



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ASPALATHUS LINEARIS* İLE BİYOSENTEZLENEN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN ANTİOKSİDAN, ANTİDİYABETİK VE
SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Senem DARICI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SAĞLIK VE BİYOMEDİKAL BİLİMLER (DİSİPLİNLERARASI)
ANABİLİM DALI

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Şükriye YEŞİLOT

BURDUR- 2023

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ASPALATHUS LINEARIS* İLE BİYOSENTEZLENEN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN ANTİOKSİDAN, ANTİDİYABETİK VE
SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Senem DARICI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SAĞLIK VE BİYOMEDİKAL BİLİMLER (DİSİPLİNLERARASI)
ANABİLİM DALI

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Şükriye YEŞİLOT

Bu araştırma *Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü* tarafından 0791-YL-21 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR- 2023

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez dönemim süresince bana her konuda destek veren, yardım ve tavsiyelerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Şükriye YEŞİLOT'a, ders dönemimde ve tez çalışmamda bana destek veren Doç. Dr. Çiğdem AYDIN ACAR'a ve Doç. Dr. Suray PEHLİVANOĞLU'na, kendileri uzakta da olsa bu süreç boyunca kıymetli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak tez çalışmamın bütün aşamalarında yardımını benden esirgemeyen mütemadiyen yanımda olduğuna inandığım kıymetli aile dostum Dr. Öğr. Üyesi Salih TUNCAY'a ve Yunus Emre TOPRAK'a, hayatımın her evresinde yanımda olan benden maddi manevi desteğini esirgemeyerek lisans mezuniyetimden bugüne kadar akademik kariyer yapmamın hayalini kuran kıymetli annem Necla MALALI'ya, her zaman olduğu gibi bu zorlu süreçte de yanımda olan bana varlığı ile güven veren değerli eşim Ertuğrul DARICI'ya, hayatımın her aşamasında ve her attığım adımda iyi işlere imza attığımı görerek, her zaman doğru örnek olmayı istediğim evlatlarım Ensar ve Ebrar DARICI'ya teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
KABUL ve ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>) Bitkisinin Genel Özellikleri	4
2.1.2. Rooibos Biyolojik Aktiviteleri	5
2.1.2.1. Antioksidan Aktivite	5
2.1.2.2. Antidiyabetik Aktivite	6
2.1.2.3. Antikanser Aktivite	6
2.2. Nanoteknoloji	7
2.2.1. Nanoteknolojinin Araştırma ve Uygulama Alanları	7
2.2.2. Nanopartiküller	8
2.2.3. Nanopartiküllerin Sentezi	8
2.2.4. Gümüş Nanopartiküller	9
2.2.4.1. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi	10
2.2.4.2. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	12
2.2.5. Gümüş Nanopartiküllerin Biyolojik Aktivitesi	12
2.2.5.1. Antioksidan Aktivitesi	12
2.2.5.2. Antidiyabetik Aktivitesi	13
2.2.5.3. Sitotoksik Aktivitesi	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>) Özütünün Hazırlanması	17
3.2. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin (R-AgNP) Sentezi	17
3.3. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin (R-AgNP) Karakterizasyonu	17
3.4. Hücre Kültürü	18
3.4.1. Sitotoksik Aktivite için 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolyum bromür (MTT) Testi	18
3.5. In Vitro Antioksidan Aktivite Tayini (DPPH Radikal Süpürücü Aktivitesi)	18
3.6. In Vitro Antidiyabetik Aktivite Tayini (α Glukozidaz İnhibitör Aktivitesi)	19
4. BULGULAR	20
4.1. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin Biyosentezi (R-AgNP)	20
4.2. UV-Vis Spektrofotometre ile Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	20
4.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	21
4.4. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin Elementel Analizi için Enerji Dağıtıcı X-Ray Analizi (EDX)	22

4.5. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin SK-MEL 30 Hücrelerine Karşı Sitotoksik Etkisi	22
4.6. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin In Vitro Antioksidan Aktivitesi	23
4.7. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin In Vitro Antidiyabetik Aktivitesi	24
5. TARTIŞMA	25
6. SONUÇ	31
KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	47



ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	Rooibos Bitkisi (<i>Aspalathus linearis</i>)	5
Şekil 4.1.	Rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>) sulu ekstraktı kullanılarak gümüş nanopartiküllerin biyosentezi; (A) Rooibos (<i>Aspalathus linearis</i>) bitkisi, (B) Rooibos sulu ekstraktı, (C) AgNO ₃ çözeltisi, (D) Rooibos Ekstraktı+AgNO ₃ , (E) Rooibos gümüş nanopartikül (R-AgNP).	20
Şekil 4.2.	Rooibos gümüş nanopartiküllerin (R-AgNP) UV-Vis spektrofotometre ile karakterizasyonu.	21
Şekil 4.3.	Rooibos ile sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (R-AgNP) SEM görüntüsüne ait morfolojik yapısı	21
Şekil 4.4.	Rooibos ile sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (R-AgNP) EDX ile element kompozisyonu	22
Şekil 4.5.	Rooibos ile sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (R-AgNP) SK-MEL 30 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi	23
Şekil 4.6.	Rooibos ile sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (R-AgNP) askorbik asite karşı antioksidan aktivitesi	24
Şekil 4.7.	Rooibos ile sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (R-AgNP) antidiyabetik aktivitesi	24

SİMGELER ve KISALTMALAR

AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
AgNO₃	Gümüş Nitrat
AgNP	Gümüş Nanopartikül
CO₂	Karbondioksit
DLS	Dinamik Işık Saçılımı Spektroskopisi
DM	Diabetes Mellitus
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDX	Enerji Dağıtıcı X-Ray Analizi
FBS	Fetal Bovin Serum
FT-IR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
HCT-116	Kolorektal Karsinoma Hücre Hattı
HEP-2	Larinks Karsinoma Hücreleri
HepG2	İnsan karaciğer hepatoselüler karsinom
IC₅₀	Hücrelerin %50 canlılık gösterdiği inhibisyon konsantrasyonu
MCF-7	Meme Kanseri Hücre Hattı
MTT	(3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2-5-difeniltetrazolyum bromür) testi
Na₂CO₃	Sodyum Karbonat
NaBH₄	Sodyum Bor hidrür
OD	Optik Dansite
ORAC	Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi
PEG	Poli Etilen Glikol
PI3K	Fosfatidilinositol 3-Kinaz
R-AgNP	Rooibos Gümüş Nanopartikül
ROS/RNS	Reaktif Oksijen/Azot Türleri
RPMI 1640	Hücre Kültürü Ortamı
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SH-SY5Y	İnsan Nöroblastom Hücre Hattı
SK-MEL 30	İnsan Melanoma Hücre Hattı
SPR	Yüzey Plazmon Rezonansı
TEM	Transmisyon Elektron Mikroskobu
UV-Vis	Ultraviyole görünür bölge
XRD	X-Işını Difraktometresi
YETEM	Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi

ÖZET

Aspalathus linearis ile Biyosentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin Antioksidan, Antidiyabetik ve Sitotoksik Etkilerinin Değerlendirilmesi

Güney Afrika bitkisi olan Rooibos (*Aspalathus linearis*), içeriğindeki flavonoidler ve fenolik bileşikler sayesinde çok farklı alanlarda geleneksel tıbbi kullanım imkanına sahiptir. Son yıllarda adını sıkça duyuran gümüş nanopartiküller (AgNP), fiziksel ve kimyasal birtakım özelliklerinden dolayı sağlık alanı başta olmak üzere pek çok alanda kullanılabilir. Bu çalışmada *Aspalathus linearis* ile hazırlanan gümüş nanopartiküllerin in vitro olarak antioksidan, antidiyabetik ve sitotoksik etki potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda flavonoidler ve fenolik asitler bakımından zengin son dönemin popüler bir diyet takviyesi ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanım özelliklerine sahip olduğu rapor edilen Rooibos bitkisi kullanılarak sentezlenen yeşil sentez gümüş nanopartiküllerin UV, SEM ve EDX gibi yöntemlerle karakterizasyonu değerlendirilmiştir. Çalışmada *Aspalathus linearis* sulu ekstraktı ile karıştırılan gümüş nitrat solüsyonunda gözlenen sarıdan kahverengine renk değişimi, AgNP'lerin oluştuğunu göstermiştir. UV-Vis spektrofotometre ile Rooibos gümüş nanopartiküller (R-AgNP) için $\lambda=432$ nm'de güçlü bir absorbans piki belirlenmiştir. R-AgNP'lerin genellikle küresel bir morfolojiye sahip olduğu; SK-MEL 30 hücrelerinde doza bağımlı olarak hücre canlılığında azalma gösterdiği belirlenmiştir (IC₅₀: 17,32 µg/mL). DPPH serbest radikal süpürme aktiviteleri en düşük %25,87, en yüksek %65,91 olarak tespit edilmiştir. α -glukozidaz aktivitesi % inhibisyon değerleri en düşük %31,86, en yüksek %100 olarak belirlenmiştir. Bu çalışma, biyolojik olarak sentezlenmiş AgNP'lerin antioksidan, antidiyabetik ve sitotoksik etki profili sayesinde tedavi yaklaşımlarında potansiyel bir ajan olarak umut vadedebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antidiyabetik etki, Antioksidan etki, Gümüş nanopartikül, Rooibos (*Aspalathus linearis*), Sitotoksikite

ABSTRACT

Evaluation of Antioxidant, Antidiabetic and Cytotoxic Effects of Silver Nanoparticles Biosynthesized by *Aspalathus linearis*

Rooibos (*Aspalathus linearis*), a South Africa plant, has traditional medicinal uses in various fields due to its flavonoids and phenolic compounds. In recent years, silver nanoparticles (AgNP) have gained attention for their physical and chemical properties, making them versatile in healthcare and many other fields. This study aims to determine the in vitro antioxidant, antidiabetic, and cytotoxic potential of silver nanoparticles prepared with Rooibos (*Aspalathus linearis*). For this purpose, the characterization of green synthesis AgNPs, which is reported to be a popular dietary supplement rich in flavonoids and phenolic acids and used in the treatment of various diseases, was evaluated using methods such as UV, SEM and EDX. The color change from yellow to brown observed in the silver nitrate solution with *Aspalathus linearis* aqueous extract indicated the formation of AgNPs. A strong absorbance peak at $\lambda = 432$ nm was determined for Rooibos silver nanoparticles (R-AgNP) by UV-Vis spectrophotometer. R-AgNPs generally have a spherical morphology; It was determined that SK-MEL 30 cells showed a dose-dependent decrease in cell viability (IC_{50} : 17.32 μ g/mL). The DPPH radical scavenging activity ranged from 25.87% to 65.91%. α -glucosidase activity inhibition ranged from 31.86% to 100%. The study shows that biologically synthesized AgNPs may be promising as a potential agent in treatment approaches with their antioxidant, antidiabetic and cytotoxic effect profiles.

Keywords: Antidiabetic effect, Antioxidant effect, Cytotoxicity, Rooibos (*Aspalathus linearis*), Silver Nanoparticles

1. GİRİŞ

Rooibos (*Aspalathus linearis*) genellikle Güney Afrika bölgesinde yetişen; uçucu bileşikler, polifenoller ve mineraller açısından zengin bir bitkidir (Bramati ve ark., 2002). Güney Afrika'da geleneksel ve tıbbi kullanımıyla; infantil kolik, alerji, astım ve dermatolojik sorunların hafifletilmesine katkıda bulunurken, kronik soğuk algınlığı ve akciğer tüberkülozu gibi durumlarda onarıcı etkileri ve balgam söktürücü özellikleri nedeniyle de kullanılmaktadır (Morton, 1983; Joubert ve ark., 2008). Behçet hastalığı, ışığa duyarlı dermatit, çıban, akne, enfekte yaralar gibi dermatolojik hastalıkların tropikal tedavisinde kullanımı yarar sağlamaktadır (Shindo ve Kato, 1991; Joubert ve ark., 2008). Rooibos çay infüzyonları, flavonoidlerin ve fenolik asitlerin varlığından dolayı iyi bir antioksidan aktiviteye sahiptir (Von ve ark., 1997; Damiani ve ark., 2019).

Nanoteknoloji, 1-100 nm ölçeklerindeki nanopartiküllerin üretimi, karakterizasyonu ve kullanımını kapsayan bir teknolojidir. Nanopartiküllerin tasarlanması ve karakterize edilmesini mümkün kılan bir teknoloji, istenen özellikleri elde etmek için çeşitli organik ve inorganik malzemelerin kullanılmasını içermektedir (Albrecht ve ark., 2006; Logothetidis, 2006). Nanopartiküller fiziksel, kimyasal ve biyolojik metotlar ile hazırlanabilmektedir. Biyolojik metotlar, fiziksel ve kimyasal metotlar ile karşılaştırıldığında non-toksik (toksik olmayan) nanopartiküllerin üretiminde önemli bir avantaj sağlamaktadır. Son yıllarda, nanopartikül sentezinde bitki ekstraktlarının kullanımı yöntem olarak basit, non-toksik, ucuz ve çeşitli alanlarda uygulanabilirliği nedeniyle oldukça popülerite elde etmiştir. Nanopartiküllerin biyosentezi (yeşil sentez), fiziksel ve kimyasal senteze alternatif olarak nanopartikül eldesinde kullanılan ve nanoteknoloji ile biyoteknolojiyi birbirine bağlayan bir yaklaşımı kapsamaktadır (Akhtar ve ark., 2013; Salem ve Fouda, 2021). Yeşil sentez, zehirli indirgeme ajanları yerine metal nanopartikül, metal oksit nanopartikül, manyetik nanopartikül ve kuantum nokta sentezi gibi çeşitli yöntemler kullanılarak gerçekleştirilen bir süreçtir. Gümüş, altın, paladyum, demir, bakır, kurşun, titanyum, lityum, çinko, seryum ve metal oksit nanopartikülleri gibi birçok metalden yeşil sentez yöntemiyle nanopartiküller

sentezlenmektedir (Ge ve ark., 2014). Gümüş iyonları, literatürde bilinen tüm mikroorganizma çeşitleri üzerine en geniş spektrumlu etkisi olan antimikrobiyal ve antibakteriyel özellikli maddedir. Ayrıca mikroorganizmalara karşı üstün etkilerinin yanı sıra, insan vücuduna zararlı etkileri minimum olup, çevre dostu olarak da bilinmektedir (Singh ve ark., 2008; Yer, 2012). Gümüş Nanopartiküllerin (AgNP) yeşil biyosentezi; teşhis ve tedavinin bir kombinasyonu olarak tanımlanan teranostik uygulamalarda kullanılmak üzere, antimikrobiyal, antienflamatuvar, antinosiseptif, antikanser ve enzim inhibisyon aktiviteleri açısından potansiyel yaklaşımlar olarak araştırılmaktadır (Yesilot ve Aydın, 2019). AgNP'lerin yeşil sentezi için gereken temel malzeme, gümüş metal iyon çözeltisi ile indirgeyici bir biyolojik maddedir (Sharma ve ark., 2009). Bitki özleri hem nanopartiküllerin sentezinde indirgeyici ajanlar hem de stabilize edici maddeler olarak etki göstermektedir. Aynı zamanda, bitki özütünün kaynağının da nanopartiküllerin özelliklerini etkilediği bilinmektedir (Kumar ve Yadav, 2009). Özellikle son on yılda çok sayıda tıbbi aromatik bitkinin özütü kullanılarak AgNP'lerin yeşil sentezi gerçekleştirilmiştir (Ghaffari-Moghaddam ve ark., 2014).

Kanser tedavisinde nanoteknolojiye dayalı kullanılan terapiler minimal yan etkiler ve yüksek özgünlükleri ile son dönemde oldukça ilgi odağı olmuştur. Özellikle tıbbi bitkilerden sentezlenerek elde edilen nanopartiküller antimikrobiyal, antioksidan ve antikanser etkileri nedeniyle dikkat çekmektedirler (Conde ve ark., 2012; Rana ve ark., 2020; Satpathy ve ark., 2018). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, yeşil AgNP'lerin farklı kanser türlerinde hücre canlılığını azaltma ve apoptozu artırma yetenekleri bildirilmiştir (Aydın ve Pehlivanoglu 2019; Xu ve ark., 2020; Acharya ve ark., 2021). Bu nedenle araştırmalarda daha çok kanser hücrelerine karşı yüksek sitotoksik aktiviteye sahip ancak normal hücrelerde düşük toksik etki gösteren yeni AgNP'lerin sentezi için antikanser etkili doğal bileşiklerin seçilmesine odaklanılmıştır.

Çalışmamızda; flavonoidler ve fenolik asitler bakımından zengin son dönemin popüler bir diyet takviyesi ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanım özelliklerine sahip olduğu rapor edilen rooibos bitki ekstraktı ile hazırlanan yeşil sentez AgNP'ler kullanılmıştır. Biyosentezlenen AgNP'lerin karakterizasyonu, in

vitro antioksidan, antidiyabetik ve antikanser etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Rooibos (*Aspalathus linearis*) Bitkisinin Genel Özellikleri

Rooibos [*Aspalathus linearis* (Burm.f.) R. Dahlgren] Fabaceae familyasına ait bir bitki türüdür. Güney Afrika'nın Cederberg Dağlık bölgesinde yetiştirilmektedir. Güney Afrika'ya özgü iki yüz yetmişten fazla tür içerdiği bilinmektedir. (Dahlgren, 1964; Dahlgren, 1988) Güney Afrika 'fynbos' türlerinin bir parçasını oluşturmaktadır ve fermente edilmemiş yeşil rooibos veya tuğla kırmızısı fermente rooibos olarak iki çeşidinin olduğu bilinmektedir. Rooibos bitkisi, 20. yüzyılda yerel bir yabani kaynaktan ekili bir ürüne geçişi sağlayan nispeten az sayıdaki ekonomik bitkiden biri olarak kabul edilmektedir. Yaprakları ve ince gövdeleri rooibos çayı üretiminde kullanılmaktadır (Joubert, 1988). Rooibos, keşfedilen iyileştirici özelliklerine dayanarak, yerli Khoi kabilesi döneminden beri kullanılan bir bitki çayı olarak ve diğer uygulamalar için kullanılmaktadır. Rooibos çayı, uçucu bileşikler, polifenoller ve mineraller açısından zengin bir içecektir (Habu ve ark., 1985). Bu özelliklerinden dolayı artık dünya genelinde yaygın olarak satılmakta ve bitki çayı olarak tüketilmektedir (Van Wyk, 2011). Rooibos çayı kafeinsizdir ve gallik asit olarak düşük tanen içeriğine sahiptir (Morton, 1983). Rooibos çay infüzyonları, flavonoidlerin ve fenolik asitlerin varlığından dolayı iyi bir antioksidan aktiviteye sahiptir (Von ve ark., 1997, Damiani ve ark., 2019). Anti-inflamatuar, antioksidan ve anti-apoptotik özellikleri ile kalp patolojileri, cilt bozuklukları, obezite ve diyabet gibi birçok hastalığa karşı tedavide yardımcı olarak kullanılmaktadır. Behçet hastalığı ve ışığa duyarlı dermatit gibi dermatolojik hastalıkların topikal tedavisinde de kullanılmaktadır (Shindo ve Kato, 1991). Rooibos'un ayrıca, tümör büyümesi, aşırı hücre çoğalması ve çeşitli patolojilerin tedavisinde faydalı olabileceği düşünülmektedir (Marnewick ve ark., 2005).



Şekil 2.1. Rooibos bitkisi (*Aspalathus linearis*) (Anonim, 2023)

2.1.2. Rooibos Biyolojik Aktiviteleri

2.1.2.1. Antioksidan Aktivite

Flavonoidler, güçlü antioksidan etkileri ile serbest radikalleri temizleme, metal iyonlarını bağlama, enzim aktivitesini engelleme ve tekli oksijen türlerini etkisiz hale getirme gibi mekanizmalarla etkinliklerini göstermektedir. Yapılan çalışmalarda rooibos, zengin bir flavonoid kaynağı olarak öne çıkmaktadır. Farklı test sistemlerinde yapılan birçok çalışmada, rooibos'un antioksidan etkinliği incelenmiştir (Yoshikawa ve ark., 1990; Von ve ark., 1997).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, geleneksel ve yeşil rooibosların sıcak su özütlерinin antioksidan etkinlikleri incelenmiştir. Bu araştırmalar, fermentasyonun antioksidan etkinliği azalttığını ve bu durumun polifenol içeriğindeki azalmaya bağlı

olduğunu göstermiştir (Joubert ve ark., 2008). Araştırmacılar, yeşil rooibosun içeriğindeki aspalatin miktarının, antioksidan aktiviteyle yakından ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (Schulz ve ark., 2003).

Rooibos'un popülaritesi, in vitro ve in vivo yapılan çalışmalarla ortaya konulan güçlü antioksidan etkilerinden kaynaklanmaktadır (Hong ve ark, 2014; Marnewick, 2014). Rooibos çayı tüketiminin insanlarda toplam antioksidan kapasitesi üzerindeki etkisini değerlendiren bir araştırmada, rooibos'un insan diyetindeki antioksidanların bir kaynağı olarak faydalı olduğunu gösteren bulgular elde edilmiştir (Villaño ve ark, 2010).

2.1.2.2. Antidiyabetik Aktivite

Araştırmalar, temel polifenol kaynağı olan rooibos bitkisinin ve aspalatin adlı polifenolünün anti-diyabetik etkileri olduğunu göstermiştir. Yeşil (fermente edilmemiş) rooibosun, şu anda yaygın olarak kullanılan "fermente" rooibos çayından daha fazla aspalatin içerdiği görülmüştür (Ferlemi ve Lamari, 2016). Kamakura ve ark. (2015), yaptığı çalışmada, yeşil rooibos ekstresini anti-diyabetik etkileri, hücre içi glukoz alımını artırma ve pankreas beta hücrelerini reaktif oksijen türlerine karşı koruma yeteneği açısından incelemiştir. Çalışmanın in-vitro ve in-vivo sonuçları, yeşil rooibos ekstresinin çoklu etkileri ile anti-diyabetik potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Son ve ark. (2013), rooibos bitki çayı ekstraktının anti-diyabetik aktiviteye sahip olduğunu ve ekstraktın ana polifenolü olan aspalatinin bu etkide çok önemli yeri olduğunu göstermiştir.

2.1.2.3. Antikanser Aktivite

Marnewick ve ark. (2005), cilt kanserinde rooibos özütünün deri tümörünü önlemesine yönelik sıçanlarda yapılan bir çalışma gerçekleştirmiştir. Farklı bir çalışmada Magcwebaba (2013), metanol bazlı rooibos özütlerinin cilt kanseri hücrelerinin çoğalmasını güçlü bir şekilde engellediğini rapor etmiştir. Sissing ve ark. (2011), rooibos bitki çayının metil benzen nitrozamin kaynaklı yemek borusu skuamöz hücre karsinogenezinin gelişimini düzenleyici etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Fermente edilmemiş rooibosun ortalama toplam papilloma boyutunu

%87 gibi önemli bir oranda azalttığını, ancak tümör sayısını %30 civarında engellediğini göstermiştir.

2.2. Nanoteknoloji

100 nm boyutundan daha küçük ölçekteki nanopartiküllerin üretimi, karakterizasyonu ve bunun çeşitli alanlarda uygulanması nanoteknoloji olarak tanımlanmaktadır (Turgut ve ark., 2011). Nanoteknoloji ayrıca moleküler nanoteknoloji olarak da adlandırılmaktadır. Nanoteknolojinin en eski ve en yaygın tanımı “makro ölçekli ürünlerin imalatı için atomların ve moleküllerin hassas kontrolünün belirli bir amacını ifade eder” şeklinde yapılmaktadır (Çıracı, 2004).

2.2.1. Nanoteknolojinin Araştırma ve Uygulama Alanları

Nanoteknolojinin kullanım alanları oldukça geniş olup, günümüzde enerji, otomotiv, inşaat, kozmetik, malzeme bilimi ve elektronik gibi alanlarda kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, tıp alanında da oldukça çarpıcı gelişmelere imkân sağlamaktadır.

Nanoteknolojinin araştırma ve uygulama alanlarına sektörel bazda baktığımızda nanoteknoloji:

1. Tıp Alanında: İlaç taşıma, biyoçipler, implantlar, antimikrobiyaller, yerel tanı alanları...
2. Enerji Sektöründe: Güneş pilleri, bataryalar, yakıt pilleri, kapasitörler...
3. Otomotiv Sektöründe: Lastikler, yapım malzemeleri, katalizörler, ön camlar, yakıt pilleri...
4. Bilişim Teknolojileri: Veri depolama, ekranlar, lazer diotlar, fiberler...
5. İnşaat Sektöründe: Beton yalıtım kaplamaları...
6. Kozmetik Sektöründe: Güneş kremleri, diş macunları...
7. Askeri Alanda: Askeri elbiseler, detektörler, hissedebilen robot uzuvlar gibi alan ve uygulamaları kapsamaktadır (Kırca ve Mengeloğlu, 2008; Bayındır, 2005).

2.2.2. Nanopartiküller

Nanopartiküller, 1-100 nanometre (nm) boyutunda olan partikül dağılımları veya katı partiküller olarak tanımlanmaktadır. İlaçlar; çözülerek, hapsetme yapılarak, kapsüllenenek veya bir nanopartikül matrisine bağlanarak nanopartiküllerle ilişkilendirilebilmektedir. Hazırlama yöntemine bağlı olarak nanopartiküller, nanoküreler veya nanokapsüller olarak elde edilebilmektedir. Nanokapsüller, ilacın özel polimer bir membranla çevrili olduğu boşlukla sınırlı sistemlerdir. Nanoküreler ise ilacın fiziksel ve homojen bir şekilde dağıldığı matris sistemlerdir. Biyolojik olarak parçalanabilen polimerik nanopartiküller, özellikle uzun dolaşım süresine sahip olmaları nedeniyle potansiyel ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılmaktadır. Gen terapisi alanında ise bu nanopartiküller, DNA taşıyıcıları olarak belirli bir organa veya hedef moleküllere proteinler, peptitler ve genlerin taşınmasında kullanılmaktadır (Langer, 2000; Bhadra ve ark., 2002; Kommareddy ve ark., 2005; Lee ve Kim, 2005).

2.2.3. Nanopartiküllerin Sentezi

Nanopartiküllerin sentezi için kullanılan herhangi bir yöntemin temel amacı, materyalin boyutunun istenilen nm aralığına (1-100 nm) getirilmesine ve nanopartikül özelliklerine sahip olmasına dayanmaktadır. Genel özelliklerine göre sentez yönteminin, bu aralıktaki boyut kontrolünü sergileyebilir nitelikte olması gerekmektedir. Nanopartiküllerin sentezi için yeşil sentez, asal gaz yoğunlaşma, hidrojen redüksiyon, alev sentezi, mekanik öğütme, aşındırma, kimyasal çöktürme yöntemleri ve iyon implantasyonu, piroliz ve hidrotermal sentez gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Granqvist ve Buhrman, 1976; Hahn ve Averbach, 1990; Wang ve Bai, 2005; Hennes ve ark., 2014; Lamosa ve ark., 2014).

“Yukarıdan Aşağı” prensibiyle yapılan yöntemlerde, malzemeye dışarıdan enerji verilerek mekaniksel veya kimyasal işlemler kullanılmakta ve bu süreçte malzeme küçük parçacıklara dönüştürülmektedir. Bu yöntem ile malzemeden nano boyutlarda partiküller elde etmek amaçlanmaktadır. Yukarıdan aşağı prensibi ile çalışan sentez yöntemlerine mekanik öğütme ve aşındırma gibi yöntemler örnek

olarak gösterilmektedir. Yukarıdan aşağı yöntemi klasik öğütme işlemlerinden çok daha fazla enerji tüketimine neden olduğu için “yüksek enerjili öğütme” veya “yüksek hız değirmenleri” olarak da adlandırılmaktadır (Sergeev, 2013).

“Aşağıdan yukarıya” prensibiyle yapılan yöntemlerin temelinde atomik veya moleküler boyuttaki yapıların kimyasal reaksiyonlar ile büyütülerek partikül oluşumunun gerçekleştirilmesi yer almaktadır. Nanokristallerin, metal ve alaşımlarının direkt olarak aşırı doymuş buhar fazı üretiminde kullanılan ve günümüzde genellikle nano-boyutlu tozların sentezinde kullanılan gaz yoğunlaştırma tekniği, aşağıdan yukarıya prensibiyle çalışmaktadır. Kimyasal buhar kaplama, kimyasal buhar yoğunlaştırma, sol jel ve sprey piroliz yöntemleri de bu yaklaşımın en çok bilinen diğer üyeleridir (Stephan ve ark., 2003).

Nanopartiküllerin çözelti ortamındaki sentezi için fiziksel ve kimyasal olarak yukarıda da belirtildiği gibi klasik yöntemler kullanılmaktadır. Fakat özellikle son yıllarda daha ucuz, çevre dostu, toksik etki yaratmayan biyolojik yöntemlerin yer aldığı “yeşil nanoteknoloji” ön planda bulundurulmaktadır ve büyük ilgi görmektedir (Bar ve ark., 2009).

2.2.4. Gümüş Nanopartiküller

Asil metal nanopartiküllerin, algılama (Anker ve ark., 2008), fotokimya (Jin, 2003), optoelektronik (Maier, 2001; Noginov, 2009), enerji dönüşümü (Atwater ve Polman, 2010) ve tıp (Arvizo, 2012) dahil olmak üzere çeşitli alanlarda önemli bir etkiye sahip olduğu görülmektedir. Gümüş arzu edilen fiziksel özelliklere, iyi nispi bolluğa ve düşük maliyete sahiptir. Altın nanopartiküller ise kanıtlanmış stabiliteleri ve kullanım kolaylıkları nedeniyle tercih edilmektedir. Altından farklı olarak gümüşün, önemli gümüş bazlı nanomalzemelerin gelişimini sınırlayan oksidasyona (kararmaya) duyarlılığı bilinmektedir. Bunun yanında; AgNP’lerin saflık, verim ve etkili bir stabilizasyon mekanizması sayesinde altın dahil olmak üzere diğer metal nanopartiküllerden daha iyi olduğu bilinmektedir. AgNP’nin özel boyutunun ve stokiometrisinin, sentez parametrelerindeki değişikliklere karşı duyarsız olduğu bulunmuştur. Deneysel bir tek kristalli X-ışını yapısına dayanan prensip ile kimyasal

kararlılığı, yapısal, elektronik ve optik özellikleri anlaşılabilir (Jadzinsky ve ark., 2007; Heaven ve ark., 2008; Zhu ve ark., 2008; Qian ve ark., 2010; Zeng, 2012).

2.2.4.1. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

Genel olarak AgNP'lerin sentezi için fiziksel, kimyasal ve biyolojik olmak üzere üç farklı yaklaşım kullanılmaktadır. Fiziksel yöntemlerin avantajları hız, indirgeyici ajan olarak kullanılan radyasyon ve tehlikeli kimyasal içermemesidir. Dezavantajları düşük verim ve yüksek enerji tüketimi, solvent kontaminasyonu ve düzgün dağılımının olmamasıdır (Elsupikhe ve ark., 2015; Shamel ve ark., 2010; Tsuji ve ark., 2005; Abou ve ark., 2010). Kimyasal yöntemlerde, AgNP'leri hazırlamak için su veya organik çözücüler kullanılmaktadır (Tao ve ark., 2006; Wiley ve ark., 2005). Bu süreçte genellikle metal öncüleri, indirgeyici ajanlar ve stabilize edici/kapaticı ajanlar gibi üç ana bileşen kullanılmaktadır. Kimyasal yöntemlerin avantajı yüksek verime sahip olması, üretiminin kolaylığı, düşük maliyetli olmasıdır (Gurunathan ve ark., 2015). Dezavantajları kimyasal yöntemlerin son derece pahalı olması, kullanılan malzemelerin (sitrata, borohidrit, tiyo-gliserol ve 2-merkaptotanol gibi) toksik ve tehlikeli olmasıdır (Mallick, 2004). Ayrıca üretilen partiküller, kimyasallarla çöktildiği için beklenen saflıkta olmayıp, partikül agregasyonunun önlenmesi için iyi tanımlanmış bir boyuta sahip AgNP'leri hazırlamak çok zordur (Malik ve ark., 2002). Bunların yanında kimyasal indirgeyici ajanların kullanımı canlı organizmalar için zararlıdır (Gurunathan ve ark., 2015).

Kimyasal yöntemlerin eksiklerinin üstesinden gelmek için biyolojik yöntemler uygulanmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda; bakteri, mantar ve bitki dahil olmak üzere çeşitli biyolojik sistemler kullanılarak, basit, uygun maliyetli, güvenilir ve çevre dostu yaklaşım sergileyen biyosentez AgNP'lerin yüksek verimli üretimine yoğunlaşılmaktadır (Gurunathan ve ark., 2014; Kalishwaralal ve ark., 2008).

Bazı çalışmalar, kimyasal yöntemlerdeki toksik kimyasalları kullanmadan uygun maliyetle ve biyoyumlu yöntemlerle AgNP'lerin yeşil sentezini

bildirmektedir. Bu yeşil sentez yaklaşımıyla yapılan çalışmalarda; *Pseudomonas stutzeri* AG259 (Klaus ve ark., 1999), *Lactobacillus suşları* (Nair ve Pradeep, 2002), *Bacillus licheniformis* (Kalimuthu ve ark., 2008), *Brevibacterium casei* (Kalishwaralal ve ark., 2010), *Fusarium oxysporum* (Shankar ve ark., 2003), *Ganoderma neo-japonicum* (Gurunathan ve ark., 2013) gibi mantarlar, *Allophylus cobbe* (Gurunathan ve ark., 2014), *Artemisia princeps* (Gurunathan ve ark., 2015) gibi bitki özleri ve *Typha angustifolia* (Gurunathan ve ark., 2015) kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak biyopolimerler (Leung ve ark., 2010), fibrinolitik enzimler (Deepak ve ark., 2011), amino asitler (Shankar ve Rhim, 2015) ve nişasta (Kumar ve ark., 2014) gibi çeşitli biyomoleküller de kullanılmaktadır. Biyolojik yöntemlerin en büyük avantajı amino asitler, proteinler ve ikincil metabolitler sayesinde AgNP'lerin sentez sürecinde, partikül agregasyonunun önlenmesinde gereken ekstra adımları ortadan kaldırmasıdır. Biyolojik yöntemlerin diğer avantajları, çeşitli biyolojik kaynakların mevcut olması, azaltılmış zaman gereksinimi, yüksek yoğunluğu, kararlılığı ve hazırlanan nanopartiküllerin suda hazır çözünür olmasıdır (Thakkar ve ark., 2010). Biyolojik yöntem, çevre dostu olduğundan ve kirlilik içermediğinden dolayı daha çok tercih edilmektedir. Biyolojik yöntemler, çeşitli biyomedikal uygulamalar için önemli bir faktör olan kontrollü parçacık boyutunu ve şeklini sağlıyor gibi görünmektedir (Gurunathan ve ark., 2014). Boyut ve şekil söz konusu olduğunda, küçük boyutlu ve kesik üçgen şekilli nanopartiküllerin daha etkili ve daha üstün özellikli olduğu görülmektedir. Birçok çalışmada, farklı şekil ve boyut aralıklarına sahip AgNP'ler başarıyla sentezlenmiş olsa da bu yöntemin bazı sınırlamaları bulunmaktadır. Bu sınırlamalardan biri morfoloji ve yapı üzerinde kontrol sağlamak için, monodispers ve üniform boyutlu gümüş kolloidlerin sentezinde, sodyum bor hidrür (NaBH_4) gibi fazla miktarda güçlü indirgeyici ajanların yüksek miktarda kullanılmasıdır (Pyatenko ve ark., 2007). Kimyasal yöntemlerle karşılaştırıldığında biyolojik yöntemler; öncülerin miktarı, sıcaklığı, pH değeri, sentez yöntemleri ve bu yöntemlerin optimizasyonu ile üretilen nanopartiküllerin şekil, boyut ve dağılımının kontrolünde daha fazla kolaylık sağlamaktadır (Khodashenas ve Ghorbani, 2015).

2.2.4.2. Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Nanopartiküllerin fizikokimyasal özellikleri, davranışları, biyo-dağılımı nanopartiküllerin güvenliği ve etkinliği için önemli bir nitelik taşımaktadır. Bu nedenle AgNP'lerin karakterizasyonu sentezlemenin fonksiyonel yönlerini değerlendirmek için önemlidir. AgNP'lerin karakterizasyonu UV-Vis (Ultraviyole-görünür bölge) spektroskopisi, Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), yüzey plazmon rezonans spektroskopisi (SPR), X-ışını difraktometrisi (XRD), dinamik ışık saçılımı spektroskopisi (DLS), taramalı elektron mikroskobu (SEM), transmisyon elektron mikroskobu (TEM) atomik kuvvet mikroskobu (AFM), radyasyon saçılım teknikleri gibi çeşitli analitik teknikler kullanılarak gerçekleştirilmektedir (Lin ve ark., 2013; Sapsford ve ark., 2011; Inagaki ve ark., 2013).

2.2.5. Gümüş Nanopartiküllerin Biyolojik Aktivitesi

Biyolojik yöntemler, metal nanopartikül sentezi için uygun niteliklere sahip, güvenilir ve çevreye duyarlı bir sürecin geliştirilmesine olanak tanımaktadır. Biyolojik moleküller, partikülleri çok kontrollü ve hiyerarşik şekilde bir araya getirilebilme özelliğine sahiptir. Bu nedenle, nanopartiküllerin sentezi için biyolojik yaklaşım elzem hale gelmektedir. Gümüş, insanlarda düşük toksisite sergileyen ve çeşitli in vitro ve in vivo uygulamaları olan etkili bir antimikrobiyal olarak tanımlanmaktadır. Topikal pansumanları, açık yaraları ve kronik ülserlerdeki enfeksiyonları tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Gümüş vücutta üretilen fazla serbest radikallerin, kardiyovasküler hastalıkların, kanserin, kataraktın, zayıf bağışıklık sisteminin ve beyin fonksiyon bozukluğunun tedavisinde önemli rol oynamaktadır (Dipankar ve Murugan, 2012).

2.2.5.1. Antioksidan Aktivitesi

Antioksidanlar, oksidanların (ROS/RNS, serbest radikaller, diğer kararsız moleküller) neden olduğu hücre hasarını önleyebilen veya geciktirebilen doğal veya sentetik maddelerdir (Azeez ve ark., 2017). Bir maddenin antioksidan olarak değerlendirilebilmesi için düşük konsantrasyonda aktif olması (fenolik antioksidanlar

genellikle yüksek konsantrasyonlarda aktivitelerini kaybederler ve prooksidan görevi görürler), miktarının hedef molekülü deaktive edecek kadar tatmin edici düzeyde olması ve reaksiyona girmesi gerekmektedir.

AgNP'leri elde etmek için, bitki ekstraktlarının içerisinde var olan terpenoidler, tanenler ve flavonoidler gibi fitokimyasallarla indirgenmesi yaygın olarak kullanılan yöntemlerdendir. Olteanu ve ark. 2017 yaptıkları araştırma kapsamında, AgNP'lerin üretilmesinde *Flores sambuci*, *Hypericum perforatum*, *Lavandula angustifolia*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* ve *Salvia officinalis* ekstraktları kullanılmıştır. AgNP içeren çözeltilerin UV-vis spektrumları, bitki ekstraktlarının değerlendirilmesi için fitokimyasal parametreleri belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Bu parametreler arasında antioksidan aktivite, toplam flavonoid, toplam tanen, toplam terpenoid ve toplam fenolik analizleri yer almaktadır. Elde edilen sonuçlar, AgNP çözeltilerinin spektrumları ile toplam tanenler arasında orta derecede pozitif bir ilişki olduğunu göstermektedir.

2.2.5.2. Antidiyabetik Aktivitesi

Diabetes mellitus (DM), hiperglisemi ile karakterize olan metabolik bir hastalıktır. DM, yetersiz insülin salgılanmasından veya hücrenin insülin direncinden kaynaklanmaktadır. Yaygın olarak kullanılan hipoglisemik ajanlar, insülin sekresyonunu teşvik ederek veya hücre duyarlılığını artırarak kan şekerini düşürebilmektedir (Association, 2019).

Yapılan çalışmalarla bitki ekstraktları ile sentezlenen AgNP'lerin antidiyabetik potansiyel sergiledikleri ortaya konmaktadır. Sengottaiyan ve ark. (2016), *Solanum nigrumun* yaprak ekstraktını kullanarak AgNP'leri sentezlemişlerdir. Çalışma sonucunda alloksan kaynaklı diyabetik sıçanlarda anti-hiperglisemik etkiyi değerlendirmişlerdir. 14-21 gün boyunca AgNP'lerle tedavi edildiğinde, diyabetik sıçanların kan şekeri seviyesinin önemli bir akut toksisite olmaksızın düştüğünü bulmuşlardır. Yapılan bu çalışmanın sonuçları, AgNP'lerin standart bir antidiyabetik ilaç olan glibenklamit ile karşılaştırıldığında iyi bir hipoglisemik etki sergilediğini göstermektedir. Saratale ve ark. (2017) *Argyreia*

nervosa'nın yaprak ekstraktı ile AgNP'leri sentezlemişlerdir. Yaptıkları çalışmanın sonucunda sentezledikleri AgNP'lerin α -amilaz ve α -glukozidazı inhibe ederek antidiyabetik aktivite sergilediğini göstermişlerdir. AgNP'lerin antidiyabetik mekanizması hala belirsizliğini korumaktadır. Hussein ve ark. (2018), AgNP'lerin diyabetik sıçanlarda insülin sinyal yolunu veya insülin duyarlılığını etkileyebileceğini varsaymaktadırlar. Yapılan çalışmanın sonuçları, AgNP'lerin insülin reseptörü substrat seviyesinde protein kinaz C ve PI3K yolunu aktive edebileceğini ve ayrıca protein kinaz C izoenzimlerini inhibe edebileceğini göstermektedir. Böylece insülin sekresyonu ve duyarlılığını etkili bir şekilde artırabileceği varsayılmaktadır. AgNP'lerin insülin direncini ve DNA hasarını azaltmada etkili olduğu vurgulanmaktadır.

2.2.5.3. Sitotoksik Aktivitesi

Kanser dünya çapında morbiditede ve mortalitede önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir (McDaniel, 2019). 2035 yılına kadar dünya çapında ekonomide ve toplum üzerinde önemli bir etkiye yol açacak yaklaşık 14 milyon yeni kanser vakası öngörülmektedir (Pilleron ve ark., 2019). Bu nedenle kanser insidansının olumsuz etkilerini azaltmak için etkili ve ileri tedavi yöntemleri geliştirilmelidir. Kanser veya tümörün yaygın tedavileri arasında cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi bulunmaktadır. Bununla birlikte geleneksel tedavilerin yan etkileri ve kısıtlamaları sonuçları etkilemektedir (Schirrmacher, 2019).

Nanopartiküller fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı kanser terapötiklerinde daha fazla dikkat çekmektedirler. Bu durum, kanser nanotipi olarak adlandırılan yeni bir antikanser alanının ortaya çıkmasına neden olmuştur (Shi ve ark., 2017; Da Silva ve ark., 2019). Geleneksel antikanser ajanlarla karşılaştırıldığında metalik nanopartiküller, ilaç adaylarıyla kombinasyon halinde yada yeni terapötik ajanlar veya ilaç taşıyıcıları olarak kullanılabilirler. Bununla beraber hedeflenen bir yaklaşımla istenmeyen yan etkiler de önlenilmektedir. AgNP'ler, antikanser veya antitümör terapötik ajanların araştırılmasında ideal olan nanopartiküllerden biridir (Machado ve ark., 2019).

AgNP'lerin, farklı boyut, şekil ve doz/konsantrasyonlarda meme kanseri (Gurunathan ve ark., 2015), rahim ağzı kanseri (Al- Sheddi ve ark., 2018), kolon kanseri (Gurunathan ve ark., 2018), yumurtalık kanseri (Yuan ve ark., 2017), akciğer kanseri (Fard ve ark., 2018), pankreas duktal adenokarsinom (Zielinska ve ark., 2018), hepatoselüler karsinom (Ahmadian ve ark., 2018), melanom (Tavakoli ve ark., 2018), osteosarkom (Kovacs ve ark., 2016) gibi kanser hücrelerine karşı etkili olduğu doğrulanmaktadır. Genel olarak, AgNP'ler boyuta, doza/konsantrasyona ve zamana bağlı şekillerde geniş spektrumlu antikanser aktivite sergilemektedir.

Daha küçük boyutlu AgNP'ler, gelişmiş endositozu ortaya çıkarabilmekte ve daha önemlisi sitotoksisiteye ve genotoksisiteye neden olabilmektedir. Diğer şekillerle karşılaştırıldığında, küresel AgNP'ler daha yüksek yüzey-hacim oranı nedeniyle daha iyi sitotoksisite sergilemektedir (Yeasmin, 2017). Ayrıca bitkiler ile üretilen nanopartiküllerin Hep 2, HCT 116 ve Hela hücre hatları gibi çeşitli kanser hücre hatlarına karşı büyük etkisi olduğu tespit edilmiştir. Son zamanlarda, yapılan birçok çalışma bitki kaynaklı nanopartiküllerin tümör hücre büyümesini kontrol etme potansiyeline sahip olduğunu ve geliştirilmiş sitotoksik etkinin sekonder metabolitler ve diğer metal olmayan bileşimlerden kaynaklandığını bildirmektedir (Raghunandan ve ark., 2011; Das ve ark., 2013).

Bitkiler aracılığı ile üretilen AgNP'ler kan dolaşımındaki hücre döngüsünü ve enzimleri düzenlemektedir (Alt ve ark., 2004). Ayrıca, sentezlenen AgNP'ler hücreden serbest radikal oluşumunu nispeten kontrol etmektedir (Kuppusamy ve ark., 2016).

Aspalathus linearis bitkisinden elde edilen hem indirgeyici hem de kapatıcı özelliklere sahip fonksiyonel grupları içeren aspalatin, metalik nanopartiküllerin üretiminde kullanılabilir. Akinfenwa ve ark. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, aspalatin ve rooibos özütünün altın ve gümüş nanopartiküllerin üretiminde kullanılabilirliğini göstermiştir. Bu nanopartiküller, farklı boyut ve şekillerde kristal oluşturmuştur. Sitotoksisite çalışmaları, rooibos özütü ile üretilen AgNP'lerin SH-SY5Y ve HepG2 hücrelerine karşı etkili olduğunu göstermiştir.

Ayrıca, altın nanopartiküllerinin hücreler tarafından daha iyi alındığı ve rooibos AgNP'lerin kanserle mücadelede potansiyel ajan olma umudu taşıdığı bulunmuştur.

Suman ve ark. (2013), yaptıkları çalışma da AgNP'lerin yeşil sentezinin HeLa hücre hattında diğer kimyasal bazlı sentetik ilaçlara kıyasla önemli bir sitotoksik etki sergilediğini bildirmişlerdir.

Franco Molina ve ark. (2010) ise çalışmalarında kolloidal gümüşün MCF-7 meme kanseri hücre hattında apoptozun indüklenmesi yoluyla antitümör aktivitesine sahip olduğunu göstermesi nedeni ile kolloidal gümüşün insan meme kanseri tedavisi için potansiyel bir alternatif ajan olabileceğini düşündürmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Rooibos (*Aspalathus linearis*) Özütünün Hazırlanması

Çalışmada kullanılacak Rooibos (*Aspalathus linearis*) bitki örnekleri kurutulmuş olarak satın alınmış olup (Forever's/İstanbul), porselen havanda dövülerek toz haline getirildi. Rooibos'tan 2 g, tartılarak 100 mL deiyonize su ile iyice karıştırılıp, daha sonra sulu karışım mikrodalga fırında 1 dakika (50 Hz-1200 W) kaynatıldı. Ardından soğutularak Whatman no.1 filtre kağıdından süzüldü. Elde edilen sulu bitki özütü AgNP sentezi için kullanıldı.

3.2. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin (R-AgNP) Sentezi

0,085 gr. gümüş nitrat (AgNO_3) (Chembio) tartılarak, 100 mL distile suda (dH_2O) çözündürülerek 5mM AgNO_3 çözeltisi hazırlandı. AgNP'lerin sentezi için 90mL 5mM AgNO_3 solüsyonu ve 10 mL Rooibos bitki özütü karıştırılarak, elde edilen karışım mikrodalga fırında 1 dakika (50 Hz-1200 W) kaynatıldı. Elde edilen nanopartiküller sonraki analizlerde kullanıldı.

3.3. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin (R-AgNP) Karakterizasyonu

R-AgNP oluşumu, solüsyonların zamanla renk değişimlerini görsel olarak takip ederek incelendi.

Biyolojik olarak sentezlenen R-AgNP'lerin UV-Vis spektrumları, Shimadzu UV-1801 UV-Vis spektrofotometre kullanılarak kaydedildi. R-AgNP solüsyonunun spektrumunu belirlemek için 300-700 nm dalga boyu aralığında absorbans taraması yapıldı.

R-AgNP'lerin boyutu ve morfolojisi, SEM kullanılarak incelendi ve nanopartiküllerin elementel analizi için EDX yapıldı. SEM ve EDX analizleri hizmet alımı şeklinde Süleyman Demirel Üniversitesi Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (YETEM) sağlandı.

3.4. Hücre Kültürü

Çalışmada, ticari olarak temin edilen SK-MEL 30 İnsan Melanoma hücre hattı kullanıldı. Hücreler, L-glutamin, esansiyel olmayan amino asitler, sodyum pruvat, %10 Fetal Bovin serum (FBS) ve Penisilin /Streptomisin ilavesiyle RPMI 1640 besiyeri içinde monolayer kültürler halinde %5 CO₂'lik bir atmosferde ve 37°C'lik bir inkübatörde çoğaltıldı.

3.4.1. Sitotoksik Aktivite için 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) Testi

SK-MEL 30 İnsan Melanoma hücre hattının hücre canlılığı, MTT testi kullanılarak değerlendirildi. Hücreler sayılarak (her kuyucukta 2×10^5 hücre) 96 kuyucuklu kültür kaplarına aktarıldı. SK-MEL 30 hücreleri, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan R-AgNP'lerle 24 saat boyunca inkübe edildi. R-AgNP ile işlem görmemiş hücreler kontrol grubu olarak kullanıldı. 5mg/mL konsantrasyonda hazırlanan MTT, her bir kuyucuğa 10µL ilave edilerek 4 saat boyunca inkübe edildi. Oluşan mor formazon kristalleri daha sonra 100µL dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözüldü. Optik dansite (OD), 570 nm dalga boyunda çok kuyucuklu spektrofotometre okuyucusuyla ölçüldü. R-AgNP'lerin SK-MEL 30 hücreleri üzerindeki etkisi, aşağıdaki formül ile hesaplanarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hücre canlılığı yüzdesi belirlendi. IC₅₀ değeri, GraphPad Prism 8 yazılımı kullanılarak belirlendi.

- Hücre Canlılığı Yüzdesi (%) = $\frac{\text{Ortalama OD}}{\text{Kontrol OD}} \times 100$

3.5. In Vitro Antioksidan Aktivite Tayini (DPPH Radikal Süpürücü Aktivitesi)

Sentezlenen R-AgNP'lerin antioksidan potansiyeli, askorbik asiti standart olarak 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ile kararlı serbest radikalleri temizleme potansiyelleri değerlendirilerek belirlendi. Farklı konsantrasyonlarda (50-4000 µg/mL) hazırlanan R-AgNP çözeltisinden 500 µL alınarak, metanolde çözündürülmüş 500 µL DPPH (100 µM) ile karıştırıldı. Elde edilen karışımlar

karanlık ortamda oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildikten sonra 517 nm'de spektrofotometrik olarak okutulup; hesaplamalar aşağıdaki şekilde yapılır.

- % DPPH Radikal Süpürme = $[Kontrol_{(517)} - Örnek_{(517)}] / Kontrol_{(517)} \times 100$

3.6. In Vitro Antidiyabetik Aktivite Tayini (α Glukozidaz İnhibitör Aktivitesi)

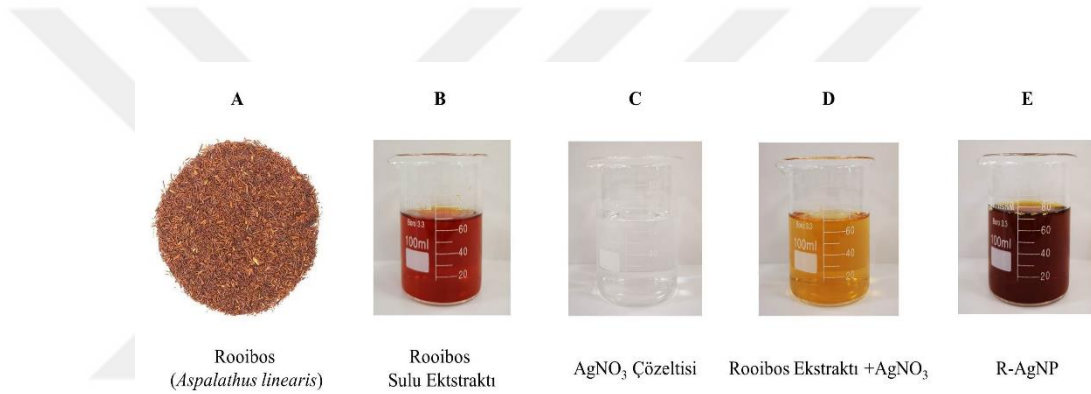
80 μ L α -glukozidaz (1 U/mL) ile 80 μ L farklı konsantrasyonda hazırlanan R-AgNP'ler (25-2000 μ g/mL) ilave edilerek, 1 mM fosfat tamponu (pH 6.9-7) ile 400 μ L'ye hacim tamamlandı. Daha sonra karışım 37 °C'de 15 dakika inkübe edilerek, ardından 100 μ L p-nitrofenil- α -D-glukopiranozit (5 mM) ilave edildi. Reaksiyon karışımı tekrar yukarıda belirtilen koşullarda inkübe edilerek, reaksiyon 400 μ L 0.1 M Na₂CO₃ kullanılarak sonlandırıldı. Pozitif kontrol için akarboz kullanıldı. Tüm örnekler ve kontrol 405 nm'de spektrofotometrik olarak okutulup; hesaplamalar aşağıdaki şekilde yapıldı.

- % α -glukozidaz inhibisyonu = $[(Kontrol^+_{(405)} - Kontrol^-_{(405)}) - Örnek_{(405)}] / (Kontrol^+_{(405)} - Kontrol^-_{(405)}) \times 100$

4. BULGULAR

4.1. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin Biyosentezi (R-AgNP)

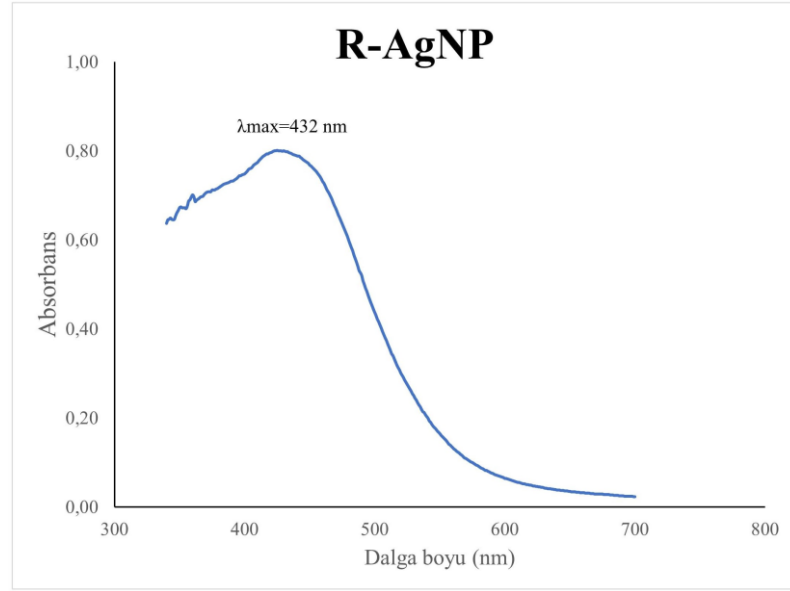
AgNP'ler, Rooibos (*Aspalathus linearis*) sulu ekstraktı kullanılarak sentezlendi. Elde edilen Rooibos sulu ekstraktı kırmızı/kahverengi renkte iken, hazırlanan AgNO₃ solüsyonu başlangıçta renksizdi. Rooibos ekstraktının AgNO₃ solüsyonuna eklenmesi ve ısıtma işlemi sonrasında renk değişimi süreci gözlemlendi. Oluşan renk değişimi, sarı renkten koyu kahverengiye şeklinde gerçekleşti. Süreç sonucunda ortaya çıkan renk değişimi R-AgNP'lerin oluşumunun bir göstergesi olarak kaydedildi (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Rooibos (*Aspalathus linearis*) sulu ekstraktı kullanılarak gümüş AgNP'lerin biyosentezi; (A) Rooibos (*Aspalathus linearis*) bitkisi, (B) Rooibos sulu ekstraktı, (C) AgNO₃ çözeltisi, (D) Rooibos Ekstraktı+AgNO₃, (E) Rooibos AgNP (R-AgNP).

4.2. UV-Vis Spektrofotometre ile Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

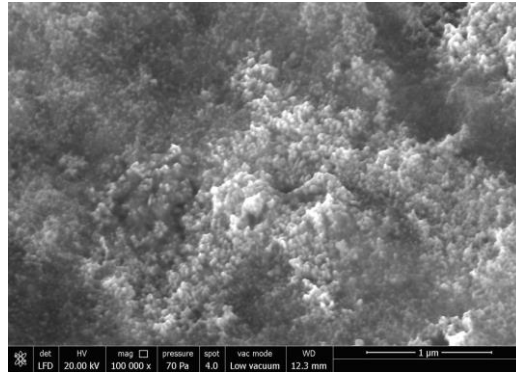
R-AgNP'lerin 300-700 nm aralığında absorpsiyon taraması, UV-Vis spektrofotometre kullanılarak yapıldı. Literatür incelediğinde AgNP'lerin UV-Vis ölçümlerine göre 400-500 nm dalga boyu aralığında bir pik göstermesi beklenmektedir. Rooibos (*Aspalathus linearis*) ekstraktı kullanılarak hazırlanan AgNP'ler için $\lambda=432$ nm'de güçlü bir absorpsiyon piki gözlemlendi (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin (R-AgNP) UV-Vis spektrofotometre ile karakterizasyonu.

4.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

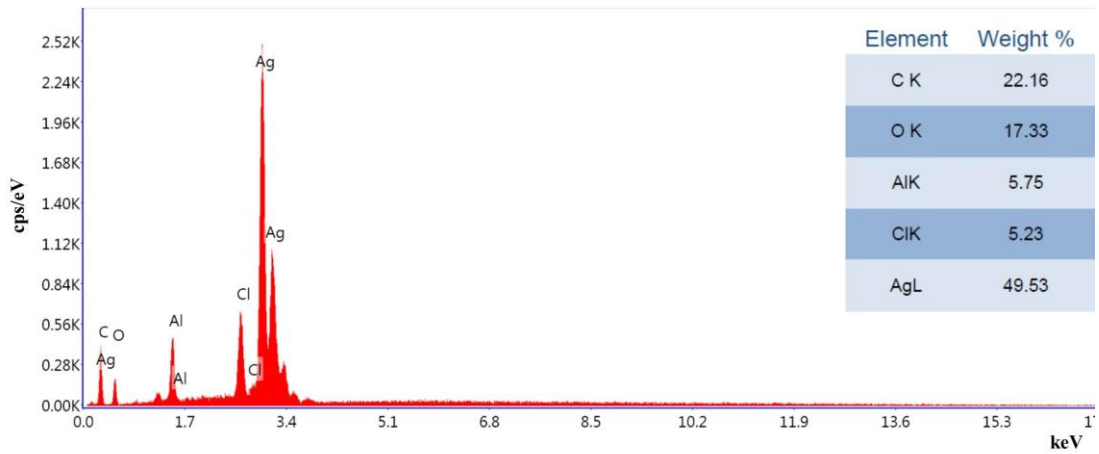
Rooibos ekstraktı kullanılarak biyosentez yöntemiyle sentezlenen AgNP'lerin boyut ve yüzey morfolojisi, SEM ile görüntülenerek analiz edildi. Görüntüleme sonucunda, R-AgNP'lerin genellikle küresel bir morfolojiye sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Rooibos ile sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (R-AgNP) SEM görüntüsüne ait morfolojik yapısı

4.4. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin Elementel Analizi için Enerji Dağıtıcı X-Ray Analizi (EDX)

Rooibos ekstraktı ile biyosentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin elementel analizi için EDX kullanılarak analizi gerçekleştirildi. Yapılan inceleme sonucunda R-AgNP'lere ait elementel kompozisyonda Ag elementinin % 49,53 ağırlığa sahip olduğu ve en büyüğü 3,1 keV olmak üzere Ag metaline ait 3 farklı pik verileri elde edildi. Ekstraktın biyoorganik bileşeninin neden olduğu karbon ve oksijenin varlığı dışında bazı inorganik iyonlarda gözlemlendi (Şekil 4.4.).

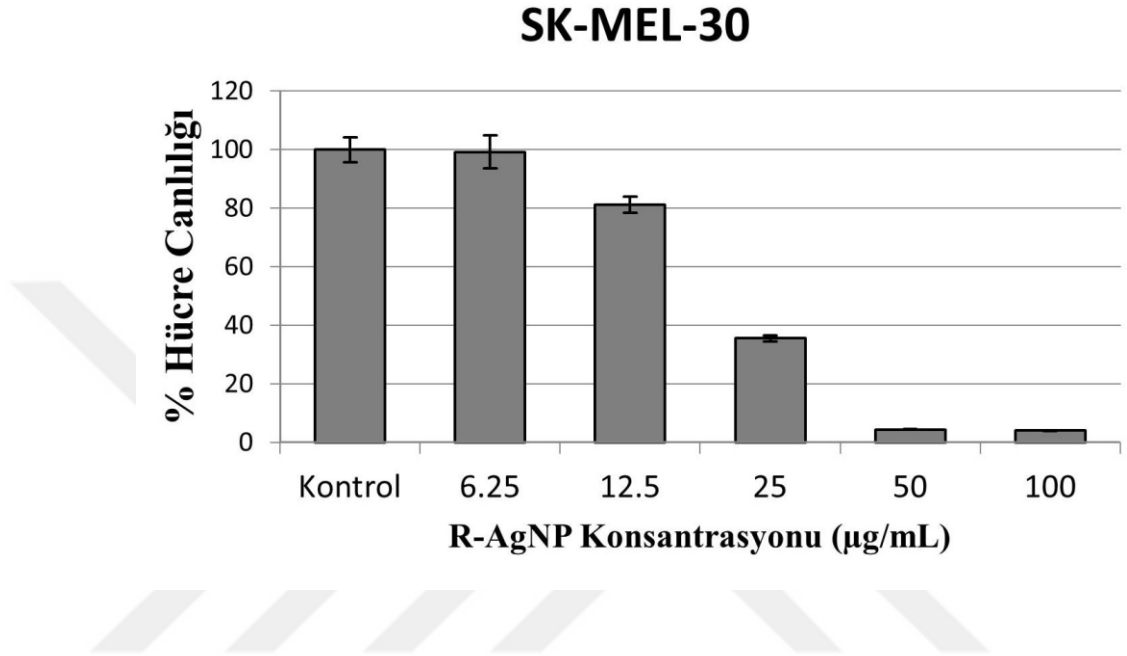


Şekil 4.4. Rooibos ile sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (R-AgNP) EDX ile element kompozisyonu

4.5. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin SK-MEL 30 Hücrelerine Karşı Sitotoksik Etkisi

Bu çalışmada, sentezlenen R-AgNP'lerin insan melanoma hücre hattı (SK-MEL 30) üzerindeki in vitro sitotoksitesi MTT testi kullanılarak belirlendi. SK-MEL 30 hücreleri, farklı konsantrasyonlarda (0-100 µg/mL) hazırlanan R-AgNP'lerle 48 saat boyunca işleme tabi tutuldu. R-AgNP ile muamele edilmemiş SK-MEL 30 hücreleri kontrol grubu olarak kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, üç bağımsız deneyin standart sapması $\pm$ ortalaması alınarak değerlendirildi. Hücrelerin canlılık düzeylerinin istatistiksel anlamlılığı, Student t-testi kullanılarak kontrol hücrelerle karşılaştırılarak belirlendi (*p<0,05). MTT analizi sonuçları, R-AgNP'lerin SK-MEL

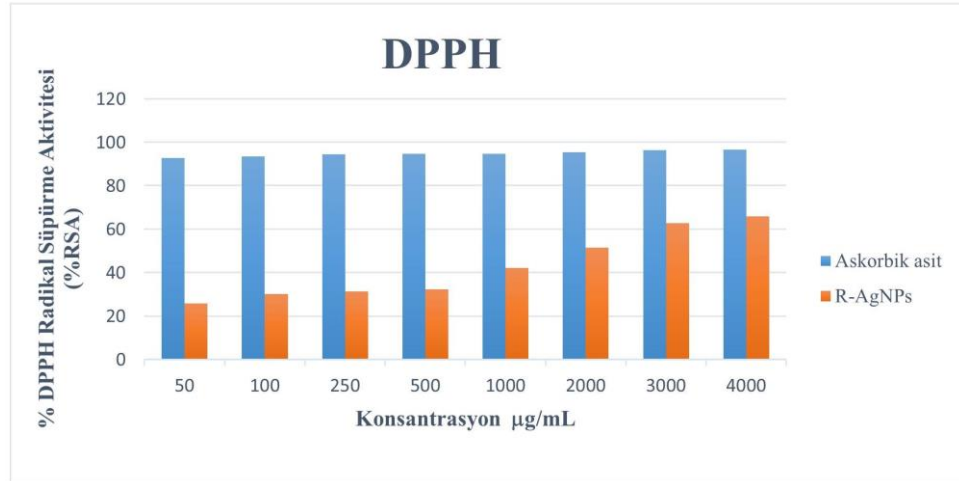
30 hücrelerinde doza bağımlı olarak hücre canlılığında azalmaya neden olduğunu gösterdi. İnkübasyonun 48. saatinde, R-AgNP'lerin 50 µg/mL ve daha yüksek konsantrasyonlarının yaklaşık %90 sitotoksik etkiye sahip olduğu gözlemlendi. IC₅₀ değeri ise 17,32 µg/mL olarak belirlendi (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Rooibos ile sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (R-AgNP) SK-MEL 30 hücrelerine karşı sitotoksik etkisi

4.6. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin In Vitro Antioksidan Aktivitesi

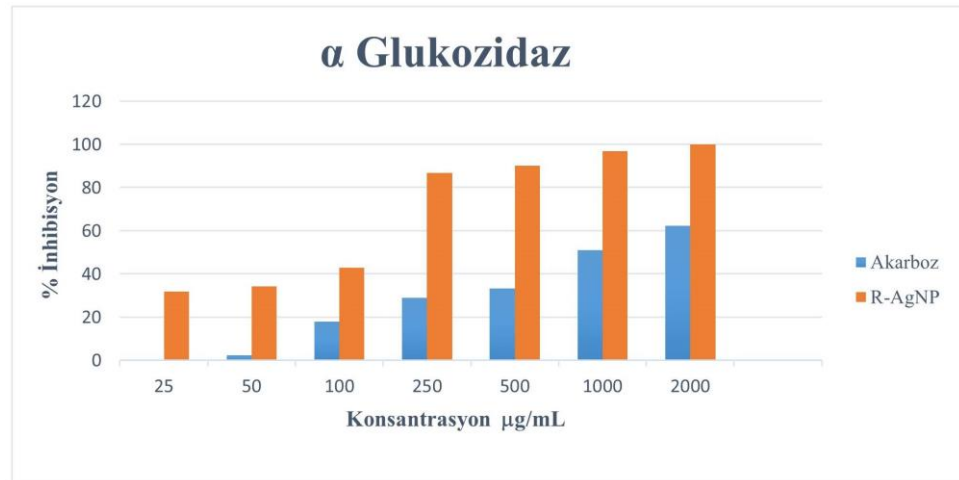
Çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan R-AgNP'lerin (50-4000 µg/mL) DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi % inhibisyon olarak değerlendirildi. Çalışılan konsantrasyon aralığında radikal süpürme aktiviteleri en düşük %25,87 iken en yüksek % 65,91 olarak bulundu. Sonuçlar kontrol olarak kullanılan askorbik asite karşı değerlendirildi (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. Rooibos ile sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (R-AgNP) askorbik asite karşı antioksidan aktivitesi

4.7. Rooibos Gümüş Nanopartiküllerin In Vitro Antidiyabetik Aktivitesi

Çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan R-AgNP'lerin (25-2000 $\mu\text{g/mL}$) α -glukozidaz aktivitesi % inhibisyon olarak değerlendirildi. Çalışılan konsantrasyon aralığında yüzde inhibisyon değerleri en düşük %31,86 iken en yüksek % 100 olarak bulundu. Sonuçlar kontrol olarak kullanılan akarboza karşı değerlendirildi (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. Rooibos ile sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (R-AgNP) antidiyabetik aktivitesi

5. TARTIŞMA

Çalışmada *Aspalathus linearis* bitkisi kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmektedir. Nanopartiküllerin boyut dağılımı, şekil özellikleri ve elementel bileşimi gibi karakteristikleri incelenmiştir. Ayrıca, AgNP'lerin in vitro antioksidan, antidiyabetik ve antikanser etkileri de araştırılmıştır.

Rooibos bitkisi, uçucu bileşikler, polifenoller ve mineraller bakımından zengindir (Bramati ve ark., 2002). Rooibos çay özleri kullanılarak oksidatif stres ve inflamatuvar sürecin hafifletilmesi, antioksidan aktivite, toksisite gibi farklı araştırma temalarının yanında, son zamanlarda, Tip 2 Diyabet tedavisinde rooibos çayının etkinliğini ve gücünü arttırmak amacıyla rooibos çay bileşenlerinin, yeşil sentezin ve nanopartikül formülasyonlarının biyoyararlılığının değerlendirilmesi çalışmalarına odaklanılmaktadır (Elisha ve Viljoen, 2021).

Günümüzde, çevre dostu nanopartikül sentezi için toksik kimyasalların kullanımından kaçınılarak yeni yöntemler geliştirme eğilimi artmaktadır. Bu alanda yapılan araştırmalar, ekonomik açıdan uygun maliyetli ve etkili yöntemlerle nanopartikül sentezine olanak sağlamaktadır (Kim ve ark., 2002; Chaudhari ve ark., 2012; Sharma ve ark., 2012). AgNP sentezi için ilk kez canlı bitki sistemi olan kaba yonca filizleri kullanılmıştır (Gardea-Torresdey ve ark., 2003). Literatürde, bitkilerle ilgili birçok biyosentez çalışmasına rastlanmaktadır. Çünkü bitkiler kolayca bulunabilmekte ve gümüş iyonlarının indirgenmesini olanak sağlayan birçok aktif bileşen içermektedir. Yeşil sentez nanopartikül sentezi çalışmalarında yaprak, kök, bitki sütü, gövde, sap ve tohum gibi farklı bitki parçaları değerlendirilmektedir (Kharissova ve ark., 2013).

AgNP'ler, antimikrobiyal etkileri nedeniyle tıbbi bandajlarda ve kimyasal, manyetik, elektriksel ve optik özellikleri sayesinde tanı, ilaç, elektronik endüstrisi ve tıbbi alanlar gibi birçok yüksek teknoloji alanında kullanılmaktadır. Ayrıca, kataliz, çevre koruması ve enerji dönüşümü gibi alanlarda da kullanıldığı bilinmektedir. Teknolojik açıdan yeşil sentez gibi basit ve maliyeti düşük yöntemler, tıbbi ve farmasötik uygulamalar gibi büyük ölçekli ticari üretimler için birçok avantaj

sunmaktadır. Sentetik nanopartiküllerin biyoloji ve tıp alanında kullanılması, tümörlü hücrelerin tespiti ve kanser tedavilerinde uygulanabilme potansiyelini artırmaktadır (Danhier ve ark., 2010).

Nanopartiküller, genellikle boyut, şekil, yüzey alanı ve parçalanma yetenekleri gibi özelliklerle tanımlanmaktadır (Jiang ve ark., 2009). Bu özelliklerin homojenliği birçok uygulama için önem taşımaktadır. Nanopartiküllerin karakterizasyonunda kullanılan yöntemler arasında UV-Vis spektroskopisi, SEM, TEM, FT-IR, EDX, XRD bulunmaktadır (Fedlheim ve Foss, 2001; Sepeur, 2008; Shahverdi ve ark., 2011). Bu teknikler arasında UV-Vis spektroskopisi, sıkça kullanılan bir tekniktir (Pal ve ark., 2007). Birçok metal nanopartikülünün karakterizasyonunda 300-800 nm arasındaki dalga boyu taranmaktadır. Örneğin, Huang ve Yang (2004), AgNP'lerin karakterizasyonunda 400-450 nm dalga boyu aralığındaki spektrofotometrik absorpsiyon ölçümlerini kullanırken, Shankar ve ark. (2004), altın nanopartikülleri için 500-550 nm dalga boyu aralığındaki ölçümleri kullanmıştır. Metal nanopartiküllerin elementel kompozisyonu ise EDX ile belirlenmektedir (Strasser ve ark., 2010).

Çalışmamızda, *Aspalathus linearis* sulu ekstraktı kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin oluşumu; hazırlanan renksiz AgNO₃ solüsyonu ile kırmızı renkte rooibos sulu ekstraktının karıştırılması sonrası oluşan sarı rengin zamana bağlı olarak koyu kahverengiye doğru gerçekleşen renk değişimi sonucunda gözlemlenmiştir. Nartop (2017), biyosentetik AgNP'ler ile yaptığı çalışmada solüsyonda gözlenen açık sarıdan açık kahverengiye doğru renk değişiminin AgNP'lerin başarılı bir şekilde oluştuğunun bir göstergesi olduğunu ve bunun da nanopartiküllerin yüzeysel plazmon vibrasyonlarından kaynaklandığını bildirmiştir. Gümüş iyonlarının indirgenerek AgNP'lerin oluşması süreci, renk değişimi takibi ve UV-Vis spektroskopi ile belirlenebilmektedir. Absorpsiyon maksimumlarında sulu çözeltilerinin renk değişiklikleri, nanopartiküllerin oluşumunun ilk belirtisi olarak hizmet etmektedir (Akinfenwa ve ark., 2021).

Hazırlanan R-AgNP'lerin UV-Vis spektrofotometre ile karakterizasyonunun değerlendirilmesinde $\lambda=432$ nm'de güçlü bir absorbans piki gözlenmiştir. Bitki

ekstreleri kullanılarak elde edilen AgNP içeren koloidal çözeltilerin UV-Vis spektrumunda karakteristik bir özelliği, maksimum absorpsiyon değerlerinin 425-450 nm aralığında olduğudur. Bu değerler, metalik gümüşün UV-Vis spektrumunda gösterdiği emilim özellikleriyle örtüşmektedir (Forough ve Farhadi, 2010; Sinha ve Paul, 2014). Bu çalışmalarda, bitki ekstraktlarının gümüş iyonlarıyla etkileşime girerek nanopartiküllerin oluşumunu sağladığı ve oluşan nanopartiküllerin belirli bir boyut ve şekle sahip olduğu gösterilmektedir. Bu özellikler, koloidal çözeltilerin belirli bir dalga boyunda en yüksek emilimi göstermesine ve UV-Vis spektrumunda karakteristik bir zirve oluşturmaya neden olmaktadır. Bu bulgular, bitki ekstraktları ile sentezlenen AgNP'lerin optik özelliklerinin metalik gümüş ile uyumlu olduğunu göstermektedir. Çalışmamıza paralel olarak Zaheer ve ark. (2012) çalışmalarındaki AgNP'ler için 410 ile 470 nm arasında bir spektrumun gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Ramar ve ark. (2015), *Solanum trilobatum* bitkisinin olgunlaşmamış meyvelerini kullanarak AgNP'leri basit ve çevreci bir yöntemle üretmişlerdir. Üretilen AgNP'lerin özellikleri, UV-Vis spektroskopisi, SEM, EDX, XRD, FT-IR ve TEM yöntemleriyle belirlenmiştir. UV-Vis emilim spektrumları, 432 nm dalga boyunda SPR özelliği göstermiştir. Coşkunçay (2017), çalışmasında; atkestanesi bitkisinin (*Aesculus hippocastanum*) yaprak özütü ile AgNP'lerin biyosentezinin gerçekleştirildiğini, karakterizasyonu sonucunda ~464 nm dalga boyunda spektrum gösterdiğini, -29 mV elektriksel yüke sahip ve 50±5 nm büyüklüğünde küresel boyutta nanopartiküllerin oluştuğunu bildirmiştir.

Rooibos ekstraktı ile biyosentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin boyut ve yüzey morfolojisinin SEM analizi görüntüleme sonucunda R-AgNP'lerin genellikle küresel bir morfolojiye sahip olduğu belirlenmiştir. Awwad ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada, *Ceratonia siliqua* yaprak ekstraktı kullanılarak yeşil yöntemle AgNP'lerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde sulu AgNO₃ çözeltisi, bitki yaprağından elde edilen ekstraktla reaksiyona sokularak nanopartiküller oluşturulmuştur. Çalışmada, sentezlenen AgNP'lerin UV-Vis spektrumları incelenmiştir. Spektrum sonuçları, AgNP'lerin 420 nm dalga boyunda SPR sergilediğini göstermiştir. Ayrıca, farklı konsantrasyonlarda yapılan sentezlerde, ortalama nanopartikül boyutunun 5-40 nm arasında değiştiği belirlenmiştir. Kumar ve ark. (2018) yürüttükleri çalışmada,

AgNP sentezlemek için *Hydnocarpus pentandra* yaprak ekstraktını kullanarak yeşil sentez yöntemini uygulamışlardır. AgNP'lerin karakterizasyonu UV-Vis spektrofotometri ve SEM ile gerçekleştirilmiştir. UV-Vis spektral analiz sonuçlarında, AgNP'lerin SPR'yi 438 nm'de gösterdiğini ortaya koyduğu ve SEM analizi sonuçlarında küresel şekilli AgNP'lerin yaklaşık ortalama boyutlarının 141-202 nm aralığında olduğu bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise yeşil sentez yöntemiyle elde edilen AgNP'lerin SEM analizi görüntülemesi sonucunda biyolojik AgNP'lerin küresel boyutta ve yaklaşık olarak 32,56 nm büyüklüğünde olduğu belirlenmiştir (Karakaya, 2021). Logeswari ve ark. (2012), bazı bitki özütlerini kullanarak sentezledikleri AgNP'lerin ortalama olarak sırasıyla 28 nm, 26,5 nm, 65 nm, 22,3 nm ve 28,4 nm boyutlarında olduğunu belirlemişlerdir.

EDX analizinde, R-AgNP'lere ait elementel bileşimde Ag elementinin %49,53 ağırlığa sahip olduğu ve en büyüğü 3,1 keV olmak üzere Ag metaline ait 3 farklı pik gözlenmiştir. Yapılan analiz sonucunda, bitki ekstraktının biyoorganik bileşeninin neden olduğu karbon ve oksijenin varlığı dışında bitkisel kaynaklı olduğu düşünülen bazı inorganik iyonlarda belirlenmiştir. Lashin ve ark. (2021) çalışmalarında kallus özütüyle sentezlenen AgNP'lerin monodisperse ve küresel yapıda olup, Ag'nin %42,0 ağırlığa ve yaklaşık 3keV büyüklüğünde SPR pikine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada biyosentez AgNP'lerin ortalama 19,5-20,9 nm çapında, küresel yapıya sahip ve 3.0 keV büyüklüğünde güçlü bir Ag pikine sahip olduğu bulunmuştur (Vijayabharathi ve ark., 2018). Çalışmamıza paralel olarak EDX analizi ile elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, yeşil sentez AgNP'lerin benzer pik aralığına sahip olduğu söylenebilir.

Sentezlenen R-AgNP'lerin MTT analizlerinde elde edilen sonuçlarda R-AgNP'lerin SK-MEL 30 hücrelerinde doz bağımlı olarak hücre canlılığında azalma gösterdiği bulunmuştur. İnkübasyonun 48.saatinde R-AgNP'lerin 50 µg/mL ve daha yüksek konsantrasyonlarının yaklaşık %90 sitotoksik etkili olduğu gözlemlenmiştir. IC₅₀ değeri ise 17,32 µg/mL olarak belirlenmiştir. Akinfenwa ve ark. (2021) yeşil rooibos ekstraktı ve aspalatin ile yapmış oldukları gümüş ve altın nanopartiküllerin 25-500 µg/mL konsantrasyon aralığındaki sitotoksik etkilerini insan nöroblastom hücre hattı (SH-SY5Y) ve HepG2 hepatosellüler karsinoma hücre hattı üzerinde

değerlendirmişlerdir. Çalışmanın 24 saatlik inkübasyon süresi sonundaki MTT sonuçlarında yeşil rooibos AgNP'lerin IC₅₀ değerleri sırasıyla 108,8 ve 183,4 µg/mL olarak belirlenmiştir. Aydın Acar ve ark. (2023) *Helichrysum arenarium* ekstraktı ile sentezledikleri AgNP'lerin SK-MEL-30 hücrelerinde 0-100 µg/mL konsantrasyon aralığında doza bağımlı antikanser aktivitesini değerlendirmiş ve MTT analizleri sonucunda IC₅₀ değerini 35,52 µg/mL olarak bulmuşlardır. Himalini ve ark. (2022) ise mikosentez AgNP'ler ile yaptıkları çalışmalarında, SK-MEL-3 hücrelerine karşı 17,7 µg/mL IC₅₀ değeriyle sentezledikleri AgNP'lerin önemli anti-melanojenik aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Literatürdeki çalışmalarla kıyaslandığında çalışmamızdaki R-AgNP'lerin düşük konsantrasyonlarda antikanser etkinlik gösteren bir ajan olduğu görülmektedir.

Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan R-AgNP'lerin (50-4000 µg/mL) DPPH serbest radikal süpürme aktiviteleri en düşük %25,87, en yüksek % 65,91 olarak tespit edilmiştir. Bu değer, C vitamini (2000 mM TE/g) ve E vitamini (1900 mM TE/g) gibi mevcut antioksidanlarla karşılaştırıldığında önemli ölçüde yüksek olarak değerlendirilebilir (Huang ve ark., 2002). Waisundara ve ark. (2015) *Aspalathus linearis* bitkisinin, diyabet ve kanserle ilişkili iki in vitro modelde serbest radikalleri temizleme kabiliyetini belirlemek için yaptıkları çalışmada ORAC değerini 2705 ± 112 mM TE/g olarak belirlemişlerdir. Baygar (2015) çalışmasında, mikrobiyal olarak sentezlenen AgNP'lerin aktivitelerinin konsantrasyona bağlı olarak arttığı ve 100 µg/mL konsantrasyonda %54,99 inhibisyon oranına sahip olduğunu tespit etmiştir. Başka bir çalışmada sentezlenen AgNP'lerin DPPH etkinlikleri değerlendirilmiş ve sonuçlar 400 µg/mL konsantrasyonda olan AgNP'lerin, %70,05 ± 2,88 oranında en yüksek antioksidan aktiviteyi sergilediğini gösterilmiştir (Başarı, 2022). Coşkunçay (2017) çalışmasında sentezlediği biyolojik ve kimyasal AgNP'lerin DPPH etkinliklerini sırasıyla %54,72 ve %60,63 olarak bildirmiştir. Çalışmamızdaki R-AgNP'lerin DPPH aktivitelerinin literatürdeki çalışmalarla paralellik gösterdiği görülmektedir.

Yapılan çalışmada farklı konsantrasyonlarda hazırlanan R-AgNP'lerin (25-2000 µg/mL) α-glukozidaz aktivitesi % inhibisyon değerleri en düşük % 31,86; en yüksek % 100 olarak belirlendi. Mikami ve ark. (2015) ise yeşil rooibos özütü ve

aspalatin'in, glukoz, süktroz ve nişasta çözeltilerinin alımını takiben diyabetik olmayan farelerin kan glukoz seviyelerini düşürmede etkili olduğunu ve karbonhidrat hidrolizinde önemli bir rol oynayan α -glukozidaz ve α -amilaz enzim aktivitelerini baskıladığını göstermiştir. *Pterocarpus marsupium*'dan sentezlenen AgNP'lerin in vitro anti-diyabetik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, α -amilaz inhibisyon yüzdesinin en düşük %41,44; en yüksek %84,09 olduğu bulunmuştur (Bagyalakshmi ve Haritha, 2017). *Colpomenia sinuosa* AgNP'lerin in vitro anti-diyabetik etkinliğinin araştırıldığı çalışmada α -glukozidaz enzimine karşı inhibisyon aktivitesinde doza bağlı olarak önemli ölçüde ($p<0,005$) artış görülmüştür. Daha düşük konsantrasyonda olan 0,2 mg/mL'de $32,40 \pm 0,10$ inhibisyon ve daha yüksek konsantrasyonda olan 1,0 mg/mL'de $90,50 \pm 0,10$ inhibisyon kaydedilmiştir (Manam ve Murugesan, 2014). Keskin (2022) arı poleni temelli AgNP'ler ile yapmış olduğu çalışmasında, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri için IC_{50} değerlerini sırasıyla 2.56 ± 0.10 ve $2.13 \pm 0,11$ mg/mL olarak tespit etmiş; elde edilen AgNP'lerin DM tedavisinde destekleyici olarak kullanılabileceğini bildirmiştir. Çalışmamızdaki R-AgNP'lerin literatürdeki çalışmalarla kıyaslandığında önemli ölçüde yüksek antidiyabetik aktivite gösterdiği görülmektedir.

6. SONUÇ

Kanser ve diyabet başta olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde nanoteknolojik yaklaşımlı terapiler minimal yan etkiler ve yüksek özgünlükleri ile son yıllarda oldukça ilgi çekmektedir. Nanopartiküllerin biyosentezi (yeşil sentez), fiziksel ve kimyasal senteze alternatif olarak nanopartikül eldesinde kullanılan ve nanoteknoloji ile biyoteknolojiyi birbirine bağlayan, insan vücuduna zararlı etkileri neredeyse olmayan çevre dostu bir yaklaşımdır. Araştırmalar metal nanopartiküllerin yeşil biyosentezini teşhis ve tedavinin bir kombinasyonu olarak tanımlanan teranostik uygulamalarda kullanılmak üzere, antimikrobiyal, antienflamatuar, antinositif, antikanser ve enzim inhibisyon aktiviteleri açısından potansiyel yaklaşımlar olarak ön plana çıkarmaktadır. Özellikle tıbbi bitkilerden biyosentezlenen AgNP'ler antimikrobiyal, antioksidan, antidiyabetik ve antikanser etkinlikleri nedeniyle dikkat çekmektedirler.

Bitki özleri nanopartikül sentezinde indirgeyici ajan olarak kullanımının yanında stabilize edici maddeler olarak da etki göstermektedirler. Biyosentezde kullanılan bitki özütünün kaynağının da nanopartiküllerin özelliklerini etkilediği bilinmektedir. Bu amaçla AgNP biyosentezi için, flavonoidlerin ve fenolik asitlerin varlığından dolayı iyi bir antioksidan aktiviteye sahip; çeşitli cilt hastalıklarının tedavisinde geleneksel olarak kullanılan rooibos bitki özütü kullanılmıştır.

Bu çalışmada, rooibos (*Aspalathus linearis*) bitki özütü kullanılarak yeşil biyosentez metodu ile AgNP'lerin sentezi gerçekleştirilerek sentezlenen R-AgNP'lerin karakterizasyonu yapılmıştır. Biyosentez R-AgNP'lerin DPPH yöntemi ile in vitro antioksidan etkinliği, α -glukozidaz yöntemi ile antidiyabetik etkinliği ve MTT metodu ile SK-MEL-30 hücre hattına karşı sitotoksik etkinliği değerlendirilmiştir.

Sonuç olarak, rooibos bitkisi aracılığı ile AgNP'lerin başarılı bir şekilde sentezlendiği karakterizasyon bulgularımız değerlendirildiğinde görülmektedir. Antioksidan ve antidiyabetik etkinliği görülen R-AgNP'lerin düşük konsantrasyonlarda dahi yüksek sitotoksik etkinliği insan melanoma kanseri tedavisi

için R-AgNP'lerin potansiyel bir terapötik ajan olarak kullanılabileceğine dikkat çekmektedir. Bu çalışmanın in vitro bulgularının in vivo çalışmalar ile desteklenmesi ve olası etki mekanizmasının moleküler düzeyde açıklanabilmesi için daha ileri çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekmektedir.



KAYNAKLAR

- Abou El-Nour KM, Eftaiha A, Al-Warthan A, Ammar RA (2010).** Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arab. J. Chem.* **3**, 135–140.
- Acharya D, Satapathy S, Somu P, et al. (2021).** Apoptotic Effect and Anticancer Activity of Biosynthesized Silver Nanoparticles from Marine Algae *Chaetomorpha linum* Extract Against Human Colon Cancer Cell HCT-116. *Biol. Trace Elem. Res.*, **199**, 1812–1822.
- Ahmadian E, Dizaj SM, Rahimpour E, Hasanzadeh A, Eftekhari A, Hosain Zadegan H, et al. (2018).** Effect of silver nanoparticles in the induction of apoptosis on human hepatocellular carcinoma (HepG2) cell line. *Mater Sci. Eng. C. Mater Biol. Appl.* **93**, 465-471.
- Akhtar MS, Panwar J, Yun YS (2013).** Biogenic synthesis of metallic nanoparticles by plant extracts. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, **1**, 591-602.
- Akinfenwa AO, Abdul NS, Docrat FT, Marnewick JL, Luckay RC, Hussein AA (2021).** Cytotoxic effects of phytomediated silver and gold nanoparticles synthesised from rooibos (*Aspalathus linearis*), and Aspalathin. *Plants*, **10(11)**, 2460.
- Albrecht MA, Evan CW, Raston CR (2006).** Green chemistry and the health implications of nanoparticles. *Green Chemistry*, **8**, 417-32.
- Al-Sheddi ES, Farshori NN, Al-Oqail MM, Al-Massarani SM, Saquib Q, Wahab R, Siddiqui MA (2018).** Anticancer potential of green synthesized silver nanoparticles using extract of *Nepeta deflersiana* against human cervical cancer cells (HeLA). *Bioinorganic Chemistry and Applications*.
- Anker JN, Hall WP, Lyandres O, Shah NC, Zhao J, Van Duyne RP (2008).** Biosensing with plasmonic nanosensors. *Nature materials*, **7(6)**, 442-453.
- Anonim,** <https://www.amazon.com/CHUXAY-GARDEN-Rooibos-Aspalathus-Linearis/dp/B0BSD8BKBB> (Erişim Tarihi: 27.07.2023)
- Arvizo RR, et al. (2012).** Intrinsic therapeutic applications of noble metal nanoparticles: past, present and future. *Chem. Soc. Rev.* **41**, 2943–2970.
- Association AD (2019).** Pharmacologic approaches to glycemic treatment: Standards of Medical Care in Diabetes—2019. *Diabetes care.* **42**, 90-102.
- Atwater HA, Polman A (2010).** Plasmonics for improved photovoltaic devices. *Nature Mater.* **9**, 205–213.
- Awwad AM, Salem NM, Abdeen AO (2013).** Green synthesis of silver nanoparticles using carob leaf extract and its Antibacterial activity. *International Journal of Industrial Chemistry*, **4(1)**, 29.

Aydın Acar C, Pehlivanoglu S, Yesilot S, et al. (2023). Microwave-assisted biofabrication of silver nanoparticles using *Helichrysum arenarium* flower extract: characterization and biomedical applications. *Biomass Conv. Bioref.* **13**, 14211–14223.

Aydın ACAR Ç, Pehlivanoğlu, S (2019). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Rosa canina* extract and its anti-cancer and anti-metastatic activity on human colon adenocarcinoma cell line HT-29. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **7(2)**, 124-131.

Azeez L, Lateef A, Adebisi SA (2017). Silver nanoparticles (AgNPs) biosynthesized using pod extract of *Cola nitida* enhances antioxidant activity and phytochemical composition of *Amaranthus caudatus* Linn. *Appl. Nanosci.* **7**, 59–66.

Bagyalakshmi J, Haritha H (2017). Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using *Pterocarpus marsupium* and Assessment of its In vitro Antidiabetic Activity. *American Journal of Advanced Drug Delivery*, **5(3)**.

Bar H, Bhui DK, Sahoo GP, Sarkar P, De SP, Misra A (2009). Green synthesis of silver nanoparticles using latex of *Jatropha curcas*. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects*, **339(1-3)**, 134-139.

Başarı H (2022). *Evaluation of the Effect of Synthesis Parameters on the Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles Synthesized Using Hibiscus sabdariffa L. Extract.* Master's Thesis, Necmettin Erbakan University, Institute of Natural Sciences, Konya.

Baygar T, Alparslan Y (2015). Effects of multiple freezing ($-18\pm2^{\circ}\text{C}$) and microwave thawing cycles on the quality changes of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of food science and technology*, **52**, 3458-3465.

Bayındır M (2005). Nanoteknoloji destekli akıllı elbiseler. *Bilim ve Teknik*, **453**, 11-12.

Bhadra D, Bhadra S, Jain P, Jain NK (2002). Pegnology: a review of PEG-ylated systems. *Pharmazie*, **57**, 5-29.

Bramati L, Minoggio M, Gardana C, Simonetti P, Mauri P, Pietta P (2002). Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50(20)**, 5513-5519.

Chaudhari PR, Masurkar SA, Shidore VB, Kamble PS (2012). Antimicrobial Activity of Extracellularly Synthesized Silver Nanoparticles using *Lactobacillus* Species Obtained from VIZYLAC Capsule. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **02(03)**, 25-29.

Conde J, Doria G, Baptista P (2012). Noble metal nanoparticles applications in cancer. *J Drug Deliv*, 751075.

Coşkunçay S (2017). *Gümüş nanopartiküllerin atkestanesi (Aesculus hippocastanum) yaprak özütü ile biyosentezi, biyolojik aktivite ve ilaç salınım özelliklerinin belirlenmesi.* Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.

Çıracı S (2004). Nanobilim ve Nanoteknoloji Stratejileri. Ankara: TÜBİTAK, s. 5-6.

Da Silva PB, Machado RTA, Pironi AM, Alves RC, de Araújo PR, Dragalzew AC, et al. (2019). Recent Advances in the Use of Metallic Nanoparticles with Antitumoral Action-Review. *Curr Med Chem*, **26**, 2108-2146.

Dahlgren R (1964). The correct name of the 'rooibos' tea plant. *Botaniska Notiser*, **117**, 188–196.

Dahlgren R (1988). Crotalariaeae (*Aspalathus*). *Flora of Southern Africa*, **16**, 84–90.

Damiani E, Carloni P, Rocchetti G, Senizza B, Tiano L, Joubert E, de Beer D, Lucini L. (2019). Impact of Cold versus Hot Brewing on the Phenolic Profile and Antioxidant Capacity of Rooibos (*Aspalathus linearis*) Herbal Tea. *Antioxidants (Basel)*, **8(10)**, 499.

Danhier F, Feron O, Préat V (2010). To exploit the tumor microenvironment: passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. *J. Control. Release*, **148(2)**, 135–146.

Das D, Nath BC, Phukon P, Dolui SK (2013). Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity. *Colloids and Surfaces B. Biointerfaces*, **111**, 556-560.

Deepak V, Umamaheshwaran PS, Guhan K, Nanthini RA, Krithiga B, Jaithoon NM, Gurunathan S (2011). Synthesis of gold and silver nanoparticles using purified URAK. *Colloid Surface B.*, **86**, 353–358.

Dipankar C, Murugan S (2012). The green synthesis, characterization and evaluation of the biological activities of silver nanoparticles synthesized from Iresine herbstii leaf aqueous extracts. *Colloids and surfaces B: biointerfaces*, **98**, 112-119.

Elisha IL, Viljoen A (2021). Trends in Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*) research (1994–2018): A scientometric assessment. *South African Journal of Botany*, **137**, 159-170.

Elsupikhe RF, Shameli K, Ahmad MB, Ibrahim NA, Zainudin N (2015). Green sonochemical synthesis of silver nanoparticles at varying concentrations of κ-carrageenan. *Nanoscale Res. Lett.*, **10**, 302.

Fard NN, Noorbazargan H, Mirzaie A, Hedayati ChM, Moghimiyani Z, Rahimi A (2018). Biogenic synthesis of AgNPs using Artemisia oliveriana extract and their biological activities for an effective treatment of lung cancer. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.*, **46**, S1047-S1058.

Fedlheim DL, Foss CA (2001). *Metal nanoparticles: synthesis, characterization, and applications*. CRC Press, USA.

Ferlemi AV, Lamari FN (2016). Berry Leaves: An Alternative Source of Bioactive Natural Products of Nutritional and Medicinal Value. *Antioxidants*, **5**(2), 17.

Forough M, Farhadi K (2010). Biological and green synthesis of silver nanoparticles. *Turkish Journal of Engineering & Environmental Sciences*, **34**, 281-287.

Franco-Molina MA, Mendoza-Gamboa E, Sierra-Rivera CA, Gómez-Flores RA, Zapata-Benavides P, Castillo-Tello P, Rodríguez-Padilla C (2010). Antitumor activity of colloidal silver on MCF-7 human breast cancer cells. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **29**(1), 1-7.

Gardea-Torresdey JL, Gomez E, Peralta-Videa JR, Parsons JG, Troiani H, Jose-Yacamán M (2003). Alfalfa sprouts: a natural source for the synthesis of silver nanoparticles. *Langmuir*, **19**(4), 1357-1361.

Ge L, Li Q, Wang M, Ouyang J, Li X, Xing MMQ (2014). Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. *Int. J. Nanomedicine*, **9**, 2399–2407.

Ghaffari-Moghaddam M, Hadi-Dabanlou R, Khajeh M, Rakhshanipour M, Shameli K (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts. *Korean J. Chem. Eng.*, **31**, 548-57.

Granqvist CG, Buhrman RA (1976). Ultrafine metal particles. *Journal of Applied Physics*, **47**(5), 2200-2219.

Gurunathan S, Han J, Park JH, Kim JH (2014). A green chemistry approach for synthesizing biocompatible gold nanoparticles. *Nanoscale Res. Lett.*, **9**, 248.

Gurunathan S, Han JW, Kim JH (2013). Green chemistry approach for the synthesis of biocompatible graphene. *Int. J. Nanomed.*, **8**, 2719–2732.

Gurunathan S, Han JW, Dayem AA, Eppakayala V, Park JH, Cho SG, Lee KJ, Kim JH (2013). Green synthesis of anisotropic silver nanoparticles and its potential cytotoxicity in human breast cancer cells (MCF-7). *J. Ind. Eng. Chem.*, **19**, 1600–1605.

Gurunathan S, Han JW, Kwon DN, Kim JH (2014). Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Nanoscale Res. Lett.*, **9**, 373.

Gurunathan S, Han JW, Park JH, Kim E, Choi YJ, Kwon DN, Kim JH (2015). "Reduced graphene oxide-silver nanoparticle nanocomposite: A potential anticancer nanotherapy." *Int. J. Nanomed.*, **10**, 6257–6276.

Gurunathan S, Jeong JK, Han JW, Zhang XF, Park JH, Kim JH (2015). Multidimensional effects of biologically synthesized silver nanoparticles in *Helicobacter pylori*, *Helicobacter felis*, and human lung (L132) and lung carcinoma A549 cells. *Nanoscale Res. Lett.*, **10**, 1–17.

Gurunathan S, Park JH, Han JW, Kim JH (2015). Comparative assessment of the apoptotic potential of silver nanoparticles synthesized by *Bacillus tequilensis* and *Calocybe indica* in MDA-MB-231 human breast cancer cells: targeting p53 for anticancer therapy. *Int. J. Nanomedicine*, **10**, 4203-4222.

Gurunathan S, Qasim M, Park C, Yoo H, Kim JH, Hong K (2018). Cytotoxic Potential and Molecular Pathway Analysis of Silver Nanoparticles in Human Colon Cancer Cells HCT116. *Int. J. Mol. Sci.*, **19**, 2269.

Habu T, Flath RA, Mon TR, Morton JF (1985). Volatile components of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*). *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 249-254.

Hahn H, Averbach RS (1990). The production of nanocrystalline powders by magnetron sputtering. *Journal of Applied Physics*, **67(2)**, 1113-1115.

Heaven MW, Dass A, White PS, Holt KM, Murray RW (2008). Crystal structure of the gold nanoparticle (N(C₈H₁₇)₄) (Au₂₅(SCH₂CH₂Ph)₁₈). *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 3754–3755.

Hennes M, Lotnyk A, Mayr SG (2014). Plasma-assisted synthesis and high-resolution characterization of anisotropic elemental and bimetallic core-shell magnetic nanoparticles. *Beilstein J. Nanotechnol.*, **5**, 466-475.

Himalini S, Uma Maheshwari Nallal V, Razia M, and et al. (2022). Antimicrobial, anti-melanogenesis and anti-tyrosinase potential of myco-synthesized silver nanoparticles on human skin melanoma SK-MEL-3 cells. *Journal of King Saud University- Science*, **34(3)**, 101882.

Hong IS, Lee HY, Kim HP (2014). Anti-oxidative effects of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*) on immobilization-induced oxidative stress in rat brain. *PLoS one*, **9(1)**, e87061.

Huang DJ, Ou BX, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Prior RL (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multi-channel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J. Agric Food Chem.*, **50**, 4437-4444.

Huang H, Yang X (2004). Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: a green method. *Carbohydrate research*, **339(15)**, 2627-2631.

Hussein J, El Nagggar ME, Latif YA, Medhat D, El Bana M, Refaat E, et al. (2018). Solvent-free and one pot synthesis of silver and zinc nanoparticles: activity toward cell membrane component and insulin signaling pathway in experimental diabetes. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. **170**, 76-84.

Inagaki S, Ghirlando R, Grisshammer R (2013). Biophysical characterization of membrane proteins in nanodiscs. *Methods*, **59**, 287–300.

Jadzinsky PD, Calero G, Ackerson CJ, Bushnell DA, Kornberg RD (2007). Structure of a thiol monolayer-protected gold nanoparticle at 1.1 Å resolution. *Science*, **318**, 430–433.

Jiang J, Oberdörster G, Biswas P (2009). Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies. *Journal of Nanoparticle Research*, **11**(1), 77-89.

Jin R. et al. (2003). Controlling anisotropic nanoparticle growth through plasmon excitation. *Nature*, **425**, 487–490.

Joubert E (1988). Effect of batch extraction condition on yield of soluble solids from Rooibos tea. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **23**, 43-47.

Joubert E, Gelderblom WC, Louw A, De Beer D (2008). South African herbal teas: *Aspalathus linearis*, *Cyclopia* spp. and *Athrixia phylicoides*--A review. *Journal of ethnopharmacol*, **119**(3), 376-412.

Kalimuthu K, Babu RS, Venkataraman D, Bilal M, Gurunathan S (2008). Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*. *Colloid Surface B.*, **65**, 150–153.

Kalishwaralal K, Deepak V, Ram Kumar Pandian S, Kottaisamy M, BarathmaniKanth S, Kartikeyan B, Gurunathan S (2010). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Brevibacterium casei*. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **77**, 257–262.

Kalishwaralal K, Deepak V, RamkumarPandian S, Nellaiah H, Sangiliyandi G (2008). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by the culture supernatant of *Bacillus licheniformis*. *Mater. Lett.*, **62**, 4411–4413.

Kamakura R, Son MJ, de Beer D, Joubert E, Miura Y, Yagasaki K (2015). Antidiabetic effect of green rooibos (*Aspalathus linearis*) extract in cultured cells and type 2 diabetic model KK-Ay mice. *Cytotechnology*, **67**(4), 699-710.

Karakaya F (2021). Yeşil sentez yöntemiyle *ruscus Aculeatus L.* bitkisi kullanılarak gümüş nanopartiküllerin sentezi ve antibiyofilm, antimikrobiyal, antikanser aktivitelerinin incelenmesi. Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.

Keskin, M (2022). Arı poleni bazlı gümüş nanopartiküllerin sentezi, karakterizasyonu ve antidiyabetik potansiyeli *El-Cezerî Fen ve Mühendislik Dergisi*, **9**(1); 266-275.

Kharissova OV, Dias HR, Kharisov BI, Pérez BO, Pérez VMJ (2013). The greener synthesis of nanoparticles. *Trends in biotechnology*, **31**(4), 240-248.

Khodashenas B, Ghorbani HR (2015). Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. *Arabian Journal of Chemistry*, **12(8)**, 1823-1838.

Kırca M, Mengeloğlu Y (2008). Nanoteknoloji ve Türkiye. *TÜSİAD Rekabet Stratejileri Dizisi*, **11**.

Kim YM, An DS, Park HJ, Park JM, Lee DS (2002). Properties of nisin incorporated polymer coatings as antimicrobial packaging materials. *Packag. Technol. Sci.*, **15**, 27-254.

Klaus T, Joerger R, Olsson E, Granqvist CG (1999). Silver-based crystalline nanoparticles, microbially fabricated. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 13611–13614.

Kommareddy S, Tiwari SB, Amiji MM (2005). Long-circulating polymeric nanovectors for tumor-selective gene delivery. *Technol Cancer Res. Treat*, **4**, 615-625.

Kovacs D, Igaz N, Keskeny C, Belteky P, Toth T, Gaspar R, et al. (2016). Silver nanoparticles defeat p53-positive and p53-negative osteosarcoma cells by triggering mitochondrial stress and apoptosis. *Sci. Rep.*, **6**, 27902.

Kumar B, Smita K, Cumbal L, Debut A, Pathak RN (2014). Sonochemical synthesis of silver nanoparticles using starch: A comparison. *Bioinorg. Chem. Appl.*, 784268.

Kumar K, Dineshkumar B, Ramesh PR (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using *Hydnocarpus pentandra* leaf extract: In-vitro Cytotoxicity studies against MCF-7 cell line. *Journal of Young Pharmacists*, **10(1)**: 16.

Kumar V, Yadav SK (2009). Plant mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *J Chem Technol Biotechnol*, **84(2)**, 151-7.

Kuppusamy P, Ichwan SJ, Al-Zikri PNH, Suriyah WH, Soundharajan I, Govindan N, Yusoff MM (2016). In vitro anticancer activity of Au, Ag nanoparticles synthesized using *Commelina nudiflora* L. aqueous extract against HCT-116 colon cancer cells. *Biological trace element research*, **173**, 297-305.

Langer R (2000). Biomaterials in drug delivery and tissue engineering: one laboratory's experience. *Acc. Chem. Res.*, **33**, 94-101.

Lashin I, Fouda A, Gobouri AA, Azab E, Mohammedsaleh ZM, Makharita RR. (2021). Antimicrobial and In Vitro Cytotoxic Efficacy of Biogenic Silver Nanoparticles (Ag-NPs) Fabricated by Callus Extract of *Solanum incanum* L. *Biomolecules*. **24**, **11(3)**:341.

Lee M, Kim SW (2005). Polyethylene glycol-conjugated copolymers for plasmid DNA delivery. *Pharm Res.*, **22**, 1-10.

Leung TC, Wong CK, Xie Y (2010). Green synthesis of silver nanoparticles using biopolymers, carboxymethylated-curdlan and fucoidan. *Mater. Chem. Phys.*, **121**, 402–405.

Liamosa D, Ruano M, Martinez L, Mayoral A, Roman E, Garcia-Hernandez M, Huttel Y (2014). The ultimate step towards a tailored engineering of core shell and core-shell-shell nanoparticles. *Nanoscale*, **6(22)**, 13483-13486.

Lin S, Huang R, Cheng Y, Liu J, Lau BL, Wiesner MR (2013). Silver nanoparticle-alginate composite beads for point-of-use drinking water disinfection. *Water research*, **47(12)**, 3959-3965.

Logeswari P, Silambarasan S, Abraham J (2012). Synthesis of silver nanoparticles using plants extract and analysis of their antimicrobial property. *Journal of Saudi Chemical Society*, **19(3)**, 311–317.

Logothetidis S (2006). Nanotechnology in medicine: the medicine of tomorrow and nanomedicine. *Hippokratia*, **10(1)**, 7–21.

Machado R, Pironi A, Alves R, Dragalzew A, Dalberto I, Chorilli M (2019). Recent Advances in the Use of Metallic Nanoparticles with Antitumoral Action-Review. *Curr Med Chem.*, **26**, 2108-2146.

Magcwebeba TU (2013). *Chemopreventive properties of South African herbal teas, rooibos (Aspalathus linearis) and honeybush (Cyclopia spp): mechanisms against skin carcinogenesis* (Doctoral dissertation, Stellenbosch: Stellenbosch University).

Maier SA et al. (2001). Plasmonics — a route to nanoscale optical devices. *Adv. Mater.*, **13**, 1501–1505.

Malik MA, O'Brien P, Revaprasadu N (2002). A simple route to the synthesis of core/shell nanoparticles of chalcogenides. *Chem. Mater.*, **14**, 2004–2010.

Mallick K, Witcomb MJ, Scurrrell MS (2004). Polymer stabilized silver nanoparticles: a photochemical synthesis route. *Journal of materials science*, **39**, 4459-4463.

Manam VK, Murugesan S (2014). Biological Synthesis of Silver Nanoparticles from Marine Alga Colpomenia Sinuosa and Its in Vitro Anti-Diabetic Activity. *American Journal of Bio-pharmacology Biochemistry and Life Sciences*, **3(1)**, 01-07.

Marnewick JL (2014). *Antioxidant Properties of Rooibos (Aspalathus linearis) – In Vitro and in Vivo Evidence*. In: Laher, I. (eds) *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 4083–4108.

Marnewick J, Joubert E, Joseph S, Swanevelder S, Swart P, Gelderblom W (2005). Inhibition of tumour promotion in mouse skin by extracts of rooibos (*Aspalathus linearis*) and honeybush (*Cyclopia intermedia*), unique South African herbal teas. *Cancer letters*, **224(2)**, 193-202.

McDaniel JT, Nuhu K, Ruiz J, Alorbi G (2019). Social determinants of cancer incidence and mortality around the world: an ecological study. *Global health promotion*, **26**(1), 41-49.

Mikami N, Tsujimura J, Sato A, Narasada A, Shigeta M, Kato M, Hata S, Hitomi E (2015). Green rooibos extract from *Aspalathus linearis*, and its component, aspalathin, suppress elevation of blood glucose levels in mice and inhibit α -amylase and α -glucosidase activities in vitro. *Food Sci. Technol. Res.*, **21**, 231–240.

Morton JF (1983). Rooibos tea, *Aspalathus linearis*, a caffeineless, low-tannin beverage. *Economic Botany*, **37**, 164-173.

Nair B, Pradeep T (2002). Coalescence of nanoclusters and formation of submicron crystallites assisted by Lactobacillus strains. *Cryst. Growth Des.*, **2**, 293–298.

Nartop P (2017). Biyosentetik gümüş nanopartiküllerinin *Pyracantha coccinea* bitkisinin gövde eksplantlarının yüzey sterilizasyonunda kullanımı. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **23**(6), 759-761.

Noginov MA et al. (2009). Demonstration of a spaser-based nanolaser. *Nature*, **460**, 1110–1112.

Olteanu RL, Nicolescu CM, Bumbac M (2017). Influence of phytochemical reductive capacity on ultraviolet–visible spectroscopic behavior of silver nanoparticles. *Analytical Letters*, **50**(17), 2786-2801.

Pal S, Tak YK, Song JM (2007). Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**(6), 1712–1720.

Pilleron S, Sarfati D, Janssen-Heijnen M, Vignat J, Ferlay J, Bray F, et al. (2019). Global cancer incidence in older adults, 2012 and 2035: A population-based study. *Int. J. Cancer*, **144**, 49-58.

Pyatenko A, Yamaguchi M, Suzuki, M (2007). Synthesis of spherical silver nanoparticles with controllable sizes in aqueous solutions. *J. Phys. Chem. C*, **111**, 7910–7917.

Qian H, Eckenhoff WT, Zhu Y, Pintauer T, Jin R (2010). Total structure determination of thiolate-protected Au38 nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 8280–8281.

Raghunandan D, Ravishankar B, Sharanbasava G, Mahesh DB, Harsoor V, Yalagatti MS, Venkataraman A (2011). Anti-cancer studies of noble metal nanoparticles synthesized using different plant extracts. *Cancer nanotechnology*, **2**, 57-65.

Ramar M, Manikandan B, Marimuthu P N, Raman T, Mahalingam A, Subramanian P, Munusamy A (2015). Synthesis of silver nanoparticles using

Solanum trilobatum fruits extract and its antibacterial, cytotoxic activity against human breast cancer cell line MCF 7. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **140**, 223-228.

Rana A, Yadav K, Jagadevan SA (2020). Comprehensive review on green synthesis of nature-inspired metal nanoparticles: Mechanism, application and toxicity. *Journal of Cleaner Production*, **272**, 122880.

Salem SS, Fouda A (2021). Green Synthesis of Metallic Nanoparticles and Their Prospective Biotechnological Applications: an Overview. *Biological Trace Element Research*, **199**, 344–370.

Sapsford KE, Tyner KM, Dair BJ, Deschamps JR, Medintz IL (2011). Analyzing nanomaterial bioconjugates: A review of current and emerging purification and characterization techniques. *Anal. Chm.*, **83**, 4453–4488.

Saratale GD, Saratale RG, Benelli G, Kumar G, Pugazhendhi A, Kim DS, et al. (2017). Anti-diabetic potential of silver nanoparticles synthesized with *Argyrea nervosa* leaf extract high synergistic antibacterial activity with standard antibiotics against foodborne bacteria. *J. Clust. Sci.*, **28**, 1709-1727.

Satpathy S, Patra A, Ahirwar B, Hussain MD (2018). Antioxidant and anticancer activities of green synthesized silver nanoparticles using aqueous extract of tubers of *Pueraria tuberosa*. *Artificial Cells Nanomedicine and Biotechnology*, **46(3)**, 71-85.

Schirmacher V (2019). From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment. *International journal of oncology*, **54(2)**, 407-419.

Schulz H, Joubert E, Schutze, W (2003). Quantification of quality parameters for reliable evaluation of green rooibos (*Aspalathus linearis*). *European Food Research and Technology*, **216**, 539-543.

Sengottaiyan A, Aravinthan A, Sudhakar C, Selvam K, Srinivasan P, Govarthanan M, et al. (2016). Synthesis and characterization of *Solanum nigrum*-mediated silver nanoparticles and its protective effect on alloxan-induced diabetic rats. *J. Nanostructure Chem.*, **6**, 41-48.

Sepeur S (2008). *Nanotechnology: technical basics and applications*. Hannover, Vincentz, p: 168.

Sergeev BE (2013). *Nanochemistry*, 2nd Edition, Amsterdam: Elsevier B.V., p: 31-48.

Shahverdi AR, Shakibaie M, Nazari P (2011). Basic and practical procedures for microbial synthesis of nanoparticles. In *Metal nanoparticles in microbiology*, 177-195.

Shameli K, Ahmad MB, Yunus WMZW, Ibrahim NA, Gharayebi Y, Sedaghat S (2010). Synthesis of silver/montmorillonite nanocomposites using γ -irradiation. *Int. J. Nanomed.*, **5**, 1067–1077.

Shameli K, Ahmad MB, Yunus WM, Rustaiyan A, Ibrahim NA, Zargar M, Abdollahi, Y (2010). Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity. *Int. J. Nanomed.*, **5**, 875–887.

Shankar SS, Ahmad A, Sastry M (2003). Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles. *Biotechnol. Prog.*, **19**, 1627–1631.

Shankar SS, Rai A, Ahmad A, Sastry M (2004). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of colloid and interface science*, **275(2)**, 496-502.

Shankar S, Rhim JW (2015). Amino acid mediated synthesis of silver nanoparticles and preparation of antimicrobial agar/silver nanoparticles composite films. *Carbohydr. Polym.*, **130**, 353–363.

Sharma TK, Chopra A, Sapra M, Kumawat D, Patil SD, Ranjana Pathania R, Navani NK (2012). Green Synthesis and Antimicrobial Potential of Silver Nanoparticles. *International Journal of Green Nanotechnology*, **4(1)**, 1–16.

Sharma VK, Yngard RA, Lin Y (2009). Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*, **145(1-2)**, 83-96.

Shi J, Kantoff PW, Wooster R, Farokhzad OC (2017). Cancer nanomedicine: progress, challenges and opportunities. *Nat Rev Cancer*, **17**, 20–37.

Shindo Y, Kato K (1991). *Effect of rooibos tea on some dermatological diseases*. In Proceedings of the international symposium on tea science. The Organizing Committee of ISTS Shizuoka, p: 385-38.

Singh M, Singh S, Prasad S, Gambhir S (2008). Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, **3(3)**, 115-122.

Sinha SN, Paul D (2014). Eco-friendly Green Synthesis and Spectrophotometric Characterization of Silver Nanoparticles Synthesized using Some Common Indian Spices. *International Journal of Green and Herbal Chemistry*, **3(2)**, 401-408.

Sissing L, Marnewick J, De Kock M, Swanevelder S, Joubert E, Gelderblom W (2011). Modulating effects of rooibos and honeybush herbal teas on the development of esophageal papillomas in rats. *Nutrition and cancer*, **63(4)**, 600-610.

Son MJ, Minakawa M, Miura Y, Yagasaki K (2013). Aspalathin improves hyperglycemia and glucose intolerance in obese diabetic ob/ob mice. *European journal of nutrition*, **52**, 1607-1619.

Stephan TS, Scott EM, Anil KP, Marina AD (2006). *Preclinical characterization of engineered nanoparticles intended for cancer therapeutics*. In Nanotechnology for Cancer Therapy; Amiji, M. M., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, p: 105–137.

Strasser P, Koh S, Anniyev T, Greeley J, More K, Yu C, Nilsson A (2010). Lattice-strain control of the activity in dealloyed core–shell fuel cell catalysts. *Nature chemistry*, **2(6)**, 454-460.

Suman TY, Rajasree SR, Kanchana A, Elizabeth SB (2013). Biosynthesis, characterization and cytotoxic effect of plant mediated silver nanoparticles using *Morinda citrifolia* root extract. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, **106**, 74-78.

Tao A, Sinsermsuksakul P, Yang P (2006). Polyhedral silver nanocrystals with distinct scattering signatures. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **45**, 4597–4601.

Tavakoli F, Jahanban-Esfahlan R, Seidi K, Jabbari M, Behzadi R, Pilehvar-Soltanahmadi Y, Zarghami N (2018). Effects of nano-encapsulated curcumin-chrysin on telomerase, MMPs and TIMPs gene expression in mouse B16F10 melanoma tumour model. *Artificial Cells Nanomedicine Biotechnology*, **46(2)**, 75-86.

Thakkar KN, Mhatre SS, Parikh RY (2010). Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine*, **6**, 257–262.

Tsuji M, Hashimoto M, Nishizawa Y, Kubokawa M, Tsuji T (2005). Microwave-assisted synthesis of metallic nanostructures in solution. *Chemistry–A European Journal*, **11(2)**, 440-452.

Turgut O, Keskin HL, Avşar AF (2011). Nanoteknoloji nedir. *Turkish Medical Journal*, **5(1)**, 45-49.

Van Wyk BE (2011). The potential of South African plants in the development of new medicinal products. *South African Journal of Botany*. **77(4)**, 812-829.

Vijayabharathi R, Sathya A, Gopalakrishnan S (2018). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using *Streptomyces griseoplanus* SAI-25 and its antifungal activity against *Macrophomina phaseolina*, the charcoal rot pathogen of sorghum. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **14**: 166–171

Villaño D, Pecorari M, Testa MF, Raguzzini A, Stalmach A, Crozier A, Serafini M (2010). Unfermented and fermented rooibos teas (*Aspalathus linearis*) increase plasma total antioxidant capacity in healthy humans. *Food Chemistry*, **123(3)**, 679-683.

Von Gadow A, Joubert E, Hansmann CF (1997). Effect of extraction time and additional heating on the antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **45(4)**, 1370-1374.

Von Gadow A, Joubert E, Hansmann, CF (1997). Comparison of the antioxidant activity of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*) with green, oolong and black tea. *Food Chem.*, **60**, 73-77.

Waisundara VY, Hoon LY (2015). Free radical scavenging ability of *Aspalathus linearis* in two in vitro models of diabetes and cancer. *J Tradit Complement Med*, **5(3)**, 174-8.

Wang J, Bai J (2005). High-magnetic-moment core-shell-type FeCo Au AgFeCo Au Ag nanoparticles. *Appl. Phys. Lett.*, **87**, 152502.

Wiley B, Sun Y, Mayers B, Xia Y (2005). Shape-controlled synthesis of metal nanostructures: The case of silver. *Chemistry*, **11**, 454–463.

Xu L, Wang YY, Huang, J, Chen CY, Wang ZX, Xie H (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*, **10(20)**, 8996–9031.

Yeasmin S, Datta H K, Chaudhuri S, Malik D, Bandyopadhyay A (2017). In-vitro anti-cancer activity of shape controlled silver nanoparticles (AgNPs) in various organ specific cell lines. *J. Mol. Liq.*, **242**, 757-766.

Yer M (2012). *Gümüş Nanopartiküllerin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye.

Yesilot S, Aydin ACAR C (2019). Silver nanoparticles; a new hope in cancer therapy? *Eastern Journal of Medicine*, **24(1)**, 111-116.

Yoshikawa T, Natio Y, Oyamada H, Ueda S, Tangigawa T, Takemura T, Sugino S, Kondo M (1990). Scavenging effects of *Aspalathus linealis* (Rooibos tea) on active oxygen species. Antioxidants in Therapy and Preventive medicine. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **264**, 171- 174.

Yuan YG, Peng QL, Gurunathan S (2017). Silver nanoparticles enhance the apoptotic potential of gemcitabine in human ovarian cancer cells: combination therapy for effective cancer treatment. *International journal of nanomedicine*, **12**, 6487-6502.

Zaheer Z, Rafiuddin (2012). Silver nanoparticles to selfassembled films: green synthesis and characterization. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **90**: 48- 52.

Zeng C, et al. (2012). Total structure of the golden nanocrystal Au₃₆(SR)₂₄. *Angew Chem. Int. Edn.*, **51**, 13114–13118.

Zhu M, Aikens CM, Hollander FJ, Schatz GC, Jin R (2008). Correlating the crystal structure of a thiol-protected Au₂₅ cluster and optical properties. *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 5883–5885.

Zielinska E, Zauszkiewicz-Pawlak A, Wojcik M, Inkielewicz-Stepniak I (2018). Silver nanoparticles of different sizes induce a mixed type of programmed cell death in human pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncotarget*, **9(4)**, 4675.

