T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI *SIDERITIS* EKSTRELERİ KULLANILARAK YEŞİL SENTEZ İLE TEKLİ VE HİBRİD NANOMATERYALLERİNİN SENTEZİ VE BUNLARIN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ

Ramazan CEYLAN

DOKTORA TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalını

Temmuz-2020
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Ramazan CEYLAN tarafından hazırlanan "BAZI *SIDERITIS* EKSTRELERİ KULLANILARAK YEŞİL SENTEZ İLE TEKLİ VE HİBRİD NANOMATERYALLERİNİN SENTEZİ VE BUNLARIN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ" adlı tez çalışması 09/07/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	**İmza**
Başkan Prof. Dr. Leyla KALYONCU	…….
Danışman Prof. Dr Abdurrahman AKTÜMSEK .	…….
Üye Doç Dr. Mustafa YÖNTEM	…….
Üye Doç Dr. Mehtap AKIN	…….
Üye Dr. Öğr. Üyesi Emel ÇAKMAK	…….

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Sait GEZGİN
FBE Müdürü

Bu tez çalışması S.Ü. BAP tarafından 18201165 nolu proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

DOKTORA TEZİ

BAZI SIDERITIS EKSTRELERİ KULLANILARAK YEŞİL SENTEZ İLE TEKLİ VE HİBRİD NANOMATERYALLERİNİN SENTEZİ VE BUNLARIN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ

Ramazan CEYLAN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK

2020, 150 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK
Prof. Dr. Leyla KALYONCU
Doç Dr. Mustafa YÖNTEM
Doç Dr. Mehtap AKIN
Dr. Öğr. Üyesi Emel ÇAKMAK

Nanoteknoloji alanı çoğunlukla biyoloji, fizik, kimya ve malzeme bilimlerini kapsar, ancak biyomedikal ve farmasötik uygulamalar için yeni terapötik nanomalzemeler geliştirir. Nanopartiküllerin sentezi fiziksel, kimyasal ve biyolojik veya yeşil sentez yöntemleriyle gerçekleştirilir. Nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal tekniklerle sentezi oldukça pahalıdır ve çevreye potansiyel olarak zararlı olduğu bilinmektedir.

Son zamanlarda, bitki ekstreleri kullanılarak metal nanopartiküllerin biyosentezi üzerine yapılan çalışmalar önemli ölçüde artmıştır. Bitki metabolitleri çevre dostu bir şekilde metalik nanopartiküllerin üretimini uyarır. Bitki kaynaklı nanopartiküllerin farmasötikler, terapotikler, sürdürülebilir ve yenilenebilir enerjiler gibi çeşitli alanlarda kullanılabilme potansiyeli oldukça yüksektir. Gelecekte bitkiler, sağlık ve ticari ürünlerde metalik nanopartiküllerin sentezi için oldukça geniş bir perspektife sahiptir.

Bu çalışmada üç *Sideritis* (*S. argyrea, S. brevidens* ve *S. lycia*) türü kullanılarak, yeşil sentez ile Au, Ag, Fe metal NP'leri ve Cu hibrid nanoyapıları sentezlenmiştir. Sentezlenen bu yapıların karakterizasyonu UV-Vis, FTIR, SEM, TEM, XRD ve EDX ile gerçekleştirilmiştir. Yeşil sentez ile sentezlenen bu yapıların global sağlık problemlerinden olan Alzheimer, diabet ve deri hastalıkları ile ilişkili enzimlerin inhibisyon testleri gerçekleştirildi. Au NP'leri tüm örnekler içinde en iyi BChE ihibisyon aktivitesine sahiptir (12.57-11.66 mgGA/g). Tüm örnekler içerisinde KA FeNP (866.38 mgAKA/g) en yüksek glukozidaz inhibisyonu aktivitesine sahiptir. Elde edilen sonuçlar, nanoparçacıkların ve hibrid nanoyapıların önemli enzim inhibitör aktivitesinin farmasötik alanlara uygulanabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Enzim inhibisyonu, Nanopartiküller, Hibrid nanoyapılar, *Sideritis*

ABSTRACT

Ph.D THESIS

SYNTHESIS OF SINGLE AND HYBRID NANOMATERIAL USING SOME *SIDERITIS* EXTRACTS VIA GREEN SYNTHESIS AND THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES

Ramazan CEYLAN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
DOCTOR OF PHILOSOPHY

Advisor: Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEL

2020, 150 Pages

Jury
Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK
Prof. Dr. Leyla KALYONCU
Assoc Prof. Dr. Mustafa YÖNTEM
Assoc Prof. Dr. Mehtap AKIN
Assist Prof. Dr. Emel ÇAKMAK

The nanotechnology field mostly related to biology, physics, chemistry and materials sciences. However, it also develops new therapeutic nanomaterials for biomedical and pharmaceutical applications. Synthesis of nanoparticles is carried out by physical, chemical and biological or green synthesis methods. Synthesis of nanoparticles by physical and chemical techniques is quite expensive and is known to be potentially harmful to the environment.

Recent in times, studies on the biosynthesis of metal nanoparticles using plant extracts have increased significantly. Plant metabolites stimulate the production of metallic nanoparticles in an environmentally friendly way. The potential of plant-derived nanoparticles to be used in various fields such as pharmaceuticals, therapeutics, sustainable and renewable energies is quite high. In the future, plants have a very broad perspective for the synthesis of metallic nanoparticles in health and commercial products.

In this study, Au, Ag, Fe metal NPs and Cu hybrid nanostructures were synthesized by green synthesis using three *Sideritis* (*S. argyrea*, *S. brevides* and *S. lycia*) species. Characterizations of these synthesized structures were carried out with UV-Vis, FTIR, SEM, TEM, XRD and EDX. Inhibition tests of enzymes related to Alzheimer's, diabetes and skin diseases, which are the global health problems of these nanostructures synthesized by green synthesis, were performed. Au NPs have the best BChE inhibition activity among all samples (12.57-11.66 mgGA/g). Of all the samples, KA FeNP (866.38 mgAKA/g) has the highest glucosidase inhibition activity. The obtained results show that the significant enzyme inhibitory activity of nanoparticles and hibrid nanostructures can be applied in pharmaceutical fields.

Keywords: Enzyme inhibiton, Hybird Nanostructures, Nanoparticles, *Sideritis*

ÖNSÖZ

Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Fizyoloji-Biyokimya araştırma laboratuvarında yürütülmüş olan bu doktora tez çalışmasında üç *Sideritis* türü (*S. argyrea, S. brevidens, S. lycia*) kullanılarak yeşil sentez tekniği ile sentezlenen metal nanopartiküllerinin ve hibrid nanoyapılarının bazı farmasötik enzimler üzerine inhibitör etkileri araştırılmıştır.

Bu tez konusunun oluşmasında, sürdürülmesinde ve çalışmların her aşamasında desteklerini esirgemeyen başta danışman hocam Prof. Dr. Abdurrahman AKTÜMSEK'e teşekkür ederim. Bilimsel kariyerimin her aşamasında çalışmalarıma katkıda bulunan, her sorunumla yakından ilgilenen ve bununla birlikte bu tez çalışmasının tüm aşamalarında hiçbir yardımını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Gökhan ZENGİN'e teşekkür ederim. Tez çalışması boyunca bilgilerinden yararlandığım ve bu süreçte her türlü desteği esirgemeyen ve laboratuvarında analizlerin yapılmasına imkân veren Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyelerinden Doç Dr. İsmail ÖÇSOY' a teşekkür ederim. Ayrıca laboratuvar çalışmlarında nanopartiküllerin sentezi ve karakterizasyonunda yardımlarını esirgemeyen Recep Tayyip Erdoğan Üniveristesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Ayşe DEMİRBAŞ'a teşekkürlerimi sunarım. Labaratuvarda, çalışmalarında numunelerin hazırlanması, ekstraksiyonlarının ve analizlerinin yapılması aşamasında her türlü desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan çok değerli arkadaşlarım doktora öğrencisi Sinan İbrahime KOUADIO'a, yüksek lisans öğrencisi Güneş AK'a, yüksek lisans öğrencisi Rabia Betül AYGÜN'e teşekkürü borç bilirim. Çalışmalarım boyunca maddi ve manevi her türlü desteği esirgemeyen aileme içtenlikle teşekkür ederim.

Ramazan CEYLAN
KONYA-2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **4**

2.1. Nanoteknoloji 4
2.1.1. Nanoteknolojiye Giriş 4
2.1.2. Nanoteknolojinin Tarihsel Gelişimi 4
2.2. Nanopartiküller 7
2.3. Nanopartiküllerin Sınıflandırılması 8
2.4. Nanopartikül Tipleri 9
2.4.1. İnorganik Nanopartiküller 9
2.4.2. Polimerik Nanopartiküller 10
2.5. Metalik Nanopartiküller 12
2.6. Metalik Nanopartiküllerin Sentezi 13
2.6.1. Fiziksel Yaklaşımlar 14
2.6.2. Kimyasal Yaklaşımlar 16
2.6.3. Biyolojik Yaklaşımlar 17
2.7. Altın NP ve Sentezi 20
2.8. Gümüş NP ve Sentezi 22
2.9. Demir NP ve Sentezi 23
2.10. Hibrit Metal-Organik Nanoçiçekler 24
2.11. NP'lerin Karakterizasyonu 26
2.11.1. UV-Vis ve Plazmon Rezonansı 28
2.11.2. FT-IR Spektroskopisi 28
2.11.3. SEM/TEM 29
2.11.4. XRD 30
2.11.5. Zeta Potansiyeli 31
2.11.6. DLS 32
2.12. Metal Nanoaprtiküllerin Uygulama Alanları 32
2.12.1. İlaç Taşıma Sistemleri 33
2.12.2. Protein Dağıtım Sistemleri Uygulamaları 35
2.12.3. Peptid Dağıtımındaki Uygulamaları 35
2.12.4. Gen Dağıtımındaki Uygulamaları 36
2.12.5. Doku Mühendisliğindeki Uygulamaları 36
2.12.6. Enzimolojideki Uygulamaları 37

2.13. Enzim İnhibisyonu 37
2.13.1. Alzheimer Hastalığı ve Kolinesteraz Enzimlerinin İnhibisyonu 38
2.13.2. Diabet Hastalığı ve α-amilaz ve α-glukozidaz Enzimlerinin İnhibisyonu .. 41
2.13.3. Deri Hastalıkları ve Tirozinaz Enziminin İnhibisyonu 44
2.14. Lamiaceae Familyası ve *Sideritis* Cinsi 48

3. MATERYAL VE YÖNTEM 50

3.1. Bitki Materyalleri ve Ekstraktların Hazırlanışı 50
3.2 Metal NP'lerin Sentezi 55
3.2.1. Gümüş NP'lerin Sentezi 55
3.2.2. Altın NP'lerin Sentezi 55
3.2.3. Demir NP'lerin Sentezi 55
3.3. Cu hibrid nano yapıların (Nanoçiçek) Sentezi 56
3.4. Metal nanopartiküllerin ve hibrid nanoyapıların karakterizasyonu 56
3.4.1. UV-Vis Analizi 56
3.4.2. FTIR Analzi 56
3.4.3. DLS ve Zeta Potansiyel Analizi 56
3.4.4. XRD Analizi 56
3.4.5 SEM ve TEM Analizi 56
3.5. HPLC Analizi 57
3.6. Enzim İnhibisyon Testleri 57
3.6.1. Kolinesteraz İnhibisyonu 57
3.6.2. Amilaz İnhibisyonu 57
3.6.3. Glukozidaz İnhibisyonu 58
3.6.4. Tirozinaz İnhibisyonu 58

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 59

4.1. *Sideritis* Türlerinin HPLC-DAD ile Fenolik Bileşenlerinin İçerik Analizi 60
4.2. Gümüş Nanopartiküllerinin (AgNP) Sentezi ve Karakterizasyonu 61
4.3. Altın Nanopartiküllerinin (AuNP) Sentezi ve Karakterizasyonu 73
4.4. Demir Nanopartiküllerinin (FeNP) Sentezi ve Karakterizasyonu 85
4.5. Bakır Çiçek şekilli hibrit nanoyapıların (CuhNÇ) sentezi ve karakterizasyonu .. 94
4.6. Sentezlenen Hibrid Nanoyapıların ve Nanopartiküllerin Enzim İnhibisyon Potansiyelleri 106
4.6.1. Kolinesteraz İnhibisyonu 106
4.6.2. Amilaz ve Glukozidaz İnhibisyonu 109
4.6.3. Tirozinaz İnhibisyonu 112

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 115

5.1 Sonuçlar 115
5.2 Öneriler 116

KAYNAKLAR 117

ÖZGEÇMİŞ 137

1. GİRİŞ

Nanoteknoloji alanı çoğunlukla biyoloji, fizik, kimya ve malzeme bilimlerini kapsamakla birlikte, biyomedikal ve farmasötik uygulamalar için yeni tedavi edici nanomateryaller geliştirmektedir. Nanopartiküllerin sentezi fiziksel, kimyasal ve biyolojik ya da yeşil sentez yöntemleri ile gerçekleştirilir. Nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal teknikler ile sentezi oldukça pahalı ve potansiyel olarak çevreye zararlı oldukları bilinmektedir (Bhattacharya ve Mukherjee, 2008). Nanopartiküllerin biyolojik sentezi ise bitki, bakteri, mantar, deniz yosunu gibi farklı makro/mikroskobik organizmalar tarafından gerçekleştirilmektedir. Yeşil sentez adı verilen bu teknik ile elde edilen biyolojik temelli nanomalzemeler çevre dostu olarak sentezlenmektedirler. Biyosentezlenen nanomalzemeler, çeşitli hastalıkları daha az yan etki gösteren özellikleri ile etkin bir şekilde kontrol etmektedir (Kuppusamy ve ark., 2016).

Nanopartiküllerin yeşil sentezi için bitki materyallerinin kullanımı son on yılda oldukça gelişmiştir. Bitkiler; flavonoidler, fenolik bileşenler, terpenler ve alkaloidler gibi indirgeyici ajan olarak da görev yapabilen bileşenlere sahiptir. Nanopartiküllerin bitki kaynaklı sentezi nanoteknolojinin çok umut verici bir alanıdır, çünkü bitkiler hem indirgeyici hem de kaplayıcı ajanlar olarak işlev görürler (Rai ve Yadav, 2013).

Bitkilerin terapötik özellikleri uzun zamandan beri bilinmektedir. Yüzyıllar boyunca dünya üzerindeki yerli kültürler, sayısız hastalıklardan kurtulmak için geleneksel bitkisel ilaçları kullanmışlardır. Buna karşılık, modern eczacılık endüstrisinin son yüzyıldaki yükselişi, bireysel aktif bileşiklerin üretilmesi ve bu bileşiklerin hızla tüketilmesi sonucunu doğurmuştur. Bu durum, birçok bitkisel doğal ürünün ve bu ürünlerden türetilen analoglar da dâhil olmak üzere klinikte yaygın olarak kullanılan oldukça etkili ilaçların ortaya çıkmasına neden olmuştur (Shen, 2015; Li ve Weng, 2017). Son yıllarda oldukça ilgi çekici hale gelen doğaya dönüş akımının, bitki biyoçeşitliliğinin muazzam olduğu ülkemizi de etkisi altına alması kaçınılmaz bir durumdur. Ülkemiz florası barındırdığı 12.000'den fazla bitki taksonu ile bu alan için adeta bir hazine konumundadır. Anadolu halk hekimliğindeki tıbbi bitkilerin kullanımının bilimsel bir temelde değerlendirilmesi ve buradan hareketle yeni ilaç hammaddelerinin keşfi ülkemiz ve bilim dünyası için çok önemli bir araştırma konusu olacaktır.

Alzheimer hastalığı, patalojisinde; kolinerjik sistemdeki değişimler, amiloid beta nörotoksik peptid (Aβ) agregasyonu ve oksidatif stres gibi faktörleri içeren multifaktöriyel nörodejeneratif bir hastalıktır. Hastalığın patolojisinde spesifik beyin bölgelerindeki bilişsel bozukluklar ve hafıza kaybına neden olan asetilkolin azlığının merkezinde olduğu kolinerjik hipotez oldukça önemlidir. Asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) nörotransmitter asetilkolininin hidrolizinden sorumlu temel iki enzimdir. Bu yüzden, Alzheimer hastalığını önlemek için inhibitörler keşfedilmesinde AChE ve BChE'ın anahtar enzim oldukları düşünülmüştür (Saxena ve Saini, 2018).

Diabet hastalığı tüm Dünya'da halk sağlığını ilgilendiren önemli bir metabolik hastalıktır. Alfa amilaz ve alfa glukozidaz gibi karbohidratları hidrolize eden enzimlerin inhibisyonu karbohidrat sindirimini ve dolayısıyla glukozun emilmesini geciktirmesine neden olur. Böylelikle postprondiyal hiperglisemi azaltılmış olur. Bu enzimlerin inhibisyonunda sentetik ilaçların çoğu sekonder başarısızık oranlarına ve istenmeyen ya etkilere sebebiyet vermektedir. Bu nedenle, doğal kaynaklardan yeni, etkili ve güvenli terapötik ajanların arayışı oldukça önemlidir (Salahuddin ve ark., 2020).

Tirozinaz veya polifenol oksidaz doğada yaygı olarak bulunan bakır elementi içeren L-Tirozinin melaine katalizini gerçekleştiren bir enzimdir. Melanin sentez süreci cildin, saçın, gözlerin renklenmesinde ve gıdaların koyulaştırılmasında büyük önem taşımaktadır. Diğer taraftan melanin hiperpigmentasyonu melesema, çiller ve diğer dermatolojik bozukluklara neden olmaktadır. Bu problemlere dayanarak tirozinaz enzimi inhibitörlerinin veya cilt beyazlatıcıların geliştirilmesi kozmetik, gıda ve sağlık endüstrilerinde giderek öemli hale gelmiştir (Saehlim ve ark., 2020).

Alzheimer hastalığının patolojisinde önemli bir enzim grubu olan kolinesterazların inhibisyonu, deri hastalıklarında melaninin sentezinde anahtar enzim olan tirozinaz enziminin inhibisyonu, diabet hastalığında yüksek kan şekerinin düşürülmesinde önemli enzimler olan α-amilaz ve α-glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu; bu hastalıkların tedavisinde önemli bir tedavi stratejisidir. Bu hastalıkların tedavisinde kullanılan sentetik enzim inhibitörlerinin istenmeyen etkilerinden ötürü doğal enzim inhibitörlerine olan ilgi artmış ve yeni kaynakların tespitine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır (Ata ve ark., 2011; Rauf ve Jehan, 2017).

Sideritis cinsi büyük bir çoğunluğu Akdeniz bölgesinde yayılış gösteren 150'den fazla tek yıllık veya çok yıllık türle temsil edilen Lamiaceae familyasının bir üyesidir. Türlerin büyük bir çoğunluğu Türkiye, İspanya ve Yunanistan'da bulumaktadır.

Sideritis türleri çay olarak, tedavici edici olarak ve bahçelerde süs olarak geleneksel olarak kullanılmaktadır (Aneva ve ark., 2019). *Sideritis* türlerinin çoğu etnofarmakolojik özelliklere sahip olmakla birlikte; terpenler, flavoniodler, kumarinler ve lignanlar gibi bileşenlerinde bulundururlar. Hemen hemen tüm *Sideritis* türlerinde bulunan diterpenler, fenolikler ve uçucu yağlar farmakolojik etkilerden sorumludurlar (Gonzales-Burgos ve ark., 2011).

Bu doktora teziyle, Anadolu Geleneksel Halk Hekimliğinde sıklıkla kullanılan ve pek çok yörede "dağ çayı" olarak da bilinen *Sideritis* cinsine ait S. *argyrea*, *S. brevidens* ve *S. lycia* türlerinin; Alzheimer, diabet ve deri hastalıkları ile ilişkili enzimler üzerine inhibitör özelliklerinin araştırılması; ucuz, etkili ve çevre dostu yöntemle Au, Ag, Fe_3O_4 nanopartiküllerinin ve Cu çiçek şekilli hibrit nano yapılarının sentezlenmesi ve belirtilen enzimler üzerine inhibitör özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Nanoteknoloji

2.1.1. Nanoteknolojiye Giriş

Nanoölçek düzeyinde boyut üzerine bir perspektif elde etmek için gezegenimizin de içinde bulunduğu 100-400 milyarlık Samanyolu galaksisinin en dış kenarına boyut ölçeğinde bakılmalıdır. İçinde bulunduğumuz gezegenden Samanyolu galaksisinin en dış çeperine olan uzaklık 50.000 ışık yılı boyutundadır. Işık yılı, ışığın bir yılda saniyede 300 milyon (300.000.000) metre kat ettiği mesafedir ve bu da yaklaşık olarak 10.000.000.000.000.000 ya da 10^{16} metredir. Yani, gezegenimizden Samanyolu galaksinin en dış çeperine olan mesafe 500.000.000.000.000.000.000 ya da $5x10^{20}$ metredir. Boyut ölçeğinin diğer tarafında ise 1 metrenin milyarda (1.000.000.000) biri olan nanometreye (10^{-9} m) baktığımızda ise aynı durum söz konusudur. Nano kelimesi, Yunanca "nanos" yani cüce kelimesinden türemiştir. Boyutsal ölçeklemede nano (10^{-9}) bir birimin milyarda birine karşılık gelmektedir. Bir insanın saç telinin çapı 10µ yani 10.000 nm'dir. Atomların çapı nanometrenin onda birlik (10^{-1}) dilimiyle ifade edilirken, DNA zincirinin çapı ise birkaç nanometredir. Bu nedenle nanoteknoloji, atom ve molekül seviyesindeki şeyleri incelemek, tasarlamak ve üretmek için kullanılan teknik ve yöntemleri ifade eden bir bilim dalıdır. Nanoteknoloji, metrenin milyarda birine (10^{-9} m) eşit boyutta cihazlar ve ürünler üretmek için kullanılabilecek malzemelerin geliştirilmesini ve kullanılmasını hedefleyen gelecek vaad eden multidisipliner bir bilim alanıdır.

2.1.2. Nanoteknolojinin Tarihsel Gelişimi

Nanoteknoloji, milattan sonra 4. yüzyıldan itibaren heykeller, resimler ve diğer eserlerde kullanılmaktadır. Örneğin, Lycurgus bardağı, ışığa maruz kalmanın doğasına bağlı olarak renk değiştiren bir malzeme olan dikroik cam içeren bir eserdir. Işık bardağın yüzeyin yansıdığında, bardak yeşil görünür, ancak ışık bardaktan geçtiğinde kırmızı renk görünür (Şekil 2.1). Bu olağandışı optik etki, camda az miktarda 70 nm çapında gümüş ve altın parçacıklarının varlığının doğrudan bir sonucudur. Burada altın kırmızı renkten, gümüş ise yeşil renkten sorumludur (Freestone ve ark., 2007; Horikoshi ve Serpone, 2013).



Şekil 2.1. Kolloidal altın ve gümüş nanopartikülleri içeren cam kullanılarak yapılmış bir Roma kadehi olan Lycurgus kupası (British Museum) (Freestone ve ark., 2007)

Orta çağlarda, özellikle de o dönemlerde kiliselerde kullanılan vitray pencerelerde nanoteknolojiye dair kanıtlar bulunmaktadır. Orta çağ boyunca, vitray pencerelerde yakut kırmızısı rengi kullanmak oldukça yaygındı. Bu uygulamaların en güzel örnekleri Notre-Dame de Chartres katedralinin pencerelerinde görülebilir (Horikoshi ve Serpone, 2013). Ortaçağ zanaatkârları camın renkleri ile ilgili bilimsel açıklamanın farkında değildi, yalnızca altın klorürün erimiş cama karıştırılmasıyla üretilen rengin farkındaydılar. Bu, güneş ışığını yakut kırmızısı renk üretecek şekilde emen ve yansıtan küçük altın kürelerin oluşmasına neden oldu. Altın nanopartiküllerin çapı 25 nm idi (Chang, 2005).

1800'lü yıllarda Michael Faraday suda asılı çeşitli metal nanopartiküller denedi. 1857 yılında Faraday, altın nanopartiküller içeren yakut kırmızısı karışımların üretimini bildirdi ve bu karışımlara kolloidal altın adını verdi. Bir kolloidal karışım ya da kolloid maddeninin iki fazının karışımıdır. Bu karışımlar genellikle bir sıvı veya gaz içinde dağılmış katı partiküllerdir. Asılı partiküller görünür ışığı emebilir veya dağıtabilir (Rogers ve ark., 2013). Faraday, sodyum tetrakloroaurata ($NaAuCl_4$) bir indirgeme materyali eklediğinde, $NaAuCl_4$'ün sarı renginin birkaç dakika boyunca koyu kırmızı bir renge dönüştüğünü gözlemledi. Faraday, yakut kırmızısı karışımın zamanla mevcut olan mikroskopların hiçbirinde görülmeyen çok ince metalik altın içerdiğini öne sürdü. Yaklaşık 100 yıl sonra, yakut kırmızısı kolloidlerin çapı yaklaşık 6 nm olan altın nanopartilüller içerdiğini ortaya koymak için elektron mikroskopisi kullanıldı (Thompson, 2007).

Nobel ödüllü fizikçi olan Richard Feyman, atom-atom montajı üzerine ünlü bir sunum yapmıştır. Bu sunum nanoteknolojinin başlangıç noktası olarak değerlendirilmiştir (Sanders, 2018). Feynman'ın 29 Aralık 1959'da Amerikan Fizik Topluluğuna sunduğu konferansın adı "There's plenty of room at the bottom" "yani altta çok yer vardır" olarak isimlendirilmiştir. Feyman verdiği konferansta şunları belirtmiştir: "*Bunu pratik bir şekilde küçük ölçekte nasıl yapacağımı bilmiyorum, ancak bilişim makinelerinin çok büyük olduğunu biliyorum ve onlar odaları dolduruyorlar. Neden onları çok küçük yapamıyoruz, küçük teller, küçük elementler yapamıyoruz - ve az da olsa küçük demek istiyoruz. Örneğin, tellerin çapı 10 veya 100 atom olmalı ve devreler birkaç bin angström olmalıdır. Onları daha küçük yapmak için bolca yer var. Fizik yasalarında bilgisayar elemanlarının şu an olduğundan çok daha küçük yapılamayacağını söyleyen hiçbir şey yok.*" (Roukes, 2001). Ayrıca Feyman bu konuşmasında yazılı materyali nano ölçekte depolamak için gereken alan miktarını da tartışmıştır: "*Her bir için 100 atoma imkân veriyorum. Ve insanın dünyadaki tüm kitaplarda dikkatli bir şekilde biriktirdiği tüm bilgilerin, bu formda bir inç genişliğinin iki yüzde biri genişliğinde bir malzeme küpü halinde yazılabileceği ortaya çıkıyor - ki bu, insan gözü tarafından yapılmalıdır. Yani altta bol yer var. Bana mikrofilmden bahsetmeyin!*" Feyman'nın bu vizyonu 30 yıl sonra gerçekleşmiştir (Sanders, 2018).

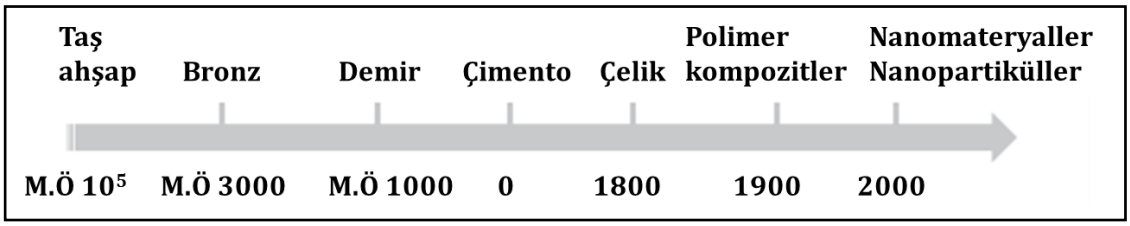
Richard Feynman'ın atom düzeyinde manipülasyon konusundaki konuşmasından birkaç on yıl sonra, K. Eric Drexler, Engines of Creation (1986) adlı bir kitap yayınladı. Bu kitapta Drexler, atomlar ve moleküller kullanarak yapılar oluşturmayı içeren "moleküler teknoloji" yi tanımladı (Pradeep, 2007). Drexler, moleküler nanoteknolojinin mühendislere nanokiritler ve nanomakineler oluşturma yeteneği sağladığına inanıyordu. Drexler kitabında ayrıca biyokimyacıların, molekülleri tek tek molekülleri işleyebilen robot kolları oluşturmak için motorlar, rulmanlar ve hareketli parçalar olarak kullanacaklarını tahmin etmiştir (Drexler, 1990).

Richard Feynman ve K. Eric Drexler'in atomik ve moleküler ölçekli manipülasyonla ilgili tahminleri 1989'da gerçekleştirildi. Aynı yıl, IBM'in San Jose, Kaliforniya'daki Almaden Araştırma Merkezi'nden Dr. Donald M. Eigler "IBM" i heceleyen bireysel zenon atomlarını konumlandırdı (Browne, 1990). Bu, soğuk bir nikel yüzeyine zenon atomlarının bırakılmasıyla gerçekleştirildi.

2.2. Nanopartiküller

Yüzyıllardır bilim adamları ve nanobilimciler mühendislik malzemelerinin işlevselliğini, performansını ve maliyet etkinliğini arttırmak için yeni yaklaşımlar aramaktadır. Son birkaç on yılda, farklı uygulamalar için çok sayıda malzeme grubu geliştirilmiştir. Biyomalzemeler, seramikler, kompozitler, karbon nanotüpler, lifler ve kaplamaları bunlardan birkaçıdır. Geçtiğimiz yüzyılın sonu nanomateryallerin ortaya çıkışına şahit oldu. Bu yeni materyallerin, gelecekteki bileşenler ve ürünler için temel malzemeler olarak plastik ve kompozitleri geçmesi muhtemeldir (Şekil 2.2). Nanomateryaller gelecekte birçok endüstride egemen yapı taşları haline gelecektir (Kastner, 1993; Bensebaa, 2013). Bu nanomateryaller 100 nm'den daha az, en az bir geometrik boyuta sahiptirler. Bunlar, karbon nanotüpleri, nanofiberleri, nanokayaları, nanokompozitleri, nanoporöz malzemeleri, nanotelleri ve nanopartikülleri (NP'ler) içerir. Bazen yapay atomlar olarak da adlandırılan NP'ler, 100 nm'den daha küçük bir çapa sahip genellikle küresel (ya da yarı küresel) partiküllerdir.

NP'ler çevremizde çeşitli şekillerde her yerde bulunurlar. İster doğal olarak (örneğin lipoproteinler ve volkanik parçalar), ister tesadüfen (dizel yanmadan kaynaklanan karbon nanopartikülleri) ya da tasarlandıklarında (katalizörler), insanlar ve çevre üzerinde faydalı ve/veya zararlı etkileri olabilir. Yüzyıllardır nanopartiküller bir sıvı içinde katı dispersiyondan oluşan kolloidal formlarda kullanılmaktadırlar (Rao ve ark., 2016). Yine kolloidlerin geometrik boyutu ilk olarak 5-200 nm arasında tanımlanmıştır. Bu değerler şu anda kabul edilen NP boyutları arasındadır (Bensebaa, 2013). Metal oksit NP preparatları, 1980'lerin başına kadar yarı iletken ve yalıtım NP'lerinden daha fazla dikkat çekmiştir. Bilim adamları ve teknoloji uzmanları bazı metal NP'lerin geometrik, optik ve katalitik özelliklerinden faydalanmışlardır. Son zamanlarda ise yarı iletken kuantum dot (QD) gündeme gelmiştir. QD özellikleri ilk olarak 1981'de Rusya ve ABD'de araştırma grupları tarafından rapor edilmiştir (Brus, 1984; Yoffe, 1993).



Şekil 2.2. Materyallerin gelişimi ve uygulamaları (Bensebaa, 2013).

2.3. Nanopartiküllerin Sınıflandırılması

Nanomateryaller genellikle boyutları, morfolojileri, kompozisyonları, bütünlükleri ve aglomerasyonlarına göre sınıflandırılabilirlerse de en geniş anlamda boyutsallıklarına göre sınıflandırılabilmektedir.

Nanopartlüllerin boyutsallığına dayanarak, nanomateryaller 0-D, 1-D, 2-D ve 3-D olarak sınıflandırılabilir (Şekil 2.3).

0-D

Her üç boyuta da sahip olan bu nanomateryaller aynı zamanda yapay atomlar (kuantum dotlar) olarak da bilinirler. Metalik nanopartiküller altın ve gümüş nanopartikülleri içerirken, yarı iletken nanopartiküller CdS, CdSe ve CdTe kuantum dotlarını içerir. Nanopartiküller, 1-50 nm aralığında, küresel, kübik ve çokgen gibi şekillere sahip olabilir (Rogers ve ark., 2014; Goyal, 2017).

1-D

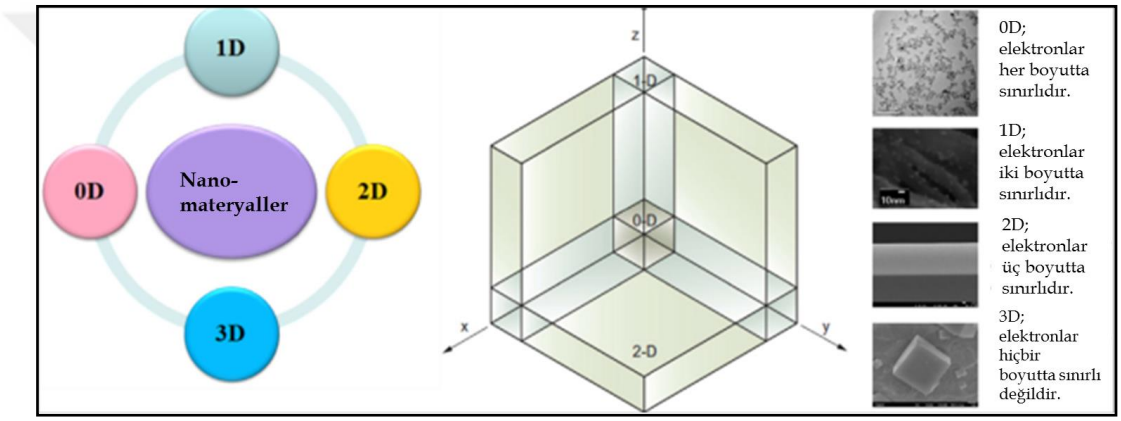
Bu nanomateryaller nanometre ölçeğinde iki tane parçacık boyutuna sahiptirler ve üçüncü boyut diğer iki boyutla kıyaslandığında önemlidir. Çünkü üçüncü boyut birkaç mikrometre uzunluğunda (>100nm) ve sadece birkaç nanometre çapındadır. Örnekleri arasında nanotüpler, nanoelyaflar, nanorotlar, karbon nanotüpleri veya karbon nanofiberleri bulunur (Goyal, 2017).

2-D

Nanometre ölçeğinde bir boyuta sahiptirler ve diğer iki boyut üçüncü boyuta kıyasla oldukça büyüktür (kalınlık gibi). Örnekleri ise grafen, nanotabakalar, nanofilmler, nanoplateletler, ve silikat nanoplateletler olarak verilebilir. Nanofilmlerin veya kaplamanın alanı birkaç santimetrekare düzeylerindedir, fakat kalınlığı ise 1-100 nm arasında değişmektedir (Goyal, 2017).

3-D

Bu materyallerin tüm boyutları nanometre aralığının dışındadır. Genellikle ekvaekslenmiş nanopartiküller ya da nanokristaller olarak adlandırılırlar. En iyi örneği 1-100nm aralığındaki büyüklükleri ayrı bloklardan oluşan nanoyapılı dökmelerdir. Bu malzemeler 100nm den büyük üç boyutlu yapılara sahiptir. Bu materyaller nano-ölçekte bir nanokristal yapıya ve özelliklere sahiptirler (Goyal, 2017).



Şekil 2.3. Nanopartiküllerin boyutlarına göre sınıflandırılmaları (Bashir ve Liu, 2015)

2.4. Nanopartikül Tipleri

İnorganik NP'ler, polimerik NP'ler, katı-lipid NP'leri, lipozomlar, nanokristaller, nanotüpler ve dendrimerler dâhil olmak üzere pek çok tip NP türü vardır.

2.4.1. İnorganik Nanopartiküller

İnorganik NP'ler, fiziksel özelliklerinde, NP tipine ve kullanılan sentetik yaklaşıma bağlı olarak boyuta bağlı optik, katalitik, elektronik ve manyetik özellikler olarak farklılık gösterir. Örneğin, altın, demir oksitler, silika, gümüş, kuantum dotları vb. NP'lerin formülasyonunda biyolojik yaklaşımlar uygulanmıştır (Ladj ve ark., 2013).

Metalik Nanopartiküller

Metalik NP'ler, sentez sırasında bileşimlerini, şekillerini, boyutlarını, yapılarını, kapsüllenmelerini, montajlarını ve optik özelliklerini kontrol etme kabiliyeti nedeniyle esnek nano yapılar olarak kabul edilir.

Metalik NP'ler, plazmon uyarımı ve dielektrik özellikleri gibi özel yüzey özelliklerine sahiptir. Bu özellikler, biyomoleküler ultra hassas tespit, protein ve hücre etiketlemesi gib birçok alanda yüksek uygulanabilirlik sağlar (Kumar ve ark., 2013).

Metal oksit nanopartikülleri

Metal oksit NP'lerin köşe kenarı yüzey alanlarının boyutu ve yoğunluğu sınırlıdır. Ayrıca, bitki teknolojisinin birçok alanında hayati fonksiyonlara sahiptirler. Örneğin, silisyum dioksit (SiO_2)'den elde edilen NP'ler tohumların çimlenmesini etkiler, ayrıca aliminyum (Al)'den elde edilen NP'ler bitkilerdeki köklerin büyümesini arttırır (Lin ve Xing, 2007; Picó ve Blasco, 2012; Siddiqui ve Al-Whaibi, 2014).

Kuantum dotlar

Yapısal olarak kuantum dotlar manyetik geçiş metalleri, yarı iletkenler ve metal gibi çeşitli metal komplekslerinden yapılır. Bir bitki sistemindeki rollerine ek olarak, yüzey kaplamasında kuantum dotlar kullanılır. Ayrıca boyutlarına bağlı olarak farklı renklerle floresan olabilen kuantum dotlar, suda çözünürlüğü artıran ikincil bir kaplama özelliğinde olabilir (Nair ve ark., 2011).

2.4.2. Polimerik Nanopartiküller

Polimerik NP'ler 10-1000 nm aralığındaki özellikle lipit bazlı katı NP'lerdir ve polikaprolakton, poliakrilamid ve poliakrilat gibi sentetik polimerlerden veya farklı ilaçların farmakodinamik ve farmakokinetik özelliklerini geliştiren albümin gibi doğal polimerlerden elde edilebilirler (Bhatia ve ark., 2011; Nagavarma ve ark., 2012; Khan ve ark., 2019).

Katı lipid nanopartikülleri

Katı lipid nanopartiküller 1990'lı yıllarda ilaç taşıma sistemlerinde önemli rol oynamıştır. Katı lipit nanopartiküller; emülsiyonlara, polimerik nanopartiküllere ve lipozomlara alternatif taşıyıcı sistemler olarak kabul edilir (Shnoudeh ve ark., 2019).

Lipozomlar

Lipozomlar, bir veya daha fazla fosfolipid çift katmanından yapılmış küresel veziküllerdir. İlaç ve kozmetik endüstrilerinde, gıda ve tarım alanlarında çözünmeyen ya da kararsız bileşiklerin kapsüllenmesinde çok sayıda molekül için taşıyıcı olarak kullanılırlar (Akbarzadeh ve ark., 2013).

Nanokristaller

Nanokristaller; 500 nm'den küçük, tek veya çok kristalli bir organizasyondaki atomlardan oluşan nano boyutlu kristalize materyallerdir. Nanokristaller, ince bir kaplama içinde bir ilaca sahip olan kristalli bir formda binlerce moleküle kadar olan gruplardır (Junghanns ve Müller, 2008).

Nanotüpler

Nanotüpler, nanometre ölçeğinde fulleren yapısal familyasına ait tüplerdir. Tek atom kalınlığında karbon tabakalarından (grafen) yapılmış duvarlardan oluşan içi boş bir yapıya sahiptirler. Bu levhalar belirli bir açıda ve farklı şiral açılar boyunca yuvarlanır; yarıçap ve yuvarlanma açıları nanotüpün özelliklerine, yani nanotüp kalkanının yarı iletken mi yoksa metal mi olduğuna karar verir. Tek duvarlı nanotüpler ve çok duvarlı nanotüpler olmak üzere iki tipte sınıflandırılırlar (Shnoudeh ve ark., 2019). Örneğin karbon nanotüpler hem tek duvarlı hem de çok duvarlı nanotüpler olarak sınıflandırılabilir. Karbon nanotüpler, hayvanlara ve bitki hücrelerine kimyasal madde vermek, biyokütle ve su tutma kapasitesinin artırılmasının yanı sıra bitkilerdeki meyve verimini arttırmak için de kullanılırlar (Husen ve Siddiqi, 2014).

Dendrimerler

Dendrimerler iyi tanımlanmış bir şekle, boyuta ve moleküler kütleye sahiptirler. Üç boyutlu küresel, aşırı dallanmış, monodispers, nanoboyutlu sentetik polimerlerdir.

Dendrimerlerin en iyi tanımlanmış özelliği ise moleküler ve polimer kimyası göstermiş olmalarıdır (Shnoudeh ve ark., 2019).

2.5. Metalik Nanopartiküller

Metalik NP'lerle dünyanın tanışması çok eski zamanlara dayanmaktadır. İnsanlar istemeden de olsa bu metalik NP'leri sentezlemişti ya da doğada zaten mevcut bir şekilde bulunuyorlardı. British Museum'da Lycurgus bardağı bunun harika bir örneğidir. Gümüş (Ag) ve altın (Au) NP'leri içeren bardağın dışından (yeşil) ya da içinden (kırmızı) aydınlatılmasıdır (Freestone ve ark., 2007; Castro ve ark., 2014). Geçtiğimiz yüzyıl boyunca; metallerin, metal oksit NP'lerin ve organik ürünlerin üretimi için çığır açan yöntemlerin tanıtılması da dâhil olmak üzere bu alanda (kolloid bilimi) önemli gelişmelere sahne olmuştur. Son yıllarda çeşitli NP türleri formüle edilmiş ve 2010 yılında farklı sektörlerde NP içeren 1000'den fazla ürün ticari olarak piyasaya sunulmuştur (Ostiguy ve ark., 2006; Benelmekki, 2015).

Özellikle metal NP'ler bu alanda önemli rol oynamışlardır. Örneğin altın NP'ler doksorubisin, paklitaksel ve metotreksat gibi çeşitli ilaçların verilmesi için uygulanmaktadır (Rai ve ark., 2016). Ayrıca altın NP'ler genetik hastalıklar, anjiyogenez, tümör tespiti, fototermal terapi gibi uygulamalarda da kullanılmaktadır. Bununla birlikte, demir oksit NP'leri ilaç verme, kanser, hücre etiketleme, hipetermi, doku onarımı, manyetik olarak duyarlı ilaç verme terapisi ve manyetik rezonans görüntülemede (MRI) uygulanmıştır (Huang ve ark., 2007; Khlebtsov ve Dykman, 2011; Iv ve ark., 2015). Ayrıca gümüş NP'ler çeşitli antimikrobiyal, antiinflammatuar ve antikanser uygulamalarında kullanılmıştır (Ahamed ve ark., 2010).

Metaller, elektronları kaybederek kimyasal reaksiyon sırasında pozitif iyonlar oluşturan elementlerdir. Periyodik tablodaki ana metaller Au, Ag, Cu, Fe ve Zn'dır.

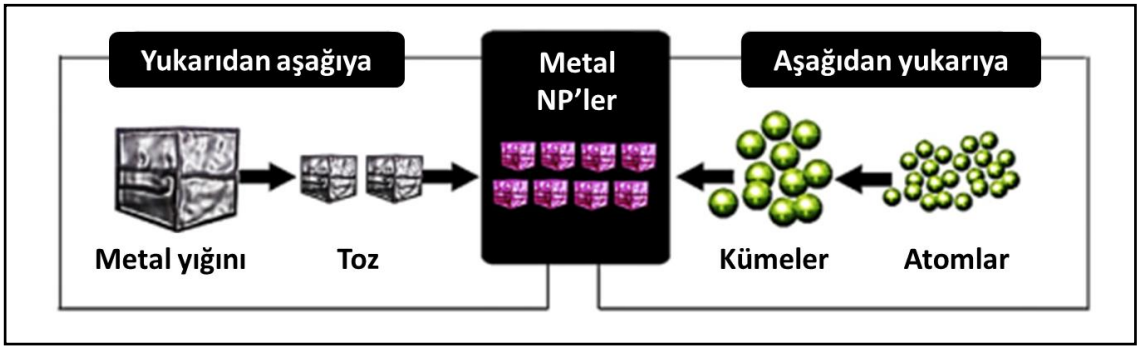
Metaller parlaklık, sağlamlık, ses titreştirme özelliği ile karakterize edilirler ve mükemmel elektrik ve ısı iletkenleridir. Ayrıca, yüksek erime ve kaynama noktalarına sahiptirler ve bunlar fiziksel özellikleri olarak kabul edilebilir. Bununla birlikte, kimyasal özellikleri, oksijenle (oksitlenmiş) bazik veya amfoterik oksitler oluşturduklarından elektropozitifliği içerir. Alkali metaller tipik olarak bir elektron kaybederken, alkalin metaller ise her iki elektronu da kaybederken, geçiş metalleri de orbitallerinden bir, iki, hatta üç elektron kaybedebilir. Metal oksitler genellikle bazik oksitlerdir ve suda oluşan metal hidroksitler içinde çözünebilirler (Shnoudeh ve ark., 2019).

Metal NP'lerin sentezinin, bu metallerin katılık, erime ve kaynama noktaları, asitler, bazlar ve oksijen ile reaktivite gibi fiziksel veya kimyasal özelliklerine dayandığını belirtmek gerekir.

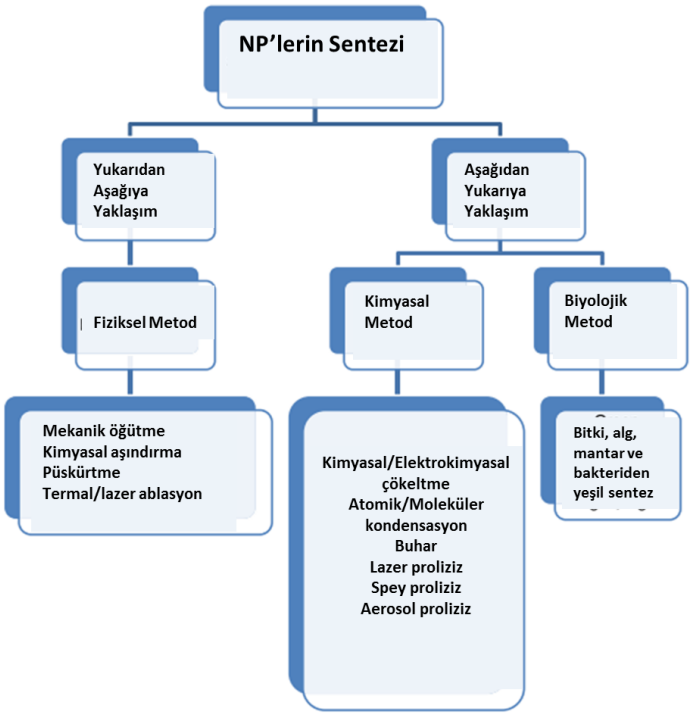
2.6. Metalik Nanopartiküllerin Sentezi

Nanoteknolojinin bilim alanındaki önemi, özelliklerinin önemli ölçüde değiştirilmesini içeren NP'lerin, özellikle metallerin sentezi ve modülasyonuna bağlıdır (Visweswara Rao ve Hua Gan, 2015). Bilim adamları, NP'leri hem fiziksel hem de kimyasal yaklaşımı içeren yukarıdan aşağıya yaklaşımla, ya da biyolojik ve kimyasal yöntemleri içeren aşağıdan yukarıya yaklaşımlar kullanarak sentezleyebilmişlerdir. Hem fiziksel hem de kimyasal yöntemler çevresel kirlenme ve toksisite ile sonuçlandığı, yeşil sentez kullanan biyolojik yaklaşımların çevre dostu ve daha az toksik olduğu bulunmuştur. NP sentezinin yaklaşımları ve yöntemleri, Şekil 2.4 ve Şekil 2.5.'de özetlenmiştir.

Günümüzde istenilen boyut ve morfolojilerde metalik nanopartiküllerin sentezi için çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Genel olarak bakıldığında bu çeşitli sentez yöntemlerinin pahalılık, toksisite, fazla işgücü ve daha fazlasını içeren farklı dezavantajları vardır.



Şekil 2.4. Metal NP'lerin için aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya yöntemlerinin basit gösterimi (Domènech ve ark., 2012)



Şekil 2.5. Aşağıdan yukarıya ve yukarıdan aşağıya yöntemi kullanarak NP'lerin sentezlemesini gösterimi (Ahmed ve ark., 2016)

2.6.1. Fiziksel Yaklaşımlar

Fiziksel yaklaşım, farklı fiziksel yöntemlerle nano boyuta indirilecek olan metal partiküllerinin boyutunun azaltılarak elde edilen metal NP'lerin sentezi için yukarıdan aşağıya bir yöntem olarak kabul edilir. Termal sentezleme, bilyalı öğütme, litografi ve buhar fazı hazırlama gibi farklı fiziksel yöntemler NP sentezi için fiziksel yöntemler olarak kullanılabilir (Ghorbani, 2014).

2.6.1.1. Mekanik Metodlar

Mekanik öğütme

Bu işlem, bir dökme malzemenin daha küçük partiküllere öğütülmesini içerir ve partiküllerin aşındırılmasıyla boyutu azaltılır. Mekanik öğütmeyi tamamlamak için çok fazla enerji ve saat (veya günler) gerekir. Tüm farklı mekanik öğütme tipleri arasında, bilyalı öğütme çeşitli nanomateryallerin sentezi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu işlem ısı üretir ve mekanik taşlamayla kombinasyonu ile birlikte arzu edilen bazı

kimyasalların ortaya çıkmasına neden olur. Örneğin silikon nanomateryalleri üretilirken, SiO_2 değirmendeki CO_2 ile azaltılabilir ve saf bir silikon nanomateryal elde edilebilir.

Mekanokimyasal Sentez

Mekanokimya kavramı, özellikle NP sentezinde, metalin kimyasal ve mekanik yönlerini moleküler düzeyde birleştirmek anlamına gelir (Ghorbani, 2014). Bu teknik, oda sıcaklığında bir bilyalı değirmen ve gerekli NP'leri elde etmek için kimyasal reaksiyonu tamamlamak için bir indirgeyici madde kullanarak NP'lerin oluşturulmasına bağlıdır. Co, Ag, Cu, Cr ve Al gibi bu yöntem kullanılarak birkaç NP üretilebilir (Paskevicius ve ark., 2009).

2.6.1.2. Buhar Metodları

Lazer ablasyonu

Lazer ablasyonu, nanomatermateryaller üretmek amacıyla malzemeyi katı bir yüzeyden çıkarmak ve buharlaştırmak için yüksek enerjili lazer ışınları darbeleri kullanma işlemidir. İyonize parçacıklar, istenilen nanomateryali oluşturmak üzere bir araya getirilmeden önce bir tüy içine püskürtülür. İşlem gaz fazında veya vakum altında gerçekleştirilebilse de sıvı çözücülerle de lazer ablasyonu yapılabilmektedir. Metaller, metal oksitler, yarı iletkenler ve organik malzemeler gibi çok çeşitli nanomateryaller bu şekilde sentezlenebilmektedir.

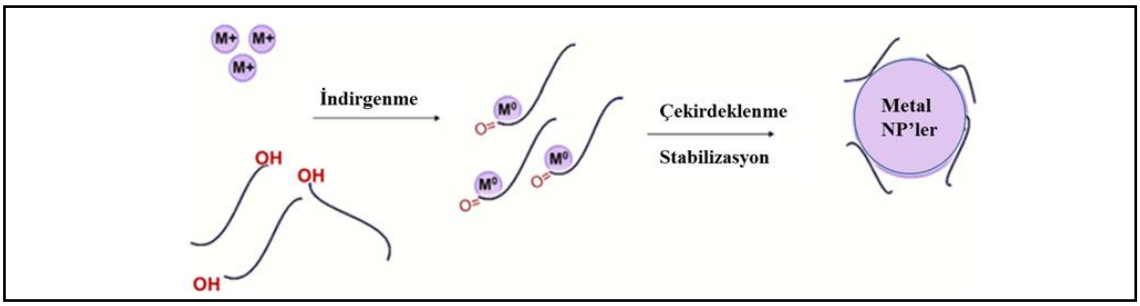
Patlama teli

Bu yöntemle üretilen NP'ler; telin voltajına, boyutuna, şekline ve elektriksel darbe doğasına bağlıdır. Bu yöntem, telin etrafında on binlerce dereceye kadar aşırı ısındığında bir arada tutan elektromanyetik bir alan oluşturan hızlı ve güçlü bir darbeye bağlıdır. Akım durduğunda, elektromanyetik alan kaybolur ve tel nano boyutlardaki partiküllere bölünür. Ag, Cu, Fe, Al ve Au NP'ler patlayan tel ile üretilir (Sen ve ark., 2003).

2.6.2. Kimyasal Yaklaşımlar

Kimyasal yaklaşım, düşük maliyet ve yüksek verim yaklaşımı olan NP sentezinde tercih edilen en yaygın yaklaşımdır. Genellikle, NP'lerin kimyasal sentezi metallerin prekürsörlerini, bir indirgeyici ajanı ve bir stabilize edici/kaplayıcı ajanı içerir. Kimyasal işlem yoluyla sentez bir oksidasyon-indirgeme reaksiyonudur; reaksiyon organik ve inorganik indirgeyici madde ile kimyasal indirgeme içerir. Sodyum sitrat, askorbat, sodyum borohidrür, elementel hidrojen, N,N-dimetilformamid, tollens reaktifi gibi indirgeyici olarak farklı maddeler kullanılabilir (Evanoff ve Chumanov, 2004; Wiley ve ark., 2005; Merga ve ark., 2007). Reaksiyon örneği şekil 2.6'da gösterilmiştir. Bunlara ek olarak, metal NP'lerin hazırlanması sırasında dağıtıcı NP'leri stabilize etmek için koruyucu maddeler kullanmak, birikimlerini önlemek için NP yüzeyleri üzerine emilebilen veya NP'lerin yüzeylerine bağlanabilen NP'leri korumak için çok önemlidir. Ayrıca, partikül yüzeyi ile etkileşime girmek, partikül büyümesini stabilize etmek ve partiküllerin aglomerasyon, sedimantasyon ve hatta yüzey özelliklerini kaybetmesini önlemek için farklı işlevlere sahip yüzey aktif cisimlerinin eklenmesi de önemlidir (Oliveira ve ark., 2005; Khan ve ark., 2019). Kullanılabilen sürfaktanlardan bazıları aminler, tiyoller, alkoller ve asitlerdir.

Bununla birlikte, kimyasal yaklaşımlarla üretilen NP'lerin kullanımının biyomedikal ve klinik gibi alanlarda bazı kısıtlamaları vardır. Çünkü sentez prosedürü sırasında birkaç polar olmayan solvent ve toksik kimyasal maddeler kullanılmaktadır (Iravani, 2011; Das ve ark., 2017).



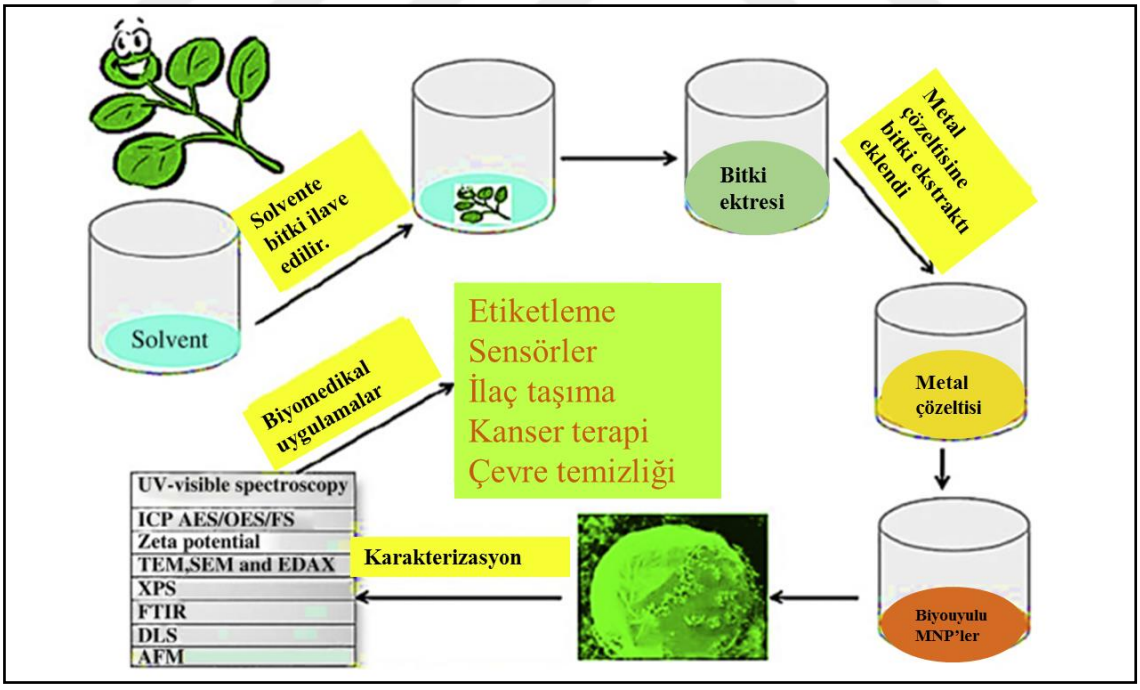
Şekil 2.6. Metal NP'leri sentezlemek için metal tuzlarının kimyasal oksidasyon redüksiyon reaksiyonunun bir örneği. (Keat ve ark., 2015)

2.6.3. Biyolojik Yaklaşımlar

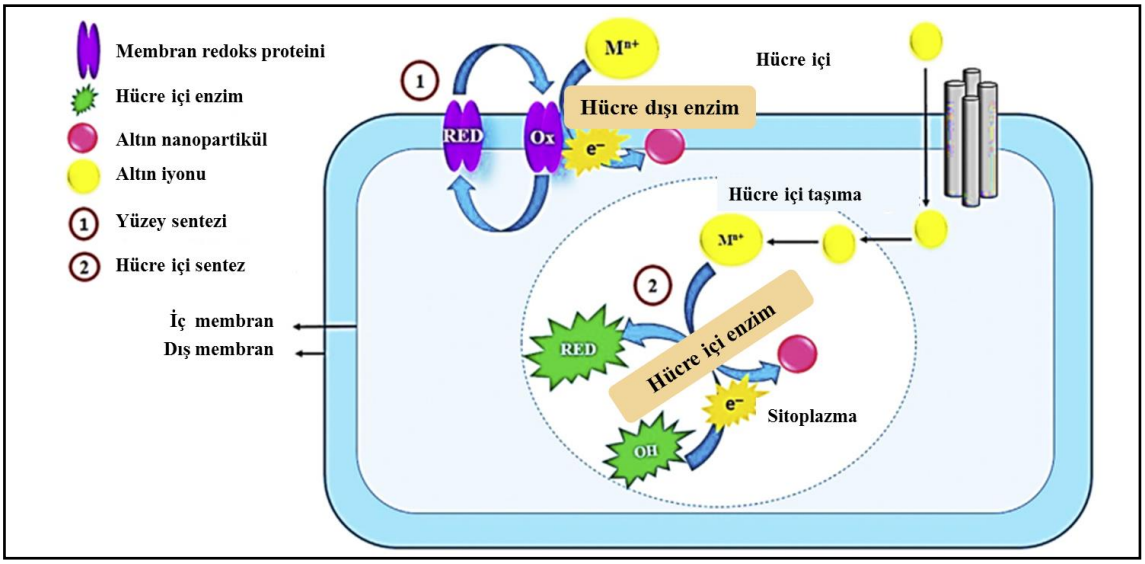
NP'lerin biyolojik olarak sentezinde biyolojik mikroorganizmalar ya da bitkisel ekstraktlar kullanılmaktadır. Çok sayıda bakteri, mantar, yosun, maya, virüs, bitki, vitaminler, enzimler, mikrobiyal enzimler, biyobozunur polimerler, polisakkaritler, mikroorganizmalar ve farklı biyolojik sistemler metalik NP'lerin sentezlenmesi için kullanılmaktadır (Korbekandi ve ark., 2009; Iravani, 2011).

Biyojenik metal NP'ler, metal iyonlarının kimyasal olarak enzimlerin oksitlendiği kararlı formlarına kimyasal olarak indirgenmiş olduğu biyo-indirgeme ile veya ekstraktların metal tuzları ile karıştırıldığı organizmaların hücre dışı (Şekil 2.7) ve hücre içi (Şekil 2.8) ile üretilebilir (Deplanche ve ark., 2010).

Bu yeşil biyolojik temelli yöntemlerle üretilen NP'ler, çevre kirliliğini azalttığı ve metalleri endüstriyel atıklardan geri kazandıkları için ucuz, güvenli ve çevre dostudur.



Şekil 2.7. Bitkiler kullanılarak metal NP'lerin hücre dışı sentezi (Nath ve Banerjee, 2013)



Şekil 2.8. Metal NP'lerin hücre içi sentezi (Sengani ve ark., 2017)

2.6.3.1. Algler aracılığı ile Sentez

Çeşitli yosun türlerinin ağır metalleri tuttuğu bilinmektedir ve biyolojik olarak, *Chlorella vulgaris* (tek hücreli alg), *Sargassum wightii*, *Kappaphy cus alvarezii* (deniz algleri), *Fucus vesiculosus*, *Tetraselmis kochinensis* (Kahverengi algler), *Chondrus crispus* (Kırmızı algler), *Spirogyra insignis* (Yeşil algler); Ag, Au ve Au-Ag bimetalik NP'ler gibi metalik NP'leri hücre dışı olarak sentezlemek için kullanılabilir (Govindaraju ve ark., 2009; Mata ve ark., 2009; Deplanche ve ark., 2010; Rajasulochana ve ark., 2010; Luangpipat ve ark., 2011; Senapati ve ark., 2012; Castro ve ark., 2013).

2.6.3.2. Bakteriler aracılığı ile Sentez

Yeşil nanoteknolojide, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans*, *Sufolobus acidocaldarius*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve diğerleri gibi NP'leri sentezlemek için çok sayıda bakteri türü kullanılmıştır (Narayanan ve Sakthivel, 2010; Gudikandula ve Charya Maringanti, 2016).

Bakteriler; Au, Ag, titanyum, platin, paladyum, manyetit, kadmiyum sülfit, titanyum dioksit ve diğer metalik NP sentezleri için bir biyo-fabrika olarak kabul edilir. Ayrıca bakteriler NP'leri sentezlemek için ağır metal iyonlarını azaltma yeteneğine de sahiptir (Narayanan ve Sakthivel, 2010). Bakteri türü, sıcaklık, pH, substrat konsantrasyonu, hedef NP'lerin bir bileşiğinin kaynağı, reaksiyon süresi ve ışınlama,

NP'lerin boyutunu, morfolojisini, şeklini ve monodispersitesini etkiler (Pantidos ve Horsfall, 2014).

2.6.3.3. Mantarlar aracılığı ile Sentez

Aspergillus sp., *Fusarium* sp. ve *Penicillium* sp. gibi mantarlar aracılığı ile metal NP üretimi, bakterilerle olan senteze göre kıyaslandığında pek çok avantaja sahip olması yönüyle pek çok bilim insanını cezbetmiştir. Mantarlardaki sentez hem hücre içi hem de hücre dışı sentez yoluyla yapılabilir. Ayrıca miselin varlığı ile mantarların bakterilerden daha yüksek miktarda protein salgılamasına izin veren artmış bir yüzey alanı sunar, bu da NP'lerin sentezini ve üretimini büyük ölçüde artıracaktır. Bazı mantarlar, sentezlenen partiküller için daha küçük boyuta yol açan yüksek hücre içi metal alım hacimlerine de sahiptir (Volesky ve Holan, 1995; Mukherjee ve ark., 2002; Kitching ve ark., 2015).

Mantarlar tarafından sentezlenen bazı NP'lere örnek verecek olursak; *Fusarium oxysporum* tarafından sentezlenen magnetit NP'ler, zirkonya NP'leri ve bazı metal oksit NP'leridir (Volesky ve Holan, 1995; Mukherjee ve ark., 2002; Bansal ve ark., 2004; Bansal ve ark., 2005; Bansal ve ark., 2006; Bharde ve ark., 2006; Kitching ve ark., 2015).

2.6.3.4. Virüsler aracılığı ile Sentez

Virüsler, kadmiyum sülfür (CdS), silikon dioksit (SiO2), çinko sülfür (ZnS) ve demir oksit (Fe_2O_3) gibi inorganik materyalleri verme ve bunları nanoboyuta dönüştürme yetenekleri ile bilinir (Shah ve ark., 2015). Ancak bu, virüslerin metalik iyonlarla etkileşime girme potansiyeli olan reaktif bir yüzey olarak kabul edilen kapsid proteinleri tarafından kaplanan yoğun yüzeyinden kaynaklanmaktadır. Örneğin, domates mozaik virüsü parçacığı, yüzeyini kaplayan 2130 kapsid protein molekülüne sahip olabilir (Kowshik ve ark., 2002; Culver ve ark., 2015).

2.6.3.5. Mayalar aracılığı ile Sentez

Maya aracılığıyla NP sentezi hücre içi veya hücre dışı olarak yapılabilir. Sentez, mayanın çevreden büyük miktarlarda toksik metalleri emme ve biriktirme kabiliyetiyle, detoksifikasyon, biyoçöktürme, şelasyon, hücre dışı sekestrasyon ve biyosorpsiyon süreçleri yoluyla yapılabilir (Shah ve ark., 2015). Cd, Pb, Au ve Ag'nin kuantum dotları da mayalar tarafından sentezlenebilmektedir (Dameron ve ark., 1989; Kowshik ve ark.,

2002; Ung ve ark., 2012; Borovaya ve ark., 2015). *Candida glabrata*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Torulopsis* sp., *Pichia jadinii* ve MKY3 gibi NP sentezleri için kullanılan çeşitli maya türleri de vardır (Shah ve ark., 2015).

2.6.3.6. Bitkiler aracılığı ile Sentez

Bitkiler kullanılarak metalik NP'lerin yeşil sentezi, sentez ve detoksifikasyon uygulamaları için en çevre dostu yöntemdir. Bitkilerin nanoölçekli malzeme sentezinin bir parçası olma kabiliyeti, metalik iyonları azaltmak ve stabilize etmek için kullanılan alkaloidler, fenolik asitler, polifenoller, proteinler, şeker ve terpenoidler gibi bitki ekstresinde bulunan bileşenlerinden kaynaklanmaktadır (Shah ve ark., 2015). Sentez işlemi, metal tuzu çözeltisinin bir bitki özütü ile karıştırılmasıyla yapılan basit bir yöntemdir; bununla birlikte, reaksiyon karışımında NP'lerin oluşumunu gösteren çözelti renginin değişmesine yol açacaktır (Şekil 2.7) (Malik ve ark., 2014).

Bitki ekstraktının konsantrasyonu, reaksiyon süresi, metal tuzu konsantrasyonu, sıcaklık ve reaksiyon çözeltisi pH özellikleri, sentezlenmiş NP'lerin boyutunu, morfolojisini ve kalitesini etkiler (Pantidos ve Horsfall, 2014; Shah ve ark., 2015). Au, Ag, Cu, Cu oksit, paladyum, platin, titanyum dioksit ve selenyum, çinko oksit, kurşun, indiyum oksit ve demir oksit NP'ler gibi bitkiler kullanılarak nanoboyutta üretilen pek çok metal vardır (Shah ve ark., 2015).

2.7. Altın NP ve Sentezi

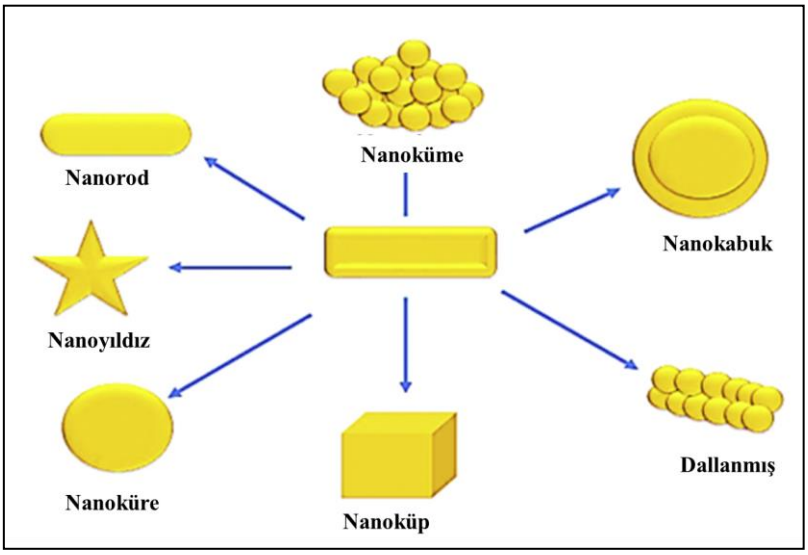
Au NP'ler farklı makro ve mikro boyutlarından dolayı farklı özelliklere sahiptir. Altın çeşitli kimyasal reaksiyonlar için inert bir metaldir. Nanoboyutta Au'nun sentezlenmesi, ona özel bir elektronik özellik olan uzaysal uzunluk ölçeği ile elektronik haraket ve lokal yüzey plazmon rezonansı gibi birçok farklı istisnai özellikler verir (Bansal ve ark., 2014; Vadlapudi ve DSVGK, 2014).

Au NP'ler yüksek elektron iletkenliğine ve geniş yüzey alanına sahip oldukları için biyomedikal ve biyoteknoloji alanları için oldukça önemli bileşenlerdir (Tedesco ve ark., 2010). Au NP'ler radyant arttırıcı olarak radyasyon terapisinde, protein biyomoleküllerinin tespiti için etiketlenmesinde, antimikrobiyal aktivitede, özellikle de akciğer, kolon, meme ve prostat kanserleri için antikanser ajan olarak kullanılmıştır (He ve ark., 2007; Mewada ve ark., 2012; Hutter ve Maysinger, 2013; Shevtsov ve ark., 2017).

Au NP'ler çözelti içerisinde şarap kırmızısı renklidirler. Au (III) iyonunun Au atomuna indirgenmesi; atomun hücrenin yüzeyine bağlanmasını gösterir. Au NP'ler farklı nanoboyutlarda olmakla birlikte sub-oktahedral, küresel, tetrahedral, ikosahedral, oktahedral, nanorodlar ve oktahedral gibi pek çok şekilde yapıya sahiptirler (Sun ve ark., 2002; Bandyopadhyay ve ark., 2018; D'Acunto, 2018; Xiong ve ark., 2018). Au NP'lerin farklı şekilleri Şekil 2.9'da gösterilmiştir.

Au NP'lerin kimyasal sentezi, tiyonlanmış kitosan çözeltisi ya da inositol hekza fosfat (IP6) ya da trisodyum sitrat ya da hidrojen tetra kloro kuprat III tetrahidrat gibi oksitleyici ajanların $HAuCl_4$ ile reaksiyonucu sonucu gerçekleşir (Giljohann ve ark., 2010; Pérez ve ark., 2011; Saleh, 2011; Amjadi ve Farzampour, 2014). Au NP'lerin sentezi için kullanılan fiziksel yöntemlerden olan γ-ışınlama tekniği ile 5-40 nm aralığında yüksek derece saf ve muazzam boyutta Au NP'ler sentezlenebilmektedir. Ve bu yöntemde stabilizatör olarak polisakkarit alginat kullanılmaktadır (Rezende ve ark., 2010). Ayrıca sitrik asit ve setiltrimetilamonyum bromür (CTAB) gibi farklı indirgeyici ajanlar da kullanılarak Au NP'lerin sentezlenmesi için mikrodalga ışıma tekniği de kullanılmaktadır (Guo ve ark., 2012).

Au NP'lerin yeşil sentezi; bitkiler, algler, mantarlar, mayalar ve bakteriler ve bunların içerdikleri biyomoleküller gibi indirgeyici ve stabilize edici ajanları kullanımıyla gerçekleşmektedir. Meyve sularının ve bazı yenilebilir mantarların kullanılarak $HAuCl_4$'ü indirgediği ve Au NP'lerin sentezlendiği rapor edilmiştir (Tarnawski ve Ulbricht, 2011; Nalawade ve ark., 2012).



Şekil 2.9. Farklı altın NP tipleri (Alaqad ve Saleh, 2016)

2.8. Gümüş NP ve Sentezi

Gümüş nanopartiküller (Ag NP'ler) medikal uygulamalarda önemi ve lokal yüzey plazmon rezonansı özellikleri ile oldukça önem kazanmışlardır. Ayrıca mantarlara, virüslere ve bakterilere karşı benzersiz geniş spektrumlu antimikrobiyal özelliklere sahiptirler (Jana ve Pal, 2007; Monteiro ve ark., 2009; Stiufiuc ve ark., 2013; Franci ve ark., 2015). Ag NP'ler ayrıca elektronik, kataliz ve fotoniklerin endüstriyel uygulamalarında onları gerekli kılan optik, elektriksel ve termal özelliklere de sahiptirler (Bosetti ve ark., 2002; Sondi ve ark., 2003; Li ve ark., 2008; Rajasulochana ve ark., 2010; Behnam ve ark., 2018). Ag NP'ler yüzeyi geliştirilmiş Raman spektroskopisinde (SERS), kimyasal ve biyolojik sensörlerde ve biyomedikal materyallerin yanı sıra biyobelirteçlere de uygulanmıştırlar (Thanh ve Green, 2010; Bu ve Lee, 2012; Konrad ve ark., 2013; Rivero ve ark., 2013; Alon ve ark., 2014; Evtugyn ve ark., 2014; Luo ve ark., 2015). Ag NP'lerin en önemli kullanımlarından biri de, HIV-1 virüsü ile etkileşime girme ve bunların *in vitro* olarak konakçı hücrelere bağlanmasını durdurarak hücrelerin hedeflenmesi ve hastalığın tedavi edilmesidir (Tran ve ark., 2013).

Antimikrobiyal özellik gösteren Ag NP'ler; bitkisel yağın Ag NP'lerle kaplanması mükemmel antimikrobiyal özellikler göstermesi (Kumar ve ark., 2008; Hazer ve Kalaycı, 2017); karbon filtrelerde biriken Ag NP'ler su ile ilişkili hastalıkların azaltması (Le Pape ve ark., 2002; Naeem ve ark., 2019); ülser tedavisinde yaralar için Ag kullanımı (Bhattacharya ve Mukherjee, 2008; Wang ve ark., 2018; Xu ve ark., 2018) gibi farklı uygulamalarda yararlar sağlamıştır.

Kimyasal indirgenme Ag NP'lerin kimyasal sentezi için en uygun yöntemlerden biridir. Bu yöntem basit, düşük maliyetli ve yüksek verimli olarak kabul edilebilir. Kimyasal indirgenme; etilen glikol, glikoz, $NaBH_4$ gibi bir indirgeyici ajan ve sodyum oleat, polivinilpirolidon (PVP), polivinil asetat gibi hem stabilize edici hem de kaplayıcı ajanlara bağlıdır. Bununla birlikte, kimyasal olarak sentezlenen Ag NP'lerin şekli ve boyutu, reaksiyon parametrelerinin sıcaklık ve pH olarak ayarlanmasına ek olarak reaksiyonun bileşenlerine de bağlıdır (Evanoff ve Chumanov, 2004; Chen ve Zhang, 2012; Dang ve ark., 2012; Patil ve ark., 2012; Iravani ve ark., 2014).

Ag NP'lerin fiziksel sentezi, yoğunlaşma, buharlaşma ve termal bozunma yöntemleri gibi farklı yöntemlerle de elde edilebilirler (Jung ve ark., 2006; Iravani ve ark., 2014). Seramik ısıtma işlemi, Ag NP'lerin monodispers ve homojen boyutlarını üretmek için kullanılır (Saleh, 2011). Ag NP'ler için kullanılan fiziksel teknikler, tek tip şekil ve boyut ile sonuçlanmıştır (Sintubin ve ark., 2012; Saleh, 2013). Bununla birlikte fiziksel sentez de, ekipman yatırımı, zaman tüketimi ve yüksek enerji gereksinimi için birincil maliyetler dikkate alınmalıdır.

Yeşil kimyada, geleneksel stabilize edici ve indirgeyici ajanların yerini biyomoleküller almıştır. Biyolojik teknikte Ag NP'ler, indirgeyici ve stabilize edici ajanlar olarak bakteri, maya, mantarlar, algler ve bitkiler kullanılarak üretilir (Suresh ve ark., 2010). Örneğin; *Trichoderma ride* mantarı, $AgNO_3$'ten Ag NP sentezi için prekürsör olarak kullanılmıştır (Fayaz ve ark., 2010). Ayrıca *Fastia japonica* yaprak ekstraktının $AgNO_3$ ile karıştırılması ile mükemmel antimikrobiyal aktiviteye sahip Ag NP'ler üretilmiştir (Zhang ve ark., 2017).

2.9. Demir NP ve Sentezi

Demir oksit NP'lerin yüzey/hacim oranı, süper para manyetizma, ayırma kolaylığı ve yüksek yüzey alanı gibi benzersiz özellikleri bilim adamları için oldukça çekici olmuştur. Bu özel özellikler demir oksit NP'lerin biyotıp, ilaç iletimi, tanısal MRI, termal terapi protein immobilizasyonu için biyomedikal uygulamalar gibi birçok bilimsel alanda kullanılmasını sağlamıştır (Carvalho ve ark., 2013).

Demir oksitler doğada farklı şekillerde bulunur. En yaygın bulunanları; FeII $FeIII_2O_4$ (ferromayetik), Fe_3O_4 (magnetit), α-Fe_2O_3 (zayıf ferromanyetik veya antiferromanyetik ve hematit), γ-Fe_2O_3 (ferromanyetik, maghemit), FeO (wüstit, antifermanyetik), ε-Fe_2O_3 ve β-Fe_2O_3. Ferromanyetik materyaller 15 nm'den küçük NP'leri oluşturduklarında, benzersiz manyetizmalarından dolayı süperparamanyetik olarak adlandırılırlar (Shnoudeh ve ark., 2019).

Manyetik demir oksit NP'leri, yüksek yüzey enerjilerine ve yüzey enerjilerini en aza indirgemek için bir araya gelme kabiliyetine yol açan büyük yüzey/hacim oranları gibi diğer demir oksitlere göre avantajlara sahiptir (Wu ve ark., 2008).

Demir NP'ler, özellikle hava varlığında oldukça reaktif oldukları için hızla oksitlenirler. Bu dezavantajın üstesinden gelmek için, çıplak demir okside uygun yüzey kaplaması ve manyetik demir oksit NP'lerin stabilitesini korumak için etkili koruma

stratejileri sağlanmalıdır. Demir NP'lerin, NP'lerin manyetik özelliklerini etkilemeden oksidasyona karşı tam ve kalıcı olarak korunması için ince bir kaplama için farklı kaplama malzemeleri kullanılabilir (Wu ve ark., 2008).

Demir oksit NP'ler, elektrodepozisyon, piroliz, ark deşarjı, lazer ablasyon ve yanma gibi mekanokimyasal veya buhar yöntemleri dâhil olmak üzere çeşitli fiziksel yöntemlerle hazırlanabilirler. Kimyasal olarak sentezlenmiş demir oksit, birlikte çökeltme, sol-jel sentezi, ters misel, şablon destekli sentez ve hidrotermal yöntemlerle de yapılabilir. Demir oksit NP'lerin birçok şekli, farklı sentetik protokollerde demir tuzu öncüsü değiştirilerek elde edilebilir. Bu şekiller arasında nano tüpler, gözenekli küreler, nanorodlar, kendinden yönlendirilmiş çiçekler ve çarpık küpler bulunur (Ali ve ark., 2016).

Demir oksit NP'lerin büyüklüğü, bu NP'lerin bileşimi ve manyetik davranışı ile doğrudan ilişkilidir (Carvalho ve ark., 2013). 7-20 nm büyüklüğündeki demir oksit NP'lere çökeltme yöntemleri ile ulaşılabilir. İlk yöntem kontrollü bir atmosferde ve ikincisi ise hava altında indirgeme-çökeltmeye dayandığı için yapılır; bazı durumlarda daha sonra hidrotermal işlem kullanılabilir. İndirgeme-çöktürme yönteminin avantajı, boyut olarak en küçük NP'leri üretebilmesidir.

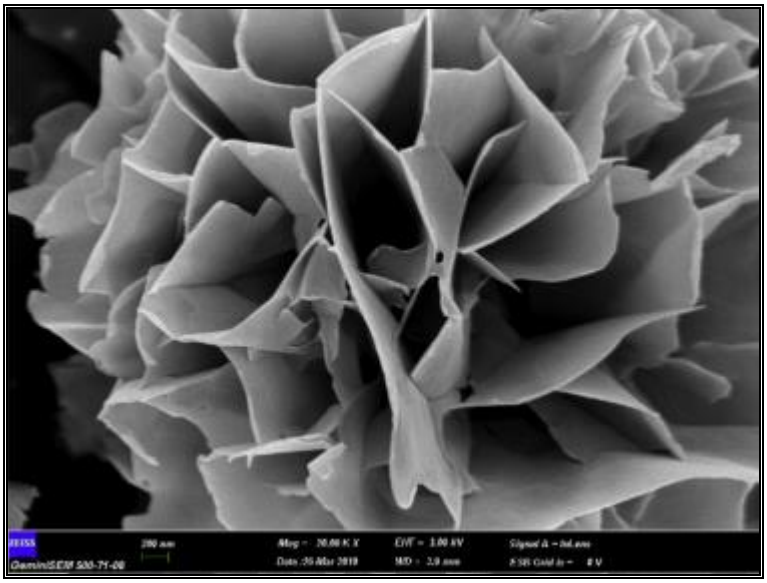
Demir NP'lerin yeşil sentezi, daha düşük zaman tüketimine ek olarak kolaylık ve başarı göstermiştir; örneğin demir NP'ler, *Camellia sinensis* yaprak özütü kullanılarak sentezlenmiştir. Yeşil çay özütünde bulunan polifenoller, ferrik katyonları indirgemek için özelliklere sahiptir ve ayrıca kaplayıcı ajanlar olarak da işlev görürler (Gottimukkala ve ark., 2017).

2.10. Hibrit Metal-Organik Nanoçiçekler

Nanomateryaller içinde hibrid yapılı nanoçiçekler (hNÇ) özel bir sınıfta yer alır. Nanoçiçekler -yeni nanoyapılar- nano katmanların topografik özellikleri nedeniyle bilim adamlarının ilgisini uyandırmıştır, bu da nanoçiçekler için yüzey reaksiyonlarının verimliliğini önemli ölçüde artıran klasik küresel nanopartiküllere kıyasla daha yüksek bir yüzey/hacim oranına izin vermektedir (Şekil 2.10) (Cui ve Jia, 2017). hNÇ'lerin temel amacı enzim stabilizatörü olarak kullanılmalarıdır. Enzimler, kofaktörler olarak iyonik metaller için güçlü bir afiniteye sahiptirler ve bu nedenle protein stabilitesi, genellikle bir metal yüzeyinde yük afinitesi ve kovalent bağlar yoluyla immobilizasyon yoluyla arttırılır (Datta ve ark., 2013). Bununla birlikte, immobilize enzimler, esas

olarak immobilizasyon işlemi sırasında yön değiştirmelerinin ve dolayısıyla substrat devirinin sınırlandırılmasından ötürü, serbest enzimlere göre daha düşük aktiviteye sahiptir (Kim ve ark., 2008; Ge ve ark., 2009). Bu sorunu çözmek için hibrid nanomalzemelerin kolay ve güvenli sentezine yeni bir yaklaşım önerilmiştir (Ge ve ark., 2012; Negahdary ve Heli, 2018; Tran ve Kim, 2018). Bu hNÇ'ler, herhangi bir toksik element veya aşırı sert sentez koşulları gerektirmeyen bir metal iyonu çözeltisine proteinler ya da farklı organik biyomoleküller eklenerek yapılabilir. Bu nedenle, senteze katılan organik madde, hareketsizleştirilmiş enzimin aktivitesini korumak için geleneksel yöntemlere kıyasla daha az manipülasyondan geçer. Bu sentez sırasında üretilen hibrid nanomateryallere "organik-inorganik hibrid nanoçiçekler" veya "hibrid nanoçiçekler" denir. Organik-inorganik hibrid nanoçiçekler, mikroskobik olarak çiçeklere benzeyen üç boyutlu yapılar olarak tarif edilebilir. Sentezleri, fiziksel özellikleri, protein aktiviteleri, stabiliteleri ve tekrar üretilebilirlikleri aktif olarak günümüzde araştırılmaktadır (Shcharbin ve ark., 2019).

Hibrid nanoçiçeklerde başlangıç Cu^{+2} ve proteinlerle birlikte sentezinin gelişimi ile başladığından beri, bunlar yoğun bir şekilde incelenmiştir. Farklı biyomolekül türleri (proteinler, DNA, küçük organik moleküller, vb.) arasında enzimler, organik-inorganik hibrid nanoçiçeklerin sentezi için en çok araştırılan organik bileşenler olmuştur.



Şekil 2.10. $Cu_3(PO_4)_2$ nanoçiçek (Shcharbin ve ark., 2019)

2.11. NP'lerin Karakterizasyonu

Metalik NP'lerin karakterizasyonuna dayanan temel etmenler; boyut, şekil (morfoloji), yüzey yükü ve optik özellikleridir. Optik özellikleri incelemek için spektroskopi kullanılır. Metal NP'lerin temel moleküler ve kimyasal bileşimini incelemek için Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), X-ışını kristalografisi (XRD), enerji dağıtıcı X-ışını (EDX) spektroskopisi kullanılır. SEM, TEM VE RAMAN spektroskopisi ise morfoloji ve topografyayı görüntülemek için kullanılır. Metal NP'lerin karakterizasyonunda kullanılan bu yöntemlerin avantajları, dezavantajları ve karakterizasyon yöntemleri Tablo 2.1'de özetlemiştir.

Tablo 2.1. Karakterizasyon Metodlarının özeti ve Kullanımları, Avantajları ve Dezavantajları (Shnoudeh ve ark., 2019)

Metod	**Fiziksel ve Kimyasal Özellikler**	**Avantajları**	**Dezavantajları**
UV-Vis	-Boyut ve şekle bağlı optik özellikler	-	-
FTIR	-Yapı ve konformasyon olarak yüzey özellikleri	-Hızlı ve ucuz çözüm -Numune hazırlama süreci yok ya da daha az -Numune kalınlığına bakılmaksızın üstün tekrarlanabilirlik	-Nano ölçekli analizde duyarlılık nispeten düşüktür
SEM	-Şekil, boyut ve boyut dağılımı	-NP'lerin şekil ve boyut navigasyonunun eşzamanlı ölçümü	-Örnek veya iletken malzemelerin kaplanmasının kısıtlanması

TEM	-Şekil heterojenliği -Boyut ve boyutta gezinme. -Dağılım.	-SEM'den daha yüksek uzamsal çözünürlükle, NP'lerin boyut taşımasının ve şeklinin doğrudan ölçümü gerçekleşir. -NP'lerin kimyasal bileşimi ve elektronik yapılarının incelenmesi -TEM ile birçok analitik teknik eşleştirilir.	-Ultra ince örnekler gereklidir -Fizyolojik olmayan durumlarda numune gereksinimi -Pahalı ekipman
XRD	-Kristal malzemeler, şekil, boyut ve yapı tayini için	-İyi organize edilmiş yöntemler. -Atom seviyesinde, yüksek uzamsal çözünürlük	-Kristalli materyallerde kullanımı azalır. -Numune için sadece bir bağlanma veya konformasyon sahası; elektron kırınımına kıyasla erişilebilirlik düşük
Zeta potansiyeli	-Yüzeyde yük ile ilgili kararlılık	-Çok sayıda parçacığın eşzamanlı ölçümü	-Doğru ve tekrar ölçümünün elektroosmotik etki eksikliği
DLS	-Hidrodinamik boyut dağılımı	-Hızlı ve tutarlı ölçüm -Ekipman için ucuz giderler -Bazı sıvı ortamlar için kullanılabilir -Hidrodinamik boyutların tam olarak belirlenmesi	-Belirli bileşim için, boyut fraksiyonlarının duyarsız korelasyonuiçin kullanılır. -Çoklu dağılmış örnekte az sayıda büyük partikül bulunması

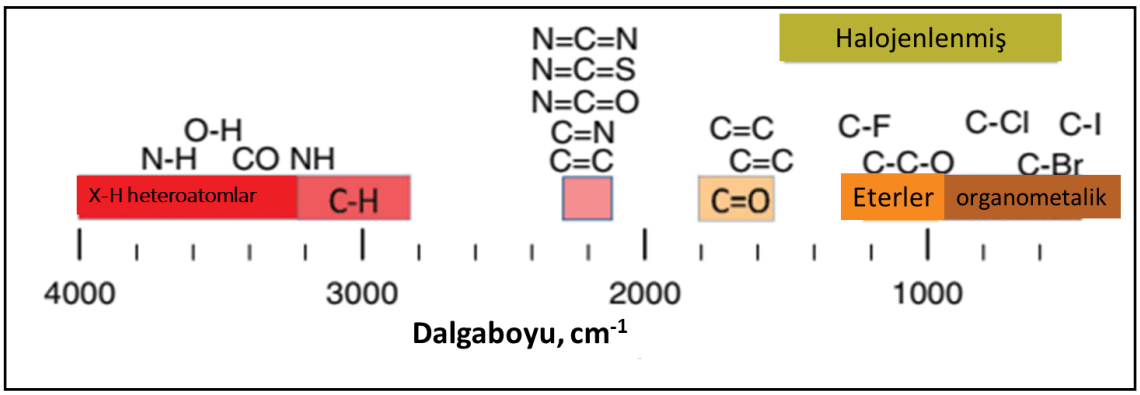
2.11.1. UV-Vis ve Plazmon Rezonansı

Spektroskopi, elektromanyetik radyasyonun dalga boyunun bir fonksiyonu olarak, ışığın ve diğer radyasyonun maddeler tarafından emisyonunun ve emiliminin bir çalışmasıdır. UV-Vis spektroskopi uygulamaları genellikle UV (185-400 nm) ve Vis (400-700 nm) ışık ile ilgilidir. Beers-Lambert yasası kullanılarak, çeşitli çözeltilerin konsantrasyonu, absorblanan ışık ölçülerek hesaplanabilir (Poole ve Kalnenieks, 2000).

2.11.2. FT-IR Spektroskopisi

FTIR spektroskopi yöntemi, absorpsiyon veya emisyonun IR spektrumlarını kaydetmek için kullanılır. Tüm frekans aralığını kapsayan (5000-400 cm^{-1}) ışık, NP'lerle ilişkili fonksiyonel grupların titreşimini incelemek veya metal NP sentezinden önce bitkilerdeki fonksiyonel grupların ölçümü için kullanılabilir (Şekil 2.11) (Sharma ve ark., 2014).

Çeşitli yapılardaki NP'ler, kızılötesi aralıktaki farklı spektroskopik teknikler ile karakterize edilmiş ve tanımlanmıştır. Yüzeylerinde karakteristik kızılötesi absorpsiyonları veya fonksiyonel grupları olan NP'ler doğrudan IR spektroskopisi ile karakterize edilebilir. Buna ek olarak, FTIR, NP'lere bağlı farklı ligandları belirlemek için hızlı, hassas ve tahribatsız bir yol sağlar (López-Lorente ve Mizaikoff, 2016). NP'ler için bazı titreşimler Tablo 2.2'de verilmiştir.



Şekil 2.11. IR spektroskopisi gerilme bantları aralığı (Guerrero-Pérez ve Patience, 2020)

Tablo 2.2. NP çalışmalarda en çok kullanılan IR bandları (Guerrero-Pérez ve Patience, 2020)

Fonksiyonel grup	**Absorbans band(ları) (cm^{-1})**
Alkol-OH gerinimi	3550-3200
Su-OH gerinimi	3700-3100
Karboksilik asit-OH gerinimi	3000-2500
Alkil C-H gerinimi	2950-2850
Alkenil C-H gerinimi	3100-3010
Aklenil C=C gerinimi	1680-1620
Alkinil C-H gerinimi	≈3300
Alkinil C≡C gerinimi	2260-2100
Aromatik C-H gerinimi	≈3030
Aromatik C-H bükülümü	860-680
Aromatik C=C bükülümü	1700-1500
Nitril C≡H bükülümü	2260-2220
N-H gerilimi	3500-3350
Aldehid C=O	1740-1715
C-O-C gerinimi	1250-1050

2.11.3. SEM/TEM

SEM

Bu teknik, büyütülmüş görüntüler oluşturmak için ışık kaynakları (fotonlar) ve bir cam mercek kullanan optik mikroskopla benzerlik gösterir. Oysa elektron mikroskobu, elektronların gelen ışınının numuneyi enine şekilde taradığı ve atomların bileşimi hakkında örneklerin topografik detayları ile ilgili bilgi sağlayan elektronları kullanır (Filipponi ve ark., 2010; Johal ve Johnson, 2018). SEM, rutin olarak üç analiz modu kullanan yüzeye duyarlı bir görüntüleme prosedürüdür. Bu modlar; sekonder elektron (SE) modu, geri-saçılmış elektron (BSE) modu ve TEM'deki gibi X-ışını enerji dağıtıcı spektroskopisidir. Bu modlar arasında, SE modu en çok kullanılan moddur (1 nm çözünürlük) (Chekli ve ark., 2016; Johal ve Johnson, 2018).

Birçok iletken olmayan biyokimyasal malzeme, elektron ışını yetersiz şarj eder ve refrakte olur, bu da görüntüleme sırasında hatalara ve artefaktlara yol açar. Bu artefaktların üstesinden gelmek için, numunelerin hazırlanması sırasında biyomoleküller, ultra ince bir elektrik iletken malzeme tabakası ile kaplanır (Hall ve ark., 2007). SEM için numune hazırlama TEM ile karşılaştırıldığında daha az karmaşıktır, çünkü eski ne ince numunelere ihtiyaç duymaz ne de havaya maruz kalmadan büyük ölçüde etkilenir (Chekli ve ark., 2016).

TEM

TEM, SEM ile benzer veri türünü vermesine rağmen, çalışma prensibi SEM'den farklıdır. Bu teknikte, ultra ince numue tabakası geçilir ve bir elektron demeti ile etkileşime girer. İletilen elektronlar, objektif bir lens tarafından büyütüldükten ve odaklandıktan sonra numune görüntüsünün oluşmasına yol açacaktır. NP'ler destekleyici filmler veya giridiler üzerine bırakılır. (Molpeceres ve ark., 2000; Joshi ve ark., 2008). Kullanımın kolaylaştırılması ve cihaz vakumuna dayanabilen NP'lerin oluşturulması için, plastik gömme veya uranil asetat, fosfotungstik asit veya türevler gibi negatif boyama materyali ile fiksasyon gereklidir. Alternatif olarak NP numunesi, camsı buzun içine gömüldükten sonra sıvı azot sıcaklığına maruz bırakılır (Molpeceres ve ark., 2000).

TEM tarafından verilebilecek sonuç bilgileri, özellikle elementel kompozisyonun X-ışını analizi ile birleştirildiğinde, numunenin mikro yapısı ve morfolojisi ile ilgili koyu ve parlak görüntülerdir (Campos ve ark., 2015).

TEM, boyut, şekil ve toplama durumu ile ilgili bilgi almak için selenyum NP, Ag NP'ler, Cu NP'ler, demir NP'ler ve diğer metal NP'ler gibi çeşitli metal NP'leri görüntülemek için kullanılmaktadır (Lee ve Kang, 2004; Sharma ve ark., 2014; Chekli ve ark., 2016; Rajeshkumar ve Rinitha, 2018).

Yüksek çözünürlüklü TEM'nin, bir numunenin kristalografik yapısının atom ölçeğinde görüntülenmesini sağlayan transmisyon elektron mikroskobunun sadece bir görüntüleme modu vardır. Ayrıca ıslak TEM, sulu çözeltideki Au NP'ler gibi sulu bir ortamda nanomateryallerin dispersiyonunu, partikül boyutunu, dinamik yer değiştirmeyi ve agregasyonunu belirlemek için kullanılabilir (Joshi ve ark., 2008; Carlton ve Ferreira, 2012; Chen ve Wen, 2012; Hondow ve ark., 2012).

2.11.4. XRD

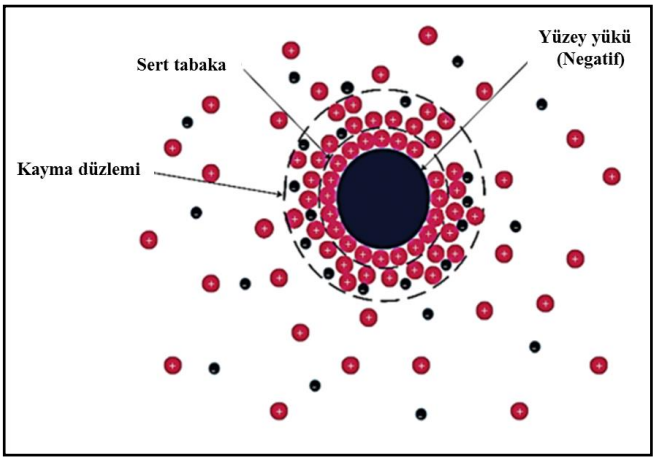
XRD, kristal yapıda malzemelerin tanımlanması için ayarlanabilir basit bir yöntemdir. XRD, numune saflığının analizine ek olarak birim hücre boyutlarını çözmek için kristalin yüzdesinin ölçülmesi, NP'lerde ve nanokillerde olduğu gibi ince kıvılcım minerallerinin tanımlanması da dâhil olmak üzere çok çeşitli amaçlar için kullanılabilir. Numuneler uygun XRD analizi için dövülmeli ve homojenize edilmelidir. XRD, Se NP'ler, magnetit demir NP'ler, Ag NP'ler, Au NP'ler, Cu NP'ler ve daha fazla

nanopartikülü karakterize etmek için kullanılan bir tekniktir (Nurmi ve ark., 2005; Lin ve ark., 2008; Wang ve ark., 2009a; Kim ve ark., 2010; Wang ve Hong, 2011).

2.11.5. Zeta Potansiyeli

Zeta Potansiyeli (ZP), koloidal çözelti içinde NP'lerin yüzey yükünün belirlenmesi için uygulanan analitik bir tekniktir. Yüklü bir parçacığın yüzeyi, ince bir zıt yük tabakası çeker ve sıkıca bağlanır ve Stern tabakası adı verilen ince bir sıvı tabakası oluşturur; partikül çözelti içinde difüze olduğunda gevşek bir şekilde ilişkili iyonlardan oluşan bir dış dağınık katman, bunun sonucu olarak bir elektrik çift katmanı oluşturulur (Clogston ve Patri, 2011) (Şekil 2.12). ZP, çift katmanın elektrik potansiyeli için adlandırılır ve harici bir elektrik alanı varlığında numune çözeltisi boyunca elektroda doğru hareket eden yüklü parçacıkların hız ölçümü ile belirlenir (Pons ve ark., 2006; Sapsford ve ark., 2011). ZP değeri tipik olarak -100mV ile +100mV arasında değişmektedir. ZP'nin büyüklüğü kolloidal stabilitenin hakkında tahmini bir bigi verir. NP'lerin ZP değerleri genellikle -25 mV ile +25 mV arasında bir değere sahiptirler. Daha düşük dağılım ZP değerleri van der Waals tanecikler arası çekiciliğinden dolayı topaklaşmaya, pıhtılaşmaya yol açacaktır (Horie ve Fujita, 2011).

NP'lerin ZP'si, NP'ler biyomoleküllerle etkileşime girdiğinde agregat oluşumuna duyarlılıktaki artışı anlamak ve tahmin etmek için de kullanılır. Metal oksit NP'ler suda dağıldıktan sonra, ZP moleküler türlere ve yüzey durumlarına bağlıdır (Horie ve Fujita, 2011).



Şekil 2.12. Yüzey yükünü, sert tabakayı ve kayma tabakasını gösteren zeta potansiyelinin çizimi. (Clogston ve Patri, 2011)

2.11.6. DLS

Dinamik Işık Saçılımı (DLS), monokromatik bir ışık kaynağı, örneğin bir lazer kullanılarak bir nanometreye submikron ölçeğindeki polimerler veya moleküller için bile küçük parçacıkların boyut dağılımını incelemek için kullanılabilen bir ışık saçılımı yöntemidir (Patri ve ark., 2006; Sapsford ve ark., 2011). Nanomalzemelerin yapı, şekil, hidrodinamik boyut, agregasyon durumu ve hatta biyomoleküler konformasyon gibi birçok fizikokimyasal özelliği radyasyon saçılım teknikleri ile keşfedilebilir. (Sapsford ve ark., 2011; Inagaki ve ark., 2013).

2.12. Metal Nanoaprtiküllerin Uygulama Alanları

Metal NP'ler için geniş bir uygulama alanı yelpazesi vardır. Bu uygulamalar arasında tıbbi, biyomedikal, çevresel, tarım, kataliz, tekstil, elektronik, ulaşım ve diğer pek çok alan sayılabilir. Metal NP'lerin özellikle tıbbi, farmasötikal ve biyomedikal alanlarındaki uygulamaları oldukça ilgi çekmiştir. Farklı metal NP'lerin genel uygulamaları Tablo 2.3'de özetlenmiştir.

Tablo 2.3. Nanopartikül uygulamalarının özeti

Nanopartiküller	**Genel uygulamaları/ Potansiyel uygulamaları**	**Referans**
AgNP	*Biyomedikal*: İlaç taşıma, hücre görüntüleme, kanser tedavisi ve teşhis *Sağlık hizmetleri*: Nutrasötik, UV koruma, topikal kremler ve merhem *Çevresel*: Aktif karbon filtreler, su dezenfeksiyonu ve atık su arıtma *Gıda tarım*: Gıda kalite analiz sensörleri, interaktif gıdalar ve gıda ambalajları *Kataliz*: Hidrojen üretimi fotokatalistleri, yakıt katkı katalizörü ve yakıt hücresi katalizörü *Tekstil ürünleri*: tıbbi tekstil ürünleri, antistain tekstil ürünleri ve UV engelleyici tekstil ürünleri	(Keat ve ark., 2015)

AuNP	*Biyomedikal*: Plazmonik biyosensörler, analitik yöntemler ve biyogörüntüleme gibi teşhisler, Fotodinamik terapi, fototermal terapi, ilaç ve gen iletimi gibi tedavi İmmünoloji, adjuvanlar, biyodistribüsyon ve toksisite *Çevresel*: Suyun iyileştrilmesi *Kataliz* *Nanoelektronik* *Doğrusal olmayan optikler*	(Khlebtsov ve Dykman, 2011; Siddiqi ve Husen, 2017)
FeNP	*Biyomedikal*: Kanser tedavisi, hücre etiketleme, ila taşıma sistemleri, MRI kontrast maddeleri *Kozmetik*: Pigment *Çevresel*: Biyosensörler, çevresel kataliz, yakıt hücresi katalizörleri ve atık su arıtma *Malzemeler*: Kaplamalar / Boyalar ve pigmentli termoplastikler *Elektronik*: Devre ve manyetik veri depolama *Ulaşım*: İtici gazlar ve fren sistemlerinde	(Kornberg ve ark., 2017)
ZnO NP	*Biyomedikal*: Doku onarımı, yara iyileştirici, antineoplastik (kanser tedavsi), antibakteriyel, anjiyogenez *Sağlık hizmetleri*: UV koruma (kremler, tozlarvs.) *Gıda tarım*: Gıda koruyucu ve yem katkı maddesi *Kataliz*: Fotokatalist *Tekstil*: UV radyasyonu emicisi *Kauçuk endüstrisi*: Kauçuk bileşiklerinin aktivatörü ve dolgu maddesi olarak *Elektronik ve elektroteknoloji endüstrileri*: Sensörler, fotoelektronik, alan yayıcılar, güneş pilleri ve UV lazerler	(Kołodziejczak-Radzimska ve Jesionowski, 2014; Raguvaran ve ark., 2015)
CuNP	*Biyomedikal*: Biyo-algılama ve biyo-etiketleme *Çevresel*: Atık su için dezenfektan *Endüstri*: Polimerler, karbon, poliüretan köpük ve sepiyolit üzerinde stabilize edildiğinde etkili antibakteriyel aktivite *Kataliz*: Nitroaromatikte azalma.	(Ruparelia ve ark., 2008; Mandal ve De, 2015)
SeNP	*Biyomedikal*: Antimikrobiyal, antioksidan, kanserin önlenmesi, immünomodülasyon ve üremede bir role sahiptir,	(Sarkar ve ark., 2015)

2.12.1. İlaç Taşıma Sistemleri

Au NP'ler ve Ag NP'ler gibi metal NP'ler, arzu edilen özellikleri, benzersiz morfolojisi, yüzey işlevleri, sentez kolaylığı ve diğer çekici özellikleri sergileyen benzersiz çok boyutlu iskeleler olarak işlev görebilen ve tıbbi amaçlar için de

kullanılabilen çok amaçlı ajanlardır (Sperling ve ark., 2008; Sau ve ark., 2010). Biyosensörler ve hastalık teşhisi için nanobiyosensörler ve *in vivo* algılama ve görüntüleme için nanoproplar gibi tıbbi görüntüleme ve izleme gibi optik uygulamalar bu alanda en çok odak noktası konulardır. Ek olarak, metal NP'ler, tıbbi teşhis ve fototermal kanser terapisinde, kanser hücrelerini seçici olarak hedefledikleri için de kullanılmıştırlar (Zhang ve ark., 2012). Diğer uygulamalar, biyomoleküler bileşiklerin (örn., Genler, problar, proteinler) ve ilaçların taşınması ve verilmesi için iletim vektörleri olarak kullanılmasını içerebilir (Arvizo ve ark., 2012).

Genel olarak, yeni ve benzersiz uygulama sistemleri geliştirmenin amacı, ilaçların veya diğer bileşiklerin arzu edilen bölgelere yeterli konsantrasyonlarda verilmesini sağlamakla birlikte, söz konusu ilacın toksisitesini ve yan etkilerini en aza indirmenin yanı sıra verilen ilacın etkinliğini de korumaktır (Anandhakumar ve ark., 2010; Anandhakumar ve ark., 2011; Anandhakumar ve ark., 2014).

Au NP'ler, antikanser ilaçları için, paklitaksel veya Pt bazlı ilaçlar (örn., Cisplatin, oksaliplatin) gibi hedeflenmelerini ve hücrelere alınmasını iyileştiren potansiyel bir taşıma aracı olarak kullanılmıştır. Au NP'lerin ilaç taşıma uygulanmasının başka bir örneği, termosensitif bir hidrojel matrisi ile kaplanmış Au-Au sülfür nanoselleri yoluyla geliştirilen fototermal ilaç taşıma sistemleridir. NP'lerin retiküloendotelyal sistemden (RES) kaçmada özellikle etkili oldukları bulunmuştur (Sershen ve ark., 2000; Gibson ve ark., 2007; Dhar ve ark., 2009; Hwu ve ark., 2009).

Beyin, ilaç moleküllerini geçmesini durduran kan-beyin bariyerinin (KBB) varlığı nedeniyle, ilaç dağıtımı için zorlu bir organdır ve bu Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için büyük bir engeldir. Alzhemier ve Parkinson hastalıkları için kullanılan ilaçların çoğu direk olarak beyni hedeflememesi bu ilaçların beyindeki temel maksimum etkili konsantrasyonlara ulaşmasını engeller. Diğer taraftan, NP'ler, küçük boyutlarından dolayı, özellikle KBB'de, nörodejeneratif bozukluklar için umut verici tedavi sonuçlarına yol açabilecek çeşitli biyolojik bariyerleri geçme potansiyellerine sahiptir (Md ve ark., 2018).

2.12.2. Protein Dağıtım Sistemleri Uygulamaları

Biyofarmasötikler olarak da adlandırılan proteinler, insan vücudunda birden fazla biyolojik etki gösteren makromoleküllerdir. Çeşitli hastalık ve bozukluklar için tedavi stratejileri olarak umut verici oldukları bilinmektedir. Tıbbi ve farmasötik araştırmacılar, protein ilaç dağıtım sistemlerini çeşitli terapötik uygulamalarına göre ayırırlar (Shnoudeh ve ark., 2019).

Çeşitli yapay proteinler, doğal olarak oluşan proteinleri taklit ederek kataliz, malzeme ve biyosupramoleküler kimyada önemli uygulamalara sahip olan metal koordinasyon alanı veya spesifik mutasyonlar yoluyla bir araya getirilmiştirler. Protein kafesleri örneğinde, proteinin ilk olarak genel yapısı ve özellikleri korunurken sadece dışında değişiklik yapılmıştır. Bu yapay protein kafesi seçici olarak bazı kanserlerin ve romatoid artritin başlangıç evrelerinde baş rolü olan spesifik integrinlere bağlanır (Schoonen ve van Hest, 2014).

Protein kristal mühendisliğinin yeni ve yenilikçi bir alanı, katı biyofarmasötiklerin geliştirilmesinde dikkat çekmektedir. Protein kristalleri, doğal protein düzenekleri gibi yoğun şekilde paketlenmiş monomerik proteinlerdir. Bu protein kristalleri, ıslanma veya ko-kristalleştirme yoluyla metal iyonları veya NP'lerle modifiye edilebilir ve işlevselleştirilebilir. Böylece bölgeye özgü mutasyonlarla yeni metal bağlanma yerleri oluşturulur. Metal koordinasyonunun, metalloproteinlerin doğal işlevlerini anlama çabalarında, protein iskelelerinde metal iyonlarının ve komplekslerinin doğal olmayan aktivitesini sağladığı birçok metalloprotein geliştirilmiştir (Abe ve ark., 2018).

2.12.3. Peptid Dağıtımındaki Uygulamaları

Au NP'ler, arzu edilen özelliklerinden ötürü, çeşitli terapötik ajanlar ve peptitler dahil olmak üzere biyomoleküller için "taşıma araçları" olarak özellikle kullanılırlar (Abdelrasoul ve ark., 2015).

Antibiyotik ilaç direnci, yeni tedavi yaklaşımlarını araştırmaya iten küresel bir krizdir. Antimikrobiyal peptitler (AMP'ler), hem ökaryotlarda hem de prokaryotlarda bulunan çeşitli sayıda amino aside sahip küçük moleküler ağırlıklı proteinlerdir. Son zamanlarda, çoklu ilaca dirençli enfeksiyonları tedavi etme potansiyeline sahip oldukları keşfedilmiştir. AMP'ler, antibiyotikler, polimerler, DNA, tuzlar ve fenolik türevler gibi farklı materyallerle konjüge edilebilir ve fonksiyonelleştirilebilir. Nano

taşıma sistemlerin veya nanoenkapülasyonun AMP'nin aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (Faya ve ark., 2018).

2.12.4. Gen Dağıtımındaki Uygulamaları

Gen terapileri, edinilmiş hastalıklara ek olarak, genetik tedavi veya önleme için mükemmel bir strateji sunar (Miller, 1992; Pan ve ark., 2018). Modern çalışmalar, tek sarmallı DNA, çift sarmallı DNA (dsDNA), tek sarmallı RNA ve plazmidler gibi tüm oligonükleotit tiplerini verebilme yeteneğinin olağanüstü terapötik etkilere sahip olabileceğini düşündürmektedir. Au NP'ler, çeşitli morfolojilerinde (örneğin, nanoküreler ve nanorodlar), nükleik asidi korudukları ve molekülleri nükleaz bozunmasından engellediği için DNA ve RNA iletimi için potansiyel adaylardır. Ek olarak, Au NP'ler hedeflemeyi geliştirir ve hücrelerin nükleik asit transfeksiyonuna yardımcı olur. Oligonükleotid ile modifiye edilmiş Au NP'lerin konjügatları, hücre içi gen düzenleyici ajanlar için kullanılma potansiyeline sahiptir. Kovalent olarak bağlanan oligonükleotitlerle fonksiyonelleştirilmiş Au NP'ler, periferal kan mononükleer hücrelerinde ve bağışıklık ile ilgili genlerde yolları aktive edebilmektedir (Kim ve ark., 2012).

2.12.5. Doku Mühendisliğindeki Uygulamaları

Doku mühendisliği tıbbın ilerlemesi için hızla gelişen bir alandır. Amacı, hücreleri, dokuları, biyomalzemeleri birleştirerek ve/veya doku mikro ortamının mekanik mekanizmasını motive ederek herhangi bir yaralanma veya patolojik süreci takiben eksik veya hasarlı biyolojik organ veya dokuların anatomik iskelelerini ve işlevlerini yerine koymak veya onarmaktır (Takezawa, 2003; Vats ve ark., 2003; Strobel ve ark., 2018; Zhang ve ark., 2019). Doku mühendisliğindeki nanoteknoloji uygulamalarının başlıca üç yönü vardır: biyomalzeme iskele, hücresel mühendislik ve biyomoleküler manipülasyon (Wen ve ark., 2005). Biyouyumlu iskelelerin imalatı ve tasarımı nanoölçekte, hücre dışı matrisin doğrudan hücreye doğal davranışlarına benzeyen uzamsal biyolojik ve fizyolojik faktörlerin kontrolüne ek olarak ve sonuçta implante edilebilir dokuların gelişmesine yol açar. Doku mühendisliği hücreleri açısından nanoteknoloji iki şekilde kullanılabilir. Biri hücreleri daha iyi rejenerasyon için tasarlamak, diğeri ise hücre hareketi, proliferasyon ve izleme gibi hücre davranışlarını incelemek (Wen ve ark., 2005).

2.12.6. Enzimolojideki Uygulamaları

Metal NP'lerin enzimolojiye uygulanması temel olarak protein enzimlerinin işlevini taklit edebilen nanomateryaller kullanılarak yönetilir. Birkaç nanomalzeme, katalitik aktiviteye sahip olmanın yanı sıra boyut olarak enzimlere benzemektedir. "Nanozim", iç enzimatik özelliklere sahip nanomalzemelere odaklanmak için kullanılan bir terimdir. Basit metal oksit ve metal NP'lerin aktif oksijen türlerini atmada veya üretmede katalitik etkiye ve temel yeteneğe sahip oldukları ve peroksidazları, oksidazları, süperoksit dismutazlarını, katalazları ve lakkazları yansıtan enzimatik reaksiyonlarda yer alabildikleri bulunmuştur (He ve ark., 2014; Zhou ve ark., 2017).

Birçok NP, özellikle enzim benzeri aktiviteleri olanlar, tıbbi ve farmasötik uygulamalarda ve gıda endüstrisinde olduğu gibi ticari kullanımlar için uygulanabilir. Örneğin, NP'leri taklit eden peroksidaz atık suların arıtılmasında ve biyolojik numunelerde glukozun saptanmasında kullanılabilir (He ve ark., 2014).

Demir oksit NP'lerin manyetizma/süperparamanyetizma gibi nano ölçekli fiziksel özellikleri, biyolojik olarak inert oldukları varsayımına ek olarak, bunların bir dizi farklı alanda kullanılmasına izin verir. Metal NP'lerin enzim bilimindeki uygulamasına iyi bir örnek, demir oksit NP'lerin enzim benzeri aktiviteleri olduğu ve yeni enzim mimetikleri olarak kabul edildiğidir (Gao ve ark., 2017).

2.13. Enzim İnhibisyonu

Günümüzde değişen yaşam stili ve beslenme alışkanlığına bağlı olarak çeşitli hastalıkların yaygınlık düzeylerinde son yıllarda büyük bir artış olmuştur. Bu noktadan hareketle ilgili hastalıkların kontrol altına alınmasına yönelik yeni stratejilere gereksinim duyulmaktadır. Bu stratejilerin başında hastalıkların patolojisinde etkin rol oynayan enzimlerin inhibisyonu gelmektedir. Enzim inhibitörleri, enzimlere bağlanan ve onların aktivitelerini azaltan moleküllerdir. Günümüzde kullanılan pek çok ilaç, enzim aktivitesinin bloke edilmesine bağlı olarak metabolik dengesizliğin düzeltilmesini sağlayan enzim inhibitörlerinden oluşmaktadır. Enzim inhibitörleri bugün, klinik de kullanılan ilaçların yaklaşık yarısını temsil etmektedir (Copeland, 2013). Bu nedenle enzim inhibitörlerinin keşfi biyokimya ve farmakolojide oldukça aktif bir araştırma alanı olma özelliği taşımaktadır.

2.13.1. Alzheimer Hastalığı ve Kolinesteraz Enzimlerinin İnhibisyonu

Alzheimer hastalığı çeşitli davranışsal ve bilişsel bozukluk semptomları olan, neredeyse hiç tedavi edilemeyen bir hastalıktır. Değişen protein seviyeleri ve oksidatif stresin yan etkilerinin yanı sıra, etiyolojinin ne olduğu ve sonucun ne olduğu henüz açık olmasa da birçok önemli risk faktörünün hayati rol oynadığı görülmektedir. Moleküler mekanizmaların Alzheimer hastalığında nörodejenerasyon oluşturmasının nedenleri henüz tam bilinmemektedir. Alzheimer hastalığı demansa yol açan ve 65 yaşından büyük nüfusun yaklaşık % 10'unu etkileyen ilerleyici bir hastalıktır. Hafıza kaybı, bilişsel bozulmanın ilk belirtisidir ve bunu davranış bozuklukları izler (Ashraf ve Alexiou, 2019).

2015 yılında küresel demanstan muzdarip olduğu tahmin edilen 46,8 milyon insan vardı ve bu sayının 20 yılda bir, iki katına çıktığı düşünülmektedir. Bu sayıdaki artışın çoğu gelişmekte olan ülkelerden kaynaklanmaktadır. Şu anda demanslı insanların % 58'i düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşıyor, ancak 2050'ye kadar bu oran % 68'e yükseleceği öngörülmektedir. Kabaca ifade edilecek olursa günümüzde 50 milyon kişi bu hastalıktan etkilenmektedir ve bu rakamın 2050 yılına kadar 152 milyona çıkacağı düşünülmektedir (Baumgart ve ark., 2015). Bu yüzden Alzheimer hastalığı, sağlık ve bilim camiası için büyük, ekonomik ve toplumsal bir sorun oluşturmaktadır.

Hasta olan kişiler, semptomların ilk olarak 60 yaşın ortasında ortaya çıktığı geç başlangıçlı tip ve çok nadir görülen 30 ila 60 yaş ortaları arasındaki kişilerin dâhil olduğu erken başlangıç tipi olmak üzere iki grup altında geniş bir şekilde kategorize edilir (Forsyth ve Ritzline, 1998). Alzheimer hastalığının ilerlemesi üç temel aşamada kategorize edilebilir: (1) klinik öncesi (belirti veya semptom yok), (2) hafif bilişsel bozukluk ve (3) demans. Alzheimer hastalığının semptomları arasında günlük yaşamı aksatan kişinin hafızasında kayıp, sorunların planlanması ve çözülmesinde karşılaşılan zorluklar, zaman ve mekân ile ilgili karışıklık, konuşma ve yazmayla ilgili sorunlar, ruh hali ve kişilikteki değişiklikler ve sosyal aktivitelerden geri çekilme yer almaktadır (Gold ve Budson, 2008).

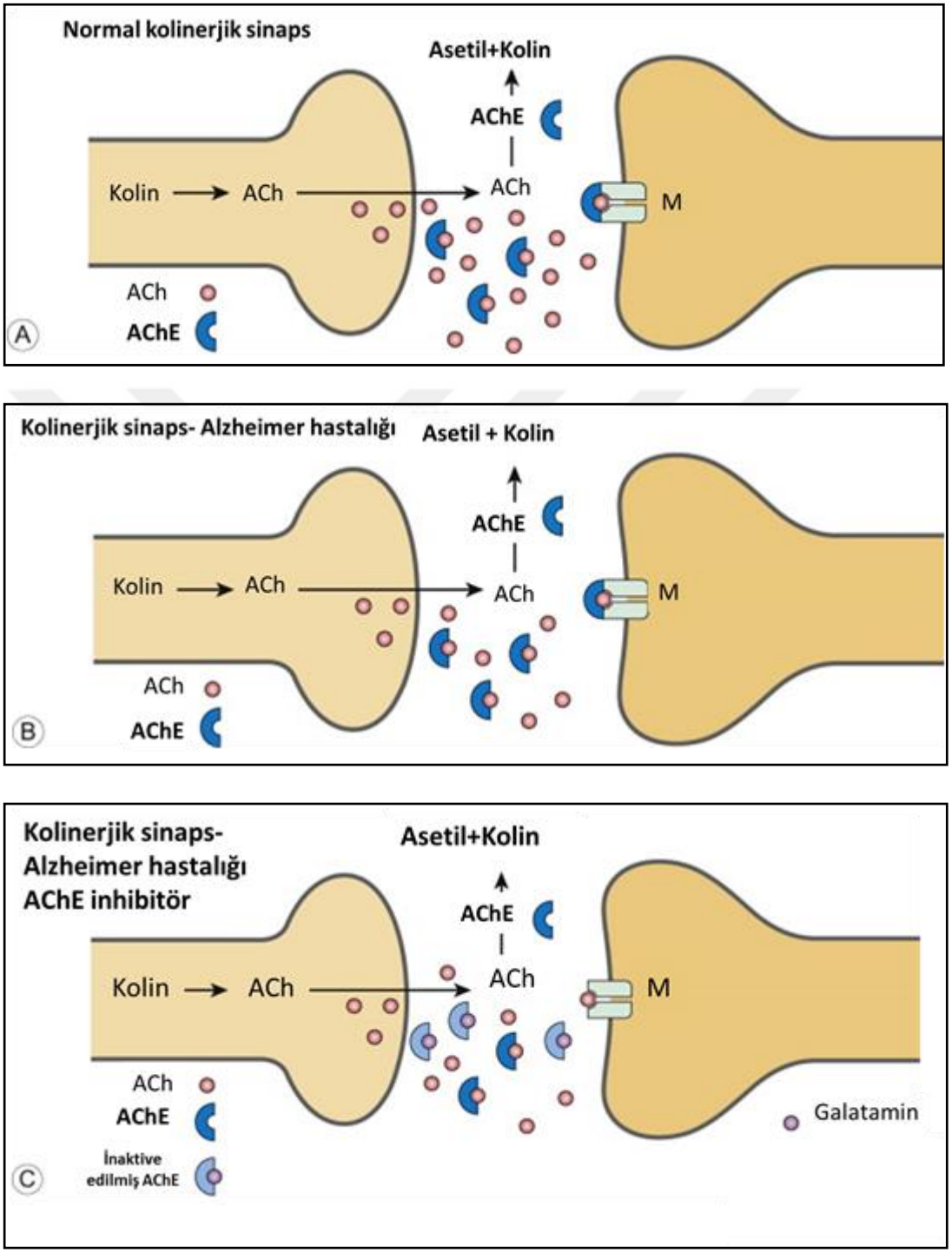
Alzheimer hastalığının beyninde bulunan hastalığın patolojik belirteçleri, hücre dışı amiloid plaklar, tau proteini ve hücre içi nörofibriler düğümler, oksidatif stres, asetilkolin (ACh) seviyelerinde azalma gibi patalojik belirtilerdir (Bartus ve ark., 1982; Hardy ve Higgins, 1992; Goedert, 1993; Markesbery, 1997). Enzimlerin, yani glikojen sentaz kinaz-3 (GSK3), lipooksijenazlar, sekretazlar ve daha spesifik olarak kolinesterazların (ChE'ler) Alzheimer hastalığının patolojik ilerlemesinde rol oynadığı

bulunmuştur (Qu ve ark., 2001; Talesa, 2001; Cole ve Vassar, 2007; Hooper ve ark., 2008). Son bilimsel gelişmelere rağmen, Alzhemier hastalığının ilerlemesini önlemek için bugüne kadar herhangi bir tedavi mevcut değildir (Kumar ve ark., 2018; Shrivastava ve ark., 2019). Mevcut tedaviler sadece semptomların hafifletilmesine yöneliktir (Rosini ve ark., 2014). Alzhemier hastalığının kesin nedeni hala bilinmemektedir, ancak bazı önemli bulgular asetilkolinesterazın (AChE) aşırı ekspresyonunun ve β-amiloid (AP) plakların hücre dışı birikiminin bu hastalığın ana ayırt edici özelliği olduğunu ortaya koymuştur (Rosini ve ark., 2008). Mevcut farmakoterapi, kolinerjik reseptör agonisti veya ChE inhibitörlerini (donepezil, rivastigmin ve galantamin) ve NMDA reseptör antagonistini (memantin) içerir. Mevcut farmakoterapi, bilişsel bozukluk açısından yavaştır ve faydaları genellikle sınırlıdır. Bilişsel eğitim ve egzersiz gibi farmakolojik olmayan tedavi de hastalarda bilişsel işlevlerin geliştirilmesine yardımcı olmaktadır (Hogan, 2007). Bu nedenle, hastalık için yeni bakış açıları geliştirmek ve keşfetmek için kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Alzheimer hastalığının ilerlemesinde yer alan kesin moleküler mekanizma, hastalığın karmaşıklığından dolayı hala belirsizdir. Kolinerjik hipotez, Aβ, tau, oksidatif stres, apolipoprotein E (ApoE), GSK-3 ve CREB sinyal yollarını içeren pek çok teori hastalığın patogenezini anlamak için önerilmiştir (Sharma ve ark., 2019). Yine de, araştırmacılar tarafından önerilen hipoteze dayanarak Alzheimer hastalığı karşıtı ilaçlar geliştirmek için birçok çaba sarf edilmiştir.

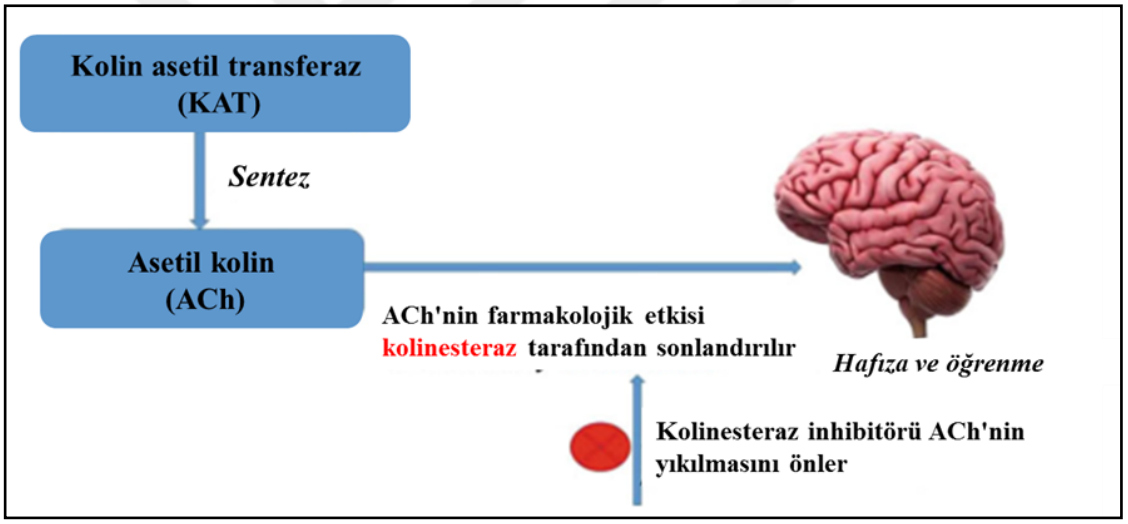
Kolinerjik hipotez, hafif ila orta dereceli AD tedavisi için AD etiyolojisini açıklamak için önerildi ve 1970'lerde bir postmortem hasta beyninin gözlemlenmesinden sonra ortaya çıktı. Sonraki keşiflerde, septal çekirdeklerde ve hastaların bazal ön beyinlerinde kolin asetiltransferazın (KAT) azalmış aktivitesi keşfedildi (Davies ve Maloney, 1976). KAT; hafıza, öğrenme ve diğer bilişsel işlevlerin nöromodülasyonunda önemli bir role sahip olan beyindeki nörotransmiter ACh sentezinden sorumludur. (Thompson ve ark., 2012). ACh sentezinde yer alan spesifik yol Şekil 2.14'de gösterilmiştir. İlk olarak, glikoliz işlemi ile mitokondride üretilen asetil CoA, ACh sentezi için KAT enzimi varlığında asetil grubunu koline (Ch) aktarır. Biyosentezlenen ACh, VAChT (veziküler ACh taşıyıcı) tarafından taşınır ve sinaptik veziküllere depolanmasını kolaylaştırır. Akson ampulündeki Ca^{+2} konsantrasyonundaki artış, dendritin postsinaptik zarındaki kolinerjik reseptörlere bağlanan sinaptik yarığa ACh'nin salınmasından sorumludur. Kolinesteraz enzimi, yani AChE, ACh'nin kolin ve

asetata hidrolitik parçalanmasını katalize etmektedir. Ayrıca, presinaptik nöronda bu kolinin alınımı ve süreci nörotransmisyon için tekrarlanır (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. ACh sentezi ve kolinerjik transmisyon

Son birkaç on yıldır, kolinesteraz hipotezi; demans ve nörolojik bozukluklardaki rolü için bilim çevrelerince geniş çapta onaylanmıştır. Bu hipotez, Alzheimer hastalığı sırasında, kolinerjik nöronların hastanın bazal ön beyinde ciddi şekilde etkilendiğini ve nöronların kaybı yoluyla histopatolojik olarak; ACh sentezi ve degradasyonunda yer alan marker enzimlerin eksikliği ile nörokimyasal olarak tespit edilebildiğini belirtir (Bartus, 2000). Bu gözlemler, klinik etkinliği olan kolinesteraz inhibitörlerinin geliştirilmesi gerekliliğini ortaya koymuştur. Bu nedenle, etkili tedavi stratejisi; AChE ve butirilkolinesterazı (BChE) inhibe ederek kolinerjik fonksiyonu arttırmak ve ACh seviyesini yükseltmektir (Şekil 2.14). Bu nedenle, yeni inhibitörlerin araştırılması, Alzheimer ve diğer ilgili hastalıkların tedavisinde yeni ilaç adaylarını keşfetmek için önemli ve devam eden bir strateji olarak kabul edilmektedir. Alzheimer hastalığının tedavisi için piyasada bulunan ilaçlar donepezil, rivastigmin, galatamin ve takrin gibi kolinesteraz inhibitörleridir.



Şekil 2.14. Hafıza ve öğrenmede kolinesteraz hipotezi (Sharma ve ark., 2020)

2.13.2. Diabet Hastalığı ve α-amilaz ve α-glukozidaz Enzimlerinin İnhibisyonu

Metabolik bir hastalık olan diabet yaşamın farklı evrelerinde herkese vurabilir. İnsan sağlığını tehdit eden en büyük sağlık problemlerinden biri olmasına rağmen tedavisi hala büyük zorluklar içerir. Diabet, uzun süreli hiperglisemi, glikoz intoleransı, insülin üretimi ve bozulmuş insülin eksikliği nedeniyle diyabetik bir kişide metabolizma ve metabolik enerjinin depolanması ve kullanımı için düzenleyici sistemlerde rahatsızlık belirtileri ya da her ikisi ile karakterize edilebilir (Votey ve Peters, 2005; Piero ve ark.,

2015). Sebeplere ve klinik araştırmaya dayanarak, diabetes mellitus Tablo 2.4'de gösterildiği gibi dört türe ayrılır (Deepthi ve ark., 2017; Patil ve ark., 2019).

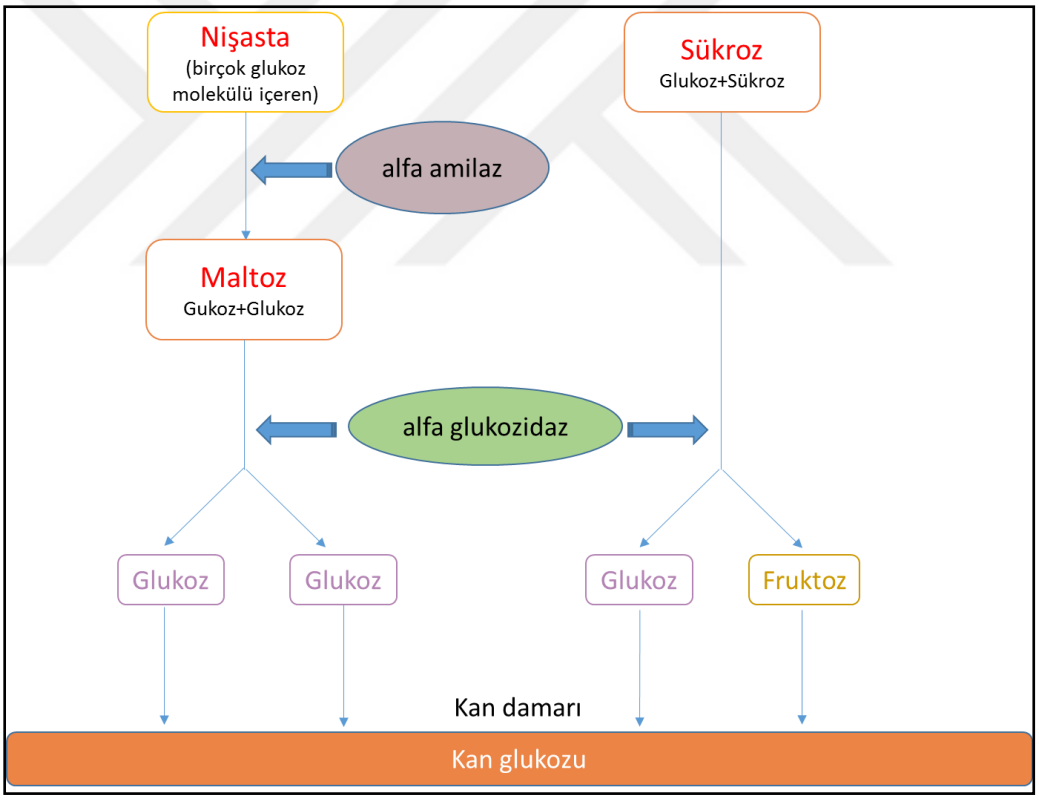
Tipik olarak, 18 yaşın altındaki kişiler tip 1 diyabetten muzdaripken, tip 2 diyabet esas olarak yetişkin ve yaşlı yaş gruplarında görülür. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, tüm diyabet vakalarının yaklaşık% 10'u tip 1'dir ve dünya çapında diyabet vakalarının kalan% 90'ı tip 2'dir (Habtamu ve ark., 2015). Diyabet dünya çapında insanların hayatlarını oldukça kötü etkilemektedir. Diyabetten muzdarip hastaların sayısı artmakta ve mevcut yaşam tarzı sorunları nedeniyle daha da artması bekleniyor. 2017 yılına kadar 422 milyon kişi tip 2 diyabetten etkilendi ve 2040 yılına kadar sayısının dünya çapında 642 milyona çıkması bekleniyor. Veriler, diyabetik hastaların yaklaşık %50'sinin önümüzdeki yirmi yılda artacağını göstermektedir. Tehdit her 6 saniyede bir kişinin diyabet nedeniyle ölmesidir (Roglic, 2016).

İstatistikler göstermektedir ki; tip 2 diabetten muzdarip nüfusun arttığı ve daha umut verici terapilerin gerekliliği kaçınılmazdır. Yine de, tip 2 diabeti tamamen iyileştirme yeteneğine sahip hiçbir umut verici ilaç mevcut değildir. Genellikle tip 2 diabet tedavisinde oral hipoglisemik ajanlar kullanılmaktadır. Birinci basamak tedavi, tiyazolidindionlar, alfa-glukozidaz inhibitörleri, sülfonilüre, dipeptidil peptidaz-IV (DPP-IV) inhibitörleri, sodyum glukoz ko transporter 2 (SGLT2) inhibitörleri ve farklı kategorilerden diğer hipoglisemik ajanlarla desteklenmiş metformindir. Bu tedavilerle ilişkili risk, hipoglisemi, kilo alımı, yorgunluk, ishal ve anemi riski gibi istenmeyen etkilerdir. Zamanla, bu yan etkiler kardiyovasküler sistem ve merkezi sinir sistemi gibi viseral bir sistem için daha fazla komplikasyona yol açar (Nathan ve ark., 2009).

Nişasta, insanlar için en önemli karbonhidrat kaynağı olmakla birlikte α-amilaz ve α-glukozidaz, karbonhidrat sindiriminde rol oynayan temel enzimlerdir. Tükürük ve pankreatik α-amilazlar, α-(1 → 4)-D-glikozidik nişasta bağlarını rasgele yerlerde parçalayarak daha küçük oligosakkaritleri veya disakkaritleri oluşturur. Alfa glukozidaz ince bağırsakların fırça kenarlarında bulunur ve burada terminal indirgeyici olmayan α-1 → 4 oligosakkaritlerin veya disakkaritlerin bağlantısını hidrolize eder ve glukoz moleküllerini serbest bırakır (Şekil 2.15) (Yang ve ark., 2019).

Tablo 2.4. Diabet tipleri ve özellikleri

Tipler	Özellikler
Tip I Diabet	Beta hücrelerinin tahribatı, azalmış insülin sekresyonu
Tip II Diabet	Normal insülin sekresyonu, İnsülin direnci gelişen glukoz depolayan hücreler
Gestasyonel Diabet	Pankreasta bulunan endokrin bezi bozukluğu, Kızamıkçık ve sitomegalovirus gibi endojen hastalıklar, uyuşturucu ve kimyasallara maruz kalma
Diğer Spesifik Diabet	Uzun sürmez ve hamilelik sırasında çoğunlukla ilk trimesterin sonunda gelişir, doğumdan sonra kan şekeri normale döner



Şekil 2.15. Alfa glukozidaz ve alfa amilaz tarafından katalizlenen nişastanın glukoza hidrolizi (Yang ve ark., 2019)

Alfa-glukozidaz inhibitörleri, sindirilmeyen polisakkaritleri emilebilir monosakarite dönüştüren ince bağırsak enzimi alfa-glukozidazı yarışmalı bir şekilde inhibe eder ve postprandiyal plazma glikoz seviyesindeki artışı en aza indirir. Bu

enzimin inhibitörleri glikoz toksisitesini azaltır (insülin duyarlılığını artırır), beta hücreleri üzerindeki stresi azaltır (yemek sonrası hiperglisemiyi azaltır), glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1) üretimini arttırır, böylece insülin sekresyonunu arttırır (Scheen, 2003). Genel olarak, postprandiyal hipergliseminin normalizasyonu açlık hiperglisemisine kıyasla zordur, inhibitörler özellikle 24 saatlik kan glukoz eğrisinin postprandiyal kısmında etki eder ve hastalarda makrovasküler komplikasyondan sorumlu olan diyabetle ilişkili hiperglisemide bir azalmaya neden olur (Ceriello ve ark., 2004). Bu ajanlar ile glisemik kontrolü normal seviyelerde tutar ve beta hücresinden insülin sekresyonunu arttıran glukotoksisiteyi azaltır. (Scheen, 2003).

Amilaz (alfa-1,4-glukan-4-glukanohidrolaz), diyette bulunan karbohidrat ve nişastanın (alfa-1,4) glikozidik bağlarının hidrolizini hızlandıran ve emilemeyen polisakkaritlerin emilebilir monosakaride dönüştükten sonra emilimine yardımcı olan önemli bir enzimdir (Alagesan ve ark., 2012). Amilaz inhibitörleri (alfa-1,4) glikozidik bağın hidrolizini en aza indirir ve karbohidratın yavaş sindirilmesine yardımcı olur ve böylece glikoz emilimini geciktirir. Ve böylelikle kandaki postprandiyal glukoz seviyesini azaltır (Jayaraj ve ark., 2013).

Diabet tedavisinin en etkili tedavi stratejilerinin başında alfa amilaz ve alfa glukozidaz enzimlerinin inhibisyonu gelmektedir. Tedavi için, ticari olarak da satın alınabilen hem alfa amilaz hem de alfa glukozidaz ezimlerinin inhibitörleri olarak işlev gören akarboz, miglitol ve viglibozdur. Bununla birlikte bu hipoglisemik ajanların; stres, alerjik reaksiyon, enfeksiyon, karın ağrısı, ishal gibi yan etkileri vardır. Bu nedenle, etkili terapötik ajanların arayışı ve keşfi hem diabet tedavisi için hem de ilgili komplikasyonların önlenmesi için vazgeçilmezdir.

2.13.3. Deri Hastalıkları ve Tirozinaz Enziminin İnhibisyonu

Cilt beyazlatıcılar ve hiperpigmentasyon bozukluklarını kontrol edebilen ajanlar arayışı, tüm Dünyada özellikle Asya ülkelerinde sürekli bir hızla artmaktadır. Şimdiye kadar araştırılan stratejilerin çoğu, memelilerde cilt pigmentasyonundan sorumlu pigmentler olan melanin biyosentezinde yer alan ve esas hız sınırlayıcı enzim olan tirozinaz aktivitesinin kontrolüne odaklanmaktadır (Kumari ve ark., 2018; Pillaiyar ve ark., 2018; Zolghadri ve ark., 2019).

İnsanlarda cilt pigmentasyonu esas olarak epidermisteki melaninlerin miktarına, tipine ve dağılımına bağlıdır. Ortaya çıkan pigmentasyon, ışık yansıması ve difüzyon fenomenleri veya bazen deride bulunan farklı türde pigmentlerin varlığı ile

değiştirilebilir (Ito ve ark., 2011; Panzella ve ark., 2018). Hemoglobin ve safra pigmentlerinden başka, melaninler insanlarda biyosentezlenen tek pigmentlerdir. Dermal-epidermal bileşkede epidermiste yatan melanositlerde üretilir ve daha sonra derideki komşu keratinositlere melanozom adı verilen organeller şeklinde aktarılırlar (Tadokoro ve Takahashi, 2017; Serre ve ark., 2018). Normal fizyolojik koşullar altında, pigmentasyonun insan cildinin zararlı UV hasarına karşı fotokoruması üzerinde olumlu bir etkisi vardır (Brenner ve Hearing, 2008). Bununla birlikte, özellikle yüz kısmında; melazma, solar lentigo (güneş ve yaşlılık lekeleri) ve lentigo simplex (çiller) gibi artan pigmentasyon, önemli bir kozmetik rahatsızlık verir ve etkilenen bireye sıkıntı verebilir. Artan melanin sentezi ve birikimi diğer cilt problemlerinde ve sistemik veya idiyopatik hastalıklarda da görülebilir (Plensdorf ve ark., 2017; Zubair ve ark., 2019). Hiperpigmentasyon ayrıca cildin iltihaplanması, kronik ısıya maruz kalma, hormonal dengesizlik, mekanik stimülasyon ve ilaç uygulamaları yoluyla da ortaya çıkabilir.

Melanogenez, enzimatik ve kimyasal katalizli reaksiyonların bir kombinasyonunu içeren karmaşık bir yoldur. Melanozomlar iki tip melanin üretir: kahverengi, siyah veya koyu bir polimer olan eumelanin ve sisteinin müdahalesi ile oluşan kırmızı-sarı bir polimer olan feomelanin. Melanojenez işlemi, L-tirozinin dopokinona tirozinaz tarafından oksidasyonu ile başlatılır. Dopakinon oluşumu melanin sentezinde bir hız sınırlayıcı basamaktır, çünkü reaksiyon sekansının geri kalanı fizyolojik bir pH değerinde kendiliğinden ilerleyebilir. Oluşumu takiben, dopakinon lökodopakrom üretmek için molekül içi siklizasyona uğrar. Lökodopakrom ve dopakinon arasındaki redoks değişimi, daha sonra tirozinaz için bir substrat olan ve yine enzim tarafından dopaquinone'a oksitlenen dopakrom ve L-3,4-dihidroksifenilalanin (L-dopa) 'ya yol açar. Son olarak, dopakrom 5,6-dihidroksindol (DHI) ve 5,6-dihidroksindol-2-karboksilik asit (DHICA) vermek için yeniden düzenlenir. Bu son işlem, dopakrom tautomeraz (DCT) olarak da bilinen tirozinaza bağlı protein-2 (TRP-2) ile katalize edilir. Sonuçta, DHI ve DHICA melanin pigmentlerine oksitlenir. Tirozinaza bağlı protein 1'in (TRP-1) DHICA'nın melanine oksidasyonunu katalize ettiğine inanılmaktadır. Her üç enzim de, tirozinaz, TRP-1 ve TRP-2 melanogenez yolağında yer alsa da, melanojenez için sadece tirozinaz gereklidir (Ito, 2003; Niu ve Aisa, 2017; Panzella ve ark., 2018).

Tirozinaz (EC 1.14.18.1, monofenol, *orto* difenol: oksijen oksidoredüktaz), melanozomun membranında bulunan çok fonksiyonlu bir membrana bağlı merkezinde bakır içeren glikoproteindir. Yapısal açıdan, iki bakır iyonu, tirozinazın katalitik

aktivitesinden sorumlu olan üç histidin kalıntısı ile çevrilidir. Tirozinaz için substratlar genellikle ya monoksijenasyona (monofenolaz veya kresolaz aktivitesi) maruz kalan fenoller ya da her iki durumda da *orto*-kinonlara yol açan oksidasyona (difenolaz veya katekolaz aktivitesi) giren katekollerdir. (Pillaiyar ve ark., 2017; Solano, 2018). Fenol oksidasyonunun bir hidroksilasyon aşaması ve ardından katekol oksidasyonu içerdiği görüşü literatürde hala yaygın olarak iddia edilmesine rağmen, monofenolaz mekanizmasında *orto*-kinon doğrudan fenolden oluşur ve katekol oluşumu bir ara basamak değildir (Ramsden ve Riley, 2014). Katalitik döngü sırasında, bakır atomlarının oksidasyon durumları, değişik enzim formları verecek şekilde değişir.

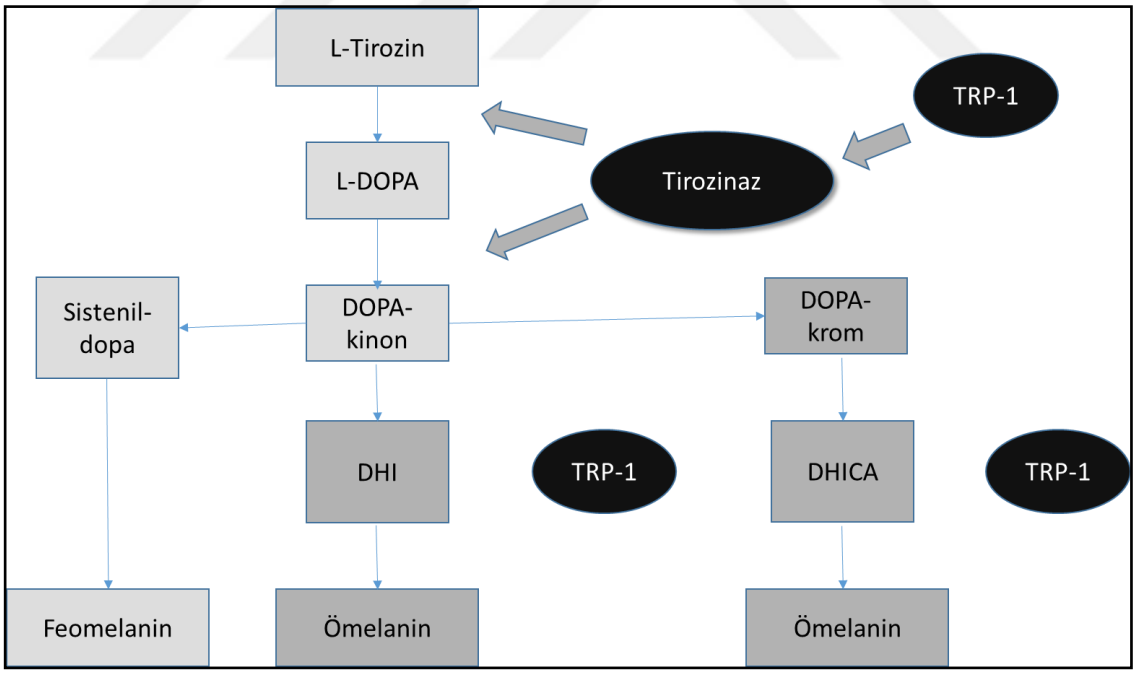
Tirozinazlar, bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar gibi farklı kaynaklardan izole edilebilirler ve saflaştırılabilirler. Bu enzimlerin çoğu (örneğin insandaki) sekanslanmış olsa, yalnızca birkaçı karakterize edilmiştir. *Agaricus bisporus* kaynaklı mantar tirozinazı, insan tirozinazı ile karşılaştırıldığında yüksek benzerlik ve homolojiye sahip majör ve ucuz bir enzimdir (Vanitha ve Soundhari, 2017; Zolghadri ve ark., 2019). Yukarıda belirtilen iyi özellikleri nedeniyle, mantar tirozinazının yapısal, fonksiyonel ve biyokimyasal özellikleri, bugüne kadar tirozinaz inhibitörlerinin ve melanojenik çalışmaların, enzim katalizli reaksiyonların ve enzim inhibitör yapısal çalışmalarının taranması için bir model sistem olarak kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Ismaya ve ark., 2017; Zolghadri ve ark., 2019).

Spesifik tirozinaz inaktivatörleri ve inhibitörleri gibi melanogenezi inhibe edebilen farklı bileşik türleri arasında; dopakinon temizleyiciler, alternatif enzim substratları, spesifik olmayan enzim inaktivatörleri ve denaturanları, sadece spesifik tirozinaz inaktivatörleri ve geri dönüşümlü inhibitörler aslında enzime bağlanır ve aktivitesini gerçekten inhibe eder.

Hiperpigmentasyon süreçlerinin kontrolü için intihar inaktivatörleri yaygın olarak rapor edilmiştir. Tirozinazın intihar inaktivasyonunu açıklamak için esas olarak iki mekanizma önerilmiştir. Tirozinazın üçüncül ve dördüncül yapılarında inhibitör bileşiği tarafından tetiklenen konformasyonel değişikliklerin intihar inaktivasyonunun gerçek nedeni olabileceği öne sürülmüştür. Öte yandan, bir protonun oksi-tirozinazın aktif bölgesindeki peroksi köprüsüne aktarılmasından sonra intihar inaktivasyonunun meydana gelebileceği de önerilmiştir (Land ve ark., 2007; Zolghadri ve ark., 2019).

Gerçek inhibitörler söz konusu olduğunda, dört tip mekanizma tanımlanmıştır: kompetitif, unkompetitif, karışık tip (kompetitif/unkompetitif) ve nonkompetititf. Kompetitif bir inhibitör, serbest bir enzime bağlanabilir ve enzimin aktif bölgesine

substrat bağlanmasını önler. Bu, bakır şelatörler olarak işlev görebilen fenolik bileşikler veya tirosinaz substratını yapısal olarak taklit eden bileşikler söz konusudur. Buna karşılık, unkompetitif bir inhibitör sadece enzim-substrat kompleksine bağlanabilirken, karışık bir inhibitör hem serbest enzime hem de enzim-substrat kompleksine bağlanabilir. Son olarak, nonkompetititf inhibitörler, aynı denge sabiti ile serbest enzime ve enzim-substrat kompleksine bağlanır (Chang, 2009; Zolghadri ve ark., 2019). Mantarlardan elde edilen tirozinaz inhibisyon testinde yaygın olarak pozitif kontroller olarak kullanılan referans bileşikler kojik asit ve β-arbutindir (Solano ve ark., 2006; Mann ve ark., 2018). Deoksiarbutin son zamanlarda deri penetrasyonunun artması ve insan tirozinazına bağlanma afinitesi ile yeni bir tirozinaz inhibitörü olarak tanıtılmıştır (Tofani ve ark., 2016; Garcia-Jimenez ve ark., 2017). Fakat bu bileşikler, cilt toksisitesi ve düşük klinik verim gibi yan etkiler göstermektedir. Dahası, arbutin birkaç ülkede ise kullanımı yasaklanmıştır. Bu yüzden toksik olmayan yeni cilt beyazlatıcı ajanlarının yani tirozinaz inhibitörlerinin geliştirilmesie gerek duyulmaktadır.



Şekil 2.16. Melanin sentezi ve tirozinaz enzimi (Videira ve ark., 2013)

2.14. Lamiaceae Familyası ve *Sideritis* Cinsi

Lamiaceae familyası, tüm dünyada yaklaşık 220 cins ve 7000 tür ile temsil edilmektedir (Harley ve ark., 2004). Lamiaceae familyasının pek çok türü ilaç, gıda ve kozmetik alanlarındaki kullanımlarından dolayı oldukça yüksek öneme sahiptir. Bu familyaya ait önemli cinslerden biri de *Sideritis* cinsidir.

Sideritis cinsinin ismi Yunanca da demir anlamına gelen "Sider" kökünden gelmektedir. Bu isim, metal silahların neden olduğu yaralara karşı bitkinin kullanımından ileri gelmektedir. En son taksonomik sınıflandırmaya göre, *Sideritis* cinsi Batı Palearktik bölgesinde dağılmış 150'den fazla türü içermektedir (Aneva ve ark., 2019). *Sideritis* cinsi taksonomik olarak 2 alt subgenusa ve 7 seksiyona ayrılmış oldukça kompleks bir cinstir. Türkiye'de ise yaklaşık 44 tür (55 takson) içermektedir ve yüksek endemizim oranına sahiptir (yaklaşık %80) (Güvenç ve Duman, 2010).

Sideritis türlerinin tıbbi kullanımlarına ait ilk bilgiler M.S. birinci yüzyıla uzanmaktadır ve Discorides tarafından "De Materia Medica" adlı eserde belirtilmiştir (Aneva ve ark., 2019). Son zamanlarda ise, *Sideritis* kullanımı üzerine pek çok etnobotanik çalışma yapılmıştır (Baytop, 1999; Pieroni ve ark., 2005; Todorova ve Trendafilova, 2014). Ve bu cinsin sayısız türünün biyolojik aktiviteleri üzerindeki çalışmaların hızlı bir şekilde gelişmesini öngörmüşlerdir.

Bazı ülkelerde *Sideritis* türleri farklı popüler isimlerle belirtilir. Örneğin İngilizce "Iron wort" veya Rusça "Zheleznitza", "Demir bitki" anlamlarında kullanılmaktadır. Pek çok farklı ülkede ise ortak isim olarak "Mountain tea" yani "dağ çayı" olarak adlandırılır, çünkü çoğunlukla dağlık bölgelerde görülür. Ülkemizde ise çoğulukla olarak "dağ çayı" ya da "ada çayı" olarak adlandırılır (Aneva ve ark., 2019).

Yüksek endemizm oranı ve geniş yayılışı ile Türkiye bu cins için gen merkezi konumundadır. *Sideritis* türlerinin halk hekimliğinde; anti-inflamatuar, anti-ülser, anti-romatizma, anti-mikrobiyal, anti-konvülsan, antioksidan ve ağrı kesici gibi kullanımları rapor edilmiştir (Aligiannis ve ark., 2001; Küpeli ve ark., 2007; Charami ve ark., 2008). *Sideritis* türlerinde terpenler, fenolikler, flavonoidler, iridoidler, lignanlar gibi farmakolojik aktivitelerden sorumlu pek çok bileşen bulunmaktadır. *S. libanotica* subsp. *linearis* ve *S. brevibracteata*' da majör fenolik bileşen klorojenik asit; *S. leptoclada*'da ferulik asit; *S. trojana*'da ise bir flavonoid olan rutin bulunmuştur. Bu noktadan

hareketle *Sideritis* türleri üzerine çok sayıda çalışmalarla bilimsel anlamda da bu kullanımlarının doğrulanması yoluna gidilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyalleri ve Ekstraktların Hazırlanışı

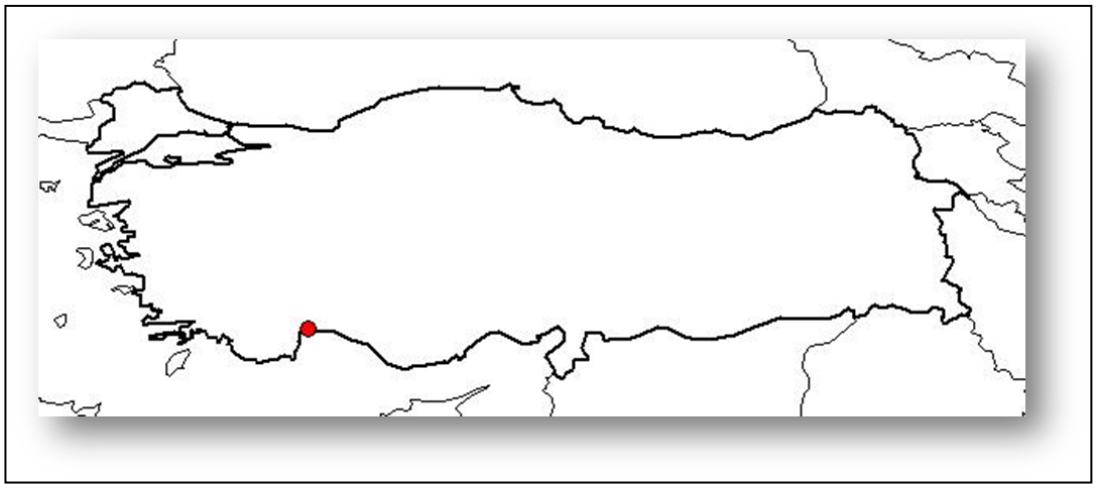
Tez çalışmasında Ag, Au, Fe_3O_4 nanopartiküllerin (AgNP, AuNP, FeNP) ve Cu çiçek şekilli hibrid nanoyapıların (CuhNÇ) yeşil sentez tekniği ile sentezlenmesini sağlayan *Sidertis* türlerinin yakın görünümü, özellikleri ve toplanma yerleri Şekil 3.1, 3.2. 3.3, 3.4, 3.5, 3.6 ve Tablo 3.1, 3.2, 3.3 ve 3.4'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Üç sideritis türünün lokasyon bilgileri

Türler	***Lokalite***	***Tarih***	***Yükseklik***
S. argyrea P.H. DAVIS	36° 33' 11.53" K, 32° 19' 42.02" D Antalya; Alanya-Hadim arası	18.06.2016	1276m
S. brevidens P.H. DAVIS	36° 25' 06.72" K, 33° 29' 50.60" D Mersin; Mut-Gülnar arası	04.06.2016	793m
S. lycia BOISS. ET HELDR. APUD BENTHAM	36° 40' 46.82" K, 30° 33' 35.32" D Antalya; Kemer-Göynük arası	01.06.2016	39m



Şekil 3.1. *S. argyrea* bitkisinin yakın görünümü



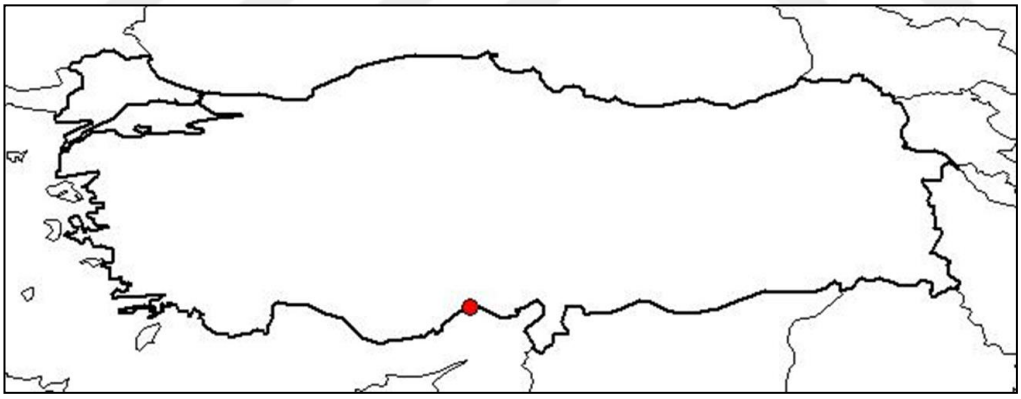
Şekil 3.2. *S. argyrea* bitkisi toplanma yeri

Tablo 3.2. *S. argyrea* taksnomik özellikleri

Taksonomik Özellikler	
Ömür	Çok yıllık
Yapı	Ot
Hayat formu	
Çiçeklenme	7-8 Aylar
Habitat	Pinus nigra ve Pinus brutia bulunan kayalık yamaçlar
Yükseklik	1000
Endemik	Endemik
Element	D.Akdeniz
Türkiye dağılımı	G.Anadolu
Genel dağılım	Türkiye



Şekil 3.3. *S. brevidens* bitkisi yakın görünümü



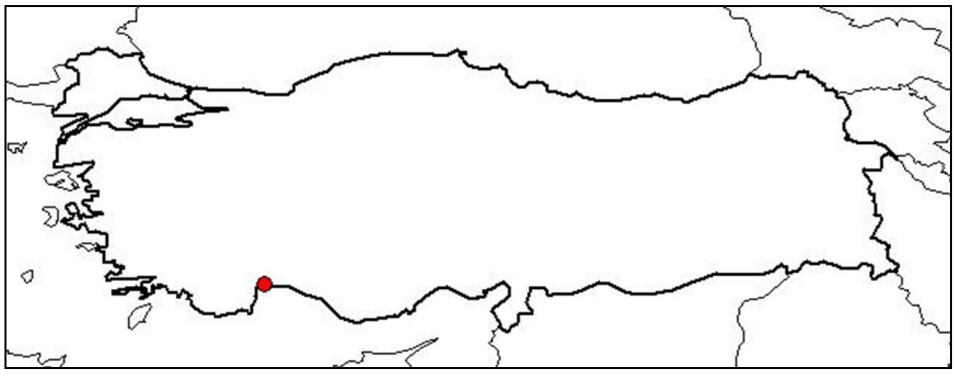
Şekil 3.4. *S. brevidens* bitkisi toplanma yeri

Tablo 3.3. *S. brevidens* taksonomik özellikleri

Taksonomik Özellikler	
Ömür	Çok yıllık
Yapı	Ot
Hayat formu	
Çiçeklenme	6-8 Aylar
Habitat	Tebeşirli kayalar, mantar çalılığı
Yükseklik	950
Endemik	Endemik
Element	D.Akdeniz
Türkiye dağılımı	G.Anadolu
Genel dağılım	Türkiye



Şekil 3.5. *S. lycia* bitkisi yakın görünümü



Şekil 3.6. *S. lycia* bitkisinin toplanma yeri

Tablo 3.4. *S. lycia* taksonomik özellikleri

Taksonomik Özellikler	
Ömür	Çok yıllık
Yapı	Ot
Hayat formu	
Çiçeklenme	5-8 Aylar
Habitat	Tebeşirli kayalar, mantar çalılığı
Yükseklik	0-80
Endemik	Endemik
Element	D.Akdeniz
Türkiye dağılımı	GB. Anadolu
Genel dağılım	Türkiye

Toplanan *Sideritis* türlerinin metal nanopartiküller ve hibrid nanoyapıların sentezi için infüzyon yöntemiyle su ekstresi çıkarılmıştır. Elde edilen su özütleri liyofilize edilerek kurutulmuş ve tekrar kullanılana kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2 Metal NP’lerin Sentezi

3.2.1. Gümüş NP’lerin Sentezi

AgNP’lerin yeşil sentezi için *Sidertis* su ekstreleri (1mg/ml) ve klorojenik asit çözeltisi (1mM) ayrı ayrı cam erlenlerde 3 mM $AgNO_3$ çözeltisi ile karıştırılmıştır. Bu karışımlar Ag partiküllerinin oluşumu için 45 dk 80 °C su banyosunda karıştırılmıştır. 50 dk sonra her bir karışım 20 dk süreyle 14000 rpm’de santrifüj edildi. Çökeltiler, su içinde yeniden dağıtılarak yıkandı ve bu yıkama işlemi, reaksiyona girmemiş ekstreleri ve süpernatan içindeki Ag^+ iyonlarını çıkarmak için üç kez tekrarlandı. Bütün Ag NP sulu çözeltileri karakterizasyon ve biyolojik aktiviteler için kullanımına kadar saklanmıştır (Demirbas ve ark., 2016).

3.2.2. Altın NP’lerin Sentezi

1 ml 1 mM Au^{3+} çözeltisi ve 1 mg/ml *Sideritis* sulu ekstreleri, 5 mL cam şişe içinde karıştırıldı ve hafif karıştırma altında 1 saat boyunca UV ışımasına maruz bırakıldı. Au NP'lerin oluşumu, karakteristik Lokalize Yüzey plazmon rezonans (LSPR) absorpsiyon piklerinin görünümüne dayanarak gözlendi. Au NP sentezi tamamlandıktan sonra, reaksiyon karışımı Au NP'leri toplamak ve reaksiyona girmeyen ekstrelerin uzaklaştırmak için 12.000 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüjlendi. Bu yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı. Sentezlenen Au NP'ler, daha fazla kullanım ve karakterizasyon için 4°C'de saklandı (Demirbas ve ark., 2019).

3.2.3. Demir NP’lerin Sentezi

Manyetik demir NP sentezi için ilk olarak; 0.05 M $FeCl_2.4H_2O$ ve 0.1 M $FeCl_3.6H_2O$ 15 dk boyunca 80 °C’de karıştırıldı. Daha sonra bu karışımın üzerine ayrı ayrı 5 mg/ml *Sideritis* ekstreleri ve 1 mM klorojenik asit çözeltisi eklendi ve 5 dk daha karıştırıldı. Son olarak karışıma 0.5 ml NH_3 eklendi ve manyetik özellik gösteren Fe NP oluşumu gözlendi (Zambri ve ark., 2019). Oluşan NP’ler 10.000 rpm’de santrifüjlenerek 3 defa yıkama işlemi gerçekleştirildi. NP’ler karakterizasyon ve daha sonraki kullanımları için 4 °C’de saklandı.

3.3. Cu hibrid nano yapıların (Nanoçiçek) Sentezi

50 ml 10 mM PBS (pH:7.4) ve 0.8 mM Cu^{+2} ihtiva eden karışıma ayrı ayrı olmak üzere 1 mg/ml *Sideritis* türlerinin sulu ekstreleri ve 1mM klorojenik asit çözeltisi ilave edildi. Tüm karışımlar 30 sn boyunca vortekslendi ve 3 gün süreyle 4 °C'de hiç hareket ettirilmeden inkübe edildi. Reaksiyon tüplerinin dibinde meydana gelen çökeltiler toplandı ve 10000 rpm'de 15 dk süreyle santrifüj edilmek suretiyle yıkama işlemi gerçekleştirildi. Yıkama işlemi 3 kez tekrar edildi ve final ürünleri karakterzasyon ve biyolojik aktivite için 50 °C kurutuldu (Baldemir ve ark., 2017).

3.4. Metal nanopartiküllerin ve hibrid nanoyapıların karakterizasyonu

3.4.1. UV-Vis Analizi

Biyosentezlenen NP'lerin ve hNÇ'lerin bir kuvartz küveti içine alınmış ve Shimadzu UV-1800 spektrofotometre kullanılarak 200-800 nm dalga boyu aralığında ölçümleri yapılmıştır.

3.4.2. FTIR Analzi

Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), biyosentezlenmiş NP'ler için stabilize edici/kaplayıcı olarak işlev gören biyomoleküllerin varlığını gösterir. Elde edilen NP'ler ve hNÇ'ler, Thermo Scientific Nicolet is5 id5 atr ve Perkin Elmer 400 FT-IR Spectrometer Spotlight 400 Imaging System kullanılarak FTIR analizine tabii tutlulmuştur. Örnekler, iyi bir sinyal/gürültü oranı elde etmek için 400-4000 cm^{-1} aralığında taranan spektrum gösteren bir kızılötesi kaynağa maruz bırakılmıştır.

3.4.3. DLS ve Zeta Potansiyel Analizi

Biyosentezlenen NP'lerin boyut dağılımı için kullanılan dinamik işık saçılımı (DLS) ve zeta potansiyel ölçümleri Malvern Zetasizer Nano-ZS90 ile belirlendi.

3.4.4. XRD Analizi

Elde edilen hNÇ'lerin tozu Cu Ka radyasyonu (k=1.54) ile Bruker AXS D8 Advance sistemi kullanılarak analiz edildi. XRD paterni 10° ile 80° arasında 2θ aralığında 0,02 adım büyüklüğü ile çalışılmıştır.

3.4.5 SEM ve TEM Analizi

Biyosentezlenmiş hNÇ'lerin morfoloji görüntüleri SEM ZEISS EVO LS10 ile gerçekleştirildi. Yine ayrıca hNÇ'lerin elemental analizi için enerji dağıtıcı X-Işını analizi de EDX ZEISS EVO LS10 tarafından gerçekleştirildi.

Biyosentezlenmiş NP'lerin şekil ve boyut dağılımı ve görüntüleri ise TEM Zeiss Gemini SEM 500 ile gerçekleştirildi. Sıvı haldeki NP çözeltileri bakır ızgaralara bırakıldı ve bir gün oda sıcaklığında bekletildikten sonra TEM görüntüleri elde edildi.

3.5. HPLC Analizi

Fenolik bileşikler, ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC, Shimadzu Scientific Instruments, Tokyo, Japonya) ile analiz edildi. Tespit ve miktar belirleme bir LC-10ADvp pompası, bir Diyot Dizisi Dedektörü, bir CTO-10Avp kolon ısıtıcısı, SCL-10Avp sistem kontrolörü, DGU-14A degazör ve SIL-10ADvp otomatik örnekleyici (Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, MD) ile gerçekleştirildi. Ayrışmalar, 30 ° C'de Agilent® Eclipse XDB C-18 ters fazlı kolon (250 mm x 4.6 mm uzunluk, 5 m partikül boyutu) kullanılarak gerçekleştirildi.

3.6. Enzim İnhibisyon Testleri

3.6.1. Kolinesteraz İnhibisyonu

Sideritis sulu ekstreleri ile klorojenik asit çözeltisi ve bu ekstrelerden ve klorojenik asitten sentezlenmiş olan Ag NP'ler, Au NP'ler, Fe NP'ler ve çiçek şekilli nano-hibrid yapıların kolinesteraz aktiviteleri Ellman's yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi (Zengin ve ark., 2014). Modifiye edilen deney sisteminde, 96 kuyucuklu mikroplakalarda; 100 µl örnek, 100 µl DNTB (5,5-Dithio-bis(2-nitrobenzoik) asit), pH 8.0 Tris-HCl tamponunda hazırlanan 25 µl AChE veya BChE enzim çözeltisi eklendi. 15 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılan karışıma 25 µl substrat çözeltileri olan asetiltiyokolin iyodür (ATCI) veya butiriltiyokolin iyodür (BTCI) eklendi. Oda sıcaklığında 10dk'lık bir inkübasyondan sonra kuyucukların 405 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi.

3.6.2. Amilaz İnhibisyonu

Sideritis sulu ekstreleri ile klorojenik asit çözeltisi ve bu ekstrelerden ve klorojenik asitten sentezlenmiş olan Ag NP'ler, Au NP'ler, Fe NP'ler ve çiçek şekilli nano-hibrid yapılarının anti-diyabetik etkilerinin incelenmesi için inhibisyonuna bakılan iki enzimden biri olan amilaz inhibisyonu deneyi, Caraway-Somogyi iyot/potasyum iyodür (IKI) yöntemi modifiye edilerek gerçekleştirildi (Zengin ve ark., 2014). İlk olarak kuyucuklara 50 µl örnek ve 50 µl amilaz enzim çözeltisi (fosfat tamponu, pH:6.9) eklendi ve karışım 37 °C'de 10 dk inkübe edildi. Daha sonra kuyucuklara % 0.06'lik nişasta çözeltisinden 100 µl eklendi ve tekrar 37 °C'de 10 dk inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 1M HCl çözeltsinden 25 µl tüm kuyucuklara eklendi ve reaksiyonun durması sağlandı. Son olarak bu karışım üzerine 100 µl iyot/potasyum iyodür (IKI) eklendi ve oluşan renkler 630 nm dalga boyunda okunarak, absorbanslar kaydedildi.

3.6.3. Glukozidaz İnhibisyonu

Sideritis sulu ekstreleri ile klorojenik asit çözeltisi ve bu ekstrelerden ve klorojenik asitten sentezlenmiş olan Ag NP'ler, Au NP'ler, Fe NP'ler ve çiçek şekilli nano-hibrid yapılarının glukozidaz enzim inhibisyon deneyi, rapor edilen prosedür modifiye edilerek gerçekleştirildi (Zengin ve ark., 2014). Her bir kuyucuğa 50 µl örnek, 50 µl α-glukozidaz çözeltisi (fosfat tamponunda hazırlanmış, pH:6.9) ve 50 µl PNPG (4-p-nitrofenil-α-D-glukopiranozid) substrat çözeltisi eklendi. Karışım 37 °C'de 10 dk süreyle inkübe edildi ve daha sonra 0.2 M Na_2CO_3 çözeltisinden 50 µl eklenerek reaksiyon tamamlandı. Daha sonrasında kuyucukların 405 nm dalga boyunda absorbansları kaydedildi.

3.6.4. Tirozinaz İnhibisyonu

Sideritis sulu ekstreleri ile klorojenik asit çözeltisi ve bu ekstrelerden ve klorojenik asitten sentezlenmiş olan Ag NP'ler, Au NP'ler, Fe NP'ler ve çiçek şekilli nano-hibrid yapılarının tirozinaz inhibisyon deneyi dopakrom yöntemi kullanılarak gerçekleştirdi (Zengin ve ark., 2014). Modifiye edilen deney sisteminde, kuyucuklara 50 µl örnek, 150 µl tirozinaz çözeltisi (fosfat tamponunda hazırlanmış, pH:6.8) ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra substrat olarak 50 µL L-DOPA eklendi ve tekrar oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. Son olarak kuyucukların 492 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. *Sideritis* Türlerinin HPLC-DAD ile Fenolik Bileşenlerinin İçerik Analizi

S. argyrea, *S. brevidens* ve *S. lycia* türlerinin su ekstrelerinin fenolik komponentlerinin analizi HPLC-DAD ile gerçekleştirildi. Sonuçlar mg/g olarak hesaplandı ve Tablo 4.1.'de verilmiştir. Tüm bitkilerde toplan 15 farklı fenolik bileşen taımlanmıştır. HPLC sonuçlarına göre üç bitkide de majör bileşen klorojenik asit (chlorogenic acid) bulundu. *S. argyrea*'da 17.31 mg/g, *S. brevidens*'de 19.21 mg/g ve *S. lycia*'da ise 18.91 mg/g olarak bulunmuş ve eksrelerdeki klorojenik asit miktarları birbirine oldukça yakındır. Bununla birlikte bir flavonoid türü ola rutin (0.94 mg/g) ve sinamik asit (0.16 gm/g) sadece *S. argyrea*'da; rosmarinik asit (0.70 mg/g) ise sadece *S. brevidens*'de ve epikateşin (1.50 mg/g), luteolin (1.13 mg/g) ve kuarsetin (1.70 mg/g) fenolik türevli bileşikler ise sadece *S. lycia*'da tanımlanmıştır. Sarikurkcu ve ark. (2019) rapor ettiği çalışmada *S. perfoliata* su ekstresinde klorojenik asit (24.99 mg/g) majör bileşenlerden biri olarak bulunmuştur. Yine önceden rapor edilen *S. libanotica* subsp. *linearis* (Yener ve ark., 2020) ve *S. brevibracteata* (Sagir ve ark., 2017) türlerinde de klorojenik asit majör bileşen olarak bulunmuştur.

Tablo 4.1. 3 *Sideritis* türünün HPLC-DAD fenolik içerik Analizi

Bileşikler (mg/g ekstrakt)	***S. argyrea***	***S. brevidens***	***S. lycia***
Gallic acid	-	-	-
Protocatechic acid	0.2±0.002	0.15±0.002	0.09±0.002
Catechin	-	-	-
p-Hydroxy benzoic acid	0.48±0.01	0.34±0.01	0.48±0.01
Chlorogenic acid (Klorojenik asit)	**17.31±0.51**	**19.21±1.02**	**18.91±0.52**
Caffeic acid	0.22±0.01	0.19±0.01	0.28±0.01
Epicatechin	-	-	1.50±0.05
Syringic acid	0.27±0.01	0.34±0.01	0.18±0.01
Vanilin	-	-	-
p-Coumaric acid	-	0.11±0.004	0.08±0.004
Ferulic acid	-	0.37±0.02	0.30±0.02
Sinapinic acid	-	-	-
Benzoic acid	-	-	-
o-Coumaric acid	0.1±0.005	0.08±0.005	-
Rutin	0.94±0.04	-	-
Hesperidin	-	-	-
Rosmarinic acid	-	0.70±0.02	-
Eriodictiol	-	-	-
Cinnamic acid	0.16±0.003	-	-
Quercetin	-	-	1.70±0.11
Luteolin	-	-	1.13±0.02
Kamferol	0.46±0.01	0.98±0.03	0.85±0.02
Apigenin	-	-	-

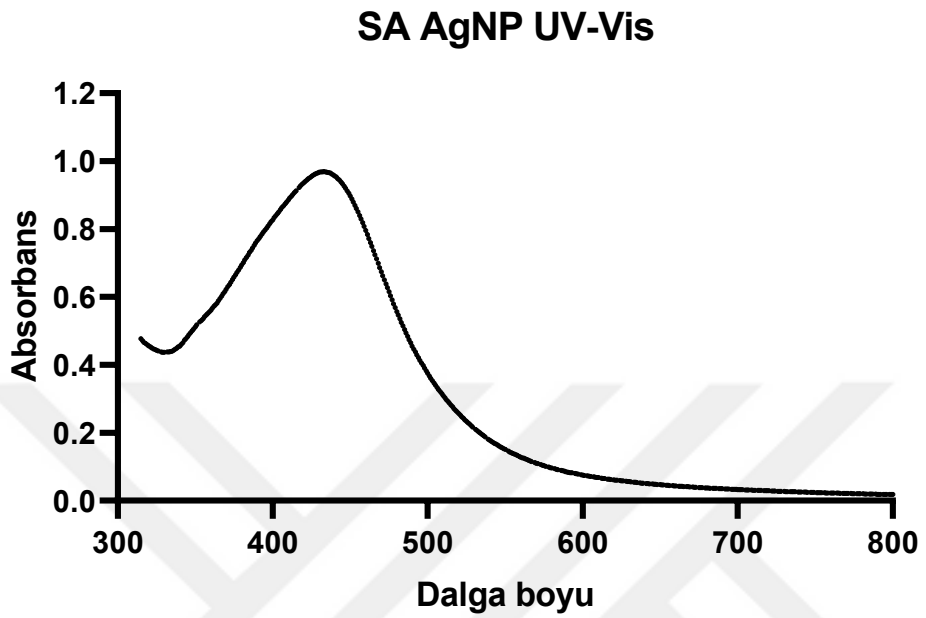
-Tespit edilmedi

4.2. Gümüş Nanopartiküllerinin (AgNP) Sentezi ve Karakterizasyonu

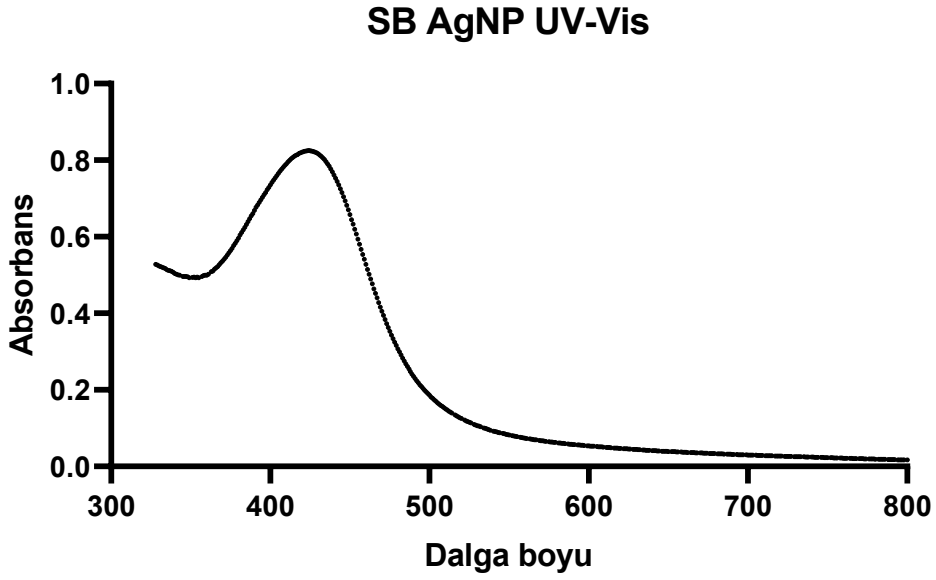
4.2.1. UV-Vis

AgNP'lerin ön karakterizasyonu, Ag^{+} iyonlarının Ag^{0} a indirgenmesini gözlemlenmesi UV-Vis spektroskopisi kullanılarak gerçekleştirildi. UV-Vis spektrofotometresi ile ölçüm metalik nanopartiküllerin yapısal karakterizasyonu için önemli ve güvenilir bir araştırma metodudur. Uv-Vis spektroskopisi ile sulu çözeltilerdeki gümüş iyonlarının biyo indirgenmesi gözlemlendi ve kaydedilen spektrumlar 300-800 nm deki absorbanları ile ayırt edici Yüzey Plazmon Rezonans (SPR) spektrumlarını doğrulamıştır. *S. argyrea* (SA AgNP) için 433nm'de *S. brevidens* (SB AgNP) için 424nm'de, *S. lycia* (SL AgNP) için 428nm've klorojenik asit (KA AgNP) için 440nm'de gümüş nanopartikül pikleri gözlemlenmiştir (Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4.). Elde edilen UV-Vis sonuçları, farklı bitkilerden sentezlenen AgNP'lerin

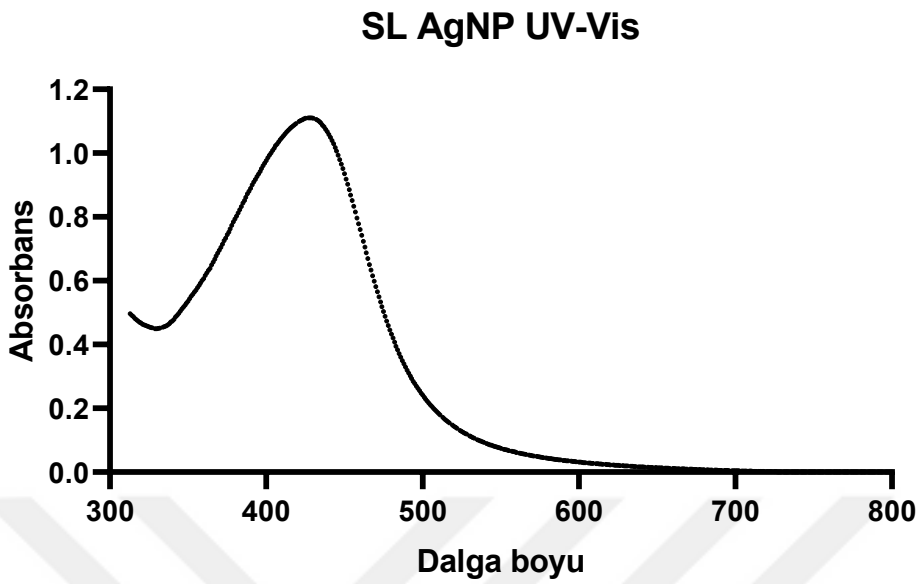
üzerine daha önce yapılan araştırmaları desteklemektedir (Ahmad ve ark.; Erci ve ark., 2018; Dangi ve ark., 2020).



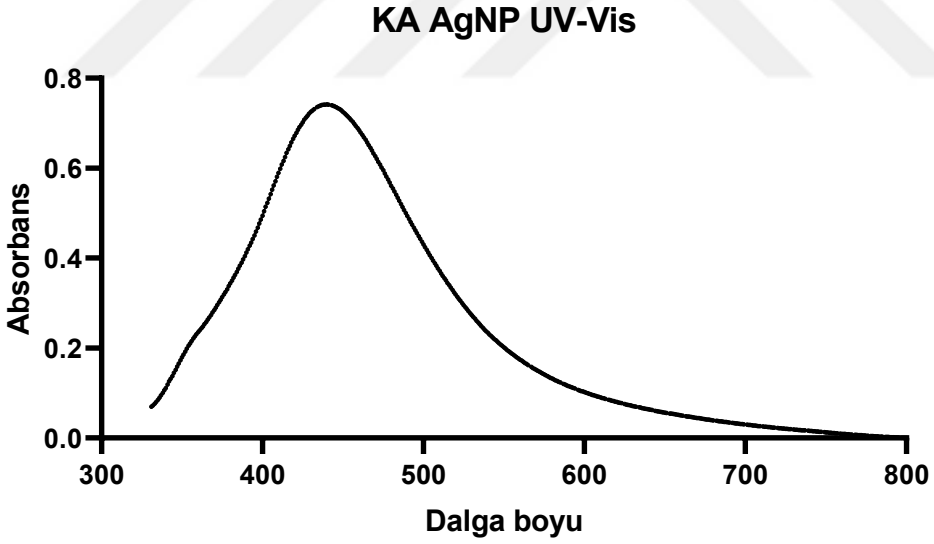
Şekil 4.1. *S. argyrea* sulu ekstresinden elde edilen gümüş nanopartilüllerin UV-Vis analizi



Şekil 4.2. *S. brevidens* sulu ekstresinden elde edilen gümüş nanopartilüllerin UV-Vis analizi



Şekil 4.3. *S. lycia* sulu ekstresinden elde edilen gümüş nanopartilüllerin UV-Vis analizi



Şekil 4.4. Klorojenik asit sulu çözeltisinden elde edilen gümüş nanopartilüllerin UV-Vis analizi

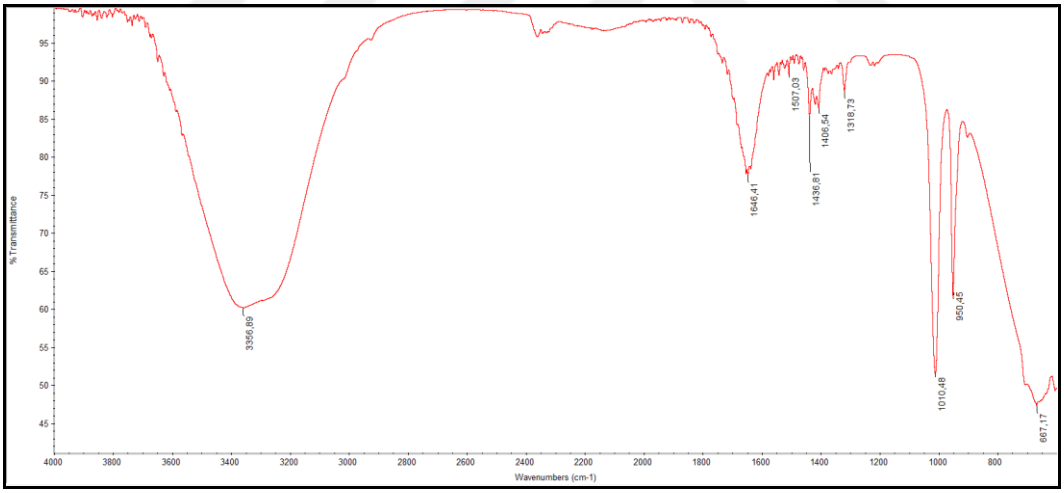
4.2.2. FT-IR

Biyo-sentezlenmiş metalik gümüş nanopartiküllerin IR ölçümleri, AgNP sentezi için indirgeyici, kaplayıcı ve stabilize edici olarak önemli rol oynayabilecek *S. argyrea*, *S. brevidens*, *S. lycia* ve klorojenik asidin mevcut potansiyel biyomoleküllerini ortaya

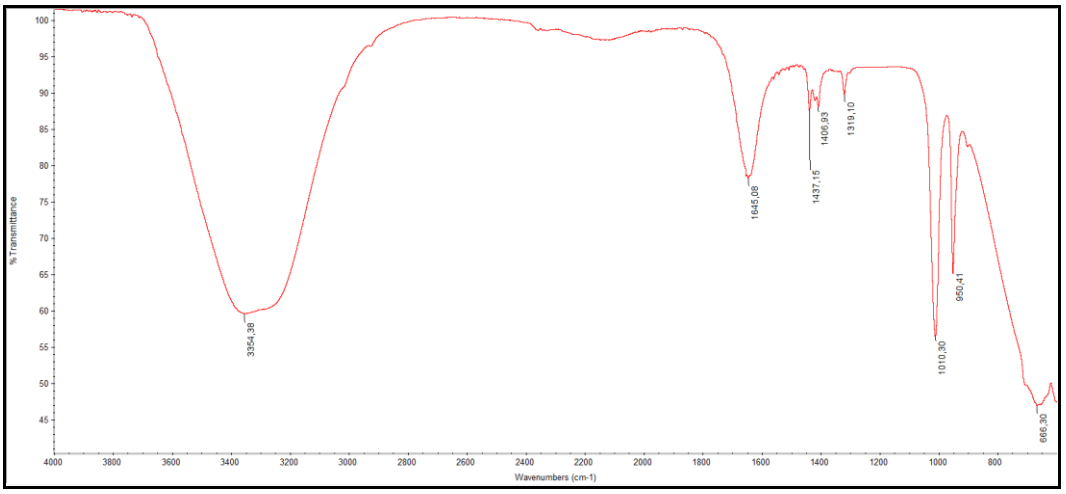
çıkartmak için yapılmıştır. SA AgNP, SB AgNP, SL AgNP ve KA AgNP FTIR spektrumları Şekil 4.4, 4.6, 4.7 ve 4.8'de gösterilmiştir.

SA AgNP'lerin FTIR spektrumunda, 3356, 89 cm^{-1}, SB AgNP de ise 3321,95 cm^{-1}, SL AgNP de 3350,59 cm-1, KA AgNP de ise 3358,69 cm^{-1} titreşim bandları bitkide bulunan fenolik bileşiklerin yapılarındaki –OH gruplarının varlığını; SA AgNP için 1646,41 cm-1, SB AgNP için 1635,14 cm^{-1}, SL AgNP için 1646,01 cm^{-1}, KA AgNP için 1646,35 cm^{-1} titreşim bandları ise C=C veya –CH aromatik gruplarının varlığını göstermektedir (Rajakumar ve ark., 2017).

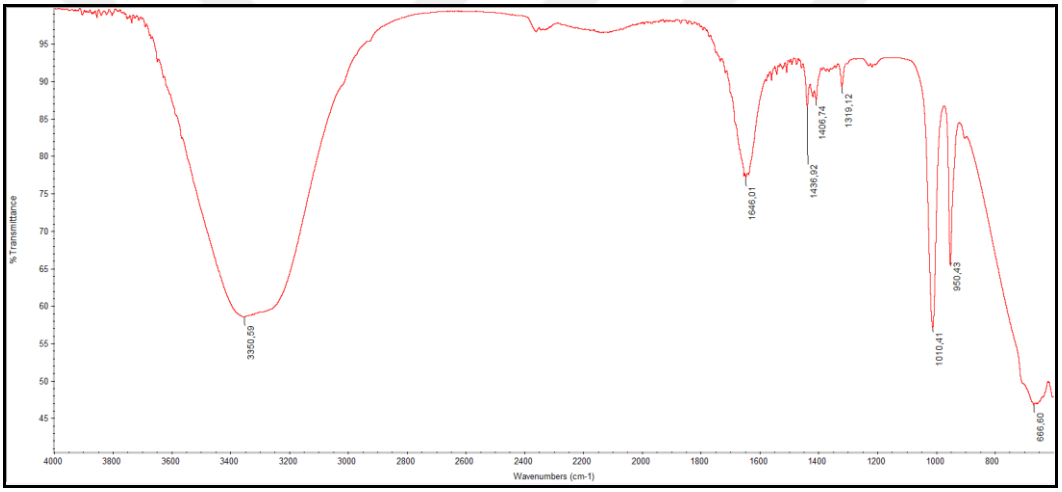
Biyosentezlenen AgNP'lerin FTIR sonuçları bitki esktrelerinde bulunan biyomoleküller olan fenolikler, alkoller, aminler gibi fonksiyonel gruplara sahip moleküllerin Ag^{+} iyonlarının Ag^{0} atomlarına indirgediğini ve oluşan AgNP'lerde stabilize edici ajanlar olarak varolduğunu göstermiştir. Ayrıca FTIR sonuçları 3 *Sideritis* türünde de ortak majör bileşen klorojenik asidin bitkiler sayesinde elde edilen AgNP'lerin indirgenmesinden ve stabilize edilmesinden sorumlu bileşik olduğunu göstermiştir.



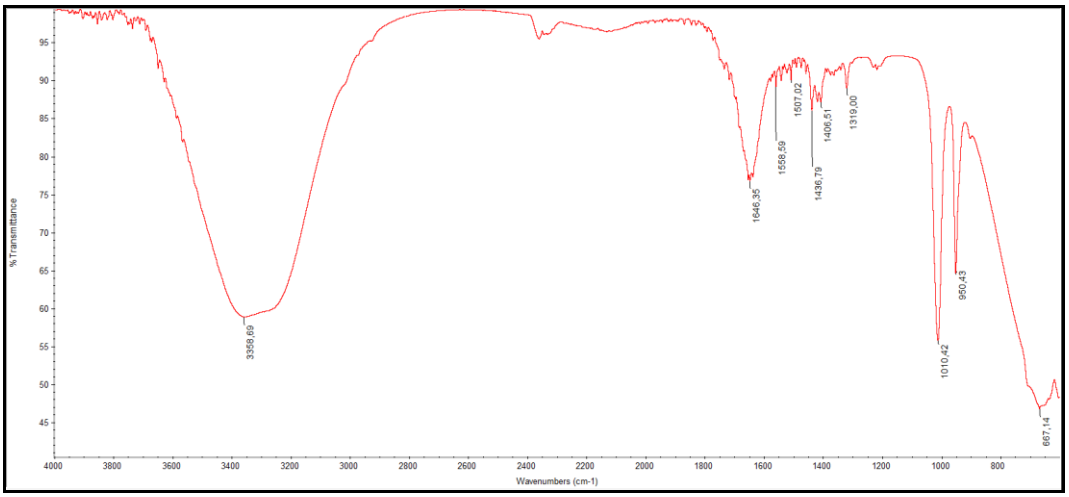
Şekil 4.5. *S. argyrea* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA AgNP'lerin FT-IR Analizi



Şekil 4.6. *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SB AgNP'lerin FT-IR Analizi



Şekil 4.7. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL AgNP'lerin FT-IR Analizi

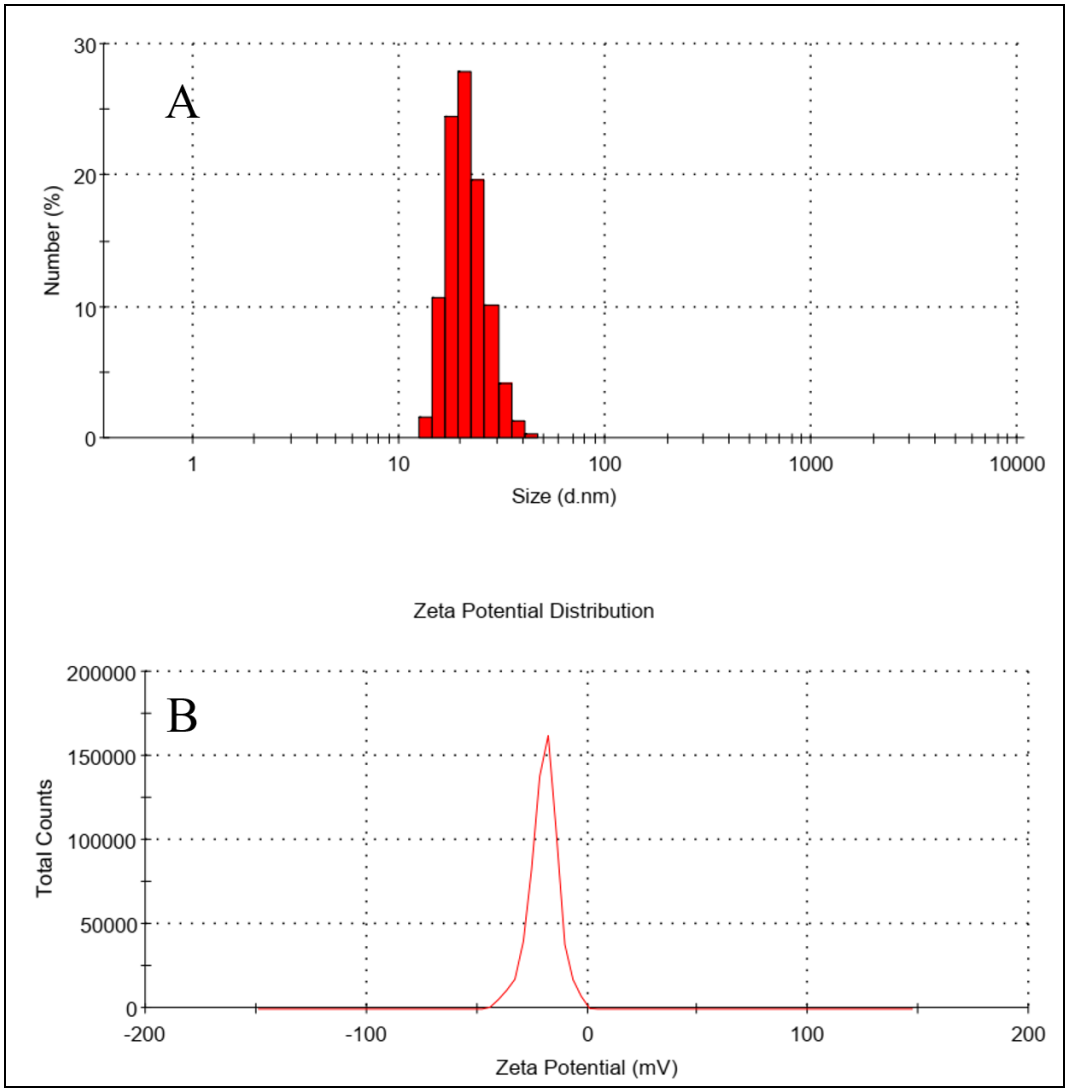


Şekil 4.8. Klorojenik asit sulu çözeltisi kullanılarak biyosentezlenmiş KA Ag NP'lerin FT-IR Analizi

4.2.3. DLS Analizi ve Zeta Potansiyeli

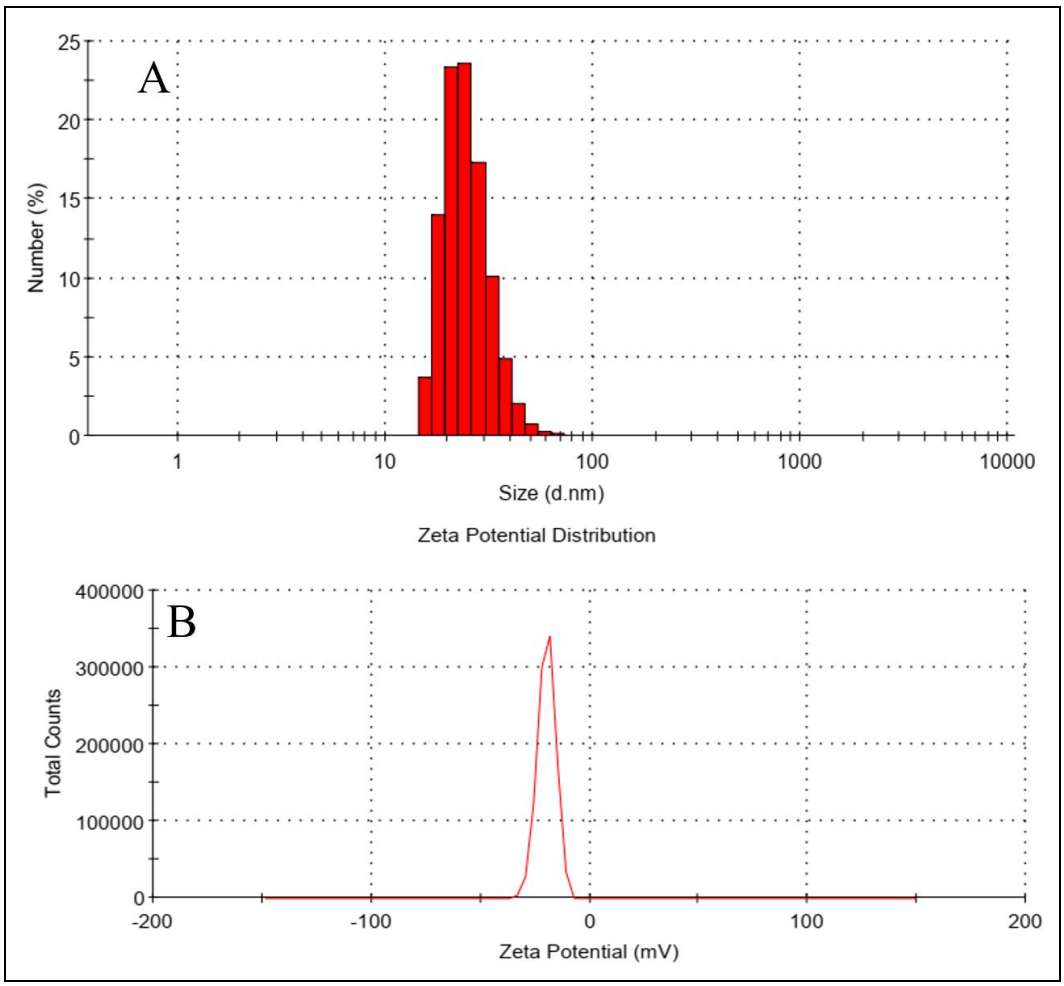
Nanopartiküllerin davranışlarını optimize edebilmek için DLS ve Zeta potansiyellerinin ölçümleri kullanılmıştır. DLS dataları biyosentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin ortalama boyutunu verirken, yüksek zeta potansiyel değerleri ise negatif-negatif itme sonucunda nanopartiküllerin uzun süreli stabilitesini ve kolloidal özelliklerinin sürdürülmesini göstermektedir.

S. argyrea sulu ekstresi ile biyosentezlenmiş SA AgNP'lerin DLS datası sonucunun ortalama boyutunun 115.15 nm olduğunu ve ortalama zeta potansiyeli değerinin ise -19.7 mV olduğu Şekil 4.9'da gösterilmiştir.



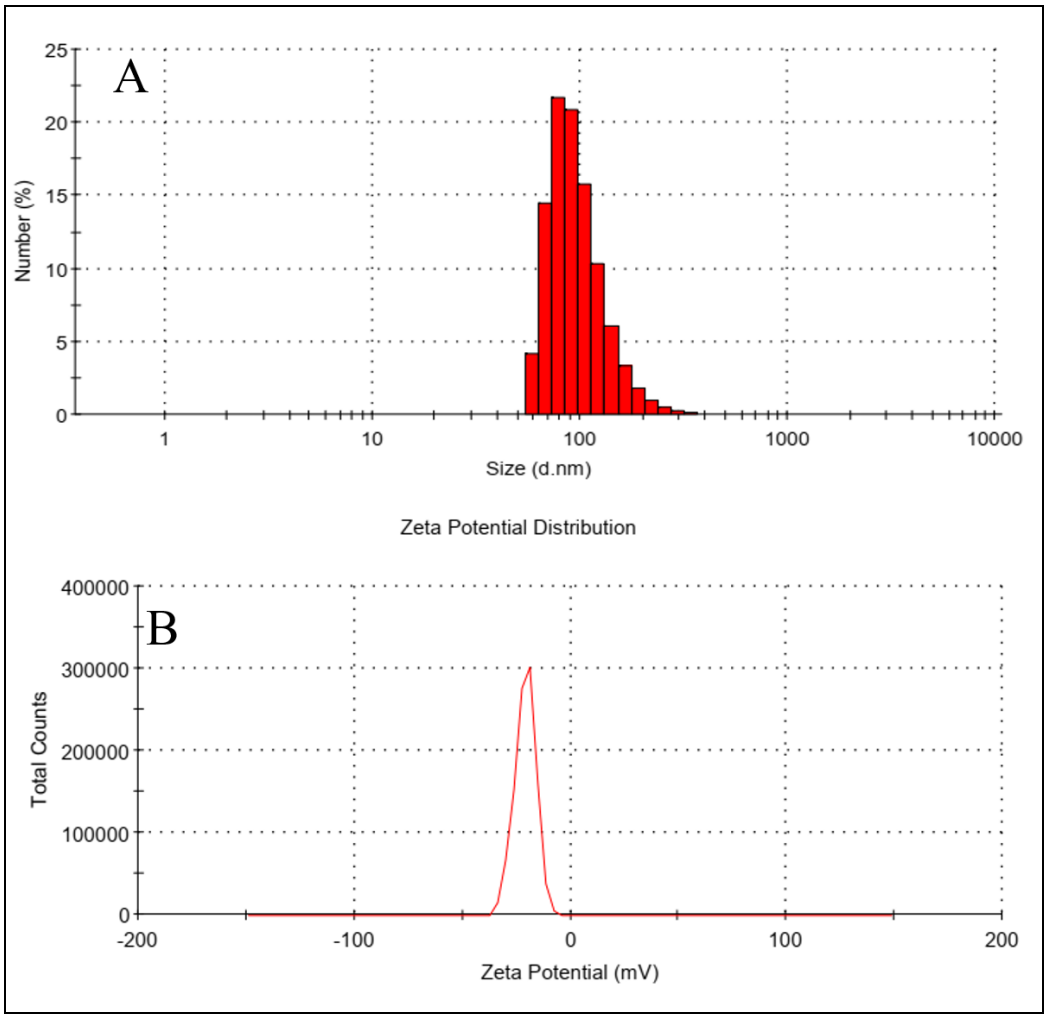
Şekil 4.9. *S. argyrea* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA AgNP'lerin FT-IR Analizi

S. birevidens sulu ektresi kullanılarak biyolojik sentezi gerçekleştirilen SB AgNP'lerin DLS analizi sonucunun ortalama boyutunun 189,06 nm olduğu ve ortalama zeta potansiyel sonucu ise -19,7 mV olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA AgNP'lerin FT-IR Analizi

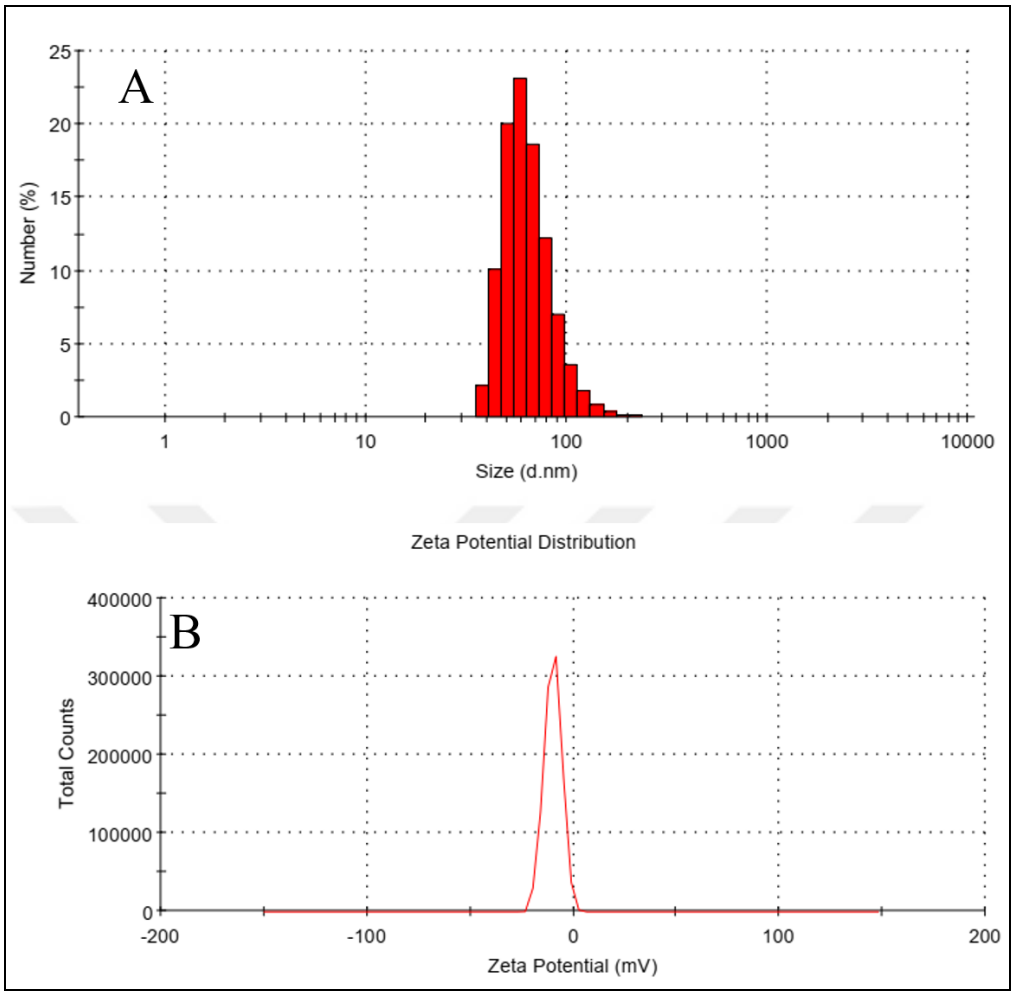
S. lycia sulu ekstresi kullanılarak elde edilen sentezlenen SL AgNP'leri DLS data sonucu 160,39 nm bulunmuştur. Ortalama zeta potansiyel sonucu ise -20.9 mV olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL AgNP'lerin FT-IR Analizi

Klorojenik asit sulu çözeltisi kullanılarak elde edilen biyosentezlenen KA AgNP'lerin DLS analizinin sonucu ortalama 141,25 nm olarak bulunmuş, ortalama zeta potansiyel sonucu -9,86 mV olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.12).

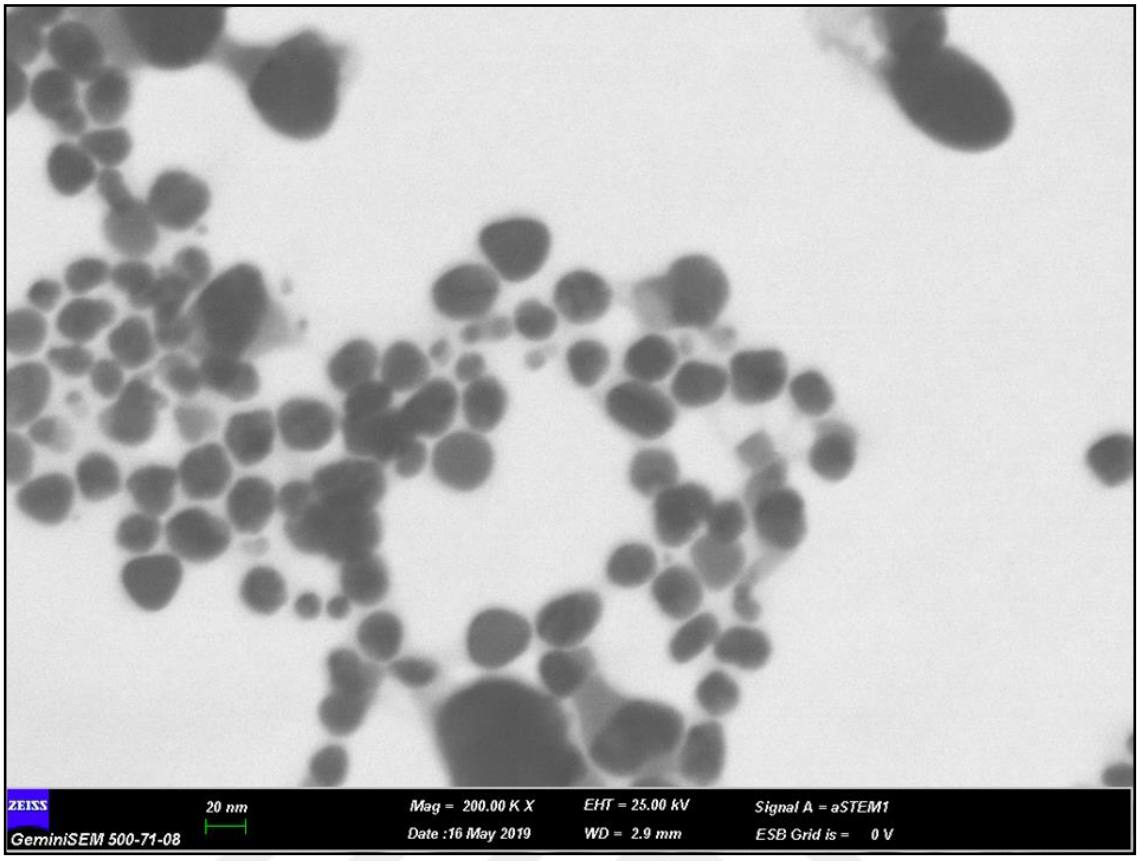
Sideritis türlerinden ve klorojenik asitten elde edilen AgNP'lerin karalılığını, dağılımını ve stabilitesini belirlemek için yapılan zeta potansiyel ölçüm sonuçları; Albright (2008)'e göre elde ettiğimiz AgNP'ler hassas dispersiyon eşiği grubunda yer almaktadır.



Şekil 4.12. Klorojenik asit sulu çözeltisi kullanılarak biyosentezlenmiş KA AgNP'lerin FT-IR Analizi

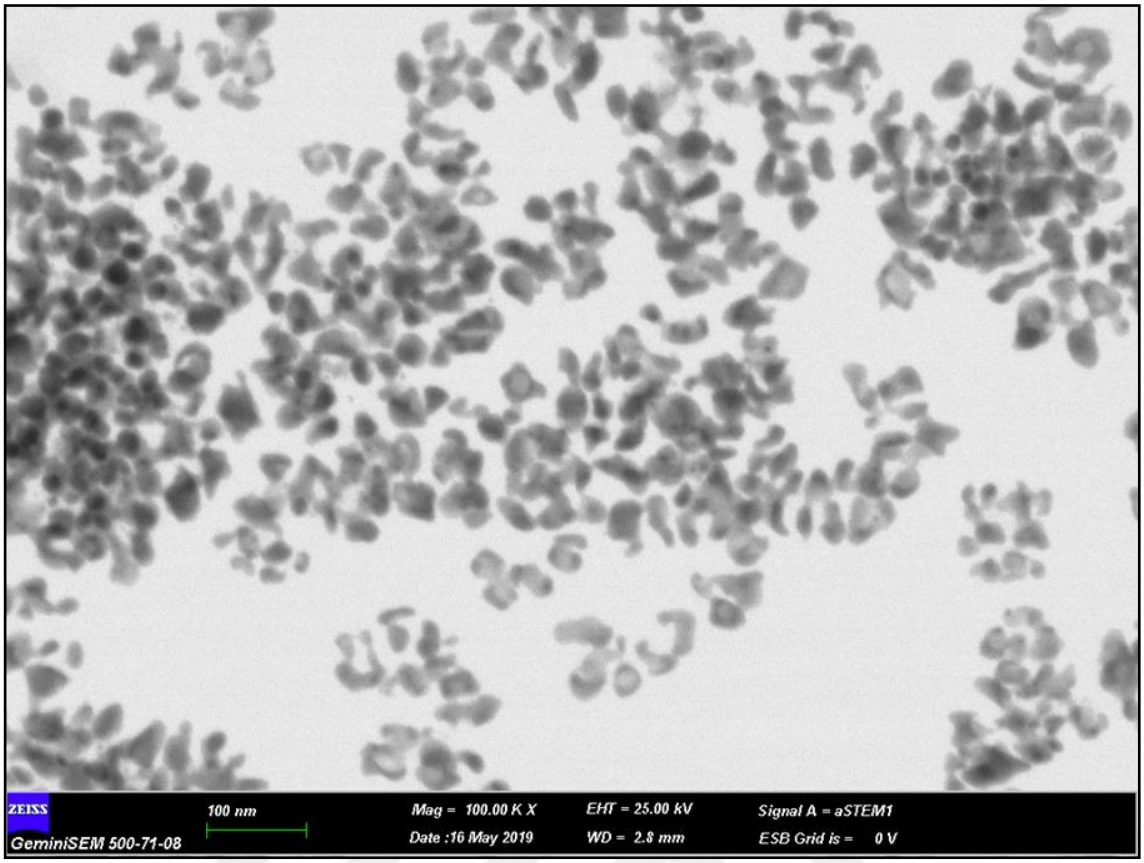
4.2.4. TEM Analizi

S. argyrea ekstraktı kullanılarak ve biyolojik olarak sentezlenen SA AgNP'lerin TEM prfofilleri, gümüş nanopartiküllerin küresel ve küresel benzeri bir şekilde oldukları gösterilmiştir. SA AgNP'ler Şekil 4.13'de gösterildiği gibi monodispers yapıda olduğu anlaşılmaktadır.



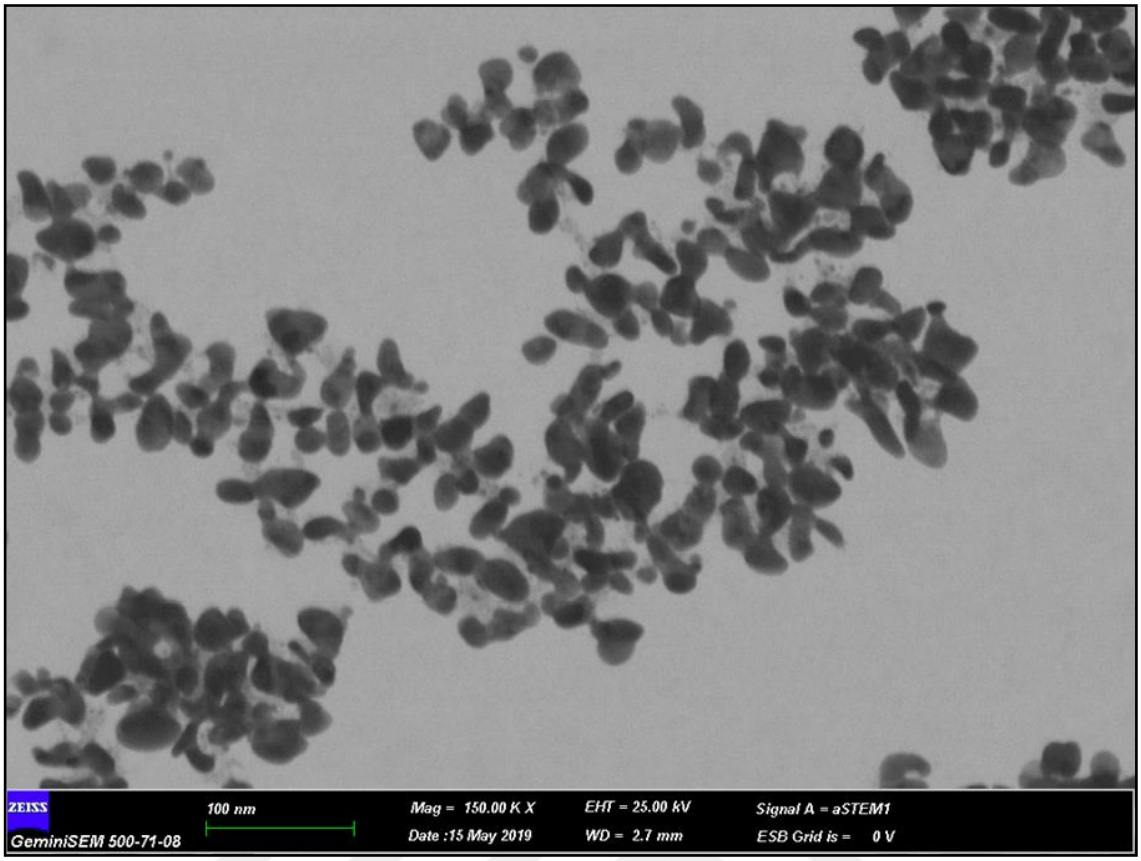
Şekil 4.13. *S. argyrea* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA AgNP'lerin TEM analizi

S. brevidens sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenen SB AgNP'lerin TEM görüntüleri gümüş nanopartiküllerin karakteristik şekli olan küresel şekile benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte düzensiz şekiller de TEM görüntüsünde izlenmektedir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SB AgNP'lerin TEM analizi

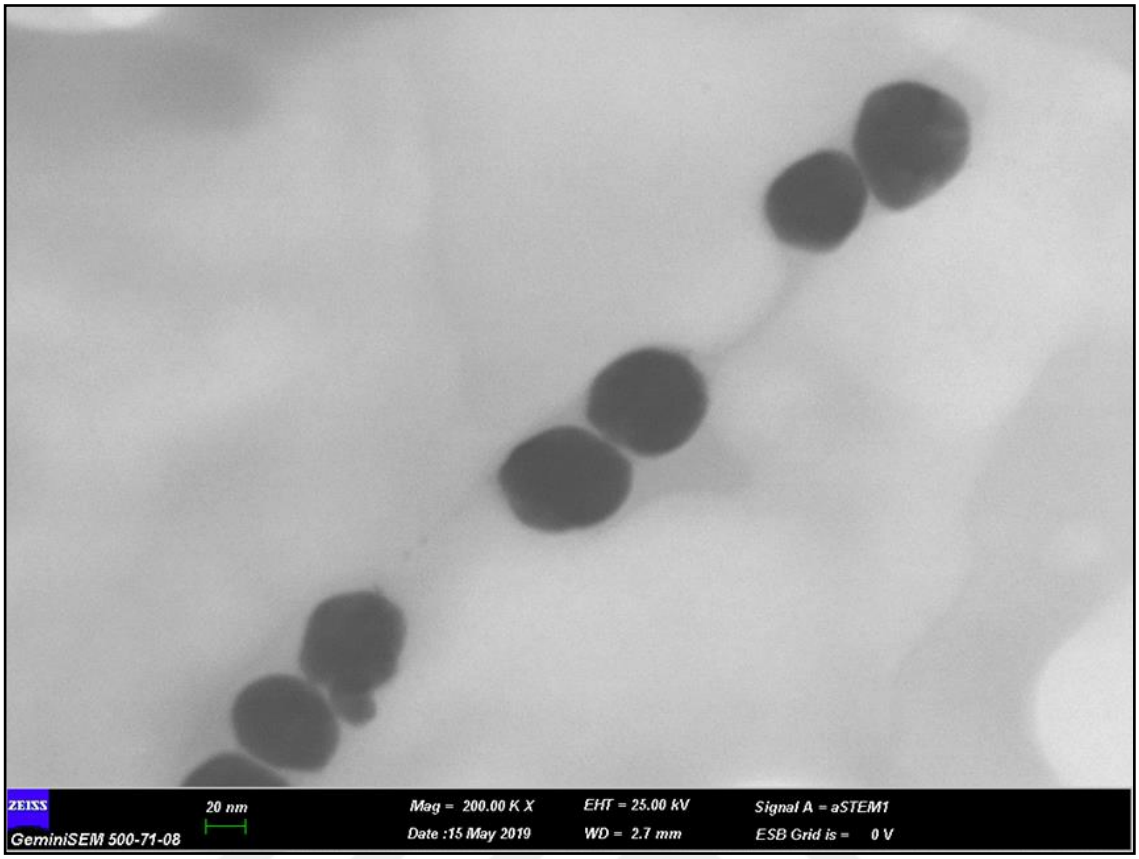
S. lycia su özütleri ile biyosentezlenen SL AgNP'lerin TEM görüntüleri yine diğer iki *Sideritis* türünde olduğu gibi küresel veya küresel benzeri şekiller sergilemektedir. Şekil 4.15'de gösterilen TEM görürüntüsünde küresel şekle benzeyen nanopartiküller monodispers yapıdadır.



Şekil 4.15. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL AgNP'lerin TEM analizi

Klorojenik asit sulu çözeltisinden elde edilen ve biyosentezlenen KA AgNP'lerin TEM görüntüleri gümüş nanopartiküllerle uyumlu muazzam küresel şekil sergilemiştir. 3 *Sideritis* türünün de majör fenolik komponenti olan klorojenik asit ve bundan sentezlenen gümüş nanopartikülleri bitkilerden sentezlenen gümüş nanopartiküllerle benzerlik göstermiştir. Bu sonuçlara göre *Sideritis* türlerinden biyolojik olarak gümüş nanopartiküllerin sentezlenmesini sağlayan (indirgeyici ajan olarak) bitkilerdeki majör bileşen olan klorojenik asit olduğu düşünülmektedir.

Sideritis türleri ve klorojenik asit kullanılarak elde edilen AgNP'ler ile benzer morfoloji ve büyüklükte AgNP'ler, *Thymbra spicata* L. var. *spicata* kullanıllanılarak sentezlenmiştir (Erci ve ark., 2018).



Şekil 4.16. Klorojenik asit kullanılarak biyosentezlenmiş KA AgNP'lerin TEM analizi

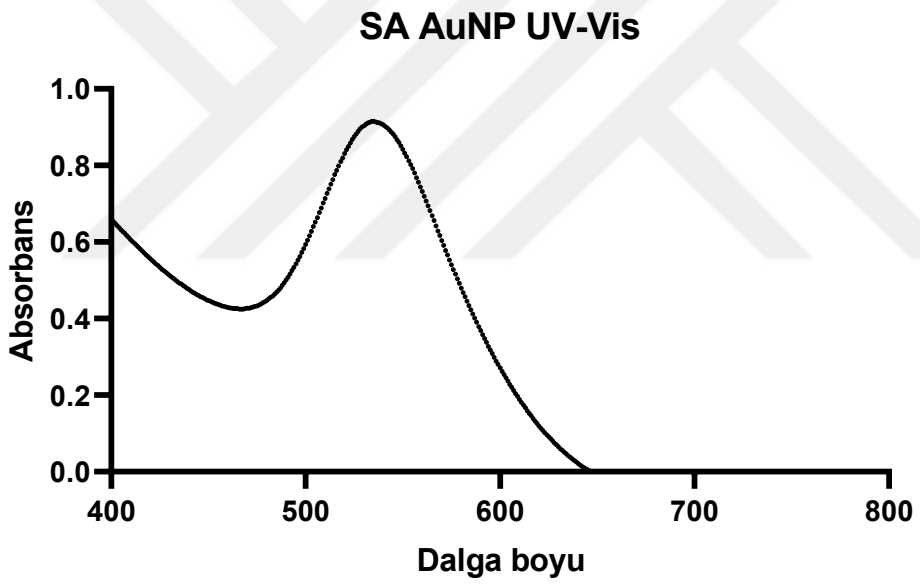
4.3. Altın Nanopartiküllerinin (AuNP) Sentezi ve Karakterizasyonu

4.3.1. Uv-Vis

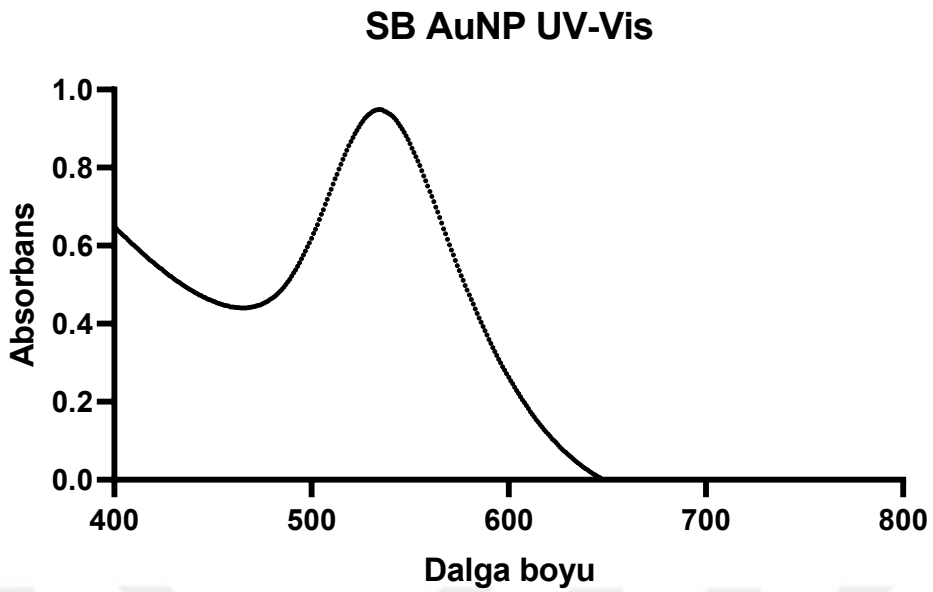
UV-vis spektroskopisi, altın NP'lerin oluşumunu ve stabilitesini karakterize etmek için kullanılan en önemli analitik tekniklerden biridir. Altın nanopartiküllerin oluşumu sentez sırasında renkteki değişimini izlenmesi ile belirlenir. Reaktan uygun bitki ekstresiyle karıştırıldığında sarı renkli çözeltinin menekşe renge dönüştüğü gözlenir. Bu altın nanopartiküllerinin iletim bandında bulunan serbest elektronlu elektromanyetik radyasyona atfedilir ve SPR olarak bilinen görünür bölgede (500-600 nm) güçlü bir absorbans bandı sergiler (Husen, 2019).

Uv-Vis ile 3 *Sideritis* türünün ve klorojenik asidin altın nanopartikül (AuNP) oluşumu gözlemlenmiştir. *S. arygrea* sulu ekstresi ile Au çözeltisinin karışımının (SA AuNP) Uv-Vis spektrumu 544 nm'de net pik sergilemiştir(Şekil 4.17). *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartikül sentezinin (SB AuNP) UV-Vis spektrumu ise 539 nm'de keskin pik göstermiştir (Şekil 4.18). Benzer şekilde *S. lycia* su

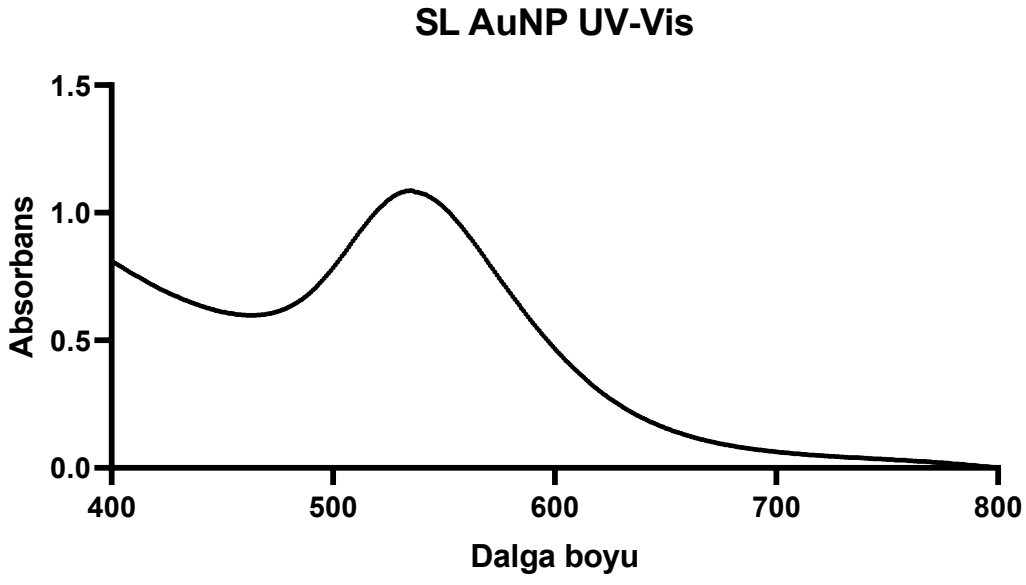
ekstresi ile biyolojik sentezle üretilen altın gümüş nanopartiküllerinin (SL AuNP) Şekil 4.19'de Uv-Vis spektrumu diğer *Sideritis* türlerine benzer şekilde 536 nm'de majör pik vermiştir. 3 *Sideritis* türünde de ortak majör fenolik bileşen olan klorojenik asit sulu çözeltisi ile Au çözeltisinin karışımından elde edilen altın nanopartiküllerin (KA AuNP) Uv-Vis spektrumu ise 547 nm de esas pik sergilemiştir (Şekil 4.20). Elde edilen dalga boyları, AuNP'ler için literatür raporlarıyla uyum göstermiştir (Hemmati ve ark., 2020; Liu ve ark., 2020; Mariychuk ve ark., 2020).



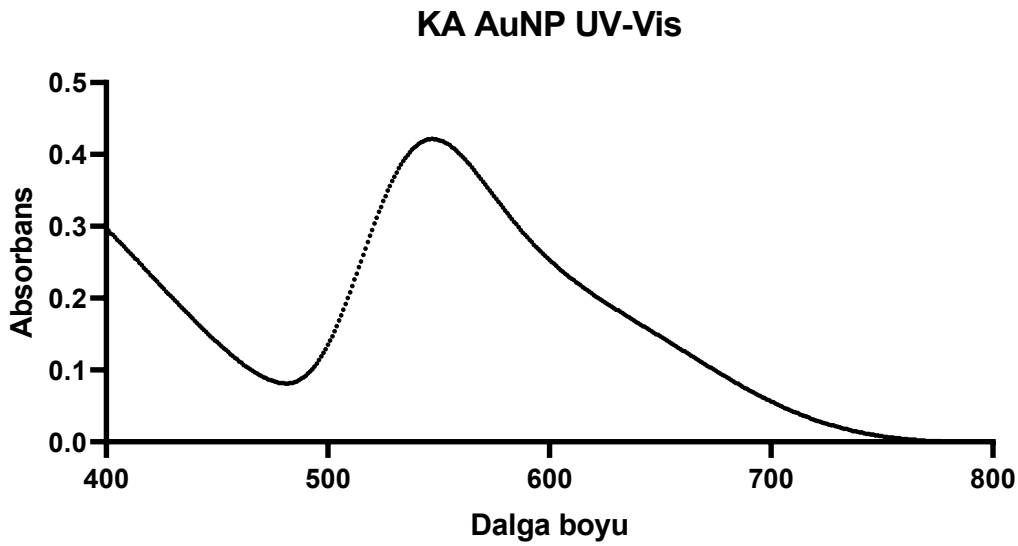
Şekil 4.17. *S. argyrea* sulu ekstresinden elde edilen altın NP'lerin UV-Vis analizi



Şekil 4.18. *S. brevidens* sulu ekstresinden elde edilen altın NP'lerin UV-Vis analizi



Şekil 4.19. *S. lycia* sulu ekstresinden elde edilen altın NP'lerin UV-Vis analizi

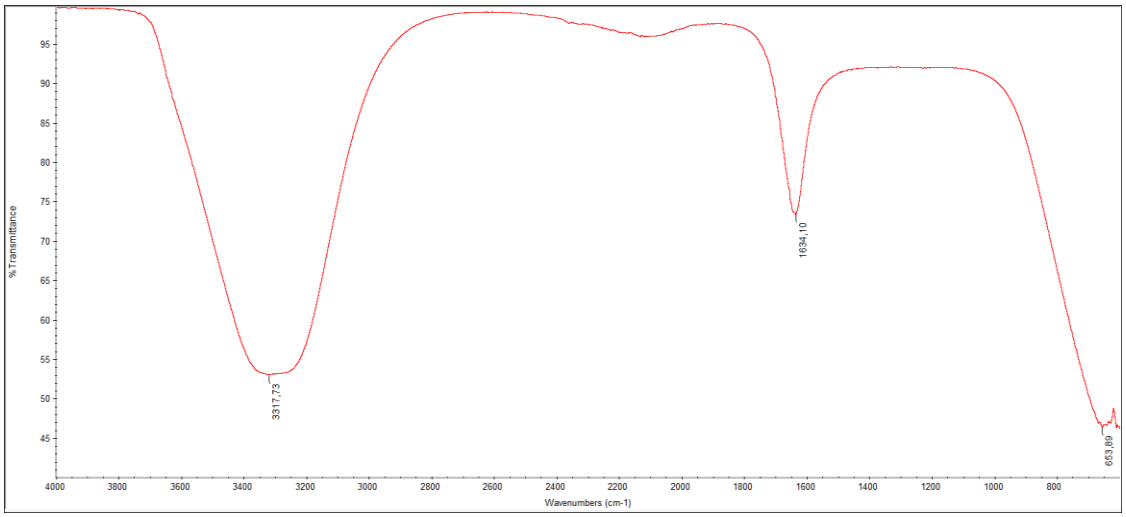


Şekil 4.20. KA çözeltisinden elde edilen altın NP'lerin UV-Vis analizi

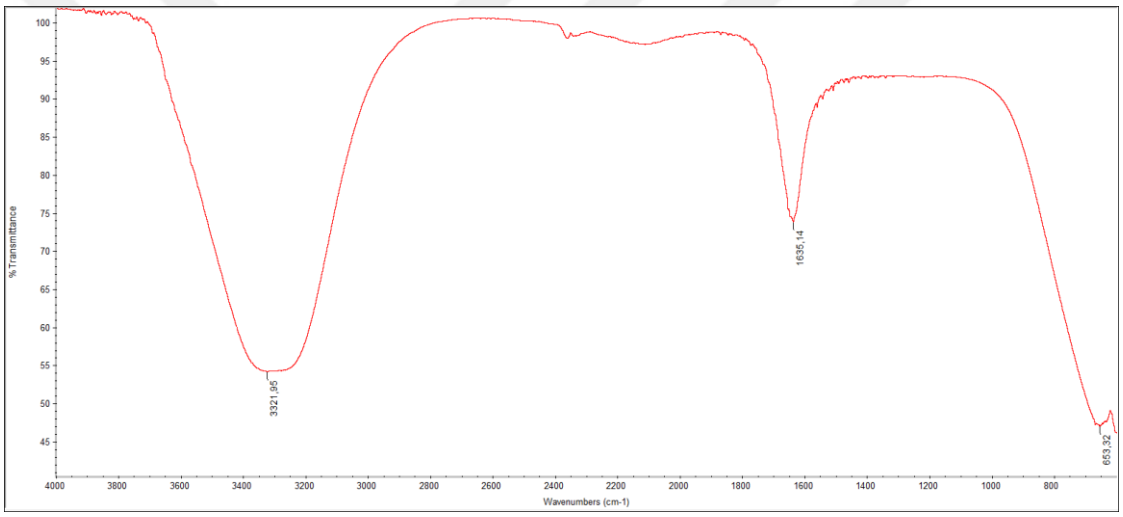
4.3.2. FT-IR

FT-IR spektroskopisi sentezlenmiş altın nanopartiküllerin saflığını ve bileşimini incelemek için kullanılan bir tekniktir. NP'lerin FTIR spektrumları Şekil 4.21, 4.22, 4.23 ve 4.24'de verilmiştir. FTIR spektroskopisinde SA Au NP'ler için 3317,73 cm^{-1}, 1634,10 cm^{-1} ve 653,89 cm^{-1}; SB Au NP'ler için 3321,95 cm^{-1}, 1635,14 cm^{-1} ve 653,31 cm^{-1}; SL Au NP'ler için 3310,81 cm^{-1}, 1635,34 cm^{-1}; KA AuNP'ler için 3318,13 cm^{-1}, 1635,24 cm^{-1} ve 650,98 cm^{-1} belirgin pikler ortaya çıkmıştır. NP'lerde 3317,73 cm^{-1}, 1634,10 cm^{-1}, 3321,95 cm^{-1}, 1635,14 cm^{-1}, 3310,81 cm^{-1}, 1635,34 cm^{-1} ve 3317,73 cm^{-1}, 1634,10 cm^{-1} bulunan abrosbans bantları, alkol ve doymamış hidrokarbonların (polifenollerde O-H germe titreşimleri ve (NH) = O grubunun germe titreşimleri) bulunduğunu gösterdi.

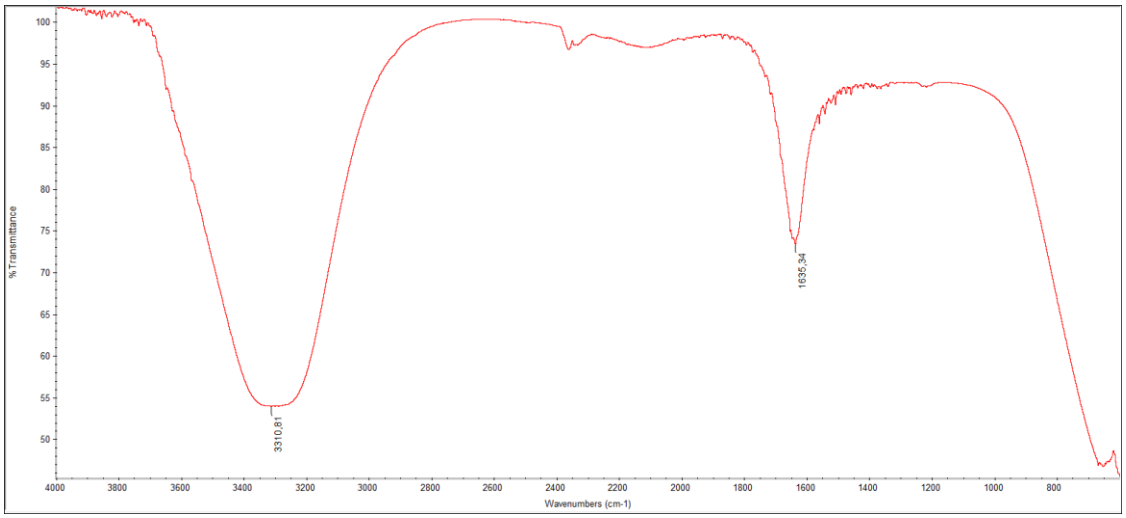
FTIR sonuçlarında gözlemlenen fonksiyonel gruplar; literatürde tanımlandığı gibi, sentezlenen nanopartiküllerin stabilitesinde ve kaplanmasında önemli rollere sahiptir (Ilavenil ve ark., 2015). *Sideritis* türlerinden ve klorojenik asitten elde edilen AuNP'lerde bulunan FTIR bandları sentezlenen NP'lerde bulunan fitobilşenlerin var olduğu sonucuna ortaya çıkmaktadır.



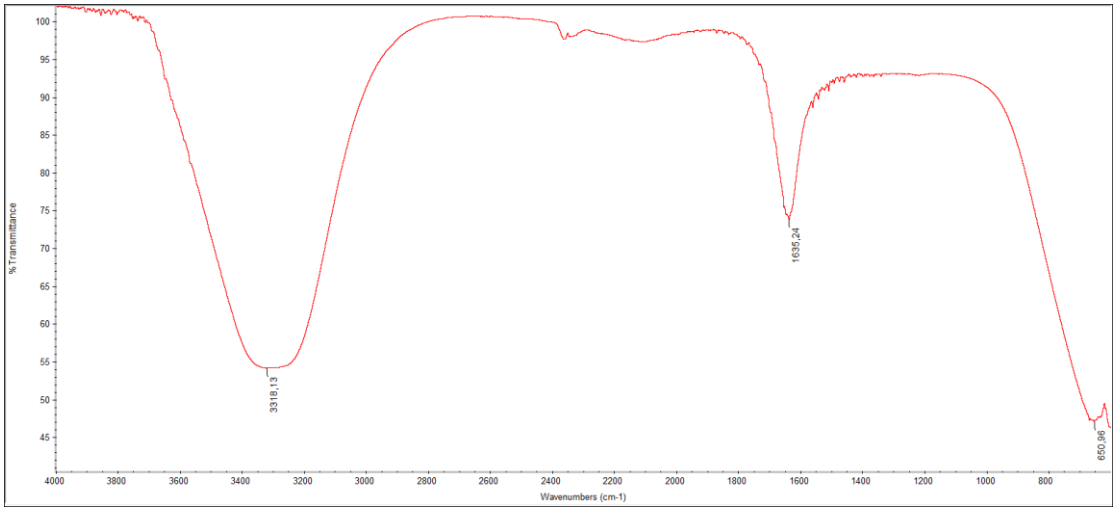
Şekil 4.21. *S. argyrea* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA AuNP'lerin FT-IR Analizi



Şekil 4.22. *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SB AuNP'lerin FT-IR Analizi



Şekil 4.23. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL AuNP'lerin FT-IR Analizi



4.24. Klorojenik asit kullanılarak biyosentezlenmiş KA AuNP'lerin FT-IR Analiz

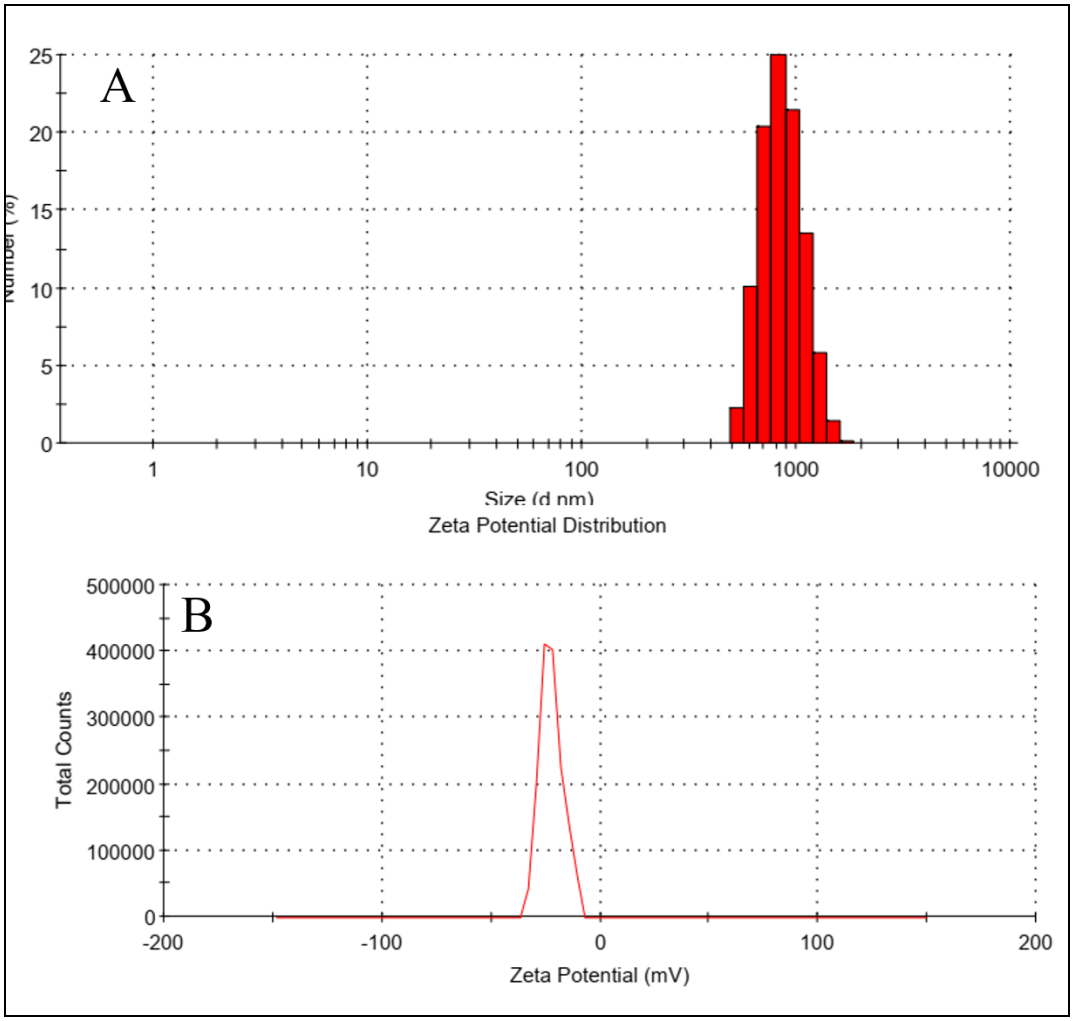
4.3.3. DLS-ZETA

DLS, sentezlenen nanopartiküllerin büyüklüğü ve dağılımı hakkında önemli bilgiler sağlar. Bu sistem, lazer ışını ile bir parçacık süspansiyonun aydınlatılmasını içerir, bu da ışığın elastik saçılma yoğunluğunun geçici dalgalanmasına, yani ışığın dalga boyundan daha küçük boyuttaki parçacıkların Brown hareketinden sabit bir açılma açısında indüklenen Rayleigh saçılımına neden olur (Husen, 2019).

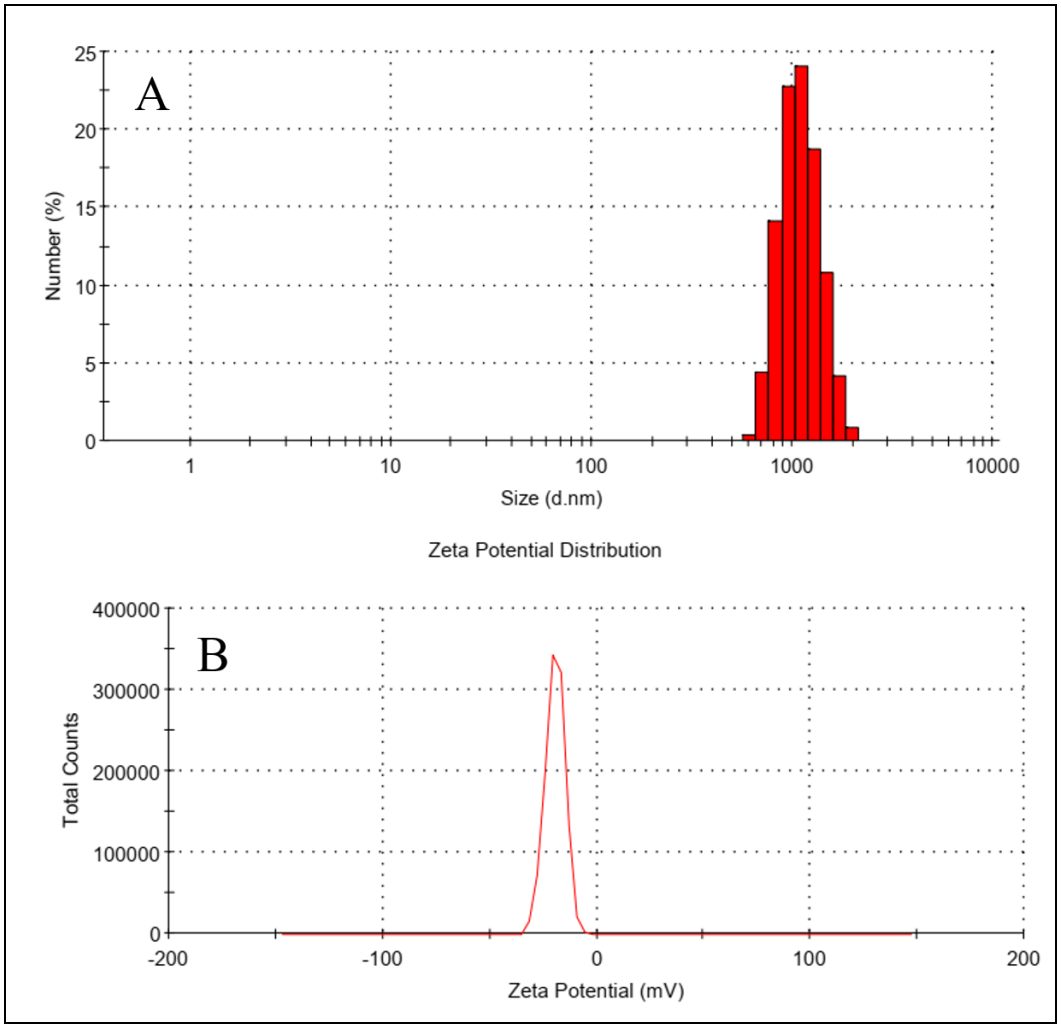
Zeta potansiyeli, sentezlenmiş altın nanopartiküllerin stabilitesini analiz etmek için kullanılan kolloidal süspansiyonda bulunan iki asılı parçacık arasındaki potansiyel farkı ölçen fiziksel bir özelliktir. Bu potansiyel değerler -30 mV ile +30 mV arasında negatif ya da pozitif olabilir (Husen, 2019).

S. argyrea sulu ekstresi ile biyosentezlenmiş SA AuNP'lerin DLS datası sonucunun ortalama boyutunun 1776,10 nm olduğunu ve ortalama zeta potansiyeli değerinin ise -22.4 mV olduğu Şekil 4.25'de gösterilmiştir. *S. brevidens* sulu ektresi kullanılarak biyolojik sentezi gerçekleştirilen SB AuNP'lerin DLS analizi sonucunun ortalama boyutunun 2462,28 nm olduğu ve ortalama zeta potansiyel sonucu ise -19,4 mV olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.26). *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak elde edilen sentezlenen SL AuNP'leri DLS data sonucu 1632,98 nm bulunmuştur. Ortalama zeta potansiyel sonucu ise -7.15 mV olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.27). Klorojenik asit sulu çözeltisi kullanılarak elde edilen biyosentezlenen KA AuNP'lerin DLS analizinin sonucu ortalama 95,64 nm olarak bulunmuş, ortalama zeta potansiyel sonucu -34.2 mV

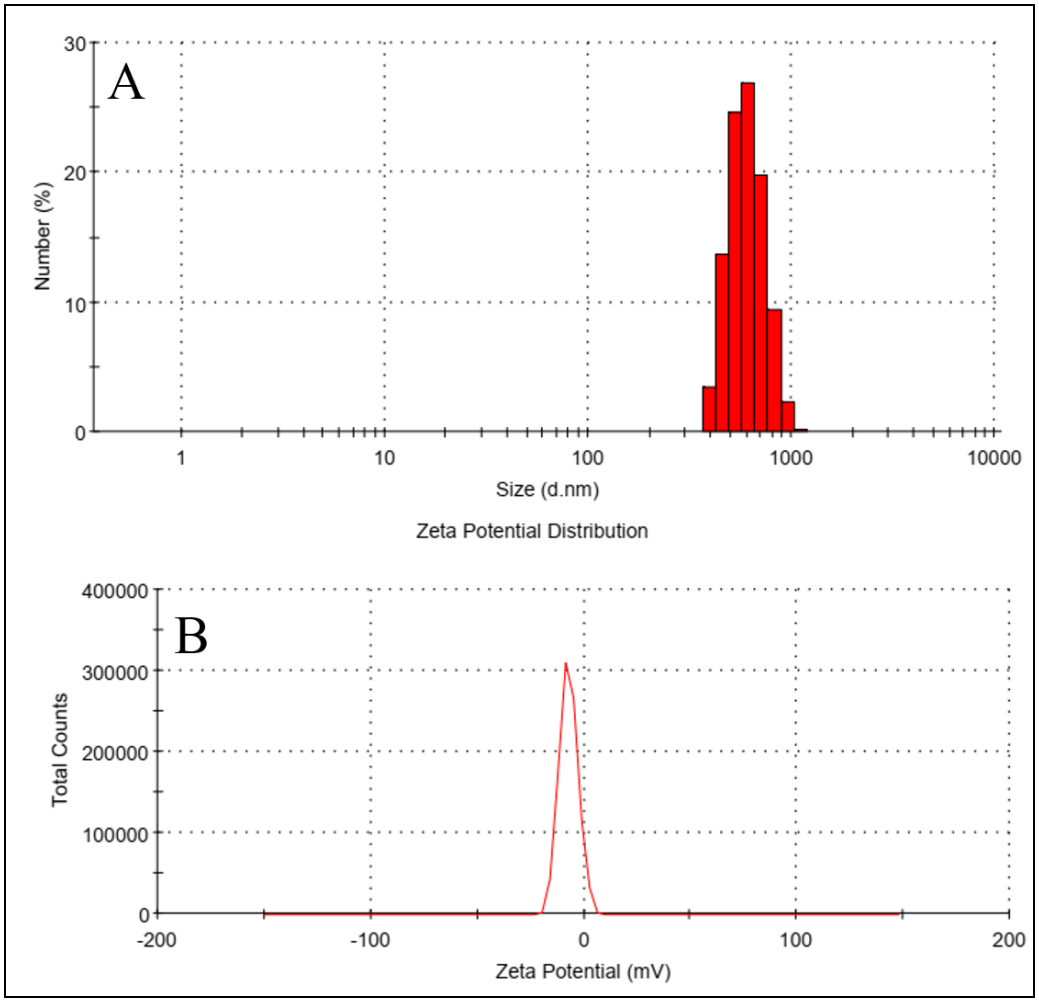
olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.28). SA AuNP, SB AuNP ve SL AuNP zeta potansiyel sonuçları bu NP'lerin hassas dispersiyon eşiği grubunda bulunduklarını gösterirken, KA AuNP ise orta stabilite grubunda değerlendirilebilir (Albright, 2008). Biyosentezlenmiş AuNP'lerde gösterilen negatif ZP değerleri bitki esktraktlarında bulunan biyo-organik bileşenlerden -özellikle 3 *Sideritis* türünde de majör bileşen olan klorojenik asitten- kaynaklanabilir.



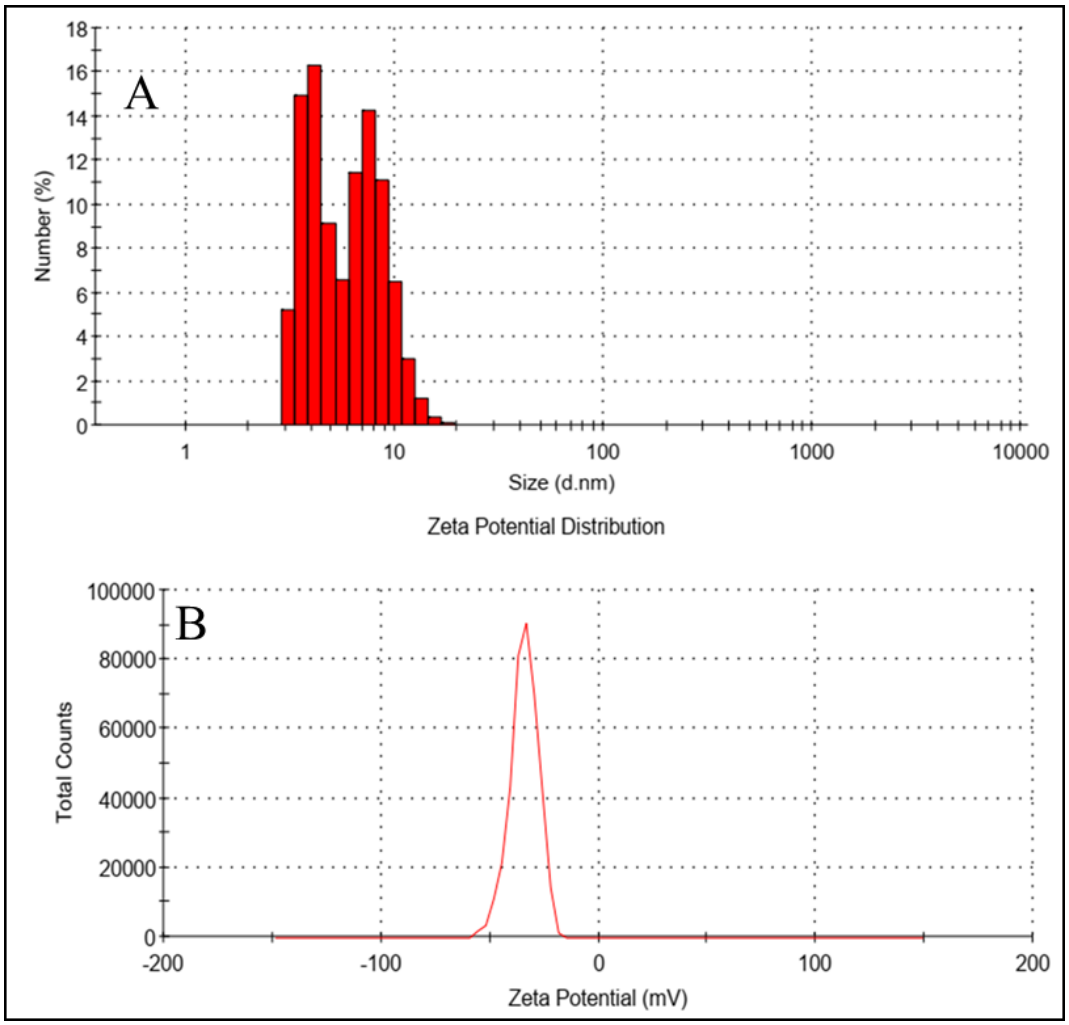
Şekil 4.25. *S. argyrea* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA AuNP'lerin A)DLS Analizi ve B)Zeta potansiyeli



Şekil 4.26. *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SB AuNP'lerin A) DLS Analizi ve B)Zeta potansiyeli



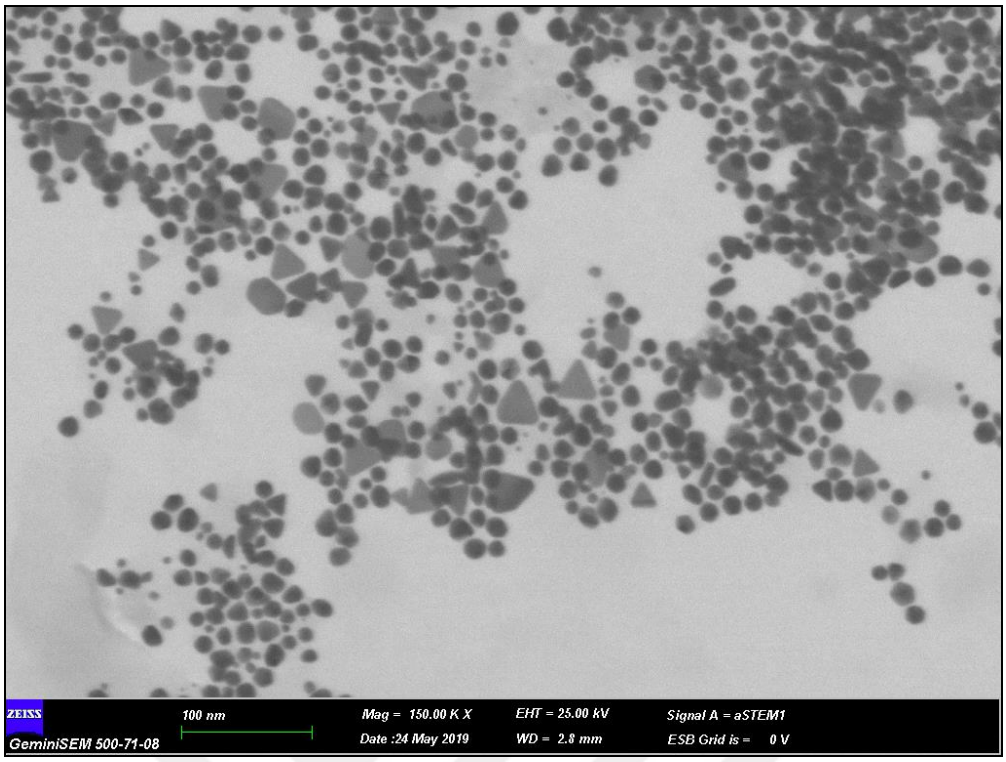
Şekil 4.27. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL AuNP'lerin A)DLS Analizi ve B) Zeta Potansiyeli



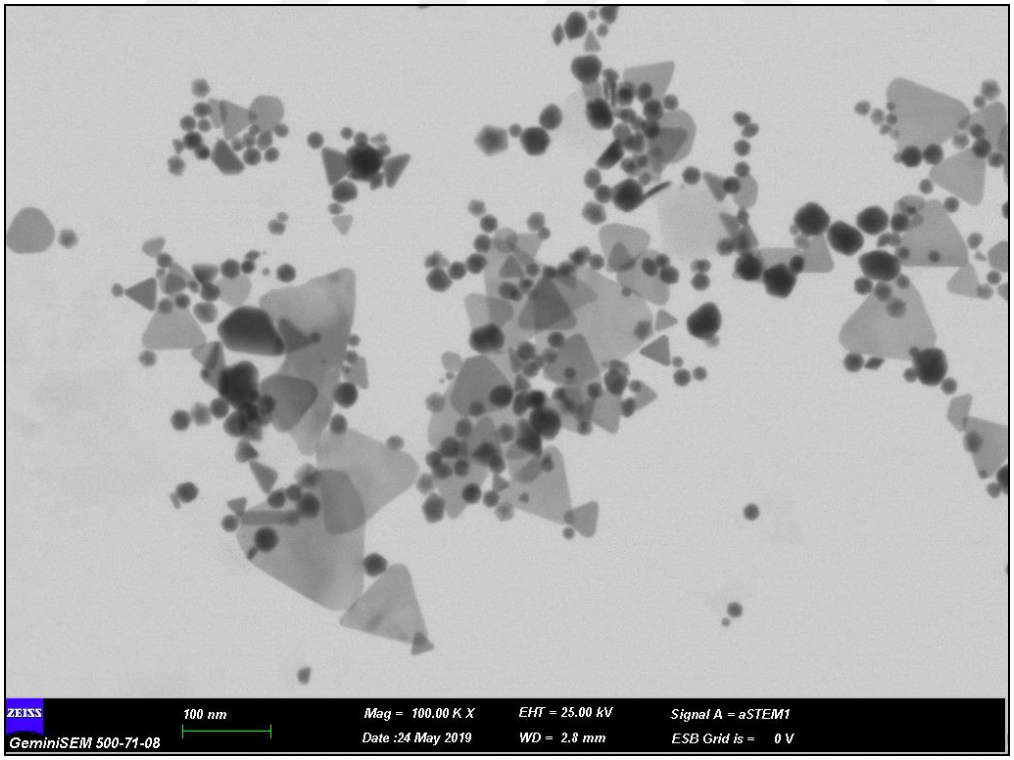
Şekil 4.28. Klorojenik asit kullanılarak biyosentezlenmiş KA AuNP'lerin A)DLS Analizi ve B)Zeta Potansiyeli

4.3.4. TEM

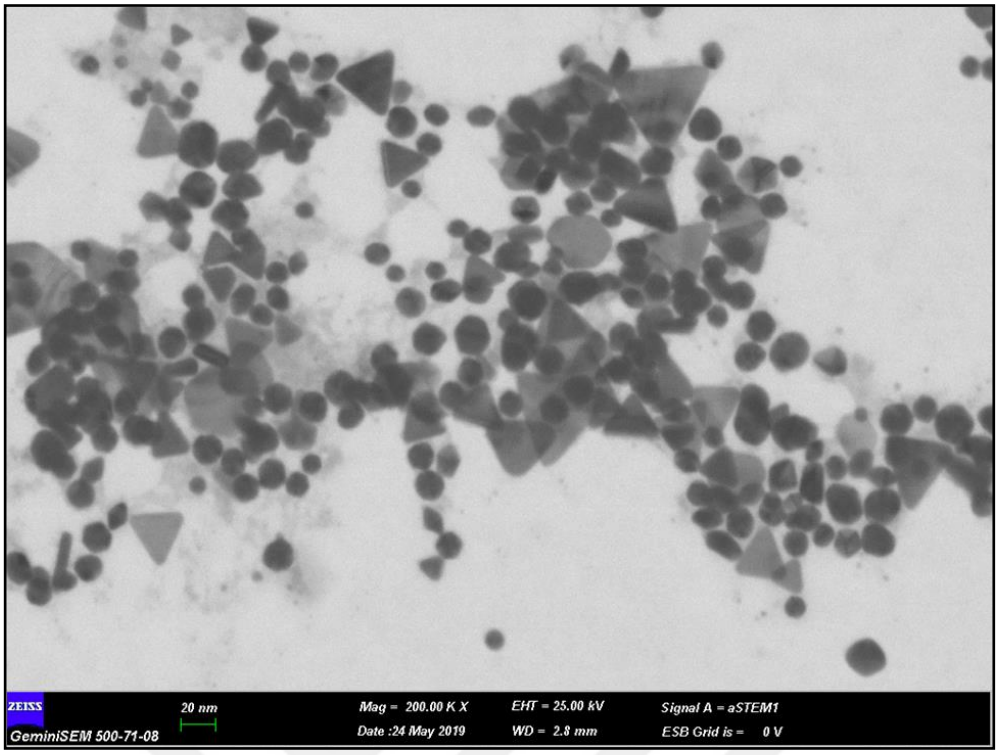
S. argyrea, *S. brevidens*, *S. lycia* ekstraktları, klorojenik asit kullanılarak ve biyolojik olarak sentezlenen SA AuNP (Şekil 4.29), SB AuNP (Şekil 4.30), SL AuNP (Şekil 4.31) ve KA AuNP'lerin (Şekil 4.32) TEM prfofilleri, altın nanopartiküllerin küresel ve hegzagonal yapıda oldukları gözlemlenmiştir. Bitki ekstreleri kullanılarak sentezlenen pek çok AuNP'lerle elde ettiğimiz AuNP'ler arasında TEM görüntüleri şekil, boyut ve morfoloji bakımından birbiriyle uyumludur (Acharya ve ark., 2019).



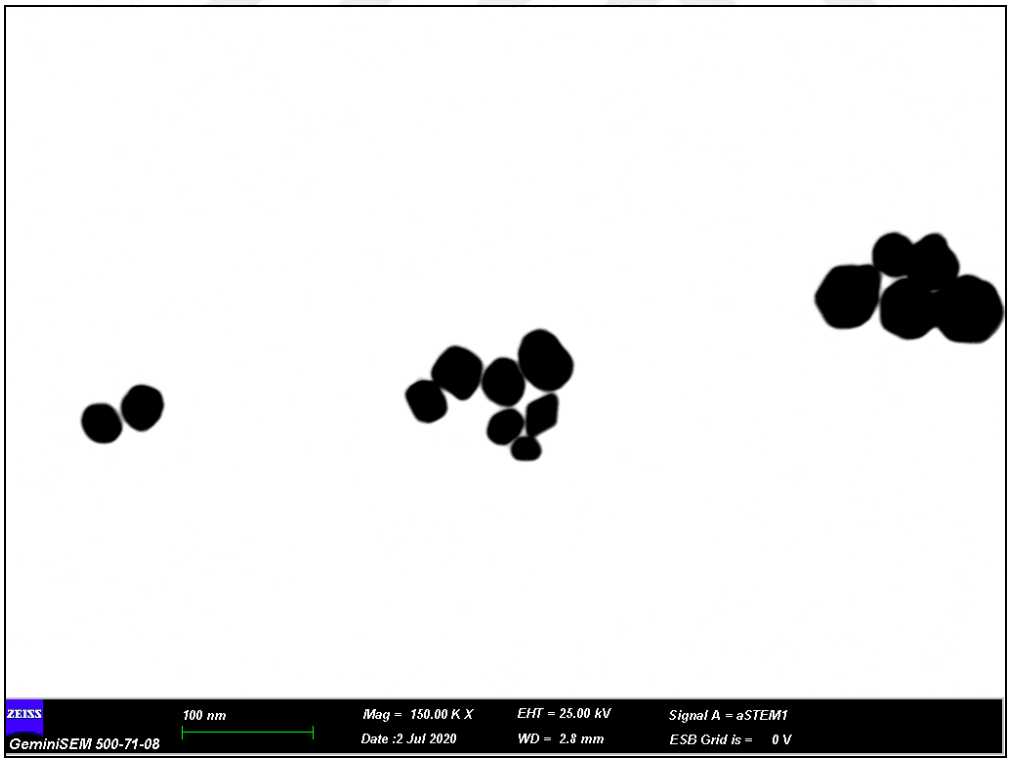
Şekil 4.29. *S. argyrea* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA AuNP'lerin TEM analizi



Şekil 4.30. *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SB AuNP'lerin TEM analizi



Şekil 4.31. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL AuNP'lerin TEM analizi



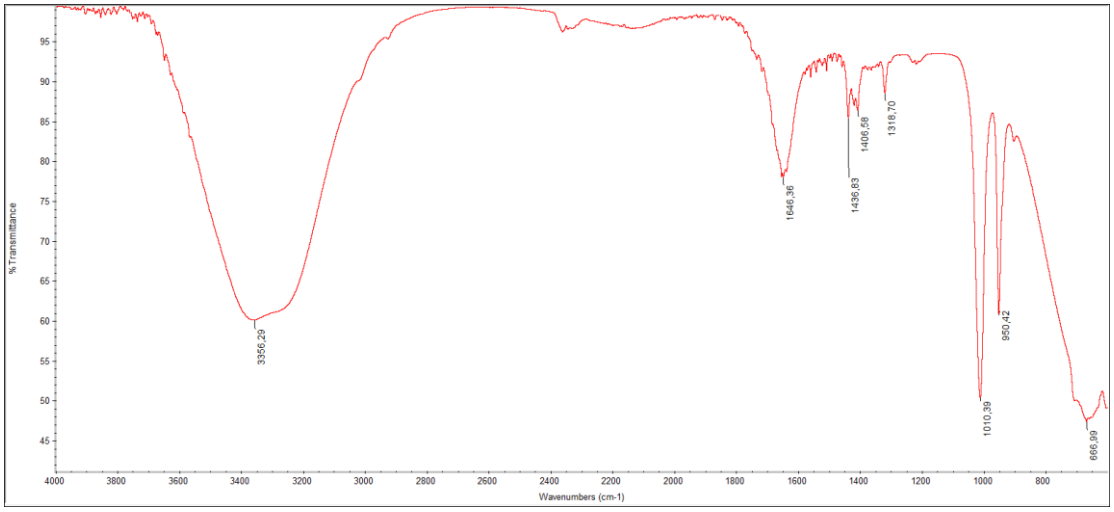
Şekil 4.32. Klorojenik asit kullanılarak biyosentezlenmiş KA AuNP'lerin TEM analizi

4.4. Demir Nanopartiküllerinin (FeNP) Sentezi ve Karakterizasyonu

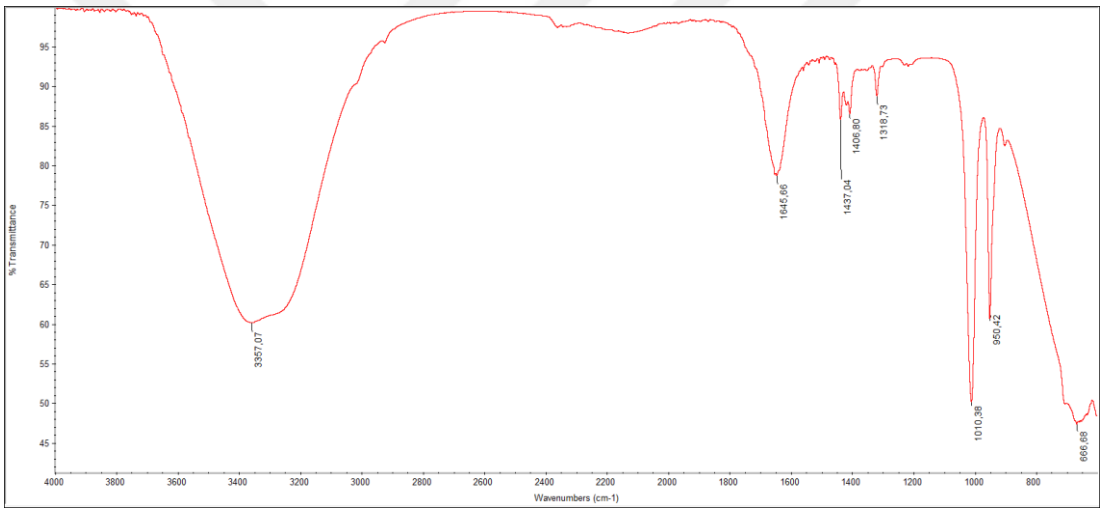
4.4.1. FT-IR

Nanopartiküllerin yüzey fonksiyonel gruplarını, titreşim frekansı değişiklikleri ile belirlemek için FTIR kullanılmıştır. FTIR spektrumları Şekil 4.33, 4.34, 4.35 ve 4.36'da verilmiştir. FTIR spektroskopisinde SA FeNP'ler için; 3356,29 cm^{-1}, 1646,36 cm^{-1}, 1436,83 cm^{-1}, 1406,58 cm^{-1}, 1318,70 cm^{-1}, 1010,39 cm^{-1}, 950,42 cm^{-1}, 666,99 cm^{-1} de belirgin pikler ortaya çıkmıştır. *S. brevidens* ekstresi kullanılarak sentezlenen SB FeNP'lerin FTIR spektroskopisi; 3357,07 cm^{-1}, 1646,36 cm^{-1}, 1436,83 cm^{-1}, 1406,83 cm^{-1}, 1318,73 cm^{-1}, 1010,39 cm^{-1}, 950,42 cm^{-1}, 666,99 cm^{-1} band pikleri göstermiştir. SL FeNP'ler için 3359,29 cm^{-1}, 1645,88 cm^{-1}, 1436,88 cm^{-1}, 1406,75 cm^{-1}, 1318,70 cm^{-1}, 1010,35 cm^{-1}, 950,42cm^{-1}; KA FeNP'ler için, 3359,51 cm^{-1}, 1645,23 cm^{-1}, 1437,07 cm^{-1}, 1406,83 cm^{-1}, 1318,66 cm^{-1}, 1010,37 cm^{-1} band pikleri göstermiştir.

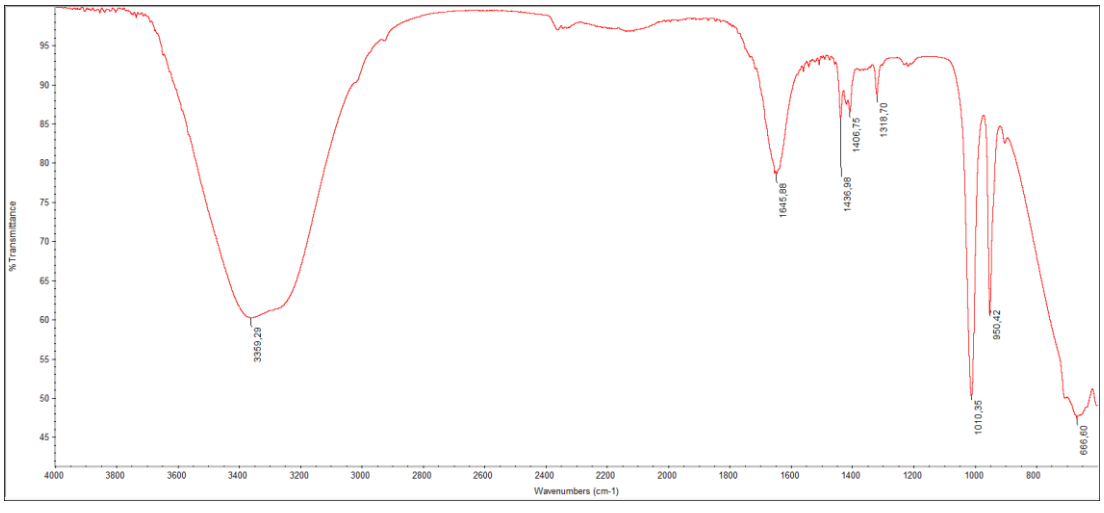
3356,29 cm^{-1}, 3357,07 cm^{-1}, 3359,29 cm^{-1}, 3359,51 cm^{-1} band pikleri ekstraktlardaki ve klorojenik asitteki fenolik bileşiklerden kaynaklanan O-H gerilimlerini sergilemektedir. FTIR spektrumu, C=C ve –CO gruplarının titreşimine ve aromatik halka deformasyonuna atfedilebilecek SA AgNP için 1646,36 cm^{-1}, SB AgNP için 1645,66 cm^{-1}, SL AgNP için 1645, 88 cm^{-1}, KA AgNP için 1645,23 cm^{-1} civarında bantlar göstermiştir. Bu sonuçlar, FeNP'lerin oluşumu sırasında Fe^{+3}, Fe^{+2} iyonları ile –OH grupları ve/veya –CC gruplarının oksijen atomları arasında bir koordinasyon olduğunu göstermektedir (Ayachi ve ark., 2015; Bibi ve ark., 2017). FT-IR analizine dayanarak, SA FeNP, SB FeNP, SL FeNP ve KA FeNP'lerde bulunan fenolik bileşiklerin nanopartiküllerin kaplanmasına ve stabilize edilmesine dahil olabileceği varsayılabilir (Reddy ve ark., 2014).



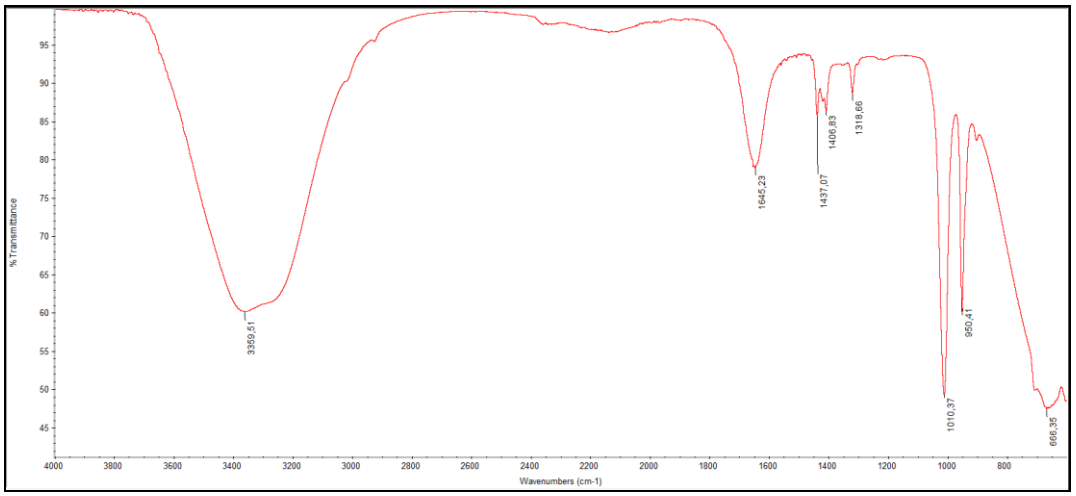
Şekil 4.33. *S. argyrea* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA FeNP'lerin FT-IR Analizi



Şekil 4.34. *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SB FeNP'lerin FT-IR Analizi



Şekil 4.35. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL FeNP'lerin FT-IR Analizi

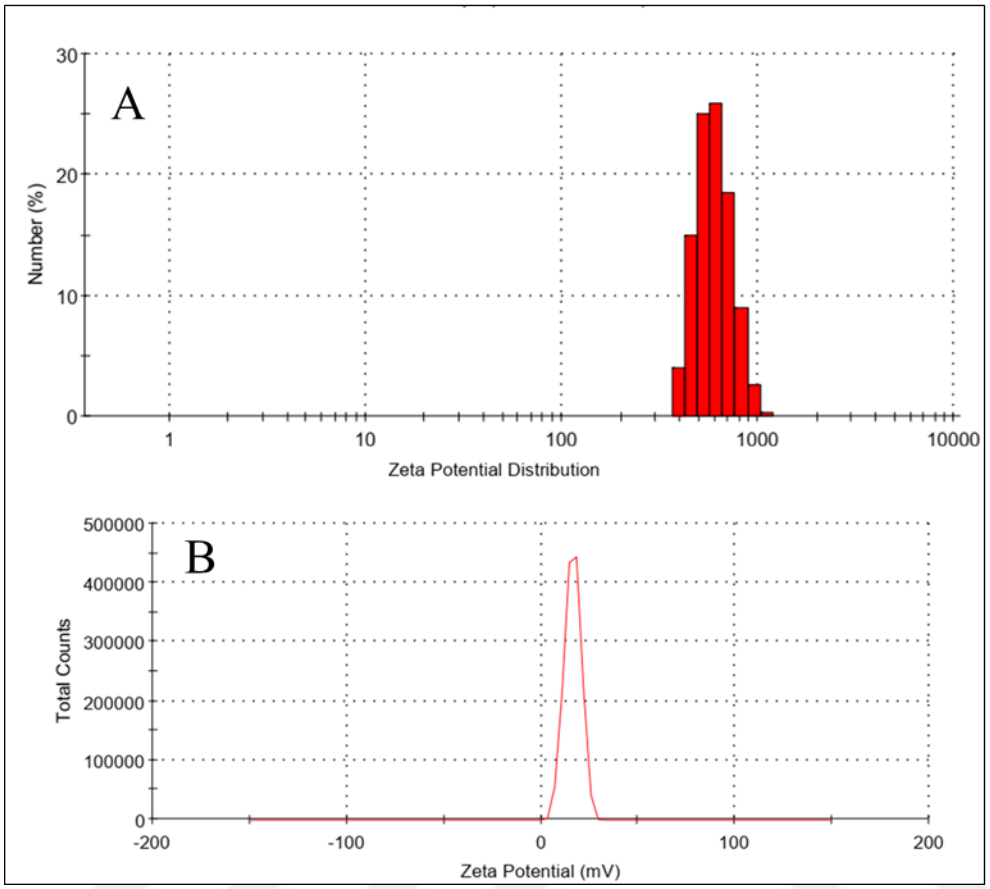


Şekil 4.36. Klorojenik asit sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş KA FeNP'lerin FT-IR Analizi

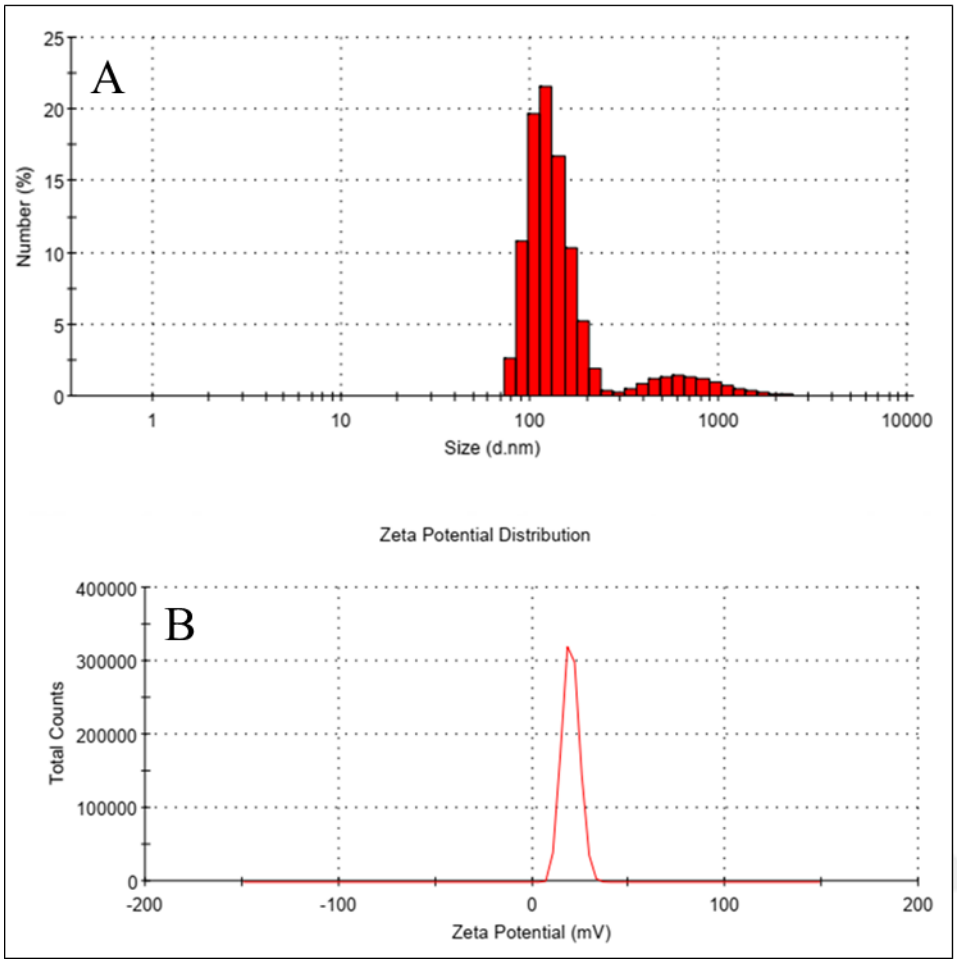
4.4.2. DLS-Zeta

DLS analizi nanopartiküllerin boyut dağılım profillerini ölçmemizi sağlar. Bu teknik, nanopartiküllerin süspansiyonlardaki davranışını incelemek için özellikle yararlıdır. Zeta potansiyel bilgileri ile birleştirildiğinde, zamana karşı DLS verileri, nanoparçacıkların topaklaşma eğilimine dair içgörü sağlar.

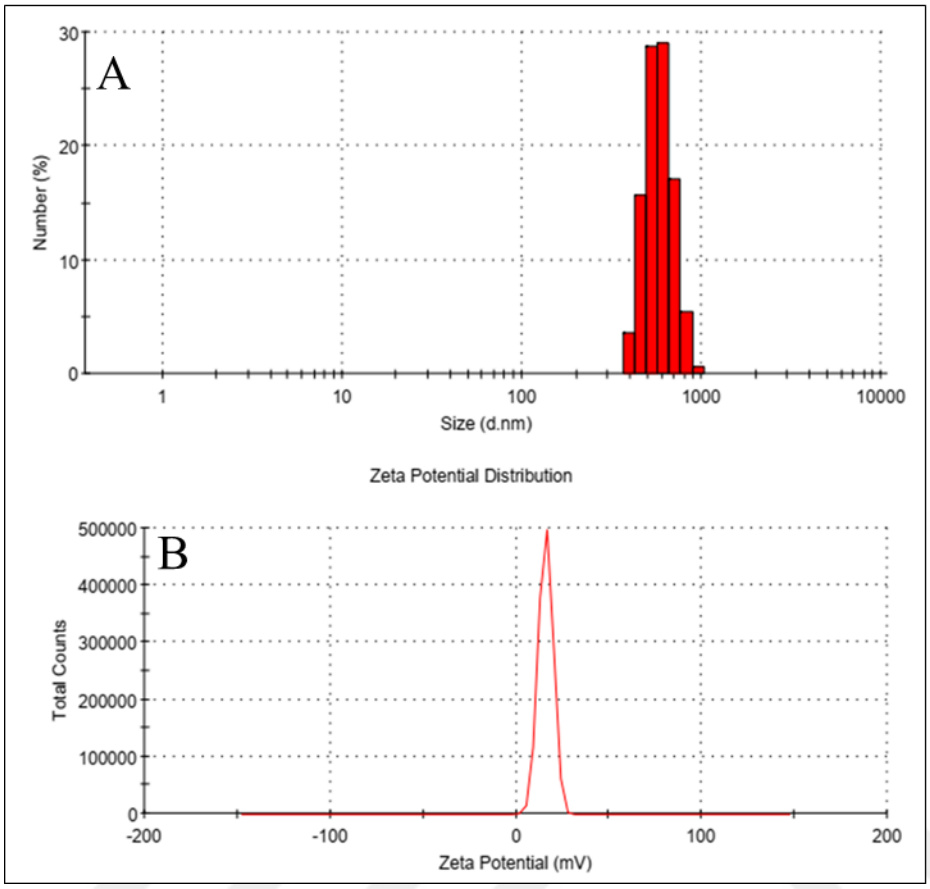
S. argyrea sulu ekstresi ile biyosentezlenmiş SA FeNP'lerin DLS datası sonucunun ortalama boyutunun 600,87 nm olduğunu ve ortalama zeta potansiyeli değerinin ise 16.3 mV olduğu Şekil 4.37'da gösterilmiştir. *S. brevidens* sulu ektresi kullanılarak biyolojik sentezi gerçekleştirilen SB FeNP'lerin DLS analizi sonucunun ortalama boyutunun 754,48 nm olduğu ve ortalama zeta potansiyel sonucu ise 19,9 mV olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.38). *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak elde edilen sentezlenen SL FeNP'leri DLS data sonucu 570,72 nm bulunmuştur. Ortalama zeta potansiyel sonucu ise 16.1 mV olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.39). Klorojenik asit sulu çözeltisi kullanılarak elde edilen biyosentezlenen KA FeNP'lerin DLS analizinin sonucu ortalama 600,11 nm olarak bulunmuş, ortalama zeta potansiyel sonucu -17.7 mV olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.40). Tüm FeNP'ler zeta potansiyel sonuçlarına göre hassas dispersiyon eşiğinde değerlendirilmiştir (Albright, 2008).



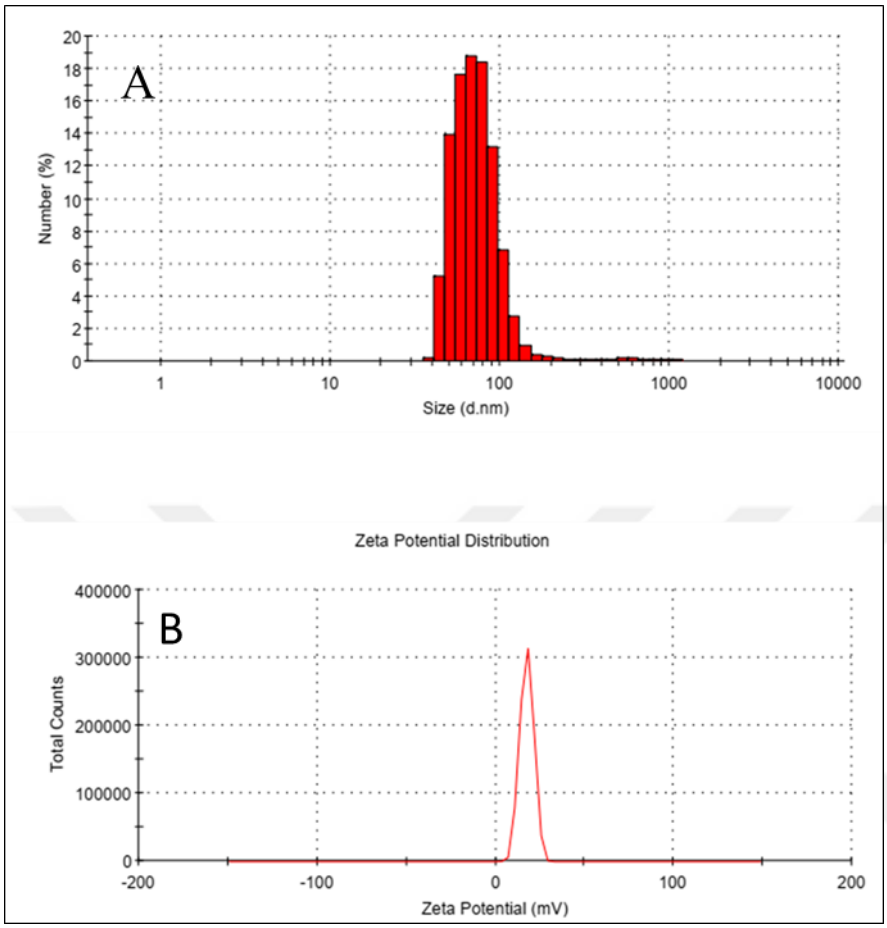
Şekil 4.37. *S. argyrea* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA FeNP'lerin A) DLS Analizi, B) Zeta potansiyeli



Şekil 4.38. *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SB FeNP'lerin A) DLS Analizi, B) Zeta potansiyeli



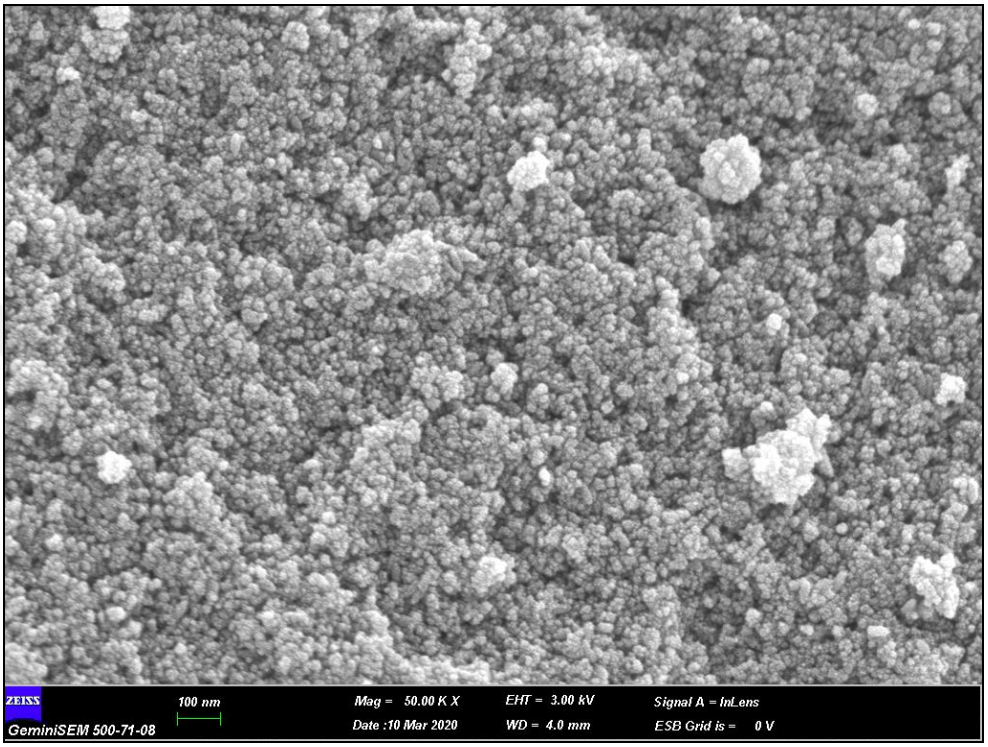
Şekil 4.39. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL FeNP'lerin A) DLS Analizi ve B) Zeta potansiyeli



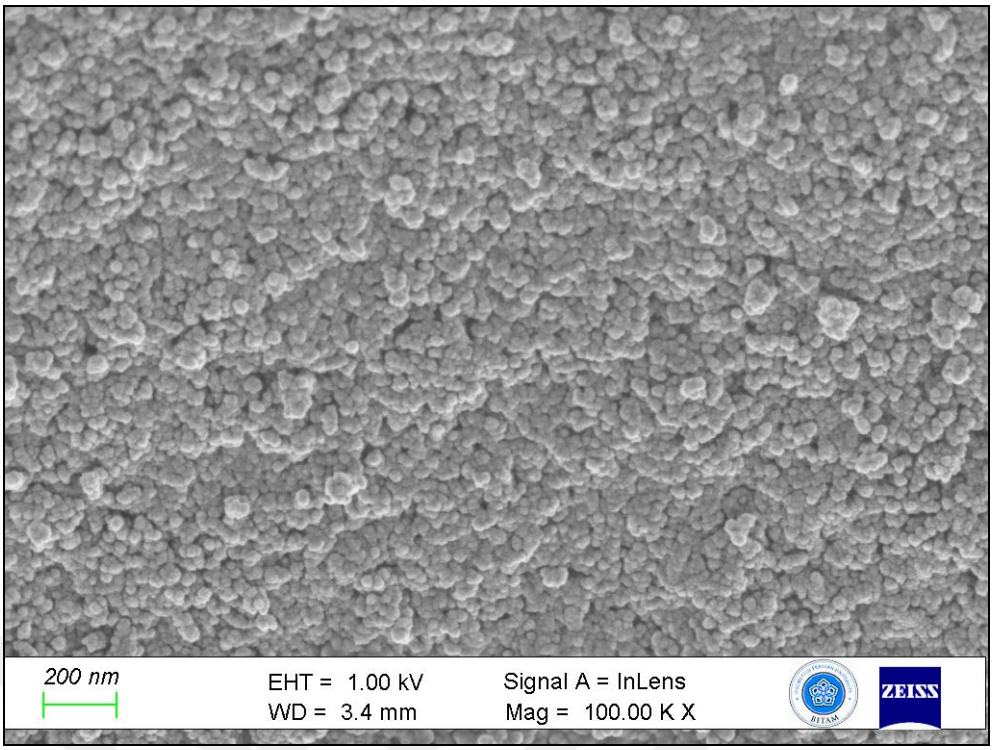
Şekil 4.40. Klorojenik asit kullanılarak biyosentezlenmiş SL FeNP'lerin A) DLS Analizi ve B) Zeta potansiyeli

4.4.3. TEM

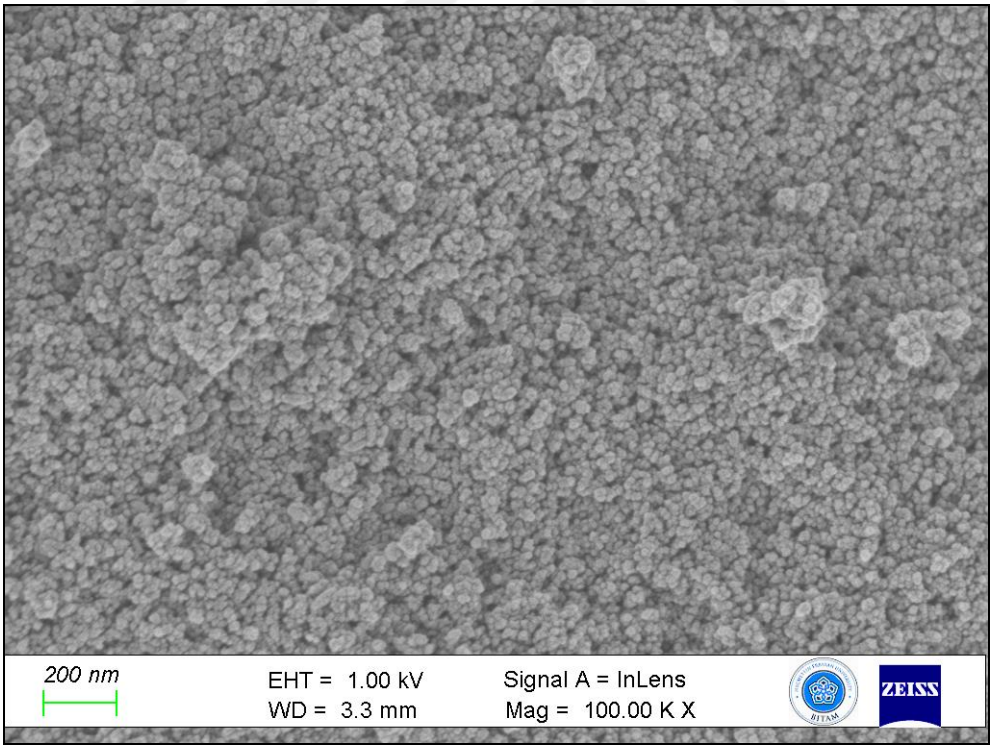
Sideritis türleri ve klorojenik asit asit kullanılarak yeşil sentezlenen FeNP'lerin morfolojik karakterizasyonu ve boyut değişimi TEM mikroskopisi ile analiz edildi. Transmisyon Elektron Mikroskobu genel anlamıyla NP'lerin patikül boyutu, büyüklüğü ve şekli ile alakalı bilgi vermiştir. SA FeNP, SB FeNP, SL FeNP VE KA FeNP'lere ait TEM görüntüleri Şekil 4.41, 4.42, 4.43 ve 4.44'de verilmiştir.



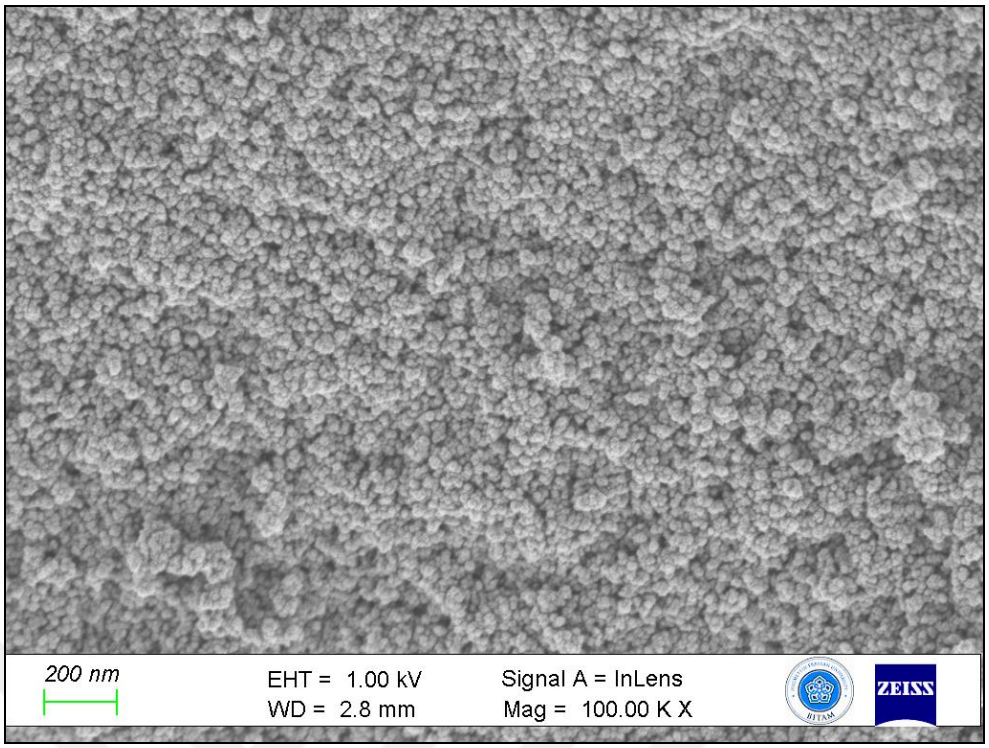
Şekil 4.41. S. argyrea sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA FeNP'lerin TEM görüntüsü



Şekil 4.42. S. brevidens sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SB FeNP'lerin TEM görüntüsü



Şekil 4.43. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL FeNP'lerin TEM görüntüsü



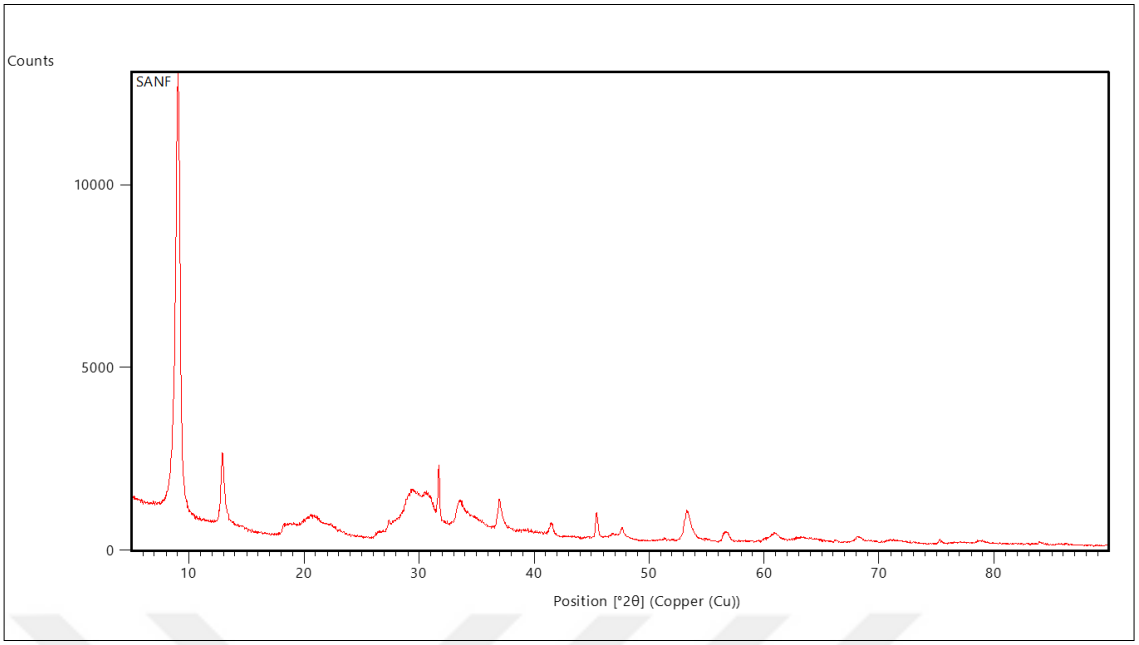
Şekil 4.44. Klorojenik asit kullanılarak biyosentezlenmiş KA FeNP'lerin TEM görüntüsü

4.5. Bakır Çiçek şekilli hibrit nanoyapıların (CuhNÇ) sentezi ve karakterizasyonu

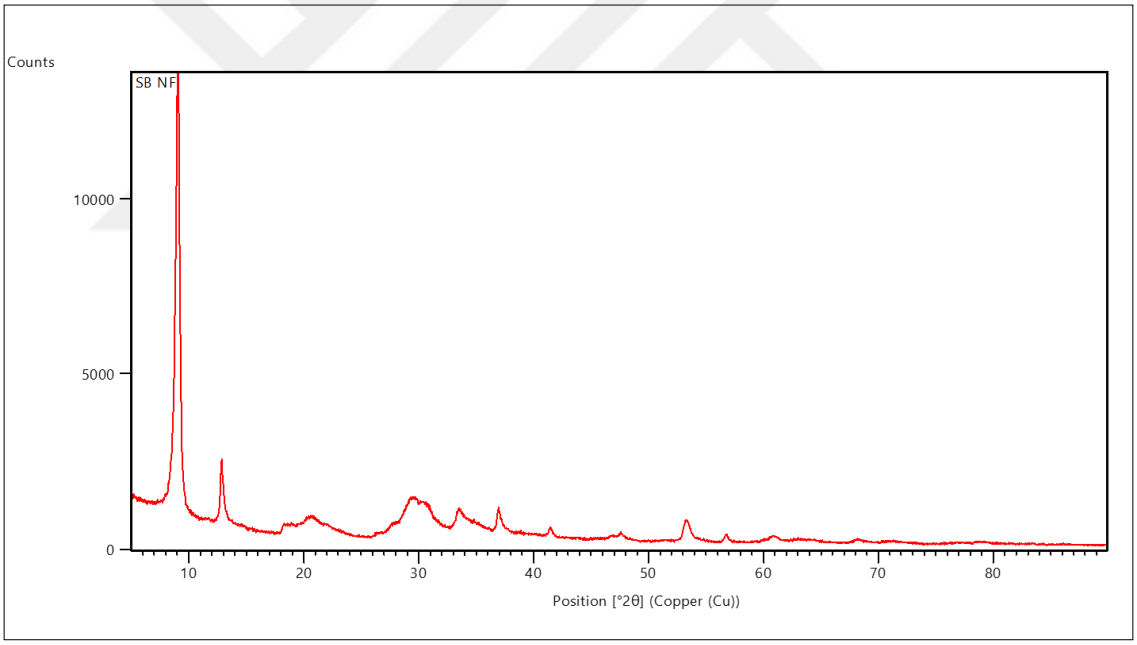
4.5.1. XRD

Bu teknik, kristal yapı, faz ile ortalama tane büyülüğü, kristallik, şekil değiştirme, kristal kusurları gibi diğer yapısal parametreleri analiz etmek için kullanılır. X- ışını materyallerin kristal fazı ile etkileşime girdiğinde kırınım pikleri üretir. Piklerin yoğunluğu, kafes içindeki atomların dağılımını yansıtır ve bu pikler, katı fazların tanımlanması için "parmak izi" olarak kullanılabilir (Husen, 2019).

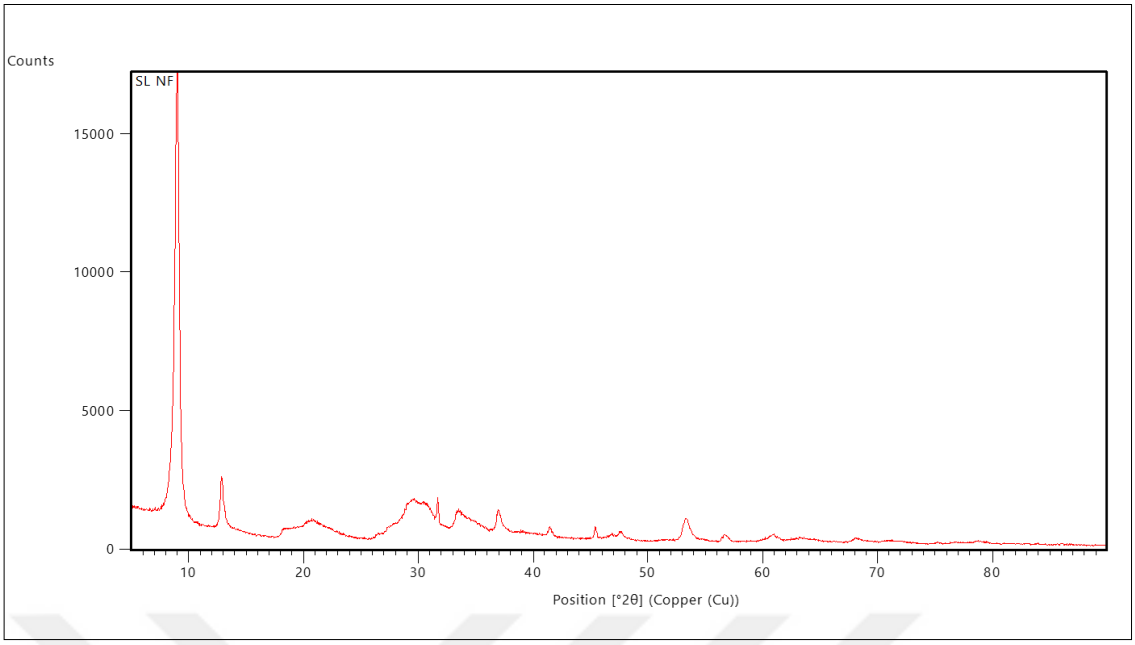
Sideritis türleri ve klorjenik asit tarafından sentezlenmiş olan Cu çiçek şekilli hibrit nanoyapıların (CuhNÇ) XRD kırınım şiddetleri 10° ile 80° arasında gerçekleşmiştir ve Şekil 4.45, 4.46, 4.47 ve4.48'de gösterilmştir.



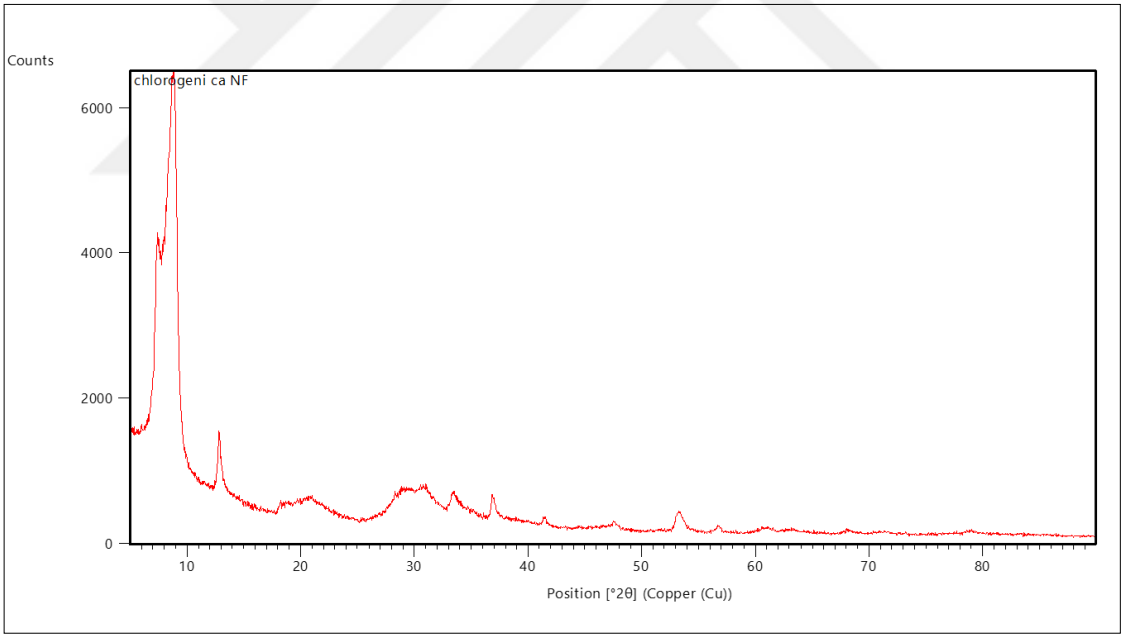
Şekil 4.45. *S. argyrea* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA CuhNÇ'lerin XRD analizi



Şekil 4.46. *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SB CuhNÇ'lerin XRD analizi



Şekil 4.47. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL CuhNÇ'lerin XRD analizi

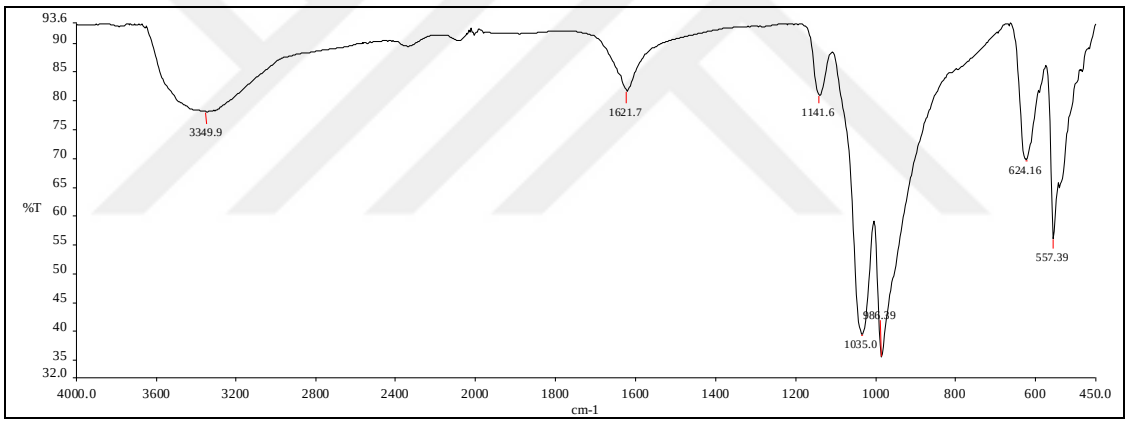


Şekil 4.48. Klorojenik asit kullanılarak biyosentezlenmiş KA CuhNÇ'lerin XRD analizi

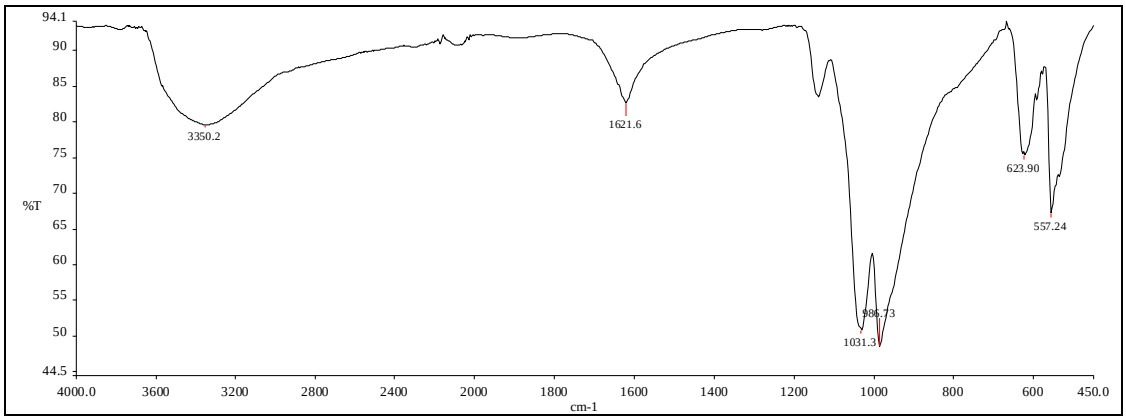
4.5.2. FT-IR

3 *Sideritis* türleri ve klorojenik asit ile sentezlenen Cu hibrit nanoyapıların (CuhNÇ) yüzey fonksiyonel grupları FT-IR analizi ile kaydedilmiştir (Şekil 4.49, 4.50, 4.51 ve 4.52). Aynı titreşim noktalarında birkaç karakteristik pikler gözlenmiştir. Bu da ekstrelerde ve klorojenik asitte bulunan bazı fitokimyasalların nanoçiçeklerin yüzeyinde bulunduğunu gösterir.

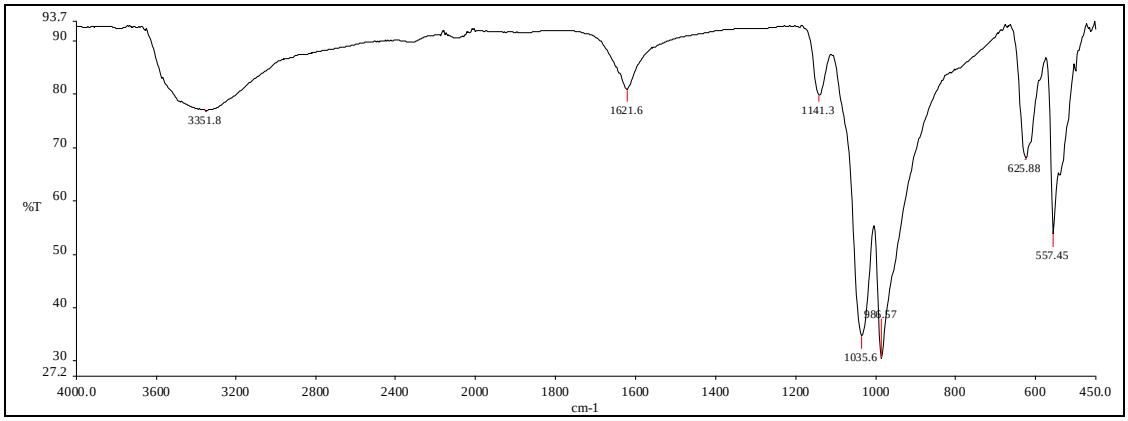
Cu hibrid nanoyapılarının (CuhNÇ) FTIR analizinde; SA CuhNÇ için 3349.9 cm^{-1}, SB CuhNÇ için 3350,2 cm^{-1}, SL CuhNÇ için 3351,8 cm^{-1} ve KA CuhNÇ için 3346,7 cm^{-1} bandlarında fenolik bileşiklerde bulunan –OH titreşimlerini işaret eden pikler göstermiştir (Begum ve ark., 2009). SA CuhNÇ, SB CuhNÇ, SL CuhNÇ ve KA CuhNÇ için sırasıyla 1621.7 cm^{-1}, 1621.6 cm^{-1}, 1621.6 cm^{-1} ve 1621.6 cm^{-1}'deki belirgin pikler polifenolik bileşiklerden flavonoidleri ve ester bağlarının gerilme titreşimlerini temsil eder (Song ve ark., 2009).



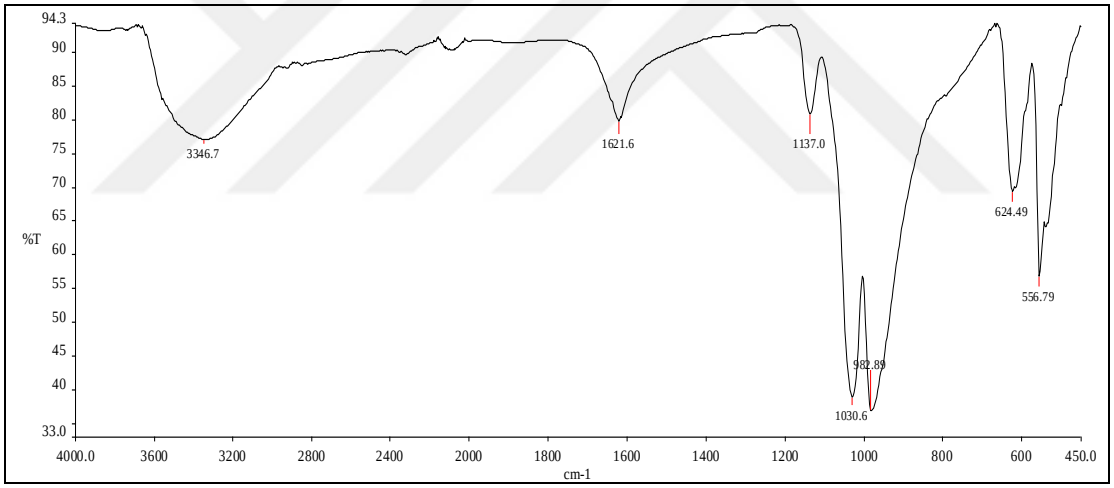
Şekil 4.49. *S. argyrea* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA CuhNÇ'lerin FT-IR Analizi



Şekil 4.50. *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SB CuhNÇ'lerin FT-IR Analizi



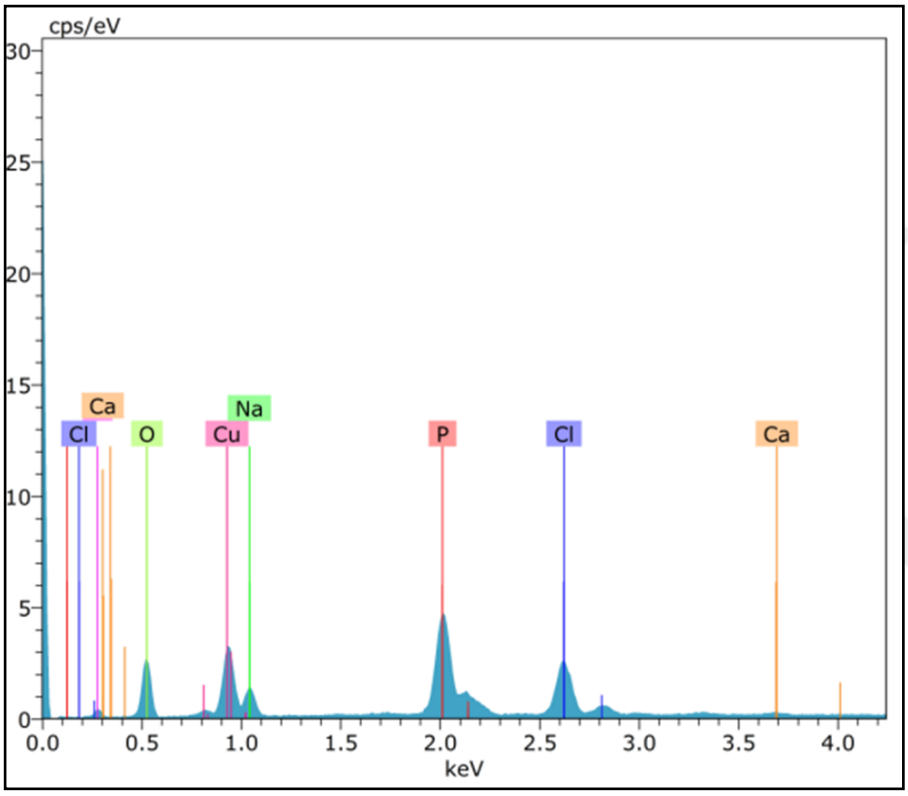
Şekil 4.51. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL CuhNÇ'lerin FT-IR Analizi



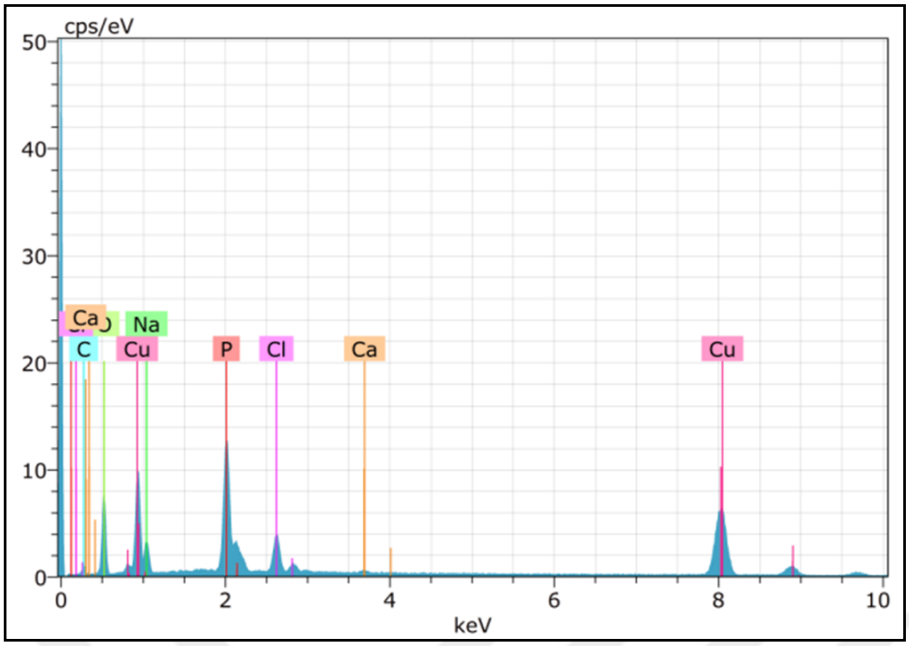
Şekil 4.52. Klorojenik asit kullanılarak biyosentezlenmiş KA CuhNÇ'lerin FT-IR Analizi

4.5.3. EDX

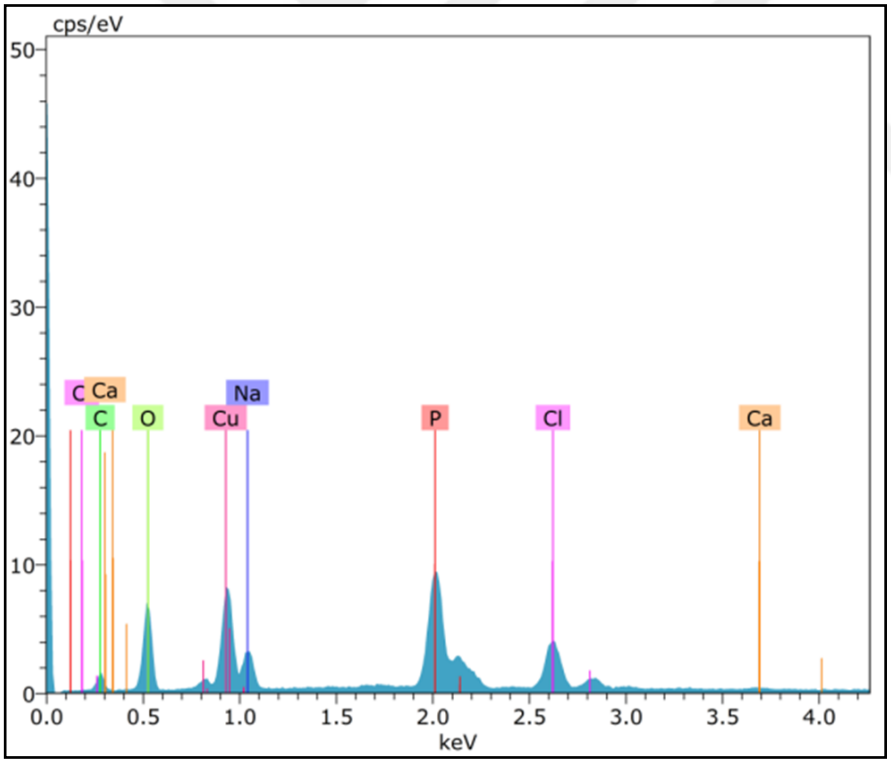
Enerji Dağılımı X-ışını spektroskopisi (EDX), hibrid yapılı nanyapıların yani nanoçiçeklerin elemental analizi ya da kimyasal karakterizasyonu için kullanılmıştır. Şekil 4.53, 4.54, 4.55 ve 4.56'de *Sideritis* türleri ve klorojenik asit kullanılarak yeşil sentez ile sentezlenmiş CuhNÇ'lerin EDX spektrumları verilmiş ve Cu elementi CuhNÇ'lerde gösterilmiştir.



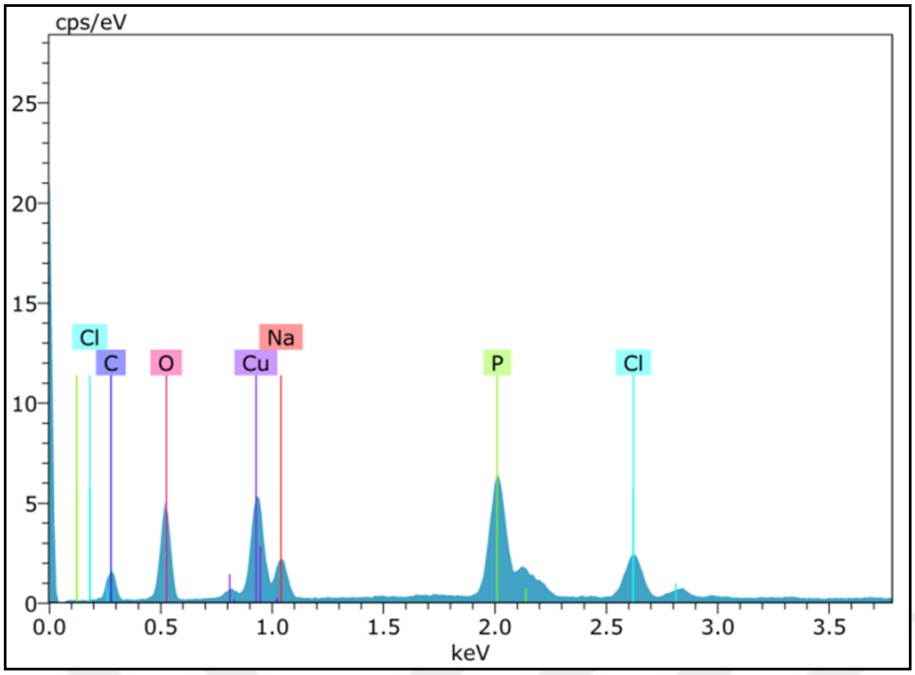
Şekil 4.53. *S. argyrea* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA CuhNÇ'lerin EDX spektrumu



Şekil 4.54. *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SB CuhNÇ'lerin EDX spektrumu



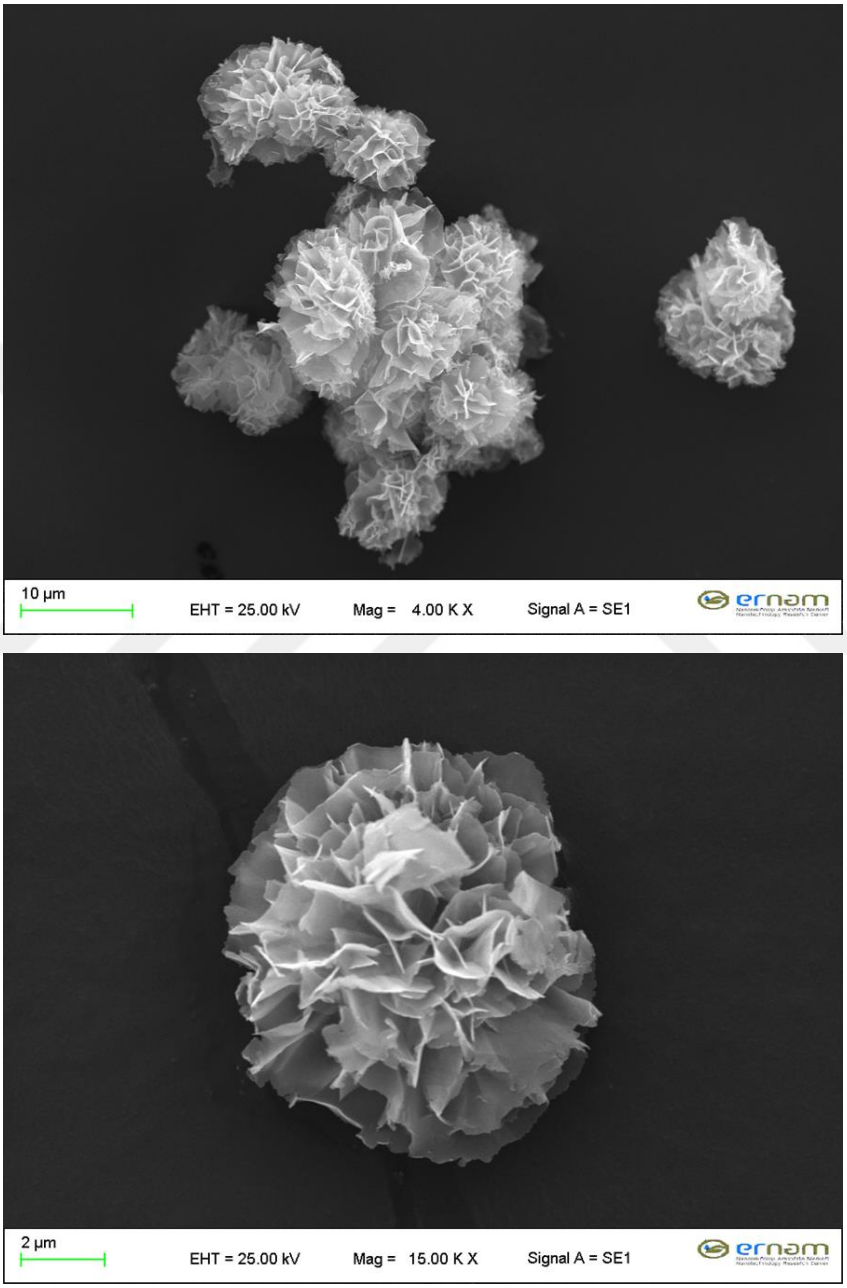
Şekil 4.55. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL CuhNÇ'lerin EDX spektrumu



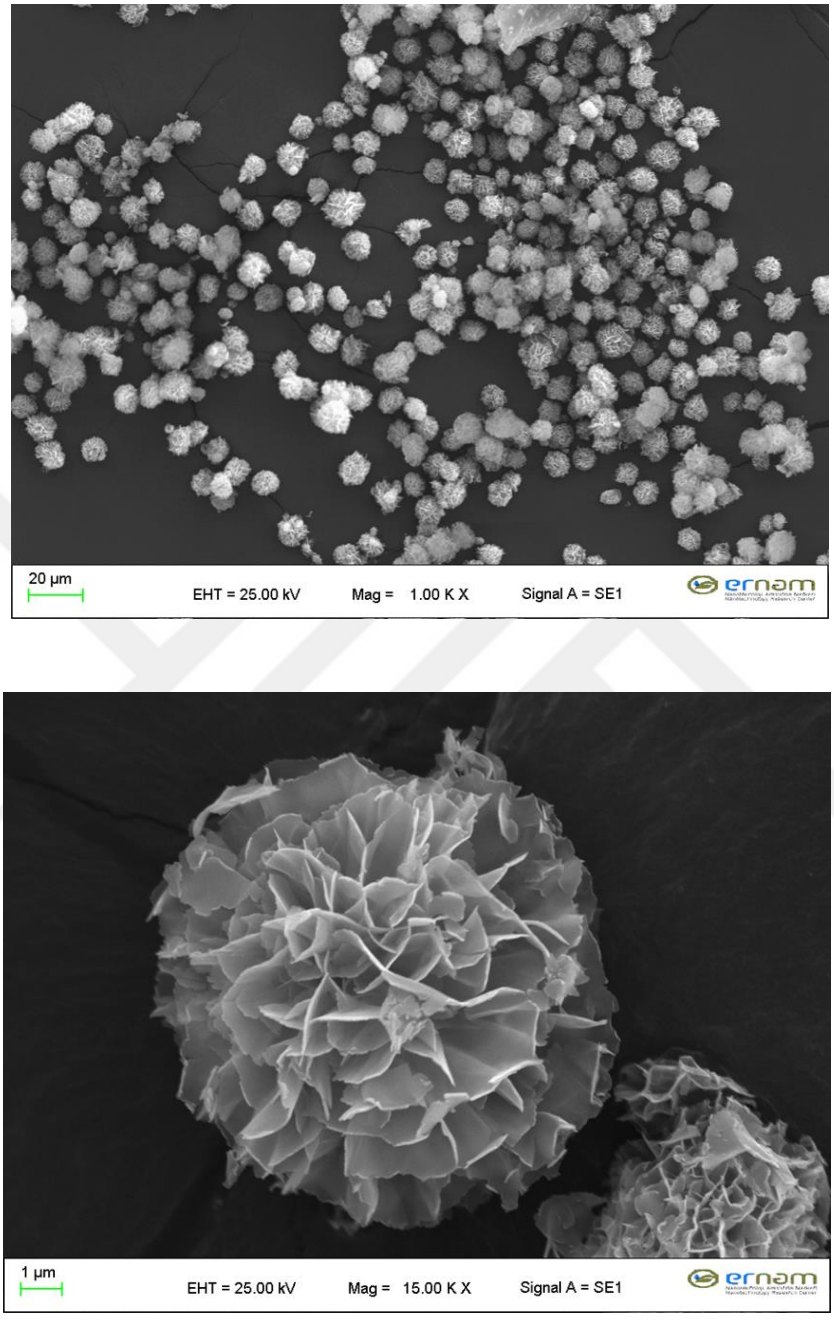
Şekil 4.56. Klorojenik asit kullanılarak biyosentezlenmiş SB CuhNÇ'lerin EDX spektrumu

4.5.4. SEM

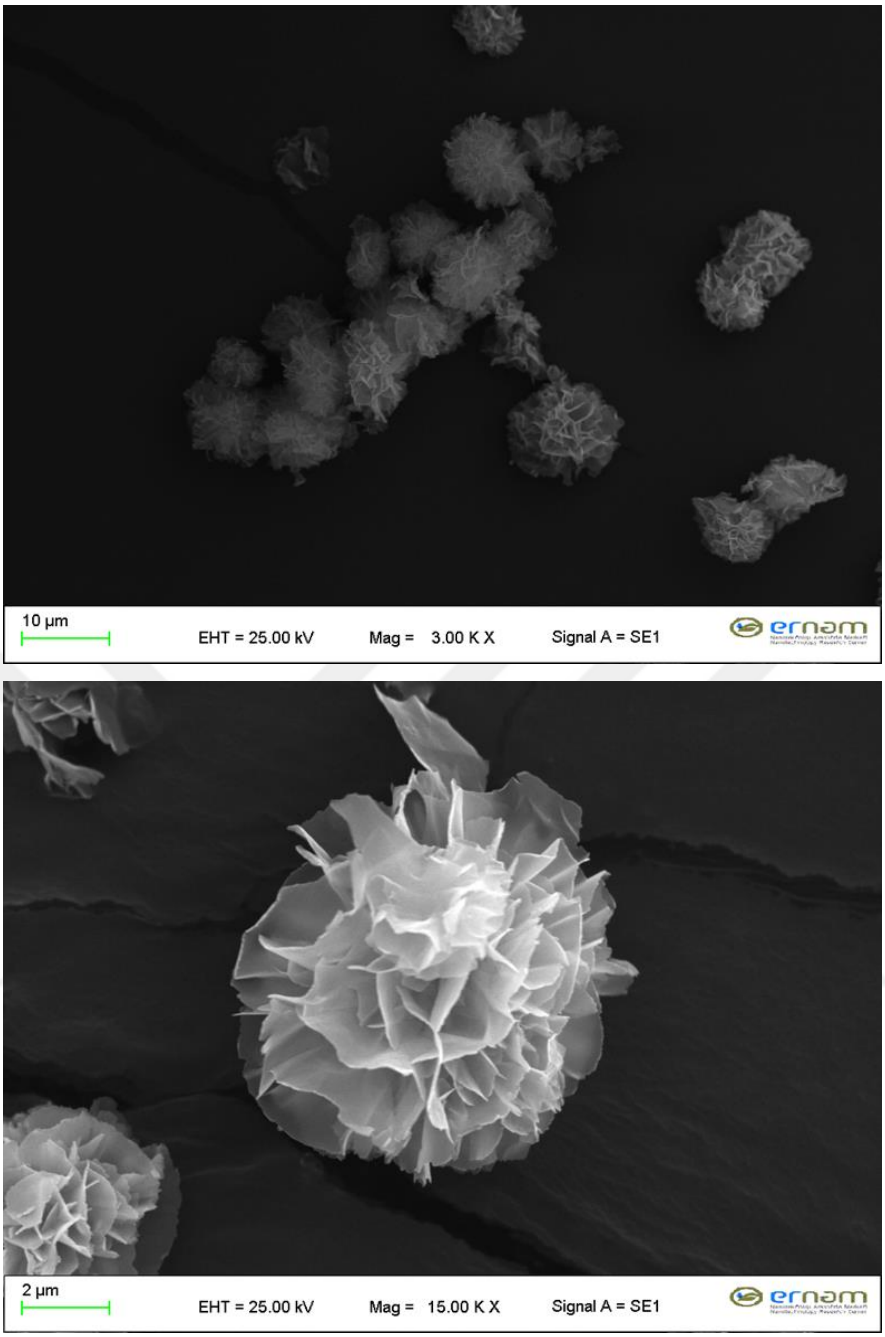
Şekil 4.57, 4.58, 4.59, 4.60 ‘da gösterilen SA CuhNÇ, SB CuhNÇ, SL CuhNÇ ve KA CuhNÇ’lerin SEM görüntüleri dar boyutlu dağılıma sahip ve küresel şekilde oldukları gözlemlemiştir. hNÇ’lerin ortalama çapları yaklaşık 5 µm’dir. CuhNÇ’ler morfolojik olarak birbirlerine oldukça benzerdir.



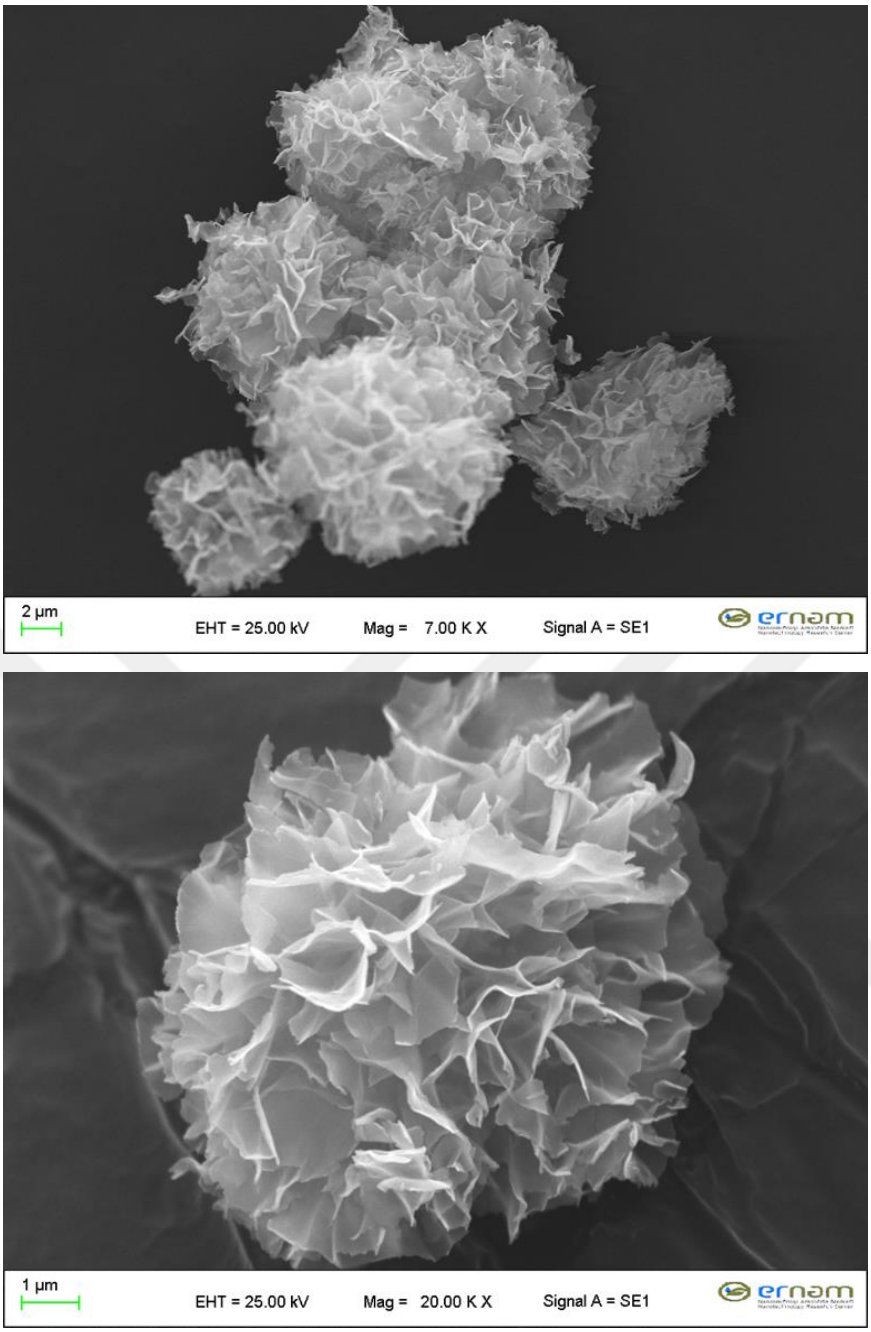
Şekil 4.57. *S. argyrea* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SA CuhNÇ’lerin SEM analizi



Şekil 4.58. *S. brevidens* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SB CuhNÇ'lerin SEM analizi



Şekil 4.59. *S. lycia* sulu ekstresi kullanılarak biyosentezlenmiş SL CuhNÇ'lerin SEM analizi



Şekil 4.60. Klorojenik asit kullanılarak biyosentezlenmiş KA CuhNÇ'lerin SEM analizi

4.6. Sentezlenen Hibrid Nanoyapıların ve Nanopartiküllerin Enzim İnhibisyon Potansiyelleri

4.6.1. Kolinesteraz İnhibisyonu

Alzheimer hastalığının tedavisi için önemli stratejilerden biri olan kolinesteraz enzimlerinin inhibisyon testi; *S. argyrea, S. brevidens, S. lycia* su ekstreleri, klorojenik asit ve bunlar vasıtasıyla yeşil sentez tekniği ile sentezlemiş Ag, Au, Fe_3O_4 NP'ler ve Cu çiçek şekilli hibrid nanoyapılar için gerçekleştirilmiştir. Kolinesteraz enzimleri (AChE: Asetilkolinesteraz, BChE: Bütirilkolinesteraz) inhibisyon sonuçları bu enzimler için standart bir madde olan galatamine eşdeğer olarak (mg GALAE/g) olarak hesaplanmıştır. (Tablo 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 ve Şekil 4.61 ve 4.62). *Sideritis* su ekstreleri ve bu 3 *Sideritis* türünün majör fenolik komponenti olan klorojenik kendi aralarında değerlendirildiğinde AChE için klorojenik asit (2,60 mg GALAE/g), diğer 3 türe göre (*S. argyrea*: 0,36 mg GALAE/g, *S. brevidens*: 0,68 mg GALAE/g; *S. lycia*: 0.61 mg GALAE/g) önemli ölçüde inhibisyon sergilemiştir. Önceden rapor edilen pek çok çalışmada klorojenik asidin AChE inhibisyonu gösterdiği tespit edilmiştir (Kwon ve ark., 2010; Erdogan-Orhan ve ark., 2011; Szwajgier, 2015; Yener ve ark., 2020). AChE inhibisyonu gösteren *Sideritis* türlerinde bu aktiviteden sorumlu olan bileşik, bu bitkilerde temel bileşen olarak bulunan klorojenik asit olduğu düşünülmektedir. Alzheimer hastalığında önemli olan bir diğer kolinesteraz BChE inhibisyonu sonuçları değerlendirildiğinde bitki ekstreleri ve klorojenik asitte bir aktivite gözlemlenmemiştir.

Gümüş NP sonuçlarında ise AChE için sadece SA AgNP (5.16 mg GALAE/g) inhibisyon gösterirken, BChE'da ise SL AgNP ihibisyon göstermezken KA AgNP (12.55 mg GALAE/g) en yüksek inhibisyonu göstermiştir. KA AgNP'yi SA AgNP (12.42 mg GALAE/g) ve SB AgNP (12.38 mg GALAE/g) izlemiştir. Bu sonuçlara göre özellikle BChE için *Sideritis* türleri ve klorojenik asitten sentezlenen AgNP'lerin ekstrelere ve klorojenik aside göre inhibisyon değerleri önemli ölçüde artış göstermiştir. Bu bulgular oldukça dikkat çekicidir ve *Sideritis* türlerinden ve klorojenik asitten biyosentezlenen AgNP'ler Alzheimer hastalığı için potansiyel kolinesteraz enzim inhibitörü olabilirler. *Milletia pinnata* bitki esktresi kullaılarak elde edilen AgNP'lerin ekstre ile karşılaştırmalı bir çalışmada ise; hem AChE hem de BChE için ekstreye göre daha yüksek enzim inhibisyon değerlerinin olduğu rapor edilmiştir (Rajakumar ve ark., 2017).

Altın NP'ler ise sadece BChE inhibisyonu göstermiştir. En yüksek aktivite KA AuNP (12.57 mgGA/g) 'de gözlemlenmiştir. Bunu sırasıyla SL AuNP (12.49 mg GALAE/g), SA AuNP (12.46 mg GALAE/g) ve SB AuNP (11.66 mg GALAE/g) izlemiştir (Tablo 4.3). Bu sonuçlara göre de sentezlenen AuNP'ler hiç inhibisyon göstermeyen ekstrelere göre oldukça yüksek inhibisyon potansiyeli göstermişlerdir. AuNP'ler de yeni kolinesteraz ihibitörleri adayı olarak düşünülebilmektedir. *Terminalia arjuna* bitkisi kullanılarak sentezlenen AuNP'lerin güçlü AChE ve BChE inhibisyonu gösterdikleri rapor edilmiştir (Suganthy ve ark., 2018).

AgNP'lerin ve AuNP'lerin AChE ve BChE'yi inhibe ettiği kesin mekanizma bilinmemektedir. NP'lerin ChE'lere bağlanma afinitesi, NP'lerin lipofilikliğine ve ChE moleküllerindeki enzim ortamının hidrofobikliğine bağlı olabilir. ChE inhibisyonunun bir başka olası mekanizması, ChE'nin NP yüzeyine adsorpsiyonundan kaynaklanan, yapısal değişikliklere, enzimin inaktivasyonuna yol açan yüzey kapsamına bağlı olabilir (Vertegel ve ark., 2004). Enzimin farklı nanopartiküller tarafından inhibisyonu, şekil, boyut, eğrilik ve yüzey fonksiyonel grupları gibi fizikokimyasal özelliklere bağlıdır (Wang ve ark., 2008; Wang ve ark., 2009b).

Tablo 4.2. 3 *Sideritis* türünün ve klorojenik asidin enzim inhibisyon sonuçları

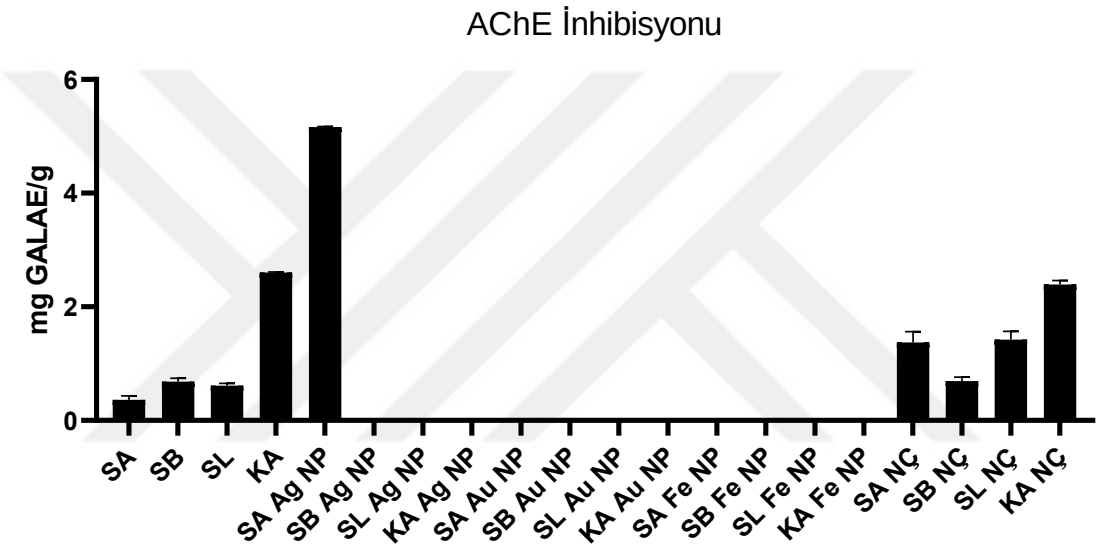
	Kolinesteraz İnhibisyonu (mg GALAE/g)		**Amilaz İnhibisyou (mg AKAE/g)**	**Glukozidaz İnhibisyonu (mg AKAE/g)**	**Tirozinaz İnhibisyonu (mmol KAE/g)**
	AChE	**BChE**			
SA	0.36±0.07*	-	17.76±2.41	107.69±6.69	33.61±0.28
SB	0.68±0.06	-	44.25±1.57	176.86±2.64	36.34±1.58
SL	0.61±0.04	-	40.15±0.34	167.80±2.79	36.10±0.86
KA	2.60±0.01	-	76.40±19.00	566.58±3.29	35.55±0.98

*Ortalama±Standart Sapma (n=3). GALAE: Galatamin eşdeğeri AKAE: Akarboz eşdeğeri KAE: Kojik asit eşdeğeri. - inhibisyon yok

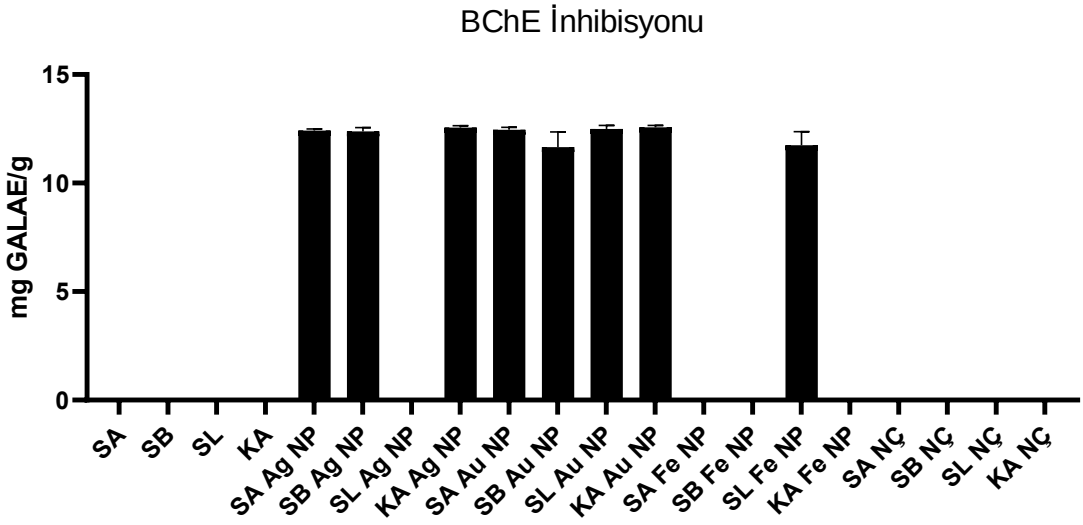
Tablo 4.3. 3 *Sideritis* türünün ve klorojenik asit aracılığı yeşil sentezlenmiş AgNP'lerin enzim inhibisyon sonuçları

	Kolinesteraz İnhibisyonu (mg GALAE/g)		Amilaz İnhibisyonu (mg AKAE/g)	Glukozidaz İnhibisyonu (mg AKAE/g)	Tirozinaz İnhibisyonu (mmol KAE/g)
	AChE	BChE			
SA AgNP	5.16±0.01	12.42±0.07	-	-	33.02±3.39
SB AgNP	-	12.38±0.17	-	-	5.46±0.63
SL AgNP	-	-	-	-	-
KA AgNP	-	12.55±0.09	-	-	18.31±0.08

*Ortalama±Standart Sapma (n=3). GALAE: Galatamine eşdeğeri AKAE: Akarboz eşdeğeri KAE: Kojik asit eşdeğeri. - inhibisyon yok



Şekil 4.61. AChE enzim inhibisyon grafiği



Şekil 4.62. BChE enzim inhibisyon grafiği

4.6.2. Amilaz ve Glukozidaz İnhibisyonu

Diabet hastalığını yönetilmesinde anahtar rol oynayan enzimler olan amilaz ve glukuzidaz enzimelerinin inhibisyon sonuçlar Tablo 4.2, 4.3, 4.4, 4.5'de ve Şekil 4.63, 4.64'de gösterilmiştir. Standart madde olarak akarboz çalışılmış ve tüm sonuçlar akarboza eşdeğer mg AKAE/g şeklinde verilmiştir. Ag ve Au NP'ler hariç çalışılan tüm örnekler amilaz ve gukozidaz inhibisyonu göstermiştir.

Bitki ekstreleri ve klorojenik asit kendi arasında değerlendirildiğinde amilaz inhibisyonu için klorojenik asit bitki ekstrelerine göre güçlü bir inhibisyon göstermiştir (Tablo 4.1). Klorojenik asit ve ekstreler için amilaz inhibisyonu şöyle sıralanabilir: KA (76.40 mgAKA/g>SB (44.25 mgAKA/g)>SL (40.15 mgAKA/g)>SA (17.76 mgAKA/g). Benzer şekilde, glukozidaz enzim inhibisyon sonuçlarında ise klorojenik asidin bitkilere göre güçlü bir inhibisyon sergilemiştir. Klorojenik asit ve ekstreler için glukozidaz inhibisyonu şöyle sıralanabilir: KA (556.58 mgAKA/g)> SB (176.86 mgAKA/g)>SL (167.80 mgAKA/g)>SA (107.69 mgAKA/g). Sonuçlardan da görüleceği üzere 3 *Sidertis* türü için majör ortak fenolik bileşik olan klorojenik asit hem amilaz için hem de glukozidaz için güçlü bir inhibisyon sergilemiştir. Daha önce yayınlanmış pek çok çalışma da klorojenik asidin bu enzimler için ihbisyon gösterdiği tespit edilmiştir (Kalita ve ark., 2018; Kaeswurm ve ark., 2019; Santos ve ark., 2020; Zheng ve ark., 2020). Bununla birlikte bitkilerdeki inhibisyon klorojenik asitten kaynaklandığı düşünülmektedir.

FeNP'lerin alfa amilaz ve alfa glukozidaz enzim inhibisyon sonuçları Tablo 4.5 'de verilmiştir. FeNP'ler oldukça güçlü alfa amilaz ve alfa glukozidaz enzim inhibisyou göstermiştir. Alfa amilaz enzim inhibisyon sonuçları FeNP'ler için şöyle sıralanabilir: KA FeNP (178.00 mg AKA/g>SL FeNP (126.37 mg AKA/g)>SB FeNP (103.99 mgAKA/g)>SA FeNP (75.22 mg AKA/g). Alfa glukozidaz enzim sonuçları ise şöyle sıralanabilir: KA FeNP (866.38 mg AKA/g>SB FeNP (149.18 mg AKA/g)>SL FeNP (141.05 mgAKA/g)>SA FeNP (128.87 mg AKA/g). Bu sonuçlara göre FeNP'ler ekstrelere göre 2-4 kat daha güçlü alfa amilaz inhibisyonu sergilemişlerdir. Yine benzer şekilde glukozidaz inhibisyonunda da FeNP'ler ekstrelere göre daha fazla inhibisyon göstermiştir. Sonuçlardan anlaşılacağı üzere yeşil sentez ile sentezlenen FeNP'ler etkili alfa amilaz ve alfa glukozidaz inhibsyonu göstermişlerdir. *Rhamnus virgata* bitkisinden sentezlenen FeNP'lerin güçlü alfa amilaz inhibisyonu gösterdiği rapor edilmiştir (Abbasi ve ark., 2019).

CuhNÇ'lerin alfa amilaz ve alfa glukozidaz enzim inhibisyon sonuçları Tablo 4.6 'da verilmiştir. Alfa amilaz enzim inhbisyon değerleri CuhNÇ'ler için şöyle sıralanabilir: KA CuhNÇ (92.04 mg AKA/g) > SL CuhNÇ (21.35 mg AKA/g) > SB CuhNÇ (2.93 mg AKA/g). SA CuhNÇ'de alfa amilaz inhibisyonu gözlemlenmemiştir. CuhNÇ'ler için alfa glukozidaz sonuçları ise şu sırasyla verilebilir: KA CuhNÇ (553.39 mg AKA/g) > SL CuhNÇ (481.77 mg AKA/g) > SA CuhNÇ (464.47 mg AKA/g) > SB CuhNÇ (367.21 mg AKA/g).

Tablo 4.4. 3 *Sideritis* türünün ve klorojenik asit aracılığı yeşil sentezlenmiş AuNP'lerin enzim inhibisyon sonuçları

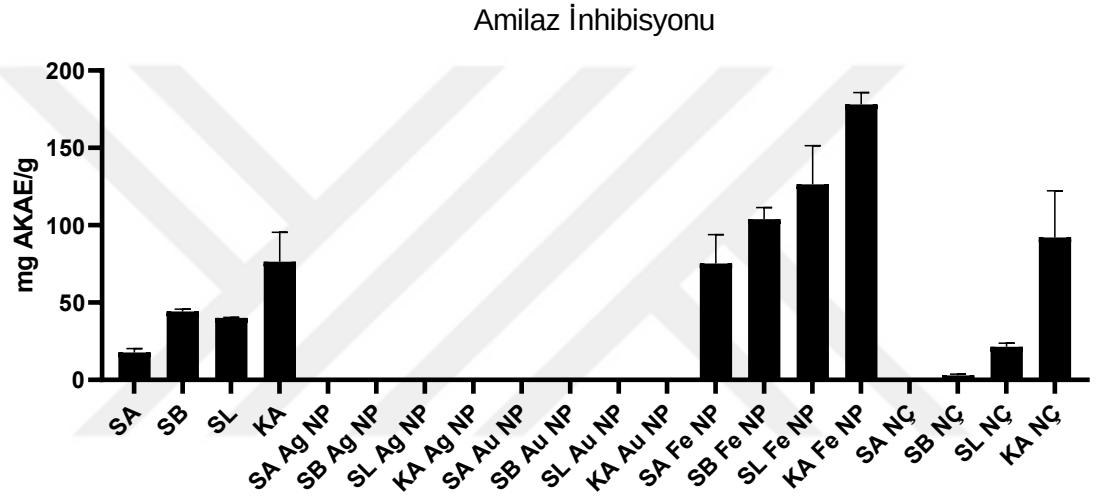
	Kolinesteraz İnhibisyonu (mg GALAE/g)		**Amilaz İnhibisyou (mg AKAE/g)**	**Glukozidaz İnhibisyonu (mg AKAE/g)**	**Tirozinaz İnhibisyonu (mmol KAE/g)**
	AChE	**BChE**			
SA AuNP	-	12.46±0.11	-	-	-
SA AuNP	-	11.66±0.70	-	-	-
SL AuNP	-	12.49±0.16	-	-	-
KA AuNP	-	12.57±0.09	-	-	-

*Ortalama±Standart Sapma (n=3). GALAE: Galatamine eşdeğeri AKAE: Akarboz eşdeğeri KAE: Kojik asit eşdeğeri. - inhibisyon yok

Tablo 4.5. 3 *Sideritis* türünün ve klorojenik asit aracılığı yeşil sentezlenmiş FeNP'lerin enzim inhibisyon sonuçları

	Kolinesteraz İnhibisyonu (mg GALAE/g)		**Amilaz İnhibisyou (mg AKAE/g)**	**Glukozidaz İnhibisyonu (mg AKAE/g)**	**Tirozinaz İnhibisyonu (mmol KAE/g)**
	AChE	**BChE**			
SA FeNP	-	-	75.22±18.75	128.87±2.39	29.77±2.46
SB FeNP	-	-	103.99±7.48	149.18±8.97	27.01±3.01
SL FeNP	-	11.74±0.63	126.37±25.00	141.05±5.37	30.45±3.38
KA FeNP	-	-	178.00±7.80	866.38±18.37	53.56±3.68

*Ortalama±Standart Sapma (n=3). GALAE: Galatamine eşdeğeri AKAE: Akarboz eşdeğeri KAE: Kojik asit eşdeğeri. - inhibisyon yok



Şekil 4.63. Alfa amilaz enzim inhibisyon grafiği



Şekil 4.64. Alfa glukozidaz enzim inhibisyon grafiği

4.6.3. Tirozinaz İnhibisyonu

Melanin pigmentinin sentezlenmesinin sınırlayıcı basamağındaki enzim olan tirozinaz enziminin inhibisyon sonuçları Tablo 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5.'de verilmiştir. Sonuçlar, kojik asit eşdeğer (mmol KAE/g) olarak hesaplanmıştır. Altın NP'ler hariç tüm örnek grupları tirozinaz inhibisyonu sergilemiştir.

Bitki ekstreleri ve klorojenik asit tirozinaz inhibisyonu açısından değerlendirildiğinde benzer inhibisyon yeteneklerine sahip oldukları görülmektedir (Tablo 4.1). Sonuçlar 36.34 mmol KA/g ile 33.61 mmol KA/g arasında değişmektedir. Tirosinaz inhibisyonu, tirozinaz enzimindeki bakır iyonlarının, ekstraktta bulunan fenolik bileşiklerin veya flavonoidlerin hidroksil grupları şelasyonundan kaynaklanmıştır (Battaini ve ark., 2000).

AgNP tirozinaz inhibisyon sonuçları ise; SL AgNP hariç diğer 3 NP'de inhibisyon gözlemlenmiştir. Tablo 4.3 ve Şekil 4.65'den anlaşılacağı üzere en yüksek inhibisyon SA AgNP (33.02 mmol KA/g)'de görülürken en düşük inhibisyon ise SB AgNP (5.46 mmol KA AgNP)'de görülmüştür. Saf ekstreler ile karşılaştırıldığında AgNP'lerin benzer ya da daha düşük inhibisyon gösterdiği anlaşılmaktadır. Bulgularımızla uyumlu bir çalışmada, *Centaurea pumilio* ekstresi ve bundan sentezlenen AgNP tirozinaz inhibisyonu karşılaştırlımasında AgNP'nin ekstreye göre daha düşük inhibisyon gösterdiği rapor edilmiştir (Mostafa ve ark., 2019). *Hovenia dulcis* bitkisinden elde edilen AgNP ile bitkinin eksresi ile tirozinaz inhibisyonunun

karşılaştırıldığı çalışmada AgNP'ün bitki ekstresine göre daha fazla inhibisyon göstermiştir (Basavegowda ve ark., 2014). Aynı şekilde *Eucalyptus camaldulensis* ile yapılan başka bir çalışma da ise AgNP'leri ekstreye göre daha yüksek tirozinaz inhibisyonu sergilemiştir (Radwan ve ark., 2020).

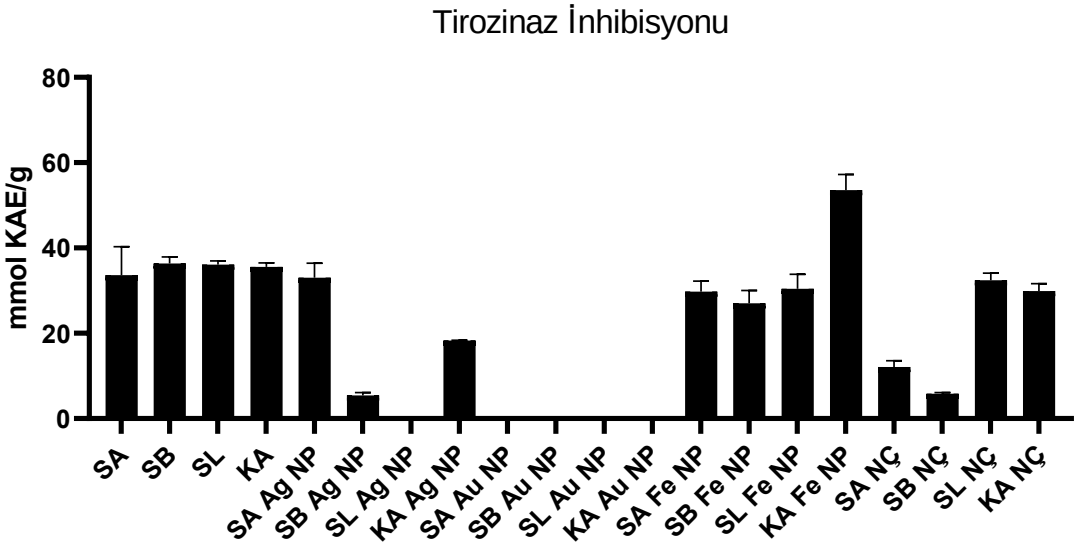
FeNP'lerin sonuçları ise güçlü bir tirozinaz inhibisyonu göstermiştir (Tablo 4.4 ve Şekil 4.62). FeNP inhibisyon sonuçları şu şekilde sırlanabilir: KAFeNP (53.56 mmol KA/g)>SL FeNP (30.45 mmol KA/g) >SA FeNP (29.77 mmol KA/g) >SB FeNP (27.01 mmol KA/g).

CuhNÇ'ler ise ılımlı tirozinaz inhibisyonu sergilemişlerdir (Tablo 4.5 ve Şekil 4.65). CuhNÇ'lerin tirozinaz inhibisyon sonuçları da şu şekilde sıralanmıştır: SL CuhNÇ (32.44 mmol KA/g)> KA CuhNÇ (29.87 mmol KA/g)> SA CuhNÇ (12.09 mmol KA/g)> SB CuhNÇ (5.84 mmol KA/g).

Tablo 4.6. 3 *Sideritis* türünün ve klorojenik asit aracılığı sentezlenmiş CuhNÇ enzim inhibisyon sonuçları

	Kolinesteraz İnhibisyonu (mg GALAE/g)		**Amilaz İnhibisyou (mg AKAE/g)**	**Glukozidaz İnhibisyonu (mg AKAE/g)**	**Tirozinaz İnhibisyonu (mmol KAE/g)**
	AChE	**BChE**			
SA CuhNÇ	1.37±0.19	-	-	464.47±16.75	12.09±1.50
SB CuhNÇ	0.69±0.07	-	2.93±0.87	367.21±16.28	5.84±0.25
SL CuhNÇ	1.42±0.15	-	21.35±2.35	481.77±22.45	32.44±1.66
KA CuhNÇ	2.39±0.07	-	92.04±30.17	553.39±7.67	29.87±1.75

*Ortalama±Standart Sapma (n=3). GALAE: Galatamine eşdeğeri AKAE: Akarboz eşdeğeri KAE: Kojik asit eşdeğeri. - inhibisyon yok



Şekil 4.65. Tirozinaz enzim inhibisyonu grafiği

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Yeşil sentez yöntemi ile *Sideritis* ekstreleri kullaılarak Ag NP, Au NP, Fe NP ve Cu^{2+} hibrid nanoyapıların sentezlenmesi ve sentezlenen bu yapıların küresel çapta tüm Dünayayı etkileyen majör hastalıklar olan Alzheimer, diabet ve deri hastalıkları ile ilişkili enzimlerin inhibisyon sonuçlarını içeren tez bir kaç bölümden oluşmaktadır. İlk olarak yeşil sentez için seçilen 3 *Sideritis* (*S. argyrea, S. brevidens* ve *S. lycia*) türünün su ekstrelerini elde etmek ve bu esktrelerde ki majör fenolik bileşeni bulmaktır. Fenolik içeriği belirlemek için gerçekleştirilen HPLC sonuçlarında her 3 bitki için de majör bileşenin klorojenik asit olduğu tespit edilmiştir. Yeşil sentezde; bitkilerin ihtiva ettikleri fenol bileşikler, NP'lerin ya da hibrid nanoyapıların sentezi için indirgeyici/kaplayıcı ajan olarak oldukça önemlidir. Bu bağlamda, *Sideritis* türleri ve klorojenik asit aracılığı ile sentezlenen NP'ler ve hibrid nanoyapılar ikinci bölümü oluşturmaktadır. Bitkilerin, klorojenik asidin ve metal tuzlarının farklı konsantrasyonları denenerek Au ve Ag NP'ler için öncelikli Uv-Vis sonuçları Ag NP'ler ve Fe NP için magnetit özellik göstermesi başarılı bir şekilde sentezlenen NP'lerin ilk adımı olmuştur. Daha sonra NP'lerin boyutları, şekilleri, kristal yapıları, zeta poatansiyelleri ve NP'lerin indigeyici, kaplayıcı stabilize edici biyomolekülleri SEM, TEM, FTIR, XRD, DLS yöntemleriyle karakterize edilmiştir. Sonuçlar göstermiştir ki elde edilen NP'ler 3 bitki türünde ve klorojenik asit te boyut, şekil, kristal yapılar bakımından birbirlerine benzerdir. Üçüncü bölümde ise *Sideritis* türlerinden ve klorojenik asitten elde edilen ve karekterizasyonu yapılan NP'ler ve hibrid nanoyapıların; global hastalıkların tedavisinde kilit rol oynayan kolinesterazlar (AChE, BChE), alfa-amilaz, alfa-glukozidaz ve tirozinaz enzimlerinin inhibisyon yetenekleri bakımından değerlendirilmiştir. Tüm altın NP'leri güçlü BChE aktivitesi sergilemiştir. Cu hibrid nanoyapılar tüm testlerde neredeyse inhibisyon sonucu göstermiştir. Bununla birlikte tüm Fe NP'ler glukozidaz inhibisyonu göstermiş olup tüm NP'ler için de KA FeNP (866.38 mgAKA/g) oldukça güçlü inhibisyon sergilemiştir.

5.2 Öneriler

Bitki ekstreleri kullanılarak metal nanopartiküllerin biyosentezi ile ilgili çalışmalar son 20 yılda oldukça artış göstermiştir. Bitki metabolitleri çevre dostu bir şekilde metalik nanopartiküllerin üretimini uyarır. Bitki kaynaklı nanopartiküllerin farmasötikler, terapötikler, sürdürülebilir ve yenilenebilir enerjiler gibi çeşitli alanlarda kullanılabilme potansiyeli oldukça yüksektir. Metalik nanopartiküllerden elde edilen bitki, kontrol edilebilen yan etkileri olan hastalıkların tedavisinde ve teşhislerinde önemli etkiler yaratmıştır. Gelecekte bitkiler, sağlık ve ticari ürünlerde metalik nanopartiküllerin sentezi için oldukça geniş bir perspektife sahiptir.

Sideritis türlerinden sentezlenen NP'ler ve hibrid nanoyapılar oldukça çevre dostudur ve toksik olmayan maddelerle sentezlenmiştir. Çevre dostu olarak sentezlenen bu yapılar küresel sağlık problemlerine ilişkin hastalıklara karşı *in vitro* olarak umut vaad eden sonuçlar göstermştir. Ag, Au ve Fe NP'leri ve CuhNç'leri göstermiş oldukları enzim inhibisyon potansiyelleri ile farmasötik alanlarda yeni birer inhibitör ajanları olarak uygulanabilirler. Ayrıca NP'ler hNÇ'ler boyutlarından ötürü özellikle Kan Beyin Bariyerini (KBB) aşmada zorlanan Alzheimer ilaçları gibi ajanların yerine alternatif olacağı öngörülmektedir. Bu öncül sonuçlar, ileri de yapılacak olan daha kapsamlı çalışmalar için de ön ayak olacaktır.

KAYNAKLAR

Abbasi, B. A., Iqbal, J., Mahmood, T., Qyyum, A. ve Kanwal, S., 2019, Biofabrication of iron oxide nanoparticles by leaf extract of Rhamnus virgata: characterization and evaluation of cytotoxic, antimicrobial and antioxidant potentials, *Applied Organometallic Chemistry*, 33 (7), e4947.

Abdelrasoul, G. N., Farkas, B., Romano, I., Diaspro, A. ve Beke, S., 2015, Nanocomposite scaffold fabrication by incorporating gold nanoparticles into biodegradable polymer matrix: Synthesis, characterization, and photothermal effect, *Materials Science and Engineering: C*, 56, 305-310.

Abe, S., Maity, B. ve Ueno, T., 2018, Functionalization of protein crystals with metal ions, complexes and nanoparticles, *Current opinion in chemical biology*, 43, 68-76.

Acharya, P., Jayaprakasha, G., Crosby, K. M., Jifon, J. L. ve Patil, B. S., 2019, Green-synthesized nanoparticles enhanced seedling growth, yield, and quality of onion (Allium cepa L.), *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7 (17), 14580-14590.

Ahamed, M., AlSalhi, M. S. ve Siddiqui, M., 2010, Silver nanoparticle applications and human health, *Clinica chimica acta*, 411 (23-24), 1841-1848.

Ahmad, M. A., Salmiati, S., Marpongahtun, M., Salim, M. R., Lolo, J. A. ve Syafiuddin, A., Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Muntingia calabura Leaf Extract and Evaluation of Antibacterial Activities.

Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, B. L. ve Ikram, S., 2016, A review on plants extract mediated synthesis of silver nanoparticles for antimicrobial applications: a green expertise, *Journal of advanced research*, 7 (1), 17-28.

Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S. W., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., Samiei, M., Kouhi, M. ve Nejati-Koshki, K., 2013, Liposome: classification, preparation, and applications, *Nanoscale research letters*, 8 (1), 102.

Alagesan, K., Raghupathi, P. K. ve Sankarnarayanan, S., 2012, Amylase inhibitors: potential source of anti-diabetic drug discovery from medicinal plants, *Int j pharm life sci*, 3 (2), 1407-1412.

Alaqad, K. ve Saleh, T., 2016, Gold and silver nanoparticles: synthesis methods, characterization routes and applications towards drugs, *J. Environ. Anal. Toxicol*, 6 (4), 525-2161.

Albright, L., 2008, Albright's chemical engineering handbook, CRC Press, p.

Ali, A., Hira Zafar, M. Z., ul Haq, I., Phull, A. R., Ali, J. S. ve Hussain, A., 2016, Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles, *Nanotechnology, science and applications*, 9, 49.

Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Chinou, I., Mitakou, S., Gikas, E. ve Tsarbopoulos, A., 2001, Composition and antimicrobial activity of the essential oils of five taxa of Sideritis from Greece, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (2), 811-815.

Alon, N., Miroshnikov, Y., Perkas, N., Nissan, I., Gedanken, A. ve Shefi, O., 2014, Substrates coated with silver nanoparticles as a neuronal regenerative material, *International journal of nanomedicine*, 9 (Suppl 1), 23.

Amjadi, M. ve Farzampour, L., 2014, Fluorescence quenching of fluoroquinolones by gold nanoparticles with different sizes and its analytical application, *Journal of luminescence*, 145, 263-268.

Anandhakumar, S., Nagaraja, V. ve Raichur, A. M., 2010, Reversible polyelectrolyte capsules as carriers for protein delivery, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 78 (2), 266-274.

Anandhakumar, S., Debapriya, M., Nagaraja, V. ve Raichur, A. M., 2011, Polyelectrolyte microcapsules for sustained delivery of water-soluble drugs, *Materials Science and Engineering: C*, 31 (2), 342-349.

Anandhakumar, S., Sasidharan, M., Tsao, C.-W. ve Raichur, A. M., 2014, Tailor-made hollow silver nanoparticle cages assembled with silver nanoparticles: An efficient catalyst for epoxidation, *ACS applied materials & interfaces*, 6 (5), 3275-3281.

Aneva, I., Zhelev, P., Kozuharova, E., Danova, K., Nabavi, S. F. ve Behzad, S., 2019, Genus Sideritis, section Empedoclia in southeastern Europe and Turkey–studies in ethnopharmacology and recent progress of biological activities, *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1-15.

Arvizo, R. R., Bhattacharyya, S., Kudgus, R. A., Giri, K., Bhattacharya, R. ve Mukherjee, P., 2012, Intrinsic therapeutic applications of noble metal nanoparticles: past, present and future, *Chemical Society Reviews*, 41 (7), 2943-2970.

Ashraf, G. M. ve Alexiou, A., 2019, Biological, Diagnostic and Therapeutic Advances in Alzheimer's Disease, Springer, p.

Ata, A., Naz, S. ve Elias, E. M., 2011, Naturally occurring enzyme inhibitors and their pharmaceutical applications, *Pure and Applied Chemistry*, 83 (9), 1741-1749.

Ayachi, A. A., Mechakra, H., Silvan, M. M., Boudjaadar, S. ve Achour, S., 2015, Monodisperse α-Fe2O3 nanoplatelets: Synthesis and characterization, *Ceramics International*, 41 (2), 2228-2233.

Baldemir, A., Köse, N. B., Ildız, N., İlgün, S., Yusufbeyoğlu, S., Yilmaz, V. ve Ocsoy, I., 2017, Synthesis and characterization of green tea (Camellia sinensis (L.) Kuntze) extract and its major components-based nanoflowers: a new strategy to enhance antimicrobial activity, *RSC advances*, 7 (70), 44303-44308.

Bandyopadhyay, S., McDonagh, B. H., Singh, G., Raghunathan, K., Sandvig, A., Sandvig, I., Andreassen, J.-P. ve Glomm, W. R., 2018, Growing gold nanostructures for shape-selective cellular uptake, *Nanoscale research letters*, 13 (1), 254.

Bansal, P., Duhan, J. S. ve Gahlawat, S. K., 2014, Biogenesis of nanoparticles: A review, *African Journal of biotechnology*, 13 (28), 2778-2785.

Bansal, V., Rautaray, D., Ahmad, A. ve Sastry, M., 2004, Biosynthesis of zirconia nanoparticles using the fungus Fusarium oxysporum, *Journal of Materials Chemistry*, 14 (22), 3303-3305.

Bansal, V., Rautaray, D., Bharde, A., Ahire, K., Sanyal, A., Ahmad, A. ve Sastry, M., 2005, Fungus-mediated biosynthesis of silica and titania particles, *Journal of Materials Chemistry*, 15 (26), 2583-2589.

Bansal, V., Poddar, P., Ahmad, A. ve Sastry, M., 2006, Room-temperature biosynthesis of ferroelectric barium titanate nanoparticles, *Journal of the American Chemical Society*, 128 (36), 11958-11963.

Bartus, R. T., Dean, R. r., Beer, B. ve Lippa, A. S., 1982, The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction, *Science*, 217 (4558), 408-414.

Bartus, R. T., 2000, On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis, *Experimental neurology*, 163 (2), 495-529.

Basavegowda, N., Idhayadhulla, A. ve Lee, Y. R., 2014, Tyrosinase inhibitory activity of silver nanoparticles treated with Hovenia dulcis fruit extract: an in vitro study, *Materials Letters*, 129, 28-30.

Bashir, S. ve Liu, J., 2015, Nanomaterials and their application, *Advanced Nanomaterials and Their Applications in Renewable Energy; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands*, 1-50.

Battaini, G., Monzani, E., Casella, L., Santagostini, L. ve Pagliarin, R., 2000, Inhibition of the catecholase activity of biomimetic dinuclear copper complexes by kojic acid, *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 5 (2), 262-268.

Baumgart, M., Snyder, H. M., Carrillo, M. C., Fazio, S., Kim, H. ve Johns, H., 2015, Summary of the evidence on modifiable risk factors for cognitive decline and dementia: a population-based perspective, *Alzheimer's & Dementia*, 11 (6), 718-726.

Baytop, T., 1999, Therapy with medicinal plants in Turkey (past and present)(p. 193), *Istanbul: Nobel Tip Publications*.

Begum, N. A., Mondal, S., Basu, S., Laskar, R. A. ve Mandal, D., 2009, Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of Black Tea leaf extracts, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 71 (1), 113-118.

Behnam, M. A., Emami, F., Sobhani, Z., Koohi-Hosseinabadi, O., Dehghanian, A. R., Zebarjad, S. M., Moghim, M. H. ve Oryan, A., 2018, Novel combination of silver nanoparticles and carbon nanotubes for plasmonic photo thermal therapy in melanoma cancer model, *Advanced pharmaceutical bulletin*, 8 (1), 49.

Benelmekki, M., 2015, An introduction to nanoparticles and nanotechnology, In: Designing Hybrid Nanoparticles, Eds: Morgan & Claypool Publishers, p.

Bensebaa, F., 2013, Nanoparticle fundamentals, In: Interface Science and Technology, Eds: Elsevier, p. 1-84.

Bharde, A., Rautaray, D., Bansal, V., Ahmad, A., Sarkar, I., Yusuf, S. M., Sanyal, M. ve Sastry, M., 2006, Extracellular biosynthesis of magnetite using fungi, *Small*, 2 (1), 135-141.

Bhatia, A., Shard, P., Chopra, D. ve Mishra, T., 2011, Chitosan nanoparticles as carrier of immunorestoratory plant extract: synthesis, characterization and immunorestoratory efficacy, *International journal of drug delivery*, 3 (2), 381.

Bhattacharya, R. ve Mukherjee, P., 2008, Biological properties of "naked" metal nanoparticles, *Advanced drug delivery reviews*, 60 (11), 1289-1306.

Bibi, I., Kamal, S., Ahmed, A., Iqbal, M., Nouren, S., Jilani, K., Nazar, N., Amir, M., Abbas, A. ve Ata, S., 2017, Nickel nanoparticle synthesis using Camellia Sinensis as reducing and capping agent: Growth mechanism and photo-catalytic activity evaluation, *International journal of biological macromolecules*, 103, 783-790.

Borovaya, M., Burlaka, O., Yemets, A. ve Blume, Y. B., 2015, Biosynthesis of quantum dots and their potential applications in biology and biomedicine, In: Nanoplasmonics, Nano-Optics, Nanocomposites, and Surface Studies, Eds: Springer, p. 339-362.

Bosetti, M., Massè, A., Tobin, E. ve Cannas, M., 2002, Silver coated materials for external fixation devices: in vitro biocompatibility and genotoxicity, *Biomaterials*, 23 (3), 887-892.

Brenner, M. ve Hearing, V. J., 2008, The protective role of melanin against UV damage in human skin, *Photochemistry and photobiology*, 84 (3), 539-549.

Browne, M., 1990, 2 Researchers Spell'IBM,'Atom by Atom, *New York Times*, 5.

Brus, L. E., 1984, Electron–electron and electron-hole interactions in small semiconductor crystallites: The size dependence of the lowest excited electronic state, *The Journal of chemical physics*, 80 (9), 4403-4409.

Bu, Y. ve Lee, S., 2012, Influence of dopamine concentration and surface coverage of Au shell on the optical properties of Au, Ag, and AgcoreAushell nanoparticles, *ACS applied materials & interfaces*, 4 (8), 3923-3931.

Campos, E. A., Pinto, D. V. B. S., Oliveira, J. I. S. d., Mattos, E. d. C. ve Dutra, R. d. C. L., 2015, Synthesis, characterization and applications of iron oxide nanoparticles-A short review, *Journal of Aerospace Technology and Management*, 7 (3), 267-276.

Carlton, C. ve Ferreira, P. J., 2012, In situ TEM nanoindentation of nanoparticles, *Micron*, 43 (11), 1134-1139.

Carvalho, M., Henriques, F., Ferreira, L., Godinho, M. ve Cruz, M., 2013, Iron oxide nanoparticles: the influence of synthesis method and size on composition and magnetic properties, *Journal of Solid State Chemistry*, 201, 144-152.

Castro, L., Blázquez, M. L., Muñoz, J. A., González, F. ve Ballester, A., 2013, Biological synthesis of metallic nanoparticles using algae, *IET nanobiotechnology*, 7 (3), 109-116.

Castro, L., Blázquez, M. L., González, F. G. ve Ballester, A., 2014, Mechanism and applications of metal nanoparticles prepared by bio-mediated process, *Reviews in Advanced Sciences and Engineering*, 3 (3), 199-216.

Ceriello, A., Hanefeld, M., Leiter, L., Monnier, L., Moses, A., Owens, D., Tajima, N. ve Tuomilehto, J., 2004, Postprandial glucose regulation and diabetic complications, *Archives of internal medicine*, 164 (19), 2090-2095.

Chang, K., 2005, Tiny is Beautiful, Translating "Nano" into Practical, *The New York Times*, 22.

Chang, T.-S., 2009, An updated review of tyrosinase inhibitors, *International journal of molecular sciences*, 10 (6), 2440-2475.

Charami, M. T., Lazari, D., Karioti, A., Skaltsa, H., Hadjipavlou-Litina, D. ve Souleles, C., 2008, Antioxidant and antiinflammatory activities of Sideritis perfoliata subsp. perfoliata (Lamiaceae), *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 22 (4), 450-454.

Chekli, L., Bayatsarmadi, B., Sekine, R., Sarkar, B., Shen, A. M., Scheckel, K., Skinner, W., Naidu, R., Shon, H. ve Lombi, E., 2016, Analytical characterisation of nanoscale zero-valent iron: A methodological review, *Analytica chimica acta*, 903, 13-35.

Chen, S.-F. ve Zhang, H., 2012, Aggregation kinetics of nanosilver in different water conditions, *Advances in natural sciences: nanoscience and nanotechnology*, 3 (3), 035006.

Chen, X. ve Wen, J., 2012, In situ wet-cell TEM observation of gold nanoparticle motion in an aqueous solution, *Nanoscale research letters*, 7 (1), 598.

Clogston, J. D. ve Patri, A. K., 2011, Zeta potential measurement, In: Characterization of nanoparticles intended for drug delivery, Eds: Springer, p. 63-70.

Cole, S. L. ve Vassar, R., 2007, The Alzheimer's disease β-secretase enzyme, BACE1, *Molecular neurodegeneration*, 2 (1), 1-25.

Copeland, R. A., 2013, Evaluation of enzyme inhibitors in drug discovery: a guide for medicinal chemists and pharmacologists, John Wiley & Sons, p.

Cui, J. ve Jia, S., 2017, Organic–inorganic hybrid nanoflowers: A novel host platform for immobilizing biomolecules, *Coordination Chemistry Reviews*, 352, 249-263.

Culver, J. N., Brown, A. D., Zang, F., Gnerlich, M., Gerasopoulos, K. ve Ghodssi, R., 2015, Plant virus directed fabrication of nanoscale materials and devices, *Virology*, 479, 200-212.

D'Acunto, M., 2018, Detection of intracellular gold nanoparticles: An overview, *Materials*, 11 (6), 882.

Dameron, C., Reese, R., Mehra, R., Kortan, A., Carroll, P., Steigerwald, M., Brus, L. ve Winge, D., 1989, Biosynthesis of cadmium sulphide quantum semiconductor crystallites, *nature*, 338 (6216), 596-597.

Dang, T. M. D., Le, T. T. T., Fribourg-Blanc, E. ve Dang, M. C., 2012, Influence of surfactant on the preparation of silver nanoparticles by polyol method, *Advances in natural sciences: nanoscience and nanotechnology*, 3 (3), 035004.

Dangi, S., Gupta, A., Gupta, D. K., Singh, S. ve Parajuli, N., 2020, Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous root extract of Berberis asiatica and evaluation of their antibacterial activity, *Chemical Data Collections*, 100411.

Das, R. K., Pachapur, V. L., Lonappan, L., Naghdi, M., Pulicharla, R., Maiti, S., Cledon, M., Dalila, L. M. A., Sarma, S. J. ve Brar, S. K., 2017, Biological synthesis of metallic nanoparticles: plants, animals and microbial aspects, *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 2 (1), 18.

Datta, S., Christena, L. R. ve Rajaram, Y. R. S., 2013, Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials, *3 Biotech*, 3 (1), 1-9.

Davies, P. ve Maloney, A., 1976, Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease, *The Lancet*, 308 (8000), 1403.

Deepthi, B., Sowjanya, K., Lidiya, B., Bhargavi, R. ve Babu, P., 2017, A modern review of diabetes mellitus: an annihilatory metabolic disorder, *J In Silico In Vitro Pharmacol*, 3 (1), 1-14.

Demirbas, A., Welt, B. A. ve Ocsoy, I., 2016, Biosynthesis of red cabbage extract directed Ag NPs and their effect on the loss of antioxidant activity, *Materials Letters*, 179, 20-23.

Demirbas, A., Büyükbezirci, K., Celik, C., Kislakci, E., Karaagac, Z., Gokturk, E., Kati, A., Cimen, B., Yilmaz, V. ve Ocsoy, I., 2019, Synthesis of Long-Term Stable Gold Nanoparticles Benefiting from Red Raspberry (Rubus idaeus), Strawberry (Fragaria ananassa), and Blackberry (Rubus fruticosus) Extracts–Gold Ion Complexation and Investigation of Reaction Conditions, *ACS omega*, 4 (20), 18637-18644.

Deplanche, K., Caldelari, I., Mikheenko, I. P., Sargent, F. ve Macaskie, L. E., 2010, Involvement of hydrogenases in the formation of highly catalytic Pd (0) nanoparticles by bioreduction of Pd (II) using Escherichia coli mutant strains, *Microbiology*, 156 (9), 2630-2640.

Dhar, S., Daniel, W. L., Giljohann, D. A., Mirkin, C. A. ve Lippard, S. J., 2009, Polyvalent oligonucleotide gold nanoparticle conjugates as delivery vehicles for platinum (IV) warheads, *Journal of the American Chemical Society*, 131 (41), 14652-14653.

Domènech, B., Bastos-Arrieta, J., Alonso, A., Macanás, J., Muñoz, M. ve Muraviev, D. N., 2012, Bifunctional polymer-metal nanocomposite ion exchange materials, *Ion exchange technologies*, 35-72.

Drexler, K., 1990, Engines of destruction, in engines of creation: The Coming Era of Nanotechnology. 1986, *Anchor Books: New York, NY. Elimelech, M., and CR O'Melia, Effect of particle size on collision efficiency in the deposition of brownian particles with electrostatic energy barriers. Langmuir*, 6, 1153-1163.

Erci, F., Cakir-Koc, R. ve Isildak, I., 2018, Green synthesis of silver nanoparticles using Thymbra spicata L. var. spicata (zahter) aqueous leaf extract and evaluation of their morphology-dependent antibacterial and cytotoxic activity, *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46 (sup1), 150-158.

Erdogan-Orhan, I., Altun, M. L., Sever-Yilmaz, B. ve Saltan, G., 2011, Anti-acetylcholinesterase and antioxidant assets of the major components (salicin, amentoflavone, and chlorogenic acid) and the extracts of Viburnum opulus and Viburnum lantana and their total phenol and flavonoid contents, *Journal of medicinal food*, 14 (4), 434-440.

Evanoff, D. D. ve Chumanov, G., 2004, Size-controlled synthesis of nanoparticles. 2. Measurement of extinction, scattering, and absorption cross sections, *The Journal of Physical Chemistry B*, 108 (37), 13957-13962.

Evtugyn, G. A., Shamagsumova, R. V., Padnya, P. V., Stoikov, I. I. ve Antipin, I. S., 2014, Cholinesterase sensor based on glassy carbon electrode modified with Ag nanoparticles decorated with macrocyclic ligands, *Talanta*, 127, 9-17.

Faya, M., Kalhapure, R. S., Kumalo, H. M., Waddad, A. Y., Omolo, C. ve Govender, T., 2018, Conjugates and nano-delivery of antimicrobial peptides for enhancing therapeutic activity, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 44, 153-171.

Fayaz, A. M., Balaji, K., Girilal, M., Yadav, R., Kalaichelvan, P. T. ve Venketesan, R., 2010, Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria, *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*, 6 (1), 103-109.

Filipponi, L., Sutherland, D. ve Center, I. N., 2010, NANOYOU teachers training kit in nanotechnologies, *European Commision Document, Denmark*.

Forsyth, E. ve Ritzline, P. D., 1998, An overview of the etiology, diagnosis, and treatment of Alzheimer disease, *Physical therapy*, 78 (12), 1325-1331.

Franci, G., Falanga, A., Galdiero, S., Palomba, L., Rai, M., Morelli, G. ve Galdiero, M., 2015, Silver nanoparticles as potential antibacterial agents, *Molecules*, 20 (5), 8856-8874.

Freestone, I., Meeks, N., Sax, M. ve Higgitt, C., 2007, The Lycurgus cup—a roman nanotechnology, *Gold bulletin*, 40 (4), 270-277.

Gao, L., Fan, K. ve Yan, X., 2017, Iron oxide nanozyme: a multifunctional enzyme mimetic for biomedical applications. Theranostics 7 (13): 3207–3227.

Garcia-Jimenez, A., Teruel-Puche, J. A., Garcia-Ruiz, P. A., Saura-Sanmartin, A., Berna, J., Garcia-Canovas, F. ve Rodriguez-Lopez, J. N., 2017, Structural and kinetic considerations on the catalysis of deoxyarbutin by tyrosinase, *PloS one*, 12 (11), e0187845.

Ge, J., Lu, D., Liu, Z. ve Liu, Z., 2009, Recent advances in nanostructured biocatalysts, *Biochemical Engineering Journal*, 44 (1), 53-59.

Ge, J., Lei, J. ve Zare, R. N., 2012, Protein–inorganic hybrid nanoflowers, *Nature nanotechnology*, 7 (7), 428-432.

Ghorbani, H. R., 2014, A review of methods for synthesis of Al nanoparticles, *Oriental Journal of Chemistry*, 30 (4), 1941-1949.

Gibson, J. D., Khanal, B. P. ve Zubarev, E. R., 2007, Paclitaxel-functionalized gold nanoparticles, *Journal of the American Chemical Society*, 129 (37), 11653-11661.

Giljohann, D. A., Seferos, D. S., Daniel, W. L., Massich, M. D., Patel, P. C. ve Mirkin, C. A., 2010, Gold nanoparticles for biology and medicine, *Angewandte Chemie International Edition*, 49 (19), 3280-3294.

Goedert, M., 1993, Tau protein and the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease, *Trends in neurosciences*, 16 (11), 460-465.

Gold, C. A. ve Budson, A. E., 2008, Memory loss in Alzheimer's disease: implications for development of therapeutics, *Expert review of neurotherapeutics*, 8 (12), 1879-1891.

Gonzales-Burgos, E., Carretero, M. ve Gomes-Serranillos, M., 2011, Sideritis spp.: uses, chemical composition and pharmacological activities, *Journal of ethnopharmacology*, 135 (2), 209-225.

Gottimukkala, K., Harika, R. ve Zamare, D., 2017, Green synthesis of iron nanoparticles using green tea leaves extract, *J. Nanomed. Biother. Discovery*, 7 (151.10), 4172.

Govindaraju, K., Kiruthiga, V., Kumar, V. G. ve Singaravelu, G., 2009, Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a marine alga, Sargassum wightii Grevilli and their antibacterial effects, *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 9 (9), 5497-5501.

Goyal, R. K., 2017, Nanomaterials and nanocomposites: synthesis, properties, characterization techniques, and applications, CRC Press, p.

Gudikandula, K. ve Charya Maringanti, S., 2016, Synthesis of silver nanoparticles by chemical and biological methods and their antimicrobial properties, *Journal of Experimental Nanoscience*, 11 (9), 714-721.

Guerrero-Pérez, M. O. ve Patience, G. S., 2020, Experimental methods in chemical engineering: Fourier transform infrared spectroscopy—FTIR, *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 98 (1), 25-33.

Guo, W., Pi, Y., Song, H., Tang, W. ve Sun, J., 2012, Layer-by-layer assembled gold nanoparticles modified anode and its application in microbial fuel cells, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 415, 105-111.

Güvenç, A. ve Duman, H., 2010, Morphological and anatomical studies of annual taxa of Sideritis L.(Lamiaceae), with notes on chorology in Turkey, *Turkish Journal of Botany*, 34 (2), 83-104.

Habtamu, W., Wondifraw, G. ve Baynest, J., 2015, Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. J, *Diabetes Metab*, 6, 1-9.

Hall, J. B., Dobrovolskaia, M. A., Patri, A. K. ve McNeil, S. E., 2007, Characterization of nanoparticles for therapeutics.

Hardy, J. A. ve Higgins, G. A., 1992, Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis, *Science*, 256 (5054), 184-186.

Harley, R. M., Atkins, S., Budantsev, A. L., Cantino, P. D., Conn, B. J., Grayer, R., Harley, M. M., De Kok, R. d., Krestovskaja, T. d. ve Morales, R., 2004, Labiatae, In: Flowering Plants· Dicotyledons, Eds: Springer, p. 167-275.

Hazer, B. ve Kalaycı, Ö. A., 2017, High fluorescence emission silver nano particles coated with poly (styrene-g-soybean oil) graft copolymers: antibacterial activity and polymerization kinetics, *Materials Science and Engineering: C*, 74, 259-269.

He, S., Guo, Z., Zhang, Y., Zhang, S., Wang, J. ve Gu, N., 2007, Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria Rhodopseudomonas capsulata, *Materials Letters*, 61 (18), 3984-3987.

He, W., Wamer, W., Xia, Q., Yin, J.-j. ve Fu, P. P., 2014, Enzyme-like activity of nanomaterials, *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 32 (2), 186-211.

Hemmati, S., Joshani, Z., Zangeneh, A. ve Zangeneh, M. M., 2020, Green synthesis and chemical characterization of Thymus vulgaris leaf aqueous extract conjugated gold nanoparticles for the treatment of acute myeloid leukemia in comparison to doxorubicin in a leukemic mouse model, *Applied Organometallic Chemistry*, 34 (2), e5267.

Hogan, D. B., 2007, Progress update: Pharmacological treatment of Alzheimer's disease, *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 3 (5), 569.

Hondow, N., Wang, P., Brydson, R., Holton, M., Rees, P., Summers, H. ve Brown, A., 2012, TEM analysis of nanoparticle dispersions with application towards the quantification of in vitro cellular uptake, *Journal of physics: conference series*, 012020.

Hooper, C., Killick, R. ve Lovestone, S., 2008, The GSK3 hypothesis of Alzheimer's disease, *Journal of neurochemistry*, 104 (6), 1433-1439.

Horie, M. ve Fujita, K., 2011, Toxicity of metal oxides nanoparticles, In: Advances in molecular toxicology, Eds: Elsevier, p. 145-178.

Horikoshi, S. ve Serpone, N., 2013, Microwaves in nanoparticle synthesis: fundamentals and applications, John Wiley & Sons, p.

Huang, X., Jain, P. K., El-Sayed, I. H. ve El-Sayed, M. A., 2007, Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy.

Husen, A. ve Siddiqi, K. S., 2014, Carbon and fullerene nanomaterials in plant system, *Journal of nanobiotechnology*, 12 (1), 16.

Husen, A., 2019, Natural product-based fabrication of zinc-oxide nanoparticles and their applications, In: Nanomaterials and Plant Potential, Eds: Springer, p. 193-219.

Hutter, E. ve Maysinger, D., 2013, Gold-nanoparticle-based biosensors for detection of enzyme activity, *Trends in pharmacological sciences*, 34 (9), 497-507.

Hwu, J. R., Lin, Y. S., Josephrajan, T., Hsu, M.-H., Cheng, F.-Y., Yeh, C.-S., Su, W.-C. ve Shieh, D.-B., 2009, Targeted paclitaxel by conjugation to iron oxide and gold nanoparticles, *Journal of the American Chemical Society*, 131 (1), 66-68.

Ilavenil, S., Srigopalram, S., Park, H. S. ve Choi, K. C., 2015, Growth and metabolite profile of Pediococcus pentosaceus and Lactobacillus plantarum in different juice, *South Indian Journal of Biological Sciences*, 1 (1), 1-6.

Inagaki, S., Ghirlando, R. ve Grisshammer, R., 2013, Biophysical characterization of membrane proteins in nanodiscs, *Methods*, 59 (3), 287-300.

Iravani, S., 2011, Green synthesis of metal nanoparticles using plants, *Green Chemistry*, 13 (10), 2638-2650.

Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V. ve Zolfaghari, B., 2014, Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods, *Research in pharmaceutical sciences*, 9 (6), 385.

Ismaya, W. T., Tandrasasmita, O. M., Sundari, S., Lai, X., Retnoningrum, D. S., Dijkstra, B. W., Tjandrawinata, R. R. ve Rachmawati, H., 2017, The light subunit of mushroom Agaricus bisporus tyrosinase: Its biological characteristics

and implications, *International journal of biological macromolecules*, 102, 308-314.

Ito, S., 2003, A chemist's view of melanogenesis, *Pigment cell research*, 16 (3), 230-236.

Ito, S., Wakamatsu, K., d'Ischia, M., Napolitano, A. ve Pezzella, A., 2011, Structure of melanins, Wiley Online Library**:** 167-185.

Iv, M., Telischak, N., Feng, D., Holdsworth, S. J., Yeom, K. W. ve Daldrup-Link, H. E., 2015, Clinical applications of iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging of brain tumors, *Nanomedicine*, 10 (6), 993-1018.

Jana, S. ve Pal, T., 2007, Synthesis, characterization and catalytic application of silver nanoshell coated functionalized polystyrene beads, *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 7 (6), 2151-2156.

Jayaraj, S., Suresh, S. ve Kadeppagari, R. K., 2013, Amylase inhibitors and their biomedical applications, *Starch-Stärke*, 65 (7-8), 535-542.

Johal, M. S. ve Johnson, L. E., 2018, Understanding nanomaterials, CRC Press, p.

Joshi, M., Bhattacharyya, A. ve Ali, S. W., 2008, Characterization techniques for nanotechnology applications in textiles.

Jung, J. H., Oh, H. C., Noh, H. S., Ji, J. H. ve Kim, S. S., 2006, Metal nanoparticle generation using a small ceramic heater with a local heating area, *Journal of aerosol science*, 37 (12), 1662-1670.

Junghanns, J.-U. A. ve Müller, R. H., 2008, Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications, *International journal of nanomedicine*, 3 (3), 295.

Kaeswurm, J. A., Claasen, B., Fischer, M.-P. ve Buchweitz, M., 2019, Interaction of structurally diverse phenolic compounds with porcine pancreatic α-amylase, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67 (40), 11108-11118.

Kalita, D., Holm, D. G., LaBarbera, D. V., Petrash, J. M. ve Jayanty, S. S., 2018, Inhibition of α-glucosidase, α-amylase, and aldose reductase by potato polyphenolic compounds, *PloS one*, 13 (1), e0191025.

Kastner, M. A., 1993, Artificial atoms, *Physics today*, 46, 24-24.

Keat, C. L., Aziz, A., Eid, A. M. ve Elmarzugi, N. A., 2015, Biosynthesis of nanoparticles and silver nanoparticles, *Bioresources and Bioprocessing*, 2 (1), 1-11.

Khan, I., Saeed, K. ve Khan, I., 2019, Nanoparticles: Properties, applications and toxicities, *Arabian Journal of Chemistry*, 12 (7), 908-931.

Khlebtsov, N. ve Dykman, L., 2011, Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of in vitro and in vivo studies, *Chemical Society Reviews*, 40 (3), 1647-1671.

Kim, E.-Y., Schulz, R., Swantek, P., Kunstman, K., Malim, M. ve Wolinsky, S. M., 2012, Gold nanoparticle-mediated gene delivery induces widespread changes in the expression of innate immunity genes, *Gene therapy*, 19 (3), 347-353.

Kim, H.-S., Ahn, J.-Y., Hwang, K.-Y., Kim, I.-K. ve Hwang, I., 2010, Atmospherically stable nanoscale zero-valent iron particles formed under controlled air contact: characteristics and reactivity, *Environmental science & technology*, 44 (5), 1760-1766.

Kim, J., Grate, J. W. ve Wang, P., 2008, Nanobiocatalysis and its potential applications, *Trends in biotechnology*, 26 (11), 639-646.

Kitching, M., Ramani, M. ve Marsili, E., 2015, Fungal biosynthesis of gold nanoparticles: mechanism and scale up, *Microbial biotechnology*, 8 (6), 904-917.

Kołodziejczak-Radzimska, A. ve Jesionowski, T., 2014, Zinc oxide—from synthesis to application: a review, *Materials*, 7 (4), 2833-2881.

Konrad, M. P., Doherty, A. P. ve Bell, S. E., 2013, Stable and uniform SERS signals from self-assembled two-dimensional interfacial arrays of optically coupled Ag nanoparticles, *Analytical chemistry*, 85 (14), 6783-6789.

Korbekandi, H., Iravani, S. ve Abbasi, S., 2009, Production of nanoparticles using organisms, *Critical reviews in biotechnology*, 29 (4), 279-306.

Kornberg, T. G., Stueckle, T. A., Antonini, J. A., Rojanasakul, Y., Castranova, V., Yang, Y. ve Wang, L., 2017, Potential toxicity and underlying mechanisms associated with pulmonary exposure to iron oxide nanoparticles: Conflicting literature and unclear risk, *Nanomaterials*, 7 (10), 307.

Kowshik, M., Deshmukh, N., Vogel, W., Urban, J., Kulkarni, S. K. ve Paknikar, K., 2002, Microbial synthesis of semiconductor CdS nanoparticles, their characterization, and their use in the fabrication of an ideal diode, *Biotechnology and Bioengineering*, 78 (5), 583-588.

Kumar, A., Vemula, P. K., Ajayan, P. M. ve John, G., 2008, Silver-nanoparticle-embedded antimicrobial paints based on vegetable oil, *Nature materials*, 7 (3), 236-241.

Kumar, M., Sharma, P., Maheshwari, R., Tekade, M., Shrivastava, S. K. ve Tekade, R. K., 2018, Beyond the blood–brain barrier: facing new challenges and prospects of nanotechnology-mediated targeted delivery to the brain, In: Nanotechnology-Based Targeted Drug Delivery Systems for Brain Tumors, Eds: Elsevier, p. 397-437.

Kumar, V., Guleria, P., Kumar, V. ve Yadav, S. K., 2013, Gold nanoparticle exposure induces growth and yield enhancement in Arabidopsis thaliana, *Science of the total environment*, 461, 462-468.

Kumari, S., Thng, S. T. G., Verma, N. K. ve Gautam, H. K., 2018, Melanogenesis inhibitors, *Acta dermato-venereologica*, 98 (9-10), 924-931.

Kuppusamy, P., Yusoff, M. M., Maniam, G. P. ve Govindan, N., 2016, Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications–An updated report, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24 (4), 473-484.

Küpeli, E., Şahin, F. P., Çalış, İ., Yeşilada, E. ve Ezer, N., 2007, Phenolic compounds of Sideritis ozturkii and their in vivo anti-inflammatory and antinociceptive activities, *Journal of ethnopharmacology*, 112 (2), 356-360.

Kwon, S.-H., Lee, H.-K., Kim, J.-A., Hong, S.-I., Kim, H.-C., Jo, T.-H., Park, Y.-I., Lee, C.-K., Kim, Y.-B. ve Lee, S.-Y., 2010, Neuroprotective effects of chlorogenic acid on scopolamine-induced amnesia via anti-acetylcholinesterase and anti-oxidative activities in mice, *European journal of pharmacology*, 649 (1-3), 210-217.

Ladj, R., Bitar, A., Eissa, M., Mugnier, Y., Le Dantec, R., Fessi, H. ve Elaissari, A., 2013, Individual inorganic nanoparticles: preparation, functionalization and in vitro biomedical diagnostic applications, *Journal of Materials Chemistry B*, 1 (10), 1381-1396.

Land, E. J., Ramsden, C. A. ve Riley, P. A., 2007, The mechanism of suicide-inactivation of tyrosinase: a substrate structure investigation, *The Tohoku journal of experimental medicine*, 212 (4), 341-348.

Le Pape, H., Solano-Serena, F., Contini, P., Devillers, C., Maftah, A. ve Leprat, P., 2002, Evaluation of the anti-microbial properties of an activated carbon fibre supporting silver using a dynamic method, *Carbon*, 40 (15), 2947-2954.

Lee, D. K. ve Kang, Y. S., 2004, Synthesis of silver nanocrystallites by a new thermal decomposition method and their characterization, *Etri Journal*, 26 (3), 252-256.

Li, F.-S. ve Weng, J.-K., 2017, Demystifying traditional herbal medicine with modern approach, *Nature plants*, 3 (8), 1-7.

Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D. Y., Brunet, L., Liga, M. V., Li, D. ve Alvarez, P. J., 2008, Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications, *Water research*, 42 (18), 4591-4602.

Lin, D. ve Xing, B., 2007, Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth, *Environmental pollution*, 150 (2), 243-250.

Lin, K.-S., Chang, N.-B. ve Chuang, T.-D., 2008, Fine structure characterization of zero-valent iron nanoparticles for decontamination of nitrites and nitrates in wastewater and groundwater, *Science and technology of advanced materials*, 9 (2), 025015.

Liu, J., Zangeneh, A., Zangeneh, M. M. ve Guo, B., 2020, Antioxidant, cytotoxicity, anti-human esophageal squamous cell carcinoma, anti-human Caucasian esophageal carcinoma, anti-adenocarcinoma of the gastroesophageal junction, and anti-distal esophageal adenocarcinoma properties of gold nanoparticles green synthesized by Rhus coriaria L. fruit aqueous extract, *Journal of Experimental Nanoscience*, 15 (1), 202-216.

López-Lorente, Á. I. ve Mizaikoff, B., 2016, Recent advances on the characterization of nanoparticles using infrared spectroscopy, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 84, 97-106.

Luangpipat, T., Beattie, I. R., Chisti, Y. ve Haverkamp, R. G., 2011, Gold nanoparticles produced in a microalga, *Journal of Nanoparticle Research*, 13 (12), 6439-6445.

Luo, Y., Ma, L., Zhang, X., Liang, A. ve Jiang, Z., 2015, SERS detection of dopamine using label-free acridine red as molecular probe in reduced graphene oxide/silver nanotriangle sol substrate, *Nanoscale research letters*, 10 (1), 230.

Malik, P., Shankar, R., Malik, V., Sharma, N. ve Mukherjee, T. K., 2014, Green chemistry based benign routes for nanoparticle synthesis, *Journal of Nanoparticles*, 2014.

Mandal, S. ve De, S., 2015, Catalytic and fluorescence studies with copper nanoparticles synthesized in polysorbates of varying hydrophobicity, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 467, 233-250.

Mann, T., Gerwat, W., Batzer, J., Eggers, K., Scherner, C., Wenck, H., Stäb, F., Hearing, V. J., Röhm, K.-H. ve Kolbe, L., 2018, Inhibition of human tyrosinase requires molecular motifs distinctively different from mushroom tyrosinase, *Journal of Investigative Dermatology*, 138 (7), 1601-1608.

Mariychuk, R., Porubská, J., Ostafin, M., Čaplovičová, M. ve Eliašová, A., 2020, Green synthesis of stable nanocolloids of monodisperse silver and gold nanoparticles using natural polyphenols from fruits of Sambucus nigra L, *Applied Nanoscience*, 1-14.

Markesbery, W. R., 1997, Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease, *Free Radical Biology and Medicine*, 23 (1), 134-147.

Mata, Y., Torres, E., Blazquez, M., Ballester, A., González, F. ve Munoz, J., 2009, Gold (III) biosorption and bioreduction with the brown alga Fucus vesiculosus, *Journal of hazardous materials*, 166 (2-3), 612-618.

Md, S., Bhattmisra, S. K., Zeeshan, F., Shahzad, N., Mujtaba, M. A., Meka, V. S., Radhakrishnan, A., Kesharwani, P., Baboota, S. ve Ali, J., 2018, Nano-carrier enabled drug delivery systems for nose to brain targeting for the treatment of

neurodegenerative disorders, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 43, 295-310.

Merga, G., Wilson, R., Lynn, G., Milosavljevic, B. H. ve Meisel, D., 2007, Redox catalysis on "naked" silver nanoparticles, *The Journal of Physical Chemistry C*, 111 (33), 12220-12226.

Mewada, A., Oza, G., Pandey, S. ve Sharon, M., 2012, Extracellular synthesis of gold nanoparticles using Pseudomonas denitrificans and comprehending its stability, *J. Microbiol. Biotech. Res*, 2 (4), 493-499.

Miller, A. D., 1992, Human gene therapy comes of age, *nature*, 357 (6378), 455-460.

Molpeceres, J., Aberturas, M. ve Guzman, M., 2000, Biodegradable nanoparticles as a delivery system for cyclosporine: preparation and characterization, *Journal of microencapsulation*, 17 (5), 599-614.

Monteiro, D. R., Gorup, L. F., Takamiya, A. S., Ruvollo-Filho, A. C., de Camargo, E. R. ve Barbosa, D. B., 2009, The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver, *International journal of antimicrobial agents*, 34 (2), 103-110.

Mostafa, E., Fayed, M. A., Radwan, R. A. ve Bakr, R. O., 2019, Centaurea pumilio L. extract and nanoparticles: A candidate for healthy skin, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 182, 110350.

Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Ahmad, A., Khan, M. I., Kumar, R. ve Sastry, M., 2002, Extracellular synthesis of gold nanoparticles by the fungus Fusarium oxysporum, *ChemBioChem*, 3 (5), 461-463.

Naeem, H., Ajmal, M., Qureshi, R. B., Muntha, S. T., Farooq, M. ve Siddiq, M., 2019, Facile synthesis of graphene oxide–silver nanocomposite for decontamination of water from multiple pollutants by adsorption, catalysis and antibacterial activity, *Journal of environmental management*, 230, 199-211.

Nagavarma, B., Yadav, H. K., Ayaz, A., Vasudha, L. ve Shivakumar, H., 2012, Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles-a review, *Asian J. Pharm. Clin. Res*, 5 (3), 16-23.

Nair, R., Poulose, A. C., Nagaoka, Y., Yoshida, Y., Maekawa, T. ve Kumar, D. S., 2011, Uptake of FITC labeled silica nanoparticles and quantum dots by rice seedlings: effects on seed germination and their potential as biolabels for plants, *Journal of fluorescence*, 21 (6), 2057.

Nalawade, P., Mukherjee, T. ve Kapoor, S., 2012, High-yield synthesis of multispiked gold nanoparticles: Characterization and catalytic reactions, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 396, 336-340.

Narayanan, K. B. ve Sakthivel, N., 2010, Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes, *Advances in colloid and interface science*, 156 (1-2), 1-13.

Nath, D. ve Banerjee, P., 2013, Green nanotechnology–a new hope for medical biology, *Environmental toxicology and pharmacology*, 36 (3), 997-1014.

Nathan, D. M., Buse, J. B., Davidson, M. B., Ferrannini, E., Holman, R. R., Sherwin, R. ve Zinman, B., 2009, Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes, *Diabetes care*, 32 (1), 193-203.

Negahdary, M. ve Heli, H., 2018, Applications of nanoflowers in biomedicine, *Recent patents on nanotechnology*, 12 (1), 22-33.

Niu, C. ve Aisa, H. A., 2017, Upregulation of melanogenesis and tyrosinase activity: Potential agents for vitiligo, *Molecules*, 22 (8), 1303.

Nurmi, J. T., Tratnyek, P. G., Sarathy, V., Baer, D. R., Amonette, J. E., Pecher, K., Wang, C., Linehan, J. C., Matson, D. W. ve Penn, R. L., 2005, Characterization and properties of metallic iron nanoparticles: spectroscopy, electrochemistry, and kinetics, *Environmental science & technology*, 39 (5), 1221-1230.

Oliveira, M. M., Ugarte, D., Zanchet, D. ve Zarbin, A. J., 2005, Influence of synthetic parameters on the size, structure, and stability of dodecanethiol-stabilized silver nanoparticles, *Journal of colloid and interface science*, 292 (2), 429-435.

Ostiguy, C., Lapointe, G., Ménard, L., Cloutier, Y., Trottier, M., Boutin, M., Antoun, M. ve Normand, C., 2006, Nanoparticles Actual Knowledge about Occupational Health and Safety Risks and Prevention Measures.

Pan, Y., Ma, S., Cao, K., Zhou, S., Zhao, A., Li, M., Qian, F. ve Zhu, C., 2018, Therapeutic approaches targeting cancer stem cells, *Journal of cancer research and therapeutics*, 14 (7), 1469.

Pantidos, N. ve Horsfall, L. E., 2014, Biological synthesis of metallic nanoparticles by bacteria, fungi and plants, *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 5 (5), 1.

Panzella, L., Ebato, A., Napolitano, A. ve Koike, K., 2018, The late stages of melanogenesis: Exploring the chemical facets and the application opportunities, *International journal of molecular sciences*, 19 (6), 1753.

Paskevicius, M., Webb, J., Pitt, M., Blach, T., Hauback, B., Gray, E. M. ve Buckley, C., 2009, Mechanochemical synthesis of aluminium nanoparticles and their deuterium sorption properties to 2 kbar, *Journal of alloys and compounds*, 481 (1-2), 595-599.

Patil, R. S., Kokate, M. R., Jambhale, C. L., Pawar, S. M., Han, S. H. ve Kolekar, S. S., 2012, One-pot synthesis of PVA-capped silver nanoparticles their characterization and biomedical application, *Advances in natural sciences: nanoscience and nanotechnology*, 3 (1), 015013.

Patil, S. P., Goswami, A., Kalia, K. ve Kate, A. S., 2019, Plant-Derived Bioactive Peptides: A Treatment to Cure Diabetes, *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 1-14.

Patri, A. K., Dobrovolskaia, M. A., Stern, S. T. ve McNeil, S. E., 2006, Preclinical characterization of engineered nanoparticles intended for cancer therapeutics, In: Nanotechnology for cancer therapy, Eds: CRC Press, p. 120-152.

Pérez, Y., Mann, E. ve Herradón, B., 2011, Preparation and characterization of gold nanoparticles capped by peptide–biphenyl hybrids, *Journal of colloid and interface science*, 359 (2), 443-453.

Picó, Y. ve Blasco, C., 2012, Nanomaterials in food, which way forward?, In: Comprehensive Analytical Chemistry, Eds: Elsevier, p. 305-353.

Piero, M., Nzaro, G. ve Njagi, J., 2015, Diabetes mellitus-a devastating metabolic disorder, *Asian journal of biomedical and pharmaceutical sciences*, 5 (40), 1.

Pieroni, A., Muenz, H., Akbulut, M., Başer, K. H. C. ve Durmuşkahya, C., 2005, Traditional phytotherapy and trans-cultural pharmacy among Turkish migrants living in Cologne, Germany, *Journal of ethnopharmacology*, 102 (1), 69-88.

Pillaiyar, T., Manickam, M. ve Namasivayam, V., 2017, Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32 (1), 403-425.

Pillaiyar, T., Namasivayam, V., Manickam, M. ve Jung, S.-H., 2018, Inhibitors of melanogenesis: an updated review, *Journal of medicinal chemistry*, 61 (17), 7395-7418.

Plensdorf, S., Livieratos, M. ve Dada, N., 2017, Pigmentation disorders: Diagnosis and management, *American family physician*, 96 (12), 797-804.

Pons, T., Uyeda, H. T., Medintz, I. L. ve Mattoussi, H., 2006, Hydrodynamic dimensions, electrophoretic mobility, and stability of hydrophilic quantum dots, *The Journal of Physical Chemistry B*, 110 (41), 20308-20316.

Poole, R. ve Kalnenieks, U., 2000, Introduction to light absorption: visible and ultraviolet spectra, *Spectrophotometry and spectrofluorimetry. A practical approach. Oxford University Press, GB*, 7-8.

Pradeep, T., 2007, Nano: the essentials, Tata McGraw-Hill Education, p.

Qu, T., Manev, R. ve Manev, H., 2001, 5-Lipoxygenase (5-LOX) promoter polymorphism in patients with early-onset and late-onset Alzheimer's disease, *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 13 (2), 304-305.

Radwan, R. A., El-Sherif, Y. A. ve Salama, M. M., 2020, A Novel Biochemical Study of Anti-Ageing Potential of Eucalyptus Camaldulensis Bark Waste Standardized Extract and Silver Nanoparticles, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 111004.

Raguvaran, R., Manuja, A. ve Manuja, B. K., 2015, Zinc oxide nanoparticles: opportunities and challenges in veterinary sciences, *Immunome Research*, 11 (2), 1.

Rai, M. ve Yadav, A., 2013, Plants as potential synthesiser of precious metal nanoparticles: progress and prospects, *IET nanobiotechnology*, 7 (3), 117-124.

Rai, M., Ingle, A. P., Birla, S., Yadav, A. ve Santos, C. A. D., 2016, Strategic role of selected noble metal nanoparticles in medicine, *Critical reviews in microbiology*, 42 (5), 696-719.

Rajakumar, G., Gomathi, T., Thiruvengadam, M., Rajeswari, V. D., Kalpana, V. ve Chung, I.-M., 2017, Evaluation of anti-cholinesterase, antibacterial and cytotoxic activities of green synthesized silver nanoparticles using from Millettia pinnata flower extract, *Microbial pathogenesis*, 103, 123-128.

Rajasulochana, P., Dhamotharan, R., Murugakoothan, P., Murugesan, S. ve Krishnamoorthy, P., 2010, Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles using the alga Kappaphycus alvarezii, *International Journal of Nanoscience*, 9 (05), 511-516.

Rajeshkumar, S. ve Rinitha, G., 2018, Nanostructural characterization of antimicrobial and antioxidant copper nanoparticles synthesized using novel Persea americana seeds, *OpenNano*, 3, 18-27.

Ramsden, C. A. ve Riley, P. A., 2014, Tyrosinase: The four oxidation states of the active site and their relevance to enzymatic activation, oxidation and inactivation, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 22 (8), 2388-2395.

Rao, T. N., Reddy, A. M., Murthy, S., Revathi, P. ve Kumar, K. S., 2016, Pre concentration of pesticide residues in environmental water samples using Silica nanoparticles and identification of residues By GC-MS method, *Oriental Journal of Chemistry*, 32 (4), 2221-2230.

Rauf, A. ve Jehan, N., 2017, Natural products as a potential enzyme inhibitors from medicinal plants, In: Enzyme Inhibitors and Activators, Eds: InTech, Rijeka, p. 165-177.

Reddy, N. J., Vali, D. N., Rani, M. ve Rani, S. S., 2014, Evaluation of antioxidant, antibacterial and cytotoxic effects of green synthesized silver nanoparticles by Piper longum fruit, *Materials Science and Engineering: C*, 34, 115-122.

Rezende, T. S., Andrade, G. R., Barreto, L. S., Costa Jr, N. B., Gimenez, I. F. ve Almeida, L., 2010, Facile preparation of catalytically active gold nanoparticles on a thiolated chitosan, *Materials Letters*, 64 (7), 882-884.

Rivero, P. J., Urrutia, A., Goicoechea, J., Matias, I. ve Arregui, F., 2013, A Lossy Mode Resonance optical sensor using silver nanoparticles-loaded films for monitoring human breathing, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 187, 40-44.

Rogers, B., Adams, J. ve Pennathur, S., 2013, Nanotechnology: The Whole Story, CRC Press, p.

Rogers, B., Adams, J. ve Pennathur, S., 2014, Nanotechnology: understanding small systems, Crc Press, p.

Roglic, G., 2016, Global report on diabetes, World Health Organization, p.

Rosini, M., Simoni, E., Bartolini, M., Cavalli, A., Ceccarini, L., Pascu, N., McClymont, D. W., Tarozzi, A., Bolognesi, M. L. ve Minarini, A., 2008, Inhibition of acetylcholinesterase, β-amyloid aggregation, and NMDA receptors in Alzheimer's disease: a promising direction for the multi-target-directed ligands gold rush, *Journal of medicinal chemistry*, 51 (15), 4381-4384.

Rosini, M., Simoni, E., Minarini, A. ve Melchiorre, C., 2014, Multi-target design strategies in the context of Alzheimer's disease: acetylcholinesterase inhibition and NMDA receptor antagonism as the driving forces, *Neurochemical research*, 39 (10), 1914-1923.

Roukes, M., 2001, Plenty of room, indeed, *Scientific American*, 285 (3), 48-57.

Ruparelia, J. P., Chatterjee, A. K., Duttagupta, S. P. ve Mukherji, S., 2008, Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles, *Acta biomaterialia*, 4 (3), 707-716.

Saehlim, N., Athipornchai, A., Sirion, U. ve Saeeng, R., 2020, New Class of Alkynyl Glycoside Analogues as Tyrosinase Inhibitors, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 127276.

Sagir, Z. O., Carikci, S., Kilic, T. ve Goren, A. C., 2017, Metabolic profile and biological activity of Sideritis brevibracteata PH Davis endemic to Turkey, *International journal of food properties*, 20 (12), 2994-3005.

Salahuddin, M. A. H., Ismail, A., Kassim, N. K., Hamid, M. ve Ali, M. S. M., 2020, Phenolic profiling and evaluation of in vitro antioxidant, α-glucosidase and α-amylase inhibitory activities of Lepisanthes fruticosa (Roxb) Leenh fruit extracts, *Food Chemistry*, 127240.

Saleh, T. A., 2011, Testing the effectiveness of visual aids in chemical safety training, *Journal of Chemical Health & Safety*, 18 (2), 5-10.

Saleh, T. A., 2013, A strategy for integrating basic concepts of nanotechnology to enhance undergraduate nano-education: Statistical evaluation of an application study, *Journal of Nano Education*, 4 (1-2), 1-7.

Sanders, W. C., 2018, Basic principles of nanotechnology, CRC Press, p.

Santos, J. S., Escher, G. B., do Carmo, M. V., Azevedo, L., Marques, M. B., Daguer, H., Molognoni, L., Genovese, M. I., Wen, M. ve Zhang, L., 2020, A new analytical concept based on chemistry and toxicology for herbal extracts analysis: From phenolic composition to bioactivity, *Food Research International*, 132, 109090.

Sapsford, K. E., Tyner, K. M., Dair, B. J., Deschamps, J. R. ve Medintz, I. L., 2011, Analyzing nanomaterial bioconjugates: a review of current and emerging purification and characterization techniques, *Analytical chemistry*, 83 (12), 4453-4488.

Sarikurkcu, C., Locatelli, M., Mocan, A., Zengin, G. ve Kirkan, B., 2019, Phenolic Profile and Bioactivities of Sideritis perfoliata L.: The Plant, Its Most Active Extract, and Its Broad Biological Properties, *Frontiers in pharmacology*, 10.

Sarkar, B., Bhattacharjee, S., Daware, A., Tribedi, P., Krishnani, K. ve Minhas, P., 2015, Selenium nanoparticles for stress-resilient fish and livestock, *Nanoscale research letters*, 10 (1), 371.

Sau, T. K., Rogach, A. L., Jäckel, F., Klar, T. A. ve Feldmann, J., 2010, Properties and applications of colloidal nonspherical noble metal nanoparticles, *Advanced Materials*, 22 (16), 1805-1825.

Saxena, A. ve Saini, R., 2018, The Structural Hybrids of Acetylcholines-terase Inhibitors in the Treatment of Alzheimer's Disease: A Review, *J. Alzheimers Neurodegener. Dis.*, 4, 1-25.

Scheen, A. J., 2003, Is there a role for α-glucosidase inhibitors in the prevention of type 2 diabetes mellitus?, *Drugs*, 63 (10), 933-951.

Schoonen, L. ve van Hest, J. C., 2014, Functionalization of protein-based nanocages for drug delivery applications, *Nanoscale*, 6 (13), 7124-7141.

Sen, P., Ghosh, J., Abdullah, A. ve Kumar, P., 2003, Preparation of Cu, Ag, Fe and Al nanoparticles by the exploding wire technique, *Journal of Chemical Sciences*, 115 (5-6), 499-508.

Senapati, S., Syed, A., Moeez, S., Kumar, A. ve Ahmad, A., 2012, Intracellular synthesis of gold nanoparticles using alga Tetraselmis kochinensis, *Materials Letters*, 79, 116-118.

Sengani, M., Grumezescu, A. M. ve Rajeswari, V. D., 2017, Recent trends and methodologies in gold nanoparticle synthesis–A prospective review on drug delivery aspect, *OpenNano*, 2, 37-46.

Serre, C., Busuttil, V. ve Botto, J. M., 2018, Intrinsic and extrinsic regulation of human skin melanogenesis and pigmentation, *International journal of cosmetic science*, 40 (4), 328-347.

Sershen, S., Westcott, S., Halas, N. ve West, J., 2000, Temperature-sensitive polymer–nanoshell composites for photothermally modulated drug delivery, *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 51 (3), 293-298.

Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S. K. ve Poinern, G. E. J., 2015, Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities, *Materials*, 8 (11), 7278-7308.

Sharma, G., Sharma, A. R., Bhavesh, R., Park, J., Ganbold, B., Nam, J.-S. ve Lee, S.-S., 2014, Biomolecule-mediated synthesis of selenium nanoparticles using dried Vitis vinifera (raisin) extract, *Molecules*, 19 (3), 2761-2770.

Sharma, P., Srivastava, P., Seth, A., Tripathi, P. N., Banerjee, A. G. ve Shrivastava, S. K., 2019, Comprehensive review of mechanisms of pathogenesis involved in Alzheimer's disease and potential therapeutic strategies, *Progress in neurobiology*, 174, 53-89.

Sharma, P., Tripathi, M. K. ve Shrivastava, S. K., 2020, Cholinesterase as a target for drug development in Alzheimer's disease, In: Targeting Enzymes for Pharmaceutical Development, Eds: Springer, p. 257-286.

Shcharbin, D., Halets-Bui, I., Abashkin, V., Dzmitruk, V., Loznikova, S., Odabaşı, M., Acet, Ö., Önal, B., Özdemir, N. ve Shcharbina, N., 2019, Hybrid metal-organic nanoflowers and their application in biotechnology and medicine, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 182, 110354.

Shen, B., 2015, A new golden age of natural products drug discovery, *Cell*, 163 (6), 1297-1300.

Shevtsov, M., Zhao, L., Protzer, U. ve van de Klundert, M. A., 2017, Applicability of metal nanoparticles in the detection and monitoring of hepatitis B virus infection, *Viruses*, 9 (7), 193.

Shnoudeh, A. J., Hamad, I., Abdo, R. W., Qadumii, L., Jaber, A. Y., Surchi, H. S. ve Alkelany, S. Z., 2019, Synthesis, Characterization, and Applications of Metal Nanoparticles, In: Biomaterials and Bionanotechnology, Eds: Elsevier, p. 527-612.

Shrivastava, S. K., Sinha, S. K., Srivastava, P., Tripathi, P. N., Sharma, P., Tripathi, M. K., Tripathi, A., Choubey, P. K., Waiker, D. K. ve Aggarwal, L. M., 2019, Design and development of novel p-aminobenzoic acid derivatives as potential cholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease, *Bioorganic chemistry*, 82, 211-223.

Siddiqi, K. S. ve Husen, A., 2017, Recent advances in plant-mediated engineered gold nanoparticles and their application in biological system, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 40, 10-23.

Siddiqui, M. H. ve Al-Whaibi, M. H., 2014, Role of nano-SiO2 in germination of tomato (Lycopersicum esculentum seeds Mill.), *Saudi journal of biological sciences*, 21 (1), 13-17.

Sintubin, L., Verstraete, W. ve Boon, N., 2012, Biologically produced nanosilver: current state and future perspectives, *Biotechnology and Bioengineering*, 109 (10), 2422-2436.

Solano, F., Briganti, S., Picardo, M. ve Ghanem, G., 2006, Hypopigmenting agents: an updated review on biological, chemical and clinical aspects, *Pigment cell research*, 19 (6), 550-571.

Solano, F., 2018, On the metal cofactor in the tyrosinase family, *International journal of molecular sciences*, 19 (2), 633.

Sondi, I., Goia, D. V. ve Matijević, E., 2003, Preparation of highly concentrated stable dispersions of uniform silver nanoparticles, *Journal of colloid and interface science*, 260 (1), 75-81.

Song, J. Y., Jang, H.-K. ve Kim, B. S., 2009, Biological synthesis of gold nanoparticles using Magnolia kobus and Diopyros kaki leaf extracts, *Process Biochemistry*, 44 (10), 1133-1138.

Sperling, R. A., Gil, P. R., Zhang, F., Zanella, M. ve Parak, W. J., 2008, Biological applications of gold nanoparticles, *Chemical Society Reviews*, 37 (9), 1896-1908.

Stiufiuc, R., Iacovita, C., Lucaciu, C. M., Stiufiuc, G., Dutu, A. G., Braescu, C. ve Leopold, N., 2013, SERS-active silver colloids prepared by reduction of silver nitrate with short-chain polyethylene glycol, *Nanoscale research letters*, 8 (1), 47.

Strobel, H. A., Qendro, E. I., Alsberg, E. ve Rolle, M. W., 2018, Targeted delivery of bioactive molecules for vascular intervention and tissue engineering, *Frontiers in pharmacology*, 9, 1329.

Suganthy, N., Ramkumar, V. S., Pugazhendhi, A., Benelli, G. ve Archunan, G., 2018, Biogenic synthesis of gold nanoparticles from Terminalia arjuna bark extract: assessment of safety aspects and neuroprotective potential via antioxidant, anticholinesterase, and antiamyloidogenic effects, *Environmental Science and Pollution Research*, 25 (11), 10418-10433.

Sun, Y., Mayers, B. T. ve Xia, Y., 2002, Template-engaged replacement reaction: a one-step approach to the large-scale synthesis of metal nanostructures with hollow interiors, *Nano Letters*, 2 (5), 481-485.

Suresh, A. K., Pelletier, D. A., Wang, W., Moon, J.-W., Gu, B., Mortensen, N. P., Allison, D. P., Joy, D. C., Phelps, T. J. ve Doktycz, M. J., 2010, Silver nanocrystallites: biofabrication using Shewanella oneidensis, and an evaluation of their comparative toxicity on gram-negative and gram-positive bacteria, *Environmental science & technology*, 44 (13), 5210-5215.

Szwajgier, D., 2015, Anticholinesterase activity of selected phenolic acids and flavonoids-interaction testing in model solutions, *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 22 (4).

Tadokoro, R. ve Takahashi, Y., 2017, Intercellular transfer of organelles during body pigmentation, *Current opinion in genetics & development*, 45, 132-138.

Takezawa, T., 2003, A strategy for the development of tissue engineering scaffolds that regulate cell behavior, *Biomaterials*, 24 (13), 2267-2275.

Talesa, V. N., 2001, Acetylcholinesterase in Alzheimer's disease, *Mechanisms of ageing and development*, 122 (16), 1961-1969.

Tarnawski, R. ve Ulbricht, M., 2011, Amphiphilic gold nanoparticles: Synthesis, characterization and adsorption to PEGylated polymer surfaces, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 374 (1-3), 13-21.

Tedesco, S., Doyle, H., Blasco, J., Redmond, G. ve Sheehan, D., 2010, Oxidative stress and toxicity of gold nanoparticles in Mytilus edulis, *Aquatic toxicology*, 100 (2), 178-186.

Thanh, N. T. ve Green, L. A., 2010, Functionalisation of nanoparticles for biomedical applications, *Nano Today*, 5 (3), 213-230.

Thompson, D., 2007, Michael Faraday's recognition of ruby gold: the birth of modern nanotechnology, *Gold bulletin*, 40 (4), 267-269.

Thompson, P., Wright, D., Counsell, C. E. ve Zajicek, J., 2012, Statistical analysis, trial design and duration in Alzheimer's disease clinical trials: a review, *International psychogeriatrics*, 24 (5), 689-697.

Todorova, M. ve Trendafilova, A., 2014, Sideritis scardica Griseb., an endemic species of Balkan peninsula: Traditional uses, cultivation, chemical composition, biological activity, *Journal of ethnopharmacology*, 152 (2), 256-265.

Tofani, R. P., Sumirtapura, Y. C. ve Darijanto, S. T., 2016, Formulation, characterisation, and in vitro skin diffusion of nanostructured lipid carriers for deoxyarbutin compared to a nanoemulsion and conventional cream, *Scientia Pharmaceutica*, 84 (4), 634-645.

Tran, Q., Nguyen, V. ve Le, A., 2013, Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. Adv Nat Sci Nanosci Nanotechnol 4 (3): 033001.

Tran, T. D. ve Kim, M. I., 2018, Organic-inorganic hybrid nanoflowers as potent materials for biosensing and biocatalytic applications, *BioChip Journal*, 12 (4), 268-279.

Ung, T. D. T., Tran, T. K. C., Pham, T. N., Nguyen, D. N., Dinh, D. K. ve Nguyen, Q. L., 2012, CdTe and CdSe quantum dots: synthesis, characterizations and applications in agriculture, *Advances in natural sciences: nanoscience and nanotechnology*, 3 (4), 043001.

Vadlapudi, V. ve DSVGK, K., 2014, Green synthesis of silver and gold nanoparticles, *Middle East J Sci Res*, 19, 834-842.

Vanitha, M. ve Soundhari, C., 2017, Isolation and characterisation of mushroom tyrosinase and screening of herbal extracts for anti-tyrosinase activity, *Int J ChemTech Research*, 10, 1156-1167.

Vats, A., Tolley, N., Polak, J. ve Gough, J., 2003, Scaffolds and biomaterials for tissue engineering: a review of clinical applications, *Clinical Otolaryngology & Allied Sciences*, 28 (3), 165-172.

Vertegel, A. A., Siegel, R. W. ve Dordick, J. S., 2004, Silica nanoparticle size influences the structure and enzymatic activity of adsorbed lysozyme, *Langmuir*, 20 (16), 6800-6807.

Videira, I. F. d. S., Moura, D. F. L. ve Magina, S., 2013, Mechanisms regulating melanogenesis, *Anais brasileiros de dermatologia*, 88 (1), 76-83.

Visweswara Rao, P. ve Hua Gan, S., 2015, Recent advances in nanotechnology-based diagnosis and treatments of diabetes, *Current drug metabolism*, 16 (5), 371-375.

Volesky, B. ve Holan, Z., 1995, Biosorption of heavy metals, *Biotechnology progress*, 11 (3), 235-250.

Votey, S. R. ve Peters, A., 2005, Diabetes mellitus, type 2-A review, *Retrieved December*, 5, 2006.

Wang, H., Gao, X. D., Zhou, G. C., Cai, L. ve Yao, W. B., 2008, In vitro and in vivo antioxidant activity of aqueous extract from Choerospondias axillaris fruit, *Food Chemistry*, 106 (3), 888-895.

Wang, L. ve Hong, R., 2011, Synthesis, surface modification and characterization of nanoparticles, *Advances in Nanocomposites-Synthesis, Characterization and Industrial Applications*, 19, 289-323.

Wang, Q., Kanel, S. R., Park, H., Ryu, A. ve Choi, H., 2009a, Controllable synthesis, characterization, and magnetic properties of nanoscale zerovalent iron with specific high Brunauer–Emmett–Teller surface area, *Journal of Nanoparticle Research*, 11 (3), 749-755.

Wang, Y., Dou, C., He, G., Ban, L., Huang, L., Li, Z., Gong, J., Zhang, J. ve Yu, P., 2018, Biomedical potential of ultrafine Ag nanoparticles coated on poly (gamma-glutamic acid) hydrogel with special reference to wound healing, *Nanomaterials*, 8 (5), 324.

Wang, Z., Zhao, J., Li, F., Gao, D. ve Xing, B., 2009b, Adsorption and inhibition of acetylcholinesterase by different nanoparticles, *Chemosphere*, 77 (1), 67-73.

Wen, X., Shi, D. ve Zhang, N., 2005, Applications of nanotechnology in tissue engineering, *Handbook of nanostructured biomaterials and their applications in nanobiotechnology*, 1, 1-23.

Wiley, B., Sun, Y., Mayers, B. ve Xia, Y., 2005, Shape-controlled synthesis of metal nanostructures: the case of silver, *Chemistry–A European Journal*, 11 (2), 454-463.

Wu, W., He, Q. ve Jiang, C., 2008, Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and surface functionalization strategies, *Nanoscale research letters*, 3 (11), 397.

Xiong, C., Lu, W., Zhou, M., Wen, X. ve Li, C., 2018, Cisplatin-loaded hollow gold nanoparticles for laser-triggered release, *Cancer nanotechnology*, 9 (1), 6.

Xu, L., Bai, R., Cheng, X., Shao, A., Chen, L., Qu, S. ve Chen, C., 2018, A tiered experimental approach for characterization and silver release of silver-containing wound dressings, *Journal of biomedical nanotechnology*, 14 (3), 564-574.

Yang, C.-Y., Yen, Y.-Y., Hung, K.-C., Hsu, S.-W., Lan, S.-J. ve Lin, H.-C., 2019, Inhibitory effects of pu-erh tea on alpha glucosidase and alpha amylase: a systemic review, *Nutrition & diabetes*, 9 (1), 1-6.

Yener, I., Kocakaya, S. O., Ertas, A., Erhan, B., Kaplaner, E., Oral, E. V., Yilmaz-Ozden, T., Yilmaz, M. A., Ozturk, M. ve Kolak, U., 2020, Selective in Vitro and

in Silico Enzymes Inhibitory Activities of Phenolic Acids and Flavonoids of Food Plants: Relations with Oxidative Stress, *Food Chemistry*, 127045.

Yoffe, A. D., 1993, Low-dimensional systems: quantum size effects and electronic properties of semiconductor microcrystallites (zero-dimensional systems) and some quasi-two-dimensional systems, *Advances in Physics*, 42 (2), 173-262.

Zambri, N. D. S., Taib, N. I., Abdul Latif, F. ve Mohamed, Z., 2019, Utilization of Neem Leaf Extract on Biosynthesis of Iron Oxide Nanoparticles, *Molecules*, 24 (20), 3803.

Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R. ve Ceylan, O., 2014, A comprehensive study on phytochemical characterization of Haplophyllum myrtifolium Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes, *Industrial Crops and Products*, 53, 244-251.

Zhang, J., Si, G., Zou, J., Fan, R., Guo, A. ve Wei, X., 2017, Antimicrobial effects of silver nanoparticles synthesized by fatsia japonica leaf extracts for preservation of citrus fruits, *Journal of food science*, 82 (8), 1861-1866.

Zhang, P.-X., Han, N., Kou, Y.-H., Zhu, Q.-T., Liu, X.-L., Quan, D.-P., Chen, J.-G. ve Jiang, B.-G., 2019, Tissue engineering for the repair of peripheral nerve injury, *Neural regeneration research*, 14 (1), 51.

Zhang, Z., Wang, L., Wang, J., Jiang, X., Li, X., Hu, Z., Ji, Y., Wu, X. ve Chen, C., 2012, Mesoporous silica-coated gold nanorods as a light-mediated multifunctional theranostic platform for cancer treatment, *Advanced Materials*, 24 (11), 1418-1423.

Zheng, Y., Yang, W., Sun, W., Chen, S., Liu, D., Kong, X., Tian, J. ve Ye, X., 2020, Inhibition of porcine pancreatic α-amylase activity by chlorogenic acid, *Journal of Functional Foods*, 64, 103587.

Zhou, Y., Liu, B., Yang, R. ve Liu, J., 2017, Filling in the gaps between nanozymes and enzymes: challenges and opportunities, *Bioconjugate chemistry*, 28 (12), 2903-2909.

Zolghadri, S., Bahrami, A., Hassan Khan, M. T., Munoz-Munoz, J., Garcia-Molina, F., Garcia-Canovas, F. ve Saboury, A. A., 2019, A comprehensive review on tyrosinase inhibitors, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34 (1), 279-309.

Zubair, R., Lyons, A. B., Vellaichamy, G., Peacock, A. ve Hamzavi, I., 2019, What's new in pigmentary disorders, *Dermatologic Clinics*, 37 (2), 175-181.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ramazan Ceylan
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Şarkikaraağaç/07.01.1190
Telefon : 05066854768
Faks :
e-mail : biyoram7@gmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Selçuklu Atatürk Lisesi, Selçuklu, Konya	2007
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2012
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2015
Doktora	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2020

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR

1.Gokhan Zengin, Asli Uğurlu, Mehmet Cengiz Baloglu, Alina Diuzheva, József Jekő, Zoltán Cziáky, Ramazan Ceylan, Abdurrahman Aktumsek, Carene Marie Nancy Picot-Allain, M. Fawzi Mahomoodally: *Chemical fingerprints, antioxidant, enzyme inhibitory, and cell assays of three extracts obtained from Sideritis ozturkii Aytaç & Aksoy: An endemic plant from Turkey*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 04/2019; 171., DOI:10.1016/j.jpba.2019.04.011

2.Onur Bender, Eulogio J. Llorent-Martínez, Gokhan Zengin, Adriano Mollica, Ramazan Ceylan, Lucia Molina-García, Maria Luisa Fernández de Cordova, Arzu Atalay: *Integration of in vitro and in silico perspectives to explain chemical characterization, biological potential and anticancer effects of Hypericum salsugineum: A pharmacologically active source for functional drug formulations*. PLoS ONE 06/2018; 13(6):e0197815., DOI:10.1371/journal.pone.0197815

3.Sengul Uysal, Ramazan Ceylan, Abdurrahman Aktümsek, Gokalp-Ozmen Guler, Carene Picot, Gokhan Zengin, Fawzi Mahomoodally: *In vitro multiple pharmacological targets of Colutea cilicica Boiss. & Balansa against key enzymes*

linked to neurodegenerative diseases, diabetes, and hyperpigmentation. Journal of Pharmacy of Istanbul University 04/2018;

4.Gokhan Zengin, Fawzi Mahomoodally, Abdurrahman Aktümsek, Ramazan Ceylan, Sengul Uysal, Andrei Mocan, Mustafa Abdullah Yilmaz, Carene Picot, Ana Ciric, Jasmina Milan Glamoclija, Marina Soković: *Functional constituents of six wild edible Silene species: A focus on their phytochemical profiles and bioactive properties*. Food Bioscience 03/2018; 23., DOI:10.1016/j.fbio.2018.03.010

5.Ramazan Ceylan, Gokhan Zengin, Jelena Katanić, Abdurrahman Aktümsek, Sanja Matić, Tatjana Boroja, Snežana Stanić, Vladimir Mihailovic, Adriano Mollica, Fawzi Mahomoodally, Roumita Seebaluck Sandoram: *Exploring the therapeutic potential and phenolic composition of two Turkish ethnomedicinal plants - Ajuga orientalis L. and Arnebia densiflora (Nordm.) Ledeb*. Industrial Crops and Products 02/2018; 116., DOI:10.1016/j.indcrop.2018.02.054

6.Gokhan Zengin, Srinivasan Nithiyanantham, Cengiz Sarikurkcu, Sengul Uysal, Ramazan Ceylan, Karnam Satya Ramya, Pavle Maskovic, Abdurrahman Aktumsek: *Identification of phenolic profiles, fatty acid compositions, antioxidant activities and enzyme inhibition effects of seven wheat cultivars grown in Turkey: A phytochemical approach for their nutritional value*. International Journal of Food Properties 09/2017; 20(10):2373–2382., DOI:10.1080/10942912.2016.1238391

7.Azzurra Stefanucci, Ramazan Ceylan, Gökhan Zengin: *Natural Occurring β-Peptides: A Fascinating World of Bioactive Molecules*. Current Bioactive Compounds 04/2017; 13(999):1-1., DOI:10.2174/1573407213666170405124107

8.Gokhan Zengin, Ramazan Ceylan, Jelena Katanić, Adriano Mollica, Abdurrahman Aktumsek, Tatjana Boroja, Sanja Matić, Vladimir Mihailović, Snežana Stanić, Zaahira Aumeeruddy-Elalfi, Mustafa Abdullah Yilmaz, Mohamad Fawzi Mahomoodally: *Combining in vitro, in vivo and in silico approaches to evaluate nutraceutical potentials and chemical fingerprints of Moltkia aurea and Moltkia coerulea*. Food and Chemical Toxicology 04/2017; 107(Pt B)., DOI:10.1016/j.fct.2017.04.004

9.Daniel M. Grochowski, Sengul Uysal, Abdurrahman Aktumsek, Sebastian Granica, Gokhan Zengin, Ramazan Ceylan, Marcello Locatelli, Michał Tomczyk: *In vitro enzyme inhibitory properties, antioxidant activities, and phytochemical profile of Potentilla thuringiaca*. Phytochemistry Letters 03/2017;, DOI:10.1016/j.phytol.2017.03.005

10.E. J. Llorent-Martínez, P. Ortega-Barrales, G. Zengin, A. Mocan, M. J. Simirgiotis, R.Ceylan, S. Uysal, A. Aktumsek: *Evaluation of antioxidant potential, enzyme inhibition activity and phenolic profile of Lathyrus cicera and Lathyrus digitatus : Potential sources of bioactive compounds for the food industry*. Food and Chemical Toxicology 03/2017; 107(Pt B)., DOI:10.1016/j.fct.2017.03.002

11.Eulogio J. Llorent-Martínez, Gokhan Zengin, Maria Luisa Fernández-de Cordova, Onur Bender, Arzu Atalay, Ramazan Ceylan, Adriano Mollica, Andrei Mocan, Sengul Uysal, Gokalp Ozmen Guler, Abdurrahman Aktumsek: *Traditionally Used Lathyrus Species: Phytochemical Composition, Antioxidant Activity, Enzyme Inhibitory Properties, Cytotoxic Effects, and in silico Studies of L. czeczottianus and L. nissolia*. Frontiers in Pharmacology 02/2017; 8(83)., DOI:10.3389/fphar.2017.00083

12.Gokhan Zengin, Abdurrahman Aktumsek, Ramazan Ceylan, Sengul Uysal, Andrei Mocan, Gokalp Ozmen Guler, M. Fawzi Mahomoodally, Jasmina Glamočlija, Ana Ćirić, Marina Soković: *Shedding the light on biological and chemical fingerprints of three Achillea species (A. biebersteinii, A. millefolium and A. teretifolia)*. Food & Function 01/2017; 8(3)., DOI:10.1039/C6FO01847E

13.Onur Bender, Ramazan Ceylan, Gokhan Zengin, Abdurrahman Aktumsek, Arzu Atalay: *P-053 - Screening the Anti-Proliferative Effects of Some Hypericum Species in MCF-7 Human Breast Cancer Cells by Using Real Time Cellular Impedence Technology*. Turkish Journal of Biochemistry 01/2017; 41(S4)., DOI:10.1515/tjb-2016-s410

14.Andrea Civra, Rachele Francese, Davide Sinato, Manuela Donalisio, Valeria Cagno, Patrizia Rubiolo, Ramazan Ceylan, Ahmet Uysal, Gokhan Zengin, David Lembo: *In vitro screening for antiviral activity of Turkish plants revealing methanolic extract of Rindera lanata var. lanata active against human rotavirus*. BMC Complementary and Alternative Medicine 01/2017; 17(1)., DOI:10.1186/s12906-017-1560-3

15.Jelena Katanić, Ramazan Ceylan, Sanja Matić, Tatjana Boroja, Gokhan Zengin, Abdurrahman Aktumsek, Vladimir Mihailović, Snežana Stanić: *Novel perspectives on two Digitalis species: Phenolic profile, bioactivity, enzyme inhibition, and toxicological evaluation*. South African Journal of Botany 12/2016; 109., DOI:10.1016/j.sajb.2016.12.004

16.E. J. Llorent-Martínez, P. Ortega-Barrales, Gokhan Zengin, Sengul Uysal, Ramazan Ceylan, G.O.Guler, A.Mocan, A. Aktumsek: *Lathyrus aureus and Lathyrus pratensis: Characterization of phytochemical profiles by liquid chromatography-mass spectrometry, and evaluation of their enzyme inhibitory and antioxidant activities*. RSC Advances 09/2016; 6(92)., DOI:10.1039/C6RA17170B

17.Gökhan Zengin, Abdurrahman Aktümsek, Mehmet Boğa, Ramazan Ceylan, Şengül Uysal: *Essential Oil Composition of an Uninvestigated Centaurea Species from Turkey: Centaurea patula DC.*. Journal of essential oil-bearing plants JEOP 03/2016; 19(2):485-491., DOI:10.1080/0972060X.2016.1141071

18.Ramazan Ceylan, Jelena Katanić, Gokhan Zengin, Sanja Matić, Abdurrahman Aktumsek, Tatjana Boroja, Snežana Stanić, Vladimir Mihailović, Gokalp Ozmen Guler, Mehmet Boga, Mustafa Abdullah Yılmaz: *Chemical and Biological Fingerprints of Two Fabaceae species (Cytisopsis dorycniifolia and Ebenus hirsuta): Are they Novel Sources of Natural Agents for Pharmaceutical and Food Formulations?*. Industrial Crops and Products 02/2016; 84., DOI:10.1016/j.indcrop.2016.02.019

19.Gokhan Zengin, Ramazan Ceylan, Gokalp Ozmen Guler, Simone Carradori, Sengul Uysal, Abdurrahman Aktumsek: *Enzyme Inhibitory Effect and Antioxidant Properties of Astragalus Lagurus Extracts*. Current Enzyme Inhibition 01/2016; 12(999)., DOI:10.2174/1573408012666160127231058

20.Gokhan Zengin, Cengiz Sarikurkcu, Abdurrahman Aktümsek, Ramazan Ceylan: *Antioxidant Potential and Inhibition of Key Enzymes Linked to Alzheimer's Diseases and Diabetes Mellitus by Monoterpene-Rich Essential Oil from Sideritis galatica Bornm. Endemic to Turkey*. Records of Natural Products 01/2016; 75:42-50.

21.Gokhan Zengin, Srinivasan Nithiyanantham, Marcello Locatelli, Ramazan Ceylan, Sengul Uysal, Abdurrahman Aktumsek, Palanisamy Kalai Selvi, Pavle Maskovic: *Screening of in vitro Antioxidant and Enzyme Inhibitory Activities of Different Extracts from Two Uninvestigated Wild Plants: Centranthus longiflorus subsp. longiflorus and Cerinthe minor subsp. auriculata*. European Journal of Integrative Medicine 12/2015;, DOI:10.1016/j.eujim.2015.12.004

22.Gokhan Zengin, Gokalp Ozmen Guler, Abdurrahman Aktumsek, Ramazan Ceylan, Picot Carene M.N, Mohamad Fawzi Mahomoodally: *Enzyme inhibitory properties, antioxidant activities and phytochemical profile of three medicinal plants from Turkey*. Advances in Pharmacological Sciences 11/2015;

23.Gokhan Zengin, Ramazan Ceylan, Sengul Uysal, Abdurrahman Aktumsek: *Biological Activities of Three Extracts from Artedia Squamata: A Study on Antioxidant and Enzyme Inhibitory Potential*. Current Bioactive Compounds 09/2015; 11(999)., DOI:10.2174/1573407211666151002002314

24.Sultan Ciftci-Yilmaz, Zeynep N. Akpinar, Ramazan Ceylan, Esra Gunduz, Onur Bender, Gokhan Zengin, Abdurrahman Aktumsek: *PP41: Investigating and comparing antioxidant capacity of different region's propolis and their effect on chromosome instability*. Anti-Cancer Drugs 08/2015; 26(Supplement 1):e35-36., DOI:10.1097/CAD.0000000000000280

25.Gokhan Zengin, Marcello Locatelli, Ramazan Ceylan, Abdurrahman Aktumsek: *Anthraquinone profile, antioxidant and enzyme inhibitory effect of root extracts of eight Asphodeline taxa from Turkey: Can Asphodeline roots be considered as a new source of natural compounds?*. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry 07/2015; 31(5)., DOI:10.3109/14756366.2015.1063623

26.Ramazan Ceylan, Gokhan Zengin, Sengul Uysal, Veli Ilhan, Abdurrahman Aktumsek, Ali Kandemir, Farooq Anwar: *GC-MS analysis and in vitro antioxidant and enzyme inhibitory activities of essential oil from aerial parts of endemic Thymus spathulifolius Hausskn. et Velen*. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry 07/2015;, DOI:10.3109/14756366.2015.1077822

27.Gokhan Zengin, Cengiz Sarikurkcu, Erdogan Gunes, Ahmet Uysal, Ramazan Ceylan, Sengul Uysal, Halil Gungor, Abdurrahman Aktumsek: *Two Ganoderma species: Profiling of phenolic compounds by HPLC- DAD, antioxidant, antimicrobial and inhibitory activities on key enzymes linked to Diabetes mellitus, Alzheimer's disease and skin disorders*. Food & Function 06/2015; 6(8)., DOI:10.1039/c5fo00665a

28.Gokhan Zengin, Cengiz Sarikurkcu, Pembegul Uyar, Abdurrahman Aktumsek, Sengul Uysal, Mehmet Sefa Koçak, Ramazan Ceylan: *Crepis foetida L. subsp. rhoeadifolia (Bieb.) Celak. as a source of multifunctional agents: Cytotoxic and phytochemical evaluation*. Journal of Functional Foods 06/2015; 17., DOI:10.1016/j.jff.2015.06.041

29.Gokhan Zengin, Cengiz Sarikurkcu, Abdurrahman Aktumsek, Sengul Uysal, Ramazan Ceylan, Farooq Anwar, Mehmet Halil Solak: *A Comparative Fatty Acid Compositional Analysis of Different Wild Species of Mushrooms from Turkey (125)*. Emirates Journal of Food and Agriculture 06/2015; 27(7)., DOI:10.9755/ejfa.2015.05.264

30.Irina Lazarova, Gokhan Zengin, Onur Bender, Dimitrina Zheleva-Dimitrova, Sengul Uysal, Ramazan Ceylan, Reneta Gevrenova, Abdurrahman Aktumsek, Muradiye Acar, Mehmet Gunduz: *A comparative study of Bulgarian and Turkish Asphodeline lutea root extracts: HPLC-UV profiles, enzyme inhibitory potentials and anti-proliferative activities against MCF-7 and MCF-10A cell lines*. Journal of Functional Foods 03/2015;, DOI:10.1016/j.jff.2015.03.032

31.Cengiz Sarikurkcu, Gokhan Zengin, Mustafa Oskay, Sengul Uysal, Ramazan Ceylan, Abdurrahman Aktumsek: *Composition, antioxidant, antimicrobial and enzyme inhibition activities of two Origanum vulgare subspecies (subsp. vulgare and subsp. hirtum) essential oils*. Industrial Crops and Products 03/2015; 70:178-184., DOI:10.1016/j.indcrop.2015.03.030

32.Gokhan Zengin, Sengul Uysal, Ramazan Ceylan, Abdurrahman Aktumsek: *Phenolic constituent, antioxidative and tyrosinase inhibitory activity of Ornithogalum narbonense L. from Turkey: A phytochemical study*. Industrial Crops and Products 03/2015; 70., DOI:10.1016/j.indcrop.2015.03.012

33.Gokhan Zengin, Abdurrahman Aktumsek, Mehmet Boga, Ramazan Ceylan, Sengul Uysal: *Essential oil composition of an uninvestigated Centaurea species from Turkey: Centaurea patula DC.*. Journal of essential oil-bearing plants JEOP 01/2015;

34.Gokhan Zengin, Cengiz Sarikurkcu, Abdurrahman Aktumsek, Ramazan Ceylan: *Sideritis galatica Bornm.: A source of multifunctional agents for the management of oxidative damage, Alzheimer's and diabetes mellitus*. Journal of Functional Foods 11/2014; 11., DOI:10.1016/j.jff.2014.08.011

35.Irına Lazarova, Gokhan Zengin, Abdurrahman Aktumsek, Reneta Gevrenova, Ramazan Ceylan, Sengul Uysal: *HPLC–DAD analysis of phenolic compounds and antioxidant properties of Asphodeline lutea roots from Bulgaria and Turkey*. Industrial Crops and Products 11/2014; 61., DOI:10.1016/j.indcrop.2014.07.044

36.Sengul Uysal, Ramazan Ceylan, Gokhan Zengin, Abdurrahman Aktumsek, NilgunZengin, Gokalp Ozmen Guler, Yavuz Selim Cakmak, Evren Yildiztugay, Sukru Karatas: *Phytochemical Characterization of an Endemic Plant Used as Foodstuff in Turkey Centaurea urvillei subsp stepposa and its Antioxidant Properties*. International Research Journal of Pharmacy 09/2014; 5(8):646-652., DOI:10.7897/2230-8407.0508132

37.Gokhan Zengin, Cengiz Sarikurkcu, Abdurrahman Aktumsek, Ramazan Ceylan, Olcay Ceylan: *A comprehensive study on phytochemical characterization of Haplophyllum myrtifolium Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, Skin diseases and type II diabetes*. Industrial Crops and Products 02/2014; 53:244-251., DOI:10.1016/j.indcrop.2013.12.043