

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**GLUKOZ KAPLI MANYETİK
NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZLENEREK İLAÇ
YÜKLENMESİ VE *in vivo* ÇALIŞMALARI**

ASLI ÖZGE CİHNİOĞLU

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şenay ŞANLIER

Biyokimya Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 14.09.2015

Bornova-İZMİR

2015

Aslı Özge CİHNİOĞLU tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “GLUKOZ KAPLI MANYETİK NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZLENEREK İLAÇ YÜKLENMESİ ve *in vivo* ÇALIŞMALARI” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 14/09/2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkan :.....

Raportör Üye :.....

Üye :.....

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ ETİK

KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Glukoz Kaplı Manyetik Nanopartiküllerin Sentezlenerek İlaç Yüklenmesi ve *in vivo* Çalışmaları” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.../ .../ 2015

İmzası

Adı-Soyadı

ÖZET**GLUKOZ KAPLI MANYETİK NANOPARTİKÜLLERİN
SENTEZLENEREK İLAÇ YÜKLENMESİ ve *in vivo*
ÇALIŞMALARI**

CİHNİOĞLU, Özge Aslı

Yüksek Lisans Tezi, Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Şenay ŞANLIER

Eylül 2015, 47 Sayfa

Kanser tüm dünyada hızla artmakta ve ölüm nedenlerinin başlıca sebepleri arasında yer almaktadır. Son istatistiksel bilgilere göre 2020 yılında dünyadaki kanser hastası sayısının 15 milyondan fazla olacağı hesaplanmıştır. Kanser türlerinin çoğu lokalizasyonuna ve evrelerine bağlı olarak cerrahi müdahale, radyoterapi ve/veya kemoterapi gibi uygulamalar kullanılarak tedavi edilebilmektedir. Antrasiklin bir antibiyotik olan doxorubisin en geniş kullanım alanına sahip ve gerek tek bir ajan gerekse kombinasyonlu biçimde intravenöz olarak hastaya uygulanan antikanser ilaçlardan biridir. Başta over kanseri olmak üzere, meme, akciğer, tiroid kanseri, ve bazı tür lösemilerin tedavisinde kullanılır. Doxorubisinin düzensiz kalp atışları, kalp yetmezliği gibi istenmeyen birçok yan etkisi vardır. Yan etkilerinin hastanın yaşam kalitesini düşürmesi nedeniyle, hedef hücreye gönderilebilecek doxorubisin türevinin hazırlanması çalışmamızın temelini oluşturmaktadır. Bu amaçla, glukoz kaplı manyetik nanopartikül sentezlendikten sonra hidrazon bağı ile doksorobusin bağlanmıştır. Glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin her adımda FTIR ile karakterizasyonu yapılmış ve boyut analizinde nanopartiküllerin 60 ile 40 nm arasında oldukları tespit edilmiş, ilaç yükleme veriminin ise % 47,4 olduğu belirlenmiştir. Hazırlanmış ve karakterize edilmiş bu formülasyon, sağlıklı sıçanlara uygulanarak biyodağılımları ve dışarıdan uygulanan manyetik alan ile yönlendirilebilir olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Over kanser, Nanopartikül, Doksorubisin, Manyetik Nanopartikül

ABSTRACT**SYNTHESIS of GLUCOSE COATED MAGNETIC
NANOPARTICLES, DRUG LOADING AND *in vivo* STUDIES**

CİHNİOĞLU, Özge Aslı

MSc in Biochemistry Department

Supervisor: Prof. Dr. Şenay ŞANLIER

September 2015, 47 Pages

The first reason of death is cancer which is increasing rapidly in the World. According to last statistical informations, There will be more than 15 million cancer patients in 2020. Most cancer types can be treated by surgical intervention, radiotherapy and chemotherapy depending on localization and phase. Doxorubicin which is anthracycline antibiotic has wide uses area. It can be implemented like a single agent or combination intravenously. It uses ovarian cancer, breast cancer, thyroid cancer and some of leukemia treatment. It has got a lot of side effects such as irregular heartbeat, heart failure. The aim of study to prepare doxorubicin derivative and consign target area. For this reason, glucose coated magnetic nanoparticle synthesized and doxorubicin loaded by hydrazone bond. After that FTIR characterization is done at each step. Glucose coated magnetic nanoparticles have 40 to 60 nm size and drug loading efficiency is 47,4 %. This formulation applied healthy rats. The result of this study it is determined that the formulation biodistribution. It can be direct via externally applied magnetic field.

Key Words: Ovarian cancer, nanoparticle, doxorubicin, magnetic nanoparticle

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren, sayesinde pek çok pratik bilgi edindiğim, her zaman ılımlı ve eğitici olan çok değerli hocam Prof.Dr. Şenay ŞANLIER'e, çalışmam boyunca yine her konuda desteğini benden esirgemeyen Sayın Araş. Gör. Güliz AK'a, doktora öğrencisi Habibe YILMAZ ve yüksek lisans öğrencisi Sayın Merve YAŞA'ya üzerimde büyük emek harcayan ve harcamakta olan, hayatım boyunca benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan ve bu tezi yazabilecek noktaya gelme cesaretini kendimde bulmamı sağlayan aileme ve değerli arkadaşlarıma tüm içtenliğimle teşekkürler ederim.

Öğrenimim süresince burs vererek projemizi, 113z165 no'lu projeye maddi yönden destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) ve Ege Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 14 FEN 018 no'lu projeye maddi yönden destekleyen Ege Üniversitesi Araştırma Şube Müdürlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	ix
TEŞEKKÜR.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xviii
1. GİRİŞ	1
1.1 Kanser	1
1.2 Over Kanseri	3
1.2.1 Over (Yumurtalık) kanserinin nedenleri	5
1.2.2 Over kanserinin belirtileri	5
1.2.3 Over kanseri evreleri	6
1.2.4 Klasik tıpta over kanseri tedavi yöntemleri.....	6
1.3 Doksorubisin	9
1.3.1 Doksorubisin' in yan etkileri.....	10
1.4 Nanoteknoloji.....	11
1.5 Nanopartiküller	12
1.6 İlaç Taşıyıcı Sistemler Olarak Nanopartiküller.....	14
1.7 İlaç Taşınmasında Nanoteknoloji.....	16

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
1.8.1 Pasif hedeflendirme.....	19
1.8.2 Aktif hedeflendirme	20
1.9 IVIS Spektrum Cihazı	24
2.MATERYAL VE METOD	26
2.1. Materyal	26
2.2 Metod	26
2.2.1 Glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin sentezi.....	26
2.2.2 Glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin karboksimetilasyonu	27
2.2.3 Karboksimetillenmiş glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin hidrazinlenmesi..	27
2.2.4 Hidrazinlenmiş glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerine doksorubisin bağlanması	28
2.2.5 Doksorubisin bağlı G-MNP' lerin <i>in vivo</i> çalışmaları.....	28
3. SONUÇLAR VE YORUM	29
3.1 Glukoz Kaplı Manyetik Nanopartiküllerin Sentezi.....	29
3.2. Glukoz Kaplı Manyetik Nanopartiküllerin Karboksimetilasyonu	32
3.3 Karboksimetillenmiş Glukoz Kaplı Manyetik Nanopartiküllerin Hidrazinlenmesi.	34
3.4. Hidrazinlenmiş Glukoz Kaplı Manyetik Nanopartiküllerine Doksorubisin Bağlanması.....	35
3.5 Doksorubisin bağlı G-MNP' lerin <i>in vivo</i> çalışmaları.....	36
4. GENEL DEĞERLENDİRME.....	39
Kaynaklar Dizini.....	42

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Over kanserlerinin dünyadaki insidans oranları.....	4
1.2 Kanserli overin gösterimi.....	5
1.3 Doxorobusin' in yapısı.....	9
1.4 Doksorubisin-DNA kompleksi.....	10
1.5 Nanoteknolojinin kullanım alanları.....	12
1.6 Nanoküre ve nanokapsül şeklindeki nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin şematik görünümü... ..	13
1.7 Nanoteknoloji temelli bazı ilaç taşıyıcı sistemler	17
1.8 Çeşitli ligandlar takılarak aktif hedeflendirmede kullanılmak üzere tasarlanmış nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistem.....	20
1.9 Manyetik nanopartikül hazırlanması ve kullanım şekilleri.....	22
1.10 Folat-ilâç konjugatının reseptör aracılı endositoz ile hücre içine girişi.....	23
1.11 Işık Spekturum Cihazının Bölümleri.....	25
2.1 Glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin sentezi.....	26
3.1 G-MNP lerin sentez reaksiyonu.....	28
3.2 Glukoz' un FTIR analizi.....	29
3.3 G-MNP FTIR analizi.....	29
3.4 G-MNP'lerin SEM görüntüsü.....	30
3.5 G-MNP' lerin 2 saatlik karboksimetilasyonun FTIR analizi.....	32
3.6 G-MNP' lerin 4 saatlik karboksimetilasyonun FTIR analizi.....	32
3.7 G-MNP' lerin 6 saatlik karboksimetilasyonun FTIR analizi.....	33
3.8 G-MNP' lerin hidrazinlenmesinin FTIR analizi.....	34
3.9 Değişen konsantrasyonlarda ilâç ile yapılan reaksiyon sonucu bağlanan ilâç miktarı ve yüzdesi.....	35

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.10 DOX bağı G-MNP taşıyıcı sistemin manyetik hedefleme yapılarak IVIS spectrum cihazında <i>in vivo</i> görüntülenmesi.....	37
3.11 Serbest DOX' un IVIS spectrum cihazı kullanılarak sıçanda <i>in vivo</i> görüntülenmesi	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Yıllara ve cinsiyete göre toplam kanser insidansı.....	3
1.2 Yıllara göre kadınlarda en sık görülen 10 kanser türünün insidansı.....	3
1.3. İlaçların hedeflendirilme nedenleri	18

SİMGELER VE KISALTMALAR

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklamalar</u>
μm	Mikrometre
Nm	Nanometre
mL	Mililitre
g	Gram
$^{\circ}\text{C}$	Derece santigrat
T	Tesla
γ	Gama
rpm	Dakikadaki tur sayısı
Ppm	Milyonda bir madde miktarı
M	Molar
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
MRI	Manyetik rezonans görüntüleme
ATP	Adenozin trifosfat
SEM	Taramalı elektron mikroskopisi
TEM	Geçirimli elektron mikroskopisi
AFM	Atomik kuvvet mikroskopisi
GMNP	Glukoz kaplı manyetik nanopartikül
EPR	Artan geçirgenlik ve alıkonma etkisi
PI	İzoelektrik nokta

Kısaltmalar (devam)Açıklamalar (devam)

IR

Kızıl ötesi

FTIR

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi ve Raman Spektrometresi

S/Y

Su/yağ

İv

İntravenöz

FeCl₃

Demir (III) klorür

NaOH

Sodyum hidroksit

Na/K

Sodyum/potasyum

N₂

Azot

EDC

1-Etil-3-[3-dimetilaminopropil] karbodiimid

NHS

N-hidroksi-suksiniimid

1. GİRİŞ

Yapılan son dünya istatistiklerinde 2020 yılında kanser hastalarının sayısının on beş milyondan fazla olacağı belirtilmiştir. Günümüzde kanser tedavisinde kullanılan en sık metotlar kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi müdahale ile sınırlıdır. Kemoterapi uygulamasında kullanılan kanser ilacı tümör dokusuna düşük spesifite ile ulaşır ve doza bağımlı olarak toksik etki gösterir. Kemoterapide klasik ilaç uygulamaları oral ve intravenözdür. Tablet veya kapsüllerin oral alımı metabolik yollar nedeniyle düzensiz farmakokinetikle sonuçlanır. Bu nedenle verilmesi gereken dozdan daha yüksek miktarda uygulamak gerekir, bu durum da toksisitenin artmasına neden olur. İntravenöz uygulanan ilaçların da spesifikliğin düşük olması ve sağlıklı dokulara zarar vermesi nedeniyle problem yarattığı bilinmektedir. Kemoterapide karşılaşılan bir diğer problem ise ilaç direnç mekanizmasıdır. Tek bir ilaca karşı ortaya çıkan direnç mekanizması sonrasında hücreler bu ilaçla yapısal ve mekanik ilişkili olmayan diğer ilaçlara karşı çapraz direnç gösterebilir. Son yıllarda nanoteknolojide artan gelişmeler ile birlikte kanser tedavisine yönelik nano boyutlu ilaç taşıyıcı sistemlerinin tasarımı oldukça hızlanmıştır

Günümüzde kullanılan kanser terapi ajanlarına göre nanoteknolojinin karakteristik üstünlükleri şöyle sıralanabilir;

- Nanoteknoloji, atom gruplarını inşa ederek çok küçük fonksiyonel birimler üretebilmektedir.

- Nanopartiküller 100 nm'den daha küçük olabilirler ve DNA, proteinler ya da virüslere benzer boyutlarda dağılım gösterirler.

Nanopartiküller biyoteknoloji, nanoteknoloji ve bilgi teknolojileri platformu üzerine inşa edilmişlerdir.

1.1 Kanser

Kanser, büyüme kontrolü kaybedilmiş hücrelerin klonal çoğalmasüdür. Somatik kalıtsal rahatsızlıkların en sık rastlanılan ve en karmaşık olanıdır. Kanser, hastalık belirtisi, terapisi ve tanısal yaklaşımı birbirinden değişik olan bir hastalıklar topluluğudur (Futreal PA. et al.,2001).

Genetik bilgideki değişim, bir hücrenin normal fonksiyonlarını doğru şekilde yürütememesine sebep olur. Kanser hücrelerinin birincil karakteristiği hızlı bölünmeleri ve kanser hücrelerinin birikimiyle sonuçlanan tümör

oluşumudur. Tümör biyolojik davranışlarına göre iyi huylu tümör ve kötü huylu tümör şeklinde iki bölümde incelenirler:

İyi Huylu Tümörler

Bunlara benign tümörler adı da verilir. Bedenin herhangi bir yerinde oluşabilirler. Genellikle çevrelerinde ince bir çeper bulundurlar. Ancak çepersiz iyicil tümörleri de vardır. (Topuz E. ve Aydın A., 2000).

Kötü Huylu Tümörler

Bu tür tümör hücreleri kendine özgü nitelikler taşır. Bu hücreler kendi başlarına bölünerek çoğalmaya başlarlar. Yani kandaki özgül ve özekselle denetim gücünün etkisinden kurtulmuşlardır. Böylece kanser adı verilen olgu meydana gelir. (Topuz E. ve Aydın A., 2000).

Kanserin dört ana türü karsinoma, sarkoma, lösemi ve lenfomadır. İnsanlardaki kanserlerin yaklaşık % 90'ı iç organların, bezlerin ve boşlukların epitelinde veya deride ortaya çıkan karsinomadır. Karsinomaların görüldüğü organlar genellikle meme, kolorektal, akciğer, prostat ve deridir. Sarkomalar karsinomalardan daha az görülmektedir ve kıkırdak, kemik, kas ya da yağ doku gibi bağ dokularındaki hücrelerin başkalaşımı ile meydana gelir. Sarkomalar vücudun genellikle kol ya da bacaklardaki eklem bölgelerinde görülmektedirler. Lenfomalar ise vücudun immün sisteminde meydana gelen kanserlerdir. Kan ve dokular için filtre sistemi gören lenf nodülleri, lenf bezlerinde görülmektedir (Almedia and Barry, 2010).

Batıya doğru gidildikçe her üç insandan birinde kanser görülmekte ve bu insanlardan beşte biri hayatını kaybetmektedir (Fearnhead HO., 2004). Çizelge 1.1 de yıllara ve cinsiyete göre toplam kanser insidansı, Çizelge 1.2 de ise yıllara göre kadınlarda en sık görülen 10 kanser türünün insidansları verilmiştir.

Yıllar	Erkek	Kadın	Toplam
2004	236,3	142,9	189,6
2005	246,5	149,7	198,1
2006	256,4	158,1	207,3
2007	271,7	166,8	219,3
2008	280,5	172,0	226,3
2009*	304,5	182,3	243,4
2010*	330,4	193,2	261,8
2011*	358,4	204,7	281,6

Çizelge 1.1 Yıllara ve cinsiyete göre toplam kanser insidansı, (100.000'de, dünya standart nüfusu), türkiye halk sağlığı kurumu.

	2004	2005	2006	2007	2008	2009*	2010*	2011*
Meme	34,7	35,0	37,6	35,9	40,7	42,1	43,6	45,1
Tiroid	7,3	9,6	10,8	14,4	16,2	19,7	24,0	29,8
Kolorektal	11,3	11,1	12,5	12,3	13,2	13,9	14,6	15,3
Uterus Korpusu	7,6	7,1	8,4	8,7	8,6	9,5	10,4	11,4
Trakea, Akciğer ve Bronş	7,4	7,4	7,7	7,8	8,2	8,7	9,3	9,9
Non-Hodgkin Lenfoma	4,4	4,0	4,9	5,2	5,0	6,0	7,2	8,6
Mide	6,4	6,9	7,6	8,4	7,7	8,0	8,3	8,6
Over	5,8	5,6	5,9	6,5	6,9	7,1	7,3	7,5
Uterus Serviksi	4,5	4,4	4,8	4,3	4,1	4,9	5,9	7,1
Beyin, Diğer Sinir Sistemi	3,6	4,0	4,6	4,6	4,4	4,5	4,6	4,7

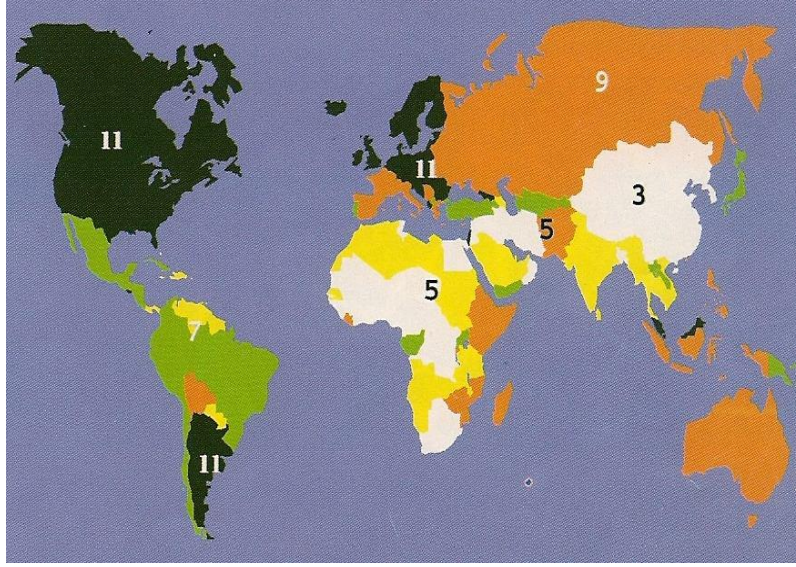
Çizelge 1.2 Yıllara göre kadınlarda en sık görülen 10 kanser türünün insidansı, (100.000'de, dünya standart nüfusu), türkiye halk sağlığı kurumu.

1.2 Over Kanseri

Over tümörleri kadınlarda sık görülen neoplazmlardır. Kadın genital sistem kanserlerinin %30'unu oluşturur. Güneydoğu Asya ve Afrika gibi az gelişmiş ülkelerde endometriyum ve serviks kanserlerinden sonra üçüncü sırada iken sosyoekonomik olarak gelişmiş ülkelerde (Amerika, Avrupa, Avustralya,

Yeni Zelanda vb.) daha yüksek oranda görülür. Şekil 1.1’ de over kanserinin dünyadaki insidans oranları % değerler şeklinde verilmiştir.

Birleşik devletleri’nde kadınlarda en sık görülen 6. kanserdir. Kadınlarda görülen kanserlerin %6’sını oluşturur. Kadın genital sistem kanserlerine bağlı ölümlerin ise yaklaşık yarısını oluşturur. Bu tümörlerin %20’si benign olup en sık 20-45 yaş arası genç kadınlarda görülürken malign tümörler 40-65 yaş arasındaki kadınlarda sıktır (Tavassoli, et al., 2003).



Şekil 1.1 Over kanserlerinin dünyadaki insidans oranları.
(Rakamlar % değerlerini göstermektedir.)

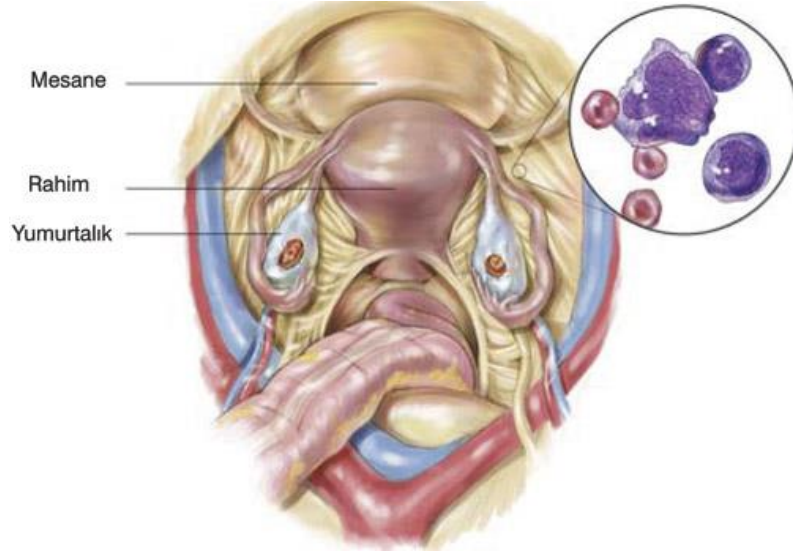
Over kanseri kadın yumurtalıklarında meydana gelmekte olup, yumurtalık kanseri olarak bilinmektedir. Yumurtalıklar kadınlarda çoğalma görevi ve hormon üretiminden sorumludur. Üretilen hormonlar progesteron ve östrojendir. Normal şartlarda vücudumuzdaki hücreler bölünerek çoğalmaktadırlar ve böylelikle ölen hücrelerin yerine yeni çoğalan hücreler gelerek görev yapması sağlanmış olur. Fakat bu normal hücreler kanser hücrelerine dönüşürse, bölünerek çoğalan hücreler kontrollerini kaybederek daha hızlı bir şekilde anormal biçimde çoğalırlar ki bu da tümör denilen, ur olarak bilinen kitlelerin oluşmasına yardımcı olur. Bu kitleler çevrelerinde bulunan diğer organlara fiziki baskı yaparak işleyişlerini bozabilecekleri gibi, ana tümör kitlesinden ayrılan parçaların vücudun farklı bölgelerine dağılmasıyla tıpta metastaz olarak bilinen yeni tümörlerin meydana gelmesini sağlayabilir (Kumar V. et al., 2005).

Over tümörleri “World Health Organization” (WHO) 2003 sınıflamasına göre; over yüzey epitelyal-stromal tümörleri, seks kord stromal tümörler, germ hücreli tümörler, germ hücreli ve seks kord-stromal tümörler, rete ovarii

tümörleri, lenfoid ve hematopoetik tümörler, tümör benzeri lezyonlar ve diğer tümörler ana başlıkları altında toplanır (Tavassoli F. A. et al., 2003).

1.2.1 Over (Yumurtalık) kanserinin nedenleri

Over kanseri için belirlenen az sayıda neden mevcuttur. Belirlenen en önemli nedenler arasında doğum yapmamış olma ve genetik faktörlerdir. Az sayıda gebelik yaşamış kadınlarda ya da hiç evlenmemiş kadınlarda kansere yakalanma riski yüksektir. Hamile kalmayı önleyici ilaçların uzun bir süre kullanılması kansere yakalanma riskini bir miktar düşürmektedir. Yani bu ilaçların kansere karşı bir koruyucu niteliği mevcuttur. Genç yaşta gebe kalmak kansere yakalanma riskini azaltmaktadır. Over kanserinin %10'a yakını genetik faktörler nedeniyle oluşmaktadır. Birinci derece akrabalarında over kanseri olan kadınlarda kanser hastalığına yakalanma riski oldukça yüksektir. Bunun dışında hormonların ve çevresel faktörlerin over kanserinin oluşmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Menopoz döneminden sonra kadınlık hormonu olan östrojenin tek başına verilmesi kansere yakalanma riskini yükseltmektedir. Bu nedenle bu dönemde östrojen ile birlikte progesteron hormonu da verilmektedir. Şekil 1.2' de verilen şekilde kanserli overin gösterimi verilmiştir.



Şekil 1.2 Kanserli overin gösterimi.

1.2.2 Over kanserinin belirtileri

Over kanseri tanısını amaçlayan henüz geliştirilen bir tarama testi bulunmamaktadır. Bu hastalık için erken tanı konulması çok zordur. Bunun nedeni, hastalığın belirtilerinin çok açık olmaması ve çoğu zaman başka hastalıklar ile karışmasıdır. Hastalığın belirtileri; pelviste veya karında ağrı veya rahatsızlık hissi, pelviste veya karında şişme veya dolgunluk hissi, sürekli

bulantı veya hazımsızlık, nedeni açıklanamayan ishal veya kabızlık, cinsel ilişki sırasında ağrı, anormal vajen kanaması, sürekli yorgunluk hissi ve sırt ağrısıdır.

1.2.3 Over kanseri evreleri

Evre I. Over kanseri tek yumurtalıkta veya her iki yumurtalıkta da görülebilir. Evre II. Over kanseri, rahim veya tüpler gibi leğen kemiğindeki diğer bölgelere de yayılmıştır. Evre III. Over kanseri, karın bölgesini çevreleyen peritona veya karındaki lenf düğümlerine yayılmıştır. Bu hastalığın teşhisi sırasında en yaygın tanı konulan evredir. Evre IV. Over kanseri, karın dışındaki organlara da yayılmıştır.

1.2.4 Klasik tıpta over kanseri tedavi yöntemleri

Klasik tıpta over kanserinde kullanılan başlıca mevcut yöntemler; cerrahi işlemler, radyoterapi ve kemoterapi olarak sıralanmaktadır. Yaygın olarak tercih edilen tedavi şekli; tümörün uzaklaştırılmasına neden olan cerrahi metodları içermektedir. Bu tedavi yöntemi, vücuda yayılmamış birçok kanser için tercih edilebilir terapi seçeneğidir. Şayet, kanser hastalığı ileri seviyede veya çevre dokulara yayılmış ise; cerrahi müdahale, radyoterapi ile kemoterapi beraber uygulanabilme imkanı sağlamaktadır.

1.2.4.1 Over kanserinde cerrahi müdahale

Over kanserinde, cerrahi işlem sonrasında kemoterapi ve ihtiyaç duyulduğunda uygulanan radyoterapide ile başarılı bir tedavi oluşmaktadır. Bu hastalığa yakalanan kadınların çoğu, cerrahi müdahale ve kemoterapi görürler. Cerrahi müdahale, belirlenen bir bölgelere yapılan tedavi karın boşluğunda bulunan tümörleri ortadan kaldırmak ve kanserin hangi evrede olduğu hakkında bilgi edinilerek ihtiyaç duyuluyorsa ilave tedavilere karar verilmesini sağlamaktır.

Kanser hücreleri, cerrahi işlem ile alınmış olsa da mikrometastaz olarak adlandırılan çok küçük boyutlardaki kanser hücrelerinin kalıntıları, yumurtalıktan vücudun diğer bölgelerine yayılabilir. Mikrometastazların oluşumu mevcut testler ile belirlenemeyebilir. Cerrahi işlem, lokal tedavidir ve mikrometastazları tamamiyle yok olmasını engelleyemez. Bu yüzden, kemoterapi kullanılarak ek sistemik tedavi uygulaması yapılır. Cerrahi işlem esnasında, kanserin hangi evrede olduğu belirlenerek kemoterapiyle ilave tedavinin ihtiyaç duyulup duyulmadığına karar verilir.(Kutluk T. vd., 1994)

1.2.4.2 Laparotomi

Over kanserinde tanı konulmasının ardından uygulanan ilk aşama, karnın cerrahi yöntemle açılması (laparotomi) ya da karnın incelenmesidir. Karnın orta noktasından aşağı noktaya doğru kesi atılarak açılır ve mümkün olduğu kadar çok kanser hücresi alınarak bölge temizlenir. Laparotominin amacı, kanserin hangi evrede olduğunu belirleyerek tanı koymak ve hastalığın ilerleyişine göre ilave tedavinin ihtiyaç duyulup duyulmadığını belirlemektir.

Laparotomi uygulandığı esnada tümörün çıkarılmasının dışında, rahim alınması dahil, yumurtalık ve fallop tüplerinin alınması, karın altındaki bağırsakları kaplayan yağ dokularının alınması ve karın bölgesinde görülen tüm tümör hücrelerinin alınması gerçekleşir. Eğer kanser yumurtalık ya da pelvisle sınırlı ise, biyopsi uygulaması için üst karın bölgesinden küçük bir doku numunesi alır. Buna eş zamanlı olarak karın sıvısı numunesi alınır ve kanserin yayılıp yayılmadığını belirlemek için lenf bezleri alınarak mikroskop altında incelenir.

Yayılabilen over kanserinde kanserin alınması karın bölgesindeki ağrıları giderir, bağırsak tıkanıklığını engeller. Over kanseri ameliyatlarında, yumurtalık ve rahim alındığı için hastanın tekrar çocuk sahibi olmasının imkanı yoktur. Kanser tek yumurtalıkta tespit edilirse unilateral salpingoofektomi ile kanserli yumurtalığın alınması mümkündür. Bu nedenle, hasta birey ilerde çocuk sahibi olabilir ve kanser tedavisine devam edebilir.

Laparotomi ardından, hasta birey karın çevresinde ağrı hissedebilir. Kanama, enfeksiyon, yavaş barsak hareketleri, idrar yapmada zorluk ameliyat sonrası görülebilen yan etkilerdir.

1.2.4.3 Over kanserinde radyoterapi tedavisi

Radyoterapi, bilindiği üzere yüksek enerji ışını yollayarak kanser hücrelerinin, büyüüp kontrolsüz çoğalmasını engellemek amacı ile yok etmeyi ya da hasar vermeyi amaçlar. Radyoterapi, cerrahi işlem gibi lokal uygulanan terapi şeklidir. Radyasyon bölgesinde bulunan tüm kanserli hücreleri ortadan kaldırır. Fakat, kanser vücudun diğer bölümlerine yayılma göstermiş ise, radyoterapi uygulanabilecek bir terapi metodu olmaz. Dış taraftan uygulanan radyoterapide, tümöre deri üzerinden doğrudan radyasyon gönderilir. İç taraftan uygulanan radyoterapide ise, küçük bir miktar radyoaktif materyalin kanser içine ya da yakınına gömülmesi ile yapılır.

Radyoterapi, bazı zamanlarda hastanın kemoterapi ilaçlarını kabul edemediği ya da yineleyen kanserin çok lokal olduğu saptandığında de uygulanır. Bazen de belirli bir süre için uygulanan tedavi şekli olarak kullanılır. Tümörü küçülterek bulguların azalması ya da ortadan kaldırılması sağlanır. Over kanserinde radyoterapi, karın bölgesine pelvis içinde büyümekte olan kanserli bölgeye ya da yayılım göstermiş olduğu bölgede ağrıyı ve baskıyı düşürmek amacı ile kullanılabilir.

1.2.4.3.1 Over kanserinde radyoterapi tedavisinde yan etkiler ve komplikasyonlar

Radyoterapinin potansiyel yan etkileri, terapi gören alanı etkilemektedir. Bir ya da birden fazla cerrahi işlem geçirmiş hastada, bağırsaklarda kabızlık bir komplikasyon olarak meydana gelebilmektedir. Bundan ayrı olarak ishal, mide krampı ya da çok sık idrar ve bağırsak hareketleri de radyoterapinin komplikasyonları olarak meydana gelebilmektedir. Bazı zamanlarda mide kramplarına bulantıda eklenerek ortaya çıkabilir. Bazen de, uyku düzeninde bozulmalar olur. Hasta, yorgunluk ve halsizlikten şikayet eder.

1.2.4.4 Over kanserinde adjuvan kemoterapi

Lenf bezlerine ulaşan ve ameliyat ile müdahale edilip alınamayan az miktarda kanser için hayatta kalma süresini uzatmak ve iyileşme şansını arttırmak için yayılan tümörleri temizleyecek etkili bir terapiye ihtiyaç duyulmaktadır. Cerrahi işlem ile belirli alana uygulanan tedavinin ardından görülen kanser terapisine adjuvan tedavi denir. Bu tedavi yöntemi, kemoterapi, radyoterapi ya da biyolojik terapiyi içermektedir.

Over kanserleri tedavi amacıyla uygulanan adjuvan kemoterapi, kanserin yineleme riskine karşı uygulanır. Cerrahi işlem ardından uygulanan kemoterapi, bir ya da daha fazla antikanser ilaçlarından oluşur. Kemoterapide kullanılan birçok farklı türde ilaç vardır. Over kanseri için kemoterapide platin içeren ilaçlar (sisplatin, karboplatin), doksorubisin, paklitaksel vb. ilaçlar sık olarak kullanılmaktadır.

1.2.4.4.1 Over kanserin kemoterapinin yan etkileri

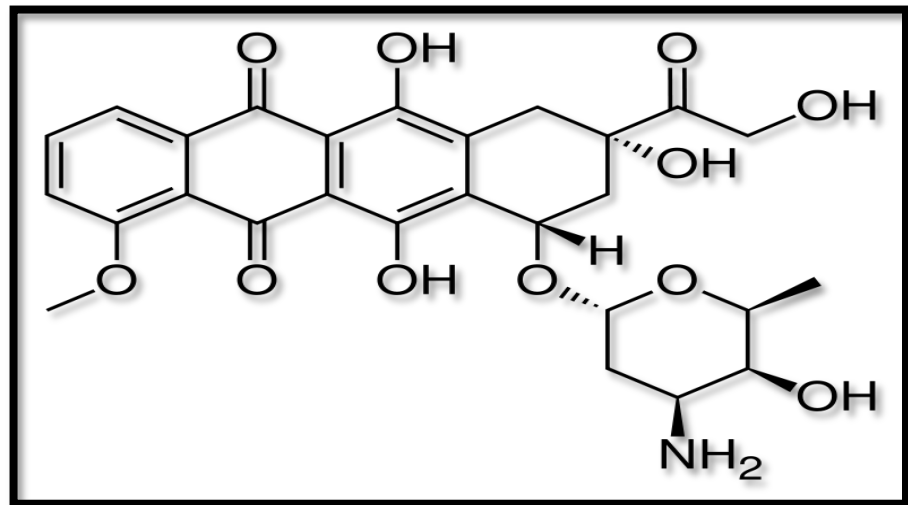
Kemoterapi uygulamasında farmakolojik olarak aktif kanser ilacı tümör dokusuna düşük spesifite ve doza bağımlı toksisitesi ile ulaşır. Kullanılan çoğu anti kanser ajan tümör hücreleriyle sağlıklı hücreleri birbirinden ayırt edemez, dolayısıyla sistemik toksik etkiye ve komplikasyonlara sebep olur. Bu durum

ilacın alınabilen maksimum dozunu sınırlar. Ayrıca hızlı bir şekilde bertaraf edilmesi ve oldukça geniş bir bölgeye yayılımı ilacın fazla dozlarda uygulanmasını gerektirir fakat bu durum çok yüksek maliyet gerektirmektedir ve istenmeyen komplikasyonlarında meydana gelmesine sebep olur.

Kemoterapi, kimyasal veya biyolojik materyallerin vücuda verilmesi ile yapılan bir kanser tedavi yöntemidir. Bu yöntemde hedef kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasına engel olmaktır. Bazı ajanlar kullanılarak kanserli hücrelerin DNA sentezi yapmasını ve mitoz bölünmesi durdurulur. Bunlar hem oral yollar ile hem de intravenöz yollar ile verilebilir. Kemoterapi ilaçları alyuvar, akyuvar, eritrosit ve trombositlerin kandaki miktarını azaltırlar. Hemen yorulma, güç kaybı, halsizlik, nefes alma zorluğu, göğüs ağrısı, göz kararması gibi bulgular görülebilir. Bulantı ve kusma, saç kaybı, boğaz ağrısı, ishal, kabızlık, deri üzerinde etkiler gözlemlenir.(Onat T. vd., 2002)

1.3 Doksorubisin

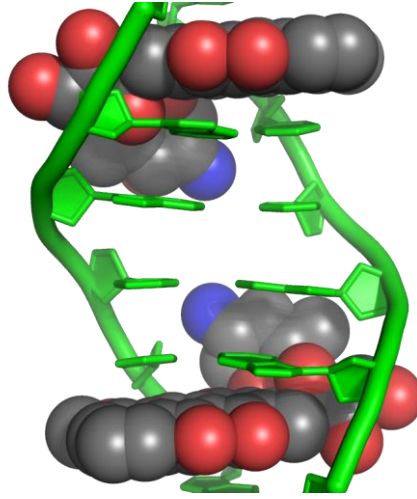
Doksorubisin 1950 yılında Farmitalia isimli bir İtalyan araştırmacının sahip olduğu şirketin toprak mikroplarından elde edilen antikanser bileşikler bulma yoluyla keşfedilmiştir. (Weiss, Raymond B., 1992) Son yıllarda, doksorubisin kanser kemoterapisinde yaygın olarak tercih edilen bir ilaçtır. Antrasiklin türevi antibiyotik olan doksorubisin naturel bir materyal olan daunomisinle yakından bağlantılıdır ve tüm diğer antrasiklinler gibi DNA iç bölgesine enterkalasyon yapar. Farklı kanserlerin terapisinde kullanılmaktadır. Bunlar arasında kan kanserler, farklı karsinoma tipleri ve yumuşak doku sarkomaları söylenebilmektedir. Şekil 1.3 te doksorubisinin kimyasal yapısı verilmiştir.



Şekil 1. 3 Doksorubisin' in kimyasal yapısı

Doksorubisin' in tam etki mekanizması kompleks ve halen tamamen aydınlatılmamış olmakla birlikte enterkalasyon yoluyla DNA ile etkileştiği varsayılmaktadır (Fornari F. et al., 1994). Bunun yanı sıra, transkripsiyon esnasında DNA' nın açılmasıyla görevli Topoizomeraz II enziminin ilerlemesi engellenir. Doksorubisin DNA replikasyonu esnasında topoizomerazın DNA' yı kesmesinden sonra meydana gelen topoizomeraz-DNA kompleksini stabilize ederek DNA ikili sarmalının tekrar birleşmesine engel olur ve bu durumda DNA replikasyonu durdurur.

Doksorubisin bazı lösemileri, Hodgkin lenfoma, yumuşak doku sarkoması, multipl miyelom ayrıca mesane, göğüs, mide, akciğer, over, tiroit ve diğer kanselleri tedavi etmek için kullanılır.



Şekil 1.4 Doksorubisin-DNA kompleksi.

Şekil 1.4 görüldüğü üzere, molekülün düzlemsel kromofor kısmı DNA'daki iki baz çifti arasında enterkale olur, onun altı-üyeli daunosamin şekeri DNA'nın küçük oyuğuna yerleşir ve enterkalasyon yerinin iki tarafındaki baz çiftleri ile etkileşir (Fornari F. et al., 1994).

1.3.1 Doksorubisin' in yan etkileri

Doksorubisin kullanımından sonra sıklıkla ortaya çıkan miyelosupresyon doz kısıtlamasını gerektiren yan etkilerden biridir ve kısmen ağır seyredir. Miyelosupresyon, özellikle lökopeni ile karakterizedir. Miyelosupresyon genel olarak doksorubisin uygulamasından 10-14 gün sonra en yüksek düzeyine ulaşır ve 21. ve 28. günler arasında geriler. Eş zamanlı olarak doksorubisin ve DNA-değiştirici sitostatikler ile tedavi edilen hastalarda, sekonder lösemi gelişimi gözlenmektedir.

Dokсорubisin kardiyotoksik özellik taşıır. Kardiyotoksik yan etkilerin ortaya çıkma riski, mediastinal bölgede radyoterapiden sonra ve radyoterapi sırasında, kardiyotoksik ajanlarla (örn. siklofosamid) önceden uygulanmış tedavi durumlarında, yaşlı hastalarda (60 yaş üzeri) ve belirgin arteriyel hipertansiyon olgularında artar.

Dokсорubisinin emetöjen özelliği kuvvetlidir; hastaların yaklaşık %80'inde tedavinin ilk gününde, göreceli olarak şiddetli bir bulantı ve kusma ortaya çıkar. Ek olarak iştah kaybı ve ağız, farenks, özofagus ve intestinal kanalda mukoza ülserasyonları ve diyare ortaya çıkmaktadır. Bunlar eğer şiddetli olursa, infeksiyonların gelişmesine yol açmaktadır. Kol ve tırnaklarda hiperpigmentasyon, deride eritem ve vesiküler reaksiyonlar görölmektedir. Damar dışı enjeksiyonlar her zaman için ağır doku nekrozlarına yol açar.

Tümör hücrelerinde masif dekompozisyona bağlı olarak hiperürisemi ve sonucunda ürik asit nefropatisi gelişmektedir. Bu durum özellikle gut olan hastalarda dikkate alınmalıdır. Germ hücreleri oluşumunda geri dönüşümsüz bozukluklar görölmektedir. Dokсорubisin mutajenik ve teratojenik potansiyele sahiptir.

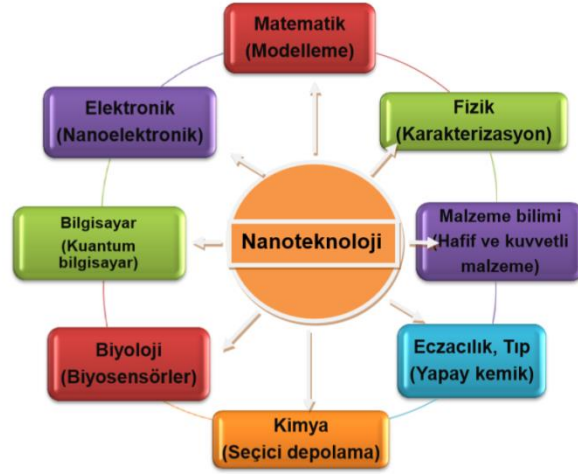
1.4 Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, metrenin milyarda biri ölçeğine sahip olan nanometre olarak nitelendirilen farklı materyal yapılarını konu alan bir disiplindir (Brigger, I. Et al. 2002). Nano teknoloji, nanometre ölçeğindeki ürünlerin ve cihazların yapılabilmesini, üretimini ve fonksiyonel olarak kullanımını içermektedir. Uygulama alanlarına göre nanoteknolojinin kapsamı iki konu ile bağdaştırılabilir:

a) Kolay tekrarlanabilirlik: Nanoteknolojinin önemli bir diğer özelliği ürünlerin elde edilmesinin maliyeti düşürmesidir. Düşük maliyetli ürün elde edilebilmesi amacı ile nanoteknoloji yönteminin kolay tasarlanması ve tekrarlanır olmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Atomik özelliğe sahip ürünler verimlilik, hız, sertlik ve dayanıklılıkta yüksek değerlere sahipken düşük maliyetli ve yüksek kalitededir (Singh, K., 2005).

b) Moleküler denetleme: ürün ve yan ürünlerin pozisyonel seviyede kontrol temeline dayanır. Sanayi veya natürel ürünlerin özellikleri atomların nasıl düzenlendiklerine ile ilgilidir. Makroskobik sentez yöntemleri ise pozisyonel seviyedeki çalışmalarda yetersiz kalmaktadır. Moleküler nanoteknoloji, moleküler kimya ve fizik ile mekaniksel tasarım, bilgisayar bilimi, yapısal analiz, sistem mühendisliği ve elektrik mühendisliğinin mühendislik temellerini oluşturan, yeni gelişen disiplinler arası bir alandır.

Pozisyonel üretim, istenilen ürünlerin eldesi için atomların düzenlenmesini hedefleyen bir yöntemdir. (Caruthers, S.D.,2007)



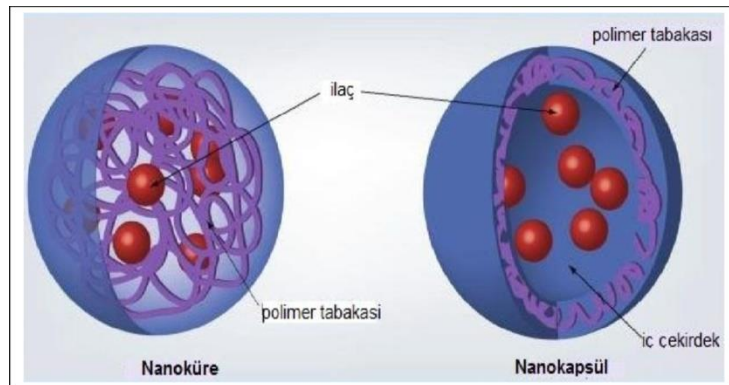
Şekil 1.5 Nanoteknolojinin kullanım alanları (Parveen, S. and S.K. Sahoo., 2006).

Şekil 1.5 te de olduğu gibi, tıp ve malzeme alanında nanoteknoloji çalışmaları hız kazanmıştır. Buna bağlı olarak geliştirilecek ürünlerin bu alanlarda olması düşünülmektedir (Bayindir, et al., 2007).

1.5 Nanopartiküller

Günümüzde nanoteknolojiye fazla ilgi olmasının sebebi, nano boyuttaki ürünlerin fiziksel özelliklerinde farklılıklara sahip olmasıdır. Yapı boyutu nanometre boyutuna yaklaştıkça ürün metal ise daha kuvvetli, seramik ise daha kolay işlenebilir özelliğe sahip olmaktadır. Bunun dışında normalde yalıtkan özelliğe sahip ürünlerin, nanometre boyutuna yaklaştıkça ısı veya elektriği iletebildiği ve koruyucu kaplama olarak kullanılabilecek formlara dönüştüğü görülmüştür. Bir kısım değişimler, parçacık ve yüzeye bağlı gözlenen farklılıklardır. Görülen bu değişimlere bağlı olarak; bilimsel ve teknolojik uygulama olanakları; elektronik, manyetik nano yapılar, elektronik, ferroakışkanlar, biyomedikal malzemelerde ve katalizörler v.b. alanlarda bulmuştur. Nanometre (nm) boyutu 100 nm altına düşürülen nano partiküller, hacimsel yapıları malzemelerden çok farklı ve üstün olarak kabul edilen özellikler göstermektedir. Bu üstün özellikler sayesinde elektrik-elektronik, biyomedikal, ve kimya sektörleri gibi birçok endüstriyel alanda kullanım imkanı sağlanmaktadır. Nanoyapılara örnek olarak Şekil 1.5 da nanoküre ve nanokapsüllerin ilaç taşıyıcı sistemleri verilmiştir.

Nanopartiküllerin fizikokimyasal ve morfolojik özellikleri kullanılan başlangıç ürünlerinin karakteristiğinden etkilendiği için değişik üretim metodlarının geliştirildiği gözlemlenmektedir. Nanoyapılı demir partikülleri hacimsel yapılarından farklı, beklenmeyen olağandışı fiziksel ve kimyasal özellikler sergilemektedir. Partikül boyutu, şekil/yüzey morfolojisi ve aglomerasyonlarının kontrolü nano yapıları partiküllerin özelliklerini yakından etkilemektedir. Demir partikülleri sahip oldukları üstün manyetik özellikleri sayesinde manyetik veri depolama cihazlarında, manyetik akışkanlarda ve biomedikal uygulamalarda ilaç taşıyıcı olarak, kanser tedavilerinde ve manyetik görüntüleme cihazlarında kullanılmaktadır. Ayrıca demir partiküllerinin kimyasal özellikleri karbon nano tüplerin sentezlenmesi gibi kimyasal reaksiyonlarda katalizör olarak bu tür tozların kullanılmalarını mümkün kılmaktadır. Fe_3O_4 nano yapıları demirin oksitlenerek pasifleşmesi (yüzey reaktivitesinin azalması) sonucu meydana gelen bir yapıdır. Demir sahip olduğu yüksek doyum mıknatıslanma değerine sahip olduğu için teknolojik pek çok alanda vazgeçilmez bir yapıdır. Demir nano parçacıkları özellikle, karbon-karbon bağlarının meydana gelmesinde ve parçalanmasında etkin bir rol almaktadır. Fakat nano boyutta demirin teknolojik uygulamasında karşılaşılan en önemli dezavantajı sahip olduğu yüksek reaktivitesidir. Su veya hava ortamında bulunduğu zaman çok hızlı bir şekilde oksitlenerek, sahip olduğu ferromanyetik karakteristiği kaybedip antiferromanyetik yapıya dönüşmektedir. Bu da, yüksek oranda oksijen içeren veya sulu ortamlarda demirin kullanılmasını engelleyici bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Literatürlerde bu sebeple, demirin yüzey reaktivitesinin azaltılıp, kullanılan sistem içerisinde kararlı olarak uzun süreler kalabilmesi için çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların en önemlileri, farklı element matrisleri içerisinde tutulup polimer ile kaplanarak veya istenilen şekilde oksitlendirilerek yapının antiferromanyetik yapıya dönüşmeyip, net bir mıknatıslanma değeri olan kararlı ferrimanyetik yapıya dönüşmesi veya ferromanyetik halde tutma ile oluşan çalışmalarıdır. Bu şekilde, demirin teknolojik uygulamalarda kararlı bir şekilde uzun süreler pasifleşerek kullanılması sağlanmaktadır (Park, K., et al 2010).



Şekil 1.6 Nanoküre ve nanokapsül şeklindeki nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemlerin şematik görünümü (Park, K., et al 2010).

1.6 İlaç Taşıyıcı Sistemler Olarak Nanopartiküller

Kontrollü ilaç taşıma teknolojisi, insan sağlığına katkısı olan, multidisipliner bilimsel yaklaşımı da içeren bilimin sınır alanlarından biridir. İlaç hedefleme ve kontrollü ilaç salımı, ilaçların terapötik indeksini spesifik organ, doku veya hücrelerde lokalizasyonunu arttırmak ve normal sağlıklı bölgelerdeki potansiyel toksik yan etkileri azaltmak yoluyla geliştirmeye yönelik bir yaklaşım şeklidir. Bilindiği gibi kanser terapisi alanında, kemoterapötik ajanlar tümör hücrelerine toksik etki gösterdikleri gibi normal hücrelere de toksik yan etki gösterirler. Bu tedavi edici ajanların hastalıklı bölgeye kontrollü taşınımı terapötik etkiyi artırmak amacıyla dozlarının artırılmasının önüne geçebilir. Kontrollü ilaç taşınımı, ilacın taşıyıcı sistemle etkileşmesini dolayısıyla ilacın biyodağılımını ve farmakokinetik özelliklerinin modülasyonunu kapsamaktadır. Nanopartiküller, polimerik miseller, yüzeyi modifiye edilmiş nanopartiküller ve katı lipid nanopartiküller gibi farklı nano boyutlu taşıyıcılar geliştirilmiştir ve kontrollü ilaç taşınımına yönelik olarak önerilmişlerdir. Lipozomlar ilaçları degradasyondan korumak, etki göstereceği bölgeye hedeflendirilmesi ve toksisite ya da yan etkilerin azaltılması gibi önemli avantajlarından dolayı potansiyel bir taşıyıcı olarak kullanılmasına rağmen, uygulamalarında yapısı nedeniyle düşük enkapsülasyon verimi, kan bileşenleri varlığında suda çözünebilen ilacı hızla sızdırması ve düşük depolanma stabilitesi gibi bazı problemlere sahiptir. Diğer yandan, nanopartiküllerin lipozomal taşıma sistemlerine kıyasla depolama boyunca yüksek stabilite göstermesi, in vivo uygulamadan sonra stabilitesini koruması ve üretiminin büyük çapta gerçekleştirilebilir olması gibi avantajlara sahiptir.

Kontrollü ilaç taşıyıcı sistemler serbestleştirme mekanizmalarına veya uygulama yollarına göre sınıflandırılabilirler.

Serbestleştirme mekanizmalarına göre kontrollü ilaç taşıma ve salım sistemleri;

1. Difüzyon kontrollü sistemler

- Membran sistemler
- Matriks sistemler

2. Kimyasal kontrollü sistemler

- Vücutta aşınan sistemler
- Zincire takılı sistemler

3. Çözücünün harekete geçirdiği sistemler

- Şişme kontrollü sistemler
- Ozmotik kontrollü sistemler

4. Diğer sistemler

- Manyetik kontrollü sistemler
- Ultrasonik sistemler
- Ortama duyarlı sistemler

Uygulama yollarına göre kontrollü ilaç taşıma ve salım sistemleri;

1. Mikrokapsüller ve mikroküreler

2. Nanopartiküller

3. Lipozomlar

4. İmplantlar

5. Biyoadeziv sistemler (mukozaya yapışan sistemler)

6. Oküler sistemler

7. Transdermal sistemler

8. Nazal sistemler

9. Bukkal sistemler

10. İntrauterin sistemler

11. İntravajinal aygıtlar

olarak sınıflandırılabilir.

İlaç taşıma sistemlerinin geliştirilme aşamasında genellikle uygulanan bölgeden uzakta bulunan hedef bölgeye ulaşması, ilacın salınımı için yeterli sürede hedef bölgede kalması, tercihen zaman kontrollü salım yapması, ilacın zararlı yan etkilerini sınırlandırması ve biyouyumlu olması gibi bazı parametrelerin optimizasyonuna ihtiyaç duyar. İlaç taşınımında kullanılan polimerik partiküller, katı polimerlerden yapılan koloidal sistemler olarak tanımlanmaktadır. İntravenöz (iv) formülasyonlara duyulan ihtiyaç ve dış ortamla olan yüzey etkileşiminin artırılmasıyla salım kinetiklerinin kontrol edilmesi nanopartiküllerin geliştirilmesini teşvik etmiştir (Wang et al., 2008).

1.7 İlaç Taşınmasında Nanoteknoloji

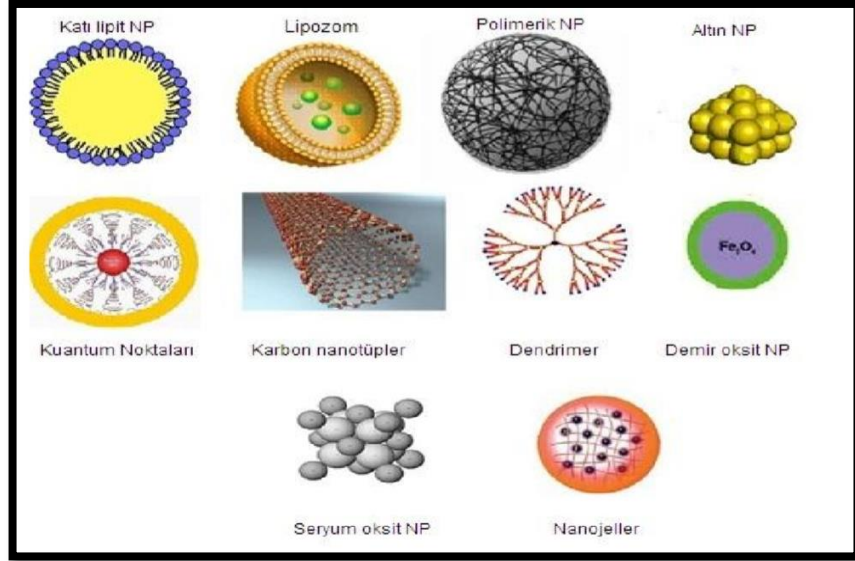
Yeni ilaç transfer sistemleri, sanayi için ilaç pazarında önemli bir opsiyon meydana getirmektedir. Bunun yanı sıra, piyasada mevcut ilaçların ürün ömrünün uzatılması, etkinliğinin artırılması ya da ürünün etkinliğinin iyileştirilmesi gibi konular endüstrinin üzerinde yoğun çalıştığı alanlar olup, nanoteknoloji, bu alanlardaki pek çok avantaja sahip olması nedeniyle ilaç endüstrisi tarafından yaygın tercih edilmektedir (Beck-Broichsitter, M., et al., 2010) .

Önümüzdeki yıllarda, yeni ilaç transfer sistemlerinin küresel ilaç satışında büyük bir artış meydana getireceği düşünülmektedir. Son zamanlarda küresel ilaç sanayisinde yeni ilaç transfer sistemlerinin çoğu ilaç firmalarının faaliyet alanına girmiştir. Buna ek olarak, ilaç sanayisi aktivite temelli aynı zamanda daha fazla etkili ilaç transfer sistemlerinin hazırlanması kapsamında uygulamalar gerçekleştirilmektedir (Brigger, et al., 2002; Cao, et al., 2010; Sahoo, et al., 2003).

Yeni ilaç transfer proseslerinin yapılmasında nanoteknoloji özelliklerinden etkin bir şekilde yararlanılmaktadır. Nanoteknoloji kökenli ilaç transfer sistemlerinin standart terapi metodlarına kıyasla üstünlükleri; düşük toksik etki, yüksek biyoyararlanma, daha az tedavi maliyeti ve hasta bireyin tedaviye uyumunun daha fazla olması şeklinde söylenebilir. Nanoteknoloji esaslı ilaç transfer proseslerinden tedavi amacıyla olduğu gibi teşhis alanında da yararlanılmaktadır. Bunun yanı sıra, gen terapisinde de bu sistemlerden yararlanılabileceği düşünülmektedir.

Nanoteknoloji kökenli ilaç transfer proseslerden birçoğu lipozomlar, kuantum noktalar, karbon nanotüpler, miseller, dendrimerler, polimerik veziküller, nanokapsüller ve nanopartiküller olarak belirtilmektedir (Vicent, et al., 2006; Lee, et al., 2005). Şekil 1.7 de bu yapıların şekilleri verilmiştir.

Lipozomlar hücre zarına benzeyen yapıda, çift tabakalı lipid yapıdan meydana gelen ilaç transfer proseslerdir. Kanser hastalığı tedavisi alanında en başta ve en çok çalışma yapılan sistemlerden olan lipozomlar PEGilasyon prosesinden sonra "gizli" formatta yapılabilecekleri gibi, aynı zamanda antikör konjugasyonu şeklinde hedeflendirme amacıyla da uygulanabilirler (Mozafari, et al., 2008,2010; Allen,1998).



Şekil 1.7 Nanoteknoloji temelli bazı ilaç taşıyıcı sistemler (Bharali, D.J., et al., 2009).

Miseller kendi kendine meydana gelen blok ko-polimerlerdir. Sulu çözelti içerisinde dış tarafta hidrofilik tabaka, iç tarafta hidrofobik çekirdek bulunacak şbiçimde yapılanırlar (Mozafari, et al., 2007).

Dendrimer kelimesi olarak Yunan'cada ağaç benzeri anlamında olan “dendra” kelimesinden meydana gelmektedir. Temeli düşünüldüğünde dendrimerler ağaç dallanması benzer yapıda bulunan küresel makromoleküllerdir. Yapıyı meydana getiren tekrar eden üniteler jenerasyon ismiyle tanımlanmakta olup G1, G2, vs. olarak ifade edilmektedir. Boyut bakımından genel olarak 1-10 nm aralığında bulunan dendrimerlerde dallanım seviyesi yükseldikçe değişik çözücülerde çözünürlükleri farklılaşmakta ve artış göstermektedir (Bharali, et al., 2009; Mozafari, et al., 2007; Jang, 2009).

Kanser hastalığının belirlenmesinde ve tedavi edilmesinde uygulanabilecek bir diğer ilaç transfer sistemide karbon nanotüplerdir. Çapı DNA moleküllerinin yarısı kadar olan karbon nanotüpler özel olarak kanser mutasyonlarını belirleme çalışmalarında kullanılmak üzere tasarlanmaktadır. Fonksiyonel karbon nanotüpler hücrelere toksik etki göstermez ayrıca kanser hastalığında tedavi amaçlı ilaç, protein veya siRNA benzeri biyomolekülleri hücrelere ve endositoz yöntemiyle de hücre içine iletebilirler (Alexis, et al., 2008).

Nanokabuklar (NK), kanser hastalığı belirlenmesi ve ayrıca hastalığa yönelik tedavi amacıyla oluşturulmuş nano sistemlerdir. NK, merkez bölgesinde silisyum çekirdeğe sahip ve üst yapısı altın tabakayla kaplı bir şekilde olan küreciklerdir. Mevcut altın tabaka kalınlığı farklılaştırılarak hedeflenen dalga boylarındaki ışığın emilmesi mümkün kılınabilir. Uygun dalga boyunda olan

yakın kızılötesi (NIR) ışığın etkisi altında kalan NK, içerisinde mevcut olduğu hücreyi öldürücü etki edebilecek, ancak çevredeki sağlıklı hücrelere olumsuz etkide bulunmayarak hasar vermeyecek derecede ısı yayar. NK yüzey bölgesine ilgisi bulunan antikör veya antikanser etkili ilaçlar konularak kanserli hücrelere yönlendirilebilir (Singh, 2005; Dolan, 2011).

Kuantum noktalar (KN) kadmiyum selenid, kadmiyum telurid ve indiyum fosfit benzeri yarı iletkenlerden oluşan, 2-10 nm çapında olan nanokristallerdir. Hastalığa tanı koyma, hastalığın tedavisi ve görüntülenmesinde floresan problemleri şeklinde kullanım gösterirler ve organik floresan proteinlerine kıyasla benzersiz optik ve de elektrik özelliklere sahiptirler (Dolan, 2011; Yi, et al., 2005; Biju, et al., 2008; Juzenas, et al., 2008).

1.8 İlaç Hedeflendirmesinde Nanoteknoloji

İlaçların hedeflendirilmesinde amaç, geleneksel tedavi yöntemlerinde görülen olumsuz faktörleri ortadan kaldırma veya minimum seviyeye düşürmek, hücresel seviyelere ulaşmayı yükseltmektir. Bunun yanında ilaçların, dolaşım sisteminde veya farklı biyolojik sıvılarda mevcut olan konsantrasyonun ve salımının kinetik özelliklerinin optimizasyonunu sağlamak, ilaçların farmakokinetik-farmakodinamik özelliklerinde değişiklik meydana getirmek, düşük veya yüksek miktarda uygulanan dozajlarda etkili ve güvenilir tedavi imkanı sağlamak, toksik etki ve immünojenik faktörleri yok etmek veya minimum seviyeye düşürmek, ilaçların kararlılığını artırmak ve vücudun farklı bölgelerinde herhangi bir şekilde zararlı etkileşime sebebiyet vermeden hedeflenen bölge kapsamında elde edilmesi amaçlanan seviyeye sahip farmakolojik cevap sağlayabilmektir (Douglas, et al., 1987; Hitzman, et al., 2006).

Farmasötik	Dayanaksız olması Çözünürlük sorunu olması
Biyofarmasötik	Absorpsiyonun düşük olması Membrana fazla bağlanması
Farmakokinetik	Yarılanma ömrünün kısa olması
Farmakodinamik	Dağılım hacminin büyük olması
Klinik	Terapötik indeksin düşük olması Anatomik/hücresel engellerin bulunması
Ticari	İlacın hasta ve hekime yeni şekilde Sunulması

Çizelge 1.3 İlaçların hedeflendirilme nedenleri (Moghimi, et al. , 2001).

Hedeflendirme çalışmalarında "Sihirli formül" kavram olarak 1981 senesinde Paul Ehrlich vasıtasıyla ilaç hedeflendirme düşüncesinin tanımı ortaya çıkmıştır (Bosch and Rosich 2008).

İlaçların hedeflendirmesinde amaç uygun ve doğru sürede, doğru ve uygun konsantrasyonda ve aynı şekilde doğru hedefe ilacın iletilmesidir. Aktifliğin ifade edilmesine yardımcı olan kimyasal bileşim, moleküler yapı ve boyut, hidrofilitate ve de proteine bağlama gibi ilaç molekülünün sahip olduğu spesifik nitelikler oldukça kompleks sistemlerdir. İlaçları hedeflendirmek amacıyla uygulanan metodlar içerisinde; ilaçların endojen bileşiklerle beraber kimyasal modifikasyonu sağlanarak konjugatların oluşturulması, hedef ile büyük değerde etkileşim gösterecek özellikte olan natürel veya yapay hedeflendirme amaçlı kullanılan moleküllerin direk ilaç yapısına ya da nanopartiküler taşıyıcı yapısına kovalent bağ yapması olarak sıralanabilir (Mao et al., 2005; Seyfoddin et al., 2010). İlaç hedeflendirme sistemlerinin önem gösteren diğer bir sebebi de geleneksel, biyoteknoloji ve gen kökenli ilaçların veya teşhis materyallerinin vücudun spesifik bölgesine seçici bir şekilde iletilebilmesidir (El-Sherbiny et al., 2010; Kumari et al., 2010; Rao et al., 2010; Hans and Lowman, 2002). İlaç hedeflendirmenin diğer nedenleri çizelge 1.3 te verilmiştir.

Bütün terapötik özellik gösteren sınıflar için nanoteknoloji esaslı aktif ilaç transfer sistemlerinin araştırılıp geliştirilmesine yönelik ihtiyaçlar bulunmakta ve bununla birlikte solunum, merkezi sinir sistemi, kalp, damar ve kan dolaşımı sistemi ile ilişkili hastalıklarda transfer sistemlerinin araştırılıp geliştirilmesi finansi, teşhis ve tedavi açısından yüksek düzeyde önem göstermektedir. Buna yanı sıra, geleneksel uygulama metodlarına kıyasla ilaç taşıma sistemlerinin daha fazla güvenilir ve daha iyi sonuçlar göstermesinden ötürü, antikanser ilaçlar, hormonlar ve aşılarda düşünülürken bu etken maddeler için hızlı bir şekilde gelişim meydana getirmeleri beklenilmektedir (Panyam and Labhasetwar, 2003; Kumari, et al., 2010; Lamprechth, et al., 2001).

İlaç taşınım uygulama sistemlerinde nanoteknoloji, bütün bakımından ilaçlar için uygun özellik göstermeyebilir. Özellikle aktifliği az, yüksek dozdaki maddeler ilaç transfer sisteminin boyutunda artışa sebep olur ve bu etkide uygulama prosesini zorlaştırıcı etki eder. (Cheng et al., 2007; Han et al., 2007; Bhirde et al.; 2009; Namdeo et al., 2008; Yallapu et al., 2010). İlaçları hedeflendirmede uygulanan sistemlerden bir kısmı aşağıdaki şekilde belirtilebilir (Bhirde, A.A., et al., 2009).

1.8.1 Pasif hedeflendirme

İlaç transfer proseslerin ya da ilacın biyofizikokimyasal ve farmakolojik etkenlere bağlı olarak belirli bir alanda birikmesine pasif hedeflendirme denir.

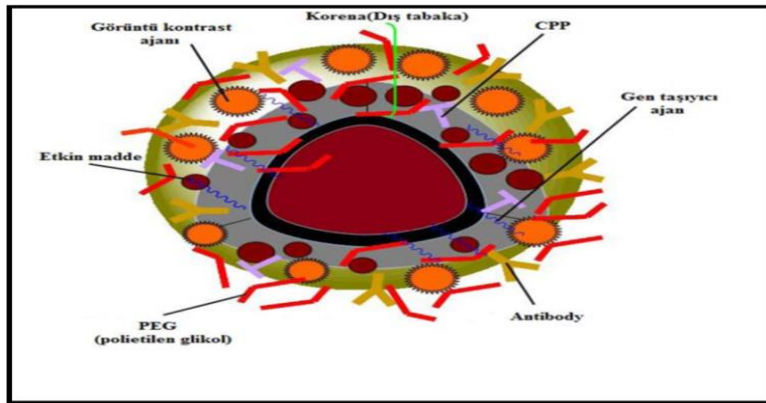
Pasif hedeflendirme yöntemi ilaç ve ilaç transfer sistemlerin patofizyolojik ve anatomik imkanlarından yararlanılarak yapılır.

Pasif hedefleme, belirli ölçüdeki nanopartiküller ve tümörlerin büyümesi ile ilgili bilgiler, geçirgenlik özelliklerinde artış ve tutulum etkisiyle tümör mikroçevresindeki özellikleri esas alınarak uygulanır.

1.8.2 Aktif hedeflendirme

Pasif hedeflendirmenin sınırlayıcı özelliklere sahip olması, ilaç transfer sistemleri alanında aktif hedeflendirmeye eğilimin daha fazla olmasını sağlamıştır. İlaç taşıyıcı sistemin hedef hücreler arasındaki etkileşimleri, spesifik dokulara ya da organlara yönlendirilebilir olması aktif hedeflendirmenin temelini oluşturur. Taşıyıcı sisteme ligand bağlanması kullanılan ilaçların hedeflenen bölgeye taşınmasındaki yöntemlerden biri olarak düşünülmektedir. Bir çok ligand, yalnızca bir antijenik determinanta karşı reaksiyon gösteren antikolar ve peptidleri ihtiva etmektedir. (Yong, et al., 2009). İdeal ligandın tercih edilebilmesi için tercih edilecek ligandın hedeflendirilmesi düşünülen hücrelerdeki seçiliği, kararlılığı, uygulanabilirliği ve spesifikliğı gibi özelliklere dikkat edilmesi gerekmektedir (Bhirde, et al., 2009; Namde, et al., 2008; Yallapu et al., 2010; Yong, et al. 2009; Cheng, et al., 2005). Şekil 1.8’ de farklı ligandlar kullanılarak aktif hedeflendirmede kullanılmak üzere tasarlanmış nanopartikülere bir örnek verilmiştir.

Bu nedenle ilaç hedeflendirmesi, mevcut olan farklı reseptörlerin ve bölgelerin, hücre zarında bulunan antijen - proteinler ve lipid bileşenleri yardımıyla meydana gelmektedir. Reseptörlerden bazıları ve yüzey antijenleri sağlıklı hücrelere kıyasla sağlıklı hücrelerin yüzeyinde daha fazla miktarda mevcuttur. (Emerich and Thanos, 2007; Swain, et al., 2007).



Şekil 1.8 Çeşitli ligandlar takılarak aktif hedeflendirmede kullanılmak üzere tasarlanmış nanopartikül ilaç taşıyıcı sistem (Yong, et al., 2009).

Aktif hedeflendirme manyetik özellikli, ultrasonik özellikli ve ligand-reseptör aracılı olarak üç ana başlık altında incelenebilir.

1.8.2.1 Manyetik hedeflendirme

Manyetik hedeflendirme, tedavi edilmek üzere elde edilen manyetik partiküllerin seçilen alana gönderim işlemi tamamlandıktan sonra dışarıdan manyetik alan uygulanarak partiküllerin hedeflendirilmesi ve ayrıca manyetik alan etkisiyle ilacın transfer prosesinde dağılımının denetlenmesini esas alan hedeflendirme metottur (Namdeo, et al., 2008; Zhang, J. and R.D. Misra, 2007).

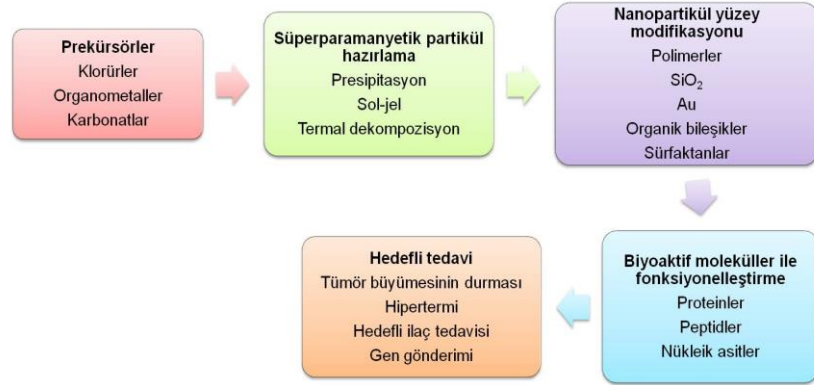
Kanser tedavisinde kemoterapötik yaklaşımların ana dezavantajı çoğunun non-spesifik olmasıdır. Genellikle sitotoksik terapötik ilaçlar sistemik dağılıma direkt intravenöz olarak verilmektedir. Bu tekniğin non-spesifik olması sebebiyle ilaçların sitotoksik etkilerinin hem hedeflenen hem de sağlıklı dokuda gözlemlendiği iyi bilinmektedir. Bu dezavantajı azaltmak için manyetik nanopartiküller kullanılabilir. Tümör tedavisinde nanopartiküller 3 farklı yolla kullanılabilirler.

1. İlgili reseptöre bağlanması ve tümör büyümesini yavaşlatmak amacıyla manyetik nanopartiküller spesifik antikolarla konjuge edilebilirler.
2. Tümör terapisi amacıyla manyetik nanopartiküllerin hipertermiya özelliği kullanılabilir.
3. Hedefli terapi için manyetik nanopartiküllere ilaç yüklemesi yapılabilir.

İlaç yüklü manyetik nanopartiküller ilgili bölgede dışarıdan uygulanan manyetik alan yardımıyla hedef bölgede konsantre bir şekilde birikirler. Ardından hedef bölgede farklı yollarla nanopartikül üzerinde yüklü olan ilaçlar salınır. 4 μm 'den daha küçük partiküller hücrelerde retikuloendotelial sistem (RES) tarafından elimine edilir, çoğunlukla karaciğerde (%60-90) ve dalakta (%3-10) bu proses gerçekleşmektedir. Partikül boyutu 200 nm'den büyük olan partiküller genellikle dalakta filtrelenir, boyutu 100 nm'ye kadar olan nanopartiküller ise karaciğer hücreleri tarafından fagositoza uğratılır. Genellikle partikül boyutu ne kadar büyürse plazmadaki yarı ömürleri o kadar kısa olur (Jana, et al., 2010).

Hedefli kanser terapisi gibi biyomedikal alanlarda manyetik nanopartiküllerin etkili kullanımı partikülün boyutu ve manyetizasyon derecesi gibi birkaç parametreye bağlıdır. Bu yöntemin etkinliğini ilaç yüklü manyetik nanopartikülün fizikokimyasal özellikleri, manyetik alanın kuvveti ve geometrisi, hedef dokunun derinliği, kan akış hızının oranı ve kas kitlesi gibi parametreler oldukça etkilemektedir (Jana, et al., 2010).

Manyetik alan kuvvetini artırmak ilaç dağılımını kolaylaştıran bir avantajdır. Nanopartiküllerin süperparamanyetik özellik göstermeleri için oldukça küçük olmaları gerekmektedir ki manyetik alan ortadan kaldırıldığında karaciğer ve immün sistem gibi vücudun filtre sistemleri tarafından ortadan kaldırılmadan ve dağılma olmadan sistemik dolaşımında kalabilsinler (Jana, et al., 2010).



Şekil 1.9 Manyetik nanopartikül hazırlanması ve kullanım şekilleri (Jana, et al., 2010).

1.8.2.2 Ultrasonik hedeflendirme

Dış bölgeden uygulanan ultrasonik dalgalar yardımıyla ilacın hedeflenen alanda birikmesi ve dağılımını kontrol altına alan proseslerdir (Lavon and Kost, 1998; White, et al., 2006). Dalga frekansı > 20kHz olan seslerle hedeflendirme yapılmaktadır. Ultrasonik hedeflendirme proseslerinde biyolojik olarak aşınan ya da aşınmayan polimerler ilaç taşıyıcısı olarak kullanılır ve hedeflendirilirler.

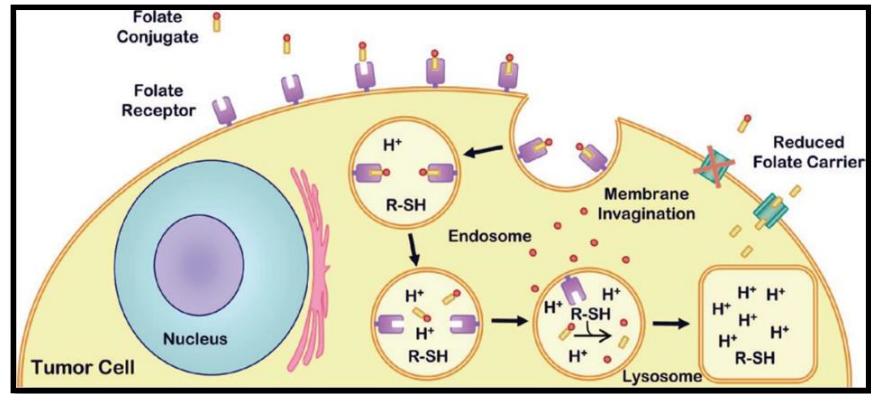
1.8.2.3 Ligand-Reseptör aracılı hedeflendirme

Ligant – reseptör aracılı hedeflendirmede, çeşitli yapıda ligantlar kullanılmaktadır. Bu noktada, transfer sistemleri hücre yüzeyindeki özgün reseptörlere yönlendirilerek hücre içine alınma ligandın ve reseptörün yapısına bağlı olarak reseptör aracılı endositoz ya da transitozla meydana gelmektedir.

Ligand-reseptör aracılı hedeflendirmede yaygın olarak kullanılan ligandlar arasında lektinler, monoklonal antikor-enzim konjugatları, vitaminler, sitokinler, peptid yapıdaki büyüme faktörleri, glikoproteinler, toksinler, apolipoproteinler, hücre adezyon ve glikoaminoglikanlar olarak sayılabilir (Su, et al., 2010).

Ligand direk olarak ilaca, polimer-ilaç konjugatına kovalan bağlanabildiği gibi, lipozomal transferde lipozom zarına ya da yüzey alanında kaplı bir şekilde mevcut polimerin dış ucu ile de bağ yapabilmektedir (Choi, et al., 2012).

Hücre membranlarında var olan folat reseptörlerinin görevi, folat ve metotreksat benzeri folat analoglarının hücre içine alınmasını sağlamaktır. Folat ve antifolat bileşikler (metotreksat vb.), folat reseptörüne yüksek affiniteyle bağ yapar bu nedenle folat reseptör pozitif hücrelerde yoğunlaşabilir (Okarvi ve Jammaz, 2006). Folat reseptörleri over, meme bezi, kolon, akciğer, prostat, burun, boğaz ve beyin kanser epitel hücrelerinde fazla miktarda sentezlenir. Folat bağlı yapıların reseptör aracılı endositoz ile hücre içine girişi birkaç adımdan meydana gelmektedir. İlk olarak konjugat reseptöre bağlanır, membran çöküntüsü oluşur ve endositik vezikül oluşturmak üzere sitoplazmaya girer. Endozomal kompartmanında asidifikasyon ($\text{pH} \sim 5$) gerçekleşir ve reseptörün konformasyon değişmesiyle folat bağlı konjugat reseptörden ayrılır, bilinmeyen bir mekanizma ile konjugat sitoplazmaya geçer. Reseptör membrana doğru yeniden kullanılmak üzere yol alır. Düşük molekül kütlesi (441 g/mol), çeşitli solventlere, pH ve ısıya olan dayanıklılığı, konjugasyonunun kolay olması, immunojenitesinin olmaması ve reseptörüne olan ilgisinin yüksek oluşu folik asiti ilaç hedeflemede önemli bir ligand yapar (Ak, 2010).



Şekil 1.10. Folat-ilaç konjugatının reseptör aracılı endositoz ile hücre içine girişi.

Kanser terapilerinde çoğunlukla, kemoterapiye izin veren damara veya kanala sokulabilen tüplerin kullanılmasını içeren uygulaması zor olan işlemleri kapsar. Son zamanlarda yapılan araştırma alanları incelendiğinde, farklı yollar izlenerek ilaç transfer proseslerin kullanılmasına kolayca izin verecek taşıyıcıların geliştirilmesini içermektedir. Günümüzde kullanılan yeni ilaç

transfer sistemleri, kanser hastalığına yakalanan bireylerin ömürlerini uzatmak ve yaşam kalitelerini arttırmak amacıyla tasarlanmaktadır. Tümöre aktif edilen ön-ilaç tedavisi, ilaçla tümöre özgü molekülün konjugasyonunun yapıldığı bir kullanımdır. Bu konjugat tümöre iletilene kadar aktif değildir (Murakami, et al., 2010). Bu prosesler uygun koşullarda, normal hücrelerde bulunmayan kanserli hücrelerin yüzeyinde mevcut reseptörler ile etkileşilir. Birçok bağlayıcı, aside karşı dayanıklılık göstermez ya da peptidaz ile parçalanabilir ve istenen klinik cevapların alınabilmesi için *in vivo* ortamda yeterli seviyede kararlı olmayabilirler. Hedefleme için bağlanma tam olarak gerçekleşmediğine ya da hücre içinde konjugatla yapılan mevcut bağın kopmaması durumunda aktifliği düşer ya da kaybolur. Enzimatik etkiyle kopabilen peptid zincirler vasıtasıyla, poli(etilen glikol) (PEG) ile konjuge edilmiş adriamsin üzerinde yapılan son çalışmalarda, kopmanın tümör hücrelerinde daha çok seçici davrandığı izlenimine varılmıştır (Sinha, et al., 2006).

Hedeflendirilmiş konjugatın hedef hücre ile bağ yaptıktan sonra hücre içine ulaşım ulaşmadığı, ideal hedeflendirme ligandının tercihinde önemli bir ölçüttür. Hücre içine ulaşım çoğunlukla reseptör aracılı endositozla meydana gelir. Nanopartikül üzerinde bulunan tümör özgü ligandlar ya da antikolar, hücre yüzeyindeki reseptörlerle bağ yaparlar, bu da nanopartiküllerin hücre içindeki endozoma alınmasına yol açar.

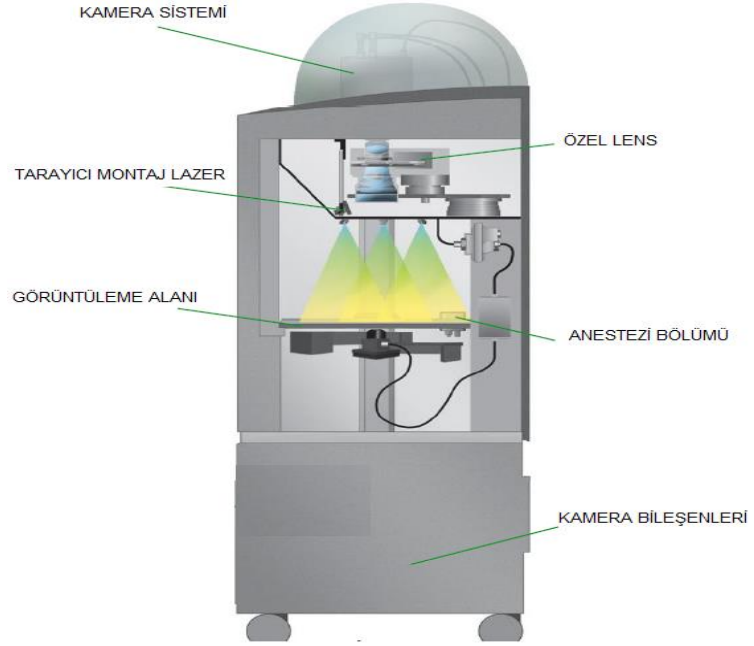
Endozomun iç tarafında pH asidik hale gelir. Bu da, ilaç nanopartiküllerde salınımı başlatır. İlaç yüklü nanopartiküller aktif akış pompası bulunan P-glikoprotein sayesinde tanınmadıkları için bu noktaya uğramadan hücre içine girmiş olurlar, bu şekilde hücre içerisinde ilacın konsantrasyonunda artış gözlenebilir (Kim, et al., 2010).

Aktif ve pasif her iki türdeki hedeflendirilme metodlarında kullanılan nanopartiküller, normal hücrelerde toksik etkiye yol açmadan ilacın tümör hücreleri içerisindeki konsantrasyonunu yüksek seviyelere ulaşmasını amaçlar. Bunun dışında, nanopartiküller özgün reseptörler ile bağ yapıp hücre içine varırlar ve endozomlar tarafından sarılırlar, böylelikle esas ilaç direnç mekanizmalarından olan P-glikoproteinler tarafından tanınmazlar (Mukerjee, Ranjan, and Vishwanatha, 2012).

1.9 IVIS Spektrum Cihazı

IVIS spektrum cihazı yüksek hassasiyete ve düşük gürültüye sahip *in vivo* ve *in vitro* görüntüleme cihazıdır. IVIS spektrum cihazı organizmaya müdahale edilmeden görüntüleme, canlı organizmalarda hücresel ve genetik aktiviteler izlenebilme imkânı sağlamaktadır. Aynı zamanda görüntüleme floresans veya biyoluminesans ışık kaynakları kullanılarak yapılmaktadır. Şekil 1. 11' de Ivis

spektrum cihazının bölümleri görülmektedir. Şekilde de görüldüğü gibi görüntü alımı esnasında anestezi yapılabilir. (Poussard, et al.,2012).



Şekil 1. 11 IvıS Spektrum cihazının bölümleri.

Kanser ilaçlarının çoğu floresans özelliğe sahiptir. Bu grupların arasında yer alan DOX ilacı, kırmızı-floresans özelliğine sahiptir. IVIS spektrum cihazında DOXilacının floresans özelliği kullanılarak, işaretleme yapılmadan kolaylıkla *in vivo* görüntüleme yapılabilmektedir.

2.MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

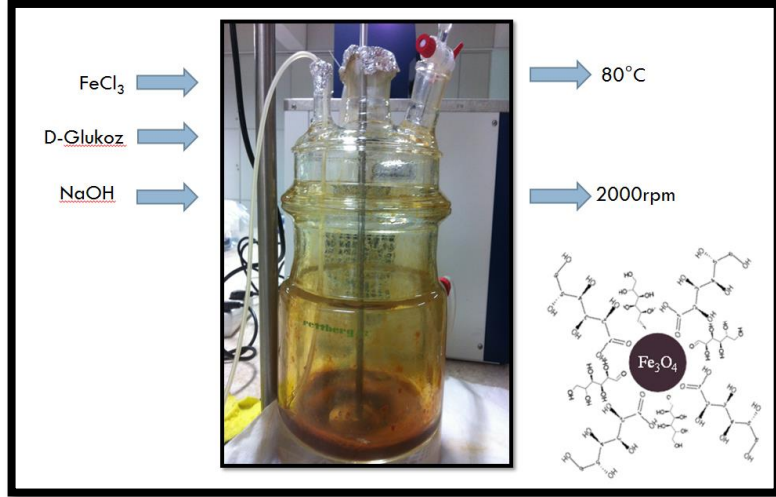
Kullanılan FeCl_3 , Glukoz, NaOH, N(gazı) , izopropanol, monokloro asetik asit, hidrazin hidrat, EDC ve NHS Ege Üniversitesi Biyokimya Bölümü'nden temin edildi. Diğer kimyasallar analitik saflıktadır. Çalışmada kullanılan cihazlar; santrifüj (Beckman microfuge E), orbital karıştırıcı (Yellow line), su banyosu (Memmert), spektrofotometre (Perkin Elmer Lambda 35 UV/VIS Spectrometer), hassas terazi (Denver Instrument, SI-234A), manyetik karıştırıcı (IKA, RCT basic) (Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü), taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Phillips XL-30S FEG ve FEI Quanta 250 FEG, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Malzeme Araştırma Merkezi).FTIR analizleri Ege Üniversitesi Kimya Bölümünde yapıldı. IVIS görüntüleme Ege Üniversitesi ARGE-FAR Faz öncesi araştırma biriminde gerçekleştirildi.

2.2 Metod

Bu çalışmada over kanserinin tedavisinde terapötik ajan olarak kullanılabilirliğini araştırmak amacıyla glukoz kaplı manyetik nanopartiküller sentezlendi. Nanopartiküller glukoz ve FeCl_3 den çıkılarak oluşturuldu ve yöntemde glukoz yanında oluşan glukonik asid nedeniyle COOH uçlarından DOX ilacının bağlandığı sentez reaksiyonu gerçekleştirildi. Sentezlenen nanopartiküllere kimyasal bağ ile over kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan doksorubisin ilacı bağlandıktan sonra *in vivo* denemeler yapıldı.

2.2.1 Glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin sentezi

Yaptığımız çalışmada glukoz kaplı manyetik nanopartiküller redoks tepkimesine dayanarak sentezlendi. Sentez için ilk olarak 200 mL 0,06 M FeCl_3 80°C 2000 rpm de N_2 gazı altında büyük hacimli karıştırıcıda dağıtıldı. Bu aşamadan sonra 40 mL 0,05 M Glukoz çözeltisi eklendi. Bu karışım 80 °C, 2000 rpm de N_2 gazı altında 30 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda sıcaklık 60 °C ye düşürüldü ve 5 M 15 mL NaOH damla damla eklenerek pH 10 a ayarlandı ve 1 saat inkübasyona bırakıldı. 2000 rpm de kuvvetlice karıştırma işlemi sonucunda sentezlenen ürün santrifüjlendi ve gece boyu 60 °C de kurutuldu.Sentezlenen glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin karakterizasyonu FTIR ile yapıldı. Şekil 2.1 de glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin (G-MNP) sentezi görsel olarak verilmiştir.



Şekil 2.1 Glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin sentezi.

2.2.2 Glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin karboksimetilasyonu

500 mg glukoz kaplı manyetik nanopartiküller (G-MNP) 100 mL su:izopropanol (5:95) çözeltisinde 70 °C' de sıcak su banyosunda dağıtıldı ve üzerine 10 M 13,5 mL NaOH eklendi. 70 °C' de 15 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin ardından 12,75 g monokloroasetik asit eklendi. Bu aşamadan sonra 70 °C de sıcak su banyosunda 700 rpm de karıştırma yapılarak 2, 4 ve 6 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda alınan örneklere FTIR analizleri yapıldı. Analizlerin sonuçları karşılaştırılarak optimum inkübasyon zamanı belirlendi. Optimum inkübasyon süresinde sentezlenen ürün santrifüjlendi ve gece boyu 60 °C' de etüvde kurutuldu. Karboksillenmiş G-MNP lerin karakterizasyonu FTIR ile yapıldı.

2.2.3 Karboksimetillenmiş glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin hidrazinlenmesi

Karboksimetillenmiş G-MNP ler sentezlendikten sonra 100 mg karboksillenmiş G-MNP 10 mL azottan geçirilmiş distile su içerisinde oda sıcaklığında 400 rpm çalkalama hızında dağıtıldı. Üzerine 2,875 g 1-Etil-3-[3-dimetilaminopropil] karbodiimid (EDC), 1,870 g N-hidroksi-suksiniimid (NHS) ve 1 µL hidrazin hidrat sırasıyla eklendi. Ardından 400 rpm çalkalama hızında 4 saat inkübasyona bırakıldı. Sentezlenen örnekler 3 kez 30' ar dakika santrifüjlendi. Elde edilen ürün liyofilizatörde kurutuldu. Bu işlemin ardından sentezlenen bileşiğin karakterizasyonu FTIR ile yapıldı.

2.2.4 Hidrazinlenmiş glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerine doksorubisin bağlanması

Doksorubisinin hidrazinlenmiş nanopartiküllere bağlanma aşamasında 20 mg hidrazinlenmiş GNP 7 mL pH 5,6 250 mM asetat tamponunda ultrasonik banyo (Elma Sonic) kullanılarak disperse edildi. Nanopartikül solüsyonu üzerine 3 mL hacimde doksorubisin çözeltisi eklendi. Orbital çalkalayıcıda 320 rpm karıştırma hızında ve oda sıcaklığında 48 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda ilaç bağlı olan nanopartiküller 13000 rpm de santrifüjlenerek çöktürüldü ve ardından su ile yıkama yapıldı. Üst faz ve yıkama sularında doksorubisinin maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyu olan 486 nm 'de spektrofotometrik (Perkin Elmer Lambda 35) olarak tayinleri gerçekleştirildi. Doksorubisinin suda çözünürlüğü düşük olduğundan 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4 mg/ml lik ilaç çözeltileri ile çalışıldı.

Reaksiyon sonunda aşağıda belirtilen formüllere göre nanopartiküllere doksorubisinin bağlanma miktarı (1) ve yüzdesi (2) hesaplandı.

İlaç bağlanma miktarı = (Başlangıç ilaç miktarı (mg) – Bağlanmayan ilaç miktarı (mg)) / Nanopartiküllerin ağırlığı (mg) (1)

İlaç bağlanma yüzdesi = [(Başlangıç ilaç miktarı (mg) – Bağlanmayan ilaç miktarı (mg)) / Başlangıç ilaç miktarı (mg)] x 100 (2)

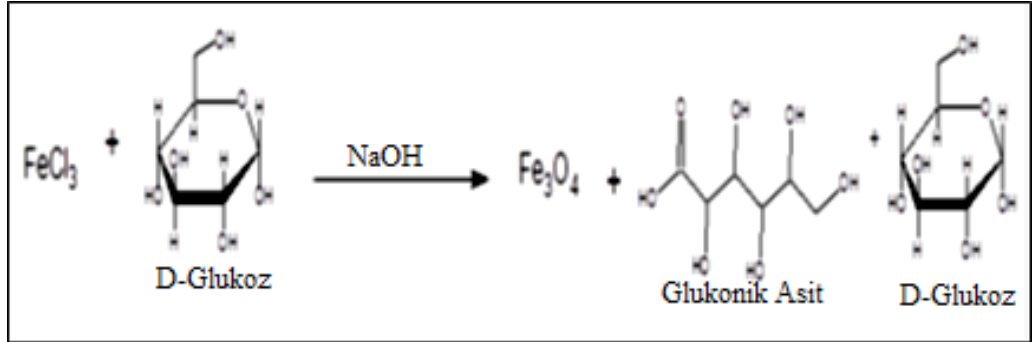
2.2.5 Doksorubisin bağlı G-MNP' lerin *in vivo* çalışmaları

Araştırmamızda hazırlanacak olan manyetik doksorubisin taşıyıcı sisteminin biyodağılımı IVIS görüntüleme cihazı kullanılarak incelendi. IVIS görüntüleme ARGE-FAR Faz öncesi araştırma biriminde gerçekleştirildi. Serbest doksorubisin, ilaç içeren manyetik nanopartikül belirlenen dozlarda 3' er adet sıçanın kuyruk veninden verildi. Bir grup sıçanın yumurtalık bölgesine manyetik alan uygulandı. Enjeksiyondan sonraki 60. 120. ve 180. dakikalarda IVIS spectrum cihazında anestezi altında sıçanlar görüntülendi ve floresan özellikteki ilaç taşıyıcı sistemlerin yeri belirlendi. DOX ilacı kırmızı-floresans özelliğe sahiptir. DOX' un bu özelliği kullanılarak görüntüleme gerçekleştirildi.

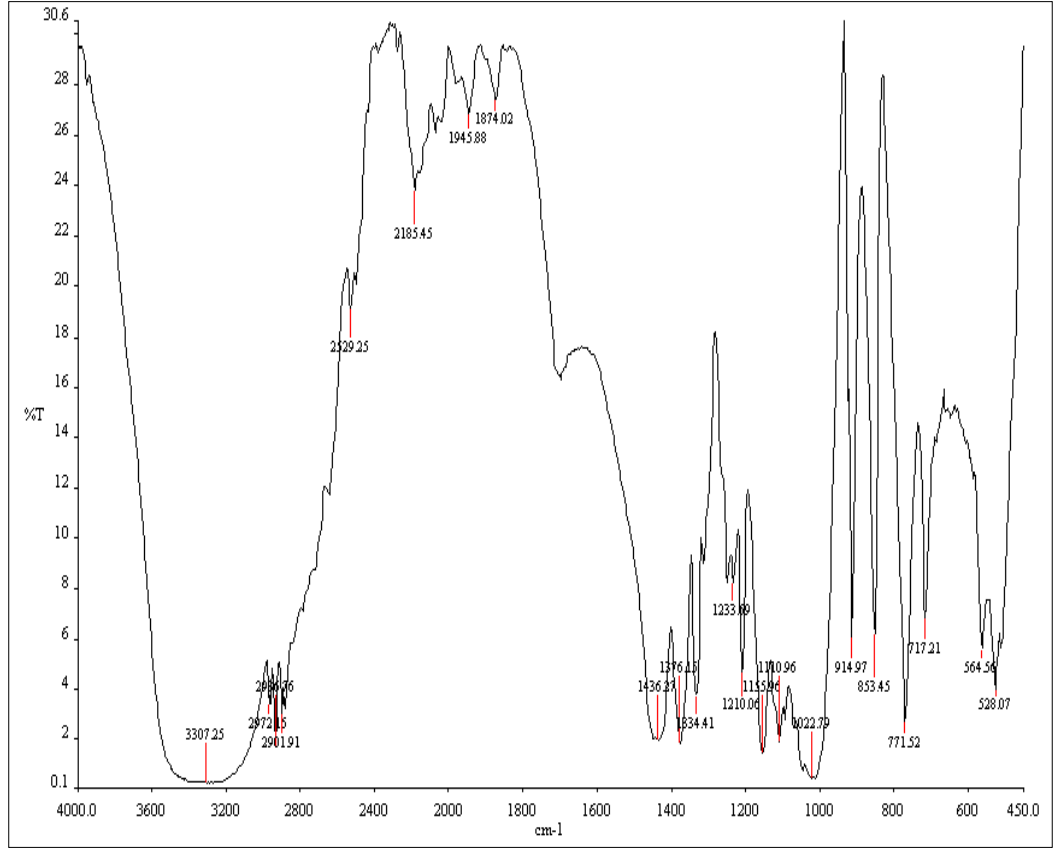
3. SONUÇLAR VE YORUM

3.1 Glukoz Kaplı Manyetik Nanopartiküllerin Sentezi

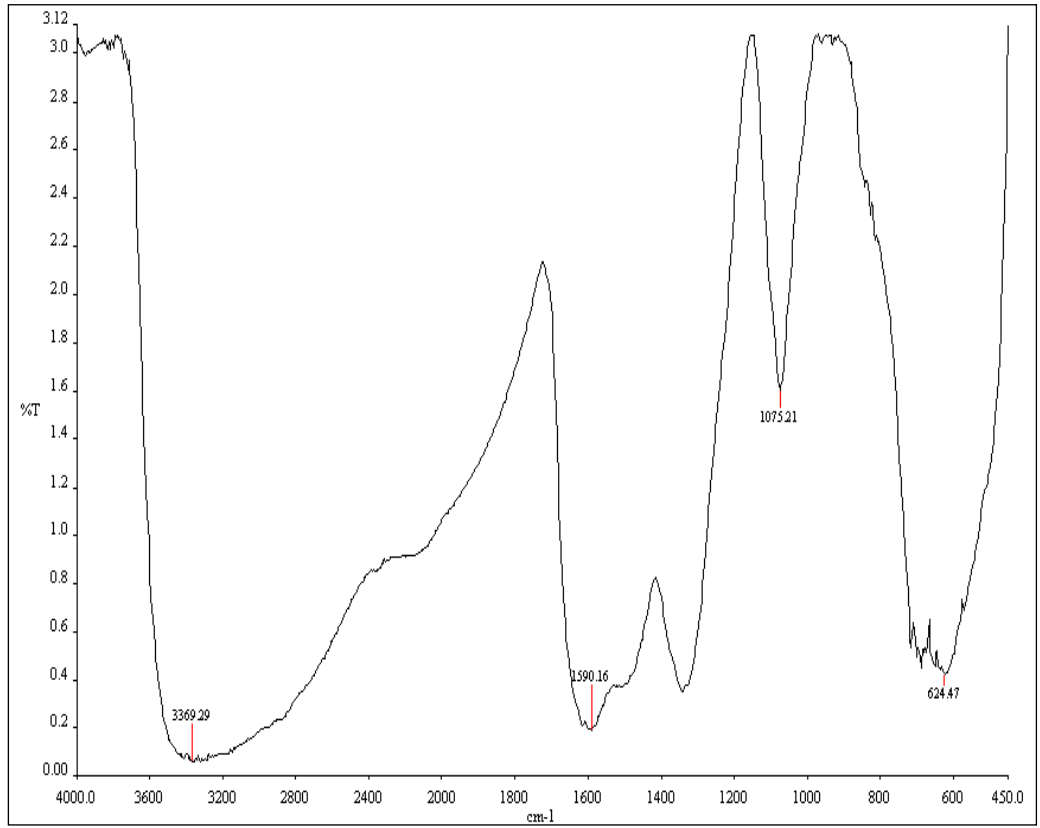
Monosakkaritler indirgeme özelliği olan maddelerdir. Monosakkaritlerin yapısındaki karbonil grubu bakır, demir, bizmut gibi iyonları indirger ve sonuçta monosakkaritin kendisi de oksitlenerek aldonik asiti meydana getirir. Sun ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınladıkları çalışmalarında sükroz ve FeCl_3 kullanarak glukoz ve glukonik asit kaplı manyetik nanopartiküller hazırlanmıştır (Sun, et al., 2009). Glukoz kaplı manyetik nanopartiküller bu metottan yola çıkılarak sentezlendi. Glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin sentezi Şekil 3.1'de FeCl_3 ' e D-glukoz eklenerek reaksiyon başlatılmıştır. Glukozun ve sentezlenen glukoz kaplı manyetik nanopartiküllerin FTIR sonuçları Şekil 3.2 ve 3.3' te verilmiştir. Etrafı glukoz ve glukonik asit kaplı manyetik nanopartikülün şekil 3.3' teki FTIR spektrumlarına göre 3307 cm^{-1} hidroksil, 1590 cm^{-1} karbonil, 624 cm^{-1} Fe-O fonksiyonel grupların varlığı literatür verileri ile karşılaştırılarak değerlendirildiğinde ilgili reaksiyonun gerçekleştirildiği anlaşılmaktadır. Glukozun Şekil 3.2' deki FTIR spektrumlarına göre $3700\text{-}2700 \text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki pikler genellikle H titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. C-H bağlarını, $1600\text{-}1400 \text{ cm}^{-1}$ de gözlenmektedir. Bu aralıkta bulunan çoklu pikler ise C=C bağlarını göstermektedir.



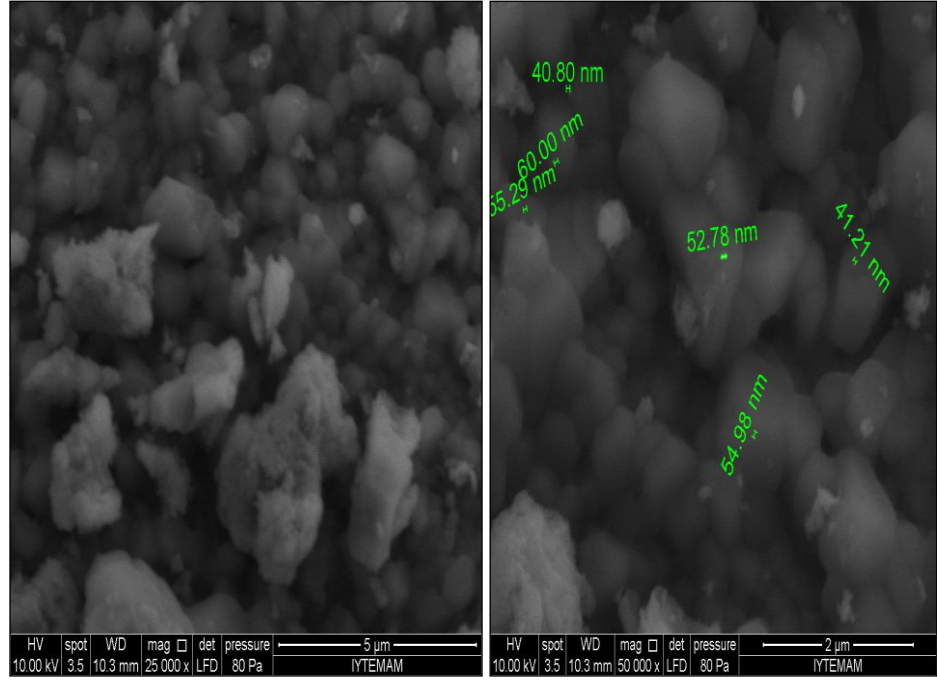
Şekil 3.1 G-MNP lerin sentez reaksiyonu.



Şekil 3.2 Glukoz' un FTIR analizi.



Şekil 3.3 G-MNP FTIR analizi.



Şekil 3.4 G-MNP'lerin SEM görüntüsü.

Sentezlenen nanopartiküllerin SEM ile boyut analizi yapılmıştır. Yapılan SEM analizine göre sentezlenen nanopartiküller küreseldir. Partikül boyutu yaklaşık 60 nm civarında olup biyobozunur nanopartiküllerin ilaç iletim sistemlerinde kullanımının avantajları vardır. Nanopartiküller kılcal damarlara girebilirler ve ilacın hedef bölgede daha fazla akümüle olmasını sağlayabilirler.

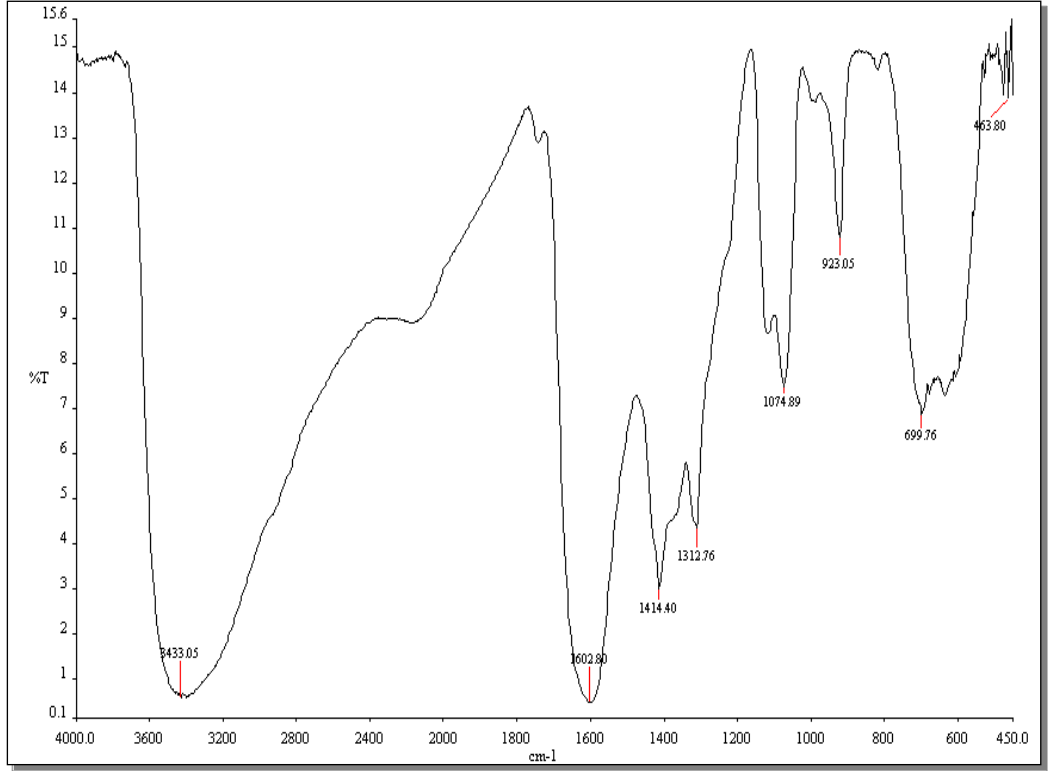
Manyetik nanopartiküller hazırlanılarak birçok ilacın bağlandığı çalışmalar literatürde mevcuttur. Yapılan çalışmalar manyetik özellik gösteren nanopartiküllerin etkinliğinin vücudun ana savunma sistemi tarafından tanınması ve uzaklaştırılmasına bağlı olduğunu göstermiş ve sisteme takılan manyetik nanopartiküllerin sistemde etkinliğinin olmadığı belirtilmiştir. Son yıllarda, boyut ayarlaması yapılarak yada manyetik partikül yüzeyleri modifiye edilerek savunma sistemine takılmayan nanopartiküller oluşturulmaya çalışılmaktadır. 2009 yılında Lartigue ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, magnetit nanopartikülleri ramnoz şekeri fosfat bağlayıcısı yardımıyla magnetit yüzeyine kovalent olarak bağlamışlardır. Süperparamanyetik özellik gösteren nanopartiküllerin boyutu 4 nm olarak bulunmuştur (Lartigue et al., 2009). Kan dolaşımında savunma sistem tarafından tanınmadan hedef bölgeye gönderilebilen çalışmalar günümüzde de devam etmektedir.

3.2 Glukoz Kaplı Manyetik Nanopartiküllerin Karboksimetilasyonu

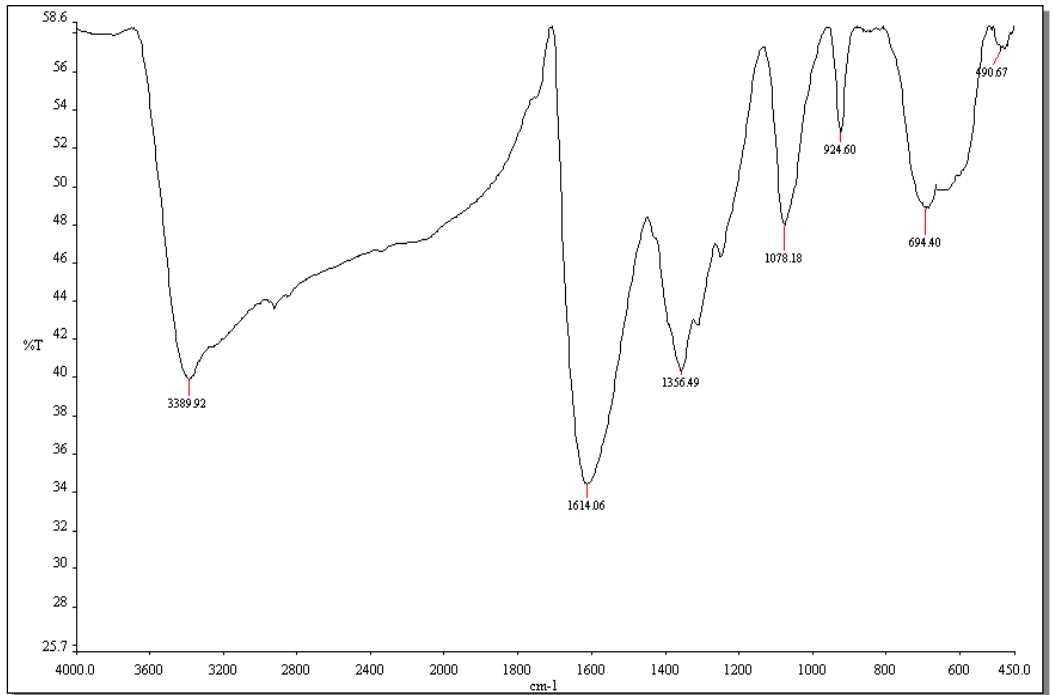
2008 yılında Lu ve arkadaşları tarafından doğal bir polisakkarit olan pullulandan pH duyarlı nanopartikül sentezlemiştir. Hazırlanan nanopartiküller karboksimetillendikten sonra doksorubisin ilacı hidrazon bağı ile nanopartiküllere takılmıştır.

Bizim metodumuzda sentezlenen nanopartiküller α -kloro asetik asit kullanılarak su ve izopropil alkol karışımında karboksimetil türevi oluşturuldu. Bu adımda türevlendirmenin yapıp yapılmadığı FTIR kullanılarak kontrol edildi. Doksorubisinin nanopartiküllere bağlanması için yapılan ilk modifikasyon karboksimetilasyon türevi oluşturmaktır. Doksorubisin ilacının pH duyarlı hidrazin bağıyla nanopartiküllere bağlanması için uygun çözügen içinde α -kloro asetik asit kullanılarak karboksimetil türevleri oluşturulmuştur.

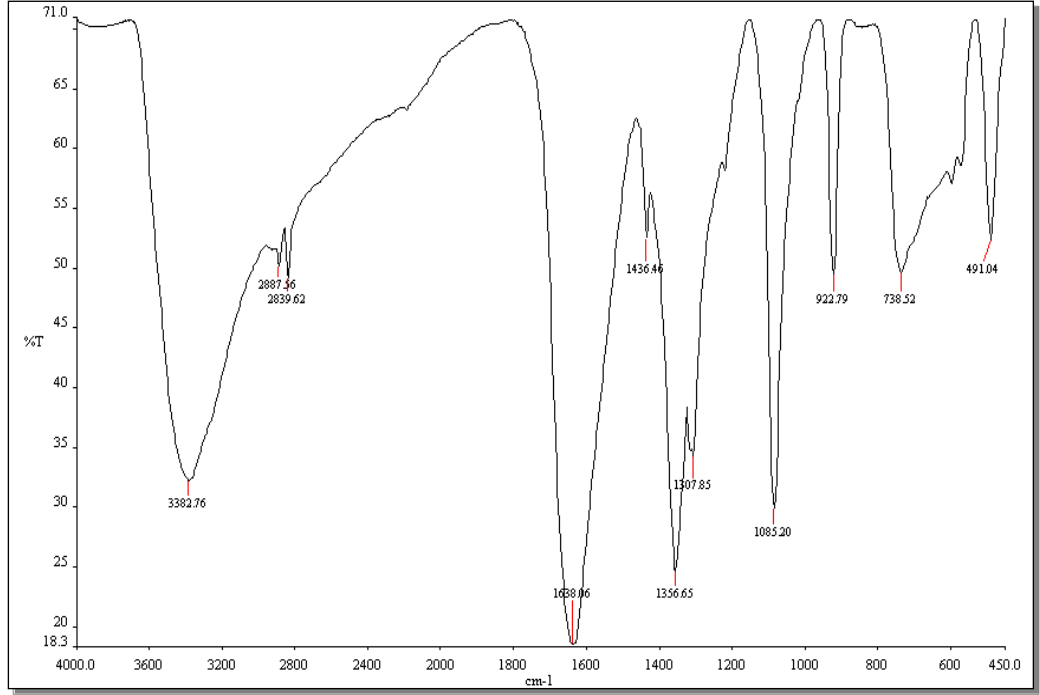
Optimum karboksimetilasyon süresini bulmak için 3 farklı (2 saat, 4 saat ve 6 saat) inkübasyon süresinde karboksimetilasyon yapıldı. Şekil 3.4' te G-MNP' lerin 2 saatlik karboksimetilasyonun, Şekil 3.5' te G-MNP' lerin 4 saatlik karboksimetilasyonun ve şekil 3.6' da G-MNP' lerin 6 saatlik karboksimetilasyonun FTIR analizi verilmiştir. Elde edilen 3 farklı FTIR analizleri karşılaştırıldığında $1600-1400\text{ cm}^{-1}$ arasındaki pikler yapıdaki C-H bağlarını, $600-700\text{ cm}^{-1}$ arasındaki pikleri ise Fe-O fonksiyonel grupların varlığını göstermektedir. Her bir örneğin FTIR spektrumları karşılaştırıldığında 6 saatlik inkübasyonda $\nu 2287\text{ cm}^{-1}$ de metil gruplarının daha yoğun bir şekilde olduğu gözlemlendi ve bu sonuçlara göre optimum sürenin 6 saat olduğuna karar verildi.



Şekil 3.5 G-MNP' lerin 2 saatlik karboksimetilasyonun FTIR analizi.



Şekil 3.6 G-MNP' lerin 4 saatlik karboksimetilasyonun FTIR analizi.

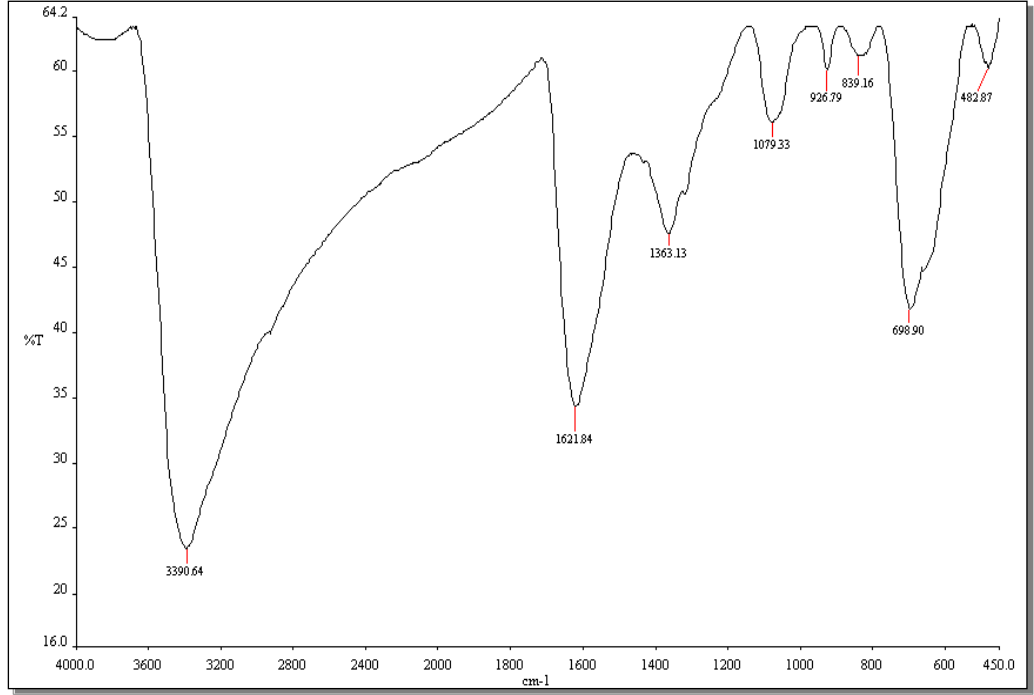


Şekil 3.7 G-MNP' lerin 6 saatlik karboksimetilasyonunun FTIR analizi.

3.3 Karboksimetillenmiş Glukoz Kaplı Manyetik Nanopartiküllerin Hidrazinlenmesi

Türevlendirmenin doğrulanmasının ardından karboksimetil türevlendirilmiş nanopartikül hidrazinhidrat ile EDC (1-Etil-3-[3-dimetilaminopropil] karbodiimid) varlığında kondenzasyon reaksiyonuna sokuldu ve sonucunda amit türevi elde edildi. Hidrazin hidratın nanopartiküllere bağlanması için NHS , EDC iyonlaştırıcı olarak kullanıldı.

Hidrazinlenmiş glukoz kaplı manyetik nanopartikülleri FTIR analizi ile karakterize edildi. Hidrazinlenmiş G-MNP' lerin FTIR analizi Şekil 3.7 de verilmiştir. FTIR spektrumlarına göre 2287 cm^{-1} deki görülen metil gruplarının hidrazinlendiği ve metil spektrumlarının var olmadığı gözlemlendi. N-H ve O-H titreşimleri $3600-3000 \text{ v cm}^{-1}$ arasında gözlenmektedir. O-H grupları geniş piklerde N-H grupları ise sivri piklerde görülmektedir. Şekil 3.7' deki FTIR spektrumlarında yer alan 3390 v cm^{-1} piki sivri olduğu için N-H gruplarının varlığı gözlemlenmektedir.

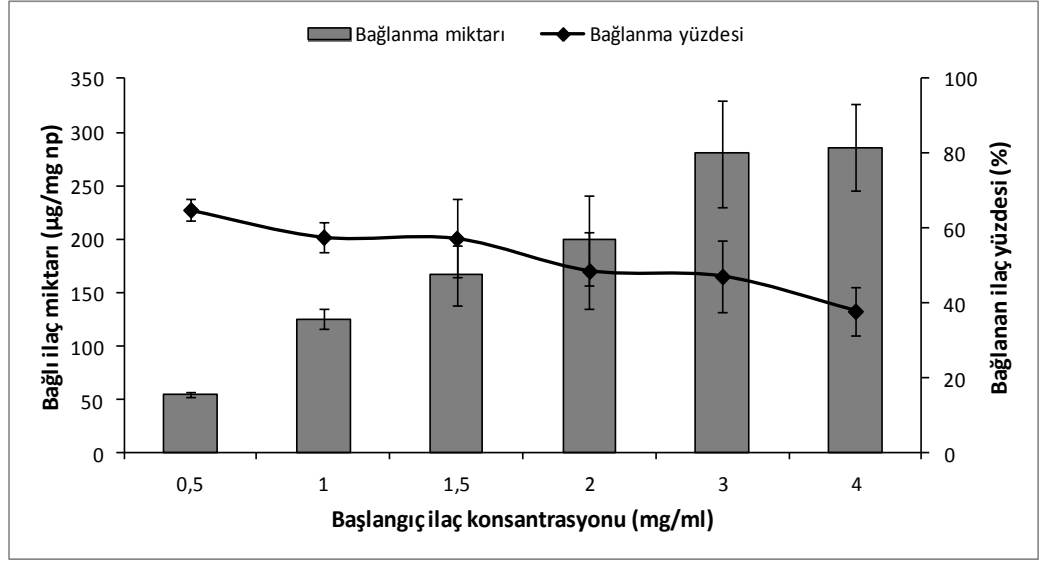


Şekil 3.8 G-MNP'lerin hidrazinlenmesinin FTIR analizi.

3.4 Hidrazinlenmiş Glukoz Kaplı Manyetik Nanopartiküllerine Doksorubisin Bağlanması

Hidrazinlenmiş nanopartiküle doksorubisin'in bağlanmasının pH 5,6 'da hidrazon bağı ile gerçekleşti. Üst faz ve yıkama sularında doksorubisin'in maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyu olan 486 nm 'de spektrofotometrik (Perkin Elmer Lambda 35) olarak tayinleri gerçekleştirildi.

Hidrazon bağı bilindiği gibi asidik ortamda kolayca parçalanabilen bir bağ türüdür ve kanser mikroçevresinin asidik özelliği nedeni ile ilacın yapıdan kolay ayrılabilmesi için seçilmiştir. Tümör etrafında kan ve lenf damarlarının normal olmayan yapı ve işlev göstermesi sebebi ile dokulararası sıvı basıncında yükselme görülür ve tümör damarlarında selektivitesinin azaldığı için geçirgenlikte artış gözlenir. Normal olmayan metabolik çevreler sebebiyle tümörler mikro çevresinde hipoksi ve asidoz meydana gelir. Anaerobik glikoliz sonucu laktik ve karbonik asitlerin meydana gelmesi ile tümör çevresinin pH'sı oldukça düşük değerlere sahiptir.



Şekil 3.9 Değişen konsantrasyonlarda ilaç ile yapılan reaksiyon sonucu bağlanan ilaç miktarı ve yüzdesi.

Şekil 3.9 da doksorubisinin değişen konsantrasyonları ile yapılan reaksiyon sonucu bağlanan ilaç miktarı ve yüzde grafiği verilmiştir. Artan konsantrasyonlar ile bağlanan ilaç miktarı artmış, bağlanma yüzdesi ise düşmüştür. Hidrazinlenmiş nanopartiküllere 2 mg/ml konsantrasyon ile ortalama 199 µg/mg np, 3 ve 4 mg/ml konsantrasyon ile de ortalama 280 µg/mg np miktarındaki ilaç yüklenmiştir. İlaç bağlanma yüzdelerinde ise 3 mg/ml konsantrasyon ile %47, 4 mg/ml konsantrasyon ile de %37 verim alınmıştır. Bu nedenle optimum başlangıç ilaç konsantrasyonu olarak 3 mg/ml seçilmiştir.

3.5 Doksorubisin bağlı G-MNP' lerin *in vivo* çalışmaları

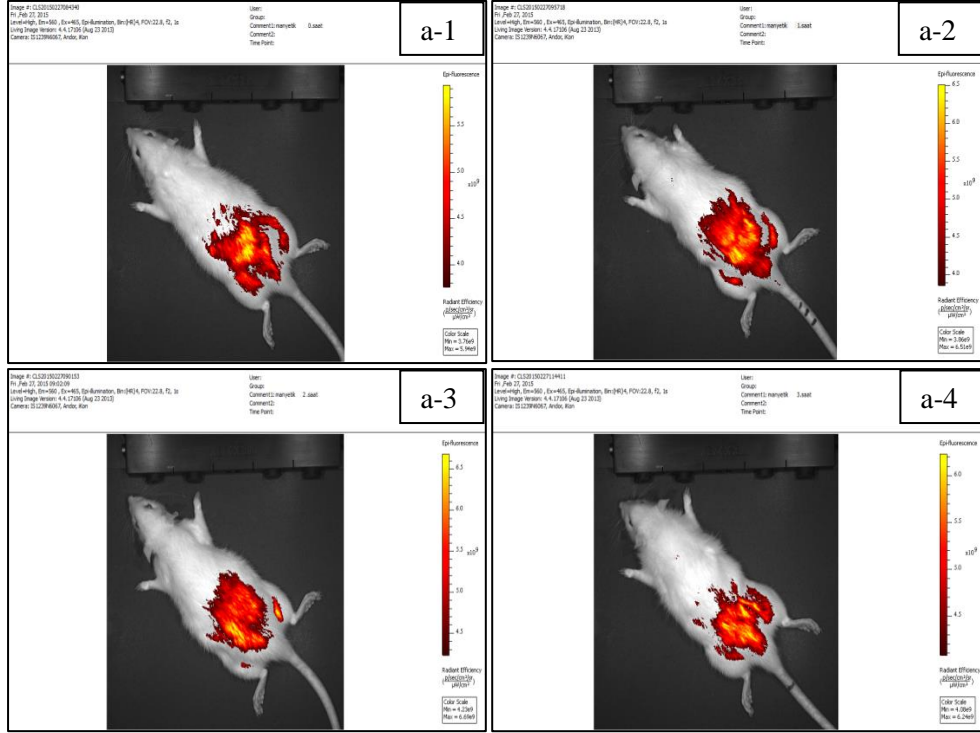
Araştırmamızda hazırlanan manyetik doksorubisin taşıyıcı sisteminin biyodağılımı IVIS görüntüleme cihazı kullanılarak incelendi. Görüntüleme, Dox' un kırmızı-floresans özelliğinden yararlanılarak, işaretleme yapılmadan yapıldı. Şekil 3.10' da dışarıdan manyetik hedefleme yapılan sıçanlarda DOX bağlı G-MNP taşıyıcı sistemin IVIS spectrum cihazı kullanılarak *in vivo* görüntülenmesine yer verildi. Görüntüler periyodik olarak 60 dakikada bir alındı ve en son alınan süre 180. dakikadır. Şekil 3.11'de ise kontrol grubu olarak, serbest Dox' un IVIS spectrum cihazı kullanılarak sıçanda *in vivo* görüntülenmesine yer verildi. Dox bağlı G-MNP'ler kontrol grubu ile karşılaştırma yapıldığında manyetik hedefleme yapılan Dox bağlı G-MNP'lerin biyodağılımı 180 dakika boyunca over çevresinde iken kontrol grubunun tüm vücuda dağıldığı görüldü.

Manyetik hedeflendirme yaklaşımı manyetik ilaç taşıyıcısına bağlı veya taşıyıcıya enkapsüle edilmiş bir terapötik ajanın intravenöz enjeksiyonu ve

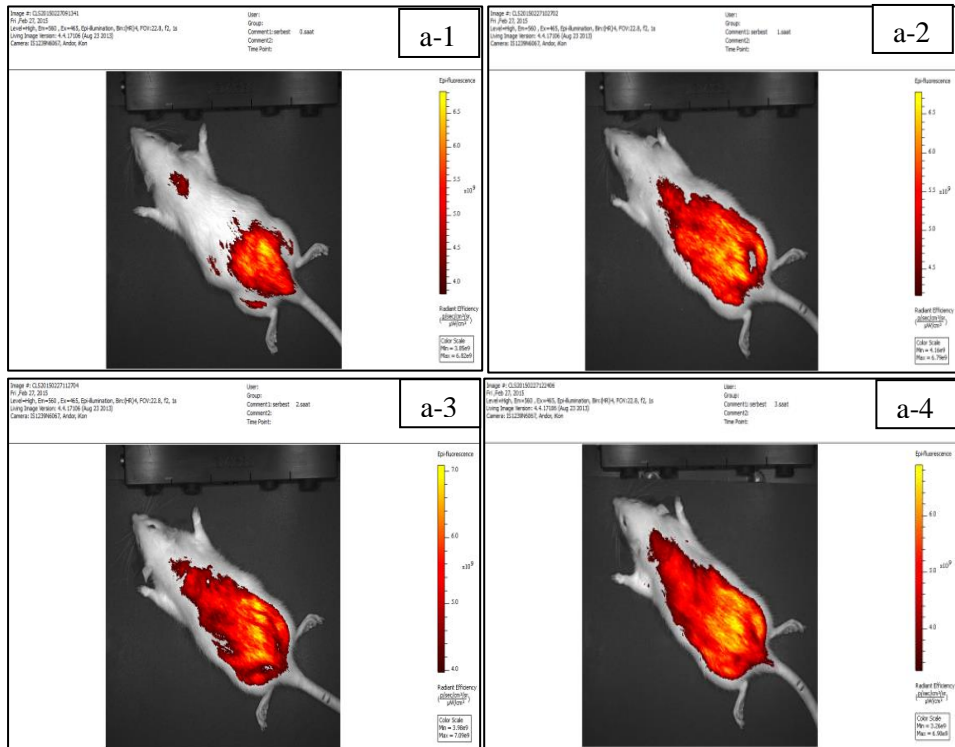
dışarıdan lokalize manyetik alan uygulamasıyla tümör dokusuna yönelmesini kapsar. Kanser ilacının hedef bölgeye manyetik hedefleme ile gönderilmesini kapsayan çalışmalar yıllardır devam etmektedir. Mu- Yi Hua ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, Dox ilacı süper manyetik nano taşıyıcılara kovalent olarak bağlanmış ve manyetik hedefleme yapılarak mesane kanserinin tedavisinde kullanılması planlanmıştır. Kullanılan nano taşıyıcıların çekirdek kısmı Fe_3O_4 iken kabuk kısmı ise N-[1-1 butirik asit]-anilindir. Kovalent bağ, N-[1-1 butirik asit]-anilinde bulunan $-NH_2$ grubu ile Dox $-COOH$ grubu arasında olaması sağlanmış ve böylece Dox' un termal stabilitesi ile manyetik hedefleme verimi artırılmıştır. Yapılan manyetik rezonans görüntüleme sonucunda manyetik hedeflemede başarı sağlanarak nano taşıyıcı sistemin tedavi etkinliği artırılmıştır.(Mu-Yi Hua, et al.,2011) Nihal Elbially ve arkadaşlarının yapmış olduğu benzer bir çalışmada ise Dox ilacı manyetik altın nanopartiküllerine yüklenerek ilaç taşıyıcı sistem manyetik hedeflendirilmiştir ve terapötik etkinliği değerlendirilmiştir. Sentezlenen manyetik altın nanopartikülleri 22 nm boyutlarındadır. *In vivo* çalışmada ise Dox yüklü altın nanopartiküller manyetik hedeflemenin tümör çevresinde pasif hedeflendirmeye göre daha çok miktarda ilaç birikimini sağladığı kanıtlanmıştır (Nihal, et al.,2015).

Hong Yeon Yoon ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada glikol kitosan nanopartiküllerine Dox ilacı enkapsüle edilerek prostat kanserinin tedavisindeki etkileri araştırılmıştır. Sentezlenen nanopartikül sistemi 290 nm çapında ve küre şeklinde olduğu TEM görüntüleme sistemiyle belirlenmiştir. Nanopartikül sistemin salım ve lokalizasyonu, IVIS Spektrumu Görüntüleme Sistemi kullanılarak yapılmıştır. Yapılan *in vivo* çalışmada herhangi bir hedefleme yöntemi kullanılmamış olup; Dox yüklü glikol kitosan nanopartiküllerin sağlıklı organlarda da biriktiği tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışma ile kıyaslandığında manyetik hedeflemenin daha avantajlı olduğu ve sağlıklı organlarda birikimi engellediği belirlenmiştir (Hong Yeon Yoon et al., 2014).

Çalışmamızın sonucu olarak; Dox bağlı G-MNP' lerin over ve çevresi dışında birikiminin olmadığı, sağlıklı organlara da sızmanın en aza indirildiği, taşıyıcı sistemin biyodağılımları ve dışarıdan uygulanan manyetik alan ile yönlendirilebilir olduğu tespit edildi.



Şekil 3.10 DOX bağlı G-MNP taşıyıcı sistemin manyetik hedefleme yapılarak IVIS spectrum cihazında *in vivo* görüntülenmesi a-1) 0.Dk' da alınan görüntü a-2) 60.Dk' da alınan görüntü a-3) 120.Dk' da alınan görüntü a-4) 180. Dk' da alınan görüntü.



Şekil 3.11 Serbest DOX' un IVIS spectrum cihazı kullanılarak sıçanda *in vivo* görüntülenmesi a-1) 0. Dk' da alınan görüntü a-2) 60.Dk' da alınan görüntü a-3) 120.Dk' da alınan görüntü a-4) 180. Dk' da alınan görüntü.

4. GENEL DEĞERLENDİRME

Kanser; bölünmesi kontrolsüz olan ve vücuttaki farklı dokulara sıçrama özelliği bulunan normal olmayan hücrelerin meydana getirdiği hastalıklar için kullanılanı uygun olan bir terimdir. Kanser terapisinde radyoterapi, ameliyat ve kemoterapi benzeri metodlar uygulanmaktadır. Kemoterapi yöntemi; kanser hastalığı olan bireylerde önemli yan etkiler göstermektedir. Bu yüzden, tümörlü dokuya spesifik ilaç transfer sistemlerine gerek duyulmaktadır. İlacın normal dokularda daha düşük seviyede birikmesinin ve tümörlü bölgede tercihen yoğunlaşmasının bir sonucu olarak ilacın toksik etki seviyesi düşer. Klasik ilaç uygulama yolları oral ve intravenözdür. Bu metotların birkaç dezavantajı vardır. Tablet veya kapsüllerin oral alımı metabolik yollar nedeniyle düzensiz farmakokinetikle sonuçlanır. Dolayısıyla verilmesi gereken dozdan daha yüksek miktarda uygulamak gerekir, fakat bu durum da toksisitenin artmasına neden olur. İntravenöz uygulanan ilaçların da spesifikliğinin düşük olması ve sağlıklı dokulara zarar vermesi nedeniyle problem yarattığı bilinmektedir. Kanser kemoterapisindeki bir diğer problem ilaç direnç mekanizmasıdır. Tek bir ilaca karşı ortaya çıkan direnç mekanizması sonrasında hücreler bu ilaçla yapısal ve mekanik ilişkili olmayan diğer ilaçlara karşı çapraz direnç gösterebilir.

Over kanseri kadınlarda sık görülen neoplazmlardır. Kadın genital sistem kanserlerinin %30'unu oluşturur. Güneydoğu Asya ve Afrika gibi az gelişmiş ülkelerde endometriyum ve serviks kanserlerinden sonra üçüncü sırada iken sosyoekonomik olarak gelişmiş daha yüksek oranda görülür.

Over kanseri kadın yumurtalıklarında meydana gelmekte olup, yumurtalık kanseri olarakta bilinmektedir. Yumurtalıklar kadınlarda çoğalma görevi ve hormon üretiminden sorumludur. Üretilen hormonlar progesteron ve östrojendir. Normal şartlarda vücudumuzdaki hücreler bölünerek çoğalmaktadırlar ve böylelikle ölen hücrelerin yerine yeni çoğalan hücreler gelerek görev yapması sağlanmış olur. Fakat bu normal hücreler kanser hücrelerine dönüşürse, bölünerek çoğalan hücreler kontrollerini kaybederek daha hızlı bir şekilde anormal biçimde çoğalırlar ki bu da tümör denilen, ur olarakta bilinen kitlelerin oluşmasına yardımcı olur. Bu kitleler çevrelerinde bulunan diğer organlara fiziki bası yaparak işleyişlerini bozabilecekleri gibi, ana tümör kitlesinden ayrılan parçaların vücudun farklı bölgelerine dağılmasıyla tıpta metastaz olarak bilinen yeni tümörlerin meydana gelmesini sağlayabilir.

Antrasiklin bir antibiyotik olan doksorubisin en geniş kullanım alanına sahip ve gerek tek bir ajan gerekse kombinasyonlu biçimde intravenöz olarak hastaya uygulanan antikanser ilaçlardan biridir. *Streptomyces peucetius* türünden elde edilen doksorubisin meme, over, mesane, bronşogenik akciğer, tiroid ve gastrik kanseri, yumuşak doku, osteogenik ve Kaposi sarkoması, nöroblastoma, Wilms tümörü, Hodgkin ve non-Hodgkin lenfoma ile akut myeloblastik ve akut

lenfoblastik lösemi tedavisinde kullanılmaktadır. Doksorubisinin DNA baz çiftleri arasına girdiği, böylece DNA sentezinin inhibisyonuna ve DNA bağımlı RNA sentezi inhibisyonuna neden olduğu bilinmektedir (Fornari F. et al., 1994). Doksorubisinin kardiyotoksisite, myelosupresyon gibi istenmeyen birçok yan etkisi vardır, bu durum ilacın oldukça dar bir terapötik indekse sahip olmasına yol açar. Ağız enflamasyonu, gastrointestinal problemler, saç dökülmesi, el ayak sendromu (PPE) diğer yan etkileri arasındadır. Nadir görülen yan etkileri ise, kolon ülserasyonu ve nekrozu ile nöropatidir. İstenmeyen bu etkilerin yanı sıra bir diğer önemli konu ilaç dirençliliğidir. Doksorubisin ilacının vücuttaki yarı ömrü 0,8 saat, klerans hızı ise 14,4 ml/dk.kg' dır. İlacın yarı ömrünün uzamasını ve klerans hızının azalmasını sağlayacak ayrıca toksisitesini minimuma indirecek ve ilaç dirençlilik mekanizmasını aşip terapötik indeksini artıracak formülasyonlara ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemler kullanılarak daha düşük dozda ilacın kullanılması ve daha az zararlı olması sağlanabilmektedir. Nanoteknolojide son yıllarda artan gelişmeler ile birlikte kanser tedavisine yönelik nano boyutlu ilaç taşıyıcı sistemlerinin tasarımı oldukça hızlanmıştır. Bu amaçla çeşitli formülasyonlar pek çok bilim insanı tarafından araştırılmaktadır. Bu sistemlere örnek olarak; nanopartiküler lipozomlar ve miseller verilebilir. Nanopartiküler taşıyıcı ve kontrollü salım sistemleri kullanılarak kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi ajanlarının yan etkilerinin azaltılması ve sadece istenilen bölgeye ilacın hedeflendirilmesi amacıyla pek çok çalışma gerçekleştirilmektedir. Hazırlanan nanopartiküler sistemlerin ise biyobozunur, biyouyumlu olmaları ve düşük antijenik özellik taşımaları da aranan özellikler arasındadır (Fornari, et al., 1994).

Yaptığımız çalışmanın ilk adımı olarak monosakkaritlerin indirgenme özelliğinden yola çıkılarak glukoz kaplı demir oksit nanopartikülleri sentezlendi. Fe_3O_4 nano yapıları demirin oksitlenerek pasifleşmesi yüzey reaktivitesinin azalması sonucu oluşan bir yapıdır. Demir bilindiği gibi sahip olduğu yüksek doyum mıknatıslanma değeri nedeni ile teknolojik pek çok alanda vazgeçilmez bir yapıdır. Demir nano parçacıkları özellikle, karbon-karbon bağlarının oluşumu ve parçalanmasında etkin bir rol almaktadır. Fakat nano boyutta demirin teknolojik uygulamasında karşılaşılan en önemli dezavantaj, sahip olduğu yüksek reaktivitesidir. Su veya hava ortamında bulunduğu zaman çok hızlı bir şekilde oksitlenerek, sahip olduğu ferromanyetik karakteristiği kaybedip antiferromanyetik yapıya dönüşmektedir. Bu da, yüksek oranda oksijen içeren veya sulu ortamlarda demirin kullanılmasını engelleyici bir etken olarak karşımıza çıkıyor. Literatürlerde bu sebeple, demirin yüzey reaktivitesinin azaltılıp, kullanılan sistem içerisinde kararlı olarak uzun süreler kalabilmesi için çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Sentezlenen manyetik nanopartiküllerin ve glukozun FTIR sonuçları Şekil 3.2 ve 3.3' te verilmiştir. Etrafı glukoz ve glukonik asit kaplı manyetik nanopartikülün ve glukozun FTIR spektrumlarına göre ν 1590 cm^{-1} karbonil; 624 cm^{-1} Fe-O fonksiyonel grupların varlığı literatür

verileri ile karşılaştırılarak değerlendirildiğinde ilgili reaksiyonun gerçekleştirildiği anlaşılmaktadır. Sentezlenen nanopartiküllerin SEM ile boyut analizi yapılmıştır. Partikül boyutu yaklaşık 60 nm civarında olup biyobozunur nanopartiküllerin ilaç iletim sistemlerinde kullanımının avantajları vardır. Nanopartiküller kılcal damarlara girebilirler ve ilacın hedef bölgede daha fazla akümüle olmasını sağlayabilirler. Bu çalışmada elde edilen nanopartiküllerin boyutları 60 nm civarında tespit edilmiş olup bu tip ilaç iletim sistemlerinde istenen özelliklere sahip oldukları düşünülmektedir. Bu aşamadan sonra ilaç bağlayabilmek için nanopartiküllere uygun modifikasyonlar yapılmıştır. İlk olarak α -kloro asetik asit kullanılarak su ve izopropil alkol karışımında nanopartiküllerin karboksimetil türevi oluşturulması sağlanmıştır. Yapılan FTIR analizinde spektrumlar karşılaştırıldığında 6 saatlik inkübasyonda ν 2287 cm^{-1} de metil gruplarının daha yoğun bir şekilde olduğu gözlemlendiği ve bu sonuçlara göre optimum sürenin 2, 4 ve 6 saatleri arasından 6 saat olduğuna karar verilmiştir. Türevlendirmenin doğrulanmasının ardından karboksimetil türevledi rilmiş nanopartikül hidrazinhidrat ile EDC (1-Etil-3-[3-dimetilaminopropil] karbodiimid hidroklorid) varlığında kondenzasyon reaksiyonuna sokuldu ve sonucunda amit türevi elde edildi. Hidrazin hidratın nanopartiküllere bağlanması için NHS , EDC iyonlaştııcı olarak kullanılmıştır. Sentezlenen ürün FTIR analizi ile karakterize edilmiştir. FTIR spektrumlarına göre ν 2287 cm^{-1} deki görülen metil gruplarının hidrazinlendiği ve metil spektrumlarının var olmadığı gözlemlenmiştir. Bu aşamadan sonra glukoz kaplı nanopartiküller doksorubisine bağlanmaya hazır hale getirilmiştir. Hidrazinlenmiş nanopartiküle doksorubisinin bağlanmasının pH 5,6 'da hidrazon bağı ile gerçekleştirilmiştir. Hidrazon bağı bilindiği gibi asidik ortamda kolayca parçalanabilen bir bağ türüdür ve kanser mikroçevresinin asidik özelliği nedeni ile ilacın yapıdan kolay ayrılabilmesi için seçilmiştir. Bu adımda nanopartikül sentezi ve nanopartiküle ilaç bağlanması tamamlanmış olup Üst faz ve yıkama sularında doksorubisinin maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyu olan 486 nm 'de spektrofotometrik (Perkin Elmer Lambda 35) olarak tayinleri gerçekleştirildi. Artan konsantrasyonlar ile bağlanan ilaç miktarı artmış, bağlanma yüzdesi ise düşmüştür. Hidrazinlenmiş nanopartiküllere 2 mg/ml konsantrasyon ile ortalama 199 $\mu\text{g}/\text{mg}$ np, 3 ve 4 mg/ml konsantrasyon ile de ortalama 280 $\mu\text{g}/\text{mg}$ np miktarındaki ilaç yüklenmiştir. İlaç bağlanma yüzdelerinde ise 3 mg/ml konsantrasyon ile %47, 4 mg/ml konsantrasyon ile de %37 verim alınmıştır. Bu nedenle optimum başlangıç ilaç konsantrasyonu olarak 3 mg/ml seçilmiştir.

Gerçekleştirilecek çalışma kapsamında doksorubisin yüklü, glukoz kaplı manyetik nanopartiküller sentezlenmiştir. Formülasyonun bu aşamasında elde edilen ürün, dışardan uygulanan manyetik alanla vücudun istenilen bölgesinde birikme potansiyeline sahip olduğu yapılan *in vivo* çalışmalarla belirlenmiştir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Alexis, F., Rhee, J.W., Richie, J.P., Radovic-Moreno, A.,F., Langer, R.,** 2008, New frontiers in nanotechnology for cancer treatment. *Urol Oncol*, 26(1): p. 74-85.
- Ak G.,** 2010, Folat-PEG-Doxorubicin türevinin sentezlenerek teknesyumla işaretlenmesi ve kanser görüntüleme ajanı olarak kullanım olanaklarının araştırılması, Ege Üniversitesi Yüksek Lisans tezi, danışman Doç.Dr.Şenay Şanlier.
- Allen, T.M.,** 1998, Liposomal drug formulations. Rationale for development and what we can expect for the future. *Drugs*, 56(5): p. 747-56.
- Almedia, C.A. and Barry, S.A.,** 2010, *Cancer: Basic Science and Clinical Aspects*, Wiley-Blackwell, UK, 389p.
- Bayindir, F., Kuo, S., Wee, A.,** 2007, Coverage error of three conceptually different shade guide systems to vital unrestored dentition. *J Prosthet Dent*, 98(3): p. 175-85.
- Beck-Broichsitter, M., Rytting, E., Lehardt, T.,** 2010, Preparation of nanoparticles by solvent displacement for drug delivery: a shift in the "ouzo region" upon drug loading. *Eur J Pharm Sci*, 41(2): p. 244-53.
- Bharali, D.J., Khalil, M., Gurbuz M., Simone, T.,** 2009, Nanoparticles and cancer therapy: a concise review with emphasis on dendrimers. *Int J Nanomedicine*, 4: p. 1-7.
- Bhirde, A.A., Patel, V., Gavard, J., Zhang, G., Sousa, A., Masedunskas, A.,** 2009, Targeted killing of cancer cells in vivo and in vitro with EGF-directed carbon nanotube-based drug delivery. *ACS Nano*, 3(2): p. 307-16.
- Biju, V., Itoh, T., Anas, A., Sujith, A., Ishikawa, M.,** 2008, Semiconductor quantum dots and metal nanoparticles: syntheses, optical properties, and biological applications. *Anal Bioanal Chem*, 391(7): p. 2469-95.
- Bosch, F. and Rosich L.,** 2008, The contributions of Paul Ehrlich to pharmacology: a tribute on the occasion of the centenary of his Nobel Prize. *Pharmacology*, 82(3): p. 171-9.
- Brigger, I., C. Dubernet, and P. Couvreur.,** 2002, Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Adv Drug Deliv Rev*, 54(5): p. 631-51.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cao, Z., Yu, Q., Xue, H., Cheng, G., Jiang, S.,** 2010, Nanoparticles for drug delivery prepared from amphiphilic PLGA zwitterionic block copolymers with sharp contrast in polarity between two blocks. *Angew Chem Int Ed Engl*, 49(22): p. 3771-6.
- Caruthers, S.D., S.A. Wickline, and G.M. Lanza,** 2007, Nanotechnological applications in medicine. *Curr Opin Biotechnol*, 2007. 18(1): p. 26-30.
- Cheng, J., Sherifi, I., Sung, J., Luther, G.,** 2007, Formulation of functionalized PLGA-PEG nanoparticles for in vivo targeted drug delivery. *Biomaterials*, 28(5): p. 869-76.
- Choi, K.Y., Yoon, H., Na, H.,** 2012, Theranostic nanoparticles based on PEGylated hyaluronic acid for the diagnosis, therapy and monitoring of colon cancer. *Biomaterials*, 33(26): p. 6186-93.
- Dolan, T.B.,** 2011, Thinking small: nanotechnology offers new options for cancer treatment and management. *ONS Connect*, 26(2): p. 17.
- Douglas, S.J., S.S. Davis, and L. Illum,** 1987, Nanoparticles in drug delivery. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 3(3): p. 233-61.
- El-Sherbiny, I.M. and H.D. Smyth,** 2010, Biodegradable nano-micro carrier systems for sustained pulmonary drug delivery: (I) self-assembled nanoparticles encapsulated in respirable/swellable semi-IPN microspheres. *Int J Pharm*, 395(1-2): p. 132-41.
- Emerich, D.F. and C.G. Thanos,** 2007, Targeted nanoparticle-based drug delivery and diagnosis. *J Drug Target*, 15(3): p. 163-83.
- Fearnhead, H.O.,** 2004, Getting back on track, or what to do when apoptosis is de-railed: recoupling oncogenes to the apoptotic machinery. *Cancer Biol Ther*. 3(1):21-8.
- Frederick, C.A.; Williams, L.D.; Ughetto, G.; van der Marel, G.A.; van Boom, J.H.; Rich, A.; Wang, A.H.** 1990, Structural comparison of anticancer drug-dna complexes: adriamycin and daunomycin. *Biochemistry*, 29, 2538 – 2549.
- Fornari, F.A.; Randolph, J.K.; Yalowich, J.C.; Ritke, M.K.; Gewirtz, D.A.** 1994, Interference by Doxorubicin with DNA Unwinding in MCF-7 Breast Tumor Cells., *Molecular Pharmacology*, 45, 649 – 656.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Futreal PA, Kasprzyk A, Birney E, Mullikin JC, Wooster R, Stratton M.** 2001, Cancer and genomics. *Nature*, 6822: 850-2.
- Hans, M.L. and A.M. Lowman,** 2002, Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting. *Current Opinion in Solid State & Materials Science*, 6(4): p. 319-327.
- Han, G., P. Ghosh, and V.M. Rotello,** 2007, Functionalized gold nanoparticles for drug delivery. *Nanomedicine (Lond)*, 2(1): p. 113-23.
- Hitzman, C.J., W.F. Elmquist, and T.S. Wiedmann,** 2006, Development of a respirable, sustained release microcarrier for 5-fluorouracil II: In vitro and in vivo optimization of lipid coated nanoparticles. *J Pharm Sci*, 95(5): p. 1127-43.
- Hong, Y, Y., Seulki, L., Ick, K., Sun, K.,**2014, Glycol chitosan nanoparticles as specialized cancer therapeutic vehicles: Sequential delivery of doxorubicin and Bcl-2 siRNA. *Scientific Reports* 4, Article number: 6878
- Jang, W.D.,** 2009, Bioinspired application of dendrimers: From bio-mimicry to biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 34(1): p. 1-23.
- Jana, C., Jana, D., Dalibor, H., Vojtech, A., Rene, K. And Jaromir, H.,** 2010, Magnetic nanoparticles and targeted drug delivering, *Pharmacological Research*, 62, Çek Cumhuriyeti, 5p.
- Juzenas, P., Chen, W., Sun, P., Coelho, MA., Generalov, R., Generalova, N., Christensen, IL.,** 2008, Quantum dots and nanoparticles for photodynamic and radiation therapies of cancer. *Adv Drug Deliv Rev*, 60(15): p. 1600-14.
- Kumar V, Abbas A.K, Fausto N.** 2005; The female genital tract, chapter 22, in Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 7th ed, Elsevier Saunders, Philadelphia, 1092-1104,
- Kumari, A., S.K. Yadav, and S.C. Yadav,** 2010, Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 75(1): p. 1-18.
- Kutluk T.,** Kanser Konusunda Genel Bilgiler, Ankara, Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Yayınları, (1994), s: 26.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lamprecht, A., Hiromitsu, Y., Ulrich, S., Hirofumi, T., Philippe, M.,** 2001, Biodegradable nanoparticles for targeted drug delivery in treatment of inflammatory bowel disease. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 299(2): p. 775-781.
- Lavon, I. and J. Kost,** 1998, Mass transport enhancement by ultrasound in non-degradable polymeric controlled release systems. *Journal of Controlled Release*, 54(1): p. 1-7.
- Lee, J.H., Marella, C., Andrea E., Dominik, K.,** 2005, A therapeutic aptamer inhibits angiogenesis by specifically targeting the heparin binding domain of VEGF(165). *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(52): p. 18902-18907.
- Mao, H.Q., Kadijala, I., Brown, A.,** 2005, Biodegradable poly(terephthalate-co-phosphate)s: synthesis, characterization and drug-release properties. *J Biomater Sci Polym Ed*, 16(2): p. 135-61
- Mozafari, M.R., Johnson, C., Demetzos, C.,** 2008, Nanoliposomes and their applications in food nanotechnology. *J Liposome Res*, 18(4): p. 309-27.
- Mozafari, M.R.,** 2010, Nanoliposomes: preparation and analysis. *Methods Mol Biol*, 605: p. 29-50.
- Mozafari, M.R., C.J. Reed, and C. Rostron,** 2007, Cytotoxicity evaluation of anionic nanoliposomes and nanolipoplexes prepared by the heating method without employing volatile solvents and detergents. *Pharmazie*, 62(3): p. 205-9.
- Momparler, R.L.; Karon, M.; Siegel, S.E.; Avila, F.** 1976, Effect of Adriamycin on DNA, RNA and Protein Synthesis in Cell-Free Systems and Intact Cells. *Cancer Research*, 36, 2891 – 2895.
- Moghimi, S.M., A.C. Hunter, and J.C. Murray,** 2001, Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice. *Pharmacol Rev*, 53(2): p. 283-318.
- Mu-Yi, H., Shih, H., Sun, C., D, Y.,** 2011, Superhigh-magnetization nanocarrier as a doxorubicin delivery platform for magnetic targeting therapy. *Biomaterial* Volume 32, Issue 34, Pages 8999-9010
- Namdeo, M., Saxena, S., Tankhiwale, R., Bajpai, M., Mohan, M., Bajpai, S.,** 2008, Magnetic nanoparticles for drug delivery applications. *J Nanosci Nanotechnol*, 8(7): p. 3247-71.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Nihal Elbially., and Fathy, M.,** 2015 Doxorubicin loaded magnetic gold nanoparticles for *in vivo* targeted drug delivery. International Journal of Pharmaceutics-IJP 14902 1–10
- Okarvi S.M. and Jammaz I.A.** 2006, Preparation and In Vitro and In Vivo Evaluation of Technetium-99m-Labeled Folate and Methotrexate Conjugates as Tumor Imaging Agents, Cancer biotherapy & radiopharmaceuticals, 21(1), 49-60.
- Park, K., Lee, S., Kang, E.,** 2009 New Generation of Multifunctional Nanoparticles for Cancer Imaging and Therapy. Advanced Functional Materials, 19(10): p. 1553-1566
- Parveen, S. and S.K. Sahoo,** 2006, Nanomedicine: clinical applications of polyethylene glycol conjugated proteins and drugs. Clin Pharmacokinet. 45(10): p. 965-88.
- Panyam, J. and V. Labhasetwar,** 2003, Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. Adv Drug Deliv Rev, 55(3): p. 329-47.
- Poussard, A.,** 2012 *In Vivo* Imaging Systems (IVIS) Detection of a Neuro-Invasive Encephalitic Virus. *J. Vis. Exp.* (70), e4429, doi:10.3791/4429
- Onat, T., Sözen, E.,** 2002, İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara
- Rao, D.A., Forrest, ML., Alani, AW., Kwon, GS., Robinson, JR.,** 2010, Biodegradable PLGA based nanoparticles for sustained regional lymphatic drug delivery. J Pharm Sci, 99(4): p. 2018-31.
- Sahoo, S.K. and V. Labhasetwar,** 2003, Nanotech approaches to drug delivery and imaging. Drug Discov Today, 8(24): p. 1112-20.
- Seyfoddin, A., J. Shaw, and R. Al-Kassas,** 2010, Solid lipid nanoparticles for ocular drug delivery. Drug Deliv, 17(7): p. 467-89.
- Singh, K.K.,**2005, Nanotechnology in cancer detection and treatment. Technol Cancer Res Treat. 4(6): p. 583.
- Swain, P., Dash, S., Sahoo, P., Gupta, D.,** 2007, Non-specific immune parameters of brood Indian major carp Labeo rohita and their seasonal variations. Fish Shellfish Immunol, 22(1-2): p. 38-43.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Su, Y.C., Chen, B.M., Chuaig, K.H.,** 2010, Sensitive quantification of PEGylated compounds by second-generation anti-poly(ethylene glycol) monoclonal antibodies. *Bioconjug Chem*, 21(7): p. 1264-70.
- Tavassoli F. A. And Devilee P.** 2003, Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Lyon, International Agency for Research on Cancer.
- Topuz, E. and Aydiner, A.,** 2000, Akciğer kanseri. In: Topuz E, Aydiner A, Karadeniz AN, editors. Klinik onkoloji. İstanbul: İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü Yayınları;. p. 82-9.
- Vicent, M.J. and R. Duncan,** 2006, Polymer conjugates: nanosized medicines for treating cancer. *Trends Biotechnol*, 24(1): p. 39-47.
- Wang, X., Chen, Z., Lily, Y.,** 2008, Application of nanotechnology in cancer therapy and imaging. *CA Cancer J Clin*, 58(2): p. 97-110
- Weiss, Raymond B.** 1992, "The Anthracyclines: Will We Ever Find a Better Doxorubicin?" *Seminars in Oncology*. Vol. 19, No. 6. December 1992. pp. 670–686.
- Yallapu, M.M., Susan, F., Jain, K.,** 2010, PEG-functionalized magnetic nanoparticles for drug delivery and magnetic resonance imaging applications. *Pharm Res*, 27(11): p. 2283-95.
- Yong, K.T., Indrajit, R., Mark, T.S.,** 2009, Multifunctional Nanoparticles as Biocompatible Targeted Probes for Human Cancer Diagnosis and Therapy. *J Mater Chem*, 19: p. 4655-4672.
- Zhang, J. and R.D. Misra,** 2007, Magnetic drug-targeting carrier encapsulated with thermosensitive smart polymer: core-shell nanoparticle carrier and drug release response. *Acta Biomater*, 3(6): p. 838-50.
- White, P.J., G.T. Clement, and K. Hynynen,** 2006, Longitudinal and shear mode ultrasound propagation in human skull bone. *Ultrasound Med Biol*, 32(7): p. 1085-96.