

**ANADOLU SAFRANI (*CROCUS SATIVUS* L.) SULU EKSTRAKTI İLE GÜMÜŞ
NANOPARTİKÜLLERİN (AGNP) YEŞİL SENTEZİ, ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ VE
İNSAN PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİLERİ**

**GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES (AGNPS) USING ANATOLIAN
SAFFRON (*CROCUS SATIVUS* L.) AQUEOUS EXTRACT AND THEIR ANTIOXIDANT
ACTIVITY AND CYTOTOXIC EFFECTS ON HUMAN PROSTATE CANCER CELLS**

Tolga ÖZKAN¹  Sueda Nur ELLİALTIOĞLU¹  Kemal BAŞ²  Serdar KARAKURT^{*1,2} 

¹ Biyokimya, Fen Fakültesi, Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye.

² KBRN, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Selçuk Üniversitesi, Konya, Türkiye.

ABSTRACT

Saffron (*Crocus sativus* L.) is a valuable plant in traditional medicine, known for its pharmacological properties due to its components, such as rosetin, picrocrocin, and safranal. These components have therapeutic effects in various fields, including antidepressant, anticancer, immune, and respiratory systems. This study aimed to investigate the total phenolic, flavonoid, and antioxidant capacity of saffron extract. Additionally, silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized using green synthesis from the saffron plant. The antioxidant capacity of saffron extract was determined using the DPPH and CUPRAC methods. The cytotoxic effect was evaluated under in vitro conditions using the Alamar blue assay. The AgNPs synthesized by green synthesis were characterized by UV-vis spectrophotometry and dynamic light scattering (DLS). It was confirmed that the synthesized AgNPs exhibited absorbance at 410 nm in the UV-vis spectrophotometer and had a size of 54 nm by DLS. The total phenolic content of saffron extract was 153.16 ± 0.03 mg GAE/g extract, and the flavonoid content was 1059.218 ± 0.003 mg QE/g extract. The IC50 value of saffron for DPPH was determined as 10.60 ± 0.2 µg/mL, while the A0.50 value for CUPRAC was 0.313 ± 0.4 µg/mL. The saffron extract and synthesized AgNPs exhibited significant cytotoxic effects on PC-3 prostate cancer cells. The IC50 value of AgNPs on PC-3 cells was measured as 25.34 ± 1.2 µg/mL. In summary, the silver nanoparticles derived from saffron and its extract exhibited antioxidant activity and have potential as a natural antioxidant source for health and industrial purposes, as well as a promising component in cancer therapy.

Keywords: Anatolian Saffron (*Crocus sativus* L.), Antioxidant Activity, Cytotoxicity, Green Synthesis, Human Prostate Cancer (PC-3), Silver Nanoparticles (AgNPs).

ÖZET

Safran (*Crocus sativus* L.), geleneksel tıpta önemli bir yer tutan ve rosetin, pikrokrosin ve safranal gibi farmakolojik bileşenlere sahip bir bitkidir. Bu bileşikler, antidepresan, antikanser, bağışıklık sistemi ve solunum sistemi gibi farklı tedavi alanlarında terapötik etkilere sahiptir. Bu çalışmanın amacı, safran ekstresi ile toplam fenolik, flavonoid ve antioksidan kapasiteyi incelemektir. Ayrıca, safran bitkisinden yeşil sentez yöntemi ile gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) sentezlenmiştir. Safran ekstraktının antioksidan kapasitesi DPPH ve CUPRAC yöntemleri ile belirlenmiştir. Sitotoksik etki ise in vitro koşullarda Alamar blue yöntemiyle ölçülmüştür. Yeşil sentezle elde edilen AgNP'ler, UV-vis spektrofotometri ve dinamik ışık saçılma (DLS) teknikleriyle karakterize edilmiştir. Sentezlenen AgNP'lerin UV-vis spektrofotometresinde 410 nm'de absorpsiyon verdiği ve DLS ile 54 nm boyutunda olduğu tespit edilmiştir. Safran ekstresinin toplam fenolik içeriği 153.16 ± 0.03 mg GAE/g ekstre ve flavonoid içeriği ise 1059.218 ± 0.003 mg QE/g ekstre olarak belirlenmiştir. DPPH için safranın IC50 değeri 10.60 ± 0.2 µg/mL, CUPRAC için ise A0.50 değeri 0.313 ± 0.4 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Safran ekstresi ve sentezlenen AgNP'ler, PC-3 prostat kanseri hücrelerinde belirgin bir sitotoksik etki göstermiştir. PC-3 hücrelerinde AgNP'lerin IC50 değeri 25.34 ± 1.2 µg/mL olarak ölçülmüştür. Sonuç olarak, safrandan elde edilen gümüş nanopartiküller ve safran ekstresi, antioksidan aktivite göstermekte olup, safran sağlık ve endüstriyel amaçlar için doğal bir potansiyel antioksidan kaynağı ve kanser tedavisinde kullanılabilir bir bileşen olarak değerlendirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Anadolu Safranı (*Crocus sativus* L.), Antioksidan Aktivite, Gümüş Nanopartiküller (AgNP), Sitotoksikite, İnsan Prostat Kanseri (PC-3), Yeşil Sentez.

*Corresponding Author (Sorumlu Yazar), e-mail: kserdar1@yahoo.com

Submission Date Başvuru Tarihi	Revision Date Revizyon Tarihi	Accepted Date Kabul Tarihi	Published Date Yayın Tarihi
14.02.2025	11.03.2025	04.04.2025	01.06.2025

1. GİRİŞ

Safran (*Crocus sativus* L.), geleneksel tıpta ve gıda endüstrisinde uzun yıllardır kullanılan değerli bir bitkidir. Fenolik bileşikler ve flavonoidler açısından zengin olan safran, güçlü antioksidan özelliklere sahip olmasıyla bilinir. Bu özellikleri nedeniyle, safran, çeşitli sağlık yararları ve terapötik etkiler için yaygın olarak araştırılmaktadır. Spesifik olarak, *Crocus sativus* L. (safran) Iridaceae familyasına ait bir bitkidir ve dünyanın en pahalı baharatı olarak bilinir. Bu bitki yüzyıllardır geleneksel İslam ve Arap tıbbında tıbbi bir bitki olarak kullanılmaktadır ve yiyecek ve içecekler için renk, lezzet ve aroma verme özelliği nedeniyle kullanılmaktadır [1]. Başlıca biyoaktif sekonder metabolitleri olan krosinler, krosetin, pikrokrosin ve safranalın önemli antioksidan aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Çeşitli *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar safranın farmakolojik ve biyolojik etkilerini göstermiş olup, antioksidan potansiyelinin safranın tüm biyoaktif bileşenlerinin sinerjik etkisinin bir sonucu olduğu düşünülmektedir [2]. Safranın biyoaktif bileşiklerinin, serbest radikal temizleme aktivitesinin en belirgin olduğu farklı mekanizmalar yoluyla hastalıkların tedavisinde önemli rol oynadığı bulunmuştur [2]. Kanserin önlenmesine ilişkin literatür, krosin ve krosetinin (karotenoid ailesine ait moleküller) tümöral hücre büyümesini inhibe etme yeteneğine sahip olduğunu belirtmektedir ve bu durum, farklı tümör tipleri üzerindeki terapötik potansiyellerini ortaya çıkarmak amacıyla safran ve bileşenlerinin karakterizasyonuna yönelik araştırmalara yol açmıştır [3]. Safranın çok sayıda mekanizmayı etkileyerek antitümör etki gösterdiği *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda raporlanmıştır [4]. Son yıllarda, safranın biyolojik aktiviteleri ve çevre dostu özellikleri, gümüş nanopartiküllerin (AgNP) sentezi gibi yenilikçi alanlarda da kullanılmaktadır.

Boyutları 1 ila 100 nm arasında değişen nanopartiküller, benzersiz fizikokimyasal ve optik özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir [5]. Günümüzde, çeşitli potansiyel uygulamaları nedeniyle gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) üzerinde kapsamlı araştırmalar yürütülmektedir. AgNP'ler optik sensörler [6], elektrikli piller [7], süperkapasitörler [8], nanoseramikler [9], alev geciktiriciler, biyosensörler, ilaç dağıtım sistemeleri [10], katalizörler ve antimikrobiyal, antioksidan, anti-enflamatuar ve antikanser ajanlar [11, 12] dâhil olmak üzere çeşitli malzemelerde kullanılma potansiyeline sahiptir. AgNP'ler antibakteriyel özellikleri nedeniyle diş implantları, cerrahi cihazlar, kemik ve doku mühendisliği uygulamaları ve diğer biyomedikal cihazlar dâhil olmak üzere çeşitli uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır [13, 14]. AgNP'ler ayrıca gıda ambalajlarına, boyalara ve kaplamalara da dahil edilmiştir [15]. AgNP'lerin Alzheimer, Parkinson ve kardiyovasküler hastalıklar da dahil olmak üzere oksidatif stresle ilişkili bir dizi hastalığa karşı koruma sağladığı gösterilmiştir [16, 17]. AgNP'ler, kanser hücrelerinde apoptozu indüklemeye yetenekleri nedeniyle potansiyel antikanser ajanları olarak umut vadetmektedir. Ek olarak, AgNP'lerin normal hücrelere karşı düşük toksisiteye sahip olduğu gösterilmiştir ve bu da onları geleneksel kemoterapi ilaçlarına potansiyel bir alternatif haline getirir [18, 19]. AgNP'ler, küçük boyutları ve benzersiz fizikokimyasal özellikleri nedeniyle potansiyel ilaç dağıtım araçları olarak araştırılmaktadır. Özgüllüklerini ve etkinliklerini artırmak için ilaçlar veya hedefleme ligandları gibi farklı moleküllerle kolayca işlevselleştirilebilirler [20, 21]. Genel olarak, AgNP'ler çeşitli alanlarda (tıbbi cihazlar, tanısal implantlar, ilaç, peptit protein ve gen iletimi, bisensörler, biyogölgeleme, kanser tedavisi, antimikrobiyaller, biyo-görüntüleme, sensörler, elektrotlar, optik cihazlar, doku onarımı, yara iyileşmesi, kardiyovasküler hastalıkların teşhisi) büyük potansiyel göstermiştir ve etki mekanizmalarını tam olarak anlamak ve farklı alanlarda kullanımlarını optimize etmek için bu alanda sürekli araştırma yapılması gerekmektedir.

AgNP'lerin sentezi için buharlaştırma yoğunlaştırma yöntemi, solvotermal sentez, kimyasal indirgeme yöntemi, gama ışınlama, ultrason yöntemi, UV ışınlama ve mikrodalga yöntemleri dahil olmak üzere ışınlama yöntemleri, litografi, elektrokimyasal yöntem, Tollen yöntemi, polianilin, termal ayrışma ve lazer ablasyon yöntemleri gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler bildirilmiştir [22-25]. Bitkisel kaynakları ve çevre dostu yöntemleri kullanan bir süreç olan yeşil sentez, Zn, nO, Cu, CuO, Ti, TiO₂, Mg ve MgO dahil olmak üzere metal ve metal oksit nanopartiküllerinin üretiminde büyük ilgi görmektedir [26]. Doğal kaynakları kullanan yeşil sentez, bitkiler, algler, mantarlar, bakteriler gibi çeşitli doğal özütlerin yanı sıra enzimatik reaksiyonlar, polisakkaritler, uçucu yağlar, doğal bal ve polenlerin gücünden yararlanır [27]. Bu yeşil sentez yaklaşımları, geleneksel kimyasal yöntemlere sürdürülebilir ve çevre dostu bir alternatif sunmaktadır. Yeşil sentezde, fitokimyasalların, enzimlerin, polisakkaritlerin ve bu ekstraktlarda bulunan diğer doğal bileşiklerin doğal indirgeyici ve stabilize edici özellikleri nanopartiküllerin üretiminde çok önemli bir rol oynamaktadır. Bu biyoaktif bileşenler, metal ve metal

oksit nanopartiküllerinin hassas ve çevre dostu sentezini kolaylaştırarak hem biyoindirgeyici hem de stabilizatör görevi görür [28, 29]. Yeşil sentezin sayısız uygulamaları arasında, özellikle biyomedikal ve çevre sektörlerinde AgNP'lerin üretimindeki rolü öne çıkmaktadır. Yeşil sentez, canlı organizmaların nanoparçacıkları oluşturma ve kullanma şeklini kopyalayarak çeşitli uygulamalar için ideal olan olağanüstü özelliklere sahip nanoparçacıklar elde edilmesini sağlar [30]. Biyomedikal bağlamlarda, yeşil olarak sentezlenen AgNP'ler, tıbbi uygulamalarda biyouyumluluk, güvenlik ve etkinlik gibi katı gerekliliklerle uyumlu benzersiz nitelikleri nedeniyle büyük umut vaat etmektedir. Bu nanopartiküller çevre dostudur, düşük toksisite ve mükemmel stabilite sergileyerek onları ilaç dağıtımı, yara iyileşmesi, tanısal görüntüleme ve antimikrobiyal tedaviler için uygun adaylar haline getirir [31]. Bitki özleri, güçlü indirgeyici özelliklere sahip polifenoller, flavonoidler, terpenoidler ve alkaloidler gibi çeşitli fitokimyasallar içerir. Örneğin, bitkilerde bulunan flavonoidler ve fenolik bileşikler gümüş iyonlarına (Ag⁺) elektron vererek Ag⁺'ın AgNP'lere indirgenmesini sağlayabilir [32]. Bu indirgeme süreci genellikle aktif bileşikler ve gümüş iyonları arasındaki etkileşim tarafından başlatılır ve nanopartiküllerin çekirdeklenmesine ve büyümesine yol açar [33]. Bitki özlerinin biyoredüktan olarak kullanılması, geleneksel yöntemlerde tipik olarak kullanılan sert kimyasal redüktanlara olan ihtiyacı ortadan kaldırır. Bu da zararlı yan ürünlerin oluşma riskini azaltır ve çevre kirliliğini en aza indirir [34]. Bitki özleri ayrıca AgNP'ler için etkili stabilize edici ajanlar olarak da işlev görür. Ekstraktlarda bulunan polifenoller gibi fitokimyasallar, elektrostatik etkileşimler ve hidrojen bağı veya Van der Waals kuvvetleri yoluyla nanopartikül yüzeyine adsorbe olabilir. Bu adsorpsiyon, AgNP'lerin aglomerasyonunu veya agregasyonunu önlemeye yardımcı olarak zaman içinde stabilitelerini sağlar [35]. Bu stabilite, nanopartiküllerin biyomedikal ve katalitik olanlar da dahil olmak üzere çeşitli uygulamalarda düzgün dağılımını ve uzun vadeli etkinliğini sağlamak için çok önemlidir. Bitki özlerinden elde edilen stabilize edici maddeler, küçük partikül boyutunun korunmasına yardımcı olur ve çökelmeyi önleyerek nanopartiküllerin dağınık kalmasını sağlar [36]. Bitki özleri kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin biyouyumluluğu, onları tıbbi ve biyolojik uygulamalar için çok uygun hale getirmektedir. Bu nanopartiküller ilaç dağıtım sistemlerinde, yara iyileşmesinde, doku mühendisliğinde ve canlı organizmalar üzerinde olumsuz etkileri olmadan antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılabilir. Çeşitli kanser türleri ile safranın bileşenleri arasında bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Küresel olarak erkeklerde akciğer kanserinden sonra en sık görülen ikinci kanser olan prostat kanseri, 2020 yılında 1.414.259 yeni vaka ve 375.304 ölümle tüm erkeklerde kansere bağlı ölümlerin %3,8'ini oluşturmaktadır [37]. Dünya genelinde görülme ve ölüm oranları yaşla yakından ilişkilidir ve ortalama tanı yaşı 66'dır. Müdahale edilmediği takdirde, 2040 yılına kadar tahmini 2.293.818 yeni vaka görülmesi ve ölüm oranlarında küçük bir artış (%1.05) olması beklenmektedir [37]. Prostat kanseri genellikle erken evrelerinde belirti vermez ve yavaş ilerleyebilir, çok az tedavi gerektirir veya hiç tedavi gerektirmez. Günümüzde yapılan kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi müdahaleler hastada bulunan kanserli dokuyu öldürmekle beraber kansersiz sağlıklı dokuları da öldürmektedir. Safran (*Crocus sativus* L.) bitkisi doğal kökenli olup toksik etki içermediğinden dolayı sağlıklı dokulara hasarı en aza indirerek doğrudan kanserli dokulara etki edebilir ve dolayısıyla prostat kanserinin tedavisinde önemli rol oynayabilir. Bu çalışmanın amacı, Anadolu safranı (*Crocus sativus* L.) sulu ekstraktı kullanılarak gümüş nanopartiküllerin (AgNP) yeşil sentezini gerçekleştirmek, sentezlenen AgNP'lerin yapısal ve kimyasal özelliklerini karakterize etmek ve antioksidan aktivitelerini değerlendirmektir. Ayrıca, sentezlenen AgNP'lerin insan prostat kanseri (PC-3) hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerini belirlemek ve potansiyel biyomedikal uygulamalarını araştırmak hedeflenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Ekstraksiyon Çalışmalar

2024 yılı Ekim ayında Karabük'ün Safranbolu ilçesinden hasadı yapılmış olan kurutulmuş safran stigma özütü, ağırlığının 5 katı kadar saf su içine eklenmiştir. Yatay çalkalayıcıda 14-16 saat süreyle 64 rpm'de maserasyonu işlemi yapılmıştır. Maserasyondan sonra evaporatörde çözücü uzaklaştırılmıştır. Ardından ekstrakt etanol ile çözdülerek 24 saat etüv içerisinde 60°C'de kurutulmuştur.

2.2. Yeşil Sentez Yoluyla Gümüş Nanopartikül Sentezi

294 mg Trisodyumsitrat dihidrat 10 mL dH₂O içerisinde çözündürülmüştür. 10 mg AgNO₃, 80 mL dH₂O içerisinde çözündürülmüştür. 1.36 mL Trisodyumsitrat dihidrat çözeltisi ve 400 µL Sulu safran ekstraktı

birleştirilmiştir. Karışım üzerine 18.24 mL dH₂O eklenerek toplam hacim 20 mL olacak şekilde tamamlanmıştır.

80 mL AgNO₃ 60°C’de ısıtılmıştır. Isıtılan AgNO₃ üzerine Solüsyon A damla damla eklenmiş ve son damladan sonra 3 dakika daha 60°C bekletilmiştir. Süre sonunda karışım 100°C 20 dakika bekletilmiştir. Oda sıcaklığına gelen karışım ve 0.2 µm çaplı filtreden süzölmüştür. Sentezlenen Gümüş Nanopartiküller +4°C de saklanmıştır.

2.3. Karakterizasyon

Sentezlenen AgNP’lerin UV-Vis spektrumları 200-800 nm aralığındaki dalga boyunda UV-Vis spektrofotometre de alınmıştır (UV-1900I, SHIMADZU). Yeşil yöntemle sentezlenen AgNP’lerin ortalama partikül boyutu, dağılımı ve zeta potansiyeli (Zetasizer Nano ZS, ABD) kullanılarak tespit edildi.

2.4. Antioksidan aktivite çalışmaları

2.4.1. DPPH

Safran’nın serbest radikal süpürme aktivitesi, metanolün kontrol olarak kullanıldığı DPPH Serbest Radikal Süpürme deneyi ile belirlenmiştir. Reaksiyon karışımı 0.4 M DPPH ve çeşitli konsantrasyonlarda metanol ile seyreltilmiş safran içermektedir. Renk değişimi spektrofotometrik olarak 517 nm’de ölçölmüştür (Multiskan Go, Thermo Fisher Scientific, ABD).

2.4.2. Kuprik İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi (CUPRAC)

Safranın Kuprik İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi, Kuprik İndirgeyici Antioksidan Kapasite deneyi (CUPRAC) ile belirlenmiştir. Reaksiyon karışımı 10 mM Cu (II), 7.5 mM neokuproin, 1 M NH₄Ac tamponu ve farklı konsantrasyonlarda safran içermektedir. Bu karışım 96 kuyucuklu bir plakanın her bir kuyucuğuna eklenmiştir. 1 saatlik inkübasyondan sonra 450 nm’deki absorbans Multiskan Go mikropilaka okuyucu (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak ölçölmüştür. Sonuçlar 0.500 absorbans sağlayan konsantrasyona karşılık gelen A_{0.50} olarak verilmiştir.

2.5. Toplam Fenolik ve Flavonoid Tayini

Folin Ciocalteu yöntemine göre, safran ekstraktları toplam fenolik madde açısından ölçölmüştür [38]. 750-765 nm dalga boyunda absorbans UV vis spektrofotometre kullanılarak ölçölmüştür. Toplam fenolik madde, gallik asit çözeltisinin (0-200 µg/mL) kalibrasyon eğrisinin ekstrapolasyonu ile hesaplanmıştır.

Ekstraktın toplam flavonoid içeriği Djeridane ve arkadaşlarının yöntemine göre belirlenmiştir [39]. Kısaca, eşit hacimlerde %2 AlCl₃ çözeltisi ve numune (safran ekstraktı) karıştırılmıştır. 10 dakika sonra karışımın absorbansı 430 nm’de ölçölmüştür. Toplam Flavonoid İçeriği, gram kuru ekstrakt/mg kuersetin eşdeğeri olarak ifade edilmiştir (mg QE/g ekstrakt).

2.6. *In Vitro* Sitotoksiste Çalışmaları

2.6.1. Hücre Kültürü

İnsan prostat kanseri hücre hattı PC-3, ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD) kuruluşundan temin edilmiştir. Hücreler, %10 FBS (fetal bovine serum) ve 2 mM L-glutamin içeren Ham’s F12 besiyerinde, 37°C ve %5 CO₂ içeren bir inkübatörde kültüre edilmiştir. Aynı besiyeri, AgNP’lerin seyreltilmesi için de kullanılmıştır.

2.6.2. Sitotoksiste Analizi

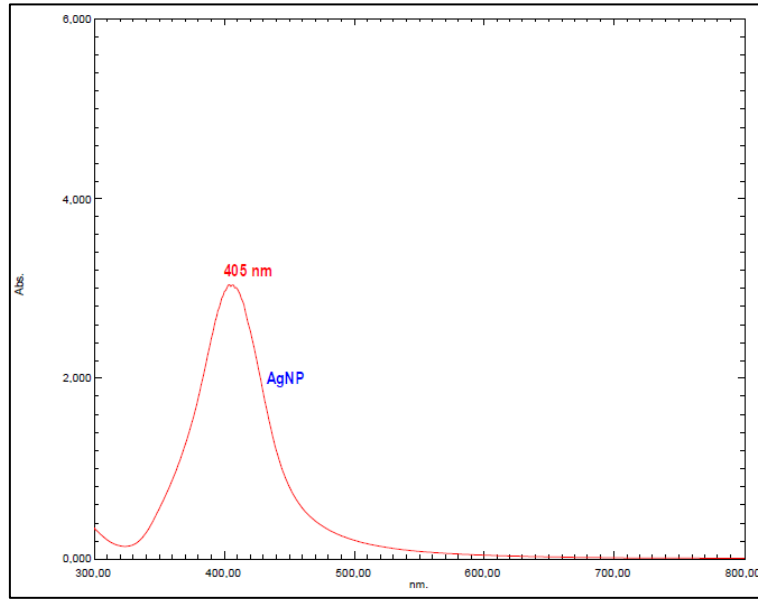
Her bir 96 kuyucuklu plakanın kuyucuklarına 1 × 10⁴ PC-3 hücresi ekilmiş ve 0 ile 200 µg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda AgNP’lere maruz bırakılmıştır. Hücre canlılığını değerlendirmek için Alamar Blue yöntemi (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) kullanılmıştır. Canlı ve ölü hücre oranlarının belirlenmesi, %0.04 Trypan Blue ile boyama yapılarak Biorad TC20 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.7. İstatiksel Analiz

Veriler ortalama değer $\pm$ standart sapma (SD) olarak gösterilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü ANOVA ve Student's t-testi kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$ olarak ifade edilmiştir. Tüm hesaplamalar, grafikler ve istatistiksel analizler GraphPad Prism (GraphPad Software 8.0.2) kullanılarak oluşturulmuştur.

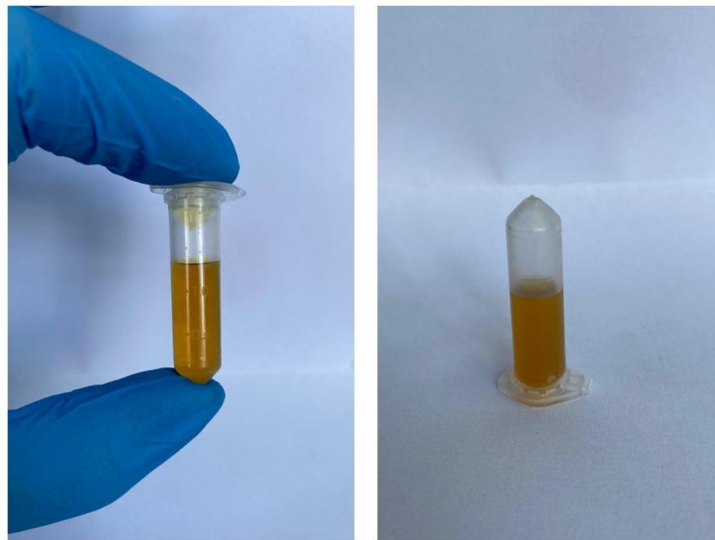
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Gümüş nanopartiküllerin UV-Vis absorpsiyon spektrumu Şekil 1'de gösterilmektedir. Whelan ve ark. [40] ile Krkljes ve ark. [41] göre gümüş nanopartiküller 400-410 nm absorpsiyon spektrum bandı sergilemektedir. AgNP sentezinin absorpsiyon spektrumunda, AgNP'nin karakteristik yüzey plazmon rezonansına karşılık gelen 405 nm'de maksimum absorpsiyon ile tek ve iyi tanımlanmış bir pik verdiği görülmektedir.



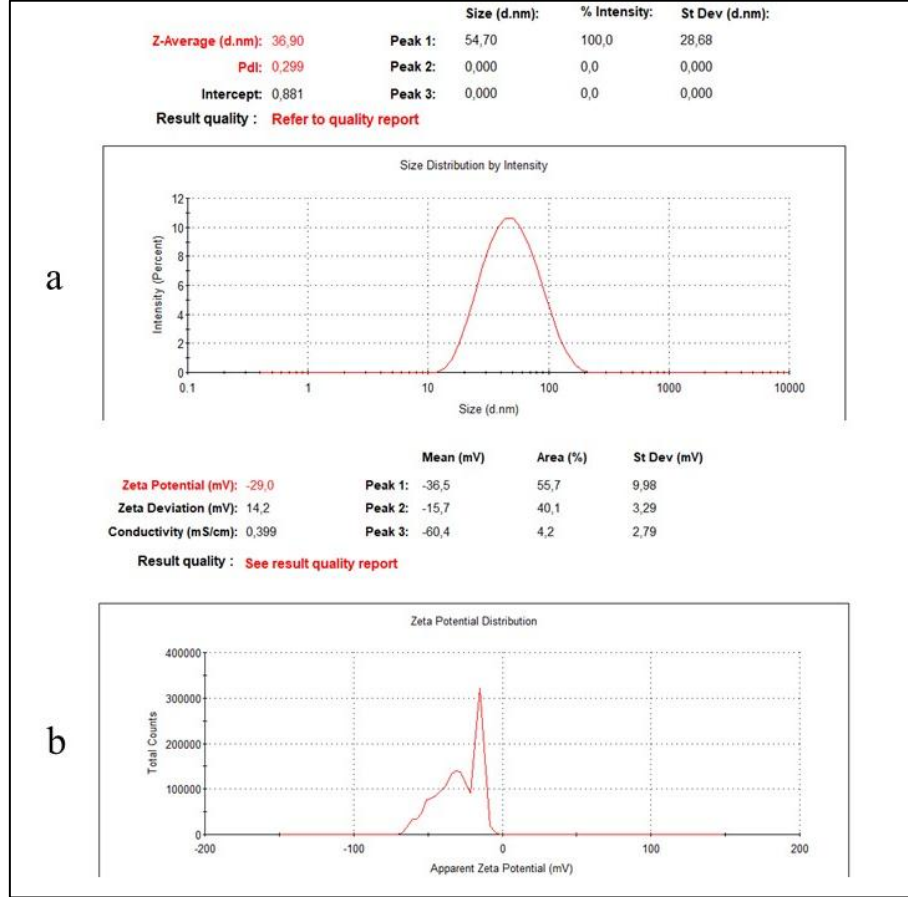
Şekil 1. Safran bitkisinden yeşil sentezle sentezlenen AgNP'lerin UV-Vis spektrumları

Ayrıca AgNP'lerin sarı rengi ile birlikte iyi tanımlanmış pik, AgNP'lerin oksidasyonunun olmadığına bir kanıttır [42,43]. Bu çalışma safradan sezenelenen AgNP'lerin renginde sarımsı-kahverengi olduğu görülmüştür (Şekil 2).



Şekil 2. Safran bitkisinden yeşil sentezle sentezlenen AgNP'lerin gün ışığında görüntüleri

Dinamik ışık saçılımı (DLS) ile safrandan yeşil sentezle sentezlenen AgNP'lerin parçacık boyutunun 54 nm olduğunu ve polidispersite indeksinin (PdI) 0.299 olduğunu tespit edilmiştir (Şekil 3). Bir çözeltideki bir NP'nin ortalama homojenliği PdI değeri ile tahmin edilir, çünkü daha büyük bir değer bir çözeltideki NP'lerin daha büyük bir boyut dağılımını göstermektedir. NP'lerin toplanması da PdI değeri ile gösterilir, çünkü PdI değeri 0.1'den küçükse bir numune tek dağılımlıdır [43]. Dolayısıyla, sonuçlarımızda DLS ve PdI tarafından gösterilen değerler NP'lerin çok az toplandığını göstermektedir.



Şekil 3. AgNP'lerin Zeta Potansiyeli

Toplam biyoaktif içeriği tahmin etmek için çeşitli spektrofotometrik yöntemler kullanılmıştır. Safran ekstresinin yüksek fenolik içeriğe (153.16 ± 0.03 mg GAE/g ekstrakt) ve flavonoid içeriğine (1059.218 ± 0.003 mg QE/g ekstrakt) sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 1). Karimi ve ark. Safran'ın metanolik, etanolik ve kaynar su ekstraktlarının fenolik içeriğinde sırasıyla 6.54, 6.35 ve 5.70 mg GAE/g olduğunu tespit etmiştir [44]. Benzer şekilde, flavonoid içeriklerini metanolik ekstraktta 5.88 mg rutin eşdeğeri/g, kaynar su ekstraktı 3.86 mg rutin eşdeğeri/g ve etanolik ekstraktta 2.91 mg rutin eşdeğeri/g olarak belirlemiştir.

Tablo 1. Safran Ekstraktının Toplam Fenolik ve Toplam Flavonoid Miktarı

	Toplam Fenolik (mg GAEa /g ekstrakt)	Toplam Flavonoid (mg QEb /g ekstrakt)
Safran	$153.16 \mu\text{g/mL} \pm 0.03$	$1059.218 \mu\text{g/mL} \pm 0.003$

Safran ekstraktının antioksidan aktivitesinin tespitinde DPPH ve CUPRAC yöntemleri kullanılmıştır. DPPH radikalleri kararlı azot merkezli radikallerdir ve antioksidatif gıdaların, sağlık ürünlerinin ve farmasötiklerin antioksidan kapasitesi için önemli göstergelerden biridir [45]. DPPH radikalinin tek bir elektronu vardır, alkol çözeltisi mordur ve 515 nm'de güçlü bir absorpsiyona sahiptir. Antioksidanlar mevcut olduğunda, DPPH serbest radikalleri uzaklaştırılır, çözeltisinin rengi daha açık hale gelir, 515

nm'lik absorbans azalır ve absorbansdaki değişim, belirli bir aralıktaki serbest radikal uzaklaştırma derecesi ile orantılıdır [45]. Tablo 2, örnek konsantrasyonu azaldığında, safran tarafından DPPH temizlenme oranının azaldığını ortaya göstermektedir. Safranın IC_{50} değeri 10.60 ± 0.2 $\mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir. Bu değerin literatürdeki değerlerden daha düşük olduğu görülmüştür. Örneğin Li ve ark. safranın taç yaprakların IC_{50} değerini 28.37 mg/mL , stigmaların IC_{50} değerini ise 38.99 mg/mL olarak tespit etmiştir [46]. CUPRAC yöntemi kullanılarak yapılan antioksidan kapasite sonuçlarına göre Safran ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi 59.25 ile 88.18 $\mu\text{g/mL}$ arasında değişmektedir. Safran'ın $A_{0.50}$ değeri 0.313 ± 0.4 $\mu\text{g/mL}$ olarak tespit edilmiştir.

Tablo 2. Safran ekstresinin antioksidan aktivitesi

DPPH Aktivite (% İnhibisyon)										
	100 µg/mL	200 µg/mL	500 µg/mL	1000 µg/mL						IC ₅₀ µg/mL
Safran	-68.91±0.1	-58.26±0.1	-49.40±0.01	-30.02±0.00						10.60±0.2
	1.56 µg/mL	3.125 µg/mL	6.25 µg/mL	12.5 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	IC ₅₀ µg/mL	
Kuarsetin	-59.25±0.08	-39.83±0.02	-17.36±0.005	24.59±0.08	74.97±0.02	86.63±0.005	87.39±0.006	88.18±0.007	5.30±0.8	
CUPRAC Aktivite (Absorbans)										
	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL						A _{0.50} µg/mL
Safran	0.0557±0.005	0.1226±0.01	0.3109±0.02	0.6286±0.07						0.313±0.4
	0 µg/mL	25 µg/mL	50 µg/mL	100 µg/mL						A _{0.50} µg/mL
Gallik asit	0.00 ± 0.005	0.35 ± 0.02	0.67 ± 0.04	1.42 ± 0.16						3546±0.9

4. SONUÇ

Bu çalışmada safran ekstresi kullanılarak gümüş nanopartiküllerin (AgNP) başarılı bir şekilde yeşil sentezinin gerçekleştirildiğini göstermiştir. UV-Vis absorpsiyon spektrumu, 405 nm’de gözlenen karakteristik yüzey plazmon rezonans (SPR) piki ile iyi tanımlanmış ve stabil AgNP’lerin oluştuğunu doğrulamıştır. Dinamik ışık saçılımı (DLS) analizi, AgNP’lerin ortalama parçacık boyutunun 54 nm olduğunu ve polidispersite indeksinin (PDI) 0.299 olduğunu belirleyerek minimal agregasyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Safran ekstresinin yüksek toplam fenolik ve flavonoid içeriği, DPPH ve CUPRAC testleri ile doğrulanan güçlü antioksidan aktiviteye katkı sağlamıştır.

Ayrıca, insan prostat kanseri PC-3 hücreleri üzerinde gerçekleştirilen sitotoksikite analizleri, AgNP’lerin hücre canlılığını anlamlı şekilde azalttığını ve IC50 değerinin 49.1 µg/mL olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, safran ile sentezlenen AgNP’lerin güçlü antioksidan kapasiteye sahip olduğunu ve kanser hücreleri üzerinde seçici sitotoksik etki gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

TEŞEKKÜRLER

Bu proje TUBİTAK 2209A kapsamında desteklenmiştir.

REFERANSLAR

- [1] José Bagur, M., et al., *Saffron: An old medicinal plant and a potential novel functional food*. Molecules, 2017. **23**(1): p. 30.
- [2] Bukhari, S.I., M. Manzoor, and M. Dhar, *A comprehensive review of the pharmacological potential of Crocus sativus and its bioactive apocarotenoids*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018. **98**: p. 733-745.
- [3] Ma, A., et al., *The effects and underlying mechanisms of medicine and food homologous flowers on the prevention and treatment of related diseases*. Journal of Food Biochemistry, 2022. **46**(12): p. e14430.
- [4] Christodoulou, E., et al., *Saffron: a natural product with potential pharmaceutical applications*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2015. **67**(12): p. 1634-1649.
- [5] Khan, I., K. Saeed, and I. Khan, *Nanoparticles: Properties, applications and toxicities*. Arabian journal of chemistry, 2019. **12**(7): p. 908-931.
- [6] Beck, F., M. Loessl, and A.J. Baeumner, *Signaling strategies of silver nanoparticles in optical and electrochemical biosensors: Considering their potential for the point-of-care*. Microchimica Acta, 2023. **190**(3): p. 91.
- [7] Luo, Z., et al., *Highly dispersed silver nanoparticles for performance-enhanced lithium oxygen batteries*. Journal of Materials Science & Technology, 2021. **73**: p. 171-177.
- [8] Sun, Y.-A., et al., *Silver nanoparticles-decorating manganese oxide hybrid nanostructures for supercapacitor applications*. Langmuir, 2019. **35**(44): p. 14203-14212.
- [9] Kapil, N., S.V. Mayani, and K.G. Bhattacharyya, *Environmental implications of nanoceramic applications*. Results in Chemistry, 2023. **5**: p. 100724.
- [10] Prasher, P., et al., *Emerging trends in clinical implications of bio-conjugated silver nanoparticles in drug delivery*. Colloid and Interface Science Communications, 2020. **35**: p. 100244.
- [11] Skóra, B., et al., *Noncytotoxic silver nanoparticles as a new antimicrobial strategy*. Scientific Reports, 2021. **11**(1): p. 13451.
- [12] Sharifi-Rad, M. and P. Pohl, *Synthesis of biogenic silver nanoparticles (Agcl-NPs) using a pulicaria vulgaris gaertn. aerial part extract and their application as antibacterial, antifungal and antioxidant agents*. Nanomaterials, 2020. **10**(4): p. 638.
- [13] Narciso, A.M., et al., *Antimicrobial green silver nanoparticles in bone grafts functionalization for biomedical applications*. Biocatalysis and agricultural biotechnology, 2021. **35**: p. 102074.

- [14] Damle, A., et al., *A concise review on implications of silver nanoparticles in bone tissue engineering*. Biomaterials Advances, 2022. **141**: p. 213099.
- [15] Asafa, T., et al., *Physico-mechanical properties of emulsion paint embedded with silver nanoparticles*. Bulletin of Materials Science, 2021. **44**: p. 1-11.
- [16] Kim, K.S., C.G. Song, and P.M. Kang, *Targeting oxidative stress using nanoparticles as a theranostic strategy for cardiovascular diseases*. Antioxidants & redox signaling, 2019. **30**(5): p. 733-746.
- [17] Huang, C.-L., et al., *Silver nanoparticles affect on gene expression of inflammatory and neurodegenerative responses in mouse brain neural cells*. Environmental research, 2015. **136**: p. 253-263.
- [18] Kumari, R., et al., *Apoptosis induction in lung and prostate cancer cells through silver nanoparticles synthesized from Pinus roxburghii bioactive fraction*. JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2020. **25**: p. 23-37.
- [19] Raj, A., et al., *Exploring the cytotoxicity on human lung cancer cells and DNA binding stratagem of camptothecin functionalised silver nanoparticles through multi-spectroscopic, and calorimetric approach*. Scientific Reports, 2023. **13**(1): p. 9045.
- [20] Hussein, H.A. and M.A. Abdullah, *Novel drug delivery systems based on silver nanoparticles, hyaluronic acid, lipid nanoparticles and liposomes for cancer treatment*. Applied Nanoscience, 2022. **12**(11): p. 3071-3096.
- [21] Burduşel, A.-C., et al., *Biomedical applications of silver nanoparticles: an up-to-date overview*. Nanomaterials, 2018. **8**(9): p. 681.
- [22] Marinescu, L., et al., *Comparative antimicrobial activity of silver nanoparticles obtained by wet chemical reduction and solvothermal methods*. International Journal of Molecular Sciences, 2022. **23**(11): p. 5982.
- [23] Quintero-Quiroz, C., et al., *Optimization of silver nanoparticle synthesis by chemical reduction and evaluation of its antimicrobial and toxic activity*. Biomaterials research, 2019. **23**(1): p. 27.
- [24] He, C., et al., *Formation and characterization of silver nanoparticles in aqueous solution via ultrasonic irradiation*. Ultrasonics sonochemistry, 2014. **21**(2): p. 542-548.
- [25] Scuderi, M., et al., *Nanoscale study of the tarnishing process in electron beam lithography-fabricated silver nanoparticles for plasmonic applications*. The Journal of Physical Chemistry C, 2016. **120**(42): p. 24314-24323.
- [26] Roy, N., et al., *Green synthesis of silver nanoparticles: an approach to overcome toxicity*. Environmental toxicology and pharmacology, 2013. **36**(3): p. 807-812.
- [27] Shameem Ahamed, S., R. Chola, and R. Venkatachalam, *Green Synthesis of Nanoparticles Using Plant and Biological Organisms and Their Biomedical Applications*, in *Modern Nanotechnology: Volume 2: Green Synthesis, Sustainable Energy and Impacts*. 2023, Springer. p. 91-121.
- [28] Abbasi, R., et al., *Structural parameters of nanoparticles affecting their toxicity for biomedical applications: a review*. Journal of Nanoparticle Research, 2023. **25**(3): p. 43.
- [29] Simon, S., et al., *Biomedical applications of plant extract-synthesized silver nanoparticles*. Biomedicines, 2022. **10**(11): p. 2792.
- [30] Raj, R., et al., *Biogenic silver based nanostructures: Synthesis, mechanistic approach and biological applications*. Environmental Research, 2023. **231**: p. 116045.
- [31] Shaikh, W.A., et al., *A review of the phytochemical mediated synthesis of AgNP (silver nanoparticle): The wonder particle of the past decade*. Applied Nanoscience, 2021. **11**(11): p. 2625-2660.

-
- [32] Adeyemi, J.O., et al., *Plant extracts mediated metal-based nanoparticles: synthesis and biological applications*. Biomolecules, 2022. **12**(5): p. 627.
- [33] Xu, L., et al., *Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety*. Theranostics, 2020. **10**(20): p. 8996.
- [34] Hosseingholian, A., et al., *Recent advances in green synthesized nanoparticles: From production to application*. Materials Today Sustainability, 2023. **24**: p. 100500.
- [35] Sharma, N.K., et al., *Green route synthesis and characterization techniques of silver nanoparticles and their biological adeptness*. ACS omega, 2022. **7**(31): p. 27004-27020.
- [36] Javed, R., et al., *Role of capping agents in the application of nanoparticles in biomedicine and environmental remediation: recent trends and future prospects*. Journal of Nanobiotechnology, 2020. **18**: p. 1-15.
- [37] Ferlay, J., et al., *Global cancer observatory: cancer today*. Lyon: International agency for research on cancer, 2020. **20182020**.
- [38] Slinkard, K. and V.L. Singleton, *Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods*. American journal of enology and viticulture, 1977. **28**(1): p. 49-55.
- [39] Djeridane, A., et al., *Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds*. Food chemistry, 2006. **97**(4): p. 654-660.
- [40] Whelan, A.M., et al., *Enhanced third-order optical nonlinearity of silver nanoparticles with a tunable surface plasmon resonance*. Journal of Nanoscience and nanotechnology, 2004. **4**(1-2): p. 66-68.
- [41] Krklješ, A., *Radiolytic synthesis of nanocomposites based on noble metal nanoparticles and natural polymer, and their application as biomaterial*. 2011.
- [42] Varkey, A. and A. Fort, *Some optical properties of silver peroxide (AgO) and silver oxide (Ag₂O) films produced by chemical-bath deposition*. Solar Energy Materials and Solar Cells, 1993. **29**(3): p. 253-259.
- [43] Clayton, K.N., et al., *Physical characterization of nanoparticle size and surface modification using particle scattering diffusometry*. Biomicrofluidics, 2016. **10**(5).
- [44] Karimi, E., et al., *Evaluation of Crocus sativus L. Stigma Phenolic and Flavonoid Compounds and Its Antioxidant Activity*. Molecules, 2010. **15**(9): p. 6244-6256.
- [45] Sharma, O.P. and T.K. Bhat, *DPPH antioxidant assay revisited*. Food Chemistry, 2009. **113**(4): p. 1202-1205.
- [46] Li, X., et al., *"Plant Golden" C. sativus: Qualitative and quantitative analysis of major components in stigmas and petals and their biological activity in vitro*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2024. **243**: p. 116115.