

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ İLE ÜRETİLEN GÜMÜŞ
NANOPARÇACIKLARIN KANSER
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Erdi BİLGİÇ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZİK
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**EYLÜL 2020
ANTALYA**

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ İLE ÜRETİLEN GÜMÜŞ
NANOPARÇACIKLARIN KANSER
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Erdi BİLGİÇ
FİZİK
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 24/09/2020 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Nina TUNÇEL (Danışman)
Prof. Dr. Nuri ÜNAL
Prof. Dr. Numan HODA
Doç. Dr. Timur KOCA
Dr. Öğr. Üyesi Tahir ÇAKIR

ÖZET

YEŞİL SENTEZ YÖNTEMİ İLE ÜRETİLEN GÜMÜŞ NANOPARÇACIKLARIN KANSER ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Erdi BİLGİÇ

Doktora Tezi, Fizik Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Nina TUNÇEL

Eylül 2020; 76 sayfa

CA (biber-*Capsicum annuum*) ve SM (deve diken-i-*Silybum marianum*) bitkilerinin indirgen ve kapsülleyici ajan olarak kullanıldığı bu doktora tez çalışmasında, yeşil sentez yöntemiyle gümüş nanopartikül (Ag NP)'leri elde edilmiştir. Ag NP'lerin oluşum kinetiği UV-vis spektrofotometresi ile ve morfolojik özellikleri ise geçirmeli elektron mikroskobu (TEM) ile belirlenmiştir. SM ve CA bitkilerinin sulu çözeltileri içerisinde, farklı molar konsantrasyonlarda (1, 2 ve 4 mM) AgNO₃ çözeltisi ile sentezlenen Ag NP'ler 391,5-426 nm arasında değişen yüzey plazmon rezonans (SPR) pikleri sergiler. Bu pikler Ag NP'lere ait tipik absorbanans pikleridir. TEM görüntülerine göre Ag NP'lerin 1-24 nm boyut aralığında ve küresel şekle sahip oldukları tespit edilmiştir. En küçük Ag NP boyutları 1 mM AgNO₃-deve diken-i karışımından elde edilmiştir ve NP boyutları 2,5±1 nm'dir.

Farklı kütle konsantrasyonlarında Ag NP'lerle 24 ve 48 saat inkübe edilen MCF-7 hücrelerinin sitotoksitesi MTT testi ile belirlenmiştir. MTT sonuçlarına göre, Ag NP'lerin konsantrasyona bağlı sitotoksite gösterdikleri ve IC₅₀ konsantrasyonları; 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda biber özütü içerisinde sentezlenenlerde 45,6 µg/ml, deve dikeninde 42 µg/ml; benzer şekilde 48 saatlik inkübasyon sonucunda biber ve deve dikeninde sırasıyla 37,5 µg/ml ve 38 µg/ml olarak hesaplandı.

6 MV enerjili X ışınları ile 6 Gy radyasyon dozunda ışınlanan Ag NP'lerle inkübe edilen MCF-7 hücrelerinin radyo-duyarlılıklarının arttığı tespit edilmiştir. Her iki bitki özütünün de tek başına radyo-duyarlılıklarının olmadığı ve farklı bitkilerden sentezlense de Ag NP'lerin tamamının radyasyon duyarlılıklarının benzer sonuçlar verdiği gözlemlendi.

ANAHTAR KELİMELEER: Nanopartikül, Antikanser, MCF-7, XRD, UV-Vis, Radyo-duyarlaştırıcı

JÜRİ: Doç. Dr. Nina TUNÇEL (Danışman)

Prof. Dr. Nuri ÜNAL

Prof. Dr. Numan HODA

Doç. Dr. Timur KOCA

Dr. Öğr. Üyesi Tahir ÇAKIR

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTIVENESS OF SILVER NANOPARTICLES PRODUCED BY GREEN SYNTHESIS METHOD IN CANCER

Erdi BİLGİÇ

PhD Thesis in Physics

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Nina TUNÇEL

September 2020; 76 pages

In this PhD thesis, the plants of Ca (pepper- *Capsicum annum*) and SM (thistle- *Silybum marianum*) were used as reducing agents in order to obtain silver nanoparticles (Ag NP) via green synthesis method. The formation kinetics of (Ag NP) ' s were stated by UV- vis Spectrophotometer and the morphological properties by Transmission Electron Microscope (TEM). The Ag NP's synthesized with different molar concentrations of AgNO₃ solutions (1, 2 and 4 mM) in aqueous solutions of SM and CA plants exhibit surface plasmon resonance (SPR) peaks ranging from 391,5-426 nm. These are the typical absorbance peaks that belong to Ag NP's. According to TEM images, Ag NPs were found to have a spherical shape in the 2,5-24 nm size range. The smallest Ag NP sizes were obtained from a mixture of 1 mM AgNO₃- thistle and the NP sizes were 2,4±1 nm

The cytotoxicity of MCF-7 cells, which are incubated for 24 and 48 hours with different mass concentrations of Ag NPs was determined by MTT test. According to MTT results, Ag NPs showed dose-dependent cytotoxicity and IC₅₀ doses; at the end of the 24-hour incubation period 45.6 µg/ml in pepper extract and 42 µg/ml in thistle; similarly, after 48 hours of incubation, it was calculated as 37.5 µg/ml and 38 µg/ml in pepper and thistle, respectively.

It was determined that the radio-sensitivity of MCF-7 cells incubated with Ag NPs irradiated with 6 MV energy X-rays at a radiation dose of 6 Gy was increased. It was observed that both plant extracts alone were not radio-sensitive and, although they were synthesized from different plants, the radiation sensitivities of all Ag NPs gave similar results.

KEYWORDS: Nanoparticles, Anticancer, MCF-7, XRD, UV-Vis, Radiosensitivity

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Nina TUNÇEL

Prof. Dr. Nuri Ünal

Prof. Dr. Numan HODA

Assoc. Prof. Dr. Timur KOCA

Asst. Prof. Dr. Tahir ÇAKIR

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması, Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi, Fizik Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Nina TUNÇEL danışmanlığında hazırlanmıştır. Tezin laboratuvar çalışmaları Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi Laboratuvarlarında, Yıldız Teknik Üniversitesi Merkezi Laboratuvarları'nda ve İstanbul Gelişim Üniversitesi (İGÜ) Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın tamamlanmasında ve karşılaşılan problemlerin aşılmasında desteklerini gördüğüm değerli danışman hocam Doç. Dr. Nina TUNÇEL'e,

Bu tez çalışması kapsamında imkânsızlıklar içerisinde imkân yaratmaya çalışan desteğini hissettiğim değerli meslektaşım Gelişim Üniversitesi Laboratuvarları Sorumlusu Öğr. Gör Emel ÖZGÜN'e ve laboratuvarını rahatlıkla kullandığım İGÜ Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü Başkanı Dr. Öğr. Üyesi Arzu ÖZGEN'e,

Bu tezin başından sonuna kadar bilimsel yönden incelenmesine katkı sağlayan Tez İzleme Komitesi hocalarım Prof. Dr. Nuri ÜNAL ve Prof. Dr. Numan HODA hocalarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak tez döneminde mesai arkadaşım olarak tanıdığım şuan hayat arkadaşım olan bana oğlumuz Mehmet'i müjdeleyen, tez sürecinde desteği sürekli hissettiğim kıymetli eşim Öğr. Gör. Tuğçe BİLGİÇ'e, bütün hayatım boyunca olduğu gibi bu tez çalışmasında da manevi desteğini hissettiğim annem Emine BİLGİÇ'e, kardeşim Öğr. Gör. Seçil BİLGİÇ'e ve doktora dönemimde kaybettiğim, acısını derinden hissettiğim babam Mehmet BİLGİÇ'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
AKADEMİK BEYAN	viii
KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	4
2.1. Elektromanyetik Radyasyon.....	4
2.2. X Işınlının Madde ile Etkileşimleri	4
2.2.1. Compton olayı	8
2.2.2. Fotoelektrik olay	9
2.2.3. Çift oluşum olayı	9
2.2.4. Fotodisintegrasyon (fotoayırışma).....	12
2.3. Radyasyonun Hücre Üzerine Etkileri.....	12
2.3.1. Direkt etkileri.....	12
2.3.2. Endirekt etkileri	12
2.3.3. Hücre membranına radyasyonun etkisi	14
2.4. Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri	14
2.4.1. Yukarıdan aşağıya (top down) yaklaşımı	14
2.4.2. Aşağıdan yukarıya (bottom-up) yaklaşımı	15
2.4.2.1. Yeşil sentez yöntemi.....	15
2.5. Sentez Bitkileri	16
2.5.1. SM/ Silimarin	16
2.5.2. CA.....	16
2.6. Ag NP'ler	16
2.6.1. Ag NP'lerin antibakteriyel etkileri	17
2.6.2. Ag NP'lerin antiviral etkileri	17
2.6.3. Ag NP'lerin antikanser etkileri.....	18
2.6.3.1. Ag NP'lerin alım mekanizması	19
2.6.3.2. AgNP'lerin sitotoksitesi.....	19

2.6.3.3. Ag NP'lerin farklı toksikolojik yolları	20
2.6.3.4. Ag NP'lerin neden olduğu ROS üretimi	20
2.7. AgNP'lerin Morfolojik Özelliklerinin Sitotoksosite Üzerine Etkisi.....	20
2.7.1. Partikül büyüklüğü	20
2.7.2. Partikül şekli	21
2.7.3. Konsantrasyonun etkisi.....	22
2.7.4. Kaplamaların etkileri	22
2.7.5. Topaklanmanın etkileri.....	22
2.8.Kanser.....	23
2.8.1. Meme kanserleri	23
2.9. Hücre Kültürleri	24
2.9.1. MCF-7 hücreleri	24
2.10. Analiz Yöntemleri	24
2.10.1. Parçacık boyut analizi.....	24
2.10.2. Mikroskopik görüntü analizi.....	25
2.10.3. Lazer ışını kırınımı tekniği	26
2.10.4. UV-Vis spektrofotometresi.....	27
2.10.5. X ışını difraktometresi (XRD)	28
2.10.6. X ışını floresans spektroskopisi	29
2.10.6.1. Enerji ayırlı XRF	31
2.10.6.2. Dalga boyu ayırlı XRF	32
2.10.6.3. XRF yönteminin avantajları ve dezavantajları	33
2.10.7. MTT testi	33
3. MATERYAL VE METOT	35
3.1. Bitki Özütlerinin Hazırlanması ve Nanopartikül Sentezi.....	35
3.2. Ag NP'lerin UV-Vis Absorbans Spektrumları.....	37
3.3. Nanopartikül Görüntüleri	37
3.4. X-Işını Difraktometresi (XRD)	37
3.5. Hücre Kültürleri ve MTT Canlılık Testleri	38
3.6. Ag NP'lerin Radyo-Duyarlaştırıcı Etkileri.....	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. Ag NP'lerin UV-Vis Absorbans Spektrumları.....	40

4.2. Nanopartikül Görüntüleri	46
4.3. X-Işını Difraktometresi (XRD)	49
4.4. Hücre Kültürleri ve MTT Canlılık Testi	53
4.5. Ag NP'lerin Radyo-Duyarlaştırıcı Etkileri.....	54
5. TARTIŞMA	57
5.1. Ag NP'lerin UV-Vis Absorbans Spektrumları ve NP Görüntüleri	57
5.2. Ag NP'lerin XRD Analizleri.....	57
5.3. Ag NP'lerin Sitotoksikite Çalışmaları	58
5.4. Ag NP'lerin Radyo-Duyarlaştırıcı Etkileri.....	60
6. SONUÇLAR	62
7. KAYNAKLAR	63
8. EKLER.....	74
8.1. Matlab Kaynak Kodu	74
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora tezi olarak sunduğum “Yeşil Sentez Yöntemi ile Üretilen Gümüş Nanoparçacıkların Kansere Etkinliğinin Araştırılması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

24/09/2020

Erdi BİLGİÇ



KISALTMALAR

Kısaltmalar

CA	: Biber Bitkisi (<i>Capsicum Annuum</i>)
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	: Dimethyl Sulphoxyde
EDXRF	: Enerji Ayrımlı X ışını Floresans Spektrometresi
EMR	: Elektromanyetik Radyasyon
HeLa	: İnsan Servikal Karsinomu
LDH	: Laktat Dehidrojenaz Aktivitesi
LEEM	: Düşük Enerjili Elektron Mikroskobu
NP	: Nanopartikül
OS	: Oksidatif Stres
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SM	: Deve Diken Bitkisi (<i>Silybum marianum</i>)
SSV	: Solunum Sinsityal Virüsü
TEM	: Geçirmeli Elektron Mikroskobu (Transmission Electron Microscopy)
UV-Vis	: Morötesi ve Görünür Bölge
WDXRF	: Dalgaboyu Ayrımlı X ışını Floresans Spektrometresi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Elektromanyetik radyasyonun enerji spektrumu	4
Şekil 2.2. Fotonların enerjilerine bağlı olarak farklı maddeler ile etkileşimi	5
Şekil 2.3. Fotonların şiddetinde soğurucu madde kalınlığına bağlı olarak değişim.	6
Şekil 2.4. Kurşun ve karbonda enerjinin fonksiyonu olarak toplam foton tesir kesitleri. 7	
Şekil 2.5. Compton saçılımı.....	8
Şekil 2.6. Fotoelektrik olay	9
Şekil 2.7. Çift oluşum.	10
Şekil 2.8. Elektron-pozitron çifti oluşumu.....	10
Şekil 2.9. Elektron-foton sağanağı.....	11
Şekil 2.10. Toplam lineer soğurma katsayısının gelen foton enerjisi ile değişimi.	11
Şekil 2.11. Elektron mikroskopunda elektronların numune ile etkileşimi.....	26
Şekil 2.12. Lazer kırının tekniği ile parçacık boyut analizinin şematik gösterimi.	26
Şekil 2.13. İki farklı malzemenin ara yüzeyindeki yüzey plazmonlarının şematik gösterimi.....	27
Şekil 2.14. İki atomik düzlem arasındaki x ışını kırınımı.....	28
Şekil 2.15. Floresan X-ışını oluşumu.....	30
Şekil 2.16. Bir molibden hedefinde X-ışını tüpünde 35 keV’ dan elde edilen X-ışınlarının spektrumu.....	31
Şekil 2.17. Enerji ayırmalı XRF spektrometresinin şematik görünümü.....	31
Şekil 2.18. WDXRF sisteminin şematik görünümü.	32
Şekil 2.19. Düzlemler arası mesafesi (d) bilinen kristalde, numunedeki elementlerden gelen karakteristik ışınların difraksiyonu.	32
Şekil 3.1. NP'lerin yeşil sentez süreçleri ve prosedürleri (Fierascu vd. 2019).	35
Şekil 3.2. Tezde kullanılan bitkiler; deve dikenini tohumu (solda), biber meyvesi (sağda)	35
Şekil 3.3. Biber meyvesi kurutulma şekli	36
Şekil 3.4. Kurutulan bitkilerin öğütüldükten sonraki toz halleri; deve dikenini tohumu (solda), biber meyvesi (sağda).	37
Şekil 3.5. 1 mM Ag molar konsantrasyonundan seyreltme işlemleri.....	38
Şekil 4.1. Deve dikenini tohum özütünde 4 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'lerin absorbens spektrumları.....	40
Şekil 4.2. Deve dikenini tohum özütünde 4 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'ler.....	40
Şekil 4.3. Deve dikenini tohum özütünde 2 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'lerin absorbens spektrumları.....	41
Şekil 4.4. Deve dikenini tohum özütünde 2 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'ler.....	41
Şekil 4.5. Deve dikenini tohum özütünde 1 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'lerin absorbens spektrumları.....	42
Şekil 4.6. Deve dikenini tohum özütünde 1 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'ler.....	42
Şekil 4.7. Biber meyve özütünde 4 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'lerin absorbens spektrumları.....	43

Şekil 4.8. Biber meyve özütünde 4 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'ler.....	43
Şekil 4.9. Biber meyve özütünde 2mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'lerin absorbands spektrumları.....	44
Şekil 4.10. Biber meyve özütünde 2mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'ler.....	44
Şekil 4.11. Biber meyve özütünde 1 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'lerin absorbands spektrumları.....	45
Şekil 4.12. Biber meyve özütünde 1 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'ler.....	45
Şekil 4.13. SM özütünde 1 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü; büyütme 215000, ölçek çubuğu 20 nm.	46
Şekil 4.14. SM özütünde 2 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü; büyütme 200000, ölçek 50 nm.	47
Şekil 4.15. SM özütünde 4 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü; büyütme 200000, ölçek çubuğu 50 nm.	47
Şekil 4.16. CA özütünde 1 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü; büyütme 200000, ölçek çubuğu 20 nm.	48
Şekil 4.17. CA özütünde 2 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü; büyütme 40000, ölçek 200 nm.	48
Şekil 4.18. CA özütünde 4 mM AgNO ₃ ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü; büyütme 215600, ölçek çubuğu 50 nm.	49
Şekil 4.19. Biber meyve özütünde 1 mM AgNO ₃ ile sentezlenen Ag NP'lerin XRD sonuçları.	50
Şekil 4.20. Biber meyve özütünde 2 mM AgNO ₃ ile sentezlenen Ag NP'lerin XRD sonuçları.	50
Şekil 4.21. Biber meyve özütünde 4 mM AgNO ₃ ile sentezlenen Ag NP'lerin XRD sonuçları.	51
Şekil 4.22. Deve dikenli tohum özütünde 1 mM AgNO ₃ ile sentezlenen Ag NP'lerin XRD sonuçları.....	51
Şekil 4.23. Deve dikenli tohum özütünde 2 mM AgNO ₃ ile sentezlenen Ag NP'lerin XRD sonuçları.....	52
Şekil 4.24. Deve dikenli tohum özütünde 4 mM AgNO ₃ ile sentezlenen Ag NP'lerin XRD sonuçları.....	52
Şekil 4.25. SM tohum özütü içerisinde sentezlenen AgNP'lerin MTT hücre canlılık testleri.....	53
Şekil 4.26. CA meyve özütü içerisinde sentezlenen AgNP'lerin MTT hücre canlılık testleri.	54
Şekil 4.27. Deve dikenli tohum özütü içerisinde sentezlenen Ag NP'lerin MCF-7 hücreleri üzerinde radyo-duyarlaştırıcı etkisi.....	55
Şekil 4.28. Biber meyve özütü içerisinde sentezlenen Ag NP'lerin MCF-7 hücreleri üzerinde radyo-duyarlaştırıcı etkisi.....	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bazı elementlere ait foton enerjileri.	33
Çizelge 4.1. Sentezlenen Ag NP'lerin UV-Vis spektrumlarının pik konumları	45
Çizelge 4.2. Sentezlenen nanopartiküllerin boyutları.	49
Çizelge 4.3. Bitki türlerine göre nanopartiküllerin kristal yapısını işaret eden 2θ değerleri.....	52
Çizelge 5.1. Ag NP'lerin boyut bağımlılıkları.	59



1. GİRİŞ

Nanoyapıların sentezlenme yöntemleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik yaklaşımları içerir. Bu yöntemler arasında biyolojik yöntemler; çevre dostu ve ekonomik olmaları nedeniyle son yıllarda tercih edilmeye başlanmıştır. Buhar yoğunlaştırma ve molekül demet büyütme (Molecular Beam Epitaxy, MBE) (Ishikawa vd. 1997), kimyasal buhar yoğunlaştırma (Chemical Vapor Deposition, CVD) (Creighton vd. 2008) gibi fiziksel yöntemler son derece pahalı teknoloji ürünü araç ve gereçlere ihtiyaç duymaktayken hemen hemen hiçbirisi enerji etkin olmadığı gibi kitlesel üretime de uygun değildir. Kimyasal yöntemler (Schmid 2011) her ne kadar fiziksel yöntemlere göre ucuz kitlesel üretime elverişli olsalar da kullanılan toksik kimyasallar çevre açısından son derece zararlıdır. Biyolojik yöntemler ise bakteri (Ahmad vd. 2003), maya (Kowshik vd. 2003) ve bitkileri (Nasar vd. 2019) kullandığı için çevrecidir.

Dodonaea viscosa (Anandan vd. 2019), *Juglans regia* (Nasar vd. 2019), *Hydnocarpus pentandra* (Shyam vd. 2019) ve *Prosopis juliflora* (Arya vd. 2019) gibi bitkilerin kullanıldığı çalışmalarda sentezlenen Ag NP'lerin *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. Coli*, *S. typhi* ve *P. aeruginosa* gibi bakteriler üzerine etkileri araştırılmıştır (Valsalam vd. 2019). Bu çalışmalarının çoğunda antibakteriyel aktivitenin nanopartikül boyutu, konsantrasyon ve sentez yöntemi gibi parametrelerden nasıl etkilendiği üzerine yoğunlaşmaktadır.

Krishnaraj vd. (2010) çalışmalarında *Acalypha indica* yaprak özütleri içerisinde Ag NP'leri sentezlediler. Sentezledikleri koloidal Ag NP'leri *Escherichia coli* ve *Vibrio cholerae* hücreleri üzerindeki antibakteriyel etkilerini araştırdılar. Minimum 10 µg/ml konsantrasyonundaki konsantrasyonlarda bu bakterilere karşı etki gösterdiğini vurgulamışlardır.

Benzer şekilde 2010 yılında Nabikhan vd. tarafından yapılan başka bir çalışmada *Sesuvium portulacastrum* özütleri içerisinde sentezlenen Ag NP'lerin *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteu* ve *Klebsiella pneumoniae* insan patojenlerine karşı antibakteriyel aktivitelerine bakılmıştır. Çalışmada 5-20 nm arasında değişen boyutlardaki Ag NP'lerin kristal yapılarına bakılmış ve konsantrasyona bağlı artan antibakteriyel aktivitenin vurgusu yapılmıştır.

Ag NP'lerin antimikrobiyal etkileri de araştırılmaktadır. Son yıllarda Ag NP'ler; HIV-1 (Elechiguerra vd. 2005; Trefry vd. 2012), hepatit B (Lu vd. 2008), *herpes simplex* (Baram-Pinto vd. 2009), solunum sinsityal (Sun vd. 2008), maymun çiçeği (Rogers vd. 2008), Tacaribe (Speshock vd. 2010) H1N1 influenza A virüsü (Mehrbod vd. 2009; Xiang vd. 2011) gibi virüsler üzerinde araştırılmaya başlanmıştır.

Lara vd. (2010) çalışmalarında, sitotoksik olmayan konsantrasyonlarda aldıkları Ag NP'lerin büyük olasılıkla viral girişin bir inhibitörü olarak viral replikasyonun erken bir aşamasında anti-HIV aktivitesi uyguladığını gösterdiler. Bunun yanında Ag NP'lerin gp120'ye bağlandıklarını, bu sayede virüse karşı etkili bir virüidal ajan olarak işlev gören CD4'e bağlı viryon bağlanmasını, füzyonu ve enfektiviteyi önlediğini gösterdiler. Ayrıca, Ag NP'lerinin HIV-1 yaşam döngüsünün giriş sonrası aşamalarını inhibe ettiğini vurguladılar.

Bunların dışında Ag NP'lerin kanser hücreleri üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalarda mevcuttur. Bu çalışmaların çoğu Ag NP'lerin sitotoksitesisi ve radyo-duyarlaştırıcı etkilerini konu almaktadır.

Sitotoksitesite çalışmalarını konu alan literatür çalışmalarında Ag NP'ler; A549 (Sharma vd. 2019), SGC-7901 (Lu vd. 2010), HepG2 (Jiao vd. 2014), MCF-7, HeLa ve U937 gibi birçok hücre hattı üzerine yoğunlaşmıştır (Liu vd. 2010; Kaba vd. 2015). Bu çalışmaların benzer yanları farklı konsantrasyonlarda kullanılan nanopartiküllerin konsantrasyona bağlı sitotoksitesilerinin araştırılması ve IC50 konsantrasyonlarının belirlenmesini içerir. Bunun dışında Ag NP'lerin boyutlarının sitotoksitesisini etkilediği yönünde çalışmalarda mevcuttur (Scherer vd. 2019; Wu vd. 2019; Liu vd. 2010; Kaba vd. 2015; Fehaid vd. 2019).

Ag NP'lerin radyo-duyarlaştırıcı etkileri olabileceği yönündeki çalışmalar ise Ag NP'lerin radyasyonla etkileşimi sonrasında hücre hatlarının radyasyon hassasiyeti oluşturmaları konu alır. Jyot vd. (2020) yaptıkları çalışmada yeşil sentezledikleri Ag NP'ler ile 1, 2 ve 3 saat inkübe edilen HepG-2 hücrelerinin 6 Gy gama radyasyonuna maruz bırakıldığında radyo-duyarlıklarının arttığını göstermişlerdir. Liu vd. (2016) ise yaptıkları çalışmada Ag NP'ler ve Au NP'lerin klinik olarak megavolt basamağındaki iyonizan radyasyon ile uygulandıkları glioma hücreleri üzerinde radyo-duyarlaştırıcı etki gösterdiklerini ve Ag NP'lerin radyo-duyarlaştırıcı etkilerinin Au NP'lere oranla daha fazla olduğunu göstermişlerdir.

Bu çalışmaların sınırlı sayıda olması, bitkilerin içeriğindeki fitokimyasalların farklı olması ve nanopartiküllerin kendine özgü özelliklerinden dolayı araştırmaların geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Aynı zamanda, biyolojik olarak sentezlenmiş Ag NP'lerin kanser hücre dizilerine karşı sitotoksik etkileri hakkında sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

AgNP'lerin yeşil sentezi için çeşitli raporlarda, SM tohumu özütü kullanılarak AgNP'lerin sentezi ve karakterizasyonu rapor edilmiştir (Mohammadinejad vd. 2013). SM; mor çiçekler ve bazı ebegümeci dikenleri ile soluk yeşil yaprakları taşıyan *Asteraceae* ailesinin bir bitkisidir. SM tohumlarından elde edilen özüt % 65-80 silimarin (Flavonolignan kompleksi), % 20-25 yağ asitleri, az miktarda flavonoid (taksifolin) ve diğer polifenolik bileşikler içerir (Ramasamy vd. 2008). SM'deki başlıca biyoreaktif bileşenler silil A, silibin B, izosilbin A, izosilbin B, sildianin ve silisristin dahil flavonolignalandır (Zhao vd. 2005). Bu bitkinin içerdiği fitokimyasallar tıbbi alanlarda yıllardır araştırılmaktadır (Flora vd. 1998).

SM'nin memeli hücreleri üzerindeki antioksidan aktiviteleri umut verici olup karaciğer gibi ilaç sitotoksitesitelerinden doğrudan etkilenen doku ve organlar üzerinde onarım etkisi olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Flora ve diğerlerinin (1998) yaptıkları bir çalışmada SM'nin karaciğere bağlanan toksinlerin yer değiştirmesine ve karaciğer hücrelerinin hızla yenilenmesine sebep olduğunu belirtmişlerdir. Fanoudi vd. (2018) de çalışmalarında SM'yi doğal ve kimyasal toksitesitelere karşı doğal bir panzehir olarak tanımlamışlardır. Bunun yanında Tzeng vd. (2013) SM'nin içerdiği bir fitokimyasal olan silimarinin, karbon tetraklorür ile tedavi edilen farelerde karaciğer fibrozunu tedavi etmek açısından bağ dokusu büyüme faktörünü azalttığını söylemişlerdir. Başka bir çalışmada Shaker vd. (2010), silimarinin, antiradikal ve antikarsinogenik rollerini araştırmışlardır.

Çalışmada hepatositlerin antioksidan yeteneğinin silimarin gibi fitokimyasallarla artırılması ile oksidatif/nitrosatif strese karşı koyulabileceği ve karaciğer hastalığının ilerlemesinin engellenebileceği belirtmişlerdir. Dahası doğal bitki ürünleri için artan talebin biyolojik açıdan zararlı molekülleri antioksidan potansiyeli ile değiştirebileceğini söylemişlerdir.

Ayrıca silimarinin bazı kanser türlerinin oluşma ihtimalini azaltmada da yararlı olabileceği gösterilmiştir. Bhatia vd. (1999) yaptıkları bir çalışmada SM'nin kemopreventif ve anti-kanserojen etkilerini araştırmışlar ve SM'nin ana bileşeni olan silimarinin kemopreventif ve anti-kanserojen etkileri olduğunu önermişlerdir.

Biber bitkisi de ülkemiz açısından ticari öneme sahip bir bitki olup kanser tedavisinde kemopreventif ve antioksidan özellikleri ile ön plana çıkmaktadır. Maoka vd. (2001) yaptıkları çalışmada CA'nın kanser etkinliğini araştırmışlar ve CA meyvesindeki karotenoidlerin kemopreventif etkilerinden bahsetmişlerdir. Başka bir çalışmada Materska vd. (2015) CA meyvelerinden elde edilen fenolik glikozitlerin X ışını radyasyonu ile indüklenen insan hücrelerinin oksidatif hasarına karşı koruyucu etkileri olduğunu vurgulamışlardır.

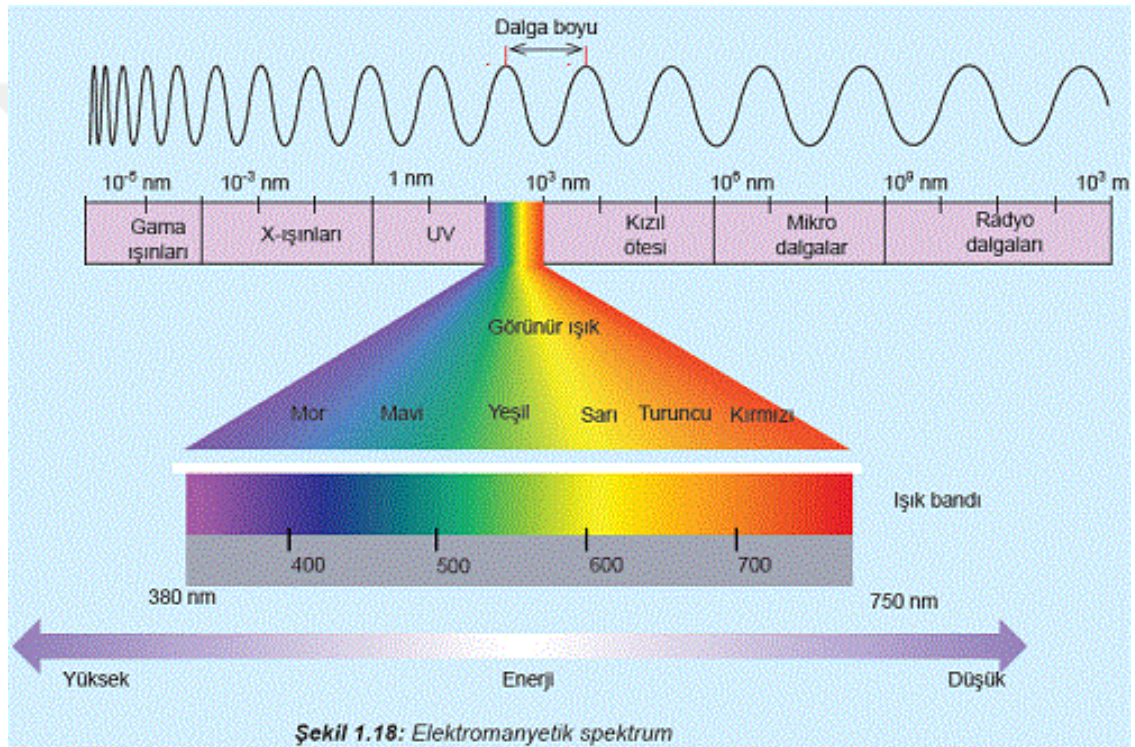
Birçok çalışmada biyolojik sentez yöntemleri arasında yer alan bitkilerin yaprak, tohum, meyve, kök ve gövdelerini indirgen ve kapsülleyici ajan olarak kullanan yeşil sentez yöntemi tercih edilmiştir. Bu yöntemde sentez sürecinde kullanılan bitkilerin içerdiği fitokimyasallar ilaç çalışmalarında yıllardır araştırılmaktadır. Bu fitokimyasalların oluşturduğu sinerjik etki bu tez çalışmasının motivasyon kaynağını oluşturmaktadır. Bu yüzden sentez süreçlerinde deve diken tohumu ve biber meyvesi Ag NP'lerin sentezinde tercih edilmiştir. Ayrıca bu yöntem ile sentezlenen metal nanopartiküllerin hem çevreye hem de insan sağlığına zararlı olabilecek zehirli yan ürünleri ortadan kaldırma özelliği bir başka motivasyon kaynağı olmuştur.

Sunulan tez çalışmasında elde edilen AgNP'lerin MCF-7 hücre hatları üzerinde 24 ve 48 saat inkübasyon süresinin ardından MTT canlılık testleri yapılmıştır. IC50 konsantrasyonları belirlenen Ag NP'lerin MCF-7 hücreleri üzerindeki radyo-duyarlaştırıcı etkileri araştırılmıştır. Sentez süreçleri; UV-Vis Spektroskopisi, morfolojisi; Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM) ve X Işını Difraktometresi (XRD) ile belirlenmiştir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Elektromanyetik Radyasyon

Radyasyon, elektromanyetik dalgalar ya da tanecikler halinde enerjinin yayımı ya da aktarımıdır. Atomdan çeşitli şekillerde ortaya çıkan enerji türleri ve bunların yayılma şekilleri elektromanyetik radyasyon olarak adlandırılır. Elektromanyetik radyasyonlar iyonize edici ve iyonize edici olmayan radyasyon olarak ikiye ayrılır. İyonize edici olmayan radyasyonlar dalga boyu 10^{-7} metreye eşit ve daha büyük olanlardır. İyonize edici olmayan radyasyonların foton enerjileri 12 eV'tan daha düşüktür ve iyonize radyasyonun sınırı olarak kabul edilir. Yüksek enerjili elektromanyetik radyasyon yani iyonize edici radyasyon atomdan elektron koparabilen dolayısıyla atomu iyonize edebilen radyasyon türüdür (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Elektromanyetik radyasyonun enerji spektrumu

2.2. X Işınlarının Madde ile Etkileşimleri

X ışınları, maddeden geçerken saçılır veya madde tarafından absorbe edilir. X ışınları maddede eksponansiyel şekilde enerji kaybederek yavaşlar. Bu azalma etkileştiği maddenin yapısına, kalınlığına ve foton enerjisine bağlıdır. Işının şiddetindeki değişim ise mono enerjili fotonlar için aşağıdaki formülle hesaplanabilir.

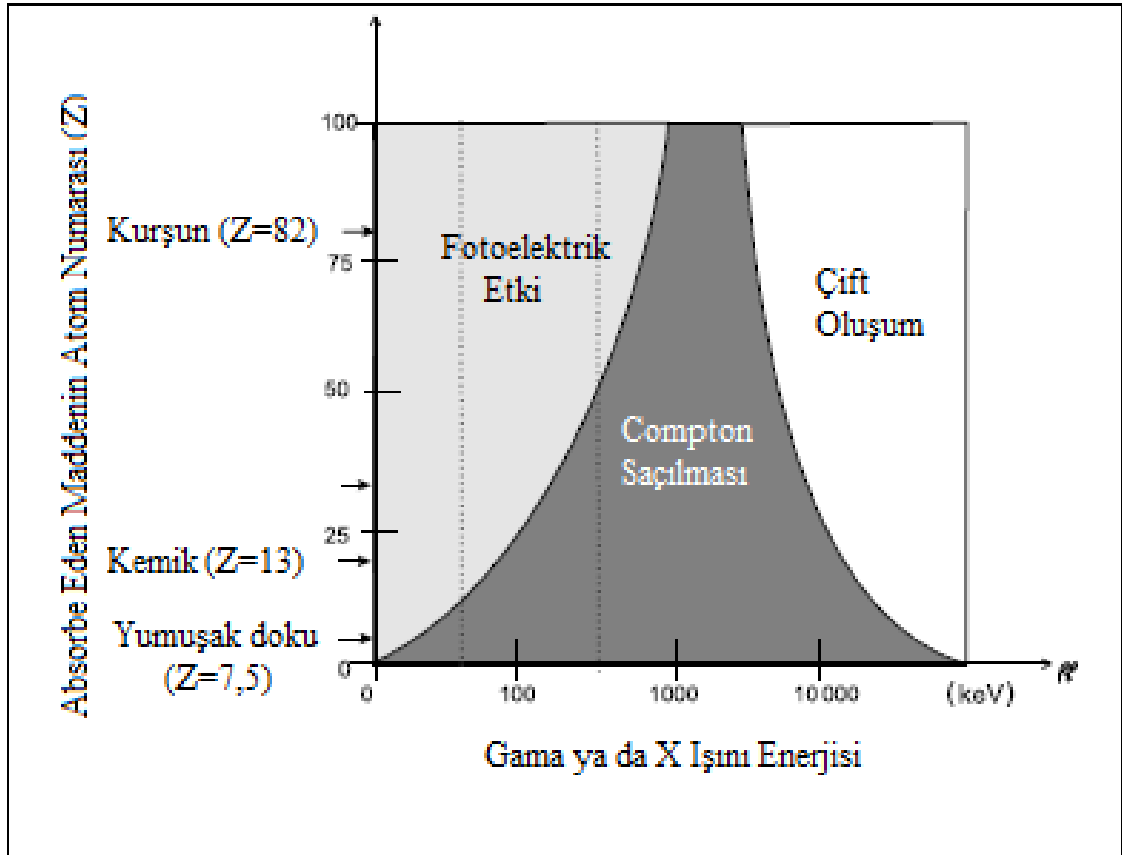
$$I = I_0 e^{-\mu x} \quad (2.1)$$

Burada I, çıkan ışın demetinin şiddeti; I_0 = Gelen ışın demetinin şiddeti; μ = soğurma (Atenuasyon) katsayısı ve x, yapının kalınlığıdır. Denklemden anlaşılacağı gibi çıkan foton şiddeti, soğurucu madde kalınlığı ile eksponansiyel olarak azalır ve radyasyon şiddeti, soğurma katsayısı ve yapının kalınlığına bağlıdır.

X ışınlarının elektriksel yükleri yoktur. Bu yüzden yüklü parçacıklar gibi Coulomb etkileşimi yapmazlar. Ancak Coulomb etkileşimi söz konusu olmasa da madde içinde iyonlaşmaya sebebiyet verebilirler. Fotonların (x-ışınları, gama ışınları) madde içerisindeki davranışları yüklü parçacıklarınkinden oldukça farklıdır. Fotonlar atomun elektronları ile etkileşmelerinde enerjisinin büyük bir kısmını hatta tamamını bir tek olayda kaybedebilir.

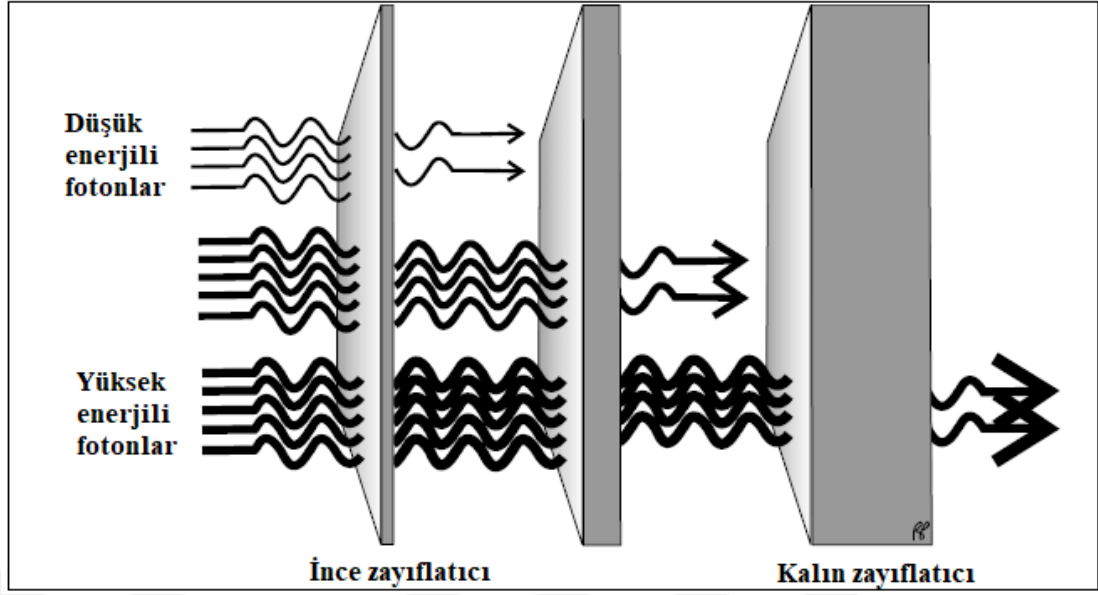
X- ve gama ışınları madde içerisinde geçerken temelde aşağıdaki etkileşimleri yaparlar (Şekil 2.2):

- Fotoelektrik olay
- Compton saçılması (Thomson ve Rayleigh saçılmasını içeriyor.)
- Çift oluşum



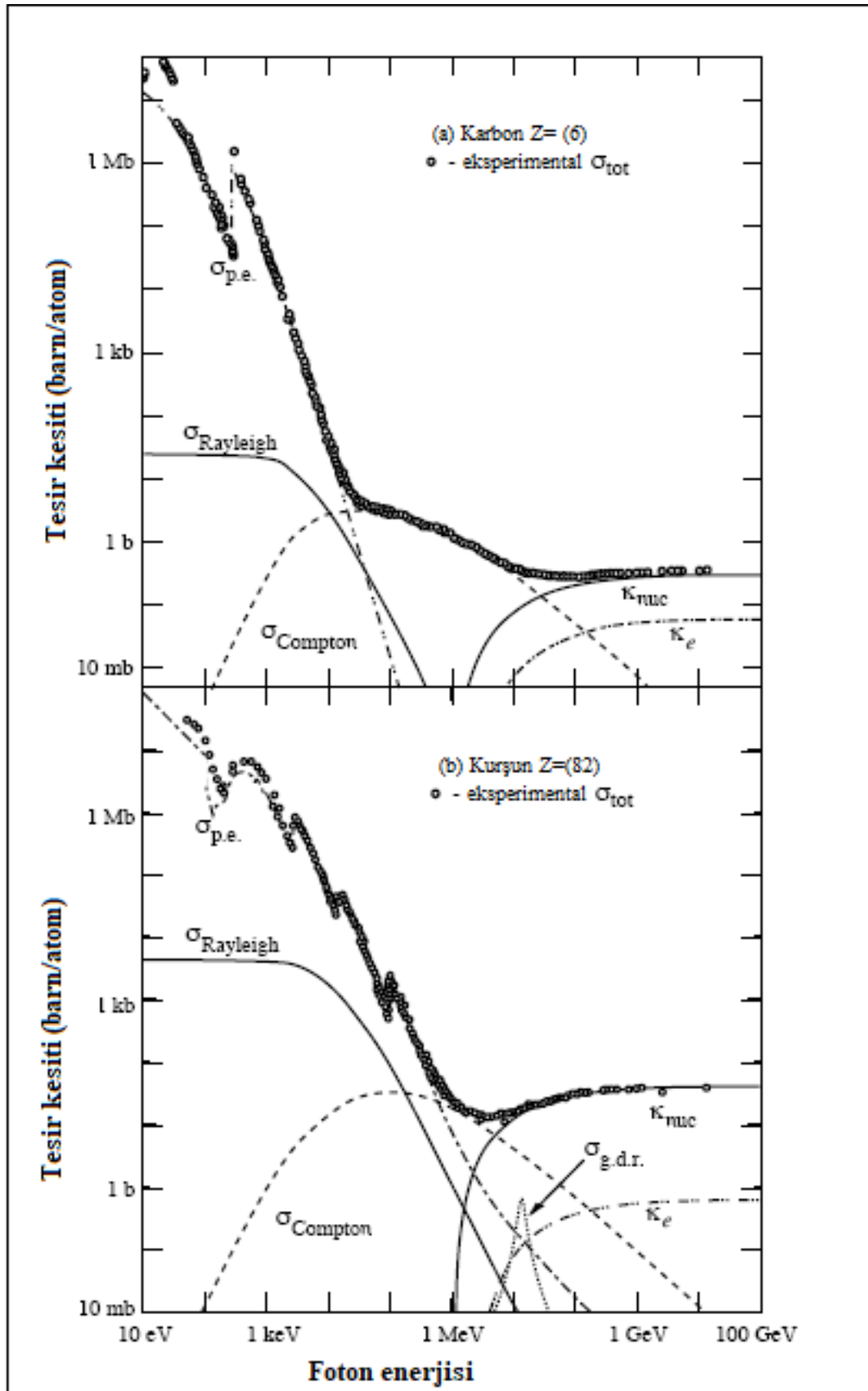
Şekil 2.2. Fotonların enerjilerine bağlı olarak farklı maddeler ile etkileşimi

Bu etkileşimler fotonların iki önemli özelliklerini açıklar. Bunlardan birincisi fotonların madde içerisinde yüklü parçacıklarla karşılaştırıldığında daha uzun mesafelere penetrasyonu, ikincisi ise belli bir kalınlıktaki malzemeyi geçince fotonların enerjilerinde bir azalma meydana gelmemesi, sadece şiddetinde azalmanın olmasıdır (Şekil 2.3.). Fotonların şiddetlerindeki bu azalma kalınlığın fonksiyonu olarak eksponansiyel olacaktır (Denklem 2.1.).



Şekil 2.3. Fotonların şiddetinde soğurucu madde kalınlığına bağlı olarak değişim

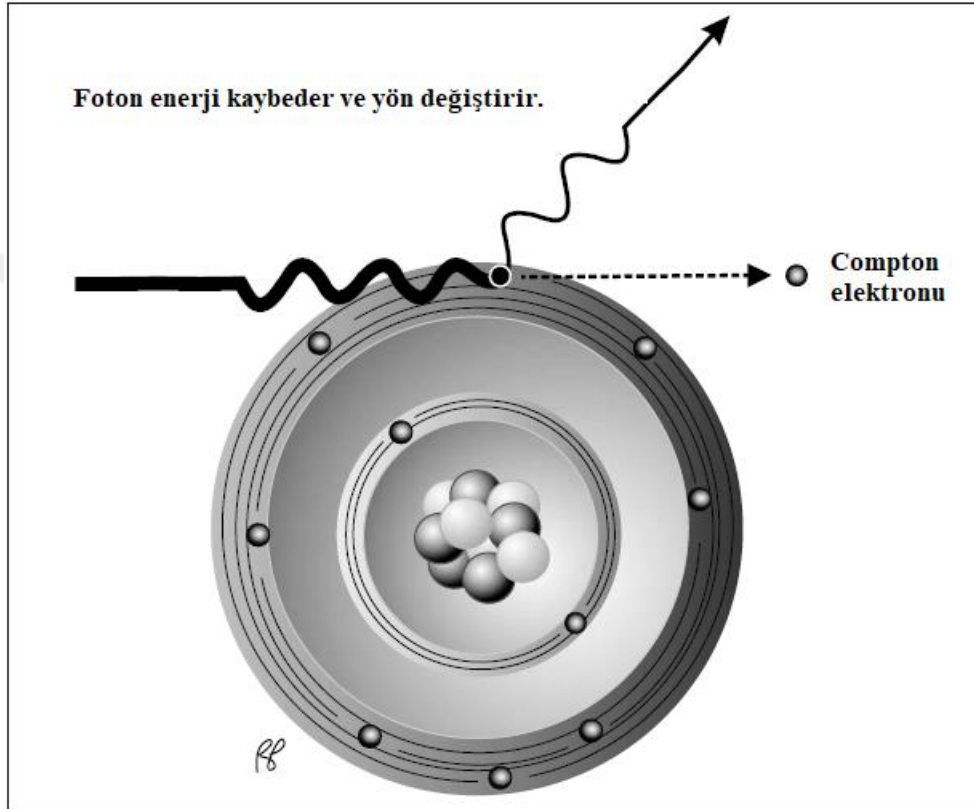
Fotonun karbon ve kurşun içinde etkileşme tesir kesitine katkılar fotoelektrik olay ($\sigma_{p.e}$), rayleigh saçılması ($\sigma_{Rayleigh}$), compton saçılması ($\sigma_{Compton}$), fotonükleer soğurma ($\sigma_{g.d.r}$), çekirdekten alanında çift oluşum (K_{nuc}) ve elektron alanında çift oluşum (K_e)’dan gelmektedir (Şekil 2.4.). Herhangi bir ortamdaki fotonların soğurulmasına katkı sağlayan proseslerden aşağıda bahsedilecektir.



Şekil 2.4. Kurşun ve karbonda enerjinin fonksiyonu olarak toplam foton tesir kesitleri

2.2.1. Compton olayı

Fotonun madde ile etkileşmesinde en iyi anlaşılan mekanizmalardan birisi Compton saçılmasıdır. Bu olay fotonun serbest bir elektronda esnek saçılmasıdır. Tabiki elektronlar madde içinde bağlı durumdadır. Fakat, gelen fotonun enerjisi elektronun bağlanma enerjisinden yüksek ise, bağlanma enerjisi göz ardı edilip elektronun serbest olduğu düşünülür. Gelen foton atomik bağlanma enerjisinin önemli olduğu enerjiye (<100 keV) sahipse bu olay gerçekleşemez.



Şekil 2.5. Compton saçılımı

Serbest bir elektron üzerine $h\nu$ enerjili, $\frac{h\nu}{c}$ momentumlu foton geldiğinde, foton θ açısı altında daha düşük frekansta saçılmakta ve p momentumuna sahip elektron ϕ açısında ortamdan yayınlanmaktadır (Şekil 2.5.). Fotonun saçılma açısı fotondan elektrona aktarılan enerji miktarına bağlıdır. Compton olayına enerji ve momentum korunumu kanunlarını uygulayarak, saçılan foton ve yayınlanan elektronun enerjileri için aşağıdaki bağıntıları elde ederiz;

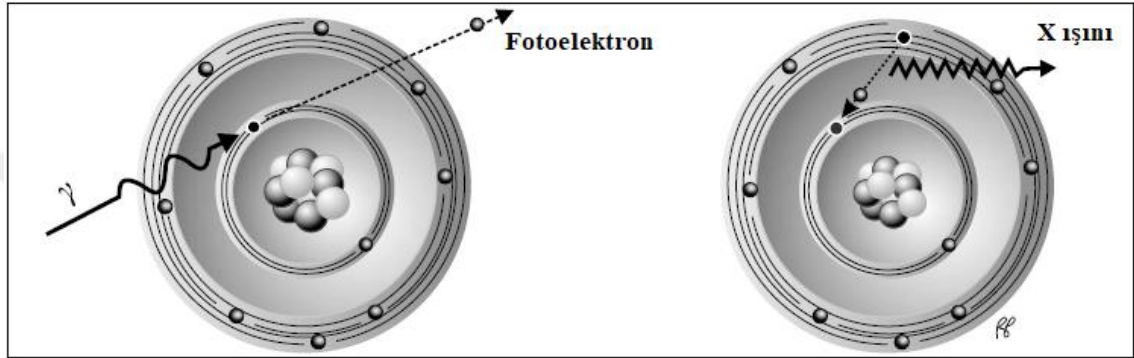
$$h\nu' = \frac{h\nu}{1 + \gamma(1 - \cos \theta)} \quad \text{burada } \gamma \equiv h\nu / m_e c^2 \quad (2.1)$$

$$K_e = h\nu - h\nu' = h\nu \frac{\gamma(1 - \cos \theta)}{1 + \gamma(1 - \cos \theta)} \quad (2.2.)$$

Compton saçılması tesir kesiti yaklaşık olarak $\sigma \approx \frac{Z}{hv}$ ile verilir. Foton enerjisinin 0,1 ile 10 MeV olduğu aralıkta ortamda enerji depolanmasında Compton saçılması baskın olur.

2.2.2. Fotoelektrik olay

Düşük enerjili bir fotonun soğurucu ortamdaki bağlı elektron tarafından soğurularak K_e kinetik enerjisine sahip bir elektronun yayınlanmasıdır. Atomun iç tabakalarından elektron yayınlanırsa, dış tabakalardaki elektronlardan biri bu daha düşük boş seviyeyi doldurur ve bunun sonucunda elektronla birlikte X-ışını da yayınlanır (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. Fotoelektrik olay

Bir atomik elektronun serbest hale gelebilmesi için gerekli enerji I_B ve gelen fotonun enerjisi $h\nu$ ise enerji korunumundan, fotoelektrik olayda aşağıdaki şekilde verilen Einstein bağıntısı geçerli olacaktır;

$$E_\gamma = h\nu = I_B + K_e$$

Fotoelektrik olay, KeV mertebesinde X ışınları büyük tesir kesitine sahiptir. Bu tesir kesiti yaklaşık olarak aşağıdaki şekilde tanımlanır;

$$\sigma \approx \frac{Z^5}{(h\nu)^2} \quad E_\gamma < m_e c^2 \text{ için} \quad (2.3)$$

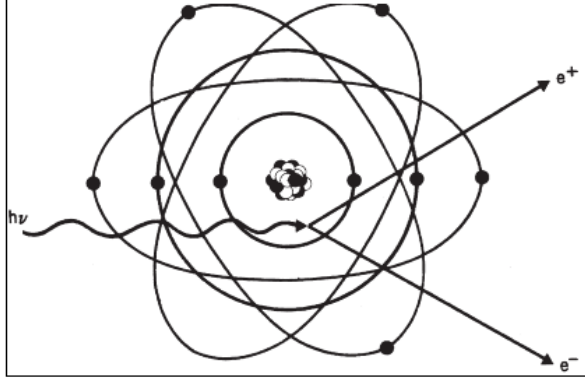
$$\sigma \approx \frac{Z^5}{(h\nu)} \quad E_\gamma > m_e c^2 \text{ için} \quad (2.4.)$$

Bu etkileşme mekanizması yüksek atom numaralı atomlar için oldukça önemlidir ve 1 MeV'lik foton enerjilerinde önemini kaybetmektedir.

2.2.3. Çift oluşum olayı

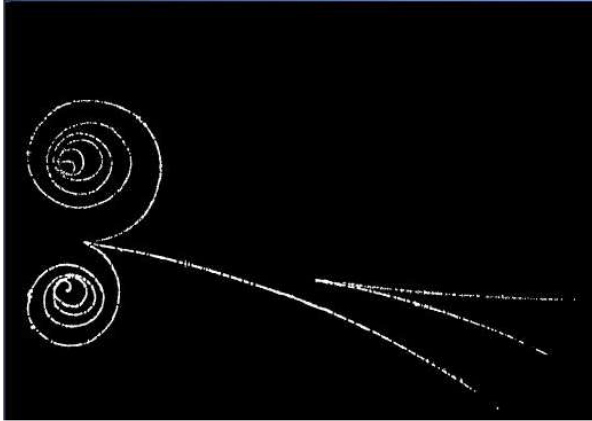
Foton yeterli enerjiye sahip olduğunda, madde tarafından soğurulur ve zıt elektrik yüklü parçacıklar meydana getirir. Kısaca, çift oluşum fotonun elektron-pozitron çiftine dönüşmesidir. Bu olay, momentum korunumunu sağlamak için üçüncü bir cismin varlığında meydana gelir. Pozitronun kütlesi elektronun kütlesine eşit olduğundan,

elektron-pozitron çift oluşumu için eşik enerjisi $h\nu \approx 2m_e c^2 = 1.02 \text{ MeV}$ olacaktır (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. Çift oluşum

Çift oluşum tesir kesiti Z^2 ile değişir, burada Z ortamın atom numarasıdır. Çift oluşum eşikten hızlıca yükselir ve foton enerjilerinin 10 MeV den büyük olduğu durumlarda enerji kaybı mekanizmalarında baskın olur. Çok yüksek enerjilerde (>100 MeV), elektron-pozitron çifti tesir kesiti azalır ve sabit soğurma katsayısı ile ifade edilir. Oluşan bu pozitronlar madde içerisinde ilerlerken elektronlar gibi enerji kaybederler. Pozitron kinetik enerjisinin çoğunu kaybettikten sonra bir elektron yakalayarak pozitronyum diye adlandırılan hidrojen benzeri bir atom meydana getirir. Hidrojen atomunun aksine pozitronyum atomu kararsızdır ve 10^{-10} sn yarı-ömre sahiptir. Dolayısıyla, pozitronyum atomu bozunarak (anihilasyon) iki foton meydana getirir. Bu yok olma işlemi zıt yönlü eşit enerjili iki foton meydana getirir. Fotonların herbiri enerji-momentum korunumunu sağlamak için 0.511 MeV lik enerjiye sahip olmalıdır.

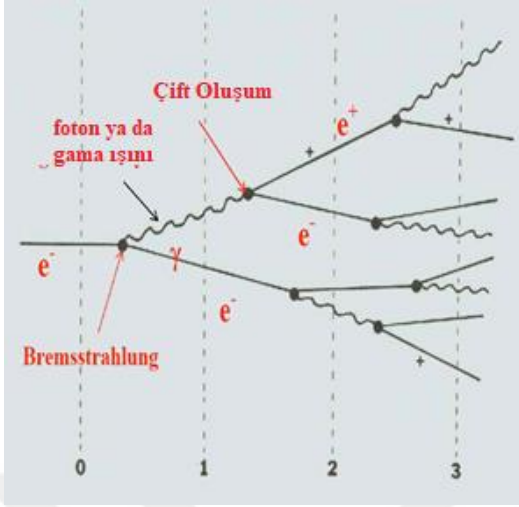


Şekil 2.8. Elektron-pozitron çifti oluşumu

Elektron-Foton sağanağı:

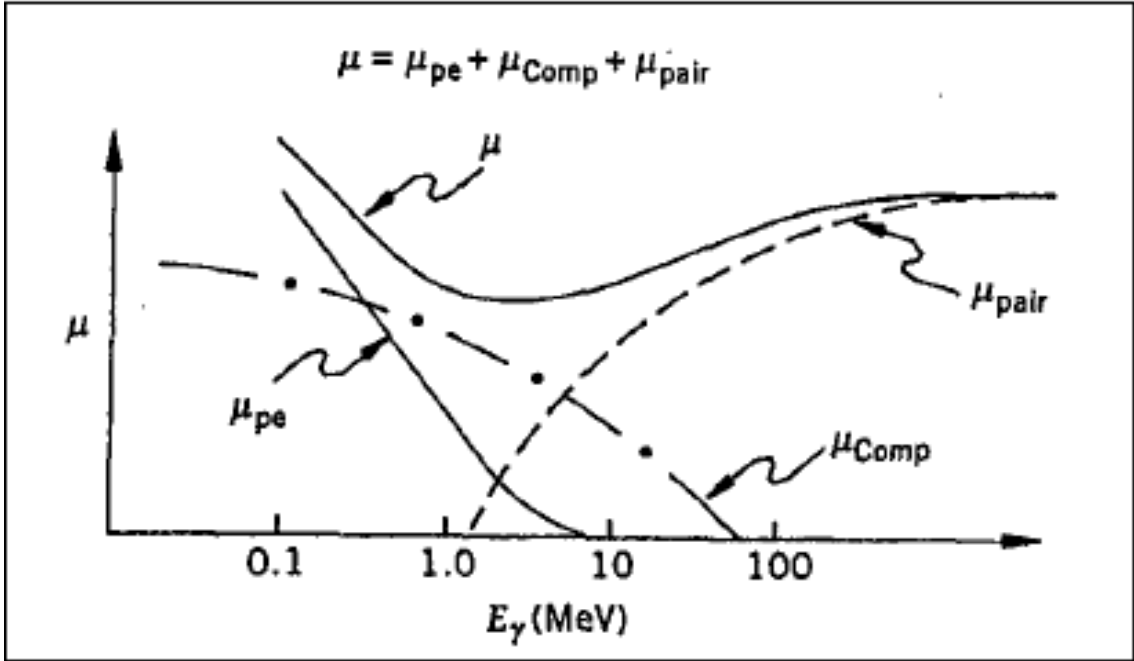
Elektronlar tarafından Bremsstrahlung yayınlanması ve yüksek enerjili çift oluşumun fotonları ile birleştirilmiş etkisinin en iyi sonuçlarında biri elektron-foton sağanağının oluşumudur. Yüksek enerjili bir foton madde içerisinde daha sonra enerjik bremstrahlung foton yayınlayan elektron-pozitron çiftine dönüştürülür. Bremstrahlung foton daha sonra tekrar elektron-pozitron çiftine dönüştürülür ve böyle devam eder. Sonuçta foton, elektron-pozitron sağanağı meydana gelir. Bu olay elektron-pozitron

çiftinin enerjisi kritik enerjinin altına düşene kadar devam eder. Bu durumda enerjilerini atomik çarpışmayla kaybederler (Şekil 2.9.).



Şekil 2.9. Elektron-foton sağanağı

Özetle, gama ışınlarının madde ile etkileşmesine fotoelektrik olay, Compton saçılması ve çift oluşum katkı sağlar. Bu nedenle, toplam lineer soğurma katsayısı bu proseslerin soğurma katsayılarının ayrı ayrı toplamıdır (Şekil 22).



Şekil 2.10. Toplam lineer soğurma katsayısının gelen foton enerjisi ile değişimi

Eğer gama ışını bir bileşikten geçiyor ise, soğurma katsayısı;

$$\mu_c = \sum w_i \mu_i \quad (2.5.)$$

ile verilir. Burada w_i bileşikteki i . elementin ağırlık kesri, μ_i i . elementin toplam soğurma katsayısıdır.

2.2.4. Fotodisintegrasyon (fotoayırışma)

Bu etkileşim atom çekirdeği ile foton arasında oluşmaktadır. Bundan dolayı sadece 10 MeV enerjinin üzerindeki fotonlarda gözlemlenir. Foton çekirdek tarafından soğurulur. Meydana gelen bu etkileşim bir ya da birden çok 33 nükleonun yayınlanmasına ve nükleer reaksiyonların oluşmasına sebep olabilir. Çoğu defa bu olay çekirdekten nötronların yayınlanmasına sebep olur.

2.3. Radyasyonun Hücre Üzerine Etkileri

Radyasyonun hücre üzerine etkileri radyasyon türüne ve uygulanan dozuna bağlıdır. Absorbe doz birimi Gray (Gy) olarak ifade edilir. Gy bir madde üzerine içe hapsedilen edilen enerji olarak tanımlanır. Ancak bu ifadede ışınlanan volümün uzaysal dağılımı göz önüne alınmamaktadır. Oysa radyobiyojide lineer enerji transferi (LET) daha önemlidir. LET bir volüme bırakılan enerji miktarıdır ve düşük LET ile homojen dağılım sağlanabilirken, yüksek LET ile (partiküler enerji) heterojen dağılım meydana gelebilmektedir. Buna bağlı olarak hücre üzerinde farklı hasarlar oluşmaktadır. Radyasyonun temel hedefi hücre içerisindeki DNA'dır. Normal şartlarda DNA kırıkları dakikalar ve saatler içerisinde tamir edilebilir ve hücre ölümü gerçekleşmez. Ancak çift sarmal kırıklarından sonra hücre ölümü gerçekleşebilir. Radyasyonun DNA üzerine etkisi, direkt etki ve endirekt etki olarak iki şekilde gerçekleşebilmektedir.

2.3.1. Direkt etkileri

İyonize radyasyon bir atom ya da moleküle çarpıp atomdan elektron kopararak iyonizasyon oluştursa direkt etkileşim olur. Özellikle alfa, beta ve yüksek doz gama ışınlarının, hem düşük hem de yüksek birim mesafede LET, radyasyonun çarpma noktasında bir molekülü iyonlaştırır. Bu da DNA'nın yapısında reaktif iki komşu parça oluşmasına neden olmaktadır. Bu ayrılan iki parça derhal aynı orjinal molekülü oluşturmak üzere tekrar birleşirse hasar oluşmaz. Fakat DNA gibi büyük bir makro molekülde direkt etki ile bağ kırıkları oluşabilir. DNA üzerinde direkt etki eden iyonizan radyasyon ile Purin halkaları açılabilir, fosfo diester bağları kırılabilir veya DNA'nın tek ya da çift sarmalı kırılabilir. Radyasyonun DNA üzerinde oluşturacağı kırıklardan yararlanılarak, tıpta iyonlaştırıcı radyasyon kanser hücrelerinin yok edilmeleri suretiyle kanser hastalarının tedavisi amacıyla kullanılmaktadır

2.3.2. Endirekt etkileri

Radyasyonun DNA'ya direkt etki etmeden, vücut içerisinde moleküllerle etkileşime geçerek bu molekülleri iyonize etmesi ve serbest radikaller oluşturmasıdır. Oluşan bu reaktif serbest radikallerin DNA'yı etkilemesi endirekt etki olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikal, bir veya birden fazla tek elektron içeren yüksek reaktiviteli molekül veya gruplardır. Ortaklanmamış tek elektron, serbest radikallere karakteristik kimyasal özellikler kazandırır. Bu da serbest radikallerin canlı hücre için toksik olduklarını gösterir.

Örnek olarak; iyonize radyasyonun insan vücudunda yüksek miktarda var olan su moleküllerine etki ederek serbest radikal oluşturması verilebilir. Suyun radyasyon ile parçalanmasında (Radyoliz):

1. $H_2O + IR \text{ (iyonizan radyasyon)} \rightarrow e^- + H_2O^+$
2. $e^- + H_2O \rightarrow H_2O^-$
3. $H_2O^- \rightarrow OH^- + H^+$
4. $H_2O^- \rightarrow H^+ + OH^-$

şeklinde tepkime gerçekleşerek 4 serbest radikal ürünü, H^0 , OH^0 , H^+ ve OH^- ortaya çıkmaktadır. İyonizan partiküller DNA ile reaksiyona girerler. Çapraz bağlanmalar, kimyasal bağların kırılması ve yapısal parçalanmaya neden olurlar. Oksijen varlığında radyasyon hücre içinde çok yıkıcı olan reaksiyonlar oluşturur. Bu toksik kimyasal yapıların dolaylı yoldan DNA ile etkileşime geçmesi sonucu ya hücre kendini onarır ve yaşamına devam eder, ya hücre kendi kendini onaramaz ve ölür (apoptozis) ya da hücre kendini onaramaz ve hücrede mutasyon gerçekleşir.

İyonizan radyasyonun indirekt etkisinde, direkt etkiye oranla DNA hasarı yaklaşık iki kat daha fazla olabilmektedir. Hasarın şiddeti doza bağlıdır. DNA baz hasarı, DNA hasarının en önemli tipidir. Baz hasarında timidin en radyosensitif baz olarak ortaya çıkar. Sitozin, adenin ve guanin onu takip eder. Düşük LET radyasyonunun 100 Rad'lık (1 Gy) dozu her hücrede 60-70 çift zincir ve 1000 tek zincir kırıkları üretebilir. Basit tek ya da çift zincir kırıkları hücre ölümünden sorumludur.

DNA zincir hasarı ciddi hücrel bir olaydır. Fakat hücre kromozomal tamir mekanizmaları ile donatılmıştır. Bu tamir mekanizmaları diğer biyolojik mekanizmalar gibi %100 etkili değildir. DNA tamir edici enzimler tek zincir kırıklarında çift zincir kırıklarına nazaran daha etkilidir. DNA iki zincir de karşılıklı hasar görmüşse bunu düzeltemez ve bu durumda hücre ölür.

İyonize radyasyonun kromozom anomalileri genellikle kromozomal kırıklar ve kromatid kırıkları olarak görülmektedir. Kromozomal kırıklar genellikle interfaz hücre döngüsünün ilk fazında (G ya da erken S fazı) ışınlanan bir hücre sonucu ortaya çıkar. Kromatid kırıkları ise interfazın son safhasında alınan radyasyon sonucu görülür (geç S ya da G2 fazı). Kromozomlarda ki tamir mekanizmaları, hücreler mitoz ya da mayoz safhasına girmeden önce kromozomal hasarı tamir edemezlerse eşleşme başarısız olacaktır. Sonuç olarak olay hücre ölümü ya da genetik olarak sorunlu nesillerle sonuçlanır. Genellikle mitoz safhasında radyasyona maruz kalan hücrelerin tamir için daha az zamanları vardır. Mitoz safhasında daha fazla genetik mutasyon ve anormal hücre fonksiyonları tetiklenir. Daha az sıklıkta mitotik aktivite gösteren hücreler (sinir, lens, kas, iskelet) tersine olarak daha az radyosensitivite gösterirler.

Radyasyon onkolojisinde hasta tedavisi fraksiyonlar halinde düşük radyasyon dozları şeklinde verilir (genelde 5 gün, 2 Gy/gün). Fraksiyonlar halinde verilen radyasyon hem tek hem çift sarmal kırıklarına sebep olur. Fraksiyonlar arasında ortalama 0,3-3 saat içerisinde tek sarmal kırıkları tamir edilirler. Normal dokuların tamir etme kapasiteleri tümör dokusuna göre daha yüksektir. Böylece radyasyon tedavisi sırasında normal dokular korunmuş olur. Radyasyonun fraksiyonlar halinde verilmesinin çeşitli sebepleri vardır. Bunlara beş R adı verilir;

1. Radyosensitivite: Organizma içerisinde dokular farklı duyarlılıklara sahiptir,

2. Repair: Hücreler DNA tamir etme mekanizmalarına sahiptir. Özellikle tek sarmal kırıkları oldukça karışık biyolojik mekanizmalarla hızla tamir edilebilirler,
3. Repopulation: Fraksiyonlar halinde verilmesiyle hücreler tekrar çoğalabilme fırsatına sahiptir,
4. Redistribution: Hızla çoğalan hücreler hücre bölünme siklusunun farklı fazlarında bulunurlar ve çift sarmal kırıklarının oluşma şansı artar,
5. Reoksijenizasyon: Fraksiyonlar arasında hipoksik hücreler tekrar oksijen alabilirler ve radyasyona daha duyarlı hale gelebilirler.

Radyonüklit tedavi sırasında ise süreklilik oluşturan bir radyasyon uygulaması vardır. Bu sırada hem tek hem de çift sarmal kırıkları oluşur. Bu süreklilik içerisinde tek sarmal kırıkları tamir edilebilirler (6,7). Radyonüklit tedaviler de fraksiyonlar halinde verilirler. Örneğin; radyoaktif iyot tedavisi 3-6 aylık aralar ile, Lu-177 oktreotid ve prostata spesifik membran antijeni tedavileri 6-8 hafta aralıklarla verilir. Ancak, bu tür fraksiyonasyonun bilimsel bir temeli bulunmamaktadır.

2.3.3. Hücre membranına radyasyonun etkisi

Hücre membranlarının temel fonksiyonu hücre içi ve hücre dışı madde alışverişini kontrol etmektir. Radyasyon etkisi ile hücre membranının çift tabakalı lipid yapısı ve membran protein moleküllerindeki iyonizasyon sonucu moleküller inaktive olarak tüm transport mekanizmaları bozulur.

Bileşimlerdeki doymamış moleküllerin oksijenle yükseltgenmesi, çift bağlarda ve karbonil gruplarında serbest radikal oluşturur ve bu mekanizma hücre içi zincir reaksiyonları ile diğer organik moleküllerle etkileşerek o molekülleri de serbest radikallere dönüştürür. Bu zincir reaksiyonu yavaşlatmak ve durdurmak için vücut içerisinde çeşitli savunma mekanizmaları bulunmaktadır.

2.4. Nanopartiküllerin Üretim Yöntemleri

NP'lerin üretiminde fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak farklı yöntemler kullanılabilir. Buhar yoğunlaştırma ve molekül demet büyütme (Molecular Beam Epitaxy, MBE) (Ishikawa vd. 1997) gibi fiziksel yöntemler son derece pahalı ve fabrikasyonu zor yöntemlerdir. Kimyasal yöntemler, NP'lerin morfolojisi ve üretim maliyeti açısından yeterince uygun görünse de kullanılan indirgen ve kapsülleyici ajanların kimyasal olması çevre ve insan sağlığı açısından sakınca oluşturmaktadır. Biyolojik sentez yöntemleri ise maliyet ve çevre açısından uygundur ancak NP'lerin morfolojik özellikleri henüz yeterince kontrol edilememektedir. NP biyolojik sentezini konu alan daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

NP üretimi sentez sürecindeki çekirdeklenme durumuna göre aşağıdan yukarı “bottom up” ve yukarıdan aşağı “top down” olmak üzere iki farklı temel yaklaşımla yapılır.

2.4.1. Yukarıdan aşağıya (top down) yaklaşımı

Bu yaklaşımda NP'lerin daha büyük haldeki parçacıklardan daha küçük

parçacıklara ayrılması amaçlanır. Dışarıdan mekanik ve/veya kimyasal işlemler uygulanarak nanoboyutlu malzemelerin üretimi sağlanır. Bu yaklaşıma örnek olarak mekanik öğütme ve aşındırma yöntemleri verilebilir. Yüksek hız değirmenlerinde gerçekleştirilen işlemler, klasik un değirmenlerinde unun öğütülmesi işlemine benzer. Büyük boyuttaki buğday tanelerinin mikro ölçekteki un tanelerine ayrılması söz konusudur. Bu yöntemin değirmenlerden farkı öğütme işleminin nano ölçekte olması ve metal blokları öğütmek zorunda olmasıdır. Bu yönüyle son derece yüksek enerjiye ve maliyete ihtiyaç duyar.

2.4.2. Aşağıdan yukarıya (bottom-up) yaklaşımı

Bu yöntemin temeli atomik ya da moleküler düzeydeki parçacıkları bir araya getirerek nanoyapılar inşa etmeye dayanır. Nanoyapılar oluşturmak atomik boyutta etkisi artan elektrostatik ve zayıf kuvvetlerden, bununla birlikte DNA gibi kendi kendine birleşme yeteneğine sahip yapılardan yararlanılır. Kimyasal buhar yoğunlaştırma, kimyasal buhar kaplama, sprey piroliz ve sol jel gibi yöntemler bu yaklaşıma birer örnektir.

Nanopartiküllerin koloidal olarak sentezlendiği çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Kimyasal çöktürme, elektrokimyasal sentez, hidrotermal sentez, ters misel/mikroemülsiyon metodu, kimyasal indirgenme gibi yöntemler bunlara örnek verilebilir. Bu yöntemlerin tamamında sentezlenen nanoyapıların morfolojisinin düzenli ve kararlı olmaları hedeflenmektedir. Bunların yanında yeşil kimyanın benimsendiği bitkileri mantarları ve bakterileri indirgen ve kapsülleyici olarak kullanan biyolojik sentez yöntemleri de günümüzde giderek talep görmektedir. Yeşil sentez yöntemi de denilen bu yöntemin; fabrikasyonunun kolay, ucuz ve çevrecil olması yöntemi avantajlı hale getirmektedir.

2.4.2.1. Yeşil sentez yöntemi

Nanopartiküllerin biyolojik sentezini konu alan birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların çoğunda mantarlar, bakteriler veya bitkiler indirgen ve kapsülleyici ajan olarak kullanılmaktadır. Her birinin kendi içerisinde avantajları olsa da bitkilerin içerdiği zengin fitokimyasal özellikler giderek talep görmektedir. Son yıllarda yeşil (green) sentez olarak adlandırılan bu biyolojik yöntemin maliyeti son derece ucuz, kolay ve çevrecidir.

Yeşil sentez yöntemi avantajlarından dolayı özellikle tıbbi uygulamalarda metalik nanopartiküllerin kullanılması önem kazanmıştır. Bu tip nanopartiküllerin antimikrobiyal ve sitotoksik etkilerine bağlı olarak tıbbi ilaç olarak kullanımları öne çıkmaktadır. Metalik nanopartiküllerin yeşil sentezinde sıcaklık, oluşum kinetiği, pH, çalkalamalı veya statik uygulama, redükleyici ajan ve gün ışığı gibi faktörler önemlidir. Çalışmalar, kullanılan biyolojik ajana ve sentez koşullarına bağlı olarak farklı morfolojilerde NP'ler elde edilebileceği daha önce gösterilmiştir. Bu tez çalışmasında literatürde geniş yer alan yeşil sentez yöntemini kullanıldı. Yeşil sentez süreçlerinde in vivo olarak daha önceleri çalışılmış SM'yi ve CA'yı indirgen ve kapsülleyici ajan olarak Ag NP'lerin sentezinde kullandık.

2.5. Sentez Bitkileri

2.5.1. SM/ Silimarin

SM'nin çiçek ve yaprak özütleri yüzyıllardır, karaciğer, dalak ve safra kesesi bozukluklarını tedavi etmek için kullanılmıştır (Rainone, 2005). 1960'lı yıllarda tohum, çiçek ve yaprak özütlerinin biyolojik ve kimyasal özellikleri araştırılmıştır. 1990'lı yıllara gelindiğinde Sonnenbichler ve vd. (1999) SM'nin yapısında bulunan silimarin adlı bir fitokimyasalı izole etti ve çoğu laboratuvar çalışmasına flavonolignan karışımı ile olanak sağlandı. SM'nin en fazla bileşeni silibinin, izosilibinin, silisristin ve silidianindir. SM güvenli bir bitkisel ürün olarak kabul edilir. Bu nedenle terapötik dozajların uygulanmasıyla alakalı çok az sayıda bilgi vardır. Son zamanlarda, silimarinin % 70-80'ini oluşturan ana bileşeni olan silisyumun oksitlenmiş türevlerinin antiradikal ve antioksidan aktiviteler, antienflamatuar ve antikarsinojenik özellikleri incelemiştir. İn vivo çalışmalarda ise Karimi vd. (2005) farelerde oksidatif stres, inflammatuar yanıtlar ve benzoil peroksit kaynaklı tümör tanıtımına karşı silimarin ile yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

2.5.2. CA

CA, geniş çeşitliliği ve lezzet bakımından yüksek kalitesi, vitamin konsantrasyonu ve diğer antioksidanlar nedeniyle dünya çapında giderek daha önemli bir sebze mahsulü haline gelen *Solanaceae* ailesinin bir üyesidir. Diyet ve mutfak önemine ek olarak, ilaç endüstrisinde biber kapsaisin bileşikleri kullanılmaktadır (Korkutata vd. 2013). Biber beş evcilleştirilmiş ve 15-20 vahşi geçebilir türe sahiptir. Her bir türün kendi içerisinde sağlık alanında kullanım alanı zamanla oluşmuştur. Örneğin, dolmalık biber geleneksel tıp alanında; mide ağrısı, ishal, dizanteri gibi semptomların tedavisinde kullanılır. Çoğu gastroenterit, kontamine gıdaların bir sonucu olabilir (Tchiegang vd. 1999). Gıda kaynaklı gastroenterit dünya çapında yılda birkaç milyon kişiyi etkilemektedir. Bebeklerde, çocuklarda ve yaşlılarda mortalitenin ana nedenlerinden biridir (Ogunshe vd. 2006).

Bunun yanında CA kanser gibi alanlarda da kendine yer bulmuştur. CA, kanser tedavisinde kemopretentif ve antioksidan özellikleri ile ön plana çıkmaktadır. Maoka vd. (2001) yaptıkları çalışmada CA'nın kanser etkinliğini araştırmışlar ve CA meyvesindeki karotenoidlerin kemopreventif etkilerinden bahsetmişlerdir. Başka bir çalışmada Materska vd. (2015) CA meyvelerinden elde edilen fenolik glikozitlerin X ışını radyasyonu ile indüklenen insan hücrelerinin oksidatif hasarına karşı koruyucu etkileri olduğunu vurgulamışlardır. 2016 yılında yapılan bir başka çalışmada ise yapay ışık altında büyüyen CA'nın fitokimyasallarını, antioksidan bağlanma ve antiproliferatif özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmalarında, yapay ışık altında üretilen CA'yı üretim şartlarına göre kıyaslamışlar, biberdeki antioksidan özelliklerin metabolizması çeşitliliğe, ışık kalitesine veya mevsimselliğe bağlı olduğu belirtmişler ve bu şartlara bağlı olarak antioksidan, anti karsinojenik ve sitotoksik etkilerinin değişebileceğini vurgulamışlardır.

2.6. Ag NP'ler

Koloidal olarak yeşil sentezlenen Ag NP'ler kendine özgü özellikleriyle çeşitli alanlarda araştırmalara konu olmuştur. Tarım, elektronik ve sağlık bu alanlardan

bazılarıdır. 2019 yılında Lee ve vd. tarafından elektronik alanında yapılan bir çalışmada optik ve katalitik özelliklerin NP'lerin morfolojisiyle alakalı olduğu vurgulanmıştır. Yine 2019 yılında bir başka çalışmada tarım alanında ticari bir tarım ürünü zararlısı olan *Fusarium oxysporum* fungusitine karşı Ag NP'lerin aktivitesi araştırılmıştır (Duran vd. 2005). Özellikle son zamanlarda sağlık alanında Ag NP'ler antibakteriyel, antiviral, antifungal ve antikanser özellikleri ile ön plana çıkmakta ve yüksek ilaç olarak kullanım potansiyellerinden dolayı ilgi çekmektedir (Wypij vd. 2018). Bununla birlikte, Ag NP'lerin hacimlerine göre yüksek yüzey alanlarına sahip olmaları yüksek antibakteriyel ve antikanser aktivitesine neden olabilmekte bu özellikleri ile nanoilaç uygulamalarında tercih edilmektedir.

2.6.1. Ag NP'lerin antibakteriyel etkileri

Çeşitli bitkilerin kök, gövde, tohum ve yapraklarının sentez sürecinde kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur. Kaynak sorunu olmaması, zengin fitokimyasal özellikleri sayesinde ön plana çıkan bitkiler ve Ag NP'leri konu alan yeşil sentez yöntemlerinin kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur. *Dodonaea viscosa* (Anandan vd. 2019), *Juglans regia* (Nasar vd. 2019), *Hydnocarpus pentandra* (Shyam vd. 2019) *Prosopis juliflora* (Arya vd. 2019) gibi bitkilerin kullanıldığı çalışmalarda sentezlenen Ag NP'lerin *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. Coli*, *S. typhi* ve *P. aeruginosa* gibi bakteriler üzerinde etkili oldukları bildirilmiştir (Valsalam vd. 2019).

Krishnaraj vd. (2010) çalışmalarında *Acalypha indica* yaprak özleri ile Ag NP'leri sentezlediler. Sentezledikleri koloidal Ag NP'leri *Escherichia coli* ve *Vibrio cholerae* hücreleri üzerindeki antibakteriyel etkilerini araştırdılar. Minimum 10 µg/ml konsantrasyonunda bu bakterilere karşı etki gösterdiğini vurgulamışlardır.

Benzer şekilde 2010 yılında Nabikhan vd. tarafından yapılan başka bir çalışmada *Sesuvium portulacastrum* ile sentezlenen Ag NP'lerin *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteu* ve *Klebsiella pneumoniae* insan patojenlerine karşı antibakteriyel aktivitelerine bakılmıştır. Çalışmada 5-20 nm arasında değişen boyutlardaki Ag NP'lerin kristal yapılarına bakılmış ve konsantrasyona bağlı artan antibakteriyel aktivitenin vurgusu yapılmıştır.

Son birkaç yıldır ise, antibakteriyel etkileri, antibiyotikle kıyaslanmaya başlanmış, bununla birlikte insan/hayvan hücreleri üzerinde oluşturabileceği sitotoksik etki kontraendikasyonlarının bilinmesi açısından araştırılmaya başlanmıştır. Korshed vd. (2020) gram negatif bakterilere (*E. coli* ve *P. aeruginosa*) ve gram pozitif bakterilere (*Staphylococcus aureus*) karşı Ag NP'lerin antibakteriyel etkilerine bakmış, Ag NP'lerin olası yan etkilerini değerlendirmek açısından insan hücreleri üzerinde sitotoksitesini araştırmışlardır.

2.6.2. Ag NP'lerin antiviral etkileri

Son zamanlarda Ag NP'lerin antimikrobiyal etkileri HIV-1 (Elechiguerra vd. 2005; Trefry vd. 2012), hepatit B (Lu vd. 2008), *herpes simplex* (Baram-Pinto vd. 2009), solunum sinsityal (Sun vd. 2008), maymun çiçeği (Rogers vd. 2008), Tacaribe (Speshock vd. 2010), H1N1 influenza A virüsü (Mehrbod vd. 2009; Xiang vd. 2011) gibi virüsler üzerinde araştırılmaya başlanmıştır. Antifungal ve anti bakteriyel aktivitelerinin aksine

Ag NP'ler, antiviral etkilerini, virüslerle konak hücrelerin aralarındaki bağın inhibisyonunu sağlayarak gerçekleştirirler. Antiviral etkilerin NP boyutları arasındaki ilişki ise antibakteriyel ve antifungal etkilerindekilere benzerdir. Bu haliyle daha küçük boyutlardaki partiküllerin antiviral etkisi daha fazladır. Örneğin 10 nm'den daha küçük Ag NP'ler HIV 1 virüsüne karşı daha etkindir.

Lara vd. (2010) çalışmalarında, sitotoksik olmayan konsantrasyonlarda aldıkları Ag NP'lerin büyük olasılıkla viral girişin bir inhibitörü olarak viral replikasyonun erken bir aşamasında anti-HIV aktivitesi uyguladığını gösterdiler. Bunun yanında Ag NP'lerin gp120'ye bağlandıklarını, bu sayede virüse karşı etkili bir virüidal ajan olarak işlev gören CD4'e bağlı viryon bağlanmasını, füzyonu ve enfektiviteyi önlediğini gösterdiler. Ayrıca, Ag NP'lerinin HIV-1 yaşam döngüsünün giriş sonrası aşamalarını inhibe ettiğini vurguladılar.

Benzer şekilde Qu vd. 2019 yılında Ag NP'lerin solunum sinsityal virüsü (SSV)'ne karşı antiviral ve immünomodülatör etkilerini araştırdılar. Çalışmalarında enfekte olmuş BALB / c farelerinde SSV replikasyonunda Ag NP aracılı bir azalmaya işaret ettiler. Pro-enflamatuar sitokinlerde (yani, IL-1a, IL-6, TNF-a) ve pro-enflamatuar kemokinlerde (yani, CCL2, CCL3, CCL5) belirgin azalma gözlemlendi. Aksine, AgNP'lerle tedavi edilen farelerde CXCL1, G-CSF ve GM-CSF, akciğer dokusunda nötrofil alımı ve aktivasyonundaki artışla tutarlı olarak arttığını belirttiler.

Bunların yanında güncel çalışmalarda Ag NP'lerin antiviral uygulamalarına daha çok ihtiyaç vardır. Toplumsal pandemik etkilere sahip virüsler günümüzde insan yaşamı üzerinde tehdit oluşturmaktadır. Dahası günümüzde virüslere karşı etkinliği kanıtlanmış ilaçlar mevcut değildir. Bu yüzden sitotoksik olmayan konsantrasyonlarda alınan Ag NP'lerin önemi artmaktadır. Bu yönüyle antiviral etkileri bilinen Ag NP'ler covid-19 gibi pandemiler üzerinde etkin uygulama alanına sahip olabilir.

2.6.3. Ag NP'lerin antikanser etkileri

Biyolojik sentez veya nanopartiküllerin yeşil sentezi, nanopartiküllerin üretimi için alternatif ve çevre dostu bir yöntemdir (Chung vd. 2016). Bitki yaprak özleriyle yeşil sentez, biyolojik uygulamalardaki toksisitenin komplikasyonlarının üstesinden gelmek için alternatif bir yöntem olabilir. Çeşitli fitokimyasalları, doğal bileşikleri ve indirgeyici enzim komplekslerini benimseyen Ag iyonlarının indirgenmesinde koruyucu ve indirgeyici aktivitelere sahiptir.

Son yıllarda, potansiyel bir indirgeyici madde olarak kullanılan farklı bitki özleriyle sentezlenmiş Ag NP'lerin kanser tedavisinde kullanılması yoğun ilgi görmüştür (Nayak vd. 2016). Yapılan çalışmaların çoğunda Ag NP'lerin sitotoksitesi üzerine durulmuş, apoptoz ve nekroz mekanizmaları üzerine yoğunlaşmıştır. *Stigmaphyllon ovatum* (Elemike vd., 2019), *Abelmoschus esculentus* (Mollick vd., 2019), *Abutilon indicum* (Mata vd. 2015) ve *Achillea biebersteinii* (Baharara vd. 2014) gibi bitkilerle elde edilmiş Ag NP'lerin insan servikal karsinomu (HeLa) (Elemike vd. 2019), colo 205 (Mata vd. 2015), MCF-7 (Baharara vd. 2014) gibi farklı hücre hatları üzerindeki sitotoksitesi araştırılmıştır. Deneyler farklı inkübasyon zamanlarında ve genellikle oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmaların yanı sıra Ag NP'lerin apoptoz mekanizmasını anlamak amacıyla yapılan çalışmalarda vardır. Flores-López ve diğerlerinin derlediği çalışmada Ag NP'lerin, Oksidatif stres (OS)'ten DNA ve kromozomlara verilen hasar nedeniyle genotoksisite ile ilişkili olduğu ve mutasyona neden olabileceği söylenmektedir. AgNP'lerin hücreler tarafından alınması, büyüklüğüne, şekline ve yüzey yüküne bağlıdır. Nükleer zarftaki nükleer gözeneklerin çapı 9-10 nm'dir. Gözenek büyüklüğüne uyan çözünmüş NP'ler de dahil olmak üzere proteinlerin hücre içinde ve dışında taşınmasına izin verir. 10 nm'den daha küçük AgNP'ler, daha büyük NP'lere kıyasla daha verimli içselleştirilir. NP'ler hücreye yayıldıktan sonra Ag(+) iyonları çekirdeğe bırakılabilir, DNA hasarı ve kromozom anormallikleri tetikleyen reaktif oksijen türlerini (ROS) üretilebilir. Ávalos ve diğerleri ise hepatoma ve lösemi hücrelerinde farklı boyutlarda AgNP'lerin DNA iplikçik kopması ve DNA'ya oksidatif hasar verdiğini göstermiştir. DNA hasarı OS'e atfedilir. Biyosentezlenen Ag NP'ler tarafından indüklenen A549 akciğer karsinomu hücrelerinin DNA hasarı ve mitokondri aracılı apoptozisi bildirilmiştir (Sharma vd. 2019).

2.6.3.1. Ag NP'lerin alım mekanizması

Fagositoz, endositoz ve difüzyon gibi yöntemlerle Ag NP'lerin hücreye alımı gerçekleşir (Murugan vd. 2015). Makrofaj hücrelerine fagositik ve fagositik olmayan yollardan girebilirler (Haase vd. 2011). Bazı Ag NP'ler hücreye fagositoz ile girerken bazı daha küçük boyutlardaki Ag NP'ler farklı yollarla girebilir. Bu Ag NP'ler insan/hayvan hücreleri tarafından yutulabilir. Bu durum trüva atına benzetilmektedir. NP'lerin hücreler tarafından alım şekli, hücre tipine ve NP boyutuna bağlıdır. Bir başka Ag NP'lerin alım yöntemi membran flip flopiyon kanalı yoluyla doğrudan penetrasyon mekanizmasıdır. Bu durumda, pasif taşıma ile aktif taşıma da mevcuttur (Haase vd. 2011).

2.6.3.2. AgNP'lerin sitotoksitesi

Ag NP'lerin yaygın kullanım alanına sahip olmasına rağmen, insan/çevre sağlığı üzerindeki etkileri hakkında çok az sayıda çalışma vardır. Ag NP'lerin toksikolojik özellikleri hala yeterince araştırılmamıştır. Yapılan az sayıda çalışmada Ag NP'lerin sitotoksik etkilerinin çözelti konsantrasyonlarına, Ag NP boyutuna, inkübasyon sürelerine ve çevresel faktörlere bağlı olduğunu göstermiştir. Ek olarak, sitrik asit, amino asit gibi indirgen maddeler ile Ag NP'ler kovalent olmayan bir şekilde bağlanır ve biyolojik makro moleküllerle etkileşime girerek veya etkileşime girmeden çevresel ve biyolojik ortama salınabilir. İnorganik/organik iyonlar Ag NP'lerin ortam içinde kararsız olmasına neden olur (Unrine vd. 2012; McShan vd. 2014). Dahası Ag NP'ün ekzositozuyla, hem Ag (+) hem de Ag (0)'ın ortama salınması, ortamda ve hücrenin içinde difüzyon yoluyla Ag (+) birikmesine, bu yüzden mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna neden olur (Reidy vd. 2013). Sonrasında Ag NP'ler hücre zarı proteinleri ile etkileşime girerek ROS oluşturmak için sinyal yollarını aktive eder. Sonucunda apoptoz ve hücre proliferasyonunun inhibisyonuna neden olan protein ve nükleik asitlerin hasar görmesine neden olur (Haase vd. 2012).

Li vd. (2020) yaptıkları bir çalışmada Ag NP'lerin mitokondri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında; hücrelerdeki Ag NP'lerin kritik bir hedefi olarak mitokondrileri göstermişlerdir. Mitokondri fonksiyonlarının, hücrelerdeki Ag NP'lerin sitotoksik etkilerin değerlendirilmesinde kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Bazı çalışmalarda ise Ag NP'leri oluşturan Ag (0)'ların değil de Ag (+) iyonlarının biyolojik sistemlerde toksisiteye neden olduğu konusunda tartışmalar söz konusudur. Ag (+) iyonlarının, NP'lerin yüzey oksidasyonu yoluyla salındığı buna bağlı olarak biyolojik moleküller ile reaksiyona girdiği fikri tartışılmaktadır (Yu vd. 2013). Yani, Ag NP'lerinin kendisinin değil, indirgen madde ile Ag (+) iyonlarının yüzey etkileşimiyle alakalı kontrollü salınımıyla toksisite oluşturduğu fikrini destekleyen güçlü kanıtlar vardır (Xiu vd. 2012).

2.6.3.3. Ag NP'lerin farklı toksikolojik yolları

Ag NP'lerin sitotoksitesi farklı yollarla olabilir. Çoğu çalışmaya göre NP'lerin toksisitesinin ROS oluşumunu arttırmasıyla meydana geldiği görüşü hâkimdir. (Foldbjerg vd. 2009). Ag NP'lerin hücreye in vitro olarak uygulanması p53, AKT ve MAPK gibi hücre ölümünü düzenleyen yolları aktive eden hücre içi ROS'un aşırı düzeyde üretimine neden olabilir (Li vd. 2016). Bu şekilde ROS üretimi, proapoptotik kinaz p38 ekspresyonunu arttıran toplam AKT'nin aşağı regülasyonuna neden olur. Bu arada, PARP (poli ADP riboz polimeraz) ekspresyonunda azalma, kaspaz-3, H2X, p-p53 ve toplam p53 ekspresyonlarında anlamlı bir artışla sonuçlanır (Li vd. 2016).

2.6.3.4. Ag NP'lerin neden olduğu ROS üretimi

Ag NP'lerin neden olduğu ROS üretimi ile oluşan sitotoksite, hücresel ve biyokimyasal değişikliklere neden olur. Bazı çalışmalarda, ROS, Ag NP'lerin oluşturduğu toksisitenin bir ürünü olarak kabul görür (van Aerle vd. 2013). Normalden fazla üretilen ROS, antioksidan savunma mekanizmasını ortadan kaldırarak protein, DNA ve lipitlere zarar verebilir (Sriam vd. 2012). Mitokondri tarafından salgılanan ROS, ATP sentezinin bozulmasına, DNA hasarına ve son olarakta apoptoza neden olur (Li vd. 2020).

ROS miktarındaki artış ile glutatyon seviyesinde azaldığı görülür. Bu sırada Laktat Dehidrogenaz miktarı artar ve bu durum apoptozu indükler (He vd. 2013). ROS seviyesindeki artış, nöronal hücrelerde kalsiyum düzeyinde farklılıklara yol açan oksidatif strese neden olarak nörodejenerasyon riski oluşturabilir (Ziemińska vd. 2014). Ag NP'lerin neden olduğu oksidatif stres, DNA'ya zarar verebilir ve sonunda hücrenin apoptozuna yol açabilir (Li vd. 2020).

2.7. AgNP'lerin Morfolojik Özelliklerinin Sitotoksite Üzerine Etkisi

2.7.1. Partikül büyüklüğü

Ag NP ler için sitotoksiteyi etkileyen önemli faktörlerden biri boyutlarıdır. Boyutların hücre hatları üzerindeki sitotoksitesinin değerlendirildiği araştırmalarda farklı boyutlardaki Ag NP'lerin hücre canlılığı, ROS (Li vd. 2020) üretimi ve laktat dehidrogenaz aktivitesi (LDH) (He vd. 2013) yönünden önemli etkileri olduğu gösterilmiştir. NP boyutunun azalmasının yüzey alanındaki artış, yüzey hacmi ve yüzey aktivitesiyle ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Dahası, NP'lerin biyolojik ve katı yüzeylerdeki sedimantasyon hızı, bağlanma etkinliği, kütle difüzivitesi ve birikme hızı NP boyutuyla ciddi oranda ilişkili bulunmuştur (Sharma vd. 2009). Bunlara ek olarak, parçacık boyutları memelilerde hücre etkileşimleri üzerinde de etkili olabilir (Kennedy vd. 2019). Ag NP'lerin partikül büyüklüğü etkisini belirlemek için değişen hücre hatları

kullanılarak yapılan birçok çalışma mevcuttur.

2.7.2. Partikül şekli

Değişen sentez süreçleri ışığında, üçgen, küresel, kare, dikdörtgen, kübik, çubuk ve oval gibi farklı türlerde Ag NP ler oluşur (Benkhedda vd. 2019). Nano-toksikolojik yönden, parçacık şeklinin biyolojik sistem üzerindeki etkinliği henüz tam olarak bilinmemekte dolayısıyla daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Yapılan çalışmalarda ise NP şekillerinin multifaktöriyel özellikte oluşu sitotoksik etkiye sebep olabileceği yönde görüşü ön plana çıkmaktadır. Örnek vermek gerekirse, bazı çalışmalarda, Ag NP ve Ag (+)'nın değişik şekillerine maruz bırakılan A549 alveoler epitel hücrelerinin sitoplazmasında aglomerasyon gösterdiği belirtilmiştir (Stoehr vd. 2011).

Ag NP'lerin şeklinin, sitotoksitenin modülasyonunu sağlayan hücre alım mekanizmasına etki edebileceği hipotezi bilinmektedir. Stoehr ve diğerlerinin 2011 yılında yaptıkları çalışmada Ag nanoteller ve küresel NP'ler uygulanmış, A549 hücrelerine karşı Ag nanotellerin sitotoksitenin gösterdiği buna karşın küresel parçacıkların herhangi bir etki göstermediği vurgulanmıştır.

Makrofaj ve nöron gibi farklı hücre çizgilerinde belirli konsantrasyon ve boyutta Ag NP uygulandığı bir başka çalışmada ise her bir hücre çizgisi için eşsiz sonuçlar elde edildi ve makrofajlar en yüksek Ag NP hassasiyeti gösterdiler (Singh vd. 2012). Bu çalışma sonucunda Ag NP'lerin makrofajlara içselleştirilmesinin, çöpçü reseptör aracılığıyla oluştuğu ortaya çıkmış ve sonrasında Ag(+) salınımı ile sitoplazmada sitotoksitenin indüklenmiştir (Singh vd. 2012).

Ag NP'lerin hücreler üzerinde toksitenin özelliği gösteren bir diğer etkisi de çözünürlüktür. Yapılan bir çalışmada, 20-110 nm Ag NP'lerin asidik fagosomlarda toksitenin gösterdiği belirtilmiştir (Hamilton vd. 2014). Ag NP'lerin (20 nm); HepG2 ve Caco2 hücrelerine maruz bırakıldıklarında oksidatif strese, konsantrasyona bağlı toksitenin, DNA defekti ve mitokondriyal hasara sebep oldukları vurgulanmıştır.

Bir başka çalışmada ise, iki farklı boyutta Ag NP (10 ve 100 nm) kullanılmış ve HepG2 hücrelerine maruz bırakılarak hücrelerde proliferasyona, mitojenle aktive edilmiş protein kinazın (MAPK) aktive olmasına ve mRNA'nın yukarı regülasyonunun indüklenmesine neden olduğu bildirilmiştir (Jiao vd. 2014).

A2780, MCF-7 ve MDA-MB 231 ile birlikte diğer hücre çizgileri, 10 ug/mL'lik bir konsantrasyon kullanılarak Ag NP'lere (40 nm) maruz kaldığında değişen toksitenin özellikleri göstermiştir. Hassasiyet seviyeleri değerlendirildiğinde; en yüksek duyarlılık ovaryum kanseri hücrelerinde (A2780) tespit edilmiş, meme kanseri hücreleri (MDA-MB 231) ve MCF-7 hücreleri bu sıralamayı takip ederek daha az duyarlılık göstermişlerdir. 4 nm boyutlarındaki parçacıklarla yapılan tedavinin akabinde U937 hücreleri, en fazla duyarlılığı göstermiş ve dahası hücre büyümesinde düşüş, oksidatif strese ve IL-8p'de de yükselme sağlanmıştır (Jiao vd. 2014).

Başka bir çalışmada, boyutları daha büyük olan nanopartiküllerle yapılan tedaviden sonra U937 hücrelerinin daha düşük hassasiyet gösterdikleri bulunmuştur. Fare makrofajları 10, 20 ve 80 nm boyutlarında olan gümüş-polivinil piroolidon (Ag-PVP)

parçacıkları kullanılarak yapılan bir çalışmada, cinsel yolla bulaşan hızlı yayılabilen bir enfeksiyon çeşidi olan *Chlamydia trachomatis*'e karşı anti-enflamatuvar etki sağlanabileceği gösterilmiştir (Yılma vd. 2013).

Biyolojik yolla sentezlenmiş, boyutu 50 nm olan küresel Ag NP'lerin; kaspaz-3'ün aktivasyonu aracılığıyla oluşan göçü, hücre sağ kalımını, çoğalmasını, VEGF ile sağlanan hücre canlılığını ve Akt fosforilasyonunun retinal endotel hücrelerinde baskılanmasını inhibe ettikleri belirtilmiştir (Kalishwaralal vd. 2009).

2.7.3. Konsantrasyonun etkisi

NP'lerin konsantrasyonu toksisiteyi etkileyen bir başka önemli faktördür. Toksisiteyi indükleyen NP'lerin minimum konsantrasyon seviyesini ve farklı deneklerde varyasyonunu belirlemek önemlidir. Ag NP'ler çoğunlukla konsantrasyona bağlı bir şekilde sitotoksosite gösterir. Park ve diğerleri tarafından 2010 yılında yapılan çalışmada, RAW 264.7 hücreleri üzerine uygulanan 0,2 µl Ag NP'ler hücre canlılığını %20 azaltırken, 1,6 ppm Ag NP'ler canlılığı %40 azalttığı gösterilmiştir. Aynı eğilim, konsantrasyon ve konsantrasyona bağlı olarak hücre canlılığının azaldığı insan karaciğer hücrelerinde de gözlenmiştir (House vd. 2020). Bir sıçan karaciğer hücre hattında (BRL 3A), 25 µl Ag NP'lerin en toksik konsantrasyon olduğu rapor edilmiştir; toksisite, 1 ila 25 µl arasındaki konsantrasyonlarda gözlemlenmiştir. Hücre tipine bağlı olarak, Ag NP'lerin sitotoksitesi önemli ölçüde değişir ve bu, tüketici ürünlerinde ve çevresel etkilerin incelenmesinde dikkate alınmalıdır.

2.7.4. Kaplamaların etkileri

Ag NP'lerin toplanmasını önlemek için, gümüş iyonları arasında elektrostatik etkiyi azaltmak gerekir. Ag(+) iyonları kullanılan bir kaplama malzemesi ile etkileşime girerek Ag(0) oluşturur. Bu sayede elektrostatik etki ortadan kalkmış olur. Kaplanmamış Ag, hücre yaşaya bilirliliğini zamana ve konsantrasyona bağlı bir şekilde önemli ölçüde azaltır. Bu yüzden kaplama, sitotoksositeye karşı koruma sağlamak için kullanılır. Kaplama tipi, organik kaplama ajanları (polisakkaritler, sitratlar, polimerler, proteinler, bitkiler vs.) ve inorganik kapatma ajanları (sülfür, klorür, borat ve karbonat) gibi kapatma ajanı özelliklerine bağlıdır. Kaplama malzemesi, stabilize ederek, belirli bir şekil vererek ve Ag(+)'yı azaltarak Ag NP'lerin yüzey kimyasının korunmasında rol oynadığından, kaplanmış Ag NP'lerin biyoaktivitesi önemlidir.

Ag NP'lerin neden olduğu sitotoksosite, kaplama malzemelerinin tipi de dâhil olmak üzere çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilir. Genellikle toksisite indüksiyonunda yer alan süreçler ROS oluşumunu, antioksidan savunma sistemlerinin tükenmesini ve mitokondriyal membran potansiyelinin kaybını içerir. Ag NP'lerin yüzey kaplaması şekil, kümeleşme ve çözünme oranını etkileyebilir. Bununla birlikte, Ag NP toksisitesinin yöntemi ve kapsamı kaplama malzemelerine bağlı olarak değişir. Örneğin, kitosan türevi polisakkarit kaplı Ag NP'ler, ökaryotik hücrelere toksisite olmaksızın antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Travan vd. 2009).

2.7.5. Topaklanmanın etkileri

NP'lerin çözelti ve ortam şartlarında topaklanma potansiyeli yüksektir. 100

nm'den küçük boyutlarda objeler zayıf kuvvetlerin etkisiyle birleşme eğilimdedir. Topak bu zayıf kuvvetlerin etkisi ile NP'lerin kontrolsüz birleşmesi sonucunda oluşur. Lankoff ve ark. 20-200 nm büyüklüğündeki Ag NP'lerin hücre kültür ortamında topaklandığını ve agregasyon aralığının NP'lerin süspansiyon preparasyonuna bağlı olarak değiştiğini ortaya koydu. Daha bu şekilde hücre kültür ortamında topaklanan Ag NP'lerin yüzey alanları topaklanmadan dolayı azalacağı için hücresel düzeyde daha az etki gösterir (Lankoff vd. 2012).

NP'lerin hücrelerle etkileşimi difüzyon olayına, zayıf kuvvetlere ve aralarında oluşan konveksiyona bağlıdır (Lison vd. 2008). Topaklanma hücre kültür ortamındaki pH, tuz içeriğini ve protein etkileşiminden etkilenir (Vippola vd. 2009). Birçok çalışma NP'lerin proteinle bağlanma kapasitesinin hem NP'lerin hem de proteinin bileşimine bağlı olarak değiştiğini göstermiştir (Ehrenberg vd. 2009).

2.8.Kanser

Kanser, hücrelerin DNA'nın hasarına bağlı olarak hücrelerin mutasyona uğraması nedeniyle hücrelerin kontrolsüz veya anormal şekilde büyümesi ve çoğalmasıdır. Her gün DNA üzerinde 10.000 civarında mutasyon olmasına rağmen bunların çok azı kansere neden olmaktadır. Bunun çeşitli nedenleri vardır. Mutasyona uğrayan hücrelerin yaşam kabiliyeti genellikle normal hücrelere göre daha azdır. Bu nedenle kısa sürede ölürlür. Bunun dışında mutasyona uğrasalar bile mutant hücrelerin çoğunda aşırı büyümeyi önleyen tümör baskılayıcı genler hala bulunur. Bu nedenle hayatta kalan mutant hücrelerin çok azı kanser potansiyeli taşır.

Kanser potansiyeli taşıyan mutant hücrelerinde çoğu insan/hayvan bağışıklık sistemi tarafından yok edilir. Mutant hücreler, değişikliğe uğrayan gen yapılarından dolayı anormal protein oluştururlar. Bu anormal proteinler bağışıklık sistemi tarafından fark edilerek kanserli hücreye karşı duyarlılık kazanmış lenfositlerin oluşmasına ve antikör üretimine, böylece kanserli hücrelerin yok edilmesine neden olur. Böylelikle mutant hücrelerin büyük bölümü bağışıklık sistemi tarafından yok edilmiş olur.

Bağışıklık sistemini zayıflatıcı durumlar kanser hazırlayıcı etmenler olarak bilinir. Bağışıklık sistemi tarafından yok edilmeyen mutant hücreler kontrolsüz şekilde çoğalarak bulundukları dokuyu işgal ederler. Dahası sadece bulunduğu dokuyla sınırlı kalmayıp komşu dokulara yayılım gösterirler. Hatta kan ve lenf dolaşımı aracılığıyla vücudun diğer bölgelerine de taşınabilirler.

İlk evrelerinde kanser alanında gözlenen önemli bir özellik, kitlenin çevre dokulara yapışık ve girift olmasıdır. Benign tümörlerin genellikle sınırları belirginken Malign tümörler çevre dokuya sıkıca yapışık ve sınırları belirsizdir. Genel olarak ilk evrelerde ağrısızdırlar.

2.8.1. Meme kanserleri

Dünya genelinde ve ülkemizde kansere bağlı ölümlerin sayısı giderek artış göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2018 yılı verilerine göre, Türkiye de 210 bin yeni kanser vakası ortaya çıkmış ve 116 bin kansere bağlı ölüm meydana gelmiştir (WHO 2019). Türkiye'de sıklıkla karşılaşılan kanser vakaları, akciğer (%16.5), meme

(%10.6) ve kolon (%9,5) kanserleridir. Meme kanserinin ülkemizde görülme oranı ise yüz binde 43.8'dir (Sağlık İstatistikleri 2017).

Tüm kanser vakaları arasında 2. sırada görülme oranı ve ölüm oranına sahip olan meme kanseri, meme dokusunu oluşturan hücrelerde malignitelerin oluşmasını ifade eder. Meme kanseri memenin farklı bölgelerinde başlayabilir, ancak genellikle süt kanallarının veya kanallara süt sağlayan lobüllerin iç astarında başlar. Ortalama bir gram meme kanseri dokusunun sekiz yılda geliştiği tahmin edilmektedir (Aydıntuğ 2004). Gelişimsel olarak yavaş seyreden meme kanserinde erken tanı önem arz eder.

2.9. Hücre Kültürleri

Ag NP'lerin sitotoksik etkilerini araştırmak amacıyla yapılan çalışmaların çoğu in vitro uygulamalarını içerir. İn vitro uygulamaları insan/hayvan hücrelerinin canlı metabolizması dışında yaşamsal faaliyetlerini gerçekleştirebilen bazı hücre kültürleri ile gerçekleştirilebilir. İnsan/hayvan metabolizması dışında laboratuvar ortamında çoğaltılabilen MCF-7 meme kanser hücreleri ve HBL100 meme epitel hücreleri; hücre kültürleri için iyi birer örnektir.

2.9.1. MCF-7 hücreleri

MCF-7 hücreleri ismini, Dr. Soule ve Michigan Kanser Vakfı'nın adının baş harflerinden alır. 1973 yılında 69 yaşında metastatik evrede rahatsızlığı olan bir kadının plevral efüzyonundan elde edilmiştir. Primer hücre kültürü başlamadan 7 yıl önce hastaya sağ memesine benign bir tümör için ve 4 yıl sonra da sol memesine malign adenokarsinom için mastektomi yapıldı (Soule vd. 1973). Takip eden 3 yıl boyunca hormon tedavisi ve radyoterapi uygulandı (Levenson vd. 1997). Hastalık, adenokarsinomun hormonal durumlarla alakalı olduğunu göstermek için normalinden üç kat daha uzun süre incelendi. Yaygınlaşan nodüler nükslerin belirmesinden iki ay sonra, 1973 yılında laboratuvar araştırmaları için plevral efüzyon örnekleri alındı (Levenson vd. 1997).

MCF-7, günümüzde birçok çalışmada tercih edilen bir meme kanseri hücre dizisidir (Buguley vd. 2011). Antikanser ilaç çalışmalarını da içine alan birçok meme kanseri araştırmalarında uygun hücre hatlarından biri olduğu bilinmektedir (Shirazi vd. 2011). Ayrıca zamanla, diğer meme kanseri hücre dizilerine göre MCF-7 hücreleri hakkında daha fazla literatür bilgisi üretilmiştir (Sweeney vd. 2012).

2.10. Analiz Yöntemleri

2.10.1. Parçacık boyut analizi

NP boyutlarının doğru ölçülebilmesi için düzgün bir şekilde dağılması gerekir. Nano ölçeğe inildikçe etkisi giderek artan zayıf kuvvetler, NP'lerin topaklanmasına başka bir ifade ile birbirine yapışmasına neden olur. Zayıf kuvvetlerin neden olduğu çekim kuvveti 100 nm'nin altındaki boyutlarda ileri düzeydedir. Bu yüzden topak oluşumlarını engellemek zorlaşır. Topak, malzemenin mukavemetinden çok küçük kayma gerilmeleriyle yenilenebilecek zayıf kuvvetlerin bir arada tuttuğu parçacıklar kümesidir. Partikül boyut analizi yapılmadan önce topaklar parçalanarak dağıtılabilir. Ultrasonik

çalkalama veya mekanik karıştırma topaklanmayı dağıtmada çok tercih edilen yöntemlerdir. Boyut analizi çeşitli teknikler ile yapılabilir. Fakat ölçülen parametrelerin çeşitliliğinden dolayı, analiz tekniklerinin genellikle aynı sonucu vermediği bilinmelidir.

Partikül boyutları belirlenirken partiküllerin şekilleri çok önemlidir. Küresel bir partikül için boyut çap olarak verilen tek bir parametreye sahiptir. Fakat partikülün şekli daha karmaşık olduğunda, partikül boyutunu tek bir parametreyle belirlemek zordur. Örneğin, yassı ya da pul şeklindeki bir partikülün boyutunu tanımlamak için çap ve genişliğin birlikte verilmesi gerekir. Şekil daha düzensiz olduğunda, olası boyut parametrelerinin sayısı artar.

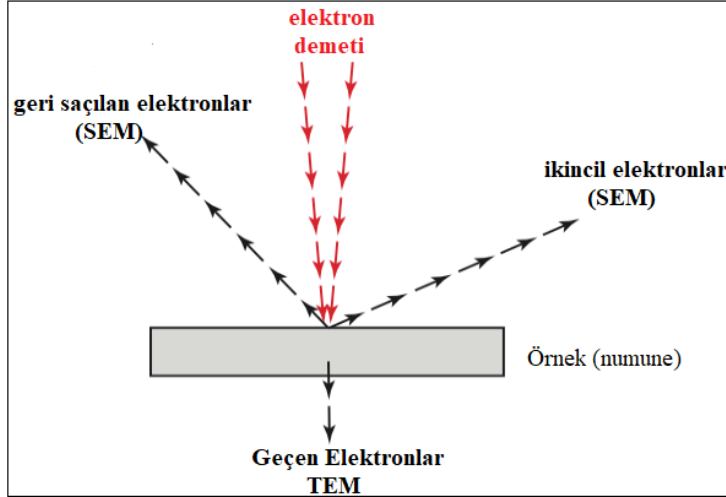
Boyut analizlerinde genel olarak izdüşümü alanı, yüzey alanı, en büyük uzunluk, parçacık alanı ya da en küçük kesit alanı gibi parametreler kullanılır. Tercih edilen yöntemlere göre bu parametrelerin biri ya da birkaçı kullanılabilir. Bu nedenle partikül boyutları belirlenirken kullanılan parametrelerdeki farklılıklara bağlı olarak boyut analizi sonuçlarında küçük farklılıklar olabilir. Partikül boyutlarının belirlenmesinde;

- Elek Analizleri,
- Mikroskopik Görüntü Analizleri,
- Sedimentasyon Metotları,
- Elektriksel Alan Algılanması,
- Lazer Difraksiyon Teknikleri,
- Adsorpsiyon Teknikleri,
- Dinamik Işık Saçılımı gibi yöntemler tercih edilebilir.

2.10.2. Mikroskopik görüntü analizi

Mikroskop, gözle görülemeyecek kadar küçük nesnelerin görüntülenmesini sağlayan alettir. Başta sadece görünür ışığın kullanıldığı, birkaç mercekten oluşan bu sistem, mikro ölçekte görüntü alabilmesinden dolayı mikroskop olarak adlandırılmıştır. Görünür bölge ışınlarını kullanıyor olmasından dolayı maksimum ayırt edebilme yeteneği mikro düzeyde kalmıştır. Zamanla De Broglie dalga tanecik hipotezi ile farklı ışın kaynaklarının kullanıldığı daha fazla büyütme oranına sahip olan mikroskoplar geliştirildi.

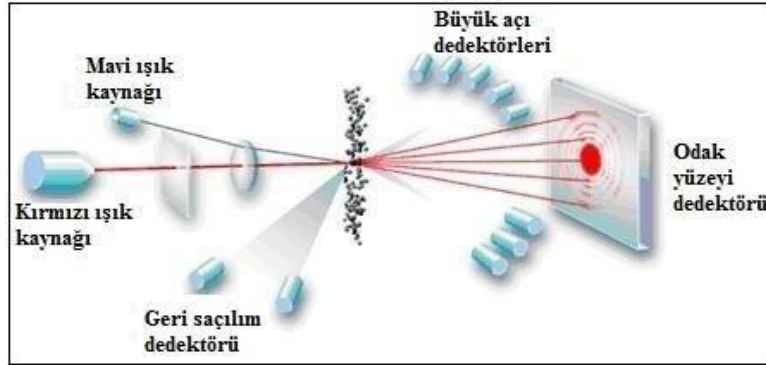
Büyütme oranı ile ışın kaynağı olarak kullanılan elektromanyetik dalganın dalgaboyu arasında ters bir ilişki vardır. Dalgaboyu azaldıkça büyütme oranı artar böylelikle daha küçük boyutlardaki objeler görünebilir hale gelir. Elektron mikroskopları elektronların hedefe yönlendirilmesi ile bu kurala uyar. Elektron mikroskopları ile günümüzde nanometre mertebesinde görüntü almak mümkün hale gelmiştir. Elektron mikroskoplarının Geçirmeli Elektron Mikroskobu (TEM), Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Düşük Enerjili Elektron Mikroskobu (LEEM) vs. olmak üzere çeşitleri vardır.



Şekil 2.11. Elektron mikroskopunda elektronların numune ile etkileşimi

2.10.3. Lazer ışını kırınımı tekniği

Nanoparçacıkların parçacık boyut dağılımları lazer kırınım tekniği ile belirlenebilir. Lazer ışınının difraksiyonuna dayanan yöntemde lazer ışını nanoparçacığa çarparak kırılır ve kırılma açısı dedektör tarafından belirlenir (Şekil 2.1.). Kırılma açısı ile partikül boyutu arasında matematiksel bir ilişki vardır. Bu ilişkiye göre büyük boyutlu parçacıklar için Fraunhofer ve küçük boyutlu parçacıklar için Mie teorisi tercih edilir (Denklem 2.6.). Bu sayede kırılma açısı verileriyle parçacık boyutlarına ulaşılır.



Şekil 2.12. Lazer kırınım tekniği ile parçacık boyut analizinin şematik gösterimi

Denklem 2.6'ya göre, bir NP'ün karakteristik boyutu (r) ile dalgaboyu (λ) orantılı olarak ilişkilendirilir.

$$x = \frac{2\pi r}{\lambda} \quad (2.6.)$$

Rayleigh dağılımı, elektromanyetik ışınların, fotonun dalgaboyundan daha küçük taneciklerin neden olduğu saçılımı ifade eder ($x \ll 1$). x değeri 1'den çok daha küçük olması durumunda bu Rayleigh saçılımını ifade ederken bu değer büyüdükçe, küresel parçacıklar tarafından rasgele bir x parametresinde Mie teorisi (Mie 1908) ile açıklanır. Küçük x değerleri için Mie teorisi Rayleigh tahminine indirgenir.

Bir ışık ışını için gerçekleşen Rayleigh dağılımının miktarı ışığın dalgaboyuna ve parçacık boyutuna bağlıdır. Dağılan ışığın yoğunluğu, parçacık boyutunun altıncı kuvveti ile doğru orantılı, dalgaboyunun ise dördüncü kuvveti ile ters orantılı olarak değişir (Clays ve Persoons 1991). Tek bir küçük parçacık tarafından, dalga boyu λ ve yoğunluğu I_0 olan polarize olmayan bir ışıktan saçılan ışığın yoğunluğu

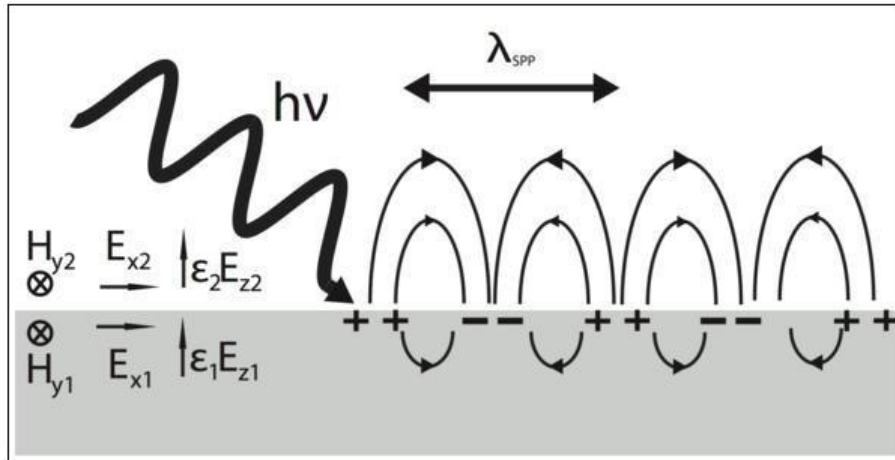
$$I = I_0 \frac{1 + \cos^2 \theta}{2R^2} \left(\frac{2\pi}{\lambda} \right)^4 \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right)^2 \left(\frac{d}{2} \right)^6 \quad (2.7.)$$

şeklinde ifade edilir (Barnett, 1942). Burada R parçacıktan uzaklığı, θ dağılım açısını, n parçacığın kırıcılık endeksini, d ise parçacığın çapını göstermektedir.

2.10.4. UV-Vis spektrofotometresi

Ultraviyole ışınları elektromanyetik spektrumun 200-380 nm, Visible (görünür bölge) ışınları ise 380-800 nm dalgaboyu aralığına karşılık gelir. UV-Vis spektrofotometresi adından da anlaşılabilceği gibi elektromanyetik spektrumun UV ve görünür bölgesine karşılık gelen ışınları analiz süreçlerinde kullanır. Spektrofotometrede optik geçirgenlik, optik yansımaya ve optik soğurma niceliklerinin şiddetleri dalgaboyuna bağlı olarak ölçülebilir. Işın kaynağı olarak döteryum ve tungsten lambalar bulunur. Lambalardan gelen polikromatik ışınlar giriş yarığından geçtikten sonra paralelleştirici merceğe/aynaya gelir ve buradan prizmaya yönelir. Prizmadan çıktıktan sonra monokromatik hale gelen ışınlar odaklama merceği/aynası ile çıkış yarığına yönlendirilir. İstenilen dalgaboyunda elde oluşan monokromatik ışınlar referans ve örnek çözeltiye yönlendirilir. Son olarak referansa göre değişimlerinin gözlemlendiği UV-Vis Spektrofotometresinde her bir dalgaboyuna bağlı soğurma, yansımaya ya da geçiş pikleri elde edilir.

UV-vis absorbans spektrumları genellikle nanopartikül araştırmalarında yüzey plazmon rezonanslarının belirlenmesi için kullanılır. Yüzey plazmon rezonansı gelen elektromanyetik ışınların dalgaboyundan çok daha küçük boyuttaki NP'leri bu ışınlarla etkileşime girerek iletim bandındaki elektronlarının uyarılması ile oluşur. SPR, NP sentezi ve NP boyutu hakkında bilgi içerir.

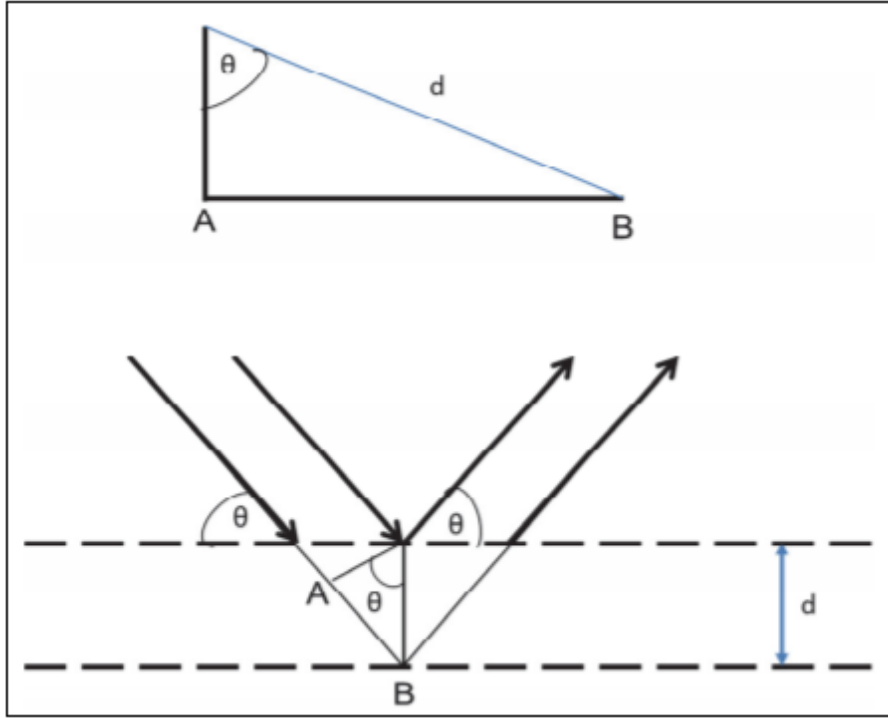


Şekil 2.13. İki farklı malzemenin ara yüzeyindeki yüzey plazmonlarının şematik gösterimi

SPR'ları aynı fazda salınan elektron maksimum genlikte salınımlarıdır. Bu salınımlar iki materyalin etkileşimi sırasında dielektrik fonksiyonunun reel kısmının işaretinin değiştiği yerlerde oluşur. Bu duruma örnek metal ile dielektrik yüzeyler arasında olabileceği gibi tez çalışmamızda yeşil sentez esnasında Ag atomları ile bitki özütleri arasında da olabilir. Yüzey plazmonları bulk (hacim) plazmonlarına göre daha düşük enerjiye sahiptirler. Bulk plazmonları elektron gazının (ya da plazma) hacmi içinde pozitif yüklü çekirdeklerin boylamsal elektron salınımları ile kuantize olmasıdır (Wikipedia, b.t.).

2.10.5. X ışını difraktometresi (XRD)

X ışını kırınımı (XRD) doğal ve üretilmiş materyallerin kimyasal bileşimi ve kristal yapısı hakkında ayrıntılı bilgiler sunan çok yönlü ve tahribatsız bir yöntemdir. Bu yöntem yalnızca nano karakterizasyon aracı olarak tanımlanmaz; ancak nano düzeydeki tüm uygun uzamsal çözünürlükler elde edilebilir dolayısıyla da nano parçacıklar da XRD ile analiz edilebilir.



Şekil 2.14. İki atomik düzlem arasındaki x ışını kırınımı

λ dalgaboyuna sahip bir monokromatik x ışını demeti, θ açısıyla bir kristal materyal üzerine yönlendirildiğinde, x ışınının kırınımı yalnızca ardışık düzlemlerden yansıyan ışınların kat ettiği mesafe, ışının dalgaboyunun tam (n) katları kadar olduğunda gerçekleşir. Sir W.L. Bragg tarafından 1922 yılında geliştirilen bu kural, bragg yasası olarak bilinir ve X ışını kırınımı için temel yasadır. Bragg Yasası aşağıda verilen denklemle formüle edilebilir (Denklem 2.8.).

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad (2.8.)$$

Burada; λ x ışınının dalgaboyunu, θ kırılma açısını, n pozitif bir tam sayıyı, d örgü mesafesini vermektedir.

X-ışını difraksiyonu ile kristalin bileşiklerin kalitatif olarak tanımlanması çok kolaydır. Bu uygulama her kristal maddenin kendine özgü bir X-ışını difraksiyon şekli vermesine dayanır. Bilinmeyen madde için elde edilen şekille aynı şekli veren referans belirlenerek (kıyaslanarak) maddenin ne olduğu saptanır. Difraksiyon verilerinden bazen bir karışımdaki kristalin bir maddeye göre kantitatif bilgileri de alınabilir.

XRD, tüm sentezlenmiş ve doğal materyal tiplerinin mikro ve kristal yapıları ile kimyasal bileşimleri hakkında ayrıntılı bilgiler sağlayan çok yönlü ve tahribatsız bir yöntemdir. Materyallerde x ışını kırınımı sadece fazların tanımlanmasından biriken katmanların kalınlık ölçümüne kadar biçim değişim miktarını incelemeye kadar çok fazla alanda kullanılmaktadır. Diğer uygulamalar arasında polikristallerin tanecik büyüklüğü ile rezidüel gerilimin ölçümü de vardır; gerinim ölçümünde belli bir kristalografik pikin düzlemler arası mesafesi, atomik ölçekte bir ekstensometre (uzamaölçer) olarak kullanılır.

Pik pozisyonlarına bakarak kristal hücrenin geometrisini öğrenmek ve numunelerde mevcut kristal fazların tanımlamasını yapmak mümkündür. Piklerin şiddeti, hücredeki atomları ve bu atomların pozisyonu ile öncelikli yönelimlerini belirlemeyi sağlar. Piklerin şekli ve asimetrisi, kristal alanların ortalama boyutu hakkında bilgi içerir. Numune rotasyonuna bağlı pik kayması, numunedeki rezidüel gerilim ile ilişkilidir. Standart uygulama alanları şöyledir:

- Çevresel analiz: kayalar, topraklar, killeri, mineraller, ince tozlar, serbest silisyum, asbest ve lifler
- Çimento, petrol, cam, tekstil, elektronik, nükleer endüstrisi
- Katalizör çalışmaları
- Polimerler, patlayıcılar, seramik materyaller ve yeni materyaller
- Tarım, biyoloji ve kimya bilimleri
- Farmasötik ve kozmetik
- Adli tıp bilimleri
- Arkeoloji, arkeometri...

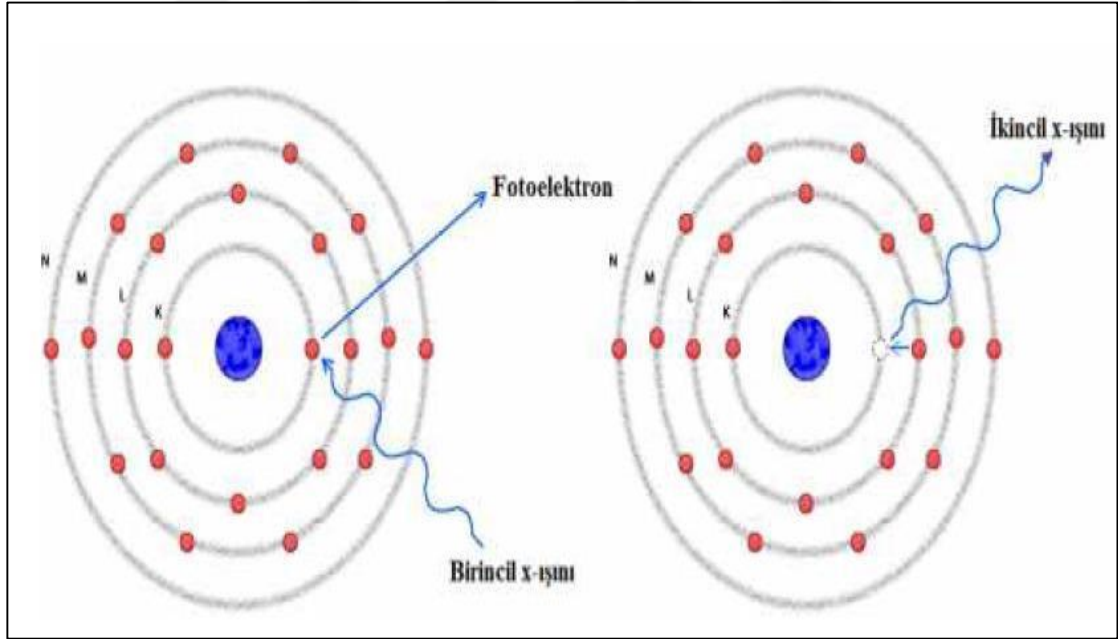
Son yıllarda nanomalzemelerde XRD kullanımı gelişmiştir ve spesifik uygulamalar yayınlanmıştır. XRD özellikle tek başına veya polimer, sıvı ya da biyomalzeme gibi farklı matrislerin içinde dağılmış nano tozların analizinde faydalıdır. Ayrıca düşük kristallığa sahip karbon materyallerin nano yapıları da yüksek enerjili x ışını kırınımı kristal formların kimyasal halleri kullanılarak analiz edilmiştir. Kristal/amorf oranı nano toz karakterizasyonu için de çok önemlidir. Örneğin tetrapod yapısındaki nanomalzemeler ve benzer yapılar yaygın olarak XRD ile analiz edilir. Çok miktarda materyal gereklidir ve nano düzeyde tüm lateral çözünürlükler sağlanabilir.

2.10.6. X ışını floresans spektroskopisi

Yüksek hızda anoda doğru yönlendirilen elektron çekirdeğin coulomb alanına girdiğinde enerjisinin bir miktarını kaybederek yolundan sapar. Bu durum elektronun ivmesinin değişmesine neden olur. Bu ivmelenme ile değişen enerjiye eşit büyüklükte elektromanyetik ışınım yapacaktır. Bu ışınım belirli yörüngelerde olmadığı için düzensiz enerji aralığındadır ve sürekli spektruma sahiptir. Bu şekilde elektronları çekirdek yakınlardan geçerken yayınlanan fotona bremsstrahlung (frenleme) x ışını denir (Şekil

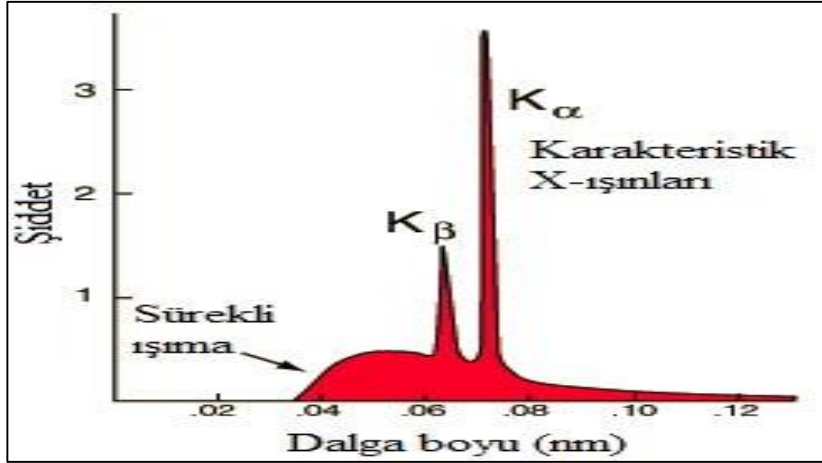
2.15). Diğer bir x ışını oluşum şekli ise, anoda yönlendirilen elektronun yolculuğu esnasında çekirdek yerine iç yörüngelerdeki elektronlar ile etkileşimi sonucunda oluşur. Etkileştiği elektronun uyarılması ile oluşan yörünge hareketliliği karakteristik x ışını yayınlanır. Karakteristik x ışınının enerjisi enerji düzeylerindeki değişim kadardır ve anot metalinin türü ile alakalı sabit bir x ışını enerjisi elde edilir.

XRF cihazında kalitatif, yarı kantitatif ya da kantitatif analizler yapılabilir. Kalitatif analizler bir veri kitabı üzerinde bulunan değerlere bağlı olarak numunenin içerisindeki elementlerin tespiti için kullanılır. Kantitatif analizlerde ise, numuneyi oluşturan konsantrasyonları ve bileşenleri tanımlamak için kullanılır. Yarı kantitatif analiz ise temel parametreleri kullanarak standart numune takımlarına ihtiyaç duyulmaksızın teorik olarak şiddetin belirlenmesi temeline dayanır. Standart numune takımı söz konusu olmadığı için doğruluğu hassasiyeti düşük bir yöntemdir. Kantitatif analiz, çözelti konsantrasyonunu yüksek hassasiyetle ölçerek kesin ve net bir şekilde sonuç veren bir yöntemdir. Numune içinde analizi yapılan element dışında kalan diğer elementlere matris denir. Numune içinde analiz edilecek elementin karakteristik x ışını şiddetini matrisler azaltıcı ve artırıcı yönde etki yaparlar. Matris etkisi adı verilen bu durum çalışma eğrisinde sapmalara bundan dolayı hatalara neden olur. Matris etkisinden dolayı oluşan hataları önlemek için kantitatif analizler; ince film yöntemi, standart ekleme-çıkarma yöntemi, matris seyreltme yöntemi, iç standardizasyon yöntemi, karşılaştırma standart yöntemi, saçılan X ışınlarıyla standardizasyon yöntemi, deneysel düzeltme ve matematiksel düzeltme yöntemleri şeklinde sınıflandırılabilir.



Şekil 2.15. Floresan X-ışını oluşumu

XRF’de numunelerin hazırlanması yüksek hassasiyet gerektiren bir iştir. Çünkü numune hazırlama metotları doğrudan analiz sonuçlarını etkiler. İdeal bir numunenin, homojenlik, tekrar oluşturabilirlik, uygun tane boyutu, yüzey düzensizliklerinden arınmışlık ve belli kalınlığa sahip olma gibi özellikleri taşıması gerekir. XRF için eritiş (füzyon) numune, sıvı numune, toz pelet numune ve az miktardaki toz numuneler için mylar film ile sarım olmak üzere dört farklı numune hazırlama yöntemi mevcuttur.



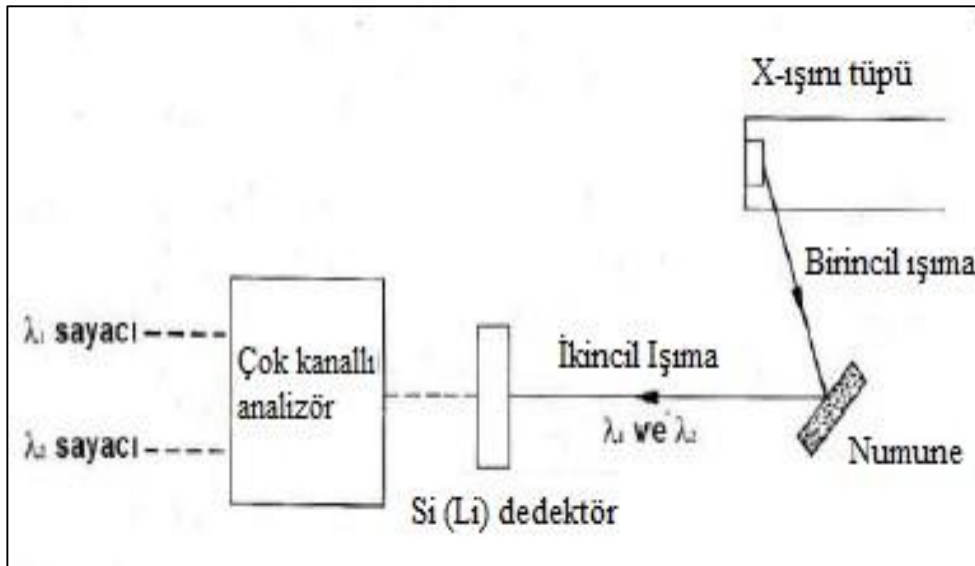
Şekil 2.16. Bir molibden hedefinde X-ışını tüpünde 35 keV’ dan elde edilen X-ışınlarının spektrumu

Şekil 2.16 da molibden hedefinde X ışını tüpünde 35 KeV ile elde edilen x ışını spektrumu verilmektedir. Şekilde verildiği üzere K_{α} ve K_{β} tabakasından gelen karakteristik x ışınları elde edilmektedir.

Günümüzde farklı alanlardaki uygulamalara yönelik çeşitli XRF spektrofotometresi kullanılmaktadır. Bu XRF spektrofotometrelerine enerji ayırlı X-ışını floresan spektrometresi (EDXRF), dalga boyu ayırlı X-ışını floresan spektrometresi (WDXRF) en bilinen iki örnektir.

2.10.6.1. Enerji ayırlı XRF

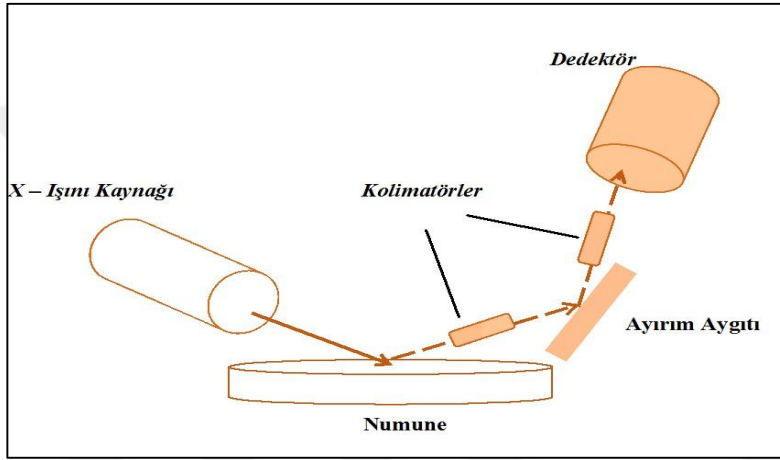
Enerji ayırlı XRF’de, dalgaboyuna bağlı açılarda ayırım sağlayan bir kristal bulunmamaktadır. Bu yüzden, örnekler (Multi Channel Analyser, MCA) ve Silikon lityum dedektör ile enerjiye bağlı olarak tespit edilir. Dedektörler, gelen ışının enerjileri ile orantılı sinyaller üretir. Çok kanallı analizör ise bu sinyalleri dalga boyu veya enerji olarak değerlendirir (Şekil 2.17.).



Şekil 2.17. Enerji ayırlı XRF spektrometresinin şematik görünümü

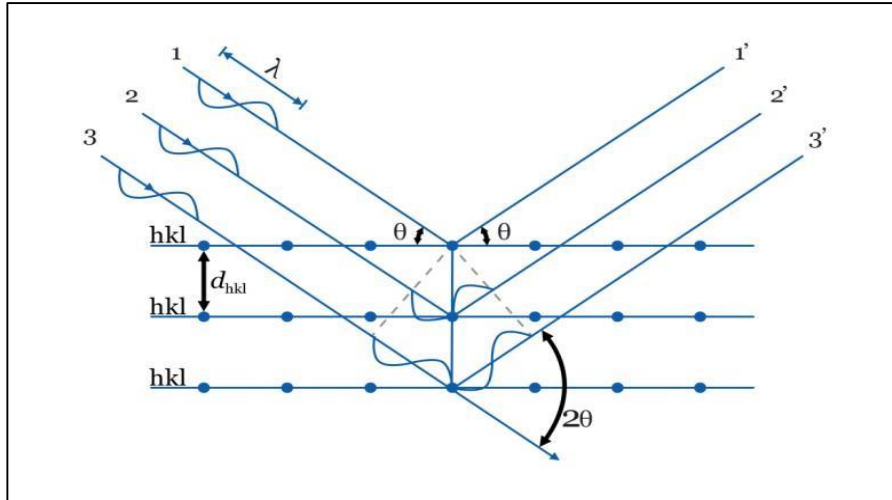
2.10.6.2. Dalga boyu ayırmalı XRF

Elemental analiz için kullanılan bir XRF yöntemidir (Şekil 2.18.). X ışını üreten bir tüpte uyarılan foton, anota çarpar ve atomun iç kabuğundaki elektronlardan birini yörüngesinden çıkararak atomu uyarır. İç yörüngede gerçekleşmesi nedeniyle yüksek enerjili bir yörüngeden bir elektron düşük enerjili orbitaldeki boşluğa geçer. İki orbital arasındaki enerji farkı karakteristik X-ışını adını alan foton yayınlanmasına neden olur. Karakteristik x ışınının enerjisi bu iki yörünge arasındaki enerji farkına eşittir. XRF cihazında X ışınları fiziksel olarak ayırma aygıtı olarak tanımlanan kristaller yardımıyla dağıtılır. Bu dağıtım dalgaboylarıyla alakalı açılardadır. Kolimatör aracılığıyla ise gelen ışınların toplanması sağlanır. Ayırma aygıtından farklı açılarda yansıyan ışın, detektörde toplanarak fotonlar sayılır.



Şekil 2.18. WDXRF sisteminin şematik görünümü

Katı örneklerde numune haznesi deney süresince hava molekülleri tarafından oluşabilecek ölçüm hatalarını önlemek amacıyla vakum ortamında tutulur. Sıvı örneklerde ise cihaz, helyum atmosferine alınarak analiz yapılır. Analiz sonucunda, şiddet-difraksiyon açısı (2θ) eğrisi elde edilir. Bu eğri, Bragg yasası yardımıyla incelenir (Şekil 2.19.).



Şekil 2.19. Düzlemler arası mesafesi (d) bilinen kristalde, numunedeki elementlerden gelen karakteristik ışınların difraksiyonu

Sonuçlar kalitatif olarak inceleniyorsa numuneler X-ışınları data (veri) kitabındaki verilerle karşılaştırılarak örneklerin içerdiği elementler bulunur (Çizelge 2.1.). Kantitatif olarak incelenecekse elde mevcut standart bir numune takımı olmalıdır.

Çizelge 2.1. Bazı elementlere ait foton enerjileri

Element	$K\alpha_1$	$K\alpha_2$	$K\beta_1$	$L\alpha_1$	$L\alpha_2$	$L\beta_1$	$L\beta_2$	$L\gamma$	$M\alpha_1$
3 Li	54.3								
4 Be	108.5								
5 B	183.3								
6 C	277								
7 N	392.4								
8 O	524.9								
9 F	676.8								
10 Ne	848.6	848.6							
11 Na	1,040.98	1,040.98	1,071.1						
12 Mg	1,253.60	1,253.60	1,302.2						
13 Al	1,486.70	1,486.27	1,557.45						
14 Si	1,739.98	1,739.38	1,835.94						
15 P	2,013.7	2,012.7	2,139.1						
16 S	2,307.84	2,306.64	2,464.04						
17 Cl	2,622.39	2,620.78	2,815.6						
18 Ar	2,957.70	2,955.63	3,190.5						
19 K	3,313.8	3,311.1	3,589.6						
20 Ca	3,691.68	3,688.09	4,012.7	341.3	341.3	344.9			
21 Sc	4,090.6	4,086.1	4,460.5	395.4	395.4	399.6			

2.10.6.3. XRF yönteminin avantajları ve dezavantajları

Çok sayıda elementin dakikalar içinde hızlı bir şekilde analiz edildiği XRF yöntemi ile kalitatif, yarı kantitatif ve kantitatif analizler elemental olarak yapılabilir. Numune hazırlama gereksiniminin az olması analiz esnasında numunenin herhangi bir şekilde zarar görmemesi ve dolayısıyla tekrarlanabilir bir analiz olmasıyla avantajlara sahip bir yöntemdir. Ayrıca hassasiyeti doğruluğu gayet iyidir. Ancak, bu yöntemin bazı dezavantajları da söz konusudur. Alüminyum (Al), Oksijen (O), Azot (N) gibi hafif elementlerin analizinde yeterince iyi sonuç vermemektedir, ayrıca yöntemin maliyetli oluşu ve analiz sonuçlarının elementler arası etkileşimden etkilenmesi bu yöntemin dezavantajlarındandır.

2.10.7. MTT testi

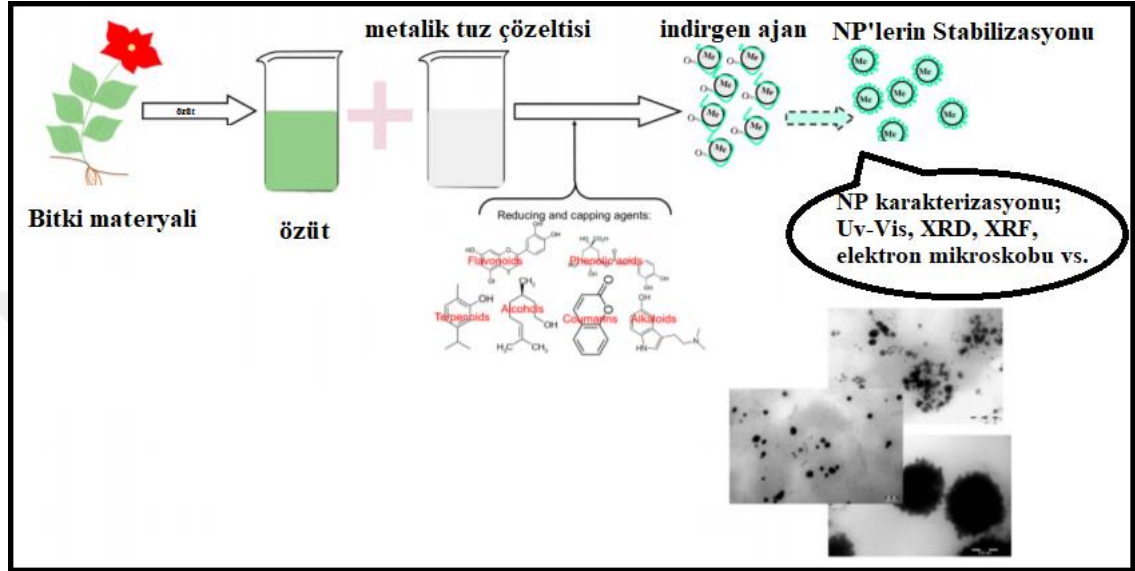
Hücre kültür çalışmalarında genellikle tercih edilen bir yöntem olan Metiltiazol difenil tetrazolyum (MTT) hücre proliferasyon testlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. MTT testi temel olarak proliferasyona uğrayan hücrelerin artan dehidrojenaz enzim aktivitesinin tetrazolyumla etkileşimi sonucunda sarı olan renginin zamanla formazon boya üretmesi ile mor renge dönüşümüne dayanır. ELİSA ya da spektrofotometre yardımıyla analiz edilmesine dayanır. ELİSA ya da spektrofotometrede okunan absorbans şiddeti proliferasyon hakkında bilgi verir. Hücre kültür çalışmalarında MTT tek başına çözülmez, bu nedenle dimetil sülfoksit (DMSO) gibi çözücülerin kullanılmasını gerektirir[32]. MTT dışında tetrazolyum tuzlarının kullanıldığı 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -5- (3-karboksimetoksifenil)- 2-(4 -su l fofen i l)- 2H-tetrazolyum (MTS), 2,3-Bis(2-metoksi4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolyum (XTT), 2-(4-iyodofenil)-

3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)- 2H-tetrazolyum (WST1) gibi test yöntemleri de vardır.



3. MATERYAL VE METOT

NP'lerin sentezinde bitkilerin kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur bu çalışmalarda benzer deneysel süreçler takip edilmektedir (Şekil 3.1). Benzer yöntemlerle karakterize edilen NP'ler çeşitli uygulama alanlarında araştırılmaktadır. Bu tez çalışmasında da benzer prosedürler takip edilmiştir.



Şekil 3.1. NP'lerin yeşil sentez süreçleri ve prosedürleri (Fierascu vd. 2019)

3.1. Bitki Özütlerinin Hazırlanması ve Nanopartikül Sentezi

SM tohumları aktardan temin edilmiş olup ege bölgesinde yetiştirilen SM bitkilerinden elde edildiği öğrenilmiştir. CA bitkisi ise Antalya ilinin Aksu ilçesinde yetiştirilmiş biber bitkisinden olgunlaşmış meyveler toplanarak elde edilmiştir (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Tezde kullanılan bitkiler; deve diken tohumu (solda), biber meyvesi (sağda)

Biber meyveleri topanıp yıkanmasının ardından tohumları ayrılarak gün ışığından uzak ve oda şartlarında kurutulmuştur (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Biber meyvesi kurutulma şekli

CA meyvesi ve SM tohumları doğrayıcı ile öğütülerek partikül büyüklüğü 0,50-1,00 mm arasında değişen tozlar haline getirilmiştir. Bu tozlar özüt eldesinde kullanılmıştır (Şekil 3.4.).

SM tohumları 200 ml distile suya 5 gr eklenerek manyetik karıştırıcıda 90 °C’de 30 dakika karıştırıldı. Sonrasında 10 dakika dinlendirildikten sonra filtre kağıdından geçirilerek SM özütü hazırlandı. Benzer süreçler CA özütleri içinde tekrarlandı. Ag NP’lerin elde edilmesi için gerekli deneysel ve laboratuvar ihtiyaçları İstanbul Gelişim Üniversitesi Laboratuvarlarında yapılmıştır.



Şekil 3.4. Kurutulan bitkilerin öğütüldükten sonraki toz halleri; deve diken tohumu (solda), biber meyvesi (sağda)

3.2. Ag NP'lerin UV-Vis Absorbans Spektrumları

Hazırlanan bitki özleri ile distile su içerisinde çözülmüş, 4 mM, 2 mM ve 1 mM'lık AgNO_3 çözeltisi 1:1 oranında karanlık ortamda karıştırıldı. 24 saat indirgenme süresinin ardından absorbans spektrumları PGENERAL-T80+ marka/model UV-Vis spektrofotometresinde 0,5 nm'lik adımlarla 300-800 nm aralığında, Yıldız Teknik Üniversitesi Merkezi Laboratuvarlarından hizmet alımı yapılarak elde edildi.

3.3. Nanopartikül Görüntüleri

TEM görüntülerinin eldesi için özüt- AgNO_3 karışımı içerisinde sentezlenen nanopartiküller mikropipetle alınarak grid üzerine damlatıldı. 3 gün beklendikten sonra kuruduğu düşünülerek TEM görüntüleri alınmak üzere randevu alındı. TEM görüntüleri Eskişehir Osman Gazi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (ARUM)'nden hizmet alımı yapılarak elde edildi. TEM görüntüleri alınırken karbon grid'ler kullanıldı. Görüntüler 100 kV enerjide, 40000-215600 kat büyütme yapılarak elde edildi.

TEM görüntülerinden nanopartiküllerin küresel formda olduğu tespit edildi. Bu durum göz önünde bulundurularak nanopartikül boyutları çap verisi olarak kaydedildi. Her nanopartikül çözeltisinden elde edilen görüntülerde en az 100 nanopartiküle ait boyutlar manuel olarak elde edildi.

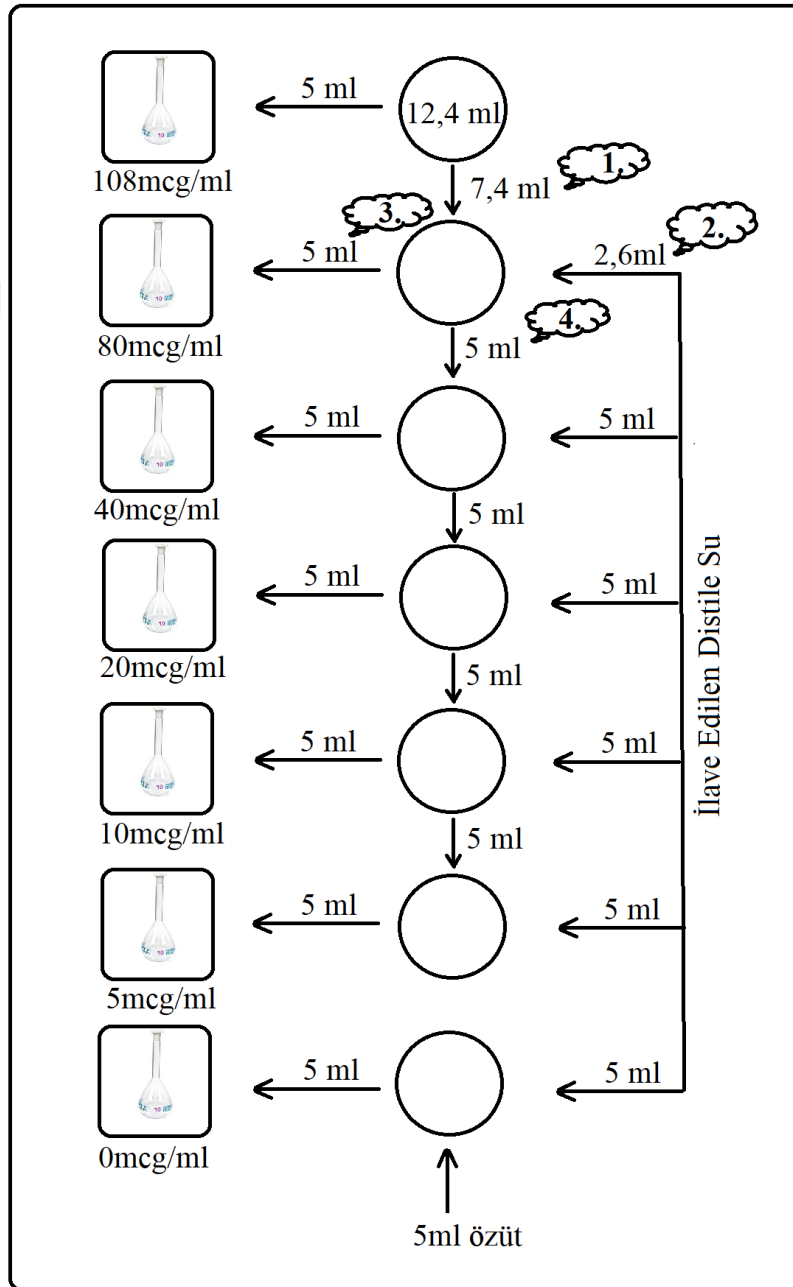
Ayrıca nanopartiküllerin çevresini ölçen ve matematiksel olarak nanopartiküllerin boyutlarına TEM görüntüleri üzerinden ulaşan MATLAB programı yazıldı. Kaynak kodları ekte paylaşıldı. Bu kaynak kodları C++'da derlenerek EXE dosyası halinde günlük kullanılabilir hale getirildi.

3.4. X-Işını Difraktometresi (XRD)

CA ve SM özütleri içerisinde farklı tuz konsantrasyonlarında sentezlenen koloidal nanopartiküller etüv içerisinde 30 $^{\circ}\text{C}$ 'de 3 günde kurutuldu. Kurutma işleminin ardından

0,5 mm çapındaki elekten geçirilerek toz forma getirildi. Kurutulan AgNP'ler hizmet alımı yapılan YTÜ Merkez Laboratuvarı'nda PANalytical X'Pert PRO XRD cihazında, dalgaboyu 0,154187 nm olan monokromatik Cu K α ışınları kullanılarak 0,020 adımlarla elde edildi. 2 θ aralığı 100 ve 800 aralığındadır.

3.5. Hücre Kültürleri ve MTT Canlılık Testleri



Şekil 3.5. 1 mM Ag molar konsantrasyonundan seyreltme işlemleri

Ag NP'lerin konsantrasyonlarını belirlemek için Şekil 3.5.'daki süreçler takip edilmiştir. Başlangıçta alınan 12,4 ml 1 mM Ag NP çözeltisinde ml'de 108 μ g Ag bulunur. Bu karışımın 5 ml alınarak sitotoksisite deneyinde kullanılır. Kalan 7,4 ml'lik

kısma 2,6 ml distile su eklenerek seyreltme işlemi yapılmıştır. Bu yeni karışımın 5 ml'si yine sitotoksisite deneyinde kullanılmak üzere ayrılmıştır. Kalan karışıma 5 ml distile su eklenerek seyreltmeye devam edilmiştir. Şekil 3.5'da gösterildiği üzere 1, 2, 3 ve 4 nolu işlem sırası takip edilerek sırasıyla 108, 80, 40, 20, 10, 5 ve 0 µg/ml konsantrasyonlarında 5ml lik örnekler elde edilmiştir. 0 µg/ml konsantrasyonunda Ag NP bulunmamakta ve 1:1 oranında distile su ile seyreltilmiş özüt bulunmaktadır. Hazırlanan örnekler MTT testinde kullanılmış ve her örnekten 100 µl alınarak sitotoksisite testleri yapılmıştır.

96 kuyulu plaka içine MCF-7 hücre hattı her kuyuda 10^5 hücre/ml olacak şekilde ekildi. 24 saat 37°C CO_2 'li inkübatörde hücreler tutunmaya bırakıldı. 24 saat sonunda numuneler 3'er tekrar olacak şekilde kuyulara ekildi. Numuneleri kuyularda 24 saat hücrelerle etkışime bırakıldıktan sonra MTT canlılık testi yapıldı. Pozitif kontrol olarak DMSO çözeltisi, Negatif kontrol olarak sadece DMEM medium kullanılmıştır. Fotometrik okuma: 570nm'de yapılmıştır. Sonuçlar negatif kontrol %100 canlı kabul edilerek hesaplanmıştır.

MTT testleri YTÜ Merkezi Laboratuvarlarından hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir.

3.6. Ag NP'lerin Radyo-Duyarlaştırıcı Etkileri

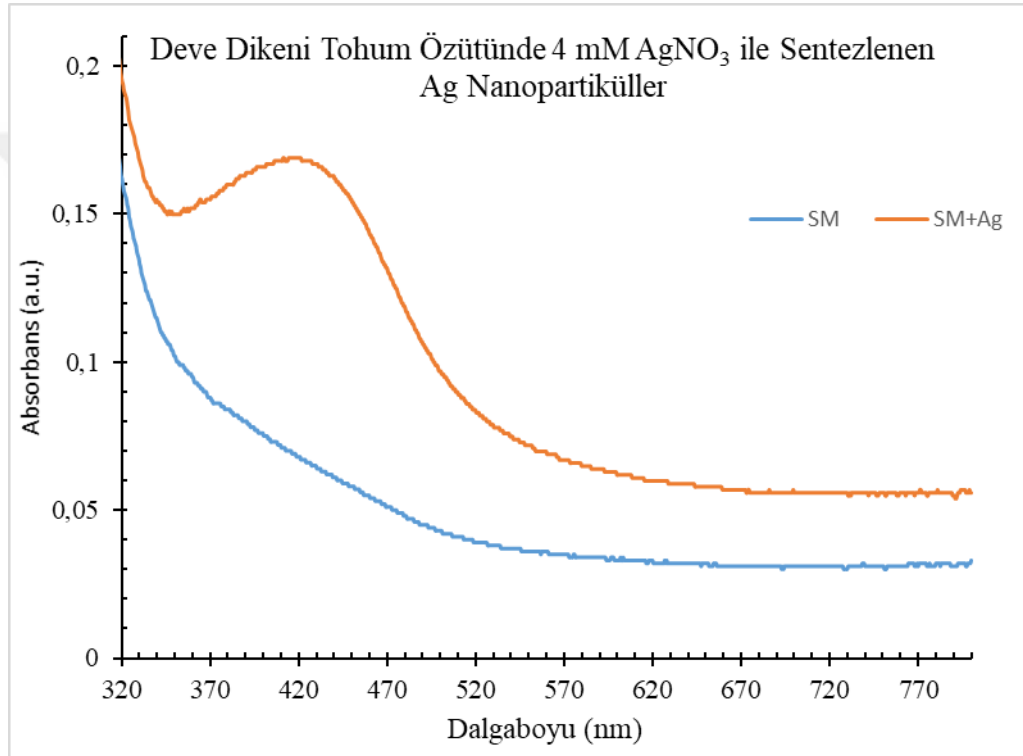
MCF-7 hücreleri, % 10 Fetal sıgır serumu, penisilin, L-glutamin ve streptomisin ile DMEM ortamında büyütüldü. 6 MV X-ışını üreten ELEKTA marka doğrusal hızlandırıcı (LINAC) cihazı kullanılmıştır. 15x15 cm alan boyutu ve 80 cm SSD alınarak uygulama yapılmıştır. IC50 konsantrasyonlarında 100 µg Ag NP'lerle 1, 2 ve 4 saat inkübe edilmiş MCF-7 hücreleri 1 Gy/dk şeklinde 96 kuyulu plate'lerde 6 Gy iyonizan radyasyon ile bolus kullanılarak ışınladı. Kontrol grubu olarak alınan MCF-7 hücrelerine 100 µl distile su eklenerek elde edilmiştir. Bitki özütlerinin radyo-duyarlılıkları için 100 µl 1:1 oranında seyreltilmiş özüt inkübe edilmiştir. Her bir bitki özütünden elde edilen nanopartiküller için benzer deneysel süreçler uygulanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Ag NP'lerin UV-Vis Absorbans Spektrumları

UV-Vis ölçümleri nanopartiküllerin varlığı, yaklaşık olarak hangi boyutta dağıldığı ve şekilleri hakkında bilgiler içerir. UV-vis ölçümleri ile nanopartiküllerin şekli ve boyut dağılımları ile alakalı karakteristik plazmon bandı oluşumu gözlenir.

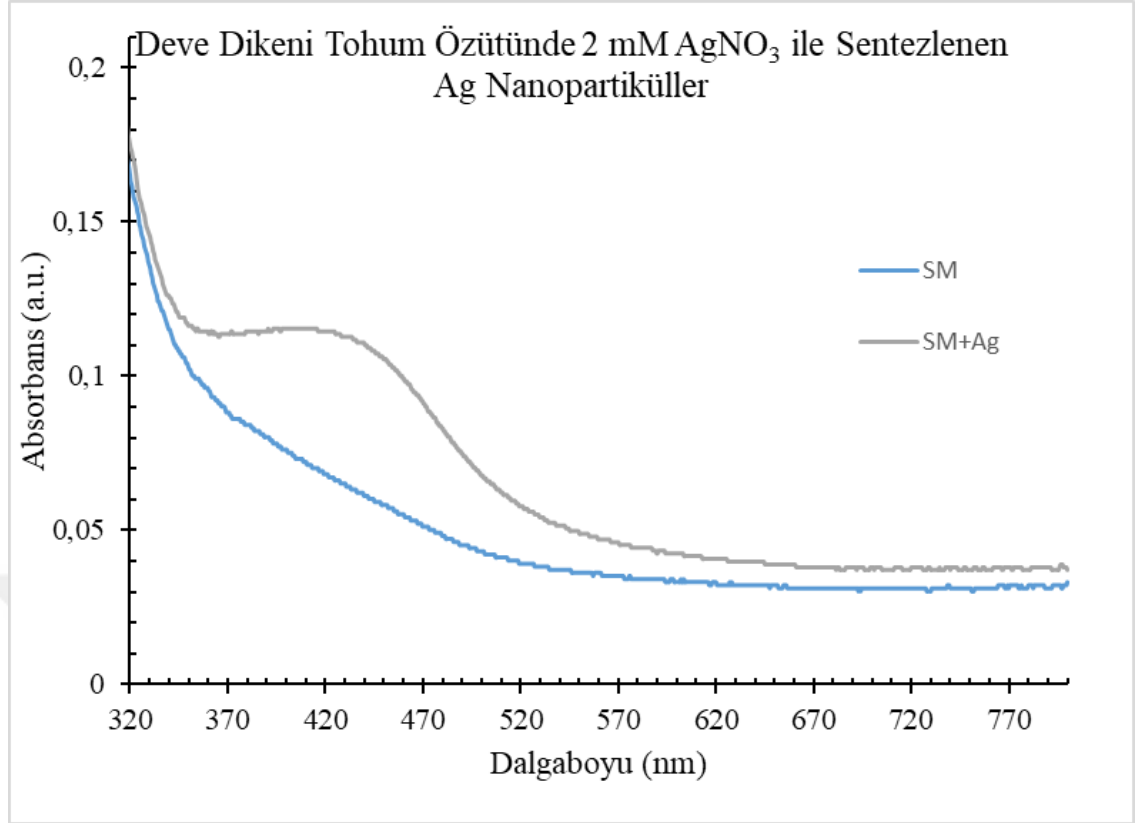
AgNO₃ eklenen bitki özütünün (nanopartikül çözeltisi) ve sadece bitki özütünün distile suya göre absorbans spektrumları alınmıştır. Şekil 4.1-12'de verilen UV-Vis spektrumlarının pik konumları çizelge 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Deve dikenli tohum özütünde 4 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'lerin absorbans spektrumları



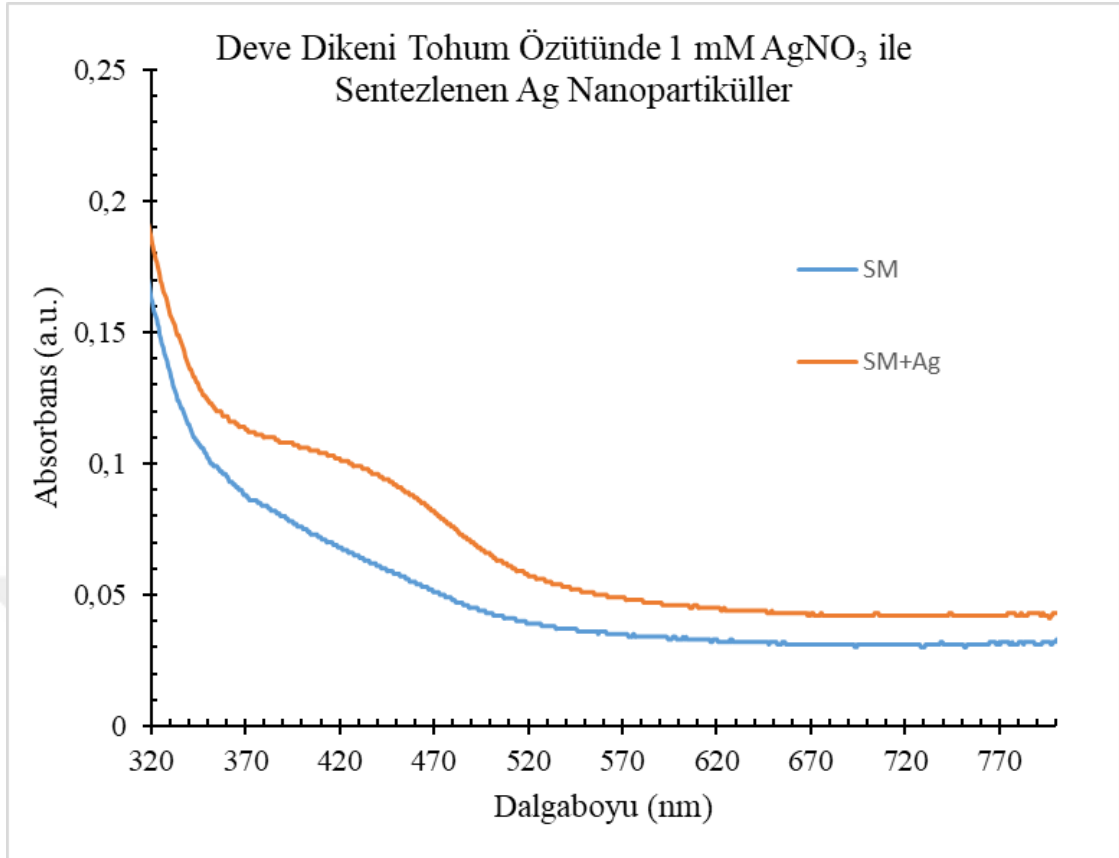
Şekil 4.2. Deve dikenli tohum özütünde 4 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'ler



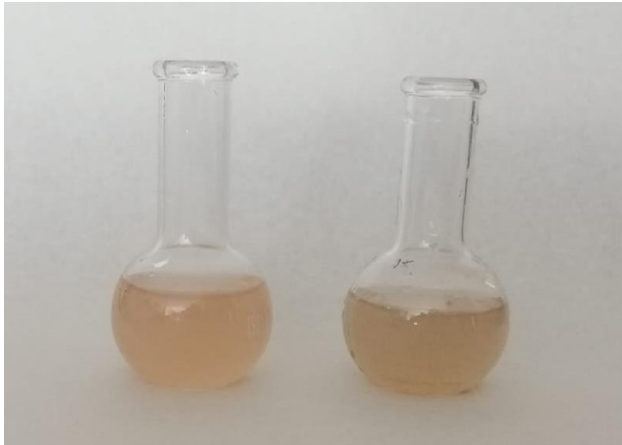
Şekil 4.3. Deve dikeneni tohum özütünde 2 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'lerin absorbans spektrumları



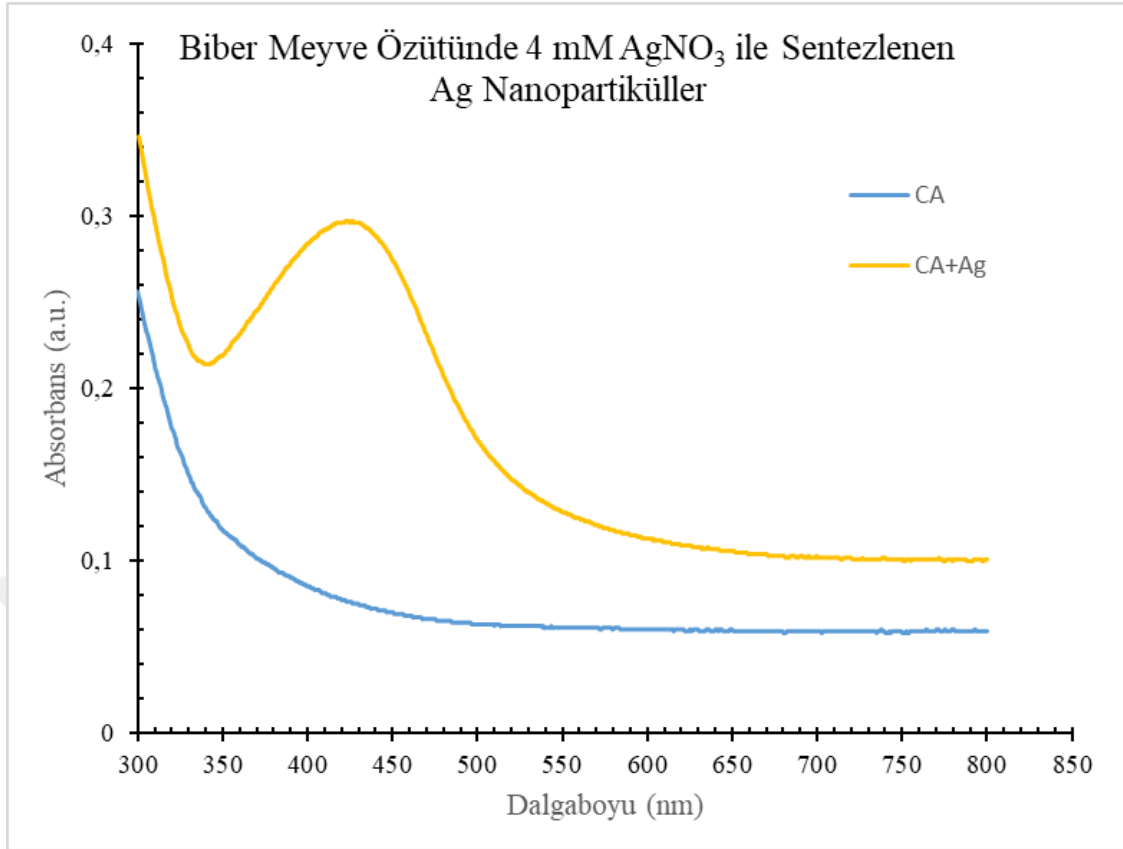
Şekil 4.4. Deve dikeneni tohum özütünde 2 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'ler



Şekil 4.5. Deve dikenİ tohum özüTünde 1 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'lerin absorbans spektrumları



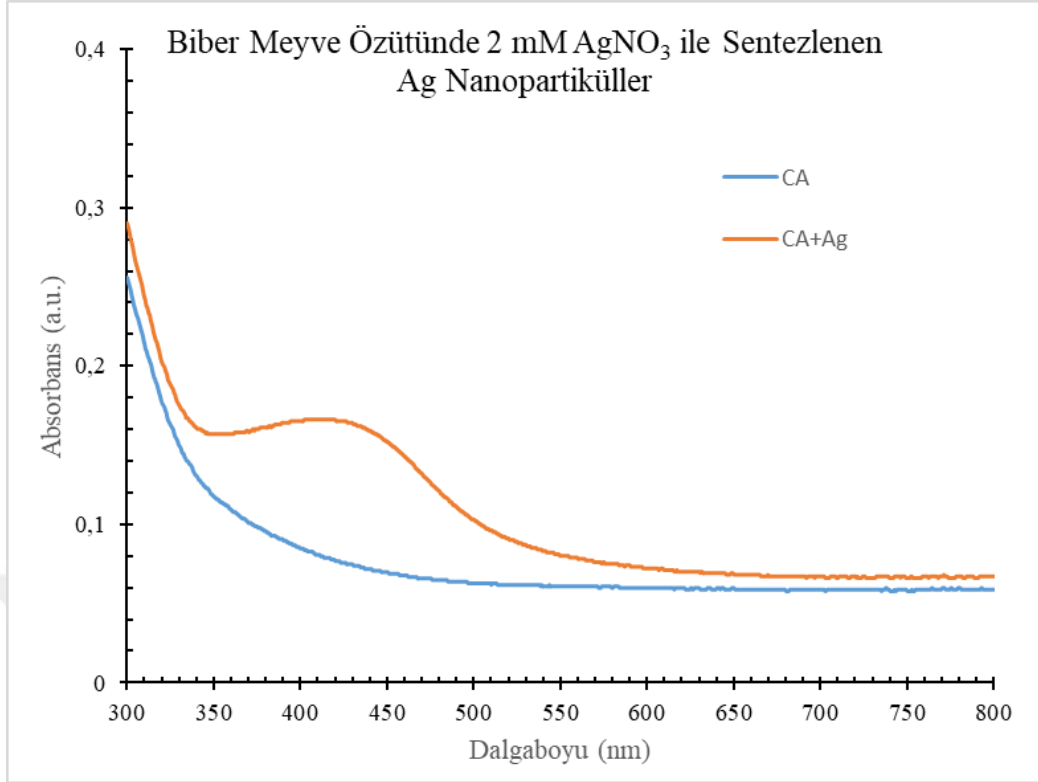
Şekil 4.6. Deve dikenİ tohum özüTünde 1 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'ler



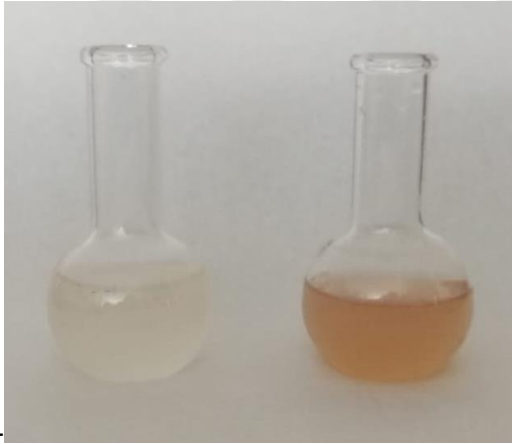
Şekil 4.7. Biber meyve özütünde 4 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'lerin absorbanans spektrumları



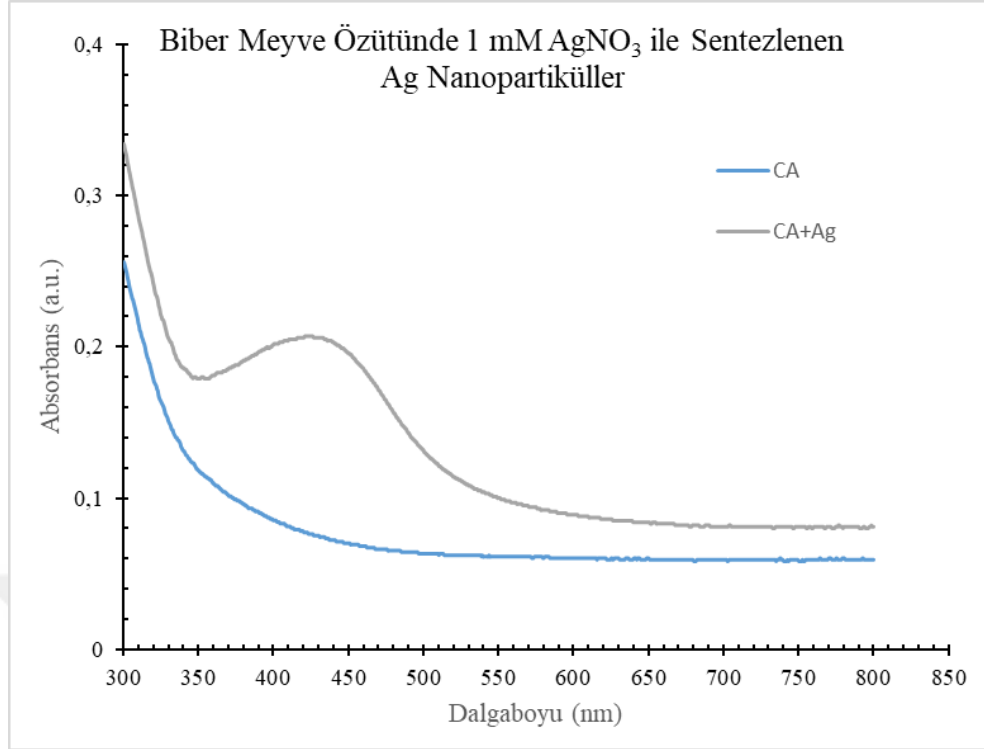
Şekil 4.8. Biber meyve özütünde 4 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'ler



Şekil 4.9. Biber meyve özütünde 2mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'lerin absorbans spektrumları



Şekil 4.10. Biber meyve özütünde 2mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'ler



Şekil 4.11. Biber meyve özütünde 1 mM AgNO_3 ile sentezlenen AgNP'lerin absorbanans spektrumları



Şekil 4.12. Biber meyve özütünde 1 mM AgNO_3 ile sentezlenen AgNP'ler

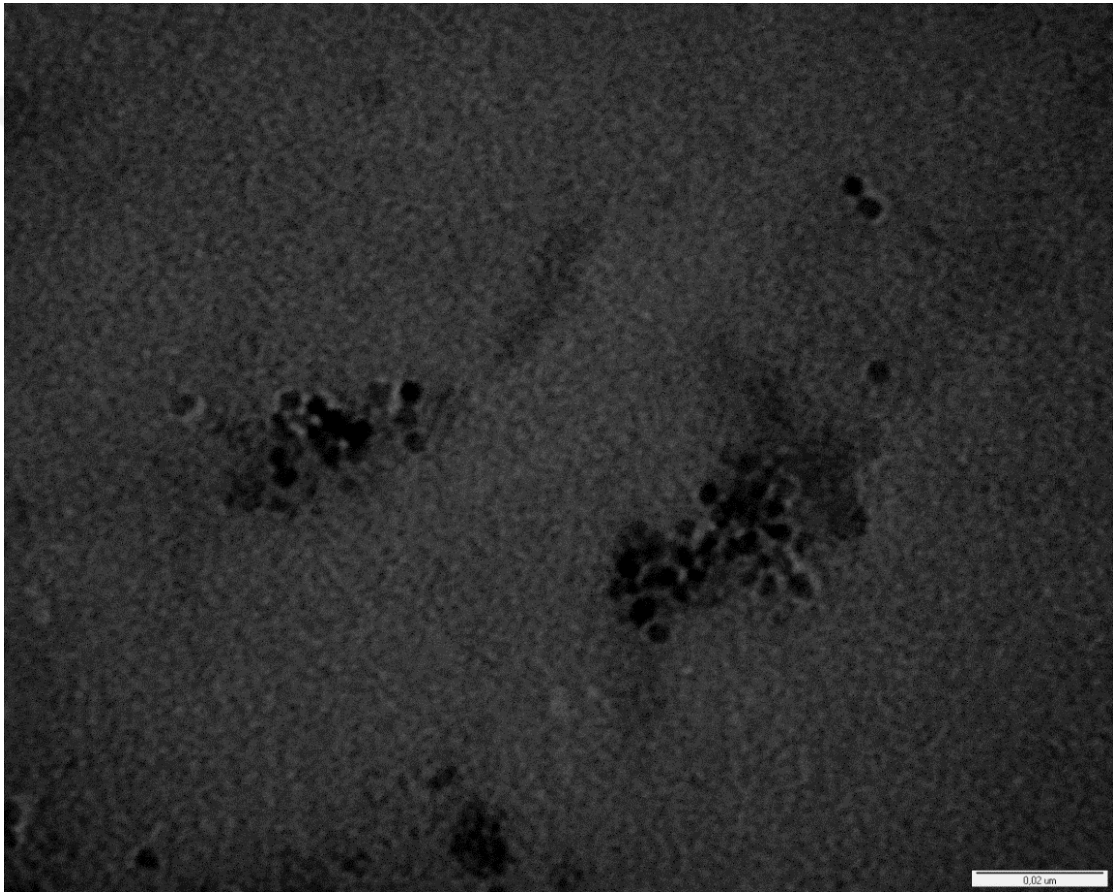
Çizelge 4.1. Sentezlenen Ag NP'lerin UV-Vis spektrumlarının pik konumları

Bitki	AgNO_3 Molaritesi (mM)	Pik Konumları (nm)
Biber	1	411,0±9,0
	2	423,5±3,0
	4	426±1,0
Deve Dikeni	1	391,5±3,5
	2	402,5±9,5
	4	417,5±4,0

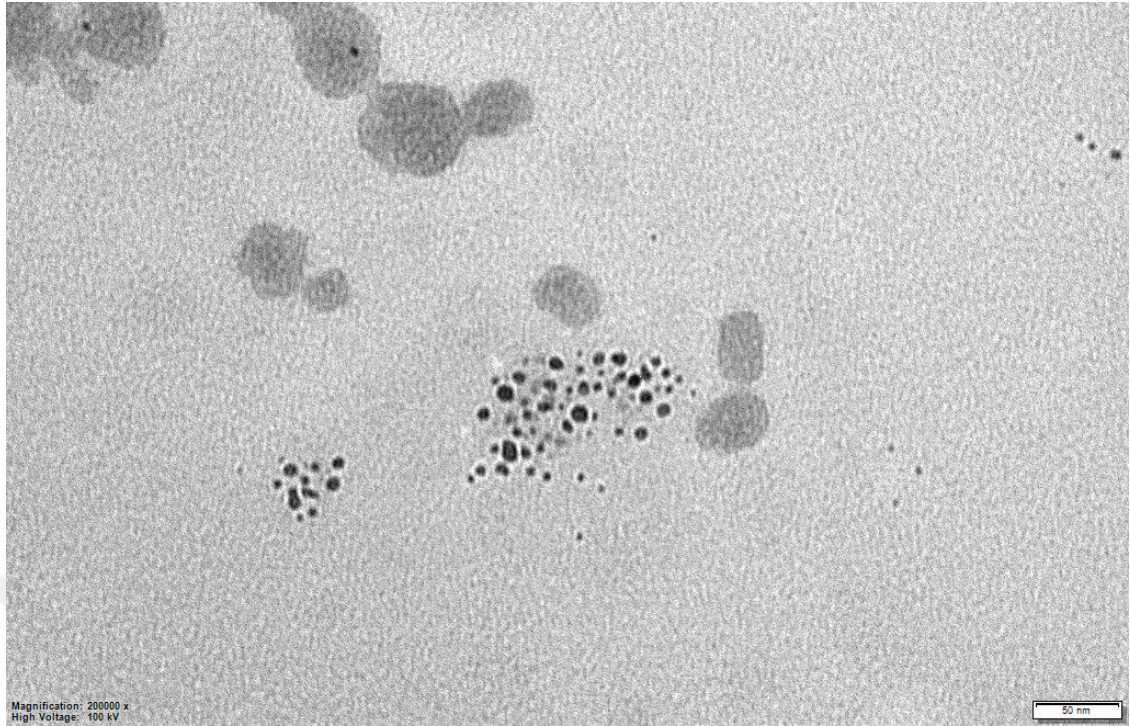
4.2. Nanopartikül Görüntüleri

TEM görüntülerinin eldesi için özüt-AgNO₃ karışımı içerisinde sentezlenen nanopartiküller mikropipetle alınarak grid üzerine damlatıldı. 3 gün beklendikten sonra kuruduğu düşünülerek TEM görüntüleri alınmak üzere randevu alındı. TEM görüntüleri Eskişehir Osman Gazi Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (ARUM)'nden hizmet alımı yapılarak elde edildi.

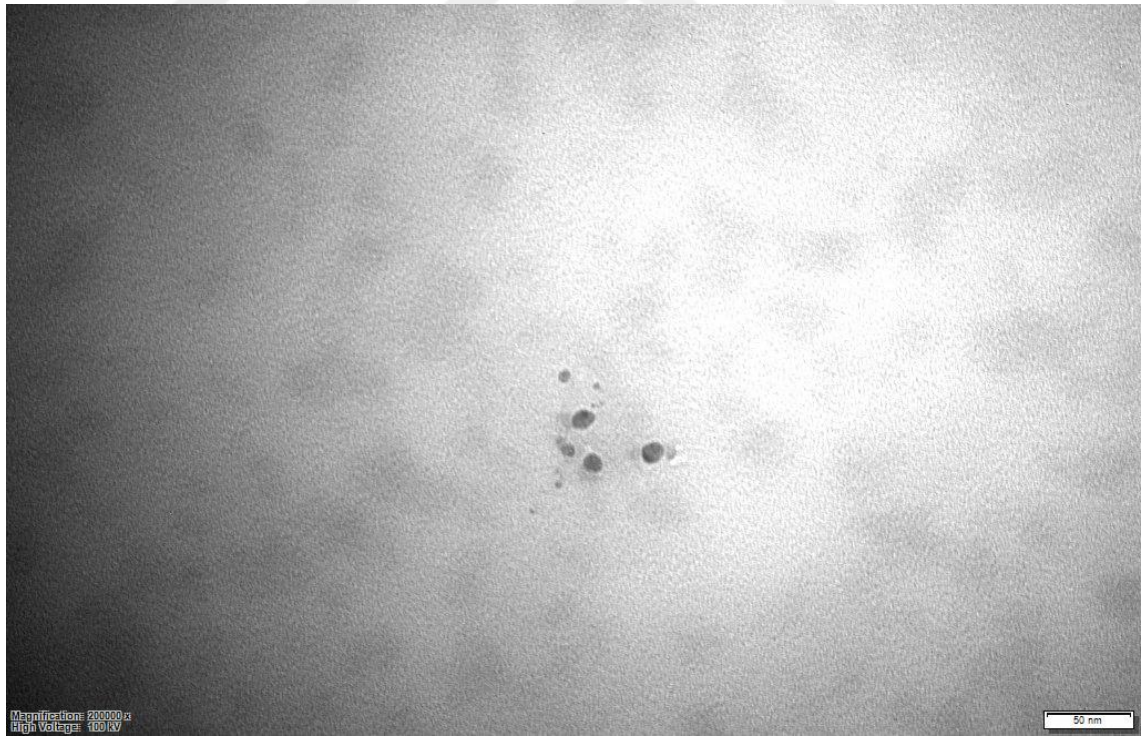
TEM görüntüleri üzerinden sentezlenen nanopartiküllerin küresel şekle sahip oldukları gözlenmiştir (Şekil 4.13-18). Nanopartikül boyutları içerisinde sentezlendiği bitki ve AgNO₃ konsantrasyonuna göre farklı boyut dağılımları sergilemiştir (Çizelge 4.2.).



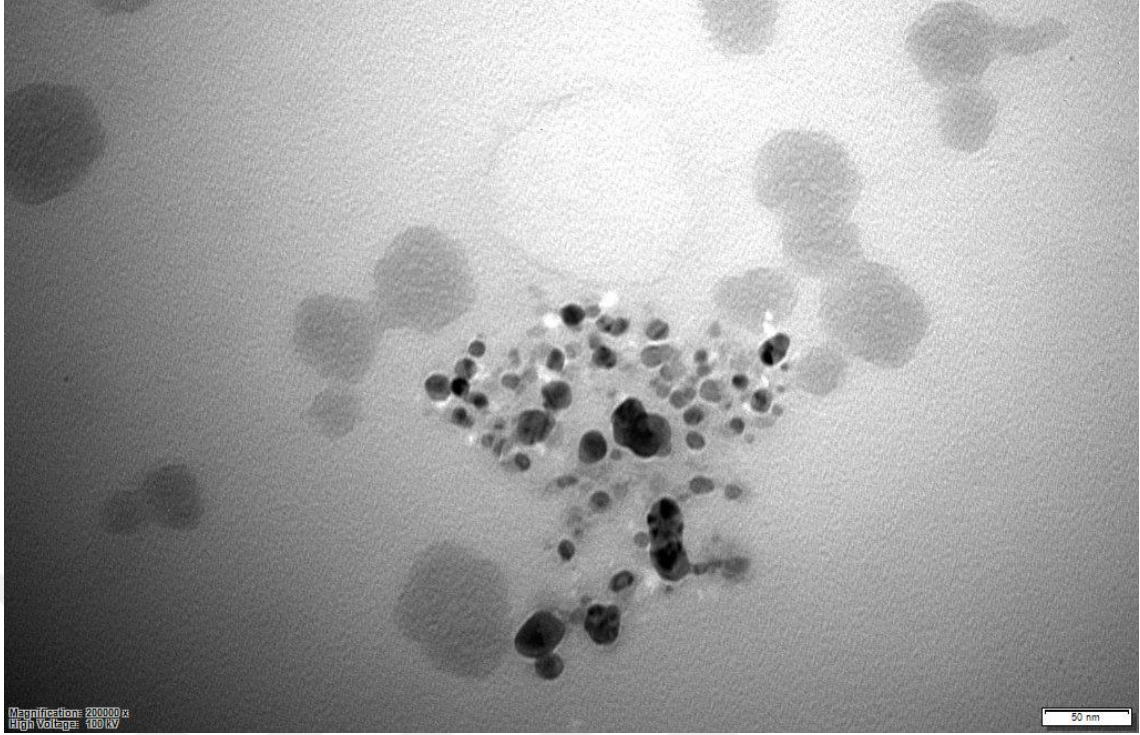
Şekil 4.13. SM özütünde 1 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü; büyütme 215000, ölçek çubuğu 20 nm



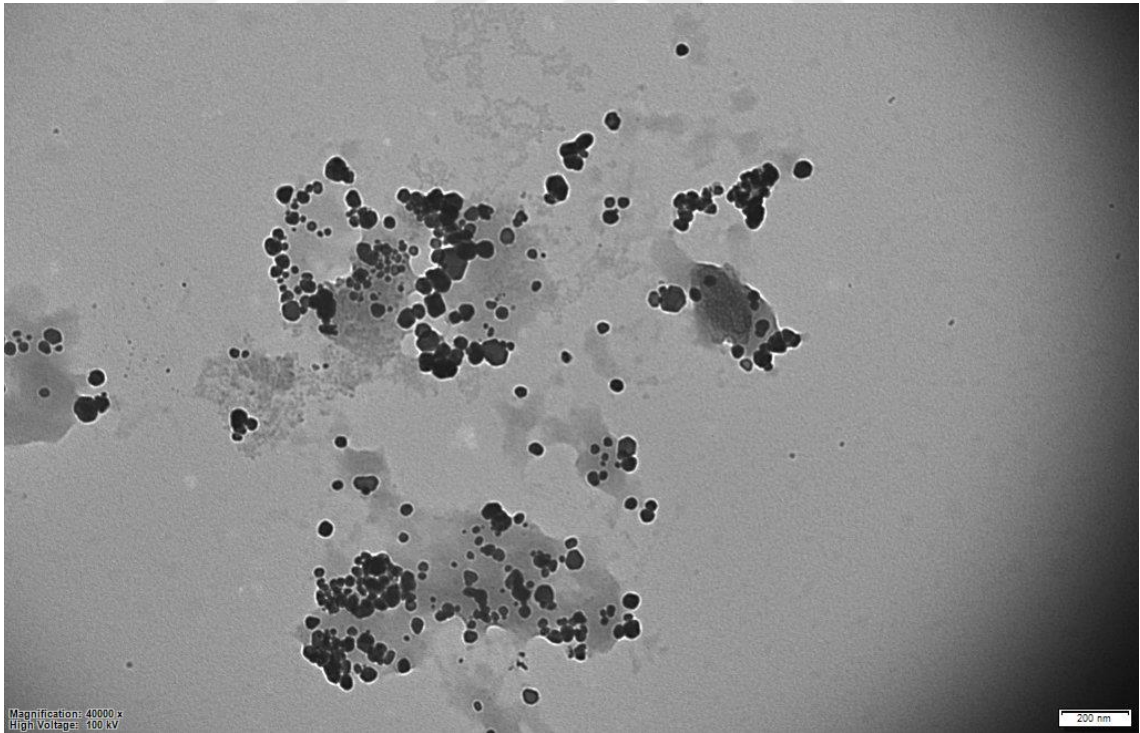
Şekil 4.14. SM özütünde 2 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü; büyütme 200000, ölçek 50 nm



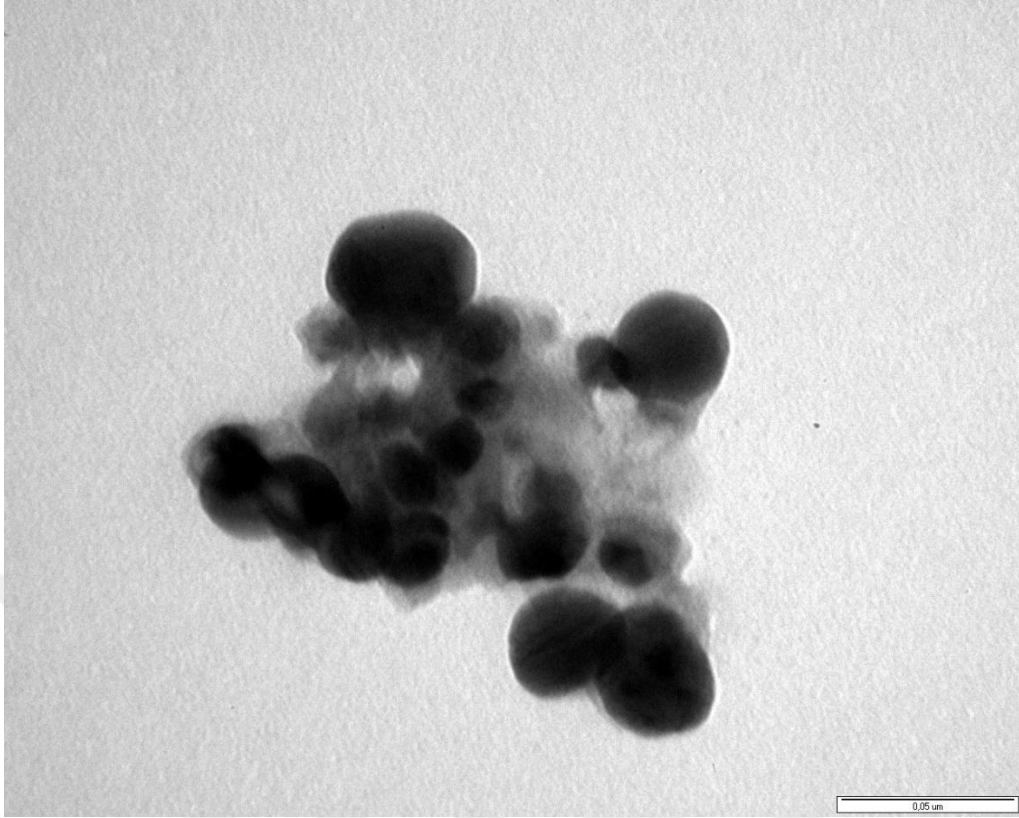
Şekil 4.15. SM özütünde 4 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü; büyütme 200000, ölçek çubuğu 50 nm



Şekil 4.16. CA özütünde 1 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü; büyütme 200000, ölçek çubuğu 20 nm



Şekil 4.17. CA özütünde 2 mM AgNO₃ ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü; büyütme 40000, ölçek 200 nm



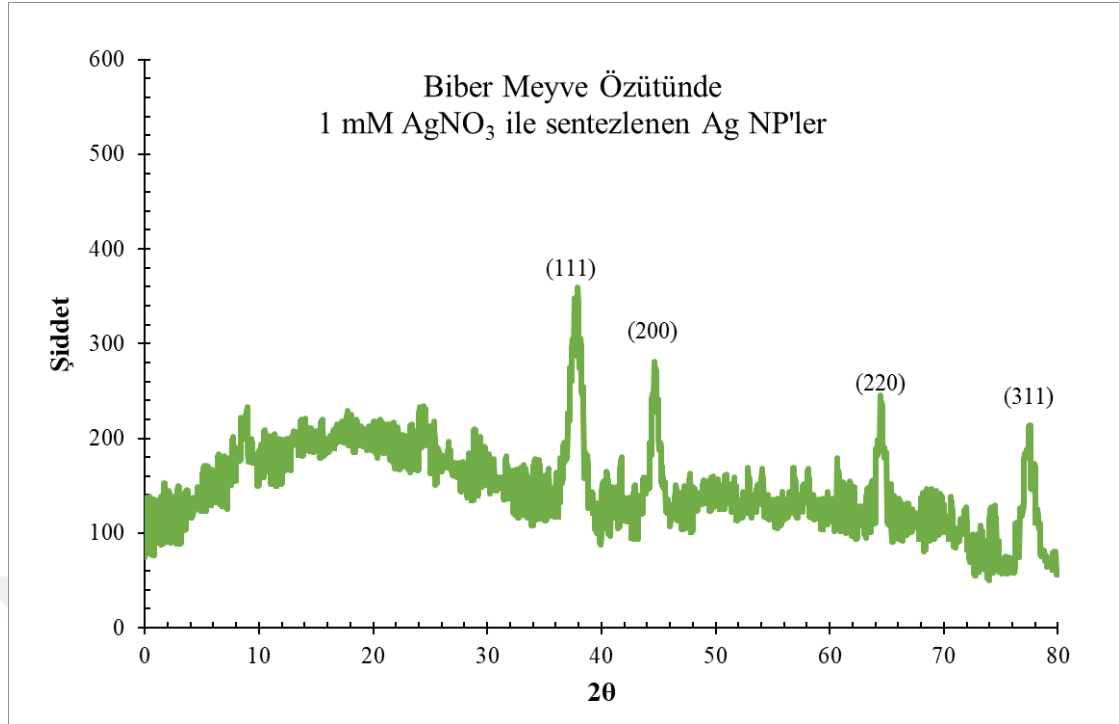
Şekil 4.18. CA özütünde 4 mM AgNO_3 ile sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüsü; büyütme 215600, ölçek çubuğu 50 nm

Çizelge 4.2. Sentezlenen nanopartiküllerin boyutları

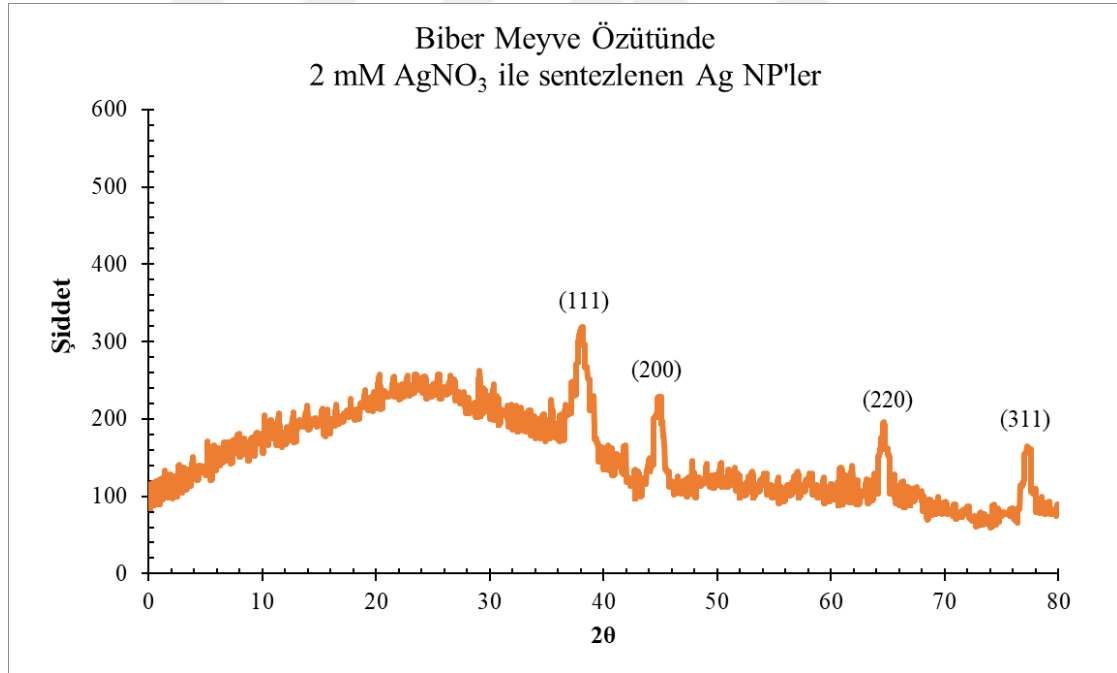
Bitki	AgNO_3 Molar Konsantrasyonu (mM)	Ortalama Boyut (nm)
Deve Dikeni	1	$2,5 \pm 1$
	2	8 ± 7
	4	$13,5 \pm 8,5$
Biber	1	9 ± 4
	2	$22 \pm 9,5$
	4	24 ± 10

4.3. X-Işını Difraktometresi (XRD)

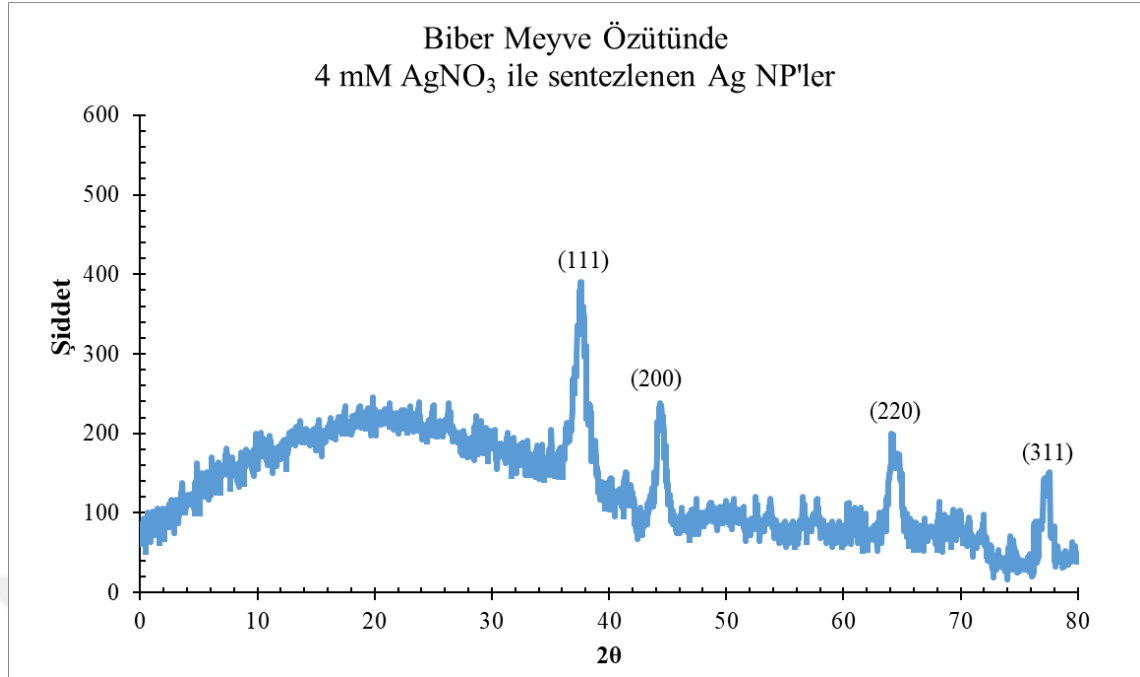
XRD analizleri yapılmak üzere bitki özütleri içerisinde sentezlenen Ag NP'ler kurutuldu. Kurutulan Ag NP'lerin XRD analizleri yapılmak üzere Yıldız Teknik Üniversitesine gönderildi. Biber ve Deve Dikeni içerisinde farklı AgNO_3 molar konsantrasyonlarında sentezlenen AgNP'lere ait XRD grafikleri paylaşılmıştır. XRD verilene göre (111), (200), (220) ve (311) yüzeylerine ait yüzey merkezli kübik yapılar tespit edilmiştir (Şekil 4.19-24). Bu değerler Çizelge 4.2.'de paylaşılmıştır.



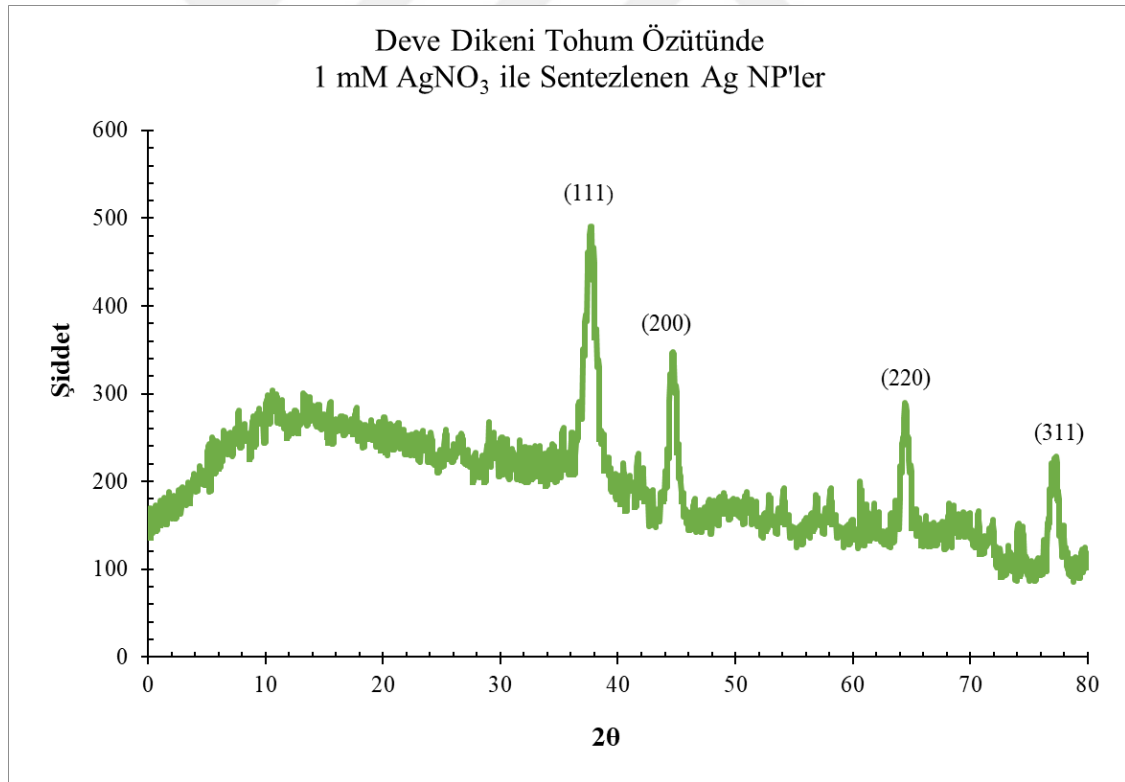
Şekil 4.19. Biber meyve özütünde 1 mM AgNO_3 ile sentezlenen Ag NP'lerin XRD sonuçları



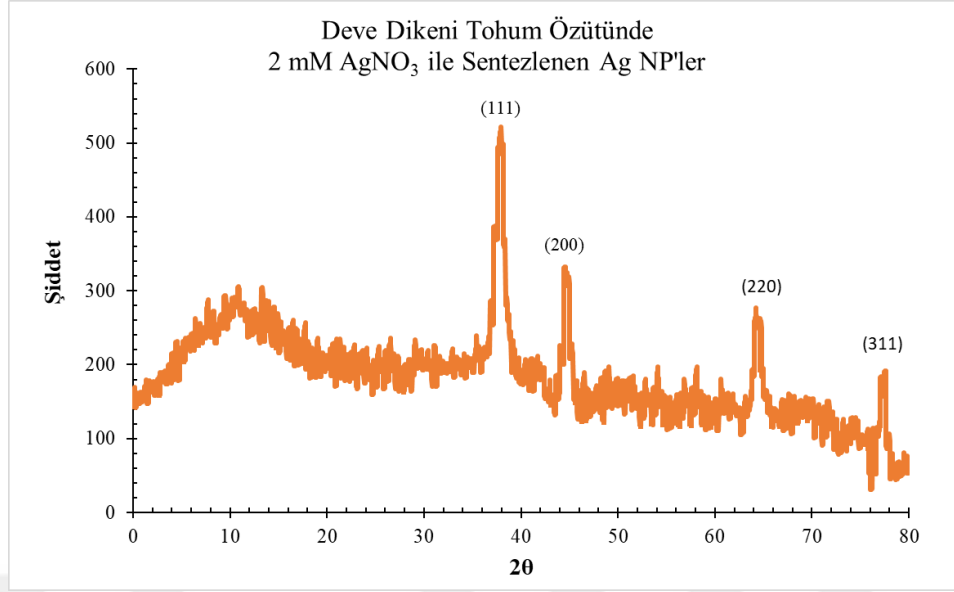
Şekil 4.20. Biber meyve özütünde 2 mM AgNO_3 ile sentezlenen Ag NP'lerin XRD sonuçları



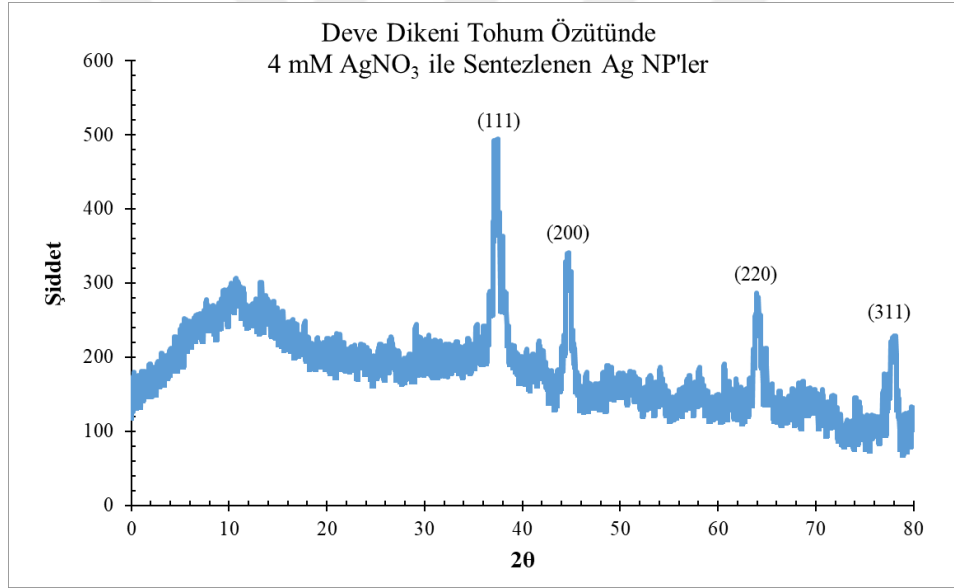
Şekil 4.21. Biber meyve özütünde 4 mM AgNO₃ ile sentezlenen Ag NP'lerin XRD sonuçları



Şekil 4.22. Deve dikenli tohum özütünde 1 mM AgNO₃ ile sentezlenen Ag NP'lerin XRD sonuçları



Şekil 4.23. Deve diken tohum özütünde 2 mM AgNO_3 ile sentezlenen Ag NP'lerin XRD sonuçları

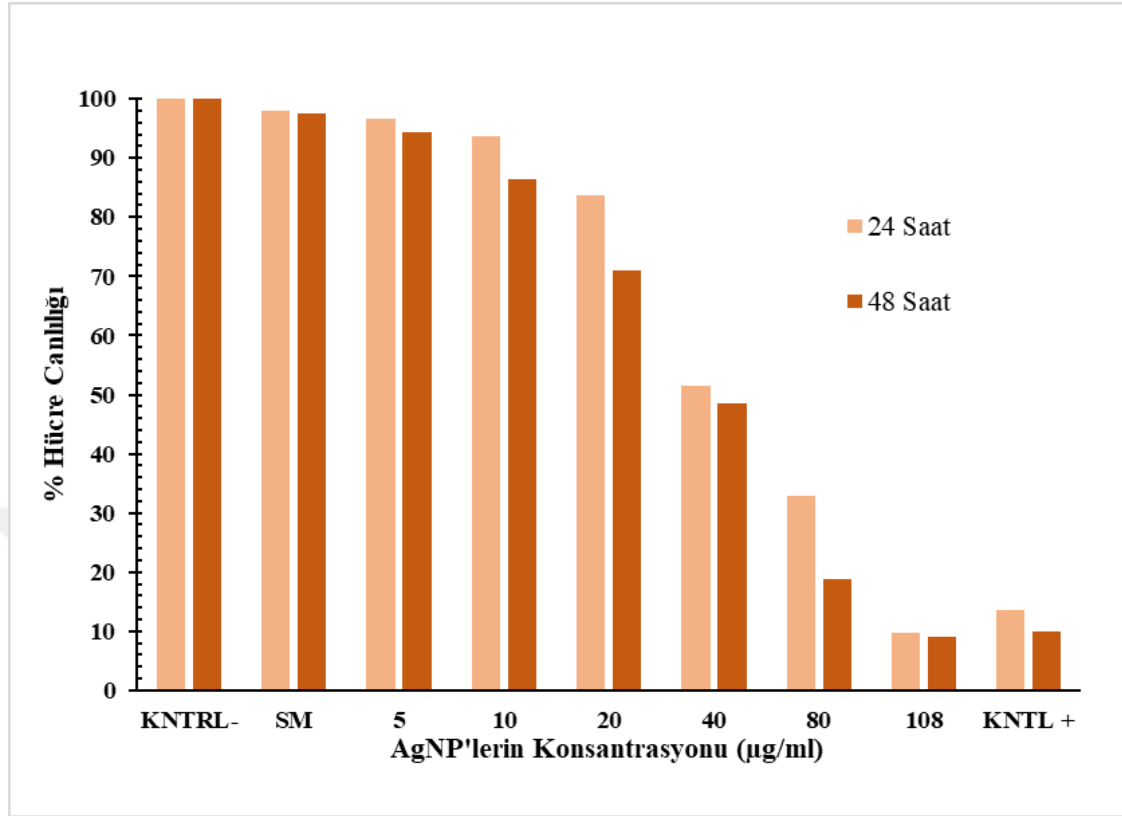


Şekil 4.24. Deve diken tohum özütünde 4 mM AgNO_3 ile sentezlenen Ag NP'lerin XRD sonuçları

Çizelge 4.3. Bitki türlerine göre nanopartiküllerin kristal yapısını işaret eden 2θ değerleri

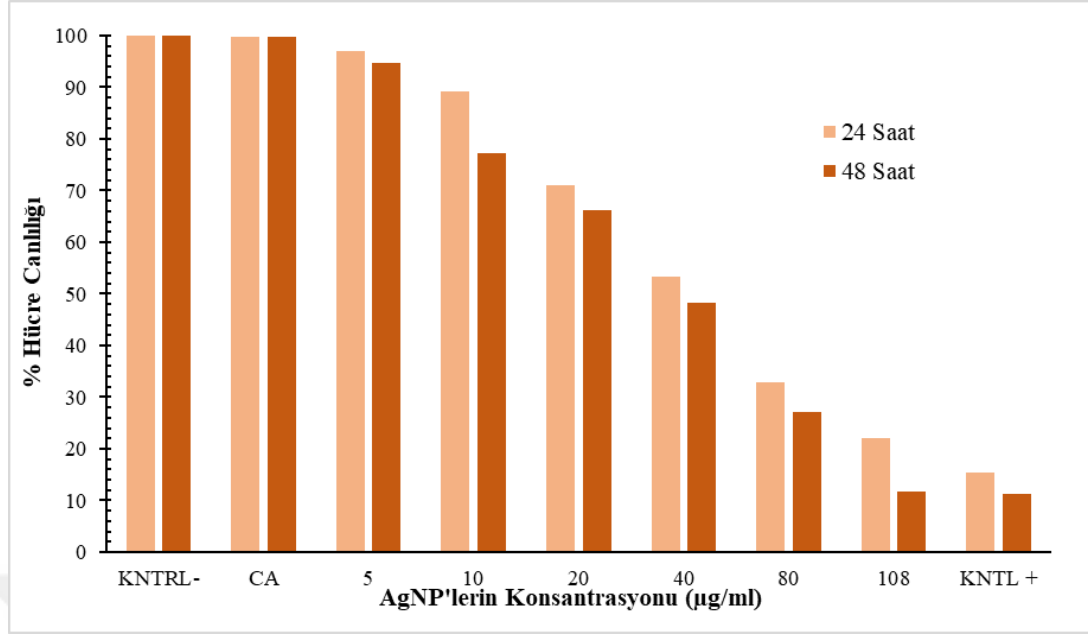
Bitki	Ag Molar Konsantrasyonu (mM)	2 θ			
		(111)	(200)	(220)	(311)
Biber	1	37,94	44,62	64,42	77,62
	2	38,18	45,06	64,68	77,28
	4	37,44	44,18	63,90	77,44
Deve Dikeni	1	37,76	44,72	64,42	77,36
	2	37,96	44,52	64,24	77,60
	4	37,48	44,60	63,98	78,16

4.4. Hücre Kültürleri ve MTT Canlılık Testi



Şekil 4.25. SM tohum özütü içerisinde sentezlenen AgNP'lerin MTT hücre canlılık testleri

Deve dikenini tohum ve biber meyve özütleri içerisinde 2 mM AgNO₃ kullanılarak sentezlenen Ag NP'ler sitotoksikite deneylerinde kullanılmıştır. Ag NP'lerin meme kanseri hücrelerine (MCF-7) ve hücre inhibisyonuna (%) karşı in vitro sitotoksik etkisi MTT canlılık deneyi ile gerçekleştirilmiş, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) negatif kontrol ve hücre hatları üzerinde sitotoksikitesi iyi bilinen Dimethyl Sulphoxyde (DMSO) pozitif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Kontrol grupları AgNP'ler ile aynı ortam şartlarına maruz bırakılmışlardır. Negatif kontrol grubunun %100 canlılığa sahip olduğu kabul edilerek pozitif kontrol ile AgNP'ler kıyaslanmıştır. Şekil 4.25 ve Şekil 4.26'de verildiği gibi hücre canlılıkları Ag NP'lerin kütle konsantrasyonları azaldığı gözlenmiştir. MTT sonuçlarına göre IC₅₀ değerleri 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda biber özütü içerisinde sentezlenenlerde 45,6 µg/ml deve dikeninde 42 µg/ml, benzer şekilde 48 saatlik inkübasyon sonucunda biber ve deve dikeninde sırasıyla 37,5 µg/ml ve 38 µg/ml olarak hesaplandı.

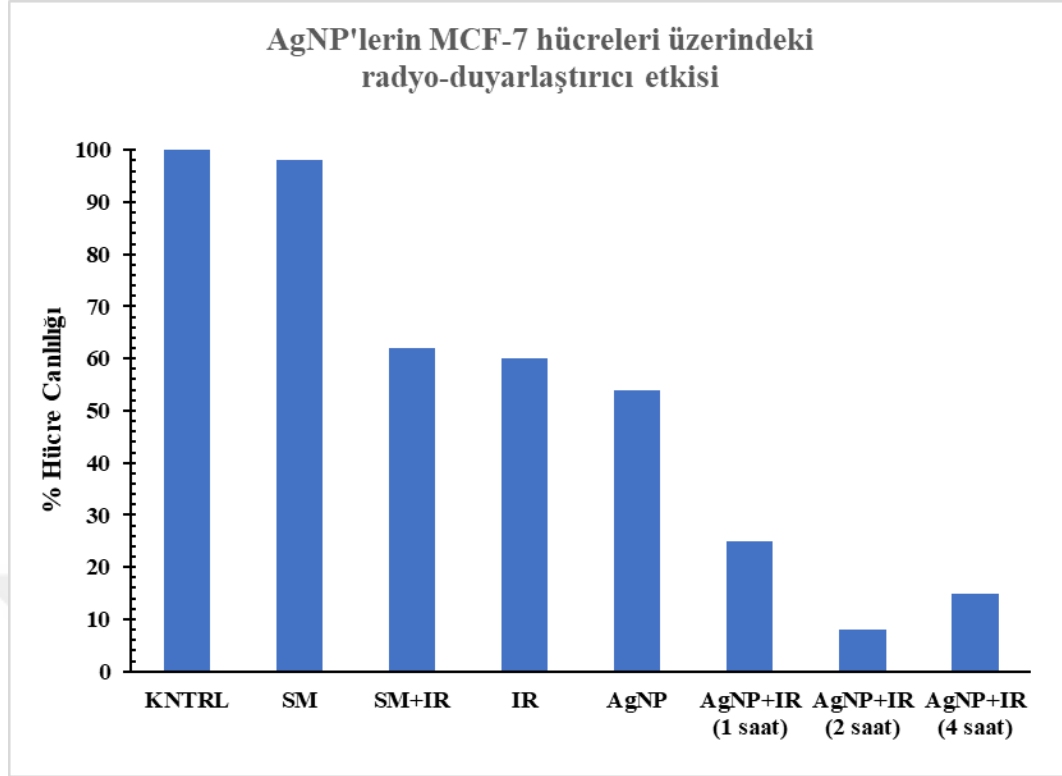


Şekil 4.26. CA meyve özütü içerisinde sentezlenen AgNP'lerin MTT hücre canlılık testleri

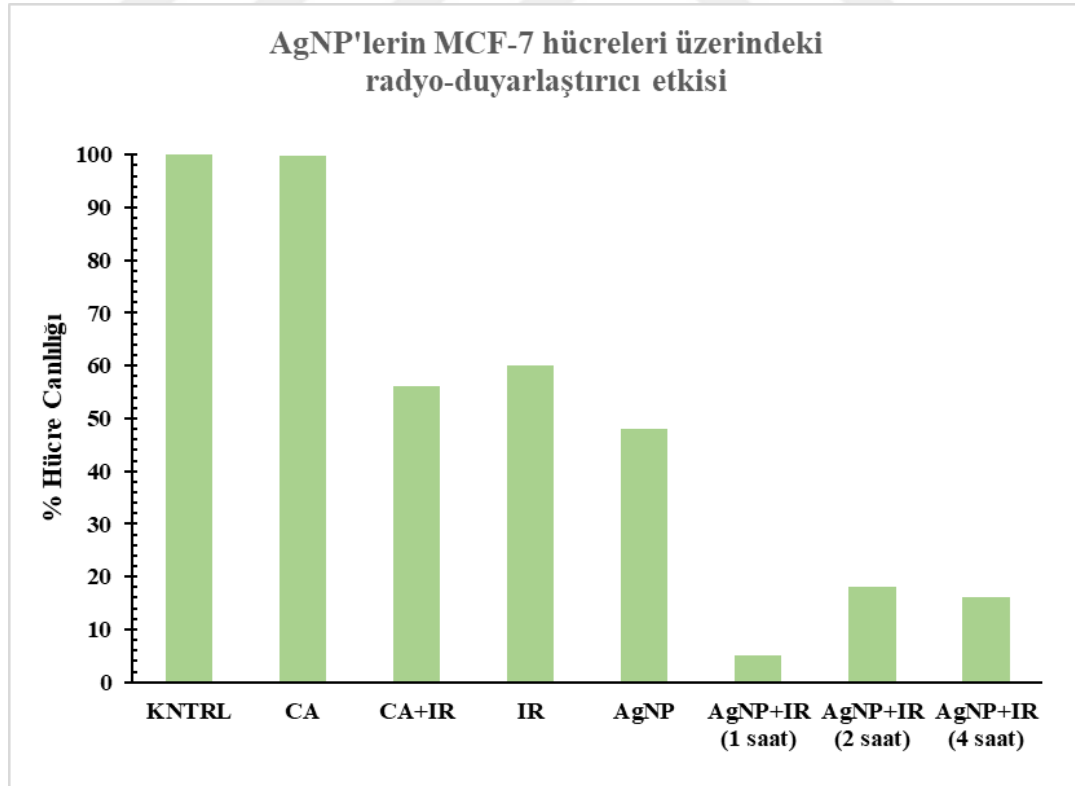
4.5. Ag NP'lerin Radyo-Duyarlaştırıcı Etkileri

Biber bitkisi için IC50 değeri 45,6 µg/ml ve deve dikenini için 42µg/ml olarak belirlenmişti. Radyasyon çalışmaları için IC50 konsantrasyonlarında Ag NP'ler ile inkübe edilmiş MCF-7 hücreleri 6 MV enerjili X-ışını kullanılarak tek fraksiyonda 6 Gy'lık radyasyon dozu uygulandı. Radyasyon sonuçları Şekil 4.27 ve Şekil 4.28'da verilmektedir.

Şekil 4.27'de verildiği gibi deve dikenini tohum özütü içerisinde sentezlenen nanopartiküllerin radyasyon uygulanmadan hücre canlılıkları %54,8 ve sadece radyasyon uygulandığında hücre canlılıkları % 60,2 olarak bulunmuştur. Ag NP'ler ile farklı sürelerde inkübe edildikten sonra radyasyon uygulanan MCF-7 hücrelerinin hücre canlılıkları ise 1, 2 ve 4 saat inkübasyondan sonra sırasıyla % 25,3; %8,4; ve %15,8 olarak elde edilmiştir.



Şekil 4.27. Deve diken tohum özütü içerisinde sentezlenen Ag NP'lerin MCF-7 hücreleri üzerinde radyo-duyarlaştırıcı etkisi



Şekil 4.28. Biber meyve özütü içerisinde sentezlenen Ag NP'lerin MCF-7 hücreleri üzerinde radyo-duyarlaştırıcı etkisi

Benzer şekilde şekil 4.28’de verildiği gibi biber meyve özütü içerisinde sentezlenen nanopartiküllerin radyasyon uygulanmadan hücre canlılıkları % 48,3 ve sadece radyasyon uygulandığında hücre canlılıkları % 60,8 olarak bulunmuştur. Ag NP’ler ile farklı sürelerde inkübe edildikten sonra radyasyon uygulanan MCF-7 hücrelerinin hücre canlılıkları ise 1, 2 ve 4 saat inkübasyondan sonra sırasıyla % 5,2; %18,4 ve %16,4 olarak elde edilmiştir.



5. TARTIŞMA

5.1. Ag NP'lerin UV-Vis Absorbans Spektrumları ve NP Görüntüleri

Uv-Vis spektroskopisi nanopartiküllerin gelişimini ve stabilitesini belirlemek için önemli bir tekniktir. AgNP'lerin koloidal çözeltileri, partiküllerin gaz fazındaki serbest iletim elektronlarının kolektif salınımından kaynaklanan yüzey plazmon rezonansından (SPR) dolayı genellikle yoğun renklidir (Henglein 1989). Sharma vd. (2009)'a göre görünür ışığın dalgaboyundan daha küçük boyutlardaki koloidal nanopartikülleri içeren çözeltiler sarı renklidir ve genel olarak çalışmalara bakıldığında Ag NP'lerin 350-450 nm aralığında yüzey plazmon bandı oluşturdıkları kaydedilmiştir (Vivek vd. 2012; Arya vd. 2019; Elemike vd. 2019; Nasar vd. 2019; Shyam vd. 2019).

Nanopartikül sentezinde morfolojik incelemelere geçilmeden önce nanopartikül koloidal çözeltisinin UV-Vis spektrofometresi ile standardize edilmesi gerekmektedir. Kumar ve Yadav (2008) nanopartiküllerin kendilerine özgü karakteristik absorbsiyon pikleri verdiğini ve bu özelliğiyle nanopartiküllerin izlenebileceğini; Ag NP'lerin 450 nm civarında absorbsiyon piki verdiğini belirtmişlerdir. Mie (1908) aynı şekle sahip nanopartiküllerin ortalama boyutları arttıkça pik maksimumlarının da daha uzun dalga boylarında gözleneceğini söylemektedir. SPR bandları ayrıca Ag NP'lerin morfolojisiyle de alakalıdır. He vd. (2002) Ag NP'lerin koloidal çözeltilerinde bir tek SPR pikinin varlığının Ag NP'lerin şekillerinin küresel olduğunu belirttiğini söylemişlerdir (He ve vd. 2002).

Tez çalışmasında deve diken tohumu ve biber bitkisi özütleri ile sentezlenen Ag NP'lerin UV-Vis spektrumları 300-800 nm aralığında 0,5 adım aralıklarla tarama şeklinde alındı. Bitki özütlerine AgNO₃ eklendikten 24 saat sonra alınan absorbans spektrumlarında pik maksimumlarının 391,5-423,5 nm arasında değiştiği gözlenmiştir. Sentezlenen Ag NP'lerin tamamında; AgNO₃ molar konsantrasyonları ile alakalı absorbans piklerinin konumlarında kırmızıya kayma söz konusudur. Mie (1908) bildirdiği üzere aynı şekle sahip nanopartiküllerin ortalama çapları arttıkça pik maksimumları daha uzun dalga boylarında gözlenmektedir. Başka bir deyişle nanopartiküllerin ortalama çapları arttıkça pik maksimumları kırmızıya kaymaktadır. Ayrıca He vd. (2002) belirttiği üzere absorbans spektrumlarında bir tek pik maksimumunun bulunması nanopartikül boyutlarının küresel olabileceği konusunda bilgiler içermektedir. Bu haliyle UV-Vis ölçümleri, TEM görüntüleriyle uyum içerisinde ve Ag NP'lerin küresel şekle sahip oldukları doğrulanmaktadır.

AgNO₃ konsantrasyonu arttıkça nanopartikül boyutlarının değiştiği TEM görüntülerinden belirlenmiştir. 1 mM, 2mM ve 4 mM tuz konsantrasyonu uygulanan sentez süreçlerinde; Deve diken tohumu için nanopartikül boyutları sırasıyla 2,5±1 nm, 8±7 nm ve 13,5±8,5 nm, biber meyve özütü için ise sırasıyla 9±4 nm, 22±9,5 nm ve 24±10 nm olarak bulunmuştur.

5.2. Ag NP'lerin XRD Analizleri

X ışını difraksiyonu ile Ag NP'lerin oluşumu doğrulanmış ve ICDD (Uluslararası Kırınım Verileri Merkezi) gümüş kütüphanesi verileri ile Ag NP'ler yorumlanmıştır. Ag NP'ler, ICDD'de belirtildiği üzere XRD analizlerinde (111), (200), (220) ve (311)

yüzeylerinden gelen pikler sergiler ve pik konumları ICDD'ye göre sırasıyla 38,00; 44,21; 64,44 ve 77,33'tür.

Literatür çalışmalarıyla uyumlu olarak yeşil sentez süreçleri gerçekleştirilen tez çalışmasındaki tüm Ag NP'ler yüzey merkezli kübik yapıya ait (111), (200), (220) ve (311) yüzeylerinden gelen 2 θ değerleri sırasıyla 37,81 $\pm$ 0,37; 44,62 $\pm$ 0,44; 63,29 $\pm$ 0,39; 77,72 $\pm$ 0,44 şeklindeir. Bu haliyle ICDD'de verilen değerlerle uyum ierisindeir.

5.3. Ag NP'lerin Sitotoksiste Çalışmaları

Tez çalışmasında yeşil sentez yöntemi ile oluşturulan AgNP'lerin in vitro sitotoksik etkisi MTT testi ile değerlendirildi. AgNP'ler ve özüt olmadan muamele edilmiş MCF-7 hücreleri + kontrol grup olarak kabul edildi. MTT sonuçları biyosentezlenmiş AgNP'lerin artan konsantrasyona bağlı olarak 24 ve 48 saatte MCF-7 hücrelerinin canlılığında önemli bir azalma olduğunu gösterdi. MTT sonuçlarına göre 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda biber özütü içerisinde sentezlenenlerde 45,6 μ g/ml deve dikeninde 42 μ g/ml, benzer şekilde 48 saatlik inkübasyon sonucunda biber ve deve dikeninde sırasıyla 37,5 μ g/ml ve 38 μ g/ml olarak hesaplandı.

Çeşitli çalışmalarda benzer şekilde farklı kütle konsantrasyonlarında Ag NP'ler çalışılmıştır. MCF-7 hücre hatlarında yapılan çeşitli çalışmalarda IC50 konsantrasyonları hesaplanmıştır. Vivek vd. (2012) *Annona squamosa* özütü içerisinde sentezledikleri Ag NP'lerin 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinin sonunda IC50 konsantrasyonlarının sırasıyla 50 μ g/ml ve 30 μ g/ml olarak bulmuşlardır. Benzer şekilde yapılan bir başka çalışmada Venugopal vd. (2017) *Syzygium aromaticum* özütü kullanarak ürettikleri Ag NP'lerin 48 saat inkübasyon süresinin ardından IC50 konsantrasyonlarının 60 μ g/ml olduğunu belirtmişlerdir. Baharara vd. (2014) ise *Achillea biebersteinii* ieklerinin özütlerini kullanarak biyosentezlenen Ag NP'lerin kaspaz aktivasyonu ile bax ve bcl-2 gen ekspresyonunun düzenlemesi yoluyla MCF-7 hücrelerinde apoptoz indüksiyonunu araştırmışlar, çalışmalarında Ag NP'lerin kütle konsantrasyonuna bağlı sitotoksitesini belirlemişler ve Ag NP kütle konsantrasyonu ile azalan MCF-7 hücre canlılığı tespit etmişlerdir. Bu tez çalışmasında da benzer süreçler takip edilmiştir, literatür verilerine benzer şekilde Ag NP'lerin konsantrasyonu artıkça MCF-7 hücrelerinin hücre canlılıklarının azaldığı tespit edilmiş, ayrıca çalışmada IC50 değerleri literatür verilerine yakın değerlerde olduğu hesaplanmıştır.

Literatürde IC50 değerlerinin daha yüksek çıktığı çalışmalarda mevcuttur. Farah vd. (2016) *Adenium obesum* özütü içerisinde sentezledikleri Ag NP'leri ve satın aldıkları Ag NP'lerin MCF-7 hücre hatları üzerinde sitotoksitelerini kıyaslamışlar ve IC50 değerini sırasıyla 217 μ g/ml ve 73 μ g/ml olarak bulmuşlardır. Çalışmada yeşil sentezlenen Ag NP'lerin IC50 değeri bu tez çalışmasına göre daha yüksek kütle konsantrasyonunda görülmektedir. Benzer şekilde Jyoti vd. (2020) *Picrasma quassioides* yaprak özütleri içerisinde sentezledikleri Ag NP'lerin HepG-2 hücrelerine karşı sitotoksitelerini araştırmışlar ve IC50 değerini 200 μ g/ml olarak bulmuşlardır. Bu çalışmaların ortak yönleri IC50 değerlerinin birçok çalışmaya göre yüksek olmasıdır. Bunun nedeni Ag NP'lerin kütlesini, özüt ve AgNO₃'ün toplam kütlesi olarak almaları olabilir. Bu çalışmalardan farklı olarak tez çalışmasında Ag'lerin kütle konsantrasyonları temel alınarak deneysel süreçler tamamlanmıştır. Bu hali ile IC50 değerlerimizin daha düşük çıkmış olması nedeni ile sunulan tezin bu çalışmalarla da uyumlu olduğu kanısındayız.

Çizelge 5.1. Ag NP'lerin boyut bağımlılıkları

Partikül boyutları (nm)	Hücre tipi	Bulgular	Referanslar
10, 20, 51,73	MI, GI, NAI, MNI	Hücrelerde partikül çapıyla ters ilişkili sitotoksosite	Scherer vd. 2019
5,20,50,100	B16	Farklı çaplarda AgNP'lerin boyuta bağlı hücresel alımına sebep olur.	Wu vd. 2019
5, 20, 50	A549, SGC-7901, HepG2 ve MCF-7	IC ₅₀ değerleri boyuta bağlıdır	Liu vd. 2010
13 ± 4.7	HeLa ve U937	Ag NP'ler hem HeLa hem de U937 hücre hatlarında sitotoksositeye neden oldu	Kaba vd. 2015
10,200	TNFR1	100 nm'den daha büyük nanopartiküllerin farklı bir alım mekanizmasını indükleyebilir.	Fehaid vd. 2019
20, 80, 113	RAW 264.7 ve L929	Ag NP'lerin neden olduğu sitotoksosite hücre tipine ve Np boyutuna bağlıdır	Park vd. 2010
5-10	HepG2	Ag NP'ler HepG2 hücrelerinde oksidatif değişikliklere neden oldu	Lankkoff vd. 2012
30-50	A431A549	Ag NP'nin toksisitesi parçacık boyutuna ve yüzey potansiyeline bağlıdır	Le vd. 2010
1-10	HIV virüsü	Ag NP'lerin HIV virüsü ile etkileşimi boyuta bağlıdır	Elechiguerra vd. 2005
7-20	A431HT-1080	Hem A431 hem de HT-1080 hücre hatlarında uyarılmış apoptoz	Arora vd. 2009
15, 30, 55	makrofaj hücreleri ve alveoler	Boyuta bağlı bir şekilde üretilen ROS ve LDH	Sriram vd. 2012

Sunulan tez çalışmasında IC₅₀ değerleri Ag NP'lerin içerisinde sentezlendiği biber ve deve diken bitki özütlerine göre değişiklik göstermektedir. İçerdiği Ag miktarları aynı olan bitki özlerinin içerdiği fitokimyasallar birbirine göre farklılık göstermektedir. Bu yüzden çalışmada bitki özlerinin sitotoksik etkilerine de bakılmıştır. 1:1 oranında seyreltilmiş biber ve deve diken bitki özütleri bulgular kısmında da paylaşıldığı gibi MC-7 hücreleri üzerine uygulanmıştır. Her iki bitki özütü de uygulandığı konsantrasyon değerinde tek başına önemli sitotoksik etki göstermedi. Fakat her iki bitkinin içerisinde sentezlenen Ag NP'lerin sitotoksiteleri az miktarda farklılık gösterdi. Bunun nedeni sentez bitkilerinin farklılığının neden olduğu nanopartiküllerin boyutlarındaki farklılıklardan dolayı olabilir.

Ag NP'lerin sitotoksitesi parçacık boyutundaki değişiklikten etkilenir (Galiga vd. 2014). Ag NP'ler hücre canlılığı, LDH aktivitesi (Carlson vd. 2008) ve ROS üretimi (Chen vd. 2012)- üzerinde farklı hücre soylarında boyuta bağlı bir şekilde hayati bir etki göstermiştir. Yüzey alanı, hacim oranı ve yüzey reaktivitesinin parçacık büyüklüğü ile değiştirilebileceği açıktır (Chen vd. 2012; Lankoff vd. 2012). Ayrıca, NP'lerin biyolojik veya katı yüzeyler üzerindeki sedimantasyon hızı, kütle difüzivitesi, bağlanma etkinliği ve birikme hızı partikül büyüklüğünden önemli ölçüde etkilenir (Sharma vd. 2009; Jiang vd. 2005; Petosa vd. 2010; Liu vd. 2010).

Partikül büyüklüğü ayrıca memeli hücre etkileşimini de etkileyebilir (Lu vd. 2010). Ag NP'lerin farklı hücre hatları üzerindeki partikül büyüklüğü etkisini belirlemek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Çizelge 5.1.). Farklı boyutlardaki Ag NP'lerin sitotoksik etkileri farklı çalışmalarda çalışılmış farklı sitotoksik etki görülmüştür.

Çalışmaların çoğunda, daha küçük partiküllerin daha fazla toksisiteye neden olabileceği hipotezini yansıtmaktadır. Bu ifadeyi desteklemek için Carlson ve ark. 15 nm ve 55 nm hidrokarbon kaplı Ag NP'lerle çalıştı ve 15 nm Ag NP'lerin bir makrofaj hücre çizgisinde 55 nm Ag NP'lere kıyasla daha fazla ROS üretebildiğini buldu. Dört hücre çizgisi (A549, HepG2, MCF-7, SGC-7901) kullanarak, Liu vd. (2010), 5 nm Ag NP'lerin 20 ve 50 nm Ag NP'lerden daha toksik olduğunu bulmuşlardır.

Yukarıda bahsedilen çalışmalar ışığında nanopartikül boyutlarının sitotoksisiteye etki edeceği göz önünde bulundurularak deneysel süreçler takip edilmiştir. Tez çalışmasında boyuta bağlı sitotoksisiteye bakılmamış olsa da aynı bitki özütleri içerisinde sentezlenen nanopartiküllerin boyutları belirlenmiş ve farklı konsantrasyonlarda alınan AgNP'lerin boyutlarının benzer olmasına dikkat edilmiştir.

5.4. Ag NP'lerin Radyo-Duyarlaştırıcı Etkileri

Fathy (2019) 5-10-15-20-25 µg/ml konsantrasyonlarında Ag NP'ler ile inkübe edilen MDA-MB-231 hücrelerine, radyasyon dozu olarak 400 MU/dakika ve 6 MV enerjili X ışını uyguladılar. Çalışmada Ag NP'lerin radyo-duyarlaştırıcı etkilerinin Ag NP'lerin konsantrasyonlarına bağlı olarak arttığını gösterdiler.

Lui vd. (2013) ise, glioma hücreleri üzerinde AgNP'lerin etkili olabileceğini göstermişlerdir. Ag NP'ler ile tedavi edilen malign tümörlerin, radyasyona bağlı sitotoksisiteye yol açtığını gösterdiler. C6 glioma taşıyan sıçanların radyasyon tedavisi tedavisi için klinik olarak MV enerjilerindeki iyonlaştırıcı radyasyon ile kombinasyon halinde küçük boyutlu AgNP'lerin intratümöral uygulamasının etkinliğini, güvenliğini ve radyo-duyarlaştırıcı etkilerini değerlendirmişlerdir.

Jyoti vd. (2020) *Picrasma quassioides* yaprak özütleri içerisinde sentezledikleri IC50 konsantrasyonunda Ag NP'ler ile 1, 2 ve 3 saat inkübe ettikleri HepG-2 hücrelerine 6 Gy gama ışınları uyguladılar. Yaptıkları çalışmada 6 Gy'lik gama radyasyon dozu ile hayatta kalan fraksiyonun keskin bir şekilde azaldığını gösterdiler. Benzer bir çalışmada Liu vd. (2016) Ag NP'lerin U251 glioblastoma hücrelerine karşı radyo-duyarlaştırıcı etkileri olabileceğini belirttiler.

Elshawy vd. (2016) bir tür bitki patojeni olan *Penicillium aurantiogresium* kullanarak sentezledikleri Ag NP'lerin radyo-duyarlaştırıcı etkilerini MCF-7 hücreleri üzerinde araştırdılar. Belirledikleri IC50 konsantrasyonunda Ag NP'lerin MCF-7 hücrelerinin tedavisinde kullanılmasının hücre proliferasyonunun inhibisyonu, laktat dehidrojenaz (LDH) ve kaspaz-3'ün aktivasyonu yoluyla radyasyon dozunun (6 Gy) etkisini arttırdığını belirtmişlerdir.

Literatürde Ag NP'lerin radyo-duyarlaştırıcı etkileri daha önce literatürde sınırlı sayıda çalışılmıştır. Bu tez çalışmasında Ag NP'ler deve diken i tohum ve biber meyve özütleri içerisinde sentezlenmiştir. Bu bitkileri kullanarak sentezlenen Ag NP'lerin ilk kez radyo-duyarlaştırıcı etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 1-2 ve 4 saat süreyle Ag NP'ler ile inkübe edilen MCF-7 hücreleri X ışını radyasyonuna maruz bırakılarak hücre canlılıkları araştırılmış, Ag NP'lerin radyo-duyarlılıkları değerlendirilmiştir. Literatür verilerine benzer şekilde radyasyon dozuna bağlı olarak sunulan tez çalışmasında radyo-duyarlaştırıcı etki gözlenmiştir.

Bu tez çalışmasında biber bitkisi için IC50 değeri biber meyve özütü içerisinde sentezlenen Ag NP'ler için 45,6µg/ml ve deve diken i içerisinde sentezlenen Ag NP'ler için 42 µg/ml olarak kullanıldı. Uygulanan radyasyon dozuna bağlı olarak her iki IC50 değeri içinde sonuçlar hemen hemen aynı çıksa da literatür verilerine göre değişiklik gösterebilir. Örneğin Elshawy vd. (2016) çalışmalarında IC50 konsantrasyonlarını 10 µg/ml olarak kullanmışlardır. Bu tez çalışması ile IC50 konsantrasyonları arasında farklılıklar söz konusudur. Fathy (2019) gösterdiği gibi Ag NP'lerin farklı kütle konsantrasyonlarında alınan uygulama dozları radyo-duyarlılıkları etkileyebilir yani Ag NP miktarına bağlı olarak hücrelerin radyo-hassasiyeti değişebilir.

6. SONUÇLAR

Tez çalışmasında biber meyve ve deve dikenini tohumu sulu özütlerinden elde edilen çözeltilere 1:1 oranında 4-2 ve 1 mM AgNO₃ çözeltisi eklenip karanlıkta 24 saat karışmasının ardından Ag NP'ler elde edilmiştir. Nanopartiküllerin eldesi UV-Vis Spektrofotometresi ile doğrulanmıştır. UV-vis sonuçlarına göre pik maksimumları 391-423 nm arasında değişmektedir. XRD incelemeleri sonucunda tüm nanopartiküllerin yüzey merkezli kübik kristal örgüye sahip oldukları belirlenmiştir. Ag NP'lerin küresel yapıda oldukları TEM görüntüleri ile belirlenmiş olup XRD sonuçları ile uyumludur. Nanopartikül çapları 2,5-24 nm arasında değişmektedir ve en küçük Ag NP boyutları 1 mM AgNO₃-deve dikenini karışımından elde edilmiştir ve NP boyutları 2,5±1 nm'dir.

Ag NP'lerin sentezleri literatür örnekleriyle uyum içerisinde gerçekleştirilmiş ve sentezlenen Ag NP'lerin farklı konsantrasyonları MCF-7 hücrelerine uygulanmıştır. Literatür örnekleri ile eşit konsantrasyonlarda alınan deve dikenini ile sentezlenen Ag NP'ler MCF-7 hücrelerine karşı konsantrasyona bağlı sitotoksitesite göstermiştir. Biber meyve özütleri içinde benzer sonuçlar elde edilmiştir. Sitotoksitesite çalışmaları 24 saat ve 48 saat'lik inkübasyon süresine göre yapılmıştır. 48 saat Ag NP'ler ile inkübe edilen hücrelerdeki hücre canlılığının daha çok azaldığı gözlenmiştir.

Ag NP'lerin radyo-duyarlılıkları 6 Gy X ışını radyasyonuna maruz bırakılarak elde edilmiştir. AgNP'ler ile inkübe edilen MCF-7 hücrelerinin radyasyon maruziyeti sonrasında hücre canlılıklarında önemli ölçüde azalma olduğu gözlenmiştir. Sadece biber ve deve dikenini özütleri uygulanan radyasyon çalışmalarında ise; biber bitkisinin her hangi radyo-duyarlaştırıcı etki göstermediği, deve dikeninin ise ihmal edilebilir oranda radyo-koruyucu etki gösterdiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, 1 saat, 2 saat ve 4 saatlik AgNP'ler ile inkübasyon sürecinin ardından radyasyon uygulanan hücrelerin 24 saat sonra sitotoksitesitelerinde farklılık gözlenmiştir. Ancak inkübe MCF-7 hücrelerine radyasyon dozlarının uygulandığı zamanın sitotoksitesiteyi nasıl etkilediği yönünde veri elde edilememiştir.

Bu tez çalışmasında yeşil sentez yöntemleri benimsenmiş, sentez sürecinde deve dikenini tohumlarının ve biber meyvelerinin sulu çözeltileri tercih edilmiştir. Elde edilen Ag NP'lerin MCF-7 hücrelerindeki sitotoksitesitesi belirlenmiş, radyo-duyarlaştırıcı etkilerine bakılmıştır. Radyo-duyarlaştırıcı etkileri gösterilmiş bu nanopartiküller sentez sürecinde uygun maliyeti ile tercih edilebilir durumdadır. Ayrıca deve dikenini ve içerdiği fitokimyasalların yaygın bir şekilde literatürde araştırılmış olması, sentez sürecinde kullanılan bitkilerin ve fitokimyasalların oluşturacağı komplikasyonların azaltılması yönünden avantajdır.

Gerek ucuz maliyeti, gerekse zengin fitokimyasal özellikleri ile bitkiler önemli bir sentez ajanıdır. Henüz keşfedilmemiş ya da olumlu yönleri iyi bilinen fitokimyasalların kullanıldığı nanoparçacıkların kanser tedavisinde araştırılması önem arz etmektedir. Yeşil sentez yöntemi ile elde edilen nanopartiküllerin kanser tedavisinde kullanımı ile ilgili daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- Adam, J. F., Biston, M. C., Rousseau, J., Boudou, C., Charvet, A. M., Balosso, J., ... & Elleaume, H. (2008). Heavy element enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy as a promising brain tumour treatment. *Physica Medica*, 24(2), 92-97.
- Ahamed, M., AlSalhi, M. S., & Siddiqui, M. K. J. (2010). Silver nanoparticle applications and human health. *Clinica chimica acta*, 411(23-24), 1841-1848.
- Ahmad, A., Senapati, S., Khan, M. I., Kumar, R., & Sastry, M. (2003). Extracellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles by a novel extremophilic actinomycete, *Thermomonospora* sp. *Langmuir*, 19(8), 3550-3553.
- Arora, S., Jain, J., Rajwade, J. M., & Paknikar, K. M. (2009). Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. *Toxicology and applied pharmacology*, 236(3), 310-318.
- Arya, G., Kumari, R. M., Sharma, N., Gupta, N., Kumar, A., Chatterjee, S., & Nimesh, S. (2019). Catalytic, antibacterial and antibiofilm efficacy of biosynthesised silver nanoparticles using *Prosopis juliflora* leaf extract along with their wound healing potential. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 190, 50-58.
- Aydıntuğ, S. (2004). Meme kanserinde erken tanı. *Sted*, 13(6), 226-8.
- Baguley BC and Leung E: Heterogeneity of Phenotype in Breast Cancer Cell Lines. In: Breast Cancer - Carcinogenesis, Cell Growth and Signalling Pathways (Gunduz M, Gunduz E (eds.). Rijeka, InTech, pp. 245-256, 2011
- Baharara, J., Namvar, F., Ramezani, T., Hosseini, N., & Mohamad, R. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using *Achillea biebersteinii* flower extract and its anti-angiogenic properties in the rat aortic ring model. *Molecules*, 19(4), 4624-4634.
- Baram-Pinto, D., Shukla, S., Perkas, N., Gedanken, A., & Sarid, R. (2009). Inhibition of herpes simplex virus type 1 infection by silver nanoparticles capped with mercaptoethane sulfonate. *Bioconjugate chemistry*, 20(8), 1497-1502.
- Benkhedda, M., & Boufendi, T. (2019, November). Convective Heat Transfer Performance of Nanofluid in a Horizontal Annular Duct Considering Nanoparticles Shapes Effect. In *2019 7th International Renewable and Sustainable Energy Conference (IRSEC)* (pp. 1-6). IEEE.
- Bhatia, N., Zhao, J., Wolf, D. M., & Agarwal, R. (1999). Inhibition of human carcinoma cell growth and DNA synthesis by silibinin, an active constituent of milk thistle: comparison with silymarin. *Cancer letters*, 147(1-2), 77-84.
- Branch, K., & Kazeroun, I. (2011). Evaluation of Wound Healing Activity of Silymarin (*Silybum marianum*) in Streptozotocin Induced Experimental Diabetes in Rats" Ali Aliabadi, "Alireza Yousef, "Amirashkan Mahjoor and" Maryam Farahmand" Department of Clinical Sciences, "Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, "Department of Biology, Islamic Azad University. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(24), 3287-3292.
- Carlson, C., Hussain, S. M., Schrand, A. M., K. Braydich-Stolle, L., Hess, K. L., Jones,

- R. L., & Schlager, J. J. (2008). Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species. *The journal of physical chemistry B*, 112(43), 13608-13619.
- Chen, S. F., & Zhang, H. (2012). Aggregation kinetics of nanosilver in different water conditions. *Advances in natural sciences: nanoscience and nanotechnology*, 3(3), 035006.
- Clays, K., & Persoons, A. (1991). Hyper-Rayleigh scattering in solution. *Physical review letters*, 66(23), 2980.
- Durán, N., Marcato, P. D., Alves, O. L., De Souza, G. I., & Esposito, E. (2005). Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *Journal of nanobiotechnology*, 3(1), 8.
- Ehrenberg, M. S., Friedman, A. E., Finkelstein, J. N., Oberdörster, G., & McGrath, J. L. (2009). The influence of protein adsorption on nanoparticle association with cultured endothelial cells. *Biomaterials*, 30(4), 603-610.
- Elechiguerra, J. L., Burt, J. L., Morones, J. R., Camacho-Bragado, A., Gao, X., Lara, H. H., & Yacaman, M. J. (2005). Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *Journal of nanobiotechnology*, 3(1), 6.
- Elemike, E. E., Onwudiwe, D. C., Nundkumar, N., Singh, M., & Iyekowa, O. (2019). Green synthesis of Ag, Au and Ag-Au bimetallic nanoparticles using *Stigmaphyllon ovatum* leaf extract and their in vitro anticancer potential. *Materials Letters*, 243, 148-152.
- Elshawy, O. E., Helmy, E. A., & Rashed, L. A. (2016). Preparation, characterization and in vitro evaluation of the antitumor activity of the biologically synthesized silver nanoparticles. *Advances in Nanoparticles*, 5(2), 149-166.
- Fanoudi, S., Alavi, M. S., Karimi, G., & Hosseinzadeh, H. (2020). Milk thistle (*Silybum Marianum*) as an antidote or a protective agent against natural or chemical toxicities: a review. *Drug and chemical toxicology*, 43(3), 240-254.
- Fehaid, A., & Taniguchi, A. (2019). Size-Dependent Effect of Silver Nanoparticles on the Tumor Necrosis Factor α -Induced DNA Damage Response. *International journal of molecular sciences*, 20(5), 1038.
- Fathy, M. M. (2019). Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Thymoquinone and Evaluation of Their Radio-Sensitizing Activity. *BioNanoScience*, 1-7.
- Fierascu, R. C., Ortan, A., Avramescu, S. M., & Fierascu, I. (2019). Phyto-nanocatalysts: Green synthesis, characterization, and applications. *Molecules*, 24(19), 3418.
- Firdhouse, J., & Lalitha, P. (2015). Apoptotic efficacy of biogenic silver nanoparticles on human breast cancer MCF-7 cell lines. *Progress in biomaterials*, 4(2-4), 113-121.
- Flora, K., Hahn, M., Rosen, H., & Benner, K. (1998). Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease. *American Journal of Gastroenterology*, 93(2).
- Foldbjerg, R., Olesen, P., Hougaard, M., Dang, D. A., Hoffmann, H. J., & Autrup, H. (2009). PVP-coated silver nanoparticles and silver ions induce reactive oxygen species, apoptosis and necrosis in THP-1 monocytes. *Toxicology letters*, 190(2), 156-162.

- Gaffney, E. V. (1982). A cell line (HBL-100) established from human breast milk. *Cell and tissue research*, 227(3), 563-568.
- Gliga, A. R., Skoglund, S., Wallinder, I. O., Fadeel, B., & Karlsson, H. L. (2014). Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles in human lung cells: the role of cellular uptake, agglomeration and Ag release. *Particle and fibre toxicology*, 11(1), 11.
- Gomathi, A. C., Rajarathinam, S. X., Sadiq, A. M., & Rajeshkumar, S. (2020). Anticancer activity of silver nanoparticles synthesized using aqueous fruit shell extract of *Tamarindus indica* on MCF-7 human breast cancer cell line. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 55, 101376.
- Greulich, C., Kittler, S., Epple, M., Muhr, G., & Köller, M. (2009). Studies on the biocompatibility and the interaction of silver nanoparticles with human mesenchymal stem cells (hMSCs). *Langenbeck's Archives of Surgery*, 394(3), 495-502.
- Haase, A., Rott, S., Manton, A., Graf, P., Plendl, J., Thünemann, A. F., ... & Reiser, G. (2012). Effects of silver nanoparticles on primary mixed neural cell cultures: uptake, oxidative stress and acute calcium responses. *Toxicological sciences*, 126(2), 457-468.
- Haase, A., Tentschert, J., Jungnickel, H., Graf, P., Manton, A., Draude, F., ... & Thünemann, A. F. (2011). Toxicity of silver nanoparticles in human macrophages: uptake, intracellular distribution and cellular responses. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 304, No. 1, p. 012030). IOP Publishing.
- Hamilton, R. F., Buckingham, S., & Holian, A. (2014). The effect of size on Ag nanosphere toxicity in macrophage cell models and lung epithelial cell lines is dependent on particle dissolution. *International journal of molecular sciences*, 15(4), 6815-6830.
- He R, Qian X, Yin Y, Zhu Z. (2002). Preparation of polychrome silver nanoparticles in different solvents. *J Mater Chem.*, 12: 3783-3786.
- He, D., Dorantes-Aranda, J. J., & Waite, T. D. (2012). Silver Nanoparticle-Algae Interactions: Oxidative Dissolution, Reactive Oxygen Species Generation and Synergistic Toxic Effects. *Environmental science & technology*, 46(16), 8731-8738.
- Henglein, A. (1989). Small-particle research: physicochemical properties of extremely small colloidal metal and semiconductor particles. *Chemical reviews*, 89(8), 1861-1873.
- Herman, H., Pilat, M. L., Popescu, C., Turcus, V., Aurel, A., Ardelean, A., ... & Hermenean, A. (2011). Pharmacology of *Silybum marianum* and its active constituents. *Therapeutic activity-part*, 2, 35-40.
- House, J. S., Bouzos, E., Fahy, K. M., Francisco, V. M., Lloyd, D. T., Wright, F. A., ... & Wheeler, K. E. (2020). Low-Dose Silver Nanoparticle Surface Chemistry and Temporal Effects on Gene Expression in Human Liver Cells. *Small*.
- Hwang, C., Kim, J. M., & Kim, J. (2017). Influence of concentration, nanoparticle size, beam energy, and material on dose enhancement in radiation therapy. *Journal of*

- radiation research*, 58(4), 405-411.
- Ishikawa, Y., Shibata, N., & Fukatsu, S. (1997). Highly oriented Si nanoparticles in SiO₂ created by Si molecular beam epitaxy with oxygen implantation. *Thin Solid Films*, 294(1-2), 227-230.
- Ishikawa, Y., Shibata, N., Fukatsu, S., 1997. Highly oriented Si nanoparticles in SiO₂ created by si molecular beam epitaxy with oxygen implantation. *Thin Solid Films*, 294, 227-230
- Jiang, Z. J., Liu, C. Y., & Sun, L. W. (2005). Catalytic properties of silver nanoparticles supported on silica spheres. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(5), 1730-1735.
- Jiao, Z. H., Li, M., Feng, Y. X., Shi, J. C., Zhang, J., & Shao, B. (2014). Hormesis effects of silver nanoparticles at non-cytotoxic doses to human hepatoma cells. *PloS one*, 9(7).
- Jyoti, K., Singh, A., Fekete, G., & Singh, T. (2020). Cytotoxic and radiosensitizing potential of silver nanoparticles against HepG-2 cells prepared by biosynthetic route using Picrasma quassioides leaf extract. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 55, 101479.
- Kaba, S. I., & Egorova, E. M. (2015). In vitro studies of the toxic effects of silver nanoparticles on HeLa and U937 cells. *Nanotechnology, science and applications*, 8, 19.
- Kalishwaralal, K., Banumathi, E., Pandian, S. R. K., Deepak, V., Muniyandi, J., Eom, S. H., & Gurunathan, S. (2009). Silver nanoparticles inhibit VEGF induced cell proliferation and migration in bovine retinal endothelial cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 73(1), 51-57.
- Karimi, G., Ramezani, M., & Tahoorian, Z. (2005). Cisplatin nephrotoxicity and protection by milk thistle extract in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2(3), 383-386.
- Kim, H. G., Bae, J. H., Jastrzebski, Z., Cherkas, A., Heo, B. G., Gorinstein, S., & Ku, Y. G. (2016). Binding, antioxidant and anti-proliferative properties of bioactive compounds of sweet paprika (*Capsicum annuum* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(2), 129-136.
- Korkutata, N. F., & Kavaz, A. (2013). Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Yetiştirilen Kırmızı Acı Biber. Popülasyonlarının (*Capsicum Annum* L.) Bazı Kalite Parametreleri. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 11(1).
- Korshed, P., Li, L., Liu, Z. ve Wang, T. (2018). Düzeltme: Pikosaniye Lazerle Üretilen Gümüş Nanoparçacıkların Antibakteriyel Etkisinin Moleküler Mekanizmaları ve İnsan Hücrelerine Toksisiteleri. *PloS bir*, 13 (8), e0203636.
- Kowshik, M., Ashtaputre, S., Kharrazi, S., Vogel, W., Urban, J., Kulkarni, S. K., & Paknikar, K. M. (2002). Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnology*, 14(1), 95.
- Krishnaraj, C., Jagan, EG, Rajasekar, S., Selvakumar, P., Kalaichelvan, PT, & Mohan, NJCSBB (2010). Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and their antibacterial activity against waterborne pathogens. *Colloids*

and Surfaces B: Bio interfaces, 76 (1), 50-56.

- Kumar, V., & Yadav, S. K. (2009). Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 84(2), 151-157.
- Lankoff, A., Sandberg, W. J., Wegierek-Ciuk, A., Lisowska, H., Refsnes, M., Sartowska, B., ... & Kruszewski, M. (2012). The effect of agglomeration state of silver and titanium dioxide nanoparticles on cellular response of HepG2, A549 and THP-1 cells. *Toxicology letters*, 208(3), 197-213.
- Lara, H. H., Ayala-Núñez, N. V., Ixtapan-Turrent, L., & Rodriguez-Padilla, C. (2010). Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1. *Journal of nanobiotechnology*, 8(1), 1.
- Lara, HH, Ayala-Núñez, NV, Ixtapan-Turrent, L. and Rodriguez-Padilla, C. (2010). Antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1. *Nanobiotechnology journal*, 8 (1), 1.
- Le, A. T., Huy, P. T., Tam, P. D., Huy, T. Q., Cam, P. D., Kudrinskiy, A. A., & Krutyakov, Y. A. (2010). Green synthesis of finely-dispersed highly bactericidal silver nanoparticles via modified Tollens technique. *Current Applied Physics*, 10(3), 910-916.
- Lee, S. H., & Jun, B. H. (2019). Silver Nanoparticles: Synthesis and application for nanomedicine. *International journal of molecular sciences*, 20(4), 865.
- Levenson, A. S., & Jordan, V. C. (1997). MCF-7: the first hormone-responsive breast cancer cell line. *Cancer research*, 57(15), 3071-3078.
- Li, J., Zhang, B., Chang, X., Gan, J., Li, W., Niu, S., ... & Xue, Y. (2020). Silver nanoparticles modulate mitochondrial dynamics and biogenesis in HepG2 cells. *Environmental Pollution*, 256, 113430.
- Li, Y., Guo, M., Lin, Z., Zhao, M., Xiao, M., Wang, C., ... & Zhu, B. (2016). Polyethylenimine-functionalized silver nanoparticle-based co-delivery of paclitaxel to induce HepG2 cell apoptosis. *International journal of nanomedicine*, 11, 6693.
- Lison, D., Thomassen, L. C., Rabolli, V., Gonzalez, L., Napierska, D., Seo, J. W., ... & Martens, J. A. (2008). Nominal and effective dosimetry of silica nanoparticles in cytotoxicity assays. *Toxicological sciences*, 104(1), 155-162.
- Liu, P., Jin, H., Guo, Z., Ma, J., Zhao, J., Li, D., ... & Gu, N. (2016). Silver nanoparticles outperform gold nanoparticles in radiosensitizing U251 cells in vitro and in an intracranial mouse model of glioma. *International journal of nanomedicine*, 11, 5003.
- Liu, P., Jin, H., Guo, Z., Ma, J., Zhao, J., Li, D., ... & Gu, N. (2016). Silver nanoparticles outperform gold nanoparticles in radiosensitizing U251 cells in vitro and in an intracranial mouse model of glioma. *International journal of nanomedicine*, 11, 5003.
- Liu, W., Wu, Y., Wang, C., Li, H. C., Wang, T., Liao, C. Y., ... & Jiang, G. B. (2010). Impact of silver nanoparticles on human cells: effect of particle

- size. *Nanotoxicology*, 4(3), 319-330.
- Liu, Z., Tan, H., Zhang, X., Chen, F., Zhou, Z., Hu, X., ... & Zhang, H. (2018). Enhancement of radiotherapy efficacy by silver nanoparticles in hypoxic glioma cells. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(sup3), S922-S930.
- Lu, L., Sun, R. W., Chen, R., Hui, C. K., Ho, C. M., Luk, J. M., ... & Che, C. M. (2008). Silver nanoparticles inhibit hepatitis B virus replication. *Antiviral therapy*, 13(2), 253.
- Maoka, T., Mochida, K., Kozuka, M., Ito, Y., Fujiwara, Y., Hashimoto, K., ... & Nishino, H. (2001). Cancer chemopreventive activity of carotenoids in the fruits of red paprika *Capsicum annuum* L. *Cancer letters*, 172(2), 103-109.
- Mata, R., Nakkala, J. R., & Sadras, S. R. (2015). Biogenic silver nanoparticles from *Abutilon indicum*: their antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects in vitro. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 128, 276-286.
- Materska, M., Konopacka, M., Rogoliński, J., & Ślosarek, K. (2015). Antioxidant activity and protective effects against oxidative damage of human cells induced by X-radiation of phenolic glycosides isolated from pepper fruits *Capsicum annuum* L. *Food chemistry*, 168, 546-553.
- McShan, D., Ray, P. C., & Yu, H. (2014). Molecular toxicity mechanism of nanosilver. *Journal of food and drug analysis*, 22(1), 116-127.
- Mehrbod, P., Motamed, N., TABATABAEIAN, M., SOLEYMANI, E. R., Amini, E., Shahidi, M., & KHEYRI, M. (2009). IN VITRO ANTIVIRAL EFFECT OF.
- Mie, G. (1908). Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der physik*, 330(3), 377-445.
- Mie, G. (1908). Contributions to the optics of diffuse media, especially colloid metal solutions. *Ann. Phys*, 25, 377-445.
- Mohammadinejad, R., Pourseyedi, S., Baghizadeh, A., Ranjbar, S., & Mansoori, G. A. (2013). Synthesis of silver nanoparticles using *Silybum marianum* seed extract. *International Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 9(4), 221-226.
- Mollick, M. M. R., Rana, D., Dash, S. K., Chattopadhyay, S., Bhowmick, B., Maity, D., ... & Chattopadhyay, D. (2019). Studies on green synthesized silver nanoparticles using *Abelmoschus esculentus* (L.) pulp extract having anticancer (in vitro) and antimicrobial applications. *Arabian journal of chemistry*, 12(8), 2572-2584.
- Mori, Y., Ono, T., Miyahira, Y., Nguyen, V. Q., Matsui, T., & Ishihara, M. (2013). Antiviral activity of silver nanoparticle/chitosan composites against H1N1 influenza A virus. *Nanoscale research letters*, 8(1), 93.
- Morris, D., Ansar, M., Speshock, J., Ivanciuc, T., Qu, Y., Casola, A., & Garofalo, R. P. (2019). Antiviral and Immunomodulatory Activity of Silver Nanoparticles in Experimental RSV Infection. *Viruses*, 11(8), 732.
- Murugan, K., Choonara, Y. E., Kumar, P., Bijukumar, D., du Toit, L. C., & Pillay, V. (2015). Parameters and characteristics governing cellular internalization and trans-barrier trafficking of nanostructures. *International journal of*

nanomedicine, 10, 2191.

- Nabikhan, A., Kandasamy, K., Raj, A., & Alikunhi, N. M. (2010). Synthesis of antimicrobial silver nanoparticles by callus and leaf extracts from saltmarsh plant, *Sesuvium portulacastrum* L. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 79(2), 488-493.
- Nasar, S., Murtaza, G., Mehmood, A., Bhatti, T. M., & Raffi, M. (2019). Environmentally benign and economical phytofabrication of silver nanoparticles using *juglans regia* leaf extract for antibacterial study. *Journal of Electronic Materials*, 48(6), 3562-3569.
- Nayak, D., Minz, A. P., Ashe, S., Rauta, P. R., Kumari, M., Chopra, P., & Nayak, B. (2016). Synergistic combination of antioxidants, silver nanoparticles and chitosan in a nanoparticle based formulation: Characterization and cytotoxic effect on MCF-7 breast cancer cell lines. *Journal of colloid and interface science*, 470, 142-152.
- Ogunshe, A. A., Iheanacho, N. I., & Oduyoye, O. M. (2006). Characterization and recovery rates of food-indicator microorganisms from home-made oral rehydration solutions in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 5(8), 603-608.
- Pandey, S., Mewada, A., Thakur, M., Shinde, S., Shah, R., Oza, G., & Sharon, M. (2013). Rapid biosynthesis of silver nanoparticles by exploiting the reducing potential of *Trapa bispinosa* peel extract. *Journal of Nanoscience*, 2013.
- Park, E. J., Yi, J., Kim, Y., Choi, K., & Park, K. (2010). Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism. *Toxicology in vitro*, 24(3), 872-878.
- Park, E. J., Yi, J., Kim, Y., Choi, K., & Park, K. (2010). Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism. *Toxicology in vitro*, 24(3), 872-878.
- Petosa, A. R., Jaisi, D. P., Quevedo, I. R., Elimelech, M., & Tufenkji, N. (2010). Aggregation and deposition of engineered nanomaterials in aquatic environments: role of physicochemical interactions. *Environmental science & technology*, 44(17), 6532-6549.
- Polanowski, F. P., Gaffney, E. V., & Burke, R. E. (1976, January). HBL-100, A cell line established from human breast-milk. In *IN VITRO-JOURNAL OF THE TISSUE CULTURE ASSOCIATION* (Vol. 12, No. 4, pp. 328-328). 9315 LARGO DR WEST, STE 25, LARGO, MD 20774: SOC IN VITRO BIOLOGY.
- Rainone, F. (2005). Milk thistle. *American family physician*, 72(7), 1285-1288.
- Ramasamy, K., & Agarwal, R. (2008). Multitargeted therapy of cancer by silymarin. *Cancer letters*, 269(2), 352-362.
- Reidy, B., Haase, A., Luch, A., Dawson, K. A., & Lynch, I. (2013). Mechanisms of silver nanoparticle release, transformation and toxicity: a critical review of current knowledge and recommendations for future studies and applications. *Materials*, 6(6), 2295-2350.
- Rogers, J. V., Parkinson, C. V., Choi, Y. W., Speshock, J. L., & Hussain, S. M. (2008). A preliminary assessment of silver nanoparticle inhibition of monkeypox virus

- plaque formation. *Nanoscale Research Letters*, 3(4), 129-133.
- Sağlık İstatistikleri Yıllığı. (2017). T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No:1106. Kuban Matbaacılık ve Yayıncılık. Ankara, 40-41.
- Scherer, M. D., Sposito, J. C., Falco, W. F., Grisolia, A. B., Andrade, L. H., Lima, S. M., ... & Oliveira, S. L. (2019). Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles on meristematic cells of *Allium cepa* roots: A close analysis of particle size dependence. *Science of the Total Environment*, 660, 459-467.
- Schmid, G. (Ed.). (2011). *Nanoparticles: from theory to application*. John Wiley & Sons.
- Seinfeld and Pandis, Atmospheric Chemistry and Physics, 2nd Edition, John Wiley and Sons, New Jersey 2006, Chapter 15.1.1
- Shaker, E., Mahmoud, H., & Mnaa, S. (2010). Silymarin, the antioxidant component and *Silybum marianum* extracts prevent liver damage. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 803-806.
- Sharma, N., Arya, G., Kumari, R. M., Gupta, N., & Nimesh, S. (2019). Evaluation of Anticancer activity of Silver Nanoparticles on the A549 Human Lung Carcinoma Cell Lines through Alamar Blue Assay. *Bioprotocol*, 9(1), e3131.
- Sharma, V. K. (2009). Aggregation and toxicity of titanium dioxide nanoparticles in aquatic environment—a review. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 44(14), 1485-1495.
- Sharma, V. K., Yngard, R. A., & Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in colloid and interface science*, 145(1-2), 83-96.
- Shirazi, F. H., Zarghi, A., Kobarfard, F., Zendehelel, R., Nakhjavani, M., Arfaiee, S., ... & Shoeibi, S. (2011). Remarks in successful cellular investigations for fighting breast cancer using novel synthetic compounds. *Breast Cancer—Focusing Tumor Microenvironment, Stem Cells and Metastasis*; Gunduz, M., Gunduz, E., Eds, 85-102.
- Shyam, A., Murali, A., & Chandran, S. S. (2019, October). Green synthesis of silver nanoparticles using *Hydnocarpus pentandra* leaf extract: Evaluation of its antimicrobial and anti-Larvicidal activities. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2162, No. 1, p. 020107). AIP Publishing LLC.
- Sonnenbichler, J., Scalera, F., Sonnenbichler, I., & Weyhenmeyer, R. (1999). Stimulatory effects of silibinin and silicristin from the milk thistle *Silybum marianum* on kidney cells. *Journal of Pharmacology and experimental therapeutics*, 290(3), 1375-1383.
- Soule, H. D., Vazquez, J., Long, A., Albert, S., & Brennan, M. (1973). A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *Journal of the national cancer institute*, 51(5), 1409-1416.
- Speshock, J. L., Murdock, R. C., Braydich-Stolle, L. K., Schrand, A. M., & Hussain, S. M. (2010). Interaction of silver nanoparticles with Tacaribe virus. *Journal of nanobiotechnology*, 8(1), 19.
- Sriram, M. I., Kalishwaralal, K., Barathmanikanth, S., & Gurunathani, S. (2012). Size-

- based cytotoxicity of silver nanoparticles in bovine retinal endothelial cells. *Nanoscience Methods*, 1(1), 56-77.
- Stoehr, L. C., Gonzalez, E., Stampfl, A., Casals, E., Duschl, A., Puentes, V., & Oostingh, G. J. (2011). Shape matters: effects of silver nanospheres and wires on human alveolar epithelial cells. *Particle and fibre toxicology*, 8(1), 36.
- Sun, L., Singh, A. K., Vig, K., Pillai, S. R., & Singh, S. R. (2008). Silver nanoparticles inhibit replication of respiratory syncytial virus. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 4(2), 149-158.
- Sweeney, E. E., McDaniel, R. E., Maximov, P. Y., Fan, P., & Jordan, V. C. (2012). Models and mechanisms of acquired antihormone resistance in breast cancer: significant clinical progress despite limitations. *Hormone molecular biology and clinical investigation*, 9(2), 143-163.
- Tchiegang, C., Fewou, P. M., & Noutchougoue, V. K. (1999). Etude comparee de quelques constituants chimiques de deux types de piment (*Capsicum annum* L.) pendant la conservation dans une saumure acide. *Journal of food engineering*, 42(2), 117-123.
- Travan, A., Pelillo, C., Donati, I., Marsich, E., Benincasa, M., Scarpa, T., ... & Paoletti, S. (2009). Non-cytotoxic silver nanoparticle-polysaccharide nanocomposites with antimicrobial activity. *Biomacromolecules*, 10(6), 1429-1435.
- Trefry, J. C., & Wooley, D. P. (2012). Rapid assessment of antiviral activity and cytotoxicity of silver nanoparticles using a novel application of the tetrazolium-based colorimetric assay. *Journal of virological methods*, 183(1), 19-24.
- Tzeng, J. I., Chen, M. F., Chung, H. H., & Cheng, J. T. (2013). Silymarin decreases connective tissue growth factor to improve liver fibrosis in rats treated with carbon tetrachloride. *Phytotherapy Research*, 27(7), 1023-1028.
- Unrine, J. M., Colman, B. P., Bone, A. J., Gondikas, A. P., & Matson, C. W. (2012). Biotic and abiotic interactions in aquatic microcosms determine fate and toxicity of Ag nanoparticles. Part 1. Aggregation and dissolution. *Environmental science & technology*, 46(13), 6915-6924.
- Vaid, M., & Katiyar, S. K. (2010). Molecular mechanisms of inhibition of photocarcinogenesis by silymarin, a phytochemical from milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.). *International journal of oncology*, 36(5), 1053-1060.
- Valsalam, S., Agastian, P., Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ghilan, A. K. M., Kaviyarasu, K., ... & Arokiyaraj, S. (2019). Rapid biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from the leaf extract of *Tropaeolum majus* L. and its enhanced in-vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and anticancer properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 191, 65-74.
- van Aerle, R., Lange, A., Moorhouse, A., Paszkiewicz, K., Ball, K., Johnston, B. D., ... & Santos, E. M. (2013). Molecular mechanisms of toxicity of silver nanoparticles in zebrafish embryos. *Environmental science & technology*, 47(14), 8005-8014.
- van der Zande, M., Vandebriel, R. J., Van Doren, E., Kramer, E., Herrera Rivera, Z., Serrano-Rojero, C. S., ... & Hendriksen, P. J. (2012). Distribution, elimination, and toxicity of silver nanoparticles and silver ions in rats after 28-day oral

- exposure. *ACS nano*, 6(8), 7427-7442.
- Venugopal, K., Rather, H. A., Rajagopal, K., Shanthi, M. P., Sheriff, K., Illiyas, M., ... & Maaza, M. (2017). Synthesis of silver nanoparticles (Ag NPs) for anticancer activities (MCF-7 breast and A549 lung cell lines) of the crude extract of *Syzygium aromaticum*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 167, 282-289.
- Vippola, M., Falck, G. C. M., Lindberg, H. K., Suhonen, S., Vanhala, E., Norppa, H., ... & Tuomi, T. (2009). Preparation of nanoparticle dispersions for in-vitro toxicity testing. *Human & experimental toxicology*, 28(6-7), 377-385.
- Vivek, R., Thangam, R., Muthuchelian, K., Gunasekaran, P., Kaveri, K., & Kannan, S. (2012). Green biosynthesis of silver nanoparticles from *Annona squamosa* leaf extract and its in vitro cytotoxic effect on MCF-7 cells. *Process Biochemistry*, 47(12), 2405-2410.
- World Health Organization. (2019). Erişim: 12 Aralık 2018, <https://www.who.int/cancer/prevention/diagnosiscreening/breast-cancer/en/>
- Wu, M., Guo, H., Liu, L., Liu, Y., & Xie, L. (2019). Size-dependent cellular uptake and localization profiles of silver nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 4247.
- Wypij, M., Czarnecka, J., Świecimska, M., Dahm, H., Rai, M., & Golinska, P. (2018). Synthesis, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of biogenic silver nanoparticles synthesized from *Streptomyces xinghaiensis* OF1 strain. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(2), 23.
- Xiang, D. X., Chen, Q., Pang, L., & Zheng, C. L. (2011). Inhibitory effects of silver nanoparticles on H1N1 influenza A virus in vitro. *Journal of virological methods*, 178(1-2), 137-142.
- Xiu, Z. M., Zhang, Q. B., Puppala, H. L., Colvin, V. L., & Alvarez, P. J. (2012). Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles. *Nano letters*, 12(8), 4271-4275.
- Yilma, A. N., Singh, S. R., Dixit, S., & Dennis, V. A. (2013). Anti-inflammatory effects of silver-polyvinyl pyrrolidone (Ag-PVP) nanoparticles in mouse macrophages infected with live *Chlamydia trachomatis*. *International journal of nanomedicine*, 8, 2421.
- Yu, S. J., Yin, Y. G., & Liu, J. F. (2013). Silver nanoparticles in the environment. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 15(1), 78-92.
- Zhao, Y., Chen, B., & Yao, S. (2005). Simultaneous determination of abietane-type diterpenes, flavonolignans and phenolic compounds in compound preparations of *Silybum marianum* and *Salvia miltiorrhiza* by HPLC-DAD-ESI MS. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 38(3), 564-570.
- Ziche, M., & Gullino, P. M. (1982). Angiogenesis and neoplastic progression in vitro. *Journal of the National Cancer Institute*, 69(2), 483-487.
- Ziemińska, E., Stafiej, A., & Strużyńska, L. (2014). The role of the glutamatergic NMDA receptor in nanosilver-evoked neurotoxicity in primary cultures of cerebellar

granule cells. *Toxicology*, 315, 38-48.



8. EKLER

8.1. Matlap Kaynak Kodu

Parçacık boyutlarının küresel olduğu sonucu üzerinden boyut dağılımlarının belirlenmesinde kullanılan MATLAB programına ait kaynak kodu aşağıda verilmiştir.

```
olcek=input('ölçek gir:');

piksel=input('ölçeğin piksel olarak uzunluğunu gir:');

M = imread('C:\Users\erdi\Desktop\ıncır\ı1E1Agx77500-4.jpg');

bw=im2bw(M); N=(bw-1)*(-1);

bw=im2bw(N);

figure,imshow(N);

hold on [B,L] = bwboundaries(bw,'noholes');

for k = 1:length(B) boundary = B{k};

plot(boundary(:,2),

boundary(:,1), 'b', 'LineWidth', 2) end stats = regionprops(L,'Area','Centroid');

% sınırlar üzerinde döngü

for k = 1:length(B)

    %k etiketine uygun XY sınır koordinatlarını sağlar

    boundary = B{k};

    %nesnelerin çevresinin tahmini olarak hesaplanması

    delta_sq = diff(boundary).^2;

    perimeter = sum(sqrt(sum(delta_sq,2)));

    cp=perimeter/(3.14);

    cap=(cp*olcek)/piksel;

    % sonuçları gösterir

    metric_string = sprintf('%1.2f',yaricap);

    % txt dosyası olarak kayıt yapmayı sağlar.
```

```

diary sonuc.txt

disp(metric_string)

diary end

text(boundary(1,2)-15,boundary(1,1)+3,metric_string,'Color','r',...
'FontSize',5,'FontWeight','bold');

end

title(['nanoparcaciklar ve ',... 'herbir nanoparcacigin ortalama capları(nanometre
olarak)']);

clear all,clc

n=textread('sonuc.txt');

a= n>1,00;

%dizinin terimlerini toplar.

b=sum(a);

% boyutu 100nm'nin üzerinde olan nanopartiküllerin frekansı sonuçlarda görünmesede
"%” değerlerinde dahil edilmiştir.

a2=n>2; a4=n>4; a6=n>6; a8=n>8; a10=n>10; a12=n>12; a14=n>14; a16=n>16;
a18=n>18; a20=n>20; a22=n>22; a24=n>24; a26=n>26; a28=n>28; a30=n>30;
a32=n>32; a34=n>34; a36=n>36; a38=n>38; a40=n>40; a42=n>42; a44=n>44;
a46=n>46; a48=n>48; a50=n>50; a52=n>52; a54=n>54; a56=n>56; a58=n>58;
a60=n>60; a62=n>62; a64=n>64; a66=n>66; a68=n>68; a70=n>70; a72=n>72;
a74=n>74; a76=n>76; a78=n>78; a80=n>80; a82=n>82; a84=n>84; a86=n>86;
a88=n>88; a90=n>90; a92=n>92; a94=n>94; a96=n>96; a98=n>98; a100=n>100;

b2=sum(a2); b4=sum(a4); b6=sum(a6); b8=sum(a8); b10=sum(a10); b12=sum(a12);
b14=sum(a14); b16=sum(a16); b18=sum(a18); b20=sum(a20); b22=sum(a22);
b24=sum(a24); b26=sum(a26); b28=sum(a28); b30=sum(a30); b32=sum(a32);
b34=sum(a34); b36=sum(a36); b38=sum(a38); b40=sum(a40); b42=sum(a42);
b44=sum(a44); b46=sum(a46); b48=sum(a48); b50=sum(a50); b52=sum(a52);
b54=sum(a54); b56=sum(a56); b58=sum(a58); b60=sum(a60); b62=sum(a62);
b64=sum(a64); b66=sum(a66); b68=sum(a68); b70=sum(a70); b72=sum(a72);
b74=sum(a74); b76=sum(a76); b78=sum(a78); b80=sum(a80); b82=sum(a82);
b84=sum(a84); b86=sum(a86); b88=sum(a88); b90=sum(a90); b92=sum(a92);
b94=sum(a94); b96=sum(a96); b98=sum(a98); b100=sum(a100);

c2=((b-b2)*100)/b; c4=((b2-b4)*100)/b; c6=((b4-b6)*100)/b; c8=((b6-b8)*100)/b;
c10=((b8-b10)*100)/b; c12=((b10-b12)*100)/b; c14=((b12-b14)*100)/b; c16=((b14-
b16)*100)/b; c18=((b16-b18)*100)/b; c20=((b18-b20)*100)/b; c22=((b20-b22)*100)/b;
c24=((b22-b24)*100)/b; c26=((b24-b26)*100)/b; c28=((b26-b28)*100)/b; c30=((b28-

```


$b30 \cdot 100 / b$; $c32 = ((b30 - b32) \cdot 100) / b$; $c34 = ((b32 - b34) \cdot 100) / b$; $c36 = ((b34 - b36) \cdot 100) / b$;
 $c38 = ((b36 - b38) \cdot 100) / b$; $c40 = ((b38 - b40) \cdot 100) / b$; $c42 = ((b40 - b42) \cdot 100) / b$; $c44 = ((b42 -$
 $b44) \cdot 100) / b$; $c46 = ((b44 - b46) \cdot 100) / b$; $c48 = ((b46 - b48) \cdot 100) / b$; $c50 = ((b48 - b50) \cdot 100) / b$;
 $c52 = ((b50 - b52) \cdot 100) / b$; $c54 = ((b52 - b54) \cdot 100) / b$; $c56 = ((b54 - b56) \cdot 100) / b$; $c58 = ((b56 -$
 $b58) \cdot 100) / b$; $c60 = ((b58 - b60) \cdot 100) / b$; $c62 = ((b60 - b62) \cdot 100) / b$; $c64 = ((b62 - b64) \cdot 100) / b$;
 $c66 = ((b64 - b66) \cdot 100) / b$; $c68 = ((b66 - b68) \cdot 100) / b$; $c70 = ((b68 - b70) \cdot 100) / b$; $c72 = ((b70 -$
 $b72) \cdot 100) / b$; $c74 = ((b72 - b74) \cdot 100) / b$; $c76 = ((b74 - b76) \cdot 100) / b$; $c78 = ((b76 - b78) \cdot 100) / b$;
 $c80 = ((b78 - b80) \cdot 100) / b$; $c82 = ((b80 - b82) \cdot 100) / b$; $c84 = ((b82 - b84) \cdot 100) / b$; $c86 = ((b84 -$
 $b86) \cdot 100) / b$; $c88 = ((b86 - b88) \cdot 100) / b$; $c90 = ((b88 - b90) \cdot 100) / b$; $c92 = ((b90 - b92) \cdot 100) / b$;
 $c94 = ((b92 - b94) \cdot 100) / b$; $c96 = ((b94 - b96) \cdot 100) / b$; $c98 = ((b96 - b98) \cdot 100) / b$; $c100 = ((b98 -$
 $b100) \cdot 100) / b$; diary sonucc.txt disp(c4); disp(c6); disp(c8); disp(c10); disp(c12);
disp(c14); disp(c16); disp(c18);disp(c20); disp(c22); disp(c24); disp(c26); disp(c28);
disp(c30); disp(c32); disp(c34); disp(c36); disp(c38); disp(c40); disp(c42); disp(c44);
disp(c46); disp(c48); disp(c50); disp(c52); disp(c54); disp(c56); disp(c58); disp(c60);
disp(c62); disp(c64); disp(c66); disp(c68); disp(c70); disp(c72); disp(c74); disp(c76);
disp(c78); disp(c80); disp(c82); disp(c84); disp(c86); disp(c88); disp(c90); disp(c92);
disp(c94); disp(c96); disp(c98); disp(c100);

diary end

ÖZGEÇMİŞ

Erdi BİLGİÇ

erbilgic@gelisim.edu.tr



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora	Akdeniz Üniversitesi
2015-2020	Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Eğitimi Anabilim Dalı Antalya
Yüksek Lisans	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
2010-2013	Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı, Burdur
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2009-2010	Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Eğitimi Anabilim Dalı Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2004-2009	Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Öğretim Görevlisi	Kıbrıs İlim Üniversitesi
Öğretim Görevlisi	İstanbul Gelişim Üniversitesi
Program Başkanlığı	Tıbbi Görüntüleme Teknikleri, İstanbul Gelişim Üniversitesi.

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1- BİLGİÇ ERDİ (2018). Biosynthesis and characterization of silvernanoparticles by using

mulberry(Morus nigra) leaf extract. abmyo dergisi(49), 113-130. (Yayın No: 4945684)

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

BİLGİÇ ERDİ, GÜNGÖR TAYYAR, ULUĞ BÜLENT (2013). Ceviz ve Haşhaş Özütlерinden Metal Nanoparçacıkların Üretimi ve Karakterizasyonu. 30. Uluslararası Fizik Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4945707)

BİLGİÇ ERDİ, GÜNGÖR TAYYAR, ULUĞ BÜLENT (2013). Kekik Bitkisinin İndirgen Olarak Kullanılmasıyla, Gümüş Nanoparçacıklarının Üretimi Ve Karakterizasyonu.. 30. Uluslararası Fizik Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4945706)

BİLGİÇ ERDİ, GÜNGÖR TAYYAR, ULUĞ BÜLENT (2013). İncir (Fucus Carica) Yaprak Özütlерini Kullanarak Gümüş Nanoparçacıkların Eldesi ve Karakterizasyonu. Ulusal Spektroskopi Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4945700)

