



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



MEDİKAL UYGULAMALARA YÖNELİK NANOPARTİKÜLLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Doktora Tezi

Ahmet ÇİFÇİ

Biyokimya Anabilim Dalı

İzmir
2022

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

MEDİKAL UYGULAMALARA YÖNELİK NANOPARTİKÜLLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Ahmet ÇİFÇİ

Danışman : Prof. Dr. Dilek ODACI DEMİRKOL

Biyokimya Anabilim Dalı
Biyokimya Doktora Programı

İzmir
2022

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI**

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Medikal Uygulamalara Yönelik Nanopartiküllerin Geliştirilmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

28/01/2022

İmzası

Ahmet ÇİFÇİ



ÖZET**MEDİKAL UYGULAMALARA YÖNELİK NANOPARTİKÜLLERİN
GELİŞTİRİLMESİ**

ÇİFÇİ, Ahmet

Doktora Tezi, Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Dilek ODACI DEMİRKOL

Ocak 2022, 100 sayfa

Bu tez çalışmasında, deksametazon ve diklofenak potasyum için kontrollü ilaç salımı çalışmalarında kullanım potansiyeli olan PEG-PPG-PEG/SPIONs temelli polimerik miseller ve doku mühendisliği çalışmalarında kullanım potansiyeli olan Polistiren/PEG-PPG-PEG/SPIONs temelli nanolifler geliştirilmiştir. Geliştirilen misellerin DLS boyut, nanoliflerin ise DLS, FTIR ve SEM ile karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Hedefli ilaç salım sisteminin uygulanabileceği alternatif manyetik alan kaynağı 120 W, 3 cm bobin çapı ile hazırlanmıştır. Geliştirilen miseller için optimize edilen koşullarda deksametazon ve diklofenak potasyum ilaçlarının oda sıcaklığı, +4 °C ve alternatif manyetik alan altında salım kinetikleri karşılaştırılmıştır. Nanolif çalışmalarında SPIONs içeren ve içermeyen Polistiren/PEG-PPG-PEG nanomalzemeleri elektroegirme ile geliştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, SPIONs içeren PEG-PPG-PEG misellerin alternatif manyetik alanda anlamlı olarak ilaç salım kinetiğinin değiştiği belirlenmiştir. Nanolif çalışmalarından elde edilen sonuçlar ise SPIONs içeren Polistiren/PEG-PPG-PEG elektroegrilmiş nanoliflerin SPIONs içermeyenlere kıyasla temas açılarının daha düşük olduğu ve biyokullanım potansiyellerinin daha yüksek olacağı öngörülmüştür. Ayrıca, geliştirilen misel ve nanoliflerin hücre canlılığına etkilerinin belirlenmesi amacıyla *in vitro* hücre kültürü çalışmaları gerçekleştirilmiş, biyouygunabilirlik potansiyelleri oldukça yüksek olarak bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Demir oksit, SPION, alternatif manyetik alan, hipertermi, triblok kopolimer, misel, elektroegrilmiş nanolif, polistiren, deksametazon, diklofenak potasyum.



ABSTRACT**DEVELOPMENT OF NANOPARTICLES FOR MEDICAL APPLICATIONS**

ÇİFÇİ, Ahmet

PhD in Biochemistry

Supervisor: Prof. Dr. Dilek ODACI DEMİRKOL

January 2022, 100 pages

In this thesis, PEG-PPG-PEG/SPIONs based polymeric micelles with potential for use in controlled drug release studies for dexamethasone and diclofenac potassium and Polystyrene/PEG-PPG-PEG/SPIONs based nanofibers with potential for use in tissue engineering studies were developed. Developed micelles were characterized by DLS size and nanofibers were characterized by DLS, FTIR and SEM. Alternative magnetic field source to which the targeted drug release system can be applied is prepared with 120 W and 3 cm coil diameter. The release kinetics of dexamethasone and diclofenac potassium drugs under the optimized conditions for the developed micelles were compared under room temperature, +4 °C and alternating magnetic field. In nanofiber studies, Polystyrene/PEG-PPG-PEG nanomaterials with and without SPIONs were developed by electrospinning. When the obtained results were evaluated, it was determined that the drug release kinetics of PEG-PPG-PEG micelles containing SPIONs changed significantly in the alternating magnetic field. The results obtained from nanofiber studies, on the other hand, were predicted that Polystyrene/PEG-PPG-PEG electrospun nanofibers containing SPIONs would have lower contact angles and higher biouse potentials compared to those without SPIONs. In addition, *in vitro* cell culture studies were carried out to determine the effects of the developed micelle and nanofibers on cell viability, and their bioapplicability potentials were found to be quite high.

Keywords: Iron oxide, alternating magnetic field, hyperthermia, triblock copolymer, micelle, electrospun nanofiber, polystyrene, electrospinning, dexamethasone, diclofenac potassium.



ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasındaki hedefim, biyomalzeme ve doku mühendisliği çalışmalarında kullanılabilecek farklı yapılarda PEG-PPG-PEG misel ve elektroëğirilmiş nanolifler geliştirmek, ilaç hedefleme potansiyellerini ve hücre canlılığına olan etkilerini değerlendirmektir. SPION içeren misel sistemlerinin, tasarlayıp geliştirilen alternatif manyetik alan (AMF) cihazı ile birlikte uygulandığında deksametazon ve diklofenak potasyum ilaçlarının salımını anlamlı olarak değıştirdiğini gösterildi. Doku mühendisliği çalışmalarında yüksek kullanım potansiyeli olan elektroëğirilmiş nanolifleri çeşitli oranlarda SPION ve PEG-PPG-PEG miseller kullanılarak sentezlendi ve geliştirilen biyomalzemelerin biyouyumlu ve biyouygulanabilir oldukları toksisite/canlılık analizleri sonuçlarıyla ortaya konuldu.

Bilim insanı olmaktan, disiplinlerarası araştırmalar yapmaktan, bilimsel sorular sorup yanıtını bulmaya çalışarak yaşamaktan dolayı mutluyum, müteşekkirim, gururluyum.

İZMİR

28/01/2022

Ahmet ÇİFÇİ



İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY SAYFASI	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
İÇİNDEKİLER	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xxi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Nanoteknoloji	5
2.2. Nanomalzemeler	5
2.2.1. Nanopartiküller	6
2.2.1.1. SPION’ların Yapısı ve Özellikleri	6
2.2.1.2. SPION Sentez Yöntemleri	7
2.2.1.3. SPION’ların Fonksiyonelleştirilmesi.....	9
2.2.1.4. SPION’ların Temel Biyomedikal Kullanım Alanları	15
2.2.2 Elektroeğrilmiş Nanolifler	26

2.2.2.1 Elektroeğirme ve Çalışma Prensipleri.....	27
2.2.2.2 Elektroeğirme Tekniğini Etkileyen Parametreler.....	29
2.2.2.2.1 Sistem Parametreleri.....	29
2.2.2.2.2 Çözelti parametreleri.....	32
2.2.2.2.3 Ortam Parametreleri.....	33
2.2.2.3 Elektroeğirme İşleminde Kullanılan Polimerler.....	34
2.2.2.4 Elektroeğrilmiş Nanoliflerin Biyomedikal Kullanımları.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1 Materyal.....	39
3.2 Kullanılan Cihazlar.....	39
3.3 SPION Sentezi.....	39
3.4 PEG-PPG-PEG Polimerik Misel Sentezi, Kritik Misel Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	40
3.5 İlaç Standartlarının Hazırlanması.....	41
3.6 Alternatif Manyetik Alan ve İlaç Salım Çalışmaları.....	42
3.7 PEG-PPG-PEG/SPION/Polistiren Elektroeğrilmiş Nanolif Sentezi.....	43
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	44
4.1 Fe ₃ O ₄ SPION Sentezi ve Karakterizasyonuna İlişkin Veriler.....	44
4.2 PEG-PPG-PEG Triblok Kopolimer SPION İçeren Misellerin Sentezi ve Karakterizasyonuna İlişkin Veriler.....	47
4.3 PEG-PPG-PEG/SPION İlaç Taşıyıcı Sistemine Deksametazon ve Diklofenak Potasyum Yüklenmesi ve Salım Çalışmaları.....	53

4.4 PEG-PPG-PEG/SPION İlaç Taşıma Sistemlerinin ve Kullanılan İlaçların Hücre Canlılık Analizlerinin Gerçekleştirilmesi.....	59
4.5 Merkezinde SPIONs ve İlaç Molekülleri İçeren PEG-PPG-PEG Polimerik Misellerin Nanolif Uygulamalarında Kullanımına İlişkin Sonuçlar.....	66
5. GENEL DEĞERLENDİRME.....	71
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	77
TEŞEKKÜR.....	95
ÖZGEÇMİŞ.....	97





ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil

Sayfa

Şekil 2.1. Birlikte çökelme metodu ile SPION sentez düzeneği. 1) İnert sentez ortamının yer aldığı üç boyunlu yuvarlak dipli balon. 2) Manyetik karıştırıcı. 3) Isı ölçer. 4) Baz ilave enjektörü. 5) İnert ortam sağlayan azot bağlantı kolu. 6) Bazın ilave edildiği sızdırmaz balon boynu (Panta et al., 2015).....	8
Şekil 2.2. a-c) Farklı kalınlıklarda silika ile yüzeyleri kaplanan SPION'ların TEM görüntüsü. d) Tek kalınlıkta silika ile yüzeyleri kaplanan SPION'ların HRTEM görüntüsü (Lu et al., 2002).....	13
Şekil 2.3. Farklı pluronic misellerin yapısı ve üç boyutlu simülasyonları. A) Normal pluronic B) Ters pluronic C) Farklı misellere ait üç boyutlu simülasyonlar (Perez et al., 2019).....	14
Şekil 2.4. Biyomedikal uygulamalarda kullanılabilen manyetik nanopartiküllerin farklı yüzey kaplama ve fonksiyonelleştirme işlemlerinin şematize edilmesi (Movia et al., 2016).....	17
Şekil 2.5. Lipozomlar ile fonksiyonelleştirilen SPION'ların hidrofilik bir ilacı enkapsüle edişinin ve salımının gösterimi (Monnier et al., 2014).....	18
Şekil 2.6. Deksmetazon'un moleküler yapısı (National Center for Biotechnology Information, CID 5743, 2022).....	19
Şekil 2.7. Diklofenak Potasyum'un moleküler yapısı (National Center for Biotechnology Information, CID 23667642, 2022).....	19
Şekil 2.8. Manyetik nanopartiküllerin biyomedikal alanda başlıca kullanımlarının şematize edilmesi (Gobbo et al., 2015).....	21
Şekil 2.9. İntravenöz enjeksiyonu yapılan FA-PEG-SPION'ların 24 saat sonra $H = 8 \text{ kA/m}$ and $f = 230 \text{ kHz}$.AMF altında termal görüntüsü (Hayashi et al., 2013)22	22

- Şekil 2.10.** Deney hayvanı tümör modelinde intravenöz enjeksiyonu yapılan FA-PEG-SPION'ların 24 saat sonra $H = 8 \text{ kA/m}$ and $f = 230 \text{ kHz}$.manyetik alan etkisinin 35 gün sonra alınmış tümör fotoğrafları (Hayashi et al., 2013). A) FA-PEG-SPION+AC manyetik alan B) Tedavi uygulanmamış C) FA-PEG-SPION D) AC manyetik alan.....23
- Şekil 2.11.** SPION'ların *in vivo* hedeflenmesinin şematize edilmiş hali. I)kuyruktan II) carotid arterden enjekte edilen SPION'lar III)damar kesiti IV) baş bölgesinde tumor doku etrafında manyetik alan kaynağı V) baş bölgesi tumor doku A) harici manyetik alan varlığında B)yokluğunda SPION birikimi (Paula et al., 2017).....24
- Şekil 2.12.** Elektroeğrilmiş nanoliflerin potansiyel uygulamaları (Weng and Xie, 2015).....26
- Şekil 2.13.** Elektroeğirme sisteminin şematik diyagramı (Xue et al., 2019).....28
- Şekil 2.14.** (a–c) Artan elektrik alanının etkisi altında polivinilpirolidon damlacığının üç aşamalı deformasyonunu gösteren dijital görüntüler, (d–f), yüklerin polimerik damlacıklar üzerindeki etkisinin mekanizmasını göstermektedir (Laudenslager and Sigmund, 2012).....30
- Şekil 2.15.** (PEG-PPG-PEG) triblok kopolimeri.....34
- Şekil 2.16.** Elektroeğrilmiş nanoliflerden ilaç salınımı (Torres-Martínez et al., 2019).....37
- Şekil 4.1.** Birlikte çökelme yöntemi ile sentezlenip yıkamaları tamamlanıp, hekzan içerisinde disperse edilip çözgeni uzaklaştırıldıktan sonra analizi yapılan Fe_3O_4 SPION'ların SEM görüntüsü.....45
- Şekil 4.2.** Süperparamanyetik nanopartiküle ait kuru kütle grafiği.....46
- Şekil 4.3.** Misel sentezinde kullanılan çözgenlere ilişkin DLS boyut analizi sonuçları.....48
- Şekil 4.4.** PEG-PPG-PEG polimerik misellerine ait kritik misel konsantrasyonu (CMC) belirlenmesi.....49

Şekil 4.5. Kloroform içerisinde hazırlanan PEG-PPG-PEG misel sentezine ait SPION:PEG-PPG-PEG oranlarına ilişkin DLS boyut sonuçları.....	50
Şekil 4.6. Deksametazon ilacına ait 200-800 nm dalga boyu aralığında absorbands tarama sonuçları.....	51
Şekil 4.7. Diklofenak potasyum ilacına ait 200-800 nm dalga boyu aralığında absorbands tarama sonuçları.....	51
Şekil 4.8. Deksametazon ilacına ait standart grafiği.....	52
Şekil 4.9. Diklofenak potasyum ilacına ait standart grafiği.....	52
Şekil 4.10. Tasarlanan ve geliştirilen AMF sistemi 12 V dönüştürücü, AMF kaynağı ve 3 mm çapında bobinden 120 W güç kaynağından oluşmaktadır.....	54
Şekil 4.11. Geliştirilen AMF Sisteminde Sistemik ve SPION Temelli Isı Artışı.....	55
Şekil 4.12. Geliştirilen AMF sisteminde PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sistemlerinin 20 µM deksametazon enkapsülasyonu sonrası salımına ilişkin absorbands verileri.....	58
Şekil 4.13. Geliştirilen AMF sisteminde PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sistemlerinin 20 µM diklofenak potasyum enkapsülasyonu sonrası salımına ilişkin absorbands verileri.....	59
Şekil 4.14. Deksametazon için <i>in vitro</i> hücre canlılığına ait konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesine ilişkin veriler. 4 µM, 2 µM, 0,8 µM, ve 0,4 µM konsantrasyonlara ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir.....	63
Şekil 4.15. Diklofenak potasyum için <i>in vitro</i> hücre canlılığına ait konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesine ilişkin veriler. 4 µM, 2 µM, 0,8 µM, ve 0,4 µM konsantrasyonlara ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir.....	63

Şekil 4.16. SPION'lar için *in vitro* hücre canlılığına ait konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesine ilişkin veriler. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir.....64

Şekil 4.17. Saf (SPION içermeyen, ilaç enkapsüle edilmemiş) misel için *in vitro* hücre canlılığına ait konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesine ilişkin veriler. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir.....64

Şekil 4.18. SPION içeren diklofenak potasyum enkapsüle PEG-PPG-PEG miselleri için *in vitro* hücre canlılığına ait konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesine ilişkin veriler. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir.....65

Şekil 4.19. SPION içeren deksametazon enkapsüle PEG-PPG-PEG miselleri için *in vitro* hücre canlılığına ait konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesine ilişkin veriler. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir.....65

Şekil 4.20. A) % 1 (w/v), B) % 3 (w/v), C) % 5 (w/v) SPION içeren PEG-PPG-PEG miselleri ve %35 polistiren içeren, D) % 1 (w/v), E) % 3 (w/v), F) % 5 (w/v) SPION içeren PEG-PPG-PEG miselleri ve %35 polistiren içeren çözeltilerinden elde edilen nanoliflerin taramalı elektron mikroskop görüntüleri.....67

Şekil 4.21. A) % 1 (w/v), B) % 3 (w/v), C) % 5 (w/v) SPION içeren PEG-PPG-PEG miselleri ve %35 polistiren içeren, D) % 1 (w/v), E) % 3 (w/v), F) % 5 (w/v) SPION içeren PEG-PPG-PEG miselleri ve %35 polistiren içeren çözeltilerinden elde edilen nanoliflerin ortalama lif çaplarına göre dağılımları (Ek görüntüler temas açısı ölçümleridir).....68

Şekil 4.22. SPION içeren (B) ve içermeyen (A) %5 oranında PEG-PPG-PEG ve %35 polistiren içeren elektroğrılmış nanoliflerin fotoğrafı.....69

Şekil 4.23. SPION içeren (B) ve içermeyen (A) %5 oranında PEG-PPG-PEG ve %35 polistiren içeren elektroğrılmış nanoliflerin FTIR ölçüm sonuçları.....70

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
AMF	Alternatif Manyetik Alan
°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
DC	Doğru akım
DMF	N-N Dimetilformamid
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EENL	Elektroeğrilmiş nanolif
FTIR	Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi
kV	Kilovolt
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
mL	Mililitre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
NaOH	Sodyum Hidroksit
PAA	Poliakrilik asit
PBS	Tuzlu fosfat tamponu
PCL	Poli (3-kaprolakton)
PEG	Poli (etilen glikol)
PGA	Poliglikolid asit
pH	Potansiyel hidrojen

PLA	Polilaktik asit
PLGA	Poli(laktik asit ko glikolik asit)
PPG	Poli (propilen glikol)
PS	Polistiren
PU	Poliüretan
RNA	Ribo Nükleik Asit
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SPION	Süperparamanyetik Demir Oksit Nanopartikül
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
V	Volt
W	Watt
%	Yüzde

ÇİZELGELER DİZİNİÇizelgeSayfa

Çizelge 2.1. Nanomalzemelerin Sınıflandırılması.....	6
Çizelge 4.1. SPION sentez yöntemleri ve elde edilen SPION çaplarına ilişkin literatür çalışmaları.....	47
Çizelge 4.2. Deksametazon ve Diklofeanak potasyum ilaçlarının kontrolü salami için geliştirilen nanotaşıyıcılar.....	57



1. GİRİŞ

Nanoteknoloji metrenin milyarda biri olan nanometre boyutundaki yapıların ve cihazların geliştirilmesini, karakterize edilmesini, fonksiyonelleştirilmesini ve çeşitli alanlarda uygulanmasını kapsayan bir alandır (Poole et al., 2003). Nanoteknoloji alanındaki araştırmaların artması, bu bilimin ihtiyaç duyduğu teknoloji ve malzeme biliminin gelişmesiyle eş zamanlı olarak nanoteknolojinin ve nanopartiküllerin biyomedikal uygulamaları genişlemektedir (Neuberger et al., 2005; Liu et al., 2019; Davis, S., 1997; Ramos et al., 2017).

Süperparamanyetik nanopartiküller sahip oldukları özgün fizikokimyasal özellikleri dolayısıyla çeşitli fonksiyonelleştirme işlemleriyle zenginleştirilebilmekte ve biyomedikal alanda tanı, tedavi, görüntüleme ve hedefleme çalışmalarında kullanılmaktadır (He et al., 2012; Montha et al., 2016; Liu et al., 2019; Moros et al., 2019; Puri et al., 2014; Bear et al., 2016; Nazari et al., 2020).

Biyomedikal uygulamalarda kullanılan süperparamanyetik demir oksit nanopartiküllerin (SPIONs) sulu çözeltilerdeki stabilizasyonunu artırmak amacıyla bu nanopartiküllerin yüzeyini biyouyumlu bir polimer olan polietilen glikol (PEG) ile modifiye etmişler ve Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), Foton Korelasyon Spektroskopisi (PCS) ve Geçirimli Elektron Mikroskopu (TEM) gibi karakterizasyon yöntemleriyle destekleyerek sonuçlarını rapor etmişlerdir (Herve et al., 2008).

SPION'ların biyomedikal alanda kullanım alanını genişletmek amacıyla bu nanopartiküllerin organik ve inorganik farklı yapılarla fonksiyonelleştirilmesini amaçlayan çalışmalar mevcuttur (Mikhaylova et al., 2004; Sodipo et al., 2016; Muthiah et al., 2013; Yoffe et al., 2013; Selim et al., 2007; Barrera et al., 2009; Karimzadeh et al., 2017; Li et al., 2016; Mohammed et al., 2017; Lin et al., 2008).

İlaç ve aktif moleküllerin taşınması ve hedeflenmesinde nanopartiküller saf halde veya fonksiyonelleştirilerek kullanılmaktadır. Deney hayvanı modelleri üzerinde uygulanması planlanan, poli(laktik asit ko glikolik asit)-polietilen glikol-poli(laktik asit ko glikolik asit) (PLGA-PEG-PLGA) temelli hidrojel tasarımı ve üretimini yaptıktan sonra bu malzemenin doğru akım (DC) elektrik alan uygulamasına tabi tutularak interaktif ilaç salım sistemi olarak potansiyellerini göstermişlerdir. Bu çalışma nanopartiküllerin ve nanomalzemelerin, elektrik alan

gibi dışarıdan bir etki yoluyla ilaç hedefleme/salımında kullanım potansiyelini göstermektedir (Ge et al., 2012).

Katı lipid nanopartiküllerin parenteral ilaç hedefleme alanında potansiyellerinin değerlendirildiği çalışmalar mevcuttur (Mühlen et al., 1998). Sol jel yaklaşımı ile manyetik silika nanopartiküller sentezlediklerini ve bunların yüzeylerini karboksil, metil fosfonat, amino ve fenil gruplarıyla modifiye ettiklerini göstermişlerdir. Karakterizasyon işleminden sonra bu hibrit nanopartiküllerin ilaç hedefleme alanındaki potansiyellerini doksorubisin hidroklorid (DOX) ilacının salımını model aldıkları çalışma ile göstermişlerdir (Chang et al., 2010).

Manyetik nanopartikülleri doksorubisin ve gemitabin ilaçları ile disülfid bağ yapmak üzere modifiye ettiklerini, temel stratejilerinin ilaç moleküllerindeki pridilsülfid ile aktiveleştirilmiş manyetik nanopartiküllerdeki sülfidril gruplarının etkileşimi olduğunu rapor etmişlerdir (Latorre et al., 2014).

Kanser tedavisinde kullanılmak üzere kan dolaşımına verilip tümör bölgesinde ilaç salımı gerçekleştirebilecek PEG ile fonksiyonelleştirilmiş pH duyarlı nanopartiküllerin doksorubisin ilacı ile olan denemelerini rapor etmişlerdir (Chang et al., 2013).

Bir antikanser ilaç olan sorafenib molekülünü enkapsüle eden ve tedavi etkinliği araştırılan poli (laktik asit ko glikolik asit) (PLGA) nanopartikülünü rapor etmişlerdir. Bu çalışmada PEG ile modifiye edilen PLGA nanopartiküllerinin antikanser ve manyetik rezonans özellikleri gösterilmiştir. Folat konjuge nanopartiküllerin ilaç salımı ve hücre içine alım davranışlarını bir üst kanser hücre hattı olan BEL7402 üzerinde incelemişler, bu nanopartiküllerin tümör proliferasyonunu baskıladığını ortaya koymuşlardır (Li et al., 2015).

PEG ile modifiye edilen SPION'ların folik asit ile fonksiyonelleştirilip manyetik hipertermi uygulamalarında kullanımlarını göstermişlerdir. Gerçekleştirilen bu çalışmada tümör hücresine hedeflenen manyetik nanopartiküllerin ısıtılarak tedavinin gelişmesi amaçlanmıştır. 12 nm çapında sentezlenen SPION'ların TEM görüntüleri alındıktan sonra yüzeyleri folat ile kaplanmış ve FTIR ile karakterizasyon gerçekleştirilmiştir. Folat kaplanmış nanopartiküllerin tuz içeren fosfat tamponu (PBS) içerisinde kolloidal stabilitesi gösterilmiştir. Daha sonra 420-203 kHz frekansında $32,8-15,0 \text{ W.g}^{-1}$ spesifik absorpsiyon oranında (SAR)

10-16 kA.m⁻¹ düzeyinde alternatif manyetik alan uygulanarak tedavi etkinliği gösterilmiştir (Piazza et al., 2020).

SPION'ların hipertermi tedavisi ve manyetik rezonans görüntüleme (MRI) kullanım potansiyelini araştırmışlardır. Allil-SPION'ların sentezlenmesinden ve PEG modifikasyonundan sonra karakterizasyon işlemleri tamamlanan bu nanokompozit yapının PBS içinde seyreltilerek RPMI 8226 çoklu myeloma kanser hücre hattından elde edilen tümörün fare deri altı ksenograft modeline enjekte edildiği ve MRI görüntüleme etkinliğinin sonuçları rapor edilmiştir. Daha sonra PEG ile modifiye edilen SPION'ların deney hayvanı tümör modelinde intravenöz enjeksiyonu ve alternatif manyetik alan uygulamasıyla tümör gelişiminin anlamlı derecede yavaşladığı rapor edilmiştir. Elde edilen sonuçlar SPION'ların hücrel hipertermi ile kanser tedavisinde büyük bir kullanım potansiyeli taşıdıklarını, manyetik alan ile birlikte uygulandığında tümör hedefleme ve tedavisinde kanser ilerleyişini anlamlı olarak geriletmediğini göstermektedir (Hayashi et al., 2013).

Nanomalzemeler oldukça geniş yelpazede türleri olan ve biyomedikal uygulamaları çok yaygın olan önemli malzeme grubudur. Elektroeğrilmiş nanolifler çeşitli moleküllerin saf veya konjugasyonu ile hazırlanan ve özellikle biyomedikal araştırmalarda kullanımı yoğun şekilde araştırılan özgün nanomalzemelerdir (Fu et al., 2018; Mortimer et al., 2017; Li et al., 2015; Walmsley et al., 2015).

Elektroeğrilmiş nanolif sentezinde polimerik moleküllerle birlikte SPION'ların kullanımları da araştırılmaktadır (Zhang et al., 2017; Mehrasa et al., 2015; Huang et al., 2019; Leal et al., 2021). Silika ile modifiye edilen ve yapısında SPION'ların yer aldığı nanofiberlerin kalp doku mühendisliği çalışmalarında kullanımları gösterilmiştir (Nazari et al., 2020).

Elektroeğirme yöntemiyle üretilen nanofiberlerin nöral doku mühendisliği uygulamasında kullanılabilirlik potansiyelini rapor etmişlerdir (Xie et al., 2010). Nanoliflerin saf ve konjuge formlarının doku mühendisliği ve ilaç taşıma çalışmalarında farklı kullanımları mevcuttur (Yoo et al., 2009).

Polikaprolakton (PCL) ve SPION içeren nanofiberler hazırlanmış, karakterizasyonlarını gerçekleştirmiş biyouyumluluk ve doku mühendisliği yapı iskelesi olma potansiyeline ilişkin sonuçları rapor etmişlerdir. Bu çalışmalardan

elde edilen sonuçlara göre SPION içeren fiberlerin çaplarının düştüğü ve maksimum güç değerlerinin arttığı görülmektedir. Ayrıca SPION ilavesiyle PCL nanofiberlerin hücre ile etkileşimlerinde anlamlı pozitif gelişmeler gösterilmiştir (Leal-Marín et al., 2021).

Bu doktora tez çalışmasında, kontrollü ilaç salımı çalışmalarında kullanım potansiyeli olan polietilen glikol-polipropilen glikol-polietilen glikol/demir oksit süperparamanyetik nanopartikül (PEG-PPG-PEG/SPION) temelli polimerik miseller ve doku mühendisliği çalışmalarında kullanım potansiyeli olan Polistiren içeren PEG-PPG-PEG/SPIONs nanolifleri geliştirilmiştir. Geliştirilen PEG-PPG-PEG triblok kopolimerinden ince film tekniği ile üretilen misellerin çözgen, derişim, boyut optimizasyonları gerçekleştirilmiş, kritik misel konsantrasyonlarını (CMC) belirlenmiş ve karakterizasyonları DLS ve SEM ile gerçekleştirilmiştir. Karakterizasyonları tamamlanan SPION içeren ve içermeyen taşıyıcıların manyetik ilaç hedefleme potansiyelleri araştırılmıştır. Bu amaçla PEG-PPG-PEG polimerik misellerin SPION içeren ve içermeyen formülasyonları kullanılarak deksametazon ve diklofenak potasyum ilaçlarının enkapsülasyonları gerçekleştirilmiş, ardından bu sistemin AMF alan cihazından üretilen alternatif manyetik alan uygulanmış ve uygulanmamış koşulda ilaç salım kinetikleri incelenmiştir. PEG-PPG-PEG/SPION yapıları polimerik misellerin 120 W 3 cm bobin çapı ile 60 saniye alternatif manyetik alan uygulaması neticesinde ilaç salım kinetiğinin her iki ilaç için de anlamlı olarak değiştiği bulunmuştur.

Bu doktora tez çalışmasının ikinci kısmında ise kompozit yapıları elektroeğrilmiş nanolif hazırlanmıştır. SPION içeren ve içermeyen Polistiren/PEG-PPG-PEG sentezlenmiş, optimizasyonları yapılmış, sonrasında ise karakterizasyonları FTIR, SEM ve temas açısı ölçümleri ile tamamlanmıştır. Ayrıca SPION içeren ve içermeyen formda hazırlanan polimerik misel ve nanolif yapıları nanomalzemelerin hücre canlılığına etkileri razosurin ile *in vitro* olarak test edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nanoteknoloji

Nanometre metrenin milyarda biri olan boyutu ifade eder ve boyuttaki malzemelerin ve cihazların tasarımı, üretimini, fonksiyonelleştirilmesini ve çeşitli alanlarda uygulanmasını kapsayan alan nanoteknoloji olarak adlandırılır (Poole et al., 2003). Nanobilim kapsamında gereken teknoloji ve malzeme araştırmaların gelişmesiyle birlikte nanoteknolojinin uygulandığı alanlar da her geçen gün artmaktadır (Neuberger et al., 2005; Liu et al., 2019; Davis, S., 1997; Ramos et al., 2017).

2.2. Nanomalzemeler

Nanoteknolojinin ilgilendiği alan olan, genellikle 10 nm ve altında malzemelerin elde edildiği bir teknoloji ile üretilen yapılara nanomalzeme denir. En bilinen nanomalzemeler nanopartiküller, nanolifler, lipozomlar, nanokristaller olarak örneklendirilebilir. Nanomalzemeler yapılarına, boyutlarına, fonksiyonlarına ve farklı fizikokimyasal özelliklerine göre sınıflandırılabilir (Gleiter, H., 2000). Çizelge 2.1.'de nanomalzemelerin sınıflandırılması gösterilmiştir (Saleh, T.A., 2020).

Çizelge 2.1. Nanomalzemelerin Sınıflandırılması

Boyut	Morfoloji	Kimyasal Durum	Kimyasal İçerik
1.0D (katı nanopartiküller, kuantum dotlar vb.)	1. Düzlemsellik	1. İzometrisite	1. Tek alt birimli nanopartiküller
2.1D (nanorodlar, nanolifler vb.)	2. Küresellik	2. Homojenite	2. Kompozitler
3.2D (filmler, katmanlı yüzeyler vb.)	3. En/boy oranı	3. Dispersite	3. Organik ve inorganik malzemeler
4.3D (polikristaller, nanokompozitler vb.)	(nanokablolar, nanotüpler, nanolifler, nanoküpler, nanopiramidler vb.)		(seramik nanomalzemeler, polimerik nanomalzemeler, nanojeller, kuantum dotlar, nanojeller vb.)

2.2.1. Nanopartiküller

2.2.1.1. SPION'ların Yapısı ve Özellikleri

Manyetit (Fe_3O_4), maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) ve hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) temel olarak 3 temel SPION'dur ancak bunun yanında Cu, Co ve Ni gibi farklı metaller de kullanılmaktadır. Manyetit olarak adlandırılan Fe_3O_4 ve oksitlenmesiyle elde edilen daha kararlı maghemit $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ gibi demir oksit temelli nanopartiküller fizikokimyasal ve biyokimyasal uygulama potansiyelleri dolayısıyla sıklıkla araştırılan nanomalzemelerdir (Tartaj et al., 2003; Dobrovolskaia et al., 2007; Muldoon et al., 2005; Gupta et al., 2004).

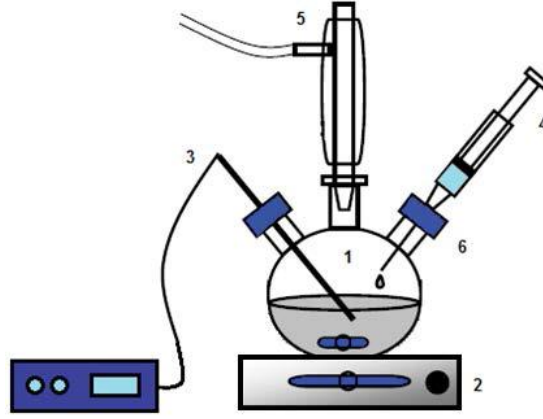
2.2.1.2. SPION Sentez Yöntemleri

Demir oksit sentezi ve bunların fizikokimyasal hakkında detaylı ilk araştırma 1970'lerde yapılmıştır (Sugimoto et al., 1980). SPION sentezinin en yaygın yöntemlerden olan ortak çöktürme yönteminde belirli stokiometrelerde Fe^{2+} ve Fe^{3+} iyonları oksijensiz ortamda bazik şartlarda siyah renkli SPION sentezi gerçekleştirilmektedir. Sentez yönteminde oksijenden arındırılmış bir ortam gerekir, aksi halde manyetit reaksiyon ortamında demir hidroksite oksitlenmesi söz konusudur. Sugimoto ve Massart'ın sentez yöntemlerini birlikte değerlendirildiğinde Sugimoto'nun yönteminde farklı ve daha büyü boyutta SPION'ların elde edildiği görülmüştür (Chin et al., 2007; Massart, 1981).

SPION'lar farklı yöntemlerle sentezlenebilir. Bu yöntemlerden en yaygın kullanılanlar:

- Birlikte çökelme,
- Mikroemülsiyon,
- Hidrotermal sentez,
- Termal dekompozisyon,
- Elektro Püskürtme Yöntemi,
- Sol-Jel Sentez Yöntemidir.

Birlikte çökelme yöntemi ile gerçekleştirilecek SPION sentezinde oluşturulan sentez düzeneği Şekil 2.1.'de gösterilmiştir (Panta et al., 2015).



Şekil 2.1. Birlikte çökeltme metodu ile SPION sentez düzeneği. 1) İnert sentez ortamının yer aldığı üç boyunlu yuvarlak dipli balon. 2) Manyetik karıştırıcı. 3) Isı ölçer. 4) Baz ilave enjektörü. 5) İnert ortam sağlayan azot bağlantı kolu. 6) Bazın ilave edildiği sızdırmaz balon boynu (Panta et al., 2015).

Bunların içerisinde en yaygınlarından birisi sentez yönteminin diğerlerinden görece daha kolay olması, optimizasyonun ve fonksiyonelleştirilme işlemlerinin olasılığının fazla olması nenediyle birlikte çökeltme yöntemidir (Chin et al., 2007; Faraji et al., 2009; Tartaj et al., 2003; Kornak et al., 2005; Wu et al., 2007).

Birlikte çöktürme metodu genellikle yüksek sıcaklıklarda ve oksijensiz ortamda baz ilavesiyle $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ tuzlarından SPION sentezlemenin ucuz, etkili ve hızlı bir yöntemidir. Bu sentez yönteminde sentezlenecek nanopartiküllerin boyutu, boyut dağılımı, yüzey yük değeri ve morfolojisi sentez sırasındaki şu parametrelerle yakından ilgilidir:

- Baz türü, eklenme süresi ve hızı,
- Sentezin yürüdüğü karışma hızı,
- Sentez süresi ve inert ortam varlığı,
- Sentez ortamının iyonik gücü,
- Sentez sıcaklığı,
- Ortam pH değeri,
- $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ oranıdır.

Sentezlenen SPION'ların çözelti ortamında veya kuru halde boyutlarının belirlenmesi için değişik yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler:

- Dinamik Işık Saçılımı (DLS),
- Zeta Boyut Ölçüm Cihazı,
- Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM),
- Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM),
- X-ışını Difraktogramlarının Scherrer Analizidir (XRD).

Bu yöntemlerin kullanım amaçları, ölçüm prensibi ve ölçüm için gerektirdiği örnek tipi farklı olabilir ancak temel ortak amaçları sentezlenen nanomalzemelerin boyut ve morfolojilerinin belirlenmesidir. DLS yöntemi süspansiyon içerisindeki nanomalzemelerin boyutunun belirlenmesinde yaygın olarak kullanılır. XRD Scherrer analizinde nanomalzemenin boyutu, kırınım genişlemesiyle belirlenir ve $\tau = (K\lambda) (\beta \cos \theta)^{-1}$ denklemiyle sonuç elde edilir. K sabittir ve genellikle 0.89 olarak alınır. λ kullanılan X-ışınının dalga boyu, β radyan cinsinden yarı yükseklikteki tepenin genişliği ve θ ise Bragg açısıdır. TEM partikül boyutlarının ve morfolojilerinin belirlenmesi açısından en güçlü yöntem olarak rapor edilmektedir. Bu yöntemde nanomalzemelerinin elektron yoğunluğundaki farklılık ve boyut dağılımı hakkında veriler elde edilebilir (Mahmoudi et al., 2008; Moghimi et al., 2001).

2.2.1.3. SPION'ların Fonksiyonelleştirilmesi

Nanopartiküllerin boyutlarında ve yüzeylerinde farklı modifikasyonlar gerçekleştirilebilir, böylece manyetik rezonans görüntüleme (MRI), ilaç salım ve terapötik çalışmalarda kullanılabilirler. Süperparamanyetik nanopartiküller (SPION'lar) kullanılarak manyetik hedefleme, hipertermi ve salım çalışmaları gerçekleştirilebilir.

SPION'lar süperparamanyetizma özelliklerine sahip olduğu, yani yüksek alan tersinmezliğine, yüksek doyumluk alanına, yüksek anizotropi özellikleri taşıması nedeniyle hipertermi temelli tedavi ve ilaç hedefleme çalışmalarında umut vadetmektedir. Biyouyumluluğunun artırılması, ilaç taşıma veriminin artırılması, boyutun değiştirilmesi gibi farklı amaçlarla SPION'ların yüzeyleri çeşitli

malzemelerle kaplanabilir. Kaplama işlemiyle SPION'un onu çevreleyen ortamdan izole edilmesi, spesifikliğinin artırılması amacıyla hidroksil, karboksil, biyotin gibi farklı gruplar eklenerek fonksiyonelleştirilebilir. Bu ve benzeri gruplar aynı zamanda sitotoksik moleküllerin taşınması, hedef bölgeye bağlanması gibi işlevsellikleri de geliştirebilir (Langer, 1998; Mahmoudi et al., 2010; Alexiou et al., 2000; Bosbach et al., 1979; Jililian et al., 2009; Talelli et al., 2009).

Sentezlenen SPION'ların kararlılığı hidrofobik-hidrofilik, manyetik ve van der Waals etkileşimlerine belirlenir ve temel olarak agregatlaşma eğilimi gösterebilirler. Bu fizikokimyasal eğilim nedeniyle SPION'ların ilaç hedefleme ve farklı biyomedikal kullanım potansiyelleri ciddi oranda değişiklik gösterebilir (Sun et al., 2002).

Bu ve benzeri limitasyonları giderebilmek amacıyla SPION'ların yüzeylerinin fonksiyonelleştirilmesi işlemi sentezler sırasında ya da sonrasında yapılabilir. Biyomedikal alanda kullanılması hedeflenen SPION'ların fonksiyonelleştirilmesi için kullanılan yapıların temel özellikleri (Muller et al., 1984; Gupta et al., 2004):

- Biyouyumlu olmalı,
- Toksisite seviyeleri biyoygulanabilir düzeylerde olmalı,
- Kolay sentezlenebilir ve fonksiyonelleştirilebilir olmalıdır.

Nanopartikül sentezinde polimerik malzemeler de kullanılmaktadır. Polimerik nanopartiküllerin aşağıdaki özellikleri nedeniyle kullanımları oldukça yaygındır:

- Modifikasyonlarının kolay olması,
- Biyouyumluluk ve toksisite özellikleri,
- Sentez ve işleme maliyetleri,
- Fonksiyonelleştirmeye yatkınlığı,
- Adsorpsiyon/desorpsiyon kinetikleri,
- Biyomedikal kararlılıklarıdır.

Söz konusu polimerik malzemeler saf halde veya SPION'lar ile modifiye edilerek kullanılabilir. Bu moleküller kullanılarak ilaç hedefleme/taşıma çalışmalarının yanında protein ve genetik moleküllerin de çalışmaları gerçekleştirilebilir (Kumar et al., 2007; Aktaş et al., 2005; Yang et al., 2010; Saltzman et al., 2001; Kreuter, 2004).

Sentezlenen manyetik nanopartiküllerin yüzey kimyasını değiştirmek ve fonksiyonelleştirmek amacıyla kullanılabilen malzemeler (Lacava et al., 2004; Park et al., 2008; Maruoka et al., 2006):

- dekstran, kitosan gibi organik polimerler,
- altın gibi inorganik metaller ve silika gibi inorganik oksitler,
- lipozomlar, antikorlar gibi biyoaktif moleküllerdir.

Altın ve benzeri metaller demir oksit nanopartiküllerin toksisitelerinin minimize edilmesi, biyolojik aktif yüzeyler oluşturulması ve oksidasyonlarının azaltılması amacıyla kullanılabilmektedir. Polietilen glikol (PEG), hidrofilik olması, kolay sentezlenebilir olması, nanopartiküllerin stabilizasyonuna katkı sağlayabilmesi ve opsonizasyonunu etkilemesi nedeniyle çok sık kullanılan bir moleküldür. Polivinil alkol (PVA) film oluşturabilme ve emülsifikasyon amaçlarıyla kullanılabilmektedir.

SPION'ların yüzey kaplama/fonksiyonelleştirme adımlarının ardından görülebilen önemli bir limitasyon manyetik özelliğin gücünün değişmesidir. Bu nedenle kaplama basamağında boyut optimizasyonu ve malzeme seçimi oldukça önemlidir (Daniel et al., 2004; Gupta et al., 2004; Gupta et al., 2007).

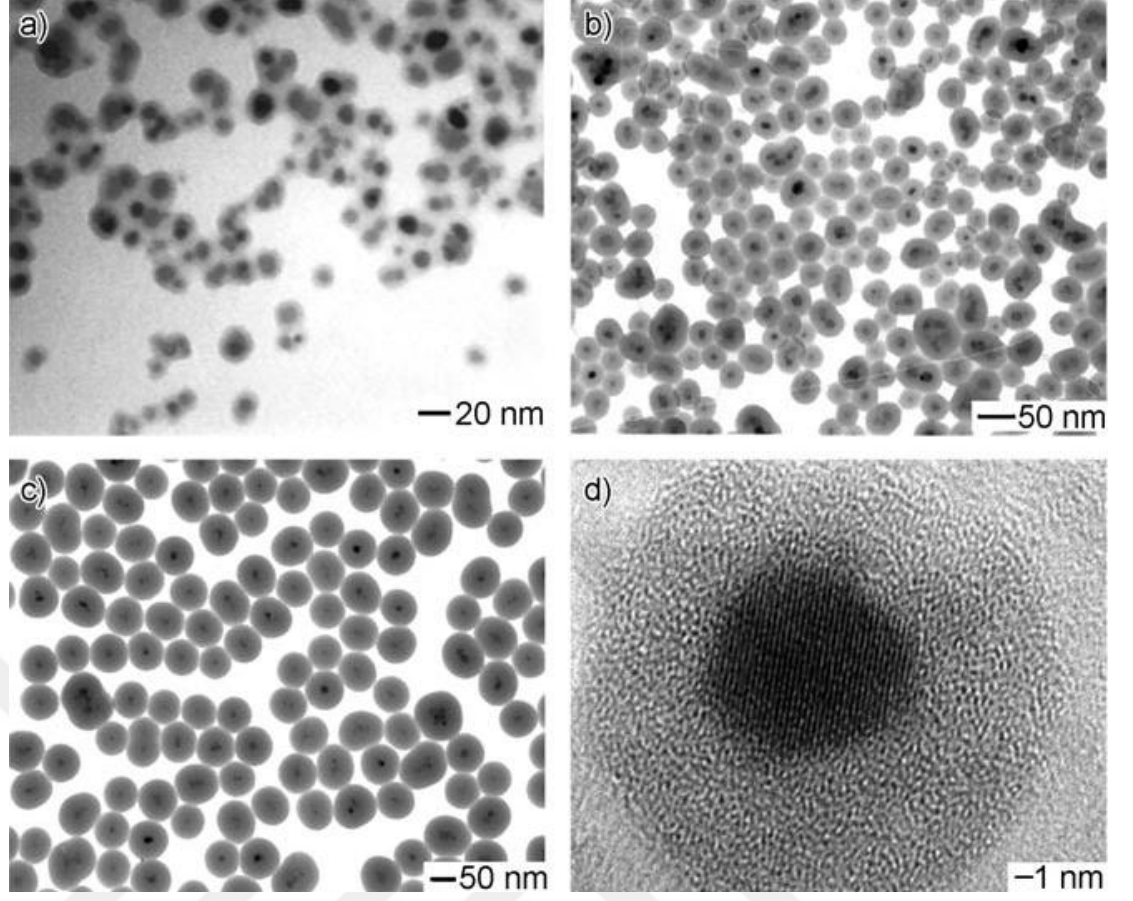
Polimerik malzemelerden olan miseller ve benzer nanopartiküllerin kullanıldığı ilaç hedefleme/taşıma çalışmalarında biyouygulama noktasında karşılaşılan en önemli limitasyonlardan birisi bu yapıların retiküloendotelyal sistem (RES) tarafından tanınıp yapılarının bozulmasıdır. Bu limitasyonu minimize etmek amacıyla opsonin etkileşimi az nanomalzemeler geliştirilmektedir. Bu yolla RES tarafından alıkonulmayan ilaç hedefleme/taşıma çalışmalarının etkinliği artırılmaktadır. Poli etilen glikol (PEG) bu amaçla kullanılan bir polimerdir.

Bununla birlikte poli (laktik asit)-poli (etilen glikol)-poli (laktik asit)'in triblok kopolimeri olan PLA-PEG-PLA ve benzeri polimerler de sıklıkla kullanılmaktadır (Riley et al., 1999; Bointer et al., 1994; Ruan et al., 2003; Gref et al., 1995). SPION'ların farklı oranlarda silika ile kaplanmasına ilişkin SEM görüntüleri Şekil 2.2.'de verilmiştir. SPION'LARIN fonksiyonelleştirilmesinde kullanılan triblok kopolimerlere ait moleküler yapılar Şekil 2.3.'te verilmiştir.

Polimerik nanopartikül sentezinde sıklıkla kullanılan moleküller (Luppi et al., 2011; Lu et al., 2007; Musumeci et al., 2006; Bhavsar et al., 2007; Broz et al., 2005):

- Polilakrilik asit (PLA),
- Poliglokolik asit (PGA),
- Poliortoester (POE),
- Polikaprolakton (PCL),
- Poliglutamik asit (PGA),
- Polimetil metakrilat (PMMA),
- Poli (N-vinil pirolidon) (PVP),
- Poliakrilamid (PAM),
- Polietilen glikol (PEG),
- Polimetakrilik asittir (PMAA).

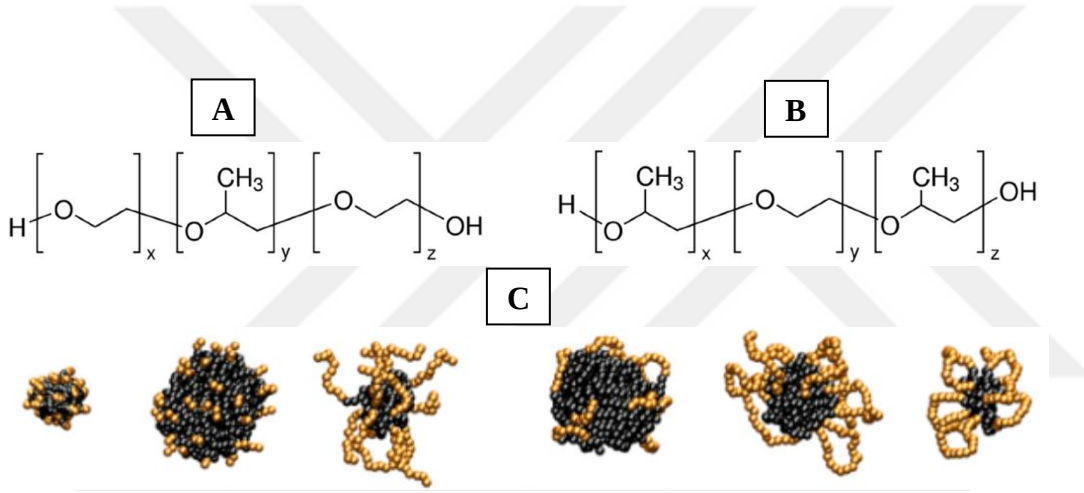
SPION'ların stabilitesi bu nanopartiküllerin izoelektrik noktası etkileşimlerinin biyolojik sıvılarla aynı bezir şekilde pH 7 civarında olması dolayısıyla değişkendir. Saf SPION'ların yüzeylerinin farklı organik/inorganik malzemelerle fonksiyonelleştirilmesi ile izoelektrik noktaları ve dolaşımdaki yarı ömürleri anlamlı düzeyde yükseltilebilir (Douziech et al., 2007; Lavan et al., 2003).



Şekil 2.2. a-c) Farklı kalınlıklarda silika ile yüzeyleri kaplanan SPION'ların TEM görüntüsü. d) Tek kalınlıkta silika ile yüzeyleri kaplanan SPION'ların HRTEM görüntüsü (Lu et al., 2002).

İzoelektrik noktaya ek olarak, ilaç yüklü SPION'ların kolloidal stabilitesini ve manyetik alanını etkileyen birçok başka önemli parametre vardır. Cengelli ve ark. SPION'ları PVA ve floresans reseptörlerle birlikte sinir hücreleri üzerinde araştırmışlardır. Biyomedikal alanda uygulaması planlanan nanopartiküllerin temel belirleyici özellikleri (Cengelli et al., 2006):

- Derişimi,
- Boyutu ve boyut dağılımı,
- Morfolojisi,
- İlaç veya diğer hedef moleküllerle adsorpsiyon/desorpsiyon potansiyeli,
- İnfüzyon şekli, süresi ve hızı,
- Uygulanan manyetik alanın tipi, kuvveti, süresi ve açısıdır.



Şekil 2.3. Farklı pluronic misellerin yapısı ve üç boyutlu simülasyonları. A) Normal pluronic B) Ters pluronic C) Farklı misellere ait üç boyutlu simülasyonlar (Perez et al., 2019).

2.2.1.4. SPION'ların Temel Biyomedikal Kullanım Alanları

Biyomedikal anlamda manyetik hedefleme, bir manyetik alan uygulamasıyla SPION'lara uygulanan manyetik kuvvetten olarak tanımlanabilir. Bu etki, ısı artışından kaynaklı olarak tedavi ve salım çalışmalarında kullanım potansiyelini, manyetik yönlendirilebilmesinden dolayı hedefleme çalışmalarında kullanım olarak çalışılmasında rol almaktadır.

SPIONs'ların manyetik alan uygulamasının gücü, manyetik alanın kuvvetine, gradyan değerine, nanopartikülün fizikokimyasal özelliklerine ve uygulama alanına bağlıdır.

SPION'ların kullanıldığı *in vivo* ilaç hedefleme çalışmalarında bunun yanı sıra dış ortam tarafından uygulanan fizikokimyasal kuvvetlerin manyetik alandan üretilen manyetik kuvvetlerin etkileşimine bağlıdır. İlaç taşıyan nanopartikül hedef bölgede lokalize edildikten sonra sıcaklık, pH veya enzimatik mekanizmalarla salım gerçekleştirilebilir. Bahsedilen özelliklerinden dolayı bu yöntem teoride, geleneksel ilaç çalışmalarına kıyasla önemli avantajlar sağlamaktadır (Gupta et al., 2004; Prozorov et al., 2007; Campo et al., 2005; Souza et al., 2009; Sen et al., 2009).

Biyomedikal alanda kullanımı planlanan SPION'ların boyutları ve boyut dağılımları bu nanomalzemelerin fonksiyonlarını önemli oranda etkiler. Literatürdeki bir çalışmada boyut parametresinin kan damarlarındaki fonksiyona olan etkisini araştırmışlardır (Mahmoudi et al., 2009).

Biyomedikal kullanım potansiyeli taşıyan ilaç yüklü nanopartiküller kan dolaşımına verildiğinde bu partiküllerin boyutları, üç boyutlu yapıları ve yüzeyinde yer alan fonksiyonel gruplar belirleyici etkiye sahiptir. Biyomedikal kullanımda bu nanopartiküllerin biyolojik yapılarla etkileşimleri (makrofajlar ve farklı plazma proteinleri ile) söz konusu olabilir.

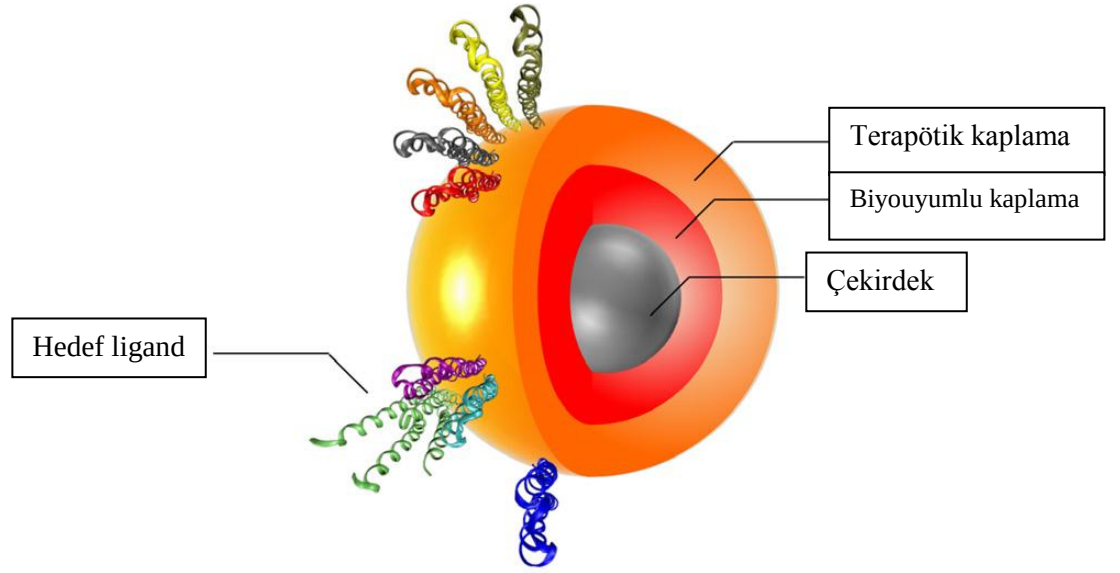
Gupta ve ark. 200 nm'den büyük veya 10 nm'den küçük nanopartiküllerin, RES tarafından algılanmaları dolayısıyla verimli olmadıkları, ilaç salım çalışmalarında

10-100 nm aralığındaki nanopartiküllerin daha yüksek potansiyel taşıdığını göstermişlerdir (Gupta et al., 2005).

Boyut parametresinin yanında yüzey yükü de biyomedikal uygulamalar açısından oldukça önemli bir değişkendir. Coey ve ark. SPION'ların yüzey yükünün özellikle endositoz ve fagositoz sürecinde son derece belirleyici bir rol oynadığını göstermişlerdir (Coey et al., 1993; Sun et al., 1998; Osaka et al., 2009).

Biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere geliştirilen SPION'ların insanların ve diğer hayvanlarda kullanım potansiyeli taşıdığından öncelikle *in vitro* ve *in vivo* toksisitelerinin belirlenmesi son derece önemlidir. Saf ve yüzeyi çeşitli polimerlerle kaplı nanopartiküllerin toksisitelerini fare fibroblast ve insan lösemi hücreleri üzerinde kapsamlı olarak araştırılmıştır (Mahmoudi et al., 2009). Bu araştırmadan elde edilen veriler ışığında SPION'ların toksisite göstermediği veya çok düşük toksisite gösterdiği belirtilmiştir. Bununla birlikte Karlsson ve ark. SPION'ların farklı konsantrasyonlarda insan akciğer kanseri hücre hattında toksisite değerlerini araştırmışlar, DNA hasarı ve hücre içi reaktif oksijen türlerinin üretimine (ROS) yol açmadığını rapor etmiş, bununla birlikte düşük toksisiteyle ilişkilendirilebilecek bulgulardan söz etmişlerdir (Karlsson et al., 2008). SPION'ların hedeflenen kullanım alanına göre farklı yüzey fonksiyonelleştirme seçenekleri Şekil 2.4.'te verilmiştir.

3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) gibi geleneksel ve yaygın kullanımı olan sitotoksik analizlerine göre nanopartiküllerin yol açtığı temel toksik etki mekanizmasının en önemlilerinden birinin ısı şok proteinlerinin (HSP) denaturasyonu üzerinden gerçekleştiği belirtilmektedir. Nanopartiküllerin söz konusu proteinler ile etkileşimleri dolayısıyla bu protein üç boyutlu yapı ve fonksiyonlarında değişimler meydana geldiği, bu değişimlerin de toksisiteye giden bir süreci beslediği bildirilmektedir. Nanopartiküller ve proteinlerin etkileşimlerinde protein tipine göre farklı bağlanma eğilimleri gözlemlenebilir (Lynch., 2007).



Şekil 2.4. Biyomedikal uygulamalarda kullanılabilen manyetik nanopartiküllerin farklı yüzey kaplama ve fonksiyonelleştirme işlemlerinin şematize edilmesi (Movia et al., 2016).

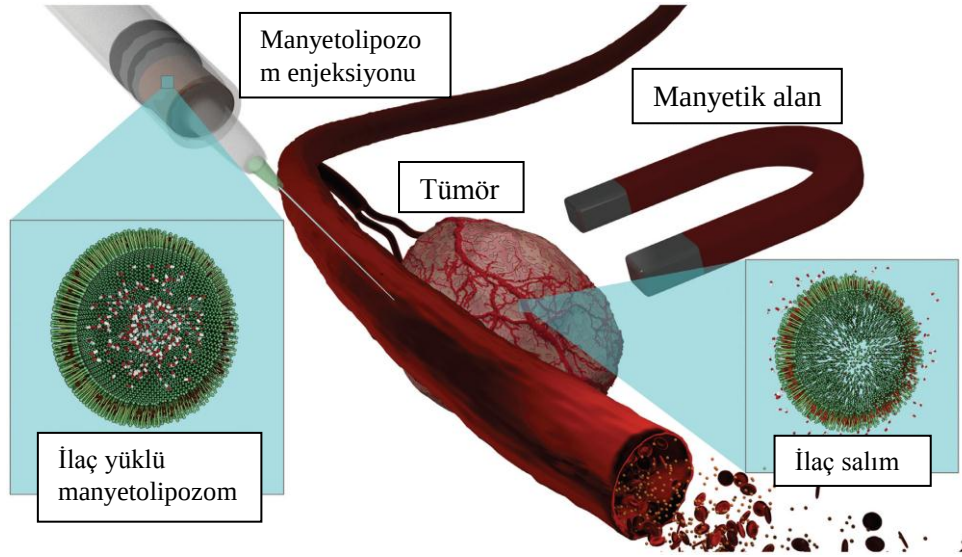
Farklı plazma proteinlerinin nanopartiküllere bağlanma eğilimlerini ve afinitelerini incelemişler ve bu etkileşim mekanizmalarını belirlemek için üç yöntem tavsiye etmişlerdir:

- Boyut Dışlama Kromatografisi (SEC),
- Yüzey Plazmon Rezonansı (SPR),
- İzotermal Titrasyon Kalorimetrisi'dir (ITC).

Bu yöntemlerden SPR, nanopartiküller ve proteinlerin birleşme/ayrılma değerleri hakkında bilgi verirken ITC ve SEC afinite ve stokiyometrik oranlar hakkında bilgi verir (Cedervall et al., 2007).

Biyomedikal uygulama alanlarından biri olan ve çok sayıda çalışmanın devam ettiği ilaç hedefleme/salın alanında SPION'ların yanında nanoküreler, lipozomlar gibi farklı moleküller de kullanılmaktadır. Lipozomlar ile fonksiyonelleştirilen SPION'ların biyomedikal kullanımına ilişkin bir yaklaşım Şekil 2.5.'te görülmektedir.

SPION temelli ilaç taşıma/salın sistemlerinde bu nanopartiküller saf olarak kullanılabileceği gibi farklı organik ve inorganik malzemelerle fonksiyonelleştirilerek de kullanılmaktadır.



Şekil 2.5. Lipozomlar ile fonksiyonelleştirilen SPION'ların hidrofilik bir ilacı enkapsüle edilmesinin ve salımının gösterimi (Monnier et al., 2014).

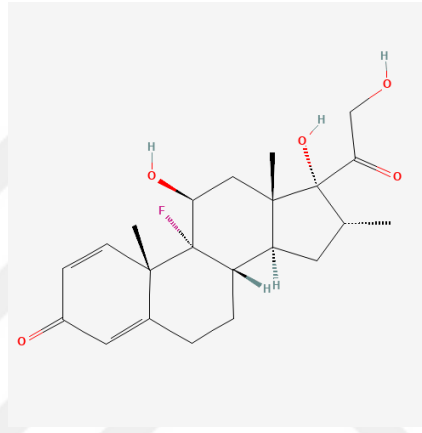
Dışarıdan bir uygulamayla (manyetik alan, radyo dalgası gibi) birlikte kullanılıp hedeflenen ilacın belirlenen bölgede salındığı, hedeflenen bölgede nanopartiküllerin toplanabildiği çalışmalar en güncel hedefli tedavilerden ve teknolojilerden biri olarak görülmektedir. Çünkü bu ve benzeri yöntemlerin geliştirilmesiyle:

- Kullanılan ilaç miktarı minimize edilebilir,
- İlaç etkinliği yükseltilebilir,
- İlaç kullanım sıklığı azaltılabilir,
- Konvansiyonel tedavilere kıyasla hedeflemenin sayesinde yan etkiler minimize edilebilir.

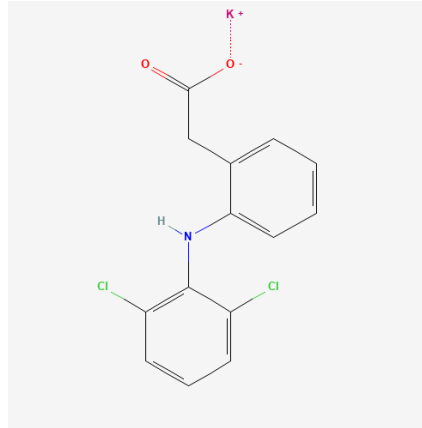
Ayrıca ilaç salım çalışmaları hedef ilaç molekülleri SPION'ların yüzeyine bağlandığı için biyomedikal uygulama sırasında patlama etkisi (burst effect) nedeniyle *in vivo* ortamda hızlı bir şekilde salındığı belirtilmektedir. Bu etki dolayısıyla manyetik ilaç hedefleme araştırmalarında başlangıçtaki ilaç ve SPION miktarının tamamı hedef bölgeye ulaşamamakta, verim kaybı yaşanmaktadır. Manyetik nanopartiküllerin kullanıldığı ilaç salım çalışmalarında meydana gelen patlama etkisinden kaynaklı verim kaybını önlemek amacıyla, nanopartiküllerin farklı moleküllerle yüzey modifikasyon çalışmaları araştırılmıştır. Hedefli ilaç salım çalışmalarında kullanımları oldukça yaygın olan deksametazon ilacının

moleküler yapısı Şekil 2.6.'da, diklofenak potasyum ilacının moleküler yapısı Şekil 2.7.'de verilmiştir.

SPION'ları PEGF ile kaplayarak bir antikanser ilaç olan tamoksifenin saf SPION'lara göre yaklaşık %21 oranında daha düşük patlama etkisi gösterdiğini belirtmişlerdir (Mahmoudi et al., 2009). Diğer bir antikanser ilaç olan doksorubisini SPION'ları PLGA polimeriyle modifiye ederek yüklemişler ve saf SPION'lara göre daha düşük patlama etkisinin meydana geldiğini rapor etmişlerdir (Guo et al., 2009).



Şekil 2.6. Deksametazon'un moleküler yapısı (National Center for Biotechnology Information, CID 5743, 2022).



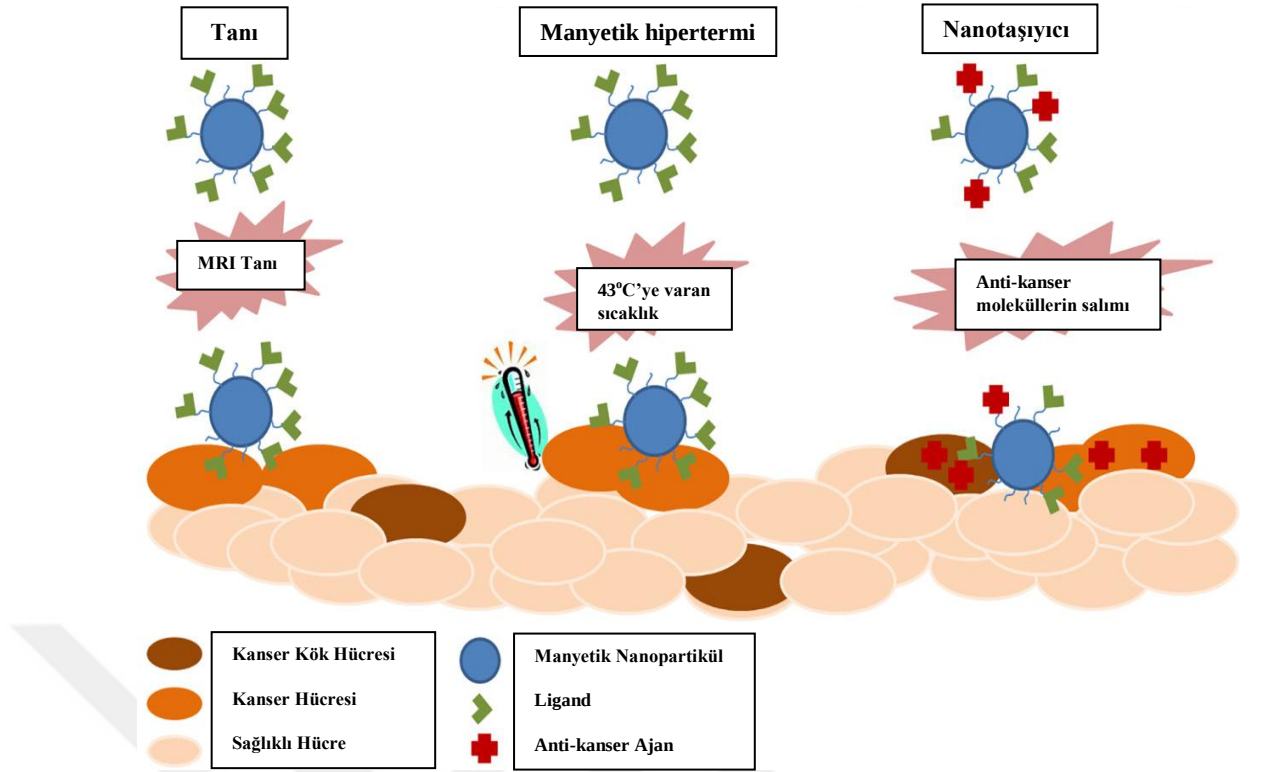
Şekil 2.7. Diklofenak Potasyum'un moleküler yapısı (National Center for Biotechnology Information, CID 23667642, 2022).

Bu ve benzeri araştırma sonuçları ile birlikte SPION'ların ilaç taşıma/hedefleme alanında önemli bir kullanım potansiyeline sahip oldukları, meydana gelebilecek limitasyonların da farklı yüzey fonksiyonelleştirme işlemleri ile minimize

edilebileceği görülmektedir (Norman et al., 1993; Zhang et al., 2002; Lee et al., 2006; Mahmoudi et al., 2010).

Hipertermi temel olarak SPION'ların alternatif manyetik alan içerisinde meydana getirdiği ısı artışına bağlı olan bir süreci ifade eder. Bu ısı artışı tedavi ve ilaç salım gibi farklı amaçlarla biyomedikal alanda kullanılabilir.

Tedavi açısından ele alındığında, tümör dokunun hedefli olarak belirli bir süre belirli bir sıcaklığın üzerine ısıtılmasını ifade eden bir süreçtir (Şekil 2.8.). Bu süreç nihayetinde çeşitli hücre biyokimyası değişiklikleri (membran bütünlüğünün bozulması, ısı şok proteinlerinin yapılarının ve fonksiyonlarının değişmesi, plazma proteinlerinin degradasyonu gibi) meydana gelir ve tümör hücrelerinin ölümleri başlar. Ito ve ark. gerçekleştirdiği araştırmada manyetik hipertermi uygulamasıyla birlikte TNF-a gen tedavisi uygulaması neticesinde tümör büyümesinde önemli bir azalma rapor edilmiştir (Ito et al., 2001; Jordan et al., 1999).

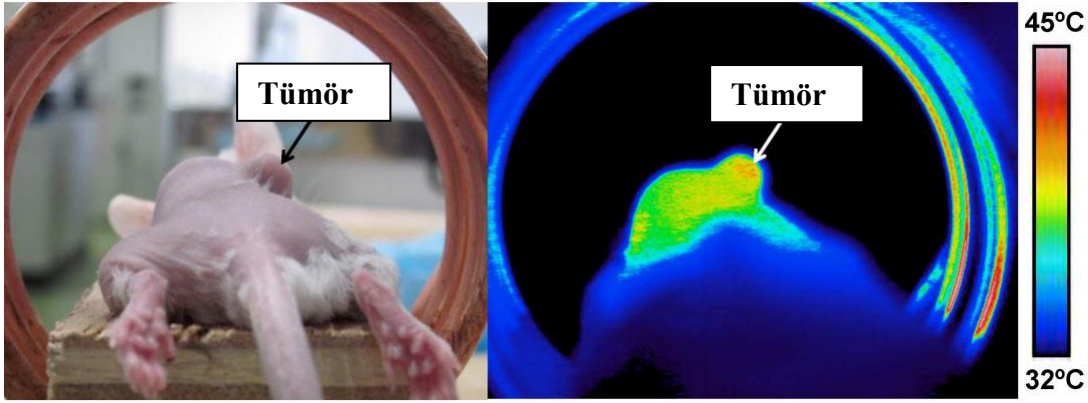


Şekil 2.8. Manyetik nanopartiküllerin biyomedikal alanda başlıca kullanımlarının şematize edilmesi (Gobbo et al., 2015).

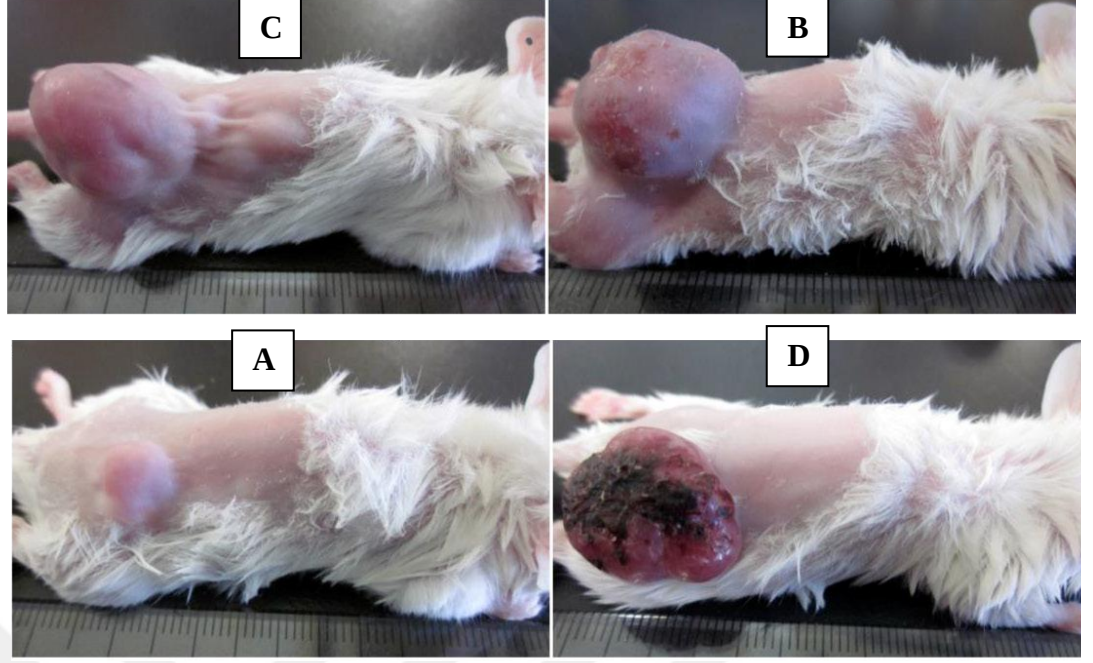
Geleneksel kemoterapi yöntemlerindeki ilacın hedef bölgeye özgü olmaması, ilaç miktar ve verimindeki limitasyonlar nanopartiküllerin kullanımını daha da cazip hale getirmektedir. Bu sayede istenmeyen yan etkilerin de minimize edilmesini sağlayabilecektir. Bu açıdan dışarıdan uygulanan bir güç kaynağı (manyetik alan) ile manipüle edilen bir SPION temelli ilaç taşıma/hedefleme sistemlerini hedefli ve efektif ilaç taşıma sistemleri için çok güçlü bir aday olarak öne çıkarmaktadır. Şekil 2.9. ve Şekil 2.10.'da gösterildiği üzere hedefli SPION temelli taşıma ve tedavi çalışmaları deney hayvanı araştırmaları yürütülmektedir. Alexiou ve ark. manyetik olarak hedeflenen ilaç taşıma sistemini tavşan deney hayvanı modeli üzerinde araştırmışlardır. FA-PEG-SPION enjeksiyonu ile hedeflenen bölgedeki ısı artışı diğer bölgelere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar manyetik nanopartiküllerin modifiye edilerek hedeflemede kullanılabileceğini, manyetik alan uygulaması ile birleştirildiğinde ise tümör tedavisinde kullanım potansiyeli taşıdığını göstermektedir. Bu verilere göre hiçbir tedavi uygulanmadığında tümör gelişimi devam etmekte, ilerlemesinde bir baskılayıcı

etki gözlenmemiştir. Sadece manyetik alan uygulamasında tümör yapısında bozulmalar olmasına karşın etkili tümör gerilemesi gözlenmemiştir. Sadece nanopartikül enjeksiyonu yapıldığında tümör gerilemesi gözlenmemiştir. FA-PEG-SPION enjeksiyonu yapılan ve AC manyetik alan uygulanan modellerde tümör gerilemesi ve tümör boyutlarında azalma anlamlı olarak yüksek düzeylerde bulunmuştur.

Süperparamanyetik nanopartiküllerin manyetik alanla birlikte tedavi hedefiyle kullanım potansiyellerini rapor etmişlerdir (Alexiou et al., 2006; Tietze et al., 2009; Alexiou et al., 2000; Arruebo et al., 2006).



Şekil 2.9. İntravenöz enjeksiyonu yapılan FA-PEG-SPION'ların 24 saat sonra $H = 8 \text{ kA/m}$ and $f = 230 \text{ kHz}$ AMF altında termal görüntüsü (Hayashi et al., 2013).



Şekil 2.10. Deney hayvanı tümör modelinde intravenöz enjeksiyonu yapılan FA-PEG-SPION'ların 24 saat sonra $H = 8 \text{ kA/m}$ and $f = 230 \text{ kHz}$ manyetik alan etkisinin 35 gün sonra alınmış tümör fotoğrafları (Hayashi et al., 2013). A) FA-PEG-SPION+AC manyetik alan. B) Tedavi uygulanmamış. C) FA-PEG-SPION. D) AC manyetik alan.

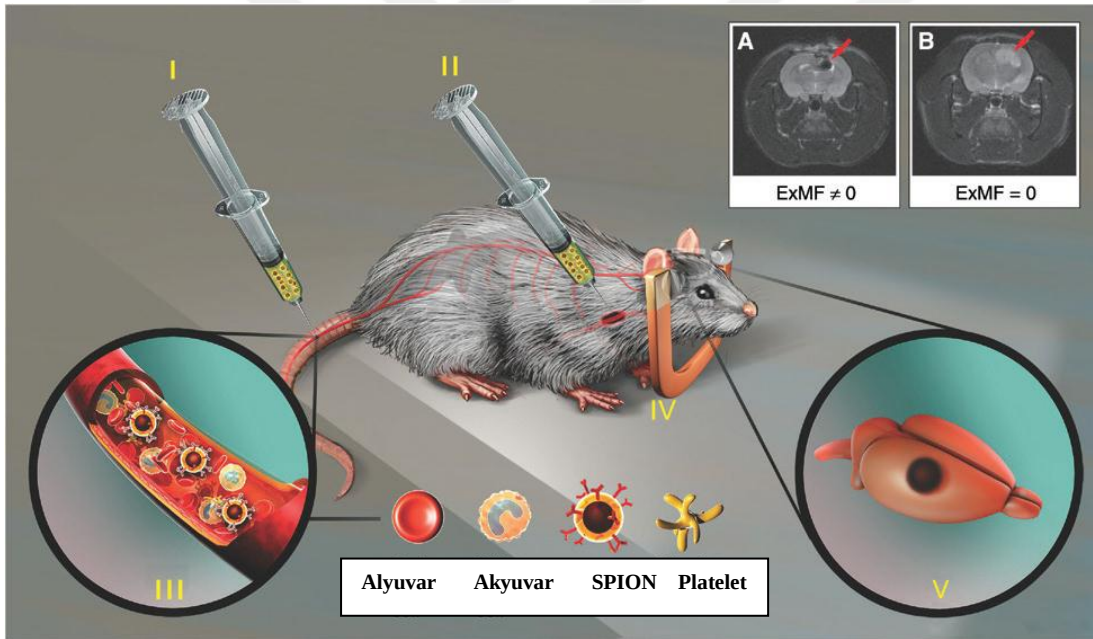
Bealle ve ark. yaptıkları araştırmada *in vivo* PEG kaplı ve saf nanopartiküllerin biyomedikal uygulamalarını incelemişler ve PEG kaplı nanopartiküllerin saf olanlara göre hücre içine alım oranlarında artış rapor etmişlerdir (Baelle et al., 2012).

Tümör hücrelerinin 41°C üzerindeki biyokimyasal stabilitesinin sağlıklı hücrelere göre daha düşük olduğu, bu limitasyonun tedavi etkinliğini artırıcı bir parametreye dönüştürülmesi amacıyla SPION'ların kullanıldığı bölgesel hipertermi tedavilerinin araştırma alanları gelişmektedir. Bölgesel hipertermi tedavisinde uygulanacak manyetik alanın güç aralığı, yan etki oluşturmayacak düzeylerde olmalıdır. Bölgesel hipertermi tedavisinde manyetik alan güç aralığının yanında nanopartikül boyutu, morfolojisi, doku tipi ve kalınlığı da önemli parametrelerdir. SPION'lar bölgesel hipertermi çalışmalarında saf veya yüzeyleri kaplanmış/fonksiyonelleştirilmiş olarak kullanılabilir (Yoo et al., 2013).

Tümör tedavisinde ısı kullanımının tarihçesi milattan önce 1700 yıllarında meme kanseri tedavisi için sıcak iğnelerin kullanıldığı belirtilmiştir (Breasted et al., 1930; Ebbell et al., 1937).

Hipertermi ile ilgili olarak kayıtlı ilk girişimler 1800'lü yıllarda yayınlanmıştır (Cann et al., 2003; Nielsen et al., 2001; Toroya et al., 2014; Gas, 2017; Strohhahn et al., 1984; Zhang et al., 2008; Cassim et al., 2011; Idrees et al., 2014).

Deney hayvanı modeli üzerinde baş bölgesi tümör hedefleme ve tedavi çalışmalarında manyetik alanla birlikte SPION kullanımına ilişkin yaklaşım Şekil 2.11.'de görülmektedir.



Şekil 2.11. SPION'ların *in vivo* hedeflenmesinin şematize edilmiş hali. I)kuyruktan II) carotid arterden enjekte edilen SPION'lar III)damar kesiti IV) baş bölgesinde tumor doku etrafında manyetik alan kaynağı V) baş bölgesi tumor doku A) harici manyetik alan varlığında B)yokluğunda SPION birikimi (Paula et al., 2017).

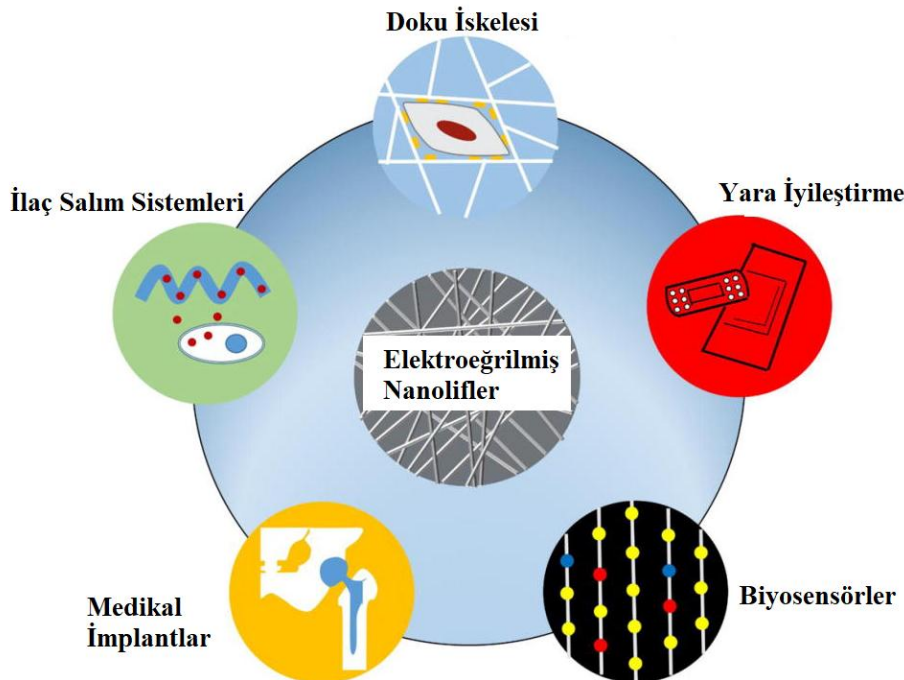
SPION temelli hipertermi çalışmalarında dışarıdan uygulanan farklı güç kaynakları vardır ve bunlar genel olarak:

- Manyetik alan,
- Alternatif manyetik alan,
- Kızılötesi ışın,
- Radyofrekans dalgası,
- Mikrodalga,
- Lazer,
- Ultrasonik dalgadır.

Hem ilaç taşıma/hedefleme çalışmalarında hem bölgesel hipertermi çalışmalarında kullanılacak manyetik nanopartiküllerin süperparamanyetik olduğu rapor edilmektedir. Süperparamanyetizma nanopartiküllerin manyetik karakterli hakkında önemli bilgiler veren ve onların boyutları, morfolojileri ve kimyasal yapıları ile doğrudan ilişkilendirilen bir kavramdır. Manyetik alan varlığında ve yokluğunda nanopartikülün sahip olduğu manyetik momentlerin yönelimi, anizotropisi ve yönelme eğilimleri süperparamanyetik nanopartiküllerin kullanım alanlarının artmasını sağlayan önemli özelliklerdir. Süperparamanyetizma söz konusu nanopartikülün tek veya çok domainli olmasına da bağlı olarak değişiklik gösterir. Bu domainlerin farklılaşması diğer faktörlerle birlikte ele alındığında manyetik manipulasyonu belirleyici bir nanopartikül karakteri oluştururlar (Moroz et al., 2001; Cheung et al., 1984; Levy et al., 2011; Ihab et al., 2015; Ma et al., 2004; Haemmerich et al., 2005; Kennedy, 2005; Hirsch et al., 2003; Alexiou et al., 2010).

2.2.2. Elektroeğrilmiş Nanolifler

Nanolifler oldukça gözenekli bir ağ oluşturabilirler ve geniş yüzey-hacim oranları birçok uygulama için performansı artırır. Elektroeğirme, çeşitli lifli düzeneklerde farklı malzemelerden nanolifler üretme konusunda benzersiz bir yeteneğe sahiptir. Yüksek üretim hızı ve kurulum basitliği, elektroeğirmeyi hem akademi hem de endüstri için oldukça çekici kılmaktadır. Enerji depolama, sağlık, biyoteknoloji, çevre mühendisliği, savunma ve güvenlik alanlarındaki uygulamalar için çeşitli nanolifler geliştirilebilir (Ramakrishna et al., 2006). Yüksek yüzey alanlarına sahip gözenekli yapılar birçok farklı alanda uygulama bulmuştur. Nanolifler, geniş yüzey-hacim oranlarıyla, yüksek gözenekliliğin istendiği doku iskeleleri gibi uygulamalarda kullanım potansiyeline sahiptir. Nanoliflerden oluşan gözenekli bir yapı, geleneksel katı gözenekli yapıların aksine, gözenek boyutu ve şeklinin değişebildiği dinamik bir sistemdir. Şekil 2.12.'de elektroeğrilmiş nanoliflerin potansiyel uygulamalarını göstermektedir.

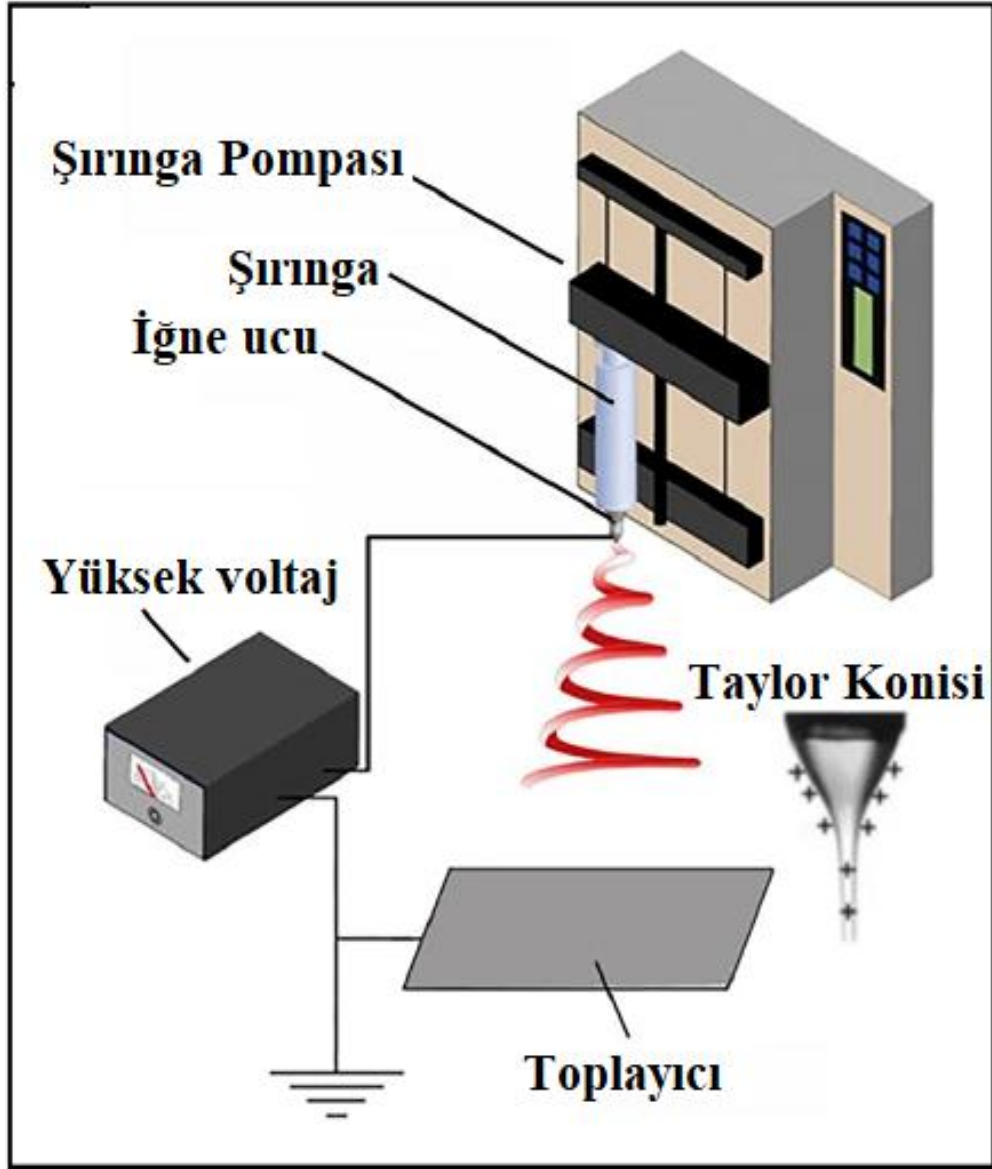


Şekil 2.12. Elektroeğrilmiş nanoliflerin potansiyel uygulamaları (Weng and Xie, 2015).

Yeterince yüksek moleküler ağırlığa sahip hemen hemen her çözünür polimer elektroëğrilebilir. Doğal polimerlerden, polimer karışımlarından, nanoparçacık veya ilaç yüklü polimerlerden üretilen nanolifler başarıyla kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Boncuklu, şerit, gözenekli ve çekirdek kabuklu lifler gibi farklı lif morfolojileriyle ilgili çalışmalar da bildirilmiştir (Sapountzi et al., 2017).

2.2.2.1. Elektroëğirme ve Çalışma Prensibi

Elektroëğirme işlemi, bir jet oluşturmak için sıvı damlacığının elektrikleştirildiği, ardından nanolifler oluşturmak için gerilme ve uzamanın takip ettiği elektrohidrokinamik bir süreci içerir. Elektroëğirme tekniğinin ana bileşenleri; yüksek voltajlı bir güç kaynağı, şırınga pompası, nozül (genellikle metalik) ve bir iletken toplayıcı içerir. Güç kaynağı, doğru akım (DC) veya alternatif akım (AC) olabilir (Cleaton et al., 2019). Elektroëğirme işlemi sırasında, sıvı, yüzey geriliminin bir sonucu olarak iğne ucunda asılı bir damlacık oluşturur. Elektrifikasyon üzerine, aynı işarete sahip yüzey yükleri arasındaki elektrostatik itme, damlacığı, yüklü bir jetin fırlatıldığı Taylor konisine deforme eder. Jet başlangıçta düz bir çizgide uzanır ve daha sonra bükülme kararsızlıkları nedeniyle kuvvetli dalgalanma hareketlerine dönüşür. Jetin yüksek oranda gerilmesi onun hızlı bir şekilde katılaşmasına ve topraklanmış toplayıcı üzerinde katı nanoliflerin birikmesine yol açar. Genel olarak, elektroëğirme işlemi birbirini takip eden dört aşamaya ayrılabilir: (i) sıvı damlacığının yüklenmesi ve Taylor konisi veya koni şekilli jet oluşumu; (ii) yüklü jetin düz bir hat boyunca uzaması; (iii) elektrik alanı varlığında jetin gittikçe incilmesi ve elektriksiz bükülme kararsızlığının artması (kamçı kararsızlığı olarak da bilinir) ve (iv) jetin katılaşmasıyla birlikte topraklanmış bir toplayıcı üzerinde katı nanoliflerin biriktirilmesi (Li and Wia, 2014; Xue et al., 2019). Sıvı jelin incilmesi ve çözücünün uzaklaşmasıyla elde edilen liflerin boyutu mikrometre boyutundan nanometre boyutuna iner (Chen et al., 2016). Şekil 2.13.'te elektroëğirme sisteminin şematik diyagramı verilmiştir.



Şekil 2.13. Elektroğirme sisteminin şematik diyagramı (Xue et al., 2019).

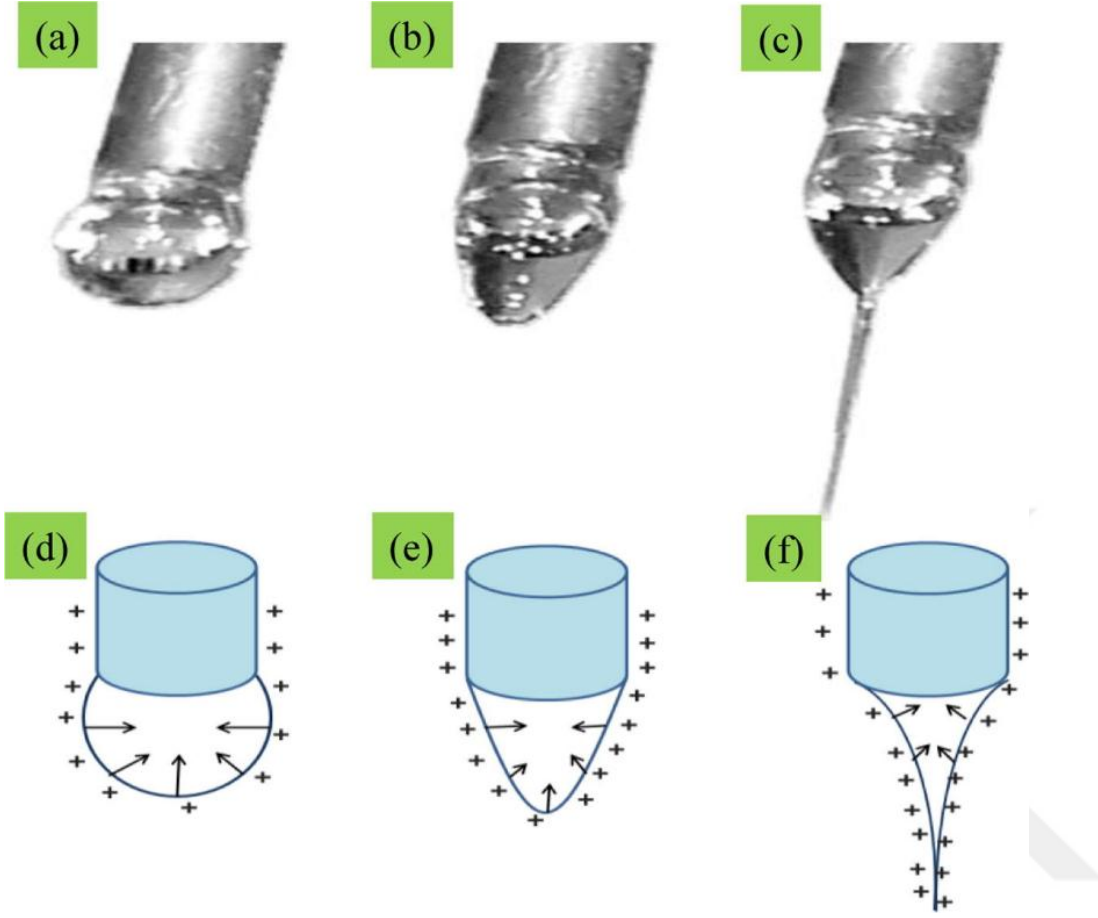
2.2.2.2. Elektroğirme Tekniğini Etkileyen Parametreler

Elektroğirme tekniğinde verimi belirleyen çeşitli etkenler mevcuttur. Bu etkenler temel olarak elektroğirme değişkenleri, çevresel değişkenler ve çözelti değişkenleri şeklinde özetlenebilir. Elektroğirme sistem değişkenleri bu yöntemde kullanılan iğnenin çapı, sistemin akış hızı, toplayıcı ile iğne arasındaki uzaklık olarak sıralanabilir. Elektroğirme özelti değişkenleri temel olarak kullanılan çözeltinin iletkenlik katsayısı, viskozitesi ve kullanılan polimerin derişimi olarak özetlenebilir. Çevresel değişkenler temel olarak, bağıl nem ve sıcaklığı içerir. Bu parametrelerin tümü, düz ve boncuksuz elektroğirilmiş nanoliflerin eldesini doğrudan etkilediği için tüm bu yönetici parametrelerin etkilerini iyice anlamak gereklidir.

2.2.2.2.1. Sistem Parametreleri

Uygulanan voltajın etkisi: Mevcut güç kaynağı kullanılarak elde edilecek yüksek seviyede voltajın kullanıldığı, seçilen çözeltinin metal yapılı bir iğne ile sisteme verildiği ve belirlenecek optimum koşullarda istenen düşük çaplı nanoliflerin oluşması yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Laudenslager and Sigmund, 2012). Burada söz konusu optimum koşulların ifade edildiği volt değeri, seçilen malzemenin yapısına ve nanofiberlerin hangi boyutlarda sentezlenmesinin hedeflendiğine göre değişim gösterebilir (Sill and von Recum, 2008).

Uygulanan voltajda kritik değerin üzerindeki artış, boncukların veya boncuklu nanoliflerin oluşmasına neden olacaktır. Uygulanan voltajdaki artışla boncuk veya boncuklu nanoliflerin çapındaki ve oluşumundaki artışlar, aynı akış hızı için Taylor konisinin boyutundaki azalmaya ve jet hızındaki artışa bağlanmaktadır. Deitzel et al. (2001) poli (etilen oksit) (PEO)/su kullanılarak hazırlanan polimer çözeltisine uygulanan voltajdaki artışla birlikte boncuk oluşumu olduğuna dair sonuçları bildirmişlerdir. Ayrıca, uygulanan voltajın artmasıyla nanoliflerin çapının da arttığı bildirilmiştir. aptaki bu artış, uygulanan voltaj ile jet uzunluğundaki artışla ilgilidir (şekil 2.14.) (Deitzel et al., 2001).



Şekil 2.14. (a–c) Artan elektrik alanının etkisi altında polivinilpirolidon damlacığının üç aşamalı deformasyonunu gösteren dijital görüntüler, (d–f), yüklerin polimerik damlacıklar üzerindeki etkisinin mekanizmasını göstermektedir (Laudenslager and Sigmund, 2012).

Çözelti akış hızının etkisi: Metalik iğne ucundan geçen polimerik çözeltinin akışı, elektroğrılmış nanoliflerin morfolojisini etkiler. Homojen ve boncuksuz elektroğrılmış nanoliflerin hazırlanabilmesi için, seçilen malzemeye göre değişiklik gösterebilen akış hızının optimum değerinin belirlenmesi, belirlenen kritik değerde fiber sentezinin yürütülmesi genel olarak önerilen bir durumdur.

Örneğin polistiren çözeltisinde, polimer 0,10 mL/dk olarak optimumdan daha yüksek bir akış hızına sahip olduğunda boncuk oluşumu gözlemlendiği gerçekleştirilen çalışmalarda bildirilmiştir (Megelski et al., 2002). Nanolif sentezinde belirlenen optimum değerlerdeki akışı hızı eğer daha yüksek değerlerde uygulanırsa bunun temel olarak elde edilen fiberlerin daha büyük çaplı olması, gözeneklerinin daha geniş olması, boncuklanma görülmesi gibi istenmeyen sentez verim kayıplarına yol açabildiği gösterilmiştir (Zargham et al., 2012).

İğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe ve iğne yarıçapı: Nanofiber oluşturulan sistemde enjektör ile toplayıcının aradaki uzaklık (TCD) değerinin elde edilecek nanofiberlerin üç boyutlu yapı ve boyutlarını anlamlı olarak etkilediği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Ki et al., 2005). Bu nedenle diğer nanofiber sentez değişkenleri ile birlikte bu uzaklık değişkeninin de optimize edilmesi ve sentezin bu değerlerde gerçekleştirilmesi önerilmektedir (Yuan et al., 2004).

2.2.2.2.2. Çözelti parametreleri

Polimer Derişimi ve Çözelti Viskozitesi: Elektroeğirme işlemi sırasında nanolif oluşumunda polimer çözeltisinin konsantrasyonu önemli bir rol oynar. Düşükten yükseğe dört kritik konsantrasyona dikkat edilmelidir:

- Derişim belirli bir değerin altında olursa düşük çaplı polimerik yapıda parçacıkların oluşabileceği, hedeflenen aksine bir elektrosprey işlemi gerçekleşeceği gösterilmiştir (Deitzel et al, 2001).
- Derişim optimum koşullardaki kadar olmasa da, ilk maddeye kıyasla daha fazla olursa hedeflenen fiberlerin ancak boncuklu şekilde oluşturulabileceği gösterilmiştir (Lee et al., 2003; Eda and Shivkumar, 2007).
- Derişim optimum değerde seçildiğinde hedeflenen optimum fiberlerin oluşturulabileceği gösterilmiştir (Li and Wang, 2013).
- Derişim optimum değerin üzerinde seçildiğinde çok büyük boyutlu şeritlerin meydana geleceği gösterilmiştir (Yang et al., 2004).

Genellikle, çözelti konsantrasyonunun arttırılmasıyla, çözelti konsantrasyonu elektroeğirme için uygunsa, lif çapı artar. Ek olarak, çözelti konsantrasyonu ayarlanarak çözelti viskozitesi de ayarlanabilir (Kim et al., 2005).

Moleküler Ağırlık: Elektroeğirme işleminde kullanılacak olan polimerin moleküler ağırlığı da elde edilecek elektroeğrilmiş nanoliflerin üç boyutlu yapılarını anlamlı düzeyde belirleyici rol alır. Seçilen polimerin derişimi sabit tutularak moleküler ağırlık düşürülürse hedeflenen düzgün morfolojide nanolifler yerine boncuklu nanoliflerin elde edilmesiyle sonuçlanan bir değişim meydana gelir. Dolayısıyla, polimerin molekül ağırlığının arttırılması düzgün morfolojide lif eldesini desteklemektedir. Moleküler ağırlığın daha da artmasıyla mikro-şeritler elde edilir (Koski et al., 2004). Bununla birlikte seçilen derişim değeri görece az olduğu durumlarda da eğer moleküler ağırlık değeri çok yüksek bir malzeme seçilmişse hedeflenen nanofiberler yerine çok daha yüksek boyutlu şeritlerin oluşması ile sonuçlanır (Zhao et al., 2005).

Viskozite: Çözeltinin viskozite değeri, elde edilecek nanoliflerin üç boyutlu yapılarını belirleyici en önemli değişkenlerden biridir. Viskozite değerinin az olduğu durumlarda hedeflenen optimum nanoliflerin oluşturulamaması, yüksek olduğu durumlarda ise fırlatmanın istenenden daha sert olması ile sonuçlandığı araştırmalar sonucunda belirlenmiştir (Sukigara et al., 2003; Zhang et al., 2005).

Yüzey Gerilimi: Belirlenen çözeltiye ait yüzey gerilim özelliği, elde edilecek liflerin boyut ve üç boyutlu yapılarında belirleyici bir etkiye sahiptir. Çözeltinin yüzey gerilimini azaltan konsantrasyon sabitlendiğinde, boncuklu lifler düz liflere dönüştürülebilir. Ek olarak, çözücü karışımının kütle oranı değiştirilerek yüzey geriliminin ve çözelti viskozitesinin ayarlanabilir. Yüzey gerilimi, diğer tüm koşullar sabitse, elektroğirme penceresinin üst ve alt sınırlarını belirler (Haghi end Akbari, 2007).

İletkenlik ve Yüzey Yük Yoğunluğu: Belirlenen bir çözeltinin iletkenlik değeri seçilen polimerin yapısına ve etkisine ve kullanılacak çözücünün fizikokimyasal özelliklerine göre farklılaşır. İyonların daha zayıf nanofiberlerin oluşunda kullanılabildiği (Zong et al., 2002) bununla birlikte NaCl gibi iyonik tuzlar kullanılarak iletkenlik düzeyinin manipüle edilebileceği gösterilmiştir (Huang et al., 2006; Hou et al., 2006).

2.2.2.2.3. Ortam Parametreleri

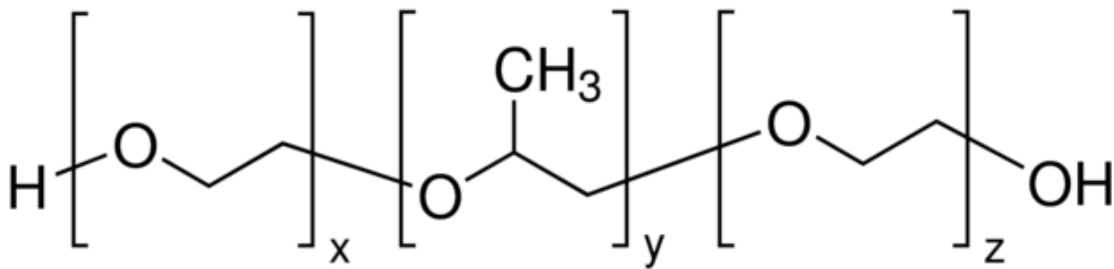
Hedeflenen nanoliflerin boyut ve morfolojileri sıcaklık ve nem başta olmak üzere ortam değişkenlerine doğrudan bağlıdır. Örneğin sıcaklığın artmasının poliamid-6 lifleri için daha ince lif çapını desteklediğini göstermiştir (Mitupatham et al., 2004). Düşük nem değerlerinde çözücünün uzaklaşma riskinin bulunduğu, yüksek nem değerlerinde hedeflenenden daha büyük çaplı nanofiberlerin oluşabilme riski bulunduğu belirtilmektedir (Li and Wang, 2013).

2.2.2.3. Elektroeğirme İşleminde Kullanılan Polimerler

Nanoliflerin eldesinde yüksek molekül ağırlıklı polimerler kullanılmaktadır. Bugüne kadar 200'den fazla polimer (doğal, sentetik ve kopolimerler) uygulamalarına bağlı olarak elektroeğirmede başarıyla kullanılmıştır. Günümüzde polimerik nanolifler, doku mühendisliğinde, kontrollü ilaç salım sistemlerinde, biyosensörlerde ve çok çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır.

Doğal polimerler, biyouyumlu olmaları nedeniyle biyomühendislik uygulamalarında daha fazla tercih edilmektedir. Özellikle kitosan, jelatin, kolajen ve fibrin gibi doğal polimerler elektroeğirilmiş nanolif eldesi için sıklıkla kullanılmaktadır (Dadras Chomachayi et al., 2018).

Sentetik polimerler, yüksek stabilite gösterdiği için bazı durumlarda doğal polimerlere göre daha fazla tercih edilmektedir (Bhatia, 2016). Polianhidrit, poliüretan, polifosfazenler, polilaktid (PLA), poliglikolid (PGA), poli (3-kaprolakton) (PCL), polietilen oksit, poli (L-laktid-co-3-kaprolakton) (PLCL) gibi biyobozunur sentetik polimerlerle üretilmiş elektroeğirilmiş nanolifler biyomedikal uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Zeng et al., 2003; Boland et al., 2001; Neves et al., 2007; Kwon et al., 2005). Poli (etilen glikol)-blok-poli (propilen glikol)-blok-poli (etilen glikol) (PEG-PPG-PEG) kopolimeri eczacılık, biyomedikal ve kişisel bakım ürünleri gibi uygulamalarda kullanılabilen bifonksiyonel akrilat bazlı amfifilik triblok kopolimerdir (Şekil 2.15.).



Şekil 2.15. (PEG-PPG-PEG) triblok kopolimeri.

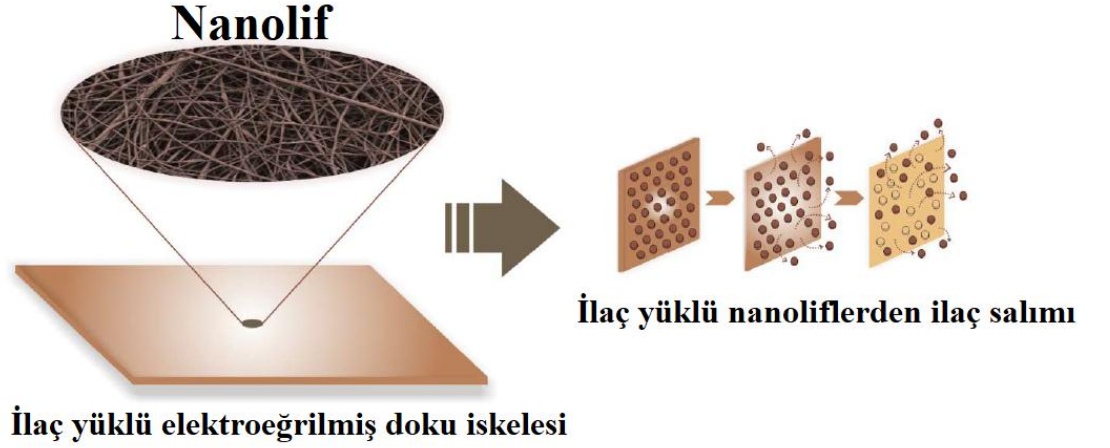
PEG ve PPG'den oluşan amfifilik blok kopolimerlerin, sulu bir ortamda misel içinde kendiliğinden bir araya geldiği bilinmektedir. PEG miseller, ilaçlar için bir rezervuar görevi görebilen hidrofobik çekirdeğin ve sterik stabilizasyon etkisi veren hidrofilik PEG kabuğunun sağladığı avantajlı özellikleri nedeniyle modüle edilmiş kontrollü ilaç salım sistemleri için yoğun bir şekilde araştırılmıştır. Polimerik misel tabakası, çekirdek-kabuk mimarisini koruyarak yüzey üzerinde hareketsiz hale getirilebilirse, misel ile hareketsizleştirilmiş bu yüzey için çözeltideki misellerin protein itici ve ilaç salma özellikleri gibi avantajları ortaya çıkabilir. Farklı poli (ester) çekirdek oluşturuç bloklar, son zamanlarda iki bloklu ve üç bloklu PEG-b-PLA veya PLA-PEG-PLA miselleştirilmiş veya kimyasal/fiziksel olarak stabilize edilmiş nanopartikülat taşıyıcılar formunda ilaç dağıtım uygulamaları için biyomalzemeler olarak kullanılmaktadır. Ayrıca PLA ve PLGA'nın PEG-PPG-PEG ile kombinasyonları, antikanser tedavisi için ilaç taşıyıcıları olarak nanopartiküller veya miseller olarak dikkat çekmektedir (Kunii et al., 2017; Kataoka et al., 2012).

Blok kopolimerlerle elde edilen nanopartiküller, çekirdek ve kabuk bölgelerinden oluşur: çekirdek bölgeleri hidrofobik ilaçlar için rezervuarlar iken kabuklar biyolojik ortamla etkileşime girer. Blok kopolimer misel sistemlerinin hidrofilik kabuğu hidrofilik ilaçların salınmasında, yüzey modifikasyonlarında ve mononükleer fagosit sistem alımının önlenmesinde kullanılabilirken, hidrofobik ilaçlar çekirdek bölge çevresinde birikme eğilimindedir (Öcal et al., 2014).

2.2.2.4. Elektroeğrilmiş Nanoliflerin Biyomedikal Kullanımları

İlaç salım sistemleri, istenmeyen yan etkileri en aza indirirken, verilen ilacın terapötik etkilerini en üst düzeye çıkarabildikleri için farmasötik alanda umut verici araçlardır. Geçtiğimiz yıllarda, elektroeğrilmiş nanolifler, biyouyumluluk ve geniş esneklik gibi benzersiz özellikleri nedeniyle artan ilgi görmüştür (Pant et al., 2019). Nanopartiküller, nanolifler, nanojeller, miseller ve mikroküreler gibi nanoteknolojilerin keşfiyle birlikte, ilaç dağıtım sistemlerine yönelik yeni yaklaşımlar geliştirilmiştir. Tüm bu alternatifler arasında biyobozunur ve biyouyumlu polimerlerle üretilen nanolifler, geniş esneklikleri, etkinlikleri ve geniş yüzey alanı, küçük çap ve yüksek en boy oranı gibi benzersiz fizikokimyasal özellikleri nedeniyle artan bir ilgi görmektedir (Wang et al., 2019). Ayrıca, nanolifli yapı iskelelerinin hedeflenen yerde uygulanması, serbest ilaç veya diğer ilaç dağıtım sistemi ile sistemik perfüzyonun dezavantajlarını en aza indirebilir, kontrollü ve sürekli bir salım ile aktif farmasötik maddenin etkisini en üst düzeye çıkarabilir (Islam et al., 2019). Bir başka büyük avantaj, liflerin biyomedikal uygulamalar için hücre bağlanmasını ve çoğalmasını kolaylaştıran doğal fibriller hücre dışı matris (ECM) ile benzerliği ile sağlanır (Feng et al., 2019).

İlaç etken maddeleri farklı yaklaşımlarla nanoliflere dahil edilebilir. İlaçlar elektroeğirme işleminden önce doğrudan polimer çözeltisine ilave edilebilir veya elektroeğirme işleminden sonra immobilizasyon teknikleriyle yüzeye bağlanabilir. Bunların her biri farklı bir ilaç salımı profili sağlar. Şimdiye kadar gerçekleştirilen çalışmalarda küçük moleküllerden proteinlere ve nükleik asitlere kadar çok çeşitli ilaçlar elektroeğrilmiş nanoliflere başarıyla dahil edilmiştir. Daha karmaşık cihazlar aynı zamanda sinerjistik etkilere sahip birden fazla ilacı iletebilir veya belirli uyarılara yanıt olarak dahil edilen ilacın salınımını seçici olarak ayarlayabilir (Luraghi et al., 2021). Şekil 2.16.'da elektroeğrilmiş nanoliflerin ilaç salım çalışmalarında kullanımları şematize edilmiştir.



Şekil 2.16. Elektroğrılmış nanoliflerden ilaç salınımı (Torres-Martínez et al., 2019).

Literatürde manyetik malzemelerin biyomedikal uygulamalarına oldukça geniş bir alan ayrılmıştır. Bir uyarıcı olarak, manyetik alanın diğer seçeneklere göre eşsiz avantajları vardır. Canlı dokular manyetik olarak saydamdır. Çünkü bileşimleri esas olarak diyamanyetiktir ve klinik manyetik rezonans görüntüleme makinesi gibi güçlü bir manyetik alanda bile ihmal edilebilir bir şekilde itilir (Schenck, 2005). Ek olarak, insan vücudu yüksek mukavemetli bir manyetik alanı tolere edebilir. Güçlü bir ışık veya ısı kaynağı genellikle DNA hasarına ve hücre ölümüne yol açarken, insanlar 7 Tesla'ya kadar olan manyetik alanları tolere edebilir (Theysohn et al., 2008). Manyetik olarak duyarlı lifler üretmek için, elektroğirme sırasında polimerlere süperparamanyetik nanopartiküller (SPN'ler) dahil edilebilir (Wang et al., 2005).

Süperparamanyetizma, sıcaklıkların etkisi altında manyetizasyon yönlerini rastgele çeviren küçük ferromanyetik veya ferrimanyetik nanoparçacıklarda ortaya çıkar. Bu özellik, manyetik alana duyarlı ilaç yüklü elektroğrılmış nanolifler tarafından arzu edilmeyen manyetik histerezis göstermeden SPN'lerin uygulanan alternatif akım manyetik alanı (ACMF) ile hizalanmasını garanti eder. Fe_3O_4 (manyetit) veya Fe_2O_3 (maghemit) gibi Fe bazlı manyetik nanomalzemeler düşük sitotoksisite ve yüksek biyouyumlulukları nedeniyle yaygın olarak kullanılmıştır (Ankamwa et al., 2010). Manyetik alana duyarlı ilaç yüklü elektroğrılmış

nanoliflerden ilaç salınımı, harici bir alternatif akım manyetik alanının etkisi altında süperparamanyetik nanopartikül hareketini tanımlayan bir olgu olan manyetik hipertermi tarafından yönlendirilebilir (Hergt et al., 2004). Uygulanan alan, Néel gevşemesi nedeniyle nanoliflere gömülü süperparamanyetik nanoparçacıkları ısıtır (Pankhurst et al., 2003). Süperparamanyetik nanopartiküller, Curie sıcaklığının altında oldukları sürece ısınırlar. Curie sıcaklığına ulaştığında ve süperparamanyetizmalarını kaybettiğinde ısınmaları durur. Çünkü süperparamanyetik nanopartiküllerin Curie sıcaklığı, arıza emniyetli bir mekanizma sağlar (Rong et al., 2006). Curie sıcaklığı, bileşimlerin ve partikül boyutlarının makul bir seçimiyle belirlenir. Aşırı ısınmanın oluşmasını önlemek için hipertermi hassas bir şekilde kontrol edilebilir. Kullanılan polimer ısıya duyarlı bir polimer ise (örneğin, poli N-izopropil akrilamid), nanolifin ACMF'ye periyodik olarak maruz kalması, poli (N-izopropil akrilamid)'in şişme ve inme döngüsüne yol açarak sıcaklığa duyarlı ilaç yüklü elektroğrılmış nanolifler ile benzer mekanizma sergiler.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal

PEG-PPG-PEG ortalama $M_w \sim 8500$, FeCl, FeSO₄, Polistiren (PS, ortalama $MW \sim 350000$ g/mol), Kloroform, DMF Sigma'dan alınmıştır. Saf su, Millipore Milli-Q Ultrapure cihazından alınmıştır. Hücre kültürü çalışmalarında DMEM, Tripsin, Trypan blue, CHROM-FIL 0.22µm filtre Gibco'dan alınmıştır.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Elektroğrılmış nanolifler (SPION-PEG-PPG-PEG/PS ve SPION içermeyen-PEG-PPG-PEG/PS) NanoWeb Electrospin103 (MaviTech, Türkiye) kullanılarak elde edilmiş ve enjeksiyon pompası olarak New Era Pump System kullanılmıştır. Misellerin boyut ölçümleri DLS Malvern Zetasizer Nano cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Elektroğrılmış nanoliflerinin temas açısı ölçümleri Attension Theta Gonyometer cihazı ile alınmıştır. Nanoliflerin morfolojik yapısını belirlemek için SEM tekniği (Thermo Scientific Apreo S) kullanılmıştır. Absorbans ölçümleri Thermo mikropate okuyucu ile gerçekleştirilmiştir. Nanoliflerin çap dağılımının histogramları, Image J programı ile çizilmiştir. Hücre canlılık analizi çalışmalarında Memert inkübatör, Nüve su banyosu, Zeiss axio inverted microscope, CHROM-FIL 0.22 µm filtre kullanılmıştır.

3.3. SPION Sentezi

Bu tez çalışmasında manyetik demiroksit nanopartiküllerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentez yöntemi olarak birlikte çöktürme tekniği kullanılmıştır. Sentez için, demir klorür ve demir sülfatın bazik ortamda 80 °C'de birlikte çökelmeleri ile Fe₃O₄ nanopartiküller elde edilmiştir. Ardından bu nanopartiküllerin mıknatıs stand üzerinde üç kez etanol, etanol/saf su, saf su ile yıkamaları yapılmıştır.

Karakterizasyon çalışmalarında kullanılmak üzere, sentezlenen nanopartikül çözeltisinden ependorf tüplere örnekler alınmış, kurutulmuş ve SEM analizi için hazırlanmıştır. Sentezlenen manyetik nanopartikülün kuru kütle analizi yapılmış ve Şekil 4.1.'de verilen SEM görüntüleri alınmıştır ve 20 nm çapından düşük SPION'ların sentezlendiği görülmüştür. Ardından homojenize edildikten sonra 0,1-0,25-0,5-0,75-1 mL süperparamanyetik nanopartikül daraları alınmış ependorflara alınıp etüvde çözgen uzaklaştırılmış ve tekrar tartılmıştır. “kuru kütle = dolu ependorf - ependorf darası” şeklinde Taylor et al., 2012 ve Ma et al., 2007 rapor edilen bu yöntemle göre mL’de bulunan süperparamanyetik nanopartikülün mg cinsinden değeri bulunmuştur.

3.4. PEG-PPG-PEG Misel Sentezi, Kritik Misel Konsantrasyonunun Belirlenmesi, SPION ve Çözgen Boyut Optimizasyonlarının Gerçekleştirilmesi

Miseller ince film tabaka yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir. İlk olarak 4 çözgen için ayrı ayrı miseller hazırlanması amacıyla PEG-PPG-PEG tartılmış ve 0,1 M derişimde stoklar hazırlanmıştır. Bu polimerler çözgen içerisine alınıp 35°C’de 30 dk ultrasonik banyoda sonike edilip, ardından çözgen uzaklaştırılmıştır. Ardından oluşan ince film misel tabakası üzerine yaklaşık 50 °C’ye ısıtılmış 5 mL distile su (dH₂O) eklenip homojen oluncaya kadar vortekslenmiş, son olarak 0,45 mM steril filtreyle filtrelenerek elde edilmiştir. Daha sonra bir önceki çalışmada belirlenen 0,25 mM kritik misel konsantrasyonunda örnekler hazırlanmış ve deney süresince üçlü tekrarlı olarak çalışılmıştır. Ardından 4 farklı çözgen içerisinde hazırlanan misellerin DLS ile boyut analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu basamakta bu kritik misel konsantrasyonunda 4 farklı çözgen içerisinde hazırlanan (benzen, kloroform, metanol, dH₂O) misellerin boyut dağılımları DLS sonuçları değerlendirilerek optimum çözgen belirlenmeye çalışılmıştır.

DLS ölçüm sonuçlarına göre benzen, kloroform ve metanol çözgenleri ile üç tekrarlı olarak hazırlanan misellerin üçüncü tekrarlarına ait DLS sonuçları

incelendiğinde sonuçların tekrarlanabilir olmaması ve yüksek polidispersite indeksine sahip olmaları nedeniyle bu tekrara ait veriler sonuçlara dahil edilmemiş, ilk iki tekrara ait veriler kullanılmıştır. dH₂O çözgeni kullanılarak hazırlanan misellerin DLS sonuçlarına göre her tekrarda birbirinden farklı, tekrarlanabilirliği düşük ve polidispersite indeksi yüksek veriler elde edilmiştir. Misel sentezinde kullanılan çözgenlere ilişkin DLS boyut analizi sonuçları Şekil 4.2.1’de verilmiştir. Misellerin boyut dağılımı göz önüne alınarak çözgen olarak kloroform seçilmiş, kloroform içinde hazırlanan misellerin kontrollü ilaç salım potansiyelleri saf misel ve çekirdeğinde Fe₃O₄ SPIONs içeren misel şeklinde karşılaştırılmıştır.

PEG-PPG-PEG triblok kopolimerinden çıkılarak sentezlenen kloroform içerisinde kritik misel konsantrasyonu 0,25 mM olarak literatür ile uyumlu bir değer belirlenmiştir. Yapılan çalışmada benzer şekilde ilaç taşıma çalışmalarında kullanılmak üzere farklı çaplarda polimerik misellerin kullanımını gösterilmiştir (Croy et al., 2006; Ahmad et al., 2014).

3.5. İlaç Standartlarının Hazırlanması

Kontrollü salım için seçilen ilaçlar deksametazon ve diklofenak potasyum’dur. Bu ilaçlar kortikosteroid ve nonkortikosteroid yapıda antiinflamatuvar amaçla kullanılan bir moleküllerdir. Kanseri vakalarında kombin tedavi içerisinde yer alır, inflamasyon bölgesinde baskılayıcı etki göstererek tedavi verimini artırmayı amaçlar. Doku mühendisliği uygulamaları ise yine benzer şekilde, yabancı materyallerin (stent, implantlar) vücutta oluşturabileceği istenmeyen immün yanıt ve takip eden inflamasyon cevabını baskılamak için kullanımları mevcuttur. Literatürde bu ilaçların kontrollü salım potansiyellerinin araştırılmasına yönelik farklı yaklaşımlar mevcuttur. Yapılan çalışmada deksametazonun polyterthiophene ile kontrollü salımını gerçekleştirmiştir (Stevenson et al., 2010). Diğer bir çalışmada diklofenak potasyumun ıslak granülasyon tekniği ile hazırlanan tabletler ile kontrollü salımını gerçekleştirilmiştir (Shah et al., 2012).

PEG-PPG-PEG/SPION ilaç salım çalışmalarında kullanılmak üzere seçilen deksametazon ve diklorofenak potasyum ilaçlarının ve 200 nm - 80 nm aralığında absorbands taramaları yapıp literatür bilgileriyle örtüşen sırasıyla 241 ve 209 nm dalga boylarında optimum dalga boyu olarak belirlenmiş ve sonraki çalışmalar bu dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Deksametazon ilacı sıvı formda temin edilmiştir. Diklorofenak potasyum ilacının hazırlanması için çözgen olarak etanol seçilmiştir. Diklorofenak potasyum ilacının hazırlanması için çözgen olarak etanol kullanılabildiğini rapor edilmiştir (Vijayakumar et al., 2010; Ramya et al., 2012). Deksametazon ve diklorofenak potasyum ilaçlarının 1, 2.5, 5, 10 ve 25 μ M konsantrasyonunda standartları hazırlanmış ve sırasıyla 241 ve 209 nm dalga boylarında absorbands ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3.6. Alternatif Manyetik Alan ve İlaç Salım Çalışmaları

AMF cihaz düzeneği Şekil 4.8.'de gösterilmiş olup 220 V 12 V dönüştürü kullanılmıştır. Seçilen güç kaynağı 120 W gücündedir. Literatürde benzer şekilde sıvı hipertermi araştırmasında 120 W güç kullanımını rapor edilmiştir (Das et al., 2019). Bobin çapı olarak 3 cm belirlenmiştir. Bu çap PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sistemlerinin yer aldığı tüplerin yerleştirilmesi için gereken aralıktır. Farklı SPION komplekslerinin polimerik hidrojenlerle birlikte hücresel hipertermi temelli kanser tedavisinde kullanımını rapor edilmiştir (Zhang et al., 2017). Geliştirdiğimiz PEG-PPG-PEG/SPION temelli ilaç taşıma sistemi bu literatür çalışmasıyla kıyaslandığında manyetik nanopartiküllerin PEG-PPG-PEG triblok kopolimerinden elde edilen misel ile fonksiyonelleştirilip ilaç yüklenebilmesi gibi özellikleri dolayısıyla daha avantajlıdır.

Konrollü ilaç salım çalışmalarında başlangıçta optimize edilen kritik misel konsantrasyonu olan 0,25 mM PEG-PPG-PEG triblok kopolimer ile denemeler gerçekleştirilmiştir. 5 mL kloroform içerisinde çekirdeğinde 250 mg/mL SPIONs ve ilaç molekülleri içeren polimerik miseller 30 dk oda sıcaklığında 300 rpm manyetik karıştırıcı içerisinde hazırlanmış, ardından çözgen uzaklaştırma işlemi yapılmıştır. Çözgen uzaklaştırma işleminin ardından oluşan film tabakası 2 mL dH₂O eklenerek 5 dk sonikasyona, 30 dk oda sıcaklığında 300

rpm manyetik karıştırıcıda optimizasyona tabi tutulmuştur. Ardından neodyum mıknatıs kullanılarak 5 dk bekleme ve üç kez dH₂O ile yıkama işlemi uygulanmış ve homojen polimerik misellerin oluşumu gerçekleştirilmiştir.

SPIONs konsantrasyonunun 250 mg/mL olarak belirlenmesinin nedeni, daha önceki hücresel hipertermi çalışmalarında anlamlı sıcaklık artışı sağlayabilecek minimum SPIONs konsantrasyonunun 250 mg/mL olarak bulunmuş olmasıdır. Dolayısıyla 250 mg/mL üzerindeki SPIONs konsantrasyonunda çalışmak burada hazırlanan polimerik misel sisteminin aşırı ısınarak parçalanmasına yol açabilecektir. Bu amaçla 250 mg/mL SPIONs konsantrasyonunda alternatif manyetik alan (AMF) temelli 60 sn hipertermi uygulaması ile polimerik misel sisteminin ilaç salım potansiyeli değerlendirilmiştir. AMF uygulama süresinin 60sn olması hücresel hipertermi çalışmasında belirlenen 42-45 °C tedavi sıcaklığına bu sürede ulaşılmasından kaynaklanmaktadır. SPION'ların AMF uygulama süresine göre meydana gelen ısı artış düzeneği Şekil 4.8.'de, bu düzenekte 0-240 sn AMF uygulamasıyla meydana gelen ısı artışı Şekil 4.9.'da verilmiştir.

3.7. PEG-PPG-PEG/SPION/Polistiren Elektroeğrilmiş Nanolif Sentezi

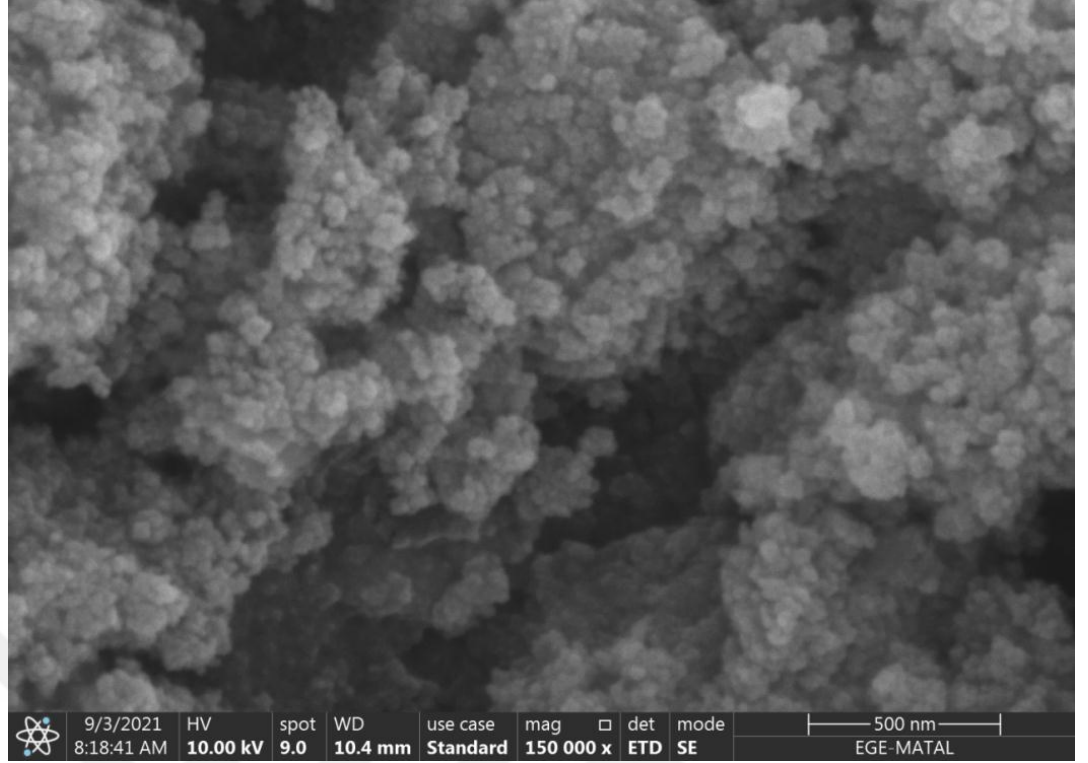
DMF içerisinde %35 polistiren oranında %1, %3, %5, %15, %25 aralığında çekirdeğinde SPIONs yer alan ve almayan (kontrol) PEG-PPG-PEG triblok kopolimerinden sentezlenen misellerden nanolifler elde edilmiştir. SPIONs içeren ve içermeyen her iki grupta da %15 ve %25 oranında PEG-PPG-PEG misel kullanılan çalışmalarda çözelti homojenliği ve fiber oluşumu sağlanamadı. Her iki grup için de %1, %3, %5 oranında PEG-PPG-PEG misel içeren elektroeğrilmiş nanolifler başarıyla oluşturulmuştur.

Işık mikroskobu görüntülemeleri ve temas açısı ölçümleri gerçekleştirilen elektroeğrilmiş nanoliflerin SEM görüntülemeleri ve FTIR ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

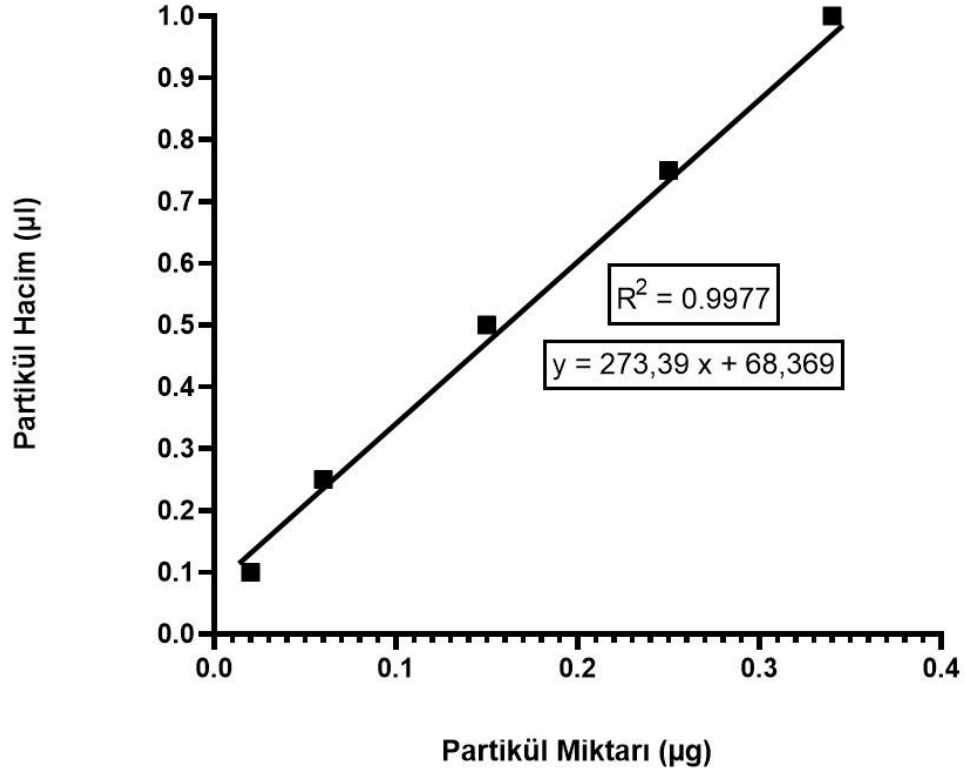
4.1. Fe₃O₄ SPION Sentezi ve Karakterizasyonuna İlişkin Veriler

Literatürdeki mevcut çalışmalarda SPION sentezi ve kanser görüntüleme ve nanopartiküllerin yüzey modifikasyonlarına ilişkin veriler sunulmuştur (Lee et al., 2007; Sodipo et al., 2016). Birlikte çökelme metodu ile benzer şekilde SPION'lar elde edip bunların üçüncü nesil PAMAM'lar ile modifikasyonlarını yaptıkları bir çalışmanın sonucunda rapor edilmiştir (Tajabadi et al., 2013). Diğer bir çalışmada birlikte çökelme metodu ile benzer SPION'lar elde edip bunların kök hücre hedefleme ve manyetik rezonans görüntüleme alanında kullanımlarını gösterilmiştir (Barrow et al., 2016). Gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise birlikte çökelme metodu kullanılarak elde edilen SPION'ların hücre toksisitesi üzerindeki etkilerini rapor edilmiştir (Mahmoudi et al., 2009).



Şekil 4.1. Birlikte çökelme yöntemi ile sentezlenip yıkamaları tamamlanıp, heksan içerisinde disperse edilip çözgeni uzaklaştırıldıktan sonra analizi yapılan Fe_3O_4 SPION'ların SEM görüntüsü.

Literatürde farklı yöntemlerde 1 nm ile birkaç mikron boyut aralığında manyetik nanopartiküllerin sentezleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Bu veillerle kıyaslandığında sentezlemiş olduğumuz nanopartiküllerin boyut ve morfoloji açısından biyomedikal alanda kullanılabilir SPION'larla benzer oldukları görülmüştür. Sentezlenen nanopartiküllerin kuru kütle grafiklerinin çıkarılabilmesi için öncelikle ependorflar tartılarak daraları alınmıştır. Ardından 0,1-0,25-0,5-0,75-1 mL nanopartikül ependorflara konularak etüvde çözgen uzaklaştırılmış ve tekrar tartılmıştır. Şekil 4.2.'de “kuru kütle = dolu ependorf - ependorf darası” şeklinde literatürle uyumlu şekilde hesaplanmış ve kuru kütle grafiği çizilmiştir (Taylor et al., 2012; Ma et al., 2007).



Şekil 4.2. Süperparamanyetik nanopartiküle ait kuru kütle grafiği.

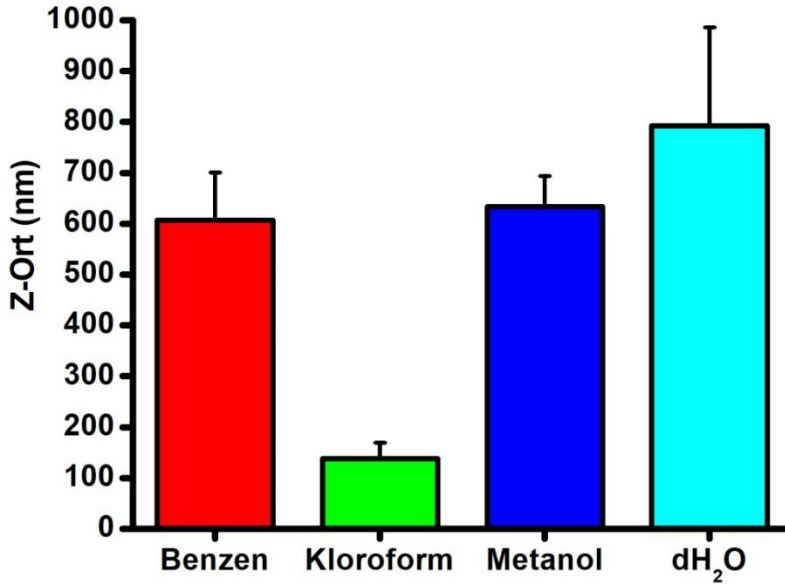
Çizelge 4.1. SPION sentez yöntemleri ve elde edilen SPION çaplarına ilişkin literatür çalışmaları.

SPION Sentez Yöntemi	SPION Çapı	Referans
Birlikte çökelme metodu	9 nm	Tajabadi et al., 2013
Massart metodu	13 nm	Sodipo et al., 2018
Mikrodalga aracılı sentez	7.1 nm	Lienas et al., 2019
Solvothermal metod	120-400 nm	Zhang et al., 2011
Hidrotermal metod	3-4 μ m	Chen et al. 2012

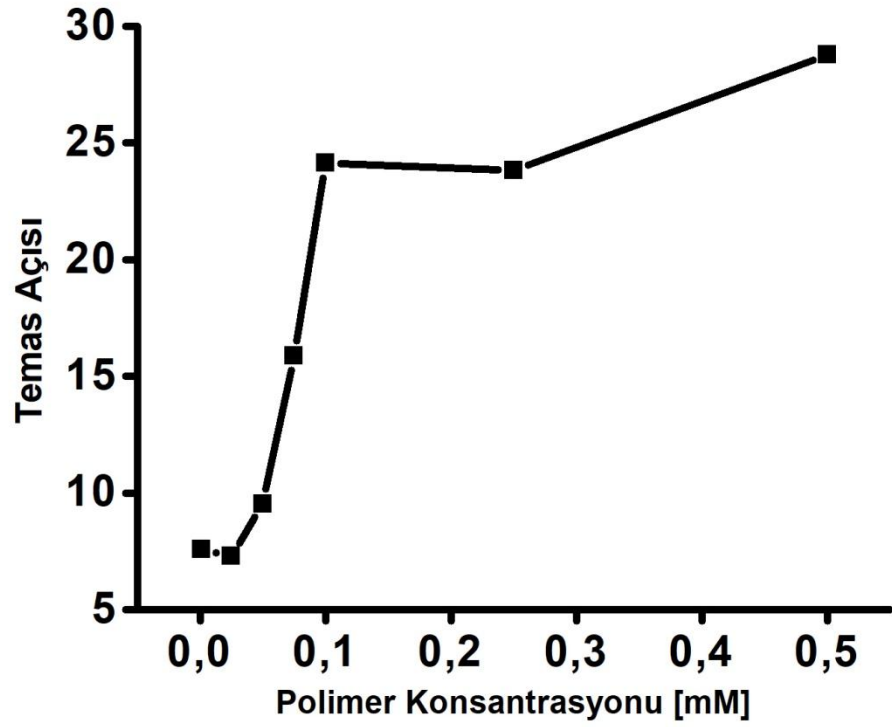
4.2. PEG-PPG-PEG Triblok Kopolimer SPION İçeren Misellerin Sentezi ve Karakterizasyonuna İlişkin Veriler

Şekil 4.2.2.'de PEG-PPG-PEG triblok kopolimerinin kritik misel konsantrasyonuna ilişkin veriler yer almaktadır. Kritik misel konsantrasyonu kullanılan polimerik yapıların misel oluşumu için kullanılacak en düşük konsantrasyonunu ifade eder. PEG-PPG-PEG triblok kopolimerine ilişkin kritik misel konsantrasyonu kloroform içerisinde 0,25 mM olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmada farklı yöntemlerle PEG-PPG-PEG triblok kopolimerinden sentezlenen misellerin uygulamalarını ve kritik misel konsantrasyonlarını rapor edilmiştir (Lee et al., 2009; Kim et al., 2017; Dou et al., 2016). Literatür bilgileri ile kıyaslandığında PEG-PPG-PEG triblok kopolimeri için bulunan kritik misel konsantrasyonu değerinin uygun olduğu görülmüştür.

Yapılan çalışmada PEG-PPG-PEG triblok kopolimerinden çıkılarak sentezlenen misellerin termal ve mekanik özelliklerini, ilaç taşıma çalışmalarındaki kullanımlarını rapor edilmiştir (Öztürk et al., 2020; Dou et al., 2016). Başka bir çalışmada pH duyarlı PEG-PPG-PEG misel sentezini gerçekleştirilmiştir (Lee et al., 2009). Bu sonuçlarla birlikte sentezlenmiş olan PEG-PPG-PEG misellerin boyut ve çözgen optimizasyon değerlerinin literatür bilgileri ile uyumlu olduğu görülmüştür. Şekil 4.3.'te misel sentezinde kullanılan çözgenlere ilişkin DLS boyut analizi sonuçları verilmiştir. Benzen, Kloroform, Metanol ve dH₂O çözgenleri içerisinde hazırlanan PEG-PPG-PEG misellere ait DLS boyut ölçümleri gerçekleştirilmiştir. DLS boyut analizi sonuçlarına göre en düşük çaplı PEG-PPG-PEG polimerik miseller Kloroform çözgeni içerisinde elde edilmiş, bu nedenle optimum çözgen olarak Kloroform belirlenmiştir. PEG-PPG-PEG polimerik misellerin kritik misel konsantrasyon denemeleri Şekil 4.4.'te verilmiştir.

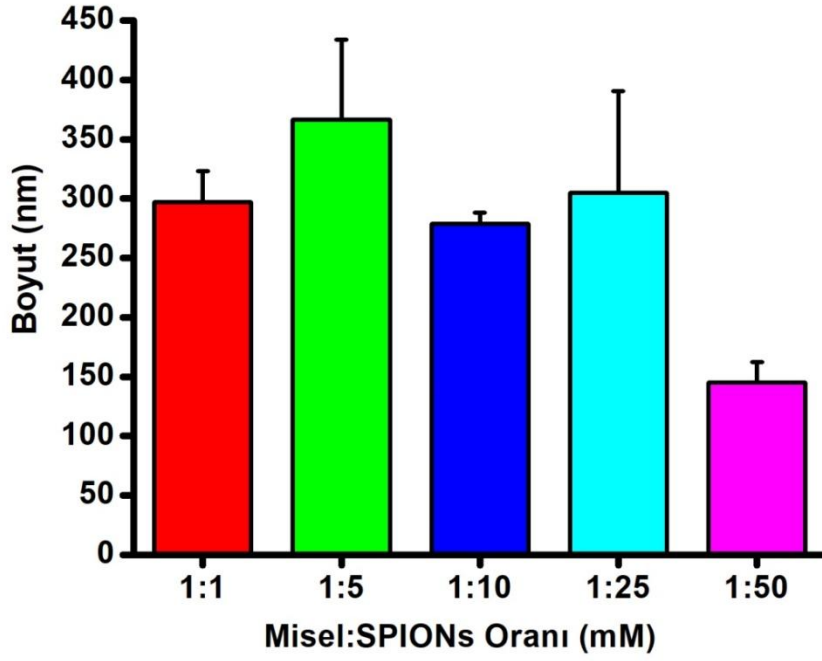


Şekil 4.3. Misel sentezinde kullanılan çözgenlere ilişkin DLS boyut analizi sonuçları.



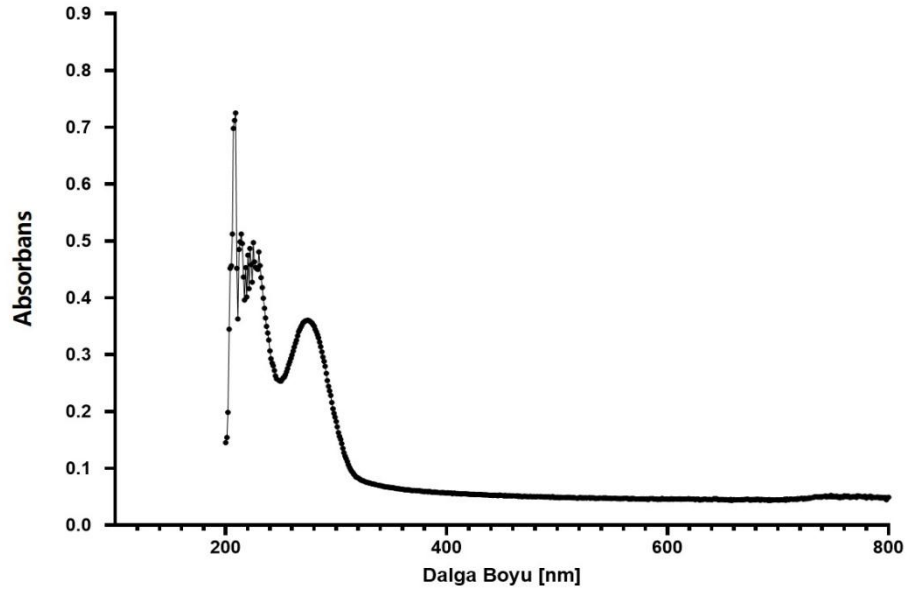
Şekil 4.4. PEG-PPG-PEG polimerik misellerine ait kritik misel konsantrasyonu (CMC) belirlenmesi.

Şekil 4.5.'te sırasıyla farklı oranlarda SPION içeren PEG-PPG-PEG yapıları misellere ait DLS boyut verileri sunulmuştur. Sırasıyla 1:1, 1:5, 1:10, 1:25 ve 1:50 oranında SPION:PEG-PPG-PEG miseller kloroform içinde sentezlenmiş, ardından DLS boyut ölçümleri gerçekleştirilmiştir. 1:75 oranı ve üzerinde çok yüksek boyutlu ve heterojen miseller elde edildiği için en yüksek 1:50 oranı denenebilmiştir. DLS boyut analizi sonuçlarına göre en düşük çaplı misellere 1:50 SPION:PEG-PPG-PEG miseller oranında ulaşılabildiği için bu değer optimum oran olarak belirlenmiş ve sonraki çalışmalarda bu oran kullanılmıştır.

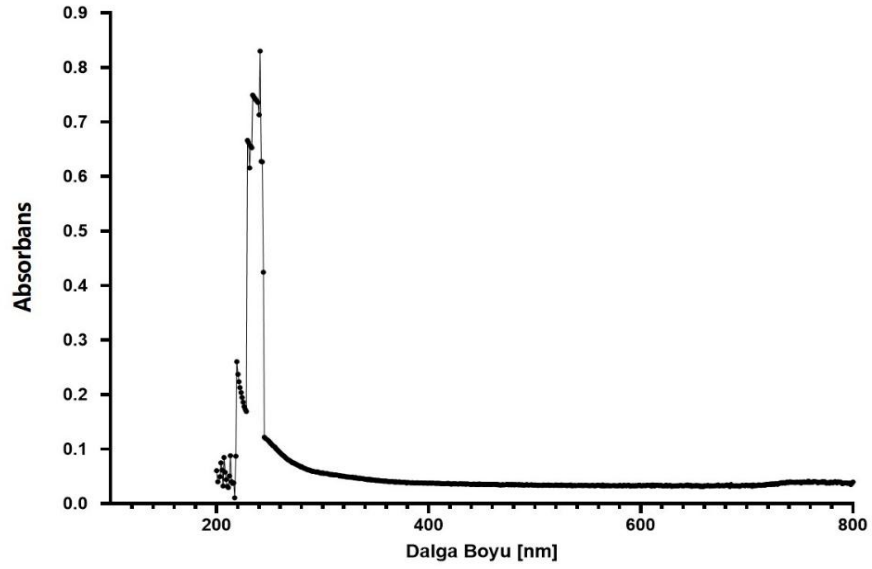


Şekil 4.5. Kloroform içerisinde hazırlanan PEG-PPG-PEG misel sentezine ait SPION:PEG-PPG-PEG oranlarına ilişkin DLS boyut sonuçları.

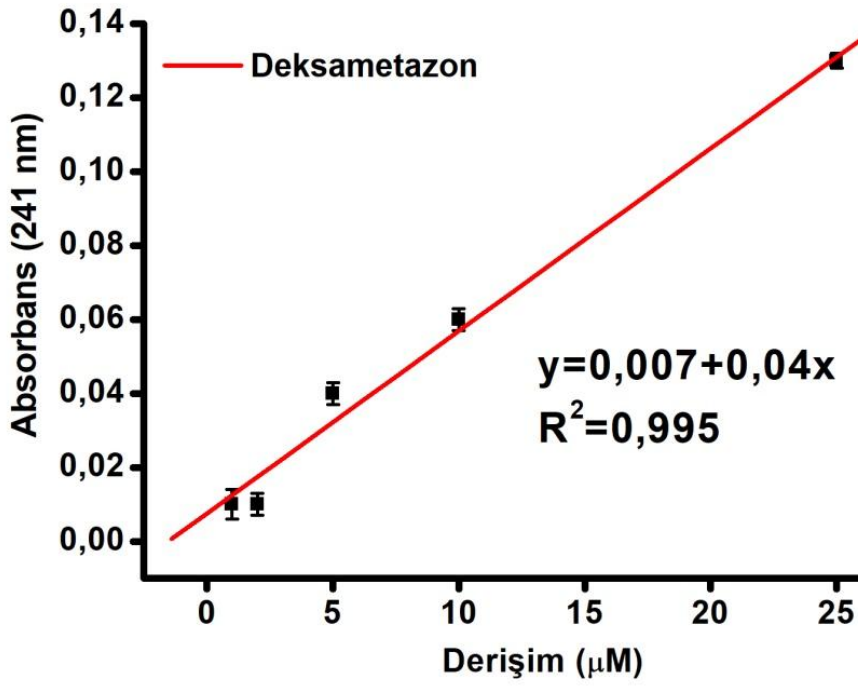
Deksametazon ve diklorofenak potasyum ilaçlarının absorbans taramaları sırasıyla Şekil 4.6. ve Şekil 4.7.'de, 1, 2.5, 5, 10 ve 25 μM konsantrasyonunda standartları hazırlanmış ve sırasıyla 241 ve 209 nm dalga boylarında absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir ve bu denemelere ilişkin veriler Şekil 4.8. ve Şekil 4.9.'da verilmiştir.



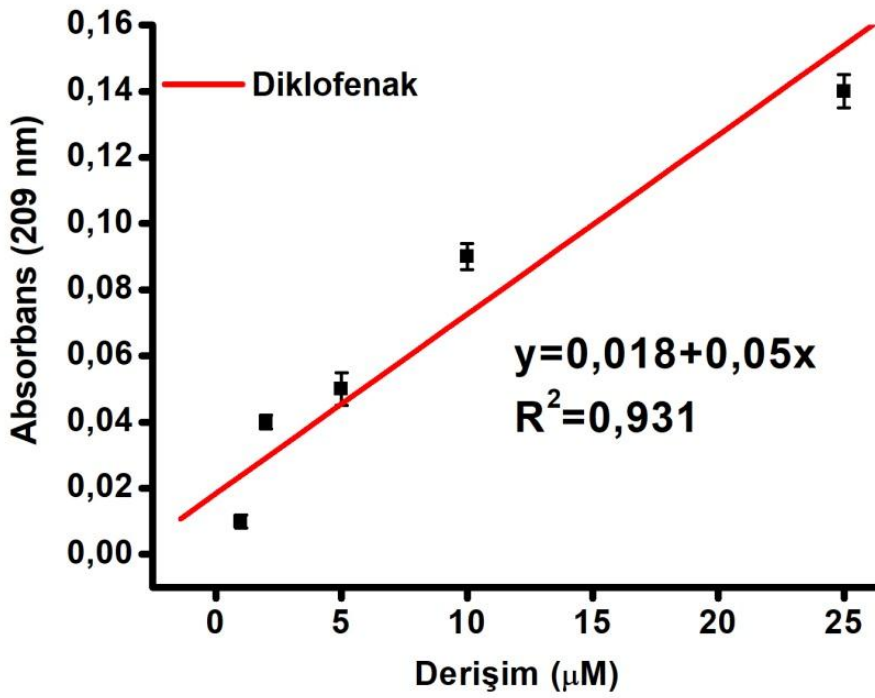
Şekil 4.6. Deksametazon ilacına ait 200-800 nm dalga boyu aralığında absorbans tarama sonuçları.



Şekil 4.7. Diklofenak potasyum ilacına ait 200-800 nm dalga boyu aralığında absorbans tarama sonuçları.



Şekil 4.8. Deksametazon ilacına ait standart grafiği.



Şekil 4.9. Diklofenak potasyum ilacına ait standart grafiği.

4.3. PEG-PPG-PEG/SPION İlaç Taşıyıcı Sistemine

Deksametazon ve Diklofenak Potasyum Yüklenmesi ve Salım Çalışmaları

Çekirdeğinde SPIONs içeren PEG-PPG-PEG triblok kopolimerinden çıkılarak sentezlenen polimerik misellerin iki farklı ilacı enkapsülasyon verimleri ve oda sıcaklığında/AMF altında salım fizikokimyasındaki değişimler araştırılmıştır.

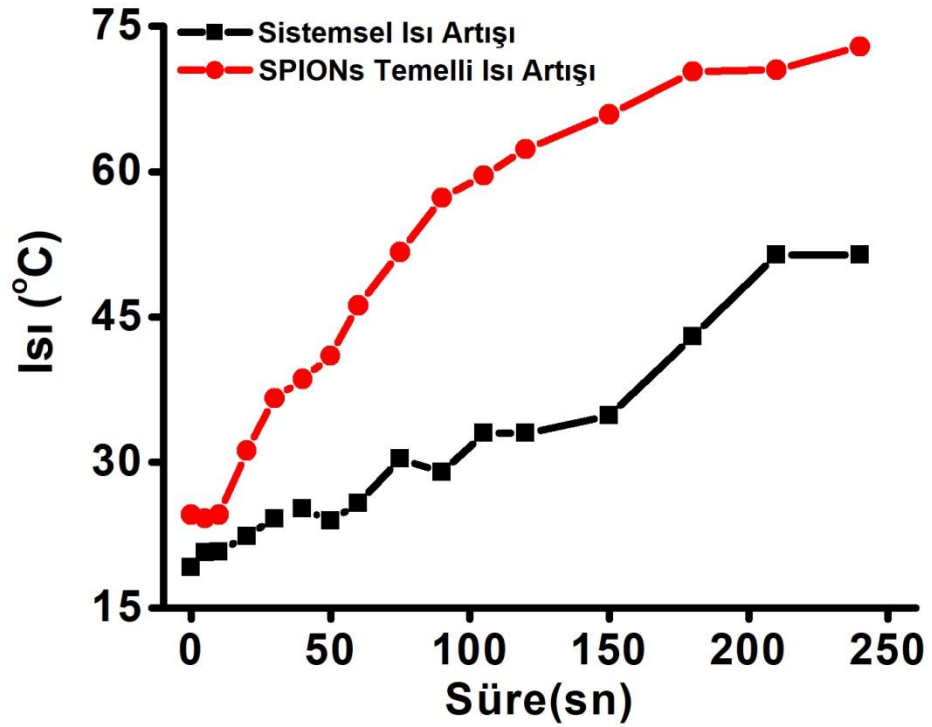
PEG-PPG-PEG triblok polimerik misel sisteminin ilaç yükleme kapasitesi 20 μ M deksametazon ve 20 μ M diklorofenak potasyum için sırasıyla %37,28 ve %22,68 olarak bulunmuştur.

Kullanılan PEG-PPG-PEG triblok kopolimer ve genel olarak polimerik sistemlerden hazırlanan miseller için bu ilaç enkapsülasyon verimleri düşük görünmektedir. Bunun temel nedeninin polimerik misellerin ilaç molekülleri ile aynı anda SPIONs da enkapsüle etmesi, ayrıca polimerik misel oluşumunun son basamağında uygulanan manyetik alan yıkama işlemlerinde ilaç enkapsülasyonu gerçekleşen ancak SPIONs enkapsülasyonu olmayan misellerin de yıkama işlemi sonunda bağlanmayan örnek havuzunda değerlendirilmesi olabilir. Yapılan çalışmada polimerik misellerin SPION'larla birlikte enkapsülasyon kapasitelerini hedefli ilaç taşıma ve tümör manyetik rezonans görüntüleme çalışmalarında rapor edilmiştir (Talelli et al., 2009; Xiao et al., 2015; Deng et al., 2011). Diğer bir çalışmada polimerik misellere SPION yüklendikten sonraki *in vitro* antikanser özelliklerindeki değişimlerini gösterilmiştir (Smejkalova et al., 2014). Bu literatür bilgileri ile birlikte değerlendirildiğinde PEG-PPG-PEG triblok kopolimer yapılı misellerin enkapsülasyon verimini, enkapsüle edilen ilaçların ve ilaçlarla birlikte SPION'ların da enkapsüle edilmesi anlamlı düzeyde etkilediği düşünülebilir.



Şekil 4.10. Tasarlanan ve geliştirilen AMF sistemi 12 V dönüştürücü, AMF kaynağı ve 3 mm çapında bobinden 120 W güç kaynağından oluşmaktadır.

AMF cihaz düzeneği Şekil 4.10.'da gösterilmiş olup 220 V 12 V dönüştürü kullanılmıştır. Seçilen güç kaynağı 120 W gücündedir. Das et al., 2019 benzer şekilde sıvı hipertermi araştırmasında 120 W güç kullanımını rapor etmiştir. Bobin çapı olarak üç cm belirlenmiştir. Bu sistemin ısı artış değerleri Şekil 4.11.'de verilmiştir. Terapotik sıcaklık aralığına 60 sn içinde ulaşılmıştır.



Şekil 4.11. Geliştirilen AMF Sisteminde Sistemik ve SPION Temelli Isı Artışı

Geliştirilen AMF sistemine SPION'ların yer aldığı tüp yerleştirildiğinde meydana gelen ısı artışı tüm uygulama süresi boyunca sistemsel ısı artışından anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu veriler PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sistemlerinin AMF uygulamasına yanıt verdiğini, PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sistemlerinin ilaç salım özelliklerinin AMF ile anlamlı düzeyde artırılabilirliğini göstermiştir. Manyetik alan uygulamasıyla manyetik nanopartiküllerin ilaç salım ve tümör hedefleme çalışmalarında kullanımlarını gösterilmiştir (Liu et al., 2019). Hyaluronik asit ile konjuge edilen SPION'ların AMF manipülasyonu ile hipertermide kullanımını rapor edilmiştir (Thomas et al., 2015).

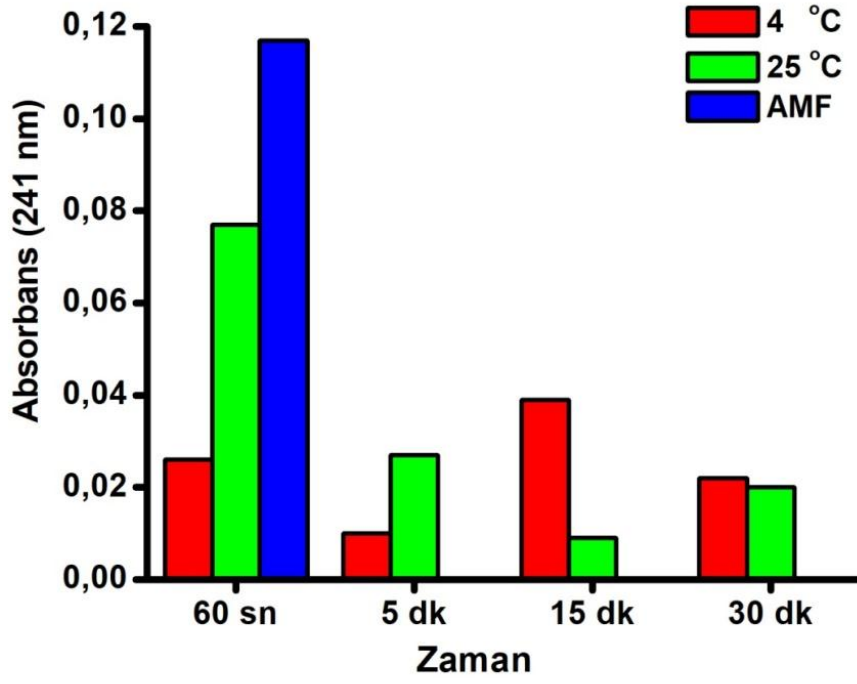
PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sistemlerinin 20 μ M deksametazon ve 20 μ M diklofenak potasyum ilaçlarının enkapsülasyonunu ardından 60 sn AMF uygulamasına karşı 1, 5, 15 ve 30 dk 4 °C ve 25 °C'de ilaç salımındaki fark sırasıyla Şekil 4.12. ve Şekil 4.13.'te verilmiştir. PPPG-PEG/SPION ilaç taşıma sistemlerinin hem deksametazon hem diklofenak potasyum için 60 sn AMF uygulamasının ardından ilaç salım oranının diğer sıcaklık değerlerinden anlamlı

olarak yüksek bulunduğu görülmüştür. Bunun nedeninin Şekil 4.11.'de gösterildiği üzere 60 sn AMF uygulaması ile ortalama 40-45 °C'lere ulaşan sıcaklığın çekipdeğinde SPION'lar yer alan PEG-PPG-PEG yapıları misellerin formasyonlarının bozulması, stabilitesinin düşmesi olarak yorumlanabilir. Meme kanserinde doksorubisin yüklü manyetik mikrosferlerin AMF uygulamasıyla birlikte meme kanseri tedavisinde kullanımını rapor edilmiştir (Xue et al., 2018). Tümör hedefleme ilaç yüklü nanopartiküllerin AMF uygulamasıyla birlikte ilaç salımının uyarılabileceğini gösterilmiştir (Liu et al., 2019). Gerçekleştirdiğimiz çalışmada PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sistemlerinin AMF ile birlikte uygulandığında hedeflenen bölgede ilacı salabilme özelliği sayesinde geleneksel ilaç taşıma sistemlerine göre daha kullanışlı ve *in vivo* uygulamalara daha elverişlidir. PEG-PPG-PEG misellerinin çekirdeğinde ilaç moleküllerinin yanında SPION'ların yer alması bu ilaç taşıma sistemine hem manyetik hedefleme hem AMF uygulaması ile ilaç salım özellikleri kazandırmaktadır. Bu nedenle literatürde yer alan ve manyetik nanopartikül içermeyen polimerik ilaç taşıma yöntemleriyle kıyaslandığında geliştirmiş olduğumuz PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sistemi önemli avantajlar sunmaktadır.

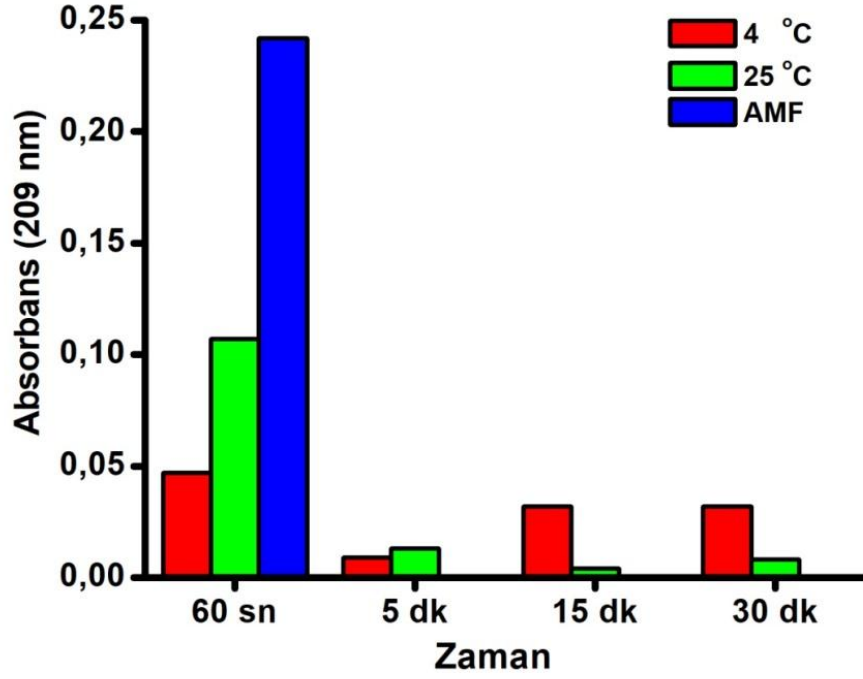
Deksametazon ve diklofenak potasyum ilaçlarının bizim geliştirmiş olduğumuz PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sisteminin yanı sıra literatürde farklı nanomalzemelerle de kontrollü salım çalışmaları mevcuttur. Çizelge 4.2.'de deksametazon ve diklofenak potasyum ilaçlarının kontrollü salımında kullanılan farklı nanomalzemeler gösterilmektedir. Literatür bilgilerinden görüleceği üzere hem polimerik hem metalik nanopartiküller, kompozitler, nanolifler ve hidrojeller ilaç hedefleme çalışmalarında kullanılabilir. Yaptığımız çalışmada PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sisteminin AMF ile birlikte uygulanması, bu sistemin ilaç salımını belirleyici olarak değiştirebildiği ve kontrol edebildiği için, literatür çalışmalarındaki diğer ilaç taşıma sistemlerinden avantajlı bir nanotaşıyıcı platform olarak değerlendirilebilir.

Çizelge 4.2. Dekسامetazon ve Diklofeanak potasyum kontrolü salımı için geliştirilen nanotaşıyıcılar.

İlaç	Taşıyıcı Malzeme	Uygulama Alanı	Referans
Deksametazon	PLA elektroğrılmış nanolif	Doku mühendisliği ilaç taşıyıcı sistem	Alves et al., 2019
Deksametazon	Polimerik hidrojel	Oral ilaç salım sistemi	Das et al., 2015
Deksametazon	5-Florourasil yüklü dekstran/SPION nanopartikül	Gen ekspresyonu ve kanser araştırmaları	Mahdi et al., 2021
Deksametazon	SPION/PLGA nanopartikül	İntraartikular uygulama	Butoescu et al., 2009
Deksametazon	PLGA-PEG-PLGA mikrosfer	Göz bölgesi ilaç hedefleme	Duvvuri et al., 2007
Diklofenak potasyum	Karagenan temelli bionanokompozit	İlaç hedefleme aracı	Kalsoom et al., 2017
Diklofenak potasyum	Jelatin manyetik mikrosfer	Ultrasonik ilaç hedefleme	Mohammed et al., 2016
Diklofenak potasyum	HPMC ve PVP	İlaç taşıma sistemi	Jafariazar et al., 2015
Diklofenak potasyum	PCL/PEG ve Kitosan nanopartiküller	Rahim yenilenmesi doku mühendisliği çalışması	Deng et al., 2021
Diklofenak potasyum	Sodyum aljinat/akrilik asit kopolimerik nanokompozit	pH duyarlı ilaç taşıma sistemleri	Jalil et al., 2017



Şekil 4.12. Geliştirilen AMF sisteminde PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sistemlerinin 20 µM deksametazon enkapsülasyonu sonrası salımına ilişkin absorbans verileri.



Şekil 4.13. Geliştirilen AMF sisteminde PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sistemlerinin 20 μ M diklofenak potasyum enkapsülasyonu sonrası salımına ilişkin absorbans verileri.

4.4. PEG-PPG-PEG/SPION İlaç Taşıma Sistemlerinin ve Kullanılan İlaçların Hücre Canlılık Analizlerinin Gerçekleştirilmesi

PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sisteminin ilaç salım ve AMF uygulama çalışmaları tamamlandıktan sonra kullandığımız ilaç moleküllerinin ve geliştirdiğimiz malzemelerin hücre canlılık analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 6 örnek hazırlanmıştır. Bunlar:

- Dekametazon (20 μ M),
- Diklofenak potasyum (20 μ M),
- SPION (25 mg),
- PEG-PPG-PEG misel (0,25 mM),
- Dekametazon enkapsüle edilmiş PEG-PPG-PEG/SPION misel,

➤ Diklofenak potasyum enkapsüle edilmiş PEG-PPG-PEG/SPION miseldir.

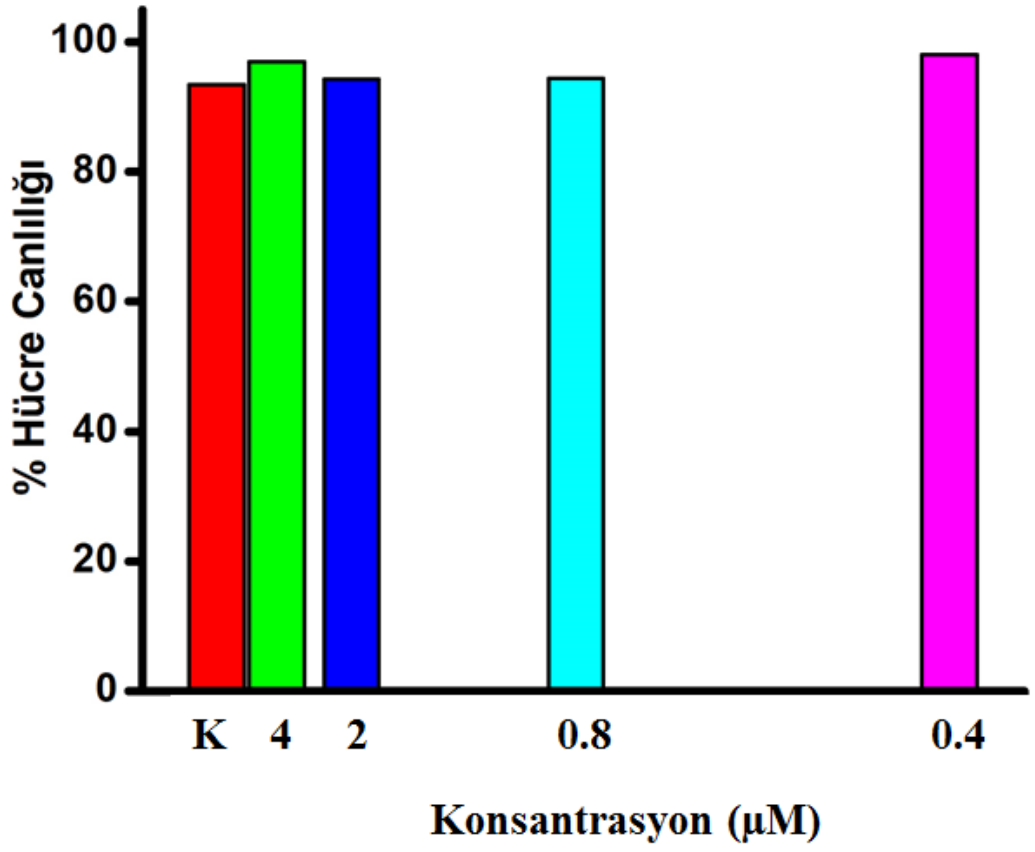
Deksemetazon sıvı formdadır. Diklofenak potasyum etanol içerisinde hazırlanmıştır. SPION, PEG-PPG-PEG misel, deksametazon enkapsüle edilmiş PEG-PPG-PEG/SPION misel ve diklofenak potasyum enkapsüle edilmiş PEG-PPG-PEG/SPION misel toz formdadır. Hazırlanmış olan bu 6 örnek sırasıyla 1, 5, 10, 25 ve 50 kat tam hücre kültürü besiyeri (DMEM içerisinde %10 FBS, %1 L-glutamin, %1 Penisilin-Streptomisin) ile seyreltilerek hücre canlılık çalışmalarında kullanılmıştır.

%5 DMSO içerisinde bulunan CCD-18co hücreleri -80 °C'den alınarak buz içerisinde taşındı. Hücreler Nüve su banyosu içerisinde 37 °C'de çözündürüldü. Hücreler için DMEM besiyeri %10 FBS ve %1 penisilin/streptomycin olacak şekilde hazırlandı. Stoktan alınan hücreler Sarsted T25 flask'a son hacim 5 mL olacak şekilde ekildi. Bir gün sonra hücrelerin besiyeri değiştirildi. Hücrelerin %80 yoğunluğa gelmesi beklendi. %80 yoğunluğa gelen hücrelerin besiyeri uzaklaştırıldı. T25 flaska 500 µL tripsin eklendi. Hücreler tripsinde 5 dakika boyunca 37 °C'de inkübe edildi. T25 flask yüzeyinden kaldırılan hücreler Sarsted T75 flaska pasajlandı. Hücrelerin %80 yoğunluğa gelmesi beklendi. %80 yoğunluğa gelen hücrelerin besiyeri uzaklaştırıldı. T75 flaska 1.5 mL tripsin eklendi. Hücreler tripsin ile 5 dakika 37 °C'de inkübe edildi. T75 flask yüzeyinden kaldırılan hücreler besiyerinde toplanarak 15 mL steril falkona alındı. Hücrelerden 30 uL örnek alınarak üzerine 3 µL trypan blue eklendi. Hücreler thoma lamına 9'ar µL olacak şekilde 3 defa yüklenerek zeiss axio vertikal inverted mikroskopta sayıldı. Sayım işleminin ardından hücreler her bir kuyuya 10.000 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu plakanın kuyularına ekildi. 24 saat 37 °C'de %5 CO₂ ortamda Memert inkübatörde inkübe edildi. İnkübasyon ardından 96 kuyucuklu plakada bulunan besiyerleri uzaklaştırıldı. Örnekler 1mL besiyerinde çözüldü ve CHROM-FIL 0.22 µm filtre ile filtrelendi. Örnekler direkt ve 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltilmiş olarak her bir kuyuda son hacim 100 µL olacak şekilde uygulandı. Örnek uygulanan hücreler 37 °C, %5 CO₂ ortamında 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon ardından kuyulardan besiyeri uzaklaştırıldı. Stokta hazır olarak bulunan 10X resazurin DMEM besiyeri ile 1X'e seyreltilti. Her bir kuyuya 100 µL 1X resazurin uygulandı. Hücreler 37 °C'de %5 CO₂ ortamda 4

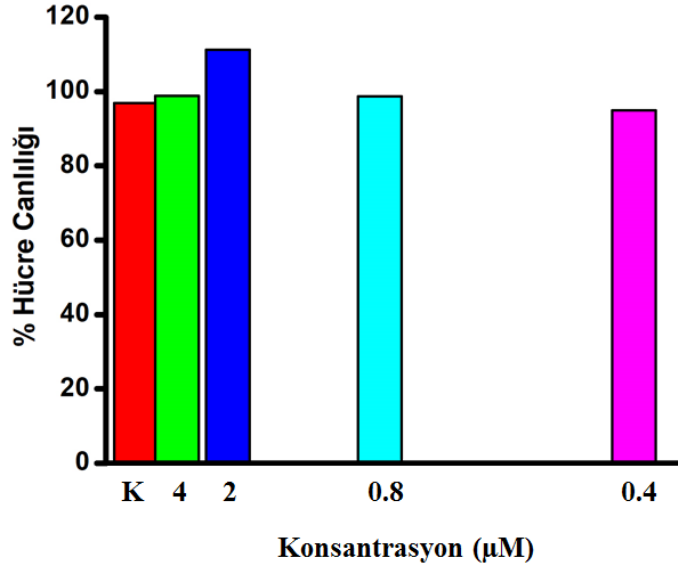
saat inkübe edildi. Thermo mikropate okuyucu Ex/Em 570/590 olacak şekilde fluorometric olarak ölçüm alındı.

Resazurin deneyinden 6 örneğin her birisi için elde edilen hücre canlılık sonuç grafikler sırasıyla 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranlarını içerecek şekilde kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir. Şekil 4.14.'te Resazurin deneyinden Deksmetazon için elde edilen hücre canlılık sonuç grafiği. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre 50 kat seyreltilmiş deksametazon örneğinin toksisitesi %5 düzeylerinde bulunmuştur. Bu sonuçlar ilgili molekülün biyoyumluluğunu destekler niteliktedir. Şekil 4.15.'te Resazurin deneyinden Diklofenak potasyum için elde edilen hücre canlılık sonuç grafiği. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre 5, 10 ve 25 kat seyreltilmiş örneklerin toksisitesi %5 düzeylerinde bulunmuştur. Bu sonuçlar ilgili molekülün biyoyumlu olduğunu göstermektedir. Şekil 4.16.'da Resazurin deneyinden SPION'lar için elde edilen hücre canlılık sonuç grafiği. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltilmiş örneğin toksisitesi %5 düzeylerinin altında bulunmuştur. Bu sonuçlar ilgili malzemenin biyoyumluluğunu göstermektedir. SPION'lar 1 kat seyreltmede ise %10'un altında toksisite göstermektedir. Şekil 4.17.'de Resazurin deneyinden saf (SPION içermeyen, ilaç enkapsüle edilmemiş) PEG-PPG-PEG misel için elde edilen hücre canlılık sonuç grafiği. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir. Bu sonuçlara göre seyreltilmiş örneğin toksisitesi %5 düzeylerinin altında bulunmuştur. Seyreltme oranının değişmesi ile canlılık düzeyleri de değişim göstermiş ve saf misellerin toksik etkiler gösterebileceği literature bilgileri ile de desteklenerek belirtilmiştir. Polimerik misellerin kanser araştırmalarında kullanımını rapor edilmiş ve misellerin hücre canlılığı üzerindeki olası etkileri ve PEG içeren misel sistemlerinin toksisitelerini kapsamlı olarak değerlendirilmiştir (Shin et al., 2016; Shirashi et al., 2019). Polimerik misel sistemlerinin olası hücre canlılık azaltıcı etkileri literatürdeki çalışma ile gösterilmiştir (Kim et al., 2001). Saf PEG-PPG-PEG misellerinin elde edilen hücre canlılığı üzerindeki olumsuz etkilerini gösteren

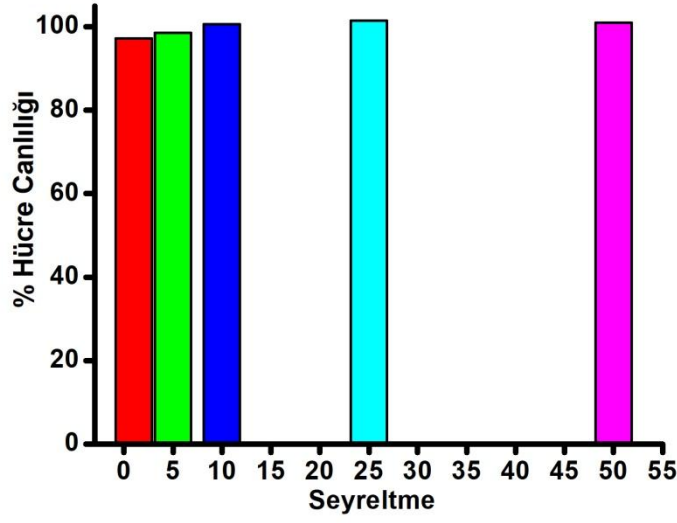
veriler literatür bilgileri ile uyushmaktadır. Şekil 4.18.'de Resazurin deneyinden SPION içeren diklofenak potasyum enkapsüle PEG-PPG-PEG miselleri için elde edilen hücre canlılık sonuç grafiğı. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre 1 ve 50 kat seyreltilmiş örneğın toksisitesi %5 düzeylerinin altında bulunmuştur. Merkezinde SPION yer alan ve diklofenak potasyum enkapsüle edilmiş misellerin toksisitelerinin saf misellere göre anlamlı olarak daha düşük olduğı görölmüş, misellerin SPION'lar ile fonksiyonelleştirilmesi ile biyoygulanabilirliğın artırıldığı kanıtlanmıştır. Bu sonuçlar ilgili molekülün biyoyumluluğunu ve biyoygulanabilirliğini destekler niteliktedir. Şekil 4.19.'da Resazurin deneyinden SPION içeren deksametazon enkapsüle PEG-PPG-PEG miselleri için elde edilen hücre canlılık sonuç grafiğı. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre 1, 5, 10 ve 50 kat seyreltilmiş örneğın toksisitesi %5 düzeylerinde bulunmuştur. Merkezinde SPION yer alan ve deksametazon enkapsüle edilmiş misellerin toksisitelerinin saf misellere göre anlamlı olarak daha düşük olduğı görölmüş, misellerin SPION'lar ile fonksiyonelleştirilmesi ile biyoygulanabilirliğın artırıldığı kanıtlanmıştır. Bu sonuçlar ilgili molekülün biyoyumluluğunu ve biyoygulanabilirliğini destekler niteliktedir. Yapılan araştırmada *in vivo* PEG kaplı ve saf nanopartiküllerin biyomedikal uygulamalarını incelenmiş ve PEG kaplı nanopartiküllerin saf olanlara göre, hücre içine alım oranlarında artış olduğı rapor edilmiştir (Bealle et al., 2012). Bu literatür bilgileri ile değeriendirildiğinde PEG-PPG-PEG misellerinin SPION'lar ile AMF temelli ilaç salımı için zenginleştirilmesi, aynı zamanda bu misellerin toksisitelerinin düşmesine ve hücre canlılık düzeylerine olan negatif etkilerinin azaltılmasına da olumlu etkileri görölmüştür. Geliştirilen PEG-PPG-PEG/SPION ilaç taşıma sistemlerinin başarılı AMF uygulamalarının yanında saf PEG-PPG-PEG kıyasla çok daha yüksek hücre canlılık değeriilerine sahip olması bu malzemenin geliştirilmesinin avantajlarını göstermektedir.



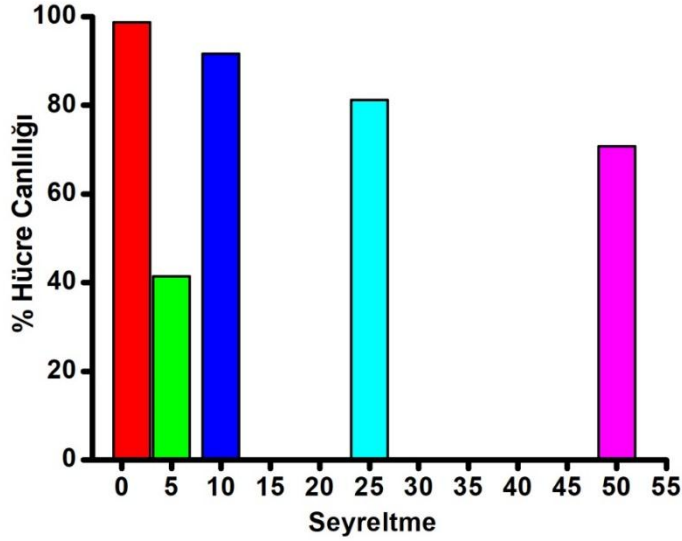
Şekil 4.14. Deksmetazon için *in vitro* hücre canlılığına ait konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesine ilişkin veriler. 4 µM, 2 µM, 0,8 µM, ve 0,4 µM konsantrasyonlara ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir.



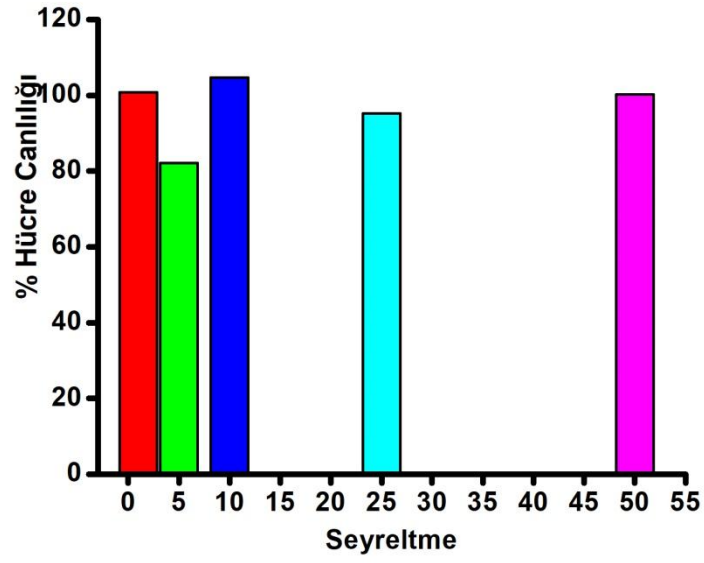
Şekil 4.15. Diklofenak potasyum için *in vitro* hücre canlılığına ait konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesine ilişkin veriler. 4 µM, 2 µM, 0,8 µM, ve 0,4 µM konsantrasyonlara ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir.



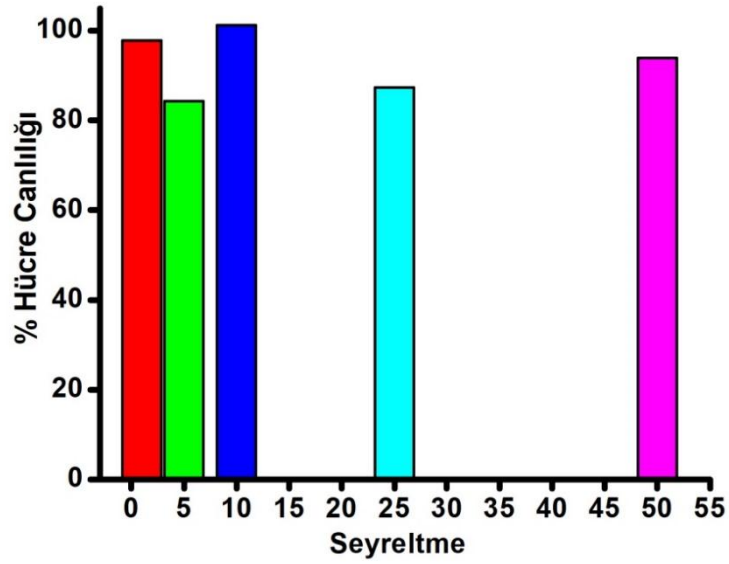
Şekil 4.16. SPION'lar için *in vitro* hücre canlılığına ait konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesine ilişkin veriler. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir.



Şekil 4.17. Saf (SPION içermeyen, ilaç enkapsüle edilmemiş) misel için *in vitro* hücre canlılığına ait konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesine ilişkin veriler. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir.



Şekil 4.18. SPION içeren diklofenak potasyum enkapsüle PEG-PPG-PEG miselleri için *in vitro* hücre canlılığına ait konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesine ilişkin veriler. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir.

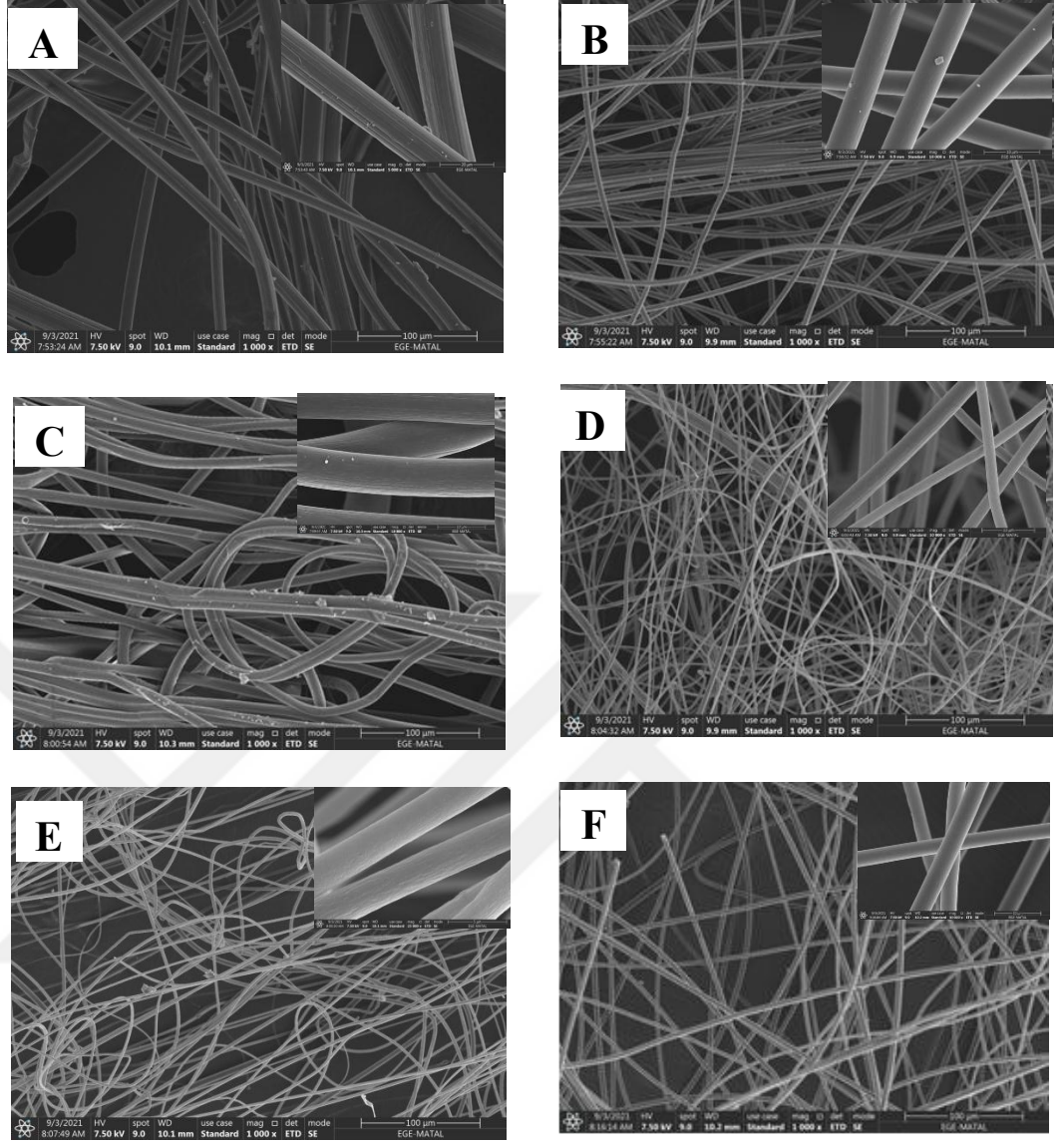


Şekil 4.19. SPION içeren deksametazon enkapsüle PEG-PPG-PEG miselleri için *in vitro* hücre canlılığına ait konsantrasyon bağımlı etkilerinin incelenmesine ilişkin veriler. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait canlılık oranları kontrole göre yüzde (%) olarak verilmiştir.

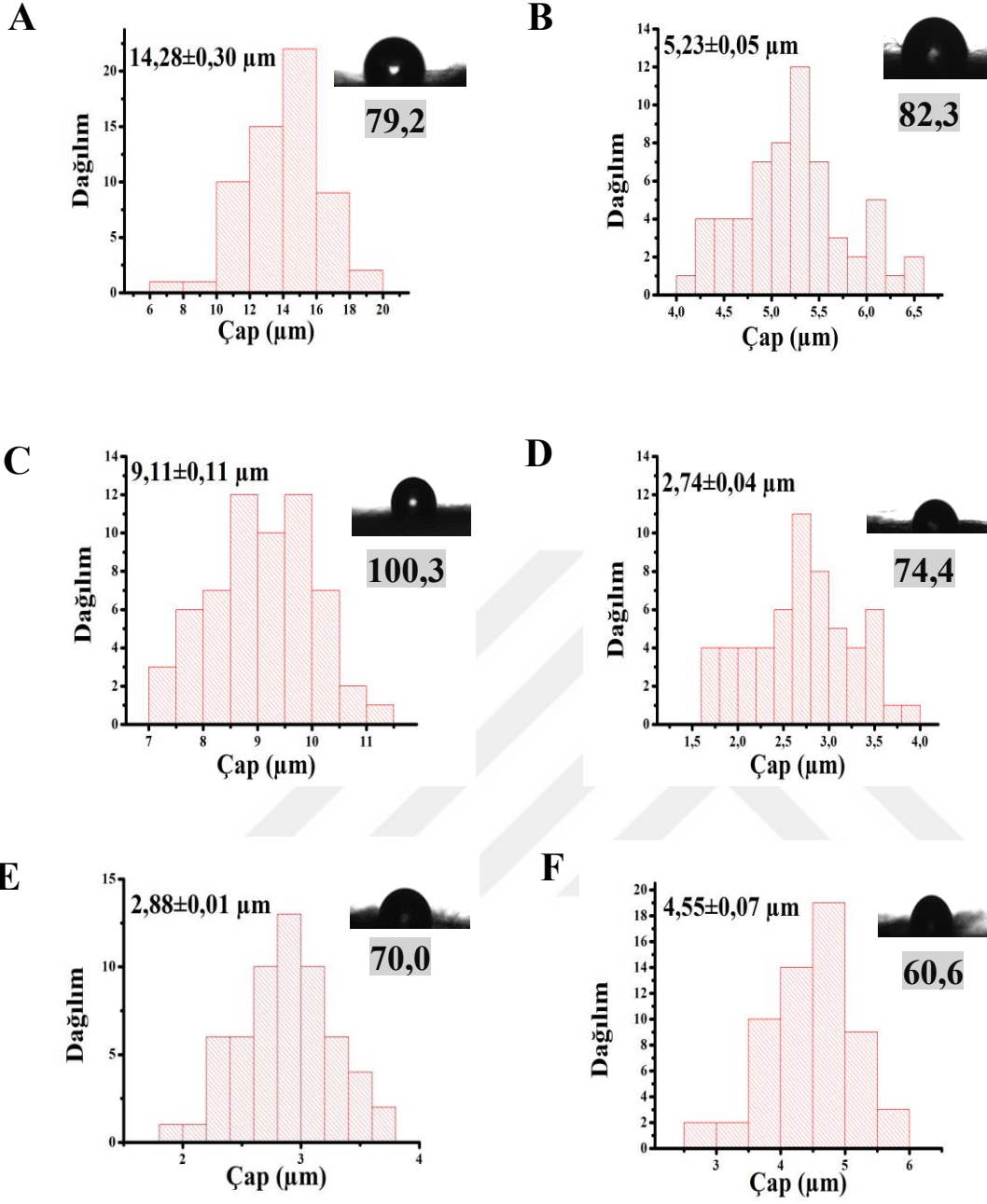
4.5. Merkezinde SPIONs ve İlaç Molekülleri İçeren PEG-PPG-PEG Polimerik Misellerin Nanolif Uygulamalarında Kullanımına İlişkin Sonuçlar

DMF içerisinde %35 polistiren oranında %1, %3, %5, %15, %25 aralığında çekirdeğinde SPIONs yer alan ve almayan (kontrol) PEG-PPG-PEG triblok kopolimerinden sentezlenen misellerden nanolifler elde edilmiştir. SPIONs içeren ve içermeyen her iki grupta da %15 ve %25 oranında PEG-PPG-PEG misel kullanılan çalışmalarda çözelti homojenliği ve fiber oluşumu sağlanamadı. Her iki grup için de %1, %3, %5 oranında PEG-PPG-PEG misel içeren elektroğrılmış nanolifler başarıyla oluşturulmuştur (Şekil 4.20.).

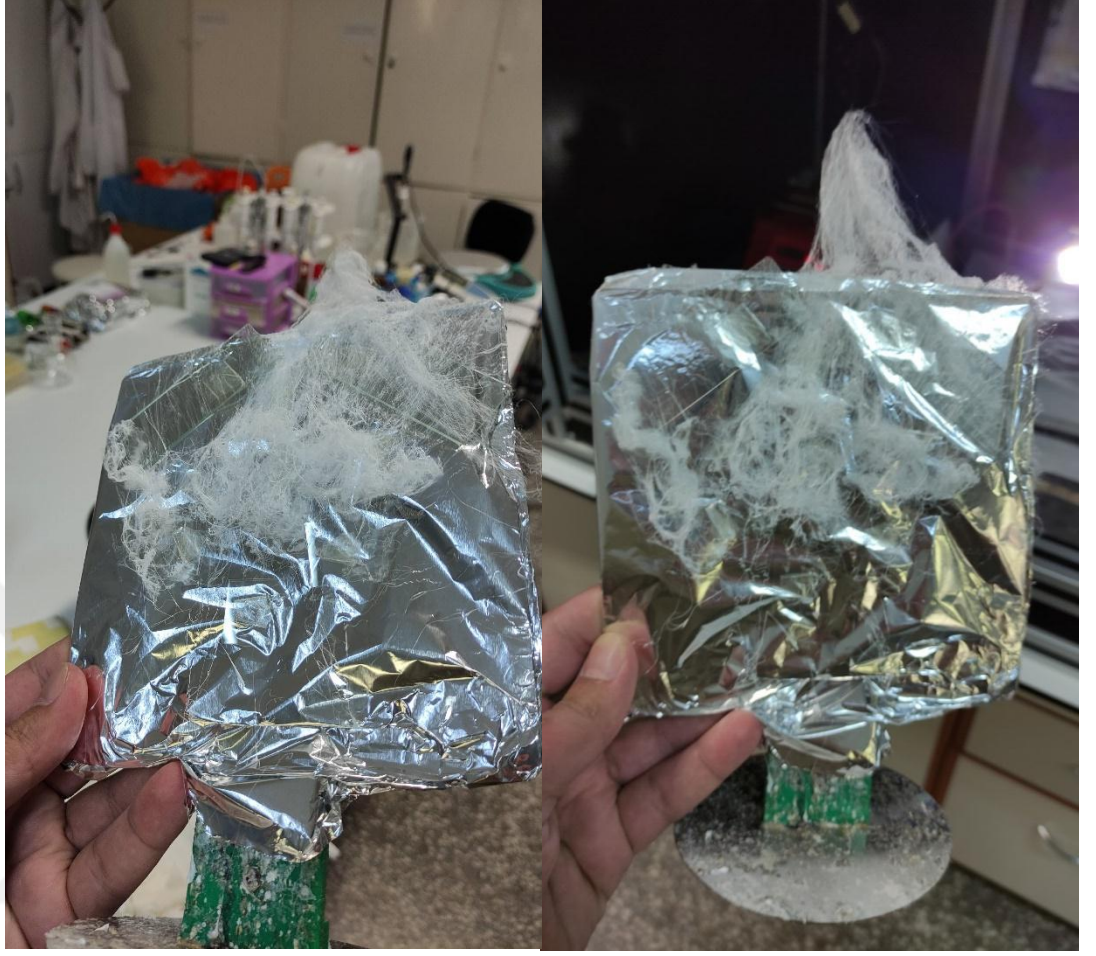
Işık mikroskobu görüntülemeleri ve temas açısı ölçümleri gerçekleştirilen elektroğrılmış nanoliflerin SEM görüntülemeleri ve FTIR ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.20.'de SPION içeren ve içermeyen %1, %3, %5 oranlarında PEG-PPG-PEG ve %35 polistiren içeren elektroğrılmış nanoliflerin SEM görüntüleri verilmiştir. Radikal emülsiyon polimerizasyonu ile SPION ile zenginleştirilmiş benzer yapıda nanolifler literatürde rapor edilmiştir (Nguyen et al., 2019). SPION'lar kullanarak manyetik pol l-lactide nanofiberler elde edilebildiğini gösterilmiştir (Li et al., 2014). SPION'lar kullanarak kalp doku mühendisliği kullanımına yönelik fibroin nanofiberleri literatürde mevcut bilgiler arasındadır (Nazari et al., 2020). Bu literatür çalışmalarıyla birlikte değerlendirildiğinde geliştirdiğimiz SPION içeren ve içermeyen PEG-PPG-PEG/polistiren elektroğrılmış nanoliflerinin farklı biyomedikal çalışmalarda kullanım potansiyeline sahip olduğu görülmektedir. Şekil 4.21.'de SPION içeren ve içermeyen %1, %3, %5 oranlarında PEG-PPG-PEG ve %35 polistiren içeren elektroğrılmış nanoliflerin SEM görüntülerinden elde edilen boyut histogram verileri, temas açısı ölçümlerine ilişkin veriler ve temas açısı verileri yer almaktadır. Şekil 4.22.'de SPION içeren ve içermeyen PEG-PPG-PEG/polistiren içeren elektroğrılmış nanoliflerin fotoğrafları, Şekil 4.23.'te FTIR sonucu yer almaktadır.



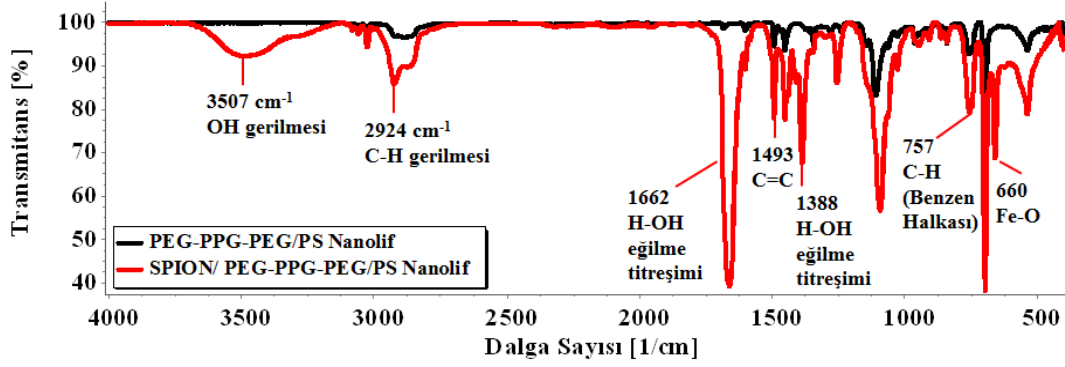
Şekil 4.20. A) % 1 (w/v), B) % 3 (w/v), C) % 5 (w/v) SPION içermeyen PEG-PPG-PEG miselleri ve %35 polistiren içeren, D) % 1 (w/v), E) % 3 (w/v), F) % 5 (w/v) SPION içeren PEG-PPG-PEG miselleri ve %35 polistiren içeren çözeltilerinden elde edilen nanoliflerin taramalı elektron mikroskop görüntüleri.



Şekil 4.21. A) % 1 (w/v), B) % 3 (w/v), C) % 5 (w/v) SPION içermeyen PEG-PPG-PEG miselleri ve %35 polistiren içeren, D) % 1 (w/v), E) % 3 (w/v), F) % 5 (w/v) SPION içeren PEG-PPG-PEG miselleri ve %35 polistiren içeren çözeltilerinden elde edilen nanoliflerin ortalama lif çaplarına göre dağılımları (Ek görüntüler temas açısı ölçümleridir).



Şekil 4.22. SPION içeren (B) ve içermeyen (A) %5 oranında PEG-PPG-PEG ve %35 polistiren içeren elektroğrilmiş nanoliflerin fotoğrafı.



Şekil 4.23. SPION içeren ve içermeyen %5 oranında PEG-PPG-PEG ve %35 polistiren içeren elektroeğrilmiş nanoliflerin FTIR ölçüm sonuçları.

ATR-FTIR spektrumu incelendiğinde, PS'nin yapısında bulunan benzen halkası üzerindeki hidrojenlerinin C-H titreşim bandı 757 cm^{-1} 'e, 1493 cm^{-1} 'de gelen band ise aromatik C=C gerilmesine karşılık gelir (Wu et al., 2001; Al-Kadhemy et al., 2013). Nanolif yapısına SPION ilavesinden sonra demirin varlığına ilişkin görülmesi beklenen spesifik bantların 660 cm^{-1} 'de geldiği görülmüştür. 3507 cm^{-1} , 2924 cm^{-1} 'de ve 1662 cm^{-1} 'de gelen bantlar ise -OH gerilmesi ve C-H gerilmesine karşılık gelmektedir (Park et al., 2008; Malega et al., 2018).

5. GENEL DEĞERLENDİRME

SPION'ların sentezi ve optimizasyonları gerçekleştirilmiştir. Sentez yöntemi olarak birlikte çöktürme tekniği kullanılmıştır. Sentez sürecinde, demir klorür ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ve demir sülfatın ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 20 mL NaOH ile oluşturulan bazik ortamda 80°C ' de birlikte çökelmeleri ile Fe_3O_4 SPION'lar elde edilmiştir. Ardından bu nanopartiküllerin mıknatıs stand üzerinde üç kez etanol, etanol/saf su, saf su ile yıkamaları yapılmıştır.

Boyut optimizasyonunda iki parametre özellikle önemli olarak bulunmuştur; karışma hızı ve bazın ekleniş hızı. Karışma ve baz ilave hızı arttıkça partikül boyutundaki heterojenitenin arttığı, boyutun görece daha yüksek olduğu ve sentez veriminin düştüğü belirlenmiştir. Baz ilave hızı dakikada 1 mL, karıştırma hızı 300 rpm olarak optimize edilmiş, tüm sentez çalışmaları bu şartlar altında gerçekleştirilmiştir. Sentez sürecinde inert ortam azot gazı ile sağlanmıştır. Sentez işleminin ardından elde edilen SPION'lar oksidasyona açıktır, bu nedenle farklı gruplar ekstra modifikasyonlar yapılabildiğini belirtmişlerdir. Sentezlenen SPION'ların yıkama işlemi sırasıyla saf su/etanol/saf su ile yapılmış ve 10 mL saf su içerisinde ışıktan korunarak, ağzı kapalı bir şekilde muhafaza edilmiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin ml'deki mg miktarını hesaplamak için kuru kütle grafiği çıkarılmıştır. Bu amaçla 0,1-0,25-0,5-0,75-1 mL nanopartiküller ependorflara konulup, çözgen uzaklaştırılıp kalan SPION'ların kütlesi ölçülerek kuru kütle grafiği çıkarılmıştır.

PEG-PPG-PEG triblok kopolimerden çıkılarak sentezlenen SPION içeren ve içermeyen misellerin sentezleri gerçekleştirilmiştir. PEG-PPG-PEG misel sentezinde ilk basamak çözgen optimizasyonu olmuştur. Bu amaçla benzen, kloroform, metanol ve saf su çözgenlerinde PEG-PPG-PEG miseller sentezlenmiş, ardından DLS boyut analizleri gerçekleştirilmiştir. Boyut analizi sonuçlarına göre bizim hedeflenen boyut olarak belirlenen 100-200 nm aralığında PEG-PPG-PEG miseller kloroform çözgeni içinde sentezlenebilmiş, en yüksek boyut submicron düzeyde saf su içerisinde bulunmuş, benzen ve metanol içerisinde ise benzer şekilde submikron boyutta miseller elde edilmiştir. Bu sonuçlar değerlendirilip optimum çözgen olarak kloroform seçilmiş ve sonraki misel sentez çalışmaları bu çözgen ile gerçekleştirilmiştir.

Ardından misellerin kritik misel konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla 0.01-0.5 mM aralığında tarama yapılmış ve kritik misel konsantrasyonu literatür değerleriyle uyumlu olarak 0.025 mM bulunmuştur ve sonraki sentez çalışmalarında bu değer kullanılmıştır. Ardından SPION içeren PEG-PPG-PEG misellerin optimizasyonuna geçilmiştir. Bu amaçla 1:1, 1:5, 1:0, 1:25; 1:50 ve 1:75 oranlarında SPION: PEG-PPG-PEG misel sentezi gerçekleştirilmiş ve DLS boyut analizleri tamamlanmıştır. 1:75 oranında boyut çok yüksek çıktığı için değerlendirmeye alınmamıştır. 1:1, 1:5, 1:0 ve 1:25 oranlarında 270-365 nm aralığında boyutlara sahip miseller elde edilmiştir. 1:50 oranında yaklaşık 150 nm boyutlarında miseller elde edilmiş ve optimum değer olarak belirlenmiştir.

Tasarlanan ve geliştirilen AMF sistemi 12 V dönüştürücü, AMF kaynağı ve 3 mm çapında bobinden 120 W güç kaynağından oluşmaktadır. Bu sistemin etkinliğinin ve non-spesifik (sistemsel) ısı artış düzeyinin belirlenmesi amacıyla 240 saniye boyunca cihaz içerisinde herhangi bir örnek yer almadan ve içerisinde 250 mg/mL Fe_3O_4 SPION yer aldığı durumlarda periyodik olarak ısı ölçer ile sıcaklık artışları takip edilmiş ve karşılaştırılmıştır. Literatürce desteklenen sıcaklık değeri olan 42-46 aralığına SPION içeren örneklerde 60. saniyede ulaşılabilirken, bu süre sonunda sistemsel ısı artışı yaklaşık olarak oda sıcaklığı değerlerinde seyredip, geliştirilen alternatif manyetik alan temelli manyetik nanopartikül aracılı ısı artışından kaynaklanan ilaç salım kinetiğindeki değişmelere anlamlı düzeyde bir etki etmeyecek oranda düşük olarak değerlendirilmiştir.

İlaç salım denemelerinde deksametazon ve diklofenak ilaçları ile çalışılmıştır. Bu ilaçlar için öncelikle absorbands taramaları gerçekleştirilmiş ve literatürle uyumlu olarak sırasıyla 241 nm ve 209 nm dalga boyları belirlenmiştir ve sonraki çalışmalara bu dalga boyunda devam edilmiştir. Ardından bu ilcaların standart grafikleri oluşturulmuştur.

Ardından SPION içeren ve içermeyen PEG-PPG-PEG miseller ile bu ilaçların enkapsülasyon çalışmalarına başlanmıştır. Enkapsülasyon işlemi misel sentezi sırasında SPION'ların ve ilaç moleküllerinin eklenmesiyle gerçekleştirilmiştir. Daha sonra 4 °C, 25 °C ve AMF altında 60 saniye manyetik alan uygulaması sonucunda ilaç salımları değerlendirilmiştir. İlaç salımında AMF uygulamasının 60 saniye süreyle uygulanmasının nedeni, önceki basamakta optimize edilen sıcaklık artış optimizasyonunda terapötik sıcaklığa bu sürede ulaşılabilir

olunmasıdır. Bu sonuçlara göre tasarlanan alternatif manyetik alan düzeneği ile 60 sn boyunca uygulanan manyetik alan neticesinde içerisinde SPION yer alan PEG-PPG-PEG misellerinin hem Deksmetazon hem Diklofenak potasyum ilaç salım kinetikleri anlamlı düzeyde değişmiştir. Her iki ilaç için de içerisinde SPION yer alan PEG-PPG-PEG miseller ile enkapsülasyon sonrası 4 ve 25 °C’de 1, 5, 15 ve 30 dakika boyunca ilaç salımları belirlenmiştir. Diklofenak potasyum ilacının içerisinde SPION yer alan PEG-PPG-PEG miselleri ile enkapsülasyonu sonrası salım düzeylerinin Deksmetazon ilacına göre daha düşük olduğu, daha uzun sürede salındığı görülmüştür.

Elektroeğrilmiş nanolif sentezi çalışmaları SPION içeren ve içermeyen PEG-PPG-PEG triblok kopolimerinden elde edilen miseller ve polistiren kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Polistiren oranı %35 olarak optimize edilmiş ve tüm çalışmalar bu oranda gerçekleştirilmiştir. Merkezinde SPION’ların yer aldığı ve almadığı PEG-PPG-PEG triblok kopolimerinden elde edilen misellerin %1, %3, %5, %15, %25 oranlarında fiber oluşturma verimleri incelenmiştir. %15 ve %25 misel içeren fiberler elde edilememiştir. Bunun nedeninin bu örneklerdeki mevcut yoğunluğun fiber oluşturmak için gerekenden çok daha yüksek olması, akış sistemindeki tıkanmalara yol açarak düzensiz yapıların ortaya çıkması olarak belirlenmiştir. %1, %3 ve %5 oranlarında SPION içeren ve içermeyen nanofiberler başarıyla elde edilmiştir. Nanofiberlerdeki misel oranının ve SPION içerip içermemesinin boyut ve temas açısı özellikleri üzerinde anlamlı değişimlere yol açtığı bulunmuştur. SPION içeren nanofiberlerin içermeyenlere göre temas açıları anlamlı olarak düşüş belirlenmiş, bunun biyomedikal uygulamalarda SPION içeren fiberlerin daha yüksek potansiyel taşımaya olanak sağlayabileceği düşünülmüştür. PEG-PPG-PEG misel oranı değişimlerinin fiber boyutlarında değişimlere neden olduğu, hedeflenen çalışmanın amacına göre seçilecek misel oranı ile istenen fiber boyutlarının elde edilebileceği görülmüştür. Sırasıyla %1, %3 ve %5 SPION içeren PEG-PPG-PEG, %35 polistiren kullanılarak elde edilen elektroeğrilmiş nanoliflerin temas açıları 79.29, 82.31 ve 100.36 olarak bulunmuştur. Sırasıyla %1, %3 ve %5 SPION içermeyen PEG-PPG-PEG, %35 polistiren kullanılarak elde edilen elektroeğrilmiş nanoliflerin temas açıları 74.43, 70.02 ve 60.65 olarak bulunmuştur. SPION içeren elektroeğrilmiş nanoliflerin

temas açıları PEG-PPG-PEG misel oranındaki artışla eş zamanlı olarak arttığı görülmüştür. SPION içermeyen elektroğrılmış nanoliflerin temas açıları PEG-PPG-PEG misel oranındaki artışla eş zamanlı olarak azaldığı görülmüştür.

Son olarak farklı yapılarıdaki PEG-PPG-PEG misel ve nanoliflerin biyouyumluluk, biyouygulanabilirlik potansiyellerini belirlemek amacıyla toksisite/canlılık analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda malzemelerin tamamında çalışılabilir aralık içerisinde toksisite verileri elde edilmiştir. Resazurin deneyinden deksametazon için elde edilen hücre canlılık sonuç grafiği. 1, 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltmelere ait elde edilen bu sonuçlara göre 50 kat seyreltilmiş örneğin toksisitesi %5 düzeylerinde bulunmuştur. Diklofenak potasyum için elde edilen hücre canlılık sonuç göre 5, 10 ve 25 kat seyreltilmiş örneklerin toksisitesi %5 düzeylerinde bulunmuştur. SPION'lar için elde edilen hücre canlılık sonuçlarına göre 5, 10, 25 ve 50 kat seyreltilmiş örneğin toksisitesi %5 düzeylerinin altında bulunmuştur. Saf (SPION içermeyen, ilaç enkapsüle edilmemiş) PEG-PPG-PEG misel için elde edilen hücre canlılık sonuçlarına göre seyreltilmiş örneğin toksisitesi %5 düzeylerinin altında bulunmuştur. Seyreltme oranının değişmesi ile canlılık düzeyleri de değişim göstermiş ve saf misellerin toksik etkiler gösterebileceği literatür bilgileri ile de desteklenerek belirtilmiştir. SPION içeren diklofenak potasyum enkapsüle PEG-PPG-PEG miselleri için elde edilen hücre canlılık sonuçlarına göre 1 ve 50 kat seyreltilmiş örneğin toksisitesi %5 düzeylerinin altında bulunmuştur. Merkezinde SPION yer alan ve diklofenak potasyum enkapsüle edilmiş misellerin toksisitelerinin saf misellere göre anlamlı olarak daha düşük olduğu görülmüş, misellerin SPION'lar ile fonksiyonelleştirilmesi ile biyouygulanabilirliğin artırıldığı kanıtlanmıştır. SPION içeren deksametazon enkapsüle PEG-PPG-PEG miselleri için elde edilen hücre canlılık sonuçlarına göre 1, 5, 10 ve 50 kat seyreltilmiş örneğin toksisitesi %5 düzeylerinde bulunmuştur. Merkezinde SPION yer alan ve deksametazon enkapsüle edilmiş misellerin toksisitelerinin saf misellere göre anlamlı olarak daha düşük olduğu görülmüş, misellerin SPION'lar ile fonksiyonelleştirilmesi ile biyouygulanabilirliğin artırıldığı kanıtlanmıştır.

Saf misellerin toksisite değerleri diğer misel ve nanofiber örneklerine göre anlamlı olarak daha yüksek çıkmıştır. Bunun nedeninin literatür bilgileriyle de uyumlu

olarak hücre içine alımının daha kolay olması ve malzeme-protein/biyolojik molekül etkileşimlerinin diğerlerinden daha farklı olması olarak değerlendirilmiştir. Çekirdeğinde SPION içeren misellerin içermeyenlere göre daha stabil, küçük çaplı ve biyouyumlu olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar geliştirdiğimiz ve farklı patolojilerde ilaç taşıma/hedefleme çalışmalarında kullanım potansiyellerini değerlendirdiğimiz SPION içeren PEG-PPG-PEG misellerinin biyoygulanabilirliğini destekler niteliktedir.

Genel olarak hedefli ilaç taşıma/salım çalışmalarında yüksek kullanım potansiyeli taşıyan Fe_3O_4 süperparamanyetik nanopartikülleriyle modifiye edilmiş PEG-PPG-PEG miselleri ile Deksametazon ve Diklofenak potasyum ilaçlarının enkapsülasyonu gerçekleştirildikten sonra, bu sistemin tasarlanan ve geliştirilen AMF kaynağı kullanılarak uyarılması ile ilaç salım kinetiğinin değiştirilebildiği kanıtlanmıştır. Bu sonuçlar, ilerleyen dönemler için SPION temelli ilaç hedefleme ve terapotik yaklaşımları için umut vadetmektedir. Yakın gelecekte alternatif manyetik alan manipulasyonu ile *in vivo* SPION hedefleme, ilaç taşıma, tümör tedavisi ve benzeri girişimlerin mevcut tedavi yöntemlerine karşı çok daha güçlü alternatifler olması kuvvetle muhtemeldir.



KAYNAKLAR DİZİNİ

Ahmad, Z., Shah, A., Siddiq, M., & Kraatz, H. B. (2014). Polymeric micelles as drug delivery vehicles. *Rsc Advances*, 4 (33), 17028-17038.

Al-Kadhemy, M. F. H., Abaas, W. H., Fakher, I., 2013, The Effect of Gamma Radiation on the FTIR Spectrum of Crystal Violet Doped Polystyrene Films, *Caspian Journal of Applied Sciences Research*. 2(7), 11-17 pp.

Alves, P. E., Soares, B. G., Lins, L. C., Livi, S., & Santos, E. P. (2019). Controlled delivery of dexamethasone and betamethasone from PLA electrospun fibers: A comparative study. *European Polymer Journal*, 117, 1-9.

Ankamwar, B., Lai, T. C., Huang, J. H., Liu, R. S., Hsiao, M., Chen, C. H., & Hwu, Y. K. (2010). Biocompatibility of Fe₃O₄ nanoparticles evaluated by in vitro cytotoxicity assays using normal, glia and breast cancer cells. *Nanotechnology*, 21 (7), 075102.

Barrera, C., Herrera, A., Zayas, Y., & Rinaldi, C. (2009). Surface modification of magnetite nanoparticles for biomedical applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 321 (10), 1397-1399.

Barrow, M., Taylor, A., García Carrión, J., Mandal, P., Park, B. K., Poptani, H., ... & Adams, D. J. (2016). Co-precipitation of DEAE-dextran coated SPIONs: how synthesis conditions affect particle properties, stem cell labelling and MR contrast. *Contrast media & molecular imaging*, 11 (5), 362-370.

Bean CP, Livingston JD. Superparamagnetism. *J Appl Phys*. 1959;30 (4):S120–29.

Bear, J. C., Patrick, P. S., Casson, A., Southern, P., Lin, F. Y., Powell, M. J., ... & Mayes, A. G. (2016). Magnetic hyperthermia controlled drug release in the GI tract: solving the problem of detection. *Scientific reports*, 6 (1), 1-11.

Bhatia, S., 2016, Natural polymers vs synthetic polymer. In *Natural Polymer Drug Delivery Systems*, Springer, 95-118 pp. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41129-3_3

Boland, E. D., Wnek, G. E., Simpson, D. G., Pawlowski, K. J., Bowlin, G. L., 2001, Tailoring tissue engineering scaffolds using electrostatic processing techniques: a study of poly (glycolic acid) electrospinning, *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 38 (12), 1231-1243 pp. <https://doi.org/10.1081/MA-100108380>

Butoescu, N., Jordan, O., Burdet, P., Stadelmann, P., Petri-Fink, A., Hofmann, H., & Doelker, E. (2009). Dexamethasone-containing biodegradable superparamagnetic microparticles for intra-articular administration: physicochemical and magnetic properties, in vitro and in vivo drug release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72 (3), 529-538.

Chang, B., Chen, D., Wang, Y., Chen, Y., Jiao, Y., Sha, X., & Yang, W. (2013). Bioresponsive controlled drug release based on mesoporous silica nanoparticles coated with reductively sheddable polymer shell. *Chemistry of Materials*, 25 (4), 574-585.

Chang, B., Guo, J., Liu, C., Qian, J., & Yang, W. (2010). Surface functionalization of magnetic mesoporous silica nanoparticles for controlled drug release. *Journal of Materials Chemistry*, 20 (44), 9941-9947.

Chen, R., Cheng, J., & Wei, Y. (2012). Preparation and magnetic properties of Fe₃O₄ microparticles with adjustable size and morphology. *Journal of alloys and compounds*, 520, 266-271.

Chen, Z., Chen, Z., Zhang, A., Hu, J., Wang, X., Yang, Z., 2016, Electrospun nanofibers for cancer diagnosis and therapy, *Biomaterials science*, 4 (6), 922-932 pp. <https://doi.org/10.1039/C6BM00070C>

Cleeton, C., Keirouz, A., Chen, X., Radacsi, N., 2019, Electrospun Nanofibers for Drug Delivery and Biosensing, *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 5 (9), 4183-4205 pp. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b00853>

Croy, S. R., & Kwon, G. S. (2006). Polymeric micelles for drug delivery. *Current pharmaceutical design*, 12 (36), 4669-4684.

Das, P., Colombo, M., & Prosperi, D. (2019). Recent advances in magnetic fluid hyperthermia for cancer therapy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 174, 42-55.

- Das, S., & Subuddhi, U. (2015). pH-Responsive guar gum hydrogels for controlled delivery of dexamethasone to the intestine. *International journal of biological macromolecules*, 79, 856-863.
- Davis, S. S. (1997). Biomedical applications of nanotechnology—implications for drug targeting and gene therapy. *Trends in biotechnology*, 15 (6), 217-224.
- de Paula Aguiar, M. F., Mamani, J. B., Felix, T. K., dos Reis, R. F., da Silva, H. R., Nucci, L. P., ... & Gamarra, L. F. (2017). Magnetic targeting with superparamagnetic iron oxide nanoparticles for in vivo glioma. *Nanotechnology Reviews*, 6 (5), 449-472.
- Deitzel, J. M., Kleinmeyer, J., Harris, D. E. A., & Tan, N. B. (2001). The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer*, 42 (1), 261-272.
- Deitzel, J. M., Kleinmeyer, J., Harris, D. E. A., & Tan, N. B. (2001). The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles. *Polymer*, 42 (1), 261-272.
- Deng, C., Jiang, Y., Cheng, R., Meng, F., & Zhong, Z. (2012). Biodegradable polymeric micelles for targeted and controlled anticancer drug delivery: promises, progress and prospects. *Nano Today*, 7 (5), 467-480.
- Deng, X., Gould, M., & Ali, M. A. (2021). Fabrication and characterisation of melt-extruded chitosan/keratin/pcl/peg drug-eluting sutures designed for wound healing. *Materials Science and Engineering: C*, 120, 111696.
- Dou, Q., Abdul Karim, A., & Loh, X. J. (2016). Modification of thermal and mechanical properties of PEG-PPG-PEG copolymer (F127) with MA-POSS. *Polymers*, 8 (9), 341.
- Dou, Q., Abdul Karim, A., & Loh, X. J. (2016). Modification of thermal and mechanical properties of PEG-PPG-PEG copolymer (F127) with MA-POSS. *Polymers*, 8 (9), 341.
- Duvvuri, S., Janoria, K. G., Pal, D., & Mitra, A. K. (2007). Controlled delivery of ganciclovir to the retina with drug-loaded Poly (d, L-lactide-co-glycolide) (PLGA) microspheres dispersed in PLGA-PEG-PLGA Gel: a novel intravitreal

delivery system for the treatment of cytomegalovirus retinitis. *Journal of ocular pharmacology and therapeutics*, 23 (3), 264-274.

Eda, G., & Shivkumar, S. (2007). Bead-to-fiber transition in electrospun polystyrene. *Journal of Applied Polymer Science*, 106 (1), 475-487.

Feng X, Li J, Zhang X, Liu T, Ding J, Chen X. Electrospun polymer micro/nanofibers as pharmaceutical repositories for healthcare. *J Control Release* 2019;302:19–41.

Fu, Q., Duan, C., Yan, Z., Li, Y., Si, Y., Liu, L., ... & Ding, B. (2018). Nanofiber-Based Hydrogels: Controllable Synthesis and Multifunctional Applications. *Macromolecular rapid communications*, 39 (10), 1800058.

Ge, J., Neofytou, E., Cahill III, T. J., Beygui, R. E., & Zare, R. N. (2012). Drug release from electric-field-responsive nanoparticles. *ACS nano*, 6 (1), 227-233.

Gleiter, H. (2000). Nanostructured materials: basic concepts and microstructure. *Acta materialia*, 48(1), 1-29.

Gobbo, O. L., Sjaastad, K., Radomski, M. W., Volkov, Y., & Prina-Mello, A. (2015). Magnetic nanoparticles in cancer theranostics. *Theranostics*, 5 (11), 1249.

Haghi AK, Akbari M (2007) Trends in electrospinning of natural nanofibers. *Phys Status Solidi (a)* 204 (6):1830–1834.

Hayashi, K., Nakamura, M., Sakamoto, W., Yogo, T., Miki, H., Ozaki, S., ... & Ishimura, K. (2013). Superparamagnetic nanoparticle clusters for cancer theranostics combining magnetic resonance imaging and hyperthermia treatment. *Theranostics*, 3 (6), 366.

He, X., Wu, X., Cai, X., Lin, S., Xie, M., Zhu, X., & Yan, D. (2012). Functionalization of magnetic nanoparticles with dendritic–linear–brush-like triblock copolymers and their drug release properties. *Langmuir*, 28 (32), 11929-11938.

Hergt R, Hiergeist R, Hilger I, Kaiser WA, Lapatinikov Y, et al. Maghemite nanoparticles with very high AC-losses for application in RF-magnetic hyperthermia. *J Magn Magn Mater*. 2004;270 (3):345–57.

Herve, K., Douziech-Eyrolles, L., Munnier, E., Cohen-Jonathan, S., Souce, M., Marchais, H., ... & Chourpa, I. (2008). The development of stable aqueous suspensions of PEGylated SPIONs for biomedical applications. *Nanotechnology*, 19 (46), 465608.

Huang C, Chen S, Lai C, Reneker Darrell H, Qiu H, Ye Y, Hou H (2006) Electrospun polymer nanofibres with small diameters. *Nanotechnology* 17 (6):1558–1563.

Huang, W., Xiao, Y., & Shi, X. (2019). Construction of electrospun organic/inorganic hybrid nanofibers for drug delivery and tissue engineering applications. *Advanced Fiber Materials*, 1 (1), 32-45.

Islam MS, Ang BC, Andriyana A, Afifi AM. A review on fabrication of nanofibers via electrospinning and their applications. *SN Appl Sci* 2019;1:1–16.

Jafariazar, Z., Jamalnia, N., Ghorbani-Bidkorpbeh, F., & Mortazavi, S. A. (2015). Design and evaluation of ocular controlled delivery system for diclofenac sodium. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14 (Suppl), 23.

Jalil, A., Khan, S., Naeem, F., Haider, M. S., Sarwar, S., Riaz, A., & Ranjha, N. M. (2017). The structural, morphological and thermal properties of grafted pH-sensitive interpenetrating highly porous polymeric composites of sodium alginate/acrylic acid copolymers for controlled delivery of diclofenac potassium. *Designed monomers and polymers*, 20 (1), 308-324.

Kalsoom Khan, A., Saba, A. U., Nawazish, S., Akhtar, F., Rashid, R., Mir, S., ... & Murtaza, G. (2017). Carrageenan based bionanocomposites as drug delivery tool with special emphasis on the influence of ferromagnetic nanoparticles. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017.

Karimzadeh, I., Aghazadeh, M., Ganjali, M. R., Norouzi, P., Doroudi, T., & Kolivand, P. H. (2017). Saccharide-coated superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles (SPIONs) for biomedical applications: an efficient and scalable route for preparation and in situ surface coating through cathodic electrochemical deposition (CED). *Materials Letters*, 189, 290-294.

Kataoka, K., Harada, A., & Nagasaki, Y. (2012). Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance. *Advanced drug delivery reviews*, 64, 37-48.

Ki, C. S., Baek, D. H., Gang, K. D., Lee, K. H., Um, I. C., & Park, Y. H. (2005). Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin–formic acid solution. *Polymer*, 46 (14), 5094-5102.

Kim, H. A., Lee, H. J., Hong, J. H., Moon, H. J., Ko, D. Y., & Jeong, B. (2017). α , ω -Diphenylalanine-end-capping of PEG-PPG-PEG polymers changes the micelle morphology and enhances stability of the thermogel. *Biomacromolecules*, 18 (7), 2214-2219.

Kim, K., Kang, M., Chin, I. J., Jin, H. J., 2005, Unique surface morphology of electrospun polystyrene fibers from aN, N-dimethylformamide solution, *Macromolecular Research*, 13 (6), 533-537 pp.
<https://doi.org/10.1007/BF03218492>

Kim, S. C., Kim, D. W., Shim, Y. H., Bang, J. S., Oh, H. S., Kim, S. W., & Seo, M. H. (2001). In vivo evaluation of polymeric micellar paclitaxel formulation: toxicity and efficacy. *Journal of Controlled Release*, 72 (1-3), 191-202.

Koski, A., Yim, K., & Shivkumar, S. J. M. L. (2004). Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. *Materials Letters*, 58 (3-4), 493-497.

Kunii, R., Onishi, H., & Machida, Y. (2007). Preparation and antitumor characteristics of PLA/ (PEG-PPG-PEG) nanoparticles loaded with camptothecin. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 67 (1), 9-17.

Kwon, I. K., Kidoaki, S., Matsuda, T., 2005, Electrospun nano-to microfiber fabrics made of biodegradable copolyesters: structural characteristics, mechanical properties and cell adhesion potential, *Biomaterials*, 26 (18), 3929-3939 pp.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.10.007>

Latorre, A., Couleaud, P., Aires, A., Cortajarena, A. L., & Somoza, Á. (2014). Multifunctionalization of magnetic nanoparticles for controlled drug release: A general approach. *European journal of medicinal chemistry*, 82, 355-362.

Leal-Marín, S., Gallaway, G., Hölting, K., Lopera-Sepulveda, A., Glasmacher, B., & Gryshkov, O. (2021). Scaffolds with Magnetic Nanoparticles for Tissue Stimulation. *Current Directions in Biomedical Engineering*, 7 (2), 460-463.

Lee, H., Yu, M. K., Park, S., Moon, S., Min, J. J., Jeong, Y. Y., ... & Jon, S. (2007). Thermally cross-linked superparamagnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and application as a dual imaging probe for cancer in vivo. *Journal of the American Chemical Society*, 129 (42), 12739-12745.

Lee, K. H., Kim, H. Y., Bang, H. J., Jung, Y. H., & Lee, S. G. (2003). The change of bead morphology formed on electrospun polystyrene fibers. *Polymer*, 44 (14), 4029-4034.

Lee, S. Y., Lee, Y., Kim, J. E., Park, T. G., & Ahn, C. H. (2009). A novel pH-sensitive PEG-PPG-PEG copolymer displaying a closed-loop sol-gel-sol transition. *Journal of Materials Chemistry*, 19 (43), 8198-8201.

Lee, S. Y., Lee, Y., Kim, J. E., Park, T. G., & Ahn, C. H. (2009). A novel pH-sensitive PEG-PPG-PEG copolymer displaying a closed-loop sol-gel-sol transition. *Journal of Materials Chemistry*, 19 (43), 8198-8201.

Li, D., & Xia, Y. (2004). Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel? *Advanced materials*, 16 (14), 1151-1170.

Li, D., McCann, J. T., & Xia, Y. (2005). Use of electrospinning to directly fabricate hollow nanofibers with functionalized inner and outer surfaces. *Small*, 1 (1), 83-86.

Li, L., Yang, G., Li, J., Ding, S., & Zhou, S. (2014). Cell behaviors on magnetic electrospun poly-D, L-lactide nanofibers. *Materials Science and Engineering: C*, 34, 252-261.

Li, Q., Ge, L., Wan, W., Jiang, J., Zhong, W., Ouyang, J., & Xing, M. (2015). Magnetically guided fabrication of multilayered iron oxide/polycaprolactone/gelatin nanofibrous structures for tissue engineering and theranostic application. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 21 (10), 1015-1024.

Li, W., Zaloga, J., Ding, Y., Liu, Y., Janko, C., Pischetsrieder, M., ... & Boccaccini, A. R. (2016). Facile preparation of multifunctional

superparamagnetic PHBV microspheres containing SPIONs for biomedical applications. *Scientific reports*, 6 (1), 1-12.

Li, Y. J., Dong, M., Kong, F. M., & Zhou, J. P. (2015). Folate-decorated anticancer drug and magnetic nanoparticles encapsulated polymeric carrier for liver cancer therapeutics. *International journal of pharmaceutics*, 489 (1-2), 83-90.

Li, Z., & Wang, C. (2013). Effects of working parameters on electrospinning. In *One-dimensional nanostructures* (pp. 15-28). Springer, Berlin, Heidelberg.

Lin, M. M., Kim, D. K., El Haj, A. J., & Dobson, J. (2008). Development of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONS) for translation to clinical applications. *IEEE transactions on Nanobioscience*, 7 (4), 298-305.

Liu, J. F., Jang, B., Issadore, D., & Tsourkas, A. (2019). Use of magnetic fields and nanoparticles to trigger drug release and improve tumor targeting. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 11 (6), e1571.

Liu, J. F., Jang, B., Issadore, D., & Tsourkas, A. (2019). Use of magnetic fields and nanoparticles to trigger drug release and improve tumor targeting. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 11 (6), e1571.

Liu, J. F., Jang, B., Issadore, D., & Tsourkas, A. (2019). Use of magnetic fields and nanoparticles to trigger drug release and improve tumor targeting. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 11 (6), e1571.

Liu, J. F., Jang, B., Issadore, D., & Tsourkas, A. (2019). Use of magnetic fields and nanoparticles to trigger drug release and improve tumor targeting. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 11 (6), e1571.

Llenas, M., Sandoval, S., Costa, P. M., Oró-Solé, J., Lope-Piedrafita, S., Ballesteros, B., ... & Tobias, G. (2019). Microwave-assisted synthesis of SPION-reduced graphene oxide hybrids for magnetic resonance imaging (MRI). *Nanomaterials*, 9 (10), 1364.

Luraghi, A., Peri, F., & Moroni, L. (2021). Electrospinning for drug delivery applications: A review. *Journal of Controlled Release*.

M.J. Laudenslager, W.M. Sigmund, "Electrospinning" *Encyclopedia of Nanotechnology* Springer Publishers (2012), pp. 769–775.

- Ma, H. L., Qi, X. R., Maitani, Y., & Nagai, T. (2007). Preparation and characterization of superparamagnetic iron oxide nanoparticles stabilized by alginate. *International journal of pharmaceutics*, 333 (1-2), 177-186.
- Mahdi, S. A., Kadhim, A. A., Albukhaty, S., Nikzad, S., Haider, A. J., Ibraheem, S., ... & Al-Musawi, S. (2021). Gene expression and apoptosis response in hepatocellular carcinoma cells induced by biocompatible polymer/magnetic nanoparticles containing 5-fluorouracil. *Electronic Journal of Biotechnology*, 52, 21-29.
- Mahmoudi, M., Simchi, A., Milani, A. S., & Stroeve, P. (2009). Cell toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Journal of colloid and interface science*, 336 (2), 510-518.
- Malega, F., Indrayana, I. P., & Suharyadi, E. (2018). Synthesis and characterization of the microstructure and functional group bond of Fe_3O_4 nanoparticles from natural iron sand in Tobelo North Halmahera. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Fisika Al-Biruni*, 7(2), 13-22.
- Mehrasa, M., Asadollahi, M. A., Ghaedi, K., Salehi, H., & Arpanaei, A. (2015). Electrospun aligned PLGA and PLGA/gelatin nanofibers embedded with silica nanoparticles for tissue engineering. *International journal of biological macromolecules*, 79, 687-695.
- Mikhaylova, M., Kim, D. K., Bobrysheva, N., Osmolowsky, M., Semenov, V., Tsakalakos, T., & Muhammed, M. (2004). Superparamagnetism of magnetite nanoparticles: dependence on surface modification. *Langmuir*, 20 (6), 2472-2477.
- Mohammed, L., Gomaa, H. G., Ragab, D., & Zhu, J. (2017). Magnetic nanoparticles for environmental and biomedical applications: A review. *Particuology*, 30, 1-14.
- Mohammed, L., Ragab, D., & Gomaa, H. (2016). Bioactivity of hybrid polymeric magnetic nanoparticles and their applications in drug delivery. *Current pharmaceutical design*, 22 (22), 3332-3352.
- Monnier, C. A., Burnand, D., Rothen-Rutishauser, B., Lattuada, M., & Petri-Fink, A. (2014). Magnetoliposomes: opportunities and challenges. *European Journal of Nanomedicine*, 6 (4), 201-215.

Montha, W., Maneeprakorn, W., Buatong, N., Tang, I. M., & Pon-On, W. (2016). Synthesis of doxorubicin-PLGA loaded chitosan stabilized (Mn, Zn) Fe₂O₄ nanoparticles: biological activity and pH-responsive drug release. *Materials Science and Engineering: C*, 59, 235-240.

Moros, M., Idiago-López, J., Asín, L., Moreno-Antolín, E., Beola, L., Grazú, V., ... & de la Fuente, J. M. (2019). Triggering antitumoural drug release and gene expression by magnetic hyperthermia. *Advanced drug delivery reviews*, 138, 326-343.

Mortimer, C. J., & Wright, C. J. (2017). The fabrication of iron oxide nanoparticle-nanofiber composites by electrospinning and their applications in tissue engineering. *Biotechnology journal*, 12 (7), 1600693.

Movia D, Poland C, Tran L, Volkov Y, Prina-Mello A. Multilayered Nanoparticles for Personalized Medicine: Translation into Clinical Markets. In: *Handbook of Clinical Nanomedicine: Nanoparticles, Imaging, Therapy and Clinical Applications* Singapore: Pan Stanford Publishing Pte Ltd; 2016.

Muthiah, M., Park, I. K., & Cho, C. S. (2013). Surface modification of iron oxide nanoparticles by biocompatible polymers for tissue imaging and targeting. *Biotechnology advances*, 31 (8), 1224-1236.

National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 5743, Dexamethasone. Retrieved January 11, 2022, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dexamethasone>.

National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 23667642, Diclofenac potassium. Retrieved January 11, 2022, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diclofenac-potassium>.

Nazari, H., Heirani-Tabasi, A., Hajiabbas, M., Salimi Bani, M., Nazari, M., Pirhajati Mahabadi, V., ... & Soleimani, M. (2020). Incorporation of SPION-casein core-shells into silk-fibroin nanofibers for cardiac tissue engineering. *Journal of cellular biochemistry*, 121 (4), 2981-2993.

Nazari, H., Heirani-Tabasi, A., Hajiabbas, M., Salimi Bani, M., Nazari, M., Pirhajati Mahabadi, V., ... & Soleimani, M. (2020). Incorporation of SPION-

casein core-shells into silk-fibroin nanofibers for cardiac tissue engineering. *Journal of cellular biochemistry*, 121 (4), 2981-2993.

Nazari, H., Heirani-Tabasi, A., Hajiabbas, M., Salimi Bani, M., Nazari, M., Pirhajati Mahabadi, V., ... & Soleimani, M. (2020). Incorporation of SPION-casein core-shells into silk-fibroin nanofibers for cardiac tissue engineering. *Journal of cellular biochemistry*, 121 (4), 2981-2993.

Neuberger, T., Schöpf, B., Hofmann, H., Hofmann, M., & Von Rechenberg, B. (2005). Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: possibilities and limitations of a new drug delivery system. *Journal of Magnetism and Magnetic materials*, 293 (1), 483-496.

Neves, N. M., Campos, R., Pedro, A., Cunha, J., Macedo, F., Reis, R. L., 2007, Patterning of polymer nanofiber meshes by electrospinning for biomedical applications, *International Journal of Nanomedicine*, 2 (3), 433-448 pp.

Nguyen, D., Huynh, V., Pham, N., Pham, B., Serelis, A., Davey, T., ... & Hawke, B. (2019). SPION-Decorated Nanofibers by RAFT-Mediated Free Radical Emulsion Polymerization-Induced Self Assembly. *Macromolecular rapid communications*, 40 (2), 1800402.

Öcal, H., Arica-Yegin, B., Vural, I., Goracinova, K., & Çalış, S. (2014). 5-Fluorouracil-loaded PLA/PLGA PEG-PPG-PEG polymeric nanoparticles: formulation, in vitro characterization, and cell culture studies. *Drug development and industrial pharmacy*, 40 (4), 560-567.

Öztürk-Atar, K., Kaplan, M., & Çalış, S. (2020). Development and evaluation of polymeric micelle containing tablet formulation for poorly water-soluble drug: tamoxifen citrate. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 46 (10), 1695-1704.

Pankhurst, Q. A., Connolly, J., Jones, S. K., & Dobson, J. (2003). Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of physics D: Applied physics*, 36 (13), R167.

Pant B, Park M, Park SJ. Drug delivery applications of core-sheath nanofibers prepared by coaxial electrospinning: A review. *Pharmaceutics* 2019;11

Park, J. Y., Daksha, P., Lee, G. H., Woo, S., & Chang, Y. (2008). Highly water-dispersible PEG surface modified ultra small superparamagnetic iron oxide nanoparticles useful for target-specific biomedical applications. *Nanotechnology*, 19(36), 365603.

Pérez-Sánchez, G., Vicente, F. A., Schaeffer, N., Cardoso, I. S., Ventura, S. P., Jorge, M., & Coutinho, J. A. (2019). Rationalizing the phase behavior of triblock copolymers through experiments and molecular simulations. *The Journal of Physical Chemistry C*, 123(34), 21224-21236.

Piazza, R. D., Viali, W. R., Dos Santos, C. C., Nunes, E. S., Marques, R. F. C., Morais, P. C., ... & Jafelicci, M. (2020). PEGlatyon-SPION surface functionalization with folic acid for magnetic hyperthermia applications. *Materials Research Express*, 7 (1), 015078.

Poole Jr, C. P., & Owens, F. J. (2003). *Introduction to nanotechnology*. John Wiley & Sons.

Puri, I. K., & Ganguly, R. (2014). Particle transport in therapeutic magnetic fields. *Annual review of fluid mechanics*, 46, 407-440.

Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W. E., Yong, T., Ma, Z., & Ramaseshan, R. (2006). Electrospun nanofibers: solving global issues. *Materials today*, 9 (3), 40-50.

Ramos, A. P., Cruz, M. A., Tovani, C. B., & Ciancaglini, P. (2017). Biomedical applications of nanotechnology. *Biophysical reviews*, 9 (2), 79-89.

Ramya, B., Kumar, K. V., Ramalingam, P., & Reddy, J. R. (2012). UV derivative spectrophotometric method for simultaneous estimation of metaxalone and diclofenac potassium in combined dosage form. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3 (11), 4301.

Rong C-b, Li D, Nandwana V, Poudyal N, Ding Y, et al. Size-dependent chemical and magnetic ordering in L10-FePt nanoparticles. *Adv Mater*. 2006;18 (22):2984–88.

Saleh, T. A. (2020). Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. *Environmental Technology & Innovation*, 101067.

Sapountzi, E., Braiek, M., Chateaux, J. F., Jaffrezic-Renault, N., Lagarde, F., 2017, Recent advances in electrospun nanofiber interfaces for biosensing devices, *Sensors*, 17 (8), 1887 p. <https://doi.org/10.3390/s17081887>

Schenck, J. F. (2005). Physical interactions of static magnetic fields with living tissues. *Progress in biophysics and molecular biology*, 87 (2-3), 185-204.

Selim, K. K., Ha, Y. S., Kim, S. J., Chang, Y., Kim, T. J., Lee, G. H., & Kang, I. K. (2007). Surface modification of magnetite nanoparticles using lactobionic acid and their interaction with hepatocytes. *Biomaterials*, 28 (4), 710-716.

Shah, S. U., Khan, G. M., Jan, S. U., Shah, K. U., Hussain, A., Khan, H., & Khan, K. A. (2012). Development of novel diclofenac potassium controlled release tablets by wet granulation technique and the effect of co-excipients on in vitro drug release rates. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 25 (1).

Shin, D. H., Tam, Y. T., & Kwon, G. S. (2016). Polymeric micelle nanocarriers in cancer research. *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 10 (3), 348-359.

Shiraishi, K., & Yokoyama, M. (2019). Toxicity and immunogenicity concerns related to PEGylated-micelle carrier systems: a review. *Science and technology of advanced materials*, 20 (1), 324-336.

Sill, T. J., & Von Recum, H. A. (2008). Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*, 29 (13), 1989-2006.

Šmejkalová, D., Nešporová, K., Huerta-Angeles, G., Syrovátka, J., Jiráček, D., Gálisová, A., & Velebný, V. (2014). Selective in vitro anticancer effect of superparamagnetic iron oxide nanoparticles loaded in hyaluronan polymeric micelles. *Biomacromolecules*, 15 (11), 4012-4020.

Sodipo, B. K., & Aziz, A. A. (2016). Recent advances in synthesis and surface modification of superparamagnetic iron oxide nanoparticles with silica. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 416, 275-291.

Sodipo, B. K., & Aziz, A. A. (2016). Recent advances in synthesis and surface modification of superparamagnetic iron oxide nanoparticles with silica. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 416, 275-291.

Sodipo, B. K., & Aziz, A. A. (2018). One minute synthesis of amino-silane functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles by sonochemical method. *Ultrasonics sonochemistry*, 40, 837-840.

Stevenson, G., Moulton, S. E., Innis, P. C., & Wallace, G. G. (2010). Polyterthiophene as an electrostimulated controlled drug release material of therapeutic levels of dexamethasone. *Synthetic metals*, 160 (9-10), 1107-1114.

Sukigara S, Gandhi M, Ayutsede J, Micklus M, Ko F (2003) Regeneration of Bombyx mori silk by electrospinning—part 1: Processing parameters and geometric properties. *Polymer* 44 (19):5721–5727.

Tajabadi, M., Khosroshahi, M. E., & Bonakdar, S. (2013). An efficient method of SPION synthesis coated with third generation PAMAM dendrimer. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 431, 18-26.

Tajabadi, M., Khosroshahi, M. E., & Bonakdar, S. (2013). An efficient method of SPION synthesis coated with third generation PAMAM dendrimer. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 431, 18-26.

Talelli, M., Rijcken, C. J., Lammers, T., Seevinck, P. R., Storm, G., van Nostrum, C. F., & Hennink, W. E. (2009). Superparamagnetic iron oxide nanoparticles encapsulated in biodegradable thermosensitive polymeric micelles: toward a targeted nanomedicine suitable for image-guided drug delivery. *Langmuir*, 25 (4), 2060-2067.

Taylor, E. N., Kummer, K. M., Durmus, N. G., Leuba, K., Tarquinio, K. M., & Webster, T. J. (2012). Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION) for the treatment of antibiotic-resistant biofilms. *Small*, 8 (19), 3016-3027.

Theysohn, J. M., Maderwald, S., Kraff, O., Moenninghoff, C., Ladd, M. E., & Ladd, S. C. (2008). Subjective acceptance of 7 Tesla MRI for human imaging. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 21 (1-2), 63.

Thomas, R. G., Moon, M. J., Lee, H., Sasikala, A. R. K., Kim, C. S., Park, I. K., & Jeong, Y. Y. (2015). Hyaluronic acid conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticle for cancer diagnosis and hyperthermia therapy. *Carbohydrate polymers*, 131, 439-446.

- Torres-Martínez, E., Pérez-González, G. L., Serrano-Medina, A., Grande, D., Vera-Graziano, R., Cornejo-Bravo, M., & Villarreal-Gómez, L. J. (2019). Drugs loaded into electrospun polymeric nanofibers for delivery. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 22, 313-331.
- Vijayakumar, R. (2010). Formulation and evaluation of diclofenac potassium ethosomes (Doctoral dissertation, Madurai Medical College, Madurai).
- Walmsley, G. G., McArdle, A., Tevlin, R., Momeni, A., Atashroo, D., Hu, M. S., ... & Wan, D. C. (2015). Nanotechnology in bone tissue engineering. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 11 (5), 1253-1263.
- Wang C, Wang J, Zeng L, Qiao Z, Liu X, Liu H, et al. Fabrication of electrospun polymer nanofibers with diverse morphologies. *Molecules* 2019;24.
- Wang M, Singh H, Hatton TA, Rutledge GC. Field-responsive superparamagnetic composite nanofibers by electrospinning. *Polymer*. 2004;45 (16):5505–14.
- Weng, L., & Xie, J. (2015). Smart electrospun nanofibers for controlled drug release: recent advances and new perspectives. *Current pharmaceutical design*, 21 (15), 1944-1959.
- Wu, H. D., Wu, S. C., Wu, I. D., Chang, F. C., 2001. Novel determination of the crystallinity of syndiotactic polystyrene using FTIR spectrum, *Polymer*, 42(10), 4719-4725 pp.
- Xiao, Y., Lin, Z. T., Chen, Y., Wang, H., Deng, Y. L., Le, D. E., ... & Bin, J. (2015). High molecular weight chitosan derivative polymeric micelles encapsulating superparamagnetic iron oxide for tumor-targeted magnetic resonance imaging. *International journal of nanomedicine*, 10, 1155.
- Xie, J., MacEwan, M. R., Schwartz, A. G., & Xia, Y. (2010). Electrospun nanofibers for neural tissue engineering. *Nanoscale*, 2 (1), 35-44.
- Xue, J., Wu, T., Dai, Y., & Xia, Y. (2019). Electrospinning and electrospun nanofibers: Methods, materials, and applications. *Chemical reviews*, 119 (8), 5298-5415.
- Xue, W., Liu, X. L., Ma, H., Xie, W., Huang, S., Wen, H., ... & Fan, H. M. (2018). AMF responsive DOX-loaded magnetic microspheres: transmembrane

drug release mechanism and multimodality postsurgical treatment of breast cancer. *Journal of Materials Chemistry B*, 6 (15), 2289-2303.

Yang, Q., Li, Z., Hong, Y., Zhao, Y., Qiu, S., Wang, C. E., & Wei, Y. (2004). Influence of solvents on the formation of ultrathin uniform poly (vinyl pyrrolidone) nanofibers with electrospinning. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 42 (20), 3721-3726.

Yoffe, S., Leshuk, T., Everett, P., & Gu, F. (2013). Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): synthesis and surface modification techniques for use with MRI and other biomedical applications. *Current pharmaceutical design*, 19 (3), 493-509.

Yoo, H. S., Kim, T. G., & Park, T. G. (2009). Surface-functionalized electrospun nanofibers for tissue engineering and drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 61 (12), 1033-1042.

Zargham, S., Bazgir, S., Tavakoli, A., Rashidi, A. S., & Damerchely, R. (2012). The effect of flow rate on morphology and deposition area of electrospun nylon 6 nanofibers. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 7 (4), 155892501200700414.

Zeng, J., Chen, X., Xu, X., Liang, Q., Bian, X., Yang, L., Jing, X, 2003, Ultrafine fibers electrospun from biodegradable polymers, *Journal of Applied Polymer Science*, 89 (4), 1085-1092 pp. <https://doi.org/10.1002/app.12260>

Zhang Y, Ouyang H, Lim CT, Ramakrishna S, Huang Z-M (2005) Electrospinning of gelatin fibers and gelatin/PCL composite fibrous scaffolds. *J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 72B (1):156–165.

Zhang, H., Xia, J., Pang, X., Zhao, M., Wang, B., Yang, L., ... & Fu, S. (2017). Magnetic nanoparticle-loaded electrospun polymeric nanofibers for tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 73, 537-543.

Zhang, W., Shen, F., & Hong, R. (2011). Solvothermal synthesis of magnetic Fe₃O₄ microparticles via self-assembly of Fe₃O₄ nanoparticles. *Particuology*, 9 (2), 179-186.

Zhang, Z. Q., & Song, S. C. (2017). Multiple hyperthermia-mediated release of TRAIL/SPION nanocomplex from thermosensitive polymeric hydrogels for combination cancer therapy. *Biomaterials*, 132, 16-27.

Zhao, Y. Y., Yang, Q. B., Lu, X. F., Wang, C., & Wei, Y. (2005). Study on correlation of morphology of electrospun products of polyacrylamide with ultrahigh molecular weight. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 43 (16), 2190-2195.

Zong X, Kim K, Fang D, Ran S, Hsiao BS, Chu B (2002) Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer* 43 (16):4403–4412.

zur Mühlen, A., Schwarz, C., & Mehnert, W. (1998). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery—drug release and release mechanism. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 45 (2), 149-155.



TEŞEKKÜR

Hem akademik hem sosyal hayatımda örnek aldığım, bağımsız kararlar vermeme ve sorumluluğunu üstlenmemi destekleyen, yaşadığım her problemin çözümünde yanımda hissettiğim kıymetli danışmanım Prof. Dr. Dilek ODACI DEMİRKOL’a,

Tez çalışmalarım süresince hiçbir konuda desteklerini esirgemeyen, tecrübelerini paylaşan ve beni cesaretlendiren tez izleme komisyonu üyelerim Prof. Dr. Murat UYGUN ve Doç. Dr. Alper AKKAYA’ya,

Doktoram süresince birçok konuda görüş alışverişi yaptığım, sayısız konuda birlikte çalıştığım, hem laboratuvarında hem sosyal hayatta sorunları paylaştığım değerli çalışma arkadaşlarım Dr. Simge ER ve MSc. Sultan Sacide GELEN’e,

Doktora eğitimimde beni “Biyomalzeme ve Doku Mühendisliği” öncelikli alanında bursiyeri olarak destekleyen YÖK 100/2000 Doktora Burs Programı’na,

Doktora eğitim sürecinde hem akademik hem sosyal hayatta yanımda olan doktora öğrencisi sevgili Ayşegül MURAT’a,

En önemlisi beni ben yapan her şeyde emeği olan, hiçbir fedakarlığı esirgemeyen, en kıymetlim annem Elife ÇİFÇİ’ye, kız kardeşim Sedef ÇİFÇİ’ye ve babam Ali ÇİFÇİ’ye sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

28/01/2022

İmzası

Ahmet
ÇİFÇİ



ÖZGEÇMİŞ

Ahmet ÇİFÇİ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adres: Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Bornova İZMİR

EĞİTİM BİLGİLERİ

2017 – 2022

Doktora

Ege Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyokimya Anabilim Dalı

2013 – 2017

Yüksek Lisans

Erciyes Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Biyokimya Anabilim Dalı

2008 – 2013

Lisans

Ege Üniversitesi

Fen Fakültesi

Biyokimya Bölümü