

ÖZET

Koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) hızla yayıldı ve bugüne kadar dünya çapında 5 milyondan fazla ölüme yol açtı. Art arda ortaya çıkan mutant suşlar nedeniyle, etken virüse, şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirüs 2'ye (SARS-CoV-2) karşı tedavi ve önlemeye acilen ihtiyaç duyulmaktadır. Enfeksiyon sıklığını azaltmak için kamusal ve hastane alanlarında SARS-CoV-2 enfeksiyonunun önlenmesi esastır. Virüsidal etkiye sahip gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) bildirilmiştir. Bu nedenle, in vitro SARS-CoV-2'ye maruz kalan hücrelerde farklı yüzey modifikasyonları ve partikül boyutlarına sahip on tip AgNP'nin virüsidal aktivitesini ve güvenliğini araştırdık. AgNP'ler SARS-CoV-2'nin aktivitesini etkili bir şekilde inhibe edebilir ve farklı yüzey modifikasyonları ve partikül boyutları farklı virüsidal etkiler sağladı; bunlardan 50-nm BPEI en güçlü antiviral etkiyi gösterdi. Her bir AgNP tipinin etkinliğinin, karşılık gelen potansiyel farkla ($R_2 = 0,82$) pozitif olarak ilişkili olduğu sonucuna vardık. Bu in vitro deneysel veriler, COVID-19'a karşı terapötiklerin geliştirilmesi için bilimsel destek sağlamanın yanı sıra geniş spektrumlu virüs öldürücülerin geliştirilmesi için bir araştırma temeli de sunmaktadır. Patojenlerin geleneksel kimyasal ve antikör bazlı ilaçlara karşı edinilmiş direncinin artması göz önüne alındığında, AgNP'ler, harici bir malzeme veya potansiyel bir ilaç olarak, bulaşma yolunu kesmek için olası bir çözüm olabilir.

1. Giriş

Aralık 2019'dan bu yana, şiddetli akut solunum yolu sendromu koronavirüs 2'nin (SARS-CoV-2) neden olduğu akut solunum yolu enfeksiyon hastalığı, dünya çapında halk sağlığını ve güvenliğini ciddi şekilde tehdit eden koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) pandemisine ilerledi [1]. SARS-CoV-2 küreseldir ve çapı yaklaşık 100 nm'dir. Zarfı olan tek sarmallı pozitif sarmallı bir RNA virüsüdür [2 , 3 , 4 , 5] ve beta koronavirüs ailesine aittir. Bu virüsle enfeksiyon, son derece bulaşıcı, akut bir akciğer hastalığına yol açabilir. 2021'in sonunda [6 , 7 , 8], küresel vaka sayısı 422 milyonu aşarken ölüm sayısı 5,8 milyonun üzerine çıktı. Bu rakamlar çoğu ülkede hala keskin bir şekilde artan eğilimler göstermektedir [9]. Bugüne kadar, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) yalnızca akut yatılı bakım sağlayabilen sağlık merkezlerinde kullanılabilen Veklury'yi (Remdesivir) tamamen onayladı. Uygulanabilecek diğer ilaçlar FDA'nın acil kullanım yetkisi altında yapılmaktadır [10]. Bu arada, RNA virüsünün devam eden evrimi, üstel olarak, bulaşma oranı, ilişkili hastalık şiddeti ve bağışıklık kaçışı gibi viral özellikleri etkileyen yapısal değişikliklerle birçok SARS-CoV-2 varyantına yol açmaktadır [11]. Varyantların baskınlığının değişmesiyle, ilaç geliştirme daha karmaşık hale gelmiştir ve bu nedenle COVID-19 salgını henüz etkili bir şekilde kontrol altına alınamamıştır. Ek olarak, kontamine fomitler ve havadaki partiküller yüksek bulaşma oranından sorumludur [12]. SARS-CoV-2, çevrede günlerce canlı ve bulaşıcı kalır ve plastik ve paslanmaz çelik üzerinde güçlü bir stabiliteye sahiptir [13]. Bu nedenle, SARS-CoV-2'den kaynaklanan çevrenin etkili bir şekilde dezenfekte edilmesinin COVID-19'a yönelik etkili bir çözüm olacağı ve geniş hedef spektrumlu yeni virüslerin geliştirilmesinin bu amaca önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Son yıllarda, gümüşten yapılmış olanlar gibi nano ölçekli metal malzemeler de dahil olmak üzere nanopartiküller, benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle virüs araştırma odak noktası haline gelmiştir. Şu anda AgNP'ler, antimikrobiyal merhemlerde, uzun süreli yanık bakım ürünlerinde ve antibakteriyel losyonlarda ve ayrıca

PolyMem Silver™ (Aspen), Acticoat™, Bactigras™ (Smith & Nephew), Tegaderm™ (3M) ve Aquacel™ (ConvaTec) dahil olmak üzere tıbbi pansumanlarda (FDA tarafından onaylanmış ticari ürünler) terapötik olarak uygulanmaktadır [14 , 15 , 16 , 17]. Gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), nano teknoloji kullanılarak elementer gümüşün nano kristalizasyonu yoluyla oluşturulan 1-100 nm boyutunda gümüş kümeleridir. AgNP'lerin küçük boyutu (1-100 nm), benzer büyüklükteki biyolojik hedefle etkileşime girmelerine olanak tanır, böylece tipik plazma membran bariyerinden geçebilirler [18] ve birçok açıdan mükemmel performans gösterirler [19]. Klinik kullanımları, özellikle virüs öldürücü aktiviteleri, çeşitli çalışmalarda değerlendirilmiştir. Gümüşün tıbbi özellikleri medeniyet tarihinde çok erken bir dönemde tanınmıştır [16]. Orta Çağ'da Avrupa'da, gümüş içeren bileşikler Roma Farmakopesi'nde açıkça ilaç olarak kaydedilmiştir [20]. Çin'de Tang Hanedanlığı'ndan beri, elementer gümüş virüslerin neden olduğu akne hastalıklarını tedavi etmek için kullanılmıştır [21 , 22]. Erken Çin'de, elementer gümüşün ilaç olarak kullanımı yaygın olarak kabul edilmiştir. Örneğin, Ming Hanedanlığı'ndan Li Shizhen, 'Materia Medica Özeti'nde, toksisite durumunda yalnızca hassas gümüş folyolarının ve başka hiçbir formunun kullanılmaması gerektiğini vurgulamıştır [23]. Bu tür eski kayıtlar, nano-gümüş materyallerin virüs öldürücüler alanındaki potansiyelini vurgulamaktadır.

AgNP'ler çağdaş tıpta da yaygın olarak kullanılmaktadır. Bakterisidal etkileri, virüsler alanındaki araştırmacıları bu parçacıkların virüsidal bir etkiye sahip olup olmadığını değerlendirmeye yöneltmiştir [24]. AgNP'ler, insan immün yetmezlik virüsü, HIV-1, hepatit B, Tacaribe, adenovirüs, parainfluenza virüsü ve influenza virüsü (H3N2) gibi RNA ve DNA virüslerini in vitro etkili bir şekilde inhibe edebilir [25 , 26 , 27 , 28 , 29]. Çalışmalar, AgNP'lerin virüsidal etkilerini esas olarak iki mekanizma yoluyla gösterdiğini göstermiştir. İlk mekanizma, virüsün konak hücreyi enfekte etmesini önlemeyi amaçlar ve bu etki, yüzey glikoproteinindeki kükürt içeren kalıntıların bir kombinasyonu yoluyla elde edilebilir [30]. Örneğin, Morris ve arkadaşları, viral glikoproteine bağlanarak AgNP'lerin RSV'nin konak hücrelere girmesini önleyebileceğini bulmuşlardır [31]. İkinci mekanizmada, AgNP'ler konak hücreye girer ve daha sonra viral birleşme için gerekli makineyi bloke eder [32 , 33]. Lv ve diğerleri, AgNP'lerin p38/mitokondriyal kaspaz3 sinyal yolunu düzenleyerek TEGV kaynaklı apoptozu azalttığını buldu [34]. Düz AgNP'lerle karşılaştırıldığında, kaplamalı AgNP'lerin stabiliteyi artırdığı ve sitotoksisiteyi ve aglomerasyonu azalttığı bildirilmiştir [19]. Örneğin, bir polivinilpirolidon (PVP) kaplaması, AgNP'lerin antiviral uygulamalarda kullanımını kolaylaştırır ve ilişkili sitotoksisiteyi düşürür [35].

COVID-19 pandemisinin yayılmasından üç yıl sonra, bununla mücadele için umut vadeden bir ilaç hala eksiktir. SARS-CoV-2'nin hızlı mutasyonu, mevcut birçok COVID-19 aşısının ve tedavisinin nötralize edici aktivitesinin önemli ölçüde azalmasına yol açmaktadır. SARS-CoV-2'ye karşı yeni mekanizmalar yoluyla ilaç geliştirmeye acil ihtiyaç vardır. Metal bazlı antimikrobiyal ajanlar uzun süredir kullanılmaktadır ve çeşitli virüslere karşı antiviral aktiviteye sahiptir. Bu metallerin nanoformu son yıllarda daha da iyi aktiviteler göstermiştir. Çeşitli çalışmalar, AgNP'lerin SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı önleyici bir rol oynayabileceğini ve nanoteknolojiye dayalı aşıların ve virüslerin geliştirilmesine katkıda bulunabileceğini göstermiştir [36]. Örneğin, sağlık tesisleri gibi ciddi viral veya bakteriyel enfeksiyonların olduğu yerlerde, nano-gümüşle modifiye edilmiş titanyum dioksit, fotokataliz yoluyla çevrenin kendi kendini dezenfekte etmesi için kullanılır ve böylece SARS-

CoV-2'nin yayılması önlenir [37]. Jeremiah ve ark. farklı boyut ve konsantrasyonlardaki AgNP'leri değerlendirdi ve yaklaşık 10 nm çapındaki parçacıkların 1-10 ppm'sinin hücre dışı SARS-CoV-2'yi etkili bir şekilde nötralize edebileceğini ve sitotoksitenin >20 ppm'de gözlemlendiğini buldu [19]. Al-Sanea ve arkadaşları, anti-SARS-CoV-2 aktivitesini etkinleştirmek için AgNP'lerin üretiminde çilek ve zencefil özleri uyguladılar [38]. AgNP'lerin yüzey modifikasyonu, biyouyumluluklarını ve hücrelerle etkileşimlerini önemli ölçüde etkileyebilir [39]. House ve arkadaşları, dallanmış BPEI ile modifiye edilen AgNP'lerin, modifiye edilmemiş parçacıklara göre daha önemli bir gen düzenleyici etkiye sahip olduğunu gözlemlediler [40].

Bu çalışmada, farklı yüzey modifikasyonlarına sahip AgNP'ler in vitro SARS-CoV-2'ye karşı virüsidal etkileri açısından değerlendirildi ve yüzey yükleri büyük ölçüde farklılık gösteren üç tip yüzey kaplaması modifikasyon materyalleri olarak seçildi: sitrat, polivinil pirolidon (PVP) ve dallı polietilenin (BPEI). Hücre canlılığını ve apoptozu değerlendirmek için sırasıyla CCK-8 yöntemi ve akış sitometrisi gibi bir dizi analitik yöntem benimsendi. Ek olarak, her bir AgNP tipinin in vitro güvenliğini ve anti-SARS-CoV-2 etkisini değerlendirmek için kristal menekşe boyama, Hoechst boyama, virüs titrasyonu ve ters transkripsiyon-kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirildi. Sonuçlarımız, bu nanopartiküllerin SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı potansiyel virüs idler olarak hizmet edebileceğini göstermektedir.

2. Yöntemler ve Malzemeler

2.1. Kimyasallar, Viral Suş ve Hücre Hatları

SARS-CoV-2 suşu BetaCoV/Beijing/IME-BJ01/2020 (Pekin, Çin) başlangıçta daha önce açıklandığı gibi izole edildi [41]. Virüs stokları Afrika yeşil maymun böbreği (Vero E6) hücrelerinde çoğaltıldı ve titre edildi. Bulaşıcı SARS-CoV-2 ile ilgili tüm deneyler Changchun Veterinerlik Araştırma Enstitüsü'nde biyogüvenlik seviyesi 3 olan bir laboratuvarında gerçekleştirildi. Vero E6 hücreleri laboratuvarımızda muhafaza edildi. Hücreler %10 fetal dana serumu (FBS), 50 U mL⁻¹ penisilin ve 50 µg mL⁻¹ streptomisin eklenmiş Dulbecco'nun modifiye Eagle ortamında (DMEM) %5 CO₂ ile 37 °C'de kültüre edildi . Çapları 5, 20, 50 ve 100 nm olan PVP kaplı AgNP'ler, çapları 5, 20, 50 ve 100 nm olan sitrat kaplı AgNP'ler ve çapları 50 ve 100 nm olan BPEI kaplı AgNP'ler dahil olmak üzere on tip AgNP nanoComposix'ten (San Diego, CA, ABD) satın alındı.

2.2. AgNP'lerin karakterizasyonu

Her bir AgNP tipinin boyut dağılımı ve zeta potansiyeli karakterize edildi. AgNP'ler her karakterizasyondan önce yaklaşık 5 dakika boyunca sonikasyona tabi tutuldu. Milli-Q suyundaki AgNP'lerin hidrodinamik boyut dağılımları ve yüzey zeta potansiyelleri, Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Panalytical, Malvern, İngiltere) kullanılarak dinamik ışık saçılması yoluyla ölçüldü. AgNP'lerin hidrodinamik boyut dağılımı ve zeta potansiyeli en az üç kez ölçüldü. 200 keV hızlandırma voltajına sahip yüksek çözünürlüklü transmisyon elektron mikroskobu (HRTEM, JEOL Ltd., Tokyo, 2100F, Japonya) bakır ağı AgNP'lerin fiziksel boyut dağılımını karakterize etmek için kullanıldı. AgNP çözeltisi (8 µL) 200 ağı ultra ince karbon kaplı bakır ağ üzerine damlatıldı (Beijing Zhongjingkeyi Technology Co., Ltd., Pekin, Çin). Her numunede 200'den fazla parçacık incelendi ve parçacık çapları Image J yazılımı (Image J 1.53e, National Institutes of Health, Bethesda, MD, ABD) kullanılarak ölçüldü.

2.3. Hücre Canlılığı Testi

Hücre canlılığı, Hücre Sayım Kiti-8 (CCK-8; CK04, Dojindo Laboratuvarları, Kumamoto, Japonya) kullanılarak değerlendirildi. Vero E6 hücreleri (5×10^3) 96 kuyulu bir plakanın her bir kuyusuna ekildi ve herhangi bir işlemde önce 24 saat boyunca kültürlendi. İlaç tedavi grubuna, çeşitli boyutlarda her bir modifiye partikülün çeşitli konsantrasyonları uygulandı. 2 saatlik inkübasyondan sonra, hücreler 48 saat boyunca SARS-CoV-2 ile enfekte edildi. Daha sonra, 10 μ L CCK-8 reaktifi eklendi ve 37 °C'de 2 saatlik inkübasyondan sonra, numunelerin 450 nm dalga boyundaki optik yoğunluğu bir mikro plaka okuyucu kullanılarak ölçüldü.

2.4. Kristal-Menekşe Boyama

Hücre çoğalması kristal viyole boyama kullanılarak değerlendirildi. Vero E6 hücreleri (2×10^5) 6-kuyulu plakaların her bir kuyusuna ekildi ve 24 saat boyunca kültürlendi. 48 saatlik ilaç tedavisinden sonra, kültürün ortamı kristal viyole boyası ile değiştirildi ve örnekler 15 dakika daha inkübe edildi. Daha sonra, boya çıkarıldı ve hücreler fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) ile yıkandı ve ardından fotoğraflandı.

2.5. Hoechst Boyama

Vero E6 hücreleri ($2,5 \times 10^5$) 6-kuyulu plakaların her bir kuyusuna ekildi ve 24 saat boyunca kültürlendi. 48 saatlik ilaç tedavisinden sonra, ortam çıkarıldı, hücreler üç kez PBS ile yıkandı ve her bir kuyuya 1 mL 1:1000 seyreltilmiş Hoechst boyası eklendi. Örnekler karanlıkta 15 dakika inkübe edildikten sonra, iki kez PBS ile durulandı ve daha sonra nükleer morfolojileri bir floresan mikroskobu kullanılarak gözlemlendi ve örnekler fotoğraflandı.

2.6. Annexin-V Analizi

Vero E6 hücreleri (5×10^5) 6-kuyulu plakaların her bir kuyusuna yerleştirildi ve 24 saat boyunca kültürlendi. Daha sonra, her bir AgNP türü ile 48 saat boyunca muamele edildi. Daha sonra, hücreler 5 dakika boyunca 1500 rpm/dakika hızında santrifüjleme yoluyla toplandı, 500 μ L 1 $\times$ Annexin V Bağlayıcı Tamponunda yeniden süspanse edildi ve ardından 5 μ L FITC ve 5 μ L propidyum iyodür eklendi. Örnekler karanlıkta 15-20 dakika inkübe edildi ve daha sonra akış sitometrik analizi yoluyla apoptozis açısından değerlendirildi.

2.7. Ters Transkripsiyon-Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-qPCR)

Kültür üst sıvılarındaki viral RNA, QIAamp Viral RNA Kiti (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanılarak çıkarıldı. Virüs kopyaları daha sonra HiScript II One Step qRT-PCR SYBR Green Kiti (Vazyme Biotech, Nanjing, Çin) ile RT-qPCR kullanılarak tespit edildi. RT-qPCR protokolü şu şekildeydi: 15 dakika boyunca 50 °C, 30 saniye boyunca 95 °C, ardından 10 saniye boyunca 95 °C'de ve 35 saniye boyunca 63 °C'de 45 döngü. SARS-CoV-2N genini tespit etmek için kullanılan primerler şu şekildeydi:

N geni İleri: 5'-GGGGAAGTCTCTCTGCTAGAAT-3';

Arka yüz: 5'-CAGACATTTTGCTCTCAAGCT-3';

E geni İleri: 5'-CGATCTCTTGATAGATCTGTTCTC-3'.

Arka yüz: 5'-ATATTGCATTGCAGCAGTACGCACA-3'.

TaqMan sondajlarının dizileri şu şekildedir:

N geni 5'-FAM-TTGCTGCTGCTTGACAGATT-TAMRA-3'

E geni 5'-ATATTGCATTGCAGCAGTACGCACA-3'.

2.8. Viral Titrelelerin Ölçümü

Vero E6 hücreleri (5×10^3) 96-kuyulu plakaların her bir kuyusuna ekildi ve 24 saat boyunca kültüre edildi. Kültür üst sıvısı, 100 µL/kuyu hacminde serumsuz DMEM'de sürekli olarak 10 kat seyreltildi ve daha sonra enfeksiyondan 2 saat sonra %4 FBS, 100 IU/mL penisilin ve 100 µg/mL streptomisin içeren 100 µL DMEM eklendi ve kuyu başına son hacim 200 µL'ye ulaştı. Kültür plakası 37 °C'de %5 CO₂ ile kültüre edildi. Sitopatik gözenek sayısı her gün gözlemlendi ve kaydedildi. Virüs titresi, Reed-Muench yöntemi kullanılarak hesaplandı.

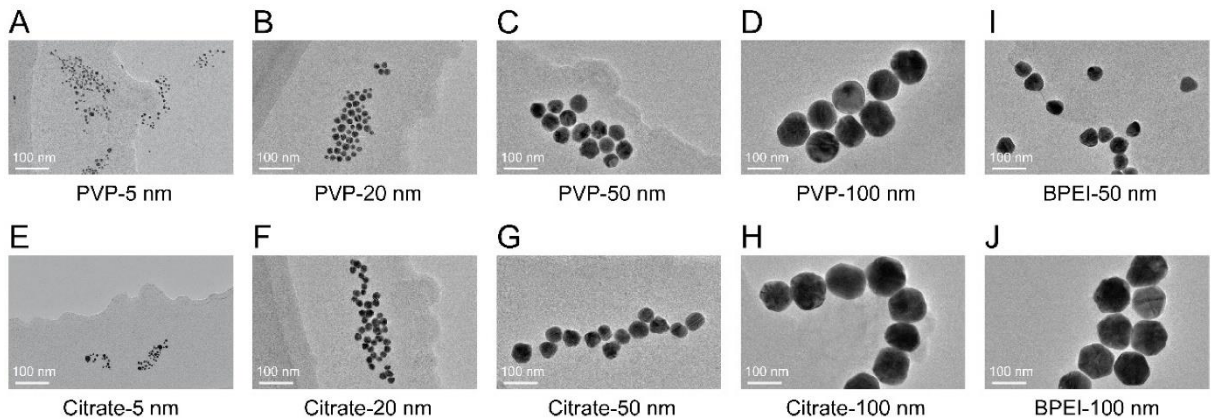
2.9. İstatistiksel Analizler

Tüm veriler GraphPadPrism sürüm 8.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, ABD) kullanılarak analiz edildi ve ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edildi. Her bir farkın anlamlılığı t - testi veya ANOVA ve ardından iki kuyruklu t - testi kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılığı belirtmek için $<0,05$ 'lik bir p - değeri kabul edildi.

3. Sonuçlar

3.1. AgNP'lerin özellikleri

AgNP'lerin morfolojisi TEM görüntülerinde neredeyse küreseldi (Şekil 1 A-J). TEM görüntülerindeki AgNP'lerin boyut dağılımları dar normal dağılımlar gösterdi (Şekil S1), bu da AgNP'lerin boyutlarının üretici tarafından ilan edilen değerlere yakın olduğunu gösterdi. Hidrodinamik boyut dağılımı neredeyse unimodal bir dağılım gösterdi (Şekil S2), bu da AgNP'lerin düzgün dağıldığını gösteriyordu. Zeta potansiyeli AgNP'lerin yüzey yükünü yansıtır ve parçacık boyutu ve yüzey kaplamasıyla farklılık gösterdi. PVP kaplı ve sitrat kaplı AgNP'lerin zeta potansiyelleri $-10,8 \pm -27,4$ mV ile $-3,1 \pm -31,5$ mV arasında değişen negatif yükler gösterdi, buna karşın BPEI kaplı AgNP'ler pozitif bir yük gösterdi (Şekil S3). Her bir AgNP yüzey kaplamasının kimyasal yapısı Şekil S4'te gösterilmektedir. AgNP'lerin ayrıntılı özellikleri Tablo 1'de listelenmiştir.



Şekil 1. AgNP'lerin HRTEM görüntüsü. (A - D) Farklı parçacık boyutlarına sahip PVP kaplı AgNP'lerin morfolojisi: 5 nm (A), 20 nm (B), 50 nm (C) ve 100 nm (D); (E - H)

Farklı parçacık boyutlarına sahip sitrat kaplı AgNP'lerin morfolojisi: 5 nm (E), 20 nm (F), 50 nm (G) ve 100 nm (H); (I , J) Farklı parçacık boyutlarına sahip BPEI kaplı AgNP'lerin morfolojisi: 50 nm (I) ve 100 nm (J).

Tablo 1. AgNP'lerin özellikleri.

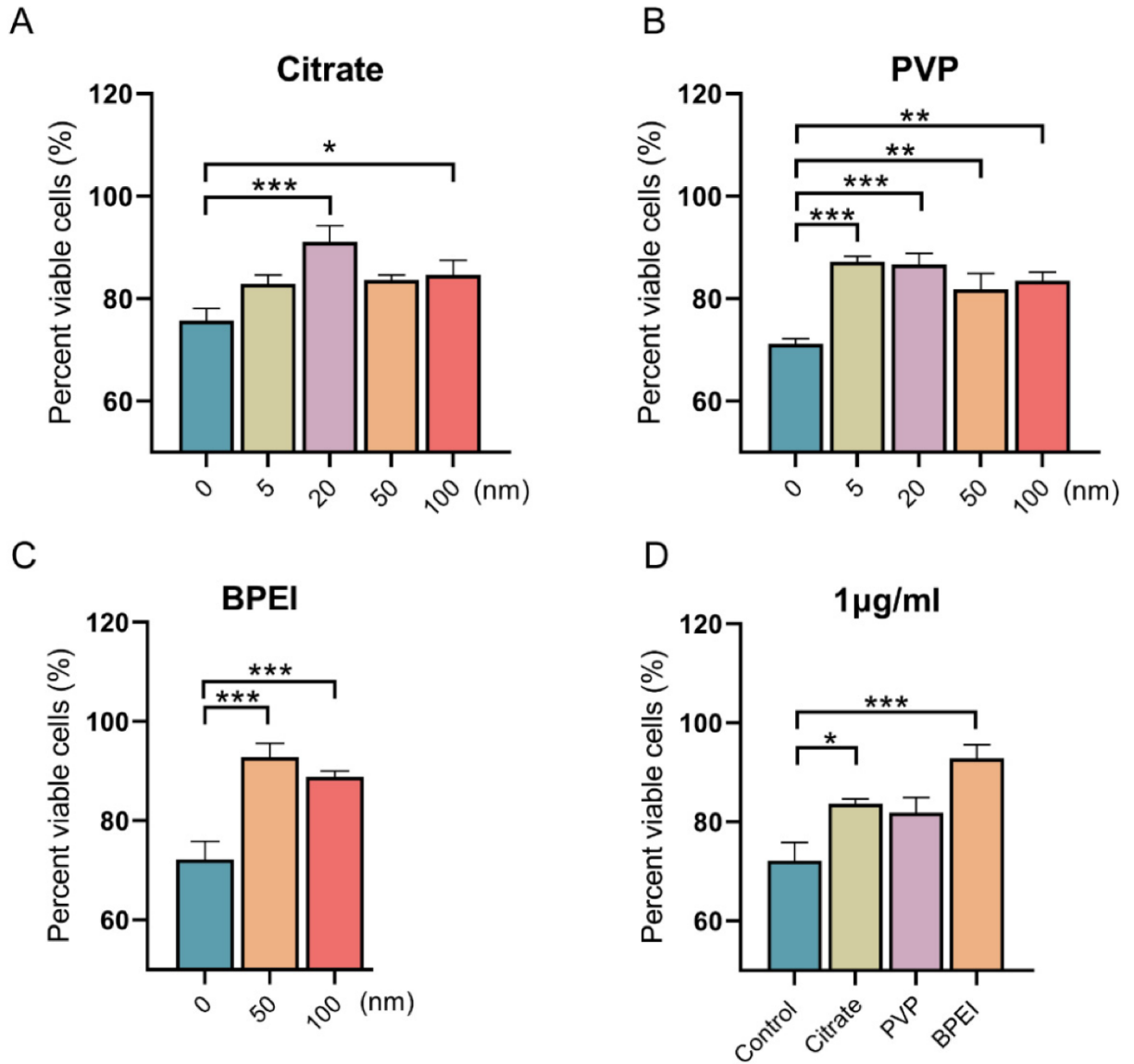
AgNP'ler	TEM'e göre boyut (nm)	Hidrodinamik Boyut (nm)	Zeta Potansiyeli (mV)
PvP-5	6,0 ± 2,9	11,1 ± 1,4	-10,9 ± 4,3
PVP-20	18,9 ± 3,5	35,6 ± 6,6	-12,6 ± 1,4
PVP-50	48,8 ± 5,6	49,2 ± 1,0	-10,8 ± 1,2
PVP-100	96,2 ± 8,2	122,6 ± 1,0	-27,4 ± 0,6
Sitrat-5	6,2 ± 1,8	7,8 ± 2,2	-3,1 ± 0,8
Sitrat-20	22,0 ± 3,7	35,0 ± 14,6	-12,7 ± 1,0
Sitrat-50	47,5 ± 5,8	62,2 ± 1,0	-15,2 ± 0,8
Sitrat-100	114,1 ± 11,9	114,4 ± 0,5	-31,5 ± 0,6
BPEI-50	47,5 ± 5,3	71,4 ± 3,8	13,6 ± 1,0
BPEI-100	101,5 ± 10,9	114,3 ± 0,4	28,1 ± 0,4

Veriler ortalama ± SD olarak sunulmuştur.

3.2. AgNP'lerin SARS-CoV-2 ile Enfekte Vero E6 Hücrelerinin Canlılığı Üzerindeki Etkileri

AgNP'lerin özelliklerini belirledikten sonra, enfekte hücreler üzerinde deneyler yürüttük. CCK-8 deneyleri ile hücre çoğalmasını tespit ederek, AgNP'lerin hücre koruyucu etkisini ve biyolojik dostluğunu belirlemeyi ve parçacık boyutu ile yüzey modifikasyonunun hücre koruyucu etki üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçladık. Şekil 2'de gösterildiği gibi, Vero E6 hücrelerinin canlılığı, SARS-CoV-2 (MOI = 0,008) enfeksiyonundan sonra önemli ölçüde azaldı. Bununla birlikte, üç tip AgNP, enfekte hücrelerin canlılığını önemli ölçüde iyileştirdi. Çeşitli konsantrasyonlarda AgNP'lerle SARS-CoV-2 ile enfekte edilen Vero E6 hücrelerinin canlılığı belirlendi (Şekil S5). SARS-CoV-2 tedavi grubuyla karşılaştırıldığında, 1 µg/mL konsantrasyonda hücrelerin canlılığı 5, 20, 50 ve 100 nm sitrat gruplarında sırasıyla %7,18, %15,37, %7,93 ve %8,96 oranında arttı (Şekil 2A); 5, 20, 50 ve 100 nm PVP gruplarında sırasıyla %16,01, %15,48, %10,67 ve %12,32 oranında arttı (Şekil 2B); ve 50 ve 100 nm BPEI gruplarında sırasıyla %20,70 ve %16,72 oranında arttı (Şekil 2C). Dahası, daha küçük AgNP'ler enfekte hücrelerin canlılığını iyileştirmede büyük AgNP'lere göre daha önemli etkilere sahipti. Ek olarak, 50 nm sitrat modifiyeli ve PVP modifiyeli AgNP'ler, kontrol

grubundaki seviyeye karşılaştırıldığında hücre canlılığını sırasıyla %11,49 ve %9,72 oranında artırdı. BPEI modifikasyonlu AgNP'ler hücre canlılığını %20,70 oranında artırdı (Şekil 2 D). AgNP'ler, genellikle 1 ila 100 nm arasında değişen boyutlarda ultra mikroskopik bir malzemedir. AgNP'lerin boyutu ve yüzey modifikasyonu, antiviral aktivitede önemli roller oynar ve önceki çalışmalar, nanomalzemenin boyutu ne kadar küçükse, o kadar fazla yüzey reaktivitesi üretildiğini göstermiştir [42]. Jeremiah ve arkadaşları, çok sayıda farklı boyut ve konsantrasyonda AgNP değerlendirdi ve 10 nm çapındaki AgNP'nin, 1 ppm ila 10 ppm aralığındaki konsantrasyonlarda SARS-CoV-2 aktivitesini inhibe etmede etkili olduğunu gözlemledi [19]. Sonuçlarımız, AgNP'lerin SARS-CoV-2 aktivitesini etkili bir şekilde inhibe edebileceğini, farklı yüzey modifikasyonları ve parçacık boyutlarının farklı virüs öldürücü etkiler sağladığını göstermiştir.

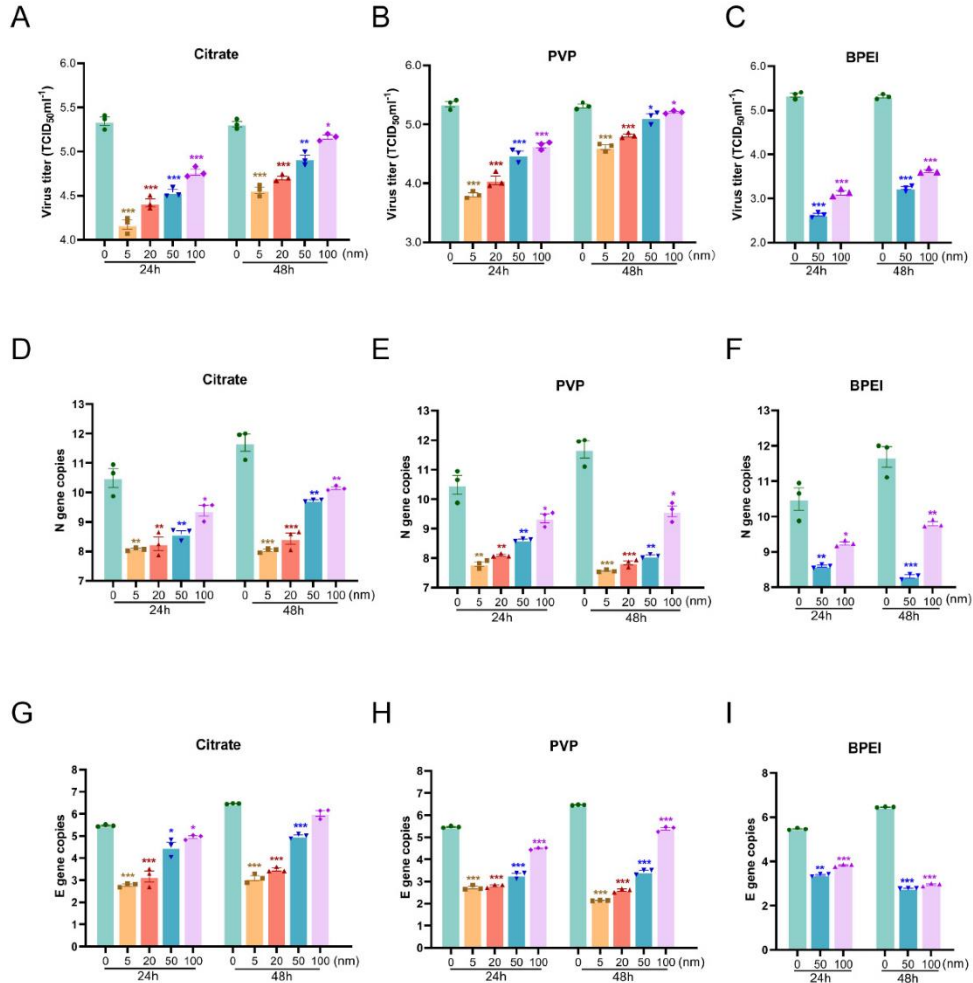


Şekil 2. SARS-CoV-2 ile enfekte edilmiş Vero E6 hücrelerinin yaşayabilirliği üzerinde AgNP'lerin etkileri. Vero E6 hücreleri SARS-CoV-2 ile enfekte edildi (MOI = 0,008); farklı partikül boyutlarına sahip sitrat, PVP veya BPEI ile kaplanmış 1 µg/mL AgNP'ler 48 saat boyunca uygulandı. (A - C) SARS-CoV-2, Sitrat (A), PVP (B), BPFI (C) ile enfekte edilmiş Vero E6 hücrelerinin yaşayabilirliği üzerinde farklı partikül boyutlu

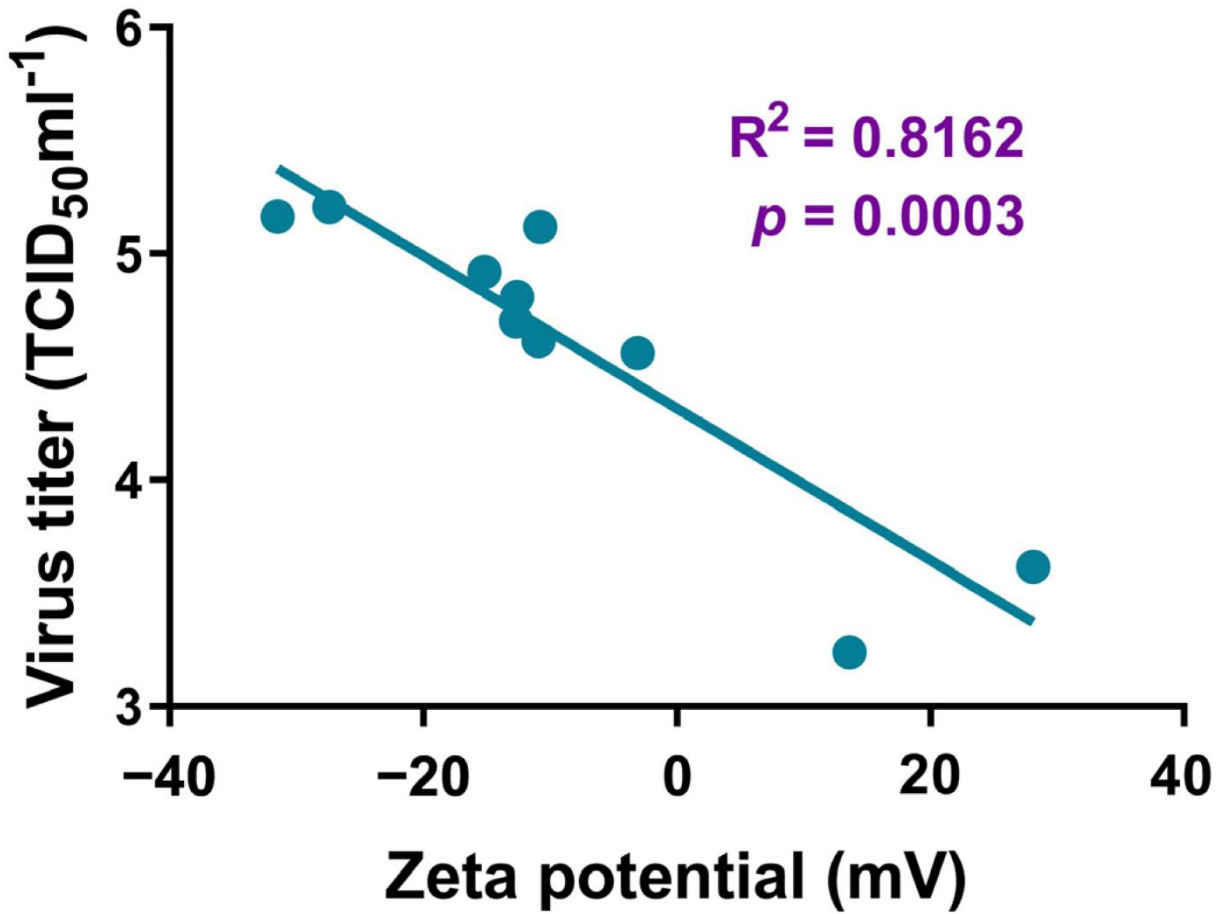
malzemelerin etkileri ; (D) 1 µg/mL 50 nm AgNP'lerle tedavi edilen SARS-CoV-2 ile enfekte edilmiş Vero E6 hücrelerinin yaşayabilirliği; (n = 8 grup), * p < 0,05, ** p < 0,01, * p < 0,001.**

3.3. AgNP'lerin Vero E6 Hücrelerinde SARS-CoV-2 Replikasyonu Üzerindeki Etkileri

AgNP materyali enfekte hücreler üzerinde koruyucu bir etkiye sahiptir. AgNP'lerin SARS-CoV-2 üzerindeki doğrudan inhibe edici etkisini ve parçacık boyutu ve yüzey modifikasyonu ile korelasyonunu daha fazla doğrulamak için virüs titrasyon deneyleri ve RT-qPCR yoluyla virüs replikasyonunu tespit ettik. Viral titre, çeşitli boyutlarda sitrat AgNP'leri veya PVP veya BPEI ile modifiye edilmiş olanlarla 24 veya 48 saat tedavi edilen SARS-CoV-2 ile enfekte Vero E6 hücrelerinde, herhangi bir AgNP ile tedavi edilmeyen enfekte hücrelerdeki seviyeye kıyasla önemli ölçüde azaldı (Şekil 3 A-C). AgNP ile tedavi edilen enfekte hücrelerdeki SARS-CoV-2'nin N ve E genlerinin kopya sayısı, kontrol seviyelerine kıyasla önemli ölçüde azaldı (Şekil 3 D-I), bu da AgNP'lerin Vero E6 hücrelerinde SARS-CoV-2 replikasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermektedir. Dahası, virüs titresinin AgNP'lerin boyutundaki azalmayla daha da azaldığı bulundu. BPEI ve PVP ile modifiye edilen AgNP'ler sitrat AgNP'lerden daha güçlü virüs öldürücü etkiler gösterdi (Şekil S6). İlginç bir şekilde, modifikasyon materyalinin zeta potansiyeli, Şekil 4'te gösterildiği gibi virüs titresi ile pozitif olarak ilişkililiydi ($R^2 = 0,8162$, $p < 0,001$) .



Şekil 3. AgNP'lerin Vero E6 hücrelerinde SARS-CoV-2 replikasyonuna etkisi. Hücreler SARS-CoV-2 (0.008 MOI) ile enfekte edildi. Vero E6 hücreleri, farklı parçacık boyutlarına sahip sitrat, PVP ve BPEI kaplı AgNP'lerle muamele edildi. Virüs titresini ve virüs genomunun kopya sayısını tespit etmek için hücre üst sıvısı 24 ve 48 saatte toplandı. (A - C) Farklı işlem süreleri ve parçacık boyutlarının SARS-CoV-2 virüs titresini üzerinde etkileri sırasıyla Sitrat (A), PVP (B) ve BPEI (C). (D , E) Farklı parçacık boyutlarına sahip Sitrat (D), PVP (E) ve BPEI'nin (F) SARS-CoV-2 N geninin kopya sayısı üzerindeki etkileri. (G - I) Farklı partikül boyutlarına sahip Sitrat (G), PVP (H) ve BPEI'nin (I) SARS-CoV-2 E geninin kopya sayısı üzerindeki etkileri. Üç deney gerçekleştirildi (n = 3 grup), * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001.



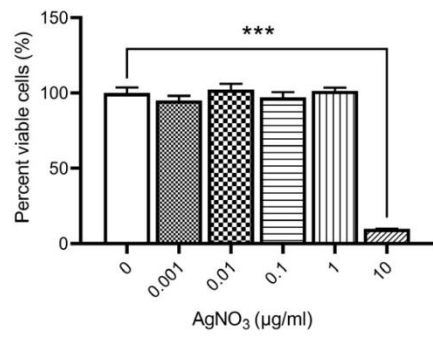
Şekil 4. Modifiye edilmiş materyalin zeta potansiyeli ile virüs titresini arasındaki korelasyon.

3.4. AgNP'lerin Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi

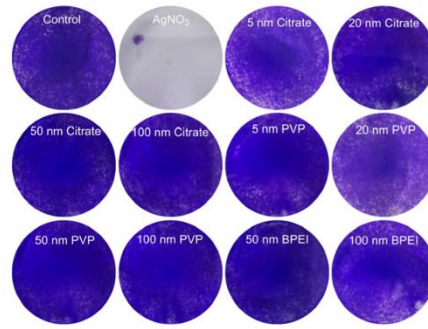
AgNP'ler virüs replikasyonunu önemli ölçüde inhibe edebilir ve in vitro SARS-CoV-2 ile enfekte olmuş hücrelerin hücre çoğalmasını iyileştirebilir. AgNP'lerin sitotoksitesini daha fazla incelemek için enfekte olmamış hücreler üzerinde deneyler gerçekleştirdik. İlk olarak AgNO₃'ün Vero E6 hücre canlılığı üzerindeki etkisini CCK-8 tespit yöntemini kullanarak analiz ettik. Kontrol seviyesiyle karşılaştırıldığında, Vero E6 hücrelerinin canlılığı AgNO₃ (10 µg/mL) tedavisinden sonra önemli ölçüde azaldı (Şekil 5 A). AgNP'lerin toksitesini

değerlendirmek için çeşitli boyutlarda AgNP'lerle tedavi edilen Vero E6 hücreleri kristal viyole boyama ve Hoechst boyama yoluyla analiz edildi. Sonuçlar, AgNO₃'ün önemli ölçüde sitotoksik olmasına rağmen, AgNP'lerden herhangi biriyle tedavi edilen hücrelerde belirgin bir sitotoksosite tespit edilmediğini gösterdi (Şekil 5 B,C). Son olarak, AgNP'lerin Vero E6 hücrelerinin apoptozu üzerindeki etkileri akış sitometrik analizi kullanılarak değerlendirildi. Kontrol grubundaki apoptoz oranıyla karşılaştırıldığında, AgNP tedavilerinin herhangi bir önemli etkisi olmadı (Şekil 5D). Bu sonuçlar, AgNP'lerin iyi biyogüvenliğe sahip olduğunu düşündürmektedir.

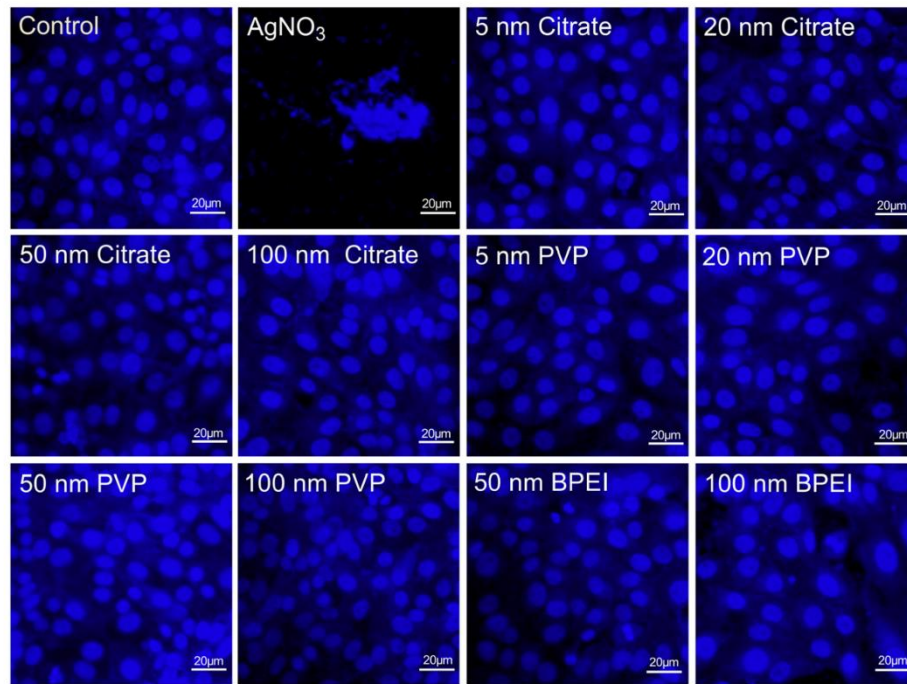
A



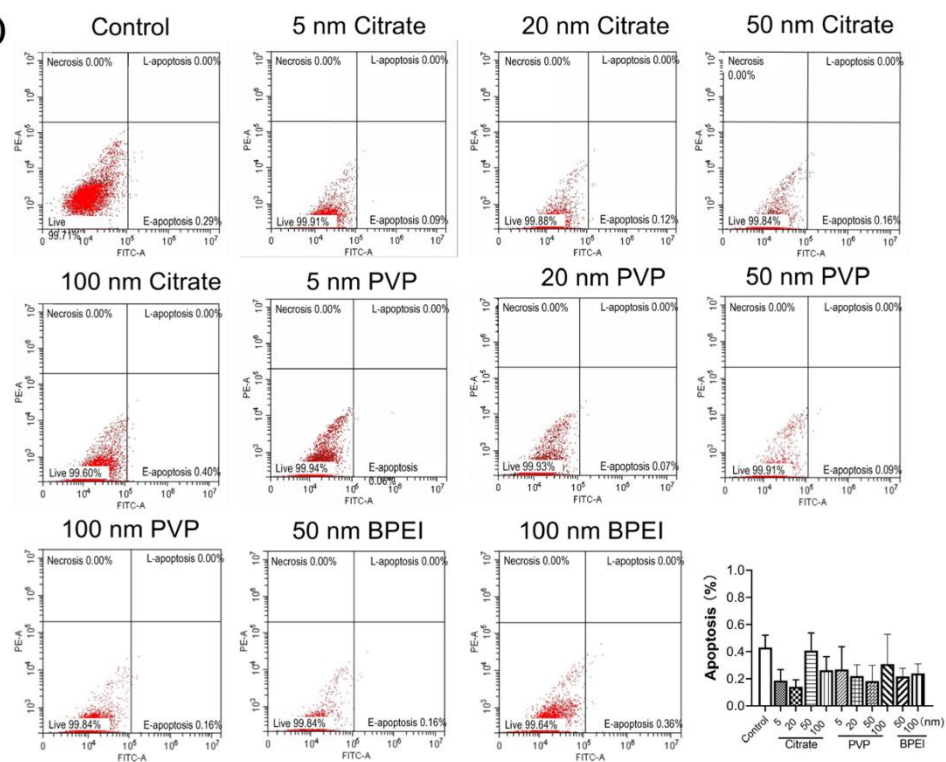
B



C



D



Şekil 5. AgNP'lerin sitotoksitesinin değerlendirilmesi. (A) Vero E6 hücrelerinin canlılığı üzerinde AgNO₃'ün etkisini gösteren CCK-8 deneyleri (n = 8 grup); (B) Farklı parçacık boyutlarına sahip AgNO₃, sitrat, PVP ve BPEI kaplı AgNP'lerle muamele edilen Vero E6 hücrelerinin kristal menekşe boyama; (C) Farklı parçacık boyutlarına sahip AgNO₃ , sitrat, PVP ve BPEI kaplı AgNP'lerin Vero E6 hücrelerinin hücre çekirdeği üzerindeki etkilerini gösteren Hoechst boyama , ölçek çubuğu = 20 µm; (D) Sitrat, PVP ve BPEI kaplı AgNP'lerin Vero E6 hücrelerinin apoptoz oranı üzerindeki etkileri, * p < 0,001.**

4. Tartışma

Bu çalışmada, AgNP'lerin SARS-CoV-2 üzerindeki virüsidal etkileri toksik olmayan konsantrasyonlarda analiz edildi. AgNP'lerden herhangi biriyle tedavi edilen SARS-CoV-2 ile enfekte Vero E6 hücrelerindeki N ve E genlerinin kopya sayısının ve virüs titresinin önemli ölçüde azaldığı, hücre canlılığının ise herhangi bir AgNP ile tedavi edilmeyen enfekte hücrelerdeki seviyelere kıyasla önemli ölçüde iyileştiği keşfedildi.

AgNP'ler çeşitli yüzey modifikasyonları içerebilir. Üç farklı modifiye edilmiş AgNP tipinin anti-SARS-CoV-2 virüsidal etkilerini değerlendirdik. PVP veya BPEI ile kaplanmış AgNP'ler, sitrat ile kaplanmış olanlardan daha güçlü virüsidal etkilere sahipti. Daha da önemlisi, modifikasyon materyalinin zeta potansiyeli virüsidal etki ile pozitif olarak ilişkiliydi ve gelecekte AgNP'lerin virüsidal mekanizması hakkında daha fazla araştırma için yeni bir bakış açısı sağladı.

AgNP'ler, büyük özgül yüzey alanlarına (partikül çapıyla ters orantılı) sahip tipik metal nanomalzemelerdir. Partikül boyutu ne kadar küçükse, yüzey atomlarının yüzdesi o kadar yüksek olur ve daha fazla doymamış bağ olur. Bu yapı, çeşitli reaksiyon tipleri için birçok adsorpsiyon ve reaksiyon alanı sağlar ve bu partiküller kimyasal bağlanma yoluyla yabancı atomlarla kolayca birleştirilebilir. Böylece, virüslere bağlanma ve onlarla kimyasal reaksiyona girme yetenekleri büyük ölçüde iyileştirilir. Önceki çalışmalar, AgNP'lerin virüsidal etkilerinin nanopartiküllerin boyutuna bağlı olduğunu kanıtlamıştır. 10 nm çapındaki AgNP'lerin en büyük virüsidal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [30], bu sonuçlarımızla tutarlıdır. Virüsidal etkilerini değerlendirmek için farklı partikül boyutlarına (5-100 nm) sahip üç tip AgNP seçtik. CCK-8 ve RT-qPCR deneylerinin sonuçlarına ve viral titre tahminlerine göre, küçük nanopartiküller büyük nanopartiküllere göre daha önemli virüsidal etkilere sahipti. Farklı şekillerdeki nanopartiküllerin farklı yüzey-hacim oranları vardır ve protein koronaları farklı olabilir. Bu, nanopartiküllerin hücresel alımını ve biyolojik sistemle etkileşimlerini etkileyebilir. Kısacası, AgNP'ler SARS-CoV-2 enfeksiyonunu etkili bir şekilde engelleyebilir ve farklı yüzey modifikasyonlarına veya partikül boyutlarına sahip AgNP'ler farklı virüs öldürücü etkilere sahiptir ve bu da gelecekte bir anti-SARS-CoV-2 virüs öldürücünün geliştirilmesi için bir araştırma temeli sağlar.

Ayrıca, AgNP'lerin potansiyel bir iç malzeme olarak kullanımını araştırmayı hedeflediğimizi belirtmekte fayda var. Buna göre, virüsle enfekte olmuş hücre üzerindeki deneyler, AgNP'lerin hem antiviral etkilerini hem de biyotoksitesini araştırmak için yalnızca virüs üzerindeki deneylerden daha katıydı. Daha yüksek standartlar belirledik ve AgNP'lerin

antiviral etkilerini değerlendirmek için virüsle enfekte olmuş hücreleri seçtik. Neyse ki, deneylerimizden elde edilen veriler, AgNP'lerin hem biyolojik güvenlik hem de antiviral yeteneğe sahip aday ilaçlar olduğu yönünde olumlu bir sonuç ortaya koydu.

Gümüş bazlı biyokompozitlerin antibakteriyel kaplamalarda, gıda muhafazasında, hava arıtımında, tıbbi cihazlarda, klinik koruyucu giysilerde ve diğer alanlardaki uygulama potansiyeli kapsamlı bir şekilde incelenmiştir [43]. Hızla yayılan ve yaygınlaşan COVID-19 salgını göz önüne alındığında, yeni virsitlerin geliştirilmesi kritik öneme sahiptir ve düşük toksisiteli biyoyumlu AgNP'ler bu amaca hizmet edebilir [44]. Örneğin, polipamuklu kumaşlara dahil edilen AgNP'lerin SARS-CoV-2'yi inhibe etmede etkili olduğu bulunmuştur [45]. Harici bir antiviral ajan olarak, insan cildi ve mukoza zarıyla temas ve solunum yollarına solunma riski olacaktır. Bu alışmada, AgNP'lerin antiviral etkisini ve biyolojik dostluğunu belirlemek için enfekte hücreler üzerinde deneyler yapılmıştır. Öte yandan, AgNP'nin dahili kullanım potansiyeli vardır. nceki alışmalar, AgNP'lerin epitel hücre hatlarında ve fare akciğerinde solunum sinsitiyal virüsünün replikasyonunu ve pro-inflamatuar sitokin üretimini etkili bir şekilde azalttığını göstermiştir [31]. Mevcut alışma ayrıca enfekte hücrelerde AgNP'lerin doğrudan bir SARS-CoV-2 inhibisyonu ve sitoprotektif etkisi bulmuş olup, bu da AgNP'lerin dahili anti-SARS-CoV-2 ilaçları olarak kullanımı için ön deneysel bir temel sağlamıştır. nceki bir çalışma, nanopartiküllerin yeni antiviral terapötikler olarak potansiyel kullanımının, kimyasal veya antikor bazlı antiviral terapötiklere kıyasla edinilmiş ilaç direnci olasılığının daha düşük olduğunu göstermiştir [17]. Dahası, sonuçlarımız belirli AgNP'lerin güvenliğini göstermiştir ve fomitler üzerinde virüsidal uygulamaları için destekleyici kanıtlar sunmaktadır. Ancak, daha ileri terapötik uygulama için ek toksisite çalışmaları yapılmalıdır [13]. Özellikle, AgNP'lerin kronik toksisitesi, insanlarla yakın bağlantıları göz önünde bulundurularak değerlendirilmelidir.

5. Sonuçlar

Bu alışma öncelikle in vitro SARS-CoV-2 enfeksiyonu ortamında AgNP'lerin virüsidal etkinliğini ve güvenliğini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Araştırmacılar, in vitro SARS-CoV-2 ile enfekte olmuş konak hücrelerinde üç farklı AgNP'nin (sitrat, PVP ve BPEI) inhibe edici etkilerini değerlendirdiler. Sonuçlar, AgNO₃'n tek başına Vero E6 hücreleri için toksik olmasına rağmen, AgNP'lerin önemli ölçüde daha az toksisite gösterdiğini göstermektedir. Dahası, sonuçlar AgNP'lerin apoptozu indüklediğini göstermektedir. Bu sonuçlar, üç tip AgNP'nin nispeten güvenli olduğunu ve virüsidal kapasitenin modifikasyon materyallerinin potansiyelleriyle pozitif korelasyonlu olduğunu göstermektedir. AgNP'ler, hücreler için gümüş iyonlarından daha az toksiktir ve bu da virsidler alanında gümüş araştırmalarına daha elverişlidir. AgNP'ler daha güçlü anti-SARS-CoV-2 aktivitesine sahiptir. Sonuçlarımız, ağız gargaraları ve burun yıkama solüsyonlarında ve kişisel koruyucu ekipmanlarda kullanımı [46] gibi bulaşmayı önlemek için AgNP'lerin virüs öldürücü uygulamasına ve enfekte bireyleri tedavi etmek için terapötik uygulamalarına ilişkin iğrrler sunmaktadır. Bu nedenle, bu nanomalzemeler anti-SARS-CoV-2 ajanları olarak daha fazla araştırmayı hak ediyor.

Ek Malzemeler

Aşağıdaki destekleyici bilgiler şu adresten indirilebilir: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/nano12060990/s1> . Şekil S1. TEM görüntülerinde üç malzeme ile modifiye edilen farklı parçacık boyutlarına sahip AgNP'lerin boyut dağılımları. Şekil S2. Dinamik ışık saçılması yoluyla ölçülen hidrodinamik boyut dağılımı. Şekil S3. Dinamik ışık saçılması yoluyla ölçülen zeta potansiyeli dağılımı. Şekil S4. AgNP yüzey kaplamalarının kimyasal yapısı. Şekil S5. Farklı konsantrasyonlardaki AgNP'lerin 48 saatte SARS-CoV-2 ile enfekte edilmiş Vero E6 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkileri. Şekil S6. 50 nm AgNP'lerin 48 saatte Vero E6 hücrelerinde SARS-CoV-2 replikasyonu üzerindeki etkisi.

Yazar Katkıları

Kavramsallaştırma, QH, JL, NL, CS, XL, LH ve GJ; Veri düzenleme, QH; Formel analiz, QH, JL, NL, CS, XL ve LH; Fon sağlama, CS, XL, LH ve GJ; Araştırma, QH, JL, NL, WL, YL ve CS; Metodoloji, QH, JL, NL, WL, YL, CS, XL ve LH; Proje yönetimi, LH ve GJ; Kaynaklar, CS, XL, LH ve GJ; Denetim, XL ve LH; Yazma - orijinal taslak, QH, JL ve NL; Yazma - inceleme ve düzenleme, QH, CS, LH ve GJ Tüm yazarlar, el yazmasının yayınlanan versiyonunu okumuş ve kabul etmiştir.

Finansman

Bu çalışma Çin Ulusal Doğa Bilimleri Vakfı (82151221, 22193052, 21777179 ve 42025704) ve CAS Disiplinlerarası Yenilik Ekibi (JCTD343 2018-04) tarafından desteklenmiştir.

Veri Kullanılabilirliği Beyanı

Yazarların talebi üzerine veriler sağlanabilir.

Çıkar Çatışmaları

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Referanslar

Huang, C.; Wang, Y.; Li, X.; Ren, L.; Zhao, J.; Hu, Y.; Zhang, L.; Fan, G.; Xu, J.; Gu, X.; ve diğerleri. Çin'in Wuhan kentinde 2019 yeni koronavirüsüyle enfekte olan hastaların klinik özellikleri. *Lancet* 2020 , 395 , 497-506. [Google Akademik] [CrossRef] [Yeşil Sürüm]

Zhao, J.; Zhou, H.; Huang, W.; Zhou, J.; Qiu, M.; Deng, Z.; Chen, L.; Weng, Y.; Cai, L.; Gu, Y.; ve diğerleri. Transmisyon elektron mikroskobu ile SARS-CoV-2 enfeksiyonunun hücre morfolojik analizi. *J. Thorac. Dis.* 2020 , 12 , 4368-4373. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Yao, H.; Song, Y.; Chen, Y.; Wu, N.; Xu, J.; Sun, C.; Zhang, J.; Weng, T.; Zhang, Z.; Wu, Z.; ve diğerleri. SARS-CoV-2 Virüsünün Moleküler Mimarisi. *Hücre* 2020 , 183 , 730-738.e713. [Google Akademik] [CrossRef]

Prasad, S.; Potdar, V.; Cherian, S.; Abraham, P.; Basu, A. SARS-CoV-2'nin transmisyon elektron mikroskobu görüntülemesi. *Indian J. Med. Res.* 2020 , 151 , 241-243. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Caldas, LA; Carneiro, FA; Higa, LM; Monteiro, FL; da Silva, GP; da Costa, LJ; Durigon, EL; Tanuri, A.; de Souza, W. Yüksek çözünürlüklü taramalı elektron mikroskobu ile SARS-CoV-2'nin konak hücre ile etkileşimlerinin ultra yapısal analizi. Sci. Rep. 2020 , 10 , 16099. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Su, S.; Wong, G.; Shi, W.; Liu, J.; Lai, ACK; Zhou, J.; Liu, W.; Bi, Y.; Gao, GF Koronavirüslerin Epidemiyolojisi, Genetik Rekombinasyonu ve Patogenezi. Trends Microbiol. 2016 , 24 , 490-502. [Google Akademik] [CrossRef] [Yeşil Sürüm]

Chu, DKW; Pan, Y.; Cheng, SMS; Hui, KPY; Krishnan, P.; Liu, Y.; Ng, DYM; Wan, CKC; Yang, P.; Wang, S.; ve ark. Zatürre Salgına Neden Olan Yeni Bir Koronavirüsün (2019-nCoV) Moleküler Tanısı. Klin. Kimya 2020 , 66 , 549-555. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed] [Yeşil Versiyon]

Wassenaar, TM; Zou, Y. 2019_nCoV/SARS-CoV-2: Beta koronavirüslerin hızlı sınıflandırılması ve Geleneksel Çin Tıbbının zoonotik koronavirüslerin potansiyel kaynağı olarak tanımlanması. Lett. Appl. Microbiol. 2020 , 70 , 342-348. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed] [Yeşil Sürüm]

DSÖ. COVID-19 Haftalık Epidemiyolojik Güncelleme. Çevrimiçi olarak şu adreste mevcuttur: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19> (22 Şubat 2022'de erişildi).

FDA. COVID-19 İçin Tedavi Seçeneklerinizi Öğrenin. Çevrimiçi olarak şu adreste mevcuttur: <https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/know-your-treatment-options-covid-19> (11 Ocak 2022'de erişildi).

WHO SARS-CoV-2 Varyantlarını Takip Ediyor. Çevrimiçi olarak şu adreste mevcuttur: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/> (26 Şubat 2022'de erişildi).

Merkel, P.; Long, S.; McInerney, GM; Sotiriou, GA Gümüş, Bakır Oksit ve Çinko Oksit Nanopartikül Kaplamalarının SARS-CoV-2'ye Karşı Antiviral Aktivitesi. Nanomalzemeler 2021 , 11 , 1312. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Mosselhy, DA; Virtanen, J.; Kant, R.; O, W.; Elbahri, M.; Sironen, T. COVID-19 Pandemi: Peki ya Anti-Koronavirüs Nanopartiküllerinin Güvenliği? Nanomalzemeler 2021 , 11 , 796. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Tran, QH; Nguyen, VQ; Le, A.-T. Gümüş nanopartikülleri: Sentez, özellikler, toksikoloji, uygulamalar ve perspektifler. Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol. 2013 , 4 , 033001. [Google Akademik] [CrossRef] [Yeşil Sürüm]

Khoshnevisan, K.; Maleki, H.; Baharifar, H. Koronavirüsler Üzerine Nanobiyosit Bazlı Gümüş Nanomalzemeler: Viral Enfeksiyonları Önleme Yaklaşımları. Nanoscale Res. Lett. 2021 , 16 , 100. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Eckhardt, S.; Brunetto, PS; Gagnon, J.; Priebe, M.; Giese, B.; Fromm, KM Nanobio gümüş: Peptitler ve bakterilerle etkileşimleri ve tıpta kullanımları. Chem. Rev. 2013 , 113 , 4708-4754. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed] [Yeşil Sürüm]

Gurunathan, S.; Qasim, M.; Choi, Y.; Do, JT; Park, C.; Hong, K.; Kim, JH; Song, H. Nanopartiküllerin Antiviral Potansiyeli - Nanopartiküller Koronavirüslere Karşı Savaşabilir mi? Nanomalzemeler 2020 , 10 , 1645. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Sharma, A.; Kontodimas, K.; Bosmann, M. Nanomedikal: COVID-19'a Tanısal ve Terapötik Bir Yaklaşım. Front. Med. 2021 , 8 , 648005. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Jeremiah, SS; Miyakawa, K.; Morita, T.; Yamaoka, Y.; Ryo, A. Gümüş nanopartiküllerinin SARS-CoV-2 üzerindeki güçlü antiviral etkisi. Biyokimya. Biyofiz. Araştırma. İletişim. 2020 , 533 , 195-200. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Alexander, JW Gümüşün tıbbi kullanımının tarihi. Cerrahi Enfeksiyon. 2009 , 10 , 289-292. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed] [Yeşil Sürüm]

Ge, H. Acil Durumlar İçin Reçete El Kitabı ; Jin Hanedanlığı (265-420), Çin; Çevrimiçi olarak erişilebilir: <https://www.uuzuowen.com/gudianbook/gudaiyishu/zhouhoubeijifang/> (26 Şubat 2022'de erişildi).

Sun, R.; Wei, W.; Zhan, P.; Liu, X. Geleneksel tıpta gümüş içeren ilaçların uygulanmasına genel bir bakış. Asya Pasifik. Geleneksel Tıp. 2021 , 17 , 182-184. [Google Akademik]

Li, S. Compendium of Materia Medica ; Ming Hanedanı (1368-1644), Çin; Çevrimiçi olarak erişilebilir: https://yuedu.163.com/source/1c78ee3280734e1282b6f1d563429654_4 (26 Şubat 2022'de erişildi).

Galdiero, S.; Falanga, A.; Vitiello, M.; Cantisani, M.; Marra, V.; Galdiero, M. Gümüş nanopartikülleri potansiyel antiviral ajanlar olarak. Moleküller 2011 , 16 , 8894-8918. [Google Akademik] [CrossRef] [Yeşil Sürüm]

Chen, N.; Zheng, Y.; Yin, J.; Li, X.; Zheng, C. Gümüş nanopartiküllerinin in vitro adenovirüs tip 3'e karşı inhibe edici etkileri. J. Virol. Yöntemler 2013 , 193 , 470-477. [Google Akademik] [CrossRef]

Gaikwad, S.; Ingle, A.; Gade, A.; Rai, M.; Falanga, A.; Incoronato, N.; Russo, L.; Galdiero, S.; Galdiero, M. Mikosentezlenmiş gümüş nanopartiküllerinin herpes simpleks virüsü ve insan parainfluenza virüsü tip 3'e karşı antiviral aktivitesi. Int. J. Nanomed. 2013 , 8 , 4303-4314. [Google Akademik] [CrossRef] [Yeşil Sürüm]

Speshock, JL; Murdock, RC; Braydich-Stolle, LK; Schrand, AM; Hussain, SM Gümüş nanopartiküllerinin Tacaribe virüsü ile etkileşimi. J. Nanobiotechnol. 2010 , 8 , 19. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed] [Yeşil Sürüm]

Xiang, D.; Zheng, Y.; Duan, W.; Li, X.; Yin, J.; Shigdar, S.; O'Connor, ML; Marappan, M.; Zhao, X.; Miao, Y.; ve diğerleri. Gümüş nanopartikülleri ile in vitro ve in vivo A/Human/Hubei/3/2005 (H3N2) influenza virüsü enfeksiyonunun inhibisyonu. Int. J. Nanomed. 2013 , 8 , 4103-4113. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed] [Yeşil Sürüm]

Kumar, A.; Nath, K.; Parekh, Y.; Enayathullah, MG; Bokara, KK; Sinhamahapatra, A. SARS-CoV-2 yıkımı için antimikrobiyal gümüş nanopartikül-fotodepozisyonlu kumaşlar. Kolloid Arayüzü Sci. Commun. 2021 , 45 , 100542. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Lara, HH; Ayala-Nuñez, NV; Ixtepan-Turrent, L.; Rodriguez-Padilla, C. Gümüş nanopartiküllerinin HIV-1'e karşı antiviral etki şekli. J. Nanobiotechnol. 2010 , 8 , 1. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Morris, D.; Ansar, M.; Speshock, J.; Ivanciuc, T.; Qu, Y.; Casola, A.; Garofalo, R. Deneysel RSV Enfeksiyonunda Gümüş Nanopartiküllerinin Antiviral ve İmmünomodülatör Aktivitesi. Virüsler 2019 , 11 , 732. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed] [Yeşil Sürüm]

Khandelwal, N.; Kaur, G.; Kumar, N.; Tiwari, A. Viral inhibisyonunda gümüş nanopartiküllerinin uygulanması: Antiviraller için yeni bir umut. Dig. J. Nanomater. Biostruct. 2014 , 9 , 175-186. [Google Akademik]

Greulich, C.; Diendorf, J.; Simon, T.; Eggeler, G.; Epple, M.; Köller, M. İnsan mezenkimal kök hücrelerinde gümüş nanopartiküllerinin alımı ve hücre içi dağılımı. Acta Biomater. 2011 , 7 , 347-354. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Ly, X.; Wang, P.; Bai, R.; Cong, Y.; Suo, S.; Ren, X.; Chen, C. Gümüş nanomalzemelerin bulaşıcı virüs kaynaklı konak hücre enfeksiyonları üzerindeki inhibe edici etkisi. Biyomalzemeler 2014 , 35 , 4195-4203. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Yang, M.; Sunderland, K.; Mao, C. Klinik Uygulamalar İçin Virüs Türevi Peptitler. Chem. Rev. 2017 , 117 , 10377-10402. [Google Akademik] [CrossRef] [Yeşil Sürüm]

Itani, R.; Tobaiqy, M.; Al Faraj, A. COVID-19 hastalarının tedavisinde hayat kurtarıcı bir strateji olarak teranostik nanopartiküllerin kullanımının optimize edilmesi. Teranostik 2020 , 10 , 5932-5942. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Djellabi, R.; Basilico, N.; Delbue, S.; D'Alessandro, S.; Parapini, S.; Cerrato, G.; Laurenti, E.; Falletta, E.; Bianchi, CL Fotoaktif AgNPs@TiO(2) Seramik Karolarda SARS-CoV-2'nin Oksidatif İnaktivasyonu. Uluslararası J. Mol. Bilim. 2021 , 22 , 8836. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Al-Sanea, MM; Abelyan, N.; Abdelgawad, MA; Musa, A.; Ghoneim, MM; Al-Warhi, T.; Aljaeed, N.; Alotaibi, OJ; Alnusaie, TS; Abdelwahab, SF; ve diğerleri. Silico Modelleme ve Metabolik Profilleme ile Desteklenen SARS-CoV-2 için Potansiyel İnhibitörler Olarak Çilek ve Zencefil Gümüş Nanopartikülleri. Antibiyotikler 2021 , 10 , 824. [Google Akademik] [CrossRef]

Ahamed, M.; Alsalhi, MS; Siddiqui, MK Gümüş nanopartikül uygulamaları ve insan sağlığı. Clin. Chim. Acta 2010 , 411 , 1841-1848. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

House, JS; Bouzos, E.; Fahy, KM; Francisco, VM; Lloyd, DT; Wright, FA; Motsinger-Reif, AA; Asuri, P.; Wheeler, KE Düşük Doz Gümüş Nanopartikül Yüzey Kimyası ve İnsan Karaciğer Hücrelerinde Gen Ekspresyonu Üzerindeki Zamansal Etkiler. Small 2020 , 16 , e2000299. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Shang, C.; Zhuang, X.; Zhang, H.; Li, Y.; Zhu, Y.; Lu, J.; Ge, C.; Cong, J.; Li, T.; Li, N.; ve diğerleri. Otofaji İnhibisyonu SARS-CoV-2 Replikasyonunu Baskılar ve hACE2 Transgenik Farelerde ve Ksenograftlı İnsan Akciğer Dokularında Zatürreyi İyileştirir. J. Virol. 2021 , 95 , e0153721. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Marimuthu, S.; Antonisamy, AJ; Malayandi, S.; Rajendran, K.; Tsai, PC; Pugazhendhi, A.; Ponnusamy, VK Boya atık su arıtımında gümüş nanopartikülleri: Sentez, arıtım yöntemleri, mekanizmalar, fotokatalitik bozunma, toksik etkiler ve toksisitenin azaltılması üzerine bir inceleme. J. Photochem. Photobiol. B Biol. 2020 , 205 , 111823. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Burduşel, AC; Gherasim, O.; Grumezescu, AM; Mogoantă, L.; Fica, A.; Andronescu, E. Gümüş Nanopartiküllerinin Biyomedikal Uygulamaları: Güncel Bir Genel Bakış. Nanomalzemeler 2018 , 8 , 681. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed] [Yeşil Sürüm]

Allawadhi, P.; Singh, V.; Khurana, A.; Khurana, I.; Allwadhi, S.; Kumar, P.; Banothu, AK; Thalugula, S.; Barani, PJ; Naik, RR; ve diğerleri. COVID-19 ile mücadele için gümüş nanopartikül tabanlı çok işlevli yaklaşım. Sens. Int. 2021 , 2 , 100101. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Talebian, S.; Wallace, GG; Schroeder, A.; Stellacci, F.; Conde, J. SARS-CoV-2 için nanoteknoloji tabanlı dezenfektanlar ve sensörler. Nat. Nanotechnol. 2020 , 15 , 618-621. [Google Akademik] [CrossRef]

Almanza-Reyes, H.; Moreno, S.; Plascencia-Lopez, I.; Alvarado-Vera, M.; Patron-Romero, L.; Borrego, B.; Reyes-Escamilla, A.; Valencia-Manzo, D.; Brun, A.; Pestryakov, A.; ve diğerleri. Sağlık çalışanlarında SARS-CoV-2 enfeksiyonunun önlenmesi için gümüş nanopartiküllerinin değerlendirilmesi: In vitro ve in vivo. PLoS ONE 2021 , 16 , e0256401. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

Araştırmanın orijinali;

<https://www.mdpi.com/2079-4991/12/6/990>

