

T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı

TAURİN METAL İYONLU NANOKOMPOZİTLERİN
SENTEZİ VE ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL,
KATALİTİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ

Hazırlayan
Sevim Gökçe YILMAZ

Danışman
Prof. Dr. Behzat ÇİMEN

Yüksek Lisans Tezi

Şubat 2020
KAYSERİ

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZACILIK BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TAURİN METAL İYONLU NANOKOMPOZİTLERİN
SENTEZİ VE ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL,
KATALİTİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

**Hazırlayan
Sevim Gökçe YILMAZ**

**Danışman
Prof. Dr. Behzat ÇİMEN**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından TYL-2018-8578 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Şubat 2020
KAYSERİ**

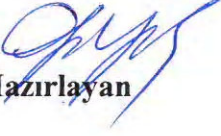
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

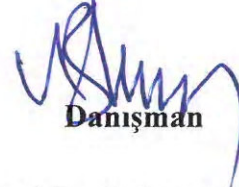
Sevim Gökçe YILMAZ

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

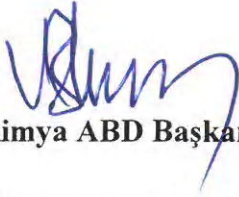
“Taurin metal iyonlu nanokompozitlerin sentezi ve antioksidan, antimikrobiyal, katalitik aktivite özelliklerinin incelenmesi” adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.


Hazırlayan

Sevim Gökçe YILMAZ


Danışman

Prof. Dr. Behzat ÇİMEN


Biyokimya ABD Başkanı
Prof. Dr. Behzat ÇİMEN

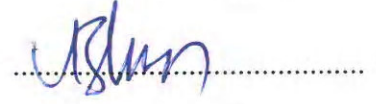
Prof. Dr. Behzat ÇİMEN danışmanlığında **Sevim Gökçe YILMAZ** tarafından hazırlanan “**Taurin metal iyonlu nanokompozitlerin sentezi ve antioksidan, antimikrobiyal, katalitik aktivite özelliklerinin incelenmesi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalında **yüksek lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

07/02/2020

JÜRİ:

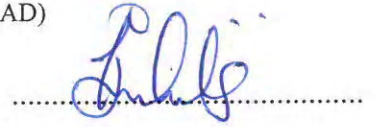
İmza

Danışman : Prof. Dr. Behzat ÇİMEN



(Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya AD)

Üye : Doç. Dr. İsmail ÖÇSOY



(Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya AD)

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mustafa NİSARİ



(Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi,
Biyokimya AD)

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve
sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ

TEŞEKKÜR

Akademik alandaki çalışmalara teşvik eden ve yüksek lisansı kendisi ile yapma fırsatı veren, çalışmalarımı yönlendirip, bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Behzat ÇİMEN'e, aynı şekilde bilgi ve deneyimleriyle bana her konuda yardımcı olan, araştırmalarımın her aşamasında destek sağlayan, tanımış olmaktan mutluluk duyduğum, çalışma sürecindeki muazzam bilgi ve becerilerinden feyz aldığım, bana yol gösteren Doç. Dr. İsmail ÖÇSOY hocama teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım ve araştırmalarımın her aşamasında bana yardımcı olan 2. danışman hocam Dr. Öğretim Üyesi Ayşe DEMİRBAŞ'a, bilgilerini benimle paylaşan, tezimin her aşamasına ve laboratuvar çalışmalarına yardımcı olan, beni her zaman çalışmaya teşvik eden, desteğini hiç esirgemeyen, manevi desteğini de hissettiğim doktora öğrencisi Zehra AKÇAAY'a, laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan Sadi YUSUFBEYOĞLU ve Ramazan CEYLAN'a, tez çalışmam boyunca bana destek olan arkadaşım Ecz. Fatma KALE'ye ve aileme teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince imkânlarından faydalandığım ERÜ TAUM (Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi) ve ERNAM (Erciyes Nanoteknoloji Araştırma Merkezi) çalışanlarına teşekkür ederim.

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir: Proje Numarası: TYL-2018-8578.

Sevim Gökçe YILMAZ

KAYSERİ, Şubat 2020

TAURİN METAL İYONLU NANOKOMPOZİTLERİN SENTEZİ VE ANTIÖKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL, KATALİTİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

S. Gökçe YILMAZ

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi, Şubat 2020
Danışman: Prof. Dr. Behzat ÇİMEN

ÖZET

Son yıllarda kişiselleştirilmiş tedavileri geliştirmek amacıyla; organik-inorganik hibrit nanomalzemelerin tasarlanmasına önem verilmiştir. Hibrit nanomalzemede farklı özellikteki bileşenler formülasyona basit şekilde katılarak, yapıya birden fazla fonksiyon kazandırılır, yüksek aktivite, yüksek verim ve stabilite sağlanır. Vücutta doğal olarak bulunan yarı esansiyel bir aminoasit olan taurin birçok önemli biyolojik fonksiyona sahiptir. Taurinin yapısındaki amin ($-NH_2$) ve sülfonik asit ($-SO_3H$) fonksiyonel gruplarının varlığı, onun birçok metal iyonu ile etkileşimine olanak sağlayacaktır. Bu çalışmada ilk kez farklı miktarlardaki taurin kullanılarak; Cu^{+2} , Fe^{+2} , Fe^{+3} metal iyonları ile yeni nesil immobilizasyon tekniğiyle, farklı pH değerlerinde çiçek şekilli organik-inorganik nanokompozitler sentezlenecek, karakterizasyonu, antioksidan, antimikrobiyal ve katalitik aktiviteleri sistematik olarak incelenecektir. Amaçlanan doğrultuda sentezlenen yapı taurine göre daha iyi antimikrobiyal ve katalitik aktivite göstermiş ve yapıda antioksidan aktivite tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Taurin, hibrit nanokompozit, antioksidan, antimikrobiyal, katalitik aktivite

SYNTHESIS OF TAURINE METAL ION NANOCOMPOSITES AND INVESTIGATION OF ANTIOXIDANT, ANTIMICROBIAL, CATALYTIC ACTIVITY PROPERTIES

S. Gökçe YILMAZ

**Erciyes University, Faculty of Pharmacy
Department of Biochemistry
Master's Thesis, February 2020
Supervisor: Prof. Dr. Behzat ÇİMEN**

ABSTRACT

In order to develop personalized treatments in recent years; importance was given to designing organic-inorganic hybrid nanomaterials. In hybrid nanomaterials, different components are added to the formulation in a simple way, giving the structure more than one function, providing high activity, high efficiency and stability. A naturally occurring semi-essential amino acid, taurine has many important biological functions. The presence of amine ($-NH_2$) and sulfonic acid ($-SO_3H$) functional groups in the structure of taurine will allow it to interact with many metal ions. In this study, for the first time using different amounts of taurine; New generation immobilization technique with Cu^{+2} , Fe^{+2} , Fe^{+3} metal ions will synthesize flower-shaped organic-inorganic nanocomposites at different pH values, characterization, antioxidant, antimicrobial and catalytic activities will be examined systematically. The structure synthesized in intended direction showed better antimicrobial and catalytic activity than taurine, its antioxidant activity was investigated as well.

Keywords: Taurine, hybrid nanocomposite, antioxidant, antimicrobial, catalytic activity

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	ii
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI.....	ii
KABUL ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiv
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Organik-İnorganik Nano Hibrit Yapılar.....	4
2.2. Organik-İnorganik Hibrit Nanoçiçeklerin Yapısal Özellikleri	5
2.3. Organik-İnorganik Hibrit Nanoçiçeklerin Sentezi	9
2.4. TAURİN	11
2.4.1. Taurinin Biyosentezi.....	12
2.4.2. Taurinin Kimyasal ve Biyokimyasal Özellikleri.....	13
2.4.3. Taurinin Etkileri	14
2.4.4. Taurinin Antioksidan Aktivitesi.....	17
2.4.5.Taurinin Antimikrobiyal Aktivitesi.....	21
2.4.5.1. TauCl ve TauBr'nin antienflamatuar özellikleri.....	23
2.4.6. Katalitik Aktivite.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25

3.1. Gereç	25
3.1.1. Kimyasallar ve Materyaller.....	25
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Karakterizasyon.....	25
3.1.3. Çözeltilerin Hazırlanması.....	26
3.2.Yöntem	27
3.2.1. Taurin Metal İyonlu Çiçek Şekli Hibrit Nanokompozitlerin Sentezi.....	27
3.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Testi.....	28
3.2.3. Katalitik Aktivite Testi	29
3.2.4. Antioksidan Aktivite Testi.....	30
4. BULGULAR.....	32
4.1. Taurin Metal İyonlu Çiçek Şekli Hibrit Nanokompozitlerin Sentez ve Karakterizasyonu.....	32
4.1.1 Taurin miktarının ÇŞNK yapılarına etkisinin araştırılması	32
4.1.2. ÇŞNK yapılarına pH etkisinin incelenmesi	33
4.1.3. SEM.....	34
4.1.4. EDX.....	35
4.1.5. XRD.....	36
4.1.6. FTIR.....	36
4.2. Taurin ve Taurin-Cu ⁺² Hibrit ÇŞNK'ların Antimikrobiyal aktiviteleri.....	38
4.3. Taurin ve Taurin-Cu ⁺² Hibrit ÇŞNK'ların Katalitik Aktiviteleri.....	39
4.4. Taurin ve Taurin-Cu ⁺² Hibrit ÇŞNK'ların Antioksidan aktiviteleri.....	40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	44
6. KAYNAKLAR	46
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

μm	: Mikrometre
μM	: Mikromolar
<i>B. cereus</i>	: <i>Bacillus cereus</i>
BSA	: Sığır serum albümini
<i>C. albicans</i>	: <i>Candida albicans</i>
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
CK	: Kreatin kinaz
Co	: Kobalt
CSD	: Sisteinsülfinat dekarboksilaz
Cu	: Bakır
CUPRAC	: Cupric Reducing Antioxidant Capacity
$\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$	: Bakır fosfat
CYP3A4	: Sitokrom P450 3A4
ÇŞNK	: Çiçek Şekilli Nanokompozit
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EDX	: Enerji Dağılım X Işını Spektroskopisi
ER	: Endoplazmik Retikulum
EY	: Encapsulation yield
ETS	: Elektron Taşıma Sistemi
Fe	: Demir
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GPx	: Glutasyon peroksidaz
H_2O_2	: Hidrojen peroksit
$\text{HO}^\cdot$	: Hidroksil radikali
HOBr	: Hipobromöz asit
HOCl	: Hipokloröz asit

HRP	: Horseradish peroksidaz
LDH	: Laktat dehidrojenaz
LDL	: Low Density Lipoprotein
MBC	: Minimal Bakterisidal Konsantrasyon
MIC	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
mM	: Milimolar
Mn	: Mangan
Mg	: Magnezyum
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
MPO	: Miyeloperoksidaz enzimi
Nc	: Neokuproin
NÇ	: Nano çiçek
NH ₂	: Amin
NH ₂ Cl	: Monokloramin
NK	: Nanokompozit
nm	: Nanometre
NO	: Nitrik oksit radikali
NP	: Nanopartikül
Nrf 2	: Nuclear factor erythroid 2
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PMNL	: Polimorfonükleer lökosit
RA	: Relative activity
RCT	: Rolling Circle Transcription
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SO ₃ H	: Sülfonik asit
SOD	: Süperoksit dismutaz
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
TauBr	: Taurin bromamin

TauCl	: Taurin kloramin
TauCl ₂	: Taurin dikloramin
VLDL	: Very low density lipoprotein
XRD	: X-ışını kırınım yöntemi
Zn	: Çinko



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Nanoçiçek Yapısı.....	7
Şekil 2.	Çiçek şekilli BSA-Cu ⁺² enzim-inorganik hibrit yapının oluşum mekanizması	10
Şekil 3.	Taurinin kimyasal formülü ve 3 boyutlu yapısı	11
Şekil 4.	Sisteinden taurin sentezi	12
Şekil 5.	Taurinin antioksidan ağ ile ilişkisi.....	13
Şekil 6.	a) ÇŞNK sentez çözeltileri b) Taurin-Fe ⁺² ÇŞNK.....	28
Şekil 7.	Guaiakol substratının oksitlenmesi.....	30
Şekil 8.	Taurin-metal ÇŞNK SEM görüntüleri.....	32
Şekil 9.	Taurin-Cu ⁺² hibrit ÇŞNK farklı pH aralığında zeta potansiyel değerleri	34
Şekil 10.	Taurin(0,02 mg/ml) -Cu ⁺² hibrit ÇŞNK'ların SEM görüntüsü.....	35
Şekil 11.	Taurin(0,02 mg/ml) -Cu ⁺² hibrit ÇŞNK'ların SEM görüntüsü.....	35
Şekil 12.	72 saatlik inkübasyon sonucu oluşan nano yapının EDX analizi.....	36
Şekil 13.	72 saatlik inkübasyon sonucu oluşan Taurin-Cu ⁺² ÇŞNK'ların XRD analizi.....	36
Şekil 14.	Serbest Taurin FTIR Analizi	37
Şekil 15.	Taurin-Cu ⁺² ÇŞNK'ların FTIR Analizi	37
Şekil 16.	Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile serbest taurin ve taurin ÇŞNK'ların antimikrobiyal aktivitelerinin test edilmesi.....	39
Şekil 17.	Taurin-Cu ⁺² ÇŞNK katalitik aktivite grafiği.....	40
Şekil 18.	DPPH Testi.....	41
Şekil 19:	Gallik Asitin değişen konsantrasyonlardaki yüzde inhibisyon değerleri.....	41
Şekil 20.	Taurin ve Taurin ÇŞNK'nın yüzde inhibisyon sonucu	42
Şekil 21.	Troloks Cuprak Testi Absorbans Grafiği	42
Şekil 22:	Taurin-Cu ⁺² ÇŞNK Cuprak Testi Absorbans Grafiği	43

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1:	Taurin ve Taurin-Cu ⁺² ÇŞNK MİK ve MBK Sonuçları.....	38
-----------------	--	----



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde hassas tıbbın artan talepleriyle birlikte kişiselleştirilmiş tedavileri gerçekleştirmede kullanılan çeşitli biyomalzemeleri geliştirmek için büyük çaba sarf edilmiştir. Bu bağlamda geliştirilen organik-inorganik hibrit nanomalzemeler, bileşenlerin özgün fonksiyonlarını bir hibrit sisteme entegre etmekle kalmaz, aynı zamanda hibritleşme sırasında nanokompozit, nano partikül, nano fiber, nanotüp gibi yeni nesil biyomalzemelerin oluşmasına ışık tutar. Bu nanoyapılara ek olarak, nano çiçekler sanatsal yapıları ve eşsiz özellikleriyle bilim insanlarının dikkatini çekmiştir (Liu ve ark., 2019).

Hibrit yapılar; genellikle organik ve inorganik olmak üzere kimyasal açıdan farklı bileşenlerin fiziksel veya daha çok kimyasal etkileşimleri ile elde edilir. Hibrit yapının en önemli avantajlarından biri, farklı bir özelliğe sahip ikinci bir bileşeni, formülasyona basit bir şekilde dahil ederek, bir yapıya birden fazla fonksiyon katmanın mümkün olmasıdır. Hem organik hem de inorganik maddelerden gelen farklı özellikler birleştirilebilir. Organik-inorganik hibrit yapılar çok işlevli özellikler ortaya koyar ve saf bileşenlerine kıyasla ender ve üstün özellikler gösterir. Bu sayede birçok biyomedikal alanda uygulamaları mevcuttur (Karahasanoğlu, 2015).

Hibrit malzemeler oluşum süreçlerine göre nanokompozit gibi pek çok şekilde elde edilebilirler. Nanoteknolojik biyomalzemelerde; nanokompozitler geniş bir yer tutmuştur. Nanokompozit; yapısındaki fazlardan en az biri nano boyutta olan çok fazlı bileşiktir (Sanchez ve ark., 2005).

Nanoçiçekler, kolay hazırlama yöntemleri, yüksek stabilite ve yüksek verim özellikleri ile dikkat çeken yeni geliştirilmiş bir nanopartikül sınıfıdır. Nanoçiçekler petallerinin yüksek yüzey-hacim oranları sayesinde yüzey adsorpsiyonlarını artırarak reaksiyon kinetiğini hızlandırır (Lee ve ark., 2015; Shende ve ark., 2018).

Taurin metiyonin ve sistein metabolizmasından türeyen ve vücutta doğal olarak bulunan bir aminoasittir (Chesney, 1985). Kimyasal yapı farklılığı ve protein sentezine katılmamasıyla amino asitlerin karakteristik özelliklerini taşımayan taurin, vücutta aminoasit metabolizmasıyla üretilmesinden dolayı bilimsel literatürde sıkça amino asit olarak bahsedilir (Kendler, 1989). Taurin doğal bir antioksidan olarak kabul edilir, antioksidan aktivitesi birçok çalışmayla gösterilmiştir (Aruoma ve ark., 1988; Green ve ark., 1991; Huxtable, 1992; Birdsall, 1998; Mankovskaya ve ark., 2000; Schuller-Levis ve Park, 2003; Schaffer ve ark., 2009; Jong ve ark., 2012).

Son zamanlarda, geleneksel yöntemlerin sınırlandırmalarının üstesinden gelmede, hibrit nanomalzemelerin kolay ve güvenli sentezi için yeni bir yaklaşım geliştirilmiştir. Bu yaklaşımda; protein benzeri biyomoleküllerin metal iyon çözeltisine eklenmesiyle kolay bir şekilde hibrit nanomalzeme üretilmiştir (Sanchez ve ark., 2005).

Tez çalışmasında ilk kez taurin temelli organik-inorganik çiçek şekilli nanokompozitler (ÇŞNK) sentezlenerek, nanokompozitin inorganik bileşenleri olan metal iyonlarının (Cu^{+2} , Fe^{+2} , Fe^{+3}) nanokompozit oluşumuna ve bu oluşumların morfolojisine etkileri sistematik olarak incelenecektir. Taurin yapısındaki amin ($-\text{NH}_2$) ve sülfonik asit ($-\text{SO}_3\text{H}$) gibi fonksiyonel gruplar, taurinin birçok metal iyonu ile etkileşimine olanak sağlayacaktır. Bu etkileşim sonucu oluşan taurin ve metal iyonundan oluşan nanokompozitlerdeki; metal türü, bağlandığı fonksiyonel grup, pH değeri, taurin ve metal iyonları konsantrasyonlarına göre morfolojisi incelenecektir. Taurinin doğal antioksidan olarak kabul görmesiyle, özellikle kemoterapi sonucu vücutta yüksek oranda oluşan radikallerin taurin ile kontrol edilmesi ya da bastırılması son zamanlarda taurin üzerine çalışmaları hızlandırmıştır. Sonuç olarak, taurin ile metal iyonu etkileşmesiyle ideal morfolojiye sahip organik-inorganik temelli çiçek şekilli nanokompozitler belirlenecek.

Enzimlerin katalitik özgüllüğünü ve verimliliğini taklit eden nanomoleküler sistemlerin tasarımı ve oluşturulması son yıllarda büyük ilgi konusu olmuştur (Mikolajczak ve ark., 2017). Nanokompozitler hidrojen peroksit (H_2O_2) varlığında etkin bir Fenton ajanı gibi davrandığından, peroksidaz benzeri katalitik aktivite performansları incelenecektir. Fenton benzeri reaksiyon mekanizmasının genel prensibinde, H_2O_2 nanokompozit yapısındaki Cu^{+2} ile reaksiyona girerek indirgenir ve reaktif hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$)

oluşur. Bu serbest haldeki OH^- radikali substratın oksidasyonunu başlatır ve peroksidaz enzimi benzeri aktivite gözlenir.

Yapılan literatür araştırmasında taurinin antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar özelliklerinin olduğu görülmüştür (Wright ve ark., 1986; Huxtable, 1992; Timbrell ve ark., 1995; Birdsall, 1998; Schuller-Levis ve Park, 2003; Jong ve ark., 2012; Marcinkiewicz ve Kontny, 2014). Bu tez çalışması kapsamında ilk kez taurin ve Fe^{+2} , Fe^{+3} , Cu^{+2} metal iyonlarından çiçek şekilli hibrit nanokompozitler oluşturulup gelecek çalışmalar açısından bu yapıların antioksidan, antimikrobiyal ve enzim benzeri aktivite potansiyelleri incelenmiştir. Tez çalışmasındaki sentez ve yapılan uygulamalar literatürde olmayan bir çalışma olup ilk kez bu çalışmada yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Tıp uygulamalarında kullanılmak üzere çeşitli nanoteknolojik biyomalzemeler geliştirilmiştir. Bileşenlerin kendine has özellikleri, nano dolgu maddesinin miktarı ve dağılım durumu gibi parametreler nanomalzemelerin özelliklerini güçlü bir şekilde etkiler. Nano-biyomalzemeler hazırlanma açısından; immobilizasyon, konjugasyon, çapraz bağlama ve kendi kendine kurulum gibi yöntemlerle dört kategoride sınıflandırılabilir. Nano-biyomalzemeler kataliz, biyosensörler ve ilaç dağıtımı gibi birçok potansiyel uygulamaya sahiptir (Bordes ve ark., 2009).

Nanoparçacıklar için, birim hacim başına yüzey alanı çapla ters orantılıdır; çap ne kadar küçük olursa, birim hacim başına yüzey alanı o kadar büyük olur. Nanomalzemeler genellikle yapısal geometrileri ile temsil edilir (Zeng ve Xia, 2012).

Nanokompozit, bir matris malzemenin (ana malzeme) içine eklenmiş nanometre ölçeğinde en az bir parçacık içeren, bir, iki veya üç fazdan oluşan yeni bir kompozit kategorisi olarak tanımlanır. (Öztürk-Düşkünkorur MH, 2012)

2.1. Organik-İnorganik Nano Hibrit Yapılar

Farklı inorganik ve organik bileşenlerin uygun işlem yöntemleriyle kombine edilmesiyle, elektriksel, optik, biyomedikal, yapısal veya ilgili uygulamalar için yeni özellikler kazanılarak farklı türlerde hibrit malzemeler geliştirilebilir. Hibrit yapılar; genellikle, kimyasal açıdan farklı organik ve inorganik bileşenlerin kimyasal etkileşimleri ile elde edilir. Hibrit malzemelerin inorganik bileşeninin kökeni ve kimyasal yapısı, organik bileşenleri aynı olan nihai hibrit malzemenin özellikleri ve iyi tanımlanmasında büyük öneme sahiptir. Başta metaller, metal oksitler, alaşımlar, seramik ve kil olmak üzere hibrit malzemelerin inorganik bileşeni olarak kullanılan çok çeşitli inorganik yapı vardır. Hibrit yapı sayesinde, farklı bir özelliğe sahip ikinci bir bileşen, formülasyona basit şekilde dahil edilerek, bir yapıya birden fazla fonksiyon katmak mümkün olur. Organik-inorganik hibrit yapılar çok işlevli özellikler ortaya

koyar ve saf bileşenlerine kıyasla ender ve üstün özellikler gösterir (Sanchez ve ark., 2005; Karahasanoğlu, 2015).

Organik-inorganik hibritlerin en belirgin avantajı, organik ve inorganik bileşenlerin mekanik mukavemet ve termal stabilite özellikleri ile organik polimer bir matrisin esneklik ve işlenebilirlik gibi genellikle birbirinden farklı özelliklerini bir malzemede olumlu bir şekilde birleştirebilmeleridir. Hibrit malzemeler, nanometre seviyelerinde bile yüksek tahminli moleküler tasarımı gerçekleştirme olanağı sağlar. Tamamen yeni bir malzeme geliştirmek yerine, hibrit malzemenin bileşenlerini moleküler ölçekte kontrol ederek, malzeme özelliklerinde uygun bir iyileştirme elde etmek mümkündür. Nihai hibrit malzemelerin özellikleri sadece inorganik ve organik bileşenin özellikleri ile değil aynı zamanda faz morfolojisi ve bileşenler arasındaki ara yüzey bölgesi tarafından da belirlenir. Tıbbi malzemeler aynı zamanda hibrit malzemelerin tipik bir uygulama alanıdır, çünkü mekanik özellikleri biyouyumluluklarıyla birlikte tasarlanabildiğinden, işlevsel organik moleküller ve biyomoleküller, inorganik bir matris içine sokulduğunda genellikle daha iyi stabilite ve performans gösterirler (Kickelbick, 2007; Ivashchenko ve ark., 2015).

Nano hibrit yapılarının başlıca türleri bakır, kalsiyum, mangan, protein ve kapsül hibrit yapılarıdır (Yao ve ark., 2010; Lee ve ark., 2015; Chung ve ark., 2016).

2.2. Organik-İnorganik Hibrit Nanoçiçeklerin Yapısal Özellikleri

Nano çiçekler (NÇ), 100-500 nm'lik bir nano ölçekte, bitki çiçeklerine yapısal benzerlik gösteren, nano hibrit yapısında nano malzeme grubundadır. Bu çiçek şeklindeki hibrit yapılar mikrometre boyutunda oldukları halde yaprakları nano boyutta olduğundan nano ön ekiyle isimlendirilirler. Metal iyonları gibi inorganik ve çeşitli organik bileşenler NÇ'ye kendiliğinden monte edilmiştir (Lee ve ark., 2015; Shende ve ark., 2018).

Organik bileşen; esas olarak protein, peptid, aminoasitten DNA/RNA'ya kadar değişen biyomolekülleri ifade eder. Lakkaz, lipaz, tripsin, katalaz gibi enzimler, BSA (sığır serum albümin)-aptameri, lisin, sistein gibi aminoasitler ve kitosan, sitokrom c gibi diğer başka biyomoleküller organik bileşeni oluşturabilir. İnorganik bileşen olarak ise yaygın olarak Bakır (Cu^{+2}) ve Kalsiyum (Ca^{+2}) iyonları protein-inorganik hibrit nanoçiçek hazırlanmasında kullanılır. Bu bağlamda yapılan çalışmalarda inorganik

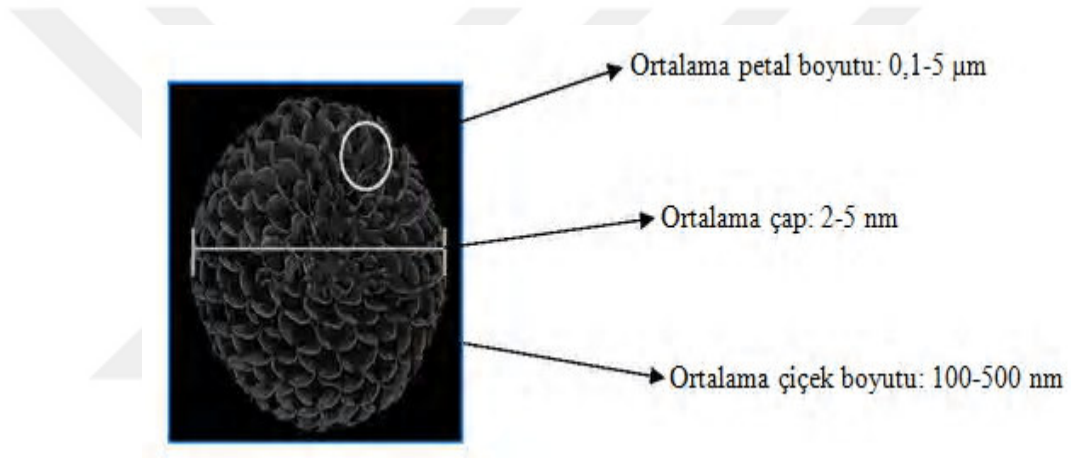
bileşen olarak bakır kullanıldığında organik kısım için; lakkaz, laktalbumin, karbonik anhidraz, lipaz, glikoz oksidaz, tripsin, HRP (horseradish peroksidaz), inorganik kısım olarak kalsiyum seçildiğinde; amilaz ve HRP gibi organik moleküllerle nanoçiçekler sentezlenmiştir (Ge ve ark., 2012; Wang ve ark., 2013; Zhu ve ark., 2013; Wang ve ark., 2014; Lin ve ark., 2014; Sun ve ark., 2014). Zhu ve arkadaşları lakkaz ve bakırdan nanoçiçek sentezleyerek bu hibrit nanoçiçeğin adsorbe olduğu şırınga filtresi içeren basitleştirilmiş bir fenol detektörü geliştirmiştir. Geliştirilen yöntemin tespit oranı önceden var olan gaz kromatografisi ve sıvı kromatografisinden daha hızlı bulunmuştur. Bu yöntem ayrıca, partiküldeki enzimin yüksek stabilitesine bağlı olarak temizleme yoluyla filtrenin yaklaşık 1 ay boyunca tekrar kullanılmasını kolaylaştırmıştır (Zhu ve ark., 2013). Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; kalsiyum fosfat kristalleri ve α -amilaz kullanılarak nanoçiçek sentezlenmiş, enzim immobilizasyon prosedürü nedeniyle aktivitenin nasıl arttığına dair bir varsayım sunulmuştur. Deneyde kullanılan α -amilaz allosterik olayları gösteren bir enzimdir. α -amilazlar, kalsiyum iyonlarının yokluğunda, fonksiyonel bölge inhibe edildiğinden genellikle inaktif durumdadır. Buna karşılık, kalsiyum iyonlarının varlığında ise, α -amilazın allosterik bölgeleri kalsiyum iyonu tarafından işgal edilir, böylece fonksiyonel bölgenin yapısı etkilenir. Sentez aşamasında, kalsiyum iyonları aktive olur ve α -amilaza kuvvetle bağlanır. İki element, hibrit nanoçiçek oluşumu sırasında birbirine yakın olduğu için, α -amilaz, kalsiyum iyonları tarafından rastgele ve kısa süre için aktive olan serbest enzimden daha uzun bir süre boyunca aktive olur. Böylece Wang ve ark. proteinin belirli bir ortamda işlevselliğinin geliştirilmesi için protein ve nanomalzemeler arasındaki kimyasal etkileşimin anlaşılmasının gerekli olduğunu göstermiştir (Wang ve ark., 2013).

Hibrit nanoçiçek oluşumunun mekanizması, esas olarak iki değerli metal iyonları ve biyomoleküllerin amin grupları arasındaki etkileşime dayanır. Bu nedenle, Mangan (Mn^{+2}), Magnezyum (Mg^{+2}), Çinko (Zn^{+2}), Demir (Fe^{+2}), Kobalt (Co^{+2}) gibi diğer iki değerli metal iyonları da organik-inorganik hibrit nano çiçekleri hazırlamak için kullanılmıştır. Bununla birlikte, iki değerli metal iyonlarının seçilmesinin, organik-inorganik nano hibridde kapsülleme verimini (encapsulation yield, EY) ve enzimin nispi aktivitesini (relative activity, RA) etkileyebileceği belirtilmektedir (Coutinho ve ark., 2018; Park ve ark., 2018). Lakkaz gibi protein yapısındaki biyomoleküller için, NÇ

içindeki Cu^{+2} iyonunun lakkaz- Cu^{+2} nanoçiçeğin aktivitesini serbest lakkaza göre 2,3 kat artırdığı görülmüştür (Patel ve ark., 2019).

Hibrit nanoçiçekler, şekil, boyut, protein/toplam ağırlık oranı, metal iyonu ve biyomolekül türü ve serbest enziminki ile karşılaştırıldığında enzim verimliliği gibi özelliklere göre sınıflandırılabilir.

Nano çiçekler, kataliz, biyosensörler ve ilaçların verilmesi gibi çoklu uygulamalar için küçük bir yapıda daha büyük bir yüzey alanını kapsayan birkaç yaprak katmanından oluşur (Şekil:1) (Shende ve ark., 2018).



Şekil 1: Nanoçiçek Yapısı (Shende ve ark., 2018)

Hibrit nanoçiçeklerin boyutu; protein konsantrasyonuna bağlı olarak değişmekle birlikte, varyasyon aralığı dardır (yaklaşık $\pm 3 \mu\text{m}$). Bu nedenle, optimize edilmiş, elde edilen verilere göre nanoçiçeklerin ortalama boyutu 2 ila $30 \mu\text{m}$ arasındadır ve gözenek boyutu olarak adlandırılan, petaller arasındaki boşluk yaklaşık $0,1 \mu\text{m}$ 'dir (Lee ve ark., 2015).

Lee ve arkadaşlarının yaptığı termogravimetrik analiz ile NÇ'deki proteinin toplam partiküle oranı belirlendiğinde; %10-66 olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, kapsülleme verimliliği (hareketsizleşmiş proteinin kullanılan toplam protein miktarına oranı) tamamen zıt bir eğilim izler. Sabit bir inorganik bileşene fazla protein eklenmesi, kapsülleme verimliliğinde düşüşe neden olur. Bu nedenle proteini korumak ve iyi bir morfolojide elde edebilmek için uygun miktarda protein seçilmelidir. Hibrit nanoçiçeklerin enzim etkinliği karşılık gelen serbest enzimler ile karşılaştırıldığında,

hibrit nanoçiçeklerin enzim etkinliği %85 ile %1000 arasında değişim göstermiştir (Lee ve ark., 2015).

Nanoçiçekler güzel estetiğinin ötesinde, basit hazırlama yöntemleri, yüksek stabilite, yüksek verim ve mükemmel katalitik aktivite gibi benzersiz özellikleriyle dikkat çeken yeni geliştirilmiş bir nanopartikül sınıfıdır. Nanoçiçekler petallerinin yüksek yüzey-hacim oranları sayesinde yüzey adsorbsiyonlarını artırarak reaksiyon kinetiğini hızlandırır. Yine geniş yüzey alanı sayesinde daha iyi yük transferi ve taşıyıcı devingenliği gösterir. Bu nedenle, çiçek şeklinde inorganik organik nanomalzemeler kapsamlı şekilde geliştirilerek, çiçek şeklindeki fulleren-karbon nanotüp, katyonik siklodekstrin, kitosan/aljinat bazlı NÇ'den altın/gümüş/platin NÇ, çinko oksit NÇ'ye kadar değişen nanomalzemeler atık su arıtımı, kataliz ve biyosensörler de dâhil olmak üzere birçok alanda yaygın olarak uygulanmaktadır (Luong ve ark., 2019).

Nano çiçeklerin hazırlanması için kullanılan iyonotropik jelleşme, çökeltme ve yeşil sentez gibi sentetik yöntemler basit, toksik olmayan ve uygun maliyetlidir (Wang ve ark., 2014).

Nanoçiçeklerin birçok avantajına rağmen dezavantajları da mevcuttur. Nano çiçeğin yapıları ve boyutları gibi yapısal özelliklerini, reaksiyon sırasında ve tamamlanmasında kontrol etmek çok zordur (Lee ve ark., 2015). Sentetik reaksiyonlarda, nanoçiçekler, toksik elementlerin veya yan ürünlerin oluşabileceği 80-550 °C gibi zor koşullarda hazırlanır. Nano çiçeklerin hazırlanması için hidrotermal yöntem kullanıldığında; iyonotropik jelleşme, çökeltme, yeşil sentez gibi diğer yöntemlere kıyasla yüksek sıcaklık gerektirir. Protein ve peptidin immobilizasyonu nedeniyle, serbest formlara kıyasla terapötik aktiviteleri azalır (Shende ve ark., 2018).

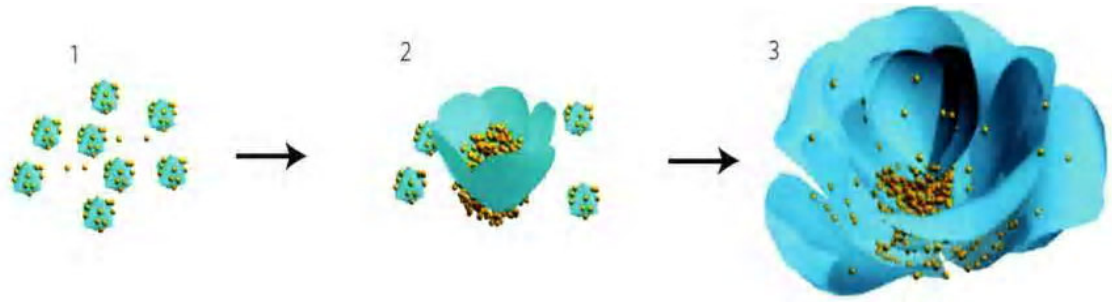
2012'de Zare ve arkadaşları, protein içeren fosfat tamponlu tuz çözeltisine Bakır II Sülfat (CuSO_4) ekleyerek tesadüfen organik-inorganik hibrit nanoçiçek türünü keşfettiler. Bu öncü çalışma, nanoçiçek alanını zenginleştiren yeni protein-inorganik nanohibrit yapıların kapısını açmış oldu. Özellikle, organik bileşen olarak enzim kullanıldığı zaman, gözenekli çiçek benzeri yapılara sahip hibrit malzemenin, fiziksel adsorpsiyon, kovalent bağlanma gibi mevcut stratejilere kıyasla katalitik yetenek, kararlılık ve dayanıklılık sergilediği bulundu (Liu ve ark., 2019). Sentezlenen hibrit

nano çiçeklerin verimi, geleneksel serbest enzim çözeltileriyle aynı veya daha yüksek (%95-650) olduğu görüldü. Artan verim, aşağıdaki faktörlerin etkileşiminden kaynaklanmaktadır: (i) Nano çiçeğin kütle transferi sınırlamalarını engellemeyen geniş yüzey alanı; (ii) Sıkışmış enzim moleküllerinin ortak etkileşimi (iii) metal iyonu içeren nanoçiçeğin mikroortam ve enzimin mutual etkisi (Ge ve ark., 2012).

İlginç bir şekilde aynı sene Hammond ve grubu magnezyum klorür ($MgCl_2$) yardımıyla, çiçek şeklindeki mikro-nanoyapılara kendi kendine monte olan, saf, uzun RNA ipliği üretmek için dönen daire transkripsiyon (Rolling Circle Transcription, RCT) tekniğiyle yeni bir strateji geliştirdi. Bu yeni yöntem yüksek yük kapasitesine sahip RNA'nın ulaştırılması için etkili bir yol sağladı ve aynı zamanda RNA'nın polimer veya lipitler kullanılarak konvansiyonel kapsüllenmesine kıyasla düşük hedef dışı etkilerin, düşük toksisitenin ve yüksek stabilitenin kombine faydasını gösterdi (Hammond ve ark., 2012). Daha sonra, Tan ve grubu, dönen daire amplifikasyonu (Rolling Circle Amplification, RCA) ile üretilen uzun DNA yapı taşları ile çok fonksiyonlu DNA-nanoçiçeklerini hazırlamak için standartların dışında yeni bir kendi kendine oluşum yöntemi bildirdi (Zhu ve ark., 2013). Ayrıca, aptamer, biyo-görüntüleme ajanları ve ilaç yükleme bölgeleri ile entegre olan nanoçiçekler seçici kanser hücresi tanıma, biyolojik görüntüleme ve hedeflenmiş antikanser ilaç dağıtımını potansiyelleri ile ideal bir örnek oluşturur. Bulunan bu protein-inorganik hibrit nanoçiçek ve çiçek şekilli DNA/RNA nanoyapılar, biyomedikal alanların gereksinimlerini karşılamak üzere çeşitli hibrit nanoçiçek türlerinin keşfedilmesi için ışık tutar (Liu ve ark., 2019).

2.3. Organik-İnorganik Hibrit Nanoçiçeklerin Sentezi

Organik-inorganik çiçek şekilli hibrit nano yapıların üretilmesine olanak sağlayan yeni nesil immobilizasyon tekniği yakın zamanda Dr. Zare ve grubu (Stanford Üni. ABD) tarafından bulunurken, Dr. Öçsoy ve ekibi tarafından ise geliştirilmiştir (Erciyes Üni. Türkiye, Öçsoy 2015; Altınkaynak, 2016). Zare ve grubu inorganik bileşen olarak Cu^{+2} iyonu, organik bileşen olarak ise çeşitli protein ve enzimleri (lakkaz, lipaz, laktalbumin, karbonik anhidraz ve BSA) kullanarak nano yapraklardan meydana gelen çiçek benzeri protein-inorganik hibrit nano yapıların oluşumunu göstermişlerdir. Bu nanoçiçek yapısının sentezi Şekil 2' de görüldüğü gibi temel olarak üç aşamada gerçekleşir (Ge ve ark., 2012).



Şekil 2. Çiçek şekilli BSA-Cu⁺² enzim-inorganik hibrit yapının oluşum mekanizması (1) Çekirdeklenme ve ilk Kristal oluşması; (2) kristallerin büyümesi; (3) çiçek şekilli nano yapının oluşumu (Ge ve ark., 2012)

Birinci basamak (çekirdeklenme ve ilk kristallerin oluşması): Erken büyüme aşamasında primer bakır fosfat (Cu₃(PO₄)₂) kristalleri oluşur. Bu aşamada, organik moleküller (protein), protein yapısındaki amin gruplarının Cu⁺² iyonlarıyla koordinasyonundan dolayı kompleksler meydana getirir. Birincil kristallerin çekirdeklenme bölgelerini meydana gelen kompleksler oluşturur. Proteindeki bağlanma bölgeleri, biyo-mineralizasyon işleminin başladığı ve metal iyonunun enzimlerin aktivitesi üzerindeki etkisini açıkladığı varsayılan çekirdeklenme noktaları olarak düşünülebilir (Ge ve ark., 2012).

Protein aynı zamanda nanoçiçeğin plaka benzeri bir morfolojisini korumasına yardımcı olan bir kaplama ajanı olarak hareket eder (Liu ve ark., 2019).

İkinci basamak (kristallerin büyümesi): Büyüme evresinde, primer kristaller ve protein iri aglomeratlar oluşturur. Bakır fosfat kristallerinin kinetik olarak kontrol edilen büyümesi, agregatların yüzeyindeki Cu⁺² bağlanma bölgelerine sahip yüzeylerden kaynaklanır. Böylece primer yapraklar oluşup embriyoda görünmeye başlar.

Son basamak (çiçek şekilli nano yapının oluşumu): Son adımdaki anizotropik büyüme, dallanmış çiçekbenzeri yapı oluşumunun tamamlanmasıyla sonlanır. Bu büyüme aşamasında, protein; petallerin iskelesini oluşturmak amacıyla Cu₃(PO₄)₂ kristallerinin çekirdeklenmesini uyarır ve petalleri birleştirmek için bir “tutkal” görevi görür. Nano boyutlu petaller birbirine bağlanarak çiçek benzeri yapılar meydana gelir. Bu yüzden sentezlenen yapılar “Çiçek Şekilli Hibrit Yapılar” (Flower-Like Hybrid structures) olarak literatüre geçmiştir. Proteinlerin yokluğunda, büyük kristaller oluşur,

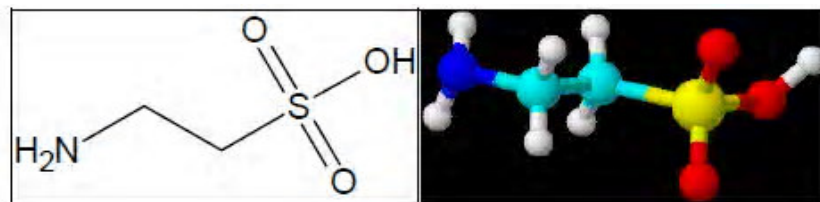
ancak nano-çiçek oluşmaz. Protein yoğunluğu fazla olduğunda ise birincil partikül partikül konsantrasyonunun artmasıyla difüzyon etkisi azalır ve nanoçiçekler küçük tomurcuk halinde kalır. Bu yüzden sentez aşamasında protein konsantrasyonu önemlidir.

Protein-inorganik hibrit nano çiçeğin sentezinde, ideal nano çiçek büyüklüğünü elde etmek için zaman, sıcaklık, pH ve her bileşenin (protein, Cu^{+2} , klorür iyonları) konsantrasyonu dahil olmak üzere sentetik koşulların optimize edilmesi gerekir. Örneğin, $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ BSA kullanıldığında küçük tomurcuklar görülürken, $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$ ve $0,02 \text{ mg mL}^{-1}$ BSA ile; büyük boyutlu neredeyse çiçek açan çiçekler ortaya çıkar. Bu bulgu, yüksek protein konsantrasyonunun, sıkı bir şekilde birbirine yapışabilen ve nano çiçeğin büyümesini sınırlayan oldukça büyük petal ve protein aglomeratları üretebileceği gerçeğini ortaya koyabilir (Ge ve ark., 2012).

Şu anda, organik bileşenin inorganik partikül yüzeyine hangi yoğunlukta ve nasıl bağlanacağı, nereye yerleşeceği ve sentez süresince konformasyon değişiminin olup olmayacağı açık değildir (Zeng ve Xia, 2012).

2.4. TAURİN

Taurin (2-aminoetansülfonik asit; $\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$), metiyonin ve sistein metabolizmasından türeyen ve vücutta doğal olarak bulunan yarı esansiyel bir amino asittir. Diğer amino asitlerden farkı; yapısında karboksil grubu ($-\text{COOH}$) yerine sülfonik asit grubu ($-\text{SO}_3\text{H}$) bulunur (Huxtable, 1992; Birdsall, 1998). Bu yönüyle biyokimyasal açıdan amino asit tanımına tam anlamıyla uymamaktadır. Kimyasal yapısı “ $\text{H}-\text{SO}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ ” şeklindedir (Şekil 3) (Chesney, 1985).

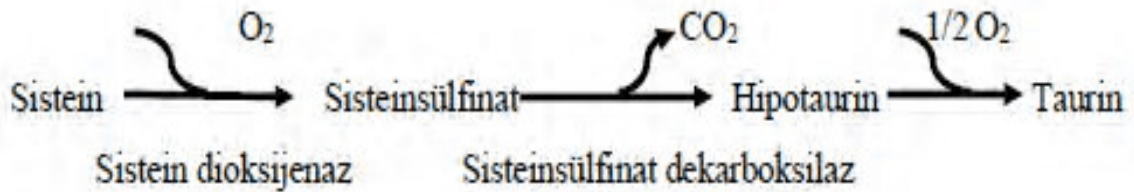


Şekil 3: Taurinin kimyasal formülü ve 3 boyutlu yapısı

İlk defa 1827’de Leopold Gmelin ve Friedrich Tiedemann tarafından öküz safrasından elde edilip saflaştırılan taurin; öküz anlamına gelen Taurus olarak adlandırıldı. Literatürde ise 1838 yılında von H. Demarcay tarafından bugünkü adıyla kullanıldı (Demarcay, 1838). Taurin 125,14 g/mol (dalton) molekül ağırlığında, renksiz, suda çözünebilen ve kükürt içeren yarı esansiyel bir beta amino asittir (Kendler, 1989). Amino sülfonik asit olarak da adlandırılan taurin vücutta olduğu bilinen tek sülfonik asittir. Sülfonik aminoasitlerin %99’u geri emilirken, taurinin %40-90’ı geri emilmediğinden taurin insanlar için tek üriner aminoasittir (Roy, 1998). Taurin bakterilerde çok az bulunan, alg ve memelilerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan bir aminoasittir (Huxtable, 1992).

2.4.1.Taurinin Biyosentezi

Taurinin hücre içi konsantrasyonu; piridoksin (vitamin B6) varlığında metionin ve sisteinden de novo sentez yoluyla, dışardan diyetle alım ve böbrekten geri emilimi ile sağlanmaktadır. Metiyonin ve sistein gibi sülfür içeren aminoasitlerin metabolizmasının son ürünü olan taurin başlıca karaciğerde olmakla birlikte böbrek, astrositler ve testiste de sentezlenebilmektedir. Canlıdaki taurin havuzu diyetle alınan kükürtlü aminoasitlerin endojen metabolizması ile belirlenir. Sisteinden taurin sentezinde, öncelikle sistein sistein sülfonik aside (sistein sülfinat) oksitlenir ve sistein sülfinat da dekarboksilasyon ile hipotaurine dönüşür. Son aşamada ise, hipotaurin dehidrojenaz enzimi aracılığıyla taurini oluşturur (Şekil 4). Bu mekanizmadan dolayı, sistein sülfinat dekarboksilaz enzim aktivitesinin, hücredeki taurin kapasitesini yansıttığına dair bir kanı vardır (Wright ve ark., 1986; Tappaz, 2004).



Şekil 4: Sisteinden taurin sentezi

Taurinin biyosentezinde görev alan başlıca enzimlerden biri olan sisteinsülfinat dekarboksilaz (CSD) hız kısıtlayıcı basamağı katalizler. Taurin sentezindeki görevli tüm

enzimler kofaktör olarak B6 vitamininin aktif koenzim formu olan pridoksal-5-fosfata ihtiyaç duyarlar. Bu yüzden B6 vitamini, metiyonin ve diyetle alınan proteinin azalması taurin biyosentezini eksikliğe uğratabilir (Lahdesmaki, 1987).

Taurinin biyosentezi insanda azdır; buna bağlı insanlar için majör kaynak diyetle alınan taurindir. Diyetle alınan taurinin absorpsiyonu daha çok, enterositlerde bulunan özel taşıyıcılarla olmaktadır. Az bir kısmı ise pasif difüzyonla emilir. Taurin safra tuzlarıyla taurokolat bileşiklerini oluşturarak ya da idrarla değişmeden vücuttan atılmaktadır (Huxtable, 1992).

2.4.2. Taurinin Kimyasal ve Biyokimyasal Özellikleri

Taurin safra asitlerinin ana bileşenlerinden olan bir organik asittir. Biyolojik açıdan inertsdir. Taurin içeren küçük polipeptidler vardır ancak şimdiye dek taurini tanıyarak tRNA'yla bağlayan bir amino açıl tRNA sentetaz bulunamamıştır. Bu yüzden protein sentezinde taurin kullanılmaz, hücrelerde serbest halde bulunur veya bazı polipeptitlerin yapısına katılır (Lahdesmaki, 1987).

Taurin hayvan dokularında yüksek konsantrasyonda bulunur. Kalp 25-30 mM, akciğer 11-17 mM, nötrofil 50-60 mM, retina 50-70 mM düzeyde taurin içerir. Plazma, serebrospinal sıvı, ekstrasellüler sıvı gibi vücut sıvıları ise 10-100 μ M arasında, düşük oranda taurin içermektedir (Green ve ark., 1991). Taurini oksitleyebilme yeteneğine sahip olmadıkları için, ökaryotlarda taurinin ileri metabolizması yoktur ve enerji kaynağı olarak kullanılmaz. Bakteriler ise taurini, kükürt, azot, karbon ve enerji kaynağı olarak kullanmaktadırlar (Han ve ark., 2006).

Sudaki çözünürlüğü yüksek olan taurinin yağdaki çözünürlüğü zayıftır; bundan dolayı biyolojik membrandan çeşitli taşıyıcılar aracılığıyla geçer. Taurinin yağda çözünürlüğünün düşük olması ile hücre dışına kolaylıkla çıkamaz. Bu yüzden hücre dışına göre hücre içinde daha yüksek konsantrasyonda tutulur (Birdsall, 1998).

Taurin memeli dokuların temel hücre içi aminoasitidir ve genellikle milimolar konsantrasyonlarda bulunur. Memelilerin tüm dokularında bulunur ancak retina, lökositler, trombositler, beyin, kalp, iskelet kası ve karaciğer gibi aşırı miktarda serbest radikal üreten dokularda daha yüksek miktarda bulunur. İnsanın toplam vücut

ağırlığının %0,1'ini oluşturur. Kan plazması, ekstrasellüler sıvı ve serebrospinal sıvı gibi vücut sıvılarında derişimi düşükken, hücrelerin sitozollerindeki derişimi yüksektir (Schuller-Levis ve Park, 2003). Hücrelerde bulunan taurin, peptit ve proteinlere bağlı olmadığından, protein ve peptitlerin parçalanması, taurinin hücre içi miktarını etkilemez. Ancak travma veya radyasyon gibi durumlarda taurinin hücre içi miktarı değişir (Karafakıoğlu, 2010).

Hayvansal gıdalar taurin bakımından zenginken, bitkisel gıdalar taurin içermezler. Bu sebeple vejeteryanlardaki taurin alımı düşüktür, plazma taurin derişimleri olması gereken değerin çok altındadır. Taurin yenidoğanlarda ve kedilerde esansiyel bir amino asittir (Russell ve ark., 1977). Yenidoğanın enzim sistemleri henüz tam olarak gelişmediğinden taurin sentezleme yeteneği sınırlıdır ve böbrekleri taurini tutacak şekilde gelişmemiştir (Lourenco ve Camilo, 2002).

Taurinin safra ve idrarla olmak üzere iki yolla vücuttan atılır. Dokuların ihtiyacı olan taurinin sağlanması için, taurinin atılımı ve geriemiimi böbrek tarafından kontrol edilmektedir (Schuller-Levis ve Park, 2004).

Taurinin hayvanların neredeyse tüm dokularında mevcut olması, protein sentezinde kullanılmaması, aminoasit havuzunun büyük bir kısmını oluşturması taurinin hayvanlarda çok önemli işlevleri olduğunu desteklemektedir (Gordon ve Heler 1992; Timbrel ve ark. 1995).

2.4.3. Taurinin Etkileri

Taurin; fizyolojik ve biyokimyasal işlevleri çok olan fonksiyonel bir aminoasittir. Klinik ve deneysel çalışmalarda; osmoregülasyon (Thurston ve ark., 1980), santral sinir sistemi işlevlerinin düzenlenmesi (Kuriyama, 1980), hücre zarının stabilizasyonu (Pasantes-Morales ve ark., 1985), retinal fonksiyonların düzenlenmesi (Sturman, 1986), antioksidan aktivite, bağışıklık, kolesterol atılımı, safra asidi konjugasyonu, hipoglisemi, iyon transportu, hücre proliferasyonu, kan basıncının düzenlenmesi gibi etkileri bulunmuştur (Chesney, 1985; Huxtable, 1992). Ayrıca birçok çalışma konjestif kalp yetmezliği (Azuma ve ark., 1983), karaciğer hastalığı (Colombo ve ark., 1990), hiperlipidemi (Mochizuki ve ark., 2001) ve epilepsiye (Marchesi ve ark., 1975) karşı

taurinin farmakolojik işlevlerini belgelemiştir. Antioksidan aktivite ve apoptozun yavaşlaması taurinin hücre koruyucu etkisi açısından çok önemlidir (Marcinkiewicz ve Kontny, 2014).

Karaciğerde taurin safra asitleri ile konjuge olur ve aminoasit konjugatlarına dönüşür. Bu konjugatlara safra tuzları denir, yağ ve yağda çözünen vitaminlerin emiliminde görev alırlar (Colombo ve ark., 1990). Yapılan deneylerde taurin konjugasyonu sonucunda kolesterolün çözünürlüğünde büyük bir yükselme olmuştur. Deneyler sonucunda taurin uygulanan grupta plasebo grubuna göre LDL (Low Density Lipoprotein) ve serum total kolesterolde azalma olduğu görülmüştür (Birdsall, 1998).

Taurin; inflamasyon sonucu oluşan doku hasarına karşı koruyucu olarak görev yapar. Akut inflamasyon, hasarlı hücre veya kanser hücreleri, patojenler ve tahriş edici maddeler gibi zararlı uyaranlara karşı dokuların fizyolojik tepkisidir. Akut inflamasyonda rol oynayan ana hücreler nötrofillerdir. Nötrofillerin granüllerinde bulunan miyeloperoksidaz enzimi (MPO); hidrojen peroksiti (H_2O_2) kullanarak, kloru oksitleyip hipokloröz asite (HOCl), bromu oksitleyip hipobromöz asite (HOBr) dönüştürür (Özelçi-Kavas, 1994). HOCl ve HOBr doğal immünitenin bileşenleridir ve oksidasyon potansiyellerini kullanarak patojenleri öldürüp, konakçıyı enfeksiyondan korurlar. Taurin inflamasyon bölgesinde, makroaj ve nötrofillerden açığa çıkan HOCl ve HOBr ile reaksiyona girer. Bu reaksiyon daha az toksik taurin kloramin (TauCl) ve taurin bromamin (TauBr) oluşumu ile sonuçlanır. Taurinin antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etkisi oluşan bu haloaminlerden ileri gelir (Marcinkiewicz ve Kontny, 2014). Bu haloaminler aynı zamanda inflamasyon yanıtın oluşmasına aracılık eden sitokinlerin aktivitesini de düzenler (Gökçe ve ark., 2007).

Taurinin, kalp, trombositler ve vasküler düz kas hücrelerinde kalsiyum seviyelerini modüle ettiği görülmüştür (Takahara ve ark., 1985).

Dayanıklılık egzersizi öncesi taurin takviyesi, plazma kreatinin ve trigliseritlerin seviyelerini düşürdü ve dayanıklılık egzersizi yapan köpeklerin, oksidasyonu en aza indirerek ve taurin durumunu koruyarak taurin takviyesinden fayda sağlanabileceğini gösterdi (Wen ve ark., 2019).

Taurinin antibakteriyel aktivitesinin çok yüksek olduğu ve polimorfonükleer lökositlerde (PMNL) fagositik aktiviteyi artırdığı görülmüştür (Erdamar ve ark., 2007). Taurin; koruyucu bir ajan olarak, çeşitli çevresel toksinler ve ilaca bağı çoklu organ hasarına karşı koruyucudur (Wen ve ark., 2019).

Taurin oftalmolojide onarıcı ve yenileyici bir fonksiyona sahiptir. Kristalin merceğin ozmotik dengesini korur ve merceğin şeffaflığından sorumludur. Taurin eksikliği katarakt oluşumuna neden olabilir. Bazı olumsuz durumlarda; retinanın antioksidan korunması ve akomodasyon spazmının engellenmesini sağlar (Asha ve Devadasan, 2013).

Diyabette taurin kullanımının kandaki artmış glikozu düşürdüğü ve azalan insülin salgısını artırdığı gösterilmiştir (Nandhini ve Anuradha 2002). Diyabetli sıçanlara taurin verildiğinde; kan glutatyon peroksidaz (GPx), eritrosit süperoksit dismutaz, paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinde ve insülin seviyesinde anlamlı bir artış ve buna bağı olarak kan glikozundaki azalma görülmüştür. Taurinin antihiperglisemik etkisinin yanı sıra antioksidan aktivitesiyle, tip 2 diyabette artan oksidatif stresi engellediğinden diyabet tedavisinde kullanılabileceği anlaşılmıştır (Ayvalık, 2006).

Taurinin kan plazmasındaki LDL ve VLDL (very low density lipoprotein) gibi aterojenik lipoproteinlerin seviyesini düşürdüğü görülmüş. Bundan yola çıkarak taurinin koroner kalp hastalığı ve aterosklerozun önlenmesinde kullanılabileceği öne sürülmüştür (Mizushima ve ark., 1996). Petty ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda kolesterolce zengin beslenen tavşanlarda taurinin aterosklerozu engellediğini görülmüştür (Petty ve ark., 1990). Murakami ve arkadaşlarının yaptığı deneylerde 24 hafta süreyle genetik hiperlipidemik tavşanlara taurin verilmesiyle, antiaterosklerotik etkinin oluştuğu görülmüştür. Araştırmacılar bu çalışmalarda gözlenen aterosklerozun inhibe edilmesinin, taurinin antioksidan etkisi ile gerçekleştiğini savunmaktadırlar (Murakami ve ark., 2002).

Taurin lökositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu için, taurin eksikliğinin hücrel bağışıklık fonksiyonlarını etkileyeceği varsayılabilir. Düşük taurin düzeylerinin retinal dejenerasyon, kardiyomiyopati, büyüme ve gelişmenin gecikmesi ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. Yapılan deneylerde, kedilerde uzun süreli taurin eksikliği, önemli

boyutta lökopeni, nötrofillerin solunum burst aktivitesinde (oksidatif patlama; süperoksit anyonu ve hidrojen peroksitin hızlı salınması) azalma, lenf düğümleri ve dalağın B hücrelerinin tükenmesi de dahil olmak üzere bağışıklık sisteminde derin anormalliklere neden olduğu görülmüştür (Schuller-Levis ve ark., 1990). Taurin bağışıklık sisteminde lökositler de dahil olmak üzere hücreleri oksidatif strese karşı korumak için antioksidan olarak önemli bir rol oynar (Schaffer ve ark., 2009).

Taurin eksikliği kalpte, toksik anjiyotensin II dozlarının aracılık ettiği oksidatif hasarı artırdığı John ve çalışma ekibi tarafından ileri sürülmüştür (Jong ve ark., 2012).

2.4.4.Taurinin Antioksidan Aktivitesi

Oksidatif stres, enfeksiyon, akut ve kronik inflamasyon, kanser ve yaşlanma gibi durumlardaki doku hasarından sorumlu olan ana faktördür. İnflamasyon bölgesinde, oksidatif strese esas olarak nötrofil, makrofaj, eozinofil gibi aktive edilmiş lökositler tarafından üretilen Reaktif Oksijen Türleri (ROT) aracılık eder. ROT, konak savunmasında patojenlere karşı görev alır, ancak doku hasarından da sorumludur. Başlıca reaktif oksijen türleri; hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O_2^-), nitrik oksit (NO), hidroksil ($HO^\cdot$), hipokloröz asit (HOCl), singlet oksijen (O_2) radikalleridir. Moleküler oksijenin temel metabolizma fonksiyonlarında indirgenmesiyle ortaya çıkan reaktif oksijen metabolitleri daima zararlı değildir. Süperoksit ve hidrojen peroksit fagositik hücreler aracılığıyla bakterileri yok etmek için kullanılır (Halliwell, 1987). Çeşitli antioksidanlar, oksidan kaynaklı hücre hasarının önlenmesinde ve başta lipidler, proteinler ve DNA gibi yüksek moleküler bileşiklerin oksidatif modifikasyonunun azaltılmasında rol oynar. Antioksidanlar üç mekanizmadan birine etki eder: (1) ROT üretiminin azaltılması, (2) ROT'un nötrleştirilmesi ve (3) ROT'un etkisine müdahale edilmesi (Schaffer, 2009).

Taurinin, özellikle yüksek oksidan seviyelerine maruz kalan dokularda, diğer dokulara göre daha çok bulunması onun oksidatif stresin azaltılmasındaki rolünü düşündürür (Oliveira ve ark., 2010). Taurinin belirlenen en iyi antioksidan etkisi, MPO–halide sistemi tarafından nötrofil infiltrasyonu ve ROT üretimi ile karakterize akut inflamasyonda, üretilen ve son derece toksik bir oksidan olan HOCl ve HOBr'nin nötralizasyonudur. Taurin klorlanmış oksidanlara özellikle HOCl'ye karşı dokuları

olarak, çeşitli hücrelerde hem-oksijenaz-1'in (HO-1) ekspresyonunu in vitro olarak önemli ölçüde arttırmıştır (Kim ve ark., 2010). HO-1 aracılı hem parçalanma ürünleri oksidatif stres ve inflamasyon da dahil olmak üzere önemli biyolojik süreçleri düzenlediğinden, HO-1'in uyarılması doku homeostazında özellikle önemli bir rol oynamaktadır. HO-1, COX-2 ve INOX gibi proinflamatuvar hem proteinlerinin sentezini azaltır. Bu nedenle, inflamasyon bölgesinde, TauCl ve/veya TauBr'nin, oksidatif strese karşı korumak için komşu inaktif hücrelerde HO-1'i indükleyeceği tahmin edilebilir (Marcinkiewicz ve Kontny, 2014).

Taurinin antioksidan etkisinin hepsi HOCl ile ilişkili değildir çünkü bunlar nötrofil içermeyen sistemlerde ortaya çıkabilirler. Her ne kadar taurin, klasik ROT'u doğrudan temizleyemese de, ROT üretiminin etkili bir inhibitörü olduğu öne sürülmüştür. Taurinin dokulardaki antioksidan parametreleri arttırarak da antioksidan etki gösteriyor olabileceğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar tarafından taurinin katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonunu ve aktivitelerini arttırdığı gösterilmiştir (Jang ve ark., 2009).

Aruoma ve ark. (1988), taurinin klasik bir süpürücü ve antioksidan savunmanın klasik bir düzenleyicisi olmadığını göstermiştir. Antioksidan aktivitesinin hipotaurin, sisteamin ve sisteinesülfinik asitten ileri geldiğini belirtmiştir.

Jong ve arkadaşlarının (2012), yaptığı çalışmada, taurinin antioksidan aktivitesinin, mitokondriyal süperoksit oluşumunu azaltmasıyla bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada; izole kardiyomiyositler taurin antagonisti ve taurin transport inhibitörü olan β -alaninle inkübe edilmiştir. β -alanin; taurin faaliyetlerinin bir inhibitörü olarak taurin seviyesini azaltan bir aminoasittir. Bu nedenle, taurin aktivitesinin mekanizmasını anlamak için β -alanin kullanılmıştır. Mitokondriyal oksidatif stresi tespit etmek için genellikle, sitrik asit döngüsünde görev alan bir enzim olan, akonitaz kullanılır. Çünkü oksidanlar akonitazın demir sülfür merkezini tahrip ederek enzimin aktivitesinin inhibisyonuna neden olurlar. β -alanin akonitaz aktivitesini ve oksidatif stresin başka bir belirteci olan glutatyon redoks durumu azaltmıştır. Bu veri β -alanin verilen kardiyomiyosit mitokondrisinin oksidatif strese maruz kaldığını ortaya koymaktadır.

Ricci ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2008), β -alaninin, Elektron Taşıma Sisteminde (ETS) bir tıkanıklık oluşumunu kolaylaştırıp kolaylaştırmayacağını belirlemek için ETS'deki Kompleks I ve Kompleks III aktiviteleri ve hücrelerin oksijen tüketim oranının ölçülmesiyle değerlendirmiştir. ETS'deki tıkanıklık elektronları solunum zincirindeki kompleks I ve III'ten alıcı oksijene yönlendirdiğinden, zararlı oksidanların (süperoksit) üretilmesine neden olabileceği öne sürülmüştür (Turrens, 2007). β -alaninin muamelesiyle Kompleks I ve Kompleks III aktivitesi azalmıştır. ETS aktivitesindeki bozulmanın mitokondriyal solunumdaki azalma ile sonuçlandığı görülmüştür. Bu çalışmanın en önemli gözlemi, β -alanin aracılı taurin tükenmesinin ETS'nin bozulmasına yol açması ve bu durumun da mitokondriyal süperoksit üretimini arttırmasıdır. Taurin ve β -alaninin birlikte uygulanmasıyla, β -alanin aracılı taurin tükenmesi engellenir. Bu sayede elektronların süperoksit üretimine saparak reaktif oksijen türlerini üretmesi yani mitokondriyal fonksiyon bozukluğu engellenmiş olur. Taurin tedavisinin kompleks I ve III faaliyetleri üzerine etkisi olmamasına rağmen, β -alaninin ETS fonksiyonu üzerindeki negatif etkisini bloke eder. Taurin eksikliğinin, ETS bütünlüğündeki bir azalma ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Taurin eksikliğinde solunum zinciri kompleks I alt birimleri olan ND5 ve ND6 seviyelerinde de azalma görülmüştür. ND5 ve ND6 seviyelerindeki azalma, mitokondriyal protein sentezinin düzenlenmesinde taurinin rolünü desteklemektedir (Jong ve ark., 2012).

Taurin eksikliğinde hem kalsiyum aşırı yüküne hem de oksidatif strese bağlı olan mitokondriyal geçirgenlik transisyonunun başlatılmasıyla apoptoz tetiklenebilir (Schaffer ve ark., 2003). Wu ve Prentice'e (2010) göre taurin, bu apoptozu bloke ederek glutamat toksisitesini önler. Bu çalışma hücresel taurin seviyelerinin, taurin eksikliği ile bağlantılı apoptozu neden olan oksidatif stresi azaltmadaki önemini ortaya koymaktadır. Taurin mitokondriyal protein sentezi ve ETS aktivitesinin düzenleyicisi olarak görev alır ve mitokondriyi aşırı süperoksit oluşumuna karşı korur (Jong ve ark., 2012).

Başka bir çalışmaya göre, intragastrik yoldan uygulanan taurin beyinde Süperoksit dismutaz (SOD) ve GPx gibi antioksidan enzim aktivitesini arttırmıştır (Vohra ve Hui, 2001). Tiyoasetamit uygulanan deney hayvanında hasar oluşturulmuş ve taurin verilip GPx aktivitesi ve E vitamini seviyesi yükseltilerek antioksidan aktivite güçlendirilmiştir (Balkan ve ark., 2001).

Wistar sıçanlarına akrilamid uygulanmasıyla, sıçan kan ve dokularında oksidatif strese neden olan malondialdehit artmış, antioksidan etkili glutatyon, süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitesi azalmıştır. Taurin verilmesiyle akrilamidin neden olduğu oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu azalmış sıçan karaciğer ve beyin hücrelerindeki IFN- γ , IL-1 β , TNF- α gibi sitokinlerin seviyesinin düşütüğü görülmüştür (İnce ve ark., 2018).

Streptozotosinle diyabet oluşturulmuş wistar sıçanlarında, diyabete bağlı olarak kalp dokusundaki nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) ve nükleer faktör eritroid 2 (Nrf2) yolları incelenmiştir. Diyabetik sıçanların kalp dokusunda düşen MDA seviyesi ve azalan SOD, Katalaz (CAT) ve GPx aktivitesi taurin tedavisiyle anlamlı şekilde artmıştır. Taurin kalp dokusundaki NF- κ B düzeyini azaltıp, Nrf2' yi artırarak Nrf2/HO-1 yollarını olumlu yönde etkilemiştir (Tuzcu ve ark., 2018).

Metiyoninden türetilen ve proteinojenik olmayan bir aminoasit olan homosistein, proteinlerdeki sistein aminoasitleri arasında disülfid bağları meydana getirerek protein katlanmasını önler ve bu durum Endoplazmik Retikulum (ER) stresine neden olur. Taurin bu ER stresini onararak SOD'un ekstraselüler salınımını düzenler (Franconi ve ark., 2004).

Taurin, hasarlı sinir sisteminde rejenerasyon ve nöroproteksiyona (sinir hücrelerini hasar mekanizmasından koruma) katılır ve kurşun, kadmiyum ve egzersize bağlı oksidatif strese karşı etkili bir antioksidandır. Aynı zamanda kas hasarı ve oksidatif stresin belirteçleri olan sitozolik enzim laktat dehidrojenaz (LDH) ve kreatin kinaz (CK) seviyesini azaltır (Wen ve ark., 2019).

Taurinin inflamasyon, apoptoz ve travmatik beyin hasarında açığa çıkan oksidatif strese karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir (Niu ve ark., 2018).

2.4.5.Taurin Antimikrobiyal Aktivite

İnflamasyon bölgesinde fagositler tarafından üretilen oksidanların mikroplara karşı konak savunmasında yer aldığı bilinmektedir. Bunların arasında, doğal bağışıklığın bileşeni, son derece güçlü mikrobisidal ajanlar olan hipohaloasitler (HOCl, HOBr) bulunur. Makrofaj ve nötrofillerden açığa çıkan HOCl ve HOBr oksidasyon potansiyellerini kullanarak patojenlerin öldürülüp, konakçının enfeksiyondan

korunmasını sağlarlar. Geniş spektrumdaki gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler, virüs, protozoa, maya ve küf mantarları ve solucan larvalarını öldürebilirler. Taurin inflamasyon bölgesinde HOCl ve HOBr ile reaksiyona girer ve daha az toksik taurin kloramin (TauCl) ve taurin bromamin (TauBr) oluşur. MPO-halide sisteminin fizyolojik ürünleri olan TauCl ve TauBr, birçok in vitro deneyde gösterildiği gibi bakterisidal, fungisidal, antiviral ve antiparazitik özellikleri gösterir. Taurinin antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etkisi oluşan bu haloaminlerden ileri gelir (Gottardi ve ark., 2005).

Aktif nötrofillerin ürünü olan TauCl, inflamasyon bölgesinde mikromolar konsantrasyonlara ($<100 \mu\text{M}$) ulaşır. TauCl bu fizyolojik konsantrasyonlarda ve nötr pH'da çok zayıf bir antimikrobiyal aktivite gösterir. Bununla birlikte, tipik enflamatuvar bir ortam olan asidik ortamda (pH 4-6), TauCl 'nin patojenleri öldürme yeteneği, daha güçlü TauCl₂ nin (taurin dikloramin) oluşumuyla önemli ölçüde artar. TauCl₂ muhtemelen bakterilere daha iyi nüfuz etmesi nedeniyle özellikle gram-negatif bakterilere karşı, TauCl'den daha bakterisidaldir. Buna ek olarak, aktif klorun TauCl'den diğer moleküllerin amino gruplarına aktarılması, esas olarak monokloramin (NH₂Cl) oluşumu nedeniyle onun aktivitesini artırır (Gottardi ve ark., 2005). Bununla birlikte endojen TauCl'nin in vivo olarak mikropların öldürülmesine de katkıda bulunup bulunmadığı kanıtlanmamıştır. Öte yandan, eksojen TauCl'nin, insan dokuları tarafından son derece iyi tolere edildiğini kanıtlandı ve %1'lik sulu TauCl çözeltisi, bazı cilt ve mukoza enfeksiyonlarının tedavisinde lokal olarak uygulanabildiği görüldü (Gottardi ve Nagl, 2010).

TauBr, TauCl'nin aksine, nötr pH'da bile çok düşük fizyolojik konsantrasyonlarda ($<10 \mu\text{M}$) bile etkili bir mikrobisidal ajan gibi görünmektedir. Yapılan çalışmalar taurin haloaminlerinin, özellikle TauBr'nin, kronik sinüzit, otitis media, akne vulgaris ve periodontal hastalıklar gibi biyofilm ile ilişkili enfeksiyonların lokal tedavisinde terapi adayları olduğunu göstermektedir. Mikrobik biyofilmler, doğadaki bakteri ve mantarların en yaygın büyüme şeklidir (Marcinkiewicz ve Kontny, 2014).

Yapılan çalışmalarda TauCl'nin *S. Aureus*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. Aureginosa* gibi bakterilere, *Candida* gibi bazı mantarlara, bazı virüslere (HSV Tip1, 2 gibi) karşı mikrobisidal aktivitesi bulunmuştur (Nagl, 2000).

2.4.5.1. TauCl ve TauBr'nin antienflamatuar özellikleri

Akut inflamasyon, büyük bir nötrofil infiltrasyonu ve sitokinler, eikosanoidler ve ROT gibi çeşitli enflamatuar mediatörlerin üretilmesi ile karakterizedir. Yapılan birçok çalışma, taurin haloaminlerinin (TauCl, TauBr) hem bakterisidal hem de anti enflamatuar özellikler sergilediğini göstermiştir. Taurin haloaminler, proinflamatuar sitokinlerin (TNF-a, IL-1 ve IL-6) üretimini inhibe eder. Ayrıca, TauCl'nin nitrik oksit (NO) ve prostaglandin E2 (PGE2) üretimini ve matris metalloproteinazların aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (Kim ve ark., 2007). Yukarıda bahsedilen anti-inflamatuar özellikler, TauCl'nin lökosit apoptozunu indüklemeye kapasitesi ile birlikte, TauCl'nin akut inflamasyonun çözülmesine ve sonlandırılmasına dâhil olabileceğini düşündürmektedir. Taurin ise TauCl' nin aksine, birçok in vitro çalışmada gösterildiği gibi hücreleri apoptozdan korur (Jong ve ark., 2012).

2.4.6. Katalitik Aktivite

Doğada, bir enzimin katalitik aktivitesi, aktif bölgesinde özel olarak bulunan belirli kalıntıların çözülerek genel protein topolojisi ile elde edilir ve düzenlenir. Başka bir deyişle, katalitik aktivite, polipeptit zincirlerinin belirli çevresel koşullar altında tanımlanmış üç boyutlu yapılara uygun şekilde katlanmasına bağlıdır (Mikolajczak ve ark., 2017).

Enzimlerin katalitik aktiviteleri, membranlara yerleştirme, protein partnerleriyle etkileşim, kimyasal modifikasyon, deterjanların etkisi ve allosterik mekanizmalar gibi farklı mekanizmalarla düzenlenebilir (Shumyantseva ve ark., 2015). Enzimatik reaksiyonları katalize edebilen materyaller oluşturmak hem akut hem de kronik inflamasyonların yanı sıra diğer topikal hastalıkların tedavisinde de önemli olabilir (Quirk, 2013). Turnover sayısı (substratı ürüne dönüştürme oranı) yüksek, ince ayarlı spesifik aktivitede ve yüksek sağlamlıkta, ayrıca kolay hazırlanabilen ve uygulanan katalizörler geliştirmek için; eşsiz katalitik ve düzenleyici mekanizmalardan sorumlu enzimlerin yapısal özellikleri ve kompleks etkileşimlerini aydınlatıcı yoğun araştırmalar yapılmıştır (Mikolajczak ve ark., 2017).

Nanopartiküller, moleküler tanıma ve katalizde olağanüstü özellikler sergiler. Nanopartikülü çevreleyen yüksek peptit yoğunluğu, yeni hidrojen bağları kurabilen ve

peptitler çözelti içinde serbest kaldıklarında bulunmayan kalıntılar arasında kooperatif etkileri olan yeni mikro ortamlar üretir. Bu etkiler doğal enzimlerin aktif bölgelerine benzeyen kompleks ortamlar oluşturabilir. Bu nedenle nanopartiküllerin uygulanması, arttırılmış katalitik verim sağlayabilir ve hatta peptitlerin katalitik aktivite göstermediği koşullar altında çalışan yeni katalitik aktiviteler bile üretebilir (Mikolajczak ve ark., 2017).

Shumyantseva ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; biyolojik olarak aktif taurinin, Sitokrom P450 3A4'ün (CYP3A4) katalitik aktivitesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. CYP3A4, ilaç metabolizmasının birinci fazına katılarak hem endojen hem de eksojen bileşiklerin oksidasyon/hidroksilasyonu sağlayan en önemli katalizördür. Taurin rifampisin varlığında sitokrom CYP3A4'ü kodlayan mRNA'nın indüksiyonunu düzenleyen bir nöromodülatör olarak işlev görmüştür. Taurin CYP3A4 enziminin itrakonazol ile uyarılmış inhibisyonunu zayıflatarak koruyucu etki göstermiştir. ROT CYP3A4'ün katalitik aktivitesini kısmen inaktive etmiştir. Antioksidanlar ROT'u nötralize eder ve sitokrom P450 izoenzimlerini korur. Taurin varlığında katalitik aktivitedeki artışı taurinin antioksidan özellikleri ile açıklamışlardır (Shumyantseva ve ark., 2015).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Gereç

3.1.1. Kimyasallar ve Materyaller

Taurin ($C_2H_7NO_3S$) Merck firmasından satın alınmıştır. Bakır sülfat penta hidrat ($CuSO_4.5H_2O$), Demir (II) klorür tetra hidrat ($FeCl_2.4H_2O$), Demir (III) Nitrat ($FeNO_3$)₃, Guaiakol Sigma Aldrich Firmasından alınmıştır. Hidroklorik asit (HCl), Sodyum Hidroksit (NaOH) ve Hidrojen peroksit (H_2O_2) TEKKIM Kimya Sanayi firmasından alınmıştır. Fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) laboratuvar ortamında hazırlandı.

Fosfat tamponlu tuz çözeltisi hazırlanması (PBS, Phosphate Buffered Saline) için: Sodyum Klorür (NaCl), Potasyum Klorür (KCl), Disodyum Hidrojen Fosfat (Na_2HPO_4) ve Potasyum Dihidrojen Fosfat (KH_2PO_4) maddeleri ISO LAB Chemicals firmasından temin edilmiştir.

Gram (+) *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25923 suşu, Gram (-) *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922 suşu, *Bacillus cereus* (*B. cereus*) ATCC 17778 suşu, mantar *Candida albicans* (*C. albicans*) ATCC 90030 suşu Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Araştırma Laboratuvarından temin edildi.

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Karakterizasyon

Sentezlenen çiçek şekilli nanokompozit yapılar kurutulmuş partikül formda ZEISS EVO LS10 model Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) cihazıyla görüntülenmiştir. Taurin- Cu^{+2} ÇŞNK'ların, element analizleri; SEM cihazına bağlanmış Enerji Dispersif X-ışını spektrometresi (EDX) kullanılarak yapılmıştır. ÇŞNK sentez aşamasındaki oluşan ilk kristal yapıların analizi X-ışını kırınım (XRD) ile, nanoçiçeklerin bağlanma yapıları ise FTIR analizleri ile yapılmıştır. Zeta potansiyel değerleriyle yüzey yüklerinin tür ve

şiddeti ölçülecektir. Yapılan antimikrobiyal analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde ELİSA cihazı (Azure Ao Biosystems, Inc) kullanılmıştır. Deneyler sırasında; UV cihazı, hassas tartı, manyetik karıştırıcı, santrifüj, etüv, vortex, sonikatör, pH metre ve buzdolabı kullanılmıştır.

Taramalı Elektron mikroskobu (SEM): örneğin yüzeyine yüksek enerjili elektronlar gönderilerek ekranda yüksek çözünürlüklü görüntü alınır. SEM ile örneğin üç boyutlu net görüntüleri belirlenir.

Enerji dağılım spektrometresi (EDX) ile incelenen örnek yüzeyindeki elementlerin nitel ve nicel analizi yapılır. Örnekteki element yüzdeleri, piklerin altındaki alanla orantılıdır.

X-Işını Toz Difraksiyonu (XRD): örnekteki kristalin fazın kendine has atomik dizilimlerinden dolayı X-ışınlarının kırılması esasına dayanır.

FTIR Spektrum Cihazı (FTIR); organik bileşiklerin kimyasal yapılarının karakterizasyonunda kullanılır. FTIR ile örneğe ait moleküler bağların konformasyonu ve fonksiyonları ile ilgili bilgi edinilir.

3.1.3 Çözeltilerin Hazırlanması

•1X PBS Hazırlanması

Yapılan deneysel çalışmada tampon çözelti olarak fosfat tamponlu tuz çözeltisi kullanılmıştır. Tampon çözelti için; 8 g. NaCl, 0.2 g. KCl, 1.44 g. Na₂HPO₄, 0.24 g. KH₂PO₄ alınarak yaklaşık 700 ml distile su içinde çözdürülmüştür. Hazırlanan tampon çözelti karıştırıcı üzerine koyularak pH metre ile pH: 3, 5, 7.4, 9, 11 olarak ayarlanmıştır. pH ayarı 0,1 M NaOH veya 0,1M HCl ile yapılır. pH ayarlandıktan sonra çözelti hacmi distile su ile 1 litreye tamamlanır ve karıştırılır. Farklı pH aralıklarının belirlenmesi ile; pH parametresinin nano çiçek yapılara etkisi incelenmiştir.

•0,8 mM CuSO₄ Solüsyonu

120 mM'lık CuSO₄ stok çözeltisi hazırlamak için; 2,99 g katı CuSO₄ tartılıp 100 ml ye distile su ile tamamlanır. 0,8 mM CuSO₄ için 120 mM'lık stok çözeltiden 1,33 ml alınarak distile suyla 200 ml'ye tamamlanmıştır.

•0,8 mM (FeNO₃)₃ Solüsyonu

0,8 mM (FeNO₃)₃ için 120 mM'lık stok çözeltiden 1,33 ml alınıp distile suyla 200 ml'ye tamamlanmıştır.

•0,8 mM FeCl₂ Solüsyonu

0,8 mM FeCl₂ için 120 mM'lık stok çözeltiden 1,33 ml alınıp 200 ml' ye distile su ile tamamlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Taurin Metal İyonlu Çiçek Şekilli Hibrit Nanokompozitlerin Sentezi

Taurin ÇŞNK'ların sentezinde metal iyon etkisinin anlaşılması için Cu⁺², Fe⁺² ve Fe⁺³ iyonları kullanıldı. Her üç metal iyonunu içeren ÇŞNK yapıların sentezinde aynı protokol izlendi. ÇŞNK yapıların oluşumuna taurin miktarının etkisinin anlaşılması için; 0.01, 0.02, 0.1 ve 0.5 mg/ml taurin kullanılarak sentez yapıldı. 200 ml PBS çözelti içerisinde Belirlenen miktarda taurin ve 120 mM'lık CuSO₄ çözeltisinden; 0,8 mM olacak şekilde 1.33 ml alınarak PBS ile 200 ml'ye tamamlandı. 72 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda mavi çökelti halinde çiçek şekilli nanokompozit oluşumları gözlemlendi. Santrüfuj yapılarak, etüvde kurutuldu. Sonrasında karakterizasyon için analizler (SEM, FTIR, ZETA, XRD) ve aktivite deneyleri (antimikrobiyal, antioksidan, katalitik aktivite) yapıldı. Aynı sentez metodu (FeNO₃)₃ ve FeCl₂ için de uygulandığında sarı renkte çökelti oluştu ve karakterizasyon için analizler yapıldı.

a- 0,1 mg/ml Taurin + Cu⁺² (0,8mM) pH 7,4'te

b- 0,5 mg/ml Taurin + Cu⁺² (0,8mM) pH 7,4'te

c- 0,01 mg/ml Taurin + Cu⁺² (0,8mM) pH 7,4'te

d- 0,02 mg/ml Taurin + Cu⁺² (0,8mM) pH 7,4'te

5- 0,02 mg/ml Taurin + Cu⁺² (0,8mM) pH 3'te

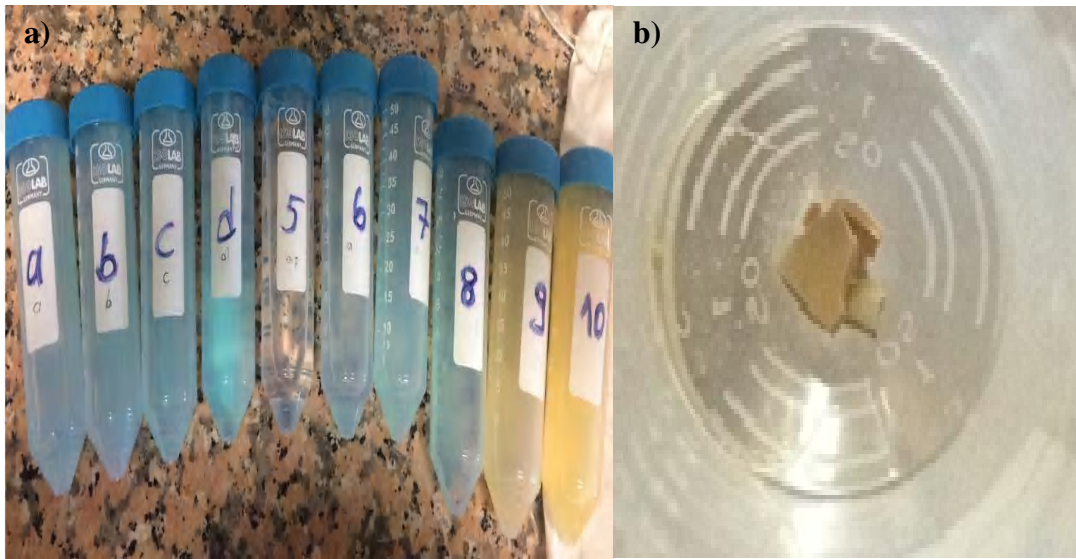
6- 0,02 mg/ml Taurin + Cu⁺² (0,8mM) pH 5'te

7- 0,02 mg/ml Taurin + Cu^{+2} (0,8mM) pH 9'te

8- 0,02 mg/ml Taurin + Cu^{+2} (0,8mM) pH 11'de

9- 0,02 mg/ml Taurin + Fe^{+2} (0,8mM) pH 7,4'te

10- 0,02 mg/ml Taurin + Fe^{+3} (0,8mM) pH 7,4'te



Şekil 6: a) ÇŞNK sentez çözeltileri b) Taurin- Fe^{+2} ÇŞNK

3.2.2. Antimikrobiyal Aktivite Testi

Antimikrobiyal aktivite tayininde; antimikrobiyal maddenin farklı konsantrasyonlarını içeren mikrodilüsyon plaklarında gözle görülebilir bir üremenin gerçekleşmesi baz alınır. Mikroorganizma üremesini görünür şekilde inhibe eden en düşük antimikrobiyal madde konsantrasyonu “Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK)” olarak bildirilir. MİK kuyucuklarından alınan numuneler katı besiyerine ekilerek üreme olup olmadığı incelenir. Üremenin olmadığı örnekteki madde konsantrasyonu “Minimal bakterisidal konsantrasyonu” (MBC) gösterir.

Taurin ve Taurin-Cu ÇŞNK’ların antibakteriyel testi için kullanılan; Gram (+) *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25923 suşu, Gram (-) *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922 suşu, Gram (+) *Bacillus cereus* (*B. cereus*) ATCC 17778 suşu,

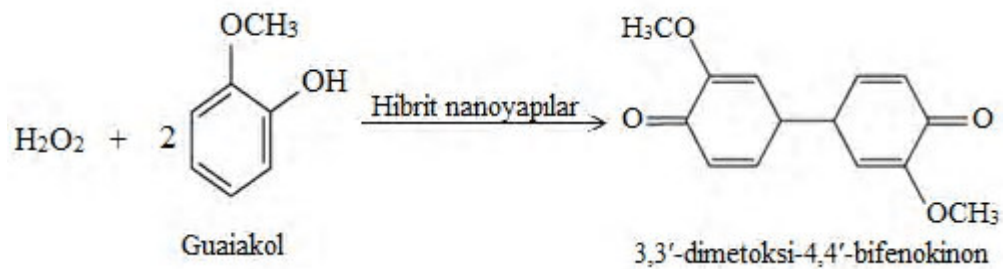
fungus *Candida albicans* (*C. albicans*) ATCC 90030 suşu -20°C'de muhafaza edildi ve deneylerden önce sıvı besiyeri ile rejenere (canlandırma) edildi ve antimikrobiyal test için kullanıldılar.

Taurin-Cu⁺² ÇŞNK'ların antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri *in vitro* sıvı mikrodilüsyon yöntemi olan minimum inhibitör konsantrasyon (MIK) ile ölçüldü. Yöntemler Clinical & Laboratory Standards Institute: CLSI Guideline (M27-A3; M07) standartlarına göre antimikrobiyal duyarlılık ve 3 tekrarlı olarak çalışıldı.

Deney için 96 kuyucuklu bir plağa; Negatif kontrol olarak besiyeri ve besiyeri+Taurin/Taurin ÇŞNK, Pozitif kontrol olarak besiyeri ve mikroorganizmalar diğer deney kuyucuklarına ise 100 µl besiyeri, 100 µl numune, 100 µl bakteri veya fungus süspansiyonu koyuldu. Bakteriler 18-24 saat, fungus 24-48 saat inkübe edildi. Belirli saatlerde spektrofotometrik olarak optik dansitenin belirlenmesi ile bir üreme eğrisi oluşturuldu ve buradan % inhibisyon değeri hesaplandı.

3.2.3. Katalitik Aktivite Testi

Sentezlenen çiçek şekilli hibrit nano yapıların aktivitesinin ve stabilitesinin test edilmesi spektrofotometrik olarak belirlenecektir. Yöntem H₂O₂ tarafından substrat olarak kullanılan guaiakolün yükseltgenmesi ile meydana gelen 3,3'-dimetoksi-4,4'-bifenokinon bileşiğinin oluşturduğu absorbands artışının 470 nm de takip edilmesi temeline dayanmaktadır. Guaiakolün katalizi Şekil 7'de gösterilmiştir. Guaiakolün nanoçiçek yapılar tarafından katalizlenmesi bu yapıların fenton reaksiyonuna benzer bir reaksiyon göstermesine dayandırılabilir.



Şekil 7: Guaiakol substratının oksitlenmesi

Sentezlenen hibrit ÇŞNK yapıların Fenton ajanları gibi davranarak aktivitesinin ölçülmesi için gerekli adımlar şu şekilde yapılmıştır: Sentezlenip kurutulmuş 3 mg/ml Taurin ÇŞNK'ya Ph:6.8 de 1 ml PBS, 1 ml 45 mM Guaiakol ve 22,5 mM H₂O₂ sırasıyla eklenir. Vorteksle 20 sn karıştıktan sonra 4000 rpm'de 3 dk santrifüj edilip süpernatant kısmından alınan örnek 470 nm'de absorbans artışı 1 cm'lik ışık yoluna sahip küvetlerle UV spektrometrede ölçülür. Belirli aralıklarla devam eden ölçüm nanoyapıların aktiviteleri ve stabiliteleri hakkında bilgi vericidir.

3.2.4. Antioksidan Aktivite Testi

Çalışmamızda sentezlenen hibrit ÇŞNK'ların antioksidan aktivitesini saptamak için DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ve CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity) yöntemleri kullanılmıştır. Tek bir yöntem antioksidan aktivite gösteren maddelerin tüm etki mekanizmalarını belirlemede yeterli değildir.

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) kararlı bir nitrojen radikalidir. Tek bir elektrona sahip serbest radikal olan DPPH'in absorbansı 517 nm'de maksimumdur. Antioksidanların DPPH'e proton transfer etmesi 517 nm'de absorbansın düşmesine sebep olur. Bu aşamalar absorbans sabitlenene dek spektrofotometreyle gözlemlenir. Biyomoleküllerin DPPH radikalini süpürücü etkileri DPPH'in mor rengini giderme potansiyelleri ile ölçülür. Özetle prensip; biyomoleküllerin DPPH ile oluşturdukları çözeltilerin 517 nm'de ölçülmesine ve standart bileşikle kıyaslanmasına dayanmaktadır (Scalzo, 2008).

DPPH Testinde; taurin-inorganik çiçek şekilli hibrit nanokompozitler, metanolde çözülerek taze hazırlanan DPPH çözeltisine eklendi ve karanlıkta farklı zamanlarda inbübe edildi. Daha sonra antioksidan reaksiyonun performansını ölçmek için DPPH çözeltisindeki renk değişimi ve absorbans ölçümleri ile değerlendirildi.

Cuprak Testi Apak ve ekibi tarafından geliştirilmiştir. Metodun prensibi; Cu⁺²'nin antioksidanlar aracılığıyla Cu⁺¹'e indirgenmesine dayanır. Bu yöntemde neokuproin (2,9-dimetil-1,10-fenantrolin) Cu⁺² ile bakır(II)-neokuproin kompleksini oluşturur ve bakır(I)-neokuproin şelatına indirgenir. Bakır(I)-neokuproin kompleksinin 450 nm'de absorbans ölçümüyle antioksidan kapasite hesaplanmaktadır (Apak ve ark., 2004).

Cuprak Testinde; 0.5'er ml taurin-Cu⁺² ÇŞNK üzerine 1 ml CuCl₂.2H₂O, 1 ml neokuproin ve 1 ml amonyum asetat eklendi. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 450 nm'de absorbans ölçümü yapıldı. Aynı prosedür taurin için de yapıldı. Ölçüm sonuçları troloks standartı kullanılarak yorumlandı (Apak ve ark., 2006).

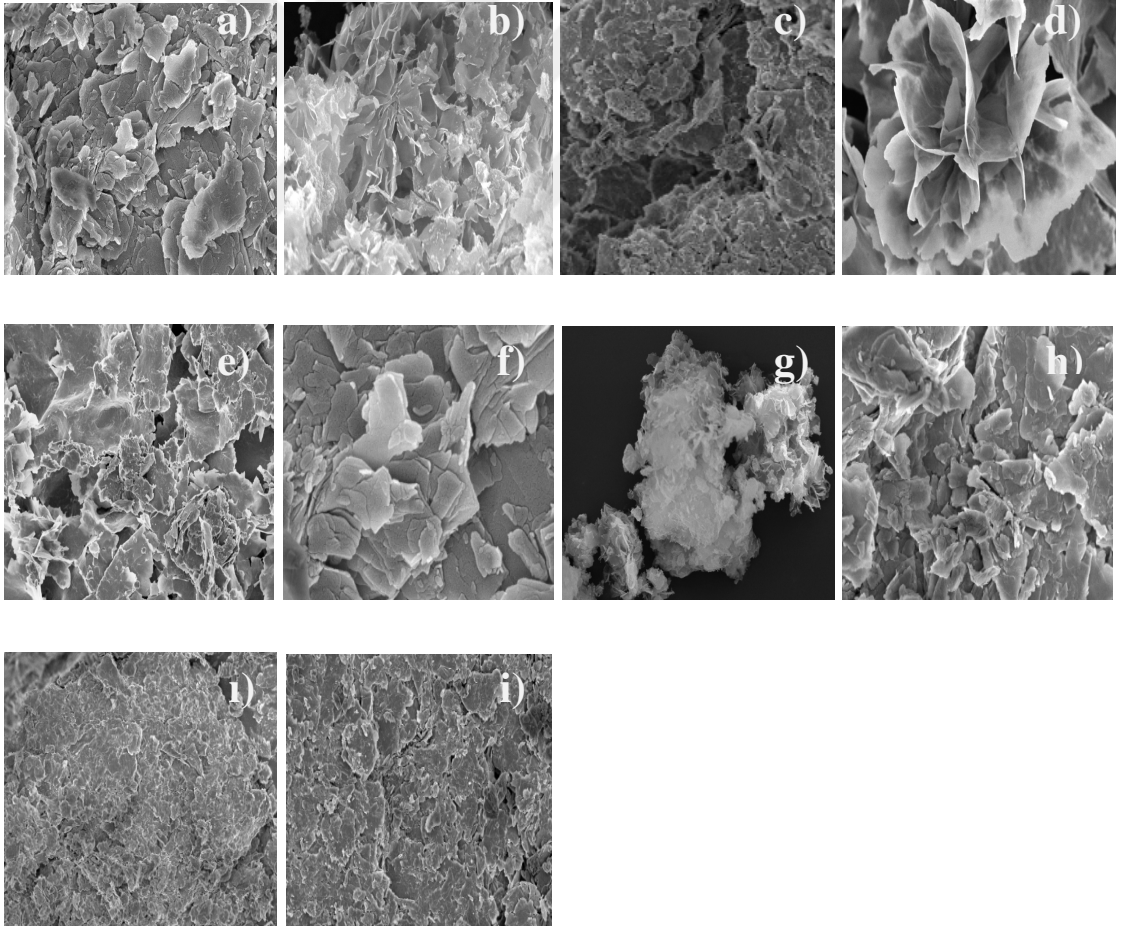


4.BULGULAR

4.1. Taurin Metal İyonlu Hibrit Çiçek Şekli Nanokompozitlerin Sentez ve Karakterizasyonu

4.1.1 Taurin miktarının ÇŞNK yapılarına etkisinin araştırılması;

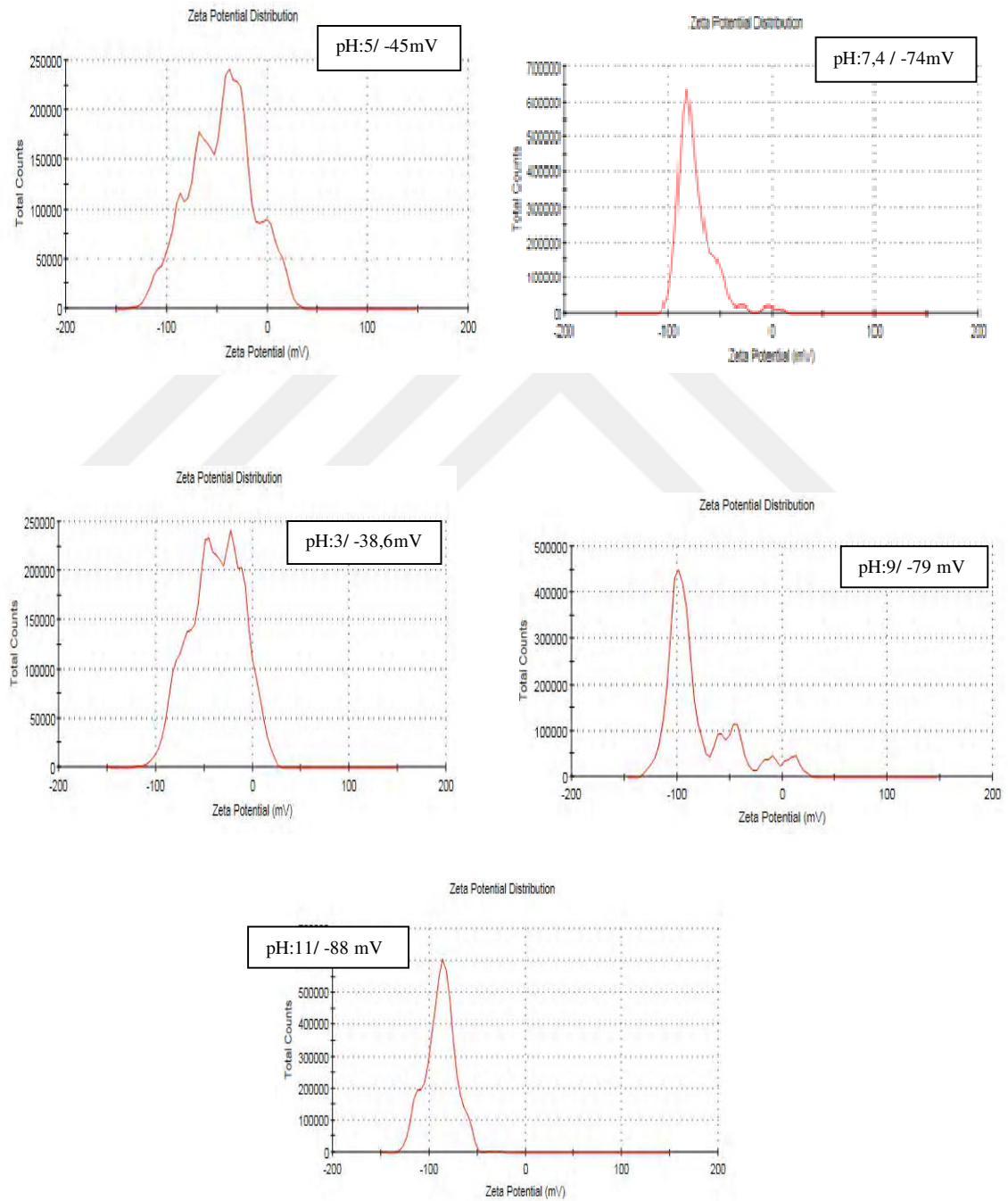
Yapılan çalışmada taurine miktarının ÇŞNK yapılarına etkisinin araştırılması amacıyla farklı miktarlarda 0.01, 0.02, 0.1 ve 0.5 mg/ml taurin konsantrasyonuna sahip ÇŞNK'lar sentezlenerek SEM ile görüntüldü (Şekil 8). SEM görüntüleri ve sonrasında yapılan karakterizasyon çalışmaları ile optimum taurin miktarı 0,02 mg/ml- Cu^{+2} olarak belirlendi.



Şekil 8: Taurin-metal ÇŞNK SEM görüntüleri (Sırasıyla: a) 0,1 mg/ml Taurin+ Cu^{+2} pH 7,4, b) 0,5 mg/ml Taurin+ Cu^{+2} pH 7,4, c) 0,01 mg/ml Taurin+ Cu^{+2} pH 7,4, d) 0,02 mg/ml Taurin+ Cu^{+2} pH 7,4, e) 0,02 mg/ml Taurin+ Cu^{+2} pH 3, f) 0,02 mg/ml Taurin+ Cu^{+2} pH 5, g) 0,02 mg/ml Taurin+ Cu^{+2} pH 9, h) 0,02 mg/ml Taurin+ Cu^{+2} pH 11, i) 0,02 mg/ml Taurin+ Fe^{+2} pH 7,4, j) 0,02 mg/ml Taurin+ Fe^{+3} pH 7,4)

4.1.2. ÇŞNK yapıları pH etkisinin incelenmesi

ÇŞNK'ların oluşum mekanizmasına çözelti pH'ının etkisinin anlaşılması amacıyla; farklı pH aralıklarında (pH: 3, 5, 7.4, 9, 11) ÇŞNK sentezi yapıldı. PBS içeren örneklerin, distile su ile seyreltilerek Zeta potansiyelleri ölçüldü. Yapılan karakterizasyon çalışmaları ile optimum pH değeri 7,4 olarak belirlendi.

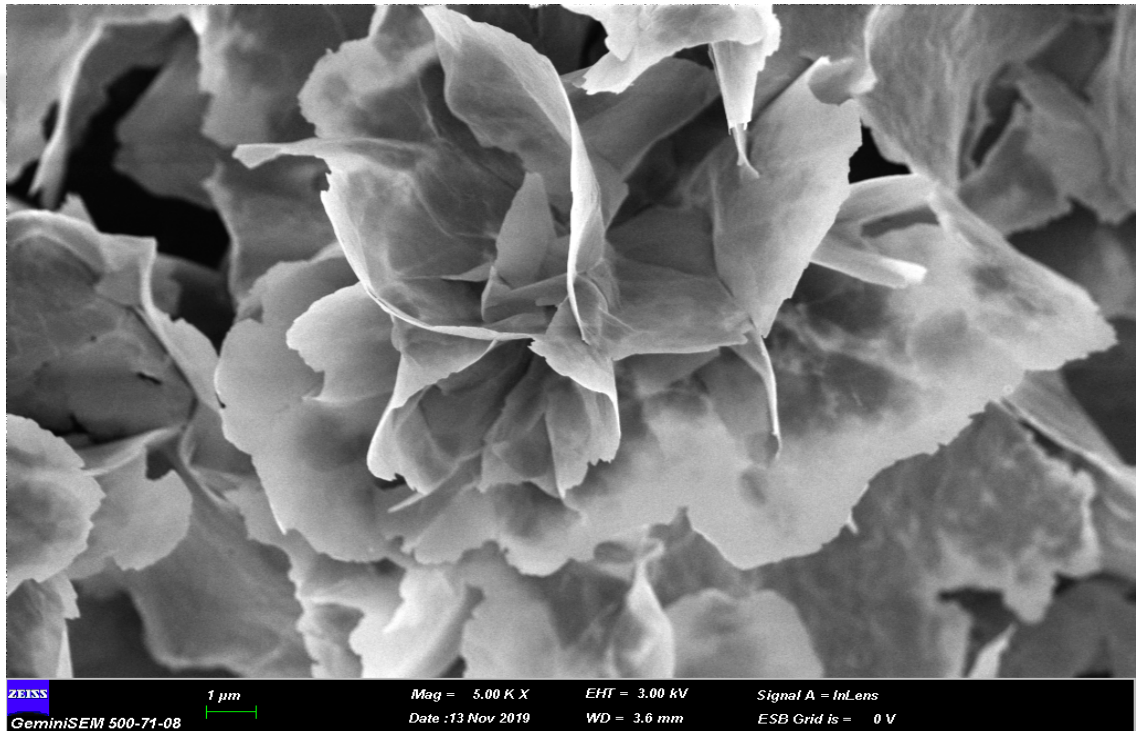


Şekil 9: Taurin-Cu⁺² hibrit ÇŞNK'ların farklı pH aralığında zeta potansiyel değerleri

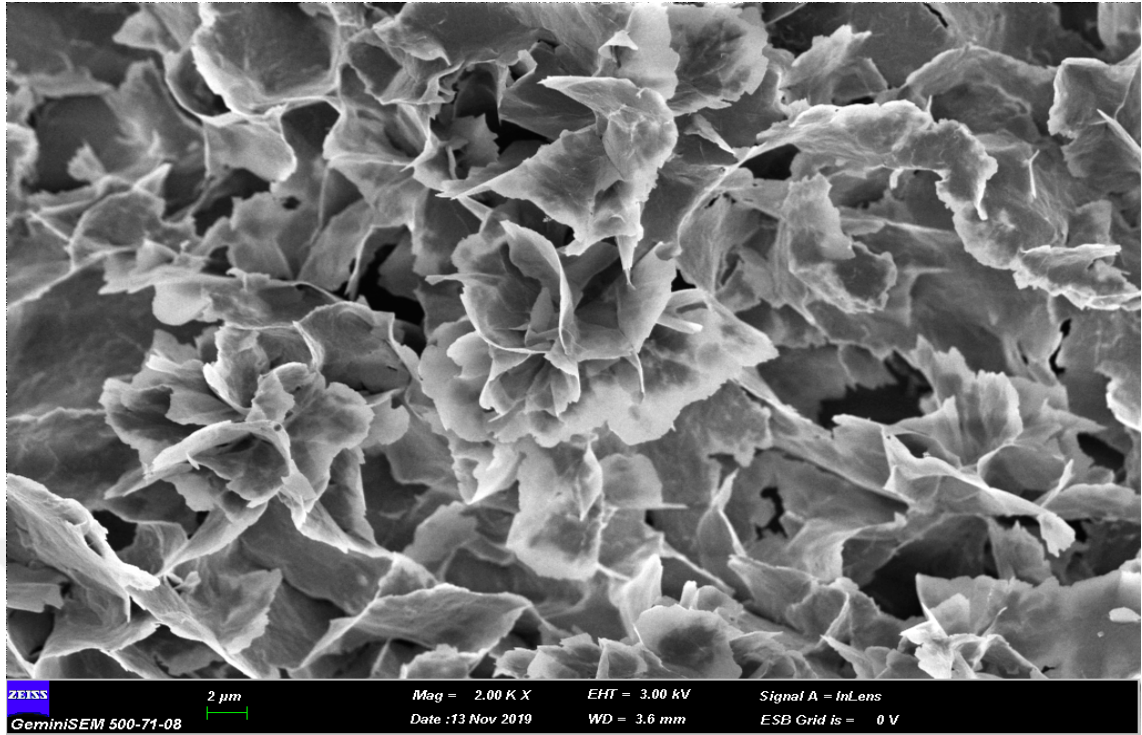
Farklı Ph aralıklarında sentezlenen Taurin- ÇŞNK yapılarının Zeta potansiyel değerleri Şekil 9’da belirtilmiştir. Yapılan analiz sonucunda sentez ortamının pH değerinin yükselmesi ile yüzey negatifliğinin arttığı görülmüştür.

4.1.3. SEM

0,02 mg/ml Taurin, 0,8 Mm Cu⁺² kullanılarak pH:7,4 şartlarında sentezlenerek 72 saat inkübasyon süresi sonunda elde edilmiş Taurin-hibrit ÇŞNK yapıların SEM görüntüleri aşağıda gösterilmektedir.



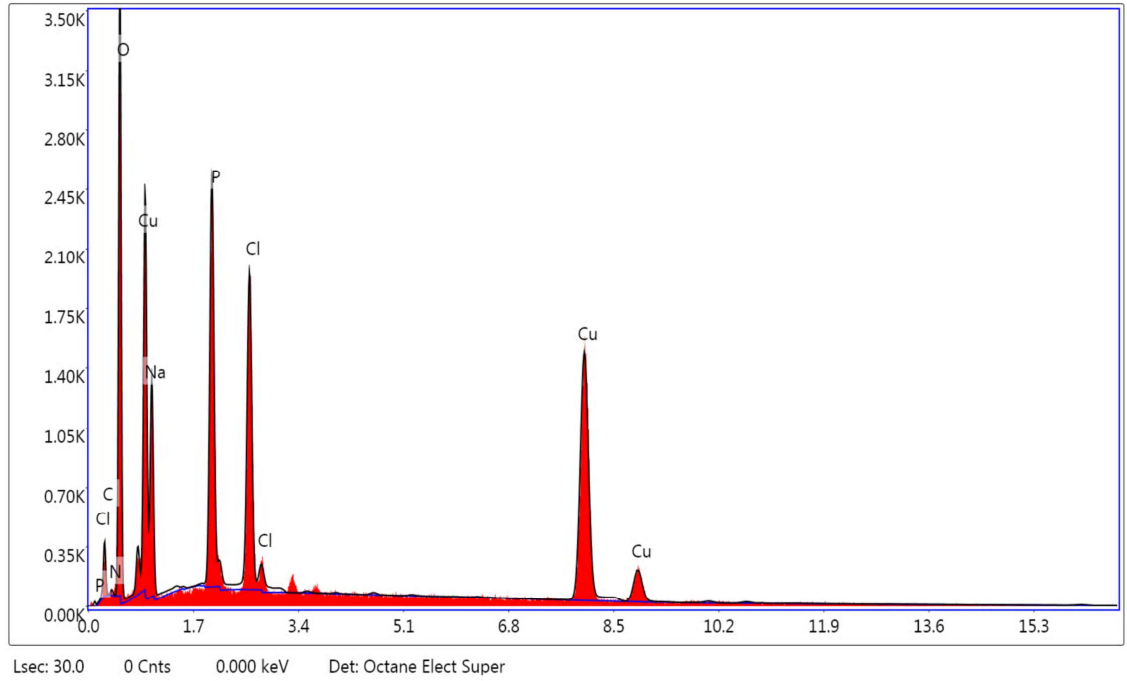
Şekil 10: Taurin(0,02 mg/ml) -Cu⁺² hibrit ÇŞNK’ların SEM görüntüsü



Şekil 11: Taurin(0,02 mg/ml) -Cu²⁺ hibrit ÇŞNK'ların SEM görüntüsü

4.1.4. EDX

Atomik ve moleküler yapı analizine göre kristal yapıda bulunan atomik içerik aşağıdaki grafikte gösterilmiştir. Cu²⁺ metali varlığı tespit edilmiştir.



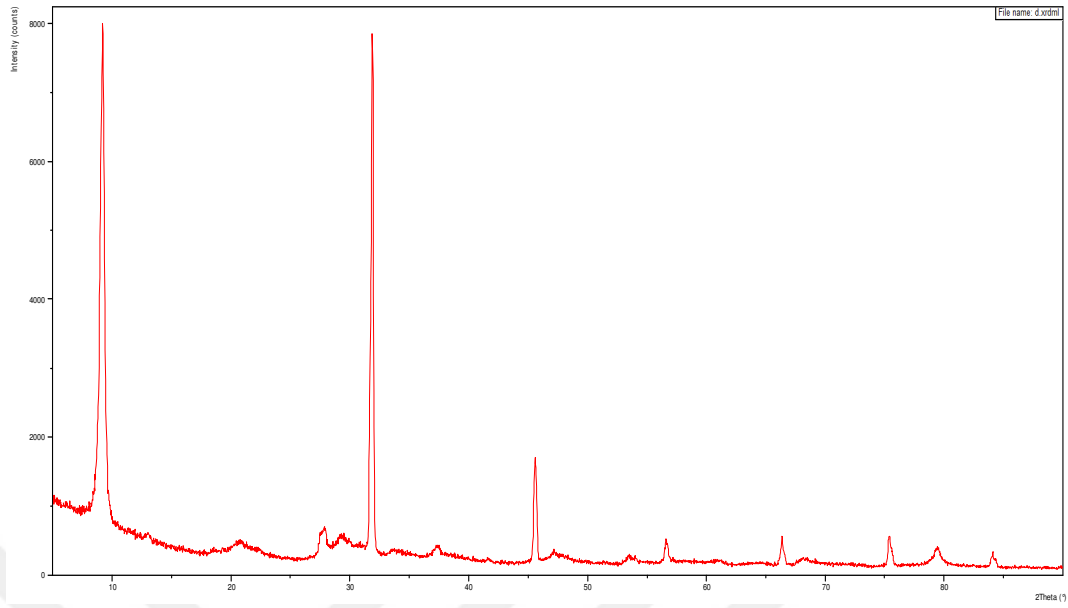
eZAF Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.
C K	9.79	18.32	41.89
N K	0.71	1.13	5.14
O K	32.36	45.48	655.32
NaK	13.64	13.34	275.77
P K	10.7	7.77	725.23
ClK	8.36	5.3	623.95
CuK	24.45	8.65	817.29

Şekil 12: 72 saatlik inkübasyon sonucu oluşan nano yapının EDX analizi

4.1.5. XRD

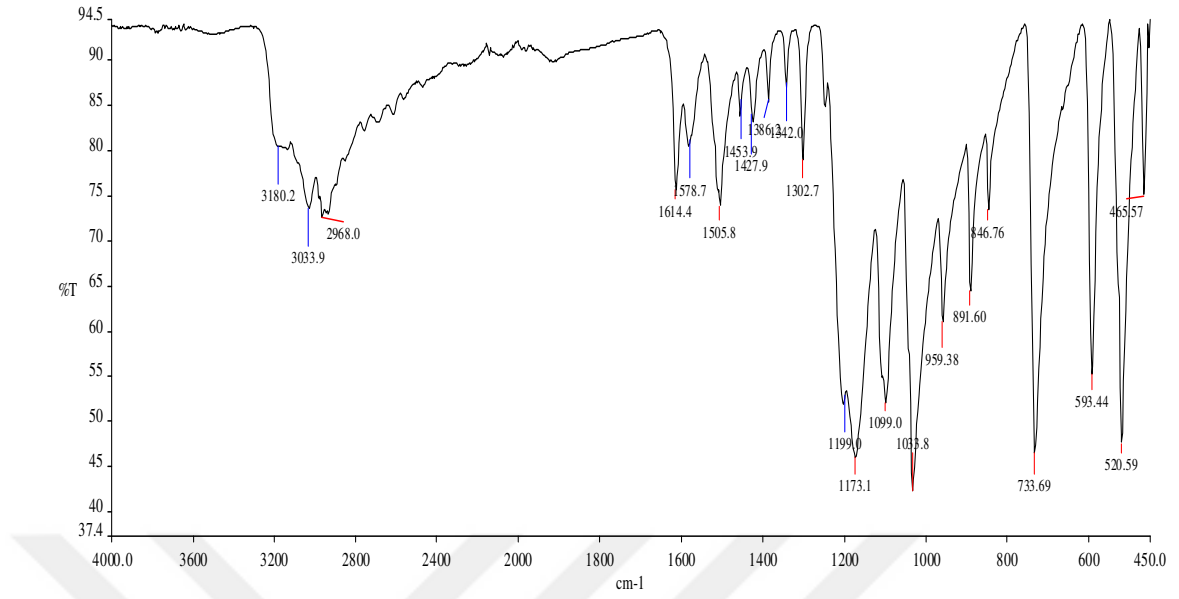
Analiz edilen hibrit ÇŞNK içerisinde oluşan kristal yapı JCPDS kart no: 00-022-054 olan $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ kristali ile uyumludur. Şekil 13'te en yüksek gözlenen pik $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ 'tır.



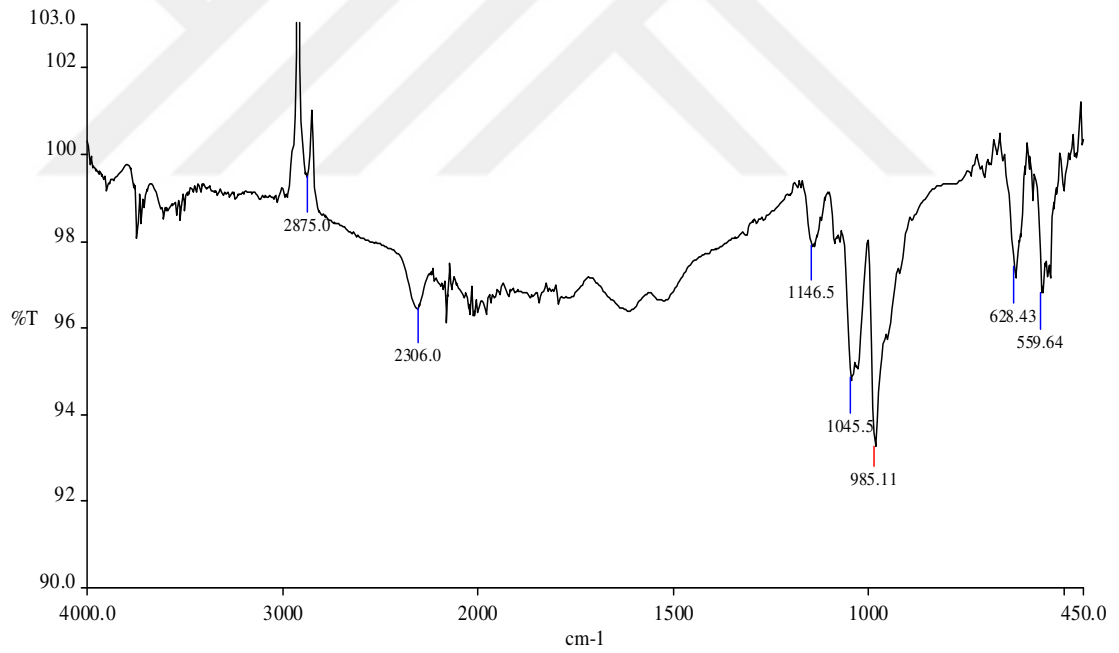
Şekil 13: 72 saatlik inkübasyon sonucu oluşan Taurin-Cu⁺² ÇŞNK 'ların XRD analizi

4.1.6. FTIR

72 saatlik inkübasyon süresi sonucu sentezlenen Taurin-Cu²⁺ hibrit nanoyapının Şekil 15'te gösterilen FTIR analizinde; 559.64 ve 628.43 cm⁻¹ de görülen absorpsiyon bantları O=P=O grubuna aittir. 1146.5 cm⁻¹ de görülen absorpsiyon bandı P-O grubuna aittir. 1045.5 cm⁻¹ de görülen absorpsiyon bandı SO₃ grubuna aittir. 2875.0 cm⁻¹ deki absorpsiyon bandı CH₂-CH₃ gruplarına aittir. Şekil 14'te görülen 1614. cm⁻¹ deki NH₂ grubuna ait bandın Şekil 15 te görülmemesinin nedeni; Cu⁺² metalinin NH₂ grubuna bağlanıp NH₂ pikini kapatmasındandır



Şekil 14: Serbest Taurin FTIR Analizi



Şekil 15: Taurin-Cu²⁺ ÇŞNK'ların FTIR Analizi

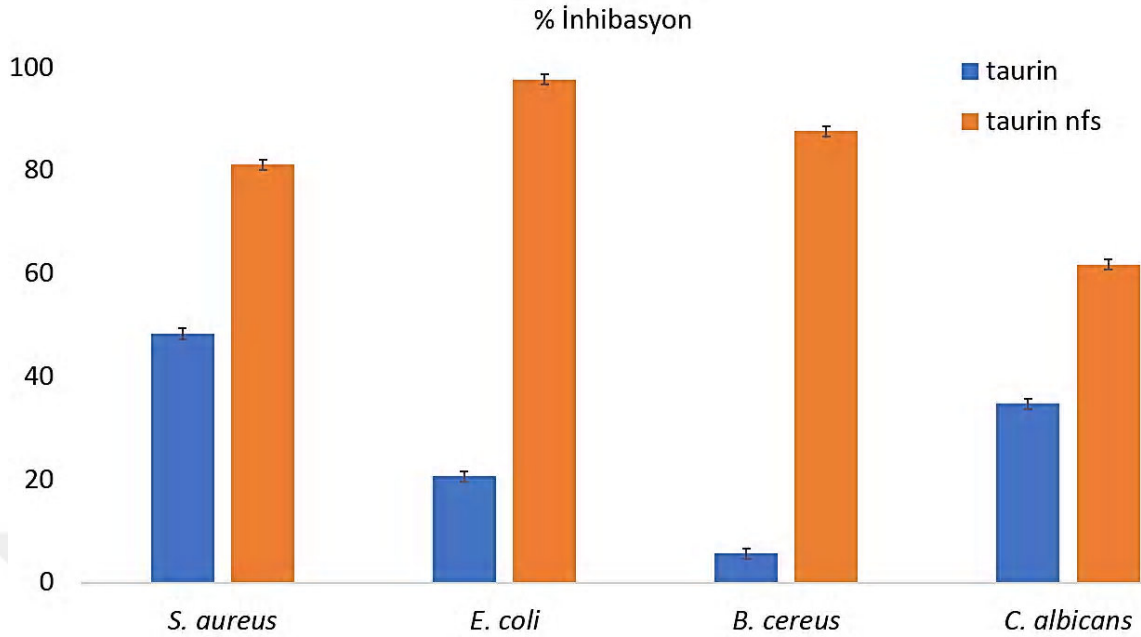
4.2. Taurin ve Taurin-Cu⁺² Hibrit ÇŞNK'ların Antimikrobiyal aktiviteleri

Sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle 2000/1000/500 µg/ml Taurin ve 2000/1000/500 µg/ml Taurin-Cu⁺² ÇŞNK için ayrı ayrı antimikrobiyal aktivite testi yapılmıştır. Aynı dilüsyonlarda her bir standart bakteri suşu CLSI standartlarına uygun olarak uygulandı. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* bakterileri ve *Candida albicans* fungus kullanılarak 3 tekrarlı deney yapıldı. Deney plakları spektrofotometrik olarak ELISA cihazında okutulup % inhibisyon değerleri hesaplandı (Tablo 1).

Tablo 1: Taurin ve Taurin-Cu⁺² ÇŞNK'ların MIK ve MBK Sonuçları

	MIK		MBK	
	Taurin	Taurin NK	Taurin	Taurin NK
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>2000	2000	>2000	>2000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>2000	1000	>2000	2000
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 17778	>2000	2000	>2000	>2000
<i>Candida albicans</i> ATCC 90030	>2000	>2000	>2000	>2000

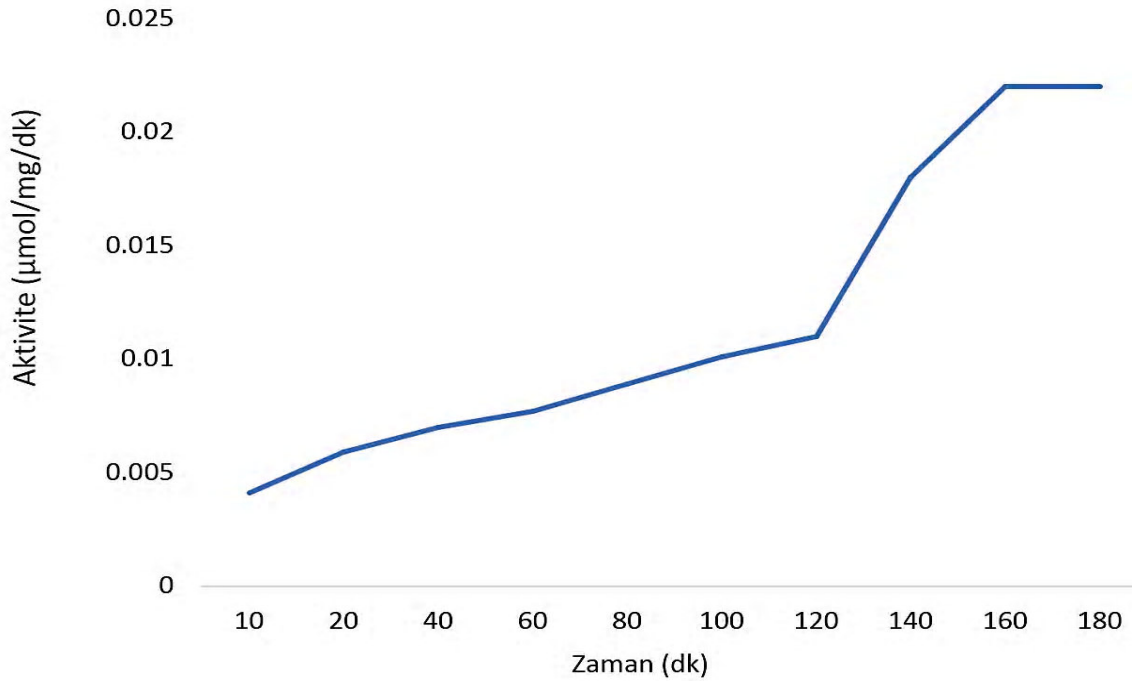
Şekil 16'da görüldüğü üzere, 2000 µg/ml Taurin *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus* ve *C. albicans* mikroorganizmalarının üremesini sırasıyla, ~ %48, ~%20, ~%5 ve ~%34 inhibe etmektedir. 2000 µg/ml Taurin-Cu⁺² ÇŞNK *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus* ve *C. albicans* mikroorganizmalarının üremesini sırasıyla, ~ %81, ~%97, ~%87 ve ~%61 inhibe etmektedir. Taurin en çok *S. aureus* üremesini inhibe ederken, Taurin-Cu⁺² ÇŞNK en çok *E. coli* üremesini inhibe etmiştir. Taurin-Cu⁺² ÇŞNK *E. coli* için MBC değeri oluşmuştur. Buradan sadece Taurinin gösterdiği inhibisyona karşın, Taurin-Cu⁺² ÇŞNK 'nın mikroorganizmaların üremesini daha iyi inhibe ettiği sonucuna varılmıştır.



Şekil 16: Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile serbest taurin ve taurin ÇŞNK'ların standart çeşitli bakteri ve fungusa karşı göstermiş olduğu antimikrobiyal aktivitelerinin test edilmesi

4.3. Taurin Metal İyon Katkılı Hibrit ÇŞNK'ların Katalitik Aktivite Testi

Tüm immobilizasyon yöntemlerinin temel amacı biyomolekül yapılarının hem stabilitesini hem de aktivitesini artırarak biyomoleküllerin verimliliğini ve kullanılabilirliğini artırmaktır. Bu amaçla sentezlenen Taurin ÇŞNK yapısının katalitik performans üzerindeki etkisi incelendi. Katalitik aktivite deney kapsamında, sentezlenen Taurin-Cu⁺² hibrit ÇŞNK'ların peroksidaz enzimi benzeri katalitik aktivite gösterdiği ve Fenton benzeri reaksiyona bağlı olarak bir model substrat olarak kullanılan guaiakole karşı aktivitesi test edildi. Genel itibarı ile, 1 mL 22,5 mM H₂O₂ ve 1 ml 45 mM Guaiakol, 1 ml PBS (pH 6.8) sırasıyla eklenerek kör çözeltisi hazırlandı. Kör çözeltisine ek olarak hazırlanan diğer bir kör çözeltisine 3mg ÇŞNK eklendi. Elde edilen karışım, belirli süre aralıklarında karıştırılarak 5000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında oluşan çökeltilinin, süpernatant kısmından alınan örnek 470 nm'de absorbans değeri UV spektrometrede ölçüldü. Substrat olarak kullanılan Guaiakol'ün yükseltgenmesi ile oluşan 3,3'-dimetoksi-4,4'bifenokinon bileşiğinin oluşturduğu absorbansın kolorimetrik olarak artışı izlenir.



Şekil 17: Taurin-Cu⁺² ÇŞNK katalitik aktivite grafiği

Şekil 17’de görülen grafiği göre; sentezlenen Taurin-Cu⁺² ÇŞNK yapısı Taurinin katalitik aktivitesini yaklaşık 5 kat artırmıştır.

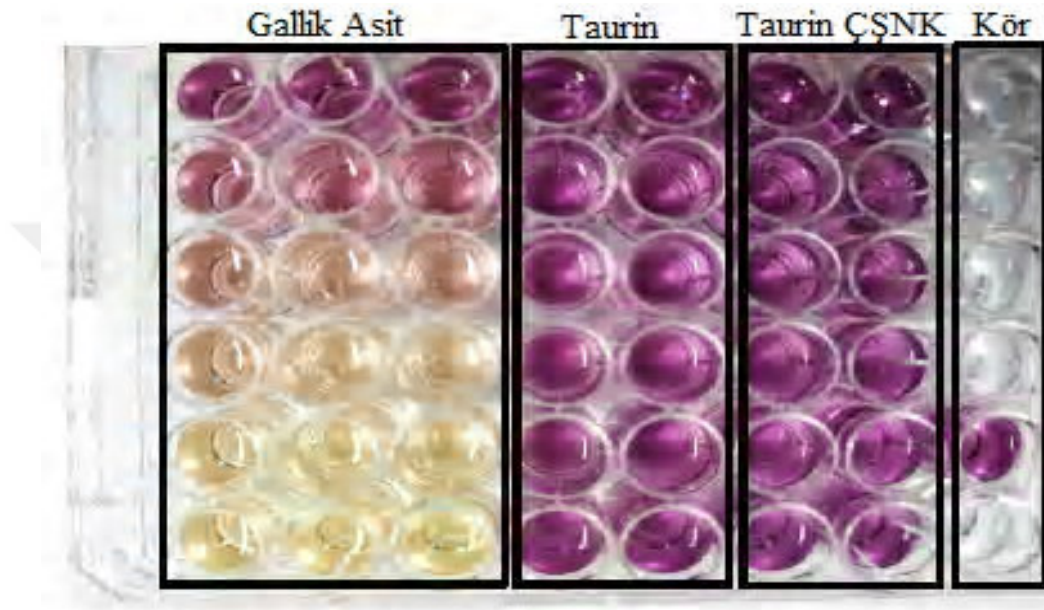
4.4. Taurin ve Taurin-Cu⁺² Hibrit ÇŞNK Antioksidan aktiviteleri

DPPH Testi için; DPPH ve Taurin ayrı ayrı metanolde çözüldü. Taurin çözeltisi DPPH çözeltisine eklenerek hızlıca karıştırıldı. Aynı işlem Taurin-Cu⁺² ÇŞNK için de uygulandı. Bir süre beklendikten sonra Gallik asit, Taurin ve Taurin-Cu⁺² ÇŞNK çözeltilerinin 515 nm de absorbans ölçümü yapıldı. Gallik asitin ölçülen absorbans değerleri aşağıdaki % inhibisyon formülüyle hesaplanarak şekil 19’daki grafik, Taurin ve Taurin-Cu ÇŞNK’ların absorbansları ölçülerek Şekil 20’deki grafik elde edildi. Deney için hazırlanan çözeltiler Şekil 18’de görüldüğü üzere sol baştan ilk üç sıra pozitif standart olarak kullanılan farklı konsantrasyonlarda (100-200-400-600-800-1000 µM) uygulanmış gallik asitin antioksidan miktarını göstermektedir. Sol baştan 4. ve 5. sütun taurinin serbest halini 6. ve 7. sütun taurin- ÇŞNK’ların antioksidan miktarını, 8.sütun kör çözeltiyi(metanol) göstermektedir. Şekilden de gözleneceği gibi sol baştan ilk üç sırada farklı konsantrasyonlarda galik asit mor renkten sarı renge dönüşerek antioksidan varlığını kanıtlamıştır. Fakat taurin ve taurin- ÇŞNK’larda belirgin bir renk değişimi gözlemlenmemiştir (Şekil 18). Burdan da anlaşılabacağı üzere DPPH metodu ile

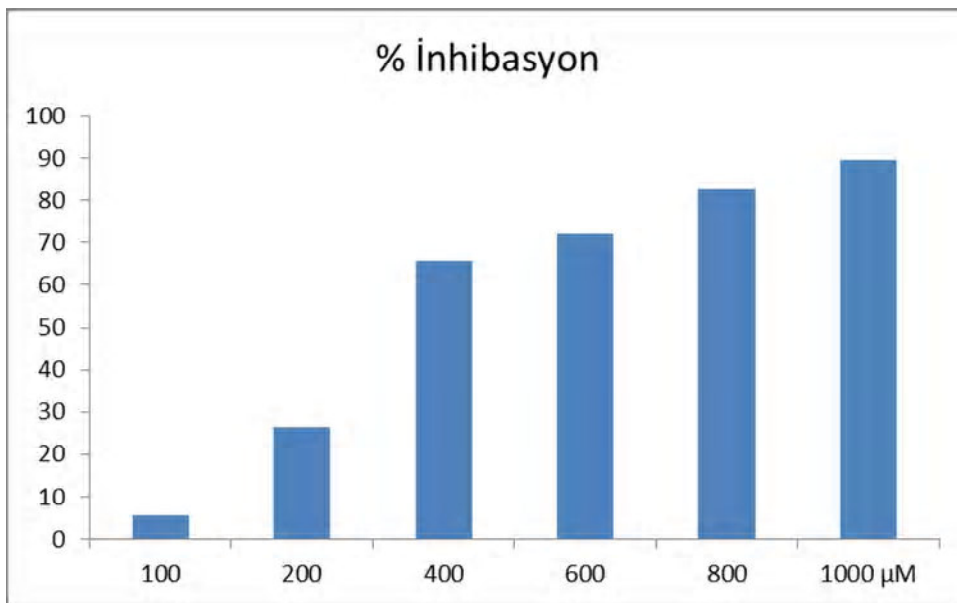
taurin ve taurin- ÇŞNK'ların önemli miktarda antioksidan özellik göstermediği tespit edilmiştir.

DPPH radikal süpürücü aktivite (% inhibisyon): $[(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$

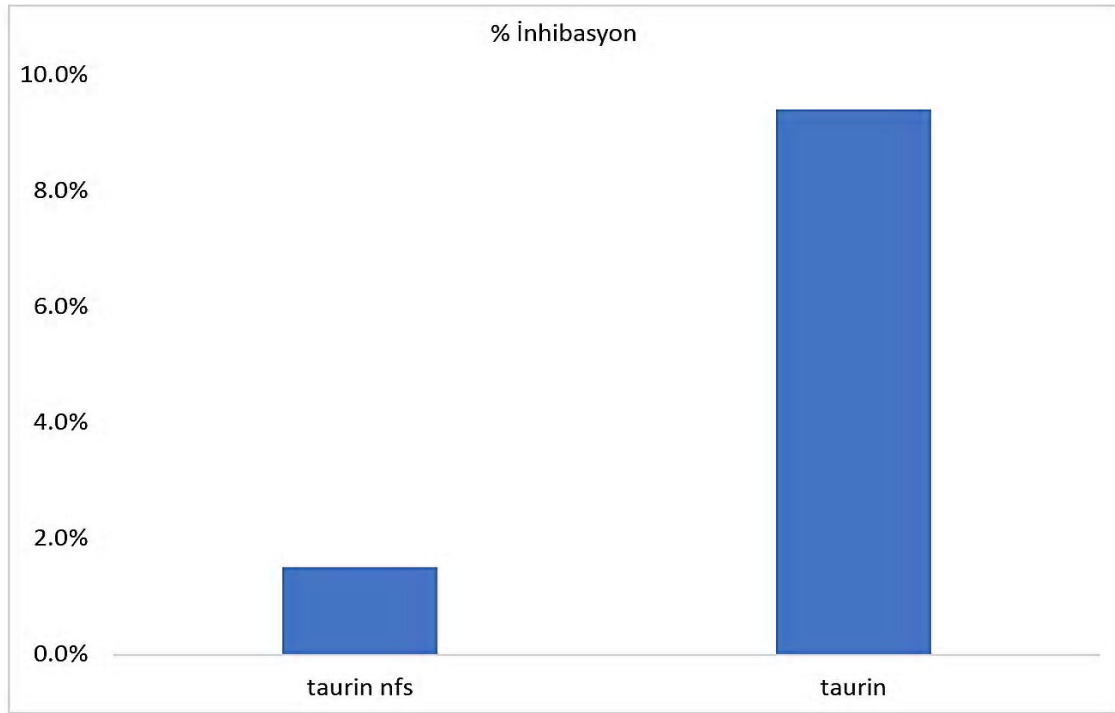
A_0 = Başlangıç absorbansı, A_1 = Örnek absorbansı



Şekil 18: DPPH Testi (yukarıdan aşağıya ilk 3 sıra gallik asit, 4.-5.sıra Taurin, 6.-7. sıra Taurin ÇŞNK, 8.sıra kör çözelti(metanol))

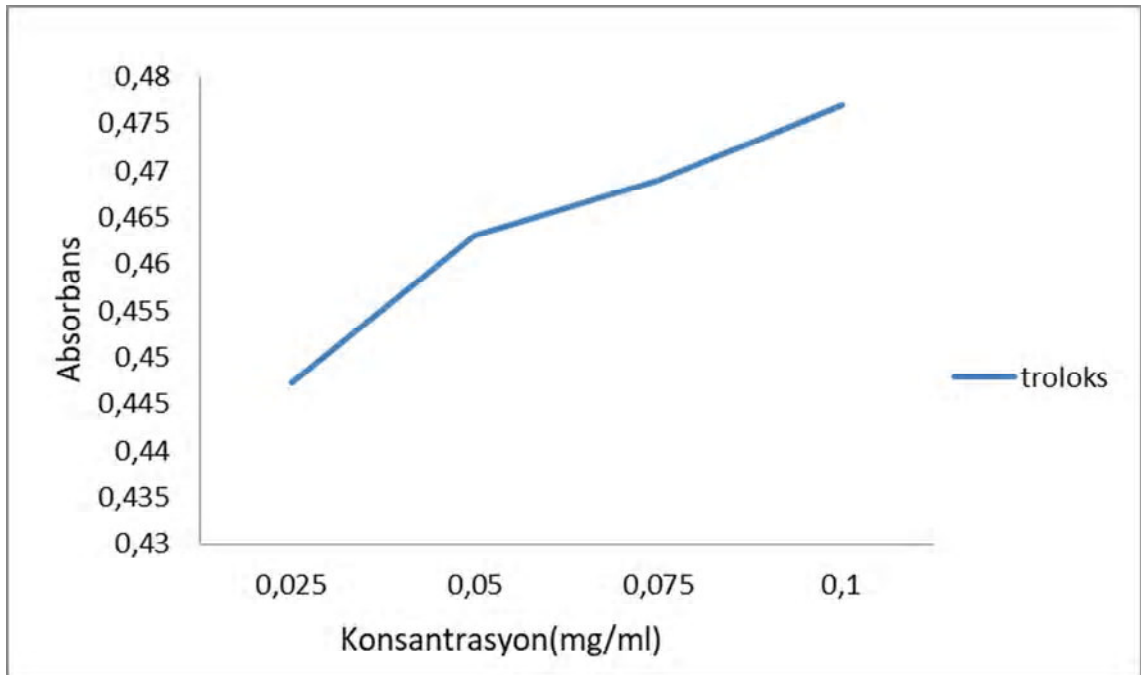


Şekil 19: Gallik Asitin değişen konsantrasyonlardaki DPPH yüzde inhibisyon değerleri



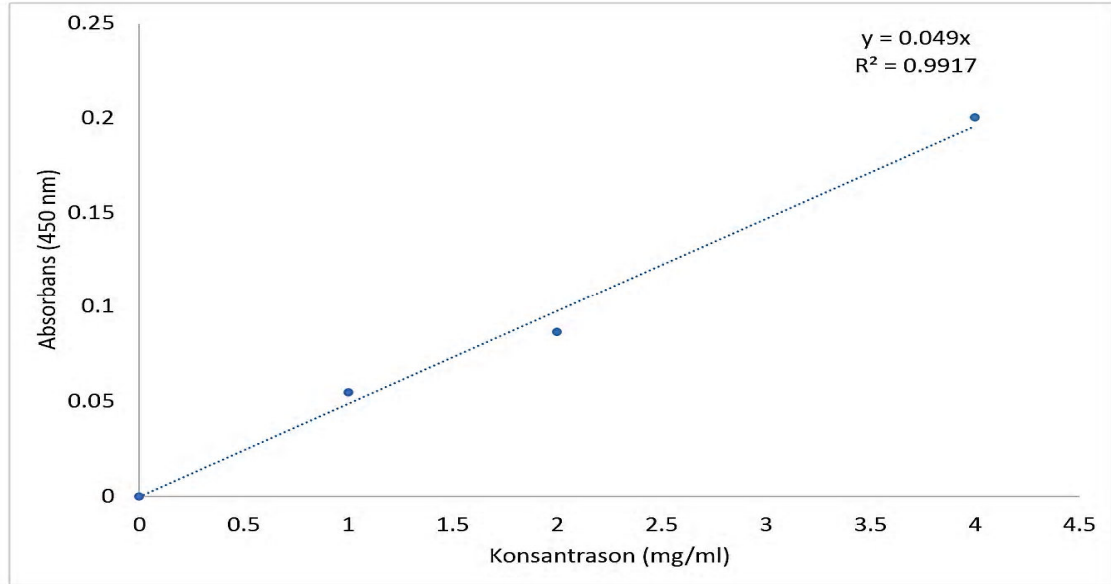
Şekil 20: Taurin ve Taurin ÇŞNK'nın DPPH yüzde inhibisyon sonucu

Cuprak testinde standart olarak troloks kullanılarak Taurin ve Taurin-Cu⁺² ÇŞNK'nın antioksidan aktivitesine bakıldı. Troloksun farklı konsantrasyonlardaki absorbans değerleriyle Şekil 21'deki grafik çizilmiştir.



Şekil 21: Troloks Cuprak Testi Absorbans Grafiği

Taurin-Cu⁺² ÇŞNK'da Cuprak için konsantrasyona bağlı olarak sonuç gözlemlendi ve sonuçlar 450 nm'de absorbands grafiğı çizildi (Şekil 22).



Şekil 22: Taurin-Cu⁺² ÇŞNK Cuprak Testi Absorbans Grafiğı

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsan vücudunda sentezlebilen ancak diyetle de alınması gereken, yarı esansiyel bir aminoasit olarak görülen taurin, antioksidan, antiinflamatuar, antimikrobiyal, membran stabilizasyonu, bağışıklık güçlendirme, safra asidi konjugasyonu, antiateroskleroz, antidiyabetik özellikleri ile birçok biyolojik fonksiyona katkıda bulunur. Düşük taurin düzeylerinin retinal dejenerasyon, kardiyomiyopati, oksidatif hasarda artış, büyüme ve gelişmenin gecikmesi ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu yüzden taurine olan biyokimyasal ve medikal ilgi artmıştır.

Sunulan tez çalışmasında taurinin var olan antioksidan, antimikrobiyal aktivitesini güçlendirmek ve katalitik aktivite özelliği olan yapı oluşturmak için, organik kısım olarak taurin, inorganik kısım olarak Cu^{+2} , Fe^{+2} , Fe^{+3} iyonları kullanılarak çiçek şekilli hibrit nanokompozitler immobilizasyon tekniğiyle sentezlendi. Yeni nesil enzim immobilizasyon yöntemiyle sentezlenen çiçek şekilli hibrit nano yapılar serbest enzime göre daha yüksek aktivite göstermiştir. Tamamen yeni bir malzeme geliştirmek yerine hibrit nano yapıya farklı bileşenlerin entegre edilmesiyle materyale birden fazla fonksiyon kazandırılmış olur. ÇŞNK'nın yüksek yüzey hacim oranı ile yüzey adsorpsiyonu artarak reaksiyon hızlandı.

Farklı taurin miktarları (0.01, 0.02, 0.1, 0.5 mg/ml) ve Cu^{+2} , Fe^{+2} , Fe^{+3} gibi iyonlar kullanılmasının ayrıca farklı pH'larda (3, 5, 7.4, 9, 11) çalışılmasının sentezlenen çiçek şekilli hibrit nanokompozitlerin morfolojisi üzerine etkileri araştırılarak SEM ile görüntüleri analiz edildi. En iyi hibrit yapıyı 0.02 mg taurinle Cu^{+2} 'ın pH:7.4'te oluşturduğu görüldü. Nanoyapıların karakterizasyonu için EDX ile yapıdaki element analizi, FTIR ile içerdiği fonksiyonel grup incelemesi yapılarak XRD ile kristal yapı aydınlatıldı ve zeta potansiyelleri ölçüldü.

SEM görüntülerinde çiçek benzeri nano yapıların başarıyla oluştuğu gözlemlendi.

EDX ile Kristal yapıdaki atomlar grafik halinde sunuldu, ÇŞNK yapısına Cu^{+2} iyonunun başarıyla bağlandığı görüldü.

Sentez edilen yapıların antioksidan aktivite, katalitik aktivite ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir. Antimikrobiyal aktivite için *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* bakterileri ve *Candida albicans* fungus kullanıldı. Mikroorganizmaların büyüme grafiğine bakıldığında 2000 µg/ml Taurin *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus* ve *C. albicans* mikroorganizmalarının üremesini sırasıyla, ~ %48, ~%20, ~%5 ve ~%34 inhibe etmektedir. 2000 µg/ml Taurin-Cu⁺² ÇŞNK *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus* ve *C. albicans* mikroorganizmalarının üremesini sırasıyla, ~ %81, ~%97, ~%87 ve ~%61 inhibe etmektedir. Taurin en çok *S. aureus* üremesini inhibe ederken, Taurin-Cu⁺² ÇŞNK en çok *E. coli* üremesini inhibe etmiştir. Taurin-Cu⁺² ÇŞNK *E. coli* için MBC değeri oluşmuştur. Taurin-Cu⁺² ÇŞNK'lar *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus* ve *C. albicans* üremesini taurine göre daha iyi inhibe etmiştir.

Katalitik aktivite deney kapsamında, sentezlenen Taurin-Cu⁺² çiçek şekilli hibrit nanokompozitlerin peroksidaz enzimi benzeri katalitik aktivite gösterdiği ve Fenton benzeri reaksiyona bağlı olarak bir model substrat olarak kullanılan guaiakole karşı aktivitesi test edildi. İyi bir katalitik aktivite sağladığı görüldü.

Antioksidan aktivite için yapılan DPPH metoduyla % inhibisyon sonuçları değerlendirildiğinde Taurin-Cu ÇŞNK'da Taurine göre bir artış görülmemiştir. Antioksidan aktivite için yapılan Cuprac Testinde Taurin-Cu⁺² ÇŞNK'da, konsantrasyon artışa bağlı Cuprac için indirgeme gücünde artış tespit edilmiştir. Taurin-Cu⁺² ÇŞNK Taurin ile kıyaslandığında daha iyi antioksidan aktivite görülmüştür. Cuprak Testi ve Dpph Testinin farklı sonuçlar vermesi, Taurin ve Taurin-Cu⁺² ÇŞNK'nın kimyasal yapısına bağlı farklı etki mekanizmalarıyla açıklanabilir.

6.KAYNAKLAR

- Altınkaynak C, Tavlasoğlu S, Özdemir N, Öçsoy İ. A new generation approach in enzyme immobilization: Organic-inorganic hybrid nanoflowers with enhanced catalytic activity and stability. *Enzyme and Microbial Technology*, 2016; 105–112.
- Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of taurine, hypotaurine and their metabolic precursors. *Biochem J*, 1988; 256: 251–255.
- Asha KK, Devadasan K. Protective effect of taurine on the mitochondria of albino rats induced with fulminant hepatic failure. *Biomed Prevent Nutr*, 2013; 3: 279-283.
- Ayvalık S. Deneysel Olarak Oluşturulan Tip 2 Diyabette Taurinin Oksidan- Antioksidan Sistemler Üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 2006: 49.
- Azuma J, Hasegawa H, Awata N, Sawamura A, Harada H, Ogura K, Ohta H, Yamauchi K, Kishimoto S. Taurine for treatment of congestive heart failure in humans. *Prog Clin Biol Res*, 1983; 125: 61-72.
- Balkan J, Dogru-Abbasoglu S, Kanbaglı O, Çevikbas U, Aykaç-Toker G, Uysal M. Taurine has a protective effect against thioacetamide-induced liver cirrhosis by decreasing oxidative stress. *Hum. Exp. Toxicol*, 2001; 20(5): 251-254.
- Birdsall TC. Therapeutic applications of taurine. *Altern Med Rev*, 1998; 3, 128-36.
- Bordes P, Pollet E, Avérous L. Nano-biocomposites: Biodegradable polyester/nanoclay systems. *Prog Polym Sci*, 2009; 34: 125-155.
- Chesney RW. Taurine: its biological role and clinical implications. 1985; 32: 1–42.

- Chung WH, Hwang YT, Lee SH, Kim HS. Electrical wire explosion process of copper/silver hybrid nano-particle ink and its sintering via flash white light to achieve high electrical conductivity. *Nanotechnology*, 2016 May 20; 27(20): 205704.
- CLSI, C. Reference Method For Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard—3rd edition—document M27-A3. 2008; CLSI, Wayne, Pa, USA.
- CLSI, C. Reference Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, 11th edition-document M07. 2019; CLSI, Wayne, Pa, USA.
- Colombo C, Battezzati PM, Crosignani A, Assaisso M, Ronchi M, Giunta A. Effects of taurine and ursodeoxycholic acid on liver function tests in patients with cystic fibrosis. *Acta Univ Carol Med (Praha)*, 1990; 36(1-4): 148-51.
- Coutinho TC, Rojas MJ, Tardioli PW, Paris EC, Farinas CS. Nanoimmobilization of β -glucosidase onto hydroxyapatite. *Int J Biol Macromol*, 2018; 119: 1042–1051.
- Demarcay H. Uber Die Natur der galle. *Ann Pharm*, 1838; 27(3): 270-91.
- Erdamar H, Türközkan N, Ekremoğlu M, Kurt Y, Yaman H. The effect of taurine on polymorphonuclear leukocyte functions in endotoxemia. *Amino Acids*, 2007 Nov; 33(4): 581–5.
- Franconi F, Di Leo MAS, Bennardini F, Ghrilanda G. Is Taurine Beneficial in Reducing Risk Factors for Diabetes Mellitus? *Neurochem Res*. 2004; 29: 143-150.
- Ge J, Lei J, Zare R. N. Protein–inorganic hybrid nanoflowers, *Nature Nanotechnology*, 2012; 428-432.
- Gordon RE, RF Heller. Taurine protection of lungs in hamster models of oxidant injury: a morphologic time study of paraquat and bleomycin treatment. *Adv Exp Med Biol*, 1992; 315: 319-28.
- Gottardi W, Hagleitner M, Nagl M. N, N-dichlorotaurine: chemical and bactericidal properties. *Arch Pharm (Weinheim)*, 2005; 338(10): 473–483.

- Gottardi W, Nagl M. N-chlorotaurine, a natural antiseptic with outstanding tolerability. *J Antimicrob Chemother*, 2010; 65: 399–409.
- Gökçe G, Özşarlak-Sözer G, Oran İ, Oktay G, Özkal S, Kerry Z. Tavşanlarda glutatyon sentez inhibisyonu sonucu oluşan reaktif oksijen türleri ve kan basıncı üzerine taurinin etkileri. *Türk Farmakoloji Derneği 19. Ulusal Farmakoloji Kongresi Bildiri Özet Kitabı*. 2007; 402.
- Green TR, Fellman JH, Eicher AL, Pratt KL. Antioxidant role and subcellular location of hypotaurine and taurine in human neutrophils. *Biochim Biophys Acta*, 1991; Jan 23; 1073(1): 91-7.
- Halliwell B. Oxidants and human disease: some new concepts. *The Federation of American Societies for Experimental Biology*, 1987; 1, 358-364.
- Hammond PT, Lee JB, Hong J, Bonner DK, Poon Z. Self-assembled RNA interference microsponges for efficient siRNA delivery. *Nat Mater*, 2012; 11(4): 316-22.
- Han X, Patters AB, Jones DP, Zelikovic I, Chesney RW. The taurine transporter: mechanisms of regulation. *Acta Physiol (Oxf)*, 2006; 187(1-2): 61-73.
- Huxtable R. Physiological actions of taurine. *Physiol Rev*, 1992; 72(1): 101-163.
- Ivashchenko S, Escobar Ivirico JL, García Cruz DM, Campillo-Fernández A, Gallego Ferrer G, Monleón Pradas M. Bioactive organic-inorganic poly(CLMA-co-HEA)/silica nanocomposites. *J Biomater Appl*, 2015 Mar; 29(8): 1096-108.
- İnce S, Acaröz U, Arslan Acaröz D, Varol N, Gürler Z, Küçükkurt İ, Demirel HH, Eryavuz A. Sıçanlarda Akrilamid ile İndüklenen Oksidatif Strese Karşı Taurinin Koruyucu Etkisi. *Kocatepe Vet J*, 2018; 11(4): 479-490.
- Jang JS, Piao S, Cha YN, Kim Ch. Taurine chloramine activates Nrf2, increases HO-1 expression and protects cells from death caused by hydrogen peroxide. *J Clin Biochem Nutr*, 2009; 45: 37–43.

- Jong CJ, Azuma J, Schaffer S. Mechanism underlying the antioxidant activity of taurine: prevention of mitochondrial oxidant production. *Amino Acids*, 2012 Jun; 42(6): 2223-32.
- Karafakioğlu Y. Antioksidanlar ve Bir Antioksidan Olarak Taurin. *Kocatepe Vet J*, 2010; 3(1): 55-61.
- Karahasanoğlu MD. Synthesis And Characterization Of Organic-inorganic Hybrid Materials. Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2015; 1-7.
- Kendler BS. Taurine: An overview of its role in preventive medicine. *Prevent Medicine*, 1989; 18, 79.
- Kickelbick G. Hybrid Materials, Synthesis, Characterization, and Applications. Wiley-VCH, Weinheim. 2007: 49, 87-89.
- Kim C, Jang JS, Cho MR, Agarawal SR, Cha YN. Taurine chloramine induces heme oxygenase-1 expression via Nrf2 activation in murine macrophages. *Int Immunopharmacol*, 2010; 10(4): 440–446.
- Kim KS, Park EK, Ju SM, Jung HS, Bang JS, Kim C, Lee YA, Hong SJ, Lee SH, Yang HI, Yoo MC. Taurine chloramine differentially inhibits matrix metalloproteinase 1 and 13 synthesis in interleukin-1 β stimulated fibroblast-like synoviocytes. *Arthritis Res Ther*, 2007; 9: R80.
- Kuriyama K. Taurine as a neuromodulator. *Fed Proc*, 1980; 39: 2680-2684.
- Lahdesmaki P. Biosynthesis of taurine peptides in brain cytoplasmic fraction in vitro. *Int J Neurosci*, 1987; 37, 79-84.
- Lee SW, Cheon SA, Kim MI. Organic–inorganic hybrid nanoflowers: types, characteristics, and future prospects. *J Nanobiotechnol*, 2015; 13: 54.
- Lin Z, Xiao Y, Wang L, Yin Y, Zheng J, Yang H. Facile synthesis of enzyme-inorganic hybrid nanoflowers and their application as an immobilized trypsin reactor for highly efficient protein digestion. *RSC Adv*, 2014; 4(27): 13888–13891.

- Liu Y, Ji X, He Z. Organic-Inorganic Nanoflowers: From Design Strategy to Biomedical Applications. *Nanoscale*, 2019 Oct 7; 11(37): 17179-17194.
- Lourenco R, Camilo ME. Taurine: a conditionally essential amino acid in humans?. *Nutr Hosp*, 2002; 17(6): 262-270.
- Luong NTQ, Cao DT, Anh CT, Minh KN, Hai NN and Van Vu L. Electrochemical Synthesis of Flower-Like Gold Nanoparticles for SERS Application. 2019; 48, 5328-5332.
- Mankovskaya IN, Serebrovskaya TV, Swanson RJ, Vavilova GL, Kharlamova ON. Mechanisms of taurine antihypoxic and antioxidant action. *High Alt Med Biol*, 2000; 1(2): 105-10.
- Marchesi GF, Quattrini A, Scarpino O, Dellantonio R. Therapeutic effects of taurine in epilepsy: a clinical and polyphysiographic study. *Riv Patol Nerv Ment*, 1975; 96(3): 166-84.
- Marcinkiewicz J, Kontny E. Taurine and inflammatory diseases. *Amino Acids*, 2014; 46(1): 7–20.
- Mikolajczak DJ, Heier JL, Schade B, Kokscho B. Catalytic Activity of Peptide-Nanoparticle Conjugates Regulated by a Conformational Change. *Biomacromolecules*, 2017; 18(11): 3557-3562.
- Mizushima S, Nara Y, Sawamura M, Yamori Y. Effects of oral taurine supplementation on lipids and sympathetic nerve tone. *Adv Exp Med Biol*, 1996; 403, 615-22.
- Mochizuki H, Oda H, Yokogoshi H. Dietary taurine potentiates polychlorinated biphenyl-induced hypercholesterolemia in rats. *J Nutr Biochem*, 2001; 12: 109-115.
- Murakami S, Kondo Y, Sakurai T, Kitajima H, Nagate T. Taurine suppresses development of atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHL) rabbits. *Atherosclerosis*, 2002; 163, 79-87.

- Nagl M, Teuchner B, Pottinger E, Ulmer H, Gottardi W. Tolerance of N-chlorotaurine, a new antimicrobial agent, in infectious conjunctivitis a phase II pilot study. *Ophthalmologica*, 2000; 214, 111-114.
- Nakamori K, Koyama I, Nakamura T, Yoshida T, Umeda M, Inoue K. Effectiveness of Taurine in protecting biomembrane against oxidant. *Chem Pharm Bull*, 1990; 38: 3116-3119.
- Nandhini ATA, Anuradha CV. Taurine modulates kallikrein activity and glucose metabolism in insulin resistant rats. *Amino Acids*, 2002; 22: 27-38.
- Niu X, Zheng S, Liu H, Li S. Protective effects of taurine against inflammation, apoptosis, and oxidative stress in brain injury. *Mol Med Rep*, 2018 Nov; 18(5): 4516–4522.
- Oliveira MWS, Minotto JB, de Oliveira MR. Scavenging and antioxidant potential of physiological taurine concentrations against different reactive oxygen/nitrogen species. *Pharm Raports*, 2010; 62: 185–193.
- Öçsoy İ, Doğru E, Usta S. A new generation of flowerlike horseradish peroxides as a nanobiocatalyst for superior enzymatic activity, *Enzyme and Microbial Technology*. 2015; 75-76: 25-9.
- Özelçi Kavas G. Reaktif Oksijen Metabolitlerine Fizyopatolojik Yaklaşım. *Ankara Tıp Mecmuası*, 1994; 47: 579-592.
- Öztürk-Düşkünkörür MH. Biopolyester Synthesis By Enzymatic Catalysis And Development Of Nanohybrid Systems. Doktora Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2012: 5-9.
- Park HJ, Driscoll AJ, Johnson PA. The development and evaluation of β -glucosidase immobilized magnetic nanoparticles as recoverable biocatalysts. *Biochem Eng J*, 2018; 133: 66–73.
- Pasantes-Morales H, Wright CE, Gaull GE. Taurine protection of lymphoblastoid cells from iron-ascorbate induced damage. *Biochem Pharmacol*, 1985; 2205-2207.

- Patel SKS, Gupta RK, Kumar V, Mardina P, Lestari R, Kalia VC, Choi MS, Lee, Indian JK. Influence of Metal Ions on the Immobilization of β -Glucosidase Through Protein-Inorganic Hybrids. *Indian Journal of Microbiology*, September 2019; 59(3): 370–374.
- Petty MA, Kintz J, DiFrancesco GF. The effects of taurine on atherosclerosis development in cholesterol-fed rabbits. *Eur J Pharmacol*, 1990 May 3; 180(1): 119-27.
- Quirk S. Enhanced catalytic activity from proteinoid microspheres. *Biomed Mater Res Part A*, 2013; 101A: 1133–1143.
- Ricci C, Pastukh V, Leonard J, Turrens J, Wilson G, Schaffer D, Schaffer SW. Mitochondrial DNA damage triggers mitochondrial-superoxide generation and apoptosis. *Am J Physiol*, 2008; 294: 413–422.
- Roy S, Packer L. Redox regulation of cell functions by aliphatic lipids: biochemical and molecular aspects. *Biofactors*, 1998; 8: 17-21.
- Russell W, Chesney RA, Helms CM, Andrea M, Budreau HX, John A, Sturman JA. The role of taurine in infant nutrition. *Plenum Press*, 1977; 1688-1744.
- Sanchez C, Julian B, Belleville P, Popall M. Applications of hybrid organic-inorganic nanocomposites. *J Mater Chem*, 2005; 15: 3559-3592.
- Scalzo RL. Organic acids influence on DPPH scavenging by ascorbic acid. *Food Chem*, 2008; 107: 40–43.
- Schaffer SW, Azuma J, Mozaffari M. Role of antioxidant activity of taurine in diabetes. *Can J Physiol Pharmacol*, 2009; 87: 91–99.
- Schaffer S, Azuma J, Takahashi K, Mozaffari M. Why is taurine cytoprotective? In: *Taurine*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003; 307–321.
- Shende P, Kasture P, Gaud RS. Nanoflowers: the future trend of nanotechnology for multi-applications. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018; 46(1): 413-422.

- Schuller-Levis GB, Park E. Taurine and its chloramine: modulators of immunity. *Neurochem Res*, 2004; 29: 117-126.
- Schuller-Levis GB, Metha PD, Rudelli R, Struman J. Immunologic consequences of taurine deficiency in cats. *J Leukoc Biol*, 1990; 47: 321–331.
- Schuller-Levis GB, Park E. Taurine: new implications for an old amino acid. *FEMS Microbiol Lett*, 2003; 226(2): 195-202.
- Shumyantseva VV, Makhova AA, Bulko TV, Bernhardt R, Kuzikov AV, Shich EV, Kukes VG, Archakov AI. Taurine modulates catalytic activity of cytochrome P450 3A4. *Biochemistry (Mosc)*, 2015 Mar; 80(3): 366-73.
- Sturman JA. Nutritional taurine and central nervous system development. *Ann NY Acad Sci*, 1986; 477: 196-213.
- Sun J, Ge J, Liu W, Lan M, Zhang H, Wang P. Multi-enzyme co-embedded organic–inorganic hybrid nanoflowers: synthesis and application as a colorimetric sensor. *Nanoscale*, 2014; 6(1): 255–262.
- Takahara K, Azuma J, Awata N, Ohta H, Sawamura A, Kishimoto S, Sperelakis N. Taurine's possible protective role in agedependent response to calcium paradox. *Life Sci*, 1985; 37: 1705-1710.
- Tappaz ML. Taurine biosynthetic enzymes and taurine transporter: molecular identification and regulations. *Neurochem. Res*, 2004; 29 (1): 83-96.
- Thurston JH, Hauhart RE, Dirgo JA. Taurine: a role in osmotic regulation of mammalian brain and possible clinical significance. *Life Sci*, 1980; 26: 1561-1568.
- Timbrell JA, Seabra V, Waterfield CJ. The in vivo and in vitro protective properties of taurine. *Gen Pharmac*, 1995; 26: 453-462.
- Turrens JF. Formation of reactive oxygen species in mitochondria. In: Schaffer SW, Suleiman M-S (eds), *Mitochondria: the dynamic organelle*. Springer Science? Business Media, New York, 2007: 185–196.

- Tuzcu Z, Gençoğlu H, Tuzcu M, Orhan C, Ağca CA, Şahin K. Diyabetik Sıçanlarda Taurinin Kalp Dokusu Antioksidan Düzeyleri ile NFκ-B ve Nrf2 Sinyal Yolakları Üzerine Etkisi. FÜ Sağ Bil Vet. Derg, 2018; 32(2): 105–110.
- Vohra BP, Hui X. Taurine protects against carbon tetrachloride toxicity in the cultured neurons and in vivo. Arch Physiol Biochem, 2001; 109 (1): 90-94.
- Wang LB, Wang YC, He R, Zhuang A, Wang X, Zeng J. A new nanobiocatalytic system based on allosteric effect with dramatically enhanced enzymatic performance. J Am Chem Soc, 2013; 135(4): 1272–1275.
- Wang X, Shi J, Li Z, Zhang S, Wu H, Jiang Z. Facile one-pot preparation of chitosan/calcium pyrophosphate hybrid microflowers. Acs Appl Mater Interfaces, 2014; 6: 14522–14532.
- Wen C, Li F, Zhang L, Duan Y, Guo Q, Wang W, He S, Li J, Yin Y. Taurine is involved in energy metabolism in muscle, adipose tissue, and liver. Mol Nutr Food Res, 2019 Jan; 63(2): e1800536.
- Wright CE, Tallan HH, Lin YY, Gaull GE. Taurine: biological update. Annu Rev Biochem, 1986; 55: 427-453.
- Wu JY, Prentice H. Role of taurine in the central nervous system. J Biomed Sci, 2010; 17(1): 1.
- Yao HB, Gao MR, Yu SH. Small organic molecule templating synthesis of organic-inorganic hybrid materials: their nanostructures and properties. Nanoscale, 2010 Mar; 2(3): 323-34.
- Zeng J, Xia Y. Hybrid nanomaterials. Not just a pretty flower. Nat Nanotechnol, 2012 Jun 3; 7(7): 415-6.
- Zhu G, Hu R, Zhao Z, Chen Z, Zhang X, Tan W. Noncanonical self-assembly of multifunctional DNA nanoflowers for biomedical applications. J Am Chem Soc, 2013 Nov 6; 135(44): 16438-45.
- Zhu L, Gong L, Zhang Y, Wang R, Ge J, Liu Z, Zare RN. Rapid detection of phenol using a membrane containing laccase nanoflowers. Chem Asian J, 2013; 8(10): 2358–2360.

TAURİN METAL İYONLU NANOKOMPOZİTLERİN SENTEZİ VE ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL, KATALİTİK AKTİVİTE ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

ORIJINALLIK RAPORU

%**4**

BENZERLİK ENDEKSİ

%**2**

İNTERNET
KAYNAKLARI

%**2**

YAYINLAR

%**2**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

- | | | |
|----------|---|-------------|
| 1 | Burcu Somturk, Mehmet Hancer, Ismail Ocsoy, Nalan Özdemir. "Synthesis of copper ion incorporated horseradish peroxidase-based hybrid nanoflowers for enhanced catalytic activity and stability", Dalton Transactions, 2015
Yayın | <% 1 |
| 2 | Submitted to Middle East Technical University
Öğrenci Ödevi | <% 1 |
| 3 | Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University
Öğrenci Ödevi | <% 1 |
| 4 | dergipark.org.tr
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 5 | Submitted to Marmara University
Öğrenci Ödevi | <% 1 |
| 6 | www.researchgate.net
İnternet Kaynağı | <% 1 |

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Sevim Gökçe YILMAZ
Uyruğu : Türkiye (TC)
Doğum Tarihi ve Yeri : 1992- KAYSERİ
Medeni Durumu : Bekar
Tel : +90 530 952 48 86
E-mail : sgokcey@gmail.com
Yazışma Adresi : Alliance Healthcare Ecza Deposu Kayseri Şubesi
Kocasinan/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Ege Üniversitesi - Eczacılık	2011-2016
Lise	Nuh Mehmet Küçükçalık Anadolu Lisesi	2006-2010

YABANCI DİL

İngilizce