarına oranla H₂O₂ de görülmüştür. En düşük değeri gösteren Kur@NP1 250 µg/ml nanopartikülüdür. Yine anlamlı olarak kabul edilebilecek konsantasyonlar Kurkumin 250 µg/ml, Kur@NP2 250 µg/ml, Kur@NP3 250 µg/ml ve Kur@NP4 250 µg/ml konsantrasyonlarıda oksidan seviyesinde azalma görülmüştür.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada kurkumin etken maddesi kullanılarak demir nanopartikül sentezlenmiştir. Özellikle son yıllarda oldukça tercih edilen yeşil sentez olarak adlandırılan bu yöntemle bitki kullanılarak nanopartikül sentezi yapılır. Bu yöntem kimyasal yöntemlere nazaran daha masum oldukları düşünülmektedir. Yeşil sentez nanopartikülleri yüksek termal, elektrik iletkenlikleri gibi sergilenen olağan üstü özellikleri ile önemli ve hızla büyüyen araştırma alanlarından biridir. Nanopartiküllerin kullanıldığı (kozmetik, biyomühendislik, katalizör, tıp gibi) alanlar itibariyle biyoyumumluluk özellikleriyle çevre dostu olarak bilinirler. Çalışmada biyolojik bir sentez olan yeşil sentez yöntemi ile farklı molaritelere sahip 4 farklı Kur@FeNP sentezlenmiştir. Manyetik özelliği en iyi olan Kur@FeNP1 olduğu için çalışmalara Kur@FeNP1'in karakterizasyonu üzerinden devam edildi. Bu NP'lerin yapısal, UV-Görünür (UV-VIS) spektrofotometresi kullanılarak değerlendirildi. Taramalı elektron mikroskobu (SEM), enerji dağılımlı X-ışını analizi (EDX), transmisyon elektron mikroskobu (TEM), X-ışını difraktometrisi (XRD) ve Fourier transform kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, Kur@FeNP1'lerin oluşumunu doğrulamak ve mevcut bağların morfolojisini, temel bileşimini, şeklini ve boyutunu, faz bileşimini ve doğasını belirlemek için yapılmıştır. Karakterizasyon yöntemlerinden UV-Visible Spektroskopi yöntemiyle demir nanopartiküllerin optik özelliğinin belirlenmesi için 200-1100 nm dalga boyu aralığında alan taraması yapılmıştır. 350 nm'de geniş bir bant oluşmuş ve yüksek bir enerji soğurması görülmüştür. Demir elektronların oluşturduğu yüzey plazma rezonansından dolayı bantların 205-350 nm civarında olduğu gözlenmiştir.

XRD yöntemiyle Kur@FeNP1'lerin kristal ve faz tanımlaması karakterize edildi. XRD analizi sonucu 2θ ölçeğinde yapılan XRD analizinde Kur@FeNP1'ler FeNP'ler $29,2^\circ$, $41,8^\circ$, $48,6^\circ$, $57,8^\circ$ ve $63,4^\circ$ 'de karakteristik pikler vermiştir. Elde edilen bu piklerin Kur@FeNP1'lerin manyetite ait olan karakteristik pikler olduğunu ve kübik spinel yapıda

olduğu tespit edilmiştir (Lan et al. 2007; Palanisamy et al. 2013; Gautam et al. 2015) yaptıkları çalışmalar destekler niteliktedir. Yansıma veren düzlemler sırasıyla (211), (222), (400), (332) ve (431) olarak indekslenmiştir. Kur@FeNP1'nin XRD analizi sonucu, manyetite nanopartiküllerinin sentezini doğrulamakla beraber Kur@FeNP1'nin XRD analizinde farklı difraksiyon piklerinin olmaması elde edilen ürünlerin manyetit olmayan safsızlıklar olmadığı görülmüştür. Elde edilen Kur@FeNP1'nin nanoapartiküldeki pikler demir oksite ait kristal yapıdaki piklerdir ve bu pikler sentezlenen manyetite (Fe_3O_4) formudur. Kurkumin@FeNP1'nin referans modeline (Referance kodu: 00-032-0469/ Kübik) uymaktadır.

TEM Yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen Kur@FeNP1'nin yapısal, morfolojik şekilleri TEM kullanılarak incelenmiştir. TEM değerlendirmesi, parçacıkların toplandığını gösterir. Parçacıkların şeklinin kübik olduğu tespit edilmiştir. İlk olarak, SEM mikrografında gözlenen parçacıkların kübik şekli, TEM sonucu, boyuta yakın homojenliğe sahip parçacıkları gösteren parçacıkların SEM morfolojisini destekler nitelikte olduğunu Zeta potansiyeli yeşil sentez metodu ile elde edilen Kur@FeNP1'nin elektriksel yükü zeta potansiyeli ile belirlenmiştir. Kur@FeNP1'nin elektriksel yükü Zeta potansiyeli analiz sonucu $-18,9$ mV olduğu tespit edilmiştir. Kur@FeNP1'nin bu değeri orta derecede kararlı olduğunu göstermektedir (Bhattacharjee 2016; Duman vd. 2021). Demir nanopartiküllerde organik bileşiklerin demir nanopartiküllerin yüzeyine tutunmasından dolayı negatif değer göstermektedir (Singh et al. 2020) yaptıkları çalışmalarla uyumludur.

FT-IR spektroskopisi yeşil sentez yöntemiyle sentezlenen manyetik Kur@FeNP1'nin diğer elementlerle oluşturduğu bağlarının tespiti amacıyla $4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında FT-IR (Four Dönüşümlü Infrared) spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. FT-IR tekniğinin amacı nanopartikül yapısının içerisinde bulunan bağların belirli frekanslarda yaydıkları titreşimleri ölçmektir (Veisi et al. 2016). FT-IR Spektroskopisi metoduna göre Kurkumin etken maddesi Kur@FeNP1'nin spektrumları karşılaştırıldı. FT-IR analizi, Kur@FeNP'nin biyomoleküllerini belirlemek ve aktif bileşenlerin fonksiyonel grupları tanımlandı (Athar 2015). Kur@FeNP1'nin FT-IR Spektroskopisi 882 cm^{-1} , 1023 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} , 2934 cm^{-1} , 3448 cm^{-1} değerli pikler elde edilmiştir.

SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) yeşil sentez metodu ile elde edilen manyetik Kur@FeNP1'lerin karakterizasyonu için şekil ve boyut analizi SEM kullanılarak incelenmiştir.

SEM kullanılarak sentezlenen nanopartikül morfolojik özelliklerine ait alınan görüntüler incelendiğinde Kur@FeNP1'lerin, yaklaşık 20-60 nm çapında zincirler ve birbirleriyle temas halinde olduğu tespit edilmiştir. (Yoonus et al. 2021). Elde edilen SEM görüntüleri Şekil 4.7' de verilmiştir. SEM'den elde edilen görüntülerden alınan sonuçlara göre Kur@FeNP'lerin morfolojik yapılarının kübik olmakla beraber boyutlarında farklılık da gözlemlenmektedir. EDX yöntemi kullanılarak, Kur@FeNP1'nin yapısında bulunan elementler tespit edilmiştir. Sentezlenen nanopartikül'ün yapısındaki Fe ve O elementlerinin pikleri verilmiştir.

SH-SY5Y hücre hattına uygulanan invitro nörodejenerasyona karşı kullanıcak Kurkumin, Kur@FeNP1, Kur@FeNP2, Kur@FeNP3 ve Kur@FeNP4 uygun doz konsantrasyonları belirlendi. Bunlar sırasıyla SH-SY5Y hücrelerinde Kur@FeNP1 kontrolle birlikte hücre proliferasyonunda artış gösteren konsantrasyonlar 250 µg/ml, 31,25 µg/ml ve 1,95 µg/ml, Kur@FeNP2 kontrole göre 250 µg/ml ve 1,95 µg/ml, Kur@FeNP3 kontrole göre 250 µg/ml ve 1,95 µg/ml, Kur@FeNP4 kontrole göre 250 µg/ml, 125 µg/ml ve 1,95 µg/ml, Kurkumin 250 µg/ml ve 1,95 µg/ml konsantrasyonları *in vitro* nörodejenerasyona karşı kullanılacak dozlar olarak belirlenmiştir.

SH-SY5Y hücre hattında *in vitro* hidrojen peroksit nörotoksisitesi çalışması yapılmıştır. H₂O₂'in nöral hücrede oksidatif stresi tetikleme kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bu çalışma kapsamında insan (SH-SY5Y) hücre hattında H₂O₂ kaynaklı nörodejenerasyon oluşturuldu. Bu nörodejenerasyon (1000-75 µM) aralığında H₂O₂ konsantrasyonları incelendi. Bu konsantrasyona bağlı olarak hücre canlılık kontrol grubuna göre azalmalar görüldü. Sonuç olarak belirlenen 300 µM sitotoksik H₂O₂ konsantrasyonu (LD₅₀) değerinin olduğu tespit edildi. Belirlenen 300 µM sitotoksik H₂O₂ konsantrasyonu (LD₅₀) değerinin (Taki-Nakano et al. 2014; Xiao et al. 2013; Zhang et al. 2007) tarafından yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, sitotoksik H₂O₂ konsantrasyonlarındaki değişimler hücre ekim yoğunluğundaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Gülden et al. 2010).(175, 150, 87,5, 75 µM). H₂O₂ konsantrasyonunun

hücre sayısına göre düşük konsantrasyonda kaldığı, oksidatif stresi hücrede sitotoksik etki oluşturacak kadar arttırmadığından dolayı hücresel antioksidan savunma ve büyüme sistemlerini uyararak hücre canlılığını arttırdığını düşünülmektedir.

H₂O₂ varlığında Ku@FeNP'lerin hücre canlılığı üzerine etkilerini araştırmak amacıyla belirlenen LD₅₀ (300 µM) değerindeki H₂O₂ varlığında SH-SY5Y hücreleri (250-1,90 µg/ml) konsantrasyon aralığında Kurkumin ve Ku@FeNP'ler ile muamele edildi.

Bu konsantrasyonların 300 µM H₂O₂'in analiz sonrası, (E_{max}) Kurkumin ve Kur@FeNP'lerin 250 µg/ml oksidatif stres kaynaklı nörodejenerasyona karşı en etkili nöroprotektif etkiye sahip olduğu belirlendi. Bununla birlikte, 250 µg/ml konsantrasyonunda (E_{max}) Kur@NP'lerin Xi et al. (2012); Chen et al. (2016) tarafından yapılan çalışmalar ile uyumlu olarak oksidatif stres kaynaklı nörodejenerasyona karşı en etkili nöroprotektif etkiye sahip olduğu görülmektedir. Bu da H₂O₂'i güçlü bir şekilde detoksifiye etme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Bu çalışmanın sonuçları, oksidatif strese karşı güçlü bir nöroprotektif olabileceğini ve çeşitli nörolojik hastalıklarda nöronal hasarı veya ölümü önlemek için kullanılabileceğini (Oğuz vd. 2021) tarafından yapılan çalışmayla destekler nitelikte olduğu görülmektedir.

TAS çalışmalarında, en etkili yaşlanma kriterlerinden olan oksidatif stres koşulları oluşturularak SH-SY5Y hücre hatında sonuçlara göre, sadece H₂O₂ ile muamele edilen hücre grubundaki total antioksidan aktivite, H₂O₂ ile muamele edilen hücre grubuna göre anlamlı bir şekilde artış göstermiş ve total antioksidan aktivite en fazla 250 µg/ml konsantrasyonda Kur@FeNP'lerde arttığı (Demircan ve ark 2019) tarafından yapılan çalışmamızı destekler niteliktedir. Bunu takiben sırasıyla Kurkumin 250, Kur@NP2 250 µg/ml, Kur@NP3 250 µg/ml, Kur@NP4 250 µg/ml ve µg/ml konsantrasyonlarında antioksidan seviyesinde artış gözlenmiştir. H₂O₂ kontrole göre düşük çıkmıştır.

TOS çalışmalarında, Elde edilen SH-SY5Y hücre lizatlarından total oksidan durumu incelendiğinde sonuçlarda sadece H₂O₂ ve H₂O₂ ile beraber muamele edilen TOS değerlerine göre; en yüksek oksidan düzeylerinde artış diğer grup konsantrasyonlarına oranla H₂O₂' de görülmüştür.

En düşük değeri gösteren Kur@NP1 250 µg/ml nanopartikülüdür. Yine anlamlı olarak kabul edilebilecek konsantasyonlar Kurkumin 250 µg/ml, Kur@NP2 250 µg/ml, Kur@NP3 250 µg/ml, ve Kur@NP4 250 µg/ml konsantrasyonlarda da oksidan seviyesinde azalma görülmüştür.

Yukarıda belirtilen tüm verilere dayanarak, oksidatif strese karşı koruyucu etkileri olan güçlü bir ajan olarak kabul edilebileceğini ve nörolojik hastalıklarda nöronal yaralanma veya ölümün önlenmesinde uygulanabileceğini (Oğuz vd. 2021) tarafından yaptıkları çalışmalarında destekler nitelikte olduğu görülmektedir.

Bu tez çalışmasının farklı konsantrasyonda sentezlenen Kur@FeNP'lerin nörodejeneratif hastalıklara karşı gerçekleştirilecek sinerjistik nöroprotektivite çalışmalarına bir basamak oluşturabileceği, bununla birlikte oksidatif stres ile ilişkili nörodejeneratif hastalıkların tedavisi veya önlenmesi için potansiyel bir terapötik ilaç adayı olabilmesi için bu çalışmaların western blot çalışmalarının ve gen düzeylerinde Real-Time PCR çalışmalarının devamının yapılması gerekmektedir ve böylece literatüre önemli bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aisida SO, Madubuonu N, Alnasir MH, Ahmad I, Botha S, Maaza M, Ezema FI (2020) Biogenic synthesis of iron oxide nanorods using *Moringa oleifera* leaf extract for antibacterial applications. *Applied Nanoscience* 10(1): 305-315
- Ak T, Gülçin İ (2008) Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-Biological Interactions* 174(1): 27-37
- Alam T, Khan RAA, Ali A, Sher H, Ullah Z, Ali M (2019) Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles via *Skimmia laureola* and their antibacterial efficacy against bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* *Materials Science and Engineering: C* 98: 101-108
- Aslankoç R, Demirci D, İnan Ü, Yıldız M, Öztürk A, Çetin M, Yılmaz B (2019) The role of antioxidant enzymes in oxidative stress-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx). *Med J SDU/Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi. Dergisi* 26: 362-369
- Atasayar Unver Z, Koldemir Gündüz M, Kayhan FE, Kaymak G, Zengin U, Çagatay, P, Süsleyici Duman B (2015) The Effects of Peroxiredoxin 6 Gene rs41055489 Variation on Oxidative Stress Mechanisms in Human Model Organism *Bezmialem Science* 3: 37-42
- Athar T (2015) *Emerging Nanotechnologies for Manufacturing. (Second Edition)*, 17 Chapter In *Micro and Nano Technologies*, Waqar Ahmed, Mark J. Jackson, William Andrew Publishing, p. 444-538
- Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S (2014) Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* p. 2-3
- Bansal S, Maurya IK, Shenmar K, Yadav N, Thota CK, Kumar V, Jain R (2017) Aβ 1-42 C-terminus fragment derived peptides prevent the self-assembly of the parent peptide. *RSC Advances* 7(7): 4167-4173
- Barrera G (2012) Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *International Scholarly Research Notices* p. 2-6
- Bibi I, Nazar N, Ata S, Sultan M, Ali A, Abbas A, Iqbal M (2019) Green synthesis of iron oxide nanoparticles using pomegranate seeds extract and photocatalytic activity evaluation for the degradation of textile dye. *Journal of Materials Research and Technology* 8(6): 6115-6124

Butterfield DA, Koppal T, Howard B, Subramaniam RAM, Hall N, Hensley K, Carney J (1998) Structural and functional changes in proteins induced by free radical-mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants N-tert-butyl-alpha-phenylnitrone and vitamin E. *Annals of The New York Academy of Sciences* 854(1): 448-462

Büyüksulu N, Yiğitbaşı T (2015) Reaktif oksijen türleri ve obezitede oksidatif stres. *Clinical and Experimental Health Sciences* 5(3): 197-203

Chandraker SK, Lal M, Dhruve P, Singh RP, Shukla R (2020) Cytotoxic, Antimitotic, DNA binding, Photocatalytic, H₂O₂ sensing, and Antioxidant properties of biofabricated silver nanoparticles using leaf extract of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken. *Frontiers in Molecular Biosciences* 7: 1-7

Chandraker SK, Lal M, Shukla R (2019) DNA-binding, antioxidant, H₂O₂ sensing and photocatalytic properties of biogenic silver nanoparticles using *Ageratum conyzoides* L. leaf extract. *RSC Advances* 9(40): 1-8

Chen L, Sun L, Liu Z, Wang H, Xu C (2016) Protection afforded by quercetin against H₂O₂-induced apoptosis on PC12 cells via activating PI3K/Akt signal pathway. *Journal of Receptors and Signal Transduction* 36(1): 98-102

Cheng B, Lu H, Bai B, Chen J (2013) d-β-Hydroxybutyrate inhibited the apoptosis of PC12 cells induced by H₂O₂ via inhibiting oxidative stress. *Neurochemistry International* 62(5): 620-625

Chevion M, Berenshtein E, Stadtman ER (2000) Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage. *Free Radical Research* 33: 99-108

Cole GM, Teter B, Frautschy SA (2007) Neuroprotective effects of curcumin. The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 595:197-212

Cortopassi GA, Wong A (1999) Mitochondria in organismal aging and degeneration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 1410(2): 183-193

Dadras A, Naimi-Jamal MR, Moghaddam FM, Ayati SE (2018) Suzuki-Miyaura coupling reaction in water in the presence of robust palladium immobilized on modified magnetic Fe₃O₄ nanoparticles as a recoverable catalyst. *Applied Organometallic Chemistry* 32(2): 3993

Davies KJ (1987) Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. general aspects. *Journal of Biological Chemistry* 262(20): 1-9

Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ (1997) Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochemical Journal* 324(1): 1-18

Demircan G, Güzelsoy Ü (2019). The Investigation of the Antioxidant Characterization and the Effects on Aging of Oleuropeinine on the Dermal Fibroblast Cells. *Bozok Tıp Dergisi* 9(2): 16-24

Devatha CP, Thalla AK, Katte SY (2016) Green synthesis of iron nanoparticles using different leaf extracts for treatment of domestic waste water. *Journal of Cleaner Production* 139: 1425-1435

Doğan M (2020) SHSY-5Y insan nöroblastom hücre hattında pentilentetrazolün neden olduğu oksidatif hasar üzerinde kaptoprilin etkisi. *Cumhuriyet Tıp Dergisi* 42(4): 479-483

dos Santos Aguilar JG, de Carvalho AKF, Bento HBS, Sato HH (2019) Characterization of magnetic particles of azocasein-iron composite for protease purification. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 486: 165288

Dreher D, Junod AF (1996) Role of oxygen free radicals in cancer development. *European Journal of Cancer* 32(1): 30-38

Droge W (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews* 82(1): 47-95

Duman S, Kaya B, Caf F, Enez B, Fincan SA (2021) Innovative hydrogen release from sodium borohydride hydrolysis using biocatalyst-like Fe₂O₃ nanoparticles impregnated on *Bacillus simplex* bacteria. *International Journal of Hydrogen Energy* 46(29): 15410-15430

Dupuy C, Virion A, Ohayon R, Kaniewski J, Deme D, Pommier J (1991) Mechanism of hydrogen peroxide formation catalyzed by NADPH oxidase in thyroid plasma membrane. *Journal of Biological Chemistry* 266(6): 3739-3743

Dutra MF, Bristot IJ, Batassini C, Cunha NB, Vizuete AFK, De Souza DF, Gonçalves CA (2012) Effects of chronic caloric restriction on kidney and heart redox status and antioxidant enzyme activities in Wistar rats. *BMB Reports* 45(11): 671

Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, Diederich M (2005) Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Letters* 223(2): 181-190

Esatbeyoglu T, Huebbe P, Ernst IM, Chin D, Wagner AE, Rimbach G (2012) Curcumin-from molecule to biological function. *Angewandte Chemie International Edition* 51(22): 5308-5332

Esterbauer H, Cheeseman KH (1990) Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in Enzymology* 186: 407-421

Ferrari E, Benassi R, Sacchi S, Pignedoli F, Asti M, Saladini M (2014) Curcumin derivatives as metal-chelating agents with potential multifunctional activity for pharmaceutical applications. *Journal of Inorganic Biochemistry* 139: 38-48

Gautam RK, Gautam PK, Banerjee S, Soni S, Singh SK, Chattopadhyaya MC (2015) Removal of Ni (II) by magnetic nanoparticles. *Journal of Molecular Liquids* 204: 60-69

Ghanbari D, Salavati-Niasari M (2015) Synthesis of urchin-like CdS-Fe₃O₄ nanocomposite and its application in flame retardancy of magnetic cellulose acetate. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 24: 284-292

Gierschner J, Duroux JL, Trouillas P (2012) UV/Visible spectra of natural polyphenols: a time-dependent density functional theory study. *Food Chemistry* 131(1): 79-89

Girotti AW (1998) Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of Lipid Research* 39(8): 1529-1542

Goldstein BD, Witz G (1990) Free radicals and carcinogenesis. *Free Radical Research Communications* 11(1-3): 3-10

Gündoğdu G, Dodurga Y, Küçükataş V (2019) The sulfite molecule enhances homocysteine toxicity in SH-SY5Y cells. *Molecular Biology Reports* 46(4): 4017-4025

Gülden M, Jess A, Kammann J, Maser E, Seibert H (2010) Cytotoxic potency of H₂O₂ in cell cultures: impact of cell concentration and exposure time. *Free Radical Biology and Medicine* 49(8): 1298-1305

Hall JB, Dobrovolskaia MA, Patri AK, McNeil SE (2007) Characterization of nanoparticles for therapeutics *Nanomedicine* 2: 6

Halliwell B, Clement MV, Long LH (2000) Hydrogen peroxide in the human body, *FEBS Letters* 486(1): 10-13

Heidarnezhad A, Zamani F (2015) Chromium containing Fe₃O₄/polyacrylonitrile-ethylenediamine as a magnetically recoverable catalyst for alcohol oxidation. *Catalysis Communications* 60: 105-109

Hornsveld M, Dansen TB (2016) The hallmarks of cancer from a redox perspective. *Antioxidants and Redox Signaling* 25(6): 300-325

Iqbal J, Abbasi BA, Ahmad R, Shahbaz A, Zahra SA, Kanwal S, Mahmood T (2020) Biogenic synthesis of green and cost effective iron nanoparticles and evaluation of their potential biomedical properties. *Journal of Molecular Structure* 1199: 126979

Iqbal M, Sharma SD, Okazaki Y, Fujisawa M, Okada S (2003) Dietary supplementation of curcumin enhances antioxidant and phase II metabolizing enzymes in ddY male mice: possible role in protection against chemical carcinogenesis and toxicity. *Pharmacology and Toxicology* 92(1): 33-38

Jin X, Liu Y, Tan J, Owens G, Chen Z (2018) Removal of Cr (VI) from aqueous solutions via reduction and absorption by green synthesized iron nanoparticles. *Journal of Cleaner Production* 176: 929-936

Jomova K, Valko M (2011) Importance of iron chelation in free radical-induced oxidative stress and human disease. *Current Pharmaceutical Design* 17(31): 3460-3473

Jones RH, Hothersall JS (1993) The effect of diabetes and dietary ascorbate supplementation on the oxidative modification of rat lens β L crystallin. *Biochemical Medicine and Metabolic Biology* 50(2): 197-209

Kanner J, German JB, Kinsella JE, Hultin HO (1987) Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 25(4): 317-364

Karademir M, Gümüş E, Taştımur Y, Ergül M, Ergül M, Karabulut S, Taşkıran, AŞ (2019) Neuroprotective effect of astaxanthin (ATX) against cognitive impairment on PTZ-induced epileptic seizures in rats and against PTZ-induced neurotoxicity in SH-SY5Y human neuroblastoma cell culture. *Cumhuriyet Medical Journal* 41(1): 212-222

Kátai E, Pál J, Poór VS, Purewal R, Miseta A, Nagy T (2016) Oxidative stress induces transient OGIc NA c elevation and tau dephosphorylation in SH-SY5Y cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 20(12): 2269-2277

Kaul S, Krishnakanth TP (1994) Effect of retinol deficiency and curcumin or turmeric feeding on brain Na⁺-K⁺ adenosine triphosphatase activity. *Molecular and Cellular Biochemistry* 137(2): 101-107

Kawase T, Kato S, Lieber CS (1989) Lipid peroxidation and antioxidant defense systems in rat liver after chronic ethanol feeding. *Hepatology* 10(5): 815-821

Kelly FJ, Mudway IS (2003) Protein oxidation at the air-lung interface. *Amino Acids* 25(3): 375-396

Khadrawy YA, Hosny EN, Magdy M, Mohammed HS (2021) Antidepressant effects of curcumin-coated iron oxide nanoparticles in a rat model of depression. *European Journal of Pharmacology* 174384

Khan S, Setua S, Kumari S, Dan N, Massey A, Hafeez BB, Chauhan SC (2019) Superparamagnetic iron oxide nanoparticles of curcumin enhance gemcitabine therapeutic response in pancreatic cancer. *Biomaterials* 208: 83-97

Kut D, Güneşoğlu C (2005) Nanoteknoloji ve tekstil sektöründeki uygulamaları. *Tekstil ve Teknik Dergisi, İstanbul* s. 224-230

Kuttan R, Bhanumathy P, Nirmala K, George MC (1985) Potential anticancer activity of turmeric (*Curcuma longa*). *Cancer Letters* 29(2): 197-202

Lan Q, Liu C, Yang F, Liu S, Xu J, Sun D (2007) Synthesis of bilayer oleic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles and their application in pH-responsive Pickering emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science* 310(1): 260-269

Lin JK (2007) Molecular targets of curcumin. The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 595:227-243

Lodha R, Bagga A (2000) Traditional Indian systems of medicine. *Annals of The Academy of Medicine, Singapore* 29(1): 37-41

Loiha S, Föttinger K, Zorn K, Klysubun W, Rupprechter G, Wittayakun J (2009) Catalytic enhancement of platinum supported on zeolite beta for toluene hydrogenation by addition of palladium. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 15(6): 819-823

Lushchak VI (2014) Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions* 224: 164-175

Marnett LJ (1999) Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 424(1-2): 83-95

Martínez-Cabanas M, López-García M, Barriada JL, Herrero R, de Vicente MES (2016) Green synthesis of iron oxide nanoparticles. Development of magnetic hybrid materials for efficient As (V) removal. *Chemical Engineering Journal* 301: 83-91

Matés JM, Pérez-Gómez C, De Castro IN (1999) Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry* 32(8): 595-603

Matsuzawa A, Ichijo H (2008) Redox control of cell fate by MAP kinase: physiological roles of ASK1-MAP kinase pathway in stress signaling. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1780(11): 1325-1336

Melov S, Ravenscroft J, Malik S, Gill MS, Walker DW, Clayton PE, Lithgow GJ (2000) Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics. *Science* 289(5484): 1567-1569

Mirza AU, Kareem A, Nami SA, Khan MS, Rehman S, Bhat SA, Nishat N (2018) Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles using *Agrewia optiva* and *Prunus persica* phyto species: characterization, antibacterial and antioxidant activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 185: 262-274

Naz S, Islam M, Tabassum S, Fernandes NF, de Blanco EJC, Zia M (2019) Green synthesis of hematite (α -Fe₂O₃) nanoparticles using *Rhus punjabensis* extract and their biomedical prospect in pathogenic diseases and cancer. *Journal of Molecular Structure* 1185: 1-7

Noman M, Shahid M, Ahmed T, Tahir M, Naqqash T, Muhammad S, Aslam Z (2020) Green copper nanoparticles from a native *Klebsiella pneumoniae* strain alleviated oxidative stress impairment of wheat plants by reducing the chromium bioavailability and increasing the growth. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 192: 110303

Nordberg J, Arnér ES (2001) Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine* 31(11): 1287-1312

Oguz E, Bebitoglu BT, Acet G, Hodzic A, Hatiboglu N, Ada S (2021) Effect of lycopene on As₂O₃ induced oxidative stress in SH-SY5Y cells. *Molecular Biology Reports* 48(4): 3205-3212

Oliver CN, Ahn BW, Moerman EJ, Goldstein S, Stadtman ER (1987) Age-related changes in oxidized proteins. *Journal of Biological Chemistry* 262(12): 5488-5491

Otteneider MB, Knutson CG, Daniels JS, Hashim M, Crews BC, Remmel RP, Marnett LJ (2006) In vivo oxidative metabolism of a major peroxidation-derived DNA adduct, M1dG. *Proceedings of The National Academy of Sciences* 103(17): 6665-6669

Palanisamy KL, Devabharathi V, Sundaram NM (2013) The utility of magnetic iron oxide nanoparticles stabilized by carrier oils in removal of heavy metals from waste water. *International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences* 1(4): 15-22

Pettine M, Campanella L, Millero FJ (1999) Arsenite oxidation by H₂O₂ in aqueous solutions. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63(18): 2727-2735

Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L (2015) Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 30(1): 11-26

Pisarev OA, Titova AV, Borovikova LN, Kipper AI, Voroshilova TM, Panarin EF (2016) Immobilization of chymotrypsin on silver nanoparticles. *Russian Chemical Bulletin* 65(3): 790-793

Pizzimenti S, Ciamporero ES, Daga M, Pettazzoni P, Arcaro A, Cetrangolo G, Barrera G (2013). Interaction of aldehydes derived from lipid peroxidation and membrane proteins. *Frontiers in Physiology* 4: 242

Radini IA, Hasan N, Malik MA, Khan Z (2018) Biosynthesis of iron nanoparticles using *Trigonella foenum-graecum* seed extract for photocatalytic methyl orange dye degradation and antibacterial applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 183: 154-163

Rhee SG (1999) Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger. *Experimental and Molecular Medicine* 31(2): 53-59

Saif S, Tahir A, Chen Y (2016) Green synthesis of iron nanoparticles and their environmental applications and implications. *Nanomaterials* 6(11): 209

Saikia C, Das MK, Ramteke A, Maji TK (2016) Effect of crosslinker on drug delivery properties of curcumin loaded starch coated iron oxide nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* 93: 1121-1132

Sakallıoğlu H (2013) Manyetik nanopartiküller üzerine desteklenmiş Schiff bazı türevi metal komplekslerinin sentezleri ve katalitik etkinliklerinin incelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Çukurova Üniversitesi, Adana, 16

- Sarkar A, Sil PC (2014) Iron oxide nanoparticles mediated cytotoxicity via PI3K/AKT pathway: role of quercetin. *Food and Chemical Toxicology* 71: 106-115
- Sarma AD, Mallick AR, Ghosh AK (2010) Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research* 1(3): 185-192
- Scapagnini G, Colombrita C, Amadio M, D'Agata V, Arcelli E, Sapienza M, Calabrese V (2006) Curcumin activates defensive genes and protects neurons against oxidative stress. *Antioxidants and Redox Signaling* 8(3-4): 395-403
- Schloesser A, Campbell G, Glüer CC, Rimbach G, Huebbe P (2015) Restriction on an energy-dense diet improves markers of metabolic health and cellular aging in mice through decreasing hepatic mTOR activity. *Rejuvenation Research* 18(1): 30-39
- Sharma G, Kumar A, Sharma S, Naushad M, Dwivedi RP, ALOthman ZA, Mola GT (2019) Novel development of nanoparticles to bimetallic nanoparticles and their composites: a review. *Journal of King Saud University-Science* 31(2): 257-269
- Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP (2005) Curcumin: the story so far. *European Journal of Cancer* 41(13): 1955-1968
- Siems WG, Grune T, Esterbauer H (1995) 4-Hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small intestine. *Life Sciences* 57(8): 785-789
- Smith CD, Carney JM, Starke-Reed PE, Oliver CN, Stadtman ER, Floyd RA, Markesbery WR (1991) Excess brain protein oxidation and enzyme dysfunction in normal aging and in Alzheimer disease. *Proceedings of The National Academy of Sciences* 88(23): 10540-10543
- Soliman NA, Keshk WA, Shoheib ZS, Ashour DS, Shamloula MM (2014) Inflammation, oxidative stress and L-fucose as indispensable participants in schistosomiasis-associated colonic dysplasia. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 15(3): 1125-1131
- Stadtman ER (1990) Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radical Biology and Medicine* 9(4): 315-325
- Stankovic M, Mladenovic D, Ninkovic M, Vucevic D, Tomasevic T, Radosavljevic T (2013) Effects of caloric restriction on oxidative stress parameters. *General Physiology and Biophysics* 32(2): 277-83
- Suh HW, Kang S, Kwon KS (2007) Curcumin attenuates glutamate-induced HT22 cell death by suppressing MAP kinase signaling. *Molecular and Cellular Biochemistry* 298(1): 187-194
- Sullivan LB, Chandel NS (2014) Mitochondrial reactive oxygen species and cancer. *Cancer and Metabolism* 2(1): 1-12

Taki-Nakano N, Ohzeki H, Kotera J, Ohta H. (2014). Cytoprotective effects of 12-oxo phytodienoic acid, a plant-derived oxylipin jasmonate, on oxidative stress-induced toxicity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1840(12): 3413-3422

Uğuz AC, Öz A, Nazıroğlu M (2016) Curcumin inhibits apoptosis by regulating intracellular calcium release, reactive oxygen species and mitochondrial depolarization levels in SH-SY5Y neuronal cells. *Journal of Receptors and Signal Transduction* 36(4): 395-401

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 39(1): 44-84

Valko M, Morris H, Mazúr M, Raptá P, Bilton RF (2001) Oxygen free radical generating mechanisms in the colon: do the semiquinones of vitamin K play a role in the aetiology of colon cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1527(3): 161-166

VanderVeen LA, Hashim MF, Shyr Y, Marnett LJ (2003) Induction of frameshift and base pair substitution mutations by the major DNA adduct of the endogenous carcinogen malondialdehyde. *Proceedings of The National Academy of Sciences* 100(24): 14247-14252

Veisi H, Sedrpoushan A, Maleki B, Hekmati M, Heidari M, Hemmati S (2015) Palladium immobilized on amidoxime functionalized magnetic Fe₃O₄ nanoparticles: a highly stable and efficient magnetically recoverable nanocatalyst for sonogashira coupling reaction. *Applied Organometallic Chemistry* 29(12): 834-839

Vöhringer ML, Becker TW, Krieger G, Jacobi H, Witte I (1998) Synergistic DNA damaging effects of malondialdehyde/Cu (II) in PM2 DNA and in human fibroblasts. *Toxicology Letters* 94(3): 159-166

Wang J, Du XX, Jiang H, Xie JX (2009) Curcumin attenuates 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity by anti-oxidation and nuclear factor-kappaB modulation in MES23. 5 cells. *Biochemical Pharmacology* 78(2): 178-183

Wang Q, Sun AY, Simonyi A, Jensen MD, Shelat PB, Rottinghaus GE, Sun GY (2005) Neuroprotective mechanisms of curcumin against cerebral ischemia induced neuronal apoptosis and behavioral deficits. *Journal of Neuroscience Research* 82(1): 138-148

Xi J, Zhang B, Luo F, Liu J, Yang T (2012) Quercetin protects neuroblastoma SH-SY5Y cells against oxidative stress by inhibiting expression of Krüppel-like factor 4. *Neuroscience Letters* 527(2): 115-120

Xiao Z, Huang C, Wu J, Sun L, Hao W, Leung LK, Huang J (2013) The neuroprotective effects of ipriflavone against H₂O₂ and amyloid beta induced toxicity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *European Journal of Pharmacology* 721(1-3): 286-293

Yin H, Xu L, Porter NA (2011) Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical Reviews* 111(10): 5944-5972

Zhang L, Yu H, Sun Y, Lin X, Chen B, Tan C, Cao G, Wang Z (2007) Protective effects of salidroside on hydrogen peroxide-induced apoptosis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *European Journal of Pharmacology* 564(1): 18-25

Zhang L, Yu H, Zhao X, Lin X, Tan C, Cao G, Wang Z (2010) Neuroprotective effects of salidroside against beta-amyloid-induced oxidative stress in SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *Neurochemistry International* 57(5): 547-555



