



**T.C.**  
**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FONKSİYONELLEŞTİRİLMİŞ MEZOGÖZENEKLİ SİLİKA  
MALZEMELERİN İLAÇ TAŞIMA KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ VE  
PC3 HÜCRE HATTI ÜZERİNDEKİ İN VİTRO ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**Eda Gülşah Erdağ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Mayıs-2025**  
**KONYA**  
**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ KABUL VE ONAYI

Eda Gülşah Erdağ tarafından hazırlanan “Fonksiyonelleştirilmiş Mezogözenekli Silika Malzemelerin İlaç Taşıma Kapasitelerinin Belirlenmesi ve PC3 Hücre Hattı Üzerindeki in vitro Etkilerinin İncelenmesi” adlı tez çalışması 21/04/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü BİYOTEKNOLOJİ Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

### İmza

#### Başkan

Doç. Dr. Özlem Çetin

.....

#### Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Pembegül Uyar Arpacı

.....

#### Üye

Dr. Öğr. Tuğba Nur Aslan

.....

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. Hasan Aydoğan  
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi B.A.P Koordinatörlüğü tarafından 24201086 nolu proje tarafından desteklenmiştir.

## TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Eda Gülşah ERDAĞ

Tarih: 21.05.2025

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

# FONKSİYONELLEŞTİRİLMİŞ MEZOGÖZENEKLİ SİLİKA MALZEMELERİN İLAÇ TAŞIMA KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ VE PC3 HÜCRE HATTI ÜZERİNDEKİ İN VİTRO ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Eda Gülşah ERDAĞ

Selçuk Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Pembegül UYAR ARPACI

Yardımcı Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mukaddes CAN

2025, 52 Sayfa

Jüri

Dr. Öğr. Üyesi Pembegül UYAR ARPACI

Doç. Dr. Özlem ÇETİN

Dr. Öğr. Üyesi Tuğba Nur ASLAN

Prostat kanseri, dünya genelinde erkekler arasında en yaygın ve ölümcül kanser türlerinden biri olup, erkeklerde kanser kaynaklı ölümler arasında altıncı sırada yer almaktadır. Prostat kanserinin tedavisinde sıklıkla başvurulan yöntemlerden biri kemoterapidir. Ancak kemoterapötik ajanların temel dezavantajı, yalnızca kanserli hücreleri değil, aynı zamanda sağlıklı hücre ve dokuları da hedef almaları nedeniyle ciddi sistemik yan etkilere yol açabilmeleridir. Bu nedenle, son yıllarda ilaç taşıyıcı sistemler, kanser tedavisinde umut vadeden alternatif yaklaşımlar olarak dikkat çekmektedir.

Bu kapsamda, mezogözenekli silika temelli malzemeler, sahip oldukları üstün fizikokimyasal özellikleri nedeniyle ilaç taşıma uygulamalarında yaygın olarak araştırılmaktadır. Silika bazlı mezogözenekli yapılar, yüksek özgül yüzey alanı, geniş gözenek hacmi, tekdüze gözenek boyutu dağılımı, yüksek biyouyumluluk ve düşük toksisite gibi avantajlara sahiptir. Bu çalışmada, ilaç taşıyıcı sistem olarak SBA-15 tipi mezogözenekli silika kullanılmıştır. SBA-15'in düzenli altıgen gözenek yapısı, ilaçların kontrollü salımı için uygun bir platform sunmaktadır. Malzemelerin morfolojisi, mezoyapısı ve fonksiyonelliği taramalı elektron mikroskobu, küçük açılı X-ışını saçılması, azot adsorpsiyon-desorpsiyonu, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi kullanılarak karakterize edildi. BET (Brunauer–Emmett–Teller) yöntemi ile yüzey alanı ve BJH (Barret-Hoyner-Halenda) yöntemi ile ortalama gözenek boyutu ve hacmi belirlenmiştir. Yapısal uygunluğu doğrulanan SBA-15, daha sonra çeşitli fonksiyonel gruplarla modifiye edilmiştir. Fonksiyonel SBA-15 yapılarının biyolojik etkinliği, L929 (sağlıklı fare fibroblast) ve PC-3 (insan prostat kanseri) hücre hatlarında in vitro toksisite analizleri ile değerlendirilmiştir. Hücre kültürü çalışmaları kapsamında, PC-3 hücreleri %10 FBS (Fetal Bovine Serum) ve gentamisin içeren RPMI-1640, L929 hücreleri ise %10 FBS ve penisilin içeren DMEM high glucose ortamında kültüre edilmiştir. Hücre toksisite testleri, MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) yöntemiyle gerçekleştirilmiş ve SBA-15'in toksisitesi 6.17–166.6 µg/ml doz aralığında incelenmiştir. Hücre canlılığını %80'in üzerinde koruyan dozlar biyouyumlu olarak belirlenmiş ve bu dozlarda doksorubisin (DOX) yüklenmiş SBA-15 yapıları her iki hücre hattına uygulanmıştır.

Elde edilen bulgular, fonksiyonel SBA-15 yapılarının PC-3 kanser hücrelerinde seçici toksisite gösterdiğini, buna karşın L929 sağlıklı hücreler üzerinde anlamlı bir toksik etki oluşturmadığını ortaya

koymuştur. Bu durum, fonksiyonel grupların kanserli ve sağlıklı hücresler arasındaki biyokimyasal farklılıkları tanıyabildiğini ve hedefe yönelik seçici etkileşim potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca, doksorubisin yüklü saf SBA-15 yapıları, salım davranışına bağlı olarak sadece PC-3 hücrelerinde anlamlı sitotoksosite oluşturmuş; L929 hücrelerinde ise canlılık yüksek seviyelerde korunmuştur. IC<sub>50</sub> değerlerinden elde edilen yaklaşık 1.8'lik seçicilik indeksi, bu sistemin antikanser seçiciliğini kantitatif olarak da desteklemektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma, fonksiyonel yüzey modifikasyonu ile biyolojik tanıyıcılık sağlayan yapıların ve ilaç yüklü SBA-15 sistemlerinin birlikte veya ayrı ayrı prostat kanseri tedavisinde hedefe yönelik, seçici ve güvenli ilaç taşıyıcı platformlar olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** İlaç taşıma, L929, Mezogözenekli silika, PC-3, SBA-15



## ABSTRACT

### MS THESIS

# DETERMINATION OF DRUG TRANSPORT CAPACITY OF FUNCTIONALIZED MESOPOROUS SILICA MATERIALS AND EXAMINATION OF THEIR IN VITRO EFFECTS ON PC3 CELL LINE

Eda Gülşah ERDAĞ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF  
SELÇUK UNIVERSITY THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE /  
DOCTOR OF PHILOSOPHY IN MECHANICAL ENGINEERING

Advisor: Dr. Öğr. Üyesi Pembegül UYAR ARPACI

Co- Advisor: Dr. Öğr. Üyesi Mukaddes CAN

2025, 52 Pages

Jury

Dr. Öğr. Üyesi Pembegül UYAR ARPACI

Doç. Dr. Özlem ÇETİN

Dr. Öğr. Üyesi Tuğba Nur ASLAN

Prostate cancer is one of the most common and lethal types of cancer among men worldwide, ranking sixth among cancer-related deaths in males. Chemotherapy remains one of the primary treatment options for prostate cancer. However, a major drawback of chemotherapeutic agents is their lack of selectivity, often targeting not only cancerous cells but also healthy tissues, thereby leading to severe systemic side effects. As a result, drug delivery systems have recently emerged as promising alternative strategies in cancer therapy.

In this context, mesoporous silica-based materials have garnered significant attention due to their outstanding physicochemical properties for drug delivery applications. These materials offer numerous advantages such as high specific surface area, large pore volume, uniform pore size distribution, high biocompatibility, and low toxicity. In this study, SBA-15 type mesoporous silica was selected as a drug carrier system. Owing to its well-ordered hexagonal pore structure, SBA-15 provides a suitable platform for the controlled release of therapeutic agents. The morphology, mesostructure and functionality of the materials were characterized by scanning electron microscopy, small-angle X-ray scattering, nitrogen adsorption-desorption, Fourier transform infrared spectroscopy. Surface area was determined by BET (Brunauer–Emmett–Teller) method and average pore size and volume were determined by BJH (Barrett-Hoyner-Halenda) method. SBA-15, whose structural suitability was confirmed, was then modified with various functional groups. The biological activity of functionalized SBA-15 structures was assessed through in vitro cytotoxicity assays using L929 (healthy mouse fibroblast) and PC-3 (human prostate cancer) cell lines. In cell culture experiments, PC-3 cells were maintained in RPMI-1640 medium supplemented with 10% Fetal Bovine Serum (FBS) and gentamicin, while L929 cells were cultured in DMEM high glucose medium containing 10% FBS and penicillin. Cell viability was evaluated using the MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay across a concentration range of 6.17–166.6 µg/mL. Concentrations that preserved cell viability above 80% were considered biocompatible. SBA-15 particles were subsequently loaded with doxorubicin (DOX) at these concentrations and applied to both cell lines.

The results revealed that functionalized SBA-15 structures exhibited selective cytotoxicity toward PC-3 cancer cells, while exerting no significant toxicity on healthy L929 cells. This suggests that surface functional groups may facilitate selective interactions by recognizing biochemical differences between cancerous and healthy cells. Furthermore, DOX-loaded non-functionalized SBA-15 structures induced

dose-dependent cytotoxicity in PC-3 cells, while maintaining high cell viability in L929 cells. This effect is likely due to the drug release behavior of the system, where DOX is preferentially released in the tumor microenvironment. The calculated selectivity index (SI) of approximately 1.8, based on  $IC_{50}$  values, quantitatively supports the anticancer specificity of the system.

In conclusion, this study demonstrates that both surface-functionalized SBA-15 structures and DOX-loaded SBA-15 carriers exhibit selective behavior through different mechanisms—either via biological recognition or controlled release—and may serve as promising, safe, and target-oriented drug delivery platforms for prostate cancer therapy.

**Keywords:** Drug Delivery, L929, Mesoporous silica, PC-3, SBA-15



## ÖNSÖZ

Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi BAP Koordinatörlüğü tarafından 24201086 nolu proje tarafından desteklenmiştir.

Yüksek lisans hayatımda bilgisini ve tecrübesini esirgemeyen değerli danışman hocam

**Dr. Öğr. Üyesi Pembegül Uyar Arpacı' ya,**

Çalışmaları sırasında kullanılan SBA-15 malzemelerinin laboratuvarında sentezlememizi sağlayan yardımcı danışman hocam **Dr. Öğr. Üyesi Mukaddes Can'a**

Yüksek lisans sürecimde tüm samimiyetiyle bilgilerini aktaran değerli hocam **Öğr. Gör.**

**Dr. Gamze Önecek Yıldırım'a**

Deneysel çalışmalarında bana her zaman destek olan laboratuvar arkadaşlarım, **Şura**

**Duygu Karataş, İrem Kenanoğlu ve Berin Akuğur'a**

Girdiğim her mücadeleden başarı ile çıkmamı gözleyen canım annem **Havva Zengin ve**  
canım kardeşim **Ela Yasemin Zengin'e**

Tez yazma sürecimi desteğiyle kolaylaştıran, hiçbir sorumu cevapsız bırakmayan  
değerli ablam **Arş. Gör. Emine Erdağ Akca'ya,**

Gücüm bittiği an beni ayağa kaldırıp yüreklendiren, bu yoğun çalışma temposunu  
özverisi ile yaşanır kılan canım eşim **Ömer Erdağ'a,**

Sonsuz teşekkürler...

Eda Gülşah ERDAĞ

KONYA-2025

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

### **Simgeler**

°C: santigrat derece

Ml: mililitre

µg: mikrogram

µl: mikrolitre

### **Kısaltmalar**

BET: (Brenner-Emmet-Teller)

BJH:Barret-Hoyner-Halenda

CO<sub>2</sub> : Karbondioksit

DMEM High Glucose:L929 Besiyeri Ortamı

DMSO : Dimetil sülfoksit

DOX: Doksorubisin

FBS :Fetal Bovine Serum

H<sub>2</sub>O: Su

IC<sub>50</sub> :İnhibisyon Konsantrasyonu

L-929 :Fare Fibroblast Hücre Hattı

mg: Miligram

ml: Mililitre

MTT: 3- [4, 5- dimethylthiazol- 2- yl]- 2, 5 diphenyltetrazolium bromide

P123: Triblock co-polymer, EO<sub>20</sub>PO<sub>70</sub>EO<sub>20</sub>

PC-3: Prostat Kanseri Hücre Hattı

RPMI-1640: PC3 Hücre Hattı Besiyeri

S0: SBA-15

S4: Trimetoksi [3-(metil amino) propil]silan

S5: [3-(N, N-dimetilamino) propil] trimetoksisilan

S6: 3- aminopropiltrimetoksisilan

SBA-15: Santa Barbara Amorphous No:15

SEM: Taramalı elektron mikroskobu

TEM: Geçirimli elektron mikroskobu

TEOS: Tetraetilortosilikat

XRD: X-Işını kırınımı Spektroskopisi

## İÇİNDEKİLER

### FONKSİYONELLEŞTİRİLMİŞ MEZOGÖZENEKLI SİLİKA MALZEMELERİN İLAÇ TAŞIMA KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ VE PC3 HÜCRE HATTI ÜZERİNDEKİ İN VİTRO ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	vi
ÖNSÖZ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
İÇİNDEKİLER.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	2
2.1. Kanser .....	2
Şekil 2.1 Kanser ilerlemesi ve metastazları.....	3
2.1.1. Prostat Kanseri .....	3
Şekil 2.2 PC-3 Prostat kanser ( <a href="https://www.medicoverhospitals.in/diseases/prostate-cancer/">https://www.medicoverhospitals.in/diseases/prostate-cancer/</a> ) .....	4
2.1.2 Antioksidanlar ve Kanser Tedavisi .....	4
2.1.3. Doksorubisin .....	5
Şekil 2.3 Doksorubisin kimyasal gösterim .....	5
2.2. İlaç Salınımı .....	6
2.3. Mezogözenekli Silika .....	6
Şekil 2.4: Tipik yöntem için MSN .....	7
Şekil 2.5 Gözenekli malzemeler ve gözenek çaplarına göre sınıflandırılması .....	7
2.4 SBA-15 .....	8
Şekil 2.6 SBA-15 oluşum aşamaları .....	8
Şekil 2.7: SBA-15'in hazırlanması için sentez yolu .....	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	9
3.1. Nanotaşıyıcı SBA-15 Sentezi.....	9
Şekil 3.1: SBA-15 silika sentezinin şematik gösterimi. ....	9
3.1 SBA-15 Silika Yüzeyinin Aşılama Yöntemi ile Fonksiyonelleştirilmesi .....	9
Şekil 3.2: Fonksiyonelleştirme İşleminde Kullanılan Reflux Düzenegi .....	10
3.2. SBA-15'e Doksorubisin (DOX) Yüklenmesi ve Salınımı .....	11
3.3. PC-3, L929 Hücre Hattı.....	12
3.3.1. PC-3 Hücre Hattı .....	12
Şekil 3.3: PC-3 hücre hattı (10x) .....	12
3.3.2 L929 Hücre Hattı.....	12
Şekil 3.4: L929 hücre hattı (10x) .....	12
3.3.3. Hücre Çözme.....	13

3.3.4. Hücrelerin Çoğaltılması ve Pasajlanması .....	13
3.3.5. Hücrelerin Sayımı.....	13
3.3.6. Hücrelerin Dondurulması.....	14
<b>3.4. Sitotoksite Çalışması .....</b>	<b>14</b>
3.4.1 MTT Yöntemiyle SBA-15'in L929 ve PC-3 Hücrelerine Karşı Sitotoksite Analizleri .....	14
3.4.2 MTT Yöntemiyle Dokсорubisin Yüklenen SBA-15'in PC-3 ve L929 Hücrelerine Karşı Sitotoksite Analizleri	15
Şekil 3.5: PC-3 ve L929 Hücrelerinin Sitotoksite Analizleri .....	16
<b>4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....</b>	<b>16</b>
<b>4.1. SBA-15 Örneklerinin Karakterizasyonu .....</b>	<b>16</b>
<b>4.1.1.N<sub>2</sub> Adsorpsiyon Analizi.....</b>	<b>16</b>
Çizelge 4.1 Sentezlenen Malzemelerin Yapısal Özellikleri.....	17
<b>4.1.2.Düşük Açılı XRD Analizi.....</b>	<b>17</b>
Şekil 4.1 Saf SBA-15 ve fonksiyonelleştirilmiş SBA-15 örneklerinin düşük Açılı XRD Kırınımı Deseni.....	18
<b>4.2. SEM Analizi.....</b>	<b>18</b>
Şekil 4.2 Saf SBA-15 ve Fonksiyonelleştirilmiş SBA-15 Örneklerinin SEM görüntüleri: a) Saf SBA-15 (S0) , b) S4-SBA-15, c) S5-SBA-15, d) S6-SBA-15. ....	19
<b>4.3.TEM Analizi .....</b>	<b>19</b>
Şekil 4.3 Fonksiyonelleştirilmiş SBA-15 örneklerinin TEM desenleri: S4-SBA-15 (a), S5-SBA-15 (b) ve S6-SBA-15 (c). ....	20
<b>4.4. SBA-15'e Dox Yükleme ve Salım Sonuçları .....</b>	<b>20</b>
Şekil 4.4. Dox Yükleme.....	20
Şekil 4.6. Kurutma işlemi sonrası SBA-15.....	21
Şekil 4.8 S0'dan pH 7.0 ve pH 4.5'te DOX salım profili.....	22
Şekil 4.9 DOX yüklü S0 yapısından pH 7.0 ve pH 4.5'te Kümülatif Salım Profili ...	22
<b>4.5 DOX-S0 FT-IR Spektrum Analizi .....</b>	<b>23</b>
Şekil 4.10. S0, DOX, DOX/S0'a ait FT-IR spektrumu .....	23
<b>4.6. SBA-15'İN Dox Yükleme Kapasitesinin Hesaplanması.....</b>	<b>24</b>
Şekil 4.11. Dox için 4000 – 3600 cm <sup>-1</sup> arası spektrum analizi .....	24
Şekil 4.12. Dox-S0 için 4000 – 3600 cm <sup>-1</sup> arası spektrum analizi .....	24
4.7. Sitotoksite Analizler .....	25
4.7.1. SBA-15' nin invert mikroskop altında 48 saatte L929 hücrelerine etkisinin görüntülenmesi.....	25
Şekil 4.13 SBA-15 S0 (fonksiyonelleştirilmemiş) formunun 6,17 -166,6µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş L929 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x). ....	25

Şekil 4.14 SBA-15 S4 formunun 6,17 -166,6µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş L929 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x). .....	25
Şekil 4.15 SBA-15 S5 formunun 6,17 -166,6µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş L929 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x). .....	26
Şekil 4.16 SBA-15 S6 formunun 6,17 -166,6µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş L929 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x). .....	26
4.7.2. SBA-15' nin 48 saat L929 hücreleri üzerinde % hücre canlılığı grafiği ve IC <sub>50</sub> değerlerinin hesaplanması .....	26
Grafik 4.1. L929 hücre canlılığı grafiği.....	27
4.7.3. SBA-15' nin invert mikroskop altında 48 saatte PC-3 hücrelerine etkisinin görüntülenmesi.....	27
Şekil 4.19. SBA-15 S5 formunun 6,17 -166,6µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş PC-3 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x). .....	28
Şekil 4.20. SBA-15 S6 formunun 6,17 -166,6µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş PC-3 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x). .....	28
4.7.4. SBA-15' nin 48 saat PC-3 hücreleri üzerinde % hücre canlılığı grafiği ve .....	29
IC <sub>50</sub> değerlerinin hesaplanması .....	29
Grafik 4.2 PC-3 Hücre canlılığına grafiği .....	29
Grafik 4.3 PC-3 ve L929 hücre canlılığı grafiği .....	30
Grafik 4.4 PC-3 ve L929 hücrelerinin doxorubisin ilacı ile canlılık grafiği .....	31
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>34</b>
5.1 Sonuçlar .....	34
5.1.PC3 Hücreleri Üzerindeki Etkiler: .....	34
5.2. L929 Hücreleri Üzerindeki Etkiler .....	35
5.3 Öneriler .....	35
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>37</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>

## 1. GİRİŞ

Kanser, vücuttaki birtakım hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalarak vücudun farklı bölgelerine yayılması ile oluşan bir hastalıktır. Kanser, milyonlarca hücreden oluşan insan vücudunun bilinmeyen herhangi bir yerinde başlangıç gösterebilir. Normalde, insan hücreleri büyür ve çoğalır. Hücreler yaşlandığında veya hasar gördüğünde ölür ve yerlerini yeni hücreler alır. Kanserde bu durum anormal büyüme ve yayılım göstererek gerçekleşir.

Prostat kanseri, erkek bireylerde görülen ve dünya genelinde erkek ölüm oranlarını arttıran kötü huylu tümörlerden biridir (Sekhoacha, Riet ve ark., 2022). Prostat kanseri erken evrede asemptomatik olabilir ve genellikle yalnızca aktif gözetim gerektirebilecek yavaş bir seyir izler. Prostat kanserinin nasıl önleneceğine dair henüz bir kanıt yoktur. En sık görülen şikayet, idrar yapmada zorluk, artan sıklık ve nokturidir. Bunların hepsi prostat hipertrofisinden de kaynaklanabilir. Hastalığın daha ileri evresinde, aksis iskelet kemik metastatik hastalığın en yaygın yeri olduğundan, idrar retansiyonu ve sırt ağrısı görülebilir(Rawla 2019). Prostat kanseri görülme sıklığı yaşla birlikte artar. 50 yaşın altındaki her 350 erkekte yalnızca birine prostat kanseri teşhisi konmasına rağmen, görülme sıklığı oranı 50 ila 59 yaş arasındaki her 52 erkekte birine kadar çıkar. 65 yaş üstü erkeklerde görülme sıklığı oranı yaklaşık %60'tır(Rawla 2019).

Prostat kanseri tedavisi kanserin evresine bağlı olarak cerrahi, hormon tedavisi, radyoterapi, kemoterapi ve immünoterapiyi içerir. Öncelikle radikal prostatektomi veya radyoterapi veya bunların kombinasyonu ile tedavi edilir. Hormon tedavisi, prostat hücrelerinin anormal derecede aktif büyümesini tek başına veya cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi ile birlikte kontrol etmek için ileri kanser evrelerinde verilir(Tiburcius, Krishnan ve ark., 2021).

Mezogözenekli silika nanopartiküller (MSN'ler), benzersiz özellikleri nedeniyle umut verici bir ilaç taşıma sistemi olarak ortaya çıkmıştır. Bu malzemeler büyük bir özgül yüzey alanına, düzgün ve ayarlanabilir gözenek boyutlarına, artırılmış gözenek hacmine ve azaltılmış kütle yoğunluğuna sahiptir ve bu da onları ilaç taşıma uygulamaları için çekici hale getirir(Niculescu 2020). MSN'lerin çok yönlülüğü, küçük moleküller, proteinler ve nükleik asitler dahil olmak üzere çok çeşitli terapötik ajanların taşınmasına olanak tanır. Özetle, yüksek yüzey alanı, ayarlanabilir gözenek boyutu ve

işlevselleştirme kolaylığı gibi mezogözenekli silika nanopartiküllerinin benzersiz özellikleri, onları ilaç taşıma uygulamaları için umut verici bir platform haline getirmektedir. Devam eden araştırmalar, çeşitli terapötik uygulamalar için hedefli, kontrollü ve duyarlı ilaç taşıma sistemlerinde MSN'lerin potansiyelini keşfetmeye devam etmektedir(van Rijt, Bölükbas ve ark., 2015).

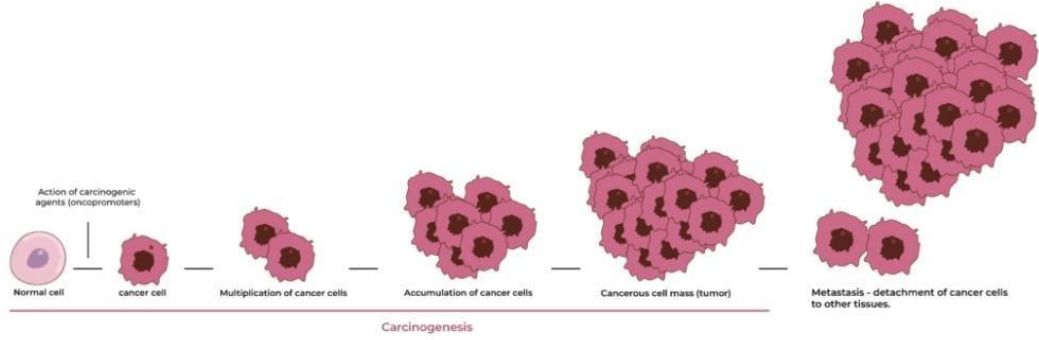
Mezogözenekli silika malzemelerin kontrollü ilaç dağıtımı, gen transfeksiyonu ve hücre takibi gibi hedefler için ilgi çekici bir hale gelmiştir. Biyomalzemelerde aranan en önemli kriter biyoyumluluktur. Mezogözenekli silika malzemelerin canlı dokuda biyoyumlu olduğu görülmüştür. Lokal dokudaki görülen tepkiler genellikle olumlu olmasına rağmen bir miktar toksisiteye neden olabilirler(Haley and Frenkel 2008). Mezogözenekli silikalar içinde yaygın olarak kullanılanlardan biri SBA-15'tir.

SBA-15'in görünümü beyaz toz halindedir. İşlevselliğini değiştirmek amacıyla SBA-15'ler sentezlenerek kullanılır (Huirache-Acuña, Nava ve ark., 2013). Sentez aşamasına göre gözenek boyutunun ayarlanabilmesi, reaksiyon esnasında büyük hacme sahip reaktanları içerisinde barındırması araştırmalar için aranan bir özelliktir(Chytil, Haugland ve ark., 2008).

## **2. KAYNAK ARAŞTIRMASI**

### **2.1. Kanser**

Kanser, kapsamlı araştırma ve çalışmalara konu olan karmaşık ve çok yönlü bir hastalıktır. Sağlanan referanslar, biyolojik mekanizmaları, epidemiyolojisi, önlenmesi ve çeviri araştırmaları da dahil olmak üzere kanser araştırmalarının çeşitli yönlerine ilişkin kapsamlı bir genel bakış sunmaktadır. Kanser, vücutta anormal hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve yayılması olarak bilinir. Dünya çapında en önde gelen ölüm nedenlerinden biridir(Sibai, Singh ve ark., 2017). Kanserin altında yatan moleküler ve genetik mekanizmaları anlamak, etkili önleme ve tedavi stratejileri geliştirmek için çok önemlidir(Ringborg 2019).



## Cancer progression and metastasis

<https://www.onkos.com.br/en/post/all-you-need-to-know-about-cancer/>

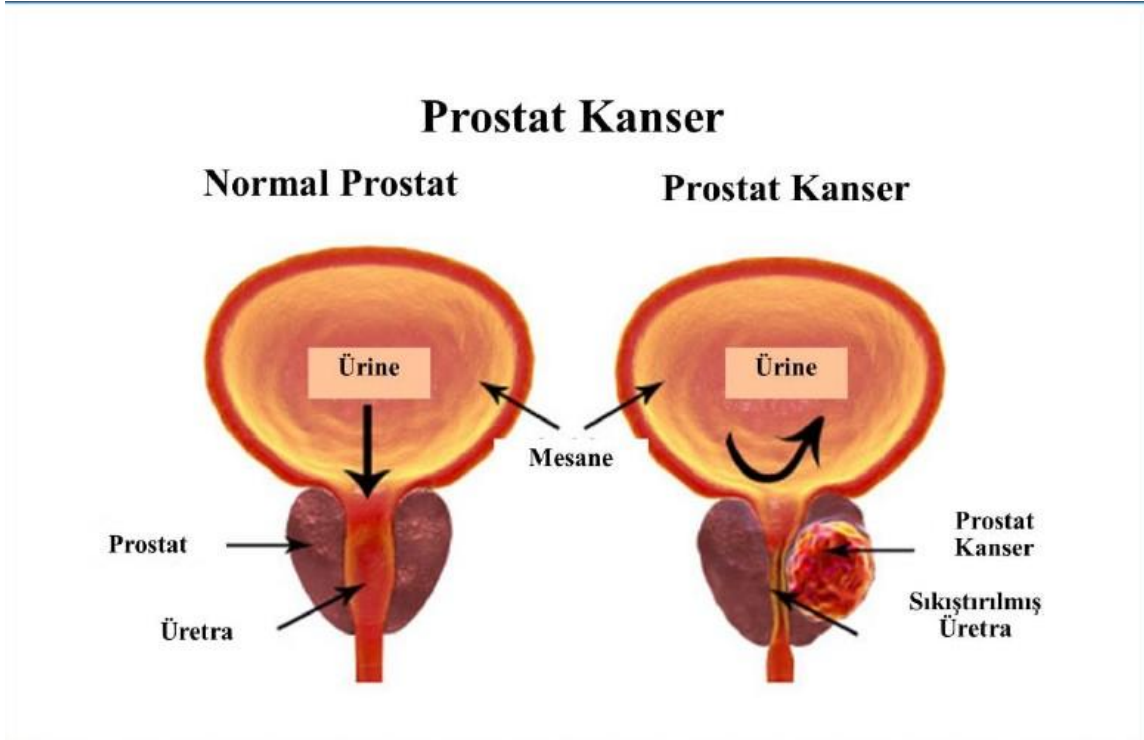
### Şekil 2.1 Kanser ilerlemesi ve metastazları

#### 2.1.1. Prostat Kanseri

Prostat kanseri, dünya çapında erkeklerde en sık teşhis edilen ikinci kanserdir. Tüm prostat kanseri vakalarının yaklaşık üçte ikisinin dünya erkek nüfusunun sadece %17'sinde meydana geldiği daha gelişmiş ülkelerde erkekler arasında en sık teşhis edilen kanserdir (Torre, Bray ve ark., 2015). Prostat kanseri tanısındaki en önemli zorluklardan biri prostat spesifik antijen (PSA) testinin sınırlı özgüllüğüdür (Torre, Bray ve ark., 2015).

Prostat kanseri genellikle erken evrelerinde semptomsuzdur ve gecikmiş tanı daha ileri ve metastatik hastalığa yol açabilir (Zhao, Gao ve ark., 2022). Prostat kanserinin tedavi yöntemleri arasında, prostatektomi, radyoterapi, androjen yoksunluğu tedavisi ve enzalutamid ve abirateron gibi yeni hormonal ajanları içeren çok yönlü yaklaşımları içerir (Chen, Xu ve ark., 2022). Prostat kanseri riskleri arasında ailenin genetik yatkınlığı, yaş ve yaşam tarzı faktörler dahil olmak üzere çeşitli faktörler sayılabilir (Albright, Stephenson ve ark., 2017).

Prostat kanseri, tanı, korunma ve tedaviye kapsamlı bir yaklaşım gerektiren karmaşık ve çok yönlü bir hastalıktır. Devam eden araştırmalar erken teşhisin iyileştirilmesine, daha etkili tedavilerin belirlenmesine ve aşırı teşhis ve aşırı tedavinin getirdiği zorlukların ele alınmasına odaklanmaktadır (Torre, Bray ve ark., 2015).



**Şekil 2.2 PC-3 Prostat kanseri** (<https://www.medicoverhospitals.in/diseases/prostate-cancer/>)

### 2.1.2 Antioksidanlar ve Kanseri Tedavisi

Son yıllarda kanseri tedavileri arasında antioksidanlar öne çıkmaya başlamıştır. Flavonoidlerin kanseri gelişimini önlemek için kullanılan maddeler için modülatörler olarak prostat kanseri ve diğer kanseri çeşitlerinin olası bir tedavisi olarak kullanılabilmesi ve karsinogenezin önüne geçmek için umut verici bir yöntem olduğu ortaya çıkmıştır(Izzo, Naponelli ve ark., 2020).

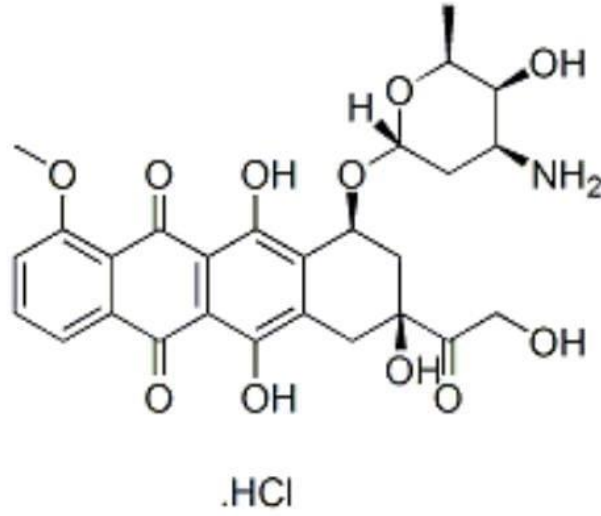
Flavonoidler sebzeler tarafından kullanılan mikroplarla savaşıma ve büyüme için etki eden bir metabolittir(Panche, Diwan ve ark., 2016). Flavonoidlerin farmakokinetiği incelendiği zaman faydalı etkilerinin gözlemlenmesi ve modifikasyonunda, emiliminde ve taşınmasında aktif rol oynayan enzimler ele alınmalıdır(Chen, Xu ve ark., 2022). Prostat kanseri için kullanıldığında flavonoidlerin prostat kanseri tarafından iyi tolere edildiği görülmektedir(Caporali, Davalli ve ark., 2004).

Flavonoidlerin antiviral, antikanser ve anti aging etkileri sayesinde farklı hücre çeşitlerinin farklı biyolojik etkilerine neden olurlar(Izzo, Naponelli ve ark., 2020). Kanseri tedavisinde büyük rol oynayan sinyal yolları flavonoidlerin hedeflerindedir. Prostat kanseri hücrelerinde, kinazlar düzenli bir şekilde aktive olur ve hücrenin dönüşümü gerçekleştirilerek tümörün büyümesine sebep olur(Bode ve Dong 2013).

Flavonoid bileşiklerinin bir kısmı, siklin seviyesinin başkalaşmasıyla hücre döngüsü durmasını indükler. Bu indükleme PC3 hücre hattı için G0/G1 fazında hücre döngüsünü durdurduğu bulunmuştur(Shukla, Bhaskaran ve ark., 2014).

### 2.1.3. Doksorubisin

Doksorubisin hidroklorür (HCl) lipozomal enjeksiyonu, klinik onay alan ilk lipozomal kapsüllü kanser karşıtı ilaçtı ve katı tümörler, nakledilebilir lösemiler ve lenfomalar dahil olmak üzere bir dizi maligniteye karşı aktiviteye sahiptir(Slingerland, Guchelaar ve ark. 2012). Toprak bazlı mikroorganizmalardan antikanser bileşikleri arayışı 1950'lerde başladı. Parlak kırmızı bir pigment üreten yeni bir *Streptomyces peucetius* türü izole edildi ve bu bakteriden fare tümörlerine karşı iyi bir aktiviteye sahip olduğu bulunan bir antibiyotik üretildi. Yeni bileşiğe daunorubisin adı verildi ve akut lösemi ve lenfoma tedavisinde başarıyla kullanıldı(Brockmann 1963).



Şekil 2.3 Doksorubisin kimyasal gösterim

Doksorubisin, 20. yüzyıldan beri meme, prostat, mide ve mesane dahil olmak metastatik çeşitli kanser türlerinin tedavisinde umut verici bir ilaç olarak kullanılmaya başlanmıştır. Kanser hücreleri üzerinde umut verici etkiler göstermesine rağmen, kanserli hücelere sahip sağlıklı hücelerde de etki göstermesi ve bu da kardiyomiyopati, kalp yetmezliği (CHF) vb. gibi birkaç ciddi yan etkilere sebep olur ve bu durum kemoterapi uygulamasını kısıtlar. Birkaç araştırma, yan etkileri azaltmak ve etkinliği artırmak için doksorubisinin kanserli hücelere hedefli olarak iletilmesine odaklanmıştır(Gautam, Joshi ve ark. 2025).

## 2.2. İlaç Salınımı

İlaç taşıyıcı sistemlerin kullanımı, biyodağılımı ve farmakokinetiği değiştirerek geleneksel kemoterapik özellikleri iyileştirebilir(Allen ve Cullis 2004). İlaç taşıma sistemleri klinik başarıları sayesinde son yıllarda önem kazanmıştır. İlaç salınımı, istenen terapötik etkiyi elde etmek için ihtiyaç duyulduğunda güvenli bir şekilde vücutta terapötik ilaçları taşımak için kullanılır. Bu tür sistemler genellikle aktif ajanların sulu çözünürlüğünü ve farmakolojik aktiviteyi artırmak, yan etkileri azaltmak, kimyasal kararlılığını iyileştirmek için tasarlanmıştır(Li, Wang ve ark., 2019). Birçok şekilde, ilacın hedeflenen bölgede kontrollü olarak salınımı belirlenen terapötik etki ve güvenlik için gereklidir. İlaçlarla vücut arasındaki yetersiz uyum, sağlık sektöründe uzun yıllardır devam eden bir halk sağlığı riskidir. Tedavisi yıllar süren kronik hastalıklar için ilaç salınımı kritik öneme sahiptir(Reynolds, Dennis ve ark., 2018).

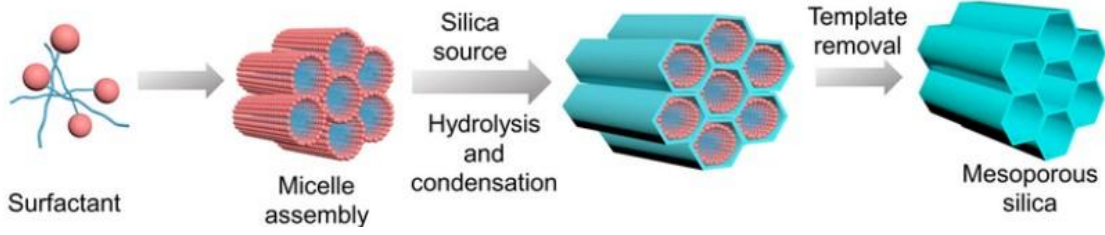
Geleneksel kemoterapötik ajanlarla karşılaştırıldığında, nanoölçekli ilaç taşıyıcıları, tümörlerde tutma etkisi, geçirgenliğin gelişmiş olması, yüksek seçicilik, ve aktif hücresel alım gibi özellikler sayesinde normal hücrelerde toksisiteden kaçır ve tedavi etkisini artırarak ele alma potansiyelini gösterir(Maeda, Wu ve ark., 2000).

## 2.3. Mezogözenekli Silika

Dünya üzerindeki hastalıklar ve her hasta için evrensel bir nanotaşıyıcı malzemenin olmayacağı dünyada yaygınlaşan bir görüştür. Bununla birlikte, biyolojik görüntüleme ve terapötik uygulama dahil olmak üzere birçok biyomedikal uygulama açısından, mezogözenekli silikaların daha umut verici malzemeler olduğu düşünülmektedir(Croissant, Fatieiev ve ark., 2018).

Mezogözenekli silika malzemeler (MSM'ler) dünyada ilk başta 1990'lı yıllarda Japonya'da Kuroda ve arkadaşları ve ABD'de Mobil Oil araştırmacıları tarafından bahsedilmiştir(Manzano and Vallet-Regí 2020). Bu malzemeler, yüksek yüzey alanı, ayarlanabilir gözenek boyutu ve mükemmel biyoyumluluk gibi benzersiz özellikleriyle karakterize edilir(Morelli, Maris ve ark., 2011). Mezogözenekli silika nanopartiküllerinin (MSN'ler) avantajlarında, etkili ilaç dağıtmada taşıyıcı olarak kullanılabilirlerdir(Morelli, Maris ve ark., 2011). MSN'lerin gözenek hacminin geniş olması ve yüzey alanı, başta hidrofobik ilaçlarla beraber çok farklı sayıda terapötik

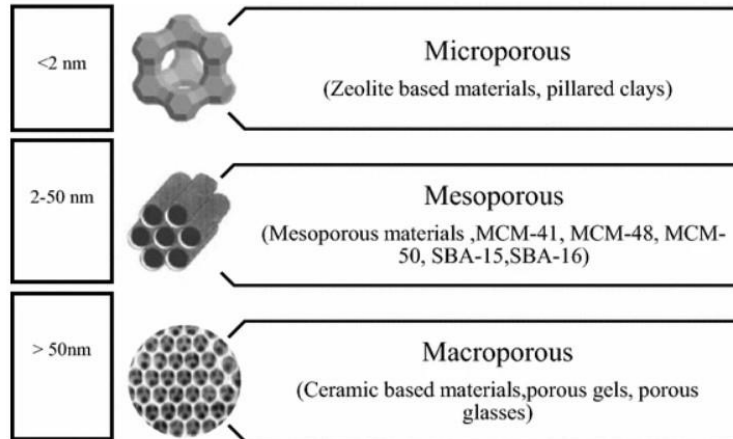
ajanların içerisine yüklenmesi ilaçların taşınmasında rol oynar(Argyo, Weiss ve ark., 2014).



Sutrisno, Linawati & Ariga, Katsuhiko. (2023). Pore-engineered nanoarchitectonics for cancer therapy. NPG Asia Materials. 15. 10.1038/s41427-023-00469-w.

**Şekil 2.4: Tipik yöntem için MSN**

Yapılan çalışmalarda MSN'ler kanser hücrelerinin hedefe yönelik ilaç tedavilerinde birçok kez kullanılmıştır. Bu hedefe yönelik yaklaşım, geleneksel ilaç uygulamasıyla ilişkili yan etkileri azaltırken terapötik etkinliği artırabilir(Alyassin, Sayed ve ark., 2020).

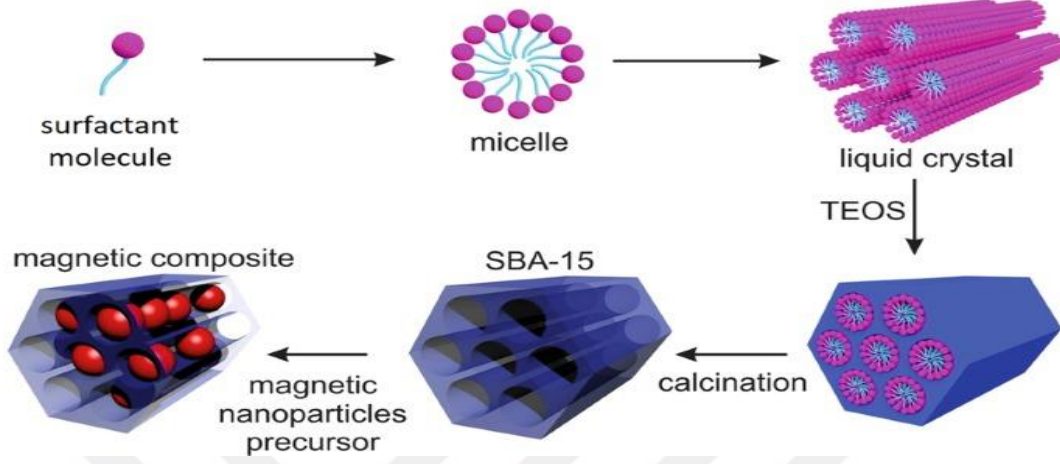


**Şekil 2.5 Gözenekli malzemeler ve gözenek çaplarına göre sınıflandırılması** (Chaudhary ve Sharma 2017)

Gözenekli malzemeler, IUPAC isimlendirmesine göre üçe ayrılır; Şekil 2.6'da gösterildiği gibi gözenek boyutu  $>2\text{nm}$  olanlar mikro gözenekli, gözenek boyutu 2-50nm olanlar mezo gözenekli ve gözenek boyutu  $>50\text{nm}$  olanlar ise makro gözenekli malzemeler olarak adlandırılır (Taguchi ve Schüth 2005).

## 2.4 SBA-15

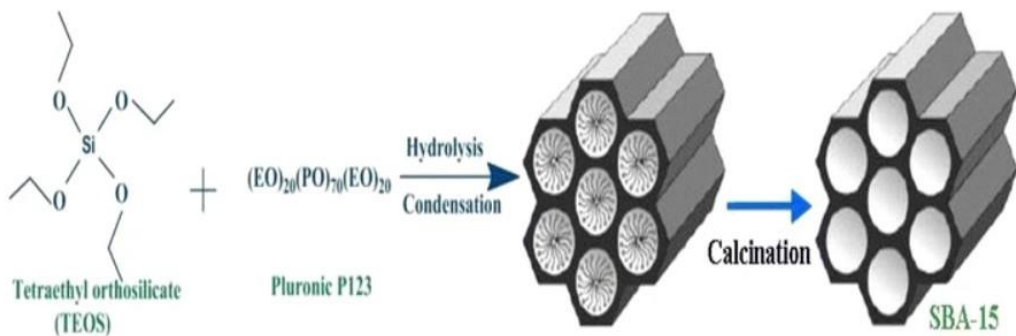
SBA-15(Santa Barbara Amorphous-15), Kalifornia Üniversitesi Santa Barbara araştırmacıları tarafından geliştirilmiştir.



şekil 2.6 SBA-15 oluşum aşamaları

SBA-15, kalın gözenek duvarı ve altıgen mezogözenekli yapısı ile (4–12 nm), yüksek yüzey alanı, sentez kolaylığı gibi özellikleri sayesinde farklı mezogözenekli silika yapıları arasında ön plana çıkmaktadır(Chaudhary ve Sharma 2017). SBA-15'in, düzenli mezogözenekli yapısı, daha fazla hidrotermal stabilite, daha fazla duvar kalınlığı, geniş yüzey alanı ve ayarlanabilir gözenek hacmi gibi benzersiz özellikleri SBA-15'i umut verici bir malzeme haline getiriyor(Mahato ve Krithiga 2022).

Mezogözenekli silikanın morfolojisi ve parçacık boyutu, silika kaynağının hidroliz ve yoğunlaşma oranlarına bağlı olarak farklı şekillerde kontrol edilebilir (Lin, Shi ve ark., 2015). Mezogözenekli silika malzemeleri arasında SBA-15, yüksek düzeyde düzenli altıgen topolojisi, geniş yüzey alanı ve kontrol edilebilir gözenek boyutu, kalın duvarları ve kolay yüzey modifikasyonu nedeniyle ilaç dağıtım sistemi için çok mükemmel bir adaydır.

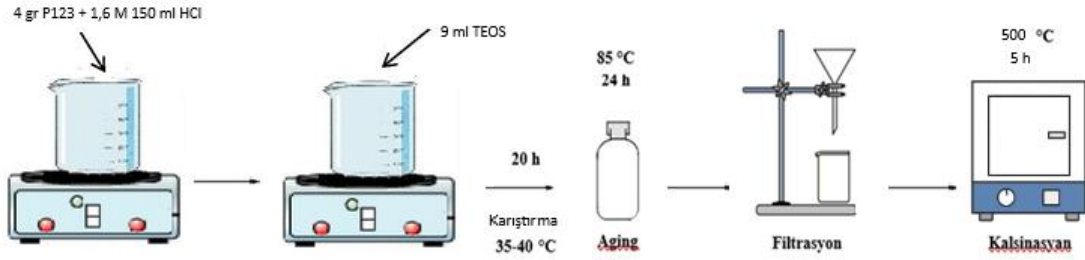


şekil 2.7: SBA-15'in hazırlanması için sentez yolu (Chaudhary ve Sharma 2017)

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Nanotaşıyıcı SBA-15 Sentezi

Saf SBA-15, Zhao ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntemle göre sentezlendi. Bunun için, 4 g Pluronic **P123** (triblok kopolimer, EO<sub>20</sub>PO<sub>70</sub>EO<sub>20</sub>, 96%, Aldrich), 1,6 M, 150 ml HCl (isolab,  $\geq 37\%$ ) içinde oda sıcaklığında 1 saat boyunca karıştırılarak çözüldü. Daha sonra, silika kaynağı olarak 9 ml tetraetilortosilikat (TEOS,  $> 99.99\%$ , Aldrich) bu solüsyona damla damla eklenerek 35–40 °C arasında 20 saat süre ile karıştırıldı. Elde edilen süspansiyon teflon şişe içerisinde 85° C’de 24 saat yaşlandırma işlemine tabi tutulduktan sonra filter edilerek oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Son olarak filtrasyondan sonra elde edilen beyaz katı malzeme 500° C de 5 saat kalsine edildi. **Hata! Başvuru kaynağı bulunamadı.**’de saf SBA-15 silika sentezinin şematik gösterimi görülmektedir.



Şekil 3.1: SBA-15 silika sentezinin şematik gösterimi.

#### 3.1 SBA-15 Silika Yüzeyinin Aşılama Yöntemi ile Fonksiyonelleştirilmesi

Bu projede, ilaç taşıma sisteminde kullanılacak silika malzemeler, aşılama yöntemi kullanılarak hazırlandı. Bu işlemde 2 gr SBA-15 100 ml toluen ( $\geq 99$ ) içerisinde tamamen dağıldıktan sonra belirlenen miktarda (4ml) fonksiyonel grup içeren çözelti damla damla bu süspansiyona eklenerek 65°C’de geri besleme altında 6 saat süre ile karıştırıldı. Süspansiyon filtre edildikten sonra serbest aminlerin uzaklaştırılması için toluen ile yıkandı. Bu işlem vakum altında 5 defa tekrarlandıktan sonra modifiye edilmiş silika oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Fonksiyonelleştirme için üç çeşit amin grubu kullanıldı: trimetoksi [3-(metil amino) propil]silan (S4), [3-(N, N-dimetilamino) propil]

trimetoksisilan (S5) ve 3- aminopropiltrimetoksisilan (S6). Saf SBA-15 S0 ve bu yöntem ile yüzeyi fonksiyonelleştirilen malzemeler ise sırasıyla S4-SBA-15, S5-SBA-15 ve S6-SBA-15 olarak adlandırıldı(Hess, Hoefelmeyer ve ark. 2004).

SBA-15	S0	Saf
İkincil Amin	S4	[3-(metil amino) propil]silan
Tersiyer AMin	S5	[3-(N, N-dimetilamino) propil] trimetoksisilan
Birincil Amin	S6	3- aminopropiltrimetoksisilan

Çalışmada kullanılan SBA-15, Konya Teknik Üniversitesi Kimya Mühendisliği bölümünde Dr. Öğr. Üyesi Mukaddes Can tarafından sentezlenip, fonksiyonlaştırılmış ve karakterizasyonu tamamlanmıştır.



Şekil 3.2: Fonksiyonelleştirme İşleminde Kullanılan Reflux Düzeneği

### 3.2. Mezogözenekli Silika Malzemelerin Karakterizasyonu

Sentezlenen tüm örnekler (SBA-15, S4, S5, S6) düşük açılı XRD (SAXS), N<sub>2</sub> Adsorpsiyon Analizi, SEM ve TEM analiz yöntemleri kullanılarak karakterize edilmiştir.

### 3.2. SBA-15'e Doksorubisin (DOX) Yüklenmesi ve Salınımı

Doksorubisin (DOX), SBA-15 mezogözenekli silika yapıya difüzyon temelli pasif adsorpsiyon yöntemi ile yüklenmiştir. Yükleme işlemi için, %100 saf su içerisinde çözünen 1 mg/mL konsantrasyonunda DOX çözeltisi hazırlanmıştır. SBA-15, DOX:taşıyıcı oranı 1:10 olacak şekilde (örneğin 1 mg DOX için 10 mg SBA-15) bu çözeltiliye ilave edilmiştir.

Elde edilen süspansiyon, karanlık ortamda oda sıcaklığında sürekli çalkalamaya tabi tutulmuş ve 24 saat inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda çözelti 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiş, üstte kalan süpernatant alınarak UV-Vis spektrofotometresi ile ( $\lambda_{max} = 480 \text{ nm}$ ) analiz edilmiştir. Bu ölçüm ile yüklenmeyen DOX miktarı belirlenerek yükleme verimliliği hesaplanmıştır.

DOX yüklü SBA-15 yapılarının salım davranışını incelemek amacıyla in vitro salınım çalışması gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, etanol içinde süspanse halde bulunan partiküller alınmış, vortekslenmiş ve ardından santrifüjlenmiştir. Elde edilen çökelti elde edildikten sonra, süpernatant dikkatlice uzaklaştırılmış ve numuneler oda sıcaklığında yaklaşık 2 saat boyunca kurutulmaya bırakılmıştır.

Kurutulan örneklerin üzerine 500  $\mu\text{l}$  PBS çözeltisi (Fosfat Tamponlu Salin) eklenmiş ve tekrar vortekslenerek homojen süspansiyon hazırlanmıştır. Süspansiyonlar eşit hacimlerde iki gruba ayrılmıştır. Salım ortamı olarak bir gruba PBS (pH 7.4), diğer gruba ise PBS (pH 4.5) tamponları eklenmiş ve tüpler oda sıcaklığında 2 gece boyunca bekletilmiştir. Belirli sürelerde (örneğin 1., 2., 4., 8., 24. ve 48. saatlerde) tüpler santrifüjlenmiş, üst faz (süpernatant) dikkatlice alınarak absorbans değeri UV-vis spektrofotometresi ile 480 nm'de ölçülmüştür. Her ölçüm sonrası, eşit hacimde taze PBS çözeltisi (ilgili pH'a uygun) eklenmiş ve tüpler yeniden inkübasyona bırakılmıştır.

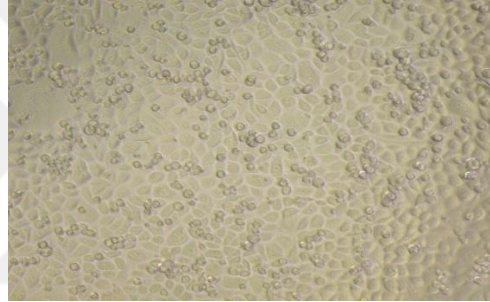
Salınan ilaç miktarı, önceden oluşturulmuş standart eğri yardımıyla hesaplanmış ve sonuçlar kümülatif salım yüzdesi (%) olarak zamana karşı grafikleştirilmiştir.

### 3.3. PC-3, L929 Hücre Hattı

Hücre labarotuar çalışmaları süresince SBA-15 sitotoksisite çalışmalarında ISO 10993-5 tarafından tavsiye edilen hücre hatlarından biri olan fare fibroblast hücre hattı L929 ve insan prostat kanseri hücre hattı PC-3 kullanılmıştır.

#### 3.3.1. PC-3 Hücre Hattı

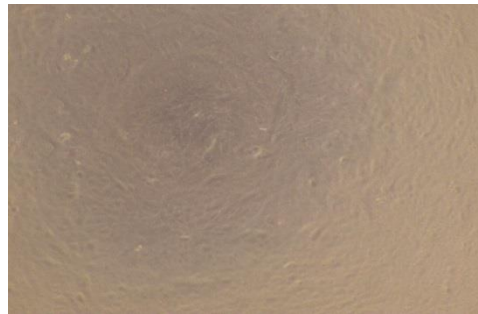
Prostat kanseri hücre hattı besiyeri için RPMI-1640 (Lonza, ABD) kullanıldı. Kullanılan besiyerde olası bir kontaminasyonu engellemek için %0.1 oranında Gentamisin çözeltisi ve %10 fetal dana serumu (FBS-Fetal bovine serum, Capricorn, Almanya) eklenerek besiyer hazırlandı. Bu besiyer ortamında PC-3 hücre hattı çoğaltıldı.



Şekil 3.3: PC-3 hücre hattı (10x)

#### 3.3.2 L929 Hücre Hattı

Fare fibroblastı hücre tipi olan L929 hücre hattı için DMEM High Glucose besiyeri kullanıldı. Besiyerin kontaminasyonunu engellemek amacıyla %1 penisilin/streptomisin ve %10 fetal dana serumu (FBS-Fetal bovine serum, Capricorn, Almanya) eklenmesiyle besiyer hazırlandı. Hazırlanan DMEM-High Glucose besiyerinde L929 fare fibroblast hücre hattı çoğaltıldı.



Şekil 3.4: L929 hücre hattı (10x)

### 3.3.3. Hücre Çözme

PC-3 hücre hattı  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de olan dondurucudan ya da azot tankının içerisinden çıkarılır.  $37^{\circ}\text{C}$ 'de sıcaklığı hazırlanmış olan su banyosunda hızlı bir şekilde çözünmesi sağlanır. PC-3 hücresinin üzerine besiyeri RPMI-1640 eklenerek santrifüj işlemi yapılır. Santrifüjden çıkan hücre tekrar besiyer ile çözdürülerek flaska aktarılır.  $37^{\circ}\text{C}$ 'de, %5'lik  $\text{CO}_2$ 'li inkübatöre koyularak hücre çözme işlemi bitirilir.

### 3.3.4. Hücrelerin Çoğaltılması ve Pasajlanması

Hücre pasajlama işlemi için öncelik hücrenin bulunduğu ortamın %80'lik bir bölümünü doldurmuş olmasıdır. İkinci öncelik olarak kontaminasyonu engellemek amacıyla çalışılacak kabin önce UV ışık altında daha sonra %70'lik etil alkol ile temizlenmelidir. Bu iki kural uygulandıktan sonra hücre çalışmalarına başlanılabilir. Pasajlama işlemi için birinci adım flasktan besiyerin uzaklaştırılmasıdır. Hücrenin mediumu aspiratör ile çekilir. Hanks solüsyonu ile kez yıkama işlemi yapılır. Hanks solüsyonu aspiratör yardımı ile flasktan çekilir ve Tripsin-EDTA çözeltisi eklenir ve hücrelerin kalkması için  $37^{\circ}\text{C}$ 'de, %5'lik  $\text{CO}_2$ 'li inkübatöre koyu. Hücreler kalkıncaya kadar bir süre beklenir. Hücrelerin kalktığı invert mikrokopta kontrol edilir. Tripsin-EDTA çözeltisinin 2 katı olacak şekilde yeni besiyer flaska eklenerek flaskın arka yüzeyindeki hücrelere toplanarak pipetaj yapılır. Hücrelerden yeterli miktarda alınarak yeni hücre kültür ortamına aktarılır. Yeni flaskın hacmini tamamlayacak şekilde besiyer eklenerek pipetaj yapılır. Homojen bir şekilde dağılmış hücreler etüve kaldırılır.

### 3.3.5. Hücrelerin Sayımı

Hücre sayımı plakalara yeteri kadar hücre ekilmesi amacı ile yapılan bir adımdır. Hücre sayısının doğru şekilde belirlenmesi deneyin tüm aşamaları için çok önemlidir. Hücre sayımından önce yapılması gereken işlem hücre pasajlama işlemi ile benzer bir işlemdir. Hücrenin medium aspiratör ile çekildikten sonra Hanks ile 2 kez yıkanır ve Hanks aspiratör ile çekilir. Flaska Tripsin-EDTA eklenir ve hücrelerin kalkması için flask etüve kaldırılır. Hücreler kalktıktan sonra Tripsin-EDTA'nın 2 katı olacak şekilde besiyer eklenir. Yeterli miktarda falcon tüpe alınarak 5 dakika boyunca  $1200\text{ rpm}$ 'de

santrifüjlenir. Santrifüj işleminden sonra süpernetant atılır ve pellet üzerine besiyer eklenerek çözdürülür. Hazırlanan süspansiyondan bir miktar hücre sayımı için alınır. Sayım işlemi için hazırlanan 50 µl hücre süspansiyonundan ve 50 µl trifen mavisi (Sigma: Trypan Blue, ABD) boyadan alınır ve birkaç kez pipetaj yapılır. Pipetaj işleminin ardından 10 µl alınarak thoma lamına aktarılır. Hücre sayımı ışık mikroskobu (Leica, Almanya) altında yapılır ve bu sayımda canlı/sağlıklı hücreler ele alınır.

### 3.3.6. Hücrelerin Dondurulması

Pasaj yapılmış hücre hattında bir miktar alınarak santrifüj yapılır. Santrifüjden çıkan falconun içerisindeki süpernetant atılır. Kalan pelletin üzerine dondurma solüsyonu (10ml FBS, 1ml DMSO(Dimetilsülfoksit, Sigma, ABD)) eklenir ve pipetaj yapılır. Pastör pipeti ile homojen hale gelmiş hücre alınır ve Cryovial tüp içerisine koyulur. İçerisinde izopropilalkol olan Mr. Frosty taşıma kabına koyulan Cryovial tüp -80 °C'de dondurucuda bir gece boyunca inkübe edildi. İnkübasyon tamamlandığında hücreler Mr. Frosty'den alınarak -80 °C'deki dondurucuya veya -196 °C'de olan sıvı azot tankına kaldırılır.

## 3.4. Sitotoksite Çalışması

### 3.4.1 MTT Yöntemiyle SBA-15'in L929 ve PC-3 Hücrelerine Karşı Sitotoksitite Analizleri

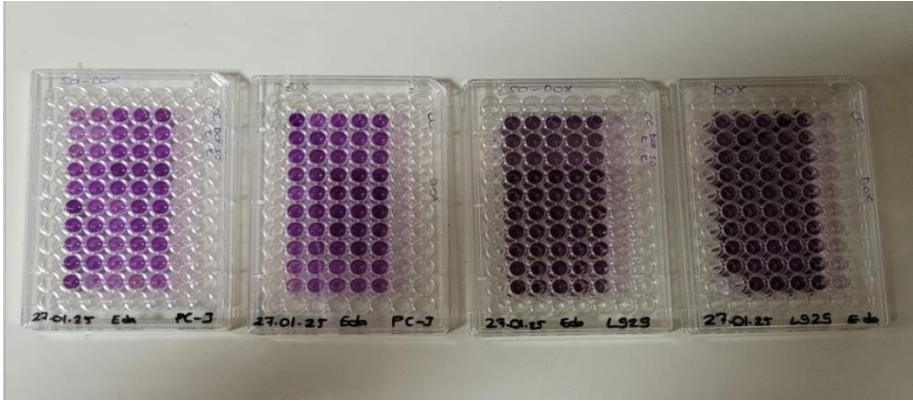
MTT (3- [4, 5- dimethylthiazol- 2- yl]- 2, 5 diphenyltetrazolium bromide) hücre canlılığını, çoğalmasını ve sitotoksitesini değerlendirmek için kullanılan bir testidir. PC-3 ve L929 hücre hatları kültür ortamındayken öncelikle invert mikroskop ile bakılır. Hücrelerin ekim işlemine karar verilir. Hücreler için uygun olan miktar kültür kabına devam edecek şekilde pasajı tamamlanır. Kalan miktar santrifüje koyulur. Santrifüj sonrası oluşan üst faz atılır ve alt faz çözdürülür. Uygun miktarda solüsyon hücrelerin 96 kuyucuklu plakaya ekilmesi için sayıma gönderilir. Sayım işlemi PC-3 hücre hattı için  $5 \times 10^3$  ve için L929 hücre hattı için  $10 \times 10^3$  olacak şekilde tamamlanır. 96 kuyucuklu plaka, deney tarihi, hücre ismi, deney sahibinin ismi yazacak şekilde etiketlenir. Etiketleme sonrası hücre ekimi yapılır ve plaka 24 saat etüve kaldırılarak inkübasyonun tamamlanması beklenir.

Sitotoksitite analizi için SBA-15 maddesi inkübe edilmiş olan 96 kuyucuklu plakalarının üzerine hazırlanmış madde konsantrasyonları 500 $\mu$ g/ml den 18,5 $\mu$ g/ml' ye kadar olacak şekilde eklenir ve 48 saat etüve kaldırılarak inkübasyonun tamamlanması beklenir. 48 saat sonunda plakalar invert mikroskop altında kuyucuklara bakılır ve kuyucuklar fotoğraflanır. MTT çözeltisi hazırlanır. MTT çözeltisi 5mg/ml hacminde hazırlanır.

Tüm kuyucuklara hazırlanan MTT çözeltisi koyularak 4 saat etüve bırakılır ve renk değişiminin tamamlanması beklenir. İnkübasyon süresi tamamlandığı zaman 96 kuyucuklu plakanın MTT eklenmiş kuyucuklarından sıvılar çekilir. Kuyucuklara 150  $\mu$ l DMSO eklenir ve karanlıkta 20 dakika süre tutularak karıştırıcıda karışması sağlanır. 20 dakika tamamlandıktan sonra ELISA (Epoch Biotech, Türkiye) okuyucu da 540 nm dalga boyunda ölçülür. Alınan ölçüm sonuçları dikkate alınarak IC<sub>50</sub> değeri hesaplanır.

#### **3.4.2 MTT Yöntemiyle Doksorubisin Yüklenen SBA-15'in PC-3 ve L929 Hücrelerine Karşı Sitotoksitite Analizleri**

Bu yöntemde PC-3 ve L929 hücreleri, 96 kuyucuklu plakalarda her kuyucuğa PC-3 için 5x10<sup>3</sup> ve L929 için 10x10<sup>3</sup> hücre olacak şekilde ekim yapıldı ve hücre plakaları inkübatörde bir gece boyunca bekletildi. İnkübasyon süresi tamamlandığı zaman sitotoksitite analizi için Doksorubisin yüklenmiş SBA-15, çoğalmış olan hücre plakalarının üzerine çözdürülmüş madde konsantrasyonları seyreltilerek eklendi ve 48 saat inkübasyon için bekletildi. 48 saatin sonunda kuyucukların invert mikroskop altında görüntüleri çekildi. MTT solüsyonu eklendi ve inkübasyon süresinin tamamlanması için etüvde 5 saat bekletildi. 5 saatin sonunda kuyucuklara DMSO eklenerek mor kristallerin çözdürülmesi sağlandı. Çalışmada kullanılmış olan maddelerin hücrelerin ölümüne etkisi, eklenen MTT solüsyonundaki sarı renkte olan formazan tuzlarını mor kristallere çevirmiş olan canlı PC-3 ve L929 hücre hatlarının aktif mitokondrisi sayesinde renk değişimi ile tanımlandı. ELISA cihazında 540 nm'de plakalar okutuldu. Okutma sonunda SBA-15'lerin PC-3 ve L929 hücre hatlarının IC<sub>50</sub> değerleri hesaplandı. MTT testi tekrar eden deneylerin sonucunda Doksorubisin yüklenen SBA-15'lerin hücre hatlarına olan sitotoksik etkisi değerlendirildi.



Şekil 3.5: PC-3 ve L929 Hücrelerinin Sitotoksite Analizleri

## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

### 4.1. SBA-15 Örneklerinin Karakterizasyonu

Sentezlenen mezogözenekli silika malzemelerinin yapı ve morfolojileri, N<sub>2</sub> Adsorpsiyon-Desorpsiyon, düşük açılı XRD Spektrofotometrisi (SAXS), SEM ve TEM analiz yöntemleri kullanılarak karakterize edildi.

#### 4.1.1. N<sub>2</sub> Adsorpsiyon Analizi

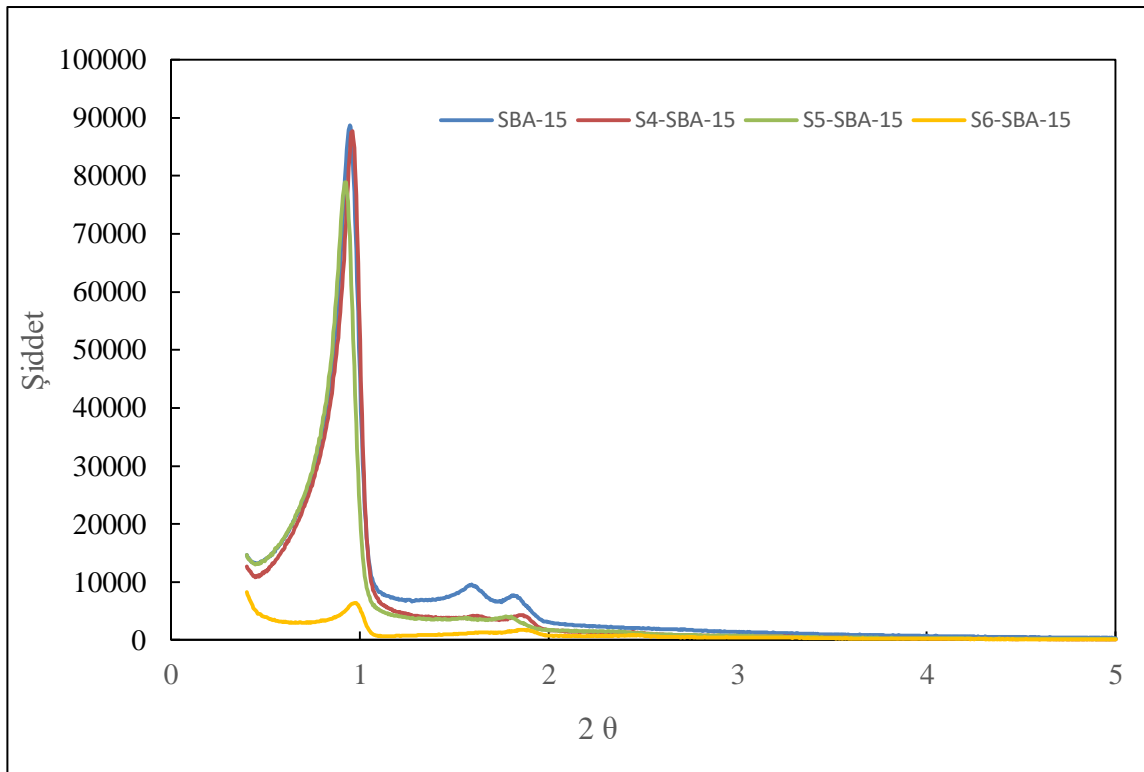
Saf SBA-15 ve amin grupları ile fonksiyonelleştirilen örneklerin yüzey alanı BET (Brunauer-Emmett-Teller) yöntemi kullanılarak, gözenek çapı ve gözenek hacmi ise BJH (Barrett-Joyner-Halenda) metodu kullanılarak belirlendi. Çizelge 4.1'de örneklerin BET yüzey alanı, pore çapı ve toplam gözenek hacmi değerleri görülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre saf SBA-15'in yüzey alanı 754,4 m<sup>2</sup>/gr, toplam gözenek hacmi 0,71 cm<sup>3</sup>/g ve gözenek çapına 6,61 nm'dir. Farklı amin grupları ile fonksiyonelleştirme sonrasında ise yüzey alanı, pore çapı ve toplam gözenek hacminin belirgin bir şekilde düştüğü gözlemlendi. Bu durum fonksiyonelleştirme sonrasında amin gruplarının SBA-15 nanokanallarının iç yüzeyine tutunduğunu ve SBA-15 yüzeyinin modifiye edildiğini doğrulandı (Zhu, Li ve ark. 2012, Zeidan, Can ve ark. 2023).

**Çizelge 0.1 Sentezlenen Malzemelerin Yapısal Özellikleri**

Sample	$S_{BET}$ ( $m^2/g$ )	$D_{BJH}$ (nm)	$V_{BJH}$ ( $cm^3/g$ )
SBA-15 (S0)	754,4	6,61	0,71
S4-SBA-15	232,2	6,46	0,36
S5-SBA-15	226,5	5,96	0,33
S6-SBA-15	223,6	6,47	0,33

#### 4.1.2. Düşük Açılı XRD Analizi

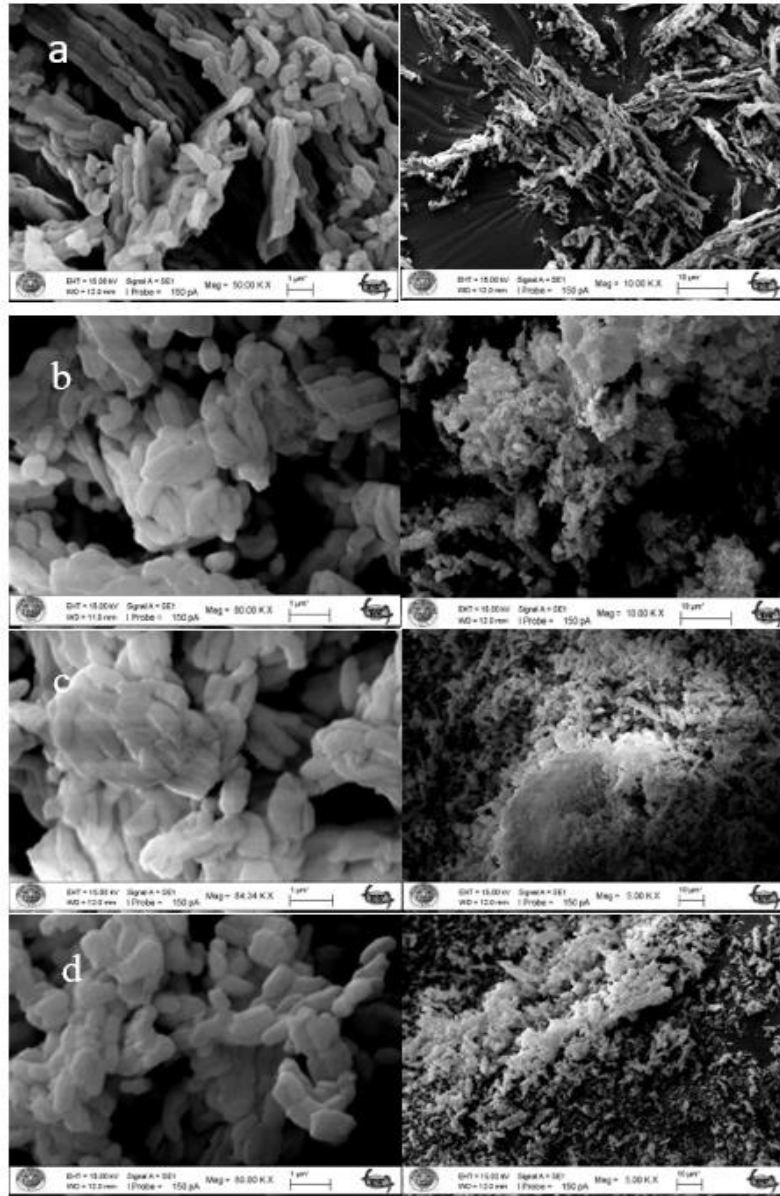
Sentezlenen tüm örneklerin düşük açılı XRD analiz sonuçları Şekil 4.1’de verilmiştir. Saf SBA-15 düşük açılı XRD deseninde  $2\theta=0,95^\circ$ ’de şiddetli ve  $2\theta=1,6$  ve  $1,8$  daha zayıf olmak üzere 3 pik görüldü. Bu üç pik sırasıyla (100), (110) ve (200) düzlemlerinde elde edilmiş olup saf SBA-15’in oldukça düzenli, 2 boyutlu hegzagonal mezogözenek yapısını doğrulamaktadır. Fonksiyonelleştirmeden sonra kırınım piklerinin şiddetinin azaldığı görüldü. Bu durum ise saf SBA-15’in S4, S5 ve S6 örneklerinden daha düzenli bir mezoyapıya sahip olduğu görüldü (Liou, Chen ve ark. 2022, Zeidan, Can ve ark. 2023, Can, Albayati ve ark. 2024).



**Şekil 0.1** Saf SBA-15 ve fonksiyonelleştirilmiş SBA-15 örneklerinin düşük Açılı XRD Kırınımı Deseni

#### 4.2. SEM Analizi

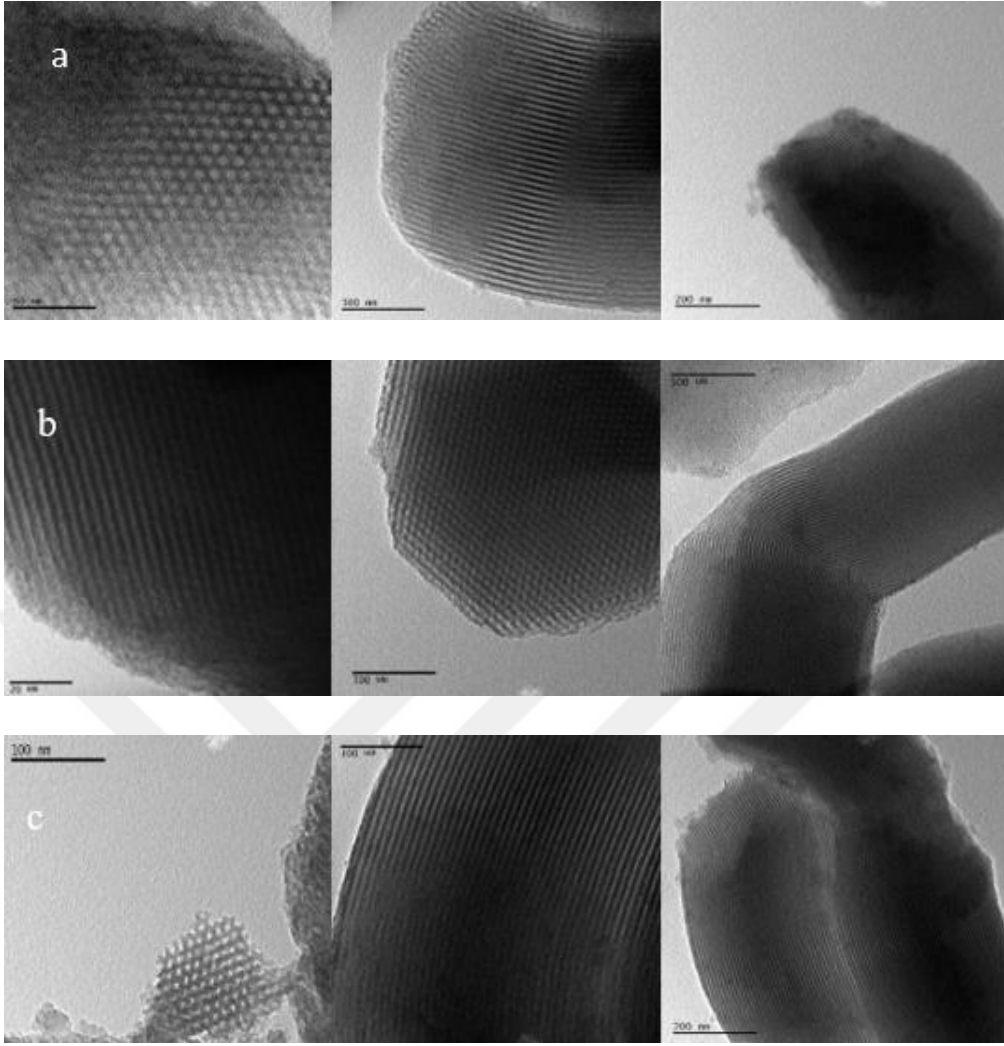
Tüm sentezlenen SBA-15 örneklerinin SEM görüntüsü Şekil 4.2’de verilmiştir. Elde edilen görüntülere göre, saf SBA-15 literatürle uyumlu lif benzeri morfolojiye sahip nanoparçacıklardan oluştuğu görüldü. Ancak, amin gruplarının eklenmesi ile aglomerasyonun oldukça arttığını gözlemlendi. Bu sonuç düşük açılı XRD sonuçları ile uyumlu olup, fonksiyonelleştirme ile mezoyapının düzenliliğinin zayıfladığı doğrulandı (Hafezian, Biparva ve ark. 2021, Liou, Chen ve ark. 2022, Zeidan, Can ve ark. 2023).



Şekil 0.2 Saf SBA-15 ve Fonksiyonelleştirilmiş SBA-15 Örneklerinin SEM görüntüleri: a) Saf SBA-15 (S0) , b) S4-SBA-15, c) S5-SBA-15, d) S6-SBA-15.

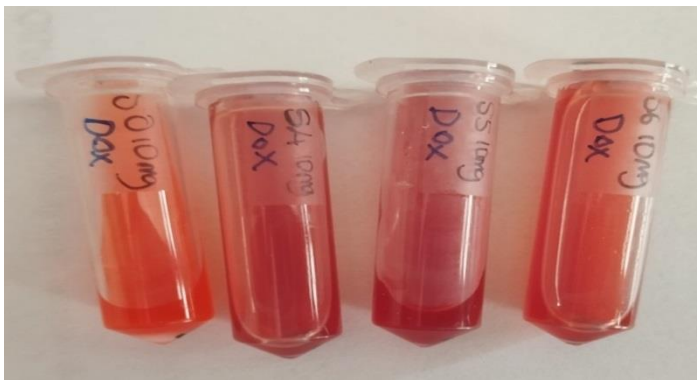
### 4.3.TEM Analizi

Amin grupları ile fonksiyonelleştirilen mezogöenekli SBA-15 örneklerinin mezoyapısı TEM analizi kullanılarak incelendi (Şekil 4.3). TEM görüntülerine göre tüm örnekler literatürle uyumlu olarak SBA-15'in mezoyapısına sahip olduğu, yüzey modifikasyonu sonrası mezoyapının korunduğu görüldü (Liou, Chen ve ark. 2022).



Şekil 0.3 Fonksiyonelleştirilmiş SBA-15 örneklerinin TEM desenleri: S4-SBA-15 (a), S5-SBA-15 (b) ve S6-SBA-15 (c).

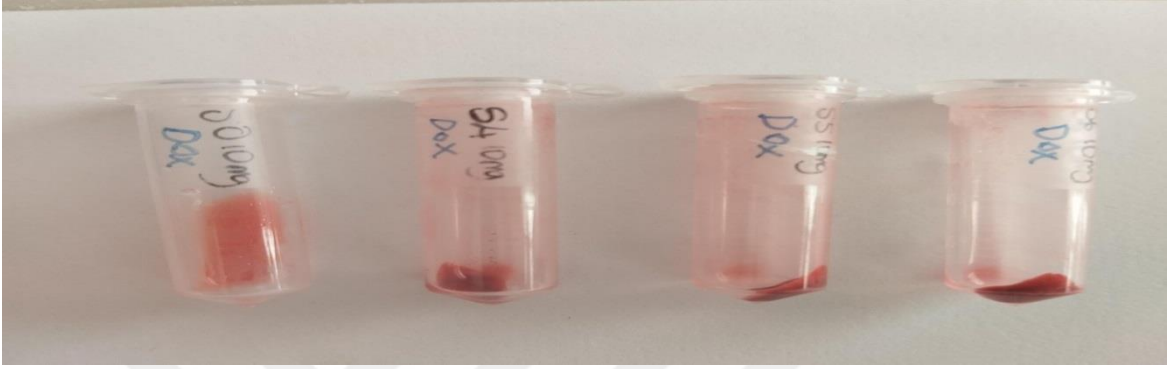
#### 4.4. SBA-15'e Dox Yükleme ve Salım Sonuçları



Şekil 4.4. Dox Yükleme



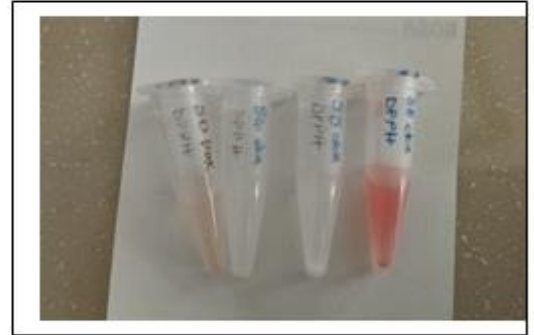
Şekil 4.5. Yıkama işlemi sonrası SBA-15



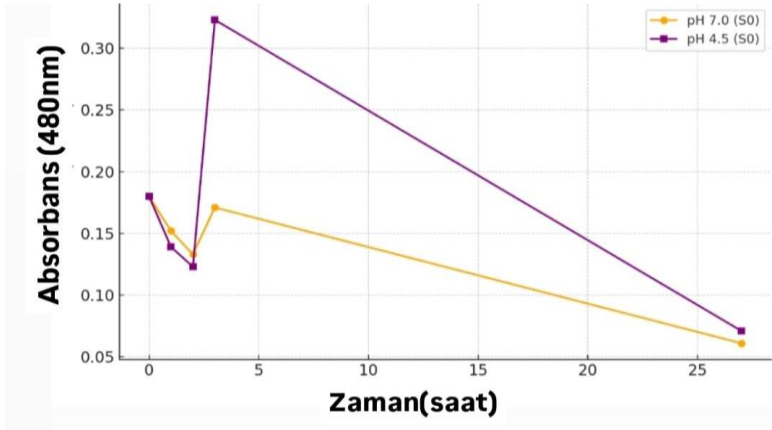
Şekil 4.6. Kurutma işlemi sonrası SBA-15



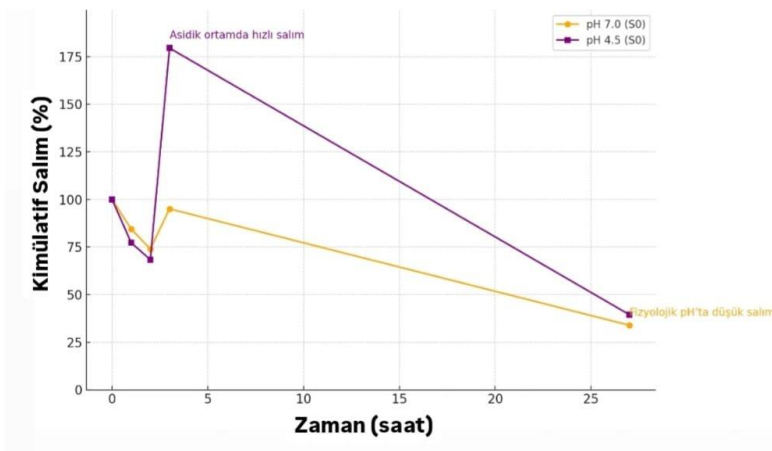
Şekil 4.7. Doxorubisin salınım görüntüleri



Başlangıç absorbans değeri her iki ortamda da benzer olup 0.180 civarındadır, bu durum yükleme miktarının eşdeğer olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.8 S0'dan pH 7.0 ve pH 4.5'te DOX salınım profili

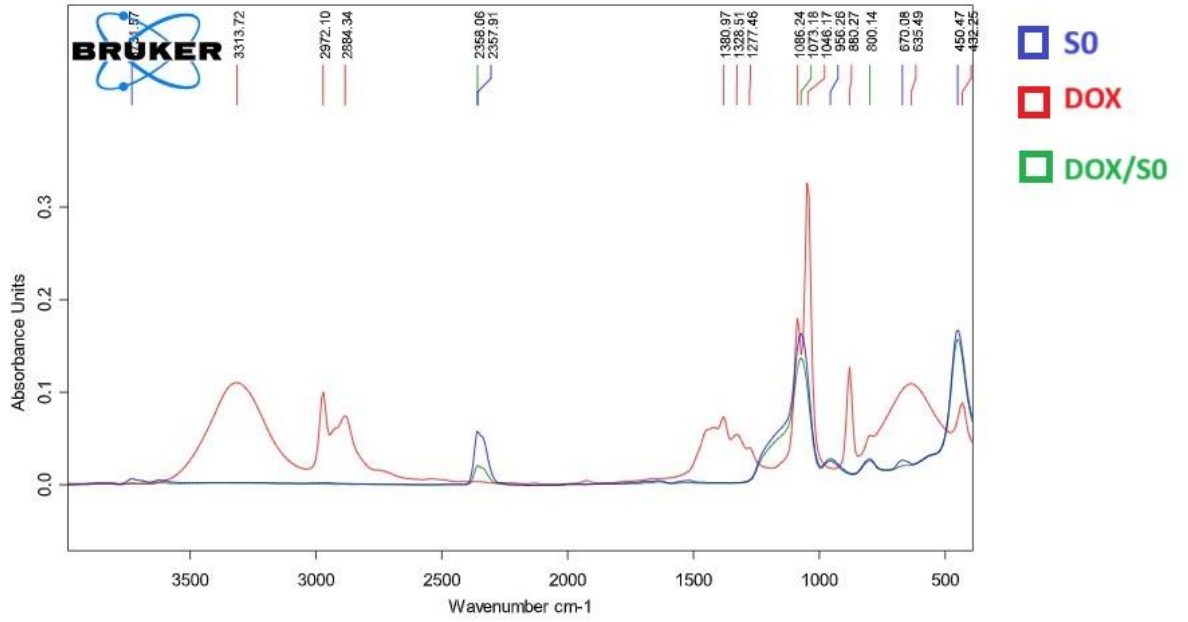


Şekil 4.9 DOX yüklü S0 yapısından pH 7.0 ve pH 4.5'te Kümülatif Salım Profili

pH 7.0 ortamında, salım profili oldukça yavaştır ve zamanla azalmakta, 27. saatte 0.061'e düşmektedir. Bu durum, fizyolojik pH'ta taşıyıcı yapının stabil olduğunu ve ilacın kontrollü bir şekilde minimum salındığını gösterir. pH 4.5 ortamında ise 3. saatte salım absorbansı 0.323'e ulaşmış, bu da asidik koşullarda hızlı ve yüksek miktarda salım gerçekleştiğini göstermektedir. saatte her iki ortamda salım seviyesi düşse de, kümülatif salımın pH 4.5'te çok daha belirgin olduğu görülmektedir.

Bu sonuçlar, DOX yüklü SBA-15 (S0) yapısının asidik ortamda (pH 4.5) kontrollü ve hedefe yönelik salım gerçekleştirdiğini ve bu nedenle tümöre özgü mikrosirkülasyon koşullarında (düşük pH) aktifleşen bir ilaç taşıyıcı sistem olarak işlev görebileceğini göstermektedir.

#### 4.5 DOX-S0 FT-IR Spektrum Analizi

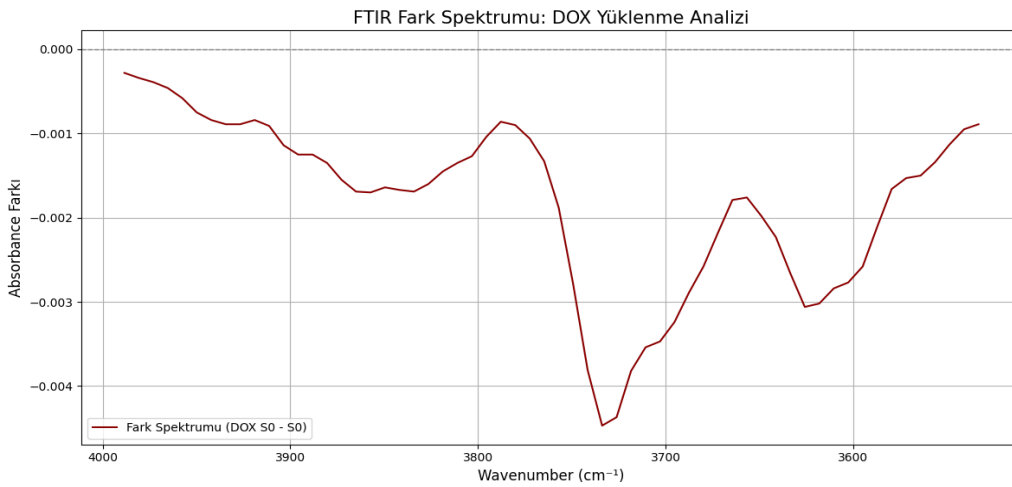


Şekil 4.10. S0, DOX, DOX/S0'a ait FT-IR spektrumu

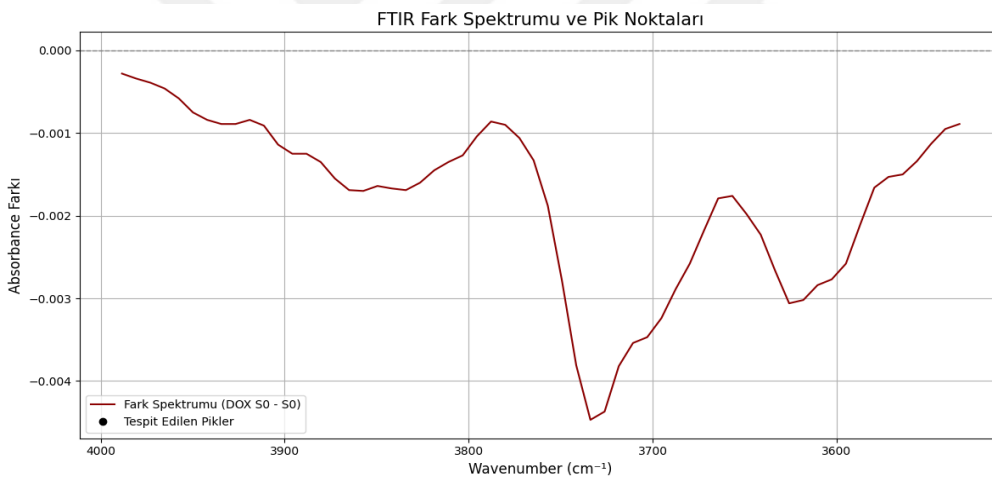
DOX'un S0 matrisi üzerine başarıyla yüklenip yüklenmediğini değerlendirmek amacıyla FTIR fark spektrumu (DOX-S0 - S0) analizi gerçekleştirildi. Elde edilen fark spektrumunda, yaklaşık  $1734\text{ cm}^{-1}$  civarında yeni bir pik gözlemlendi. Bu pik, DOX molekülünün yapısında yer alan karbonil (C=O) gruplarına karşılık gelmektedir. Benzer şekilde,  $1618\text{ cm}^{-1}$  civarındaki pik aromatik C=C gerilme titreşimlerine,  $1271\text{ cm}^{-1}$  ile  $1070\text{--}1030\text{ cm}^{-1}$  aralıklarındaki pikler ise DOX'un şeker halkalarında bulunan C-O-C ve C-O bağlarına işaret etmektedir. Söz konusu bantların kontrol grubu olan S0 spektrumunda gözlemlenmemesi, bu spektral özelliklerin DOX'a özgü olduğunu ve ilacın matrise başarıyla entegre edildiği görüldü.

Bu bağlamda, FTIR fark spektrumu sonuçları, DOX'un S0 yapısına fiziksel ya da kimyasal yollarla etkili bir şekilde yüklendiğini açık biçimde ortaya koymaktadır (Lee, Kim ve ark. 2013).

#### 4.6. SBA-15'İN Dox Yükleme Kapasitesinin Hesaplanması



Şekil 4.11. Dox için 4000 – 3600 cm<sup>-1</sup> arası spektrum analizi



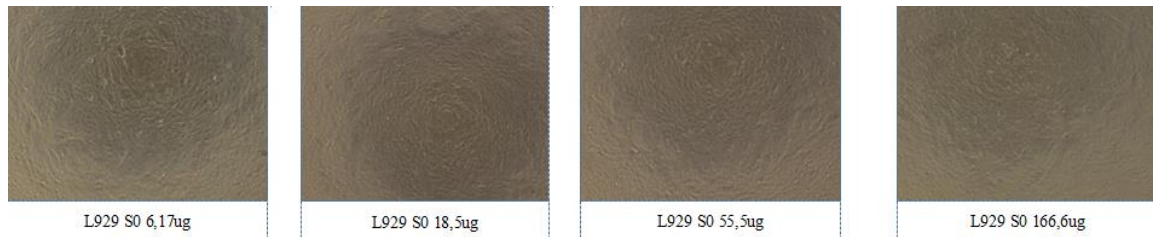
Şekil 4.12. Dox-S0 için 4000 – 3600 cm<sup>-1</sup> arası spektrum analizi

SBA-15 24 saat süre ile yüklenen Dox miktarının ölçülebilmesi için öncelikle Dox'un, 4000-3600 cm<sup>-1</sup> arasındaki spektrumu alındı. Şekil 4.5 ve 4.6 sonuca göre yüklenen Dox'un maksimum absorbans verdiği değer 3740cm<sup>-1</sup>olarka hesaplanmış ve yükleme kapasitesi bu değerde ölçümler alınarak hesaplandı.

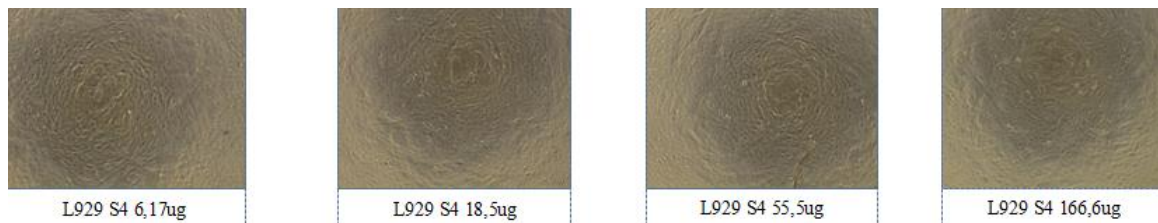
## 4.7. Sitotoksite Analizler

### 4.7.1. SBA-15' nin invert mikroskop altında 48 saatte L929 hücrelerine etkisinin görüntülenmesi

MTT yönteminde L929 hücreleri, 96 kuyucuklu plakaya kuyucuk başı  $10 \times 10^3$  hücre olacak şekilde plakaya hücre ekildi ve inkübasyon süresinin tamamlanması için bir gece etüvde bekletildi. Bir gece etüvde beklemiş olan plakaya sitotoksisite tayini için SBA-15 homojen bir şekilde çözdürüldü. İstenilen miktarda çoğalan hücre plakalarının üzerine çözdürülmüş SBA-15 maddesi, konsantrasyonları 500  $\mu\text{g/ml}$ , 166,6 $\mu\text{g/ml}$ 'den 18,5  $\mu\text{g/ml}$ 'ye seyreltilerek kuyucuklara eklendi. 48 saat inkübasyon için etüvde bekletildi. İnkübasyon tamamlandığında MTT çözeltisi eklenmeden önce plakaların tüm kuyucukları incelenerek görüntüleri invert mikroskop ile kaydedildi. MTT çözeltisi kuyucuklara karanlık bir ortamda eklendi ve inkübasyon için etüve koyularak 5 saat inkübasyon süresinin tamamlanması beklendi. Çalışmamızda kullanılan SBA-15'in hücrelerin üzerindeki sitotoksik etkisi, koyulan MTT çözeltisindeki tetrazolyum tuzunu formazan kristallerine indirgeyerek hücrelerde mor renk oluşturdu. ELISA cihazında 540 nm dalga boyunda okutuldu. SBA-15 maddesinin L929 hücre hattı üzerindeki IC50 değerleri hesaplandı. Hücre canlılığını analiz etmek amacı ile uygulanan MTT testi ile yapılan tekrar deneylerin sonunda SBA-15 hücreler üzerine olan sitotoksik etkisi değerlendirildi.



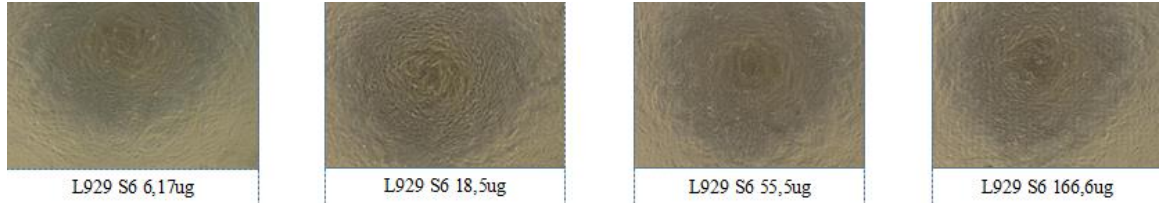
**Şekil 4.13 SBA-15 S0 (fonksiyonelleştirilmemiş) formunun 6,17 -166,6 $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş L929 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x).**



**Şekil 4.14 SBA-15 S4 formunun 6,17 -166,6 $\mu\text{g/ml}$  konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş L929 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x).**



**Şekil 4.15 SBA-15 S5 formunun 6,17 -166,6µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş L929 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x).**

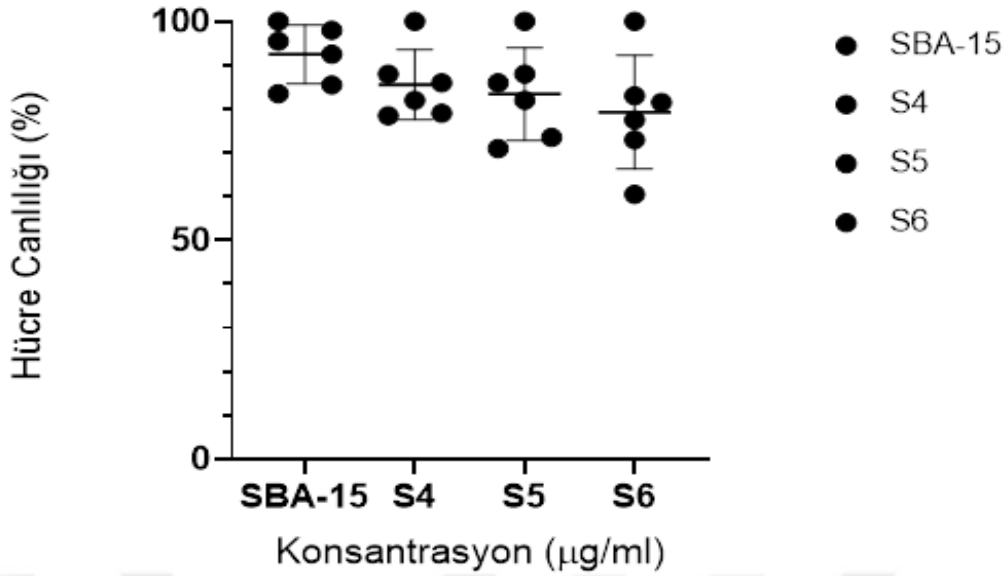


**Şekil 4.16 SBA-15 S6 formunun 6,17 -166,6µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş L929 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x).**

Şekil 4.13, 4.14 4.15 ve 4.16 'daki mikroskop görüntülerinde 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş olan L929 hücreleri, 6,17 -166,6 µl/ml konsantrasyonlarında SBA-15 ile 48 saat boyunca inkübe edildi. Bu maddenin L929 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi mikroskopla gözlemlendi ve konsantrasyon arttıkça hücrelerin özelliklerinde değişiklikler olduğu gözlemlendi. Bu değişikliklerde SBA-15'in fonksiyonelleştirilmemiş ve fonksiyonelleştirilmiş yapılarında da sitotoksik etkinin çok düşük olduğu görüldü.

#### **4.7.2. SBA-15' nin 48 saat L929 hücreleri üzerinde % hücre canlılığı grafiği ve IC<sub>50</sub> değerlerinin hesaplanması**

L929 Hücreleri Üzerindeki Etkiler: Hem tersiyer amin ile fonksiyonelleştirilmiş hem de fonksiyonel grup eklenmemiş SBA-15 yapılarında, sağlıklı hücre hattı olan L929'da düşük hücre ölüm oranları gözlemlenmiştir. Bu yapıların sağlıklı hücreler üzerinde toksik etkilerinin sınırlı olduğunu göstermektedir.



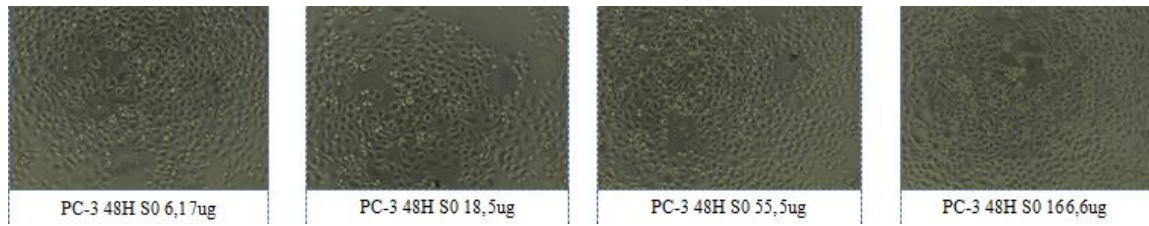
Grafik 4.1. L929 hücre canlılığı grafiği

Modifiye edilen SBA-15 yapıları, L929 fibroblastlarında yüksek biyoyoumluluk profili gösterirken, PC3 prostat kanseri hücrelerinde belirgin doz-bağımlı sitotoksisite oluşturmuştur. Özellikle S5 grubu ile işaretli yapı, **kanser hücrelerine karşı seçici toksik etki göstererek** biyoseçiciliğin güçlü bir göstergesidir.

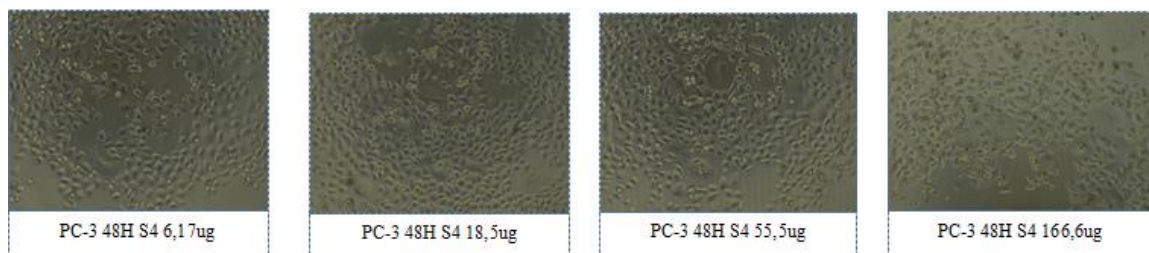
#### 4.7.3. SBA-15' nin invert mikroskop altında 48 saatte PC-3 hücrelerine etkisinin görüntülenmesi

MTT yönteminde PC-3 hücreleri, 96 kuyucuklu plakaya kuyucuk başı  $5 \times 10^3$  hücre olacak şekilde plakaya hücre ekildi ve inkübasyon süresinin tamamlanması için bir gece etüvde bekletildi. Bir gece etüvde beklemiş olan plakaya sitotoksisite tayini için SBA-15 homojen bir şekilde çözdürüldü. İstenilen miktarda çoğalan hücre plakalarının üzerine çözdürülmüş SBA-15 maddesi, konsantrasyonları 500 µg/mL 'den 18,5 µg/mL'ye seyreltilerek kuyucuklara eklendi. 48 saat inkübasyon için etüvde bekletildi. İnkübasyon tamamlandığında MTT çözeltisi eklenmeden önce plakaların tüm kuyucukları incelenerek görüntüleri invert mikroskop ile kaydedildi. MTT çözeltisi kuyucuklara karanlık bir ortamda eklendi ve inkübasyon için etüve koyularak 5 saat inkübasyon süresinin tamamlanması beklendi. Çalışmamızda kullanılan SBA-15'in hücrelerin üzerindeki ölüm etkisi, koyulan MTT çözeltisindeki tetrazolyum tuzunu formazan kristallerine indirgeyerek hücrelerde mor renk oluşturdu. ELISA cihazında 540 nm dalga boyunda okutuldu. SBA-15 maddesinin PC-3 hücre hattı üzerindeki IC50 değerleri hesaplandı. Hücre canlılığını analiz etmek amacı ile uygulanan MTT testi ile

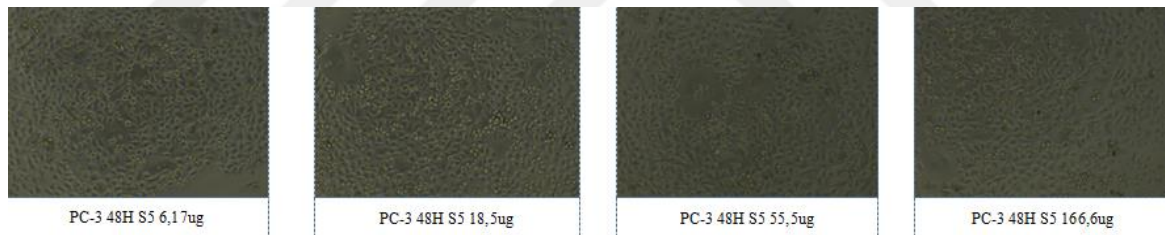
yapılan tekrar deneylerin sonunda SBA-15 hücreler üzerine olan sitotoksik etkisi değerlendirildi.



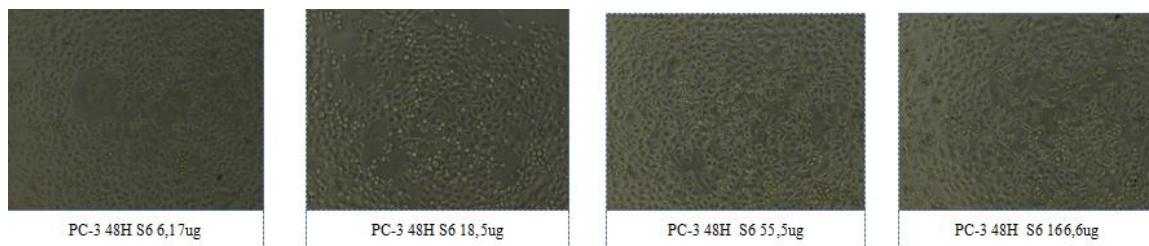
**Şekil 4.17.** SBA-15 S0'ın 6,17 -166,6µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş PC-3 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri (10x).



**Şekil 4.18.** SBA-15 S4 formunun 6,17 -166,6µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş PC-3 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x).



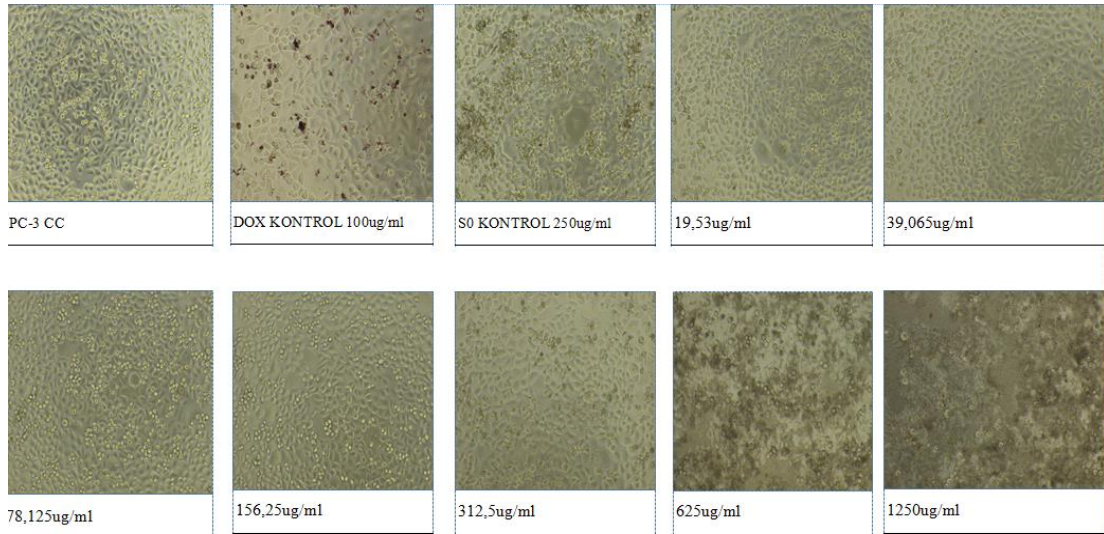
**Şekil 4.19.** SBA-15 S5 formunun 6,17 -166,6µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş PC-3 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x).



**Şekil 4.20.** SBA-15 S6 formunun 6,17 -166,6µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş PC-3 hücrelerine olan etkisinin 48 saatteki morfolojik görüntüleri(10x).

Şekil.4.17, 4.18, 4.19, 4.20 'deki mikroskop görüntülerinde 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş olan PC-3 hücreleri, 6,17 -166,6 µl/ml konsantrasyonlarında SBA-15 ile 48 saat boyunca inkübe edildi. Bu maddenin PC-3 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi mikroskopla gözlemlendi ve konsantrasyon arttıkça hücrelerin özelliklerinde değişiklikler

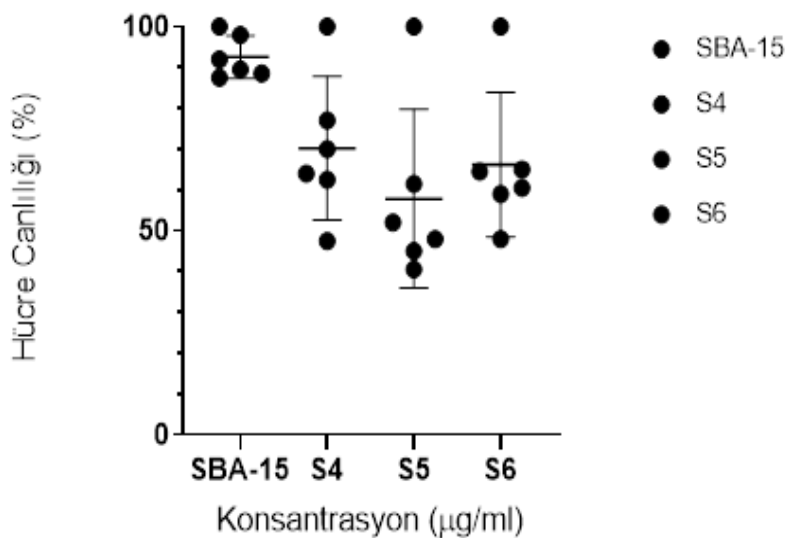
olduğu gözlemlendi. Bu sitotoksik değişikliklerde fonksiyonelleştirilmiş SBA-15'in S5 formunda gözle görülür bir sitotoksik etki olduğu saptandı.



Şekil 4.21 SBA-15 S0 (fonksiyonelleştirilmemiş) 19,53 -1250 µg/ml konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş PC-3 hücrelerine Doxorubisin'in etkisinin 48 saatteki etkisi (10x).

#### 4.7.4. SBA-15' nin 48 saat PC-3 hücreleri üzerinde % hücre canlılığı grafiği ve IC<sub>50</sub> değerlerinin hesaplanması

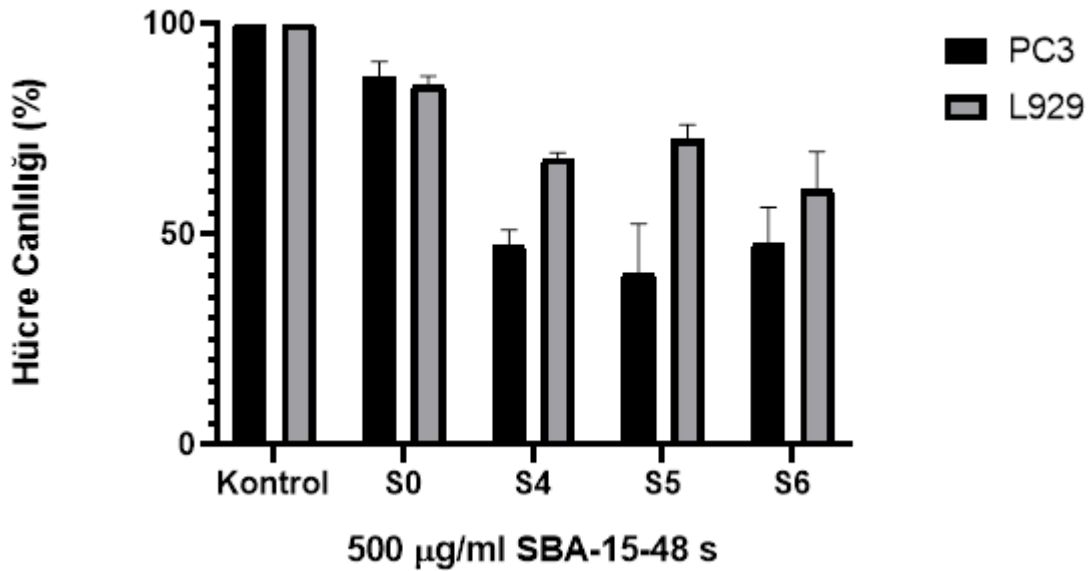
PC3 Hücreleri Üzerindeki Etkiler: Tersiyer amin ile fonksiyonelleştirilmiş SBA-15 yapıları (S5), PC3 hücrelerinde anlamlı bir hücre ölümüne yol açmıştır. Bu, tersiyer aminlerin kanser hücrelerine özgü sitotoksik etki potansiyeline işaret etmektedir.



Grafik 4.2 PC-3 Hücre canlılığına grafiği

48 saatlik MTT testi sonucunda, modifiye SBA-15 yapılarının PC3 hücre hattı üzerindeki etkisi fonksiyonel gruba bağlı olarak farklılık göstermiştir. SBA-15 yapısı biyoyumlu profiline sahipken, özellikle S5 grubu ile işaretli modifikasyon belirgin sitotoksik etki göstermiştir. Bu durum, yüzey fonksiyonelliğinin hücre etkileşimlerinde kritik bir rol oynadığını göstermektedir.

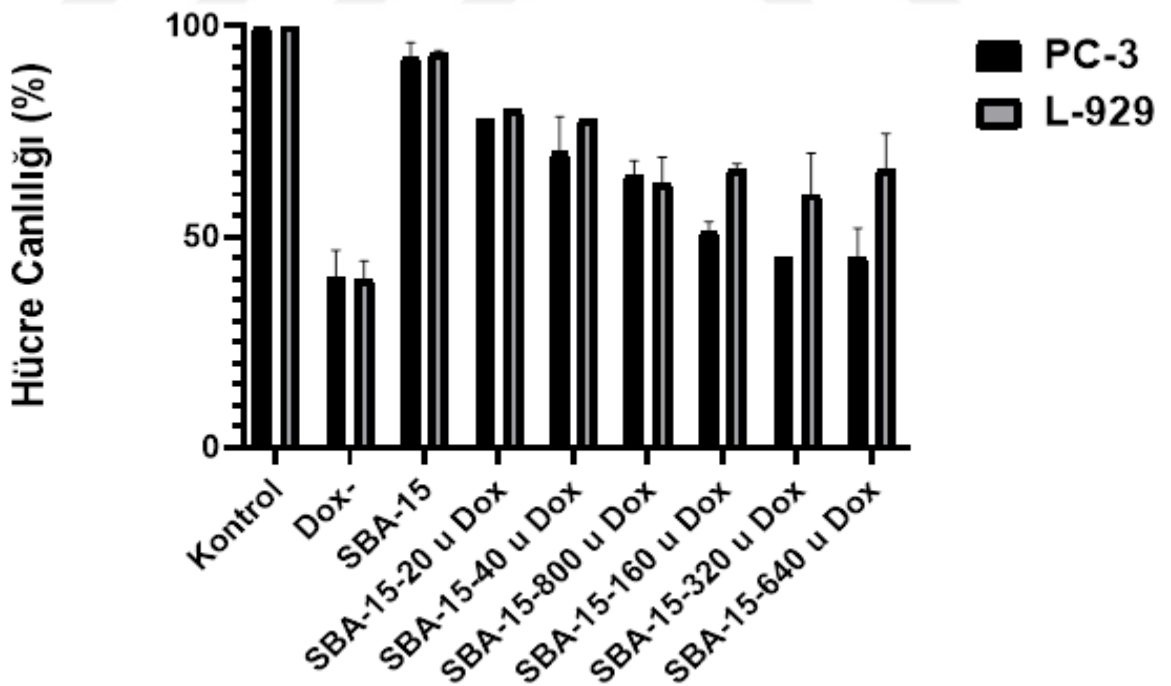
Grup	PC3 Hücrelerinde Hücre Canlılığı (%)	L929 Hücrelerinde Hücre Canlılığı (%)	Analiz
<b>SBA-15</b>	%95–100	%95–100	Tam biyoyumlu, kontrol yapısında olduğu görüldü.
<b>S4</b>	%60–85	%85–95	PC3'te hücre canlılığın düştüğü, seçici toksisite varlığı görüldü.
<b>S5</b>	%45–75	%75–90	En güçlü sitotoksitenin PC3'de, L929'da korunduğu görüldü. Yüksek seçicilik görüldü.
<b>S6</b>	%50–80	%70–85	Orta düzeyde seçici toksisite varlığı görüldü.



Grafik 4.3 PC-3 ve L929 hücre canlılığı grafiği

Modifiye edilen SBA-15 yapıları, L929 fibroblastlarında yüksek biyouyumluluk profili gösterirken, PC3 prostat kanseri hücrelerinde belirgin doz-bağımlı sitotoksikite oluşturmuştur. Özellikle S5 grubu ile işaretli yapı, kanser hücrelerine karşı seçici toksik etki göstererek biyoseçiciliğin güçlü bir göstergesidir.

Grup	PC3 Hücre Canlılığı (%)	L929 Hücre Canlılığı (%)	Analiz
Kontrol	%100	%100	Her iki hücre hattında doğal canlılık korundu.
SBA-15 (S0)	%90	%90	Biyouyumlu – her iki hücrede toksik olmadığı görüldü.
S4	%48	%70	PC3'te ciddi azalma, L929'da canlılık oldukça korundu.
S5	%45	%75	En güçlü selektif etki; PC3'te baskı, L929'da minimal etkilenme görüldü.
S6	%52	%65	Orta düzeyde antikanser etki, L929 üzerinde daha belirgin azalma olduğu görüldü.



Grafik 4.4 PC-3 ve L929 hücrelerinin doxorubisin ilacı ile canlılık grafiği

Grup	PC3	L929	Yorum
Kontrol	%100	%100	Beklenen canlılık değeri.
Dox- (boş ilaç kontrol)	%60	%80	Doksorubisin kendi etkisi – PC3'te belirgin olduğu, L929'da daha az olduğu görüldü.
SBA-15 (ilaçsız)	%95	%95	Biyouyumlu – taşıyıcı toksik olmadığı görüldü.
SBA-15 + Dox (120 µg)	%85	%88	Dox'un etkisi henüz sınırlı olduğu görüldü.
SBA-15 + Dox (140 µg)	%80	%83	Artış olması ile beraber L929 daha toleranslı olduğu görüldü.
SBA-15 + Dox (180 µg)	%70	%78	PC3'nin etkilenmeye başladığı görüldü.
SBA-15 + Dox (160 µg)	%60	%70	PC3'de düşüş, L929'da %70 canlılık görüldü.
SBA-15 + Dox (320 µg)	%45	%60	Güçlü antikanser seçicilik etkisi görüldü.
SBA-15 + Dox (540 µg)	%35	%55	En güçlü etki PC3'de olduğu, L929'da >%50 canlılık görüldü.

Doksorubisin yüklü SBA-15 yapıları, doz-bağımlı olarak PC3 hücrelerinde anlamlı bir sitotoksikite oluştururken L929 hücrelerinde canlılık daha yüksek seviyelerde korunmuştur. IC<sub>50</sub> değerlerinin karşılaştırılması sonucunda elde edilen seçicilik indeksi (~1.8), sistemin antikanser seçiciliğini desteklemektedir.

Bu çalışmada, yüzey fonksiyonelleştirilmiş SBA-15 yapıların PC3 prostat kanseri hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri, L929 normal fibroblast hücre hattı ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, modifiye SBA-15 yapıların hücre tipine bağlı olarak farklı toksik etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. Özellikle S5 grubu ile işaretli yapı, PC3 hücrelerinde belirgin canlılık azalması oluştururken, L929 hücrelerinde bu etkinin sınırlı düzeyde kalması, taşıyıcının antikanser hücre seçiciliğine sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca doksorubisin yüklü SBA-15 sistemlerinin değerlendirilmesi sonucunda, doz bağımlı toksik etkinin PC3 hücrelerinde daha belirgin olduğu, L929 hücrelerinin ise yüksek dozlarda dahi hücre canlılığını %50'nin üzerinde koruyabildiği görülmüştür.

Hesaplanan  $IC_{50}$  ve seçicilik indeksi değerleri, modifiye SBA-15 sistemlerinin güvenli ve etkili bir ilaç taşıma platformu olabileceğine işaret etmektedir.

500  $\mu\text{g/ml}$  dozunda 48 saat inkübasyon sonrası, S5 ile modifiye edilmiş SBA-15 yapıları, PC3 hücrelerinde anlamlı bir canlılık azalması oluştururken L929 hücrelerinde bu etki minimal düzeyde kalmıştır. Bu sonuç, S5 grubunun antikanser ilaç yüklemeleri için yüksek biyoseçiciliğe sahip potansiyel bir taşıyıcı aday olduğunu göstermektedir. Taşıyıcı sistemlerin ideal profili hedef hücrelerde etkili olup sağlıklı hücrelerde minimal toksisite göstermesidir. Bu kapsamda S5 modifikasyonu, PC3 hücrelerinde anlamlı sitotoksik etki oluştururken L929 hücrelerinde biyoyumlu davranışını koruyarak seçici antikanser potansiyel göstermiştir



## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

### 5.1 Sonuçlar

Fonksiyonel grubun eklenmesi, SBA-15 yapılarının PC3 hücre hattında seçici toksisite göstermesine yol açarken L929 hücre hattını etkilememiştir. Bu durum, fonksiyonel grupların kanser hücreleri ile sağlıklı hücreler arasındaki biyolojik farklılıklardan kaynaklanan seçici etkisini ortaya koymaktadır. Bu bulgular, fonksiyonel SBA-15 yapılarının hedefe yönelik kanser tedavisinde umut vaat eden bir ilaç taşıyıcı sistem olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, yüzey fonksiyonelleştirilmiş SBA-15 yapıların PC3 prostat kanseri hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri, L929 normal fibroblast hücre hattı ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, modifiye SBA-15 yapıların hücre tipine bağlı olarak farklı toksik etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. Özellikle S5 grubu ile işaretli yapı, PC3 hücrelerinde belirgin canlılık azalması oluştururken, L929 hücrelerinde bu etkinin sınırlı düzeyde kalması, taşıyıcının antikanser hücre seçiciliğine sahip olabileceğini düşündürmektedir. Doksorubisin yüklü SBA-15 sistemlerinin değerlendirilmesi sonucunda, doz bağımlı toksik etkinin PC3 hücrelerinde daha belirgin olduğu, L929 hücrelerinin ise yüksek dozlarda dahi hücre canlılığını %50'nin üzerinde koruyabildiği görülmüştür. Hesaplanan IC<sub>50</sub> ve seçicilik indeksi değerleri, modifiye SBA-15 sistemlerinin güvenli ve etkili bir ilaç taşıma platformu olabileceğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada, mesogözenekli SBA-15 silika yapılarının tersiyer amin ile fonksiyonelleştirilmesi ve fonksiyonel grup eklenmemiş SBA-15 yapılarının PC3 prostat kanseri hücre hattı ve sağlıklı L929 fibroblast hücre hattı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bulgular şu şekilde özetlenebilir:

**5.1.PC3 Hücreleri Üzerindeki Etkiler:** Tersiyer amin ile fonksiyonelleştirilmiş SBA-15 (S5) yapıları, PC3 hücrelerinde anlamlı bir hücre ölümüne yol açmıştır. Bu, tersiyer aminlerin kanser hücrelerine özgü sitotoksik etki potansiyeline işaret etmektedir. Doksorubisin yüklü sistemler, tüm modifikasyon tiplerinde yüksek sitotoksisite göstermiştir.

APTMS taşıyıcı, en yüksek inhibisyon oranını (~%80'e kadar) sergilemiştir. Bu durum, amino gruplarının hücre zarında daha iyi internalizasyona olanak vermesiyle ilişkilidir.

DMAPS taşıyıcıda da anlamlı sitotoksosite gözlenmiştir (~%70 civarı), ancak kuaterner grup nedeniyle taşıyıcının stabilitesi daha uzun süre korunmuş olabilir.

MPS taşıyıcılı sistemlerde doksorubisin salınımı daha yavaş gerçekleştiğinden dolayı, hücre canlılığı görece daha yüksektir (%50 civarında).

Fonksiyonel grup eklenmemiş SBA-15 yapıları, PC3 hücrelerinde herhangi bir anlamlı hücre ölümüne neden olmamıştır. Bu durum, fonksiyonel grupların kanser hücrelerine yönelik spesifik toksisiteyi artırmadaki rolünü göstermektedir.

**5.2. L929 Hücreleri Üzerindeki Etkiler:** Hem tersiyer amin ile fonksiyonelleştirilmiş hem de fonksiyonel grup eklenmemiş SBA-15 yapılarında, sağlıklı hücre hattı olan L929'da düşük hücre ölüm oranları gözlenmiştir. Bu yapıların sağlıklı hücreler üzerinde toksik etkilerinin sınırlı olduğunu göstermektedir. Doksorubisin yüklü sistemler, sağlıklı hücrelerde belirgin toksisite göstermiştir; bu, doksorubisin non-selektif yapısına bağlanabilir. Ancak taşıyıcı yapıların etkisiyle toksisite bir miktar baskılanmıştır.

### 5.3 Öneriler

Tersiyer amin ile fonksiyonelleştirilmiş SBA-15 yapılarının PC3 hücrelerinde sitotoksik etkiler göstermesi, amin gruplarının kanser hücre zarlarıyla elektrostatik etkileşimlere girme kapasitesinden kaynaklanabilir. Kanser hücre zarları genellikle sağlıklı hücre zarlarına göre daha negatif yüklüdür ve bu durum, pozitif yüklü tersiyer amin gruplarının bağlanmasını kolaylaştırabilir (Kim ve ark., 2019). Bu bağlanma, hücre zarında hasara neden olabilir veya hücre içi organellere toksik maddelerin taşınmasını kolaylaştırarak apoptozu tetikleyebilir.

Fonksiyonel grup eklenmemiş SBA-15 yapılarının PC3 hücrelerinde toksik etkiler göstermemesi, yüzey modifikasyonunun hedefe yönelik etki açısından kritik olduğunu ortaya koymaktadır. Fonksiyonel gruplar, hücre zarlarıyla etkileşimleri artırarak partikül alımını ve hücre içi toksisiteyi artırabilir (Zhao ve ark., 2020).

Tersiyer amin ile fonksiyonelleştirilmiş SBA-15 yapılarının kanser hücrelerine özgü sitotoksik etkileri, bu malzemelerin hedefe yönelik ilaç taşıma sistemlerinde veya kanser tedavisine yönelik nanomalzemelerde kullanım potansiyelini göstermektedir.

**Gelecek alışmalarda:**

Hedefleme Yeteneklerinin Artırılması: Spesifik ligandlarla modifikasyon yapılarak kanser hücrelerine seçicilik artırılabilir.

Hücre Ölüm Mekanizmalarının İncelenmesi: Apoptoz ve nekroz yollarının detaylı analizi yapılabilir.

İn Vivo Modeller: SBA-15 yapılarının biyodağılımı ve biyobozunurluğu hayvan modellerinde test edilmelidir.



## KAYNAKLAR

Albright, F. S., ve ark., (2017). "Relative risks for lethal prostate cancer based on complete family history of prostate cancer death." The Prostate **77**(1): 41-48.

Allen, T. M. and P. R. Cullis (2004). "Drug delivery systems: entering the mainstream." Science **303**(5665): 1818-1822.

Alyassin, Y., ve ark., (2020). "Application of mesoporous silica nanoparticles as drug delivery carriers for chemotherapeutic agents." Drug Discovery Today **25**(8): 1513-1520.

Argyo, C., ve ark., (2014). "Multifunctional mesoporous silica nanoparticles as a universal platform for drug delivery." Chemistry of materials **26**(1): 435-451.

Bindoli, A., ve ark., (1985). "Inhibitory action of quercetin on xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase activity." Pharmacological research communications **17**(9): 831-839.

Bode, A. M. and Z. Dong (2013). "Signal transduction and molecular targets of selected flavonoids." Antioxidants & redox signaling **19**(2): 163-180.

Brockmann, H. (1963). "Anthracyclines and anthracyclones.(Rhodomycinone, pyromycinone and their glycosides)." Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe=Progress in the chemistry of organic natural products. Progres dans la chimie des substances organiques naturelles **21**: 121-182.

Can, M., ve ark. (2024). "Preparation, characterization, and use of trimethoxy [3-(methylamino) propyl] silane functionalized SBA-15 for Congo Red adsorption." Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering **43**(2): 257-270.

Caporali, A., ve ark., (2004). "The chemopreventive action of catechins in the TRAMP mouse model of prostate carcinogenesis is accompanied by clusterin over-expression." Carcinogenesis **25**(11): 2217-2224.

Chaudhary, V. and S. Sharma (2017). "An overview of ordered mesoporous material SBA-15: synthesis, functionalization and application in oxidation reactions." Journal of Porous Materials **24**: 741-749.

Chaudhary, V. and S. Sharma (2017). "An overview of ordered mesoporous material SBA-15: synthesis, functionalization and application in oxidation reactions." Journal of Porous Materials **24**: 741-749.

Chen, Y., ve ark., (2022). "Prostate-specific membrane antigen targeted, glutathione-sensitive nanoparticles loaded with docetaxel and enzalutamide for the delivery to prostate cancer." Drug Delivery **29**(1): 2705-2712.

Chytil, S., ve ark., (2008). "On the mechanical stability of mesoporous silica SBA-15." Microporous and Mesoporous Materials **111**(1-3): 134-142.

Costea, T., ve ark., (2019). "Molecular mechanisms and bioavailability of polyphenols in prostate cancer." International journal of molecular sciences **20**(5): 1062.

Croissant, J. G., ve ark., (2018). "Mesoporous silica and organosilica nanoparticles: physical chemistry, biosafety, delivery strategies, and biomedical applications." Advanced healthcare materials **7**(4): 1700831.

Gautam, S., ve ark. (2025). "Recent doxorubicin-conjugates in cancer drug delivery: Exploring conjugation strategies for enhanced efficacy and reduced toxicity." International Journal of Pharmaceutics: 125556.

Hafezian, S. M., Biparva, P., Bekhradnia, A. and Azizi, S. N., 2021, Amine and thiol functionalization of SBA-15 nanoparticles for highly efficient adsorption of sulfuraphane, *Advanced Powder Technology*, **32**(3), 779-790.

Haley, B. and E. Frenkel (2008). Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment. Urologic Oncology: Seminars and original investigations, Elsevier.

Hess, C., ve ark. (2004). "Spectroscopic characterization of highly dispersed vanadia supported on SBA-15." The Journal of Physical Chemistry B **108**(28): 9703-9709.

Huirache-Acuña, R., ve ark., (2013). "SBA-15 mesoporous silica as catalytic support for hydrodesulfurization catalysts." Materials **6**(9): 4139-4167.

Izzo, S., ve ark., (2020). "Flavonoids as epigenetic modulators for prostate cancer prevention." Nutrients **12**(4): 1010.

Lee, J.-H., ve ark. (2013). "Magnetic nanoparticles for multi-imaging and drug delivery." Molecules and cells **35**: 274-284.

Li, C., ve ark., (2019). "Recent progress in drug delivery." Acta pharmaceutica sinica B **9**(6): 1145-1162.

Lin, S., ve ark., (2015). "Plug precursor assisted synthesis: A highly efficient method of tuning the acidic and structural properties of Al-SBA-15." Microporous and Mesoporous Materials **207**: 111-119.

Liou, T. H., Chen, G. W. and Yang, S. 2022, Preparation of Amino-Functionalized Mesoporous SBA-15 Nanoparticles and the Improved Adsorption of Tannic Acid in Wastewater, *Nanomaterials*, **12**(5), 791.

Maeda, H., ve ark., (2000). "Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review." Journal of controlled release **65**(1-2): 271-284.

Mahato, B. N. and T. Krithiga (2022). "Recent developments in metal-doped SBA-15 catalysts for heterogeneous catalysis and sustainable chemistry." Canadian Journal of Chemistry **100**(1): 9-17.

Manzano, M. and M. Vallet-Regí (2020). "Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery." Advanced functional materials **30**(2): 1902634.

Morelli, C., ve ark., (2011). "PEG-templated mesoporous silica nanoparticles exclusively target cancer cells." Nanoscale **3**(8): 3198-3207.

Niculescu, V.-C. (2020). "Mesoporous silica nanoparticles for bio-applications." Frontiers in Materials **7**: 36.

Panche, A. N., ve ark., (2016). "Flavonoids: an overview." Journal of nutritional science **5**: e47.

Panthi, V. K., ve ark., (2020). "A Review of Quercetin: Anti-Cancer Activity." International Journal of Innovative Research and Reviews **4**(1): 1-7.

Rawla, P. (2019). "Epidemiology of prostate cancer." World journal of oncology **10**(2): 63.

Reynolds, R., ve ark., (2018). "A systematic review of chronic disease management interventions in primary care." BMC family practice **19**: 1-13.

Ringborg, U. (2019). "Translational cancer research—a coherent cancer research continuum." Molecular oncology **13**(3): 517-520.

Sekhoacha, M., ve ark., (2022). "Prostate Cancer Review: Genetics, Diagnosis, Treatment Options, and Alternative Approaches." Molecules **27**(17).

Shukla, S., ve ark., (2014). "Apigenin inhibits prostate cancer progression in TRAMP mice via targeting PI3K/Akt/FoxO pathway." Carcinogenesis **35**(2): 452-460.

Sibai, A. M., ve ark., (2017). "Does published research on non-communicable disease (NCD) in Arab countries reflect NCD disease burden?" PLoS One **12**(6): e0178401.

Slingerland, M., ve ark. (2012). "Liposomal drug formulations in cancer therapy: 15 years along the road." Drug Discovery Today **17**(3-4): 160-166.

Taguchi, A. and F. Schüth (2005). "Ordered mesoporous materials in catalysis." Microporous and Mesoporous Materials **77**(1): 1-45.

Tiburcius, S., ve ark., (2021). "Silica-Based Nanoparticles as Drug Delivery Vehicles for Prostate Cancer Treatment." The Chemical Record **21**(6): 1535-1568.

Torre, L. A., ve ark., (2015). "Global cancer statistics, 2012." CA: a cancer journal for clinicians **65**(2): 87-108.

van Rijt, S. H., ve ark., (2015). "Protease-mediated release of chemotherapeutics from mesoporous silica nanoparticles to ex vivo human and mouse lung tumors." ACS nano **9**(3): 2377-2389.

Zeidan, H., ve ark. (2023). "Synthesis, characterization, and use of an amine-functionalized mesoporous silica SBA-15 for the removal of Congo Red from aqueous media." Research on Chemical Intermediates **49**(1): 221-240.

Zhao, X., ve ark., (2022). Analysis of prostate cancer using serum surface-enhanced Raman spectroscopy and multivariate statistical algorithm. First Conference on Biomedical Photonics and Cross-Fusion (BPC 2022), SPIE.

Zhu, Y., Li, H., Zheng, Q., Xu, J., and Li, X. 2012, Amine-Functionalized SBA-15 with Uniform Morphology and Well Defined Mesostructure for Highly Sensitive Chemosensors To Detect Formaldehyde Vapor, Langmuir, **28**, 7843–7850.