

T.C.

MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

**CENNET HURMASI (DIOSPYROS KAKI) MEYVESİNİN
YEŞİL YAPRAKLARINDAN SENTEZLENEN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ, KAREKTERİZASYONU,
ANTİMİKROBİYAL VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

Ali ÖLÇEKÇİ

Tez danışmanı

Doç. Dr. Cumali KESKİN

MARDİN 2022

T.C.

MARDİN ARTUKLU ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Yüksek Lisans Tezi

**CENNET HURMASI (DIOSPYROS KAKI) MEYVESİNİN
YEŞİL YAPRAKLARINDAN SENTEZLENEN GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ, KAREKTERİZASYONU,
ANTİMİKROBİYAL VE SİTOTOKSİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

Ali ÖLÇEKÇİ

Tez danışmanı

Doç. Dr. Cumali KESKİN

MARDİN 2022

ETİK BEYANI

Mardin Artuklu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tez çalışmasının hazırlık, bilgi, belge, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarda bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun davrandığımı,
- Tez çalışmada kullanılan tüm eserlere eksiksiz atıf yaptığımı ve kullanılan tüm eserlere kaynaklar/kaynakçada yer verdiğimi,
- Tez çalışmasının özgün olduğunu,

Tez çalışmasının Mardin Artuklu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı” ile tarandığı hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabullendiğimi bildiririm.

Ali ÖLÇEKÇİ
.../.../2022

ÖZET

Yüksek lisans tezi

Cennet Hurması (*Diospyros kaki*) Meyvesinin Yeşil Yapraklarından Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi, Karakterizasyonu, Antimikrobiyal ve Sitotoksik Aktivitelerinin İncelenmesi

Ali ÖLÇEKÇİ

Mardin Artuklu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

2022: 58 Sayfa

Bu tez çalışmasında Malatya Barguzu bölgesinde yetişen *Diospyros kaki* L. bitkisinin yaprakları aracılığıyla elde edilen özüt kullanılarak gümüş nano partiküller (AgNP'ler) kısa sürede çevre dostu yöntemle kolay bir biçimde sentezlendi. Sentez sonucunda elde edilen AgNP'lerin özellikleri FTIR, FESEM, SEM, TEM, AFM, EDX, XRD, TGA-DTA, Zeta boyut ve zeta potansiyeli gibi çeşitli cihazlar aracılığıyla karakterize edildi. Karakterizasyon verilerinde AgNP'lerin 453.34 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon, ortalama 27.12 nm boyut dağılımı, -22.4 mV yüzey yükü ve küresel görünüm sergiledikleri tespit edildi. AgNP'lerin patojen suşlar üzerinde 0.03-0.06 µg ml⁻¹ konsantrasyonların üreme üzerinde baskılayıcı konsantrasyonlar olduğu mikro dilüsyon tekniğiyle belirlendi. Sentezlenen AgNP'lerin kanser hücre hatları üzerinde sitotoksik etkileri 25-200 µg ml⁻¹ konsantrasyonlarda MTT metodu kullanılarak incelendi. Kanser hücrelerinin çoğalmasına baskılayıcı etki gösterdikleri görüldü.

Anahtar Kelimeler: *Diospyros kaki*, AgNP, antimikrobiyal, antikanser, LCMS/MS

ABSTRACT

Master Thesis

Investigation of Synthesis, Characterization, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Silver Nanoparticles Synthesized from Green Leaves of Persimmon (*Diospyros kaki*) Fruit

Ali ÖLÇEKÇİ

Mardin ArtukluUniversity

Institute of Graduate Education

Department of Biology

2022:58 Page

In this thesis, silver nanoparticles (AgNPs) were easily synthesized in a short time by an environmentally friendly method by using the extract obtained from the leaves of the *Diospyros kaki* L. plant grown in Malatya Barguzu region. The properties of AgNPs obtained as a result of synthesis were characterized by various devices such as FTIR, FESEM, SEM, TEM, AFM, EDX, XRD, TGA-DTA, Zeta size and zeta potential. In the characterization data of AgNPs, it was determined that they exhibited maximum absorbance at 453.8 nm wavelength, average size distribution of 27.12 nm, surface charge of -22.4 mV and spherical appearance. It was determined by microdilution technique that 0.03-0.06 $\mu\text{g ml}^{-1}$ concentrations of AgNPs on pathogen strains were suppressive concentrations on growth. The cytotoxic effects of synthesized AgNPs on cancer cell lines were investigated using the MTT method at concentrations of 25-200 $\mu\text{g ml}^{-1}$. It has been observed that they have a suppressive effect on the proliferation of cancer cells.

Keywords: *Diospyros kaki*, AgNPs, antimicrobial, anticancer, LCMS/MS

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve yüksek lisans tezim süresince bilgi birikimi ve deneyimleri ile akademik gelişimime katkı sağlayan, tez konusunun belirlenmesinden tezin son aşamasına kadar bana yol gösteren, bilim ve motivasyon konusunda desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen ve her zaman yanımda olan danışman hocam Doç. Dr. Cumali KESKİN, her soru sorduğumda bana gülerek yanıt veren ve beni yüreklendiren değerli arkadaşım Ayşe BARAN'a ve yüksek lisans eğitimim süresince desteklerini esirgemeyen değerli eşim Saime ÖLÇEKÇİ ve çocuklarıma sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.



İÇİNDEKİLER

ETİK BEYANI	iv
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1.Nanoteknoloji.....	3
2.2. AgNP'lerin Sentezinde Kullanılan Yöntemler.....	3
2.3. AgNP'lerin Biyoredüksiyonu	4
2.4. AgNP'lerin Karakterizasyonu.....	4
2.4.1. UV-Visible Spektrofotometre	5
2.4.2. X-Işını Difraktometresi (XRD)	5
2.4.3. Atomik Güç Mikroskopisi (AFM) Taramalı alan Elektron Mikroskobu (SEM) ve Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)	5
2.4.4. X-ışını Enerji Dağılımı (EDX) ve Fourier Dönüştümlü İnfrared Spektroskopisi (FTIR)	5
2.4.5. Likit Kromatografi - Kütle Spektrometrisi (LC-MS) Cihazı	5
2.5. AgNP'lerin Biyomedikal Uygulamaları	6
2.5.1. AgNP'lerin Antimikrobiyal Aktiviteleri	6
2.5.2. AgNP'lerin Antikanser Aktiviteleri	6
2.6. Biyolojik Yöntemler Kullanılarak Yapılan Sentez Çalışmaları.....	7
2.8. <i>Diospyros kaki</i> L. (Cennet Hurması)	10
3. MATERYAL VE METOT	12
3.1. <i>Diospyros kaki</i> L. Bitkisinin Yetiştigi Alan.....	12
3.1. Bitki Özütünün Hazırlanması.....	12
3.1.1. Bitki Özütünün Karakterizasyonu.....	12
3.2. Gümüş Nitrat (AgNO ₃) Çözeltisinin Hazırlanması.....	12
3.3. AgNP'lerin Sentezi	13
3.4. AgNP'lerin Karakterizasyonu.....	13
3.4.1. UV-vis Analizi	13

3.4.2. XRD Analizi	13
3.4.3. SEM, FESEM, TEM ve AFM mikrografileri	13
3.4.4. AgNP'lerin Zeta Boyut ve Zeta Dağılımları.....	13
3.5. AgNP'lerin Antimikrobiyal Etkileri	14
3.6. AgNP'lerin Antikanser Etkileri	15
4. TARTIŞMA ve BULGULAR.....	16
4.1. AgNP'lerin UV-vis Spektrum Verileri	16
4.2. AgNP'lerin XRD Verileri	16
4.3. AgNP'lerin SEM Görüntüleri	17
4.4. AgNP'lerin FESEM Görüntüleri	18
4.5. AgNP'lerin TEM Görüntüleri.....	19
4.6. AgNP'lerin AFM Mikrografisi	19
4.7. AgNP'lerin EDX Profili	20
4.8. AgNP'lerin Zeta Potansiyel Dağılımı	20
4.9. AgNP'lerin Zeta Boyut Dağılımı.....	21
4.10. AgNP'lerin TGA-DTA Sonuçları.....	22
4.11. FTIR Analizi	23
4.11. AgNP'lerin Antimikrobiyal Etkileri	24
4.12. AgNP'lerin Antikanser Etkileri	25
4.13. <i>Diospyros kaki</i> L. Yaprak Özütü LC-MS Profili	28
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	32
KAYNAKÇA.....	34

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2. 1: AgNP'lerin sentezi için kullanılan biyolojik kaynaklar ve elde edilen AgNP'lerin özellikleri.....	7
Tablo 4. 1: Sentezlenen AgNP'lerin TGA-DTA sonuçları ile kütle kayıp noktaları.....	22
Tablo 4. 2: Çevre dostu sentezlenen AgNP'lerin TGA-DTA sonuçları ile kütle kayıp noktaları.....	22
Tablo 4. 3: Sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal etkileri.....	24
Tablo 4. 4: Çevre dostu sentez çalışmalarında mikroorganizmalar üzerinde AgNP'lerin etkileri için elde edilen bulgular	25
Tablo 4. 5: Sentezlenen AgNP'lerin hücre hatları ile etkileşimlerinden sonra % canlılık oranları	26
Tablo 4. 6: Çevre dostu sentez çalışmalarında AgNP'lerin kanser hücre hatları üzerinde sitotoksik etkileri	28
Tablo 4. 7: Bitki özütünün fenolik bileşiklerin analizi için yapılan LC-MS analiz sonuçları	30

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1: Nanoteknolojinin sınıflandırılması.....	3
Şekil 2. 2: Nanopartiküllerin elde edilme yaklaşımları	4
Şekil 2. 3: Bitki özütlerinde bulunan fitokimyasalların iyonize olan Ag ⁺ metal formunu biyolojik indirgemesi (biyoredüksiyonu) (Jebril vd., 2020).....	4
Şekil 2. 4: AgNP'lerin antimikrobiyal aktiviteleri	6
Şekil 3. 1: <i>Diospyros kaki</i> L. bitkisinin coğrafi konumu (a) ve morfolojik görünümü b,c.....	12
Şekil 4. 1: Yaprak özütü ile sentezlenen AgNP'lerin varlığını gösteren maksimum dalga boyu absorbans bantları (A), Bitki özütü (B), Reaksiyon sonucunda meydana gelen renk değişimi(C).....	16
Şekil 4. 2: Yaprak özütü ile sentezlenen AgNP'lerin varlığını gösteren maksimum dalga boyu absorbans bantları.....	17
Şekil 4. 3: Özütü aracılığı ile sentezlenen AgNP'lerin SEM görüntüleri.....	18
Şekil 4. 4: Özütü aracılığı ile sentezlenen AgNP'lerin FESEM görüntüleri	19
Şekil 4. 5: Sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüleri.....	19
Şekil 4. 6: Sentezlenen AgNP'lerin AFM görünümü.....	20
Şekil 4. 7: Sentezlenen partiküllerin EDX grafipleri.....	20
Şekil 4. 8: Sentezlenen AgNP'lerin zeta potansiyel dağılımları.....	21
Şekil 4. 9: Sentezlenen AgNP'lerin zeta boyut dağılımları	22
Şekil 4. 10: Sentezlenen AgNP'lerin TGA dağılımları	23
Şekil 4. 11: a. bitki özütünün, b. sentezlenen AgNP'lerin bulunduğu reaksiyon sıvısına ait FTIR spektrumları.....	24
Şekil 4. 12: Sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal etkileri	25
Şekil 4. 13: Sentezlenen AgNP'lerin HDF üzerinde sitotoksik etkileri	26
Şekil 4. 14: Sentezlenen AgNP'lerin U118 üzerinde antikanser etkileri	27
Şekil 4. 15: Sentezlenen AgNP'lerin CaCo-2 üzerinde antikanser etkileri.....	27
Şekil 4. 16: Sentezlenen AgNP'lerin Skov-3 üzerinde antikanser etkileri.....	28
Şekil 4. 17: <i>Diospyros kaki</i> L. yaprak özütünün LC-MS/MS profili.	29

SİMGELER ve KISALTMALAR

mg	: Milligram
µg	: Mikrogram
kg	: Kilogram
g	: gram
mL	: Millilitre
L	: Litre
°C	: Celcius, Sıcaklık Birimi
%	: Yüzde
Ag	: Gümüş
AgNO₃	: Gümüş Nitrat
AgNP	: Gümüş Nanopartikül
EDS	: X Işını Spektroskopisi
EDX	: Enerji Yayılımlı X-Işınımı
XRD	: X-Işınımı
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
IR	: İnfrared Spektroskopisi
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
AFM	: Atomik Güç Mikroskopisi

1.GİRİŞ

Nanoteknoloji son zamanlarda büyük ilgi görmektedir. Tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanımlarıyla gelişen bir alan olmaya devam etmektedir (Mohmed vd., 2017). Özellikle gümüş (Ag), altın (Au), palladyum (Pd) gibi nano metaller ilaç taşıma sistemleri, biyolojik etiketleme, optik cihazlar gibi alanlarda kullanılması ile metal nanopartiküllerin (NP'lerin) sentezi, kararlılığı gibi bazı süreçler bu alan içinde ilgi görmektedir (Emmanuel vd., 2015). NP'ler üstün bazı özelliklere sahiptirler. Yüzey alanının geniş olması, yüksek sıcaklıklara dayanıklı olması bunlardan bazılarıdır (Baran, 2018). NP'ler biyomedikal uygulamalar, kozmetik ve gıda sektörü, bioremidasyon çalışmaları gibi birçok alanda kullanılan değerli malzemelerdir (Arroyo vd., 2020; Morais vd., 2020; Rolim vd., 2019; Thomas vd., 2018; Velmurugan vd., 2014). Metalik NP'lerin elde edilmesinde farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler içinde biyolojik yöntemlerle sentezin birtakım avantajları bulunmaktadır. Sentez aşamalarında toksik kimyasal içermemesiyle çevre dostu olması, düşük enerji ve maliyet gibi avantajlar bunlardan bazılarıdır (Das vd., 2021; Kumar vd., 2017; Singh vd., 2018; Solanki ve Murthy, 2011).

Biyolojik yaklaşımlar ile gümüş nanopartiküllerin (AgNP'lerin) elde edilmesinde bitkisel kaynaklar kullanılarak (yaprak, çiçek, kök, meyve veya bitkinin tamamı) yapılan birçok çalışma mevcuttur (Baran vd., 2018; Hemmati vd., 2019; Kumar vd., 2015; Baran vd., 2019; Velmurugan vd., 2014). Bitki kaynakları ile sentez çalışmalarında elde edilen AgNP'lerin özel koşullar gerektirmemesi ve çevre dostu yaklaşımla sentezlenmelerinin yanında, sentez sürecinin kolay, ucuz ve ürün miktarının daha fazla olması biyolojik yaklaşımlar içinde ilgiyi artıran etmenler arasında yer alır (Eren vd., 2019a; Ojo vd., 2017). Bitki kaynaklarından elde edilen özüt içeriğinde bulunan fenolik bileşikler, alkoller, flavonoidler, karbonil gruplarını içeren fitokimyasallar sulu yapı içerisinde iyonize olan Ag^+ formunu Ag^0 formuna indirgeyerek AgNP'leri oluşturan ve aynı zamanda kararlılığı sağlayan bileşiklerdir (Song ve Kim, 2009; Srikar vd., 2016). AgNP'ler antimikrobiyal (Eren ve Baran 2019b) ve antikanser (Satpathy vd., 2018) ajan olarak medikal uygulama çalışmaları,

kozmetik, biyoremidasyon alışmaları (Rani vd., 2020), gıda sektörü (Velmurugan vd., 2014) ve daha birçok alanda kullanımları bulunmaktadır.

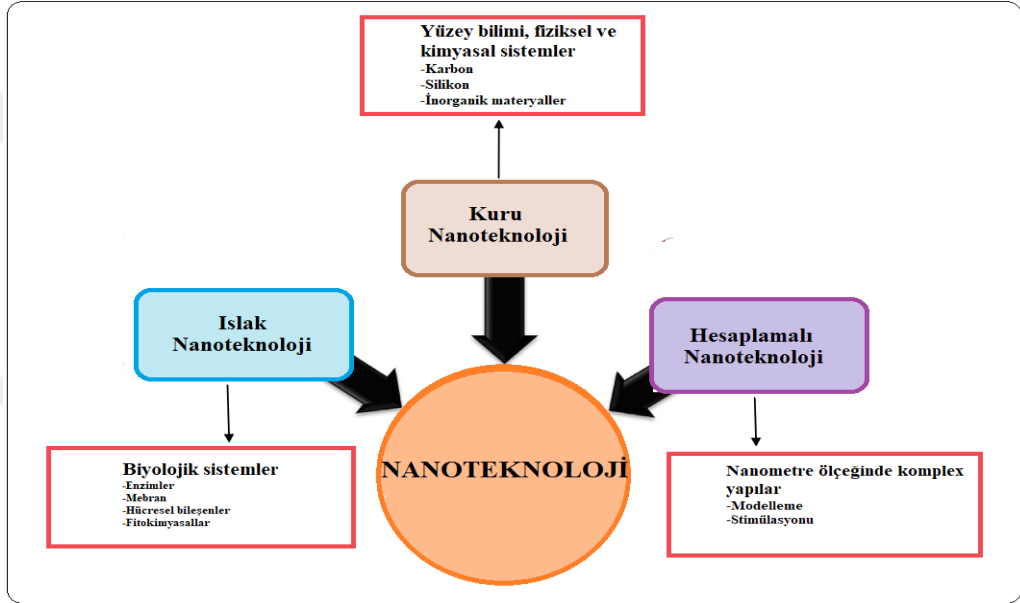
Bu tez çalışmasında Malatya Barguzu bölgesinde yetişen cennet hurması bitki yapraklarından elde edilen özüt kullanılarak biyolojik yöntemle AgNP'leri evre dostu, düşük maliyetli, kolay bir şekilde sentezlemek özelliklerini karakterize etmek, kanser hücre hatları üzerinde toksik etkilerini ve patojen suşlar üzerinde antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirmek amaçlandı.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1.Nanoteknoloji

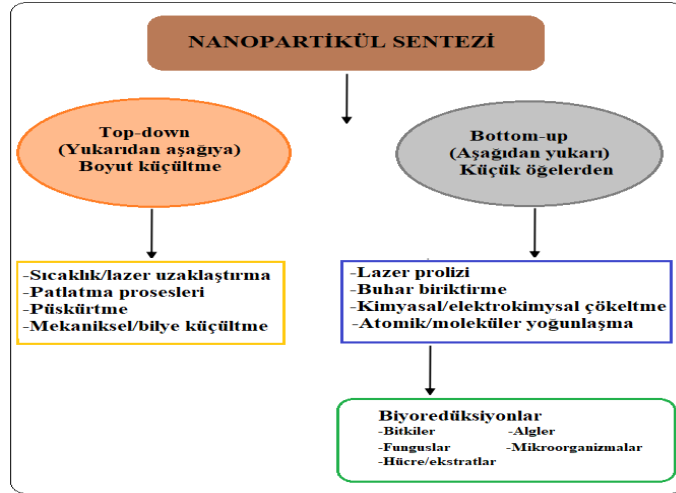
“Nano” yunanacadan gelir ve “cüce” anlamındadır. Nanoteknoloji 1 mm küçük malzemelerin sentezi üretilmesi bu malzemelerin özellikleri ile ilgilenen alandır. Nanoteknoloji aynı zamanda kanser gibi birçok otoimmün hastalık için yeni teşhis ve tedavi süreçlerinde katkı sağlayan bilim alanı oluşturmaktadır. Nanoteknolojiler ıslak, kuru ve hesaplamalı olmak üzere üç kısımda sınıflandırılır (Chung vd., 2016; Yadi vd., 2018) (Şekil 2.1).



Şekil 2. 1:Nanoteknolojinin sınıflandırılması

2.2. AgNP'lerin Sentezinde Kullanılan Yöntemler

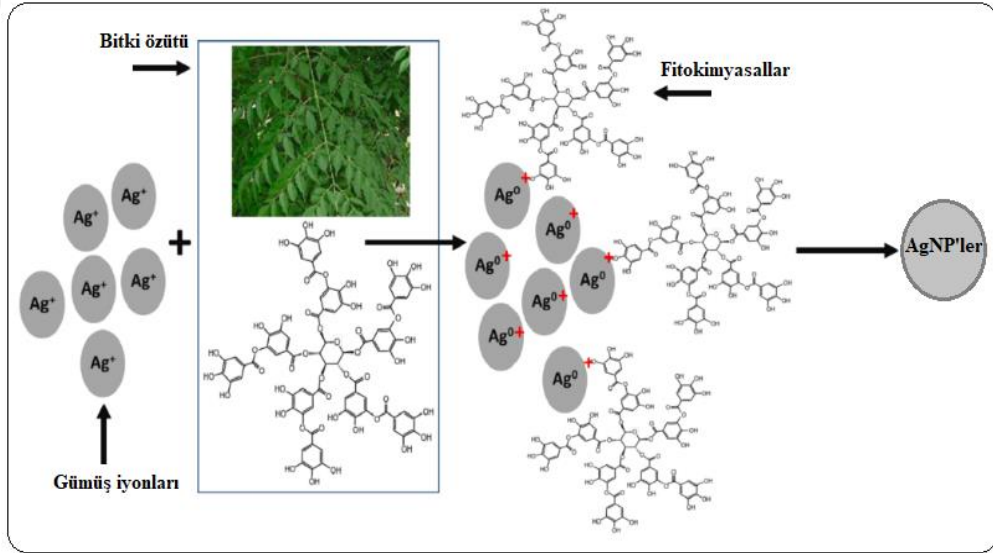
AgNP'lerin elde edilmesinde iki yaklaşım bulunmaktadır. Bu iki yaklaşımdan biri top-down (yukarıdan aşağı) ve bottom-up (aşağıdan yukarıya) yaklaşımlarıdır. Bitkilerle yapılan AgNP'lerin sentez çalışmaları (yeşil sentez) bottom-up sentez yaklaşımıyla gerçekleştirilir. Biyolojik yöntemler dışında diğer yöntemlerin sentez süreçleri hem pahalıdır hem de toksik kimyasalları içermesi bakımından sağlığa ve çevreye zararlıdır (Ali, 2020; Das vd., 2021; Kumar vd., 2017). Şekil 2.2'de AgNP'lerin elde edilmesindeki yaklaşımlar ve bu yaklaşımlara ait yöntemler yer almaktadır.



Şekil 2. 2: Nanopartiküllerin elde edilme yaklaşımları

2.3. AgNP'lerin Biyoredüksiyonu

Metal tuzları sulu bir yapı içinde iyonize olurlar. Bitki özütlerinde bulunan fitokimyasallar (fenolik bileşikler, alkol grupları gibi) sulu bir yapı içinde iyonize olan “+” yüklü metalleri indirgeyerek “0” formunda ki NP'lerin oluşmasına etki ederler (Remya vd., 2015;Arumai Selvan vd., 2018) (Şekil 2.3).



Şekil 2. 3: Bitki özütlerinde bulunan fitokimyasalların iyonize olan Ag^+ metal formunu biyolojik indirgemesi (biyoredüksiyonu) (Jebril vd., 2020)

2.4. AgNP'lerin Karakterizasyonu

AgNP'lerin yapılarının özelliklerinin belirlenmesi çeşitli cihaz verilerini değerlendirmekle mümkün olmaktadır. AgNP'lerin oluşumunu varlığını,

morfolojisini, yüzey yapısını, boyutunu, dağılımını, yüzey yükünü belirlemek için bu veriler yol göstermektedir.

2.4.1. UV-Visible Spektrofotometre

Sentez sürecinde AgNP'lerin varlığını göstermek için 300-800 nm arasında UV-visible spektrofotometre (UV-vis) (Some vd., 2019) cihazı ile dalga boyu taramaları yapıp gümüşün karakteristik maksimum dalga boyları incelenir. Maksimum dalga boyunda alınan spektrumlar Ag⁺'dan Ag⁰'a biyoredüksiyonla NP'lerin oluşumu plazma yüzeyinde titreşimler (SPR) meydana getirmesinden kaynaklanmaktadır (Kumar vd., 2016).

2.4.2. X-Işını Difraktometresi (XRD)

Sentez sonrasında elde edilen NP'lerin kristal desenleri ve boyutları 2θ alınan piklerin değerlendirilmesi ile belirlenmektedir. AgNP'lerin deseni ve boyutu gümüşe ait (111), (200), (220) ve (311) (Swamy vd., 2015) açıları ve bu açı noktalarının değerleri ile belirlenmektedir.

2.4.3. Atomik Güç Mikroskopisi (AFM) Taramalı Alan Elektron Mikroskobu (SEM) ve Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)

Sentez sonucunda elde edilen AgNP'lerin AFM ile topografisi ve faz kontrast yapısı, morfolojik görünüşleri ve boyutları ile ilgili özelliği belirlenir, bunun yanında TEM ve SEM görüntülerinden elde edilen veriler de morfolojik yapı değerlendirmesi için kullanılmaktadır (Asnag vd., 2019; Rolim vd., 2019).

2.4.4. X-ışını Enerji Dağılımı (EDX) ve Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi (FTIR)

Sentezlenen partiküllerin element kompozisyonları ile ilgili özellikleri EDX spektrumları incelenerek değerlendirilmektedir (Ali vd., 2016). Biyoredüksiyondan sorumlu fonksiyonel grupların belirlenmesinde FTIR spektrumlarının frekanslarında meydana gelen kaymalar değerlendirmede yol gösterici olmaktadır (Satpathy vd., 2018).

2.4.5. Likit Kromatografi - Kütle Spektrometrisi (LC-MS) Cihazı

LC-MS, fiziksel olarak ayırma tekniği yapan sıvı kromatografi (HPLC) ile kütle analizi yöntemlerinin uygulandığı kütle spektrometrisi (MS) ortak yapan analitik bir teknik niteliği taşımaktadır.

HPLC' de kompleks bileşenleri ayırırken MS'de, oldukça iyi moleküler özgüllük ve algılama hassasiyeti özelliği ile bileşenlerin yapılarına ait kimliği oluşturur. LC-MS cihazı kullanılarak biyomoleküller, organik ve inorganik bileşiklerin

olarak kullanımlarına dair birçok çalışma mevcuttur (Aktepe vd., 2021; Arumai Selvan vd., 2018; Gökşen Tosun vd., 2021; Satpathy vd., 2018; Zein vd., 2020). Gelecekte de nanopartiküllerin kanser tedavisi için ilaç hizmetlerine olan alternatif katkısı gündemde olacaktır (Patra vd., 2015).

2.6. Biyolojik Yöntemler Kullanılarak Yapılan Sentez Çalışmaları

Biyolojik yöntemlerle yapılan sentez çalışmalarından farklı biyolojik kaynaklar kullanılabilir. Bitkiler, Funguslar, bakteriler, algler, mayalar gibi organizmalar NP'lerin sentez uygulamaları için kullanılmaktadır (Thakkar vd., 2010). Tablo 2.1'de AgNP'lerin sentezi için kullanılan biyolojik kaynaklar ve elde edilen AgNP'lerin özellikleri verildi.

Tablo 2. 1: AgNP'lerin sentezi için kullanılan biyolojik kaynaklar ve elde edilen AgNP'lerin özellikleri

Sentezde Kullanılan Biyolojik Kaynak	Kullanılan Kısım	AgNP'ler Boyut (nm)	AgNP'lerin Şekli	Kaynak
<i>Holoptelea integrifolia</i>	Yaprak	32-38	Küresel	(Kumar vd., 2019)
<i>Cydonia oblonga</i>	Meyve kabuğu	27.30	Küresel	(Baran, 2019c)
<i>Trichoderma viride</i>	Kendisi	4-16	Küresel	(Othman vd., 2017)
<i>Aspergillus sp.</i>	Kendisi	5-30	Küresel	(Mohmed vd., 2017)
<i>Morus nigra</i>	Yaprak	4-8	Küresel	(Hafez vd., 2017)
<i>Butea monosperma</i>	Yaprak	10-30	Küresel	(Patra vd., 2015)
<i>Penicillium decumbens</i>	Kendisi	30-60	Küresel	(Majeed vd., 2016)
<i>Artemisia absinthium</i>	Yaprak	14.58	Küresel	(Baran, 2019b)
<i>Juglans regia L.</i>	Yaprak	23.66	Küresel	(Baran, 2021)
<i>Jurinea dolomiaea</i>	Yaprak	28-40	Küresel	(Ahmed vd., 2019)
<i>Morus nigra</i>	Yaprak	200-500	Küresel	(Kumar vd., 2013)
<i>Zingiber officinal</i>	Kök	10-20	Küresel	(Velmurugan vd., 2014)
<i>Tulipa (Lale)</i>	Yaprak	5-10	Küresel	(Singh vd., 2018)
<i>Euphorbia longana Lam.</i>	Meyve	20	Küresel	(Khan vd., 2018)
<i>Trianthema decandra</i>	Kök	15	Kübik/Altıgen	(Geethalakshmi ve Sarada, 2010)
<i>Melia azedarach</i>	Yaprak	23	Küresel	(Jebri vd., 2020)
<i>Sterculia foetida</i>	Yaprak	20-30	Küresel	(Premkumar vd., 2018)
<i>Rubus caesius (Böğürtlen)</i>	Meyve	12-50	Küresel	(Kumar vd., 2015)

Zataria multiflora özütü ile farklı pH'larda sentez çalışmaları yapılmış, pH 9'da sentezlenen AgNP'lerin 25 nm boyut dağılımına sahip küresel görünüm sergilediklerini ve sentez sonucunda elde edilen AgNP'lerin 4 ve 8 µg ml⁻¹ konsantrasyonların patojen *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal etkisi belirtilmiştir (Barabadi vd., 2021).

Commiphora molmol özütü kullanılarak sentezlenen ortalama 49.04 nm boyutlara sahip AgNP'lerin 10, 50, 80, 100 ve 150 µl'lik beş farklı konsantrasyonun antiparazitik etkisine bakılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiş olduğu gösterilmiştir (Awad vd., 2021).

Glochidion candolleianum yaprak özütü ile AgNP'lerin sentezi yapılmış elde edilen AgNP'lerin küresel görünümde oldukları belirtilmiş ve bunların gram pozitif ve negatif bakterilerin üremeleri üzerinde baskılayıcı etki yaratıkları söylenmiştir (Balachandar vd., 2022).

Aloe vera özütü ile sentezlenen AgNP'lerin küresel görünümde oldukları 15.62 µg mL⁻¹ ve 31.25 µg mL⁻¹ konsantrasyonların bakteriler üzerinde baskılayıcı etki gösterdikleri ifade edilmiştir (Muraro vd., 2022).

Curcuma kwangsiensis kabuk özütü ile 10-35 nm arasında sentezlenen AgNP'lerin küresel görünümde oldukları belirlenmiş bunun yanında boya gideriminde katalitik aktiviteleri beş gün boyunca güneş ışığında gözlenmiş ve etkili aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (Jaast ve Grewal, 2021).

Cleome gynandra yaprak özütü ile sentezlenen AgNP'lerin küresel morfolojik görünüm sergiledikleri ve *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde güçlü toksik etki gösterdikleri söylenmiştir (Mani vd., 2021).

Catha edulis özütü ile sentezlenen AgNP'lerin küresel görünümde 14.8 nm boyutlara sahip oldukları ve bunların civa iyonlarının tanımlanması için kullanıldığı gösterilmiştir (Tsegay vd., 2019).

Zephyranthes candida çiçek özütü elde edilen AgNP'ler antiinflamatuvar, antidiyabetik, antioksidan ve antikanser biyoaktif aktivitelerinin incelendiği çalışmada etkili oldukları görülmüştür (Kaliyammal vd., 2021).

Schizophyllum commune ve *Geopora sumneriana* özütleri ile ortalama 17.11 nm AgNP'ler sentezlenmiş Meme (MCF-7), Akciğer (A549), Kolon (HT-29) ve Karaciğer (HUH-7) kanser hücre hatları üzerinde toksik etkileri ve Gram negatif ve Gram pozitifler üzerinde antimikrobiyal etkileri incelenmiştir (Gökşen Tosun vd., 2021).

Humulus lupulus özütü kullanılarak 17.40 nm boyutlarına sahip küresel morfolojide AgNP'ler sentezlenmiş ve bunların genotoksik ve sitotoksik etkilerinin az olduğu bu karşın ilaç seçimi için uyumlu yapısının gayet iyi olduğu açıklanmıştır (Das vd., 2022).

Chenopodium album özütü kullanılarak 10-30 nm boyutlarında küresel görünümü AgNP'ler sentezlenmiş ve ardından bunların antimikrobiyal etkileri *E.coli* and *B.subtilis* mikroorganizmaları üzerinde Disk Diffuzyon yöntemi ile değerlendirilmiş ve etkili oldukları bildirilmiştir (Anandalakshmi, 2021).

Curcuma longa ve *Zingiber officinal* kök özütleri ile 42-61 nm boyutlarda küresel görünümde AgNP'lerin sentezlendiği Kolon kanseri (HT-29) üzerinde 150.8 mg/mL konsantrasyonunun etkili olduğu raporlanmıştır (Venkatadri vd., 2020).

Lagerstroemia speciosa özütü kullanılarak küresel şekilli AgNP'ler sentezlenmiş *E.coli* ve *S. aureus* üzerinde antibakteriyel ve *Aspergillus niger* üzerinde ise antifungal etkisi Disk Diffuzyon yöntemi ile incelenmiştir (Prakash vd., 2021).

Zingiber officinal özütü ile ortalama 18.93 nm boyutlara sahip AgNP'ler elde edilerek bunların 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) üzerinde antioksidan etkileri incelenmiştir. 172 mg mL⁻¹ konsantrasyonunun etkili olduğu ifade edilmiştir (Wang vd., 2021).

Camellia sinensis özütü aracılığıyla 18.115 nm boyutlarda AgNP'ler sentezlenmiş *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal etkisi incelendiği ve *S. aureus* üzerinde etkili olurken *E. coli* üzerinde etkili olmadığı belirtilmiştir (Khalid Mohamed vd., 2021).

Marsilea quadrifolia özütü kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin 10.69 mg mL⁻¹ konsantrasyonunun *Aedes aegypti* (Zika virusu) üzerinde toksik etki gösterdiği ve bakterilerin çoğalmaları üzerinde baskılayıcı etki gösterdikleri ifade edilmiştir (Ishwarya vd., 2021).

Agastache foeniculum bitki ve kallus özütünden sentezlenen 19.81 ± 5.32 nm ve 9.51 ± 1.55 nm boyutlarda AgNP'lerin hastane patojenleri üzerinde etkili oldukları bunun yanında *Acinetobacter baumannii*'nin suşları üzerinde de 6.25-25.00 mg L⁻¹ konsantrasyonların üremelerini baskılamada etkili oldukları belirtilmiştir (Polivanova vd., 2021).

Eranthemum pulchellum yaprak özütü kullanılarak 12 nm kristal nanoboyutlara sahip AgNP'lerin sentezlendiği bunların *Aspergillus flavus* (AF-LHP-NS7) suşu üzerinde minimum inhibisyon konsantrasyonunun 200 mg mL⁻¹ olduğu görülmüştür. Ayrıca sentezlenen AgNP'lerin Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic asit

üzerinde 462.56 mg mL⁻¹ konsantrasyonun güçlü antioksidan etki sergilediği açıklanmıştır (Prakash vd., 2021).

Boswellia sacra bitki özütüyle 11.17-37.50 nm boyutlarda AgNP'ler sentez edilmiş ve elde edilen AgNP'lerin gram pozitif *E. coli* bakteri suşu ve fungus *Penicillium chrysogenum* üzerinde baskılayıcı etki gösterdikleri ifade edilmiştir (Azmi vd., 2021).

Aesculus hippocastanum özütü kullanılarak -29.1 mV zeta potansiyeline sahip ortalama 50 ± 5 nm boyutlarda küresel görünümünde AgNP'ler elde edilmiş ve DPPH üzerinde bitki özütü karşısında güçlü antioksidan etki gösterdikleri açıklanmıştır (Küp vd., 2020).

Artemisia turcomanica yaprak özütü aracılığı ile 20 nm boyutlara sahip küresel görünümü AgNP'ler sentezlenmiş ve sağlıklı fibroblast (L-929) hücreleri ile birlikte mide kanser hücreleri (AGS) üzerinde etkileri bitki özütüyle karşılaştırmalı olarak incelenmiştir (Mousavi vd., 2018).

Dicranum majus özütü ile 278.7 nm ortalama zeta boyut dağılımında, -16.7 mV zeta potansiyeli dağılımı gösteren AgNP'ler elde edilmiştir. Sentez sonucunda ortaya çıkan AgNP'lerin antimikrobiyal aktiviteleri *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) ve *Proteus vulgaris* (NRRL B-123) suşları üzerinde incelenmiştir. AgNP'lerin antioksidan aktiviteleri DPPH üzerinde değerlendirilmiş ayrıca bu partiküllerin DNA üzerindeki mutajenik hasarın olmadığı yapılan çalışmada ortaya konulmuştur (Mamdooh ve Naeem, 2021).

2.8. *Diospyros kaki* L. (Cennet Hurması)

Ebenales takımının *Ebenaceae* familyası yaklaşık 400 üyesi olan Asya, Afrika, orta ve güney Amerika boyunca yayılım gösteren bu sınıf içinde, *Diospyros kaki* L. ekonomik açıdan değerli bir bitkidir. “Dios” Baştanrı, Jupiter ve “Pyros” dane kelimelerinin bir araya gelmesiyle meyve görünümünün güzel olması bunun yanında tatlarının da oldukça lezzetli oluşu ile "tanrıların yiyeceği" anlamını taşımaktadır. Çin, Japonya, Kore gibi Asya ülkeleri başta olmak üzere, İtalya, İsrail, Brezilya, Avusturya gibi ülkelerde yetiştirilme oranı oldukça yüksektir. Ülkemizde ise Akdeniz bölgesi, Karadeniz bölgesi gibi çeşitli bölgelerde yetişmektedir. Bitki yaprakları farmasötik olarak felç tedavisi, cilt yanıkları, kanamayı durdurma soğuk ve donma gibi durumlarda olumlu etkileriyle kullanılmaktadır. Kimyasal içeriğinde fenolik bileşikler, flavonoid oligomerleri, tanenler, askorbik asit ve kafein gibi kimyasal bileşenler bulunmaktadır (Attar ve Yapaoz, 2018; Ma vd., 2018; Matsumoto vd., 2001).

Diospyros kaki L. 'nin bitki sistematikteki yeri aşağıda verilmiştir.

Sistematikteki Yeri

Âlem: *Plantae*

Altalem: *Tracheobionta*

Şube: *Magnoliophyta*

Sınıf: *Magnoliopsida*

Takım: *Ebenales*

Familya: *Ebenaceae*

Cins: *Diospyros*

Tür: *Diospyros kaki* L.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. *Diospyros kaki* L. Bitkisinin Yetiştirildiği Alan

Malatya Yeşilyurt Barguzu bölgesinde yetişen *Diospyros kaki* L. bitki yaprakları 38°18'43.5"N 38°14'51.7"E konuma ait noktadan kasım ayı sonunda toplandı. Coğrafi konum ve bitki morfolojisine ait görüntüler şekil 3.1’de verildi.



Şekil 3. 1: *Diospyros kaki* L. bitkisinin coğrafi konumu (a) ve morfolojik görünümü (b,c).

3.1. Bitki Özütünün Hazırlanması

Diospyros kaki L. yaprakları Kasım ayı sonunda dökülmeye yakın zamanda toplandı. Yaprakları musluk suyu ve distile su ile birkaç kez yıkandı. Oda koşullarında kurutuldu. Ardından kurutulmuş yapraklardan 150 gr alınıp 450 ml distile su ile karıştırılarak ısıtıcı yardımı ile kaynatıldı. Bir süre soğuması için beklendi. Süzme işlemi Whatman 1 no’lu süzgeç kâğıdı kullanılarak yapıldı. Sentez için hazırlanmış olan özüt kullanılmak üzere +4 derecelik buzdolabına alındı.

3.1.1. Bitki Özütünün Karakterizasyonu

Biyoredüksiyondan sorumlu olabilecek fitokimyasalların belirlenmesi için özüt içeriğine ait fitokimyasal profili Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS) ve FTIR cihazları kullanılarak tanımlandı. Aynı zamanda sonuçlar özütün kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi içinde kullanıldı.

3.2. Gümüş Nitrat (AgNO_3) Çözeltisinin Hazırlanması

Sigma Aldrich AgNO_3 tuzundan 5 mM konsantrasyona sahip çözelti AgNP’lerin sentezi için hazırlandı.

3.3. AgNP'lerin Sentezi

Diospyros kaki L. yaprak özütü ve 5 mM AgNO₃ çözeltisi 1:4 oranında karıştırılıp 30 °C de bekletildi. Zamana karşı renk değişimi gözlemlendi. Rengin değişmesine bağlı olarak reaksiyon ortamından numuneler alındı. Alınan numunelerin UV-vis maksimum dalga boyu absorpsanları değerlendirildi.

3.4. AgNP'lerin Karakterizasyonu

Biyoredüksiyona bağlı olarak sentezlenen AgNP'lerin özellikleri UV-vis, XRD, Zeta potansiyeli, FESEM, SEM, TEM, Zeta boyut dağılımı ve AFM analiz verileri aracılığıyla tanımlandı.

3.4.1. UV-vis Analizi

Çevre dostu sentez yöntemi kullanılarak AgNP'lerin *Diospyros kaki* L. yaprak özütü kullanılarak sentezinde oluşumlarını ve sentez ortamında bu partiküllerin varlığı ile ilişkili olarak AgNP'lere ait maksimum absorpsan bantları renk değişimi ile alınan numunelerle UV-vis yapılan okumalarla değerlendirildi.

3.4.2. XRD Analizi

Sentez sonucu oluşan partiküllerin kristal yapıları ve boyutları XRD cihazı kullanılarak yapılan analizlerle değerlendirildi. 20-80 aralığında 2θ da elde edilen sonuçlar kullanılarak sentez sonucunda elde edilen AgNP'lerin kristal nano boyutları aşağıda verilen Debye-Scherrer eşitliğinden yararlanarak hesaplama yapıldı (Eren ve Baran, 2019a), (Baran vd., 2021).

$$D = K\lambda / (\beta \cos\theta) \quad (1)$$

Bu eşitlikte ki: D= partikül boyutunu, K=sabit değerini, λ=X-ray dalga boyu değeri, β=maksimum pikin FWHM değerinin yarısı, θ= yüksek pikin Bragg açısını ifade etmektedir.

3.4.3. SEM, FESEM, TEM ve AFM mikrografileri

Sentezlenen AgNP'lerin morfolojik görünüşleri SEM, FESEM, TEM görüntüleri ile belirlendi. AgNP'lerin topografik dağılımları ise AFM kullanılarak tespit edildi.

3.4.4. AgNP'lerin Zeta Boyut ve Zeta Dağılımları

Yaprak özütü ile sentezlenen AgNP'lerin yüzey yükleri ve boyut dağılımları, Malvern cihaz aracılığı ile yapıldı.

3.5. AgNP'lerin Antimikrobiyal Etkileri

Diospyros kaki L. yapraklarına ait özütle sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal etkileri patojen mikroorganizma suşları üzerinde mikro dilusyon yöntemi kullanılarak Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) tanımlandı. AgNP'lerin antimikrobiyal etkileri için yapılan deneysel çalışmalarda iki tür gram pozitif *Bacillus subtilis* ATCC 11774 (*B. subtilis*) ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (*S. aureus*), iki tür gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27833 (*P. aeruginosa*) ve *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC25922 bakterileri ve fungus olan *Candida albicans* (*C. albicans*) mikroorganizmaları kullanıldı. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan (Malatya, Türkiye) *E. coli*, *S. aureus* ve *C. Albicans* türleri temin edildi. *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* türleri de Mardin Artuklu Üniversitesi Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı'ndan (Mardin, Türkiye) temin edilerek uygulamalar için kullanıldı.

Bakteriler nutrient agar, fungus *C. albicans* da sabora dekstros agar besiyerine ekilerek 37 °C etüvde bir gece çoğalmaları için inkübasyonda bekletildi. Besiyeri plaklarında üremiş mikroorganizmalar alınıp McFarland standardı 0.5 (Emmanuel vd., 2015) bulanıklık kriterine göre her bir mikroorganizma türü için çözeltiler ayarlanarak hazırlandı. Mikrodilusyon için 96'lık mikropalakalar kullanıldı. Bakteri çalışmaları için müller hinton sıvı besiyeri ve *C. albicans* çalışmaları içinde Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 sıvı besiyeri ortamları hazırlanıp uygun miktarlarda kuyucuklara pipetlendi. Farklı konsantrasyonlarda AgNP'leri içeren çözeltiler hazırlanıp mikropalakalara uygun miktarlarda aktarımı sağlandı ve bir seri mikrodilusyonla AgNP'lerin dağılımı yapıldı. Bazı mikropalaka kuyucukları sterilizasyon gibi kontrol adımları için tanımlandı. Hazırlanan mikroorganizma çözeltileri mikro plaka kuyucuklarına uygun miktarlarda pipetlendi. Tüm bu işlemlerden sonra hazırlanan mikropalakalar 37 °C etüve alındı. Antimikrobiyal etki için bir gece (24 saat) inkübasyonda tutuldu. Ertesi gün mikropalaka kuyucukları mikroorganizmaların çoğalmaları bakımından kontrol edildi. Üremenin başladığı kuyucuktan önceki konsantrasyon MİK olarak tespit edildi.

3.6. AgNP'lerin Antikanser Etkileri

Sentezlenen AgNP'lerin antikanser etkileri Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Merkezi, Hücre Kültürü Laboratuvarında (Diyarbakır, Türkiye), American Type Culture Collection (ATCC)'nundan temin edilen hücrelerle MTT metodu ile incelendi. Deneysel çalışmada Glioblastoma (U118), İnsan Kolorektal Adenokarsinom (Caco-2), İnsan Over sarkoma (Skov-3) kanser hücre hatları ve İnsan Dermal Fibroblast (HDF) sağlıklı hücre hatları üzerinde AgNP'lerin etkileri çalışıldı.

Hücre hatlarından HDF, CaCo-2 ve U118 75 t-flasklarda Dulbecco Modifiye Eagle (DMEM) ortamında çoğaltıldı. DMEM ortamında 100 U/ml Penstrep, 2 mM L-Glutamin, % 10 FBS bulunmaktadır. Skov-3 hücre hattı 75 t-flasklarda 100 U/ml Penstrep, % 10 FBS, bulunan RPMI (Roswell Park Memorial Institute) ortamında çoğaltıldı. Kültürlenmiş flasklar % 95 hava, % 5 CO₂ ve nem koşullarında 37 °C'lik etüvde bekletildi. Daha sonra Hemositometre aracılığı ile hücre hatlarının kontrolü yapılarak % 80'lik konfluansa olup olmamalarına göre farklı konsantrasyonlara tekrardan süspansiyon işlemi yapıldı. Ardından hücre hatları 96'lık mikro plakalara'lara aktararak bir gecelik (24 saat) inkübasyona alındı. Beklemenin sonrasında hücre hatlarının kültüre edildiği kuyucuklara değişen konsantrasyonlarda AgNP'ler eklenerek 48 saat süre ile 37 °C'lik etüv alındı. Süre sonunda kuyucuklara MTT çözeltisi eklenerek mikropalakalar 3 saatlik inkübasyona alındı. Ardından DMSO eklenip 15 dakika bekledikten sonra Multi Scan Go, Thermo cihazı kullanılarak 540 nm dalga boyunda hücrelerin absorbans verileri alındı. Hücre hatlarının Absorbans değerleriyle sentezlenen AgNP'lerin hücre hatlarında canlılıklarını baskılayan konsantrasyonları aşağıda verilen eşitlik aracılığı ile hesaplandı (Remya vd., 2015).

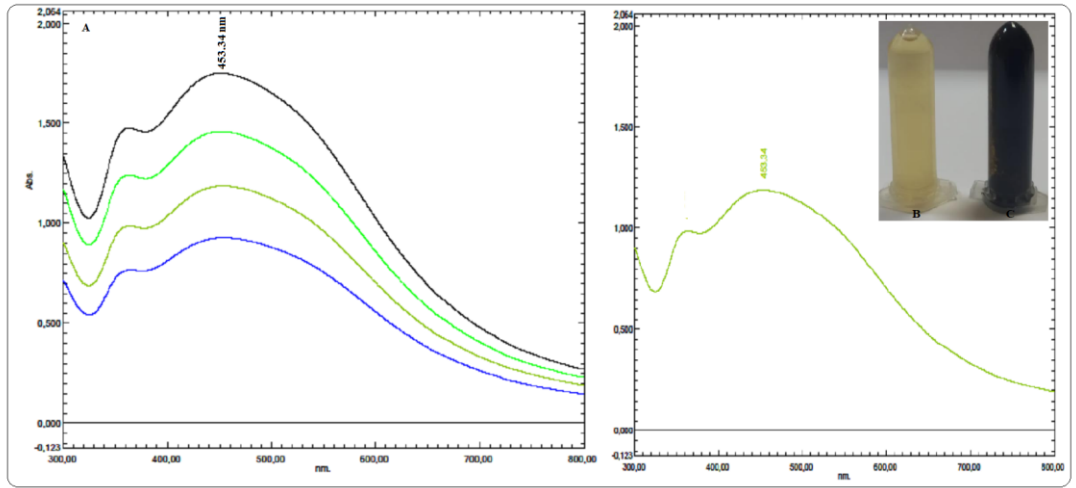
$$\% \text{ canlılık} = U/C * 100 \quad (2)$$

Eşitlikte U; hücrelerin AgNP'lere maruz kaldıktan sonra absorbansları, C; kullanılan kontrol hücrelerinin absorbanslarını ifade etmektedir.

4. TARTIŞMA ve BULGULAR

4.1. AgNP'lerin UV-vis Spektrum Verileri

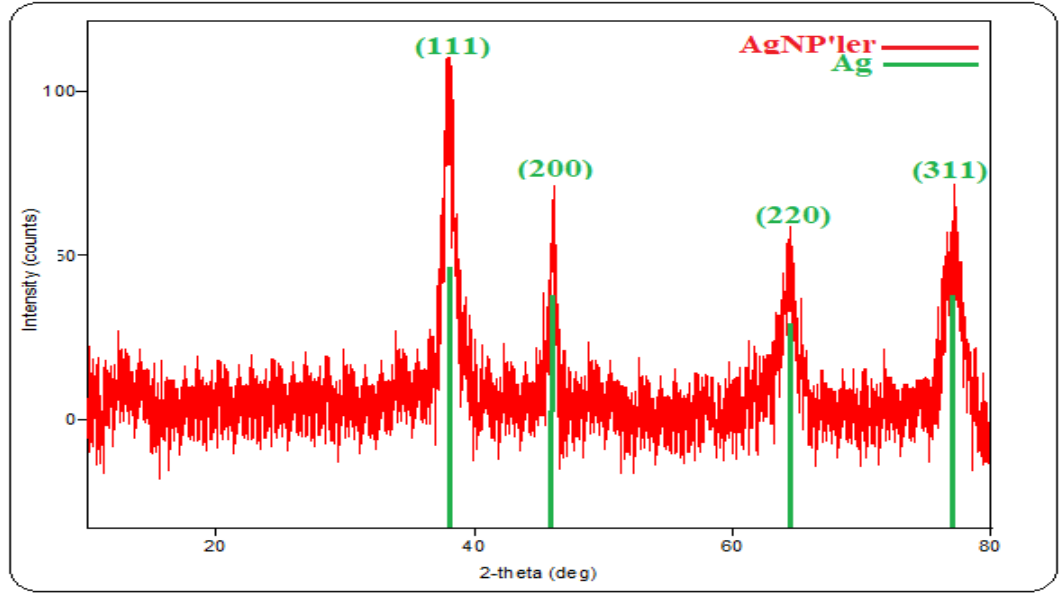
Yaprak özütü ve 5 mM AgNO₃ çözeltisi karıştırıldıktan 30 dakika sonra sarıdan koyu kahverengine olan renk değişimi gözlemlendi. Bu renk değişimi AgNP'lerin oluşumuna bağlı plazma yüzeyindeki titreşimlerden kaynaklanmaktadır. Bu UV-vis cihazı ile yapılan dalga boyu taramalarında 453.34 nm maksimum absorptans bantlarıyla doğrulandı (Şekil 4.1) (Jebril vd., 2020; Khan vd., 2018; Pinzaru vd., 2018; Singh vd., 2018).



Şekil 4. 1:Yaprak özütü ile sentezlenen AgNP'lerin varlığını gösteren maksimum dalga boyu absorptans bantları (A), Bitki özütü (B), Reaksiyon sonucunda meydana gelen renk değişimi (C)

4.2. AgNP'lerin XRD Verileri

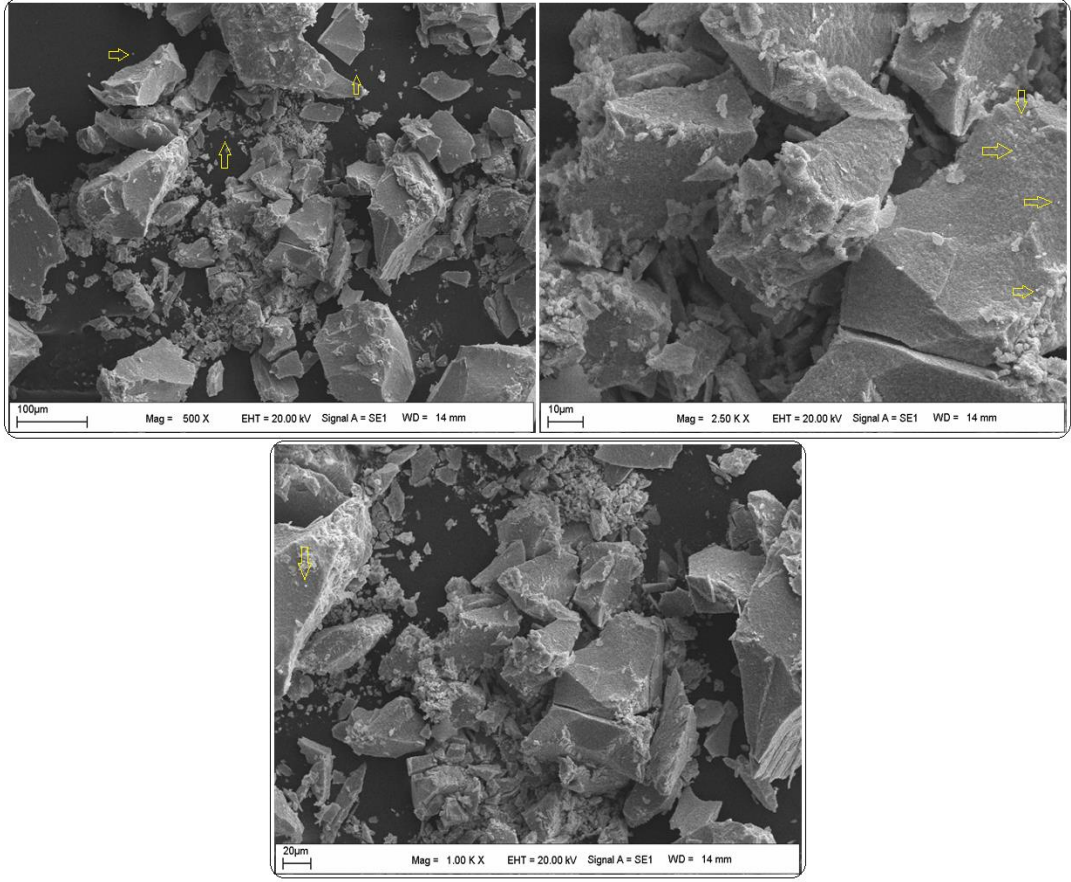
Diospyros kaki L. yaprak özütü ile sentezlenen partiküllerin kristal yapılarını aydınlatmak ve kristal nano boyutlarını tespit etmek için 2θ da yapılan analiz datalarında 111° , 200° , 220° ve 311° alınan spektrumlar partiküllerin kubik desene sahip olduklarını gösterdi (Khan vd., 2018; Some vd., 2019). 2θ 111° , 200° , 220° ve 311° da alınan spektrumların değerlerinin sırası ile 37.96, 46.03, 64.31, ve 77.02 olduğu görüldü (şekil 4.2). Bu spektrumlara ait değerler kullanılarak AgNP'lerin kristal nano boyutları Debye-Scherrer eşitliği kullanılarak 48.90 nm olarak hesaplandı. Bu eşitlik kullanılarak çevre dostu sentez çalışmalarında AgNP'lerin kristal nano boyutları 27.30 nm (Baran., 2019) ve 39.37 nm (Baran, 2019) olarak hesaplandığı belirtilmiştir.



Şekil 4. 2: Yaprak özütü ile sentezlenen AgNP'lerin varlığını gösteren maksimum dalga boyu absorbands bantları

4.3. AgNP'lerin SEM Görüntüleri

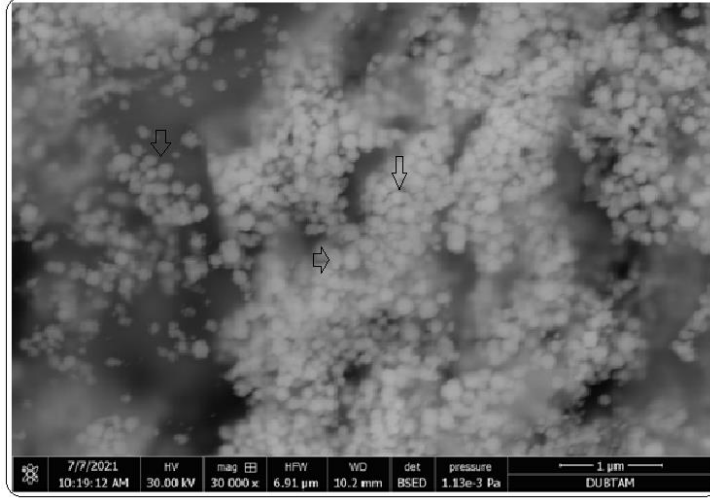
Sentezlenen AgNP'lerin morfolojik yapılarının aydınlatılması için SEM analizi sonuçlarında küresel görünümde oldukları belirlendi (Şekil 4.3). Yapılan bir çalışmada çam, Ginkgo, Trabzon Hurması, Manolya ve Platanus bitki özütlerinin karıştırılması ile elde edilen AgNP'lerin SEM görüntülerinde küresel oldukları gösterilmiştir (Song ve Kim, 2009). Bir diğer biyosentez çalışmasında da AgNP'lerin küresel morfolojik görünümüne ait mikrografiler sunulmuştur (Hasanzadeh vd., 2021).



Şekil 4. 3: Özütü aracılığı ile sentezlenen AgNP'lerin SEM görüntüleri

4.4. AgNP'lerin FESEM Görüntüleri

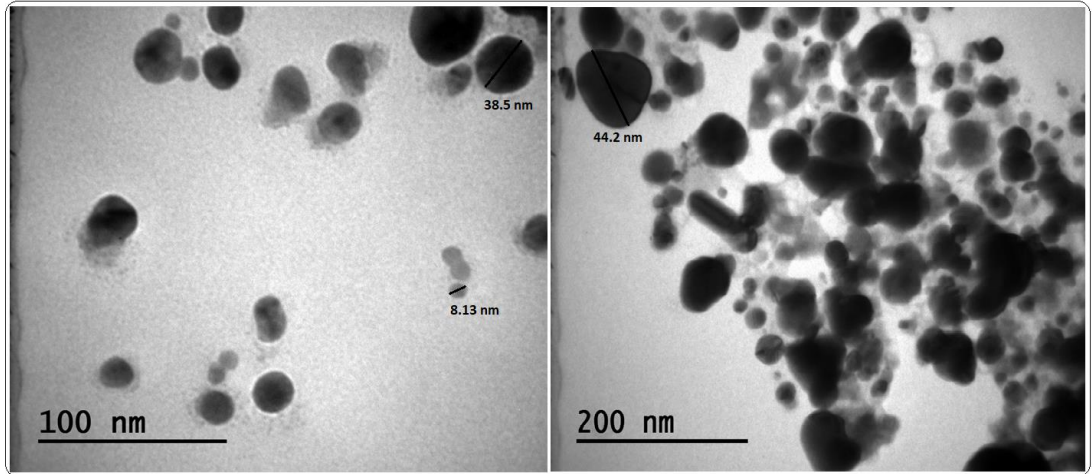
Bitki özütü ile sentezlenen AgNP'lerin FESEM mikrografilerinde küresel görünüm sergiledikleri tespit edildi (Şekil 4.4). *Sterculia foetida* yaprak özütü çevre dostu sentez çalışmasında sentezlenen AgNP'lerin FESEM sonuçlarında da aynı bulgur ifade edilmiştir (Premkumar vd., 2018). *Penicillium decumbens* ile yapılan bir sentez çalışmasında da AgNP'lerin FESEM görüntülerinde aynı morfolojik karakteri sergiledikleri belirtilmiştir (Majeed vd., 2016).



Şekil 4. 4: Özütleme aracıyla üretilen AgNP'lerin FESEM görüntüleri

4.5. AgNP'lerin TEM Görüntüleri

Sentezlenen AgNP'lerin görünüşleri ve boyutsal dağılımları Şekil 4.5'de görüldüğü üzere küresel ve 8.13-44.2 nm dağılımında oldukları değerlendirildi. AgNP'lerin sentezi için kullanılan çevre dostu sentez çalışmalarının TEM görüntülerinde küresel görünüm ve 16.79-51.42 nm boyutlara sahip oldukları (Asnag vd., 2019) bir diğerinde de yine küresel görünüm sergiledikleri ve 12-50 nm arasındaki boyutlarda oldukları gösterilmiştir (Kumar vd., 2015).

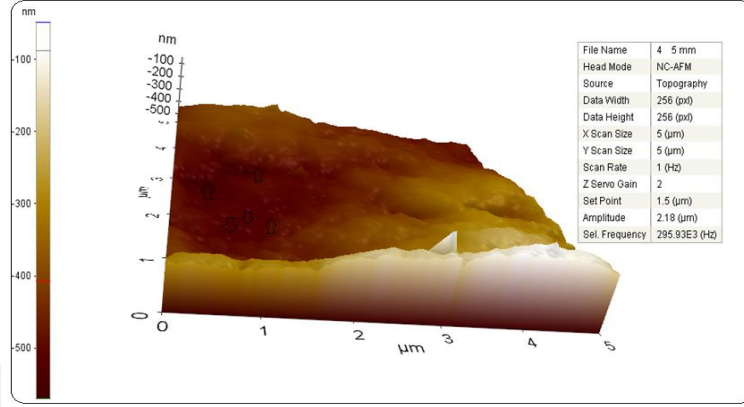


Şekil 4. 5: Sentezlenen AgNP'lerin TEM görüntüleri

4.6. AgNP'lerin AFM Mikrografisi

Çevre dostu yöntem sonucu elde edilen AgNP'lerin topografik dağılımları ve boyut dağılımları AFM analizi sonuçları ile belirlendi. Şekil 4.6'da görüldüğü gibi AgNP'lerin tekli dağılım sergiledikleri ve 100 nm altında boyutlara sahip oldukları

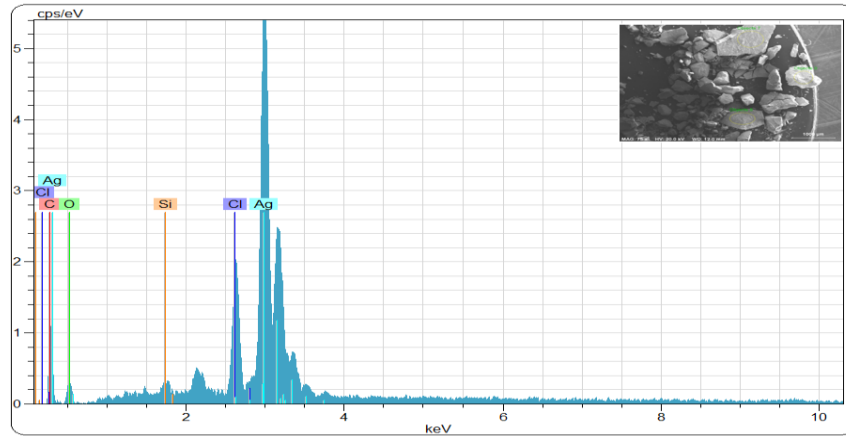
görüldü. Yapılan benzer çalışmalardaki AFM sonuçlarında da AgNP'lerin küresel görünümde oldukları ve 100 nm altında olduklarına dair veriler incelendi (Gopinath vd., 2016; Majeed vd., 2016; Swamy vd., 2015).



Şekil 4. 6: Sentezlenen AgNP'lerin AFM görünümü

4.7. AgNP'lerin EDX Profili

Sentezlenen partiküllerin element içeriğinin belirlenmesi için yapılan EDX analizinde şekil 4.7' de gümüşe ait güçlü pikler AgNP'lerin varlığını gösterdi. Bu güçlü piklerin yanında karbon, oksijen gibi zayıf piklerin varlığı da partiküllerde bulunan fitokimyasallardan kaynaklanmaktadır (Aktepe vd., 2021; Patra vd., 2016; Ramkumar vd., 2017).



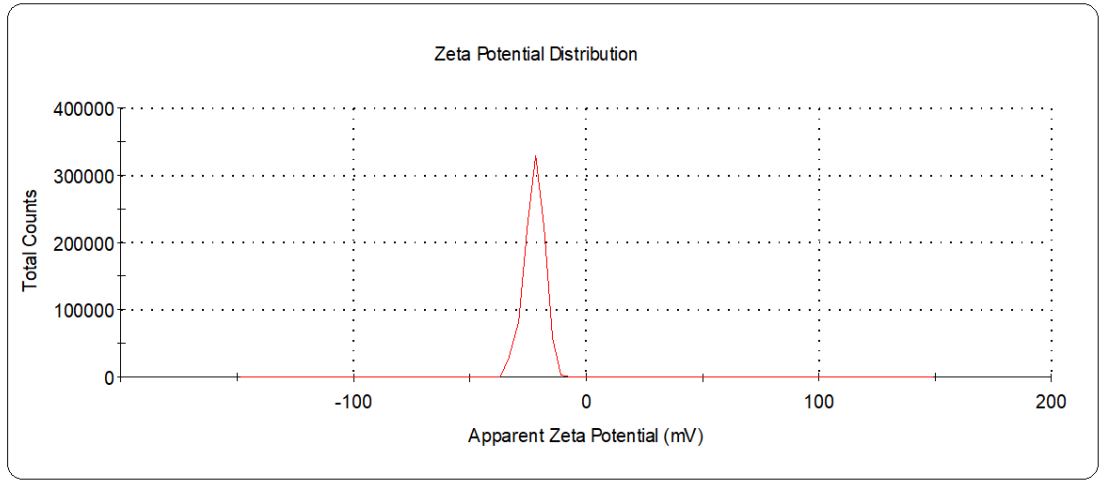
Şekil 4. 7: Sentezlenen partiküllerin EDX grafiği

4.8. AgNP'lerin Zeta Potansiyel Dağılımı

Yaprak özütü ile sentezlenen AgNP'lerin yüzey yüklerinin tespit edilmesinde Zeta potansiyel analiz verileri incelendi. Şekil 4.8' de görüldüğü gibi sentezlenen AgNP'lerin yüzeylerine ait yük dağılımının -22.4 mV olduğu belirlendi.

Yüzey yükünün negatif olmasını fitokimyasalların varlığı etkilemektedir (Remya vd., 2015). NP'lerin negatif yük dağılımı sergilemeleri kararlılıkları bakımından önemlidir. Farklı yüklerin oluşu elektrostatik etkileşimle kümülenme ve dalgalanmalara neden olmaktadır (Satpathy vd., 2018;Pugazhendhi vd., 2018). *Diospyros kaki* L. özütü ile sentezlenen AgNP'lerin sadece negatif yükte oluşu bu NP'lerin kararlı olduklarını gösteren veridir.

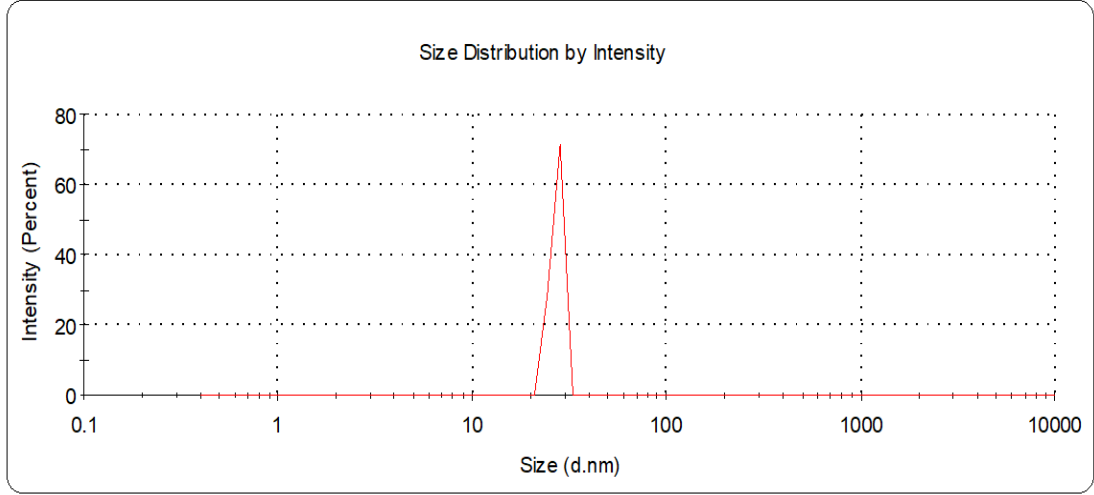
Çevre dostu sentez çalışmalarında AgNP'lerin yüzey yük dağılımlarının incelenmesi için yapılmış çalışmalarda AgNP'lerin -18.52 mV (Tian vd., 2022), -13.7 mV (Shoaib vd., 2021) ve -43.3 mV (Soltani ve Darbemamieh, 2021) zeta potansiyel sonuçlarına ulaşılmıştır.



Şekil 4. 8: Sentezlenen AgNP'lerin zeta potansiyel dağılımları

4.9. AgNP'lerin Zeta Boyut Dağılımı

Sentez sonrasında elde edilen AgNP'lerin boyutları zeta boyut dağılımı analizi ile tanımlandı. AgNP'lerin 100 nm'nin altında ortalama 27.12 nm boyut dağılımı sergilediği görüldü (Şekil 4.9). *Zataria multiflora* özütü ile pH 9'da sentezlenen AgNP'lerin 25 nm boyut dağılımına sahip oldukları belirtilmiştir (Barabadi vd., 2021). *Commiphora molmol* özütü kullanılarak ortalama 49.04 nm boyut dağılımına sahip AgNP'lerin sentezlendiği gösterilmiştir (Awad vd., 2021).



Şekil 4. 9: Sentezlenen AgNP'lerin zeta boyut dağılımları

4.10. AgNP'lerin TGA-DTA Sonuçları

Diospyros kaki L. özütü kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin ısı işlemler karşısında kararlılığını ve direncini belirlemek için TGA-DTA analizi yapıldı. Şekil 4.10'da ve tablo 4.1'de görüldüğü üzere üç noktada ki sıcaklıklarda kütle kayıpları meydana geldiği görüldü. Bu noktalardan ilk kütle kaybının 153.44 °C'de % 6.94'lük kısımla tutulmuş olan suyun kaybindan kaynaklanmaktadır. İkinci ve üçüncü noktalarda meydana gelen sırası ile % 12.48 ve % 7.67'lik kütle kayıplarının da AgNP'lerin etrafını saran fitokimyasallardan kaynaklandığı görüldü (Baran, 2019c; Rolim vd., 2019; Tian vd., 2022). Tablo 4.2'de yapılan çevre dostu sentez çalışmalarında AgNP'lerin TGA sonuçları verildi.

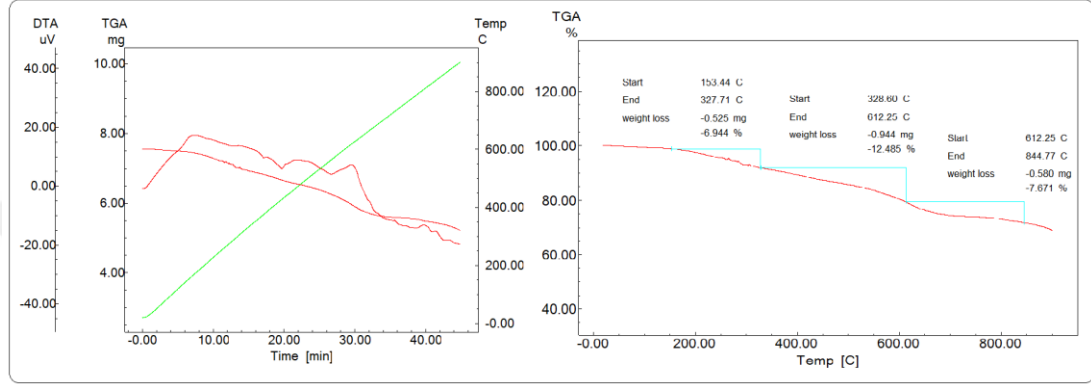
Tablo 4. 1: Sentezlenen AgNP'lerin TGA-DTA sonuçları ile kütle kayıp noktaları

Kütle Kaybı	Sıcaklık (°C)	Kütle Kaybı (%)
Birinci	153.44-327.71	6.94
İkinci	328.60-612.25	12.48
Üçüncü	612.25-844.77	7.67

Tablo 4. 2: Çevre dostu sentezlenen AgNP'lerin TGA-DTA sonuçları ile kütle kayıp noktaları

Biyolojik Kaynak	Boyut (nm)	Kütle Kaybı Sıcaklık (°C)			Kayıp (%)			Referans
		1.	2.	3.	1.	2.	3.	
<i>Cydonia oblonga</i>	27.30	31-257	328-612	612-844	6.91	12.48	7.67	(Baran, 2019c)

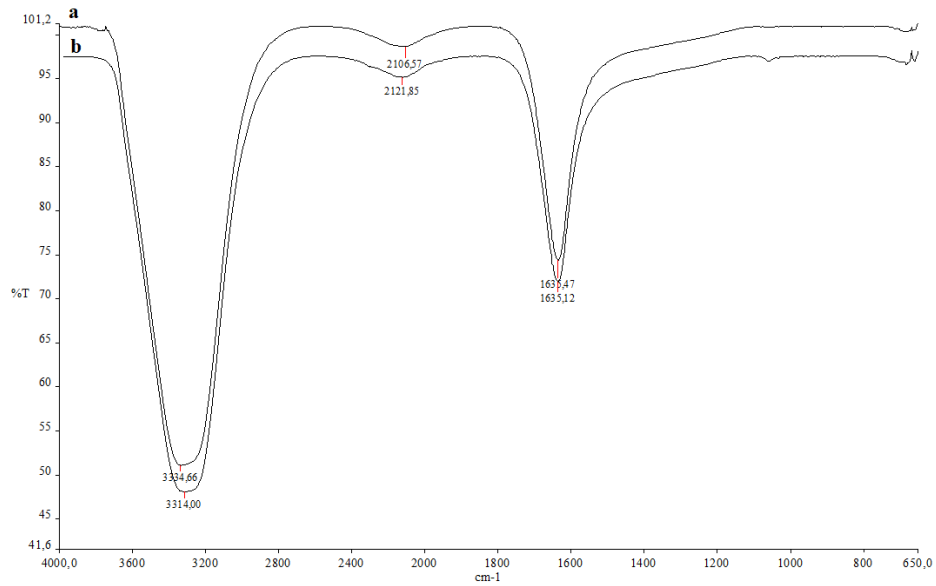
<i>Fritillaria</i> (çiçek)	10	200	200-600	-	77.5	18.6	-	(Hemmati vd., 2019)
Alıç yaprakları								
<i>Crataegus monogyna</i>	58.54	11-85	85-235	235-934	2.56	3.56	34.35	(Baran, 2019a)
<i>Artemisia absinthium</i>	14.58	30-162	162-478	478-619	1.45	13.18	4.92	(Baran, 2019b)



Şekil 4. 10: Sentezlenen AgNP'lerin TGA dağılımları

4.11. FTIR Analizi

Reaksiyona katılan fonksiyonel grupların değerlendirilmesinde yapılan FTIR analiz sonuçlarında $3334.66-3314.00\text{ cm}^{-1}$, $2106.57-2121.85\text{ cm}^{-1}$ ve $1635.47-1635.12\text{ cm}^{-1}$ de meydana gelen frekans kaymaları redüksiyondan ve stabilizasyondan sırası ile hidroksil, karboksil ve amin gruplarının sorumlu olabileceğini gösterdi (Aktepe ve Baran 2021; Atalar vd., 2021; Baran, 2019b; Jebril vd., 2020).



Şekil 4. 11: a. bitki özütünün, b. sentezlenen AgNP'lerin bulunduğu reaksiyon sıvısına ait FTIR spektrumları

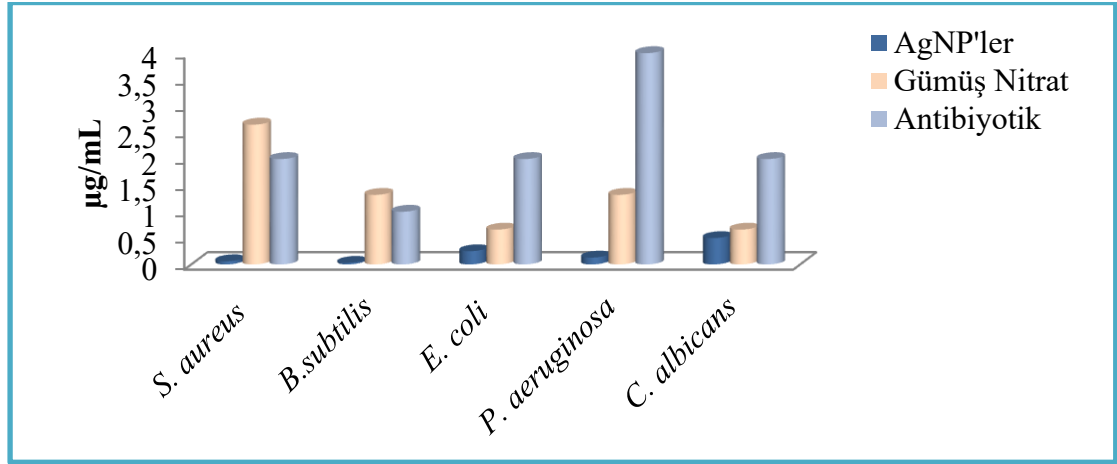
4.11. AgNP'lerin Antimikrobiyal Etkileri

Sentez sonrasında elde edilen AgNP'lerin antimikrobiyal etkileri mikrodilüsyon ile çalışıldı. AgNP'lerin etkileri AgNO₃ çözeltisi ve antibiyotikler ile karşılaştırıldı. Tablo 4.3 ve şekil 4.12'de görüldüğü gibi Gram pozitifler üzerinde 0.03 ile 0.06 µg ml⁻¹ konsantrasyonlar üreme üzerinde baskılayıcı gösterdi. Gram negatifler üzerinde 0.13-0.25 µg ml⁻¹ ve *C. albicans* 0.50 µg ml⁻¹ konsantrasyonlar üreme üzerinde baskılayıcı etki gösteren MİK değerleridir. AgNP'lerin bu konsantrasyonları antibiyotik ve AgNO₃ çözeltisi karşısında oldukça düşük konsantrasyonlarda etkili oldukları sonucunu verdi. Tablo 4.4'de çevre dostu sentez çalışmalarında elde edilen bulgular verildi.

Tablo 4. 3: Sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal etkileri

	AgNP'ler µg/ml	Gümüş Nitrat µg/ml	Antibiyotik µg/ml
<i>S. aureus</i>	0.06	2.65	2.00
<i>B. subtilis</i>	0.03	1.32	1.00
<i>E. coli</i>	0.25	0.66	2.00
<i>P. aeruginosa</i>	0.13	1.32	4.00
<i>C. albicans</i>	0.50	0.66	2.00

Not: Karşılaştırma için kullanılan antibiyotikler; gram pozitif bakteriler için Vankomisin, negatifler için Colistin ve *C. albicans* içinde Flukanazol'dür.



Şekil 4. 12: Sentezlenen AgNP'lerin antimikrobiyal etkileri

Tablo 4. 4: Çevre dostu sentez çalışmalarında mikroorganizmalar üzerinde AgNP'lerin etkileri için elde edilen bulgular

Biyolojik kaynak	Boyutu (nm)	Şekli	MİK Değerleri $\mu\text{g ml}^{-1}$		Referans
			<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	
Tannik asit ve sodyum alginat	18.52	Küresel	31.25	-	(Tian vd., 2022)
<i>Zataria multiflora</i>	25.5	Küresel	4-8		(Barabadi vd., 2021)
Halhali zeytin ağacı yaprakları	7.2	Küresel	0.06	0.13	(Atalar vd., 2021)
Kitosan	<20	Küresel	312.5	39.1	(Wongpreecha vd., 2018)
<i>Cynara scolymus L.</i>	28.78	Küresel	0.12	0.13	(A. Baran vd., 2021)
<i>Diospyros kaki L.</i> (Bu çalışma)	27.12	Küresel	0.06	0.25	-

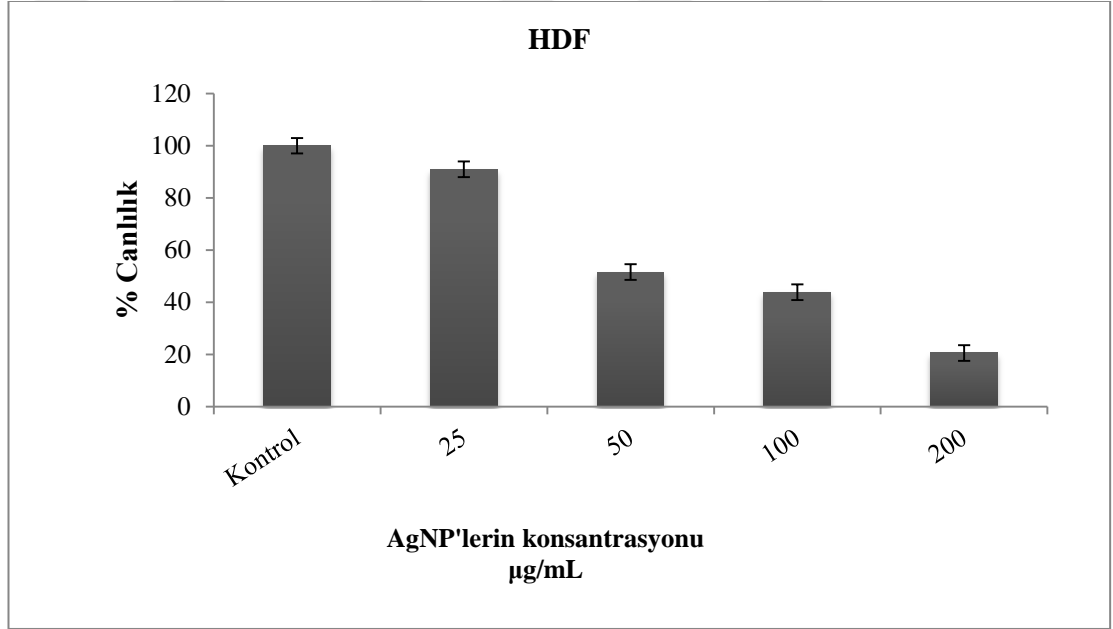
4.12. AgNP'lerin Antikanser Etkileri

Sentezlenen AgNP'lerin hücre hatları üzerinde sitotoksik etkileri MTT metodu kullanılarak incelendi. Tablo 4.5'de görüldüğü üzere $25 \mu\text{g ml}^{-1}$ konsantrasyonun sağlıklı hücre hattında toksik etki göstermediği, CaCo-2 ve skov-3 kanser hücre hatları üzerinde sırası ile % 44.40 ve % 18.62'lik baskılama oranları ile antikanser etki gösterdiği belirlendi. U118 üzerinde $25 \mu\text{g ml}^{-1}$ konsantrasyondaki AgNP'lerin proliferatif etki gösterdiği gözlemlendi. Bazı konsantrasyonlar kanser hücre hatları üzerinde proliferatif etki gösterebilir (Sarkar vd., 2018; Morais vd., 2020). AgNP'lerin $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonu sağlıklı hücrede toksik etki göstermediği ve bu konsantrasyonun en iyi antikanser etkisi $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonda % 59.49 baskılama ile CaCo-2 hücre hattı üzerinde meydana geldi (Tablo 4.5 ve Şekil 4.15).

Tablo 4. 5: Sentezlenen AgNP'lerin hücre hatları ile etkileşimlerinden sonra % canlılık oranları

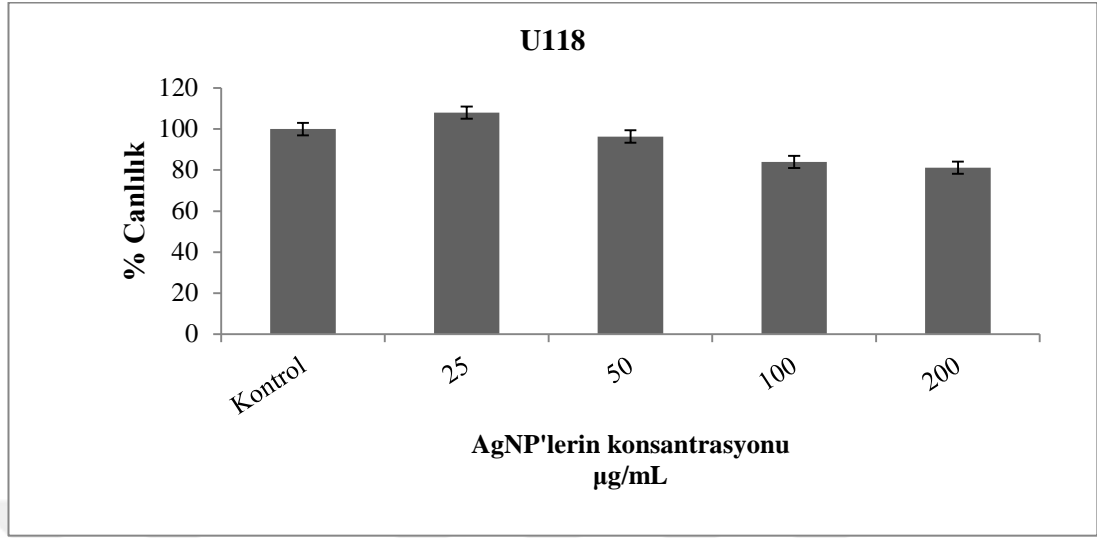
	Kontrol	25 µg mL ⁻¹	50 µg mL ⁻¹	100 µg mL ⁻¹	200 µg mL ⁻¹
HDF	100	90.96	51.55	43.83	20.54
U118	100	108.05	96.37	83.99	81.17
CaCo-2	100	55.60	40.51	32.74	28.41
Skov-3	100	81.38	54.59	49.03	44.26

Şekil 4.13 ve tablo 4.5'de AgNP'lerin HDF hücre hatları üzerinde 25-200 µg ml⁻¹ konsantrasyonların kontrol ile karşılaştırılmasında ki % canlılık oranları verildi. AgNP'lerin 50 µg ml⁻¹ konsantrasyondan sonra sağlıklı hücre hattı üzerinde toksik etki gösterdiği görüldü.



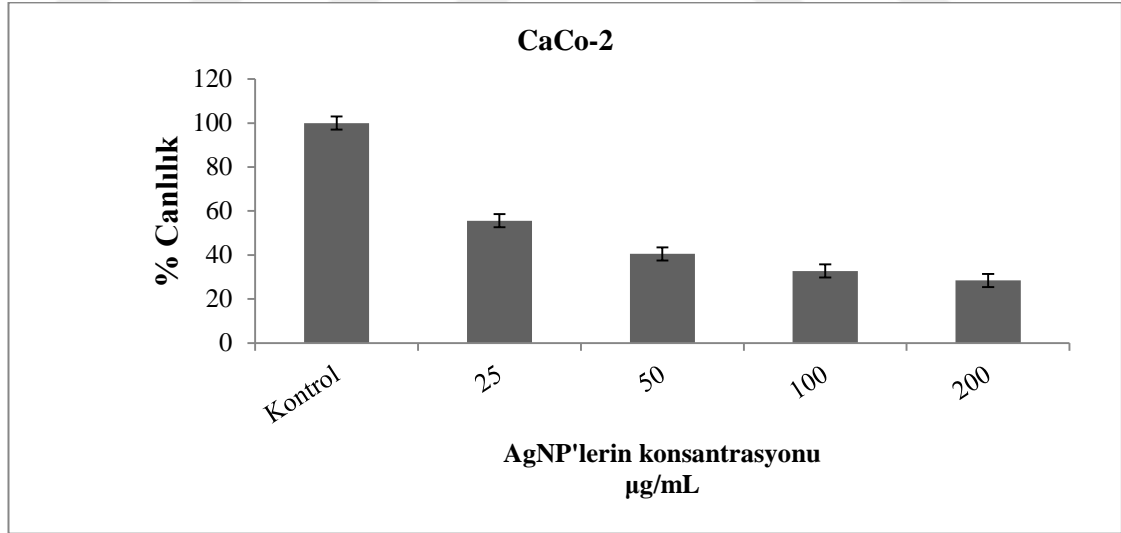
Şekil 4. 13: Sentezlenen AgNP'lerin HDF üzerinde sitotoksik etkileri

Şekil 4.14 ve tablo 4.5'de U118 kanser hücre hattı üzerinde AgNP'lerin hücre canlılığını ve çoğalmasına etki eden baskılayıcı konsantrasyonları verildi. 25 µg ml⁻¹ konsantrasyonun proliferatif etki gösterdiği, 50-200 µg ml⁻¹ konsantrasyonların ise % 3.63-18.83 arasında baskılayıcı etki gösterdiği belirlendi.



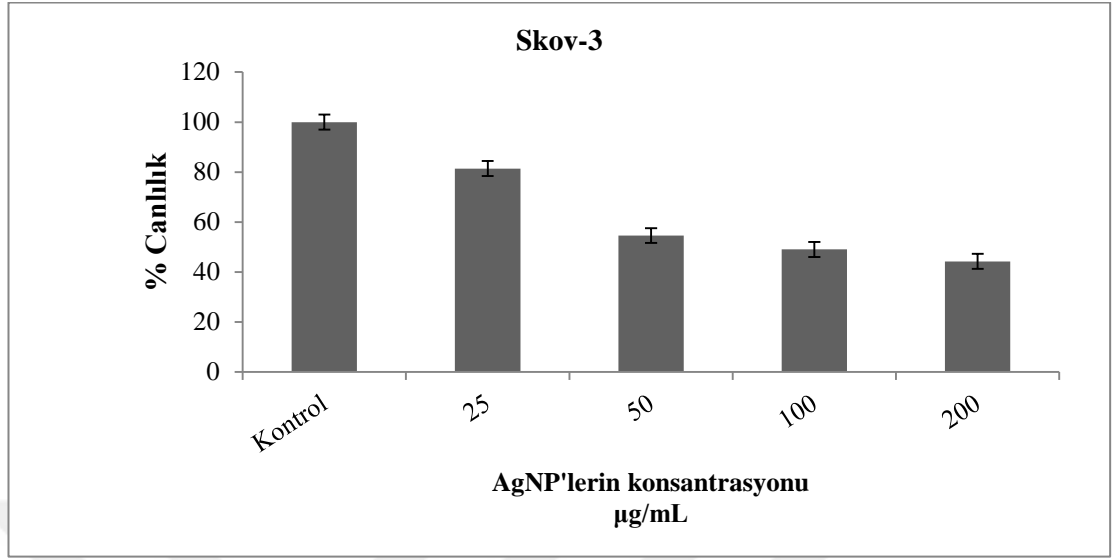
Şekil 4. 14: Sentezlenen AgNP'lerin U118 üzerinde antikanser etkileri

Şekil 4.15 ve tablo 4.5' de görüldüğü gibi AgNP'lerin CaCo-2 kanser hücre hattı üzerinde 25 µg ml⁻¹ konsantrasyonun % 44.40 ile etkili baskılama meydana getirdiği görüldü. Diğer konsantrasyonlarda (50-200 µg ml⁻¹) canlılık oranlarının % 59.49-71.59 oranında baskıladığı tespit edildi.



Şekil 4. 15: Sentezlenen AgNP'lerin CaCo-2 üzerinde antikanser etkileri

Şekil 4.16 ve tablo 4.5'de verilen değerlerde AgNP'lerin antikanser etkileri 25-100 µg ml⁻¹ konsantrasyonların % 18.62-55.74 oranında canlılığı baskılayıp antikanser etki gösterdiği belirlendi.



Şekil 4. 16: Sentezlenen AgNP'lerin Skov-3 üzerinde antikanser etkileri

Tablo 4.6'da çevre dostu sentez çalışmalarında elde edilen AgNP'lerin kanser hücre hatları üzerinde canlılığı baskılayan konsantrasyonları verildi.

Tablo 4. 6: Çevre dostu sentez çalışmalarında AgNP'lerin kanser hücre hatları üzerinde sitotoksik etkileri

Hücre Hattı	AgNP'lerin				
	Şekli	Boyutu (nm)	Konsantrasyon Aralığı (µg ml ⁻¹)	Canlılık (%)	Referans
HDF	Küresel	23.29	25-200	57.47-89.87	(Aktepe vd., 2021)
U118	Küresel	7.2	25-200	30.58-59.75	(Atalar vd., 2021)
CaCo-2	Küresel	23.29	25-200	64.99-73.92	(Aktepe vd., 2021)
Skov-3	Küresel	162.72	1-40	29.36	(Satpathy vd., 2018)

4.13. Diospyros kaki L. Yaprak Özütü LC-MS Profili

Fitokimyasalların antikanser, antioksidan, antiinflamatuvar gibi oldukça önemli aktiviteleri bulunmaktadır. Fenolik bileşikler, flavonoidler gibi fitokimyasallar biyolojik açıdan oldukça aktif bileşiklerdir. Bunları özellikle bitkisel kaynaklı besinlerle vücudumuza alırız. (Jaiswal vd., 2014; Ma vd., 2018; Matsumoto vd., 2001; Nile vd., 2020; Topal vd., 2016).

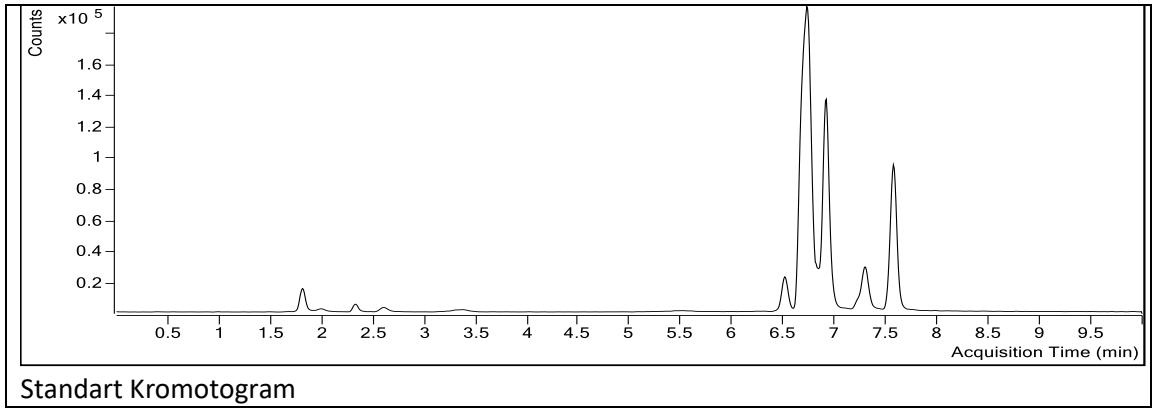
Bitki özütünün fenolik bileşiklerin analizi için yapılan LC-MS analiz sonuçları şekil 4.17 ve tablo 4.7 aracılığı ile değerlendirildi. Özüt içeriğinde yüksek

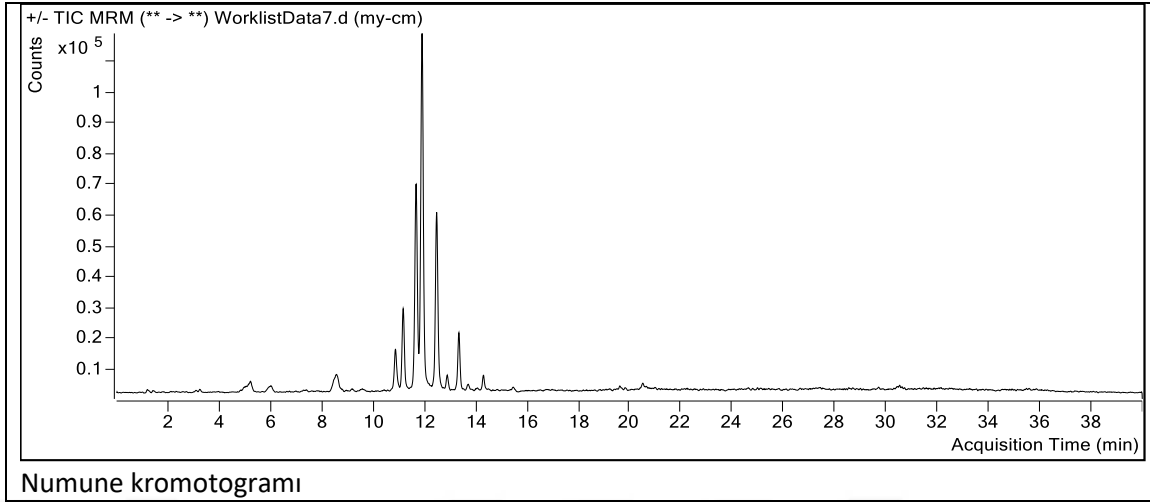
konsantrasyonlarda çıkan bileşikler değerlendirildiğinde klorojenik asit, sinarin, hiperosit, kuarsetin-3-glukozit, kuersetin-3- D-ksilosit gibi bileşiklerin sırası ile 11210.6471, 13359.8649, 3091.3887, 2100.6615 ve 3546.9109 $\mu\text{g ml}^{-1}$ konsantrasyonları tespit edildi. Bu bileşiklerin oldukça önemli faydaları bulunmaktadır.

Klorojenik asitler kuinik asit ve trans-hidroksinamik asit arasında ester ailesinin bir üyesidir. Antioksidan, antispazmodik, DNA metil transferaz inhibisyonu, karsinojenik bileşenlerin inhibisyonu gibi farmakolojik etkileri bulunmaktadır (Jaiswal vd., 2014).

Sinarin (1,3-dikaffeoilkinik asit), iki birim kafeik asit ve bir birim kinik asitin esterifikasyonundan oluşur. Hidroksisinnamik asitin bir türevidir ve biyolojik olarak aktif bir fonksiyonel gruptur. Antioksidan, antikolinergik, antihistaminik, antibakteriyel gibi farmakolojik etkileri olan bir bileşiktir (Topal vd., 2016).

Flavonoid grubunda olan kuarsetin bazı bileşiklerin antiviral etkileri bulunmaktadır. Özellikle kuarsetin-3-glukozitin influenza virüsü karşısında güçlü antiviral etkisi bulunmaktadır (Nile vd., 2020).





Şekil 4. 17: Diospyros kaki L. yaprak özütünün LC-MS/MS profili.

Tablo 4. 7: Bitki özütünün fenolik bileşiklerin analizi için yapılan LC-MS analiz sonuçları

Bileşen	RT	Resp.	Final Konsantrasyon (µg/mL)	Birim
Şikimik asit	1.201	0	--	µg/ml
Gallik acid	1.837	0	--	µg/ml
Protokateşik asit	2.817	0	--	µg/ml
Gentisik asit	3.169	0	--	µg/ml
Kateşin	4.078	0	--	µg/ml
4-Hidroksibenzoik asit	4.553	1668	--	µg/ml
Klorojenik asit	5.229	50527	11210.6471	µg/ml
4-Hidroksibenzaldehit	5.722	1787	21.3740	µg/ml
Vanillik asit	5.961	0	--	µg/ml
Kafeik asit	6.038	26124	251.7731	µg/ml
Epikateşin	6.438	0	--	µg/ml
Syringic acid	7.043	0	--	µg/ml
P-kumarik asit	8.479	5668	34.5218	µg/ml
Salisilik Asit	8.969	0	--	µg/ml
Taksifolin	9.032	0	--	µg/ml
Polidatin	9.384	0	--	µg/ml
Trans-ferulik asit	9.560	573	92.4486	µg/ml
Sinapic asit	10.032	0	--	µg/ml
Kersimeritrin	10.714	2209	54.1467	µg/ml
Kumarin	8.595	0	--	µg/ml
Skutellarin	11.239	0	--	µg/ml
O-kumaric asit	8.479	0	--	µg/ml
Sinarin	11.178	130380	13359.8649	µg/ml
Protokateşik etil ester	11.227	0	--	µg/ml
Hipersit	11.685	413692	3091.3887	µg/ml
Kuarsetin-3-glukozit	11.917	833019	2100.6615	µg/ml
Rutin	11.835	0	--	µg/ml
Resveratrol	11.811	0	--	µg/ml
Naringin	11.487	0	--	µg/ml
Rosmarinik asit	11.208	0	--	µg/ml
Kuersetin-3- D-ksilosit	12.497	624	3546.9109	µg/ml
Hesperidin	12.484	0	--	µg/ml
Kaemerol-3-glukozit	13.353	109366	178.4248	µg/ml

Fisetin	13.354	1750	153.6040	µg/ml
Oleuropein	5.314	0	--	µg/ml
Baicalin	13.851	0	--	µg/ml
Trans-sinamik asit	14.278	0	--	µg/ml
Ellagik asit	17.789	0	--	µg/ml
Kuersetin	15.058	0	--	µg/ml
Naringenin	15.213	0	--	µg/ml
Silibinin	14.022	0	--	µg/ml
Hesperetin	15.006	0	--	µg/ml
Morin	11.919	0	--	µg /ml
Kaempferol	17.042	0	--	µg /ml
Tamariksetin	17.265	0	--	µg /ml
Baicalein	8.509	0	--	µg /ml
7-Hidroksiflavon	20.795	0	--	µg /ml
6-Hidroksiflavon	19.617	144	--	µg /ml
Biochanin A	20.528	22285	464.4911	µg /ml
Chrysin	20.811	0	--	µg /ml
5- Hidroksiflavon	23.896	0	--	µg /ml
6,2,4- Trimetoksiflavon	24.694	0	--	µg /ml
Diosgenin	30.527	9053	29.6243	µg/ml

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Diospyros kaki L. yaprak özütü kullanılarak AgNP'ler kısa sürede kolay bir biçimde sentezlendi. FTIR, FESEM, SEM, TEM, AFM, EDX, XRD, TGA-DTA, Zetasizer, ve zeta potansiyeli gibi çeşitli cihazlar aracılığıyla sentezlenen AgNP'lerin özellikleri belirlendi.

AgNP'lerin UV-vis bantlarında 453.34 nm dalga boyunda maksimum absorbanza sahip oldukları değerlendirildi. XRD verileri ile AgNP'lerin 48.90 nm kristal nano boyutlara ve kübik desene sahip oldukları tespit edildi. FESEM, SEM, TEM ve AFM görüntüleriyle küresel morfolojide ve 8.13-44.2 nm boyutlar arasında tekli dağılım gösterdikleri görüldü. Ayrıca AgNP'lerin zeta boyut dağılımı analiz sonuçlarında ortalama olarak 27.12 nm boyut dağılımı gösterdikleri belirlendi. Sentezlenen AgNP'lerin yüzey yük dağılımları zeta potansiyeli analiz sonuçları kullanılarak -22.4 mV olduğu görüldü. Isıl direncinin belirlenmesi için TGA-DTA analizi yapıldı. Sonuçlarda üç noktada kütle kaybı olduğu gözlemlendi. Bu kütle kayıplarından ikinci ve üçüncü noktada meydana gelen kayıpları NP'lerin etrafında bulunan fitokimyasalların varlığından kaynaklandığı değerlendirildi. EDX profilinde güçlü gümüş pikleri AgNP'lerin varlığını doğruladı. Bunun yanında zayıf O ve C gibi piklerin özütteki indirgemeye katılan fitokimyasallarla ilişkili olduğu değerlendirildi.

Fitokimyasalların indirgemede ve kararlılıktaki etkin rolleri önemlidir. Bu bileşenlerin varlığı ve etkinlikleri EDX, TGA zeta potansiyel analizleri sonuçları ile ortaya koyuldu. Ayrıca FTIR analizinde hem özütün hem de sentez sonrasında elde edilen sıvıların spektrumlarına ait kaymalar bunu doğrulamaktadır. Özüt bileşenlerine ait fitokimyasalların tespiti ve tanımlanması için LC-MS analizi sonuçlarında ki güçlü fenolik bileşiklerin varlığı da reaksiyonda bu bileşenlerin aktif olarak rol aldıklarını gösterdi.

Sentez sonucu elde edilen AgNP'lerin medikal uygulamalarda etkilerinin incelenmesi için ilk uygulamada mikro dilüsyon kullanıldı. Patojen suşlar üzerinde Mikro dilüsyon ile elde edilen MİK değerleri Gram pozitifler için 0.03 ile 0.06 $\mu\text{g ml}^{-1}$ Gram negatifler için de 0.13-0.25 $\mu\text{g ml}^{-1}$ olarak tespit edildi. *C. albicans* üzerinde ise 0.50 $\mu\text{g ml}^{-1}$ konsantrasyon üreme üzerinde baskılayıcı etki gösteren MİK değeridir.

Bu değerlerin antibiyotik ve AgNO₃ çözeltisi ile karşılaştırıldığında oldukça düşük MİK değerleri olduğu görüldü.

Sentez sonucu elde edilen AgNP'lerin medikal uygulamalarda etkilerinin incelenmesi için ikinci uygulamada sağlıklı ve kanser hücre hatları üzerinde sitotoksik etkileri 25-200 µg ml⁻¹ konsantrasyonlarda MTT metodu kullanılarak incelendi. AgNP'lerin 50 µg/mL konsantrasyondan sonra sağlıklı hücre hattı üzerinde toksik etki gösterdiği görüldü. En iyi antikanser etkinin 50 µg ml⁻¹ konsantrasyonda % 59.49 oranında baskılama ile CaCo-2 kanser hücre hattında olduğu görüldü. HDF sağlıklı hücre hattı üzerinde 25 µg ml⁻¹ konsantrasyonun toksik etki göstermediği, CaCo-2 ve skov-3 kanser hücre hatları üzerinde sırası ile % 44.40 ve % 18.62 oranında canlılığı baskılayarak antikanser etki gösterdiği belirlendi. U118 üzerinde 25 µg ml⁻¹ konsantrasyondaki AgNP'ler proliferatif etki gösterdiği gözlemlendi. U118 kanser hücre hattı üzerinde AgNP'lerin hücre canlılığını ve çoğalmasına etki eden baskılayıcı konsantrasyonlardan 25 µg ml⁻¹'nin proliferatif etki gösterdiği, 50-200 µg/mL konsantrasyonların ise % 3.63-18.83 arasında baskılayıcı etki gösterdiği belirlendi. AgNP'lerin CaCo-2 kanser hücre hattı üzerinde 25 µg/mL konsantrasyonun % 44.40 ile etkili baskılama meydana getirdiği görüldü. Diğer konsantrasyonlarda (50-200 µg/mL) canlılığın % 59.49-71.59 oranında baskılandığı tespit edildi.

Elde edilen tüm bu sonuçlarla *Diospyros kaki* L. yaprak özütü ile sentezlenen AgNP'lerin kararlı oldukları görülmektedir. Uygulama aşamalarının geliştirilmesi ile özellikle antikanser ve antimikrobiyal ajan arayışına olan araştırmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Ahmed, M. J., Murtaza, G., Rashid, F., Iqbal, J. (2019). Eco-friendly green synthesis of silver nanoparticles and their potential applications as antioxidant and anticancer agents. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 1, 45, 1682–1694. <https://doi.org/10.1080/03639045.2019.1656224>
- Aktepe, Necmettin, Baran, A. (2021). Biosynthesis of AgNPs by extract from waste leaves of *Citrullus lanatus* sp . (watermelon); characterization , antibacterial and antifungal effects. *Department of Applied Mathematics and Statistics*, 23(3), e2021243. <https://doi.org/10.23751/pn.v23i3.11907>
- Aktepe, N., Baran, A., Atalar, M. N., Baran, M. F., Düz M. Z., Yavuz, Ömer, İrtegün Kandemir, Sevgi, Kavak, D. E. (2021). Biosynthesis of Black Mulberry Leaf Extract and Silver NanoParticles (AgNPs): Characterization, Antimicrobial and Cytotoxic Activity Applications. *MAS Journal of Applied Sciences*, 8(8), 685–700. <https://doi.org/10.52520/masjaps.120>
- Ali, M. H. (2020). Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles from crust of *Cucurbita Maxima* L. (red pumpkin). *EurAsian Journal of BioSciences Eurasia J Biosci*, 14(March), 2829–2833.
- Ali, M., Kim, B., Belfield, K. D., Norman, D., Brennan, M., Ali, G. S. (2016). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Artemisia absinthium* aqueous extract - A comprehensive study. *Materials Science and Engineering C*, 58, 359–365. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.045>
- Anandalakshmi, K. (2021). Green synthesis, characterization and antibacterial activity of silver nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. *Indian Journal of Pure and Applied Physics*, 59(6), 456–461.
- Arroyo, G. V., Madrid, A. T., Gavilanes, A. F., Naranjo, B., Debut, A., Arias, M. T., Angulo, Y. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles for application in cosmetics. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 55(11), 1304–1320. <https://doi.org/10.1080/10934529.2020.1790953>
- Arumai Selvan, D., Mahendiran, D., Senthil Kumar, R., Kalilur Rahiman, A. (2018). Garlic, green tea and turmeric extracts-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Phytochemical, antioxidant and in vitro cytotoxicity studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 180, 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.02.014>
- Asnag, G. M., Oraby, A. H., Abdelghany, A. M. (2019). Green synthesis of gold nanoparticles and its effect on the optical, thermal and electrical properties of carboxymethyl cellulose. *Composites Part B: Engineering*, 172(3), 436–446. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.05.044>
- Atalar, M. N., Baran, A., Baran, M. F., Keskin, C., Aktepe, N., Yavuz, Ö., İrtegün

- Kandemir, S. (2021). Economic fast synthesis of olive leaf extract and silver nanoparticles and biomedical applications. *Particulate Science and Technology*, 2021, 1–9. <https://doi.org/10.1080/02726351.2021.1977443>
- Attar, A., Yapaoz, M. A. (2018). Biosynthesis of palladium nanoparticles using Diospyros kaki leaf extract and determination of antibacterial efficacy. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 48(7), 629–634. <https://doi.org/10.1080/10826068.2018.1479862>
- Awad, M. A., Al Olayan, E. M., Siddiqui, M. I., Merghani, N. M., Alsaif, S. S. A. Ilah, Aloufi, A. S. (2021). Antileishmanial effect of silver nanoparticles: Green synthesis, characterization, in vivo and in vitro assessment. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 137(8), 111294. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111294>
- Azmi, S. N. H., Al-Jassasi, B. M. H., Al-Sawafi, H. M. S., Al-Shukaili, S. H. G., Rahman, N., Nasir, M. (2021). Optimization for synthesis of silver nanoparticles through response surface methodology using leaf extract of Boswellia sacra and its application in antimicrobial activity. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193(8), 497. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09301-w>
- Balachandar, R., Navaneethan, R., Biruntha, M., Ashok Kumar, K. K., Govarathanan, M., Karmegam, N. (2022). Antibacterial activity of silver nanoparticles phytosynthesized from Glochidion candolleianum leaves. *Materials Letters*, 311(12), 131572. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2021.131572>
- Barabadi, H., Mojab, F., Vahidi, H., Marashi, B., Talank, N., Hosseini, O., Saravanan, M. (2021). Green synthesis, characterization, antibacterial and biofilm inhibitory activity of silver nanoparticles compared to commercial silver nanoparticles. *Inorganic Chemistry Communications*, 129(2660), 108647. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.108647>
- Baran, M.F., Koç, A., Uzan, S. (2018). Synthesis, Characterization and Antimicrobial Applications of Silver Nanoparticle (Agnp) with Kenger (Gundelia tournefortii) Leaf. *International Journal on Mathematic, Engineering and Natural Sciences*, 5, 44–52.
- Baran, MF., Keskin, C., Atalar, MN., Baran, A. (2021). Environmentally Friendly Rapid Synthesis of Gold Nanoparticles from Artemisia absinthium Plant Extract and Application of Antimicrobial Activities. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 11(1), 365–375. <https://doi.org/10.21597/jist.779169>
- Baran., M. F. (2019). Synthesis , Characterization and Investigation Of Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles From Cydonia Oblonga Leaf. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(2), 2583–2592.
- Baran, A. (2021). Eco- friendly, rapid synthesis of silver nanomaterials and their use for biomedical applications. *Dicle University Journal of Engineering*, 12(2), 329–336. <https://doi.org/10.24012/dumf.880878>

- Baran, A., Baran, M. F., Keskin, C., Kandemir, S. I., Valiyeva, M., Mehraliyeva, S., Khalilov, R., Eftekhari, A. (2021). Ecofriendly/Rapid Synthesis of Silver Nanoparticles Using Extract of Waste Parts of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) and Evaluation of their Cytotoxic and Antibacterial Activities. *Journal of Nanomaterials*, 2021, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2021/2270472>
- Baran, M. (2019). Synthesis of silver nanoparticles (AgNP) with *Prunus avium* cherry leaf extract and investigation of its antimicrobial effect. *Dicle University Journal of Engineering*, 10(1), 221–227.
- Baran, M. F. (2018). Green Synthesis of Silver Nanoparticles (AGNPs) Using *Pistacia Terebinthus* Leaf Extract: Antimicrobial Effect And Characterization. *International Journal on Mathematic, Engineering and Natural Sciences*, 5(2), 67–75.
- Baran, M. F. (2019a). Evaluation of Green Synthesis and Anti-Microbial Activities of AgNPs Using Leaf Extract of Hawthorn Plant. *Research and Evaluations in Science and Mathematics*, 2019(3), 110–120.
- Baran, M. F. (2019b). Synthesis and Antimicrobial Applications of Silver Nanoparticles From *artemisia absinthium* plant. *Biological and Chemical Research*, 6, 96–103.
- Baran, M. F. (2019c). *Synthesis , Characterization And Investigation Of Antimicrobial Activity Of Silver Nanoparticles From Cydonia oblonga Leaf*. 17(2), 2583–2592.
- Chung, I. M., Park, I., Seung-Hyun, K., Thiruvengadam, M., Rajakumar, G. (2016). Plant-Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles: Their Characteristic Properties and Therapeutic Applications. *Nanoscale Research Letters*, 11(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1257-4>
- Das, G., Shin, H., Kumar, A., Vishnuprasad, C. N. (2021). Photo-mediated optimized synthesis of silver nanoparticles using the extracts of outer shell fibre of *Cocos nucifera* L . fruit and detection of its antioxidant , cytotoxicity and antibacterial potential. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 980–987. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.022>
- Das, P., Dutta, T., Manna, S., Loganathan, S., Basak, P. (2022). Facile green synthesis of non-genotoxic, non-hemolytic organometallic silver nanoparticles using extract of crushed, wasted, and spent *Humulus lupulus* (hops): Characterization, anti-bacterial, and anti-cancer studies. *Environmental Research*, 204(8), 111962. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111962>
- Durán, N., Durán, M., Jesus, M. B. De, Seabra, A. B., Fávoro, W. J., Nakazato, G. (2015). Silver Nanoparticles: A New View on Mechanistic Aspects on Antimicrobial Activity. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 12(3), 789–799. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.016>
- Emmanuel, R., Palanisamy, S., Chen, S., Chelladurai, K., Padmavathy, S., Saravanan, M., Prakash, P., Ali, M. A., Al-hemaid, Fahad, M. A. (2015). Antimicrobial ef fi

cacy of green synthesized drug blended silver nanoparticles against dental caries and periodontal disease causing microorganisms. *Materials Science & Engineering C*, 56, 374–379. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.06.033>

Eren, A., Baran, M. F. (2019a). Green Synthesis , Characterization And Antimicrobial Activity Of Silver Nanoparticles (Agnps) From Maize (*Zea mays L .*). *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(2), 4097–4105. https://doi.org/10.15666/aeer/1702_40974105

Eren, A., Baran, M. F. (2019b). Synthesis, Characterization and Investigation of Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles (AgNPs). *Turkey Agricultural Research Journal*, 6(2), 165–173. <https://doi.org/10.19159/tutad.493006>

Ferreira Maillard, A. P. V., Dalmaso, P. R., López de Mishima, B. A., Hollmann, A. (2018). Interaction of green silver nanoparticles with model membranes: possible role in the antibacterial activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 171(July), 320–326. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.07.044>

Garzoli, S., Masci, V. L., Franceschi, S., Tiezzi, A., Giacomello, P., Ovidi, E. (2021). Headspace/gc–ms analysis and investigation of antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of essential oils and hydrolates from *rosmarinus officinalis L.* And *lavandula angustifolia miller.* *Foods*, 10(8), 1–15. <https://doi.org/10.3390/foods10081768>

Geethalakshmi, R., Sarada, D. V. (2010). 23 Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using *Trianthema decandra* extract and evaluation of their antimicrobial activities. *International Journal of Engineering Science and Technology*, 2(5), 970–975. <https://doi.org/10.1155/2011/573429>

Gökşen Tosun, N., Kaplan, Ö., Türkekel, İ., Gökçe, İ., Özgür, A. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using *Schizophyllum commune* and *Geopora sumneriana* extracts and evaluation of their anticancer and antimicrobial activities . *Particulate Science and Technology*, 1–11. <https://doi.org/10.1080/02726351.2021.2010846>

Gopinath, K., Kumaraguru, S., Bhagyaraj, K., Mohan, S., Venkatesh, K. S., Esakkirajan, M., Kaleeswaran, P., Alharbi, N. S., Kadaikunnan, S., Govindarajan, M., Benelli, G., Arumugam, A. (2016). Green synthesis of silver, gold and silver/gold bimetallic nanoparticles using the *Gloriosa superba* leaf extract and their antibacterial and antibiofilm activities. *Microbial Pathogenesis*, 101, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.10.011>

Hafez, R. A., Abdel-wahhab, M. A., Sehab, A. F., El-din, A. A. K. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using *Morus nigra* leave extract and evaluation their antifungal potency on phytopathogenic fungi. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(02), 41–48. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2017.70206>

Hasanzadeh, A., Gholipour, B., Rostamnia, S., Eftekhari, A., Tanomand, A., Valizadeh, K, A., Khaksar, S., Khalilov, R. (2021). Biosynthesis of AgNPs onto

the urea-based periodic mesoporous organosilica (AgxNPs/Ur-PMO) for antibacterial and cell viability assay. *Journal of Colloid and Interface Science*, 585, 676–683. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.10.047>

- Hemmati, S., Rashtiani, A., Zangeneh, M. M., Mohammadi, P., Zangeneh, A., Veisi, H. (2019). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Fritillaria* flower extract and their antibacterial activity against some human pathogens. *Polyhedron*, 158(May 2014), 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2018.10.049>
- Ishwarya, R., Saravanan, K., Selvaraj, D., Govindarajan, M., Alharbi, N. S., Kadaikunnan, S., Khaled, J. M., Sivakamavalli, J., Selvakumar, T., Vaseeharan, B. (2021). Antibacterial greener silver nanoparticles synthesized using *Marsilea quadrifolia* extract and their eco-friendly evaluation against Zika virus vector, *Aedes aegypti*. *Green Processing and Synthesis*, 10(1), 742–755. <https://doi.org/10.1515/gps-2021-0070>
- Jaast, S., Grewal, A. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles, characterization and evaluation of their photocatalytic dye degradation activity. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 4(8), 100195. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2021.100195>
- Jaiswal, R., Müller, H., Müller, A., Karar, M. G. E., Kuhnert, N. (2014). Identification and characterization of chlorogenic acids, chlorogenic acid glycosides and flavonoids from *Lonicera henryi* L. (Caprifoliaceae) leaves by LC-MSn. *Phytochemistry*, 108, 252–263. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.08.023>
- Jebril, S., Khanfir Ben Jenana, R., Dridi, C. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using *Melia azedarach* leaf extract and their antifungal activities: In vitro and in vivo. *Materials Chemistry and Physics*, 248(December 2019). <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.122898>
- Jebril, S., Khanfir, R., Jenana, B. (2020). *Green synthesis of silver nanoparticles using Melia azedarach leaf extract and their antifungal activities : In vitro and in vivo*. 248(March). <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.122898>
- Kaliammal, R., Parvathy, G., Maheshwaran, G., Velsankar, K., Kousalya Devi, V., Krishnakumar, M., Sudhakar, S. (2021). *Zephyranthes candida* flower extract mediated green synthesis of silver nanoparticles for biological applications. *Advanced Powder Technology*, 32(11), 4408–4419. <https://doi.org/10.1016/j.apt.2021.09.045>
- Khalid Mohamed, T., Osman Widdatallah, M., Musa Ali, M., Mubarak Alhaj, A., Abdelmagied Elhag, D. (2021). Green Synthesis, Characterization, and Evaluation of the Antimicrobial Activity of *Camellia sinensis* Silver Nanoparticles. *Journal of Nanotechnology*, 2021, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2021/2867404>
- Khan, A. U., Yuan, Q., Khan, Z. U. H., Ahmad, A., Khan, F. U., Tahir, K., Shakeel, M., Ullah, S. (2018). An eco-benign synthesis of AgNPs using aqueous extract

of Longan fruit peel: Antiproliferative response against human breast cancer cell line MCF-7, antioxidant and photocatalytic deprivation of methylene blue. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 183, 367–373. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.05.007>

Kumar, R., Ghoshal, G. Jain, A. and G. M. (2017). Rapid Green Synthesis of Silver Nanoparticles (AgNPs) Using (*Prunus persica*) Plants extract: Exploring its Antimicrobial and Catalytic Activities. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 8(4), 1–8. <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000452>

Kumar, A., Kaur, K., Sharma, S. (2013). Synthesis, characterization and antibacterial potential of silver nanoparticles by *Morus nigra* leaf extract. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, 1(04), 16–24. <https://doi.org/10.30750/ijpbr.1.4.4>

Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., Debut, A. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles using Andean blackberry fruit extract. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(1), 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.09.006>

Kumar, V., Gundampati, R. K., Singh, D. K., Bano, D., Jagannadham, M. V., Hasan, S. H. (2016). Photoinduced green synthesis of silver nanoparticles with highly effective antibacterial and hydrogen peroxide sensing properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 162, 374–385. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.06.037>

Kumar, V., Singh, S., Srivastava, B., Bhadouria, R. (2019). Journal of Environmental Chemical Engineering Green synthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Holoptelea integrifolia* and preliminary investigation of its antioxidant , anti-inflammatory , antidiabetic and antibacterial activities. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(3), 103094. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103094>

Küp, F. Ö., Çoşkunçay, S., Duman, F. (2020). Biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Aesculus hippocastanum* (horse chestnut): Evaluation of their antibacterial, antioxidant and drug release system activities. *Materials Science and Engineering C*, 107, 110207. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110207>

Ma, Y., Ma, B., Shang, Y., Yin, Q., Hong, Y., Xu, S., Shen, C. (2018). Flavonoid-rich ethanol extract from the leaves of *Diospyros kaki* attenuates cognitive deficits , amyloid-beta production , oxidative stress , and neuroinflammation in APP / PS1 transgenic mice. *Brain Research*, 1678, 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.10.001>

Mamdooh, N. W., Naeem, G. A. (2021). Green Synthesis, Characterization and Biological Activity of Silver Nanoparticles Using *Ruta* Leaf Extract. *Journal of Physics: Conference Series*, 1999(1), 1487–1499. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1999/1/012050>

Mani, M., Harikrishnan, R., Purushothaman, P., Pavithra, S., Rajkumar, P.,

- Kumaresan, S., Al Farraj, D. A., Elshikh, M. S., Balasubramanian, B., Kaviyarasu, K. (2021). Systematic green synthesis of silver oxide nanoparticles for antimicrobial activity. *Environmental Research*, 202(4), 111627. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111627>
- Matsumoto, T., Mochida, K., Itamura, H., Sakai, A. (2001). Cryopreservation of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) by vitrification of dormant shoot tips. *Plant Cell Reports*, 20(5), 398–402. <https://doi.org/10.1007/s002990100350>
- Mohmed, A., Hassan, S., Fouda, A., Elgamal, M., Salem, S. (2017). Extracellular Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Aspergillus* sp. and Evaluation of their Antibacterial and Cytotoxicity. *Journal of Applied Life Sciences International*, 11(2), 1–12. <https://doi.org/10.9734/jalsi/2017/33491>
- Morais, M., Teixeira, A. L., Dias, F., Machado, V., Medeiros, R., Prior, J. A. V. (2020). Cytotoxic Effect of Silver Nanoparticles Synthesized by Green Methods in Cancer. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(23), 14308–14335. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01055>
- Mousavi, B., Tafvizi, F., Zaker Bostanabad, S. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using *Artemisia turcomanica* leaf extract and the study of anti-cancer effect and apoptosis induction on gastric cancer cell line (AGS). *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 46(S1), 499–510. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1430697>
- Murali, M., Kalegowda, N., Gowtham, H. G., Ansari, M. A., Alomary, M. N., Alghamdi, S., Shilpa, N., Singh, S. B., Thriveni, M. C., Aiyaz, M., Angaswamy, N., Lakshmidhevi, N., Adil, S. F., Hatshan, M. R., Amruthesh, K. N. (2021). Plant-mediated zinc oxide nanoparticles: Advances in the new millennium towards understanding their therapeutic role in biomedical applications. *Pharmaceutics*, 13(10), 1662. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13101662>
- Muraro, P. C. L., Pinheiro, L. D. S. M., Chuy, G., Vizzotto, B. S., Pavoski, G., Espinosa, D. C. R., Rech, V. C., da Silva, W. L. (2022). Silver nanoparticles from residual biomass: Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity. *Journal of Biotechnology*, 343(5), 47–51. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.11.003>
- Nile, S. H., Kim, D. H., Nile, A., Park, G. S., Gansukh, E., Kai, G. (2020). Probing the effect of quercetin 3-glucoside from *Dianthus superbus* L against influenza virus infection- In vitro and in silico biochemical and toxicological screening. *Food and Chemical Toxicology*, 135, 110985. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110985>
- Ojo, O.A., Oyinloye, B.E., Ojo, A.B., Afolabi, O.B., Peters, O.A., Olaiya, O., Fadaka, A., Jonathan, j., Osunlana, O. (2017). Green Synthesis of Silver Nanoparticles (AgNPs) Using *Talinum triangulare* (Jacq .) Willd . Leaf Extract and Monitoring Their Antimicrobial Activity. *Journal of Bionanoscience*, 11, 292–296. <https://doi.org/10.1166/jbns.2017.1452>

- Othman, A. M., Elsayed, M. A., Elshafei, A. M., Hassan, M. M. (2017). Journal of Genetic Engineering and Biotechnology Application of response surface methodology to optimize the extracellular fungal mediated nanosilver green synthesis. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15(2), 497–504. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.08.003>
- Patra, J. K., Das, G., Baek, K. H. (2016). Phyto-mediated biosynthesis of silver nanoparticles using the rind extract of watermelon (*Citrullus lanatus*) under photo-catalyzed condition and investigation of its antibacterial, anticandidal and antioxidant efficacy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 161, 200–210. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.05.021>
- Patra, S., Mukherjee, S., Kumar, A., Ganguly, A., Sreedhar, B., Ranjan, C. (2015). Green synthesis , characterization of gold and silver nanoparticles and their potential application for cancer therapeutics. *Materials Science & Engineering C*, 53, 298–309. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.04.048>
- Pinzaru, I., Coricovac, D., Dehelean, C., Moacă, E. A., Mioc, M., Baderca, F., Sizemore, I., Brittle, S., Marti, D., Calina, C. D., Tsatsakis, A. M., Şoica, C. (2018). Stable PEG-coated silver nanoparticles – A comprehensive toxicological profile. In *Food and Chemical Toxicology* (Vol. 111). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.11.051>
- Polivanova, O. B., Cherednichenko, M. Y., Kalashnikova, E. A., Kirakosyan, R. N. (2021). In vitro antibacterial effect of silver nanoparticles synthesized using *Agastache foeniculum* plant and callus extracts. *AIMS Agriculture and Food*, 6(2), 631–643. <https://doi.org/10.3934/AGRFOOD.2021037>
- Prakash, J., Shekhar, H., Yadav, S., Dwivedy, A., Patel, V., Tiwari, S., Vishwakarma, N. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using *Eranthemum Pulchellum* (Blue Sage) aqueous leaves extract: Characterization, evaluation of antifungal and antioxidant properties. *Biomedical and Biotechnology Research Journal*, 5(2), 222–228. https://doi.org/10.4103/bbrj.bbrj_63_21
- Prakash, V., Kaur, H., Kumari, A., Kumar, M., Gupta, S., Bala, R. (2021). Green Synthesis, Characterization and Antimicrobial activity of Silver Nanoparticles from the Extract of *Lagerstroemia speciosa*. *Oriental Journal Of Chemistry*, 37(3), 648–655. <https://doi.org/10.13005/ojc/370318>
- Premkumar, J., Sudhakar, T., Dhakal, A., Shrestha, J. B., Krishnakumar, S., Balashanmugam, P. (2018). Synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) from cinnamon against bacterial pathogens. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 15, 311–316. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.06.005>
- Pugazhendhi, S., Palanisamy, P. K., Jayavel, R. (2018). Synthesis of highly stable silver nanoparticles through a novel green method using *Mirabilis jalapa* for antibacterial, nonlinear optical applications. *Optical Materials*, 79, 457–463. <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2018.04.017>
- Ramkumar, V. S., Pugazhendhi, A., Gopalakrishnan, K., Sivagurunathan, P., Saratale,

- G. D., Dung, T. N. B., Kannapiran, E. (2017). Biofabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of seaweed *Enteromorpha compressa* and its biomedical properties. *Biotechnology Reports*, *14*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.02.001>
- Rani, P., Kumar, V., Pal, P., Singh, A., Zhang, W. (2020). Highly stable AgNPs prepared via a novel green approach for catalytic and photocatalytic removal of biological and non-biological pollutants. *Environment International*, *143*, 105924. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105924>
- Remya, R. R., Rajasree, S. R. R., Aranganathan, L., Suman, T. Y. (2015). An investigation on cytotoxic effect of bioactive AgNPs synthesized using *Cassia fistula* flower extract on breast cancer cell MCF-7. *Biotechnology Reports*, *8*, 110–115. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2015.10.004>
- Rolim, W. R., Pelegrino, M. T., de Araújo Lima, B., Ferraz, L. S., Costa, F. N., Bernardes, J. S., Rodrigues, T., Brocchi, M., Seabra, A. B. seabra. (2019). Green tea extract mediated biogenic synthesis of silver nanoparticles: Characterization, cytotoxicity evaluation and antibacterial activity. *Applied Surface Science*, *463*, 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.08.203>
- S, Majeed., Mohd, S. A., Gouri K. D., Mohammed, T.A., Anima, N. (2016). Biochemical synthesis of silver nanoparticles using filamentous fungi *Penicillium decumbens* (MTCC-2494) and its efficacy against A-549 lung cancer cell line. *Chinese Journal of Natural Medicines*, *14*(8), 615–620. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(16\)30072-3](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(16)30072-3)
- Sarkar, M. K., Vadivel, V., Charan Raja, M. R., Mahapatra, S. K. (2018). Potential anti-proliferative activity of AgNPs synthesized using *M. longifolia* in 4T1 cell line through ROS generation and cell membrane damage. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *186*, 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.07.014>
- Satpathy, S., Patra, A., Ahirwar, B., Delwar Hussain, M. (2018). Antioxidant and anticancer activities of green synthesized silver nanoparticles using aqueous extract of tubers of *Pueraria tuberosa*. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, *46*(S3), S71–S85. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1489265>
- Shao, Y., Wu, C., Wu, T., Yuan, C., Chen, S., Ding, T., Ye, X., Hu, Y. (2018). Green synthesis of sodium alginate-silver nanoparticles and their antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, *111*, 1281–1292. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.012>
- Shoab, M., Naz, A., Osra, F. A., Abro, S. H., Qazi, S. U., Siddiqui, F. A., Shah, M. R., Mirza, A. Z. (2021). Green synthesis and characterization of silver-entecavir nanoparticles with stability determination. *Arabian Journal of Chemistry*, *14*(3), 102974. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.102974>
- Singh, J., Mehta, A., Rawat, M., Basu, S. (2018). Green synthesis of silver

- nanoparticles using sun dried tulsi leaves and its catalytic application for 4-Nitrophenol reduction. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6, 1468–1474. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.01.054>
- Solanki, J. N., Murthy, Z. V. P. (2011). Controlled size silver nanoparticles synthesis with water-in-oil microemulsion method: A topical review. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 50(22), 12311–12323. <https://doi.org/10.1021/ie201649x>
- Soltani, L., Darbemamieh, M. (2021). Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Hydroethanolic Extract of Cucurbita pepo L. Fruit and Their Anti-proliferative and Apoptotic Activity Against Breast Cancer Cell Line (MCF-7). *Multidisciplinary Cancer Investigation*, 5(3), 1–10. <https://doi.org/10.30699/mci.5.3.525-1>
- Some, S., Bulut, O., Biswas, K., Kumar, A., Roy, A., Sen, I. K., Mandal, A., Franco, O. L., İnce, İ. A., Neog, K., Das, S., Pradhan, S., Dutta, S., Bhattacharjya, D., Saha, S., Das Mohapatra, P. K., Bhuimali, A., Unni, B. G., Kati, A., Ochoy, I. (2019). Effect of feed supplementation with biosynthesized silver nanoparticles using leaf extract of *Morus indica* L. V1 on *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae). *Scientific Reports*, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50906-6>
- Song, J. Y., Kim, B. S. (2009). Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 32(1), 79–84. <https://doi.org/10.1007/s00449-008-0224-6>
- Srikar, S. K., Giri, D. D., Pal, D. B., Mishra, P. K., Upadhyay, S. N. (2016). Green Synthesis of Silver Nanoparticles : A Review. *Green and Sustainable Chemistry*, 6, 34–56. <https://doi.org/10.4236/gsc.2016.61004>
- Swamy, M. K., Akhtar, M. S., Mohanty, S. K., Sinniah, U. R. (2015). Synthesis and characterization of silver nanoparticles using fruit extract of *Momordica cymbalaria* and assessment of their in vitro antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity activities. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 151, 939–944. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.07.009>
- Thakkar, K. N., Mhatre, S. S., Parikh, R. Y. (2010). Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6(2), 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.07.002>
- Thomas, B., Vithiya, B. S. M., Prasad, T. A. A., Mohamed, S. B., Magdalane, C. M., Kaviyarasu, K., Maaza, M. (2018). Antioxidant and Photocatalytic Activity of Aqueous Leaf Extract Mediated Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 19(5), 2640–2648. <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.16025>
- Tian, S., Hu, Y., Chen, X., Liu, C., Xue, Y., Han, B. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using sodium alginate and tannic acid: characterization and anti-S.

- aureus activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 195(12), 515–522. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.031>
- Topal, M., Gocer, H., Topal, F., Kalin, P., Köse, L. P., Gulçin, I., Çakmak, K. C., Küçük, M., Durmaz, L., Gören, A. C., Alwasel, S. H. (2016). Antioxidant, antiradical, and anticholinergic properties of cynarin purified from the Illyrian thistle (*Onopordum illyricum* L.). *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(2), 266–275. <https://doi.org/10.3109/14756366.2015.1018244>
- Tsegay, M. G., Gebretinsae, H. G., Sackey, J., Maaza, M., Nuru, Z. Y. (2019). Green synthesis of khat mediated silver nanoparticles for efficient detection of mercury ions. *Materials Today: Proceedings*, 36, 368–373. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.04.217>
- Umaz, A., Koç, A., Baran, M.F. Keskin, C., Atalar, M. N. (2019). Hypericum Triquetrifolium Turra Bitkisinden Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Etkinliğinin İncelenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(3), 1467–1475. <https://doi.org/10.21597/jist.533115>
- Velmurugan, P., Anbalagan, K., Manosathyadevan, M., Lee, K. J., Cho, MinJung-Hee Park, Sae-Gang Oh, K.-S. B., Oh, B.T., Lee, S. M. (2014). Green synthesis of silver and gold nanoparticles using Zingiber officinale root extract and antibacterial activity of silver nanoparticles against food pathogens. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37(10), 1935–1943. <https://doi.org/10.1007/s00449-014-1169-6>
- Venkatadri, B., Shanparvish, E., Rameshkumar, M. R., Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ponnusamy, V. K., Agastian, P. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous rhizome extract of Zingiber officinale and Curcuma longa: In-vitro anti-cancer potential on human colon carcinoma HT-29 cells. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(11), 2980–2986. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.021>
- Wang, Y., Chinnathambi, A., Nasif, O., Alharbi, S. A. (2021). Green synthesis and chemical characterization of a novel anti-human pancreatic cancer supplement by silver nanoparticles containing Zingiber officinale leaf aqueous extract. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(4), 103081. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103081>
- Wongpreecha, J., Polpanich, D., Suteewong, T., Kaewsaneha, C., Tangboriboonrat, P. (2018). One-pot, large-scale green synthesis of silver nanoparticles-chitosan with enhanced antibacterial activity and low cytotoxicity. *Carbohydrate Polymers*, 199, 641–648. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.039>
- Yadi, M., Mostafavi, E., Saleh, B., Davaran, S., Aliyeva, I., Khalilov, R., Nikzamir, M., Nikzamir, N., Akbarzadeh, A., Panahi, Y., Milani, M. (2018). Current developments in green synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts: a review. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 46(sup3), S336–

S343. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1492931>

Yixia Zhang, Dapeng Yang, Yifei Kong, Xiansong Wang, Omar Pandoli, G. (2010). Synergetic Antibacterial Effects of Silver Nanoparticles@Aloe Vera Prepared via a Green Method. *Nano Biomedical Engineering*, 2(4), 252–257. <https://doi.org/10.5101/nbe.v2i4.p252-257.1>

Zein, R., Alghoraibi, I., Soukkarieh, C., Salman, A., Alahmad, A. (2020). In-vitro anticancer activity against Caco-2 cell line of colloidal nano silver synthesized using aqueous extract of Eucalyptus Camaldulensis leaves. *Heliyon*, 6(8), e04594. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04594>

