



**ÇOK FONKSİYONLU TERANOSTİK HİBRİT NANOPARÇACIKLARIN  
SENTEZİ VE MEME KANSERİ ÜZERİNDEKİ UYGULAMALARI**

**Şeyma BAYRAK**

**YÜKSEK LİSANS  
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NİSAN 2019**

Şeyma BAYRAK tarafından hazırlanan "ÇOK FONKSİYONLU TERANOSTİK HİBRİT NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ VE MEME KANSERİ ÜZERİNDEKİ UYGULAMALARI" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Doç. Dr. Gökçen Birlik DEMİREL

Kimya Ana Bilim Dalı, Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



**Başkan:** Prof. Dr. Bekir SARI

Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



**Üye:** Prof. Dr. Lokman UZUN

Kimya Ana Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.



Tez Savunma Tarihi: 19/04/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dökümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Şeyma BAYRAK

19/04/2019

# ÇOK FONKSİYONLU TERANOSTİK HİBRİT NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ VE MEME KANSERİ ÜZERİNDEKİ UYGULAMALARI

(Yüksek Lisans Tezi)

Şeyma BAYRAK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nisan 2019

## ÖZET

Bu çalışmada, kontrollü ilaç salım sisteminde kullanılabilecek elipsoidal manyetik hibrit nanoparçacıklar sentezlendi. Manyetik özellikli  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıkları geçirimli elektron mikroskobu (TEM), Manyetik Histerisis, yüzey alanı ölçümü (BET) ve x-ışını kırınımı (XRD) ölçümleri ile karakterize edildi. Parçacıkların biyoyumluluğunu arttırmak ve pH/redoks kontrollü salım profili göstermeleri için lipoik asit modifiye edilmiş kitosan polimeri (KTLA) sentezlendi. Sentezlenen polimer  $^1\text{H-NMR}$  ile karakterize edilmiş ve bağlanan lipoik asit grubunun miktarı yapılan trinitrobenzosülfonik asit (TNBSA) testi ile belirlendi. Hazırlanan manyetik özellikli  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıkları pH/redoks duyarlı KTLA polimeri ile kaplandı. Hazırlanan hibrit nanotaşıyıcı sistem geçirimli elektron mikroskobu (TEM), yüzey alanı ölçümü (BET) ve Fourier Dönüşümlü Kıızıl Ötesi Spektrometre (ATR-FTIR) analizleri ile karakterize edildi. Daha sonra nanoparçacıklara model ilaç olarak seçilen rodamın 6G (R6G) yüklendi.  $\text{KTLA}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıkları pH ve redoks kontrollü salım için 1,4 ditiyotriitol (DTT) ile çapraz bağlandı. Çapraz bağlı olan ve olmayan parçacıkların, pH 5,5; 6,8 ve 7,4 olmak üzere üç farklı tampon içerisinde  $37^\circ\text{C}$ 'da salım profilleri incelendi. Çapraz bağlı parçacıkların redoks salım etkinliğinin incelenmesi için 0-10 mM arasında değişen derişimlerde Glutatyon (GSH) içeren ortamdaki salım profilleri incelendi. Bununla birlikte parçacıkların ultrases-kontrollü salım profilleri de incelendi. Hazırlanan ve karakterize edilen pH/redoks-duyarlı hibrit nanoparçacıkların meme kanseri üzerindeki etkinliklerinin incelenmesi için anti-kanser ilacı doksorubisin (DOX) yüklendi. DOX yüklü pH/redoks-duyarlı hibrit nanoparçacıkların MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerinde toksisite çalışmaları yapıldı. Sonuç olarak; bu tez çalışması kapsamında kontrollü ilaç salım sistemlerinde kullanılabilecek çok fonksiyonlu teranöstik hibrit nanoparçacıklar başarı ile hazırlanarak uygulanabilirlikleri *in vitro* ortamda gösterildi.

Bilim Kodu : 20112  
Anahtar Kelimeler : Manyetik nanoparçacık, pH/redoks/ultrases kontrollü salım, MCF-7, meme kanseri, hibrit nanotaşıyıcı  
Sayfa Adedi : 61  
Danışman : Doç.Dr. Gökçen BİRLİK DEMİREL

# SYNTHESIS OF MULTIFUNCTIONAL THERANOSTIC HYBRID NANOPARTICLES FOR BREAST CANCER APPLICATIONS

(M.Sc. Thesis)

Şeyma BAYRAK

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

April 2019

## ABSTRACT

In this study, ellipsoidal magnetic hybrid nanoparticles which can be used in controlled drug delivery system were synthesized. The synthesized magnetic  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparticles were characterized by transmission electron microscopy (TEM), Magnetic Hysteresis, Brunauer, Emmett and Teller (BET) and X-Ray Diffraction (XRD) measurements. Lipoic acid modified chitosan polymer (CTLA) was synthesized to enhance the biocompatibility of the particles and to provide the pH/redox-responsive release property. The synthesized polymer was characterized by  $^1\text{H-NMR}$  and lipoic acid modification degree of the polymer was determined by the trinitrobenzenesulfonic acid (TNBSA) assay test. The  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparticles were coated with pH/redox-sensitive CTLA polymer to obtain hybrid nanoparticles. The prepared hybrid nanoparticles were characterized by transmission electron microscopy (TEM), Brunauer, Emmett and Teller (BET) and fourier-transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) analyses. CTLA@ $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparticles were crosslinked with 1,4-Dithiothreitol (DTT) for redox-controlled release. The both non-crosslinked and crosslinked nanoparticles were loaded with rhodamine 6G (R6G) as a model drug molecules. The release profile of the hybrid nanoparticles were examined at three different pH solutions (pH 5,5; 6,8 and 7,4 ) at  $37^\circ\text{C}$ . The redox-controlled release profile of the crosslinked nanoparticles was investigated in the media containing glutathione (GSH) in the different concentrations which were changed from 0 to 10 mM. Moreover, the ultrasound-controlled release profiles of the nanoparticles were investigated. Anti-cancer drug doxorubicin (DOX) was loaded into pH/redox-sensitive hybrid nanoparticles. The cytotoxicity of the DOX-loaded pH/redox-sensitive hybrid nanoparticles were performed on MCF-7 breast cancer cells. As a result; the multifunctional theranostic hybrid nanoparticles have been successfully fabricated and have shown the *in vitro* effectivity on breast cancer applications.

Science Code : 20112  
Key Word : Magnetic nanoparticles, pH/redox/ultrasound-controllable delivery, hybrid nanoacriers, MCF-7, breast cancer  
Page Number : 61  
Adviser : Assoc. Prof. Dr. Gökçen BİRLİK DEMİREL

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım sürecinde yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, yakın ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilimsel ve günlük hayat tecrübelerini büyük bir özveri ile paylaşan çok değerli hocam Sayın Doç. Dr. Gökçen BİRLİK DEMİREL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisansım sırasında vermiş olduğu desteklerden dolayı Sayın Doç. Dr. Gökhan DEMİREL'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezin yazılmasında uzak yakın demeden bana en büyük desteği veren, her zaman yanımda, bir adım ötemde olduğunu hissettiğim dert ortağım, arkadaşım, sırdaşım olan canım annem Sefine BAYRAK'a, eğitim hayatım boyunca tüm zor zamanlarımda her zaman koca bir çınar gibi yanımda olup her düşünceme saygı gösterip desteğini asla esirgemeyen canım babam Mustafa Kemal BAYRAK'a, uzakta olsak da her zaman birbirimizin yanında olduğunu hissettiğimiz canım kardeşlerim İbrahim Doğuhan BAYRAK ve Rıfat Şahan BAYRAK'a sonsuz teşekkürler.

Lisans döneminden itibaren başladığımız bu macera dolu yüksek lisans sürecinde birlikte zorlukları aştığımız, birlikte zaman zaman güldüğüm zaman zaman ağladığım ve bu tezin her aşamasında, tüm zor anlarımda hep yanımda olan canım dostum Ebru AYGÜL'e sonsuz teşekkürler.

İçerisinde bulunduğum, büyük bir mutluluk ve zevkle çalışmalarımı sürdürdüğüm GBD araştırma grubunda yer alan değerli hocam Ankara Hacı Bayram Üniversitesi Kimya bölümü araştırma görevlisi Sayın Zeynep ÇİMEN'e ve diğer tüm grup arkadaşlarıma teşekkürler.

Bu çalışma 115R280 proje numarası ile Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	5
2.1. İlaç Taşıyıcı Sistemler .....	5
2.2. Nanotaşıyıcı Sistemlerin Sınıflandırılması .....	8
2.2.1. Lipozomlar .....	8
2.2.2. Miseller .....	8
2.2.3. Mikrobaloncuklar .....	9
2.2.4. Polimerik nanoparçacıklar .....	9
2.2.5. Çekirdek/Kabuk hibrit nanotaşıyıcılar .....	9
3. DENEYSEL KISIM .....	15
3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler .....	15
3.2. KTLA Kaplı Elipsoidal $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$ Nanoparçacıkların Hazırlanması.....	17
3.2.1. Elipsoidal hematit $Fe_2O_3$ nanoparçacıkların sentezi .....	17
3.2.2. Elipsoidal manyetik $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$ nanoparçacıklarının sentezi.....	17
3.2.3. LA modifiye edilmiş KT polimerinin hazırlanması.....	18
3.2.4. Çapraz bağlı olmayan hibrit nanotaşıyıcıların hazırlanması .....	19

**Sayfa**

3.3. Çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların hazırlanması.....	21
3.4. Trinitrobenzosülfonik Asit (TNBSA) testi.....	21
3.5. Hibrit nanoparçacıklara ilaç yüklemesi.....	21
3.6. Hibrit nanotaşıyıcı sistemin salım profilleri.....	23
3.6.1. Çapraz bağlı olmayan hibrit nanoparçacıkların pH-kontrollü salım çalışmaları .....	23
3.6.2. Çapraz bağlı hibrit nanotaşıyıcı sistemin pH-kontrollü salım çalışmaları .....	23
3.6.3. Çapraz bağlı hibrit nanotaşıyıcı sistemin redoks-kontrollü salım çalışmaları .....	24
3.6.4. Çapraz bağlı hibrit nanotaşıyıcı sistemin ultrases-kontrollü salım çalışmaları .....	24
3.7. Hibrit nanoparçacıkların hücre içi sitotoksitesisi.....	24
3.8. Hibrit nanotaşıyıcıların karakterizasyonu .....	25
3.8.1. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) .....	25
3.8.2. Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektrometre (FTIR) .....	25
3.8.3. Nükleer manyetik rezonans ( <sup>1</sup> H-NMR) .....	25
3.8.4. Manyetik histerisis .....	26
3.8.5. X-Işını kırınımı (XRD) .....	26
3.8.6. Yüzey alanı ölçümü (BET) .....	26
3.8.7. UV spektrofotometresi .....	26
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....	27
4.1. Elipsoidal hematit Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ve manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @SiO <sub>2</sub> @mSiO <sub>2</sub> nanoparçacıkların karakterizasyonu .....	27
4.2. KTLA polimeri kaplı elipsoidal hibrit nanoparçacıkların hazırlanması .....	29
4.2.1. LA modifiye edilmiş KT polimerinin sentezi ve karakterizasyonu .....	29
4.3. KTLA polimeri kaplı hibrit nanoparçacıkların hazırlanması ve karakterizasyonu.....	33
4.4. Polimer kaplı hibrit nanoparçacıklara ilaç yüklenmesi .....	37

	<b>Sayfa</b>
4.5. İlaç salım profilleri .....	37
4.5.1. Çapraz bağlı olmayan hibrit nanoparçacıkların ilaç salım profili .....	38
4.5.2. Çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların ilaç salım profili.....	39
4.5.3. Çapraz bağlı hibrit nanotaşıyıcı sistemin pH/redoks-kontrollü ilaç salımı .....	42
4.5.4. Hibrit nanotaşıyıcı sistemin ultrases-kontrollü salım profili.....	45
4.6. Hibrit nanoparçacıkların hücre içi sitotoksitesinin incelenmesi.....	47
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	51
KAYNAKLAR .....	53
ÖZGEÇMİŞ .....	61

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$ ve $\text{KTLA}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$ nanoparçacıklarına ait yapısal parametreler .....	36



## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. pH/redoks/ultrases kontrollü hibrit nanotaşıyıcı sistemin çalışma mekanizmasının şematik gösterimi .....	3
Şekil 2.1. Nanotaşıyıcı sistemlerinin şematik gösterimi .....	5
Şekil 2.2. Salım sistemlerinde dozaj karşılaştırması.....	7
Şekil 2.3. Manyetik özellikli çekirdek/kabuk tipi hibrit nanotaşıyıcıların teşhis/televi mekanizması ve parçacıkların şematik gösterimi.....	11
Şekil 2.4. Doğal polimer olan kitosanın moleküler yapısı.....	12
Şekil 2.5. Elipsoidal geometrideki nanoparçacıkların hücresele alınkonmasının şematik gösterimi .....	14
Şekil 3.1. Manyetik $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$ nanoparçacıklarının oluşum şeması .....	18
Şekil 3.2. Lipoik asit modifiye edilmiş kitosan polimerinin (KTLA) sentezinin şematik gösterimi .....	19
Şekil 3.3. $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$ parçacıklarının GPTMS ile modifikasyonu.....	20
Şekil 3.4. KTLA polimerinin epoksi-sonlu $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$ parçacığına bağlanmasının şematik gösterimi .....	20
Şekil 3.5. (a) DOX ve (b) Rodamin 6G moleküllerinin kimyasal yapısı.....	22
Şekil 4.1. (a) Elipsoidal hematit- $Fe_2O_3$ ve (b) elipsoidal manyetik $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$ nanoparçacıkların TEM görüntüsü.....	27
Şekil 4.2. $Fe_2O_3@SiO_2@mSiO_2$ ve $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$ nanoparçacıkları için manyetik histerisis eğrileri .....	28
Şekil 4.3. Hematit $Fe_2O_3@SiO_2@mSiO_2$ ve manyetik $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$ nanoparçacıkları için X-ışınları kırınım desenleri.....	29
Şekil 4.4. a. Kitosan (KT), b. Lipoik asit (LA), c. Kitosan-Lipoik asit (KTLA).....	30
Şekil 4.5. Kitosan-TNBSA etkileşim mekanizmasının şematik gösterimi .....	32
Şekil 4.6. (a) Farklı derişimlerde hazırlanan kitosan çözeltilerinin TNBSA testi ile UV Spekturumları, (b) TNBSA testine ait kalibrasyon grafiğı .....	33
Şekil 4.7. KTLA kaplı elipsoidal manyetik $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$ nanoparçacıkların TEM görüntüsü.....	33
Şekil 4.8. $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$ , KT, LA, KTLA ve hibrit nanoparçacıkların ATR-FTIR spektrumları.....	34

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 4.9. (a) $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$ ve (b) $KTLA@Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$ nanoparçacıkları için $N_2$ adsorpsiyon/desorpsiyon izotermi.....	36
Şekil 4.10. Model ilaç molekülü R6G için (a) UV Spektrumu ve (b) kalibrasyon grafiği.....	37
Şekil 4.11. Çapraz bağlı olmayan hibrit parçacıkların farklı pH ortamlarındaki salım profilleri.....	39
Şekil 4.12. Hibrit nanoparçacıklarının DTT ile çapraz bağlanmasının şematik gösterimi.....	40
Şekil 4.13. (a) Farklı derişimlerdeki DTT ile çapraz bağlanmış hibrit parçacıkların salım profili, (b) 20 mM DTT ile çapraz bağlanan parçacıkların farklı pH ortamlarındaki salım profilleri .....	41
Şekil 4.14. Çapraz bağlı olan ve çapraz bağlı olmayan parçacıkların farklı pH ortamları için salım grafiği.....	42
Şekil 4.15. Çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların GSH ile bağlarının kırılması ve kargo moleküllerinin salımının şematik gösterimi.....	43
Şekil 4.16. (a) Farklı GSH derişimlerinde çapraz bağlı olan hibrit nanoparçacıkların $37^\circ C$ ve pH 7,4'deki ve (b) 20 mM DTT ile çapraz bağlanmış hibrit nanoparçacıkların farklı pH ortamlarında 10 mM GSH ilavesi ile zamana bağlı salım profilleri.....	44
Şekil 4.17. Çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların 10 mM GSH varlığında $37^\circ C$ 'daki farklı pH değerlerindeki salım profilinin toplu gösterimi.....	45
Şekil 4.18. Çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların ultrases dalgaları ile salım mekanizmasının şematik gösterimi.....	46
Şekil 4.19. Farklı pH ortamlarında çapraz bağlı parçacıkların ultrases-kontrollü salım profilleri.....	46
Şekil 4.20. (a) DOX çözeltileri için UV spektrumları, (b) DOX için kalibrasyon grafiği.....	48
Şekil 4.21. (a) KTLA kaplı parçacıkların 24 ve 48 saatte hücre içi sitotoksik etkisi, (b) DOX-yüklü parçacıkların farklı ortamlarda hücre yaşayabilirlik grafiği.....	49

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklamalar</b>
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
<b>BET</b>	Yüzey alanı ölçüm cihazı
<b>C<sub>18</sub>TMS</b>	Oktadesiltrimetoksisilan
<b>DCC</b>	N,N'-Disikloheksilkarbodiimit
<b>DOX</b>	Doksorubusin
<b>DTT</b>	1,4-Ditiyotiriitol
<b>EDC</b>	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimit hidroklorid
<b>F-TIR</b>	Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektrometre
<b>GPTMS</b>	(3-Glisidoksipropil)trimetoksisilan
<b>GSH</b>	L-Glutasyon
<b>KT</b>	Kitosan
<b>LA</b>	Lipoik Asit
<b>MNP</b>	Manyetik nanoparçacık
<b>MR</b>	Manyetik rezonans görüntüleme
<b>MSN</b>	Mezoporoz silika nanoparçacık
<b>NHS</b>	N-Hidroksisüksinimit
<b>NP</b>	Nanoparçacık
<b>PBS</b>	Fosfat buffer
<b>R6G</b>	Rodamin 6G
<b>TEM</b>	Geçirimli elektron mikroskobu
<b>TNBSA</b>	Trinitrobenzosülfonik asit
<b>XRD</b>	X-ışını kırınımı



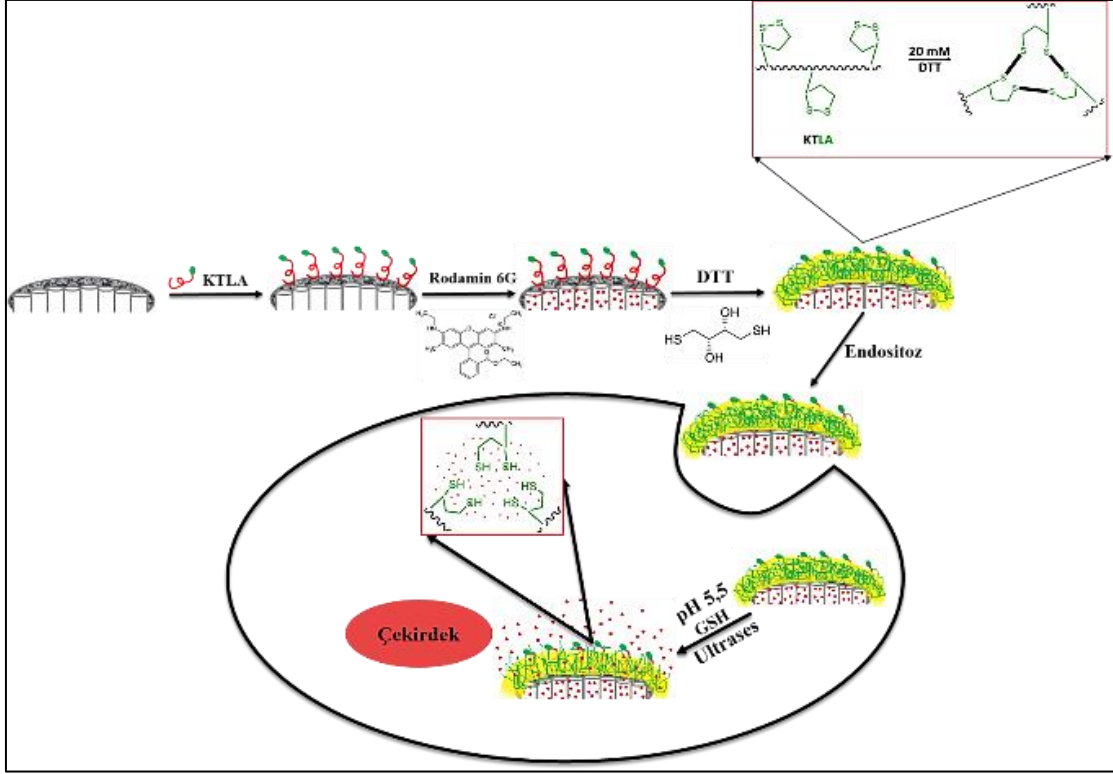
## 1. GİRİŞ

Kanser günümüzde çok yaygın olarak hemen hemen her yaş grubunda görülebilen ve erken teşhis yapılamaması durumunda ölüme sonuçlanabilen ciddi bir hastalıktır. Bu hastalığı anlayabilmek için biyolojik olarak nasıl geliştiğinin bilinmesi gerekmektedir. Sağlıklı bir bireyde hücreler kontrollü bir şekilde çoğalır ve kendini yenileyip, onarabilirken, kanserli hücreler kontrolsüz bir şekilde sürekli bölünerek çoğalır ve tümörleri oluştururlar. Bu kontrolsüz çoğalan basit hücre tipleri erken teşhis edilemez ise tüm vücuda yayılarak verdiği tahribat ile organizmanın ölümüne neden olabilmektedir (Hoener ve diğerleri, 1992). Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan istatistiksel bir çalışmada 2018 yılında 18,1 milyon yeni kanser vakasının ortaya çıktığını ve kanser hastalığından dolayı ölümlerin 9,6 milyona yükseldiğini raporlamıştır (Ferlay ve diğerleri, 2018). Kanser tedavisinde hâlihazırda kullanılan geleneksel kemoterapötik ilaçlar, tümörlü hücreler dışında normal hücreler üzerine de toksik etki gösterdiğinden immün sistemi de etkileyerek, organizmanın kendini iyileştirme yetkinliğini kısıtlamaktadır (Danhier, 2010). Bu nedenle son yıllarda bilim insanları hastalıklı bölgeye hedefli nanotaşıyıcıların geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmışlardır. Bu kapsamda, nihai hedefe odaklı, toksik olmayan sistemlerin geliştirilmesi ile tedavinin yan etkilerinin azaltılması ve tedavi etkinliğinin artırılması hedeflenmektedir (Byrne, 2008). Bu nedenle, biyoyumlu polimerik nanopartiküller, lipozomlar ve mikroküreler gibi çeşitli ilaç taşıyıcıları, terapötik etkinliğin artırılması ve anti-kanser ilaçlarının toksisitesinin azaltılması amacıyla geliştirilmektedir. Son birkaç yıldır ise bu hedef bir nokta daha ileri götürülerek, hedefleme, görüntüleme, teşhis ve tedavi gibi pek çok özelliğin tek bir sistemde toplandığı çok fonksiyonlu nanotaşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi üzerine odaklanılmıştır (Na ve diğerleri, 2003). Bu kapsamda çekirdek/kabuk şeklinde bulunan ve hibrit diye adlandırılan nanotaşıyıcı sistemleri hazırlanmaktadır. Bu sistemlerde çekirdek kısmı; manyetik nanoparçacık, altın nanoparçacık, gümüş nanoparçacık, silika nanoparçacık gibi metalik veya inorganik özellikli olabilirken dış kabuk genellikle biyoyumluluğu arttırmak ve salım profilini kontrol edebilmek için polimer tabanlı sistemler kullanılmaktadır (Neubergera ve diğerleri, 2005). Bu hibrit nanotaşıyıcı sistemlerinin çekirdek kısmını oluşturabilen manyetik nanoparçacıklar, biyomedikal uygulamalarda, Manyetik Rezonans Görüntüleme (MR) ajanı olarak hastalıkların teşhislerini kolaylaştırdıkları gibi tıbbi ilacın istenilen bölgeye manyetik olarak hedeflemesinde de kullanılabilmektedirler. Manyetik nanoparçacıklarının biyoyumluluklarının artırılması ve kontrollü bir nanotaşıyıcı sistem olarak

hazırlanabilmesi için genellikle biyouyumlu, sentetik ve biyobozunur (poliesterler, polianhidritler, poliortofosfatlar) veya biyouyumlu, sentetik ve biyobozunur olmayan (poliakrilatlar, silikon elastomerler) veya doğal, biyobozunur (jelatin, aljinat, kollajen, kitosan, vb.) polimerler ile kaplanabilmektedir (Panyam ve Labhasetwar, 2002). Akıllı ve çok fonksiyonlu bu nanotaşıyıcı sistemlerinden beklenen en önemli özellik taşıdığı kargo moleküllerini istenilen bölgeye hedefli olarak taşınması, istenilen dozda ve sürede salım yapması ve bunun yanında kan dolaşımında istenilen süre dolaşım yapabilmesi ve bu sürede olabildiğince düşük toksisite göstermesidir. Bu parametrelerin hepsinin birleşimi ile hazırlanan nanotaşıyıcılar kontrollü ilaç salım sistemi olarak adlandırılmaktadır. Bu tip akıllı ve çok fonksiyonlu sistemlerde ilaç salım hızını etkileyen faktörler, ilacın bulunduğu matriksin yapısı ve polimer-ilaç ilişkisi etrafında dönmektedir. Bu nedenle, ilacın yavaş yavaş ve kontrollü salımına izin veren bir matriksin oluşturulması gerekmektedir. Bu kapsamda, bu salım kontrolü dış kabuğu oluşturan polimerin pH, sıcaklık, redoks, ultrases gibi dış uyarıcılara verdiği tepki ile sağlanabilmektedir. Nanotaşıyıcı sistem bu tip dış uyaranlara tepki olarak taşıdığı kargo moleküllerini kontrollü bir şekilde salılabilmektedir (Freiberg, S. ve Zhu, X.X., 2004). Son yıllarda hazırlanan çok fonksiyonlu nanotaşıyıcı sistemlerinde bu parametreler göz önüne alınarak, teşhis, görüntüleme ve tedavi bileşenlerinin tek bir sistemde toplandığı kişiye ve hastalığa özel taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesine çalışılmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında, meme kanseri tedavisinde kullanılmak üzere pH/redoks/ultrases-kontrollü hibrit bir nanotaşıyıcı sistemi hazırlanmıştır (Şekil 1.1). Bu çok fonksiyonlu nanotaşıyıcı sistemin pH/redoks/ultrases-kontrollü salım etkinliği *in vitro* koşullarda incelenmiş ve hazırlanan sistemin kanser tedavisindeki kullanılabilirliği MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerinde yapılan sitotoksosite çalışmaları ile incelenmiştir.

Geliştirilen bu sistemden elde edilen sonuçlar ışığında, bu elipsoidal ve çok fonksiyonlu hibrit nanotaşıyıcı sistemin yeni nesil kontrollü salım sistemi olarak umut vaad ettiği düşünülmektedir.



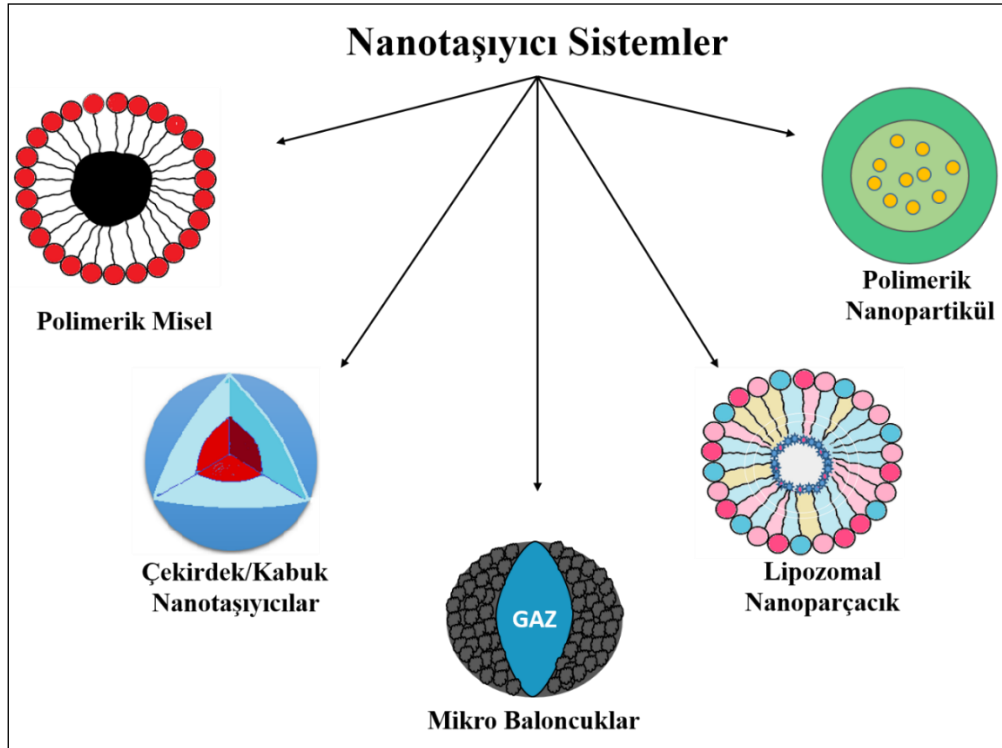
Şekil 1.1. pH/redoks/ultrases kontrollü hibrit nanotaşıyıcı sistemin çalışma mekanizmasının şematik gösterimi



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İlaç Taşıyıcı Sistemler

Kanser tedavisinde kullanılan en klasik yöntem, kimyasal bir tedavi olan kemoterapidir. Kemoterapi ilaçları kanserli hücrelerin yanında sağlıklı hücreler üzerine de toksik etki göstermektedir. Bununla birlikte vücudun immün sistemini etkilediği için organizmanın kendini koruma kalkanlarını çalışmaz hale getirmektedir. Bunun yanında, kemoterapi kanserli hücrelere seçimli bir tedavi şekli değildir, doz ayarı istenilen şekilde yapılamamaktadır. Bu yan etkileri nedeniyle tedavi süreci hasta için oldukça zorlu geçmektedir. Kemoterapinin bu yan etkilerinin azaltılması ve tedavi sürecinin daha etkili ve hastanın konforuna uygun hale getirilmesi için son yıllarda araştırmacılar kemoterapik ilaçların kapsüle edildiği, doz ayarının yapılabildiği, kontrollü ve seçimli salımın yapılabildiği ve istenmeyen yan etkilerin en aza indirildiği nanotaşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi üzerine çalışmaktadırlar. Bu amaçla farklı tipte pek çok nanotaşıyıcı geliştirilmiştir. Bunların başlıcaları; lipozomal nanoparçacıklar, miseller, polimerik nanoparçacıklar, mikrobaloncuklar ve son zamanda popüler hale gelen çekirdek/kabuk tipi nanotaşıyıcılardır (Şekil 2.1) (Cho ve diğerleri, 2008; Dağlar ve diğerleri, 2014).

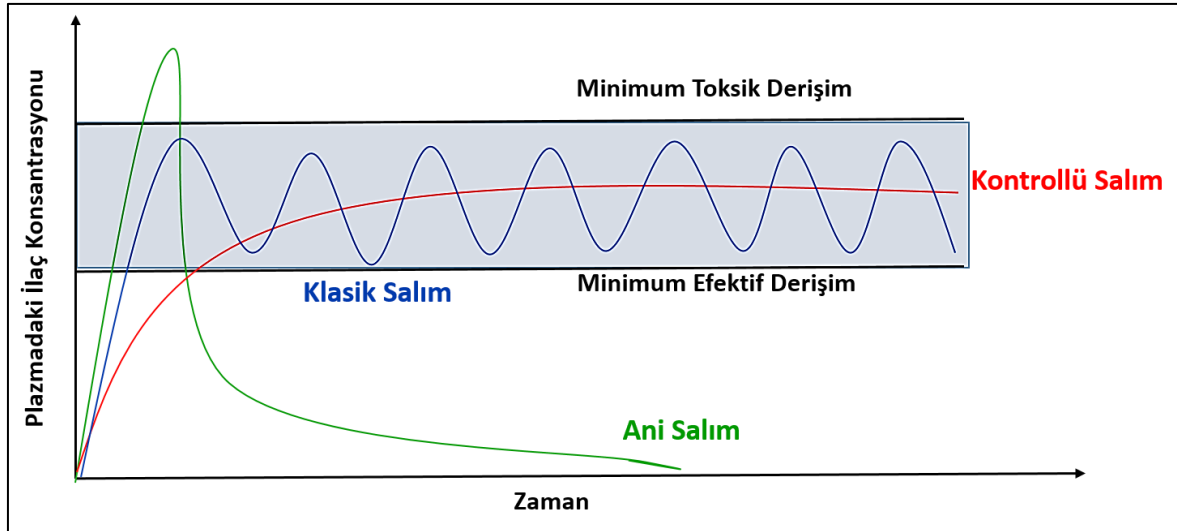


Şekil 2.1. Nanotaşıyıcı sistemlerinin şematik gösterim (Dağlar ve diğerleri, 2014)

Bu nanotaşıyıcıların hazırlanmasındaki istenilen temel hedef; amaca uygun olarak içerisine yüklenen ilaç, gen, DNA, protein gibi kargo moleküllerinin salım süresinin, dozunun ve salım yerinin kontrolünün sağlanmasıdır (Langer ve Peppas, 2003). Bu kontrollü salım sistemlerinde salım genellikle üç ana mekanizma üzerinden yürümektedir;

- i. Difüzyon-kontrollü salım mekanizması: Bu mekanizma üzerinden yürüyen bir salım profilinde; ilaç molekülleri biyouyumlu, toksik olmayan bir polimer matris içerisine hapsedilir ve bu matrisden kargo moleküllerinin difüzyon hızı salım mekanizması için sınırlayıcıdır. Bu difüzyon hızı en iyi şekilde Fick yasası ile tanımlanmaktadır (Siepmann ve Siepmann, 2012).
- ii. Kimyasal reaksiyon-kontrollü salım mekanizması: Bu mekanizmada ilaç molekülleri polimere kovalent bağlarla bağlanır ve ilacın salınması için uygun şartlarda bu bağların kırılması ve ilacın serbest hale gelmesi gerekmektedir.
- iii. Çözücü taşınması-kontrollü salım mekanizması: Polimerik matrisin içine çözücü difüzyonu olur ve matrisin şişmesi ve ilacın içeri giren çözücü molekülleri ile yer değiştirerek dışarı çıkması prensibine dayanır (Langer ve Peppas, 1983).

Bu mekanizmalar dikkate alınarak hazırlanan kontrollü ilaç salım sistemlerinde öncelikli hedef; ilaç dozajını minimum seviyeye indirmek ve hastanın yaşam kalitesini arttırmaktır. Bu beklentileri en iyi karşılayan kontrollü nanotaşıyıcı sistemlerinde salım mekanizması Şekil 2.2’de şematik gösterildiği şekilde yürümektedir. İlgili grafik incelendiğinde, geleneksel ilaç alımında, vücut içerisine verilen ilaç derişiminin zamana bağlı değişiminin ilaç alımından itibaren kan içinde ilk olarak arttığını daha sonra kısa bir süre sabit kaldığı ve hızla azaldığı görülmüştür. Bilinen dozaj şekillerinde ilaç vücut içerisine verildikten bir süre sonra, derişimi ve etkinliği azalmaktadır. Bu durumda tekrar ilaç takviyesi yapılmalıdır ve ancak birçok kere uygulanmasıyla birlikte madde-plazma düzeyi etkin bölgede tutulabilmektedir. Ancak kontrollü salım sistemleri incelendiğinde vücut içerisine belirli bir doz alındıktan sonra etkin madde derişimi istenilen sürede sabit kalmaktadır. Bu platformda, ilacın etkin madde düzeyi değişmediği için, hastaya aynı seviyede aktif madde ile düşük doz kullanılarak tedavi sağlanmış olmaktadır (Liechyt ve diğerleri, 2010).



Şekil 2.2. Salım sistemlerinde dozaj karşılaştırması (Liechyt ve diğerleri, 2010)

Nanotaşıyıcı sistemlerinden beklenen en önemli özellik kontrollü bir dozda ve seçimli salım yapılabilmesidir. Bu kapsamda kontrollü salım yapılabilmesi için nanotaşıyıcı sistemleri genellikle bir dış uyarıcı etkene duyarlı olarak hazırlanmaktadır. Böylelikle hazırlanan sistem sıcaklık, pH, ultrasonikasyon ve redoks gibi bir dış uyarıcıya cevap olarak taşıdığı kargo moleküllerini salmaktadır. Bu dış uyarıcı etmenler ve salım stratejileri şu şekilde özetlenebilir;

**Sıcaklık-duyarlı salım etkisi:** Sıcaklık-duyarlı ilaç taşınma sistemlerinde yapılabilen çok yönlü tasarımlar ile sistemin faz geçiş sıcaklığı ayarlanabilmekte ve kanser tedavisine özel taşıyıcı sistemler hazırlanabilmektedir (Bikram ve West, 2008). Bilindiği gibi normal vücut sıcaklığı 37°C'dur. Fakat kanserli hücrelerin 39-44°C arasında sıcaklığa bağlı ölümü sağlanabilmektedir. Bu kapsamda sıcaklık-kontrollü nanotaşıyıcı sistemleri sıklıkla hazırlanmaktadır (Choi ve diğerleri, 2010). Bu strateji için en uygun taşıyıcı tipleri lipozomlar, polimerik miseller ve polimerik partiküllerdir (Karimi ve diğerleri, 2016).

**pH etkisi:** Tümörlü bölgelerin pH değerinin normal hücrelere göre daha asidik olduğu bilinmektedir. Endozomal bölgede pH değeri 6 civarı iken lizozomal bölgenin pH değeri ise 5 civarıdır. Bu pH değerlerine duyarlı salım yapabilen nanotaşıyıcı sistemleri tasarlanabilmektedir (Stubbs ve diğerleri, 2000, He ve diğerleri, 2013).

**Ultrasonikasyon etkisi:** Son yıllarda ilaçların dağıtımını ve etkinliğini arttırmak için ultrasonikasyon yöntemi kullanılmaktadır. Sonikasyon, vücut dokularına nüfuz edebilen bir

teknik olarak kabul edilir ve bu ultrasonik etki, kritik sağlıklı dokuların yakınında bulunmayan tümörlerin tedavisinde ilaç salınımını kontrol etmek için terapötik bir araç olarak kabul edilmektedir (Taghizadeh ve diğerleri, 2014). Ayrıca terapötik ultrasonik uygulanmasıyla damar geçirgenliğindeki artışın, antikanser ilaç moleküllerinin tümörlü bölgede iki kat daha fazla ulaştırılmasına yol açtığı tespit edilmiştir (Kheirloom ve diğerleri, 2010).

Redoks-duyarlı salım etkisi: Nanotaşıyıcı ilaç sistemlerinin, tümörlü hücrelerde redoks duyarlı olarak bozulması ve yüklenmiş ilacın serbest bırakmasına izin veren oldukça etkili bir salım sistemidir. Redoks-duyarlı nano-taşıyıcıları normal dokularda genellikle kararlıdır ve bu nedenle toksisite etkileri çok daha azdır. Redoks-duyarlı nanotaşıyıcıların yapısında çapraz bağlanmış olarak bulunan -S-S- bağları sayesinde içerisindeki kargo moleküllerini bu çapraz bağların kırılacağı indirgeyicilerin bulunduğu ortama dek oldukça kararlı ve seçimli bir şekilde taşımakta ve indirgeyici ajanlar ile çapraz bağlar kırıldığında salım yapılmaktadır (Guo ve diğerleri, 2018).

## **2.2. Nanotaşıyıcı Sistemlerin Sınıflandırılması**

Kanser gibi tedavisi uzun ve yorucu olan hastalıkların teşhis, tedavi ve görüntülenmesi için akıllı ve kontrollü salım yapabilen, düşük toksisiteye sahip, seçimli ve yönlendirilmiş nanotaşıyıcıların geliştirilmesi son yılların en önemli araştırma başlıklarındandır. Buradaki temel hedef; kişiye ve hastalığa özel “kişisel ilaç” üretimidir. Bu amaçla hazırlanan farklı tipte nanotaşıyıcı sistemlerini aşağıdaki gibi sınıflandırmak mümkündür.

### **2.2.1. Lipozomlar**

Lipozomlar, aralarında sulu bir faz bulunan birden fazla lipit çifte tabakadan oluşan küresel şekilli keseciklerdir. Bu lipitlerden oluşan düşük toksisiteli keseciklerin içerisi ilaç gibi kargo molekülleri ile doldurulabilmekte ve bu şekilde taşıyıcı sistem olarak kullanılabilir (Malam ve diğerleri, 2009).

### **2.2.2. Miseller**

Miseller küresel bir çekirdek ve bir dış kabuktan oluşan makromoleküler yapılardır. Diblok, triblok kopolimerler veya aşırı polimerler kullanılabilir. Diblok yapının çekirdek kısmı

hidrofobik ve dış kabuk kısmı hidrofiliktir. Bu nedenle, çekirdek kısmına hidrofobik ilaçlar, kabuk kısmına ise hidrofilik maddeler yüklenebilmekte veya modifiye edilebilmektedir (Batrakova ve diğerleri, 2006).

### **2.2.3. Mikrobaloncuklar**

Mikrobaloncuklar (MB'ler) ultrases-kontrollü çalışmalarda kullanılmaktadırlar. Ultrasesin MB'lerle kombinasyon halinde kullanılması ilaç salımını arttırmak için yeni bir yöntem olarak dikkat çekmektedir. Polimerik nanopartiküller (NP'ler) ile kombine edilmiş MB'lerden oluşan tek bir sistemde, görüntüleme ve tedavi dahil olmak üzere çok fonksiyonlu sistemler geliştirilebilmektedir. Uygulanan ultrases dalgaları ile MB'ler patlar ve yüklenen kargo molekülleri serbest kalır. Mikrobaloncuklar iyi bir taşıyıcı ve görüntüleme ajanı olarak kullanılabilir (Mørch ve diğerleri, 2015).

### **2.2.4. Polimerik nanoparçacıklar**

Polimerik nanoparçacıklar, doğal ve sentetik bileşenlerin kullanılması ile istenilen özelliklerde sentezlenebilen, kolay fonksiyonelleştirilebilen nanotaşıyıcı sistemlerdir (Elsabayh ve Wooley, 2012). Bu nanoparçacıklara yüksek miktarda ilaç yüklenebilir, hedeflendirilebilir ve pH, redoks, sıcaklık, ultrases, manyetik ve ışık gibi dış uyarıcılar ile salımları kontrol edilebilir olmaları nedeni ile sıklıkla tercih edilen sistemlerdir (Cheng ve diğerleri, 2013).

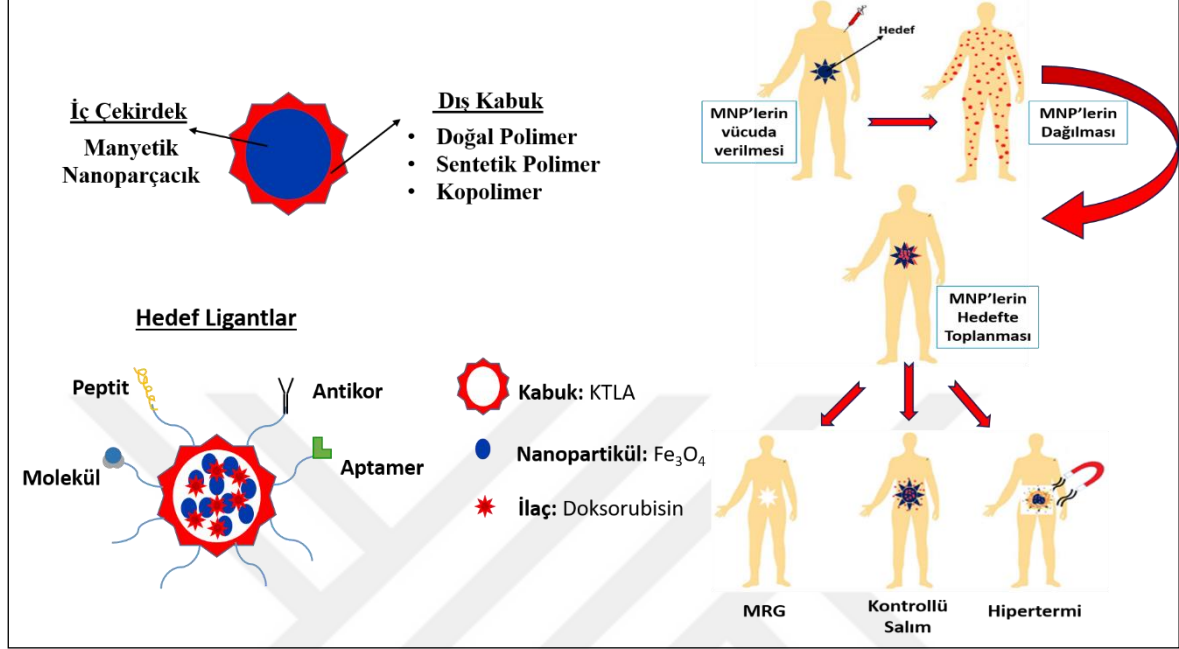
### **2.2.5. Çekirdek/Kabuk hibrit nanotaşıyıcılar**

Son yıllarda yeni nesil nanotaşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesi üzerine çalışmalar devam etmektedir. Farklı yapısal özellikler ve üretim yöntemleri kullanılarak yeni nesil nanotaşıyıcı sistemleri geliştirilmektedir. Bu sistemlerde artık ana hedef; kargo moleküllerinin taşınımının yanında kontrollü bir salım profilinin yakalanması ve nanotaşıyıcı sistemin teşhis/tedavi/görüntüleme gibi üçlü etkiye sahip olmasıdır. Bu tür teşhis/tedavi amaçlı kullanılabilen sistemler terapötik sistemler olarak adlandırılmaktadır (Gong ve diğerleri, 2012). Bu terapötik taşıyıcı sistemlere farklı ilaç molekülleri, proteinler, gen ve DNA gibi kargo moleküllerinin yanında hedef doku ve organların görüntülenmesi için bazı görüntüleyici ajanlar yüklenebilmekte ve/veya hazırlanan parçacık sistemine kimyasal olarak bağlanabilmektedir. Geleneksel tedavilere alternatif geliştirilmeye başlanan ilk

kontrollü salım sistemlerinde öncelikle araştırmacılar tekli bileşenden oluşan nanoparçacıkları incelemişlerdir. Fakat 1980'lerin sonunda, heterojen veya sandviç şeklindeki hibrit parçacıkların, tekli parçacıklardan daha iyi verime sahip olduğunu belirlemişlerdir (Dhas ve diğerleri, 2018). 1990'ların başında, bu malzemelerin özelliklerini daha da geliştirmek amacıyla katmanlı nanoparçacıkları sentezlemişlerdir. Bu sentezlenen katmanlı parçacıklar için “çekirdek/kabuk” terimi kabul edilmiştir (Hoener ve diğerleri, 1992, 1993; Zhou ve diğerleri, 1994). Genellikle, nanoparçacıklar, tek bir malzemedен yapılrken adından da anlaşılacağı gibi, çekirdek/kabuk parçacıkları iki veya daha fazla farklı özellikteki maddeden oluşmaktadır. Çekirdek/kabuk nanoparçacıkları bir çekirdek (iç malzeme) ve bir kabuk (dış katman malzemesi) içerecek şekilde tanımlanmaktadır. Çekirdek/kabuk nanoparçacıklar, çekirdek ve kabuk malzemelerinin bir araya gelmesiyle elde edilebilecek benzersiz özelliklere sahip çok işlevli malzemelerdir. Bu nanoparçacıkları oluşturan kabuk malzemeleri ve çekirdek arasındaki oranı değiştirilerek elde edilen yeni yapı, farklı fiziksel özellikler gösterebilmektedir (Oldenberg ve diğerleri, 1998). Çekirdeğin kabuk ile kaplanması kimyasal kararlılığı da arttırır ve sonuç olarak bu nanoparçacıkların sentezlenmesinde kullanılan çekirdek ve kabuk malzemelerinin spesifik özelliklerinin yanısıra farklı fiziksel özelliklerde ortaya çıkmaktadır (Daniel ve Astruc, 2004; Caruso ve diğerleri, 2001). Sentezlenen çekirdek/kabuk hibrit nanoparçacıkları çekirdek ve kabuk malzemesinin özelliklerine bağlı olarak; (i) organik çekirdek/organik kabuk; (ii) organik çekirdek/inorganik kabuk; (iii) inorganik çekirdek/organik kabuk; (iv) inorganik çekirdek/inorganik kabuk şeklinde sınıflandırılabilir (Gosh ve Paria, 2011).

Biyolojik uygulamalardaki uyumluluğundan dolayı inorganik çekirdek ve organik kabuk yapıları daha çok tercih edilmektedir. Özellikle çekirdek için tercih edilen manyetik nanoparçacıklar (MNP), manyetik alanda yönlendirilebilir olması, manyetik alan altında ısınarak hipertermi sağlayarak oluşan 41-47°C sıcaklığın hücre ölümünü sağlaması, hedeflendirilmiş ilaç salımı sağlaması ve MR görüntülenmesine olanak sağlaması ile sıklıkla kullanılan önemli bir malzeme sınıfıdır (Wu ve Huang, 2017). Genellikle küresel formda, çeşitli boyutlarda ve ortak çöktürme, mikroemülsiyon, hidrotermal gibi sentez yöntemleri kullanılarak sentezlenebilen MNP'lar biyoyumluluklarının arttırılması ve kargo taşıyıcı bir sistem olarak hazırlanabilmesi için polimerler gibi organik veya silika katmanı gibi inorganik bir kabuk ile kaplanmaktadır. Bu şekilde hazırlanan çekirdek/kabuk hibrit nanoparçacık sistemi dış kabuk olan polimerlerin fonksiyonelleştirilebilme özelliğinden yararlanılarak DNA, aptamer, protein gibi hedefleyici ajanlarla modifiye edilebilir ve içine

istenilen kargo moleküllerin yüklenmesi ile de hem görüntüleyici hem de akıllı bir salım sistemi olabilir (Millart ve diğerleri, 2018) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Manyetik özellikli çekirdek/kabuk tipi hibrit nanotaşıyıcıların teşhis/tedavi mekanizması ve parçacıkların şematik gösterimi (Erdoğan, 2018)

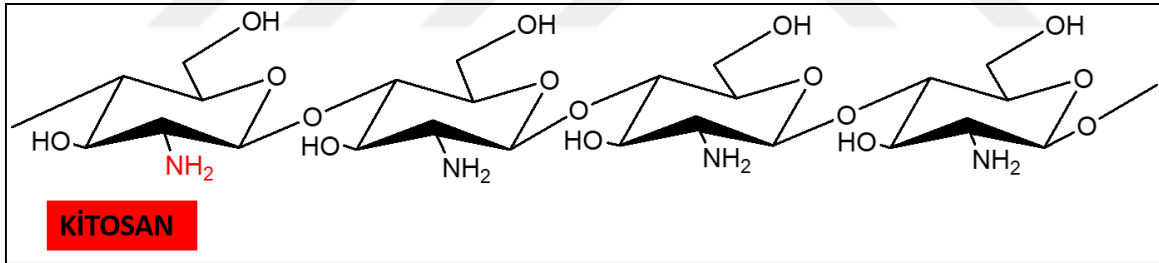
Şekil 2.3’de şematik gösterildiği gibi manyetik çekirdek ve akıllı bir polimerik kabuktan oluşturulan manyetik hibrit nanotaşıyıcı sistemleri manyetik yönlendirme ile istenilen tümörlü bölgelere yönlendirilebilmektedir. Bu yönlendirme MR’de manyetik çekirdeğin verdiği kontrast ile görüntülenebilmekte ve uygulanan manyetik alanın etkisi ile ısınan sistemin oluşturduğu hipertermi ile bölgenin 41- 47°C arasında ısınmasına ve kanserli hücre ile dokuların sıcaklıkla tahrip olmasına sebep olmaktadır. Bunun yanında manyetik hibrit nanoparçacıklar içlerindeki kargo moleküllerini bu ortamda kontrollü bir şekilde salmakta ve etkili bir teşhis/tedavi sağlanabilmektedir.

Çekirdek/kabuk tipi hibrit nanotaşıyıcı sistemlerinin genellikle görüntüleme, yönlendirme görevini üstlenen iç çekirdek kısmının yanında biyouyumluluğu arttıran ve kargo moleküllerinin kontrollü salımını sağlayan kabuk kısmının tasarımı ve kullanılan materyaller oldukça önemlidir. Çekirdek/kabuk tipi hibrit nanoparçacıklarda genellikle yumuşak, biyouyumlu ve fonksiyonellştirmeye elverişli olan sentetik, yarı sentetik veya doğal polimerler kullanılabilir. Özellikle doğal polimerler düşük toksisite ve

biyoyumlu, biyobozunur yapıları nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir (Bajpai ve diğeri, 2008).

Biyopolimerler arasında selüloz, nişasta, ipek, jelatin ve kollajen gibi doğal polimerik yapılar çeşitli şekillerde biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır.

Kitosan; yapı olarak selüloza benzeyen ve eklembacaklılar, böcekler ve kabuklu deniz canlılarının kabuğunda bulunan bir polisakkarit olan kitin ( $C_8H_{13}O_5N$ )<sub>n</sub>'in deasetilasyonu sonucu elde edilen, katyonik bir polisakkarittir (Şekil 2.4). Kitosan nötral ve alkali pH'da çözünmez, ancak asidik pH değerlerinde suda çözünebilen formlara dönüşür. Özellikle % 75-80 deasetilasyon derecesine sahip olan türevlerinin asidik ortamda en iyi çözüldüğü bilinmektedir (Gref ve diğeri, 1994). Biyoyumlu, biyobozunur doğası ve yapısında bulunan  $-NH_2$  gruplarından çeşitli şekillerde kimyasal olarak modifiye edilebilmesi ve bu grupların asidik ortamda pozitif yüklenmesi nedeniyle biyomedikal, kozmetik, gıda, farmasötik sektörü, atık su iyileştirme, gıda endüstrisi ve kontrollü salım sistemlerinde tercih edilen doğal bir polimerdir (Rao ve diğeri, 2006).



Şekil 2.4. Doğal polimer olan kitosanın moleküler yapısı.

Literatürde kitosan polimerinin kullanıldığı pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar incelendiğinde; Hu ve arkadaşları, pH-duyarlı kitosan kaplı mezopozoz silika yapılarının (KT-MSN) sentezini ve antikanser ilacı DOX'un yüklemesinin ardından meme kanseri hücresi olan MCF-7 hücreleri üzerinde düşük ve yüksek pH'lardaki pH-duyarlı salım profillerini incelemiştir. Yaptıkları çalışmalarda parçacıkların asidik ortamda daha fazla salım yaptığı ve kanser hücreleri üzerine sitotoksik etki gösterdiğini raporlamışlardır (Hu ve diğeri, 2013).

Bir başka çalışmada Zhou ve arkadaşları, lipoik asit modifiye edilmiş glkol kitosan ile bir misel sistemi oluşturmuşlar ve 1,4-Ditiyotiriitol (DTT) ile çapraz bağladıkları bu sistem

içerisine DOX yüklemesi yaparak farklı pH ortamlarındaki akciğer kanser hücresi olan A549 hücreleri üzerinde pH/redoks-duyarlı salım profillerini incelemişlerdir. Yapmış oldukları çalışma sonucunda hazırladıkları sistemin kanser hücresi üzerinde sitotoksik etki gösterdiğini ve daha asidik ortamda ve ayrıca indirgeyici ajan GSH ortamında daha fazla salım gerçekleştiğini göstermişlerdir (Zhou ve diğerleri, 2016).

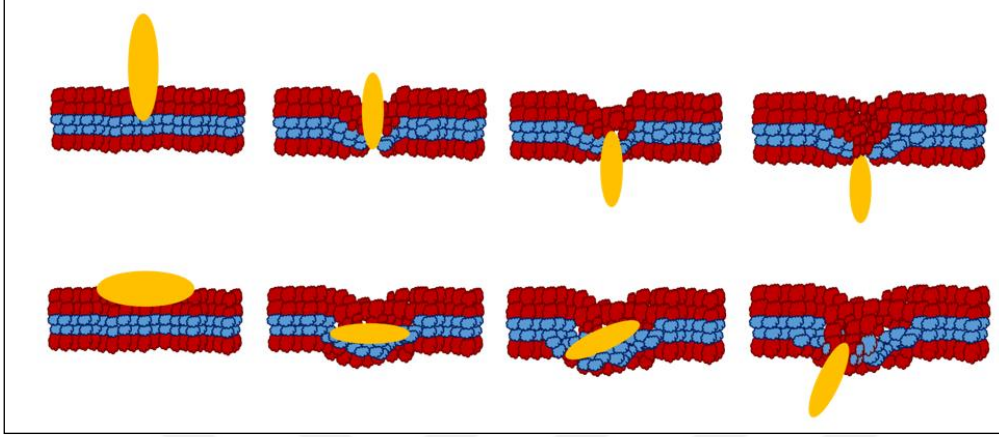
Liu ve arkadaşları, polietilenglikol-kitosan-lipoik asit amfifilik kopolimerini (PEG-KT-LA) sentezleyip çapraz bağlayıcı DTT ile misel oluşturmuşlar ve karaciğer kanseri hücresi olan HepG2 hücresindeki salım uygulamaları için DOX yüklemesi yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda sistemin, vücut içinde dolaşım sırasında dengesini koruduğunu ve hücre içi redoks koşulu altında ilaç salımının çok daha hızlı gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir (Liu ve diğerleri, 2016).

Çekirdek/kabuk tipi nanotaşıyıcı sistemleri de literatürde son zamanlarda oldukça sıklıkla çalışılan sistemlerdir. Lee ve arkadaşları ise yaptıkları bir çalışmada, silika/mezoporoz silika katmanları ile kaplı süper paramanyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarını biyouyumlu bir dış kabuk ile kaplamışlar ve pH ve ultrases-duyarlı bu sistem hazırlamışlardır. Bu sisteme DOX yüklemesi yaparak L929 hücreleri (kök hücre) üzerindeki etkinliklerine bakmışlardır. Elde ettikleri sonuçlar doğrultusunda hazırlanan manyetik çekirdekli sistemin biyouyumlu olup L929 hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterdiğini, ilaç, pH'nin düşürülmesi ve ultrases varlığında ise metal katyon ile taç eterin glikol zincirleri arasındaki etkileşimin parçalanmasıyla ilaç moleküllerinin salımının gerçekleştiğini göstermişlerdir (Lee ve diğerleri, 2013).

Kim ve arkadaşları ibuprofen ilaç yüklü, silika merkezli polidimetilsiloksan (PDMS) kaplı bir ilaç taşıma sistemi geliştirmişlerdir. Bu sistem üzerinde ultrases dalgaları kullanarak kontrollü salım profillerini raporlamışlardır. Çalışmaları sonucunda ultrases uygulanan parçacıkların ilaç moleküllerini normal salıma göre daha fazla gerçekleştirdiğini raporlamışlardır (Kim ve diğerleri, 2006).

Bu yapılan çalışmaların yanında, son birkaç yıldır nanoparçacıkların şekilsel değişikliklerinin de nanotaşıyıcı sistemlerin etkinliklerini etkilediği gözlemlenmiştir. Bu çalışmalarda; küresel hibrit nanotaşıyıcıların yerine pirinç ve elipsoidal benzeri geometrideki nanoparçacıklar kullanıldığında bunların hücre duvarından küresel

nanoparçacıklara nazaran daha kolay geçebildiği ve buna ek olarak ince fakat uzun yapıları ile daha fazla kargo molekülü taşıyabildikleri gösterilmiştir (Şekil 2.5 ) (Dhas ve diğerleri, 2018; Dağlar ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.5. Elipsoidal geometrideki nanoparçacıkların hüresel alınkonmasının şematik gösterimi (Yang ve Ma, 2010).

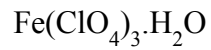
Şekil 2.5’ de görüldüğü gibi pirinç benzeri elipsoidal geometrideki bu parçacıklar hücre duvarlarından çok daha rahat ve efektif bir şekilde geçebilmektedirler. Desai ve arkadaşları da, poligliserol sebakat (PGS) ve polietilen glikol (PEG)’den oluşan PGS-ko-PEG elipsoidal nanoparçacık sistemini geliştirmişlerdir. Parçacıklar içerisine DOX yüklemesi yaparak osteoblast (kemik hücresi) üzerinde sitotoksik etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda nanoparçacık şeklinin, hücre içi alımı ve parçacık içine ilaç yüklenmesi için elipsoidal geometrideki parçacıkların daha etkin olduğunu ve serbest ilaç ile karşılaştırıldığında hücre üzerinde daha fazla sitotoksik etki gösterdiğini raporlamışlardır (Desai ve diğerleri, 2018).

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde birçok kontrollü salım yapabilen nanotaşıyıcı geliştirildiği görülmektedir. Yapılan tüm çalışmalar incelendiğinde, elipsoidal geometrideki teşhis/televi ve görüntüleme amaçlı kullanabilen, yüksek ilaç yükleme kapasitesine sahip hibrit nanotaşıyıcı sistemlerin yeni nesil kontrollü salım sistemlerinin geliştirilmesinde önemli bir yere sahip olduğu görülmektedir.

### 3. DENEYSEL KISIM

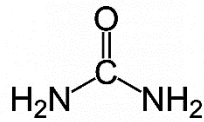
#### 3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

KTLA kaplı elipsoidal manyetik  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıkların hazırlanmasında kullanılan kimyasalların formülleri aşağıda verilmiştir.



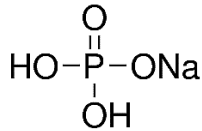
Demir(III) Perklorat Hidrat

Molekül Kütlesi : 354,20 g/mol



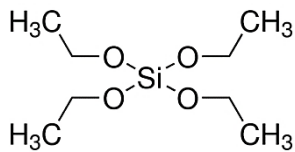
Üre

Molekül Kütlesi : 60,06 g/mol



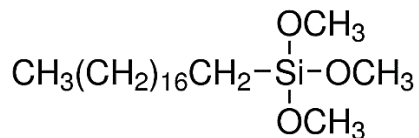
Sodyum Dihidrojen Fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ )

Molekül Kütlesi : 119,98 g/mol



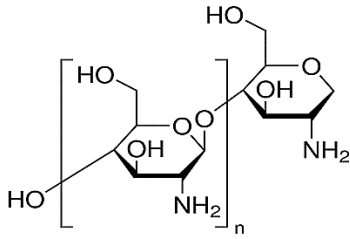
Tetraetilortosilikat (TEOS)

Molekül Kütlesi : 208,33 g/mol



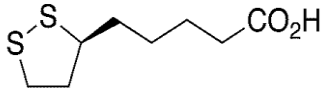
Trimetoksi(oktadesil)silan ( $\text{C}_{18}\text{TMS}$ )

Molekül Kütlesi : 374,67 g/mol



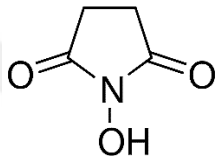
Kitosan (KT)

Molekül Kütlesi : 50,000-190,000 Da



Lipoik Asit (LA)

Molekül Kütlesi : 206,33 g/mol



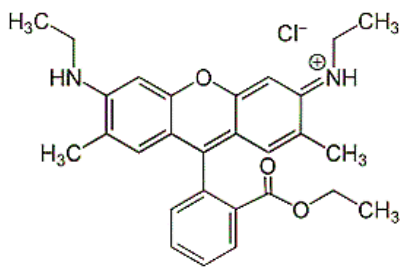
N-Hidroksisüksinimit (NHS)

Molekül Kütlesi : 115,09 g/mol



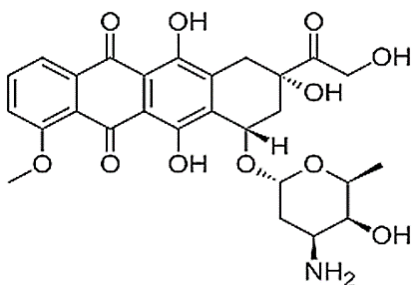
2,4,6 Trinitrobenzenesülfonik Asit (TNBSA)

Molekül Kütlesi : 293,17 g/mol



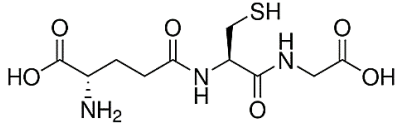
Rodamin 6G (R6G)

Molekül Kütlesi : 479,02 g/mol



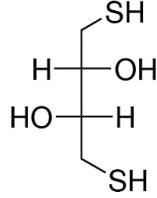
Doksorubisin (DOX)

Molekül Kütlesi : 543,52 g/mol



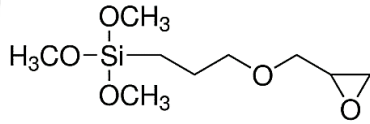
L-Glutatyon (GSH)

Molekül Kütlesi : 307,32 g/mol

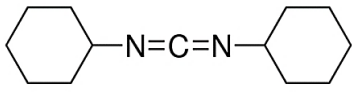


1,4-Ditiyotriitol (DTT)

Molekül Kütlesi : 154,25 g/mol

(3-Glisidiloksipropil)trimetoksisilan  
(GPTMS)

Molekül Kütlesi : 236,34 g/mol

N,N'-Disikloheksilkarbodiimit  
(DCC)

Molekül Kütlesi : 206,33 g/mol

### 3.2. KTLA Kaplı Elipsoidal Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> Nanoparçacıkların Hazırlanması

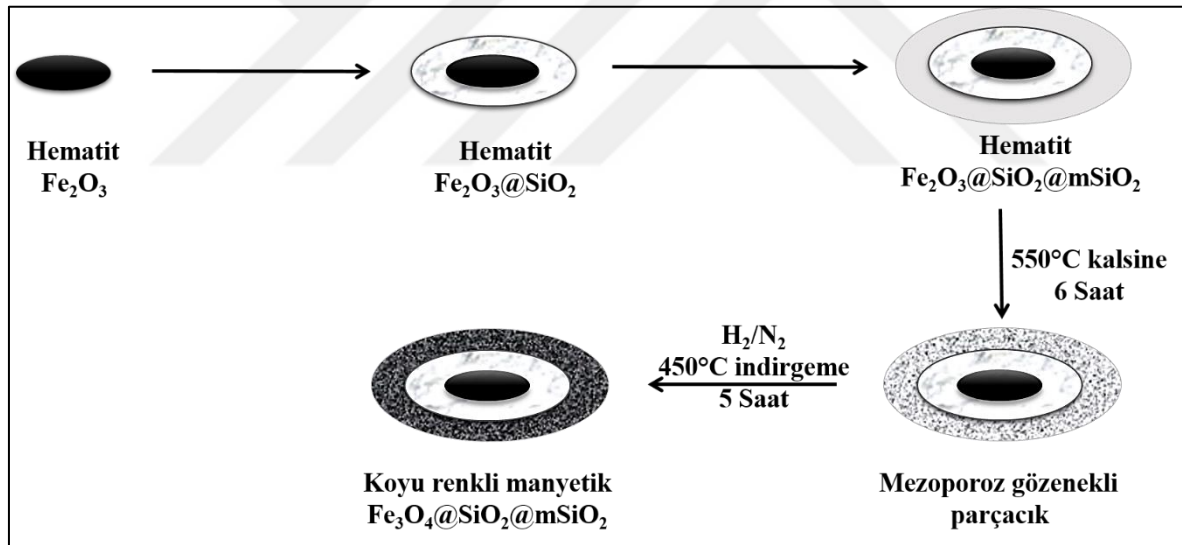
#### 3.2.1. Elipsoidal hematit Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparçacıkların sentezi

İlk olarak elipsoidal hematit Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparçacıkları hidrotermal yöntem kullanılarak sentezlendi. Bunun için, içi teflon olan çelik reaktör içerisinde 300 mL deiyonize su içinde 13,92 g Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O, 1,8 g üre ve 0,192 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> içeren bir çözelti hazırlanmış ve 100°C'de 24 saat boyunca bekletildi. 24 saat sonunda reaktör oda sıcaklığına soğutulduktan sonra açılmış ve koyu kahverengi renkli çözelti 8000 rpm'de 30 dakika santrifüjlenerek çöktürülmüş, süpernantant atılmış çökelek 3 kez saf su ile yıkandı. Böylelikle elipsoidal geometride hematit-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparçacıkları elde edildi (Ma ve diğerleri, 2012).

#### 3.2.2. Elipsoidal manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının sentezi

Hazırlanan elipsoidal hematit-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparçacıkların gözenekli hale getirilmesi için silika ve mezopoz silika katmanı ile kaplanarak sonraki aşamalara hazır hale getirildi. Silika

(SiO<sub>2</sub>) tabakası kaplaması için 72 mg hematit-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparçacıkları, 171,4 mL etanol, 24 mL H<sub>2</sub>O ve 7,54 mL amonyak çözeltisi içeren bir çözelti içine alındı. Daha sonra üzerine 4,8 mL etanol içinde çözülmüş 0,60 mL Tetraetilortosilikat (TEOS), hızlı karıştırma ortamında eklendi. Mezoporoz silika (mSiO<sub>2</sub>) kaplaması için, 4,8 mL etanol içinde 0,72 mL TEOS ve 0,48 mL Trimetoksi(oktadesil)silan (C<sub>18</sub>TMS) karışımları, 1 saat süreyle oda sıcaklığında aynı hızlı karıştırma yöntemi ile damla damla ilave edildi. Elde edilen Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> çökeltisi 8000 rpm'de 20 dakika santrifüjlenerek 3 kez saf su-etanol karışımı ile yıkama işlemi yapılarak çöktürme yapılmış ve toplandı. Bu şekilde hematit Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> nanoparçacıkları sentezlendi. Daha sonra, ürün 100°C'de kurutuldu ve 6 saat boyunca 550°C'de kalsine edildi. Son olarak indirgeme işlemi için, 5 saat boyunca 450°C'de N<sub>2</sub>(%95)/H<sub>2</sub>(%5) gaz karışımı geçirilen ortamda H<sub>2</sub>-indirgeme işlemine tabi tutuldu. Kahverengi olan hematit nanoparçacıklarımız daha koyu siyaha yakın renkte manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> haline dönüştürüldü (Ma ve diğerleri, 2012).

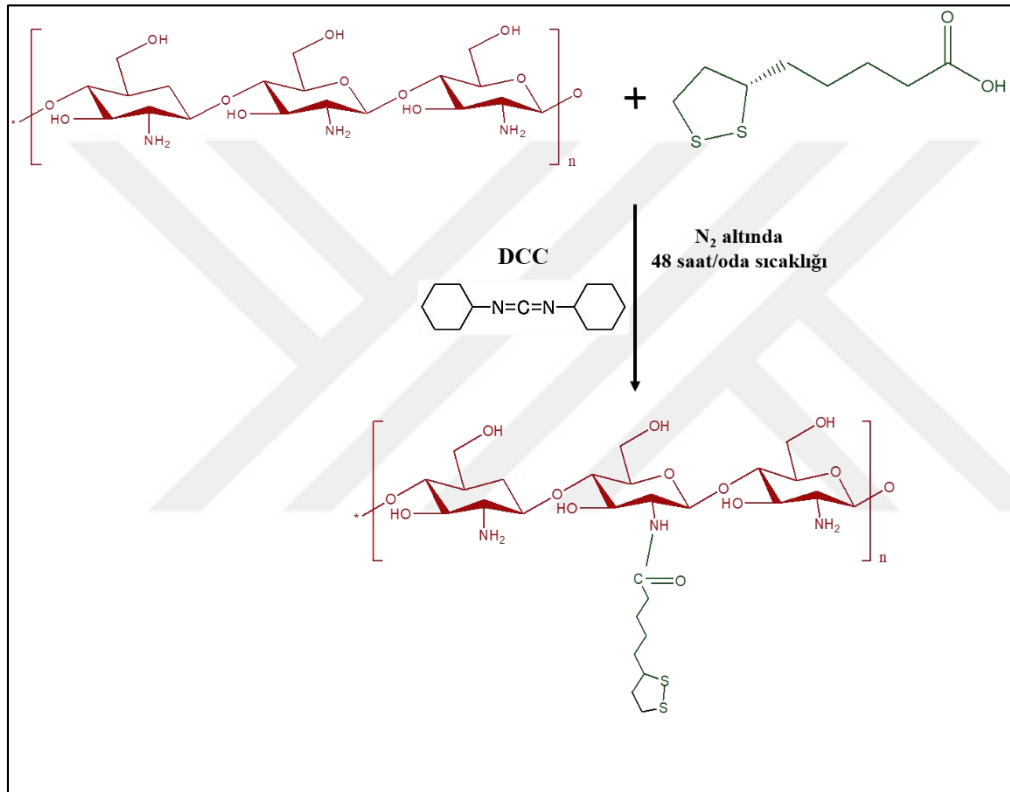


Şekil 3.1. Manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının oluşum şeması.

### 3.2.3. LA modifiye edilmiş KT polimerinin hazırlanması

Hibrit nanotaşıyıcı sisteminin kabuk kısmını oluşturacak biyoyumlu, pH/redoks-duyarlı lipoik asit modifiye edilmiş kitosan polimeri (KTLA) sentezlendi (Şekil 3.2). Bu amaçla, 100 mg lipoik asit (LA) 2 mL diklorometan (DCM) içinde çözüldü. Üzerine DCM içinde çözülmüş 82 mg N,N'-Disikloheksilkarbodiimit (DCC) üzerine ilave edildi. N<sub>2</sub> altında 48 saat karanlıkta ve oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. Bu süre sonunda çözücü evaporatörle uçurulmuş ve balonda film halinde bulunan aktive edilmiş LA, 20 mL dimetilsülfoksit

(DMSO) ile tekrar çözüldü. Üzerine yine 50 mL DMSO içinde çözülmüş biyoyumlu polimer olan 400 mg kitosan polimeri ilave edilmiş ve karanlıkta 48 saat boyunca  $N_2$  altında oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. Bu süre sonunda çözelti önce süzülüp filtrelenmiş ve sonra diyaliz membranına (MWCO: 6-8 kDa) alınarak 2 saat DMSO içinde, 4 gün deiyonize suya karşı diyaliz edildi (Elsaid ve diğerleri, 2017). Diyaliz sonunda malzeme liyofilize edilmiş ve bu işlemler sonunda KTLA elde edilmiş ve kimyasal yapısı  $^1H$ -NMR ile karakterize edildi.

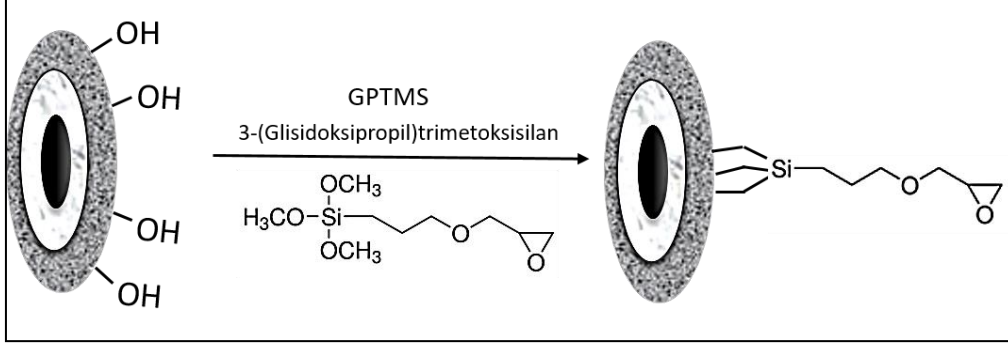


Şekil 3.2. Lipoik asit modifiye edilmiş kitosan polimerinin (KTLA) sentezinin şematik gösterimi.

### 3.2.4. Çapraz bağlı olmayan hibrit nanotaşıyıcıların hazırlanması

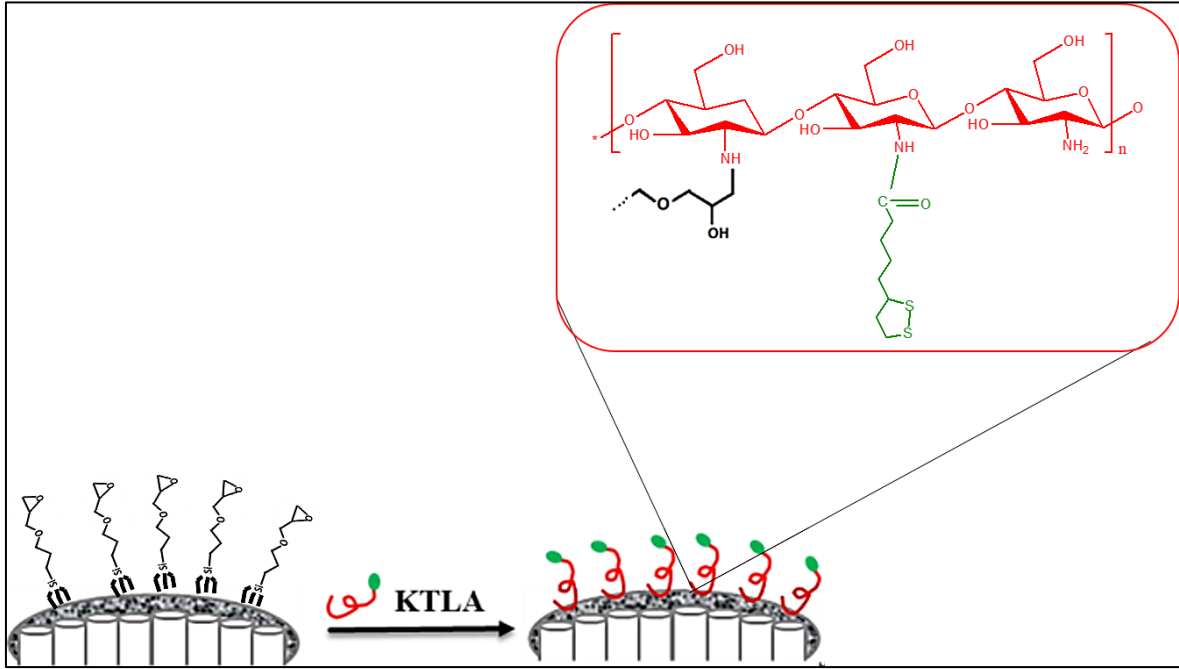
Biyoyumlu ve doğal polimer olan kitosan polimerine redoks duyarlı uç olan lipoik asit birimlerinin modifikasyonu ile elde edilen KTLA polimeri elipsoidal ve manyetik  $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$  nanoparçacıkları üzerine kaplanmış ve hibrit nanotaşıyıcı sistem hazırlandı. Burada amaç, parçacıkların vücut içerisindeki biyoyumluluğunu arttırmak ve dolaşım sürelerini uzatarak hedefli kanser hücrelerine ulaşım ihtimalini arttırmanın yanında kontrollü bir salım profili elde etmektir. Bunun için ilk olarak 20 mg elipsoidal  $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$  parçacık 10 mL DMSO içinde dağıtılmış ve ortama 100  $\mu$ l 3-

Glisidoksipropilmetoksisilan (GPTMS) ilave edilmiş ve 3 saat  $N_2$  altında karışmaya bırakıldı.



Şekil 3.3.  $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$  parçacıklarının GPTMS ile modifikasyonu

Daha sonra %1 lik (w/v) KTLA polimeri çözeltisi bu karışım üzerine damla damla ilave edilmiş ve 1 gün oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. Kaplanan parçacıklar santrifüjlenip 3 kez su ile yıkanarak saflaştırılmış ve mıknatis yardımıyla toplandı. Bu şekilde KTLA polimeri kaplı elipsoidal ve manyetik  $KTLA@Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$  parçacıkları elde edildi.



Şekil 3.4. KTLA polimerinin epoksi-sonlu  $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$  parçacığına bağlanmasının şematik gösterimi.

### 3.3. Çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların hazırlanması

Hibrit nanoparçacıkların pH/redoks-kontrollü salım yapabilmeleri için sentezlenen KTLA polimerinin, redoks duyarlı birimleri olan lipoik asit moleküllerinden -S-S- bağlarına duyarlı çapraz bağlayıcı olan 1,4-Dithiothreitol (DTT) ile çapraz bağlandı. Bu amaçla, 1; 5; 10 ve 20 mM olarak PBS’de hazırlanan DTT çözeltilerine, 10 mL pH=7,4 PBS’de dağıtılmış 10 mg KTLA@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> parçacıkları eklenmiş oda sıcaklığında, N<sub>2</sub> altında, gece boyunca karışmaya bırakıldı. Bu süre sonunda, çapraz bağlanan parçacıklar 7000 rpm’de santrifüjlenip 3 kez su ile yıkanarak saflaştırıldı ve mıknatıs yardımıyla toplandı. Bu şekilde çapraz bağlanmış KTLA@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> parçacıkları elde edildi.

### 3.4. Trinitrobenzosülfonik Asit (TNBSA) testi

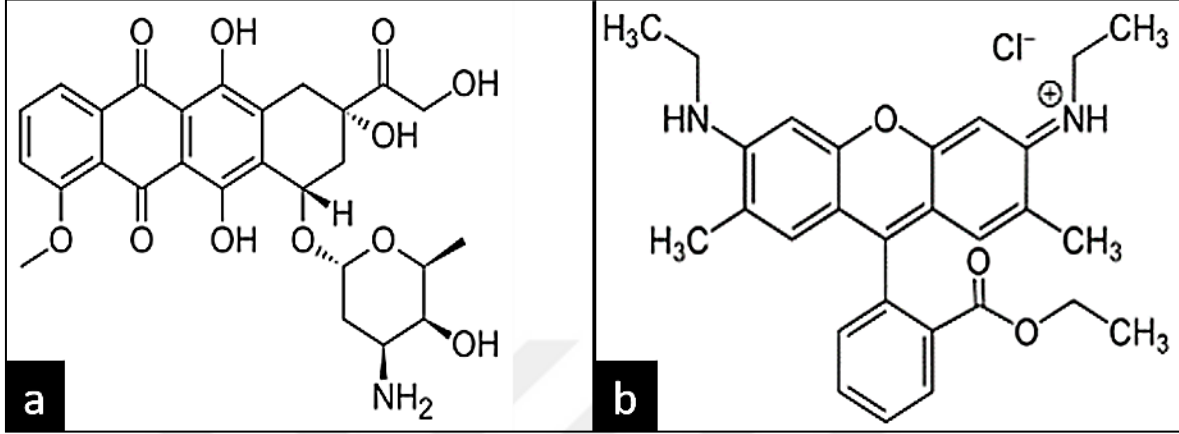
Kitosan polimerinin redoks duyarlı grup olan lipoik asit molekülleri ile modifikasyon derecesinin belirlenmesi için primer amin gruplarının varlığının belirlenmesinde kullanılan tipik bir metot olan TNBS testi yapıldı. Burada KT’nin yapısında bulunan -NH<sub>2</sub> uçlarının LA ile modifiye olma derecesinin belirlenmesi çalışması yapıldı. Bu amaçla ilk olarak kitosanın yapısında bulunan -NH<sub>2</sub>’lerin belirlenmesi amacıyla farklı derişimlerde (0,034; 0,066; 0,08; 0,098; 0,12; 0,14; 0,16 mg/mL) kitosan çözeltileri hazırlandı. Üzerlerine 1,33 mL %4 (w/v)’lük NaHCO<sub>3</sub> ve 1,33 mL %1(w/v)’lik TNBS çözeltileri eklenerek 37°C de 2 saat bekletildi sonrasında da 1,33 mL HCl çözeltisi ilave edildi. UV spektrofotometresinde okuması yapılan çözeltilerin kitosan derişimi arttıkça açıktan koyuya doğru turuncu renge döndüğü görüldü. Maksimum absorbans değerinin okunduğu 360 nm’deki pik verilerine göre kitosanın kalibrasyon grafiği çizildi. Daha sonra lipoik asit ile modifiye edilen kitosanın (KTLA) 0,1 mg/mL derişimli çözeltisi hazırlanarak aynı yöntem izlenerek UV absorbans değeri okundu ve lipoik asitin bağlanma miktarı aşağıdaki eşitlik (E.Ş 3.1) ile hesaplandı (Liu ve diğerleri, 2015).

$$\text{Bağlanma kapasitesi (\%)} = \frac{\text{Modifiye Edilen Kitosan Derişimi (mg/mL)}}{\text{Başlangıç Derişimi (mg/mL)}} \times 100 \quad \text{Eşitlik 3.1}$$

### 3.5. Hibrit nanoparçacıklara ilaç yüklemesi

Polimer kaplı elipsoidal ve manyetik nanoparçacıklara ilaç yüklenmesi için yapılan optimizasyon çalışmalarında ilk olarak Doksorubusin (DOX) yerine model ilaç olarak

Rodamin 6G (R6G) kullanıldı. Bunun nedeni, R6G'nin kimyasal yapısının antikanser ilacı olan DOX'a oldukça benzer olması ve salım çalışmalarının optimizasyonunda model ilaç olarak sıklıkla kullanılmasıdır (Harada ve diğerleri, 2013).



Şekil 3.5. (a) DOX ve (b) Rodamin 6G moleküllerinin kimyasal yapısı.

Hazırlanan hibrit nanoparçacıklara model ilaç R6G yüklemesinde öncelikle kalibrasyon grafiği çalışması yapıldı. Bunun için farklı derişimlerde ( $2,64 \times 10^{-2}$ - $2,75 \times 10^{-5}$  mg/mL) R6G çözeltileri hazırlanarak UV spektrumları alınmış ve 526 nm dalga boyunda verdiği spesifik pik değeri için absorbanslar belirlendi ve kalibrasyon grafiği çizildi. Daha sonra hibrit nanoparçacıkları (10 mg) pH 7,4 PBS içinde (15 mL) dağıtıldı. Daha sonra bu ortama R6G çözeltisi ( $2,64 \times 10^{-2}$  mg/mL) ilave edilip  $N_2$  atmosferi altında 1 gün oda sıcaklığında ve karanlıkta karıştırıldı. Bu süre sonunda mıknatısa oturtularak çöktürülen hibrit nanoparçacıklar ayrıldı. Parçacıklar 3 kez tampon ile yıkanmış ve mıknatıs ile ayrılarak ileri çalışmalar için  $30^\circ C$ 'da vakum etüvde kurutuldu. Yüklenen R6G miktarını hesaplama için ilk çöktürme sonrası ve yıkama sonrası süpernatantın UV'si alınarak daha önce çizilmiş kalibrasyon grafiğinden R6G yükleme kapasitesi ve etkinliği aşağıdaki eşitlikler (E.Ş 3.2 ve E.Ş 3.3) ile hesaplandı.

$$\text{İlaç Yüklenme kapasitesi (wt\%)} (LC) = \frac{\text{Yüklenen İlaç miktarı}}{\text{Yüklenmiş Nanopartikül miktarı}} \times 100 \quad (3.2)$$

$$\text{İlaç Yüklenme etkinliği (\%)} (LE) = \frac{\text{Yüklenen İlaç miktarı}}{\text{Ortama beslenen DOX miktarı}} \times 100 \quad (3.3)$$

Salım çalışmalarının optimizasyonları R6G ile yapılmış fakat asıl hücre sitotoksosite çalışmaları anti-kanser ilacı DOX ile yapıldı. Bu amaçla hibrit nanoparçacıklara DOX yüklemesi yapıldı. DOX'un 2 mL pH 7,4 PBS tampon içerisinde 0,5 mg/mL ile  $2 \times 10^{-4}$  mg/mL aralığında olacak şekilde farklı derişimlerde çözeltileri hazırlandı ve UV spektrofotometresinde verdiği 485 nm'deki spesifik pik değeri kullanılarak kalibrasyon grafiğı çizildi ve yukarıdaki eşitlikler kullanılarak DOX yüklenme kapasitesi ve yüklenme etkinliğı hesaplandı.

### **3.6. Hibrit nanotaşıyıcı sistemin salım profilleri**

Hazırlanan hibrit nanotaşıyıcı sistemi pH/redoks/ultrases-kontrollü salım etkinliğı yönünden incelendi. Bu amaçla öncelikle hibrit nanotaşıyıcı sistemin çapraz bağı olan ve olmayan durumları için optimizasyon çalışmaları yapılmış ve sistemin çalışma aralıkları ve etkinliğı belirlendi.

#### **3.6.1. Çapraz bağı olmayan hibrit nanoparçacıkların pH-kontrollü salım çalışmaları**

Hazırlanan hibrit nanotaşıyıcı sisteminin farklı koşullarda salım profilleri incelendi. Çapraz bağı olmayan hibrit nanotaşıyıcı sistem için ilk olarak pH-duyarlı salım profilleri izlendi. Bu amaçla 37°C'da pH 7,4; 6,8 ve 5,5 olmak üzere farklı tampon çözelti ortamlarında izlendi. Bu amaçla, her bir pH için 37°C de PBS (10 mL) içerisinde dağıtılan yüklü hibrit nanoparçacıkların (2 mg), 1'er saat ara ile doğal salım ortamına bırakılmasının ardından çöktürme işlemi yapılarak, üstte kalan süpernantın UV'de absorbans okuması yapıldı ve parçacıktan dışarıya çıkan model ilaç miktarı E.Ş 3.2 den yararlanılarak % salım hesaplandı. Bu salımlar en az 3 kez çalışıldı standart sapmalarıyla birlikte grafiğı geçirildi. Bu deneyde alınan her 2 mL'lik örnek yerine ana çözeltiliye taze tampon çözelti eklenerek ana çözeltilinin hacmi sabit tutuldu.

#### **3.6.2. Çapraz bağı hibrit nanotaşıyıcı sistemin pH-kontrollü salım çalışmaları**

Çapraz bağlanan hibrit nanotaşıyıcı sistemin 37 °C'da üç farklı pH ortamında (pH 7,4; 6,8 ve 5,5) ortamındaki salım profilleri incelenerek çapraz bağı parçacıkların salım etkinlikleri ve buna bağı en uygun çapraz bağlanma etkinlikleri belirlendi.

### **3.6.3. Çapraz bağlı hibrit nanotaşıyıcı sistemin redoks-kontrollü salım çalışmaları**

pH-kontrollü salım etkinlikleri incelenen çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların bu çalışma kapsamında redoks-kontrollü salım profilleri incelenmiştir. Bu amaçla 20 mM DTT ile çapraz bağlanan parçacıklar kullanıldı. Hibrit nanoparçacıkların sadece redoks-duyarlı salım etkinliklerinin incelenebilmesi için ortam pH değeri 7,4'de sabitlendi. Bu şekilde; -S-S- çapraz bağlarını kıran, farklı derişimlerdeki (1, 5 ve 10 mM) Glutatyon (GSH) varlığında çapraz bağlı olan hibrit nanoparçacıkların R6G salım etkinlikleri 37°C'da zamana bağlı olarak incelendi.

### **3.6.4. Çapraz bağlı hibrit nanotaşıyıcı sistemin ultrases-kontrollü salım çalışmaları**

Yukarıda sırasıyla yapılan salım aşamalarından sonra DTT ile çapraz bağlanmış pH/redoks duyarlı parçacıkların ultrases-kontrollü salım profilleri incelendi. Bu amaçla 42 kHz frekanslı ultrasonik banyo kullanıldı. 37°C de pH 7,4 PBS (10 mL) içerisinde dağıtılan yüklü hibrit nanoparçacıklar (2 mg) için ilk 60 dakika doğal salım profiline bırakıldı sonra 1 dakika ultrases dalgalarına maruz bırakılıp salım hesaplandı ve tekrar 30 dakika doğal salıma bırakıldı. Bu işlem aynı zaman aralıklarında tekrarlanmış ve daha önce anlatıldığı şekilde R6G salım miktarı belirlendi.

### **3.7. Hibrit nanoparçacıkların hücre içi sitotoksitesisi**

İlaç salım profilleri incelenen ve optimum koşulları belirlenen pH/redoks/ultrases-kontrollü hibrit parçacıkların sitotoksitesite deneyleri Hacettepe Üniversitesi HÜNİTEK'de hizmet alımı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda nanoparçacıkların sitotoksitesite ölçümleri insan göğüs adenokarsinoma (MCF-7) hücre hattı üzerinde çalışılmıştır. Sitotoksitesite deneyleri için MCF-7 hücreleri ile DOX-yüklü olmayan hibrit nanoparçacıkların farklı derişimleri için (6,25-100,0 µg/mL arasında değişen) 24 ve 48 saat süreyle inkübe edilmiş ve sitotoksitesiteleri belirlenmiştir. Bununla beraber pH 7,4; pH 5,5 ve 10 mM GSH olmak üzere farklı ortamlarda 24 ve 48 saat süreyle MCF-7 hücreleri farklı derişimlerde DOX-yüklü hibrit parçacıkların 0,5-8,0 µg/mL derişimleri ile inkübe edilerek sitotoksik etkileri incelenmiştir. HÜNİTEK tarafından yapılan sitotoksitesite deneyleri şu prosedür izlenerek yapılmıştır (Mossman ve diğerleri, 1983).

Çalışmalar ISO 10993-5 2009 standartlarına göre dolaylı sistotoksisite yöntemi ve MTT testi ile yapılmıştır. Çalışmalarda MCF-7 hücre hattı kullanılmıştır. Çalışmalarda 1/10 oranında FCS içeren alfa-MEM besi yeri kullanılmıştır. Malzemelerin ekstraktını elde etmek için numuneler, bir numune/1mL besi yeri derişimde, hücre kültür besi yeri ile 37°C’de 72 saat boyunca etkileştirilmiştir. 96 kuyucuklu plaklara  $1 \times 10^4$  hücre ekilmiş ve numune ekstraktları hücreler üzerine 100µL eklenmiştir. Plaklar 24 ve 48 saat 37°C’de inkübe edilmiştir. Daha sonra plaklardaki besi yeri atılmış ve 10 µL MTT çözeltisi içeren, 100 µL besi yeri kuyucuklara ilave edilmiştir. 3,5 saatlik inkübasyondan sonra besi yerleri atılmış ve 150 µL DMSO kuyucuklara ilave edilmiştir. Kuyucukların absorbansı 570 nm’de belirlenmiştir. Negatif çalışma olarak sadece rutin hücre kültür besi yeri etkileştirilmiş hücrelerden alınan absorbanslar kullanılmıştır. Pozitif çalışma olarak rutin hücre kültür besi ile 1/10 oranında seyreltilmiş DMSO kullanılmıştır.

### **3.8. Hibrit nanotaşıyıcıların karakterizasyonu**

Hazırlanan hibrit nanotaşıyıcı sisteminin fiziksel ve kimyasal karakterizasyonları ODTÜ Merkez Laboratuvarından alınan hizmet alımları ile gerçekleştirilmiştir.

#### **3.8.1. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)**

Çalışmada sentezlenen parçacıkların morfolojilerinin gözlenebilmesi için TEM ölçümleri alınmıştır. Bu amaçla, FEI 120kV CTEM cihazı kullanılmıştır.

#### **3.8.2. Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektrometre (FTIR)**

Tez çalışmasındaki KT, LA, KTLA ve KTLA@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> hibrit parçacıkların kimyasal fonksiyonel gruplarının karakterizasyonu için ATR-FTIR Spektroskopisi (Alpha FTIR Spectrometer Bruker) kullanılarak yapılmıştır.

#### **3.8.3. Nükleer manyetik rezonans (<sup>1</sup>H-NMR)**

KTLA polimerinin sentezinin kimyasal karakterizasyonu için proton NMR yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, KT, LA ve KTLA polimerlerinin kimyasal karakterizasyonu Bruker Ultrashield 300 MHz sıvı NMR Spektrometresi kullanılarak aydınlatılmıştır.

#### 3.8.4. Manyetik histerisis

Hematit- $\text{Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  ve manyetik  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıkların manyetik histerisis özellikleri Cryogenic Limited PPMS cihazı ile yapılan ölçüm ile belirlenmiştir.

#### 3.8.5. X-Işını kırınımı (XRD)

Hazırlanan  $\text{Fe}_2\text{O}_3@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  ve  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarının kristal yapılarının incelenmesi amacıyla ( $2\theta = 2-90^\circ$  aralığında) tarama yöntemiyle XRD (Rigaku Ultima-IV) ölçümleri alınmıştır.

#### 3.8.6. Yüzey alanı ölçümü (BET)

Hazırlanan  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  ve  $\text{KTLA}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  parçacıklarının yüzey alanları ve gözenek boyut ve dağılımlarının belirlenmesi için Quantachrome Nova 2200 kullanılmıştır. Ölçümde adsorpsiyon/desorpsiyon süreci boyunca elde edilen veriler kaydedilmiştir. BET yüzey alanları, 0,05-0,30 bağıl basınç (P/P0) aralığında  $\text{N}_2$  adsorpsiyon verileri kullanılarak çok nokta, gözenek boyut dağılımları ise adsorpsiyon/desorpsiyon verileri kullanılarak, Barret Joyner Halenda (BJH) yöntemlerine göre belirlenmiştir (Barret ve diğerleri, 1951).

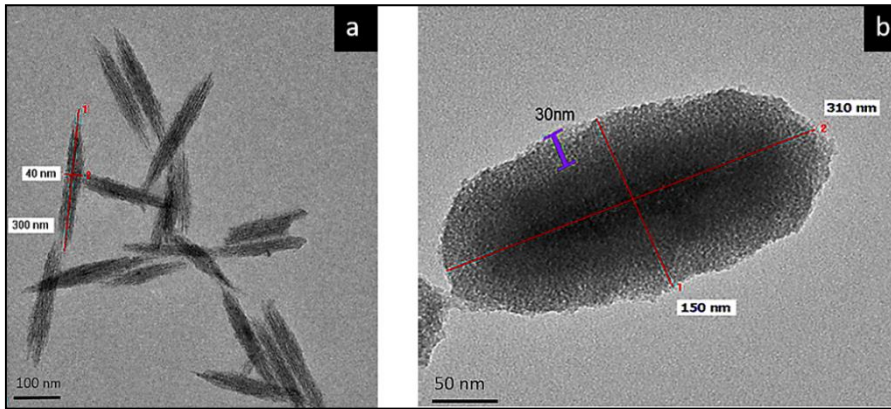
#### 3.8.7. UV spektrofotometresi

Tez çalışmada kapsamında, parçacık içerisine ilaç yüklemesi ve salım çalışmalarında UV-Görünür Bölge Spektrofotometresi (Shimadzu Mini-2045) kullanılmıştır.

## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Elipsoidal hematit $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ve manyetik $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@mSiO_2$ nanoparçacıkların karakterizasyonu

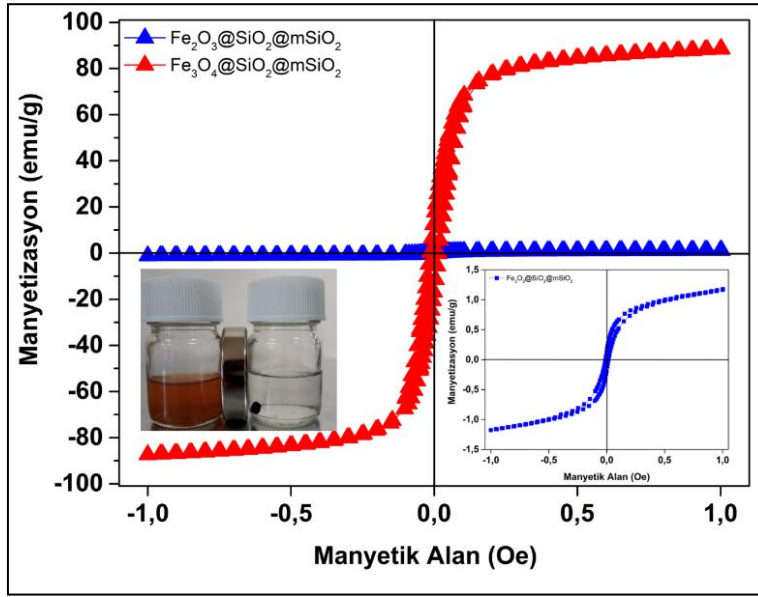
Sentezlenen hematit- $\text{Fe}_2\text{O}_3$  nanoparçacıklarının yapısal morfolojileri TEM görüntüleri ile belirlenmiştir. Şekil 5.1a'da görüldüğü gibi hematit- $\text{Fe}_2\text{O}_3$  nanoparçacıklarının elipsoidal geometride ve yaklaşık 40 nm en ve 300 nm boy değerlerinde başarı ile sentezlendiği görülmektedir. Sentezlenen bu elipsoidal hematit- $\text{Fe}_2\text{O}_3$  nanoparçacıkları daha sonra iki aşamalı silika kaplamasına tabi tutulmuştur. Deneysel kısımda anlatıldığı gibi parçacıkların en üst silika kaplamasındaki  $\text{C}_{18}\text{TMS}$  ajanlarının  $550^\circ\text{C}$ 'da yapılan kalsinasyon sonrası ortamdaki yakarak uzaklaştırılmasıyla gözenekli üst silika katmanı oluşturulmuştur. Bundan sonra  $450^\circ\text{C}$  sıcaklıkta %95  $\text{N}_2$  / %5  $\text{H}_2$  gaz geçen ortamda ikinci bir yakma işlemi yapılmış ve  $\text{H}_2$ -indirgemesi ile parçacıklar siyah renkli manyetik hale getirilmiştir. Böylelikle gözenekli ve manyetik- $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@mSiO_2$  nanoparçacıkları hazırlanmıştır (Ma ve diğerleri, 2012). Şekil 5.1b'de TEM görüntülerinde görüldüğü gibi elipsoidal ve manyetik- $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@mSiO_2$  parçacıklarının en içteki koyu  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ve bir üstteki silika ve en üstteki gözenekli mesoporoz silika katmanı oldukça net bir şekilde görülmektedir. Parçacıklarının boyutlarında 130 nm en ve 310 nm boy olacak şekilde bir değişim gözlenmiştir. Bu şekilde parçacıkların başarı ile sentezlendiği gözlenmiştir.



Şekil 4.1. (a) Elipsoidal hematit- $\text{Fe}_2\text{O}_3$  ve (b) elipsoidal manyetik  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2@mSiO_2$  nanoparçacıkların TEM görüntüsü.

Parçacıkların manyetik özelliklerindeki değişimin incelenmesi için manyetik histerisis ölçümleri yapılmıştır. Oda sıcaklığında yapılan ölçümlerde (Şekil 5.2) beklendiği gibi hematit özellikli  $\text{Fe}_2\text{O}_3@SiO_2@mSiO_2$  nanoparçacıklarının manyetik özellik neredeyse

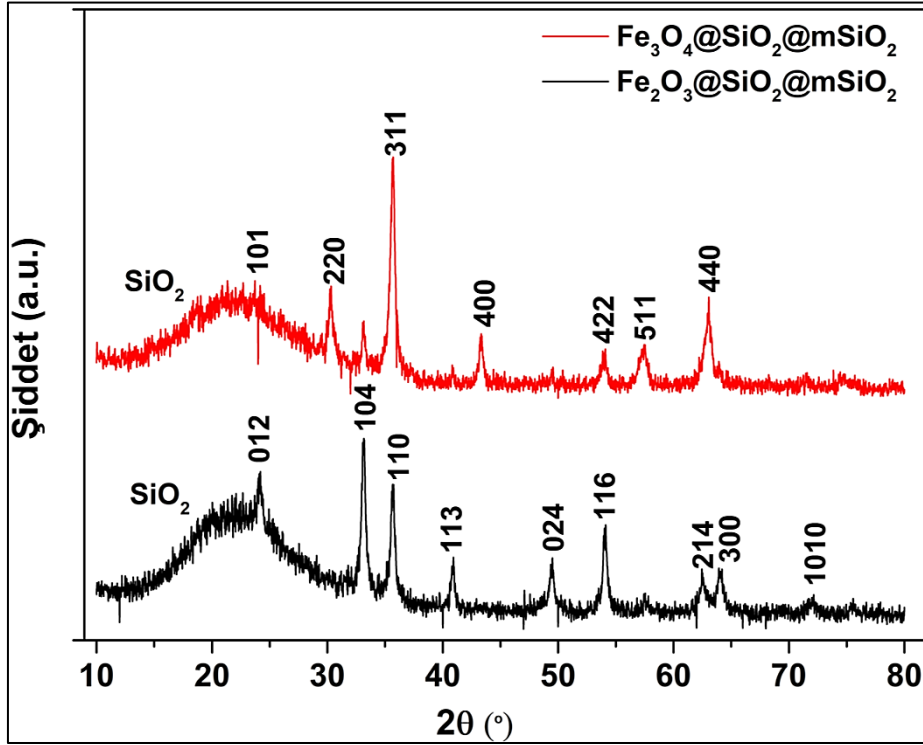
göstermediği ve mıknatısa gelmediği görülmüştür. Bu parçacıkların manyetizasyon değerinin 1,18 emu/g olduğu belirlenmiştir. H<sub>2</sub>-indirgeme işlemi sonrası manyetik özellik kazandırılan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> parçacıklarının mıknatısa geldiği ve manyetizasyon değerinin ciddi bir artış ile 88,38 emu/g değerine ulaştığı görülmüştür. Bunun sonucunda hematit-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> parçacıklarının H<sub>2</sub>-indirgeme işlemleri sonrası manyetik hale dönüştüğü görülmektedir.



Şekil 4.2. Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> nanoparçacıkları için manyetik histerisis eğrileri.

Hazırlanmış olan çekirdek/kabuk özelliği taşıyan hematit ve manyetik özellikli nanoparçacıkların X-ışını kırınımı (XRD) ölçümleri alınmıştır. XRD ölçümü, 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 (Ma ve diğerleri, 2018). Hematit özellikli Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> ve manyetik özellikli Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının XRD ölçümleri Şekil 5.3'de verilmiştir. Hematit Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> yapısı için karakteristik pikler; 0,12 (24.14°); 104 (33.06°); 110 (36.66°); 113 (40.94°); 0,24 (49.35°); 116 (54.12°); 214 (62.51°); 300 (64.38°); 1010 (71.54°) değerlerinde ve literatür ile uyumlu olduğu gözlenmiştir (Zhuang ve diğerleri, 2015). Hematit özellikli bu nanoparçacıklar H<sub>2</sub>-indirgeme işleminin sonucunda manyetik özellikli Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> nanoparçacıkları elde edilmiştir. Bu manyetik özellikli nanoparçacıkların kristal yapılarına ait XRD ölçümünde ise; 101 (30.06°); 220 (30.06°); 311 (36.09°); 400 (42.39°); 422 (52.97°); 511

(57.23°); 440 (61.17°) şeklinde gözlenmiştir. Bununla birlikte parçacıkların kaplı olduğu SiO<sub>2</sub> tabakası da tipik bir geniş bir pik ile 20° ile 30° arasında görülmüştür (Zhuang ve diğerleri, 2015).



Şekil 4.3. Hematit Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> ve manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> nanoparçacıkları için X-ışınları kırınım desenleri

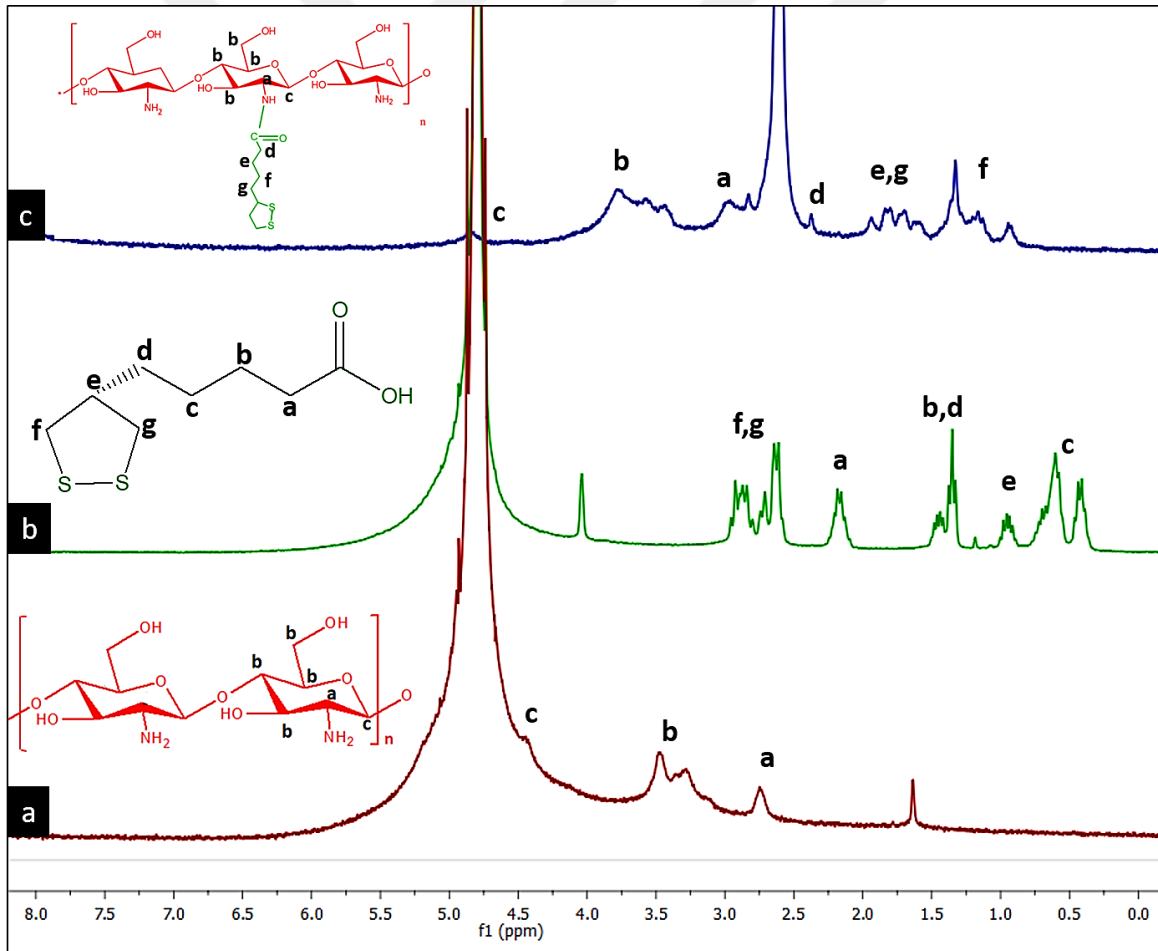
## 4.2. KTLA polimeri kaplı elipsoidal hibrit nanoparçacıkların hazırlanması

Biyoyumlu ve kontrollü salım yapabilen hibrit sistemin hazırlanması için manyetik özellikli Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> nanoparçacıkları pH/redoks-kontrollü KTLA polimeri ile kaplanmışlardır. Bu amaçla öncelikle KTLA polimeri sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir.

### 4.2.1. LA modifiye edilmiş KT polimerinin sentezi ve karakterizasyonu

Hibrit nanotaşıyıcı sistemin hazırlanması için Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> nanoparçacıkları öncelikle biyoyumlu bir polimer tabakası ile kaplanmıştır. Bu amaçla, biyoyumlu ve doğal polimer olan kitosan (KT) polimeri seçilmiştir. KT polimeri biyoyumluluk ve biyobozunur özelliği ile akıllı taşıyıcı sistemlerin hazırlanmasında en çok tercih edilen doğal polimerlerden birisidir (Wei ve diğerleri, 2008). KT polimeri yapısında bulunan büyük miktardaki amino gruplarından dolayı pH-duyarlı bir polimerdir. KT polimerinin pKa değeri

6.3'dür. Dolayısıyla asidik veya hafif asidik ortamlarda nötral ortamlara göre daha şiddetli tepkiler verir. Bilindiği gibi anormal dokular normal dokulara göre daha asidik lokal bir çevre üretirler. Endozomal bölgenin pH değeri 6,8 iken lizozomal dokuların pH değeri 5,5-6,0 değerleri arasındadır. Dolayısıyla KT asidik bölgelerde kontrollü ve spesifik ilaç salımının sağlanabilmesi için tercih edilen bir polimerdir (Wu ve Sailor, 2009). Bu kapsamda hibrit nano taşıyıcı sisteminin kabuk kısmını oluşturan Kitosan-lipolik asit (KTLA) polimerinin pH-duyarlı grubunu KT polimeri sağlamaktadır. Tasarlanan hibrit nano taşıyıcı sisteminin pH/redoks-kontrollü salım gerçekleştirebilmesi için KT polimeri yapısında bulunan  $-NH_2$  gruplarından, redoks-duyarlı moleküller olan lipoik asit (LA) molekülleri ile modifiye edilmiştir. Sentezlenen KTLA polimerinin kimyasal karakterizasyonu  $^1H$ -NMR spektrumunu ile aydınlatılmıştır.

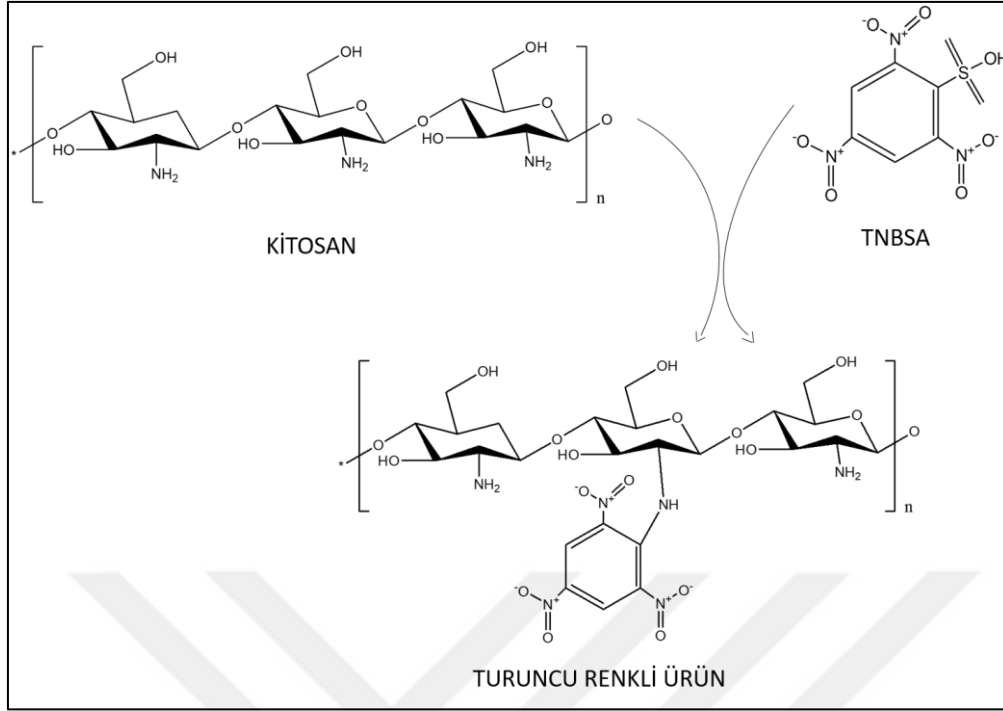


Şekil 4.4. a. Kitosan (KT), b. Lipoik asit (LA), c. Kitosan-Lipoik asit (KTLA)

Şekil. 4.4(a)'da verilen  $^1H$ -NMR incelendiğinde, herhangi bir modifikasyona uğramamış olan kitosana ait spesifik metil, etil ve şeker yapılarına ait pikler gözlenmektedir. İlgili

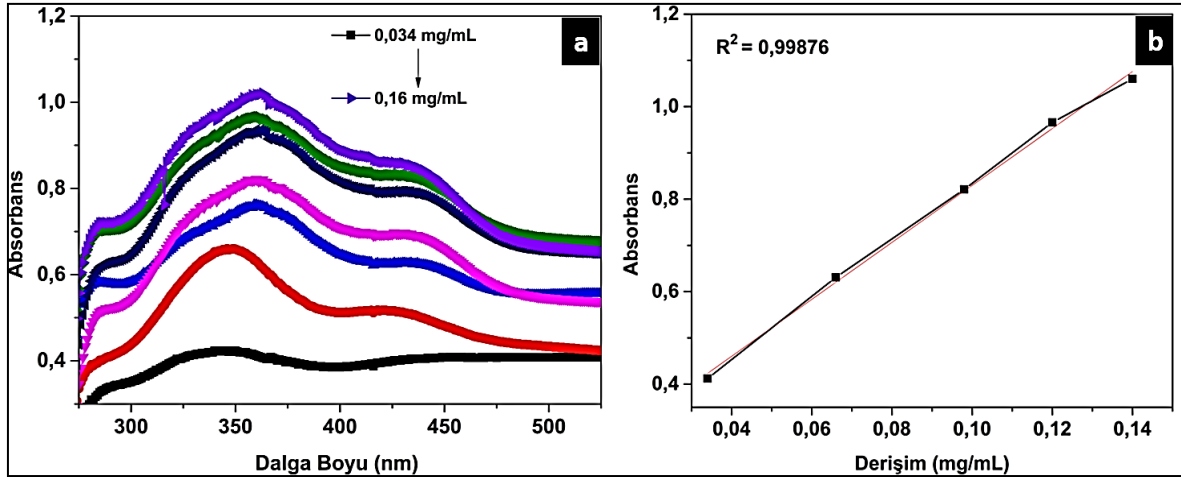
spektrum incelendiğinde, 4,5 ppm'de görülen pikin (O-CH) gruplarını, 3,0 - 3,5 ppm arasında görülen piklerin etilen grubuna ait protonları (-CH<sub>2</sub>) ve 2,77 ppm de görülen pikin ise amin grubuna bağlı (-CH) protonunu olduğu ve literatür uyumlu bir şekilde görülmektedir. Bunun yanında, 1,66 ppm de görülen pikin ise kitosanın su içinde asetik asit ile asitlendirilmesinden kaynaklı asetil protonu (COCH<sub>3</sub>) olduğunu düşünülmektedir (Weinhold ve diğerleri, 2009). Yine aynı şekilde lipoik asit'e ait <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (Şekil 4.4.b) incelendiğinde, 0,5-3,0 ppm arasında görülen (a, b, c, d, e, f, g) lipoik asitin karakteristik lineer -CH<sub>2</sub>, -CH gruplarına ait proton pikleri görülmektedir (Yang ve diğerleri, 2016). pH/redoks duyarlı KTLA polimerinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu (Şekil 4.4.c) incelendiğinde ise 1,0-2,5 ppm arasında görülen piklerin (d, e, f, g) LA'nın karakteristik CH<sub>2</sub> gruplarının KT polimeri yapısına katılmasından kaynaklanan proton piklerinden geldiğini, 3,0-4,0 ppm arasındaki piklerin (a,b) kitosanın (-CH ve -CH<sub>2</sub>) spesifik piklerinden geldiği ve 4,85 ppm de görülen küçük pikin (c) kitosanın (O-CH) protonlarından kaynaklı olduğunu düşünülmektedir (Elsaid ve diğerleri, 2017). Bu sonuçlardan yola çıkarak KTLA polimerinin başarı ile sentezlendiği söylenebilir.

Sentezlenen ve kimyasal yapısı <sup>1</sup>H-NMR ile aydınlatılan KTLA polimerindeki LA birimlerinin modifikasyon derecesinin belirlenebilmesi için TNBSA testi yapılmıştır. Bilindiği gibi TNBSA testi primer aminlerin varlığının belirlenmesinde kullanılan ve Şekil 5.5'de verilen kimyasal mekanizme üzerinden yürüyen bir reaksiyondur.



Şekil 4.5. Kitosan-TNBSA etkileşim mekanizmasının şematik gösterimi

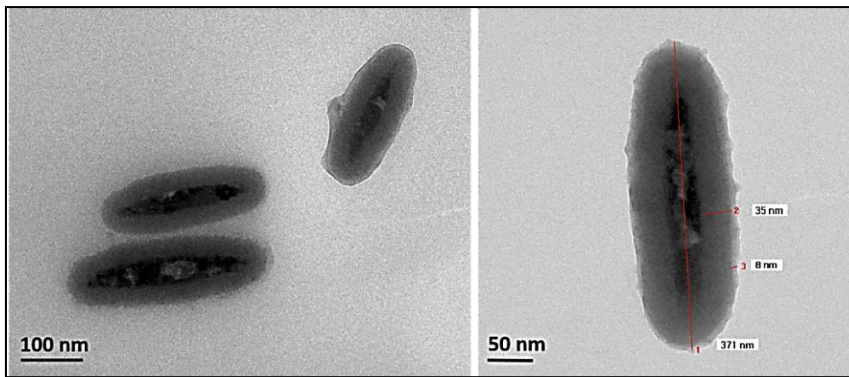
Burada TNBSA primer aminlerle reaksiyona girerek turuncu renkli bir bileşik oluşturmaktadır. Buradaki renkteki değişimin derecesi ortamdaki pirimer aminlerin varlığını UV Spektrofotometresinde okunmasını sağlamaktadır. Bu kapsamda öncelikle farklı derişimlerdeki KT çözeltileri için bir kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Şekil. 5.6(a) incelendiğinde, farklı derişimlerdeki (0,034 – 0,16 mg/mL) kitosan çözeltileri için TNBSA testine ait UV Spektrumları görünmektedir. Bu spektrumdaki 360 nm'deki spesifik absorbans değerleri dikkate alınarak Şekil 4.6. (b)'de kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Oluşturulan bu kalibrasyon eğrisi kullanılarak modifiye edilen KTLA polimerindeki primer aminlerin miktarı belirlenmiş ve EŞ 3.1 kullanılarak modifikasyon yüzdesi hesaplanmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda LA birimlerinin KT polimerine modifikasyon derecesi yaklaşık % 23 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.6. (a) Farklı derişimlerde hazırlanan kitosan çözeltilerinin TNBSA testi ile UV Spektrumları ve (b) TNBSA testine ait kalibrasyon grafiği.

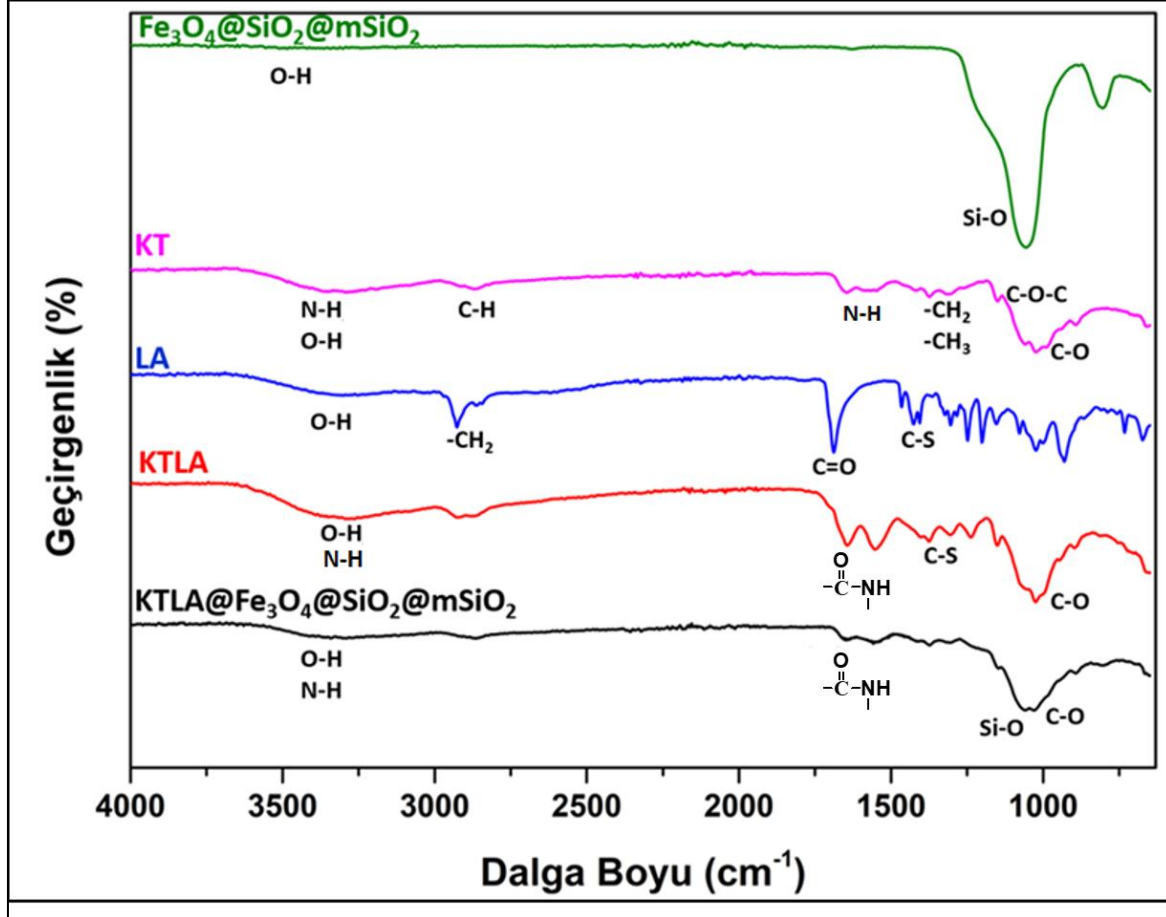
### 4.3. KTLA polimeri kaplı hibrit nanoparçacıkların hazırlanması ve karakterizasyonu

Hibrit nanotaşıyıcı sistemin hazırlanması için manyetik  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  parçacıkları KTLA polimeri ile kaplanmıştır. Hibrit nanotaşıyıcı sistemin yapısal morfolojisi TEM görüntüleri alınarak incelenmiştir. Hibrit nanotaşıyıcı sistemin Şekil 4.7’de verilen TEM görüntüleri incelendiğinde, nanoparçacıkların KTLA polimerle kaplamasından sonra 138 nm en ve 371 boy olarak boyutlarının değıştiği gözlenmiştir. Yüksek çözünürlüklü TEM (Şekil 4.7(b)) görüntüsünde parçacıkların orta çekirdeğini oluşturan elipsoidal  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacığı ve bu parçacığı kaplayan iki tabakadan oluşan silika katmanı ve yaklaşık 8 nm kalınlığında olan polimer tabakası rahatlıkla gözlenmektedir. Sonuç olarak, hibrit nanotaşıyıcı sistemin başarılı bir şekilde sentezlendiği belirlenmiştir.



Şekil 4.7. KTLA kaplı elipsoidal manyetik  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıkların TEM görüntüsü.

Hibrit nanoparçacıkların yapısal morfolojilerinin incelenmesinin ardından, parçacıkların kimyasal yapılarının karakterizasyonu için, parçacıkların hazırlanmasında kullanılan her bir bileşenin ve en son hibrit nanoparçacık sisteminin ATR-FTIR spektrumları alınmıştır.

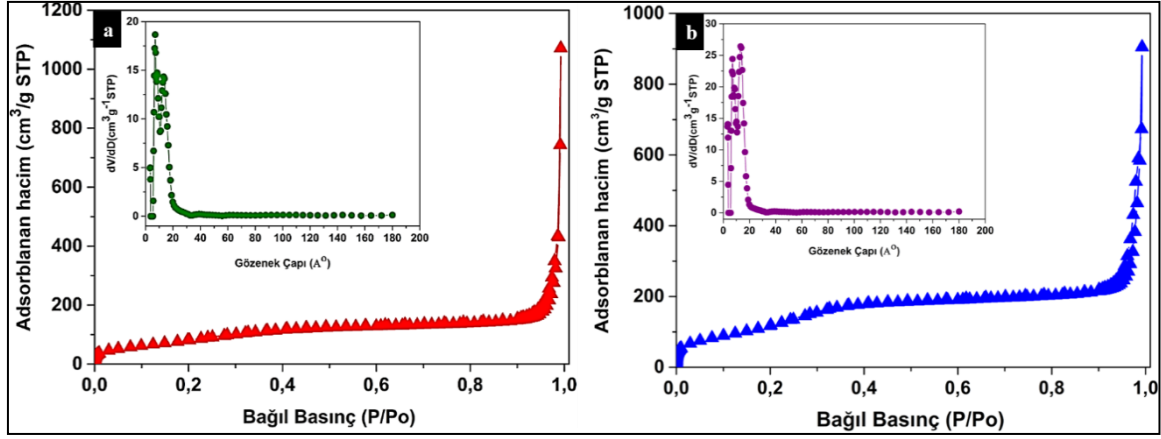


Şekil 4.8.  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$ , KT, LA, KTLA ve hibrit nanoparçacıkların ATR-FTIR spektrumları.

Şekil 4.8’de verilen ilgili spektrumlar incelendiğinde; manyetik  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  parçacıklarına ait  $3400\text{ cm}^{-1}$  deki  $-\text{OH}$  grubuna karşılık gelen gerilme bandı, silika kaplamasına özgün sırasıyla  $1060\text{ cm}^{-1}$  ve  $810\text{ cm}^{-1}$  deki Si-O gerilmelerinin simetrik ve asimetric titreşimleri gözlenmektedir (Mahto ve diğerleri, 2015). Bu manyetik parçacıklara pH/redoks duyarlı KTLA polimerinin kaplanmasına ait ATR-FTIR spektrumunun yorumlanabilmesi için öncelikle KTLA polimerinin tüm bileşenlerinin ayrı ayrı spektrumları alınmıştır. İlk olarak KT için ATR-FTIR spektrumuna bakılacak olursa,  $3291\text{--}3360\text{ cm}^{-1}$  deki güçlü band, N-H ve O-H gerilmesine ve ayrıca molekül içi H-bağlarına karşılık gelmektedir. Yaklaşık  $2920$  ve  $2873\text{ cm}^{-1}$  deki bantlar sırasıyla, C-H simetrik ve asimetric gerilmeden kaynaklanmaktadır. Bu bantlar polisakkaritin tipik bir özelliğidir.  $1589\text{ cm}^{-1}$  deki

bant, primer amide karşılık gelmektedir.  $\text{CH}_2$  ve  $\text{CH}_3$  simetrik deformasyonları yaklaşık  $1423$  ve  $1375 \text{ cm}^{-1}$  deki bandların varlığı ile doğrulanır.  $1153 \text{ cm}^{-1}$  deki band C-O-C köprüsünün asimetrik gerilmesine bağlanabilir ve  $1060 \text{ cm}^{-1}$  ile  $1028 \text{ cm}^{-1}$  deki bandlar C-O gerilmesine karşılıktır (Fernandes ve diğerleri, 2014). LA için ATR-FTIR spektrumuna bakıldığında;  $3937 \text{ cm}^{-1}$  civarındaki geniş band O-H gerilmesini,  $2925$  ve  $2855 \text{ cm}^{-1}$  deki titreşimler simetrik ve asimetrik  $-\text{CH}_2$  gruplarını ve göstermektedir.  $1634 \text{ cm}^{-1}$  deki band yapıdaki C=O bağı temsil ederken  $1412 \text{ cm}^{-1}$  civarı görülen band C-S bağı temsil etmektedir (Milašinović ve diğerleri, 2016). Bu pH/redoks duyarlı kitosan-lipoik asit polimerinin birbirine modifiye edilmesine ait ATR-FTIR spektrumunu incelendiğinde ise,  $3070\text{-}3541 \text{ cm}^{-1}$  deki geniş band; KT'ın  $-\text{OH}$  ve  $-\text{NH}_2$  gruplarını temsil ederken  $1550 \text{ cm}^{-1}$  deki tepe ise yeni bir amid bağı ( $-\text{CO-NH-}$ ) oluşumunu temsil etmektedir. Son olarak bu pH/redoks duyarlı KTLA polimerini manyetik  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  parçacıklarına kaplanması ardından silika katmanlı manyetik parçacıklarımızdan gelen Si-O titreşimleri  $1060 \text{ cm}^{-1}$  de biraz baskılanmış şekilde görülürken,  $1030 \text{ cm}^{-1}$  de kitosanın yapısından gelen C-O bağı görülmektedir. Ayrıca  $1550 \text{ cm}^{-1}$  de  $-\text{NH}$  bükülmesi olarak adlandırdığımız amid II titreşimini açıkça görürken,  $1647 \text{ cm}^{-1}$  de oluştuğunu gördüğümüz C=O bağıda açıkça görülmektedir (Nikolić ve diğerleri, 2014). Bu sonuçlar ışığında mezoporoz yapı  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  parçacıkları biyouyumlu pH/redoks duyarlı KTLA polimeri ile başarıyla kaplanmış ve bir sonraki aşama olan ilaç salım çalışmalarının yapılması için hazır hale getirilmiştir.

Hazırlanan  $\text{KTLA}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  hibrit nanotaşıyıcı sistemi içerisine ilaç yüklemesi yapılarak kontrollü salım uygulamalarında kullanılması planlandığı için bu sistemin gözenekliliği, gözenek boyutu ve yüzey alanı belirlenmesi gereken önemli parametreleridir. Bu parametrelerin belirlenmesi amacı ile polimer kaplaması öncesi  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  ve polimer kaplaması sonrası  $\text{KTLA}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıkları için Yüzey Alanı Ölçüm Cihazı (Brunauer, Emmett and Teller (BET)) ile ölçümler yapılmıştır. Şekil 5.9 (a)'da  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarının  $\text{N}_2$  adsorpsiyon/desorpsiyon izotermi ve gözenek boyutu dağılım grafikleri görünmektedir. İzoterm mezoporoz sistemlere özgü tipik Tip-IV izotermine uymaktadır (AbouAitah ve diğerleri, 2016). Şekil 5.9 (b)'de polimer kaplı  $\text{KTLA}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıkları için  $\text{N}_2$  adsorpsiyon/desorpsiyon izotermi ve gözenek boyutu dağılım grafikleri verilmiştir. Bu grafikler incelendiğinde yapıdaki gözenekliliğin polimer kaplaması sonrası azaldığı ve gözenek boyutu dağılımının değiştiği gözlenmiştir.



Şekil 4.9. (a)  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  ve (b)  $\text{KTLA}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıkları için  $\text{N}_2$  adsorpsiyon/desorpsiyon izotermi.

Polimer kaplı ve kapsız nanoparçacık sistemi için BET yüzey alanı değerleri bağıl basınç değerinin 0,05-0,30 arasındaki  $\text{N}_2$  adsorpsiyonu verileri kullanılarak, ölçüm yapılan cihazın yazılımı tarafından hesaplanmıştır. Ayrıca her iki nanoparçacık sisteminin de  $\text{N}_2$  desorpsiyon izotermi kullanılarak yine cihazın yazılımı tarafından Barrett-Joyner-Halenda (BJH) modeline göre gözenek hacmi ve gözenek boyut dağılımları hesaplanmıştır.

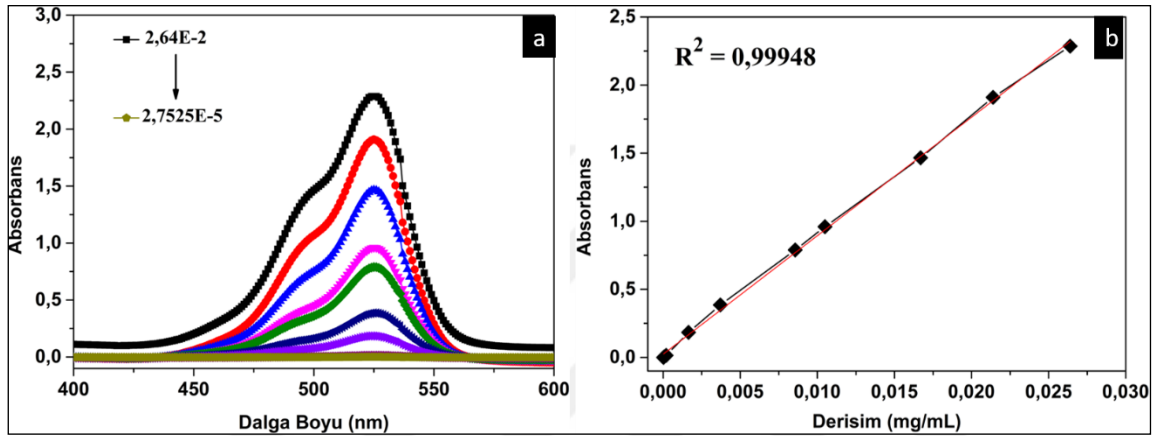
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  ve  $\text{KT-LA}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarına ait bu yapısal parametreler aşağıdaki Çizelge 1’de verilmiştir. Çizelge 1’de verilen değerlere bakıldığında  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  parçacıklarının yüzey alanı  $261,371 \text{ m}^2/\text{g}$  ve gözenek çapı  $1,84 \text{ nm}$  iken  $\text{KTLA}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  parçacıklarının yüzey alanı  $175,75 \text{ m}^2/\text{g}$  ve gözenek çapıda  $1,52 \text{ nm}$  olarak görülmektedir. Bu sonuçlar ışığında KTLA polimeri kaplı parçacıkların kaplamadan dolayı yüzey alanında bulunan mezoporoz yapılarını örttüğü ve gözenek çapında buna bağlı azaldığı belirlenmiştir. Adsorbsiyon/desorpsiyon eğrilerinin birbirini uyumlu bir şekilde takip ettiğini KTLA polimer kaplamasının başarılı şekilde yapıldığı görülmüştür.

Çizelge 4.1.  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  ve  $\text{KTLA}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$  nanoparçacıklarına ait yapısal parametreler

Numune	Spesifik Yüzey Alanı ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	Gözenek Hacmi ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	Gözenek Boyutu (nm)
$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$	261,37	0,47	1,84
$\text{KTLA}@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2$	175,75	0,34	1,52

#### 4.4. Polimer kaplı hibrit nanoparçacıklara ilaç yüklenmesi

Hazırlanan KTLA@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarının pH/redoks/ultrases-kontrollü salım etkinliklerinin incelenmesi için öncelikle parçacıklara model ilaç molekülü olarak R6G yüklenmiştir. Parçacıklara yüklenen R6G miktarının ve etkinliğinin hesaplanabilmesi için öncelikle  $2,64 \times 10^{-2}$ - $2,75 \times 10^{-5}$  mg/mL derişim aralıklarında R6G çözeltisinin UV Spektrumları alınmıştır (Şekil 4.10(a)).



Şekil 4.10. Model ilaç molekülü R6G için (a) UV Spektrumu ve (b) kalibrasyon grafiği

İlgili spektrumda görüldüğü gibi R6G, 526 nm'de bir maksimum absorbans değerine sahiptir. Bu derişim aralığında bu absorbans değerleri için lineerliğin yakalandığı derişim aralığı için kalibrasyon eğrisi çizilmiştir (Şekil 4.10(b)). Çizilen eğriden elde edilen değerler kalibrasyon grafiğine geçirildiğinde korelasyon değeri ( $R^2$ ) 0,99948 olarak bulunmuştur. Bundan sonraki tüm yükleme çalışmalarında bu kalibrasyon eğrisi kullanılarak parçacıklara R6G yükleme miktarı (EŞ 3.2) ve etkinlikleri (EŞ 3.3) hesaplanmıştır. İlgili eşitlikler kullanılarak KTLA@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> nanoparçacıklarına R6G yükleme miktarı % 83 olarak ve kapsülasyon etkinliği ise % 1,09 olarak hesaplanmıştır.

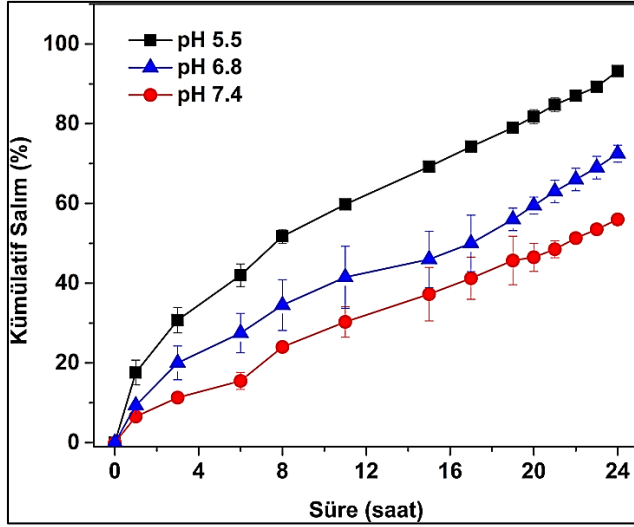
#### 4.5. İlaç salım profilleri

Hibrit KTLA@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mSiO<sub>2</sub> nanoparçacıkları çapraz bağlı olmayan ve çapraz bağlı olarak iki farklı şekilde hazırlanmıştır. Bu parçacıkların salım etkinlikleri pH, redoks ve ultrases-kontrollü olarak ayrı ayrı incelenmiş ve hazırlanan bu hibrit sistemin optimum salım etkinlikleri ve kullanılabilirlikleri tartışılmıştır.

#### 4.5.1. Çapraz bağı olmayan hibrit nanoparçacıkların ilaç salım profili

Hibrit nanoparçacıklar herhangi bir çapraz bağlayıcı ajan kullanılmadan sadece pH etkisiyle kontrollü salımı incelenmiştir. Bu hibrit nanoparçacıkların pH-kontrollü salımı dış kabukta kaplaması yapılan biyoyumlu KTLA polimerinin KT kısmı sayesinde.

Kitosan, kitinin deasetilasyonu sonucu elde edilen, katyonik polisakkarittir. Yapıları kimyasal olarak birbirine benzer, yalnızca genel karbonhidrat yapısındaki iki numaralı karbona bağlı gruplarında kitinde N-asetil ( $N-NHCOCH_3$ ), kitosanda ise amin ( $-NH_2$ ) grupları bulunmaktadır. Hidroksil grupları ( $-OH$ ) bulundurmasından dolayı yüksek hidrofilite gösterir. Kitosan nötral ve alkali pH'da çözünmemesinin sebebi kararlı kristal yapısından dolayıdır. Hidroklorik asit (HCl), laktik asit ( $C_3H_6O_3$ ) ve asetik asit ( $CH_3COOH$ ) gibi inorganik ve organik asitlerle suda çözünebilmektedir. Asitlendirilmiş ortamda, çözünmenin başlamasıyla yapısında bulunan amino grupları protonlanır ve pozitif yüklenir. Kitosanın iki büyük avantajından birincisi kitini çözmek için toksik özellikli çözücüler kullanılırken kitosanın seyreltik asetik asit içinde kolayca çözünebilmesidir. İkincisi ise aktif kısım olan serbest amin gruplarına sahip olmasıdır. Bu amin grupları ile modifikasyon işlemleri kolaylıkla yapılmakta ve pH-duyarlı biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır (Rao ve diğerleri, 2006). Bu çalışmada, KT polimeri pH-duyarlı salım sistemi hazırlanmak için kullanılmış ve ayrıca yapısındaki primer amin grupları kullanılarak LA birimleri ile modifiye edilerek pH/redoks-kontrollü bir hibrit taşıyıcı sistemi hazırlanmıştır. Hazırlanan sistemin salım etkinliklerinin aydınlatılması için öncelikle çapraz bağı olmayan hibrit nanotaşıyıcı sistemin pH-kontrollü salım profilleri incelenmiştir.



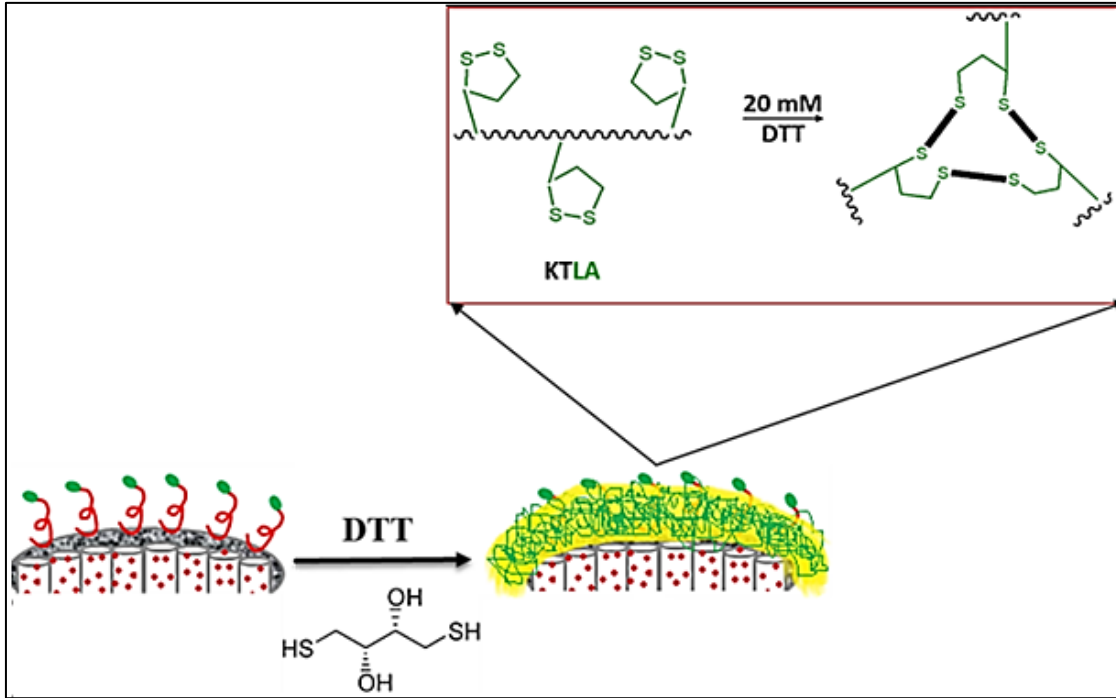
Şekil 4.11. Çapraz bağlı olmayan hibrit parçacıkların farklı pH ortamlarındaki salım profilleri

Model ilaç olarak kullanılan R6G'nin, polimer kaplı ve çapraz bağlı olmayan hibrit parçacıkların içerisine yüklenmesinden sonra üç farklı pH ortamında (5,5; 6,8; 7,4) salım profilleri 24 saatlik sürede 37°C sıcaklıkta incelenmiştir. Şekil 5.11'de görüldüğü gibi salım profillerininin pH 7,4; 6,8 ve 5,5 de farklılık gösterdiğini asitlik arttıkça salımın da arttığı görülmektedir. pH=7,4 de salımı % 56, pH=6,8 de % 72,5 ve pH=5,5 de ise % 93,2 olduğu görülmüştür. Beklendiği gibi hibrit nanoparçacıkların dış kabuğundaki pH-duyarlı polimer olan KT polimeri asidik pH ortamda daha hidrofilik hale gelmiştir ve buna bağlı açılan polimer iplikleri ile hibrit nanoparçacığın porları açılarak kargo molekülleri dışarı çıkmıştır. Hazırlanılan hibrit nanotaşıyıcı sistemin kanserli bölgede kontrollü salım yapması istenmektedir. Bilindiği gibi tümörlü dokuların pH değeri normal dokulara göre daha asidiktir. Bu elde edilen salım grafiğine bağlı olarak hazırlanılan bu pH-kontrollü hibrit nanotaşıyıcı sistemi bu bölgelerde istenildiği gibi kontrollü salım yapma yetisine sahip olduğu söylenebilir.

#### 4.5.2. Çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların ilaç salım profili

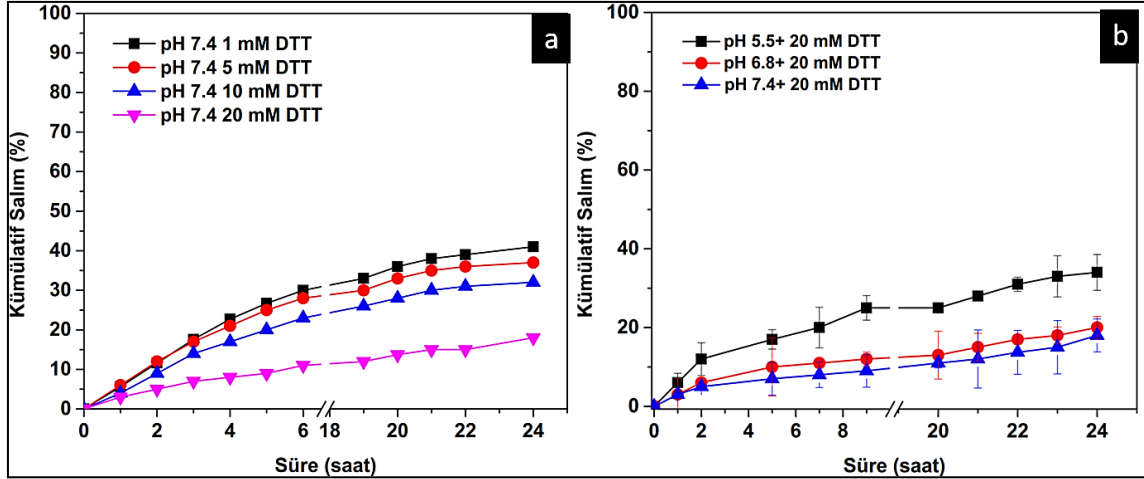
Hibrit nanoparçacıklar yukarıda da görüldüğü gibi herhangi bir çapraz bağlayıcı ajan kullanılmadan sadece pH etkisiyle pH=5,5 de % 93,2 oranında bir salım göstermiştir. Bu hibrit nanoparçacıkların pH-kontrollü salım yapmasının dışında doğrudan kanserli bölgede daha kontrollü ve akıllı salım yapması için hibrit nanoparçacıklar pH-kontrolünün dışında redoks duyarlı hale getirilmiştir. Bu amaçla, parçacıkların redoks kontrollü salım yapabilmesi için KT polimeri yapısındaki  $-NH_2$  fonksiyonel gruplarından redoks duyarlı

molekül LA birimleri ile modifiye edilmiştir. LA birimleri bu birimlere duyarlı çağraz bağlayıcı bir ajan ile çapraz bağlanabilmektedir. Buradaki amaç LA birimlerinin çapraz bağlanması sonucu daha dayanıklı bir dış kabuk elde etmek ve hibrit nanoparçacığın doğrudan kanserli hücre içerisinde pH/redoks-kontrollü salım yapmasını sağlamaktır. Bu amaçla, çapraz bağlayıcı olarak kükürt bağlarına duyarlı 1,4-Ditiotriitol (DTT) kullanılmıştır. Burada hibrit nanoparçacığın dış kabuğunu oluşturan KTLA polimerindeki LA birimleri DTT ile Şekil 5.12’de verilen şematik mekanizma üzerinden çapraz bağlanmaktadır. Öncelikle hibrit nanoparçacıkların DTT ile çapraz bağlanma etkinliğinin belirlenmesine çalışılmıştır.



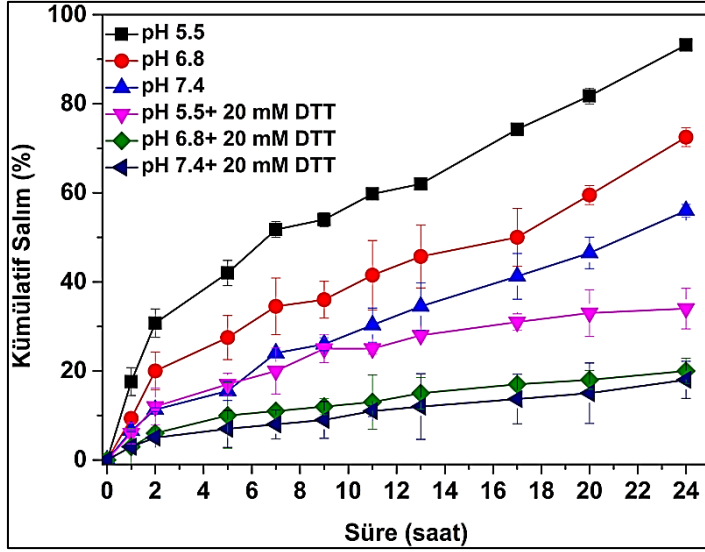
Şekil 4.12. Hibrit nanoparçacıklarının DTT ile çapraz bağlanmasının şematik gösterimi

Bu amaçla farklı miktarlarda DTT kullanılarak çapraz bağlanan parçacıkların R6G salım etkinlikleri parçacıkların çok fazla salım yapmadığı nötral pH olan ortamında incelenmiştir. Çapraz bağlı parçacıkların salım etkinlikleri çapraz bağlı olmayan parçacıklar ile pH=7,4 ortamındaki salım etkinliklerinin kıyaslamalı olarak incelenmesi ile parçacıkların çapraz bağlanma yeterlilikleri incelenmiştir. Parçacıkların en az salımın yapıldığı DTT derişimi optimum çapraz bağlayıcı olarak seçilmiştir.



Şekil 4.13. (a) Farklı derişimlerdeki DTT ile çapraz bağlanmış hibrit parçacıkların ve (b) 20 mM DTT ile çapraz bağlanan parçacıkların farklı pH ortamlarındaki salım profilleri.

4.13 (a)'da verilen ve parçacıkların farklı DTT miktarlarına bağlı pH=7,4'de ve 37°C sıcaklıkta 24 saatlik salım profilleri incelendiğinde, DTT miktarı 1mM ile 20 mM arasında artırıldıkça sırasıyla salım oranı % 41, 37, 32 ve 18 olarak ölçülmüştür. Görüldüğü gibi 20 mM DTT derişiminde çok az miktarda salım gözlenmiştir. Bu salım miktarı çapraz bağlı olmayan parçacıklar ile kıyaslandığında 20 mM DTT ile çapraz bağlanan parçacıkların 24 saat içerisindeki salım etkinliklerinin yaklaşık % 56 değerinden % 18 değerine düştüğü gözlenmiştir. Bu noktadan hareketle 20 mM DTT derişimi optimum çapraz bağlayıcı olarak seçilmiştir. Bununla birlikte, 20 mM derişimde DTT ile çapraz bağlanan parçacıklar farklı pH değerleri için salım etkinlikleri yönünden Şekil 4.13 (b)'de incelenmiştir. Görüldüğü gibi 20 mM DTT ile çapraz bağlanan parçacıklar farklı pH değerlerinde de 24 saatlik salım çalışmasında çapraz bağlı olmayan parçacıklara kıyasla çok az salım göstermiştir. Buna bağlı olarak hibrit parçacıkların pH=7,4 de salımı %18, pH=6,8 de %20 ve pH=5,5 de ise %34 değerlerine kadar düştüğünü görülmüştür. Çapraz bağlı olmayan ve çapraz bağlı parçacıkların salım profilleri toplu olarak Şekil 4.14'de kıyaslamalı olarak incelenmiştir.



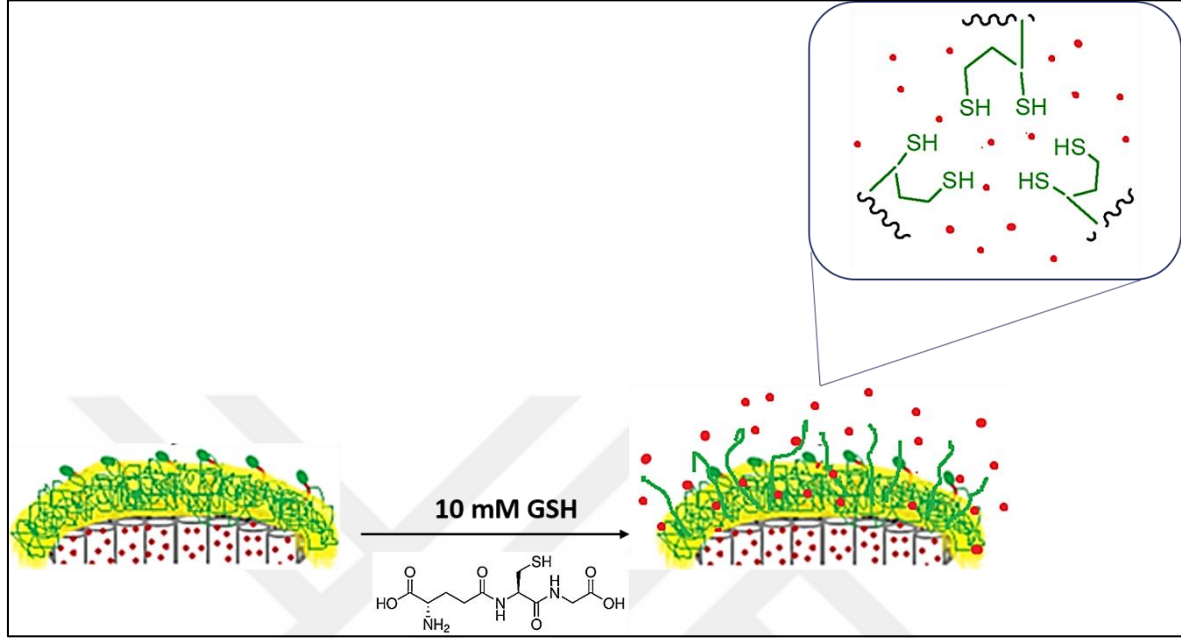
Şekil 4.14. Çapraz bağlı olan ve çapraz bağlı olmayan parçacıkların farklı pH ortamları için salım grafikleri.

Çapraz bağlanma işlemi olmadan önce pH=7,4 de %56, pH=6,8 de %72,5 ve pH=5,5 de %93,2 salım gerçekleşirken DTT ile çapraz bağlanan parçacıkların salım değerlerinin ise pH=7,4 de %18, pH=6,8 de %20 ve pH=5,5 de ise %34 değerine kadar düştüğü görülmüştür. Bu sonuçlar ışığında lipoik asit ile modifiye edilen kitosan kaplı hibrit parçacıkların etkin bir şekilde çapraz bağlanarak daha dayanıklı hale getirildiği gözlenmiştir.

#### 4.5.3. Çapraz bağlı hibrit nanotaşıyıcı sistemin pH/redoks-kontrollü ilaç salımı

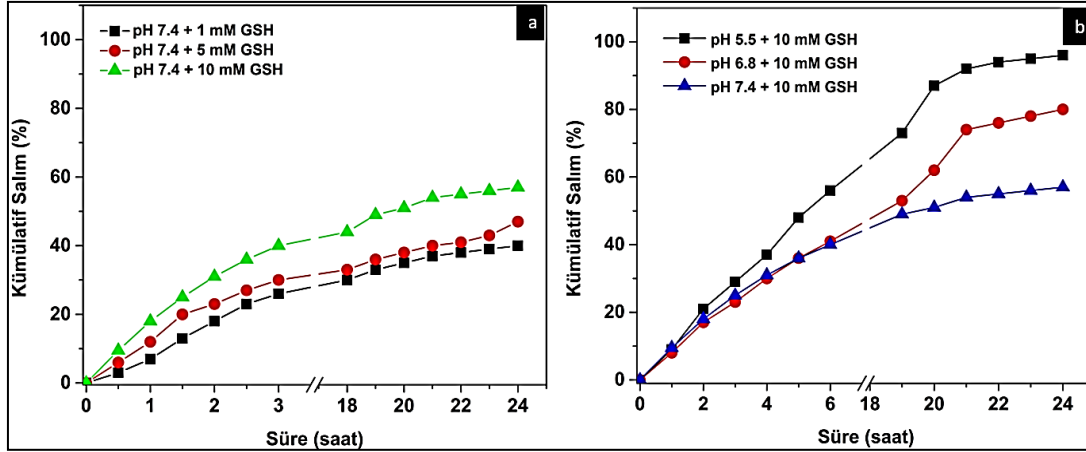
Hibrit nanoparçacıkların başarılı şekilde DTT ile çapraz bağlandıktan sonra kargo moleküllerinin redoks-kontrollü salım profilleri incelenmiştir. Bu amaçla çapraz bağlanan lipoik asit birimlerindeki -S-S- bağlarının kırılması için indirgeyici ajan olarak Glutatyon (GSH) kullanılmıştır. Bilindiği gibi GSH vücutta doğal olarak üretilmekte olan bir antioksidandır. Yapılan çalışmalar GSH'ın vücutta normal hücrelerdeki değerinin 1-10  $\mu$ M arasında iken kanserli hücreler içerisindeki miktarının bu değer 100-1000 katı arasında değişerek 1-10 mM olabildiğini göstermiştir (Quinn ve diğerleri, 2016). Bu durumdan yararlanarak, son yıllarda kanser tedavisinde kullanılmak üzere daha kontrollü ve seçimli salım yapılabilmesi için nanoparçacıklara -S-S- bağı içerecek şekilde redoks-duyarlı olarak hazırlanmaya başlanmıştır. Bu sistemlerdeki -S-S- bağları milimolar seviyesindeki GSH ile indirgenmekte ve -SH yapısına dönüşmektedir. Böylelikle parçacıklar normal hücrelerde değil yüksek derişimde GSH içeren kanserli hücrelerin içerisinde yapılarındaki -S-S- bağlarının

indirgenmesi ile salım yapabilmektedirler (Şekil 4.15)(Quinn ve diğerleri, 2017; Khorsand ve diğerleri, 2013; Palanikumar ve diğerleri, 2015).



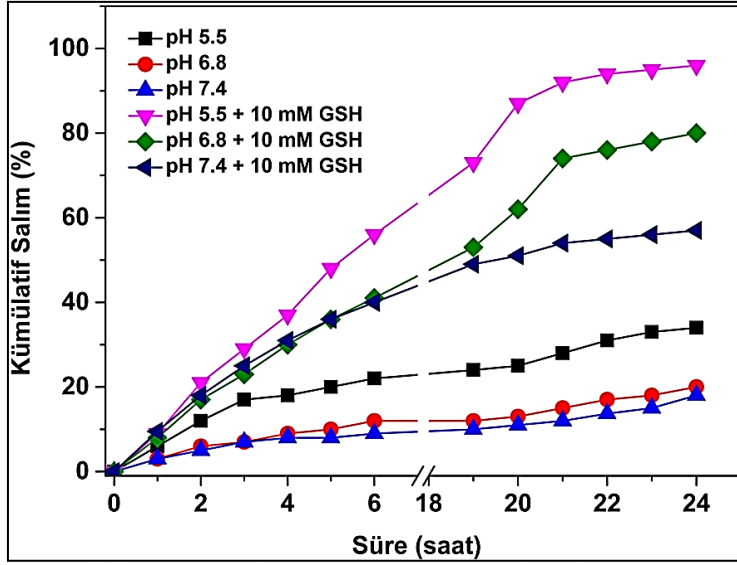
Şekil 4.15. Çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların GSH ile bağlarının kırılması ve kargo moleküllerinin salımının şematik gösterimi

Bu kapsamda öncelikle çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların çapraz bağlarının açılması için gerekli GSH miktarının belirlenmesi üzerine bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların salım profilleri zamana karşı olarak pH=7,4 ortamında 37°C sıcaklıkta farklı derişimlerde (1, 5 ve 10 mM) GSH bulunan ortamda incelenmiştir (Şekil 4.16 (a)).



Şekil 4.16. (a) Farklı GSH derişimlerinde çapraz bağı olan hibrit nanoparçacıkların 37°C ve pH 7,4'deki ve (b) 20 mM DTT ile çapraz bağlanmış hibrit nanoparçacıkların farklı pH ortamlarında 10 mM GSH ilavesi ile zamana bağı salım profilleri.

Şekil 4.16 (a) incelendiğinde, hibrit nanoparçacıklarının salım değerlerinin 1 mM GSH ortamında % 40 iken 5 mM GSH ortamında % 47 ve 10 mM GSH ortamında ise % 57 olduğu belirlenmiştir. Bu değerlere bağı olarak, ortamdaki GSH miktarı 1 mM'dan 10 mM'a çıkartılmasıyla paralel olarak parçacıkların salımlarının da arttığı görülmektedir. 10 mM GSH miktarı kullanımı ile parçacıkların en fazla salımı sergiledikleri gözlenmiştir. Bu nedenle 10 mM GSH derişimin çapraz bağların kırılması için yeterli olacağı kanısına varılmıştır. Optimum GSH derişiminin belirlenmesinden sonra bu değerde fakat farklı pH değerlerinde hibrit parçacıkların salım profilleri incelenmiştir. Şekil 4.16 (b)'deki ilgili grafik incelendiğinde 20 mM DTT ile çapraz bağlanmış hibrit nanoparçacıkların üç farklı pH ortamında 10 mM GSH ilavesi ile yapmış olduğu R6G salım grafiğı incelendiğinde pH=7,4 de %57, pH=6,8 de %80, pH=5,5 de ise salımın %96'lara çıktığı görülmüştür. Bu sonuçlarda bize çapraz bağların GSH ilavesiyle ve pH etkisiyle beraber pH/redoks kontrollü salımın başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir.



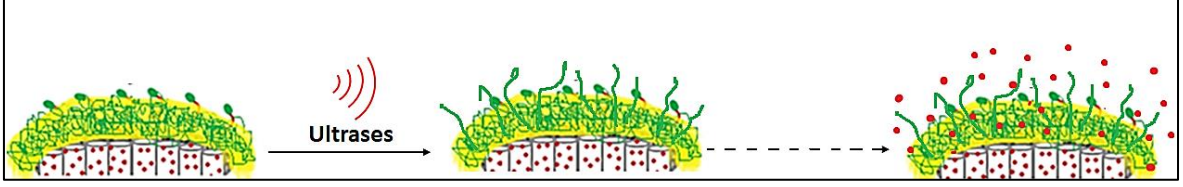
Şekil 4.17. Çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların 10 mM GSH varlığında 37°C'daki farklı pH değerlerindeki salım profilinin toplu gösterimi.

Şekil 4.17'deki grafik incelendiğinde çapraz bağlı hibrit parçacıklar üç farklı pH değerinde çok düşük bir salım gösterirken ortama 10 mM GSH ilave edilmesiyle S-S bağlarındaki çapraz bağların da açılması ile salımda etkili bir artış gözlenmiştir. 10 mM GSH eklenerek çapraz bağların da açılmasıyla redoks-kontrollü salım mekanizması da devreye girmiş ve salım hızlı bir şekilde artmıştır. Bu sonuca göre hazırlanan hibrit nanoparçacık sistemin pH/redoks-kontrollü salım mekanizmasını etkili bir şekilde gösterdiği görülmüştür.

#### 4.5.4. Hibrit nanotaşıyıcı sistemin ultrases-kontrollü salım profili

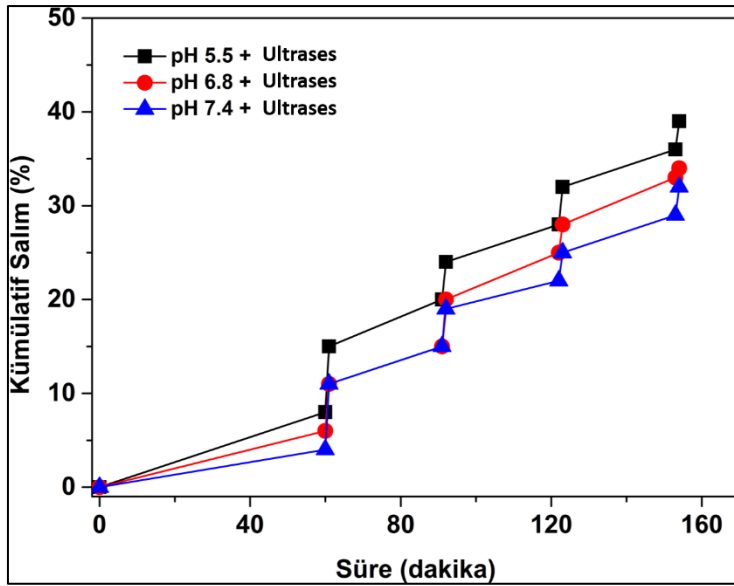
Hibrit nanoparçacıkların pH ve redoks-kontrolü yanında ultrases-kontrollü salım etkinliklerinin de incelenmesi amaçlanmıştır. Bilindiği gibi ultrases, özellikle şeker hastaları ve kanser hastaları gibi şok dozlarda ve ani ilaç verilmesi gereken kişilerde kullanılan bir yöntemdir. Taşıyıcı sistemleri ultrases dalgaları ile uyarıldığında parçacığın dış kabuğundaki polimer tabakası hareketli hale gelir ve parçacığın içindeki kargo moleküllerinin salımına izin verir. Şekil 4.18 deki şematikte görüldüğü gibi parçacık sisteminin ultrases dalgaları ile uyarılmasıyla kabuktaki polimer tabakası hareketli hale gelmiş ve bir miktar çapraz bağların kırılmış olabilmeye bağlı olarak, taşıyıcı sistem içindeki ilaç moleküllerini doğal salımından çok daha fazla bir biçimde salılabilmektedir. Burada öncemli olan ultrases-uyarımı ile parçacığın içindeki ilaç moleküllerinin tamamını değil belli bir kısmını ani salması geri kalan kısmını içerisinde tutarak doğal salıma devam etmesi beklenmektedir. Bu olay bir

ultrases-doğal d6ngüsü Şeklinde kademeli uyarımlar ile tekrarlanabiliyorsa o sistem ultrases ile kontrol edilebiliyor denilebilmektedir (Demirel ve diğerleri, 2012).



Şekil 4.18. Çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların ultrases dalgaları ile salım mekanizmasının Şematik gösterimi

Bu kapsamda hazırladığımız pH/redoks-kontrollü hibrit nanoparçacıkların ultrases-kontrollü salım etkinliğine sahip olup olmadığının incelenmesi için parçacıklar Şekil 4.19’de verilen grafikte de görülebileceği gibi önce bir 60 dakika doğal salım profiline bırakılmış ardından 1 dakika 42 kHz ultrasonik su banyosunda ultrases dalgaları ile uyarılmış ve salımı incelenmiş daha sonra 30 dakika doğal salıma bırakılmış ve ardından yine 1 dakika ultrases ile uyarılmıştır. Bu işlem döngü Şeklinde tekrar edilmiş ve ayrıca farklı pH değerleri için parçacıkların salım etkinlikleri kıyaslamalı olarak incelenmiştir. İlgili grafikte, çapraz bağlı hibrit nanoparçacıkların ultrases etkisiyle saat mertebesinde ziyade dakikalar içinde taşıdığı kargo moleküllerini hızlı bir Şekilde saldığı gözlemlenmiştir.

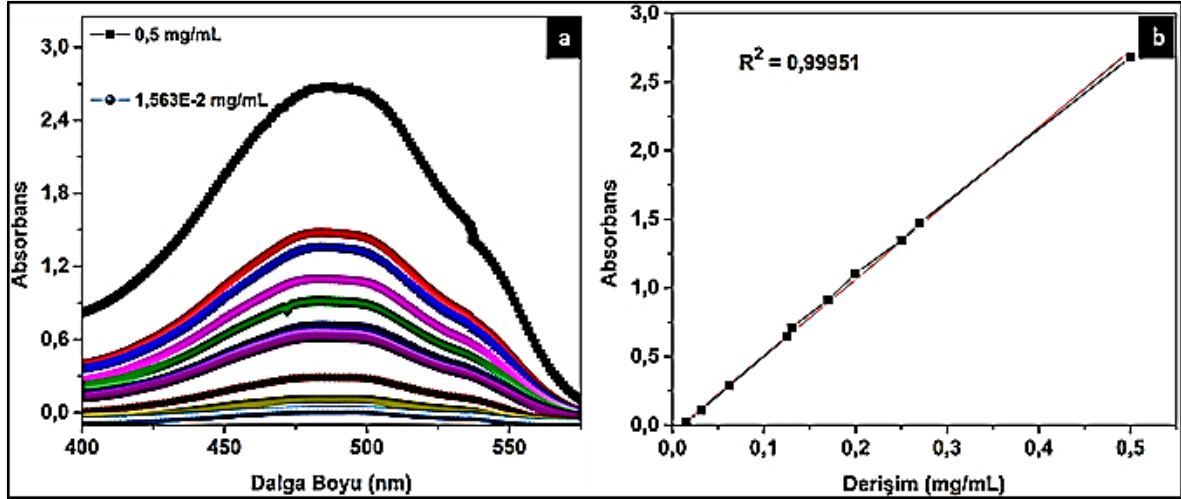


Şekil 4.19. Farklı pH ortamlarında çapraz bağlı parçacıkların ultrases-kontrollü salım profilleri

Şekil 4.19 incelendiğinde, pH=5,5 ortamında doğal ilaç salımında ilk 60 dakika sonunda %8 salım gözlenirken parçacıklar 1 dakika ultrases dalgaları ile uyarıldığında salım değeri % 15 değerine çıkmıştır. Sistem tekrar 30 dakika doğal salıma bırakıldığında salımın yavaş bir şekilde devam ettiği gözlenirken her ultrases uyarımında kademeli olarak ani salımlar gözlenmiştir. Üç saatlik salım profili çalışması sonucunda pH=5,5 ortamında çapraz bağlı parçacıkların salımının %39 değerlerine çıktığı gözlenmiştir. Bu değer doğal salımda yaklaşık 24 saat içerisinde bile yakalanamamıştır. Aynı durum pH=6,8 ve pH=7,4 ortamında da görülmüştür. pH=6,8 de ilk doğal salımın % 6 iken 3 saat sonunda % 34 e ve pH=7,4 de ilk salımın % 4 iken 3 saat sonunda uygulanan ultrases dalgalarıyla % 32 ye kadar çıktığı görülmüştür. Sonuç olarak doğal salım ile yaklaşık 24 saat içerisinde yaptıkları salımı ultrases-kontrolü ile 3 saat içerisinde yakalandığı gözlenmiştir. Bu salım profilleri incelendiğinde hibrit nanoparçacıkların ultrases-kontrollü salımı etkili bir şekilde gösterdikleri gözlenmektedir.

#### **4.6. Hibrit nanoparçacıkların hücre içi sitotoksitesinin incelenmesi**

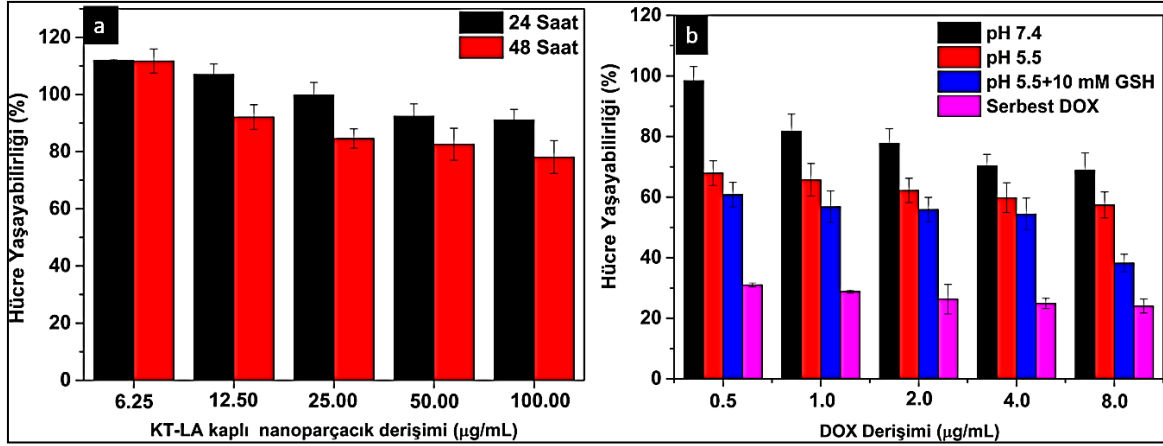
Parçacık sisteminin çeşitli salım profilleri incelendikten sonra son aşama olarak hücre içindeki sitotoksitesileri incelenmiştir. Bu amaçla hibrit nanoparçacıklarına farklı derişimlerde antikanser ilacı Doksorobusin (DOX) çözeltileri hazırlanarak deneysel kısımda ayrıntılı anlatıldığı gibi yüklemesi yapılmıştır. Yükleme etkinliği ve veriminin hesaplanabilmesi için öncelikle farklı derişimlerde (0,5 mg/mL–1,563x10<sup>-2</sup> mg/mL) hazırlanan DOX çözeltileri için UV spektrumları alınmıştır (Şekil 4.20 (a)). Bu spektrumda görünen DOX' a ait 488 nm'deki maksimum absorbans değerine ait spesifik pik değerleri kullanılarak Şekil 4.20 (b)'de kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Bu kalibrasyon grafiği kullanılarak EŞ. 3.2 ve EŞ. 3.3 kullanılarak yapılan hesaplamada parçacıklara yüklenen DOX miktarı % 89,9 ve kapsülasyon etkinliği % 4,1 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.20. (a) DOX çözeltileri için UV spektrumları, (b) DOX için kalibrasyon grafiği

Hazırlanan hibrit nanoparçacıkların ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabilmeleri için ilaç yüklü değil iken toksik özellik göstermemeleri beklenmektedir. Bu amaçla, öncelikle DOX yüklü olmayan hibrit nanotaşıyıcıların hücreler üzerine toksisiteyi, farklı derişimlerde parçacık kullanılarak MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerinde 24 ve 48 saat süreyle incelenmiştir. Şekil 4.21(a)'da verilen DOX-yüklü olmayan 100,0-6,25 $\mu$ g/mL miktarları arasındaki hibrit parçacıkların sitotoksikite sonuçlarına bakıldığında parçacıkların hücreler üzerine ciddi bir toksisite göstermediği görülmektedir. 100,0  $\mu$ g/mL değeri gibi oldukça yüksek parçacık miktarında bile hücrelerin %80 civarında yaşayabilirlik gösterdiği görülmektedir. Bu durum bu parçacıkların biyomedikal uygulamalar için uygun olduğunu göstermiştir.

Daha sonra pH=7,4 ve pH=5,5 olmak üzere iki farklı pH ortamında ve en çok salımın gözleendiği pH=5,5+10 mM GSH ortamında 48 saat süreyle MCF-7 hücreleri farklı derişimlerde DOX içeren hibrit parçacıkları ile muamele edilmiştir. Farklı ortamlarda toksisitesi incelenen bu DOX yüklü parçacıkların sitotoksik etkinlikleri aynı miktarda serbest DOX ile karşılaştırmalı incelenmiştir (Şekil 4.21 (b)).



Şekil 4.21. (a) KTLA kaplı parçacıkların 24 ve 48 saatte hücre içi sitotoksik etkisi, (b) DOX-yüklü parçacıkların farklı ortamlarda hücre yaşayabilirlik grafiği

Şekil 4.21 (b)'de görüldüğü gibi, farklı derişimlerde DOX (0,5-8,0 µg/mL) içeren parçacıklar pH=7,4'de ortamında %100-%75 hücre yaşayabilirliği gösterirken; pH=5,5 ortamında hibrit nanoparçacıkları uygulanan hücrelerin hücre yaşayabilirliği %70 değerlerinden artan DOX miktarına bağlı olarak % 60 değerlerine düşerken, pH=5,5+10 mM GSH içeren ortamda ise hücrelerin yaşayabilirliği DOX miktarına bağlı olarak % 40 değerlerine düşmüştür.

Bu değerlerin daha net anlaşılabilmesi için DOX-yüklü hibrit nanoparçacıkların sitotoksik etkinlikleri aynı derişim değerlerindeki serbest DOX ile kıyaslanmıştır. İlgili grafikte görüleceği gibi DOX miktarının artışına bağlı olarak MCF- 7 hücrelerinin yaşayabilirliği %30-%28 arasında değişmektedir. Buna bağlı olarak pH/redoks-kontrollü hibrit nanotaşıyıcı sisteminin ise serbest DOX değerine oldukça yakın bir şekilde % 40 hücre yaşayabilirliği gösterdiği gözlenmiştir.

Tüm bu sonuçlar ışığında, tez kapsamında hazırlanan bu hibrit nanotaşıyıcı sisteminin etkili bir şekilde pH/redoks/ultrases-kontrollü salım yapabildiği, DOX yüklü değil iken toksik olmadığı ve DOX yüklendiğinde ise etkili bir şekilde hücre ölümü sağladığı gösterilmiştir. Sonuç olarak, hazırlanan bu hibrit nanoparçacık sisteminin kanser tedavisinde kullanılmak üzere umut vaat edeceği belirlenmiştir.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

- ❖ Kontrollü ilaç salım sistemlerinde kullanılacak 40 nm en ve 300 nm boyunda elipsoidal  $Fe_2O_3$  hibrit nanoparçacıkları sentezlendi.
- ❖ Sentezlenen elipsoidal  $Fe_2O_3$  nanoparçacıkları daha sonra iki aşamalı silika/mezoporoz silika katmanı ile kaplandı.
- ❖ Parçacıkların manyetik özelliklerindeki değişimin incelenmesi için manyetik histerisis ölçümleri yapıldı. Hematit özellikli  $Fe_2O_3@SiO_2@mSiO_2$  nanoparçacıklarının manyetizasyon değerinin 1,18 emu/g olduğu, magnetit  $Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$  parçacıklarının ise manyetizasyon değerinin ise 88,38 emu/g değerine ulaştığı görüldü.
- ❖ Hazırlanmış olan çekirdek/kabuk özelliği taşıyan hematit ve manyetik özellikli nanoparçacıkların kristal yapılarına ait X-ışını kırınımı (XRD) ölçümleri alınmış ve literatür ile uyumlu olduğu görüldü.
- ❖ Biyoyumlu KTLA polimeri sentezlendi ve kimyasal karakterizasyonu  $^1H$ -NMR spektrumu ile aydınlatıldı.
- ❖ Sentezlenen KTLA polimerindeki LA birimlerinin modifikasyon derecesi TNBSA testi ile yaklaşık % 23 olarak bulundu.
- ❖  $KTLA@Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$  hibrit nanotaşıyıcı sistemin morfolojisi geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ile aydınlatıldı.
- ❖ Parçacıkların kimyasal yapılarının karakterizasyonu için, parçacıkların hazırlanmasında kullanılan her bir bileşenin ve en son hibrit nanoparçacık sisteminin Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometre (ATR-FTIR) ölçümleri alındı.
- ❖ Hibrit nanotaşıyıcı sistemin yüzey parametreleri Yüzey Alanı Ölçüm Cihazı (*Brunauer, Emmett and Teller* (BET)) ile yapılan ölçümler ile hesaplandı.
- ❖ Hazırlanan  $KTLA@Fe_3O_4@SiO_2@mSiO_2$  nanoparçacıklarının pH/redoks/ultrases-kontrollü salım etkinliklerinin incelenmesi için öncelikle parçacıklara model ilaç molekülü olarak R6G yüklendi.
- ❖ Polimer kaplı hibrit nanoparçacıkların pH, redoks ve ultrases-kontrollü olarak optimum salım etkinlikleri incelendi.
- ❖ Çapraz bağlı olmayan hibrit nanoparçacıkların pH etkisiyle kontrollü salım profilleri incelendiğinde; pH 7,4'de %56, pH 6,8 'de %72,5 ve pH 5,5'de %93,2 salım etkinliği sergilediği görüldü.
- ❖ Hibrit nanoparçacıkların redoks kontrollü salım için ilk olarak LA birimleri 1,4-Ditiyotiriitol (DTT) ile çapraz bağlanmış ve belirlenen optimum DTT miktarı (20mM)

ile üç farklı pH ortamında salım profilleri incelendiğinde pH=7,4 'de %18, pH=6,8' de %20 ve pH=5,5' de %34 salım olduğu görüldü.

- ❖ Optimum GSH miktarında, üç farklı pH ortamında çalışıldığında pH=7,4' de %57, pH=6,8' de %80 ve pH=5,5' de %96 salım olduğu görüldü.
- ❖ Hibrit nanotaşıyıcı sistemin pH/redoks-kontrollü salımının yanısıra ultrases-duyarlı salım profili de incelendi. 2,5 saatte ultrases uyarımları sonucu pH=5,5' de %39, pH=6,8' de %36 ve pH=7,4' de %34 salım olduğu görüldü.
- ❖ Parçacık sisteminin çeşitli salım profilleri incelendikten sonra son aşama olarak bu sisteminin hücre içindeki sitotoksiteleri incelendi. Bu amaçla hibrit nanoparçacıklarına antikanser ilacı Doksorobusin (DOX) yüklendi.
- ❖ Hücre içi sitotoksiteler için öncelikle DOX yüklü olmayan hibrit nanotaşıyıcıların hücreler üzerine toksiteleri, farklı derişimlerde (100-6,25µg/mL) parçacık kullanılarak MCF-7 meme kanseri hücreleri üzerinde 24 ve 48 saat süreyle incelendi. Parçacıkların yüksek derişimlerde bile %80 hücre yaşayabilirliği sağladığı ve toksik olmadığı biyomedikal uygulamalara uygun olduğu görüldü.
- ❖ Daha sonra pH=7,4 ve pH=5,5 olmak üzere iki farklı pH ortamında ve en çok salımın gözlemlendiği pH=5,5 + 10 mM GSH ortamında 48 saat süreyle MCF-7 hücreleri farklı derişimlerde (0,5-8,0µg/mL) DOX içeren hibrit parçacıkları ile muamele edildi. Bu DOX yüklü parçacıkların sitotoksik etkinlikleri aynı miktarda serbest DOX ile de karşılaştırmalı incelenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde pH=7,4' de ortamında %100-%75 hücre yaşayabilirliği gösterirken; pH=5.5 ortamında hibrit nanoparçacıkları uygulanan hücrelerin hücre yaşayabilirliği artan DOX miktarına bağlı olarak % 60 değerlerine düşerken, pH=5.5+10 mM GSH içeren ortamda ise hücrelerin yaşayabilirliği DOX miktarına bağlı olarak %40 değerlerine düşmüştür. Sitotoksik etkinlikleri serbest DOX ile kıyaslandığında DOX miktarının artışına bağlı olarak MCF- 7 hücrelerinin yaşayabilirliği %30-%28 arasında değişmektedir. Buna bağlı olarak pH/redok-kontrollü hibrit nanotaşıyıcı sistemi ise % 40 hücre yaşayabilirliği göstermiştir.
- ❖ Bu sonuçlar ile hazırlanan hibrit ve çok fonksiyonlu nanotaşıyıcı sistemin başarı ile hazırlandı. Bu nanotaşıyıcı sistemin gösterdiği kontrollü salım profilleri ve sitotoksiteler özellikleri ile biyomedikal uygulamalar için uygun bir nanotaşıyıcı sistemi olduğu gösterilmiştir.

## KAYNAKLAR

- AbouAitah, K-EA., AA, F., Swiderska-Sroda, A. Lojkowski, W., M.Razin, AF. and MH., K., (2016). pH-controlled Release System for Curcumin based on Functionalized Dendritic Mesoporous Silica Nanoparticles. *Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, 7(1).
- Bajpai A.K. , Shukla S.K., Bhanu S., Kankane S., (2008) Responsive polymers in controlled drug delivery, *Elsevier Progress in Polymer Science* 33(11), 1088–1118.
- Balendiran, G. K., Dabur, R., and Fraser, D. (2004). The role of glutathione in cancer. *Cell Biochemistry and Function*, 22(6), 343–352.
- Batrakova, E.V., Bronich, T.K., Vetro, J.A., and Kabanov, A.V. (2006). Polymer Micelles as Drug Carriers. *Nanoparticulates as Drug Carriers*, 57-93.
- Bikram, M., and West, J. L. (2008). Thermo-responsive systems for controlled drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 5(10), 1077–1091.
- Binauld, S., and Stenzel, M. H. (2013). Acid-degradable polymers for drug delivery: a decade of innovation. *Chemical Communications*, 49(21), 2082--2102.
- Byrne, J.D., Betancourt, T., and Brannon-Peppas, L., (2008) Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics, *Advanced Drug Delivery Review* 60 1615–1626.
- Cardoso, V. F., Francesko, A., Ribeiro, C., Bañobre-López, M., Martins, P., and Lanceros-Mendez, S. (2017). Advances in Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications. *Advanced Healthcare Materials*, 7(5), 1700845, 1-35.
- Caruso, R.A., Susha, A., and Caruso, F., (2001). Multilayered titania, silica, and laponite nanoparticle coatings on polystyrene colloidal templates and resulting inorganic hollow spheres. *Chemistry Materials* 13, 400-409.
- Chen, W., Meng, F., Cheng, R., Deng, C., Feijen, J., and Zhong, Z. (2015). Facile construction of dual-bioresponsive biodegradable micelles with superior extracellular stability and activated intracellular drug release. *Journal of Controlled Release*, 210, 125–133.
- Cheng, R., Meng, F., Deng, C., Klok, H.A., and Zhong, Z. (2013). Dual and multi-stimuli responsive polymeric nanoparticles for programmed site-specific drug delivery. *Biomaterials*, 34(14), 3647–3657.
- Cho, K., Wang, X., Nie, S., Chen, Z. (Georgia), Shin, D.M., (2008) Therapeutic Nanoparticles for Drug Delivery in Cancer, *Clinical Cancer Research*. March 1, 14(5), 1310-1316.
- Choi, S.-W., Zhang, Y. and Xia, Y. (2010). A Temperature-Sensitive Drug Release System Based on Phase-Change Materials. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(43), 7904–7908.

- Daglar, B., Ozgur, E., Corman, M. E., Uzun, L., and Demirel, G. B. (2014). Polymeric nanocarriers for expected nanomedicine: current challenges and future prospects. *Royal Society of Chemistry Advanced*, 4(89), 48639–48659.
- Danhier F., Feron O. and Pr at V., (2010) To exploit the tumor microenvironment: Passive ve active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery, *Elsevier Journal of Controlled Release Review*, 148 135–136.
- Daniel, M.C., Astruc, D., (2004). Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chemistry Review* 104 (1), 293-346.
- Demirel, G.B., Buyukserin, F., Morris, M.A., Demirel, G., (2012). Nanoporous polymeric nanofibers based on selectively etched PS-b-PDMS block copolymers, *American Chemical Society Applied and Materials Interfaces*, 4, 1, 280-285.
- Desai, P., Venkataramanan, A., Schneider, R., Jaiswal, M. K., Carrow, J. K., Purwada, A., Sing, A. and Gaharwar, A. K. (2018). Self-assembled, ellipsoidal polymeric nanoparticles for intracellular delivery of therapeutics. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 106(7), 2048–2058.
- Dhas, N. L., Raval, N. J., Kudarha, R. R., Acharya, N. S., and Acharya, S. R. (2018). Core-shell nanoparticles as a drug delivery platform for tumor targeting. *Inorganic Frameworks as Smart Nanomedicines*, 387–448.
- Ehrlich, P., (1960). *The Collected Papers of Paul Ehrlich*, Pergamon, London, p. 3
- Elsabahy, M., and Wooley, K. L. (2012). Design of polymeric nanoparticles for biomedical delivery applications. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2545–2561.
- Elsaid, Z., Taylor, K. M. G., Puri, S., Eberlein, C. A., Al-Jamal, K., Bai, J., Klippstein, R., Wang, J.T.W., Forbes, B., Chana, J., Somavarapu, S. (2017). Mixed micelles of lipoic acid-chitosan-poly(ethylene glycol) and distearoylphosphatidylethanolamine-poly(ethylene glycol) for tumor delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101, 228–242.
- Erdoğan., A., (2018), Magnetic Nanoparticles In The Diagnosis and Treatment Of Cancer, *Natural and Applied Sciences Journal*, Vol. I, No. 1, 23-30.
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Mathers, C., Parkin, D. M., Pi eros, M., Znaor, A., Bray, F. (2018). Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *International Journal of Cancer*, 00, 1–13.
- Fernandes Queiroz, M., Melo, K., Sabry, D., Sasaki, G., and Rocha, H. (2014). Does the Use of Chitosan Contribute to Oxalate Kidney Stone Formation? *Marine Drugs*, 13(1), 141–158.
- Freiberg, S., Zhu, X.X., (2004) Polymer microspheres for controlled drug release, *Elsevier International Journal of Pharmaceutics*, 282, 1–18.

- Gao, Y., Liu, Y., and Xu, C. (2013). Magnetic Nanoparticles for Biomedical Applications: From Diagnosis to Treatment to Regeneration. *Engineering in Translational Medicine*, 567–583.
- Ghosh Chaudhuri, R., and Paria, S. (2011). Core/Shell Nanoparticles: Classes, Properties, Synthesis Mechanisms, Characterization, and Applications. *Chemical Reviews*, 112(4), 2373–2433.
- Gong J, Chen M, Zheng Y, Wang S, Wang Y., (2012) Polymeric micelles drug delivery system in oncology. *Journal of Controlled Release*, 159(3), 312–323.
- Gref, R., Minamitake, Y., Peracchia, M., Trubetskoy, V., Torchilin, V., and Langer, R. (1994). Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres. *Science*, 263(5153), 1600–1603.
- Guo, X., Cheng, Y., Zhao, X., Luo, Y., Chen, J., and Yuan, W.-E. (2018). Advances in redox-responsive drug delivery systems of tumor microenvironment. *Journal of Nanobiotechnology*, 16(1), 1-10.
- Harada A., Matsuki R., Ichimura S., Yuba E. and Kono K., (2013) Intracellular Environment-Responsive Stabilization of Polymer Vesicles Formed from Head-Tail Type Polycations Composed of a Polyamidoamine Dendron and Poly(L-lysine), *Molecules*, 18, 12168-12179.
- He, X., Li, J., An, S., and Jiang, C. (2013). pH-sensitive drug-delivery systems for tumor targeting. *Therapeutic Delivery*, 4(12), 1499–1510.
- Hegazy, M., Zhou, P., Wu, G., Wang, L., Rahoui, N., Taloub, N., Huang, X. and Huang, Y. (2017). Construction of polymer coated core–shell magnetic mesoporous silica nanoparticles with triple responsive drug delivery. *Polymer Chemistry*, 8(38), 5852–5864.
- Hoener, C. F., Allan, K. A., Bard, A. J., Campion, A., Fox, M. A., Mallouk, T. E., ... White, J. M. (1992). Demonstration of a shell-core structure in layered CdSe-ZnSe small particles by x-ray photoelectron and Auger spectroscopies. *Journal of Physical Chemistry*, 96(9), 3812-3817.
- Hu, X., Wang, Y. and Peng, B. (2013). Chitosan-Capped Mesoporous Silica Nanoparticles as pH-Responsive Nanocarriers for Controlled Drug Release. *Chemistry - An Asian Journal*, 9(1), 319–327.
- Husseini, G. A. and Pitt, W. G. (2008). Micelles and nanoparticles for ultrasonic drug and gene delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60(10), 1137–1152.
- Karimi, M., Sahandi Zangabad, P., Ghasemi, A., Amiri, M., Bahrami, M., Malekzad, H., Asl, H.G., Mahdieh, Z., Bozorgomid, M., Ghasemi, A., Boyuk, M.R.R.T., Hamblin, M. R. (2016). Temperature-Responsive Smart Nanocarriers for Delivery Of Therapeutic Agents: Applications and Recent Advances. *American Chemical Society Applied Materials and Interfaces*, 8(33), 21107–21133.
- Kheiriloom, A., Mahakian, L. M., Lai, C.-Y., Lindfors, H. A., Seo, J. W., Paoli, E. E., Watson, K.D., Haynam, E.M., Ingham, E.S., Xing, L., Cheng, R.H., Borowsky, A.D.,

- Cardiff, R.D. and Ferrara, K. W. (2010). Copper–Doxorubicin as a Nanoparticle Cargo Retains Efficacy with Minimal Toxicity. *Molecular Pharmaceutics*, 7(6), 1948–1958.
- Khorsand, B., Lapointe, G., Brett, C. and Oh, J. K. (2013). Intracellular Drug Delivery Nanocarriers of Glutathione-Responsive Degradable Block Copolymers Having Pendant Disulfide Linkages. *Biomacromolecules*, 14(6), 2103–2111.
- Kim, H.-J., Matsuda, H., Zhou, H., and Honma, I. (2006). Ultrasound-Triggered Smart Drug Release from a Poly(dimethylsiloxane)– Mesoporous Silica Composite. *Advanced Materials*, 18(23), 3083–3088.
- Langer, R. and N. Peppas, (1983) Chemical and Physical Structure of Polymers as Carriers for Controlled Release of Bioactive Agents: A Review, *Journal Macromolecules Science*, 23(1), 61-126.
- Langer, R. and Peppas, N. A. (2003). Advances in biomaterials, drug delivery, and bionanotechnology. *AIChE Journal*, 49(12), 2990–3006.
- Lee, S.-F., Zhu, X.-M., Wang, Y.-X. J., Xuan, S.-H., You, Q., Chan, W.-H., Wong, C-H., Wang, F., Yu, J.C., Cheng, C.H.K., and Leung, K. C.-F. (2013). Ultrasound, pH, and Magnetically Responsive Crown-Ether-Coated Core/Shell Nanoparticles as Drug Encapsulation and Release Systems. *American Chemical Society Applied Materials and Interfaces*, 5(5), 1566–1574.
- Li, W., Zhang, B., Li, X., Zhang, H., and Zhang, Q. (2013). Preparation and characterization of novel immobilized  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2\text{-Pd}(0)$  catalyst with large pore-size mesoporous for Suzuki coupling reaction. *Applied Catalysis A: General*, 459, 65–72.
- Liechty, W.B., Kryscio, D.R., Slaughter, B.V., and Peppas, N.A., (2010). Polymers for Drug Delivery Systems. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 2010. 1(1), 149-73.
- Liu, G., Li, K. and Wang H., (2016) Polymeric micelles based on PEGylated chitosan-g-lipoic acid as carrier for efficient intracellular drug delivery, *Journal of Biomaterials Applications* 31(7), 1039-1048.
- Liu, G., Luo Q., Wang H., Zhuang W. and Wang Y., (2015) In situ synthesis of multidentate PEGylated chitosan modified gold nanoparticles with good stability ve biocompatibility, *Royal Society Of Chemistry*, 5, 70109–70116.
- Ma, M., Chen H., Chen Y., Wang X., Chen F., Cui X., Shi J., (2012) Au capped magnetic core/mesoporous silica Shell nanoparticles for combined photothermo-/chemotherapy ve multimodal imaging, *Elsevier Biomaterials*, 33, 989-998.
- Ma, J., Sun, N., Wang, C., Xue, J. and Qiang, L. (2018). Facile synthesis of novel  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@m\text{SiO}_2@\text{TiO}_2$  core-shell microspheres with mesoporous structure and their photocatalytic performance. *Journal of Alloys and Compounds*, 743, 456–463.
- Madni, A, Sarfraz M, Rehman M, Ahmad M, Akhtar N, Ahmad S., (2014), Liposomal drug delivery: a versatile platform for challenging clinical applications. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 17(3), 401–426.

- Madni, A., Tahir, N., Rehman, M., Raza, A., Mahmood, M. A., Khan, M. I. and Kashif, P. M. (2017). Hybrid Nano-carriers for Potential Drug Delivery. *Advanced Technology for Delivering Therapeutics*, 53-87.
- Mahto, T. K., Chandra, S., Haldar, C., and Sahu, S. K. (2015). Kinetic and thermodynamic study of polyaniline functionalized magnetic mesoporous silica for magnetic field guided dye adsorption. *Royal Society Of Chemistry Advances*, 5(59), 47909–47919.
- Malam, Y., Loizidou, M. and Seifalian, A. M. (2009). Liposomes and nanoparticles: nanosized vehicles for drug delivery in cancer. *Trends in Pharmacological Sciences*, 30(11), 592–599.
- McRae Page, S., Martorella, M., Parelkar, S., Kosif, I. and Emrick, T. (2013). Disulfide Cross-Linked Phosphorylcholine Micelles for Triggered Release of Camptothecin. *Molecular Pharmaceutics*, 10(7), 2684–2692.
- Mehnert, W., Mäder K., (2001), Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47(2), 165–196.
- Meng, F., Cheng, R., Deng, C. and Zhong, Z. (2012). Intracellular drug release nanosystems. *Materials Today*, 15(10), 436–442.
- Meng, F., Zhong, Z. and Feijen, J. (2009). Stimuli-Responsive Polymersomes for Programmed Drug Delivery. *Biomacromolecules*, 10(2), 197–209.
- Mieszawska AJ, Kim Y, Gianella A, van Rooy I, Priem B, Labarre MP., (2013), Synthesis of polymer–lipid nanoparticles for image-guided delivery of dual modality therapy. *Bioconjugate Chemistry*. 24(9), 1429–1434.
- Milašinović, N., Čalija, B., Vidović, B., Crevar Sakač, M., Vujić, Z., and Knežević-Jugović, Z. (2016). Sustained release of  $\alpha$ -lipoic acid from chitosan microbeads synthesized by inverse emulsion method. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 60, 106–112.
- Millart, E., Lesieur, S. and Faivre, V. (2018). Superparamagnetic lipid-based hybrid nanosystems for drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 15(5), 523–540.
- Moghimi, S.M., Hunter, A.C., Murray, J.C., (2005) Nanomedicine: current status ve future prospects, *The FASEB Journal*. 19, 311–330.
- Mørch, Ý., Hansen, R., Berg, S., Åslund, A. K. O., Glomm, W. R., Eggen, S., Schmid, R., Johnsen, H., Kubowicz, S., Snipstad, S., Sulheim, E., Hak, S., Singh, G., McDonagh, B.H., Blom, H., Davies, C.L., and Stenstad, P.M., (2015). Nanoparticle-stabilized microbubbles for multimodal imaging and drug delivery. *Contrast Media and Molecular Imaging*, 10(5), 356–366.
- Na, K., Lee, T.B., Park, K.H., Shin E.K., Lee, Y.B., Choi, H.K., (2003) Self-assembled nanoparticles of hydrophobically-modified polysaccharide bearing vitamin H as a targeted anti-cancer drug delivery system, *Elsevier European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 18, 165–173.

- Nastase, S., Bajenaru, L., Berger, D., Matei, C., Moisescu, M. G., Constantin, D., and Savopol, T. (2014). Mesoporous silica matrix for irinotecan delivery systems. *Central European Journal of Chemistry*, 12(8), 813–820.
- Neuberger, T., Schöpf, B., Hofmann, H., Hofmann, M., and Rechenberg, B.V., (2005). Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: Possibilities and limitations of a new drug delivery system. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 293(1), 483–496.
- Nikolić, R. S., Krstić, N. S., Nikolić, G. M., Kocić, G. M., Cakić, M. D., and Anđelković, D. H., (2014). Molecular mechanisms of beneficial effects of lipoic acid in copper intoxicated rats assessment by FTIR and ESI-MS. *Polyhedron*, 80, 223–227.
- Palanikumar L., Choi E.S., Cheon F.Y., Joo S.H., Ryu J.H., (2015) Noncovalent Polymer-Gatekeeper in Mesoporous Silica Nanoparticles as a Targeted Drug Delivery Platform, *Advanced Functional Materials*, 25, 957–965.
- Panyam, J., Labhasetwar, V., (2003) Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue, *Elsevier Advanced Drug Delivery Reviews*, 55, 329–347.
- Park, J.H., Lee, S., Kim, J.H., Park, K., Kim, K., Kwon, I.C., (2008) Polymeric nanomedicine for cancer therapy, *Progress in Polymer Science*, 33, 113–137.
- Pitt, W. G., Hussein, G. A. and Staples, B. J. (2004). Ultrasonic drug delivery – a general review. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 1(1), 37–56.
- Pourjavadi, A. and Tehrani, Z. M. (2014). Mesoporous Silica Nanoparticles (MCM-41) Coated PEGylated Chitosan as a pH-Responsive Nanocarrier for Triggered Release of Erythromycin. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 63(13), 692–697.
- Quinn, J. F., Whittaker, M. R. and Davis, T.P. (2017). Glutathione responsive polymers and their application in drug delivery systems. *Polymer Chemistry*, 8(1), 97–126.
- Rao, K.S.V.K., Naidu, B.V.K., Subha, M.C.S., Sairam, M., Aminabhavi T.M., (2006), Novel chitosan-based pH-sensitive interpenetrating network microgels for the controlled release of cefadroxil, *Carbohydrate Polymers*, 66, 333–344.
- Siepmann, J., and Siepmann, F. (2012). Modeling of diffusion controlled drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 161(2), 351–362.
- Singh A.V , (2011), Biopolymers in Drug Delivery: A Review, *Pharmacologyonline*, 1, 666–674
- Stubbs M, McSheehy PM, Griffiths JR, Bashford CL. (2000), Causes and consequences of tumour acidity and implications for treatment. *Molecular Medicine Today*, 6(1), 15–19.
- Taghizadeh, B., Taranejoo, S., Monemian, S. A., Salehi Moghaddam, Z., Daliri, K., Derakhshankhah, H., and Derakhshani, Z. (2014). Classification of stimuli-responsive polymers as anticancer drug delivery systems. *Drug Delivery*, 22(2), 145–155.

- Wang Y., Wanga F., Liu Y., Xu S., Shen Y., Feng N., Guoa S., (2018) Glutathione deprotected pH responsive nano-clusters of Au nanorods with a high dose of DOX for treatment of multidrug resistant Cancer, *Elsevier Acta Biomaterialia*, 75, 334-335.
- Wei, W., Yuan, L., Hu, G., Wang, L., Wu, J., Hu, X., Su Z., and Ma, G., (2008), *Advanced Materials*, 20, 2292–2296.
- Weinhold, M. X., Sauvageau, J. C. M., Keddig, N., Matzke, M., Tartsch, B., Grunwald, I., Küübel, C., Jastorff, B., Thöming, J. (2009). Strategy to improve the characterization of chitosan for sustainable biomedical applications: SAR guided multi-dimensional analysis. *Green Chemistry*, 11(4), 498–509.
- Wu, J. and Sailor, M-J., (2009) “Chitosan Hydrogel-Capped Porous SiO<sub>2</sub> as a pH Responsive Nano-Valve for Triggered Release of Insulin”, *Advanced Functional Materials*, 19, 733–741.
- Wu M., Huang S., (2017) Magnetic nanoparticles in cancer diagnosis, drug delivery ve treatment (review), *Molecular and Clinical Oncology*, 7, 738-746.
- Yang, K., and Ma, Y.-Q. (2010). Computer simulation of the translocation of nanoparticles with different shapes across a lipid bilayer. *Nature Nanotechnology*, 5(8), 579–583.
- Yang, S.-D., Zhu, W.-J., Zhu, Q.-L., Chen, W.-L., Ren, Z.-X., Li, F., Yuan, Z.-Q., Li, J.-Z., Li, Y., Zhou, X.-F., Li, C., Zhang, X.-N. (2016). Binary-copolymer system base on low-density lipoprotein-coupled N-succinyl chitosan lipoic acid micelles for co-delivery MDR1 siRNA and paclitaxel, enhances antitumor effects via reducing drug. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 105(5), 1114-1125.
- Yuan, Q., Shah, J., Hein, S., Misra, R.D.K., (2010) Controlled ve extended drug release behavior of chitosan-based nanoparticle carrier, *Elsevier Acta Biomaterialia*, 6, 1140-1148
- Zaman, U., Richter, F. M., Hofele, R., Kramer, K., Sachsenberg, T., Kohlbacher, O., Lenz, C., Urlaub, H. (2015). Dithiothreitol (DTT) Acts as a Specific, UV-inducible Cross-linker in Elucidation of Protein–RNA Interactions. *Molecular and Cellular Proteomics*, 14(12), 3196–3210.
- Zhou, H.S., Sasahara, H., Honma, I., Komiyama, H., Haus, J.W., (1994). Coated semiconductor nanoparticles: the CdS/PbS systems photoluminescence properties. *Chemical Materials*, 6, 1534-1541.
- Zhou, Y., Yu, J., Feng, X., Li, W., Wang, Y., Jin, H., Huang, H., Liu, L., and Fan, D. (2016). Reduction-responsive core-crosslinked micelles based on a glycol chitosan–lipoic acid conjugate for triggered release of doxorubicin. *Royal Society Chemistry Advanced*, 6(37), 31391–31400.
- Zhuang, L., Zhang, W., Zhao, Y., Shen, H., Lin, H., and Liang, J. (2015). Preparation and Characterization of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Particles with Novel Nanosheets Morphology and Magnetochromatic Property by a Modified Solvothermal Method. *Scientific Reports*, 5(9320), 1-6.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Şeyma BAYRAK  
Uyruğu : T.C.  
Doğum tarihi ve yeri : 28.07.1994, İstanbul  
Medeni hali : Bekar  
Telefon : 0 (531) 668 33 34  
e-mail : bayrakseyma94.sb@gmail.com



### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya	Devam Ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya	2016
Lise	İbrahim Turhan Lisesi	2012

### Yabancı Dil

İngilizce

### Hobiler

Kitap okumak, spor yapmak.



*GAZİ GELECEKTİR..*