

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**YARA VE YANIK TEDAVİSİNDE KULLANILMAK
ÜZERE METALİK NANOPARTİKÜLLERİN
BİYOTEKNOLOJİK YÖNTEMLE SENTEZLENMESİ,
KARAKTERİZASYONU, ANTİBAKTERİYAL VE
ANTİPROTEOLİTİK AKTİVİTELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Muslime TANRISEVEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2018-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**YARA VE YANIK TEDAVİSİNDE KULLANILMAK
ÜZERE METALİK NANOPARTİKÜLLERİN
BİYOTEKNOLOJİK YÖNTEMLE SENTEZLENMESİ,
KARAKTERİZASYONU, ANTİBAKTERİYAL VE
ANTİPROTEOLİTİK AKTİVİTELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Muslime TANRISEVEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğretim Üyesi Devrim DEMİR DORA

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir”


2018-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Tıbbi Farmakoloji Programında yüksek lisans tezi olarak kabul edildi. 27 / 06 / 2018

İmza

Tez Danışmanı : Dr. Öğretim Üyesi Devrim DEMİR DORA
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Coşkun USTA
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Dr. Öğretim Üyesi Mehmet Kürşat DERİCİ
Kırıkkale Üniversitesi



Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Narin DERİN

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.



Öğrencinin

Muslime TANRISEVEN

İmza



Tez Danışmanı

Dr. Öğretim Üyesi Devrim DEMİR DORA

İmza

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması için bana fırsat veren danıŐmanım Sayın Öğretim Üyesi Dr. Devrim DEMİR DORA'ya, her dersinden yeni ufuklar kazanmış olarak çıktığım, çok değerli hocam, Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Sadi ÖZDEM'e, Anabilim dalı değerli hocalarımdan Prof. Dr. Nuray ERİN ve Prof. Dr. Coşkun USTA'ya, dersleri vasıtasıyla bilimsel düşünce ve çalışma ufkumu genişlettiğim çok değerli Farmakoloji Anabilim Dalı Hocalarına, lisans eğitimimin başlangıcından bu yana bilimsel ve düşünsel anlamda beni donatan Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümündeki saygıdeğer hocalarıma, Akdeniz Üniversitesi Kimya Bölümü hocalarından Prof. Dr. Ertuğrul ARPAÇ'a ve Kimya Yüksek Lisans öğrencisi Mehmet MOR'a, Akdeniz Üniversitesi Malzeme Mühendisliği Bölümü hocalarından Prof. Dr. Numan HODA'ya, bilimsel desteğini her zaman yanımda hissettiğim Akdeniz Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı hocalarından Prof. Dr. Meral Dilare ÖĞÜNÇ hocama, öğrenim sürem boyunca desteklerini her zaman gördüğüm Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İdari ve Akademik personele teşekkür ederim.

Bana bilim sevgisi ve çalışma aşkını aşıl原因, maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan, bilimin alçak gönüllülük ve değeri birlikte barındırdığını öğreten, beni insani değerlerle donatan, sevgi ve saygı ile bağlı olduğum aileme, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Amaç: Yara ve yanık alanlarında sıklıkla üreyen *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı kullanılabilme potansiyeli olabilecek metalik güçlü antibakteriyallerin nanobiyoteknolojik yöntemle sentezlenmesi ve sentezlenen nanopartiküllerin bu patojenler üzerine inhibitör etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Nanobiyofabrikasyon metodu ile *Pelargonium sidoides* kök ekstraktında metalik altın (Au), gümüş (Ag) ve altın-gümüş (Au-Ag) nanopartiküller sentezlenmiş ve bu nanopartiküllerin fizikokimyasal karakterizasyonları Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi, Ultraviyole ve Görünür Işık Absorbsiyon Spektroskopisi, Geçirimli Elektron Mikroskopisi ve zetametre aracılığı ile yapılmıştır. Metalik nanopartiküllerin, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 bakterileri üzerine inhibitör etkileri ise CLSI, 2016'ya göre belirlenmiştir.

Bulgular: Altın ve gümüş nanopartiküller ile kor-kabuk yapısındaki altın-gümüş bimetalik nanopartiküller biyofabrikasyon aracılığı ile sentezlenmiştir. Gümüş nanopartiküller ve altın-gümüş bimetalik nanopartiküllerin yara ve yanıklarda en sık üreyen iki patojen bakteri, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı güçlü antimikrobiyal etkisi olduğu tespit edilmiştir. En güçlü antibakteriyal etkiye sahip bimetalik nanopartikül solüsyonunun, sırasıyla *S. aureus* ve *S. epidermidis* üzerinde 0.01 M 25 µL ve 0.01 M 20 µL gibi düşük uygulama hacimlerinde inhibitör etkili olduğu bulunmuştur. Üremenin baskılanmadığı 10-20 µL'lik uygulama hacimlerinde ise ekstraselüler proteolitik aktivite baskılandığı belirlenmiştir.

Sonuç: Çevre dostu nanobiyoteknolojik yöntemle *Pelargonim sidoides* kök ekstraktı kullanılarak altın ve gümüş monometalik nanopartikül ve altın-gümüş bimetalik kor-kabuk yapısındaki nanopartiküller ilk defa sentezlenmiş, bu nanopartiküllerin *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal ve anti-proteolitik aktivitesi ilk defa ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: metalik nanopartikül, antibakteriyal, antiproteolitik, *Staphylococcus*, *Pelargonium sidoides*.

ABSTRACT

Objective: The aim of this thesis is to synthesize metallic nanoparticles which have strong antibacterial potential via nanobiotechnological methods and evaluate their inhibitory effects against frequently grown bacteria, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*, in wound and burn area.

Method: Metallic gold (Au), silver (Ag) and gold-silver (Au-Ag) nanoparticles were synthesized via *Pelargonium sidoides* root extract with nanobiofabrication method and their physicochemical characterizations were done with Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Ultra Violet/Visible Spectroscopy, Transmission Electron Microscope and zetameter. Inhibitory effects of these nanoparticles against *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 and *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 were evaluated according to CLSI, 2016.

Results: Gold, silver nanoparticles and gold-silver core-shell constructed nanoparticles were synthesized via bionanofabrication. Silver monometalic and gold-silver bimetalic nanoparticles were found to have strong antimicrobial effect against two most common pathogenic bacteria, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*, in wounds and burns area. Bimetalic nanoparticles solution with the strongest antibacterial activity was found effective at lower application volumes against *S. aureus* and *S. epidermidis* at 0.01 M 25 μ L and 0.01 M 20 μ L respectively. Extracellular proteolytic activity of *S. aureus* and *S. epidermidis* were suppressed via 10 μ L - 20 μ L application volumes respectively while proliferation were not suppressed.

Conclusion: As a result of this study nanoparticles of gold monometalic, silver monometalic and gold-silver core-shell bimetalic nanoparticles were synthesized via *Pelargonium sidoides* root extract and their antimicrobial and antiproteolytic effects against *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* was determined for the first time.

Key words: metallic nanoparticles, antibacterial, antiproteolytic, *Staphylococcus*, *Pelargonium sidoides*.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Yara ve Yanık Olguları	3
2.2. Yarada Üreyen Mikroorganizmalar	6
2.3. Yara ve Yanık Tedavi Yöntemleri	10
2.4. Nanoteknoloji/Nanobiyoteknoloji	10
2.4.1. NP Özellikleri, Sentezi ve Karakterizasyonları (UV-VİS, FT-IR, Zeta)	11
2.4.2. Bitkiler Aracılığı ile Metalik Nanopartiküllerin Sentezlenmesi	15
2.4.3. Altın ve Gümüş Nanopartiküller	15
2.4.4. <i>Pelargonium sidoides</i>	16
3. GEREÇ ve YÖNTEM	19
3.1. Gereç	
3.1.1. Kullanılan Bitki Türünün Temini	19
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar	19
3.2. Yöntem	21
3.2.1. Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi	21
3.2.2. Kök Ekstraktının Hazırlanması, Bu Ekstrakt içerisinde Altın, Gümüş NP, ve Altın-Gümüş NK Yapılarının Sentezlenmesi	22
3.2.3. Parçacık Boyutu ve Kararlılığının Zetametre Aracılığı ile Ölçümü	23
3.2.4. Infrared Spektroskopisi	25

3.2.5. UV-VİS Spektroskopisi	25
3.2.6. TEM Görüntüleme	25
3.2.7. Bakterilerin PSKE ve Sentezlenen Nanopartiküllere Gösterdiği Duyarlılığın Ölçülmesi	25
3.3. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz	29
4. BULGULAR	30
4.1. Nanopartikül Sentezi Renk Değişimi	30
4.2. Sentezlenen Nanopartikül Solüsyonlarının UV-VIS Spektrumu	31
4.3. Zetametre NP ve NK Solüsyonlarının Partikül Çapı Ölçümü Sonuçları	31
4.4. Sentezlenen Nanopartikül ve Nanokabuk Yapılarının TEM görüntüleri	34
4.5. Sentezlenen Au, Ag Nanopartikül ve Au-Ag Nanokabuk Yapı ve PSKE'nin FT-IR Spektrumları	36
4.6. NP Solüsyonlarının ve PSKE Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi	40
4.6.1. Disk Difüzyon Testi	40
4.6.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun Belirlenmesi	44
4.6.3. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) Belirlenmesi	53
4.6.4. Proteolitik aktiviteyi Baskılayan Minimum Dozun Belirlenmesi	56
4.7. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz	56
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
KAYNAKLAR	74
ÖZGEÇMİŞ	94

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3. 1. Çalışmada kullanılan malzemeler	20
Tablo 3. 2. Çalışmada kullanılan cihazlar, markaları ve kullanım amaçları	21
Tablo 3. 3. Nanopartikül solüsyonlarına verilen isimler ve bu solüsyonların içerikleri	24
Tablo 4. 1. Nanopartikül solüsyonu uygulaması sonrası inhibisyon zon çapları	40
Tablo 4. 2. AgNO ₃ , NaAuCl ₄ ve AgNO ₃ -NaAuCl ₄ birlikte uygulaması sonrası inhibisyon zon çapları	40
Tablo 4. 3. Penisillin G10, ampicillin ve amoksisilin/klavulonik asit uygulaması sonrası inhibisyon zon çapları	41
Tablo 4. 4. N1, N2, N3, N4 minimum bakterisidal konsantrasyon hacimleri	55
Tablo 4. 5. AgNO ₃ , NaAuCl ₄ tek başına ve AgNO ₃ -NaAuCl ₄ birlikte uygulanması sonucu elde edilen minimum bakterisidal konsantrasyon hacimleri	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Colombia sheep blood agarda <i>S. aureus</i> 'un oluşturduğu koloniler ve β -hemoliz	7
Şekil 2. 2. 6,8-dihidroksi-5,7-dimetoksikumarin'in moleküler yapısı ve FT-IR spektrum görüntüsü	17
Şekil 2. 3. Kumarin'in moleküler yapısı ve FT-IR spektrum görüntüsü	17
Şekil 2. 4. <i>P. sidoides</i> 'in aktif sekonder metabolitlerinden 7-hidroksi-5,6-dimetoksikumarin ve gallik asitin moleküler yapı görüntüleri	18
Şekil 3. 1. <i>Pelargonium sidoides</i> A) 3. Ay B) 5. Ay C) 8. Ay	21
Şekil 3. 2. 1 ve 2; <i>Pelargonium sidoides</i> kökleri	22
Şekil 3. 3. Altın, Gümüş NP ve Altın-Gümüş Bimetalik yapıların 24 saatlik inkübasyonu	23
Şekil 3. 4. Zetasizer (A) ve Zetasizer ile ölçüm (B ve C)	24
Şekil 3. 5. Disk difüzyon metodunun uygulanışı	26
Şekil 3. 6. MIK uygulama; A ve B, bakteriyel pellet; C	28
Şekil 3. 7. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 MBK uygulama	29
Şekil 4. 1. 0.01 M NaAuCl ₄ ve 0.01 AgNO ₃ çözeltileri	29
Şekil 4. 2. Sentezlenen Nanopartikül (NP) Solüsyonları ve PSKE, N-1: PSKE, N-2: Au-Ag bimetalik NP solüsyonu, N-3: Au NP solüsyonu, N-4: Ag NP solüsyonu	30
Şekil 4. 3. NP solüsyonlarının UV-VIS absorpsiyon grafiği	31

Şekil 4. 4. Sentezlenen NP solüsyonlarının Zetasizer aracılığı ile ölçülen partikül boyutları A, B, C, D, E.	32
Şekil 4. 5. Sentezlenen NP solüsyonlarının Zeta potansiyelleri, A: Au-Ag NP, B: Au-NP, C: Ag NP	34
Şekil 4. 6. Altın-Gümüş bimetalik nanopartiküllerin TEM görüntüleri (50 nm ve 20 nm birimlik ölçü)	35
Şekil 4. 7. Altın nanopartiküllerin TEM görüntüleri (50 nm birimlik ölçü)	35
Şekil 4. 8. Gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüleri (20 nm ve 10 nm birimlik ölçü)	36
Şekil 4. 9. Pelargonium sidoides kök ekstraktına ait FT-IR spektrumu (N1)	37
Şekil 4. 10. Pelargonium sidoides kök ekstraktında sentezlenen Au-Ag Bimetalik Nanopartikül solüsyonuna ait FT-IR Spektrumu	38
Şekil 4. 11. Pelargonium sidoides kök ekstraktında sentezlenen Au Nanopartikül solüsyonuna ait FT-IR Spektrumu	38
Şekil 4. 12. Pelargonium sidoides kök ekstraktında sentezlenen Ag Nanopartikül solüsyonuna ait FT-IR Spektrumu	39
Şekil 4. 13. Pelargonium sidoides kök ekstraktı, Au-Ag Bimetalik, Ag-NP, Au-NP Nanopartikül solüsyonlarına ait FT-IR Spektrumları, birlikte gösterim	39
Şekil 4. 14. Nanopartikül sulüsyonları, PSKE, AgNO ₃ , NaAuCl ₄ ve AgNO ₃ -NaAuCl ₄ birlikte, Penisillin G10, ampicillin ve amoksisilin/klavulonik asitin <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 üzerine inhibisyon zon çapları, *p<0.05 penicillin ve ampicillin kontrollere göre	41

- Şekil 4. 15.** Nanopartikül sülüsyonları, PSKE, AgNO₃, NaAuCl₄ ve AgNO₃-NaAuCl₄ birlikte, Penisillin G10, ampicillin ve amoksisilin/klavulonik asitin *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerine inhibisyon zon çapları, *p<0.05 penicillin ve ampicillin kontrollere göre 42
- Şekil 4. 16.** Penicillin G, ampicillin ve amoksisilin/klavulonik asit *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerine uygulamalarının inhibisyon zon çapları 42
- Şekil 4. 17.** *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerine N1-PSKE, N2-Au-AgNP, N3-AuNP, N4-AgNP uygulamalarının inhibisyon zon çapları 43
- Şekil 4. 18.** *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerine 10 µL, 25 µL ve 50 µL AgNO₃, NaAuCl₄ ve AgNO₃- NaAuCl₄ karışımı metal tuzu çözeltileri uygulamalarının inhibisyon zon çapları 43
- Şekil 4. 19.** *S. aureus* ATCC 29213 üzerine N2, N3, N4 Nanopartikül ve PSKE uygulama 24. saat 46
- Şekil 4. 20.** *S. aureus* ATCC 29213 üzerine N2, N3, N4 Nanopartikül ve PSKE uygulama 48. saat 46
- Şekil 4. 21.** *S. aureus* ATCC 29213 üzerine N2, N3, N4 Nanopartikül ve PSKE uygulama 96. saat 47
- Şekil 4. 22.** *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerine N2, N3, N4 Nanopartikül ve PSKE uygulama 24. saat 48
- Şekil 4. 23.** *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerine N2, N3, N4 Nanopartikül ve PSKE uygulama 48. saat 49

Şekil 4. 24. <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 üzerine N2, N3, N4 Nanopartikül ve PSKE uygulama 96. saat	49
Şekil 4. 25. <i>S. aureus</i> ATCC 29213 0.01 M AgNO ₃ ve NaAuCl ₄ Metal tuz çözeltilerinin ayrı ayrı ve birlikte 24 saat uygulaması, 450 nm absorbans değerleri	50
Şekil 4. 26. <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 0.01 M AgNO ₃ ve NaAuCl ₄ Metal tuz çözeltilerinin ayrı ayrı ve birlikte 24 saat uygulaması, 450 nm absorbans değerleri	50
Şekil 4. 27. <i>S. aureus</i> ATCC 29213; N2, N3, N4 NP ve PSKE uygulama 24. Saat % inhibisyon	51
Şekil 4. 28. <i>S. aureus</i> ATCC 29213; N2, N3, N4 NP ve PSKE uygulama 48. Saat % inhibisyon	52
Şekil 4. 29. <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228; N2, N3, N4 NP ve PSKE uygulama 24. Saat % inhibisyon	52
Şekil 4. 30. <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228; N2, N3, N4 NP ve PSKE uygulama 48. Saat % inhibisyon	53
Şekil 4. 31. <i>S. aureus</i> ATCC 29213 ve <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 üzerine N1 10 µL ve 60 µL uygulama sonrası, SMA'da gözlenen proteolitik aktivite	56
Şekil 4. 32. <i>S. aureus</i> ATCC 29213 ve <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 üzerine N2 10 µL ve 20 µL uygulama sonrası, SMA'da proteolitik aktivite ve üremenin baskılanması	57
Şekil 4. 33. <i>S. aureus</i> ATCC 29213 ve <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 üzerine N3 10 µL ve 60 µL uygulama sonrası, SMA'da proteolitik aktivite ve üremenin desteklenmesi	57

Şekil 4. 34. *S. aureus* ATCC 29213 ve *S.epidermidis* ATCC 12228 üzerine N4
10 µL ve 60 µL uygulama sonrası, SMA’da *S. aureus* için
proteolitik aktivitenin varlığı ve *S. epidermidis* için proteolizin
baskılanması

58



SİMGELER ve KISALTMALAR

Au	: Altın
AuCl₄Na	: Altın Tetra Klorür Mono Sodyum
Ag	: Gümüş
AgNO₃	: Gümüş Nitrat
ATCC	: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
Ca	: Kalsiyum
CFU	: Koloni Forming Unit
CLSI	: Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü
Cu	: Bakır
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kıızıl Ötesi Spektrumu
İG	: İnhibisyon gözlenmedi
İZÇ	: İnhibisyon Zon Çapı
K	: Potasyum
Mc Farland	: Turbidite
mL	: Millilitre
µL	: Mikrolitre
mg	: Miligram
Mg	: Magnezyum
MBK	: Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MIK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyon
N	: Azot
NaCl	: Sodyum Klorür
NK	: Nanokabuk
Nm	: Nanometre

NP	: Nanopartikül
N-1	: <i>Pelargonium sidoides</i> kök ekstraktı
N-2	: Au-Ag bimetalik NP solüsyonu
N-3	: Au NP solüsyonu
N-4	: Ag NP solüsyonu
P	: Fosfor
PSKE	: <i>P. sidoides</i> kök ekstraktı
TEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
UV	: Ultra Viyole
UV-VİS	: Ultra Viyole ve Görünür Bölge
v/v	: Hacim/Hacim
Zn	: Çinko

1. GİRİŞ

Yara ve yanık olgularında, epidermis tabakasının sahip olduğu hücreler arası bağlantıların bozulması, dermis tabakasının direnci oluşturan güçlü fibriller yapısının dejenere olması ve yara içerisindeki çok sayıda nekrotik hücrenin varlığı bu dokuları enfeksiyona açık hale getirmektedir. Özellikle bu alana kolonize olan mikroorganizmaların doku içerisine sızan serum proteinlerine kolaylıkla ulaşabilmesi de mikroorganizmaların üremelerini kolaylaştırmakta ve bu enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmaktadır. Geniş spektrumlu antibakteriyallerin keşfi ile bu hastalarda tedavi yanıtının alınmasında etkinlik sağlanmıştır. Ancak, patojen bakterilerin sahip oldukları intrinsik direnç mekanizmalarını kullanarak yara ve yanık alanındaki nekrotik dokularda yaşamlarını sürdürmeleri, özellikle bu hastalarda güncel tedavi rejimlerine rağmen mortalite artışına neden olmaktadır. Patojen mikroorganizmalara karşı metalik nanopartiküllerin kullanım potansiyeli, son yıllarda artan bir ilgi ile araştırılmaktadır. Nanopartikül (NP) teknolojisinin ümit vaat eden bir strateji olarak kabul edilmesinin en önemli nedenlerinden bazıları; NP içeriğini oluşturan metaller ve bu metallerin özellikleri ve üretilen NP'lerin farklı ve eşsiz boyutlarıdır. Bitkilerin sekonder metabolitleri olan fenolik bileşikler ve indirgen özellikte olan mikroorganizmalar gibi farklı doğal kaynaklar kullanılarak, metal çözeltilerinin indirgenmesi sağlanmakta ve bu yolla NP ve Nanokabuk (NK) yapıların sentezlenmesi son dönem çalışmalarda yaygınlıkla görülmektedir. Büyüyen bir ilgi ile bu araştırmalardaki artışa rağmen, NP ve NK yapıların patojen mikroorganizmalar üzerindeki inhibitör etkilerinin ortaya çıkışında önemli fonksiyonları olduğu bilinen; metalin kimyasal özellikleri, NP ve NK yapıların, çap, boyut ve şekilsel özellikleri ve NK yapısını oluşturan iki farklı metalin kalınlık parametrelerinin araştırıldığı çalışma sayısının yeterli olmadığı ve bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu bilinmektedir. Bu bağlamda, yara ve yanık alanlarında, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus*'un oluşturduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilme potansiyeli olabilecek güçlü antibakteriyal özellikte biyoteknoloji ve yeşil kimya yönteminin birlikte kullanımı ile metalik (Au, Ag) nanopartikül ve nanokabuk (Au-Ag) yapıları sentezlenmiş, sentezlenen bu nanopartiküllerin ve nanokabuk yapının fizikokimyasal karakterizasyonları FT-IR, UV-VİS spektrofotometre ve TEM aracılığı ile yapılmış, sentezlenen NP'lerin kararlılıkları ve partikül çapları zeta potansiyel ölçümü ile belirlenmiştir. Sentezlenen NP ve NK yapıların *Staphylococcus*

epidermidis ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 bakterileri üzerine inhibitör etkilerini belirlemek amacıyla, Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü'nün (CLSI, 2016) mikroorganizma duyarlılığını belirlemek için önerdiği antimikrobiyal duyarlılık testleri modifiye edilerek uygulanmıştır. Minimum İnhibisyon Dozu, Minimum Bakterisidal/Bakteriostatik doz ve ekstraselüler proteolitik aktiviteyi inhibe eden minimum dozlar belirlenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2. 1. Yara ve Yanık Olguları

Son yıllarda yara ve yanıklarda üreme gösteren mikroorganizmaların tedavisinde kullanılmak üzere antimikrobiyallerin geliştirilmesinde temel avantajlar elde edilmesine ve yeni tedavi modelleri geliştirilmiş olmasına rağmen, enfeksiyon ve enfeksiyonun sistemik yayılımına bağlı ölümlerde artış görülmektedir. Mortalite oranı, yara ve enfeksiyonun yayılımı, hospitalizasyon süresi, topikal antimikrobiyallere karşı mikroorganizmaların dirençli olması gibi nedenlerle hastalar arasında değişkenliğe sahiptir. Bu hastalarda yara ve yanıklarda mikroorganizmaların üreme göstermesi ve üreme gösterdikleri alanda proteolitik ve lipolitik enzimleri ortama salgılayarak enfeksiyonun alt tabakadaki dokulara ulaşması ve sistemik enfeksiyona dönüşmesi yara ve yanıklı hastalarda mortalite oranını arttırmaktadır (Neuman ve Hagiladi, 1992). Yanık ve ardından yara oluşumu; derinin zararlı kimyasallarla teması ile olduğu gibi çok düşük ve yüksek sıcaklıkla temas nedeniyle de oluşmaktadır. Oluşan yanıkların derinliği; kimyasal veya yüksek-düşük sıcaklığa maruz kalma süresine ve derinin kalınlığı gibi faktörlere bağımlı olarak değişmektedir.

Yanık, canlıların maruz kaldığı ağır travmatik bir olgu olduğu gibi aynı zamanda sistemik problemlere de neden olabilen bir doku hasarı olarak tanımlanabilir. Farklı nedenlerle oluşan yanık yaraları sahip oldukları histolojik değişimler açısından değerlendirildiğinde, kendisini oluşturan etkenlerden bağımsız oldukları ve genellikle birbirlerine histolojik değişimler açısından benzerlik gösterdikleri görülmektedir (Barrillo ve McManus, 2004). Yanık alanında oluşan enfeksiyonlar hasta sağkalımı üzerinde önemli etkilere sahiptir. Yanık enfeksiyonları ve sağkalım arasındaki korelasyonun değerlendirildiği bir çalışmada, ölümlerle sonuçlanan 148 yanık enfeksiyonu olgusunun 18'inde enfeksiyonun ölüme doğrudan neden olduğu, 104'ünde ise dolaylı yoldan etki gösterdiği gözlenmiştir. Hastalardan 21'inde ise yanık enfeksiyonu ve ölüm arasında bir korelasyon saptanmamıştır (Mayhall, 2003). Genel anlamda yanık yarasının patojen veya fırsatçı patojenler ile enfekte olması, hastaların hospitalizasyon sürelerini uzatmakta ve bu da tedavi masraflarını arttırmaktadır (Öncül ve ark., 2002).

Yanık yaraları etkilenen doku alanı ve dokuda oluşturduğu derinliğe göre sınıflandırılmaktadır. Derinin sadece üst tabakası olan epiderminin etkilendiği yanıklar, birinci derece yanık olarak tanımlanmakta ve hastalarda ciddi komplikasyonlara neden olmamaktadır. Epidermis tabakası ile birlikte dermis tabakasının da etkilendiği ikinci derece yanıklarda, iyileşme birinci derece yanıklara göre daha uzun seyirlidir ve yanık dokusunun genişliği enfeksiyon riskini arttırmaktadır. Lokal antiseptikler ve yara bakımı ile tedavi sağlanabilmektedir. Epidermis, dermis ve hipodermis tabakaların etkileyen, kas doku ve fasiayı da içine alan ciddi doku hasarına neden olan üçüncü derece yanıkların görüldüğü olgularda ise lokal ve ardından sistemik enfeksiyonlarda artma gözlenir. Hastanın immün, solunum ve kardiyovasküler sistemi olumsuz etkilenirken, sıvı-elektrolit dengesinin korunmasında ciddi zorluklar ortaya çıkmaktadır. Bunların yanında yanık alanının cilt yüzeyinde kommensal yaşayan fırsatçı mikroorganizmalar ve ortam patojenleri ile hızlı şekilde enfekte olduğu gözlenir (Sheridan, 2005). Histolojik ve fizyolojik yapı özellikleri ile bağışıklığın bir parçası olan deri dokusunun bütünlüğünün yanık ve yara oluşumu nedeni ile bozulması canlı organizmanın mikroorganizmalara karşı savunmasız duruma gelmesinde en önemli etkidir. Bozulmuş deri dokusunda kolonize olan mikroorganizmalar, buldukları ortamda hızla çoğalarak ortama proteolitik ve lipolitik enzimleri salgılamakta ve yara alanını, kan akımı ve sistemik dolaşıma giriş için bir kapı olarak kullanmaktadırlar. Dolaşıma dahil olan mikroorganizmalar uzak alanlarda tedavi sürecini zorlaştıran organ tutulumlarına da neden olabilmektedirler. Enfeksiyon alanında üreme gösteren mikroorganizmalar değerlendirildiğinde, ilk sırayı bütünlüğü bozulmamış deride yerleşim gösteren, kommensal yaşamın bir parçası olan Gram (+) bakterilerin aldığı görülmektedir. Patojen özellik gösteren Gram (+) bakteriler arasında *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve diğer stafilokoklar, *Streptococcus pyogenes*'le beraber diğer streptokok türleri gösterilebilir. *Candida albicans* gibi mantar türleri de yara ve yanık alanında ilk kolonizasyonu gösteren maya türüne örnek verilebilir. Stafilokoklar arasında *S. aureus* ve *S. epidermidis*, yumuşak doku içerisinde ürediklerinde patojen olarak kabul edilen mikroorganizmalardır. Yanık dokusunda ikinci haftadan itibaren Gram (+) patojen bakterilerin yerini *Escherichia coli*, *Acinetobacter* spp. ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi Gram (-)'ler almaktadırlar.

Yanık yarası oluşumu sonrasında canlı organizma tarafından üretilen glukagon, kortizol ve katekolaminlerin, dolaşıma salınımına bağlı olarak güçlü hipermetabolik bir yanıt oluşur. Bu durum yara iyileşmesi üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğu gibi aynı zamanda yara ve yanık dokusu içerisine sızan monomerlerin miktarını artırır ve bu durum yanık alanında enfeksiyon riskini arttırmaktadır (Pereira ve ark., 2005).

Yanık olgusu sonucunda vücutta salınan hormonlara bağımlı olarak ortaya çıkan yüksek hızlı metabolizma, bazı ilaçların farmakokinetik ve farmakodinamiklerinde de ciddi değişimler ortaya çıkarmaktadır. Yanık olgusuna sahip hastalarda, farmakokinetik ve farmakodinamikleri değişim gösteren ilaçlar arasında antibiyotikler ve antikonvülzif ilaçlar sayılabilir. Özellikle ilaç farmakokinetiklerinde ortaya çıkan ciddi değişim nedeniyle ilacın kan-doku konsantrasyonları beklenen düzeylerin altında kalır. Bu nedenle yanık bölgesine uygulanacak antimikrobiyallerin sistemik dolaşım aracılığı ile verilmesi yerine başlangıçta lokal olarak uygulanması önerilmektedir.

Yanığa bağımlı olarak ileri düzeyde ortaya çıkan hasar, sadece doku kaybı, metabolik değişiklik ve enfeksiyonlara daha açık bir alan oluşturmakla kalmaz aynı zamanda, sıvısal ve hücrel bağıışıklığı ve kompleman sistemini de etkiler. Yanığın oluşturduğu hasarlı doku alanı histolojik olarak değerlendirildiğinde; merkezde bir koagülasyon bölgesi ve onu saran staz zonu ve en dış tabakada ise hiperemik bir zon tabakası gözlenir. Staz zonu bu bölgede gelişebilen enfeksiyonlar nedeniyle geniş nekrotik alanlara dönüşebilir. Bakterilerin lokalize oldukları bölgede başlangıçta gram doku başına 10^3 ten az olduğu kabul edilmektedir. Bakteri sayısının bu rakamı aşması sonrasında bakterilerin doku içerisine invazyonu gerçekleşir ve bakteriler vasküler alanlardan sistemik dolaşıma geçerler. Uygun ve yeterli tedavi seçeneklerinin uygulanmadığı hastalarda organ tutulumları ve septik şok gelişebilir (Huang ve Yang, 2004).

Yanık olgularının tedavisinde ilk basamakta kullanılacak yöntemler; yanık alanının ölü dokudan temizlenmesi, cerrahi eksizyon ve yanık alanının kapatılarak dış ortamdan kaynaklanabilecek enfeksiyonlara karşı yara alanını korumadır. Kemoterapötik yaklaşımlar ise, yaradan izole edilen mikroorganizmaların tedavisine uygun antimikrobiyallerin seçimi ve bu kemoterapötiklerin uygun doz ve sürede kullanılarak bu mikroorganizmalarda direnç gelişiminin engellenmesini kapsar (Taneja ve ark., 2004). Bu yaklaşımda ilgili ajanın sistemik uygulanması yerine, profilaktif tedavi lokal

uygulamalarla sağlanmaktadır. Topikal antibakteriyal kemoterapötikler arasında mafenid asetat, gümüş sülfadiazin, gümüş nitrat, fusidik asit bulunur.

Suda kısmen çözünebilme özelliğine sahip Gümüş sülfadiazin, Gram (-) bakterilere karşı sık kullanılan topikal antibakteriyal kemoterapötiklerdendir. Bakteriyal çoğalmayı baskılama özelliği ile enfeksiyon gelişiminin kontrol edilmesinde kullanılır. Ağrı yanıtının ortaya çıkmasına, asit-baz ve sıvı elektrolit dengesinde bozulmalara sebep olmaz. Gümüş sülfadiazin hipersensitivite reaksiyonlarını ortaya çıkarmaz (Bang ve Mosbah, 1998).

Fusidik asit, Gram (+) bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan antibakteriyal bir ajandır. Enfeksiyon gelişiminin ilk 10 günlük döneminde *S. aureus* ve *S. epidermidis* kolonizasyonu yoğun olarak gözlenir. Stafilokoklara karşı güçlü antibakteriyal etkinliği nedeniyle enfeksiyon gelişiminin ilk dönemlerinde tercih edilen ilk ajanlardan biri, fusidik asittir. (Acıkel ve ark., 2003).

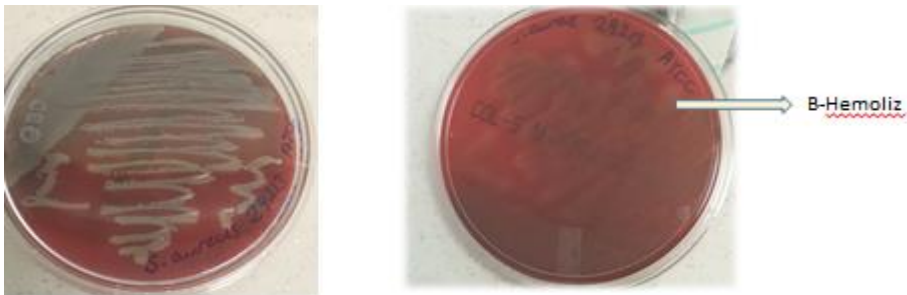
2.2. Yarada Üreyen Mikroorganizmalar

Yanığın olduğu bölgede çoğunlukla cilt yüzeyinde kommensal yaşam gösteren mikroorganizmaların ve hastanın gastrointestinal sistem flora elemanlarının kolonize olduğu gözlenmektedir. Bunun yanında hastanın bakımının yapıldığı ünitelerden ve diğer hastalardan kaynaklanan ekzojen mikroorganizmalarda yarada kolonize olabilmektedirler. Özellikle yara içerisine sızan serum proteinleri ve lizise uğramış yağ dokusu endojen ve ekzojen bu fırsatçı mikroorganizmaların kolonizasyonu için elverişli bir ortam oluşturmaktadır. Yara ve yanık dokusu mikroflora açısından değerlendirildiğinde ilk 48 saat içerisinde Gram (+) mikroorganizmaların kolonizasyonu gözlenirken, bunu takip eden 20 günlük periyod içerisinde Gram (+) mikroorganizmaların yerin Gram (-)'lerin aldığı ve bu mikroorganizmaların hızla yara dokusuna invaze olduğu ve kolonizasyonun arttığı gözlenmektedir. Özellikle gram doku başına bakteriyal yoğunluk 10^5 CFU'yu geçtiğinde enfeksiyon subkutan dokulara yayılarak derinleşebilmektedir (Elaldi, 2003).

Stafilokoklar, insan ve diğer memeli canlıların deri ve mukoz membranları üzerinde en yaygın bulunan kolonizörlerdir. *Staphylococcus epidermidis*, önceleri insan derisi üzerinde kommensal yaşayan bir mikroorganizma olarak kabul edilmesine rağmen, son yıllarda önemli fırsatçı patojenlerin arasında kabul edilmektedir. Günümüzde

Staphylococcus epidermidis'in en az virulent kuzeni *Staphylococcus aureus* kadar yaygın frekanslı olduğu ve en yaygın nosokomial-hastane kökenli enfeksiyonları oluşturan mikroorganizmalar arasında ilk sırayı aldığı bilinmektedir (CDC, 2004). *Staphylococcus epidermidis*, plastik ve abiyotik yüzeylerde biyofilm oluşturma yeteneği ile, özellikle medikal aletler üzerinde bulunabilmekte ve bu medikal aletler bu patojenin yayılması ve yanık yaralarının enfekte edilmesinde en yaygın enfeksiyon kaynağına dönüşmektedirler. *Staphylococcus epidermidis*'in, insan derisinin eşsiz ve daimi kolonizörü olması ortamı ve medikal aletleri enfekte etmesinin en önemli nedeni olarak kabul edilmektedir. *Staphylococcus epidermidis* enfeksiyonları, hayatı tehdit eden birçok hastalıkta ortaya çıkmaktadır. Hayatı tehdit eden hastalıklarda hospitalizasyon süresine bağımlı olarak venöz kateterler üzerinde bu patojenin kolonize olması majör hastalığın tedavisini güçleştirmekte ve tedavi maliyetlerini de arttırmaktadır. Örneğin ABD'de vasküler kateter ilişkili kan akımı enfeksiyonlarına neden olan *Staphylococcus epidermidis* enfeksiyonlarının tek başına yıllık maliyeti yaklaşık 2 milyar dolardır (Miragaia ve ark., 2007).

S. epidermidis koagülaz negatif stafilokok grubuna dahildir ve bu özelliği ile virulansı yüksek kuzeni koagülaz pozitif *S. aureus*'tan ayrılır. (Kloos ve Schleifer, 1986; Kloos ve Musselwhite, 1975; Miragaia ve ark., 2007). Aynı zamanda kanlı agar besiyerinde β -hemolitik aktivite göstermemesi ile de *S. aureus*'tan ayrılmaktadır. *S. epidermidis* ve *S. aureus*'un Colombia %5 Sheep Blood agarda normal atmosferde 24 saat üremeleri sonucu oluşturduğu koloni şekilleri ve hemolitik aktivite Şekil 2.1.'de görülmektedir.



Şekil 2.1. Colombia sheep blood agarda *S. aureus*'un oluşturduğu koloniler ve β -hemoliz

İnsan epitelyal mikroflora elemanı olarak sağlıklı ve deri bütünlüğü bozulmamış olan konakla bening bir ilişkiye sahip olan *S. epidermidis* daha patojenik bakteri olan *S. aureus*'un kolonizasyonunu da önleyen önemli probiyotik fonksiyonu ile bilinmektedir

(Duguid ve ark., 1992). İnsan vücudunda patojen sağkalımı konak savunma mekanizmalarının aşılması ile mümkündür. İnsan deri dokusunda bulunan mikrobial peptidler gibi konak savunma mekanizmaları olmasına rağmen, *S. epidermidis* epitelyal bariyeri geçtikten sonra konağın ek savunma mekanizmaları ile de mücadele etmek zorundadır (Faurshou ve Borregaard, 2003). Biyofilm oluşturma bu mekanizmalar arasında sayılabilir. Biyofilmler, çok hücreli ve yüzeye tutunmuş agromelize yapılar olarak tanımlanırlar. Karakteristik fizyolojileri ve biyofilmi oluşturan eşsiz mimarileri ile konak savunma mekanizmaları ve birçok antibiyotiğe dirençlidirler. *S. epidermidis* biyofilminde çoğalmakta olan hücreler, gen düzenleyicilerdeki değişiklikler aracılığı ile, penisillinler (Khardori ve ark., 1995), aminoglikozidler (Duguid ve ark., 1992a) ve quinolonlar (Duguid ve ark., 1992b) gibi çoğu antibiyotiğe direnç kazanır ve bu ajanların antimikrobiyal aktivitelerinin sınırlandırılması sağlanır.

Spesifik antibiyotik direnç genleri *S. epidermidis*'te oldukça yaygındır. En önemlisi, stafilokok enfeksiyonlarına karşı ilk adımda kullanılan metisilin antibiyotiğine karşı görülen dirençtir. Metisillin direnci *S. epidermidis*'te %75-90 oranında görülürken, *S. aureus*'ta bu oran %40-60'tır (Diekema, 2001). Metisilin direncine ek olarak rifampisin, fluoroquinolonlar, gentamisin, tetrasiklin, kloranfenikol, eritromisin, klindamisin ve solfonamid antibiyotiklerine karşı da *S. epidermidis*'te edinilmiş direnç mekanizmaları bulunmaktadır (Rogers ve ark., 2009).

S. epidermidis enfeksiyonları ile mücadele edebilmek ve yeni stratejiler geliştirmek için bu bakterinin kommensal ve enfeksiyöz yaşam döngüsünün mekanizmalarının daha iyi anlaşılması gerekmektedir.

Staphylococcus aureus, hem kommensal yaşam gösteren hem de insan patojeni olarak tanımlanan Gram (+) bir bakteridir. İnsan popülasyonunun yaklaşık % 30'unun *S. aureus* ile kolonize olduğu bildirilmiştir (Wertheim ve ark., 2005). *S. epidermidis* gibi koagülaz negatif stafilokok türleri normal insan deri dokusunda kolonize olurken (Kloos ve Musselwhite, 1975), koagülaz pozitif olan *S. aureus* enfeksiyonları çoğunlukla anormal deri yapısının gözlemlendiği atopik dermatitli hastalarda görülür (Byrd ve ark., 2017). *S. aureus* çoğunlukla burun ve farinks örtün mukozal epitel yapı üzerinde kolonize olur. Bakteremi, enfektif endokardit, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, prepulmonar enfeksiyonlar, osteomyelit, toksik şok sendromu, gıda

zehirlenmesi ve medikal cihaz aracılı enfeksiyonlar gibi geniş bir aralıktaki enfeksiyonlara bu bakteri neden olmaktadır. Son yirmi yılda *S. aureus* enfeksiyonlarının temel olarak iki kola ayrıldığı görülmektedir. Bunlardan birincisi enfektif endokardit ve ikincisi ise yumuşak doku ve deri enfeksiyonlarıdır (Aakiyama ve ark, 2002; Ando ve ark., 2004). Enfeksiyona bağlı bu hastalıklar çoğunlukla bu canlının tıbbi cihazlara kolonizasyonu ve konak savunma mekanizmalarını aşmaları nedeni ile ortaya çıkmaktadırlar. Stafilokokların yüzeylere yapışma ve biyofilm oluşturma yetenekleri bu hastalıklara neden olmalarındaki birincil etkidir. Virülansı yüksek olan ve planktonik yaşam yerine buldukları ortamda biyofilm oluşturan mikroorganizmalar, planktonik formalarına göre antimikrobiallere 50 ila 500 kat daha dirençlidirler (Rice ve ark., 2005; Stewart ve Costerton, 2001). Stafilokoklarda biyofilm formasyonu ileri evre büyüme fazı olarak tanımlanırken, buna eşlik eden bir diğer önemli mekanizma da ekstraselüler proteaz üretimidir. Biofilm ve glikokaliks üretimi ile biyofilm formasyonu sağlanırken, bakteriyel büyümenin ve varlığın sürdürülebilmesi için, sathopainler gibi proteazların biofilm yapısında üretimi ve dış ortama salımı (Miedzobrodzki ve ark., 2002; Seprawska, 2004; Shaw ve ark., 2004) zorunluluktur. Proteazların ortama salımı ile biyofilm tabakası içinde hızla çoğalan hücrelere besin sağlanmaktadır. Dolayısıyla bu proteazların salım mekanizmalarının araştırılması ve bu mekanizmaları inhibe edecek ajanların geliştirilmesi tedavi başarısının eldesi açısından önemli olacaktır. Bu tez çalışmasında, sentezlenen nanopartiküllerin ekstraselüler proteolitik aktivitenin üzerine ihhibisyon etkisi de araştırılmıştır. Özellikle stafilokoklardan salgılandığı bilinen ve patojenik doku degradasyonundan sorumlu metalloproteinazlar ve serin protezların (Noble, 1998; Sandholm, 1986;) hedef alınması ve bu yönlü ajanların geliştirilmesi yararlı olacaktır. Biofilm formasyonu ve ekstraselüler proteaz salımı yanında kogülaz, hemolizin, nükleaz, lipaz, fibrinolizin ve toksik şok sendromu toksinleri de bu mikroorganizmanın dış ortama salgıladığı ve patojenin virulansını destekleyen mekanizmalardır (Takeuchi ve ark., 1999). Yaygın antibiyotik direnç mekanizmaları nedeni ile bu bakteriye karşı yeni mücadele yolları ve yeni antibakteriyel ajan arayışları günümüzde mevcuttur (Anwar ve ark, 1992).

2.3. Yara ve Yanık Tedavi Yöntemleri

Tedavi opsiyonları incelendiğinde; bakteriyosid kemoterapötiklerin sistemik veya lokal, topikal uygulamalarının olduğu ve izole lezyonlar için bariyer uygulamalarının

yapıldığı ve özellikle hastanın immün sistemini güçlendiren beslenme rejimlerinin uygulanmasının tavsiye edildiği görülmektedir (Elaldi, 2003). Ancak yanık ve yara lezyonlarına sahip hastalarda hospitalizyon süresinin artmasına bağlı olarak stafilokok türlerinin oluşturduğu enfeksiyon kolonizasyonlarının artması, topikal ve sistemik antibakteriyallere karşı mikroorganizmalarda direnç gelişiminin ortaya çıkması ve immün sistemi zayıflatan kan transfüzyonları patojenezin şiddetlenmesine neden olmaktadır (Elaldi, 2003). Son yıllarda özellikle mikroorganizma enfeksiyonuna bağımlı reküransın önlenmesi ve etkin yolla tedavi edilebilmesi için yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine artan bir ilgi söz konusudur. Bu bağlamda yeni nesil antibakteriyallerin keşfi, antibakteriyal ajanların modifikasyonları ve nanobiyoteknoloji ile geliştirilen antibakteriyallerin sentezi araştırmaların ilgi odağı olmuştur.

2.4. Nanoteknoloji/Nanobiyoteknoloji

Son yıllarda nanoboyut ve nanoölçülü teknolojilerin biyolojik tekniklerle bir araya gelmesi yeni bir alanı, nanobiyoteknoloji alanını doğurmuştur. Nanoteknoloji ve nanobiyoteknoloji, mevcut antibiyotiklerin etki ettiği yollara bağımlı olmayan yeni antimikrobiallerin geliştirilmesine olanak sağlayan alternatif bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir (Davis ve Davis, 2010). Göreli yeni bir alan olan nanobiyoteknoloji; sentez, manipülasyon ve materyallerin nanoboyutta biyolojik amaçlar için kullanımına konsantre olmuştur (Goodshell, 2004). Eşsiz, fizikokimyasal ve optoelektronik özellikleri ile nanopartiküller; katalist, kimyasal sensör, elektronik bileşen, tıbbi diagnostik görüntüleme, farmasötik ürünler ve tıbbi tedavi protokollerinin ilgi odağı olmuştur. Örneğin, altın, gümüş, platin ve palladyum gibi değerli metallere elde edilen nanopartiküller, kozmetik ve medikal sanayinde yaygın kullanıma alınmışlardır. Altın nanopartiküller, spesifik olarak biyomedikal uygulamalar (Sperling ve ark., 2008; Puvanakrishnan ve ark., 2012; Bhattacharya ve ark., 2008), hastalık tanılama (Torres-Chavolla ve ark., 2010) ve farmasötiklerde (Cai ve ark., 2008; Bhumkar ve ark., 2007) kullanılırken, gümüş nanopartiküller antibakteriyal ve anti-enflamatuar özellikleri ile yara iyileşmesini hızlandırıcı olarak kullanılmaktadırlar (Huang ve ark., 2007; Li ve ark., 2011; Cox ve ark., 2011). Metalik nanopartiküllerin yaygın medikal ve biyolojik uygulamaları mevcuttur. Bunlar arasında medikal görüntülemede kontrast ajanı olarak kullanım, hücre işaretleme, terapötik ilaç hedefleme, tümöre hedefleyici olma sayılabilir (Palza,

2015). Metalik nanopartiküllerin, sahip oldukları eşsiz fotoaktif, optik, katalitik ve termal özellikleri, (Brayner ve ark., 2010; Zang ve ark., 2009) kontrol edilebilir partikül boyutları ve morfolojileri ile etkin antimikrobiyal ajanlar olarak araştırılmaları son yıllarda anlamlı bir ilgi artışı ile karşı karşıyadır (Rao ve ark.,2002; Zang ve ark., 2008; Tiede ve ark., 2009; Petosa ve ark., 2010). İnorganik nanopartiküller, nanotoksiteleri ve potansiyel antimikrobiyal etkinlik göstermeleri nedeniyle artan bir ilgi ile araştırma odağı olmuşlardır. Nanopartikül formunda çok sayıda metal oksit ve hidroksitlerin antimikrobiyal ajan olarak etki gösterdiği ve bu etkilerin mikrobiyal hücreler üzerinde farklı etki mekanizmaları olduğu bulunmuştur (Fu ve ark., 2005; Parham ve ark., 2016). Bu tez çalışmasında altın ve gümüş metalik nanopartiküllerin ve altın-gümüş bimetalik nanopartiküllerin bitki ekstraktı kullanılarak nanobiyoteknoloji ile sentezlenmesi, sentezlenen nanopartiküllerin fizikokimyasal özelliklerinin ortaya konması ve yara-yanıklarda ilk kolonizasyonu gösteren stafilocoklara karşı potansiyel inhibitör ve antiproteolitik özellikleri araştırılmıştır. Metalik nanopartikül ve nanokabuk yapıların terapötik ajan olarak kullanımına dair araştırmalar yaygınlıkla yapılmasına rağmen, enfeksiyon tedavisi sırasında NP yapıların sağlıklı hücreler üzerinde muhtemel toksik etkilerinin olması ve mikroorganizmaların tek metalden oluşan nanopartiküllere karşı direnç geliştirmesi, NP yapısının kullanımını sınırlandırmaktadır. Metalik NP'lerin etkinliklerinin, farklı metallerin kombine edilerek nanokabuk yapısının oluşturulmasının bu sınırlılıkları aşmada yararlı olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle bu tez çalışmasında, doğal immünmodülatör olduğu bilinen *Pelargonium sidoides* kök ekstraktı elde edilmiş ve bu ekstrakt kullanılarak metalik NP ve nanokabuk (kor-kabuk) yapıda bimetalikler sentezlenerek yara ve yanıklarda sıklıkla üreyen Gram (+) patojen mikroorganizmalara karşı etkinliği araştırılmıştır.

2.4.1. NP Özellikleri, Sentezi ve Karakterizasyonları (UV-VİS, FT-IR, Zeta)

Son yirmi yılda metalik ve metalik olmayan nanopartiküllere artan ilgi nedeniyle, farklı boyut, şekil ve kompozisyonlara sahip nanopartiküllerin üretimi için, geniş ranja sahip fiziksel ve kimyasal teknikler geliştirilmiştir. Geleneksel olarak, nanopartiküller fiziksel ve kimyasal teknikler aracılığı ile sentezlenmekte ve stabilize edilmektedirler. Fiziksel teknikler arasında; lazerle uzaklaştırma (Mafune ve ark., 2001), litografi (Zhang ve Wang, 2008), yüksek enerjili radyasyona maruz bırakma (Treguer ve ark., 1998) sayılabilir. Kimyasal yaklaşımda uygulanan teknikler arasında ise; kimyasal

indirgeme, elektrokimya ve fotokimyasal indirgeme sayılabilir (Chen ve ark., 2001; Rodríguez-Sanchez ve ark., 2002; Eustis ve ark., 2005; Frattini ve ark., 2005; Starowiicz ve ark., 2006). Son yıllarda yapılan araştırmalar sonucunda, nanopartikül sentez prosesi sırasında, nanopartiküllerin boyut, Şekil, kararlılık ve fizikokimyasal özelliklerinin çeşitli faktörler tarafından etkilendiği tespit edilmiştir. Bu faktörler arasında sıcaklık ve metal iyon öncülleri konsantrasyonu gibi proses parametreleri olduğu gibi, kullanılan metal iyon öncüllerinin çeşitli ve metalleri indirgeyici ajanlar bulunmaktadır. Aynı zamanda nanopartiküller arasında cereyan eden proses kinetikleri de nanopartikül sentezi üzerinde etki eden önemli faktörlerden biridir (Wang ve ark., 2005; Alexandridis, 2011). Genel olarak değerlendirildiğinde, nanopartikül sentez araştırmalarının en önemli unsurlarından olan Şekil, boyut, kararlılık ve fizikokimyasal özelliklerin, prosesin efektif olarak dizaynı ile kontrol edilebileceği görölmektedir (You ve ark., 2013; Kulkarni ve ark., 2014).

Geleneksel kimyasal nanopartikül sentez metodlarında, kolloid içerisinde istenmeyen aglomerizasyonların oluşumunu önlemek amacı ile kullanılan organik solventler, indirgeyici ajanlar ve stabilizörler gibi zararlı kimyasallardan kaynaklanan toksisite problemleri mevcut olduğu bilinmektedir. Buna ek olarak bazı metalik nanopartiküller, kompozisyonları, boyut, Şekil ve yüzey kimyaları gibi faktörler nedeniyle de toksik olarak kabul edilmektedirler. Sentez sırasında kullanılan toksik özellikli ajanların, sentezlenen nanopartiküller üzerinde rezidüel olarak bulunması ve potansiyel olarak nanopartiküllerin kendilerinin toksik olması gibi iki temel olgu nedeniyle nanopartiküllerin klinik ve biyomedikal uygulamaları sınırlanmaktadır. Bu bağlamda nanobiyoteknolojinin en önemli avantajı, bütün bu toksik faktörlerin potansiyel olarak biyolojik aracılar kullanılarak kontrol edilebilme potansiyelidir. Nanobiyoteknoloji aracılığı ile; biyolojik olarak uyumlu, temiz, benign ve çevre dostu proseslerle nanopartikül sentezinin geliştirilmesi son zamanlarda ilgisi artan bir araştırma konusu olmuştur (Ai ve ark., 2011; Jain ve ark., 2011; Kulkarni ve ark., 2014). Çevre dostu yeşil kimya temelli yöntemlerin uygulanmasında; aktinomiçesler (Ahmad ve ark., 2003; Sastry ve ark., 2003), bakteriler (Roh ve ark., 2001; Joerger ve ark., 2001; Nair ve Pradeep, 2002; Lengke ve Southam, 2006; Husseinve ark., 2007), funguslar (Mukherjee ve ark., 2001; Ahmad ve ark., 2003; Ahmad ve ark., 2005; Kuber ve Souza, 2006), bitkiler (Lee ve ark., 2002; Philip, 2010; Kumar ve ark., 2011), virüsler (Lee ve ark., 2002; Philip ve ark., 2010; Kumar ve ark., 2011) ve mayalar

(Dameron ve ark., 1989; Kowshik ve ark., 2003; Gericke ve Pinches, 2006) gibi tek hücreli ve çok hücreli ögelerin kullanımı ile biyo uyumlu nanopartikül sentezi son yıllarda ivme kazanmıştır. Biyolojik fabrikaların önerdiği avantaj; temiz, toksik olmayan ve çevre dostu biyolojik ögeler aracılığı ile nanopartiküllerin sentezlenmesi ve aynı zamanda geniş bir aralığa yayılabilecek boyut, şekil, kompozisyon ve fizikokimyasal özellikte nanopartiküllerin elde edilebilmesidir (Mohanpuria ve ark., 2008). Yukarıda sayılan biyolojik ögelerin değerlendirmeleri sonucunda, en etkin biyolojik fabrikalar olarak, bitkiler aracılığı ile nanopartiküllerin sentezi olduğu gözlenmiştir ve şüphesiz bu en avantajlı yaklaşımlardan biridir (Thakkar ve ark., 2010; Iravani, 2011). Bitkiler aracılığı ile sentez diğer biyolojik ögeler ile karşılaştırıldığında hızlı bir yöntem olduğu gibi yüksek miktarda senteze olanak sağladığı için de maliyet açısından efektiftir (Swami ve ark., 2004; Shankar, 2004; Jha ve ark., 2009; Bar ve ark., 2009; Thakka ve ark., 2010). Bu tez çalışmasındaki amaçlardan birisi, bitki sekonder metabolitlerini içeren bitkisel ekstre aracılığı ile metalik nanopartiküllerin sentezi ve sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonlarının ortaya konmasıdır.

Nanopartiküllerin sentezi sırasında çeşitli parametreler dikkate alınır (Birnbaum ve ark., 2011; Sepeur, 2008). En temel ve birincil yaklaşım ve önemli değişken nanopartikül eldesinin istendiği inorganik materyalin seçimidir. Daha sonra fiziksel ve kimyasal proseslerle boyut indirgenmesi basamağı gelir. Nanopartiküllerin aktiviteleri, yapı, boyut, şekil ve yüzey özelliklerine bağlı olduğu için, bu basamakta oluşacak hatalı yapılar nanopartikülün fizikokimyasal özelliklerini etkileyecektir (Meyers, 2006).

Nanopartiküllerin sentezi sırasında, metal tuzlarından elde edilen ve suda çözünen metal iyon öncülleri indirgenir. Bu indirgenme reaksiyon esnasında renk değişiminin ortaya çıkması ile kendini gösterir. Solüsyondaki bir diğer özellik, boyut ve şekilleri nedeniyle, lazer ışınlarının koloidal çözeltiden geçebilmesidir. Bu özellik Tyndall etkisi olarak bilinir ve solüsyondaki nanopartiküllerin varlığını tespit için kullanılır (Poinern, 2014). Reaksiyon sonrasında yüksek hızda santrifüjleme ile nanopartiküller kolloiddan ayrılabilirler.

Nanopartiküllerin tanı ve teşhisinde rutin olarak kullanılan bazı spektroskopi ve mikroskopi teknikleri arasında UV-VİS, atomic güç mikroskopi (ATM), geçirimli electron mikroskopi (TEM), taramalı electron mikroskopi (SEM), fourier geçirmeli

infrared spektroskopisi (FT-IR) ve raman spektroskopisi sayılabilir. ATM, TEM, SEM gibi mikroskopik temelli teknikler, nanopartikül fotoğraflarının elde edildiği direkt teknikler olarak kabul edilir. Özellikle SEM ve TEM çoğunlukla, nanopartiküllerin boyut ve şekillerinin ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmaktadırlar (Cao, 2004).

UV-VIS, FT-IR ve Raman gibi spektroskopik temelli teknikler, nanopartikül özellikleri hakkında dolaylı yoldan veri elde etmeyi sağlayan ve kompozisyon, yapı, kristal fazın belirlenmesini sağlayan tekniklerdir.

UV-görünür bölge spektroskopisi; 190 nm ve 380 nm aralığında UV ve 380-800 nm arasında görünür bölgeyi kapsar. Her iki tip ışınım madde ile etkileşime geçer ve taban seviyesinden yüksek enerji seviyesine elektron geçişini destekler. 300- 800 nm aralığındaki dalga boyu genellikle 2 nm ile 100 nm aralığındaki metalik nanopartiküllerin karakterizasyonunda kullanılır (Pionern, 2014). Örneğin gümüş nanopartiküllerin absorpsiyon ölçümleri genellikle 400-450 nm arasındadır. Altın nanopartiküller ise 500- 550 nm arasındaki piklerle tespit edilirler (Pionern ve ark., 2013).

FT-IR spektroskopisi, nanopartikül sentezi sırasında yüzeye tutunan karbonil ve hidroksil gibi fonksiyonel grupların yüzeyde oluşturdukları kalıntılarını ve nanopartikülün yüzey kimyasını belirlemek için kullanılır (Pionern, 2014).

Zeta potansiyel, kolloidal sistemlerin elektrokinetik potansiyellerinin kısaltması olarak ifade edilir. Hareketli dispersiyon medium ve dağılan partiküllere bağlı olan sabit tabaka dispersiyon medium arasındaki potansiyel fark olarak da ifade edilebilir. Zeta potansiyeli etkileyen en önemli faktör mediumun pH'ıdır. Diğer faktörler ise iyonik güç, ek maddelerin konsantrasyonu ve sıcaklıktır. Zeta potansiyel değeri emülsiyoların kısa veya uzun dönem stabiliteleri ile ilişkilidir. Yüksek zeta potansiyel değerine (negatif veya pozitif) sahip kolloidal sistemler elektriksel olarak stabildir. Düşük zeta potansiyeline sahip sistemler ise koagülasyona eğimli ve zayıf fiziksel stabiliteye sahiptir. Genel olarak zeta potansiyel yüksek olduğunda, itme gücü çekme gücünü aşar ve görece olarak stabil bir sistem oluşur. Zeta potansiyel değeri sentezlenen nanopartiküllerin yüzey yükü ve stabiliteleri hakkında karar vermek için önemli bir araçtır (Losso ve ark., 2005).

2.4.2. Bitkiler Aracılığı ile Metalik Nanopartiküllerin Sentezlenmesi

Bitkilerin, metal iyonlarını buldukları ortamdan yüksek oranda akümüle etme ve bu iyonları biyolojik olarak indirgeme potansiyeline sahip olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Bu ilginç özellikleri nedeni ile, metalik nanopartiküllerin sentezinde ve detoksifikasyonunda bitkiler daha çevre dostu bir rota olarak görülmektedir (Kulkarni ve Muddapur, 2014; Kumar ve ark., 2011; Gerick ve Pinches, 2006). Bitki ekstraktları biyoaktif alkaloidler, fenolik asitler, polifenoller, proteinler, şekerler ve terpenoidler gibi metal iyonlarının indirgenmesinde ve stabilizasyonunda ilk ve en önemli rolü yerine getiren bileşenleri içerirler (Marshall ve ark., 2007).

2.4.3. Altın ve Gümüş Nanopartiküller

Altın (Au) nanopartiküller; biyosensor (Sotiriou ve Pratsinis, 2011), hipertermi terapisi (Huang ve ark., 2006), terapötik ilaç ve genetik materyallerin taşıma platformu (Paciotti ve ark., 2006) ve antibakteriyel ilaç (Sondi ve ark., 2004) olarak kullanılabilme potansiyelleri nedeniyle son yıllarda önemli bir araştırma konusu olmuştur. Örneğin Das ve arkadaşları, 2011 yılında sferik yapılı Au NP, *Nyctanthes arbortristis* (gece yasemini) çiçek ekstraktı aracılığı ile sentezlemişlerdir (Das ve ark., 2011). Narayan ve Sakthivel, 2008 yılında *Coriandrum sativum* yaprak ekstraktını kullanarak 7-58 nm aralığında Au NP sentezlemişlerdir. Sentezlenen nanopartiküller sferik, decahedral, üçgen gibi farklı şekillerde olmuştur.

Tarihsel olarak incelendiğinde gümüşün (Ag), antimikrobiyal özelliği ile patojenlere karşı medikal formülasyonların içinde kullanıldığı görülmektedir (Sotiriou ve Pratsinis, 2011; Parak ve ark., 2003). Antimikrobiyal formülasyonlar için boyut ve yüksek yüzey alanı, bakteriyel hücre duvarı ile yakın etkileşimi sağlamaktadır. Son yıllarda yapılan antimikrobiyal çalışmalar, anlamlı membran hasarı ve DNA toksisitesinin hücresel Ag NP alımı ve biyosorpsiyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Simon-Deckers ve ark., 2009). Geetha ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmalarında *Cymbopogon citratus* yaprak ekstresi kullanarak yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip Ag nanopartiküller sentezlenmiştir. Elde edilen nanopartiküllerin boyutları 15- 65 nm ve ortalama büyüklükleri 35 nm olarak tespit edilmiştir.

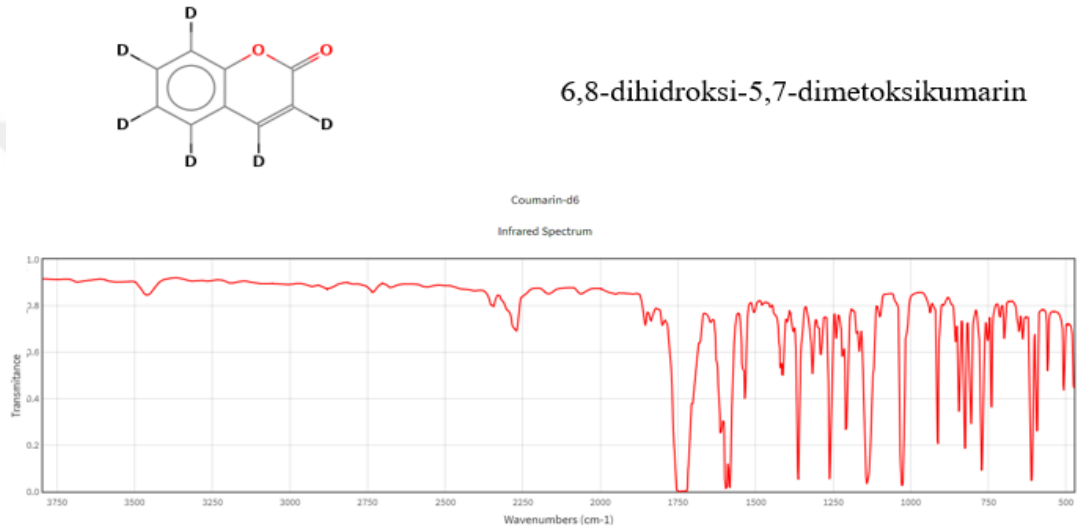
Bitkiler aracılığı ile saf metalik nanopartiküller sentezi raporlandığı gibi, gümüş ve altının birlikte kullanımı ve bitkiler aracılığı ile bimetalik nanopartiküllerin sentezi de

raporlanmıştır. Bimetalik nanopartikül sentezi, farklı metalik iyon öncüllerini içeren iki aquöz solüsyonun bitki ekstraktı ile karıştırılması ve bu iki farklı metal iyon öncüllerinin yarışmalı olarak indirgenmesi esasına dayanır. Au- Ag bimetalik nanopartikül oluşumu sırasında, Au daha büyük indirgenme potansiyeline sahip olması nedeniyle öncelikli olarak indirgenir ve kor yapısını oluşturur. Bunun sonrasında Ag iyonları indirgenerek Au nanopartikülleri kaplar ve core-shell nano kabuk yapısı oluşur. *Azadirachta indica* (Shankar ve ark., 2004), *Anacardium occidentale*, (Sheny ve ark., 2011), *Swietenia mahagony* (Mondal ve ark., 2011) Ag-Au bimetalik nanopartiküllerin sentezlenebildiği bitkilerdir. Son yıllarda kor-kabuk yapısına sahip bimetalik nanopartiküllerin antibakteriyal etkinliklerinin artırılması için doksisiklin gibi ilaçlarla kombine uygulamaları yapılmakta ve ortaya çıkan muhtemel sinerjistik etkiler araştırılmaktadır (Fakhri ve ark., 2017). Yine kor-kabuk yapısının yanında alaşım modellerinin oluşturulması için ortama sodyum borohidrid, hidroksilamin hidroklorid, askorbik asit, formaldehit, sitrat gibi yaygın olarak kullanılan eş zamanlı indirgeyiciler ilave edilerek bimetalik nanoyapıların sentezlendiği görülmektedir (Yang ve ark., 2017).

2.4.4. *Pelargonium sidoides*

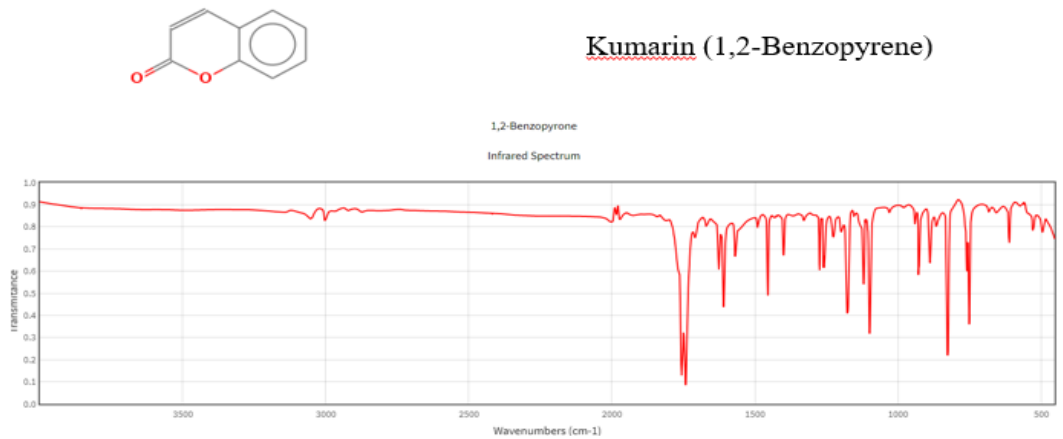
Pelargonium sidoides, Geraniaceae familyasına ait ve yaygınlıkla Güney Afrika'da bulunan bir bitki türüdür. Tüberküloz, bronşit, öksürük, ateş ve solunum sistemi rahatsızlıklarının tedavisindeki farmakolojik özellikleri ile bilinir (Kayser ve Kolodziej, 1997; Matthys ve ark., 2007; Brandler ve van Wyk, 2008). Tarihsel olarak *Pelargonium sidoides* türünün Afrika yerli kabileleri tarafından gastrointestinal rahatsızlıklar ve solunum sistemi enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmakta olduğu bildirilmiştir. 17. yy da Güney Afrikanın Almanlar ve İngilizler tarafından kolonize edilmesi ile bu bitkisel ilaç Avrupalılar tarafından farkedilmiştir. Albay Charles Stevens'in bireysel olarak bu bitkisel ilacı kullanması ve fayda görmesinin ardından bu türe olan ilgi artmıştır (Brandler ve van Wyk, 2008; Kolodziej ve Shulz 2003; Patiroğlu ve ark., 2012). Daha sonra yaygın araştırmalar sonucunda modern fitofarmasötik ilaç formunu almıştır. Ticari ürün olan Umckaloabo® (Eps®7630) ve LinctagonC™ 'in bu türün kök ekstresinden elde edilmişlerdir. Eps®7630'un antiviral, antibakteriyal, immünmodulator etkileri kanıtlanmıştır. Bu türün farmakolojik aktivitesi ve etkileri içerdiği yüksek oranda oksijenlenmiş kumarinler (7-hidroksi-5, 6-di-metoksikumarin), 6,8-dihidroksi-5,7-dimetoksikumarin, gallik asit

derivatifleri, flavonoidler, fenolik ve hidroksisünamik asit derivatiflerine dayandırılmaktadır (Kayser ve Kolodziej, 1997; Kolodziej, 2007; Colling ve ark., 2010). Ve bu bileşenlerin ticari ürün olan Umckaloabo® (Eps®7630) ve LinctagonC™ 'in ana bileşenlerini oluşturduğu bilinmektedir (Colling ve ark., 2010). Şekil 2.2.'de *P. sidoides* bileşenlerinden 6,8-dihidroksi-5,7-dimetoksikumarin'in moleküler yapısı ve FT-IR spektrum görüntüsü bulunmaktadır. Şekil 2.3.'de *P. sidoides* bileşenlerinden kumarin'in moleküler yapısı ve FT-IR spektrum görüntüsü bulunmaktadır.



<https://webbook.nist.gov/cgi/inchi?ID=B6007279&Mask=80#IR-Spec>

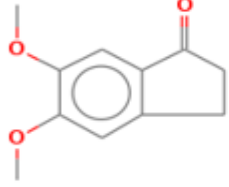
Şekil 2.2. 6,8-dihidroksi-5,7-dimetoksikumarin'in moleküler yapısı ve FT-IR spektrum görüntüsü



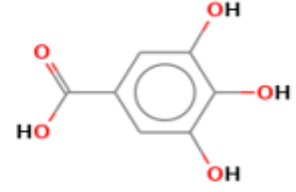
<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C91645&Mask=80>

Şekil 2.3. Kumarin'in moleküler yapısı ve FT-IR spektrum görüntüsü

Şekil 2.4.'de *P. sidoides*'in aktif sekonder metabolitlerinden 7-hidroksi-5, 6-di-metoksikumarin moleküler yapı görüntüleri bulunmaktadır.



7-hidroksi-5, 6-di-metoksikumarin



gallik asit

<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C91645&Mask=80>

Şekil 2.4. *P. sidoides*'in aktif sekonder metabolitlerinden 7-hidroksi-5, 6-di-metoksikumarin ve gallik asitin moleküler yapı görüntüleri.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Bitki Türünün Temini

Pelargonium sidoides tohumları bu türün ticaretini yapan yurt dışı firmasından satın alınmıştır.

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan malzemeler Tablo 3.1.'de verilmiştir.



Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan malzemeler

Kullanılan Malzemeler
Forceps ve Forceps curved/Iso Lab/Katalog no: 048.07.105-048.08.105
Müller Hinton Agar/Merck Millipore/ Katalog no: 105437
Müller Hinton Broth/Merck Millipore/ Katalog no: 110293
Steril plastik disposable plastik öze/Iso Lab/Katalog no: 0.82.01.002
Drigalski spatula/Iso Lab/Katalog no: 082.03.001
96 kuyucuklu eliza plakları u tabanlı steril/Iso Lab/Katalog no: 122.01.096
96 kuyucuklu eliza plakları için kapak u tabanlı steril/Iso Lab/Katalog no: 122.01.096
Eküvyon çubuğu/Iso Lab/Katalog no: 086.02.001
Mezür/Iso Lab/Katalog no: 016.07.250
NaCl/Merck Millipore /Katalog no: 106400
Erlen/Iso Lab/Katalog no: 027.03.250
Nutrient Agar/ Merck Millipore/ Katalog no: 105450
Nutrient Broth/ Merck Millipore/ Katalog no: 105443
Spatül/Iso Lab/Katalog no: 047.08.150
Etil alkol/Merck Millipore /Katalog no: 10971
Parafilm/Sigma Aldrich /Katalog no: P7793
Tüp sporu/Iso Lab/Katalog no: 080.01.001
Tüp standı/Iso Lab/Katalog no: 080.02.001
Falkon tüpü 50 ml steril/Iso Lab/Katalog no: 078.02.009
Falkon tüpü 15 ml steril/Iso Lab/Katalog no: 078.02.007
Petri kabı steril/Iso Lab/Katalog no: 081.02.191
0,5 Mc Farland standart/Thermofischer Scientific/Katalog no: E1041
Otoklav sterilizasyon bandı/Lp Italiana Spa/Katalog no: L291092
Otoklav Poşedi/ Lp Italiana Spa/Katalog no: N620220
Eldiven medium pudrasız/Iso Lab/Katalog no: 080.15.002
Otoklavlanabilir Mikropipetler 0,5 - 10 µl/Iso Lab/Katalog no: 011.20.002
Otoklavlanabilir Mikropipetler 2 - 20 µl/Iso Lab/Katalog no: 011.20.020
Otoklavlanabilir Mikropipetler 20 - 100 µl/Iso Lab/Katalog no: 011.20.200
Otoklavlanabilir Mikropipetler 100 - 1000 ul/Iso Lab/Katalog no: 011.20.901
Pipet racklı/Iso Lab/Katalog no: 006.11.005
Otoklavlanabilir pipet uçları/Iso Lab/Katalog no: 005.01.001
Boş antibiyotik diskleri (1*50 disk)/Sigma Aldrich/Katalog no: WHA2017006
Maske/Iso Lab/Katalog no: 080.41.003
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 12228 ATCC/Thermofischer Scientific/Katalog no: R4606500
<i>Staphlococus aureus</i> 29213 ATCC/Thermofischer Scientific/Katalog no: R4607011
AgNO ₃ /Sigma Aldrich /Katalog no: 209139
AuCl ₄ Na /Sigma Aldrich /Katalog no: 298174
Skim Milk Powder/Sigma Aldrich /Katalog no: 70176

Çalışmada kullanılan cihazlar, markaları ve kullanım amaçları Tablo 3.2.'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan cihazlar, markaları ve kullanım amaçları

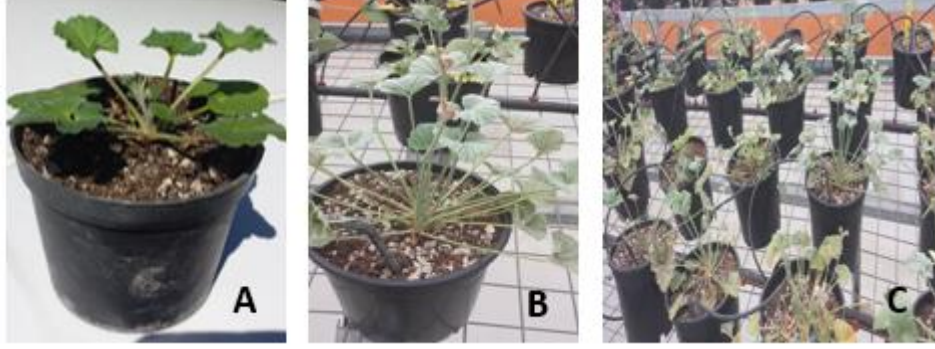
Cihazlar ve Markaları	Kullanım Amaçları
Astell Otoklav	Sterilizasyon ve besiyeri hazırlama
Telstar Bio-II-A/G Güvenlik Kabini	Antibakteriyal aktivite metodlarının uygulandığı steril ortam
Incucell İnkübatör	Mikroorganizma büyüme ortamı
Heidolph -Vorteks	Nanopartikül solüsyonunun homojenizasyonu
Zeiss Işık Mikroskobu	Mikroorganizma inceleme
Burç Manyetik karıştırıcı	Nanopartikül solüsyonunun homojenizasyonu
Arçelik Mikrodalga Fırın	Besiyeri hazırlama
Bosch Buzdolabı (-20 ve +4)	Kimyasal ve mikrobiyolojik malzeme muhafaza
Pure Lab option/Elga saf su Cihazı	Saf su eldesi
Multiscan Go Çoklu Plaka Okuyucu	Antibakteriyal aktivitenin spektrofotometrik tayini
Schimadzu UV-Vis Spektrofotometre	Nanopartikül solüsyonlarının UV-VİS Karakterizasyonu
Malvern Zetasizer Zen 3600	Nanopartikül boyut ve kararlılığını ölçme
Bruker Tensor 27 FT-IR Spektrometre	Nanopartikül ölçümü
TEM mikroskobu	Nanopartikül boyut ve şekil ölçümü
Çoklu manyetik karıştırıcı (İKA-werke-RT 15 power)	Nanopartikül sentezi

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi

Satın alınan tohumlardan torf: perlit (1:1) karışımı çimlendirme ortamı kullanılarak genç bitki eldesi sağlanmıştır. Bitkiler otomatik zaman ayarlı sisleme (mistleme) sulama yöntemiyle sulanmış, bitkilerin yetiştirildiği sera içi sıcaklık ve nem durumuna göre zaman ve süresi ayarlanmıştır. Kökler 3,5-4 cm uzunluğuna eriştiğinde tohumdan çoğalan bitkiler saksı ortamına aktarılmış ve seraya taşınmışlardır. Saksı ortamı olarak ise torf + pomza (1:1) ortamı kullanılmıştır. Yetiştirme koşulları ve kültürel işlemler için; serada sadece donlu günlerde ısıtma sağlanmış, yazın ise aşırı sıcak ve aşırı güneş ışığından zarar görmeye karşı gölge tozu ve gölge ağı gibi materyaller ile sera

korunmuş, fan-ped sistemi ile de sera sıcaklığı düşürülmüştür. 500 mL kapasiteli saksılarda yetiştirilen *Pelargonium sidoides* bitkisinin bitki başına 2 günde bir 50 mL besin solusyonu sulama suyu ile birlikte verilmiştir. Bitkilere verilecek besin solüsyonu: mg/L olarak N: 150, P: 20, K: 200, Ca: 100, Mg: 50, Fe: 0.5, Mn: 0.12, Cu: 0.076, Zn: 0.3 olacak şekilde ayarlanmıştır (Neuman ve Hagiladi, 1992).



Şekil 3.1. *Pelargonium sidoides* A) 3. Ay B) 5. Ay C) 8. Ay

3.2.2. Kök Ekstraktının Hazırlanması, Bu Ekstrakt içerisinde Altın, Gümüş NP ve Altın-Gümüş NK Yapılarının Sentezlenmesi

Sera ortamında yetiştirilen 8 aylık *Pelargonium sidoides* bitkisi saksıdan çıkarıldı ve kökler büyüme ortamı uzaklaştırılana kadar önce şebeke suyu ardından da saf su ile arındırılıncaya kadar yıkandı. Fenolik maddece zengin olan kökler toprak üstü organların başladığı bölgeden bistüri yardımıyla kesildi. Köklerdeki suyun uzaklaştırılması için 40°C'ye ayarlanmış etüvde yaklaşık altı saat kurutuldu. Kurutulmuş bitki köklerinden tartım alındı ve kök yine bistüri aracılığı ile küçük parçalara bölündü. İnfüzyonun gerçekleşmesi için 0.152 gr kök/50 mL saf su olacak şekilde 100°C lik saf suyun içerisinde 15 dk ağzı kapalı bekletildi. Kaba filtre kağıdı ile süzme işlemi gerçekleştirilerek süzüntü ayrıldı. İnfüzyon yöntemi ile elde edilen *P. sidoides* kök ekstraktı (PSKE) nanopartikül sentezi gerçekleştirilene kadar amber şişede bekletildi.



Şekil 3.2. 1 ve 2; *Pelargonium sidoides* kökleri

İnfüzyon metodu ile hazırlanan kök ekstraktı, gümüş ve altın iyonları içeren tuz çözeltileri ile hacimsel olarak 10:1 oranında (v/v) olacak şekilde karıştırıldı. 10 mL'lik ekstrakta 1 mL 0.01 molar (M) AgNO_3 çözeltisi ve 10 mL çözeltiliye 0.01 M AuCl_4Na çözeltisi eklendi. Bimetalik nanopartiküllerin sentezlenebilmesi için, 10 mL bitki ekstrakta 0.5 mL 0.01 molar (M) AgNO_3 çözeltisi ve 0.25 mL 0.01 M AuCl_4Na çözeltisi eş zamanlı eklendi. Reaksiyon şişelerinin dış kısmı ışık almayacak şekilde alüminyum folyo ile sarıldı. Manyetik karıştırıcı aracılığı ile reaksiyonun tamamlanması için 24 saat inkübasyona bırakıldı.



Şekil 3.3. Altın, Gümüş NP ve Altın-Gümüş Bimetalik yapıların 24 saatlik inkübasyonu

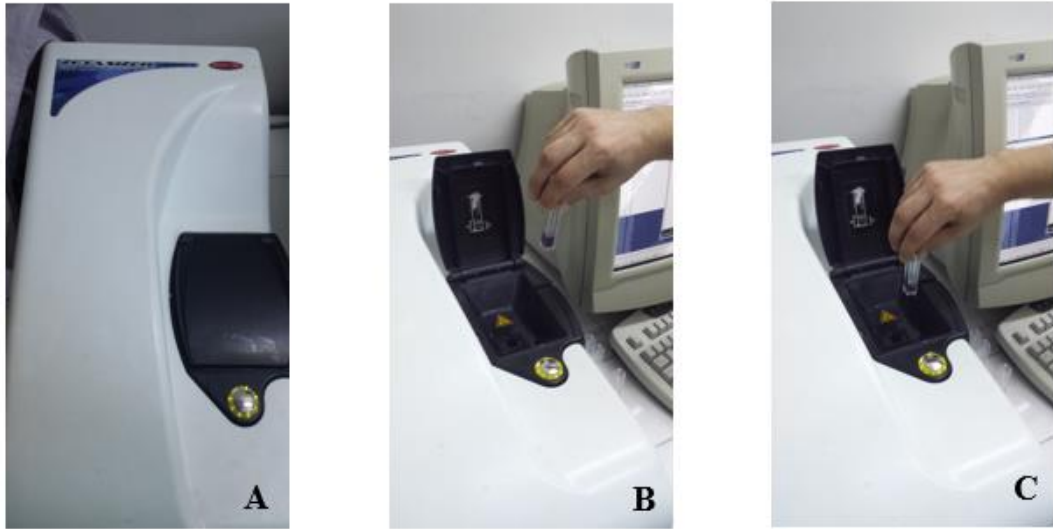
Nanopartikül solüsyonlarına verilen isimler ve bu solüsyonların içerikleri Tablo 3.3.'de verilmiştir.

Tablo 3.3. Nanopartikül solüsyonlarına verilen isimler ve bu solüsyonların içerikleri

Nanopartikül Solüsyonu ve PSKE	İçerik
N-1	<i>Pelargonium sidoides</i> kökünden infüzyon yöntemi ile elde edilen sulu ekstrakt
N-2	10 mL PSKE + 0.5 mL 0.01M AgNO ₃ + 0.25 mL 0.01M AuCl ₄ Na
N-3	10 mL PSKE + 1 mL 0.01M AuCl ₄ Na
N-4	10 mL PSKE + 1 ml 0.01M AgNO ₃

3.2.3. Parçacık Boyutu ve Kararlılığının Zetametre Aracılığı ile Ölçümü

Parçacık boyutu ve kararlılığının ölçmek için öncelikle Akdeniz Üniversitesi Kimya Bölümü Sol-Gel Laboratuvarında, sentezlenen nanopartiküllerin zeta potansiyelleri Malvern 3600 Zeta-sizer aracılığı ile ölçüldü. Şekil 3.4.'de Zetasizer ve Zetasizer ile ölçüm görülmektedir. Her bir örnek 3 tekrarlı ve tekrarların herbiri 10 defa olacak şekilde oda sıcaklığında ölçümler alınmıştır.



Şekil 3.4. Zetasizer (A) ve Zetasizer ile ölçüm (B ve C)

Sentezlenen nanoparçacıkların karakterizasyonu için 200-800 nm bant aralığında UV spektrofotometresinde ölçüm yapıldı. UV ölçümlerinin yapılması için örnekler 4 katı oranında saf su ile seyreltilmiştir. Spektrofotometre parçacık boyutları ve elde edilen nanopartiküllerin şekillerinin tespiti için Akdeniz Üniversitesi Transmission Elektron Mikroskopi ünitesinde, nanopartiküllerin TEM görüntüleri elde edilmiştir.

3.2.4. Infrared Spektroskopisi

Kırmızıötesi ışınımın dalga boyu 0.8-500 μm ($12500-20\text{ cm}^{-1}$) arasındadır. Bu bölgedeki ışın soğurma moleküllerin titreşim ve dönme yüzeylerini uyararak molekül içi titreşimlere neden olur. Kırmızı ötesi soğurma fonksiyonlu grup bölgesi ($400-1500\text{ cm}^{-1}$) ve parmak izi bölgesi ($1500-400\text{ cm}^{-1}$) olarak ikiye ayrılır. Parmak izi bölgesindeki titreşimler, küçük gruplardan çok molekülün büyük bölümlerinin ve molekülü oluşturan atom iskeletinin titreşmesi sonucu olduğundan parmak izi bölgesine iskelet titreşimleri bölgesi de denir. Sıvı, gaz yada katı formdaki bileşiklerdeki yapısal bağların titreşim frekansları ölçülerek kompleks yapının içinde bulunan fonksiyonel gruplar, bağlı atomlar ve bağlı atomların bağlanma şekilleri IR spektrumu ile aydınlatılır (Erdik, 2007) Infrared spektrumu, Akdeniz Üniversitesi Kimya bölümünde Bruker Tensor cihazı aracılığı ile elde edilmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin IR spektrumları, $4000-450\text{ cm}^{-1}$ aralığında kaydedilmiştir.

3.2.5. UV-VİS Spektroskopisi

UV-VİS ölçümleri, Shimadzu UV-Vis Spektrofotometre cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen nanopartikül solüsyonlarının UV-VİS spektrumları, 200-900 nm dalga boyu aralığında ölçülmüştür.

3.2.6. TEM Görüntüleme

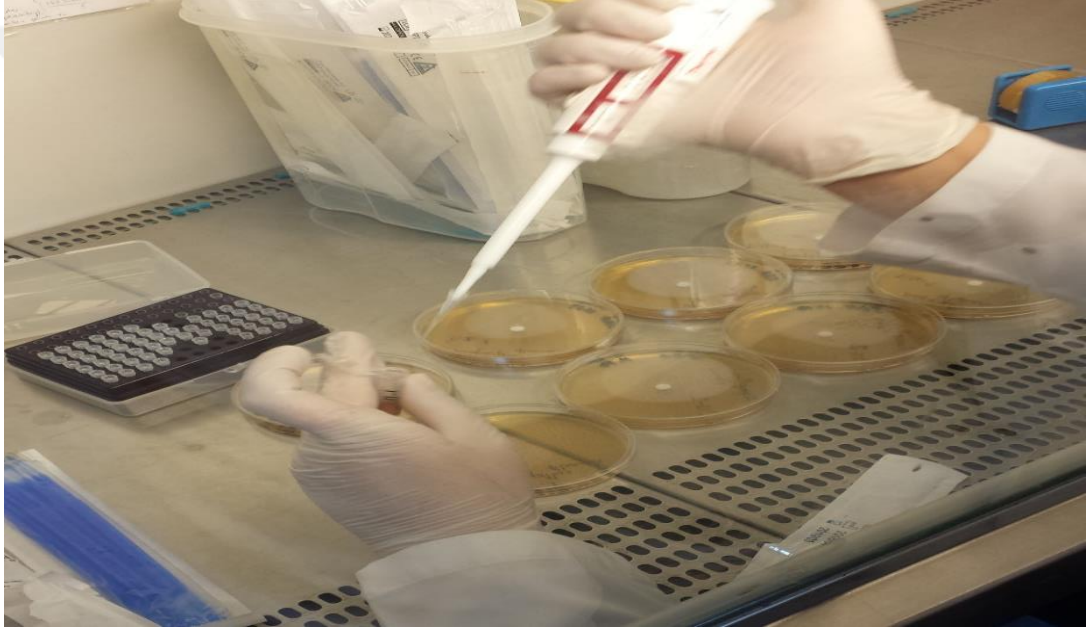
Sentezlenen nanopartikül solüsyonları 200 mesh karbon kaplı bakır gridler üzerine $\sim 2\mu\text{L}$ olacak şekilde uygulanmış ve bir gece kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra bakır gridler Akdeniz Üniversitesi TEM görüntüleme merkezinde görüntülenmiş ve sentezlenen nanopartiküllere ait fotoğraflar elde edilmiştir.

3.2.7. Bakterilerin PSKE ve Sentezlenen Nanopartiküllere Gösterdiği Duyarlılığın Ölçülmesi

Disk Difüzyon Yöntemi

PSKE ve gümüş ve altın metalik nanopartikül solüsyonu ve sırasıyla bu nanopartiküllerin sentezinde kullanılan 0.01M AgNO_3 çözeltisi, 0.01 M NaAuCl_4 çözeltisi, bimetalik Au-Ag nanopartikül solüsyonu ve bimetalik nanopartikül solüsyonu sentezinde kullanılan $0.5\text{ mL } 0.01\text{M AgNO}_3 + 0.25\text{ mL } 0.01\text{M AuCl}_4\text{Na}$ oranlarında metal tuzları çözeltisi karışımına karşı test mikroorganizmalarının (*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213) göstereceği duyarlılıkların tespiti için, antibiyotik duyarlılığını ölçmekte kullanılan

standart disk difüzyon yöntemi, ekstre, metal tuzu çözeltileri ve NP solüsyonlarına uyarlanmıştır. Bakteriler bir gün önce Colombia Sheep Blood Agara ekilmiş ve 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Elde edilen kolonilerden steril serum fizyolojik aracılığı ile 0.5 Mc Farland (1×10^8 hücre/mL) turbiditeye ayarlanmış bakteri süspansiyonları elde edilmiştir. Elde edilen bakteri süspansiyonlarından 100µL alınmış, ve bakteri süspansiyonu Müller Hinton Agar besiyerine steril swab aracılığı ile yayılmıştır. Steril boş 6 mm çapında antibiyotik disklerine PSKE ve NP solüsyonları ayrı ayrı uygulanmış ve bakteri ekimi yapılan petrilere yerleştirilmiştir. 37 °C’de 24 saat inkübe edildikten sonra disk çevresinde oluşan inhibisyon zonçapı kumpas aracılığı ile ölçülmüştür.



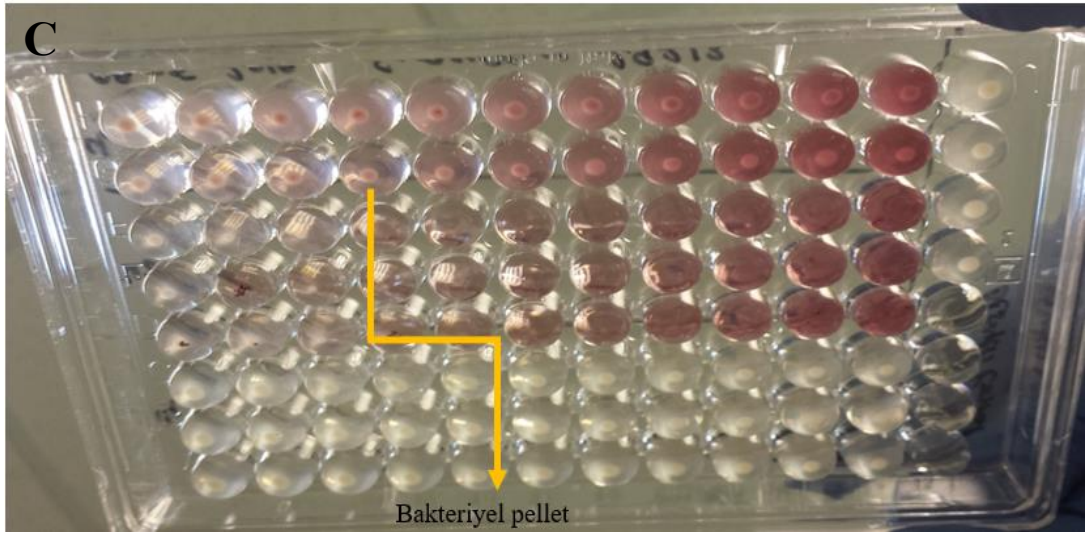
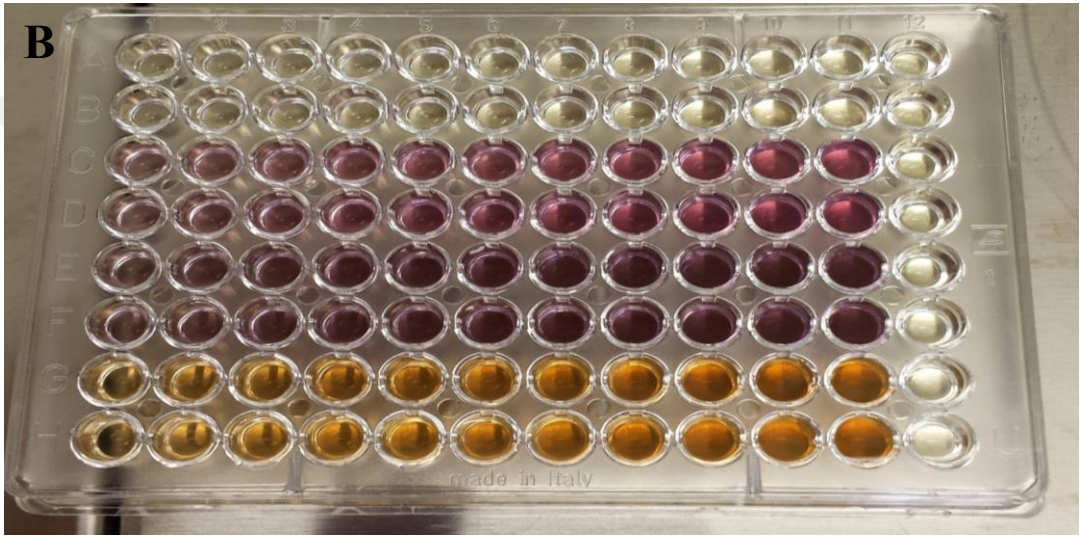
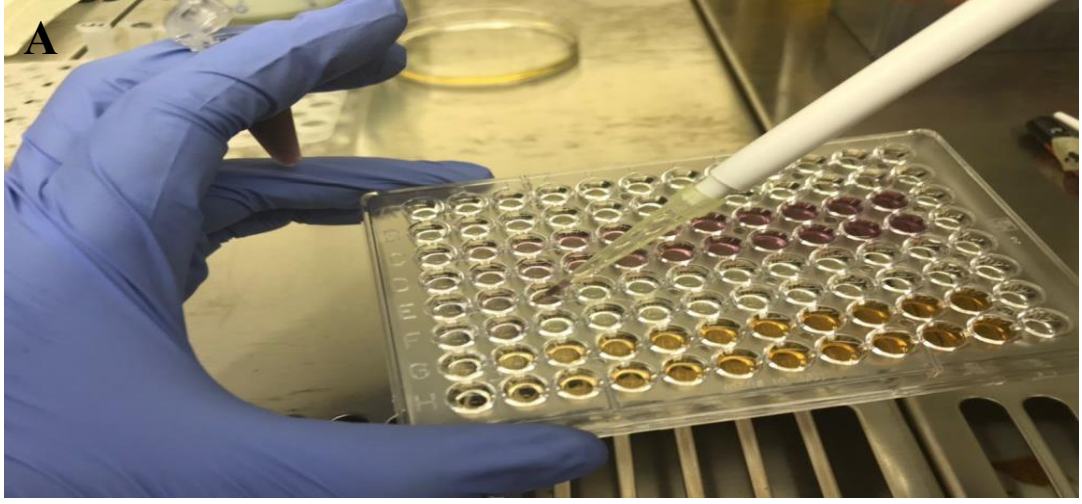
Şekil 3.5. Disk difüzyon metodunun uygulanışı

Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi (MIK)

PSKE ve NP solüsyonların minimum inhibisyon değerlerinin (MIK) belirlenebilmesi için CLSI, 2016 tarafından önerilen yöntem NP solüsyonları, metal tuzu çözeltileri, metal tuzu çözeltisi karışımı ve bitkisel estreye uyarlanmıştır. Her bir mikroorganizma Colombia Sheep Blood Agara ekilmiş ve 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Elde edilen taze kolonilerden steril serum fizyolojik aracılığı ile 0.5 Mc Farland (1×10^8 hücre/mL) turbiditeye ayarlanmış bakteri süspansiyonları elde edilmiştir. Besi yeri olarak Müller Hinton Broth kullanılmıştır. Bakterilerin duyarlı olduğu konsantrasyonları belirlemek için steril 96 kuyucuklu plakların her bir kuyucuğuna 10-100 µL arasında PSKE, NP solüsyonları, metal tuzu çözeltileri ayrı ayrı ve karışım

halinde eklenmiştir. Daha sonra bu kuyucuklara son hacim 150 μL olacak şekilde Müller Hinton Broth ilave edilmiştir. Son olarak 0.5 Mc Farland'a ayarlanmış bakteri süspansiyonundan 50 μL kuyucuklara ilave edilerek final volümün 200 μL olması sağlanmıştır. Her deney setinde 4 kuyucuk mikroorganizma büyüme kontrolü ve 4 kuyucukta besiyeri sterilite kontrolü olarak bırakılmıştır. Hazırlanan mikropalakalar 37 $^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bakteriyal büyüme u tabanlı kuyuların dip kısmında oluşan pellet aracılığı ile tespit edilmiştir. Aynı zamanda mikropalakalar 450 nm de Thermo Multiscan Go Mikropalaka okuyucuda spektrofotometrik olarak okunmuş ve 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri elde edilmiştir. Elde edilen absorbans değerlerinin ortalamaları ve ortalamanın standart hataları hesaplanarak deney grupları kontrol grupları ile karşılaştırılacak şekilde grafikler çizilmiştir.

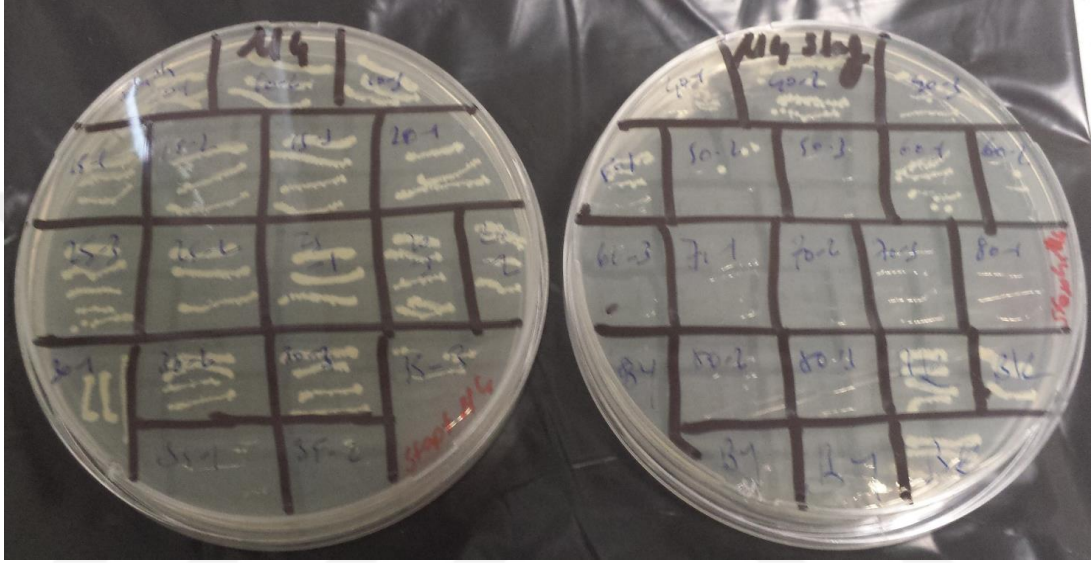




Şekil 3.6. MIK uygulama; A ve B, bakteriyel pellet; C

Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK saptanması)

Sıvı mikrodilüsyon yöntemi sonucunda pellet oluşumunun gözlenmediği kuyucuklardan 10 µL alınarak Müller Hinton Agar plaklarına altkültürler yapılmıştır. Bu test de CLSI, 2016' nın önerdiği yonteme göre yapılmış ve ekim yapılan petri kapları 37 °C'lik normal atmosfer etüvlerinde 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda üreme görülmeyen petrilerdeki PSKE, metal tuzu çözeltilerinin ve NP solüsyon dozlarının bakterisit etki gösterdiği kabul edilmiştir.



Şekil 3.7. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 MBK uygulama

Proteolitik Aktiviteyi Baskılayan Minimum Dozun Belirlenmesi

Anti-proteolitik aktivitenin ölçümü için, Harrigan ve McCance'nin 1976'da önerdiği yonteme göre ölçüm yapılmıştır. Sıvı mikrodilüsyon yönteminin uygulandığı plaklarda her bir dozun uygulandığı kuyucuklardan skim milk agara çizim şeklinde ekimler yapılmıştır. Normal atmosfer koşullarında 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra çizim-ekim alanı çevresinde proteolitik aktivite ile süt proteinlerinin parçalanması ile zon oluşturan ve oluşturmeyen dozlar ve proteolitik aktiviteyi baskılayan inhibisyon dozları belirlenmiştir.

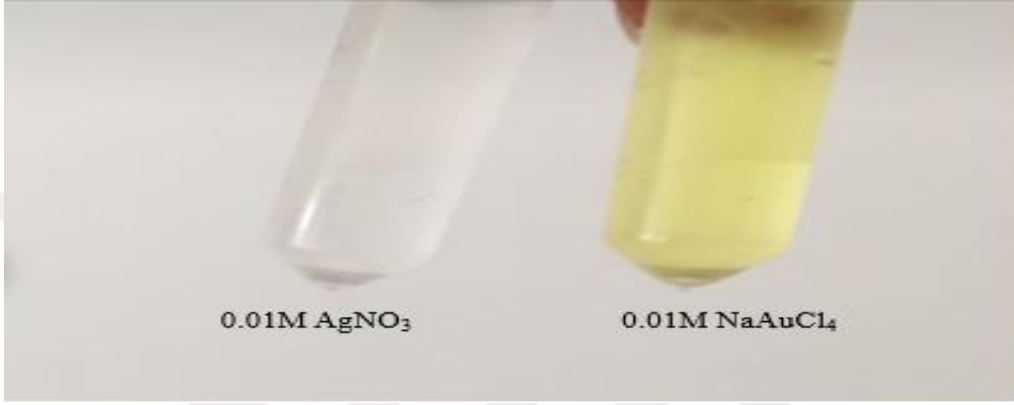
3.3 Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS paket programı ve Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

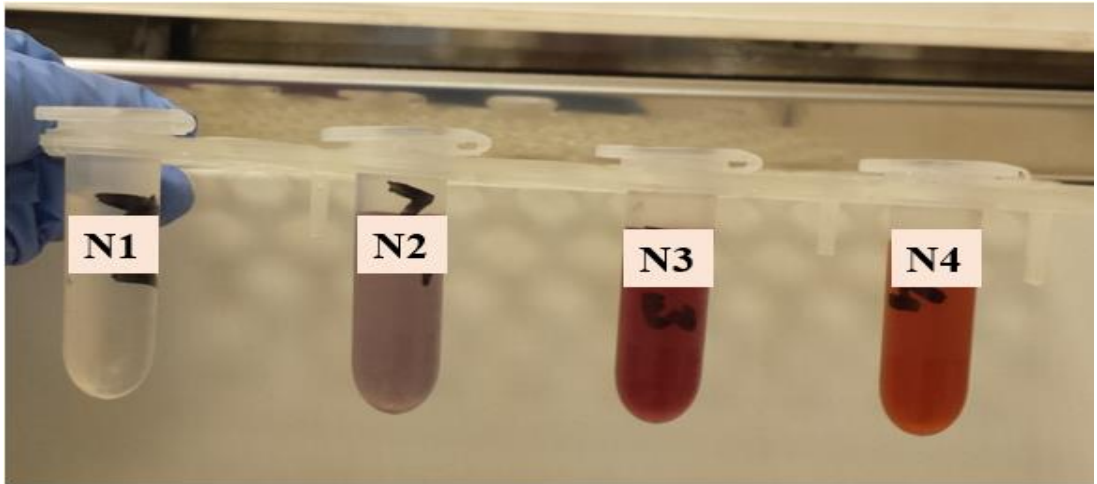
4.1. Nanopartikül Sentezi Renk Değişimi

Hücreden bağımsız *Pelargonium sidoides* kök ekstraktının sahip olduğu aktif bileşenlerin gümüş ve altın iyonlarını indirgeyerek Ag-NP, Au-Np ve Au-Ag bimetalik nanopartikül formasyonunu sağladığı düşünülmektedir. Reaksiyon öncesi 0.01M AuCl₄Na ve 0.01M AgNO₃ çözeltilerinin renkleri Şekil 4.1.'de görülmektedir.



Şekil 4.1. 0.01M NaAuCl₄ ve 0.01M AgNO₃ sulu çözeltileri

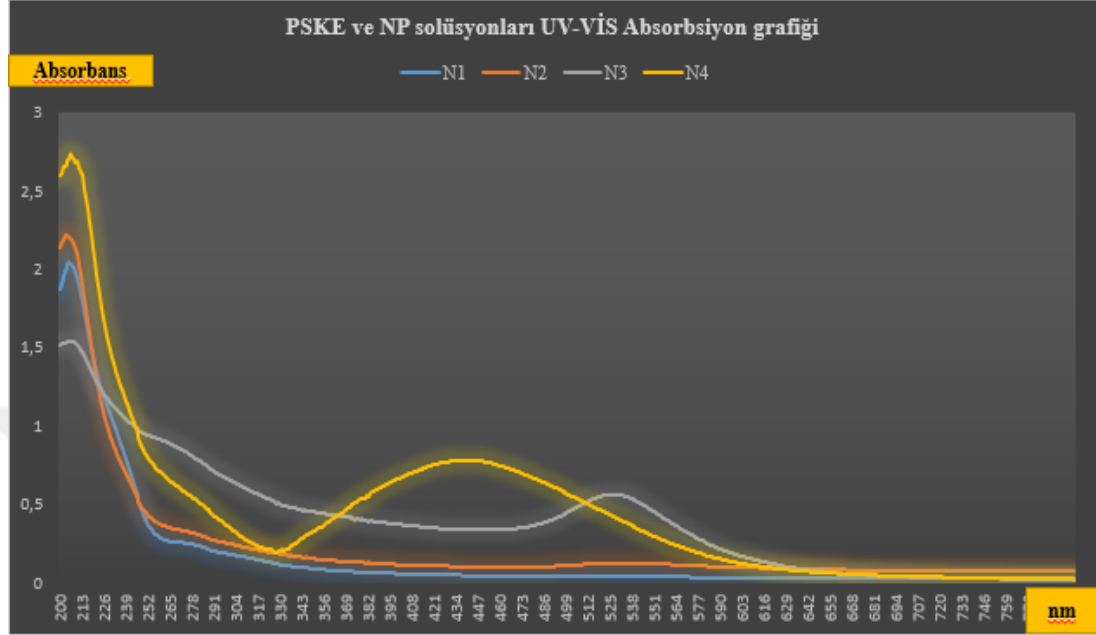
24 saatlik kimyasal indirgenme reaksiyonu inkübasyon süresi sonunda nanopartikül sentezinin ilk belirteci olan renk değişimi gözlemlendi. Nanopartikül solüsyonları ve PSKE'nin kazandıkları renkler Şekil 4.2.'de görülmektedir.



Şekil 4.2. Sentezlenen Nanopartikül (NP) Solüsyonları ve PSKE, N-1: PSKE, N-2: Au-Ag bimetalik NP solüsyonu, N-3: Au NP solüsyonu, N-4: Ag NP solüsyon

4.2. Sentezlenen NP Solüsyonların UV-VİS Spektrumu

Sentezlenen NP solüsyonlarının 200-800 nm bant aralığındaki UV ölçümü Şekil 4.3.'de verilmiştir.

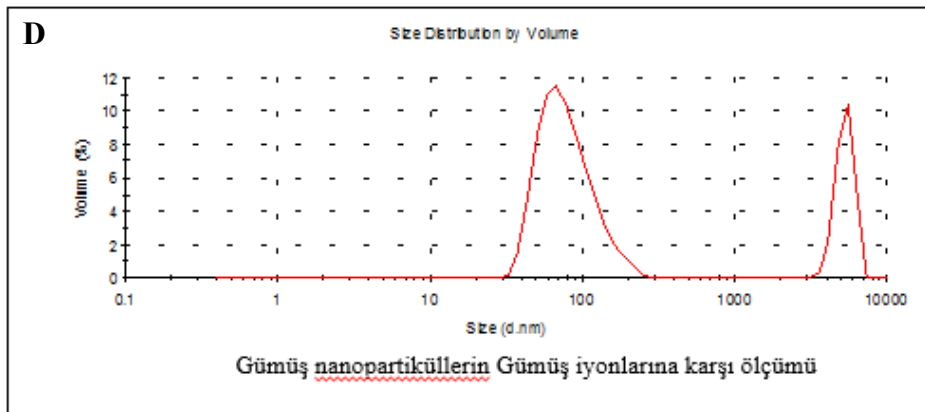
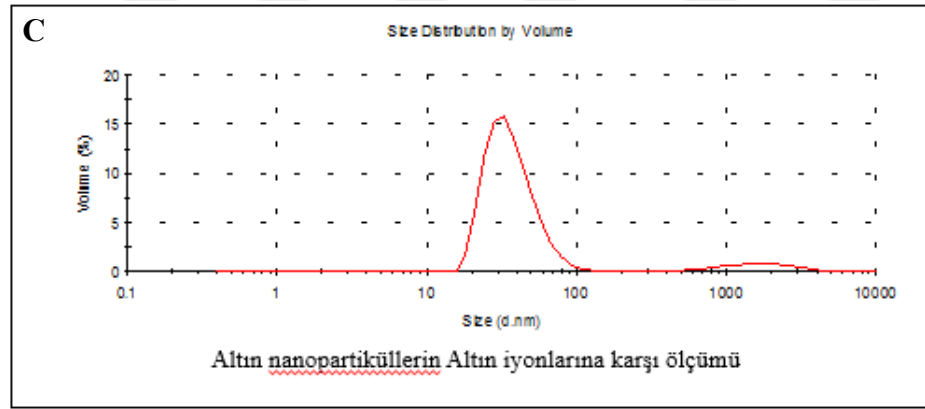
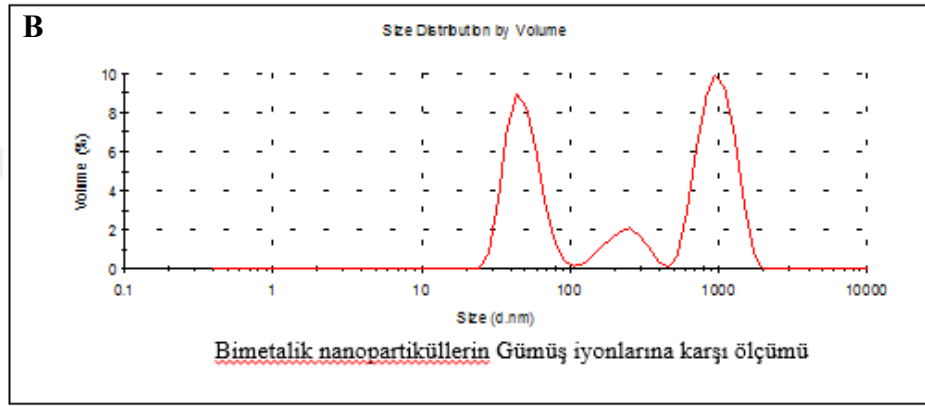
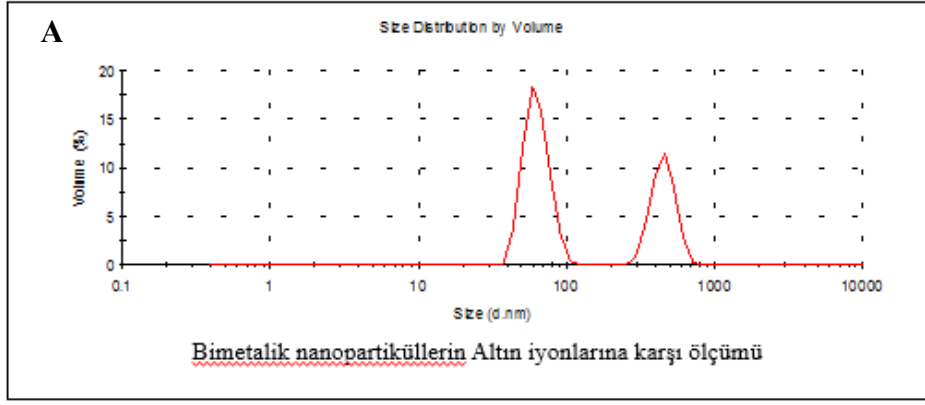


Şekil 4.3. NP solüsyonlarının UV-VIS absorpsiyon grafiği N-1:PSKE, N-2: Bimetalik Au-Ag nanopartikül solüsyonu, N-3:Au nanopartikül solüsyonu, N-4: Ag nanopartikül solüsyonu

UV-VİS absorpsiyon grafiği sonuçlarına göre göre Ag Nano partikülleri 408-473 nm aralığında; Au nanopartikülleri 512-564 nm aralığında; Au –Ag bimetalik nanopartikülleri 512-568 nm aralığında en yüksek absorpsiyon değerini vermiştir (Şekil 4.1.1.)

4.3. Zetametre ile NP ve NK Solüsyonlarının Partikül Çapı Ölçümü Sonuçları

Sentezlenen NP solüsyonlarının Zetasizer aracılığı ile ölçülen partikül boyutları Şekil 4.4.'de verilmiştir.



Şekil 4.4. Sentezlenen NP solüsyonlarının Zetasizer aracılığı ile ölçülen partikül boyutları A, B, C, D, E.

Sentezi gerçekleştirilen NP solüsyonlarının Zeta potansiyel değerleri N2: -22,6mV, N3: -16, 8 ve N4: -22,6 mV olarak olarak ölçülmüştür. Sentezlenen bimetalik ve Ag nanopartiküllerin zeta potansiyel değerlerinin Au nanopartiküllere göre daha yüksek olduğu ve bu çözeltilerin kararlılıklarının daha yüksek olduğu bulunmuştur. Nanopartiküllerin zeta potansiyellerini eksi olması bu partiküllerin çevresindeki yükün ve çevresini saran iyon ve ekstraktan gelen moleküllerin de eksi yüklü olduğunu göstermektedir. Sentezlenen NP solüsyonlarının Zetasizer aracılığı ile ölçülen zeta potansiyelleri Şekil 4.5.'de verilmiştir.

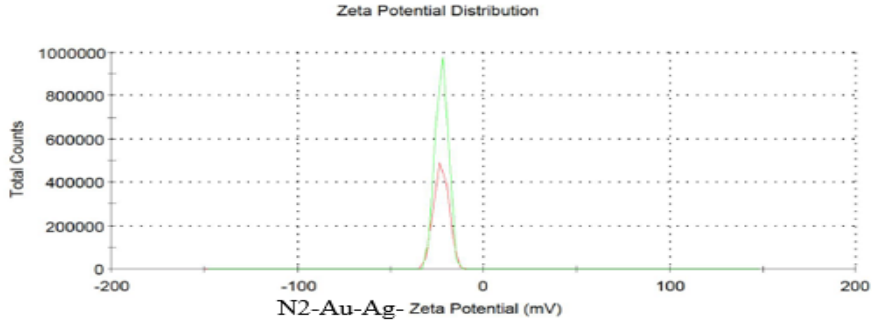


Results

A

	Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
Zeta Potential (mV): -22,6	Peak 1: -22,6	100,0	3,29
Zeta Deviation (mV): 3,29	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,292	Peak 3: 0,00	0,0	0,00

Result quality Good

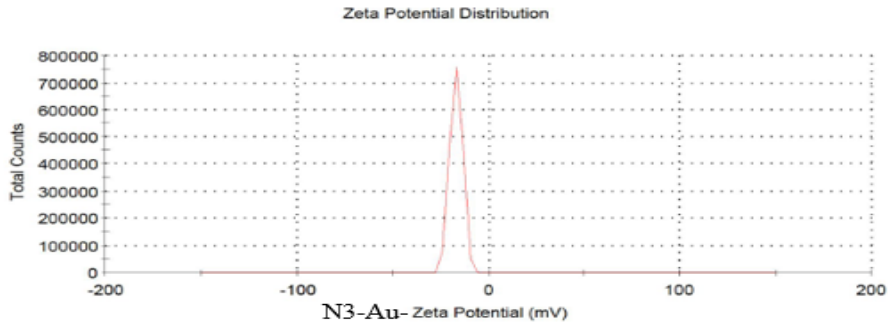


Results

B

	Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
Zeta Potential (mV): -16,8	Peak 1: -16,8	100,0	3,29
Zeta Deviation (mV): 3,29	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,944	Peak 3: 0,00	0,0	0,00

Result quality Good

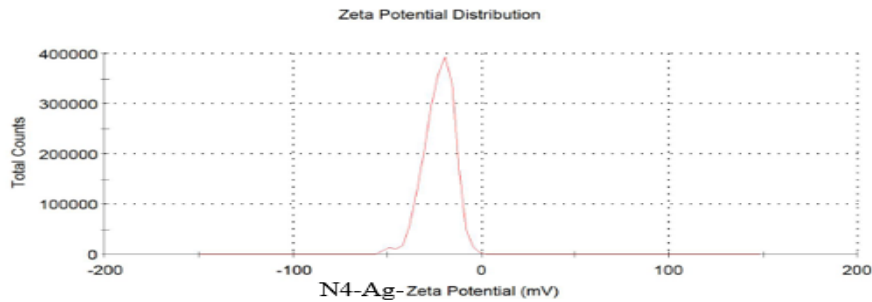


Results

C

	Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
Zeta Potential (mV): -22,6	Peak 1: -22,3	98,5	7,62
Zeta Deviation (mV): 8,08	Peak 2: -48,6	1,5	2,77
Conductivity (mS/cm): 0,214	Peak 3: 0,00	0,0	0,00

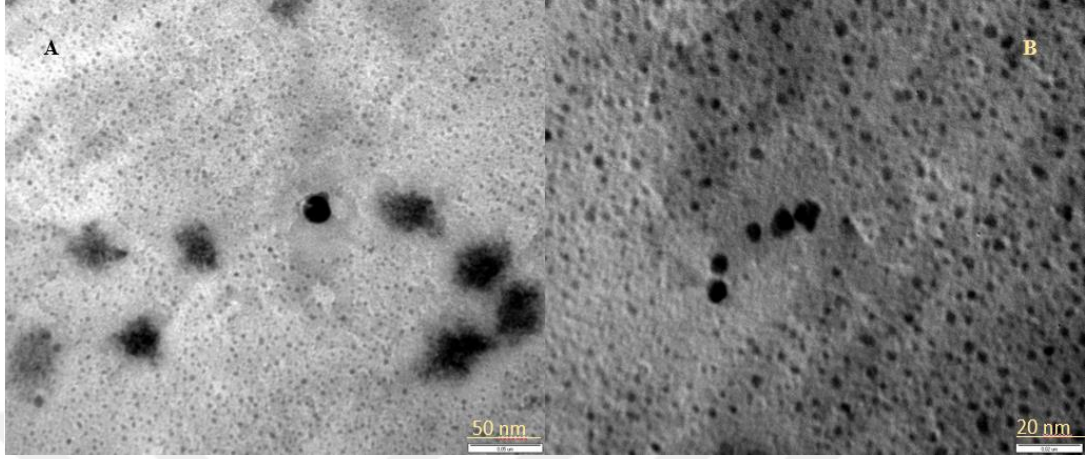
Result quality Good



Şekil 4.5. Sentezlenen NP solüsyonlarının Zeta Potansiyelleri, A:Au-Ag NP, B:Au-NP, C:Ag NP

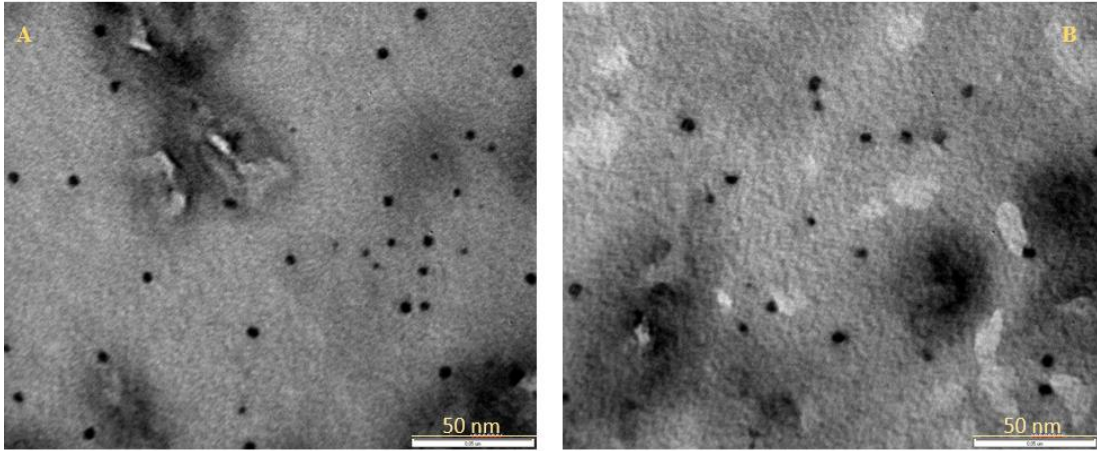
4.4. Sentezlenen Nanopartikül ve Nanokabuk yapılarının TEM görüntüleri

Sentezlenen nanopartiküllerden Bimetalik nanopartiküllere ait TEM görüntüleri Şekil 4.6.'da verilmiştir.



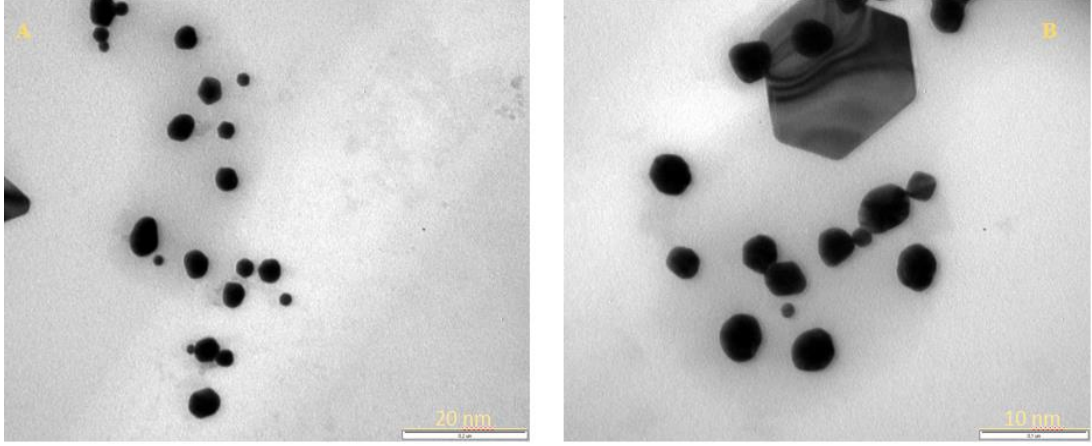
Şekil 4.6. Altın-Gümüş bimetalik nanopartiküllerin TEM görüntüleri (50 nm ve 20 nm birimlik ölçü)

Sentezlenen nanopartiküllerden Altın nanopartiküllere ait TEM görüntüleri Şekil 4.7.'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Altın nanopartiküllerin TEM görüntüleri (50 nm birimlik ölçü)

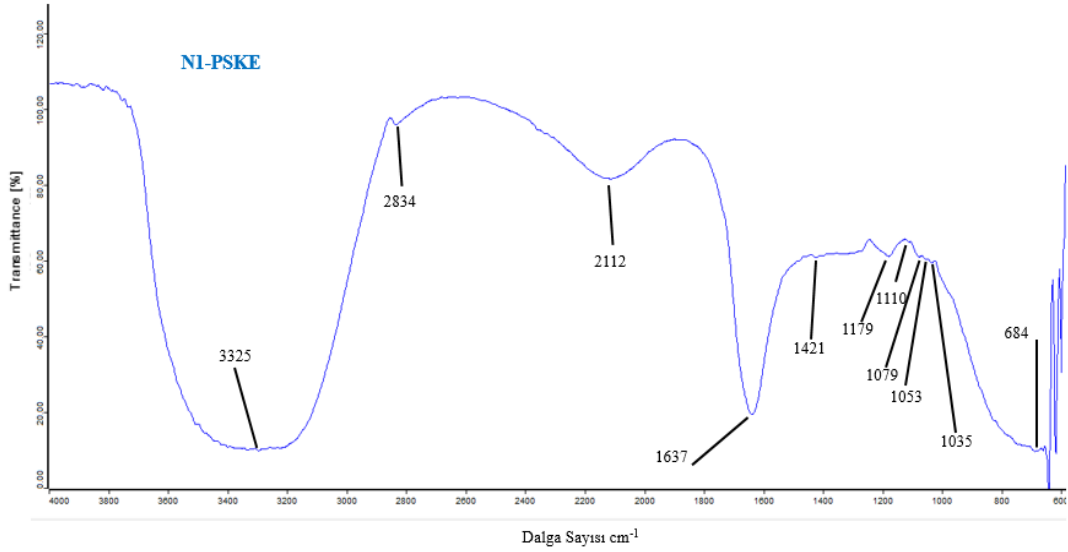
Sentezlenen nanopartiküllerden Gümüş nanopartiküllere ait TEM görüntüleri Şekil 4.8.'de verilmiştir.



Şekil 4.8. Gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüleri (20 nm ve 10 nm birimlik ölçü)

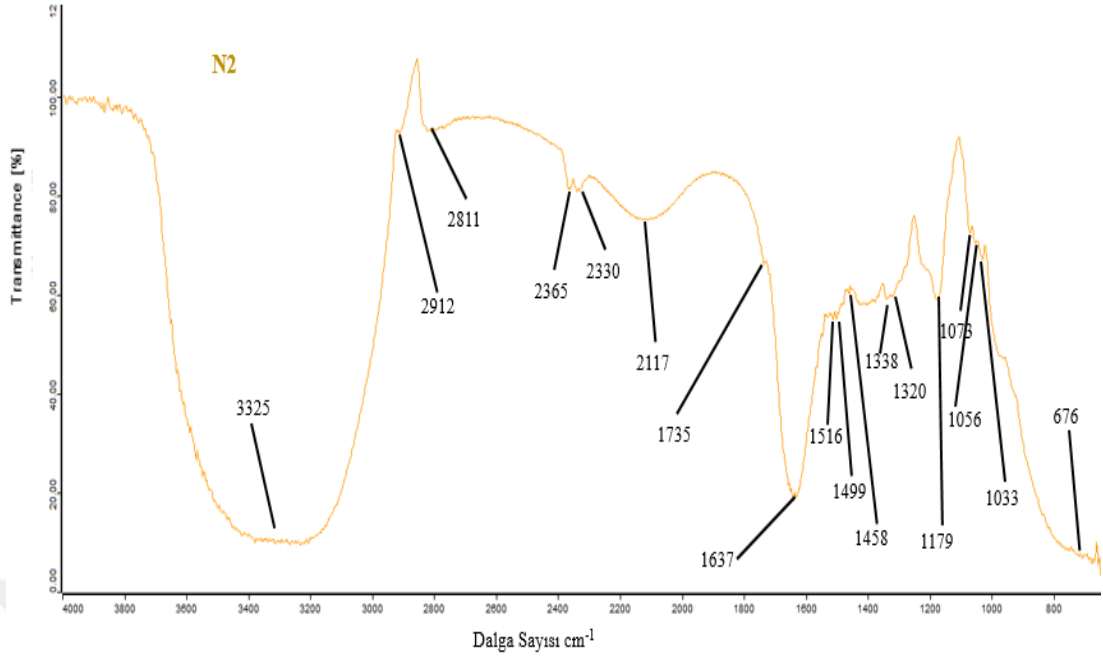
4.5. Sentezlenen Au, Ag Nanopartikül ve Au-Ag Nanokabuk Yapı ve PSKE'nin FT-IR Spektrumları

Infrared spektroskopisi, infrared bölgede elektromanyetik radyasyonun absorpsiyonu ve bunun sonucunda moleküllerin titreşim enerjilerinde meydana gelen değişimleri içerir. Çoğunlukla bütün moleküller, gerilme ve bükülme şeklinde titreşim formlarına sahiptirler (Erdik, 2007). *Pelargonim sidoides* kök ekstraktı, 3600-3000 cm^{-1} arasında 3325 cm^{-1} 'de molekülün yapısında bulunan -OH gerilme titreşimlerinden kaynaklanan keskin ve geniş bant verdiği gözlemlendi. 2834 cm^{-1} bandındaki karboksil grubuna bağlı -OH gerilmesi ile ilişkilendirildi.. 1200-1000 cm^{-1} bandı arasındaki bölgede, 1179 cm^{-1} CH_2 için alifatik C-H düzlem içi eğilmesi, 1053 cm^{-1} C-N gerilmesi gösterdi. 1421 cm^{-1} bandında benzene halkasının C=C gerilmesini gösteren (1400-1600 bandı arasında görülen) pik benzen halkasının varlığını destekledi. 900 ve 600 cm^{-1} bantları arasında, C-H bükülmesini gösteren ve aromatik yapıyı destekleyen birden fazla pik elde edildi. Şekil 4.9.'da *Pelargonium sidoides* kök ekstraktına ait FT-IR Spektrumu (N1-PSKE) görülmektedir.

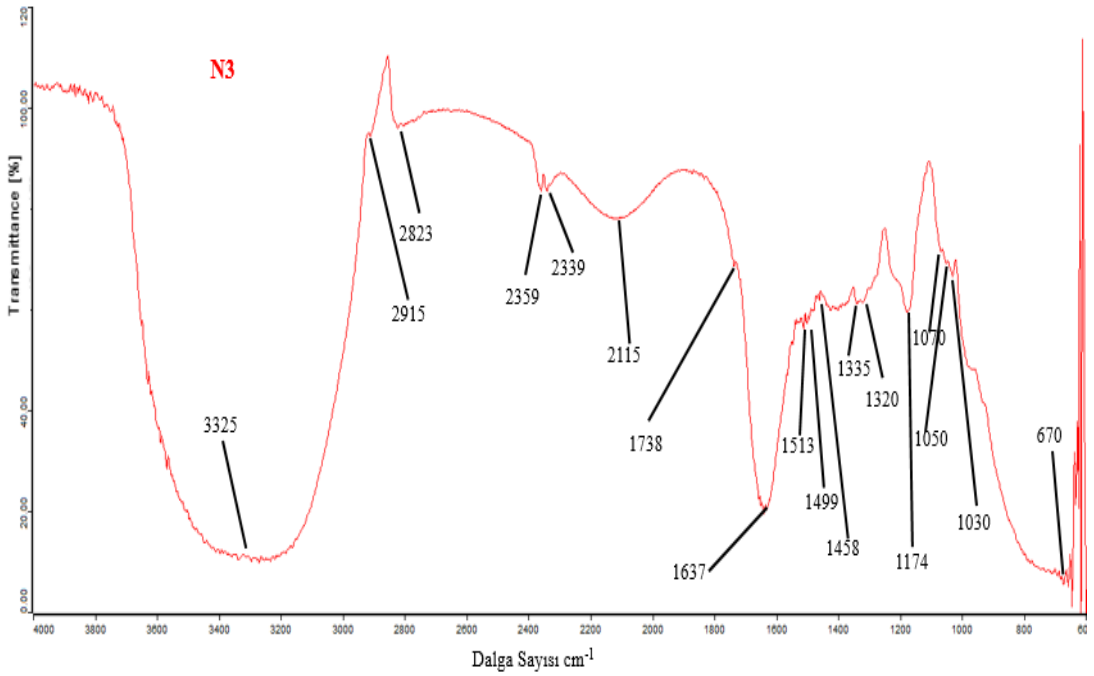


Şekil 4.9. *Pelargorium sidoides* kök ekstraktına ait FT-IR Spektrumu (N1-PSKE)

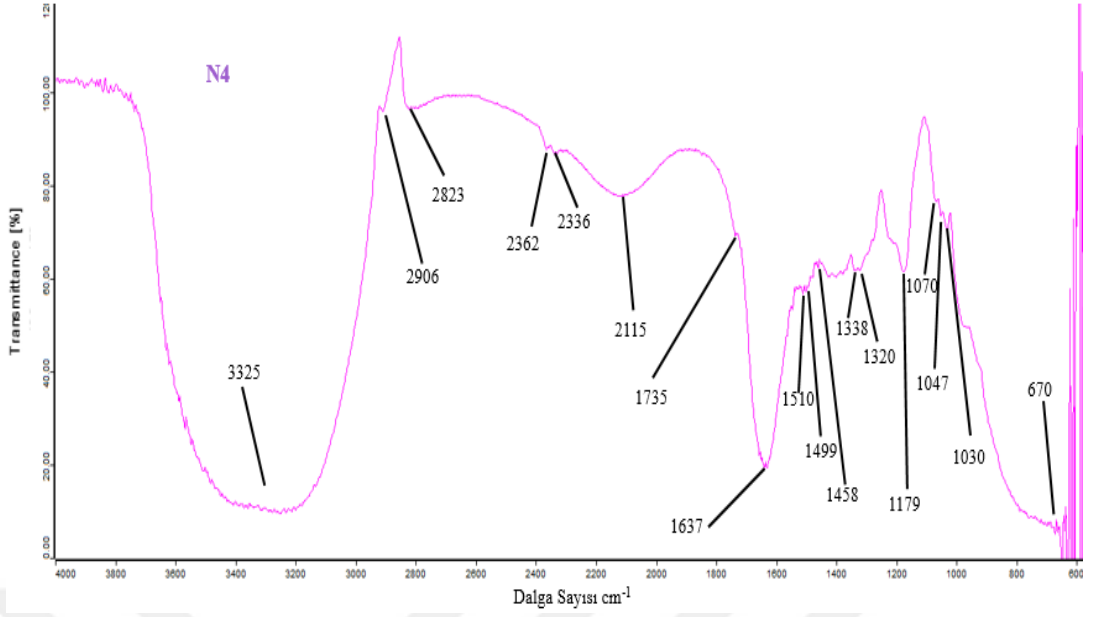
Ag, Au ve Au-Ag nanopartiküllerin, ζ -potansiyel analizi sonuçları sentezlenen NP'lerin yüzeyinin negative yüklü olduğunu gösterdi. Bunun nedeni nanopartikül sentezi sırasında kullanılan metal tuzu çözeltilerinden gelen iyonlar ve ekstraktan gelen seconder metabolitler olduğu düşünülmektedir. Nanopartikül-seconder metabolit yüzey konjugasyonunun varlığının tespiti için Ag, Au, Au-Ag NP solüsyonlarının FT-IR spektroskopileri incelendi. Kontrol ekstraktın IR spectrumu keskin absorpsiyon bantları gösterdiği yukarıda ifade edilmişti. Au ve Ag ve Au-Ag NP lerin FTIR spektrumları 3325, 2906, 1637, 1179 cm^{-1} de verdiği pikler N1-PSKE'nin verdiği piklerle örtüştüğü gözlemlendi. 2834 cm^{-1} de; N2 ve N4'te sola kayma gözlenirken N3'te bu pikin aynı yerde kaldığı, ekstraktta 1421 cm^{-1} de gözlenen pikin her üç nanopartikül solüsyonunuda da 1499 cm^{-1} 'ye kaydığı, ekstraktta 1053 cm^{-1} de gözlenen pikin N2'de sola kayarak 1056'da, N3 ve N4'de sağa kayarak sırasıyla 1050 ve 1047 cm^{-1} de olduğu gözlemlendi. 1035 cm^{-1} pikinin N3 ve N4'de 1030 cm^{-1} de paylaşıldığı N2'de ise sağa kayarak 1033'te ortaya çıktığı gözlemlendi. 684 cm^{-1} de gözlenen pikin N2'de 676, N3 ve N4'de 670 cm^{-1} de ortaya çıktığı gözlemlendi. Au-Ag, Au, Ag nanopartiküllere ait FTIR spektrum görüntüleri sırasıyla, Şekil 4.10., Şekil 4.11. ve Şekil 4.12.'de görülmektedir. Şekil 4.13.'de *Pelargorium sidoides* kök ekstraktı, Au-Ag Bimetalik, Ag-NP, Au-NP Nanopartikül solüsyonlarına ait FT-IR spektrumlarının, birlikte gösterimi bulunmaktadır.



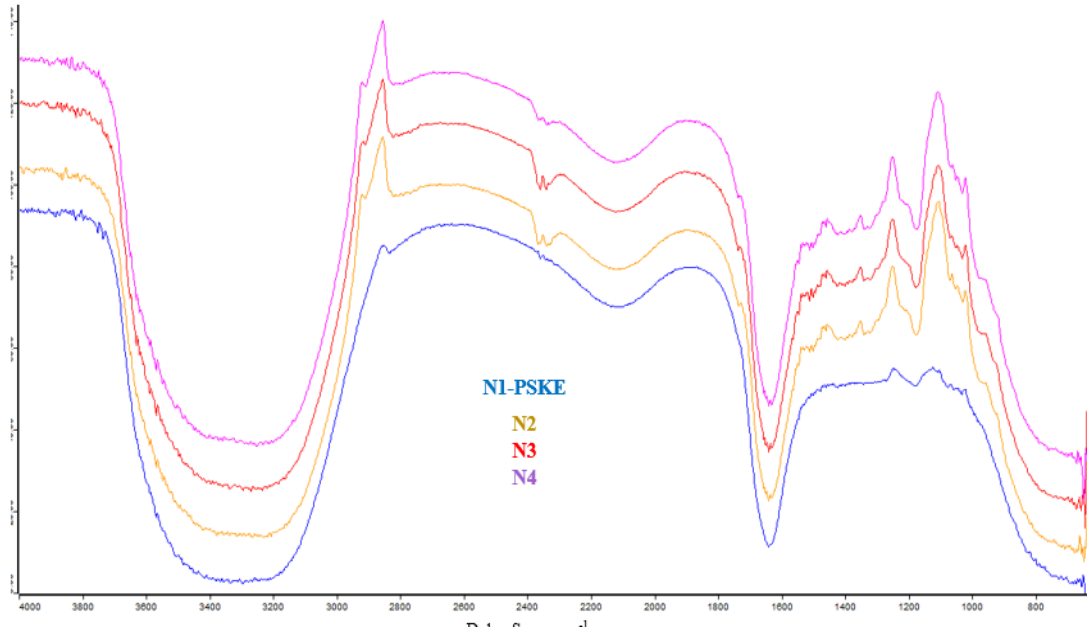
Şekil 4.10. *Pelargonium sidoides* kök ekstraktında sentezlenen Au-Ag Bimetalik Nanopartikül solüsyonuna ait FT-IR Spektrumu



Şekil 4.11. *Pelargonium sidoides* kök ekstraktında sentezlenen Au-Nanopartikül solüsyonuna ait FT-IR Spektrumu



Şekil 4.12. *Pelargonium sidoides* kök ekstraktında sentezlenen Au-Nanopartikül solüsyonuna ait FT-IR Spektrumu



Şekil 4.13. *Pelargonium sidoides* kök ekstraktı, Au-Ag Bimetalik, Ag-NP, Au-NP Nanopartikül solüsyonlarına ait FT-IR Spektrumları, birlikte gösterim

Bu sonuçlar, açıkça PSKE'nin içerisindeki sekonder metabolitlerin metal tuzları için hem indirgeyici olduğunu hem de nanopartiküllerin yüzeyini örten kaplama materyali olarak görev yaptığını göstermektedir.

4.6. NP Solüsyonlarının ve PSKE Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

4.6.1. Disk Difüzyon Testi

10 µl ve 25 µl ve 50 µl nanopartikül solüsyonları ve PSKE'nin *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 üzerine uygulamasının inhibisyon zon çapı sonuçları; ortalama ve ortalamanın standart hatası şeklinde Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Nanopartikül solüsyonu uygulaması sonrası inhibisyon zon çapları

	PSKE için İZÇ (mm)			N2 için İZÇ (mm)			N3 için İZÇ (mm)			N4 için İZÇ (mm)		
	10 µl	25 µl	50 µl	10 µl	25 µl	50 µl	10 µl	25 µl	50 µl	10 µl	25 µl	50 µl
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	İG	İG	İG	8,1 ±0,1	13,25 ±0,23 *	16 ±0 *	İG	İG	İG	8 ±0,1	12 ±0	15,88 ±0 *
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	İG	İG	İG	8±0	13,75 ±0,23 *	17 ±0,23 *	İG	İG	İG	7 ±0	11,5 ±0,7	15,25 ±0,23 *

İG: İnhibisyon gözlenmedi, İZÇ: İnhibisyon Zon Çapı, Penicillin ve Ampicillin kontrollere göre *p<0.05

10 µl ve 25 µl ve 50 µl AgNO₃, NaAuCl₄ ve AgNO₃- NaAuCl₄ tuz çözeltilerinin birlikte *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 üzerine uygulamasının inhibisyon zon çapı sonuçları; ortalama ve ortalamanın standart hatası şeklinde Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. AgNO₃, NaAuCl₄ ve AgNO₃- NaAuCl₄ birlikte uygulaması sonrası inhibisyon zon çapları

	AgNO ₃ için İZÇ (mm)			NaAuCl ₄ için İZÇ (mm)			AgNO ₃ - ve NaAuCl ₄ için İZÇ (mm)		
	10 µl	25 µl	50 µl	10 µl	25 µl	50 µl	10 µl	25 µl	50 µl
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	16,3 ±0,2 *	20,3 ±0,2 *	28,3 ±0,6 *	18,3 ±0,2*	21 ±0 *	26,3 ±0,6 *	13 ±0,2 *	19 ±0,4 *	25,3 ±0,2 *
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	11,09 ±0,1 *	26 ±0 *	33 ±0 *	21 ±0 *	26,5 ±0,3 *	32,5 ±0,9 *	19,3 ±0,3 *	25,5 ±0,3 *	41,8 ±3,5 *

İG: İnhibisyon gözlenmedi, İZÇ: İnhibisyon Zon Çapı, Penicillin ve Ampicillin kontrollere göre *p<0.05

Penisillin G10, ampicillin ve amoksisilin/klavulonik asit antibiyotik disklerinin *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

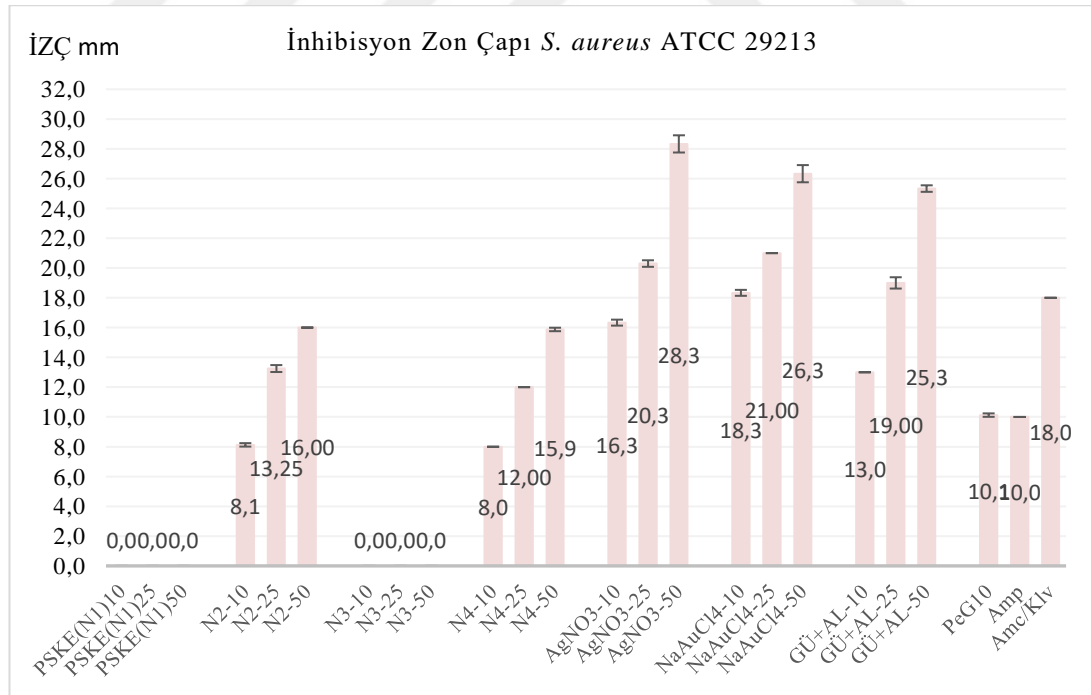
üzerine uygulamasının inhibisyon zon çapı sonuçları; ortalama ve ortalamanın standart hatası şeklinde Tablo 4.3.'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Penisillin G10, ampicillin ve amoksisilin/klavulonik asit uygulaması inhibisyon zon çapları

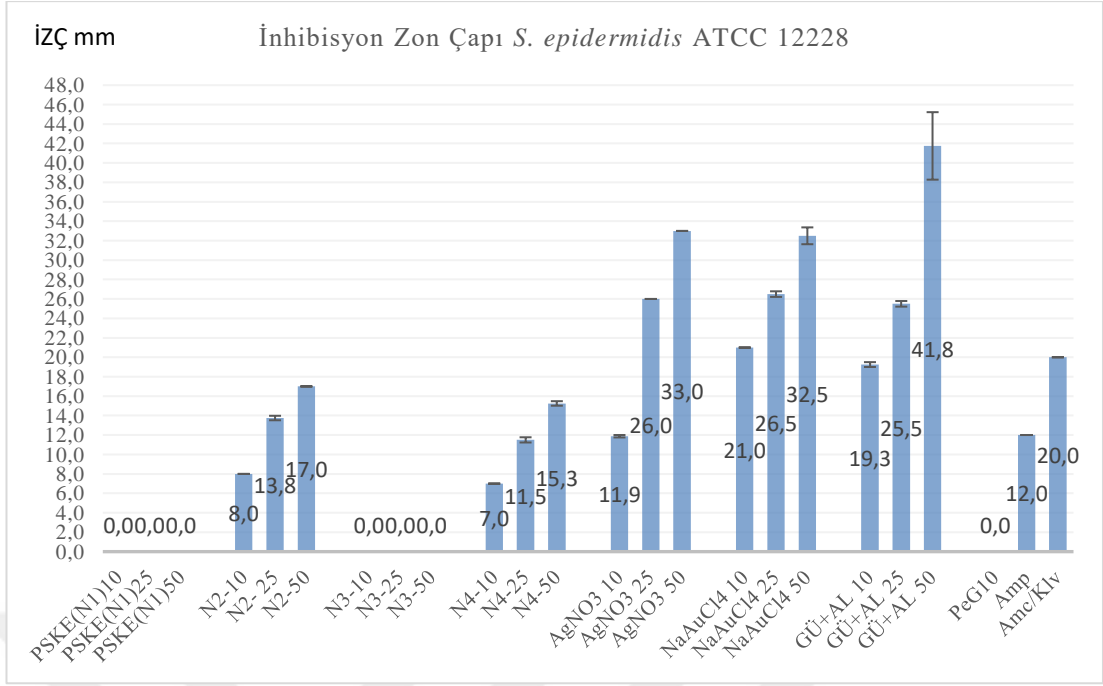
	Penisillin G10 için İZÇ (mm)	Ampicillin için İZÇ (mm)	Amoksisilin/ Klavulonik asit için İZÇ (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	10,1±0,1	10±0	18±0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	İG	12±0	20±0

İZÇ: İnhibisyon Zon Çapı

10 µl ve 25 µl ve 50 µl nanopartikül solüsyonları, PSKE'nin ve Penisillin G10, Ampicillin 10 µg ve amoksisilin/klavulonik asit 20/10 µg antibiyotik disklerinin, AgNO₃, NaAuCl₄ ve AgNO₃- NaAuCl₄ tuz çözeltilerinin, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 üzerine uygulamasının inhibisyon zon çapı sonuçları; ortalama ve ortalamanın standart hatası şeklinde sırasıyla Şekil 4.14. ve Şekil 4.15.'de verilmiştir.

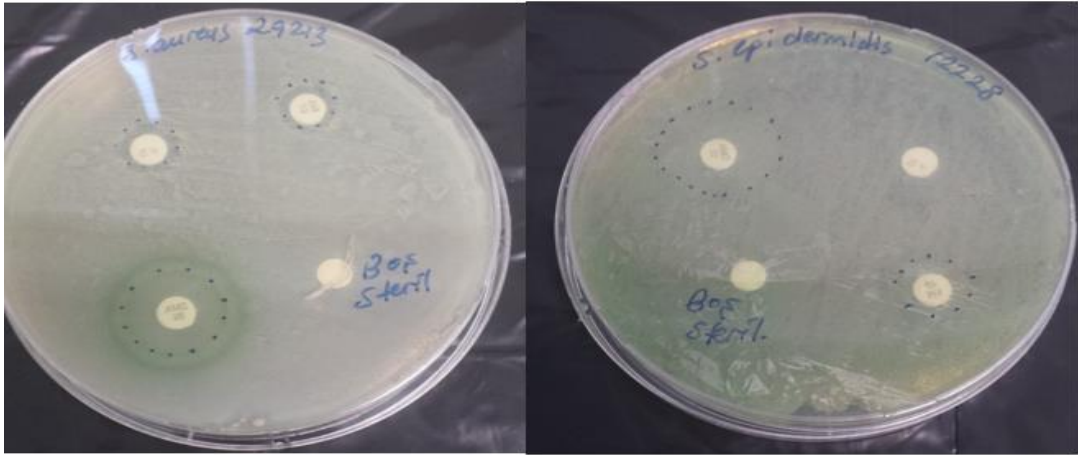


Şekil 4.14. Nanopartikül solüsyonları, PSKE, AgNO₃, NaAuCl₄ ve AgNO₃- NaAuCl₄ birlikte, Penisillin G10, ampicillin ve amoksisilin/klavulonik asitin *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 üzerine uygulanması inhibisyon zon çapları.



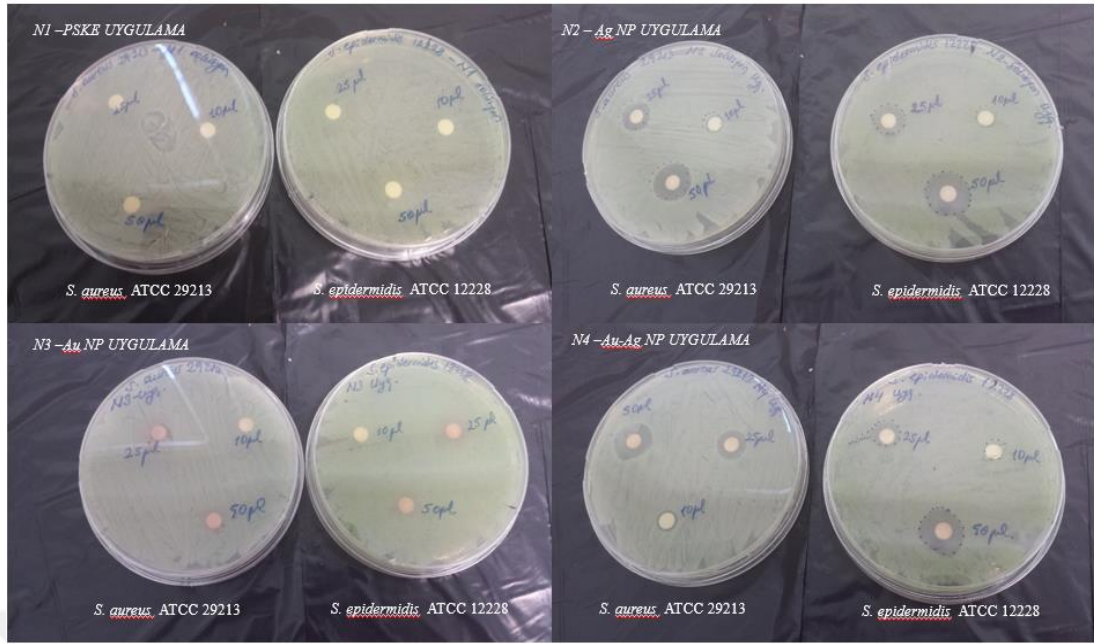
Şekil 4.15. Nanopartikül solüsyonları, PSKE, AgNO₃, NaAuCl₄ ve AgNO₃- NaAuCl₄ birlikte, Penisillin G10, ampicillin ve amoksisilin/klavulonik asit *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 üzerine uygulanması inhibisyon zon çapları

Penisillin G10, ampicillin ve amoksisilin/klavulonik asit antibiyotik disklerinin *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 üzerine uygulamalarının inhibisyon zon çapı fotoğrafları Şekil 4.16.'da verilmiştir.



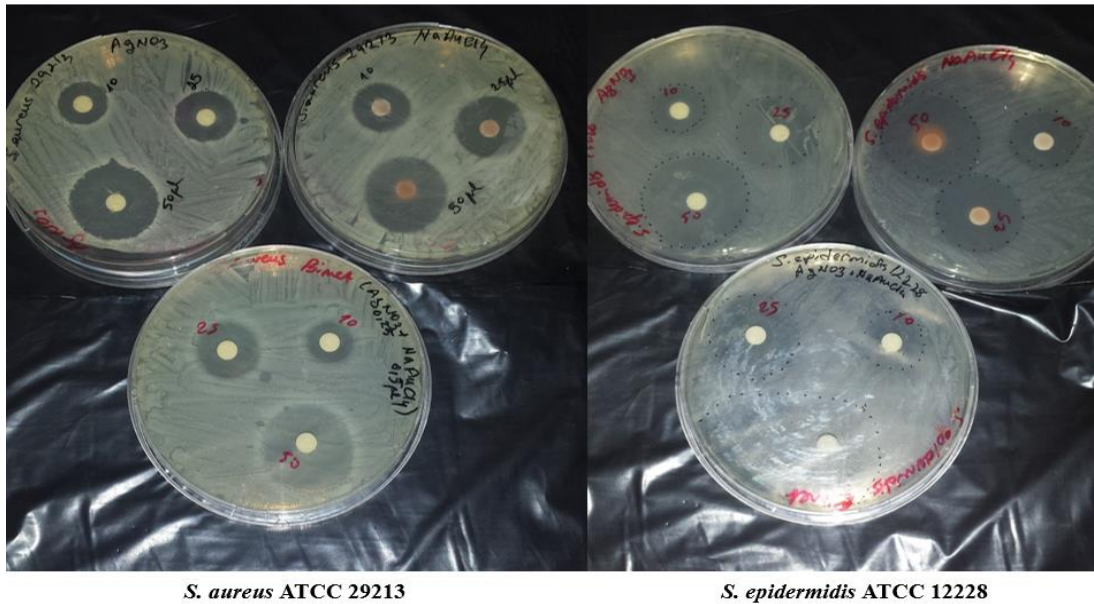
Şekil 4.16. Penisillin G10, ampicillin ve amoksisilin/klavulonik asit *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 üzerine uygulamasının inhibisyon zon çapları.

Staphylococcus epidermidis ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 üzerine N1-PSKE, N2- Ag NP, N3- Au NP, N4 Au-Ag NP uygulamalarının inhibisyon zon çapı fotoğrafları Şekil 4.17.'de verilmiştir.



Şekil 4.17. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 üzerine N1-PSKE, N2- Ag NP, N3- Au NP, N4 Au-Ag NP uygulamalarının inhibisyon zon çapları.

10 µl ve 25 µl ve 50 µl $AgNO_3$, $NaAuCl_4$ ve $AgNO_3$ - $NaAuCl_4$ tuz çözeltilerinin birlikte *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 üzerine uygulamasının inhibisyon zon çapı fotoğrafları Şekil 4.18.'de verilmiştir.



Şekil 4.18. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 üzerine 10 µl ve 25 µl ve 50 µl $AgNO_3$, $NaAuCl_4$ ve $AgNO_3$ - $NaAuCl_4$ karışımı metal tuzu çözeltileri uygulamalarının inhibisyon zon çapları.

4.6.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun Belirlenmesi

PSKE (N1); Pelargonium sidoides kök ekstraktının *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 üzerine inhibitör etkisinin olmadığı aksine bakteriyal proliferasyonu desteklediği gözlemlendi. Düşük hacimde ekstrakt (10 µL) uygulamadan yüksek hacime doğru gidildikçe bakterinin oluşturduğu pelletlerde büyüme ve yeşil pigmentasyonda artış gözlemlendi.

N2; Au-Ag bimetalik nanopartikül solüsyonunun uygulandığı hacimlerde; 24. Saatin sonunda 10 µL'lik uygulamanın yapıldığı kuyucuklarda bakteriyal büyümeden kaynaklanan bulanıklık gözlemlendi. 15-60 µL'lik uygulamalarda besiyerinde çıplak gözle turbiditeye ve bakteriyal pellete rastlanmadı. 96. Saatlik inkübasyon süresi 10 µL Lik uygulamanın yapıldığı kuyucuklarda glikokaliks tabasına eşlik eden biyofilm tabası gözlemlendi. 15-35 µL uygulamaların yapıldığı kuyucuklarda iğne ucu büyüklüğünde bakteriyal pelletlere rastlandı.

N3; Au nanopartikül solüsyonunun *S. aureus* ATCC 29213 üzerinde inhibitör etkisinin olmadığı aksine bakteriyal proliferasyonu N1 gibi desteklediği gözlemlendi. Bakteriyal büyümenin gözlemlendiği kuyucuklarda pigmentasyona rastlanmadı.

N4 Gümüş Nanopartikül solüsyonunun *S. aureus* ATCC 29213 üzerine uygulanması sonucunda, 24. saatin sonunda 10-20 µL aralığındaki uygulamalarda gözle görülen turbidite ve bakteriyal pellet varlığı tespit edildi. 30 µL ve üzerindeki tüm uygulamalarda besiyerinde bulanıklık ve pellet tespit edilmedi.

AgNO₃ çözeltisinin uygulandığı tüm 10-60 µL'lik tüm dozlarda kuyucukların dip kısmında iğne ucu büyüklüğünde bakteriyal pellete rastlandı. Kuyucukların hiçbirinde bakteriyel turbiditeden kaynaklanan bulanıklığa ve bakteriyal biyofilm oluşumuna rastlanmadı.

NaAuCl₄ çözeltisinin uygulandığı 10-25µL'lik dozlarda bakteriyal pellet varlığı gözlenirken 30 µL ve üzeri dozlarda bakteriyal pellet oluşumu gözlenmedi.

AgNO₃ ve NaAuCl₄ çözeltisinin bimetalik sentezinde kullanılan oranlarının *S. aureus* üzerine uygulanması sonucu 10-30 µL'lik dozlarda bakteriyal pellete rastlanmazken besiyerinde turbidite gözlemlendi. 35-60 µL arasındaki dozlarda ise hem bulanıklık hem de bakteriyal pellet varlığı gözlemlendi.

PSKE (N1); Pelargonium sidoides kök ekstraktının, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 büyümesi üzerine inhibisyon etkisinin olmadığı aksine bakteriyal proliferasyonu desteklediği gözlemlendi. Tüm uygulama hacimlerinde bakterinin oluşturduğu pelletlerde büyüme ve yeşil pigmentasyonda artış gözlemlendi.

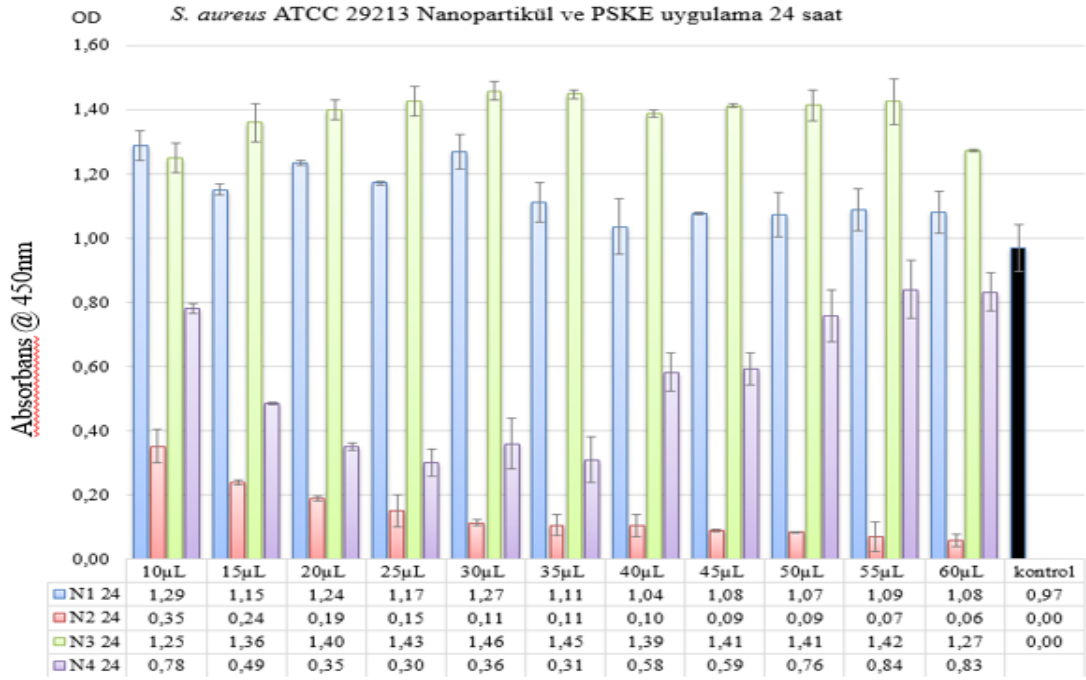
N2; Au-Ag bimetalik nanopartikül solüsyonunun uygulandığı hacimlerde; 24. Saatin sonunda 10 ve 15 µL'lik uygulamanın yapıldığı kuyucuklarda iğne ucu büyüklüğünde bakteriyal pellet gözlemlendi. 20-60 µL'lik uygulamalarda besiyerinde çıplak gözle turbiditeye ve bakteriyal pellete rastlanmadı.

N3; Au nanopartikül solüsyonunun *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerinde inhibitör etkisinin olmadığı aksine bakteriyal proliferasyonu N1 gibi desteklediği gözlemlendi. Bakteriyal büyümenin gözlemlendiği kuyucuklarda pigmentasyona rastlanmadı.

N4; Gümüş Nanopartikül solüsyonunun *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerine 24 saatlik uygulanması sonucunda, 10-20 µL aralığındaki uygulamalarda bakteriyal pellet tespit edildi. 25 µL ve üzerindeki tüm uygulamalarda besiyerinde bulanıklık ve pellet tespit edilmedi.

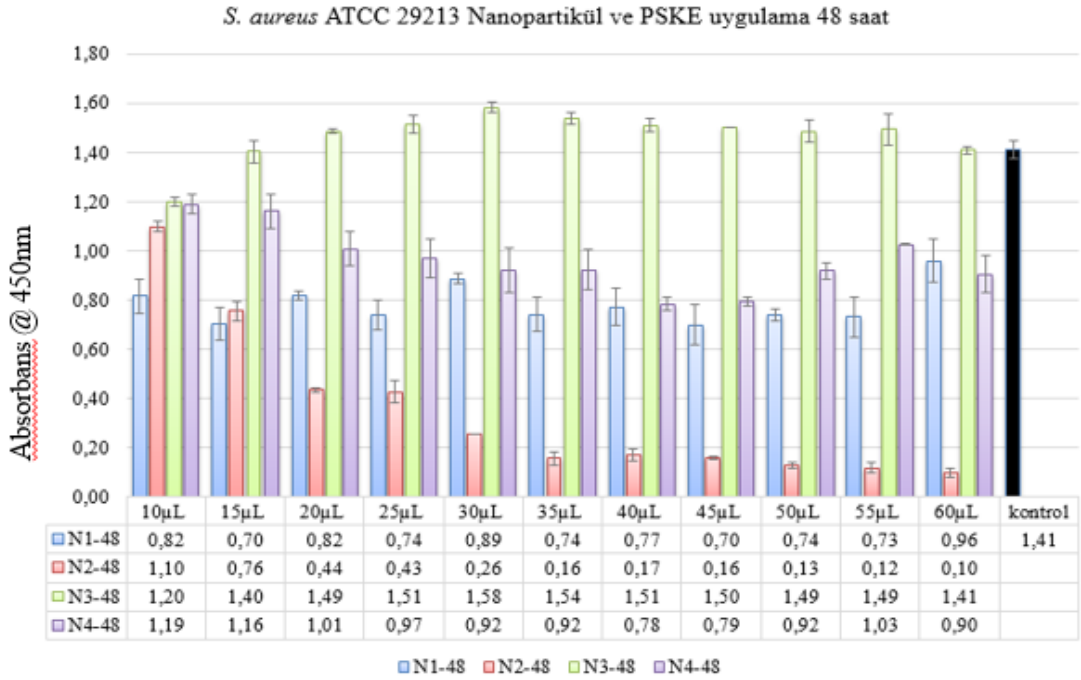
Nanopartikül solüsyonlarının *S. aureus* ATCC 29213 üzerine minimum uygulama hacimlerinin belirlenmesi için 96 kuyucuklarda çıplak gözle inceleme yapıldığı gibi, Thermoscan & go plaka okuyucuda 24, 48 ve 96. Saatlerin sonunda 450 nm de verdikleri absorban değerleri ölçüldü.

PSKE ve nanopartikül solüsyonunun 24 saatlik inkübasyonu sonucunda *S. aureus*'un 450 nm'de verdiği absorban değerleri Şekil 4.19.' da görülmektedir.

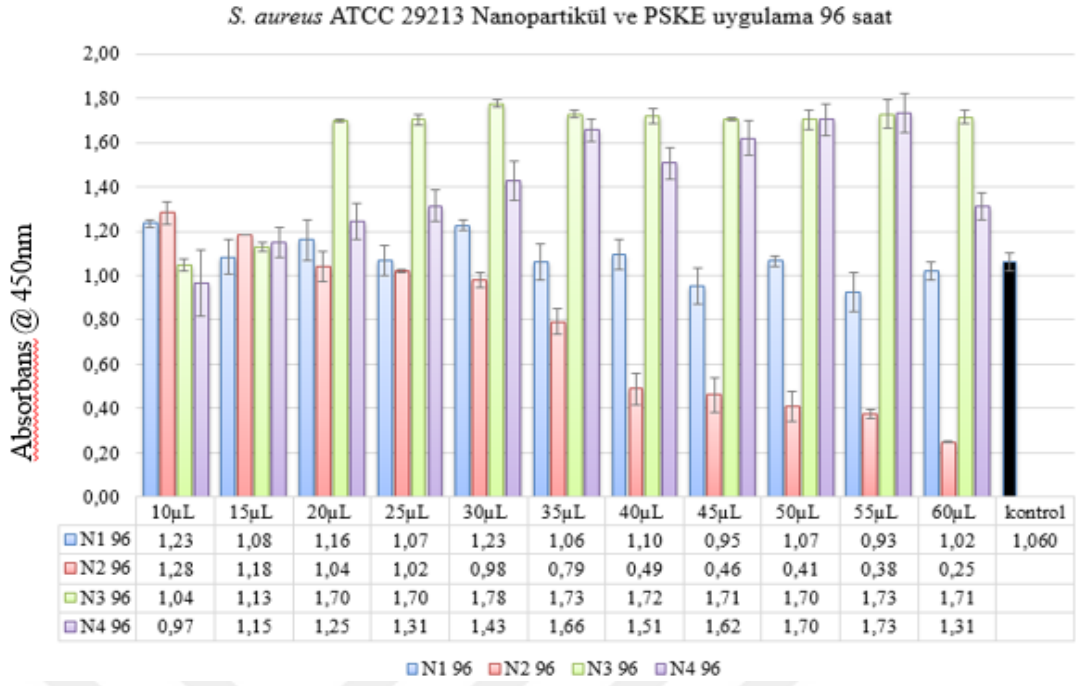


Şekil 4.19. *S. aureus* ATCC 29213 üzerine N2, N3, N4 Nanopartikül ve PSKE uygulama 24 saat

PSKE ve nanopartikül solusyonu uygulamalarının 48 ve 96 saatlik inkübasyonu sonucunda *S. aureus*'un 450 nm'de verdiği absorbas değerleri Şekil 4.20. ve Şekil 4.21.' de görülmektedir.



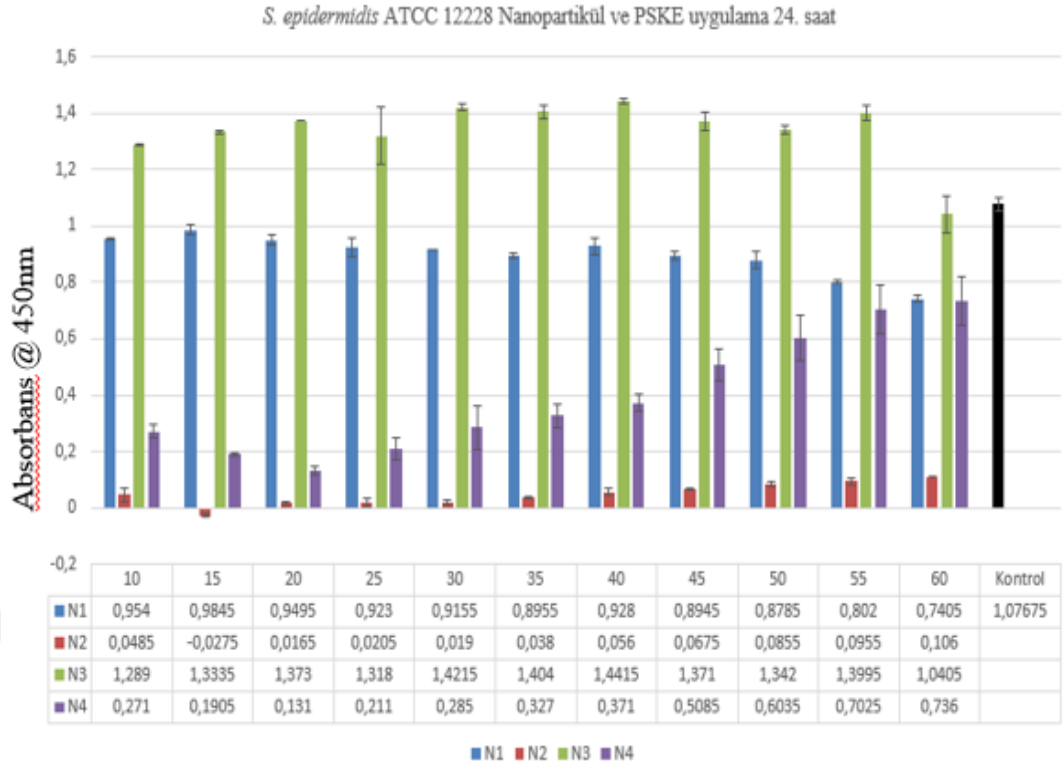
Şekil 4.20. *S. aureus* ATCC 29213 üzerine N2, N3, N4 Nanopartikül ve PSKE uygulama 48. saat



Şekil 4.21. *S. aureus* ATCC 29213 üzerine N2, N3, N4 Nanopartikül ve PSKE uygulama 96. saat

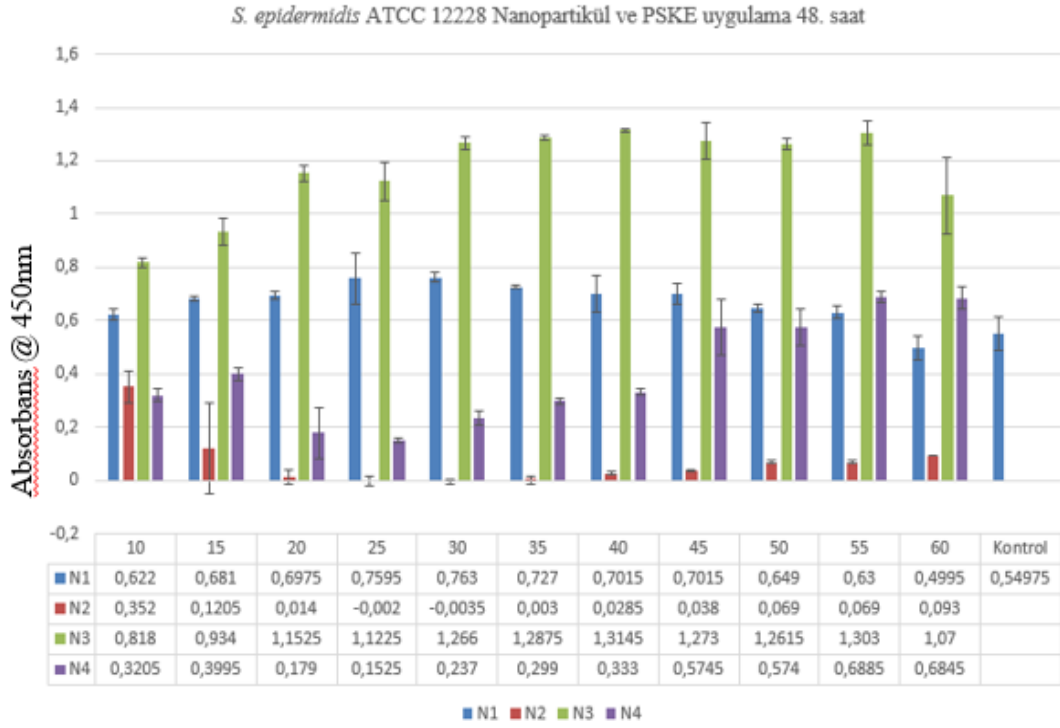
Nanopartikül solüsyonlarının *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerine minimum uygulama hacimlerinin belirlenmesi için 96 kuyucuklarda çıplak gözle inceleme yapıldığı gibi, Thermoscan & go plaka okuyucuda 24, 48 ve 96. Saatlerin sonunda 450 nm de verdikleri absorbas değerleri ölçüldü.

PSKE ve nanopartikül solusyonu uygulamalarının 24 saatlik inkübasyonu sonucunda *S. epidermidis*'in 450 nm'de verdiği absorbas değerleri Şekil 4.22.' de görülmektedir.

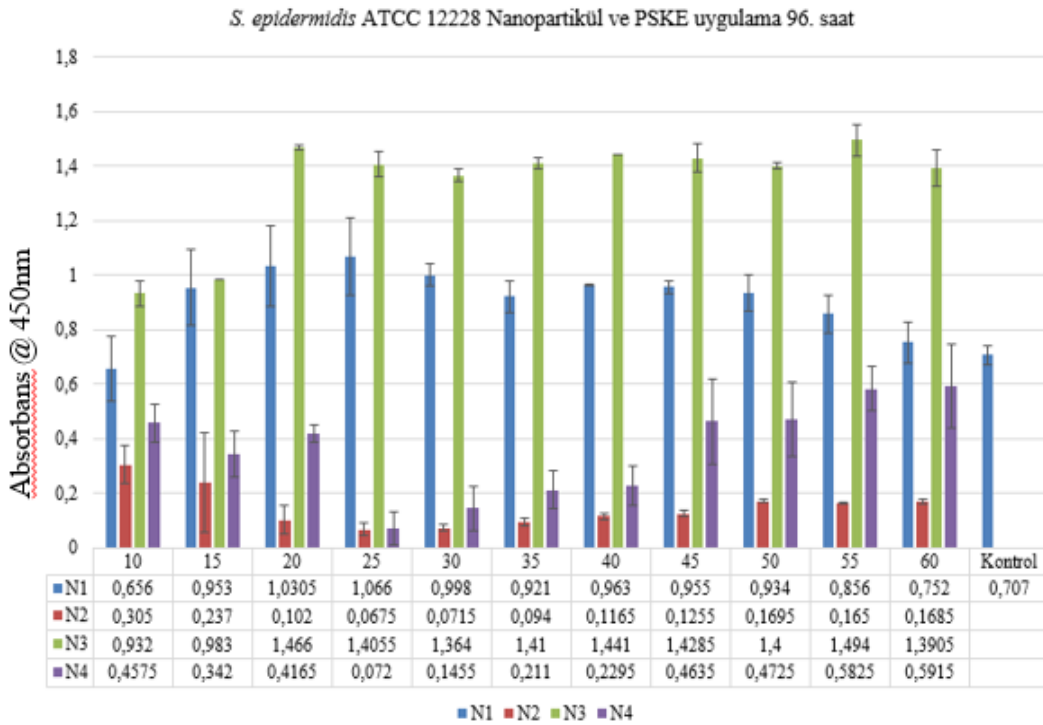


Şekil 4.22. *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerine N2, N3, N4 NP ve PSKE uygulama 24. saat

PSKE ve nanopartikül solusyonu uygulamalarının 48 ve 96 saatlik inkübasyonu sonucunda *S. epidermidis*'in 450 nm'de verdiği absorbas değerleri Şekil 4.23. ve Şekil 4.24.' de görülmektedir.

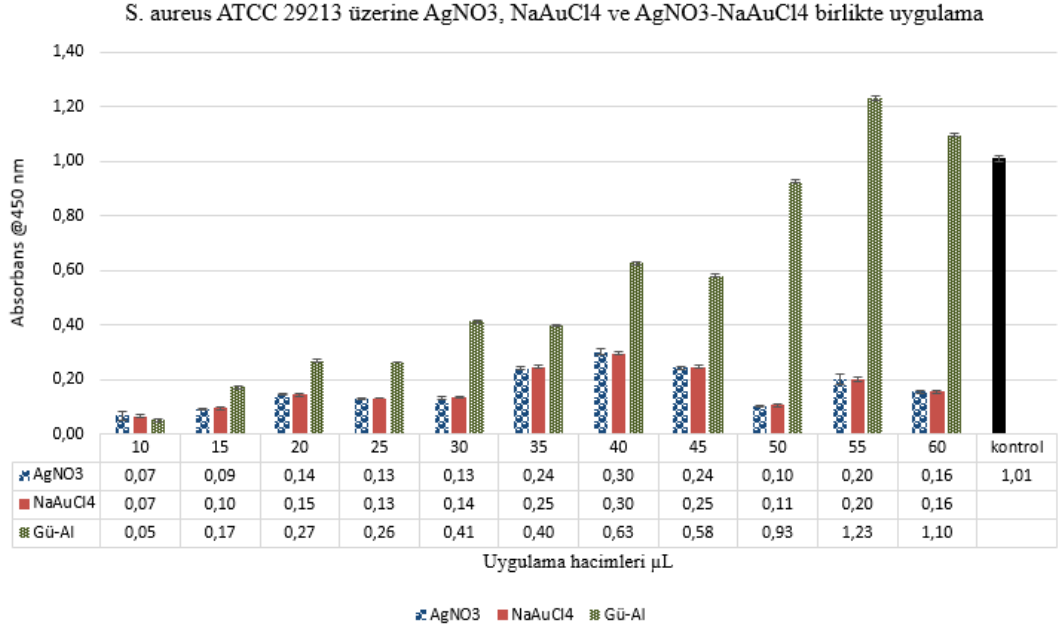


Şekil 4.23. *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerine N2, N3, N4 NP ve PSKE uygulama 48. Saat

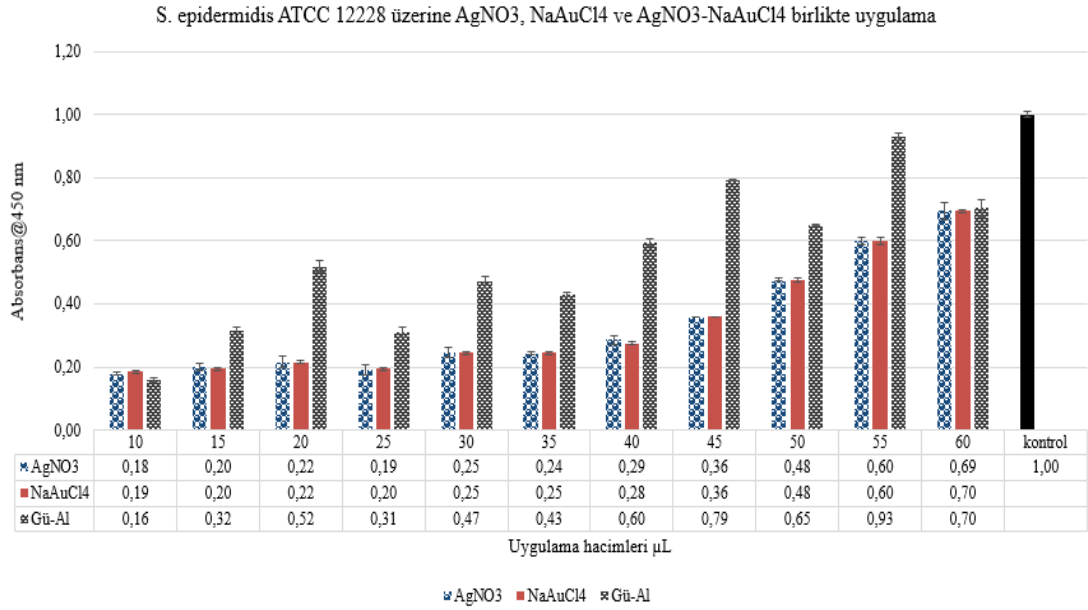


Şekil 4.24. *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerine N2, N3, N4 NP ve PSKE uygulama 96. Saat

0.01 M AgNO_3 ve NaAuCl_4 metal tuz çözeltilerinin ayrı ayrı ve birlikte *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerine uygulanması ve 24 saatlik inkübasyon sonucu 450 nm de elde edilen absorbas değerleri sırasıyla Şekil 4.25. ve Şekil 4.26.' da görülmektedir.



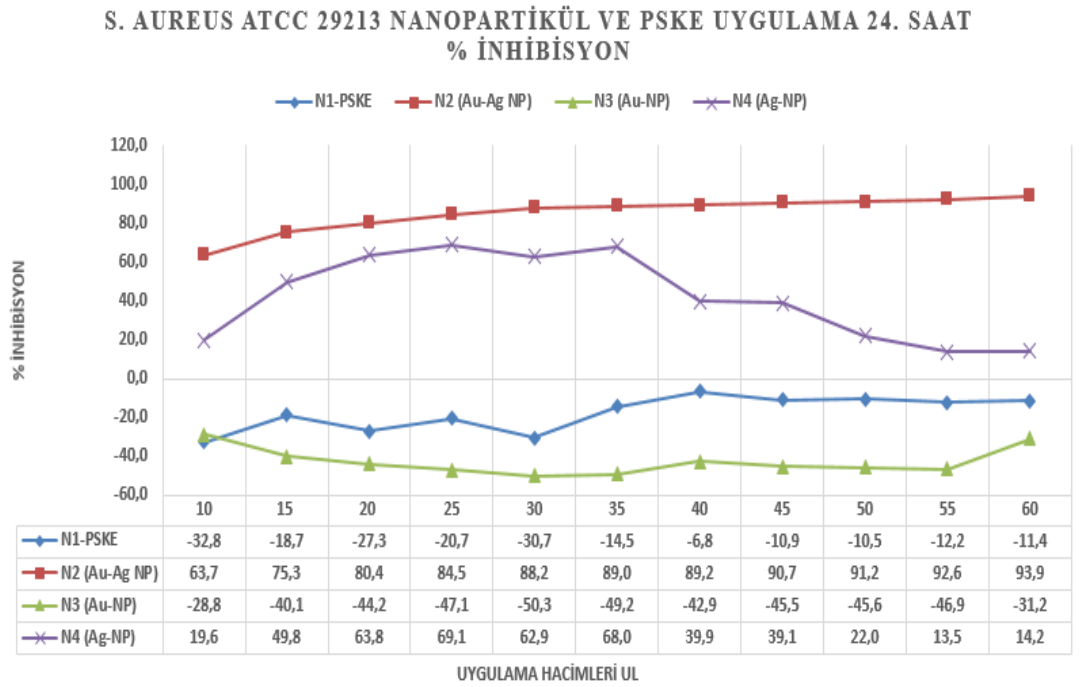
Şekil 4.25. *S. aureus* ATCC 29213 0.01 M AgNO_3 ve NaAuCl_4 metal tuz çözeltilerinin ayrı ayrı ve birlikte 24 saat uygulaması, 450 nm absorbas değerleri



Şekil 4.26. *S. epidermidis* ATCC 12228 0.01 M AgNO_3 ve NaAuCl_4 metal tuz çözeltilerinin ayrı ayrı ve birlikte 24 saat uygulaması, 450 nm absorbas değerleri

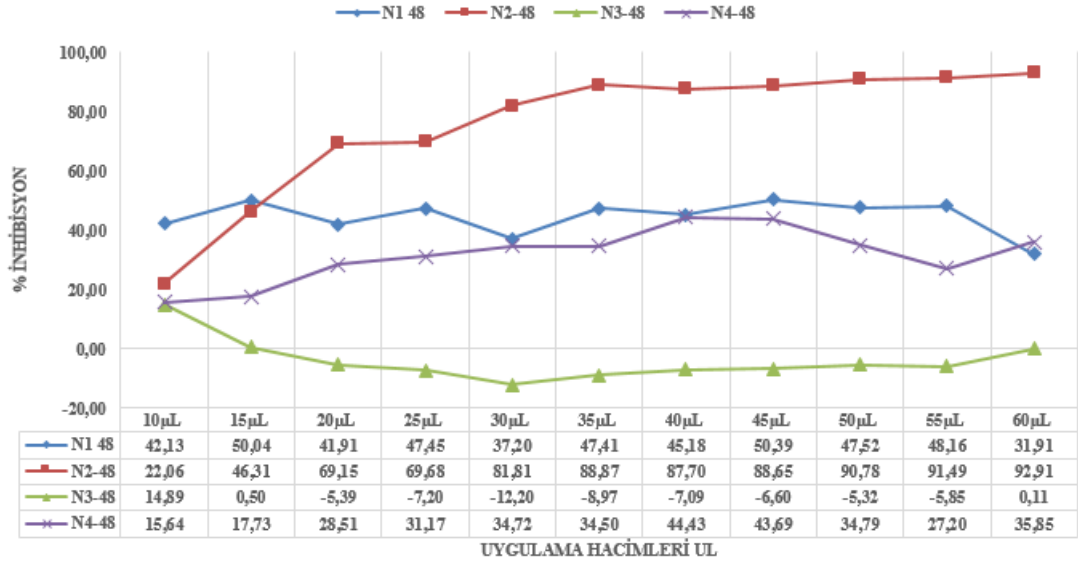
450 nm’de ölçülen absorbans değerleri temel alınarak uygulanan nanopartikül solüsyonlarının % inhibisyon değerleri % İnhibisyon= [(Kontrol OD-Besiyeri OD)-(Ornek OD-Besiyeri OD)] / (Kontrol OD-Besiyeri OD)]*100 formülüne göre hesaplanmış hesaplanan değerlerden % inhibisyon grafikleri çizilmiştir. Grafiklerden elde edilen $y=mx+n$ doğru denklemi aracılığı ile her bir uygulama için IC_{50} değerleri hesaplanmıştır.

PSKE, N2-Au-Ag Bimetalik NP, N3-Au Metalik NP ve N4-Ag Metalik NP’ün *S. aureus* üzerinde 24. saatin sonunda gösterdiği inhibisyon yüzdeleri Şekil 4.27.’de ve 48. saatin sonunda gösterdiği inhibisyon yüzdeleri Şekil 4.28.’da görülmektedir.



Şekil 4.27. *S. aureus* ATCC 29213; N2, N3, N4 NP ve PSKE uygulama 24. Saat %inhibisyon

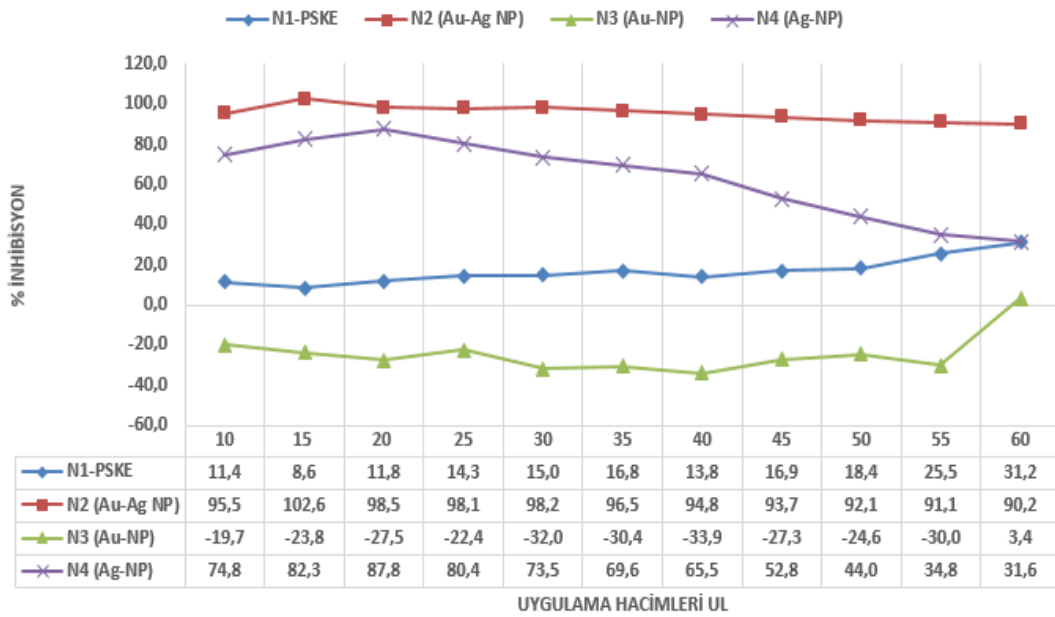
S. AUREUS ATCC 29213 NANOPARTİKÜL VE PSKE UYGULAMA 48. SAAT
% İNHİBİSYON



Şekil 4.28. *S. aureus* ATCC 29213; N2, N3, N4 NP ve PSKE uygulama 48. Saat % inhibisyon

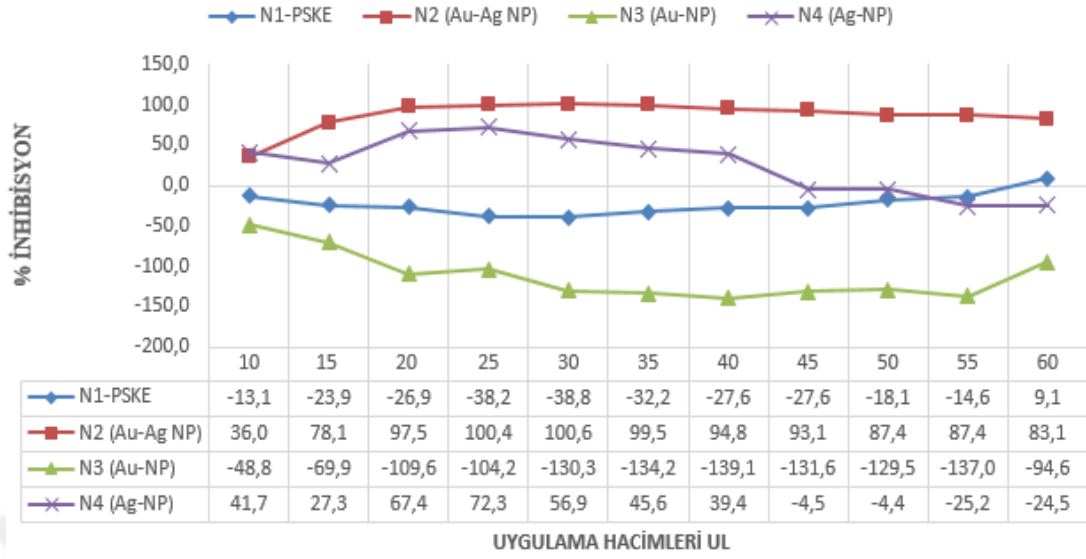
PSKE, N2-Au-Ag Bimetalik NP, N3-Au Metalik NP ve N4-Ag Metalik NP'ün *S. epidermidis* üzerinde 24. saatin sonunda gösterdiği inhibisyon yüzdeleri Şekil 4. 29. ve 48. saatin sonunda gösterdiği inhibisyon yüzdeleri Şekil 4.30.'da görülmektedir.

S. EPİDERMİDİS ATCC 12228 NANOPARTİKÜL VE PSKE
UYGULAMA 24. SAAT % İNHİBİSYON



Şekil 4.29. *S. epidermidis* ATCC 29213; N2, N3, N4 NP ve PSKE uygulama 24. Saat %inhibisyon

S. EPİDERMİDİS ATCC 12228 NANOPARTİKÜL VE PSKE UYGULAMA 48. SAAT % İNHİBİSYON



Şekil 4.30. *S. epidermidis* ATCC 29213; N2, N3, N4 NP ve PSKE uygulama 48. Saat %inhibisyon

4.6.3. Minimum Bakterisidal Konsantrasyonunun (MBK) Belirlenmesi

Sıvı mikrodilüsyon yöntemi sonucunda pellet oluşumunun gözlenmediği kuyucuklardan 10 µL alınarak Müller Hinton Agar plaklarına alt kültürler yapılmıştır. Bu test de CLSI, 2016'nın önerdiği yöntemle yapılmış ve ekim yapılan petri kapları 37 ° C'lik normal atmosfer etüvlerinde 24 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonucunda N1-PSKE'nin uygulandığı tüm dozlarda *S. aureus* ve *S. epidermidis*'te pellet oluşumu ve üreme gözlenmesine rağmen MBK'ye aktarım yapılmış ve tüm dozlarda her iki bakteri türünde de üreme gözlenmiştir. Aynı şekilde N3-Altın nanopartikül solüsyonunun her iki bakteri türünde de uygulanan tüm dozlarında MBK'ye aktarım sonucunda üreme gözlenmiştir. MİK'i destekleyen bu deneysel basamakla PSKE ve N3'ün bakteriyostatik ve bakterisit etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Aksine bakteriyal proliferasyonu destekledikleri gözlenmiştir.

N2-Au-Ag nanokabuk yapıdaki nanopartikülleri içeren solüsyonun, *S. aureus* üzerine MİK uygulama kuyucuklarından MBK'ye aktarım yapılmış; 15-20 µL aralığındaki dozlarda üremenin pozitif olduğu tespit edilmiştir. 25µL ve üzeri dozlarda ise *S. aureus* üremesi gözlenmemiş ve $1.25 \cdot 10^5 \text{ mL}^{-1}$ *S. aureus* bakterisi için Au-Ag Nanokabuk NP solüsyonun minimum inhibisyon konsantrasyonunun 0.01 M, 25 µL olduğu bulunmuştur. N2 *S. epidermidis* uygulamalarında 10-15 µL'lik uygulamalarda ortalama 55 koloni sayılırken 20 µL ve üzeri dozlarda *S. epidermidis*'te üreme

gözlenmemiştir. N2 (Au-Ag Nanokabuk yapı) nanopartikül solüsyonunun $1.25 \cdot 10^5 \text{ mL}^{-1}$ *S. epidermidis* bakterisi için 0.01 M, 20 μL olduğu tespit edilmiştir.

N4- Metalik Ag nanopartiküllerin *S. aureus*'a uygulanması sonrası MİK kuyucuklarından MBK'ye aktarım sonucunda 10-30 μL aralığındaki uygulamaların üremeyi durduramadığı tespit edilmiştir. 10-35 μL aralığındaki uygulamaların sonucunda 20 koloninin üzerinde sayım yapılırken, 40 μL 'lik uygulamada ortalama 5 ± 2 koloninin sayıldığı, 45 μL 'de 4 ± 1 kolonini sayıldığı, 50 ve üzerindeki dozlarda ise koloni üremesinin olmadığı gözlenmiştir. Koloni sayısının 20'den az olması nedeniyle 40 μL 'lik dozun bakteriyostatik etkisi olduğu, 50 μL dozun ise $1.25 \cdot 10^5 \text{ mL}^{-1}$ bakteri için minimum inhibisyon konsantrasyonu olduğu kabul edilmiştir. N4'ün 25 μL ve üzeri dozlarında *S. epidermidis*'e ait bakteriyal büyüme gözlenmemiş ve $1.25 \cdot 10^5 \text{ mL}^{-1}$ *S. epidermidis* bakterisi için minimum bakterisidal konsantrasyonun 0.01 M, 25 μL olduğu tespit edilmiştir.

AgNO_3 çözeltisinin *S. aureus* MBK uygulamalarında 10-25 μL uygulamalarda MHA plaklarında yirminin üzerinde koloninin ürettiği gözlenirken, 30 ve 35 μL 'de 2 koloni, 40 μL 'de 1 koloninin ürettiği 50 μL ve üzeri dozlarda ise üreyen koloni sayısının yaklaşık 7 olduğu gözlemlendi.

NaAuCl_4 çözeltisinin *S. aureus* MBK uygulamalarında 10 ve 15 μL lik dozlarda yirminin üzerinde koloni sayılırken, 20 μL 'lik dozda 8 koloni sayıldı. 25 μL ve üzeri dozlarda MHA plağında bakteri kolonisine rastlanmadı. 20 μL 'lik dozun bakteriyostatik etkili doz olduğu, 0,01 M, 25 μL 'lik altın tuzu çözeltisinin ise bakteriyosit etkili doz olduğu belirlendi.

AgNO_3 çözeltisinin ve NaAuCl_4 metal tuzu çözeltilerinin birlikte *S. aureus* üzerine uygulanması (sırasıyla 3:1/ V:V hacimsel) sonucu 10 μL 'de üreyen koloni sayısı yirminin üzerinde iken, 15 μL 'de 3 koloni sayıldı. 20 μL ve üzerindeki dozlarda *S. aureus* üremesine rastlanmadı.

AgNO_3 çözeltisinin *S. epidermidis* MBK uygulamalarında 10-20 μL 'lik uygulama dozlarında bakteriyal koloni sayısının yirminin üzerinde olduğu, 25 μL ve üzeri dozlarda ise *S. epidermidis* üremesine rastlanmadığı tespit edildi. 0.01 M, 25 μL 'lik AgNO_3 çözeltisinin $1.25 \cdot 10^5 \text{ mL}^{-1}$ *S. epidermidis* bakterisi için minimum inhibitör etkili doz olduğu belirlendi.

NaAuCl₄ çözeltisinin *S. epidermidis* MBK uygulamalarında 10-20 µL'lik uygulamalarda üremenin pozitif olduğu, 25 µL ve üzeri dozlarda ise üremenin olmadığı gözlemlendi.

AgNO₃ ve NaAuCl₄ metal tuzu çözeltilerinin birlikte *S. epidermidis* üzerine uygulanan tüm dozlarında inhibitör etki gözlemlendi.

Tablo 4.4.'de PSKE-N1, N2, N3, N4 uygulamalarının minimum bakterisidal konsantrasyon değerleri görülmektedir.

Tablo 4.4. N1, N2, N3, N4 minimum bakterisidal konsantrasyon hacimleri

	PSKE-N1 MBK µL	N2 –Au-Ag Bimetalik NP MBK µL	N3 –Au-Metalik NP MBK µL	N4 –Ag Metalik NP MBK µL
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	İG	25*	İG	50*
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	İG	20*	İG	25*

İG:inhibisyon gözlenmedi. Kontrol grubuna göre *p<0.05

Tablo 4.5.'de AgNO₃, NaAuCl₄ tek başına ve AgNO₃-NaAuCl₄ metal tuzu çözeltilerinin birlikte *S. aureus* ve *S. epidermidis* üzerine uygulamalarının minimum bakterisidal konsantrasyon değerleri görülmektedir.

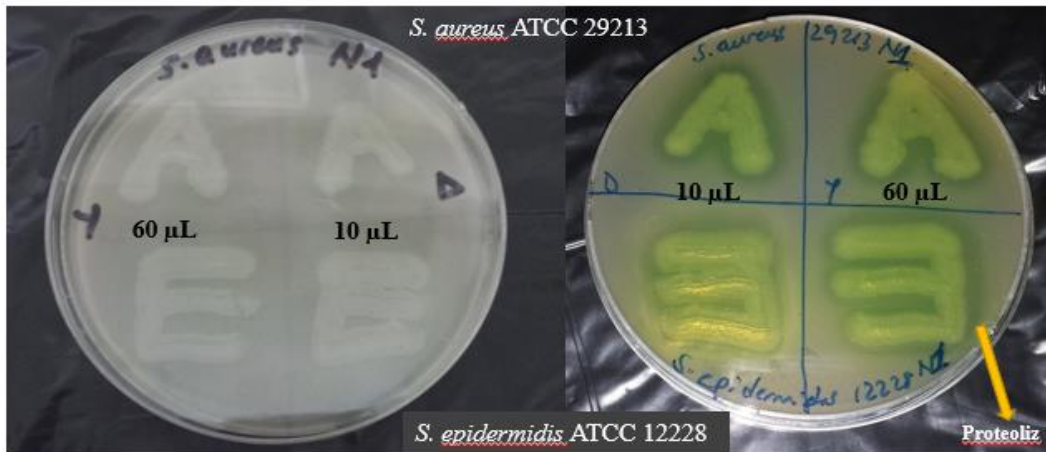
Tablo 4.5. AgNO₃, NaAuCl₄ tek başına ve AgNO₃-NaAuCl₄ birlikte uygulaması sonucu elde edilen minimum bakterisidal konsantrasyon hacimleri

	AgNO ₃ çözeltisi MBK µL	NaAuCl ₄ çözeltisi MBK µL	AgNO ₃ ve NaAuCl ₄ çözeltisi birlikte MBK µL
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	50*	25*	20*
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	20*	25*	10*

İG:inhibisyon gözlenmedi. Kontrol grubuna göre *p<0.05

4.6.4. Proteolitik Aktiviteyi Baskılayan Minimum Dozun Belirlenmesi

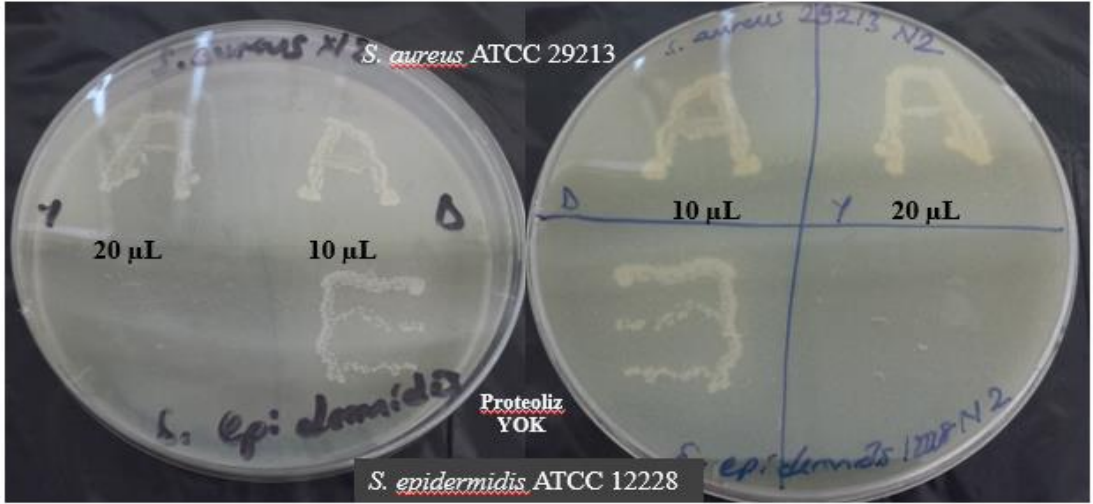
Anti-proteolitik aktivitenin ölçümü için, Harrigan ve McCance'nin 1976'da önerdiği yöntemle ölçüm yapılmıştır. Sıvı mikrodilüsyon yönteminde, her bir dozun uygulandığı kuyucuklardan ve 24 saatlik inkübasyona sonucunda skim milk agar çizim şeklinde ekimler yapılmıştır. Normal atmosfer koşullarında 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra çizim-ekim alanı çevresinde proteolitik aktivite ile süt proteinlerinin parçalanması ile zon oluşturan ve oluşturmayan dozlar belirlenmiştir. Buna göre; *S. aureus* ve *S. epidermidis* üzerine, N1'in uygulandığı tüm dozlarda üremeyi desteklediği gibi proteolitik aktiviteyi de desteklediği gözlenmiştir. Hiçbir uygulamanın yapılmadığı kontrol grubuna göre proteoliz zon alanının N1 de daha geniş olduğu ve doza bağımlı olarak artan proteolitik aktivitenin gözlemlendiği belirlendi. Şekil 4.31.'de N1'in en yüksek (60 µL) ve en düşük (10 µL) uygulama dozlarının, *S. aureus* ve *S. epidermidis*'in proteolitik aktivite üzerine etkileri görülmektedir.



S. aureus ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 12228 N1 10 µL ve 60 µL uygulama, SMA'da proteolitik aktivite

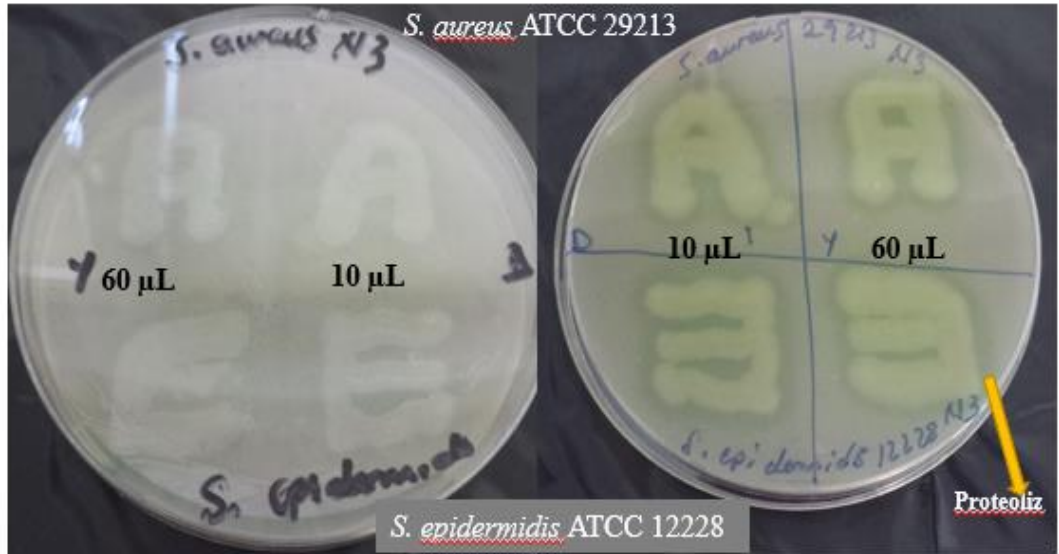
Şekil 4.31. *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerine N1 10 µL ve 60 µL uygulama sonrası, SMA'da gözlenen proteolitik aktivite

S. aureus N2 uygulamaları incelendiğinde; 10-60 µL aralığındaki tüm dozlarda proteolitik aktivitenin baskılandığı gözlemlendi. Özellikle üremeyi durduramadığı 10-20 µL dozlarda ekstraselüler proteolitik aktivite baskılanmıştır. Aynı şekilde *S. epidermidis* üzerine de uygulanan tüm dozlarda proteolitik aktivitenin baskılandığı gözlemlendi. 20 µL'nin altındaki dozlarda büyüme inhibisyonu sağlanamaz iken ekstraselüler proteolitik aktivite *S. epidermidis*'te N2 tarafından baskılanmıştır. Şekil 4.32.'de N2'in en yüksek (20 µL) ve en düşük (10 µL) uygulama dozlarının, *S. aureus* ve *S. epidermidis*'in proteolitik aktiviteyi baskılaması görülmektedir.



S. aureus ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 12228 N2 10 µL ve 20 µL uygulama, SMA'da proteoliz yok
Şekil 4.32. *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerine N2 10 µL ve 20 µL uygulama sonrası, SMA'da proteolitik aktivite ve üremenin baskılanması

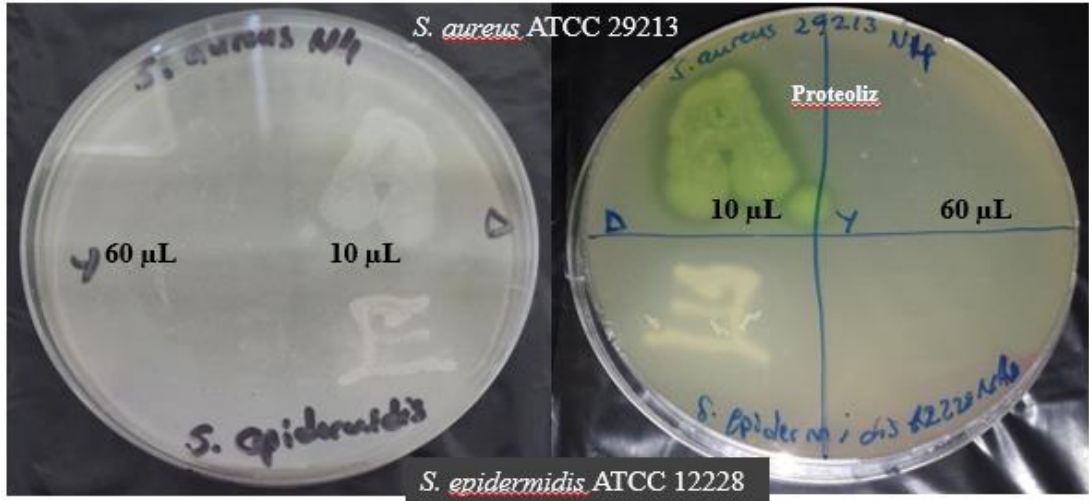
N3'ün, *S. aureus*'ta büyümeyi inhibe etmediği gibi ekstraselüler proteolitik aktiviteyi de uygulanan tüm dozlarda inhibe etmediği gözlemlendi. Şekil 4.33.'de N3'in en yüksek (60 µL) ve en düşük (10 µL) uygulama dozlarının, *S. aureus* ve *S. epidermidis*'in proteolitik aktiviteyi desteklediği görülmektedir.



S. aureus ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 12228 N3 10 µL ve 60 µL uygulama, SMA'da proteoliz
Şekil 4.33. *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerine N3 10 µL ve 60 µL uygulama sonrası, SMA'da proteolitik aktivite ve üremenin desteklenmesi.

Üremenin gözlemlendiği 10-20 µL'lik dozlar dahil N4'ün uygulandığı tüm dozlarda *S. epidermidis*'in proteolitik aktivitesinin baskılandığı gözlemlenmiştir. Şekil 4.34.'de N4'ün en yüksek (60 µL) ve en düşük (10 µL) uygulama dozlarının, *S. aureus* ve *S.*

epidermidis'in proteolitik aktivitesini üzerine etkisi görülmektedir.



Şekil 4.34. *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. epidermidis* ATCC 12228 üzerine N4 10 µL ve 60 µL uygulama sonrası, SMA'da *S. aureus* için proteolitik aktivitenin varlığı ve *S. epidermidis* için proteolizin baskılanması.

4.7. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen, inhibisyon zon çaplarının antibiyotik kontrollere göre, MİC değerlerinin ise herhangi bir uygulamanın yapılmadığı bakteriyal büyüme kontrol grubuna göre istatistiksel önemi olduğu ve p değerinin 0.05'ten küçük olduğu bulunmuştur. PSKE-N1, N2, N3, N4'e ait tespit edilen minimum inhibisyon konsantrasyon ve minimum bakterisidal konsantrasyon dozlarının, kontrol grubuna göre istatistiksel önem derecesine sahip olduğu ve p değerinin 0.05'den küçük olduğu bulunmuştur. AgNO₃, NaAuCl₄ ve AgNO₃-NaAuCl₄'ün birlikte test mikroorganizmaları üzerine uygulaması sonucu elde edilen MİK ve MBK dozlarının kontrol grubuna göre istatistiksel önemi olduğu ve p değerinin 0.05'ten küçük olduğu bulunmuştur. Deney grupları ve kontrol grupları arasındaki farkın önem derecelerinin tespitinde SPSS paket programı ve tek yönlü ANOVA testi kullanılmıştır.

5. TARTIŞMA

Nanobiyoteknoloji aracılığı ile biyofabrikasyonun önemli unsurlardan biri olan bitkilerin kullanılması, biyolojik yolla nanopartikül sentezleme çalışmalarına son yıllarda önemli bir ivme kazandırmıştır. Bu bağlamda olgunlaşma düzeyinin bitkinin farklı kısımlarındaki, bitki fenoliklerinin konsantrasyonu üzerine varolan etkileri değerlendirilerek ilk defa 8 aylık bitkilerin toprak altı kısımlarından, aküöz kök ekstresi hazırlanmış ve bu ekstre aracılığı ile gümüş ve altın iyonları indirgenerek altın, gümüş metalik nanopartiküller ve gümüş ile altının kombine edildiği kor-kabuk yapısına sahip bimetalik nanopartiküller elde edilmiştir. Biyosentez basamağında herhangi bir kimyasal indirgeyici ajan kullanılmadan sadece *Pelargonium sidoides*'in suda hazırlanan kök ekstraktı kullanılmıştır. Bu yolla üretilen metalik NP'lerin, yara ve yanıklarda sıklıkla enfeksiyona neden olan *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus* üzerindeki inhibitör etkileri bu tez çalışmasında ilk defa araştırılmıştır. Tek başına etki göstermeyen altın NP ve kısmi etki gösteren gümüş NP'e göre sentezlenen bimetalik yapının tek başına gümüş NP yapısından daha güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Oldukça düşük dozlarda etki gösteren bu yapının çevre dostu nanobiyoteknolojik yöntemle sentezlenmesi ile bilim dünyasına katkıda bulunulmuştur.

Nanoteknoloji alanı temelde biyoloji, fizik, kimya ve malzeme bilimleri alanları ile kuşatılmış ve biyomedikal ve farmasötik uygulama amaçlı nanoboyutta yeni terapötiklerin geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Nanopartiküllerin, bakteri, fungus ve bitkiler gibi farklı mikro veya makro organizmalar aracılığı ile konvansiyonel olmayan biyolojik yolla sentezi son yıllarda artış göstermektedir. Bitkilerin alkaloidler, flavonoidler, saponinler, steroidler, taninler ve diğer besin elementi gibi doğal ve biyoaktif bileşenleri bollukla içermeleri nanobiyoteknolojik ürünlerin eldesi için bu makroorganizmaları önemli kılmıştır. Oldukça biyoaktif olan bu sekonder metabolitler bitkinin; yaprak, kök, çiçek, kabuk ve tohum gibi farklı kısımlarından elde edilebilmektedirler. Son yıllarda yapılan çok sayıda çalışma ile bitki ekstraktlarının, nanomateryalleri sentezleyebilmek için tehlikeli ve toksik olmayan ve çevre dostu potansiyel öncüller gibi davrandığını gösterilmiştir (Alexandridis ve ark., 2011; Ai ve ark., 2011; Bar ve ark., 2009). Gerçekleştirdiğimiz bu tez çalışmasında, *Pelargonium sidoides* türünün köklerinden infüzyon yolu ile elde edilen aküöz kök ekstraktının,

metalik nanopartikül sentezi için, potansiyel öncülleri içeren biyoaktif bir çözelti olduğu ilk defa gösterilmiştir. Biyolojik olmayan, konvansiyonel fiziksel ve kimyasal yöntemlerle nanopartikül sentezlenmesi sırasında, canlı organizmalar için oldukça toksik ve tehlikeli kimyasalların kullanılması ve nanopartikül yüzeylerinde rezidüel olarak bu tehlikeli kimyasalların kalıntı yapıyor olması geleneksel nanopartikül sentez metodlarının kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu nedenle toksik olmayan biyolojik araçların kullanımı ile nanopartikül sentezinin gerçekleştirilmesi, nanobiyoteknoloji aracılı nanomateryal sentez yolunu oldukça değerli kılmaktadır. Nanopartikül sentezi sırasında kullanılacak olan bitkinin türü, bu türden biyoaktif metabolitleri içeren ekstraktın eldesi esnasında insan sağlığına zararlı organik çözücülerin kullanılmaması da ayrıca önem arz etmektedir. Sekonder metabolitlerden olan alkaloid ve türevlerini içeren bitki ekstraktlarının gümüş, altın ve titanium nanopartiküllerinin sentezlenmesinde kullanıldığı ve ekstre içerisindeki toksik alkaloidler nedeniyle sentezlenen nanopartiküllerin gelişmiş sitotoksik etkiyi kanser hücreleri üzerinde gösterdiği bildirilmiştir (Prabhu ve ark., 2013; Grunathan ve ark., 2013; Paul ve ark., 2015; Rao ve ark., 2016). Tez çalışmamızda kullandığımız bitki türü olan *Pelargonium sidoides*, Güney Afrika yerli halkı tarafından özellikle üst solunum yolu ve gastrointestinal sistem hastalıklarının tedavisinde, yüzyıllardır geleneksel olarak kullanılmaktadır. Bu türden elde edilen ekstraktların yüzyıllardır insan sağlığını destekleme amacıyla kullanılıyor olması, 17.yy sonrasında bitkisel preparatlar halinde tüberküloz ve üst solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmak üzere ticari ve patentli ürünlerin geliştirilerek bu ürünlerin dünya genelinde yaygınlaşması *Pelargonium sidoides* türünü ve bu türe ait ekstraktları, insan sağlığı üzerine olan olumlu etkileri nedeniyle oldukça değerli kılmaktadır. Bu türe ait kök preparatlarının uzun yıllardır insan sağlığını desteklemekte yaygınlıkla kullanılıyor olması ve memeli hücreleri üzerine bu preparatların sitotoksik etkilerinin olmayışı (Kolodziej ve ark., 2003; Brendler ve ark., 2008; Klodziej, 2007) farklı ve potansiyel kullanım alanlarını araştırmaya bizi yönlendirmiştir. Bu türün mevcut kullanım amaçlarına ek olarak, canlı sistem için toksik etkisi olmayan inorganik çözücü distile su içerisinde ilk defa bu bitki türünün aküöz kök ekstraktı elde edilmiş ve aküöz kök ekstraktının, gümüş ve altın metalik nanopartikül, altın-gümüş bimetalik kor-kabuk yapısında nanopartikül sentezinde etkin olarak kullanılabileceği tez çalışmamız ile kanıtlanmıştır.

Metalik özellikte yeni nanopartiküllerin sentezi sırasında indirgenme reaksiyonlarının gerçekleşebilmesi için, çok sayıda ve farklı moleküler konfigürasyonlara sahip sekonder metabolitleri içeren farklı bitki ekstraktlarının, metal iyonları ve metal oksitler için indirgeyici biyo-ajanlar gibi davrandığı son yıllarda yapılan çalışmalarda görülmektedir. Basavegovda ve arkadaşları (2013) *Citrus unshiu* (Mandarin) kabuklarından elde ettikleri ekstrakt ile Ag nanopartikülü, Njagi ve arkadaşları (2010) *Sorghum spp.* ekstraktı kullanarak Fe ve Ag nanopartikülleri, Dubey ve arkadaşları (2010) *Tanacetum vulgare* ekstraktı aracılığı ile Ag ve Au nanopartikülleri, Krishnaswamy ve arkadaşları (2014) Au nanopartikülleri üzüm kabuk ve çekirdeklerinden elde edilen ekstrakt aracılığı ile, Yang ve arkadaşları (2014) *Mangifera indica* (Mango) meyve kabuklarından elde ettikleri ekstre aracılığı ile Au nanopartikülleri başarı ile elde etmişlerdir. Tez çalışmamız aracılığı ile *Pelargonium sidoides* türünden elde edilen akuöz kök ekstraktının gümüş, altın, altın-gümüş kor-kabuk nanomaterial sentezinde kullanılacak metal tuzlarının indirgenme reaksiyonları için etkin bitkisel ekstraktlardan olduğu ve nanobiyoteknoloji alanında da başarı ile kullanılacağı ilk defa bu tez çalışması ile gösterilmiştir.

Metalik nanopartikül sentezi sırasında, sentezlenen nanopartiküllerin uzun süre kararlılıklarını koruyabilmeleri ve nanopartiküller arasında oluşabilecek agregasyonların önlenmesi oldukça önemlidir. Bitkisel ekstraktlar aracılığı ile nanopartikül sentezinin yapıldığı bazı çalışmalarda (Das ve ark., 2011; Kulkarni ve ark., 2014) ortama stabilize edici ajanların indirgenme reaksiyonları sırasında ilave edildiği görülmüştür. Turkevich ve arkadaşlarının, 1951 yılında ilk defa elde ettikleri Au nanopartiküllerin sentezi sırasında stabilize edici ajan olarak sitrik asit kullandığı, ardından Frens'in (1973) agregasyonu önlemek için Tween-20 kullandığı, Aslan ve arkadaşlarının ise 2002 yılında thioktic asiti bu amaçla kullandığı görülmüştür. Bu tez çalışmasında gümüş, altın nanopartiküller ve altın-gümüş bimetallik kor-kabuk yapıda nanopartiküller, sadece *Pelargonium sidoides* akuöz kök ekstraktı aracılığı ile sentezlenmiş ve herhangi bir stabilizatör ajana ihtiyaç duyulmadan bu nanopartiküllerin buldukları solüsyon içerisinde kararlılıklarını korudukları gösterilmiştir. Bu bağlamda, bu tez çalışmasında kullanılan *Pelargonium sidoides* kök ekstraktının, metal tuz solüsyonları için sadece indirgeyici görevi görmediği aynı zamanda stabilizatör ve agregasyonu önleyici ajan olarak da etkinlik gösterdiği kanıtlanmıştır. Sentezlediğimiz metalik ve bimetallik nanopartikül solüsyonlarının

kararlılıklarının uzun süre korunup korunmadığını tespit etmek için, sentez aşamasında ve sentez sonrasında belirli aralıklarla yapılan kararlılık ölçümleri sonucunda nanopartikül solüsyonlarının kararlı ve stabil olduğunu gösteren yüksek zeta potansiyel değerleri elde edilmiştir. Zeta potansiyel, nanosüspansiyonların stabiliteelerini etkileyen en önemli fizikokimyasal parametrelerden biridir. Ekstrem pozitif ve negatif zeta potansiyel değerlerinin süspansiyon içerisindeki benzer elektriksel yüke sahip nanopartiküller arasındaki oluşturduğu büyük itme gücü nanopartiküllerin agrege olmasının önlenmesini sağladığı ve nanopartiküllerin kolay dağılmalarına olanak sağladığı bildirilmiştir (Puttipatkhachorn ve ark., 2001; Sawant ve Dodiya, 2008). Elektrostatik ve sterik stabilizasyonun sağlanması için istenen zeta potansiyel değeri ± 20 mV'tur. -5 mV ile +5 mV arasındaki zeta potansiyel değerlerine sahip nanopartikül solüsyonlarının hızla agrege olduğu, 60 mV üzerindeki zeta potansiyel değerlerine sahip nanopartiküllerin ise mükemmel stabilite gösterdiği bildirilmiştir (Honary ve Zahir, 2012). Bu tez çalışmasında sentezlenen NP solüsyonlarının zeta potansiyel değerleri, Au-Ag NP; -22.6 mV, Au-NP; -16.8 mV, Ag NP; -22.6 mV olarak bulunmuştur. Sentezlediğimiz nanopartiküllerin zeta potansiyel değerlerinin, Honary ve Zahir'in (2012) çalışmasında bildirilen ve nanopartikül solüsyonlarının kararlı kalması için gerekli olan zeta potansiyel değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Altın, gümüş nanopartikül ve altın-gümüş kor-kabuk nanopartikül solüsyonlarının yüksek zeta potansiyel değerlerine sahip olması *Pelargonium sidoides* aküöz kök ekstraktında bulunan aktif bileşenlerin, nanopartiküllerin stabilizasyonunda ve kararlılıklarını korumada etkili olduğunu da göstermiştir.

Kimyasal ve fiziksel sentez yolları aracılığı (Kulkarni ve Muddapur, 2014) ile nanopartikül sentezinin yüksek maliyetli olduğu düşünüldüğünde, tek aşamada ve çevre dostu, ucuz nanobiyoteknolojik yöntemlerle terapötik umut vaat eden metalik nanopartiküllerin sentezlenmesi oldukça önem kazanmaktadır. Bitkiler ve bitkilerden elde edilen ekstraktlar başarılı olarak, kobalt, bakır, gümüş, altın, palladium, platin, çinko oksit ve magnetit gibi yeşil nanopartiküllerin düşük maliyetlerle sentezlenmesinde kullanılmaktadırlar (Kuppusamy ve ark., 2016). *Pelargonium sidoides*'ten elde edilen 0.152 g gibi oldukça düşük miktardaki kök aracılığı ile elde edilen aküöz kök ekstre ile gümüş, altın nanopartiküllerin ve iki metalin özelliklerinden farklı olarak altın-gümüş kor-kabuk yapısında bimetalik

nanopartiküllerin efektif olarak sentezlenebildiği, ve sentezin geleneksel yollara göre daha ucuz ve düşük maliyetlerle gerçekleştirilebildiği ilk defa bu tez çalışması ile gösterilmiş ve literature nanobiyoteknolojik metalik nanopartikül sentezi konusunda bu yönden katkıda bulunulmuştur.

Pelargonium sidoides köklerinden elde edilen ekstraktın, geleneksel tedavide gösterdiği etkinliğin içerdiği sekonder metabolit olan umkalinine atf edildiği bildirilmiştir. Umkalinin sinoniminin, 5,6,7 metoksi kumarin olduğu bilinmektedir. (Kayser ve Kolodziej, 1997; Kolodziej, 2007). *Pelargonium sidoides* köklerinin hegzan çözücü içerisinde ekstraktının hazırlandığı ve *Mycobacterium tuberculosis* üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada MIK değerinin 2 g/mL olduğu bulunmuştur. Ekstre içeriğinin çözücü bağımlı olarak ağırlıklı doymuş ve doymamış yağ asitlerini içerdiği bildirilmiştir (Brendler ve van Wyk, 2008). Yapılan literatür taraması sonucunda *Pelargonium sidoides*' e ait aküöz kök ekstresinin, 8 aylık bitkilerden eldesine ve aküöz bitki ekstraktı bileşen analizlerinin yapıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. *Pelargonium sidoides* köklerinde yoğun olarak bulunduğu bilinen (Kolodziej, 2007) kumarin ve kumarinin oksijenlenmiş türevleri incelendiğinde, bu bileşik ve türevlerinin sahip oldukları fenol alkol ve piren halkası ve bunlara bağlı fonksiyonel grupları ile oldukça aktif moleküler yapılarda oldukları görülmektedir. Tez çalışması kapsamında elde edilen *Pelargonium sidoides*' e ait kök ekstraktına ait FT-IR spektrum görüntüleri incelendiğinde içerisindeki bileşiklere ait ana iskelelet gövdesi ve fonksiyonel grup bölgelerinin, kumarin standardına ait spektrum görüntüleri (Umashankar ve ark., 2015) ile benzerlik gösterdiği ve *Pelargonium sidoides* aküöz kök ekstraktı içerisindeki bileşenlerin kumarin ve türevlerine benzer molekül içi gerilim ve bükülmelere sahip olduğu görülmüştür. Bu bağlamda elde edilen aküöz bitki kök ekstraktının, kumarin ve kumarin türevlerini içerdiği söylenebilir. Sahip oldukları moleküler yapıları nedeniyle kumarin ve kumarin türevlerinin metallere bileşik oluşturabildiklerini bildiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Freedman ve ark., 2002; Bae ve ark., 2017; Bhatia ve ark., 2018). Kumarin ve/veya kumarin türevleri özellikle kobalt, nikel, palladium, çinko ve kadmiyum ile yaptıkları bileşikler ile öne çıkmaktadırlar (Adhao ve Wagh, 2018). Tez çalışma konusu olarak seçilen altın ve gümüş metal iyonlarının kumarinle oluşturduğu bileşiklere ait araştırma çalışmaları incelendiğinde; gümüşün kumarinle kompleks oluşturabildiği ve *Candida albicans* üzerine MIK80 değerinin 4.6 mikromolar olduğu

gözlenmiştir (Thati ve ark., 2007). Mujahid ve arkadaşlarının (2016) yaptığı çalışmada, kumarin türevleri ile yeni gümüş komplekslerinin sentezlenebileceği gösterilmiştir. Yaptığımız tez çalışmasında, FT-IR spektrum görüntülerine dayanarak kumarin ve/veya kumarin türevleri içerdiği düşünülen *Pelargonium sidoides* kök ekstraktının, gümüş iyonları içeren metal tuzu solüsyonları ile karıştırılması sonucu gümüş nanopartikülleri içeren solüsyon (N2) elde edilmiştir. N2 solüsyonunun FT-IR spektrum görüntüleri ve PSKE'nin spektrum görüntülerini karşılaştırdığımız çalışmamızda N2 ve PSKE'nin spektrum görüntülerinin örtüşmesi ve sadece bazı fonksiyonel bantlarda spektrumda sağa ve sola kaymaların görülmesi, PSKE'nin gümüş iyonlarını sadece indirgemekle kalmadığı, aynı zamanda PSKE içerisinde bulunan aktif bileşiklerle de kompleks oluşturabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgumuz, Thati ve arkadaşlarının (2007) kumarinin gümüş iyonları ile oluşturduğu komplekslerin sentezlenmesine yönelik yaptığı çalışma ile örtüşmektedir.

Altın metaline ait iyonların ve kumarin türevlerinin birlikte kompleks oluşturabilme kapasitesine sahip olduğu; aküöz çözeltide hidrojelasyon oluşturabilen kumarin bazlı alkinil kompleks sentezi (Moro ve ark., 2015), DNaz I'in tespiti için kumarinin altın nanopartiküle oluşturduğu kompleks sentezi (Liu ve ark., 2018) ve kumarinin altın nanopartikülle oluşturduğu kumarin-altın nanopartikül biokonjugatları sentezinin (Mahendran ve Ponnuchamy, 2018) gerçekleştirilebildiği literatür bilgileri ile doğrulanmıştır. Mahendran ve Ponnuchamy'nin 2018 yılında yaptığı çalışmalarında, altın nanopartiküllerin kumarinle biokonjugat oluşturmaya elverişli olduğu ve sentezlenen biokonjugatın meme kanseri tedavi ve teşhisinde kullanılabilir potansiyelinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Tez çalışmamızda kullandığımız *Pelargonium sidoides* kök ekstraktının FT-IR spektrum görüntüleri ve PSKE+Altın içeren metal tuzu solüsyonundan elde edilen altın nanopartikül solüsyonunun (N3) FT-IR spektrum görüntülerinin benzerlik içermektedir. PSKE''ye ait FT-IR spektrum görüntülerinden farklı olarak N3'ün FT-IR spektrum görüntülerinde fonksiyonel bölgede gerçekleşen bükülmelerde kaymaların olması çözelti içerisinde sentezlemiş olduğumuz altın nanopartiküllerin PSKE içerisinde olduğu düşünülen kumarin ve kumarin türevleri ile kompleks oluşturabileceğini düşündürmüştür. Liu ve arkadaşlarının 2018 yılında, Mahendran ve Ponnuchamy'nin 2018 yılında yaptıkları çalışmalarda altın nanopartiküllerin kumarinle oluşturdukları biokonjugatlarından elde ettikleri FT-IR spektrum görüntülerine ait veriler, N3 (Altın nanopartikül

solüsyonu) FT-IR spektrum görüntülerinden elde ettiğimiz verilerle uyum göstermektedir. Bunların yanısıra altın ve gümüş nanopartikül solüsyonları, ve altın-gümüş bimetalik kor-kabuk nanopartikül solüsyonuna ait FT-IR spektrum görüntülerinin PSKE FT-IR spektrum görüntüleri ile büyük oranda uyumlu olması, PSKE içerisindeki bileşiklerin sentezlenen nanopartiküller etrafında kaplayıcı ajanlar gibi davrandığını da düşündürmüştür. Ramalingan ve arkadaşlarının (2016) sentezledikleri nanopartiküllerin çevresinde sekonder metabolitlerin kaplayıcı ajan gibi davrandığını gösterdikleri çalışma bulguları ile tez çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular örtüşmektedir.

Nanopartikül sentezinde kullandığımız metaller incelendiğinde altın metalinin antik zamanlarda güç ve sağlığın sembolü olduğu görülmektedir. Antik zamanlardan bulunduğumuz yüzyıla altın metalinin farklı formları insan sağlığının geliştirmesi için kullanılmıştır. 18. yy Mısır'da altının çözünür formlarının mental ve ruhsal saflaşma için kullanıldığı bilinmektedir. Son elli yılda ise altının nano formu olan altın nanopartiküllerin insan sağlığı üzerine etkileri ve potansiyel kullanım amaçları araştırılmaktadır (Alanazi ve ark., 2010). Altın nanopartiküllerin yapı tayininde UV-VİS spektrofotometrede verdiği maksimum absorpsiyon değeri önemlidir. Boyutları 1-100nm arasında değişim gösteren küresel altın nanopartiküllerin aküöz solüsyon içerisinde kahverengi, turuncu, kırmızı ve mor renkleri gösteren renk ranjına sahip olduğu ve nanopartikül boyutu ile ilişkili olarak, 500nm ile 550 nm arasında absorpsiyon piki verdiği bildirilmiştir (Jain ve ark., 2006). Tez çalışmamızda elde ettiğimiz altın nanopartikül rengi kırmızı iken UV-VİS spektrofotometrede verdiği maksimum absorpsiyon piki 500-550 nm arasında görülmüş ve literatürde rastlanan Au NP UV-VİS spektrum bilgileri (Amendola ve Meneghetti, 2009; Zhou ve ark., 2009; Zhao ve ark., 2013) ile tez çalışma bulguları örtüşmüştür.

Farklı bitki ekstraktları ile sentezlenen altın nanopartiküller incelendiğinde, nanopartikül boyutlarının ekstrakt içerisinde bulunan biyomoleküllerin tipi ve bu biyomoleküllerin çözelti içindeki konsantrasyonunun, sentezlenecek olan nanopartiküllerin boyut ve şeklini etkilediği görülmüştür (Huang ve ark., 2007). Krishnaswamy ve arkadaşları (2014) atık üzüm kabukları aracılığı ile 20nm ile 25 nm aralığında boyutlara sahip ve küresel, Ghodake ve arkadaşlarının (2010) Pyrus sp. ekstraktı ile 200nm ile 500 nm aralığında boyutlara sahip, üçgen ve altıgen kristaller şeklinde, Yang ve arkadaşları (2014) Mango kabuk ekstraktı aracılığı ile 6.03 ± 2.77

nm ile 18.01 ± 3.67 nm aralığında altın nanopartikül sentezlediği bildirilmiştir. Yaptığımız tez çalışmasında *Pelargonium sidoides* kök ekstraktı aracılığı ile sentezlediğimiz Au NP lerin, TEM fotoğrafları aracılığı ile tespit edilen şekillerinin küresel ve dörtgen olduğu, nanopartikül boyutlarının ise 20 nm ile 100 nm arasında bir ranja sahip olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda geniş ranjda farklı boyutlarda ve şekillerde metalik nanopartiküllerin sentezi kök ekstraktı içerisinde olduğu düşünülen farklı sekonder bileşiklerin farklı miktarlarda bulunuşu ile ilişkilendirilmiştir.

Tez çalışma mateyallerimiz olan gümüş metalinin geleneksel olarak vücut enfeksiyonlarının kontrolünde ve gıda bozulmalarının önlenmesinde kullanıldığı görülmektedir. Gümüş iyonlarının aynı zamanda yara iyileştirici ajan ve ülser tedavisinde kullanıldığı da görülmektedir. Son yıllarda kolloidal gümüş nanopartiküllerin antimikrobiyal ajan ve yara örtüsü olarak kullanıldığı, kemik ve diş yapısını güçlendirme amaçlı ve suyun saflaştırılmasında kullanıldığı görülmektedir (Singh ve ark., 2010). Gümüş nanopartiküllerin yüksek antimikrobiyal özelliklerinin, Ag nanopartiküllerin hücre membran hasarı ve DNA hasarına neden olmasına bağlanmaktadır (Hussain ve ark., 2005; Vasir ve Labhasetwar, 2008). Au nanopartiküllerinin bitkisel ekstraktlar aracılığı ile sentezlenmesi gibi, son yıllarda gümüş nanopartiküllerin de bitkisel ekstraktlar aracılığı ile sentezinin araştırıldığı bildirilmektedir. Khan ve arkadaşları (2018) *Albizia chevalier* kabuk ekstraktını kullanarak küresel şekle sahip Ag nanopartikülleri, Adur ve arkadaşları (2018) *Parthenium hysterophorous* aracılığı ile sarı renkli, 415 nm’de maksimum pik veren, 5nm ile 50 nm boyut aralığında Ag nanopartikülleri sentezlediklerini bildirmişlerdir. Tez çalışmamızda sentezlediğimiz Ag nanopartikül solüsyonu turuncu renkli iken, Ag nanopartikül şekillerinin küresel, hexagonal ve dörtgenler şeklinde olduğu ve boyutlarının 50nm ile 150 nm arasında geniş bir ranjda değiştiği gözlenmiştir. Khan ve arkadaşlarının (2018), sentezledikleri Ag Nanopartiküllerin antibakteriyal aktivitesini araştırdıkları çalışmalarında, 0.11mg/mL Ag NP’nin, 2×10^{-5} CFU/mL *S. aureus* bakterisini % 95 oranında, aynı koloni ünitesine sahip *E. coli*’yi ise %99 oranında inhibe ettiği bildirmişlerdir. Ramalingam ve arkadaşlarının (2016) *R. oryza* protein ekstraktı ile sentezlediği Ag NP’lerin *E. coli* ve *P. aeruginosa*’ya karşı etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında MİK değerlerinin sırasıyla 3.6 µg/mL ve 2.25 µg/mL ‘lik dozlar olduğu bildirilmiştir.

Kor-kabuk yapıya sahip bimetalik nanopartiküller, konvansiyonel heterojenik nano materyaller olarak sınıflandırılmaktadırlar. Kafes sistemi ile sentezlenmiş kor-kabuk yapısına sahip bimetalik nanopartikülleri oluşturan, elektron yönünden zengin iki element arasındaki kompleks elektron etkileşimleri sentezlenen kor-kabuk ypdaki bimetalik nanopartiküllerin yüzey elektronik özelliklerini modifiye etmektedir (Tedsree, 2011; Yuan, 2013). Böylece kor-kabuk bimetalik nanopartiküller, çoğunlukla alaşım naopartiküller ve kendilerini oluşturan monometalik nanopartiküllere göre daha gelişmiş katalitik özellikler göstermektedirler (Alayoglu ve ark., 2008; Serpell ve ark., 2011). Ye ve arkadaşları (2012) kristal yapıda sentezledikleri kor-kabuk yapıda Au-Pd bimetalik nanopartiküllerin oksijenin indirgenmesinde gelişmiş katalitik aktivite gösterdiğini raporlamışlardır. Chen ve arkadaşlarının (2015) yaptıkları çalışmada, Au@Ag/Pd kor-kabuk yapısı aracılığı ile sentezledikleri kor-kabuk yapıda Au@Pd nanopartiküllerin, oksijen indirgenmesinde ileri düzeyde katalitik aktivite kazandığını göstermişlerdir. Kendilerini oluşturan materyallere göre sahip oldukları kendilerine has elektronik, optik ve katalitik özellikleri ile yeni metalik nanopartiküllerin sentezlenmesi ve özellikle Ag-Au veya Au –Ag kor-kabuk veya alaşım yapıda bimetalik nanopartiküllerin sentezlenmesi son on yılda ivme kazanmıştır (Yang ve ark., 2016). Mono metalik Ag ve Au nanopartiküllerde gözlenmeyen karakteristik bimetalik nanopartikül özelliklerinin iki metal arasındaki sinerjistik etkileşimlere bağlandığı bildirilmiştir (Hong ve ark., 2011). Özellikle sentez aşamasında kullanılan Au ve Ag arasındaki molar oranlar ve bunların geometrik yeniden düzenlenmesi, bimetalik nanoyapının optik özelliklerinin yeniden düzenlenmesinde önem arz etmektedir (Wison ve ark., 2005). Çalışmamızda literatürde verilen Au ve Ag oranlarından farklı olarak ve oldukça düşük molaritede metal tuzu çözeltileri kullanılarak Au-Ag kor-kabuk yapıda bimetalik sentezi gerçekleştirilmiştir (0.01 Molar ve V_{Au}: V_{Ag}, 1:2 oranında). Yang ve arkadaşları (2016) 2.5 mM AgNO₃ ve HAuCl₄ ‘ü 1:2, 1:1, 1:0.5, 1:0.333, 1:0.2 ve 1:0.125 molar oranlarda kullanarak Au-Ag alaşımı elde etmişlerdir. Yang ve arkadaşları (2016) yaptıkları çalışmada Au-Ag alaşımı elde ettikleri gibi aynı zamanda 1:0.17, 1:0.5, 1:1 ve 1:4 Ag: AuCl₄⁻¹ molar oranlarını kullanarak Au-Ag bimetalik kor-kabuk yapısını kimyasal indirgenme yolu ile sentezlediklerini de bildirmişlerdir. Aynı zamanda sentezledikleri kor-kabuk nanopartiküllerin küresel şekilli olduğu da bildirilmiştir (Yang ve ark., 2016). Fakhri ve arkadaşları (2017), tez çalışmamızdan yöntem açısından farklı olarak, geleneksel kimyasal indirgenme yolunu kullanarak ve yine tez

çalışmamızdan farklı olarak kor-kabuk bileşenleri tez çalışmamızla zıt (tez çalışmamızda Au-kor Ag-kabuk) olacak şekilde Ag-kor Au-kabuk bimetalik nanopartikül yapısını sentezlemişlerdir. Tez çalışmamızdan farklı olarak gümüş metalinin kor yapısını oluşturacağı şekilde bimetalik sentezini yaptıkları çalışmalarında ortalama 27.5 nm boyutlarında nanopartiküller elde ettiklerini ve yeni nesil antibiyotiklerden doxycycline ile kombine ederek *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *M. luteus* ve *S. aureus* üzerine inhibitor etkilerini ortaya koyduklarını bildirmişlerdir. Ag-Au bimetalik nanopartikülün (10g/L) doxycycline ile kombine olarak gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde agar difüzyon metodunu kullanan Fakhri ve arkadaşlarının (2017); yanık enfeksiyonu etkenlerinden *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *M. luteus* ve *S. aureus* üzerinde gözledikleri inhibisyon zon çaplarının sırasıyla, 9, 15, 13 ve 9 mm olmuştur. Tez çalışmamızda uyguladığımız bimetalik NP solüsyon miktarı 10, 25 ve 50 µL olmuş ve *S. aureus* üzerinde bulduğumuz inhibisyon zon çapları sırasıyla 8.1, 13.2 ve 16 mm olmuştur. Ramasamy ve arkadaşları (2016), *Shewanella oneidensis* aracılığı ile kahverengi-mor renkli Au-Ag bimetalik nanopartikülleri sentezlediklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmalarında sentezledikleri bimetalik nanopartiküllerin 25 ve 50 µM'lık dozlarda *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* ve *S. aureus* üzerine uygulamaları yapılmış ve sırasıyla 12:21, 14:23, 13:20, 18:22 mm'lik inhibisyon zonları belirlenmiştir. Bu patojenlere karşı tespit edilen minimum inhibisyon konsantrasyonları ise sırasıyla; 30, 50, 40, 50 µM olmuştur (Ramasamy ve ark., 2016). *Barleria prionitis*, *Plumbago zeylanica* ve *Sygium cumini* bitkilerinden elde edilen ekstraktlar aracılığı ile Singh ve arkadaşları (2016) Ag NP, Au NP ve Au-Ag bimetalik nanopartikülleri sentezlemiş ve bimetalik nanopartikülün *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı en güçlü antimikrobiyal aktiviteyi 2.56 µg/mL MIK dozunda gösterdiğini bildirmişlerdir. Aynı grubun çalışmasında Au mononanopartiküller 100 µg/mL'lik konsantrasyonda bimetalik nanopartiküllerin gösterdiği antimikrobiyal aktiviteyi gösterememiştir (Singh ve ark., 2016). Benzer şekilde yaptığımız tez çalışmasında en güçlü antimikrobiyal aktiviteyi Au-Ag bimetalik kor-kabuk yapısı göstermiş ve aynı dozda Ag nanopartiküllerin tek başına bimetalik etkinliğini gösteremedikleri belirlenmiştir.

Sentezlenen metalik nanopartiküllerin, düşük difüzyon yeteneğine sahip olması kültür mediumlarına penetrasyonunu kısmi olarak engellemektedir. Bu nedenle son yıllarda

antibakteriyal aktivitenin tespiti için, disk difüzyon duyarlılık testinin için kullanılıp kullanılmayacağı da tartışılmaktadır (Kourmouli ve ark., 2018). Kourmouli ve arkadaşları (2018) Au nanopartiküllerin, kültür mediumu içerisinde görece düşük difüzyon kabiliyetine sahip olduğunu raporlamışlardır ve bu nedenle Au nanopartiküllerin, *E. coli*'ye karşı antibakteriyal etki göstermediğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, tez çalışmamızda sentezlediğimiz Au NP'ler disk difüzyon testinde *S. aureus* ve *S. epidermidis* üzerinde inhibitor etki gösterememiştir. Kourmaoli ve arkadaşlarının (2018) Ag NP üzerine yaptıkları çalışmalarında, Ag nanopartiküllerin sahip oldukları boyutlardan bağımsız olarak *E. coli*'ye karşı güç antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Gümüş nanopartikülün altın nanopartikülüne göre, aköz solüsyonlarda oksidasyon ve dilüsyon aracılığı ile yayıldığı ve Ag nanopartiküllerden salınan gümüş iyonlarının antibakteriyal etkiden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Kourmouli ve ark., 2018). Tez çalışmamızda sentezlediğimiz gümüş nanopartiküllerin test mikroorganizmaları üzerine uygulanan hacimlere bağlı olarak güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Tez çalışmamızda sentezlediğimiz kor (Au)-kabuk (Ag) yapısındaki bimetallik nanopartiküllerin en önemli etkinlik gösterme nedenlerinden birinin kabuk yapısını oluşturan gümüş metalinin medium içine iyon salım gücünün yüksek olmasından kaynaklandığı ve merkezde bulunan altın iyonlarının Ag iyon salımını desteklemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Kor kabuk yapıda sentezlediğimiz bimetallik nanopartiküllerin aynı dozda Ag ve Au nanopartiküllere göre oldukça yüksek antibakteriyal aktivite göstermesi, Yang ve arkadaşlarının (2016), Hong ve arkadaşlarının (2011) bimetallik kor-kabuk nanomateryal yapılar için önerdikleri etkinlik değerlendirmeleri ile örtüşmektedir.

Nanomateryallerin antibakteriyal aktiviteye sahip olabileceğine dair ilk raporlar nanopartiküller ve bakteriler arasında biyofiziksel interaksyonların ortaya çıkışının gözlenmesi ile ortaya çıkmıştır. Özellikle hücresel nanopartikül alımının, bakteriyel hücrelerde nanopartikül agregasyonunun gözlenmesi ve bunun sonucu olarak ortaya çıkan bakteriyel membran hasarı ve toksisite varlığı, nanomateryallerin antibakteriyal ajanlar olarak kullanılabilme potansiyellerini güçlendirmiştir (Zho ve ark., 2012). Gümüş, altın, bakır ve titanium gibi metallik nanomateryallerin gösterdiği istenilen fizikokimyasal karakterler bu partiküllerin anlamlı düzeyde antibakteriyal aktivite göstermelerini sağlamaktadır (Vimbela ve ark., 2017).

Gümüş metalinin, antibakteriyal etkilerinin keşfi ile yara iyileştirici olarak ve yanık tedavisi amacıyla kullanımı vasıtasıyla medikal alanla tanışması mümkün olmuştur (Barillo ve Marx, 2014). Son yıllarda ise, gümüş nanomateryallerin fizikokimyasal karakterleri ile sebep olduğu toksisite arasındaki ilişki incelenmektedir. Şekilsel özellikleri boncuk (Fredj ve ark., 2008), çubuk (Zhang ve Yin, 2013), plaka (Zhang ve ark., 2013) ve nanoprizma (Millstone ve ark., 2009) olanların şekilsel özelliklere bağlı olarak özel antibakteriyal etkinliklerinin araştırıldığı görülmektedir. Gümüş metalinin sergilediği antibakteriyal aktivitenin açıklanmasında iki ana teori ve mekanizma önerilmektedir. Bunlardan birincisi, hücre membranı ve salınan gümüş iyonları arasındaki interaksiyon sonucu membran fonksiyonlarının bozulması, ikincisi ise yaygın hücre membran hasarının reaktif oksijen türlerinin formasyonunu sağlaması ile ortaya çıkan oksidatif stress aracılığı ile hasara neden olmasıdır (Ivask ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2013; Agnihotri ve ark., 2013). Birinci mekanizmada Ag Np'lerden salınan gümüş iyonlarının hücre yüzeyinde bulunan protein ve enzimlerin tiol gruplarına (-SH) bağlanabileceği ve hücrel membranın destabilizasyonuna ve ATP sentez yolağının durmasına neden olabileceği ileri sürülmüştür. Daha sonra Ag nanopartiküllerin hücre membran duvarına tutunacağı ve hücre membranda delikler oluşturarak ardından hücre içi komponentler ve sülfür içeren proteinlerle etkileşime geçebileceği bildirilmiştir. İkinci mekanizmada ise reaktif oksijen türlerinin üretiminin hücre membranında gerçekleşebileceği ve bunun geri dönüşsüz olarak DNA hasarına neden olarak hücreyi yıkıma götüreceği bildirmiştir (Zhang ve ark., 2013).

Altın nanopartiküllerin bakterisidal ajanlar olarak kullanımlarının onların optikal ve fototermal özelliklerinden ileri geldiği bildirilmiştir (Jain ve ark., 2008). Au NP'lerin ATPase enzimi ve t-RNA bağlanmasını engellediği hücrel metabolizmayı azalttığı ve antibakteriyal etkinliği bu yollar aracılığı ile gösterdiği bildirilmiştir (Cui ve ark., 2012).

Yapılan literatür taramasında, *Pelargonium sidoides* kök ekstraktı aracılığı ile sentezlenen altın, gümüş ve altın-gümüş bimetalik nanopartiküllerin, *S. aureus* ve *S. epidermidis* üzerine antibakteriyal ve antiproteolitik etkilerinin ortaya konmasına dair bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu bağlamda PSKE'nin *S. aureus* ve *S. epidermidis* üzerine antibakteriyal, antiproliferatif ve antiproteolitik etkileri de ilk defa bu tez çalışması ile belirlenmiştir.

Nanopartikül yüzeyi etkin terapötik ajanların geliştirilmesinde oldukça önemli bir parametre oluşturmaktadır. Geleneksel yolla sentezlenen nanopartiküllerin, yüzey modifikasyonlarının gerçekleştirilmesi nano-ilaçların geliştirilme süreçlerinin kontrolünde önem oluşturmaktadır (Honary ve Zahir, 2012).

In vitro ve *in-vivo* farmakodinamik modeller, spesifik bakteriyal patojenlere karşı, antibiyotik performansını modellemektedir. Bu modelleme konsantrasyon bağımlı (zamandan bağımsız) veya konsantrasyondan bağımsız (zamana bağımlı) olabilmektedir. Bakteriyal antibiyotik duyarlılığının minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIK) formunda antibiyotik farmakokinetik parametreleri ile ilişkilendirilmesi farmakodinamik çıktı parametrelerini doğurur. Mikroorganizmalar antimikrobiyallerle etkileşecekleri çok sayıda reseptör taşırlar ve bu reseptörlerden bir kısmı spesifik olarak antimikrobiyallerin geliştirilmesinde önem kazanırlar. Henüz, spesifik ilaç-reseptör etkileşimlerinin tanımlanması pratik olarak mümkün olmadığı için antimikrobiyal ajanın etkinliği bütün olarak ölçülmektedir. Farmakodinamik parametre, çoğunlukla minimum inhibisyon konsantrasyonu amacı ile kullanılır. MIK, spesifik koşullar altında 16-20 saatlik inkübasyon sonunuda büyümenin gözlenmediği minimum konsantrasyon olarak tanımlanır. Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ise, MIK testinde bakteri survivalının gözlenmediği minimum konsantrasyon olarak tanımlanır ve genellikle MIK'ten daha yüksek değerlerdir. Bu nedenle antimikrobiyal aktivitenini ölçüldüğü MBK, farmakokinetik parametredir (Rotschafer ve ark., 2016). Bu bağlamda sentezlenen nanopartiküllerin antibakteriyal aktivitelerinin belirlenmesinde, disk difüzyon duyarlılık testi, ardından bakteriyal büyümenin gözlenmediği MIK değerlerinin tespiti, MIK testinin bakteriyal büyümeyi tamamen inhibe ettiği değerleri tespit etmek için MBK testleri uygulanmıştır. MBK'ye ek olarak düşük nanopartikül doz uygulamalarının bakteriyal metabolizma ve virulans üzerine önemli etkisi olan ekstraselüler proteaz salınımını baskılayıp baskılamadığının tespit edilmesi için antiproteolitik aktivitenin gözlemlendiği minimum dozlar da tez çalışmamızda tespit edilmiştir. Metalik nanopartiküllerin antibakteriyal aktivitelerinin tespit edildiği çalışmalarda, metalik nanopartiküllerin antibakteriyal aktivitesinin belirlenmesinde yaygınlıkla disk difüzyon testinin uygulandığı gözlenmiştir. MIK tespitinin yapıldığı çalışmalarda ise MBK değerlerinin hesaplanmadığına rastlanılmıştır. Disk difüzyon duyarlılık testinin yapıldığı çalışmalar incelendiğinde; *Euphrasia officinalis* yaprakları aracılığı ile çevre dostu sentezle üretilen gümüş ve

altın nanopartiküllerin 500 ve 1000 ppm konsantrasyonlarda *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Staphylococcus aureus* üzerine etkilerini araştıran Singh ve arkadaşları (2017), 500 ppm Ag NP için 14, 10.1, 13, 12.2 mm'lik inhibisyon zon çapları, 1000 ppm için 15.3, 11.7, 14.7, 13.7 mm'lik inhibisyon zon çapı elde etmişler, aynı grup 10 mg/mL konsantrasyonda Ag nanopartiküllerin *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'da biyofilm formasyonunu tamamıyla inhibe ettiğini bulmuşlardır (Singh, 2017). Tsai ve arkadaşları (2017) gümüşle kapladıkları altın nanopartikülleri selüloz kağıt üzerinde immobilize ederek bunların antibakteriyal aktivitelerini *E. coli* JM109 üzerine araştırmışlardır. Çalışmalarında anyonik Au nanopartikülün katyonik Au nanopartiküle göre *E. coli* üzerinde daha az toksik olduğunu, altın nanopartikülün gümüşle kaplanması sonucunda antibakteriyal etkinliğin arttığını ve bu artışın Au-Ag yapısının kabuk kısmından salınan Ag iyonlarından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Tez çalışmamızda NaAuCl_4 metal tuzu çözeltisinden sentezlediğimiz, Au nanopartiküllerin anyonik yapıda olması ve *S. aureus* ve *S. epidermidis* üzerinde kendisini oluşturan metal tuzu çözeltisine göre oldukça düşük antibakteriyal aktivite göstermesi bulguları Tsai ve arkadaşlarının (2017) anyonik Au nanopartiküllerin daha düşük antibakteriyal etkili olduğuna dair bulguları ile örtüşmektedir. Naraginti ve Sivakumar (2014), *Coleus forskohli* kök ekstraktını gümüş nanopartikül sentezinde hem indirgeyici ajan hem de stabilize edici ajan olarak kullanmışlar ve sentezledikleri Ag ve Au nanopartiküllerin 25 µL lik hacimlerini *E. coli*, *S. aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerine disk difüzyon yöntemi ile uygulayarak sırasıyla Ag için 23, 17, 18 mm ve Au için 18, 16, 12 mm lik inhibisyon zon çaplarını elde etmişlerdir. Sentezlenen metalik nanopartiküllerin sentez yolunda kullanılan metal iyonlarının kaynağı aynı olsa da, indirgeme ve stabilize etmeden sorumlu bitki ekstraktları değişkenlik göstermesi ve ekstrakt içindeki biyoaktif moleküllerin çeşidi ve konsantrasyonda gözlenen farklılıklar nedeniyle sentezlenen metalik nanopartiküllerin boyut şekil ve yüzeylerindeki kaplayıcı moleküller de değişmektedir. Nanopartiküllerde, sentezlendikleri ekstrakta bağımlı olarak ortaya çıkan bu modifikasyonlar ise, aynı patojenler üzerindeki inhibisyon zon çapları ve inhibisyon konsantrasyon değerlerinde değişkenliğe neden olacaktır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Nanoteknolojinin biyolojik araçlarla biraraya geldiği nanobiyoteknoloji hedeflendirilmiş moleküller, antisens teknoloji, biyotespit ve biyogörüntüleme alanlarında yaygınla kullanılmaktadır. Nanoteknoloji aracılığı ile aynı zamanda altın ve gümüş metalik nanopartiküller artan bir ilgi ile ve çeşitli metodlar kullanılarak sentezlenmektedirler. Son yıllarda konvansiyonel fiziksel ve kimyasal metodların yerini çevre dostu nanobiyoteknolojik yöntemlerin aldığı ve bu yollar aracılığı ile metalik nanopartikül sentezinin ivme kazandığı görülmektedir. Nanobiyoteknoloji alanında nanopartikül sentezi için virüsler, bakteriler, funguslar, algler ve bitkiler etkin biyolojik araçlar olarak kullanılmaktadır. Bunların arasında biyoaktif sekonder metabolitlerce en zengin bileşenleri içeren bitkisel ekstraktların kullanılarak mono ve bimetalik yapıların sentezinin de on yıllarda arttığı görülmektedir. Bu bağlamda yapılan bu tez çalışması ile son yirmi yılda ivme kazanmış olan bitkisel preparatlar aracılığı ile nanopartikül sentezleme çalışmaları yönünden literatüre katkıda bulunulmuştur. Tez çalışmamızda bitkisel preparatları yüzyıllardır kullanılan Pelargonium sidoides aküöz kök ekstraktı ilk defa elde edilmiş ve bu ekstrakt aracılığı ile altın ve gümüş mono ve bimetalik nanopartiküller ilk defa sentezlenmiştir. Fizikokimyasal karakterizasyonları yapılan ve kararlılıkları kanıtlanan bu nanopartiküllerin S. aureus ve S.epidermidis üzerindeki antibakteriyal etkinlikleri MIK, MBK, antiproteolitik aktivitenin tespiti gibi yöntemlerle ilk defa tez çalışmamızda gerçekleştirilmiştir.

Farklı fonksiyonel grupları içeren metalik NP yapıların geliştirilmesi için çalışmaların yapılması ve bu çalışma kapsamının dirençli patojen suşları da içerecek şekilde genişletilmesi yararlı olacaktır. Metalik NP yapılarının etki mekanizmalarının moleküler düzeyde çalışılması ve mikroorganizma üzerinde etkin olan dozların, farmakokinetik ve farmakodinamiklerinin de çalışılması, etkin dozların memeli hücrelerinde sitotoksik etkisi olup olmadığının araştırılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Acıkel C., Oncul O., Ulkur E., Bayram I., Celikoz B., Cavuslu S. Comparison of silver sulfadiazine 1 per cent, mupirocin 2 per cent and fusidic acid 2 per cent for topical antibacterial effect in methicillin-resistant staphylococci-infected full skin thickness rat burn wounds. *Journal of Burn Care and Rehabilitation* 2003; 24:37-41.

Adhao S.T. ve Wagh R. R. Coumarin derivatives, metal complexes, physicochemical studies and their importance in various field: a literature review. 2018; *IJPPR*.

Adura A. A., Nandini N., Shilpashree Mayachar K., Ramya R., Srinatha N. Bio-synthesis and antimicrobial activity of silver nanoparticles using anaerobically digested parthenium slurry. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* 183, 2018; 30–34.

Agnihotri S., Mukherji S., Mukherji S. Immobilized silver nanoparticles enhance contact killing and show highest efficacy: elucidation of the mechanism of bactericidal action of silver. *Nanoscale*. 2013;5(16):7328–7340.

Ahmad A., Senapati S., Khan M.I., Kumar R., Ramani R., Srinivas V., Sastry, M. Intracellular synthesis of gold nanoparticles by a novel alkalotolerant actinomycete *Rhodococcus* species. *Nanotechnology* 2003; 14, 824–828.

Ahmad A., Senapati S., Khan M.I., Kumar R., Sastry M. Extra-/intracellular, biosynthesis of gold nanoparticles by an alkalotolerant fungus, *Trichothecium* sp. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2005; 1, 47–53.

Alanazi F.K., Radwan A.A., Alsarra, I.A. Biopharmaceutical applications of nanogold. *Saudi Pharm. J.* 2010; 18, 179–193.

Alexandridis P. Gold nanoparticle synthesis, morphology control, and stabilization by functional polymers. *Chem. Eng. Technol.* 2011; 14, 15–38.

Amendola V. ve Meneghetti M. Size Evaluation of Gold Nanoparticles by UV-vis Spectroscopy. *J. Phys. Chem. C* 2009; 113, 4277–4285.

Ai J., Biazar, E., Jafarpour M., Montazeri M., Majdi A., Aminifard S., Zafari M., Akbari, H.R., Rad, H.G. Nanotoxicology and nanoparticle safety in biomedical designs. *Int. J. Nanomed.* 2011; 6, 1117–1127.

Akiyama H., Oono T., W. K. Huh, Yamasaki O., Ogawa S., Katsuyama M., Ichikawa H., Iwatsuki K. Actions of farnesol and xylitol against *Staphylococcus aureus*. *Chemotherapy* 2002; 48:122–128.

Alayoglu S., Nilekar A. U., Mavrikakis M. & Eichhorn, B. Ru–Pt core–shell nanoparticles for preferential oxidation of carbon monoxide in hydrogen. *Nat. Mater.* 7, 2008; 333–338.

Ando E., Monden K., Mitsuhashi R., Kariyama R., Kumon H. Biofilm formation among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from patients with urinary tract infection. *Acta Med. Okayama.* 2004; 58:207–214.

Angeliki Kourmouli A., Valenti M., Rijn E., Beaumont H. J. E., Kalantzi OI., Schmidt-Ott A., Biskos G. Can disc diffusion susceptibility tests assess the antimicrobial activity of engineered nanoparticles? *J Nanopart Res* 2018; 20: 62.

Anwar H., Strap J. L., Costerton J. W. Eradication of biofilm cells of *Staphylococcus aureus* with tobramycin and cephalexin. *Can. J. Microbiol.* 1992; 38:618–625.

Aslan K., Perez-Luna V. H. Surface Modification of Colloidal Gold by Chemisorption of Alkanethiols in the Presence of a Nonionic Surfactant. *Langmuir.* 2002; 18:6059–6065.

Bae J., Baek K., Yuan D., Kim W., Kim K., Zhou H., Park J. Reversible photoreduction of Cu(II)–coumarin metal–organic polyhedra *Chemical Communications.* 2017, Issue 66.

Bang RL, Mosbah KM. Epidemiology of burns in Kuwait. *Burn Including Thermal Injury* 1998; 14: 194-200.

Bar H., Bhui D.K., Sahoo G.P., Sarkar P., de Sankar P., Misra A. Green synthesis of silver nanoparticles using latex of *Jatropha curcas*. *Colloids Surf. A* 2009; 339, 134–139.

Barrillo DJ, McManus AT. Infection in burn patients. In: Cohen J, Powderly WG (eds). *Infectious Disease*. 2nd ed. Elsevier Limited, 2004; 903-13.

Barillo D., J., Marx D., E. Silver in medicine: a brief history BC 335 to present. *Burns*. 2014; 40.

Fredj HB., Helali S., Esseghaier C., Vonna L., Vidal L., Abdelghani A. Labeled magnetic nanoparticles assembly on polypyrrole film for biosensor applications. *Talanta*. 2008; 75(3):740–747.

Basavegowda N., Rok L. Y. Synthesis of silver nanoparticles using Satsuma mandarin (Citrusunshiu) peel extract: A novel approach towards waste utilization. *Material Letters*. 2013; 109, 31–33.

Bhattacharya R., Murkherjee P. Biological properties of “naked” metal nanoparticles. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2008; 60, 1284–1306.

Bhumkar D.R., Joshi H.M., Sastry M., Pokharkar, V.B. Chitosan reduced gold nanoparticles as novel carriers for transmucosal delivery of insulin. *Pharm. Res.* 2007; 24, 1415–1426.

Bhatia R., Pathania S., Singh V., Raval K. R. Metal-catalyzed synthetic strategies toward coumarin derivatives *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2018; Volume 54, Issue 3, pp 280–291.

Birnbaum A.J., Pique A. Laser induced extra-planar propulsion for three dimensional microfabrication. *Appl. Phys. Lett.* 2011; 98, 134101–134106.

Brayner R., Dahoumane S.A., Yepremian C., Djediat C., Meyer M., Coute A. ZnO Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Ecotoxicological Studies. *Langmuir* 2010; 26:6522–8.

Brendler T., van Wyk B.-E., Ahistorical, scientific and commercial perspective on the medicinal use of *Pelargonium sidoides* (Geraniaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 2008; 119,420–433.

Byrd A. L., Deming C., Cassidy S. K. B., Harrison O. J., Ng W. I., Conlan S., Belkaid Y., Segre J A., Kong H. H., *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*

strain diversity underlying pediatric atopic dermatitis. *Sci. Transl. Med.* 9, 2017; 14651.

Cai W., Gao T., Hong H., Sun J. Applications of gold nanoparticles in cancer nanotechnology. *Nanotechnol. Sci. Appl.* 2008; 1, 17–32.

Cao G. *Nanostructures and Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications*, Imperial College Press: London, UK, 2004.

Chen W., Cai W., Zhang L., Wang G., Zhang L. Sonochemical processes and formation of gold nanoparticles within pores of mesoporous silica. *J. Colloid Interface Sci.* 2001; 238, 291–295.

Chen D., Li C., Liu H., Ye F., Yang J. Core-shell Au@Pd nanoparticles with enhanced catalytic activity for oxygen reduction reaction *via* core-shell Au@Ag/Pd constructions. *Scientific Reports* 2015; 5:11949.

CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute). *Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Test. Approved Standard (9th edn)*. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2016; M2-A9.

CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Test. Fifteenth International Supplement*. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2016; M100-S16.

Colling J., Groenewald J.-H., Makunga N.P. Genetic alterations for increased coumarin production lead to metabolic changes in the medicinally important *Pelargonium sidoides* DC (Geraniaceae). *Metabolic Engineering* 2010; 12, 561–572.

Cox S.G., Cullingworth, L., Rode, H. Treatment of paediatric burns with a nanocrystalline silver dressing compared with standard wound care in a burns unit: A cost analysis. *S. Afr. Med. J.* 2011; 101, 728–731.

Cui Y, Zhao Y, Tian Y, Zhang W, L77 X, Jiang X. The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on *Escherichia coli*. *Biomaterials.* 2012; 33(7):2327–2333.

Dameron C.T., Reeser R.N., Mehra R.K., Kortan A.R., Carroll P.J., Steigerwald M.L., Brus L.E., Winge D.R. Biosynthesis of cadmium sulphide quantum semiconductor crystallites. *Nature* 1989; 338, 596–597.

Das R.K., Gogoi N., Bora U. Green synthesis of gold nanoparticles using *Nyctanthes arbortristis* flower extract. *Bioprocess. Biosyst. Eng.* 2011; 34, 615–619.

Davis J, Davis D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 2010; 74:433.

Diekema DJ. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997–1999. *Clin Infect Dis* 2001; 32:S114–S132.

Dubey S.P., Lahtinen M., Sillanpaa M. Tansy fruit mediated greener synthesis of silver and gold nanoparticles. *Process Biochem.* 2010; 45, 1065–1071.

Duguid I. G., Evans E., Brown M. R., Gilbert P. Growth-rate-independent killing by ciprofloxacin of biofilm-derived *Staphylococcus epidermidis*, evidence for cell-cycle dependency. *J Antimicrob Chemother* 1992; 30:791–802.

Duguid IG, Evans E., Brown MR., Gilbert P. Effect of biofilm culture upon the susceptibility of *Staphylococcus epidermidis* to tobramycin. *J Antimicrob Chemother* 1992; 30:803–810.

Erdik E., *Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler*. 2007; Gazi Kitabevi, Ankara, 10, 82 s.

Eustis S., Hsu H.Y., El-Sayed M.A. Gold nanoparticle formation from photochemical reduction of Au₃ by continuous excitation in colloidal solutions: A proposed molecular mechanism. *J. Phys. Chem. B* 2005; 109, 4811–4815.

Fakhri A., Tahami S., Naji M. Synthesis and characterization of core-shell bimetallic nanoparticles for synergistic antimicrobial effect studies in combination with

doxycycline on burn specific pathogens *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* 2017; 169, 21–26.

Faurschou M., Borregaard N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microbes Infect* 2003; 5:1317–1327.

Frattini, A., Pellegrini, N., Nicastro, D., de Sanctis, O. Effect of amine groups in the synthesis of Ag nanoparticles using aminosilanes. *Mater. Chem. Phys.* 2005; 94, 148–152.

Freedman A. D., Keresztes I., Asbury A. L. Metal–coumarin complexes: synthesis and characterization of 7-isocyanocoumarin ligands and $\text{Mo}(\text{CO})_4(7\text{-isocyanocoumarin})_2$ complexes. X-ray crystal structure of $\text{Mo}(\text{CO})_4(7\text{-isocyano-4-trifluoromethylcoumarin})_2$. *Journal of Organometallic Chemistry.* 2002; Volume 642, Issues 1–2 ; 97-106.

Frens G. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions. *Nature Phys. Sci.* 1973; 241:20–22.

Fu G, Vary PS, Lin C-T. Anatase TiO_2 nanocomposites for antimicrobial coatings *J Phys Chem B* 2005; 109:8889–98.

Gericke M., Pinches A. Biological synthesis of metal nanoparticles. *Hydrometallurgy* 2006; 83, 132–140.

Geetha N., Geetha T.S., Manonmani P., Thiyagarajan M. Green Synthesis of silver nanoparticles using *Cymbopogon Citratus* (Dc) Stapf. Extract and its antibacterial activity. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 2014; 8, 324–331.

Ghodake, G., Deshpande, N., Lee, Y., Jin, E. Pear fruit extract-assisted room-temperature biosynthesis of gold nanoplates. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 2010; 75, 584–589.

Goodsell D.S. Bionanomedicine in action. In *Bionanotechnology: Lessons from Nature*, 2004; John Wiley & Sons Inc.: Hoboken, NJ, USA.

Gurunathan S., Raman J., Malek S. N. A, John P. A., Vikineswary S. Green synthesis of silver nanoparticles using *Ganoderma neo-japonicum* Imazeki: a potential cytotoxic

agent against breast cancer cells. *International Journal of Nanomedicine*, 2013; Vol. 8, 4399–4413.

Honary S. ve Zahir F. Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano-Drug Delivery Systems - A Review (Part 2). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* April 2013; 12 (2): 265-273.

Hong S., Choi Y., Park S. Shape control of Ag shell growth on Au nanodisks. *Chem Mat* 2011; 23:5375–5378.

Hu Y., Zhang A., Li H., Qian D., Chen M. Synthesis, Study, and Discrete Dipole Approximation Simulation of Ag-Au Bimetallic Nanostructures. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* 2017; 169, 21–26.

Husseiny M.I., El-Aziz M.A., Badr Y., Mahmoud M.A. Biosynthesis of gold nanoparticles using *Pseudomonas aeruginosa*. *Spectrochim. Acta A*. 2007; 67, 1003–1006.

Huang Y., Yang Z. Measures for preventing early postburn damage improve survival rate of burn patients. *Burns* 2004; 30:808-12.

Huang X., Jian P.K., El-Sayed I.H., El-Sayed M.A. Determination of the minimum temperature required for selective photothermal destruction of cancer cells with the use of immune-targeted gold nano-particles. *Photochem. Photobiol.* 2006; 82, 412–417.

Huang Y., Li X., Liao Z., Zhang G., Liu Q., Tang J., Peng Y., Liu X., Luo Q. A randomized comparative trial between Acticoat and SD-Ag in the treatment of residual burn wounds including safety analysis. *Burns* 2007; 33, 161–166.

Huang, J., Li, Q., Sun, D., Lu, Y., Su, Y., Yang, X., Wang, H., Wang, Y., Shao, W., He, N. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried *Cinnamomum camphora* leaf. *Nanotechnology*. 2007; 18, 1–11.

Hussain S. M., Hess K.L., Gearhart J. M., Geiss K. T., Schlager J. J. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicology In Vitro*. 2005; 19, 975–983

Iravani, S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chem.* 2011; 13, 2638–2650.

Jain N., Bhargava A., Majumdar S., Panwar J. Extracellular biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Aspergillus flavus* NJP08: A mechanism prospective. *Nanoscale* 2011; 3, 635–641.

Jain P. K., Lee K.S., El-Sayed I. H., El-Sayed M. A. Calculated absorption and scattering properties of gold nanoparticles of different size, shape, and composition: applications in biological imaging and biomedicine. *J. Phys. Chem. B.* 2006; 110:7238–7248.

Jain PK., Huang X., El-Sayed IH., El-Sayed MA. Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine. *Acc Chem Res.* 2008; 41(12): 1578–1586.

Jha A.K., Prasad K., Kulkarni A.R. Plant system: Nature's nanofactory. *Colloids Surf. B* 2009; 73, 219–223.

Joerger T.K., Joerger R., Olsson E., Granqvist C.G. Bacteria as workers in the living factor: Metal accumulating bacteria and their potential for materials science. *Trends Biotechnol.* 2001; 19, 15–20.

Ivask A., ElBadawy A., Kaweeteerawat C. Toxicity mechanisms in *Escherichia coli* vary for silver nanoparticles and differ from ionic silver. *ACS Nano.* 2013;8(1):374–386.

Kayser O., Kolodziej H. Antibacterial activity of extracts and constituents of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*. *Planta Medica* 1997; 63,508–510.

Khardori N., Yassien M., Wilson K. Tolerance of *Staphylococcus epidermidis* grown from indwelling vascular catheters to antimicrobial agents. *J Ind Microbiol* 1995; 15:148–151.

Khan S. A., Bello A., Khan J. A., Anwar Y., Mirza M. B., Qadri F., Farooq A., Adam I. K., Asiri A. M., Khan s. B. *Albizia chevalier* based Ag nanoparticles: Anti-

proliferation, bactericidal and pollutants degradation performance. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* 2018; 182, 62–70.

Kolodziej H., Fascinating metabolic pools of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*, traditional and phytomedicinal sources of the herbal medicine Umckalabos. *Phytomedicine* 2007; 14, 9–17.

Kolodziej H., Schulz V. Umckaloabo –Von der traditionellen Anwendung zum modernen Phytotherapeutikum. *Deutsche Apotheker Zeitung* 2003; 143, 1303–1312.

Kowshik M., Arhtaputre S., Kharrazi S., Vogel W., Urban J., Kulkarni S.K., Paknikar K.M. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnology* 2003; 14, 95–100.

Krishnaswamy K., Vali H., Orsat V. Value-adding to grape waste: Green synthesis of gold nanoparticles. *Journal Food Engineering* 2014; 142, 210–220.

Kuber C., Souza S.F. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus fumigates*. *Colloids Surf. B* 2006; 47, 160–164.

Kulkarni N., Muddapur U. Biosynthesis of metal nanoparticles: A review. *J. Nanotechnol.* 2014; ID: 510246.

Kumar P., Singh P., Kumari K., Mozumdar S., Chandra R. A green approach for the synthesis of gold nanotriangles using aqueous leaf extract of *Callistemon viminalis*. *Mater. Lett.* 2011; 65, 595–597.

Kuppusamy P., Yusoff M., Pragas Maniam G., Govindan N. Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications – An updated report. *Saudi Pharmaceutical Journal* 2016; 24, 473–484.

Lee S.W., Mao C., Flynn C., Belcher A.M. Ordering of quantum dots using genetically engineered viruses. *Science* 2002; 296, 892–895.

Lengke M., Southam G. Bioaccumulation of gold by sulphate-reducing bacteria cultured in the presence of gold (I)-thiosulfate complex. *Acta* 2006; 70, 3646–3661.

Li W.R., Xie X.B., Shi Q.S., Duan S.S., Ouyang Y.S., Chen Y.B. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *Biometals* 2011; 24, 135–141.

Liu Y., Xu J., Wang Q., Li MJ. Coupling coumarin to gold nanoparticles by DNA chains for sensitive detection of DNase I. *Anal Biochem.* 2018; 555:50-54.

Losso J.N., Khachatryan A., Ogawa M., Godber J.S., Shih F. Random centroid optimization of phosphatidylglycerol stabilized lutein-enriched oil-in-water emulsions at acidic pH. *Food Chem.* 2005; 92, 737–744.

Mafune F., Kohno J., Takeda Y., Kondow T.J. Dissociation and aggregation of gold nanoparticles under laser irradiation. *J. Phys. Chem. B* 2001; 105, 9050–9056.

Mahendran G., Ponnuchamy K. Coumarin–gold nanoparticle bioconjugates: preparation, antioxidant, and cytotoxic effects against MCF-7 breast cancer cells. *Applied Nanoscience.* 2018; Mart, Volume 8, Issue 3, pp 447–453.

Marshall A.T., Haverkamp R.G., Davies C.E., Parsons J.G., Gardea-Torresdey J.L., van Agterveld D. Accumulation of gold nanoparticles in *Brassic juncea*. *Int. J. Phytoremed.* 2007; 9, 197–206.

Matthys H., Kamin W., Funk P., Heger M., *Pelargonium sidoides* preparation (EPss7630) in the treatment of acute bronchitis in adults and children. *Phytomedicine* 2007; 14, 69–73.

Mayhall CG. The epidemiology of burn wound infections: Then and now. *Clin Infect Dis* 2003; 37:543-50.

Merzlyak A., Lee S.W. Phage as template for hybrid materials and mediators for nanomaterials synthesis. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2006; 10, 246–252.

Meyers M.A., Mishra A., Benson D.J. Mechanical properties of nanocrystalline materials. *Prog. Mater. Sci.* 2006; 51, 427–556.

Miedzobrodzk, J., Kaszycki P., Bialecka A. & Kasproicz A. Proteolytic activity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from the colonized skin of patients with acute-phase atopic dermatitis. *European journal of clinical microbiology & infectious*

diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology, 2002; 21, 269–276.

Millstone JE., Hurst SJ., Mraux GS., Cutler JL., Mirkin CA. Colloidal gold and silver triangular nanoprisms. *Small*. 2009;5(6):646–664.

Mohanpuria P., Rana N.K., Yadav S.K. Biosynthesis of nanoparticles: Technological concepts and future applications. *J. Nanopart. Res.* 2008; 10, 507–517.

Mondal S., Roy, N., Laskar R.A., Sk, I., Basu S., Mandal D., Begum N.A. Biogenic synthesis of Ag, Au and bimetallic Au/Ag alloy nanoparticles using aqueous extract of mahogany (*Swietenia mahogani* JACQ) leaves. *Colloids Surf. B* 2011; 82, 497–504.

Moro J. A., Rome B., Aguiló E., Arcau J., Puttreddy R., Rissanen K., Lima J. C., Rodríguez L. A coumarin based gold(I)-alkynyl complex: a new class of supramolecular hydrogelators. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2015, Issue 7.

Mukherjee P., Ahmad A., Mandal D., Senapati S., Sainkar S.R., Khan M.I., Parishcha R., Aiayumar P.V., Alam M., Kumar R. Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelia matrix: A novel biological approach to nanoparticles synthesis. *Nano Lett.* 2001; 1, 515–519.

Mujahid M., Trendafilova N., FoltynArfa-Kia A., Rosair G., Devereux M., Walsh M., McClean S., Creaven B. S., Georgieva I., Novel silver(I) complexes of coumarin oxyacetate ligands and their phenanthroline adducts: Biological activity, structural and spectroscopic characterization. *Journal of Inorganic Biochemistry* Volume 163, 2016; Pages 53-67.

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

Naraginti S., Sivakumar A. Eco-friendly synthesis of silver and gold nanoparticles with enhanced bactericidal activity and study of silver catalyzed reduction of 4-nitrophenol. *Spectrochimica Acta: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2014; 128, 357-362.

Narayanan K.B., Sakthivel N. Coriander leaf mediated biosynthesis of gold nanoparticles. *Mater. Lett.* 2008; 62, 4588–4590.

Neumann R.G., Hagiladi A. Plant Growth and Cutting Production of Container-grown *Pelargonium* Stock Plants as Affected by N Concentration and N Form. *J. Amer. Soc. Hort. SCI.* 1992; 117(2):234-238.

Njagi E.C., Huang H., Stafford L., Genuino H., Galindo H.M., Collins J.B., Hoag G.E., Sulb S.L. Biosynthesis of iron and silver nanoparticles at room temperature using aqueous Sorghum bran extracts. *Langmuir* 2010; 27, 264–271.

Noble WC. Skin bacteriology and the role of *Staphylococcus aureus* in infection. *British Journal of Dermatology* 1998; 139:9–12.

Oncul O., Yuksel F., Altunay H., Acikel C., Celikoz B., Cavuslu S. The evaluation of nosocomial infection during 1-year-period in the burn unit of a training hospital in Istanbul, Turkey. *Burns* 2002; 28: 738-44.

Otto Rogers K. L., Fey PD., Rupp ME. Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infect Dis Clin North Am* 2009; 23: 73–98.

Paciotti G.F., Mayer L., Weinreich D., Goia D., Pavel N., McLaughlin R.E., Tamarkin L. Colloidal gold: A novel nanoparticle vector for tumour directed drug delivery. *Drug Deliv.* 2006; 11, 169–183.

Palza H. Antimicrobial Polymers with Metal Nanoparticles. *Int J Mol Sci* 2015; 16:2099–116.

Parak W.J., Gerion D., Pellegrino T., Zanchet D., Micheel C., Williams S.C., Boudreau R., Le Gros M.A., Larabell G.A., Alivisatos A.P. Biological applications of colloidal nanocrystals. *Nanotechnology* 2003; 14, 15–27.

Parham S., Wicaksono D. H., Bagherbaigi S., Lee S. L., Nur H. Antimicrobial Treatment of Different Metal Oxide Nanoparticles: A Critical Review *J Chin Chem Soc* 2016; 63:385–93.

Patiroglu T., Tunc A., Gungor H., Unal E. The efficacy of *Pelargonium sidoides* in the treatment of upper respiratory tract infections in children with transient hypogammaglobulinemia of infancy. *Phytomedicine* 19, 2012; 958–961.

Paul J. A. J., Selvi B. K., Karmegam N. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Premna serratifolia* L. leaf and its anticancer activity in CCl₄-induced hepatocancerous Swiss albino mice,” *Applied Nanoscience*, 2015; Vol. 5, no. 8, pp. 937–944.

Pereira C. T., Murphy K. D., Herndon D. N. Altering metabolism. *J Burn Care Rehabil* 2005; 26:194-9.

Petosa A. R., Jaisi D. P., Quevedo I. R., Elimelech M., Tufenkji N. Aggregation and deposition of engineered nanomaterials in aquatic environments: role of physicochemical interactions. *Environ Sci Technol* 2010; 44:6532–49.

Philip D. Green synthesis of gold and silver nanoparticles using *Hibiscus Rosa sinensis*. *Phys. E* 2010; 42, 1417–1424.

Poinern G.E.J. *A Laboratory Course in Nanoscience and Nanotechnology*, 1st ed., CRC Press Taylor & Francis: Boca Raton, FL, USA, 2014.

Poinern G.E.J., Shah M., Chapman P., Fawcett D. Green biosynthesis of silver nanocubes using the leaf extracts from *Eucalyptus macrocarpa*. *Nano Bull.* 2013; 2, 1–7.

Prabhu D., Arulvasu C., Babu G., Manikandan R., Srinivasan P. Biologically synthesized green silver nanoparticles from leaf extract of *Vitex negundo* L. induce growth-inhibitory effect on human colon cancer cell line HCT15. *Process Biochemistry*, 2013; Vol. 48, no. 2, pp. 317–324.

Puvanakrishnan P., Park J., Chatterjee D., Krishnan S., Tunnel J.W. In vivo tumor targeting of gold nanoparticles: Effect of particle type and dosing strategy. *Int. J. Nanomed.* 2012; 7, 1251–1258.

Puttipipatkachorn S., Nunthanid J., Yamamoto K., Peck G. E. Drug physical state and drug–polymer interaction on drug release from chitosan matrix films. *J. Control. Release* 2001; 75: 143–153.

Rao C., Kulkarni G., Thomas P. J., Edwards P. P. Size-dependent chemistry: properties of nanocrystals. *Chem A Eur J* 2002; 8: 28.

Rao V. P., Nallappan D., Madhavi K., Rahman S., Wei L. J., Gan S. H. Phytochemicals and Biogenic Metallic Nanoparticles as Anticancer Agents. *Oxidative Medicine and Cell Longevity*. 2016; 2016: 3685671.

Ramalingam B., Parandhaman T., Das K. S. Antibacterial Effects of Biosynthesized Silver Nanoparticles on Surface Ultrastructure and Nanomechanical Properties of Gram Negative Bacteria viz. *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 2016; 8, 4963–4976.

Ramasamy M., Lee JH., and Lee J. Potent antimicrobial and antibiofilm activities of bacteriogenically synthesized gold–silver nanoparticles against pathogenic bacteria and their physicochemical characterizations. *Journal of Biomaterials Applications* 2016; Vol. 31(3) 366–378.

Rice S. A., McDougald D., Kumar N., Kjelleberg S. The use of quorum-sensing blockers as therapeutic agents for the control of biofilm associated infections. *Curr. Opin. Investig. Drugs* 2005; 6:178–184.

Rodríguez-Sánchez L., Blanco M.C., Lopez-Quintela M.A. Electrochemical synthesis of silver nanoparticles. *J. Phys. Chem. B* 2002; 104, 9683–9688.

Rotschafer J. C., Andes D. R., Rodvold K. *Methods in Pharmacology and Toxicology, Antibiotic Pharmacodynamics*, Springer New York Heidelberg Dordrecht London © Springer Science+Business Media New York; 2016.

Roh Y., Lauf R.J., McMillan A.D., Zhang C., Rawn C.J., Bai J., Phelps T.J. Microbial synthesis and the characterization of metal-substituted magnetites. *Solid State Commun.* 2001; 118, 529–534.

Sandholm L. Proteases and their inhibitors in chronic inflammatory periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 1986; 13:19–26.

Sastry M., Ahmad A., Khan M.I., Kumar R. Biosynthesis of metal nanoparticles using fungi and actinomycete. *Curr. Sci.* 2003; 85, 162–170.

Sawant K., Dodiya S. Recent Advances and Patents on Solid Lipid Nanoparticles. *Recent Pat. Drug Deliv. Formul.* 2008; 2: 120-135.

Sepeur S. Nanotechnology: Technical Basics and Applications, Vincentz Network GmbH & Co: Hannover, Germany, 2008.

Serpell C. J., Cookson J., Ozkaya D., Beer P. D. Core@shell bimetallic nanoparticle synthesis via anion coordination. *Nat. Chem.* **3**, 2011; 478–483.

Sheridan R. L. Sepsis in pediatric burn patients. *Pediatr Crit Care Med* 2005; 6:112-9.

Shankar S.S., Rai A., Ahmad A., Sastry M. Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *J. Colloid Interface Sci.* 2004; 275, 496–502.

Shaw L., Golonka E., Potempa J., Foster S. J. The role and regulation of the extracellular proteases of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology* 2004; 150, 217–228.

Sheny D.S., Mathew T., Philip D. Phytosynthesis of Au, Ag and Au-Ag bimetallic nanoparticles using aqueous extract and dried leaf of *Anacardium occidentale*. *Spectrochim. Acta A.* 2011; 79, 254–262.

Simon-Deckers A., Loo S., Mayne-L'hermite M.N., Herlin-Boime N., Menguy N., Reynaud C., Gouget B., Carrière M. Size composition and shape dependent toxicological impact of metal oxide nano-particles and carbon nano-tubes toward bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 2009; 43, 8423–8429.

Sieprawska-Lupa, M. Degradation of human antimicrobial peptide LL-37 by *Staphylococcus aureus*-derived proteinases. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48, 4673–4679.

Singh, C., Sharma, V., Naik, P.K., Khandelwal, V., Singh, H. A green biogenic approach for synthesis of gold and silver nanoparticles using *zingiber officinale*. *Dig. J. Nanomat. Bios.* 2010; 6, 535–542.

Singh H., Du J., Singh P., Yi T. H. Ecofriendly synthesis of silver and gold nanoparticles by *Euphrasia officinalis* leaf extract and its biomedical applications, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*; 2017.

Singh R., Nawale L., Arkile M., Wadhvani S., Shedbalkar A., Chopade S., Sarkar D., Chopade B. A. Phytogetic silver, gold, and bimetallic nanoparticles as novel antitubercular agents. *International Journal of Nanomedicine* 2016; 11 1889–1897.

Sondi I., Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J. Colloid Interface Sci.* 2004; 275, 177–182.

Sotiriou G.A., Pratsinis S.E. Engineering nanosilver as an antibacterial, biosensor and bioimaging material. *Curr. Opin. Chem. Eng.* 2011; 1, 3–10.

Sperling R.A., Gil P.R., Zhang F., Zanella M., Parak W.J. Biological applications of gold nanoparticles. *Chem. Soc. Rev.* 2008; 37, 1896–1908.

Starowiicz M., Stypula B., Banas, J. Electrochemical synthesis of silver nanoparticles. *Electrochem. Commun.* 2006; 8, 227–230.

Stewart P. S., Costerton J. W. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* 2001; 358:135–138.

Swami A., Selvakannan P.R., Pasricha R., Sastry M. One-step synthesis of ordered two dimensional assemblies of silver nanoparticles by the spontaneous reduction of silver ions by pentadecylphenol Langmuir monolayers. *J. Phys. Chem. B* 2004; 108, 19269–19275.

Takeuchi S., Kinoshita T., Kaidoh T., Hashizume N., “Purification and characterization of protease produced by *Staphylococcus aureus* isolated from a diseased chicken”, *Vet. Microbiol.*, 1999; 67: 195-202.

Taneja N., Emmanuel R., Chari P. S., Sharma M. A prospective study of hospital-acquired infections in burn patients at a tertiary care referral centre in North India. *Burns* 2004; 30: 665-9.

Tedsree, K. Hydrogen production from formic acid decomposition at room temperature using a Ag–Pd core–shell nanocatalyst. *Nature Nanotechnology* 2011; 302–307.

Thakkar K. N., Mhatre S.S., Parikh R.Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanotechnol. Biol. Med. Nanomed.* 2010; 6, 257–262.

Thati B., Noble A., Rowan R., Creaven B. S., Walsh M., McCann M., Egan D., Kavanagh K. Mechanism of action of coumarin and silver(I)-coumarin complexes against the pathogenic yeast *Candida albicans*. *Toxicol In Vitro.* 2007; Aug; 21(5):801-8.

Tiede K., Hassellöv M., Breitbarth E., Chaudhry Q, Boxall AB. Considerations for environmental fate and ecotoxicity testing to support environmental risk assessments for engineered nanoparticles. *J Chromatogr A* 2009; 1216: 503–9.

Torres-Chavolla E., Ranasinghe R.J., Alocilja E.C. Characterization and functionalization of biogenic gold nanoparticles for biosensing enhancement. *IEEE Trans. Nanobiotechnol.* 2010; 9, 533–538.

Treguer M., Cointet C., Remita H., Khatouri J., Mostafavi M., Amblard J., Belloni J.J. Dose rate effect on radiolytic synthesis of gold-silver bimetallic clusters in solution. *J. Phys. Chem. B* 1998; 102, 4310–4321.

Tsai TT., Huang TH., Chang CJ., Yi-Ju N., Tseng YT., Chen CF. Antibacterial cellulose paper made with silver-coated gold nanoparticles *Scientific Reports*, 2017;7: 3155.

Turkevich J., Stevenson P.C., Hillier J. Discuss. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold *Faraday Soc.* 1951; 11:55–75.

Umashankar T., Govindappa M., Ramachandra YL., Padmalatha Rai S., Channabasava. Isolation and Characterization of Coumarin Isolated from Endophyte, *Alternaria* Species -1 of *Crotalaria pallida* and Its Apoptotic Action on HeLa Cancer Cell Line. *Metabolomics* 2015, 5:4.

Ülkür E., Öncül O., Karagöz H., Yeniiz E., Çavuşlu Ş., Çeliköz B. Deneysel olarak yanık oluşturulup metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ile infekte edilen ratlarda gümüş içeren pansuman (Acticoat), %0.5 klorheksidin asetat (Bactigrass) ve %2 fusidik asit topikal antibakteriyel etkilerinin karşılaştırılması. 20. ANKEM Klinikler ve Tıp Bilimleri Kongresi, Kemer-Antalya, 22-26 Mayıs 2005.

Vasir J .K. ve Labhassetwar V. Quantification of the force of nanoparticle–cell membrane interactions and its influence on intracellular trafficking of nanoparticles. *Biomaterials* 2008; 29, 4244–4252.

Vimbela G., Ngo S. M., Frazee C., Yang L., Stout D.A. Antibacterial properties and toxicity from metallic nanomaterials. *International Journal of Nanomedicine*. 2017; 12 3941–3965.

Wang L., Chen X., Zhan J., Chai Y., Yang C., Xu L., Zhuang W., Jing B. Synthesis of gold nano and microplates in hexagonal liquid crystals. *J. Phys. Chem. B*. 2005; 109, 3189–3194.

Wertheim H. F., Melles D. C., Vos M. C., van Leeuwen W., van Belkum A., Verbrugh H. A., Nouwen J. L. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*. 2005; 5: 751–762.

Wilson O. M., Scott R.W.J., Garcia-Martinez J. C., Crooks R.M. Synthesis, characterization, and structure-selective extraction of 1-3-nm diameter AuAg dendrimer-encapsulated bimetallic nanoparticles. *J Am Chem Soc* 2005; 127:1015–1024.

Kloos W. E., Musselwhite M. S., Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin. *Appl. Microbiol*. 1975; 30, 381–385.

Yamasaki K. *et al.* Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. 2007; *Nat Med* 13, 975–980.

Yang N., Wei-Hong L., Hao L. Biosynthesis of Au nanoparticles using agricultural waste mango peel extract and it's in vitro cytotoxic effect on two normal cells. *Material. Letters* 2014;134, 67–70.

Ye F. Heterogeneous Au-Pt nanostructures with enhanced catalytic activity toward oxygen reduction. *Dalton Trans.* 41, 2012; 2898–2903.

You H., Yang S., Ding B., Yang H. Synthesis of colloidal metal and metal alloy nanoparticles for electrochemical energy applications. *Chem. Soc. Rev.* 2013; 42, 2880–2904.

Yuan X. Development of palladium surface-enriched heteronuclear Au–Pd nanoparticle dehalogenation catalysts in an ionic liquid. *Chem. Eur. J.* 19, 2013; 1227–1234.

Zhang H., Chen B., Banfield J. F. The size dependence of the surface free energy of titania nanocrystals. *J Phys Chem Chem Phys* 2009; 14:14876–84.

Zhang Y., Chen Y., Westerhoff P., Hristovski K., Crittenden J. C. Stability of commercial metal oxide nanoparticles in water. *Water Res.* 2008; 42:2204–12.

Zhang G., Wang D. J. Fabrication of heterogeneous binary arrays of nanoparticles via colloidal lithography. *J. Am. Chem. Soc.* 2008; 130, 5616–5617.

Zhao P., Li N., Astruc D. State of the art in gold nanoparticle synthesis. *Coordination Chemistry Reviews.* 257 2013; 638-665.

Zhang Q., Yin Y. Beyond spheres: Murphy's silver nanorods and nanowires. *Chem Commun.* 2013; 49(3):215–217.

Zhang Z., Zhang J., Zhang B., Tang J. Mussel-inspired functionalization of graphene for synthesizing Ag-polydopamine-graphene nanosheets as antibacterial materials. *Nanoscale.* 2013; 5(1):118–123.

Zhang W., Li Y., Niu J., Chen Y. Photogeneration of reactive oxygen species on uncoated silver, gold, nickel, and silicon nanoparticles and their antibacterial effects. *Langmuir.* 2013; 29(15):4647–4651.

Zhou Y., Kong Y., Kundu S., Cirillo JD., Liang H. Antibacterial activities of gold and silver nanoparticles against *Escherichia coli* and bacillus Calmette-Guérin. *J Nanobiotechnology.* 2012; 10(1):1.

Zhou J., Ralston J., Sedev R., Beattie A. D. Functionalized gold nanoparticles: Synthesis, structure and colloid stability. *Journal of Colloid and Interface Science* 331 2009; 251-262.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	MUSLİME	Uyruğu	TC
Soyadı	TANRİSEVEN	Tel no	506 2569004
Doğum tarihi	08.03.1979	e-posta	muslime2006@yahoo.com

Eğitim Bilgileri

	Mezun olduğu kurum	Mezuniyet yılı
Lise	Antalya Anadolu Lisesi	1995
Lisans	Ankara Üniversitesi Biyoloji	2000
Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi Biyoloji	2006
Doktora		

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Fen Bilgisi Öğretmeni/ Biyoloji Öğretmeni	Antalya Pİ Dershanesi	2003-2004
Fen Bilgisi Öğretmeni/ Biyoloji Öğretmeni	Vahap Yılmaz Dershanesi	2004-2006
Biyoloji Öğretmeni	Antalya Yorum Dershanesi	2006-2010
Araştırmacı	Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü	2011-

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	IELTS / YDS	6.5 / 73.75
Rusça	Birinci Kademe	

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Enkapsüle Edilen <i>Origanum minutiflorum</i> ve <i>Citrus sinensis</i> Uçucu Yağları ve İzole Edilen Karvakrol' ün in Vitro Salım Davranışlarının Belirlenmesi	TAGEM	2017-2019

Batı Akdeniz Bölgesinde Yayılış Gösteren Endemik Bazı Thymus ve Origanum Türlerine Ait Uçucu Yağların Antibakteriyal ve Antifungal Özelliklerinin Belirlenmesi	TAGEM	2014-2016
Farklı Ön Uygulamaların ve Muhafaza Koşullarının 'Hicaznar' Nar Çeşidinin Depo Ömrü ve Meyve Kalitesi Üzerine Etkileri	TAGEM	2015-2017
Bazı Uçucu Yağlar ve Antioksidan Bileşiklerin Kurutulmuş Domateslerin Ürün Kalitesi ve Raf Stabilitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması	TAGEM	2014-2016
Bazı Ticari Tıbbi ve Aromatik Bitki Yağlarının Kalite Özelliklerinin Araştırılması	TAGEM	2013-2014
Türkiye'nin Batı Akdeniz Bölgesi'nde Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Korunması ve Kültürü	FAO	2012-2014
Mainstreaming Biodiversity Conservation and Sustainable for Improved Human Nutrition and Well Being	GEF	2013-2018
Türkiye'de Doğal Olarak Yetişen Bazı Endemik Türlerin Klasik ve Biyoteknolojik Yöntemlerle Kültüre Alınması ve Ekonomiye Kazandırılması	Çukurova Üniversitesi, BAP	2013-2014
Çiriş otu (<i>Asphodelus aestivus</i> Brot. Liliaceae) Yumru Özütünün Meme Kanseri (MDA-MB-231) Hücreleri Üzerine Olan <i>in vitro</i> Sitotoksik Etkisinin Araştırılması	TÜBİTAK	2008-2009

Burslar-Ödüller:

1- Research on Medicinal and Aromatic Plants/ İkincilik Ödülü/2012.

2- Research on Medicinal and Aromatic Plants/ İkincilik Ödülü/2014.

3- Fungal Taxonomy and Molecular Diagnosis Techniques, Fungal Genetic Research Group, School of Life Sciences, University of Nottingham, Nottingham, United Kingdom. 31 Aralık 2015-30 Mart 2016.

4- IDB- Merit Scholarship Programme for High Technology (MSP)- 3 year PhD programme/2017.

Yayınlar ve Bildiriler:

1-Chemical Composition of the *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* (Borbas) Jalas Essential Oil, From Turkey, BEWS,3-5 April 2017.

2-Screening Antibacterial Activity of *Thymus sipyleus* Boiss. subsp. *rosulans* (Borbas) Jalas Essential Oil Against Human Pathogens, BEWS,3-5 April 2017.

3-Chemical Composition of the *T. cherleroides* var. *isauricus* Jalas Essential Oil, from Turkey. 11th International Symposium on the Natural Compounds, 01.06.2016, Antalya.

4-Determination the Antibacterial Activity of *Stevia rebaudiana* Essential Oil, The Second Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants-International, 22.04.2015.

5-The Composition and the Antibacterial Activity of the Essential Oil Of *Echinophora tenuifolia* from Turkiye, The Second Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants-International, 22.04.2015.

6-Determination of Total Phenolic and Total Flavonoid Content of *Phlomis Lycia*, The Second Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants-International, 22.04.2015.

7-Antibacterial Activity and Essential Oil Composition of the *Achillea wilhelmsii* C. Koch, from Turkey. 11th International Symposium on the Natural Compounds. 1-4 October 2015, Antalya, Turkey.

8-Determination of Essential Oil Components and Antibacterial Activity of *Laurus nobilis* Leaves, 45th International Symposium Essential Oils, 07.06.2014.

9- Türkiye’de Tıbbi Aromatik Bitkiler, Biosağlık ve Ekonomisi, TAGEM, Ankara.

Poster Bildiri

1-*Origanum vulgare subs. hirtum* Uçucu Yağının Bileşenlerinin ve Antibakteriyel Aktivitesinin İncelenmesi, III. Tıbbi Bitkiler Sempozyumu, 4-6 Ekim 2016, Antalya

2-*Sideritis argyrea* Uçucu Yağ ve Ekstraktının Antimikrobiyal Aktivitesinin İncelenmesi, III. Tıbbi Bitkiler Sempozyumu, 4-6 Ekim 2016, Antalya

3-*Pelargonium graveolens* Uçucu Yağ ve Ekstraktının Antibakteriyel Aktivitesinin İncelenmesi, III. Tıbbi Bitkiler Sempozyumu, 4-6 Ekim 2016, Antalya

4-Farklı Dönemlerde Toplanan *Schinus molle* Yapraklarının Uçucu Yağ Bileşimi ve Antimikrobiyal Aktivitesinin İncelenmesi, 21. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 28.05.2014, Ürgüp.

5-Ticari Kekik Yağından İzole Edilen Karvakrolün Antibakteriyel Etkinliğinin İncelenmesi, 21. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 28.05.2014, Ürgüp.

6-*Asphodelus aestivus* Brot. Liliaceae Tuber Ekstraktının MDA-MB 231 Meme Kanseri Üzerine Sitotoksik Etkisi. 20. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 13.10.2012, Antalya, Çolaklı.

7-Antalya Florasında Doğadan Toplanan ve Kültüre Alınan *Sideritis stricta* Türünün Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, 13.09.2012, Tokat.