



T.C.

SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HEDEFLİ ANTİKANSER İLAÇ TAŞIYAN, NANOTAŞIYICI
SİSTEM SENTEZİ VE İLAÇ SALINIM ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mustafa KÜÇÜKYAZICI

(20179226022)

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Neşe KEKLİKCİOĞLU ÇAKMAK

SİVAS

MART 2021

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.



Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Mustafa KÜÇÜKYAZICI, 2021

KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmam süreci içinde meydana gelen ve 2019'un sonlarında dünyayı etkisi altına alan ve halen devam eden Covid-19 salgınına rağmen bana bu zorlu şartlar altında yardımcı olan kişilere teşekkürü borç bilirim.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden daha fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli ve danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Doç. Dr. Neşe KEKLİKCİOĞLU ÇAKMAK'a çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmalarım süresince benden yardımlarını hiç esirgemeyen arkadaşlarım; Ayşe YEGİN, Atakan EROĞLU, Melih ÖZDURAN, İbrahim KARAKOÇ ve Hasan Zeynel ENDOĞAN'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim için benden maddi ve manevi desteğini hiç esirgemeyen değerli büyüklerim Eyyüp KAYA, Ayşe KAYA, Mustafa KÜÇÜKYAZICI, Fatma KÜÇÜKYAZICI, kıymetli babam Taner KÜÇÜKYAZICI, kıymetli annem Esra KÜÇÜKYAZICI ve sevgili kardeşim Betül KÜÇÜKYAZICI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

KANSER TEDAVİSİNDE KULLANILAN KEMOTERAPİK AJANLAR İÇİN NANOTAŞIYICI SİSTEM SENTEZİ VE KARARLILIĞININ İNCELENMESİ

Mustafa KÜÇÜKYAZICI

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Neşe KEKLİKCİOĞLU ÇAKMAK

2021, 76+xiii sayfa

Bu tez çalışmasında toksisitesi düşük, kanser hücrelerine hedeflenebilen grafen oksit nanopartikül esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin sentezlenmesi, karakterizasyonu ve meme kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan Doksorubisin (DOX) kemoterapötik ilacının hedefli nanotaşıyıcı sisteme yüklenerek ilaç salım özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla öncelikle grafen oksit nanopartikülü sentezlenmiş, daha sonra üretilen nanoparçacığın yüzeyi Polietilen Glikol (PEG) ile iyileştirilmiştir. Takiben, tümör hücrelerine hedefleme ve nihai ilaç taşıyıcı sistemin sentezi için sırasıyla folik asit (FA) konjugasyonu ve DOX ile ilaç etken madde konjugasyonları gerçekleştirilmiştir. Bu sistemlerden ilaç salım profili, asidik (pH 5.3) ve fizyolojik (pH 7.4) olarak hazırlanan iki farklı pH tampon çözelti ortamında incelenmiştir. Sentezlenen nanotaşıyıcının ve ilaçlı sistemin karakterizasyon analizi FTIR, UV, XRD, SEM ve Zeta potansiyel analizi ile yapılmıştır. Elde edilen GO-PEG-FA-DOX yapılarından ilaç salım özellikleri UV ile analiz edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Nanoteknoloji, Kanser, Grafen Oksit (GO), Polietilen Glikol (PEG), Folik Asit (FA), Doksorubisin (DOX)

ABSTRACT

THE SYNTHESIS AND STABILITY OF NANOCARRIER SYSTEM FOR CHEMOTHERAPIC AGENTS USED IN CANCER TREATMENT

Mustafa KÜÇÜKYAZICI

Master of Science Thesis

Department of Chemical Engineering

Supervisor: Doç. Dr. Neşe KEKLİKCİOĞLU ÇAKMAK

2021, 76+xiii pages

In this study, it is aimed to synthesize, characterize and analyze the drug release properties of Doxorubicin (DOX) chemotherapeutic drug, which is frequently used in breast cancer treatment, of low-toxicity, graphene oxide nanoparticle-based drug delivery systems that can be targeted to cancer cells. For this purpose, first the graphene oxide nanoparticle will be synthesized, then the surface of the produced nanoparticle is improved with Polyethylene Glycol (PEG). Folic acid (FA) and DOX conjugation with DOX were then performed for targeting to tumor cells and synthesis of the final drug delivery system, respectively. The drug release profile of these systems was examined in two different pH buffer solutions prepared as acidic (pH 5.3) and physiological (pH 7.4) media. Characterization analysis of the synthesized nanocarrier and drug system were performed by FTIR, UV, XRD, SEM and Zeta potential analysis. Drug release properties of GO-PEG-FA-DOX structures obtained were analyzed by UV.

Key words: Nanotechnology, Cancer, Graphene Oxide (GO), Polyethylene Glycol (PEG), Folic Acid (FA), Doxorubicin (DOX).

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii

1. GİRİŞ.....	1
1.1 Kanser.....	3
1.2 Kanserde Çoklu İlaç Direnci	4
1.2.1 Hücresel olmayan direnç mekanizmaları.....	4
1.2.2 Hücresel tabanlı direnç mekanizmaları.....	5
1.2.3 Çoklu ilaç direncinin klinik önemi	5
1.3 Kanser Tedavisi İçin Yöntemler.....	5
1.3.1 Kemoterapi	6
1.3.2 Fotodinamik terapi (PDT)	6
1.3.3 Radyoterapi.....	7
1.3.4 Kanser aşısı.....	8
1.3.5 Kanser.....	8
2. NANOTEKNOLOJİ.....	9
2.1 Nanomalzemeler	10
2.2 Nanotıp	11
2.2.1 Nanotıpın potansiyel avantajları.....	13
2.2.2 Nanotıp için zorluklar	13
2.3 Kanser tedavisi için nanoteknoloji araçları	14
2.3.1 Lipozomlar	14
2.3.2 Nanoparçacıklar	14
2.3.3 Polimerik nanopartiküller.....	15
2.3.4 Manyetik nanoparçacıklar	15
2.3.5 Katı-lipit nanoparçacıklar.....	15
2.3.6 Polimerik miseller	15
2.3.7 Dendrimerler	16
2.3.8 Nanokonsollar	16
2.3.9 Karbon nanotüpler.....	16
2.3.10 Kuantum noktaları.....	17
2.3.11 Albumin bağlı nanopartiküller	17
2.3.12 Demir oksit nanopartiküller	17
2.3.13 Altın nanopartiküller	18
2.4 Farklı Nanotaşıyıcıların Kombinasyonları	18
2.5 Nanopartikülat İlaç Uygulama Sistemleri ile İlgili Zorluklar	18
2.6 Nanoparçacıkların İşlevselleştirilmesi	19
2.7 Hedefleme.....	19

2.7.1	Pasif hedefleme	20
2.7.2	Aktif hedefleme	21
2.8	Kontrollü Salınım	21
2.9	Ayarlanabilirlik	22
2.10	Yüzey Konjigasyonu	22
2.11	Geliştirilmiş Biyoyararlanım	22
2.12	Tedavi Uygulamaları	23
2.12.1	Nanoteknoloji tabanlı gen terapisi	23
2.12.2	Nanoteknoloji tabanlı fotodinamik tedavi	24
2.12.3	Nanoteknoloji tabanlı radyoterapi ve radyofrekans tedavisi	24
2.12.4	Nanoteknoloji tabanlı kanser tedavileri	25
3.	GRAFEN	26
3.1	Grafenin Özellikleri	27
3.2	Grafenin Sentezi	27
3.2.1	Yukarıdan aşağıya organik sentetik yaklaşımlar	28
3.2.2	Tümör İlaç Direncinin Mekanizma: Efflux Taşıyıcıları	28
3.3	Grafen Oksitin İndirgenmesi (rGO)	29
3.4	Grafenin Biyouyumluluğu	29
3.5	Grafende İlaç / Gen İletimi ve Kanser Tedavisi	29
3.5.1	Grafende ilaç dağıtımı	29
3.5.2	Grafende gen dağıtımı	30
3.6	Grafen Oksit	30
4.	POLİETİLEN GLİKOL (PEG)	31
4.1	PEG'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	31
4.2	PEG'in Yaygın Özellikleri	32
4.3	PEGilasyon	32
4.4	İnorganik Nanopartiküllerin Sentezi için Solvent Olarak PEG	33
5.	FOLİK ASİT (FA)	34
5.1	Folat Hedefli İlaç Dağıtımı	34
6.	DOKSORUBİSİN (DOX)	36
6.1	DOX Kimyası	37
6.2	DOX Faaliyet Mekanizması	38
6.3	DOX Toksisite	38
7.	İLAÇ SALIMI	40
8.	MATERYAL VE METODLAR	41
8.1	Modifiye Hummers Metodu ile Grafen Oksit Nanoparçacıklarının Sentezi ve Karakterizasyonu	41
8.2	Grafen Oksitin PEG ile Fonksiyonlaştırılması	42
8.3	nGO-PEG Ürününe Tümör Hücrelerine Hedefleme ve Nihai İlaç Taşıyıcı Sistemin Sentezi İçin Folik Asit (FA) Konjugasyonu	43
8.4	nGO-PEG-FA İlaç Taşıyıcı Sisteme DOX Yüklmesi	44
9.	ANALİZLER	46
9.1	UV-Vis Spektrofotometre Analizi	46
9.1.1	Modifiye Hummers Metodu ile sentezlenen nGO'nun UV-vis analizi	46
9.1.2	Sentezlenen nGO-PEG'in UV-vis analizi	47
9.1.3	Sentezlenen nGO-PEG-FA'nın UV-vis analizi	48
9.1.4	nGO-PEG-FA'e DOX bağlanması sonrasında UV-vis analizi	49

9.2	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizleri.....	50
9.2.1	Modifiye Hummers Metodu ile sentezlenen nGO'nun FT-IR analizi..	50
9.2.2	Sentezlenen nGO-PEG'in FT-IR analizi	51
9.2.3	Sentezlenen nGO-PEG-FA'nın FT-IR analizi.....	52
9.2.4	Sentezlenen nGO-PEG-FA-DOX'un FT-IR analizi	52
9.3	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi	53
9.3.1	nGO-PEG-FA-DOX ürününün SEM analizleri.....	54
9.4	ZETA Analizi	54
9.4.1	nGO-PEG-FA-DOX ilaç taşıyıcı sistemin ZETA analizi.....	55
9.5	X-Işını Difraktometresi (XRD) Analizi	57
9.5.1	nGO'nun XRD analizi	57
9.5.2	nGO-PEG XRD analizi.....	58
9.5.3	nGO-PEG-FA XRD analizi	58
9.5.4	9.5.4 nGO-PEG-FA-DOX XRD analizi	59
9.6	İlaç Salınımı Analizleri.....	60
10.	SONUÇLAR	63
11.	KAYNAKLAR	64
	ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1	Modifiye Hummers Metodu ile sentezlenen grafen oksitin ilk aşamada elde edilen görüntüsü.....	41
Şekil 2	Modifiye Hummers Metodu ile bağlanmış grafen oksitin çöktürülmesi.....	42
Şekil 3	Modifiye Hummers Metodu ile üretilen grafen oksitin etüvde kurutulması ile elde edilen film tabaka.....	42
Şekil 4	Polietilen glikol.....	43
Şekil 5	Folik Asit.....	44
Şekil 6	Doksorubisin.....	45
Şekil 7	Shimadzu UV-3600 Spektrofotometre.....	46
Şekil 7.1	Nano grafen oksitin UV-vis grafiği.....	47
Şekil 7.2	nGO ve nGO-PEG'ün UV-vis grafiği.....	48
Şekil 7.3	nGO, nGO-PEG ve nGO-PEG-FA'in karşılatırmalı UV-vis grafiği.....	48
Şekil 7.4	0.01mg/mL DMSO çözücüsü içerisindeki DOX'in UV-vis grafiği.....	49
Şekil 7.5	nGO, nGO-PEG, nGO-PEG-FA ve nGO-PEG-FA-DOX'in UV-vis grafiği.....	50
Şekil 8	Nano grafen oksitin FT-IR grafiği.....	51
Şekil 8.1	nGO ve nGO-PEG'ün karşılaştırmalı FT-IR grafiği.....	51
Şekil 8.2	nGO-PEG ve nGO-PEG-FA'in karşılaştırmalı FT-IR grafiği.....	52
Şekil 8.3	nGO-PEG-FA-DOX'in FT-IR grafiği.....	53
Şekil 9a	41.5 µm'de nGO'in SEM görüntüsü.....	54
Şekil 9b	41.5 µm'de nGO-PEG'ün SEM görüntüsü.....	54
Şekil 9c	41.5 µm'de nGO-PEG-FA'in SEM görüntüsü.....	54
Şekil 9d	41.5 µm'de nGO-PEG-FA-DOX'in SEM görüntüsü.....	54
Şekil 10	Mavern Zetasizer Nano Z cihazı görseli.....	55
Şekil 11	nGO, nGO-PEG, nGO-PEG-FA ve nGO-PEG-FA-DOX'in mutlak değer içindeki ZETA analizleri grafiği.....	56
Şekil 12	nGO'in XRD analiz verileri grafiği.....	57
Şekil 12.1	nGO-PEG'ün XRD analiz verileri grafiği.....	58
Şekil 12.2	nGO-PEG ve nGO-PEG-FA'in karşılaştırmalı XRD analiz verileri grafiği.....	59
Şekil 12.3	nGO-PEG-FA-DOX'in XRD analiz verileri grafiği.....	59
Şekil 13	Diyaliz tüpü tipi seçimi için kurulan deney düzeneği.....	60
Şekil 13.1	Diyaliz tüpü seçimi için 6 saatlik periyotlar ile yapılan salınım analizi sonuçları grafiği.....	61
Şekil 14	pH 5.3 ve 7.4'teki PBS içinde DOX'un zamana karşı %Kümülatif Salınım grafiği.....	62

SİMGELER DİZİNİ

2Θ : Saçılan ve geldiği doğrultusunda devam eden X-ışınları demeti arasındaki açı.

d : Mesafe

$\text{\AA}$: Santimetrenin yüz milyonda biri

K : Doksorubisin birleşim sabiti

pK_n : Aminoasitler ve türevleri

λ : Dalgaboyu



KISALTMALAR DİZİNİ

AKM	: Atomik Kuvvet Mikroskopu
CD	: Dairesel Dikroik
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DOX	: Doksorubisin
EPR	: Enhanced Permeability and Retention (Gelişmiş geçirgenlik ve tutulma)
FA	: Folik Asit
FR	: Folat Reseptörü
FT-IR	: Fourier Transform Infrared Spektrofotometre
GO	: Grafen Oksit
IR	: İnfrared
KBB	: Kimyasal Buhar Biriktirme
KN	: Kuantum Noktaları
KNT	: Karbon Nano Tüp
KKY	: Konjestif Kalp Yetmezliği
MDR	: Multiple Drug Resistance
MRI	: Magnetic Resonance Imaging
NP	: Nanopartikül
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbon
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PDT	: Photodynamic Therapy
PEG	: Polietilen Glikol
P-GP	: P-Glikoprotein
PTT	: Photothermal Therapy
RES	: Rerikülo Endoteryal Sistem
rGO	: Reduce Graphene Oxide (İndirgenmiş grafen oksit)
RNA	: Ribo Nükleik Asit
SEM	: Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskopu)
siRNA	: Silencer Ribonucleic Acid
SPDONP	: Süperparamanyetik Demir Oksit Nanopartikül
TTM	: Taramalı Tünelleme Mikoskopu
UV-vis	: Ultraviole-visible
XRD	: X-ray Diffraction
YDRS	: Yüzey Destekli Raman Saçılım

1.GİRİŞ

Son yıllarda kanser tedavisi, tanımlanması ve kanserin biyolojik yönleri de dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisi için yeni teknolojilerin geliştirilmesi üzerinde durulan bir araştırma konusu olmuştur. Kanser tedavisi için kemoterapi, fotodinamik tedavi (PDT), foto termal tedavi (PTT), radyoterapi ve manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi çeşitli yaklaşımlar uygulanmıştır [1,3]. Bu yöntemler arasında kemoterapi sıklıkla uygulanan bir tedavidir. Hedefli kemoterapi son yıllarda kanser ilaçlarının biyoyararlılık, biyoyumluluk, kanserli bölgeye spesifik hedefleme ve terapötik ilaçların güvenilirliğini artırabilecek yaklaşımlar vaat eden ve en çok araştırılan konulardan birisi olmuştur [4,5]. İdeal hedefli bir ilaç taşıyışı sistemin, çözünmeyen anti-kanser ilaçları tümör bölgesine vermesi ve ardından hedeflenen ilaçları salması ve olası yan etkileri normal dokularda en aza indirmesi beklenir. Kanser ilaçlarının terapötik etkisini arttırmak ve ilacın normal dokulara zarar verme etkisini azaltmak için, yüksek biyoyumlu, yüksek ilaç yükleme kapasitesi, kontrollü ve hedefli ilaç taşınmasını hedef alan yüksek yüzey yüklü nano-taşıyıcılara ihtiyaç vardır.

Grafen oksit (GO) iki boyutlu bir nanomalzemedir. Grafitin oksidasyon ve eksfoliasyonundan elde edilen, tek katmanlı sp^2 hibritleştirilmiş karbon tabakalarından, sp^3 hibritlenmiş karbon alanlarından ve oksijenli gruplardan oluşur [6]. Bu nanomalzeme, fiziksel-kimyasal, mekanik ve yapısal özellikleri nedeniyle, birçok araştırma alanında büyük ilgi çekmiştir [7]. GO büyük hidrofobik alanlarının varlığından dolayı, aromatik bileşikler arasındaki etkileşimler ve $\pi-\pi$ istiflenmesi aracılığıyla kovalent olmayan adsorpsiyon ile hidrofobik ilaç yüklenmesini sağlar. Bu özelliğinden dolayı ilaç taşıyıcı olarak yoğun bir çalışma alanında yer bulmuştur [8,9]. GO, geniş yüzeyi ve oksijenli grupların var olması sayesinde, ilaç taşıyıcı sistemlerinin oluşturulması için kimyasal modifikasyon ve moleküller ve polimerlerle kaplama gibi çeşitli nanomalzeme modifikasyon yaklaşımlarının geliştirilmesine izin verir [10,11]. Sitotoksite çalışmaları GO'nun hücrelerde belirli bir toksisite derecesi gösterdiğini ileri sürerken, GO' nun polietilen glikol gibi biyoyumlu polimerlerle fonksiyonel hale getirilmesi ile in vitro ve in vivo da toksisiteyi önemli ölçüde azalttığı ortaya koyulmuştur [12,13]. Polietilen glikol (PEG), iyi biyoyumluluk, yüksek çözünürlük, düşük immünojeniklik ve sistemik insan kullanımı için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onayı ile en sık kullanılan polimerik taşıyıcıdır [14]. Doksorubisin (DOX) meme kanseri tedavisinde sıklıkla kullanılan kemoterapötik ilaçtır. DOX, metastatik meme

kanseri için mevcut en etkili ajanlardan birisidir. DOX, antikanser antrasiklin antibiyotik olarak sınıflandırılır ve mesane kanseri, meme kanseri, yumurtalık kanseri, akciğer kanseri ve mide kanseri gibi çok sayıda kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [15,18]. DOX gibi geleneksel olarak kullanılan kemoterapötik ajanlar tüm vücut sistemini kanla etkilediğinden, sistematik yan etkiler, doku hasarı, gastrointestinal stres ve vücudun çoklu ilaç direnci (MDR) gibi birçok dezavantajları vardır [19]. Bu nedenle bu tez kapsamında ilacın yan etkilerinin azaltılması için hedefli bir nanotaşıyıcı sistem sentezlemek üzere Folik asit (FA) ile konjuge edilmiştir. Bu nano taşıyıcı sistemler sayesinde, ilaçlar, hedef moleküller ile bağlanarak doğrudan hedef kanser hücrelerine taşınabilir ve kontrollü uygun koşullar altında salınabilir [20,25]. Nano taşıyıcı sistemlerin kullanılması DOX 'un daha kontrollü ve hedefli bir ilaç haline getirilebilmesi için ümit verici bir stratejidir [33,35]. Bu nano taşıyıcı sistemler, ilaçların vücudun biyolojik saldırılarından kaçmalarına ve pasif hedefleme olarak bilinen gelişmiş geçirgenlik ve tutma etkisi ile tümör bölgesine daha yüksek konsantrasyonda ulaşmalarını ve MDR'yi tersine çevirmeyi sağlar [26,27]. Ayrıca, bu nano taşıyıcı sistemler, nanoparçacıkların yüzeyi üzerine yüklenmiş hedefleme kısımları ve her bir kanser türü için spesifik olan reseptörler arasındaki bağlamalar yoluyla tümörü seçici olarak hedefleyebilir. Bu mekanizmaya aktif hedefleme denir [28]. Aktif olarak hedeflenen nano taşıyıcı sistem, geleneksel sentezleme yöntemlerine göre, ilk önce ilaç yüklü nanoparçacıklar oluşturulur, ardından hedefleme ajanlarının nanopartiküllerin yüzeyine konjugasyonu yapılır. Aktif hedeflemede, monoklonal antikorlar, polipeptitler, aptamerler, folik asit (FA) ve transferrin gibi moleküller kullanılmaktadır [29,32]. FA, araştırmacılar tarafından en sık kullanılan hedefleme ajanlarından birisidir, çünkü diğer hedefleme ajanlarına kıyasla FA, çeşitli avantajlar sunmaktadır. FA, düşük molekül ağırlığına sahiptir, farklı sıcaklık ve pH değerlerinde stabildir ve bu nedenle hedef bölgesine özgü kimyasal modifikasyon için uygundur. Ayrıca, immünojenik değildir ve tanısal veya terapötik bir taşıyıcıya konjüge edildikten sonra bile folik asit reseptörüne (FR) yüksek afinite ile bağlanabilmektedir [33].

Yapılan birçok çalışmada FR'nin yumurtalık, böbrek, akciğer, beyin, endometriyal, kolorektal, pankreas, mide, prostat, testis, mesane, baş-boyun ve meme kanserleri dahil olmak üzere çeşitli tümör tiplerinin yüzeyinde aşırı şekilde eksprese edildiği gösterilmiştir [34-36]. Bu nedenle, FR hedefli kişiselleştirilmiş kanser tedavisi için etkili bir seçenek sağlayabilecek terapötik bir hedef olarak görülmektedir [37].

1.1 Kanser

1970'lerde başlatılan 'kanser savaşı' yenilikçi ürünlerin geliştirilmesini teşvik etmeyi amaçlamaktaydı, fakat hedeflenen ilerleme gösterilememiştir [1]. Kanser, Türkiye’de en önemli ölüm nedenlerinden biridir ve dünya çapında kanser insidansı artmaya devam etmektedir. En yaygın kanser tedavileri kemoterapi, radyasyon ve cerrahi ile sınırlıdır [2]. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, 2012 yılında kanser kaynaklı ölümlerin sayısı 8,2 milyon ve teşhis edilmesi beklenen yeni kanser vakası sayısı 21,7 milyon iken, 2030'da 13 milyon kanser ölümü olabileceği tahmin edilmektedir [3]. Son otuz yıl boyunca dünyada yapılan araştırmalar, kanserin biyolojik temelini ayrıntılarını ortaya koymasına rağmen, sorunun karmaşıklığını da vurgulamaktadır [4]. Kanserler, hücre ve bağışıklık sisteminin bileşenleri de dahil olmak üzere hatalı çalışan hücrelerin çoğalması ile tanımlanabilmektedir [5].

Kanserin, hücre sinyali ve apoptoz gibi çok sayıda hücre sel fizyolojik sistemi içeren çok aşamalı bir karsinogenez işlemi yoluyla geliştiği bilinmektedir [4,5]. Bu tarz nedenlerden tedavilerin hazırlanması ve uygulanması, kanserli ve sağlıklı hücrelerin ayırt edilmesi konusundaki zorluklar nedeniyle külfetlidir. Başlangıçta, kanserler lokalize hastalıklar olarak başlar, ancak vücuttaki uzak bölgelere yayılma eğilimi gösterir, bu da kanseri tedavi edilemez hale getirir. Bugüne kadar, kanser tedavileri, geleneksel radyolojik ve histopatolojik incelemeler gibi morfolojik tanı araçları kullanılarak belirlenen klinik ve patolojik evreleme temelinde gerçekleştirilmiştir [6]. En yaygın kanser tedavileri kemoterapi, radyasyon ve cerrahi ile sınırlıdır [7]. Kanser tedavisine konvansiyonel yaklaşımlar, kanser hücrelerini öldürmede etkili olmalarına rağmen, yetersiz biyolojik dağılım ve istenmeyen yan etkiler nedeniyle hala başarısız olabilmektedir [8]. Mevcut kanser tedavilerinin sık karşılaştığı zorluklar arasında antitümör ajanların spesifik olmayan sistemik dağılımı, tümör bölgesine ulaşan yetersiz ilaç konsantrasyonları, dayanılmaz sitotoksisite, terapötik yanıtları izleme yeteneği ve çoklu ilaç direncinin gelişimi bulunmaktadır [6,9,10]. Bu nedenlerden dolayı, kanser hücrelerini tanımlamak ve bir kanser hücresinin tamamen tedavi edilip edilemediğini gösterecek yeni ve yenilikçi teknolojiler geliştirmeye ihtiyaç vardır. Nanoteknoloji tabanlı yaklaşımlar, kanser hücrelerine dönüşümü sırasında hücreleri erken bir aşamada hedefleme olasılığı ile umut verici bir alternatif sunmaktadır [8].

1.2 Kanserde Çoklu İlaç Direnci

Kanserin ilaç ile tedavi yöntemlerinde birçok zorluklar ile karşılaşılmaktadır. Bunun nedeni genellikle bu kanserlerin doğal olarak tedavi edilmesinin zorluğundan, çok çeşitli kanser ilaçlarına veya bunların kombinasyonlarına karşı dirençli olmasından kaynaklanmaktadır.

Çoklu ilaç direnci, ilaca dirençli tümörlerin bir dizi yapısal ve fonksiyonel olarak kemoterapötik ajana eşzamanlı direnç gösterme kabiliyeti ile karakterize edilen fenomeni tanımlamak için kullanılan bir terimdir [11].

Hücrelerde çoklu ilaç direnci fenomenini açıklayan bir dizi mekanizma açıklanmıştır. Bunlar genel olarak aşağıda tarif edildiği gibi hücresel ve hücresel olmayan mekanizmalara sınıflandırılmıştır [12].

1.2.1 Hücresel olmayan direnç mekanizmaları

Hücresel olmayan ilaç direnci, in vivo tümör büyümesinin bir sonucu olarak ortaya çıkabilir. Bu fenomenler tipik olarak hematolojik maligniteler gibi dolaşımdaki tümörlere kıyasla benzersiz fizyolojik özellikler sergileyen katı tümörler ile ilişkilidir. Katı tümörler, daha yüksek bir geometrik dirençle karakterize edilen ve tümör kan damarlarının dilate, kıvrımlı ve sakküler olduğu heterojen bir vaskülatürden oluşur [13]. Özellikle, tümör dokusundaki dallanma modelleri normal damarlardan çok farklıdır, vasküler şantlar ve filizler mevcuttur [14]. Katı tümörlerle ilişkili hücre dışı ortam, normal dokulara kıyasla artmış interstisyel sıvı basıncı ile karakterizedir. Bunun nedeni iki yüksek faktör, yani daha yüksek vasküler geçirgenlik ve fonksiyonel bir lenfatik sistemin olmamasıdır [14]. Sonuç olarak, zayıf tümör vaskülarizasyonu katı tümörlerde bölgelere ilaç erişiminin azalmasına neden olabilir ve böylece tümör hücrelerini sitotoksiteden koruyabilir. Katı tümörlerin fizyolojik özellikleri aynı zamanda besin maddeleri ve oksijen eksikliği olan tümör bölgelerine de yol açar. Bu özellikler hücre dışı etkilere kaynaklanan ek direnç mekanizmalarını indükleyebilir. Bu tip dirence bir örnek, katı tümörlerin zayıf vaskülarize edilmiş bölümlerinde, döngüsel olmayan tümör hücrelerinin artan varlığıdır. Bu hücreler genellikle yaşayabilir, ancak bölünmez ve sonuç olarak hücre çoğalmasına bağlı ilaçlara dirençlidir [11]. Hipoksik tümör hücreleri tarafından laktik asit üretimi nedeniyle tümörlerde asidik ortamın, zayıf bazlar için, hücre alımının membranlar arasındaki pH gradyanına bağlı olduğu bir direnç mekanizması sağladığı da ileri sürülmüştür [15].

1.2.2 Hücresel tabanlı direnç mekanizmaları

Hücresel mekanizmalar, malign hücrelerin biyokimyasındaki değişiklikler açısından kategorize edilir. Bu tür mekanizmalar ayrıca iki ana kategoride sınıflandırılabilir: Klasik olmayan çoklu ilaç direnci fenotipleri ve ulaştırma tabanlı klasik çoklu ilaç direnci fenotipleri. Klasik olmayan MDR terimi, birden fazla ilaç sınıfını etkileyen, taşınmaya dayalı olmayan mekanizmaları tanımlamak için kullanılır. Ulaştırma tabanlı olanlarda ise

çoklu ilaç direncine dahil olan ABC taşıyıcıları arasında, malign hücrelerde aşırı eksprese edilebilen ve antikanser ilaçların hücre dışından pompalanmasına hizmet eden P-glikoprotein (P-GP) ve çoklu ilaç direncine bağlı protein vardır [11].

1.2.3 Çoklu ilaç direncinin klinik önemi

Bazı kanserler cerrahi, radyasyon terapisi veya kemoterapi ile tedavi edilebilir. Bununla birlikte, önemli sayıda kanser ya içsel olarak dirençlidir ya da tedaviye bağlı kazanılmış direnç sergiler, bu da uzun süreli regresyona veya tedaviye başarılı bir şekilde neden olma çabalarını karmaşıktırır. Yukarıda tarif edildiği gibi, genelleştirilmiş çoklu ilaç direnci grubu altında birtakım mekanizmaların var olduğu gösterilmiştir [11].

1.3 Kanser Tedavisi İçin Yöntemler

Kanserle mücadele yaygın olarak kullanılan geleneksel stratejiler arasında cerrahi, kemoterapi, radyoterapi, kök hücre transplant tedavi, immünoterapi ve çeşitli hedefe yönelik tedaviler bulunmaktadır [16]. Kanser terapötikleri söz konusu olduğunda, en yaygın kanser tedavileri kemoterapi, radyasyon ve ameliyatla sınırlıdır ve antikanser ajanların spesifik olmayan doku dağılımından, tümörde yetersiz ilaç konsantrasyonlarından, yönetilemeyen toksisiteden kaynaklanan birçok yan etki içerir, tümör bölgesine ulaşan kemoterapötik ajanlara verimsiz ilaç konsantrasyonlarının tekrar tekrar maruz kalması, tedavi edilemez sitotoksikite, terapötik yanıtları izleme yeteneği ve tekrarlanan kemoterapötikler üzerine edinilen çoklu ilaç direncinin gelişmesi nedeniyle terapötik cevaplar sınırlı kalmaktadır [17], [6,18].

1.3.1 Kemoterapi

Günümüz kanser tedavisinin gelişiminde köşe taşı olan kemoterapi, malign tümörleri tedavi etmek için en etkili ve güçlü stratejilerden biridir. Bununla birlikte, kanser hücrelerinin ilaçlara direnci, başarılı kemoterapiye önemli bir engel olmaya devam etmektedir. Ek bir engel, kemoterapötik ilaçların seçici olarak tümör hücrelerini hedefleyememesidir. Hemen hemen tüm antikanser ajanların normal dokular ve organlar üzerinde ciddi yan etkileri vardır. Şu anda mevcut olan antikanser ilaçların toksisitesi ve özellikle hastalığın ileri aşamaları için kemoterapötik tedavilerin verimsizliği, klinik ilaç kombinasyonlarının optimizasyonunu ve etkili kemoterapötik protokolleri sınırlandırmıştır [19]. Kanser kemoterapisinin tasarımı giderek daha sofistike hale gelmiştir, ancak kansere karşı %100 etkili bir kanser tedavisi yoktur. Antikanser ilaçlarla tedaviye direnç, hastalarda bireysel varyasyonlar ve hücresel

genetik farklılıklar gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanır. Sıklıkla direnç kansere özgüdür, ancak tedavi gittikçe ilerleyip daha etkili hale geldikçe, edinilmiş direnç de yaygınlaşmıştır. Antikanser ilaçların geniş bir yelpazesine direnç kazanmanın en yaygın nedeni, antikanser ilaçlarını hücrelerden tespit eden ve çıkaran bir veya daha fazla enerjiye bağımlı taşıyıcıların ifadesidir, ancak ilaca bağlı apoptoza duyarsızlık ve ilacın detoksifikasyon mekanizmalarının indüklenmesi de dahil olmak üzere diğer direnç mekanizmaları, kazanılmış antikanser ilaç direncinde muhtemelen önemli bir rol oynamaktadır. Kanser ilacı direnci mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalar, kanser kemoterapisini iyileştirmek için bu direncin nasıl atlanacağı ve önemli ölçüde kullanılan birçok ilacın farmakokineti etkileri hakkında önemli bilgiler vermiştir [20].

1.3.2 Fotodinamik terapi (PDT)

Fotodinamik tedavi (PDT), 25 yıldan uzun bir süredir kanseri tedavi etmek için kullanılmaktadır. Odak noktası esas olarak yüzey veya yüzeysel lezyonlar üzerinde olmasına rağmen, daha derin parankimal malignitelerinin tedavisine uygulanmasında faydalı bir gelişme olmuştur. [21]. Fotodinamik terapi hem onkoloji hem de maligniteler için uzun ve başarılı bir klinik geçmişe sahip ışık tabanlı bir müdahaledir. Kanser hastalarında, ışığa duyarlı hale getirici bir madde intravenöz, oral veya topikal olarak uygulanır ve tümör bölgesinde tercihen birikmesi için zaman verilir. Daha sonra kullanılan belirli ışığa duyarlılaştırıcıyı aktive etmek için uygun dalga boyu ve yoğunluğun ışığı tümör yatağına verilir. Bu dalga boyu ışığın vücuda ne kadar uzağa gidebileceğini belirler [22]. Işık enerjisi, oksijenin varlığında reaktif oksijen türleri üreten toksik fotodinamik reaksiyonun yaratılmasına izin vermesi gereken ışığa duyarlılaştırıcıyı aktive edecektir. Fotodinamik reaksiyon hem tümör hem de neovaskülatürde apoptotik ve nekrotik yolların başlatılması dahil olmak üzere basamaklı bir dizi olay yaratır, bağışıklık sisteminin yukarı regülasyonu ile kalıcı lezyon yıkımına yol açar. Kasıtsız güneş ışığına maruz kalmadan kaynaklanan kutanöz fototoksikite, PDT'nin en sık görülen morbiditesi olmaya devam etmektedir [23]. Bu nedenle, doktorlar vücudun farklı bölgelerini PDT ile tedavi etmek için belirli fotosensitizerler ve ışık dalga boyları kullanırlar [24].

1.3.3 Radyoterapi

Radyoterapi, kanseri tedavi etmek için röntgen gibi yüksek enerjili ışınlar kullanır. Verildiği bölgedeki kanser hücrelerini yok eder. Bölgedeki bazı normal hücreler radyoterapi ile de zarar görebilir. Bu yan etkilere neden olabilir. Bu normal hücreler genellikle kendilerini

onarabilir, ancak kanser hücreleri tamir edemez. Normal hücreler iyileştikçe, yan etkiler genellikle iyileşir [25].

Radyasyon tedavisi ile maligniteleri tedavi ederken ana amaç, tümör hücrelerini üreme potansiyellerinden mahrum etmektir. Bunu başarmak için bir yaklaşım, tümör hücresi apoptozunu indüklemektir. Biriken kanıtlar, sadece apoptoz indüksiyonunun radyoterapinin terapötik etkisini açıklamak için yetersiz olduğunu göstermektedir [26].

Radyoterapi, kanser hücrelerini yok etmek veya hastaların semptomlarını hafifletmek amacıyla uygulanır. Radyoaktif bir malzeme veya yüksek enerjili X ışınları uygulanabilir. Ana hücresel hedefi DNA'dır [27]. Elektromanyetik radyasyon hidroksil radikallerinin oluşumunu indükleyerek dolaylı olarak iyonize olurken alfa partikülleri ve karbon iyonları gibi ağır partiküller doğrudan DNA hasarına ve dolayısıyla daha yüksek biyolojik etkinliğe neden olabilir [28,29]. Alfa partikülleri, kısmi tümör ışınlaması ve sınırlı öldürme ile sonuçlanan $\leq 100 \mu\text{m}$ gibi kısa aralığa sahiptir. 223 Radyum ve birçok yeni geliştirilmiş alfa yayıcıları, spesifik antikorlar veya hedefli nanopartiküller ile konjugasyon yoluyla hedefli tedavi için çözüm sunabilir [30]. Karbon iyonu kanser tedavisi için oldukça uygun fiziksel ve biyolojik özelliklere [29]. Çevreleyen normal dokularda kabul edilebilir hasara yol açarken, tümöre yeterli radyasyon dozu sağlar. Adenokarsinom, adenoidkistikkarsinom, malignmelanom, hepatoma ve kemik/yumuşak doku sarkomu, karbon iyonu radyoterapisine olumlu yanıt vermektedir. Döngü tutulması Radyasyon tümör hücresi ölümüne veya kalıcı hücrelere neden olur [26]. Bununla birlikte, transforme edilmemiş hücrelerle karşılaştırıldığında, kanser hücrelerinde DNA onarımı sıklıkla arızalı hale gelir ve bu da onları radyoterapiye karşı daha savunmasız hale getirir [31].

1.3.4 Kanser aşısı

Bağışıklık sistemini kansere karşı güçlendirmek, son yıllarda onkolojide güçlü bir araç olarak ortaya çıkmıştır [32]. Terapötik kanser aşıları, sitotoksik ajanlardan belirgin şekilde farklı klinik özelliklere sahip heterojen bir kompleks biyolojikler grubudur ve terapötik kanser aşısının altında yatan temel, bir tümörü zehirlemek veya radyasyonla yok etmek yerine, bağışıklık sistemini kanserle savaşmak için kullanmaktır [32]. Kanser hücrelerindeki mutasyona uğramış proteinlerden ortaya çıkan neoantijenler kansere özgüdür ve yüksek oranda immünojenik olabilir, ancak büyük çoğunluğu her kanser hastasının kendisine özgüdür ve bu nedenle kişiselleştirilmiş tedavilerin geliştirilmesini gerektirir [33].

1.3.5 Kanser biyobelirteçleri

Özellikle bir kanser biyobelirteci, "vücuttaki kanserli süreçlerin bir göstergesi olarak objektif olarak ölçülen ve değerlendirilen, kansere yanıt olarak tümör hücresi veya insan dokuları tarafından üretilen biyolojik bir moleküldür [34]. Alternatif olarak, bir tümör belirteci, "kanserin varlığını gösteren veya bir kanserin gelecekteki olası davranışı hakkında bilgi sağlayan bir molekül yani, ilerleme veya tedaviye yanıt verme olasılığı olarak tanımlanabilir [35]. Kanser biyobelirteçleri; Proteinler, DNA, RNA, Mikro-RNA, Peptitler, Hormonlar, Onkofetal antijenler, Sitokeratinler ve Karbonhidratlar gibi farklı biyokimyasal gruplardan ve biyolojik moleküllerden oluşmaktadır ve kanser biyobelirteçleri dolaşımda (tam kan, serum veya plazma) veya sekresyonlarda (dışkı, idrar, balgam veya meme başı akıntısı) veya diğer insan biyolojik sıvılarında kullanılabilir [36].

2. NANOTEKNOLOJİ

Nanobilim kavramı, 1959 yılında bir konuşma yapan Nobel Ödülü sahibi Richard Feynman'a atfedilmiştir. Fakat nanoteknoloji kelimesi ilk kez 1974 yılında Norio Taniguchi tarafından “ultra yüksek hassasiyet ve çok küçük boyutlarda yaklaşık 1 nm'ye ulaşılmasını sağlayan üretim teknolojisi” olarak tanımlanmıştır [37].

Nano terimi Yunanca “nanos” kelimesinden gelir ve "Cüce" anlamına karşılıktır. Nanoteknolojilerin gelişimi, nano ölçekli nesnelerin görüntülenmesi ve araştırılmasında devrim yaratan iki aracın icat edilmesiyle sağlanmıştır: 1981'de IBM araştırmacıları, Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer, Tarama Tünelleme Mikroskobu (TTM) ve 1986 yılında Gerd Binnig, Calvin Quate ve Christoph Gerber tarafından Atomik Kuvvet Mikroskobu (AKM) icat edildi [38,39]. Bu iki enstrümanın ortaya çıkışı, bilim insanlarının pratikte nano dünyasına kapılarını açarak onlara sadece atomik çözünürlüğe sahip görüntü yüzeylerine değil, aynı zamanda daha önce Richard Feynman'ın öngördüğü gibi tek tek atomları hareket ettirme imkanları da verdi [40]. Bu keşiflerden beri, günlük yaşamımızdaki nanoteknoloji ile ilgili atılımlar, sadece bilimsel değil günlük yaşam nesnelerinde her geçen gün uygulamaları artmaktadır.

Son zamanlarda nanoteknoloji kabaca nanobiyoteknoloji, biyolojik mikro-elektromekanik sistemler, mikroakışkanlar, biyosensörler, mikrodiziler ve mikro doku mühendisliği gibi kategorilere ayrılabilir [41].

Nanoteknoloji bugün birçok alanda performansı iyileştirmek açısından önemli faydaları nedeniyle çok sayıda farklı bilim dalında dallanmış durumdadır ve nanoteknoloji, nanoteller, nanotüpler, nanobeltler, nanoriborlar, nanofiberler, nanopartiküller, kuantum noktaları ve içi boş küreler gibi nanoteknoloji stratejilerini ilerletmek ve geliştirmek için çeşitli nanoboyutlu yapılar geliştirilmiştir [42].

Ulusal Bilim Vakfı ve Ulusal Nanoteknoloji Girişimi tarafından tanımlandığı gibi, nanomalzemelerin boyut aralığı 1-100 nm arasındadır, bu boyutlarda optik, manyetik, elektronik ve yapısal karakteristiklerin benzersiz özellikleri ortaya çıkar [43]. Bu ölçekte malzemelerin fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri, tek tek atomların, moleküllerin ve orijinal hallerinin özelliklerinden temel olarak farklıdır [44]. Bir örnek olarak,

nanoparçacıkların birim hacmi başına daha yüksek yüzey alanı, kimyasal reaksiyonların ve katalizin hızının arttığı ve böylece birçok işlemin verimliliğinin arttığı daha yüksek yüzey aktivitesi ile sonuçlanır [42]. Nano boyutlu yapıların bazı örnekleri nanorodlar, nanoteller, nanotüpler, nano kemerler, nanorbonlar, nanofiberler, nanopartiküller, kuantum noktaları ve içi boş kürelerdir [45,46].

Nanoteknoloji, enerji, elektronik, gıda ve tarım, kozmetik ve sağlık gibi farklı alanlarda çeşitli uygulamalarda yer almıştır ve çok disiplinli bir bilimsel girişim olan nanoteknoloji, nanometre ölçeğinde malzeme, cihaz veya sistemlerin oluşturulmasını ve kullanılmasını içerir ayrıca teknolojinin, sadece ilaç dağıtımında değil, aynı zamanda moleküler görüntüleme, biyobelirteçler ve biyosensörlerde de çeşitli biyomedikal uygulamalarda yenilikler yaratması ve kritik bir rol oynaması beklenmektedir [47].

Nanoteknoloji, geleneksel ilaç tasarımına ve dağıtımına birçok potansiyel avantaj sunmaktadır ve bir nanoparçacık içine kapsülleme, bir ilacın farmakokinetiğini ve dağılımını, etkinliği artıracak ve olumsuz yan etkileri azaltacak şekilde değiştirebilir [48].

2.1 Nanomalzemeler

Bir nanomalzeme, geleneksel olarak bir ve birkaç yüz nanometre arasında değişen, nanometre ölçeğinde en az bir boyuta sahip bir nesnedir ve nanomalzemeler iki sınıfa ayrılabilir. Birincisi doğal kaynaklı nanopartiküller olarak, proteinler, virüsler, bakteriler, volkanik püskürmeler sırasında veya orman yangınları sırasında üretilen nanotanecekler, nano yapılandırılmış kristaller ve mineraller ikinci olarak ise, yani nano nesneleri olmayan bilinçli bir şekilde insanlar tarafından üretilen nanopartiküller bir üretim süreci yoluyla bilinçli olarak üretilir [49].

Son zamanlarda nanomalzemeler sağlık, elektronik, kozmetik ve diğer alanlarda giderek daha fazla kullanılmaktadır [50].

Aslında, nesne küçüldükçe, yüzey / hacim oranı artar ve bu da yüzey atomlarının katkısını nano ölçekte önemli bir hale getirir. Bu ölçekte madde böylece yeni kimyasal, optik, elektrik ve manyetik özellikler gösterir. Ayrıca, kuantum etkilerinin önemi artmaktadır, kendine özgü özelliklere de yol açar [49].

Küçük boyutları nedeniyle, farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptirler ve özellikle nano tıpta olmak üzere farklı problemler için yeni bir çözüm yelpazesi açarlar. Hedefe özgü ilaç tedavileri ve patolojilerin erken teşhisi için yöntemler nanoteknolojinin hayati bir rol

oynadığı öncelikli araştırma alanlarıdır. Örneğin, nanoteknolojinin gelişimi, kanser tümörlerinin erken teşhisi, tahmini, önlenmesi ve kişisel tedavisi için güçlü yeni nanomalzemelerin geliştirilmesini sağlamaktadır.

Nano boyutlu malzemeleri organize etmek için çeşitli sınıflandırma sistemleri oluşturulmuştur. Nanomalzemeler boyutlarına ve kompozisyonlarına göre sınıflandırılabilir. Bu maddeler için boyutsal sınıflandırma: bir boyut (örneğin ince filmler, katmanlar ve yüzeyler), iki boyut (örneğin nanotüplere yuvarlanabilen nanoteller ve grafen tabakalar) ve üç boyut (örneğin nanopartiküller, fullerenler, grafit tabakalar, dendrimerler ve kuantum noktaları) dahil olmak üzere üç farklı şekildedir [51]. Nanomalzemeler tek fazlı katılar (örneğin kristalli, amorf parçacıklar ve katmanlar), çok fazlı katılar (örneğin matris kompozitler, kaplanmış parçacıklar) ve çok fazlı sistemler (örneğin kolloidler, aerogeller, ferrofluidler) olarak kategorize edilebilir. Tüm nano boyutlu maddeler metaller, seramikler, polimerler veya kompozit malzemeler olarak kategorize edilir [52].

2.2 Nanotıp

Nanoteknoloji alanının en önemli bölümlerinden biri olan nanotıp, çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için daha verimli araçlar sağlamak üzere biyoloji, kimya, mühendislik ve tıbbi birleştiren disiplinler arası bir alandır ve canlı hücrelerin bazı bileşenleri bakıldığı zaman nano ölçekli aralıkta olduğundan, nanoteknolojinin tıpta yararlı olacağı düşünülmektedir [53].

Nanotıp veya nanoteknolojiye dayalı etkili klinik tedavilerin geliştirilmesi, nanoteknoloji araştırmalarına yapılan önemli yatırımlardan meyve veren ilk nanoteknoloji kategorilerinden biridir [54]. Günümüzde nanomateryallerin klinik uygulamaları için çözümler bulunmuş ve nanotıp alanı ortaya çıkmıştır. Nanotıp, kanser gibi ciddi hastalıkların önlenmesi, teşhisi ve tedavisi için üzerinde çalışan araştırmacılara yeni çözümler sunmuştur ve ilaç taşıyıcı sistemlerinde, tıbbi görüntüleme ve tanı platformlarında, implante edilebilir materyallerde kayda değer iyileştirmeler yapılması, sağlık ve tıpta nanoteknoloji etkileri olarak kabul edilmektedir [48].

Nanoteknolojinin potansiyel uygulamalarını ayrıntılı olarak tartışmak için çok geniş ve çeşitlidir, ancak şüphesiz nanoteknolojinin en büyük değerlerinden biri yeni ve etkili tıbbi tedavilerin geliştirilmesinde rol alacak olan nanotıptır [55].

Nanoteknoloji, geleneksel ilaç tasarımına ve dağıtımına birçok potansiyel avantaj sunmaktadır. Bir nanoparçacık içine kapsülleme, bir ilacın farmakokinetiğini ve dağılımını,

etkinliği artıracak ve olumsuz yan etkileri azaltacak şekilde değiştirebilir, örneğin, nanoparacak formülasyonu içinde ilaç kompleksi, kan dolaşımından ilk geçiş klerensini önleyebilir ve çoğu zaman aşılanmamış ilaca göre uzun süreli dolaşıma neden olur [56]. Nanomalzemelerin boyutu ve yüzey özellikleri, gelişmiş geçirgenlik ve tutma (EPR) etkisi olarak adlandırılan yöntemle tümör dokusunda seçici bir şekilde birikmelerine neden olabilir [57]. Nanomalzemeler ayrıca yüzeylerine tutturulmuş spesifik ligandlar (peptitler, proteinler, antikorlar, aptamerler veya küçük moleküller) tarafından hastalıklı dokuya "aktif olarak hedeflenebilir [58].

“Nanoteknoloji” ve “nanotıp” tanımları, evrensel olarak kabul edilmiş bir sınıflandırma olmaksızın tartışma konusu olmaya devam etmektedir ve nanotıptaki gelişmelerin modern tıbbın çözülmemiş sorunlarının oğuuna çözüm getirmesi beklenmektedir [44].

Kanser tedavisi için nanoilalar, geleneksel ilaçlara göre avantajlıdır, çünkü gelişmiş geçirgenlik ve tutma etkisi ve kombinasyon tedavisi için birden fazla terapötik ajanın verilmesi nedeniyle ilaçların tümörlere tercihli olarak verilmesini sağlama potansiyeline sahiptir [59].

Nanotıbbın diğer avantajları arasında, ilaçların kanser hücrelerindeki veya tümör mikro çevresindeki hedeflere spesifik olarak bağlanması, yenilikçi görüntüleme teknikleri kullanılarak tümörlerin aynı anda görüntülenmesi, gelişmiş ilaç dolaşım süreleri, kontrollü ilaç salım kinetikleri ve gelişmiş hasta uyumu için üstün doz planlaması yer alır [60].

Nanoteknolojinin sağlık sistemine özel uygulaması olarak nanotıp, ilacın çözülmemiş komplikasyonlarına yeni çözümler sunmak için ortaya çıkmıştır ve nano bazlı materyaller, çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisi, doku mühendisliği ve rejeneratif tıp stratejileri gibi farklı tıbbi ortamlarda kullanılır [42].

Günümüzde nanotıpta kullanılmak üzere gittikçe daha karmaşık nano nesneler araştırılmakta ve geliştirilmektedir. İlacı kapsüllemek için kullanılabilecek nano malzemeler, verilen ilacın etkisinin artmasına ve doğru hedeflenmesine ve teşhis için görüntüleme tekniklerinde kullanılmak üzere çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan bu çalışmalar sayesinde nano nesneler gittikçe daha fazla içeriğe duyarlı olacak ve hücreleri veya dokuları hedeflemek, görselleştirmek ve tedavi etmek için kullanılacak ayrıca pH, iyonik kuvvet, sıcaklık, ışınlama, manyetik alana uyaranlara cevap verebilir hale gelecektir [49].

2.2.1 Nanotıpın potansiyel avantajları

Nanotıplar bir gün tıbbi araştırmalarda zayıf ilaç çözünürlüğünden terapötik bileşikler için hedef spesifisite eksikliğine kadar uzun süredir devam eden sorunlara cevap verebilirler [61].

- 1) Nanotıp ayrıca, diğer aletlerin sahip olmadığı NP'lerin benzersiz optik, manyetik ve yapısal özellikleri nedeniyle tanısal görüntüleme, tümör tespiti ve ilaç iletimi için invaziv olmayan bir araç olarak muazzam bir vaatte bulunur [62].
- 2) Nanotıp, geleneksel terapötiklerin güvenliğini ve etkinliğini artırmak için yeni fırsatlar sunmaktadır [63].
- 3) Biyoyararlanımı düşük olan ilaçlar artık doğrudan gerekli bölgeye hedeflenebilir [64].
- 4) Geniş yüzey alanı ve NP'lerin daha fazla reaktivitesi, bir ilacın doz azaltımına izin verebilir, bu da toksisite profillerini ve hasta uyumunu geliştirebilir [61].
- 5) NP'lerin geniş yüzey alanı, invivo performansı arttırarak çözünme hızını, doygunluk çözünürlüğünü ve ilaçların hücre içi alımını artırabilir [65].

2.2.2 Nanotıp için zorluklar

Nanotıpın sunduğu faydalara rağmen, birçok Nanopartikül (NP) ile ilişkili güvenlik ve toksisiteyi değerlendirmek için hala çok araştırma gerekmektedir [64]. Nanomedikal araştırmaların çoğu ilaç sunumuna odaklanmıştır ve NP'lerin farmakokinetiği veya toksisitesine odaklanan nispeten az sayıda çalışma vardır [66]. NP farmakokinetiği, farmakodinamiği ve potansiyel uzun vadeli toksisitenin in vivo araştırılması, NP'lerin hasta popülasyonları üzerindeki etkilerinin izlenmesi için gereklidir [63]. Her nanoterapötik ajanın, ilaç, cihaz, biyolojik veya kombinasyon ürünü olsun, güvenlik ve etkililik açısından onaylanması, şu anda test kriterlerini formüle etmeye ve güvenlik verilerini biriktirmeye çalışan araştırmacılar ve FDA için büyük bir zorluk oluşturmaktadır [61,64].

NP'lerin boyut ve yüzey özelliklerini değerlendirmek için yapılan araştırmalar, vücutta önemli ölçüde birikme eğilimi gösteren kritik boyutları belirlemeye de yardımcı olabilir [67]. NP biyolojik bariyerleri geçme kabiliyetini artırır ve bu nedenle küçük boyutlarından dolayı dokularda ve hücrelerde birikme potansiyeline sahiptir [61]. Potansiyel olarak serbest radikal üreten parçacıkların olası doku birikmesi, depolanması ve yavaş temizlenmesi ve ayrıca çok sayıda fagosit prevalansı, karaciğer ve dalak gibi organları oksidatif stresin ana hedefleri haline getirebilir [64]

2.3 Kanser tedavisi için nanoteknoloji araçları

Nanoteknoloji, lipozomlar, dendrimerler, miseller, karbon nanotüpler (KNT'ler), polimer-ilaç konjugatları ve NP'ler gibi farklı nanokariyerlerin kullanımı konusunda kanser tedavisinde önemli bir role sahiptir ve nanoteknolojinin erken kanser tespiti ve tedavisindeki uygulamalara sahip araçları aşağıdakileri içerir [6].

- Lipozomlar
- Nanoparçacıklar
- Polimerik miseller
- Dendrimerler
- Nanokonsollar
- Karbon nanotüpleri
- Kuantum noktaları
- Albumin bağlı nanopartiküller
- Demir oksit nanopartiküller
- Altın nanopartiküller

2.3.1 Lipozomlar

Lipozomlar, merkezi sulu boşluğa sahip iki tabakalı bir membran yapısına sahip amfifilik fosfolipitlerden oluşan küresel lipit veziküller olarak tanımlanır [10]. Kapalı iki katmanlar, hidrofobik grupların sulu ortamdan korunmasıyla oluşturulurken, sulu faz ile hidrofilik kafa grubundan eşzamanlı temas vardır [47].

Lipozomlar, yapı ve kompozisyonlardaki muazzam çeşitliliklerinden dolayı biyoloji, biyokimya ve tıpta çok yönlü araçlar haline gelmiştir [18]. Lipozom aracılı ilaç dağıtımının örnekleri, şu anda lipozom dağıtım sistemleri olarak pazarlanan doksorubisin ve daunorubisindir ve özellikle PEG'lenmiş lipozomlar, plazma proteinleri ve mononükleer fagositler ile etkileşimi inhibe eder ve sonuç olarak büyük ölçüde uzun dolaşım süresi gösterir [6].

2.3.2 Nanoparçacıklar

Bunlar, polimerik matriksleri içinde kapsüllenmiş veya yüzeye adsorbe edilmiş veya konjuge edilmiş ilgilenilen terapötik bir etkiye sahip mikron altı boyutlu kolloidal partiküllerdir [47].

Nanoparçacıklar, hedef hücreler üzerinde eksprese edilen reseptörlerle spesifik biyokimyasal etkileşimler sağlayan yüzey modifikasyonlarıyla spesifik bölgelere hedeflenir [68]. Nanopartiküllerin bir başka önemli işlevi, kan-beyin duvarı gibi çeşitli biyolojik engelleri aşarak hedef bölgeye ilaç verme [10].

Nanopartiküllerde kendi içinde üç farklı temel gruba ayrışmırlardır:

- Polimerik nanopartiküller
- Manyetik nanopartiküller
- Katı-lipit nanopartiküller

2.3.3 Polimerik nanopartiküller

Nanopartiküller, mikron altı kolloidal partiküllerdir ve ilaç, nanopartikül matrisine çözülür, tutulur, kapsülendir veya bağlanır [47]. Son yıllarda, biyolojik olarak parçalanabilen polimerik NP'ler, kanser alanındaki uygulamaları nedeniyle potansiyel ilaç verme cihazları olarak büyük ilgi [10]. Bu polimerik NP'ler, hedef kanser hücreleri üzerinde aşırı derecede eksprese edilen reseptörlere farklı ligandlar kullanılarak yüzey modifikasyonları ile spesifik bölgelere hedeflenebilir [9].

2.3.4 Manyetik nanoparçacıklar

Manyetik NP'ler, küçük boyut ve manyetik özelliklerinin bir sonucu olarak kanser dokularına manyetik aracılı ilaç verilmesine özel önem vererek biyomedikal araştırmalarda umut verici bir aday olarak kabul edilmektedir [68]. Ayrıca manyetik NP'ler, hedeflenen ilaç dağıtımı için farklı ligandlarla yüzey fonksiyonelleştirilebilir [70].

2.3.5 Katı-lipit nanoparçacıklar

Katı-lipit nanoparçacıklar, katı lipidlerden (oda sıcaklığında ve vücut sıcaklığında katı olan lipidler) yapılmış ve sürfaktanlar tarafından stabilize edilmiş kolloidal NP'lerdir [10].

2.3.6 Polimerik miseller

Polimerik miseller, sulu bir ortamda hidrofilik bir kabuk tarafından stabilize edilmiş hidrofobik bir çekirdekten oluşan yapılara kendi kendine bir araya gelen hidrofilik ve hidrofobik birimlere sahip blok ko-polimerlere dayanmaktadır [47] ve miseller terapötiklerin geleceğinde kilit taşı haline gelmektedir [71].

2.3.7 Dendrimerler

Dendrimerler, bir iç çekirdeğin çevresinde, büyüklüğü ve şekli istenildiği gibi değiştirilebilen bir dizi dal içeren makromoleküler bileşiklerdir ve bu nedenle ilaç dağıtımı için çekici bir yöntem görevi görür [72].

Dendrimerler, bir iç çekirdek çevresindeki ağaç benzeri dallardan oluşan sentetik simetrik makromoleküler bileşikler olarak tanımlanabilir [73]. Şu anda, bunlar nanometre boyut aralıkları ve biyolojik tanıma işlemleri için yüzey gruplarının birden fazla kopyasına sahip olma kabiliyetleri nedeniyle etkili ilaç taşıyıcı araçlar olarak ortaya çıkmaktadır [74]. Yüksek derecede dallanmış yapının varlığı nedeniyle, yüzeyler farklı ligandlarla konjüge edilerek uygun bir hedeflenmiş ilaç verme aracı olarak kullanılabilir. Kafes benzeri yapılara sahip çok değerlikli dalların varlığı, hidrofobik ve hidrofilik ilaçların aynı anda verilmesi için uygun bir platform olarak kullanılmıştır [10].

2.3.8 Nanokonsollar

Spesifik biyomoleküler etkileşimlerin saptanmasını kullanan mikrodizi yöntemleri artık hastalık teşhisi, genom araştırması ve ilaç keşfi için vazgeçilmez bir araçtır [6]. Bir uca tutturulmuş küçük çubuklar, kanserle ilişkili moleküllere bağlanmak üzere tasarlanabilir. Bu moleküller, belirli kanser türlerinde bulunan değiştirilmiş DNA proteinlerine bağlanabilir ve ayrıca tespit prosedürleri sırasında, bir konsolun bir tarafında sabitlenmiş bir reseptör ile çözeltideki bir ligand arasında biyo-spesifik etkileşimler meydana geldiğinde, konsol eğilir; optik olarak tespit edilirse, kanser moleküllerinin mevcut olup olmadığını söylemek ve böylece kanserin gelişiminde erken moleküler olayları tespit etmek mümkündür ve silikon kirişlerin sapması, konsol yüzeyine bağlanan DNA veya protein miktarına bağlıdır [6].

2.3.9 Karbon nanotüpler

Karbon nanotüpleri, biyolojide DNA ve proteini tespit etmek için sensörler olarak, serum örneklerinden farklı proteinlerin ayırt edilmesi için teşhis cihazları olarak ve ilaç, aşı veya protein vermek için taşıyıcılar olarak benzen halkalarından oluşan karbon silindirlerdir [75]. Diğer nanomalzemelere kıyasla KNT'ler biyolojik uygulamalarında daha dinamik görünmektedir [10]. KNT'lerin ilaçların etki alanlarına uygulanması için uygulanması, farklı araştırma gruplarının ana ilgi alanlarından biri haline gelmiştir ve bunun temel nedeni, bu maddelerin benzersiz kimyasal, fiziksel ve biyolojik özellikleri, iğne şekli, içi boş monolitik yapısı ve dış katmanlarında gerekli fonksiyonel grupları elde etme yetenekleri gibi özellikleridir [6]. KNT'nin şekli, bu materyallerin, lipit iki tabakalı veya endositoz boyunca

pasif difüzyon gibi farklı yöntemlerle hücreye girmesini sağlar, böylece KNT, hücrenin yüzeyine yapışır ve daha sonra hücre zarı tarafından yutulur [10].

2.3.10 Kuantum noktaları

İlk olarak 1980'de keşfedilen kuantum noktaları (KN'ler), çapı 10 nm'den küçük olan yarı iletken parçacıklardır ve karbon nanotüpler benzersiz boyutlara bağlı elektronik ve optik özellikler gösterir [76]. Son yıllarda, yarı iletken kuantum noktaları (KN) mikroelettronik, optoelettronik ve hücresel görüntülemeye bilimsel ve teknolojik önemi nedeniyle birçok araştırma grubunun dikkatini çekmiştir [77]. KN'lerin geniş emme ve dar emisyon özellikleri, tek bir uyarma kaynağı ile çok renkli görüntüleme yapılmasını mümkün kılar [6]. KN'lerin yüksek floresan kuantum verimi, foto-ağartmaya karşı dirençleri ve benzersiz fiziksel, kimyasal ve optik özellikleri, onları in vivo moleküler ve hücresel görüntüleme için floresan etiketleme için iyi adaylar kılar [78]. KN'ler ayrıca hem görüntüleme hem de terapötik fonksiyonlara sahip çok fonksiyonlu nanopartiküller tasarlamak için çok yönlü bir nano ölçekli iskele sağlar [6].

2.3.11 Albumin bağlı nanopartiküller

Albümine bağlı NP'ler, kan dolaşımında hidrofobik molekülleri taşımak için endojen albumin yollarını kullanır [79]. Albumin doğal olarak hidrofobik moleküllere kovalent olmayan geri dönüşümlü bağlanma ile bağlanır ve terapötikler için solvent bazlı toksisitelerden kaçınır [80]. Sonuç olarak, bu platform ilaç dağıtım aracı olarak başarıyla uyarlanmıştır.

2.3.12 Demir oksit nanopartiküller

Demir oksit NP'ler, esas olarak süperparamanyetik oldukları için pasif ve aktif bir hedefleme görüntüleme ajanı olarak geniş çapta incelenir [76]. Süperparamanyetik demir oksit nanopartiküller (SPDONP) genellikle stabilitelerini arttırmak için hidrofilik bir dekstran kaplaması veya başka bir biyo-uyumlu bileşik içeren bir demir oksit çekirdeğine sahiptir [81,82]. En yaygın kullanılan SPDONP 'lar bir manyetit (Fe_3O_4) ve / veya maghemit ($\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$) çekirdeğinden oluşur ve bu NP'ler, harici bir manyetik alanın uygulanmasıyla manyetize olmalarını ve manyetik alanın çıkarılması üzerine sıfır net mıknatıslanma sergilemelerini sağlayan boyuta bağlı süperparamanyetizma sergiler [76].

2.3.13 Altın nanopartiküller

Altın NP'ler boyut ve şekle bağlı birçok optik ve kimyasal özellik, biyouyumluluk ve kolay yüzey modifikasyonu sunar [82]. Altın NP'ler, NP'deki serbest elektronların ışıkla benzersiz etkileşimi nedeniyle, ışık Emilimi, saçılma, floresan ve yüzey destekli Raman saçılımı (YDRS) gibi optik süreçleri güçlü bir şekilde artırabilir [83]. Bu özellikler, biyokimyasal algılama ve algılama, biyolojik görüntüleme, teşhis ve terapötik uygulamalar gibi birçok uygulamada altın NP'lerin gerçekleştirilmesini sağlamıştır [76]. Algılama teknikleri, kolorimetrik dizilerde altın NP'lerin kullanımını ve NP yüzeyindeki proteinlerin ve tek moleküllerin spektroskopik olarak saptanmasına ve tanımlanmasına olanak tanıyan Raman saçılımını önemli ölçüde arttırmak için YDRS'da substratlar olarak altın NP'lerin kullanımını içerir [84]. Altın NP problemleri ayrıca kalp hastalığı ve kanser biyobelirteçlerini tespit etmek için kullanılmıştır. [85,86]. Emilen ışığı ısıya da dönüştürebilirler ve bu nedenle kızılötesi fototerapi için yüksek potansiyele sahiptirler [87].

2.4 Farklı Nanotaşıyıcıların Kombinasyonları

Yukarıda belirtilen nanotaşıyıcı sistemlerin tek başına kullanılmasına ek olarak, kanser terapisinde daha iyi terapötik sonuçlar elde etmek için farklı kombinasyonlarda da kullanılabilir [10]. Kombinasyon kemoterapötik stratejileri bir dereceye kadar kanserin daha iyi tedavi edilmesine yardımcı olsada, yüksek dozlar, hızlı ortadan kaldırılması, zayıf çözünürlük ve tutarsız biyoyararlanım gerektiren antineoplastik ajanların tümör dokusuna yetersiz erişilebilirliğinin bir sonucu olarak tedavi büyük ölçüde engellenmektedir [88]. Bu nedenle, geleneksel kemoterapiyle ilişkili zorluğu azaltmak için, toksik yan etkileri azaltırken ilaçların farmasötik etkisini optimize edebilecek bir ilaç taşıyıcı sistemi geliştirmeye yönelik çalışmalar vardır. Nanoteknolojinin kanser ilacı taşıyıcısı olarak uygulanmasının başarılı kanser tedavisi için yeni terapötikler yaratması yaygın olarak beklenmektedir [10].

2.5 Nanopartikülat İlaç Uygulama Sistemleri ile İlgili Zorluklar

NP'lerin etkili antikanser ilaç dağıtımı için muazzam bir potansiyele sahip olmalarına rağmen, canlı hücrelere sürekli maruz kalmaları insanlarda ve hayvanlarda bir dizi olumsuz etkiye yol açabilir [10]. İnsan sağlığı üzerindeki NP'lerin olumsuz etkisi esas olarak kimya, boyut, şekil, aglomerasyon durumu ve elektromanyetik özelliklere bağlıdır [89,90].

Güvenlik endişeleri NP'lerin insan vücuduna girişiyle ilişkilidir. Bazı ürünlerin klinik kullanım için onaylanabilmesi için daha ayrıntılı toksikolojik çalışmalar gerekecektir [10].

Örneğin karbon NP'lerin balıkların beyin hücrelerinde lipid peroksidasyonunu ve sıçanlarda pulmoner inflamasyonu indüklediği gösterilmiştir [91]. Benzer şekilde, iyi bilinen antimikrobiyal özelliklere sahip gümüş NP'ler (Ag NP'ler) çeşitli tıbbi ve genel uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır [10]. Ag NP'lerin yaygın kullanımına rağmen, sürekli kullanımları hem hücresel hem de gen seviyesinde toksisiteye neden olabilir [92]. Yarı iletken kuantum noktaları (KN), in vitro ve in vivo hücresel görüntüleme için artan potansiyele sahiptir ve bununla birlikte, hücre büyümesini ve yaşayabilirliğini etkileyen doza bağlı toksisite gösterirler [10]. Benzer şekilde, tanısal ve terapötik araçlar olarak ağırlıklı olarak kullanılan KNT'ler, hücresel inflamasyon, epitelioid granülomlar, akciğerlerde fibroz ve sistemik uygulama üzerine oksidatif stresi indükleyerek biyokimyasal / toksikolojik değişiklikler göstermiştir [93]. İlginç ve gelişmekte olan bir alan olmasına rağmen, klinik araştırmalar yapılmadan önce üretilen toksisiteye özel olarak odaklanarak daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır [10].

Nanomalzemelerin insan vücuduna çeşitli yollardan girebildiği gözlemlenmiştir ve üretim ile kullanım sırasında kazara veya istemsiz temasın büyük olasılıkla akciğerler yoluyla gerçekleşmekte, buradan kan akımı yoluyla diğer hayati organlara hızlı bir translokasyon mümkündür [53]. Hücresel düzeyde, nanoparçacıklar için bir gen vektörü olarak hareket etme yeteneği gösterilmiştir ayrıca karbon nanoparçacıklarının hücre sinyallemesine müdahale etmesiyle ilişkilendirilmiştir. Ayrılma amaçları için mükemmel olsada, bu eğilim insan vücuduna giren karbon nanotüplerin sonuçları hakkında bazı endişeler doğurmaktadır [94,95].

2.6 Nanoparçacıkların İşlevselleştirilmesi

Nanotıptaki en ilginç yeteneklerden biri NP'lerin işlevselleştirilmesidir ve işlevselleştirme, bir NP'nin özelliklerinin, istenen etkiyi elde etmek için uygulanan kimyasal veya fiziksel modifikasyonlar yoluyla değiştirilmesini içerir [66]. Bu işlem, lokal veya yönlendirilmiş doğum sağlayabilir, ilaç etkilerini uzatabilir, hedef hücrelere taşınmayı kolaylaştırabilir, bir tümör veya enfeksiyon bölgesi bulabilir, etkinlik veya ilaç iletimi hakkında geri bildirim sağlayabilir veya kan akışı kesme etkilerini azaltabilir [96].

2.7 Hedefleme

Hedefleme kavramı, son yıllarda biyolojik araştırmalarda önemli bir odak noktası haline gelmiştir [76].

NP'ler lokal olarak uygulanabilir veya hücreye özgü ligandlar, manyetik lokalizasyon veya boyuta dayalı seçicilik kullanılarak aktif olarak hedeflenebilir [64]. İlaç molekülleri ile aşılınmış manyetik polimer nanokompozitler veya manyetolipozomlar, hedeflenen ilaç dağıtımı için büyük bir potansiyele sahiptir. [64]. Bu NP'ler, hareket yerinde statik bir manyetik alanın harici olarak uygulanmasıyla arttırılabilecek potansiyel olarak uygun biyodağılım ve farmakokinetik profillere sahiptir [64]. NP'ler, daha iyi etkinlik ve güvenlik için doğrudan ve spesifik olarak tümör bölgesine hedeflenebilen çok çeşitli kemoterapötik ajanları içerecek şekilde tasarlanabilir. [65]. NP, görüntüleme amacıyla kontrast maddeleriyle de doldurulabilir. [97] Küçük moleküllu kontrast maddelere kıyasla, çok fonksiyonlu NP kompleksleri veya tanısal görüntülemede kullanılan NP'ler, yüzey modifikasyonları ile hedeflemeye ve terapötik ajanların eşzamanlı olarak dağıtılmasına olanak tanıyan geniş bir yüzey alanı avantajına sahiptir [62].

İdeal olarak, antikanser ilaçların kanser tedavisinde etkili olması için, ilk önce (uygulamadan sonra) kan dolaşımında minimum hacim veya aktivite kaybı ile vücuttaki bariyerlere nüfuz etmesi yoluyla istenen tümör dokularına ulaşabilmeleri gerekir, ikincisi, tümör dokusuna ulaştıktan sonra, ilaçlar, aktif formun kontrollü bir salım mekanizması ile normal hücreleri etkilemeden tümör hücrelerini seçici bir şekilde öldürme yeteneğine sahip olmalıdır ve bu iki temel strateji aynı zamanda ilaçların hücre içi konsantrasyonunu aynı anda artırarak ve doz sınırlayıcı toksisiteyi azaltarak hastanın hayatta kalması ve yaşam kalitesindeki iyileşmelerle de ilişkilidir [6]. İlaç dağılımının etkinliği, partikül boyutu nanoparçacık formülasyonları ile doğrudan ilişkili olduğundan, biyoyararlanımı artırabilir, ilaçların zamanlanmış / kontrollü salınımını iyileştirebilir ve doğrudan hücre içi uygulama seviyesine daha hassas hedefleme sağlayabilir [98]. Prensipte olarak, antikanser ilaçların tümör dokularına nanopartikül verilmesi, pasif veya aktif hedefleme ile elde edilebilir [6].

2.7.1 Pasif hedefleme

Normal doku vasküler biyolojisi organize bir yapıya sahipken, tümör vaskülatürü düzensiz dallanmış ve düzensizdir [76]. Tümörler ayrıca yüksek vasküler yoğunluğa, artmış vasküler geçirgenliğe ve katı tümörlerin ve iltihaplı dokunun bir özelliği olan lenfatik drenajın bozulmasına sahiptir [59,99]. Bu özellikler birlikte, NP'lerin tümör dokusunda tercihen birikmesine izin veren gelişmiş geçirgenlik ve tutma (EPR) etkisi olarak bilinir. NP'ler tümör dokusunda retansiyon sürelerini uzatmıştır, bu da diğer dokulardan daha yüksek konsantrasyonlara neden olur. Bu pasif hedefleme işlemine aracılık eden özellikler, parçacık

bileşimi, boyutu, şekli ve yüzey özelliklerini içerir [100]. Böylece NP'ler, fizikokimyasal özelliklerini optimize ederek belirli bir doku veya hücreyi daha iyi hedefleyecek şekilde tasarlanabilir [76].

2.7.2 Aktif hedefleme

Aktif hedefleme, NP sistemlerinin belirli bir bölgeye daha fazla iletilmesi için hedefleme ligandlarının kullanımını içerir. Tipik hedefleme ligandları arasında küçük moleküller, peptitler, antikolar ve bunların parçaları ve aptamerler gibi nükleik asitler bulunur ve bu ligandların tümü NP'lere konjüge edilmiştir [101]. Aktif hedeflemenin temeli, nanokarterlerin çevresini, kanser hücreleri veya vaskülatür yüzeyinde aşırı eksprese edilen ve sağlıklı hücrelerde veya damarlarda zayıf eksprese edilen belirli bir reseptör için spesifik olarak seçilen hedef ligandlarla "süslemeye" dayanır [102].

Şimdiye kadar klinik olarak test edilen polimerik nanoparçacıklar çoğunlukla bir hedefleme parçasından yoksundu. Bunun yerine nanopartiküllerin tümör dokularına tümör seçici bir şekilde verilmesini teşvik etmek için esas olarak tümörlerin gelişmiş geçirgenlik ve tutma etkisine, tümör mikro-ortamına ve tümör anjiyogenezine güveniyorlar ve bununla birlikte, ikili bir yapı konjugatı kullanan bu ilaç verme sistemleri, kaçınılmaz olarak, başarabilecekleri hedefleme spesifisitesinin derecesi üzerinde esaslı sınırlamalara sahiptir [6]. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için önerilen bir yaklaşım aktif hedefleme olarak bilinir [6].

2.8 Kontrollü Salınım

Nanopartiküller ayrıca sahaya özgü veya uzak bir tetikleyiciye yanıt olarak terapötik veya diyagnostik yükü serbest bırakmak için aktive edilebilecek şekilde tasarlanabilir [64]. NP'leri kontrollü salınımda işlevselleştirmek için kullanılabilen özellikler arasında pH, sıcaklık, manyetik alan, enzimatik aktivite, ışık veya radyofrekans sinyalleri gibi diğer özellikler yer alır [97]. pH'a duyarlı malzemelerden yapılan NP'ler, pH'da bir değişiklik tespit edildikten sonra hedef bölgede ilaç salınımını tetikleyecek şekilde tasarlanabilir [64]. Nükleik asitler, peptitler, proteinler, lipitler, karbonhidratlar veya polimerlerden oluşan termal olarak duyarlı bağlayıcılar, NP'den kontrollü salınım için bir veya daha fazla ajanı bağlamak için de kullanılabilir ve sıcaklığa duyarlı bağlayıcı belirli bir sıcaklığa veya sıcaklık aralığına (tetik sıcaklığı) maruz kaldığında, bağlayıcı bozulur ve ajan serbest bırakılır [64].

NP'lerden ajanların salınması, hedef bölgedeki diğer spesifik koşullar altında bozulan bağların dahil edilmesiyle de gerçekleştirilebilir [63].

2.9 Ayarlanabilirlik

NP özelliklerinin ayarlanabilirliği önemli ve güçlü bir kavramdır [67]. NP'ler, nanoölçek seviyesinde meydana gelen modifiye kuantum mekaniği nedeniyle aynı malzemelerden daha büyük formlarda önemli ölçüde farklılık gösteren çok çeşitli ayarlanabilir biyolojik, optik, manyetik, elektrik ve mekanik özelliklere sahiptir [97]. Bir NP'nin boyutunu değiştirerek, araştırmacılar nanomalzemelerin birçok farklı özelliğine ince ayar yapabilirler. Örneğin, bir NP'nin boyutunu değiştirerek, farklı diyagnostik görüntüleme uygulamaları sırasında renk kodlaması veya etiketleme araçlarına izin vererek farklı floresan renkleri elde edebilirler. [103].

2.10 Yüzey Konjugasyonu

NP'lerin spesifik uygulamalar için işlevselleştirilmesinin bir yolu, yüzey konjugasyonudur [104]. Nanoparçacık yüzeyleri çok çeşitli teşhis veya terapötik ajanlarla konjuge edilebilir [62]. NP yüzey konjugasyonu için bazı aday biyomoleküller, hücre içi iletimi, görüntüleme için floresan boyaları ve küçük inhibitör RNA (siRNA) gibi genetik terapi ajanlarını arttıran hücreye nüfuz eden peptitlerdir [66]. Yüksek düzeyde eksprese edilmiş tümör hücresi reseptörlerine bağlanan bir hedefleme molekülü ile konjuge edilmiş nanoparçacık yüzeyleri ayrıca tümör tespitine yardımcı olan artan hassasiyet ve özgüllük sağlayan görüntüleme kontrast maddelerinin taşınmasını kolaylaştırabilir [63]. NP'lerin yüzeyleri ilaç terapileri ile konjuge edilebilir [64]. Hedef bölgeye spesifik olarak bağlanan ligandlarla yüzey konjugasyonu, toksisiteyi önemli ölçüde azaltırken NP ilaç verme sistemlerinin etkinliğini artırabilir [65]. Kanser tedavisinde tümör hedeflemesi, NP yüzeyindeki tümör hücresi reseptörlerine bağlandığı bilinen bir molekül veya biyobelirteç (bir peptit, protein veya nükleik asit gibi) konjuge edilerek gerçekleştirilebilir [63].

2.11 Geliştirilmiş Biyoyararlanım

NP'ler genellikle bağışıklık kompleman sistemini aktive eden ve makrofajlar ve diğer fagositler tarafından imha için NP'leri işaretleyen opsoninler adı verilen bağışıklık sistemi proteinleri tarafından dolaşımdan temizlenir [64]. Nötr NP yüklü parçacıkların daha az bir ölçüde opsonize edilmiştir ve hidrofobik parçacıkların daha hızlı hidrofilik parçacıklara göre dolaşımdan temizlenir. Bu nedenle NP'ler, dolaşım süresini uzatmak için nötr olacak veya

hidrofilik polimerler (PEG) gibi ile konjuge olacak şekilde tasarlanabilir [64]. Lipozomal NP'lerin biyoyararlanımı, RES tarafından alınmasını önlemek için bir PEG kaplaması ile fonksiyonelleştirilerek de arttırılabilir ve bu şekilde işlev gören lipozomlara “gizli lipozomlar” denir [63].

NP'ler genellikle opsonizasyonun önlenmesi, retikülo endotelial sistem (RES) alımının azaltılması, biyoyumluluğun arttırılması ve / veya dolaşım süresinin arttırılması için genel bir araç olarak bir PEG kaplaması ile kaplanır ve NP'ler ayrıca bir hidrofilik polimerle (PEG veya dekstran gibi) kaplanırlarsa suda çözünür hale getirilebilir veya manyetolipozomlar üretmek için alifatik yüzey aktif cisimleri veya lipozomlar ile kaplandıklarında amfifilik veya hidrofobik hale getirilebilirler [63]. Lipid kaplamalar ayrıca diğer partiküllerin biyoyumluluklarını artırabilir [64].

2.12 Tedavi Uygulamaları

Kanser tedavisinde, sadece kanser hücrelerinin öldürüldüğü ve normal hücrelerin zarar görmediği hedefe yönelik tedavi giderek daha fazla arzu edilmektedir. Nanoteknoloji, kanserin hedeflenen tedavisi için yeni materyaller ve yollar geliştirmektedir. Nanopartiküllerin tasarlanmış özellikleri, fotodinamik terapi (PDT), radyoterapi ve radyofrekans terapisi ve terapiler gibi nanoteknolojiye dayalı ileri kanser tedavisi stratejileri de dahil olmak üzere, daha önce mümkün olmayan yeni, invaziv olmayan kanser tedavisi stratejilerine kapı açmaktadır [6].

Nanoteknoloji tabanlı yeni tip kanser tedavi çözümleri için başlıklar şu şekildedir:

- Nanoteknoloji tabanlı gen terapisi
- Nanoteknoloji tabanlı fotodinamik tedavi
- Nanoteknoloji tabanlı radyoterapi ve radyofrekans tedavisi
- Nanoteknoloji tabanlı kanser tedavileri

2.12.1 Nanoteknoloji tabanlı gen terapisi

Nanoparçacıklar gen terapisinin giderek daha kritik bileşenleri haline gelmektedir [105]. Klinik öncesi ve klinik kanser araştırmalarında en hızlı gelişen alanlardan birini temsil eder. Viral vektörler geleneksel olarak hedef hücrelere gen vermek için kullanılan birincil ajanlar

olmasına rağmen, konakçıda ciddi bağışıklık ve enflamatuvar yanıtlar riski taşırlar, viral vektör ile ilişkili problem toksisite, bağışıklık ve enflamatuvar yanıtlar, gen kontrolü ve hedefleme konusudur; ek olarak, virüsün her zaman iyileşme ve hastalığa neden olma korkusu vardır ve bunun üstesinden gelmek için, viral aracılı olmayan gen aktarma tekniklerine çok ilgi gösterilmiştir [6]. Viral olmayan vektörlerin kullanılmasının avantajı, toksik olmamaları nedeniyle çok düşük bir maliyette ve daha az bağışıklık reaksiyonunda tekrarlanmasıdır ve en yaygın olarak kullanılan viral olmayan vektörler lipozom aracılı kationik polimerler ve nanopartiküllerdir [6]. Nanopartiküllerin morfolojisi, büyüklüğü, yük yoğunluğu ve koloidal stabilitesi dahil fiziksel özellikleri, nanopartiküllerin potansiyel viral olmayan gen taşıyıcı araçlar olarak işlev görmesinin genel etkinliğini belirlemek için önemli parametrelerdir [6].

Gen tedavisi, içeriği sitoplazmanın sert ortamından korurken vektörün hücreye girmesine bağlıdır, genin çekirdeğe taşınması, aracın kendisinden zarar vermeden gerçekleşmelidir [106]. Gen terapisine en çok araştırılan yaklaşımlardan biri, mikron altı taşıyıcı araçlar olarak lipozomları kullanır ve lipozomlar, terapötik bir molekül veya gen içeren bir çekirdeği çevreleyen bir lipid kabuğundan oluşur, lipid çift katmanlarından ve hücre zarlarından geçme kabiliyetleri nedeniyle özellikle gen terapisi cihazları olarak faydalıdır ve birkaç grup yakın zamanda lokal doğumdan sonra ikna edici sonuçlar bildirmiştir [105].

2.12.2 Nanoteknoloji tabanlı fotodinamik tedavi

PDT, lokal veya sistemik tedaviye bağlı morbidite taşıyan ve direnç gelişimine duyarlı olmayan mevcut adjuvan tedaviye bir alternatiftir ve fotosensitize edici bir ilacın verilmesini içerir [6]. PDT, belirli bir ışık dalgaboyuyla aktive edildiğinde tümör hücrelerini doğrudan öldürebilen reaktif oksijen türlerinin ve tümörle ilişkili vaskülatürün salınmasını indükleyen ve tümör enfeksiyonuna yol açan bir fotosensitizörün aktivasyonuna dayanır [6]. PDT'de hedefleme esastır çünkü singlet oksijen oldukça reaktiftir. Polimerik nanoparçacıklar, tümör spesifik ligandlar yoluyla tümör hücrelerine yüksek miktarda fotosensitizatör verilmesini sağlayarak bu soruna bir çözüm sunar [6]. PDT'nin ek avantajları, immünosüpresif ve miyelosüpresif etkiler üretmeden tekrar tekrar kullanılabilmesi ve cerrahi, kemoterapi veya radyoterapiden sonra bile uygulanabilmesidir [6].

2.12.3 Nanoteknoloji tabanlı radyoterapi ve radyofrekans tedavisi

Radyasyon dozunun yüksek atom numarası (Z) malzemeleri ile artırılması uzun zamandır ilgi çekicidir. Tümöre yüksek Z materyallerinin yüklenmesinin, tümör içinde çevre

dokulardan daha fazla fotoelektrik emilim ile sonuçlanabileceği ve böylece radyasyon tedavisi sırasında bir tümöre verilen dozu arttırabileceği bildirilmiştir [6]. Radyofrekans ablasyon kanser, kardiyak iletim anormallikleri ve nörolojik lezyonların tedavisinde kullanılmasına rağmen, en sık kanser tedavilerinde kullanılmaktadır [6].

2.12.4 Nanoteknoloji tabanlı kanser tedavileri

Tanı ve tedaviyi bir süreçte birleştirmek, tedavi olarak adlandırılan yeni bir biyomedikal yöntemdir. Tedavinin birincil amacı, tanısal ve terapötik doğruluğu arttırmak için seçici olarak spesifik (hastalıklı) dokuları veya hücreleri hedeflemektir ve tedavilerin yardımıyla, teşhis ve tedavi gibi tıbbi tedavinin anahtar aşamalarını bir araya getirebilir ve tedaviyi daha kısa, daha güvenli ve daha verimli hale getirebiliriz [6]. Birçok tedavi yöntemi, teşhis ajanları ve ilaçların taşıyıcıları olarak nanopartiküller kullanmıştır. Biyouyumlu nanoparçacıklar şu anda noninvaziv tanı ve hassas kanser tedavisini sağlayacak kanser tedavi ajanları olarak geliştirilmektedir ve bu tür nanoparçacık aracılı kombinatoriyal stratejiler tedaviyi hızlandırma, tedavinin yan etkilerini azaltma ve kanser tedavi oranlarını iyileştirme vaadi sunar [6].

Son zamanlarda yapılan bazı incelemeler manyetik nanoparçacıkların mühendislik tasarımlarını, fizyokimyasal özelliklerini ve biyomedikal uygulamalarını tartışmış ve manyetik nanoparçacıkların aynı anda tanısal moleküler görüntüleme ajanları ve ilaç taşıyıcıları olarak hareket edebileceğini belirtmiştir [106].

3. GRAFEN

Grafen, 10^6 – 10^7 g mol⁻¹'den daha yüksek moleküler ağırlığa sahip hem katı hem de makromolekül olarak görülebilen iki boyutlu (2B) bir karbon allotropudur ve doğal grafitte, grafen katmanları çok belirgin π - π istifleme etkileşimleri yoluyla birbirine yapışır ve bu kovalent olmayan katmanlar arası bağlanma, grafitin yüksek termodinamik kararlılığına önemli ölçüde katkıda bulunur [107]. Karbon allotropları çeşitli yapılara ve özelliklere sahiptir, ancak ilk olarak 2004 yılında hazırlanan grafen ortak bir iki boyutlu (2-D) yapıya sahiptir ve grafen küresel yapılara (0-D fullerenler), tübüler yapılara (tek boyutlu karbon nanotüpler, 1-B KNT'ler) veya katmanlı yapılara (3-D grafit) dönüştürülebilir [108]. Grafen ile grafen oksit (GO) üzerine yapılan araştırma, kimya, fizik, malzeme bilimi, cihaz üretimi ve nanoteknoloji dahil olmak üzere çeşitli disiplinleri kapsayan, ortaya çıkan disiplinlerarası bir bilim alanını temsil etmekte ve bununla birlikte kimyasal üretimi ve kontrollü ıslak kimyasal modifikasyonu, kimyagerler için bir zorluk olup, reaksiyon ürünlerinin karakterizasyonu sofistike analitik yöntemler gerektirir [109].

Grafen, çeşitli bilimsel disiplinler arasında hızla yükselen bir yıldızdır. Bu iki boyutlu malzeme son derece yüksek kristal ve elektronik özellikler sergiler ve kısa geçmişine rağmen, burada kısaca tartışılan yeni fizik ve potansiyel uygulamalarına yol açmaktadır. Daha genel olarak, grafen sadece bir atom kalınlığında olan kavramsal olarak yeni bir malzeme sınıfını temsil eder ve bu temelde, hiç şaşırtmayan ve uygulamalar için verimli bir zemin sağlamaya devam eden düşük boyutlu fiziğe yeni yollar açmaktadır [110].

Diğer karbon allotroplarından edinilen deneyimin bir sonucu olarak olağanüstü elektronik, optik ve mekanik özellikler hızla art arda keşfedilmiştir. Özellikle, yüksek şarjlı taşıyıcı hareketleri, elektriksel ve termal iletkenlik, şeffaflık ve mekanik mukavemet ile birleştiğinde grafeni gelecekteki yüksek teknoloji uygulamaları için oldukça çekici kılmaktadır ve grafen teknolojisinin prototip uygulamaları açısından mevcut durumu kapsamlı bir şekilde gözden geçirilmiştir [109].

Birçok grafen tabanlı cihaz, örneğin yüksek frekanslı transistörler, katlanabilir ve gerilebilir elektronik veya fotodetektörler, kondansatör, şeffaf elektrot, sensör, kirlilik yönetimi, enerji uygulaması, biyomedikal uygulama ve kompozit malzemeler olmak üzere çeşitli alanlarda uygulanmaktadır [111].

Kavramsal olarak, grafen ve GO'nun kimyasal davranışının, özellikle konjuge π - π sistemine ilave reaksiyonları açısından, fullerenler ve karbon nanotüplerinkine benzemesi beklenebilir. Ancak, özellikle fullerenlerin ve karbon nanotüplerin aksine, grafen, bir çözücü içinde dağıtıldığında düzlemi her iki taraftan saldırabilen düz ve gerilimsiz bir sistem olduğu için de önemli farklılıklar beklenebilir [109].

3.1 Grafenin Özellikleri

Diğer karbon allotroplarının temel bir bileşeni olarak grafen, bir atom kalınlığında bir petek ağında altı atomlu halkalardan oluşan 2-B bir yapıya sahiptir [112]. Her karbon atomu diğer üç karbon atomuna bağlanır. C-C bağ uzunluğu 120° bir bağ açısı ile $1.42 \text{ \AA}$ 'dir ve her karbon atomu, üç karbon atomlu üç sp^2 hibrit orbital yoluyla üç σ -bağ oluşturur; p-orbitalin geri kalanı, diğer bitişik karbon atomlarıyla konjüge bir sistem oluşturur [113]. Bu konjüge edilmiş sistemde, her karbon atomu bir p-elektron sağlar; dolayısıyla grafenin karbon iskeleti, iskeletin üstünde ve altında eşleştirilmiş elektron bulutları olan σ -bağlarından yapılır ve bağlanma formu benzen yapısındakiyle aynıdır; dolayısıyla grafen muazzam bir polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) olarak kabul edilebilir [113].

Grafen, polisiklik aromatik hidrokarbona benzer bir yapıya sahiptir; dolayısıyla grafen, grafit ve polisiklik aromatik hidrokarbonların özelliklerine sahiptir. Bu eşsiz özellikler birçok alanda kullanılabilir [113]. Örneğin, görünür ve kızılötesi bölgelerde iyi ışık Emilimi, grafenin doygunluğunun düşük olmasına neden olur; dolayısıyla grafen bir lazer anahtarı veya fotonik kristal olarak tasarlanabilir. Yüksek termal iletkenlik kombinasyonu yüksek stabilite ve yükleme hareketliliği ile grafenin mikrotermal elektrikli bileşenlerde kullanılmasını sağlayabilir ve grafen ayrıca yüksek yay sabiti ($1-5 \text{ Nm}^{-1}$) ve Young modülü nedeniyle mikropresür sensörlerinde veya rezonatörlerde de uygulanabilir [113].

3.2 Grafenin Sentezi

Araştırmacılar son zamanlarda mükemmel grafen ve GO'nun büyük ölçekli üretimini hedeflediler. Genel olarak, hazırlama yöntemleri iki kategoride sınıflandırılabilir: yukarıdan aşağıya organik sentetik yaklaşımlar ve aşağıdan yukarıya organik sentetik yaklaşımlar [112].

Mekanik yarıma, redoks yöntemi ve ark deşarjı gibi yukarıdan aşağıya yaklaşımlar, karbon kaynağı olarak doğal grafiti kullanır ve fiziksel veya kimyasal eksfoliasyon veya kesme yoluyla tek veya birkaç katmanlı grafen ve GO verir ayrıca kimyasal buhar biriktirme (KBB)

ve organik sentez gibi aşağıdan yukarıya yaklaşımlar, büyük tek veya birkaç katmanlı grafen ve GO'nun sentezlenmesi için küçük karbon bileşiklerini kullanır [113].

3.2.1 Yukarıdan aşağıya organik sentetik yaklaşımlar

Mekanik yarıma, grafen sentezlemek için bildirilen ilk yaklaşımlardandır. 2004 yılında [109] ilk olarak, yüksek düzeyde yönlendirilmiş pirolitik grafitin pul pul dökülmesiyle tek katmanlı grafen üretmiş ve gözlemlemişlerdir. Bu yaklaşım daha sonra grafiti tekrar tekrar yapıştırmakla basitleştirilmiştir [110].

Redoks yöntemi, grafen ve GO üretmek için en yaygın yaklaşımlardan biridir. Bu yaklaşım, grafitin kristal yapısını yok etmek ve GO'yu oluşturmak için oksijen içeren fonksiyonel grupları sokmak için bir oksitleyici ajan eklenmeden önce grafitle reaksiyona girmek için güçlü bir asit kullanır. Son olarak, grafen elde etmek için GO azaltılır [114].

Ark deşarjı, grafen ve GO'nun büyük ölçekli hazırlanmasına bir başka yaklaşımdır, bu yöntemde, belirli bir tampon gazı basıncında iki grafit elektroda belirli bir miktarda elektrik akımı uygulanır; ark boşaldığında, anot tüketilir ve katot üzerinde grafen elde edilir [113]. Bu yaklaşımı kullanarak, elde edilen grafen, az sayıda kusur, yüksek elektriksel iletkenlik ve mükemmel termal stabilite ile yüksek bir kristalleşme derecesine sahiptir ve büyük ölçekte üretilebilir [115].

Hidrojen, grafenin sentezi için gereklidir, çünkü grafenin kenarındaki aktif karbon atomları ile reaksiyona girebilir, bu da grafenin halkanın sızdırmazlık yapısına sıkışmasını önler [113].

3.2.2 Aşağıdan yukarıya organik sentetik yaklaşımlar

Aşağıdan yukarıya yaklaşımlar küçük bir aromatik molekülle başlar ve nanografen olarak da adlandırılan bir polisiklik aromatik hidrokarbonu birkaç organik sentetik yöntemle verir ve şimdiye kadar, aşağıdan yukarıya yaklaşımlar grafenin yüksek performans ve yüksek verimle üretilmesi için zorunludur [113]. En tipik yöntem, polifenilen dendrimerlerin siklodehidrojenasyonuna [116].

Kimyasal buhar biriktirme, grafen üretmek için etkili bir yöntemdir ve yüksek sıcaklıklarda bozulabilen bir metal film, tek metal kristaller veya polikristallerden oluşan bir düzlem bazı, metan veya etan gibi bir öncü gaz içine yerleştirilir; yüksek sıcaklıkta tavlama ile baz yüzeyinde grafen elde edilir [113]. Kimyasal buhar biriktirme, termal kimyasal buhar biriktirme ve plazma destekli kimyasal buhar biriktirme olarak sınıflandırılabilir ve ilk

termal kimyasal buhar biriktirme yöntemi [117] tarafından rapor edilmiştir. Plazma destekli kimyasal buhar biriktirme üzerine en erken araştırma 2004 yılında yapılmıştır [118]. Plazma ile güçlendirilmiş kimyasal buhar biriktirme için özel bir yüzey işlemi veya metal katalizör gerekli değildir; araştırmacılar bu basit yöntemi kullanarak daha saf grafen elde edebilirler [113].

3.3 Grafen Oksitin İndirgenmesi (rGO)

Grafenin yüksek miktarlarda üretimi için ön plana çıkan yöntemlerden biri grafitten kimyasal prosesler ile üretilen grafen oksitin çeşitli metodlar kullanılarak indirgenmesidir [119]. Bu yöntemin iki temel avantajı ön plana çıkmaktadır, bunlar ucuz grafit hammadresi kullanılarak verimli üretimin sağlanması ve üretilen grafitin hidrofilik olması nedeniyle stabil çözeltiler hazırlanabilmesi olarak özetlenebilir [120].

3.4 Grafenin Biyouyumluluğu

Biyouyumluluk, malzemelerin zararlı etkilere neden olmadan hücreler, dokular veya vücut ile etkileşime girme yeteneğini ifade eder. Son zamanlarda, kök hücre araştırmalarında grafen kullanımı benzersiz özellikleri nedeniyle artmıştır [121].

Son zamanlarda, GO ve rGO gibi grafen türevlerinin, antikanser terapisi, fototermal terapi, fotodinamik terapi, ilaç dağıtımı, gen transfeksiyonu, biyosensing, görüntüleme ve doku mühendisliği gibi biyomedikal uygulamalar için umut verici adaylar olmasını sağlayan kimyasal ve fiziksel özelliklerin uyumlu bir kombinasyonunu sergilediği gösterilmiştir [122]. Kanseri, dünyadaki en yaygın hastalıklardan biridir ve insanlık için en büyük zorluklardan biridir. Nanoteknoloji, kanser hücrelerine daha spesifik ve etkili bir şekilde saldırarak ve istenmeyen yan etkileri azaltmak için mükemmel vaatler gösterir [123].

Grafen ve grafen türevleri ile ilgili çalışmaların sayısı son 5 yılda çok artmıştır. Biyoteknoloji, biyomedikal mühendisliği, nanotıp, kanser terapisi, doku mühendisliği, ilaç dağıtımı, biyomoleküler ve biyomoleküler algılamada grafen sentezi ve uygulamaları için kimyasal yollar geliştirmeye yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır [121].

3.5 Grafende İlaç / Gen İletimi ve Kanseri Tedavisi

3.5.1 Grafenle ilaç dağıtımı

Hummers yöntemi [124] ile grafitin kuvvetli oksidasyonu ile üretilen GO, etkili ilaç ve gen dağıtımı için ideal bir nano taşıyıcıdır. İlaç dağıtımı için kullanılan GO genellikle 1-3 katman

aralığında (1-2 nm kalınlığında) olup, boyutu birkaç nanometreden birkaç yüz nanometreye kadar değişir [125,126]. İlaç dağıtımı için kullanılan GO genellikle 1-3 katman (1-2 nm kalınlığında) olup, boyutu birkaç nanometreden birkaç yüz nanometreye kadar değişir. Büyük ve düzlemsel sp^2 hibridize karbon alanı, yüksek spesifik yüzey alanı ($2630 \text{ m}^2/\text{g}$) ve zenginleştirilmiş oksijen içeren gruplar gibi benzersiz yapısal özellikler, GO'ya mükemmel biyouyumluluk ve fizyolojik çözünürlük ve kararlılık ve ilaç yükleme kabiliyeti kazandırır [127]. Dahası, reaktif -COOH ve -OH grupları GO'in, çeşitli biyolojik ve tıbbi uygulamalar için polimerler, biyomoleküller, DNA, protein, vb. gibi çeşitli sistemlerle fonksiyonelliğini ve konjugasyonunu kolaylaştırır [128].

Çoklu ilaçların kombine kullanımı, kanser hücrelerinin [129,130] ilaç direncinin üstesinden gelmek için kanser tedavisinde yaygın olarak kabul edilen bir klinik uygulamadır. Bununla birlikte, teknik zorluklar nedeniyle, çoklu ilaçların kontrollü yüklenmesi ve verilmesi için nanomateryal tabanlı ilaç dağıtım sistemleri hakkında az sayıda çalışma bulunabilir.

3.5.2 Grafende gen dağıtımı

Gen tedavisi, kistik fibroz, Parkinson hastalığı ve kanser [131] dahil olmak üzere genetik bozuklukların neden olduğu çeşitli hastalıkları tedavi etmek için yeni ve umut verici bir yaklaşımdır. Başarılı gen terapisi, DNA'yı nükleaz bozulmasından koruyan ve yüksek transfeksiyon verimliliği [132] ile hücrel DNA alımını kolaylaştıran bir gen vektörü gerektirir. Gen terapisinin gelişimiyle ilgili en büyük zorluk, etkili ve güvenli gen vektörlerinin [133] olmamasıdır.

3.6 Grafen Oksit

Grafen Oksit (GO), bir petek örgüsünde paketlenmiş 2D bir karbon atomu katmanıdır ve karboksilik asit, hidroksil, epoksi ve karbonil grupları dahil olmak üzere fonksiyonel gruplara sahip tüm grafitik malzemelerde bazal yapı taşıdır ve grafit oksidin bir eksfoliyasyon ürünü olan GO, benzersiz mekanik, termal ve elektriksel özellikleri nedeniyle nanobilim alanında büyük bir etkiye sahiptir [108]. Yoğunluğu yaklaşık olarak 1.8 g/cm^3 . [134]. GO'nun geniş yüzey alanı, yüksek ilaç yükleme verimliliği sağlasada, birçok oksijen içeren fonksiyonel gruplar, bazal düzlemlerini işgal eder [52].

4. PEG (Polietilen glikol)

Polietilen glikol (PEG), proteinlere kovalent olarak bağlandığında özelliklerini potansiyel kullanımlarını genişletecek şekilde değiştiren, suda çözünür bir polimerdir [135].

4.1 PEG'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Polietilen glikol (PEG), poli etilen glikol bir polimerdir ve formülasyonu basitçe ($\text{HO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$) olan PEG, yüzlerce ila binlerce Dalton arasında değişen çeşitli moleküler ağırlıklarda mevcuttur ve düşük moleküler ağırlıklı PEG'ler suda yüksek oranda çözünür, ancak çözünürlük PEG'nin artan moleküler ağırlığı ile azalır [136]. Düşük moleküler ağırlıklı (800 Dalton'dan az) PEG'ler, oda sıcaklığında sıvılardır ve suda tamamen çözünürler [137]. PEG mükemmel solvasyon özelliklerine sahiptir ve çeşitli lantanidler ve geçiş metali katyonları ile kompleks olduğu bulunmuştur [138]. PEG'nin popüleritesine katkıda bulunan bir başka yararlı özellik, asitler, bazlar, orta derecede yüksek sıcaklıklar, hidrojen peroksit ve sodyum borohidrit tarafından oksidasyon, indirgenme ve ayrışmaya karşı benzersiz stabilitesidir [137]. PEG işlevselleştirilmesi veya biyomoleküller gibi büyük ligandları, modifiye etmek için oksidize edilebilir ve PEG'de hem hidrofilik hem de hidrofobik grupların varlığı onu çevreci sentez için popüler bir çözücü haline getirmiştir [136].

NP'ler üzerindeki yüzey yükü nedeniyle genellikle vücudun savunma mekanizması tarafından NP'leri yabancı cisimler olarak tanımlar bu nedenle NP'ler, insan vücudundaki hedeflenen organlara ulaşmak için zorlu zorluklarla karşılaşır ve gerekli gizlilik özelliklerini elde etmek için dikkatle tasarlanması gerekir [136]. NP'lerin biyomedikal uygulamalarında, yüzeylerin PEGilasyonu NP'lere gizlilik özellikleri sağlamak için en yaygın strateji haline gelmiştir [138,139,140].

Gizli karakteristik özellikleri, pegile yüzeylerin "arttırılmış nüfuz etme ve tutma" etkisi olarak bilinir, böylece pegile yüzeyler, opsonin proteinleri ile spesifik olmayan etkileşimlerden ve retikulo endotelial sistem (RES) tarafından tutulmasından kaçınabilir [139].

4.2 PEG'in Yaygın Özellikleri

PEG ile ilgili yaygın özellikler şu şekilde sıralanabilir [136]:

- 1) Yüzey yükünün korunması ve hidrofilitikte artış, opsonin proteinleri ile etkileşimin ve tanımlamanın azalmasına neden olur.
- 2) Sıvı ortamdaki NP'lerin arayüzey serbest gerilimini azaltmak proteinlerle etkileşimi en aza indirir.
- 3) Proteinler tarafından alındığında NP'lerin yüzeyindeki esnek PEG zincirlerinin sıkıştırılması ile itici kuvvetler üretilir.
- 4) Esnek PEG zincirlerinin yüksek hareketliliği, herhangi bir spesifik bağlanmayı önlemek için proteinlerle etkileşim süresini en aza indirir.
- 5) NP'lerin PEGillenmiş yüzeyi, fagositik tutulumu baskılayan disopsonin proteinlerinin bağlanmasını artırır.
- 6) PEG zincirlerinin yüksek yüzey yoğunluğu, bağlanma için opsonin proteinlerine spesifik bir yüzey sunmaz ve bu nedenle retikulo endotelial sistem (RES) ile alımından kaçınılır.

NP'lerin PEGilasyonu, biyoyumluluk, suda çözünürlük, azalmış enzimatik parçalanma ve immünojenisite gibi önemli özelliklere yol açar. Ek olarak, PEGilasyon, PEGillenmiş moleküllerin kan akışında uzun bir dolaşım süresi ve gelişmiş hücresel alımın verilmesinde önemli bir parametre olarak kabul edilen nanopartiküllerin yüzey yükünün korunmasına yardımcı olur [136].

4.3 PEGilasyon

PEGilasyon, farmakokinetik, farmakodinamik ve immünolojik profillerini iyileştirmek ve böylece terapötik etkisini arttırmak için polietilen glikolün (PEG) bir ilaca kovalent bağlanmasını içeren farmasötik bir teknolojidir ve PEGilasyon proteinleri, peptitleri, oligonükleotitleri, antikor fragmanlarını ve küçük organik molekülleri modifiye etmek için kullanılmaktadır [141].

PEG-ilac konjüгатlarının çeşitli avantajları vardır: vücutta uzun süreli kalma, metabolik enzimler tarafından azalan bozulma ve protein immünojenisitesinin azaltılması veya ortadan kaldırılması gibi bu elverişli özellikler sayesinde, PEGilasyon artık ilaç iletiminde önemli bir rol oynamaktadır ve terapötik ajanlar olarak peptitlerin ve proteinlerin potansiyelini arttırmaktadır [141]. PEGilasyonun, protein yüzeyinde antijenik epitoplar ve enzimatik

bozunabilir sekanslar gibi hassas bölgelerin korunmasında ve ayrıca böbrek klerensini azaltarak ilacın yarı ömrünün uzatılmasında etkili olduğu kanıtlanmıştır ve PEG-protein türevleri söz konusu olduğunda, en çok temsil edilenler, kanser hücreleri için gerekli amino asitleri parçalayarak hareket eden enzimlerdir. İlginç bir şekilde, birçok standart antikanser protokolünde PEGillenmiş konjüatlar da adjuvan tedavi olarak düşünülmüştür [142].

PEG düşük moleküler ağırlıklı bir ilaca konjüge edildiğinde, PEG'in kendiliğinden polidispersitesi nedeniyle bir polidispers ilaç konjugatı üretilir [141]. Bu, ürün tutarlılığını ve ilacın özelliklerini ve klinik etkilerini etkiler [142].

Küçük organik moleküllerin kalıcı PEGilasyonu ile ilişkili sorunları hafifletmek için, proteinlerin geçici PEGilasyonu (serbest bırakılabilir PEGilasyon), özellikle antitümör ajanların verilmesi için PEG ön ilaçları üzerinde kapsamlı araştırmalar yapılmaktadır [143].

4.4 İnorganik Nanopartiküllerin Sentezi için Solvent Olarak PEG

PEG, değişen boyut ve şekil seçiciliğine sahip NP'lerin hazırlanması için daha kolay ve daha yeşil bir yöntem sağlamak üzere inorganik NP'lerin sulu ortamda sentezlenmesi için yaygın olarak kullanılmıştır [136].

PEG, çeşitli oksitlerin yanı sıra metalik NP'lerin kendi kendine birleşmesinde muazzam bir potansiyel göstermiştir. PEG'in çeşitli geçiş metalleri, nadir toprak elementleri ve diğer alkali ve toprak metalleri ile kompleks oluşturma kabiliyeti, PEG'yi mühendislik tabanlı nanoyapılar için aktif bir uyumluluk içinde kullanılabilir kılmıştır [144,145].

Seçici kristalografik düzlemlerde PEG moleküllerinin spesifik yüzey adsorpsiyonu, NP'lerin koloidal bir ortamda yönlendirilmiş eklenmesi yoluyla anizotropik özelliklere sahip NP'lerin üretilmesine de yardımcı olabilir. Bu spesifik adsorpsiyon, etkileşimi sterik olarak engelleyerek ve NP'lerin yönlendirilmiş bağlanmasını kolaylaştırarak adsorbe kristalografik düzlemler boyunca NP'lerin büyümesini durdurabilir [136].

5. FOLİK ASİT (FA)

Folik asit veya folat, pürin ve pirimidin sentezi, amino asit dönüşümleri, metilasyon reaksiyonları ve format oluşumu ve kullanımı için gerekli bir B vitaminidir. Folat eksikliğinin sonuçları arasında megaloblastik anemi, hiperhomosisteinemi (vasküler hastalık için bir risk faktörü), kanser başlangıcı, nörolojik ve bilişsel bozukluk, nöral tüp kusurları ve diğer olumsuz doğum sonuçları yer alır [146].

Folik asit takviyesi, kanser oranlarını, vasküler hastalıkları ve B12 vitamini eksikliğinin belirtilerinin şiddetini de etkilemiş olabilir, ancak bu tür etkiler tartışmalıdır ve daha fazla araştırma gerektirir.

5.1 Folat Hedefli İlaç Dağıtımı

Hedefli ilaç taşıyıcı sistemlerinde, hedefleme ligandlarının kullanılması çok önemlidir. Bu alanda kullanılan yaygın ligandlar arasında folik asit (FA), polisakkaritler, peptitler ve monoklonal antikorlar bulunur [147].

Folat hedefli ilaç dağıtımı, birçok kanserin ve iltihaplı hastalığın tedavisi ve görüntülenmesi için alternatif bir tedavi olarak ortaya çıkmıştır [148].

FA, farklı ligandlara kıyasla ilaç iletimi için yaygın olarak kullanılan bir hedefleme grubudur, çünkü folik asit reseptörleri (FAR) çeşitli insan kanserlerinde yukarı regüle edilir. FA, hücre yüzeyinde yüksek afiniteye sahiptir. Normal hücrelerde folik asit reseptörlerinin olmaması, onları tümör hücrelerinden ayırır [149]. Bu nedenle, nano taşıyıcıların kanser hücrelerine içselleştirilmesini artırmak için nano taşıyıcı yüzey folik asit ile modifiye edilir [147].

Küçük moleküler boyutu ve hücre yüzeyi folat reseptörleri (FR) için yüksek bağlanma afinitesi nedeniyle folat konjugatları, normal dokulara zarar vermeden patolojik hücrelere çeşitli moleküler kompleksler verme kabiliyetine sahiptir ve bugüne kadar FR eksprese eden hücrelere başarıyla iletilen kompleksler arasında protein toksinleri, immün uyarıcılar, kemoterapötik ajanlar, lipozomlar, nanopartiküller ve görüntüleme ajanları yer alır [148].

Folik asit reseptörü, tümöre özgü ilaç iletimi için yararlı bir hedef oluşturur. Bunun nedeni şu şekilde açıklanabilir:

Yumurtalık, beyin, böbrek, meme, miyeloid hücreler ve akciğer maligniteleri de dahil olmak üzere birçok insan kanserinde yukarı regüle edilir, bunu ifade eden normal dokulardaki folat reseptörüne erişim, polarize epitelinin apikal membranındaki konumu nedeniyle ciddi şekilde sınırlandırılabilir ve folat reseptör yoğunluğu, kanserin evre derecesi kötüleştikçe artmaktadır [150].

Folik asit, birkaç metabolik yolakta tek karbonlu transfer reaksiyonları için gerekli olan bir vitamindir ve nükleotid bazlarının biyosentezi için gerekli olduğundan, vitamin çoğalan hücreler tarafından yüksek miktarlarda tüketilir [150]. Normal hücreler, iki membranla ilişkili protein, indirgenmiş folat taşıyıcı veya folat reseptörü (FR) kullanarak plazma membranı boyunca fizyolojik folatları taşır [150]. İlki, hemen hemen tüm hücrelerde bulunur ve fizyolojik folatların alımından sorumlu birincil yolu oluşturur. İkincisi, esas olarak polarize epitel hücrelerinde ve aktive makrofajlarda [151,152] bulunur ve tercihen oksidize folatları reseptör aracılı endositoz yoluyla bağlar ve içselleştirir [153].

İndirgenmiş folat taşıyıcısının düşük konsantrasyonları muhtemelen çoğu normal hücrenin folat gereksinimlerini karşılamak için yeterli olsada, FR sıklıkla kanser hücrelerinde aşırı eksprese edilir. [154,155].

6. DOKSORUBISIN

Doksorubisin (DOX) en etkili ve yaygın olarak kullanılan antikanser ilaçlarından biridir [156]. Doksorubisin (Adriamycin®) ilk olarak 'Streptomyces peucetius var caesius' tan izole edilen suda çözünür bir antrasendiondur ve sitostatik biyolojik aktivitesinin keşfinden bu yana, doksorubisin, çoğunlukla güçlü ve geniş aktivite spektrumu nedeniyle ABD'de en çok reçete edilen antineoplastik ajanlardan biri haline gelmiştir [157]. Doksorubisin, lösemiler, sarkomlar, meme kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri ve yumurtalık kanseri dahil olmak üzere çok çeşitli malignitelere karşı aktif olan güçlü bir antitümör ajandır. [158].

Sistemik toksisitelerini azaltmak amacıyla DOX ve diğer kemoterapi ajanlarını kimyasal olarak modifiye etmek için önemli çalışmalar yapılmıştır [159]. Böyle bir yol, sağlıklı dokuya daha az toksisite sergileyen ve özellikle tümör bölgesinde farmakolojik olarak aktif maddelere dönüştürülebilen ön ilaçlar oluşturmaktır [160].

Çeşitli tasarımlar, ön ilaç dönüşümünü tetiklemek için tümör dokusu ile hipoksi veya düşük pH gibi normal doku arasındaki çevresel farklılıklardan yararlanmıştır [162,163]. Bazı ön ilaçlar, tümör dokusu tarafından vücudun başka yerlerinden daha yüksek seviyelerde salgılanan enzimler tarafından aktive edilecek şekilde tasarlanmıştır [164,165]. Bu durumlarda ön ilaç aktivasyonu için tümör özgüllük derecesi, tümör dokusuyla sağlıklı doku arasındaki bu parametrelere göre farkın derecesine bağlıdır.

Doksorubisin, diğer antikanser ilaçlara kıyasla çok geniş bir antitümör spektrumuna sahiptir ve Doksorubisin, 20 yıldan fazla bir süredir klinik kullanımdadır ve sadece son zamanlarda, sitotoksik etkinin, henüz kesin olarak tanımlanmamış çok sayıda mekanizma ile hücrel düzeyde üretildiği kabul edilmiştir [166].

Doksorubisinin düzlemsel antrasiklin halkası, DNA ve RNA polimerazlarının okuma doğruluğuna müdahale etmek için DNA çift sarmalına araya girebilir aynı zamanda topoizomerez II ile bölünmeye karşı oldukça duyarlı sekansa spesifik DNA eklentileri oluşturur [167]. Doksorubisin içeren çoklu ilaç rejimleri ile elde edilen klinik remisyonların süresi değişkendir, ancak çoğunlukla sınırlıdır.

Doksorubisin, antrasiklin antibiyotik grubu antikanser ajanlarının en iyi bilinen ve en çok kullanılan üyesidir. İlk olarak 1970'lerde tanıtıldı ve o zamandan beri hem hematolojik hem

de katı tümörlerin tedavisinde en yaygın kullanılan ilaçlardan biri haline geldi. Bu ilaç için tedaviyi sınırlandıran toksisite, konjestif kalp yetmezliğine ve ölüme yol açabilecek kardiyomiyopatidir.

6.1 DOX Kimyası

Doksorubisin kuru toz halinde bulunur, pH 4 değerinde stabildir ve çok asidik pH değerinde kararsızdır [168]. Plazma ve kültür ortamlarında stabilite daha kısa olmasına rağmen, oda sıcaklığında en az 24 saat ışıktaki stabildir [169].

Doksorubisin, başlangıçta *Streptomyces peucetius* var *Caesius*'tan izole edilen bir antrasiklin antibiyotiktir ve bu amfipatik molekül, suda çözünmeyen bir aglikona (adriamisinonon: $C_{21}H_{18}O_9$) ve suda çözünür, bazik, indirgeyici bir amino-şeker grubuna (daunosamin: $C_6H_{13}NO_3$) sahiptir [170].

Doksorubisinin, ilişkili pK'larla birlikte üç önemli prototropik işlevi vardır [168,171]:

- (1) Şeker kısmındaki amino grubu ($pK_1 = 8.15$),
- (2) C11'deki fenolik grup ($pK_2 = 10.16$) ve
- (3) C6'daki fenolik grup ($pK_3 = 13.2$)

Doksorubisin hidroklorür tipik olarak turuncu-kırmızı ince iğnelerden oluşan higroskopik kristal toz olarak bulunur. Dihidroksiantrakinon kromoforuna bağlı olarak erime noktası $229-231^\circ$ ve emme maksimumları (metanol içinde) 233, 252, 288, 479, 496 ve 529 nm'dir [172].

Kromofor üzerindeki grupların herhangi bir varyasyonu nihayetinde absorpsiyon spektrumunda değişikliklere yol açar, bu nedenle spektrum pH, bağlayıcı iyonlar ve bunların konsantrasyonlarına, ilaç konsantrasyonuna, solvent tipine ve iyonik güce bağlıdır [170]. Deprotonasyon Kromoforun, kromoforun fenolik fonksiyonlarının deprotonasyonu nedeniyle kırmızı bir kaymaya neden olarak UV, görünür ve dairesel dikroik (CD) spektrumlarında bir modifikasyon ile sonuçlanır [170]. Doksorubisinin pH 7'de turuncu, pH 11'de mor ve pH 13'te mavi görüneceği belgelenmiştir [173].

Doksorubisinin kendi kendine birleşme eğilimi olduğu iyi belgelenmiştir [174,175]. Literatürdeki kendi kendine ilişki sabitleri, büyük olasılıkla yöntemler, deneysel koşullar, pH ve tampon bileşimlerindeki farklılıklar nedeniyle önemli ölçüde değişiklik gösterir ve bu fenomen, sulu ortamlarda 1 μ M kadar düşük konsantrasyonlarda tespit edilebilir ve 470-550

nm'de absorbans oranı ölçülerek izlenebilir [170]. Π -elektron sistemlerinin etkileşimi Δ ölçülü bir termodinamik değeri $H = -33 \text{ kJ/mol}$ [169] bireysel moleküllerin düzlemsel aromatik halkaları arasındaki etkileşimlere atfedilen kendi kendine ilişki mekanizması ile kendi kendine ilişkilendirmeyi olumlu bir etkileşim haline getirir [170]. Korunmasız nötr antrasiklin türlerinin, kendi kendine birleşmeye katılan baskın tür olduğu düşünülmektedir ve tampon çözeltinin iyonik mukavemetinin arttırılması, doksorubisinin birleşim sabitini (K) arttırır ve metanol konsantrasyonunun arttırılması K'yı azaltır [175].

6.2 DOX Faaliyet Mekanizması

Doksorubisinin kesin etki mekanizması anlaşılamamıştır; bununla birlikte, DNA baz çiftleri arasında araya girerek, şablon düzensizliği ve sterik tıkanmaya bağlı olarak DNA ve DNA'ya bağımlı RNA sentezi inhibisyonu ile sonuçlandığı bilinmektedir [170]. İnterkalasyon, kardeş kromatidlerin yanı sıra tek ve çift iplik kopuşlarına yol açar ve DNA'nın yayılmasının, topoizomeraz II'nin etkisi veya hücrelere son derece yıkıcı olan hem hidrojen peroksit hem de hidroksil gibi demirle katalizlenmiş serbest radikallerin üretilmesi yoluyla gerçekleştiğine inanılmaktadır [170]. Doksorubisin ayrıca kovalent topoizomeraz-DNA oluşumunu da indüklerkompleksler, DNA replikasyonunda ligasyon-religasyon reaksiyonunun religasyon kısmının inhibisyonu ile sonuçlanır [170]. Hücre döngüsü boyunca aktif olmasına rağmen, maksimum toksisite DNA sentezi (S) fazında meydana gelir. Düşük ilaç konsantrasyonlarında, hücreler S fazı boyunca devam edecek ve G2'de ölecektir [176].

6.3 DOX Toksisite

Bu ilaç için terapiyi sınırlandıran toksisite, konjestif kalp yetmezliğine (KKY) ve ölüme yol açabilen kardiyomiyopatidir. $450\text{-}500 \text{ mg/m}^2$ kümülatif (yaşam boyu) doksorubisin dozu alan hastaların yaklaşık %2'si bu durumu yaşayacaktır [170]. Son zamanlarda, bu toksisite, doksorubisinin trastuzumab olarak adlandırılan, onkoprotein HER-2/neu'yu hedefleyen insanlaştırılmış bir monoklonal antikor ile kullanımını değerlendiren klinik çalışmalarda vurgulanmıştır [177]. Trastuzumab ve doksorubisin kombinasyonları özellikle ümit verici terapötik etkiler sağlar, ancak kombinasyonun kullanımı kardiyakla ilişkili toksisiteleri şiddetlendirmiştir [170].

Serbest formda uygulanan doksorubisinin kardiyotoksisite dışında birçok yan etki sergilediğini hatırlamak önemlidir. Prolifere hücre popülasyonlarını hedefleyen diğer

antikanser ilaçlara benzer Şekilde, doksorubisin önemli gastrointestinal toksisiteye neden olur, bulantı, kusma ve ishal tedaviden hemen sonra yaygındır ve uygulamadan 7-10 gün sonra ortaya çıkan stomatittir [170]. Doksorubisin için tipik akut doz sınırlayıcı toksisite, yüksek bir miyelosupresyon insidansıdır, tipik olarak lökopeni ve trombositopeni [170]. Őiddetli vakalarda bu, hastaneye yatmayı gerektiren ntopenik ateŐ ve sepsise yol açabilir. [178].



7. İLAÇ SALIMI

Kontrollü ilaç salınımı sistemi, en hızlı gelişen bilim alanlarından birini temsil etmektedir ve bu tür uygulama sistemleri, iyileştirilmiş etkinlik, azaltılmış toksisite ve iyileştirilmiş hasta uyumu ve rahatlığı dahil olmak üzere geleneksel dozaj formlarına kıyasla çok sayıda avantaj sunar [180].

İlaç salımı, bir ilacın bir ilaç ürününden ayrıldığı ve emilim, dağıtım, metabolizma ve boşaltıma tabi tutulduğu ve sonunda farmakolojik etki için uygun hale geldiği süreçtir. İlaç salımı birkaç şekilde açıklanmaktadır. Derhal salınan ilaç ürünleri, ilacın çözülmesini veya emilmesini geciktirme veya uzatma niyeti olmaksızın ilaçların çözünmesine izin verir. Değiştirilmiş salım dozaj formları hem gecikmeli hem de uzatılmış salımlı ilaç ürünlerini içerir [179].

Gecikmiş salım, bir ilacın, uygulamanın hemen ardından başka bir zamanda salınması olarak tanımlanır, uzatılmış salımlı ürünler, ilacı uygulamadan sonra uzun bir süre boyunca kullanılabilir hale getirmek için formüle edilir, kontrollü salım, uzatılmış ve aralıklı salım ürünlerini içerir, pulsatil salım, ilaç ürününe programlanmış farklı zaman aralıklarında sonlu miktarlarda ilacın salınmasını içerir [179].

İn vitro çözünme, ilaç geliştirmede önemli bir unsur olarak kabul edilmiştir. Belirli koşullar altında, biyoeşdeğerliğin değerlendirilmesi için bir aracı olarak kullanılabilir. Çeşitli teori / kinetik modelleri, derhal ve değiştirilmiş salım dozaj formlarından ilaç çözünmesini tarif eder.

8.MATERYAL VE METODLAR

Bu tez çalışmasında geleneksel olarak kullanılan DOX' un kemoterapik etkisinin artırılması, toksik etkilerinin azaltılması amacıyla, hedeflenen hücreye ulaşabilen GO-PEG-FA-DOX nanotaşıyıcı tabanlı kemoterapik ilaç sentezlenmesinde izlenen yöntem ve karakterizasyon analizleri ortaya konulmuş ve bu sistemlerden ilaç salım profili, asidik (pH 5.3) ve fizyolojik (pH 7.4) olarak hazırlanan iki farklı pH tampon çözelti ortamında incelenmiştir.

8.1 Modifiye Hummers Metodu ile Grafen Oksit Nanoparçacıklarının Sentezi ve Karakterizasyonu

Bu çalışmada, grafen oksit (GO), diğer yöntemlere kıyasla kolay, düşük maliyetli ve istenilen miktarlarda üretilmesi sebebi ile literatürde en çok kullanılan Modifiye Hummers yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir. Bu amaçla öncelikle 9:1 oranında 360 ml %97-95'lik Sülfürik asit (H_2SO_4)-40 ml %85'lik Fosforik asit (H_3PO_4) karışımı hazırlanmış ve 3 g ve +100 mesh ($\geq 75\%$ min) boyutuna sahip grafit tozu ile prob sonikatör yardımı ile 6 saat boyunca karıştırılmıştır. Karışım sonucunda elde edilen numune patlıcan morluğunda bir renk almış ve örnek Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1 Modifiye Hummers Metodu ile sentezlenen grafen oksitin ilk aşamada elde edilen görüntüsü

6 saatlik karıştırma işleminin ardından 6:1 oranı elde edilecek şekilde 18 g $KMnO_4$ ısınma olasılığına karşı $35\ ^\circ C$ 'de kontrollü bir şekilde 6 saat boyunca kademeli olarak eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu karıştırma işlemi devam ederken tam oksitlenme sağlamak için 40 ml saf su içerisine %30'luk H_2O_2 'den eklenmiş ve bu proses başarılı bir

şekilde tamamlandıktan sonra elde edilen örnek açık sarımsı bir renk almıştır. Elde edilen bu karışım beher içine alınarak 1 gece boyunca dinlendirilerek çöktürme yapılmıştır. Şekil 2’de proseste gözlenen görüntüler verilmiştir.



Şekil 2 Modifiye Hummers Metodu ile bağlanmış grafen oksitin çöktürülmesi

1 gecelik çöktürme işleminden sonra beherin üstünde oluşan sıvı tabakası atık olarak alınmış ve elde edilen katı yapıllı grafen oksit tabakaları bağlanmamış olan ürünlerden uzaklaştırmak için 20000 rpm’de, 0.1M HCl ile 6 defa ve saf su ile 6 defa yıkanarak saflaştırılmıştır. Elde edilen ürün pH’ı 7’ye ayarlanmış ve 55 °C’de 48 saat boyunca etüvde kurutmaya bırakılmıştır. Şekil 3’te görüldüğü gibi kurutma işleminin sonucunda incecik ve kahverengi grafen oksit tabakası elde edilmiştir.

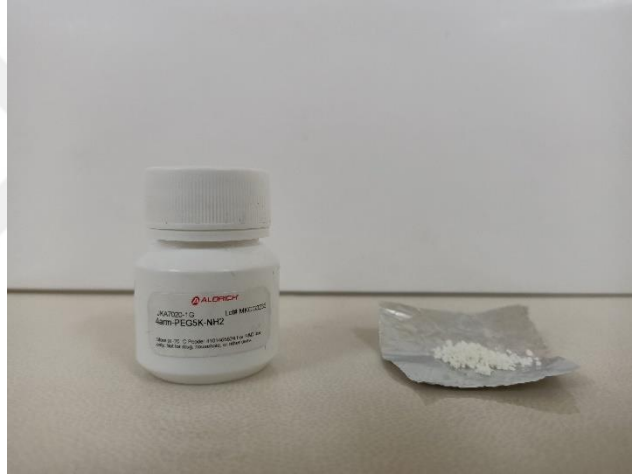


Şekil 3 Modifiye Hummers Metodu ile üretilen grafen oksitin etüvde kurutulması ile elde edilen film tabaka

8.2 Grafen Oksitin PEG ile Fonksiyonlaştırılması

Karbon tabanlı nanopartiküllerin kararlılıklarını kaybetmemesi ve kanserde hedeflemeye yardımcı olması nedeniyle PEGilasyon işlemi uygulanmıştır. Bu yöntem diğer kararlılık sağlayacak yöntemlere göre daha stabil ve uzun ömürlüdür. PEGilasyon amacıyla, (–COOH)

bağları ortaya çıkarılmış grafen oksit tabakasından 300 mg alınarak 100 ml saf su içerisinde 1 saat boyunca 750 W, %25 ampl ve 2 saat süresince prob sonikatör ile çözdürülmüştür. Ardından PEG-NH₂, 100 mg/ml oranında olacak şekilde hazırlanan grafen oksit sulu çözeltisine eklenmiş ve 1 saat boyunca oda sıcaklığı korunacak şekilde tekrar prob sonikatör ile karıştırılmıştır. Sonrasında bağlanma işlemini kolaylaştırmak ve (–COOH) gruplarının aktifliğinden emin olmak için 100 mg N-(3-Dimetilaminopropil-N-etilkarbodimid hidroklorid) (EDC) eklenerek pH'ı 5.6'ya ayarlanmış ve 12 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılarak reaksiyon tamamlanmıştır. Saf GO-PEG-NH₂ ürünü elde etmek için bağlanmamış malzemeler 5000 rpm 4 °C ve 10 dakika süresince santrifüj işlemi uygulanmıştır. Bağlanma işleminin doğru bir şekilde gerçekleştiğini görmek için karakterizasyon analizleri yapılmış ve literatür ile kıyaslanmıştır.



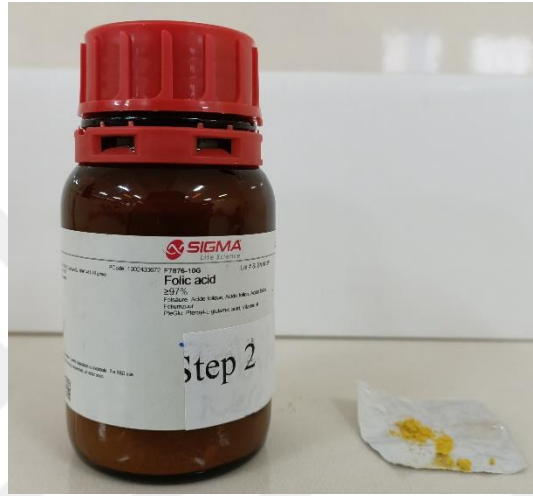
Şekil 4 PEG-NH₂

8.3 nGO-PEG Ürününe Tümör Hücrelerine Hedefleme ve Nihai İlaç Taşıyıcı

Sistemin Sentezi İçin Folik Asit (FA) Konjugasyonu

Kanser hücrelerine yönelik ortak bir hedef molekül olan folik asit (FA), tümör dokusuna özgü bir ilaç iletimi elde etmek için GO-PEG-NH₂'ye kovalent amid bağı yoluyla eklenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda GO-PEG-FA'nın, %100 yükleme oranı ile bir antikanser ilaç olan doksorubisinin (DOX) verilmesi için ideal bir pH'a duyarlı nano taşıyıcı olduğu kanıtlanmıştır [181].

nGO-PEG elde edildikten sonra bağlama işleminde %0.5'lik oran elde edilecek şekilde folik asit eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Hedeflenen folik asit ligandı (FA), GO-PEG'in (-COOH) grupları ile folik asitin (-NH₂) grupları arasında amid bağı oluşturulmasıyla GO-PEG üzerine konjuge edilmiştir. Karışım gece boyunca karıştırılmış ve karıştırma işleminden sonra reaksiyona girmemiş ürünleri uzaklaştırmak için 48 saat süre ile sodyum bikarbonat çözeltisine (pH 8) karşı diyaliz yoluyla ayrılmış, ardından 24 saat boyunca saf suya karşı diyaliz yapılmıştır. Böylece folik asit nGO-PEG ürününe bağlanmıştır.



Şekil 5 Folik Asit

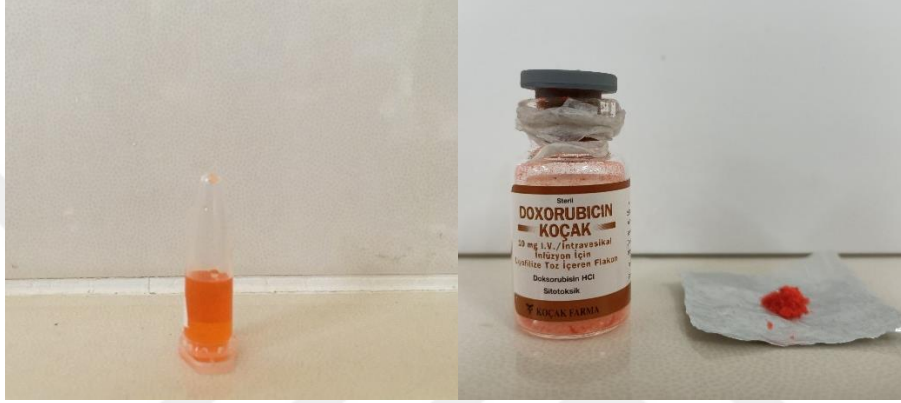
8.4 nGO-PEG-FA İlaç Taşıyıcı Sisteme DOX Yüklenmesi

Doksorubisin (DOX), toksisitesi düşük, kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan oldukça etkili bir antitümör antibiyotiktir. Doksorubisin gibi kanser tedavisinde kullanılan ilaçların avantajlarının yanı sıra kardiyotoksisite [166] hepatoksisite [182] ve nefrotoksisite [183] gibi dezavantajları bulunmaktadır. İlaçların yan etkilerini azaltmak ve etkinliğini artırmak için, ilaç taşıyıcıları ve sentetik nano ilaçlar üzerine araştırmalar modern tıbbi araştırmaların odak noktası haline gelmiştir.

Yaygın olarak kullanılan bir antrasiklinik antibiyotik olan doksorubisin [184] üretilmiş olan nGO-PEG-FA ilaç taşıyıcı sistem üzerine yüklenmiştir.

Öncelikle hazırlanmış 1ml DMSO içerisine 2 ml ya da 4 mg DOX şırınga yolu ile yavaşça eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha önceden hazırlanmış olan 20 ml

kadar nGO-PEG-FA çözeltisi içerisine, DOX-DMSO (4 mg/mL) karışımı eklenmiş ve 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Sonrasında pH 8'e ayarlanmış ve 24 saatlik süreç boyunca karıştırmaya bırakılmıştır. Bağlanmayan DOX, 9000 rpm'de oda sıcaklığında 20 dakika boyunca tekrar tekrar yıkanmış ve 100 KDa filtre kağıdı ile filtrasyon ile ayrılmıştır. Elde edilen GO-PEG-FA-DOX kompleksi yeniden süspansiyon edilmiş ve karakterizasyon analizleri yapılmak üzere bozulma olmaması için 4 °C'de saklanmıştır.



Şekil 6 Doksorubisin (DOX)

9. ANALİZLER

9.1 UV-Vis Spektrofotometre Analizi

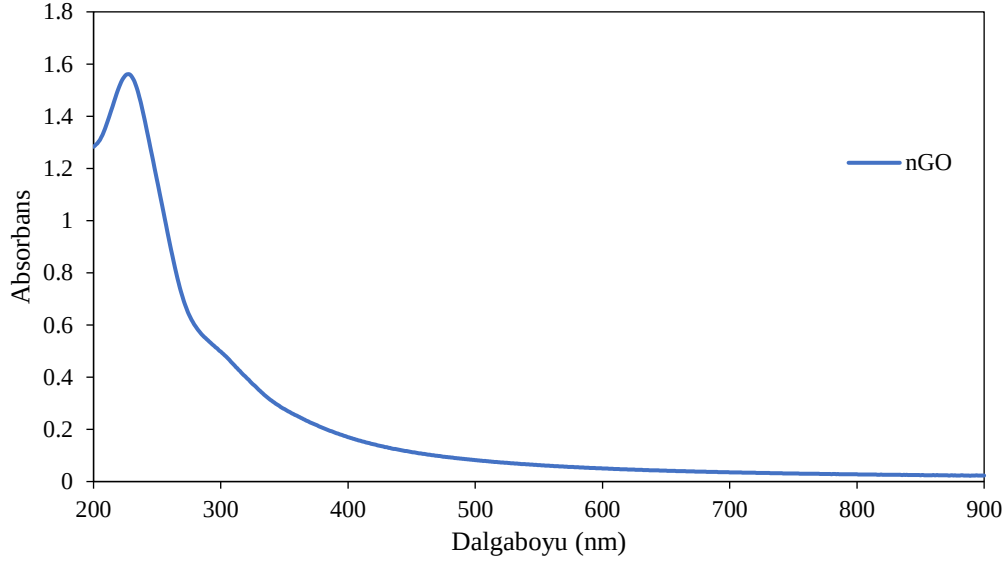
Yapılan deneyler aşamasında üretilen grafen tabanlı nanotaşıyıcı ürünlerin karakterizasyon analizleri Şekil 7’de gösterilen Shimadzu marka UV-3600 Spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. UV-vis görünür bölge spektrofotometre ile ölçülen farklı tiplerdeki ürünlerin saf su taban akışkanı için maksimum absorbans değerini verdikleri dalga boyu değerleri karakteristik ve birbirlerinden farklıdır. Böylece sentezlenen ürünler literatürden kıyaslanarak belirtilen dalga boyu aralığında maksimum absorbans vermeleri karakteristik pikleri görmek konusunda yardımcı olmaktadır.



Şekil 7. Shimadzu marka UV-3600 Spektrofotometre

9.1.1 Modifiye Hummers Metodu ile sentezlenen nGO’nun UV-Vis analizi

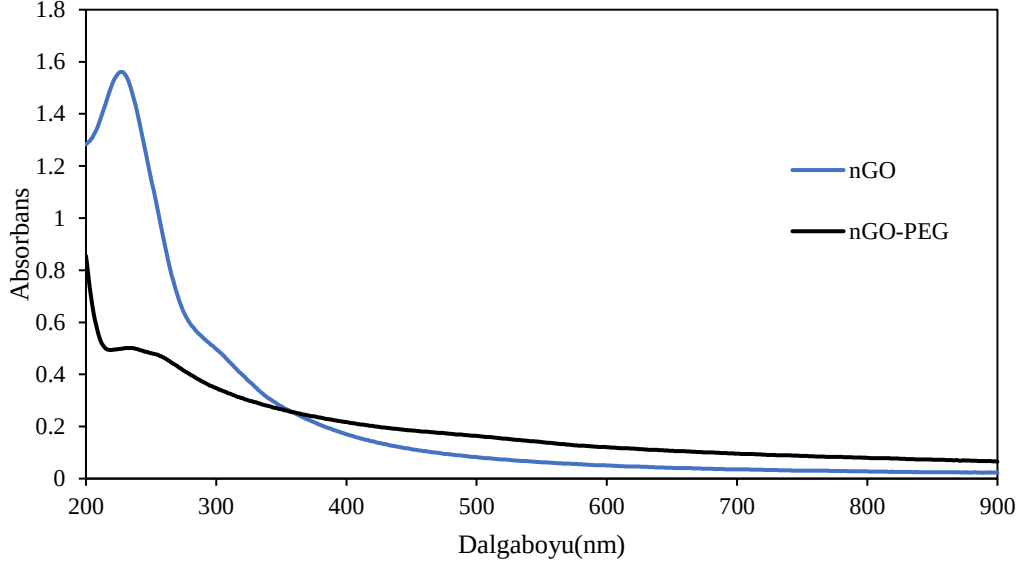
Bu tez çalışmasında Modifiye Hummers metodu ile sentezlenmiş olan grafen oksit (GO) UV-vis analizi yapılmıştır. UV-vis analizi için 0.05 mg/mL oranında GO-saf su numunesi hazırlanmıştır. Yapılan UV-vis analizleri sonucunda Şekil 7.1’de yaklaşık 232 nm ve 300 nm’de grafen oksite ait karakteristik absorpsiyon pikleri gözlenmiştir. Bu pikler anlam olarak sırasıyla aromatik (C-C) bağlarının $\pi-\pi^*$ geçişi ve (C=O) bağlarının $\pi-\pi^*$ geçişine karşılık gelmektedir [127].



Şekil 7.1. Nano grafen oksitin UV-vis grafiği

9.1.2 Sentezlenen nGO-PEG'in UV-vis analizi

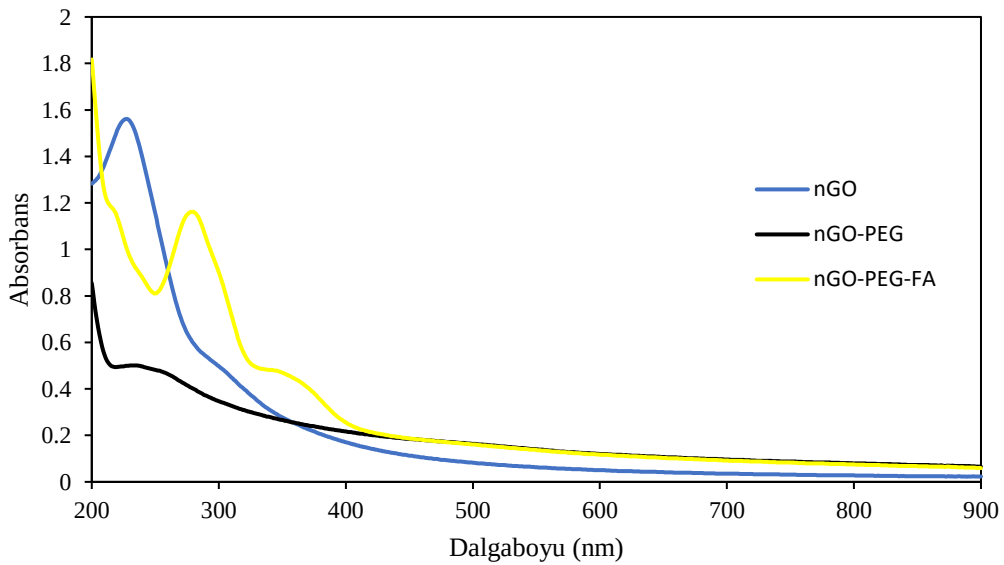
Bu tez çalışmasında, sentezlenen nGO'ya, elde edilmek istenen ilaç sisteminin dolaşımında kalma süresini ve stabilitesini arttırmak amacıyla polietilen glikol (PEG) polimeri bağlanmıştır. Bu bağlama işleminin verimliliğini kontrol etmek amacıyla analiz yöntemlerinden biri olan UV-vis analiz yöntemi kullanılmıştır. Yapılan UV-vis analizi sonucunda Şekil 7.2'de yaklaşık 200 nm'de bir pik görülmüştür. Bu sonuç, PEG-NH₂ fonksiyonel grubun nGO'ya bağlandığını göstermiştir. Ayrıca deiyonize su içerisinde aynı derişimde (0.05 mg/mL) hazırlanan bu nGO ve nGO-PEG numuneleri analizi sonucunda nGO-PEG'in nGO 'ya göre daha yüksek bir optik absorpsiyona sahip olduğu da gözlemlenmiştir. Artan optik absorpsiyon, pegilasyon işlemi sırasında bazik koşullar altında nGO'da epoksi gruplarının açılması ve esterlerin hidrolizine bağlanabilir [127].



Şekil 7.2 nGO ve nGO-PEG'ün UV-vis grafiği

9.1.3 Sentezlenen nGO-PEG-FA'in UV-vis analizi

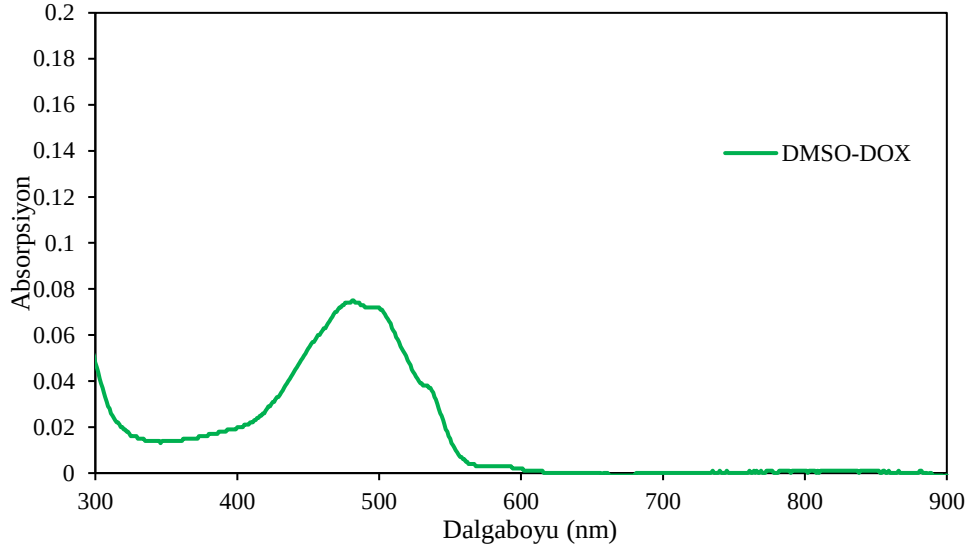
Bu tez çalışmasında sentezlenen nGO-PEG ürününe elde edilmek istenen ilaç sisteminin hedeflenmesine yardımcı olması amacıyla folik asit (FA) bağlanmıştır. Yapılan UV-vis analizi sonucunda Şekil 7.3'de 232 nm'de pikin kaybolduğu ve yaklaşık 279 nm'de folik asite ait karakteristik pikin varlığı gözlemlenmiştir. Bu karakteristik pik folik asit varlığını ortaya koymaktadır [181,185].



Şekil 7.3 nGO, nGO-PEG ve nGO-PEG-FA'in karşılatırmalı UV-vis grafiği.

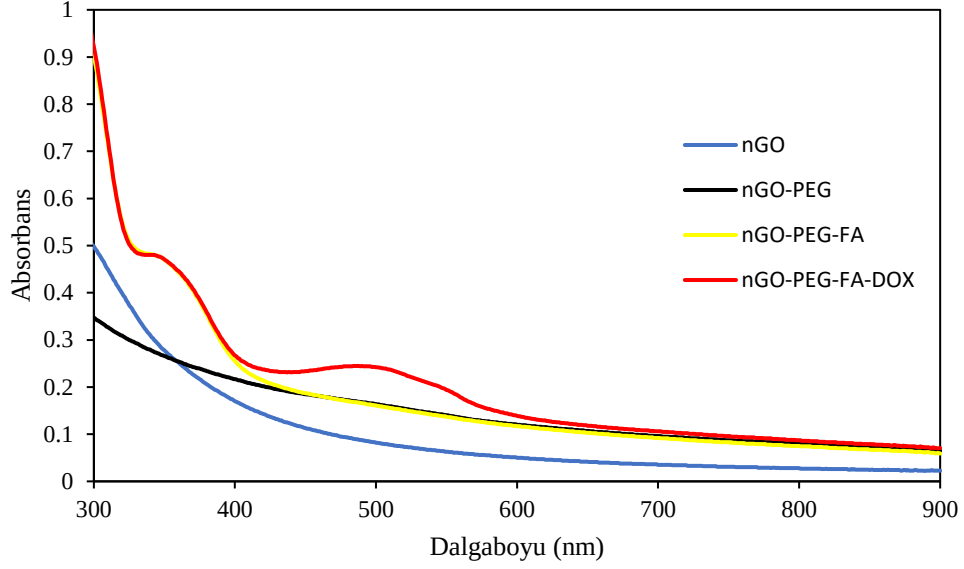
9.1.4 nGO-PEG-FA'e DOX bağlanması sonrasında UV-vis analizi

Öncelikle DOX ilacının, dimetil sülfoksit (DMSO) çözücüsü içinde UV analizi yapılmıştır ve karakteristik pik değeri literatür ile kıyaslanmıştır. Şekil 7.4'te beklenildiği gibi yaklaşık 490 nm'de karakteristik pik ortaya çıkmıştır.



Şekil 7.4 0.01mg/mL DMSO çözücüsü içerisindeki DOX'in UV-vis grafiği

Bu tez çalışmasında hedeflenen nGO-PEG-FA-DOX ilaç sistemi sentezlendikten sonra DOX'un tüm bileşenler ile doğru bir şekilde bağlandığını görebilmek için UV-vis analizi yapılmıştır. 0.05 mg/mL konsantrasyonunda hazırlanan sistemin yapılan analiz sonucunda şekil 7.5'de görüldüğü üzere 490 nm'de DOX'un karakteristik absorpsiyon piki ortaya çıkmıştır. Böylece DOX'un nGO-PEG-FA sistemine verimli yüklenmesi, bu pikin varlığı ile ortaya konulmuştur [181,186].



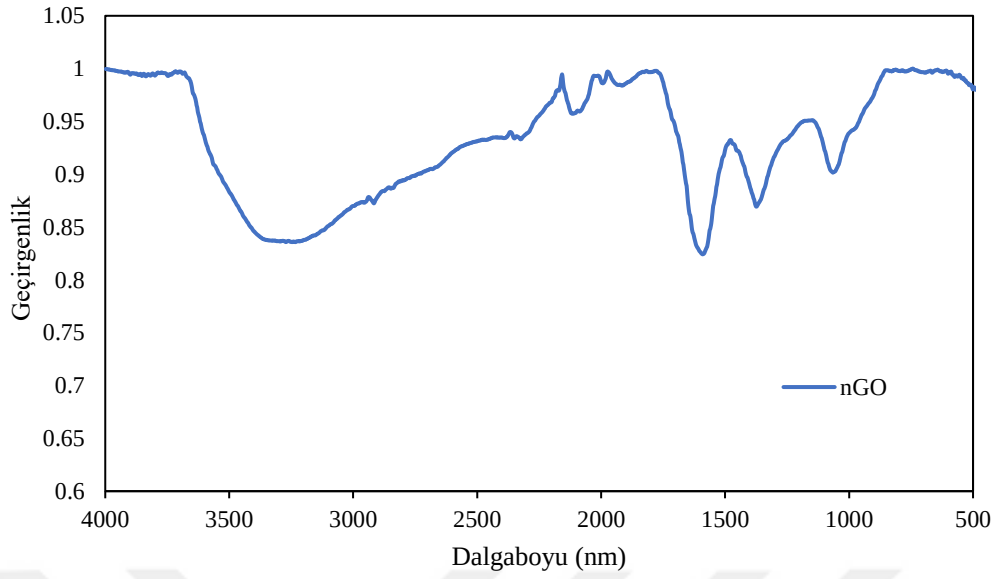
Şekil 7.5 nGO, nGO-PEG, nGO-PEG-FA ve nGO-PEG-FA-DOX'in UV-vis grafiği

9.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizleri

Katı, sıvı ve çözelti halindeki organik bileşiklerin yapılarındaki fonksiyonel gruplar, iki bileşiğin aynı olup olmadığı, yapıdaki bağların durumu, bağlanma yerleri ve yapının aromatik ya da alifatik olup olmadığı belirlenebilir. Çok çeşitli organik ve inorganik numunelerin niteliksel ve niceliksel analizlerini sunar. IR spektrumu, maddeyi oluşturan atomlar arasındaki bağların titreşimiyle oluşan frekanslarına karşılık gelen absorpsiyon pikleri ile örneğin parmak izini göstermektedir [187]. Bu tez çalışmasında sentezlenen örneklerin karakterizasyon analizi için (Bruker: Tensor II), 400–4000 cm^{-1} FT-IR spektrofotometre cihazı kullanılmıştır.

9.2.1 Modifiye Hummers Metodu ile Sentezlenen nGO'nun FT-IR Analizi

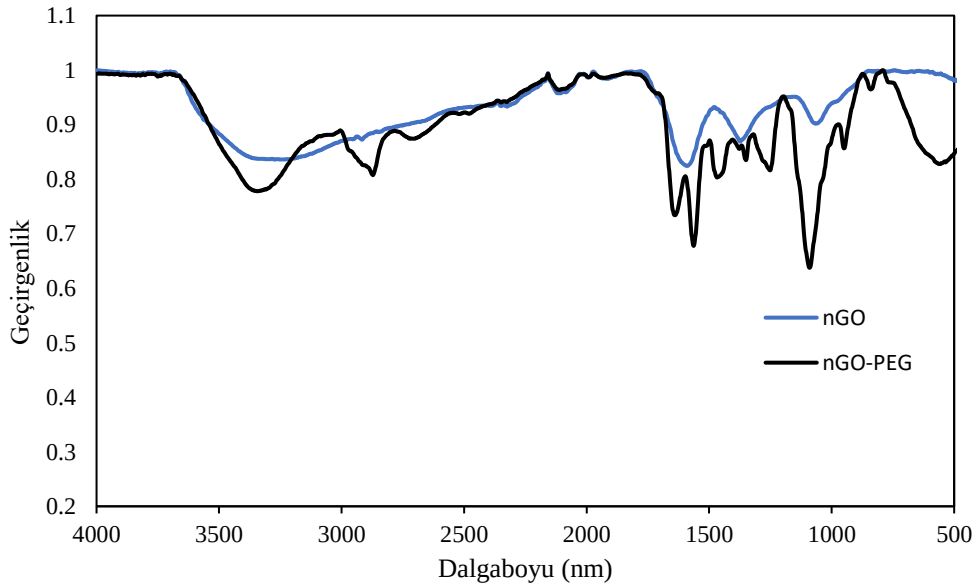
GO, karakteristik IR spektrumları sergilediğinden FT-IR spektroskopisi ile analiz edilmiştir. Bu tez çalışmasında Modifiye Hummers metodu ile sentezlenen nGO numunesinden 0.05mg katı pellet hazırlanmıştır. Şekil 8'de nGO'in FT-IR analizi sonucunda karakteristik adsorpsiyon bantları gösterilmiştir. Analiz sonucunda bu karakteristik adsorpsiyon bantları -OH ($\sim 3229 \text{ cm}^{-1}$) ve C = C ($\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$)'de fonksiyonel grupların varlığı görülmektedir. [186,188].



Şekil 8 Nano grafen oksitin FT-IR grafiği

9.2.2 Sentezlenen nGO-PEG'in FT-IR analizi

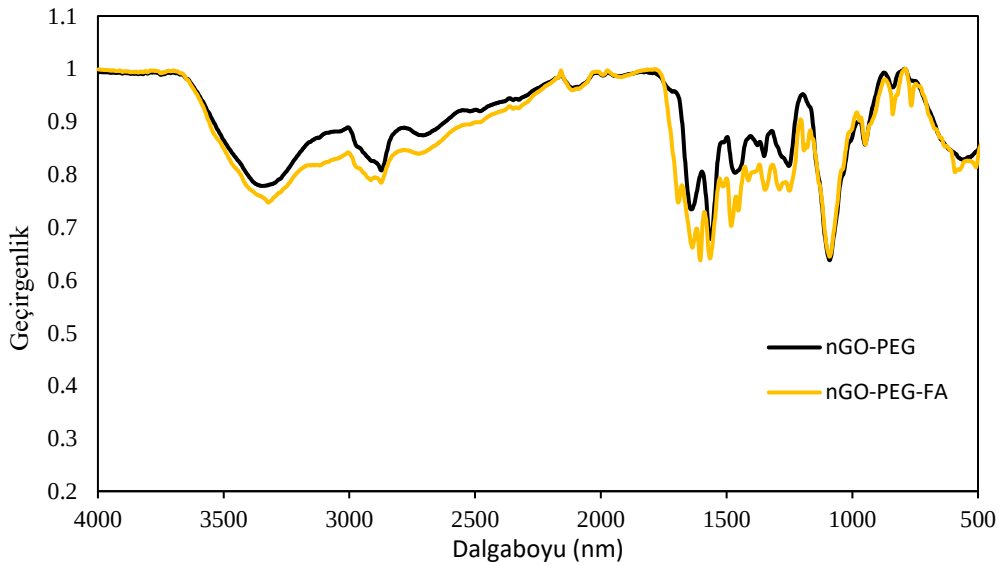
nGO'nun FT-IR analizi ile karakteristik bantları ispatlandıktan sonra PEGilasyon işlemine geçilmiştir. Şekil 8.1'de nGO-PEG'in FT-IR analizi sonucunda görülen 2865.37 cm^{-1} ($-\text{CH}_2-$), 1635.92 cm^{-1} ($-\text{NH}-\text{CO}-$) ve 1088.24 cm^{-1} ($-\text{C}-\text{O}-$) zirveleri PEG'in nGO'ya başarıyla bağlandığını göstermiştir [190].



Şekil 8.1 nGO ve nGO-PEG'ün karşılaştırmalı FT-IR grafiği

9.2.3 Sentezlenen nGO-PEG-FA'nın FT-IR analizi

Bu tez çalışmasında ilaç sisteminin hedeflenmesine yardımcı olması amacıyla folik asit kullanılmıştır. Şekil 8.2'de nGO-PEG-FA ürününün bantları şekil 8 ve şekil 8.1'e kıyasla çok daha fazla olduğu görülmüştür, bu da her iki GO yüzünün tam işlevselliği sayesinde bu nano yapının daha yüksek türevlendirme derecesini doğruladığı anlaşılmıştır. GO örnekleri için absorpsiyon piklerinin, folik asitte fonksiyonelleştirme derecesine göre artması, GO-PEG-FA örneği için daha yüksek fototermal dönüşümü ifade etmesi dikkate değerdir [185]. 3317.49 cm^{-1} (OH), 2912.43 cm^{-1} (O-CH₂), 1661.60 cm^{-1} (C=O), 1608.83 cm^{-1} (C=C), 1603.12 cm^{-1} (CONH) ve 1480.46 cm^{-1} (COO⁻) konjuge edilmiş folik asitin nGO-PEG tabakalarına kovalent olarak bağlandığını göstermiştir. [185].



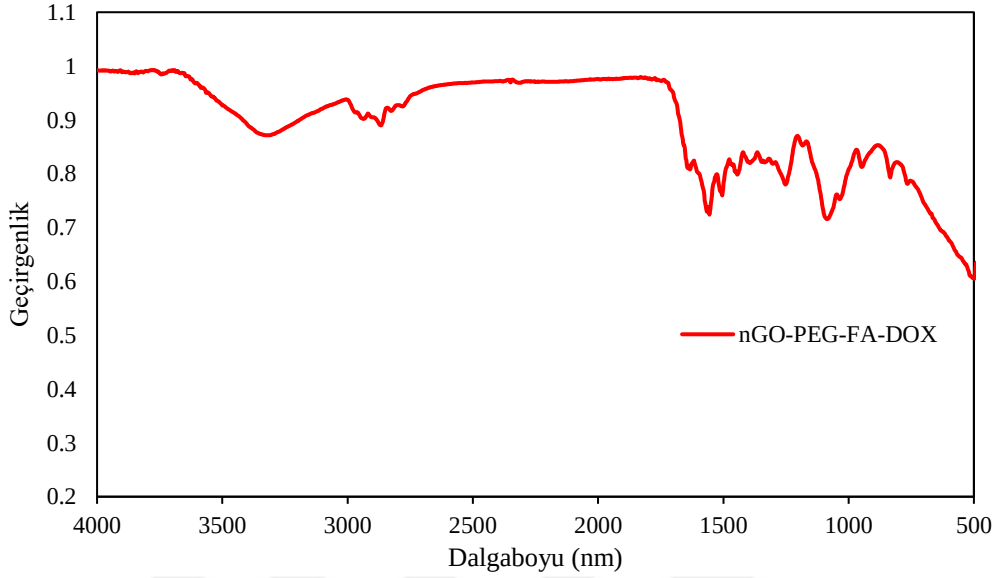
Şekil 8.2 nGO-PEG ve nGO-PEG-FA'nın karşılaştırmalı FT-IR grafiği

9.2.4 Sentezlenen nGO-PEG-FA-DOX'un FT-IR analizi

Saf DOX için FT-IR spektrumu, 3410 cm^{-1} , 2925 cm^{-1} , 2374 cm^{-1} , 1630 cm^{-1} , 1409 cm^{-1} ve 1065 cm^{-1} 'de çok sayıda pik gösterir [190]. Bu farklı pikler, doksorubisin ilacının farklı kinon ve keton karbonillerine karşılık gelir. Bununla birlikte, bu bantlardan hangisinin kinin ve keton olduğunu tanımlamak zordur çünkü her ikisinin de karbonil grupları içermektedir. 890 ve 772 cm^{-1} 'deki pik noktaları, sırasıyla birincil amin (-NH₂) ve (N-H) bağlarından kaynaklanmaktadır [190].

944.36 cm^{-1} ve 1554.23 cm^{-1} 'deki bantlar, DOX'un keton grubu ve benzokinonil grubuna aittir. DOX üzerindeki 1728 cm^{-1} (C=O), 2865.74 cm^{-1} (C-H) ve 3294.07 cm^{-1} (O-H),

gruplarına aittir. Şekil 8.3’de nGO-PEG-FA-DOX’un FTIR spektrumu C=O-N-H element grubunun (1654cm^{-1}) pikini göstermiştir ve konjugasyonun başarısını doğrulamıştır. [186].



Şekil 8.3 nGO-PEG-FA-DOX’in FT-IR grafiği

9.3 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), odaklanmış bir elektron demeti ile numune yüzeyini tarayarak görüntü elde eden bir elektron mikroskop tipidir. Elektronlar numunedeki atomlarla etkileşerek numune yüzeyindeki topografi ve kompozisyon hakkında bilgiler içeren farklı sinyaller üretir. Elektron demeti tarama ile yüzeyi tarar ve demetin konumu, algılanan sinyalle eşleştirilerek görüntü oluşturulur. Bu deneyde nano ilaç taşıyıcı sistem morfolojilerini ölçmek için bir taramalı elektron mikroskobu (TESCAN MIRA3 XMU) kullanılmıştır.

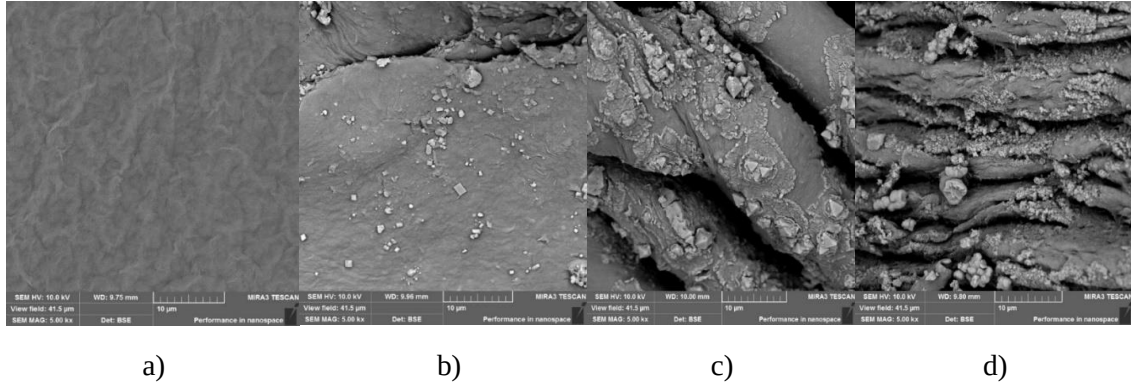
9.3.1 nGO-PEG-FA-DOX ürününün SEM analizleri

Modifiye Hummers metodu ile elde edilen yüzey nGO'un Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüsü Şekil 9a)'da gösterilmiştir. nGO nano tabakalarının, yüzeyinde kırışıklıklar ve kıvrımlar ile de gözlenen, rasgele toplanmış ince tabakalardan oluştuğu gözlemlenmiştir. Böylece sentezlenen nGO'nun iki boyutlu nano tabakalarının, Modifiye Hummers metodu ile başarılı bir şekilde üretilebildiği doğrulanmıştır.

Şekil 9b)'de nGO-PEG'in SEM görüntüsünü gösterilmiştir. PEG moleküler zinciri nGO ile bağlama işleminden sonra, PEG polimerinin, nGO yüzeyini pul pul kapladığı pürüzsüz yüzey tespit edilmiştir. Sonuç olarak, grafen levhalar üzerindeki PEG konjugatının başarıyla bağlandığı gösterilmiştir [191].

Şekil 9c)'de nGO-PEG-FA'nin SEM görüntüsü elde edilmiştir. Folik asitin, nGO-PEG yüzeyine kovalent olarak bağlı folik asit zincirleri taşıyan tamamen bağlanmış bir nGO-PEG-FA ürünü olduğu gözlemlenmiştir [185].

nGO-PEG-FA-DOX'un SEM görüntüsü Şekil 9d)'deki gibi gösterilmiştir. nGO-PEG-FA yüklü ürün, DOX'suz düzensiz şekiller göstermiştir. Bununla birlikte, bağlanmış PEG ve folik asit taneciklerinin boyutunun ilacın yüklenmesinden sonra küçüldüğü gözlemlenmiştir. Bunun nedeni, PEG, folik asit ve DOX arasındaki güçlü hidrojen bağı kuvvetlerinin parçacık boyutunu küçültmesi olarak yorumlanmıştır [192].



Şekil 9 a) 41.5 μm 'de nGO'nun SEM görüntüsü, **b)** 41.5 μm 'de nGO-PEG'in SEM görüntüsü **c)** 41.5 μm 'de nGO-PEG-FA'nin SEM görüntüsü, **d)** 41.5 μm 'de nGO-PEG-FA-DOX SEM görüntüsü.

9.4 ZETA Analizi

Zeta potansiyeli; tanecikler arasındaki itme veya çekme değeri ölçümüdür. Malzemelerdeki, kimyasal reaktivite, akışkanlık gibi özellikler ve malzeme mukavemeti, malzemelerin

içindeki tanecik boyutu karakteristiklerine bağlıdır. Zeta potansiyel kısaca parçacık ile içinde bulunduğu sıvı arasında oluşmaktadır. Bir sıvı içerisindeki aynı yükteki parçacıklar birbirlerini iter, farklı yükteki parçacıklar ise çeker. Bu çekme ve itme kuvveti parçacığın zeta potansiyel değerine bağlıdır. Zeta potansiyel parçacığın içinde bulunduğu sıvının pH değeri ile değişir. Değişimin sıfır eksenini kestiği pH değeri izoelektrik nokta olarak adlandırılır [193].

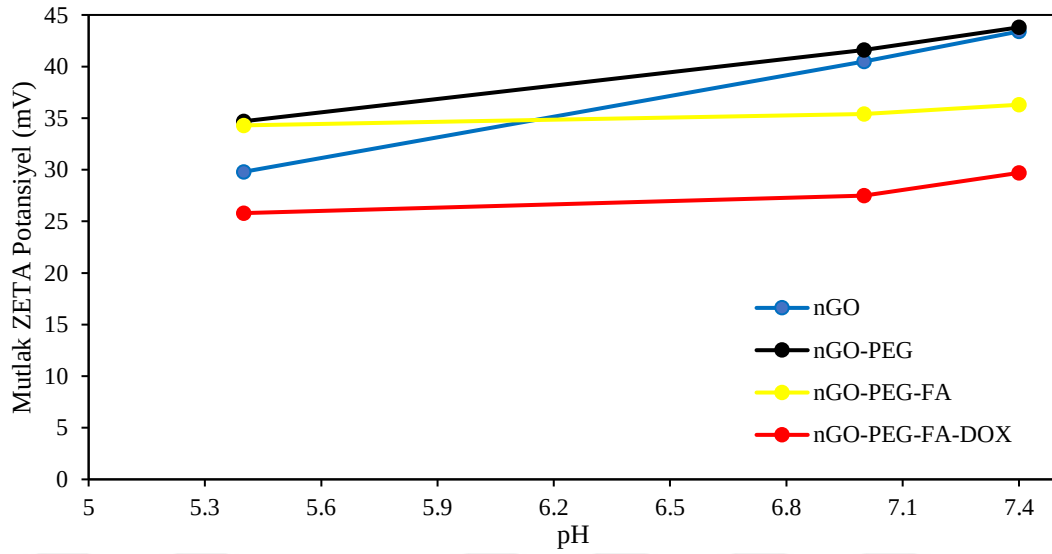
pH arttıkça, negatif yüklü radikaller oluşturmak için daha fazla karboksilik asit ve hidroksil grubu iyonize edilir. Sonuç olarak, grafen oksit tabanlı malzemelerin yüzey yükü daha negatif hale gelir [194]. Bu çalışmada farklı derişimlerde ve koşullar altında sentezlenen grafen tabanlı nano ilaç taşıyıcı sistemin zeta potansiyel değerleri Şekil 10’da gösterilen Mavern Zetasizer Nano Z cihazı ile ölçülmüştür.



Şekil 10 Malvern Zetasizer Nano Z cihazı

9.4.1 nGO-PEG-FA-DOX ilaç taşıyıcı sistemin ZETA analizi

Yapılan zeta ölçümleri esnasında veriler negatif sonuçlar vermiştir. Bu negatif yük, pH değişikliklerine yanıt olarak karboksilik asit gruplarının iyonlaşmasına atfedilebilir [196]. pH 7.4 ve 5.3 ‘de, sentezlenen ilaç taşıyıcı sistemin Şekil 11’de nGO, nGO-PEG, nGO-PEG-FA ve nGO-PEG-FA-DOX ürünlerinin ölçülen zeta potansiyel değerlerinin grafiği mutlak değer alınarak gösterilmiştir.



Şekil 11 nGO, nGO-PEG, nGO-PEG-FA ve nGO-PEG-FA-DOX'in mutlak içindeki ZETA analizleri grafiği

Yüzey yükündeki değişimi araştırmak için tüm numunelerin farklı pH seviyelerindeki zeta potansiyelleri ölçülmüştür. Yeterince küçük moleküller ve parçacıklar için, yüksek zeta potansiyeli kararlılık sağlayacaktır, yani çözelti veya dağılım topaklaşmaya direnecektir ama potansiyel küçük olduğunda, çekici kuvvetler bu itmeyi aşabilir ve dağılım kırılabilir ve topaklanabilir, bu nedenle, yüksek potansiyelli (negatif veya pozitif) kolloidler elektriksel olarak stabilize edilirken, düşük potansiyelli kolloidler pıhtılaşma veya topaklanma eğilimindedir [196]. nGO tabanlı ilaç taşıyıcı sistemlerin farklı sentez aşamalarında zeta potansiyellerinin aynı indirgeme derecesinde artan pH ile arttığını gözlemlenmiştir. pH arttıkça, negatif yüklü radikaller oluşturmak için daha fazla karboksilik asit ve hidroksil grubu iyonize edilir. Sonuç olarak, grafen oksit tabanlı malzemelerin yüzey yükü daha negatif hale gelir [194]. Bu da bize göstermektedir ki sentezlenen ürünler daha yüksek pH 7.4 'de stabilite açısından en uygun ortamı sağladığı gözlemlenmiştir. Ayrıca zeta stabilitesine göre DOX'un en az stabiliteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bunun nedeni de DOX'un sisteme eklenmesi sonucunda sistemde molekül ve parçacık sayısı arttığı için pıhtılaşma ve topaklanmaya daha yatkın olma durumuna düşmesi olarak yorumlanmıştır.

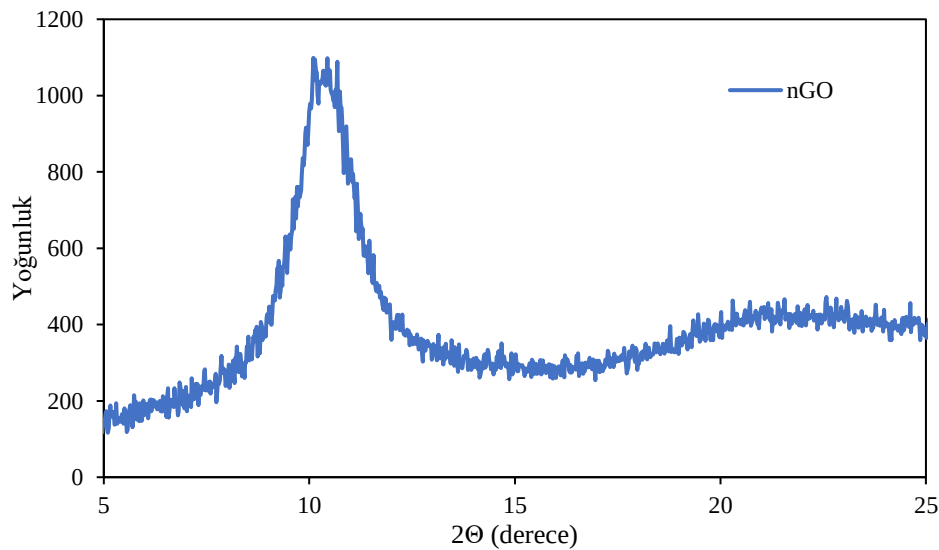
9.5 X-Işını Difraktometresi (XRD) Analizi

X-Işını Kırınım yöntemi (XRD), her bir kristalin fazın kendine özgü atomik dizilimlerine bağlı olarak, X-ışınlarını karakteristik bir düzen içerisinde kırması esasına dayanır. Her bir kristalin faz için bu kırınım profilleri bir nevi parmak izi gibi o kristali tanımlar. Çok az miktardaki numunelerin dahi analizlerinin yapılmasını sağlar. X-Işını Kırınım cihazıyla geniş çapta ürünlerin nitel ve nicel analizleri yapılabilir [197].

9.5.1 nGO'nun XRD analizi

X-Işını Kırınım yöntemi (XRD), her bir kristalin fazın kendine özgü atomik dizilimlerine bağlı olarak, X-ışınlarını karakteristik bir düzen içerisinde kırması esasına dayanır ve her bir kristalin faz için bu kırınım profilleri bir nevi parmak izi gibi o kristali tanımlar [198]. X-Işını Kırınım analiz metodu, numuneye analiz esnasında zarar vermez ve az miktarda numune ile analiz kolaylığı sağlar. X-Işını Kırınım analiz metodu ile nitel ve nicel analizler yapılabilmektedir.

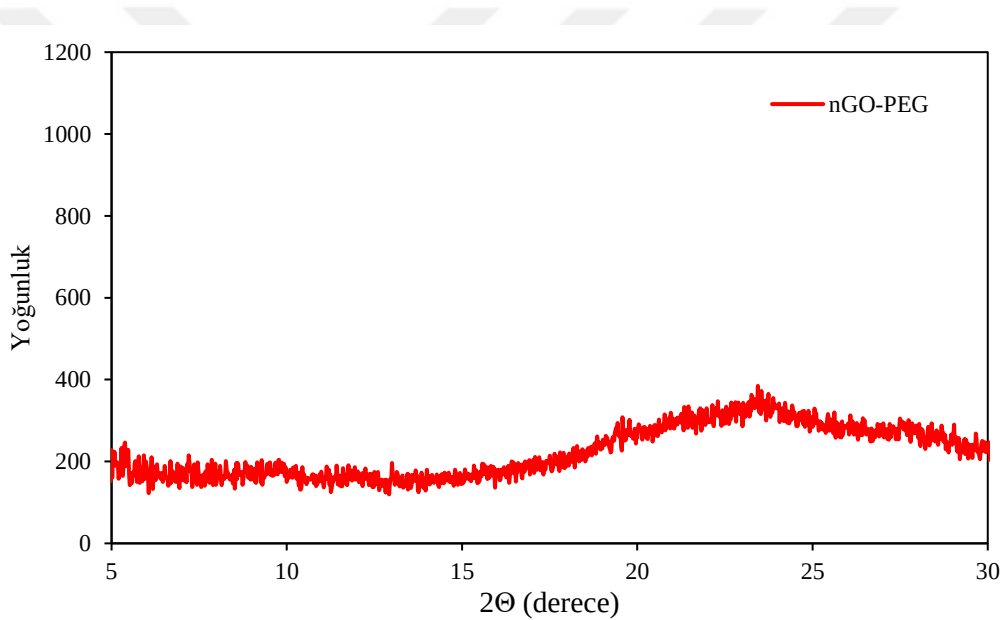
nGO-PEG-FA-DOX sisteminin kristalleşme davranışını analiz etmek için oda sıcaklığında XRD ile analiz edilmiştir. İlk olarak nGO materyalinin analizini göz önüne aldığımızda nGO'nun XRD kırınım modelinden, Şekil 12'de nGO'nun $2\theta = 10.4^\circ$ civarında bariz bir kırınım pik noktasına sahip olduğu görülmüştür ve bu tepe, nGO'nun (001) kristal düzlem kırınım pik noktasına karşılık geldiği gözlenmiştir [199]. Kristal düzlem aralığı Bragg formül kırınım denkleminde $2d\sin\theta = \lambda$ hesaplanmıştır



Şekil 12 nGO'nun XRD analiz verileri grafiği.

9.5.2 nGO-PEG XRD analizi

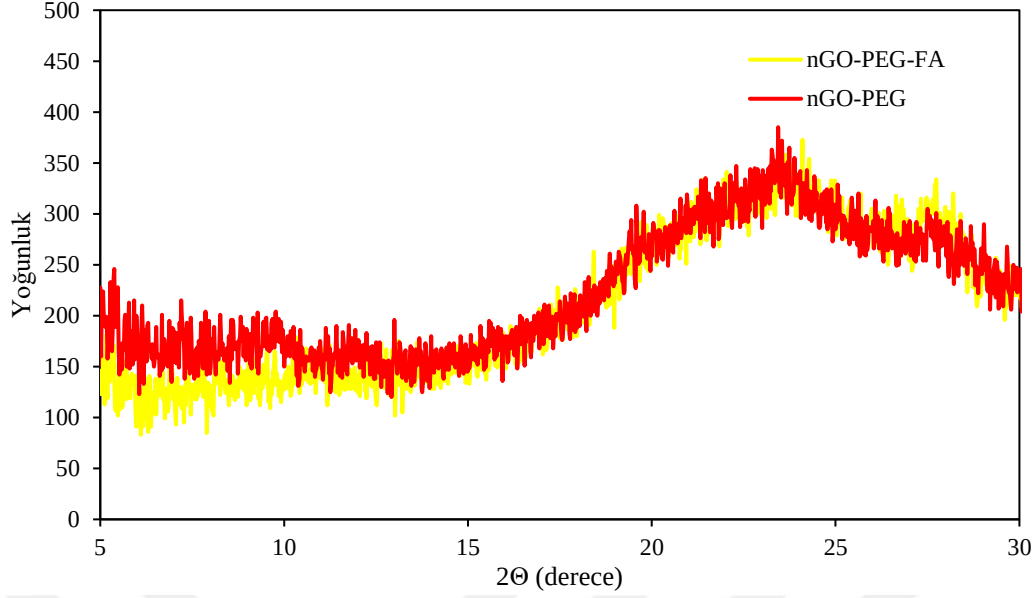
İkinci olarak, sentezlenmiş nGO-PEG kombinasyonunun XRD analizine bakıldığında XRD kırınım modelinden, grafenin kırınım pik noktasının pozisyonunun sola kaydırıldığı görülmüştür ve $2\theta = 10.4^\circ$ 'lik tepe değeri yaklaşık $5-6^\circ$ 'ye düşürülmüştür, bu da hesaplanan katman aralığına karşılık gelen yaklaşık 14.7 nm'dir. Dahası, PEG moleküllerinin GO tabakalarına dağılması, nGO'nun aralığının tekrar genişletilmesini sağlamıştır. Aynı zamanda, $2\theta = 19.2^\circ$ ve 23.5° civarındaki kırınım tepe noktaları nGO-PEG kombinasyonunun daha yüksek kristallığe sahip olduğunu göstermiştir. Bu, PEG moleküllerinin hidrojen bağıyla GO yüzeyindeki oksijen içeren fonksiyonel gruplarla etkileşime girebileceğini kanıtlamıştır. [199].



Şekil 12.1 nGO-PEG'ün XRD analiz verileri grafiği

9.5.3 nGO-PEG-FA XRD analizi

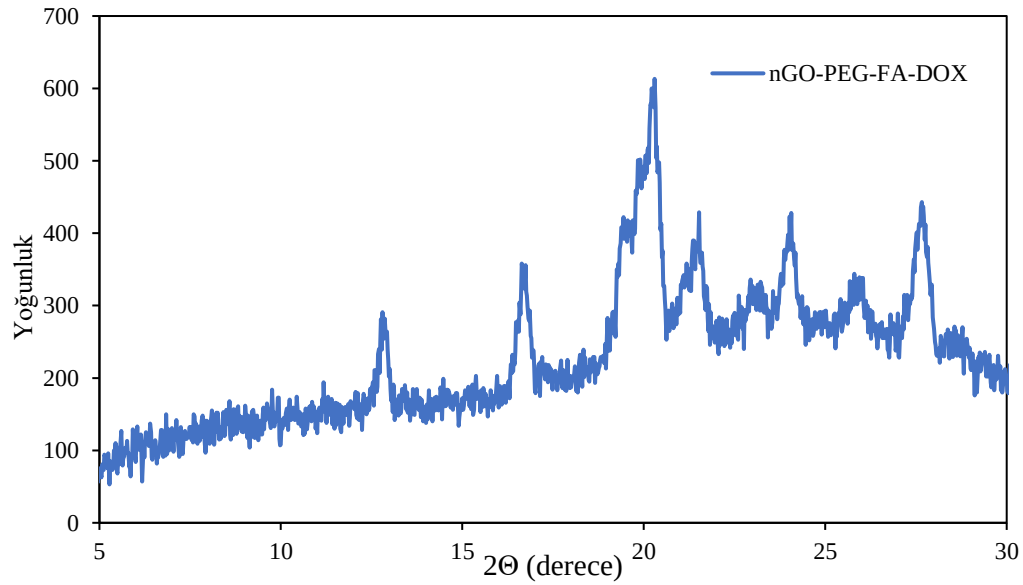
Üçüncü olarak, sentezlenen nGO-PEG-FA ile XRD analiz sonucunda $2\theta = 27.72^\circ$ 'lik pik değeri görülmüştür. Şekil 12.2'deki gibi gösterilmiştir.



Şekil 12.2 nGO-PEG ve nGO-PEG-FA’ın karşılaştırmalı XRD analiz verileri grafiği

9.5.4 nGO-PEG-FA-DOX XRD analizi

Son olarakta nGO-PEG-FA-DOX’un XRD analizi sonucu Şekil 12.3’deki gibi sonuçlanmıştır. $2\theta = 12.92$, $2\theta = 16.7$, $2\theta = 20.32$, $2\theta = 21.54$, $2\theta = 24.06$, $2\theta = 27.72$ ’ de pik değerleri gözlemlenmiştir.



Şekil 12.3 nGO-PEG-FA-DOX’in XRD analiz verileri grafiği

9.6 İlaç Salınımı Analizleri

Seyreltme ve kalibrasyonlar, fosfat tamponlu su (PBS) içinde yapılmıştır. DOX yüklü GO-PEG-FA'nın salım hızı, numuneyi 37 °C' de 50 ml PBS' ye ve pH 5.3'e (kanser hücrelerinin endozomal pH'ı) ve pH 7.4 koşullarında (fizyolojik pH) diyaliz ederek belirlenmiştir. 6 saat aralıklarla, diyalizat, taze PBS ile değiştirilmiş ve salınan ilacın konsantrasyonu, UV-vis spektrofotometre ile ölçülmüştür.

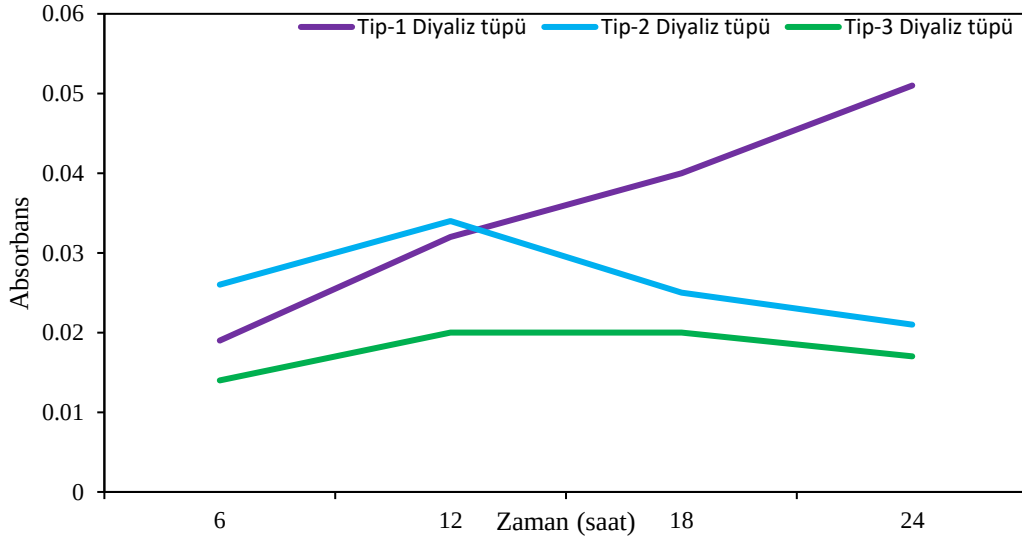
500ml PBS çözeltisi hazırlamak için 400ml saf su içerisine sırasıyla, NaCl (4g-0.137M), KCl (100mg-0.0027M), Na₂HPO₄ (720mg-0.01M), KH₂PO₄ (120mg-0.0018M) eklenmiştir ve 100ml saf su daha eklenerek 500ml'ye tamamlanmıştır.

DOX'un UV-vis'de karakteristik pik verdiği 490nm baz alınarak salınım en uygun diyaliz tüpü tipi seçimi için yapılan 6, 12, 18, 24 saatlik salınım analizleri Şekil 13'te gösterilen düzenekteki gibi yapılmıştır.



Şekil 13 Diyaliz tüpü tipi seçimi için kurulan deney düzeneği

Yapılan analizler sonucunda Şekil 13.1’de gözüktüğü gibi tip-1 diyaliz tüpü salınım koşulları için en iyi absorbands değerlerini verdiği gözlemlenmiştir.



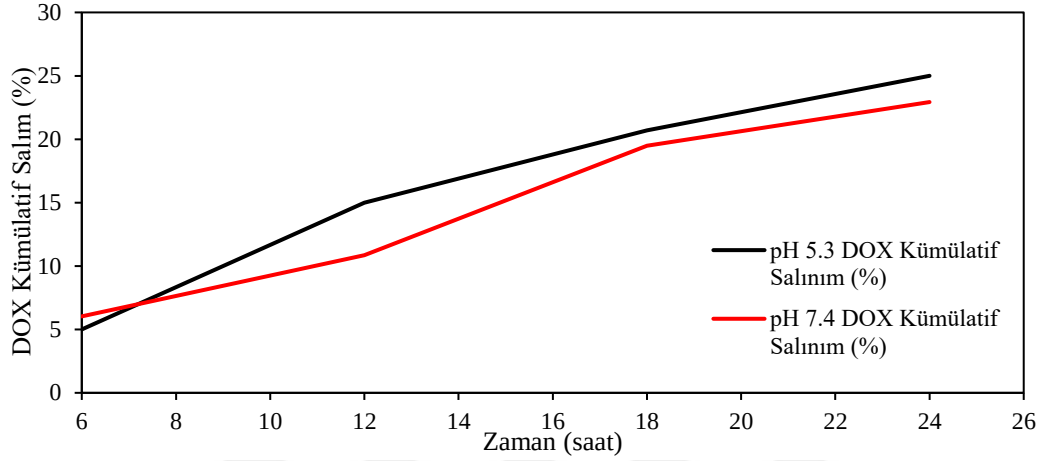
Şekil 13.1 Diyaliz tüpü seçimi için 6 saatlik periyotlar ile yapılan salınım analiz sonuçları grafiği.

Yapay ortamda ilaç salımı çalışmaları için GO-PEG-FA-DOX, tip-1 diyaliz tüpüne yerleştirilmiştir. Daha sonra pH 7.4'te (25mL) PBS içine daldırılmış ve 6 saat aralıklarla manyetik karıştırıcılarda 100 rpm altında 37 °C'de inkübe edilmiştir. Programlanan zaman aralıklarında diyaliz tüpü dışındaki çözelti eşit miktarda taze PBS ortamı ile değiştirilmiştir. Açığa çıkan DOX miktarı, her numunenin absorbandsı ölçülerek değerlendirilmiştir. Aynı süreç PBS pH 5.3 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler sonucunda DOX'un Kümülatif salınım yüzdesi şu formülle hesaplanmıştır [200].

$$Kümülatif\ DOX\ Salınım\ (\%) = \frac{Salınan\ ilaç\ miktarı}{Sistemde\ yüklü\ ilaç\ miktarı} \times 100 \dots [200]$$

Yapılan analizler sonucunda 24 saat sonunda pH 7.4'te nGO-PEG-FA-DOX sisteminin ilaç salınımı %22.93 olarak hesaplanmıştır. Aynı şekilde 24 saat sonunda pH 5.3'te nGO-PEG-FA-DOX sisteminin ilaç salınımı %25 olarak hesaplanmıştır. Tüm analiz yapılan saatlik periyotlara bakıldığında pH 5.3'teki salınım yüzdeleri pH 7.4'e göre daha fazla ilaç salındığını göstermiştir. Düşük pH koşullarında, DOX üzerindeki amino grubunun

protonlandığını ve hidrofilikliğinin arttığını, böylece DOX'un nGO tabanlı ilaç taşıyıcı sistemden daha kolay ayrıldığına ve DOX ile nGO'lu ilaç taşıyıcı sistemin hidrojen bağlanma etkileşimi asit durumunda zayıfladığı ve bununla DOX salınımını teşvik ettiği sonucuna varılmıştır [194]. Tüm bu faktörler, nGO-PEG-FA-DOX sisteminin pH hassasiyetine duyarlı olduğunu göstermiştir. pH 5.3 ve pH7.4'deki PBS içinde DOX'un zamana karşı % Kümülatif Salınım grafiği Şekil 14'deki gibi gösterilmiştir.



Şekil 14 pH 5.3 ve 7.4'teki PBS içinde DOX'un zamana karşı %Kümülatif Salınım grafiği

Sonuç olarak hem tümörlerin hücre dışı dokularındaki mikro ortamlar hem de hücre içi lizozomlar ve endozomlar asidik olduğundan pH 5.3'e bağlı ilaç salınımı kontrollü ilaç verme uygulamaları için kullanılabilir [200,201].

10. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında modifiye Hummers yöntemiyle nGO nanoparçacıklarının sentezlenmiş ve sentezlenen bu nanoparçacıklara PEG ve FA bağlanarak DOX ile konjuge edilmiştir. Elde edilen nGO-PEG-FA-DOX ilaç sistemi UV-vis, FT-IR, ZETA VE XRD ile karakterize edilmiş ve kararlılığı gözlenmiştir. pH 5.3 ve 7.4’de ki PBS ortamları içerisinde karakteristik salınım analizleri yapılmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

- Grafen Oksit (GO) nanomalzeme modifiye Hummers metodu kullanılarak sentezlenmiştir.
- Nanografen Oksit (nGO) nanomalzemeye PEG polimeri başarılı bir şekilde bağlanmıştır.
- İlacın yan etkilerinin azaltılması için hedefli bir nanotaşıyıcı sistem sentezlemek üzere folik asit nGO-PEG ile başarılı bir şekilde konjuge edilmiştir.
- Son olarak çeşitli kanserleri tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan kemoterapi ilacı olan DOX nGO-PEG-FA’ye bağlanmıştır.
- nGO, nGO-PEG, nGO-PEG-FA ve nGO-PEG-FA-DOX nanomalzemelerinin eldesi karakterizasyon analizleri yapılmıştır ve sonuçlar yorumlanmıştır.
- Hazırlanan nGO-PEG-FA-DOX pH 5.3 asidik ortamında pH 7.4’e kıyasla daha iyi bir kararlılık ve salınım sergilemiştir. Bu sonuç yapılan tez çalışması sonucunda çok değerlidir. Çünkü hem tümörlerin hücre dışı dokularındaki mikro ortamlar hem de hücre içi lizozomlar ve endozomlar asidik olduğundan sentezlenen ilacın tümör mikro çevresinde diğer dokulara kıyasla daha iyi salınabileceği ortaya konulmuştur.

Bu tez çalışması devamında, elde edilen nanotaşıyıcı tabanlı ilacın hem in vitro hem de in vivo çalışılarak daha ileriki zamanlarda kullanılabilecek daha stabil ve etkili bir ilaç adayı formuna dönüştürülmesi planlanmaktadır.

11.KAYNAKLAR

- [1] **Cairns, J.** (1985). The treatment of diseases and the war against cancer. *Scientific American* 253, 51–59.
- [2] **Wang, X., Yang, L., Chen, Z. & Shin, D. M.** (2008). Application of nanotechnology in cancer therapy and imaging. *CA: a cancer journal for clinicians* 58, 97–110.
- [3] **Organization, W. H. International Agency for Research on Cancer. World Cancer Report.** Lyon (2003). Edited by: Stewart BW, Kleihues P. IARC Press, Lyon.
- [4] **Reichert, J. M. & Wenger, J. B.** (2008). Development trends for new cancer therapeutics and vaccines. *Drug discovery today* 13, 30–37.
- [5] **Zou, W.** (2005). Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nature reviews cancer* 5, 263–274.
- [6] **Misra, R., Acharya, S. & Sahoo, S. K.** (2010). Cancer nanotechnology: application of nanotechnology in cancer therapy. *Drug discovery today* 15, 842–850.
- [7] **Singhal, S., Nie, S. & Wang, M. D.** (2010). Nanotechnology applications in surgical oncology. *Annual review of medicine* 61, 359–373.
- [8] **Patra, H. K. & Turner, A. P.** (2014). The potential legacy of cancer nanotechnology: cellular selection. *Trends in biotechnology* 32, 21–31.
- [9] **Das, M., Mohanty, C. & Sahoo, S. K.** (2009). Ligand-based targeted therapy for cancer tissue. *Expert opinion on drug delivery* 6, 285–304.
- [10] **Parhi, P., Mohanty, C. & Sahoo, S. K.** (2012). Nanotechnology-based combinational drug delivery: an emerging approach for cancer therapy. *Drug discovery today* 17, 1044–1052.
- [11] **Krishna, R. & Mayer, L. D.** (2000). Multidrug resistance (MDR) in cancer: mechanisms, reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 11, 265–283.
- [12] **Fan, D. et al.** (1994). Reversal of multidrug resistance in murine fibrosarcoma cells by thioxanthene flupentixol. *Investigational new drugs* 12, 185–195.
- [13] **Sevick, E. M. & Jain, R. K.** (1989). Geometric resistance to blood flow in solid tumors perfused ex vivo: effects of tumor size and perfusion pressure. *Cancer research* 49, 3506–3512.
- [14] **Jain, R. K.** (1987). Transport of molecules in the tumor interstitium: a review. *Cancer research* 47, 3039–3051.
- [15] **Demant, E. J., Sehested, M. & Jensen, P. B.** (1990). A model for computer simulation of P-glycoprotein and transmembrane Δ pH-mediated anthracycline transport in multidrug-resistant tumor cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1055, 117–125.
- [16] **Hong, E. & Dobrovolskaia, M. A.** (2019). Addressing barriers to effective cancer immunotherapy with nanotechnology: achievements, challenges, and roadmap to the next generation of nanoimmunotherapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews* 141, 3–22.
- [17] **Patil, Y. B., Swaminathan, S. K., Sadhukha, T., Ma, L. & Panyam, J.** (2010). The use of nanoparticle-mediated targeted gene silencing and drug delivery to overcome tumor drug resistance. *Biomaterials* 31, 358–365.
- [18] **Wang, X., Yang, L., Chen, Z. (Georgia) & Shin, D. M.** (2008). Application of Nanotechnology in Cancer Therapy and Imaging. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 58, 97–110

- [19] **Liang, X.-J., Chen, C., Zhao, Y. & Wang, P. C.** (2010). Circumventing tumor resistance to chemotherapy by nanotechnology. in *Multi-Drug Resistance in Cancer* 467–488 (Springer).
- [20] **Gottesman, M. M.** (2002). Mechanisms of cancer drug resistance. *Annual review of medicine* 53, 615–627.
- [21] **Harrod-Kim, P.** (2006). Tumor ablation with photodynamic therapy: introduction to mechanism and clinical applications. *Journal of Vascular and Interventional Radiology* 17, 1441–1448.
- [22] **Dolmans, D. E., Fukumura, D. & Jain, R. K.** (2003). Photodynamic therapy for cancer. *Nature reviews cancer* 3, 380–387.
- [23] **Allison, R. R.** (2014). Photodynamic therapy: oncologic horizons. *Future Oncology* 10, 123–124.
- [24] **Gudgin, D. E., Goyan, R. L. & Pottier, R. H.** (2002). New directions in photodynamic therapy. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)* 48, 939.
- [25] **Url-1** <<https://tek.link/Omdq>>, alındığı tarih: 22.07.2020.
- [26] **Eriksson, D. & Stigbrand, T.** (2010). Radiation-induced cell death mechanisms. *Tumor Biology* 31, 363–372.
- [27] **Berek, J. S. & Bast Jr, R. C.** (2003). Epithelial ovarian cancer. in *Holland-Frei Cancer Medicine. 6th edition* (BC Decker).
- [28] **Zhu, C. et al.** (2017). Alpha-particle radiotherapy: For large solid tumors diffusion trumps targeting. *Biomaterials* 130, 67–75.
- [29] **Okada, T. et al.** (2010). Carbon ion radiotherapy: clinical experiences at National Institute of Radiological Science (NIRS). *Journal of radiation research* 1005260152–1005260152.
- [30] **Sartor, O., Maalouf, B. N., Hauck, C. R. & Macklis, R. M.** (2012). Targeted use of alpha particles: current status in cancer therapeutics. *J Nucl Med Radiat Ther* 3, 2.
- [31] **BIGNOLD, L. P.** (2006). Alkylating agents and DNA polymerases. *Anticancer research* 26, 1327–1336.
- [32] **Xu, Z., Zhen, B., Park, Y. & Zhu, B.** (2017). Designing therapeutic cancer vaccine trials with delayed treatment effect. *Statistics in medicine* 36, 592–605.
- [33] **Hollingsworth, R. E. & Jansen, K.** (2019). Turning the corner on therapeutic cancer vaccines. *NPJ vaccines* 4, 1–10.
- [34] **Füzéry, A. K., Levin, J., Chan, M. M. & Chan, D. W.** (2013). Translation of proteomic biomarkers into FDA approved cancer diagnostics: issues and challenges. *Clinical proteomics* 10, 13.
- [35] **Duffy, M. J.** (2013). Tumor markers in clinical practice: a review focusing on common solid cancers. *Medical Principles and Practice* 22, 4–11.
- [36] **Mordente, A., Meucci, E., Martorana, G. E. & Silvestrini, A.** (2015). Cancer biomarkers discovery and validation: state of the art, problems and future perspectives. in *Advances in Cancer Biomarkers* 9–26 (Springer).
- [37] **Webster, T. J.** (2007). IJN's second year is now a part of nanomedicine history! *International journal of nanomedicine* 2, 1.
- [38] **Binnig, G., & Rohrer, H.** (1983). Scanning tunneling microscopy. *Surface science*, 126(1-3), 236-244.
- [39] **Binnig, G., Quate, C. F., & Gerber, C.** (1986). Atomic force microscope. *Physical review letters*, 56(9), 930.
- [40] **Feynman, R. P.** (1960). There's plenty of room at the bottom. *California Institute of Technology, Engineering and Science magazine*.
- [41] **Gourley, P. L.** (2005). Brief overview of BioMicroNano technologies. *Biotechnology progress* 21, 2–10.

- [42] **Kargozar, S. & Mozafari, M.** (2018). Nanotechnology and Nanomedicine: Start small, think big. *Materials Today: Proceedings* 5, 15492–15500.
- [43] **Nowack, B. & Bucheli, T. D.** (2007). Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental pollution* 150, 5–22.
- [44] **Etheridge, M. L. et al.** (2013). The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine* 9, 1–14.
- [45] **Rezvani, Z. et al.** (2016). A bird's eye view on the use of electrospun nanofibrous scaffolds for bone tissue engineering: Current state-of-the-art, emerging directions and future trends. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 12, 2181–2200.
- [46] **Monfared, A. H., Zamanian, A., Beygzadeh, M., Sharifi, I. & Mozafari, M.** (2017). A rapid and efficient thermal decomposition approach for the synthesis of manganese-zinc/oleylamine core/shell ferrite nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds* 693, 1090–1095.
- [47] **Sahoo, S. K. & Labhasetwar, V.** (2003). Nanotech approaches to drug delivery and imaging. *Drug Discovery Today* 8, 1112–1120.
- [48] **Stern, S. T. et al.** (2010). Translational considerations for cancer nanomedicine. *Journal of Controlled Release* 146, 164–174.
- [49] **Schaming, D. & Remita, H.** (2015). Nanotechnology: from the ancient time to nowadays. *Found Chem* 17, 187–205.
- [50] **Xia, Y. et al.** (2003). One-Dimensional Nanostructures: Synthesis, Characterization, and Applications. *Advanced Materials* 15, 353–389.
- [51] **Zhao, H., Chen, X., Wang, G., Qiu, Y. & Guo, L.** (2019). Two-dimensional amorphous nanomaterials: synthesis and applications. *2D Mater.* 6, 032002.
- [52] **Hou, W.-C., Westerhoff, P. & D. Posner, J.** (2013). Biological accumulation of engineered nanomaterials: a review of current knowledge. *Environmental Science: Processes & Impacts* 15, 103–122.
- [53] **Sahoo, S. K., Parveen, S. & Panda, J. J.** (2007). The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 3, 20–31.
- [54] **Freitas, R. A.** (2005). What is nanomedicine? *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 1, 2–9.
- [55] **Emerich, D. F. & Thanos, C. G.** (2003). Nanotechnology and medicine. *Expert Opinion on Biological Therapy* 3, 655–663.
- [56] **McNeil, S. E.** (2005). Nanotechnology for the biologist. *Journal of Leukocyte Biology* 78, 585–594.
- [57] **Sandanaraj, B. S., Gremlich, H.-U., Kneuer, R., Dawson, J. & Wacha, S.** (2010). Fluorescent Nanoprobes as a Biomarker for Increased Vascular Permeability: Implications in Diagnosis and Treatment of Cancer and Inflammation. *Bioconjugate Chem.* 21, 93–101.
- [58] **Thomas, T. P. et al.** (2008). Investigation of tumor cell targeting of a dendrimer nanoparticle using a double-clad optical fiber probe. *JBO* 13, 014024.
- [59] **Jain, R. K. & Stylianopoulos, T.** (2010). Delivering nanomedicine to solid tumors. *Nat Rev Clin Oncol* 7, 653–664.
- [60] **Wagner, v., Dullaart, A., Bock, A. K. & Zweck, A.** (2006). The emerging nanomedicine landscape. *Nat. Biotechnol.* 24, 1211–1217.
- [61] **Bawa, R.** (2011). Regulating Nanomedicine - Can the FDA Handle It? *Current Drug Delivery* 8, 227–234.
- [62] **Poirot-Mazères, I.** (2011). Chapitre 6. Legal aspects of the risks raised by

nanotechnologies in the field of medicine. *Journal International de Bioethique* Vol. 22, 99–118.

- [63] **Sajja, H. K. et al.** (2009). Development of Multifunctional Nanoparticles for Targeted Drug Delivery and Noninvasive Imaging of Therapeutic Effect. *Current Drug Discovery Technologies* 6, 43–51.
- [64] **Galvin, P. et al.** (2012). Nanoparticle-based drug delivery: case studies for cancer and cardiovascular applications. *Cell. Mol. Life Sci.* 69, 389–404.
- [65] **Bharali, D. J. & Mousa, S. A.** (2010). Emerging nanomedicines for early cancer detection and improved treatment: Current perspective and future promise. *Pharmacology & Therapeutics* 128, 324–335.
- [66] **Bhaskar, S. et al.** (2010). Multifunctional Nanocarriers for diagnostics, drug delivery and targeted treatment across blood-brain barrier: perspectives on tracking and neuroimaging. *Part Fibre Toxicol* 7, 3.
- [67] **Vaddiraju, S., Tomazos, I., Burgess, D. J., Jain, F. C. & Papadimitrakopoulos, F.** (2010). Emerging synergy between nanotechnology and implantable biosensors: A review. *Biosensors and Bioelectronics* 25, 1553–1565.
- [68] **Parveen, S. & Sahoo, S. K.** (2008). Polymeric nanoparticles for cancer therapy. *Journal of Drug Targeting* 16, 108–123.
- [69] **Parveen, S., Misra, R. & Sahoo, S. K.** (2012). Nanoparticles: a boon to drug delivery, therapeutics, diagnostics and imaging. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 8, 147–166.
- [70] **Dilnawaz, F., Singh, A., Mohanty, C. & Sahoo, S. K.** (2010). Dual drug loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for targeted cancer therapy. *Biomaterials* 31, 3694–3706.
- [71] **Rawat, M., Singh, D., Saraf, S. & Saraf, S.** (2006). Nanocarriers: Promising Vehicle for Bioactive Drugs. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 29, 1790–1798.
- [72] **Tekade, R. K., Kumar, P. V. & Jain, N. K.** (2009). Dendrimers in Oncology: An Expanding Horizon. *Chem. Rev.* 109, 49–87.
- [73] **Dykes, G. M.** (2001). Dendrimers: a review of their appeal and applications. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 76, 903–918.
- [74] **Menjoge, A. R., Kannan, R. M. & Tomalia, D. A.** (2010). Dendrimer-based drug and imaging conjugates: design considerations for nanomedical applications. *Drug Discovery Today* 15, 171–185.
- [75] **Grodzinski, P., Silver, M. & Molnar, L. K.** (2006). Nanotechnology for cancer diagnostics: promises and challenges. *Expert Review of Molecular Diagnostics* 6, 307–318.
- [76] **Wang, E. C. & Wang, A. Z.** (2014). Nanoparticles and their applications in cell and molecular biology. *Integrative Biology* 6, 9–26.
- [77] **Nie, S., Xing, Y., Kim, G. J. & Simons, J. W.** (2007). Nanotechnology Applications in Cancer. *Annual Review of Biomedical Engineering* 9, 257–288.
- [78] **Gao, X. et al.** (2005). In vivo molecular and cellular imaging with quantum dots. *Current Opinion in Biotechnology* 16, 63–72.
- [79] **Hawkins, M. J., Soon-Shiong, P. & Desai, N.** (2008). Protein nanoparticles as drug carriers in clinical medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews* 60, 876–885.
- [80] **Gradishar, W. J. et al.** (2005). Phase III Trial of Nanoparticle Albumin-Bound Paclitaxel Compared With Polyethylated Castor Oil–Based Paclitaxel in Women With Breast Cancer. *JCO* 23, 7794–7803.
- [81] **Weissleder, R.** (2006). Molecular Imaging in Cancer. *Science* 312, 1168–1171.
- [82] **Daniel, M.-C. & Astruc, D.** (2004). Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology,

- Catalysis, and Nanotechnology. *Chem. Rev.* 104, 293–346.
- [83] **Huang, X., Jain, P. K., El-Sayed, I. H. & El-Sayed, M. A.** (2007). Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy. *Nanomedicine* 2, 681–693.
 - [84] **Nie, S. & Emory, S. R.** (1997). Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering. *Science* 275, 1102–1106.
 - [85] **Peng, G. et al.** (2009). Diagnosing lung cancer in exhaled breath using gold nanoparticles. *Nature Nanotechnology* 4, 669–673.
 - [86] **Liu, X. et al.** (2008). A One-Step Homogeneous Immunoassay for Cancer Biomarker Detection Using Gold Nanoparticle Probes Coupled with Dynamic Light Scattering. *J. Am. Chem. Soc.* 130, 2780–2782.
 - [87] **Huang, X., El-Sayed, I. H., Qian, W. & El-Sayed, M. A.** (2006). Cancer Cell Imaging and Photothermal Therapy in the Near-Infrared Region by Using Gold Nanorods. *J. Am. Chem. Soc.* 128, 2115–2120.
 - [88] **Greco, F. & Vicent, M. J.** (2009). Combination therapy: Opportunities and challenges for polymer–drug conjugates as anticancer nanomedicines. *Advanced Drug Delivery Reviews* 61, 1203–1213.
 - [89] **Longmire, M., Choyke, P. L. & Kobayashi, H.** (2008). Clearance properties of nano-sized particles and molecules as imaging agents: considerations and caveats. *Nanomedicine* 3, 703–717.
 - [90] **Longmire, M. R., Ogawa, M., Choyke, P. L. & Kobayashi, H.** (2011). Biologically Optimized Nanosized Molecules and Particles: More than Just Size. *Bioconjugate Chem.* 22, 993–1000.
 - [91] **Stern, S. T. & McNeil, S. E.** (2008). Nanotechnology Safety Concerns Revisited. *Toxicological Sciences* 101, 4–21.
 - [92] **Asare, N. et al.** (2012). Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in testicular cells. *Toxicology* 291, 65–72.
 - [93] **Fenoglio, I. et al.** (2012). Thickness of Multiwalled Carbon Nanotubes Affects Their Lung Toxicity. *Chem. Res. Toxicol.* 25, 74–82.
 - [94] **Williams, D.** (2004). Nanotechnology: a new look. *Medical device technology*, 15(8), 9–10.
 - [95] **Williams, D.** (2005). The risks of nanotechnology. *Medical device technology*, 16(9), 6–9.
 - [96] **Godin, B. et al.** (2010). Emerging applications of nanomedicine for the diagnosis and treatment of cardiovascular diseases. *Trends in Pharmacological Sciences* 31, 199–205.
 - [97] **Seigneuric, R. et al.** (2010). From Nanotechnology to Nanomedicine: Applications to Cancer Research. *Current Molecular Medicine* 10, 640–652.
 - [98] **Galindo-Rodriguez, S. A., Allemann, E., Fessi, H. & Doelker, E.** (2005). Polymeric Nanoparticles for Oral Delivery of Drugs and Vaccines: A Critical Evaluation of In Vivo Studies. *CRT* 22.
 - [99] **Maeda, H., Wu, J., Sawa, T., Matsumura, Y. & Hori, K.** (2000). Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *Journal of Controlled Release* 65, 271–284.
 - [100] **Verma, A. et al.** (2008). Surface-structure-regulated cell-membrane penetration by monolayer-protected nanoparticles. *Nature Materials* 7, 588–595.
 - [101] **Wang, A. Z. et al.** (2008). Biofunctionalized targeted nanoparticles for therapeutic applications. *Expert Opinion on Biological Therapy* 8, 1063–1070.
 - [102] **Martínez-Carmona, M., Colilla, M. & Vallet-Regí, M.** (2015). Smart Mesoporous Nanomaterials for Antitumor Therapy. *Nanomaterials* 5, 1906–1937.

- [103] **Url-2** <<https://www.nano.gov/nanotech-101/special>>, erişim tarihi 20.08.2020.
- [104] **Taylor, E. & Webster, T. J.** (2011). Reducing infections through nanotechnology and nanoparticles. *Int J Nanomedicine* 6, 1463–1473.
- [105] **Emerich, D. F. & Thanos, C. G.** (2006). The pinpoint promise of nanoparticle-based drug delivery and molecular diagnosis. *Biomolecular Engineering* 23, 171–184.
- [106] **Shubayev, V. I., Pisanic, T. R. & Jin, S.** (2009). Magnetic nanoparticles for theragnostics. *Advanced Drug Delivery Reviews* 61, 467–477.
- [107] **Eigler, S. & Hirsch, A.** (2014). Chemistry with Graphene and Graphene Oxide—Challenges for Synthetic Chemists. *Angewandte Chemie International Edition* 53, 7720–7738.
- [108] **Novoselov, K. S. et al.** (2004). Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. *Science* 306, 666–669.
- [109] **Dreyer, D. R., Todd, A. D. & Bielawski, C. W.** (2014). Harnessing the chemistry of graphene oxide. *Chem. Soc. Rev.* 43, 5288–5301.
- [110] **Geim, A. K., & Novoselov, K. S.** (2010). The rise of graphene, nanoscience and technology: a collection of reviews from nature journals. *World Sci*, 11-19.
- [111] **Hirsch, A. & Brettreich, M.** (2006). *Fullerenes: Chemistry and Reactions*. (John Wiley & Sons).
- [112] **Feng, L., Wu, L. & Qu, X.** (2013). New Horizons for Diagnostics and Therapeutic Applications of Graphene and Graphene Oxide. *Advanced Materials* 25, 168–186.
- [113] **Zhang, Q. et al.** (2017). Advanced review of graphene-based nanomaterials in drug delivery systems: Synthesis, modification, toxicity and application. *Materials Science and Engineering: C* 77, 1363–1375.
- [114] **Atkinson, D.** (1996). The ‘Philosophical Transactions of the Royal Society of London,’ 1675-1975: A Sociohistorical Discourse Analysis. *Language in Society* 25, 333–371.
- [115] **Subrahmanyam, K. S., Panchakarla, L. S., Govindaraj, A. & Rao, C. N. R.** (2009). Simple Method of Preparing Graphene Flakes by an Arc-Discharge Method. *J. Phys. Chem. C* 113, 4257–4259.
- [116] **Simpson, C. D. et al.** (2004). Nanosized Molecular Propellers by Cyclodehydrogenation of Polyphenylene Dendrimers. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 3139–3147.
- [117] **Somani, P. R., Somani, S. P. & Umeno, M.** (2006). Planer nano-graphenes from camphor by CVD. *Chemical Physics Letters* 430, 56–59.
- [118] **Wang, J. et al.** (2004). Synthesis of carbon nanosheets by inductively coupled radio-frequency plasma enhanced chemical vapor deposition. *Carbon* 42, 2867–2872.
- [119] **Bedeloğlu, A. & Taş, M.** (2016). Grafen ve Grafen Üretim Yöntemleri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi* 16, 544–554.
- [120] **Shao, G. et al.** (2012). Graphene oxide: the mechanisms of oxidation and exfoliation. *J Mater Sci* 47, 4400–4409.
- [121] **Gurunathan, S. & Kim, J.-H.** (2016). Synthesis, toxicity, biocompatibility, and biomedical applications of graphene and graphene-related materials. *Int J Nanomedicine* 11, 1927–1945.
- [122] **Chen, Y., Ren, C., Ouyang, S., Hu, X. & Zhou, Q.** (2015). Mitigation in Multiple Effects of Graphene Oxide Toxicity in Zebrafish Embryogenesis Driven by Humic Acid. *Environ. Sci. Technol.* 49, 10147–10154.
- [123] **Orecchioni, M., Cabizza, R., Bianco, A. & Delogu, L. G.** (2015). Graphene as Cancer Theranostic Tool: Progress and Future Challenges. *Theranostics* 5, 710–723.
- [124] **Hummers, W. S. & Offeman, R. E.** (1958). Preparation of Graphitic Oxide. *J. Am. Chem. Soc.* 80, 1339–1339.
- [125] **Loh, K. P., Bao, Q., Eda, G. & Chhowalla, M.** (2010). Graphene oxide as a chemically

- tunable platform for optical applications. *Nature Chem* 2, 1015–1024.
- [126] **Kovtyukhova, N. I. et al.** (1999). Layer-by-Layer Assembly of Ultrathin Composite Films from Micron-Sized Graphite Oxide Sheets and Polycations. *Chem. Mater.* 11, 771–778.
 - [127] **Sun, X. et al.** (2008). Nano-graphene oxide for cellular imaging and drug delivery. *Nano Res.* 1, 203–212.
 - [128] **Chung, C. et al.** (2013). Biomedical Applications of Graphene and Graphene Oxide. *Acc. Chem. Res.* 46, 2211–2224.
 - [129] **Andersson, M. et al.** (1999). Doxorubicin versus methotrexate both combined with cyclophosphamide, 5-fluorouracil and tamoxifen in postmenopausal patients with advanced breast cancer—a randomised study with more than 10 years follow-up from the danish breast cancer cooperative group. *European Journal of Cancer* 35, 39–46.
 - [130] **Gavrilov, V., Steiner, M. & Shany, S.** (2005). The Combined Treatment of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and a Non-steroid Anti-inflammatory Drug is Highly Effective in Suppressing Prostate Cancer Cell Line (LNCaP) Growth. *Anticancer Res* 25, 3425–3429.
 - [131] **Yang, Z. R. et al.** (2007). Recent developments in the use of adenoviruses and immunotoxins in cancer gene therapy. *Cancer Gene Therapy* 14, 599–615.
 - [132] **Naldini, L. et al.** (1996). In Vivo Gene Delivery and Stable Transduction of Nondividing Cells by a Lentiviral Vector. *Science* 272, 263–267.
 - [133] **Mintzer, M. A. & Simanek, E. E.** (2009). Nonviral Vectors for Gene Delivery. *Chem. Rev.* 109, 259–302.
 - [134] **Viswanath, B. & Kim, S.** (2016). Recent insights into the development of nanotechnology to detect circulating tumor cells. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 82, 191–198.
 - [135] **Delgado, C., Francis, G. E., & Fisher, D.** (1992). The uses and properties of PEG-linked proteins. *Critical reviews in therapeutic drug carrier systems*, 9(3-4), 249–304.
 - [136] **Karakoti, A. S., Das, S., Thevuthasan, S. & Seal, S.** (2011). PEGylated Inorganic Nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition* 50, 1980–1994.
 - [137] **Chen, J., K. Spear, S., G. Huddleston, J. & D. Rogers, R.** (2005). Polyethylene glycol and solutions of polyethylene glycol as green reaction media. *Green Chemistry* 7, 64–82.
 - [138] **Rogers, R. D., Bond, A. H., & Bauer, C. B.** (1993). Metal ion separations in polyethylene glycol-based aqueous biphasic systems. *Separation science and technology*, 28(5), 1091–1126
 - [139] **Howard, M. D., Jay, M., Dziubla, T. D. & Lu, X.** (2008). PEGylation of Nanocarrier Drug Delivery Systems: State of the Art. *Journal of Biomedical Nanotechnology* 4, 133–148.
 - [140] **Bhadra, D., Bhadra, S., Jain, P. & Jain, N. K.** (2002). Pegnology: a review of PEG-ylated systems. *Pharmazie* 57, 5–29.
 - [141] **Kang, J. S., DeLuca, P. P. & Lee, K. C.** (2009). Emerging PEGylated drugs. *Expert Opinion on Emerging Drugs* 14, 363–380.
 - [142] **Veronese, F. M. & Pasut, G.** (2005). PEGylation, successful approach to drug delivery. *Drug Discovery Today* 10, 1451–1458.
 - [143] **Lee, S., Greenwald, R. B., McGuire, J., Yang, K. & Shi, C.** (2001). Drug Delivery Systems Employing 1,6-Elimination: Releasable Poly(ethylene glycol) Conjugates of Proteins. *Bioconjugate Chem.* 12, 163–169.
 - [144] **Rogers, R. D., Zhang, J. & Bauer, C. B.** (1997). The effects of choice of anion

- ($X = Cl^-$, SCN^- , NO_3^-) and polyethylene glycol (PEG) chain length on the local and supramolecular structures of LnX_3 /PEG complexes. *Journal of Alloys and Compounds* 249, 41–48.
- [145] **Uekawa, N., Endo, M., Kakegawa, K. & Sasaki, Y.** (2000). Homogeneous precipitation of Cr^{3+} – M^{2+} ($M = Ni, Zn, Co, Cu$) oxalate by oxidation of the polyethylene glycol–cation complex. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2, 5485–5490.
- [146] **Url-3** <<https://tek.link/OmdE>>, alındığı tarih: 20.09.2020.
- [147] **Mashhadi Malekzadeh, A., Ramazani, A., Tabatabaei Rezaei, S. J. & Niknejad, H.** (2017). Design and construction of multifunctional hyperbranched polymers coated magnetite nanoparticles for both targeting magnetic resonance imaging and cancer therapy. *Journal of Colloid and Interface Science* 490, 64–73.
- [148] **Hilgenbrink, A. R. & Low, P. S.** (2005). Folate Receptor-Mediated Drug Targeting: From Therapeutics to Diagnostics. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 94, 2135–2146.
- [149] **Blanco, M. D., Teijón, C., Olmo, R. M., & Teijón, J. M.** (2012). Targeted nanoparticles for cancer therapy. In Recent advances in novel drug carrier systems. IntechOpen
- [150] **Lu, Y. & Low, P. S.** (2002). Folate-mediated delivery of macromolecular anticancer therapeutic agents. *Advanced Drug Delivery Reviews* 54, 675–693.
- [151] **Nakashima-Matsushita, N. et al.** (1999). Selective expression of folate receptor β and its possible role in methotrexate transport in synovial macrophages from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 42, 1609–1616.
- [152] **Turk, M. J. et al.** (2002). Folate-targeted imaging of activated macrophages in rats with adjuvant-induced arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 46, 1947–1955.
- [153] **Antony, C.** (1992). REVIEW ARTICLE The Biological Chemistry of Folate Receptors.
- [154] **Garin-Chesa, P. et al.** (1993). Trophoblast and ovarian cancer antigen LK26. Sensitivity and specificity in immunopathology and molecular identification as a folate-binding protein. *Am J Pathol* 142, 557–567.
- [155] **Toffoli, G. et al.** (1997). Overexpression of folate binding protein in ovarian cancers. *International Journal of Cancer* 74, 193–198.
- [156] **QuanJun, Y. et al.** (2017). Protective Effects of Dexrazoxane against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity: A Metabolomic Study. *PLOS ONE* 12, e0169567.
- [157] **Arcamone, F., Cassinelli, G., Marco, A. D. & Gaetani, M.** (1971). Adriamycin derivatives.
- [158] **Young, R. C., Myers, C. E., Hamilton, T. C., Rogan, A. M., & Ozols, R. F.** (1984). New chemotherapeutic approaches to ovarian cancer. Adriamycin: Its expanding role in cancer treatment, edited by M. Ogawa, F. Muggia and M. Rozencweig. Excerpta Medica, 221-234.
- [159] **Ibsen, S. et al.** (2010). A Novel Doxorubicin Prodrug with Controllable Photolysis Activation for Cancer Chemotherapy. *Pharm Res* 27, 1848–1860.
- [160] **Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G. & Gianni, L.** (2004). Anthracyclines: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. *Pharmacol Rev* 56, 185–229.
- [161] **Denny, W. A.** (2004). Tumor-activated Prodrugs—A New Approach to Cancer Therapy. *Cancer Investigation* 22, 604–619.
- [162] **Tietze, L. F. et al.** (1989). Proton-mediated Liberation of Aldophosphamide from a Nontoxic Prodrug: A Strategy for Tumor-selective Activation of Cytocidal Drugs. *Cancer Res* 49, 4179–4184.
- [163] **Brown, J. M. & Wilson, W. R.** (2004). Exploiting tumour hypoxia in cancer treatment. *Nature Reviews Cancer* 4, 437–447.

- [164] **Breistøl, K. et al.** (1998). The antitumour activity of the prodrug N-l-leucyl-doxorubicin and its parent compound doxorubicin in human tumour xenografts. *European Journal of Cancer* 34, 1602–1606.
- [165] **Shamis, M., Lode, H. N. & Shabat, D.** (2004). Bioactivation of Self-Immolative Dendritic Prodrugs by Catalytic Antibody 38C2. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 1726–1731.
- [166] **Speth, P. A. J., van Hoesel, Q. G. C. M. & Haanen, C.** (1988). Clinical Pharmacokinetics of Doxorubicin. *Clin-Pharmacokinet* 15, 15–31.
- [167] **Zunino, F. & Capranico, G.** (1990). DNA topoisomerase II as the primary target of anti-tumor anthracyclines. *Anticancer Drug Des* 5, 307–317.
- [168] **Bouma, J., Beijnen, J. H., Bult, A., & Underberg, W. J. M.** (1986). Anthracycline antitumour agents. *Pharmaceutisch Weekblad*, 8(2), 109–133.
- [169] **Benvenuto, J. A., Adams, S. C., Vyas, H. M. & Anderson, R. W.** (1987). Pharmaceutical Issues in Infusion Chemotherapy Stability and Compatibility. in *Cancer Chemotherapy by Infusion* (ed. Lokich, J. J.) 100–113 (Springer Netherlands). doi:10.1007/978-94-009-3193-0_7.
- [170] **Abraham, S. A. et al.** (2005). The Liposomal Formulation of Doxorubicin. in *Methods in Enzymology* vol. 391 71–97 (Academic Press).
- [171] **Fiallo, M. M. L., Tayeb, H., Suarato, A. & Garnier-Suillerot, A.** (1998). Circular Dichroism Studies on Anthracycline Antitumor Compounds. Relationship between the Molecular Structure and the Spectroscopic Data. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 87, 967–975.
- [172] **Budavari, S., O'Neil, M. J., Smith, A., & Heckelman, P. E.** (1989). *The merck index* (Vol. 11, pp. 2330–2331). Rahway, NJ: Merck
- [173] **Nawara, K., Beeckman, H., Krysiński, P. & Blanchard, G. J.** (2013). Structure-Dependent Complexation of Fe³⁺ by Anthracyclines. 2. The Roles of Methoxy and Daunosamine Functionalities. *J. Phys. Chem. B* 117, 6868–6873.
- [174] **Chaires, J. B., Dattagupta, N. & Crothers, D. M.** (1982). Selfassociation of daunomycin. *Biochemistry* 21, 3927–3932.
- [175] **Menozzi, M., Valentini, L., Vannini, E. & Arcamone, F.** (1984). Self-association of doxorubicin and related compounds in aqueous solution. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 73, 766–770.
- [176] **Hortobágyi, G. N.** (1997). Anthracyclines in the Treatment of Cancer. *Drugs* 54, 1–7.
- [177] **Pegram, M. D., Lopez, A., Konecny, G., & Slamon, D. J.** (2000, December). Trastuzumab and chemotherapeutics: drug interactions and synergies. In *Seminars in oncology* (Vol. 27, No. 6 Suppl 11, pp. 21–5).
- [178] **Gabizon, A. et al.** (1994). Prolonged Circulation Time and Enhanced Accumulation in Malignant Exudates of Doxorubicin Encapsulated in Polyethylene-glycol Coated Liposomes. *Cancer Res* 54, 987–992.
- [179] **Uhrich, K. E., Cannizzaro, S. M., Langer, R. S. & Shakesheff, K. M.** (1999). Polymeric Systems for Controlled Drug Release. *Chem. Rev.* 99, 3181–3198.
- [180] **Singhvi, G. & Singh, M.** (2011). REVIEW: IN-VITRO DRUG RELEASE CHARACTERIZATION MODELS. 8.
- [181] **Qin, X. C. et al.** (2013). Folic acid-conjugated graphene oxide for cancer targeted chemo-photothermal therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 120, 156–162.
- [182] **Tulubas, F. et al.** (2015). The protective effects of ω -3 fatty acids on doxorubicin-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Toxicol Ind Health* 31, 638–644.
- [183] **El-Sheikh, A. A. K., Morsy, M. A., Mahmoud, M. M., Rifaai, R. A. & Abdelrahman, A. M.** (2012). Effect of Coenzyme-Q10 on Doxorubicin-Induced

- Nephrotoxicity in Rats. *Advances in Pharmacological Sciences* vol. 2012 e981461 <https://www.hindawi.com/journals/aps/2012/981461/>
- [184] **Wu, S. et al.** (2014). Cytotoxicity of graphene oxide and graphene oxide loaded with doxorubicin on human multiple myeloma cells. *Int J Nanomedicine* 9, 1413–1421.
- [185] **Mauro, N., Scialabba, C., Agnello, S., Cavallaro, G. & Giammona, G.** (2020). Folic acid-functionalized graphene oxide nanosheets via plasma etching as a platform to combine NIR anticancer phototherapy and targeted drug delivery. *Materials Science and Engineering: C* 107, 110201.
- [186] **Wang, L. et al.** (2019). PEGylated doxorubicin cloaked nano-graphene oxide for dual-responsive photochemical therapy. *International Journal of Pharmaceutics* 557, 66–73.
- [187] **Lin, S.-Y. & Wang, S.-L.** (2012). Advances in simultaneous DSC–FTIR microspectroscopy for rapid solid-state chemical stability studies: Some dipeptide drugs as examples. *Advanced Drug Delivery Reviews* 64, 461–478.
- [188] **Zhang, W. et al.** (2011). Synergistic effect of chemo-photothermal therapy using PEGylated graphene oxide. *Biomaterials* 32, 8555–8561.
- [189] **Zhu, S. et al.** (2014). PEGylated graphene oxide as a nanocarrier for podophyllotoxin. *J Nanopart Res* 16, 2530.
- [190] **Rana, S., Gallo, A., Srivastava, R. S. & Misra, R. D. K.** (2007). On the suitability of nanocrystalline ferrites as a magnetic carrier for drug delivery: Functionalization, conjugation and drug release kinetics. *Acta Biomaterialia* 3, 233–242.
- [191] **Kazempour, M., Namazi, H., Akbarzadeh, A. & Kabiri, R.** (2019). Synthesis and characterization of PEG-functionalized graphene oxide as an effective pH-sensitive drug carrier. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology* 47, 90–94.
- [192] **Xie, Y. et al.** (2018). Synthesis, Self-Assembly, and Drug-Release Properties of New Amphipathic Liquid Crystal Polycarbonates. *Nanomaterials* 8, 195.
- [193] **Url-4** <<https://tek.link/NXfa>>, alındığı tarih: 21.09.2020.
- [194] **Li, M. et al.** (2014). The evolution of surface charge on graphene oxide during the reduction and its application in electroanalysis. *Carbon* 66, 302–311.
- [195] **Baskoro, F. et al.** (2018). Graphene oxide-cation interaction: Inter-layer spacing and zeta potential changes in response to various salt solutions. *Journal of Membrane Science* 554, 253–263.
- [196] **Jose Chirayil, C., Abraham, J., Kumar Mishra, R., George, S. C. & Thomas, S.** (2017). Chapter 1- Instrumental Techniques for the Characterization of Nanoparticles. in *Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization* (eds. Thomas, S., Thomas, R., Zachariah, A. K. & Mishra, R. K.) 1–36. doi:10.1016/B978-0-323-46139-9.00001-3. (Elsevier).
- [197] **Url-5** <<https://tek.link/NXf6>>, alındığı tarih: 21.09.2020.
- [198] **Url-6** <<https://tek.link/OmdR>> alındığı tarihi 15.09.2020.
- [199] **Li, M. & Wang, C.** (2019). Preparation and characterization of GO/PEG photo-thermal conversion form-stable composite phase change materials. *Renewable Energy* 141, 1005–1012.
- [200] **Gillies, E. R. & Fréchet, J. M. J.** (2005). pH-Responsive Copolymer Assemblies for Controlled Release of Doxorubicin. *Bioconjugate Chem.* 16, 361–368.
- [201] **Lynch, D. R., & Snyder, S. H.** (1986). Neuropeptides: multiple molecular forms, metabolic pathways, and receptors. *Annual review of biochemistry*, 55(1), 773–799.