

T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI



***SERRATIA MARCESCENS* VE *PSEUDOMONAS*
AERUGINOSA'YA YÖNELİK ALTIN NANOPARÇACIK
GLUKOKONJUGATLARIN SENTEZİ VE ANTİMİKROBİYAL
UYGULAMALARI**

SEDANUR SANCAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ. DR. İDRİS YAZGAN

HAZİRAN - 2022

KASTAMONU

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Sedanur SANCAK

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***SERRATIA MARCESCENS* VE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*'YA YÖNELİK ALTIN NANOPARÇACIK GLUKOKONJUGATLARIN SENTEZİ VE ANTİMİKROBİYAL UYGULAMALARI**

SEDANUR SANCAK

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN:DOÇ. DR. İDRİS YAZGAN

Yüzeyi fonksiyonel hale getirilmiş nanoparçacıklar hedefe yönelik dizayn edilebilmeleri nedeniyle biyolojik uygulamalar için gün geçtikçe önemli hale gelmektedirler. Bu çalışma da laboratuvarında sentezlemiş olduğumuz galaktoz, mannoz, laktoz ve sellobiyoz türevlerini kullanılarak altın (Au), gümüş (Ag) nanoparçacıklar (NPlar) ve demir metal organik çerçeve glukonkonjugatları (FeMOFlar) sentezlendi. Her ne kadar çalışmanın amacı altın nanoparçacıkların antibiyotik ve amino asit modifiye şekillerinin *S.marcescens* ve *P.aeruginosa* üzerine olan antibakteriyel etkilerini incelemek olsa da, kıyaslama amacıyla AgNPlar ve FeMOF'larda çalışmaya dahil edilmiştir. Antibakteriyel aktivitenin hedef bakterilere seçimliliği ise çalışmaya diğer gram (+) ve gram (-) bakterilerin eklenmesiyle gerçekleştirildi. Çalışma da ilk adım olarak hangi yüzey kimyasına sahip AuNP, AgNP ve FeMOF'un daha güçlü antibakteriyel etkisi olduğu belirlendikten sonra minimum inhibisyon değişimi (MIC) ve minimum bakterisidal değişimi (MBC) belirlendi. MBC değerleri µg/mL seviyesinde bulundu. *S.marcescens* AuNP'lara 200 µg/mL seviyeleri için herhangi bir MIC/MBC değeri vermezken, sadece L3AP_AgNP ve L5AS_FeMOF/G5AS_FeMOFlara karşı bir duyarlılık göstermiştir. Buna karşın, *P.aeruginosa* ise G5AS_AuNP için 50 µg/mL MIC değeri vermiştir; AgNPlar söz konusu olduğunda ise hem MIC hem de MBC değerleri olarak 25 µg/mL seviyelerine inilebilmiştir. Genel olarak bakıldığında nanoyapı glukonkonjugatların antibakteriyel aktivitelerininin nanomalzemenin yüzey kimyasına bağlı olduğu bulundu.

ANAHTAR KELİMELELER: AuNP, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, Glukokonjugat, Antimikrobiyal

Haziran 2022, 45 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

SYNTHESIS OF GOLD NANOGLYCOCONJUGATE TOWARDS *SERRATIA MARCESCENS* AND *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, AND THEIR ANTIMICROBIAL APPLICATIONS

SEDANUR SANCAK

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOLOGY

SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. İDRİS YAZGAN

Surface functionalized nanomaterials have outstanding potentials in biological applications owing to their target specific design. In this study, we utilized laboratory synthesized carbohydrate-derivatives (i.e. galactose, mannose, lactose and cellobiose derivatives) for aqueous one-pot synthesis of gold (Au) and silver (Ag) nanomaterial glycoconjugates (NPs), and iron metal organic framework glycoconjugates (FeMOFs). Even though the goal of the study was to evaluate antibacterial capacity of the AuNPs and corresponding antibiotic and amino acid modified ones using *S.marcescens* and *P.aeruginosa*. However, in order to make a comparison, AgNPs and FeMOFs synthesized with the sugar ligands were used, where such other gram (-) and gram (+) bacterial species were included to evaluate the selectivity. As of first step, Au_NPs, Ag_NPs and Fe_MOFs were tested against a variety of gram (-) and gram (+) bacterial strains, where Ag_NPs gave moderate to high antibacterial activities against all the tested bacterial strains while Au_NPs and Fe_MOFs showed their bacterial toxicity mostly depending on the strain. Minimum inhibitory concentration (MIC) and Minimum bactericidal concentration (MBC) tests were performed for the nanostructure glycoconjugates, where $\mu\text{g/mL}$ MBC values were obtained. *S.marcescens* did not show any vulnerability, as of MIC/MBC value, for the AuNPs under the tested highest concentrations (200 $\mu\text{g/mL}$) while it showed vulnerability towards L3AP_AgNP and L5AS_FeMOF/G5AS_FeMOFs. In contrast to this, *P.aeruginosa* gave 50 $\mu\text{g/mL}$ MIC for G5AS_AuNPs while MIC/MBC values went down to 25 $\mu\text{g/mL}$ for most of the AgNPs. Overall, the findings revealed that the nanostructure glycoconjugates can provide selective toxicity as antibacterial and anticancer agents.

KEYWORDS: AuNP, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, Glucoconjugate, Antimicrobial

June 2022, 45 Page

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca çalışmalarımnda her türlü fedakarlığı gösteren, her koşulda ve şartta büyük bir sabırla yardımını esirgemeyen ve değerli bilgilerini benimle paylaşan Danışman hocam Doç. Dr. İdris YAZGAN'a teşekkür ederim.

Kastamonu Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nün değerli öğretim üyelerine ve tez savunma jürimde yer alan değerli hocalarım Prof. Dr. Talip ÇETER ve Dr. Öğr. Üyesi Abdurrahman GÜMÜŞ'e teşekkür ederim. Ayrıca bu çalışmanın laboratuvar bölümü ve analizleri için her türlü destek ve yardımlarını esirgemeyen Biyoloji Bölümü öğrencileri sevgili Sedanur SEL, Ardanur KÜÇÜK, Zehra TAŞDELEN ve Şevval GÜNEY' e teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında, daima bana destek olan ve her zaman yanımda olduklarını hissettiğim hayatımı güzelleştiren, bana güç veren canım oğlum Alptuğ SANCAK ve sevgili eşim Zafer SANCAK' a sonsuz teşekkürler.

SEDANUR SANCAK

Kastamonu, 2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI	ii
TAAHHÜTNAME	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Çalışmanın Amacı	3
1.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'nın Genel Özellikleri.....	3
1.2.1 <i>P. aeruginosa</i> 'nın Antibiyotiklere Direnci	5
1.3 <i>Serratia marcescens</i> 'in Genel Özellikleri	6
1.3.1 <i>S. marcescens</i> 'in Antibiyotiklere Direnci	7
1.4 Karakterize lektin yapıları.....	7
1.5 İşlevselleştirilmiş Altın Nano-Antibakteriyel Mekanizmalar	9
1.5.1 Hücre Zarları ile İşlev	9
1.5.2 İlaçlarla Kombinasyon	10
1.5.3 Elektrostatik ve Hidrofobik Etkileşimler	10
1.5.4 Membran Potansiyelini Değiştirme	10
1.5.5 Şeklini Değiştirme.....	10
2. LİTERATÜR İNCELEMESİ.....	12
3. MATERYAL VE METOD	15
3.1 Kullanılan materyaller	15
3.2 Çalışma Tasarımı.....	15
3.3 Şeker Ligandlarının Sentezi ve Karakterizasyonu	16
3.4 Altın Nanopartikül Glikokonjugatlarının Sentezi ve Yapısı	17
3.5 Antibakteriyel Çalışmalar.....	20
4. BULGULAR	23
4.1 Şeker Ligandlarının ve Karşılık Gelen Glikokonjugatların Sentezi ve Karakterizasyonu	23
4.2 INGC'lerin Antibakteriyel Aktivitesi, Glikokonjugatların ve şeker ligandlarının Antibakteriyel Yeteneklerinin Taranması	31
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	38
KAYNAKLAR	39
ÖZGEÇMİŞ.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakteri lektini, LecB/PA-IIL, RSIIIL, fruktoz ile kompleks	8
Şekil 1.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakteri lektini, LecB / PA-IIL, RSIIIL, mannoz ile kompleks	8
Şekil 1.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bakterial lektin, LecB / PA-IIL, RSIIIL, fukoz ile kompleks	9
Şekil 3.1 Şeker-ligantlarının indirgeyici aminasyon ile sentezlenmesi	16
Şekil 3.2 Altın nanopartiküllerin ve şeker ligandların oluşturulması	17
Şekil 3.3 Şeker ligantları kullanılarak altın nanopartikül sentez durumu	18
Şekil 3.4 İndirgeyici aminleme metodu ile şeker türevlerinin sentezi ve sentezin İTK ile takip edilmesi	19
Şekil 3.5 Altın nanoparçacık glikokonjugatlarının sentez şeması	20
Şekil 3.6 Minimum inhibisyon testi (MIC) uygulaması	22
Şekil 4.1 Çalışmada sentezlenen şeker ligandları	23
Şekil 4.2 HR-TEM görüntüleri	24
Şekil 4.3 Gümüş Nanoparçacıkların TEM görüntüleri ve UV-Vis spektrumları.....	26
Şekil 4.4 FeMOF'lara ait TEM görüntüleri UV-Vis spektrumları	27
Şekil 4.5 AuNP ve AgNP NaCl ve Nutrient Broth ortam varlığında kararlılığın değişiminin UV-Vis spektroskopisi ile takip edilmesi	29
Şekil 4.6 AuNP, AgNP ve FeMOFların NaCl ve Nutrient Broth ortam varlığında kararlılığın değişiminin UV-Vis spektroskopisi ile takip edilmesi.....	30
Şekil 4.7 Nanoyapılı glikokonjugat ve ajan toksisitesinin Bakteriler üzerinde ki açıklayıcı örnekleri.....	32
Şekil 4.8 G5AS AuNP_GC ve buna karşılık gelen LP işlevselleştirilmiş formlarının <i>S.marcescens</i> (SM) büyüme kinetik üzerine etkisi	37

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 4.1 MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) /MBC ($\mu\text{g}/\text{mL}$) /bakteri türlerinin biyofilm oluşumunda %’lik değişim.....	34

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

% : Yüzde

Kısaltmalar

AuNP : Altın Nanopartikül
MIC : Minimum inhibisyon konsantrasyonu
MBL : Mannan bağlayıcı lektinler
NIR : Yakın Kızıl Ötesi
SPR : Yüzey Plazmon Rezonans

1. GİRİŞ

Günümüzde nanoteknoloji üzerine yapılan yoğun ve kapsamlı çalışmalar, nanoteknolojinin bilim ve teknoloji alanındaki en hızlı büyüyen alan olmasını sağlamıştır (Santhoshkumar vd., 2017). Yeni fonksiyonel materyallerin geliştirilmesi ve biyolojik uygulamaları, nanoteknolojinin en önemli hedefleri içerisinde yer almaktadır (Karaca ve Öner, 2015b). Metalik fonksiyonel nano-yapılar içerisinde altın nanopartiküller esnek tasarımları, düşük toksisiteleri ve kontrol edilebilen yüzey kimyası ve optik özellikleri nedeniyle biyolojik uygulamalar açısından örneğin antimikrobiyal (Shamaila vd., 2016) ve antikanser (Carabineiro, 2017) ajanı olarak en yoğun şekilde çalışılan nanoyapılardır (Ahmad vd., 2017).

Her ne kadar klasik antibiyotikler bakteriyel enfeksiyonlarda güçlü etkileri ve ucuzluklarından dolayı tercih edilseler de bakterilerin direnç geliştirme kabiliyetleri antibiyotiklerin etkinliğini gittikçe azaltmaktadır. Daha önceleri antibiyotik miktarının artırılması ve birden fazla antibiyotiğin aynı anda uygulanması ile dirençli bakterilere karşı başarı sağlanırken, günümüzde birden çok antibiyotiğe direnç gösteren bakterinin varlığından ve antibiyotiklerin yetersizliğinden söz edilebilir. Yeni antibiyotiklerin geliştirilme hızı bakterilerin direnç geliştirme hızına yetişemeyeceğinden dolayı, ileri nesil antibiyotik geliştirilmesinde bilinen mevcut direnç geliştirme mekanizmalarından bağımsız olarak bakterileri yok edebilen yaklaşımların dikkate alınması zorunludur. Nanoyapı temelli antibiyotikler, klasik antibiyotiklerin yerini alabilecek en etkin yapılar olarak karşımıza çıkmaktadırlar (Wang vd., 2017). Nanoyapılar doğrudan antibiyotik etkisi gösterebildiği gibi (K. Zheng vd., 2017) mevcut antibiyotiklerin etkin taşınmasını da sağlayabilirler örneğin Amoksilin dekore edilmiş AuNP, in vivo uygulamalar da antibiyotiğe karşı dirençli *Staphylococcus aureus* a karşı yüksek başarı sağlarken yüksek biyo-uyumluluk göstermektedir (M Jazm vd., 2018). Nanoyapı bakteri hücre duvarı ile etkileşerek hücre duvarı bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Bu mekanizma nanoyapıların göstermiş oldukları en temel antimikrobiyal etkinliktir. Bakteri hücre duvarının kimyasının ve kompozisyonunun mutasyon ile değişimi ihmal edilebilir düzeyde olduğu için bakterilerin hücre duvarı üzerinden direnç geliştirme ihtimalleri düşüktür.

Ayrıca nanoyapılar, bakterilerin direnç mekanizması olarak kullandıkları biyofilm oluşturma mekanizmalarını da fiziksel olarak baskılayabilirler. Tüm bu nedenlerden ötürü uygun nanoyapılar gelecek antibiyotiklerdir (Wang vd., 2017).

AuNP'ler klasik kemoterapiye alternatif olarak kanser tedavisinde uygulamaları yönündeki araştırmalar gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır (Lee vd., 2014). Altın nanopartiküllerin yüzey kimyasının düzenlenmesi ile hücre metabolizmasının regülasyonu ve biyolojik etkileşimlerin taklit edilebilirliği sağlanarak ilaç geliştirme çabalarında önemli bir konuma gelmelerini sağlamışlardır (Carabineiro, 2017; Lai vd .,2017; Lindeque vd., 2018). Boyut/kompozisyon ilişkileri altın nano-yapıların uygulamalardaki başarılarıyla doğrudan ilişkilidirler (Goswami vd., 2016). O nedenle, altın nanopartiküllerin özelliklerinin sıkı bir şekilde kontrol edilerek sentezlenmeleri uygulamalarda hedeflenen performansın yakalanmasında öncül gerekliliktir.

Serumda bulunan Mannan bağlayıcı lektinler (MBL'ler) vücudun savunmasındaki ilk adımı oluşturmaktadır (Swierzko vd., 2013). MBL'ler C-tipi lektin ailesinin kolektin grubu üyelerindedir. MBL üyeleri D-mannoz, L- fukoz ve N-asetil D-glukozamin'e karşı yüksek afinite gösterirler (Hohenester, 2011; Swierzko vd., 2013). MBL'ler bakteri yüzeyindeki şekerlere bağlanarak bakterinin fagositozlar tarafından tanınım hedef haline getirilmesini sağlarlar (Alsahy vd., 2017). Benzeri şekilde lektinlerin seçimli bir şekilde kanserli hücelere bağlanması onların vücudun kendi immün sistemi tarafından imhasına olanak sunmaktadır (Lian vd., 2009; Petrossian vd., 2007). MBL üyeleri serumda serbest halde bulunabildikleri gibi, bakteri yüzeyinde ve memeli hücre yüzeylerinde de bulunabilirler. Bu durum, hücre metabolizmasının yönlendirilmesi ve mikrobiyal gelişiminin baskılanmasını karbohidrat-lektin etkileşimi üzerinden yönlendirmeye imkân sunmaktadır. Bakteri yüzeyine bağlanan şeker ligandları, bakterileri fagositoz ataklarına maruz bırakabilirler ya da bakterinin metabolizmasını regüle ederek patojenliğini azaltabilir (Schwardt vd., 2011). Antimikrobiyal etki mekanizmasına benzeri bir mekanizma üzerinden şeker ligandları anti kanser etki gösterebilirler (Stokmaier vd., 2009). Bu nedenle karbohidrat temelli ilaç geliştirme çabaları şekerlerin birçok metabolik olayın regülasyonunda görev almalarından ötürü ilgi çekicidir, lakin serumdan hızla temizlenmeleri (clearance), hücre içine geçişteki problemler ve yüksek doz uygulama gereklilikleri nedeniyle

beklenen başarı sağlanamamıştır (Aich vd., 2011). Bu nedenle, karbohidrat temeli ilaçların etkinliğinin artırılması için destek materyaller kullanılmaktadır (Aich vd., 2011; Li vd., 2015). Bunlara örnek olarak, ilaçların polimerler içerisine hapsedilmesi (Aich vd., 2011) yada nanopartiküller ile ilgili hücreye salınımın gerçekleştirilmesi örnek olarak verilebilir (Ke vd., 2018). D-/L-karbohidratların kullanımı ile sentezlenen kirâl AuNP'leri ile enantiyoselektif biyolojik reaksiyonların gerçekleştirilmesine imkan sağlanarak etkin ilaç geliştirilmesine katkı sunulmaktadır (Chem vd., 2015). Bu durum onların sadece hedef hücreye spesifik olarak bağlanabilmelerini değil, aynı anda hücre metabolizması için kritik olan enzimlerin örneğin glikosidazların inhibisyonunu sağlayabileceğinden ötürü hücre metabolizmasının yönlendirilmesine olanak sağlayacaktır (Tiwari vd., 2012).

1.1 Çalışmanın Amacı

D/L-şeker ligandları, D-aminoasitler ve biyoaktif moleküller ile yüzey kimyası dizayn edilmiş kirâl altın nanopartikül glukokonjugatlarının (AuNP-GG) sentezi, karakterizasyonu ve antibakteriyel performanslarının karakterizasyonlarını yapmaktır. Çalışma sonucunda D/L-şeker ligandları ile polidispersitesi düşük homojen dağılımlı boyut ve şekli kontrol edilmiş kirâl altın nanopartikül glukokonjugatlarının sentezi ve mevcut karbohidratlar yoğunluklu olarak piranoz/furanoz halkaları korunarak sentezlenirken, bu çalışma ile açık zincir şeklinde sentezlenerek kirâl altın nanopartikül glukokonjugatlarının hedef hücreye seçimliliği konusunda etkilerin anlaşılmasına olanak sağlayacaktır. Gram (-) bakterileri üzerine güçlü sidal etki oluşturmak için altın nanopartiküllerin yüzey kimyasında şeker ligand, D-aminoasit ve biyoaktif moleküllerin kimyasının ve dağılımının optimizasyonu gözlenmiştir.

1.2 *Pseudomonas aeruginosa*'nın Genel Özellikleri

Pseudomonas aeruginosa fırsatçı ve biyofilm oluşturan, Pseudomonadaceae familyasına ait, geniş bir yayılışa sahip olan Gram negatif bir bakteridir (Silby vd., 2011). Bu cinsin 25'ten fazla türü, insan enfeksiyonlarına neden olur ve bunların çoğu, fırsatçı enfeksiyonlardır (Stover vd., 2000). Çubuk şekilli ve mobilizasyon için bir flagellum'a sahip bir bakteri türüdür. Gram-negatif bakterilerin çoğundan bireysel

olarak *P. aeruginosa* bir oksidaz reaksiyonu için pozitifdir. Yaygın olarak kistik fibröz, bakteriyel keratit, yanık enfeksiyonları ve peritoneal kateter enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Antibiyotik direncine sahip türleri, antibiyotiğe direnç göstermeyen suşlarına oranla 100-kat ve daha fazla dirence sahiptir. *P.aeruginosa*'nın sahip olduğu antibiyotik direnci toksin/antitoksin sisteminin aktifleşmesinden kaynaklanmaktadır. *P.aeruginosa*'nın direnç gösterdiği bazı antibiyotikler ciprofloksacin, ceftazidime ve cefoperazone/sulbactam olarak verilebilir.

P.aeruginosa'nın virülans faktörleri çeşitlilik göstermektedir. Bu faktörlerden önemli olanları arasında pyoverdinin ve pyochelin molekülleri oldukça yaygın çalışılmaktadır. Bunun nedeni, hem bakterinin hayati faaliyetlerine katkı sağlaması hemde *P.aeruginosa* enfeksiyonunun ilk adımında kendisini göstermesidir.

Basit olmaları ve büyüme gereksinimindeki kolaylıklardan dolayı her yerde bulunabilen *P. aeruginosa*'ya maruz kalmayı önlemek neredeyse imkansızdır (Moore vd., 2011). Bu bakteriler toprakta ve çeşitli su solüsyonlarında, dezenfektanlarda ve sabunlarda yaygın olarak bulunur (Brooks vd., 2014). Ayrıca genellikle hastane ortamında, özellikle su tahliyeleri, bulaşıklar ve temizlik kovaları gibi ıslak alanlarda bulunabilirliği artmaktadır. Büyümeleri göz damlası ve merhemlerin yanı sıra bazı dezenfektan çözeltilerinde, kontakt lens çözeltilerinde ve preparatlarında da gözlemlenmiş ve bunların anestezi maskelerinde de bulunabilirliği saptanmıştır (Zhapouni vd., 2009).

Bunlara ek olarak nozokomiyal enfeksiyonların nedeni olabilmelerinin yanı sıra dezenfektan sabun çözeltisi ve temizleyici içeren heksakloropanda da büyüdüğü saptanmıştır (Levinson, 2017). *P. aeruginosa*, metaller, plastikler, tıbbi implant materyalleri ve dokular dahil olmak üzere çeşitli yüzeylere yapışan ve yok edilmesi çok zor olan karmaşık bakteri toplulukları ile biyofilmler oluşturma eğilimindedir (An vd., 2003). Bu bakteri insan vücudunda özgürce yaşayan bir bakteri türü değildir, ancak sindirim sisteminin florasında az miktarda da olsa bulunur. Vücudun ıslak yüzeylerinin çeşitli yerlerinde, koltuk altında ve perine üzerinde geçici bir koloni oluşturabilirler ve boğaz ile burunda kolonize olarak bulunabilirler (Moore ve Flaws, 2011). *P. aeruginosa*, doğası ve çoklu ilaç direncine bağlı olarak dünya çapında

inflamasyon yayılımının yaklaşık % 10 - 15'ini kapsamaktadır (Strateva ve Yordanov, 2009). *P. aeruginosa*'nın ıslak ortamlarda büyüme eğilimi, toprak ve sudaki doğal varlıklarının bir yansıması olabilir (Hostacka ve Majtan, 1997).

1.2.1 *P. aeruginosa*'nın Antibiyotiklere Direnci

Büyük genomlarında kodlanan düzenleyici genlerin büyük bir kısmının sağladığı çok yönlülük ve uyarlanabilirlik, virülans belirleyicilerinin dikkat çekici içeriklerinden ve antimikrobiyal tedavilerin aktivitesinden kaçınmak için olağanüstü kapasitesi, *P. aeruginosa*'yı korkulan bakteriyel patojenlerden biri yapmaktadır. Özellikle kronik enfeksiyonlarda yaygın olan mutasyon varyantlarının ortaya çıkması, *P. aeruginosa*'da uyarlanabilirliği ve antimikrobiyal direnç gelişimini daha da artırmıştır (Cabot vd., 2016). *P. aeruginosa* genetik olarak olağanüstü antibiyotik direnç mekanizmaları ile donatılmıştır (Cabot vd., 2016). *P. aeruginosa* indüklenebilir bir AmpC sefalosporinaz taşıyıcı ve üretimi sadece düşük bazal seviyededir. Bu da onu antipseudomonal penisiline duyarlı hale getirir. Ancak, üretimi önemli ölçüde arttığında, *P. aeruginosa* tüm β -laktamlara karşı direnç geliştirir, yani *P. aeruginosa*'nın indüklenebilir bir AmpC β -laktamazı vardır ve bu enzimi indükleyen ve hidrolize olan β -laktamlara doğal olarak dirençlidir (Livermore, 2002; Mouly, 2018).

P. aeruginosa çok sayıda geniş dış zar gözeneklerinin varlığından dolayı oluşan bir porin (OprF) ürettiği için, çoğu antibiyotikler çoğunlukla hücrenin geçirimsizliğine atfedilen psödomonal hücreden çıkarılır (Benz ve Hancock, 1981; Mouly, 2018). Ancak, bu geçirimsizlik aracılı direnç aslında β -laktamları, kloramfenikol, florokinolonlar, makrolidler, novobiocin, sülfonamidler, tetrasiklin ve trimetoprimin yanı sıra çeşitli boyaları ve deterjanları gideren bir pompa sistemi olan MexA B-OprM tarafından yürütülmektedir (Poole, 2001). İlaçların hedef bölgesinin, kromozomal DNA mutasyonu yoluyla modifiye edilmesi, *P. aeruginosa* tarafından direnç kazanmanın başka bir yoludur. Kinolon hedef enzimleri DNA girazı ve topoizomeras IV kodlayan genlerdeki QRDR'deki modifikasyonlar, kinolon grubu antibiyotiklere karşı direnç sağlar (Jalal ve Wretling, 1998; Mouly, 2018). OprD kaybı, tip II topoizomeraslarda değişiklikler, AmpC aşırı üretimi, akış pompaları, kromozomal DNA'da mutasyon ve elde edilen çok sayıda gen *P. 11 aeruginosa* direncinden

sorumludur. Ancak, hedef genlerdeki, DNA girazı (gyrA) ve topoizomeraz IV'ü (parC) kodlayan genlerdeki mutasyonlar, florokinolon direncini kazanmanın ana mekanizmalarıdır (Firouzi vd., 2016). Yakın zamanda gerçekleşmiş olan birçok çalışmada, her direnç mekanizmasının yaygınlığı ve her bir antibiyotik sınıfına katkısı ayrıntılı olarak açıklanmıştır (Lister vd., 2009; Strateva ve Yordanov, 2009; Sun vd., 2014; Potron vd., 2015).

1.3 *Serratia marcescens*'in Genel Özellikleri

Serratia marcescens gram (-) fırsatçı bir patojendir. Uzun yıllar zararsız olduğu düşünülmesine rağmen, son yıllarda yapılan sistematik çalışmalar ile çok çeşitli enfeksiyonlara neden olduğu belirlenmiştir. *S.marcescens* tarihine bakıldığı zaman 1820 lere kadar uzanmaktadır ve ilk olarak bazı hastalıkların tedavisinde dahi kullanılmıştır. Buna karşın, 1930 lar da Almanlar tarafında biyolojik silah olarak farklı ülkelere karşı (örneğin Fransa) kullanılmıştır. Benzeri şekilde ABD, kendi ülkesinin biyolojik bir saldırıya hazır olup olmadığını test etmek için 1950 li yıllarda New York metrosunda aynı bakteriyi kullanarak denemeler yapmıştır ve bir kişinin ölümü ile sonuçlanmıştır (Mahlen, 2011). *S.marcescens* sadece insanlara değil aynı zamanda zygomycete küfleri ve bazı basidiomycete türlerini de enfekte edebilmekte ve ölümlerine sebe olmaktadır (Hover vd., 2016). Bazı alt türleri spor oluşturabilmektedir (Ajithkumar vd., 2003).

S.marcescens'in neden olduğu başlıca enfeksiyonlar solunum ve dolaşım sistemi enfeksiyonları, menenjit ve üriner sistemi enfeksiyonları olarak görülmektedir (Sandner-Miranda vd., 2018). *S.marcescens* antibiyotik direncini iç mekanizmalar ile gerçekleştirir (örneğin kromozomal mutasyonlar) (Weber vd., 2020). *S.marcescens* β -lactam, aminoglikozitler, quinolon'lar ve polipeptit antibiyotiklere karşı direnç göstermektedirler (Sandner-Miranda vd., 2018).

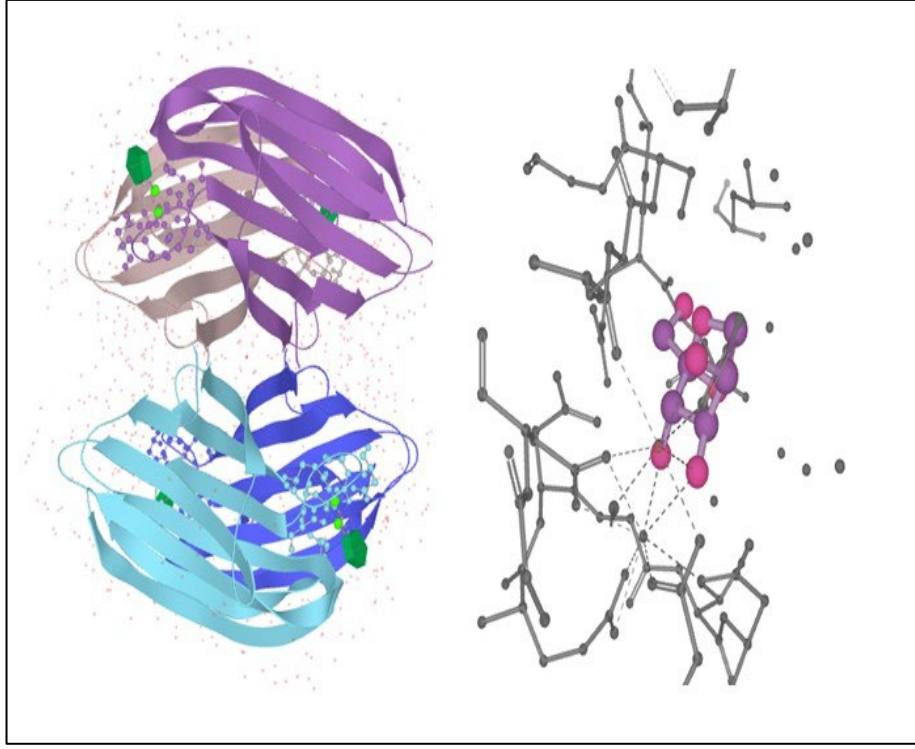
1.3.1 *S. marcescens*'in Antibiyotiklere Direnci

Serratia marcescens, diğer Enterobacteriaceae ailesinde yer alan mikroorganizmalarla benzer dirençli olma yollarına sahiptir: genişletilmiş spektrumlu β laktamazlar, AmpC tipi sefalosporinaz ve karbapenemazlar dâhil β -laktamaz üretimi; azalmış dış zar

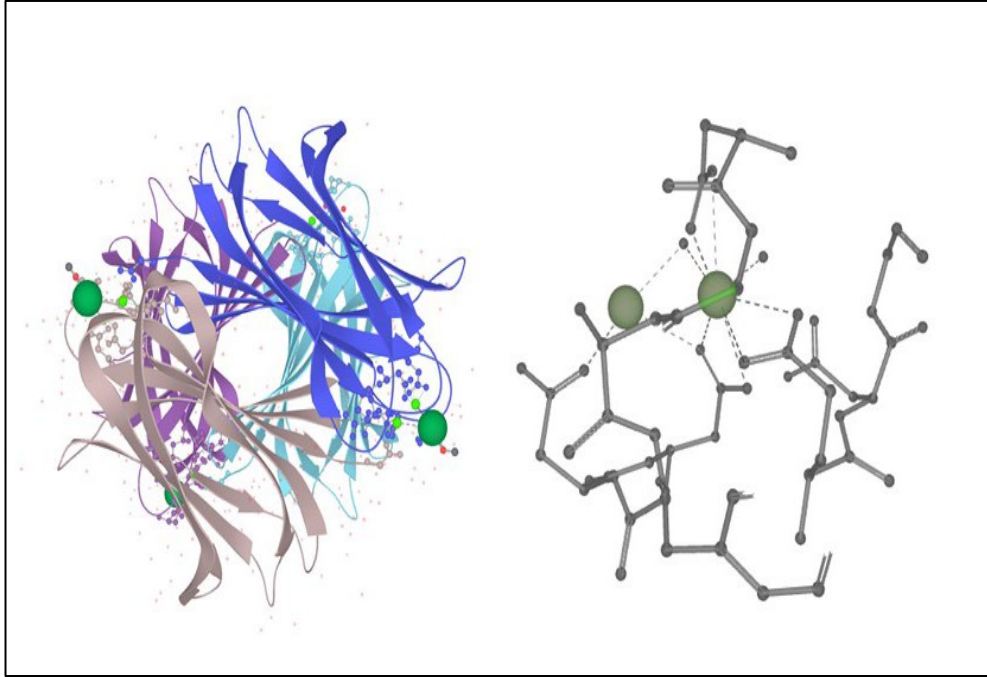
geçirgenliği; hedef site-PBP'lerin modifikasyonu; aktif dışarı akış sistemlerinin aşırı ifadesi; aminoglikosid modifiye edici enzimlerin sentezi; GyrA proteininin yapısal değişikliklerini gosterir. Ayrıca en sık uygulanan antimikrobiyal ajanların bilinen direnç mekanizmalarını gerçekleştirir (Haifei Yang, 2012). *S. marcescens*'in klinik izolatları üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler, fluorokinolonlar, aminoglikozitler ve kotrimoksazole karşı duyarlılık gösterebilirken genel olarak penisilinlere ve plazmid kodlanmış β laktamazlara bağlı olarak birinci ve ikinci kuşak sefalosporinlerin yanı sıra tetrasiklinler, makrolitler, kloramfenikol ve kolistin'e karşı dirençlidirler. Ayrıca AmpC ve β -laktamazın aşırı ekspresyonu, genişlemiş spektrumlu β -laktamazları (GSBL'ler), karbapenemazları veya efluks pompalarını kodlayan plazmidlerin elde edilmesi ve hedef proteinlerin modifikasyonlar dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalarla, ilave direnç gelişebilirler (Phadke ve Jacob, 2016).

1.4 Karakterize lektin yapıları

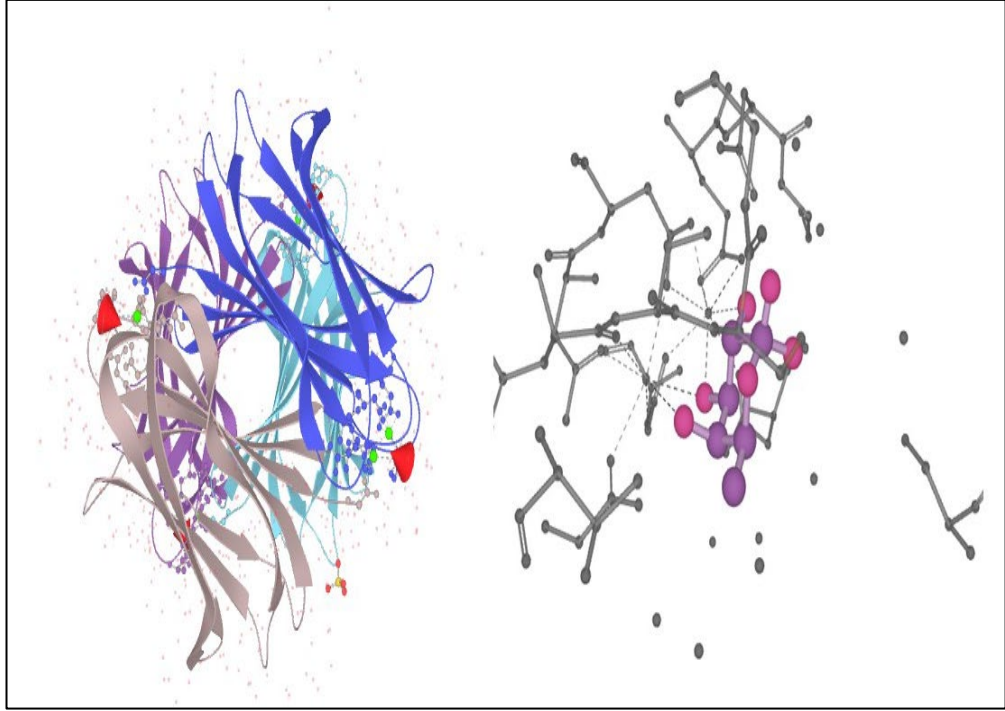
Lektinlerin belirlenebilmesi için <http://glyco3d.cermav.cnrs.fr> ve <https://www.unilectin.eu/predict> veri tabanları taranmıştır. *S.marcescens*'e ait herhangi bir karakterize edilen lektin veri tabanlarında mevcut değilken, *P.aeruginosa* için ise fruktoz (şekil 1.1), mannoz (şekil 1.2) ve fukoza (şekil 1.3) spesifik LecB, fukoza ve 3-fukozil laktoza spesifik PA-IIL lektini, aromatik grup içeren galaktoza'a spesifiklik gosteren LecA lektini ve daha başka karbohidratlara karşı spesifiklik gosteren lektinler mevcuttur.



Şekil 1.1 *Pseudomonas aeruginosa* bakteri lektini, LecB/PA-IIL, RSIIIL, fruktoz ile kompleks



Şekil 1.2 *Pseudomonas aeruginosa* bakteri lektini, LecB / PA-IIL, RSIIIL, mannoz ile kompleks



Şekil 1.3 *Pseudomonas aeruginosa* bakterial lektin, LecB / PA-IIL, RSIIIL, fukoz ile kompleks

1.5 İşlevselleştirilmiş Altın Nano-Antibakteriyel Mekanizmalar

Antibakteriyel özelliklere sahip altın nanoparçacıkları üretmek için birçok fonksiyonel modifikasyon yöntemi kullanılır. Farklı yöntemlerle hazırlanan altın nanoparçacıkların bakteriler üzerindeki etki mekanizmaları da farklılık göstermektedir. Altın nanoparçacıkların spesifik antibakteriyel mekanizmaları da belirsizdir.

1.5.1 Hücre Zarları ile İşlev

Modifiye edilmiş altın nanoparçacık türleri, bakteri hücre zarları ile etkileşime girebilir, onların bütünlüğünü bozabilir ve antibakteriyel ve sterilize edici bir rol oynayabilir (G. Chu ve Y. Chen, 2018). Çalışmalar, 2 nm çekirdek katyonik tek tabakalar tarafından korunan AuNP'lerin, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin hücre zarlarıyla etkileşime girebileceğini, benzersiz agregasyon desenleri ve bakteri

hücre lizizi oluşturduğunu bildirmiştir, bu da 2 nm AuNP'lerin katyonik yüzey özelliklerinin kullanılabilceğini gösterir (Hayden vd,2012).

1.5.2 İlaçlarla Kombinasyon

Altın parçacıklarının yüzeyinde antibakteriyel aktivitesi olmayan merkaptopirimidin molekülleri modifiye edildiğinde, altın nanoparçacıklarının Gram negatif bakterilere ve çoklu ilaca dirençli negatif bakterilere karşı iyi antibakteriyel aktivite göstermektedir (Li vd, 2014). Bu tür antibiyotik olmayan ilaçlar ve merkaptopirimidin ile kaplanmış altın nanopartiküller, süper bakterilere karşı geniş spektrumlu antibakteriyel ve bakterisidal etkiler üretebilir. Metformin, bakteri hücre duvarını yok etme yeteneğini geliştirerek en iyi geliştirme aktivitesini gösterir (X. Jiang ve Y. Jia, 2016).

1.5.3 Elektrostatik ve Hidrofobik Etkileşimler

Terminal karboksilik asit ve ditiolan halkaları ile doğal bir antioksidan olan lipoik asit (LA) ile işlevselleştirilmiş uzun dörtyüzlü (ETHH) Au nanoparçacıkları elektrostatik ve hidrofobik etkileşimler yoluyla bakterilerle etkileşime girerek, bakteri hücre duvarlarını tahrip etmektedir ve ardından hücre zarlarındaki yağ asitlerini oksitler (Ranjan vd, 2019).

1.5.4 Membran Potansiyelini Değişirme

Küçük molekül analoglarının bakterilerde ilaç öncüleri olarak kullanılması ve nanopartiküllere bağlanarak modifiye edilir. Altın nanoparçacıkları ile muamele edilen bakterilerin genomik ve proteomik analizi yoluyla, biri membran potansiyelini değiştirerek bakterilerdeki ATPaz aktivitesini azalttığı ve diğeri bakteriler tarafından tRNA sentezini inhibe ettiği gözlenmiştir (Tian vd, 2012).

1.5.5 Şekli Değişirme

Farklı altın nanoparçacık biçimlerinin antibakteriyel özellikler üzerindeki etkisinin, antibakteriyel mekanizmasıyla da ilişkili olabileceği çeşitli çalışmalar ile

desteklenmiştir. Benzer boyutta çeşitli şekillerde (küresel, yıldız şeklinde ve çiçek şeklinde dahil) sentezlenmiş altın nanoparçacıkları (AuNP'ler) ve bunların bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkilerini değerlendirilmiştir. AuNF'lerin yeni bir antibakteriyel ajan olarak (antibiyotiksiz) kullanım için uygun olabileceğini göstermektedir. AuNP'lerin plazmon rezonans etkisi kullanılarak antibakteriyel etki daha da artırılabilir (Penders vd, 2017). Nanokürelerin (AuNSps), nanoyıldızların (AuNSt'ler) ve nanoküplerin (AuNC'ler) *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* üzerindeki antibakteriyel etkilerini daha düşük konsantrasyonlarda önemli antibakteriyel özellikler gösterdiği (Hameed vd, 2020).

2. LİTERATÜR İNCELEMESİ

Nanoteknoloji 21.yy da hız kazanan teknolojiler arasındadır ve gelecek 10 yıl içerisinde etkisini daha da keskin bir şekilde hissettirecektir (Karaca ve Öner, 2015a). Nanoteknolojin ayrılmaz bir parçası olan nanoyapılar tıp için temel değişimler getirmektedir (Ahmad vd., 2017). Nano yapılar içerisinde, en az iki boyutu 2 ila 100 nm arasında olan yarı - devamlı elektronik özellik gösteren yapılar nanopartikül olarak kabul edilmektedirler (Ahmad vd., 2017). Metalik nanopartiküller içerisinde, altın nanopartiküller (AuNP) düşük toksisite, yüksek yüzey alanı, ve Vis ve NIR bölgesinde mükemmel optik özellikleri nedeniyle biyolojik uygulamalarda parlak bir geleceğe sahiptirler (Bodelón vd., 2017; Goswami vd., 2016; Niu vd., 2014). Lakin bu uygulamalar için boyutu, şekli ve yüzey kimyası mükemmel bir şekilde tasarlanmış su da yüksek çözünürlüklü AuNP sentezi istenilen performansa erişmede öncül zorunluluktur. Bunu gerçekleştirmek için, pek çok kimyasal, biyolojik ve fiziksel sentez (Sengani vd., 2017) ve yüzey-aktifleştirme (Bodelón vd., 2017) metotları geliştirilmiştir.

Biyoaktif ve biyo- yıkılabilir olan şekerler, moleküler tanıma da esansiyel rollere sahiptirler (Y. Zhang vd., 2015). Basit monosakkaritlerden kompleks polimerlere kadar farklı yapılarda bulunabilen şekerler, yeryüzünde en yaygın bulunan molekül sınıfıdır (Gabiús, 2017). Şekerlerin esansiyel rolleri, onların lektinlerle olan ilişkileri ile de ilintilidir (Drickamer ve Taylor, 2015). Lektinlerle olan güçlü ilişkileri nedeniyle karbohidrat temelli ilaç geliştirme çabaları yoğunluklu olarak spesifik karbohidrat-lektin etkileşimlerini temel almaktadır (Schwardt vd., 2011). Bu amaçla monosakkarit ve disakkaritler modifiye edilerek antimikrobiyal ve antikanser ajanı olarak denenmiştir (Fokt vd., 2009; Sippelli, 2016). Şeker ligandlarının antikanser ve antibakteriyel özelliklerindeki farklılıklar yoğunluklu olarak şeker moleküllerine eklenen grupların sahip oldukları küçük farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Hajdúch ve Petrus, 2012; Lian vd., 2009). Gözlemlenen bu farklılıkların temelini lektinlerin şeker ligandları ile olan ilişkisinin antikor-antijen spesifikliğine benzer şekilde yüksek spesifikliğe sahip olması oluşturmaktadır (Schwardt vd., 2011; Stokmaier vd., 2009; Yazgan, 2016).

NP'ler toksisitelerini reaktif oksijen türlerini oluşturarak, metal iyonlarına ayırarak, oksidatif olmayan mekanizmalar ile hücre membranının geçirgenliğini artırarak, hücre metabolizmasının ve ekspresyonunun regülasyonunu etkileyerek gösterirler (Napporn vd., 2015; Wang vd., 2017). Kanser durumunda ise nanopartiküller hücre mikro-çevresi ile de etkileşime geçerek kanserin baskılanmasını da sağlarlar (Napporn vd., 2015). Nanopartiküller etkilerini gösterebilmek için hücre duvarı ile etkileşime geçmeleri gerekmektedir. Elektrostatik etkileşim, van der waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşim ve spesifik ligand-reseptör etkileşimleri NP-hücre duvarı etkileşmesini sağlamaktadır (Wang vd., 2017). İlk üç durum seçimsiz olarak yürürken, spesifik ligand-reseptör etkileşimleri sahip oldukları spesifiklik ile AuNP'lerinin istenilen hedefe maksimum seviyede ulaşması ve istenmeyen etkileşimlerinde maksimum seviyede elimine edilmesi sağlanabilir. Şeker ligandları ve biyoaktif moleküller ile AuNP yüzeyin aktifleştirilmesi terapötik etkinin maksimize edilmesine olanak sağlamaktadır (M Jazm vd., 2018; Tiwari vd, 2012; Zheng vd., 2018).

Altın nanopartiküllerin (AuNP) yüzeyinin karbohidratlarla kaplanması ile biyolojik sistemlerde gerçekleşen karbohidrat temelli hücre-hücre tanınması ve hücrelerin ligand (örneğin şeker molekülleri) ve ajanlar (örneğin bakteri temelli lipopolisakkaritler) tarafından tanınması taklit edilebilir (Barrientos vd., 2009; Cao vd., 2017). Bu nedenle kirâl altın nanopartikül glukokonjugatlarının (AuNP-GG) sentezi biyolojik uygulamalar için cezbedicidir (L. Zhang vd., 2009). AuNP-GG'ları şeker moleküllerinin nanomateryal yüzeyinde multivalent karakter göstermelerini sağlamaktadır. Bu durum birçok biyolojik sürecin multivalent karakter ile yönlendirildiği düşünüldüğünde, karbohidrat ligandlarının medikal ve materyal uygulamalarında nanoyapılar yüzeyine bağlanması ile performanslarının maksimize edilmesine imkan sağlayacağını haber vermektedir (Jebali vd., 2017). Multivalent karakterin yanı sıra, şeker-ligandların yüzeye bağlanış şekilleri ve yüzeyde birbirleriyle etkileşimleri karbohidrat-lektin etkileşimlerini dramatik şekilde etkilemektedir (Wei vd., 2016; Yazgan vd., 2014). Bu etkilerin moleküler nedenleri şeker ligandı üzerinde meydana gelen ufak değişimlerin yada şekere yapılan eklemelerin, şekerin hem lektin karbohidrat tanıma domaini (CRD) ile hem de CRD etrafındaki amino-asitlerle olan etkileşimine etki etmesinden kaynaklanmaktadır (Drickamer ve Taylor, 2015). Hedef hücreye spesifikliği bu şekilde sağlanmış olan

nanopartiküllerin yüzey kimyası etkinin artırılması için yukarıda bahsedildiği nedenlerden ötürü D-aminoasit ve biyoaktif moleküller ile güçlendirilecektir. Önerilen bu çalışma istenilen hedefe yönelik kirâl AuNP-GG ve kirâl AuNP-GG-M'ların sentezinde kritik verilerin üretilmesini sağlayacaktır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Kullanılan materyaller

D-Galaktoz ($\geq\%99$), D-Mannoz ($\geq\%99$), β -D-Laktoz monohidrat ($\geq\%98$), β -D-Sellobiyoz ($\geq\%98$), p-aminobenzoik asit ($\geq\%99$), 4,4-oksidianilin ($\geq\%97$), 4,4'-Diaminodifenil sülfon ($\geq\%97$), 3-aminofenol ($\geq\%98$), D-Penisilamin ($\geq\%98-101$), L-Penisilamin ($\geq\%99$) ve Boran dimetilamin kompleksi ($\geq\%97$), kimyasallar daha fazla saflaştırılmadan kullanılır. Laboratuarda Humana Zeneer Power su arıtma sistemi (Human şirketi, Seul, Kore) ile gerekli saf su üretildi.

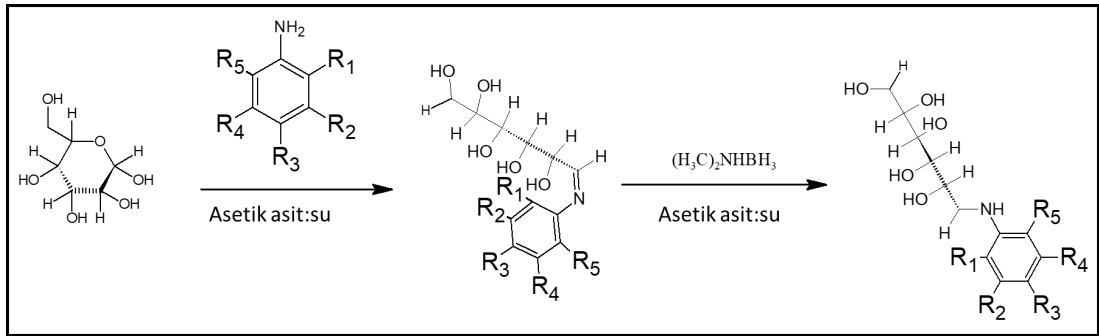
3.2 Çalışma Tasarımı

Olası en iyi şeker artıklarını ve şeker türevlerini bulmak için <http://glyco3d.cermav.cnrs.fr/search.php?type=lectin> veri tabanı (Erişim tarihi: 4.11.2022) kullanılmıştır. "Gelişmiş arama" butonu altında kriter olarak "türler" seçildi. Databases, suşa dayalı lektinler sağlayarak sınırlı olabilir, bu nedenle literatür taraması da arama motorları aracılığıyla yapılmıştır. Bakteriyel suşlar kontrol edildi ve aşağıdaki bulgulardan bazıları aşağıda listelendi.

Pseudomonas aeruginosa: Mannose, fukoz ve fruktopiranoz LecB'ye bağlanır (Loris vd., 2003); L-Galaktoz ve D-arabinoz PA-IIL'ye bağlanır (Sabin vd., 2006); cinnamid türevleri LecB'ye bağlanabilir (Sommer vd., 2015); D-galaktoz PA-IIL'ye bağlanabilir (Cioci vd., 2003). Mannoz bağlayıcı lektin FimH, Enterobacteriaceae familyasında yaygındır (Hartmann ve Lindhorst, 2011) ve bu çalışmada kullanılan bakteri suşlarının çoğu bu aileye aittir. Galaktoz, laktoz ve mannoz şekerleri şeker kalıntıları olarak seçildi ve daha sonra bakteri türleri ve hücre hatları ile etkileşimlerini arttırmak için fenil içeren gruplarla değiştirildi. Glikoz dimer olarak maltoz, modifikasyonların spesifik olmayan bir şeker için yeni aktivite getirip getirmediğini değerlendirmek için kontrol olarak kullanılmıştır.

3.3 Şeker Ligandlarının Sentezi ve Karakterizasyonu

Şeker ligandları, başka bir yerde açıklandığı gibi 2 adımlı indirgeyici aminasyon prosedürü kullanılarak sentezlenmiştir (İ. Yazgan, 2019; Yazgan vd., 2014; Yazgan vd 2018). Kısaca, şeker parçalarının indirgenmiş ucu, 50:50 asetik asit: su içinde birincil amin grubu organik ikame maddesi ile birleştirildi, ardından şeker ligandlarının amin formunu elde etmek için dimetilamin boran kompleksi eklendi. Saflaştırma adımlarını basitleştirmek için, amin grubunun indirgeme-uç gruba oranı her durumda 1.2:1 olarak tutulmuştur; Bu, artık organik grupların organik çözücü kullanılarak yıkanmasına izin verir. Reaksiyonun tamamlanmasını izlemek için ince tabaka kromatografisi (TLC) kullanıldı. Saflaştırma, ürünün aseton içinde çökeltilmesiyle gerçekleştirildi, ardından asetonitril ve saf etanol ile durulandı. ATR-IR (Bruker Platinum ATR), sıvı kromatografisi-kütle spektroskopisi (Shimadzu LCMS-8030 Plus) ve UV-Vis spektrofotometresi (PG Instruments T60 Görünür Spektrofotometre veya Multiskan Mikroplaka Okuyucu).



Şekil 3.1 Şeker-ligantlarının indirgeyici aminasyon ile sentezlenmesi.

Şekil 3.1’ de görüldüğü gibi 2-basamaklı yüksek verimli amid- bağı oluşumu üzerinden gidilerek şeker temelli ligandlar elde edilmiştir. R1, R2, R3, R4 ve R5 grupları istenilen yüzey kimyasına bağlı olarak şekillendirilmiştir. Bu metot ile monosakkaritler, disakkaritler ve hatta oligosakkaritler istenilen şekilde modifiye edilebilmektedir (Jeong vd., 2007; Yazgan vd., 2014; Yazgan vd., 2018). Bahsedilen ön çalışma sonuçlarında kullanılan ligandların sentezinde de başarılı sonuçlar vermiştir. Reaksiyonlar C18 silika ince-tabaka kromatografisi ile izlenmiş ve saflaştırma için ters-faz sıvı kromatografisi (C18 silika kolonlar) kullanılmıştır.

Şekerlerin yüksek polaritelerinden ötürü normal faz kromatografisi ise sonuç vermemektedir.

3.4 Altın Nanopartikül Glikokonjugatlarının Sentezi ve Karakterizasyonu

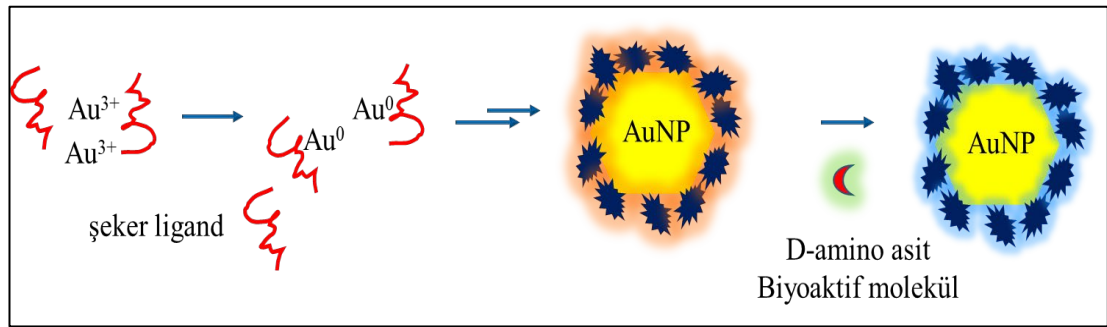
Altın nanopartiküllerinin sentezi, özel bir çalışmada açıklandığı gibi gerçekleştirilmiştir (Yazgan vd., 2020). Kısaca, şeker ligandları ve metal tuzları, tek adımlı yüzey işlevselleştirilmiş nanopartiküller elde etmek için bir oranda karıştırıldı (Şekil. 3.1). Şeker ligand oranı literatürden uyarlanmıştır (Yazgan vd., 2020, 2021). AuNP'lerin ilaç taşıyıcı kapasitesi olarak potansiyelini ortaya çıkarmak için, AuNP'lerin sentezine başladıktan sonraki 2 saat içinde AuNP'lerin ortamına D-penisilamin (DP) eklendi. 1 mg/mL HAuCl₄ için, ortama 100 µg/mL DP verildi.



Şekil. 3.2 Altın nanopartiküllerin ve şeker ligandların oluşturulması

Nanopartiküllerin optik özellikleri, kristal yapısı ve morfolojik karakterizasyonları sırasıyla UV-Vis spektrometresive Yüksek Çözünürlüklü İletim Elektron Mikroskobu (HRTEM, Hitachi at 220 kV) kullanılarak gerçekleştirildi.

Yüzey kimyası esas alındığında temelde iki tip altın nanopartikül hazırlama metodu mevcuttur; bunlar (i) hidrofobik ve hidrofobik yüzeyli nanopartiküllerdir. Biyolojik uygulamalar için hidrofobik nanopartikül oluşumu durumunda, nanopartiküller doğrudan enkapsulasyon yada iki-tabakalı amfilik polimer kaplama ile hidrofobik yüzey kazandırma sürecine tabi tutulur (Erathodiyil ve Ying, 2011). Yüzey kaplama gereksinimini ortadan kaldırmak için doğrudan hidrofobik yüzeyli altın nanopartikül geliştirme yaklaşımı da biyolojik uygulamalar için mevcuttur. Örneğin, bu uygulamalar için peptit (Erathodiyil ve Ying, 2011) ve karbohidrat polimeri (Manivasagan vd., 2016) temelli çalışmalar örnek verilebilir. Lakin, bu yaklaşım ile istenilen özelliklerde AuNP üretimi gerçekleştirilmesi zordur ve çoklu adımlar (Erathodiyil ve Ying, 2011). O nedenle bu çalışma da doğrudan hidrofobik yüzeye sahip koloidal AuNP üretilerek su çözünürlüklüyü ekleme adımlarına gerek kalmayacaktır (Şekil 3.2; 3.3).



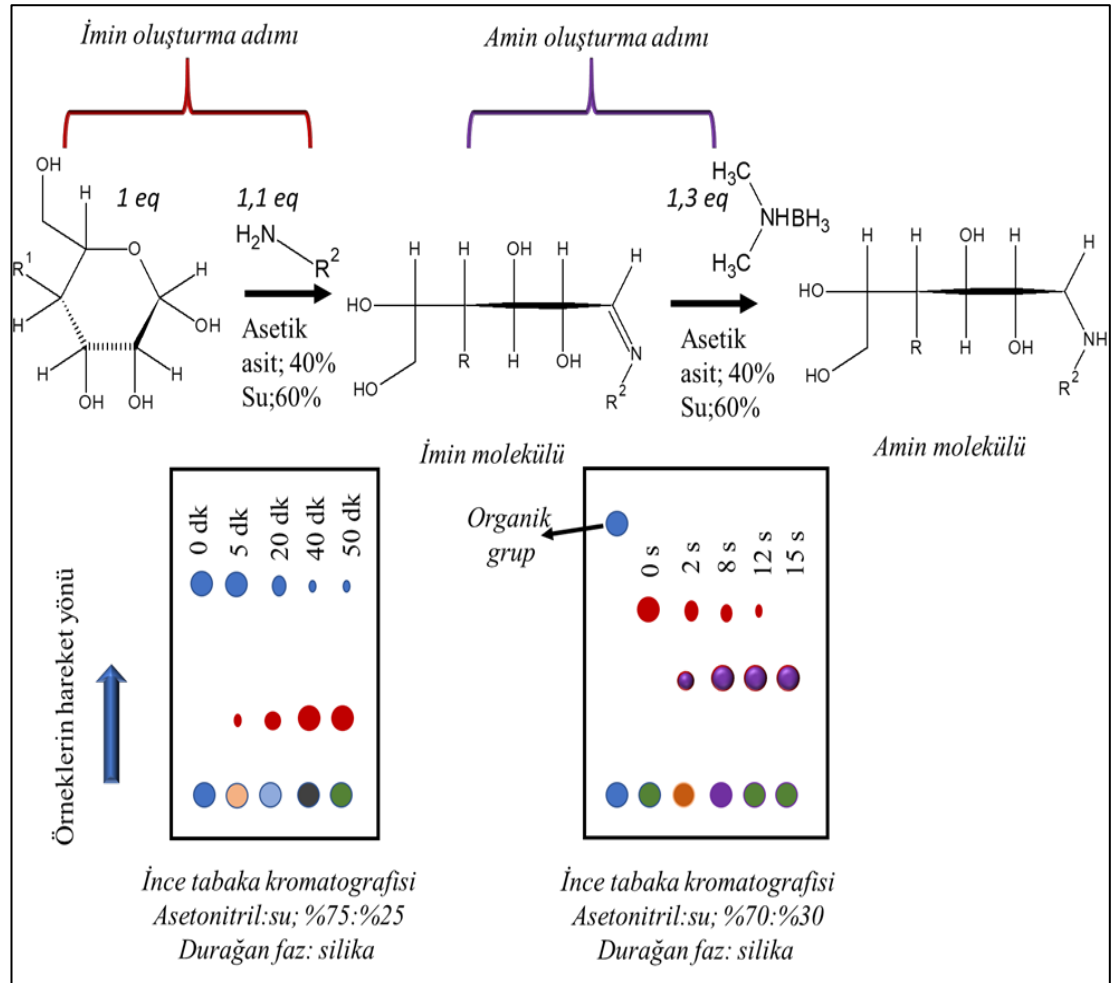
Şekil 3.3 Şeker ligantları kullanılarak altın nanopartikül sentez durumu

Şeker ligantları Au^{3+} in Au^0 ya indirgenmesi ve oluşan AuNP kararlılığının sağlanmasında görev alır. Şeker ligandları metalik altın çekirdek ile kemisorpsiyon temelli bağ kurup kararlı AuNP'lerin oluşumunu sağlar. Bu özellik, şeker ligand temelli AuNP biyolojik uygulamalarda kullanımı için potansiyel oluşturur (Erathodiyil ve Ying, 2011).

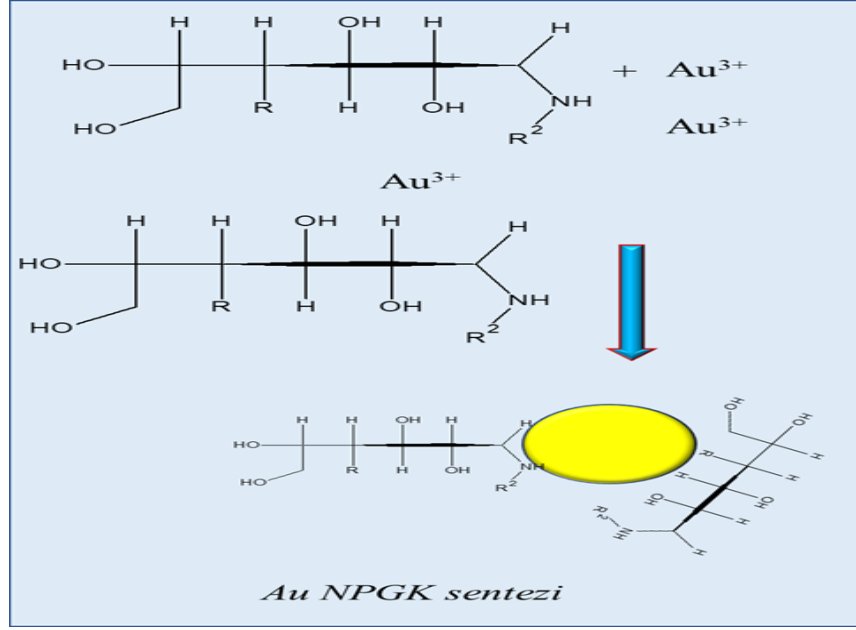
AuNP-GJ'larının sentezinde şeker ligand/ Au^{3+} tuz oranı değiştirilerek AuNP-GG şekil ve boyut optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Yüzey modifikasyonunda serbest tiyol gruplarının AuNP yüzeyine yüksek afiniteli olarak bağlanabilme yeteneklerinden

faýdalanılmıştır. AuNP-GJ oluşum esnasında ve oluşumunun akabinde modifiye edici ajanlar ortama eklenerek karşılaştırmalı çalışmalar yapılmıştır.

Şeker ligantlarının sentezinde takip edilecek yol indirgeyici aminleme metodudur. Yüksek verim, düşük maliyet ve hızlı alt akım işlemleri nedeniyle tercih edilen bu yöntem (Yazgan vd., 2020) mevcut laboratuvar koşullarımızda başarıyla yapılmıştır. Deneysel adımları ve reaksiyonun takibi Şekil 3.4 ve 3.5’ de gösterilmiştir.



Şekil 3.4 İndirgeyici aminleme metodu ile şeker türevlerinin sentezi ve sentezin İTK ile takip edilmesi



Şekil 3.5 Altın nanoparçacık glikokonjugatlarının sentez şeması.

Flokülasyon testi, AuNP koloidal formunu ve çökeltilisini kaybetmeye başladığı tuz konsantrasyonunun belirlenmesine izin verir (Chem vd., 2015). 0.5 M'deki NaCl konsantrasyonları, 12 saatlik inkübasyon süresi için nanopartikül çözeltisine eklendi. Protein korona oluşum testleri, nanopartikül çözeltisi ve taze hazırlanmış Besin Suyu %25 oranında karıştırılarak yapıldı ve 37 ° C'lik bir inkübatörde 4-12 saat inkübasyona tabi tutuldu. UV-Vis spektrometresi, nanopartiküllerin ve demir metal organik çerçevelerinin flokülasyon ve protein korona oluşumu kırılma noktasını ortaya çıkarmak için SPR zirvelerindeki değişiklikleri izlemek için kullanıldı.

3.5 Antibakteriyel Çalışmalar

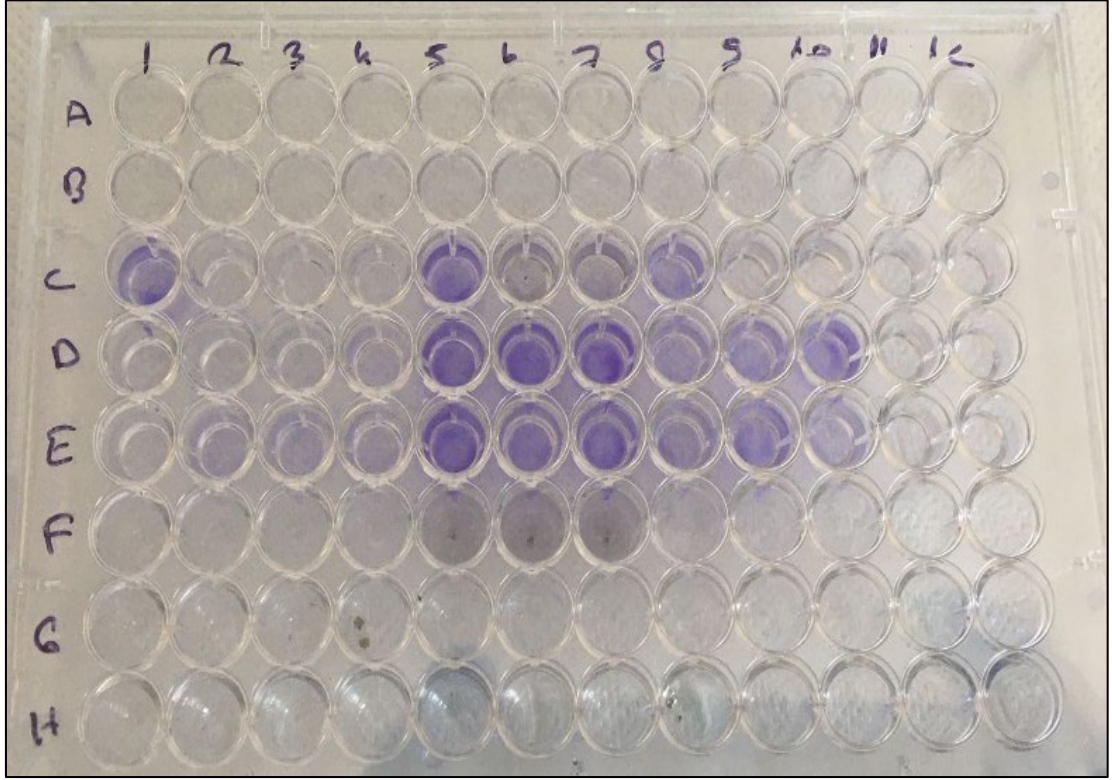
Çalışma esnasında altın nanoparçacık glukokonjugatlarının yüzey kimyasına bağlı olarak ve klasik antibiyotikler ile sinerjistik etkileri *Serratia marcescens* ve *Pseudomonas aeruginosa* gram (-) fırsatçı patojenlerine karşı etkinlikleri test edilmiştir.

Sentezlenen altın nanoparçacık serisi ve glikokonjugatları, gram (-) bakteriler üzerinde test edildi. – 20 °C'de saklanan stoklardan bakteri türleri, antibakteriyel çalışmalar için taze koloniler elde etmek amacıyla 37 °C'de inkübe edildi. Şeker ligandlarının ve karşılık gelen glikokonjugatların toksisitesi hakkında ilk izlenimin alınmasından

itibaren Mueller Hinton agar üzerinde bir tarama testi yapıldı. 10 uL bakteri suşu agar içine yerleştirildi ve 10 uL şeker ligandları ve karşılık gelen glikokonjugatlar bakteri hücrelerinin üstüne ilave edildikten 10 dakika sonra seçilen şeker ligandları ve karşılık gelen glikokonjugatlar daha sonra bu minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) değerleri için kullanıldı, literatürde tarif edildiği gibi mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapıldı (Wiegand vd., 2008). 120 µL Nutrient Broth (üretici yönergelerine göre hazırlanmış) ile doldurulmuş, MIC ve MBC değeri belirleme için 5 kat seri seyreltme uygulanan steril 96 kuyucuklu plaka (Şekil 3.5; 3.6) kullanıldı. Nanopartiküllerin MBC'sini değerlendirmek için, inkübe edilmiş kuyulardan 20 µL taze hazırlanmış Mueller Hinton Agar'a (üretici yönergelerine uygun olarak hazırlanmıştır) eklenmiştir.

Seçilen en iyi nanopartiküller, seçilen dirençli bakteri türleri üzerindeki büyüme modeli için nanopartiküllerin girişimini kontrol etmek için test edildi. Kinetik çalışmalar için, 10^4 cfu /mL bakteri 50 mL taze ortam içine aşılandı, burada örnekleme 0 saat, 1 saat ve 2 saatte 595 nm'de optik yoğunluğu kaydetmek için yapıldı. 2. saat örneklemenin hemen ardından her bir ortam üçe bölündü ve ardından seçilen nanopartiküller 3'ün 2 ortamına eklendi. Daha sonra 1 saat arayla örnekleme yapıldı.

Benzer şekilde, seçilen nanopartiküller, *P.aeruginosa* ve *S.marcescens* biyofilm oluşumu üzerindeki etkileşimleri ile test edildi. Basitliği ve hızı nedeniyle kristal viyole tahlili kullanıldı. Test, 96 oyuklu plakada gerçekleştirilmiştir (Kragh vd., 2019).



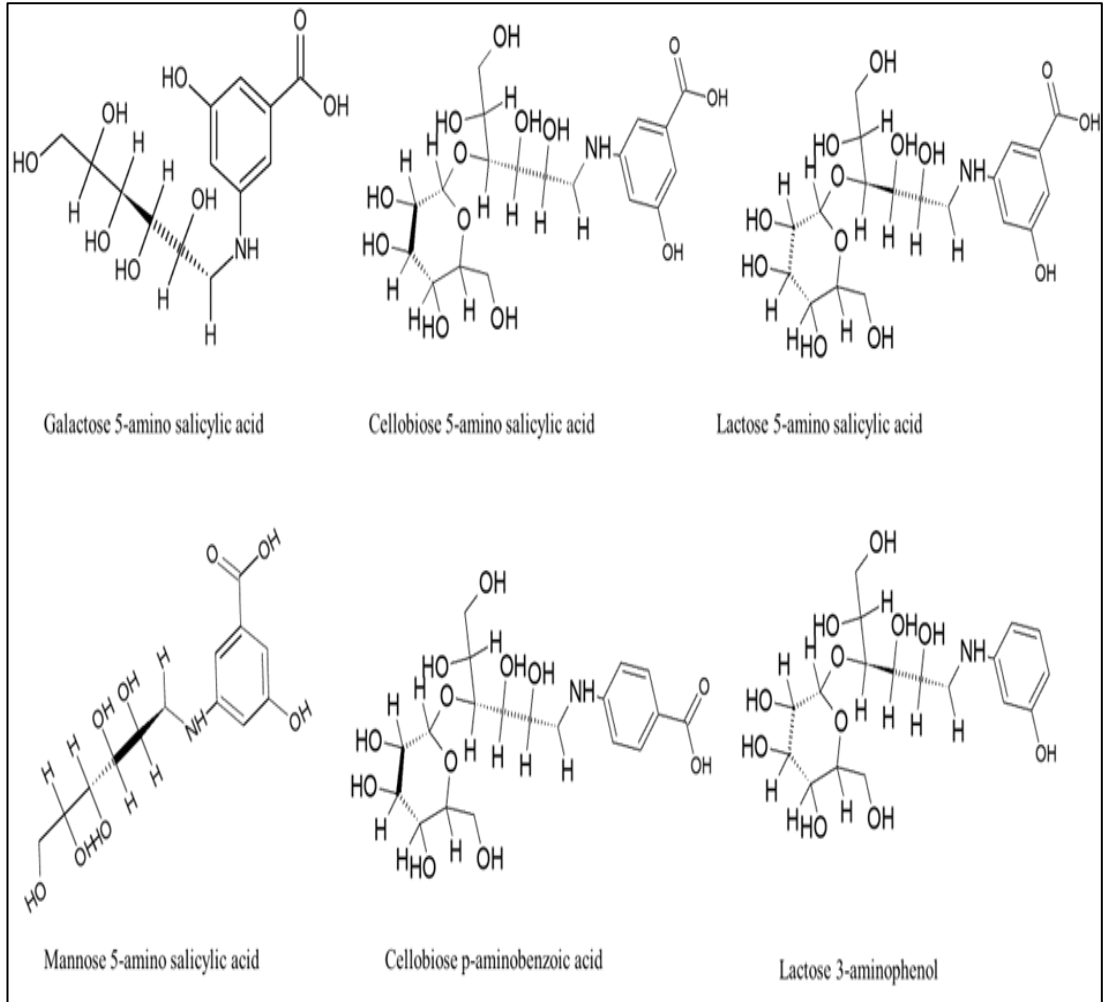
Şekil 3.6. Minimum inhibisyon testi (MIC) uygulaması

Pseudomonas aeruginosa, yanık hastalarında ölüme neden olan en zararlı bakteri suşları arasında yer alan yeşil bir piyoverdin üreten gram (-) bakteridir (Cueva vd., 2020). Piyoverdin, biyofilm oluşumunda ve *Pseudomonas aeruginosa* suşu için virülansta temel roller oynayan Fe^{3+} elde eden floresan moleküldür (Kirienko vd., 2019). Seçilen nanopartiküller, katı ve sıvı kültürler için piyoverdin sentezinin inhibisyonu için test edildi, burada indirgeme fluorimetre (λ ex 405 nm Xem 460 nm, SpectroBlue Fluorimeter) kullanılarak izlendi.

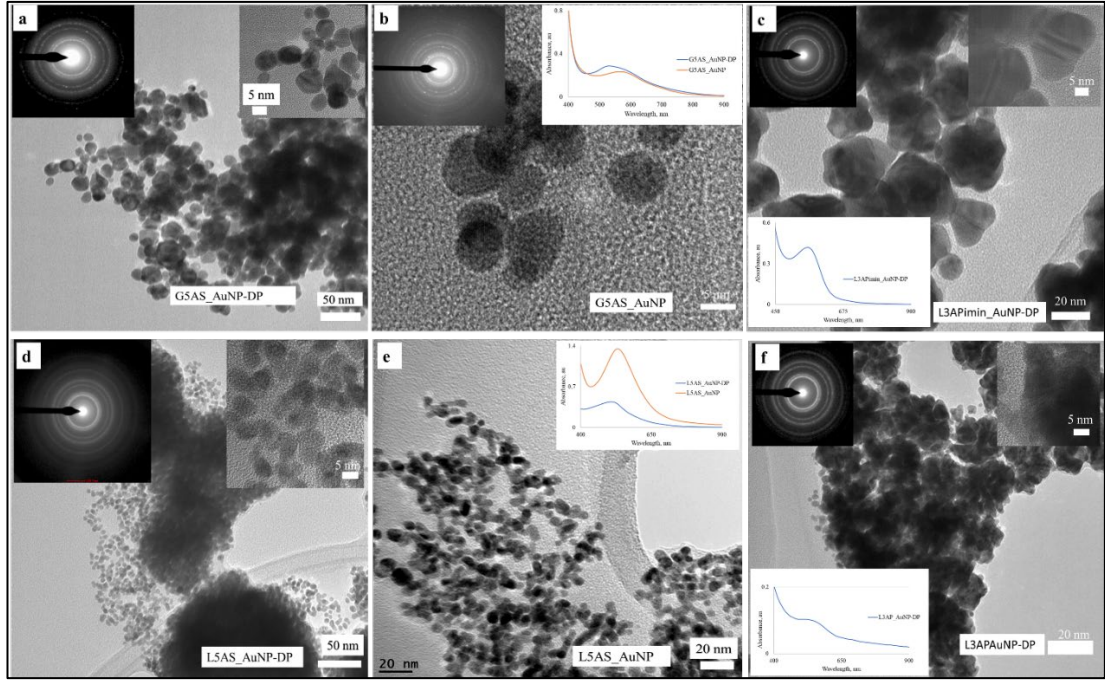
4. BULGULAR

4.1 Şeker Ligandlarının ve Karşılık Gelen Glikokonjugatların Sentezi ve Karakterizasyonu

Literatürde detaylandırıldığı gibi (Yazgan, 2019) şeker ligandlarının sentezi dümdüz olup, uygulanan yöntem indirgeyici uca sahip şeker kalıntısının hemiasetal yapısının açılması sonucunu doğurmaktadır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Çalışmada sentezlenen şeker ligandları.



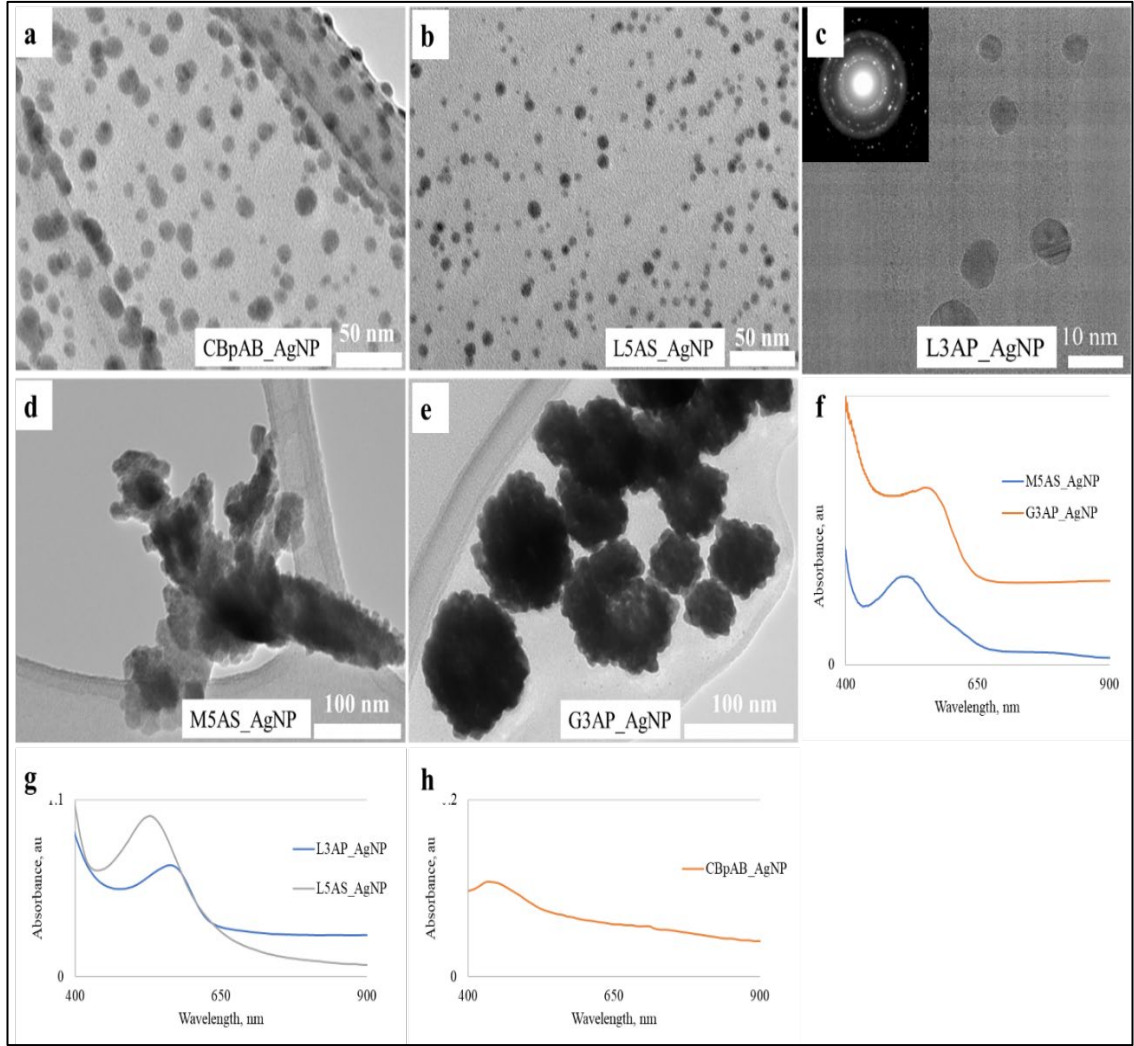
Şekil 4.2 HR-TEM görüntüleri; (a) G5AS_AuNP-DP, (b) G5AS_AuNP, (c) L3APimin_AuNP-DP, (d) L5AS_AuNP-DP, (e) L5AS_AuNP ve (f) L3AP_AuNP-DP. İç resimler UV-Vis spektrumları and SAED karakterizasyonlarını göstermektedir.

G5AS_AuNP-DP ortalama $\sim 11-22$ nm \varnothing arasında bir dağılım gösterirken, yoğunluklu olarak ~ 17 nm \varnothing a sahip nanoparçacıklar elde edilmiştir. Buna karşın G5AS_AuNP'ları $5.7-7.8$ nm arasında bir dağılım ve younluklu olarak 7.8 nm boyuta sahiptir. D-penisilamin (DP) eklenmesinin nanoparçacık oluşum kinetiğini etkilediğini ve sferik yapılu nanoparçacıkların asferik şekle dönüşmesini sağladığı sonucu çıkarılabilir. Buna karşın L5AS_AuNP'larına D nin etkisi olmamıştır ve her iki durumda da $\sim 5 \times 6$ nm fasulye şekilli NPlar oluşmuştur; bu durum Laktozun Galaktoza göre daha büyük olması ile ilişkilendirilebilir. L3APimin_AuNP-DP yoğunluklu olarak 22×22 nm boyutlarına sahip patlak-mısır şekilli altın nanoparçacıklar verirken, belirli oranda daha küçük ve büyük boyutlu nano yapılar da gözlemlenmiştir. L3AP_AuNP-DP ise nano çiçek şekline sahip $\sim 20 \times 22$ nm \varnothing lı nanoparçacıklar oluşturmuştur; her bir nanoparçacık daha küçük $8-12$ nm arasında nanoparçacıktan oluşmaktadır. Yüzey plazmon (SPR) tepe noktaları ise G5AS_AuNP-DP, G5AS_AuNP, L3APimin_AuNP-DP, L5AS_AuNP-DP, L5AS_AuNP ve L3AP_AuNP-DP için sırasıyla 530 nm, 580 nm, 560 nm, 520 nm, 540 nm ve 550 nm

olarak belirlenmiştir. Herne kadar boyut UV-Vis ölçümleri ile sıkı bir korelasyon göstermemiş olsa da, morfolojide bu korelasyon görülmektedir (Şekil 4.2).

Seçimli alan kırınım (SAED) modeline bakıldığında (Şekil 4.2a) altın nanoparçacıkların polikristal bir karaktere sahip olduğu görülmektedir. Hesaplamalar yapıldığında tüm altın nanoparçacıkların yüzey merkezli kübik (fcc) ve (111), (200), (220) ve (311) kristal yönelimlerine sahip olduğu görülmektedir. Daha önceki çalışmalarda, bu metot ile üretilen altın nanoparçacıkları için SAED sonuçlarının XRD sonuçları ile uyumlu olduğu gösterilmiştir (Yazgan vd., 2020, 2021).

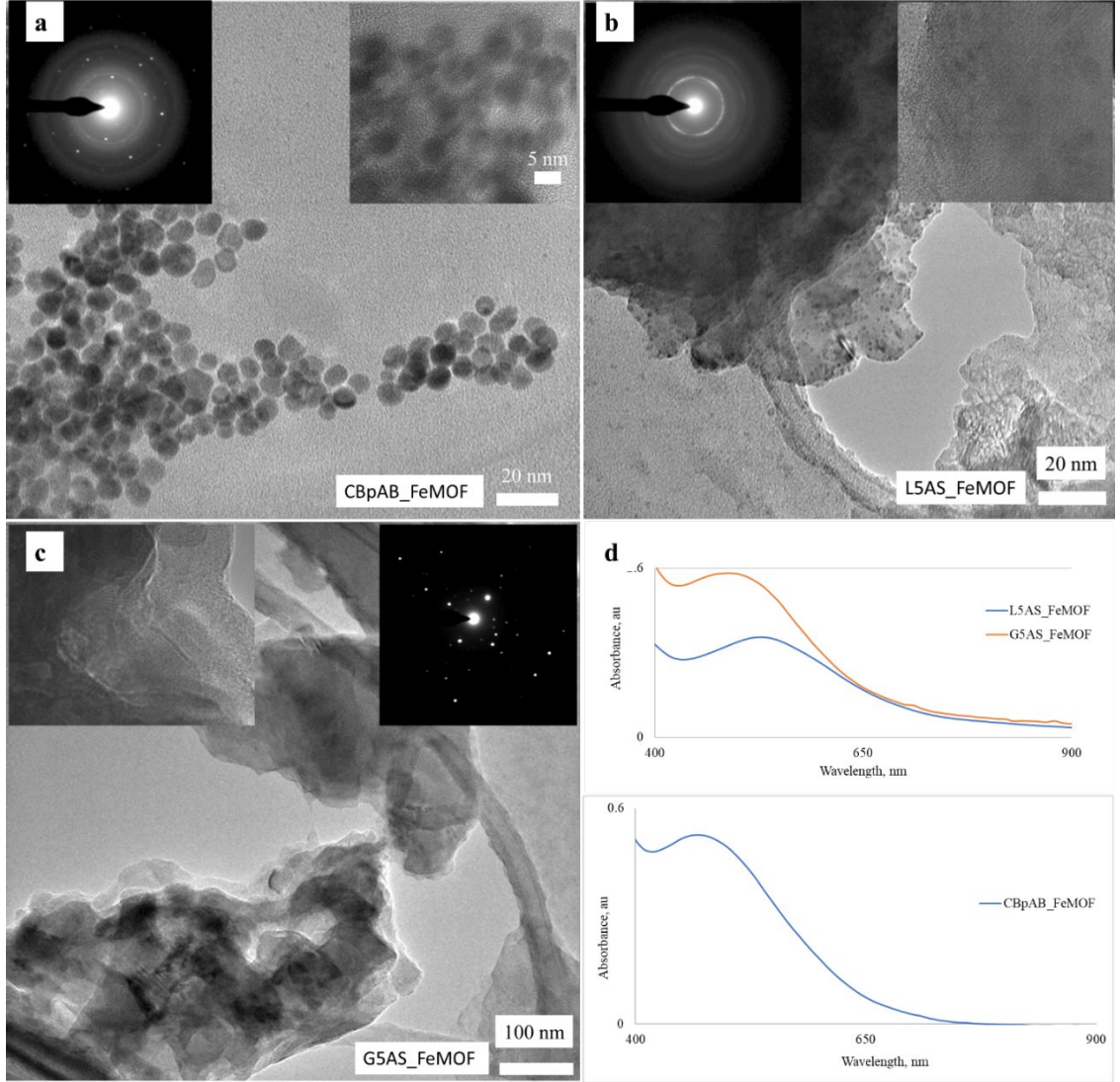
Herne kadar DP'nin altın nanoparçacıklar yüzeyine immobilize edilmesiyle nanoparçacık yapısında bir bozulma meydana gelmemiş olsa da, amino asitlerin -SH grupları üzerinden yapılan immobilizasyonlar nanoparçacık yapısını bozarken, serbest primer amino grubu taşıyan amino asitlerinde yüklenmesi yeterli görülmemeyerek çalışmaya dahil edilmemişlerdir.



Şekil 4.3 Gümüş Nanoparçacıkların TEM görüntüleri ve UV-Vis spektrumları; (a) CBpAB_AgNP, (b) L5AS_AgNP, (c) L3AP_AgNP, (d) M5AS_AgNP, (e) G3AP_AgNP, (f) UV-Vis spectra of M5AS_AgNP and G3AP_AgNP, (g) UV-Vis spectra of L3AP_AgNP ve L5AS_AgNP and (h) CBpAB_AgNP UV-Vis spektrumu.

CBpAB_AgNP 2.5-7.5 nm arası bir dağılımda yoğunluklu olarak 5 nm çaplı gümüş nanoparçacıkları vermiştir. Benzeri şekilde L5AS_AgNP'da büyük oradan 5 nm çapa sahip ve 3.3-10 nm arası bir boyut dağılımı vermiştir. Bunlara karşın, M5AS_AgNP ise 15 nm ve sferik yapılıdır. Diğer bir durum ise M5AS_AgNP nanoparçacıklarının agregat halinde bulunması ise UV-Vis spectrumu ile uyuşmamaktadır; UV-Vis spektrum koloidal bir karakter göstermektedir ve garetlaşma ise TEM ızgarası üzerinde kuruma esnasında gerçekleşmiş olabilir. Tüm diğerlerinin aksine G3AP_AgNP'ları ise 40-96 nm arasında bir dağılım ile göreceli olarak büyük boyutlu nanoparçacıkların oluşmasına neden olmuştur. CBpAB_AgNP 440 nm de SPR tepe

noktası vermiştir, ve AgNP'lar için beklenen SPR tepe noktaları 500 nm'nin altındadır. Buna karşın, L5AS_AgNP, L3AP_AgNP ve M5AS_AgNP'ları ise sırasıyla 570 nm, 530 nm ve 560 nm de SPR tepe noktaları vermiştir. SAED analizine göre AgNPlar Hereby, (111), (200), (220), (311) and (222) kristal yönelimlerine sahip fcc yapısındadırlar (Şekil 4.3).

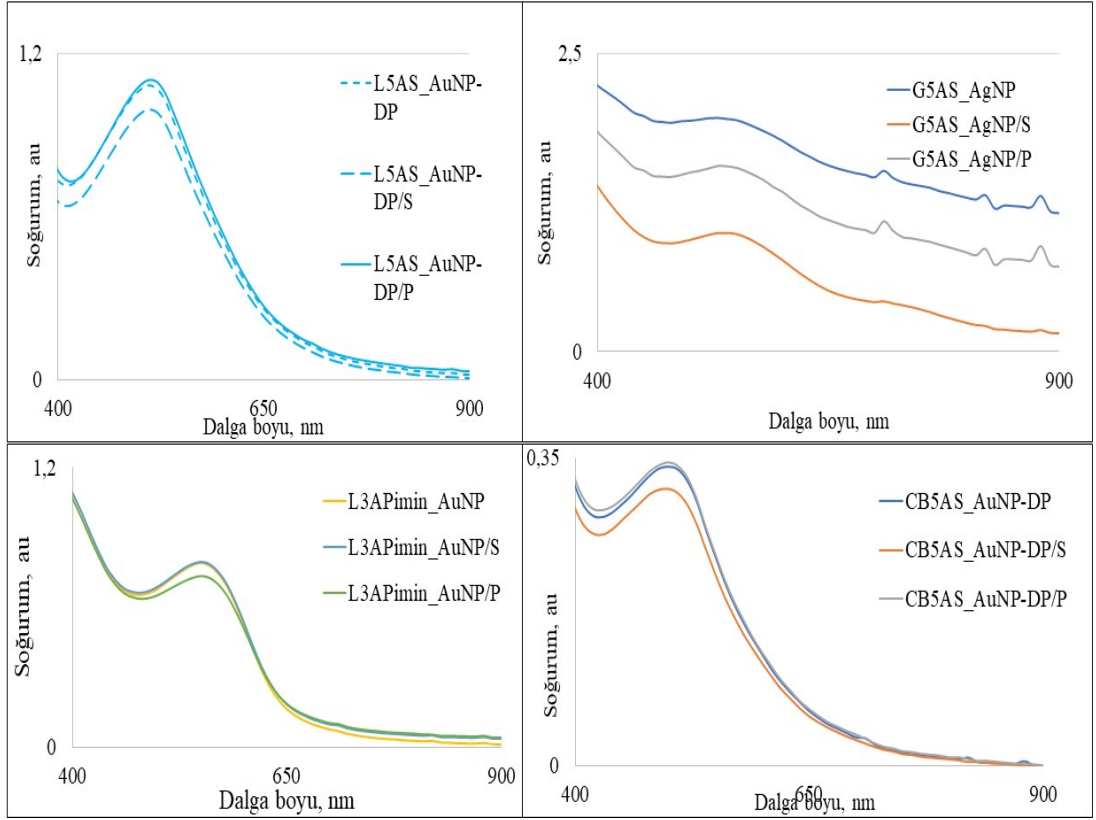


Şekil 4.4 FeMOF'lara ait TEM görüntüleri UV-Vis spektrumları. (a) CBpAB_FeMOF, (b) L5AS_FeMOF ve (c) G5AS_FeMOF ve (d) L5AS_FeMOF, G5AS_FeMOF ve CBpAB_FeMOF ait UV-Vis spektrumları.

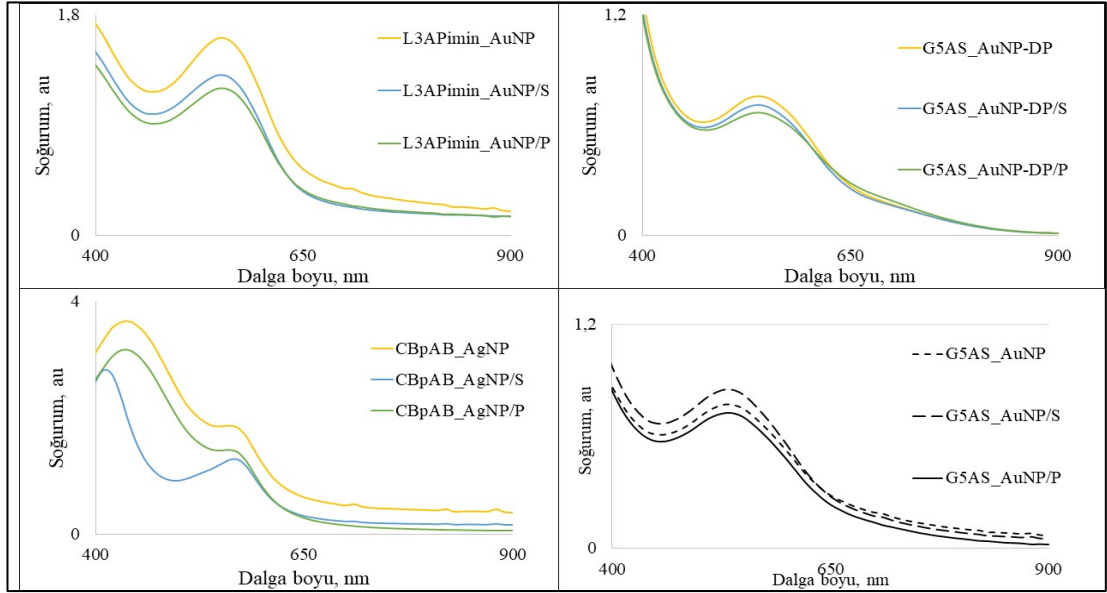
CBpAB_FeMOF'lar spesifik ve ağırlıklı olarak 5 nm çapında olmasına karşın az da olsa 7-10 nm arasında değişen boyutlarda MOF'larda sentezlenmiştir. Buna karşın,

L5AS_FeMOF ve G5AS_FeMOF TEM ızgarası üzerinde kuruma esnasında agregat oluşturmuşlardır. Agregat oluşturmayan L5AS_FeMOF ve G5AS_FeMOFlar ise sırasıyla 2-3 nm ve 18-54 nm arasında yoğunlaşmışlardır. CBpAB'de bulunan karboksil grubunun güçlü bir Lewis bazı olması FeMOF'un kararlılığını artırmıştır (S. Zhang vd., 2021). Buna karşın, 5AS'de C₃-OH varlığı muhtemelen etkileşimi değiştirerek küçük nanoparçacıkların agregatlaşmasına neden olmuştur. UV-Vis spektrumlarına bakıldığında 480 nm, 500 nm ve 540 nm tepe noktaları sırasıyla CBpAB_FeMOFs, G5AS_FeMOF ve L5AS_FeMOF için elde edilmiştir. SAED paternine bakıldığında FeMOFs CBpAB_FeMOF ve L5AS_FeMOF polikristal karakter G5AS_FeMOF ise tek-kristal karakterine sahiptir (Şekil 4.4).

Nanoparçacık glukokonjugatların 0.5 M NaCl ve 25% Nutrient Broth ortamına maruz bırakılarak gerçekleştirilen kararlılık denemelerine dair UV-Vis spektrumları Şekil 4.5 de gösterilmektedir. Sadece AgNP'larına ait SPR tepe noktalarında bir değişim gözlemlenmiş olsa da, diğer nanoparçacıklarda herhangi bir şekilde kararlılıkta azalma meydana gelmemiştir.

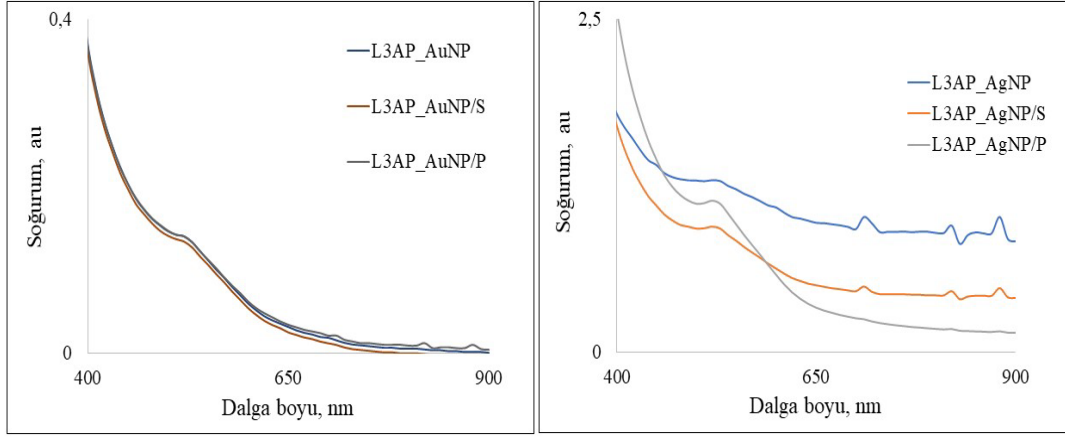


(a)

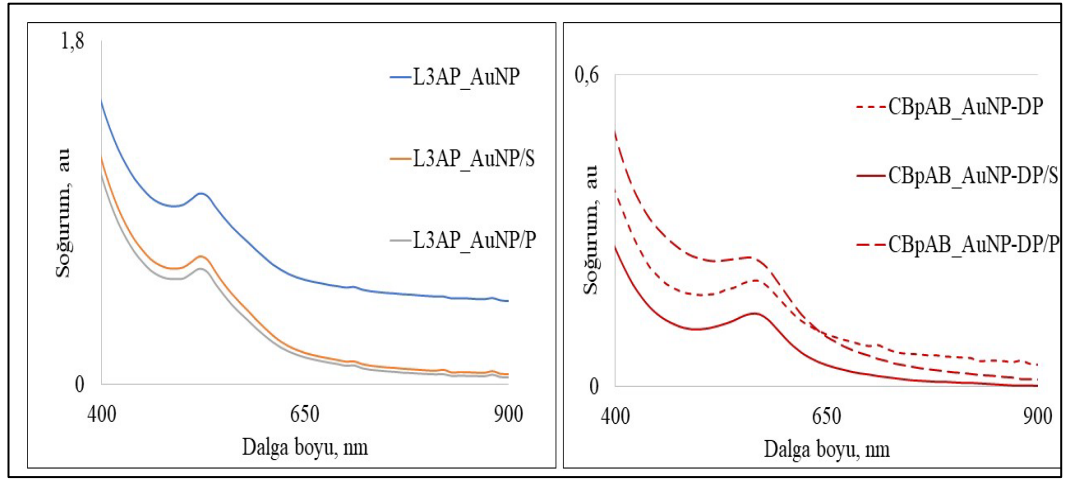


(b)

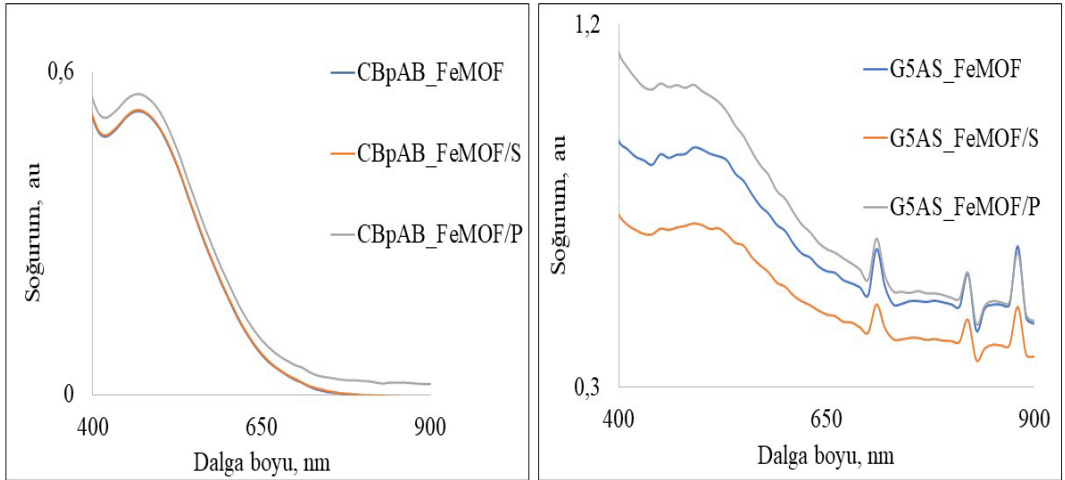
Şekil 4.5 a)AuNP, b) AgNP NaCl ve Nutrient Broth ortam varlığında kararlılığın değişiminin UV-Vis spektroskopisi ile takip edilmesi.



(a)



(b)



(c)

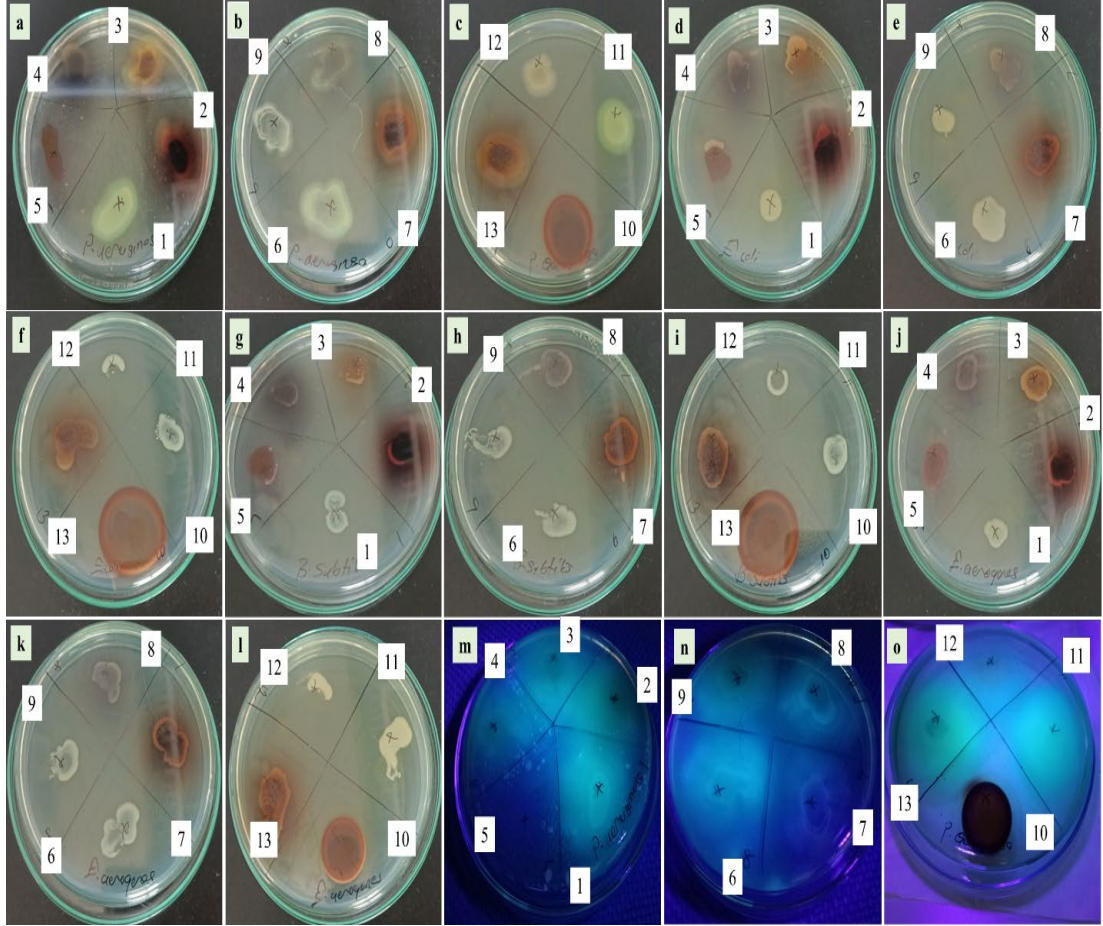
Şekil 4.6 a)AuNP, b) AgNP ve c) FeMOFların NaCl ve Nutrient Broth ortam varlığında kararlılığın değişiminin UV-Vis spektroskopisi ile takip edilmesi.

4.2 INGC'lerin Antibakteriyel Aktivitesi, Glikokonjugatların ve şeker ligandlarının Antibakteriyel Yeteneklerinin Taranması

Şeker ligandlarının ve ilgili glikokonjugatların ilk antibakteriyel taraması, test edilen tüm ajanlar için sabit bir konsantrasyonda bakteriyel büyüme düşüşünün izlenmesiyle gerçekleştirildi. Her şeyden önce, 10 mg / mL konsantrasyonundaki şeker ligandları, Mueller Hinton agar üzerinde test edilen bakteri suşlarına (10^4 cfu / 10 μ L'de) karşı herhangi bir toksisite oluşturdukları takdirde tarandı. Şeker ligandlarının tipine bağlı olarak test edilen tüm bakteri suşları için hafif büyüme baskılanması gözlenmesine rağmen, Galaktoz 5-aminosalisilik asit şeker ligandı hariç tüm vakalarda baskılanma% 50'nin altındaydı. Bu nedenle, sonuçları Tablo 4.1'de verilen Galaktoz 5-aminosalisilik asit dışında şeker ligandları ile başka bir çalışma yapılmamıştır. AuNP_GC, L-penisilamin modifiye AuNP_GC ve IMOFGC aynı koşullar altında tarandı ve sonuçları Tablo 4.1'de verilmiştir.

Çalışma ayrıca, seçilen glikokonjugatlarla 108 cfu / mL bakteri konsantrasyonları kullanılarak test edildi. Glikokonjugatlar doğrudan stoklardan 1 mg / mL'de kullanıldı. Açıklayıcı katı ortam bazlı sonuçlar Şekil 3'te verilmiştir. Test edilen tüm bakteri suşları için L3AP AgNP_GC, test edilen bakteri suşlarına karşı mükemmel antibakteriyel aktivite sağlamıştır. Enterobacter aerogenes ve Klebsiella pnömonisi durumunda, herhangi bir büyüme gözlenmezken, S.kentucky hariç bakteri suşlarının geri kalanı için bakteriyel büyüme sadece L3AP AgNP_GC birikmiş alanın kenarlarında gözlenmiştir. Bu nedenle, toksisite sadece nanopartiküller ve bakteri hücreleri arasında doğrudan bir temas olduğunda gözlemlendi. Ayrıca, L5AS IMOFGC, test edilen bakteri suşlarına karşı güçlü toksisite verdi ve L5AS IMOFGC birikintili alanda büyüme gözlenmedi; çevrede büyümenin bozulmadığı yer. CBpAB IMOFGC ayrıca, büyümenin% 60-99'u baskılandığı için *P. aeruginosa*, karşı toksisite göstermiştir. Genel olarak, *P.aeruginosa* ve *B.subtilis* CB5AS_AuNP_GC, L3AP_AuNP_GC, CB4PSA AuNP_GC ve toksisitenin% 50-80 arasında olduğu CB5AS_AuNP_GC dahil olmak üzere farklı glikokonjugatlara karşı en yüksek kırılganlığı göstermiştir (Şekil 4.7). Bu glikokonjugatların, test edilen bakteri suşlarına karşı güçlü antibakteriyel aktivite sağladığını belirtmek önemlidir (Tablo 4.1). Bununla birlikte, bakteri konsantrasyonunun 10^4 kat artırılması,

glikokonjugatların performansının ortadan kaldırılmasına neden olmuştur. Bu vesileyle, 10^8 cfu/mL konsantrasyonlarında test edilen bakteri türlerine karşı 1 mg/mL Ag^+ iyonunun kullanılmasının, glikokonjugatlar tarafından elde edilemeyen %100 eliminasyonun elde edildiğini belirtmemiz gerekir.



Şekil 4.7 (a,b,c) *P.aeruginosa*, (d,e,f) *E.coli*, (g,h,i) *B.subtilis* ve (j,k,l) *E. aerogenes* üzerindeki nanoyapılı glikokonjugat ve ajan toksisitesinin açıklayıcı örnekleri. 24 saatlik inkübasyon için *P.aerogenes* (m,n,o) 48 saatlik inkübasyon için tedaviye yanıt olarak *P.aeruginosa*'nın pyoverdine üretimi (aydınlattırma 365 nm el feneri altındaydı). 1: Kontrol; 2: L5AS_AgNP; 3: L3AP_AgNP (6 aylık); 4: G5AS_AgNP; 5: CBpAB_AgNP; 6: CBpAB_AuNP; 7: L5AS_AuNP; 8: G5AS_AuNP; 9: CBpAB_FeMOF (6 aylık); 10: 10 mg/mL $AgNO_3$; 11: 10 mg/mL DP; 12; 100 mg/mL $FeCl_3$ ve 13: L5AS_AuNP-DP.

Tüm nanopartiküller 100 μ g/mL iken DP, $AgNO_3$ ve $FeCl_3$ stokları 1 mg/mL idi. Aşılansız bakteri örnekleri 10 μ L'de 10^6 cfu ve eklenen nanoyapılı glikokonjugatları 10 μ L idi. Aksi belirtilmedikçe tüm glikokonjugatlar 3 aylıktan daha küçüktü.

Tablo 4.1'de verilen sonuçlara dayanarak, bulgular şu şekilde sıralanabilir: (i) şeker ligandının seçimi, bakteriyel suşlar üzerindeki Au NP_GC's toksisitesinin ana katkısıdır; Örneğin, G5AS-AuNP_GC P. aeruginosa'yı ortadan kaldıracakken, E.coli'nin tamamen ortadan kaldırılması MZ-ODA AuNP_GC kullanılmasını gerektirmiştir. (ii) Au³⁺/şeker ligand oranı, benzer Au NP_GC's oluşmasına rağmen, karşılık gelen Au NP_GC's antibakteriyel asitliğini etkilemiştir. Bu etki, sentezlenmiş AuNP_GC şekli ve boyutundaki küçük değişiklikler veya Au NP_GC reaksiyona girmemiş şeker ligandlarının 3D oryantasyonu ile ilgili olabilir. Son çalışmalarımıza dayanarak (I. Yazgan vd., 2020), şeker ligandlarının sadece küçük bir kısmı oksidasyona uğrarken, büyük kısmı NP_GC'lerin oluşumu ve stabilizasyonu sırasında bozulmadan kalır. Ayrıca, şeker ligandlarının sadece bir kısmı AuNP_GC's sentezini başlatırken, şeker ligandlarının çoğu stabilize için AuNP_GC's yüzeyini kaplar. Karbonhidrat-pektin etkileşimleri, şeker ligandlarının 3D oryantasyonundan güçlü bir şekilde etkilendiğinden, ikinci durumun gerçekleşmesi daha olasıdır. (iii) Penisilaminin AuNP_GC yüzeye sokulması, bakteriyel suşlar üzerindeki karşılık gelen AuNP_GC'lerin aktivitesini değiştirdi. AgNP_GC's durumunda, gözlenen toksisite daha yüksekti ve bir dereceye kadar karbonhidrat ligandlarının seçiminden bağımsızdı. Spesifik olmayan toksisite, uygulanan yüksek dozla ilişkili olabilir, çünkü gümüş nanopartiküller bakteri türleri için toksiktir (Bondarenko vd., 2013).

Düşük bakteri konsantrasyonlarında, glikokonjugatların toksisitesi, daha yüksek bakteri konsantrasyonlarının aksine açıktı. Toksikiteyi göstermek için basit bir test yaptık, Şekil 4.7' de gösterildiği gibi hafif yumuşak bir agar kullanıldı.

Table 4.1: MIC ($\mu\text{g/mL}$)/MBC ($\mu\text{g/mL}$)/bakteri türlerinin biyofilm oluşumunda %'lik değişim. Toplam biyofilm içeriğindeki değişiklikler MIC değerinde izlendi, burada MIC değeri elde edilmedi, biyofilm içeriği 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ajan konsantrasyonunda izlendi.

Glukokon jugat	Bakteri										
	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumonia</i>	<i>P.aeruginosa</i> *	<i>B.subtilis</i>	<i>E.faecium</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.enteridis</i>	<i>E.aerogenes</i>	<i>E.durans</i>	<i>S.marcescens</i>	<i>S.kentucky</i>
AgNO ₃	37/10/-100	37/100	37/10/-100	10/100	10/100	10/100	12/37/-100	10/100	10/100	10/100	12/12/-100
G5AS_ AuNP	50/200/-100	50/100/-100	50/100	X	X	ND/ND	ND/N D(+)	X	X	X	37/37/-100
M5AS_ AuNP	200/ND/-100	200/ND/-100	200/ND	X	X	ND/ND	200/ND	X	X	X	ND/ND
CB3AP_ AuNP	ND/ND/-40	ND/ND/-52	ND/ND	200/ND	ND/N D	ND/ND	ND/N D/(+++)	ND/ND	ND/N D	ND/ND	ND/ND
L5AS_ AuNP	ND/ND/-90	ND/ND/-74	ND/ND	ND/ND	ND/N D	50/100	ND/N D(+)	ND/ND/-32	ND/N D	ND/ND	ND/ND
L5AS_ AuNP- DP	ND/ND/-88	200/ND/-100	200/ND	ND/ND	ND/N D	200/ND	200/ND	ND/ND/-17	ND/N D	ND/ND	ND/ND
G5AS_ AgNP	25/100	25/50/-100	25/50	50/200	X	100/ND	ND/N D(+)	X	X	X	37/37/-100
L5AS_ AgNP	25/50/-100	50/200/-100	25/50	ND/ND/-20	25/25	25/50	200/ND	ND/ND/-21	ND/N D	ND/ND	ND/ND/-15
M5AS_ AgNP	100/200/-100	100/ND/-100	100/ND	/-45	X	50/200	200/ND	X	X	X	ND/ND/+37
L3AP_ AgNP	25/25/-100	25/50/-100	25/50	50/100/-52	100/200	ND/ND	ND/N D/++	100/200/-17	25/50	50/200	12/37/-95

L5AS_ FeMOF ¹	25/5 0/- 100	25/5 0/- 100	25/50	25/1 00	100 /20 0	50/2 00	200/N D	200/ ND	50/ 100	200/ ND	200/N D
CBpAB _ FeMOF	ND/ ND/ -100	ND/ ND/ 21	ND/N D	100/ ND	ND /N D	ND/ ND	ND/N D	ND/ ND	ND /N D	ND/ ND	ND/N D
CBpAB _AgNP ²	50/1 00/- 100	50/5 0/- 100	25/50 /-100	50/2 00/- 80	50/ 200	100/ ND	50/200 /(+)	50/1 00	50/ 100	ND/ ND	25/10/ -100

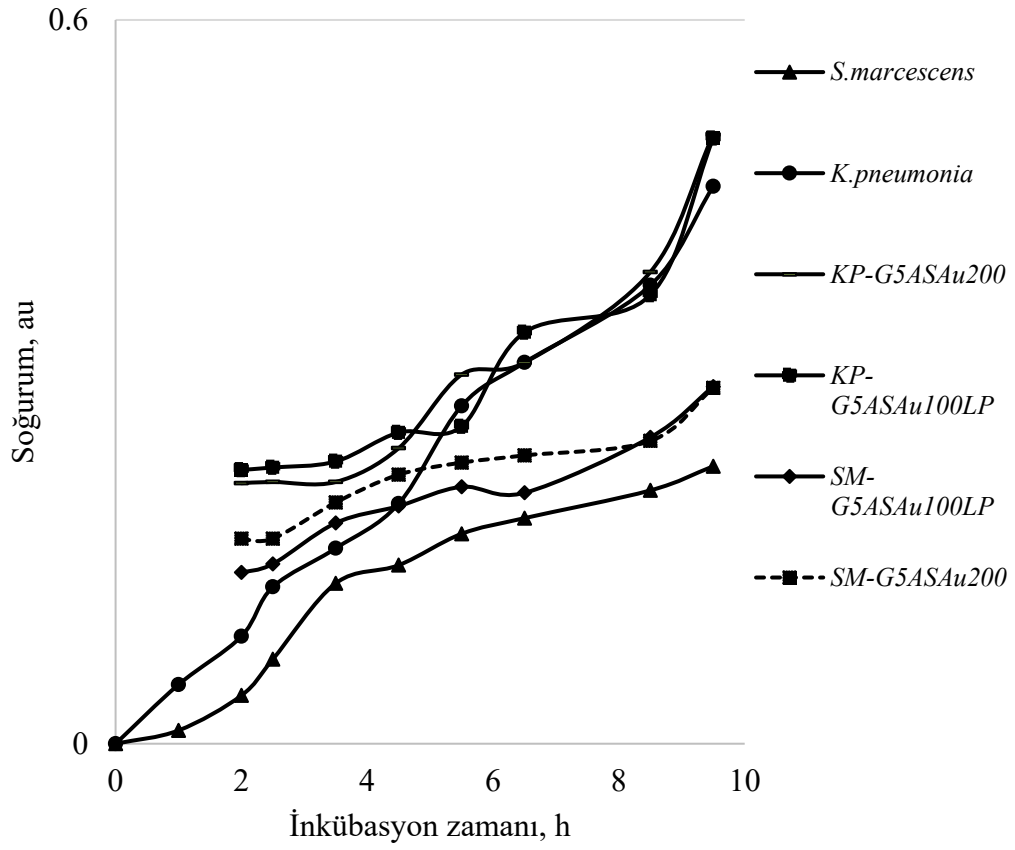
*50 µg/mL Fe³⁺ biyofilm oluşumunu tamamen inhibe etmiştir. (+) bakterinin biyofilm geliştirmemesine rağmen glukokonjugat varlığında biyofilm oluşumunun gerçekleşmesi anlamına gelmektedir. ¹G5AS_FeMOF aynı sonucu vermiştir. ²CBpAB-AuNP test edilen derişimlerde antibakteriyel aktivite vermemiştir. ND: test edilen derişim aralığında bir değer elde edilememiştir (En fazla 200 µg/mL). X nanomaterialin kullanılmadığını ifade etmektedir.

Bulgulara dayanarak (Tablo 4.1), şeker ligandları içeren 5-aminosalisilik asit (5AS), genel olarak test edilen bakteri türlerine karşı daha yüksek toksisitelere sahipti. Bu nedenle, şeker ligandları içeren 5AS ile yapılan glikokonjugatlarla yapılan daha ileri çalışmalarda fonksiyonel grupların önemini anlamak için hidroksil grubunda eksik olarak p-aminobenzoik asit (pAB) ve karboksil grubunda eksik olarak 3-aminofenol (3AP) kullanılmıştır. Bunun nedeni, şeker ligandlarındaki küçük değişikliklerin karbonhidrat-pektin etkileşimleri üzerinde dramatik bir etki yaratabilmesidir. Literatürden, 5AS'nin kendisinin çeşitli bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Greenstein vd., 2007; Zhang vd., 2018). Benzer şekilde, p-aminobenzoik asit (Kratky vd., 2020) ve 3-aminofenol (Mahmoud vd., 2021) kendi kendine antibakteriyel aktivitelere sahiptir.

Test edilen bakteri türleri için biyofilmdeki değişikliklerle birlikte glikokonjugatların MIC ve MBC değerlerini belirlemek amacıyla (Tablo 4.1). Bulgular, sıvı ortamdaki glikokonjugatların toksisitesinin katı ortamda elde edilenle aynı olmadığına atfedilen Tablo 4.1'de verilen sonuçlarla bazı çelişkiler göstermiştir. Bakterilere karşı serbest Ag⁺ iyon toksisitesini test etmenin kesin nedeni, AgNP_GC's ile bir karşılaştırma yapmaktır. Bu test asidik olduğu için aurik asit ile yapılmamıştır, bu nedenle toksisite sadece Au³⁺ iyon varlığına dayanmayacaktır.

MIC değerinde veya 200 µg / mL'de seçilen glikokonjugatlar tarafından biyofilm oluşunun önlenmesi herhangi bir MIC değeri vermemiştir (Tablo 4.1). Üç ana özellik bulundu: (i) deney koşulları altında çok dūřuk biyofilm oluşturan bakteri suşları (örneğin *S.marcescens*), glikokonjugatlara maruz kaldıklarında biyofilmler geliştirdiler. Örneęin, *S.marcescens* sadece L5ASAgNP tedavisine yanıt olarak biyofilm oluşumunu arttırdı. (ii) Yüksek konsantrasyonlardaki (10^6 cfu/mL veya üzeri) bakteri suşları, test edilen glikokonjugatlara karşı biyofilm gelişiminde herhangi bir azalma göstermemiştir. (iii) Daha dūřuk konsantrasyonlardaki (10^3 cfu / mL) bakteri suşları, test edilen koşullar altında test edilen glikokonjugatların çoğuna karşı herhangi bir biyofilm geliştirmemiştir; bu, glikokonjugatların bakteriyel hücrelerin büyümesine izin vermemesi veya doğrudan onları öldürmemesi ile ilişkili olabilir. Bunların aksine, 200 µg / mL Fe³⁺ iyonlarının sokulması *P.aeruginosa*'yı tamamen öldürmedi, ancak 200 µg / mL Ag⁺ iyon tedavisi için gözlemlendiği gibi biyofilm oluşumunu önledi. Bu vesileyle, etkinin sadece şeker ligandının kendisi ile ilgili olmadığını, aynı zamanda D-penisilamin (L5ASAuNP_GC_DP kıyasla L5ASAuNP_GC) varlığının biyofilm gelişiminin önlenmesinde rol oynadığını da gözlemledik.

S. marcescens, test edilen AuNP_GC's çoğuna karşı direnç gösterdi. Test edilen konsantrasyonlarda seçilen AuNP_GC's, bu bakteri türlerinin büyümesini %100 baskılamadı ve bu testin amacı, AuNP GC's 'nin *S. marcescens*'in gecikme fazını engelleyip engelleyemeyeceğini ortaya çıkarmaktı. Hem NP6 hem de NP15, *S. marcescens* gecikme fazını sırasıyla 4 saat ve 6 saat uzattı. Bu nedenle, bazı Au NP_GC's bile, uzun süreli inkübasyonlarda yüksek dirençli bakteri suşlarının büyümesini baskılamamıştır, gecikme fazlarını genişletebilirler (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 G5AS AuNP_GC ve buna karşılık gelen LP işlevselleştirilmiş formlarının *S.marcescens* (SM) büyüme kinetik üzerine etkisi. 2.saatte nanoparçacıklar ortama eklenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

AgNPlar genel olarak hem AuNPlara hem de FeMOFlara oranlara daha yüksek toksisite göstermişlerdir. Gözlemlenen bu toksisite AgNPlar söz konusu olduğunda daha non-spesifik iken, AuNPlar ve FeMOFlar için yüzey kimyasına bağımlılık göstermiştir. Ayrıca AuNP yüzeyine D-penisilaminin eklenmesi ile gözlemlenen antibakteriyel aktivite de artış olmuştur. Sonuçlardan hareketle şu öneriler sunulabilir;

- i- AuNPların oluşum sürecinde oksidasyona uğramadan kalan şeker ligant oranının belirlenmesi ve optimizasyonunun yapılması ile elde edilecek antibakteriyel aktivite artırılabilir.
- ii- Altın/Gümüş bimetalik nanoparçacıklar sentezlenerek altın nanoparçacıklarının benign karakteri ile gümüş nanoparçacıkların kendinden gelen antibakteriyel aktiviteleri sinerjistik olarak bütünleştirilebilir.
- iii- İleri görüntüleme teknikleri kullanılarak nanoparçacık glukokonjugat-bakteri etkileşiminin görüntülenmesi ve hücre içi dağılımının belirlenmesi ile nanoparçacık yüzey kimyasının ve boyutunun optimizasyonuna yönelik çalışmalar yapılmalıdır.
- iv- Uzun süreli çalışmalar yapılarak nanoparçacık glukokonjugatların ardışık MIC/MBC değerlerinin zamana bağlı değişimi takip edilmelidir; bu durum bakterilerin direnç geliştirip geliştirmediği hakkında fikir sahibi olmamızı sağlayacaktır.
- v- D-amino asitlerin AuNP glikokonjugat yüzeyine adsorpsiyonunda yaşanan sıkıntuların üzerinden gelebilmek için şeker ligant-amino asit komplekslerinin sentezi gerçekleştirilmelidir.

KAYNAKLAR

- Ahmad, B., Hafeez, N., Bashir, S., & Rauf, A. (2017). ScienceDirect Phytofabricated gold nanoparticles and their biomedical applications. *Biomedicine et Pharmacotherapy*, 89, 414–425. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.02.058>
- Aich, U., Meledeo, M. A., Sampathkumar, S., Fu, J., Jones, M. B., Weier, C. A., Chung, S. Y., Tang, B. C., Hanes, J., & Yarema, K. J. (2011). Development of Delivery Methods for Carbohydrate-based Drugs: Controlled Release of Biologically-active Short Chain Fatty Acid-HExosamine Analogs. *Glycoconjugate Journal*, 27(4), 445–459. <https://doi.org/10.1007/s10719-010-9292-3>.Development
- Ajithkumar, B., Ajithkumar, V. P., Iriye, R., Doi, Y., & Sakai, T. (2003). Spore-forming *Serratia marcescens* subsp. sakuensis subsp. nov., isolated from a domestic wastewater treatment tank. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(1), 253–258. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02158-0>
- Alsahay, M. M., Almehy, G. F., Hendy, R. M., Mohammad, R. S., & Mahmoud, Y. (2017). Mannose binding lectin in patients with pulmonary tuberculosis : Active and inactive. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*, 66(3), 413–418. <https://doi.org/10.1016/j.ejcdt.2016.12.012>
- Barrientos, A. G., De, J. M., Jiménez, M., Solís, D., Cañada, F. J., Martín-lomas, M., & Penadés, S. (2009). Modulating glycosidase degradation and lectin recognition of gold glyconanoparticles. *Carbohydrate Research*, 344(12), 1474–1478. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.04.029>
- Bodelón, G., Costas, C., Pérez-Juste, J., Pastoriza-Santos, I., & Liz-Marzán, L. M. (2017). Gold nanoparticles for regulation of cell function and behavior. In *Nano Today*. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2016.12.014>
- Brooks, J. P., Adeli, A., & McLaughlin, M. R. (2014). Microbial ecology, bacterial pathogens, and antibiotic resistant genes in swine manure wastewater as influenced by three swine management systems. *Water Research*, 57, 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.03.017>
- Cao, G., Rong, R., Wang, Y., Xu, Q., Wang, K., & Li, X. (2017). Synthesis and photodynamic therapy of mono-mannose modified perylene bisimide bridged permethyl-β-CDs. *Dyes and Pigments*, 136, 569–576. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2016.09.006>
- Carabineiro, S. A. C. (2017). Applications of of Gold Nanoparticles in in Nanomedicine : Nanomedicine : in Vaccines. *Molecules*, 22, 857. <https://doi.org/10.3390/molecules22050857>
- Chem, M., Nanoparticle, G., Mukherjee, K., & Sil, A. K. (2015). Synthesis of Chiral

- Gold Nanoparticle by Direct Reduction with L and D-Serine and Enhanced Anti-Mycobacterial Activity by D-Serine Protected. *Modern Chemistry & Applications*, 3(4), 4–9. <https://doi.org/10.4172/2329-6798.1000165>
- Drickamer, K., & Taylor, M. E. (2015). Recent insights into structures and functions of C-type lectins in the immune system. *Current Opinion in Structural Biology*, 34, 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2015.06.003>
- Fokt, I., Szymanski, S., Skora, S., Cybulski, M., Madden, T., & Priebe, W. (2009). D -Glucose- and D -mannose-based antimetabolites . Part 2 . Facile synthesis of 2-deoxy-2-halo- D -glucoses and - D -mannoses. *Carbohydrate Research*, 344(12), 1464–1473. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.06.016>
- Gabius, H. (2017). The sugar code: Why glycans are so important. *BioSystems*. <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2017.07.003>
- Goswami, N., Yao, Q., Luo, Z., Li, J., Chen, T., & Xie, J. (2016). *Luminescent Metal Nanoclusters with Aggregation-Induced Emission*. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcclett.5b02765>
- Haifei Yang. (2012). Mechanisms of antimicrobial resistance in *Serratia marcescens*. *African Journal of Microbiology Research*, 6(21). <https://doi.org/10.5897/ajmr11.1545>
- Hajdúch, M., & Petruš, L. (2012). Synthesis and cytotoxicity of some D -mannose click conjugates with aminobenzoic acid derivatives. *Carbohydrate Research*, 361, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.08.001>
- Hohenester, E. (2011). Tackling the Legs of Mannan-Binding Lectin. *Structure/Folding and Design*, 19(11), 1538–1540. <https://doi.org/10.1016/j.str.2011.10.005>
- Hover, T., Maya, T., Ron, S., Sandovsky, H., Shadkchan, Y., Kijner, N., Mitiagin, Y., Fichtman, B., Harel, A., Shanks, R. M. Q., Bruna, R. E., García-Véscovi, E., & Oshero, N. (2016). Mechanisms of bacterial (*Serratia marcescens*) attachment to, migration along, and killing of fungal hyphae. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(9), 2585–2594. <https://doi.org/10.1128/AEM.04070-15>
- Jebali, A., Khajeh, E., Roohana, S., Aghaei, S., Ghaffari, M., Daliri, K., & Fuente, G. (2017). Nano-carbohydrates: Synthesis and application in genetics , biotechnology , and medicine. *Advances in Colloid and Interface Science*, 240, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.11.002>
- Karaca, F., & Öner, M. A. (2015a). Technological Forecasting & Social Change Scenarios of nanotechnology development and usage in Turkey ☆. *Technological Forecasting & Social Change*, 91, 327–340. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2014.04.004>
- Karaca, F., & Öner, M. A. (2015b). Scenarios of nanotechnology development and usage in Turkey. *Technological Forecasting and Social Change*, 91, 327–340.

<https://doi.org/10.1016/j.techfore.2014.04.004>

- Ke, X., Yang, C., Cheng, W., & Yang, Y. Y. (2018). Delivery of NF- κ B shRNA using carbamate-mannose modified PEI for eliminating cancer stem cells. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 14(2), 405–414. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.11.015>
- Lai, C. T., Sun, W., Palekar, R. U., Shad Thaxton, C., & Schatz, G. C. (2017). Molecular dynamics simulation and experimental studies of gold nanoparticle templated HDL-like nanoparticles for cholesterol metabolism therapeutics. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 9(2), 1247–1254. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b12249>
- Lee, J., Kumar, D., Hyuk, M., & Krishnan, S. (2014). Gold nanoparticles in breast cancer treatment : Promise and potential pitfalls. *Cancer Letters*, 347(1), 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.02.006>
- Li, H., Singh, B., Park, T., Hong, Z., Kang, S., Cho, C., & Choi, Y. (2015). Mannan-decorated thiolated Eudragit microspheres for targeting antigen presenting cells via nasal vaccination. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.09.014>
- Lian, S., Su, H., Zhao, B., Liu, W., Zheng, L., & Miao, J. (2009). Synthesis and discovery of pyrazole-5-carbohydrazide N-glycosides as inducer of autophagy in A549 lung cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(20), 7085–7092. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.09.004>
- Lindeque, J. Z., Matthyser, A., Mason, S., Louw, R., & Taute, C. J. F. (2018). Metabolomics reveals the depletion of intracellular metabolites in HepG2 cells after treatment with gold nanoparticles. *Nanotoxicology*, 12(3), 251–262. <https://doi.org/10.1080/17435390.2018.1432779>
- M Jazm, S. C., Rocca, D. M., Artur, E., Villarmois, D., Fournier, K., Lanterna, A. E., Pe, M. F., Becerra, M. C., & Scaiano, J. C. (2018). Selective Photoinduced Antibacterial Activity of Amoxicillin-Coated Gold Nanoparticles: From One-Step Synthesis to in Vivo Cytocompatibility. *ACS Omega*, 3, 1220–1230. <https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01779>
- Mahlen, S. D. (2011). Serratia infections: From military experiments to current practice. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(4), 755–791. <https://doi.org/10.1128/CMR.00017-11>
- Moore, N. M., Flaws, M. L., Flaws, M. L., Si, S. M. A., & Univer-, R. (2011). *Epidemiology and Pathogenesis of Pseudomonas aeruginosa Infections FOCUS : PSEUDOMONAS AERUGINOSA*. 24(1), 43–46.
- Napporn, T. W., Juliette, A., Hebi, S., & Bertrand, P. (2015). Chemistry for oncotheranostic gold nanoparticles. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 99, 92–112. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.05.024>
- Niu, J., Wang, X., Lv, J., Li, Y., & Tang, B. (2014). Luminescent nanoprobe for in-

- vivo bioimaging. *Trends in Analytical Chemistry*, 58, 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.02.013>
- Petrossian, K., Banner, L. R., & Ñ, S. B. O. (2007). Lectin binding and effects in culture on human cancer and non-cancer cell lines : Examination of issues of interest in drug design strategies. *Acta Histochemica*, 109, 491–500. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2007.05.004>
- Phadke, V. K., & Jacob, J. T. (2016). Marvelous but Morbid: Infective Endocarditis Due to: *Serratia marcescens*. *Infectious Diseases in Clinical Practice*, 24(3). https://journals.lww.com/infectdis/Fulltext/2016/05000/Marvelous_but_Morbid__Infective_Endocarditis_Due.4.aspx
- Sandner-Miranda, L., Vinuesa, P., Cravioto, A., & Morales-Espinosa, R. (2018). The genomic basis of intrinsic and acquired antibiotic resistance in the genus *Serratia*. *Frontiers in Microbiology*, 9(MAY), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00828>
- Santhoshkumar, J., Kumar, S. V., & Rajeshkumar, S. (2017). Synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant leaf extract against urinary tract infection pathogen. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 459–465. <https://doi.org/10.1016/J.REFFIT.2017.05.001>
- Schwardt, O., Rabbani, S., Hartmann, M., Abgottspon, D., Wittwer, M., Kleeb, S., Zalewski, A., Smieško, M., Cutting, B., & Ernst, B. (2011). Design , synthesis and biological evaluation of mannosyl triazoles as FimH antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19(21), 6454–6473. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.08.057>
- Sengani, M., Mihai, A., & Rajeswari, V. D. (2017). OpenNano Recent trends and methodologies in gold nanoparticle synthesis – A prospective review on drug delivery aspect. *OpenNano*, 2(January), 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.onano.2017.07.001>
- Shamaila, S., Zafar, N., Riaz, S., Sharif, R., Nazir, J., & Naseem, S. (n.d.). *Gold Nanoparticles: An Efficient Antimicrobial Agent against Enteric Bacterial Human Pathogen*. <https://doi.org/10.3390/nano6040071>
- Silby, M. W., Winstanley, C., Godfrey, S. A. C., Levy, S. B., & Jackson, R. W. (2011). *Pseudomonas* genomes: Diverse and adaptable. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(4), 652–680. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6976.2011.00269.X>
- Sippelli, S. (2016). New mannose derivatives : The tetrazole analogue of mannose-6-phosphate as angiogenesis inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26, 636–639. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.11.059>
- Stokmaier, D., Khorev, O., Cutting, B., Born, R., Ricklin, D., Ernst, T. O. G., Böni, F., Schwingruber, K., Gentner, M., Wittwer, M., Spreafico, M., Vedani, A., Rabbani, S., Schwardt, O., & Ernst, B. (2009). Design , synthesis and evaluation of monovalent ligands for the asialoglycoprotein receptor (ASGP-R). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(20), 7254–7264.

<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.08.049>

- Stover, C. K., Pham², X. Q., Erwin, A. L., Mizoguchi, S. D., Warren, P., Hickey, M. J., Brinkman³, F. S. L., Hufnagle, W. O., Kowalik, D. J., Lagrou, M., Garber, R. L., Goltry, L., Tolentino, E., Westbrook-Wadman, S., Yuan, Y., Brody, L. L., Coulter, S. N., Folger, K. R., Kas², A., ... Olson², M. V. (2000). Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. In *NATURE* (Vol. 406). www.nature.com
- Swierczko, A. S., Kilpatrick, D. C., & Cedzynski, M. (2013). Mannan-binding lectin in malignancy. *Molecular Immunology*, 55(1), 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2012.09.005>
- Tiwari, Vinod K, Mishra, Ram C, Sharma, Anindra, Tripathi, R. P. (2012). Carbohydrate based Potential Chemotherapeutic Agents : Recent Developments and their Scope in Future Drug Discovery. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 12, 000–000. <https://doi.org/10.2174/138955712803832654>
- Wang, L., Hu, C., & Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: Present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 1227–1249. <https://doi.org/10.2147/IJN.S121956>
- Weber, L., Jansen, M., Krüttgen, A., Buhl, E. M., & Horz, H. P. (2020). Tackling intrinsic antibiotic resistance in *Serratia marcescens* with a combination of ampicillin/sulbactam and phage SALSA. *Antibiotics*, 9(7), 1–14. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9070371>
- Wei, W., Zhang, X., Chen, X., Zhou, M., Xu, R., & Zhang, X. (2016). *with cross-linkable polyethylene glycol for*. 8118–8125. <https://doi.org/10.1039/c5nr09167e>
- Yazgan, I. (2016). *Novel Poly (amic) Acid Membrane Chemistries with Experimentally-controlled Pore size , Transport , and Disinfection Properties*. State University of New York at Binghamton.
- Yazgan, I., Gümüş, A., Gökkuş, K., Demir, M. A., Evecen, S., Sönmez, H. A., Miller, R. M., Bakar, F., Oral, A., Popov, S., & Toprak, M. S. (2020). On the effect of modified carbohydrates on the size and shape of gold and silver nanostructures. *Nanomaterials*, 10(7), 1–17. <https://doi.org/10.3390/nano10071417>
- Yazgan, I., Noah, N. M., Toure, O., Zhang, S., & Sadik, O. A. (2014). Biosensor for selective detection of *E. coli* in spinach using the strong affinity of derivatized mannose with fibrial lectin. *Biosensors and Bioelectronics*, 61, 266–273. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.05.008>
- Yazgan, I., Osonga, F. J., Miller, R. M., Kariuki, V. M., Zhang, J., Feng, J., Skeete, Z., Crapo, H., Schulte, J., & Sadik, O. A. (2021). Greener One-Pot Synthesis of Gold Nanoparticle Glycoconjugates Using Functionalized Sugars. *ACS Agricultural Science & Technology*, 1(4), 379–389. <https://doi.org/10.1021/acsagscitech.1c00093>

- Zhang, L., Wei, G., & Du, Y. (2009). Synthesis of Neu5Ac-Gal-functionalized gold glyconanoparticles. *Carbohydrate Research*, 344(15), 2083–2087. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.06.039>
- Zhang, S., Zhang, Y., Baig, F., & Liu, T. F. (2021). Synthesis and Applications of Stable Iron-Based Metal-Organic Framework Materials. *Crystal Growth and Design*, 21(5), 3100–3122. <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.0c01500>
- Zhang, Y., Chan, J. W., Moretti, A., & Uhrich, K. E. (2015). Designing polymers with sugar-based advantages for bioactive delivery applications. *Journal of Controlled Release*, 219, 355–368. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.09.053>
- Zhapouni Aziz*, Farshad S., A. A. (2009). Pseudomonas Aeruginosa: Burn Infection, Treatment And Antibacterial Resistance. *IRANIAN RED CRESCENT MEDICAL JOURNAL (IRCMJ)*, 11(3), 244–253.
- Zheng, K., Setyawati, M. I., Leong, D. T., & Xie, J. (2017). Antimicrobial Gold Nanoclusters. *ACS Nano*, 11(7), 6904–6910. <https://doi.org/10.1021/acsnano.7b02035>
- Zheng, T., Li Sip, Y. Y., Leong, M. B., & Huo, Q. (2018). Linear self-assembly formation between gold nanoparticles and aminoglycoside antibiotics. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 164, 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.01.027>