

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KANSER TEDAVİSİNDE İLAÇ TAŞIMA AMACIYLA KULLANILACAK
KARBON NANOTÜPLERİN FONKSİYONELLEŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yeşim YENİYURT

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

HAZİRAN 2019

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KANSER TEDAVİSİNDE İLAÇ TAŞIMA AMACIYLA KULLANILACAK
KARBON NANOTÜPLERİN FONKSİYONELLEŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Yeşim YENİYURT
(506171052)**

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. F.Seniha GÜNER

HAZİRAN 2019

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506171052 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Yeşim YENİYURT, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “KANSER TEDAVİSİNDE İLAÇ TAŞIMA AMACIYLA KULLANILACAK KARBON NANOTÜPLERİN FONKSİYONELLEŞTİRİLMESİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. F.Seniha GÜNER**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Gülhayat SAYGILI**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Dr. Ayça BAL ÖZTÜRK
İstinye Üniversitesi

Teslim Tarihi : 03 Mayıs 2019
Savunma Tarihi : 10 Haziran 2019





Aileme,



ÖNSÖZ

Tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve deneyimlerinin yanı sıra gösterdiği ilgi ve destek ile her zaman yanımda olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. F.Seniha GÜNER'e çok teşekkür ederim. Çalışmalarımı gerçekleştirmem için laboratuvarını bana açan ve tüm imkanlarından faydalanmamı sağlayan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Gürkan HİZAL'a ve çalışmamın karakterizasyon analizinde yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Nilgün KARATEPE YAVUZ' a teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca fikirleri ve önerileri ile bana destek ve yardımcı olan, çalışmalarına ışık tutan Sayın Mehdi MERAN'a ve laboratuvar çalışmalarım sırasında bilgi birikimleri ve deneyimlerine başvurduğum Sayın Araş. Gör. Elif BAYSAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Bir proje kapsamında birlikte çalıştığımız ve gerçekleştirdiği hesaplamalı çalışmalar ile sağladığı katkılardan dolayı sevgili arkadaşım Sıla KILIÇ'a ve benden yardım, öneri ve dostluklarını hiçbir zaman esirgemeyen tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Yaşamım boyunca her zaman varlıklarını yanımda hissettiğim aileme, tüm öğrenim hayatım boyunca beni destekleyip cesaretlendirdikleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs 2019

Yeşim YENİYURT
(Kimya Mühendisi)



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET	xvii
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ	1
2. NANOTEKNOLOJİ	3
3. İLAÇ SALIMINDA KULLANILAN NANOPARTİKÜLLER	5
3.1 Kuantum Noktaları	8
3.2 Polimer Esaslı İlaç Taşıyıcılar	8
3.3 Lipozomlar	9
3.4 Dendrimerler	9
3.5 Fullerenler	10
3.6 Miseller.....	10
3.7 Protein ve Polisakkarit Nanopartikülleri	11
3.8 Karbon Nanotüpler	11
3.8.1 Karbon nanotüplerin özellikleri.....	12
3.8.2 Karbon nanotüplerin sınıflandırılması	13
3.8.2.1 Tek duvarlı karbon nanotüpler	13
3.8.2.2 Çift duvarlı karbon nanotüpler	14
3.8.2.3 Çok duvarlı karbon nanotüpler	14
3.8.3 Karbon nanotüplerin sentezlenmesi.....	14
3.8.3.1 Ark boşaltma yöntemi.....	15
3.8.3.2 Lazerle aşındırma yöntemi.....	16
3.8.3.3 Kimyasal buhar biriktirme yöntemi	17
3.8.4 Karbon nanotüplerin saflaştırılması.....	18
3.8.4.1 Hava oksidasyonu	18
3.8.4.2 Asit ile muamele	18
3.8.4.3 Sürfaktan destekli sonikasyon, filtrasyon ve tavlama.....	18
3.8.5 Karbon nanotüplerin fonksiyonelleştirilmesi	19
3.8.5.1 Kovalent fonksiyonelleştirme	20
3.8.5.2 Non-kovalent fonksiyonelleştirme.....	21
4. DENEYSEL ÇALIŞMA	25
4.1 Kullanılan Kimyasallar ve Özellikleri.....	25
4.2 Tek Duvarlı Karbon Nanotüp Sentezi	26
4.3 Fmoc-PEG Komplekslerinin Hazırlanması.....	27
4.4 TDKNT'lerin Fmoc-PEG Kompleksleri ile Fonksiyonelleştirilmesi	27
4.5 Karakterizasyon Yöntemleri.....	28

4.5.1 Geçirimli elektron mikroskobu	28
4.5.2 Fourier transform infrared spektroskopisi	28
4.5.3 Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi	28
4.5.4 UV-vis spektroskopisi.....	28
4.5.5 Floresans spektroskopisi	28
4.5.6 Termal gravimetrik analiz.....	29
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	31
5.1 Fmoc-PEG komplekslerinin hazırlanması.....	31
5.2 TDKNT'lerin Fmoc-PEG kompleksleri ile fonksiyonelleştirilmesi	31
5.3 Karakterizasyon Sonuçları.....	32
5.3.1 Geçirimli elektron mikroskobu	32
5.3.2 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi	33
5.3.3 Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi	34
5.3.4 UV-vis spektroskopisi.....	35
5.3.5 Floresans spektroskopisi	36
5.3.6 Termal gravimetrik analiz.....	37
5.3.7 Sudaki dispersiyon	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR.....	43
EKLER	47
ÖZGEÇMİŞ.....	55

KISALTMALAR

ÇDKNT	: Çok Duvarlı Karbon Nanotüp
DCM	: Diklorometan
f-KNT	: Fonksiyonel Karbon Nanotüp
Fmoc	: 9-florenilmetil kloroformat
FT-IR	: Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
Gly	: Glisin
KBB	: Kimyasal Buhar Biriktirme
KNT	: Karbon Nanotüp
NMR	: Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi
PEG	: Polietilen Glikol
TDKNT	: Tek Duvarlı Karbon Nanotüp
TGA	: Isıl Gravimetrik Anal
THF	: Tetrahidrofuran
Trp	: Triptofan



ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 : Karbon nanotüplerin karakteristik özellikleri.....	13
Çizelge 3.2 : KNT sentez metotları.	15
Çizelge 4.1 : PEG monometil eterin özellikleri.....	25
Çizelge 4.2 : Fmoc-Gly-OH ve Fmoc-Trp-OH özellikleri.	26





ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1 : Nanopartiküllerin avantajları.....	6
Şekil 3.2 : Nanopartiküllerin dezavantajları.....	6
Şekil 3.3 : İlaç salım sistemlerinde kullanılan nanotaşıyıcılar.....	8
Şekil 3.4 : (A) Grafen Tabakası (B) Tek Duvarlı Karbon Nanotüp (C) Çok Duvarlı Karbon Nanotüp.....	12
Şekil 3.5 : Ark boşaltma yöntemi şematik gösterimi.....	16
Şekil 3.6 : Lazerle aşındırma yöntemi şematik gösterimi.....	17
Şekil 3.7 : Kimyasal buhar biriktirme yöntemi şematik gösterimi.....	18
Şekil 3.8 : PEGilasyon yapılan TDKNT.....	24
Şekil 4.1 : PEG monometil eter.....	25
Şekil 4.2 : Fmoc-Gly-OH kimyasal yapısı.....	25
Şekil 4.3 : Fmoc-Trp-OH kimyasal yapısı.....	26
Şekil 5.1 : Direkt esterifikasyon.....	31
Şekil 5.2 : Fmoc-Gly/TDKNT şematik gösterimi.....	32
Şekil 5.3 : Fmoc-Trp/TDKNT şematik gösterimi.....	32
Şekil 5.4 : TDKNT'lerin TEM görüntüleri.....	32
Şekil 5.5 : PEG ₂₀₀₀ , Gly-PEG ₂₀₀₀ , Trp-PEG ₂₀₀₀ 'in FT-IR spektrumu.....	33
Şekil 5.6 : PEG ₅₀₀₀ , Gly-PEG ₅₀₀₀ , Trp-PEG ₅₀₀₀ 'in FT-IR spektrumu.....	33
Şekil 5.7 : PEG ₁₂₀₀₀ , Gly-PEG ₁₂₀₀₀ , Trp-PEG ₁₂₀₀₀ 'in FT-IR spektrumu.....	34
Şekil 5.8 : Fmoc-Gly-PEG ₂₀₀₀ 'in ¹ H NMR spektrumu.....	34
Şekil 5.9 : Fmoc-Trp-PEG ₁₂₀₀₀ 'in ¹ H NMR spektrumu.....	35
Şekil 5.10 : Fmoc-Gly-PEG ₂₀₀₀ 'in UV-vis spektrumu.....	35
Şekil 5.11 : Fmoc-Trp-PEG ₁₂₀₀₀ 'in UV-vis spektrumu.....	36
Şekil 5.12 : Fmoc-Gly-PEG ₂₀₀₀ ve Fmoc-Gly-PEG ₂₀₀₀ -TDKNT'nin floresans spektrumu.....	36
Şekil 5.13 : Fmoc-Trp-PEG ₁₂₀₀₀ ve Fmoc-Trp-PEG ₁₂₀₀₀ -TDKNT'nin floresans spektrumu.....	37
Şekil 5.14 : (i) Fmoc-Gly ve (ii) Fmoc-Trp'in KNT yüzeyine bağlanması.....	37
Şekil 5.15 : Fmoc-Gly/TDKNT ve Fmoc-Trp/TDKNT kütle kaybı.....	38
Şekil 5.16 : Gly-PEG/TDKNT ve Trp-PEG/TDKNT'in PEG ₅₀₀₀ için kütle kaybı.....	38
Şekil 5.17 : Gly-PEG/TDKNT ve Trp-PEG/TDKNT kütle kaybı.....	39
Şekil 5.18 : Fmoc-Gly ve Fmoc-Trp'in sudaki dağılımı.....	39
Şekil A.1 : Fmoc-Gly-PEG ₅₀₀₀ 'in ¹ H NMR spektrumu.....	48
Şekil A.2 : Fmoc-Gly-PEG ₁₂₀₀₀ 'in ¹ H NMR spektrumu.....	48
Şekil A.3 : Fmoc-Trp-PEG ₂₀₀₀ 'in ¹ H NMR spektrumu.....	49
Şekil A.4 : Fmoc-Trp-PEG ₅₀₀₀ 'in ¹ H NMR spektrumu.....	49
Şekil B.1 : Fmoc-Gly-PEG ₅₀₀₀ Uv-vis spektrumu.....	50
Şekil B.2 : Fmoc-Gly-PEG ₁₂₀₀₀ UV-vis spektrumu.....	50
Şekil B.3 : Fmoc-Trp-PEG ₂₀₀₀ Uv-vis spektrumu.....	50
Şekil B.4 : Fmoc-Trp-PEG ₅₀₀₀ Uv-vis spektrumu.....	51

Şekil C.1 : Fmoc-Gly-PEG ₅₀₀₀ ve Fmoc-Gly-PEG ₅₀₀₀ -TDKNT'nin floresans spektrumu.....	52
Şekil C.2 : Fmoc-Gly-PEG ₁₂₀₀₀ ve Fmoc-Gly-PEG ₁₂₀₀₀ -TDKNT'nin floresans spektrumu.....	52
Şekil C.3 : Fmoc-Trp-PEG ₂₀₀₀ ve Fmoc-Trp-PEG ₂₀₀₀ -TDKNT'nin floresans spektrumu.....	52
Şekil C.4 : Fmoc-Trp-PEG ₅₀₀₀ ve Fmoc-Trp-PEG ₅₀₀₀ -TDKNT'nin floresans spektrumu.....	53



KANSER TEDAVİSİNDE İLAÇ TAŞIMA AMACIYLA KULLANILACAK KARBON NANOTÜPLERİN FONKSİYONELLEŞTİRİLMESİ

ÖZET

Dünyada ölümlerin önde gelen nedenlerinden biri olan kanserin tedavisi için kullanılan yöntemler sistemik etki göstermektedir. Biyomedikal alandaki gelişmeler sayesinde gelişen ilaç taşıma sistemleri ilacın tümörlü bölgeye nüfuzunu arttırabilmekte ve nano boyuttaki dağıtım sistemleriyle dokulara doğrudan iletelebilmektedir. Böylece sistemik etki yerine lokal etki sağlayabilmektedir.

Yapılan bu çalışmada, ilaç taşıyıcısı olarak kullanılabilecek yeni bir nanomalzeme geliştirilmiştir. Nanomalzemenin iskeleti, fizikokimyasal özelliklerinin diğer nanomalzemelere göre daha üstün olması sebebiyle karbon nanotüp (KNT) olarak seçilmiştir. KNT'lerin çözünürlüklerinin az olması kullanımını sınırlayıcı bir özelliktir. Hem bu problemi çözmek hem de retiküloendotelyal sistem elemanları tarafından KNT'lerin yabancı madde olarak algılanmasını önlemek ve böylece ilaç yüklü KNT'lerin kanda kalma süresini artırmak amacıyla yüzeyleri hidrofilik ve biyoyumlu bir polimer olan polietilen glikol (PEG) ile kaplanmıştır. KNT yüzeyinin hidrofobik olması nedeniyle yüzeyin hidrofilik bir polimerle kaplanması işlemi birkaç basamakta gerçekleştirilmiştir. İlk olarak PEG zincirine piren gibi aromatik gruplar içeren 9-florenilmetil kloroformat (Fmoc) aminoasitleri bağlanmış, daha sonra uzun PEG zincirlerinin π - π etkileşimleri sayesinde tek duvarlı KNT (TDKNT) duvarına tutturulması sağlanmıştır. Çalışmada, Fmoc aminoasitlerine monte edilmiş farklı molekül ağırlığındaki PEG ($M_a=2000, 5000$ ve 12000 g mol^{-1}) ile KNT yüzeyinin non-kovalent fonksiyonelleştirilmesi başarıyla gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen nihai üründe Fmoc-PEG zincirlerinin TDKNT'lere bağlanmasını izlemek amacıyla floresans spektroskopisi, bağlanma verimini saptamak amacıyla da termogravimetrik analiz yöntemi kullanılmıştır. En yüksek biyoyumluluk gösteren nanotaşıyıcı kanser tedavisinde kullanılmak üzere ilaç yükleme ve kontrollü salım çalışmaları için seçilecektir.



FUNCTIONALIZATION OF CARBON NANOTUBES TO BE USED FOR DRUG DELIVERY IN CANCER TREATMENT

SUMMARY

Methods used for the treatment of cancer, one of the leading causes of death in the world, show a systemic effect. The drug delivery systems improved by the developments in the biomedical field can increase the penetration of the drug into the tumor region and can be transmitted directly to the tissues by means of nano-sized delivery systems. Thus, it can provide local effect instead of systemic effect.

In this study, a new nanomaterial which can be used as a drug carrier has been developed. Nanomaterial skeleton was chosen as carbon nanotube (CNT) because its physicochemical properties were superior to other nanomaterials. The low solubility of CNTs is a limiting feature. To solve this problem, the surfaces of the CNTs are coated with polyethylene glycol (PEG), a hydrophilic and biocompatible polymer. This method prevents the detection of CNTs as foreign substances by reticuloendothelial system elements and increases the residence time of drug-loaded CNTs in the blood. Because the surface of the CNT is hydrophobic, the coating of the surface with a hydrophilic polymer is carried out in several steps. Firstly, 9-fluorenylmethyl chloroformate (Fmoc) amino acids containing pyrene-like aromatic groups were attached to the PEG chain, and then PEG chains were attached to the single wall carbon nanotubes (SWNT) wall due to π - π interactions.

In this study, non-covalent functionalization of the SWNT surface with different molecular weight PEG ($M_w = 2000, 5000$ and 12000 g mol^{-1}) mounted on Fmoc amino acids was successfully. Non-covalent functionalization was performed in order to improve biocompatibility and increase water solubility of CNTs and two different Fmoc amino acids such as glycine (Gly) and tryptophane (Trp) bearing PEG were attached to the CNTs surface. Fmoc amino acids are used for direct CNT immobilization. In addition, it is known that Fmoc amino acids can interact through the π - π bond, since such molecules can self-assemble with nanostructures. This system designed for drug delivery was synthesized in three steps. Primarily, SWNTs were synthesized using chemical vapor deposition method to form the skeleton of the system. Then, complexes were used to modify the SWNTs. The Fmoc amino acids and PEGs are linked together via the Sterlich Esterification mechanism. In the last step, f-PEG (Fmoc-Gly-PEG and Fmoc-Trp-PEG) prepared by reacting PEG and SWNTs were treated in ultrasonic bath to mount the complexes on the nanotube wall. Based on the studies in the literature, it has been demonstrated that PEG/SWNTs carrying two different Fmoc-aa molecules have the necessary structural strength. Stability, binding efficiency and suspending properties of Fmoc-PEG coated SWNTs were investigated by characterization studies.

^1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) were used to monitor the synthesis of Fmoc-PEG complexes, the first step of the synthesis. The characteristic peaks of Fmoc-Gly-OH and Fmoc-Trp-OH indicate that these structures are successfully linked to PEG.

Fourier-transform infrared (FT-IR) spectra were examined to support the ^1H NMR spectrum. When the PEG and f-PEG spectras are compared, the characteristic peaks of the Fmoc groups at 1770 cm^{-1} clearly demonstrate binding.

In the second step of the synthesis, PEGs of different molecular weight to which the Fmoc-amino acids are bound were mounted to SWNTs. In this step, binding was determined by fluorescence spectrophotometer and the amount of binding was determined by thermogravimetric analysis (TGA).

For each sample, two different fluorescence spectra were obtained that characterize Fmoc-PEG and Fmoc-PEG / SWNTs. It has been reported in the literature that the π - π bond between aromatic rings may cause the damping of the fluorescence spectrum in energy transfer. In addition, it was predicted that Fmoc-Trp-OH would bind more to SWNTs surface due to aromatic rings containing tryptophan amino acid. In order to confirm it and to eliminate the chain length effect of PEG, the amount of Fmoc amino acids bound to SWNTs was determined and TGA analysis was performed as described in the experimental part. Both Fmoc-Gly-OH and Fmoc-Trp-OH were found to bind to the surface of SWNTs. As expected, the amount of mass loss for Fmoc-Trp-OH is higher than Fmoc-Gly-OH. Aromatic fluorenyl rings are capable of binding to the surface of SWNTs through π - π interactions in both Fmoc-Gly-OH and Fmoc-Trp-OH. The presence of the aromatic tryptophan ring in Fmoc-Trp-OH promoted binding to SWNT walls.

In order to examine the effect of the amount of PEG on SWNTs surface binding efficiency, PEG5000 was taken as reference and experiments were performed using different amounts of PEG. The binding efficiencies of Fmoc-Gly-PEG5000 and Fmoc-Trp-PEG5000 to the SWNTs surface were monitored for different molar masses. Increasing the amount of PEG had a positive effect on both glycine and tryptophan complexes and increased binding efficiency.

Due to the presence of aromatic fluorenyl rings, Fmoc group was easily mounted on SWNT walls and it was determined by using TGA analysis that tryptophan was bound to SWNTs more homogeneously than glycine by aromatic rings. Glycine and tryptophan showed completely different tendencies in TGA analysis to determine the binding amount of complexes with PEG. In the Fmoc-Gly-PEG/SWNTs thermograms, the percentage of mass loss increased as the molecular weight of PEG increased, and the highest yield was obtained from PEG2000. In the Fmoc-Trp-PEG/SWNTs thermograms, the percentage of mass loss decreased with increasing molecular weight of PEG.

To determine the dispersion behavior of SWNTs modified by Fmoc amino acids, CNT dispersions were prepared and obtained by non-covalent modifications using PEG with aromatic functionality mounted on nanotube surfaces by π - π interactions. Additional interactions between surface-bound and non-bound Fmoc amino acids also occur through π - π stacking and hydrogen bonding; this may contribute to the overall formation of a stable nanotube dispersion in aqueous medium. The dispersion of SWNTs in water was examined in 0, 1, 3 and 5 hours and Fmoc-Trp-OH was found to provide the best dispersing property.

The binding of Fmoc amino acids containing PEG chains to the CNT wall combines the strengths of the PEG chain and CNTs; A nanocarrier is synthesized with a blood compatible, stable cell structure and good optical properties. The synthesized product will be a nanotransmitter capable of delivering targeted drug delivery and release,

minimizing the damage / side effects, in line with the need for alternative methods of cancer treatment.

In studies in the literature, it is determined that paclitaxel molecule is loaded to Fmoc amino acids complexes for cancer treatment. In the following steps, the loading efficiency of the drug suitable for the nanomaterials synthesized in this study will be investigated. The resulting nanocarrier is expected to have high drug carrying capacity thanks to Fmoc groups. In addition, in order to understand the biological behavior of f-SWNTs, its toxic effect on the cancer cell should be determined. In vitro cytotoxicity tests will be performed in cell culture in order to evaluate this material, whose drug profile and toxic profile has been investigated. The nanomaterials obtained in this way, with their advanced properties, promise great future as pharmaceutical transportation vehicles.





1. GİRİŞ

Kanser, bir doku, organ ya da hücre DNA'sında meydana gelen mutasyon sonucu hücrelerin kontrolsüz büyüme ve yayılmasıyla karakterize edilen bir hastalıktır. Yayılma kontrol edilmezse, ölümle sonuçlanabilir. Günümüzde bir yandan endüstriyel gelişme ve çevre sorunları, diğer yandan hızlı nüfus artışı nedeniyle sağlık sorunları hızla artmaktadır. Amerikan Kanser Topluluğu'nun 2018'de yayınlanan kanser raporuna göre 2018'de yaklaşık 1,7 milyon yeni kanser vakasının teşhis edilmesi ve günde 1.670 insanın kanserden ölmesi beklenmektedir [1].

Kanserde birincil, ikincil ve üçüncül olmak üzere üç tür korunma yöntemi söz konusudur. Birincil korunmada henüz kansere ilişkin hiçbir belirti yani hücre değişimi yoktur. Bu dönemde alınan önlemlerle kanserin oluşumu engellenebilmektedir. İkincil korunmada erken tanı söz konusu olup klinik bulgu yoktur, ancak hücresel düzeyde kanser başlamıştır. Bu korunma yöntemi etkin olup, geniş kitlelere uygulanabilmesinde maliyet önemli bir olumsuzluk yaratmaktadır. İkincil korunma kapsamında bir tarama programı hazırlanırken, programın sağlayacağı yararlar yanında yol açacağı olası zararlar da dikkate alınmalıdır. Üçüncül korunmada kanser bulguları vardır ve ancak doğru bir tedaviyle mortalite (ölüm) düşürülebilir. Bu tür korunma yönteminde maliyet çok yüksektir.

Kanser tedavisinin ilk aşamasında kanserli hücre ya da bölge ameliyatla alınmakta ve kalıntıları yok edilmektedir. Aynı zamanda sitotoksik ilaçlar, ilaç taşıma sistemleriyle kanserli hücrelere taşınarak zararlı hücreler yok edilmektedir. Tedavi sırasında zararlı hücrelerin yanı sıra sağlıklı hücrelerin de yok edilmesi kemoterapinin en büyük dezavantajıdır [2]. Bu sebeple son zamanlarda kontrollü ilaç salımı yapabilen hedefe yönelik ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar büyük bir hızla devam etmektedir. Karbon nanotüp (KNT)-polimer hibrid nanomalzemeler bu amaçla araştırılan ilaç taşıyıcı sistemlerdir.

KNT temelli nanotaşıyıcıların biyo-bozunabilirliği, ilaç salım sistem tasarımında dikkate alınması gereken önemli bir problemdir. Bu problemi çözmek ve mükemmel

bir ilaç taşıyıcı elde etmek için KNT'ler çeşitli kimyasal yöntemlerle modifiye edilirler. Bu modifikasyonlar, KNT temelli nanotaşıyıcıların suda çözünürlüğünü, sitotoksitesini ve ilaç hedefleme özelliklerini geliştirmektedir.



2. NANOTEKNOLOJİ

İlaç salım sistemleri, sensörler, doku mühendisliği uygulamaları, terapötikler, kozmetik malzemeler, nutrasötikler ve tıbbi cihaz odaklı uygulamalarda kullanılan nanoteknoloji; biyoteknoloji, farmakoloji, malzeme bilimi, polimer ve kimya gibi bilimleri barındıran interdisipliner bir alandır [3]. Nanoteknoloji, hastalıkların lokal olarak tedavi edilmesinde birçok fayda sağlamaktadır. 1 ila 100 nm arasında değişen boyutlarda malzemeler olan nanoparçacıklar, benzersiz yapısal, kimyasal, mekanik, manyetik, elektriksel ve biyolojik özellikler göstermektedir. Nanopartiküller, atomik veya moleküler seviyede tasarlanmış malzemeler içerdiğinden, genellikle küçük boyutludur ve böylece insan vücudunda daha büyük malzemelere kıyasla serbestçe hareket edebilmektedirler [4].

Nanotaşıyıcılar, kan dolaşım sisteminde uzun süre kalabilmekte ve ayarlanan doza göre içerdiği ilaçların salınımını sağlamaktadır. Çok küçük boyutta olan bu yapılar doku sistemine nüfuz eder, ilacın hücreler tarafından alınmasını kolaylaştırır, etkili bir ilaç dağıtımına izin verir ve hedeflenen yerde harekete geçmesini sağlar. Hücreler tarafından nanoyapıların alımı, 1 ila 10 µm arasında değişen büyüklükteki diğer partiküllerden çok daha hızlıdır. Böylece, azaltılmış veya ihmal edilebilir yan etkiler ile hastalıklı hücreleri tedavi etmek için doğrudan etkileşimde bulunmaktadır [4].

Mevcut terapötik maddelerin dağıtımını geliştirmek için nanomalzemelerin kullanılması, nanotıpın en eski ve en köklü kollarından birini temsil etmektedir. Konvansiyonel ilacın kapsülleme, birleşme veya diğer tekniklerle nanoformülasyonlara yüklenmesi, çözünürlük, stabilite, farmakokinetik ve biyodağılımını etkileyebilmekte ve bu nedenle ürünün terapötik tepkisini değiştirebilmektedir [5].

İlaç salım çalışmaları günümüzde artık mikrodan nano boyuta geçmiştir. İdeal bir ilaç salım sistemi, hedefleme ve kontrol mekanizmasına sahip olmalıdır. Hedefleme ile ilacın yüksek verimliliği sağlanmalı ve özellikle kanser hücrelerini öldürdüğü varsayılan ilaçlarla çalışırken yan etkiler de minimize edilmelidir. Yan etkilerin

azaltılması veya önlenmesi kontrollü salımla da sağlanabilmektedir. İlaç salımı için nanoboyutlu sistemlerin formülasyonu farklı nedenlerden dolayı çok çekicidir. Bunlardan en önemlisi, yüzeydeki atom veya molekül sayısı ile toplam kimyasal madde sayısı arasındaki temasın artmasıdır. Buna göre yüzey alanı artması, ilaç, prob ve protein gibi bileşiklerin bağlanmasına, adsorbe edilmesine veya taşınmasına yardımcı olmaktadır. İlaç geliştirmede nanopartiküllerin sunduğu en belirgin avantaj, kontrollü salım özellikleri elde etmek için kullanılan materyali modifiye etme imkanının yanı sıra fiziksel stabilitelerine de dayandırılmaktadır [6].



3. İLAÇ SALIMINDA KULLANILAN NANOPARTİKÜLLER

Biyotıpta ve özellikle ilaç salımında kullanılan mikro ve nanoparçacıklar, konvansiyonel sistemlere kıyasla daha avantajlıdır. Sahip oldukları gelişmiş salım özellikleri, yüksek performans özellikleri, ilaç yükleme kapasiteleri, biyolojik aktivite süreleri ve düşük yan etkileri ile daha etkili tedavi sağlamaktadır.

İlaç gibi aktif maddelerin kontrollü salımında, aktif bileşenlerin taşıyıcıları olarak nanopartiküllere güçlü bir ilgi ortaya çıkmıştır. Aktif bileşenlerin bazıları, hücresel geçirgenliği olmayan ve metabolik bozulmaya duyarlı malzemelerdir. Kullanımlarını sınırlayan bir diğer özelliği son derece hidrofobik olmalarıdır. Bu tür ajanlar, nanopartiküller (NP) kullanılarak fizyolojik ortam yoluyla taşınabilmektedir. Salım sisteminin verimliliğini etkileyen en önemli parametrelerden biri partikül büyüklüğüdür. İlaç salımı için nanoteknoloji kullanılarak, aktif bir maddenin geliştirilmiş farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri elde edilebilmektedir [7].

İlaçlar, adsorpsiyon, absorpsiyon veya kovalent bağlanma yoluyla nanopartiküllere bağlanmaktadır. Desorpsiyon, difüzyon, polimer degradasyonu, fiziksel veya kimyasal polimer transformasyonu (örneğin, düşük kritik çözelti sıcaklığı, protonasyon/deprotonasyon) veya bu mekanizmaların bir kombinasyonu ile salınmaktadır. NP'lerin bir avantajı yüksek çözünme hızlarıdır, bu da biyoyararlanımın ve düşük ilaç dozlarının artmasına neden olarak toksisiteyi azaltmaktadır (Şekil 3.1).

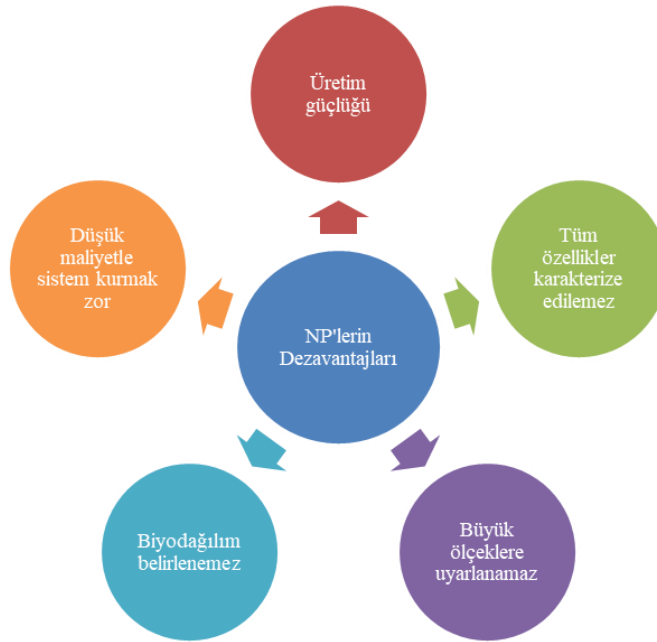
Polimerler tarafından kaplanan nanoparçacıklarla taşınan ilaçlar, polimerik membran boyunca difüzyon veya erozyon mekanizmalarıyla serbest bırakılmaktadır. Bu membran ilacın salınması için bir engel görevi görmektedir. Bu nedenle, ilacın zardaki çözünürlüğü ve yayılabilirliği, salım işlemi için belirleyici faktördür. Başarılı bir nanopartikül sistemi geliştirmede ilaç salımı ve polimer biyobozunumu olmak üzere iki önemli faktör bulunmaktadır. İlaç salım hızı birkaç faktöre bağlıdır: (1) ilaç çözünürlüğü, (2) emilen ilaç desorpsiyon prosesi, (3) NP matrisi boyunca ilaç difüzyonu, (4) nanoparçacık matrisinin erozyonu/bozulması; erozyon/difüzyon

işleminin kombinasyonudur. Bu nedenle, matris malzemelerinin çözünürlüğü, difüzyonu ve biyobozunması ilaç salım işlemini etkileyen temel faktörlerdendir.

NP'lerin ilaç dağıtımındaki etkinliği, fiziksel ve biyolojik stabilite, üretim işleminin basitliği, kolay ölçeklendirme olasılığı ve dondurularak kurutma ve sterilizasyon için uygunluk gibi birçok faktöre bağlanabilmektedir [6].



Şekil 3.1 : Nanopartiküllerin avantajları.



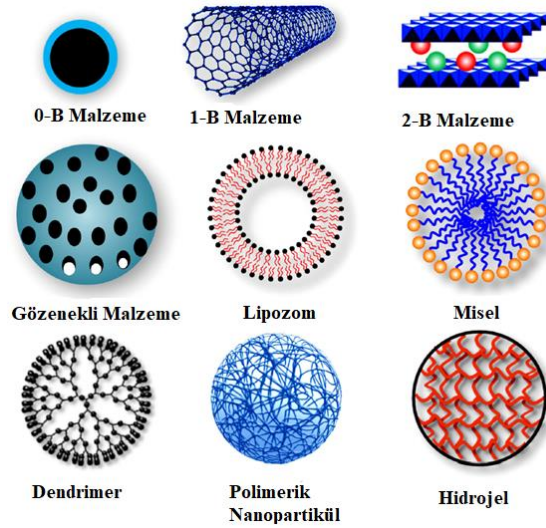
Şekil 3.2 : Nanopartiküllerin dezavantajları.

Kanser terapötiklerinin geliştirilmesi için sentetik polimerler, proteinler, lipidler ve organik ve inorganik partiküllere dayanan çok çeşitli nano ölçekli bileşikler kullanılmıştır. Klasik kemo-ilaçlarının doğrudan uygulanması ile karşılaştırıldığında, bir taşıyıcıdaki ilaç kapsüllenmesi, kan dolaşımındaki bozulmaya karşı koruma, daha iyi ilaç çözünürlüğü, arttırılmış ilaç stabilitesi, hedefli ilaç dağıtımı, azaltılmış toksik yan etki ve geliştirilmiş farmakokinetik gibi bir dizi avantaj sunmaktadır (Şekil 3.1).

Nanotıp, kanser teşhisinde ve tedavisinde devrim yaratan, hızla gelişen bir alandır. Nanopartiküller, küçük boyutları ve geniş yüzey alanı / hacim oranı ile benzersiz biyolojik özelliklere sahiptir. Kemoterapide kullanılan nano-taşıyıcılar, hedefli veya hedeflenmemiş ilaç salımı için organik molekülleri ana yapı taşı malzemesi olarak kullanan taşıyıcılar ve çekirdek olarak inorganik elementler (genellikle metaller) kullanan taşıyıcılar olmak üzere iki ana tipte sınıflandırılabilir. Organik nano-taşıyıcılar, lipozomlar, lipidler, dendrimerler, emülsiyonlar ve sentetik polimerlerden oluşmaktadır.

İnorganik nanotaşıyıcılar, son yıllarda büyük yüzey alanı, daha iyi ilaç yükleme kapasitesi, daha iyi biyoyararlanım, düşük toksik yan etkiler ve kontrollü ilaç salımı gibi büyük avantajları ve çoğu organik maddeye karşı toleransları nedeniyle görüntüleme tedavileri için yoğun olarak araştırılmaktadır. Kuantum noktaları, karbon nanotüpler, gözenekli silika ve manyetik nanopartiküller, kanser tedavisinde çeşitli şekillerde yaygın olarak kullanılmaktadır [8].

İnorganik nanopartiküller arasında gümüş, altın, demir oksit ve silika nanopartikülleri bulunmaktadır. Bunlara odaklanan çalışmalar, bazı potansiyel uygulamalar göstermesine rağmen, bu bölümde bahsedilen diğer nanoparçacık tiplerinde olduğu kadar değildir. Bununla birlikte, nanoparçacıkların yalnızca birkaçı klinik kullanımı için kabul edilmiştir, çoğunluğu hala klinik deneme aşamasındadır [4].



Şekil 3.3 : İlaç salım sistemlerinde kullanılan nanotaşıyıcılar.

3.1 Kuantum Noktaları

Kuantum noktaları (KN), çapı 2 ila 10 nm aralığında olan yarı iletken nanokristaller olarak bilinmektedir. Absorbans ve fotoluminesans gibi optik özellikleri boyuta bağlıdır. Hedefli ve izlenebilir ilaç salım sistemleri için en umut vaadeden nanoparçacıklardan biri olarak ortaya çıkmış, hücre içi işlemlerin izlenmesi, geniş yüzey / hacim oranı, biyouyumluluk, yüksek düzeyde ayarlanabilir fotoluminesans özelliği, çok renkli floresans görüntüleme ve tespit etme gibi benzersiz fizikokimyasal özelliklerinden dolayı KN'ler nanotıp alanında büyük ilgi görmüştür. Bununla birlikte, biyolojik uygulamalarda KN'lerin hidrofobik yapıları, yüksek toplanma eğilimleri ve spesifik olmayan adsorpsiyon özelliği dezavantaj oluşturmaktadır. KN yüzeyleri genellikle suda çözünebilir hale getirmek ve biyoaktivitelerini arttırmak için polar türlerle ve / veya tek katmanlı veya çok katmanlı ligandlarla kaplanmaktadır [9].

3.2 Polimer Esaslı İlaç Taşıyıcılar

Hazırlama yöntemine bağlı olarak, ilaç ya fiziksel olarak tutulmakta ya da polimer matrisine kovalent olarak bağlanmaktadır. Elde edilen bileşikler, kapsül (polimerik nanopartikül), amfifilik çekirdek / kabuk (polimerik miseller) veya dendrimer yapısına sahip olabilmektedir. İlaç konjugatları olarak kullanılan polimerler, doğal ve sentetik polimer olarak iki sınıfta değerlendirilebilmektedir. Albümin, kitosan ve heparin gibi polimerler doğal olarak bulunmaktadır. Bunlar ayrıca biyolojik olarak

    nebilir ve biyo-uyumludur ve bu nedenle oligonükleotitlerin, DNA'nın, proteinin ve ayrıca ilaçların yüklenmesi için tercih edilen malzemelerdir. Esas olarak polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA), polilaktik-glikolik asit (PLA PGA) ve poli (metil metakrilat) (PMMA) 'dan oluşan biyobozunur polimerik nanopartiküller hem gen hem de ilaç salımı için kullanılmıştır [10].

3.3 Lipozomlar

Lipozomlar, bir dış lipit çift tabakasının bir çekirdek ve sulu bir fazı çevrelediği, kendiliğinden toplanan lipit parçacıklarıdır. Lipozomlar yaygın olarak ilaçlar, a ılar, kozmetik ürünler ve nutras otikler dahil olmak üzere çeşitli biyoaktif maddeler için model hücreler veya taşıyıcılar olarak kullanılmaktadır. Lipozomlar, hem hidrofilik hem de hidrofobik malzemelerin bölümlere ayrılması ve çözündürülmesi özelliğine sahiptir. Bu yetenek, biyouyumluluk ve biyobozunurluk ile birlikte, lipozomları ilaç dağıtım aracı olarak çok çekici kılmaktadır [6].

3.4 Dendrimerler

Dendrimerler, bir çekirdek, dendronlar ve yüzey aktif gruplardan oluşmaktadır. Çekirdek, kendisine bağlı dendronlar (kollar) içeren bir atom veya moleküldür. Dendrimerlerin kullanılabilirliğini etkileyen faktörler çekirdek, monomer tipi ve yüzey fonksiyonel gruplarının seçimidir. Sitotoksosite, çekirdeğin malzemesine bağlıdır ve dendrimer yüzeyinin doğasından büyük     de etkilenmektedir [11].

İlaçlar sahip olduğu özelliklere göre dendrimerlere kimyasal olarak ba lanabilmekte veya yüzeye fiziksel olarak adsorbe edilebilmektedir. Kapsülleme, ilaçlar düşük çözünürlükte, toksik ve kararsız olduğunda kullanılmaktadır. Ayrıca, kimyasal bağ kovalent bağların sayısını etkilemekte ve böylece dendrimer yüzeyine bağlı ilaçların sayısını kontrol etmektedir [12]. Her iki yöntemin seçiciliği, hedefleme ajanlarının ( rne in folik asit) yüzeye ba lanmasıyla arttırılabilmektedir. Dendrimer yüzeyi, folik asit, polietilen glikol (PEG), antikorlar, vb. gibi spesifik ligandlar için bağlanma platformu sağlamaktadır. Bu bağlanma dendrimerlerin yüzey aktivitesini arttırmakta, biyolojik ve fiziksel özelliklerini iyileştirebilmektedir [13].

3.5 Fullerenler

Fullerenler altmış veya daha fazla atomdan oluşan içi boş bir kafes içeren büyük küresel bir moleküle sahip olan karbon allotroplarındır. Elektron eksikliği olan alkenler gibi davranırlar ve elektronca zengin türlerle kolayca reaksiyona girerler [8].

Karbonun farklı morfolojik formları vardır: elmas, grafit, kömür ve fullerene. Küre, elipsoit veya boru şeklinli oyuk bir yapıya sahip olan fullerenerler, önemli terapötik fırsatlar sunmaktadır. Küresel fullerenerler buckyball'lar olarak bilinirken, silindirik olanlara buckytubes veya nanotüpler denir. Fullerene yapıları, kafes yüzeyindeki 5-veya 6 üyeli halkalara ait olan simetrik kafesler, sp^2 karbonlarıyla karakterize edilmektedir. Farklı büyüklükteki kafesler (C60, C70 vb.) bu halkaların farklı sayı ve oranlarından oluşmaktadır. Bu yapıdaki bileşikler çok iyi elektronik özelliklere ve elektronlara karşı yüksek afiniteye sahiptir. Fullerenerler yaygın olarak kullanılan organik çözücülerde zayıf çözünürlüğe sahiptir ve sulu çözeltiilerde çözünürlüğü çok daha düşüktür. Karbon disülfür, o-diklorobenzen, toluen ve ksilen, fullerenerler için iyi çözücülerdir. Su afinitesini iyileştirmek için en çok kullanılan yöntemler: (1) özel olarak tasarlanmış bir taşıyıcıda kapsülleme veya mikro kapsülleme; (2) yardımcı çözücüler ile süspansiyon; (3) kimyasal fonksiyonelleştirme [6].

3.6 Miseller

Miseller, amfifilik blok kopolimerlerin sulu bir çözelti içinde kendiliğinden birleştirilmesiyle, hidrofobik bir çekirdek ve hidrofilik bir kabuk ile oluşturulan küresel veya küresel kolloidal nano ölçekli sistemlerdir. Belirli konsantrasyonlarda (kritik misel konsantrasyonu; CMC) ve belirli sıcaklıklar altında kendiliğinden oluşabilen bir amfifilik kolloid grubuna aittir. Hidrofobik çekirdek, hidrofobik ilaçlar için bir rezervuar görevi görürken hidrofilik kabuk, hidrofobik çekirdeği stabilize eder ve hem polimer hem de hidrofobik ilaçları suda çözünür hale getirerek partikülü ilaç salımı için uygun bir aday haline getirir. İlaçlar, fiziksel, kimyasal veya elektrostatik etkileşimler yoluyla polimerik bir misel içine dahil edilebilmektedir [8].

Hidrofobik çekirdek, hidrofobik ilaçlar (örneğin, kamptotesin, docetaksel, paklitaksel) ile yüklenebilir, aynı zamanda hidrofilik kabuk, tüm sistemi suda çözünür hale getirir ve çekirdeği stabilize eder. Polimerik miseller 100 nm'nin altındadır ve normal olarak hızlı böbrek atılımını önlemek için dar bir dağılıma

sahiptir, bu nedenle EPR (enhanced permeability retention-arttırılmış geçiş ve alıkonma) etkisi yoluyla tümör dokularında birikmelerine izin vermektedir. Ek olarak, polimerik kabuklar biyolojik bileşenlerle spesifik olmayan etkileşimleri sınırlamaktadır. Bu nanoyapılar hidrofobik ilaç salımı için güçlü bir potansiyele sahiptir çünkü çekirdekli yapıları, bu tür ilaçların asimilasyonuna izin vererek stabilite ve biyoyararlanımı arttırmaktadır [14].

3.7 Protein ve Polisakkarit Nanopartikülleri

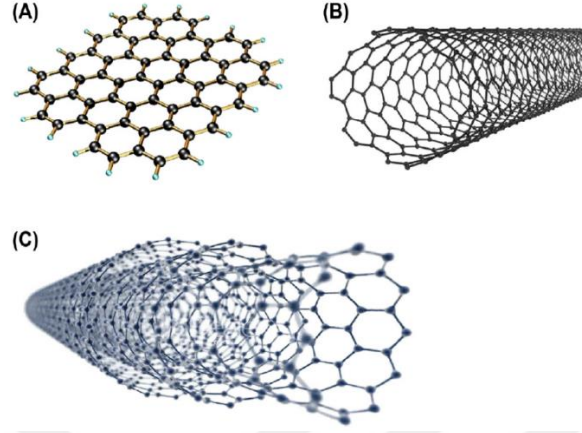
Doğal biyopolimerler olarak adlandırılan polisakaritler ve proteinler, bitkiler, hayvanlar, mikroorganizmalar ve deniz kaynakları gibi biyolojik kaynaklardan elde edilmektedir. Protein bazlı nanopartiküller genellikle ayrışabilir, metabolize edilebilir ve spesifik ilaçlara ve diğer hedefleme ligandlarına bağlanması için fonksiyonelleştirilebilir. Normalde iki farklı sistem kullanılarak üretilirler: (a) sığır ve insan serum albümini gibi suda çözünür proteinlerden ve (b) zein ve gliadin gibi çözünmeyen malzemelerden üretilirler. Bunları sentezlemenin genel yöntemleri, koaservasyon/desolvasyon, emülsiyon/çözücü ekstraksiyonu, kompleks koaservasyon ve elektrospreylemedir [15].

3.8 Karbon Nanotüpler

Karbon nanotüplerin (KNT) gelişimi, 1985 yılına kadar uzanmaktadır. ABD'nin Rice Üniversitesi'nden Houston, ABD ve Sussex Üniversitesi'nden Harry Kroto, çok farklı bir karbon allotropu üzerine araştırma bulgularını açıklamıştır. 60 karbon atomu içeren bu C₆₀, 20'si altıgen ve 12'si pentagonal olmak üzere toplam 32 yüzün benzersiz özelliği olan bir futbol topuna benzetilmektedir. Bu buluştan önce sadece iki karbon allotropu olan elmas ve grafit bilinmekteyken, bu buluş ile karbonun fiziksel kimyasında farklı bir yol açılmıştır. Yeni geliştirilen bu moleküller “fulleren” olarak bilinmektedir. Sumio Iijima ise 1991 yılında Japonya’da yaptığı, fullerenlerden silindirik nanoyapılar elde etme çalışmalarıyla karbon nanotüpleri keşfetmiştir [16,17].

KNT'ler, yüksek yüzey alanı, yüksek en boy oranı ve ultra hafiflik gibi bir dizi özelliğe sahip içi boş, düzenli, karbon grafitli nanomalzemelerdir. Bu tüplerin çapı 1-100 nm arasındadır ve normal olarak her iki ucu bir fullerene molekülünün yarısı ile

kapatılmaktadır. Her atom grafitte olduğu gibi üç komşuyla birleştirilir, bu nedenle KNT'lerde sp^2 bağları bulunmaktadır, bu da moleküllere benzersiz bir güç sağlamaktadır [18]. Ortalama C-C mesafesi yaklaşık 1.4 Å'dır [19].



Şekil 3.4 : (A) Grafen Tabakası (B) Tek Duvarlı Karbon Nanotüp (C) Çok Duvarlı Karbon Nanotüp.

Karbon nanotüpler, ilaç dağıtımı için sensörler, teşhis cihazları ve taşıyıcılar olarak kullanılabilecek altı üyeli halkalardan oluşan karbon silindirlerdir. Toksisite problemleri yaratmakta ve tüm çözücülerde tamamen çözünmemektedir. Fonksiyonel grupların karbon nanotüplere monte edilmesi onları suda çözünür ve işlevsel hale getirebilir, böylece peptitler, proteinler, nükleik asitler ve ilaçlar gibi aktif moleküller kendilerine bağlanabilmektedir[10]. KNT'lerin fonksiyonelleştirilmesi veya konjugasyonu, onların daha fazla çözünür ve biyolojik olarak uyumlu hale gelmesini sağlamaktadır [20].

3.8.1 Karbon nanotüplerin özellikleri

Karbon nanotüpler, altıgen şeklinde düzenlenmiş sp^2 -hibritleşmesine sahip karbon atomlarının silindirik hale getirilmesiyle elde edilen grafen tabakalarıdır [21]. Genellikle yüksek yüzey alanına, büyük boy oranlarına ve benzersiz mekanik mukavemete sahip olduğu bilinmektedir. KNT'nin gerilme direncinin çeliğinkinden neredeyse 100 kat daha fazla olduğu ve ayrıca bakır gibi elektriksel ve termal iletkenlik özellikleri gösterdiği bilinmektedir. KNT'lerin karakteristik özellikleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 : Karbon nanotüplerin karakteristik özellikleri.

KNT'lerin Özellikleri	Teorik Değerler	Uygulama
Elektriksel İletkenlik	27°C'de $10^{-4} \Omega \cdot \text{cm}$	Transistör uygulamalarında nanotüp yapıları, yüksek frekans nanoelektronik, biyolojik sensörler
Çekme Direnci	11-63 GPa	Yüksek çekme dayanımı deformasyonun kalıcı olduğunu gösterir
Esneklik	%10-20	Elektrik direncinde artış
Elastiklik	1,22-1,26 TPa	Yüksek çözünürlüklü tarama probu mikroskobu için prob ipuçları
Boy/En Oranı	1000:1	Yüksek en boy oranı daha düşük yüklemeyi gösterir
Elektron Salımı	1-2 V/ μm	Vakumlu elektronik cihazlar için potansiyel katot elektron kaynakları
Isıl İletkenlik	20 K altında süperiletken	Nanotaşıyıcıların termo-mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi

KNT'ler, biyomedikal cihazların ve biyosensörlerin imalatında uygulamaları olan mükemmel iletkenlik, dayanıklılık, termal iletkenlik gibi özellikler sunan karbon bazlı nanotaşıyıcılardır. Çekme dayanımı, esneklik ve elastikiyet gibi fiziksel özellikleri iyi mekanik özelliklere sahip bir nanotaşıyıcı iskeleti oluşturmayı sağlamaktadır.

3.8.2 Karbon nanotüplerin sınıflandırılması

Şekline bağlı olarak, KNT'ler üç ana kategoriye ayrılmaktadır: tek duvarlı karbon nanotüpler (TDKNT'ler), çift duvarlı karbon nanotüpler ve çok duvarlı karbon nanotüpler (ÇDKNT'ler).

3.8.2.1 Tek duvarlı karbon nanotüpler

Tek cidarlı karbon nanotüpler, tek bir uzun sarılmış grafen levha olarak kabul edilebilmektedir. Nanotüpler genellikle yaklaşık 1000 nm'lik bir uzunluk / çap oranına sahiptir ve dolayısıyla neredeyse bir boyutlu yapılar olarak kabul edilmektedir. TDKNT'ler, poliaromatik, mono-atomik tabakaya sahip olan, bir

silindirin içine sarılmış altıgen halkaların sorunsuz bir şekilde birleşmesiyle temas halinde tutulduğu, mükemmel grafen tabakalarıdır.

TDKNT'lerin çap aralığı 0.4–3.0 nm ve uzunluğu 20-1000 nm'dir [21].TDKNT'ler, günümüzde modern elektroniğin temeli olan mikro elektromekanik sistemleri değiştirmek için elektronikleri minyatürleştirmeye en uygun aday yapan ÇDKNT nanotüp varyantlarına kıyasla farklı elektronik özelliklere sahiptir. TDKNT 'ler mükemmel iletkenlerdir ancak çeşitli nanoteknolojik uygulamalardaki geniş potansiyellerine rağmen, TDKNT'lerin üretilmesi hala çok pahalıdır ve daha uygun maliyetli sentez tekniklerinin geliştirilmesi, bunları ticari ölçekli uygulamalara getirmek için hayati öneme sahiptir.

3.8.2.2 Çift duvarlı karbon nanotüpler

Çift duvarlı karbon nanotüpler, birbirine katlanmış iki grafen yaprağı içeren çift katmanlı bir yapıya sahiptir [22]. Bunlar TDKNT'lerden daha yüksek termal ve kimyasal stabiliteye sahiptir [23].

3.8.2.3 Çok duvarlı karbon nanotüpler

ÇDKNT'ler, 2-10 grafenli tabakanın birbiri üzerine katlanması veya karmaşık çok duvarlı bir yapı üretmek için tek bir grafen tabakasının haddelenmesiyle oluşturulmaktadır [24]. ÇDKNT'lerin ortalama 1–3 nm'lik bir merkezi silindirik boru çapı ve 2 ila 100 nm'lik bir dış silindirik boru çapı vardır [21]. ÇDKNT'ler, boru şeklindeki bir şekil oluşturmak için koaksiyel olarak yuvarlanan çok sayıda grafit katmanından oluşmaktadır. Bunlar her zaman yüksek derecede yapısal kusurlarla üretilbilse de yapısal olarak oldukça sağlamdır.

3.8.3 Karbon nanotüplerin sentezlenmesi

KNT'lerin sentezi, kontrollü bir alev ortamında doğal olarak grafit ve karbon siyahı kullanılarak yapılmaktadır [17]. Ancak, bu işlemle sentezlenen nanotüpler, kontrol edilemeyen doğal ortam nedeniyle iyi kalite ve saflığa, uygun şekil, boyut ve mekanik güce sahip değildir. Esas olarak gaz fazı işlemlerini içeren KNT yapılarını imal etmek için geliştirilmiş birkaç teknik vardır. Genellikle KNT'lerin üretilmesi için üç prosedür kullanılmaktadır: (1) kimyasal buhar biriktirme (KBB) tekniği, (2) lazerle ablasyon tekniği ve (3) karbon ark-boşaltma tekniğidir [25]. Çizelge 3.2'de sentez yöntemleri birbirleriyle kıyaslanarak gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 : KNT sentez metotları.

Metot	Ark Boşaltma	Lazerle Aşındırma	KBB
Verim	>%75	>%75	>%75
TDKNT/ÇDKNT	Her ikisi	Her ikisi	Her ikisi
Avantaj	Basit, ucuz, yüksek kalite	Yüksek saflık, oda sıcaklığı	Basit, düşük sıcaklık, büyük ölçekli üretim
Dezavantaj	Yüksek sıcaklık, Saflaştırma adımı, karmaşık	Saflaştırma adımı, lab. ölçekli üretim	Genellikle kusurlu ÇDKNT üretimi

3.8.3.1 Ark boşaltma yöntemi

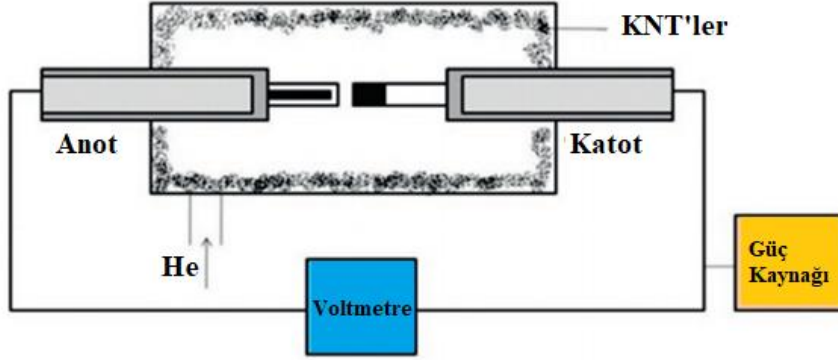
Ark deşarj yönteminde, anot ve katot olarak yüksek saflıkta iki grafit elektrot, helyum atmosferi altında kısa bir mesafede tutulmaktadır. Bu koşullar altında, anottan buharlaştırılan karbonun bir kısmı katodik çubuk üzerinde sert bir silindirik tortu olarak yoğunlaştırılmaktadır.

Ark buharlaştırma yöntemindeki kilit nokta, uygulanan akımdır. Daha yüksek akım uygulaması, az sayıda serbest nanotüp içeren sert, sinterlenmiş bir malzemeye sonuçlanacaktır. Bu nedenle, akım mümkün olduğu kadar düşük tutulmalıdır.

Ark boşaltma işlemi, ölçek büyütme sınırlamalarına sahiptir ve bazen nanotüplerin verimini artıran az miktarda metal katalizörün eklenmesini de gerektirmektedir. Sonuçta ortaya çıkan ürünler bazı katalizör partikülleri, amorf karbonları ve tübüler olmayan fullerenleri içerdiği için ekstra saflaştırma adımları gerektirir [26].

Ark-boşaltma tekniği, KNT sentezi için tipik olarak diğer yöntemlere kıyasla daha az yapısal kusur ile KNT'lerin genişlemesine neden olan daha yüksek sıcaklıklar gerektirmektedir. Sistem atmosferik basınçta (500 torr) (helyum, hidrojen veya metan atmosferi ile değiştirilebilir) hazne, bir grafit katod ve anotun yanı sıra buharlaşmış karbon moleküllerini ve bir miktar metal katalizör parçacığını (kobalt, nikel ve / veya demir gibi) içermektedir [25]. Doğru akım, bu hazneden geçirilir, ardından basınçlandırılır ve yaklaşık 4000 K'ye ısıtılır. Bu işlem sırasında buharlaştırılmış karbonun yaklaşık yarısı katod (negatif elektrot) ucunda katılaştırılır, ve 1 mm/dak hızında bir tortu oluşurken, anot (pozitif elektrot) tüketilir [18].

Başlangıçta C60 fullerenleri üretmek için kullanılan ark boşaltma, KNT üretmenin en yaygın ve en kolay yoludur [27]. Ark-deşarj tekniğinin temel avantajı, büyük miktarda nanotüp üretimine uygun olmasıdır. Öte yandan, bu yöntemin temel dezavantajı, karakterizasyonu ve üretilen nanotüplerin hizalanması (yani kiralite) üzerinde nispeten az kontrol olmasıdır. Ek olarak, reaksiyon için gereken metalik katalizör nedeniyle, elde edilen ürünlerin saflaştırılması gerekliliğidir.



Şekil 3.5 : Ark boşaltma yöntemi şematik gösterimi.

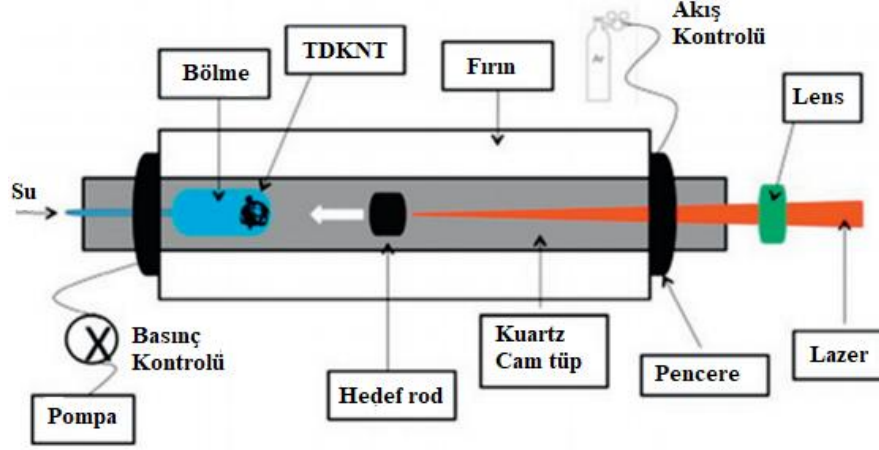
3.8.3.2 Lazerle aşındırma yöntemi

Lazerle aşındırma (LA) yöntemi, tek cidarlı nanotüplerin seri üretimi için kullanılmaktadır. Lazerle aşındırmada, kontrollü bir fırın ve içinde tutulan grafit hedefi buharlaştırmak için bir lazer kullanılmaktadır. Kullanılan taşıyıcı gaz argon veya helyum olabilir ve fırın sıcaklığı yaklaşık 1200°C'dir. Yoğunlaştırılmış malzeme soğuk bir hedefte toplanmaktadır (su soğutmalı Cu toplayıcı). Geliştirilmiş lazerle aşındırma yönteminde, kobalt ve nikel katalizörü, grafit hedeflerini tutturmak veya karbon nanotüplerin oluşumunu hızlandırmak amacıyla kullanılmıştır [26].

Lazerle aşındırma yönteminin ana avantajları, göreceli olarak yüksek verim ve nispeten düşük metalik safsızlıklardır. Ana dezavantaj, elde edilen nanotüplerin bir miktar dallanma içermesidir. Ayrıca, lazerle aşındırma yöntemi ekonomik olarak avantajlı değildir, çünkü işlem yüksek saflıkta grafit çubuklarını içermektedir, bu nedenle gereken lazer miktarı büyüktür (bazı durumlarda iki lazer ışını gereklidir) [18]. Oluşan TDKNT'ler, van der Waals kuvvetleri aracılığıyla paketlenmiştir. Bununla ilgili tek sorun, bu yöntemle hazırlanan ÇDKNT'lerin uzunluğunun arkdeşarj yöntemine kıyasla daha kısa olmasıdır [20,23].

Bu yöntemle üretilen malzeme, 10-20 nm çapında ve 100µm veya daha fazla çapa sahip bir ip örgüsü olarak görünmektedir [27]. Araştırmalar nanotüplerin çapının

lazer miktarına bağlı olduğunu doğrulamış ve lazer nabız gücü arttığında, tüplerin çapının incelendiği tespit edilmiştir [25]. Lazerle aşındırma tekniği ile yaklaşık %60-70 KNT üretilmektedir.



Şekil 3.6 : Lazerle aşındırma yöntemi şematik gösterimi.

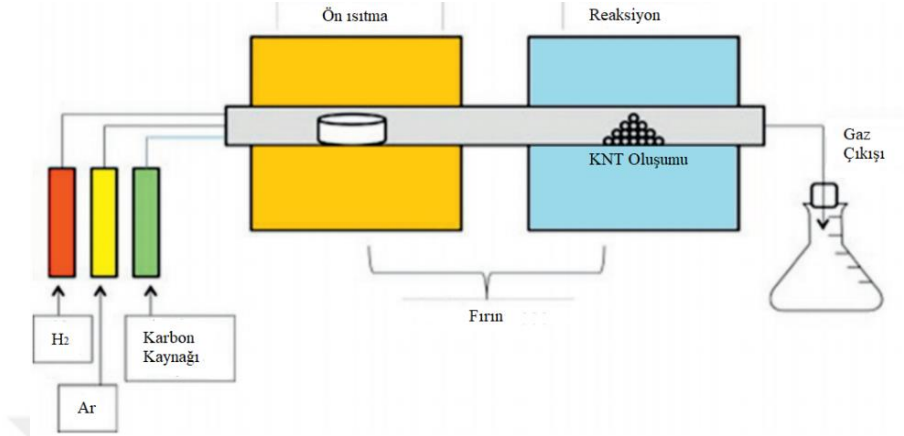
3.8.3.3 Kimyasal buhar biriktirme yöntemi

Kimyasal buhar biriktirme (KBB) yöntemi, reaktif gaz odasında gerçekleşen yüksek kalitede ve saflıkta katı malzemeler için iyi bilinen bir sentez yöntemidir [28]. KNT'lerin sentezlenmesi için standart yöntemlerden biridir ve KNT'lerin büyük ölçekli üretimi için kullanılmaktadır. Bu yöntemde, başlatıcı ve KNT oluşumu, katalizör parçacıklarının yüzeyinde gerçekleşmektedir. Gaz fazında bir karbon kaynağı (metan, karbon monoksit, asetilen vb.) ve gaz halindeki bir karbona enerji vermek için dirençli bir şekilde ısıtılmış bir bobin gibi bir enerji kaynağı kullanılarak büyük miktarda KNT üretilmektedir.

KBB yöntemiyle KNT sentezi, temel olarak iki aşamalı bir işlemdir. Katalizör hazırlama aşaması, ilk adımdır ve ardından KNT'lerin gerçek sentezi yapılmaktadır. Katalizör genellikle fiziksel buhar biriktirme, püskürtme, daldırma kaplama, vb. ile hazırlanmaktadır. Bir sonraki adım, substratı karbon bakımından zengin bir gaz ortamında 500-1000°C'ye ısıtmaktır. Katalizör olarak Fe, Ni veya Co nanopartikülleri kullanılmaktadır [25].

Lazer aşındırma yöntemine kıyasla KBB yöntemi, büyük ölçekli ve oldukça saf KNT üretimi için ekonomik ve pratik bir yöntemdir [18]. Ark boşaltması ve lazerle aşındırma işlemlerinde üretilen numunenin hacmi, karbon kaynağının boyutuna (ark boşaltmada anot ve lazerle aşındırmada hedef) bağlıdır. Ayrıca, daha önce

açıklandığı gibi, yoğun arıtma adımları gerektirmektedir. Bu dezavantajlar, gaz fazı tekniklerinin geliştirilmesine yol açmıştır. KBB, yüksek saflıkta karbon nanotüpleri üretmek için en iyi yöntem olarak kabul edilmiştir [26, 29].



Şekil 3.7 : Kimyasal buhar biriktirme yöntemi şematik gösterimi.

3.8.4 Karbon nanotüplerin saflaştırılması

Karbon nanotüpler genellikle metal parçacıklar, amorf karbon ve küçük fullerenerler gibi büyük miktarda safsızlık içerdiği için ortalama yaklaşık %5-10 saflığa sahiptir. Bu yüzden, ilaçların KNT'lere eklenmesinden önce saflaştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır [25].

3.8.4.1 Hava oksidasyonu

Hava oksidasyonu, amorf karbon ve metal katalizör parçacıklarının (Ni, Y) miktarını azaltmada yararlı bir adımdır. Optimal oksidasyon şartı, 40 dakika boyunca 673 K'de gerçekleştirilmektedir.

3.8.4.2 Asit ile muamele

Numunenin kuvvetli bir asit içinde geri akıtılması, metal parçacıkların ve amorf karbonun azaltılmasında etkilidir. Hidroklorik asit (HCl), nitrik asit (HNO₃) ve sülfürik asit (H₂SO₄) bu amaçla kullanılmaktadır [18].

3.8.4.3 Sürfaktan destekli sonikasyon, filtrasyon ve tavlama

Asit riflaks işleminden daha sonra saf hale gelen KNT'ler filtreler ile süzülmesi zor olan karbon partikülleri ve katalizör parçacıkları gibi yabancı maddelerin çoğunu hala içermektedir. Bu sebeple yüzey aktif madde destekli sonikasyon yapılmaktadır.

Sodyum dodesil benzensülfonat, organik çözücü olarak etanol (veya metanol) ile sonikasyona tabii tutulmaktadır. Numune daha sonra bir ultra filtrasyon ünitesi ile süzülme ve N₂ atmosferinde 1273 K'de 4 saat süreyle tavlama, KNT yapılarını optimize etmede etkilidir. Sürfaktan destekli sonikasyonun KNT'lerin açılmasında etkili olduğu, böylece dolaşma içine gömülü partikül safsızlıklarının serbest bırakılmasının etkili olduğu kanıtlanmıştır [27].

3.8.5 Karbon nanotüplerin fonksiyonelleştirilmesi

Ham KNT'ler, sulu çözeltilerde çözünmeyen yüksek hidrofobik yüzeylere sahiptir. KNT'lerin fonksiyonelleştirilmesi bu soruna bir çözümdür. Fonksiyonelleştirme, istenen işlevsel grupların çeşitli uygulamalar için KNT duvarlarına eklenebileceği bir kimyasal sentez işlemidir. Kovalent (kimyasal bağ oluşumu) ve kovalent olmayan (fizyodorsiyon) olmak üzere iki fonksiyonelleştirme yöntemi vardır.

Biyomedikal uygulamalar için, KNT'lerin çözünmesini sağlamak amacıyla yüzey kimyası veya fonksiyonelleştirme gereklidir, bu işlemle biyoyumluluk ve düşük toksisite sağlanmaktadır. [20].

Fonksiyonelleştirme, doğal saf KNT'lerin yapısının, muhtemel fonksiyonel gruplar, ilaç molekülleri, ligandlar, polimerler, proteinler ve peptitler, nükleik asitler, boyalar veya terapötik uygulamalar için radyo-kontrast maddeleri eklenmesiyle değiştirilmesini içermektedir. Kimyasal sentez ile hazırlanan doğal bozulmamış KNT'ler suda çözünmez, doğada oldukça toksiktir ve organlarda birikmektedir. Fonksiyonelleştirme süreci, KNT'lere gelişmiş biyoyumluluk ile yüksek çözünürlük vermektedir. Buna göre, fonksiyonelleştirilmiş KNT'ler (f-KNT), hedefli salım çalışmaları için terapötik moleküllerin kapsüllenmesi uygulamalarına son derece uygundur [22].

Fonksiyonel grupların veya ilaç molekülleri seçiminin KNT duvarına yerleştirildiği KNT'lerde yapılan değişiklikler veya modifikasyonlar, KNT'lerin fonksiyonelleştirilmesi olarak bilinmektedir. f-KNT'lerin geniş uygulamaları bulunmakta ve bunlar vücuttaki biyoyumluluğu, çözünürlüğü, kapsülleme eğilimini, ilaç salımını artırmak için kullanılmaktadır. Çeşitli çalışmalara göre, ilaç molekülü yüklü f-KNT'ler, hücre ve molekül seviyesindeki ilaç molekülünün tepe konsantrasyon seviyesini gösteren hücrelere ve çekirdeğe girmektedir [23].

Kovalent olmayan modifikasyon yöntemi, KNT'lerin polimer matrisine fiziksel olarak adsorpsiyonunu veya KNT'ler üzerinde polimer matrisinin etrafına sarılmasını içeren bir yöntemdir. KNT'lerin sp^2 hibritleştirilmiş karbon atomları, serbest elektron çiftlerine sahip konjuge polimer ile π - π etkileşimlerine izin verir. Bu, konjuge KNT yan duvar sistemini koruyarak, geliştirilen malzemeye yumuşak bir şekilde çevrilmiş KNT'lerin doğal özelliklerine sahip nanokompozitlerin elde edilmesine yardımcı olur. Kovalent yaklaşımlar, güçlü kimyasal bağların olduğu polimer zincirlerinin aşılmasını içerir. Kovalent fonksiyonelleştirme, KNT'lerin polimerik sistemlerde dağılımını artırma ve böylece bu polimer nanokompozitlerin faydasını büyük ölçüde genişletme avantajlarına sahiptir [29].

3.8.5.1 Kovalent fonksiyonelleştirme

Nanotüpler ve bağlı molekül arasındaki güçlü kimyasal bağlar, polimer zincirlerinin KNT'lere kovalent olarak bağlanmasından kaynaklanmaktadır [18]. KNT'lerin sp^2 hibritleştirilmiş yan duvarlarının yörüngeleri oldukça reaktiftir ve kimyasal türlerle kovalent olarak kolayca bağlanma eğilimindedir. Bununla birlikte, KNT'lerin simetrisi, sp^2 karbon atomlarından sp^3 karbon atomlarına değiştirildiği, böylece polimerle aşılınmış nanokompozitte elde edilen KNT'lerin elektriksel özelliklerini büyük ölçüde bozulduğu için tehlikeye girmektedir. KNT'ler, hava, oksijen veya sülfürik asit, nitrik asit, hidrojen peroksit gibi kuvvetli asitler vasıtasıyla oksidasyon sırasında $-COOH$ ve $-OH$ fonksiyonel grupları ile kolayca fonksiyonelleştirilebilmektedir. Bu yaklaşımın avantajı, bilinen moleküler ağırlık ve çok dağılıma sahip önceden oluşturulmuş polimer birimlerinin kullanılabilmesi ve böylece sıkı konformasyonel simetri düzenlemesinin garanti edilmesidir. Bu yaklaşımın ana dezavantajı ise, önceden oluşturulmuş polimer parçalarının ilk bağlanmasının, KNT'ler üzerinde bağlanacak olan başka polimerlerin difüzyonunu sterik olarak engellemesi ve böylece daha az bağlanma yoğunluğuna yol açmasıdır [30].

Kovalent fonksiyonelleştirme, fonksiyonel grupların, yüzey aktif cisimlerinin, polimerlerin, ilaçların veya diğer biyomakromoleküllerin daha güvenli bir birleşimini oluşturmaktadır.

Karbon nanotüpleri fonksiyonelleştirmek için çeşitli geliştirilen kovalent reaksiyonlardan oksidasyon en yaygın olarak kullanılandır. KNT oksidasyonu nitrik

asit gibi oksitleyici ajanlarla yapılmaktadır. İşlem sırasında, karboksil grupları tüplerin uçlarında ve yan duvarlardaki kusurlarda oluşmaktadır. Bununla birlikte, oksitlenmiş KNT'ler suda çözünür olsa da tuzların varlığında toplanırlar ve bu nedenle çoğu biyolojik çözeltinin yüksek tuz içeriğinden dolayı biyolojik uygulamalar için doğrudan kullanılamazlar.

Poli (etilen glikol) (PEG) gibi hidrofilik polimerlerin, biyolojik ortamlarda stabil olan KNT-polimer konjugatları verecek şekilde oksitlenmiş KNT'lere eklenmesiyle daha fazla modifikasyon yapılabilir. Kovalent fonksiyonelleştirme yönteminin sağlamlığına rağmen, fotoluminesans ve Raman saçılması gibi KNT'lerin doğal fiziksel özellikleri, bozulan nanotüp yapısından dolayı kimyasal reaksiyonlardan sonra sıklıkla yok edilmektedir ve bu malzemelerin optik uygulama potansiyelini azaltmaktadır [31]. Bundan dolayı, kovalent bağlanma, fototermal ablasyon ya da görüntüleme amacıyla kullanılan KNT'leri fonksiyonelleştirmek için kullanılamaz [32].

KNT'lerin kovalent fonksiyonelleştirilmesinde, ilaç moleküllerinin veya fonksiyonel grupların kombinasyonu nispeten daha güvenlidir. KNT'lerin güçlü asitler tarafından oksidasyonu ile elde edilen KNT'lerin kovalent fonksiyonelleşmesi, indirgenmeye neden olur ve sulu ortamda dağılılabirliğin artmasına neden olan karboksilik asit grupları üretmektedir. Alternatif olarak, dış duvarlara ve KNT'lerin uçlarına hidrofilik grupların eklenmesi onları suda çözünür kılmaktadır [23].

Bu tür reaksiyonlar genellikle kovalent bağ için aşırı koşullar gerektirmektedir. İlaç salım perspektiflerinde, ilaç moleküllerinin KNT yüzeyine doğrudan kovalent modifikasyonu literatürde daha az bulunmaktadır. Bununla birlikte, proteinler, peptidler, DNA ve siRNA gibi terapötik biyokromoleküller için, kovalent fonksiyonelleştirme yaygın olarak uygulanmıştır [22].

Kovalent fonksiyonelleştirme çoğu durumda KNT'nin iletkenlik ve mekanik dayanım gibi içsel özelliklerini değiştirmektedir, çünkü normal grafen tipi yapıyı tahrip etmektedir [33].

3.8.5.2 Non-kovalent fonksiyonelleştirme

Kovalent yöntemin aksine, kovalent olmayan fonksiyonelleştirme, KNT'lerin amfifilik yüzey aktif madde molekülleri veya polimerleri ile kaplanmasıyla gerçekleştirilebilmektedir. Karbon nanotüplerin kimyasal yapısı bozulmadığından,

fonksiyonelleştirme işleminde kullanılan sonikasyon nedeniyle boy kısaltılması dışında, KNT'lerin fiziksel özellikleri esas olarak kovalent olmayan yaklaşımla korunmaktadır. Bir karbon nanotüpün poliaromatik grafit yüzeyine π - π istifleme yoluyla aromatik moleküllerin bağlanmasıyla gerçekleştirilmektedir [27].

Terapötik ilaç moleküllerinin KNT'lerin yüzeyine adsorpsiyon mekanizmasıyla bağlanmasını içermektedir. KNT'ler konakçı-konuk etkileşimi ile ilaç moleküllerini adsorbe etmek için nanorevresörler olarak görev yapmaktadır. Adsorbe edilmiş molekül zincirleri ve KNT'lerin yüzeyi arasındaki hidrofobik ve π - π etkileşim kuvveti, yüzeydeki fonksiyonelleştirmeye yardımcı olmaktadır.

Kovalent olmayan fonksiyonelleştirme, KNT'lerin gelişmiş biyouyumluluk ve biyomedikal uygulamaları için çok önemlidir. Bu modifikasyon işlemi ile, yüzey aktif cisimleri, polimerler ve DNA, siRNA, proteinler ve peptidler gibi biyomoleküller KNT'lerin yüzeyine başarıyla yüklenebilmektedir. Ayrıca, lipofilik ilaç molekülleri, hedefli ilaç dağıtım uygulaması için KNT'lere hidrofobik kuvvetler tarafından aşılabilir. Nanotüp yüzeyindeki yükün varlığı ilaç moleküllerinin adsorpsiyonuna yardımcı olmaktadır. KNT'lerin kovalent olmayan fonksiyonelleştirilmesi, nanotüplerin elektronik özelliklerini etkilemeden kimyasal modifikasyonlar yapma imkânı sunduğu için özellikle çekicidir.

KNT'lerin fonksiyonelleştirilmesi için polietilen, naylon ve PEG gibi çeşitli polimerler kullanılmaktadır. Bu yöntem genellikle van der Waals kuvvetlerini ve elektrostatik etkileşimleri içermektedir. Fonksiyonelleştirilmesi tekniklerinden biri olan PEGilasyon, yakın zamanda, gelişmiş biyouyumluluk, çözünürlük ve düşük toksisite nedeniyle büyük önem kazanmıştır. PEG ile fonksiyonel hale getirilmiş KNT'ler, toksik olmamaları ve gelişmiş çözünürlükleri nedeniyle ilaç dağıtımında yaygın şekilde kullanılır [34].

Günümüzde karbon nanotüplerin biyomedikal alanındaki uygulamaları için fonksiyonel hale getirilmesi, esas olarak, bu malzemeyi biyolojik olarak uyumlu kılabilen kimyasal stratejilerle de sınırlandırılmıştır. En basit prosedürler, f-KNT'lerin, piren, naftalen gibi birkaç moleküle fiziksel adsorpsiyonunu içermektedir [35].

KNT'lerin kovalent olmayan etkileşime dayanarak fonksiyonelleştirilmesi yöntemleri, nanotüp yan duvarının içsel sp^2 hibritleştirilmiş yapısını tahrip etmeden

gerçekleştirilebilir, böylece KNT'lerin orijinal elektronik yapısı ve özellikleri korunabilmektedir. Farklı türde kovalent olmayan modifikasyonlar araştırılmıştır. KNT'lerin kovalent olmayan fonksiyonelleştirilmesi, konjuge moleküller ve KNT'lerin grafit yan duvarı arasındaki π - π etkileşimleriyle sağlanabilmektedir [36]. Bu davranış, güçlü içsel van der Waals kuvvetleri nedeniyle, KNT'lerin bir araya gelme eğiliminde olmaları gerçeği ile açıklanmaktadır. Bu dezavantajın üstesinden gelmek için KNT'lerin, polimerle kovalent olmayan etkileşimler yoluyla sarılması oldukça önemli bir yaklaşımdır [33]. Bu bağlanma türü, aromatik DNA baz üniteleri sayesinde tek DNA dizisine de uygulanabilmektedir. Bu, nükleazlar tarafından bölündüğü için dengesiz olduğu gösterilmiştir ve sonuç olarak biyolojik uygulamalar şimdiye kadar sınırlıdır [32].

Moleküllerin KNT'lere kovalent olmayan bağlanması, genellikle literatüre göre daha yaygın olarak kullanılan ilaç dağıtım yöntemidir. Kovalent olmayan bir şekilde fonksiyonel hale getirilmiş ideal bir KNT'nin spesifik özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bu, amfifilik moleküllerin KNT'ye kaplandığı misel tipi yapılar oluşturularak gerçekleştirilebilmektedir.

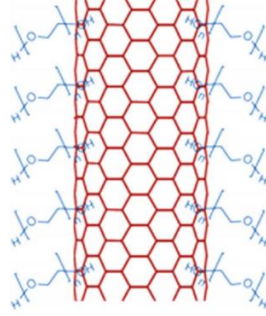
Kimyasal modifikasyonlar ile karşılaştırıldığında, kovalent olmayan yöntem iki ana avantaja sahiptir: (i) nispeten hafif reaksiyon koşulları altında çalıştırılabilme ve (ii) KNT'lerin mükemmel grafitik yapısı korunabilmesidir [34].

Polimerlerin, KNT'lerin kovalent olmayan fonksiyonelleştirilmesi için π - π etkileşimleri ve Van der Waals'ın kuvvetlerinin kullanılması nihai özelliklerin korunması için çok fazla çaba sarfederken, çözünürlükleri de oldukça arttırmaktadır [37].

Bu yöntemle, nanotüpün konjuge sistemini değiştirmeden, sudaki dispersiyonlarını stabilize edebilmektedir. Kovalent olmayan modifikasyonlar, gelişmiş dağılıma ek olarak TDKNT'yi moleküler seçicilik gibi ikincil özelliklere sahip hale getirebilmektedir [38]. Bu yaklaşımın en büyük avantajlarından biri, KNT'lerin, çözünürlüklerini oldukça olağanüstü bir şekilde geliştirirken konjuge elektronik yapılarının korunmalarıdır [39].

Genel olarak, kovalent olmayan fonksiyonelleştirme ile, geliştirilmiş reaktivite, dağılılabilirlik, bağlama kapasitesi, biyouyumluluk, katalitik aktivite ve algılama davranışına sahip nanomalzemeler üretebilmektedir [40,41].

PEG, KNT'leri fonksiyonel hale getirme için en çok tercih edilen malzeme olup, sulu çözeltideki dispersiyonu ve KNT'lerin biyo-uyumluluğunu artırmaktadır [42].



Şekil 3.8 : PEGilasyon yapılan TDKNT [12].

Yukarıda bahsedilen modifikasyonlar, KNT'nin plazma membranını geçme ve nükleik asit, peptit gibi küçük moleküllerin ve makromoleküllerin hücre alımını desteklemesini sağlamaktadır. Son on yılda, biyomoleküllerin etkili bir şekilde salımı ve görüntüleme ajanlarının tasarlanması için KNT'lerin kovalent olmayan fonksiyonelleştirilmesi konusunda çalışmalar artarak devam etmektedir. Bu çalışmada, KNT'lerin biyolojik uyumluluğunu geliştirmek ve suda çözünürlüğünü arttırmak için kovalent olmayan fonksiyonelleştirme yapılmıştır. Bu amaçla KNT yüzeyine 9-florenilmetil kloroformat (Fmoc)-PEG kompleksi bağlanmıştır. PEG'in biyomalzeme olarak kullanılmasının sebepleri literatürde aşağıdaki şekilde sıralanmıştır.

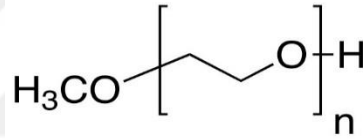
- Toksik özelliklerinin az olması ve bağışıklık sistemi tarafından yabancı madde olarak algılanmaması,
- Su ortamında çözünebilir olması,
- Esnekliğinin yüksek olması nedeniyle yüzey işlemleri ya da biyokonjugasyona sterik bir engel oluşturmamasıdır [34].

PEG zincirlerinin KNT duvarına bağlanması ile PEG zincirinin ve KNT'lerin güçlü yönleri birleşerek; kan uyumlu, yapısı sayesinde hücre duvarından geçebilen, stabil yapıda ve iyi optik özelliklere sahip bir nanomalzeme elde edilebilmektedir. Bu sayede elde edilen nanomalzeme gelişmiş özellikleriyle ilaç taşıma araçları olarak büyük gelecek vaatmektedir.

4. DENEYSEL ÇALIŞMA

4.1 Kullanılan Kimyasallar ve Özellikleri

Molekül ağırlığı 2000, 5000 ve 12000 g/mol olan PEG monometil eter, Fmoc-glisin (Fmoc-Gly-OH) ve Fmoc-triptofan (Fmoc-Trp-OH) Sigma Aldrich'ten alınmıştır. Fmoc, 9-florenilmetil karbonili ifade etmektedir. Diklorometan (DCM) Aldrich'ten temin edilmiş ve kullanımdan önce P₂O₅ üzerinde damıtılmıştır. Tetrahidrofuran (THF; %99,8, J.T. Baker), dietil eter, dimetilaminopiridin (DMAP) ve N, N'-disikloheksilkarbodiimid (DCC) Sigma Aldrich marka kullanılmıştır. PEG monometil eterin kimyasal formülü Şekil 4.1'de, bazı özellikleri ise Çizelge 4.1'de verilmiştir.

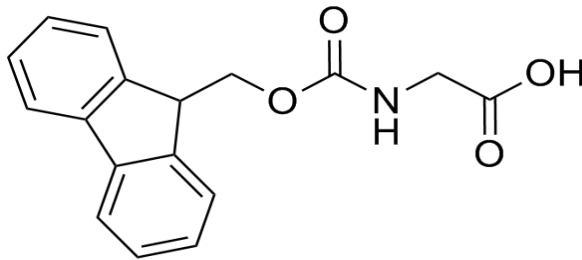


Şekil 4.1 : PEG monometil eter.

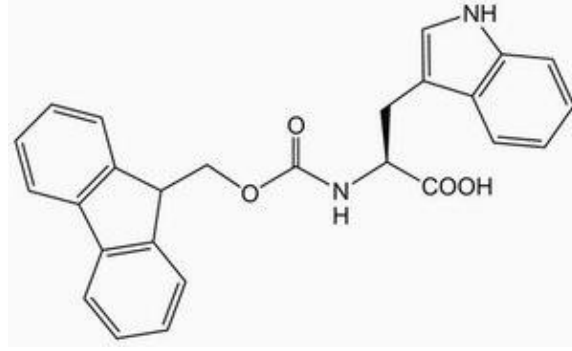
Çizelge 4.1 : PEG monometil eterin özellikleri.

PEG(M _a =g/mol)	Erime Noktası (°C)	Viskozite(20°C'de mPas)
2000	49-52	50-58
5000	55-60	167-219
12000	56-60	1100-1400

Fmoc aminoasitleri olan (Fmoc-aa), Fmoc-Gly-OH ve Fmoc-Trp-OH'ın kimyasal yapıları Şekil 4.2 ve 4.3'de, kimyasal özellikleri ise Çizelge 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2 : Fmoc-Gly-OH kimyasal yapısı.



Şekil 4.3 : Fmoc-Trp-OH kimyasal yapısı.

Çizelge 4.2 : Fmoc-Gly-OH ve Fmoc-Trp-OH özellikleri.

Özellikler	Fmoc-Gly-OH	Fmoc-Trp-OH
Molekül ağırlığı (g/mol)	297,31	426,46
Erime noktası(°C)	174-178	182-185
Yoğunluk (g/cm ³)	1,167	1,289

4.2 Tek Duvarlı Karbon Nanotüp Sentezi

KNT sentezi, İTÜ Enerji Enstitüsü öğretim üyesi Prof.Dr. Nilgün Yavuz yönetiminde Nanobilim ve Nanomühendislik Lisansüstü Programı öğrencisi Serdar Bozoğlu tarafından gerçekleştirilmiştir. Akışkan yataklı kimyasal buhar biriktirme yöntemine göre KNT üretimi yapılan sistem İTÜ Enerji Enstitüsü Malzeme Üretim ve Hazırlama Laboratuvarı'nda bulunmaktadır. Sistem; yüksek sıcaklıklarda çalışabilen bir fırın ve kuartz bir reaktörden oluşmaktadır. Katalizör, içinde disk bulunan kuartz reaktöre yerleştirilmekte ve gaz akışı ile akışkanlaşma gerçekleşmektedir. Çalışmada tek duvarlı KNT (TDKNT) üretimi, reaktöre gönderilen gaz debisi ile bağlantılı olarak bu diskin üzerindeki 5-10 cm'lik bölgede gerçekleşmektedir. Taşıyıcı inert gaz olarak argon kullanılmıştır ve hidrokarbon ile reaktör içerisine gönderilmiştir. İnert gaz kullanılmasının en önemli sebebi, katalizörün akışkanlaşmasının gerçekleşmesi için hidrokarbon akış hızına ek olarak gerekli akışkan hızının sağlanmasıdır. Ayrıca, KNT üretiminin başlangıcında ve sonunda reaktörün içinin hava ve diğer gazlardan temizlenmesi için inert gaz akışına ihtiyaç duyulmakta ve bu gaz sayesinde fırının tepkime bölgesi haricinde oluşan yapılar akış ile fırının dışına çıkarılmaktadır.

Katalizörün üretilmesi aşamasında, demir nitrat [Fe (NO₃)₃.9H₂O] ve magnezyum oksit (MgO), etanol içerisinde ultrasonik olarak karıştırılarak, homojen bir karışım

sağlandıktan sonra kurutma ve öğütme işlemleri ile katalizör üretimi gerçekleştirilmiştir. Demir nitrat ve magnezyum oksit miktarları, katalizör içerisinde hedeflenen demir ve magnezyumun kütesel oranlarına bağlı olarak seçilmiştir. Fırın içerisine yerleştirilen katalizörde bulunan demir nitrat, fırının ısınma süreci içerisinde 125°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda demir okside (Fe_2O_3) dönüşmekte ve böylece $\text{Fe}_2\text{O}_3+\text{MgO}$ yapısı son halini almaktadır.

Karbon nanotüp üretim deneyi, 800°C'de bir boru fırın içine yerleştirilmiş kuvars reaktörde gerçekleştirilmiştir. Çalışılmak istenen sıcaklığa argon gazı ile ulaşılmış ve belirli akış hızına sahip asetilen sisteme beslenmiştir. Karbon nanotüp oluşumu için gerekli süre literatürdeki ve grubun daha önce yaptığı çalışmalar da göz önünde bulundurularak belirlenerek deney gerçekleştirilmiştir [43]. Daha sonra asetilen gaz akışı kesilmiş ve numune 200°C'ye argon gazı ortamında soğutulmuştur.

4.3 Fmoc-PEG Komplekslerinin Hazırlanması

Çalışmada toplam 6 adet Fmoc-PEG kompleksi sentezlenmiştir. Fmoc-Gly-OH ve Fmoc-Trp-OH'ın PEG₂₀₀₀, PEG₅₀₀₀ ve PEG₁₂₀₀₀ ile reaksiyonundan Fmoc-PEG kompleksleri, büyük ölçüde literatürde belirtilen yöntemin izlenmesiyle sentezlenmiştir [44]. Örnek olarak Fmoc-Gly-OH ve PEG₂₀₀₀ kullanılarak gerçekleştirilen sentez, detaylı olarak açıklanacaktır. Diğer sentezler benzer şekilde gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, monometoksi PEG₂₀₀₀ (2.0 g), CH_2Cl_2 (30 ml) içinde çözölmüş ve 3 ml THF içinde çözölmüş Fmoc-Gly-OH (0,45 g) ile karıştırılmıştır. Karışıma DCC (0.37 g) ilave edilmiş ve 10 ml THF içerisinde çözölmüş DMAP (0.122 g) ilave edilerek reaksiyon oda sıcaklığında 48 saat karıştırılmıştır. Reaksiyon süresinin sonunda, reaksiyon çözöltisi konsantre edilerek ürün dietil eter içerisinde çökeltilmiştir. Beyaz katı çökelti süzölmüş, eter ile yıkanmış ve gece boyunca vakum altında kurutulmuştur.

4.4 TDKNT'lerin Fmoc-PEG Kompleksleri ile Fonksiyonelleştirilmesi

Hazırlanan 6 adet Fmoc-PEG kompleksini TDKNT duvarına tutturmak için uygulanan prosedür, aşağıda Fmoc-PEG₂₀₀₀ kompleksi için açıklanmıştır. 80 mL kuru THF içeren bir balona TDKNT (50 mg) ve Fmoc-PEG₂₀₀₀ (0.25 g) eklenmiştir. Karışım, ultrasonik banyoda 30 dakika sonikasyona tabii tutulmuş ve daha sonra oda

sıcaklığında 72 saat karıştırılmıştır. Nihai karışım, bağlanmayan Fmoc-PEG'lerin uzaklaştırılması amacıyla bir filtre (Sartorius, PTFE; gözenek boyutu, 0.2 µm) kullanılarak süzülmüştür. Daha sonra, filtre üzerinde kalan katı, THF (500 ml) ve aseton (500 ml) kullanılarak yıkanmış ve tekrar süzülmüştür. Elde edilen siyah toz daha sonra 24 saat boyunca vakum altında kurutulmuştur.

4.5 Karakterizasyon Yöntemleri

4.5.1 Geçirimli elektron mikroskobu

Yüksek çözünürlüklü geçirimli elektron mikroskobu (HR-TEM) görüntüleri, 200 kV'da çalışan bir JEOL 2100 cihazı kullanılarak elde edilmiştir. HR-TEM numuneleri, bir holey karbon kaplı bakır ızgara üzerinde numunenin bir seyreltilmiş çözeltisini (THF içinde) damlatılmasıyla hazırlanmıştır.

4.5.2 Fourier transform infrared spektroskopisi

FT-IR spektrumları 4000-500 cm⁻¹ aralığında bir Agilent Technologies Cary 630 FT-IR cihazıyla incelenmiştir. FT-IR spektrumları, Fmoc aminoasitlerinin (Fmoc-aa) PEG'e bağlanmasının belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır, çünkü bağlanma sonrası yeni bağların oluşumunu doğrudan ortaya koyabilmektedir.

4.5.3 Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi

¹H (500 MHz) spektrumları bir Agilent VNMR 500 cihazı kullanılarak CDCl₃'te kaydedilmiş ve Fmoc-PEG komplekslerinin yapısal karakterizasyonu yapılmıştır.

4.5.4 UV-vis spektroskopisi

UV-vis spektrumları, 190-1090 nm aralığında CH₂Cl₂ içerisinde bir Agilent Cary 100 spektrofotometresi kullanılarak 1 cm kuvars küvetlerde kaydedilmiştir.

4.5.5 Floresans spektroskopisi

F-4500 spektrofotometresi kullanılarak floresans spektrumları elde edilmiştir. Bu çalışma TDKNT'lerin PEG ile fonksiyonelleştirmesini doğrulamak amacıyla yapılmıştır.

4.5.6 Termal gravimetrik analiz

Termal gravimetrik analizler (TGA), 30-800 ° C sıcaklık aralığında, inert atmosfer altında 10° C/dak'lık bir ısıtma hızı ile Perkin-Elmer Diamond TA/TGA üzerinde gerçekleştirilmiştir. TDKNT'lerin fonksiyonelleştirme miktarı ve termal kararlılıkları saptanmıştır.

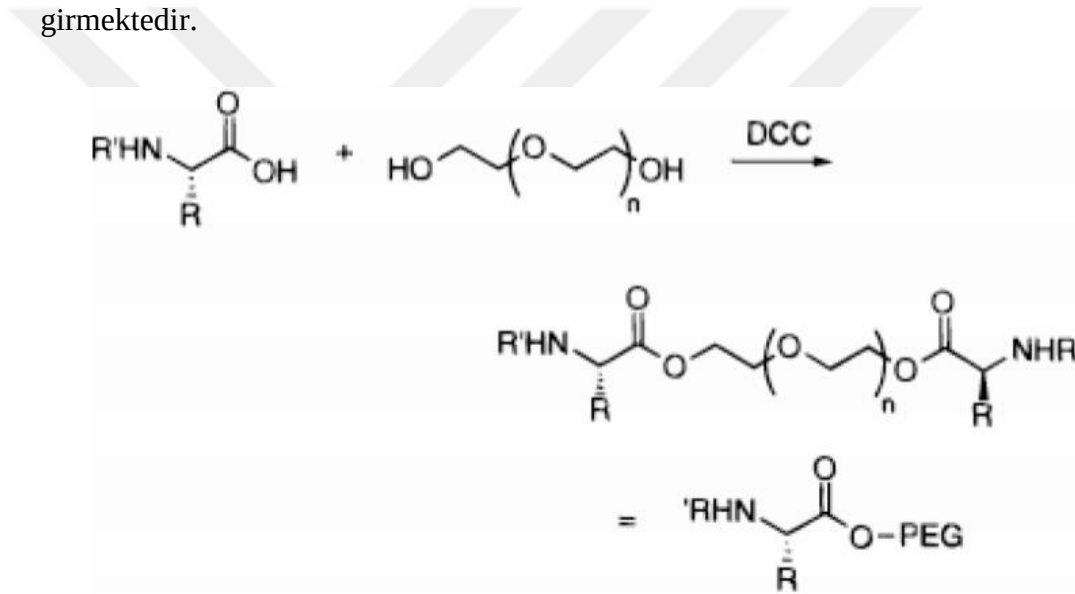




5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1 Fmoc-PEG komplekslerinin hazırlanması

PEG'e bağlanacak molekül, peptitlerin organik sentezinde de koruyucu bir grup olarak kullanılan 9-florenilmetil karbonildir [45]. Fmoc, PEG'in kolayca bağlanabileceği aromatik florenil grubu içermektedir. Fmoc-aa'leri bir bağlantı oluşturmak için Şekil 5.1'de gösterilen mekanizma üzerinden reaksiyona girmektedir.

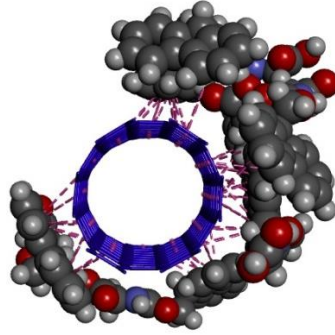


Şekil 5.1 : Direkt esterifikasyon.

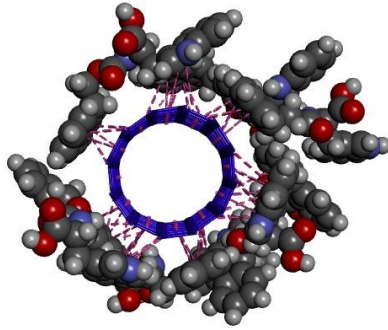
5.2 TDKNT'lerin Fmoc-PEG kompleksleri ile fonksiyonelleştirilmesi

Fmoc-aa'ler, doğrudan KNT immobilizasyonu için kullanılmaktadır. Ayrıca, Fmoc amino asitlerinin π - π bağı aracılığıyla etkileşime girebileceği bilinmektedir, çünkü bu tür moleküller nanoyapılar ile kendi kendine birleşebilmektedir [46]. Bu çalışmada, Fmoc-PEG kompleksleri KNT'lerin nonkovalent fonksiyonelleştirilmesi amacıyla fiziksel olarak TDKNT'lere monte edilmiştir. İTÜ BAP Birimi kapsamında yapılan MGA-2019-41823 nolu projede yapılan hesaplamalı çalışmalar ile Fmoc-aa'lerinin içerdiği aromatik florenil grupları sayesinde KNT yüzeyinde istiflendiği tespit

edilmiştir [47]. Şekil 5.2 ve 5.3’de bu çalışmalardan elde edilen görüntüler gösterilmektedir.



Şekil 5.2 : Fmoc-Gly/TDKNT şematik gösterimi.

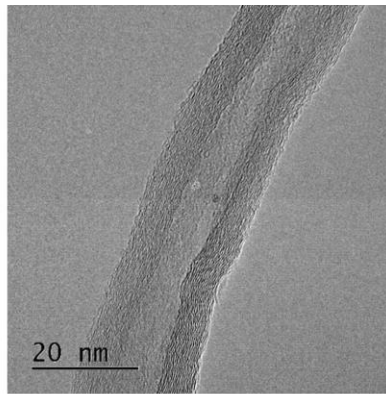
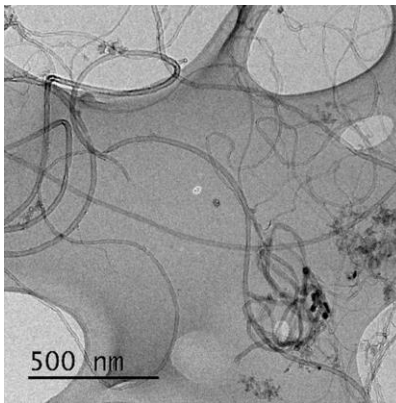


Şekil 5.3 : Fmoc-Trp/TDKNT şematik gösterimi.

5.3 Karakterizasyon Sonuçları

5.3.1 Geçirimli elektron mikroskobu

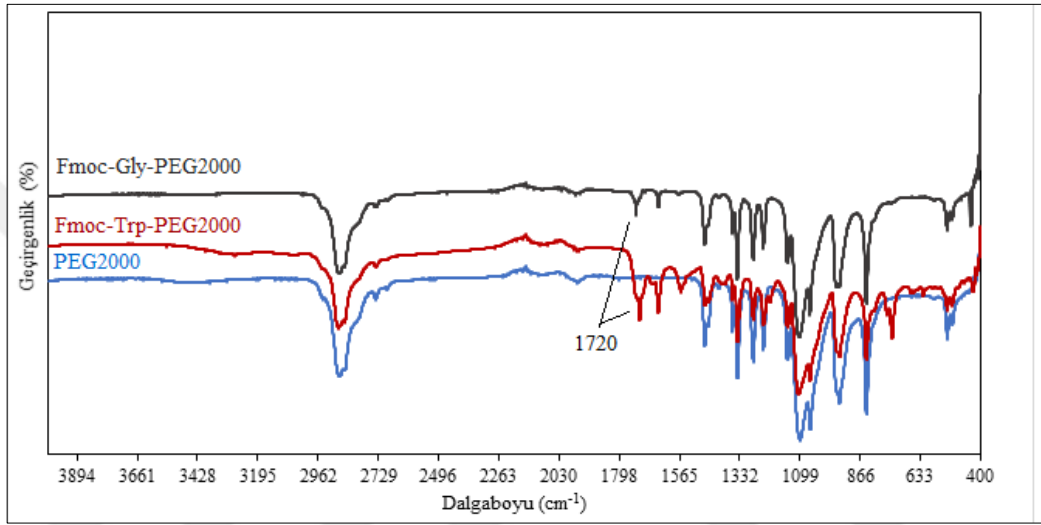
TEM, karbon nanotüp örneklerinin ince detaylarını yakalamayı sağlayan en yüksek çözünürlüklü tekniktir. Üretilen TDKNT'lerin TEM görüntüleri Şekil 5.3'de gösterilmiştir. Kimyasal buhar biriktirme yöntemiyle sentezlenen yapıların karbon nanotüplerin tek duvarlı olduğu TEM analizlerinden belirlenmiştir.



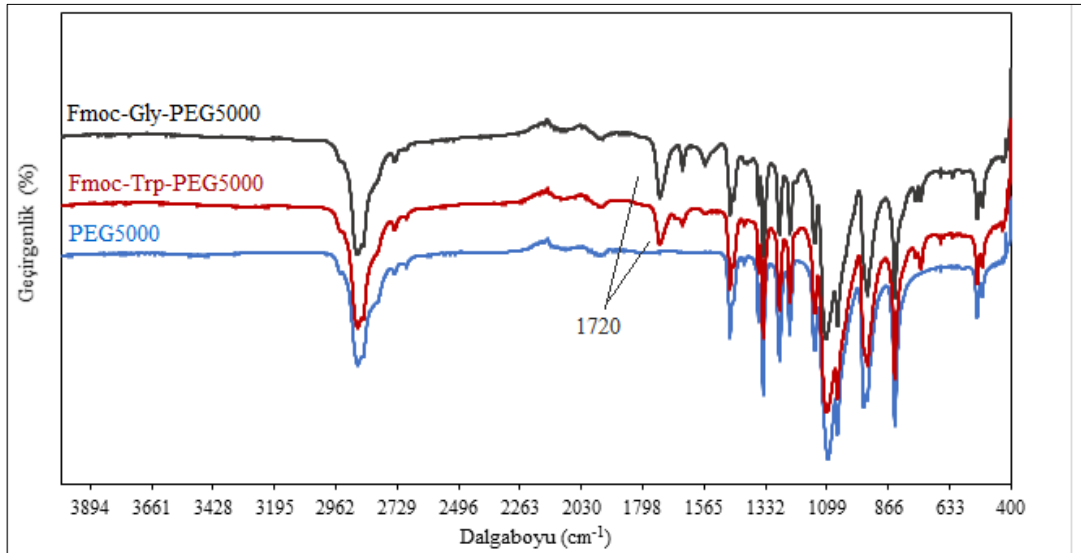
Şekil 5.4 : TDKNT'lerin TEM görüntüleri.

5.3.2 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi

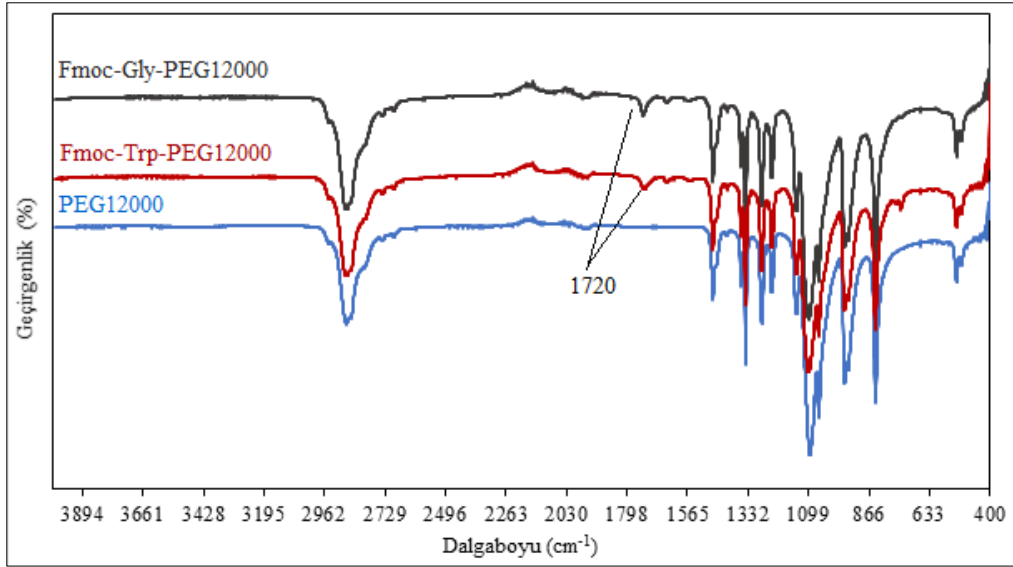
Farklı molekül ağırlığındaki PEG'lerle ile bağlanan Fmoc-aa'lerinin yapısal karakterizasyonu FT-IR spektrometresi ile izlenmiştir. Şekil 5.5, 5.6 ve 5.7'de yaklaşık 2880 cm^{-1} 'de tüm spektrumlarda gözlenen karakteristik pikler, PEG'in içerdiği $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ grubundan kaynaklanmaktadır [48]. Literatüre bakılarak Fmoc-PEG spektrumlarında görülen 1720 cm^{-1} 'deki bantlar ise Fmoc grubunun karbonil karbamatına karşılık gelmektedir [49].



Şekil 5.5 : PEG₂₀₀₀, Gly-PEG₂₀₀₀, Trp-PEG₂₀₀₀'in FT-IR spektrumu.



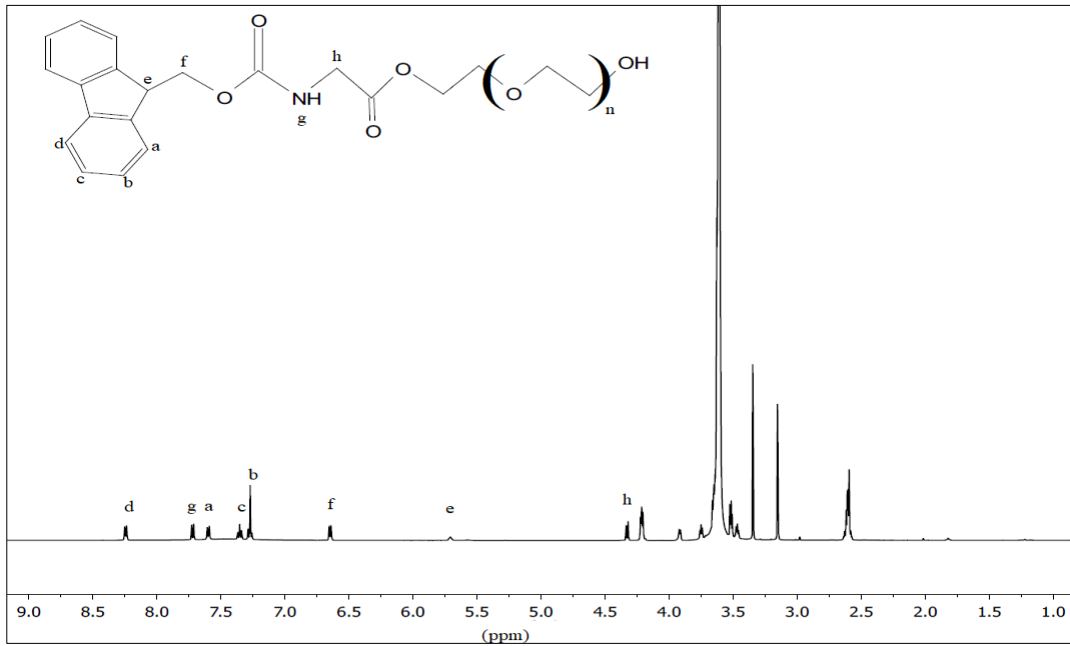
Şekil 5.6 : PEG₅₀₀₀, Gly-PEG₅₀₀₀, Trp-PEG₅₀₀₀'in FT-IR spektrumu.



Şekil 5.7 : PEG₁₂₀₀₀, Gly-PEG₁₂₀₀₀, Trp-PEG₁₂₀₀₀'in FT-IR spektrumu.

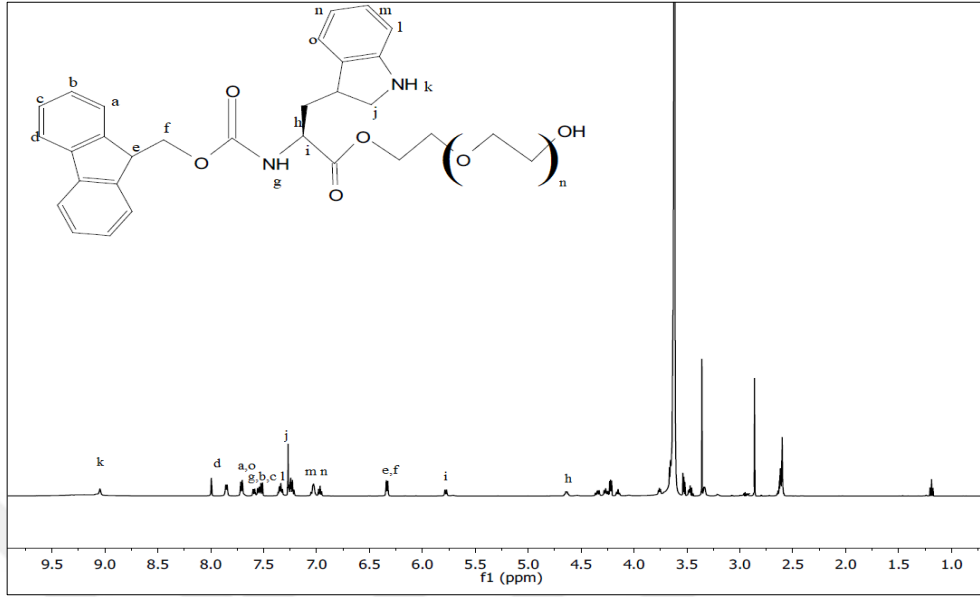
5.3.3 Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi

Fmoc-aa'lerinin PEG monometil etere bağlanmasını karakterize etmek amacıyla örneklerin ¹H NMR spektrumları incelenmiştir. Fmoc-Gly-PEG₂₀₀₀ ve Fmoc-Trp-PEG₁₂₀₀₀'in ¹H NMR spektrumları örnek olarak Şekil 5.8 ve 5.9'da verilmiştir. Diğer örneklerin spektrumları ise EkA bölümünde yer almaktadır. Fmoc-Gly-PEG₂₀₀₀ spektrumu, 3.6 ppm'de PEG omurgasının metilen protonlarını temsil eden sinyaller vermiştir. Fmoc grubu proton sinyalleri ise Şekil 5.8'de gösterilmiştir.



Şekil 5.8 : Fmoc-Gly-PEG₂₀₀₀'in ¹H NMR spektrumu.

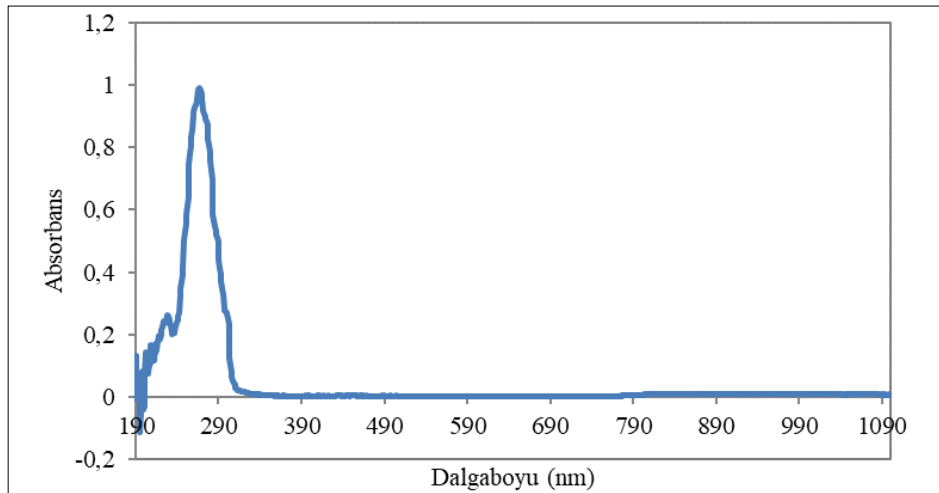
Sentezlenen Fmoc-Trp-PEG₁₂₀₀₀'in ¹H NMR spektrumuna göre, Fmoc proton sinyalleri ve triptofanın karakteristik pikleri Şekil 5.9'da tanımlanmıştır.



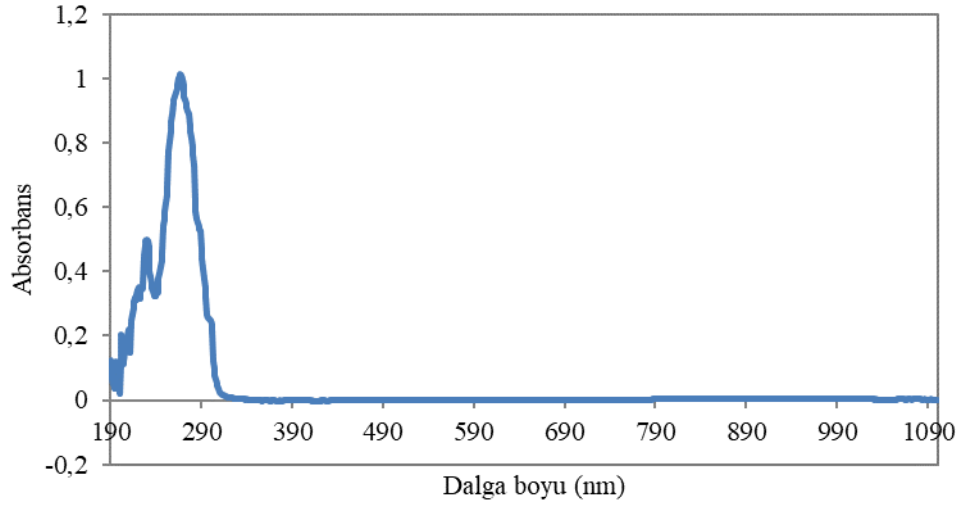
Şekil 5.9 : Fmoc-Trp-PEG₁₂₀₀₀'in ¹H NMR spektrumu.

5.3.4 UV-vis spektroskopisi

Şekil 5.10 ve 5.11, sırasıyla Fmoc-Gly-PEG₂₀₀₀ ve Fmoc-Trp-PEG₁₂₀₀₀'in absorbans spektrumlarını içermektedir. Sonuçlar değerlendirilirken, dikloro metanda çözülmüş Fmoc-Gly-PEG₂₀₀₀ ve Fmoc-Trp-PEG₁₂₀₀₀'in UV-vis spektrumunda keskin bir absorpsiyon bandına sahip oldukları belirlenmiştir. 50 µl'lik çözeltinin, yüksek absorbansa sahip bir bölge içeren bir spektrum sağladığı görülmüştür (sırasıyla 268 ve 269 nm). Dikloro metanda çözülen Fmoc-PEG kompleksleri de yaklaşık 269 nm'de benzer spektrumlar göstermiştir (Ek B).



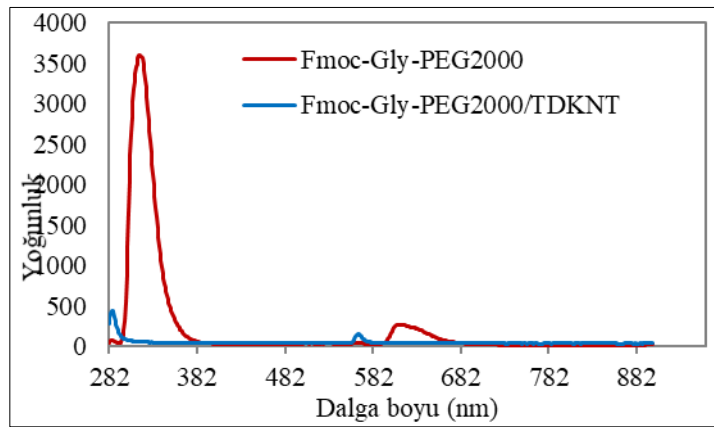
Şekil 5.10 : Fmoc-Gly-PEG₂₀₀₀'in UV-vis spektrumu.



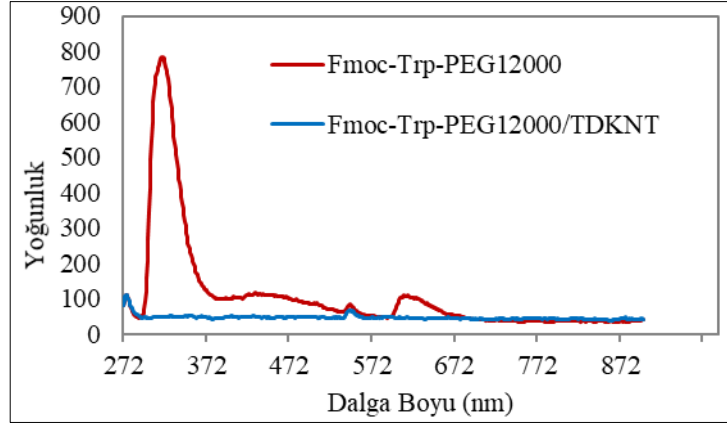
Şekil 5.11 : Fmoc-Trp-PEG₁₂₀₀₀'in UV-vis spektrumu.

5.3.5 Floresans spektroskopisi

Doğal olarak floresan özellik gösteren triptofan, UV ışığı emer / yayar ve düşük fotostabiliteye sahiptir [50]. Şekil 5.12 ve Şekil 5.13’de, Fmoc-Gly-PEG₂₀₀₀ ve Fmoc-Trp-PEG₁₂₀₀₀’in floresans spektrumları görülmektedir. Bu floresans spektrumları Fmoc için spesifiktir. Fmoc-PEG-TDKNT kompleksinde, Fmoc grupları floresansı söndürülür ve bu grubun halka yapısındaki hidrofobik uçlarının TDKNT yüzeyine adsorbe edildiğine dair kanıt sağlar. Şekil 5.10 ve 5.11’den görüldüğü gibi Fmoc-PEG kompleksinin spektrumunda 315 ve 319 nm’deki pikler TDKNT’ye bağlanma adımından sonra sönümlenmiştir. Hidrofilik PEG zincirinin çözeltiye uzanması beklenmektedir. Aromatik halkalar arasındaki π - π bağı, enerji transferinde floresan spektrumunun sönümlenmesine neden olabileceği literatürde de bildirilmiştir [51].



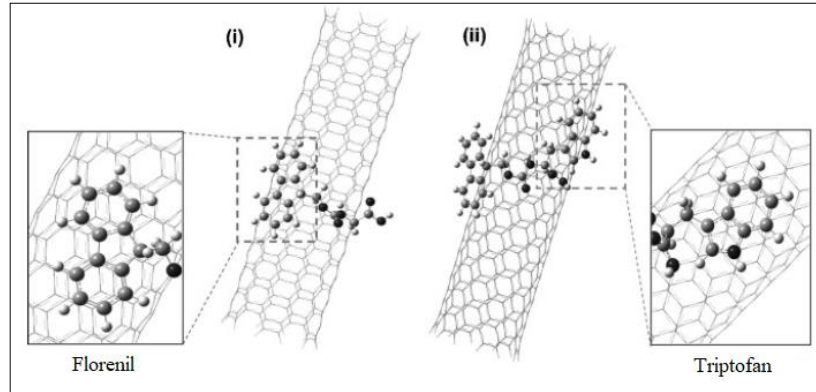
Şekil 5.12 : Fmoc-Gly-PEG₂₀₀₀ ve Fmoc-Gly-PEG₂₀₀₀-TDKNT'nin floresans spektrumu.



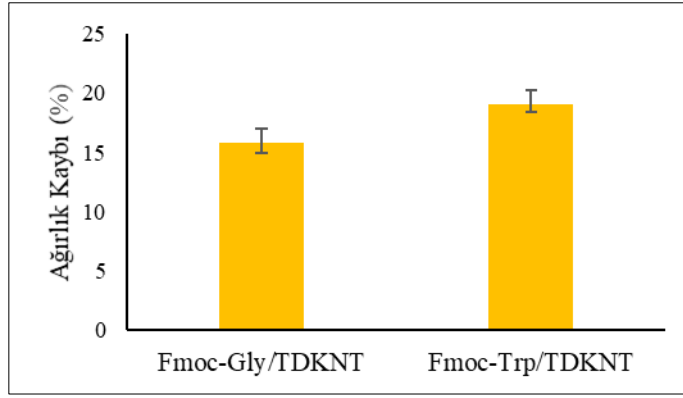
Şekil 5.13 : Fmoc-Trp-PEG₁₂₀₀₀ ve Fmoc-Trp-PEG₁₂₀₀₀-TDKNT'nin floresans spektrumu.

5.3.6 Termal gravimetrik analiz

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, Fmoc-Trp-OH'ın içerdiği triptofan amino asitinin bulundurduğu aromatik halkalar sebebiyle TDKNT yüzeyine daha fazla bağlanacağı öngörülmekteydi [52,46]. Şekil 5.15'de Fmoc-Trp'ın TDKNT yüzeyine tutunması gösterilmiştir. Hem bu durumu teyit etmek hem de PEG'in zincir uzunluğu etkisini elimine etmek adına TDKNT'lere bağlı Fmoc-aa'lerinin miktarını tespit edilmiş ve TGA analizi, deney bölümünde belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.15'de gösterildiği gibi, hem Fmoc-Gly hem de Fmoc-Trp'nin, TDKNT'lerin yüzeyine bağlandığı gösterilmiştir. Beklendiği gibi, Fmoc-Trp için kütle kaybı miktarı Fmoc-Gly'den daha yüksektir. Aromatik florenil halkaları, hem Fmoc-Gly hem de Fmoc-Trp'deki $\pi-\pi$ etkileşimler yoluyla TDKNT'lerin yüzeyine bağlanma yeteneğine sahiptir. Fmoc-Trp'deki aromatik triptofan halkasının mevcudiyeti, TDKNT duvarlarına bağlanmayı teşvik etmiştir.

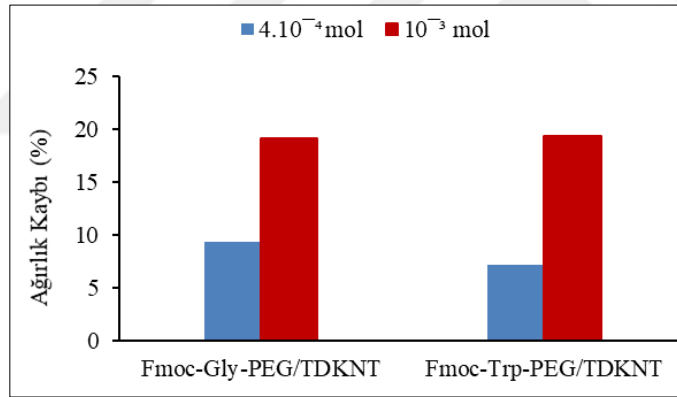


Şekil 5.14 : (i) Fmoc-Gly ve (ii) Fmoc-Trp'ın KNT yüzeyine bağlanması.



Şekil 5.15 : Fmoc-Gly/TKNT ve Fmoc-Trp/TKNT kütle kaybı.

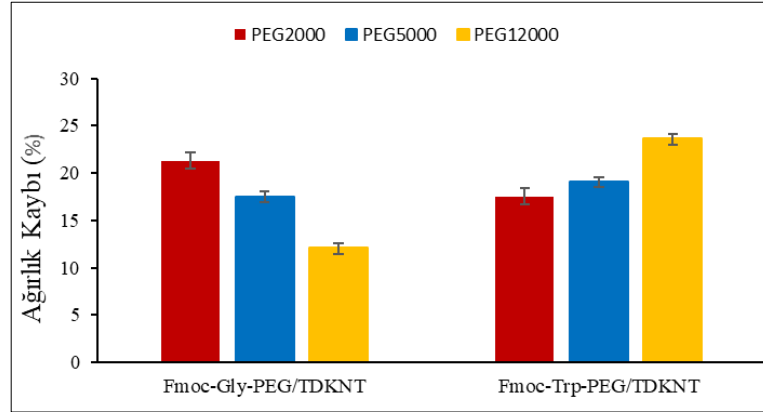
PEG'in miktarının TKNT yüzeyine bağlanma verimi üzerindeki etkisini incelemek amacıyla PEG₅₀₀₀ referans olarak alınmış ve farklı miktarlarda PEG kullanılarak deneyler yapılmıştır. Fmoc-Gly-PEG₅₀₀₀ ile Fmoc-Trp-PEG₅₀₀₀'in TKNT yüzeyine bağlanma verimleri farklı mol kütleleri için izlenmiştir. Şekil 15'te görüldüğü üzere PEG'in miktarının artması hem glisinli hem de triptofanlı kompleksler için olumlu etki etmiş ve bağlanma verimini artırmıştır.



Şekil 5.16 : Gly-PEG/TKNT ve Trp-PEG/TKNT'in PEG₅₀₀₀ için kütle kaybı.

Şekil 5.16, nanotüp yüzeylerine monte edilen farklı molekül ağırlığındaki Fmoc-Gly-PEG ve Fmoc-Trp-PEG komplekslerinin TGA sonuçlarını göstermektedir. Fmoc-Gly-PEG'in TKNT'lere bağlanma miktarı, Fmoc-Trp-PEG sonuçlarına kıyasla tamamen farklı eğilimler sergilemiştir. Glisin kimyasal yapısı sebebiyle, triptofan ile kıyaslandığında nispeten daha zayıf etkileşimler ile PEG'e bağlanmış ve PEG'in molekül ağırlığı arttıkça bu bağların kopma eğiliminde olduğu saptanmıştır. Bu sebeple, Fmoc-Gly-PEG örneklerinin TGA analizinden görüldüğü gibi PEG'nin moleküler ağırlığı arttıkça, yüzde kütle kaybı miktarı düşmüştür. Bununla birlikte, Fmoc-Trp-PEG'de, bu miktar PEG'nin moleküler ağırlığı $M_a=12000$ g/mol'e yükselirken maksimum değer almıştır. TKNT'lere bağlı Fmoc-aa'ler için kütle

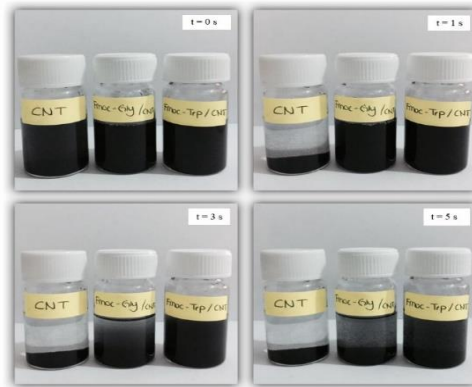
kaybı eğilim miktarındaki farkın, Fmoc-Trp'daki aromatik triptofan halkasının varlığından kaynaklandığı tahmin edilmektedir.



Şekil 5.17 : Gly-PEG/TDKNT ve Trp-PEG/TDKNT kütle kaybı.

5.3.7 Sudaki dispersiyon

Fmoc-aa'leri ile modifiye edilmiş TDKNT'in suda dağılma davranışını belirlemek için yapılan deneylerin sonuçları Şekil 5.14'de gösterilmiştir. KNT dispersiyonları, π - π etkileşimleriyle nanotüp yüzeylerine monte edilen aromatik fonksiyonelliğe sahip PEG kullanılarak kovalent olmayan modifikasyonlarla elde edilmiştir. KNT yüzeyi hidrofobiktir ve Fmoc amino asitleri yüzeye bağlandığında, polar gruplar (-OH ve -COOH), amid omurgasında, yüzey aktif madde benzeri özelliklere yol açmaktadır. Literatürde belirtildiği gibi yüzeye bağlı olan ve bağlı olmayan Fmoc amino asitleri arasında, π - π istiflenmesi ve hidrojen bağlanması yoluyla ek etkileşimler de meydana gelir; bu, sulu ortam içinde stabil bir nanotüp dağılımının genel oluşumuna katkıda bulunabilmektedir [46]. Şekil 5.16'dan görüldüğü üzere 0, 1, 3 ve 5 saat içinde TDKNT'lerin sudaki dispersiyonu incelenmiş, en iyi dispersan özelliği Fmoc-Trp'ın sağladığı saptanmıştır.



Şekil 5.18 : Fmoc-Gly ve Fmoc-Trp'ın sudaki dağılımı.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ilaç salım sistemi olarak kullanılmak üzere bir nanotaşıyıcının geliştirilmesi amacıyla bütünleştirici bir yaklaşım kullanılmıştır. KNT'lerin biyo-uyumluluğunu geliştirmek ve suda çözünürlüğünü arttırmak amacıyla non-kovalent fonksiyonelleştirme yapılmış ve bu amaçla KNT yüzeyine iki farklı Fmoc-aa taşıyan PEG (PEG₂₀₀₀, PEG₅₀₀₀, PEG₁₂₀₀₀) bağlanmıştır. Kullanılan Fmoc gruplarının bağlı olduğu aminoasitler glisin ve triptofan olarak seçilmiştir. İlaç taşıma amacıyla tasarlanan bu sistem 3 adımda sentezlenmiştir. Öncelikli olarak, sistemin iskeletini oluşturması için kimyasal buhar biriktirme yöntemi kullanılarak TDKNT sentezlenmiştir. PEG reaksiyona sokularak hazırlanan f-PEG (Fmoc-Gly-PEG ve Fmoc-Trp-PEG) nanotüpün duvarına monte edilmiştir. Literatürdeki çalışmalara dayanarak, iki farklı Fmoc-aa molekülü taşıyan PEG/TKNT'lerin gerekli yapısal dayanıma sahip olduğu ortaya koyulmuştur. Karakterizasyon çalışmalarıyla, Fmoc-PEG kaplı TDKNT'lerin kararlılığı, bağlanma verimi ve askıda kalma özelliği araştırılmıştır.

Sentezin ilk adımı olan Fmoc-PEG komplekslerinin sentezinin izlenmesi amacıyla ¹H NMR spektrumları kullanılmıştır. Fmoc-Gly-OH ve Fmoc-Trp-OH'in verdiği karakteristik pikler, bu yapıların başarılı bir şekilde PEG'e bağlandığını göstermektedir.

¹H NMR spektrumlarını desteklemek amacıyla FT-IR spektrumları incelenmiştir. PEG ile f-PEG spektrumları karşılaştırıldığında, Fmoc gruplarının karakteristik pikleri açık bir şekilde gözlenmektedir.

Sentezin ikinci adımında ise Fmoc-aa'lerinin bağlı olduğu farklı molekül ağırlığındaki PEG'ler, TDKNT'lere monte edilmiştir. Bu adımda floresans spektrofotometresi ile bağlanmanın gerçekleştiği tespit edilmiş, termogravimetrik analiz ile de bu bağlanmanın miktarı saptanmıştır.

Her bir numune için Fmoc-PEG ve Fmoc-PEG/TKNT'leri karakterize eden iki farklı floresans spektrumu elde edilmiştir. TDKNT'ye bağlandıktan sonra elde edilen

spektrumlarda görülen sönümlenme b ağırlanmanın başarılı bir şekilde gerçekleştiğini ispatlamaktadır.

Fmoc grubu içerdiği aromatik florenil halkalarının varlığı sebebiyle rahatlıkla TDKNT duvarlarına monte edilmiş olup, triptofanın aromatik halkaları sayesinde glisinden daha fazla ve homojen şekilde TDKNT'lere bağlandığı TGA analizleriyle belirlenmiştir. PEG'li komplekslerin bağlanma miktarını belirlemek için yapılan TGA analizinden de glisin ve triptofanın tamamen farklı eğilimler gösterdiği saptanmıştır. Fmoc-Gly/TKNT termogramlarında, PEG'in molekül ağırlığı arttıkça kütle kaybı yüzdesi artmış, en yüksek verim PEG₂₀₀₀'den alınmıştır. Fmoc-Trp/TKNT termogramlarında ise PEG'in molekül ağırlığı arttıkça kütle kaybı yüzdesi azalmıştır.

Fmoc-aa içeren PEG zincirlerinin KNT duvarına bağlanması ile PEG zincirinin ve KNT'lerin güçlü yönleri birleşerek; kan uyumlu, yapısı sayesinde hücre duvarından geçme potansiyeline sahip, stabil yapıda ve iyi optik özelliklere sahip bir nanotaşıyıcı sentezlenmiştir. Sentezlenen ürün, kanser tedavisinde alternatif yöntemlere duyulan ihtiyaç doğrultusunda, zararı/yan etkisi en aza indirilmiş, hedefe yönelik ilaç taşınımı ve salımı gerçekleştirebilecek bir nanotaşıyıcı olacaktır. Literatürdeki çalışmalarda Fmoc aminoasitleriyle oluşturulan komplekslere kanser tedavisi için çoğunlukla paklitaksel molekülünün yüklendiği saptanmıştır. İleriki adımlarda, bu çalışma kapsamında sentezlenen nanomalzemeye uygun olan ilacın yüklenme verimi araştırılacaktır. Elde edilen nanotaşıyıcının içerdiği Fmoc grupları sayesinde yüksek ilaç taşıma kapasitesine sahip olması beklenmektedir. Ayrıca f-KNT'lerin biyolojik davranışının anlaşılabilmesi için kanser hücresi üzerindeki toksik etkisinin belirlenmesi gerekmektedir. İlaç niteliği taşıyan ve toksik profili araştırılan bu malzemenin değerlendirilmesi amacıyla hücre kültüründe *in vitro* sitotoksikite testleri gerçekleştirilecektir. Bu sayede elde edilen nanomalzeme, gelişmiş özellikleriyle ilaç taşıma araçları olarak büyük gelecek vaat etmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **I. American Cancer Society.** (2018). American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2018, Atlanta, *Bmj*, vol. 309, no. 6970, p. 1689.
- [2] **Siegel, R. L. & Miller K.D.** (2018) Cancer Statistics 2018, vol. 00, no. 00.
- [3] **Dhapte, V. & Pokharkar V.** (2019). Nanosystems for drug delivery: Design, engineering, and applications. *Elsevier Inc.*
- [4] **Fraceto, L.F.** (2018). Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects, *J. Nanobiotechnology*, vol. 16, no. 1, pp. 1–33.
- [5] **Wang, J.** (2019). “Precise Design of Nanomedicines: Perspectives for Cancer Treatment,” *Natl. Cent. Nanosci. Technol.*
- [6] **Romero, A.I. & Simonazzi A.** (2018). Nanotechnology applications in drug controlled release.
- [7] **Shubhika, K.** (2013). Nanotechnology and medicine - The upside and the downside, *Int. J. Drug Dev. Res.*, vol. 5, no. 1, pp. 1–10.
- [8] **Senapati, S. & Mahanta A.K.** (2018). Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance, *Signal Transduct. Target. Ther.*, vol. 3, no. 1, pp. 1–19.
- [9] **Dubertret, B. & Skourides P.** (2002). In vivo imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles, *Science (80-.)*, vol. 298, no. 5599, pp. 1759–1762.
- [10] **Pandey, A.** (2017). An Overview on Advances in the Nanocarriers Drug Delivery Systems, *Adv. Struct. Mater.*, vol. 62, pp. 65–76.
- [11] **Olov, N. & Bagheri-Khoulenjani S.** (2018). Combinational drug delivery using nanocarriers for breast cancer treatments: A review, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 106, no. 8, pp. 2272–2283.
- [12] **Meher, J.G. & Kesharwani P.** (2018). Carbon Nanotubes (CNTs). *Elsevier Inc.*
- [13] **Saman, R.A. & Iqbal M.** (2012). Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems : Past , Present and Future, pp. 175–185.
- [14] **Xu, W. & Zhang T.** (2013). Polymeric Micelles, a Promising Drug Delivery System to Enhance Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs, *J. Drug Deliv.*, vol. 2013, no. 1, pp. 1–15.
- [15] **Lohcharoenkal, W. & Wang L.** (2014). Protein Nanoparticles as Drug Delivery Carriers for Cancer Therapy, *Biomed Res. Int.*, vol. 2014, pp. 1–12.
- [16] **Bethune, D.S.** (1993). Cobalt-catalysed growth of carbon nanotubes with single-atomic-layer walls, *Nature*, vol. 363, no. 6430, pp. 605–607.

- [17] **Boutron.** (1991). © 19 9 1 Nature Publishing Group, *Nature*, vol. 354, pp. 56–58.
- [18] **Kaur, J. &G. S. Gill G.S.** (2019). Applications of Carbon Nanotubes in Drug Delivery: A Comprehensive Review. *Elsevier Inc.*
- [19] **Singh, R. & Rathore D.** (2018). Carbon-based polymers for drug delivery. *Elsevier Inc.*
- [20] **Jogi, H.** (2018). Carbon nanotubes in the delivery of anticancer herbal drugs, *Nanomedicine*, vol. 13, no. 10, pp. 1187–1220.
- [21] **Al-Qattan, M.N. & Deb P.K.** (2018). Molecular dynamics simulation strategies for designing carbon-nanotube-based targeted drug delivery, *Drug Discov. Today*, vol. 23, no. 2, pp. 235–250.
- [22] **Beg, S.** (2018). Emergence in the functionalized carbon nanotubes as smart nanocarriers for drug delivery applications. *Elsevier Inc.*
- [23] **Hasnain, M.S & Rishishwar S.** (2019). Stimuli-responsive carbon nanotubes for targeted drug delivery. *Elsevier Ltd.*
- [24] **Mehra, N.K. & Jain K.** (2015). Pharmaceutical and biomedical applications of surface engineered carbon nanotubes, *Drug Discov. Today*, vol. 20, no. 6, pp. 750–759.
- [25] **Eatemadi, A. &, H. Daraee H.** (2014). Carbon nanotubes : properties , synthesis , purification , and medical applications, vol. 9, no. 1, pp. 1–13.
- [26] **Raval, J.P. & , P. Joshi P.** (2018). 9. Carbon nanotube for targeted drug delivery. *Elsevier Inc.*
- [27] **Digge, M.S.** (2012). Application of carbon nanotubes in drug delivery: A review, *Int. J. PharmTech Res.*, vol. 4, no. 2, pp. 839–847.
- [28] **MSamadishadlou, M.** (2018). Magnetic carbon nanotubes: preparation, physical properties, and applications in biomedicine, *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.*, vol. 46, no. 7, pp. 1314–1330.
- [29]**Moses, J.C. & Gangrade A.** (2019). Carbon Nanotubes and Their Polymer Nanocomposites. *Elsevier Inc.*
- [30] **Spitalsky, Z.** (2010). Progress in Polymer Science Carbon nanotube – polymer composites : Chemistry , processing , mechanical and electrical properties, *Prog. Polym. Sci.*, vol. 35, no. 3, pp. 357–401.
- [31] **Liu, Z. & Tabakman S.** (2009). Carbon nanotubes in biology and medicine: In vitro and in vivo detection, imaging and drug delivery, *Nano Res.*, vol. 2, no. 2, pp. 85–120.
- [32] **Kumar, S. & Kushwaha S.** (2013). Carbon nanotubes as a novel drug delivery system for anticancer therapy : a review, vol. 49.
- [33] **Bilalis, P.** (2014). Non-covalent functionalization of carbon nanotubes with polymers, *RSC Adv.*, vol. 4, no. 6, pp. 2911–2934.
- [34] **Ravelli, D. & Merli D.** (2013).“RSC Advances,”.

- [35] **Pastorin, G.** (2009). Crucial functionalizations of carbon nanotubes for improved drug delivery: A valuable option?, *Pharm. Res.*, vol. 26, no. 4, pp. 746–769.
- [36] **Mansouri, E. & Khorsandi L.** (2015). Dose-dependent hepatotoxicity effects of Zinc oxide nanoparticles, *Nanomed. J.*, vol. 2, no. 24, pp. 273–282.
- [37] **Romano-Feinholz, S.** (2017). Cytotoxicity induced by carbon nanotubes in experimental malignant glioma, *Int. J. Nanomedicine*, vol. 12, pp. 6005–6026.
- [38] **Antonucci, A. & Kupis-Rozmysłowicz J.** (2017). Noncovalent Protein and Peptide Functionalization of Single-Walled Carbon Nanotubes for Biodelivery and Optical Sensing Applications, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 9, no. 13, pp. 11321–11331.
- [39] **Sireesha, M. & Jagadeesh Babu V.** (2018). A review on carbon nanotubes in biosensor devices and their applications in medicine, *Nanocomposites*, vol. 4, no. 2, pp. 36–57.
- [40] **Kumar, N. & Ray S.S.** (2018). Processing of Polymer-based Nanocomposites, *Springer International Publishing*, vol. 277.
- [41] **Bhattacharya, K.** (2018). Nitric Oxide Dependent Degradation of Polyethylene Glycol-Modified Single-Walled Carbon Nanotubes: Implications for Intra-Articular Delivery, *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 7, no. 6, pp. 1–11.
- [42] **Cordeiro, M.F.** (2018). Toxicological assessment of PEGylated single-walled carbon nanotubes in early developing zebrafish, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, vol. 347, pp. 54–59.
- [43] **Meran, M.** (2018). Noncovalent Pyrene-Polyethylene Glycol Coatings of Carbon Nanotubes Achieve in Vitro Biocompatibility, *Langmuir*, vol. 34, no. 40, pp. 12071–12082.
- [44] **Zhang, P.** (2013). Design and Evaluation of a PEGylated Lipopeptide Equipped with Drug-Interactive Motifs as an Improved Drug Carrier, *AAPS J.*, vol. 16, no. 1, pp. 114–124.
- [45] **Turecek, P.L. & Bossard M.J.** (2016). PEGylation of Biopharmaceuticals: A Review of Chemistry and Nonclinical Safety Information of Approved Drugs, *J. Pharm. Sci.*, vol. 105, no. 2, pp. 460–475.
- [46] **Das, A.K.** (2009). Enzyme-Activated Surfactants for Dispersion of Carbon Nanotubes, *Small*, vol. 5, no. 5, pp. 587–590.
- [47] **Güner, S., Karatepe N., Kürkcüoğlu Ö, Meran M., Bozoğlu S. & Yeniyurt Y.** (2018). Manyetik karbon nanotüplerin kanser tedavisinde ilaç taşıma amaçlı kullanımı, MGA-2019-41823, İstanbul Teknik Üniversitesi.
- [48] **Zeng, S.** (2014). Synthesis, characterization, and evaluation of a novel amphiphilic polymer RGD-PEG-chol for target drug delivery system, *Sci. World J.*, vol. 2014.
- [49] **Singh, V., Snigdha K. & Thakur A.K.** (2015). Understanding the self-assembly of Fmoc-phenylalanine to hydrogel formation, *Soft Matter*, vol. 11, no. 26, pp. 5353–5364.

- [50] **Hilaire, M.R., Lin C.W. & Gai F.** (2017). Blue fluorescent amino acid for biological spectroscopy and microscopy, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 114, no. 23, pp. 6005–6009.
- [51] **Zhang, J.** (2013). Molecular recognition using corona phase complexes made of synthetic polymers adsorbed on carbon nanotubes, *Nat. Nanotechnol.*, vol. 8, no. 12, pp. 959–968.
- [52] **Chen, T. & Li M.**, (2018). π - π Stacking Interaction: A Nondestructive and Facile Means in Material Engineering for Bioapplications, *Cryst. Growth Des.*, vol. 18, no. 5, pp. 2765–2783.



EKLER

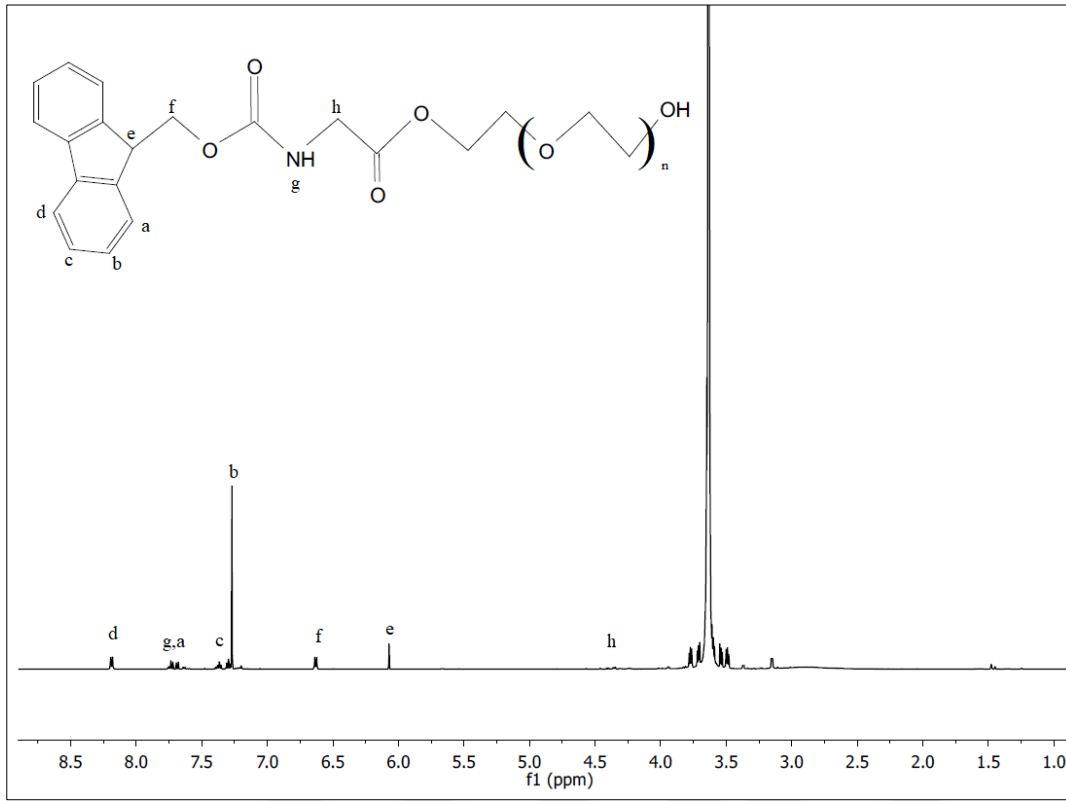
EK A: NMR spektrumları

EK B: UV-vis spektrumları

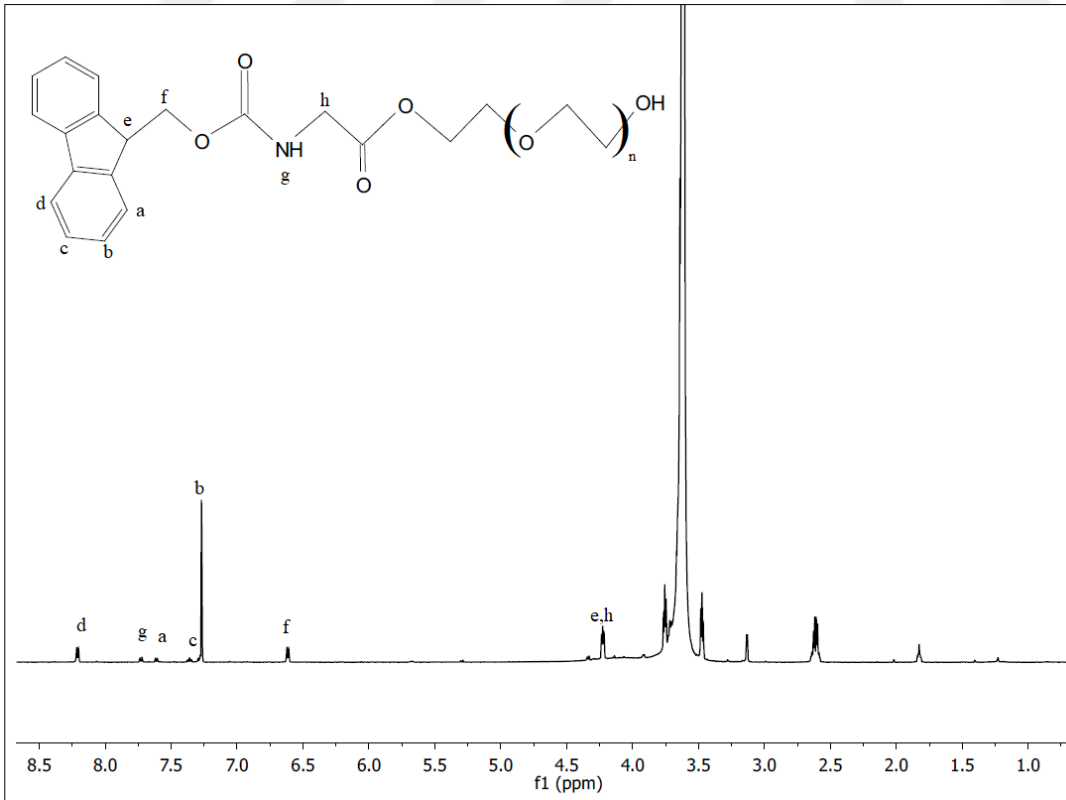
EK C: Floresans spektrumları



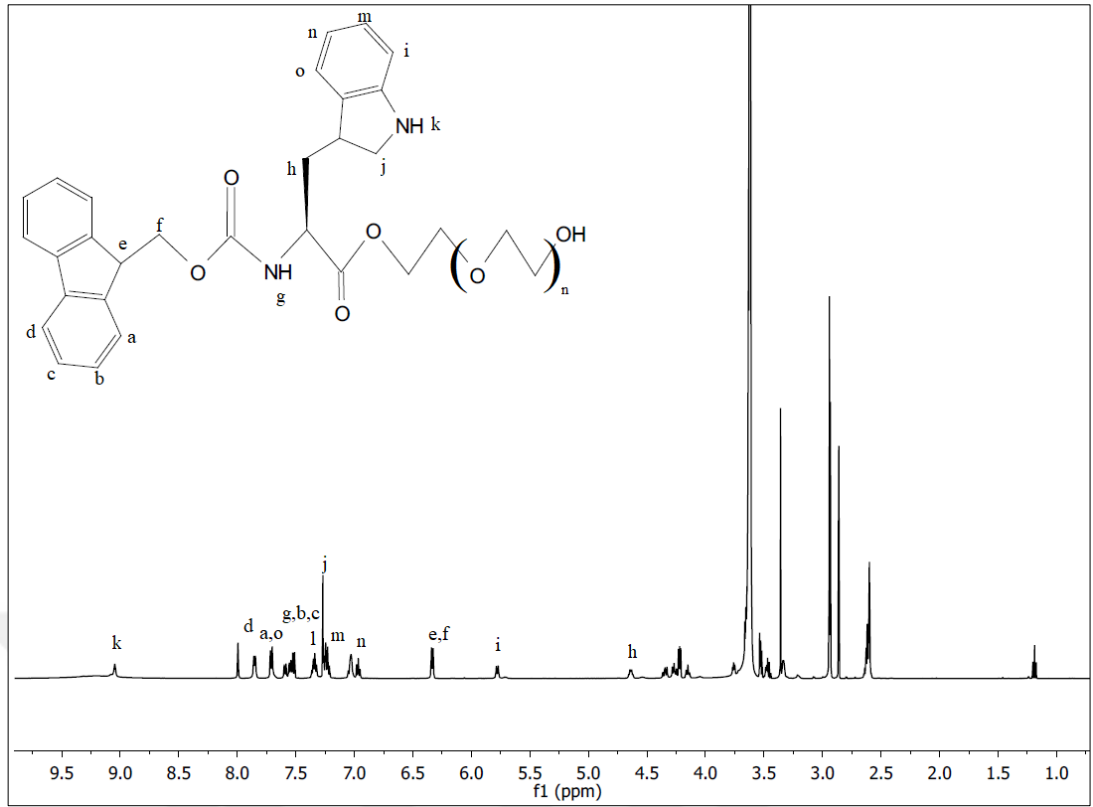
EK A



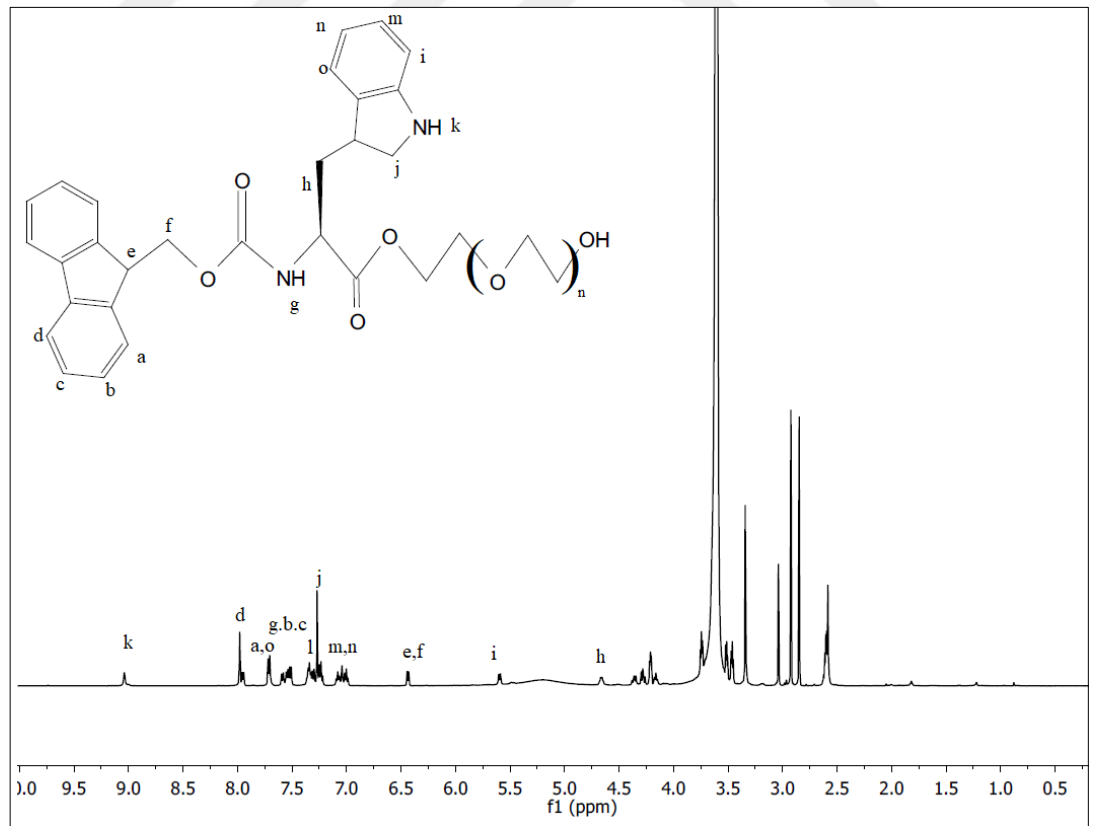
Şekil A.1 : Fmoc-Gly-PEG₅₀₀₀'in ¹H NMR spektrumu.



Şekil A.2 : Fmoc-Gly-PEG₁₂₀₀₀'in ¹H NMR spektrumu.

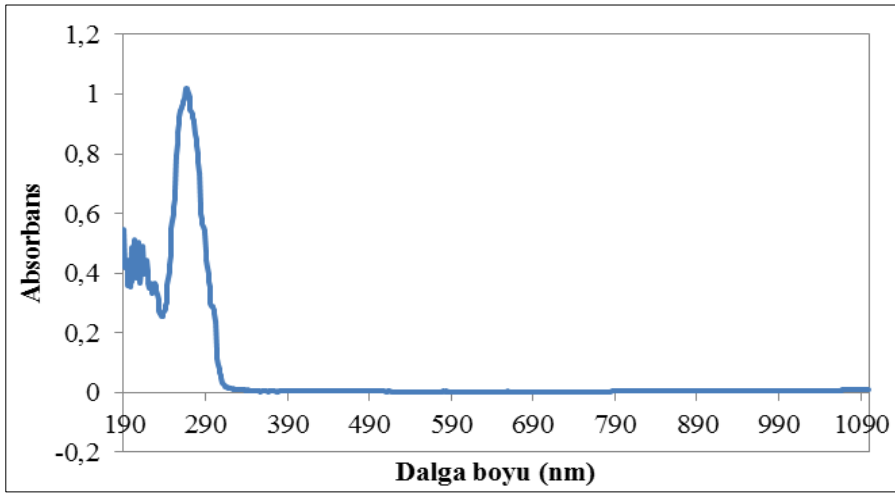


Şekil A.3 : Fmoc-Trp-PEG₂₀₀₀'in ¹H NMR spektrumu.

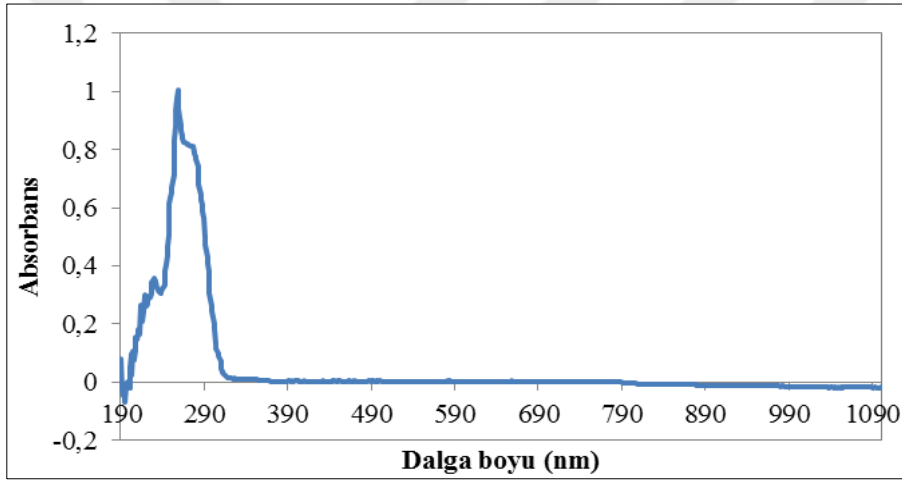


Şekil A.4 : Fmoc-Trp-PEG₅₀₀₀'in ¹H NMR spektrumu.

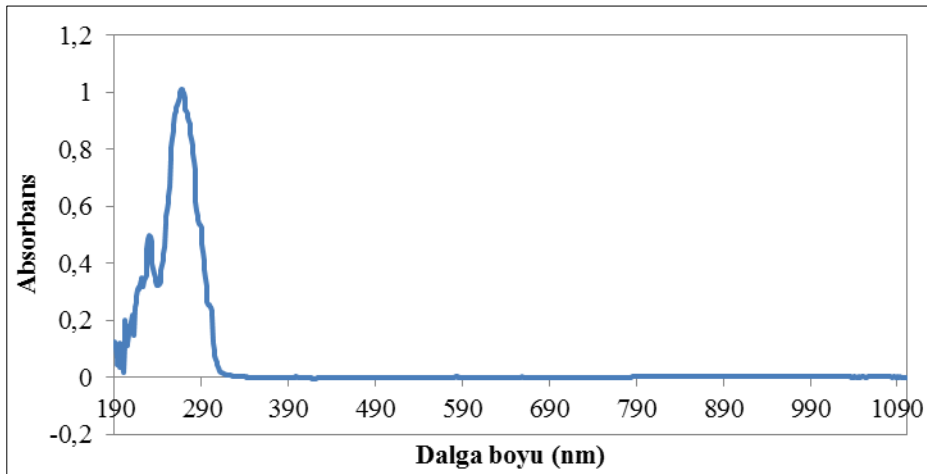
EK B



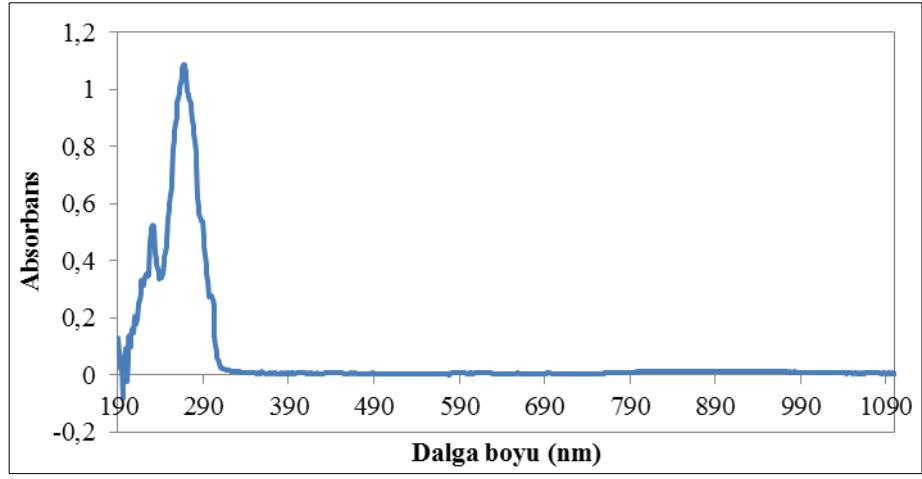
Şekil B.1 : Fmoc-Gly-PEG₅₀₀₀ Uv-vis spektrumu.



Şekil B.2 : Fmoc-Gly-PEG₁₂₀₀₀ UV-vis spektrumu.

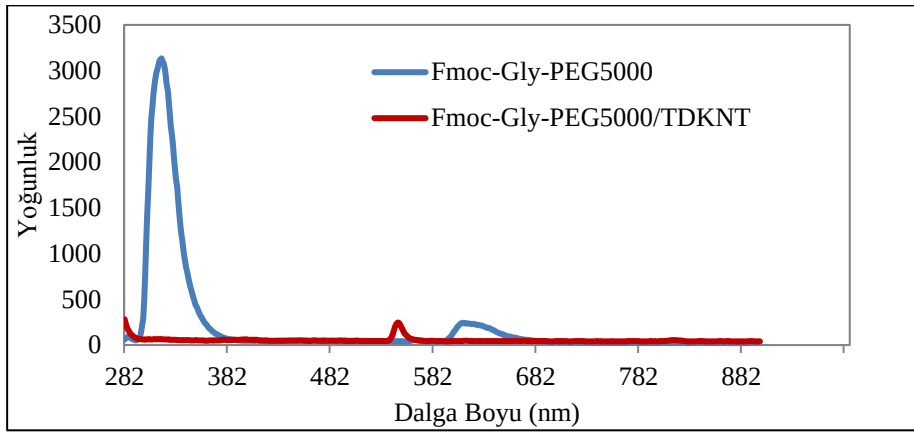


Şekil B.3 : Fmoc-Trp-PEG₂₀₀₀ Uv-vis spektrumu.

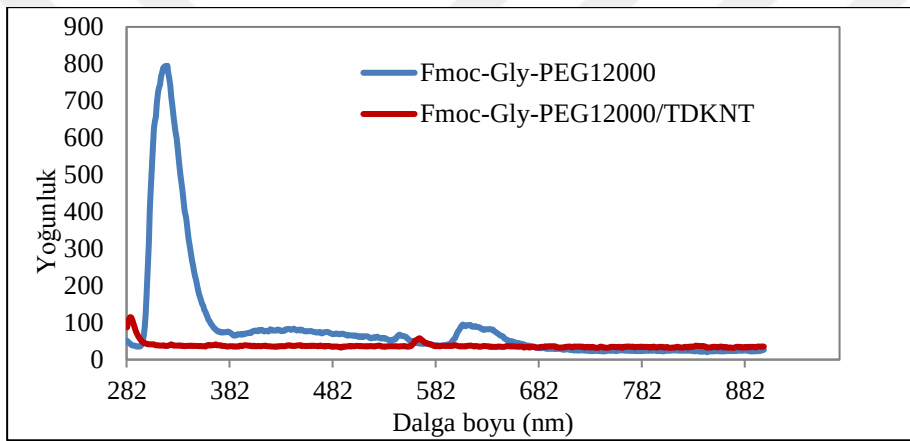


Şekil B.4 : Fmoc-Trp-PEG₅₀₀₀ Uv-vis spektrumu.

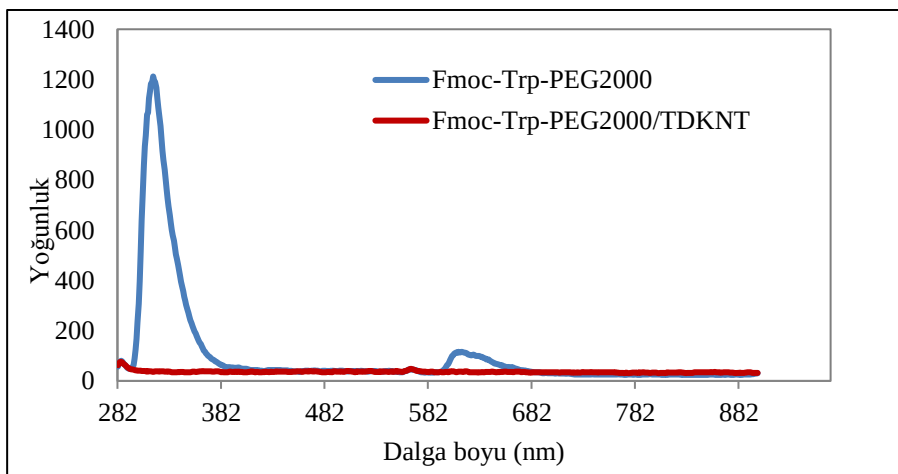
EK C



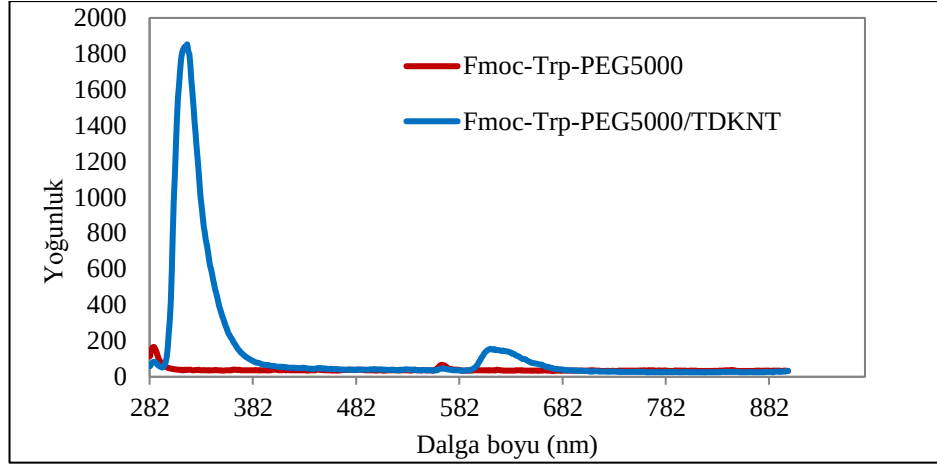
Şekil C.1 : Fmoc-Gly-PEG₅₀₀₀ ve Fmoc-Gly-PEG₅₀₀₀-TDKNT'nin floresans spektrumu.



Şekil C.2 : Fmoc-Gly-PEG₁₂₀₀₀ ve Fmoc-Gly-PEG₁₂₀₀₀-TDKNT'nin floresans spektrumu.



Şekil C.3 : Fmoc-Trp-PEG₂₀₀₀ ve Fmoc-Trp-PEG₂₀₀₀-TDKNT'nin floresans spektrumu.



Şekil C.4 : Fmoc-Trp-PEG₅₀₀₀ ve Fmoc-Trp-PEG₅₀₀₀-TDKNT'nin floresans spektrumu.



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Yeşim YENİYURT
Doğum Tarihi ve Yeri : 26.11.1994
E-posta : yesimyeniyurt@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2017, İstanbul Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği
2018, İstanbul Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği
- **Yükseklisans** : 2019, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Kimya Mühendisliği

YAYINLAR:

- S. Güner, N. Yavuz Karatepe, Ö. Levitas Kürkcüoglu, M. Meran, S. Bozoğlu, ve **Y. Yeniurt**, (2018). “Manyetik karbon nanotüplerin kanser tedavisinde ilaç taşıma amaçlı kullanımı,” MGA-2019-41823 nolu bilimsel araştırma projesi, İstanbul Teknik Üniversitesi.

