

## Fesleğenden (*Ocimum basilicum L.*) Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin İnsan Akciğer Kanseri Hücrelerinde Antikanser Aktivitesinin Araştırılması

Hilal YAVUZ<sup>1\*</sup>, Münevver Müge ÇAĞAL<sup>2</sup>, Hilal ÇALIK<sup>3</sup>, Rabia ÇAKIR KOÇ<sup>4</sup>, Musa TÜRKER<sup>5</sup>

<sup>1-2-3</sup>Bursa Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 16310, Bursa

<sup>4,5</sup>Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 34220, İstanbul

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0003-3645-2167>

<sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-1786-1216>

<sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-9509-7866>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0002-8545-9878>

<sup>5</sup><https://orcid.org/0000-0003-3195-1119>

\*Sorumlu yazar: hillyvz16@gmail.com

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihiçesi:

Geliş tarihi: 21.11.2022

Kabul tarihi: 26.03.2023

Online Yayınlanma: 04.12.2023

#### Anahtar Kelimeler:

*Ocimum basilicum L.*

Gümüş nanopartikül

Yeşil sentez

Akciğer kanseri

Antikanser aktivite

### ÖZ

Nanopartiküller (NP) pek çok alanda etkili bir biçimde kullanılmaktadır. Sentezinde fiziksel ve kimyasal yöntemlerin yanı sıra günümüzde oldukça göze çarpan biyolojik yöntemler de mevcuttur. Yeşil sentez olarak da adlandırılan bu metotta insana ve çevreye zarar vermeyecek bileşenler kullanıldığından çalışmada yeşil sentez metodu tercih edilmiştir. Fesleğenin (*Ocimum basilicum L.*) yaprak ve baharatının sulu ekstraktları farklı konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Yapılan tekrarlı çalışmalardan elde edilen NP'lerin boyutları incelenmiştir. Dinamik Işık Saçılması (DLS) yöntemi ile boyut analizi sonucunda yapraktan 138,3 nm, baharattan 188,6 nm büyüklüğünde gümüş nanopartiküller (AgNP) elde edilmiştir. Çalışma sırasında sentezlenen tüm AgNP'lerin A549 hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi incelendiğinde, 2,5 ve 3,25 mg mL<sup>-1</sup> konsantrasyonları aralığında, boyutu 138,3 nm olan, bekletilmeden kullanılan yaprak fesleğen AgNP'lerinin en fazla sitotoksik etki sağladığı görülmüştür.

## Investigation of Anticancer Activity of Silver Nanoparticles Synthesized from Basil (*Ocimum basilicum L.*) in Human Lung Cancer Cells

### Research Article

#### Article History:

Received: 21.11.2022

Accepted: 26.03.2023

Published online: 04.12.2023

#### Keywords:

*Ocimum basilicum L.*

Silver nanoparticle

Green synthesis

Lung cancer

Anticancer activity

### ABSTRACT

Nanoparticles (NP) are used effectively in many fields. In addition to physical and chemical methods in its synthesis, there are also biological methods that are quite outstanding today. In this method, which is also called green synthesis, the green synthesis method was preferred in the study, since components that do not harm humans and the environment are used. Aqueous extracts of the leaf and spice of basil (*Ocimum basilicum L.*) were used at different concentrations. The sizes of NPs obtained from repeated studies were examined. As a result of dimensional analysis with Dynamic Light Scattering (DLS) method, silver nanoparticles (AgNP) with a size of 138,3 nm from the leaf and 188,6 nm from the spice were obtained. When the cytotoxic effect of various AgNPs synthesized during the study was examined on A549 cells, it was seen that the AgNPs of basil leaves, which were used without waiting, with a size of 138,3 nm, in the concentration range of 2,5 and 3,25 mg mL<sup>-1</sup>, provided the most cytotoxic effect.

**To Cite:** Yavuz H., Çağal MM., Çalık H., Koç RÇ., Türker M. Fesleğenden (*Ocimum basilicum L.*) Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin İnsan Akciğer Kanseri Hücrelerinde Antikanser Aktivitesinin Araştırılması. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2023; 6(3): 2234-2246.

## 1.Giriş

Nanoteknoloji, bilim ve teknolojinin uygulamalı alanlarından ilham alır ve mevcut teknolojilerdeki yeniliklerden ortaya çıkan disiplinler arası bir araştırma alanıdır (Zia ve ark., 2016; Muhammad ve ark., 2019). Kimya, fizik, mühendislik ve biyoloji gibi çeşitli disiplinleri, ayrıca atomlar ve moleküller gibi küçük parçacıkları manipüle etme stratejilerini kullanır (Farias ve ark., 2014). Nanoteknoloji, çeşitli nanopartiküllerin (NP) sentezi ve geliştirilmesi ile ilgilenir (Elgorban ve ark., 2016). Nanopartiküller ise 10 ila 100 nm arasında değişen çaplara sahip, mikroskobik boyutlu parçacıklardır (Farias ve ark., 2014). Terapötik ajanları özel bir organ, hücre veya dokuda hedeflenen bir bölgeye güvenli bir şekilde taşımak için potansiyel adaydırlar. Bunlar, ilaç dağıtım ve tutma ile ilgili sorunları büyük ölçüde azaltabilen yeni bileşiklerdir. (Iravani, 2011). NP'ler uzun süredir fiziksel ve kimyasal olarak üretilmiştir, (Nadeem ve ark., 2017) ancak son gelişmeler metal NP'lerin üretiminde mikroorganizmaların ve biyolojik sistemlerin kritik rolünü göstermektedir (Manikandan ve ark., 2021). Bu alanda organizmaların kullanımı, artan başarıları ve NP'lerin oluşum kolaylıkları nedeniyle hızla gelişmektedir. Ayrıca, metal NP'lerin biyosentezi, ağır, toksik ve pahalı kimyasallar kullanılmadan uygulanan çevreye duyarlı bir yöntemdir. Çevreye herhangi bir zararı bulunmamasından dolayı bu sentez yöntemi yeşil kimya alanına girmektedir (Singh ve Raja, 2011). Biyolojik yöntemler arasında NP'lerin bitki bazlı biyosentezi, bitkilerin çeşitli doğası ve kolay bulunabilirliği nedeniyle altın bir teknik olarak kabul edilir (Ankamwar ve ark., 2005). Bitkilerin içerisindeki fitokimyasallar, NP'lerin biyosentezinde stabilize edici ve indirgeyici ajanlar olarak kullanılır (Siddiquah ve ark., 2018). Ayrıca gümüşün (Ag) antibakteriyel etkiye sahip olduğu literatürde mevcuttur (Dehaghi ve ark., 2014). Üretilen NP'nin uygulanan hücre ortamında aynı zamanda antibakteriyel etkiye de sahip olması istendiğinden çalışmada Ag metali seçilmiştir.

*Ocimum basilicum L.* (fesleğen) Lamiaceae familyasına ait aromatik bir tıbbi bitkidir. Yaygın farmasötik potansiyeli sayesinde, yaprak ve çiçeklerinden elde edilen esansiyel yağları nedeniyle oldukça değerlidir. Önemli bir uçucu yağ bitkisi olmasından dolayı da birçok ülkede ticari olarak yetiştirilmektedir (Pedro ve ark., 2017). Fenolik bileşikler ve polifenoller dahil olmak üzere diğer doğal bileşiklerinden kaynaklanan karakteristik bir kokuya ve keskin bir tada sahiptir (Filip, 2017). Fesleğen, böcek kovucu, antibakteriyel, antifungal ve antioksidan aktivitelerinin (Anonim, 2022) yanında, seskiterpenler, fenolik asitler, antosiyaninler, fenilpropanoidler ve monoterpenler gibi biyolojik olarak aktif bileşenler içerir (Elgorban ve ark., 2016). Çeşitli *in vivo* çalışmalar, fesleğenin anti-enflamatuar aktivitesini de bildirmiştir. Bu nedenle, fesleğen yaprakları ilaç olarak çeşitli hastalıklarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Hakkim ve ark., 2007).

Tüm bu bilgiler ışığında çalışmada sırasıyla; fesleğenden AgNP'ler yeşil sentez yöntemiyle elde edilmiştir, sentez aşamasındaki işlemlerde elde edilebilecek daha küçük boyutta NP eldesi için

optimizasyon tekrarlarına yer verilmiştir, karakterizasyon amacıyla literatürden faydalanılarak, sentezlenen NP'lerin DLS metodu ile boyut ölçümü yapılmıştır (Zook ve ark., 2011).

**Tablo 1.** A549 Hücre hattında antikanser aktivitesi incelenen yeşil sentez çalışmaları (PA1: Ovaryum kanseri; B16: Fare melanoma hücre hattı MCF-7: İnsan meme kanseri EDX: Enerji dağıtıcı X-ray; FTIR: Fourier dönüştürücülü infrared spektroskopisi; ICP-OES: İndükleyici plazma optik emisyon spektrometresi; SEM: Taramalı elektron mikroskobu; TEM: Transmisyon elektron mikroskobu; UV-Vis: UV-visible absorpsiyon spektroskopisi; XRD: X-ray kırınım cihazı)

Çalışma	Bitki	Kullanılan Kısım	Kanser Hücre Hattı	Boyut(nm)	Şekil	Karakterizasyon Yöntemleri	AgNO <sub>3</sub> (mM)
Khanra ve ark. (2016)	<i>Croton bonplandianum</i>	Yaprak	PA-1, A549	32	Küresel	UV-Vis, TEM, SEM, XRD	1
Palaniappan ve ark. (2015)	<i>Cymodocea serrulata</i>	Yaprak	A549	29,28	Küresel	UV-Vis, DLS, TEM, SEM, XRD, FTIR	1
Mukherjee ve ark. (2014)	<i>Olex scandens</i>	Yaprak	A549, B16, MCF-7	30-60	Küresel	UV-Vis, DLS, TEM, XRD, FTIR, ICP-OES	100
Venkatesan ve ark. (2014)	<i>Rosa damascena</i>	Taç yaprak	A549	15-27	Küresel	UV-Vis, TEM, SEM, FTIR, XRD, EDX	1-10
Khanra ve ark. (2015)	<i>Scoparia dulcis</i>	Yaprak	PA-1, A549	15-25	Küresel	UV-Vis, TEM, SEM, FTIR, XRD, EDX	1

Literatürden faydalanılarak oluşturulan Tablo 1'de yeşil sentez yöntemiyle farklı bitkilerden AgNP elde edilen çalışmalar gösterilmektedir ve elde edilen AgNP'lerin A549 hücre hattında sitotoksik etkisi gözlemlenmiştir (Ovais ve ark., 2016) Farklı bir çalışmada ise başka bir fesleğen sınıfına ait *Ocimum americanum* yaprakları kullanılarak AgNP elde edilmiş ve A549 hücrelerinde apoptozu indüklediği için güçlü sitotoksik etki gözlenmiştir (Manikandan ve ark., 2021). *Ocimum basilicum*'un içerisinde olan ve antikanser aktiviteye sahip olduğu bilinen rosmarinik asit, kikorik asit ve kaftarik asitten (Elensary ve ark., 2015) yola çıkılarak bu bitkiden üretilecek AgNP'lerin de antikanser aktivitesinin olabileceği düşünülmüştür. *Ocimum basilicum*'un antikanser aktivitesi genellikle yaprağının ekstresi veya esansiyel yağı kullanılarak araştırılmıştır. Yapılan çalışmalar arasında A549 hücre hattına rastlanmamıştır (Perna ve ark., 2022). Yanı sıra bu bitkiden yeşil sentez yöntemiyle elde edilen AgNP'lerin antimikrobiyal, antidiyabetik ve A549 dışındaki farklı kanser hücre hatlarında antiprolaktif aktiviteleri incelenmiştir (Malapermal ve ark., 2017; Abbasi ve ark., 2019). Özetle, fesleğen ile AgNP oluşumuna ilişkin çok sayıda çalışma mevcuttur (Ahmad ve ark., 2010; Manikandan ve ark., 2021). Ancak literatürde, oluşturulan AgNP'lerin akciğer kanseri hücre hattı A549 üzerindeki sitotoksik etkisinin araştırıldığına rastlanmadığından bu aktivitenin incelenmesi çalışmaya özgünlük kazandırmaktadır.

Bu doğrultuda çalışmada son olarak, sentezlenen AgNP'lerin A549 hücre hattı üzerinde sitotoksik aktivitesi 2,3-bis (2-metoksi-4-nitro-5-sülfenil)-5-[(fenilamino) karbonil]-2H-tetrazolyum hidroksit kiti (XTT) kullanılarak araştırılmıştır.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Kimyasallar

AgNP sentezi için kullanılan AgNO<sub>3</sub> ve XTT metodundaki bütün kimyasallar (XTT tuzu, tetrazolyum, DMEM, PMS) Sigma-Aldrich firmasından (Missouri, ABD) temin edilmiştir.

### 2.2. AgNP'lerin Yeşil Sentezi

AgNP sentezi için yeşil yapraklı ve baharat fesleğen lokal marketlerden alındı. Bitki kurutulup AgNP'ler elde edildiğinde kanser hücresi üzerinde sitotoksik etkisinin taze yaprağa göre kıyaslanması için iki türü tercih edildi.



Şekil 1. Kullanılan *Ocimum Basilicum L.* 'nin yaprakları ve baharatı

Yeşil yapraklardan 100 mg mL<sup>-1</sup>, baharattan 20 mg mL<sup>-1</sup> konsantrasyonu sağlayacak şekilde fesleğenler tartılıp saf suyla yıkandı. Üzerine 100 mL distile su eklenip değişken sıcaklık ve AgNO<sub>3</sub> konsantrasyonlarında ısıtıcılı manyetik karıştırıcıya (Mini Stirrer, 120V, VWR, US) konuldu. Her örnek için karıştırma hızı 300 rpm'de sabit tutuldu. Karıştırma süresi ise yeşil yapraklar için 30 dk, baharat için 10 dk olarak belirlendi. Tablo 2'de yaprak, Tablo 3'te baharat fesleğen için sentez esnasında kullanılan parametreler sırasıyla gösterilmiştir.

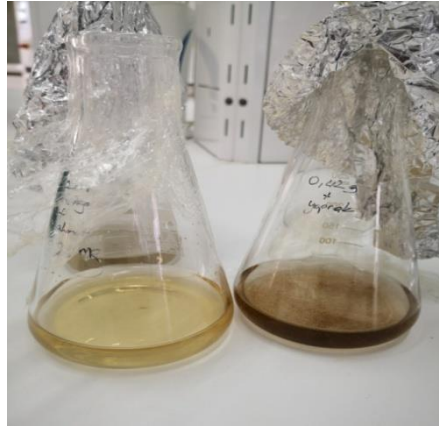
Tablo 2. Yeşil yapraklı fesleğenden AgNP sentezinde kullanılan parametreler

Örnek no	Sıcaklık (°C)	AgNO <sub>3</sub> Solüsyon/ Ekstrakt (% mL)
1	60	80
2	70	90
3	75	90
4	85	80
5	85	70
6	95	80

**Tablo 3.** Baharat fesleğenden AgNP sentezinde kullanılan parametreler

Örnek no	Sıcaklık (°C)	AgNO <sub>3</sub> Solüsyon/Ekstrakt (% mL)
1	60	90
2	70	80
3	80	70
4	90	90
5	100	80
6	110	70

Diğer yandan, literatürdeki çalışmalarla optimize edilen miktarda AgNO<sub>3</sub> (1mM, 0,017 g), 100 mL suyla karıştırılıp 20 dk ağzı kapalı bir şekilde ve ışısız ortamda bekletildi (Ernández-Pinero ve ark., 2016; Manikandan ve ark., 2021). Karıştırıcıdan alınan bitkisel ekstrakt Whatman filtre kağıdından dikkatlice süzöldü ve katı kısımlar atıldı. Toplam hacim 100 mL olacak şekilde Tablo 1 ve 2'de verilen AgNO<sub>3</sub> konsantrasyonlarına göre, pastör pipet yardımıyla ekstrakt ve AgNO<sub>3</sub> solüsyonu oda sıcaklığında 5 dk karıştırıldı. AgNP'lerin oluşumu için karışım ağzı kapalı bir şekilde ışısız ortamda, oda sıcaklığında 24 sa. bekletildi. 24 sa. sonunda, oluşan AgNP'ler sayesinde açık sarıdan kahverengiye doğru bir renk değişimi gözlemlendi.



**Şekil 2.** AgNP oluşumuna dair renk değişimi

Karışımın içindeki büyük parçalar sonikasyon cihazında (Ultrasonic Cell Crusher, JingxinTechnology, Çin) 5 dk boyunca titreşim yoluyla kırıldı ve daha homojen bir karışım elde edildi. UV-vis spektrofotometrede (Shimadzu UV-1700, Japonya) sentezin gerçekleştiğini gösteren, yaklaşık 400 nm'de absorpsiyon göröldü. Daha sonra ürün 50 mL'lik falkon tüplere alındı. +4°C, 5000 rpm'de 12 dk boyunca santrifüjlendi (Sigma 2-16PK, Sigma-Aldrich, Fransa). Sonrasında dipte oluşan pelletler atıldı, üstteki sıvı kısım ayrı tüplere alındı. Tekrar +4°C, 10000 rpm ve 15 dk santrifüjlendi. Bu kez üstteki sıvı kısım atıldı ve yıkama işlemi için tüplere 50 mL distile su eklendi. Bir kez daha +4°C, 10000 rpm'de 15 dk santrifüjlendi. Oluşan sıvı kısım atıldı. Kalan pellet üzerine 5 mL distile su eklendi. Tüm işlemler tamamlandıktan sonra DLS yöntemi ile boyut ölçümü yapıldı.

### 2.3. Sentezlenen AgNP'lerin Karakterizasyonu

Sentezlenen AgNP çözeltilerinin ilk aşamada UV-vis spektrofotometre ile spektroskopik analizi gerçekleştirildi. İkinci karakterizasyon yöntemi olarak, her örneğin solüsyon içerisindeki gerçek boyut

dağılımı DLS metodu ile belirlendi. Ölçümler, örnekler distile su ile seyreltilerek, cihaza (Nano-ZS90, Malvern Instruments Ltd, UK) ait ZEN0040 küveti ile yapıldı.

#### **2.4. AgNP'lerin A-549 Hücre Hattına Karşı *In Vitro* Sitotoksitesisi**

Fesleğen ekstraktının ve elde edilen AgNP'lerin A549 (ATCC; CCL-185) (İstanbul Üni. Tıp Fakültesi, Türkiye) insan akciğer kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik aktivitesi ve uygun çalışma konsantrasyonlarının belirlenmesi 10993-5 standardına uygun olarak XTT [2,3-Bis(2-metoksi4-nitro-5-sulfofenil)-2H-tetrazolyum] canlılık testi ile yapıldı. Bu canlılık testi üç aşamada gerçekleştirildi. İlk aşamada hücreler etkisi incelenmek istenen örneğe maruz bırakıldı. Pozitif kontrol olarak DMSO (dimethyl sulfoxide) kullanıldı. İkinci aşamada örnek uzaklaştırılıp tetrazolyum bileşiği ortama eklendi ve hücrelerle ortalama 4 saat boyunca CO<sub>2</sub>'li inkübatörde (CO-50AIC-PE, SanyoScientific, Japonya) bekletildi. Bu esnada, XTT tetrazolyum tuzu canlı hücrelerde indirgenip formazana dönüştü ve ortamda turuncu renk değişimi gerçekleşti. Son aşamada ise renk değişimi spektrofotometrik yöntemle ölçülerek yüzde canlılık belirlendi. İşlemler sırasında her kuyucukta 1x10<sup>4</sup> hücre olacak şekilde hücre ayrıldı ve üzerine DMEM (Dulbecco's modified eagles media) besiyeri eklenerek süspanse edildi. Süspanse edilen hücrelerden her kuyucuk için 100 µL alınarak 96 kuyucuklu steril mikrolakalara (TermoFisherScientific, Fransa) hücre ekimi yapıldı. Mikrolakalar, 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde 24 saat inkübe edildi ve böylece hücrelerin plaka yüzeyine tutunmaları ve konfluent olmaları sağlandı. Örneklerin belirlenen konstrasyonlarıyla hazırlanan solüsyonlardan 100'er µL alındı ve en az 3 tekrar kuyucuğu olacak şekilde konfluent yapı oluşturan hücreler üzerine eklendi. Kontrol grubu olarak herhangi bir örnek içermeyen besiyeri kullanıldı. Mikrolakalar 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde 24 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından, XTT solüsyonu, her mikrolaka için 4 mg XTT tuzu, 10 mL DMEM ve 10 µl N-metil dibenzopyrazin metil sülfat (PMS) kullanılarak hazırlandı ve kuyucuktaki besiyeri pipet yardımıyla çekildikten sonra her bir kuyucuğa hazırlanan solüsyondan 100'er µL eklendi. Mikrolaka, %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde 37°C'de 4 saat boyunca inkübe edildi ve inkübasyonun ardından absorbans değerleri çoklu mikrolaka okuyucu yardımıyla (Biotek instrument Inc.) 450 nm dalga boyunda ölçüldü.

#### **2.5. İstatiksel Analiz**

Verilerin istatistiksel analizi GraphPad yazılımı (GraphPadInc. CA, ABD) kullanılarak yapıldı. Örnek ve kontrol ortalamaları, unpaired t-testi kullanılarak karşılaştırıldı. 0,0001'den (p <0,0001) küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### **3. Bulgular ve Tartışma**

#### **3.1. UV-vis Spektrofotometre Analizi**

Hazırlanan örnekler UV-vis spektrofotometrede (Shimadzu UV-1700, Japonya) 300-700 nm dalga boyu aralığında tarandı. AgNP'ler için 350-450 nm bölgesinde maksimum absorbans bandı beklenmektedir (Ünal, 2019). Ölçüm sonucunda 400 nm de AgNP'lere ait pik görülmüştür.

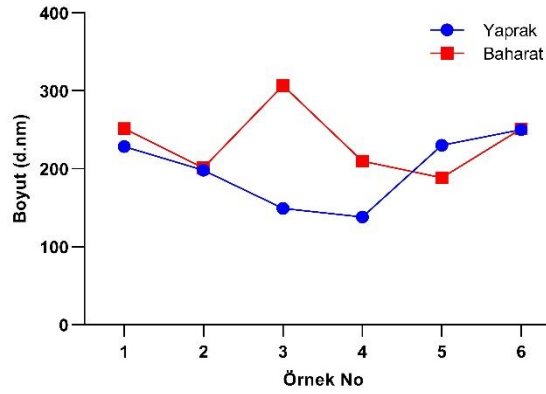


### 3.2. DLS Metodu ile AgNP'lerin Boyut Ölçümü

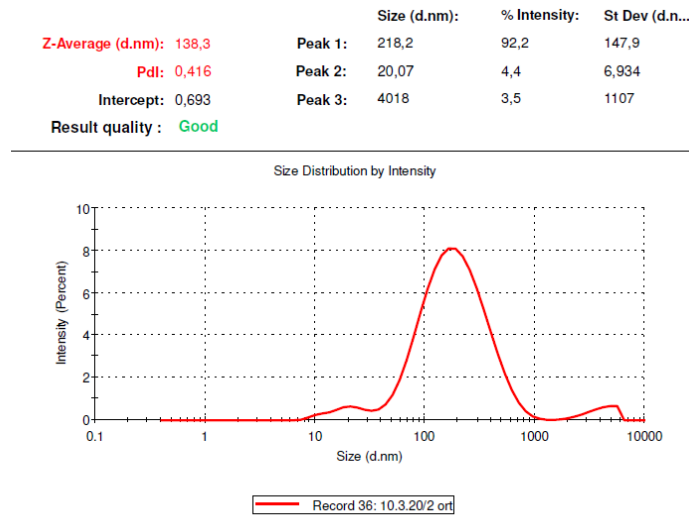
Sentezlenen AgNP'lerin parçacık büyüklüğü, dinamik ışık saçılımı (DLS) metodu ile belirlenmiştir. AgNP sentezi esnasında boyut karşılaştırması yapabilmek için farklı parametreler denenmiştir. Bunların arasında yeşil yapraklı fesleğende 4 nolu (85 °C, %80 AgNO<sub>3</sub> konsantrasyonu), baharat fesleğende ise 5 nolu örnekte (100 °C, %80 AgNO<sub>3</sub> konsantrasyonu) çalışmadaki en küçük AgNP'ler elde edilmiştir. DLS metodu ile boyut ölçümü sonuçları yaprakta 4 nolu örnekte 138,3 d.nm, baharatta 5 nolu örnekte 188,6 d.nm olarak kaydedilmiştir.

**Tablo 4.** AgNP'lerin DLS metodu ile boyut ölçümü sonuçları

No	Yaprak için Boyut Ölçüm Sonucu (d.nm)	Baharat için Boyut Ölçüm Sonucu (d.nm)
1	228,4	251,6
2	198	201
3	149	306,9
4	138,3	209,8
5	230	188,6
6	250	251

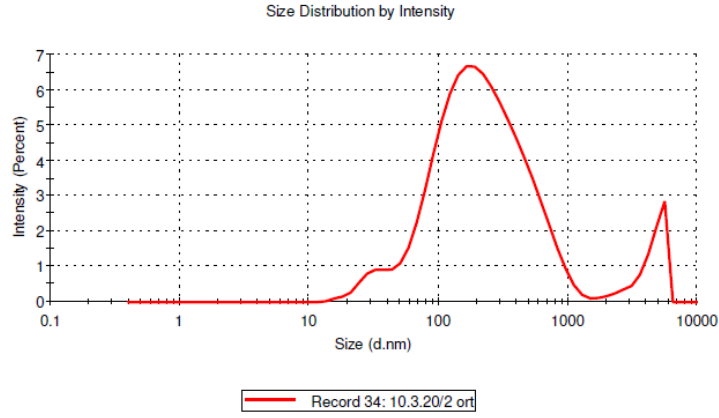


**Şekil 3.** AgNP'lerin DLS metodu ile boyut ölçüm sonuçları (x eksenini örnek numarasını, y eksenini ise DLS metodu ile ölçümü yapılan NP boyutlarını ifade etmektedir)



**Şekil 4.** 4 nolu fesleğen yaprağı kullanılarak sentezlenen nanopartiküllerin boyut dağılımı grafiği

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 188,6	Peak 1: 270,1	87,9	211,0
Pdl: 0,512	Peak 2: 4446	8,5	1107
Intercept: 0,837	Peak 3: 29,72	3,7	6,400
Result quality : Good			



Şekil 5. 5 nolu fesleğen baharatı kullanılarak sentezlenen nanopartiküllerin boyut dağılımı grafiği

Literatürde yer alan biyosentezlenmiş AgNP'lerin yaklaşık 100-300 nm aralığındaki boyutlara sahip olabileceği gözlenmiştir (Singh ve ark., 2016). Solüsyon içerisinde kalan büyük partiküller, DLS boyutunun artmasına neden olabilmektedir. Uygun büyüklükteki porlara sahip membran filtre kullanılarak büyük parçacıkların uzaklaştırılması ve vorteks uygulanarak aglomerasyonun dağılımı sağlanabilir.

Partikül boyutu ve dağılımları NP'lerin fiziksel olarak stabil olduklarını anlayabilmek için oldukça önemlidir. Bu noktadaki en önemli parametre PDI (Poly dispersity index) değeridir. Foton korelasyon spektroskopik analizinden elde edilir ve parçacığın dağılımını tanımlar. Homojen ve dar bir dağılıma sahip olan parçacıklar için bu değer genel olarak 0,1-0,25 arasındadır. Çok geniş boyutlu dağılıma sahip örnekler için indeks >0,7'dir ve bu örnekler DLS metodu ile ölçüme uygun değildir. Ölçüm sonucu görülen PDI değeri, ideal NP oluşumu için 0,1-0,5 aralığında olmalıdır. Kümeleneşmiş nanopartiküller, PDI değeri 0,5' ten büyük olduğunda meydana gelir ve daha düşük stabilite sunmaktadır. (Nidhin ve ark. 2008; Tripathi ve ark. 2010; Kavaz, 2011; Özkahraman ve ark. 2011; Ünal, 2019). Çalışmamızda ölçüm sonucunda PDI değerlerinin 0,416 ve 0,512 olduğu görülmektedir. Bu sonuçlara göre AgNP'lerin süspansiyondaki dağılımı istenen aralıkta kabul edilebilir ancak sınıra yakın bir degerde olduğundan agregat oluşumu görülebilir.

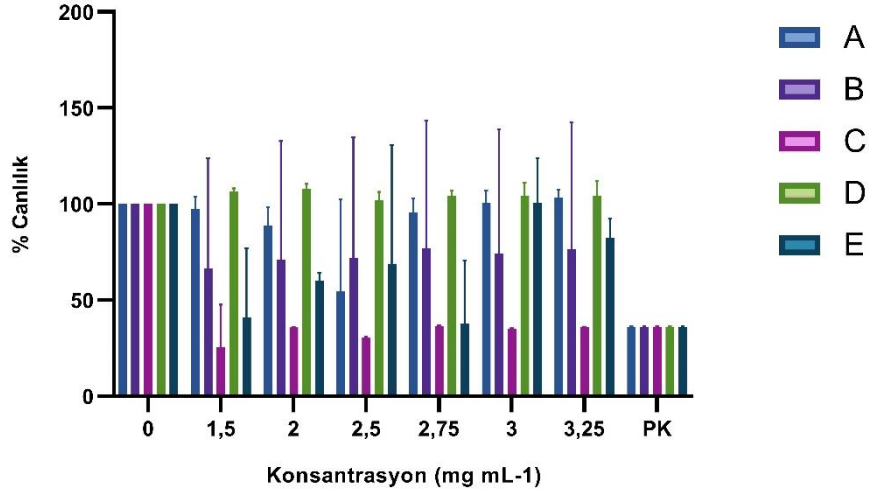
### 3.3. Fesleğenden (*Ocimum basilicum L.*) Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin A549 Hücreleri Üzerinde Sitotoksik Etkinin Değerlendirilmesi

Akciğer kanseri 21. yüzyılın başlarında sık karşılaşılmamasına karşın günümüzde çokça artan önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Akciğer kanser tedavisinde kemoterapi, radyoterapi veya kombinasyon tedavilerinin kullanılması; sağlıklı hücrelerin ölümü, çevresel hasar, yüksek

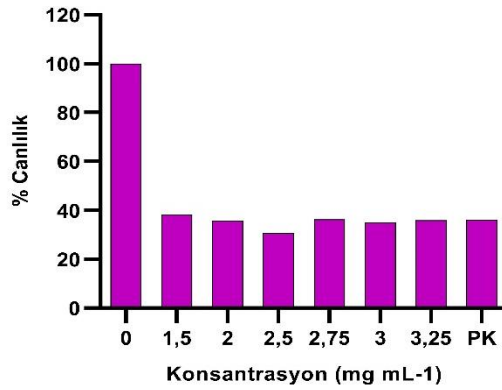


maliyetler gibi hastaların hayat kalitesini düşüren pek çok olumsuz yan etkiler gösterebilmektedir (Greenlee ve ark., 2000). Bu dezavantajlar, araştırmacıları yan etkisi olmayan, yalnızca kanserli dokuyu yok etmeye yönelik terapi araştırmalarına yöneltmiştir. Öte yandan bitkilerden elde edilen doğal ürünler geçmişte ilaç keşfine önemli ölçüde katkıda bulunmuştur ve hala etkin bir biçimde kullanılmaktadır (Anonim, 2017).

XTT metodu ile hücre canlılığının değerlendirilmesinin ardından örneklerin mikropilaka okuyucu ile 450 nm dalga boyunda verdikleri absorban değerleri incelenmiştir. Canlılık değerleri Şekil 6'da verilmiştir.



**Şekil 6.** A,B,C,D ve E örneklerinin 1,5 – 3,25 mg mL<sup>-1</sup> konsantrasyonlarda konsantrasyon-canlılık grafiği (A: yeşil yaprak ekstresi, B: 3 ay +4°C'de bekletilen yeşil yaprak AgNP (138,3 nm), C: Sentez sonrası hemen testi yapılan yeşil yaprak AgNP (138,3 nm), D: Liyofilize edilmiş 3 ay +4°C'de bekletilen yeşil yaprak NP (138,3 nm), E: Liyofilize edilmiş 3 ay +4°C'de bekletilen baharat NP (188,6 nm),PK: Pozitif Kontrol)



**Şekil 7.** C örneğinin canlılık değerleri

Grafiklerden de anlaşılacağı üzere C örneği A549 hücreleri üzerinde diğer örneklere kıyasla daha yüksek sitotoksik etki göstermiştir.

Karşılaştırma amacıyla bitkinin yeşil yapraklı ve kuru baharat halleri kullanılmıştır. Bazı örnekler AgNP eldesinden sonra liyofilizasyon işlemiyle toz haline getirilmiştir. Karşılaştırıldığında yeşil yaprakların baharattan daha fazla sitotoksik etkisi olduğu görülmüştür. Bu duruma, yaprakları baharat

haline getirirken tabii tutulan kurutma aşamasında bitkideki biyoaktif bileşenlerin inaktif hale gelmesinin sebebiyet vermiş olabileceği düşünülmüştür. Literatürde geçmişten beri fesleğen yapraklarının kurutulmadan ilaç olarak çeşitli hastalıklarda yaygın olarak kullanıldığı rapor edilmiştir (Hakkim ve ark., 2007). Bir diğer çalışmaya bakıldığında ise kullanılan tüm örneklerin başlangıç nem içeriği değerleri %82,4 olarak ölçülmüştür (Topdemir, 2019). Daha sonra zamanla mikroçoğaltım ile üretilmiş fesleğen örneklerinin nem içeriği değerleri azaldığı ve belirli bir süre sonra örneklerdeki nemin tamamen uzaklaştığı görülmektedir. Kurutma aşaması sonunda meydana gelen bu yüksek nem farkı fesleğen yaprağındaki birçok biyomekanizmayı etkileyebilmektedir (Topdemir, 2019). Böylelikle bu durumun bitkinin sitotoksik etkinliğini de azalttığı düşünülebilir. Aynı şekilde liyofilizasyon işleminde bitkinin nem içeriği yok olduğundan benzer inaktiflik söz konusu olabilir.

Aynı zamanda örneklerin bekletildiği takdirde etkinliğinin kaybolup kaybolmadığı da denenmiştir. NP'lerin sentez sonrasında direkt kullanımı sonucunda kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sentez sonrasında hemen kullanılan yaprak NP'leri A549 hücrelerinin canlılığını %30 oranına indirmiştir. Bekletilen örneklerde ise sitotoksik bir etki gözlenememiştir. Örnekler beklediği süre içerisinde, bitki içeriğindeki biyoaktif bileşenler inaktif hale gelmiş olabilir. Bu süreçte örneklerde meydana gelen reaksiyonlar dizisi bilinmemekte ve literatürde herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

XTT sonuçlarına göre en düşük canlılık %30,49 oranıyla C numunesinin 2,5 mg mL<sup>-1</sup> konsantrasyonunda gerçekleşmiştir.

#### 4. Sonuçlar

Bu çalışmada baharat fesleğen ve yeşil yapraklı fesleğenden çeşitli parametrelerle, yeşil sentez yöntemiyle AgNP'ler elde edilmiştir. Çalışma sonuçları, literatürü destekler nitelikte olup *Ocimum basilicum L.*'nin AgNP oluşumunda indirgeyici ajan olarak görev yapan biyoaktif bileşiklere sahip olduğunu gösterir. NP'lerin yeşil sentezindeki önemli noktalardan biri de en iyi AgNP'leri üretmek için hangi parametrelerde (sıcaklık, karıştırma hızı, süre, konsantrasyon) çalışılacağına optimizasyonudur. Dolayısıyla çalışmamızda optimizasyonlar sağlanmış ve NP'lerin büyüklüğü kontrol edilmiştir. Tüm sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda 2,5 ve 3,25 mg mL<sup>-1</sup> konsantrasyonları aralığındaki, bekletilmemiş yeşil yaprak fesleğen AgNP'lerinin A549 hücreleri üzerinde en fazla sitotoksik etki sağladığı görülmüştür. Elde edilen NP'lerin görülen sitotoksik etkisinin yanında aynı zamanda maliyetinin çok düşük, hammaddenin kolay bulunabilir olması, yeşil sentez sayesinde çevreye ve biyolojik dokulara zararlı etkilerinin olmaması, kısa sürede sentezinin yapılabilmesi ve tüm aşamalar için pahalı ekipmanlara ihtiyaç duyulmaması büyük kolaylıklar sağlayan avantajlardır.

## Çıkar Çatışması Beyanı

Makalemiz ile ilgili herhangi bir kurum, kuruluş, kişi ile mali çıkar çatışması yoktur ve yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamışlardır.

## Kaynakça

- Abbasi BH., Nazir M., Muhammad W., Hashmi SS., Abbasi R., Rahman L., Hano C. A comparative evaluation of the antiproliferative activity against HepG2 liver carcinoma cells of plant-derived silver nanoparticles from basil extracts with contrasting anthocyanin contents. *Biomolecules* 2019; 9(8): 320.
- Ankamwar B., Damle C., Ahmad A., Sastry M. Biosynthesis of gold and silver nanoparticles using *Emblicofficinalis* fruit extract and their phase transfer and trans metallation in an organic solution. *Journal of Nanoscience Nanotechnology* 2005; 5: 1665–1671.
- Anonim. Bitkilerden ilaç elde edilmesi. 2017. [https://www.ttb.org.tr/makale\\_goster.php?Guid=81aa5bf6-927e-11e7-b66d-1540034f819c](https://www.ttb.org.tr/makale_goster.php?Guid=81aa5bf6-927e-11e7-b66d-1540034f819c) (Erişim Tarihi: 12.06.2021)
- Anonim. Fesleğen faydaları nelerdir?, 2022. <https://www.cnnturk.com/saglik/feslegen-faydaları-nelerdir-neye-iyi-gelir-feslegen-az-bilinen-faydaları> (Erişim Tarihi: 12.06.2021)
- Dehaghi SM., Rahmanifar B., Moradi AM., Azar PA. Removal of permethrin pesticide from water by chitosan–zinc oxide nanoparticles composite as an adsorbent. *Journal of Saudi Chemist Society* 2014; 18: 348–355.
- Elansary HO., Mahmoud EA. In vitro antioxidant and antiproliferative activities of six international basil cultivars. *Nat. Prod. Res.* 2015; 29: 2149–2154
- Elgorban AM., Al-Rahmah AN., Sayed SR., Hiran A., Mostafa AAF., Bahkali AH. Antimicrobial activity and green synthesis of silver nanoparticles using *Trichoderma viride*. *Biotechnology Equipment* 2016; 30: 299–304.
- Ernández-Pinero JL., Terrón-Rebolledo M., Foroughbakhch R. Effect of heating rate and plant species on the size and uniformity of silver nanoparticles synthesized using aromatic plant extracts. *Appl Nanosci* 2016; 6: 1183–1190.
- Farias CBB., Silva AF., Rufino RD., Luna JM., Souza JEG., Sarubbo LA. Synthesis of silver nanoparticles using a biosurfactant produced in low-cost medium as stabilizing agent electron. *Journal of Biotechnology* 2014; 17: 122–125.
- Filip S. Basil (*Ocimum basilicum L.*) a source of valuable phytonutrients. *International Journal of Clinical Nutrient Diet* 2017; 3: 118

- Greenlee RT., Murray T., Bolden S., Wingpo CA. Cancer statistics. *Cancer Journal Clinical* 2005; 50: 7-33.
- Hakkim FL., Shankar CG., Girija S. Chemical composition and antioxidant property of holy basil (*Ocimum sanctum L.*) leaves, stems, and inflorescence and their *in vitro* callus cultures. *India Journal of Agricultural Food Chemistry* 2007; 55: 9109–9117
- Iravani S. Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry* 2011; 13: 2638–2650
- Kavaz D. Nanopartiküller. *Nanobülten, Aylık Nanoteknoloji ve Nanotıp Dergisi* 2011; 13, 12-19.
- Khanra K., Panja S., Choudhuri I., Chakraborty A., Bhattacharyya N. Antimicrobial and cytotoxicity effect of silver nanoparticle synthesized by *Croton bonplandianum* Baill. leaves. *Nanomedicine J.* 2016; 3(1): 15–22
- Khanra K., Panja S., Choudhuri I., Chakraborty A., Bhattacharyya N. Evaluation of antibacterial activity and cytotoxicity of green synthesized silver nanoparticles using *Scoparia dulcis*. *Nano Biomed. Eng.* 2015; 7(3): 128–133
- Malapermal V., Botha I., Krishna SBN., Mbatha JN. Enhancing antidiabetic and antimicrobial performance of *Ocimum basilicum*, and *Ocimum sanctum (L.)* using silver nanoparticles, *Saudi Journal of Biological Sciences* 2017; 24: 1294-1305
- Manikandan DB., Sridhar A., Sekar RK., Perumalsamy B., Veeran S., Arumugam M., Karuppaiah P., Ramasamy T. Green fabrication, characterization of silver nanoparticles using aqueous leaf extract of *Ocimum americanum* (Hoary Basil) and investigation of its *in vitro* antibacterial, antioxidant, anticancer and photocatalytic reduction. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2021; 9(1): ISSN 2213-3437
- Muhammad W., Khan MA., Nazir M., Siddiquah A., Mushtaq S., Hashmi SS., Abbasi BH. *Papavers omniferum L.* mediated novel bioinspired leadoxide (PbO) and ironoxide (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparticles: In-vitro biological applications, biocompatibility and their potential towards HepG2 cellline. *Material Science Engineering* 2019; 103: 109740.
- Mukherjee S., Chowdhury D., Kotcherlakota R. et al. Potential theranostics application of bio-synthesized silver nanoparticles (4-in-1 system). *Theranostics* 2014; 4(3): 316–335.
- Nadeem M., Abbasi BH., Younas M., Ahmad W., Khan T. A review of the green synthesis and antimicrobial applications of gold nanoparticles. *Green Chemistry* 2017; 10: 216–227.
- Nidhin M., Indumathy R., Sreeram KJ., et al. Synthesis of iron oxide nanoparticles of narrow size distribution on polysaccharide templates. *Bull Mater Sci* 2008; 31: 93–96.
- Ovais M., Khalil AT., Raza A. Green synthesis of silver nanoparticle via plant extracts: beginning a new era in cancer theranostics, *Nanomedicine* 2016; 11(23): 3157-3177.
- Özkahraman B., Acar I., Güçlü G. Mikrojeller ve uygulama alanları. *Nanoteknoloji Günleri, Kocaeli Üniversitesi*, 2011.

- Palaniappan P, Sathishkumar G, Sankar R. Fabrication of nano-silver particles using *Cymodocea serrulata* and its cytotoxicity effect against human lung cancer A549 cells line. *Spectroch Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2015; 138: 885–890.
- Pedro AC, Moreira F, Granato D, Rosso ND. Extraction of bioactive compounds and free radical scavenging activity of purple basil (*Ocimum basilicum L.*) leaf extracts as affected by temperature and time. *Ann. Braz. Acad. Sci* 2017; 88: 1055–1068.
- Perna S, Alawadhi H, Riva A, Allegrini P, Petrangolini G, Gasparri C, Alalwan TA, Rondanelli M. In vitro and in vivo anticancer activity of basil (*ocimum spp.*): Current insights and future prospects. *Cancers.* 2022; 14(10): 2375.
- Siddiquah A, Hashmi SS, Mushtaq S, Renouard S, Blondeau JP, Abbasi R, Hano C, Abbasi BH. Exploiting *in vitro* potential and characterization of surface modified ZincOxide nanoparticles of *Isodonrugosu* sextract: Their clinical potential towards HepG2 cell line and human pathogenic bacteria. *Excli. Journal* 2018; 17: 671–687.
- Singh P., Kim YJ., Zhang D., Yang DC. Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends in Biotechnology* 2016; 34(7): 588-599.
- Singh P., Raja RB. Biological synthesis and characterization of silver nanoparticles using the fungus *Trichodermaharzianum*, *Asian J. Exp. Biol. Sci* 2011; 2: 600–605.
- Topdemir A. Mikroçoğaltımla üretilmiş fesleğenin (*Ocimum basilicum l.*) tepsili kurutucuda kuruma karakteristiğinin belirlenmesi. *Fırat Üniversitesi Müh. Bil. Dergisi* 2019; 31(2): 545-550.
- Tripathi A, Gupta R, Saraf SA. PLGA nanoparticles of anti tubercular drug: drug loading and release studies of a water in-soluble drug, *Int. J. PharmTech. Res* 2010; 2: 2116-2123.
- Ünal İ. *Rheum Ribers* (Işgın) ve *Paeonia Kesraunensis* (Ayıgülü) bitkilerinin ekstraktından gümüş nanopartikül sentezi, karakterizasyonu ve sitotoksitesinin belirlenmesi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Tokat, Türkiye, 2019.
- Venkatesan B, Subramanian V, Tumala A, Vellaichamy E. Rapid synthesis of biocompatible silver nanoparticles using aqueous extract of *Rosa damascena* petals and evaluation of their anticancer activity. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2014; 7(1): S294–S300.
- Zia M, Gul S, Akhtar J, ulHaq I, Abbasi BH, Hussain A, Naz S, Chaudhary MF. Green synthesis of silver nanoparticles from grape and tomato juices and evaluation of biological activities. *IET Nanobiotechnology* 2016; 11: 193–199.
- Zook JM, Long SE, Cleveland D. Measuring silver nanoparticle dissolution in complex biological and environmental matrices using UV–visible absorbance. *Anal. Bioanal. Chem.* 2011; 6: 401-410.