



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DİSİPLİNLERARASI TIBBİ SİSTEM BİYOLOJİSİ ANABİLİM
DALI

HYPNUM CUPRESSIFORME HEDW. EKSTRAKTININ KİMYASAL
BİLEŞİMLERİ, GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HÜSEYİN KARATAŞ

Tez Danışmanı

PROF. DR. ÖZLEM YAYINTAŞ

ÇANAKKALE – 2023



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DİSİPLİNLERARASI TIBBİ SİSTEM BİYOLOJİSİ ANABİLİM DALI

***HYPNUM CUPRESSIFORME* HEDW. EKSTRAKTININ KİMYASAL
BİLEŞİMLERİ, GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HÜSEYİN KARATAŞ

Tez Danışmanı

PROF. DR. ÖZLEM YAYINTAŞ

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)
kurumu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: TYL-2021-3547

ÇANAKKALE – 2023



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Hüseyin KARATAŞ tarafından Prof. Dr. Özlem YAYINTAŞ yönetiminde hazırlanan ve **23/08/2023** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “*Hypnum cupressiforme* Hedw. Ekstraktının Kimyasal Bileşimleri, Gümüş Nanopartiküllerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitesinin İncelenmesi” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Disiplinlerarası Tıbbi Sistem Biyolojisi Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Özlem YAYINTAŞ

.....

Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR

.....

Dr. Öğr. Üyesi Berrin TUĞRUL

.....

Tez No :

Tez Savunma Tarihi : 23/08/2023

PROF. DR. AHMET EVREN ERGİNAL
Enstitü Müdürü

.././20..

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Hüseyin KARATAŞ

23/08/2023

ÖNSÖZ

Yeni bilgiler öğrenmenin o muhteşem hazzını tattığım bu uzun ve zorlu süreci en az benim kadar göğüsleyen saygıdeğer hocam ve danışmanım Prof. Dr. Özlem YAYINTAŞ'a en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmaları süresince yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Neslihan DEMİR, Büşra DALGIÇ ve Sultan SÜCÜ'ye, ihtiyaç duyduğumda her daim yanımda olan Doç. Dr. Çetin TORAMAN'a çok teşekkür ederim.

Bir sağlık çalışanı olarak; en ihtiyaç duydukları zamanda onlardan esirgemek zorunda kaldığım baba sevgisini ve emeğini, pandemi ve deprem koşullarının getirdiği yükün üstüne, ikinci kez yüksek lisans çalışmalarını eklememe, büyük bir sabır ve olgunlukla müsamaha gösteren kızlarım Nehir Güneş ve Ada Deniz'e ve beni teşvik eden sevgili eşim Sedef'e teşekkür ederim.

Binlerce canımızı bir gecede kaybettiğimiz depremin bize bir kez daha dayanışmanın ve bilimin önemini hatırlattığı bu günlerde; kendilerinin ve yakınlarının hayatlarını hiçe sayarak insan hayatına dokunan herkese teşekkür eder ve bu çalışmanın gelecekte insanların sağlığını koruyup sürdürebilmesine ve bilimsel araştırmalara küçükte olsa bir katkı sunmasını ümit ederim.

Hüseyin KARATAŞ
Çanakkale, Ağustos 2023

ÖZET

***HYPNUM CUPRESSIFORME* HEDW. EKSTRAKTININ KİMYASAL BİLEŞİMLERİ, GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİYOLOJİK AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ**

Hüseyin KARATAŞ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Disiplinlerarası Tıbbi Sistem Biyolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Özlem YAYINTAŞ

23/08/2023, 94

Nanoparçacıklar atomik seviyede ve hedefe yönelik ürünler üretilmesine olanak sağladıklarından dolayı geleneksel yöntemlerle üretilen materyallere göre daha fonksiyonel ürünler üretilmesine olanak sağlamıştır. Ancak nanopartiküllerin sentezi sırasında kullanılan geleneksel yöntemlerin toksik etkileri ve yüksek maliyetleri nedeni ile alternatif yöntemler aranmaya başlamıştır. Yeşil sentezin amacı daha kısa sürede, düşük maliyetli ve toksik etki olmadan nanopartiküllerin sentezlenebilmesidir.

Karayosunları tüm dünyada bulunan yaşam formlarının en büyük ikinci grubunu oluşturan, Antarktika hariç hemen her bölgede çeşitli türlerine rastlanan, genellikle karada yaşayan ilk bitkiler olarak kabul gören ve bazı teröpatik etkilere sahip bitkilerdir. Yetiştikleri bölgenin ekosisteminden kaynaklı çeşitli böcek ve otçullara, zorlu iklimsel koşullara, ultraviyole ışınlarla ve mikrobiyal etkiler gibi farklı çevresel etkenlere karşı kendilerini koruyabilmek için oldukça bol sayıda ikincil metabolit geliştirmişlerdir. Ülkemizde de kolaylıkla yetişebilen karayosunlarının bir türü olan *Hypnum cupressiforme* Hedw. ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmaktadır.

Bu çalışmada Çanakkale, Kazdağları, Ayazma bölgesinde kaya üzerinden toplanan *H. cupressiforme* Hedw.'nin uçucu ekstraktı gaz kromatografisi-kütle spektrometresi ile incelendi. Ekstraktın içeriğinde 18 farklı fitobiyobiyokimyasal tespit edildi. Bu ekstrakt kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartikülleri (AgNP) sentezlendi. Sentezlenen

AgNP'lerin karakterizasyonu yapıldı. Ekstrakt ve AgNP'lerin antibakteriyel, antibiyofilm, antioksidan, mutajenik ve DNA kesme aktiviteleri belirlendi. Yapılan testler sonucunda AgNP'ler, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı antibiyofilm ve antibakteriyel aktivite göstermiştir. Antioksidan aktiviteleri; DPPH Testi ile belirlendi. Her iki örnekte düşük konsantrasyonlarda da serbest radikal giderme aktivitesi gösterdi. Mutajenik aktivite, Ames/*Salmonella* testi ile incelendi ve hem ekstrakt hem de AgNP'ler mutajenik etki göstermedi. DNA kesme aktivitesi agaroz jel elektroforez yöntemi ile belirlendi. Test edilen bütün konsantrasyonlarda AgNP'lerin hidrolitik ve oksidatif olarak DNA'yı kestiği oluşan halkasal form görüntülerinden anlaşıldı. Ekstaktın ise agaroz jel elektroforez yönteminde halkasal form görüntülerinin yanı sıra lineer form görüntüleri de oluşturmasından dolayı daha yüksek DNA kesme aktivitesi sergilediği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: *Hypnum cupressiforme* Hedw., Yeşil Sentez, Biyosentez, Gümüş Nanopartikül, Biyolojik Aktivite

ABSTRACT

CHEMICAL COMPOSITIONS OF *HYPNUM CUPRESSIFORME* HEDW. EXTRACT, SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF SILVER NANOPARTICLES

Hüseyin KARATAŞ

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Interdisciplinary Medical System Biology

Advisor: Prof. Dr. Özlem YAYINTAŞ

23/08/2023, 94

Since nanoparticles enable the production of targeted driven at the atomic level, they have enabled the production of more functional products compared to materials produced by traditional methods. However, due to the toxic effects and high costs of traditional methods used during the synthesis of nanoparticles, alternative methods have begun to be sought. The aim of green synthesis is to synthesize nanoparticles in a shorter time, at low cost and without toxic effects.

Mosses are plant species that spread widely on the earth, form the second largest group of biodiversity and have various therapeutic effects. They are very rich in secondary metabolites they have developed to combat environmental factors such as animal/insect interactions, ultraviolet rays, drought, and microbial effects. *Hypnum cupressiforme* Hedw. Studies on it are very limited.

In this study, the volatile extracts of *H. cupressifoorme* Hedw. collected from Çanakkale Kazdağları were examined by gas chromatography-mass spectrometry and the presence of 18 different phytocomponents was determined as secondary metabolites. Using these extracts, silver nanoparticles (AgNP) were synthesized by green synthesis method. Characterization of synthesized AgNP's was performed. The antimicrobial, antibiofilm, antioxidant, mutagenic and DNA cutting activities of the extract and AgNP's were determined. The tests performed showed that AgNP's showed antibiofilm and antibacterial

activity against *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis*. Antioxidant activities; it was determined by the DPPH Test. It showed free radical scavenging activity at low concentrations in both samples. Mutagenic activity was examined by the Ames/*Salmonella* test, and both the extract and AgNP's showed no mutagenic effect. DNA cutting activity was determined by agarose gel electrophoresis method. It was understood from the circular form images that AgNPs cut DNA hydrolytically and oxidatively at all tested concentrations. It was determined that the extract exhibited higher DNA cutting activity due to the formation of linear form images as well as circular form images in the agarose gel electrophoresis method.

Keywords: *Hypnum cupressiforme* Hedw., Green synthesis, Biosynthesis, Silver nanoparticles, Biological activity

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

5

2.1. Nanopartikül ve Yeşil Sentez	5
2.1.1. Nanopartikül Sentez Yöntemleri	6
2.1.2. Yeşil Sentez Yönetimi	8
2.2. Nanoteknolojinin Kullanım Alanları	11
2.2.1. Tıp	14
2.2.2. Gıda ve Ambalaj	16
2.2.3. Malzeme	16
2.2.4. Savunma Sanayi	18
2.2.5. Kozmetik	19
2.2.6. Çevre ve Enerji	19
2.2.7. Bilgisayar ve Bilişim Teknolojileri	20
2.3. AgNP'lerin Özellikleri ve Kullanım Alanları.....	21

2.4.	<i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw.	22
2.4.1.	Karayosunlarının Genel Özellikleri	23
2.4.2.	<i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw. Türünün Tıbbi Kullanım Alanları	28
2.5.	Antimikrobiyal Aktivite	31
2.6.	Antibiyofilm Aktivite	34
2.7.	Antioksidanlar ve Oksidatif Stres	36
2.8.	Mutajenik Etki	38
2.9.	DNA ile Etkileşimler	38

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA YÖNTEMİ/MATERYAL YÖNTEM

3.1.	<i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw. Temini	42
3.2.	Ekstraktın Hazırlanması	42
3.3.	Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrofotometrisi ile Uçucu Bileşiklerin Ekstraksiyonu	42
3.4.	Gümüş Nanopartiküllerin Hazırlanması	42
3.5.	Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	43
3.5.1.	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi	43
3.5.2.	Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi	43
3.5.3.	UV-Görünür Alan Absorbsiyon Spektroskopisi Analizi	44
3.6.	Antibakteriyel Aktivite Analizleri	44
3.6.1.	Broth Mikrodilüsyon Yöntemi	44
3.6.2.	Agar Disk Difüzyon Yöntemi	45
3.7.	DNA ile Etkileşimin Belirlenmesi	46
3.8.	Mutajenik Aktivitenin Belirlenmesi	46
3.9.	Serbest Radikal Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi (DPPH Testi)	47

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1.	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrofotometrisi ile Bileşiklerin Ekstraksiyonu	49
4.2.	Gümüş Nanopartiküllerinin Sentezi ve Karakterizasyonu	54
4.2.1.	Gümüş Nanopartiküllerin Morfolojik Analizi.....	54

4.2.2. SEM Analizinin Değerlendirilmesi	55
4.2.3. TEM Analizinin Değerlendirilmesi	55
4.2.4. UV-Vis Spektroskopi Analizinin Değerlendirilmesi	56
4.3. Anti Mikrobiyal Aktivite	57
4.3.1. Broth Mikrodilüsyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi	57
4.3.2. Agar Disk Difüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi	59
4.3.3. Antibiyofilm Aktivitenin Değerlendirmesi	61
4.4. DNA Kesme Aktivitesinin Değerlendirilmesi	63
4.5. Mutajenik Aktivitenin Değerlendirilmesi	64
4.6. Serbest Radikal Giderme Aktivitesinin Değerlendirilmesi	66
BEŞİNCİ BÖLÜM	
SONUÇ ve ÖNERİLER	
KAYNAKÇA	75
ÖZGEÇMİŞ	I

SİMGELER VE KISALTMALAR

AB	Avrupa Birliği
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AgNO ₃	Gümüş nitrat
AgNP	Gümüş nanopartikül
ATCC	Amerikan tıp kültür koleksiyonu
BHT	Kilogram
°C	Santigrat derece
Cm	Santimetre
DNA	Deoksiribonükleik asit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
FT-IR	Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi
GC-MS	Gaz kromatografisi-kütle spektrofotometrisi
Gr	Gram
H	Hidrojen
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
M	Molar
Mg	Miligram
Mm	Milimolar
MBK	Minimum bakterisid konsantrasyon
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
mL	Mililitre
Mm	Milimetre
MRSA	Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
N	Azot
NaCl	Sodyum klorür
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NH ₂	Amin
Nm	Nanometre
NP	Nanpartikül
pH	Hidrojen potansiyeli

SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
UV	Ultra viyole
UV-Vis	Ultra viyole-görünür alan absorpsiyon spektroskopisi
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar
%	Yüzde oranı



TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	Yıllara göre nanoteknolojik ürünlerin tahmini pazar büyüklüğü	13
Tablo 2	Dülger vd. (2005) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları.	30
Tablo 3	Toplam iyon kromatogram raporu.	51
Tablo 4	<i>H. cupressiforme</i> Hedw. ve AgNP MİK değerleri.	57
Tablo 5	<i>H. cupressiforme</i> Hedw. ve AgNP disk difüzyon değerleri.	60
Tablo 6	<i>H. cupressiforme</i> Hedw. ve AgNP antibiyofilm aktivitesi.	62
Tablo 7	Ames/ <i>Salmonella</i> test sonuçları.	65
Tablo 8	Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Nanopartikül sentez yöntemleri.	7
Şekil 2	Nanopartikül biyosentezinin yapısı.	10
Şekil 3	The Lycurgus cup.	11
Şekil 4	Nanopartiküllerin başlıca kullanım alanları.	14
Şekil 5	<i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw.	23
Şekil 6	Karayosunlarında bulunan bazı sekonder metabolitler.	27
Şekil 7	<i>H. cupressiforme</i> Hedw. ekstraktının antiproliferatif etkisi	29
Şekil 8	Disk difüzyon testi ve zon çapının ölçülmesi.	34
Şekil 9	DNA'nın kimyasal yapısı.	39
Şekil 10	DNA'nın yüksek çözünürlüklü bir fotoğrafı.	40
Şekil 11	Taramalı elektron mikroskobu.	43
Şekil 12	Geçirimli elektron mikroskobu.	44
Şekil 13	Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi ile analizi sonuçları.	50
Şekil 14	Ekstrakt içinde major (%4 üzeri) olarak bulunan (toplam bileşenlerin 74,34'ü) fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı.	52
Şekil 15	AgNP'lerin morfolojik gözlemi, A. <i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw. su ekstraktı, B. AgNO ₃ , C. AgNP.	54
Şekil 16	<i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw. AgNP SEM görüntüsü.	55
Şekil 17	<i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw. AgNP TEM görüntüsü.	56
Şekil 18	AgNP UV-görünür alan absorban spektroskopisi analizi	57
Şekil 19	<i>Hypnum cupressiforme</i> Hedw. su ekstraktı ve AgNP'nin DNA kesme aktivitesinin belirlenmesi.	64

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

İnsanlık tarihinin bilinen ilk dönemlerinde ortalama yaşam süresi 20 yıl olarak ifade edilmektedir. Özellikle son birkaç yüzyılda bilim ve teknolojiye yaşanan gelişmeler sayesinde 1900’lü yıllarda dünya genelinde doğuştan beklenen ortalama yaşam süresi 31 yıl (Prentice, 2008) iken, günümüzde bu süre pek çok ülkede 80 yılı aşmış durumdadır. Ortalama insan ömründe yaşanan bu artışın nedenlerinden biri olarak; insanın merakının sonucu her geçen gün yeni bilgiler öğrenmesi ve bu bilgileri yeni nesillere aktarabilmesinin sonucunda, doğaya uyum yeteneğini geliştirmesi ve doğayı kendi lehine kullanabilmesi gösterilebilir.

Başta tıp, farmakoloji, biyoloji, kimya ve fizik gibi disiplinlerde öğrenilen yeni bilgilerin önemli katkısı ile uzayan bu yaşam süresinin doğal bir sonucu olarak yeryüzünde yaşlı insan popülasyonu hızla artmıştır. İnsan ömrünün uzaması ve teknolojinin de gelişmesi sonucu eskiden hakkında pek bilgi sahibi olmadığımız pek çok hastalık ve hastalık yapıcı mikroorganizmanın, hastalık sürecinin ve bununla nasıl mücadele edebileceğimizin bilgisine artık sahibiz. Uzayan insan ömrü insanların tıbbi ve farmakolojik ürünlere gereksinimlerini hızla yükseltirken, hastalıklar karşısında daha etkin tedavi yöntemleri arayışı da aynı hızla artmaktadır. Ancak hala insanlık tarihi için çok yeni sayılabilecek bilgilerimizle; bazı yeni ve ölümcül hastalıklarla mücadelede istediğimiz sonucu elde etmiş değiliz. Günümüzün en ölümcül ve uzun süreli hastalıklarından birisi olan kanserin tedavisi için de hızla etkili bir tedavi yöntemi gereksinimi devam etmektedir. Covid-19 pandemisi de hastalık yapıcı patojenlere karşı hazırlıksız olduğumuzda toplum sağlığının ve toplumsal yapının hızla nasıl değişebileceğini bir kez daha göstermiştir.

Ancak bu gereksinimleri karşılamak için üretilen ürünlerin üretim aşamasında kullanılan kimyasal maddelerin toksik etkileri ve yüksek maliyetleri, bu çalışmaların önemli zayıflıkları arasındadır. Bu gereksinimlerin bir diğer zayıflığı ise; son yıllarda antibiyotik kullanımının artmasına bağlı olarak çok sayıda patojenin kullanılan antibiyotiklere direnç geliştirmiş olmasıdır. Bazı patojenlerin kullanılan antibiyotik ilaçlara direnç geliştirmesinin doğal bir sonucu olarak, hastalıkların tedavi süreci olumsuz etkilenmekle birlikte, tedavi aşamasında sağlık sisteminin mali yükü de artmaktadır.

İnsan sağlığının korunması, geliştirilmesi, hastalıkların teşhis ve tedavisi s¼recinde kullanılan ilaç ve malzemelerin maliyetini d¼ř¼rerek sağlık ekonomisinin y¼netilebilmesine y¼nelik hedeflere ulaşılabilmesi için d¼ř¼k maliyetli ve toksik etkisi olmayan maddeler geliştirilip kullanıma sokulması bir zaruriyet olmaya başlamıştır. Bu gereksinim bilim insanlarını patojenlerle m¼cadelede hastalık yapıcı mikroorganizmaların direnç geliştirmeyecekleri yeni ve etkili y¼ntemlerin araştırılmasına sevk etmiştir. Bu ihtiyacın doğal bir sonucu olarak gezegenimizi uzun zamandır paylaştığımız ve pek çok alanda ucuz birer kaynak olarak faydalandığımız bitkileri ¼n plana çıkmıştır. ¼zellikle geleneksel tıpta da yaygın kullanımı olan ter¼patik etkiye sahip bitkilere y¼nelik ilginin son yıllarda arttığı g¼r¼lmektedir.

Bununla beraber gelişen bilim ve teknoloji, insanoğlunun daha sağlıklı ve uzun bir hayat arayışında g¼¼ alternatifler sunmaktadır. Nanoteknolojinin getirdiği yeni araçlar pek çok alanda olduğu gibi tıp ve farmakolojide de yeni ilaçların geliştirilmesinde ve ¼retiminde, yeni medikal aletlerin yapımında ve hastalıkların teşhisini kolaylaştıran cihazların ¼retiminde geleneksel y¼ntemlere g¼re çeşitli ¼st¼nl¼kler sağlamıştır.

Nano ¼n¼ne geldiği kelimeye milyarda biri anlamı kazandırmaktadır. Tegart (2003) nanoteknolojiyi, 1 ila 100 nm arasındaki boyutlarda maddenin anlaşılması ve kontrol¼ olarak tanımlamakta ve kendine ¼zg¼ fenomenlerin yeni uygulamalara olanak tanıdığını belirtmektedir. Hacimli yapılarına g¼re yeni y¼ntemlerin geliştirilmesinde çok daha avantajlı olan nanoparçacıklar; gerek organik gerekse inorganik maddeler ¼zerinde yeni tasarımlar geliştirilmesine olanak sağlarlar. Nanoteknolojinin sağladığı yeni ¼retim y¼ntemleri ile elde edilen ¼r¼nler ise hastalıkların teşhis ve tedavi s¼reci de dahil olmak ¼zere pek çok alanda kullanılmaya başlanmakla beraber; fizik, kimya, biyoloji, ve m¼hendislik gibi bilim dallarında yapılan çalışmalarda da nanoteknoloji ile geliştirilen ¼r¼nlerin kullanımının hızla arttığı g¼r¼lmektedir.

G¼m¼ř¼n bakteriler, mantarlar ve vir¼sler ¼zerindeki yok edici etkileri; y¼zyıllardır ter¼patik bir madde olarak çeşitli alanlarda kullanılmasına neden olmuştur. G¼m¼ř¼n antimikrobiyal madde olarak kullanımının sağladığı avantajlar ise; g¼m¼ře karşı pek çok bakterinin hen¼z direnç geliştirmemesi ve bu sayede geniş spektrumlu bir antibiyotik

etkisinin olmasına karşın düşük konsantrasyona maruziyetinin toksik etkisi bulunmamasıdır (Duncan, 2011). Bakterilerin direnç geliştirememesi gibi avantajları sayesinde gümüş içerikli farmakolojik ürünlerin tıp ve kozmetik alanında kullanımı yaygınlaşmaktadır.

Hacimli yapıları ile uzun zamandan beri çeşitli şekillerde tıbbi olarak kullanılan gümüş nanopartiküller ise kendine özgü fiziksel ve kimyasal yapıları nedeni ile diğer biyomedikal nanomateryallerden farklılıklar göstermektedir. Gümüş nanopartiküllerin kendilerine özgü bu yapıları bakterilere, virüslere ve diğer ökaryotik mikroorganizmalara karşı tedavi edici özelliklerinin yanı sıra tanı ve teşhis uygulamalarında da kullanılmasını sağlamıştır. Ancak nanoparçacıkların fiziksel ve kimyasal üretimlerinin pahalı olması, çevre ve insan sağlığı üzerinde toksik etkilerinin bulunması gibi zayıflıklar bu alanda yapılan çalışmalarda da toksik etkisi olmayan ve üretim maliyetleri düşük olan biyolojik yöntemlerin araştırılmasına neden olmuştur.

Bu yönelimlerin bir sonucu olarak dünya genelinde bitkilerin içerdiği etken maddeleri belirlemek ve bu maddelerin teröpatik etkilerini ortaya koyabilmek için yapılan çalışmalar hızla artmakta ve bu sayede nanoteknoloji ile sentezlenen ürünlerin üretilmesinde teröpatik etkili bitkilerden faydalanarak toksik etkileri olmayan ve maliyeti düşük, çevre dostu ürünler ortaya çıkması hedeflenmektedir. Yeşil sentez olarak adlandırılan nanopartiküllerin bitkisel sentez yöntemleri; toksik etkilerinin azlığı ve maliyetlerinin daha düşük olması nedeniyle ön plana çıkmaktadır. Literatürde geçmiş çalışmalar tarandığında yeşil sentez yöntemlerinde kullanılan bitkilerin çoğunlukla tohumlu bitkiler olduğu görülmektedir. Buna karşın; tohumuz bitkilerden olan karayosunları dünyanın pek çok bölgesinde ve zorlu iklim koşullarında bile doğal olarak yetişebilen; uygun yaşam koşulları olmadan da uzun süre canlılık özelliklerini yitirmeyen ve yeryüzünde en büyük ikinci popülasyona sahip olan bitkilerdir. Bitki dünyasının amfibileri olarak adlandırılan karayosunları uzun süre susuzluğa karşı dirençlidirler. Biryofitlerin, böcek ve hayvanlarla etkileşimleri, aşırı sıcaklık, mikrobiyal ayrışma, ultraviyole ışınlar gibi pek çok farklı çevresel faktöre karşı varlıklarını devam ettirebilmek için farklı ve çok sayıda ikincil metabolitler ürettikleri bilinmektedir. Karayosunlarının kendine özgü olarak ürettikleri zengin metabolitlerin, teröpatik etkileri geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda görülmüştür. Karayosunlarından *Hypnum cupressiforme* Hedw. ülkemizde de yaygın olarak bulunmakla birlikte, ikincil metabolit açısından teröpatik etkilere sahip bir bitki türüdür. Antioksidan ve

antifungal özellikleri ile ön plana çıkan *H. cupressiforme* Hedw.'un antibakteriyel özellikleri ile beraber demans gibi hastalıkların tedavisinde de etkili olduğu yapılan çalışmalarda vurgulanmıştır. Bununla birlikte yetiştirilme ve saklama maliyetlerinin düşük olması nedeni ile son yıllarda karayosunları üzerinde yapılan çalışmalarda artış olduğu görülmekle birlikte, özellikle *H. cupressiforme* Hedw. ikincil metabolitlerinin içerdiği kimyasal bileşimler açısından sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunun yanı sıra hem *H. cupressiforme* Hedw.'in ihtiva ettiği ikincil metabolitlerin hem de bu metabolitler kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile elde edilecek gümüş nanopartiküllerinin biyolojik aktiviteleri üzerinde yapılan çalışmalarında kısıtlı olduğu görülmektedir.

Bu çalışma ile doğada sıkça bulunan, yetiştirilmesi ve saklaması oldukça kolay ve teröpatik etkileri bilinen *H. cupressiforme* Hedw. özütlerinin barındırdıkları kimyasal bileşimler, bu özütler kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartiküllerinin sentezi, sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonu ve hem *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktının hem de elde edilen nanopartiküllerin biyolojik aktivitesinin incelenmesi hedeflenmektedir.

Bu çalışma sayesinde elde edilecek bilgilerin insan sağlığının korunup geliştirilmesinde ucuz, insana ve çevreye toksik etkisi olmayan, tedavi aşamasında patojen mikroorganizmaların antibiyotik direnci geliştiremeyeceği ve son yıllarda insan sağlığını olumsuz etkileyen kanser ve viral hastalıklar gibi pek çok hastalığa karşı etkili bir yöntem olma potansiyeli taşıdığı, bu sayede gelecekte yapılacak çalışmalara da katkı sunabileceği düşünülmektedir.

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Nanopartikül ve Yeşil Sentez

Yunanca kökenli olan nano kelimesi cüce anlamına gelmektedir ve önüne geldiği herhangi bir ölçü biriminin milyarda birini göstermektedir. Nano teknolojinin literatürde birden fazla tanımı bulunmakla birlikte, genel görüşe göre 1-100 nanometre boyutlarda maddelerin anlaşılması, kontrol edilmesi ve atomsal seviyede değiştirilip işlevsel hale getirilmesi olarak tanımlanabilir (Oksal ve Örs, 2017). Nanoteknoloji; atom ve molekkülleri nanoboyutta hassas ve kontrollü bir şekilde yerleştirilerek; kendine özgü ve üstün fonksiyonlara sahip malzemeleri, cihazları ve sistemleri üretmemizi sağlar (Kathiervelu, 2003). Bir başka deyişle nanoteknoloji, atomları ve molekülleri milimetrenin 100 milyonda biri veya daha az bir boyutta (nano ölçekte) manipüle ederek yapılar, cihazlar ya da sistemler tasarlamaya, tasarlanan ürünleri üretmeye ve bunları insanların kullanımına sunmaya yarayan bir bilim ve mühendislik dalını ifade eder. Nanoteknoloji, bir çok bilim ve teknolojik uygulama alanını kapsayan, gelecek vaad eden ve heyecan verici bir moleküler teknolojidir (Moore, 2006). Nanoteknoloji daha dayanıklı ve fonksiyonel ürünler üretimine olanak sağlarken, bu işlem sırasında enerji tüketiminin ve maliyetin düşürülmesini sağlamaktadır. Nanoteknoloji uygulamaları ile elde edilen ürünler, hacimli yapıları ile elde edilen ürünlere kıyasla çok farklı özelliklere ve yeni etkilere sahip malzemeler elde edilmesine imkan yaratır. Bunun nedeni, nanoparçacıkların daha büyük parçacıklara kıyasla çok yüksek yüzey/hacim oranına sahip olması ve büyük ölçeklerde gözlemlenmeyen bazı etkilerin küçük ölçeklerde ortaya çıkmasıdır. Nanoteknolojinin, organik ve inorganik maddeler üzerinde atomik seviyede yeni tasarımlı üretimler yapmaya olan sağlaması sayesinde, nanoteknoloji ile gerçekleştirilen uygulamalar tüm alanlarda temel bilimsel kuramları ve üretim teknolojilerini değiştirmiştir (Budak, 2012). Hacimleri daha büyük boyutlarda olan malzemelere göre çok daha fazla avantaj sağlayan özellikler sergilemeleri, nanopartiküllerin farklı bilim ve sektörel alanlarda kullanılmasını sağlamıştır. Çeşitli kanser tedavileri, ilaç taşınımı, tıbbi görüntüleme, biyosensör yapımı biyoteknoloji, biyomedikal, kozmetik, tekstil, otomotiv, kimya, bilişim sektörleri gibi pek çok farklı alanda nanoteknolojiden faydalanılmakta ve bu teknoloji ile üretilen ürünler aktif olarak kullanılmaktadırlar.

Klasik yöntemler ile nanopartiküllerin sentezlenmesi sonucu istenilen büyüklük ve morfolojide ürünler elde etmek mümkün olmasına rağmen, sentezleme aşamasında kullanılan stabilize edici kimyasal ajanların yüksek maliyetleri, toksik etkileri, çevreye ve insan sağlığına olan olumsuz etkileri, ucuz ve toksisitesi olmayan yöntemlerin araştırılmasını zorunlu kılmıştır. Bu arayışlarda yeni geliştirilecek yöntemlerin klasik sentez yöntemleri olan fiziksel ve kimyasal yöntemlere göre sağlaması gereken en önemli avantajlar olarak; sentez sırasında ortamda çok yüksek sıcaklıklara çıkılması gibi hem maliyeti arttıran hem stabilizasyonu azaltan hem de tehlike arz eden durumların ortaya çıkmaması, düşük maliyetlerde ve çevre dostu olması hedeflenmiştir. Yeşil kimya ve biyolojik süreçlere karşı artan farkındalık, toksik olmayan nanopartiküllerin sentezi için çevre dostu bir yaklaşım geliştirme arzusuna yol açmıştır (Velusamy vd., 2016). Bu bağlamda, klasik sentezleme yöntemlerinde kullanılan fiziksel ve kimyasal metotlara karşı çevreye toksik bir etkilerinin olmaması ve maliyetleri düşürmesi biyolojik metodların geliştirilmesini sağlamıştır. Biyolojik metotlar toksik olmayan nanopartiküllerin üretiminde önemli bir avantaj sağlamaktadır. Bu avantajların en önemlileri arasında, biyolojik yöntemler kullanılarak nanoparçacık üretim sürecinin, toksik etkilere sahip kimyasal madde kullanımı ihtiyacını ortadan kaldırması, aşırı asidik ya da bazik ortam koşulları oluşmaması, tehlikeli derecede yüksek sıcaklık gerektirmemesi sayılabilir. Ayrıca yeşil sentez; ucuz, çevre dostu olması, toksik kimyasallar ve yüksek sıcaklıklar gerektirmemesinin yanı sıra, kolay ölçeklendirilebilmesi, bu yöntemde yüksek basınç, ve enerji kullanılmasına gerek olmaması nedeniyle de kimyasal ve fiziksel yöntemlere göre daha gelişmiş bir yöntemdir (Karnani ve Chowdhary, 2013). Nanopartiküllerin yeşil sentezi için bitkilerin ekstraktları, mantar, bakteri, maya gibi çeşitli biyomateryaller kullanılmaktadır. Biyolojik alternatifler arasında diğer biyomateryallere oranla bitkiler ve bitki özleri, doğada kolaylıkla bulunabilen, az bakım gerektiren ve ekstraktları içinde barındırdıkları bolca kimyasal madde sayesinde ulaşılabilirlik ve maliyet açısından üstünlük sağlarlar.

2.1.1. Nanopartikül Sentez Yöntemleri

Nanopartiküllerin sentezlenmesi aşamasında yukardan-aşağıya ve aşağıdan-yukarıya olmak üzere iki genel üretim yaklaşımı bulunmaktadır. Bu üretim yaklaşımlarından birisi olan yukardan aşağıya yaklaşımında yığın haldeki malzemelerin nano boyuta indirgenene değin küçük parçalara ayrılması esas alınır. Boyutlar nano ölçeklere azaltılana kadar fiziksel,

kimyasal ya da asitler ve benzeri mekanik yöntemler kullanılabilir. Bu tekniklerde büyük hacimli kütleli malzeme ele alınır, daha sonra şekillendirilir, yapısı oluşturulur ve yeniden düzenlenerek istenilen özelliklere sahip ürüne dönüştürülür (Ateş, 2015). Fiziksel üretim yöntemlerinin çoğunluğu yukarıdan aşağıya üretim yöntemleridir.

Aşağıdan yukarıya üretim yaklaşımında ise yukarıdan aşağıya üretim yöntemlerinin tersine küçük boyutlu maddelerden (atomlar ve moleküller) nano boyutta maddeler elde edilir. Atom ve molekülleri bir araya getirerek nano boyutta yapı elde edilmesi aşamasında fiziksel ve kimyasal yöntemlerin yanı sıra yeşil sentez yöntemi de kullanılmaktadır. Bu yöntem moleküller oluşturmak için tek tek atomların substrat üzerinde birer birer yığıldığı biyolojik süreçleri taklit eden bir sentez yaklaşımı olarak görülebilir (Khanna ve Khanna, 2016). Doğadaki nano ölçekli süreçlerde bu şekilde devam ettiğinden bu yöntemin doğadan ilham alınarak geliştirilmiş bir yöntem olduğu söylenebilir. Bu nedenle organik maddelerden nanopartikül elde edilmesi aşamasında aşağıdan yukarıya yöntemi tercih edilmektedir. Kendi kendini organize eden işlevsel sistemler ve cihazlar, aşağıdan yukarıya üretimin nihai amacıdır. Bu metodoloji, atomların ve moleküllerin kontrollü bir şekilde bir araya getirilmesiyle, atık olmadan veya nihai sistemin parçalarını yapmaya veya ortadan kaldırmaya gerek kalmadan işlevsel çok bileşenli cihazlar üretme potansiyeline sahiptir. (Bisvas vd., 2012).



Şekil 1. Nanopartikül sentez yöntemleri.

Atomik ve moleküler boyuttaki elemanların kontrollü olarak bir araya getirilmesiyle çok moleküllü yapılar ve daha büyük sistemler elde edilebilir ve kompleks ürünler üretilebilir. Şekil 1’de nanopartikül sentez yöntemleri gösterilmiştir.

2.1.2. Yeşil Sentez Yöntemi

Biyosentez, Yunanca bios (hayat) ve synthesis (bileşik) kelimelerinin birleşmesinden meydana gelmiştir. “Biyoloji terimleri sözlüğünde küçük boyutlardaki moleküllerin çeşitli enzimler yardımı ile birleştirilerek daha büyük boyutlarda moleküllerin sentezlenmesi olayının canlı organizmanın içinde meydana gelmesi olarak tanımlanmıştır” (Karol vd., 1998). Canlı organizma içerisinde enerji kullanılarak kendiliğinden gerçekleşen bu süreç, nanoteknolojide ise bitkiler, mantarlar, algler, mayalar, virüsler gibi canlı organizmalardan yararlanılarak nanotanecek sentezlemektir. Özellikle bitkilerin ekstraktları sahip oldukları zengin kimyasal bileşikler ve bitkilerden elde edilen nanoparçacıkların daha kararlı bir yapıya sahip olması sayesinde sıklıkla kullanılmaya başlamıştır.

Nanopartikül üretiminde kullanılan kimyasal ve fizyolojik yöntemler istenen özelliklere sahip bazı nanomateryallerin elde edilmesine olanak sunmasına karşın, maliyetinin yüksek olması, çevreye zarar verici toksik etkilerinin bulunması, kompleks bir yapıya sahip olması, işlem basamaklarının çok olması ve yoğun emek gerektirmesi gibi etmenler bu yöntemlerinin zayıflıklarını oluşturmaktadır. Biyomedikal uygulamalarda kullanılan nanopartiküller fiziksel ve kimyasal sentez yöntemleri ile elde edildiklerinde, nanopartiküllere bağlanan yan ürünlerin toksik olmaları potansiyel olarak tehlikelidir. Biyomedikal ve tıp alanında uygulamaları olan nanoparçacıkların, metal sitotoksitesinin azaltılması ve biyouyumlu olmaları gereklidir. Fizikokimyasal yöntemlerle sentezlenen nanopartiküllerle karşılaştırıldığında, biyojenik yollardan elde edilen nanopartiküller, fizyokimyasal sentez sırasında nanopartiküllere bağlanan yan ürünlerin toksik kontaminasyonundan muaftır ve bu da elde edilen nanopartiküllerin biyomedikal uygulamalarında üstünlük sağlar. Bu nedenle nanopartikül üretiminde potansiyel sitotoksitesite riski taşımayan, çevreye zararı olmayan, daha ucuz ve daha az emek gerektiren bir yöntem ihtiyacı oluşmuştur. Nanopartiküllerin biyolojik sentezi, toksik ürün barındırmaması, daha az enerji gerektirmesi, işlem basamaklarının az olmasından dolayı hızlı olması, sentezlenen nanopartiküllerin uygun maliyetli ve biyolojik olarak uyumlu

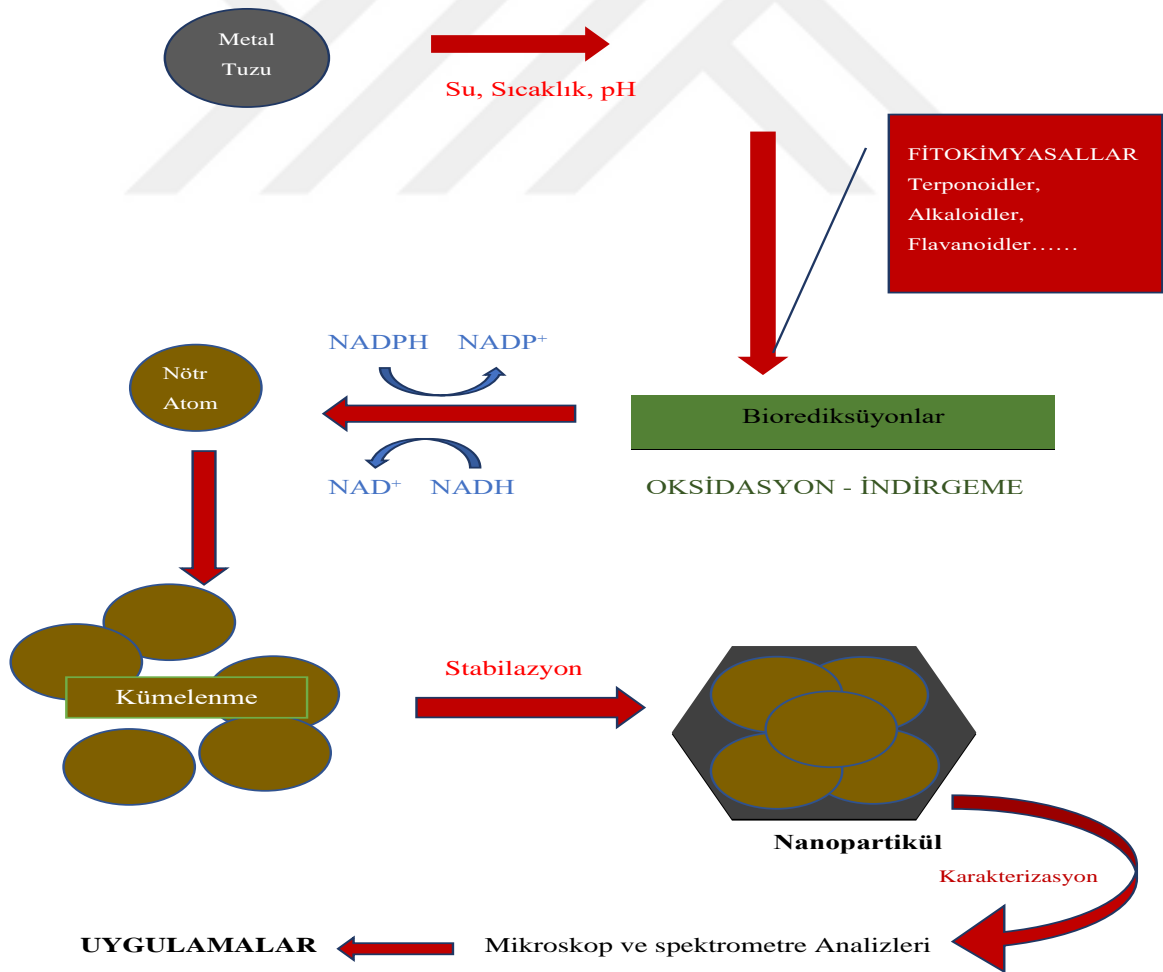
olması gibi çeşitli avantajlara sahiptir. Ayrıca, bitki ve mikroorganizma bileşenlerinin kendileri kapama yetenekleri ve stabilize edici ajanlar olarak hareket etmelerinden dolayı daha fazla stabilize edici ajan gerektirmezler (Makarov vd., 2014). Biyolojik sıvılarla temas eden nanopartiküller, bundan kaçınmak için özel olarak tasarlanmadıkları sürece, seçilmiş bir grup biyomolekül tarafından hızla, aşamalı ve seçici olarak biyolojik sistemlerle etkileşime giren bir korona oluşturur. Oluşturdukları bu korona sayesinde, saf biyolojik nanopartiküller üzerinde fazladan etkinlik sağlar (Monopoli vd., 2012). Özellikle teröpatik etkiye sahip bitkilerde, sentezlenen nanopartiküllere bağlandığı varsayılan farmakolojik aktiviteye sahip bol miktarda metabolit vardır ve nanopartiküllerin etkinliğini artırarak ek fayda sağlar (Singh vd., 2008). Nanopartiküllerin biyolojik sentezinin ek avantajı, fizyokimyasal sentezde gerekli olan ek bir adım olan biyolojik olarak aktif hale getirmek için bazı fonksiyonel grupların nanopartikül yüzeyine bağlanması da dahil olmak üzere gerekli adımların sayısını azaltabilmesidir. Mikroorganizmaların, toksik, sert kimyasallardan, fiziksel ve kimyasal sentez için gereken yüksek enerji talebinden kaçınarak, çevre dostu ve uygun maliyetli araçlar olarak büyük potansiyele sahip önemli kaynaklar olduğu gösterilmiştir (Sing vd., 2016). Üretim maliyetlerindeki azalma ve ticari üretime elverişli oluşu, sitotoksik etkilerinin olmayışı, tıp ve biyomedikal alanlarda kullanışlı oluşu ise biyosentezi günümüzde sıkça kullanılan bir yöntem haline getirmiştir.

Günümüzde bazı bitkilerin ağır metalik iyonları biriktirdiği ve toksisitesini azalttığı bilinmektedir. Bu özelliklerinden dolayı sanayileşmiş ve egzoz gazlarının yoğun olduğu bölgelerde hem yatay hem dikey olarak peyzaj için kullanılmakta ve çevre kirliliğini ölçümü için biyomonitör olarak kullanılmaktadır. Bitkilerin ihtiva ettikleri molekküller metal iyonlarını indirgeme yeteneğine sahiptirler. Metal iyonlarını indirgemelerine olanak sağlayan bu yetenekleri inorganik metal iyonlarını metal nanopartiküllere çevirmelerini sağlar. Yeşil sentez yönteminin temel prensibi bitkilerin ihtiva ettikleri molekküllerin bu yeteneğini kullanmaktır.

Nanoparçacıkların biyolojik yollarla sentezinde indirgeme ve oksidasyon reaksiyonlarını içeren aşağıdan yukarıya nanopartikül üretme yöntemi kullanılmaktadır. Nanoparçacıkların sentezi aşamasında büyük ölçüde bitkilerin ihtiva ettikleri indirgeyici özelliklere sahip fitokimyasallar etkili olur. Sentez için gerekli olan çözücü ortam, doğaya zararı olmayan indirgeme ajanı ve yine çevre için tehdit oluşturmayan bir stabilize edici ajan;

yeşil sentez yöntemi kullanılarak nanoparçacıkların üretilmesinde üç ana bileşen olarak yer almaktadır (Kıyar, 2020). Şekil -2' de nanopartikül biyosentezinin yapısı gösterilmiştir.

Nanopartikül üretme aşamasında yeşil sentez yönteminin kullanıldığının söylenebilmesi için; tepkime sürecinin güvenli olması, tepkime basamağının bir tane olması, yenilenebilir hammadde kullanılması, toksik etkileri olmaması, verimli olması ve ürün ayırıştırma işleminin basit olması koşullarını sağlayabilmesi gerekmektedir. Bu koşulların tamamının sağlanması oldukça zordur. Birçok tepkime bu koşulları yerine getirmede başarılı olamaz. Ayrıca biyolojik sentez yöntemi ile sentezlenen nanoparçacıkların pH, sıcaklık inkübasyon süresi, tuz konsantrasyonu gibi birçok parametre açısından birbirine benzer şekil ve boyutta nanopartikül üretmek için optimizasyonu gerekmektedir (Hammamchi, 2019; Yıldız, 2011).



Şekil 2. Nanopartikül biyosentezinin yapısı.

2.2. Nanoteknolojinin Kullanım Alanları

Nanoteknoloji ürünlerinin örnekleri tarihte çok eskiye dayanmaktadır. Günümüzde British Museum’da sergilenmekte olan Lycurgus Cup (Şekil 3), MS 4. yüzyılda Romalı cam işçileri tarafından geliştirilen, iç taraftan aydınlatıldığında kırmızı ve ön taraftan aydınlatıldığında yeşil renk alan bu kupa nanoteknoloji kullanılarak üretildiği bilinen en eski üründür. Cam eridiğinde içerisine metal içeren malzeme eklenmesiyle, camın kırmızıya boyanabileceğini ve olağandışı renk değiştirme efektlerinin meydana geldiği dönemim cam işçileri tarafından keşfedilmiştir. Uzun yıllardır bu renk değişimine neden olan etki bir gizem olarak kaldı ise de; artık bu etkilerin camdaki nanopartiküllerin gelişiminden kaynaklandığını anlaşılmıştır. Olağanüstü kesim çalışması ve kırmızı-yeşil dikroizm kupayı nanoteknoloji yöntemi kullanılarak üretilen mükemmel bir örnek haline getirmiştir (Freestone vd., 2007).



Şekil 3. The Lycurgus cup.

Nanoteknolojinin bilimsel tarihi günümüzden yaklaşık 150 yıl öncesinde başlamakadır. Michael Faraday 1857’de içerisinde altın nanoparçacıklar bulunan sulu kolloidal karışımlar hazırlamış, hazırladığı bu karışımların optik ve elektriksel özelliklerini inceleyerek; nanoteknolojinin modern bilimdeki ilk adımını atmıştır. 1925 yılında Richard Zsigmondy nanoparçacıkların boyutlarını ilk defa ölçmüş ve nanometre kavramını ilk defa kullanmıştır (Ersöz vd., 2018).

Nanoteknolojiye günümüz bilim literatüründe ilk dikkat çeken kişinin 1959 yılında Amerikan Fizik Topluluğu yıllık toplantısında yaptığı konuşma ile R. Feynman olduğu vurgulanmaktadır. Feynman bu toplantıda “There's Plenty of Room at the Bottom” başlığını taşıyan bir konuşma yapmıştır. Konuşmasında Britannica Ansiklopedisi'nin 24 cildinin tamamının sadece bir toplu iğnenin başına yazılabileceğini, bunun için toplu iğne başında yeterli alan olduğunu belirtmiştir (Feynman, 1959). Her ne kadar bu konuşmada nanoteknoloji ismi kullanılmamış olsa da nano boyutlara vurgu yapması açısından nanoteknolojinin başlangıcı olarak kabul edilmektedir. Yüksek hassasiyetli malzemelerin işlenmesine yönelik çalışmalar yapan Norio Taniguchi, 1974 yılında düzenlenen Uluslararası Üretim Mühendisliği Konferansında nanoteknoloji terimini ilk kullanan bilim insanı olmuştur (Whatmore, 2006). 1980'lerde nanoteknoloji üzerine araştırmalar hızla artmıştır. “Moleküler İmalata Yönelik Protein Tasarımı” adı ile yayınladığı makalede K. Eric Drexler; moleküler boyutlarda imalat ile ilgili ana düşünceleri belirtmiştir. Daha sonraki bir çalışmasında ise moleküler imalatta kullanılmak üzere moleküllerin yerlerini belirleyerek kimyasal tepkimeleri güdümlenebilecek bir aygıt üretimine değinmiştir. 1981 yılında Heinrich Rohrer ve Gerd Karl Binnig, 1986 yılında Nobel Fizik ödülünü almalarını sağlayacak Tarama Tünel Mikroskopunu keşfetmiştir. Tarama tünel mikroskopu elektron mikroskopuyla görülemeyen parçacıkları 2000 kez büyütebilme özelliğine sahiptir ve bu özellik sayesinde atomik ölçekte çözünürlük sağlar (Ersöz vd., 2018; Filipponi ve Sutherland, 2012; Menceloğlu ve Kırcı, 2008). Curl Kroto ve Smalley'in 1985'te ürettikleri Buckyball olarak bilinen fullerenler, nanoteknolojide yeni bir çığır açmış ve bu buluşları sayesinde Kroto ve Smalley 1996 Nobel Kimya Ödülüne layık görülmüşlerdir (Schwarzschild, 1996). Gerd Binnig, Calvin Quate ve Christoph Gerber'in 1986 yılında geliştirdikleri atomik kuvvet mikroskopunda nanoteknolojik gelişmelerin önünü açan bir diğer buluştur (Ersöz vd., 2018).

Nanoteknolojinin hızlı gelişimi, nanoparçacık uygulamala alanlarının çeşitliliği, dayanıklı ve uzun ömürlü olmak gibi üstün nitelikli malzemeler üretilmesine olanak sağlaması, ülkelerin bu konuda yaptıkları yatırımları arttırmaktadır. Literatürde başta ABD, Japonya, Çin, Güney Kore ve Avrupa Birliği olmak üzere ülkelerin nanoteknoloji çalışmaları için ayırdıkları bütçelerin milyar dolarları bulduğu görülmektedir. Ülkemizde ise nanoteknoloji; Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından hazırlanan 2023 vizyon programında stratejik teknoloji alanı olarak gösterilen sekiz alandan birisi olup, ekonomiyi kökten değiştirecek bir alan olarak değerlendirilmiş ve geleceğe

yönelik planlama yapılmıştır (TÜBİTAK, 2004). 2021 yılında 85.39 milyar dolar olduğu tahmin edilen küresel nanoteknoloji pazarının hızla büyüyerek 2030 yılında yaklaşık 300 milyar dolara ulaşması beklenmektedir (Presedence Research, 2022). Tablo 1’de nanoteknolojinin, dünya genelinde, 2030 yılına kadar ulaşması beklenen pazar büyüklüğü gösterilmiştir.

Tablo 1

Yıllara göre nanoteknolojik ürünlerin tahmini pazar büyüklüğü

2024	127.15 (milyar dolar)
2025	145.46 (milyar dolar)
2026	166.54 (milyar dolar)
2028	218.89 (milyar dolar)
2030	288.71 (milyar dolar)

Nanomateriyaller pek çok farklı alanda ihtiyaç duyulan malzemelerin üretiminde çığır açan modern ve yenilikçi bir teknolojidir. Bilimin farklı disiplinlerinin ortak olarak ilgi alanına giren bu teknolojiden başta bilgisayar ve bilişim, savunma sanayi, çevre ve enerji, tekstil ve malzeme üretimi, tıp, farmakoloji, kozmetik, gıda ve ambalaj, teknoloji, iletişim, elektronik, endüstri gibi pek çok sektörde yaygın şekilde yararlanılmaktadır. Şekil 4’te nanopartiküllerin başlıca kullanım alanları şematize edilmiştir.



Şekil 4. Nanopartiküllerin başlıca kullanım alanları.

2.2.1. Tıp

Nanoteknoloji, günümüzde pek çok farklı disiplin üzerinde yenilikçi ve köklü değişimler yaratmıştır. Nano teknolojinin yeni yöntemler geliştirilmesine zemin hazırladığı alanlardan biriside sağlık alanıdır. Nanoparçacıkların sağlık alanındaki kullanımına nanotıp denmektedir.

Nanoteknolojinin tıptaki en önemli uygulama alanı, organik ya da inorganik nanopartiküller sayesinde biyolojik engellerin üstesinden gelerek başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıkların teşhisinin konulması, ilerlemesinin engellenmesi ve tedavisinin sağlanmasıdır (Tartis, 2009). Sanayii devrimi sonrası, sanayileşmenin olumsuz etkileri nedeniyle kanser; günümüzde oldukça yaygın olarak görülen, tedavi süreci oldukça uzun ve

maliyetli olan ve mortalitesi de oldukça yüksek bir hastalıktır. Hemen bütün kanser türlerinin standart tedavisi sırasında yan etki olarak bağışıklık sistemi zayıflar. Bağışıklık sisteminin zayıflaması sonucu gelişen enfeksiyöz hastalıklar nedeni ile mortalite artar. Ayrıca kemoterapi tedavisi sırasında ise sağlıklı dokularında hastalıklı dokular kadar ölebildiği bilinmektedir. Nanotaşıyıcıların hedefleme yetenekleri sayesinde kanser hastalıklarının tedavisi sırasında gelişmesi muhtemel yan etkileri mümkün olan en alt seviyeye indirerek sadece hastalıklı organ ya da dokuların hedeflenerek tedavi oranının artırılması mümkündür. Bu nedenle; yapılan araştırmalarda nanopartikül temelli yaklaşımlardan son dönemde sıklıkla yararlanıldığı görülmektedir. Ayrıca nanopartiküllerin sağladığı avantajlar, geleneksel yöntemlerin zayıflıkları nedeni ile daha önceden belirlenemeyen hastalık yapıcı bazı etkenlerin, teşhis edilemeyen virüs parçalarının, kansere dönüşebilecek bazı hücrelerin teşhis edilmesine olanak tanımaktadır (Tüylek, 2019; Zhang vd., 2008). Kanserın yanı sıra ağrı, astım, alerji, diyabet ve enfeksiyon gibi farklı sağlık problemlerinin teşhis ve tedavisi için nanopartiküllerden yararlanılarak yeni yöntemler geliştirilmektedir (Kawasaki ve Player, 2005; Zhang vd., 2008). Nanopartiküller, yüksek ilaç taşıma kapasitelerinden ötürü birden fazla ilacın taşınabilmesine olanak sağlaması, bu sayede kombin tedavi için uygunluklarının yanı sıra suda çözünen ve suda çözünmeyen ilaçlarla birleşebilmeleri, hedeflemede kullanılabilmeleri, etkin maddelere bağlanabilmeleri, farklı yollardan verilebilmeleri, ilaçların daha uzun süre bozulmadan kalmalarını sağlayabilmeleri, ilaç salım sistemlerinin salım ve kontrol etme yetenekleri, ilaçların biyoayarılanımlarını arttırması gibi birçok avantajlarından dolayı oldukça ön plana çıkmışlardır (Uyanıkgil ve Salmanoğlu, 2020). Nanopartiküller biyolojik bariyerlerin üstesinden gelerek, tanı, tedavi, hastalığın ve tedavi yanıtının takibini kolaylaştırabilmektedir (Vural ve Özer, 2019).

Bununla beraber diş ve çene hastalıklarında da; implantların, dental cerrahi malzemelerinin, diş bakım ürünlerinin ve genel muayenede kullanılan teşhis ve tedavi malzemelerinin geliştirilmesinde nanopartikül teknolojisinden faydalandığı bilinmektedir (Ediz, 2018).

2.2.2. Gıda ve Ambalaj

Nanoteknoloji uygulamaları gıda sektöründe yeni yeni kullanılmaya başlanmış olmasına rağmen uygulama alanları hızla artmaktadır. Nanoteknolojinin gıda alanlarında uygulamasına nanofood ismi verilmektedir. Nanofood; yeni teknikler ve cihazlar kullanılarak besinlerin toprakla buluştuğu andan itibaren paketleme sürecine kadar türetilmesi olarak tanımlanabilir (Demirbilek, 2015). Nano-enkapsülasyon tekniği, vitaminler, organik yağlar ve aroma kimyasalları gibi duyarlı ve hassas gıda bileşenlerini korumak, daha farklı ve canlı renkleri olan çekici bir aromaya sahip gıda ürünleri üretmek ve ihtiyaç duyulan hallerde üretilen bu ürünlerdeki tat, koku ve/veya renk maskeleyişini gerçekleştirebilmek amacıyla kullanılmaktadır (Ediz, 2018). Nanoteknoloji uygulamalarının gıda sektörüne yeni tatlar, dokular ve duyular, daha az yağ kullanımı, besin maddelerinin daha iyi emilmesi, iyileştirilmiş paketleme, gıda ürünlerinin izlenebilirliği ve güvenliği dahil olmak üzere bir dizi fayda getirmesi beklenmektedir (Chaundry vd., 2008). Nanoteknoloji, insan sağlığını iyileştirmek için fonksiyonel gıdalardaki nutrasötiklerin ve biyoaktif bileşiklerin dağıtımının etkinliğini ve verimliliğini artırmak için önemli potansiyele barındırmaktadır (Chen vd., 2006). Nanoteknoloji, gıdaların; üretimi, güvenliği, depolanması ve taşınması aşamasında diğer disiplinlerle ortaklaşması sonucu ortaya çıkacak yenilikler büyük etkiler yapacak güce sahiptir (Süfer ve Karakaya, 2011). Son dönemde gelişen nanoteknoloji sayesinde gıda ve ambalaj sektöründe geliştirilen antimikrobiyal etkili ve biyobozunur malzemelerle geliştirilen paketleme malzemeleri, nanokompozit ve akıllı ambalajlar gibi teknolojik ürünler, gıdaların daha güvenli ve raf ömrünün daha uzun süreli olmasını sağlamaktadır (Sürengil ve Kılınc, 2011).

2.2.3. Malzeme

Nanoteknoloji çok farklı alanlarda malzeme biliminde kullanılmaktadır. Özellikle üretim maliyetlerinin yüksek olduğu otomotiv, havacılık ve uzay araçlarında maliyeti, ağırlığı ve yakıt giderlerini azaltmak, metal parçaların ve boyanın dış etkenlere karşı direncini arttırmak için kullanılmakla birlikte, aşınmayı önleyici ürünlerde de nanoakışkanların kullanımına rastlanmaktadır. Otomotiv sektöründe üretilen araçların hareketli parçalarının aşınmasını önlemek ve boyalarının çizilmesi engellemek için kullanılan bazı kaplamalarda nanopartikül teknolojisinden faydalanılmaktadır. Dökme metal

ve seramik üretiminde ise nanotaneceklerden yarıkların kaplanmasıyla faydalanılmaktadır. Nanoölçek boyutlara getirilen kaplama malzemesi ile yarıklar kaplandığında malzemeler kuvvetlenir, daha dayanıklı ve aşınmaya karşı dirençli hale gelir. Havacılık ve uzay alanında kullanılan koruyucu kıyafetlerin dayanıklılığını arttırmak, araçların, daha hafif hale getirirken daha kuvvetli malzemelerle kaplayarak daha uzun süre aşınma ve erozyona karşı mukavemetini arttırmasına olanak sağlarken, hafifliğinden dolayı yakıt maliyetini düşürmek için kullanılmaktadır. Düşük maliyetli ve temiz ürünlerin elde edilebilmesine olanak sağladığı için nanoteknoloji kullanılarak üretilen ürünler finansal karşılık olarak oldukça yüksektir (Celep, 2007).

Tekstil nanoteknolojiden en çok yararlanan sektörlerden birisidir. Tekstil ürünlerinin üretiminde nanoteknolojiden faydalanılması ile elde edilen ürünlere nano-tekstil adı verilmektedir. Bu teknoloji sayesinde tekstil sektöründe üretilen ürünlere yeni özellikler kazandırılarak daha işlevsel ve uzun ömürlü bir hale getirmek mümkündür. Ultra güçlü, dayanıklı kumaşlar, kendi kendini temizleyebilen kumaşlar, endüstriyel kıyafetler, askeri ürünler, giyim, ev ve otomotiv döşemelerinde hedefe yönelik işlevsel kumaşlar, antibakteriyel ve tıbbi kumaşlar, üzerinde su tutmayan kumaşlar, radyasyon engelleyici kumaşlar ve alev almayan kumaşlar nanoteknolojiden yararlanarak geliştirilmiş tekstil ürünlerine örnektir (Patra ve Gouda, 2013; Sawhney vd., 2008).

“Nanoteknoloji, endüstriyel alanda lazerlerin, mikrosensörlerin, mikromakinaların, optoelektronik elemanların ve komponentlerinin uygun şekilde bir araya getirilerek üretime kazandırılmalarını sağlarken, ormancılık endüstrisinden ağaç işleme ve mobilya üretim makinalarına, kimyasallardan yapıştırıcılara, mobilya tekstiline kadar hemen her ürün nanoteknoloji kullanılarak üretilmekte, mükemmelleştirilmekte ve sektörün kullanımına sunulmaktadır” (Bardak vd., 2016).

Enerji üretiminde verimliliği arttırmak oldukça önemlidir. Nanoteknoloji sayesinde, yüksek hacimli maddeler kullanılarak elde edile malzemelere kıyasla daha üstün nitelikte ürünler üretilmesi, elektrik ve enerji alanında geliştirilen bazı ürünlerinde daha üstün nitelikli olmasına yol açmıştır. Bu nedenle elektrik ve enerji alanında nanoteknoloji uygulamalarına giderek artan ve yüksek oranlarda yatırım bütçeleri ayrılmaya başlanmıştır. Enerji ve elektrik üretiminde nanoteknoloji kullanımıyla birlikte, artan yüzey alanları,

bataryaların üretim aşamasında geliştirilen yöntemler sayesinde daha yüksek enerji ve daha fazla güç yoğunluğuna sahip, verimli elektrik çıktısı sağlayan depolama ürünleri üretilmesine olanak tanımış, bu sayede geçmişte kullanılan geleneksel yöntemlere göre nanoparçacıklar, oldukça ön plana çıkmıştır (Ediz, 2018; Yazıcı, 2009).

Güneş enerjisi; kaynağı tükenmeyen, çevreye zarar vermeyen ve gelecekte daha yaygınlaşması beklenen bir enerji kaynağıdır. Nanoteknoloji sayesinde enerji kaynağı olarak güneşi kullanan güneş pillerinin üretim ve tasarlanmasında köklü değişiklikler ve geliştirmelerin önü açılmıştır. Nanoteknolojiden faydalanılarak üretilen tellerden elektronikte ve nano elektromekanik cihazların üretiminin yanı sıra, ışıkla etkileşebilen elektronik cihazlarda ve biyo-moleküler nano algılayıcıların üretiminde faydalanılmaktadır. Özellikle yeni nesil güneş panelleri, önceki nesillerde üretilen güneş panellerine göre çeşitli avantajlar barındırmaktadır ve bu avantajlarının çoğunun kaynağı ise üretiminde nanoteknolojik yöntemlerin sağladığı yeni yaklaşımlardır (Ateş, 2015).

2.2.4. Savunma Sanayi

Nanoteknolojinin açtığı yeni ufuklar sayesinde geliştirilen yeni üretim yöntemleri, savunma sanayisinde ve güvenlik alanında da yeni uygulamalar ve aletler geliştirilmesine sebep olmuştur. Savaş uçakları başta olmak üzere savaş durumunda ve güvenliğin sağlanmasında kullanılan teknolojik ürünlerin daha küçük boyutlarda veya daha dayanıklı malzemelerin üretilmesinde, özelliklerinin geliştirilmesinde, ileri bilgi teknolojilerinin geliştirilmesinde nanoteknolojiden faydalanılmaktadır (Yazıcı, 2009). 2014 yılında yayınlanan bir makalede nanoteknolojinin savaş ve savunmayı hem devletler hem de devlet dışı güçler için yeniden yapılandırabileceğini belirtmiş ve güç dengelerini değiştirme potansiyeli bakımından baruttan sonraki en önemli icat olabileceğini iddia edilmiştir (Clunan vd., 2014). Nanoteknolojinin askeri uygulamaların pek çok alanında kullanılabilme potansiyeli taşıdığı savunulduğu benzer bir görüş ise bir sonraki yıl yayınlanmıştır (Rai vd., 2009). Bununla beraber yeni nesil robotların üretilmesi, akıllı, hafif ve koruyucu askeri kıyafetlerin üretilmesi, beyin makine etkileşimi, yeni nesil görüntüleme cihazları, doku mühendisliği ve yapay organlar ve biyoakışkan sensörler gibi alanlarda uluslararası savunma sanayinin yoğunlaştığı görülmüştür (Kosalı ve Kara, 2019).

2.2.5. Kozmetik

Estetik kaygıların ön plana çıkışı ve kozmetik ürünlere ilginin giderek arttığı günümüzde; nanoteknolojiden estetik ve kozmetik sektöründe de sıklıkla faydalanılmaktadır. Özellikle medikal alanda yapılan nanoteknolojik araştırmalar kozmetik sektörünün yakından takip ettiği bir alan haline gelmiştir. Parçalar küçüldükçe deri tarafından emilimi kolaylaştığı ve aktif maddelerin cildin alt katmanlarına kadar ilerlemesine olanak sağladığı için nanopartiküllerin, güneş ve yaşlanma karşıtı kremlerde, far ve rimel gibi makyaj malzemelerinde birçok uygulamaları mevcuttur. (Murty vd., 2013; Tüylek, 2019; Yazıcı, 2009). Ayrıca saç dökülmesine karşı da nanoteknoloji ile üretilen çeşitli ticari ürünler üretilmektedir. Bununla beraber çeşitli cilt deformasyonlarına karşı güzellik ve estetik merkezlerinde nanoteknoloji ürünlerinden faydalanılmaktadır. Nanoteknolojinin bunların dışında el, yüz, saç ve tırnak bakım ürünleriyle beraber parfümeri alanlarında da farklı kullanımlarına rastlanmaktadır (Kaptanoğlu, 2013).

2.2.6.Çevre ve Enerji

Son yıllarda nanoteknoloji, geniş uygulama alanı ile pek çok konuda araştırmacıların dikkatini çekerek pek çok konuda potansiyel bir kaynak olarak umut vaad ediyor. Nanopartiküllerden ve nanoteknolojiden çevre mühendisliği alanında başlıca toprak ve yeraltı suyu ıslahı ile su tasarrufu, sera gazlarını ve tehlikeli gazları azaltarak hava kirliliği kontrolü, içme ve atıksu arıtımı gibi çeşitli uygulamalarda yararlanılmaktadır (Esmeray ve Özata, 2019). Üretilen bazı nanomalzeme ve nanokompozitler sayesinde fosil yakıt endüstrisindeki verimlilik artırılarak, çevreye daha az zarar veren ve yüksek verimliliğe sahip yeni nesil motorlar elde edilebilir (Akbaş ve Özarslan, 2007). Nanoteknoloji ürünü enerji kaynakları sayesinde fosil yakıtlar ve hidroelektrik enerjisine ve onlara yönelik alt yapıya bağımlılık azalacaktır. Isıdan üretilen elektrik olan termoelektrik enerji nanoteknoloji sayesinde daha etkili kullanılacaktır (Ulutepe, 2010). Bu sayede daha çevre dostu enerji kaynağı elde etmenin yanı sıra iklimlerin korunmasına da nanoteknoloji uygulamalarının katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Büyük çaplı fosil yakıt sızıntılarının uzun yıllar boyunca doğaya verdiği zararı tam olarak ve kısa sürede gidermek günümüz teknolojisi ile oldukça zor ve maliyetlidir. Nanoteknolojinin bu tür sızıntılardan kaynaklı çevre kirliliğinin

etkilerini ortadan kaldırmaya yönelik çalışmalara henüz yeni başlanmış olsa da gelecek için büyük umutlar sunuyor (Mahajan, 2011; Mishra vd., 2022).

2.2.7. Bilgisayar ve Bilişim Teknolojisi

Günümüzde bilgisayarlar, tabletler, cep telefonları ve benzer teknolojik ürünler insanlar için artık temel bir ihtiyaç haline dönüşmüştür. İçinde bulunduğumuz bilişim çağında bilgiye ulaşımdan finans sektörüne hemen her alanda bu tür teknolojik ürünler kullanılmaktadır. Pandemi ile hayatımızın bir parçası haline gelen uzaktan eğitim ve online kurslar, online kütüphaneler, eğitim videoları gibi çeşitli materyaller, bilgisayar ve bilişim teknolojilerini eğitim sektörünün en temel eğitim materyallerinden birisi haline getirmiştir. E-nabız, online randevu, online tahlil sonucu takibi, görüntüleme, teşhis ve hasta takip cihazları gibi materyallerle sağlık sektörü de bilgisayar teknolojileri ile ayrılmaz bir iş birliği kurmuştur. Bununla beraber ulaşım sektörü gibi pek çok temel sektör bu ve benzeri teknolojik aletlerin varlığıyla devam edebilmektedir.

Modern bilgisayarın ilk örneği olarak kabul edilen ve 2. Dünya Savaşı sırasında üretilen ENIAC, bir insanın 20 saatini alan bir görevi sadece 30 saniyede yapabilen, 30 ton ağırlığında 1500 metrekare taban alanı olan bir makineydi (Dikkaya ve Aytekin, 2019; Sığırcı, 2021). Günümüzde üretilen bilgisayarlar ise bu bilgisayardan çok çok küçük boyutlarda üretilmelerine karşın; çok daha fazla veriyi, çok daha hızlı bir şekilde analiz etme kapasitelerine sahipler. Kullanılan cihazların boyut olarak çok küçülerek nano ölçeklere inmesi, bilgiyi işlemede yeni bir bakış açısını beraberinde getirmektedir (TÜBİTAK, 2004). Nanometre boyutlarında oluşan kuantum etkilerini temel alan tek-elektron transistörler, tünel diyotlar ile moleküler elektronik aygıtlar, yeni gelişen bu teknolojinin temelini oluşturacaktır. Yonga üreticileri, ince bir silikon tabanın üzerine daha fazla transistör yerleştirmenin yordamını ararken, IBM altından bir taban üzerine nano tüpler yerleştirerek yaptığı ilk transistörü tamamlamıştır (Ulutepe, 2010). Gelecekte nanoteknolojinin sunduğu imkanlar sayesinde çok daha küçük boyutlu, verilerin çok daha hızlı işlendiği, çok daha fazla bilgi yükleme ve işleme teknolojisine sahip bilgisayarların, tabletlerin ve mobil telefonların yüksek teknoloji ile geliştirilmesi ve kuantum bilgisayarların yaygınlaşması beklenmektedir. Bu nedenle bilgisayar ve bilişim teknolojilerinde geleceğin teknolojisi kuantum bilgisayar ve diğer nanoteknoloji ürünleri ile ilgili araştırmalar yoğun bir şekilde ve hızla devam

etmektedir. Günümüzde bilgisayar, cep telefonu gibi ürünlerin bileşenlerinde nanoteknolojik ürünlerin kullanımı yaygınlaşmış ve bu teknoloji ile kuantum bilgisayarların ilk örnekleri üretilmeye başlanmıştır.

2.3. AgNP'lerin Özellikleri ve Kullanım Alanları

Gümüş nanopartiküller, termal, optik ve elektriksel özelliklerinin yanı sıra antimikrobiyal etkileri nedeni ile de oldukça dikkat çeken ve üzerine çalışmalar yapılan nanopartiküllerden bir tanesidir. AgNP'ler, gıdaların depolanmasında, tıp ve farmakolojide, tekstil ürünlerinin kaplamasında ve pek çok çevresel uygulamada antibakteriyel ajanlar olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Hammamchi, 2019). AgNP'ler yüksek iletken olduklarından dolayı biyosensörlerin daha hızlı elektron transfer etmesine neden olurlar. Biyosensörlerin daha hassas çalışmasını sağladıkları için AgNP'lerin elektronik malzemelerde, enerji sistemlerinde, beyaz eşyalarda, oyuncaklarda, optik cihazlarda, kimya alanında, lazerler ve sensörler gibi pek çok farklı alanda kullanıldığı bilinmektedir. Bunun yanı sıra çeşitli bitkilerin ekstraktları kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile elde edilen gümüş nanopartiküllerin bitki biyoteknolojisi alanında kullanımına rastlanmaktadır (Beykaya ve Çağlar, 2016; Esmeray ve Özata, 2019; Nartop, 2019).

Günümüzde patojen organizmaların kullanılan ilaçlara karşı direnç geliştirmeye başlaması, toplumun sağlığını olumsuz etkilemiş ve tedavi sürecinin uzamasına ya da tedavide istenen sonuçların alınamamasına neden olmuştur. Bu nedenle araştırmacılar bakterilere ve virüslere karşı yeni öldürücü ajanları geliştirmek için gümüş nanopartiküllere yönelmiştir (Kasthuri vd.,2009). AgNP'lerin virüslerin kendini kopyalamalarını ve bağlanma yeteneklerini baskılayarak, virüslerin dış proteinlerine bağlanabilecekleri kaydedilmektedir (Hammamchi, 2019). Ayrıca son yıllarda AgNP'lerin antitümör aktiviteleri üzerine de çalışmalara literatürde rastlanmaktadır. Yapılan bir çalışmada MFC 7 meme kanseri hücrelerinde AgNP'lerin antitümör aktiviteye sahip olduğunu vurgulanmıştır (Franco-Molina vd., 2010). Gümüş nanopartiküller, sergiledikleri kendilerine özgü optik, elektiriksel, fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinden dolayı diğer biyomedikal nanomateryallerden ayrılmakta ve böylece, meme kanseri, lösemi, akciğer ve cilt kanserleri gibi kanserlerin tedavisinin yanı sıra antiviral ajanlar, antibakteriyel ajanlar olarak farmakolojide, biyosensörlerde ve biyomedikal uygulamalar gibi çeşitli alanlarda tıp sektöründe

kullanılmaktadır (Hammamchi, 2019; Katshuri vd., 2009; Franco-Molina vd., 2010; Rajeshkumar vd., 2012). Gümüş nanopartiküllerin hem antibakteriyel hem de antiinflamatuvar yetenekleri sayesinde yaraların iyileşme süresini kısaltabilecek özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Altav vd., 2019). AgNP'ler, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella mobilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Cryptococcus neoformans* üzerindeki antimikrobiyal etkileri nedeniyle tıp bilimlerinde aktif olarak yer almıştır (Rajeshkumar vd., 2012). Bakteriler, mantarlar ve virüsler üzerinde olan etkilerinden dolayı ilaç ve tedavi edici ürünlerde, tıbbi cihazların dezenfekte edilmesinde, su ve atıksu arıtımı gibi hastalık yapıcı çevresel faktörlerin arıtılmasında, iğne batmayan eldivenler gibi tıbbi tekstil ürünlerinde kullanılmakta ve kullanılabilecek yeni ürünler geliştirmek için araştırmalar devam etmektedir. (Beykaya ve Çağlar, 2016; Esmeray ve Özata, 2019; Nartop, 2019).

2.4. *Hypnum cupressiforme* Hedw.

H. cupressiforme Hedw., tür adını Yunanca hypnos kelimesinden almaktadır. Geçmişte bu bitkinin yastık dolgusu olarak kullanılması nedeni ile uyku ile ilişkilendirildiği için bu ismin verildiği düşünülmektedir. *H. cupressiforme*, Hypnum cinsine ait, *Hypnaceae* Schimp familyasından, dünya üzerinde geniş bir yayılıma sahip, kozmopolit bir kara yosunu türüdür.

Dioik, pleurokarp bitkilerdir. Yapraklar konkav, oval, uç kısma doğru gittikçe incelmış, genellikle darca gövde üzerine üst üste dizilerek uzanmış, sivri uçlu, orak şeklinde veya düzdür. Yaprak kenarı düz veya dışa doğru kıvrık, küçük dişli veya dişsiz; orta damar ince, kısa, çift, arada bir ise orta damar hiç yoktur. Yaprığın uç kısmındaki hücreler eğri, dalgalı kenarlı ve elipsoid yapıda iken merkezdeki hücreler eğri ve ipliğimsi yapıdadır. Yaprığın köşelerindeki hücreler genellikle farklı, küçük ve kare şeklindedir. Kapsül asimetrik ve eğilmiş; peristom iyi gelişmiştir (Öztürk, 2000). *H. cupressiforme* Hedw. Dünya genelinde ekspansiyonu geniş, kozmopolit bir bitkidir ancak ana yayılım bölgesi Laurasia'dır. Kuzey Amerika'da sadece bir orta boy fenotip bulunurken Avrupa'da yüksek yayılım ve çeşitlilik oranına sahiptir. Türkiye'de de en yaygın olarak görülen yosun türlerinden birisidir. Bu türün Kuzey Amerika'dakine oranla Avrupa daha geniş yayılım ve çeşitlilik göstermesinin sebebi; Pleistosen'deki Buzul Çağları sırasında Avrupa'da değişen

iklim ve çevre koşulları olabilir (Abay vd., 2009; Abay vd., 2012; Belivermiş ve Çotuk, 2010; Erdağ ve Yayıntaş, 1999; Frahm, 2009; Öztürk, 2000; Uyar ve Çetin 2004; Yayıntaş vd., 1994).



Şekil 5. *Hypnum cupressiforme* Hedw.

“Ülkemizde tohumlu bitkiler ve eğreltileri konusunda yayınlanmış eserler mevcut iken karayosunları ciğerotları konusunda henüz böyle bir eserin ortaya konmamış olması, bu konudaki eksikliğimizi ortaya çıkarmaktadır. Fakat son 10–15 yılda bu alanda yapılan gerek flora gerekse de biryofitlerin kullanımıyla ilgili çalışmalar yavaş yavaş biryofitlerin öneminin anlaşıldığının ve bu bitki grubuna da tohumlu bitkiler gibi değer verildiğinin bir işaretidir.” (Abay ve Kamer, 2010).

2.4.1. Karayosunlarının Genel Özellikleri

Su aldığında şişen bitki olarak Türkçe’ye tercüme edilebilecek olan biryofit kelimesi köken olarak Latince’dir. Genel olarak, haploit dölü diploit dölün takip ettiği hayat döngüsüne sahiptir. Karada yaşayan bitkiler içerisinde gametofit hakim hayat döngüleri olan tek bitki grubu karayosunlarıdır (Vanderpoortenand ve Goffinet, 2009). Karayosunları,

yapraklı karayosunları (Bryophyta), ciğerotları (Marchantiophyta) ve boynuzlu ciğerotlarını (Anthocerotophyta) kapsayan, dünya çapında 20.000'den fazla türü olan, karasal bitkilerin en büyük ikinci grubu olmasına rağmen, ekolojik ve biyolojik özellikleri ile araştırmacıları büyülemeye devam etmekte olan en eski kara bitkileridir (Erdağ ve Kürschner, 2017; Rajcic vd., 2023).

Haploit (n) gametofiti, diploit (2n) sporofit takip ettiği karayosunlarının hayat döngüsü haplodiplont döl değişiminden ibarettir (Gürsu, 2012). Fotosentetik organizmaların evrimsel süreçleri ve izledikleri yollar hakkında bilim adamları mutlak bir ortak görüşe sahip olmasa da evrimsel biyologlar n kromozoma sahip organizmaların, karaları istila eden ve baskın durumda olan 2n kromozoma sahip organizmalardan önce evrimleştiği konusunda hemfikirdirler (Glime, 2017).

Bitkilerin hareketsiz organizmalar olarak hayatta kalmayı başarabilmelerinin nedenlerinden biriside şiddetli mevsim değişiklikleri başta olmak üzere farklı ortam koşullarına uyum sağlayabilecek şekilde evrimleşmesi ve yaşam döngüsü aşamalarının bu süreçlere uyum sağlayabilmesidir. Biryofitlerdeki lignin eksikliği morfolojik gelişimlerini sınırlamış ve boyutlarının çok fazla yükselmesini engellemiştir. Bununla birlikte, biyokimyasal gelişimlerinde muazzam bir çeşitlilik elde etmişler, genellikle trakeofitlerde nadir görülen veya bilinmeyen yeteneklere sahip olmuşlardır. Bu gelişim, otçullar, bakteriler ve mantarlar da dahil olmak üzere diğer organizmalarla etkileşimlerden biyokimyasal olarak korunmalarının yanı sıra, mağaralarda ve derin sularda trakeofitlerin uzun süre dayanamayacakları kadar düşük ışık seviyeleri ve ısı farklarına karşı hayatta kalma yeteneklerinde kendini gösterir. Buna ek olarak, biyokimyasal olarak yönlendirilen benzersiz yaşam döngüsü stratejileri ve fizyolojik davranışları, kükürt veya ağır metallere kirlenmiş bölgelerde dahil olmak üzere çok çeşitli nişleri işgal etmelerine izin verir. Biryofitlerin sahip oldukları bu muazzam genetik çeşitlilik, zengin biyokimyalarından kaynaklanmaktadır (Glime, 2017).

Yaklaşık 380 milyon yıl önce çoğunluğu kül ve kayalarla kaplı yer yüzünde su yosunlarının evrimleşmiş türlerinin karasal yaşamı başlattığı düşünülmektedir. Köklerin evrimsel süreçte taslağı olarak düşünülen püsküllere sahip bu bitkiler, bu püsküller sayesinde çamurlu bölgelere tutunarak karasal hayatın öncüleri olmuşlardır. Bunların içinden kurak

yerlerde yaşayabilecek şekilde evrimleşenler ise karada hayatın yayılmasına, gelişmesine ve binlerce yeni türün ortaya çıkmasına sebebiyet vermiştir (Birand, 2021). Biryofitler, her ekosistemin habitatlarında bulunur ve örneğin besin döngüsü, su ekonomisi veya diğer organizma grupları için barınak sağlama gibi her ekosistemde önemli bir rol oynarlar (Yayintas ve İrkin, 2018). Çevresel faktörlere karşı dayanıklılıkları tohumlu bitkilerden oldukça yüksektir ve tohumlu bitkilerin gelişme imkanı olmayan ortamlara birincil süksesyonda yerleşirler, habitatın özelliklerini değiştirerek tohumlu bitkilerin yaşayıp gelişebileceği ortamları hazırlarlar (Uyar ve Ören, 2012). Yeryüzünde kutuplardan ekvatora kadar hemen hemen her iklim koşulunda geniş bir yayılım gösteren biryofitler, toprak, kaya ve ağaç yüzeyleri, su içi gibi buldukları habitatlar içerisinde birçok farklı substratlar üzerinde yaşamlarını sürdürmelerine karşın, kimyasal içerikleri hakkındaki bilgilerimiz sınırlıdır ve bu konuda yeterince çalışma mevcut değildir (Alataş vd., 2012; Rajcic vd., 2023). Biryofitlerin üreyebilmeleri için kamçıli spermilerin su ile dışı gametlere taşınması gerekmektedir. Karayosunlarının büyük bir kısmı üreme sırasında suya bağımlı oldukları için rutubetli yerlerde yaşasa bile, birçok biryofitteki meiosporlar, kuru bir durumda uzun yıllar hayatta kalabildiklerinden ve sudan uzakta gelişimlerini sürdürebildiklerinden dolayı çayırlarda, hareketli kumlarda, kayaların üstünde, mağaralarda, çıplak ve kurak yerlerde, uzun zaman kuraklıktan etkilenmeden yaşayabilirler. Aynı zamanda bu çeşitlilik yapılarında da farklılıklar oluşmasına ve farklı ikincil metabolitler geliştirmelerine yol açmıştır. Her ne kadar üremeleri suya bağımlı olduğu için büyük bir kısmı rutubetli yerlerde bulunsalar da sudan uzakta gelişimlerini sürdürebilmeleri ve birçoğunun da kuraklığa karşı hiçbir zarar görmeden aylarca dayanabilmeleri, onların bitkiler aleminin amphibiaları olarak nitelendirilmesini de sağlamıştır. (Elibol, 2010; Gürsu, 2012; Savaroğlu vd., 2011).

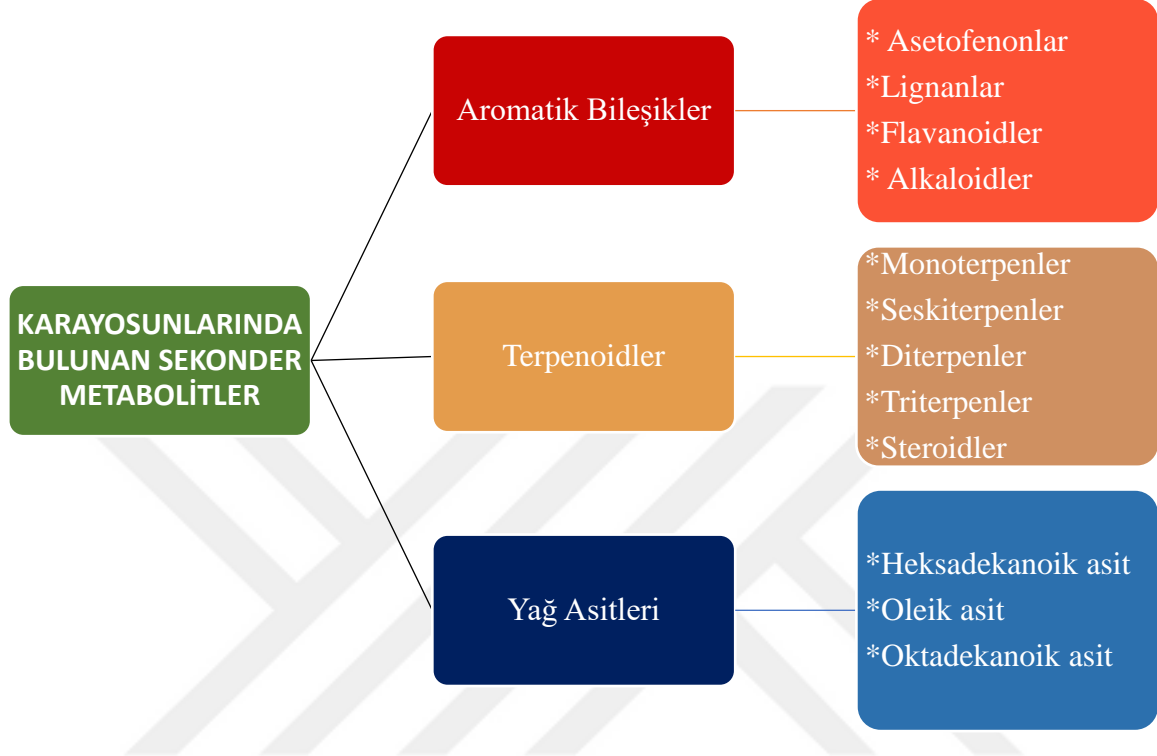
Karayosunları talluslu bitkilerin evrimleşmiş taksonudur (Elibol, 2010). Karayosunları basit yapıli bitkilerdir ancak ortama adaptasyon yetenekleri oldukça fazladır. Bu adaptasyon yetenekleri onların günümüzde kendilerine göre daha gelişmiş yapıli bitkilerle aynı ortamlarıda paylaşarak yaşamlarını devam ettirmelerine olanak sunmaktadır. Gerçek bir kök ve gövde yapıları olmayan karayosunları alt epidermal hücrelerinden çıkan ve rizoid diye isimlendirilen yapılar sayesinde ortama tutunabilirler. Rizoid denilen bu yapıların karayosunlarına göre daha gelişmiş bitkilerin sahip olduğu gerçek kök yapıları gibi, bitkinin ihtiyaç duyduğu suyu ortamdan alarak bitkinin diğer bölgelerine ulaştırma yetenekleri yoktur. Bu nedenle karayosunlarının hayatta kalabilmek için ihtiyaç duydukları

suyu doğrudan ortamdan almaları gerekmektedir. Üreyebilmek içinde suya ihtiyaç duyan karayosunları susuz ve aşırı kurak ortamlarda dormansi durumuna geçebilirler. Bu karayosunlarının susuz ve zorlu koşullarda uyku durumuna geçerek ölmeden kalabilmelerini sağlar. Dormansi durumuna geçen karayosunları tekrar su ile buluştuklarında dakikalar içerisinde tekrar fotosentez yapmaya başlayabilirler. Bu özellikleri nedeniyle üretimlerinin tohumlu bitkilere göre hızlı, daha az emek ve maliyet gerektirmekle birlikte, soğuk hava deposu gibi yardımcı araçlara ihtiyaç duymadan canlılıklarının daha uzun süre korunabileceği düşünülmektedir.

Biryofitler geleneksel tıpta yüzyıllardır çok amaçlı bir ilaç olarak kullanılan, yeterince çalışılmamış bir kara bitkileri grubudur (Cianciullo vd., 2022). Biryofit türleri 400 yıldan daha uzun bir süre önce başta Çin ve Himalayalar olmak üzere Avrupa ve Kuzey Amerika gibi bölgelerde tıbbi bitki olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca geleneksel Çin tıbbında isimlendirilen kırk tür, kardiyovasküler sistem, sistit, ciltteki bazı hastalık yanık ve yaralar, tonsilit, bronşit ve timpanit gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. *Atrichum*, *Dicranum*, *Mnium*, *Polytrichum* ve *Sphagnum* gibi birkaç yosun cinsi antibiyotik aktif maddelere sahiptir. (Dülger vd., 2005). İlk karasal bitkiler olan ve oldukça elverişsiz ortamlarda bile hayatlarını devam ettiren biryofitler, bitkiler arası rekabet, mikrobiyal saldırılar, böcek ve hayvan predasyonu, kuraklık ve donma gibi iklim şartları, UV koruması gibi biyotik ve abiyotik strese karşı ikincil metabolitler üretirler (Xie ve Lou, 2009). Kendilerine özgü morfolojileri ve fizyolojileri nedeniyle biryofitler ikincil biyolojik aktif bileşikler açısından çok çeşitli ve zengindir. Biryofitler, polisakkaritler terpenoidler, lipidler, amino asitler ve fenilpropanoidler dahil olmak üzere potansiyel olarak faydalı doğal ürünler içerir (Yayıntaş ve İrkin, 2018). Sentezledikleri doğal ürünler olan ikincil metabolitleri nutrasötik ve farmasötik aktivitelere sahiptir.

Aromatik bileşikler, terpenoidler ve yağ asitleri karayosunları üzerinde yapılan çalışmalarda elde edilen sekonder metabolitlerdir. Terpenoidler ve aromatik bileşikler günümüzde araştırılan biryofitlerin en önemli sekonder ürünleri olarak değerlendirilmektedir. Biryofitlerin barındırdıkları bu ikincil metabolitler çok önemli teröpatik kaynaklar olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir. Biryofitler üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda biryofitlerden elde edilen terpenoidlerin ve bazı aromatik bileşiklerin bakteri ve mantarlara karşı antibakteriyel ve antifungal etkinliğe sahip oldukları belirtilmiştir

(Greeshma vd., 2017; Veljic vd., 2009; Xie ve Lou, 2009). Şekil 6’da kara yosunlarının sekonder metabolitleri gösterilmiştir.



Şekil 6. Karayosunlarında bulunan bazı sekonder metabolitler.

Karayosunlarının antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin yanı sıra yapılan bazı araştırmalarda, yüksek oranda antioksidan aktivite sergiledikleri ve bu antioksidan kapasitelerinin de bazı yüksek yapılı bitkilerden fazla olduğu saptanmıştır (Aslanbaba vd., 2017; Onbaşlı vd., 2014; Veljic vd., 2009; Yayıntaş vd., 2017; Yayıntaş vd., 2019). Yapılan bir çalışmada Türkiye’nin farklı bölgelerinden toplanan üç farklı biryofit türünün antioksidan kapasitelerini incelenmiş, her üç tür biryofitin içeriklerinin doğal birer antioksidan kaynağı olduğu ve kolaylıkla ulaşılabilecekleri savunulmuştur (Yayıntaş vd., 2017). Yayıntaş vd. (2019) yapmış oldukları bir başka çalışmada ise Çanakkale ili Kazdağları bölgesinden topladıkları farklı biryofit türlerinin antioksidan içeriklerini incelemişler ve *H. cupressiforme* Hedw, *M. polymorpha*, ve *N. complanata*’nın ekstraksiyon verimlerinin yüksek olduğunu, ayrıca antioksidan aktiviteye sahip olduklarını göstermişlerdir. Öyle ki; özellikle antioksidan kapasite açısından karayosunlarının yüksek yapılı bazı bitkilerden çok daha iyi olduğu bilinmektedir (Aslanbaba vd., 2017).

Araştırmalar, biryofitlerdeki ikincil metabolitlerin antitümör ajanlar olarak da işlev görebileceğini vurgulamıştır. Birçok çalışma, biryofit ekstraktlarının ve saf metabolitlerin birçok kanser hücre hattına karşı sitotoksik olduğunu göstermiştir (Cianciullo vd., 2022). Vollar vd. (2018) 2014 yılında Macaristan'dan topladıkları biryofit örnekleri ile yaptıkları çalışmada; 42 türden elde ettikleri 99 ekstraktın hepsinin en az bir kanser hücre dizisini %25'ten daha fazla inhibe ettiğini savunmuştur. Yine aynı çalışmada bazı ekstraktların antibiyotik etkileride kontrol edilmiş ve başta MRSA olmak üzere bazı bakterilere orta düzeyde etkisi gösterilmiştir. İlginç bir şekilde, bu moleküllerin ve türevlerinin bazıları kanser hücrelerinde belirli bir hedef üzerinde etkili olabilmektedir. Biryofitlerden elde edilen bazı makrosiklik bizenziller, P-glikoproteini inhibe ederek çoklu ilaca dirençli kanser hücresi fenotiplerini tersine çevirebilir (Vollar vd., 2018).

Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda karayosunlarının antikanser, antifungal, antibakteriyel ve antioksidan özelliklerini ön plana çıktığı görülmekte ve gösterdikleri ilginç biyolojik aktiviteleri sayesinde tıpta kullanılabilecekleri düşünülmektedir (Lunic vd., 2022; Vollar vd., 2019; Yayıntaş ve İrkin, 2018).

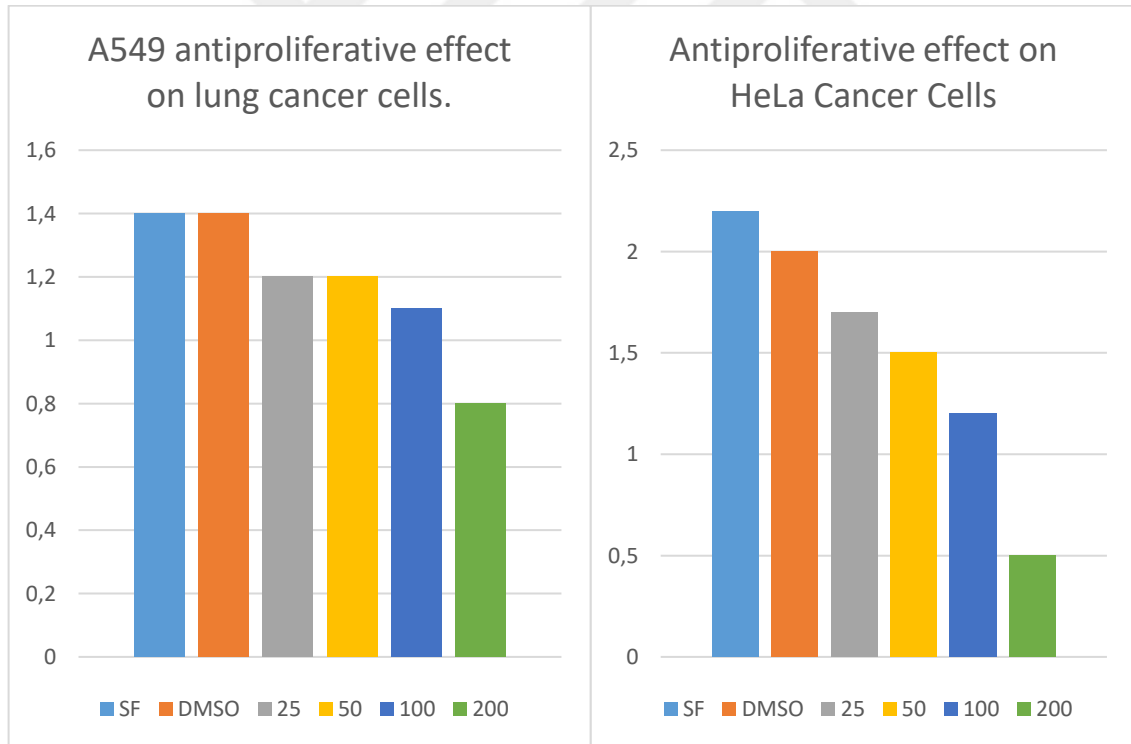
2.4.2. *Hypnum cupressiforme* Hedw. türünün tıbbi kullanım alanları

İlaç üretimi ve geliştirilmesi sırasında sentetik yöntemlere ek olarak bitkilerden elde edilen doğal ürünlerde kullanılmaktadır. Bitkilerin tedavide yararlı özellikleri araştırılarak bilimsel olarak ispatlanması ile yeni ilaçlarda keşfedilmeye başlanmıştır (Eloff, 1998). Sentetik yöntemlere göre çevreye olan etkileri ve maliyetleri göz önüne alındığında bitkilerden ilaç geliştirmenin daha avantajlı olduğu bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nde bu konuya dikkat çekerek; ilaç geliştirmek için en iyi kaynakların bitkiler olduğunu vurgulamıştır. Günümüzde bitki bileşenlerinin ilaç yapımında kullanılması amacıyla dünya genelinde pek çok çalışma yapılmakta, bu araştırmalar sonucu farklı bitkilerin farklı hastalıklar ya da hastalık yapıcı mikroorganizmalar üzerinde insan sağlığına yararlı etkileri ortaya konulmaktadır. Her yeni bulgu bitkisel bileşiklerin kullanıldığı yeni ilaçlar üretilmesine zemin hazırlamaktadır.

Bitkiler içlerinde barındırdıkları biyoaktif bileşikler sayesinde teröpatik olarak ciddi potansiyel barındırırlar. Dünyada üzerinde oldukça geniş alanlara yayılmış olan ve zorlu

iklim koşulları, böcekler, hayvanlar, radyasyon gibi çevresel etkilere karşı oldukça dirençli olan biryofitler; barındırdıkları çok sayıda ikincil bileşikler sayesinde tıp alanında aktif olarak kullanılabilir önemli kaynaklar arasındadır. (Bhattarai vd., 2009; Gaurav vd., 2018; Provenzano vd., 2019; Xie ve Lou, 2009; Yayıntaş vd., 2019).

Yayıntaş vd. (2019) tarafından onbir farklı yosun türü ekstraktı ile yapılan bir çalışmada *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktı anlamlı bir antimikrobiyal etki göstermezken, en yüksek antioksidan etki gösteren iki türden birisi olarak, test edilen karayosunu türleri arasında antioksidan etkisi ile ön plana çıkmıştır. Yine aynı çalışmada A549 hücrelerinde orta düzey, HeLa kanser hücreleri üzerinde ise yüksek düzeyde antiproliferatif etki göstermiştir (Şekil 7). Yapılan çalışma ile *H. cupressiforme* Hedw.'nin antioksidan etkileri ve antikanser ajan olma potansiyeli barındırması nedeniyle tıbbi ve farmakolojik olarak kullanılmaya aday doğal bir kaynak olduğu vurgulanmıştır (Yayıntaş vd., 2019).



Şekil 7. *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktının antiproliferatif etkisi (Yayıntaş vd., 2019)

Altuner vd. (2014) *H. cupressiforme* Hedw., *C. cuspidata* Hedw. ve *D. polysetum* Sw. türü karayosunlarının onsekiz farklı bakteri suşu üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini inceledikleri çalışmada; *H. cupressiforme* Hedw. etanol ekstraktının, *Salmonella kentucky*,

Salmonella infantis, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* üzerinde antibiyotik etkisi olduğunu gözlemlemiştir.

Bir başka çalışmada ise; içlerinde *H. cupressiforme* Hedw. metanol ekstraktında bulunduğu sekiz karayosunu türünün, sekiz farklı bakteri suşu ve üç farklı maya suşu üzerinde disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitesi incelenmiş, *H. cupressiforme* Hedw. türünün tüm suşlar üzerinde 6 mm ile 14.2 mm arasında değişen ölçülerde zon çapı oluşturduğu tespit edilmiş ve antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Dülger vd., 2005). Dülger vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada *H. cupressiforme* Hedw. metanol ekstraktının disk üzerinde oluşturdukları zon çapları Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2

Dülger vd. (2005) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları.

H. cupressiforme Hedw. metanol ekstraktı disk difüzyon zon çapları

Mikroorganizmalar	Ekstrakt	Gentamisin	Klotrimazol
<i>B. subtilis</i>	14.2	7.0	
<i>E. coli</i>	12.2	28.2	
<i>K. pneumonia</i>	10.4	22.4	
<i>P. aeruginosa</i>	11.6	8.0	
<i>S. typhimurium</i>	12.4	26.0	
<i>S. aureus</i>	12.6	19.8	
<i>S. pyogenes</i>	9.2	18.0	
<i>M. smegmatis</i>	6.0	16.0	
<i>C. albicans</i>	9.8		15.0
<i>R. ruba</i>	11.2		16.0
<i>K. fragilis</i>	11.4		18.0

Veljic vd. (2009) beş farklı bakteri suşu ve altı farklı mayadan elde edilen suşlar üzerinde yaptıkları çalışmada *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktının antibakteriyel etkileri olduğunu göstermekle birlikte, antifungal etkilerinin antibakteriyel etkilerinden fazla olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Ertürk vd. (2015) bakteri ve mantarlardan oluşan on üç farklı mikroorganizma üzerinde sekiz farklı karayosunu ekstraktının antimikrobiyal etkinliğini incelemiş ve *H. cupressiforme* Hedw. değişen oranlarda antimikrobiyal ve antifungal etkinlik göstererek test edilen mantar ve bakteri suşlarını inhibe etmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada ise; literatür ile uyumlu olarak *H. cupressiforme* Hedw. yüksek antioksidan aktivite göstermekle beraber antidiyabetik, anti-nöroinflamatuvar, anti-nörodejeneratif ve antitümör potansiyellerinin olduğu da belirtilmiştir. Bu çalışma ile ilk kez diabet hastalığı üzerinde denenilen *H. cupressiforme* Hedw. umut verici potansiyele sahip olmakla beraber meme kanseri üzerinde de antitümör etki göstermiştir. Çalışmanın bir başka sonucu ise *H. cupressiforme* Hedw.'nin parkinson ve alzheimer hastalıklarının tedavisinde de umut verici bir aday olduğunun görülmesidir (Lunic vd., 2022).

H. cupressiforme Hedw. türünde bulunduğu bazı biryofit türleri üzerinde yapılan çalışmada; *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Yersinia pseudotuberculosis*, türü bakterilere karşı etkinliği olduğu gösterilmiştir (Üçüncü vd., 2010).

Literatürde de görüldüğü üzere, *H. cupressiforme* Hedw. teröpaik etkileri hakkında yapılan çalışmalar kısıtlı olsa da; bu bitkinin iyi bir antioksidan, antifungal ve antibakteriyel aktiviteye sahip olmasının yanı sıra; meme kanseri gibi bazı kanser türleri, diyabet hastalığı, Parkinson ve Alzheimer gibi dejeneratif hastalıklarda ve gelecekte pek çok hastalığın tedavisinde kullanılmak üzere yüksek potansiyel barındıran bir kaynak adayı olduğu düşünülmektedir.

2.5. Antimikrobiyal Aktivite

Mikroorganizmaların büyümelerini ya da gelişimlerini engelleyen veya onların ölmesine yol açan bileşiklere antimikrobiyal maddeler denir. Antimikrobiyal özellikler sergileyen maddelerin bazıları bütün hücreler üzerinde benzer toksik etkilere sahiptirler ve antimikrobiyal etki açısından seçicilik göstermezler. Bazı antimikrobiyal etkilere sahip maddeler ise patojen etki gösteren mikroorganizmalar üzerinde oldukça toksik etkiler gösterirken, insan ve hayvan dokuları üzerinde toksik etkileri ya hiç yoktur ya da bu mikroorganizmalar üzerindeki toksik etkilerine çok daha azdır. Bu bakımdan antimikrobiyal maddelerin seçici toksisiteleri birbirlerine göre çeşitli farklılıklara sahiptir. Seçici toksik özellik gösteren antimikrobiyal ajanlar; konakçı canlıının kendisine zarar vermeden hedef patojen mikroorganizma üzerinde toksik etki göstererek ölümlerine neden oldukları için

hastalık yapıcı patojenlerle mücadelede oldukça kullanışlıdır (Madigan ve Martinko, 2010).

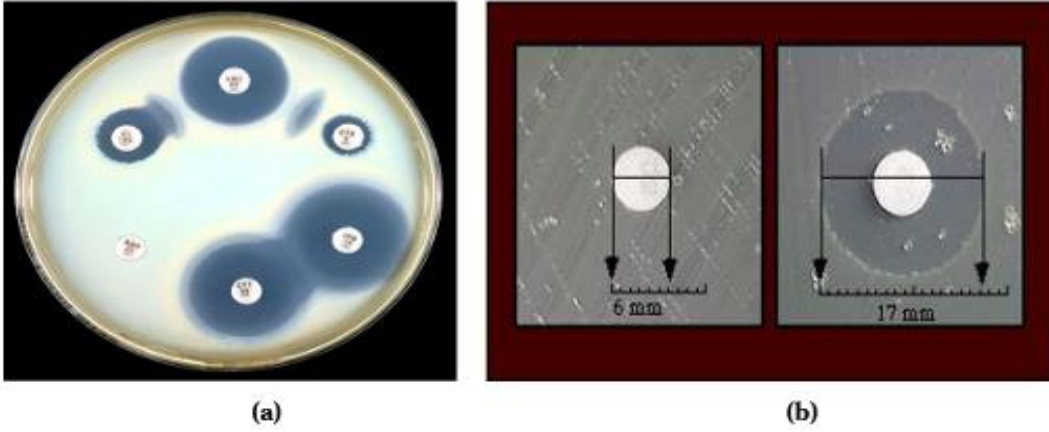
Teröpatik etkiye sahip bitkiler içerdikleri antimikrobiyal maddeler sayesinde dünyanın farklı bölgelerinde ilaç sektöründe antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılmaktadırlar (Mahesh ve Satish, 2008). Kimyasal maddeler kullanılarak geliştirilen antimikrobiyal etkiye sahip birçok madde insan sağlığı açısından istenmeyen etkilerin ortaya çıkmasına neden olur. Hedefe yönelik tek bir ajana ise patojen bakteriler direnç geliştirebilirler. Bitkisel kökenli kompleks bileşiklerden oluşan antimikrobiyal ajanlara karşı patojenlerin direnç geliştirme ihtimali azalırken, insan sağlığına tehdit olabilecek yan etkiler göstermezler ve birçok enfeksiyöz hastalıkla mücadelede terapötik potansiyel barındırırlar (Parham vd., 2020).

Son yıllarda patojenlerin direnç geliştirmeleri sonucu antibiyotik ilaçların yetersiz kalması ve sentetik üretim yöntemleri ile geliştirilen ilaçların zayıflıkları sonucu bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri hakkında araştırmalar çoğalmaya başlamıştır. Bitkilerden elde edilen ve patojenleri öldüren ya da gelişimini engelleyen bileşikler; elde edildiği bitkinin türüne, içinde bulunan kimyasal bileşiklere, yoğunluğuna, hedef olarak seçilen patojen mikroorganizmanın tipine ve konsantrasyonuna, substratın yapısına ve saklanma şekillerine göre bu yeteneklerinde farklılıklar gösterir (Sağdıç, 2003). Biryofitlerden birçok antibiyotik izole edilmiştir, ancak etkinliği kanıtlanmış olmasına rağmen çok azı tıbbi kullanım için geliştirilmiştir (Glime, 2017).

Bir maddenin antimikrobiyal etkinliğin belirlenmesi aşamasında kullanılan farklı yöntemler mevcuttur. Bu yöntemlerden birisi minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerinin belirlenmesidir. Teste tabi tutulan patojen mikroorganizmanın üremesini engellemeye yetecek en düşük madde miktarının ölçülmesi ilkesine dayanır (Madigan ve Martinko, 2010). Mikroplara karşı potansiyel barındıran bir maddenin antimikrobiyal etkinliğini ölçmek için kullanılan yöntemlerden birisi de disk difüzyon metodudur ve bu yöntem antimikrobiyal etkinliği ölçmek için en sık kullanılan yöntemlerden bir tanesidir. Antimikrobiyal etkinliğin belirlenmesinde kullanımına en çok rastlanan iki yöntemden birisi MİK değerinin belirlenmesi yöntemi diğeri ise disk difüzyon yöntemidir (Karanki, 2013).

MİK değerini belirlemek için, her biri farklı yoğunluğa sahip besiyeri içeren kültür tüpleri hazırlanır ve gözle görülemeyen çok sayıda mikroorganizma ile aşılanır. İnkübasyondan sonra, tüplerde gözle görülür bulanıklık oluşup oluşmadığı kontrol edilir. Tüpte gözle görülür bir bulanıklık oluşmuş ise bu, mikroorganizmaların yüksek seviyelere ulaştığı ve test maddesinin bu mikroorganizmayı inhibe edici etkisi olmadığı anlamına gelir. İnkübasyondan sonra bulanıklık gelişmeyen tüpler, canlı mikroorganizmaların düşük seviyeli inokulumunu içerebilir veya mikropların tümü antimikrobiyal ajan tarafından öldürülmüş olabilir. Bu iki sonuç görsel olarak ayırt edilemez. Bu nedenle MİK testleri antimikrobiyal bir maddenin biyosidal etkilerinden ziyade inhibe edici aktivitesinin göstergesi olarak kabul edilir. MİK testinin hazırlama sürecinin basit ve kolay olması, çok fazla antimikrobiyal ajan kullanımına gerek duyulmaması gibi özellikleri sayesinde tekrarlanması kolaydır. Buna karşın test aşamasında inkübasyon zamanı, sıcaklık, pH ve havalandırma gibi oluşabilecek çok küçük değişikliklerden etkilenmektedir ve her defasında farklı sonuçlar verebilir. Bununla beraber, tüm koşullar büyük bir özen ve dikkat ile standardize edildiğinde; birbirinden farklı antimikrobiyal ajanlar birbirleri ile karşılaştırılarak, test edilen patojen organizmaya karşı etkisi en yüksek olan antimikrobiyal ajan belirlenebilir (Madigan ve Martinko, 2010).

Antibiyotik duyarlılığının ölçülebilmesi için kullanılan agar disk difüzyon yöntemi ise kağıt disklere emdirilen antimikrobiyal ajanın duyarlılığı hakkında bilgi edinilmek istenen maddenin bulunduğu besiyerine difüze olması prensibine dayanmaktadır (Özmen-Süzme, 2016). Bulanıklığı standardize edilmiş bir bakteri kültürü agar plakası yüzeyine eşit şekilde yayılır. Yüzeyi bilinen miktarda antimikrobiyal etkisi araştırılan madde ile kaplanmış disk şeklindeki filtre kağıdı bu hazırlanan agar yüzeyine yerleştirilir. İnkübasyon esnasında filtre kağıdına eklenen madde agar yüzeyine yayılır. Antibakteriyel etkisi araştırılan maddenin konsantrasyonu filtre kağıdından uzaklaştıkça azalmaya başlar. Disk şeklindeki filtre kağıdından en uzağa giden madde en düşük konsantrasyona sahiptir. Test edilen ajan eğer belirli bir konsantrasyonda bakterilere karşı etkiliyse, etkili olduğu en düşük konsantrasyona kadar koloni gelişimini engelleyecektir. Koloni oluşumunun engellendiği bölgede disk etrafında belli bir çapta inhibisyon zonu oluşur. Disk etrafından ne kadar geniş inhibisyon çapı oluşursa test edilen madde agarda bulunan mikroorganizmaya karşı o kadar etkilidir. Bu yöntem patojenler üzerinde antibakteriyel ajanların etkinliğini ve hassasiyetin ölçümlemek için rutin olarak kullanılmaktadır (Madigan ve Martinko, 2010).



Şekil 8. Disk difüzyon testi (a) ve zon çapının ölçülmesi (b) (Özmen-Süzme, 2016)

2.6. Antibiyofilm Aktivite

Biyofilmler, genellikle katı bir yüzeye bağlanarak ürettikleri sakkarit matris ile çevrili bir alanda yaşayan yoğun bakteri topluluklarıdır (Leone vd., 2006). Mikroorganizmalar, çoğu zaman canlı ve cansız bir yüzeye tutunmuş olan bu biyofilmlerle kaplanmış yüzeylerde gelişirler. Biyofilmlerin hemen hemen her ortamda her yerde bulunabilir, hem biyotik hem de abiyotik yüzeylere tutunarak tüm yüzeylerde gelişebilirler (Schulze vd., 2021). Hastalık yapıcı mikroorganizmaların büyüüp gelişebilmeleri için ihtiyaç duydukları besinleri ihtiva eden biyofilmler, tutundukları bölgelerden hücrelerin kopmasını engellerler. Enfeksiyona neden olan mikroorganizmanın biyofilm üretebilmesi ise enfeksiyöz hastalıklarla mücadeleyi oldukça zorlaştırmaktadır (Onbaşlı vd., 2017; Wilkins vd., 2014). Biyofilmlerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirme nedeni; biyofilmler içinde gelişip büyüyen patojen mikroorganizmalar için doğal bir besiyeri olmasının yanı sıra, bu patojenler için doğal bir bariyer olan hücre dışı polimerik bileşenleri oldukça yoğun bir şekilde üretmeleridir. Bu nedenle antimikrobiyal ajanların bu bariyerleri aşarak bu mikroorganizmalar üzerindeki etkinlik gösterme oranları azalır. Bununla beraber biyofilm içerisinde farklı patojenlerin gelişmesi de toksik etkilerini arttırarak tedavinin başarı şansını azaltır. Bunun yanı sıra biyofilm bariyerler sayesinde, patojen mikroorganizmalar kendilerini antimikrobiyal ajanlara karşı koruduğu gibi vücudun kendi bağışıklık ve savunma sistemlerine karşı da korumuş olur. Sonuç olarak patojen mikroorganizmaların üremesini engellemek ve yok etmek için kullanılan antibakteriyel ajanlar, biyofilm içerisinde üreyen patojenleri etkisiz hale getirmekte yeterli aktiviteyi gösteremezler (Eryılmaz vd., 2019; Karaca vd., 2019; Madigan ve Martinko, 2010). Biyofilm oluşumu, bakterilerin

antimikrobiyal aktiviteye sahip maddelere karşı direnç geliştiren bakteri topluluklarının çoğalmasına neden olmuş, antibiyotik tedavilerinin etkinliklerin azalmasına ve geleneksel tedavi yöntemleri ile bu hastalıkların iyileştirilmesinin önüne güçlükler çıkarmıştır. Bu durum karşısında yeni bilimsel yöntemler geliştirme ve alternatif tedavi yöntemleri üretme ihtiyacı oluşmuştur. (Onbaşlı vd., 2017; Ülgen, 2019).

Biyofilmlerin insan sağlığı açısından olumsuz etkilere neden olan bir diğer özelliği ise medikal olarak kullanılan alet, cihaz ve protez gibi yapıların yüzeyine tutunabilme yetenekleridir. Ağız ve diş sağlığında kullanılan implantlar, üriner kateterler, kontak lensler, ortopedik hastalıkların tedavisinde kullanılan protezler ve kalp pili gibi biyomedikal aletler biyofilmlerin gelişebildiği yüzeylerdendir. Bu da çeşitli enfeksiyöz hastalıkların gelişimine yol açmakla birlikte bu cihazların kullanımında hedeflenen sonuçlara ulaşmasını engellemektedir. ABD’de her yıl milyonlarca insanın implant kaynaklı biyofilm oluşumu nedeniyle enfeksiyöz hastalıklara yakalandığı tahmin edilmektedir (Madigan ve Martinko, 2010). Amerika Ulusal Sağlık Enstitüleri, tüm mikrobiyal enfeksiyonlar arasında %60-80'inin biyofilm oluşumuyla bağlantılı olduğunu ortaya koydu (Jamal vd., 2018).

Şaşırtıcı olmayan bir şekilde, bağışıklık baskılanan veya önceden var olan hastalıklar nedeni ile direnci zayıflayan hastaları ciddi şekilde etkileyebilen, biyofilm oluşturan bakteriyel patojenlerin neden olduğu çeşitli enfeksiyonlar günümüz tıbbının uğraşmak zorunda kaldığı önemli problemlerdendir (Jamal vd., 2018). Son dönemde nanoteknolojik uygulamalar sonucu elde edilen antibakteriyel ve antibiyofilm özellik gösterebilen nanoparçacıklar bu problemle mücadelede alternatif olma potansiyeli taşımaktadır. Bununla birlikte tıbbi cihazların yüzeyin tutunarak tedaviyi ve cerrahi süreçleri olumsuz etkileyen biyofilm yapılarında nanoteknolojik ürünler sayesinde dezenfekte edilebilir (Onbaşlı vd., 2017). Yakın gelecekte, AgNP'ler tıbbi cihazların kaplanması ve yüksek oranda antibiyotiğe dirençli biyofilm nedeniyle oluşan enfeksiyonların tedavisinde önemli rol oynayabilir (Ansari vd., 2015).

2.7. Antioksidanlar ve Oksidatif Stres

Oksidasyon herhangi bir reaksiyon esnasında atom, molekül ya da iyonun elektron kaybetmesine verilen isimdir. Bir reaksiyonda oksidasyon gelişmesi için ortamda oksijen bulunması zorunlu değildir. Oksidasyon canlıların biyolojik süreçlerde ihtiyaç duyduğu enerji üretiminde önemli bir yere sahiptir (Ülgen, 2019). En son yörüngelerinde birbirleri ile eşleşmemiş bir veya daha çok elektronu olan moleküllere serbest radikaller denir (Karabulut ve Günay, 2016). İnsan vücudunda gelişen çok sayıda fizyolojik ve biyokimyasal reaksiyonlar sonucu, yan ürün olarak reaktif oksijen türleri ile serbest radikaller üretilmektedir (Ivanisova vd., 2013). Canlı organizmada gerçekleşen bazı anormal durumlar sonucu normalin üzerinde serbest radikal oluşur ya da organizma içinde gerçekleşen biyokimyasal işlemler sonucu antioksidan sistemin yetersiz kalmasıyla da serbest radikaller normal düzeylerin üzerine çıkar. Ortamda gereğinden fazla çoğalan bu serbest radikaller, hücrenin içerisinde bulunan bazı bileşikler veya hücre dışı makromoleküller ile eşleşerek, hücrede yapısal ve fonksiyonel bozukluğa neden olurlar. Ayrıca, birçok rapor, tümör hücrelerinde reaktif oksijen ara maddelerinin üretilmesiyle ortaya çıkan ve ilaçların sitotoksiklik aktivitesini artıran oksidatif stresten kaynaklanan hücresel değişiklikler göstermiştir (Franco-Molina vd., 2010). Oksidatif stres, hücresel hasara yol açan serbest radikaller-antioksidan dengesizliğinden kaynaklanmaktadır (Baek ve Lee, 2016). Bir başka deyişle oksidatif stres, hücrenin antioksidan savunması ile oksidanlar arasındaki dengenin, reaktif oksijen veya azot türleri ve organik maddeler gibi oksidanların fazlalığının etkisiyle bozulduğu bir durum olarak tanımlanabilir (Bedlovicova vd., 2020). Fizyolojik aerobik metabolizma ve patolojik inflamatuvar süreçler sırasında üretilen reaktif oksijen türleri veya reaktif nitrojen türleri gibi serbest radikaller buna aracılık edebilirler (Baek ve Lee, 2016). Oksidatif stres sonucu gelişen biyolojik süreçler sonucunda hücrelerdeki protein, lipid ve nükleik asit hasarı meydana gelebilir ve bu da pek çok hastalığa yol açabilir (Rao vd., 2006). Serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasar, hücre hasarına yol açarak yaşlanma, kanser, diyabet, kardiyovasküler hastalık ve nörodejeneratif bozukluklar gibi hastalıkların ortaya çıkmasına neden olan kaçınılmaz ve yaygın bir fenomendir (Andrew ve Jayaraman, 2020).

Ortaya çıkan bu istenmeyen durum ile hücre içi ve ya hücre dışı kaynaklı antioksidanlar ile mücadele edilebilir (Türker ve Türkyılmaz - Ünal, 2020). Antioksidanlar

buldukları alanlarda oksidasyonu geciktiren ya da engelleyen etkiye sahip doğal veya yapay maddeler olduklarından, serbest radikaller ya da diğer kararsız moleküllerin neden olduğu oksidatif stres gelişimini engelleyerek ya da geciktirerek hücrelerde hasar oluşmasını geciktirir, azaltır ya da engelleyebilir (Aydın, 2018). Antioksidanlar, oksidatif stresle oluşan serbest radikallerle tepkimeye girerek kendileri okside olurlar ve bu radikallerin hücre üzerinde olası olumsuz etkilerini engellerler (Coşkunçay, 2017). Okside olabilen substratların oksidasyonunu engelleyen ya da derecesini azaltan etkiye sahip bu maddeler, oksidasyon kaynaklı hücrelerin hasara uğramasını engelledikleri için karsinogenezin her safhasında baskılayıcı etki yapabilirler ve bu nedenle antikanserojen etkiye sahip olabilirler (Dikpınar, 2017). Çoğunluğu bitkilerin ikincil metabolitleri arasında yer alan flavanoid, isoflavon, antosiyanin, kumarinlignan, ve alkoller gibi çeşitli bileşikler oldukça fazla antioksidan kapasiteye sahiptirler (Okan vd., 2013).

Protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi hücre içindeki birçok yapının hasara uğramasına neden olan serbest radikallerin etkisiyle insan vücudunda farklı hastalıklar meydana gelebilir. Vücudun kendine karşı bağışıklık yanıtı oluşturması, kanser, damar yapısında bozulmalar, kalp krizi, aterosklerosis, SVO, travma, astım, hiperoksi, artrit, yaşlanma, dermatit, katarakt, retinal hasar, hepatit, karaciğer hasarı ve diş eti hastalıkları gibi yaşın ilerlemesiyle görülme oranı artan bazı hastalıklara neden olduğu yapılan bilimsel ve klinik araştırma sonucu ortaya konmuştur (Gey, 1993; Meydani, 2001; Pham-Huy vd., 2008). Bu bağlamda antioksidanlar, hücrelerin oksidatif hasarını geciktirerek veya azaltarak serbest radikallerle karşılaşmada önemli bir rol oynamaktadır ve buna bağlı olarak bazı bölgelerde alternatif tıp uygulamalarında kanser gibi bazı hastalıklara karşı kullanımı bulunmaktadır (Andrew ve Jayaraman., 2020; Savaroğlu vd., 2011). Kanıtlar, sentetik antioksidanların iki ucu keskin bıçaklar olduğunu ve bu nedenle doğal antioksidanlara olan ihtiyacın küresel olarak arttığını göstermektedir (Andrew ve Jayaraman, 2020). Günümüzde sentetik antioksidanlar yerine doğal yollardan elde edilecek bitkisel kökenli antioksidanların, dejeneratif hastalıklara karşı etkili yöntemler geliştirebilmek için araştırılması önemli bir ihtiyaçtır ve bu konuda yapılan çalışmalarda da artış görülmektedir (Türker ve Türkyılmaz-Ünal, 2020).

2.8. Mutajenik Etki

Hugo De Vries, *Oenothera lamarckiana* Ser. türü üzerinde çaprazlama çalışmaları yaparken, gözlemlendiği varyasyonu tanımlamak için ilk kez 1901 yılında mutasyon terimini kullanmıştır (Micke vd., 1987). DNA üzerinde yer alan nükleotid diziliminde oluşan kalıcı ve kalıtsal etkisi olan değişime mutasyon adı verilir. Mutasyonlar üreme hücrelerinde meydana gelebileceği gibi üreme hücreleri dışında kalan herhangi bir hücrede de görülebilir. Üreme hücreleri dışında gelişen mutasyonlar doğrudan canlının kendisini etkiler ve tümör oluşma riskini artırır. Ancak üreme hücrelerinde meydana gelen değişiklikler diğer hücrelerde oluşan mutasyonlardan farklı olarak doğrudan sonraki nesillere aktarılır (Sarı, 2014).

Nokta mutasyon olarak anılan ve gen düzeyinde meydana gelebilen mutasyonlar olabildiği gibi kromozomun belli bir segmentinde veya tamamında değişim oluşturabilen iki farklı mutasyon türü bulunmaktadır (Zemheri, 2011). Kromozomların yapı ve sayısı değişmeden yalnızca genlerde oluşan değişikliklere gen mutasyonu; tek bir genin yalnızca tek bir baz çiftinin farklılaşmasıyla oluşan mutasyonlara da nokta mutasyon denir (Simen, 2019).

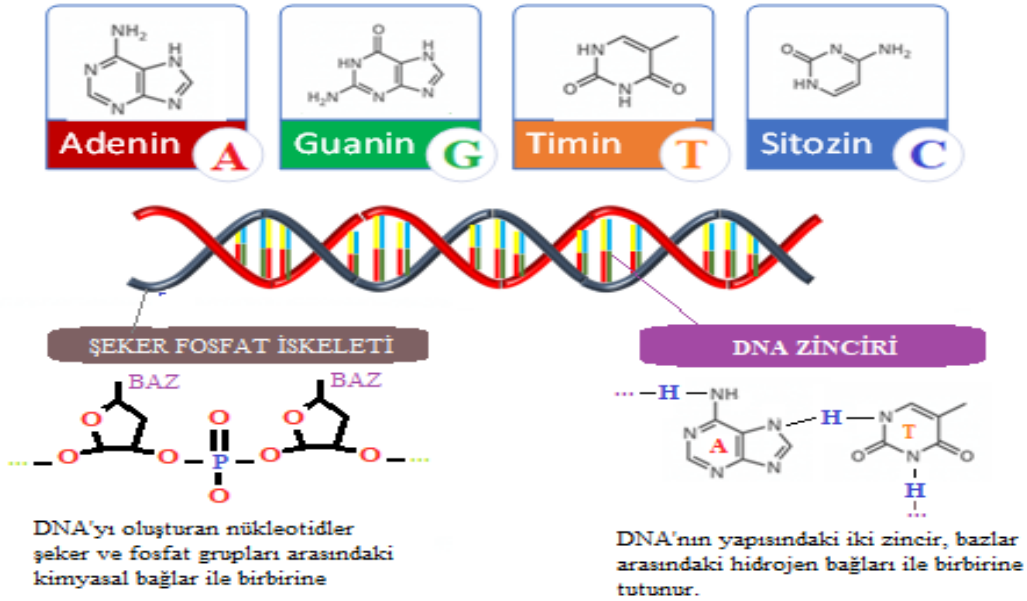
Mutajenik etki; mutasyon oluşturabilen maddelerin gen üzerinde oluşturdukları etkileridir. Mutasyonlar çoğunlukla çevresel etkilerden kaynaklanmakla beraber nadiren kendiliğinden de meydana gelebilir (Tayfa, 2010). Endüstrinin gelişmesiyle birlikte çevrede hızla artan ve genler üzerinde toksik etkiye sahip ajanlara maruz kalınması mutasyon oluşumuna neden olan önemli çevresel faktörlerdir.

2.9. DNA ile Etkileşimler

Watson ve Crick DNA'nın molekül yapısına ilişkin ilk makaleyi 1954 yılında yayınladılar. Yayınladıkları bu makalede molekülün iki temel özelliğini vurguladılar: iki iplikçik üzerindeki birbirlerini tamamlayan baz dizilerinin varlığı ve DNA polimerinin çift sarmal yapısı (Travers ve Muskhelishvili, 2015). Canlıların tümünün hücrelerinin ve fonksiyonlarının bütün genetik bilgilerinin işlendiği bu organik yapılar ile ilgili temel genetik bilgilerimizin temeli bu makaleye dayanmaktadır ve bu buluş Watson ve Crick'e

1962 yılında Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülünü kazandırmıştır. Deoksiribonükleik asit bütün canlı organizmaların ve virüslerin genetik bilgilerinin saklı olduğu, canlının gelişimi ve işleyişi için gerek duyduğu bilginin saklandığı kalıtsal yapılardır. DNA'nın yapı taşları nükleotitlerdir ve nükleotitler bir fosfat grubuna ve azot içeren bir baza bağlı bir şeker (deoksiriboz) molekülünden meydana gelirler. “Bu polimerler ester bağları ile birbirine bağlanmış şeker ve fosfat grubu ve bu gruba bağlanmış azotça zengin pürin ve pirimidin bazlarından oluşurlar. Pürin bazları adenin (A), guanin (G); pirimidin bazları timin (T), sitozin (C) organik bazlarından oluşur” (Özaltay, 2020). DNA'nın kimyasal yapısı Şekil 9’da gösterilmiştir.

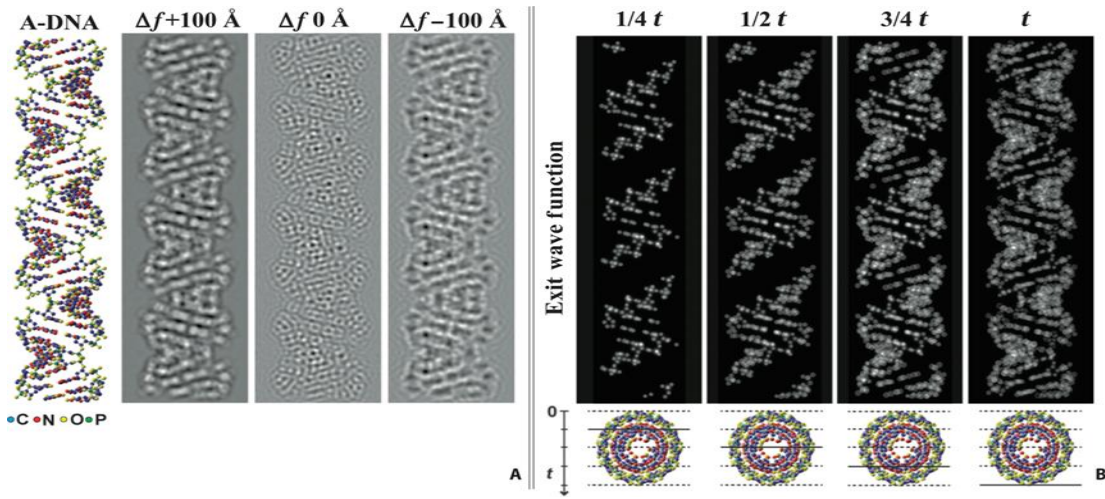
Şeker ve fosfat iskeletten oluşan ve DNA'nın kenarlarını oluşturan nükleotid zinciri heliks (sarmal) şeklinde kıvrılmıştır. Fosfat grupları ve deoksiriboz arasında oldukça kuvvetli fosfodiester bağları bulunmaktadır. Bu bağlar sayesinde DNA tek zincirli durumda iken de dayanıklı ve kararlı bir yapıdadır (Gökçe, 2018).



Şekil 9. DNA'nın kimyasal yapısı.

DNA, hücre fonksiyon için tüm genetik bilgileri içerir ve bu sayede genetik kodların nesilden nesile aktarılmasını sağlar. Bununla birlikte DNA hücrelerin büyümesini, değişimini, fonksiyonlarını ve yaşlanma sürecini kontrol eder. Canlıların büyüme, gelişme ve üremesi için gerekli olan hücre bölünmesi, DNA molekülünün kendini kopyalaması ile

başlar. DNA'nın nükleotid zincirleri arasında yer alan hidrojen bağları birbirlerinden ayrılabilir ve tekrar geri birleşebilir. Kopyalama ile oluşan yeni DNA'nın çift sarmal yapısında bulunan iplikçiklerden birisinde yeni zincir bulunurken, diğer iplikçik ana yapıdan gelir. Ancak DNA molekülleri, bazı moleküllerle etkileşimler de dahil olmak üzere çeşitli koşullar altında hasar görmeye eğilimlidir. Bu nedenle DNA yapısının korunması son derece önemlidir. Organik ve organik olmayan küçük boyutlu bazı moleküller DNA'ya bağlanabilme yeteneğine sahiptir. Genetik bilginin DNA'dan RNA'ya aktarılması ya da DNA'nın kendini kopyalaması sürecinde gelişen biyolojik olaylar küçük moleküllerin DNA'ya bağlanmasından etkilenebilir. Oluşan bu etkileşim, DNA'nın yeni örgülerini ve bir DNA molekülünün sarmalındaki sekansa ait farklılıkları bulmak için kullanılabilir. Çeşitli faktörler nedeniyle DNA yapısında oluşan bütün değişikliklere DNA hasarı denir. Bu hasar canlı organizmalarda çeşitli patolojik değişikliklere yol açabilir. DNA hasarı onarılmazsa çeşitli mutasyonlar gerçekleşmesine neden olabilir. Mutasyon sonrası kendini kopyalayan DNA, mutasyonlu DNA'yı kopyalamış olacaktır. Küçük moleküllerin DNA'ya bağlanabilme yetenekleri içinde çeşitli hastalıkların tedavisi potansiyeli de barındıran çeşitli bilimsel nedenlerden dolayı bilim insanları için oldukça merak uyandıran bir konudur (Aslanoğlu ve Öge, 2015; Eser, 2019; Gökçe, 2018; Özaltay, 2020).



Şekil 10. DNA'nın yüksek çözünürlüklü bir fotoğrafı (Marini vd., 2015).

DNA, şu anda klinik kullanımda olan veya deney aşamasındaki birçok ilacın farmakolojik hedefidir. Protein-DNA etkileşimleri, canlı hücrelerin temel işlevlerini kolaylaştırır ve tüm canlı organizmalarda evrenseldir. Proteinlerdeki amino asit kalıntıları

ile DNA'daki bazlar arasındaki etkileşim çiftlerini esas olarak tanımlayan çeşitli araştırmalar yapılmıştır. DNA'nın kendini kopyalaması işlemine replikasyon denir. DNA'daki nükleotit dizisi RNA polimeraz enzimi aracılığı ile RNA dizisi olarak kopyalanması sürecine ise transkripsiyon denmektedir. Transkripsiyon veya replikasyona müdahale ederek hücre fonksiyonlarını düzenlemek için DNA'yı hedeflemek son dönemlerde araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Canlının DNA'sında yer alan genetik kodunun RNA'ya aktarımı ile hücre içi genetik bilgi akışı başlamış olur. Transkripsiyon ve replikasyon sırasında baz çiftlerinin doğru bir şekilde kopyalanması, hücre yaşamı için, vücut fonksiyonlarının çalışabilmesi ve organizmanın hayatta kalabilmesi için önemlidir. Regülatör bir protein DNA'nın belirli bir bölgesine bağlanarak transkripsiyon ya da replikasyonun başlaması için sinyal gönderir. Küçük boyutlu bir molekül regülatör proteinin DNA'ya bağlanma yeteneğini taklit edebilir ve regülatör proteinin yerine kendisi bağlanabilir. Bu durum DNA'nın işleyişini yapay olarak değiştirebilir, engelleyebilir ya da aktive edilebilir. DNA'nın bir şekilde kopyalanmasının yanı sıra çeşitli DNA lezyonlarının tanımlanması ve onarılması da hücre fonksiyonlarının doğru bir şekilde gerçekleşmesi için önemlidir. Regülatör proteini taklit eden küçük moleküller, DNA ile aralarında kovalent ya da kovalent olmayan bağlar oluştururlar. Kovalent bağlayıcılar yüksek bağlanma kuvvetine sahiptirler. İlaç-DNA etkileşimleri sırasında oluşan bağın kovalent olması durumunda geri dönüşsüz bir süreç başlar ve her zaman DNA'nın işleyiş döngüsünün tamamının inhibe olmasına neden olarak hücre ölümüne sebep olurlar. Kovalent olmayan etkileşimler ise üç yöntemle gerçekleşir. Bunlar oyuk, araya girme ve elektrostatik etkileşim olarak isimlendirilir ve klinik olarak potansiyel taşıyan bileşikler oyuğa bağlanabilen ya da araya girme yeteneği olan bileşiklerdir. Bununla beraber DNA ile elektrostatik etkileşime girebilen bileşikler DNA yapısında bir değişikliğe neden olmaz. (Aydın, 2018; Eser, 2019; Huzur, 2017; Sathyapriya ve Vishveshwara, 2004; Sirajuddin vd., 2013).

Küçük moleküllerin DNA'ya bağlanabilme yeteneklerinin keşfiyle DNA molekülleri antibakteriyel, antikanser ve antiviral ajanlar olarak kullanılmaya başlandı ve dünya genelinde yüzbinlerce insanın sağlığını korumak ve geliştirmekte bu moleküllerden faydalanıldı (Özaltay, 2020).

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA YÖNTEMİ/MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. *Hypnum cupressiforme* Hedw. Temini

Hypnum cupressiforme Hedw. bahar döneminde Kazdağları, Ayazma (Çanakkale) bölgesinden kaya üzerinden toplanmış, Prof. Dr. Özlem Yayıntaş (Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi) tarafından tayin edilmiştir.

3.2. Ekstraktın Hazırlanması

Bitki ilk önce çeşme suyu ile yıkandıktan sonra deiyonize su ile tekrar yıkanmış ve sürekli hava sirkülasyonu olan serin bir ortamda topraktan yukarıda kalan bölgeleri gölgede kalacak şekilde kurutulmuştur. Kurutulduktan sonra havan kullanılarak toz haline getirilen örnekten 10 gr tartılıp 60 °C'de 100 mL deiyonize su içerisinde ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstraktın oda sıcaklığına gelmesi beklenmiş ve 8000 rpm de 45 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında elde edilen ekstrakt ilk önce Whatman Filtre kâğıdı ile süzölmüştür ve daha sonra 0.45µm'luk membran filtreden geçirilmiştir.

3.3. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrofotometrisi ile Uçucu Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Gaz kromatografisi-kütle spektrofotometrisi ile uçucu bileşiklerin ekstraksiyonu MERLAB, Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından hizmet alımı olarak gerçekleştirildi.

3.4. Gümüş Nanopartiküllerinin Hazırlanması

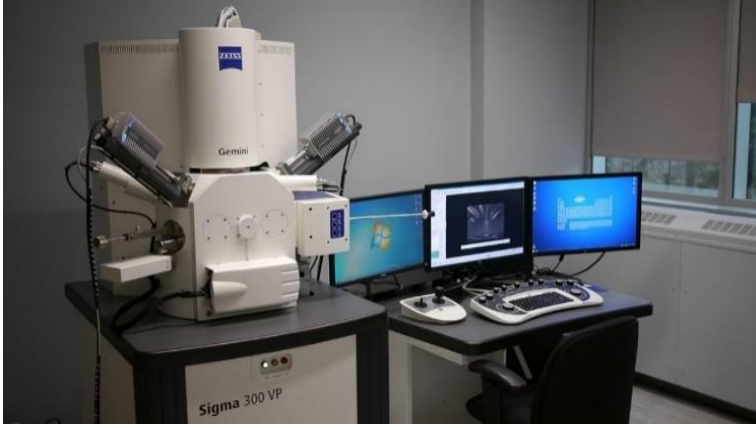
Gümüş nanopartiküllerinin sentezi için 1mM'luk AgNO₃ (gümüş nitrat) çözeltisi kullanıldı. Daha sonra elde edilen ekstrakta (10 mL), AgNO₃ (90 mL) çözeltisi eklendi ve 24 saat boyunca manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırma işlemi devam etti. Bu süre içerisinde renk değişimi gözlemlendi. Oluşan AgNP'leri 10.000 rpm'de 30 dakika santrifüj işlemine tabii tutulduktan sonra elde edilen pellet kısmı saf su ile 10.000 rpm'de 30 dakika santrifüjlenerek

yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işlemi 3 kere tekrar edildi ve elde edilen gümüş nanopartikülleri saat camında 600C’de Etüv de kurutuldu.

3.5. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

3.5.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Gümüşnanopartiküllerin varlığı ve morfolojik özelliklerini belirlemek amacıyla SEM karakterizasyon analizi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Merkez laboratuvarında hizmet alımı ile gerçekleştirildi.



Şekil 11. Taramalı elektron mikroskobu.

3.5.2. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) Analizi

Sentezlenen NP’lerin yüzeyinin üç boyutlu görüntülerin elde etmek amacıyla Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Merkez Laboratuvarı’nda hizmet alımı ile gerçekleştirildi.



Şekil 12. Geçirimli elektron mikroskobu.

3.5.3. UV-Görünür Alan Absorbsiyon Spektroskopisi Analizi

Sentezlenen AgNP'ler 1 mg/mL olacak şekilde hazırlandı ve UV-Vis spektrofotometresinde 200-800 nm dalga boyları arasında absorpsiyon değerleri ölçüldü.

3.6. Antibakteriyel Aktivite Analizleri

Sentezlenen NP'lerin antibakteriyel etkilerinin belirlenebilmesi için yapılan analizler, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü tarafından önerilen şekilde agar disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak gerçekleştirildi (CLSI, 2006). NP'lerin antibakteriyel etkinlikleri *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Enterococcus faecalis* (NRRL B-14617), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus vulgaris* (NRRL-B-123)) bakterilerine karşı test edildi.

3.6.1. Broth Mikrodilüsyon Yöntemi

Broth mikrodilüsyon yöntemi ile nanopartikül ve ekstraktların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) belirlendi. MİK değerlerinin belirlenmesi, 96 kuyucuğa sahip mikrotiplerde bir seri dilüsyon metodu uygulanarak yapıldı. Mikroorganizma süspansiyonlarının yoğunlukları 0.5 McFarland standardı kullanılarak ayarlandı. Ekim yapılan mikrotipler 37 °C'de 24 saat, inkübasyona bırakıldı. Gözle

görülebilen herhangi bir üremenin gelişmediği en düşük madde yoğunluğu MİK değeri olarak kaydedildi.

MİK değerlerinin belirlenmesinin ardından gözle görülebilen herhangi bir üremenin gelişmediği tüplerden 100 µL, kuyucuklardan ise 10 µL alınan örnekler katı besiyerlerine damla plak yöntemi ile yayılarak 24 saat 37°C’de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası bakteriyal koloni sayıları hesaplandı. Bakteri kolonisinin %99.9 oranında inhibe eden konsantrasyon Minimum Bakterisidal Konsantrasyon olarak kaydedildi.

MİK ve MBK değerleri belirlendikten sonra hem ekstrakt hem de AgNP’lerin yüzde indirgeme formülasyonu ile antibiyofilm etkisi ölçüldü.

$$\% \text{ İnhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}} / A_{\text{kontrol}}) \times 100$$

A_{kontrol} : Kontrol reaksiyonunun absorbansı

$A_{\text{örnek}}$: Test edilen bileşiklerin absorbansı

3.6.2. Agar Disk Difüzyon Yöntemi

Bu yöntemde, agar disk difüzyon testinde bakteriler için Müeller-Hinton Agar (MHA) plakları kullanıldı. Nanopartikül ekstraktlarından hazırlanan farklı dilüsyonlardan bu disklere emdirildi ve petrilere bakteri ekimi yapılanlar 37°C’de 24 saat inkübe edildi. Pozitif kontrol için ampisilin kullanıldı. Çalışma üç tekrarlı olarak yapıldı. Sonuçlar inhibisyon bölgesi çap değerlerinin ortalaması alınarak belirlendi ve elde edilen sonuçlar, 9 mm’den küçük ise inaktif; 9 mm ve daha büyük ve 12 mm’den küçük ise kısmen aktif; 12 mm ve 18 mm arasında ise aktif; 18 mm’den büyük ise yüksek derecede aktif olarak kabul edildi (Cerqueira vd., 2007).

3.7. DNA ile Etkileşimin Belirlenmesi

DNA kesme çalışmalarında, pBR322 plazmid DNA (%90 süpersarmal formda) kullanıldı. Plazmid DNA'nın jel elektroforezinde orijinal süpersarmal formu (Form I) hasarla açıldığında halkasal bir form (Form II) oluşur ve daha fazla kırık oluşmasıyla lineer form (Form III) da bulunabilir. DNA, jel elektroforezde yürütüldüğünde Form I jelde diğerlerine göre daha hızlı ilerlerken, Form II daha yavaş ilerler ve Form III, Form I ve Form II arasında hareket eder. Çalışma kapsamında AgNP'nin ve ekstraktın, hidrolitik ve oksidatif kesme aktivitesine bakıldı. Hidrolitik aktivitede, DNA, Tris-HCl tamponunda (10 mM, pH:7,4), örneklerle muamele edilerek hazırlandı; oksidatif aktivite için DNA, tampon ve örnek karışımına ek olarak oksitleyici ajan olan hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanıldı. Hazırlanan örnekler 37°C'de 2 saat inkübe edildikten sonra 6X yükleme boyası ilave edilerek 1 saat, 60 V'da %1 agaroz jelde, 1X TAE tamponunda jel elektroforezde yürütüldü. Daha sonra elde edilen bantlar UV ışığı altında jel görüntüleme sistemiyle fotoğraflandı (Qiao vd., 2011).

3.8. Mutajenik Aktivitenin Belirlenmesi

Mutajenik aktivitenin belirlenmesi için Ames/*Salmonella* testi kullanıldı. Bu testin amacı, *Salmonella typhimurium* LT2 atasal suşundan *in vitro* mutasyonlar sonucu geliştirilen histidin amino asidine gereksinim duyan mutant oksotrof suşların (his-) test maddesi ile muamele edilmesi sonucu tekrar histidin sentezleyebilme (his+) özelliğini kazanması esasına dayanmaktadır. Bu test sistemiyle ortama eklenecek olan NP'nin mutajenik aktivitesi hakkında bir sonuca varılabilecektir.

Çalışmada *S. typhimurium*'un iki farklı suşu (TA98 ve TA100) kullanıldı. Bunlardan TA98 suşu çerçeve kaymasına, TA100 suşu ise baz çifti değişimine neden olan mutasyonları belirlemektedir (Maron ve Ames, 1983; Mortelmans ve Zeiger, 2000). Deneyler, Maron ve Ames (1983) tarafından geliştirilen plak inkorporasyon metodu ile gerçekleştirildi. Test edilecek NP'lerin suda çözülmüş farklı konsantrasyonları hazırlandı. Araştırmada yapılacak olan bütün deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

Deneysel olarak kullanılacak suşların istenilen genetik özelliklere sahip olduğunun kanıtlanması çalışmanın güvenilirliği bakımından gerekmektedir. Çalışmanın güvenilirliğini kontrol etmek amacıyla teste tabii tutulan suşların orijinal mutasyonlara sahip olup olmadıkları, histidin gereksinimi, rfa mutasyonu, uvrB mutasyonu ve R faktörü testleri kullanılarak düzenli olarak kontrol yapıldı. Bu işlemlere paralel olarak da negatif, pozitif ve spontan kontroller gerçekleştirildi. Pozitif kontrollerde *S. typhimurium* TA98 suşu için 4-nitro-*o*-fenilendiamin ve TA100 suşu için sodyum azid kullanıldı. Negatif kontrolde ise her iki suş içinde su kullanıldı. Kullanılan his⁻ özellikte *S. typhimurium* TA98 ve TA100 suşları belirli sınırlar içerisinde spontan olarak his⁺ hale geçebilmektedirler. Bu sebepten dolayı bu sınırlar TA98 suşu için 20-50 revertant/plak, TA100 suşu için ise 75-200 revertant/plak'tır (Mortelmans ve Zeiger, 2000).

Çalışmada kullanılan NP'lerin mutajenik etki gösterip göstermediğini belirleyebilmek için çalışılacak dozlar negatif kontrolle karşılaştırıldı. Mutajenik etkinin söz konusu olabilmesi için, test edilen NP'lerin farklı konsantrasyonlarının uygulanması sonucu elde edilen geri dönen (revertant) koloni sayısının negatif kontrole oranla iki katı olması gerekmektedir. Konsantrasyona bağlı olarak koloni sayısında bir artış gözlenmesi durumunda ise zayıf mutajenik aktiviteden bahsedilebilir (Mortelmans ve Zeiger, 2000).

3.9. Serbest Radikal Giderme Aktivitesinin Belirlenmesi (DPPH Testi)

Serbest radikal giderme aktivitesi, Blois (1958) metoduna göre 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılarak belirlendi. Bu yöntemde, ortamdaki antioksidan özelliğe sahip moleküller DPPH molekülünden H⁺ alarak indirgenir ve bu olay absorbansın azalmasına yol açar. Bunun sonucu olarak ise serbest bir şekilde vücutta dolaşan radikallerin istenmeyen etkilerini yok ederek oksidatif hasarı geciktirmektedir (Pisoschi ve Negulescu, 2011). Absorbans değeri ne kadar az olursa, teste tabii tutulan antioksidan özelliğe sahip maddenin serbest radikal giderme aktivitesinin o kadar yüksek olduğunu göstermektedir.

Örnekler üzerine metanolde günlük olarak hazırlanan 1mM DPPH çözeltisinden 0,5 mL eklenerek örnekler karanlık ortamda oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede 517 nm'de absorbansları köre karşı ölçüldü. Pozitif kontrol için standart (BHT), negatif kontrolde için ise çözücü (metanol) kullanıldı. Çalışma üç tekrarlı olarak

yağıldı. Radikal giderme aktivitesi her örnek için aşığıda gösterilen eşitlik kullanılarak hesaplanarak sonuçlar % inhibisyon olarak belirlenmiştir.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀: Örnek veya standart içermeyen kontrol absorbanısı; A₁: Örnek veya standart absorbanısı



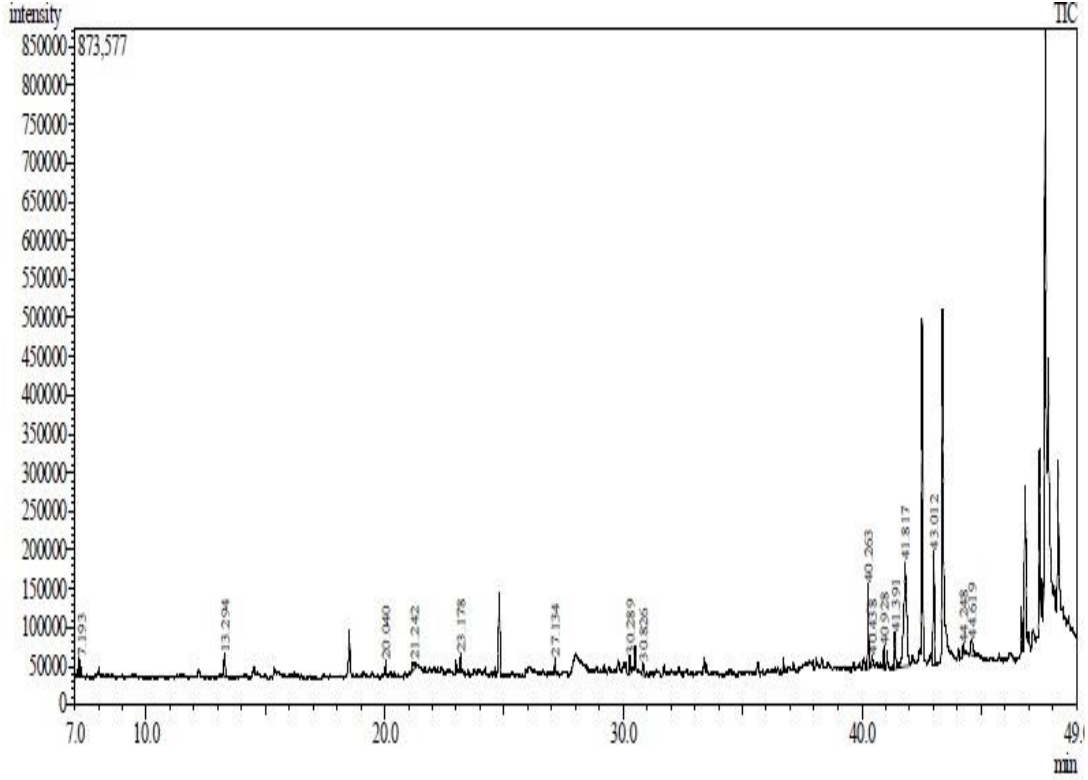
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

2021 yılının bahar aylarında Çanakkele Kazdağları Ayazma bölgesinde kaya üzerinden toplanan *H. cupressiforme* Hedw. kurutulup toz hale getirildikten sonra gaz kromatografisi kütle spektrofotometrisi ile uçucu bileşiklerin ekstrasyonu sağlandı. Daha sonra elde edilen ekstraktlar ile gümüş solüsyonu karıştırılarak gümüş nanopartikülleri elde edildi. Elde edilen nanopartiküllerin TEM ve SEM analizleri ile morfolojik özellikleri saptandı. Elde edilen nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi için agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak, üç kez tekrarlanan testlerin zon çaplarının ortalama değerleri belirlendi ve Broth Mikrodilüsyon Yöntemi ile MİK ve MBK değerleri belirlendi. Daha sonra yüzde indirgeme formülasyonu ile antibiyofilm etkisi belirlendi. Nanopartiküllerin DNA etkileşimleri jel elektroferez yöntemi ile ölçüldü. Çalışmada *S. typhimurium*'un iki farklı suşu (TA98 ve TA100) kullanılarak yapılan Ames/*Salmonella* testi ile nanopartiküllerin mutajenik aktivitesi belirlendi. Serbest radikal giderme aktivitesinin belirlenmesi amacı ile DPPH esti yapıldı.

4.1. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrofotometrisi ile Uçucu Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Gaz kromatografisi-kütle spektrofotometrisi ile uçucu bileşiklerin ekstraksiyonu MERLAB, Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından hizmet alımı olarak gerçekleştirildi. Toplanan *H. cupressiforme* Hedw., kurutulup toz hale getirildikten sonra gaz kromatografisi kütle spektrofotometrisi ile uçucu bileşiklerin ekstrasyonu sağlandı (Şekil 13).



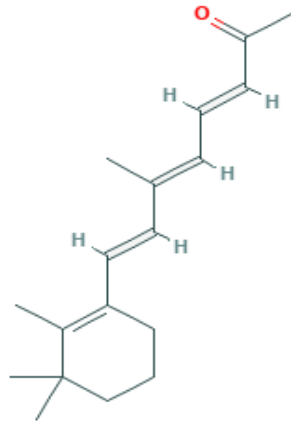
Şekil 13. Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi ile analizi sonuçları.

H. cupressiforme Hedw. ekstraktlarının içerisinde bulunan başlıca biyoaktif kimyasalları belirlemek için gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) kullanıldı. GC/MS yöntemi ile; bu bitki türünün terapötik yeteneklerine katkısı olabileceği düşünülen 18 farklı fitobileşenin varlığı ikincil metabolit olarak tespit edildi. Bu testin sonuçlarına göre *H. cupressiforme* Hedw. türünün ekstraktlarını oluşturan bileşikler içerisinde %35.94 ile en yoğun olarak bulunan bileşik (3E,5E,7E)-6-Methyl-8-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)-3,5,7-octatrien-2- olarak belirlenmiştir. İkinci sırada %14,16 ile Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester, üçüncü sırada ise %10.27 ile Neophytadiene, ekstraktı oluşturan ikincil metabolitler arasında en çok gözlenen fitobileşikler olarak saptanmıştır. Bu üç bileşiğin toplamı *H. cupressiforme* Hedw. türünün ekstraktlarının yaklaşık %60'ını oluşturmaktadır. Geriye kalan %40 ise ekstrakt içindeki toplam yoğunlukları %5 ve altında ölçülen 15 farklı bileşikten oluşmaktadır. GC-MS sonuçlarında bulunan bileşikler ve oranları Tablo 3'te gösterilmiştir.

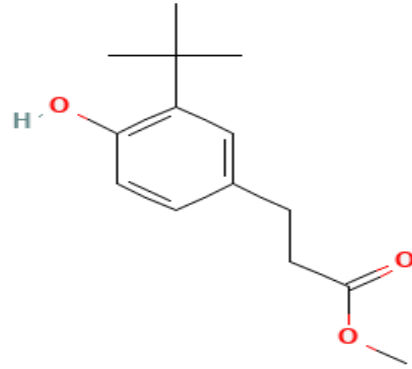
Tablo 3

Toplam iyon kromatogram raporu.

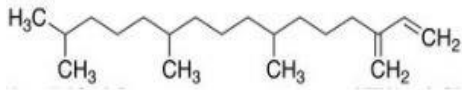
PEAK#	AREA %	PEAK REPORT TIC
1	35.94	(3E,5E,7E)-6-Methyl-8-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)-3,5,7-octatrien-2-one
2	14.16	Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester
3	10.27	Neophytadiene
4	5.32	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol
5	4.34	2-(7-Hydroxymethyl-3,11-dimethyl-dodeca-2,6,10-trienyl)-[1,4]benzoquinone
6	4.31	Limonene
7	2.76	Anethole
8	2.69	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol
9	2.32	7-Pentadecyne
10	2.32	Hydroxy methyl furfural
11	2.19	Benzene, 1,4-dimethyl- (CAS)
12	2.15	1H-Purin-6-amine, [(2-fluorophenyl)methyl]- (CAS)
13	2.14	PHENOL, 2,4-BIS(1,1-DIMETHYLETHYL)-
14	2.06	Pentacosane
15	1.86	Hexadecane
16	1.82	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-
17	1.72	Dodecane
18	1.63	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxyphenylpropionic acid



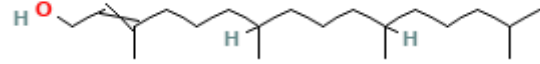
(3E,5E,7E)-6-Methyl-8-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)-3,5,7-octatrien-2-one



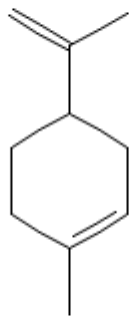
Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester



Neophytadiene



3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol



Limonene

Şekil 14. Ekstrakt içinde major (%4 üzeri) olarak bulunan (toplam bileşenlerin %74,34'ü) fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı.

Sujana vd. (2012) çalışmalarında *Passiflora incarnata* L. bitksinin bileşikleri içerisinde (3E,5E,7E)-6-Methyl-8-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)-3,5,7-octatrien-2-fenolik asidinin bulunduğu saptanmış ve bu bitkinin antitümör etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır.

Sharma vd. (2015) *Brassica juncea* L. türünün özütünde Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester bileşiğinin yoğun biçimde bulunduğu saptanmış ve Xian vd. (2018) ise yaptıkları çalışmada bu bitkinin antiinflamatuvar etkiye sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Alagic vd. (2002) yaptıkları bir çalışmada ana bileşiklerinden biri neophytadiene olan tütün yağının bazı bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde baskın bileşiklerinden birisi neophytadiene olan *Athyrium sinense* türü de antibakteriyel aktivite göstermiştir (Cai vd., 2020).

Mc Ginty vd. (2010) literatür taraması yapmışlar ve 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol bileşiğinin koku verici ve aromatik bir bileşik olarak kozmetik maddelerde kullanılmasına karşın literatürde herhangi bir toksikolojik bulguya rastlamadıklarını ifade etmişlerdir. Buna karşın Kale (2015) yılındaki çalışmasında *Adiantum capillus-veneris* L. ekstraktı üzerinde yaptığı çalışmada bu bitkinin içerdiği esas biyoaktif fitokimyasal bileşiklerden birisinin 3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol olduğunu ve bu bitkinin bazı hastalıklara karşı savunmada yardımcı olabilecek çeşitli faaliyetleri olabileceğini belirtmiştir.

2008-2017 yılları arasında bilimsel literatürde yayınlanan makaleleri derleyen Vieira vd. (2018). limonenin sağlık üzerine olan etkilerini kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve limoenin anti-enflamatuar, antioksidan, antinosiseptif, antikanser, antidiyabetik, antihiperalezik, antiviral ve gastroprotektif etkilerini ortaya koyan pek çok çalışma olduğunu vurgulamışlardır.

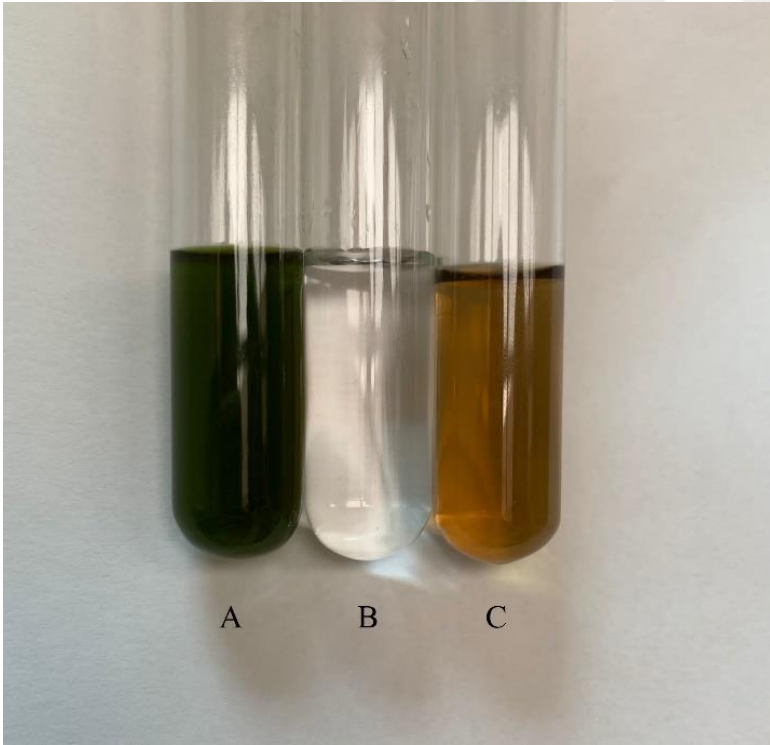
GC/MS sonuçlarına göre *H. cupressiforme* Hedw. içeriğinde bulunan ikincil metabolitlerinin çoğunluğunu fenolik asitler, flavanoidler ve terpenoidlerden oluşturmaktadır. Literatürde bu bileşiklerin antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal,

antibakteriyel, antiviral, antimitojenik, antikarsinojenik gibi pek çok etkisi iddia edilmiştir.

4.2. Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu

4.2.1. Gümüş Nanopartiküllerin Morfolojik Analizi

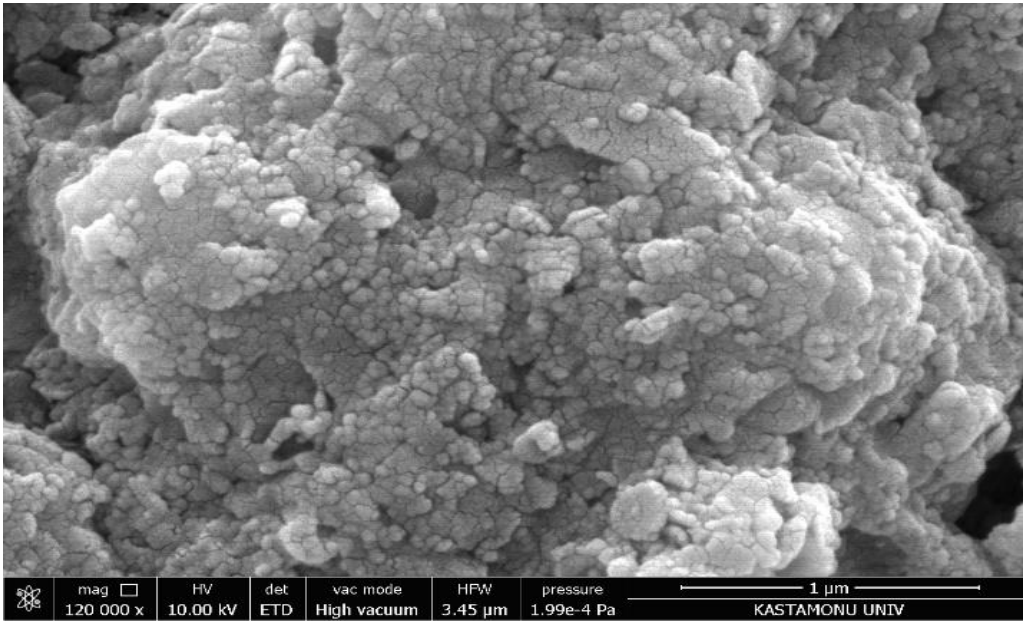
H. cupressiforme Hedw. türünden elde edilen ekstraktın koyu yeşil rengi (A); renksiz halde bulunan AgNO_3 (B) çözeltisi eklendikten sonra sarı-kahverengi bir renge dönüşmüştür (C). Renksiz halde bulunan AgNO_3 içeren çözeltideki Ag^+ iyonlarının indirgenmesi sebebiyle ekstraktta meydana gelen renk değişimi; gümüş nanopartiküllerinin elde edildiğini göstermektedir (Şekil 15).



Şekil 15. AgNP'lerin morfolojik gözlemi, A. *Hypnum cupressiforme* Hedw. su ekstraktı, B. AgNO_3 , C. AgNP.

4.2.2. SEM Analizinin Değerlendirilmesi

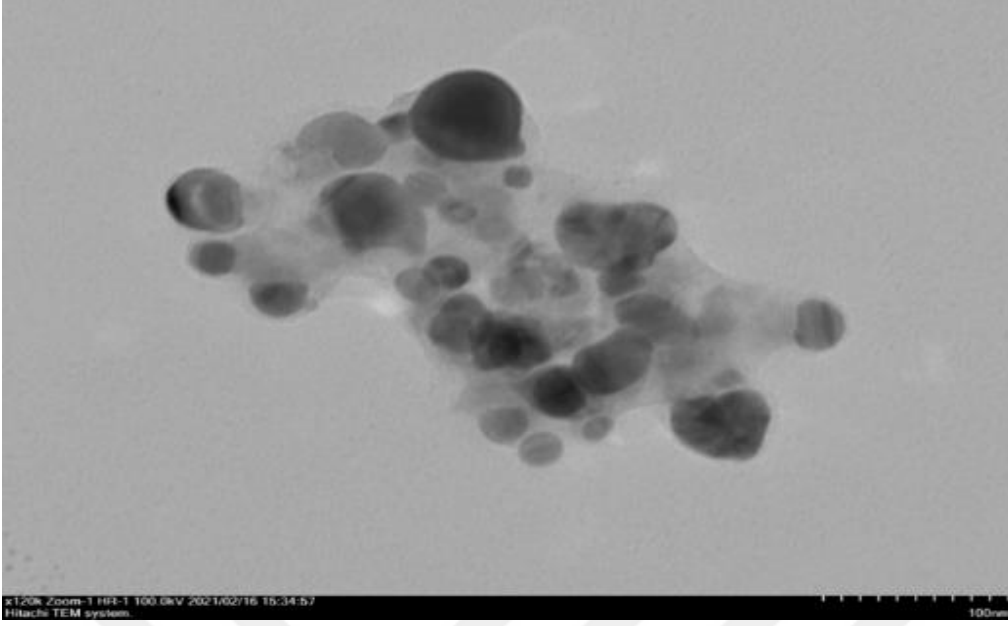
AgNP'lerin varlığı ve morfolojik özellikleri SEM karakterizasyon analizi ile tespit edildi. SEM analiz sonuçları yapılan yeşil sentez işlemi sonucunda gümüş naopartiküllerinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ve varlığını gösterdi. Sem analizi sonucunda sentezi gerçekleştirilen AgNP'lerin büyük bir çoğunluğunun yaklaşık olarak birbirlerine benzer boyutlarda ve şekil olarak küresel yapıda olduğu gözlemlendi. Daha önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında, elde edilen bulguların literatür ile uyumlu olduğu gözlemlendi (Şekil 16).



Şekil 16. *Hypnum cupressiforme* Hedw. AgNP SEM görüntüsü.

4.2.3. TEM Analizinin Değerlendirilmesi

Tem analizleri sonucuna göre sentezlenen AgNP'lerin boyutları 15nm ile 60 nm arasında değiştiği ve şekil olarak ise büyük çoğunluğunun neredeyse tamamen küresel olduğu saptandı (Şekil 17).

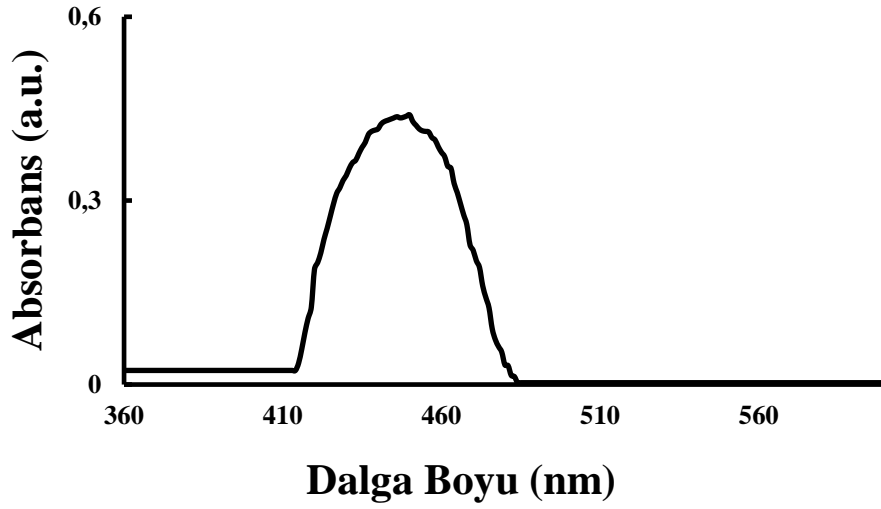


Şekil 17. *Hypnum cupressiforme* Hedw. AgNP TEM görüntüsü.

Hatipoğlu (2022) yılında yaptığı çalışmada; yeşil sentez sonucu elde ettiği gümüş nanopartiküllerinin TEM ve SEM analizleri sonucuna göre morfolojik yapılarının küresel ve ortalama 38 nm bulunduğunu açıklamıştır. Literatür tarandığında; yeşil sentez yöntemi kullanılarak elde edilen gümüş nanopartiküllerinin SEM ve TEM analizi ile tespit edilen görüntülerinin; boyut, şekil ve morfolojik yapılarının bizim elde ettiğimiz sonuçlar ile uyumlu olduğu görülmektedir (Baran vd., 2019; Coşkunçay, 2017; Dalgıç, 2022; Eren ve Baran, 2019).

4.2.4. UV-Vis Spektroskopi Analizinin Değerlendirilmesi

Ultraviyole görünür bölge alan spektrofisi, moleküllerdeki elektronlarının uyarılarak, ışığın absorbansının ölçümüne dayanmaktadır. Spektrofotometreler ışığın belirli bir dalga boyunda örneğin içinden ne kadarının geçtiğini ne kadarının absorbe edildiğini ölçmek için kullanılmaktadır. UV- görünür alan cihazları 200-900 nm arasında ölçüm yapmaktadır.



Şekil 18. AgNP UV-görünür alan absorbanans spektroskopisi analizi

Sentezlenen AgNP'lerin ölçümünde en yüksek absorbanans değeri 450 nm olarak ölçüldü (Şekil 18). Analiz sonuçlarının daha önceki çalışmalarla benzer olduğu gözlemlendi (Yayıntaş vd., 2021).

4.3. Antimikrobiyal Aktivite

4.3.1. Broth Mikrodilüsyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi

Tablo 4

H. cupressiforme ve AgNP MİK değerleri.

Mikroorganizmalar	Ekstrakt		AgNP		Ampisilin
	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK
<i>P. vulgaris</i> (NRRL-B-123)	>500	>500	3.91	250	0.98
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	>500	>500	15.63	62.5	3.90
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	>500	>500	31.25	125	31.25
<i>E. faecalis</i> (NRRL B-14617)	>500	>500	3.91	125	0.24
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	>500	>500	62.50	250	0.24
<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	>500	>500	62.50	125	0.98

Yaptığımız test sonucunda ekstraktın bütün patojenlere karşı MİK değeri 500.00'ten yüksek olarak ölçülmüştür. Buna karşın gümüş nanopartikülleri bütün patojenler üzerinde MİK değeri ekstraktan daha düşük çıkmıştır. Gümüş nanopartiküllerinin en yüksek MİK değeri 62.5 olarak ölçüldüğü *B. subtilis* ve *S. aureus* bakterileri olmuştur. *E. coli* bakterisinde AgNP'nin MİK değeri 31.25 olarak ölçülmüştür. AgNP'nin *P. aeruginosa* bakterisinde MİK değeri 15.63 ölçülürken en düşük MİK değerini ise 3.91 ile *P. vulgaris* ve *E. faecalis* bakterileri üzerinde göstermiştir (Tablo 4).

Test edilen bütün mikroorganizmalarda ekstrakt ampisilinden daha yüksek MİK değerleri verirken, AgNP *E. coli* bakterisinde ampisil ile eşit MİK değeri almış, diğer mikroorganizmalarda ampisiline göre daha yüksek değerler ölçülmüştür.

MİK yöntemi ile genellikle potansiyel antibakteriyel ajanların bakteriyostatik etkisi ölçülebilir. Bir başka deyişle MİK yöntemi ile teste tabii tutulan maddelerin, bakterilerin üreme ve gelişmelerini durdukları en düşük konsantrasyonlar ölçülür. MİK değeri belirlendikten sonra yapılan MBK testi ise bakteriyostatik etkisi ölçülen maddenin bakterisidal etkisini ölçer. Bakterisidal etki bir maddenin bakterileri öldürme yeteneğidir ve MBK yöntemi ile test edilen potansiyel antibakteriyel ajanın, başlangıçta var olan bakterilerin %99.9 oranında azaltabildiği en düşük konsantrasyon ölçülmektedir. Potansiyel bir antibakteriyel ajanın bakterisidal etkisinin ölçülmesine genellikle pek ihtiyaç duyulmaz. Bunun nedeni bakterisidal etkiye sahip maddelere menenjit, osteomyelit, endokardit gibi sınırlı sayıda hastalıkla mücadelede ihtiyaç duyulmasıdır. Bakterisidal etkiye sahip maddelerin test sonuçlarında aldıkları MİK ve MBK değerleri genellikle birbirine yakın olsa da yalnızca bakteriyostatik etki gösteren maddelerin MBK testi sonucu aldığı değerler MİK testi sonucu aldığı değerlerden oldukça yüksektir. Çok fazla sayıda olmasa da bazı bakterisidal ajanlara karşı bazı bakteri türleri tolerans geliştirebilir. Bir antibakteriyel ajanın MBK değerinin MİK değerine oranı 32 kat ya da daha büyükse o suşun test edilen ajana karşı toleransı olduğu söylenebilir (Sümerkan ve Gökahmetoğlu, 1998).

Yaptığımız çalışmada ekstrakt için elde ettiğimiz MBK sonuçları da tıpkı MİK sonuçlarında olduğu gibi oldukça yüksektir. Bu sonuçlar neticesinde ekstraktın tek başına bakteriler üzerinde hem inhibe etme etkisi hem de yok edici etkisi görülmemiştir. AgNP'lerin bakteriler üzerinde ölçülen MBK değerleri ise 62.5 ve 250 arasında değişim

göstermektedir. AgNP'ler 3.91 ile *P. vulgaris* ve *E. faecalis* bakterileri üzerinde 3.91 ile en düşük MİK sonuçlarını vermiştir. Buna karşın ölçülen MBK değerleri; *P. vulgaris* suşu üzerinde MİK değerine göre 32 katın üzerinde ve *E. faecalis* suşu üzerinde ise yaklaşık 32 kat bulunmuştur. Bu nedenle AgNP'lerin bu iki bakteri üzerinde herhangi bir bakterisidal etkisinin olmadığı, her iki bakteri üzerinde de bakteriyostatik etkisinin olduğu söylenebilir. Ancak özellikle endokardite neden olan bakterilerinden biri olan *E. coli* bakterisi üzerinde 125 MBK değeri ve osteomyelit vakalarının büyük bir çoğunluğuna neden olan *S. aureus* bakterisinde ölçülen 250 MBK değeri ile MİK değerlerinin 4 katı değerler saptanmıştır. Ayrıca *B. subtilis* bakterisi üzerinde aldığı MBK/MİK oranı 2 olarak ölçülmüştür. Tespit edilen MBK değerleri Tablo 4'te gösterilmiştir.

4.3.2. Agar Disk Difüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi

Agar disk difüzyon yönteminde kullanılan maddenin oluşturduğu zon çapı ne kadar büyük ise bakterilere karşı o kadar etkilidir. Yapılan test sonucuna göre hem *H. cupressiforme* Hedw. kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen gümüş nanopartiküller hem de *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktı ve kontrol grubu olarak kullanılan ampisilin, *S. aureus* bakterisi üzerinde herhangi bir etkinlik göstermemiştir.

H. cupressiforme Hedw. ekstraktı en yüksek zon çapını (8 mm) *B. Subtilis* ve *E. Coli* üzerinde oluşturmasına karşın testte kullanılan mikroorganizmaların tümünde 9 mm zon çapının altında kalarak inaktif özellik göstermiştir.

AgNP; *E. coli* ve *B. Subtilis* üzerinde kısmen aktif olarak tespit edilmiştir. *P. aeruginosa*'da 12 mm, *P. vulgaris* ve *E. faecalis* bakterileri üzerinde ise 14 mm zon çapı gözlemlenmiş ve aktif olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5

H. cupressiforme ve AgNP disk difüzyon değerleri.

Mikroorganizmalar	Ekstrakt	AgNP	Ampisilin
<i>P. vulgaris</i> (NRRL-B-123)	6	14	11
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	7	12	11
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	8	11	13
<i>E. faecalis</i> (NRRL B-14617)	6	14	11
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	-	-	-
<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	8	11	12

Agar disk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçlar, broth mikrodilüsyon yöntemi ile elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında, sonuçların birbirleri ile paralellik gösterdiği ve uyuştugu belirlenmiştir. Ayrıca AgNP'ler hem gram negatif hem de gram pozitif bakterilerde antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir.

Gram negatif bir bakteri olan *Proteus vulgaris* insan bağırsağının normal florasında, toprakta ve de suda bulunan bir bakteridir. İnsan bağırsağının normal florasında yer almalarına rağmen farklı doku ve organlarda çoğalmaları durumunda enfeksiyöz hastalıklara neden olabilmektedirler. *P. vulgaris* sıklıkla idrar yolu enfeksiyonuna neden olurlar. Bununla beraber akciğer enfeksiyonlarında da yer alabilen fırsatçı patojenlerdir. *P. vulgaris* bazen tek başlarına bazen de başka bakterilere eşlik ederek hastane enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan bakteri türlerindedir. Yaraların iyileşmesi geciktirdiği de bilinmektedir. Ayrıca gazlı gangren ve tetanoz gibi enfeksiyöz hastalıkların meydana gelmesine de neden olmaktadır. Yenidoğan bebeklerde göbek kordonu kaynaklı sepsis nedeniyle yenidoğan ölümüne yol açabilirler. *P. vulgaris* bazı antibiyotiklere karşı duyarlı değilken, duyarlı olduğu seftazidim gibi bazı antibiyotiklere de kullanıma bağlı olarak direnç geliştirebildiği bildirilmiştir (Chenal vd., 2015; Uslu vd., 2011).

Gram pozitif bir enterokok türü olan *E. faecalis* insan ve hayvanlardaki enterokok enfeksiyonlarının %80- 90'ından sorumludur. İdrar yolu enfeksiyonu, endokardit, post op yaralarda enfeksiyon kaynağı olarak en sık görülen üç bakteriden birisi olmakla beraber;

bakteriyemi, intraabdominal, pelvik ve yumuşak doku enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Ağız boşluğunda birçok enfeksiyona neden olan en dirençli bakterilerden birisidir. Yüksek patojenite potansiyeline sahiptirler, birçok ortamda hastalık oluşturabilirler ve son yıllarda bu bakterilerin neden olduğu hastane kaynaklı enfeksiyonlarda da önemli bir artış meydana gelmiştir (Diani vd., 2016; Olukpınar-Genç, 2018; Sakaryalı vd., 2022; Yıldız, 2014).

Pseudomonas aeruginosa, gram-negatif, geniş konakçı aralığına sahip, fırsatçı bir patojendir. Solunum yollarının akut ve kronik enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları, ülseratif keratit, kistik fibrozis ve sepsis dahil olmak üzere birçok bulaşıcı hastalığının ve özellikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde çok çeşitli, şiddetli ve bazen ölümcül hastalıkların ana nedenidir (Cao vd., 2017; Cappello ve Guglielmino, 2006).

Millettia pinnata çiçek özleri ile elde edilen AgNP'ler, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* ve *P. vulgaris* üzerinde farklı seviyelerde antibakteriyel aktivite göstermişlerdir (Rajakumar vd., 2017). AgNP'lerin *S. aureus*, *P. vulgaris*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* bakterilerine karşı önemli antimikrobiyal aktivite gösterdiği gösterilmiştir (Balaraman vd., 2020). Yapılan bir başka çalışmada ise AgNP'lerin *E. faecalis* bakterisine karşı antimikrobiyal aktivite sergiledikleri belirtilmiştir (Kung vd., 2018). Bu çalışmada AgNP'ler *S. aureus* bakterisinde inhibisyon zonu oluşturmazken, *B. Subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* ve *P. vulgaris* bakterilerinde literatür ile uyumlu olarak farklı seviyelerde antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. Özellikle *P. vulgaris* ve *E. faecalis* bakterilerine karşı oluşturdukları 14 mm zon çapı ve *P. aeruginosa* bakterisine karşı oluşan 12 mm zon çapı ile AgNP'ler, bu bakterilere karşı antimikrobiyal ajan olarak kullanılma potansiyeli barındırmaktadır.

4.3.3. Antibiyofilm Aktivitenin Değerlendirilmesi

Çalışmada ekstrakt ve AgNP'lerin antibiyofilm aktiviteleri gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı araştırıldı. Ekstrakt ve AgNP'nin biyofilm giderim yüzdesi bulguları Tablo 6'da verildi. En yüksek biyofilm inhibisyon yüzdesi AgNP için %34.75 oranla *P. vulgaris*'e karşı elde edildi. AgNP *P. aeruginosa* bakterisine karşı %23.72 biyofilm inhibisyon aktivitesi gösterirken en düşük etkiyi ise %18.93 biyofilm inhibisyon oranı ile *E. faecalis* bakterisine karşı gösterdi. Bu mikroorganizmalar dışında kalan organizmalarda

ise AgNP'ler herhangi bir antibiyofilm etki göstermezken; ekstrakt ise herhangi bir mikroorganizmada antibiyofilm aktivite göstermemiştir.

Tablo 6

H. cupressiforme Hedw. ve AgNP antibiyofilm aktivitesi.

Mikroorganizmalar	% İnhibisyon Değerleri	
	Ekstrakt	AgNP
<i>P. vulgaris</i> (NRRL-B-123)	-	34.75
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	-	23.72
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	-	-
<i>E. faecalis</i> (NRRL B-14617)	-	18.93
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	-	-
<i>B. subtilis</i> (ATCC 6633)	-	-

(-): Biyofilm oluşumu gözlenmedi.

Biyofilm yapı içerisindeki bakteriler genellikle antimikrobiyal ajanlara planktonik bakterilerden yaklaşık 1000 kata kadar daha dirençlidir. Enterekok türü bakterilerin en az bir antibiyotiğe dirençli oldukları bilinmektedir ve biyofilmlerin vankomisin gibi tedavide kullanılan antimikrobiyal maddelere dirençli olduklarından eradikasyonları hayli zordur. Bu direncin gelişmesinde olası iki mekanizma bulunmaktadır. Bunlardan birisi; sakkarit yapıdaki matrisin antimikrobiyal madde ile reaksiyona girerek nötralize etmesi, diğeri ise matrisin antimikrobiyal maddeye karşı difüzyon bariyeri oluşturmasıdır. Biyofilm tabakalar kateterler, kalp ve eklem protezleri, tedavide kullanılan tıbbi aletlerin yüzeyleri gibi pek çok alanda oluşabilir. Bu nedenle yeni tedavi yollarının geliştirilmesi gerekmektedir (Brown vd., 1995; Diani vd., 2016)

“*P. aeruginosa* akciğerlerde güçlü bir biyofilm şekli olan pnömoni belirtileri ile ortaya çıkan kistik fibröz hastalığı ile tanınmaktadır” (Madigan ve Martinko, 2010).

AgNP'lerin kök ve kanal tedavisinde gelişen *E. faecalis* kaynaklı biyofilmleri ortadan kaldırma potansiyeli gösterdiği belirtilmiştir (Wu vd., 2014).

AgNP'ler mikroorganizmaları öldürdükleri gibi aynı zamanda biyofilm tabakalarının parçalanmasında da önemli bir rol üstlenirler (Chapman, 2010).

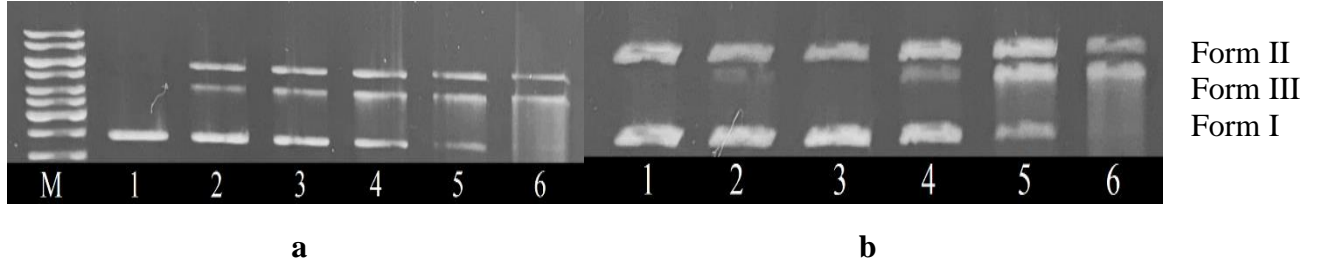
4.4. DNA Kesme Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Sentezlenen gümüş nanopartiküller hidrolitik ve oksidatif kesme özelliklerini belirlemek amacıyla pBR322 plazmid DNA kullanılarak agaroz jel elektroforezde yürütülerek analiz edildi. pBR322 plazmid DNA'nın süpersarmal formu (Form I) hasara uğrayıp açıldığında halkasal bir forma dönüşmektedir (Form II). pBR322 plazmid DNA daha fazla hasara uğrarsa lineer bir forma dönüşmektedir ve eğer lineer forma (Form III) dönüşürse agaroz jel elektroforezde yürütüldüğünde Form I ve Form II arasında görüntü vermektedir.

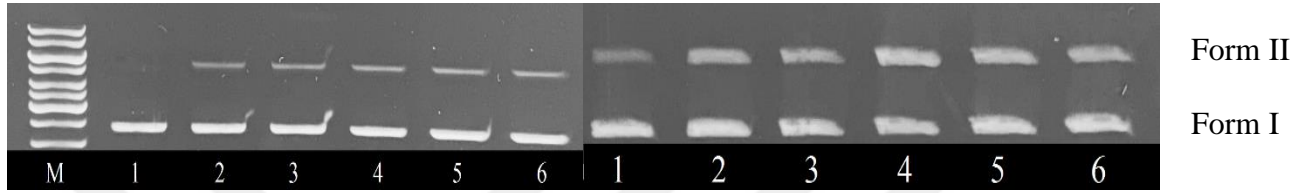
Test edilen bütün konsantrasyonlarda gümüş nanopartiküllerinin hem hidrolitik hem de oksidatif olarak DNA'yı kestiği görüldü. Yapılan analiz sonucunda AgNP'lerin bütün konsantrasyonlarda DNA'yı halkasal forma dönüştürmesine karşın lineer form görüntüsüne rastlanmadı.

Test edilen ekstraktında bütün konsantrasyonlarında hem hidrolitik hem de oksidatif olarak DNA'yı kestiği belirlendi. Bununla beraber ekstrakt; bütün konsantrasyonlarda DNA'ya nanopartiküle göre daha fazla hasar verdiği ise lineer formda görüntülerin oluşmasından anlaşılmaktadır. Ekstrakt'ın elde edilen görüntülerinde hidrolitik olarak bütün konsantrasyonlarda lineer formda parçacıklar oluşurken, oksidatif olarak ise konsantrasyon arttıkça DNA'nın daha fazla hasara uğrayarak daha çok parçalandığı, lineer formlarının yüksek konsantrasyonlarda daha belirgin olarak görüntülenmesinden anlaşılmaktadır (Şekil 19).

A



B



Şekil 119. *Hynnum cupressiforme* Hedw. su ekstraktı (A) ve AgNP'nin (B) DNA kesme aktivitesinin belirlenmesi.

a. Hidrolitik, M. Marker, 1. DNA kontrol, 2. DNA + 1.25 µg/mL, 3. DNA + 2.5 µg/mL, 4. DNA + 5 µg/mL, 5. DNA + 10 µg/mL, 6. DNA + 20 µg/mL.

b. Oksidatif, 1. DNA + H₂O₂, 2. DNA + 1.25 µg/mL + H₂O₂, 3. DNA + 2.5 µg/mL + H₂O₂, 4. DNA + 5 µg/mL + H₂O₂, 5. DNA + 10 µg/mL + H₂O₂, 6. DNA + 20 µg/mL + H₂O₂.

4.5. Mutajenik Aktivitenin Değerlendirilmesi

Ames/*Salmonella* testi, kimyasal maddelerin mutajenik etki gösterip göstermediğini belirlemek ve özellikle ilaçların üretimi aşamasında ilaç bileşenlerinin mutajenik-karsinojenik ve toksik etkilerini araştırmak için kullanılan, hızlı sonuç veren, yüksek uygulanabilirliğe ve yaygın kullanım alanına sahip, düşük maliyetli, geçerliliği yüksek ve güvenilir bir test yöntemidir (Aydoğan vd., 2018; Oğuz vd., 2014). Ames/*Salmonella* testinde bir maddeye mutajen denilebilmesi için histidin sentezleme yeteneğini kaybetmiş *Salmonella* suşlarının, test örneği ile işlendikten sonra ikinci mutasyon ardından oluşacak yabancı tip histidin sayısının kendiliğinden geriye dönen koloni sayısının en az iki katı olması gerekir. Test edilen örnekte kendiliğinden geri dönen yabancı tip histidin koloni sayısı iki katına ulaşmasa bile konsantrasyon arttıkça, bu artışa bağlı bir artış var ise test edilen maddeye mutajen denilebilmektedir (Maron ve Ames, 1983; Mortelmans ve Zeiger, 2000).

Çalışmada *S. typhimurium*'un TA98 ve TA100 olarak iki farklı suşu kullanıldı ve Ames/*Salmonella* testi ile ekstrakt ve AgNP'lerin mutajenik aktivitesi belirlendi. Hem ekstraktın hem AgNP'lerin farklı konsantrasyonları (6.25, 25, 100 ve 400µg/mL) *S. typhimurium* TA 98 ve TA100 suşlarına karşı bakıldığında, her iki örneğinde mutajenik bir etkiye sahip olmadıkları görüldü (Tablo 7).

Tablo 7

Ames/*Salmonella* test sonuçları.

Uygulama	Konsantrasyon (µg/mL)	His ⁺ Geri Dönen Koloni Sayısı/Plaka	
		TA98	TA100
		Ort±SS	Ort±SS
PK	NPD	491.67±5.51	
	SA	1264.67±33.50	
Ekstrakt	6,25	26.33±2.52	101.00±6.56
	25	43.00±2.65	87.00±7.00
	100	46.67±4.04	59.00±5.29
	400	42.33±3.79	73.33±11.93
AgNP	6,25	44.67±3.06	93.67±8.39
	25	43.33±10.69	66.00±2.65
	100	52.33±11.24	72.33±7.51
	400	87.33±11.59	81.67±6.51
NK	dH ₂ O	22.33±1.53	71.00±19.05
SK		24.67±4.51	90.00±14.53

Dalgıç (2022) *Sorghum bicolor* var. *technicum* ekstraktı kullanarak yeşil sentez yöntemi ile AgNP sentezlediği çalışmasında, Ames/*Salmonella* testi sonucunda ekstraktın mutajenik etki göstermediğini belirtirken yeşil sentez sonucu elde ettiği AgNP'lerin mutajenik etkisinin olduğunu vurgulamıştır ve belirli fizikokimyasal özelliklere sahip AgNP'lerin olası antimutajenik etkilerinin olabileceğine değinmiştir. Buna karşın Yayıntaş vd. (2021) karayosunu, *Dicranum majus* Turner ile sentezledikleri AgNP'lerin mutajenik etkisinin olmadığını göstermişlerdir.

Dalgıç'ın (2022) tohumlu bir bitki kullanarak yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen AgNP'lerin mutajenik etki göstermesine karşın, hem Yayıntaş vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada hem de bu çalışmamızda AgNP'lerin yeşil sentezinde karayosunu türleri kullanılmış ve mutajenik aktivite belirlenmemiştir. Bu durum nanoparçacıkların sentezi sırasında tercih edilen bitkilerin ekstraktlarında bulunan fitokimyasal bileşiklerin özelliklerinden kaynaklanmış olabilir.

4.6. Serbest Radikal Giderme Aktivitesinin Değerlendirilmesi

H. cupressiforme Hedw. ve AgNP sentezinin antioksidan kapasiteleri DPPH kullanılarak Blois metodu ile belirlenmiştir. Çalışmada pozitif kontrol için BHT kullanılmış ve her örnek için çalışma üçer kez tekrarlanmıştır. *H. cupressiforme* Hedw. ve AgNP'nin antioksidan aktivitesi beş farklı konsantrasyonda (25, 50, 100, 200, 400 µg/mL) absorbans değerleri ölçülerek hesaplanmıştır. Belirlenen inhibisyon değerleri Tablo 8'de gösterilmiştir.

Hem bitki hem de AgNP yapılan ölçümlerde kontrol grubundan daha düşük değerlerde serbest radikal giderme aktivitesi göstermişlerdir. Kontrol grubunda konsantrasyon ile serbest radikal giderme aktivitesi artış görülmüştür. Buna karşın; AgNP konsantrasyonu 100 µg/mL'ye kadar olan konsantrasyon değerlerinde serbest radikal giderme aktivitesi göstermesine rağmen daha yoğun konsantrasyonlarda serbest radikal giderme aktivitesi düşüş göstermiştir. AgNP en düşük konsantrasyon değeri olan 25 µg/mL'de kontrol grubuna yakın değerlerde serbest radikal giderme aktivitesi göstermiştir. AgNP 100 µg/mL ve daha düşük konsantrasyonlarda BHT'ye nazaran daha düşük olmakla birlikte, *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktına göre nispeten daha yüksek serbest radikal giderme aktivitesi göstermiştir. Bununla birlikte *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktı konsantrasyon arttıkça; artış oranı BHT kadar yüksek olmasa da, serbest radikal giderme aktivitesinde artış göstermiştir.

Tablo 8

Serbest Radikal Giderme Aktivitesi.

Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)	% İnhibisyon Değerleri		
	BHT	<i>H. cupressiforme</i>	AgNP
25	31.29	25.95 \pm 0.45	29.60 \pm 0.56
50	40.69	27.29 \pm 0.00	32.29 \pm 0.56
100	88.38	29.31 \pm 0.23	37.44 \pm 0.34
200	98.15	33.78 \pm 0.00	33.33 \pm 0.00
400	99.93	34.90 \pm 0.00	27.68 \pm 2.27

Test edilen madde yoğunluğunun artması ile birlikte serbest radikal giderme aktivitesinin artması beklendiği için absorbans değerinin düşmesi beklenir (Eren, 2011).

Maddenin antioksidan olarak kabul edilebilmesi için düşük konsantrasyonda aktif olması gerekmektedir (Bedlovicova vd., 2020). Tablo 9’da görüldüğü üzere hem *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktı hem de AgNP’ler düşük konsantrasyonda da yüksek konsantrasyonlarında aldıkları değerlere yakın değerler ölçülmüştür.

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Yeşil sentez yöntemiyle gümüş nanopartiküllerinin sentezinin, biyoyumluluğu ve sürdürülebilirliği sayesinde tıp, farmakoloji ve kozmetik başta olmak üzere farklı biyoteknoloji alanlarında uygulanmasının geleneksel yöntemlere göre üstünlükleri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle biyoteknoloji alanında nanopartiküllerin yeşil sentezi son yıllarda üzerinde en çok araştırma yapılan konu olmuştur. Toksik etkisi olmayan, çevreye duyarlı, sürdürülebilir ve düşük maliyetli nanopartikül sentezi yöntemlerinde zengin ikincil metabolitlere sahip olduklarından dolayı en çok bitkilerden faydalanılmakta ve karayosunları; teröpatik etkileri ve zorlu iklim koşullarına direnciyle bu çalışmalarda önem kazanmaktadır. Ancak literatürde karayosunlarının antioksidan ve antifungal etkileri başta olmak üzere çeşitli teröpatik etkilerine rastlanmıyla birlikte, karayosunlarının bir türü olan *H. cupressiforme* Hedw. hakkında yapılan araştırmalar sınırlı kalmış, ihtiva ettiği ikincil metabolitler ve bunların biyolojik aktiviteleri hakkında az sayıda veri elde edilebilmiştir.

Bu nedenle bu çalışmada, yeşil sentez metodu ile Ayazma, Kazdağı (Çanakkale) bölgesi, kaya üzerinden toplanan *H. cupressiforme* Hedw. içeriğinde bulunan kimyasal bileşimler belirlendi. Daha sonra *H. cupressiforme* Hedw. sulu ekstraktının gümüş nanoparçacıkların içerisine enkapsüle edilerek, elde edilen nanoparçacıklar karakterize edildi ve sonrasında biyolojik aktivitesi araştırıldı.

Ülkemizde geniş yayılım gösteren, üretim maliyeti düşük ve hemen her koşulda yetişebilen karayosunlarından, sınırlı sayıda araştırmaya konu olmuş *H. cupressiforme* Hedw. kurutulup toz hale getirildikten sonra ekstraktlarının içerisinde bulunan başlıca biyoaktif kimyasalları belirlemek için gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) kullanıldı. Yapılan analiz sonucunda ekstraktın içinde 18 farklı fitobileşen tespit edildi. Bu testin sonuçlarına göre *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktında ağırlıklı olarak bulunan ve ilk üç sırayı oluşturan fitobileşenin oranının toplam bileşenin %60'ı olduğu belirlendi. % 35.94 ile en yoğun olarak bulunan bileşik (3E,5E,7E)-6-Methyl-8-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexenyl)-3,5,7-octatrien-2- olarak belirlenmiştir. İkinci sırada %14.16 ile Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester, üçüncü sırada ise %10.27 ile Neophytadiene, ekstraktı oluşturan ikincil metabolitler arasında en çok

gözlenen fitobileşikler olarak saptanmıştır. Ekstraktın yoğunlukla fenolik asitler, flavanoidler ve terpenoidlerden meydana geldiği saptandı.

AgNP'lerin karakterizasyonunda SEM, TEM ve UV Görünür Alan Absorpsiyon Spektroskopisi analizleri kullanıldı. SEM analiz sonuçları gümüş nanopartiküllerinin yuvarlak şekilde ve birbirine benzer boyutlarda olduğunu gösterdi. TEM analizleri sonucuna göre sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin boyutları 15 nm ile 60 nm arasında değiştiği ve şekil olarak ise büyük çoğunluğunun neredeyse tamamen küresel olduğunu doğruladı. UV-Vis Spektroskopisi sonuçlarına göre sentezlenen AgNP'lerin en yüksek absorpsiyon değeri 450 nm olarak ölçüldü.

Elde edilen AgNP'lerin ve *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktının biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla antimikrobiyal özellikleri, antibiyofilm özellikleri, antioksidan özellikleri, mutajenik aktiviteleri ve DNA ile etkileşimleri incelendi.

Çalışmada ekstrakt ve AgNP'lerin antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon ve broth mikrodilüsyon yöntemleri ile analiz edildi. Broth mikrodilüsyon yönteminin gerçekleştirilen test sonucunda ulaştığımız MİK değerlerine göre *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktı patojen mikroorganizmaların hiç birisine karşı inhibe etme aktivitesi göstermemiştir. *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktı kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen AgNP'ler, MİK testi sonucuna göre test edilen bakteri suşları arasından özellikle *P. vulgaris*, *E. faecalis* ve *P. aeruginosa* bakterileri üzerinde daha yüksek inhibe etme aktivitesi göstermiştir. AgNP'lerin antimikrobiyal etkinlikleri 3.91 MİK değeri ile *P. vulgaris* ve *E. faecalis* bakterileri üzerinde olmuştur. *E. coli* bakterisininde ise 31,25 MİK değeri ölçülmüştür. Test edilen diğer bazı patojenler üzerinde AgNP'ler daha yüksek MİK değerine ulaşmış olsa da bu sonuç kontrol grubu olan ampisilinle aynı değerde olduğu için dikkat çekmektedir.

Veljic vd. (2009) tarafından *H. cupressiforme* Hedw. metanol ekstraktı ile yapılan çalışma sonuçları ile bizim çalışmamızda kullanılan ekstrakt ile elde ettiğimiz MİK değerleri karşılaştırıldığında; *H. cupressiforme* Hedw.'nin bakterilere karşı inhibe etme etkisinin bizim çalışmamızda daha az olduğu görülmüştür. Benzer şekilde Ertürk vd. (2015) tarafından *H. cupressiforme* Hedw. etanol ekstraktının MİK değerleri ölçülerek yapılan testte *P. aeruginosa* ve *S. aureus* üzerinde aktif olduğu görülmüştür. Bu çalışmalarda elde edilen

sonuçlarla bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların farklı olmasının nedeni; ekstrakt elde edilirken çözücü olarak etanol ve metanol kullanılmasından kaynaklanmış olabileceği gibi, kullanılan bitkinin toplandığı bölgenin iklimi, ekolojik nişi ve diğer biyotik nedenlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Son yıllarda mortalite oranlarının azaldığı raporlansa da (Başaran vd., 2021; Öztürk ve Karaca, 2016) osteomyelit vakalarında ölüm oranı hala oldukça yüksektir. Osteomyelit hastalığının nedenleri arasında *S. aureus* bakterisi ilk sırada yer almaktadır. Yaptığımız test sonuçlarına göre AgNP'lerin MBK/MİK oranı *S. aureus* bakterisinde 4 çıkmıştır. Bununla beraber bakteri kaynaklı endokrdit hastalığına yol açan patojenler arasında *E. coli*'de bulunmaktadır ve AgNP'lerin hem bu patojen üzerinde hem de *P. aeruginosa* üzerinde MBK/MİK oranı 4 olarak ölçülmüştür. AgNP'lerin MBK/MİK oranının 2 ile en düşük olduğu patojen ise *B. subtilis* olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar özellikle tedavisinde bakterisid yetenekleri olan antimikrobiyal ajanlara ihtiyaç duyulan osteomyelit ve endokardit gibi hastalıklarda AgNP'lerin bakterisid etkiye sahip bir ajan olarak kullanılabilir potansiyel taşıdığı ve bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Agar disk difüzyon test sonucunda hem ekstrakt hem de AgNP tıpkı kontrol grubu olan ampicilin gibi *S. aureus* bakterisine karşı herhangi bir zon oluşturmamıştır. Ekstrakt en yüksek zon çapını 8 mm ile *E. coli* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı oluşturmuştur. *P. aeruginosa* bakteri suşuna karşı 7 mm zon çapı, *E. faecalis* ve *P. vulgaris* bakterilerine karşı 6 mm zon çapı oluşturmuş olsa da bu sonuçlar inaktif olarak değerlendirilmiştir.

Dülger vd. (2005) yaptıkları çalışmada *H. cupressiforme* Hedw. metanol ekstraktı *B. subtilis* (14.2 mm zon çapı), *S. aureus* (12.6 mm zon çapı), *E. coli* (12.2 mm zon çapı) ve *P. aeruginosa* (11.6 mm zon çapı) bakterileri karşısında aktif özellik göstermiştir. Altuner vd. (2014), *H. cupressiforme* Hedw. etanol ekstraktı ile yaptıkları çalışmada *B. subtilis*, *E. faecalis* ve *S. aureus* bakterileri üzerinde zon çapı oluşturmadığını belirtmişler, *E. coli* üzerinde ise bizim çalışmamızın verdiği sonuçlara yakın bir sonuç bularak 7 mm zon çapı oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Ertürk vd. (2015) çalışmalarında *P. aeruginosa* (12 mm zon çapı), *S. aureus* (8.66 mm zon çapı) ve *E. coli* (10.33 mm zon çapı) bakteri suşları üzerinde *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktının antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Literatürle karşılaştırıldığında farklı coğrafyalardan alınan, farklı yöntemler kullanılarak hazırlanan *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktlarının aynı bakteri suşları üzerinde farklı sonuçlar verdiği görülmektedir.

Buna karşın Yayıntaş vd. (2019) yaptıkları çalışmada, *H. cupressiforme* Hedw. örneklerini bu çalışmada kullanılan örneklerle aynı bölgeden toplamış ve benzer bir yöntemle ekstrakt hazırlamış olmalarına karşın; *H. cupressiforme* Hedw., içlerinde *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *E. faecalis* bakteri suşlarında yer aldığı toplam yedi farklı bakteri türü üzerinde test etmiş ve hiç birisinde antibakteriyel aktivite gözlemlenmemiştir. Bu durum *H. cupressiforme* Hedw. türünün sadece yetiştiği bölgenin niş ve biyoaktif yapısına göre değil, benzer coğrafyalarda da yıllara göre değişiklik gösteren iklim koşullarının etkisiyle de fitokimyasal yapısında çeşitli farklılıklar oluşturabildiğini düşündürmektedir. Bu haliyle çalışmamızın, gelecekte *H. cupressiforme* Hedw. türünün antibakteriyel aktivitesini değerlendirmek üzere yapılacak çalışmalar için yol gösterici olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda AgNP'lerin *S. aureus* dışında test edilen bütün mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel etkiye sahip olduğu görülmüştür. AgNP; *E. coli* ve *B. subtilis* (11 mm zon çapı) bakterilerinde yarı aktif antimikrobiyal etki gösterirken, *P. aeruginosa* (12 mm zon çapı), *P. vulgaris* (14 mm zon çapı) ve *E. faecalis* (14 mm zon çapı) bakterilerine karşı aktif oldukları görülmüştür.

Gümüş nanopartiküllerinin antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu literatürde görülmektedir. Ancak nanopartiküllerin kimyasal sentezinin sonucunda ortaya çıkan toksik maddeler insana ve çevreye zarar vermekle birlikte sentez aşaması uzun ve maliyetlidir. Bu çalışmada AgNP'lerin aktif etkinlik gösterdiği *S. aureus* hariç bütün bakterilerde ölçülen zon çapı, kontrol grubu olan ampisiline göre daha büyük ölçülmüştür. *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktlı kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin çalışmamızda kullanılan bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite göstermesi umut vericidir. Ayrıca kontrol grubu olan ampisilinden daha iyi sonuçlar vermesi ise çevre dostu ve düşük maliyetli bir yöntemle üretilen AgNP'lerin potansiyelini göstermesi bakımında dikkat çekicidir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre ekstrakt test edilen bakterilerin hiç birisinde biyofilm giderme aktivitesi göstermemiştir. AgNP'ler ise *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* ve *E. faecalis* üzerinde biyofilm giderme aktivitesi göstermiştir. AgNP'ler % 34.75 ile en yüksek biyofilm giderme aktivitesini *P. vulgaris* bakterisi üzerinde göstermiştir. Antibiyofilm aktivite testinin sonuçları MİK testi ve agar disk difüzyon testi sonuçlarını desteklemekte ve AgNP'lerin antibakteriyel ilaç olarak kullanılabilmesi gibi tıbbi cihaz ve protezlerin dezenfeksiyonu aşamasında da kullanılmaya aday olduğunu göstermektedir.

Ames/*Salmonella* testi ile mutajenik aktiviteleri analiz edilen ekstrakt ve gümüşnanopartiküller *S. typhimurium* bakterisine ait TA98 ve TA100 suşlarının ikinde de mutajenite göstermedi.

Günümüzde kullanılan pek çok antibiyotiğe karşı, hastalık yapan mikroorganizmaların çeşitli yöntemlerle direnç geliştirdiği bilinmektedir. Bununla beraber hastanede yatış sürelerinin uzaması, teşhis ve tedavi aşamasında kullanılan pek çok tıbbi cihaz ve protezin; çok fazla sayıda hastalık yapıcı mikroorganizmaya ev sahipliği yapan hastane ortamında kontamine olması nedeniyle, her geçen gün artan hastane kaynaklı enfeksiyonlar, onlarca kişiyi hastalanmasına ve zaman zaman hayatını kaybetmesine neden olmaktadır. Bu durum sonucunda tedavi süreleri uzamakta ve sağlık hizmetlerinde maliyet artmaktadır. Toksik etkileri olmayan ve üretim maliyetleri düşük olan *H. cupressiforme* Hedw. kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile elde ettiğimiz AgNP'ler üzerinde yaptığımız testlerden antibakteriyel, antibiyofilm ve mutajenik aktivite testlerinin sonuçları bir bütün olarak değerlendirildiğinde, AgNP'lerin patojen mikroorganizmaların yok edilmesi için ilaç olarak, tıbbi cihaz ve protezlerin temizlenmesi aşamasında dezenfektan olarak kullanılabilmesi ve bu işlemler sonucunda mutajenik bir etkiye neden olmayacağı görülmektedir. Bu anlamda çalışmamızın sonuçları umut vericidir.

H. cupressiforme Hedw. ve AgNP'lerin serbest radikal giderme aktiviteleri belirlenmiştir. Yapılan test sonucunda her iki örnekte düşük konsantrasyonlarda yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Konsantrasyon yükseldikçe ekstrakt, pozitif kontrol grubuna göre daha düşük oranla olmakla birlikte artan antioksidan aktivite gösterirken, AgNP'lerin 100 µg/mL'den sonra serbest radikalleri inhibe etme yetenekleri azalmıştır. Literatürde Lunic vd. (2020), Yayıntaş ve Demir (2019) ve Yayıntaş vd. (2019) tarafından

yapılan çalışmalarda *H. cupressiforme* Hedw. türünün antioksidan etkisine vurgu yapmışlardır. Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarını destekler niteliktedir. *H. cupressiforme* Hedw. antioksidan özelliği nedeniyle hem ilaç hem de kozmetik sektöründe kullanılabilir potansiyel barındırmaktadır.

Agaroz jel elektroferiz yöntemi ile test edilen bütün konsantrasyonlarda gümüş nanopartiküllerinin hem hidrolitik hem de oksidatif olarak DNA'yı kesme yeteneği görülmekle beraber, lineer form görüntüsüne rastlanmadı. Ekstrakt ise; bütün konsantrasyonlarda DNA'yı kesmekle beraber nanopartiküle göre daha yüksek DNA kesme aktivitesi gösterdi ve lineer form görüntüleride elde edildi. Bu sonuçlar *H. cupressiforme* Hedw. üzerinde antiproliferatif etkilerin araştırıldığı Lunic vd. (2020) ve Yayıntaş vd. (2019) tarafından yapılan çalışmalarla örtüşmektedir.

Çalışma sonucunda elde ettiğimiz verilere göre *H. cupressiforme* Hedw. kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile elde edilen AgNP'ler özellikle antimikrobiyal ve antibiyofilm aktiviteleri ile ön plana çıkmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar doğrultusunda; üretim maliyetinin düşüklüğü, her koşulda üreme ve gelişme potansiyeli, bakım ve depolama için düşük emek ve düşük maliyet ihtiyacı ile ön plana çıkan, toksik ve mutajenik etkileri olmayan *H. cupressiforme* Hedw. kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen AgNP'ler; özellikle dirençli bakterilerin gelişimini durdurmak ve ya yok etmek için; hastalıkların tedavisi aşamasında ilaç, hastalıktan koruma süreçlerinde ise dezenfektan olarak tıbbi cihaz ve malzemelerde kullanılma potansiyeli barındırmaktadır.

H. cupressiforme Hedw. ekstraktının ihtiva ettiği fitobiyoleşiklerin belirlenmesi açısından ülkemizde yapılmış herhangi bir çalışmaya tarafımızca yapılan araştırmalarda rastlanmamıştır. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, *H. cupressiforme* Hedw. ekstraktının teröpatik etkileri bilinen toplam 18 fitobiyoleşikten oluştuğunu göstermesi bakımından ülkemizde bir ilk olması açısından önemlidir. Bununla beraber çalışmamız; *H. cupressiforme* Hedw. özellikle yüksek DNA kesme aktivitesinin ve antioksidan özelliklerinin görülmesine katkı sunmuştur. Bu sonuçlar *H. cupressiforme* Hedw. türünün, çağımızın en önemli ve tedavisi oldukça zor olan hastalıklarından birisi olan kanserle mücadelede yeni ve önemli bir potansiyel barındırdığını göstermektedir. Ayrıca yine virüslere karşı antiviral ajan olarak kullanılma potansiyeli barındırdığı da düşünülmektedir. *H. cupressiforme* Hedw.'nin

gelecekte yapılacak *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar sayesinde; kozmetik sektöründe yaşlanma karşıtı kremlerde, ilaç sanayisinde anitümör ve antiviral ajanlar olarak, yine virüslere karşıtı aşı olarak koruyucu sağlık hizmetlerinde kullanılmaya aday olduğunu düşünmekteyiz.



KAYNAKÇA

- Abay, G. ve Kamer, D., “Biyoeçitliliğimizin az bilinen bileşenleri bryofitler”, *III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi Kitapçığı*, 20-22 Mayıs 2010, Artvin Çoruh Üniversitesi, Artvin, 1115-1125.
- Abay, G., Karakoç, Ö. C., Tüfekçi, A. R., Koldaş, S., Demirtas, I. (2012). “Insecticidal activity of *Hypnum cupressiforme* (Bryophyta) against *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae)”. *Journal of Stored Products Research*, 51, 6-10.
- Abay, G., Uyar, G., Keçeli, T. ve Çetin, B. (2009). “Contributions to the bryoflora of the Kaçkar Mts (NE Anatolia, Turkey)”. *Phytologia Balcanica*, 15(3), 317-329.
- Akbaş, T. ve Özarlan, C., (2007), “Nanoteknoloji ve tarımda uygulama olanakları.” *Tarımsal Mekanizasyon 24. Ulusal Kongresi*, 5-6 Eylül 2007, Kahramanmaraş, 309-316.
- Alagić, S., Selekcija, I. S., Palic, R., Stojanovic, G., and Nikolic, M. (2002). “Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of the *oriental tobacco Yaka*”. *Journal of Essential Oil Research*, 14(3), 230-232.
- Alataş M., Ezer T., Kara R., Uyar G., 2012. “Abant Dağları’ndaki *Fagus orientalis* Lipsky. (Doğu Kayını) ağaçlarının epifitik briyofitleri”. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 14, 98-105.
- Altav, Y., Baş, A. L., Erci, F. ve Kocabaş, E. (2019). “Veteriner hekimlikte nanoteknoloji”. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12(2), 149-156.
- Altuner, E. M., Canli, K. ve Akata, I. (2014). “Antimicrobial screening of *Calliargonella cuspidata*, *Dicranum polysetum* and *Hypnum cupressiforme*”. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 8(1), 539-545.
- Ames, B. N. (1971). “The detection of chemical mutagens with enteric bacteria”. In *Chemical Mutagens*, 267-282. Springer, Boston, MA.
- Andrew, M. and Jayaraman, G. (2020). “Structural features of microbial exopolysaccharides in relation to their antioxidant activity”. *Carbohydrate research*, 487, 107881.

- Ansari, S. A., Khan, M. M., Ansari, M. O. and Cho, M. H. (2015). Silver nanoparticles and defect-induced visible light photocatalytic and photoelectrochemical performance of Ag@ m-TiO₂ nanocomposite”. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 141, 162-170.
- Aslanbaba B., Yılmaz S., Tonguç-Yayıntaş Ö., Özyurt D., Öztürk B. D. (2017).” Total phenol content and antioxidant activity of mosses from Yenice forest (Ida mountain)”. *Journal of Scientific Perspectives*. 1(1), 1-12.
- Aslanoğlu, M., ve Öge, N. (2005). “Voltammetric, UV absorption and viscometric studies of the interaction of norepinephrine with DNA”. *Turkish Journal of Chemistry*, 29(5), 477-485.
- Ateş, H. (2015). “Nano parçacıklar ve nano teller”. *Gazi University Journal of Science Part C: Design and Technology*, 3(1), 437-442.
- Aydın, B. (2018). Ferrosenil siklotetrafosfazen türevlerinin antimikrobiyal, antitüberküloz, antioksidan, sitotoksik aktiviteleri ve DNA ile etkileşimlerinin incelenmesi. Yayınlanmış Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Aydoğan, M., Çavuşoğlu, K., Yalçın, E. (2018). “Ames/Salmonella/Mikrozom Testi ile parabenin (p-hidroksibenzoik asit metil ester) mutajenik aktivitesinin araştırılması”. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 7(3), 181-188.
- Baek, J. and Lee, M. G. (2016). “Oxidative stress and antioxidant strategies in dermatology”. *Redox Report*, 21(4), 164-169.
- Balaraman, P., Balasubramanian, B., Kaliannan, D., Durai, M., Kamyab, H., Park, S., Chelliapan, S., Lee, C.T., Maluventhen, V. and Maruthupandian, A. (2020). “Phycosynthesis of silver nanoparticles mediated from *marine algae Sargassum myriocystum* and its potential biological and environmental applications”. *Waste and Biomass Valorization*, 11, 5255-5271.
- Baran, M. F., Saydut, A., Adil, U. (2019). “Gümüş nanomalzeme sentezi ve antimikrobiyal uygulamaları”. *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, 10(2), 689-695.

- Bardak, T., Bardak, S. ve Kayahan, K. (2016). “Orman endüstrisinde nanoteknoloji”. *Uluslararası Kültürel ve Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 2(2), 244-253.
- Başaran, S., Evlice, O., Benli, A., Yavuz, S., Çağatay, A., Öncül, O., Özsüt, H. ve Eraksoy, Ö. (2021). “Kafa tabanı osteomyelitleri ve uzun dönem Sonuçları”. *Klimik*, 34(2).
- Bedlovicova, Z., Strapac, I., Balaz, M. and Salayova, A. (2020). “A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles”. *Molecules*, 25(14), 3191.
- Belivermiş, M. ve Çotuk, Y. (2010). “Radioactivity measurements in moss (*Hypnum cupressiforme*) and lichen (*Cladonia rangiformis*) samples collected from Marmara region of Turkey”. *Journal of Environmental Radioactivity*, 101(11), 945-951.
- Beykaya, Ç. ve Çağlar A. (2016). “Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma”. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 3, 631 – 641
- Bhattarai, H. D., Paudel, B., Lee H. K., Oh, H. and Yim J.H. (2009). “In vitro antioxidant capacities of two Benzonaphthoxanthones: ohioensins F and G, isolated from the antarctic moss *Polytrichastrum alpinum*”. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 64(3-4), 197-200.
- Birand, H. (2021). *Aliç ağacı ile sohbetler*. (s.11-22). Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları: İstanbul.
- Bisvas, A., Bayer, I. S., Biris, A. S., Wang, T., Dervishi, E. and Faupel, F. (2012). “Advances in top–down and bottom–up surface nanofabrication: Techniques, applications & future prospects”. *Advances in colloid and interface science*, 170(1-2), 2-27. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2011.11.00>
- Blois, M. S. (1958). “Antioxidant determinations by the use of a free free radical”. *Nature*, (181), 1199- 1200.
- Brown, M. L., Aldrich, H. C. and Gauthier, J. J. (1995). “Relationship between glycocalyx and povidone-iodine resistance in *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) biofilms”. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(1), 187-193.

- Budak G.G. (2012). *Gıda sektöründe nanoteknoloji ve insan sağlığı*. Erişim tarihi: 08.01.2022 <https://www.foodelphi.com/gida-sektorunde-nanoteknoloji-uygulamalari-ve-riskler-doc-dr-gurer-g-budak/>
- Cai, J., Du, B., Kang, L. and Guo, J. (2020). “Antimicrobial compounds from *Athyrium sinense* damage the cell membrane of *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus*”. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 93, 76-83.
- Cao, H., Lai, Y., Bougouffa, S., Xu, Z. and Yan, A. (2017). “Comparative genome and transcriptome analysis reveals distinctive surface characteristics and unique physiological potentials of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853”. *BMC genomics*, 18, 1-17.
- Cappello, S. and Guglielmino, S. P. (2006). “Effects of growth temperature on polystyrene adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853”. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37, 205-207.
- Celep, Ş. (2007). Nanoteknoloji ve tekstilde uygulama alanları. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Cerqueira, M.D., Souza-Neta, L.C., Passos, M.G.V.M., Lima, E.O., Roque, N.F., Martins, D., Guedesc, M.L.S. and Cruz F.G., (2007). “Seasonal variation and antimicrobial activity of *Myrcia myrtifolia* essential oils”. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18(5), 998-1003.
- Chapman, J., Weir, E. and Regan, F. (2010). “Period four metal nanoparticles on the inhibition of biofouling”. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 78(2), 208-216.
- Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L., Atiken, R. and Watkins, R. (2008). “Applications and implications of nanotechnologies for the food sector”. *Food additives and contaminants*, 25(3), 241-258.
- Chen, H., Weiss, J. and Shahidi, F., (2006). “Nanotechnology in nutraceuticals and functional foods”. *Food Technology*, 60(3), 30-36.

- Chenal, A., Sotomayor-Perez, A. C. and Ladant, D. (2015). "Structure and function of RTX toxins". *The comprehensive sourcebook of bacterial protein toxins*, 4, 677-718.
- Cianciullo, P., Maresca, V., Sorbo, S. and Basile, A. (2022). "Antioxidant and Antibacterial Properties of Extracts and Bioactive Compounds in Bryophytes". *Applied Sciences*, 12(1), 160.
- Clunan, A., Rodine-Hardy, K., Hsueh, R., Kosal, M. E. and McManus, I. (2014). "Nanotechnology in a globalized world: strategic assessments of an emerging technology". Naval Postgraduate School Monterey. *CCC PASC Reports*, 6.
- CLSI, W. (2006). "Clinical and laboratory standards institute methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically". *Approve Standard M7-A7, CLSI, Seventh ed, PA, USA*.
- Coşkunçay, S. (2017). Gümüş nanopartiküllerin atkestanesi (*Aesculus hippocastanum*) yaprak özütü ile biyosentezi, biyolojik aktivite ve ilaç salınım özelliklerinin belirlenmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- Dalgıç, B. (2022). *Sorghum bicolor* var. *technicum* tohum ekstraktı ile gümüş nanopartiküllerinin yeşil sentezi, karakterizasyonu ve biyolojik aktivitelerinin araştırılması. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale.
- Demirbilek, M. E. (2015). "Tarımda ve gıdada nanoteknoloji". *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 15.
- Dıanı, M., Arıafar, M. N. ve Akçelik, N. (2016). "İnsan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturan enterokokal biyofilm yapısının doğası". *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 73(1), 71-80.
- Dikkaya, M. ve AYTEKİN, İ. (2019). "Bilgi iletişim teknolojileri ve dijital ekonomi: Avrupa Birliği ve Türkiye arasında bir karşılaştırma". *Üçüncü Sektör Sosyal Ekonomi Dergisi*, 54(3), 1279-1299.

- Dikpınar T. (2017). *Ferulago trachycarpa* boiss. bitkisinden antimikrobiyal aktivite yönlendirmeli etken madde izolasyonu. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Marmara Üniversitesi, İstanbul.
- Dulger, B., Yayintas, Ö., Gonuz, A. (2005). "Antimicrobial activity of some mosses from Turkey". *Fitoterapia*, 76, 730-732.
- Duncan, T. V. (2011). "Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors". *Journal of colloid and interface science*, 363(1), 1-24.
- Ediz, E. (2018). *Phaseolus vulgaris* l.'den gümüş nanopartiküllerin biyosentezi ve antifungal etkinliklerinin incelenmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Ankara
- Elibol, B. (2010). Bazı akrokarpik karayosunlarının antifungal ve antibakteriyal etkilerinin belirlenmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde Üniversitesi, Niğde.
- Eloff, J. N. (1998). "Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants?". *Journal of Ethnopharmacology*, 60(1), 1-8.
- Erdağ, A. & Kürschner, H. (2017). "A reference list of Turkish bryophytes. The state of knowledge from 1829 until 2017". *Anatolian Bryology*, 3(2) , 81-102.
- Erdağ, A., Yayintaş, A. (1999). "A contribution to the moss flora of Western Turkey: moss flora of the Kaz Mountain (Balıkesir, Turkey)". *Turkish Journal of Botany*, 23(2), 117-126.
- Eren, A. ve Baran, M. F. (2019). "Fıstık (*Pistacia vera* L.) yaprağından gümüş nanopartikül (AgNP)'lerin sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesi". *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 6(2), 165-173.
- Eren, E. (2011). Bazı soğansız bitkilerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Sakarya Üniversitesi, Sakarya.

- Ersöz, M., Işıtan, A. ve Balaban. M. (ed.) (2018). *Nanoteknoloji 1*. Bilal Ofset Matbaacılık, Denizli.
- Ertürk, Ö., Sahin, H., Ertürk, E. Y., Hotaman, H. E., Koz, B. ve Özdemir, Ö. (2015). “The antimicrobial and antioxidant activities of extracts obtained from some moss species in Turkey”. *Herba Polonica*, 61(4), 52-65.
- Eryılmaz, M., Kart, D., ve Gürpınar, S. S. (2019). “Vajinal floradan izole edilen *Lactobacillus* sp. metabolitlerinin antibiyofilm aktivitelerinin araştırılması”. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 49(3), 169-174.
- Eser, N., (2019). Düzlemsel [4-(dialkilaminobenziliden)hidrazinkarbotiyoamid] 2cu(II) nötral kompleksinin DNA ile etkileşimlerinin incelenmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bülent Ecevit Üniversitesi, Zonguldak.
- Esmeray, E. ve Özata, O. (2019). “Nanopartiküllerin Çevre Mühendisliğinde Kullanımı ve Temel Laboratuvar Malzemeleri ile Gümüş Nanopartikül (AgNPs) Sentezi”. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 16, 521-527.
- Feynman, R. (1959). *There's Plenty of Room at the Bottom*. Erişim Tarihi: 10.06.2022 <http://www.zyvex.com/nanotech/feynman.html>
- Frahm, J. P. (2009). “A preliminary study of the infraspecific taxa of *Hypnum cupressiforme* in Europe.” *Archive for Bryology*, 40, 1-10.
- Filipponi, L. Ve Sutherland, D. (2012). *Nanotechnologies: principles, applications, implications and hands-on activities: A compendium for educators*. Luxembourg: Publications Office of the European Union.
- Franco-Molina, M. A., Mendoza-Gamboa, E., Sierra-Rivera, C. A., Gómez-Flores, R. A., Zapata-Benavides, P., Castillo-Tello, P., Alcocer-Gonzalez, J. M., Miranda-Hernandez, D. F., Tamez-Guerra, R.S. and Rodríguez-Padilla, C. (2010). Antitumor activity of colloidal silver on MCF-7 human breast cancer cells. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 29(1), 1-7
- Freestone, I., Meeks, N., Sax, M., & Higgitt, C. (2007). “The Lycurgus cup a roman nanotechnology”. *Gold Bulletin*, 40, 270-277.

- Gaurav, B., Rathore, K. S. and Shivom, S. (2018). "Phytochemical screening and total phenolic content in the extract of bryophyte *Plagiochasma appendiculatum* and *Dicranum scoparium*". *Environment Conservation Journal*, 19(1-2), 175–181.
- Gey, K. F. (1993). "Prospects for the prevention of free radical disease, regarding cancer and cardiovascular disease". *British Medical Bulletin*, 49(3), 679-699.
- Glime, J. M. (2017). *Bryophyte Ecology. Physiological Ecology*. Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. <https://digitalcommons.mtu.edu/oabooks/4>
- Gökçe, S. (2018). Aflatoksinlerin DNA ile etkileşimlerinin elektrokimyasal DNA sensörleri ile incelenmesi. Yayınlanmış Doktora Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas.
- Greeshma, G. M., Manoj, G. S. and Murugan, K. (2017). "Insight into pharmaceutical importance of bryophytes". *Kongunadu Research Journal*, 4(2), 84-88.
- Gürsu, G. (2012). Karasu (Sakarya) karayosunu (musci) florası. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Hammamchi, H. (2019). Biyolojik yollar ile sentezlenen organik/inorganik nanopartiküllerin bioaktivitelerinin belirlenmesi ve tedavi amaçlı kullanımları. Yayınlanmış Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara
- Hatipoğlu, A. (2022). "Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi ve Bazı Gıda Patojenleri Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri". *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26 (1).
- Huzur, A. (2017). Bazı heterosiklik kaliksaren bileşiklerinin yapıdaki sentezi ve spektrometrik metodla DNA ile etkileşimleri. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Selçuk Üniversitesi, Konya.
- Ivanisova, E., Tokár, M., Mocko, K., Bojňanská, T., Marecek, J., Mendelova, A. (2021). "Antioxidant activity of selected plant products". *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 1692-1703.

- Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M.A., Hussain, T., Ali, M., Rafiq, M., Kamil, M. A. (2018). "Bacterial biofilm and associated infections". *J Chin Med Assoc.* 81(1):7-11. doi: 10.1016/j.jcma.2017.07.012.
- Kale, M. V. (2015). "GC-MS analysis of phytochemicals on whole plant extracts *Adiantum capillus-veneris* L.-a potential folklore medicinal plant". *Res J Life Sci Bioinfor Pharmaceu Chem Sci*, 2, 117.
- Kaptanoğlu, A. F. (2013). "Kozmetikler ve nanoteknoloji". *Türkiye Klinikleri J Cosm Dermatol-Special Topics.* 6(4):59-66
- Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş. (2016). "Serbest radikaller". *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1).
- Karaca, B., Akata, I., Cihan, A. Ç. (2017). "*Lentinus edodes*, *Lactarius delicious* ve *Ganoderma lucidum*'un antibiyofilm ve antimikrobiyal etkinlikleri". *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 17(4), 660-668. Doi:10.17475/kastorman.341971
- Karanki, E. (2013). Ülkemizde yaygın olarak kullanılan bazı baharatların antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde Üniversitesi, Niğde.
- Karnani, R. L. and Chowdhary, A. (2013). "Biosynthesis of silver nanoparticle by eco-friendly method". *Indian J. Nanosci*, 1(1), 25-31.
- Karol, S., Suludere, Z., Ayvalı, C. (1998) Biyoloji terimleri sözlüğü. Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu. Türk Dil Kurumu, 699.
- Kasthuri, J., Veerapandian, S., Rajendiran, N. (2009). "Biological synthesis of silver and gold nanoparticles using apiin as reducing agent". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 68(1), 55-60.

- Kathiervelu, S. S. (2003). “Applications of nanotechnology in fiber finishing”. *Synth. Fibres*, 32, 20-22
- Kawasaki, E. S. and Player, A. (2005). “Nanotechnology, nanomedicine, and the development of new, effective therapies for cancer”. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 1(2), 101-109.
- Khanna, V. K. (2016). “Bottom-up nanofabrication”. *Integrated Nanoelectronics: Nanoscale CMOS, Post-CMOS and Allied Nanotechnologies*, 397-417.
- Kıyar, Ş. (2020). Gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel etkinliğinde nanopartikül boyut etkisi. Yayınlanmış Lisans Bitirme Tezi, Fen Fakültesi, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya.
- Kosalı, O. ve Kara. M. (2019). “Savunma sanayinde nanoteknoloji” UTUFEM 19 Uluslararası Türk Dünyası Fen ve Mühendislik Kongresi, 17-18 Haziran 2019, Ömer Halisdemir Üniversitesi, Niğde. 118
- Kung, J. C., Chen, Y. J., Chiang, Y. C., Lee, C. L., Yang-Wang, Y. T., Hung, C. C., Shih, C. J. (2018). “Antibacterial activity of silver nanoparticle (AgNP) confined mesoporous structured bioactive powder against *Enterococcus faecalis* infecting root canal systems”. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 502, 62-70. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2018.06.030>
- Leone, S., Molinaro, A., Alfieri, F., Cafaro, V., Lanzetta, R., Di Donato, A., Parrilli, M. (2006). “The biofilm matrix of *Pseudomonas sp.* OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides”. *Carbohydrate research*, 341(14), 2456-2461.
- Lunic, T. M., Mandic, M. R., Oalde Pavlovic, M. M., Sabovljevic, A. D., Sabovljevic, M. S., Nedeljkovic, B. D., Bozic, B. D. (2022). “The influence of seasonality on secondary metabolite profiles and neuroprotective activities of moss *Hypnum cupressiforme* extracts: in vitro and in silico study”. *Plants*, 11(1), 123.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M. (2010). *Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi*. Cumhuriyet Çökmüş (çev.). Palme Yayınevi: Ankara.

- Mahajan, Y. R. (2011). "Nanotechnology-based solutions for oil spills". *Nanotechnol Insights* 2, 1-19
- Mahesh B., ve Satish S., (2008). "Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant IJSER and human pathogens". *World J. Agric. Sci.*, 4: 839-843.
- Makarov, V. V., Makarova, S. S., Love, A. J., Sinitsyna, O. V., Dudnik, A. O., Yaminsky, I. V., Kalinina, N. O. (2014). "Biosynthesis of stable iron oxide nanoparticles in aqueous extracts of *Hordeum vulgare* and *Rumex acetosa* plants". *Langmuir*, 30(20), 5982-5988.
- Marini, M., Falqui, A., Moretti, M., Limongi, T., Allione, M., Genovese, A., Di Fabrizio, E. (2015). "The structure of DNA by direct imaging". *Science advances*, 1(7), e1500734.
- Maron, D. R. ve Ames, B. N. (1983). "Revised methods for the salmonella mutagenicity test". *Mutation Research*, 113, 173-215.
- McGinty, D., Letizia, C. S., & Api, A. M. (2010). "Fragrance material review on 2-hexadecen-1-ol, 3, 7, 11, 15-tetramethyl". *Food and chemical toxicology*, 48, 101-102.
- Menceloğlu, Y. Z., Kırca M. B., (2008). "Uluslararası rekabet stratejileri: nanoteknoloji ve Türkiye", *TÜSİAD Yayınları*, TÜSİAD-T/2008-11/474, 202.
- Meydani, M., Hernandez-Rodriguez, J., Youdim, M. B., Gutierrez-Robledo, L. M. (2001). "Antioxidants and cognitive function/Discussion/Comment". *Nutrition reviews*, 59(8), 75.
- Micke, A., Donini, B. and Maluszynski, M. (1987). "Induced mutations for crop improvement -a review". *Trop. Agric.* 64(4).
- Mishra, S., Chauhan, G., Verma, S., Singh, U. (2022). "The emergence of nanotechnology in mitigating petroleum oil spills". *Marine Pollution Bulletin*, 178, 113609.
- Monopoli, M. P., Aberg, C., Salvati, A., Dawson, K. A. (2012). "Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials". *Nature Nanotechnology*, 7(12), 779-786. <https://doi.org/10.1038/nnano.2012.207>

- Moore, M. N. (2006). "Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment?". *Environment International*, 32(8), 967-976.
- Mortelmans, K. and Zeiger E. (2000). "The Ames salmonella/microsome mutagenicity assay". *Mutation Research*, 455, 29-60.
- Murty, B. S., Shankar, P., Raj, B., Rath, B. B., Murday, J. (2013). Textbook of Nanoscience and Nanotechnology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <http://doi.org/10.1007/978-3-642-28030-6>.
- Nartop, P. (2019). "Yeşil sentez yolu ile gümüş nanopartiküllerin elde edilmesinde bitkisel ekstraktlerin indirgeyici ajan olarak kullanılması". *Eskişehir Teknik Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, 8(1), 50-60 .
- Oğuz, S., Omurtag, G. Z., Arıcıoğlu, F. Şardaş, S. (2014). "Mutajenik-karsinojenik etkinin ames testi ile araştırılması". *Clinical and Experimental Health Sciences*, 3(2), 75-82
- Okan, O. T., Varlıbaş, H., Öz, M. ve Deniz, İ. (2013). "Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir odun dışı bazı bitkisel ürünler". *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 13(1), 48-59 .7
- Oksal, H. D., ve Örs, F. (2017). "Bitki patojeni virüslerin nanoteknolojide kullanımı". *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(2), 594-604.
- Olukpınar-Genç, B. (2018). Farklı periodontitis tiplerinden izole edilen *Enterococcus faecalis* suşlarında vankomisin direnç geninin araştırılması. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Marmara Üniversitesi, İstanbul.
- Onbasli, D., Yuvalı, Celik, G., Altuner, E.M., Aslim, B. (2019). "Investigation of pharmacological properties of bryophyte *Hypnum andoi* from Turkey". *Int. Pharm. Nat. Med.* 7(1), 10-14.
- Özaltay, A. Antibakteriyel etkili ofloksasinin multispektroskopik olarak dna ile etkileşimi ve moleküler kenetlenme çalışmaları. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş.

- Özmen-Süzme, N. (2016). Mikrobiyolojik disk difüzyon yöntemi ile elde edilen görüntülerin gerçek zamanlı görüntü işleme teknikleri ile analizi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocatepe Üniversitesi, Afyon.
- Öztürk U. S. (2000) Bilecik ve yöresi karayosunları (musci) türleri üzerine taksonomik ve morfolojik çalışmalar. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir
- Öztürk, D. N. Ve Karaca, İ. R. (2016). “Çenelerde görülen osteomyelit”. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*. 164-169
- Parham, S., Kharazi, A. Z., Bakhsheshi-Rad, H. R., Nur, H., Ismail, A. F., Sharif, S., RamaKrishna S., Berto, F. (2020). “Antioxidant, antimicrobial and antiviral properties of herbal materials”. *Antioxidants*, 9(12), 1309. doi: 10.3390/antiox9121309. PMID: 33371338;
- Patra, K. and Gouda S. (2013). “Application of nanotechnology in textile engineering: An overview”. *Journal of engineering and technology research*, 5(5), 104-111.
- Pham-Huy, L. A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). “Free radicals, antioxidants in disease and health”. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.
- Pisoschi, A. M. and Negulescu, G. P. (2011). “Methods for total antioxidant activity determination: a review”. *Biochem Anal Biochem*, 1(1), 106.
- Precedent Research (2022). Nanotechnology Market (By Product: Nanotubes, Nanocomposites, Nano Clays, Nano Materials, Nano Particles, Nano Devices, Nano Tools, Others; By Application: Automotive, Medical, Electronics, Aerospace, Energy & Power, Paints and Coatings, Others) - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends, Regional Outlook, and Forecast 2022 – 2030. Erişim adresi <https://www.precedenceresearch.com/nanotechnology-market>
- Prentice, T. (2008). “Health, history, and hard choices: Funding dilemmas in a fast-changing world”. *Nonprofit and voluntary sector quarterly*, 37(1), 63-75.

- Provenzano, F., Sanchez, J. L., Rao, E., Santonocito, R., Ditta, L. A., Borrás Linares, I., Passantino, R., Campisi, R., Dia, M. G., Costa, M. A., Segura-Carretero, A., Biagio, P. L. S. and Giacomazza, D. (2019). "Water extract of *Cryphaea heteromalla* (Hedw.) D. Mohr bryophyte as a natural powerful source of biologically active compounds". *International Journal of Molecular Sciences*, 20(22), 5560.
- Qiao, X., Ma, Z. Y., Xie, C. Z., Xue, F., Zhang, Y. W., Xu, J. Y., Qiang, Z. Y., Lou, J. S., Chen, G. J., Yang, S. P. (2011). "Study on potential antitumor mechanism of a novel Schiff Base copper (II) complex: synthesis, crystal structure, DNA binding, cytotoxicity and apoptosis induction activity". *Journal of inorganic biochemistry*, 105(5), 728-737.
- Rai, M., Yadav, A., Gade, A. (2009). "Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials". *Biotechnology advances*, 27(1), 76-83.
- Rajakumar, G., Gomathi, T., Thiruvengadam, M., Rajeswari, V. D., Kalpana, V. N., Chung, I. M. (2017). "Evaluation of anti-cholinesterase, antibacterial and cytotoxic activities of green synthesized silver nanoparticles using from *Millettia pinnata* flower extract". *Microbial pathogenesis*, 103, 123-128.
- Rajcic, M. V., Cosic, M. V., Tosti, T. B., Misic, D. M., Sabovljevic, A. D., Sabovljevic, M. S., Vujcic, M. M. (2023). "An insight into seasonal changes of carbohydrates and phenolic compounds within the moss *Polytrichum formosum* (Polytrichaceae)". *Botanica Serbica*, 47(1), 125-133.
- Rajeshkumar, S., Kannan, C., Annadurai, G. (2012). "Green synthesis of silver nanoparticles using marine brown algae *Turbinaria conoides* and its antibacterial activity". *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3(4), 502-510.
- Rao, A. L., Bharani, M., Pallavi, V. (2006). "Role of antioxidants and free radicals in health and disease". *Adv Pharmacol Toxicol*. 7, 29-38.
- Sağdıç, O. (2003). "Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols". *LWT-Food Science and Technology*, 36(5), 467-473.

- Sakaryalı, D., Koçak, A. A., Başustaoğlu, A. C. (2022). “*Enterococcus faecalis* ve Diş Hekimliğindeki Yeri”. *Selcuk Dental Journal*, 9(3), 936-946.
- Sarı, S. (2014). Bazı yeni 2-sübstitüe benzotiyazol türevlerinin ames test sistemi ile mutajenik etkilerinin belirlenmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Sathyapriya, R. and Vishveshwara, S. (2004). “Interaction of DNA with clusters of amino acids in proteins”. *Nucleic acids research*, 32(14), 4109-4118. doi: 10.1093/nar/gkh733.
- Savaroğlu, F., İşçen, C. F., Vatan A. P. Ö., Kabadere, S., İlhan, S., Uyar, R. (2011). “Determination of antimicrobial and antiproliferative activities of the aquatic moss *Fontinalis antipyretica* Hedw.”. *Turkish Journal of Biology*. 35, 361-369
- Sawhney, A. P. S., Condon, B., Singh, K. V., Pang, S. S., Li, G., Hui, D. (2008). “Modern applications of nanotechnology in textiles”. *Textile Research Journal*, 78(8), 731-739.
- Schulze, A., Mitterer, F., Pombo, J. P., Schild, S. (2021). “Biofilms by bacterial human pathogens: Clinical relevance-development, composition and regulation-therapeutical strategies”. *Microbial Cell*, 8(2), 28.
- Schwarzschild, B. (1996). “Nobel chemistry prize goes to Curl, Kroto and Smalley for discovering fullerenes”. *Physics Today*, 49(12), 19–21.
- Sharma, R., Mishra, M., Gupta, B., Parsania, C., Singla-Pareek, S. L., Pareek, A. (2015). “De novo assembly and characterization of stress transcriptome in a salinity-tolerant variety CS52 of *Brassica juncea*”. *PloS one*, 10(5), e0126783. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126783>
- Sığırcı, M. (2021) Bilgisayar: kim ne için icat etti? <https://bilimgenc.tubitak.gov.tr/makale/bilgisayar-kim-ne-zaman-icat-etti> (Erişim tarihi: 17.10.2022)

- Simen, R. (2019). Sefaklor ve bazı özel kombinasyonlarının in vitro mutajenik etkilerinin incelenmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Sütçü İmam Üniversitesi, Kahamanmaraş.
- Singh, M., Singh, S., Prasad, S., Gambhir, I. S. (2008). “Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles”. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 3(3), 115-122.
- Sirajuddin, M., Ali, S., Badshah, A. (2013). “Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry”. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 124, 1-19.
- Sujana, N., Ramanathan, S., Vimala, V., Pemaiah, B. (2012). “Antitumour potential of *Passiflora incarnata* against ehrlich ascites carcinoma”. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 4(5), 10-13.
- Süfer, Ö. ve Karakaya, S. (2011). “Gıda endüstrisi ve nanoteknoloji: durum tespiti ve gelecek”. *Akademik Gıda*, 9(6), 81-88.
- Sümerkan, B. ve Gökahmetoğlu, S. (1998). “MIC, MBC testleri, rutindeki önemi ve uygulamaları”. *Flora*, 3(2), 91-95.
- Sürengil, G. ve Kılınç, B., 2011. “Gıda ambalaj sektöründe nanoteknolojik uygulamalar ve su ürünleri açısından önemi”. *Journal of Fisheries Sciences* 5(4): 317-325.
- Tartis M. (2009) “Nanotechnology in nuclearmedicine”. *The University of New Mexico Health Sciences*, 14(7), 2-39
- Tayfa, Z. (2010). Formik asit'in insan lenfosit kültüründe in vitro mutajenik etkisinin araştırılması. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kafkas Üniversitesi, Kars.
- Tegart, G., 2003. “Nanotechnology: The Technology for the 21th Century”. *The Second International Conference on Technology Foresight*, 27-28 February 2003, Tokyo.

- Travers, A., & Muskhelishvili, G. (2015). "DNA structure and function". *The FEBS journal*, 282(12), 2279-2295.
- Türker, H. ve Türkyılmaz-Ünal, B. (2020). "Potansiyel antioksidan kaynağı olarak bryofitler". *Anatolian Bryology*, 6(2), 129-137
- Tüylek, Z. (2019). "Nanotıp alanında kullanılan sistemler". *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 28(2), 119-129.
- Ulusal Bilim ve Teknoloji Politikaları 2003-2023 Strateji Belgesi*. (2004). Ankara: Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK). (Erişim tarihi: 11.11.2022) https://www.tubitak.gov.tr/tubitak_content_files/vizyon2023/Vizyon2023_Strateji_Belgesi.pdf 11.11.2022
- Ulutepe, Ç. (2010). Üretim İşletmelerinde Nanoteknoloji Kullanımı ve Üretim Maliyetleri Üzerine Etkileri. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Marmara Üniversitesi, İstanbul.
- Uslu, H., Şengül, G., Aktaş, O. (2011). "Proteus vulgaris'in neden olduğu nadir bir kranial osteomyelit olgusu". *Balkan Medical Journal*, 2011(1), 113-115 . DOI: 10.5174/tutfd.2009.02167.1
- Uyanıkgil, E. Ö., Salmanoğlu, D. S. (2020). "Metalik nanopartiküllerin hedeflendirilmesi". *Ege Tıp Dergisi*, 59(1), 71-81.
- Uyar, G., ve Çetin, B. (2004). "A newcheck-list of themosses of Turkey". *Journal of Bryology*. 26(3):203–220.
- Üçüncü, O., Cansu, T. B., Özdemir, T., Karapğlu, Ş. A., ve Yaylı, N. (2010). "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of mosses (*Tortula muralis* Hedw., *Homalothecium lutescens* (Hedw.) H. Rob., *Hypnum cupressiforme* Hedw., and *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb.) from Turkey". *Turkish Journal of Chemistry*, 34(5), 825-834.

- Ülgen, H. (2019). Türkiye’de yetiştirilen ketencik bitkisinin [*camelina sativa* (L.) crantz] antioksidan, antimikrobiyal, antifungal, antibiyofilm özelliklerinin ve tohum morfolojisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bartın Üniversitesi, Bartın.
- Vanderpoorten, A., and Goffinet, B. (2009). *Introduction to bryophytes*. Cambridge University Press: Cambridge.
- Veljic, M., Duric, A., Sokovic, M., Ciic, A., Glamoclija, J., Marin, P. D. (2009) “Antimicrobial activity of methanol extracts of *Fontinalis antipyretica*, *Hypnum cupressiforme* and *Ctenidium molluscum*”. *Archives of Biological Sciences*, 61 (2): 225-229.
- Velusamy, P., Kumar, G. V., Jeyanthi, V., Das, J., Pachaiappan, R. (2016). “Bio-inspired green nanoparticles: synthesis, mechanism, and antibacterial application”. *Toxicological Research*, 32, 95-102.
- Vieira, A. J., Beserra, F. P., Souza, M. C., Totti, B. M., Rozza, A. L. (2018). “Limonene: Aroma of innovation in health and disease”. *Chemico-Biological Interactions*, 283, 97-106.
- Vollar, M., Gyovai, A., Szucs, P., Zupk, I., Marschall, M., C. Löffler, B., Berdi, P., Vecsernyes, A., Csorba, A., L. Busa, E., Urban, E., & Csupor, D. (2018). “Antiproliferative and antimicrobial activities of selected bryophytes”. *Molecules*, 23, 1520-1535
- Whatmore, R. W. (2006). “Nanotechnology-what is it? Should we be worried?”. *Occupational Medicine*, 56(5), 295-299.
- Wilkins, M., Hall-Stoodley, L., Allan, R. N., Faust, S. N. (2014). “New approaches to the treatment of biofilm-related infections”. *Journal of Infection*, 69, S47- S52.
- Wu, D., Fan, W., Kishen, A., Gutmann, J. L., Fan, B. (2014). “Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm”. *Journal of endodontics*, 40(2), 285-290.

- Xian, Y. F., Hu, Z., Ip, S. P., Chen, J. N., Su, Z. R., Lai, X. P. and Lin, Z. X. (2018). Comparison of the anti-inflammatory effects of *Sinapis alba* and *Brassica juncea* in mouse models of inflammation. *Phytomedicine*, 50, 196-204.
- Xie, C. F. and Lou, H. X. (2009). "Secondary metabolites in bryophytes: An ecological aspect". *Chemistry and Biodiversity*. 6(3), 303-312
- Yayıntaş, Ö. ve İrkin, L. (2018). "Bryophytes as hidden treasure". *Journal of Scientific Perspectives*, 2(1), 71-82
- Yayıntaş, A., Aysel, V., Güner, H., Tonguç, Ö. (1994). "Bozcaada'nın karayosunları florası". *Turkish Journal of Botany*, 18, 29-32.
- Yayıntaş, Ö. ve Demir, N. (2019). "Seasonal changes of antioxidant activity and DNA damage protection potential of *Fontinalis antipyretica* Hedw. and *Hypnum cupressiforme* Hedw.". *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(9), 6978-6987.
- Yayıntaş, Ö., Yılmaz, S. ve Sökmen, M. (2019). "Determination of antioxidant, antimicrobial and antitumor activity of bryophytes from Mount Ida (Canakkale, Turkey)". *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 18(2), 395-401.
- Yayıntaş, Ö., Cay, S., Engin, M. S., Ucarlı, O., Sağlıkoglu, G., Yılmaz, S. (2022). "Voltammetric detection of biosorption of Co, Ni, Zn, Cd, Pb, and Cu on *Hypnum cupressiforme* Hedw. in aquatic media". *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 153(5-6), 419-425.
- Yazıcı, E. (2009). Ultrasonik sprey piroliz tekniğiyle küresel gümüş nano-partiküllerinin üretimi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- Yıldız, N. (2011). Gümüş nanopartiküllerin liken özü ile biyosentezi. Ankara Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi, Ankara.
- Yıldız, Ö. (2014). Mastitisli sığır sütlerinden izole edilen enterococcus faecalis suşlarının virülens genlerinin incelenmesi, Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.

Zermheri, F. (2011). Nonilfenol ve bisfenol a'nın ames/salmonella/mikrozom test yöntemi kullanılarak mutajenik etkisinin belirlenmesi. Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kocatepe Üniversitesi, Afyon.

Zhang, L., Gu, F. X., Chan, J. M., Wang, A. Z., Langer, R. S., and Farokhzad, O. C. (2008). "Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments". *Clinical pharmacology & therapeutics*, 83(5), 761-769.



