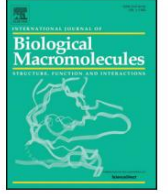


ScienceDirect'te bulunan içerik listeleri

Uluslararası Biyolojik Makromoleküller Dergisi

dergi ana sayfası : <http://www.elsevier.com/locate/ijbiomac>

Siprofloksasin hidroklorürün antibakteriyel aktivitesinin arttırılması için uyarana duyarlı çinko oksitle işlevselleştirilmiş makromoleküler hümkik asit nanotaşı yapıldı

Gowri Murugesan^A, Nachimuthu Latha^{a,*}, Kannan Suganya^B, Marudhamuthu Murugan^B, Murugan A. Munusamy^C, Mariappan Rajan^{d,**}^A Kimya Bölümü, Kandaswami Kandar's College, Paramathi Velur, Namakkal Bölgesi, Tamil Nadu 638182, Hindistan^B Mikrobiyal Teknoloji Bölümü, Biyolojik Bilimler Okulu, Madurai Kamaraj Üniversitesi, Madurai, Tamil Nadu 625021, Hindistan^C Botanik ve Mikrobiyoloji Bölümü, Fen Fakültesi, King Saud Üniversitesi, Riyad 11451, Suudi Arabistan^D Tıbbi Kimya Laboratuvarı, Doğal Ürünler Kimyası Bölümü, Kimya Okulu, Madurai Kamaraj Üniversitesi, Madurai, Tamil Nadu 625021, Hindistan

Makale Bilgisi

Makale Geçmişi:

18 Ocak 2018'de alındı
 Revize edilmiş haliyle 11 Şubat 2018'de alındı
 21 Mart 2018'de kabul edildi
 22 Mart 2018'de çevrimiçi olarak erişilebilir

anahtar kelimeler:

ZnO nanoparçacı kları
 Hümkik asit
 siprofloksasin

soyut

Doğal olarak oluşan hümkik asidin (HA) makromolekülleri, benzersiz davranışları, yani güçlü adsorptivite ve toksik olmayan yapıları nedeniyle kimya, biyoloji ve ilaç endüstrisinde ilgi toplamıştır. Burada, basit emülsifikasyon teknikleriyle topikal ve bölgeye hedefli siprofloksasin iletimi için organik (HA) inorganik (ZnO) hibrit nanopartiküller ile işlevselleştirmeyi araştırdık. Siprofloksasin (CIPRO) kapsüllü hibrit nanotaşı yapıldı, uzun süreli ve kontrollü bir şekilde antibiyotiklerin bakteriyel enfeksiyon bölgelerine sürekli salınması için çekici, yeni bir ilaç verme aracı oluşturur. Tasarlanan sistemin analitik özellikleri FTIR, XRD, SEM/EDAX ve TEM ile ayrıntılı olarak incelenmiştir. 24 saat boyunca siprofloksasinin ilaç salınımı, pH 2.5, 5.5, 6.8 ve 8.0 için sırasıyla %87.5, %98.03, %97.44 ve %97.24 idi. Antibakteriyel aktivite sonuçları, CIPRO kapsüllü hibrit nanotaşı yapıldığını mikroorganizmalara karşı mükemmel büyüme inhibisyonu gösterdiğini doğruladı. Antibiyotik yüklü bu hibrit nanotaşı yapıldı, enfekte bölgelere hedeflenen ve kontrollü ilaç dağıtımını için umut verici bir yaklaşımı temsil ediyor.

© 2018 Elsevier BV Tüm hakları saklıdır.

1. Giriş

Antimikrobiyal ajanlarla, özellikle antibiyotiklerle tedavi, şu anda patojenik mikroorganizmaları öldürmek veya büyümesini engellemek için en kolay yaklaşımdır [1]. Bununla birlikte, yeni antibiyotik ajanların hızla ortaya çıkması nedeniyle mevcut antibiyotiklerin etkinliğinin formülasyonları ve türevleri azalmaktadır [2]. Bakteriyel enfeksiyon bozukluğunun klinik tedavi başarısızlığı, hücre/dokuya özgü bariyerlerin düşük biyoyararlanımı, ilaç stabilitesi, biyofilmlerle ilişkili enfeksiyon ve dirençli bakterilerin ortaya çıkması ile ilişkilidir [3]. Ayrıca, ilaç direnci sorunlarını önlemeye yönelik olarak, yüksek dozlarda antibiyotikler verilir ve bu da birçok yan etki ve toksisiteye neden olur [4]. Sağlıklı dokular için toksisite ve çözünürlük sorunları, antibiyotiklerin büyük miktarlarda kullanılmaması için en önemli engellerdir [5].

Emilim, geniş yüzey alanı nedeniyle ince bağırsakta gerçekleşir [6]. İlaç direncini yenmek için, antibiyotik kapsüllü nanosistemler şu anda denemelerden geçiyor. Antibiyotiklerin aktivitesi ayrıca pH, enzimatik inaktivasyon vb. ile arttırılabilir.

İlaç iletimi, özellikle antibiyotiklerin farmakokinetiğini ve biyodağılımlarını değiştirerek antimikrobiyal etkinliğini arttırmak için geliştirilmiş dendrimerler, lipozomlar, polimerler ve hibrit nanoparçacıklar dahil olmak üzere çeşitli nano yapılar kullanılarak gerçekleştirilebilir [7-9]. Biyobozunur malzemeler toksik değildir, biyoyoumludur ve difüzyon veya şişme kullanılarak ilaçları boşaltımını kontrol etmenin basit bir yolunu sağlar [10]. Antimikrobiyaller genellikle mikroorganizmaları hayati bileşenlerinden birkaçına bağlanarak öldürür. Hümkik asit (HA), nano ölçekli, güçlü adsorpsiyon ve toksik olmama gibi benzersiz davranışları nedeniyle ilaç taşıma için ideal bir taşıyıcıdır. HA, doğal ortamda her zaman mevcuttur [13]. HA esas olarak -OH ve -COOH gruplarını içerir [14]. pH'a duyarlı HA, metal iyonlarını yüksek yüzey alanı nedeniyle daha fazla adsorpsiyon kapasitesine sahiptir. İlaç moleküllerinin taşıyıcı üzerine adsorpsiyonu, hidrojen bağları ve Vander Waals kuvvetleri gibi duyarlı kimyasal etkileşimler yoluyla gerçekleştirilir [15].

* Yazışma yeri: N. Latha, Department of Chemistry, Kandaswami Kandar's College, Paramathi Velur, Namakkal District, Tamil Nadu 638182, Hindistan. ** Yazışma adresi: M. Rajan, Biomaterials in Tıbbi Kimya Laboratuvarı, Department of Natural Products Chemistry, School of Chemistry, Madurai Kamaraj University, Madurai 625021, Hindistan.

E-posta adresleri: lathaank@gmail.com, (N. Latha), rajanm153.chem@mknuniversity.org, (M.Rajan).

Florokinolon ailesinin bir üyesi olan siprofloksasin (CIPRO), geniş antimikrobiyal aktiviteye sahiptir [16]. Genellikle karmaşı k ve basit idrar yolu, cilt/gözenek, kemik/eklem, periodontal ve bağı rsak enfeksiyonları nı n tedavisinde kullanı lı r [17]. Yüksek pH'larda, CIPRO, karboksilik grubunun deprotonasyonu nedeniyle negatif bir yük kazanı rken, düşük pH'larda, CIPRO molekülleri, amin grubunun protonasyonu nedeniyle pozitif yüklü olarak ortaya çı kar [18]. Pek çok bakteri formunun negatif yüklü duvarları , elektrostatik etkileşimler yoluyla pozitif yüklü nano yapı larla karı şarak geçirgenlik ayarlamaları nı ve hatta tüm hücre duvarı nı n ve dolay ısı yla patojenin kendisinin yok edilmesini etkiler [19].

Antibakteriyel nanoparçacı kları n (NP'ler) performansı nı ve özelliklerini daha da artı rmak için, karmaşı k uygulamalar için hibrit kompleksler oluşturmak üzere kademeli olarak diğ er metal türleri ile birleştirilirler. Daha yakı n zamanlarda, inorganik NP'lerin güçlü antimikrobiyal özellikler gösterdiği belirlendi [20]. Metal NP'lerin özelliği, özellikle ortamdaki boyutları na, kararlı lı kları na ve konsantrasyonları na bağı lı dı r. Çinko oksit nanoparçacı kları (ZnO NP'ler), düşük toksisiteleri, düşük maliyetleri ve potansiyel biyouyumlulukları nedeniyle çekicidir [21]. ZnO NP'lerin biyomedikal uygulamaları teşhisten terapötiklere kadar uzanı r. ZnO NP'ler, yarı iletkenlik gibi benzersiz özelliklere sahiptir; yara iyileşmesi, antifungal ve antibakteriyel aktiviter [22]. ZnO NP'ler iyi tanı mlanmı ş antibakteriyel aktivitelere sahiptir ve etkili bir bakterisidal ajan olarak kullanı labilirler [23]. Tek bileşenli malzemeler, istenen birden çok özelliğ in yalnız ca birkaç ını karşı layabilir. Bu zorlukları n üstesinden gelmek için burada, basit bir emülsiyon teknolojisi kullanarak CIPRO'yu kapsüllemek için ZnO NP'lerle işlevselleştirilmiş HA'nı n olağanüstü doğal olarak oluşan organik bileşenlerini geliştirdik. Geliştirilen bu yöntem, kontrollü, uzun süreli kabı zlı k ve hedefe yönelik ilaç salı nı mı için ilaç dağı tı m sistemlerinde uygulanmı ştı r.

2. Malzemeler ve yöntemler

2.1. Malzemeler

Çinko nitrat (ZnNO₃), Potasyum hidroksit (KOH), Humik asit (HA) (Molwt ca. 1500) ve Sorbitanmonolaurate (Span 20) Sigma Aldrich Chemicals, Mumbai, Hindistan'dan satı n alı ndı . Analitik dereceli kimyasallar daha fazla saflaşt ır ı lmadan kullanı ldı . CIPRO, Himedia Laboratories'den (Mumbai, Hindistan) temin edildi. Deneyler boyunca çift damı tı lı mı ş su kullanı ldı .

2.2. ZnO nanoparçacı kları nı n sentezi ve HA'nı n işlevselleştirilmesi

ZnO NP'lerin hazı rlanması , nano taşı yı cı nı n işlevselleştirilmesi ve antibiyotiğ in yüklenmesi aşı ğı daki adı mlarla gerçekleştirildi. Başlangı çta, ZnO NP'ler aşı ğı daki gibi çökteltme yöntemi [24] ile hazı rlandı : Ki saca, 8.4165 g KOH bir beher içinde 100 mL deiyonize suda çözülerek 1.5 M KOH hazı rlandı . Daha sonra 14,8745 g ZnNO₃ 100 mL deiyonize suda (0,5 M) çözülerek KOH çözeltisi içeren behere aktarı ldı ve 1 saat (saat) manyetik olarak karı ştı rı ldı . 1 saat sonra, ZnO NP'lerin beyaz çökteltileri elde edildi, 4000 rpm'de santrifüjlendi ve üç kez damı tı lı mı ş su ile yı kandı . Daha sonra çöktelti toplandı ve 500 °C'de bir kül fi rı nı nda 4 saat kalsine edildi. İşlevselleştirme için, 500 mg ZnO NP'ler, 1.0 g HA eklenmiş, DMSO içeren bir beher içinde çözüldü ve 30 dakika boyunca manyetik olarak karı ştı rı ldı . ZnO ile işlevselleştirilmiş HA (hibrit nano taşı yı cı) toplandı ve 3000 rpm'de santrifüjlendi ve 60 °C'de 4 saat hava fi rı nı nda kurutuldu.

Nano taşı yı cı sentezi ve hibrit nano taşı yı cı üzerinde CIPRO kapsüllemesi, O/W emülsiyon yöntemi [25] kullanı larak gerçekleştirilmiştir. Ki saca 500 mg ZnO-HA, 10 mL DMSO içinde ve 500 mg Span 20, 50 mL su içinde eritildi. ZnO-HA çözeltisi içeren DMSO, su içeren sürfaktan çözeltisine damla damla ilave edildi. Karı şı m 2 saat karı ştı rı ldı ve santrifüjlendi ve daha sonra daha fazla karakterizasyon için 60°C'de bir hava fi rı nı nda 4 saat kurutuldu. Yukarı daki prosedürü kapsülleme takip etti.

500 mg ZnO-HA nano taşı yı cı içinde 250 mg CIPRO, ZnO HA'yı DMSO çözünmüş CIPRO'nun yağ k ısı mı ile birleştirecek.

2.3. Hibrit nano taşı yı cı nı n fiziko-kimyasal karakterizasyonu

Sentezlenen bileşiklerin fonksiyonel grubu Fourier transform infrared spektroskopisi (Spectrum GX-I, Perkin Elmer, Waltham, MA, ABD) kullanı larak 4000-400 cm⁻¹ aralı ğı nda KBr pelet yöntemi ile belirlendi. Düzlem oryantasyonu ve kristal yapı , X kır ınım teknikleri (PW3040/60 X pert PRO, Almelo, Hollanda) ile doğrulandı . Yüzey morfolojisi (Hitachi-SU 6600 Taramalı Elektron Mikroskobu, Tokyo, Japonya; 15 kV'da çalı ştı rı ldı) taramalı elektron mikroskobu ile yapı ldı . Parçacı kları n boyutu ve şekli, 200 kV'da çalı ştı rı lan transmisyon elektron mikroskobu ile analiz edildi.

2.4. Kapsülleme verimliliğ inin tahmini

Nano taşı yı cı ve serbest ilaç, ilaç kapsülleme işlemine tabi tutuldu. Bu reaksiyon karı şı mı ndan, süpernatant solüsyon 10 dakikal ık zaman aralı kları yla toplandı ve 3000 rpm'de santrifüjlendi. Çözeltideki ilacı n konsantrasyonu, 295 nm'lik bir λmaks değeri ile UV spektrometresi (UV 1600, Shimadzu, Japonya) ile analiz edildi. Deney üç kopya halinde gerçekleştirildi.

$$EE\delta\% = \frac{\text{Toplam ilaç miktarı} - \text{İlaçsız z ilaç miktarı}}{\text{Kuru nanoparçacı kları n ağı rlı ğı}} \times 100$$

2.5. İn vitro ilaç salı nı mı nı n araşt ır ı lması

CIPRO (200 mg) yüklü kuru nano- taşı yı cı lar, 1 mL asetat ve fosfat tamponlu saline (pH 2.5, 5.5, 6.8 ve 8.0) ilave edildi ve ard ı ndan bir diyaliz torbası na yerleştirildi, her iki ucundan bağlandı ve içine daldı rı ldı . 150 mL salı m ortamı içeren beher. Beher, 100 rpm'de çalı ş an bir manyetik karı ştı rı cı içinde tutuldu. Her 30 dakikada bir, 3 mL in vitro salı m ortamı beherden çı karı ldı ve hemen taze ortamları değiştirildi. CIPRO'nun salı m özellikleri, UV spektroskopisi (UV-1600, Shimadzu, Japonya) kullanı larak değerlendirildi.

2.6. İn vitro antibakteriyel aktivitenin etkisi

2.6.1. Suşlar ve kültür koşulları

Test bakteriyel patojenleri olarak Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa) (ATCC 25619) ve Bacillus cereus (B. cereus) (ATCC 11778) kullanı ldı . Her iki patojen de yetiştirildi ve 37°C'de %0.5 glikoz (pH 7 ± 0.2) içeren triptik soya suyu (TSB) içinde tutuldu. Kültürler, 1/100'lük bir seyreltmede bir gecelik aşı lamadan aşı landı ve 170 rpm'de çalkalanarak 37 °C'de kübe edildi. Tüm araşt ır malar için, kültürler orta üstel faza büyütüldü (600 nm'de optik yoğunluk [OD₆₀₀] = 1.2).

2.6.2. MİK ve MBC tayini

P. aeruginosa ve B. cereus'un planktonik hücrelerinin ilaca ve ilaç yüklü taşı yı cı ya karşı hassasiyetleri, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü taraf ı ndan tarif edildiğ i gibi mikrotiter et suyu seyreltmesi ile belirlendi. İnhibisyon deneyleri, 50 uL mikrobiyal kültür (3 x 10⁶ CFU/mL) ve 100 uL ard ı şı k olarak seyreltilmiş ilaç içeren 150 uL'lik nihai hacimde steril 96 oyuklu plakalarda (Corning Co., NY, ABD) yapı ldı . ve ilaç yüklü taşı yı cı kompleksler (1-500 µg/mL). Mikrotiter plakalar, 37 °C'de 24 saat boyunca statik olarak inkübe edildi ve bakteri büyümesi, bir Spectra max mikrotiter plaka okuyucusu (moleküler cihazlar, Sunnyvale, ABD) kullanı larak 600 nm'de kültürlerin optik yoğunluğ u ölçülerek değerlendirildi. Tüm aşı lar üç kopya halinde büyütüldü. MIC'ler, 24 saat sonra gözle görüleb ir büyüme oluşturmayan en düşük ilaç konsantrasyonu olarak gösterildi. Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC), MIC testi mikrotitresinden 100 µL bakteri kültürü dağı tı larak hesaplandı .

Mueller Hinton Agar (MHA) plakaları na kuyucuklar ve 37 °C'de 12-18 saat inkübe edilir. Her plakta beşten az koloni oluşması na izin veren düşük ilaç konsantrasyonu MBC olarak ölçüldü.

24 saatlik üremeden sonra, P. aeruginosa ve B. cereus'un büyümesini engellemeyen en yüksek ilaç konsantrasyonu ve ilaç yüklü taşı yı cı , alt MİK olarak seçildi.

2.6.3. P. aeruginosa ve B. cereus'a karşı zaman öldürme kinetiği

P. aeruginosa ve B. cereus'a karşı zaman öldürme kinetiği, ilaç ve ilaç yüklü taşı yı cı için karşı lı k gelen MIC ve 2x MIC'ye eşdeğer konsantrasyonlarda 24 saat süreyle kaydedildi. P. aeruginosa (2,0 x 10⁵ CFU/mL) ve B. cereus (3,0 x 10² CFU/mL) ilaç ve ilaç yüklü taşı yı cı nı n 1x MIC'sinde 37 °C'de ve canlı lı k için belirli zaman aralı kları nda çekilmiş olarak inkübe edildi. plaka sayı ları . MH brot kullanı larak seri on kat seyreltme yapı ldı . Her dilüsyondan 50 uL, MHA plakaları na yüzeysel olarak yayı ldı ve plakalar, 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, bakteri kolonileri sayı ldı ve bir zaman-büyüme eğrisi çizmek için mililitre (Log) başı na koloni oluşturan birimler olarak temsil edildi.

2.6.4. Hoechst ile kristal viyole biyofilm tahlili ve HCS-canlı biyofilm boyama 96 oyuklu poli stiren plakalarda (Corning Co., NY, ABD) inert bir biyofilm geliştirme tahlili

yaşı ldı . Kı saca hücreler, 0.07'lik bir başlangı ç bulanı klı ğı nda (OD600) beyin kalp infüzyon ortamı na aşı landı ve ilaç ve ilaç yüklü taşı yı cı ile veya onsuz 48 saat çalkalamadan kültürlendi. 96 oyuklu plakalardaki biyofilmler, Milli-Q su ile hafifçe yı kandı ve 200 uL metanol (%99) ile sabitlendi. Daha sonra metanol atı ldı ve kuyucuklar 28 °C'de kurutuldu.

Daha sonra her bir oyuğa kristal viyole (%0.1) ilave edildi ve plakalar, oda sı caklı ğı nda 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra kristal viyole çı karı ldı ve lekeli biyofilmler suyla yı kandı . Kristal menekşeyi çözmek için lekeli biyofilmlere asetik asit (%33) ilave edildi ve solüsyonun absorpsansı , bir Spectramax mikrotiter plaka okuyucu kullanı larak 590 nm'de ölçüldü. Biyofilm inhibisyon yüzdeleri şu şekilde hesaplandı :

$$\% \text{Biyofilm inhibisyonu} = \frac{V_e}{i_{\text{çin}}} \times 100$$

burada Ac, belirli bir ilaç konsantrasyonu C ile kuyunun absorpsansı nı temsil eder ve Ao, kontrol kuyusunun absorpsansı nı gösterir.

2.6.5. Motilite ve koloni yayma testi Motilite testi,

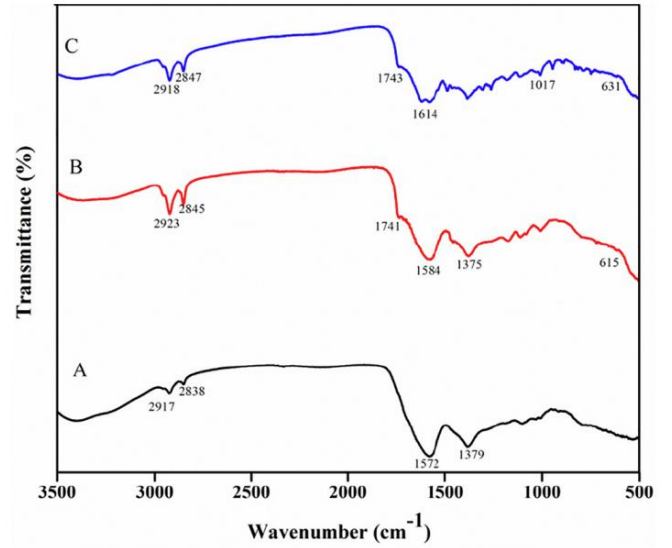
Suganya ve arkadaşları tarafı ndan açı klanan yöntem takip edilerek yapı ldı . [26]. Beş mikrolitre (OD, 600 nm'de 0,4'e ayarlanmı ş) P. aeruginosa ve B. cereus, yumuşak agar ortamı nı n (%1 pepton, %0,5 NaCl, %0,5 agar ve %0,5 filtre-) orta noktası na noktaya inoküle edildi. (1/2 MİK) ile ve ilaç ve ilaç yüklü kompleks olmadan steril D glikozu). Plakalar daha sonra 30 °C'de dikey yönde 12 saat süreyle inkübe edildi ve koloni göç bölgelerinin alanları ndaki azalma için analiz edildi.

3. Sonuçlar ve tartışma

3.1. FTIR analizi

Geliştirilen ZnO NP'ler fonksiyonelleştirilmiş HA nano taşı yı cı ile kapsüllenmiş antibiyotik ilaç tamponunda fonksiyonel grupları n varlı ğı , FTIR spektroskopisi kullanı larak belirlendi. Oluşan ZnO-HA ve ilaç yüklü ZnO-HA'nı n yapı sı FTIR spektroskopisi ile doğrulanmı ştı r.

(A) HA, (B) hibrit nano taşı yı cı ve (C) CIPRO kapsüllenmiş hibrit nano taşı yı cı nı n FTIR spektrumu belirlendi (Şekil 1). Şekil 1A'da, HA'nı n [27] alifatik C\N\H esneme titreşimleri nedeniyle tepe noktaları 2917 cm⁻¹ ve 2838 cm⁻¹ aralı ğı nda kaydedilmiştir . C_O gerilimi için 1572 cm⁻¹ ve 1379 cm⁻¹'de yüksek yoğunluklu geniş pikler ortaya çı ktı .

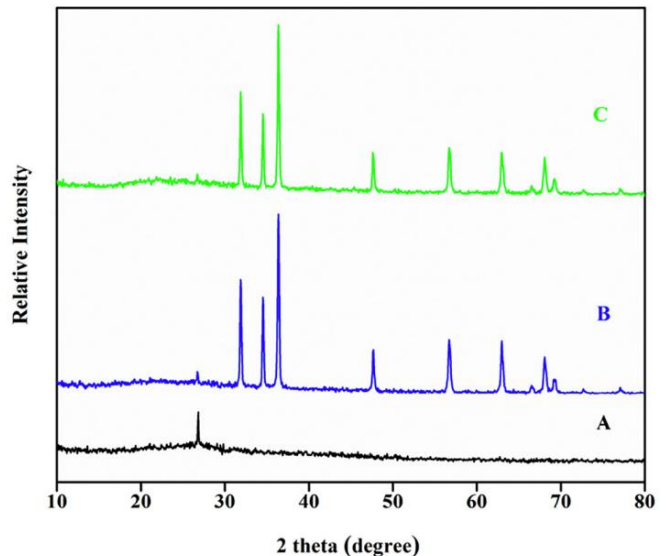


Şekil 1. (A) HA'nı n FTIR spektrumu ; (B) hibrit nano taşı yı cı ; ve (C) CIPRO kapsüllü hibrit nano taşı yı cı .

HA'daki karboksilat grupları (COO⁻). Şekil 1B'deki hibrit nano taşı yı cı nı n FTIR spektrumu , 1741 cm⁻¹'de gözlemlenen, ZnO-işlevselleştirilmiş HA molekülünü ve C_O'nun asimetrik/simetrik gerilme titreşimlerini indükleyen protonlanmı ş karboksilik grupları n (\COO) varlı ğı yla doğrulandı [28]. ZnO oluşumu, 615-900 cm⁻¹ aralı ğı nda halka oluşturan bantlarla doğrulanmı ştı r. CIPRO'nun nano taşı yı cı tarafı ndan kapsüllenmesi, Şekil 1C'de gözlemlenmektedir. 1614 cm⁻¹'deki karboksilat grubunun simetrik ve asimetrik gerilme titreşimini gösterdi. 1017 cm⁻¹'deki küçük kayma , CIPRO moleküllerinin hibrit nano taşı yı cı ile etkileşiminden kaynaklanı yor olabilir.

3.2. X-ışını kırınım analizi

Sentezlenmiş hibrit nano taşı yı cı ve ilaç kapsüllü hibrit nano taşı yı cı olarak HA'nı n kristal yapı sı , X-ışını difraksiyonu (XRD) ile araştırı ldı . Modeller Şekil 2'de gösterilmektedir . Saf HA, 2θ 28 değerinde tek bir zirveye sahiptir. Bu, HA'nı n yarı kristalli doğası nı gösterir ve tam kristal oluşturan ZnO ile işlevselleştirildi.



Şekil 2. (A) HA'nı n X-ışını kırınım modeli; (B) hibrit nano taşı yı cı ; ve (C) CIPRO kapsüllenmiş hibrit nano taşı yı cı .

yapı lar. HA-ZnO'nun XRD paterni, 26.7°, 31.8°, 34.5°, 36.3°, 47.6°, 56.7°, 62.9°, 66.4°, 68.0°, 69.2°, 72.7° ve 77.0°'de yoğunluk tepe noktaları gösterdi ve JEPDS dosyası no-79-0205 ile iyi bir korelasyona sahipti. Kapsüllemeyen sonra, ZnO-HA-CIPRO'nun XRD paterni ZnO'nun yoğunluğunu korudu.

Bu, hem taşıyı taşıyan larda hem de ilaç yüklü taşıyan larda Çinkonun varlığına doğrulamıştır [29]. Kristal boyutu, XRD desenlerinden hesaplandı.

Ortalama kristal boyutu HA için 45,53 x 10⁻⁹ nm (nanometre), hibrit nanotaşı için 39,48 x 10⁻⁹ nm ve ilaç kapsüllü hibrit nanotaşı için 39,72 x 10⁻⁹ nm idi.

3.3. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi

ZnO NP'lerin, hibrit nanotaşı ve CIPRO kapsüllenmiş hibrit nanotaşı'nın morfolojisi, SEM spektros kopyası kullanılarak incelenmiştir. SEM değerlendirmesi, Şekil 3'te gösterilen (A) ZnO NP'lerin, (B) hibrit nanotaşı ve (C) CIPRO kapsüllü hibrit nanotaşı'nın morfolojisi hakkında bilgi sağladı. Şekil 3A, ZnO'nun iyi toplanmış plaka benzeri yapı sergiliyor. NP'ler, Şekil 3B, çapları 1 µm aralığında olan hibrit nanotaşı'nın küresel şekli ve Şekil 3C'de çapları 0,5 µm aralığında olan CIPRO kapsüllü hibrit nanotaşı'nı göstermektedir. Ayrıca, parçacıklar, küresel parçacıkları oluşma olasılığı azaltan parçacıkları sırtı bir şekilde birbirine yapışması nedeniyle oluşan düşük dağılımlı ve eşit olmayan bir şekilde dağılmıştır. Bu, CIPRO kapsüllü hibrit nanotaşı'nın mükemmel bir ilaç taşıma aracı olarak hareket ettiğini doğruladı [30].

3.4. Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) analizi

Hibrit nanotaşı ve CIPRO kapsüllü hibrit nanotaşı'nın şekli ve boyutu, TEM analiziyle ortaya çıktı (Şekil 4). Şekil 4A'daki TEM görüntüleri, sentezlenmiş nanotaşı'nın küresel biçimde olduğunu doğrulamaktadır. Parçacıklar, HA'nın hidroksil grupları'nın mevcudiyeti ve çapraz bağlanma nedeniyle aglomere edildi.

Şekil 4B, CIPRO kapsüllü hibrit nanotaşı'nı göstermektedir; TEM görüntüsü, ilaç moleküllerinin kırınım noktalarıyla işaretlenmiş taşıya yüklendiğini açıkça göstermektedir. Bu, hibrit nanotaşı'nın ilaçları kapsüllemesi için daha geniş alana sahip olduğu anlamına gelir [31]. Seçilen alan elektron kırınımı (SAED) paterni, TEM görüntüsünün içini açıklar ve SAED spektrumu, XRD paterni ile iyi bir korelasyona sahiptir.

3.5. CIPRO kapsülleme verimliliği

Sentezlenen hibrit nanotaşı'nın potansiyel yeteneği, kapsülleme verimliliğine göre belirlendi. CIPRO kapsüllemesinin UV spektrumu, Şekil 5'te gösterilmektedir. Bu, CIPRO'nun emülsiyon yöntemiyle nano-taşıya yüklendiğini göstermektedir. Kapsülleme verimliliği, hibrit nanotaşı'nın gözeneği üzerindeki kademeli yükleme nedeniyle artan zamanla arttı. Sonuç olarak,

ilaç kapsülleme etkinliğinin 0 dakikada yaklaşık %99 olduğu gözlemlendi.

3.6. In-vitro CIPRO sürümü

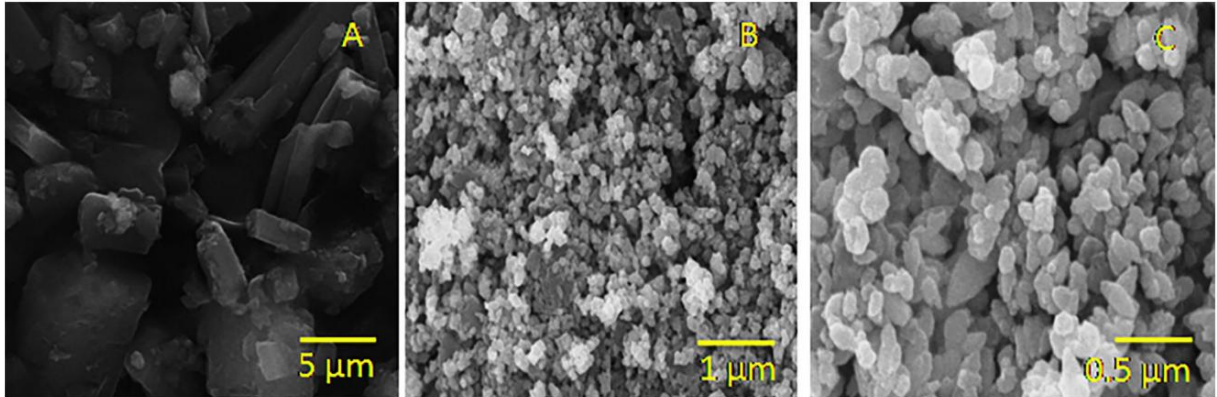
Geliştirilen taşıyan ilacın özellikleri, yaygın olarak kullanılan diyaliz torbası membran yöntemiyle araştırıldı [32]. Vücudun pH'ı gibi çeşitli fizyolojik ortamlar, ilaç salınım mekanizmaları'nı önemli ölçüde etkiler. pH, taşıyan ilacın hedef hücrelere sürekli ilaç salınımını etkileyen önemli faktördür.

CIPRO'nun hibrit nanoparçacıklardan salınım davranışı, farklı pH'lara sahip ortamlarla PBS'de araştırıldı: 2,5, 5,5, 6,8 ve 8,0. In vitro ilaç salınım davranışı olarak ilacın konsantrasyonu ve taşıyan ilacın stabilitesi, UV-vis spektrofotometri kullanılarak incelenmiştir. λ_{max} değerleri pH 2,5, 5,5, 6,8 ve 8,0 için sırasıyla 334 nm, 316 nm, 297 nm ve 295 nm idi (Şekil 6). Suda çözünürlüğün pH'ına bağlı olduğu göz önüne alındığında, her pH'ın kendi λ_{max} değeri vardı. pH değerlendirmelerine göre CIPRO, test edilen tüm ortamlarda 24 saate kadar hibrit nanoparçacıklardan yavaşça salındı. pH asidik çizgiden alkali çizgiye yükseldikçe, ilaç salınım yüzdesi de arttı. 24 saatte ilaç salınım yüzdesi, 2,5, 5,5, 6,8 ve 8,0 pH değerleri için sırasıyla %87,5, %98,03, %97,44 ve %97,24 idi. pH 5,5'te, artan çözünürlük, elektrostatik etkileşimler, π-π etkileşimleri ve hidrojen bağları nedeniyle ilaç salınım oranı en yüksekti. Bu nedenle, sentezlenen hibrit nanotaşı ve CIPRO arasındaki afinitenin artması, ilacın sürekli salınımına sonuçlandı [33]. İlaç salınım profili, CIPRO yüklü nanotaşı'nın pH'a duyarlı olduğunu gösterdi. Bunun nedeni, ZnO ve HA arasındaki azaltılmış elektrostatik itme nedeniyle, negatif yüklü HA'nın pozitif yüklü ZnO NP'ler üzerine adsorbe edilmesidir. HA'nın ZnO'ya eklenmesi, CIPRO için daha fazla adsorpsiyon bölgesi sağlayabilir ve hibrit bölgelere CIPRO adsorpsiyonunu artırabilir [34].

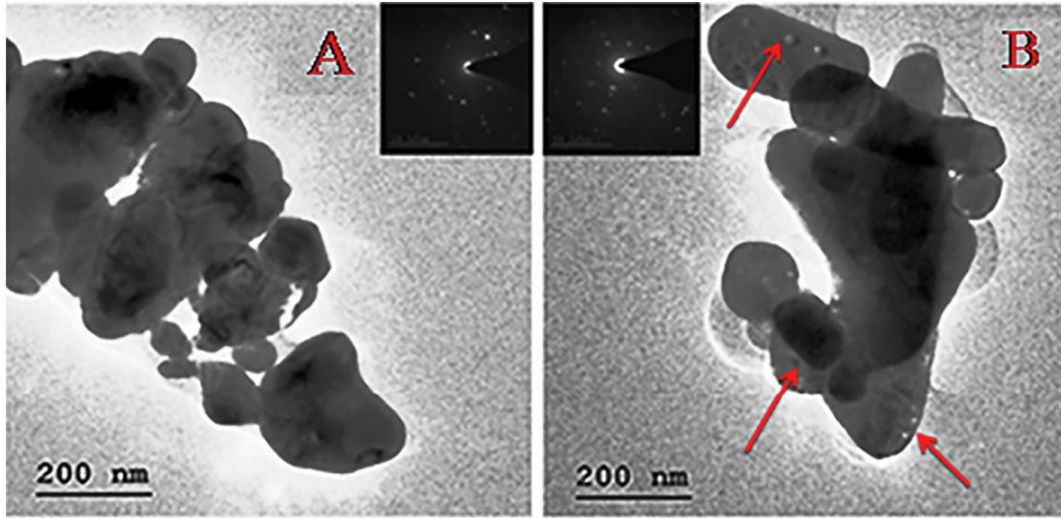
3.7. Hibrit nano taşıyan in vitro antibakteriyel aktivitesi

3.7.1. MİK ve MBC tayini

(A) CIPRO, (B) hibrit nano-taşı ve (C) CIPRO-kapsüllenmiş hibrit nanotaşı'nın antibakteriyel aktivitesini belirlemek için sırasıyla seyreltme deneyi yapıldı. Elde edilen sonuçlar, 55 µg ml⁻¹'de ilacın ve 25 µg ml⁻¹'de ilaç yüklü kompleksin *B. cereus*'a karşı gerçek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu gösterdi. *P. aeruginosa* için MİK değeri ilaç için 35 µg ml⁻¹, ilaç yüklü taşıyan ilacın 15 µg ml⁻¹ bulundu. ZnO NP'ler, çeşitli mikroorganizmaların büyümesini kontrol etmede çok daha etkili maddelerdir ve MRSA dahil olmak üzere çeşitli bakterileri öldürdüğü bilinmektedir [35]. Tek başına taşıyan ilacın, araç kontrolü olarak tutuldu ve kendi antibakteriyel etkinliğine sahip değildi, ancak ilaca antimikrobiyal potansiyelinde önemli ölçüde yardımcı oldu. Padmavathy ve ark. [36], ZnO NP'lerin bakteriyostatik ve bakterisidal etkisini bildirmiştir.



Şekil 3. (A) ZnO NP'lerin SEM görüntüsü; (B) hibrit nanotaşı ve (C) CIPRO kapsüllü hibrit nano taşıyan ilacın SEM görüntüsü.



Şekil 4. (A) hibrit nanotaşı yığıcılarının TEM/SAED görüntüsü; ve (B) CIPRO kapsüllenmiş hibrit nanotaşı yığıcılarının.

E. coli'ye karşı $400 \mu\text{g ml}^{-1}$ 'in üzerinde bir konsantrasyonda. Daha az MIC, daha yüksek antibakteriyel etkinlikle ilgilidir. MBC, *B. cereus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı tek başına ilaç için sırasıyla $80 \mu\text{g ml}^{-1}$ ve $65 \mu\text{g ml}^{-1}$ ve ilaç yüklü taşıyıcı için $60 \mu\text{g ml}^{-1}$ ve $30 \mu\text{g ml}^{-1}$ olarak belirlendi.

3.7.2. *P. aeruginosa* ve *B. cereus*'a karşı zaman öldürme kinetiği

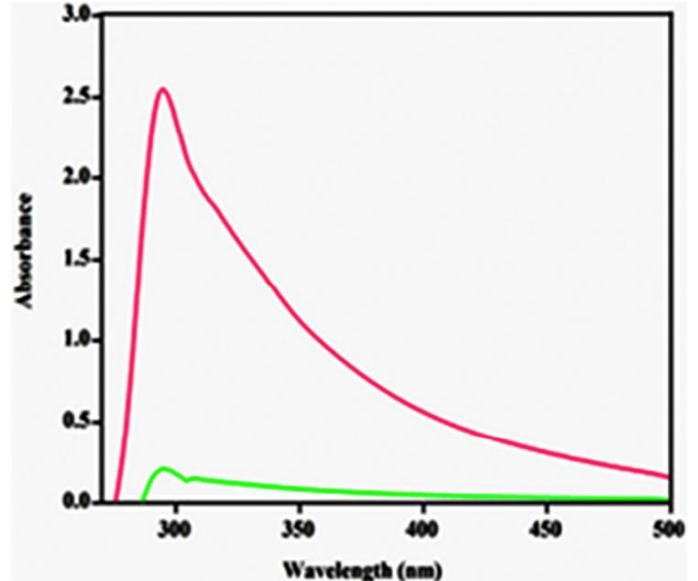
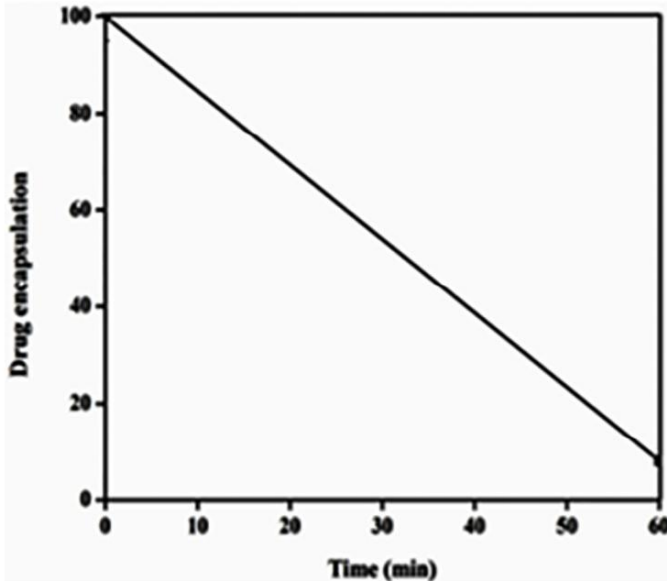
Şekil 7'de gösterilen ilaç ve ilaç yüklü taşıyıcıların zaman öldürme kinetik profilleri, test edilen konsantrasyonlarda test edilen bakteri suşları üzerinde değişken derecelerde bakterisidal ve bakteriyostatik aktiviteler ortaya çıkardı. Test edilen tüm konsantrasyonlar, 30 dakikalık inkübasyondan sonra *B. cereus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı benzer öldürme oranlarına sahipti. Tek başına ilacı öldürme hızı, *B. cereus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı ilaç yüklü taşıyıcı ninkinden daha yavaştı; bakterisidal aktiviteler, yalnızca $2 \times \text{MIC}$ 'de 1 saatlik inkübasyondan sonra tespit edildi. Hem ilacı n hem de ilaç yüklü kompleksin MIC'sinden daha yüksek bir konsantrasyonla tedavi, beklendiği gibi *P. aeruginosa* ve *B. cereus*'un büyümesini büyük ölçüde inhibe etti. Tek başına ilacı nkiyle karşılaştırıldığında, düşük maruz kalma süresinde bile ilaç yüklü taşıyıcıyla kayda değer bir öldürme etkinliği gözlemlendi. Inkübasyondan 2-3 saat sonra tam hücre ölümü gözlemlendi.

ilaç yüklü taşıyıcıyla ve tek başına ilaçla 4-5 saat. *S. aureus*'un ZnO NP'lere karşı artırılmış duyarlılığı da rapor edilmiştir [37,38]. Buna göre Sawai [39], ZnO NP'ler ile *S. aureus* arasındaki güçlü afinitenin, ZnO NP'lerin bu mikroorganizmaya karşı daha yüksek aktivitesinin nedeni olduğunu belirtmiştir.

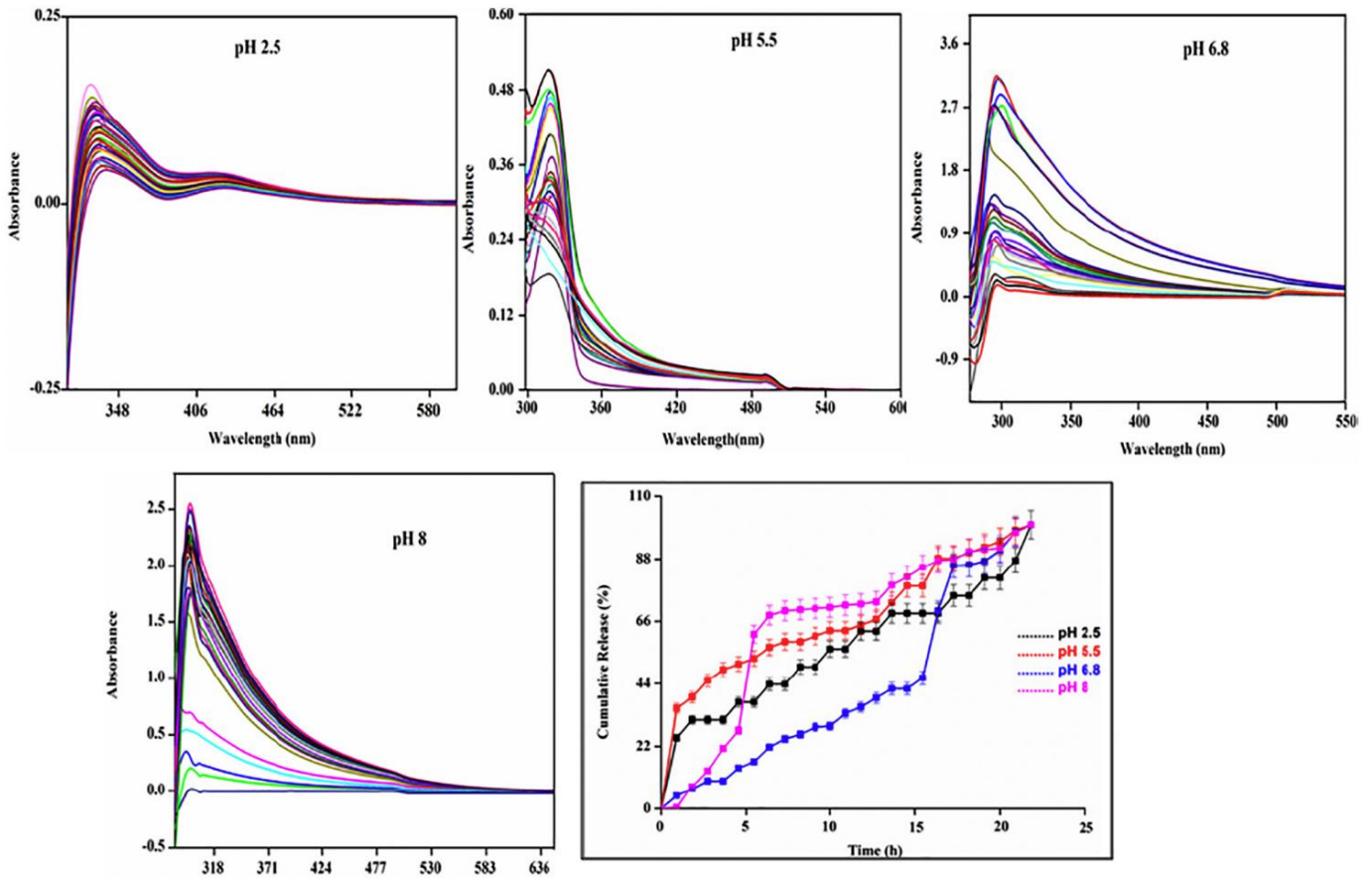
3.7.3. Hoechst ile kristal viyole biyofilm tahlili ve HCS-canlı biyofilm boyama ZnO NP'lerin bakteri öldürücü aktivite üzerindeki etkilerine ilişkin geniş bir çalışmada

Yelpazesi, besin ortamında süspansiyon edilmiş planktonik serbest yüzen bakteri hücrelerine odaklanmıştır [40,41]. Bakteriyel biyofilmler, ortopedik implantlar dahil olmak üzere çeşitli tıbbi cihazlarda büyümeye ve olgunlaşmaya ve kronik enfeksiyonda önemli bir rol oynar. Biyofilme yerleşmiş bakterilerin kendi kendini salgılayan bir polimerik matris tarafından korunduğu göz önüne alındığında, genellikle geleneksel antibiyotik tedavisine daha az yanıt verirler.

Bu nedenle, bu çalışmada biyofilmlerin ZnO NP'ler tarafından inhibisyonunu değerlendirdi ve çözünmüş HA varlığına bu toleransı değiştirip değiştirmediğini belirledi. İlaç ve ilaç yüklü taşıyıcı, aşılama sonrası MTP kuyularında ilk bağlanma inhibitörleri olarak uygulandı. $1 \times \text{MIC}$ 'de ilaç ve ilaç yüklü gözle görülür bir büyüme düşüşü gözlemlendi.



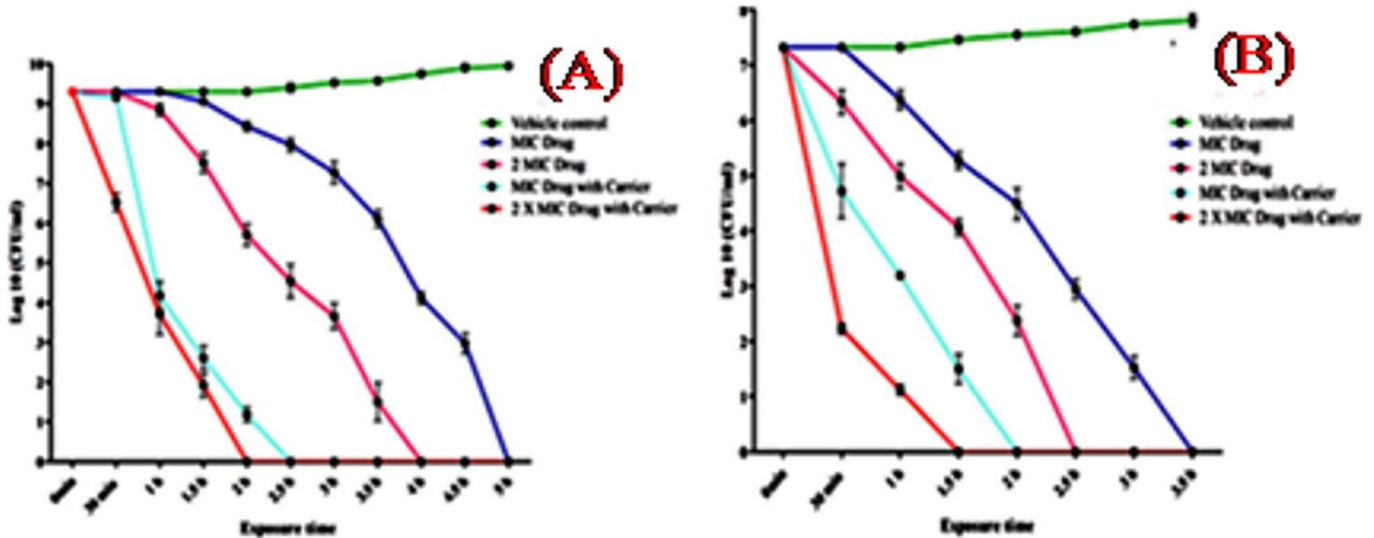
Şekil 5. Hibrit nanotaşı yığıcılarının in vitro ilaç kapsülleme profilleri.



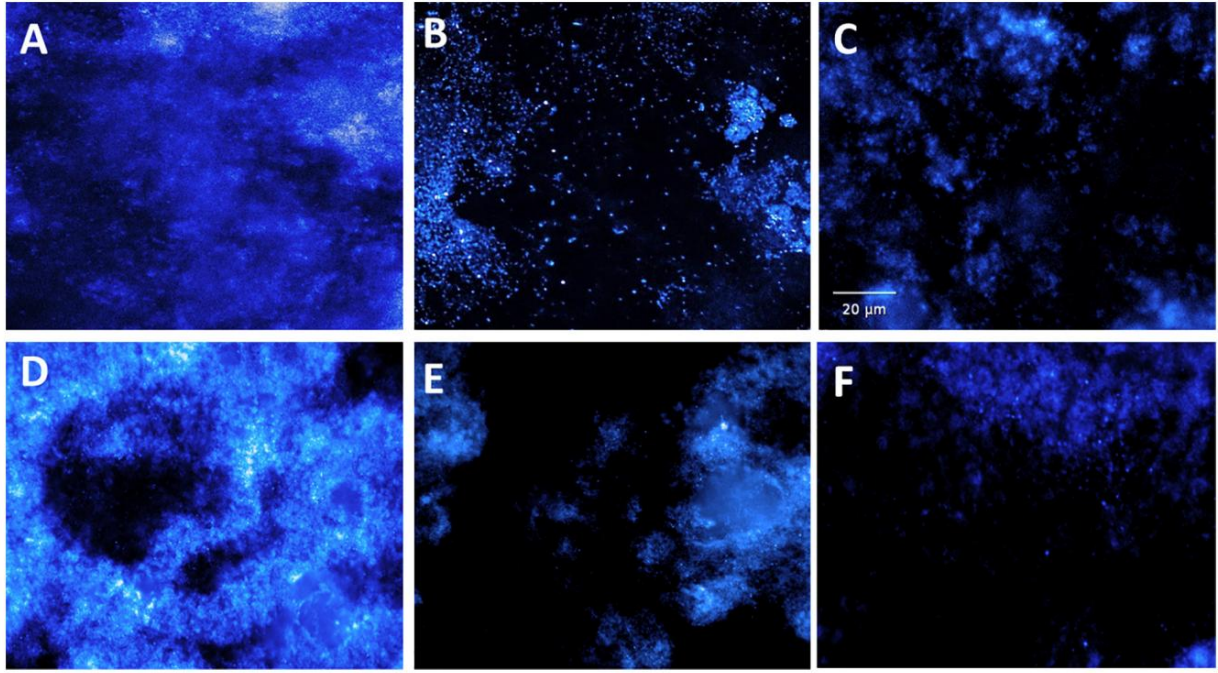
Şekil 6. CIPRO kapsüllü hibrit nano taşıyıcısının in vitro ilaç salınım profilleri.

taşıyıcısı. Antimikrobiyal etkileri en aza indirmek için ilacı n MİK altı seviyeleri ve ilaç yüklü taşıyıcısı kullanıldı. 1/2 MİK'de, biyofilm oluşumu, ilaç tedavisinin ardından *B. cereus* ve *P. aeruginosa* için sırasıyla %40 ve %60'a kadar azaldı; ve ilaç yüklü taşıyıcısı ile tedavi üzerine sırasıyla %75 ve %85 oranında. Ayrıca, faz kontrastlı mikyograf lar, *B. cereus*'un mimari açıdan karmaşık ve dinamik çok katmanlı matris yapısını netçe ortaya koydu ve

Kontrolde *P. aeruginosa* biyofilmleri bulunurken, ilaç ve ilaç yüklü taşıyıcısı (1/2 MİK) ile işlenmiş mikyograf lar da bu tür matris yapıları yoktu. Biyofilm oluşumunun bozulmasına ilişkin gözlemler, ilaçla inkübasyon üzerine yapılandırılmış biyofilm oluşumunu gösteren Hoechst boyama kullanılarak yapıların yüksek içerikli tarama analizi ile desteklenmiştir (Şekil 8). İlaç tedavisi durumunda mavi floresanda azalma kaydedildi.



Şekil 7. (A) *Bacillus cereus*'un zaman öldürme kinetiği eğrisi; ve (B) *Pseudomonas aeruginosa*.

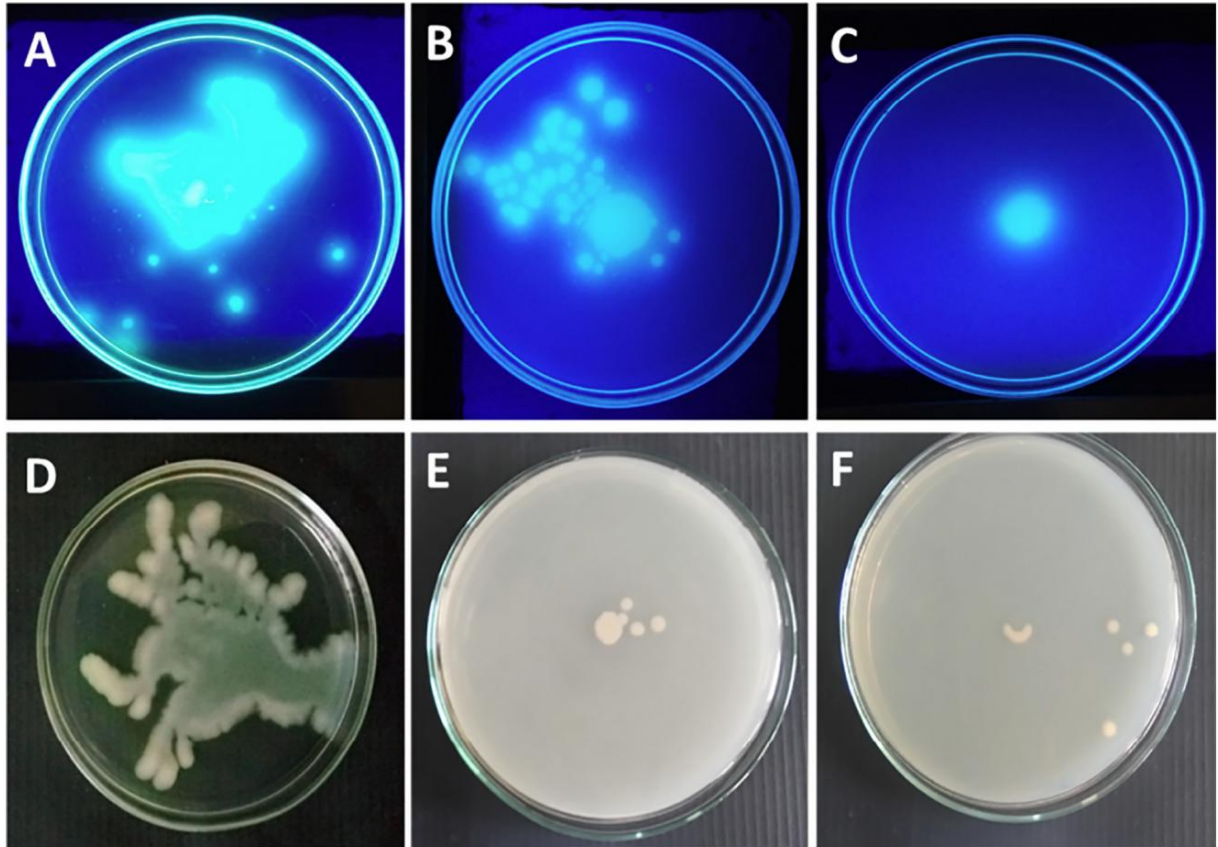


Şekil 8. Hoechst boyaması ile biyofilm inhibisyonunun HCS analizi. (A) Kontrol *Pseudomonas aeruginosa* biyofilmi; (B) Tek başı na ilacı n 1/2 MIC'si ile inkübe edilmiş *Pseudomonas aeruginosa* biyofilmi; ve (C) ilaç yüklü taşı yı cı ; (D) *Bacillus cereus* biyofilmini kontrol edin; (E) 1/2 MIC tek başı na ilaçla inkübe edilmiş *Bacillus cereus* biyofilmi; ve (F) ilaç yüklü taşı yı cı .

3.7.4. Motilite ve koloni yayma testi Motilite ve

koloni gelişiminin bir kombinasyonu, bakterilerin besinleri algı laması nı ve kovalaması nı ve kolonizasyon için tercih ettikleri nişlere ulaşması nı ve tutunması nı kolaylaştı rır. Bu nedenle, motilitenin bir rol oynadı ğı

esasen enfeksiyonun erken evrelerinde, kolonizasyon ve flagella yoluyla tutunma ile kolaylaştı rır lı r [42]. İlaç ve ilaç yüklü taşı yı cı , hem *B. cereus* hem de *P. aeruginosa*'ya karşı önemli bir anti-motilite etkisini tetikleyerek, yumuşak doku büyümelerini etkili bir şekilde yavaşlattı .



Şekil 9. Motilite inhibisyonu. (A) Kontrol *Pseudomonas aeruginosa* lekesi aşıl nı ş; (B) Tek başı na ilacı n 1/2 MIC'si ile inkübe edilmiş *Pseudomonas aeruginosa*; ve (C) ilaç yüklü taşı yı cı ; (D) *Bacillus cereus*'u kontrol edin; (E) 1/2 MIC tek başı na ilaçla inkübe edilmiş *Bacillus cereus*; ve (F) ilaç yüklü taşı yı cı .

agar plakaları (Şek. 9). Anti-motilité etkisi, sırasıyla sayı da hücre ile plakalardaki bakteriler hareket aralığı nı sırasıyla ve sonuç olarak biyofilm oluşumunu azaltır. P. aeruginosa için, motilitenin durması nedeniyle piyosiyanın sentezi de inhibe edilmiştir.

4. Sonuç

Kapsüllenmiş CİPRO ilaçları içeren hibrit nanotaşıyı cı nı n sentezi, basit emülsiyon teknikleri kullanılarak gösterildi. CİPRO, 295 nm'lik (λmaks değeri) yüksek yüklemle absorpsiyonu ile hibrit nanotaşıyı cı içinde başarıyla kapsüllendi. CİPRO, ilacı n çeşitli pH'larda (2.5, 5.5, 6.8 ve 8.0) ortamlarda 24 saate kadar fizyolojik koşullar altında yavaşça salındığı pH'a duyarlı bir ilaç verme aracı olarak kullanılabilir. Bununla birlikte, pH 5.5'te ilaç salınımı hızı en yüksekti. XRD, sentezlenmiş hibrit nanotaşıyı cı nı n ve CİPRO kapsüllü hibrit nanotaşıyı cı nı n kristal yapısını doğruladı. SEM ve TEM görüntüleri, CİPRO'nun 200 nm aralığında hibrit nanotaşıyı cı ya kapsüllenmesini gösterdi. CİPRO kapsüllü hibrit nanotaşıyı cı , hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakterilere karşı , tek başına hibrit nanotaşıyı cı ve ilaca göre daha yüksek antibakteriyel aktivite sergiledi. Bu sonuçlar, yüksek biyoyoumluluğu, biyobozunurluğu, güvenliği ve maliyet etkinliği nedeniyle, bu yeni geliştirilen hibrit nanotaşıyı cı nı n bakteriyel enfeksiyonları nı tedavisi için alternatif ve uygun bir taşıyı cı olarak kullanılmasını haklı çıkarır.

teşekkürler

M. Rajan, Yeni Delhi'deki "EMEQ" (F. No. - SB/EMEQ-241-2014) planı kapsamındaki mali destek için Hindistan Hükümeti DST-SERB'ye minnettar. M. Rajan, FTIR, SEM alımı için DST-FIST programına ve TEM alımı için UPE programları kapsamındaki fonlar için UGC'ye teşekkür eder. Yazarlar, bu Araştırma grubu No'yu (RG-1436-025) finanse ettiği için King Saud Üniversitesi Bilimsel Araştırma Dekanlığına teşekkür ederler.

Referanslar

- [1] R. Jijie, A. Barras, F. Teodorescu, R. Boukherroub ve S. Szunerits, *Mol. Sist. Aral. k Müh.* 2 (2017) 349–369.
- [2] M. Schmidt, S. Harmuth, ER Barth, E. Wurm, R. Fobbe, A. Sickmann, C. Krumm, JC Tiller, Siprofloksasinin poli(2 oksazolin)ler ve polietilen glikol ile uç gruplar aracıyla konjugasyonu, *Bioconjug. kimya* 26 (2015) 1950–1962.
- [3] MH Xiong, Y. Bao, XZ Yang, YH Zhu, J. Wang, Poli ile antibiyotiklerin teslimi merik parçacıları, *Av. Uyuşturucu Dağıtım* 78 (2014) 63–76.
- [4] N. Abed, P. Couvreur, Antibiyotikler için Nanotaşıyıcılar: traselüler bakteriyel enfeksiyonlarda tedavi için ümit verici bir çözüm, *Int. J. Antimikrob. Temsilciler* 43 (2014) 485–496.
- [5] A. Gulzar, S. Gai, P. Yang, C. Li, MB Ansari, J. Lin, Stimuli responsive ilaç verme uygulaması, polimer ve silikani biyotipata, *J. Mater. kimya* B3 (2015) 8599–8622.
- [6] S. Kariminia, A. Shamsipur, M. Shamsipura, Forsiprofloksasin için etkili bir ilaç dağıtım sistemi olarak yeni kitosan kaplı manyetik nanopartiküllerin analitik özellikleri ve uygulaması, Düşük frekanslı ultra seslerle geliştirilmiş ilaç salınım kinetiği, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 129 (2016) 450–457.
- [7] Wen-Yu Qian, Dong-Mei Sun, Rong-Rong Zhu, Du Xi-Ling, Hui Liu, Shi-Long Wang, kontrollü etoposid salınımı için yeni antikanser araçlar olarak pH'a duyarlı stronsiyum karbonat nanopartiküller, *J. Nanomed.* 7 (2012) 5781–5792.
- [8] M. Karimi, P. Avci, R. Mobasser, MR Hamblin, H. Naderi-Manesh, Gen iletimi için yeni albümin-kitosan çekirdek-kabuk nanoparçacıları: hazırlık, optimizasyon ve hücre alımı araştırması, *J. Nanopart. Res.* 15 (2013) 1–24.
- [9] MW Tibbitt, JE Dahlman, R. Langer, Uyuşturucu dağıtımında gelişimsel sorunlar, *J. Am. kimya Sos.* 138 (2016) 704–717.
- [10] A. Santos, MS Aw, M. Bariana, T. Kumeria, Y. Wang, D. Losic, Drug-salma tesisleri: mevcut ilerleme, zorluklar ve perspektifler, *J. Mater. kimya* B2 (2014) 6157–6182.
- [11] MA Mirza, N. Ahmada, SP Agarwal, D. Mahmoodb, MK Anwer, Z. Iqbal, Oral ilaç dağıtımında hümkim maddelerin karşılaştırılması, *Results Pharma Sci.* 1 (2011) 16–26.
- [12] MA Mirza, SP Agarwal, MA Rahman, A. Rauf, N. Ahmad, A. Alam, Z. Iqbal, Bir anti epileptik ilaç olan Drug Dev'in oral ilaç iletiminde hümkim asidin rolü, *San. Ecz.* 37 (3) (2011) 310–319.

- [13] X. Zhang, R. Bai, Hümkim asidin polipirol kaplı naylon 6,6 granülleri üzerine adsorpsiyon davranışı, *J. Mater. kimya* 12 (2002) 2733–2739.
- [14] GZ Kyzas, DN Bikiaris, DA Lambropoulou, Sülfonik asit aşılama şitosan kullanılarak hümkim asidin farmasötik adsorpsiyon üzerindeki etkisi, *J. Mol. sıvı* 230 (2017) 1–5.
- [15] H.-L. Huang, H.-H. Huang, YJ Wei, Bir iyonik ortamda toksik Cr(VI)-humik asidin indirgenmesi, *Spectrochim. Acta B* 133 (2017) 9–13.
- [16] P. Patra, S. Mitra, N. Debnath, P. Pramanik, A. Goswami, Ciprofloksacin konjuge çinko oksit nanopartikül: çoklu ilaca dirençli bakterilere karşı bir kamufaj, *Bull. Anne. bilim* 37 (2014) 199–206.
- [17] W. Castro, M. Navarro, C. Biot, Siprofloksasin ve türevinin tıbbi potansiyel tıfler, *Future Med. kimya* 5 (2013) 81–96.
- [18] EC dos Santos, Z. Rozynek, EL Hansen, R. Hartmann-Petersen, RN Klitgaard, A. Löbner-Olesen, L. Michels, A. Mikkelsen, TS Plivelic, HN Bordallo, JO Fossum, Ciprofloksacin intercalated in flohroctortite killer: daha yüksek adsorpsiyon ve kontrollü salınım oranı ile aynı saf ilaç aktivitesi ve toksisite, *RSC Adv.* 7 (2017) 26537–26545.
- [19] N. Ehlert, M. Badar, A. Christel, SJ Lohmeier, T. Luessenhop, M. Stieve, T. Lenarz, PP Muellerb, P. Behrens, Antibiyotik siprofloksasinin implantlardan kontrollü salınımı için gözenekli silika kaplamalar, *J. Mater. kimya* 21 (2011) 752–760.
- [20] KP Miller, L. Wang, BC Benicewicz, AW Decho, Bakterilere salınım için tasarlanmış inorganik nanopartiküller, *Chem. Sos. Rev.* 44 (2015) 7787–7807.
- [21] K. Lingaraju, HR Naika, K. Manjunath, RB Basavaraj, H. Nagabhushana, G. Nagaraju, D. Suresh, Ruta graveolens (L.) kullanılarak çinko oksit nanopartiküllerin biyojenik sentezi (L.), *Appl. Nanobilim.* 6 (2016) 703–710.
- [22] D. Raoufi, Çökelme yöntemiyle hazırlanan ZnO nanoparçacıları nı n sentezi ve mikroyapısal özellikleri, *Yenile. Enerji* 50 (2013) 932–937.
- [23] R. Pati, RK Mehta, S. Mohanty, A. Padhi, M. Sengupta, B. Vaseeharan, C. Goswami, A. Sonawane, Çinko oksit nanoparçacıları nı n topikal uygulaması, farelerde bakteriyel cilt enfeksiyonunu azaltır ve makrofajlarda oksidatif stres tepkisi ve hücre zarı parçalanmasını indükleyerek antibakteriyel aktivite sergiler, *Nanomedicine* 10 (2014) 1195–1208.
- [24] HR Ghorbani, FP Mehr, H. Pazoki, BM Rahmani, Çökelme yöntemiyle ZnO nanopartiküllerinin Sentezi, *Orient. J. Chem.* 31 (2015) 1219–1221.
- [25] K. Rani, Viral olmayan gen iletimi olarak hibrit nanobiyomalzemenin son uygulamaları Araçlar, *Uluslararası J. Ecz. Res.* 8 (2016) 10–15.
- [26] K. Suganya, A. Krithika, K. Govindan, D. Asha, M. Murugan, Vibrio cholera'nı n patojenik konsorsiyumuna karşı gastrointestinal Proteus mirabilis DMTMMK1'in sürfaktan aracıyla savunmasını nı n izlenmesi, *RSC Adv.* 7 (2017) 20969–20980.
- [27] F. Sakellariadou, Ege Denizi boyunca toplanan yeraltı tortu örneklerinden hümkim asitlerin spektroskopik çalışmaları, *Mediterr. Mart Sci.* 7 (2006) 11–17.
- [28] P. Boguta, Z. Sokolowska, Çeşitli toprak türlerinden izole edilen hümkim asitlerle Zn(II) iyonları nı n etkileşimleri. pH, Zn konsantrasyonları ve hümkim asitlerin kimyasal özelliklerinin etkisi, *PLoS One* 11 (4) (2016) 1–20.
- [29] H. Nabipour, MH Sadr, GR Bardajee, Nano ölçekli zeolitik imidazolat çerçevelerin siprofloksasin ile sentezi ve karakterizasyonu ve bunları n antimikrobik maddeler olarak uygulamaları, *New J. Chem.* 41 (2017) 7364–7370.
- [30] GS Kumar, R. Govindan, EK Giriya, Osteomiyelit tedavisi için siprofloksasin yüklü hidroksiapatit nanopartiküllerin yerinde sentezi, karakterizasyonu ve in vitro çalışmaları, *J. Mater. kimya B2* (2014) 5052.
- [31] W. Wu, W. Yao, X. Wang, C. Xie, J. Zhang, X. Jiang, Bioreducible heparin-based nanojel ilaç dağıtım sistemi, *Biomaterials* 39 (2015) 260–268.
- [32] M. Rajan, V. Raj, Kitosan-poliaktik asit polietilen glikol-jelatin nanoparçacıları nı n oluşumu ve karakterizasyonu: kontrollü ilaç dağıtımını için yeni bir biyosistem, *Karbohidr. Polim.* 98 (2013) 951–958.
- [33] MH Mashhadizadeh, M. Amoli-Diva, Antibiyotiklerin verilmesi için potansiyel araçlar olarak ilaç taşıyan amino silan kaplı manyetik nanoparçacılar, *J. Nanomed. nanoteknoloji* 3 (2012) 4.
- [34] W. Wang, J. Cheng, J. Jin, Q. Zhou, Y. Ma, Q. Zhao, A. Li, Hümkim asidin manyetik çok işlevli reçinelerle ciprofloksasin giderimi üzerindeki etkisi, *Sci.* 6 (2016), 30331.
- [35] N. Jones, B. Ray, KT Ranjit, AC Manna, ZnO nanopartikül süspansiyonları nı n geniş bir mikroorganizma yelpazesi üzerinde antibakteriyel aktivitesi, *FEMS Microbiol. Letonya* 279 (2007) 71–76.
- [36] N. Padmavathy, R. Vijayaraghavan, Gelişmiş biyoaktif ZnO nanopartiküller-bir antimikrobiyal çalışma, *Sci. Teknoloji Av. Anne.* 9 (2008), 035004.
- [37] LK Adams, DY Lyon, PJ Alvarez, Karşılaştırılması eko-toksiste nanoscale TiO₂, SiO₂ ve ZnO süspansiyonları, *Water Res.* 40 (2006) 3527–3532.
- [38] G. Applerot, N. Perkas, G. Amirian, O. Girshevitz, A. Gedanken, Ultrasonik işleme yoluyla camı n ZnO ile kaplanması ve antibakteriyel özelliklerinin incelenmesi, *Appl. Sörf. bilim* 256 (2009) S3–S8.
- [39] J. Sawai, Metalik oksit tozları nı n (ZnO, MgO ve CaO) antibakteriyel aktivitelerinin iletkenlik testiyle nicel değerlendirilmesi, *J. Microbiol. Yöntemler* 54 (2003) 177–182.
- [40] V. Aruoja, HC Dubourguier, K. Kasemets, A. Kahru, CuO, ZnO ve TiO₂ nanopartiküllerinin toksisitesi mikroalgelere Pseudokirchneriellascapitata, *Sci. Toplam Çevre.* 407 (2009) 1461–1468.
- [41] KR Raghupathi, RT Koodali, AC Manna, Çinko oksit nanoparçacıları nı n boyuta bağımlı bakteriyel büyüme inhibisyonu ve antibakteriyel aktivite mekanizması, *Langmuir* 27 (2011) 4020–4028.
- [42] C. Josenhans, S. Suerbaum, Bakterilerde virülans faktörü olarak motilitenin rolü, *Int. J. İle. Mikrobiyoloji.* 291 (2002) 605–614.