



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR için ÇOK FONKSİYONLU METAL OKSİT
ESASLI BİYONANOKOMPOZİTLERİN SENTEZİ ve İNCELENMESİ**

Ezgi TAN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Selcan KARAKUŞ

II. DANIŞMAN

Prof. Dr. Ayben KİLİSLİOĞLU

Kimya Anabilim Dalı

Fiziksel Kimya Programı

Haziran, 2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Ezgi TAN tarafından, Doç. Dr. Selcan KARAKUŞ danışmanlığında hazırlanan "BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR için ÇOK FONKSİYONLU METAL OKSİT ESASLI BİYONANOKOMPOZİTLERİN SENTEZİ ve İNCELENMESİ" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 09/06/2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi		İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Doç. Dr. Selcan KARAKUŞ		☒
	İstanbul Üniversitesi-		Kabul
	Cerrahpaşa		☐
	Kimya Anabilim Dalı		Ret
ÜYE	Prof. Dr. Mine YURTSEVER		☒
	İstanbul Teknik Üniversitesi		Kabul
	Kimya Anabilim Dalı		☐
			Ret
ÜYE	Prof. Dr. Sema DEMİRCİ		☒
	ÇEKİÇ		Kabul
	İstanbul Üniversitesi-		☐
	Cerrahpaşa		Ret
ÜYE	Prof. Dr. Nevin TAŞALTIN		☒
	Maltepe Üniversitesi		Kabul
	Temel Bilimler Anabilim Dalı		☐
			Ret
ÜYE	Doç. Dr. Yeşim Müge ŞAHİN		☒
	İstanbul Arel Üniversitesi		Kabul
	Biyomedikal Mühendisliği		☐
	Anabilim Dalı		Ret



Annem Güzide TAN ve kardeşim Eda TAN başta olmak üzere tüm emekçi kadınlara ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR için ÇOK FONKSİYONLU METAL OKSİT ESASLI BİYONANOKOMPOZİTLERİN SENTEZİ ve İNCELENMESİ

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 32438

Bu tez çalışması; Araştırma Görevlileri için Yurt Dışı Araştırma Bursları (YÖK-YUDAB) Programı kapsamında yurt dışı araştırma bursu ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca destekleri için danışman hocalarım Prof. Dr. Ayben Kilislioğlu ve Doç. Dr. Selcan Karakuş 'a çok teşekkür ederim. Tez çalışmasının in-vitro sitotoksosite testlerini gerçekleştiren Dr.Öğr.Üyesi Ferdane Danışman Kalındemirtaş'a destekleri için teşekkür ederim. Ayrıca, her zaman bir adım kadar yanımda olan arkadaşım ve yoldaşım Merve İlgar'a içten teşekkür ederim.

Akademik yolculuğumdaki her hüznün ve sevinçte yanımda olan ve destekleriyle her şeyi daha kolay hale getiren annem Güzide Tan ve kardeşim Eda Tan başta olmak üzere tüm dostlarım ve hayatı paylaştığım herkese sonsuz minnettarım.

Haziran 2023

Ezgi TAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
BÜTÇE DESTEKLERİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xiii
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	5
2.1. BİYO-NANOTEKNOLOJİ	6
2.1.1. İnorganik Nanokompozitler	8
2.1.2. Biyomolekül Esaslı Nanokompozitler	15
2.1.3. Nanoyapıların Sentez Yöntemleri	21
2.2. BİYO-NANOKOMPOZİTLERİN ÇOK İŞLEVİLİ ÖZELLİKLERİ	24
2.3. SENSÖR UYGULAMALARI	24
2.3.1. Kolorimetrik Sensörler	27
2.3.2. Enzimatik Olmayan Elektrokimyasal Sensörler	28
2.3.3. Askorbik Asit Sensörleri	29
2.3.4. Dopamin Sensörleri.....	30
2.3.5. Gallik Asit Sensörleri	30
2.3.6. Tannik Asit Sensörleri.....	31
2.4. KANSER UYGULAMALARI.....	32
2.4.1. Antikanser Biyo-Nanoterapötikler	34
2.5. NANOMALZEMELERİN KARAKTERİZASYON YÖNTEMLERİ	40
2.5.1. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)	40

2.5.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	41
2.5.3. X-Işını Kırınımı (XRD).....	41
2.5.4. X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)	42
2.5.5. Dinamik Işık Saçılımı (DLS)	43
2.5.6. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi.....	43
2.5.7. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR)	43
2.5.8. UV-Görünür Bölge (UV-Vis) Spektroskopisi.....	44
2.5.9. Floresans Spektroskopisi (PL)	45
2.5.10. Titreşimli Numune Manyetometresi (VSM)	45
3. YÖNTEM	46
3.1. MALZEMELER	46
3.2. KARAKTERİZASYON	47
3.3. NANOKOMPOZİTLERİN SENTEZLENMESİ	47
3.3.1. MnO ₂ NCs Sentezlenmesi.....	48
3.3.2. Zn:MnO ₂ NCs Sentezlenmesi	48
3.3.3. Ag:Zn:MnO ₂ NCs Sentezlenmesi	49
3.3.4. Farklı Nanoformülasyonlar: Polimer Esaslı NCs ve İlaç Yüklü NCs Hazırlanması	49
3.4. SENSÖRLERİN TASARLANMASI	50
3.4.1. Kolorimetrik Biyosensörlerin Hazırlanması	51
3.4.2. Enzimatik Olmayan Elektrokimyasal Sensörlerin Hazırlanması	53
3.5. İN-VİTRO İLAÇ SALIM PROFİLLERİNİN İNCELENMESİ	53
3.6. HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI	54
3.6.1. MTT Testi ile Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi.....	54
4. BULGULAR	56
4.1. YAPISAL KARAKTERİZASYONLAR	56
4.1.1. TEM Analizi.....	56
4.1.2. SEM Analizi	60
4.1.3. XRD Analizi.....	60
4.1.4. XPS Analizi.....	62
4.1.5. VSM Analizi	64
4.1.6. FTIR Analizi	65
4.2. BİYOSENSÖR ÖZELLİKLERİN İNCELENMESİ	68
4.2.1. Kolorimetrik Sensör Özellikleri	69
4.2.2. Enzimatik Olmayan Elektrokimyasal Sensör Özellikleri.....	78

4.3. ANTİKANSER AKTİVİTENİN İNCELENMESİ	81
4.3.1. İn-vitro İlaç Salımının Değerlendirilmesi	81
4.3.2. Hücre Canlılığı Testi	82
4.3.3. DLS Analizi Sonuçları	87
5. TARTIŞMA.....	89
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	94
7. KAYNAKLAR.....	96
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	110
ETİK KURUL İZİN YAZISI	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
KURUM İZNİ YAZILARI.....	112
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1 : Betülinik asidin kimyasal yapısı.	37
Şekil 2.2 : Seranib-2'nin kimyasal yapısı.	39
Şekil 3.1: NCs sentezinin şematik gösterimi.	48
Şekil 3.2 : Nanoformülasyon sentezinin şematik gösterimi.	50
Şekil 4.1: (a) MnO ₂ NCs, (b) Zn:MnO ₂ NCs, ve (c) Ag:Zn:MnO ₂ NCs'lere ait TEM görüntüleri, (d) MnO ₂ NCs, (e) Zn:MnO ₂ NCs, ve (f) Ag:Zn:MnO ₂ NCs'lere ait AI-TEM görüntüleri.	57
Şekil 4.2 : (a) Zn:MnO ₂ NCs, (b) Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs, (c) GA-PLA-Alg NCs, (d) Cer@GA-PLA-Alg NCs, (e) BA@GA-PLA-Alg NCs, (f) BA-Cer@GA-PLA-Alg NCs, (g) Cer/Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs, (h) BA/Zn:MnO ₂ @ GA-PLA-Alg NCs ve (i) BA-Cer/Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs ait TEM analizi sonuçları.	59
Şekil 4.3 : Zn:MnO ₂ NCs ait (a,b) genel alan tarama, (c) SEM-EDAX, (d-f) elementel haritalama sonuçları.	60
Şekil 4.4 : (a) MnO ₂ NCs, (b) Zn:MnO ₂ NCs ve (c) Ag:Zn:MnO ₂ NCs ait XRD desenleri.	61
Şekil 4.5 : Zn:MnO ₂ NCs ve Ag:Zn:MnO ₂ NCs ait XPS analizi sonuçları.	63
Şekil 4.6 : Zn:MnO ₂ NCs ve Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs ait VSM analizi sonuçları.	64
Şekil 4.7 : Kalsine edilmiş (a) MnO ₂ NCs, (b) Zn:MnO ₂ NCs ve (c) Ag:Zn:MnO ₂ NCs ait FTIR spektrumları.	65
Şekil 4.8 : Hedef analitlerle etkileşime giren (a) MnO ₂ NCs, (b) Zn:MnO ₂ NCs ve (c) Ag:Zn:MnO ₂ NCs FTIR analizi sonuçları.	67
Şekil 4.9 : (a) saf PLA, (b) saf Aljinat (c) GA-PLA-Alg NCs, (d) Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs, (e) BA-Cer/ Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs, (f) BA/Zn:MnO ₂ @ GA-PLA-Alg Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs, (g) Cer/Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs, (h) BA-Cer@GA-PLA-Alg NCs, (i) BA@GA-PLA-Alg NCs ve (j) Cer@GA-PLA-Alg NCs ait FTIR analizi sonuçları.	68
Şekil 4.10 : Kolloidal Zn:MnO ₂ NCs esaslı kolorimetrik sensörlerin farklı analitlere karşı ΔE değerleri.	69

Şekil 4.11 : Farklı konsantrasyonda (a) askorbik asit, (b) dopamin, (c) gallik asit ve (d) tannik asit ilave edilmiş koloidal Zn:MnO ₂ NCs ait UV-Vis spektroskopisi sonuçları.	70
Şekil 4.12 : Kolloiadal MnO ₂ NCs için askorbik asit ilavesine bağlı olarak (a) Uv-Vis spektrumları, (b) RGB analizi, (c) E -logC grafiği ve (d) %S- logC grafiği.	72
Şekil 4.13: Kolloiadal Zn:MnO ₂ NCs için askorbik asit ilavesine bağlı olarak (a) Uv-Vis spektrumları, (b) RGB analizi, (c) E -logC grafiği ve (d) %S- logC grafiği.	73
Şekil 4.14: Kolloiadal Ag:Zn:MnO ₂ NCs için askorbik asit ilavesine bağlı olarak (a) Uv-Vis spektrumları, (b) RGB analizi, (c) E -logC grafiği ve (d) %S- logC grafiği.	74
Şekil 4.15 : (a) NCs esaslı kağıt sensör dizisi, MnO ₂ NCs kaplı kağıt sensörlerin (b) dopamin, (c) gallik asit, (d) tannik asit, Zn:MnO ₂ NCs kaplı kağıt sensörlerin (e) dopamin, (f) gallik asit, (g) tannik asit, Ag:Zn:MnO ₂ NCs kaplı kağıt sensörlerin (h) dopamin, (i) gallik asit, (j) tannik asit ilavesine bağlı RGB analizi sonuçları.	75
Şekil 4.16 : Hedef analit derişimine bağlı olarak NCs kaplı kağıt sensörlerin log C- ΔE grafikleri.	76
Şekil 4.17: Hedef analit derişimine bağlı olarak NCs kaplı kâğıt sensörlerin log C-%S grafikleri.	77
Şekil 4.18 : Askorbik asidin yükseltgenmesi.	79
Şekil 4.19 : (a,b) MnO ₂ NCs , (c,d) Zn:MnO ₂ NCs , (e,f) Ag:Zn:MnO ₂ NCs'in askorbik aside karşı enzimatik olmayan elektrokimyasal sensör sonuçları ve (g) NCs'lerin en yüksek askorbik asit derişiminde verdiği elektrokimyasal yanıtların kıyaslanması.	80
Şekil 4.20 : pH'a bağlı % kümülatif Seranib-2 salınımı sonuçları.	81
Şekil 4.21 : Nanoformülasyonların HUVEC hücreleri üzerinde % hücre canlılığı.	83
Şekil 4.22 : Serbest ilaçların HUVEC hücreleri üzerinde % hücre canlılığı.	84
Şekil 4.23 : Nanoformülasyonların PC-3 prostat kanser hücreleri üzerinde % hücre canlılığı.	86
Şekil 4.24 : Serbest ilaçların PC-3 prostat kanser hücreleri üzerinde % hücre canlılığı.	87

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 3.1: Sentezlenen NCs içerisindeki başlangıç bileşen miktarları.	50
Tablo 4.1: NCs kaplı kâğıt biyosensörlerin LOD değerleri.....	78
Tablo 4.2 : Nanoformülasyonlardan Seranib-2'nin kümülatif salım verileri.....	82
Tablo 4.3 : Nanoformülasyonların DLS analizi ve MTT sonuçları.	87

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
----------	----------

μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
$^{\circ}\text{C}$	: Derece selsiyus
σ	: Standart sapma
ΔE	: Öklit mesafesi
% S	: Sensör yanıtı
Θ	: Teta açısı

Kısaltmalar	Açıklama
-------------	----------

AA	: Askorbik Asit
Ag	: Gümüş
Alg	: Aljinat
BA	: Betulinik Asit
Cer	: Seranib-2
DLS	: Dinamik Işık Saçılımı
Dp	: Dopamin
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi
GA	: Gallik Asit
HUVEC	: İnsan göbek damarı endotelyal hücre hatları
LOD	: Tespit sınırı
MnO_2	: Mangan (IV) oksit
MnONP	: Mangan oksit nanotanecikler
MONP	: Metal/Metal oksit nanotanecikler
MTT	: 3- (4,5-Dimetiltiyazol-2-İl) -2,5-Difeniltetrazolyum Bromür
NCs	: Nanokompozitler
Uv-Vis	: Ultraviyole Görünür Bölge
PC-3	: İnsan prostat kanseri hücreleri

PLA	: Poli-Laktik Asit
RGB	: Kırmızı-Yeşil-Mavi kanallar
rpm	: Dakikadaki karıştırma hızı
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TA	: Tannik Asit
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
XPS	: X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi
XRD	: X-Işını Kırınımı
VSM	: Titreşimli Numune Manyetometresi
ZnO	: Çinko oksit



ÖZET

[DOKTORA TEZİ]

[BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR için ÇOK FONKSİYONLU METAL OKSİT ESASLI BİYONANOKOMPOZİTLERİN SENTEZİ ve İNCELENMESİ]

[Ezgi TAN]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Fiziksel Kimya Programı

[Danışman : Doç. Dr. Selcan KARAKUŞ

II. Danışman : Prof. Dr. Ayben KİLİSLİOĞLU]

Nanoteknolojideki ilerlemeler, mükemmel özelliklere sahip biyo-nanomalzemelerin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Özellikle biyomedikal alanda etkin kullanılabilen sensörler ve ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesi üzerine yapılan çalışmalar oldukça ilgi çekmektedir. Bu tez çalışmasında; ters emülsiyon destekli solvotermal yöntem kullanılarak kolloidal kararlılığı yüksek, monodispers çinko katkılanmış mangan oksit esaslı nanokompozitler (Zn:MnO₂ NCs) sentezlenmiştir. Daha sonra sentezlenen nanokompozitler biyosensör ve antikanser özellikleri karşılaştırmalı olarak tartışılmıştır. Sentezlenen yapıların bileşimi, morfolojisi ve kimyasal yapısı; TEM, SEM, XPS, XRD, DLS ve FTIR analizleri ile aydınlatılmıştır. Bu kapsamda ilk olarak; Zn:MnO₂ NCs ile yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip akıllı telefona destekli kolorimetrik ve enzimatik olmayan elektrokimyasal sensör sistemleri tasarlanmıştır. Sonuçlara göre; Zn:MnO₂ NCs ile kaplanmış kağıt sensör sistemleri sırasıyla 2.89, 3.88 ve 7.81 µM tespit limit değerleri (LOD) ile dopamin, gallik asit ve tannik aside karşı seçici kolorimetrik sensör özelliği göstermiştir. Ayrıca, hızlı tepki süresi (<1 dakika) ve 239 nM'lik düşük tespit limiti ile askorbik asit saptamasına karşı duyarlı enzimatik olmayan elektrokimyasal sensör davranışı sergilemiştir. Son olarak; Zn:MnO₂ NCs'ler içeren gallik asit-poli laktik asit-aljinat esaslı polimerik nanotaşıyıcılar (GA-PLA-Alg) sentezlenmiş ve betülinik asit (BA), seranib-2'nin (Cer) ve BA-Cer ilaç kombinasyonu bu nanotaşıyıcılara yüklenerek PC-3 prostat kanseri ve HUVEC normal hücrelerine karşı in-vitro antikanser aktiviteleri MTT testi ile incelenmiştir. Sonuçlara göre; nanotaşıyıcılar ve ilaç yüklü nanoformülasyonları HUVEC hücrelerine karşı toksik etki göstermezken, BA/Zn:MnO₂@GA- PLA-Alg NCs, BA-

Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs ve serbest BA-Cer'in PC-3 prostat kanser hücrelerine karşı IC₅₀ değerleri sırasıyla 6.498, 7.351 ve 18.571 µg/mL olarak bulunmuştur. BA-Cer'in prostat kanser hücreleri üzerindeki in-vitro antikanser etkisi ispatlanmıştır. Ayrıca ilaç yüklü nanotaşıyıcı, serbest BA-Cer'in antikanser aktivitesini yaklaşık 3 kat artırmıştır. Sonuç olarak; geliştirilen biyo-nanokompozitler çok işlevli seçici bir sensör sistemi ve etkili bir antikanser ajan özelliği göstermiştir. Ayrıca, BA-Cer ikili ilaç kombinasyonunun, diğer kanser türleri için de etkili bir ajan olabileceği öngörülmektedir. |

Haziran 2023 , |133| sayfa.

Anahtar kelimeler: |Biyo-nanoteknoloji, Nanokompozit, Biyosensör, Antikanser aktivite, Nanotaşıyıcılar |



ABSTRACT

Ph.D. THESIS

**FABRICATION and INVESTIGATION of MULTIFUNCTIONAL METAL OXIDE
BASED BIONANOCOMPOSITES for BIOMEDICAL APPLICATIONS**

Ezgi TAN

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Physical Chemistry

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Selcan KARAKUŞ

Co-Supervisor: Prof. Dr. Ayben KİLİSLİOĞLU

Advancements in nanotechnology have provided opportunities for the development of bionanomaterials with excellent properties. Particularly, research on the development of sensors and drug delivery systems that can be effectively used in the field of biomedicine has gained significant attention. In this thesis, colloidal-stable, monodisperse zinc-doped manganese oxide-based nanocomposites (Zn:MnO₂ NCs) were synthesized using the reverse emulsion assisted solvothermal method. Subsequently, the synthesized nanocomposites were comparatively discussed in terms of their biosensor and anticancer properties. The composition, morphology, and chemical structure of the synthesized structures were elucidated through TEM, SEM, XPS, XRD, DLS, and FTIR analyses. Firstly, smart phone-supported colorimetric and non-enzymatic electrochemical sensor systems with high sensitivity and selectivity were designed using Zn:MnO₂ NCs. According to the results, paper-based sensor systems coated with Zn:MnO₂ NCs exhibited selective colorimetric sensor properties against dopamine, gallic acid, and tannic acid with detection limit values (LOD) of 2.89, 3.88, and 7.81 µM, respectively. Additionally, it demonstrated selective non-enzymatic electrochemical sensor behavior for ascorbic acid detection with a rapid response time (<1 minute) and a low detection limit of 239 nM. Lastly, gallic acid-poly(lactic acid)-alginate-based polymeric nanocarriers (GA-PLA-Alg) containing Zn:MnO₂ NCs were synthesized, and betulinic acid (BA), seranib-2 (Cer), and BA-Cer drug combinations were loaded into these nanocarriers. The in-vitro anticancer activities of these nanocarriers and drug-loaded nanoformulations against PC-3 prostate cancer and HUVEC normal cells were examined using the MTT assay. According to the results, the

nanocarriers and drug-loaded nanoformulations exhibited no toxic effects against HUVEC cells, while BA/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs, BA-Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs, and free BA-Cer had IC₅₀ values of 6.498, 7.351, and 18.571 µg/mL, respectively, against PC-3 prostate cancer cells. The in-vitro anticancer effect of BA-Cer on prostate cancer cells was proven, and the drug-loaded nanocarrier increased the anticancer activity of free BA-Cer by approximately threefold. In conclusion, the developed bio-nanocomposites exhibited multifunctional selective sensor systems and effective anticancer agent properties. Furthermore, the BA-Cer combination drug is expected to be an effective agent for other types of cancer as well. |

June 2023, |133| pages.

Keywords: |Bio-nanotechnology, Nanocomposite, Biosensor, Anticancer activity, Nanocarriers|



1. GİRİŞ

Sistemlerin atomik boyutlarda aydınlatılması ve geliştirilmesine olanak sağlayan bir bilim dalı olan nanoteknoloji, temel bilimlerden tıp, eczacılık ve mühendislik bilimlerine kadar pek çok alanda artan bir ivmeyle ilk sıralarda yer almaktadır. Nanomalzemeler, metrenin milyarda biri olarak tanımlanan nanoölçeklerdeki yapılardır ve bu ölçeklerdeki malzemelerin kimyasal ve yüzey özelliklerine bağlı olarak üstün özellikler gösterdikleri bilinmektedir (Dodero *et al.*, 2021; Xia *et al.*, 2022). Böylece, gelişen nanoteknolojik çözümler ile otomotiv, tekstil, inşaat ve tıp gibi pek çok alan için yeni nesil malzemelerin geliştirilmesi veya mevcut malzemelerin özelliklerinin iyileştirilmesinin önü açılmaktadır (Kannan *et al.*, 2020; Mohankumar *et al.*, 2021). Bunlar arasında, nanoteknoloji ve biyoteknolojinin ortak alanı olan biyo-nanoteknoloji sayesinde, biyomedikal alanda moleküler düzeyde araştırma-geliştirme çalışmaları hız kazanmıştır.

Biyomedikal alanda geliştirilen malzemelerin üstün biyouyumluluk ve biyobozunurluk özelliklerine sahip olması ve biyolojik sistemlerle kolay ve etkili etkileşim sağlaması gerekmektedir (Meenambiga *et al.*, 2022). Bu sebeple; polimerler, aminoasitler, karbonhidratlar, nükleik asitler, proteinler ve lipozomlar gibi biyomoleküller ile modifikasyon tercih edilmektedir (Kayal and Ramanujan, 2010; Lu *et al.*, 2016; Kalubowilage, Janik and Bossmann, 2019; Weng, Tong and Chow, 2020; Alinavaz *et al.*, 2021). Ancak; malzemelerin termal ve mekanik kararlılıklarının geliştirilmesi ve elektriksel, manyetik ve optik gibi fizikokimyasal özelliklerinin iyileştirilmesi için inorganik yapılar ile katkılanmış nanokompozitlere ihtiyaç duyulmaktadır. Genel olarak biyo-nanokompozitler olarak adlandırılan bu yapılar sayesinde; özellikle biyosensör ve ilaç taşıyıcı sistemlerde hedefe yönelik ve üstün özelliklere sahip yeni nesil malzemeler geliştirilmektedir. Bu sayede; sensör uygulamalarında, hızlı tespit süresi, hassas tespit limiti ve yüksek seçiciliğe sahip ürünler elde edilirken, kanser, demans, diyabet ve enfeksiyona bağlı önemli hastalıkların mevcut tanı ve tedavisi için hedefe yönelik akıllı ilaç taşıyıcı nanomalzemeler üzerine de ciddi gelişmeler kaydedilmiştir (Rosenthal *et al.*, 2011; Esmaili *et al.*, 2022; Meenambiga *et al.*, 2022; Munawar *et al.*, 2022).

Biyomedikal uygulamalar için geliştirilen kompozit sistemlerde sıklıkla kullanılan inorganik nanoyapılara; kuantum noktalar (QDs) (Singh *et al.*, 2022), janus nanotanecikler (Lattuada and Hatton, 2011), silisyum oksit (Jin *et al.*, 2019) killer (Tan *et al.*, 2017) ve metal/metal oksit nanotanecikler (MONP'ler) (J. Xue *et al.*, no date; Du *et al.*, 2012; Ali *et al.*, 2021; Fiejdasz *et al.*, 2021) örnek verilebilir. Bu yapılarla nanoölçekte geliştirilmiş biyo-nanokompozitler, yüksek yüzey alanı/hacim oranı, gelişmiş morfoloji ve yüksek kararlılık özelliklerine bağlı olarak etkin fiziksel, kimyasal ve biyolojik aktivite göstermektedirler. Bu sayede geliştirilen malzemelerin çok işlevli olarak tasarlanması da mümkün olmaktadır. Özellikle metal/metal oksit nanotanecikler (MONP), üstün optik, manyetik ve elektriksel özellikleri ve bunun yanı sıra kararlılık ve biyouyumlulukları sayesinde nanokompozit geliştirmek üzere sıklıkla tercih edilmektedirler (Miao *et al.*, 2021).

Gelişen teknoloji, biyosensör sistemleri ve nanotıp alanlarında mükemmel özelliklere sahip biyo-nanokompozitlerin üretilmesine olanak sağlasa da biyomedikal alandaki çalışmaların geliştirilmesi hala önemlidir. Özellikle biyosensör uygulamalarında MONP'lerin gelişmiş elektrot tasarımında kullanımı ile etkin, hızlı tepki veren, taşınabilir ve ucuz bir sensörler tasarlanarak gıda içeriklerinin tespiti ve hastalıkların teşhisinde ilerlemeler kaydedilmektedir. Diğer yandan, yeni biyo-nanokompozitler ile teranostik nanotaşıyıcılar geliştirilerek, farmasötik etkinliği arttırılmış terapötiklerin en yüksek verimde ve en az yan etkiyle uygulanması mümkün olmaktadır. Bu tez çalışmasında; ters emülsiyon destekli solvotermal yöntemi kullanılarak çok işlevli mangan oksit (MnO_2) esaslı nanokompozitler (NCs) sentezlenmiş ve bunların biyosensör ve antikanser özellikleri incelenmiştir. Sentezlenen kolloidal ve monodispers dağılıma sahip nanooksit malzemelerin fiziksel, kimyasal, yapısal ve morfolojik özelliklerinin aydınlatılmasında; Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi (FTIR), X- Işını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS), X- Işını Kırınımı (XRD) ve Uv-Vis Spektroskopisi teknikleri kullanılmıştır. TEM analizi sonuçlarına göre; boyutları 10 nm'den küçük ve 0D (sıfır boyutlu) olarak tanımlanan nanoyapılar elde edilmiştir. XRD ve XPS analizi sonuçları ile gümüş ve çinko katkılanmış MnO_2 esaslı ikili ve üçlü nanooksit sistemlerin ($Zn:MnO_2$ NCs, $Ag:Zn:MnO_2$ NCs) başarı ile sentezlendiği kanıtlanmıştır. İlk uygulama alanı olarak; kolloidal MnO_2 NCs, $Zn:MnO_2$ NCs, $Ag:Zn:MnO_2$ NCs için kolorimetrik ve enzimatik olmayan elektrokimyasal biyosensör özellikleri kıyaslamalı olarak incelenmiştir. Bu amaçla, kolloidal NCs için farklı biyoanalitlere karşı kolorimetrik davranışlar bir akıllı telefon ve UV-vis spektroskopisi kullanılarak

değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre; sentezlenen NCs'in kolorimetrik algılama davranışı, şekerler, amino asitler, hormonlar ve fenolik bileşikler gibi farklı biyo-analitler arasında dopamin, askorbik asit, gallik asit ve tannik aside karşı hızlı ve seçici duyarlılık göstermiştir. NCs ve hedef analitlerin etkileşimleri UV-Vis spektroskopisi ile incelenmiştir. Sonuçlara göre; 0.52 mM–22.7 mM derişim aralığında askorbik asit ile etkileşen NCs'in spesifik dalga boyunda kayma olmaksızın azalma meydana gelmiştir. Ancak dopamin, gallik asit ve tannik asit ile etkileşimde, dalga boyunda düzenli bir azalma görülmemiş ve NCs'e ait dalga boyu görünür bölgeye kaymıştır. Bu sonuçlara göre; NCs'in dopamin, gallik asit ve tannik aside karşı kolorimetrik sensör davranışları incelenirken; askorbik aside karşı sensör davranışları elektrokimyasal olarak tartışılmıştır. Sentezlenen NCs, bir kâğıt üzerine kaplanarak; kolay taşınabilen, yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip kâğıt sensörler tasarlanmıştır. NCs-esaslı kâğıt sensörlerin kolorimetrik sensör davranışı bir akıllı telefon kullanılarak RGB (kırmızı-yeşil-mavi) analizi yöntemi ile ölçülmüştür. Zn:MnO₂ NCs kaplı kâğıt sensörlere ait tespit limiti değerleri (LOD) dopamin, gallik asit ve tannik aside karşı sırasıyla 2.89, 3.88 ve 7.81 µM olarak bulunmuştur. Son olarak, NCs'in askorbik aside karşı enzimatik olmayan elektrokimyasal sensör performansları kıyaslamalı olarak incelenmiş ve Zn:MnO₂ NCs-esaslı enzimatik olmayan elektrokimyasal sensör askorbik aside karşı 0.52 mM–11.35 mM konsantrasyon aralığında, 239 nM'lik düşük tespit limiti ve 44.73 µA/cm² mM'lik yüksek hassasiyet göstermiştir. Zn:MnO₂ NCs'in , diğer malzemelere göre üstün özellik göstermesi, koloidal kararlılığı ve homojen boyut dağılımı ile ilişkilendirilmiştir. Bu bulgular, tasarlanan NCs tabanlı sensörlerin, gerçek gıda ve kan numuneleri için askorbik asit, gallik asit, tannik asit ve dopamine karşı kolay uygulanabilir ve hızlı sensör sistemleri tasarlanmasında umut vadeden bir potansiyele sahip olduğu ispatlanmıştır.

Tez çalışmasının ikinci kısmında; betülinik asit ve betülinik asit: seranib-2 kombinasyonunun PC-3 prostat kanseri hücrelerine karşı in vitro antikanser aktivitesi tartışılmıştır. Bu amaçla; buharlaştırma destekli kapsülleme yöntemi ile yüksek koloidal kararlılıkta ZnMnO₂ NCs esaslı gallik asit (GA)-Polilaktik Asit (PLA)-Aljinat (Alg) polimerik nanotaşıyıcı sistemleri sentezlenmiştir. Nanotaşıyıcıların kimyasal yapısı, morfolojisi ve fizikokimyasal özellikleri; TEM, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), FTIR, Uv-Vis Spektroskopisi, Dinamik Işık Saçılımı (DLS) ve Titreşimli Numune Manyetometresi (VSM) teknikleri ile aydınlatılmıştır. TEM sonuçlarına göre, sıfır boyutlu (0D) Zn:MnO₂ NC'ler, 2.03±0.67 nm çapında homojen dağılımda ve küresel morfolojide bulunmuştur. VSM sonuçları, Zn:MnO₂ NCs'in 1.136 emu/g

doymunluk manyetizasyon (Ms) değeri ile paramanyetik özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Bu manyetik özelliğı ile Zn:MnO₂ NCs MR görüntüleme uygulamaları için iyi bir kontrast ajan adayıdır. Daha sonra, Zn:MnO₂ katkılı polimerik nanotaşıyıcılara yüklenen tekli ve ikili ilaçların PC-3 prostat kanseri ve HUVEC normal hücrelerine karşı in vitro sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, serbest ilaçlar ile ilaç yüklenmiş ve yüklenmemiş nanoyapılara MTT testi uygulanmıştır. Sonuçlara göre; GA-PLA-Alg ve ZnMnO₂ NCs kapsüllenmiş GA-PLA-Alg nanotaşıyıcıları için HUVEC ve PC-3 kanser hücre hatlarına karşı belirgin toksisite sergilememiştir. Ayrıca, ilaç yüklü nanoformülasyonlar HUVEC hücrelerinde karşı %70 oranında canlılık göstermiştir. Ancak; BA/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NC's, BA-Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs ve serbest BA-Cer PC-3 için prostat kanser hücrelerine karşı hesaplanan IC₅₀ değeri sırasıyla 6.498, 7.351 ve 18.571 µg/mL bulunmuştur. Bu sonuçlar; BA ve Cer ikili ilaç kombinasyonunun, yüksek ilaç direnci gösteren prostat kanser hücreleri üzerindeki in-vitro çalışmalarda etkili olduğunu göstermiştir. Özetle, Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs'in etkili manyetik özellikleri ve BA-Cer yüklü Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs'in in-vitro antikanser etkinliğı ile teşhis ve tedavide kullanılabilecek bir nanoteknolojik yaklaşım önerilmiştir.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

Nanoteknoloji, biyomedikal alanda pek çok problemin çözümü için yenilikçi yaklaşımlar sunan bir bilim dalıdır. Bu yaklaşımların temeli; küçük boyutlarının etkisiyle yüksek yüzey alanına sahip olan nanomalzemelerin, atomik boyutlara yaklaştıkça mevcut özelliklerinin iyileşmesi ve yeni özellikler sergileyebilmesi ile ilişkilendirilmektedir. Boyut küçüldükçe kazanılan bu yeni özellikler kuantum etkisi olarak değerlendirilirken, yüzlerce nanometre boyutundaki yapılar için de gelişmiş özelliklerden bahsetmek mümkündür (Vlasceanu *et al.*, 2017; Ding *et al.*, 2021; Prabhakar *et al.*, 2022).

Nanomalzemelerin tasarlanmasında, kontrollü ve tekrarlanabilir sentez koşulları önemlidir. Bu sayede, malzemelerin çok fonksiyonlu özellikleri uygulama alanına bağlı olarak geliştirilebilmektedir. Örneğin, biyomedikal alanda geliştirilen bir biyo-nanokompozit hem biyoyumluluğu yüksek implant özelliği hem de hasarlı çevre doku ve organların tedavisini sağlayacak terapötik bir malzeme özelliği gösterebilmektedir (Rudi *et al.*, 2019; Paramasivam *et al.*, 2021). Özellikle, hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanılmak üzere kararlılığı ve biyoyumluluğu yüksek nanomalzemelerin tasarlanması oldukça dikkat çeken bir konudur. Akıllı nanotaşıyıcılar olarak adlandırılan bu yapılar sayesinde, mevcut ilaçların daha düşük miktarları ile etkin tedavi sağlanırken aynı zamanda hedefe yönelik tedavi ile geleneksel yöntemlerin yan etkileri aza indirgenmektedir (Shah *et al.*, 2021). Bu sayede, kanser gibi önemli hastalıkların tedavisinde ilerlemeler kaydedilmektedir. Ayrıca, geliştirilen malzemelerin çok işlevli özelliklerinin olması farklı uygulama alanlarının önünü açmaktadır. Çünkü önemli hastalıkların teşhisinde kullanılabilecek ve bir sensör gibi tedavi sırasında sinyallerin okunmasına olanak sağlayan bir malzeme geliştirilmesi ile şüphesiz ki kanser, demans ve diyabet gibi önemli hastalıkların tedavisinde, metabolik hastalıklarla bağlantılı protein yapılarının belirlenmesinde ve gen tedavisinde daha hızlı ilerlemeler sağlanabilecektir (Sharifi, Caracciolo and Mahmoudi, 2020; Harishkumar *et al.*, 2021; Honmane *et al.*, 2022). Bu biyosensör sistemleri sayesinde, bilinen veya yeni karşılaşılan bir hastalığın, bir tedaviye veya bir ilaca nasıl bir mekanizma ile cevap verdiği izlenebilmekte ve bu sayede tedavi süreci iyileşmektedir (Aslam *et al.*, 2021; Munawar *et al.*, 2022). Yakın zamanda yaşanan covid-19 pandemisinde; gerek ilaç ve aşı geliştirme çalışmalarında gerekse hastalığın tanısında bu

yaklaşımların önemi anlaşılmıştır. Bir diğer önemli konu olan biyolojik yapılara duyarlı sensör sistemlerin geliştirilmesi ile kozmetik, gıda ve tıp alanlarında biyomoleküllerin tespit edilmesi üzerine araştırma-geliştirme çalışmaları hız kazanmış; böylece hızlı ve seçici analizler ile bu alanlarda ürün geliştirme ve kalite kontrolü kolaylaşmıştır. Bu tez çalışması kapsamında, biyo-nanoteknolojik yaklaşımlar esas alınarak çok fonksiyonlu nanomalzeme sentezi üzerine çalışılmıştır. Daha sonra biyomedikal alandaki iki önemli araştırma konusu olan biyosensör ve antikanser ajanlar için taşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesi üzerine karşılaştırmalı bir inceleme sunulmuştur.

2.1. BİYO-NANOTEKNOLOJİ

Nanoteknoloji, biyomedikal cihazların geliştirilmesi ve tıp alanlarında devrim yaratma potansiyeline sahiptir. Maddenin nano ölçekte üretilmesi ile yeni ve gelişmiş özelliklere sahip malzemeler ve sistemler tasarlanabilmektedir. Biyomedikal alanda geliştirilen malzemelerin üstün biyoyumluluk ve biyobozunurluk özelliklerine sahip olması ile biyolojik sistemlerle kolay ve etkili etkileşimler sağlanmaktadır. Biyoyumlu nanomalzemeler ile protezlerin tasarlanması ve doku mühendisliği performanslarının gelişmesi mümkün olmaktadır (Iqbal *et al.*, 2020; Sidhu, Singh and Gepreel, 2021; Xia *et al.*, 2022) Bunların yanı sıra, özellikle hedefli ilaç dağıtım ve görüntüleme sistemlerinin geliştirilmesi ve sensör sistemleri tasarlama üzerine yapılan araştırmalar için de önemli ilerlemeler sağlanmaktadır. Nanoteknoloji biyomedikal alana kattığı yenilikler sayesinde, çok çeşitli hastalık ve yaralanmalar için daha etkili tedavilerin ve terapilerin geliştirilmesi için büyük umut vaat etmektedir (Calamak and Ermis, no date; Mohandas *et al.*, 2015; Cao *et al.*, 2021; Choudhary *et al.*, 2021).

Biyomedikal uygulamalar, tıbbi uygulamalar ve sağlık hizmetleri yararına teknoloji ve bilimsel bilginin kullanılmasını ifade eder. Bu noktada; hastalıkları teşhis etmek, izlemek ve tedavi süreçleri geliştirmek oldukça önemlidir. Bunun için; ultrasonlar, manyetik rezonans görüntüleme (MRI), bilgisayarlı tomografi (CT) taramaları ve X-ışınları gibi tıbbi görüntüleme uygulamaları mevcuttur. Ancak yeni malzeme ve cihazlar ile daha kısa ve etkili takip yöntemlerinin geliştirilmesi mümkündür. Etkili bir biyogörüntüleme ajanı olmak için, malzemelerin biyolojik ortamlarda herhangi bir parçalanma veya metabolik değişiklik olmaksızın kararlı olması ve minimum toksisitede vücuttan hızla atılması gerekmektedir. Bu kapsamda, hedef doku/organlara taşınabilen ve MRI, PET, ultrason gibi görüntüleme cihazları tarafından algılanabilen malzemeler geliştirilebilmektedir (Yao *et al.*, 2019; Sun *et al.*, 2021).

Biyo-nanoteknoloji ile, robotik cerrahi gibi yapay zekâ-destekli uygulamalarla teşhis ve tedavide kullanılabilecek bilgisayar algoritmaları geliştirmekte ve bu sayede hasta popülasyonlarındaki eğilimler belirlemektedir. Böylece hassas ve tekrarlanabilir yöntemler geliştirilebilmektedir. Biyomedikal mühendisliğinin en çok ilgilendiği konular olan kalp pilleri, yapay organlar, protezler ve implantlar gibi tıbbi cihazların geliştirilmesi ile hastaların yaşam kalitesinin artmakta ve tıbbi prosedürlerin daha verimli hale gelmesi mümkün olmaktadır (Mohankumar *et al.*, 2021; Buyuksungur *et al.*, 2022). Biyomedikal uygulamalar aynı zamanda insan vücudunu incelemek ve anlamak için gen dizilimi ve biyoinformatik gibi teknolojilerin kullanımını içermektedir (Carrion *et al.*, 2021; Q. Zhang *et al.*, 2021).

Biyo-nanoteknolojinin en önemli konularından biri de biyosensörlerin geliştirilmesidir. Biyosensörler, canlı organizmalardaki biyolojik süreçleri tespit etmek için kullanılan araçlardır. Genellikle bir protein veya enzim gibi bir algılama elemanından ve biyolojik yanıtları ölçülebilir bir sinyale dönüştüren bir dönüştürücüden oluşurlar. Biyosensörler, biyolojik süreçleri tespit etmek için geleneksel yöntemlere göre daha hassas, spesifik ve uygun maliyetli olma gibi birçok avantaj sunmaktadır. Tıbbi teşhis, çevresel izleme, gıda kalite kontrolü ve ilaç geliştirme dahil olmak üzere çeşitli uygulamalar için kullanılabilirler. Biyosensörler, biyolojik moleküllerin kalitatif ve kantitatif olarak tespit edilmesinde kullanılan sistemlerdir. Gıda, kozmetik ve medikal alan başta olmak üzere çevre uygulamalarında da sıklıkla tercih edilmektedir. Biyosensör tasarlamak için kullanılan malzemelerin, katalitik ve elektrokimyasal özellikleri en önemli iki parametredir (Gupta, Sharma and Verma, 2020; Mohankumar *et al.*, 2021). Bu sebeple, biyosensörlere ve bunların çeşitli kullanımına genel bir bakışın yanı sıra potansiyel uygulamaları ve zorlukları tartışılması önemlidir.

Yeni nesil biyo-nanokompozitlerin geliştirilmesi ile özellikle tıp uygulamaları için umut vadeden gelişmeler elde edilmektedir. Nanoteknoloji ile geliştirilen üstün özellikli malzemelerin biyolojik sistemlere uygun olarak tasarlanması, kanser gibi önemli hastalıkların teşhis ve tedavisinde ilerlemeler sağlamaktadır. Bu sayede, özellikle antikanser ilaçların etkinliğini artırabilecek nanoformülasyonlar ve güçlü ilaç dağıtım sistemleri geliştirilmiştir. Nanofomülasyonlar, bir ilacın belirli fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olacak şekilde tasarlanmış küçük parçacıklarıdır. Bu parçacıkların boyutu ve yüzey özellikleri, hedeflenen ilaç salımı ve yüksek biyoyararlanımı sağlamanın yanı sıra kararlılıklarını ve çözünürlüklerini artırmak için uygun hale getirilebilir. Bu, nanofomülasyonların ilaçları amaçlanan hedefe daha yüksek verimlilikle ulaştırabileceği ve hedeflenen bölgede daha yüksek ilaç

konsantrasyonlarının elde edilmesine izin verebileceği anlamına gelmektedir. Bu, geleneksel ilaç formülasyonları ile karşılaştırıldığında geliştirilmiş etkinlik ve daha az yan etki ile sonuçlanmaktadır. Nanofomülasyonlar, ilacın hücre zarını geçme kabiliyetini artırarak, ilaç penetrasyonu olarak bilinen ilaç dağıtımını iyileştirerek daha fazla ilacın hedef bölgeye ulaşmasına izin veren daha yüksek etkinlik ve daha az yan etkili yapılardır. Sonuç olarak, nanoformülasyonlar artan ilaç etkinliği, geliştirilmiş ilaç penetrasyonu ve daha az yan etki dahil olmak üzere geleneksel ilaç dağıtım sistemlerine göre birçok avantaj sundukları için antikanser ilaçlarında tercih edilen ilaç verme yöntemi haline gelmektedir (Huda, Alam and Sharma, 2020; Babadi *et al.*, 2021; Plaza-Oliver *et al.*, 2021).

2.1.1. İnorganik Nanokompozitler

İnorganik nanomalzemeler; şekil, boyut, morfoloji ve kimyasal bileşimlerine bağlı olarak sınıflandırılırlar. Tek başlarına veya kompozit olarak kullanımlarında malzemeye termal/mekanik dayanım, manyetik, optik ve elektriksel özellikler kazandırılmaktadır. Deneysel parametrelerle boyut ve şekil kontrollü nanoyapılar tasarlamak ve ikili/üçlü inorganik kompozisyonlarla yeni nesil çok işlevli nanokompozitler geliştirmek mümkündür.

Nanokompozit tanımına benzer yaklaşımla; janus nanotanecikler, yapısal olarak iki yarısı farklı özellikteki parçacıklardır. Bu yarılar, farklı yüzey yükleri, farklı şekiller ve farklı malzemeler gibi farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olabilmeleri sebebiyle çok işlevli nanoyapılar olarak dikkat çekmektedir. Bu malzemeler, bileşim kontrol edilerek istenilen fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikte malzemelerin tasarlanmasına olanak sağlamaktadır. Janus nanotanecikler; hedefli ilaç dağıtımı, biyosensörler, katalitik reaksiyonlar, tıbbi görüntüleme ve teşhisin yanı sıra güneş enerjisi uygulamalarında tercih edilmektedirler (Lattuada and Hatton, 2011; Yáñez-Sedeño, Campuzano and Pingarrón, 2017).

Bir diğer ilgi çekici inorganik nanomalzeme olan kuantum noktalar (QDs), boyutları 2-10 nanometre arasında değişen yarı iletken nanokristallerdir. Küçük boyutlarının bir sonucu olarak; geleneksel yarı iletken malzemelerden çok daha iyi optik, elektronik ve mekanik özellikte olan bu nanokristaller; tıbbi teşhis/görüntüleme teknolojisi ve yenilenebilir enerji dahil olmak üzere pek çok alanda uygulamaya sahiptir. Fotoluminesans özellikleri sayesinde belirli dalga boylarında kırmızıdan mora ışınlar yapabilirler ve bu sayede medikal alanda hastalıklı hücrelerin görüntülenmesinde kullanılabilirler. Bu, erken teşhis ve doğru tedavilerin geliştirilmesinin önünü açan bir teknolojidir. QDs geleneksel floresan boyalardan daha parlak oldukları ve yüksek çözünürlüklü görüntüler sağlayabilme özellikleri ile floresan görüntüleme

uygulamalarında kullanılmaktadırlar. Bu sayede, in-vitro ve in-vivo ortamlarda moleküllerin lokalizasyonunu ve hareketini izlenebilmektedir. QDs antikorlara bağlanarak vücuttaki spesifik proteinlerin varlığını tespit etmek için kullanılması üzerine çalışmalar mevcuttur. Ayrıca; elektronik görüntü teknolojisinde, televizyon ekranlarında ve bilgisayar monitörlerinde daha parlak, daha canlı görüntüler üretmek için kuantum noktaları kullanılabilir. Yenilenebilir enerjide, güneş enerjisini geleneksel fotovoltaik hücrelerden daha verimli bir şekilde elektrik enerjisine dönüştürmede etkilidirler. Ayrıca atomik boyutları sayesinde, lazer gibi bir dış enerji kaynağı tarafından uyarıldıklarında enerjiyi kolaylıkla absorplayarak farklı renkler haline ışığı geri yansıtma yetenekleri sağlar. Bu sayede güneş pili teknolojisinde, daha fazla ışığı yakalayarak güneş pillerinin verimliliğini artırmak için kullanılırlar. QDs ;boyut, şekil ve bileşime bağlı olarak farklı renklerde ışınlar yapması onları yeni ve yenilikçi elektronik cihazlar ve biyogörüntüleme ajanı olarak gelecek vaat eden kompozit malzeme adayları haline getirmiştir (Vlasceanu *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2022; Tran *et al.*, 2022; Armășelu and Jangid, 2023).

İnorganik nanokompozitlerin tasarlanmasında sıklıkla tercih edilen bir diğer yapı metal/metal oksit nanotaneceklerdir. Küçük boyutlu ve toksisitesi düşük MONP'ler, biyolojik moleküllerle etkileşime girme yetenekleri ile hedefli ilaç dağıtımında tercih edilmektedir. MONP'ler; teşhis, görüntüleme, terapötik yapıların hedef bölgeye iletimi ve salımı alanlarında en çok tercih edilen nanomalzemelerdir. Örneğin, doku ve organların manyetik rezonans görüntülemesi (MRI) için demir oksit nanoparçacıkları kullanılabilirken, titanyum dioksit nanotanecekleri fotodinamik terapi için kullanılabilir (Cheng *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2021).

MONP'ler; mükemmel katalitik, optik ve elektriksel özelliklerinden dolayı yeni biyosensörlerin geliştirilmesinde de geniş çapta incelenmiştir. MONP'lerin enzim bazlı biyosensörlerde, optik biyosensörlerde ve elektrokimyasal biyosensörlerde aktif bileşenler olarak kullanıldıkları bilinmektedir. Enzim bazlı biyosensörlerde, MONP'ler, belirli bir analit ile reaksiyona girer ve aktif yüzeyi, enzimlerin bağlanması için geniş bir yüzey alanı sağlayarak biyosensörün seçiciliğini ve hassasiyetini artırır (Zheng *et al.*, 2012; Anantha *et al.*, 2021). Optik biyosensörlerde, biyokimyasal reaksiyonları ölçmek için ışık kullanılabilir ve ışık sinyalinin yoğunluğunu artırmak için MONP'ler kullanılabilir. MONP'ler, kimyasal reaksiyonlar nedeniyle elektrik akımındaki değişiklikleri ölçen elektrokimyasal biyosensörlerde de kullanılabilir. Genel olarak, MONP'ler, benzersiz özellikleri ve belirli uygulamalar için uyarlanabilme yetenekleri nedeniyle biyosensörler için uygun malzemelerdir. Ek olarak,

biyosensörlerde cihazın hassasiyetini, seçiciliğini ve sinyal gücünü artırmak için kullanılabilirler (Yáñez-Sedeño, Campuzano and Pingarrón, 2017; Zhou *et al.*, 2019).

Tek başlarına mükemmel özellikleri olsa da ikili ve üçlü MONP'ler tasarlanması ile biyomedikal uygulamalar için daha gelişmiş optik, elektriksel ve manyetik özelliklere sahip malzemeler elde edilebilir. Bu nanotanicikler, biyolojik olarak oldukça uyumludur ve ilaçları ve gen terapisi ajanlarını iletmek, belirli dokuları hedeflemek ve görüntüleme ajanları oluşturmak için kullanılabilirler. Bu sayede, artan çok yönlülükleri ve işlevsellikleri nedeniyle daha avantajlı yapılar haline gelmektedirler. Özellikle sensör uygulamalarında, birden fazla biyolojik ajanı aynı anda algılama yeteneğine ve daha yüksek hassasiyete sahiptirler. İkili ve üçlü MONP'lere dayalı biyosensörlerin; daha düşük maliyet, sağlamlık, hızlı tepki süresi ve taşınabilirlik gibi çeşitli avantajları da mevcuttur. İkili ve üçlü MONP'lere dayalı biyosensörler, çevresel izleme, gıda güvenliği ve klinik teşhis gibi çeşitli uygulamalarda tercih edilmektedir. Örneğin, su ve gıdadaki patojen, toksin ve kirleticilerin tespiti ve kanser gibi hastalıklara ait biyobelirteçlerin izlenmesinde kullanılmıştır (Ali *et al.*, 2021). Bu malzemeler üzerinde daha fazla araştırma yapıldıkça, potansiyel uygulamalarının genişlemesi muhtemeldir.

2.1.1.1. Metal /Metal Oksit Esaslı Nanoyapılar

MONP'ler, geleneksel malzemelere göre küçük boyutları sayesinde; termal ve mekanik kararlılık, optik, elektriksel ve manyetik özellikler ve yüzey etkinliği dahil olmak üzere çok çeşitli kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptirler. Bu sayede temel bilimler, mühendislik bilimleri, tıp, çevre ve kozmetik gibi biyomedikal uygulamalarda tercih edilirler. Biyomedikal alanda en çok tercih edilen MONP'lere; titanyum oksit (TiO_2), çinko oksit (ZnO), mangan oksitleri (Mn_xO_y), demir oksitleri (Fe_xO_y) ve bakır oksitleri (Cu_xO_y) ile altın (Au), gümüş (Ag) demir (Fe) gibi sıfır değerlikli metaller örnek verilebilir. Bu malzemelerin nanoçubuklar, nanoküreler, dendrimerik nanoyapılar gibi farklı morfolojide sentezleri ile üstün özellikli malzemeler geliştirmek mümkündür. Bu noktada kullanılan sentez parametrelerinin kontrol edilebilirliği oldukça önemlidir (Yue *et al.*, 2014; Pung *et al.*, 2016; Ali *et al.*, 2021; Muthusamy *et al.*, 2022).

Özellikle kanser gibi önemli hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanılan MONP'ler; ilaçları doğrudan kanser hücrelerine ulaştırmak ve etkilerini artırmak için veya termal ablasyon olarak adlandırılan ısıtma yoluyla yolu ile tümörleri yok etmek için kullanılmaktadırlar. Sahip oldukları gelişmiş optik, elektriksel ve manyetik özellikler ve küçük boyutları sayesinde tedavi sürecinin iyileşmesine olanak sağlamaktadırlar. Boyutları hücrelerin derinliklerine nüfuz

etmelerini ve etkileşimlerini kolaylaştığı için, hedef hücreye yönelik tedavilerin geliştirilmesinde önemli rol oynarlar (Liu *et al.*, 2018; Kalubowilage, Janik and Bossmann, 2019; Muthusamy *et al.*, 2022). Bu nanotanecikler aynı zamanda terapötik ilaçlarla kaplanarak veya doğrudan görüntüleme taramaları için kontrast maddeler olarak kullanılabilirler. İlaçlarla birleştirilen MONP'ler, ilaçların aktivitesini artırarak onları daha etkili hale getirebilmektedir. Örnek olarak; MONP'lerin ışık enerjisini emerek ısıya dönüştürebilme özellikleri sayesinde fototermal terapi (PTT) olarak adlandırılan ısı yoluyla hastalıklı hücrelerin öldürülmesi sürecinde kullanılmaları verilebilir (Ghosh *et al.*, 2022; Wen *et al.*, 2022). Bu amaçla geliştirilen malzemeler, sağlıklı hücrelere zarar vermeden hastalıklı hücrelerin öldürülmesinde kullanılmaktadırlar. Yapılan çalışmalar; MONP içeren nanoyapılarla kapsüllenmiş ilaçlar için in-vitro veya in-vivo salımların daha kontrollü şekilde gerçekleştiği kanıtlanmıştır. Kontrollü salım, ilaçların çözünürlüğünün artmasına katkı sağlayarak, emilimi arttırmada önemli rol oynamaktadırlar. Dahası, nanoyapılar içerisine kapsüllenen ilaçlar bozulmaya karşı korunurlar ve daha uzun süre muhafaza edebilmektedir. Bu durum, özellikle bozunmaya duyarlı ilaçlar için önemlidir. Belirli şekil, boyut ve yüzey özelliklerine sahip nanoyapıların gelişmesiyle tüm bu özelliklerin iyileştirilmesi ve bu sayede sorunların çözümüne daha hızlı yanıtlar alınabilmesi mümkündür. Bu nedenle MONP'lerin mevcut özelliklerinin nanoboyutlardaki manipülasyonu ile hücreleri veya dokuları hedeflemek, ilaçların istenen yere daha etkili bir şekilde iletmek ve ilaçların kararlılığını, biyoyararlanımını ve çözünürlüğünü artırmak mümkündür (Shi *et al.*, 2018; Ghosh *et al.*, 2022). Tüm bu çok işlevli özellikleri bir arada düşünüldüğünde; metal oksit esaslı nanokompozitler, biyomedikal alanda malzemelerin geliştirilmesinde için önemli bir aday haline gelmiştir.

Biyogörüntüleme için yeni ajanların tasarlanmasında kullanılan mangan oksit nanotanecikler (MnONP'ler), yüksek T1 kontrastı, düşük toksisite ve multimodal görüntüleme potansiyeli gibi geleneksel kontrast ajanlarına göre çeşitli avantajlara sahiptir (Chen *et al.*, 2012). Bunun yanı sıra; MnONP'ler, ilaç salım sistemleri için akıllı nanotaşıyıcıların geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar, MnONP'lerin, çeşitli ilaçlara ve diğer biyomoleküllere bağlanma yeteneği sayesinde ilaçların salımını kontrol etmede etkili olduğunu, ilaçların daha uzun bir süre boyunca sürekli salınarak hedef bölge için etkinliğini arttırdığını gösterilmiştir. MnONP içeren sistemler, ilaçların çözünürlüğünü artırma, daha hızlı ve verimli bir şekilde emilmelerini sağlanarak ilacın verilmesi için gereken süreyi önemli ölçüde azaltılmış ve böylece hasta sonuçlarını iyileştirilmiştir (Mabrouk *et al.*, 2020; Miao *et al.*, 2021). MnONP'lerin, çeşitli hastalıkların tedavisinde faydalı olabilecek antioksidan özelliklere sahip

olduğu da bilinmektedir (Liu *et al.*, 2021). MnONP'ler daha büyük parçacıklara kıyasla daha yüksek yüzey alanına ve yüzey reaktivitesine sahip olmaları sayesinde mükemmel katalitik ve optik/manyetik aktivite göstermektedir. Bu özellikleri, nispeten düşük maliyetleri ve sentez kolaylığı gibi özellikleri ile birleştğinde; proteinler ve DNA gibi biyolojik moleküllerin tespitinde ve yüksek elektrik iletkenlikleri ile seçici ve kimyasal kararlılığı yüksek sensörlerin geliştirilmesinde sıklıkla tercih edilen bir malzeme haline gelmişlerdir. Genel olarak, MnO₂ esaslı biyosensörler, hidrojen peroksit, glikoz, kolesterol ve diğer biyomoleküllerin varlığında değişen elektrik akımını algılayarak, özellikle tıbbi teşhis araştırmaları, mikroorganizmaların tespiti, gıda kirleticilerini tespiti ve su kalitesini izlemek için kullanılmaktadır (Ma *et al.*, 2020). Biyosensör uygulamalarında kullanımlarına ek olarak, organik moleküllerin oksidasyonunu katalize etme yetenekleri sayesinde MnONP'ler su arıtma uygulamaları için uygun malzemelerdir (He *et al.*, 2022). Ayrıca mükemmel elektriksel özellikleri, onları enerji depolama uygulamaları için çekici kılmaktadır (Yuan *et al.*, 2015).

MnONP'ler, paramanyetik ve diyamanyetik özellik gösterebilmeleri ve biyoyumlulukları sayesinde MRI (Manyetik Rezonans Görüntüleme), PET (Pozitron Emisyon Tomografisi) ve CT (Bilgisayarlı Tomografi) gibi görüntüleme yöntemlerinde kontrast oluşturmak için kullanılabilir. PET'te vücuttaki metabolik süreçlerin tespitinde, BT taramasında ise farklı doku türleri ayırt etme yapay bir kontrast maddesi olarak kullanılırlar. MnONP'lerin paramanyetik veya diyamanyetik özelliklerine bağlı olarak belirli dokuların görüntü sinyallerinin güçlendirilmesinde etkili olmaları onları MRI'de iyi bir kontrast maddesi olarak kullanışlı kılmaktadır. MRI uygulamalarında; gri madde ve beyaz maddeden gelen sinyallerin ayırt edilebilmesi özellikle beyin görüntülenmesi için önemlidir. Diyamanyetik MnONP'ler MR görüntülemesinde belirli dokuların sinyalini azaltarak daha doğru görüntülemeye olanak tanır. Ek olarak, diyamanyetik özellik MRI'deki hareket fizyolojik olmayan etkilerini azaltmak için kullanılabilir. Genel olarak, mangane oksitler, paramanyetik ve diyamanyetik özelliklerinin ikili doğası nedeniyle dikkat çekici bir görüntüleme ajanıdır. Paramanyetik/diyamanyetik özellikler, daha doğru görüntüleme sonuçları oluşturmak için birlikte kullanılabilir (Tsitovich, Spornyak and Morrow, 2013; Hingorani *et al.*, 2016).

Paramanyetizma ve diamanyetizma, canlı organizmalar için görüntüleme ajanları tasarlanmasında tercih edilen iki tür manyetik özelliktir. Manyetik özelliklerin oluşmasında, elektronların yörüngesel veya spin hareketleri ve elektronlar arası etkileşim etkilidir. Paramanyetizma, bir malzeme ile manyetik alan arasındaki çekim kuvvetidir ve malzemenin

atomlarında veya moleküllerinde eşleşmemiş elektronların varlığından kaynaklanır. Bu, paramanyetik malzemelerin manyetik momentinin olmasına ve bir manyetik alan varlığında uygulanan manyetik alan ile aynı yönde hareket etmesi ile sonuçlanır. Bu yönelim sayesinde pozitif manyetizasyon oluşur ve bu sayede MR görüntü için uygun malzemelerdirler. Diyamanyetik malzemelere manyetik alan uygulandığında elektronların davranışı farklıdır. Bu durum net manyetik momente sahip olmayan yani çiftleşmemiş elektronlarının olmamasının bir sonucudur. Diyamanyetik malzemeler bir manyetik alana doğru değil, tersi yönde ilerlemektedir. Bu, onları farklı dokular arasında bir kontrast oluşturmada önemli malzemeler olmasını sağlar. Diyamanyetik malzemeler negatif bir manyetizasyon göstermektedir. Genel olarak, canlı organizmaların içindeki yapıları görüntülemek için hem paramanyetizma hem de diyamanyetizma kullanılabilir. Paramanyetizma, MR görüntülemeye ayrıntılı görüntüler oluşturmak için kullanışlıyken, diyamanyetizma, farklı dokular arasında kontrast oluşturmak için kullanılabilir. Bu nedenle bu özelliklerde malzemelerin geliştirilmesi biyogörüntüleme uygulamaları için oldukça önemlidir (Tsitovich, Sperryak and Morrow, 2013; Zhang *et al.*, 2019).

MnONP'ler, genellikle endositoz yoluyla hücreler tarafından alınmakta ve hücre içinde bozularak Mn iyonları salmaktadır. Bu sayede, Mn iyonları proteinlere ve diğer moleküllere bağlanarak güçlü bir T1 kontrastı oluşturmaktadır. Bu kontrast, MnONP içeren hücrelerin ve dokuların görüntülenmesine izin vererek MRI taramalarında kullanımının önünü açmaktadır. MnONP'ler, aynı hücrelerin veya dokuların farklı görüntüleme yöntemleriyle görüntülenmesine izin vererek çok modlu görüntüleme için de kullanılabilir. Bu, sonuçların çapraz doğrulanmasının yanı sıra görüntülenen doku hakkında ek bilgi sağlamak için de yararlı olabilir. Örneğin, MnONP'ler, görüntülenen doku hakkında ek bilgi sağlamak için PET veya optik görüntüleme ile bir arada kullanılabilir. Sonuç olarak, MnONP'ler, yüksek T1 kontrastları, düşük toksisite ve multimodal görüntüleme potansiyelleri nedeniyle umut verici biyogörüntüleme ajanıdır. Ancak klinik ortamlarda kullanımlarını optimize etmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Zhao *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2021).

Ancak MnONP'ler gibi manyetik nanomalzemelerin özelliklerinin iyileşmesi ve biyolojik ortamlarla etkileşiminin artırılması için kompozit haline getirilmeleri önemlidir. Çünkü MnONP'lerin hidrofobik özelliği baskındır ve sulu ortamlarda topaklanma eğilimi gösterirler (Shi *et al.*, 2018). Bu durum, büyüyen boyut ve değişen morfolojiye sebep olmaktadır. Mevcut özelliklerin biyolojik ortamlarda en etkili şekilde kullanılabilmesi, amfifilik veya hidrofilik

özellikler kazandırılması ile mümkündür. Bu nedenle bu gibi nanoyapıların biyomoleküllerle modifikasyonu oldukça önemlidir. Ancak buradaki en büyük problem, uzun süreli kararlılığı sağlamanın zor oluşudur. Dolayısıyla MnONP'lerin kolloidal kararlılığını ve biyomoleküllerle etkileşimini iyileştirmek için inorganik diğer metal veya metal oksitler ile hibrit nanokompozitler halinde sentezlenmeleri önem kazanmıştır. Bu noktada boyut kontrollü ve yüksek verimde nanokompozitlerin sentezlenmesi için yeni sentez yöntemlerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Shatnawi *et al.*, 2016; Yao *et al.*, 2019; Sahu, Aravind and Brahma, 2021).

Bu kapsamda çinko oksit nanotanecekleri (ZnO NP) yüksek amfililik yapıları, FDA (Gıda ve İlaç Yönetimi) onaylı olmaları ve biyomoleküllere gösterdikleri yüksek uyumları sebebiyle inorganik hibrit nanokompozitlerin geliştirilmesinde tercih edilmektedirler. Özellikle, antibakteriyel uygulamalar, ilaç salım sistemleri, biyogörüntüleme, doku mühendisliği, implantlar ve tıbbi cihazların geliştirilmesi gibi biyomedikal uygulamalar için büyük potansiyele sahiptir (Xiong, 2013; Mohankumar *et al.*, 2021). ZnO NP'lerin ilaçları vücuttaki belirli bölgelere seçici olarak hedefleme özellikleri ve salım davranışları kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Sonuçlar, ZnO NP içeren nanotaşıyıcılar sayesinde ilaçların hastalıklı bölgelere seçici olarak tutunduklarını ve uzun süreli ve kontrollü salımı desteklediklerini göstermiştir. Ayrıca, polietilen glikol, aljinat, polietilen oksit, polilaktik asit, guar sakızı, konjact sakızı, antikorlar veya aptamerler gibi çeşitli fonksiyonel gruplarla yüzeyi modifiye edildiğinde hedefe yönelik ilaç dağıtımı, ilaçların yan etkilerini azaltmaya, ilaç etkinliğini artırmaya ve ilaç dozlama gereksinimlerini azaltmaya yardımcı olmaktadır (Sandhya *et al.*, 2018; Sun, Li and Le, 2018).

ZnO NP, 3.37 eV'lik geniş bir bant aralığına sahip yarı iletken bir malzemedir. Bu sayede, özellikle optik ve floresan görüntüleme tekniklerinde sıklıkla kullanılan ZnO NP, hedef moleküllerle kolay etkileşime girerken ayrıca görünür ışığı absorplayip floresans yayarak, hedef moleküllerin saptanmasına olanak tanımaktadır (Shatnawi *et al.*, 2016). Düşük maliyeti ve kolay sentezlenebilirliği ile nanoteller, nanoçubuklar ve nanoçiçekler gibi farklı morfolojilerde üretilerek biyosensör sistemlerinde de ideal bir seçim haline gelmişlerdir. Biyosensör uygulamalarında, proteinler, DNA ve enzimler gibi biyolojik molekülleri tespit etmek için kullanılan ZnO NP'ler; sıcaklık, basınç ve pH algılama için uygundur. Biyosensör ile etkileşime girebilen hedef moleküllerin miktarını artıran yüksek bir yüzey alanı-hacim oranları sayesinde biyosensörlerin hassasiyetini ve seçiciliğini geliştirmek için kullanılabilirler

(Yue *et al.*, 2014). ZnO NP'lerin biyouyumluluğu yani toksik, tahriş edici, alerjik, mutajenik ve kanserojen olmamaları sebebiyle biyomedikal alanda en çok tercih edilen MONP'ler arasındadır (Yue *et al.*, 2020; Anantha *et al.*, 2021). Ayrıca, elektriksel, optik ve katalitik özellikleri ile güneş pilleri ve biyomedikal cihazların geliştirilmesi, ışık yayan diyotlar (LED'ler) olarak ekranlar ve aydınlatma gibi düşük güçlü uygulamalarda kullanımı gibi çok geniş bir alanda kullanılmaktadırlar. Güneş pillerinde ZnO NP, geleneksel silikon bazlı güneş pillerinden daha yüksek bir dönüşüm verimliliği sağlayan yüksek bir absorpsiyon kapasitesine sahiptir ve güneş ışığını absorplayarak elektrığe dönüştürebilmeleri sayesinde güneş pillerinin verimliliğini artırmak için kullanılırlar. ZnO NP mükemmel elektriksel ve termal iletkenlikleri sayesinde devre kartlarında iletken dolgu maddesi olarak da tercih edilmektedir (Yuan *et al.*, 2015).

Çok işlevli inorganik hibrit nanokompozitlerin geliştirilmesinde tercih edilen bir diğer yapı ise gümüş (Ag) esaslı nanotaneciklerdir. Özellikle iletkenlik özellikleri ve oksitleyici maddelere karşı düşük reaktiviteye sahip olmaları sebebiyle elektronik devreler ve biyosensör tasarlanmasında tercih edilen gümüş ve gümüş oksit nanotanecikleri (Ag₂O NPs), iyi bir elektron transfer maddesi olduğu için gelişmiş katalitik özelliklere sahiptir. Ag nanotanecikleri çözeltideki glikoz ve amino asitler gibi çeşitli biyo-analitlerin tespitinde kullanılmıştır. Ag₂O NPs; yüksek yüzey alanı, yüksek biyouyumluluk ve mükemmel antibakteriyel aktivite gibi özellikleri ile ilaç verme, yara iyileştirme, doku mühendisliği ve kanser tedavisi gibi biyomedikal uygulamalar için en umut verici bir nanotaneciktir. Özellikle nano boyutlarına bağlı olarak geniş bir yüzey alanına sahip olmaları, ilaç taşıma sistemlerinde terapötik ajanların hedefli iletimi ve salımında kontrol sağlamışlardır. Ayrıca, seçici antibakteriyel özellikleri sayesinde özellikle in-vitro ve in-vivo çalışmalarda bakteri üremesini engellemek üzere pek çok nanokompozit için katkı malzemesi olarak tercih edilmektedir (Y. Xue *et al.*, no date; Choi *et al.*, 2021; Gao *et al.*, 2021; Mohamed *et al.*, 2021).

2.1.2. Biyomolekül Esaslı Nanokompozitler

Biyo-nanokompozitler, mevcut malzemeleri iyileştirmek veya gelişmiş özelliklere sahip yeni malzemeler oluşturmak için biyomedikal alanlarda kullanılmaktadır. Kompozit olarak genellikle biyolojik bir matris içine gömülmüş nanotüpler, nanoteller, nanotanecikler ve kuantum noktalar gibi nano ölçekli bileşenler tercih edilmektedir. Biyolojik matris olarak; proteinler, polimerler veya fenolik bileşikler, karbonhidratlar, yağlar gibi doğal veya sentetik yapılar kullanılmaktadır. Bu yapılar, özellikle ilaç salım sistemlerinde kullanılacak akıllı

nanoyapıların tasarlanması, doku mühendisliği, biyosensör sistemleri ve implant malzeme üretimi gibi biyomedikal uygulamalar için önem kazanmıştır. Buradaki en önemli parametre, canlı ortamlarla etkileşime girecek yeni biyomalzemelerin; gelişmiş biyouyumluluk, biyoyararlanım, biyobozunurluk, termal ve mekanik mukavemet özelliklerine sahip olmasıdır. Bu nanokompozitler ile implantlar veya medikal cihazların tasarlanmasında, malzemelere antibakteriyel özellikler kazandırılarak özellikle stentler ve kateterler gibi tıbbi implantlar için kaplamalar oluşturmak ve böylece enfeksiyon riskini azaltmak mümkündür. Ayrıca, biyo-nanokompozitler ile mevcut sistemlere alternatif daha duyarlı ve etkili sensörler ve ilaç taşıma sistemleri geliştirilmektedir (Alizadeh-Sani *et al.*, 2020; Alinavaz *et al.*, 2021).

Kanser ve diğer önemli hastalıkların tedavisi için ilaç taşıyıcı sistemlerin geliştirilmesinde; antikorlar, peptitler, enzimler ve aptamerler gibi biyomoleküller kullanılmaktadır. Bu sayede, hasta hücreleri hedeflemek ve hastalığın yayılmasının önüne geçmek mümkün olmaktadır. Bu durum tedavilerin etkinliğini artırmaya yardımcı olmaktadır. Örneğin proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi biyomoleküller, kanser hücrelerini hedeflemek ve ilaç dağıtımını artırmak için çok sık tercih edilirler. Çünkü bu biyomoleküller, belirli kanser türlerine özgü reseptör davranışı sergileyebilmektedir (Nitheesh *et al.*, 2021). Lipitler, kemoterapötik ilaçları kapsülleyebilen ve onları kanser hücrelerine hedefleyebilen misel yapılarını oluşturabilmektedir. Özellikle amfifilik özelliklerinin geliştirilmesi ile ilaç-lipid kompleksi ve ilaç taşıyıcı sistemleri için vezikül oluşturma amaçlı kullanılmaktadırlar. Tıpkı proteinler, polisakkaritler, lipozomlar ve nükleik asitler gibi hücrelere özgü yapıları sayesinde belirli hücrelere veya dokulara ilaçların iletimi için kullanılabilen komplekslerin oluşmasına yardımcı olurlar. Bu kompleksler endositoz yoluyla hücreye alınarak ilaçların hedef bölgeye ulaşmasını sağlarlar. Ayrıca, nükleik asitler ilaçların veziküllerden veya diğer dağıtım sistemlerinden salınımını tetiklemek için de kullanılabilirler. DNA gibi nükleik asitler ise genlerin kanser hücrelerine iletilmesi sağlanmakta ve böylece gen tedavileri kolaylaşmaktadır. Lipozomlar ise, bir veya daha fazla lipid katmanından oluşan küresel veziküllerdir ve ilaçları hapsedmek ve salınımını kontrol etmek için kullanılırlar (Babadi *et al.*, 2021; Carrion *et al.*, 2021; Plaza-Oliver *et al.*, 2021). Polimerler ise; daha küçük aynı veya farklı monomerlerin bağlanmasıyla oluşan malzemeler oldukları için, etkili ilaç salım sistemleri tasarlanmasında ve bu sayede ilaçların hedef dokulardaki salım mekanizmalarının kontrolünde etkin rol oynarlar. Bu onları akıllı nanotaşıyıcıların tasarlanmasının yanı sıra doku mühendisliği uygulamalarında önemli bir malzeme haline getirmektedir. Özellikle terapötik yapılarla birleşen polimerik

yapılar ile doku iyileştirici yapay organlar tasarlanabilmektedir (Moodley and Singh, 2019; Zhang *et al.*, 2020).

Polimerler, ilaç dağıtım sistemlerini geliştirmek, belirli hücreleri hedeflemek ve hatta doku mühendisliği için yapı iskeleleri oluşturmak için kullanılmaktadır. Örneğin, ilacın bağışıklık sisteminden gizlenmesini ve vücutta daha uzun süre dolaşmasını kolaylaştırmak için polietilen glikol (PEG) sıklıkla tercih edilmektedir. PEGlasyon olarak adlandırılan bu yöntem sayesinde, kanser tedavisinde daha etkili ve güvenli bir yöntem sağlayabilir ve metastaz oluşumu önlenmektedir. Kanser hücrelerine özgü hedeflenmiş ilaç salım sistemleri oluşturmak ve doku mühendisliği uygulamalarında yapı iskeleleri ve hidrojeller oluşturmak için polisakkaritler, proteinler ve lipidler de tercih edilmektedir. Hidrojeller, vücuda ilaç vermek için kullanılabilen, oldukça emici, üç boyutlu hidrofilik polimerik zincir ağlarıdır ve genellikle gastrointestinal sistem veya cilt gibi belirli bölgelere ilaç vermek için kullanılmaktadırlar. Bu nedenle, polisakkaritler, proteinler ve lipidler gibi doğal bileşenlerin kullanımı ve kanser tedavilerinin geliştirilmesi için oldukça önemlidir (Capanema *et al.*, 2018; Miguel *et al.*, 2022).

Polimer esaslı kontrollü ilaç salım sistemleri kullanılarak; düzenli olarak ilaç alması gereken hastalar için uzun bir süre boyunca ilaçların salımı kontrol edilebilmektedir. Kontrollü ilaç salımı için sıklıkla kullanılan polimerler arasında hidrojeller, polietilen glikol (PEG), jelatin, aljinat, polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA) ve polietilen oksit (PEO) yer alır. Biyolojik olarak uyumlu, biyolojik olarak parçalanabilen ve FDA tarafından onaylanan bu polimerler; ilaç dağıtımı ile doku mühendisliği gibi birçok tıbbi uygulamada kullanılır (Rasool *et al.*, 2020; Sadeghi *et al.*, 2020; Shah *et al.*, 2021). Özellikle kanser tedavilerinde kullanımları ilaçları yavaş ve sürekli bir şekilde salarak, etkinliklerini arttırarak yan etkileri azaltmak üzerinedir. Hasarlı dokuların onarılması için kullanılan kök hücreler için yapı iskelesi olarak da kullanılabilir. Bu sayede, kök hücrelerin farklılaşmasına ve istenen dokuyu oluşturmaya izin vermektedirler. PLGA, ilaç salım hızını kontrol etmek için kullanılabilen biyolojik olarak parçalanabilen bir polimerdir ve çeşitli ilaç salan cihazlarda, örneğin yamalar, implantlar ve mikro kürelerde kullanılmaktadır. PEO ise, suda çözünür bir polimer olup ilaçları kapsülleme ve salımlarını kontrol etmek için kullanılmak üzere tabletlerde, kapsüllerde ve filmlerde yer alan bir polimerdir. Bu polimerler, hastanın özel ihtiyaçlarına uyacak şekilde modifiye edilerek ilaçları farklı oranlarda ve çeşitli mekanizmalarda salabilirler. Ayrıca, bu polimerlerin biyolojik olarak uyumlu ve parçalanabilen yapıları sayesinde canlı hücrelere toksik etkileri olmadan biyomedikal uygulamalarda kullanımları mümkündür (Shariatnia and Ziba, 2022).

Bu özelliklerin yanı sıra biyomoleküller, canlı organizmalarda yaygın olarak bulunmaları nedeniyle metabolizma, hücre sinyalleri ve besin taşınması gibi yaşamın birçok temel işlevinden sorumlu olurlar. Bu moleküller arasında, antikolar ve peptit yapıları, vücutta birçok mekanizmadan sorumlu oldukları için özellikle kanser hücrelerini tanımak ve ilaçları doğrudan tümör bölgesine taşıyan nanotaşıyıcıların tasarımında tercih edilmektedir. İlaçların doğrudan tümör bölgelerine ulaştırılması için geliştirilen bu stratejiler, geleneksel yöntemlerden daha etkili ve verimli olan nano ölçekli ilaç dağıtım sistemleri oluşturmakta kullanılmaktadır. İlaç miktarını azaltan ve biyolojik olarak parçalanabilen nanotaşıyıcıların tasarlanmasında biyomoleküller vazgeçilmezdir. Genel olarak, biyo-nanokompozitlerin etkin kullanımında; biyoyumluluk, biyoyararlanım ve biyobozunurluk özellikleri çok önemlidir (Zhang *et al.*, 2009; Moasses Ghafary *et al.*, 2022).

Biyoyumluluk; bir malzemenin, cihazın veya implantın biyolojik sistemlerle uygun ve güvenli bir şekilde etkileşime girme yeteneğidir. Malzemenin temas ettiği herhangi bir canlı dokuya toksik etki yapmaması biyoyumluluğun temel kriteridir. Malzeme veya cihazın vücut tarafından reddedilmemesi ve yerleştirildiği belirli biyolojik ortamla uyumlu olması da önemlidir. Biyoyumluluk, yapay kalçalar ve kalp pilleri gibi tıbbi implantların ve cihazların yanı sıra kontak lensler ve kateterler gibi diğer tıbbi ürünlerin geliştirilmesinde önemli bir faktördür. Sitotoksikite testleri ile malzeme veya cihazların; hücreler, dokular ve organlar dahil olmak üzere çeşitli biyolojik sistemlere verdiği tepkiler ölçülerek biyoyumlulukları değerlendirilmektedir. Bu testlerin sonuçları doğrultusunda tıbbi cihazların ve implantların hastalarda kullanım için nasıl daha güvenli olacağının anlaşılmasına da mümkün olmaktadır (Rosenthal *et al.*, 2011).

Biyoyararlanım; terapötik maddelerin tedavi süreçlerindeki aktiflik derecesini belirleyen bir faktördür ve kan dolaşımındaki emilme derecesi ve hızını tanımlamaktadır. Maddelerin biyoyararlanımı; uygulama yolu, maddenin doğası, canlı metabolizması ve diğer çevresel faktörlerden etkilenebilir. İlacın veya terapötik bir maddenin ne kadarının kan dolaşımına emildiğinin ve ilacın etkinliğinin ana belirleyicisi olduğu için, terapötiklerin tedavilerde ne kadar etkili olduğunu ve etkinliğinin ne kadar sürdüğünü belirler. Bu nedenle, bir ilacın biyoyararlanımı yüksek olduğunda kısa sürede daha etkili olması muhtemeldir. Ayrıca, bir maddenin biyoyararlanımı düşük olması, etki göstermesi için kan dolaşımına yeterli düzeyde ulaşmadığının bir göstergesidir. Pek çok hidrofobik ilacın biyoyararlanımı düşük olduğu için

akıllı nanotaşıyıcı sistemler geliştirilerek terapötik etkinliğin artırılması üzerine yapılan çalışmalar önem kazanmaktadır (Kumar *et al.*, 2022).

Biyobozunma; organik maddelerin bakteri, mantar ve diğer canlı organizmalar gibi mikroorganizmalar tarafından daha basit, daha temel bileşenlere ayrıldığı süreçtir. Bu işlem sırasında, bu malzemelerde depolanan enerji açığa çıkar ve malzemeler karbondioksit, su ve diğer biyokütle türlerine dönüştürülür. Bazı durumlarda biyolojik bozunma, metan ve diğer biyoplastikler gibi yararlı yan ürünler de üretebilir. Biyobozunma, gezegenin ekosistemlerinin dengesini korumaya yardımcı olan doğal bir süreçtir ve özellikle organik atıkların parçalanması ve çevresel faktörlerin yönetilmesinde önemlidir. Benzer şekilde; canlı vücuduna kendi sistemi dışında alınan her maddenin, görevini tamamladıktan sonra dönüştüğü ürünlerin vücuda zararlı olmaması ve vücuttan kolaylıkla atılması oldukça önemlidir (Hans and Lowman, 2002).

2.1.2.1. Aljinat

Doğal deniz yosunundan elde edilen bir biyopolimer olan aljinat, biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Lineer yapılı ve tekrar eden mannuronik ve guluronik asit birimlerinden oluşan aljinat, mükemmel biyouyumluluğa sahip, toksisitesi olmayan ve biyolojik olarak parçalanabilen bir polisakarittir. Aljinat, yara iyileştirme, doku mühendisliği, ilaç dağıtımı ve biyo-baskı gibi birçok biyomedikal uygulamada kullanılmaktadır. Kan sıvısını emme ve yara yüzeyinde koruyucu bir bariyer oluşturma özellikleri sayesinde etkili bir yara örtüsüdür. Bakteriyel büyümeyi ve iltihaplanmayı azaltmasıyla da etkili bir yara iyileştiricidir. Aljinat, doku mühendisliği uygulamalarında hücre yapışması ve büyümesi için ortam oluşturduğu için 3 boyutlu biyo-baskı için tercih edilir. Bu sayede, yapay organ ve doku teknolojisinde önemli ilerlemeler kaydedilmektedir. Ayrıca, ilaç taşıyıcı mikro/nanokapsüllerin sentezinde kullanımı vücutta hedeflenen bölgelere ilaç taşınmasına olanak sağlamaktadır. Biyouyumlu ve biyobozunur olması sayesinde gen terapisi, kanser tedavisi ve aşı çalışmaları için etkili ilaç taşıyıcı nanosistemlerin tasarlanmasında tercih edilmektedir (Doderio *et al.*, 2021).

Aljinat ile hidrojel benzeri mikro ve nano sistemler oluşturulabildiği için, enjekte edilebilir nanotanecekler şeklinde kullanımı da uygundur. Bu, lokalize ilaç dağıtımına ve terapötik ajanların belirli hücreleri hedefleyerek etki alanına iletilmesine olanak sağlamaktadır. Ayrıca, verdikleri olumlu immünolojik tepkiler ile aşı antijenlerini vücuda iletmede kullanılabilecek nanomalzemelerin geliştirilmesinde kullanımları uygundur (Serafin *et al.*, 2021). Aljinat kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve inflamatuvar veya otoimmün bozukluklar dahil olmak

üzere birçok hastalığın tedavisinde etkin kullanılmaktadır. İlaçlar veya genlerle birlikte kullanıldığında, terapötik ajanları doğrudan hedef bölgeye ulaştırarak etkinliği artırma ve yan etkileri azaltmanın yanı sıra, teşhis ve tedavi için gereken diğer kimyasalları tutma özelliği sayesinde fotodinamik terapi ve radyoterapi gibi diğer terapilerin etkinliğini arttırmaktadır. Fotodinamik terapi ile kullanıldığında, ışıkla aktive olan ilaçların iletimi artırılabilirken, radyasyona duyarlı ilaçların tümörlere iletimini sağlamaktadır. Dahası, lipozomlar ve nanoparçacıklar gibi diğer nanomalzemelerle konjuge edilebilme kapasiteleri sayesinde, ilaç salımını uzatmak, ilaç dağıtımını iyileştirmek, immünojenisiteyi arttırmak ve aşı etkinliğini arttırmak için kullanımları mevcuttur. Sonuç olarak, aljinat nanotıpta kombinasyon terapileri için umut verici bir yaklaşım sunmaktadır (Mori *et al.*, 2020).

2.1.2.2. Polilaktik Asit (PLA)

Mısır nişastası veya şeker kamışı gibi yenilenebilir kaynaklardan elde edilen termoplastik alifatik bir poliestere olan polilaktik asit (PLA), çeşitli biyomedikal uygulamada kullanılan, biyolojik olarak parçalanabilen ve biyouyumlu bir polimerdir. Çalışmalar, PLA'nın doku mühendisliği için uygun fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip iskeleler üretmek için kullanılabileceğini göstermiştir. Bu iskeleler, hücrelerin ve dokuların büyümesini destekleyerek doğal dokuların özelliklerini taklit edecek şekilde tasarlanabilmektedir. PLA, ilaçları vücuttaki belirli bölgelere taşımak için kullanılan nanotanecikler ve mikro küreler gibi ilaç dağıtım sistemleri oluşturmak için de kullanılmıştır. PLA'nın yara iyileşmesinde kullanımı araştırılmış ve iyileşme sürecini hızlandırdığı görülmüştür. PLA'nın toksik olmaması ve biyolojik olarak parçalanabilir olması, onu çeşitli biyomedikal uygulamalar için ideal bir seçenek haline getirmektedir (Witzler *et al.*, 2021).

PLA içeren nanoyapıların antikanser ilaçları iyi kapsülleme özellikleri ile onların etkinliklerini arttırdıkları ve olası yan etkilerini azalttıkları bilinmektedir. Bu nanoyapılar, normal organlara zarar vermeden ve tümör dokusunda birikmelerine izin veren gelişmiş geçirgenlik ve tutma (EPR) etkisi nedeniyle tümör dokusunda birikebilmektedir. PLA esaslı nanotaşıyıcılar, spesifik ligandlar veya antikorlar kullanarak kanser hücreleri gibi spesifik hücre tiplerini hedefleme yeteneğine de sahiptir. PLA esaslı nanotaşıyıcılar, gen iletimi ve doku mühendisliği için de kullanılabilir. PLA ile kombinasyon tedavisi olarak; kanser, otoimmün hastalıklar, viral enfeksiyonlar ve nörolojik bozuklukları tedavi etmek üzere çalışmalar yapılmıştır. Bir diğer çalışmada, otoimmün hastalıklar için PLA; antijene karşı bağışıklık sistemini baskılayan ilaçları dokulara vermek, iltihabı azaltmak ve hastanın semptomlarını iyileştirmek için kullanılmıştır. Dahası viral enfeksiyonlar ve nörolojik bozukluklarla ilgili tedavilerde, PLA esaslı

nanotaşıyıcıların etkin ilaç taşıma özelliklerinin aydınlatıldığı pek çok çalışma mevcuttur. Sonuç olarak PLA esaslı nanotaşıyıcılar, ilaç etkinliğini artırma, yan etkileri azaltma ve hasta uyumunu artırma potansiyelinden dolayı geniş bir kullanıma sahiptir (Saneja *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2021).

2.1.2.3. Gallik Asit

3,4,5-trihidroksibenzoik asit olarak da bilinen gallik asit, bitkilerde ve meyvelerde bulunan doğal bir bileşiktir. Antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri nedeniyle geleneksel tıpta, kozmetikte ve diğer biyomedikal uygulamalarda kullanılan doğal polifenolik asittir. Gallik asit, kanser, kardiyovasküler hastalık, inflamasyon ve oksidatif stres gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde, ilaçların biyoyararlanımını artırmada ve ilaç toksisitesine karşı koruma sağlamak amacıyla kullanılmaktadır (Luo *et al.*, 2020). Son araştırmalar, gallik asidin, kanser hücresi büyümesinin engellenmesi, yara iyileşmesinin teşvik edilmesi ve enflamasyonun azaltılması dahil olmak üzere çok çeşitli yararlı etkilere sahip olduğunu göstermiştir (D. Zhang *et al.*, 2021). Kardiyovasküler hastalık ve diğer kronik hastalık riskini azaltmada etkili olduğu bulunan galik asit, diyet takviyelerinde, kırışıklıkları ve yaşlılık lekelerinin oluşumunu azaltmada kullanılmaktadır. Gallik asidin potansiyel terapötik uygulamaları incelendiğinde, diğer ilaçlarla kombinasyon terapisinde kullanıldığında ilaçların etkinliğini artırdığı ve olası yan etkileri azalttığı görülmüştür. Yapılan çalışmalar; gallik asidin suda az çözünen ilaçların çözünürlüğünü arttırarak, terapötiklerin hücre içi alımını hızlandırdığını göstermiştir. Ayrıca gallik asidin, yüzey özelliklerini iyileştirerek hedef hücrelerle etkileşimini kolaylaştırdığı için; nanotanciklerin kararlılık ve biyo-dağıtım gibi önemli özelliklerini iyileştirmede etkin rol oynadığı bildirilmiştir. Bu sayede nanotıp alanında, özellikle önemli hastalıklar için kombinasyon tedavisinde kullanım potansiyeline sahiptir (Burlacu, Tanase and Olaru, 2021).

2.1.3. Nanoyapıların Sentez Yöntemleri

Nanotancikler küçük boyutlarından dolayı artan yüzey alanı sayesinde gelişmiş yeni özellikler sağlamaktadır. Bu nedenle, elektronik ve tıbbi cihazlardan yakıt hücrelerine, tıp, gıda ve kozmetik ürünlerine kadar geniş bir uygulama yelpazesine sahiptirler. Ancak, nanomalzemelerin eldesinde, sentez tekrarlanabilirliği ve kararlılık optimizasyonu kritik önem taşımaktadır. Malzemenin boyut, şekil ve morfolojik olarak kontrollü eldesine olanak sağlayan sentez yöntemlerinin geliştirilmesi, ucuz, kolay ve hızlı bir üretim sürecinin kontrol edilmesini sağlamakta ve malzemelere yeni ve çok işlevli özellikler kazandırılmaktadır. Genel olarak, nanoyapı sentezlemenin birçok yolu vardır ve her yöntemin farklı avantaj ve dezavantajları

bulunmaktadır. Bu nedenle, istenilen uygulama alanına göre doğru yöntemi seçmek önemlidir. Genel olarak ‘aşağıdan yukarıya’ ve ‘yukarıdan aşağıya’ olmak üzere iki sentez yaklaşımı vardır. Bu yaklaşımlar; nanoölçekli yapıların atomik boyutlardan mı yoksa çok daha büyük boyutlardan mı başlanarak elde edildiği ile ilgilidir. Ayrıca, sentez ortamı, başlangıç maddeleri ve prosese bağlı olarak; fiziksel, kimyasal, biyolojik ve yeşil sentez olarak sınıflandırma yapılmaktadır. Seçilen yöntem ne olursa olsun, sentez ürününün saflığı ve verimi de oldukça önemlidir. Nanomalzemelerin sentezi ve saflaştırılması için çöktürme, yıkama, filtrasyon ve kalsinasyon gibi işlemlere ihtiyaç duyulur (Bardajee *et al.*, 2021).

Kimyasal yöntemlerle MONP'leri üretmek için genellikle, başlatıcı olarak metal tuzları ve oksitleyici/indirgeyici maddeler kullanılarak sulu/organik çözeltiler içerisinde reaksiyon gerçekleştirilir. MONP'leri sentezlemenin yaygın kimyasal yöntemleri arasında kimyasal buhar biriktirme (CVD) (Cheng *et al.*, 2019), kimyasal çöktürme (Mabrouk *et al.*, 2020), sol-jel yöntemi (Pung *et al.*, 2016), solvotermal yöntem (Sun *et al.*, 2021) ve elektrokimyasal biriktirme (Yan *et al.*, 2021) yer almaktadır. Sol-jel yönteminde, başlatıcı daha sonra reaksiyona girmek üzere çözücü içinde çözündürülür. Daha sonra ısı uygulanarak çözücü buharlaştırılır ve nanotanecik elde etmek üzere bir jel ağı elde edilir. Bu yöntem metal oksit nanotaneciklerin sentezinde sıklıkla kullanılmaktadır. Solvotermal yöntem ise, boyut, şekil ve bileşimde yüksek derecede homojenliğe sahip nanotaneciklerin sentezlenmesi için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem, nanomalzemelerin sentezi için oldukça kontrollü bir ortam sağlayan solvent bazlı bir reaksiyon ortamının kullanılmasını içermektedir. Solvotermal işlem, bir reaktan ve bir çözücü karışımının ısıtılmasıyla reaktanlar birbirleriyle etkileşime girmesi ve nanotaneciklerin oluşturmaya başlaması süreçlerini içerir. Genelde reaksiyonlar, kullanılan çözücü veya çözücü karışımına bağlı olarak 100°C ve üzeri sıcaklıkta gerçekleşmektedir. Bu yöntemle, metal oksitler, karbon nanotüpler, kuantum noktalar ve fullerenerler dahil olmak üzere çeşitli türlerde nanomalzeme sentezlenebilir. Solvotermal yöntem, diğer nanomalzeme sentezi yöntemlerine göre boyutu ve şekli üzerinde hassas kontrol sağlaması, sentezin kolaylığı ve düzenli morfolojide nanoyapıların üretimine olanak sağladığı için avantajlıdır.

Fiziksel yöntemler, metal oksit nanotaneciklerin sentezinde ışık, elektron ve ses dalgası gibi enerjilerin kullanımını içermektedir. Bu yöntemler lazer ablasyon, elektron demeti buharlaştırma, plazma püskürtme ve sonokimyasal yöntem gibi daha büyük parçalardan nanotanecikler üretmeye olanak sağlayarak malzemenin fiziksel olarak nanoölçeklere parçalanması esasına dayanır. Ancak, bu enerji kaynağının uygulanma gücü ve süresi oldukça

önemlidir. Çünkü optimum koşulların dışında nanoölçeklere parçalanma zorlaşabilir veya küçülmüş nanotanecekler topaklanma eğilimi gösterebilir. Bunlar arasında sonokimyasal yöntemde, ses dalgaları sayesinde çözücü ortamında lokal olarak yüksek basınç ve sıcaklık açığa çıkartan kavitasyon baloncukları oluşur. Bu yüksek basınç ve sıcaklık sonucu çözelti içerisinde sıcak bölgeler meydana gelir ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türleri ortaya çıkar. Daha sonra bu reaktif türler başlatıcılarla etkileşime girerek nanotanecek oluşumunu destekler. Bu yöntem, nanotanecek sentezi için geleneksel kimyasal yöntemlere göre birçok avantaj sunar (Tan *et al.*, 2017; Tian *et al.*, 2020).

Biyolojik yöntemler, MONP'leri üretmek için bakteri ve mantar gibi mikroorganizmaların kullanılmasını içerir. Bu yöntemler arasında biyosentez, biyo-çökeltme ve biyo-indirgeme yer almaktadır. Biyolojik yöntemlerle sentez başarılı olsa da uygulanabilirlik açısından fiziksel ve kimyasal yöntemlere göre daha az tercih edilirler (Kanikireddy *et al.*, 2020). Bunlara ek olarak nanotaneceklerin sentezlenmesinde birden fazla yöntemin bir arada kullanılması sıklıkla tercih edilmektedir. Hibrit sentez yöntemleriyle nanomalzemelerin kimyasal ve morfolojik durumunun kontrol edilmesi ve modifikasyon için uygun hale getirilmesi mümkün olmaktadır. Bu yöntemlere buharlaşma destekli ters emülsiyon, mikrodalga destekli hidrotermal yöntem, mikroemülsiyon destekli solvotermal yöntem ve elektro-biyo sentez örnek verilebilir (Shnoudeh *et al.*, 2019).

Ters emülsiyon yöntemi, fazla miktarlarda nanotanecek üretmek için çok yönlü, uygun maliyetli bir yöntemdir. Yöntemde başlatıcı olarak metal tuzları polar olmayan çözücü içinde dağıtılır ve emülsiyon oluşturmak üzere bir yüzey aktif madde ve bir yardımcı surfaktan eklenir. Emülsiyon daha sonra nanotanecek eldesi için ultrasonik dalgalar veya ısı gibi yüksek enerjili bir kaynağa maruz bırakılır. Sonrasında, santrifüjleme, süzme veya diğer yöntemlerle nanotanecekler emülsiyondan toplanır. Ters emülsiyon yönteminin, diğer nanopartikül sentezi yöntemlerine göre birçok avantajı vardır. Nispeten basit ve uygun maliyetlidir ve az sayıda ekipman gerektirir. Ters emülsiyon yöntemi, nanotaneceklerin üretimi için oldukça hızlı ve verimli bir yöntemdir. Bu yöntem, farklı boyut, şekil ve bileşimlerde nanotaneceklerin sentezlenmesine olanak sağlar (Nothnagel and Wacker, 2018; Aleksandra Zielińska *et al.*, 2020).

2.2. BİYO-NANOKOMPOZİTLERİN ÇOK İŞLEVİLİ ÖZELLİKLERİ

Biyο-nanokompozitler; genel tanımıyla biyomedikal uygulamalarda kullanılabilen, kimyasal ve biyolojik olarak kararlı nanokompozitler olarak bilinirler. Biyomedikal uygulamalar için yeni malzemeler geliştirirken harcanan süre ve yapının sentezinden karakterizasyonuna kadar oluşan maliyetler düşünüldüğünde, geliştirilmiş yapıların çok işlevli özelliklere sahip olmasının önemi artmaktadır. Nanokompozitler, iki veya daha fazla nanomalzemenin, kendi bileşenlerine kıyasla üstün özelliklere sahip yeni bir malzeme oluşturmak amacıyla birleştirilmesi sonucu elde edilirler. Kompozit malzemeler ile üstün özellikler elde edilmesinin yanı sıra, onların çok işlevli hale getirilmesi de mümkün olduğu için bu yöndeki araştırmalar giderek hız kazanmaktadır. Bu kapsamda, geliştirilen kompozit malzemelerin çok fonksiyonlu özelliklere sahip olmasında etken olan organik ve inorganik bileşenlerin seçimi ve tasarlanması önem kazanmaktadır. Nanokompozitler; gelişmiş elektrik iletkenliği, termal iletkenlik ve kimyasal direnç sahip daha güçlü, daha hafif ve daha dayanıklı malzemeler oluşturulmasına olanak sağlayarak otomotiv, tıp, enerji ve havacılık gibi çeşitli endüstrilerde kullanılmaktadır. Nanokompozitler, yalıtım, su direnci ve korozyon direnci gibi yüzey özelliklerinin iyileştirildiği kaplamalar, yapıştırıcılar ve yağlayıcılar gibi mevcut ürünlerin performansını artırmak için de kullanılabilir. Bu malzemeler 3D baskılama, yakıt hücreleri ve güneş pilleri gibi ileri teknolojik ürünlerin geliştirilmesinde ve özellikle de biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere yeni malzemeler oluşturmak için umut vaat edicidir (Iga *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2020).

2.3. SENSÖR UYGULAMALARI

Biyosensörler, biyolojik veya kimyasal maddeleri tespit etmek, ölçmek ve karmaşık bileşik karışımlarındaki maddelerin saptanması için güçlü bir araçtır. Biyosensörler tipik olarak fiziksel bir dönüştürücüye (elektriksel, optik veya termal dedektör gibi) bağlı biyolojik bir bileşenden (bir enzim, antikor veya hücre gibi) oluşur. Bir biyosensörün hassasiyeti ve seçiciliği, performansını belirleyen en önemli özelliklerden ikisidir. Duyarlılık, bir biyosensörün, geleneksel analitik tekniklerin algılama sınırının altındaki hedef molekül konsantrasyonlarını algılama yeteneği olarak ifade edilmektedir. Seçicilik ise, biyosensörün hedef molekülleri numunede bulunabilecek diğer moleküllerden ayırt etme yeteneğidir. Bir biyosensörün duyarlılığı ve seçiciliği büyük ölçüde kullanılan biyolojik bileşene bağlıdır. Bu sebeple biyolojik bileşen olarak genellikle enzimlerin kullanılarak spesifik moleküllere kolay

bağlanma sağlanarak düşük derişimdeki hedef moleküller tespit edebilmektedir. Enzimler gibi antikorlar da bu amaçla tercih edilirler ancak enzimler kadar hassas değildirler ve düşük derişimdeki hedef molekülleri tespit edemeyebilirler. Bunun yanı sıra, hücreler de biyolojik bileşen olarak kullanılmaktadır. Ancak enzimler veya antikorlar kadar seçici olmamaları sebebiyle farklı hedef moleküller arasında ayırım yapamazlar. Biyosensörler tasarlanırken bir önemli unsur da dönüştürücünün tasarımıdır. Sensör sitemlerinde kullanılan dönüştürücüler, biyosensörün hassasiyetini ve seçiciliğini etkilemektedir. Uygulama alanına bağlı olarak değişmekle beraber, optik dönüştürücüler tipik olarak yüksek hassasiyet ve seçicilik gerektiğinde kullanılırken elektrikli dönüştürücüler daha düşük hassasiyet ve seçicilik kabul edilebilir olduğunda kullanılmaktadır (Wu *et al.*, 2020).

Biyosensör uygulamalarındaki en büyük zorluk; güvenilir, tekrar üretilebilir ve uygun maliyetli bir cihazın geliştirilmesidir. Biyosensörler genellikle, ölçülebilen bir sinyal üretmek üzere bir dönüştürücü sistemle etkileşebilen enzimler, antikorlar, DNA veya aptamerler gibi biyolojik moleküllerin tespitini içerir. Biyolojik tanıma elemanları tipik olarak proteinler veya nükleik asitler olduğu için yapıları ve aktiviteleri sıcaklık, pH ve iyonik güç gibi çevresel faktörlerden etkilenebilir. Bu durum tekrar üretilebilir cihazların imalatını zorlaştırırken bir biyosensörün tasarımı ve üretimi ile ilgili karmaşıklık ve maliyet, sensör uygulanmalarının önündeki en büyük engel haline gelmiştir. Ayrıca, tekrarlanabilirlik ve doğruluk gibi gerekli performans özelliklerinden emin olmak için biyosensörlerin doğrulanması zaman alıcıdır ve cihazın maliyetini önemli ölçüde artırmaktadır. Klinik ortamlarda sıklıkla kullanıldıkları için biyosensörler kullanıcı dostu ve kullanımı kolay olacak şekilde tasarlanmalıdır. Tüm bu sebeplerden dolayı yeni biyosensör sistemlerinin geliştirilmesi oldukça önemlidir (Yáñez-Sedeño, Campuzano and Pingarrón, 2017).

Sensör uygulamalarında kullanılan biyomoleküller, özellikle proteinler, nükleik asitler, iyonlar, küçük moleküller ve metabolitler dahil olmak üzere çok çeşitli analitleri tespit etmek için kullanılmaktadır. Proteinler, ilgilenilen bir analite spesifik olarak bağlanabilme yeteneklerinden dolayı genellikle tanıma elemanları olarak kullanılır. Örneğin, antikorlar ve diğer proteinler, virüs veya bakteri gibi belirli bir analiti tespit etmek için kullanılabilir. Ek olarak, proteinler, iyonlar veya küçük moleküller gibi daha genel analitler için tanıma öğeleri olarak işlev görecektir şekilde tasarlanabilir. Nükleik asitler biyosensörlerde DNA veya RNA gibi belirli genetik materyal dizilerini tespit etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, şekerler veya amino asitler gibi belirli metabolitleri tespit etmek için kullanılabilirler. İyonlar

ise sensör uygulamaları için bir başka önemli biyomolekül sınıfıdır. Bir numunedeki kalsiyum, sodyum ve potasyum gibi iyonların varlığını ve konsantrasyonunu tespit etmek için sıklıkla kullanılırlar. Ayrıca hormonlar ve enzimler, ilaçlar ve toksinler gibi küçük moleküllerin tespitinde kullanılabilirler. Numunelerdeki glikoz veya laktoz varlığını seçici tespiti için enzimlerin sıklıkla kullanıldığı bilinmektedir (Kapoor and Kaur Rajput, 2022).

Biyosensörlerin tasarlanmasında kullanılan nanoyapılar, çeşitli transdüksiyon mekanizmaları kullanarak biyolojik moleküllerin tespit edilmesinde gelişmiş özellikler sağlamaktadır. Nanotancıklar, nanoteller ve nanotüpler gibi malzemeler yüksek yüzey alanı/hacim oranına sahip oldukları için, analitlerin daha seçici saptanması ve daha hassas olarak miktarının belirlenmesine katkı sağlarlar. Dahası, biyosensörlerin morfolojisi de cihazın performansının belirlenmesinde önemlidir. Biyosensörlerin morfolojisi, malzemenin yüzey özelliklerinden sorumludur ve biyosensörün hassasiyet ve seçiciliğini doğrudan etkilemektedir. Ayrıca yüzey morfolojisi, cihazın sinyal-gürültü oranını da etkileyerek ölçümlerin doğruluğunu ve güvenilirliğini arttırabilmektedir. Genel olarak, yüksek yüzey alanı/hacim özelliğine sahip nanoyapıların etkin sensör özellikleri göstermesi şaşırtıcı değildir. Bu sebeple nanoboyut ve morfoloji biyosensörlerin geliştirilmesi ve uygulanmasında önemli faktörlerdir (Mohankumar *et al.*, 2021). Özellikle elektrokimyasal sensör uygulamaları için, nanomalzemelerle desteklenmiş elektrot yüzeyleri sayesinde, analitlerin dedektör sistemine elektrokimyasal erişebilirlikleri artmakta ve bu sayede düşük konsantrasyonlarda bile hızlı yanıtlar alınabilmektedir. Benzer mantıkla iyileştirilmiş kolorimetrik sensör tasarlamak mümkün olmaktadır.

Duyarlılığı ve seçiciliği yüksek ve hızlı yanıt sağlayan biyosensörlerin geliştirilmesi, gıda endüstrisi ve klinik tanı için önemlidir. Bunun yanı sıra algılama limitinin düşük olması, taşınabilir ve kullanımı kolay bir cihaz olması, sensörlerin hassasiyetinin yüksek olması ve hızlı tepki vermesi önemlidir. Bu nedenle biyosensör uygulamalarında, gelişmiş fizikokimyasal özellikler sunan ikili ve üçlü MONP'lerin popülaritesi artmıştır. Bu kompozit MONP'ler genellikle proteinler, şekerler ve fenolik bileşikler gibi biyomoleküllerin tespiti için elektrokimyasal ve kolorimetrik sensör sistemleri olarak tercih edilmektedir. Literatür incelendiğinde; AgInSe₂@ZnS QDs (Mi *et al.*, 2021) ve kobalt oksit nanopartiküller modifiye karbon pasta elektrotu (CoO-NPs-CPE) (Chikere *et al.*, 2021) gibi sensör sistemlerin biyomoleküllerin tespiti için tercih edildiği görülür. Ancak; pahalı ve uygulaması zor sensör sistemlerine ek olarak, daha kolay uygulanabilir ve hızlı sensörlerin geliştirilmesi önemlidir.

Bu noktada yeni biyosensörlerin geliştirilmesinde; malzeme seçimi, sentez yöntemi, yüzey yükü, boyut ve morfoloji gibi parametrelerin ayarlanması gerekmektedir.

Biyosensör uygulamalarında gerek malzeme geliştirmek gerekse analitlerin saptanmasında yüzey yükü oldukça önemlidir. Yüzey yükü biyosensörlerin performansı olarak tanımlanan hassasiyet, seçicilik, tepki süresi ve belirli bir analite bağlanma yeteneğini gibi özellikleri doğrudan etkilemektedir. Pozitif yüklü biyosensörler tipik olarak daha spesifik ve özellikle negatif yüklü belirli analitlere daha yüksek bağlanma afinitesine sahiptir. Bu nedenle, uygun yüzey yükünün seçimi, biyosensörden optimal bir yanıt elde etmek için kritik öneme sahiptir. Yüzey yükü ayrıca biyosensörün hassasiyeti üzerinde güçlü bir etkiye sahiptir. Pozitif yüklü yüzeyler, biyosensörün aktif bölgeleri ile analit arasındaki daha güçlü etkileşim nedeniyle biyosensörün hassasiyetini artırma eğilimindedir. Pozitif yüklü yüzeyler, negatif yüklü yüzeylere göre daha büyük molekülleri bağlayabilme avantajına da sahiptir. Ayrıca, yüzey yüküne bağlı olarak biyosensörün tepki süresi etkilenmektedir. Pozitif yüklü yüzeylerin tepki süresi açısından negatif yüklü yüzeylere göre daha verimli olduğu bilinmektedir. Bunun nedeni, pozitif yüklü yüzeylerin analitleri daha hızlı bağlayıp salabilmesidir. Sonuç olarak, optimum performans ve tepki süresi elde etmek için uygun yüzey yükünün ayarlanması önemlidir (Dhas *et al.*, 2022). Bir sensörün seçiciliği, belirli bir uyarıcı türü ile diğer sinyaller veya çevresel koşullar arasında doğru bir şekilde ayırma yeteneğinin bir ölçüsüdür. Bu, sensörün istenen fenomeni doğru bir şekilde ölçebilmesini ve diğer engelleyici faktörlerden etkilenmemesini sağlamak için önemlidir. Seçicilik genel olarak sensörün istenen uyarana verdiği yanıtın diğer uyarılara verdiği yanıt oranının yüzde (%) olarak ifade edilmektedir. Bu yüzde ne kadar yüksek olursa, sensörün seçiciliği o kadar iyidir ve bu istenen uyarının saptanmasındaki doğruluğun bir ifadesidir (Yang, Hu and Li, 2019).

2.3.1. Kolorimetrik Sensörler

Kolorimetrik sensörler, farklı renk ve doku değişiklikleri algılamak için bir nesne veya malzeme tarafından yansıtılan ışık miktarını ve belirli bir alandaki ışığın yoğunluğunu ölçmek için kullanılmaktadır. Cihaz tipik olarak ışık yayan diyot (LED), fotodiyot veya fototransistor gibi bir ışık kaynağı kullanarak çalışmaktadır. Numuneden farklı dalga boylarında emilen ışık miktarını ölçülmesi ile ton, doygunluk ve değer gibi renk koordinatları kullanılarak ışığın yoğunluğu ve numunenin rengi belirlenir. Bunun yanı sıra, kolorimetrik sensörler numunenin sıcaklığı, nemi ve kimyasal bileşimi gibi diğer fiziksel özelliklerini de ölçmek için kullanılabilirler. Örnekten yansıyan ışığın analiz edilerek farklı bileşenlerin varlığının

belirlenmesi, kolorimetrik sensörlerin temel çalışma prensibidir. Bu sensörler avantajları basit kullanımı, doğruluk ve güvenilirlikleridir. Bu sensörler, rengin spektral bileşimini ve renk yoğunluğunu ölçmek için de kullanılabilirler. Kolorimetrik sensörlerin doğru bir şekilde ışık yoğunluğunu ölçebilmesi için kalibre edilmeleri gerekmektedir. Bu kalibrasyon işlemi, belirli bir alandaki ışık yoğunluğunun çoklu okumalarının alınması ve ardından uygun düzeltme faktörünün belirlenmesiyle gerçekleştirilmektedir. Bu düzeltme faktörü daha sonra belirli bir alandaki ışık yoğunluğunu doğru bir şekilde ölçmek için kullanılabilir. Bu veriler daha sonra bir nesnenin veya ortamın rengini analiz etmek ve aydınlatma seviyelerinde ayarlamalar yapmak için kullanılabilir (Piriya V.S *et al.*, 2017; Kumar and Ramakrishnappa, 2021).

En yaygın kolorimetrik sensör tipi RGB sensörüdür. RGB sensörü, bir nesne veya malzeme tarafından yansıtılan kırmızı, yeşil ve mavi ışık miktarını ölçerek daha sonra nesnenin veya malzemenin rengini belirlemek için bir algoritma kullanmaktadır. Bu tip kolorimetrik sensörler, ürün tanımlama, tıbbi teşhis ve kalite kontrol gibi çok çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. RGB analizi; renk ve dokudaki ince farklılıkları tespit etmek, doğru renk profilleri oluşturmak veya zaman içinde renk değişikliklerini algılamak, malzemenin parlaklığını, kontrastını ve tonunu ölçmek için de kullanılan bir yöntemdir. RGB analizi, ürün kalitesini ve doğruluğunu sağlamak için özellikle astronomi, tıp ve gıda endüstrilerindeki renk doğruluğu gerektiren uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bir nesnenin rengini ölçmek için bir ışık kaynağı ve bir spektrometre kombinasyonunu kullanan kolorimetrik sensörler mevcuttur. Bu tip sensörler, tıbbi görüntüleme, adli tıp araştırmaları ve gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır (Tan *et al.*, 123AD).

2.3.2. Enzimatik Olmayan Elektrokimyasal Sensörler

Elektrokimyasal sensörler, belirli bir maddenin konsantrasyonunu ölçmek için; gümüş veya çinko gibi metallerden yapılmış iki elektrot arasındaki elektriksel potansiyel farkını kullanan cihazlardır. Bu potansiyel fark, madde ile elektrot arasındaki elektrokimyasal reaksiyona bağlı olarak ortaya çıkmakta ve Nernst denklemi kullanılarak hesaplanmaktadır. Bu denklem, çözeltinin sıcaklığı, çözeltideki türlerin aktivitesi ve elektrotların doğası gibi faktörler dikkate alınarak, maddenin çözeltideki derişimini hesaplamaktadır. Enzimatik olmayan elektrokimyasal sensörler, enzimleri kullanmayan biyosensörlerdir ve iyon seçici bir zar ile bir elektrokimyasal dönüştürücüyü içermektedirler. Bu sensörler, ilgili analitin derişimini ölçmek için potansiyometrik veya amperometrik dönüştürücüler kullanırlar. İyon seçici zar, sadece ilgili analitin algılanmasını kontrol ederken; dönüştürücü, analitin derişimi ile orantılı bir sinyal

sağlamaktadır. Enzimatik olmayan sensörler, enzimatik sensörlere göre daha ucuz ve kolay üretilmesi nedeniyle avantajlıdır. Ayrıca, enzimlerin kararsız olduğu ortamlarda enzimatik olmayan sensörler kullanılır ve tipik olarak enzimatik sensörlerden daha hızlıdır, daha hızlı ölçümlere izin verirler. Enzimatik olmayan sensörler, tıbbi teşhis, diyabet hastalarının kanındaki glikoz seviyesini ölçmek, yiyecek ve içeceklerin kalitesini izlemek ve çevresel kirleticileri tespit etmek gibi birçok alanda etkin şekilde kullanılmaktadırlar. Endüstriyel ortamlarda ise bu sensörler; pH, redoks potansiyeli ve çözünmüş oksijen ölçümü için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sensörler, değişik alanlarda kullanımları ve üstün avantajları sayesinde, çok yönlü ve önemli bir teknolojik araç haline gelmiştir (Gupta, Sharma and Verma, 2020; Mi *et al.*, 2021).

2.3.3. Askorbik Asit Sensörleri

C vitamini olarak da bilinen askorbik asit, insanlar için hayati olan çeşitli biyokimyasal yolların önemli bir bileşenidir ve doku sağlığının korunmasında kritik bir rol oynamaktadır. Biyomedikal alanda, C vitamini eksikliğinden kaynaklanan hastalıkları tedavi etmek, hücrelerde oksidatif hasarı önlemek, yara iyileşmesini desteklemek, bağışıklık tepkisini iyileştirmek ve iltihaplanmayı azaltmak için kullanılmaktadır. Askorbik asit, düşük miktarda C vitamini içeren diyetleri desteklemek, belirli kanser türlerinin riskini azaltmak ve sağlıklı yaşlanmayı destekleyen bir bileşiktir. Bunlara ek olarak, antioksidan özelliğinden dolayı insan sağlığı için gereklidir. Askorbik asit, bağışıklık sistemini desteklemeye, yaraları iyileştirmeye ve kolajen oluşturmaya yardımcı olduğu için vücutta hayati bir rol oynamaktadır. Ayrıca hücreleri serbest radikallerin neden olduğu hasarlardan koruyarak belirli nörotransmitterlerin sentezlenmesinde, kırmızı kan hücresi oluşumu için önemli olan demir ve folatın emilimde etkilidir. Ancak suda az çözünen bir vitamin olduğu için vücutta depolanmaz ve dışardan alınması gereklidir. Tüm bu özellikleri ile gıda, medikal ve kozmetik ürünlerde geniş bir uygulama alanına sahip olan askorbik asit, biyomedikal alanda oldukça önemlidir. (Manoj *et al.*, 2022).

Askorbik asit vücuttaki rolünün yanı sıra yiyecek ve içeceklerde de antioksidan olarak da kullanımı mevcuttur. Ayrıca, gıdaların bozulmasını ve oksidasyonunu önleyerek renk ve lezzet koruyucu olarak birçok işlenmiş gıdada kullanılır. Anti-inflamatuar özellikleri nedeniyle alerji ve astım semptomlarını azaltabilir ve bazı kanser türlerinin riskini azaltmada da faydalı olabilir. Askorbik asit sensörleri gerek gıda gerekse tıp ve farmasötikte kullanılan çeşitli numune matrislerinde askorbik asidi (C vitamini) tespit eden bir tür elektrokimyasal biyosensördür. Bu

sensörler, yiyecek ve içecek kalite kontrolü, çevresel izleme ve biyomedikal araştırmalar gibi birçok uygulamada kullanılır. Bu sebeple; hızlı, doğru ve uygun maliyetli sensör sistemleri ile askorbik asit derişimlerinin ölçülmesi elzemdir. Gerçek zamanlı olarak tespit edilebilmeleri bireylerin ve toplulukların sağlığını izlemek için oldukça önemlidir (L. Zhang *et al.*, 2021).

2.3.4. Dopamin Sensörleri

Dopamin, beyinde hareket, motivasyon, ödül, öğrenme ve duygu gibi çeşitli işlevlerde kullanılan önemli bir nörotransmitterdir. En çok çalışılan beyin kimyasallarından biridir ve bağımlılığın ve diğer zihinsel sağlık durumlarının gelişmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Düşük dopamin seviyeleri depresyon ve parkinson hastalığı ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, dengeli ve sağlıklı yaşam için dopamin seviyelerini korumak oldukça önemlidir (Piriya V.S *et al.*, 2017). Dopamin sensörleri, bir kişinin vücudundaki veya kullanım alanlarındaki dopamin seviyelerini ölçen sensörlerdir. Dopamin sensörleri, çeşitli tıbbi araştırma uygulamalarında kullanılmaktadır. Örneğin, Parkinson hastalığı olan bir hastanın beynindeki dopamin seviyelerini ölçmek, ilaçların dopamin seviyeleri üzerindeki etkilerini izlemek veya dopaminin psikiyatrik ve nörolojik bozukluklardaki rolünü incelemek için kullanılmaları yaygındır. Bu sensörler genellikle non-invazivdir ve kullanımları nispeten basittir. Sensörlerden toplanan veriler, spektroskopi ve kromatografi dahil olmak üzere çeşitli yöntemler kullanılarak analiz edilebilmektedir. Bu sebeple özellikle Parkinson hastalığı, depresyon ve şizofreni gibi durumları teşhis etmeye ve izlemeye yardımcı olarak ilaçların ve tedavilerin etkinliğini değerlendirilmesinde oldukça önemlidirler. Genel olarak, dopamin sensörleri, dopaminin vücuttaki rolünü anlamak ve nörolojik ve psikiyatrik bozuklukları teşhis etmek ve tedavi etmek için önemli araçlardır ve tıp alanında giderek daha önemli hale gelmektedir. Özellikle askorbik asit ve ürik asit varlığında dopaminin düşük dozlarının tespitinin zorlaşması sebebiyle, yeni dopamin sensörlerinin geliştirilmesi önemlidir (Yang, Hu and Li, 2019).

2.3.5. Gallik Asit Sensörleri

Gallik asit, çeşitli bitkiler ve meyvelerde doğal olarak bulunan bir fenolik asittir. Güçlü antioksidan özellikleri sayesinde vücudu serbest radikallerin neden olduğu hasarlardan koruduğu kanıtlanmıştır. Bu sebeple yiyecek ve içecek katkı maddelerinden ilaç ve kozmetiğe kadar çok çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak, iltihaplanmayı azaltması, hücre hasarını ve DNA mutasyonunu önlemesi ve oksidatif strese karşı korumaya yardımcı olması biyomedikal uygulamalardaki önemini arttırmaktadır. Gallik asit, antiviral ve

antibakteriyel özellikleri ile çeşitli bakteriyel ve viral enfeksiyonlar için etkili bir tedavi ajanıdır. Mantar enfeksiyonları, egzama, sedef hastalığı ve akne gibi cilt sorunlarını tedavi etmek için topikal olarak da kullanılabilir. Ayrıca, gallik asidin antioksidan ve antiinflamatuar özellikleri ile cildi korumaya ve beslemeye yardımcı oldukları için yaşlanma karşıtı ürünlerin geliştirilmesinde tercih edilmektedirler. Yapılan çalışmalar gallik asidin akciğer, prostat ve kolorektal kanserler de dahil olmak üzere belirli kanser hücrelerinin büyümesini engelleyebileceğini göstermiştir (Burlacu, Tanase and Olaru, 2021).

Gallik asit, çay, şarap, bira, meyve suları, çeşitli yiyecek, içecek, ilaç ve kozmetik ürünlerinde bol miktarda bulunur. Bu nedenle, gallik asit sensörleri yiyecek, içecek analizi ve ilaç tedavisi süreçlerinde önemli bir araç haline gelmiştir. Bu sensörler, tipik olarak döngüsel voltammetri, amperometri ve potansiyometri gibi elektrokimyasal mekanizmalar üzerinden çalışarak ölçülebilir bir akım veya potansiyel sinyali üretirler ve numunedeki gallik asit miktarını belirlemek için kullanılırlar. Gallik asit sensörleri çeşitli uygulamalarda kullanılmakta olup, özellikle yiyecek/içecek ürünlerinin kalitesinin tespitinde oldukça önemlidir (Chikere *et al.*, 2021).

2.3.6. Tannik Asit Sensörleri

Birçok bitkide bulunan bir polifenol olan tannik asit, biyomedikal alanda geniş bir kullanım alanına sahip önemli bir bileşiktir. Özellikle gıda katkı maddesi ve koruyucu olarak kullanımı oldukça yaygın olan tannik asit; antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiinflamatuar ve antioksidan özelliklere sahiptir ve oksidatif hasara neden olabilecek enzimlerin aktivitesini azaltabilir. Böylece, gıda katkı maddesi olarak kullanımında bakteri ve mantarları engelleyici özellikler ve gıdanın tadını ve rengini kaybetmesine neden olabilecek oksidasyona karşı koruyucu etkiler göstermektedir. Medikal uygulamalarda, cildin dokusunu ve görünümünü iyileştirmeye yardımcı olarak, yanıklar, morluklar ve diğer cilt hastalıklarının tedavisine kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak; enflamasyon, cilt tahrişi ve bakteriyel enfeksiyonlar dahil olmak üzere çeşitli tıbbi durumları tedavi etmek için de kullanımları mevcuttur. Ayrıca, egzama, sedef hastalığı ve akne dahil olmak üzere çeşitli cilt hastalıkları için yara iyileşmesini desteklemek, enfeksiyon riskini azaltmak ve yara izlerinin görünümünü azaltmada etkilidir. Mide ülseri, ishal ve diğer bağırsak bozukluklarının tedavisi, karaciğer hastalıkları, idrar yolu enfeksiyonlarını tedavi etmek ve bazı kanser türlerinin riskini azaltmak dahil olmak üzere pek çok kullanım alanı vardır. Tannik asit sensörleri, yiyecek ve içecek ürünlerindeki tannik asit varlığını izlemek ve kalite standartlarını karşılamakla kalmayıp, karaciğer hasarı ve kanser gibi

ciddi tıbbi durumların teşhis ve izleme süreçlerinde de etkili bir araçtır (Sistani and Shekarchizadeh, 2021).

2.4. KANSER UYGULAMALARI

Doğal kaynaklı ve akıllı ilaç sistemlerinin tasarlanması, geleneksel yöntemlerin ve ilaçların yan etkilerinin sebep olduğu sorunlar nedeniyle önemlidir. Nano boyutlu malzemeler kullanıldığında normal hücrelere toksik olabilecek dozların altında etkin sonuçlar alınabilir ve ilaçların küçük boyutları hücre içine geçişini kolaylaştırır. Nano malzemeler ile hedefe yönelik tedavi sağlanabilir. Bu yöntem, kanser tedavisindeki yan etkileri azaltarak canlı hücrelere zarar vermeden tedavi edebilme imkânı sunar (Abbas *et al.*, 2021).

Kanser ilaçları, kanserin büyümesinde ve ilerlemesinde yer alan spesifik genetik ve biyokimyasal yolları hedefleyerek çalışmaktadır. İlaça bağlı olarak antikanser mekanizması, kanser hücrelerini doğrudan öldürmeyi, büyümelerini engellemeyi veya yayılmalarını önlemeyi hedefleyebilir. Birçok kanser ilacı, kanser hücrelerini doğrudan hedef alarak ya onları öldürerek ya da bölünmelerini önleyerek çalışır. Bu ilaçlar, sitotoksik kemoterapi ve hedefe yönelik tedavi olarak iki kategoriye ayrılır. Sitotoksik kemoterapi ilaçları, kanser hücrelerinin DNA'sına zarar vererek apoptozu (programlanmış hücre ölümü) destekler. Sitotoksik kemoterapi ilaçlarının örnekleri arasında Doksorubisin, Etoposid ve Sisplatin bulunur. Hedefe yönelik tedavi ilaçları, hücrenin reseptörleri aracılığıyla bölünme ve büyüme sinyallerini bloke ederek çalışır. Bu ilaçlar, anjiyogenez olarak bilinen bir süreç olan tümörü besleyen yeni kan damarlarının oluşumunu da engelleyebilir. Kanser ilaçları, kanser hücrelerini doğrudan öldürmenin yanı sıra, kanserin büyümesinde ve ilerlemesinde yer alan genleri ve proteinleri de hedeflemektedir. Bu ilaçlar, moleküler hedefli ilaçlar olarak bilinir ve aynı anda birden fazla yolda etki gösterebilir. Moleküler olarak hedefli ilaçlar arasında İmatinib, Erlotinib ve Sunitinib bulunur. Bazı kanser ilaçları, kanserle savaşmak için vücudun bağışıklık sistemini güçlendirerek çalışır. Bu immünoterapiler; aşılar ve monoklonal antikorlar olarak iki kategoriye ayrılır. Aşılar, vücudun bağışıklık sisteminin, kanser hücrelerini tanıması ve onlara saldırması için uyarması şeklinde çalışmaktadır. Kanser aşılara Sipuleucel-T (Provenge) örnek verilebilir. Monoklonal antikorlar, kanser hücreleri üzerindeki spesifik antijenleri hedeflemek ve bunlara karşı bir bağışıklık tepkisini tetiklemek üzere tasarlanmış antikorlardır. Monoklonal antikorların örnekleri arasında Trastuzumab ve Alemtuzumab bulunur. Özetle; kanser ilaçları, kanserin büyümesinde ve ilerlemesinde yer alan spesifik genetik ve biyokimyasal yolları hedefleyerek

çalışmaktadır. İlaça bağlı olarak antikanser mekanizması, kanser hücrelerini doğrudan öldürmeyi, büyümelerini engellemeyi veya yayılmalarını önlemeyi içerebilir. Ek olarak, bazı kanser ilaçları, kanserle savaşmak için vücudun bağışıklık sistemini güçlendirmektedir (P. Zhang *et al.*, 2021; Thakur *et al.*, 2021; Ashrafizadeh *et al.*, 2022; Sawpari *et al.*, 2023).

Kanser tedavisi çok zor karmaşık bir süreçtir. Hastalığın türünü ve evresini doğru tespit etmedeki zorluk, belirli kanser türleri için etkili tedavilerin olmaması, etkili tedavi uygulanma zorlukları, tedavilerin toksik yan etkileri ve psikolojik süreçler sebebiyle teşhis ve tedavi zorlayıcıdır. Bunlara ek olarak, etkili tedavilere erişimle ilgili finansal, lojistik ve hasta bakım zorlukları süreci olumsuz etkileyebilmektedir. Ayrıca, pek çok kanserin teşhis edilmesi, özellikle en tedavi edilebilir oldukları erken evrelerde zordur.

Prostat kanseri erkeklerde en sık görülen kanser türlerinden biridir. Prostat kanserini tedavi etmedeki en büyük zorluk, kanserin vücudun diğer bölgelerine yayıldığı ileri bir aşamada teşhis edilmesidir. Ayrıca ilerlemiş prostat kanseri tedavilerinin başarı şansı oldukça düşük olmaktadır. Bu sebeple ancak erken teşhis ile ameliyat, radyasyon, hormon tedavisi ve kemoterapi dahil olmak üzere prostat kanseri için iyileşme mümkündür. Prostat kanseri erken evrelerinde genellikle asemptomatiktir ve yavaş ilerleyen bir kanser olduğu için tedavisi zor olmaktadır. Tedavi sırasında gelişebilecek ilaç direnci ve üriner sorunlardan dolayı tedavi süreci zorlaşmaktadır (Chen *et al.*, 2018).

Lösemi, kan ve kemik iliğini etkileyen çok ciddi bir kanser türüdür. Hızlı büyüyen ve agresif bir kanser türü olması sebebiyle tedavisi çok zordur. Tedavi süreci uzun ve zor olmaktadır ve ciddi yan etkilere gözlenir. Hastalar için uygun donör bulmanın zor olabileceği bir kemik iliği nakline ihtiyaç olabilir. Ancak başarılı tedavilerle bile kanserin nüksetme riski çok yüksek olduğu için tedavide yeni yaklaşımların geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Tedavi seçenekleri hastalığın tipine ve evresine, hastanın yaşına, genel sağlığına ve kişisel tercihlerine bağlıdır. Genel olarak tedavi, kemoterapi, radyasyon tedavisi, kök hücre nakli ve/veya hedefe yönelik tedavinin bir kombinasyonunu içerir. Lösemiye tedavi etmenin zorluğu, her bir hasta için en etkili olacak doğru tedavi kombinasyonunu bulmakta yatmaktadır. Tedavi boyunca hastanın ilerlemesini izlemek ve gerekirse tedavi planını ayarlamak da önemlidir (Kamel *et al.*, 2022).

Özellikle hasta hayatını zorlaştıran iki kanser türü için tartışılmış olsa da pek çok kanser türü için ilaçların etkinliği yetersiz kalmakta ve yan etkileri ile tedavi süreci zorlaşmaktadır. Ayrıca, hasta damarlarındaki incelmeden dolayı port kullanımı zorunlu hale gelmekte bu da enfeksiyon

riski gibi pek çok zorluk oluşturmaktadır. Bu durum araştırmacıları etkin ilaç salım sistemleri tasarlamaya yönlendirmiştir. Akıllı nanotaşıyıcılar bu konuda umut vaat etmektedir. Nanotaşıyıcılar sayesinde genelde hidrofobik yapılı olan kanser ilaçlarının biyoyararlanımı, çözünürlüğü ve kararlılığını iyileştirmek mümkün olmaktadır. Tasarlanan nanoformülasyon; biyobozunur amfifilik polimerler sayesinde hedef bölgeye ulaştıktan sonra ilacı sürekli bir şekilde salarak daha etkili bir tedavi sağlamaktadır. Bu sayede, kan dolaşımında daha düşük ilaç seviyeleri ile yan etkiler azaltılmakta ve hedef bölgede iyileştirilmiş terapötik etkiler elde edilmektedir (Ma, Kohli and Smith, 2013).

2.4.1. Antikanser Biyo-Nanoterapötikler

Nanotıp, antikanser tedavilerinin etkinliğini artırmak için nanoboyutta tasarlanmış ilaçların kullanıldığı tıp alanıdır. Nanoboyuta indirgenmiş ilaçlar, geleneksel ilaçlardan daha güçlü oldukları için kanser tedavisinde gereken ilaç miktarını azaltmaya yardımcı olabilirler. Bu durum, kanser tedavisinin maliyetini düşürmenin yanı sıra yan etki riskini azaltmaya yardımcı olmaktadır. Geleneksel tedavilerin aksine, nano boyutlu taşıyıcılar ile ilaçlar kan dolaşımında emilmediği için tümöre ulaşmadan vücutta kaybolan ilaç miktarının azaltılmasına yardımcı olurlar. Bu sayede hasta bölgeye daha fazla ilacın ulaşmasını sağlayarak geleneksel tedavilerden daha etkili sonuçlar alınmasını sağlarlar. Dahası, kanser hücreleriyle daha seçici bir şekilde etkileşime girebildikleri için ilaçların toksisitesini azaltmaya yardımcı olabilir. Bu sayede kanser hücrelerine karşı daha etkili ve daha az yan etkiyle ulaşılabilir, ilaçların etkinliği artırılabilir. Antikanser nanoterapötikler, gelecekte kanser tedavisinde daha da önemli bir rol oynayacak nano boyutlu ilaçlar olarak öne çıkacaktır (Staffa, Kohane and Zurakowski, 2021).

İlaçların nanoboyutlarda tasarlanması yanında, terapötik diğer maddelerin de tümörlere doğrudan iletilmesi mümkündür. Nanotaşıyıcılar, ilaçların yanı sıra optik, elektronik, manyetik ve lüminesans maddelerle tasarlanarak kanserlerin teşhis ve tedavisinde kullanılabilir. Bu sayede kanser etki mekanizmaları ve yollarının aydınlatılmasına olanak sağlamakta mümkün olmaktadır. Genel olarak, nanomalzemeler kanser tedavisinde devrim yaratabilecek potansiyele sahiptir. Daha çok, hedefli ve etkili tedavilerin ve teşhis sürecinde hastalığın daha iyi izlenmesine olanak tanırırlar (Li *et al.*, 2021).

Nanotaşıyıcılar geliştirilirken; boyut, morfoloji, yüzey yükü ve yüzeyin fonksiyonellenmesi oldukça önemlidir. Nanoboyutlar, ilacın absorpsiyon oranını ve hedef dokuya nüfuz etme yeteneğini etkilemektedir. Tanecik boyutları çok büyükse, hedef dokuya ulaşmak için hücre zarını geçmek zorlaşırken, taneciklerin çok küçük olması ilacın uygun oranda salımını olumsuz

etkilemektedir. Nanoformülasyonun morfolojisi ise genellikle salım mekanizmalarının nasıl olacağını etkilemektedir. Taneciklerin küresel olması ile ilaç düzgün bir şekilde salınırken, pürüzlü bir yüzeyi olan taneciklerden ilaç salımı daha yavaş veya düzensiz bir şekilde gerçekleşmektedir. Ek olarak, morfolojiye bağlı olarak, ilaç dağıtım sisteminin hedef doku ile nasıl etkileşime gireceğini etkilemektedir. Dolayısıyla bu faktörler kontrol edilerek istenen ilaç salım hızına ve hedef doku etkileşimine ulaşmak için doğru boyut ve şekle sahip taneciklerin tasarımını giderek artan bir biyo-nanoteknoloji konusudur (Abbas *et al.*, 2021).

Bir yüzeydeki elektrik yükünün ölçüsü olan yüzey potansiyeli, kanseri tedavisinde kullanılan ilaç taşıyıcıların etkin kullanımında önemlidir. Ayrıca, sulu çözelti içerisindeki ilaç molekülleri ve diğer yüzeyler gibi çözünen maddeler arasındaki etkileşimi belirlemede önemli bir faktör olması sebebiyle, ilaç etki mekanizmalarını doğrudan etkilemektedir. Yüzey potansiyeli ile hedef hücrelere ilaç alım hızı ve etkinliği üzerine etkilemekte ve ilaçların biyoyararlanımını iyileştirmektedir. Pozitif yüklü moleküller negatif yüklü yüzeylere bağlanma eğilimindeyken, negatif yüklü olanlar pozitif yüklü yüzeylere bağlanır. Kanser mikroçevresinin asidik yapısından dolayı pozitif yüklü ilaç taşıma sistemleri yerine, negatif yüklü ilaç taşıma sistemlerinin geliştirilmesi avantajlı olmaktadır. Negatif yüzeyler; hedef bölgede daha yüksek ve etkin derişimde ilaç molekülü iletilmesini sağlanarak potansiyel tedavinin etkinliğini artırır. Yüzey potansiyeli ilaç moleküllerinin kararlılığını ve hücre zarına nüfuz etme yeteneklerini etkilemektedir. Bu nedenle, ilaç dağıtım sistemlerinin yüzey potansiyelini kontrol edilerek, kanser tedavileri için ilaç dağıtımının etkinliğini ve doğruluğunu artırabilir. Bu, hastalar için daha iyi sonuçlara ve tedaviyle ilişkili yan etkilerde azalmaya yol açabilir (Honary and Zahir, 2013).

Nanotaşıyıcılar, ilaçları doğrudan hedeflerine kontrollü, sürekli bir şekilde iletmek için kullanılabilir ve bu da ilacın etkinliğini artırmaktadır. Bu durum etkin ilaç salımı ile doğrudan ilişkilidir ve ilacın biyoyararlanımının artması, yan etkilerin azalması ve spesifik hücrelerin veya dokuların iyileştirilmiş hedeflemesi gibi birçok avantaja sahiptir. Nanotaşıyıcılardan ilaç salımı için önerilen iki ana mekanizma pasif ve aktif ilaç salımıdır. Pasif ilaç salımında, ilaç molekülleri, moleküllerin nanotaşıyıcının yüzeyinden difüzyonu nedeniyle kademeli olarak gerçekleşmektedir. Bu tip ilaç salımında, nanotaşıyıcı içerisinde ve bulunduğu ortam arasındaki ilaç moleküllerinin derişimi etkilidir. Aktif ilaç salımını ise pH veya sıcaklık gibi bazı dış uyaranlar tarafından tetiklenmektedir. Bu tip ilaç salımı, ilaçları vücudun belirli bölgelerine iletilmesi veya ilaç salım hızını kontrol edilmesi için kullanışlıdır. Nanotaşıyıcılardan ilaç

salınımı, kaplama veya kapsülleme gibi yöntemlerle kontrol edilebilmektedir. Polimerler veya lipozomlar gibi kaplamalar, ilaç salım hızını kontrol etmenin yanı sıra ilacı vücuttaki diğer moleküller ile bozunma ile sonuçlanabilecek etkileşimin engellenmesi için kullanılabilir. Genel olarak, nanotaşıyıcılardan ilaç salımı, geleneksel ilaç verme yöntemlerine göre birçok potansiyel avantaj sunar. İlacın biyoyararlanımını artırabilir, yan etkileri azaltabilir ve belirli hücre veya dokuların daha kesin hedeflenmesini sağlayabilir. Birçok ilacın etkinliğini artırma potansiyeline sahip olduğundan, yeni nanotaşıyıcıların geliştirilmesine ihtiyaç devam etmektedir (Cui, Zhang and Liu, 2021).

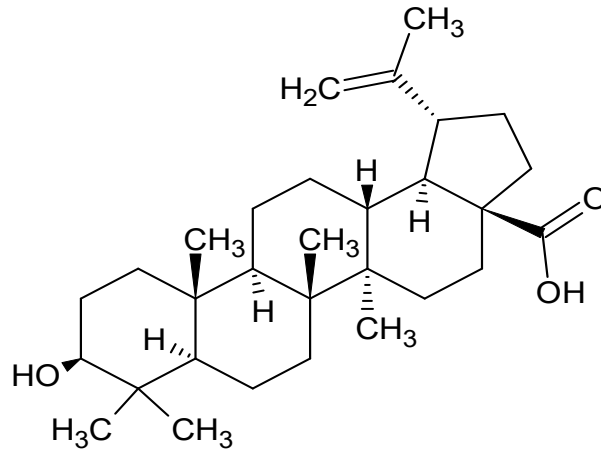
İlaçların belirli bir süre boyunca tabletler veya kapsüller gibi dozaj formlarından nasıl salındığının incelenmesi, ilaç salım kinetiği olarak adlandırılır. Farmakolojinin önemli bir alanı olan ilaç salım kinetiği, belirli bir ilacın etkinliğini ve güvenliğinin belirlenmesine izin verir. İlaç salım kinetiği, çeşitli yöntemlerle incelenebilir, bunlar arasında in vitro ve in vivo testler bulunur. İn vitro test, bir laboratuvar ortamında ilaç salım hızının analiz edilmesini içerirken, in vivo test, ilacın bir hayvana veya insana uygulanmasını ve etkilerinin gözlemlenmesini içerir. Bilim adamları, ilaç salım kinetiğini inceleyerek bir ilacın vücut tarafından nasıl emildiğini, nasıl metabolize edildiğini ve ne kadar çabuk ortadan kaldırıldığını daha iyi anlayabilirler. Bu bilgi, güvenli ve etkili ilaçlar geliştirmek için kritik öneme sahiptir. İlaç dağıtımındaki zorluk, ilacın istenen hedefe, doğru miktarda ve doğru zamanda ulaşmasını sağlamaktır. Bu zordur çünkü ilaçlar genellikle ağızdan veya damardan verilir ve kesin zamanlama ve miktarlar gerektirir. İlaçlar hedef bölgeye ulaşmadan vücutta parçalanabilirler veya vücuttaki bazı bariyerleri geçemeyebilirler. Ayrıca vücudun kendi savunma mekanizmaları bazen ilacın hedefe ulaşmasını engelleyebilir. Dolayısıyla, ilaç salım sistemlerinin karmaşıklığı ve kontrol edilebilirliğinin geliştirilmesi yeni nanotaşıyıcıların geliştirilmesine ihtiyaç artmaktadır (Abouelmagd *et al.*, 2015; Shafiei *et al.*, 2021).

Tasarlanan nanotaşıyıcıların antikanser aktivitesinin belirlenmesinde in-vitro ve in-vivo testlere ihtiyaç duyulmaktadır. İn-vitro testlerden alınan sonuçlara bağlı olarak in-vivo hayvan denemeleri ve daha sonrasında klinik araştırmalara geçilerek yeni nesil ilaçlar geliştirilmektedir. İn -vitro testler arasında en sık kullanılan ve 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür testi olarak da bilinen MTT testi, bir kültürdeki hücrelerin canlılığını ölçmek için kullanılan kolorimetrik bir yöntemdir. Bu yöntem, hücre biyolojisi ve ilaç araştırmalarında yaygın kullanılmaktadır. MTT testi, hücre kültürüne ekilen sarı renkli MTT boyasını canlı hücreler tarafından mor renkli formazan ürününe indirgemesi ve bunun

spektrofotometre kullanılarak ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Üretilen formazan ürünü miktarı, kültürdeki canlı hücre sayısı ile orantılıdır. MTT testi, hücre canlılığını, ilaç toksisitesini, sitotoksisiteyi ve diğer hücre büyümesi parametrelerini ölçmek için yararlı bir araçtır. Potansiyel tedavilerin etkinliğini belirlemek için ilaç tarama testlerinde de sıklıkla kullanılan ucuz, hızlı ve hassas bir yöntemdir (Dutta *et al.*, 2019).

2.4.1.1. Betülinik asit

Betülinik asit, huş ve meşe gibi bazı ağaçların kabuğunda bulunan ve geleneksel tıpta kullanılan doğal bir triterpenoid bileşiktir. Son yıllarda betülinik asit, antiviral, antiinflamatuvar, antikanser ve anti-HIV özellikleri potansiyel terapötik uygulamalar için incelenmiştir. Sahip olduğu anti-enflamatuar ve anti-anjiyojenik özellikler sayesinde virüs ve bakteriler için de etkili oldukları görülmüştür. Özellikle, sağlıklı hücrelere zarar vermeden kanser hücrelerini seçici olarak hedef alma ve yok etme yeteneği nedeniyle bir antikanser ajanı olarak potansiyel kullanımları dikkat çekmektedir. Betülinik asit, hücrenin DNA'sını hedefleyerek kanser hücrelerinin programlanmış ölümü olan apoptozu tetiklemektedir. Ayrıca, ilaca direnç geliştirmiş lösemi kanser hücrelerine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Betülinik asidin lösemi tedavisindeki etkinliğini daha iyi anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulurken, mevcut sonuçlar bunun umut verici bir kanser tedavisi olabileceğini düşündürmektedir. Bir antikanser ajanı olarak potansiyel kullanımı klinik deneylerde incelenmeye devam eden betülinik asit, potansiyel olarak belirli kanser türleri için yeni ve etkili bir tedavi geliştirmede aday sayılmaktadır (Lu *et al.*, 2020; Dubinin *et al.*, 2021; Xiu *et al.*, 2023). Betülinik asidin en dikkat çekici özellikleri; kanser koruyucu etkiler göstermesi, normal hücre ve dokulara karşı düşük toksisitesi ve diğer kanser ilaçlarının direncini kırarak antikanser etki göstermesi olarak özetlenebilir.



Şekil 2.1 : Betülinik asidin kimyasal yapısı.

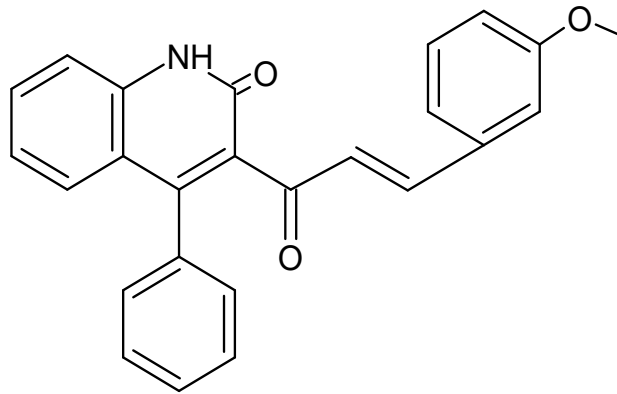
Genel antikanser mekanizmasının, mitokondri membranındaki suda çözünür proteinlerin salınmasına bağlı mitokondriyal membran potansiyelinin değişimini destekleyerek hücreyi apoptoza götürmek olduğunu bilinmektedir. Yapılan çalışmalar ise, betülinik asidin, kaspaz enzimlerinin aktivasyonu, mitokondriyal membran potansiyelinin bozulması ve endoplazmik retikulum stres kaynaklı apoptozun aktivasyonu dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla apoptozu indüklediği göstermiştir. Bu durum betülinik asit için birden fazla etki mekanizmasının olabileceği düşündürmektedir. Özellikle, kanser hücrelerinde apoptozun uyarılması yanı sıra metastazla ilişkili proteinler ve onkojenik transkripsiyon faktörleri dahil olmak üzere kanserin ilerlemesinde rol oynayan birkaç proteine etki ettiğini gösteren dikkat çekici araştırmalar mevcuttur. Ayrıca, hücre bileşenlerinin bozunmasına bağlı hücre ölümü olarak tanımlanan otofajiyi desteklediği bilinmektedir. Ancak, betülinik asidin antikanser etki mekanizmalarının tam olarak aydınlatılması ve etkili taşıyıcı sistemler ile hedef bölgeye iletilmesi üzerine yapılacak çalışmalar hala çok önemlidir. Dahası, betülinik asidin ekstraksiyon ile eldesinin zor oluşu ve biyoyararlanımının düşük olması etkin kullanımının önündeki en önemli zorluklardır. Bu özelliklerin iyileştirilmesi sayesinde, mevcut maliyeti düşürmek ve etkili bir terapötik geliştirerek mekanizmaların aydınlatılması mümkün olacaktır (Chintharlapalli *et al.*, 2007; Moghaddam, Ahmad and Samzadeh-kermani, 2012; Jiang *et al.*, 2021).

Betülinik asit, özellikle prostat kanseri için potansiyel bir antikanser ajan olarak incelenebilir. Yapılan çalışmalar, prostat kanseri hücrelerinin büyümesini etkili bir şekilde engellediğini göstermektedir. Ayrıca, kandaki prostat spesifik antijen (PSA) seviyesini düşürdüğü tespit edilmiştir. Betülinik asit, metastaz riskini veya kanserin vücudun diğer bölgelerine yayılmasını azaltmada da faydalı olması, prostat kanseri için etkin bir tedavi ajanı olabileceğini göstermektedir. Özellikle nanoboyutta tasarlanmış betülinik asit ile istenen hedef bölgeye iletim sağlanarak ilacın biyoyararlanımını artırabilir ve yan etkileri azaltabilir. Ek olarak, betülinik asidin nanoformülasyonu, çözünürlüğünü ve stabilitesini iyileştirerek daha fazla terapötik etkinlik sağlayabilir. Örneğin, nanoformüle edilmiş betülinik asidin, kanser hücrelerine karşı aynı dozda nanoformüle edilmemiş betülinik asitten daha etkili olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak, betülinik asidin nanoformülasyonu, prostat kanseri tedavisinde umut verici bir çözüm olarak dikkat çekmektedir. Yapılacak yeni çalışmalarla, betülinik asidin nanoformüle edilmesi ile elde edilecek etkilerin daha da geliştirilmesi mümkün olabilir (Chintharlapalli *et al.*, 2007; Shin *et al.*, 2011).

2.4.1.2. Seranib-2

Seranib-2; seramidaz inhibitörleri sınıfında yer alan ve pek çok kanser türünde antikanser etkinliği kanıtlanmış bir antikanser ajandır. Yapılan çalışmalar; hücre büyümesinde ve çoğalmasında önemli bir rol oynayan bir reseptör olan epidermal büyüme faktörü reseptörünün (EGFR) inhibitörlerinin etkinliğini arttırdığını göstermiştir. EGFR'nin; akciğer, meme, prostat, kolon, yumurtalık, karaciğer mesane ve baş-boyun bölgesindeki katı tümörlerinin gelişimi ve ilerlemesinde yer alan moleküler bir faktör olduğu göz önünde bulundurulduğunda, seranib-2'nin bu kanser türleri üzerindeki etkinliği şaşırtıcı değildir (Qiu *et al.*, 2006). Seranib-2'nin, akut ve kronik miyeloid lösemi dahil olmak üzere belirli lösemi türlerinin tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur. In-vitro ve in-vivo deneylerde kanser hücrelerinin büyümesini engellediği ispatlanan seranib-2, ilerlemiş katı tümörler üzerindeki klinik araştırmaların Faz II aşamasında olduğu bilinmektedir. EGFR'nin aktivitesini bloke etmesi, tümörlerin boyutunu azaltmaya ve yayılmalarını yavaşlatmaya yardımcı olabileceğini göstermektedir (Bataller *et al.*, 2021).

Kanser hücrelerini besleyen kan damarlarının oluşumunu durdurarak, hücrelerin büyümesinde ve yayılmasında yer alan belirli proteinlere etki eden seranib-2'nin, kanser hücrelerini tedaviye dirençli hale getiren proteinleri bloke ettiği de bilinmektedir. Bu özellikleri, kombinasyon terapilerde kullanımını arttırmıştır. Böylece, toksik kemoterapi ilaçlarının yan etkilerinin azalmasında rol oynayarak, geleneksel kemoterapi rejimlerini tolere edemeyen hastalar için umut verici bir seçenek haline gelmiştir (Govindarajah *et al.*, 2019).



Şekil 2.2 : Seranib-2'nin kimyasal yapısı.

Kanser tedavisindeki en önemli sorunlardan biri olan ilaç direnci; tedavi sırasında ve sonrasında oluşabilmektedir. İlaç dirençlerinin oluşmasında hücre membranında bulunan ve hücre canlılığı ve iletiminden sorumlu olan spingolipit yağ tabakası aktif bir etkindir. Bu mekanizmadan

sorumlu spingolipit enzimlerinin inaktivasyonunda asit seremidaz (AC), spingomiyelinaz ve spigozin kinaz inhibitörleri kullanılmalıdır. Asit seremidaz intibitör sınıfında yer alan Sernib-2, özellikle prostat kanseri hücrelerinde çok yüksek oranda AC birikmesine bağlı olarak gelişen apoptoz direncinin kırılması açısından önemlidir. Bu sebeple prostat kanserinde AC inhibitörleri ile kombinasyon terapi oldukça önemlidir. Pre-klinik çalışmalarda, Seranib-2'nin prostat kanserine özgü genlerin aktivitesini inhibe ettiği, androjen reseptörü gibi prostat kanserine özgü birkaç genin büyümesini ve yayılmasını engellediği tespit edilmiştir. İlerlemiş prostat kanseri hastalarında yapılan klinik çalışmalarda, Seranib-2'nin iyi tolere edildiği ve olumlu bir etki gösterdiği belirtilmiştir. Bu nedenle, Seranib-2, prostat kanseri tedavisi için yeni bir umut kaynağı olarak görülmekte ve ilerlemiş prostat kanseri hastaları için Faz III klinik denemeleri yapılmaktadır. Sonuç olarak, Seranib-2 gibi yeni nesil ilaçlar, prostat kanseri tedavisinde önemli bir rol oynayabileceği ön görülmektedir (Rothmund *et al.*, 2020).

2.5. NANOMALZEMELERİN KARAKTERİZASYON YÖNTEMLERİ

Nanoteknolojik yaklaşımlarla malzeme tasarlamak kadar nanomalzemelerin karakterizasyon yöntemlerini bilmek de oldukça önemlidir. Sıklıkla kullanılan analiz yöntemleri uygulama alanlarına göre çeşitlilik gösterse dahi, temeldeki yaklaşımlar ve analizler benzerlik göstermektedir. Bu sebeple, bu tez çalışması kapsamında biyomedikal uygulamalar için sıklıkla tercih edilen analiz yöntemleri açıklanmıştır (Mania *et al.*, 2017).

2.5.1. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)

Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) temel çalışma prensibi olarak; üzerinden yüksek voltaj altında hızlandırılmış elektronların geçirilmiş numuneden farklı enerjide elektronlar ve X-ışınları çıkar. Numune kalınlığının en az 0.1 mikron olması gerekmektedir. Hızlandırılmış elektronların bir kısmı etkileşmeden bir kısmı kırınıma uğrayarak numunenin alt yüzünden dışarı çıkmaktadır. Bu tür elektronları kullanarak numunenin iç yapısının incelenmesi sağlanır ve yüksek büyütme görüntüleri elde edilir. Bu analiz yöntemi ile malzemelerin atomik boyutlarda morfolojisi ve yapısı ayrıntılı incelenebilir ve elementel bilgiler alınabilir. Numunede yüksek elektron yoğunluğuna sahip bölgeler düşük elektron yoğunluğuna sahip bölgelerden daha koyu görüntü vermektedir. Bu yöntem sayesinde; biyolojik numunelerden, ince filimler ve kompozit yapılara kadar malzemelerin yüzeyi yüksek çözünürlükte ve 2 boyutlu olarak görüntülenebilmektedir. Nano boyutta tasarlanmış malzemelerin atomik düzeyde

karakterizasyonunda sıklıkla kullanılan hassas bir yöntem olan TEM; temel bilimler, malzeme bilimi ve mühendislik araştırmaları için önemli bir analiz yöntemidir.

2.5.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobunda odaklanmış elektron demeti ile malzemelerin yüzeyi taranarak görüntüler elde edilmektedir. Görüntü oluşumu; numune yüzeyi ve elektron demeti arasındaki elastik ve elastik olmayan çarpışmalar gibi fiziksel etkileşimler sonucunda açığa çıkan sinyallerin toplanması ile gerçekleşmektedir. Elastik olmayan çarpışma sonucunda, numune yüzeyindeki atomların enerjilerini elektronlara transfer etmesiyle ortaya çıkan ikincil elektronlar sayesinde 3 boyutlu ve net görüntüler elde etmek mümkündür. Elastik girişimler sonucu, elektronlar numune atomları tarafından atom numaralarıyla orantılı olarak geri saçılırlar. Geri saçılan elektronların varlığında atom numarası farkına bağlı olarak kontrast görüntüler oluşmaktadır. Bu sayede numune yüzeyinin topografik yapısı ve bileşimi hakkında bilgi edinmek mümkündür. SEM cihazına bir enerji dağıtıcı spekturum (EDS) sistemi eklenerek; seçilen bir alan taranabilmektedir. Tarama sonucunda, numuneye çarpan elektronun, atomun iç yörüngesinden bir elektron koparmasına bağlı olarak, her atoma özgü X-ışınları ortaya çıkar ve bu sayede numunedeki elementler kalitatif ve kantitatif olarak saptanabilir. Analizin yapılabilmesi malzemelerin iletken olması ve yüksek enerjili elektron bombardımanına dayanıklı olmasıyla mümkün olmaktadır. Bu sebeple, yalıtkan numunelerin analizi için yüksek vakum altında çalışan altın paladyum kaplama cihazları kullanılmaktadır. Özellikle biyolojik numunelerin morfolojisinin değerlendirilmesinde kullanımı sayesinde dokularda çeşitli sebeplerle meydana gelen morfolojik değişiklikler izlenebilmektedir.

2.5.3. X-Işını Kırınımı (XRD)

Malzemelerin sahip olduğu her bir kristal fazdaki atomik dizilimler maddeye özgü olarak değişmektedir. X-ışını kırınımı (XRD), nanotaneçiklerin yapısını ve boyutunu incelemek için kullanılan güçlü bir analitik tekniktir. Bir numuneyi bilinen bir dalga boyundaki X-ışınlarıyla bombardıman etme ve numuneden saçılan kırınımlı X-ışınlarını ölçme esasına dayalı çalışır. XRD analizinde; malzemeye gönderilen X-ışınları karakteristik bir düzen içerisinde kırılmaya uğrayarak kristal kafes içindeki atomlarla etkileşir ve farklı yönlerde saçılmalarına neden olarak malzemenin kristal yapısına özgü kırınım profilleri elde edilir. Analiz sırasında, vakum ve inert gaz ortamı kullanılır ve numuneye hasar verilmez. Numunelerin faz sayıları, kristal boyutları, kafes yapıları, kristal yönelimleri ve yapısında meydana gelen değişimler kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilebilmektedir. XRD analizi; inorganik yapılar, ince filmler, polimerik yapılar

ve kayaçlar gibi malzemelerin yapısının tayin edilmesinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Elde edilen piklerin yoğunluğu parçacık boyutuyla ilgiliyken, piklerin genişliği parçacıkların boyut dağılımıyla ilgili bilgi vermektedir. Taneciklerin kristal boyutu, maksimum pikin yarı uzunluk genişliğinden (FWHM) belirlenebilir. XRD verilerini yorumlamasında, bir referans malzeme veya standart veri tabanlarından alınan katalog verileri ile karşılaştırma yapılır.

2.5.4. X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)

X-ışını fotoelektron spektroskopisi malzemelerin yüzeyinin nano boyutlarda ve yüksek hassasiyetle analiz edilmesine olanak sağlamaktadır. XPS analizi ile monokromatik X-ışınlarına maruz bırakılan numune yüzeyinden yayılan fotoelektronların kinetik enerjisi ölçülerek malzeme içindeki atomların kimyasal/elektronik durumu ve element bileşimi ötespit edilebilir. Analiz; bir numune tutucu, X-ışını kaynağı ve elektron detektörü içeren bir vakum ortamında gerçekleştirilmektedir. Numune tutucu tipik olarak düz bir plaka veya bir tel ızgara gibi iletken bir yüzeydir. X-ışını kaynağı olarak genellikle X-ışını tüpü veya X-ışını lazeri kullanılır. Elektron detektörü genellikle numuneden yayılan elektronları toplayan ve analiz eden yarım küre şeklinde bir analizördür.

XPS verilerini yorumlamak için öncelikle X-ışını fotoelektron spektroskopisinin temellerini anlamak önemlidir. Elektronların enerjisi, malzemede bulunan kimyasal elementle ilişkilidir ve numunede bulunan elementleri tanımlamak için kullanılmaktadır. XPS pikleri yorumlanırken, ilgili atoma özgü ve ilgili orbitale karşılık gelen elektronların bağlanma enerjisi dikkate alınır. Aynı elementin farklı kimyasal halleri, farklı enerji seviyelerine sahip olabilir ve XPS spektrumundaki piklerin yoğunluğu kıyaslanarak malzemenin kimyasal durumunu belirlenir. Bu noktada, XPS ölçümünün yapıldığı ortamı dikkate almak önemlidir. Çünkü malzemenin çevresi XPS spektrumundaki piklerin nispi yoğunluğunu etkileyebilir. Bu yöntem kullanılarak; metallerin yükseltgenme/indirgenme basamaklarının belirlenmesi mümkündür. Bu sayede oksidasyon sayılarındaki değişikliklere bakılarak kimyasal reaksiyonlar da takip edilebilmektedir. Ayrıca polimerler, organik ve inorganik malzemelerin nitel ve nicel olarak değerlendirilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Özellikle yüksek performanslı malzemeler tasarlanırken ve gelişmiş yüzey özellikleri önem kazandığı kaplama sistemleri ve sensör gibi uygulamalarda, yüzeyin hassas analizinde kullanılmayı yaygındır.

2.5.5. Dinamik Işık Saçılımı (DLS)

Dinamik ışık saçılımı (DLS), çözelti içerisindeki parçacıkların boyutları, dağılımları ve yüzey yükleri hakkında bilgi veren bir yöntemdir. Çalışma prensibinin temelinde; seyreltik çözelti içerisine gönderilen lazer ışığının, parçacıkların ve ortamın özelliklerine (parçacığın boyutu, ortamın viskozitesi, sıcaklık vb.) bağlı olarak saçılması sonucu ışık şiddetindeki değişimin ölçülmesi esas alınır. Yöntem, nano ve mikro ölçeklerdeki biyolojik sistemler, polimer çözeltileri, kolloidal süspansiyonlar gibi çok çeşitli yapıların hidrodinamik çapı, difüzyon katsayısı, parçacık boyutu ve dağılımı hakkında bilgi vermektedir. Özellikle pH'a bağlı hidrodinamik çap, yüzey yükü ve yüzey potansiyelinin önemli olduğu biyolojik ortamlarda kullanılmak üzere geliştirilmiş yapıların aydınlatılmasında önemli ve tercih edilen bir yöntemdir. DLS analizinin birincil avantajı, numuneye zarar vermeden çözeltideki parçacıkları incelemek için kullanılabilen invazif olmayan bir teknik olmasıdır. Aynı zamanda, hızlı, hassas ve güvenilir sonuçlar veren tekrarlanabilir bir tekniktir.

2.5.6. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi spektroskopisi, IR ışınına maruz kalan moleküllerin karakteristik bağ titreşim frekanslarının ölçülmesiyle moleküler yapının aydınlatılmasına olanak sağlayan bir yöntemdir. Bunun için, numune üzerine gönderilen IR ışınlarının soğrulabilmesi yani molekülün dipol momentinde net bir değişimin olması gerekmektedir. Her bir molekül, bağ açısı ve uzunluğuna bağlı olarak farklı salınma, burkulma hareketleri ve asimetrik/simetrik bağ yapısına sahip olduğu için, farklı frekans değerlerine sahiptir. Bu yöntemde numuneden kızılötesi ışık demeti geçirerek numune tarafından emilen veya saçılan enerji miktarını ölçülür. Bu sayede malzemenin bileşenleri tanımlanarak özellikleri belirlenebilmektedir. Alınan spektrumlar ile bağ oluşumu ve/veya yok olması ve bağ şiddetlerindeki artma/azalmalar izlenerek kimyasal bileşim hakkında bilgi edinilir. FTIR spektroskopisi ile katı, sıvı veya gaz numune ölçümleri yapılabilmektedir FTIR analizi; ilaçlar, plastik ve polimer malzemeler, gıda malzemeleri gibi diğer malzemelerin karakterizasyonunda tercih edilen ucuz, hızlı ve kolay bir tekniktir. Organik bileşik analizinde, kırılma indeksi, yoğunluk ve termal genleşme gibi fiziksel özelliklerin aydınlatılmasında kullanılırlar. Ayrıca, geliştirilen malzemelerdeki safsızlıkların tespitinde de tercih edilen bir yöntemdir.

2.5.7. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR)

NMR (nükleer manyetik rezonans) analizi, atomların çekirdeklerinin radyo frekansı alanında elektromanyetik ışınları absorplaması üzerine kurulmuş bir yöntemdir. Bu bilgi daha sonra bir

molekölün yapısını, bileşimini ve özelliklerini belirlemek için kullanılabilir. NMR analizi, farmasötikler, biyokimya ve malzeme bilimi dahil olmak üzere çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. NMR analizinin çalışma prensibi, nükleer spin fenomenine dayanmaktadır. Bazı atom çekirdekleri, çekirdeğin küçük bir mıknatıs gibi davranmasına neden olan kuantum-mekanik bir özellik olan spin olarak bilinen bir özelliğe sahiptir. Güçlü bir manyetik alana yerleştirildiğinde, çekirdekler kendilerini alan çizgileri boyunca hizalayacak ve belirli bir yönde dönecektir. Çekirdekler bir radyo frekansı sinyaline maruz kaldıklarında, sinyalden enerji emerler ve belirli bir frekansta enerji yayarlar. Bu frekans, rezonans frekansı olarak bilinir ve her çekirdek türü için benzersizdir. Bu rezonans frekansını ölçerek, çekirdeğin kimyasal ortamını ve temsil ettiği atomun türünü belirlemek mümkündür. Bu bilgi daha sonra molekülün bileşimini ve yapısını belirlemek için kullanılabilir. Bu yöntemle, bir molekül için hidrojen içeren grupların sayıları ve bunlara komşu olan gruplar da tespit edilebilmektedir. Özellikle, biyomalzeme ve yeni ilaç moleküllerinin geliştirilmesi çalışmalarında tercih edilen güvenilir bir tekniktir. UV ve IR spektroskopilerinden farklı olarak; moleküldeki atom çekirdeğinin manyetik karakterine bağlı olarak, molekül iskeleti hakkında bilgi verir. NMR analizi tahribatsız bir tekniktir, yani numune hasar görmeden birçok kez yeniden incelenebilir. Bu, onu çeşitli alanlardaki molekülleri incelemek için yararlı bir araç haline getirir.

2.5.8. UV-Görünür Bölge (UV-Vis) Spektroskopisi

UV-Vis spektroskopisinde; numune üzerine gönderilen ışık demetinin, numuneden geçtikten veya yüzeyinden yansıtıldıktan sonra şiddetindeki değişim ölçülür. Işın malzemeye göre soğurulduğu için, maddeye özgü dalga boylarında pikler elde edilmektedir. Bu yöntem ile; morötesi ve görünür bölge dalga boyu aralığında geniş bir spektrumda analiz yapılabilmektedir. Dahası, dalga boyuna bağlı absorpsiyon ölçümleri izlenerek kimyasal reaksiyonlar takip edilebilirken, ilaç salım ve adsorpsiyon kinetiklerinin incelenmesinde de sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Genel olarak bir numunenin konsantrasyonunu ve saflığını ölçmek ve aynı zamanda fonksiyonel grupları ve kimyasal bağları tanımlamak için kullanılır. Örneğin, verilerdeki bir pik, belirli bir fonksiyonel grubun veya kimyasal bağın varlığını gösterebilir. Ek olarak, veri eğrisinin şeklindeki değişiklikler, numunedeki safsızlıkların veya kimyasal değişimlerin varlığına işaret eder. Taban çizgisinin düz olmaması numunenin safsızlık içerdiğini gösterirken, taban çizgisinin sıfırdan çok uzak olması numune derişiminin analiz için çok yüksek olduğu bilgisini vermektedir. Özellikle nicel analizlerde bu parametreler dikkate alınarak ölçüm alınmalıdır.

2.5.9. Floresans Spektroskopisi (PL)

Floresan spektroskopisi, bir ışık kaynağına maruz kalan numuneden yayılan ışığın yoğunluğunu ölçmek için kullanılan bir tekniktir. Elektromanyetik ışın demeti ile uyarılmış bir atom veya molekül temel enerji seviyesinden bir üst enerji seviyesine çıkmaktadır. Üst enerji seviyesine uyarılmış atom veya molekül kararsız olduğu için soğurduğu fazla enerjiyi salarak temel enerji seviyesine dönme eğilimindedir. Temel enerji seviyesine inerken fazla enerjinin tamamı veya bir kısmı, atom veya molekülden ışık emisyonu olarak ayrılabilir. Bu olay gerçekleşme türüne bağlı olarak floresans/fosferasans veya genel adıyla lüminesans olarak adlandırılmaktadır. Bir numuneden fotolüminesans emisyonu, kimyasal bileşimini ve özelliklerini belirlemek için kullanılabilir. Analiz yapılırken, örnekler karanlık numune odasına yerleştirilir ve bir ışık kaynağına maruz bırakılır. Işık kaynağı, gerçekleştirilen ölçümün türüne bağlı olarak sürekli, darbeleri veya modülasyonlu olabilmektedir. Numuneden yayılan ışık daha sonra hassas bir detektör tarafından toplanır ve ışığın yoğunluğu ölçülür. Bu yöntem malzemelerin floresans ömrünü ölçmek ve floresans görüntüleme ajanlarının özelliklerinin incelenmesi için de kullanılabilir.

2.5.10. Titreşimli Numune Manyetometresi (VSM)

Titreşimli numune manyetometresi (VSM), numunelerin manyetik özelliklerini anlamak için kullanılan bir cihaz olup, manyetik bir alanın altında tutulan malzemelerin manyetik momentini ölçer. Bu teknikte, ölçülecek numune önce manyetize edilir ve sonrasında manyetik alanın değiştirilmesi ile manyetik moment değişiklikleri tespit edilir. Ayrıca, ölçülecek numunenin manyetik moment büyüklüğü, manyetik alan gücü, sıcaklık ve frekans ile değişen manyetik özellikleri hakkında bilgi verir. Manyetik malzemelerin manyetik geçiş sıcaklıkları ve histeresis eğrilerinin tespitini de bu teknikle yapmak mümkündür. -263 °C ile 1000 °C gibi geniş bir çalışma sıcaklık aralığında 2.2 T'ye kadar manyetik alan sağlayan hassas bir tekniktir. Bu tekniğin birçok farklı uygulama alanı vardır. Malzeme bilimi alanında manyetik malzemelerin manyetik özelliklerinin tanımlanması ve karakterizasyonunda, elektronik endüstrisinde manyetik şeritler, diskler, ve bellekler gibi cihazların üretiminde, sağlık alanında manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi tıbbi görüntüleme cihazlarının keşfinde, enerji alanında manyetik güç jeneratörleri, röleler ve sıcaklık sensörlerinin üretiminde, çevre alanında ise evsel ve endüstriyel atık su arıtma tesislerinde kullanılan manyetik malzemelerin özelliklerinin tespitinde tercih edilirler.

3. YÖNTEM

3.1. MALZEMELER

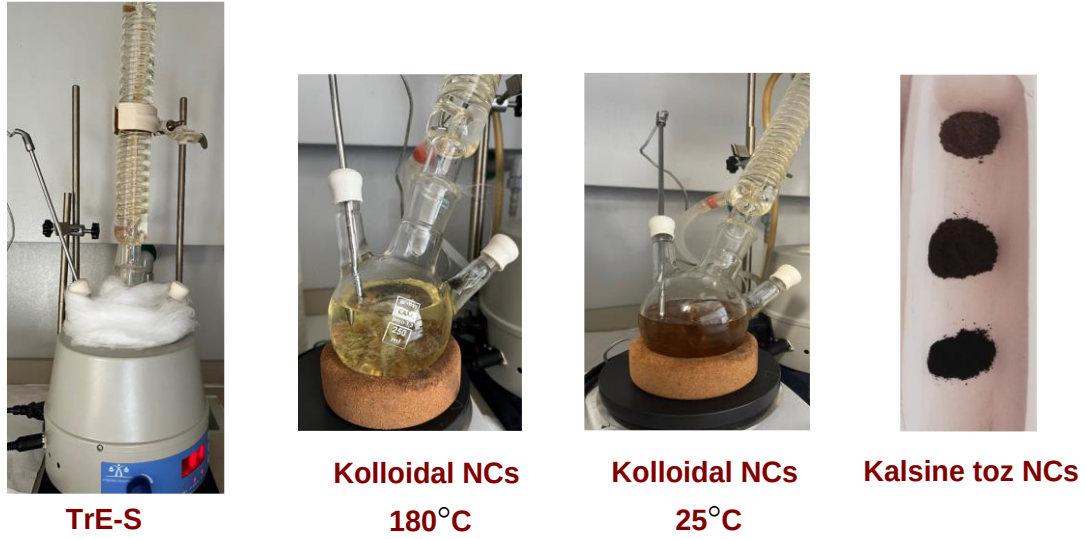
Çinko asetat dihidrat ($\text{Zn}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (%99,99), mangan asetat tetrahidrat ($\text{Mn}(\text{Ac})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ($\geq$ %99,0), gümüş nitrat ($\geq$ %99,0), izopropil alkol (saflık $\geq$ %99,5 etilen glikol (susuz, %99,8), etanol (BioUltra, moleküler biyoloji için, $\geq$ %99,8), etil asetat, gallik asit (susuz), maleik Asit, salisilik asit, hidrojen peroksit %30, süksinik asit, adipik asit , fosfat tamponlu salin (PBS) ve Whatman® kalitatif filtre kağıdı (çap $<2 \mu\text{m}$), aseton, gallik asit (susuz), fosfat tamponlu salin (PBS), betülinik asit, amicon ultra-2 santrifüj filtre üniteleri (30K MWCO), $0.22 \mu\text{m}$ polivinil diflorid (PVDF) membran steril bir şırınga filtresi, MTT hücre kiti, Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), dimetilsulfoxide (DMSO), Fetal bovin serum (FBS), penisilin, streptomisin ve tripsin Merck Company'den (Almanya) satın alınmıştır. Amonyak, D (+) glikoz monohidrat (saflık $\geq$ %99), α -laktoz monohidrat (saflık $\geq$ %99), D(-) fruktoz (saflık $\geq$ %99), D-(+)-maltoz monohidrat (saflık) $\geq$ %99), üre (saflık $\geq$ %99), Folik asit (saflık $\geq$ %97), L-askorbik asit (%99), L-glutamik asit (saflık $\geq$ %99 NT), melamin (saflık $\geq$ %99,0) , DL-alanin, lizin, glisin (%99), adenin, (biyoreaktif, saflık $\geq$ %99), adenozin (saflık $\geq$ %99), dopamin hidroklorür (%98), asetil salisilik asit ve progesteron-4-pregnene-3,20-dion $\geq$ %99, seranib-2, diklorometan (DCM), poli-laktik asit, aljinik asit sodyum tuzu (çok düşük moleküler ağırlık) ve diyaliz tüpü selüloz membranı (molekül ağırlığı kesme (12.000-14.000) Sigma-Aldrich Company'den satın alınmıştır. Etilen diamin (saflık $\geq$ 99.5 % GC), Pepsin, L-Arginin monohidroklorür (saflık $\geq$ 99%), tannik asit, tartarik asit ve oksalik asit, Fluka'dan (İsviçre) temin edilmiştir. Matcha tozu (*camellia sinensis*) Arifoğlu (Türkiye)'ndan alınmıştır. PC-3 prostat kanseri ve normal HUVEC normal hücre serileri ATCC (Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu)'den temin edilmiştir. Tüm kimyasallar ve reaktifler saflaştırılmadan kullanılmıştır. Deneylerde kullanılan saf su, Merck Millipore Milli-Q® Integral 5 sistemiyle elde edilmiştir.

3.2. KARAKTERİZASYON

Hazırlanan nanokompozitlerin (NCs) kimyasal ve yüzey özelliklerini belirlemek için, 100 kV hızlanma voltajına sahip yüksek çözünürlüklü Geçirimli Elektron Mikroskobu (HRTEM) (Hitachi HighTech HT7700), Alan Emisyon Taramalı Elektron Mikroskobu (FESEM, FEI ESEM Quanta 450 FEG), X-Ray Kırınımı (XRD) analizi ($\text{CuK}\alpha = 1,54060 \text{ \AA}$, 35 kV, 40 mA, $2\theta = 10\text{--}90^\circ$, $2^\circ/\text{dk}$), X-Ray Fotoelektron Spektroskopisi (XPS), Bruker D8 Advanced Series, (XPS/ESCA, XR 50 ve monokromatik X-ışın kaynağı, 200 eV – 4 keV, 80K – 1100K) ve Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi (FTIR, Perkin Elmer, $375\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$ frekans aralığı) dahil olmak üzere ileri analiz yöntemleri kullanılmıştır. Hazırlanan NCs, NCs-esaslı sensörler ve ilaç salım kinetiklerinin aydınlatılmasında Ultraviyole Görünür (UV-Vis) Spektrofotometresi (TG+80 Model, 200 ila 700 cm^{-1} dalga boyu aralığı) kullanılmıştır. Tüm NCs kolorimetrik sensör özelliklerine ait veriler için bir akıllı telefon (Iphone 13, çift 12MP kamera sistemi, geniş: $f/1.6$ açıklık ve ultra geniş: $f/2.4$ açıklık, 120° görüş alanı) kullanılmış ve veriler Image-J programı kullanılarak analiz edilmiştir. Nanokompozitlerin tanecik boyut dağılımı ve zeta potansiyeli ölçümleri, Malvern Zetasizer (Nano ZSP, Nano ZS, 173°) ile aydınlatılmıştır. Örneklerin dondurarak kurutma işlemi için Alpha 2-4 LD Plus Liyofilizatör (-20 ile -70°C) kullanılmıştır. Titreşimli Numune Manyetometresi (VSM) ölçümleri, Quantum Design PPMS-9T sisteminin VSM eki ile (5 K-350 K aralığında sabit 100 Oe -10 kOe manyetik alan, ısıtma ve soğutma) gerçekleştirilmiştir.

3.3. NANOKOMPOZİTLERİN SENTEZLENMESİ

Bu tez çalışmasında, deneyler üç aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada, farklı kimyasal özellikte metal oksit esaslı nanokompozitler (MnO_2 NCs, Zn:MnO_2 NCs ve Ag:Zn:MnO_2 NCs) sentezi ve optimizasyonu tamamlanmıştır. Sentezde, ters emülsiyon destekli solvotermal yöntem (TrE-S) kullanılmıştır ve deneysel prosedürün şematik gösterimi **Şekil 3.1**'de verilmiştir. İkinci aşamada, sentezlenen koloidal NCs kolorimetrik ve elektrokimyasal sensör olarak incelenmiştir. Üçüncü aşamada; in-vitro antikanser özelliklerin incelenmesi için polimer kaplı ve ilaç yüklü nanoformulasyonlar tasarlanmıştır. NCs ait yüzey ve kimyasal özellikler farklı teknikler kullanılarak karakterize edilmiş ve çok işlevli özellikleri ispatlamak için sensör ve ilaç taşıyıcı sistemlerdeki performansları kıyaslanmıştır.



Şekil 3.1: NCs sentezinin şematik gösterimi.

3.3.1. MnO₂ NCs Sentezlenmesi

MnO₂ NCs TrE-S yöntem ile hazırlanmıştır. Etilen glikol:izopropil alkol:etilen diamin (35:10:5, v:v) çözelti karışımına (ET-çözeltisi), 0.063 g Mn(Ac)₂.4H₂O eklenmiş ve daha sonra çözelti 2000 rpm'de sürekli karıştırılarak 180°C'de 3 saat geri soğutucu altında sentez tamamlanmıştır. Hazırlanan kolloidal NCs çözeltisi, kullanıma kadar oda sıcaklığında siyah bir cam içinde tutulmuştur. Katı numune eldesi için, sentezlenen MnO₂ NCs KCl (sulu) ve aseton karışımı ile çöktürülmüş ve 15.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Son olarak etanol/aseton karışımı ile üç kez yıkandıktan sonra vakumlu etüvde 500°C'de 5°Cdk⁻¹ ısıtma hızında 4 saat kalsine edilmiştir. Katı numune kullanıma kadar oda sıcaklığında vakumlu desikatörde saklanmıştır.

3.3.2. Zn:MnO₂ NCs Sentezlenmesi

Zn:MnO₂ NCs TrE-S yöntem ile hazırlanmıştır. ET-çözeltisine, 0.063 g Mn(Ac)₂.4H₂O eklenmiş ve daha sonra çözelti 2000 rpm'de sürekli karıştırılarak 180°C'de 3 saat geri soğutucu altında tutulmuştur. Daha sonra 0.109 g Zn(Ac)₂.2H₂O/etilen glikol çözeltisi sıcak enjeksiyon yöntemi kullanılarak ortama eklenerek 180°C'de 2 daha saat geri soğutucu altında sentez tamamlanmıştır. Hazırlanan kolloidal NCs çözeltisi, kullanıma kadar oda sıcaklığında siyah bir cam içinde tutulmuştur. Katı numune eldesi için, sentezlenen Zn:MnO₂ NCs KCl (sulu) ve aseton karışımı ile çöktürülmüş ve 15.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Son olarak etanol/aseton karışımı ile üç kez yıkandıktan sonra vakumlu etüvde 500°C'de 5°Cdk⁻¹ ısıtma

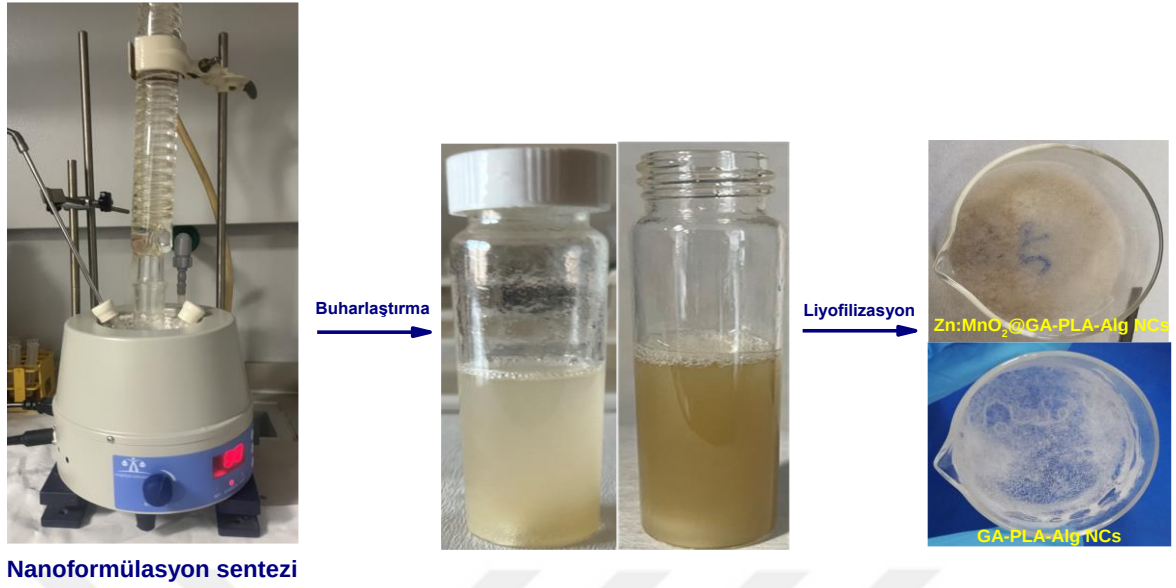
hızında 4 saat kalsine edilmiştir. Katı numune kullanıma kadar oda sıcaklığında vakumlu desikatörde saklanmıştır.

3.3.3. Ag:Zn:MnO₂ NCs Sentezlenmesi

Ag:Zn:MnO₂ NCs TrE-S yöntem ile hazırlanmıştır. ET-çözeltisine, 0.063 g Mn(Ac)₂.4H₂O ve önceki bir çalışmada (Tan *et al.*, 123AD) hazırlanmış olan 5 mL Ag⁰ çözeltisi eklenmiş ve daha sonra çözelti 2000 rpm'de sürekli karıştırılarak 180°C'de 3 saat geri soğutucu altında karıştırılmıştır. Daha sonra 0.109 g Zn(Ac)₂.2H₂O/etilen glikol çözeltisi sıcak enjeksiyon yöntemi kullanılarak ortama eklenerek 180°C'de 2 daha saat geri soğutucu altında sentez tamamlanmıştır. Hazırlanan kolloidal NCs çözeltisi, kullanıma kadar oda sıcaklığında siyah bir cam içinde tutulmuştur. Katı numune eldesi için, sentezlenen Ag:Zn:MnO₂ NCs KCl (sulu) ve aseton karışımı ile çökeltilmiş ve 15.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Son olarak etanol/aseton karışımı ile üç kez yıkandıktan sonra vakumlu etüvde 500°C'de 5°Cdk⁻¹ ısıtma hızında 4 saat kalsine edilmiştir. Katı numune kullanıma kadar oda sıcaklığında vakumlu desikatörde saklanmıştır.

3.3.4. Farklı Nanoformülasyonlar: Polimer Esaslı NCs ve İlaç Yüklü NCs Hazırlanması

Farklı nanoformülasyonların hazırlanması için buharlaştırma destekli kapsülasyon yöntemi kullanılmıştır. Bunun için ilk olarak, %0.1 w:v aljinat çözeltisi hazırlanmıştır. Sonra, 1 mL metanol, 50 mg PLA, 2 mg Zn:MnO₂ NCs, 2.5 mg gallik asit, 0.5 mg betülinik asit, 0.1 mg seranib-2 ve 5 ml DCM üç boyunlu bir balona konarak geri soğutuculu ısıtıcı düzeneğinde 30°C'de 1 saat homojen bir çözelti elde edinceye kadar karıştırılmıştır. Bu çözelti, geri soğutucu düzeneği altındaki 5 mL aljinat çözeltisi içerisine enjektör yardımı ile damla damla ilave edilmiş ve 10 dakika boyunca sürekli olarak (1000 rpm) karıştırılmıştır. Sonra, 13 mL daha aljinat çözeltisi ortama enjekte edilerek 40°C'de 1 saat geri geri soğutucu altında karıştırılmıştır. Son olarak; DCM'yi uzaklaştırmak ve kapsüllenmiş nanoformülasyon elde etmek için çözelti 40°C'de buharlaştırılmıştır. Tüm örnekler, 0.22 µm steril şırınga filtresi ve amicon ultra-2 santrifüj filtre üniteleri (30K MWCO) kullanılarak steril edilmiştir. Tüm NCs -80°C'de liyofilize edilmiş ve kullanıma kadar 4°C'de saklanmıştır. Nanoformülasyonların içerikleri **Tablo 3.1**'de detaylı sunulmuştur.



Şekil 3.2 : Nanoformülasyon sentezinin şematik gösterimi.

Tablo 3.1: Sentezlenen NCs içerisindeki başlangıç bileşen miktarları.

Numune Kodları	Nanoformülasyon
GA-PLA-Alg NCs	-2.5 mg PLA, 0.9 mg Alg, 0.125 mg GA
Cer/GA-PLA-Alg NCs	-2.5 mg PLA, 0.9 mg Alg, 0.125 mg GA, 10 µg Cer
BA/GA-PLA-Al NCs	-2.5 mg PLA, 0.9 mg Alg, 0.125 mg GA, 50 µg BA
BA-Cer /GA-PLA-Alg NCs	-5 mg PLA, 1.8 mg Alg, 0.25 mg GA, 10 µg Cer, 50 µg BA
Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs	-2.5 mg PLA, 0.9 mg Alg, 0.125 mg GA, 0.05 mg Zn:MnO ₂
Cer/Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs	-2.5 mg PLA, 0.9 mg Alg, 0.125 mg GA, 0.05 mg Zn:MnO ₂ , 10 µg Cer
BA/Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs	-2.5 mg PLA, 0.9 mg Alg, 0.125 mg GA, 0.05 mg Zn:MnO ₂ , 50 µg BA
BA-Cer/Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs	-5 mg PLA, 1.8 mg Alg, 0.25 mg GA, 0.1 mg Zn:MnO ₂ , 10 µg Cer, 50 µg BA

3.4. SENSÖRLERİN TASARLANMASI

Bu tez çalışmasında; geliştirilen nanokompozitlerin çok işlevli biyosensör özellikleri incelenmiştir. Sensörlerin tasarlanmasında sentezlenen koloidal NCs doğrudan kullanılmıştır. Bu kapsamda ilk olarak, biyoanalitlerle etkileşim renk değişimi üzerinden değerlendirilmiştir. Renk değişimleri RGB analizinden elde edilen öklid mesafesi değerleri ile sayısal olarak yorumlanmıştır. Sonuçlara göre; geliştirilen nanokompozitler, 31 farklı biyo-analit içerisinde askorbik asit, dopamin, gallik asit ve tannik aside karşı seçici yanıt geliştirmiştir. Bu sebeple, sensörlerin duyarlı olduğu analit derişimine bağlı olarak UV-vis spektrumları alınarak sonuçlar

karşılaştırmalı yorumlanmıştır. UV-vis sonuçlarına göre; geliştirilen sensörlerin kolorimetrik ve elektrokimyasal özellikleri kıyaslanmıştır. Sonrasında; dopamin, gallik asit ve tannik asit için NCs kaplı kağıt sensör sistemleri geliştirilmiş ve sensör özellikleri yapı, morfoloji ve bileşime bağlı olarak tartışılmıştır. Son olarak, askorbik aside karşı enzimatik olmayan NCs esaslı sensörlerin elektrokimyasal davranışları kıyaslamalı olarak aydınlatılmıştır.

3.4.1. Kolorimetrik Biyosensörlerin Hazırlanması

Kolorimetrik ölçümlerde; NCs değişimleri çıplak gözle, RGB sonuçları ile ve UV-vis spektrofotometrik değişimler ile tespit edilmiştir. Bu çalışmada ön değerlendirme olarak çıplak gözle renk değişimi tespiti yapılmış, bu amaçla koloidal MnO_2 NCs, $Zn:MnO_2$ NCs ve $Ag:Zn:MnO_2$ NCs esaslı sensörlerin farklı biyo-analitelere karşı seçici kolorimetrik yanıtları incelenmiştir. Bu amaçla amonyak, etanol, etil asetat, gallik asit, maleik asit, salisilik asit, hidrojen peroksit, süksinik asit, adipik asit, glikoz, laktoz, fruktoz, maltoz, üre, folik asit, askorbik asit, glutamik asit, melamin, alanin, lizin, glisin, adenin, adenosin, dopamin, asetil salisilik asit, progesteron, pepsin, arginin, tanik asit, tartarik asit ve oksalik asit PBS tampon çözeltisi içerisinde (pH 7.4) hazırlanmıştır. Daha sonra, 0.5 mL koloidal NCs steril bir küvete yerleştirilmiş ve üzerine 10 μ L hedef analit (4000 ppm) damlatılmıştır. Ölçümler 25 °C'de gerçekleştirilmiş ve 10 saniye etkileşim için beklenmiştir. Renk değişimleri kaydedilmiştir. Son olarak, kolorimetrik tespit ve NCs esaslı biyosensörün seçiciliğini hesaplamak için düşük maliyetli ve basit bir yöntem olan RGB analizi kullanılmıştır.

Daha sonra, seçici sensör yanıtı alınan analitelere karşı kolorimetrik sensör davranışı UV-vis spektroskopisi kullanılarak analiz edilmiştir. Bunun için, 0.5 mL'lik koloidal NCs çözeltisi üzerine 2.5 mL ET-çözeltisi ilave edilmiş ve UV-vis spektrofotometrik ölçümlerde kullanılmak üzere steril bir küvete yerleştirilmiştir. Bundan sonra, 0.52 ila 22.7 mM arasında geniş bir konsantrasyon aralığında 10 μ L hedef analitler (askorbik asit, dopamin, gallik asit ve tannik asit) koloidal NCs tabanlı biyosensöre damlatılmış ve 25 °C'de 10 saniye bekletilmiştir. NCs ve NCs-esaslı sensörlerin dalga boyu ve absorbans değerlerindeki değişiklikler, bir UV-Vis spektrofotometre kullanılarak incelenmiştir. Son olarak, NCs-esaslı sensörlerin analitlerle etkileştikten sonraki fotoğrafları bir akıllı telefon kamerası aracılığıyla alınarak, algılama sınırı (LOD) tespiti için renk analizi yapılmıştır. Bu amaçla NCs için, RGB analizi yöntemi kullanılarak biyosensör uygulamaları değerlendirilmiştir.

Kolorimetrik değerlendirmenin ikinci bölümünde, NCs kaplanmış kâğıt sensörler, dopamin, galik asit ve tannik asit tespiti için taşınabilir ve kolay uygulanabilir sensör sistemleri olarak tasarlanmıştır. NCs kaplı kâğıt sensörünün hedef analitlere karşı algılama performansını incelemek için RGB analizi kullanılmıştır.

NCs kaplı kâğıt biyosensör dizilerinin hazırlanma aşamaları aşağıdaki gibidir:

(i) 5 µL koloidal NCs, bir mikropipet kullanılarak Whatman® filtre kağıdına (1 mm çapında) damlatılmış ve NCs kaplı kâğıt sensör 40°C'de 2 saat kurutulmuştur.

(ii) 0,52 mM-22,7 mM derişim aralığında 10 µL analit çözeltisi, NCs kaplı kâğıt sensörün üzerine damlatılmıştır. Tüm sensör fotoğrafları, gün ışığı altında, sabit bir konumda ve 21 cm mesafede tutulan bir akıllı telefon (3024 × 4032 piksel çözünürlüğe sahip bir iPhone 13) düzeneği kullanılarak kaydedilmiştir.

RGB değerlerindeki farklılıklar ve kolorimetrik histogramlar, ImageJ 1.51q yazılımı ile belirlenmiştir. Öklid mesafesi (ΔE) değerleri, [0, 0, 0] ve [255, 255, 255] RGB değerleri ile analitlerin kantitatif tespiti yapılmıştır. RGB analizine göre mutlak siyah ve mutlak beyaz için sırasıyla 0 ile 255 arasında renk değerleri atanmıştır. ΔE 'ye ait denklem (3.1)'de verilmiştir. Ayrıca, sensör cevabı (S) hesaplanmasında denklem (3.2) kullanılmış ve tespit limiti denklem (3.3)'e göre hesaplanmıştır (Tan *et al.*, 123AD; Soda and Bakker, 2019; Fan *et al.*, 2021).

$$\Delta E = \sqrt{(R_i - R_0)^2 + (G_i - G_0)^2 + (B_i - B_0)^2} \quad (3.1)$$

R_i numunenin kırmızı renk değeri, R_0 referansın kırmızı renk değeri, G_i numunenin yeşil renk değeri, G_0 referansın yeşil renk değeri, B_i numunenin mavi renk değeri ve B_0 referansın mavi renk değeridir.

$$S = 100 \frac{x_c - x_0}{x_0 - x_{ref}} [\%] \quad (3.2)$$

$$LOD = 3.3 \times \sigma / m \quad (3.3)$$

Burada, S (%): sensör cevabı (%), c: konsantrasyon, x_c : sensör sinyal değeri, x_0 : boş sinyal değeri, σ : boş yanıt sinyalinin standart sapması, m: eğim ve x_{ref} : referans sinyal değeridir.

Hata analizi tespiti yapmak üzere tüm deneysel ölçümler aynı koşullarda 3 kez tekrarlanmıştır.

3.4.2. Enzimatik Olmayan Elektrokimyasal Sensörlerin Hazırlanması

NCs esaslı biyosensörlerin askorbik aside karşı enzimatik olmayan elektrokimyasal ölçümleri, 50 mV/s tarama hızıyla $[-1, +1]$ V'de gerçekleştirilmiştir. PBS tampon çözeltisi (pH 7.4) içerisinde 0,52 mM-11,35 mM derişim aralığında hazırlanmış askorbik asit çözeltilerinin 10 μ L'si, 10 μ L koloidal NCs üzerine eklenmiştir. 25°C'de 10 sn bekletildikten sonra ölçümler alınmıştır. Çalışmada kullanılan altın kaplı elektrotlar, önce etanol ile temizlenerek kurutulmuş, sonra NCs ile kaplanarak biyosensörün hazırlanması için 40°C etüvde 5 dakika tutulmuştur. Kuruyan NCs kaplı sensörler, elektrokimyasal ölçümlerde kullanılmıştır.

3.5. İN-VİTRO İLAÇ SALIM PROFİLLERİNİN İNCELENMESİ

İlaçların nanoformülasyonlardan in-vitro salım profili, diyaliz membran yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla; 2 mg ilaç yüklü NCs, 0.5 mL fosfat salin tamponu (PBS) ve asetat tampon çözeltisi (sırasıyla pH 7.4 ve 5.5) içinde dağıtılmış ve diyaliz membran içerisine (MWCO 12 kDa) aktarılmıştır. Daha sonra, nanoformülasyon içeren diyaliz membran, 4.5 mL aynı pH'daki tampon çözelti içerisine yerleştirilerek, 37°C'de su banyosuna tutulmuştur. Belirli zamanlarda, örneklerden 3 mL alınarak 337 ve 210 nm dalga boyundaki absorbans değerleri çift ışınlı UV görünür spektrofotometre kullanılarak analiz edilmiştir. Tüm salım deneylerinde, girişimi önlemek için tampon çözeltileri referans olarak kullanılmıştır. % Kümülatif ilaç salınım (%CDR) değerleri denklem (3.4) kullanılarak hesaplanmıştır. Tuzaklanma verimliliği (EE) ve nanoyapıların yükleme kapasitesi (LC) sırasıyla denklem (3.5) ve (3.6) kullanılarak hesaplanmıştır (Craciun *et al.*, 2019; Riaz *et al.*, 2020). Tüm deneyler 3 kez tekrarlanmıştır.

$$CDR (\%) = \frac{V_e \sum_{t=1}^{n-1} C_i + V_0 C_n}{m_0} \times 100\% \quad (3.4)$$

$$EE = \frac{\text{Formülasyondaki ilaç miktarı} - \text{Serbest ilaç miktarı}}{\text{Formülasyondaki ilaç miktarı}} \times 100\% \quad (3.5)$$

$$LC = \frac{\text{Formülasyondaki ilaç miktarı} - \text{Serbest ilaç miktarı}}{\text{Toplam nanoformülasyon miktarı}} \times 100\% \quad (3.6)$$

Burada V_e her seferinde analiz edilen salım ortamının hacmi, V_0 salım ortamının toplam hacmi, C_i salım ortamındaki ilaçların derişimi ve m_0 NCs tutulan ilaçların toplam kütlesidir.

3.6. HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI

Nanoformülasyonların hücre canlılığı üzerindeki etkilerini değerlendirmek için PC-3 prostat kanseri ve normal HUVEC hücreleri kullanılmıştır. Sıvı azotta saklanan hücreler, 37 °C su banyosunda kısa süre bekletildikten sonra, %10 fetal sıgır serumu (FBS) içeren mediuma birlikte falkona alınarak santrifüj edilmiştir. Daha sonra üzerine tekrar medium ilave edilen flask içerisinde 37 °C, %5 CO₂ etüv atmosferinde inkübasyona bırakılmıştır. Kültür ortamı için, 100000 U/L penisilin, 100000 g/L streptomisin ve %10 FBS içeren DMEM kullanılmıştır. Yeterli hücre büyümesi sağlanana kadar hücre mediumları haftada 2 ya da 3 kez yenilenmiştir. Hücreler %70 ve üzeri konfluent olduklarında, tripsin kullanılarak pasaj yapılmıştır.

3.6.1. MTT Testi ile Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi

MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) testi in-vitro metabolizmanın canlılığına bağlı sitotoksitenin ölçülmesinde kullanılan kantitatif ve kolorimetrik bir yöntemdir (Mosmann, 1983). Hücre canlılıklarının ölçülmesi için öncelikle, kültür edilen hücreler %70-90 konflüente geldiklerinde, tripsin uygulanarak flaskın zemininden kaldırılmış ve tripan mavisi ile boyanmıştır. Sonrasında hücre sayımı yapılarak hücrelerin canlılık oranı belirlenmiştir. 10⁵/mL'lik derişimdeki hücrelerin 90 µL'si, 96 oyuklu plakalara ekilmiş ve 37°C'de %5 CO₂ ve %95 O₂ ortamında 2-3 saat inkübe edilmiştir. Ardından, ilaç yüklü NCs, DMEM kullanılarak; 1:2, 1:4, 1:8 ve 1:16 (v/v) oranlarında seyreltilmiştir. Ayrıca başlangıç serbest ilaç miktarı betülinik asit, seranib-2 ve betülinik asit:seranib-2 kombinasyonu için sırasıyla 25, 10 ve 30 (25+5) µg olarak ayarlanmıştır. Daha sonra hazırlanan nanoformülasyonların 10 µL'si plaklara ilave edilmiş ve 37 °C'de, %95 O₂ ve %5 CO₂ atmosferinde 48 saat inkübe edilmiştir. 48 saat sonra her kuyucuğa 10 µL MTT (5mg/mL) çözeltisi eklenmiş ve 3 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra 100 µL DMSO eklenen plaka çalkalanmış ve sonra ELISA plaka okuyucusunda 570 nm dalga boyunda absorbanslar kaydedilmiştir. Sonrasında; doz/yanıt eğrileri hazırlanarak, bileşiklerin IC₅₀ (hücrelerin %50'sinin büyümesini inhibe eden derişim) değeri hesaplanmıştır. Canlı hücre sayısı (VI) denklem (3.7) veya sitotoksik indeks (SI) denklem (3.8) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\%VI = (A_{\text{deney}}/A_{\text{kontrol}}) \times 100 \quad (3.7)$$

$$\%SI = 1 - (A_{\text{deney}}/A_{\text{kontrol}}) \times 100 \quad (3.8)$$

Burada A; absorbans değerlerini ifade etmektedir.

MTT testleri İstanbul Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü. Fizyoloji Ana Bilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Tüm deneyler 3 kez tekrarlanmıştır. Veriler ortalama $\pm$ SD olarak sunulmuş ve IBM SPSS 15.0 paket programı (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak analiz edilmiştir. Kontrol gruplarına kıyasla nanoformülasyonlar ve serbest ilaçlar arasındaki farkın anlamlılığını belirlemek için Student t-testi kullanılmıştır. Anlamlı karşılaştırmalar "P" değeri 0,05'ten küçüktür ve her gruptaki konsantrasyon kontrol ile karşılaştırılmış ve *P0.05, **P0.01 olarak tanımlanmıştır.

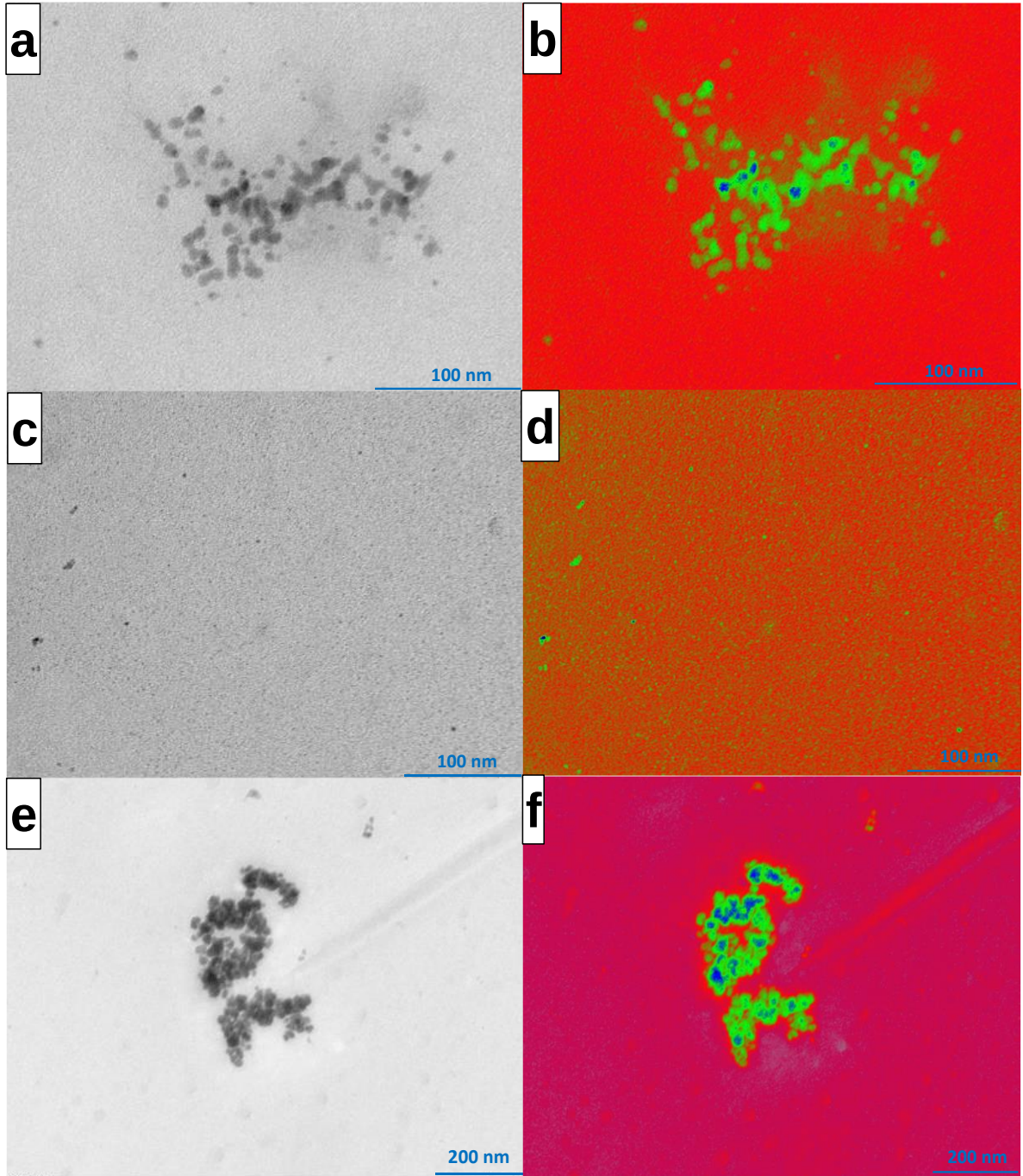


4. BULGULAR

4.1. YAPISAL KARAKTERİZASYONLAR

4.1.1. TEM Analizi

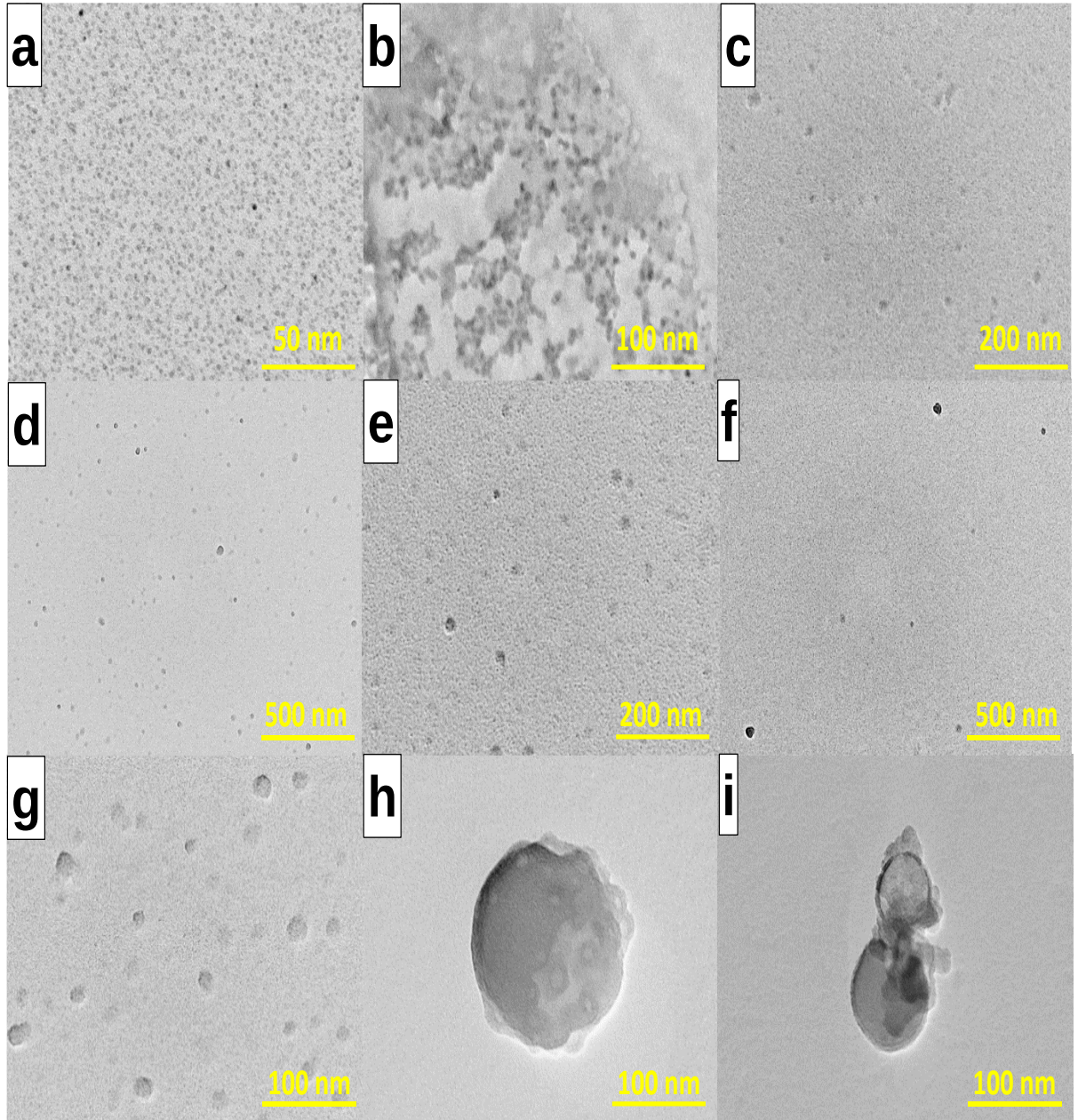
Bu tez çalışmasında, kolloidal NCs'in morfolojik özelliklerinin aydınlatılmasında TEM analizi kullanılmış ve sonuçlar **Şekil 4.1: (a,d,f)** 'de gösterilmiştir. Açıkça görüldüğü gibi, hazırlanan MnO_2 NCs lineer bir topaklanma eğilimine sahipken, Zn:MnO_2 NCs oldukça homojen bir dağılıma ve daha küçük boyutlara sahiptir. Ayrıca, Ag:Zn:MnO_2 NCs küresel topaklanma eğilimi göstermiştir. Yapıya Zn ilavesiyle topaklanma eğiliminin açıkça düşmesi, MnO_2 'nin yüksek hidrofobikliğinin iyileştirilerek kolloidal kararlılığın artması ile ilişkilendirilmiştir. Ancak üçlü yapıdaki topaklanma eğiliminin, Ag'nin reaktivitesinden kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. NCs tanecik dağılımlarını daha net görüntülemek amacıyla Image J yazılımı kullanılmış ve yapay zekâ destekli TEM (AI-TEM) görüntüleri **Şekil 4.1: (b, d, f)**'de sunulmuştur. AI-TEM sonuçlarına göre, hazırlanan MnO_2 NCs, Zn:MnO_2 NCs ve Ag:Zn:MnO_2 NCs nano ölçekli tanecik dağılımları yeşil/mavi renklerle gösterilmiş ve hesaplanan ortalama tanecik boyutlarının sırasıyla 7.45 nm, 7.63 nm ve 17.7 nm olarak bulunmuştur.



Şekil 4.1: (a) MnO_2 NCs, (b) Zn:MnO_2 NCs, ve (c) Ag:Zn:MnO_2 NCs'lere ait TEM görüntüleri, (d) MnO_2 NCs, (e) Zn:MnO_2 NCs, ve (f) Ag:Zn:MnO_2 NCs'lere ait AI-TEM görüntüleri.

Biyomedikal uygulamalarda; taneciklerin topaklanma eğilimi ve nanokompozitlerden terapötiklerin hızlı ve kontrolsüz salınımı en önemli problemlerdendir (Aleksandra Zielińska *et al.*, 2020). Ayrıca, sulu sistemler mikrobiyal büyümeye duyarlı olduğundan; koruyucu katıların gerekli olduğunu vurgulanmaktadır. Bu fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik

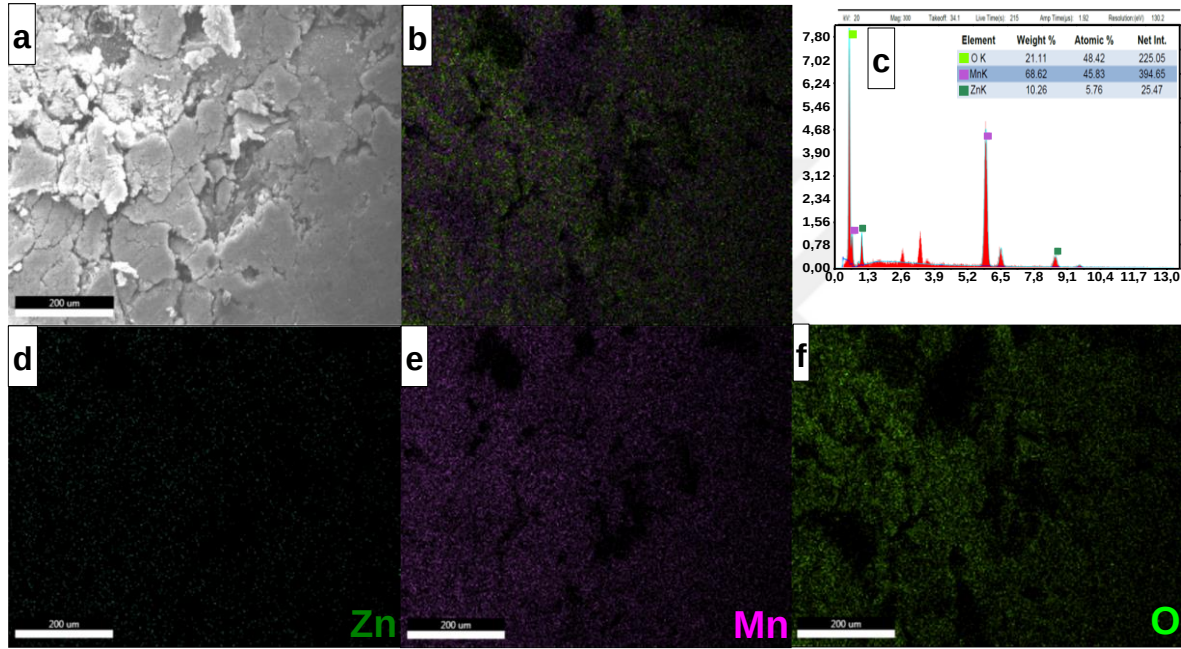
sorunların önüne geçilmesinde; polimerik kaplama veya kapsülleme ve metal/metal oksit gibi nanoyapılar kullanılmaktadır. Daha önceki çalışmalarda da bahsedildiği gibi, MnO_2 NCs'in oldukça hidrofobik doğası, biyogörüntüleme ve ilaç dağıtım sistemi gibi biyomedikal uygulamalarda kullanılmasını engellemiştir (Wang *et al.*, 2022; Xia *et al.*, 2022). Bu amaçla bu tez çalışmasında, biyouyumluluğu artırmak üzere gallik asit, polilaktik asit ve aljinat kullanılarak nanotaşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Ayrıca, MnO_2 'nin kristal yapısına Zn katkılanarak biyomoleküllere afinite iyileştirilmiştir. **Şekil 4.2: (a-i)**'de toz Zn:MnO_2 NCs ile polimer esaslı ve ilaç yüklü NCs ait TEM analizi görüntüleri gösterilmiştir. **Şekil 4.2: a**'da Zn:MnO_2 NCs'in 2.03 ± 0.67 nm çapında küresel ve tek dağılımlı bir morfolojiye sahip olduğu açıkça görülmektedir. Bu sonuç, kolloidal Zn:MnO_2 NCs ait TEM analizi sonuçlarında tartışılan; Zn ilavesinin MnO_2 NCs monodispersiyonu ve kararlılığını geliştirdiği sonucu ile uyumludur. **Şekil 4.2: (b, c)**'de açıkça görüldüğü gibi, GA-PLA-Alg NCs ve GA-PLA-Alg ile kapsüllenmiş Zn:MnO_2 NCs küresel morfolojide ve sırasıyla 19.43 ± 5.4 nm ve 8.31 ± 2.7 nm boyutlarındadır. Zn:MnO_2 NCs eklenmesiyle tanecik boyutunda meydana gelen azalmanın çinko ve mangan ikili oksit bileşiminin hidrofilik ve hidrofobik doğasından kaynaklanabileceği varsayılmıştır (Buyuksungur *et al.*, 2022; Liang *et al.*, 2023). Ayrıca polimerik yapılara Zn:MnO_2 NCs eklenmesi ile kararlılık ve boyut iyileşmiş olması ve metal oksitlerin sahip olduğu optik, manyetik ve fizikokimyasal özelliklerin biyomedikal uygulamalar için uygulanabilirliğini kolaylaştırması sebebiyle önemli bir sonuçtur. Bu durum, nanoyapıyı kanser teşhis ve tedavisi için umut vadeden bir aday haline getirir (Gomes Souza *et al.*, 2023; Sontakke, Tiwari and Purkait, 2023). **Şekil 4.2: (b,c)**'de görüldüğü gibi Cer, BA ve BA-Cer'in $\text{Zn:MnO}_2@GA-PLA-Alg$ NCs ile kapsüllenmesinden sonra tanecik çapları sırasıyla 18.63 ± 4.5 nm, 209.1 ± 63.9 nm ve 84.38 ± 18.5 nm olarak bulunmuştur. Nanoyapı boyutundaki artışlar göz önüne alındığında, ilaçların küresel şekillere sahip NCs ile başarılı bir şekilde kapsüllendiği ve sulu ortamda herhangi bir topaklanma göstermeden, kararlı ve tek boyutlu dağılıma sahip olduğu sonucuna varmak mümkündür. Sonuçta, ilaç yüklü NCs, canlı hücrede biyoyararlanımının ve etkili aktivitelerinin kanıtı olan küçük boyuta ve sulu çözeltide iyi dağılıma sahiptir. Özellikle nanoformülasyonlardaki Cer'in varlığı, NCs daha küçük boyutta olmasını sağlamıştır. Bu durum, ilaç etkinliğini arttırmada oldukça önemli bir faktördür.



Şekil 4.2 : (a) Zn:MnO₂ NCs, (b) Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs, (c) GA-PLA-Alg NCs, (d) Cer@GA-PLA-Alg NCs, (e) BA@GA-PLA-Alg NCs, (f) BA-Cer@GA-PLA-Alg NCs, (g) Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs, (h) BA/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs ve (i) BA-Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs ait TEM analizi sonuçları.

4.1.2. SEM Analizi

Bu tez çalışmasında, katı Zn:MnO₂ NCs için elemental analiz ve tanecik dağılımı SEM tekniği ile karakterize edilmiş ve SEM-EDAX haritalama sonuçları **Şekil 4.3: (a-f)**'de verilmiştir. Açıkça görüldüğü gibi; hem Zn, Mn hem de O, NCs içerisinde homojen bir şekilde dağılmıştır. Ek olarak, Zn, Mn ve O elementlerinin atomik yüzdeleri sırasıyla %5.76, %45.83 ve %48.42 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, Zn'nin MnO₂ nanotaneceklerini homojen bir şekilde katkılادığının kanıtıdır (Ashokkumar *et al.*, 2022).

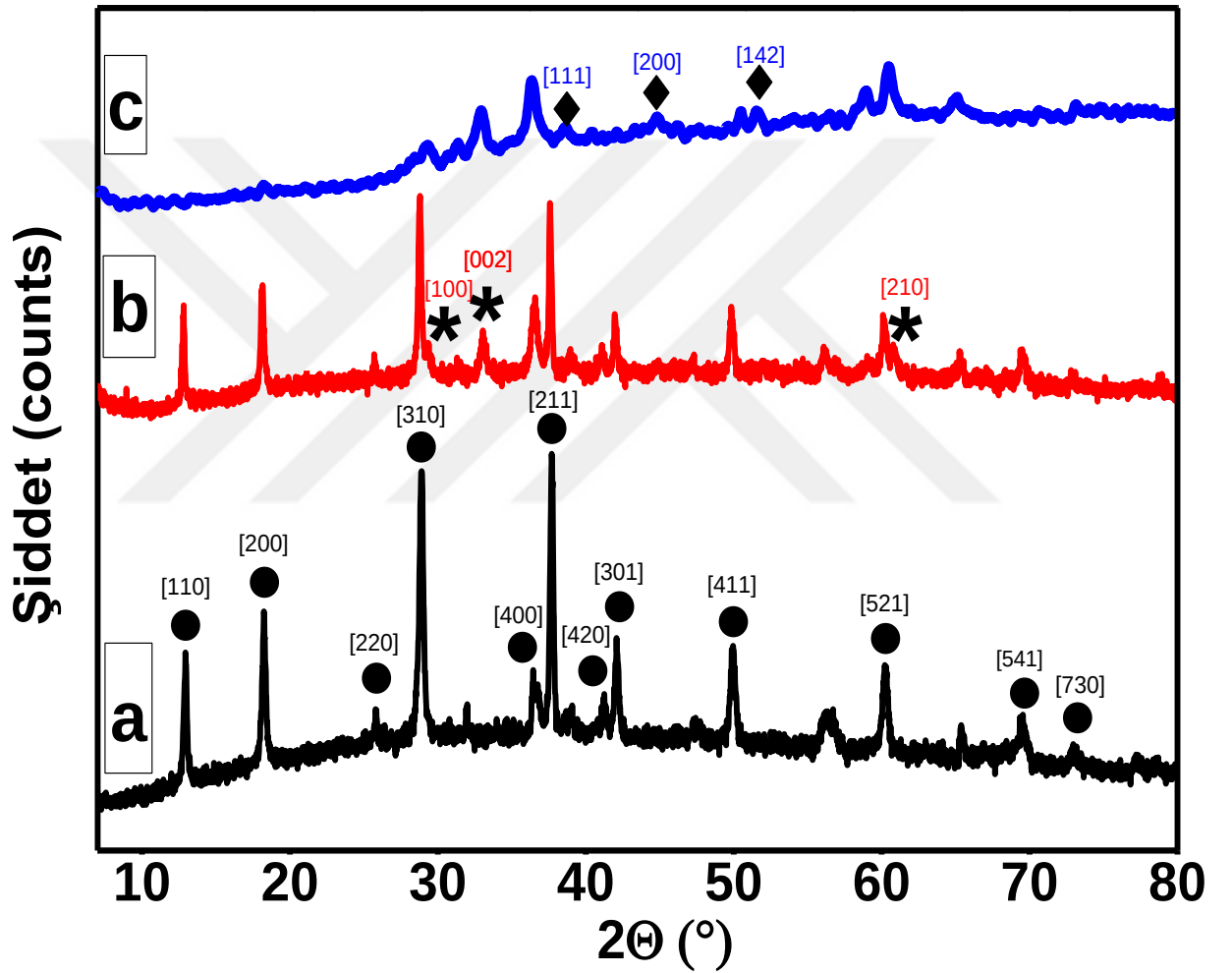


Şekil 4.3 : Zn:MnO₂ NCs ait (a,b) genel alan tarama, (c) SEM-EDAX, (d-f) elementel haritalama sonuçları.

4.1.3. XRD Analizi

Kristal yapının aydınlatılmasında XRD analizi kullanılmıştır. **Şekil 4.4: a** incelendiğinde; MnO₂ NCs için $2\theta=12.7^\circ, 18.1^\circ, 25.7^\circ, 28.8^\circ, 36.6^\circ, 37.6^\circ, 38.9^\circ, 41.1^\circ, 41.9^\circ, 49.8^\circ, 60.1^\circ, 69.5^\circ$ ve 72.8° 'teki tüm pikler tetragonal α -MnO₂ nanotanecekleri (ref; ID:mp-19395) ile eşleşmiştir. Nanoyapıya çinko ilave edildikten sonra, hegzagonal ZnO nanoyapısına (ID:mp-2133) atfedilen $2\theta=29.2^\circ, 33.5^\circ$ ve 60.7° 'lik 2θ 'da pikler belirmiş ve MnO₂ yapısına ait olan piklerin şiddeti azalmıştır (**Şekil 4.4: b**). Zn:MnO₂ NCs ait genel kristal yapısı tetragonal α -MnO₂ ile benzer özelliklere sahip olduğu gözlemlenirken, nanokompozitin olası kimyasal bileşimi XRD Highscore veri tabanında 00-007-0354 referans koduna sahip tetragonal ZnMn₂O₄ ile en yüksek

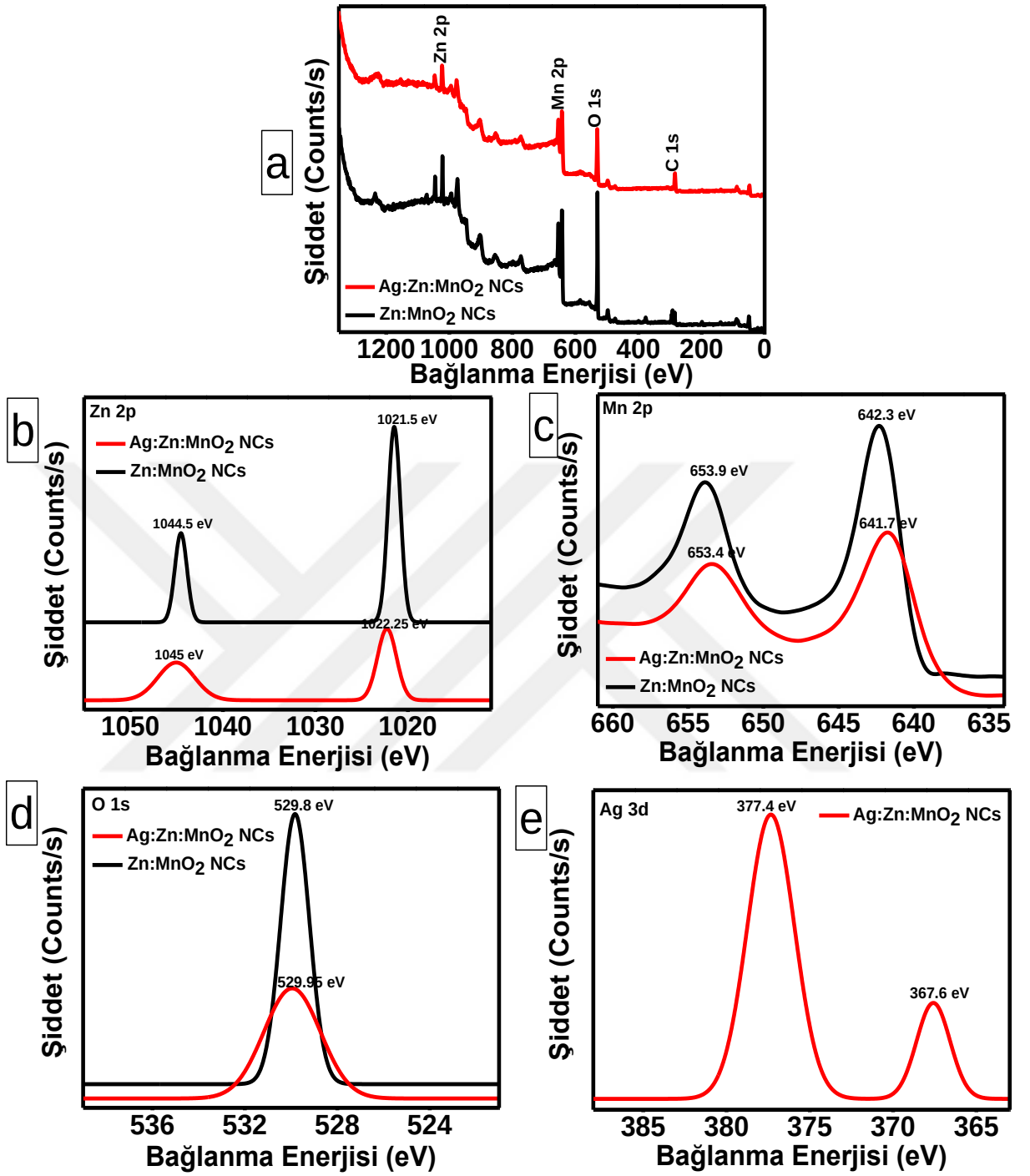
uyumluluk göstermiştir (Zhou and Ma, 2015). Bununla birlikte, **Şekil 4.4: c'** de görüldüğü gibi, Zn ve Ag katkılı Ag:Zn:MnO₂ NCs'e ait kırınım deseni incelenirse, yapının diğer nanokompozitlere kıyasla MnO₂ yapısından farklı olduğu ve kristal yapının azaldığı açıkça görülebilir. Zn:MnO₂ NCs ile benzer şekilde Highscore veri tabanında yapılan taramada; Ag:Zn:MnO₂ NCs'in kristal yapısı tetragonal ZnMn₂O₄ ile en yüksek uyumluluğu göstermiştir. Ayrıca $2\theta = 38.2^\circ$, 51.8° ve 59.6° 'da beliren pikler Ag/AgO yapılarına atfedilmiştir (Mohamed *et al.*, 2021).



Şekil 4.4 : (a) MnO₂ NCs, (b) Zn:MnO₂ NCs ve (c) Ag:Zn:MnO₂ NCs ait XRD desenleri.

4.1.4. XPS Analizi

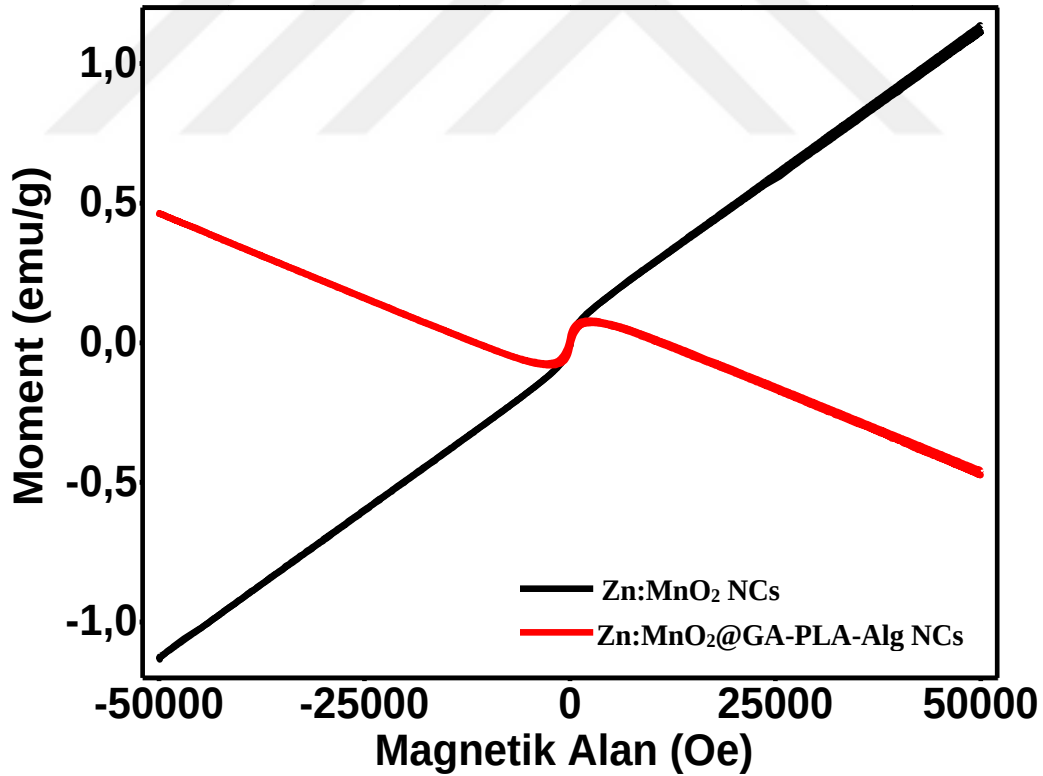
Zn ve Ag esaslı ikili ve üçlü kompozit sistemlerin yapısal analizi ve yüzeydeki bileşiminin daha ayrıntılı tespiti için XPS analizi kullanılmıştır. Zn:MnO₂ NCs ve Ag:Zn:MnO₂ NCs içerisindeki elementlerinin olası kimyasal durumuna ait XPS spektrumları **Şekil 4.5'** te verilmiştir. **Şekil 4.5: a'**da gösterilen genel XPS taraması sonuçların göre; hem Zn:MnO₂ NCs hem de Ag:Zn:MnO₂ NCs yapılarındaki C1s, O1s, Zn2p ve Mn2p'ye ait bağlanma enerjileri açıkça gözlenmiştir. **Şekil 4.5: b'**de Zn:MnO₂ NCs için bağlanma enerjileri 1021.5eV ve 1044.5 eV olan pikler sırasıyla Zn2p_{3/2} ve Zn2p_{1/2}'ye atfedilmiştir (Shatnawi *et al.*, 2016). Bu pikler Ag:Zn:MnO₂ NCs için 1045 eV ve 1022.5 eV'ye bulunmuş ve piklerde ufak bir kayma gözlenmiştir. Ek olarak, **Şekil 4.5: c'**de Zn:MnO₂ NCs için Mn2p_{3/2}, Mn2p_{1/2} orbitallerine ait bağlanma enerjileri sırasıyla 642.3 eV ve 653.9 eV'de bulunurken, Ag:Zn:MnO₂ NCs için bu pikler sırasıyla 641.7 eV ve 653.4 eV'a kaymıştır (Tian and Xu, 2021). **Şekil 4.5: d'**de görüldüğü gibi, O1s orbitaline bağlı bağlanma enerjisi Zn:MnO₂ NCs ve Ag:Zn:MnO₂ NCs için sırasıyla 529.8 eV ve 529.95 eV bulunmuştur. Bu sonuçlara göre her iki nanokompozitin yüzeyindeki oksijen, kafes yapısındaki oksijene atfedilmiştir. Oksijenin yüzeye bağlı hidroksitlerin varlığından kaynaklandığı durumların mangan oksitlerin oksidasyon özelliğini düşürdüğü göz önünde bulundurulduğunda, bu sonuç oldukça önemlidir. Ag:Zn:MnO₂ NC'lerin piklerinin azalması, atomların yüzeye doğru difüzyonunun bir sonucu olabilir. **Şekil 4.5:e'**de Ag:Zn:MnO₂ NCs için deki 367.6 eV ve 377.4 eV bağlanma enerjisindeki pikler Ag3d_{3/2} ve Ag3d_{5/2} orbitaline atfedilmiştir (Liu *et al.*, 2022). Bu durum nanokompozit içerisinde Ag'nin hem metalik hem de oksitlenmiş şekilde bulunabileceği şeklinde yorumlanmıştır (He *et al.*, 2022). Yüzeydeki atomik Ag %0.36 oranında bulunmuştur.



Şekil 4.5 : Zn:MnO₂ NCs ve Ag:Zn:MnO₂ NCs ait XPS analizi sonuçları.

4.1.5. VSM Analizi

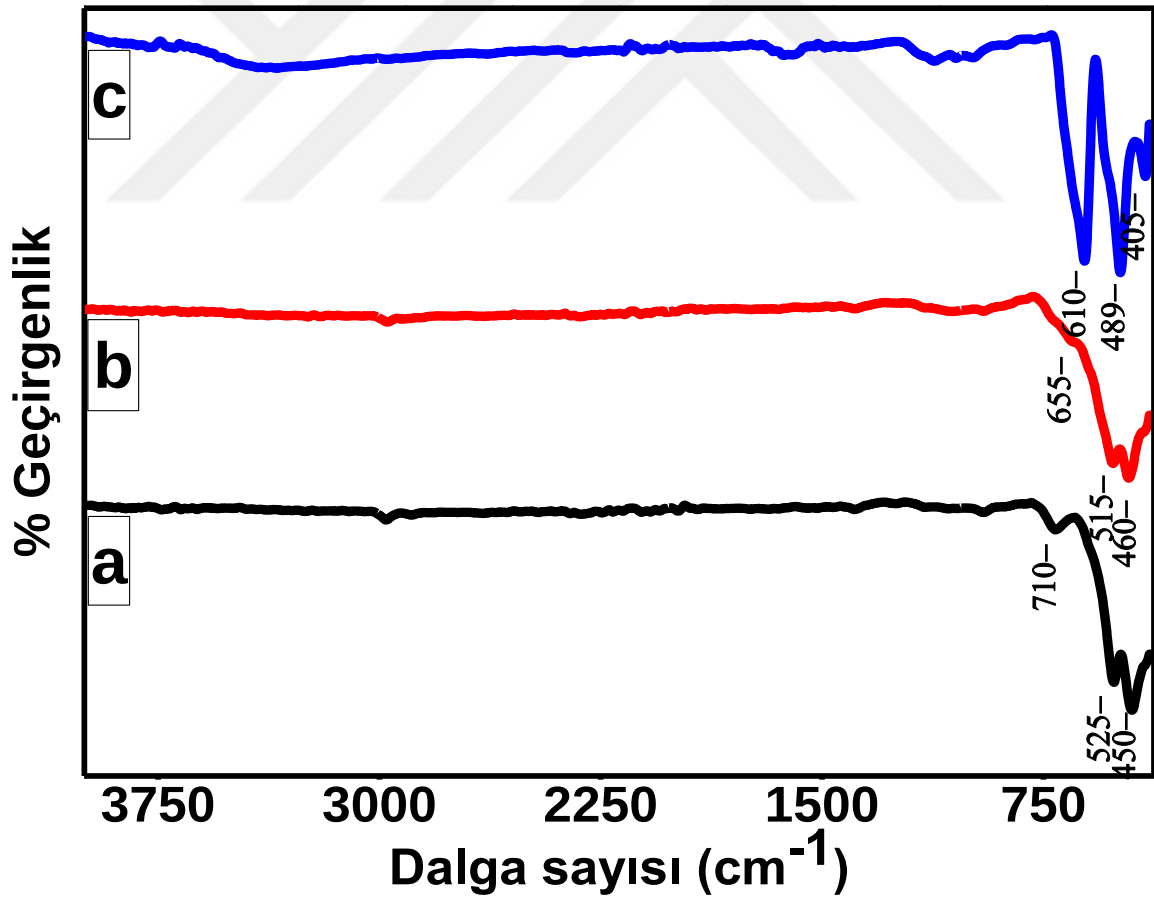
Zn:MnO₂ NCs ve Zn-MnO₂@GA-PLA-Alg NCs ait manyetik özellikler, -40 KOe ila +40 KOe alan aralığında ölçülmüş ve sonuçlar **Şekil 4.6**'da gösterilmiştir. Sonuçlara göre Zn:MnO₂ NCs ait doygunluk manyetizasyon (Ms) değeri 300 K'de 1.136 emu/g bulunmuş ve paramanyetik davranış göstermiştir (Shatnawi *et al.*, 2016; Aslam *et al.*, 2021). Bununla birlikte, sonuçlar Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs için aynı koşullar altında 0.46 emu/g doygunluk manyetizasyon değeri ve diyamanyetik özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Kapsülleme işleminden sonra manyetik davranıştaki değişiklik, nanoformülasyon içerisindeki Zn:MnO₂ miktarı, şekli, boyutu ve yapısı gibi çeşitli faktörlerle ilişkili olabilir. Sonuçlar literatür ile kıyaslandığında, Zn:MnO₂ NCs'in MR görüntüleme uygulamaları için iyi bir kontrast ajan olabileceğini sonucuna varılmıştır. Ayrıca, paramanyetik Zn:MnO₂ NCs'in nanoformülasyon içerisine kapsüllendiğinde malzemenin diyamanyetik davranış sergilemesi; kontrast artırıcı ve azaltıcı etkilere neden olmak suretiyle MR görüntülemede hastalıklara ait sinyallerin izlenmesinde etkin rol oynama potansiyeline sahiptir (Zhou *et al.*, 2021).



Şekil 4.6 : Zn:MnO₂ NCs ve Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs ait VSM analizi sonuçları.

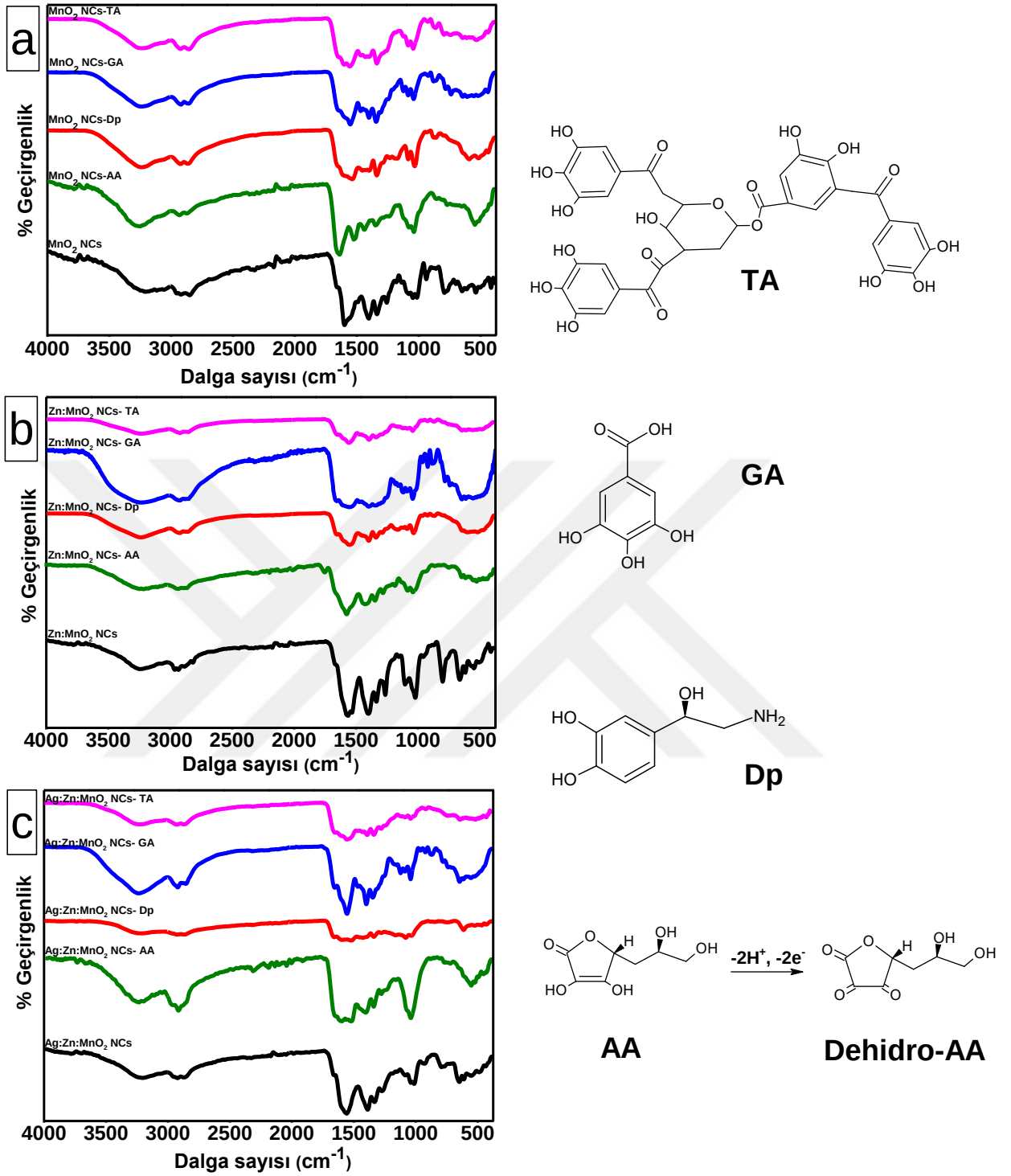
4.1.6. FTIR Analizi

Kimyasal yapının analizi için **Şekil 4.7: (a-c)**'de, kalsine edilmiş MnO_2 NCs, Zn:MnO_2 NCs ve Ag:Zn:MnO_2 NCs ait FTIR spektrumları verilmiştir. **Şekil 4.7: a**'daki MnO_2 NCs için 710, 525 ve 450 cm^{-1} 'deki pikler, O-Mn-O ve Mn-O gerilmesinin atfedilmiştir. Benzer olarak; **Şekil 4.7: b**'deki Zn:MnO_2 NCs ait FTIR spektrumları, sırasıyla 655, 515 ve 460 cm^{-1} 'deki pikler O-Mn-O ve Mn-O'nun karakteristik tepe noktalarını göstermiştir. Ayrıca, Ag:Zn:MnO_2 NCs için aynı pikler sırasıyla 610, 489 ve 405 cm^{-1} 'de görülmektedir (**Şekil 4.7: c**). FTIR sonuçlarına göre, hem MnO_2 NCs, hem Zn:MnO_2 NCs ve Ag:Zn:MnO_2 NCs benzer şekilde MnO_2 kimyasal karakteristiğine uyumludur. Yapıdaki Zn ve Ag varlığı ve bunların MnO_2 ile etkileşimi, gözlemlenen piklerde kaymalar meydana getirmiştir (Tian *et al.*, 2020; Hojjati-Najafabadi *et al.*, 2021). Bu sonuçlar XRD sonuçları ile uyumludur.



Şekil 4.7 : Kalsine edilmiş (a) MnO_2 NCs, (b) Zn:MnO_2 NCs ve (c) Ag:Zn:MnO_2 NCs ait FTIR spektrumları.

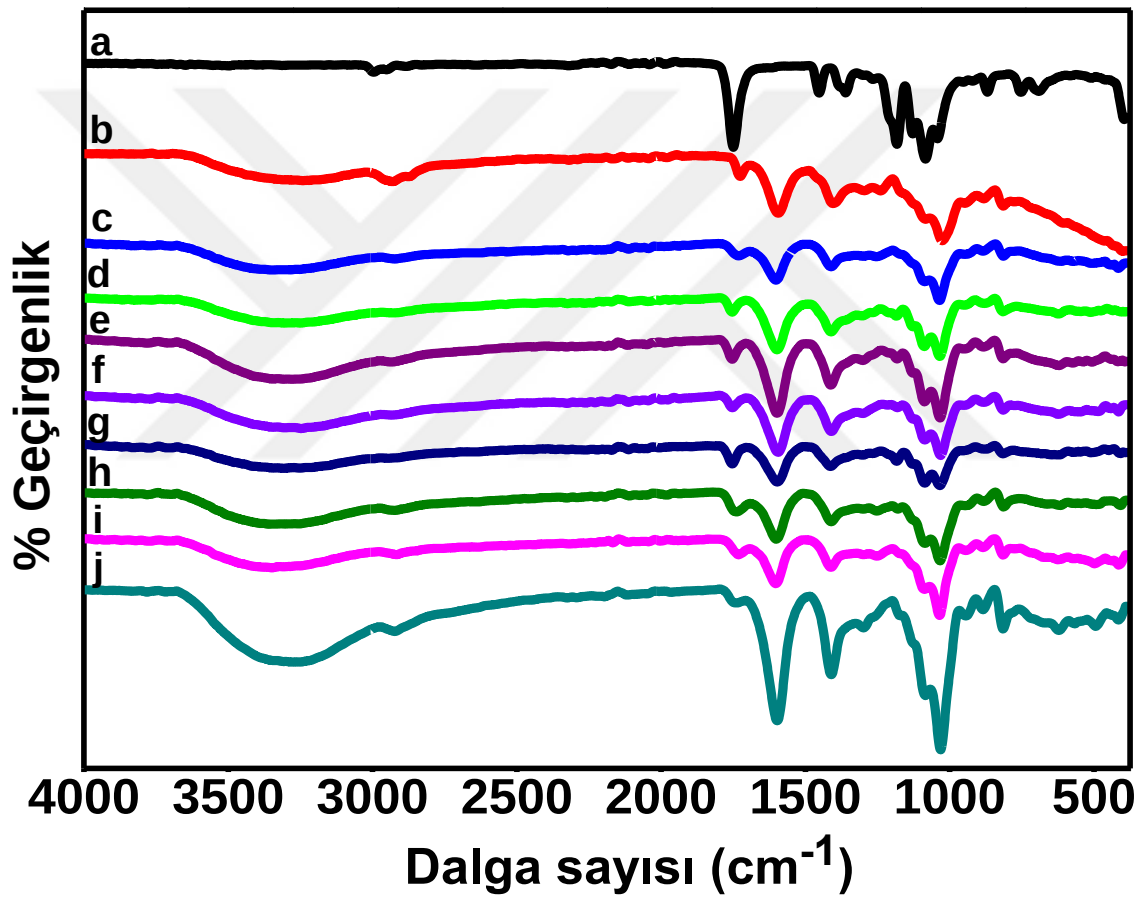
Sensör uygulamalarındaki NCs için etki mekanizmalarının aydınlatılması ve kimyasal farklılığın gösterilmesi amacıyla FTIR analizi yapılmıştır. **Şekil 4.8.’de** koloidal (a) MnO_2 NCs, (b) Zn:MnO_2 NCs ve (c) Ag:Zn:MnO_2 NCs için askorbik asit, dopamin, gallik asit ve tannik asit ile etkileştirildikten sonraki FTIR spektrumları verilmiştir. Sonuçlara göre, askorbik asit ilave edildikten sonra tüm NCs için MnO_2 yapısından gelen ve O-Mn-O gerilmesine atfedilen $600\text{-}660\text{ cm}^{-1}$ ’deki pikler kaybolmuştur. Bu durum, askorbik asidin oksidasyon reaksiyonu sırasında elektronlar kazanarak manganın indirgenmesi ile ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, diğer analitler eklendiğinde, hiçbir NCs için bu piklerin kaybolmadığı görülmüştür. Buradan yola çıkarak, NCs için herhangi bir indirgeme/yükseltgenme reaksiyonu olmaksızın farklı renklerde kompleks bileşikler oluşturarak dopamin, gallik asit ve tannik asit ile etkileşime girdiği tespit edilmiştir (Yang, Hu and Li, 2019; Anantha *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2021).



Şekil 4.8 : Hedef analitlerle etkileşime giren (a) MnO_2 NCs, (b) Zn:MnO_2 NCs ve (c) Ag:Zn:MnO_2 NCs FTIR analizi sonuçları.

Bunlara ek olarak; kanser uygulamasında kullanılan polimer esaslı nanotaşıyıcılar, ilaç ve Zn:MnO_2 NCs kapsüle edilmiş nanoformülasyonlara ait FTIR spektrumları **Şekil 4.9: (a-j)**'de

verilmiştir. Sonuçlara göre, tüm nanoformülasyon pikleri saf aljinata ait piklerle örtüşmektedir. Bu sonuçlar, tüm nanoformülasyonlar için herhangi bir kimyasal reaksiyon olmaksızın aljinat içine kapsüllemenin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini ve etkileşimin elektrostatik kuvvetlerle sağlandığını ispatlamıştır. Nanoformülasyon içerisindeki ilaçların kuvvetli kimyasal bağlarla yapıya tutunması ilacın hedef dokularda salımını zorlaştırarak etkinliğini azaltmaktadır. Bu nedenle; biyolojik ortamlardaki koloidal kararlılığı iyi ancak fiziksel etkileşimlerle tasarlanmış bu nanoformülasyonların; gelişmiş ilaç etkinliği göstermesi beklenmektedir (Carrion *et al.*, 2021; Hussain *et al.*, 2021; Gonçalves, Estevinho and Rocha, 2022; Kour *et al.*, 2022).



Şekil 4.9 : (a) saf PLA, (b) saf Aljinat (c) GA-PLA-Alg NCs, (d) Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs, (e) BA-Cer/ Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs, (f) BA/Zn:MnO₂@ GA-PLA-Alg Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs, (g) Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs, (h) BA-Cer@GA-PLA-Alg NCs, (i) BA@GA-PLA-Alg NCs ve (j) Cer@GA-PLA-Alg NCs ait FTIR analizi sonuçları.

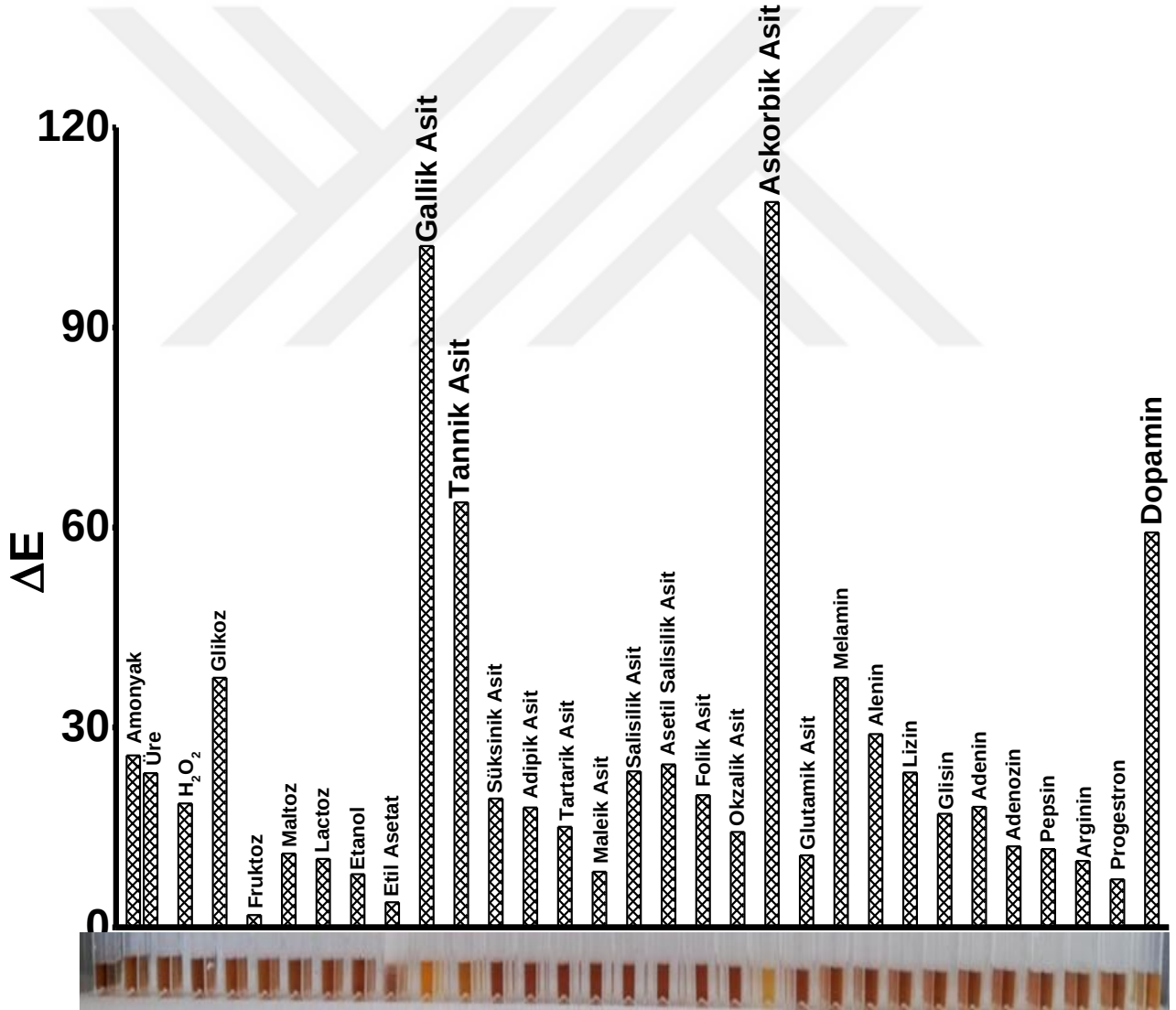
4.2. BİYOSENSÖR ÖZELLİKLERİN İNCELENMESİ

Sentezlenen NCs için sensör özellikleri, 31 farklı biyoanalite karşı test edilmiş ve hedef analitlere karşı kolorimetrik ve elektrokimyasal performansları analiz edilmiştir. Seçici, hızlı

ve düşük tespit limit değerlerine bağlı olarak, düzgün tanecik boyutlu ve kolloidal kararlılığı yüksek NCs için sonuçlar ayrıntılı olarak tartışılmıştır.

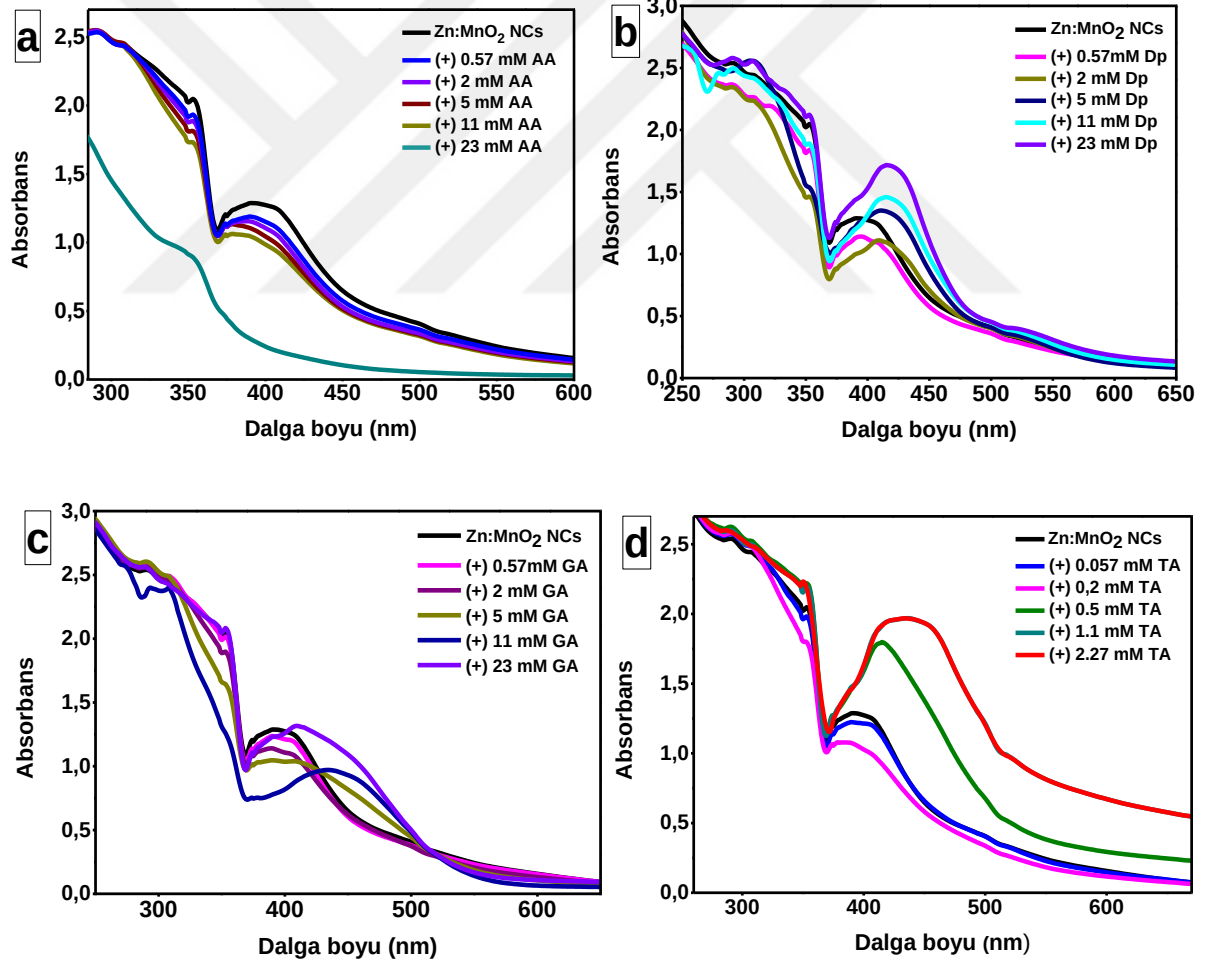
4.2.1. Kolorimetrik Sensör Özellikleri

Kolloidal MnO_2 NCs, Zn:MnO_2 NCs ve Ag:Zn:MnO_2 NCs ait kolorimetrik sensör davranışları, bölüm 3.4.1.'deki gibi incelenmiştir. İlk olarak; bu kolloidal sensör sistemleri için seçiciliğin incelenmesi üzere, biyomedikal alanda önemli moleküller ile etkileşim renk değişimi esas alınarak gözlenmiştir. Deneysel prosedür, her üç kolloidal NCs için biyoanalitlere karşı gelişen sensör davranışları benzerlik gösterdiği için bunlar arasında en etkili sonucu veren Zn:MnO_2 NCs ve biyoanalit etkileşimleri üzerinden tartışılmıştır.



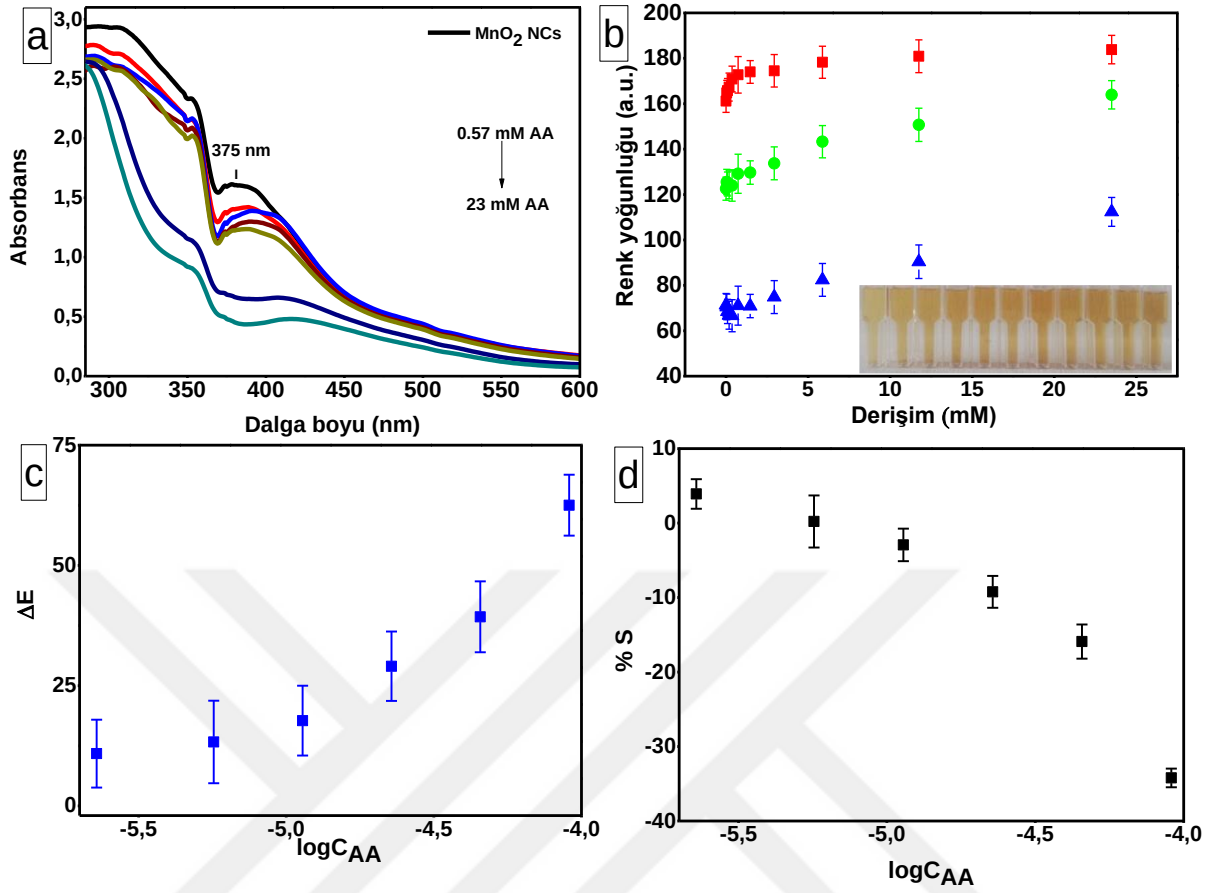
Şekil 4.10 : Kolloidal Zn:MnO_2 NCs esaslı kolorimetrik sensörlerin farklı analitlere karşı ΔE değerleri.

Bu kapsamda ilk olarak kolloidal Zn:MnO₂ NCs; amonyak, etanol, etil asetat, gallik asit, maleik asit, salisilik asit, hidrojen peroksit, süksinik asit, adipik asit, glikoz, laktoz, fruktoz, maltoz, üre, folik asit, askorbik asit, glutamik asit, melamin, alanin, lizin, glisin, adenin, adenosin, dopamin, asetil salisilik asit, progesteron, pepsin, arginin tannik asit, tartarik asit ve oksalik asidin PBS (pH 7.4) içerisindeki çözeltileri ile karıştırılmış ve ΔE değerleri hesaplanmıştır. **Şekil 4.10**'da görüldüğü gibi Zn:MnO₂ NCs ait koyu kahverengi rengi, askorbik asit, dopamin, gallik asit ve tannik asit ilavesiyle sarıya doğru değişmiş ve bu renk değişimi çıplak gözle görülmüştür. Ancak biyosensöre eklenen diğer analitlere karşı gözle görülür bir renk değişimi gözlenmemiştir. Bu kolorimetrik sonuçlar, Zn:MnO₂ NCs bazlı biyosensörün hedef analitlere (askorbik asit, dopamin, gallik asit ve tannik asit) karşı seçici duyarlılığa sahip olduğunu kanıtlamıştır.



Şekil 4.11 : Farklı konsantrasyonda (a) askorbik asit, (b) dopamin, (c) gallik asit ve (d) tannik asit ilave edilmiş koloidal Zn:MnO₂ NCs ait UV-Vis spektroskopisi sonuçları.

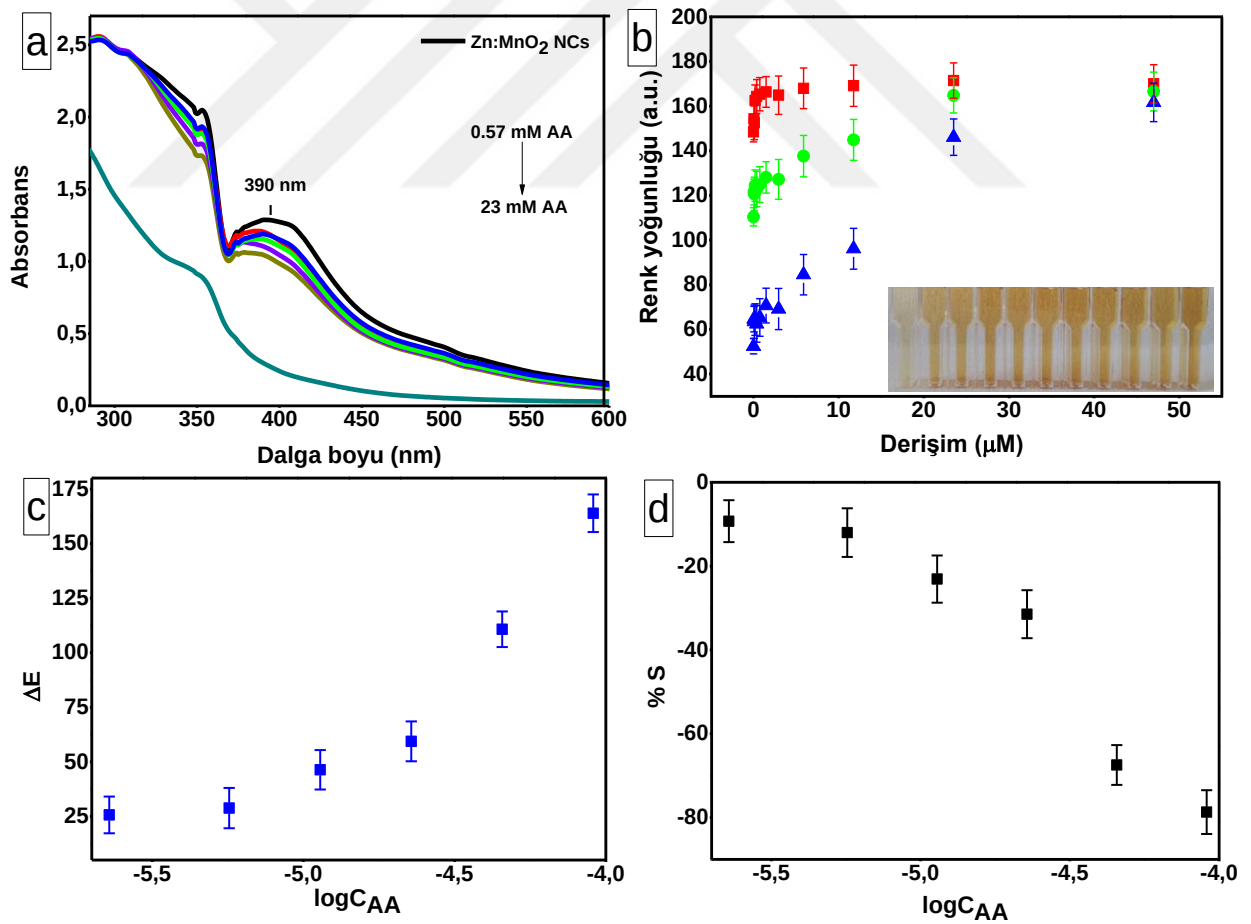
Algılama davranışının detaylı incelenmesi için, Zn:MnO₂ NCs esaslı biyosensörün farklı konsantrasyonlardaki hedef analitlere karşı kolorimetrik analizleri bir UV-vis spektrofotometresi ile incelenmiş ve sonuçlar **Şekil 4.11: (a-d)**'de gösterilmiştir. Dalga boyu 390 nm'de maksimum absorbans piki veren Zn:MnO₂ NCs biyosensörün, hedef analitlere karşı algılama davranışı piklerdeki değişim değerlendirilerek karşılaştırılmıştır. Bunun için; 0.52 mM-22.7 mM gibi geniş bir derişim aralığında askorbik asit, dopamin, gallik asit ve tannik asit kullanılmıştır. Optik sonuçlara göre; kolloidal sensör sistemi üzerine damlatılan askorbik asit derişimi arttıkça Zn:MnO₂ NCs ait spesifik pikin şiddeti kayma olmaksızın azalmıştır (**Şekil 4.11: a**). Bu durum, Zn:MnO₂ NCs ait koyu kahverengi rengin derişim arttıkça şeffaflaşması ile uyumlu bir sonuçtur ve Zn:MnO₂ NCs'in spesifik absorbans pikinin azalması, askorbik asitle etkileşimin elektrokimyasal bir redoks reaksiyonu üzerinden olduğunu göstermektedir. Bu sonuçların aksine **Şekil 4.11: (b-d)** incelenirse, Zn:MnO₂ NCs ait karakteristik dalga boyunun dopamin, gallik asit ve tannik asit ilavesiyle azalmadığı ve dalga boyunun görünür bölgeye kaydığı açıkça görülebilir. Bu sonuçlar da FTIR sonuçları ve analit-sensör etkileşimi sonrası çıplak gözle izlenen renk değişimleri ile uyumludur.



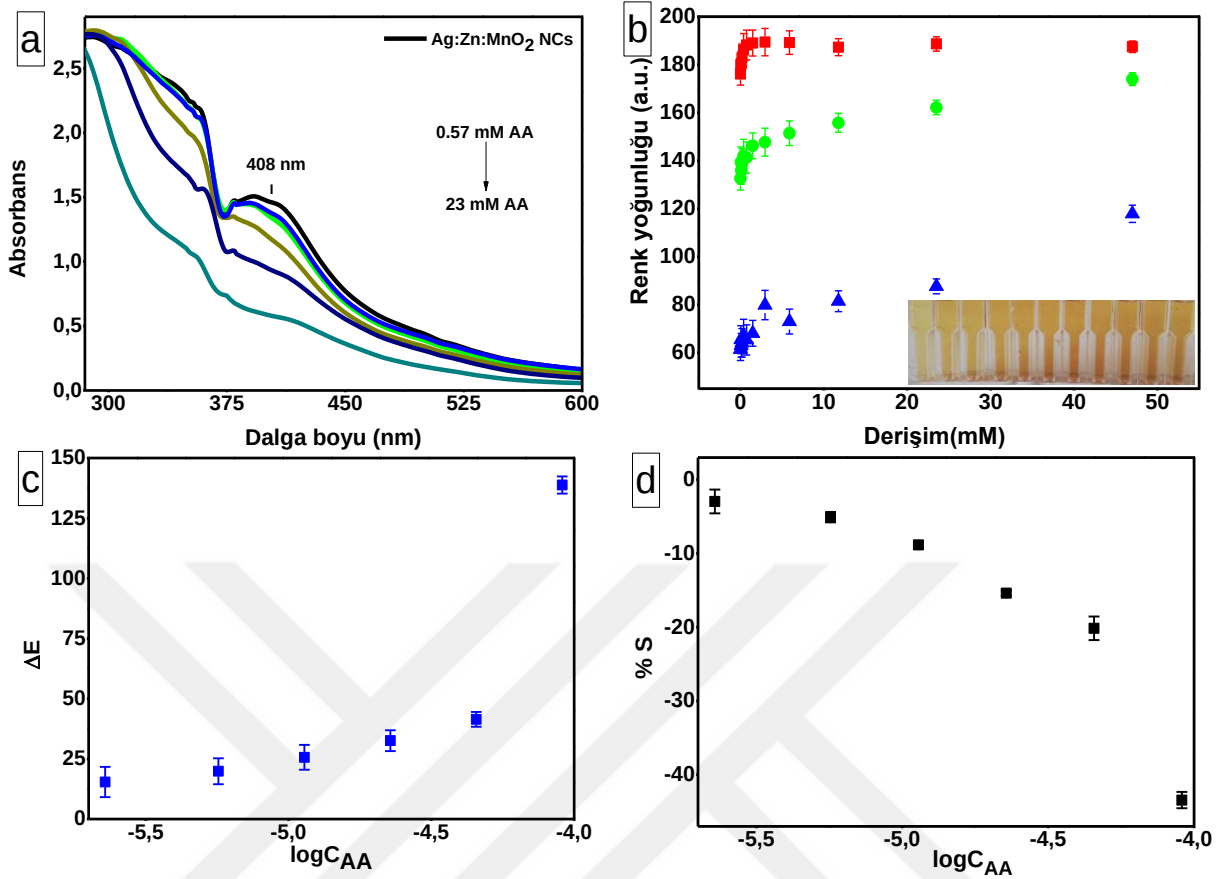
Şekil 4.12 : Kolloiadal MnO_2 NCs için askorbik asit ilavesine bağlı olarak (a) Uv-Vis spektrumları, (b) RGB analizi, (c) E -logC grafiği ve (d) %S- logC grafiği.

Bu tez çalışmasında, askorbik asit algılama özelliklerini iyileştirmek ve aydınlatmak için MnO_2 NCs tabanlı sensör sistemlerine Zn ve Ag katkısının etkisi tartışılmıştır. Farklı askorbik asit derişimlerine karşı kolloidal MnO_2 NCs, Zn: MnO_2 NCs ve Ag:Zn: MnO_2 NCs biyosensörlerinin kolorimetrik davranışları (absorbans/dalga boyu değışimi ve akıllı telefon destekli RGB analizi sonuçları) sırasıyla **Şekil 4.12**, **Şekil 4.13** ve **Şekil 4.14**'te ayrıntılı olarak gösterilmiştir. Uv-vis sonuçlarına göre MnO_2 NCs, Zn: MnO_2 NCs ve Ag:Zn: MnO_2 NCs spesifik piklerini sırasıyla 375 nm, 390 nm ve 408 nm dalga boylarında vermiştir. Buna göre NCs içerisine Zn ve Ag ilavesi, dalga boyunu görünür bölgeye kaydırmıştır. Bu durum kolorimetrik ölçümler için renk geçişlerinin gözlenmesi açısından önemlidir. Ayrıca grafikler incelendiğinde, en yüksek askorbik asit derişiminde en belirgin tepkiyi Zn: MnO_2 NCs verdiği açıkça görülmektedir. Her bir NCs için spesifik absorbans değerleri, MnO_2 kaynaklı indirgeme reaksiyonlarına bağlı olarak askorbik asit ilavesiyle azalmıştır. Buna ek olarak; NCs ve askorbik arasındaki etkileşimine bağlı renk değışimleri RGB analizi ile incelenmiş ve LOD değerleri hesaplanmıştır. Kolloidal MnO_2 NCs, Zn: MnO_2 NCs ve Ag:Zn: MnO_2 NCs ait LOD değerleri

sırasıyla 149.37 μM ($R^2=0.96$), 10.67 μM ($R^2=0.96$) ve 87.12 μM ($R^2=0.96$) olarak bulunmuştur. MnO_2 NCs'in dalga boyu Zn ilavesi ile görünür bölgeye kaymış ve dahası dar boyut dağılımı ve iyi kolloidal kararlılığı sayesinde askorbik aside karşı en iyi duyarlılığı göstermiştir. Ancak yapıya Ag ilavesi ile nanokompozit topaklanma eğilimi göstermiş ve nanoölçekte boyutlardaki büyümeye bağlı olarak LOD değeri yükselmiştir. Literatürde, Aguirre ve diğ. (2019) askorbik asidin tespiti için spektrometrik akıllı telefon tabanlı sistemin algılama performansını bildirmiştir (Aguirre *et al.*, 2019). Başka bir çalışmada, Peng ve arkadaşları, 0.031 μM algılama sınırına (LOD) sahip kobaltoksihidroksit nanoflakes ve karbon kuantum noktaları kullanan yeni bir akıllı telefon destekli askorbik asit sensörü geliştirdiler (Peng *et al.*, 2022). Literatürdeki çalışmalar, akıllı telefon tabanlı sensörlerin ultra yüksek hassasiyetli askorbik asit tespiti için başarıyla kullanıldığını ispatlamaktadır. Bu tez çalışmasında yüksek hassasiyetli askorbik asit sensörleri kolorimetrik olarak incelenmiştir. Sonuçlar; nano ölçekte iyi dağılım ve morfolojinin kolloidal sensör sistemleri için önemini kanıtlamaktadır.



Şekil 4.13: Kolloiadal Zn:MnO₂ NCs için askorbik asit ilavesine bağlı olarak (a) Uv-Vis spektrumları, (b) RGB analizi, (c) E -logC grafiği ve (d) %S- logC grafiği.

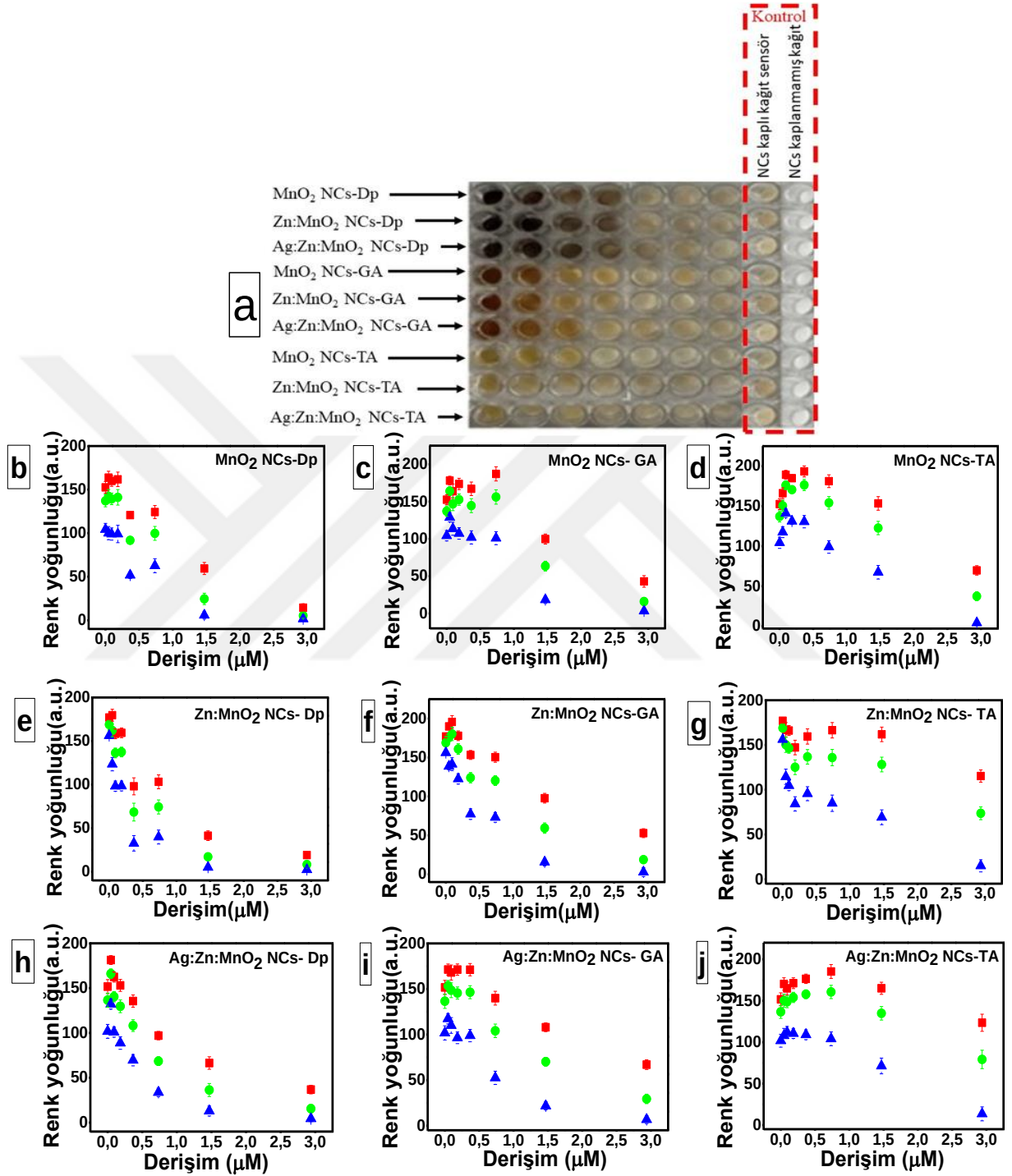


Şekil 4.14: Kolloidal Ag:Zn:MnO₂ NCs için askorbik asit ilavesine bağlı olarak (a) Uv-Vis spektrumları, (b) RGB analizi, (c) E -logC grafiği ve (d) %S- logC grafiği.

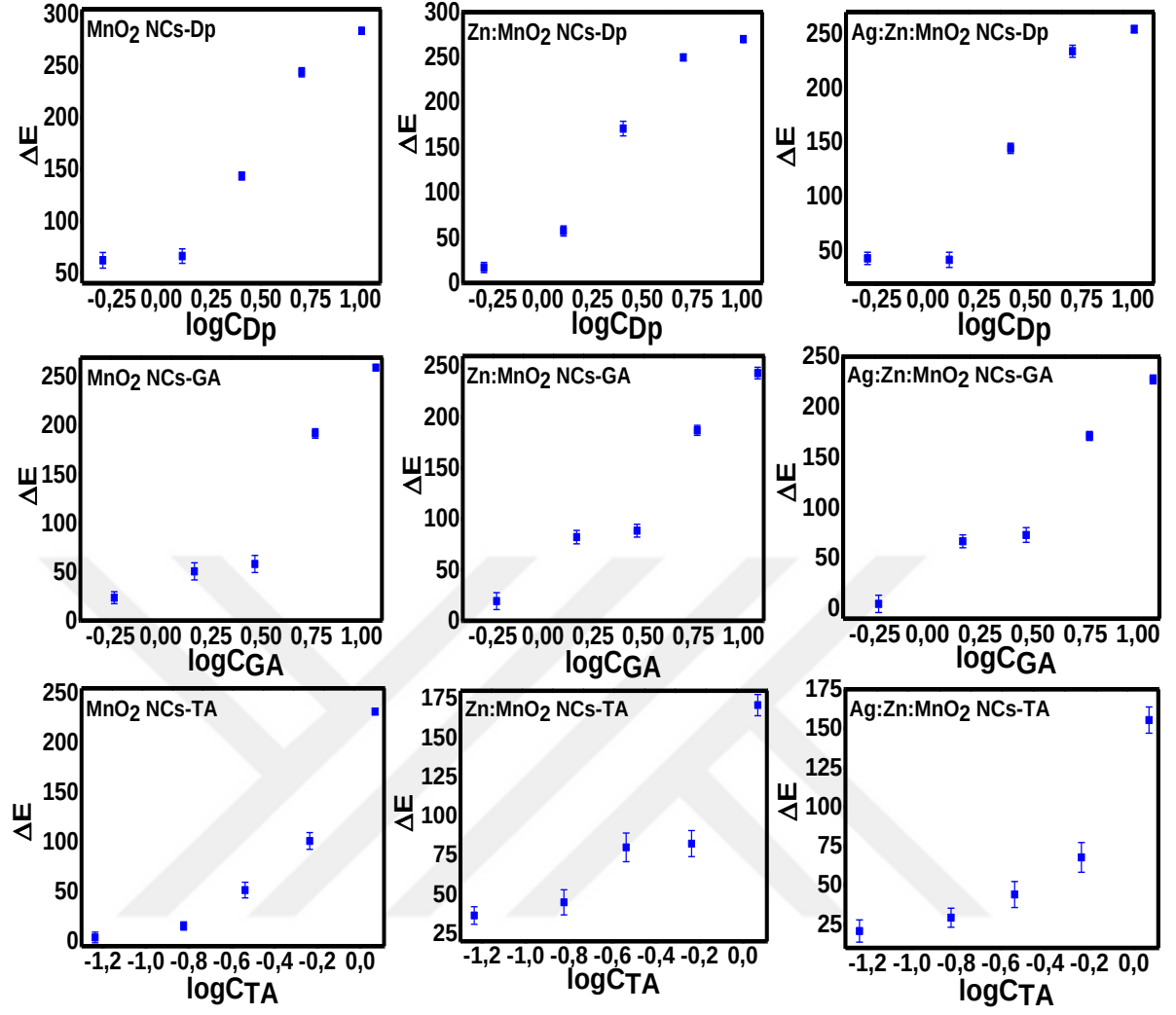
4.2.1.1. NCs kaplı kağıt biyosensörler

Önceki bölümde tartışıldığı gibi, sentezlenen NCs esaslı sensörler, dopamin, gallik asit ve tannik aside karşı hızlı bir kolorimetrik tepki göstermiştir. Bununla birlikte, kolloidal NCs esaslı bu sensörler için RGB analizi ile LOD hesaplanması için hassas değildir. Bu sebeple; dopamin, gallik asit ve tannik asidin analitik tespiti için yüksek düzeyde seçici ve hassas MnO₂ NCs, Zn:MnO₂ NCs ve Ag:Zn:MnO₂ NCs ile kaplanmış kağıt sensörler geliştirilmiştir. **Şekil 4.15:** a’da ayrıntılı olarak gösterildiği gibi bir sensör dizisi hazırlanmış ve bunların kolorimetrik sensör davranışları akıllı telefon destekli RGB analizi ile incelenmiştir. Bu amaçla, daha önce bölüm 3.4.1.’de ayrıntılı olarak açıklandığı gibi kâğıt sensörler hazırlanmış ve üzerlerine 0.52 mM-22.7 mM derişim aralığındaki hedef analitler damlatılmıştır. **Şekil 4.15: (b-j)** 'deki kırmızı-yeşil-mavi kanallardaki değişimler incelendiğinde, en belirgin renk değişimleri mavi renk kanalında gerçekleşmiştir. Bu nedenle, hazırlanan NCs kaplanmış kâğıt biyosensörlerin algılama limit (LOD) değerlerini hesaplamak için mavi renkli kanal değerleri kullanılmıştır.

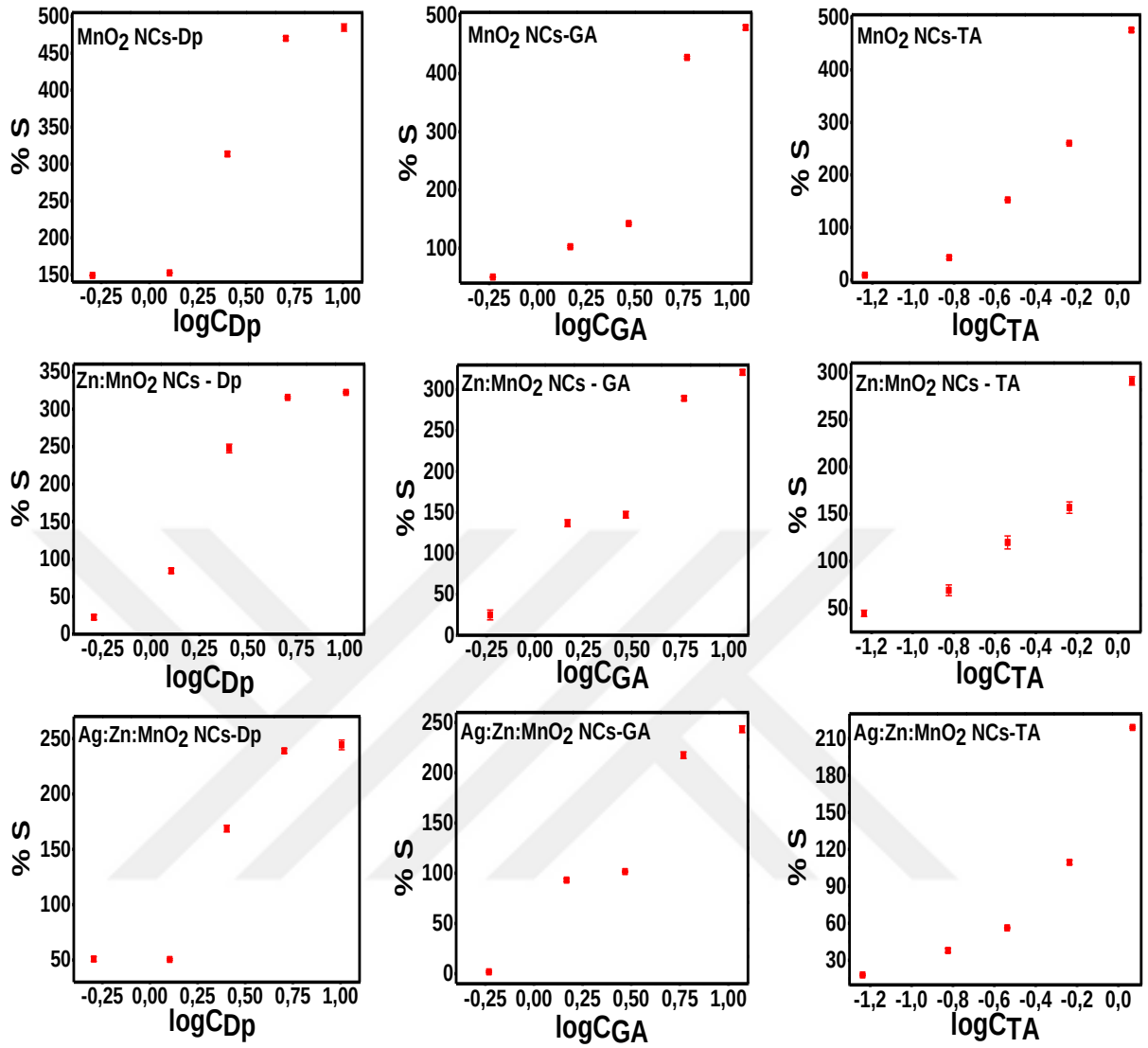
Ancak, NCs kaplı kâğıt bazlı biyosensörlerin askorbik asit tespiti için uygun olmadığını gözlemlenmiştir.



Şekil 4.15 : (a) NCs esaslı kâğıt sensör dizisi, MnO₂ NCs kaplı kâğıt sensörlerin (b) dopamin, (c) gallik asit, (d) tannik asit, Zn:MnO₂ NCs kaplı kâğıt sensörlerin (e) dopamin, (f) gallik asit, (g) tannik asit, Ag:Zn:MnO₂ NCs kaplı kâğıt sensörlerin (h) dopamin, (i) gallik asit, (j) tannik asit ilavesine bağlı RGB analizi sonuçları.



Şekil 4.16 : Hedef analit derişimine bağılı olarak NCs kaplı kağıt sensörlerin log C- ΔE grafikleri.



Şekil 4.17: Hedef analit derişimine bağı olarak NCs kaplı kâğıt sensörlerin log C-%S grafikleri.

Seçicilik, sensörün önemli bir özelliğidir ve kolorimetrik sensörler için ΔE değerleri kullanılarak açıklanır. Dopamin, gallik asit ve tannik asit için NCs kaplı kâğıt bazlı biyosensörlere ait ΔE değerleri ve analit arasındaki matematiksel korelasyon **Şekil 4.16**'da gösterilmiştir. NCs kaplı kâğıt bazlı biyosensörlerin LOD değerlerinin hesaplanmasında kullanılan %S değerlerine ait grafikler ise **Şekil 4.17**'de verilmiştir. NCs tabanlı biyosensörlerin öklid mesafesi (ΔE), yanıt (%) (S) değerleri ve LOD **Denklem 3.1-3.3** kullanılarak hesaplanmıştır. **Tablo 4.1**'de özetlendiği gibi, MnO₂ NCs kaplı kâğıt biyosensör, 0.95 μM 'lık düşük bir LOD değeri ile dopamin için duyarlılık göstermiştir. Ayrıca, Zn:MnO₂ NCs kaplı kâğıt bazlı biyosensörler, gallik asit ve tannik asit için sırasıyla 3.88 ve 7.81 μM

düşük LOD değerleri göstermiştir. Deneysel sonuçlara göre, MnO_2 NCs kaplı kâğıt sensörlerin maksimum ΔE değerlerinin sırasıyla 284.08 ± 1.75 (dopamin), 259.76 ± 2.89 (gallik asit) ve 231.62 ± 3.41 (tannik asit) olarak bulunmuştur. Zn:MnO_2 NCs kaplı sensörlerin maksimum ΔE değerleri sırasıyla 270.04 ± 3.25 (dopamin), 243.26 ± 5.7 (galik asit) ve 170.83 ± 6.79 (tannik asit) olarak bulunmuştur. Son olarak, Ag:Zn:MnO_2 NCs kaplı kâğıt bazlı biyosensörlerin maksimum ΔE değerleri sırasıyla 254.15 ± 3.3 (dopamin), 227.41 ± 4.39 (galik asit) ve 155.35 ± 8.38 (tannik asit) olarak hesaplanmıştır. Daha önce **Şekil 4.1.a**'da sunulduğu gibi, Zn:MnO_2 NCs için tanecik boyutu ve dağılımı MnO_2 NCs ve Ag:Zn:MnO_2 NCs kıyasla oldukça homojen bir yapıda olduğu bulunmuştur. Bu nedenle Zn:MnO_2 NCs'in kâğıt yüzetinde homojen dağılımı nedeniyle daha iyi algılama özelliği gösterdiği sonucuna varılmıştır. Sonuçlar, hızlı yanıt süresi (10 sn.) ile dopamin, gallik asit ve tannik aside karşı oldukça duyarlı olan NCs kaplı kâğıt bazlı biyosensörlerin başarıyla geliştirildiğini ispatlamaktadır. NCs kaplı kâğıt sensörlere ait sonuçlar **Tablo 4.1**'de özetlenmiştir.

Literatürde MnO_2 esaslı nanokompozitlerin dopamin oksidasyonunu sağlayarak sensör özelliği gösterdiğine dair pek çok çalışma mevcuttur. Bu redoks tepkimesinin ilk kanıtı ise bu elektrokimyasal etkileşim sonucu rengin siyaha dönmesidir (He *et al.*, 2019). Bir önceki bölümde tartışılan kolloidal sensör sistemleri için dopamine karşı böyle bir renk dönüşümü belirgin gözlenemezken, kâğıt sensörleri için dopamin derişimi arttıkça, sarımtak rengin siyah renge dönüşümü açıkça görülmektedir. Bu durumda en iyi dopamin duyarlılığını MnO_2 NCs'in göstermesi elektrokimyasal olarak Mn^{4+} 'ya erişilebilirliğin bir sonucu olarak oksidasyonun daha kolay gerçekleşmesi ile ilişkilendirilebilir.

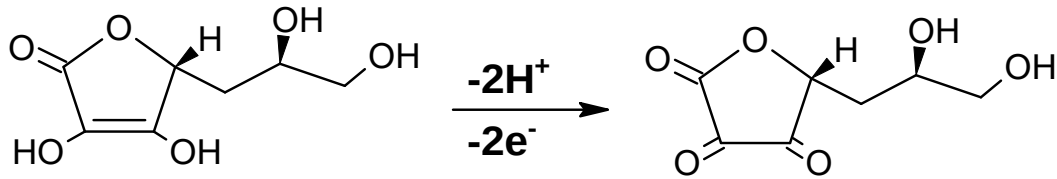
Tablo 4.1: NCs kaplı kâğıt biyosensörlerin LOD değerleri.

Sensör	$\text{LOD}_{\text{Dopamin}}$ (μM)	R^2	$\text{LOD}_{\text{Gallik Asit}}$ (μM)	R^2	$\text{LOD}_{\text{Tannik Asit}}$ (μM)	R^2
MnO_2 NCs	0.95	0.99	13.72	0.95	10.58	0.97
Zn:MnO_2 NCs	2.89	0.95	3.88	0.95	7.81	0.96
Ag:Zn:MnO_2 NCs	11.47	0.98	18.95	0.95	17.87	0.92

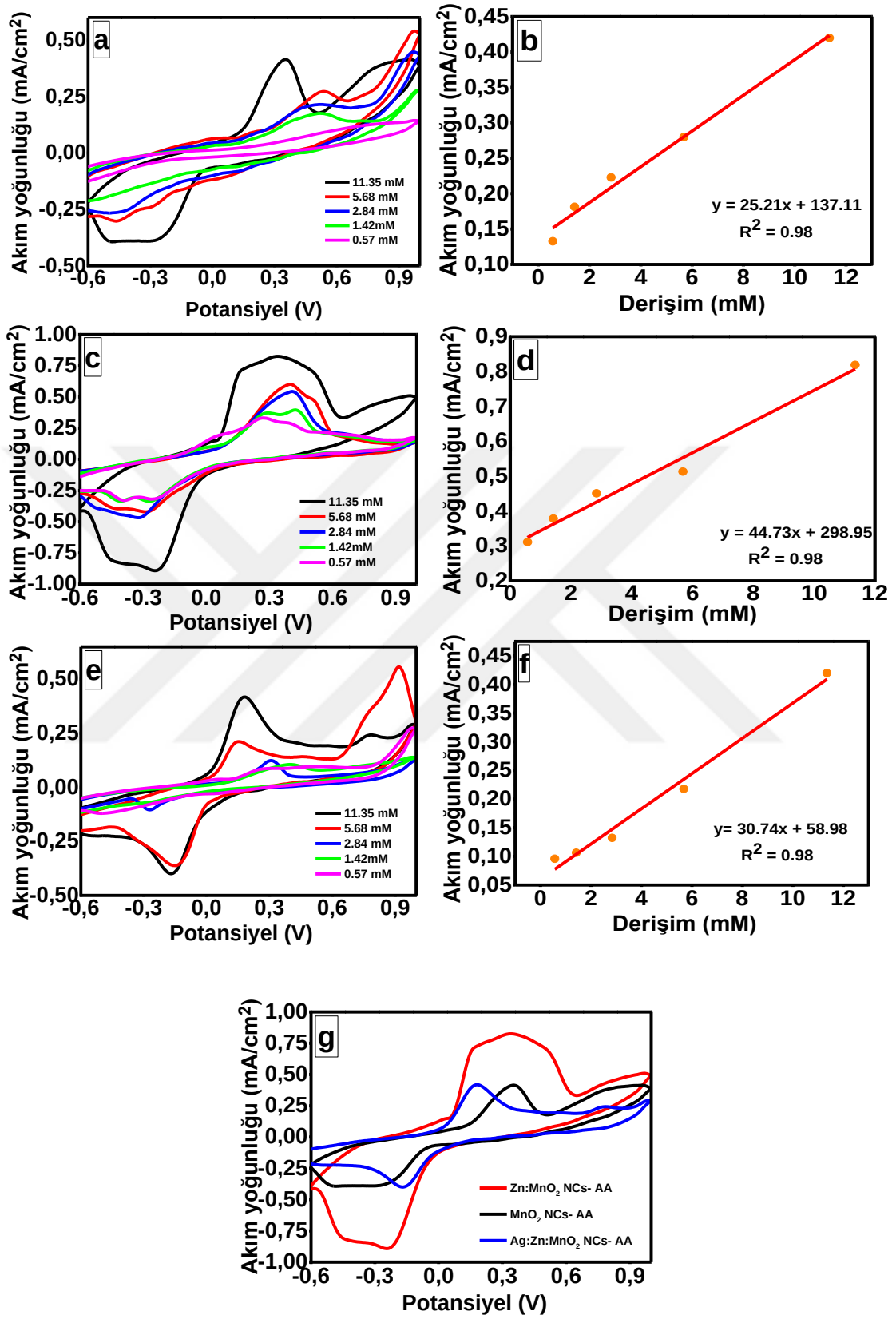
4.2.2. Enzimatik Olmayan Elektrokimyasal Sensör Özellikleri

Şekil 4.19'de askorbik asit tespiti için (a) MnO_2 NCs, (b) Zn:MnO_2 NCs ve (c) Ag:Zn:MnO_2 NCs esaslı biyosensörlerinin enzimatik olmayan elektrokimyasal analiz sonuçları verilmiştir.

Deneysel sonuçlara göre, hazırlanan koloidal MnO_2 NCs, Zn:MnO_2 NCs ve Ag:Zn:MnO_2 NCs biyosensörleri başlangıç negatif potansiyelleri sırasıyla -0.29 V, -0.22 V ve -0.19 V bulunmuştur. Askorbik aside karşı enzimatik olmayan elektrokimyasal sensör davranışları **Şekil 4.19**'de gösterilmiştir. Sonuçlara göre; NCs esaslı sensörlerin yarı tersinir elektrokimyasal davranışlar sergiledikleri gözlenmiş ve hazırlanan koloidal MnO_2 NCs, Zn:MnO_2 NCs ve Ag:Zn:MnO_2 NCs biyosensörlerinin LOD değerleri sırasıyla 355 nM, 239 nM ve 248 nM olarak hesaplanmıştır. MnO_2 NCs, Zn:MnO_2 NCs ve Ag:Zn:MnO_2 NCs biyosensörlerinin kalibrasyon grafiklerinin hassasiyeti sırasıyla 25.21 , 44.73 ve 30.74 $\mu\text{A mM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ olarak hesaplanmıştır. NCs esaslı biyosensörlerinin askorbik asidi tespiti 1 dakikalık hızlı tepki süresi ile gerçekleşmiştir. Daha önce bildirilen asorbik asit sensörleri ile bu veriler karşılaştırıldığında, hazırlanan NCs esaslı biyosensörler, asorbik asit için oldukça hassas bir algılama performansı sergilemiştir. Zhang ve diğ. (2021), 0.125 – 118 μM geniş konsantrasyon aralığına sahip polioksometalat/Tris(2,2'-bipiridin) rutenyum (II)/kitosan-paladyum inorganik-organik film kullanarak yüksek hassasiyetli enzimatik olmayan elektrokimyasal askorbik asit sensörünü 0.1 μM 'lik düşük LOD değerine sahip olduğunu bildirmiştir (L. Zhang *et al.*, 2021). Feng ve diğ. (2021), Cu@CuFe esaslı bir çekirdek-kabuk nanotel için enzimatik olmayan elektrokimyasal sensör olarak 42.78 $\mu\text{A mM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ gibi yüksek hassasiyetle askorbik asit algılama performansını gösterdiğini bildirmiştir (Feng *et al.*, 2021). Bu tez çalışmasında, MnO_2 NCs esaslı enzimatik olmayan elektrokimyasal askorbik asit sensörlerinin performansları üzerine Zn ve Ag ilavesinin etkisi incelenerek tartışılmıştır. Sonuçlar, Zn:MnO_2 NCs ve Ag:Zn:MnO_2 NCs'in, MnO_2 NCs'ye kıyasla askorbik aside karşı yüksek performanslı enzimatik olmayan elektrokimyasal sensör özellikleri gösterdiğini ispatlamıştır. Bu durum, kuvvetli elektron aktarımı sayesinde askorbik asidin yükseltgenmesinin kolaylaşması ile ilişkilendirilmiştir. Zn:MnO_2 NCs için en düşük LOD değerinin ölçülmesi, nano ölçekte homojen tanecik dağılımı sayesinde aktif elektrokimyasal yüzeylere erişimin kolaylaşması ve böylece askorbik asidin yüksek duyarlılıkta saptanması ile ilişkilendirilmiştir.



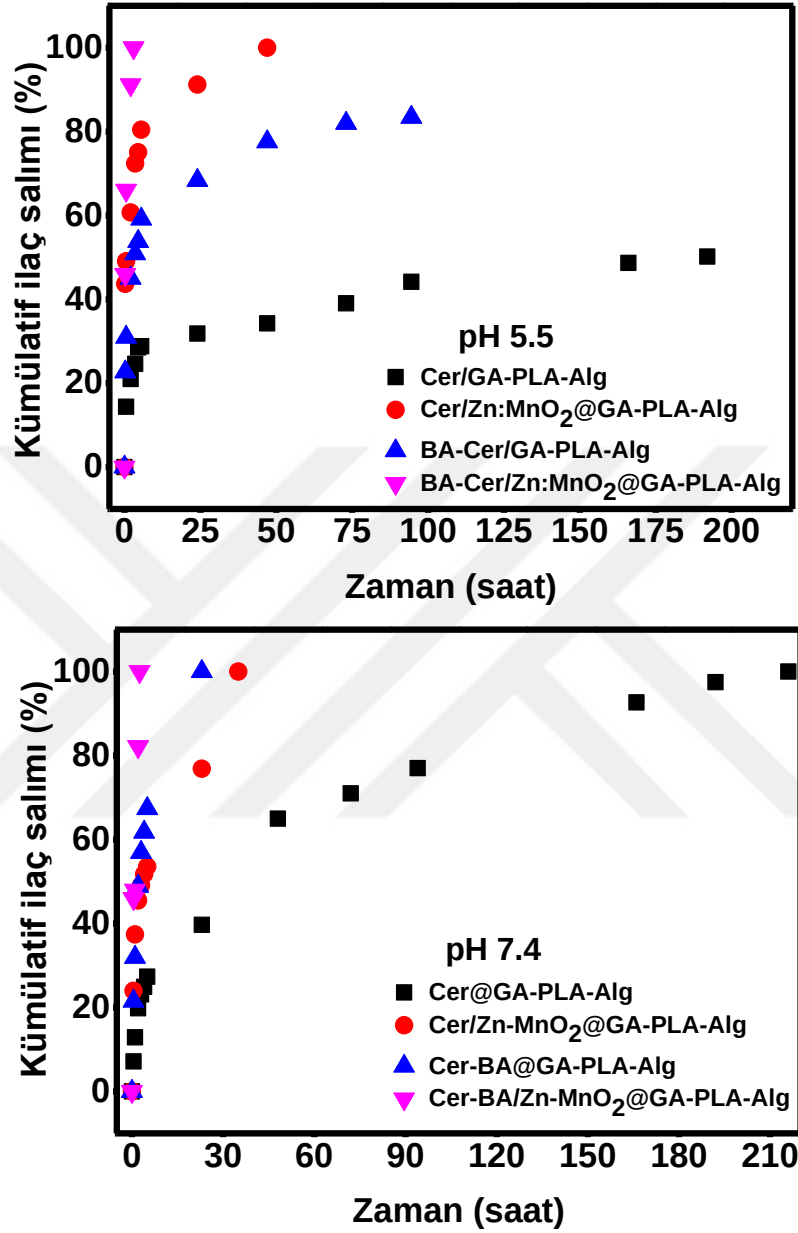
Şekil 4.18 : Askorbik asidin yükseltgenmesi.



Şekil 4.19 : (a,b) MnO_2 NCs , (c,d) Zn:MnO_2 NCs , (e,f) Ag:Zn:MnO_2 NCs'in askorbik aside karşı enzimatik olmayan elektrokimyasal sensör sonuçları ve (g) NCs'lerin en yüksek askorbik asit derişiminde verdiği elektrokimyasal yanıtların kıyaslanması.

4.3. ANTİKANSER AKTİVİTENİN İNCELENMESİ

4.3.1. İn-vitro İlaç Salımının Değerlendirilmesi



Şekil 4.20 : pH'a bağlı % kümülatif Seranib-2 salınımı sonuçları.

Nanoformülasyonlardan in-vitro ilaç salımların incelenmesi amacıyla, sırasıyla BA ve Cer'e ait olan 210 ve 337 nm dalga boylarındaki absorbands ölçümleri UV-görünür spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür. Kullanılan polimer matrisin kısa süre içerisinde salım ortamına karışarak 250 nm ve altındaki dalga boylarındaki absorbands değerlerinde girişime neden olduğu

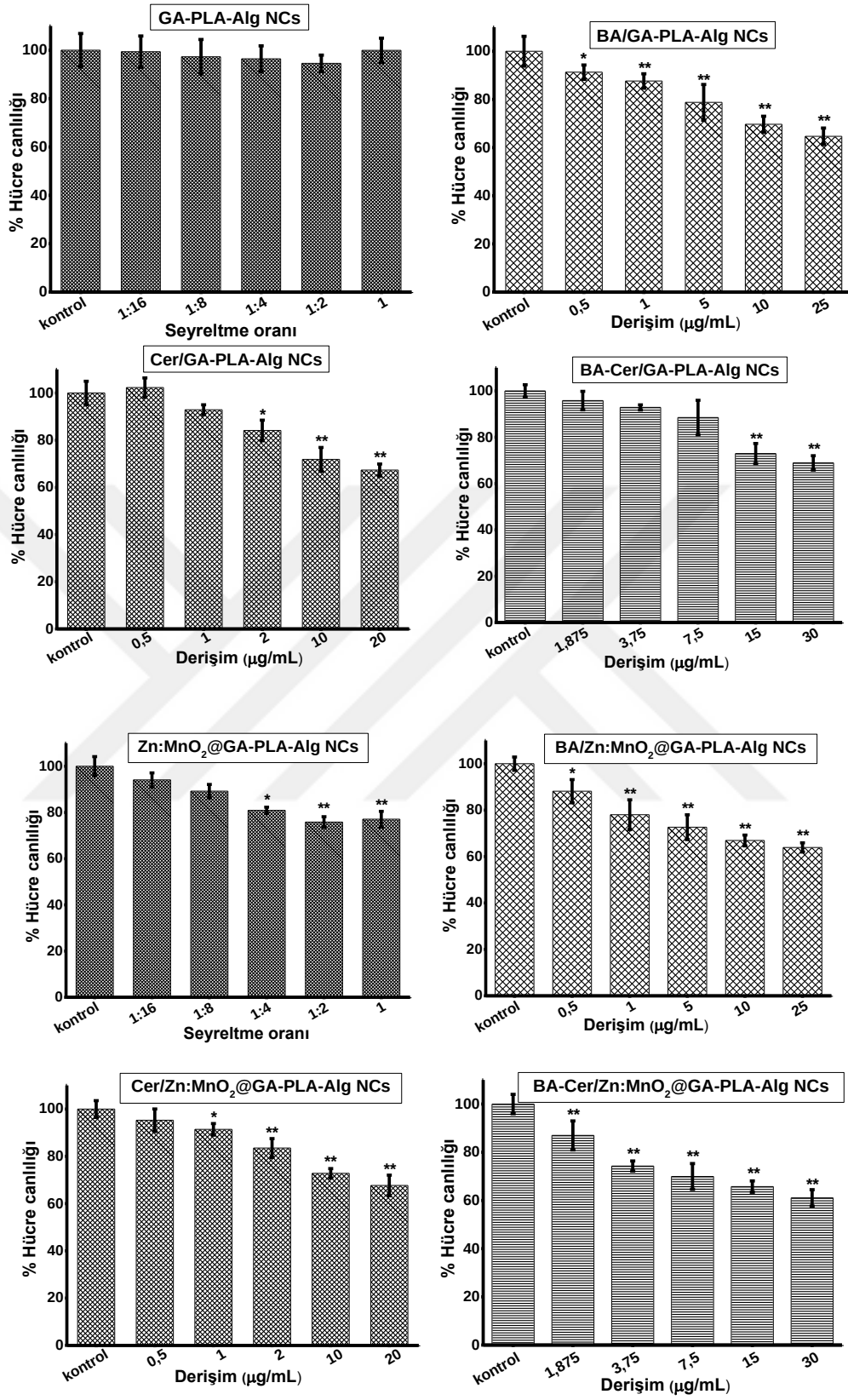
görülmüştür. Bu sebeple, betülinik asit varlığında Senanib-2'ye ait kümülatif ilaç salım (%CDR) verileri değerlendirilmiş ve sonuçlar **Şekil 4.20'**da gösterilmiştir. Cer'in GA-PLA-Alg ve Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg nanoformülasyonlarından pH 5.5 ve pH 7.4'teki salım profillerine ait veriler, tutunma verimliliği (EE) ve yükleme kapasitesi (LC) sonuçları **Tablo 4.2'**de özetlenmiştir. Sonuçlara göre, nanoformülasyondaki Zn:MnO₂ NCs varlığı Cer'in kümülatif salım yüzdesini %50.2'den %100'e yükselirken salım süresi 192 saatten 3 saate kadar düşmüştür. Ek olarak, Cer'in EE değerinin BA ve Zn:MnO₂ NCs varlığında düşmesi, boyut dışlama etkisi ve/veya elektrostatik etkilerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ancak, Zn:MnO₂ NCs içeren nanoformülasyonların, küçük boyutu, dar tanecik dağılımı ve küresel şekilleri sebebiyle, ilaç salımını kolaylaştırabileceği sonucuna varılmıştır (Sontakke, Tiwari and Purkait, 2023). Sonuç olarak, BA-Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs 3 saat içinde Cer salınımı, hem BA hem BA'sız olarak %100 olarak gerçekleşmiştir. Bu sonuçlar, in-vitro antikanser aktivitenin yorumlanmasında BA'nın etkisinin aydınlatılması açısından önemli bir sonuçtur.

Tablo 4.2 : Nanoformülasyonlardan Seranib-2'nin kümülatif salım verileri.

Örnekler	%EE -%LC değerleri	Salım verileri (pH 5.5)	Salım verileri (pH 7.4)
Cer / GA-PLA-AlgNCs	47.86 - 1.34	%50.2, 192 sa	%100, 216 sa
BA-Cer /GA-PLA -Alg NCs	82.82 - 0.83	%83.4, 94.5 sa	%100, 23 sa
Cer/Zn:MnO ₂ @ GA-PLA -Alg NCs	33.76 - 0.68	%100, 47 sa	%100, 35 sa
BA-Cer /Zn:MnO ₂ @ GA- PLA -Alg NCs	30.13 - 0.31	%100, 3 sa	%100, 2.5 sa

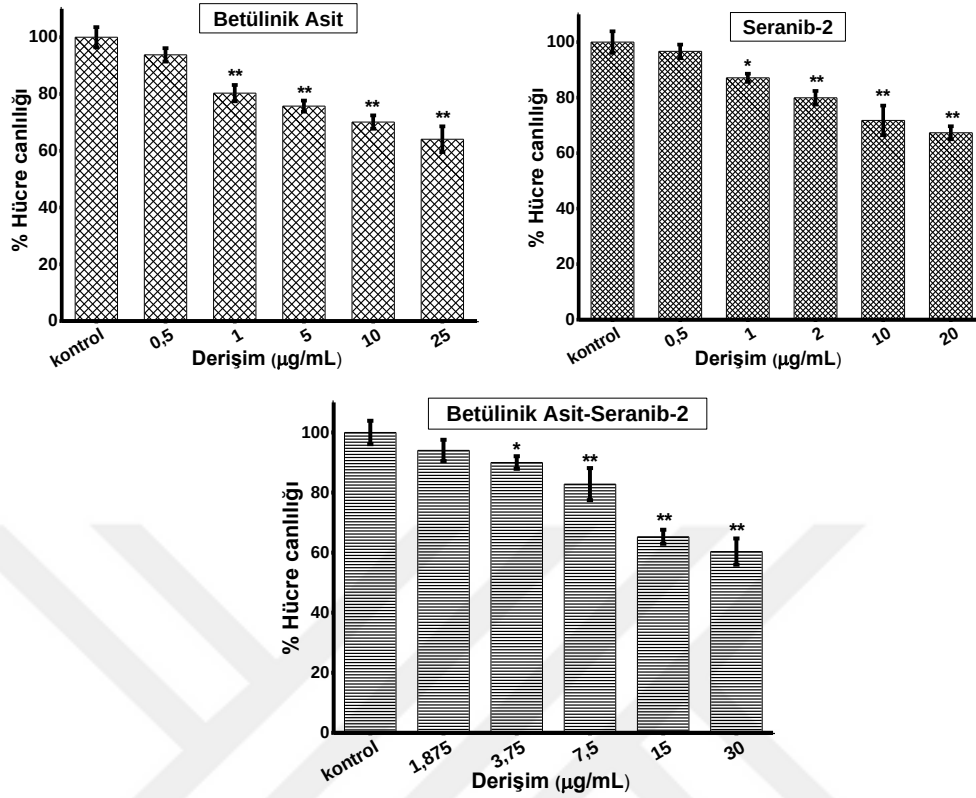
4.3.2. Hücre Canlılığı Testi

Nanoformülasyonların ve serbest ilaçların (BA, Cer, ve BA-Cer (1:5 w:w)) HUVEC normal hücrelerine karşı toksik etkileri MTT testi ile değerlendirilmiş ve sonuçlar sırasıyla **Şekil 4.21** ve **Şekil 4.22'**de gösterilmiştir. Sonuçlara göre, GA-PLA-Alg ve Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg nanoformülasyonları için çalışılan en yüksek derişim için hücre canlılıkları sırasıyla %100 ve %70 gibi yüksek oranlarda bulunmuştur. Serbest ilaçlar ve diğer nanoformülasyonlar için de ortalama % hücre canlılığı %60'ın üzerindedir. Bu sonuçlar, normal hücreler üzerinde toksisitesi oldukça düşük olan nanoformülasyonlar geliştirildiğini ve gerek kanser ilaçlarının gerekse nanoformülsayonların seçici olarak normal hücrelere toksisite göstermediğini kanıtlamaktadır.



Şekil 4.21 : Nanoformülasyonların HUVEC hücreleri üzerinde % hücre canlılığı.

*P0.05, **P0.01 olarak tanımlanmıştır

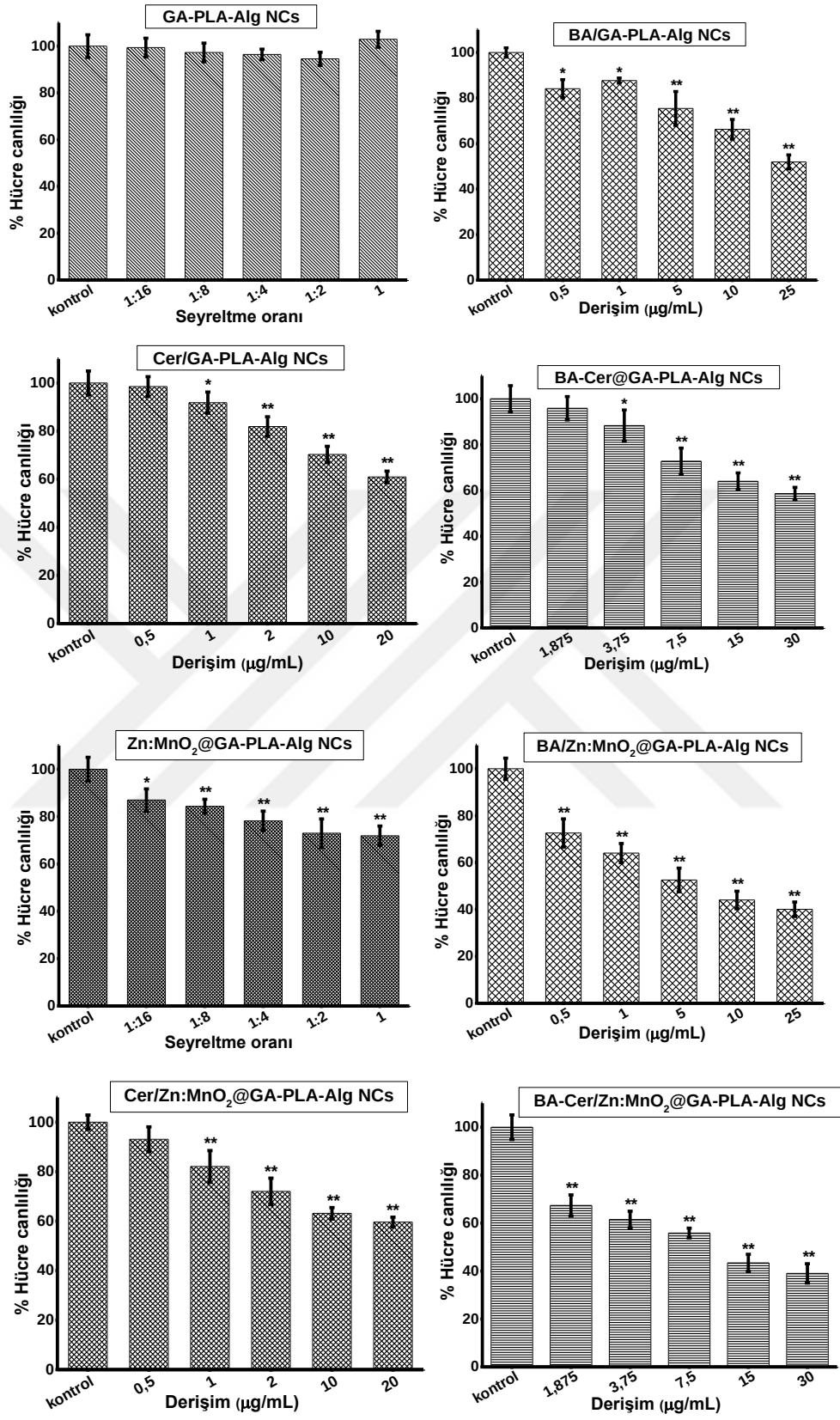


Şekil 4.22 : Serbest ilaçların HUVEC hücreleri üzerinde % hücre canlılığı.

*P0.05, **P0.01 olarak tanımlanmıştır.

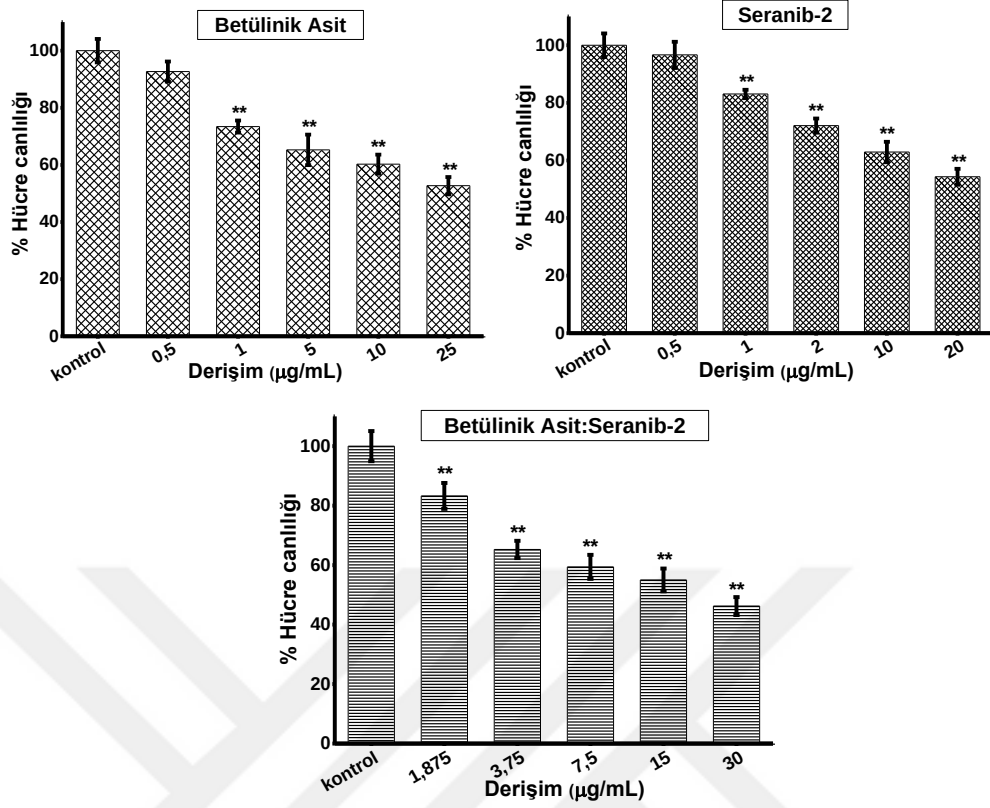
Nanoformülasyonların ve serbest ilaçlar (BA, Cer, ve BA-Cer (1:5 w:w)) için PC-3 prostat kanser hücreleri üzerindeki toksik etki MTT testi ile değerlendirilmiş ve sonuçlar sırasıyla Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'te gösterilmiştir. Sonuçlara göre; GA-PLA-Alg NCs neredeyse hiç toksisiteye sahip değilken ve Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs çok düşük toksisite göstermiştir. Bu durum, nanoformülasyonların ilaçların etkinliğinin tartışılmasına olanak sağlayan iyi bir nanotaşıyıcı özelliği sergilediğini kanıtlamaktadır. Deneysel verilere göre, BA/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs, BA-Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs ve serbest BA-Cer'in IC₅₀ değerleri sırasıyla 6.498, 7.351 ve 18.571 µg/mL olarak hesaplanmıştır. İlaç kombinasyonu için IC₅₀ değerleri BA derişimi esas alınarak ifade edilmiştir. BA/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs ve BA-Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs PC-3 kanser hücreleri üzerinde oldukça etkili antikanser aktiviteye sahip olduğu, bir başka deyişle nanotaşıyıcıya yüklenmiş ilacın, serbest ilaca oranla daha düşük dozlarda antikanser aktivite gösterdiği görülmüştür. İlaç kombinasyonlarının kullanılması ile antikanser etkinliğinin artabildiği bilinmektedir. Bu tez çalışmasındaki sonuçlar, ilaç kombinasyonuna bağlı IC₅₀

değerinin sinerjistik bir etkiye neden olabileceği ve ilaçların her birinin belirli bir hedefi veya sinyal yolunu etkileyerek her bir ajan için gerekli olan azaltılmış doz seviyeleri ile daha etkili ilaç başarısına yol açabileceği sonucunu desteklemektedir (Huang, Jiang and Chen, 2017; Duarte and Vale, 2022). Ayrıca, serbest BA'nın IC₅₀ değeri 25 µg/mL civarında iken BA yüklü Zn:MnO₂@GA-PLA-Aljinat NCs'e IC₅₀ değerinin yaklaşık 6 µg/mL bulunmuştur. Bir araştırmada, izole edilmiş betülinik asit, U937, HL60 ve K562 hücre hatlarında 12-15 mg/mL arasında IC₅₀ değerleri gösterdiği bildirilmiştir (Moghaddam, Ahmad and Samzadeh-kermani, 2012). Wang ve diğ. (2020), betülinik asit nanosüspansiyonlarının (BA/NS'ler) tanecik boyutunun, kombine kemoterapinin sitotoksitesi, farmakokinetiği ve biyolojik dağılımı üzerindeki etkilerini araştırmış ve farklı tanecik boyutlarına sahip (160 nm, 400 nm ve 700 nm) BA/NS'lerin Taxol® ile tümör inhibisyon oranlarının serbest BA'ya göre sırasıyla 2.35, 1.74 ve 1.12 kat arttığını göstermiştir (Wang *et al.*, 2020). Dolayısıyla literatür ile kıyaslandığında, bu tez çalışmasında BA/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs, serbest BA'dan 4.16 kat daha etkili bulunması dikkat çekici bir sonuçtur. Benzer şekilde; serbest BA-Cer'in in-vitro antikanser aktivitesi nanotaşıyıcıya yüklendikten sonra yaklaşık 3 kat artmıştır. Dahası, BA-Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs için hücre canlılığı %39 olduğu derişimde, serbest BA-Cer kombinasyonunun hücre canlılığı %46 bulunmuştur. Bu sonuçlar; nanotaşıyıcı sayesinde ilaç kombinasyonunun PC-3 kanser hücrelerine karşı sitotoksitenin arttırdığının açıkça kanıtıdır. Hem BA hem de BA-Cer yüklü Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs aynı derişimlerde, normal HUVEC hücreleri üzerinde yaklaşık %60 hücre canlılığını korumuştur. Tüm in-vitro sitotoksite sonuçları **Tablo 4.3**'te özetlenmiştir.



Şekil 4.23 : Nanoformülasyonların PC-3 prostat kanser hücreleri üzerinde % hücre canlılığı.

*P0.05, **P0.01 olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.24 : Serbest ilaçların PC-3 prostat kanser hücreleri üzerinde % hücre canlılığı.

*P0.05, **P0.01 olarak tanımlanmıştır.

4.3.3. DLS Analizi Sonuçları

Tablo 4.3 : Nanoformülasyonların DLS analizi ve MTT sonuçları.

Nanoformülasyon	Hidrodinamik çap (nm)	Zeta potansiyeli (eV)	PDI değerleri	Başlangıç ilaç miktarı (µg/mL)	HUVEC hücrelerine karşı IC ₅₀ (µg/mL)	PC-3 hücrelerine karşı IC ₅₀ (µg/mL)
GA-PLA-Alg NCs	920.2 ±161.2	-13.4 ±1.56	0.671±0.058	0	-	-
Cer/GA-PLA-Alg NCs	659.1±38.2	-31 ±0.603	0.682±0.066	20	-	-
BA/GA-PLA-AlgNCs	622.1±69.3	-18.8±2.61	0.586±0.031	25	-	-
BA-Cer/GA-PLA-Alg NCs	752.5±174.7	-30±3.92	0.602±0.079	30	-	-
Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs	972.3±56.9	-42.4±2.06	0.616±0.118	0	-	-
Cer/Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs	780.8±69.2	-41.8±3.96	0.635±0.068	20	-	-
BA/Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs	1133±53.2	-9.65±1.59	0.379±0.082	25	-	6.498
BA-Cer/Zn:MnO ₂ @GA-PLA-Alg NCs	757±13.1	-34±6.03	0.58±0.101	15	-	7.351
Free BA	-	-	-	25	-	-
Free Cer	-	-	-	10	-	-
Free BA-Cer	-	-	-	30	-	18.571

*Deneyler 3 kez tekrarlanmış (n=3) ve standart sapma ± SD olarak ifade edilmiştir.

Tablo 4.3'te nanoformülasyonlara ait hidrodinamik çaplar, PDI değerleri ve yüzey potansiyelleri gösterilmiştir. Sonuçlara göre, GA-PLA-Alg NCs için zeta potansiyeli -13.4 ± 1.56 ve PDI değeri 0.671 ± 0.058 bulunmuştur. Ancak, $\text{Zn:MnO}_2\text{@GA-PLA-Alg}$ NCs için PDI değeri 0.616 ± 0.118 olarak ölçülmüş ve zeta potansiyeli -42.4 ± 2.06 eV'ye yükselmiştir. Ayrıca BA'nın nanotaşıyıcıya yüklenmesi, nanotaşıyıcının dar boyut dağılımının sağladığı PDI değerini 0.379 ± 0.082 'ye düşürmüştür. Bu yapıya BA ilave edildikten sonra zeta potansiyeli -9.65 ± 1.59 mV olarak azalma göstermiştir. Nanoformülasyonların sahip olduğu negatif yüklü yüzeyler, PLA ve aljinatın karboksilik grubunun ve GA'nın -OH gruplarının varlığından kaynaklanabilir (D. Zhang *et al.*, 2021). Daha önce tartışıldığı gibi (bkz **Şekil 4.2**), nanoformülasyonlar herhangi bir makroskobik topaklanma olmaksızın sulu ortamda iyi bir kararlılık ve dağılım sergilemiştir. Bu sebeple, DLS sonuçlarındaki yüksek hidrodinamik çaplar aljinatın yüksek jelleşme kapasitesi ile ilişkilendirilmiştir (Doderio *et al.*, 2021). İlaç yüklü nanotaşıyıcıların in-vitro sitotoksik etkisinin; hücrelere kolay penetrasyon, morfoloji ve yüzey yükleri ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Özellikle, asiditeleri nedeniyle pozitif yüklü olan kanser mikroçevresi için, sulu ortamda negatif yüzey yüküne sahip olan yapılar daha iyi bir nanotaşıyıcı adayları olarak değerlendirilirler. Bunun sebebi, elektrostatik olarak yüksek afiniteleri ile daha az negatif veya pozitif yüzey yüküne sahip formülasyonlara göre daha yüksek hücre alımı ve zar geçirgenliğine sahip olmalarıdır (Babbar, Kohli and Bhandari, 2013; Honary and Zahir, 2013; Rebouças *et al.*, 2023). Sonuç olarak, bu tez çalışması kapsamında geliştirilen nanotaşıyıcılar, antikanser etkinin in-vitro olarak incelendiği sistemler için iyi bir adaydır.

5. TARTIŞMA

Nanoteknoloji, biyomedikal uygulamalar için hızla büyüyen çok disiplinli bir araştırma alanıdır. Biyo-nanoteknoloji olarak adlandırılan bu bilim dalı, üstün özellikli ve çok işlevli malzemelerin geliştirilmesine olanak sağlayarak; temel bilimlerden mühendislik, gıda, kozmetik ve tıp uygulamalarına kadar pek çok alan için çok ciddi bir potansiyel taşımaktadır. Dolayısıyla, biyo-nanoteknolojik yaklaşımlarla malzemelerin geliştirilmesi ve incelenmesi üzerine yapılan çalışmalar oldukça önemlidir.

Bu tez çalışmasında hem sensör hem de in-vitro antikanser aktiviteler incelenmek üzere çok işlevli nanokompozitler geliştirilmiştir (Tan *et al.*, 2023; Tan, Danışman-Kalındemirtaş and Karakuş, 2023). Bu amaçla ilk olarak; iyi tanecik dağılımı ve fizikokimyasal kararlılığa sahip hibrit nanokompozitler sentezlenmiş ve deneysel koşullar optimize edilmiştir. Geliştirilen ters emülsiyon destekli solvotermal yöntem ile tekli, ikili ve üçlü nanoksitlerin sentezi için kolay, ucuz ve tekrarlanabilirliği ve etkinliği yüksek bir yöntem sunulmuştur. NCs karakterizasyonunda ileri analiz yöntemleri kullanılarak; boyut, morfoloji ve kimyasal yapı aydınlatılmıştır. Bu sentez yöntemiyle hazırlanan MnO₂ esaslı nanokompozitlerin kolloidal ve kimyasal kararlılığının yüksekliği ve nano ölçeğinin 7-18 nm aralığında ve küresel morfolojide olması sayesinde literatürle kıyaslandığında gelişmiş sensör özellikleri göstermiştir. Özellikle Zn katkılanmış MnO₂ NCs'ler bu özelliklere ek olarak paramanyetik davranış sergileyerek MR görüntüleme uygulamalarında kullanım için iyi bir aday olduğunu göstermiştir. Ayrıca, Zn katkılanmış ile MnO₂ NCs'lerin farklı pH'larda ilaç salım profilleri ile kararlı ilaç taşıyıcı nanoformülasyonlar geliştirilmiştir.

Biyo-nanoteknolojinin en önemli konularından biri; hızlı tepki veren, taşınabilir ve ucuz sensör sistemlerinin tasarlanmasıdır. Bu sensör sistemleri ile gıda ve tıp gibi alanlarda, hassas ve seçici olarak biyomoleküllerin tespit edilmesi oldukça önemlidir. Bu sayede gıda içeriklerinin tespit edilerek ürün kalitesi kontrolleri yapılabilirken, aynı zamanda hastalıkların teşhis ve tedavisi için de önemli ilerlemeler sağlanabilmektedir. Sensör uygulamalarındaki en büyük zorluklar, karmaşık sistemlerde hedef analitin tespitinin zorlaşması ve düşük miktarların tespit edilememesidir. Bu nedenle, düşük tespit limitine sahip seçiciliği yüksek sensör sistemlerine olan ihtiyaç devam etmektedir. Bu tez çalışmasının ilk aşamasında, geliştirilen MnO₂ NCs,

Zn:MnO₂ NCs ve Ag:Zn:MnO₂ NCs esaslı sensör sistemlerinin önemli biyomoleküllere karşı sensör yanıtları tartışılmıştır. Bu amaçla; fenolik bileşikler, karbonhidrat yapılar, hormonlar ve protein yapılarını içeren 31 biyo-analit için kolorimetrik ve elektrokimyasal tepkiler karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir. Sonuçlara göre, geliştirilen NCs esaslı sensörler; askorbik asit, dopamin, gallik asit ve tannik aside karşı yüksek duyarlılık ve düşük tespit değerlerine sahip sensör davranışı sergilemiştir. Kolloidal NCs esaslı sensör sistemlerinin askorbik aside karşı kolorimetrik davranışları akıllı telefon destekli RGB analizi ile aydınlatılmış; MnO₂ NCs, Zn:MnO₂ NCs ve Ag:Zn:MnO₂ NCs için LOD değerleri sırasıyla 149.37 μ M, 10.67 μ M ve 87.12 μ M bulunmuştur. Diğerleriyle karşılaştırıldığında, Zn:MnO₂ NCs daha küçük boyutu ve iyi tanecik dağılımı sayesinde daha iyi kolorimetrik algılama davranışı sergilediği sonucuna varılmıştır. Diğer hedef analitler dopamin, gallik asit ve tannik asidin farklı derişimlerinin kolloidal NCs'ler ile etkileşimi sonrasındaki renk yoğunluklarında belirgin bir değişimin olmaması sonucu RGB analizi ile LOD hesabı yapılmasının önüne geçmiştir. Bu amaçla NCs kaplı kağıt sensör sistemleri tasarlanarak düzenli değişen renk yoğunluklarının gözlemlendiği sensör dizileri oluşturulmuştur. Sonuçlara göre; Zn:MnO₂ NCs kaplı kağıt biyosensörlerin dopamin, gallik asit ve tannik aside karşı tespit limiti (LOD) değerleri sırasıyla 2.89, 3.88 ve 7.81 μ M bulunmuştur. Ayrıca MnO₂ NCs kaplı kağıt sensör sistemi, 0.95 μ M'lık LOD değeri ile dopamine karşı en yüksek duyarlılığı göstermiştir. Bunun nedeni elektrokimyasal olarak erişilebilirliğin kolaylaşması ve Mn⁴⁺'ün dopamin oksidasyonunda daha aktif rol alabilmesiyle ilişkilendirilebilir.

Daha sonra, Zn ve Ag ilavesi ile MnO₂ NCs bazlı sensörün askorbik aside karşı enzimatik olmayan elektrokimyasal davranışı incelenmiştir. Zn:MnO₂ NCs, 0.52 mM-11.35 mM konsantrasyon aralığı, hızlı yanıt süresi (1 dakika), düşük tespit limiti ve 239 nM ve 44.73 μ A/cm² mM yüksek hassasiyet ile askorbik aside karşı mükemmel biyo-algılama performansı sergilemiştir. Bunun nedeni, elektrokimyasal olarak aktif bir yüzeye ulaşmayı sağlayan küçük tanecik boyu ve homojen dağılımı ile ilişkilendirilmiştir. Tez çalışmasının bu kısmına ait en önemli sonuç; gerçek gıda ve kan numuneleri için askorbik asit, dopamin, gallik asit ve tannik aside karşı kolay uygulanabilir ve hızlı sensör sistemlerinin geliştirilmesine yönelik bir yaklaşım önerilmiş olmasıdır.

Yeni nesil biyo-nanokompozit esaslı ilaç taşıma sistemlerinin geliştirilmesiyle, ilaçların terapötik etkinlikleri, geçirgenlik, biyouyumluluk ve biyoyararlanım özellikleri iyileşmektedir. Ayrıca, ilaç yüklü nanotaşıyıcıların, manyetik/optik nanotaneciklerle birlikte tasarlanması ile

MR/floresans görüntüleme sağlanırken, optik ve manyetik uyarılarla kontrollü ilaç salınımı gerçekleştirilebilmekte ve ilaçlar hedef bölgeye yönlendirilebilmektedir. Bu sayede, kanser tedavilerinde biyogüvenli nanotaşıyıcılar ile doza bağlı etki iyileşirken, cerrahi işlemler öncesi ve sonrası tümör gelişimi kontrol edilebilmektedir. Kanser tedavilerindeki en önemli zorluklar; geleneksel ve doğal terapötik ajanların çoğunun suda çok düşük çözünürlüğe sahip olmasıdır. Bu durum biyolojik sistemlerde biyoyararlanımlarının düşmesine ve etkinliklerinin azalmasına sebep olmaktadır. Mevcut dezavantajların önüne geçilmesi için nanotaşıyıcılar geliştirilmesi önemlidir. Bu amaçla, bu tez çalışmasının ikinci aşamasında; daha düşük dozajda, hedefe yönelik ve etkin bir yapı geliştirilmesi amacıyla, yeni nanoformülasyonlar tasarlanmış ve HUVEC ve PC-3 prostat kanser hücrelerine karşı in-vitro antikanser aktiviteleri MTT testi kullanılarak incelenmiştir. GA-PLA-Alg içeren polimerik nanotaşıyıcılar; Zn:MnO₂ NCs ve ilaçlar (BA, Cer ve BA-Cer kombinasyonu) kullanılarak yeni nanoformülasyonlar olarak geliştirilmiştir. Analiz elektron mikroskobu sonuçlarına göre Zn:MnO₂ NCs için Zn,Mn ve O elementel dağılımı oldukça iyidir ve nanokompozit 2.03 ± 0.67 nm çapında monodispers küresel şekle sahiptir. Bu bulgular, Zn ilavesinin; hidrofobik doğası nedeniyle biyomedikal uygulamalarda sınırlı kullanımı olan MnO₂ nanotaneceklerinin amfifilik özellik kazandırılarak sulu ortamdaki boyut ve dağılımını iyileştirdiğini kanıtlamaktadır. Ek olarak VSM analizi sonuçlarına göre nanokompozit, Ms değeri 1.136 emu/g olan paramanyetik davranış göstermiştir. Zn:MnO₂ NCs içeren nanoformülasyon, antikanser mekanizmanın ayrıntılı olarak incelenmesine olanak sağlayacak manyetik özellikleriyle MR görüntüleme uygulamalarında kullanılmak üzere iyi bir kontrast ajan adaydır.

Tez çalışması kapsamında geliştirilen nanoformülasyonların in-vitro antikanser etkinlikleri; ilaç salınım, yüzey yükü, hidrodinamik çap ve boyut özelliklerine bağlı olarak değerlendirilmiştir. DLS analiz sonuçlarına göre, tüm nanoformülasyonların, kanser mikroçevresinde etkili bir sitotoksik etki sağlayan negatif yüzey yüküne sahip olduğu bulunmuştur. Nanotaşıyıcı olarak; GA-PLA-Alg NCs ve Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs ait PDI değerleri sırasıyla $0,671 \pm 0,058$ ve $0,616 \pm 0,118$ bulunmuştur. Ek olarak Zn:MnO₂ NCs eklenmesi, GA-PLA-Alg NCs ait zeta potansiyelini $-13,4 \pm 1,56$ 'dan $-42,4 \pm 2,06$ eV'ye yükseltmiştir. Ayrıca, BA'nın nanotaşıyıcıya eklenmesi ile PDI değeri 0.379 ± 0.082 'ye, zeta potansiyeli ise -9.65 ± 1.59 mV'ye düşmüştür. Özellikle dar tanecik dağılımının bir kanıtı olan düşük PDI değerleri açısından bu azalma önemlidir. Bu sonuçlar, in-vitro antikanser çalışmaları için nanotaşıyıcıların uygunluğunu göstermektedir.

Son yıllarda yapılan araştırmalara göre; BA genellikle mitokondriyal oksidatif stresle ilişkili ve protein transkripsiyonunu düzenleyerek hücreleri inhibe edici özellikler göstermektedir (Saneja *et al.*, 2018; Jiang *et al.*, 2021; Xiu *et al.*, 2023). Ek olarak, kanser tedavisindeki en önemli sorunlardan biri tedavi süresinde veya sonrasında oluşabilecek ilaç direncinin üstesinden gelebilmektedir (Chintharlapalli *et al.*, 2007). Ancak, prostat kanserinde hücre çeperlerinde biriken asit seramidaz (ACs), hücreleri apoptoza karşı dirençli hale getirmektedir. Bu sebeple özellikle prostat kanseri tedavisinde ACs içeren kombinasyon terapilerin geliştirilmesinin önemi ortaya çıkmıştır. Bilindiği üzere Cer, bir asit seramidaz inhibitörüdür ve hücrelerin spingolipit mekanizmalarından sorumludur. Bu tez çalışmasında, etkin antikanser ajanları yüklenmiş nanoformülasyonların geliştirilmesi hedeflenmiştir. Sonuç olarak; ilaçların tekli ve ikili kombinasyonlarının biyolojik ortamlardaki düşük çözünürlüklerinin arttırılarak biyoyararlanımları geliştirilmiş ve prostat kanser hücreleri üzerinde ilaç etkinliği iyileştirilmiştir (Voelkel-Johnson, Norris and White-Gilbertson, 2018).

Bu amaçla, nanoformülasyonların PC-3 prostat kanseri ve HUVEC normal hücrelerine karşı toksik etkileri MTT testi ile aydınlatılmış ve sonuçlar karşılaştırmalı olarak kıyaslanmıştır. Sonuçlara göre, NCs, ilaç yüklü NCs ve serbest ilaçlar HUVEC hücrelerine karşı önemli bir toksisite göstermemiştir. Özellikle, nanotaşıyıcı olarak tasarlanan GA-PLA-Alg NCs ve Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs için HUVEC normal insan hücrelerine toksik etki göstermemeleri oldukça önemli bir sonuçtur. Dahası, BA/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs, BA-Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs ve serbest BA-Cer'in PC-3 prostat kanseri hücreleri için IC₅₀ değerleri sırasıyla 6.498, 7.351 ve 18.571 µg/mL bulunmuştur. Açıkça görüldüğü gibi nanoformüle edilmiş BA-Cer, serbest BA-Cer 'e göre PC-3 prostat kanseri hücrelerine karşı yaklaşık 3 kat daha etkili olduğu bulunmuştur. IC₅₀ sonuçları değerlendirildiğinde; ilaç kombinasyonunun sinerjistik bir etkiye sahip olabileceği ve ilaçların her birinin belirli bir hedefi veya sinyal yolunu etkileyerek gerekli doz seviyelerinin azalmasına neden olabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak, bu kombinasyon yüksek dozda ilaç kullanımının azalmasını ve in-vitro antikanser etkinliğin iyileşmesini sağlamıştır. Bu noktada; serbest BA'nın IC₅₀ değeri yaklaşık 25 µg/mL iken, BA yüklü Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs için IC₅₀ değerinin yaklaşık 6 µg/mL olması dikkat çekicidir. Başka bir deyişle, bu sonuç nanoformüle edilmiş ilacın 4.16 kat daha etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, serbest BA-Cer kombinasyonu için hücre canlılığı %46 iken, BA-Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs için hücre canlılığı %39'a düşmesi, aynı derişimler için BA-Cer/Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs'in PC-3 kanser hücreleri

üzerindeki sitotoksiteyi arttırdığını göstermektedir. Hem serbest BA hem de BA-Cer yüklü Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs için aynı derişimlerde normal HUVEC hücreleri yaklaşık % 60'ın üzerinde canlılığını korumuştur. Bununla birlikte hem Cer hem de BA yüklü GA-PLA-Alg NCs, serbest Cer ve serbest BA için toksisite açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Nanoformülasyonlardan ilaç salım çalışmaları sonuçlarına göre, polimer esaslı nanotaşıyıcıya Zn:MnO₂ NCs eklenmesi, %kümülatif Cer salınımı pH 5.5 için %50.2'den (192 saat) %100'e (47 saat) artırmıştır. Dolayısıyla; TEM görüntülerinde açıkça tartışıldığı gibi Zn:MnO₂ NCs varlığında nanoölçekte boyut ve dağılımın iyileşmesinin yanı sıra ilaç salım özellikleri de iyileşmiştir. İlaç salımdaki iyileşmeler; düzgün boyut, yüzey yükü elektrostatik itme etkisi nedeniyle olabilir. Özellikle kanser mikroçevresinin taklit edildiği pH 5.5 ortamında; nanoformülsayondan Cer salımı 47 saatte tamamlanırken betülinik asit varlığında bu süre 3 saate düşmüştür. İn-vitro sitotoksiste testinde 48 saat sonunda hücre canlılığının analiz edildiği göz önünde bulundurulduğunda; salımın daha kısa sürede tamamlanmasının hücre canlılığı üzerinde etkili olduğu sonucuna varılabilir.

Sonuç olarak; Zn:MnO₂@GA-PLA-Alg NCs'in yüksek biyogüvenilirlikte ve hidrofobik ilaçların biyoyararlanımını iyileştirerek biyolojik ortamlarda kullanımına olanak sağlayan iyi bir nanotaşıyıcı olduğu ispatlanmıştır. Ayrıca, geliştirilen yeni BA-Cer ilaç kombinasyonunu için ilk kez prostat kanseri hücre hatlarına karşı in-vitro antikanser özelliği ispatlanmıştır. Literatürde bu ikili ilaç kombinasyonunu içeren nanoformülasyonların geliştirilmediği tespit edilmiştir. Bu sebeple diğer kanser hücreleri için de in-vitro antikanser aktivitelerin incelenmesi önerilmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, yeni nesil metal oksit esaslı nanokompozitler geliştirilmiş ve bu nanokompozitlerin çok işlevli özellikleri; biyosensör tasarımı ve kanser teşhis/tedavisinde kullanılmak üzere nanotaşıyıcı geliştirilmesi alanları için tartışılmıştır. İleri analiz yöntemleri ile aydınlatılan sonuçlar ile; geliştirilen nanomalzemelerin biyomedikal uygulamalar için çok işlevli kullanım potansiyeli ispatlanmıştır.

Tez çalışması kapsamında metal/metal oksit nanotanecekleri için küçük tanecik boyutu ve tek boyutlu dağılım sağlayan bir yöntem sunulmuştur. Sentezlenen nanooksitler ister ikili ister üçlü sistemler halinde başarı ile nanokompozit haline getirilmiştir. Sonuçlara göre; tez çalışmasında sunulan yönteminin farklı bileşimlerde ikili ve üçlü oksit nanokompozitlerin sentezinde başarılı olacağı düşünülmektedir. Bu sayede nanooksit bileşiminin manipüle edilmesi ve çok işlevli nanokompozit sistemlerin geliştirilmesi mümkün olacaktır. Kolloidal kararlılığı yüksek nanooksit kompozit sistemleri, küçük boyutları (<20 nm) ve başarılı kompozisyonları ile seçici, hızlı ve duyarlılığı yüksek sensör sistemlerinin geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Sensör deneysel verileri incelendiğinde; özellikle Zn:MnO₂ NCs'in hem kolorimetrik hem de enzimatik olmayan elektrokimyasal sensör olarak öne çıkması, nanoboyutta iyi dağılım ve morfolojinin bir sonucudur. Ayrıca, fenolik bileşikler, karbonhidratlar, hormonlar ve protein yapıları içeren 31 biyo-analit arasında, askorbik asit, gallik asit, tanik asit ve dopamine karşı duyarlı sensör davranışları gösteren bu nanokompozitlerin; gerçek gıda ve kan numuneleri ve özellikle yeni bir taşınabilir hasta başı tespit sistemi olarak etkin potansiyele sahip olduğu ispatlanmıştır. Bu tez çalışmasının ikinci aşamasında; Zn:MnO₂ nanokompozitlerinin biyolojik moleküllerle etkileşimi, gallik asit, polilaktik asit ve aljinat içeren üçlü sistem kullanılarak iyileştirilmiştir. Geliştirilen bu nanotaşıyıcı sistemler, yüksek hidrofobik özelliğe sahip terapötik maddelerin yanı sıra, biyo görüntülemeye kullanılabilecek inorganik katkı maddeleri için de elverişli bir matris sistemidir. Özellikle çift modlu görüntüleme sistemlerinin geliştirilmesinde, lüminesan ve manyetik özelliklerin ikili kombinasyonu oldukça dikkat çekicidir. Tez çalışmasında kullanılan Mn ve Zn esaslı nanooksitlerin manyetik özelliği ve kabul edilebilir toksisiteyi, geliştirilen bu nanokompoziti içeren nanoformülasyonların iyi bir tıbbi görüntüleme ajanı olarak kullanılabileceğini ispatlamıştır. Biyolojik sonuçlara göre,

kanser hücrelerine karşı seçici in-vitro sitotoksosite gösteren ilaç yüklü nanotaşıyıcıların, yeni formülasyonların tasarlanmasında ve ilaçların biyoyararlanımının geliştirilmesinde uygun olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca BA-Cer'in in-vitro antikanser etkisi üzerine sunulan ilk çalışma olması sebebiyle, gelecekte bu ilaç kombinasyonunun prostat kanseri tedavisinde hayvan ve insan denemeleri yapılarak detaylı araştırmalar sonucu ile umut vadeditici bir ajan olabileceği düşünülmektedir.



7. KAYNAKLAR

- Abbas, M. *et al.* (2021) 'Nanotechnology for cancer drug design, delivery, and theranostics applications', *Biogenic Nanoparticles for Cancer Theranostics*, pp. 1–26. doi: 10.1016/B978-0-12-821467-1.00004-5.
- Abouelmagd, S. A. *et al.* (2015) 'Release Kinetics Study of Poorly Water-Soluble Drugs from Nanoparticles: Are We Doing It Right?' doi: 10.1021/mp500817h.
- Aguirre, M. Á. *et al.* (2019) 'Point-of-use detection of ascorbic acid using a spectrometric smartphone-based system', *Food Chemistry*, 272, pp. 141–147. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2018.08.002.
- Aleksandra Zielińska 1, 2 *et al.* (2020) 'Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology', *Molecules*, 25, p. 3731.
- Ali, S. *et al.* (2021) 'Noble Metals Based Bimetallic and Trimetallic Nanoparticles: Controlled Synthesis, Antimicrobial and Anticancer Applications', *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 51(5), pp. 454–481. doi: 10.1080/10408347.2020.1743964.
- Alinavaz, S. *et al.* (2021) 'Hydroxyapatite (HA)-based hybrid bionanocomposite hydrogels: Ciprofloxacin delivery, release kinetics and antibacterial activity', *Journal of Molecular Structure*, 1225, p. 129095. doi: 10.1016/J.MOLSTRUC.2020.129095.
- Alizadeh-Sani, M. *et al.* (2020) 'Preparation and characterization of functional sodium caseinate/guar gum/TiO₂/cumin essential oil composite film', *International Journal of Biological Macromolecules*, 145, pp. 835–844. doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2019.11.004.
- Anantha, M. S. *et al.* (2021) 'ZnO@MnO₂ nanocomposite modified carbon paste electrode for electrochemical detection of dopamine', *Sensors International*, 2, p. 100087. doi: 10.1016/J.SINTL.2021.100087.
- Armășelu, A. and Jangid, M. (2023) *Application of quantum dots in light-emitting diodes, Quantum Dots*. doi: 10.1016/b978-0-12-824153-0.00010-0.
- Ashokkumar, K. *et al.* (2022) 'Synthesis and characterization of Zn doped manganese dioxide nanoparticles for supercapacitor application', *Materials Today: Proceedings*, 62, pp. 425–428. doi: 10.1016/J.MATPR.2022.03.516.
- Ashrafizadeh, M. *et al.* (2022) 'Nanotechnological Approaches in Prostate Cancer Therapy: Integration of engineering and biology', *Nano Today*, 45, p. 101532. doi: 10.1016/J.NANTOD.2022.101532.
- Aslam, H. *et al.* (2021) 'Multifunctional Magnetic Nanomedicine Drug Delivery and Imaging-Based Diagnostic Systems', *Particle and Particle Systems Characterization*, 38(12), pp. 1–16. doi: 10.1002/ppsc.202100179.
- Babadi, D. *et al.* (2021) 'Biopharmaceutical and pharmacokinetic aspects of nanocarrier-mediated oral delivery of poorly soluble drugs', *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 62(December 2020), p. 102324. doi: 10.1016/j.jddst.2021.102324.

- Babbar, M., Kohli, K. and Bhandari, A. (2013) 'In-vitro dissolution study and shelf life calculation of developed sol-to-gel ocular drug delivery system of brimonidine for conjunctivitis during accelerated stability study', *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(4), pp. 139–142. doi: 10.7324/JAPS.2013.3425.
- Bardajee, G. R. *et al.* (2021) 'Synthesis of magnetic multi walled carbon nanotubes hydrogel nanocomposite based on poly (acrylic acid) grafted onto salep and its application in the drug delivery of tetracycline hydrochloride', *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 616, p. 126350. doi: 10.1016/J.COLSURFA.2021.126350.
- Battaller, M. *et al.* (2021) 'The Role of Sphingolipids Metabolism in Cancer Drug Resistance', *Frontiers in Oncology*, 11(December), pp. 1–13. doi: 10.3389/fonc.2021.807636.
- Burlacu, E., Tanase, C. and Olaru, T. (2021) 'plants Anticancer Potential of Natural Bark Products-A Review'. doi: 10.3390/plants10091895.
- Buyuksungur, S. *et al.* (2022) 'In vitro cytotoxicity, corrosion and antibacterial efficiencies of Zn doped hydroxyapatite coated Ti based implant materials', *Ceramics International*. doi: 10.1016/J.CERAMINT.2022.12.119.
- Calamak, S. and Ermis, M. (no date) 'In situ silver nanoparticle synthesis on 3D-printed polylactic acid scaffolds for biomedical applications'. doi: 10.1557/s43578-020-00064-7.
- Cao, L. *et al.* (2021) 'Fabrication of self-healing nanocomposite hydrogels with the cellulose nanocrystals-based Janus hybrid nanomaterials', *International Journal of Biological Macromolecules*, 184, pp. 259–270. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.06.053.
- Capanema, N. S. V. *et al.* (2018) 'Superabsorbent crosslinked carboxymethyl cellulose-PEG hydrogels for potential wound dressing applications', *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, pp. 1218–1234. doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2017.08.124.
- Carrion, C. C. *et al.* (2021) 'Lignin, lipid, protein, hyaluronic acid, starch, cellulose, gum, pectin, alginate and chitosan-based nanomaterials for cancer nanotherapy: Challenges and opportunities', *International Journal of Biological Macromolecules*, 178, pp. 193–228. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.02.123.
- Chen, J. *et al.* (2021) 'Self-assembled dual-emissive nanoprobe with metal–organic frameworks as scaffolds for enhanced ascorbic acid and ascorbate oxidase sensing', *Sensors and Actuators B: Chemical*, 339, p. 129910. doi: 10.1016/J.SNB.2021.129910.
- Chen, X. *et al.* (2018) 'Multifunctional nanospheres embedded with quantum dots and magnetic nanoparticles for theranostic of prostatic cancer', *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 14(5), p. 1811. doi: 10.1016/J.NANO.2017.11.199.
- Chen, Y. *et al.* (2012) 'Structure-property relationships in manganese oxide - mesoporous silica nanoparticles used for T1-weighted MRI and simultaneous anti-cancer drug delivery', *Biomaterials*, 33(7), pp. 2388–2398. doi: 10.1016/J.BIOMATERIALS.2011.11.086.
- Cheng, Liang *et al.* (2019) '902333 (1 of 23) 2D Nanomaterials for Cancer Theranostic Applications'. doi: 10.1002/adma.201902333.

- Chikere, C. O. *et al.* (2021) 'Electroanalytical determination of gallic acid in red and white wine samples using cobalt oxide nanoparticles-modified carbon-paste electrodes', *Microchemical Journal*, 160, p. 105668. doi: 10.1016/J.MICROC.2020.105668.
- Chintharlapalli, S. *et al.* (2007) 'Betulinic acid inhibits prostate cancer growth through inhibition of specificity protein transcription factors', *Cancer Research*, 67(6), pp. 2816–2823. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3735.
- Choi, C. K. *et al.* (2021) 'Smartphone-assisted point-of-care colorimetric biosensor for the detection of urea via pH-mediated AgNPs growth', *Analytica Chimica Acta*, 1170, p. 338630. doi: 10.1016/J.ACA.2021.338630.
- Choudhary, M. *et al.* (2021) 'Scar free healing of full thickness diabetic wounds: A unique combination of silver nanoparticles as antimicrobial agent, calcium alginate nanoparticles as hemostatic agent, fresh blood as nutrient/growth factor supplier and chitosan as base matrix', *International Journal of Biological Macromolecules*, 178, pp. 41–52. doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2021.02.133.
- Craciun, A.-M. *et al.* (2019) 'Theoretical Modeling of Long-Time Drug Release from Nitrosalicyl-Imine-Chitosan Hydrogels through Multifractal Logistic Type Laws'. doi: 10.1155/2019/4091464.
- Cui, M., Zhang, M. and Liu, K. (2021) 'Colon-targeted drug delivery of polysaccharide-based nanocarriers for synergistic treatment of inflammatory bowel disease: A review', *Carbohydrate Polymers*, 272, p. 118530. doi: 10.1016/J.CARBPOL.2021.118530.
- Dhas, N. *et al.* (2022) 'Organic quantum dots: An ultrasmall nanoplatform for cancer theranostics', *Journal of Controlled Release*, 348, pp. 798–824. doi: 10.1016/J.JCONREL.2022.06.033.
- Ding, R. *et al.* (2021) 'Recent advances in quantum dots-based biosensors for antibiotic detection', *Journal of Pharmaceutical Analysis*. doi: 10.1016/J.JPHA.2021.08.002.
- Dodero, A. *et al.* (2021) 'An Up-to-Date Review on Alginate Nanoparticles and Nanofibers for Biomedical and Pharmaceutical Applications'. doi: 10.1002/admi.202100809.
- Du, J. *et al.* (2012) 'Influence of MnO₂ on the sintering behavior and magnetic properties of NiFe₂O₄ ferrite ceramics', *Journal of Alloys and Compounds*, 510(1), pp. 87–91. doi: 10.1016/J.JALLCOM.2011.08.087.
- Duarte, D. and Vale, N. (2022) 'Evaluation of synergism in drug combinations and reference models for future orientations in oncology', *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*, 3(April), p. 100110. doi: 10.1016/j.crphar.2022.100110.
- Dubinina, M. V. *et al.* (2021) 'Mitochondria-targeted prooxidant effects of betulinic acid conjugated with delocalized lipophilic cation F16', *Free Radical Biology and Medicine*, 168, pp. 55–69. doi: 10.1016/J.FREERADBIOMED.2021.03.036.
- Dutta, D. *et al.* (2019) 'Nanoencapsulated betulinic acid analogue distinctively improves colorectal carcinoma in vitro and in vivo', *Scientific Reports*, 9(1), pp. 1–20. doi: 10.1038/s41598-019-47743-y.

Esmaeili, S. *et al.* (2022) 'ZnO Q-Dots-Induced Apoptosis Was Coupled with the Induction of PPAR γ in Acute Promyelocytic Leukemia Cells; Proposing a Novel Application of Nanoparticles in Combination with Pioglitazone', *Journal of Cluster Science*, 33(2), pp. 579–591. doi: 10.1007/s10876-021-01992-y.

Fan, Y. *et al.* (2021) 'Digital image colorimetry on smartphone for chemical analysis: A review', *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation*, 171, p. 108829. doi: 10.1016/j.measurement.2020.108829.

Feng, J. *et al.* (2021) 'In-situ growth of Cu@CuFe Prussian blue based core-shell nanowires for non-enzymatic electrochemical determination of ascorbic acid with high sensitivity and reusability', *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 900, p. 115718. doi: 10.1016/J.JELECHEM.2021.115718.

Fiejdasz, S. *et al.* (2021) 'materials Magnetic Properties of Collagen-Chitosan Hybrid Materials with Immobilized Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs)'. doi: 10.3390/ma14247652.

Gao, D. *et al.* (2021) 'On-line SERS detection of adenine in DNA based on the optofluidic in-fiber integrated GO/PDDA/Ag NPs', *Sensors and Actuators B: Chemical*, 332, p. 129517. doi: 10.1016/J.SNB.2021.129517.

Ghosh, S. *et al.* (2022) 'Target delivery of photo-triggered nanocarrier for externally activated chemo-photodynamic therapy of prostate cancer', *Materials Today Chemistry*, 23, p. 100688. doi: 10.1016/J.MTCHEM.2021.100688.

Gomes Souza, L. *et al.* (2023) 'Pre-clinical safety of topically administered sunitinib-loaded lipid and polymeric nanocarriers targeting corneal neovascularization', *International Journal of Pharmaceutics*, p. 122682. doi: 10.1016/J.IJPHARM.2023.122682.

Gonçalves, A., Estevinho, B. N. and Rocha, F. (2022) 'Microencapsulation of retinoic acid by atomization into biopolymeric matrices: Binary and ternary blends of alginic acid sodium, xanthan gum and modified chitosan', *Food Hydrocolloids*, 124, p. 107310. doi: 10.1016/J.FOODHYD.2021.107310.

Govindarajah, N. *et al.* (2019) 'Sphingolipids and acid ceramidase as therapeutic targets in cancer therapy', *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 138, pp. 104–111. doi: 10.1016/J.CRITREVONC.2019.03.018.

Gupta, S., Sharma, A. and Verma, R. S. (2020) 'Polymers in biosensor devices for cardiovascular applications', *Current Opinion in Biomedical Engineering*, 13, pp. 69–75. doi: 10.1016/J.COBME.2019.10.002.

Hans, M. L. and Lowman, A. M. (2002) 'Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting', *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. doi: 10.1016/S1359-0286(02)00117-1.

Harishkumar, R. *et al.* (2021) 'Self-assembled nanocarriers as biotechnology approach to antivenom immunotherapy', *Applications of Nanobiotechnology for Neglected Tropical Diseases*, pp. 445–475. doi: 10.1016/B978-0-12-821100-7.00009-1.

- He, C. *et al.* (2022) 'Realizing a redox-robust Ag/MnO₂ catalyst for efficient wet catalytic ozonation of S-VOCs: Promotional role of Ag(0)/Ag(I)-Mn based redox shuttle', *Applied Catalysis B: Environmental*, 303, p. 120881. doi: 10.1016/J.APCATB.2021.120881.
- He, Q. *et al.* (2019) 'A promising sensing platform toward dopamine using MnO₂ nanowires/electro-reduced graphene oxide composites', *Electrochimica Acta*, 296, pp. 683–692. doi: 10.1016/j.electacta.2018.11.096.
- Hingorani, D. V. *et al.* (2016) 'A single diamagnetic catalyCEST MRI contrast agent that detects cathepsin B enzyme activity by using a ratio of two CEST signals', *Contrast Media and Molecular Imaging*, 11(2), pp. 130–138. doi: 10.1002/cmml.1672.
- Hojjati-Najafabadi, A. *et al.* (2021) 'Antibacterial and photocatalytic behaviour of green synthesis of Zn_{0.95}Ag_{0.05}O nanoparticles using herbal medicine extract', *Ceramics International*, 47(22), pp. 31617–31624. doi: 10.1016/J.CERAMINT.2021.08.042.
- Honary, S. and Zahir, F. (2013) 'Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems - A review (Part 1)', *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(2), pp. 255–264. doi: 10.4314/tjpr.v12i2.19.
- Honmane, S. M. *et al.* (2022) 'Polydopamine surface-modified nanocarriers for improved anticancer activity: Current progress and future prospects', *OpenNano*, 7, p. 100059. doi: 10.1016/j.onano.2022.100059.
- Huang, L., Jiang, Y. and Chen, Y. (2017) 'Predicting Drug Combination Index and Simulating the Network-Regulation Dynamics by Mathematical Modeling of Drug-Targeted EGFR-ERK Signaling Pathway', *Scientific Reports*, 7(January), pp. 1–9. doi: 10.1038/srep40752.
- Huda, S., Alam, M. A. and Sharma, P. K. (2020) 'Smart nanocarriers-based drug delivery for cancer therapy: An innovative and developing strategy', *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 60, p. 102018. doi: 10.1016/J.JDDST.2020.102018.
- Hussain, K. *et al.* (2021) 'Synthesis of pH responsive, photocrosslinked gelatin-based hydrogel system for control release of ceftriaxone', *Chemistry and Physics of Lipids*, 238, p. 105101. doi: 10.1016/J.CHEMPHYSLIP.2021.105101.
- Iga, A. M. *et al.* (2007) 'Clinical Potential of Quantum Dots', *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 76087. doi: 10.1155/2007/76087.
- Iqbal, D. N. *et al.* (2020) 'Novel chitosan/guar gum/PVA hydrogel: Preparation, characterization and antimicrobial activity evaluation', *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, pp. 499–509. doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2020.07.139.
- Jiang, W. *et al.* (2021) 'Betulinic acid in the treatment of tumour diseases: Application and research progress', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 142, p. 111990. doi: 10.1016/J.BIOPHA.2021.111990.
- Jin, L. *et al.* (2019) 'Hydrotalcite-gated hollow mesoporous silica delivery system for controlled drug release', *Microporous and Mesoporous Materials*, 274, pp. 304–312. doi: 10.1016/J.MICROMESO.2018.09.001.

- Kalubowilage, M., Janik, K. and Bossmann, S. H. (2019) 'Magnetic nanomaterials for magnetically-aided drug delivery and hyperthermia', *Applied Sciences (Switzerland)*, 9(14). doi: 10.3390/app9142927.
- Kamel, R. *et al.* (2022) 'Phyto-emulsomes as a novel nano-carrier for morine hydrate to combat leukemia: In vitro and pharmacokinetic study', *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 75, p. 103700. doi: 10.1016/J.JDDST.2022.103700.
- Kanikireddy, V. *et al.* (2020) 'Biosynthesis of CMC-Guar gum-Ag₀ nanocomposites for inactivation of food pathogenic microbes and its effect on the shelf life of strawberries', *Carbohydrate Polymers*, 236, p. 116053. doi: 10.1016/J.CARBPOL.2020.116053.
- Kannan, K. *et al.* (2020) 'Nanostructured metal oxides and its hybrids for photocatalytic and biomedical applications', *Advances in Colloid and Interface Science*, 281, p. 102178. doi: 10.1016/J.CIS.2020.102178.
- Kapoor, A. and Kaur Rajput, J. (2022) 'Open chain conjugated azomethine derived optical biosensor for selective and ultrasensitive colorimetric detection of biomarker glutathione in human blood serum', *Dyes and Pigments*, 203, p. 110336. doi: 10.1016/J.DYEPIG.2022.110336.
- Kayal, S. and Ramanujan, R. V. (2010) 'Doxorubicin loaded PVA coated iron oxide nanoparticles for targeted drug delivery', *Materials Science and Engineering C*, 30(3), pp. 484–490. doi: 10.1016/j.msec.2010.01.006.
- Kour, P. *et al.* (2022) 'Effect of nanoemulsion-loaded hybrid biopolymeric hydrogel beads on the release kinetics, antioxidant potential and antibacterial activity of encapsulated curcumin', *Food Chemistry*, 376, p. 131925. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2021.131925.
- Kumar, A. *et al.* (2022) 'Bioinspired quantum dots for cancer therapy: A mini-review', *Materials Letters*, 313, p. 131742. doi: 10.1016/J.MATLET.2022.131742.
- Kumar, K. S. and Ramakrishnappa, T. (2021) 'Green synthesized uncapped Ag colloidal nanoparticles for selective colorimetric sensing of divalent Hg and H₂O₂', *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), p. 105365. doi: 10.1016/J.JECE.2021.105365.
- Lattuada, M. and Hatton, T. A. (2011) 'Synthesis, properties and applications of Janus nanoparticles', *Nano Today*, pp. 286–308. doi: 10.1016/j.nantod.2011.04.008.
- Li, S. *et al.* (2021) 'Dual stimuli-responsive nanoplatfrom based on core-shell structured graphene oxide/mesoporous silica@alginate', *International Journal of Biological Macromolecules*, 175, pp. 209–216. doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2021.02.021.
- Liang, S. *et al.* (2023) 'Enhancement of antibacterial and cytocompatibility of Ti by Zn-doped BST coatings', *Materials Letters*, 338, p. 134018. doi: 10.1016/J.MATLET.2023.134018.
- Liu, M. M. *et al.* (2020) 'MoOx quantum dots with peroxidase-like activity on microfluidic paper-based analytical device for rapid colorimetric detection of H₂O₂ released from PC12 cells', *Sensors and Actuators B: Chemical*, 305, p. 127512. doi: 10.1016/J.SNB.2019.127512.
- Liu, S. *et al.* (2021) 'Zn-doped MnO₂ nanocoating with enhanced catalase-mimetic activity

and cytocompatibility protects pre-osteoblasts against H₂O₂-induced oxidative stress', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 202(November 2020), p. 111666. doi: 10.1016/j.colsurfb.2021.111666.

Liu, W. *et al.* (2022) 'Excellent low temperature NH₃-SCR and NH₃-SCO performance over Ag-Mn/Ce-Ti catalyst: Evaluation and characterization', *Molecular Catalysis*, 528, p. 112510. doi: 10.1016/J.MCAT.2022.112510.

Liu, Y. *et al.* (2018) 'Self-Assembly of Stimuli-Responsive Au-Pd Bimetallic Nanoflowers Based on Betulinic Acid Liposomes for Synergistic Chemo-Photothermal Cancer Therapy', *ACS Biomaterials Science and Engineering*, 4(8), pp. 2911–2921. doi: 10.1021/acsbmaterials.8b00766.

Lu, Q. *et al.* (2016) 'Investigation of the Interaction Between Gallic Acid and α -Amylase by Spectroscopy', *International Journal of Food Properties*, 19(11), pp. 2481–2494. doi: 10.1080/10942912.2015.1059345.

Lu, S. *et al.* (2020) 'Synthesis of Gelatin-Based Dual-Targeted Nanoparticles of Betulinic Acid for Antitumor Therapy', *ACS Applied Bio Materials*, 3(6), pp. 3518–3525. doi: 10.1021/acsbm.9b01204.

Luo, Q. *et al.* (2020) 'Green Extraction of Antioxidant Polyphenols from Green Tea (*Camellia sinensis*)', *Antioxidants*, 9(9), p. 785. doi: 10.3390/antiox9090785.

Ma, L., Kohli, M. and Smith, A. (2013) 'Nanoparticles for Combination Drug Therapy', *ACS Nano*, 7(11), pp. 9518–9525. doi: 10.1021/nn405674m.

Ma, Z. *et al.* (2020) 'Facile Preparation of MnO₂ Quantum Dots with Enhanced Fluorescence via Microenvironment Engineering with the Assistance of Some Reductive Biomolecules', *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12(13), pp. 15919–15927. doi: 10.1021/acsaami.0c00917.

Mabrouk, M. *et al.* (2020) 'Multifunctional magnetite nanoparticles for drug delivery: Preparation, characterisation, antibacterial properties and drug release kinetics', *International Journal of Pharmaceutics*, 587, p. 119658. doi: 10.1016/J.IJPHARM.2020.119658.

Manaia, E. B. *et al.* (2017) 'Physicochemical characterization of drug nanocarriers', *International Journal of Nanomedicine*, 12, pp. 4991–5011. doi: 10.2147/IJN.S133832.

Manoj, D. *et al.* (2022) 'The role of MOF based nanocomposites in the detection of phenolic compounds for environmental remediation- A review', *Chemosphere*, 300, p. 134516. doi: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.134516.

Meenambiga, S. S. *et al.* (2022) 'Nanotechnology for blood test to predict the blood diseases/blood disorders', *Nanotechnology for Hematology, Blood Transfusion, and Artificial Blood*, pp. 285–311. doi: 10.1016/B978-0-12-823971-1.00005-2.

Mi, G. *et al.* (2021) 'A simple "turn off-on" ratio fluorescent probe for sensitive detection of dopamine and lysine/arginine', *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 253, p. 119555. doi: 10.1016/J.SAA.2021.119555.

- Miao, Y. *et al.* (2021) 'Optimized mesoporous silica nanoparticle-based drug delivery system with removable manganese oxide gatekeeper for controlled delivery of doxorubicin', *Journal of Colloid and Interface Science*, 592, pp. 227–236. doi: 10.1016/j.jcis.2021.02.054.
- Miguel, R. dos A. *et al.* (2022) 'Beyond Formulation: Contributions of Nanotechnology for Translation of Anticancer Natural Products into New Drugs', *Pharmaceutics*, 14(8). doi: 10.3390/pharmaceutics14081722.
- Moasses Ghafary, S. *et al.* (2022) 'Design and preparation of a theranostic peptideticle for targeted cancer therapy: Peptide-based codelivery of doxorubicin/curcumin and graphene quantum dots', *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 42, p. 102544. doi: 10.1016/J.NANO.2022.102544.
- Moghaddam, M. G., Ahmad, F. B. H. and Samzadeh-kermani, A. (2012) 'Biological Activity of Betulinic Acid : A Review', 2012(April), pp. 119–123.
- Mohamed, Fatma *et al.* (2021) 'Design and Characterization of a Novel ZnO-Ag/Polypyrrole Core-Shell Nanocomposite for Water Bioremediation'. doi: 10.3390/nano11071688.
- Mohandas, A. *et al.* (2015) 'Drug loaded bi-layered sponge for wound management in hyperfibrinolytic conditions', *J. Mater. Chem. B*, 3, p. 5795. doi: 10.1039/c5tb00568j.
- Mohankumar, P. *et al.* (2021) 'Recent developments in biosensors for healthcare and biomedical applications: A review', *Measurement*, 167, p. 108293. doi: 10.1016/J.MEASUREMENT.2020.108293.
- Moodley, T. and Singh, M. (2019) 'Polymeric Mesoporous Silica Nanoparticles for Enhanced Delivery of 5-Fluorouracil In Vitro'. doi: 10.3390/pharmaceutics11060288.
- Mori, M. *et al.* (2020) 'Sodium Alginate as a Potential Therapeutic Filler: An In Vivo Study in Rats', *Marine Drugs*, 18(10). doi: 10.3390/MD18100520.
- Mosmann, T. (1983) 'Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays', *Journal of Immunological Methods*, 65(1–2), pp. 55–63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4.
- Munawar, J. *et al.* (2022) 'Metal-organic framework-based smart nanoplatfroms with multifunctional attributes for biosensing, drug delivery, and cancer theranostics', *Inorganic Chemistry Communications*, 147(October 2022), p. 110145. doi: 10.1016/j.inoche.2022.110145.
- Muthusamy, C. *et al.* (2022) 'Enhanced ferro magnetism of (Cu, Fe/Mn) dual doped ZnO nanoparticles and assessment of in-vitro cytotoxicity and antimicrobial activity for magnetically guided immunotherapy and hyperthermia applications', *Vacuum*, 205, p. 111400. doi: 10.1016/j.vacuum.2022.111400.
- Nitheesh, Y. *et al.* (2021) 'Surface engineered nanocarriers for the management of breast cancer', *Materials Science and Engineering: C*, 130, p. 112441. doi: 10.1016/J.MSEC.2021.112441.
- Nothnagel, L. and Wacker, M. G. (2018) 'How to measure release from nanosized carriers?',

- European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 120(February), pp. 199–211. doi: 10.1016/j.ejps.2018.05.004.
- Paramasivam, G. *et al.* (2021) 'Nanomaterials: Synthesis and applications in theranostics', *Nanomaterials*, 11(12). doi: 10.3390/NANO11123228.
- Peng, B. *et al.* (2022) 'Smartphone-assisted multiple-mode assay of ascorbic acid using cobalt oxyhydroxide nanoflakes and carbon quantum dots', *Microchemical Journal*, 175, p. 107185. doi: 10.1016/J.MICROC.2022.107185.
- Piriya V.S, A. *et al.* (2017) 'Colorimetric sensors for rapid detection of various analytes', *Materials Science and Engineering: C*, 78, pp. 1231–1245. doi: 10.1016/J.MSEC.2017.05.018.
- Plaza-Oliver, M. *et al.* (2021) 'Current approaches in lipid-based nanocarriers for oral drug delivery', *Drug Delivery and Translational Research*, 1, p. 3. doi: 10.1007/s13346-021-00908-7.
- Prabhakar, A. K. *et al.* (2022) 'Ball-milled graphene quantum dots for enhanced anti-cancer drug delivery', *OpenNano*, 8, p. 100072. doi: 10.1016/J.ONANO.2022.100072.
- Pung, S. Y. *et al.* (2016) 'Photocatalytic activity of ZnO-MnO₂ core shell nanocomposite in degradation of RhB dye', *Pigment and Resin Technology*, 45(6), pp. 408–418. doi: 10.1108/PRT-08-2015-0082.
- Qiu, L. *et al.* (2006) 'Paclitaxel and ceramide synergistically induce cell death with transient activation of EGFR and ERK pathway in pancreatic cancer cells', *Oncology Reports*, 16(4), pp. 907–913. doi: 10.3892/or.16.4.907.
- Rasool, A. *et al.* (2020) 'Kinetics and controlled release of lidocaine from novel carrageenan and alginate-based blend hydrogels', *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, pp. 67–78. doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2020.01.073.
- Rebouças, L. M. *et al.* (2023) 'Microcapsules based on alginate and guar gum for co-delivery of hydrophobic antitumor bioactives', *Carbohydrate Polymers*, 301, p. 120310. doi: 10.1016/J.CARBPOL.2022.120310.
- Riaz, U. *et al.* (2020) 'Studies on conducting polymer intercalated layered double hydroxide nanocomposites: Antituberculosis drug delivery agents'. doi: 10.1002/pen.25530.
- Rosenthal, S. J. *et al.* (2011) 'Biocompatible quantum dots for biological applications', *Chemistry and Biology*, 18(1), pp. 10–24. doi: 10.1016/j.chembiol.2010.11.013.
- Rothmund, M. *et al.* (2020) 'N-Metalloceoylsphingosines as targeted ceramidase inhibitors: Syntheses and antitumoral effects', *Bioorganic Chemistry*, 97(February), p. 103703. doi: 10.1016/j.bioorg.2020.103703.
- Rudi, S. *et al.* (2019) 'Latest Trends in Biosensing for Microphysiological Organs-on-a-Chip and Body-on-a-Chip Systems'. doi: 10.3390/bios9030110.
- Sadeghi, S. *et al.* (2020) 'Carboxymethyl cellulose-human hair keratin hydrogel with

controlled clindamycin release as antibacterial wound dressing', *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, pp. 1239–1247. doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2019.09.251.

Sahu, A. K., Aravind, R. and Brahma, G. S. (2021) 'Synthesis and investigation of structural, morphological, thermal behaviour, and magnetic properties of CoFe₂O₄-MnO₂ nano-composites', in *Materials Today: Proceedings*. Elsevier Ltd, pp. 1762–1768. doi: 10.1016/j.matpr.2021.08.010.

Sandhya, P. K. *et al.* (2018) 'Reduced graphene oxide and ZnO decorated graphene for biomedical applications', *Ceramics International*, 44(13), pp. 15092–15098. doi: 10.1016/j.ceramint.2018.05.143.

Saneja, A. *et al.* (2018) 'Therapeutic applications of betulinic acid nanoformulations', *Annals of the New York Academy of Sciences*. Blackwell Publishing Inc., pp. 5–18. doi: 10.1111/nyas.13570.

Sawpari, R. *et al.* (2023) 'Recent advances and futuristic potentials of nano-tailored doxorubicin for prostate cancer therapy', *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 81, p. 104212. doi: 10.1016/J.JDDST.2023.104212.

Serafin, A. *et al.* (2021) 'Printable alginate/gelatin hydrogel reinforced with carbon nanofibers as electrically conductive scaffolds for tissue engineering', *Materials Science and Engineering: C*, 122, p. 111927. doi: 10.1016/J.MSEC.2021.111927.

Shafiei, F. *et al.* (2021) 'Drug release kinetics and biological properties of a novel local drug carrier system', *Dental Research Journal*, 18(1), p. 94. doi: 10.4103/1735-3327.330875.

Shah, A. *et al.* (2021) 'Nanocarriers for targeted drug delivery', *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 62(December 2020), p. 102426. doi: 10.1016/j.jddst.2021.102426.

Shariatnia, Z. and Ziba, M. (2022) 'Smart pH-responsive drug release systems based on functionalized chitosan nanocomposite hydrogels', *Surfaces and Interfaces*, 29(January), p. 101739. doi: 10.1016/j.surfin.2022.101739.

Sharifi, S., Caracciolo, G. and Mahmoudi, M. (2020) 'Biomolecular Corona Affects Controlled Release of Drug Payloads from Nanocarriers', *Trends in Pharmacological Sciences*, 41(9), pp. 641–652. doi: 10.1016/J.TIPS.2020.06.011.

Shatnawi, M. *et al.* (2016) 'Influence of Mn doping on the magnetic and optical properties of ZnO nanocrystalline particles', *Results in Physics*, 6, pp. 1064–1071. doi: 10.1016/j.rinp.2016.11.041.

Shi, Y. *et al.* (2018) 'Mno₂-gated nanoplatfoms with targeted controlled drug release and contrast-enhanced mri properties: From 2d cell culture to 3d biomimetic hydrogels', *Nanotheranostics*, 2(4), pp. 403–416. doi: 10.7150/ntno.28046.

Shin, J. *et al.* (2011) 'Suppression of STAT3 and HIF-1 Alpha mediates Anti-Angiogenic activity of Betulinic acid in Hypoxic PC-3 prostate cancer cells', *PLoS ONE*, 6(6). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0021492.

Shnoudeh, A. J. *et al.* (2019) *Synthesis, Characterization, and Applications of Metal*

Nanoparticles, Biomaterials and Bionanotechnology. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-814427-5.00015-9.

Sidhu, S. S., Singh, H. and Gepreel, M. A. H. (2021) 'A review on alloy design, biological response, and strengthening of β -titanium alloys as biomaterials', *Materials Science and Engineering: C*, 121, p. 111661. doi: 10.1016/J.MSEC.2020.111661.

Singh, K. R. *et al.* (2022) 'Bioinspired quantum dots: Promising nanosystems for biomedical application', *Nano-Structures and Nano-Objects*, 32, p. 100921. doi: 10.1016/j.nanoso.2022.100921.

Sistani, S. and Shekarchizadeh, H. (2021) 'Fabrication of fluorescence sensor based on molecularly imprinted polymer on amine-modified carbon quantum dots for fast and highly sensitive and selective detection of tannic acid in food samples', *Analytica Chimica Acta*, 1186, p. 339122. doi: 10.1016/J.ACA.2021.339122.

Soda, Y. and Bakker, E. (2019) 'Quantification of Colorimetric Data for Paper-Based Analytical Devices'. doi: 10.1021/acssensors.9b01802.

Sontakke, A. D., Tiwari, S. and Purkait, M. K. (2023) 'A Comprehensive Review on Graphene Oxide-Based Nanocarriers: Synthesis, Functionalization and Biomedical Applications', *FlatChem*, p. 100484. doi: 10.1016/J.FLATC.2023.100484.

Staffa, S. J., Kohane, D. S. and Zurakowski, D. (2021) 'Synergy in Nanomedicine: What It Is Not, and What It Might Be', *Nano Letters*, 21(13), pp. 5457–5460. doi: 10.1021/acs.nanolett.1c01894.

Sun, Q., Li, J. and Le, T. (2018) 'Zinc Oxide Nanoparticle as a Novel Class of Antifungal Agents: Current Advances and Future Perspectives', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(43), pp. 11209–11220. doi: 10.1021/acs.jafc.8b03210.

Sun, S. *et al.* (2021) 'Manganese-Doped Carbon Dots with Redshifted Orange Emission for Enhanced Fluorescence and Magnetic Resonance Imaging', *ACS Applied Bio Materials*, 4(2), pp. 1969–1975. doi: 10.1021/acsabm.0c01597.

Tan, E. *et al.* (123AD) 'A sensitive and smartphone colorimetric assay for the detection of hydrogen peroxide based on antibacterial and antifungal matcha extract silver nanoparticles enriched with polyphenol', *Polymer Bulletin*. doi: 10.1007/s00289-021-03857-w.

Tan, E. *et al.* (2017) 'Formation and distribution of ZnO nanoparticles and its effect on E. coli in the presence of sepiolite and silica within the chitosan matrix via sonochemistry', *Ultrasonics Sonochemistry*, 38. doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.08.027.

Tan, E. *et al.* (2023) 'Ultra-sensitive smartphone assisted-colorimetric and non-enzymatic electrochemical sensor behaviors of zinc doped MnO₂ nanocomposite: a comparative study on highly selective sensor design against dopamine, ascorbic acid, gallic acid, and tannic acid', *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, 129(3), pp. 1–15. doi: 10.1007/s00339-023-06497-1.

Tan, E., Danişman-Kalındemirtaş, F. and Karakuş, S. (2023) 'Effective drug combinations of betulinic acid and ceranib-2 loaded Zn:MnO₂ doped-polymeric nanocarriers against PC-3

prostate cancer cells', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 225(March), pp. 0–1. doi: 10.1016/j.colsurfb.2023.113278.

Thakur, C. *et al.* (2021) 'Treating blood cancer with nanotechnology: A paradigm shift', *Nano Drug Delivery Strategies for the Treatment of Cancers*, pp. 225–243. doi: 10.1016/B978-0-12-819793-6.00010-2.

Tian, X. X. *et al.* (2020) 'Zn₂MnO₄/ZnO nanocomposites: One step sonochemical fabrication and demonstration as a novel catalyst in water splitting reaction', *Ceramics International*, 46(16), pp. 25789–25801. doi: 10.1016/J.CERAMINT.2020.07.058.

Tian, X. and Xu, J. (2021) 'Study on the role of Mn in Ag and Mn co-doped Cu₂ZnSnS₄ thin films', *Materials Science in Semiconductor Processing*, 129. doi: 10.1016/j.mssp.2021.105787.

Tran, H. L. *et al.* (2022) 'Ultrasensitive detection of breast cancer cells with a lectin-based electrochemical sensor using N-doped graphene quantum dots as the sensing probe', *Sensors and Actuators B: Chemical*, 368, p. 132233. doi: 10.1016/J.SNB.2022.132233.

Tsitovich, P. B., Sperryak, J. A. and Morrow, J. R. (2013) 'A Redox-Activated MRI Contrast Agent that Switches Between Paramagnetic and Diamagnetic States', *Angewandte Chemie*, 125(52), pp. 14247–14250. doi: 10.1002/ange.201306394.

Vlasceanu, G. *et al.* (2017) *Quantum dots for bioimaging and therapeutic applications, Nanostructures for Novel Therapy: Synthesis, Characterization and Applications*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-323-46142-9.00018-9.

Voelkel-Johnson, C., Norris, J. S. and White-Gilbertson, S. (2018) 'Interdiction of Sphingolipid Metabolism Revisited: Focus on Prostate Cancer', *Advances in Cancer Research*, 140, pp. 265–293. doi: 10.1016/BS.ACR.2018.04.014.

Wang, J. *et al.* (2022) 'Injectable hyaluronan/MnO₂ nanocomposite hydrogel constructed by metal-hydrazide coordinated crosslink mineralization for relieving tumor hypoxia and combined phototherapy', *Journal of Colloid and Interface Science*, 628, pp. 79–94. doi: 10.1016/J.JCIS.2022.08.024.

Wang, R. *et al.* (2020) 'Impacts of particle size on the cytotoxicity, cellular internalization, pharmacokinetics and biodistribution of betulinic acid nanosuspensions in combined chemotherapy', *International Journal of Pharmaceutics*, 588(May), p. 119799. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119799.

Wen, M. *et al.* (2022) 'Multifunctional hemoporphin-Cu₉S₈-MnO₂ for magnetic resonance imaging-guided catalytically-assisted photothermal-sonodynamic therapies', *Journal of Colloid and Interface Science*. doi: 10.1016/j.jcis.2022.06.116.

Weng, J., Tong, H. H. Y. and Chow, S. F. (2020) 'In vitro release study of the polymeric drug nanoparticles: Development and validation of a novel method', *Pharmaceutics*, 12(8), pp. 1–18. doi: 10.3390/pharmaceutics12080732.

Witzler, M. *et al.* (2021) 'Evaluating Release Kinetics from Alginate Beads Coated with Polyelectrolyte Layers for Sustained Drug Delivery'. doi: 10.1021/acsabm.1c00417.

- Wu, W. *et al.* (2020) 'Application of Zero-Dimensional Nanomaterials in Biosensing', *Front. Chem*, 8, p. 320. doi: 10.3389/fchem.2020.00320.
- Xia, H. Y. *et al.* (2022) 'Nanoarchitected manganese dioxide (MnO₂)-based assemblies for biomedicine', *Coordination Chemistry Reviews*. Elsevier B.V. doi: 10.1016/j.ccr.2022.214540.
- Xiong, H. M. (2013) 'ZnO nanoparticles applied to bioimaging and drug delivery', *Advanced Materials*, 25(37), pp. 5329–5335. doi: 10.1002/adma.201301732.
- Xiu, Z. *et al.* (2023) 'Betulinic acid inhibits growth of hepatoma cells through activating the NCOA4-mediated ferritinophagy pathway', *Journal of Functional Foods*, 102, p. 105441. doi: 10.1016/J.JFF.2023.105441.
- Xue, J. *et al.* (no date) 'Effect of Mn Content on Structural Evolution and Magnetic Properties of ZnO Particles'. doi: 10.1007/s10948-020-05721-w.
- Xue, Y. *et al.* (no date) 'In Situ Preparation of AgNPs-Carboxymethyl Cellulose Gauze and Its Antibacterial Activity', in *Medicine and Biopharmaceutical*, pp. 778–784.
- Yan, K. *et al.* (2021) 'Electrochemical synthesis of chitosan/silver nanoparticles multilayer hydrogel coating with pH-dependent controlled release capability and antibacterial property', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 202, p. 111711. doi: 10.1016/J.COLSURFB.2021.111711.
- Yáñez-Sedeño, P., Campuzano, S. and Pingarrón, J. M. (2017) 'Janus particles for (bio)sensing', *Applied Materials Today*. Elsevier Ltd, pp. 276–288. doi: 10.1016/j.apmt.2017.08.004.
- Yang, J., Hu, Y. and Li, Y. (2019) 'Molecularly imprinted polymer-decorated signal on-off ratiometric electrochemical sensor for selective and robust dopamine detection', *Biosensors and Bioelectronics*, 135, pp. 224–230. doi: 10.1016/J.BIOS.2019.03.054.
- Yao, Y. *et al.* (2019) 'DNA-Templated Silver Nanocluster/Porphyrin/MnO₂ Platform for Label-Free Intracellular Zn²⁺ Imaging and Fluorescence-/Magnetic Resonance Imaging-Guided Photodynamic Therapy', *ACS Applied Materials and Interfaces*, 11(15), pp. 13991–14003. doi: 10.1021/acsami.9b01530.
- Yuan, C. *et al.* (2015) 'Electrodeposition of three-dimensional ZnO@MnO₂ core-shell nanocables as high-performance electrode material for supercapacitors', *Energy*, 93, pp. 1259–1266. doi: 10.1016/j.energy.2015.09.103.
- Yue, H. Y. *et al.* (2014) 'ZnO nanowire arrays on 3D hierarchical graphene foam: Biomarker detection of parkinson's disease', *ACS Nano*, 8(2), pp. 1639–1646. doi: 10.1021/NN405961P.
- Yue, H. Y. *et al.* (2020) 'Highly sensitive and selective dopamine biosensor using Au nanoparticles-ZnO nanocone arrays/graphene foam electrode', *Materials Science and Engineering: C*, 108, p. 110490. doi: 10.1016/J.MSEC.2019.110490.
- Zhang, D. *et al.* (2021) 'Stability and bioaccessibility improvement of capsorubin using bovine serum albumin-dextran-gallic acid and sodium alginate', *International Journal of*

Biological Macromolecules, 182, pp. 1362–1370. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.05.033.

Zhang, H. *et al.* (2020) ‘pH-Sensitive betulinic acid polymer prodrug nanoparticles for efficient and targeted cancer cells treatment’, *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 69(10), pp. 659–668. doi: 10.1080/00914037.2019.1596916.

Zhang, J. *et al.* (2019) ‘Carbon Dots as a New Class of Diamagnetic Chemical Exchange Saturation Transfer (diaCEST) MRI Contrast Agents’, *Angewandte Chemie*, 131(29), pp. 9976–9980. doi: 10.1002/ange.201904722.

Zhang, L. *et al.* (2021) ‘A highly sensitive non-enzymatic ascorbic acid electrochemical sensor based on polyoxometalate/Tris(2,2'-bipyridine)ruthenium (II)/chitosan-palladium inorganic-organic self-assembled film’, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 614, p. 126184. doi: 10.1016/J.COLSURFA.2021.126184.

Zhang, P. *et al.* (2021) ‘Nanotechnology-enhanced immunotherapy for metastatic cancer’, *The Innovation*, 2(4), p. 100174. doi: 10.1016/J.XINN.2021.100174.

Zhang, Q. *et al.* (2021) ‘Heat-induced manganese-doped magnetic nanocarriers combined with Yap-siRNA for MRI/NIR-guided mild photothermal and gene therapy of hepatocellular carcinoma’, *Chemical Engineering Journal*, 426. doi: 10.1016/j.cej.2021.130746.

Zhang, Y. *et al.* (2009) ‘A Surface-Charge Study on Cellular-Uptake Behavior of F3-Peptide-Conjugated Iron Oxide Nanoparticles’, *Small*, 5(17), pp. 1990–1996. doi: 10.1002/smll.200900520.

Zhao, H. *et al.* (2021) ‘Enzymatical biomineralization of DNA nanoflowers mediated by manganese ions for tumor site activated magnetic resonance imaging’, *Biomaterials*, 268(November 2020). doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120591.

Zheng, W. *et al.* (2012) ‘Nanofabricated plasmonic nano-bio hybrid structures in biomedical detection’, *Nanotechnology Reviews*, 1(3), pp. 213–233. doi: 10.1515/NTREV-2011-0008.

Zhou, H. *et al.* (2021) ‘Manganese oxide/Metal-Organic Frameworks-Based Nanocomposites for Tumor Micro-environment Sensitive ¹H/¹⁹F Dual-mode Magnetic Resonance Imaging in Vivo’, *Journal of Organometallic Chemistry*, 933, p. 121652. doi: 10.1016/j.jorganchem.2020.121652.

Zhou, X. and Ma, L. (2015) ‘MnO₂/ZnO porous film: Electrochemical synthesis and enhanced supercapacitor performances’, *Thin Solid Films*, 597, pp. 44–49. doi: 10.1016/J.TSF.2015.11.032.

Zhou, Z. *et al.* (2019) ‘A dual-signal colorimetric and near-infrared fluorescence probe for the detection of exogenous and endogenous hydrogen peroxide in living cells’, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 280, pp. 120–128. doi: 10.1016/J.SNB.2018.09.126.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

Ezgi TAN

ORJİNALLİK RAPORU

%8

BENZERLİK ENDEKSİ

%5

İNTERNET KAYNAKLARI

%5

YAYINLAR

%2

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

Ezgi Tan, Ferdane Danışman.Kalındemirtaş, Selcan Karakuş. "Effective drug combinations of betulinic acid and ceranib-2 loaded Zn:MnO₂ doped-polymeric nanocarriers against PC-3 prostate cancer cells", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2023

Yayın

%3

2

Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK)

Öğrenci Ödevi

%1

3

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%1

4

Ezgi Tan, Gülsen Baytemir, Nevin Taşaltın, Selcan Karakuş. "Ultra-sensitive smartphone assisted-colorimetric and non-enzymatic electrochemical sensor behaviors of zinc doped MnO₂ nanocomposite: a comparative study on highly selective sensor design against dopamine, ascorbic acid, gallic acid, and tannic acid", Applied Physics A, 2023

Yayın

%1



KURUM İZİNİ YAZILARI

Uyarı: Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

- ☐ Kurum izni gerekmektedir.
- ☒ Kurum izni gerekmemektedir.

Ezgi TAN
(İmza)







