

SULTAN (KODAL) DUMAN KİMYA ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ MUĞLA 2022

T.C.  
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

DOĞAL ÇAPRAZ BAĞLAYICI İLE SENTEZLENEN  
ALBÜMİN MİKRO VE NANO TAŞIYICILARDAN  
KONTROLLÜ ANTI-KANSER İLAÇ SALIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SULTAN (KODAL) DUMAN

HAZİRAN 2022

MUĞLA

**T.C.**  
**MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**DOĞAL ÇAPRAZ BAĞLAYICI İLE SENTEZLENEN**  
**ALBÜMİN MİKRO VE NANO TAŞIYICILARDAN**  
**KONTROLLÜ ANTI-KANSER İLAÇ SALIMI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SULTAN (KODAL) DUMAN**

**HAZİRAN 2022**

**MUĞLA**

**MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ**  
**Fen Bilimleri Enstitüsü**  
**TEZ ONAYI**

**SULTAN (KODAL) DUMAN** tarafından hazırlanan **DOĞAL ÇAPRAZ BAĞLAYICI İLE SENTEZLENEN ALBÜMİN MİKRO VE NANO TAŞIYICILARDAN KONTROLLÜ ANTI-KANSER İLAÇ SALIMI** başlıklı tezinin, 16/Haziran/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

---

**TEZ SINAV JÜRİSİ**

Prof. Dr. Fatma AYHAN (**Danışman**)  
Kimya Anabilim Dalı,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

---

Prof. Dr. Nimet Karagülle (**Jüri Başkanı**)  
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı,  
Mersin Üniversitesi, Mersin

İmza:

---

Dr. Öğretim Üyesi Mehlika Alper (**Üye**)  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

---

---

**ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI**

Prof. Dr. Ülkü Anık  
Kimya Ana Bilim Dalı Başkanı,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

---

Prof. Dr. Fatma AYHAN  
Danışman, Kimya Anabilim Dalı,  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

İmza:

---

Savunma Tarihi: 16/06/2022

---

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim.

Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

**SULTAN (KODAL) DUMAN**

16/06/2022

## ÖZET

### DOĞAL ÇAPRAZ BAĞLAYICI İLE SENTEZLENEN ALBÜMİN MİKRO VE NANO TAŞIYICILARDAN KONTROLLÜ ANTI-KANSER İLAÇ SALIMI

Sultan (KODAL) DUMAN

Yüksek Lisans Tezi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya

Danışman: Prof. Dr. Fatma AYHAN

Haziran 2022, 95 sayfa

Kanser dünya üzerinde en çok ölüm oranına sahip hastalıklardan biridir. Yaygın olarak kullanılan tedavi biçimi kemoterapidir. Ancak kemoterapi hastaların sadece kanser hücrelerine değil sağlıklı vücut hücrelerine de zarar vermektedir. Kanser hastalarının bağışıklık sistemi düşük performansta çalışırken üzerine bir de sağlıklı hücrelerine de zarar vermesi hastayı oldukça zor bir sürecin pençesine alır.

Kanser tedavisinde bizim hedefimiz sadece kanser hücrelerini yok etmektir. Bu da ancak nanoteknolojinin gelişmesiyle gerçekleştirilebilir. Nanoteknolojik çalışmaların birçoğunda hastalara intravenöz olarak çeşitli mikro ve nanotaşıyıcıların verilmesi gündemdedir. Bu taşıyıcıların sentezlenirken çeşitli polimerler kullanılmasının yanısıra farklı çapraz bağlayıcı ajanlar da kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında sentezlenen taşıyıcılar albümin proteini kullanılarak sentezlenmiştir. Albümin kanımızda %55 oranında bulunmaktadır. Bu sebeptir ki biyoyumlu bir moleküldür. Aynı zamanda yapılan çalışmalar albümin molekülünün kanserli bölgede biriktiğini de göstermiştir. Bu sayede kanser hedefli bir çalışma gerçekleştirilmiştir.

Geleneksel yöntemlerde kullanılan çapraz bağlayıcı glutaraldehittir. Glutaraldehitin belli dozunun üstü ölümcül etki yaratmaktadır. Zaten bağışıklığı düşük hastalarda kullanılması oldukça tehlikeli olabilir. Bu tez çalışmasında doğal çapraz bağlayıcılar kullanılmıştır. Bu doğal çapraz bağlayıcılar gallik asit, tannik asit, kuersetindir. Bu kimyasallar fenolik bileşiklerdir. Aynı zamanda da hepsi antioksidandır. Bu sayede

kanser hücreleri üzerinde öldürücü etki yapması planlanmıştır. Sentezlenen albümin mikro taşıyıcılara ve albümin nano taşıyıcılara ilaç da yüklenerek etkisine bakılmıştır. Böylece ilaçlı ve ilaçsız etkileri karşılaştırılmıştır.

Bu tez çalışmasında koaservasyon yöntemi kullanılarak albümin mikro taşıyıcıları sentezlenmiştir. Desolvasyon yöntemiyle albümin nanotaşıyıcılar sentezlenmiştir ancak bu aşamada bazı sorunlar yaşanmıştır. Koaservasyon yönteminde yöntem modifikasyonuna gidilerek albümin nano taşıyıcılar sentezlenmiştir. Taşıyıcıların boy dağılımlarına bakılarak optimum koşullar belirlenmiştir. Bu seçilen koşullarda sentezlenen taşıyıcıların karakterizasyonu için fourier transform infrared spektrofotometre (FTIR), taramalı elektron mikroskobu (SEM), hidrolitik degradasyon, sentezlenen ilaçlı taşıyıcıların da ilaç salınımı miktarının ölçümü yapılmıştır.

Sentezlenen taşıyıcıların in-vitro sitotoksik denemeleri 3-4,5-dimetil tiyazolil-2,5-difeniltetrazoyum bromür (MTT) testi ile yapılmıştır. A549 akciğer kanseri hücre hattı ve HT29 kolon kanseri hücre hattı üzerinde çalışılmıştır.

Denemeler sonucunda sitotoksik etkilere bakıldığında ilaç yüklenmeyen taşıyıcıların ilaçlı taşıyıcılar kadar etkili olduğu, doğal çapraz bağlayıcıların ilaç kadar etkili olduğu görülmüştür. Böylece hem albümin gibi biyouyumlu bir polimer kullanılarak kanser hedefli çalışılmış hem de kimyasal ilaç kullanmadan doğal antioksidanlarla antikanser etki yaratılmıştır. Kanser tedavisi için alternatif tedavi yöntemi olarak değerlendirilebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Albümin Mikro Taşıyıcı, Albümin Nano Taşıyıcı, Doğal Çapraz Bağlayıcı, Gallik Asit, Tannik Asit, Kuersetin, Glutaraldehit, Celecoxib, Albümin, Kanser Tedavisi, Nanoteknoloji.

## ABSTRACT

### CONTROLLED ANTI-CANSER DRUG DELIVERY FROM ALBUMIN MICRO AND NANO CARRIERS SYNTHESIZED WITH NATURAL CROSS LINKERS

Sultan (KODAL) DUMAN

Master of Science (M.Sc.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Fatma AYHAN

June 2022, 95 pages

Cancer is one of the diseases with the highest mortality rate in the world. The most common form of treatment is chemotherapy. However, chemotherapy damages not only cancer cells but also healthy body cells. While cancer patients' immune system works at low performance, they also damage their healthy cells, which puts the patient in a very difficult process.

Our goal in cancer treatment is to destroy only cancer cells. This can only be achieved with the development of nanotechnology. In most of the nanotechnological studies, intravenous administration of various micro and nanocarriers to the patients is on the agenda. While synthesizing these carriers, various polymers are used as well as different cross-linking agents are used.

The carriers synthesized in this thesis study were synthesized using albumin protein. Albumin is 55% in our blood. For this reason, it is a biocompatible molecule. At the same time, studies have shown that the albumin molecule accumulates in the cancerous area. In this way, a cancer-targeted study was carried out.

The crosslinker used in traditional methods is glutaraldehyde. Above a certain dose of glutaraldehyde creates a fatal effect. Its use in already immunocompromised patients can be quite dangerous. In this thesis, natural crosslinkers were used. These natural crosslinkers are gallic acid, tannic acid, quercetin. These chemicals are phenolic compounds. They are also all antioxidants. In this way, it is planned to have

a lethal effect on cancer cells. The effect of the drug was also loaded on the synthesized albumin microcarriers and albumin nanocarriers, and its effects were examined. Thus, the effects with and without drugs were compared.

In this thesis, albumin microcarriers were synthesized using the coacervation method. Albumin nanocarriers were synthesized by the desolvation method, but some problems were experienced at this stage. In the coacervation method, albumin nanocarriers were synthesized by modifying the method. Optimum conditions were determined by looking at the length distributions of the carriers. Fourier transform infrared spectrophotometer (FTIR), scanning electron microscope (SEM), hydrolytic degradation, and the amount of drug release of synthesized drug carriers were measured for the characterization of the synthesized carriers under these selected conditions.

In-vitro cytotoxic assays of the synthesized carriers were performed with the 3-(4,5-dimethyl thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) test. A549 lung cancer cell line and HT29 colon cancer cell line were studied.

As a result of the trials, when the cytotoxic effects were examined, it was seen that the non-drug loaded carriers were as effective as the medicated carriers, and the natural cross-linkers were as effective as the drugs. Thus, cancer-targeted studies were made using a biocompatible polymer such as albumin, and an anticancer effect was created with natural antioxidants without using chemical drugs. It can be considered as an alternative treatment method for cancer treatment.

**Keywords:** Albumin Microcarrier, Albumin Nanocarrier, Natural Crosslinker, Gallic Acid, Tannic Acid, Quercetin, Glutaraldehyde, Celecoxib, Albumin, Cancer Treatment, Nanotechnology.

Bu tez çalışması,

Tüm dünya ülkelerinden önce Türk kadınlarına verdiği haklarla, bugünlere gelip, kendimi geliştirmemi sağlayan aydınlatıcı liderimiz Gazi Mustafa Kemal Atatürk'e

Bilim, sanat dünyasında herhangi küçük bir kilometre taşı ekleyen duayenlere ithaf edilmiştir.

## ÖNSÖZ

Düşünce yapısı ve öngörüleleriyle tezimin oluşmasını sağlayan değerli mentor hocalarım Prof. Dr. Fatma Ayhan ve Prof. Dr. Hakan Ayhan'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Gerek hayat tecrübeleriyle hayatıma tuttukları ışık gerekse bilimsel anlamda bana kattıkları bakış açısı benim için oldukça değerli. Benim için harcadıkları değerli vakitleri için müteşekkirim.

Deneylemlerimi yürütmemde emeği bulunan Dr. Öğr. Üyesi Mehlika Alper hocama teşekkürü borç bilirim.

Bu süreçte ebeveynlerim Gürsel Kodal, Fatma Kodal ve bir tanecik kardeşim Ahmet Kodal'ın desteklerini hep arkamda hissettirdikleri için, beni bugünlere getirip benim ben olmama fırsat verdikleri için minnettarım.

Yüksek lisans yaparken hayatıma giren sevgili eşim Akın Duman'a desteği için çok teşekkür ederim.

Aynı zamanda laboratuvarında yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarıma her türlü yardım ve sohbetleri için teşekkür ederim.

Sosyal hayatımda her bunaldığımda yanımda olan arkadaşlarım Ece Küçük, Dilay Göksu Kuş, Gizem Dilara Özdemir'e hayatımda oldukları için teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, BAP-20/108/08/1/2 numaralı Bilimsel Araştırma Projesiyle desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ÇİZELGELER VE TABLOLAR DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1.Amaç ve Kapsam .....	2
1.2. Kaynak Özetleri .....	3
1.2.1. Albümin.....	3
1.2.1.1. Albümin çeşitleri .....	3
1.2.2. Mikropartikül & Nanopartikül .....	6
1.2.2.1. Mikropartikül ve Nanopartikül Üretim Yolları.....	7
1.2.3. Çapraz Bağlama Ajanları .....	12
1.2.3.1. Glutaraldehit .....	12
1.2.3.2. Gallik asit .....	12
1.2.3.3. Tannik Asit .....	13
1.2.3.4. Kuersetin .....	14
1.2.4. Polifenoller ve Proteinlerin Etkileşimi.....	15
1.2.5. Albümin Nano ve Mikro Partiküllerin Biyomedikal Uygulamaları.....	15
1.2.6. Antikanser İlaç; Selekoksib.....	19
<b>2. MALZEME VE YÖNTEM .....</b>	<b>20</b>
2.1. Kullanılan Kimyasallar .....	20
2.2. Kullanılan Cihazlar .....	20
2.3. Albümin Mikro Taşıyıcı (AMT) sentezi.....	21
2.4. Albümin Nano Taşıyıcıların (ANT) Sentezi.....	22

2.5. Albümin Taşıyıcıların Karakterizasyonu.....	23
2.5.1. FTIR ile karakterizasyon.....	23
2.5.2. ε-Amino Grup Tayini .....	23
2.5.3. SEM ile karakterizasyon .....	23
2.5.4. Hidrolitik Degredasyon.....	23
2.6. Albümin Mikro ve Nano Taşıyıcıların Antikanser İlaç Çalışmaları.....	24
2.6.1. Antikanser İlaç Kalibrasyonu.....	24
2.6.2. Albümin Mikro Taşıyıcılara İlaç Yüklenmesi .....	24
2.6.3. Albümin Nano Taşıyıcılara İlaç Yüklenmesi .....	24
2.6.4. Antikanser İlaç Salımı .....	25
2.7. Hücre Çalışmaları.....	25
<b>3. BULGULAR VE İRDELEME.....</b>	<b>27</b>
3.1. Albümin Mikro Taşıyıcılar (AMT) .....	27
3.1.1. Gallik Asitle Sentezlenen AMT Boy Dağılımı.....	27
3.1.2. Tannik Asitle Sentezlenen AMT Boy Dağılımı.....	33
3.1.3. Kuersetinle Sentezlenen AMT Boy Dağılımı .....	37
3.1.4. AMT FTIR Sonuçları .....	41
3.1.5. AMT SEM Sonuçları.....	44
3.1.6. AMT Hidrolitik degredasyon .....	46
3.1.7. AMT İlaç Salımı.....	48
3.1.8. AMT Hücre Deneyleri Sonuçları .....	49
3.1.8.1. İnsan Akciğer Kanseri (A549) Hücreleri Deneyleri.....	49
3.1.8.2. İnsan Kolon Kanseri (HT29) Hücreleri Deneyleri .....	59
3.2. Albümin Nano Taşıyıcılar (ANT) .....	69
3.2.1. Gallik Asitle Sentezlenen ANT Boy Dağılımı .....	70
3.2.2. Tannik Asitle Sentezlenen ANT Boy Dağılımı .....	71
3.2.3. Kuersetinle Sentezlenen ANT Boy Dağılımı .....	73

3.2.4. ANT FTIR Sonuçları.....	74
3.2.5. ANT SEM Sonuçları .....	77
3.2.6. ANT Hidrolitik değredasyon.....	79
3.2.7. ANT İlaç Salımı .....	79
3.2.8. ANT Hücre Deneyleri Sonuçları .....	81
3.2.8.1. İnsan Akciğer Kanseri (A549) Hücreleri Deneyleri.....	81
3.2.8.2. İnsan Kolon Kanseri (HT29) Hücreleri Deneyleri .....	87
<b>4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>94</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>93</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>96</b>

## ÇİZELGELER VE TABLOLAR DİZİNİ

Çizelge 1.1. Albümin çeşitlerinin özet kıyaslama tablosu .....	5
Çizelge 2.1. Doğal çapraz bağlayıcıların derişim değerleri .....	21



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Ovalbümin .....	3
Şekil 1.2. Dana serum albümini .....	4
Şekil 1.3. İnsan serum albümini .....	5
Şekil 1.4. Sığır serum albümin(~7 nm) ile 10 nm partikülün kıyaslanması .....	6
Şekil 1.5. Nanopartiküller sentezlenirken kullanılan bazı materyaller, yüzeylerini fonksiyonel yapmak için yapılan uygulamalar ve nanopartikül şekilleri .....	6
Şekil 1.6. Nano ve mikro partiküllerin sentezlenme yolları .....	8
Şekil 1.7. Nano ve mikro partiküllerin büyük boyuttan küçük boyutlara indirgenerek sentezlenme metodları .....	8
Şekil 1.8. Küçük moleküllerden büyük moleküllere geçiş yoluyla nanopartikül ve Mikropartikül sentezleme yolları .....	10
Şekil 1.9. Glutaraldehitin 2 boyutlu yapısı .....	12
Şekil 1.10. Gallik asitin 2 boyutlu yapısı .....	13
Şekil 1.11. Tannik asitin 2 boyutlu yapısı .....	14
Şekil 1.12. Kuersetinin 2 boyutlu yapısı .....	14
Şekil 1.13. Mevcut nab teknolojisi tabanlı ilaçlar için farklı geliştirme aşamalarını gösteren ürün hattı .....	16
Şekil 1.14. Abraxane® paklitaksel eşdeğeri ve gemitabin kombinasyonunun metastatik kanserli bir hastada, PET taramaları .....	17
Şekil 1.15. Piyasa onayına ulaşmış veya klinik gelişimin farklı aşamalarında olan albumin bazlı ilaçlara genel bakış .....	17
Şekil 1.16. Victoza®: biraz modifiye edilmiş bir glukagon benzeri peptid dizisinde (albumin bağlayıcı) glutamik asidin N-terminal pozisyonunda eklenen lizinin ε-amino pozisyonundaki miristik asit. ....	18
Şekil 1.17. Selekoksinin 2 boyutlu yapısı .....	19
Şekil 2.1. Albumin mikro taşıyıcı sentezi akış şeması .....	21
Şekil 2.2. MTT formazana dönüşerek mor renk verir .....	26
Şekil 3.1. Gallik asit 0.0119 g/ml AMT boy dağılım grafiği .....	27
Şekil 3.2. Gallik asit 0.0096 g/ml AMT boy dağılım grafiği .....	28
Şekil 3.3. Gallik asit 0.0072 g/ml AMT boy dağılım grafiği .....	28
Şekil 3.4. Gallik asit 0.0048 g/ml AMT boy dağılım grafiği .....	29

Şekil 3.5. Gallik asit 0.0024 g/ml AMT boy dağılım grafiği .....	30
Şekil 3.6. Gallik asitle sentezi yapılan AMT tüm derişimlerin toplu boy dağılımı grafiği .....	30
Şekil 3.7. Gallik asitle sentezi yapılan AMT mikroskop görüntüsü .....	31
Şekil 3.8. Glutaraldehid ile sentezi yapılan AMT mikroskop görüntüsü .....	31
Şekil 3.9. Tannik asit 0.0119 g/ml AMT boy dağılım grafiği .....	32
Şekil 3.10. Tannik asit 0.0096 g/ml AMT boy dağılım grafiği .....	32
Şekil 3.11. Tannik asit 0.0072 g/ml AMT boy dağılım grafiği .....	33
Şekil 3.12. Tannik asit 0.0048 g/ml AMT boy dağılım grafiği .....	33
Şekil 3.13. Tannik asit 0.0024 g/ml AMT boy dağılım grafiği .....	34
Şekil 3.14. Tannik asitle sentezi yapılan AMT tüm derişimlerin toplu boy dağılımı grafiği .....	35
Şekil 3.15. Tannik asitle sentezi yapılan AMT mikroskop görüntüsü .....	35
Şekil 3.16. Kuersetin 0.02 mg/ml AMT boy dağılım grafiği .....	36
Şekil 3.17. Kuersetin 0.03 mg/ml AMT boy dağılım grafiği .....	36
Şekil 3.18. Kuersetin 0.04 mg/ml AMT boy dağılım grafiği .....	37
Şekil 3.19. Kuersetin 0.05 mg/ml AMT boy dağılım grafiği .....	37
Şekil 3.20. Kuersetin 0.06 mg/ml AMT boy dağılım grafiği .....	38
Şekil 3.21. Kuersetinle sentezi yapılan AMT tüm derişimlerin toplu boy dağılımı grafiği.....	38
Şekil 3.22. Kuersetinle sentezi yapılan AMT mikroskop görüntüsü .....	39
Şekil 3.23. Albümin FTIR spektrumu .....	40
Şekil 3.24. Glutaraldehid FTIR spektrumu .....	40
Şekil 3.25. Gallik asit FTIR spektrumu .....	40
Şekil 3.26. Tannik asit FTIR spektrumu .....	41
Şekil 3.27. Kuersetinin FTIR spektrumu .....	41
Şekil 3.28. Glutaraldehid ile sentezlenen AMT FTIR spektrumu.....	42
Şekil 3.29. Gallik asit ile sentezlenen AMT FTIR spektrumu .....	42
Şekil 3.30. Tannik asit ile sentezlenen AMT FTIR spektrumu .....	42
Şekil 3.31. Kuersetin ile sentezlenen AMT FTIR spektrumu .....	42
Şekil 3.32. Glutaraldehid ile sentezlenen AMT SEM görüntüsü .....	43
Şekil 3.33. Gallik asit ile sentezlenen AMT SEM görüntüsü .....	44
Şekil 3.34. Tannik asit ile sentezlenen AMT SEM görüntüsü .....	44
Şekil 3.35. Kuersetin ile sentezlenen AMT SEM görüntüsü .....	45

Şekil 3.36. Sentezlenen AMT hidrolitik degradasyon davranışları.....	45
Şekil 3.37. İlaç etken maddesi selekoksibin hazırlanan kalibrasyon grafiği ve doğrusu.....	47
Şekil 3.38. Sentezlenen AMT'lerin ilaç salım davranışları.....	47
Şekil 3.40. A549 hücreleri ( $t_0$ anında).....	48
Şekil 3.41. A549 hücreleri kontrol grupları üremeleri .....	49
Şekil 3.42. Kullanılan kimyasalların A549 hücre hattında gösterdiği % ölüm miktarları .....	49
Şekil 3.43. A549 hücrelerinin gallik asit ile etkileşim sonuçları .....	50
Şekil 3.44. A549 hücrelerinin tannik asit ile etkileşim sonuçları.....	50
Şekil 3.45. A549 hücrelerinin kuersetin ile etkileşim sonuçları.....	51
Şekil 3.46. A549 hücrelerinin ilaç ile etkileşim sonuçları .....	51
Şekil 3.47. Sentezlenen AMT'lerin A549 hücre hattında gösterdiği % ölüm miktarları .....	52
Şekil 3.48. A549 hücrelerinin GLA-AMT'lerle etkileşim sonuçları .....	53
Şekil 3.49. A549 hücrelerinin GA-AMT'lerle etkileşim sonuçları.....	53
Şekil 3.50. A549 hücrelerinin TA-AMT'lerle etkileşim sonuçları.....	54
Şekil 3.51. A549 hücrelerinin QU-AMT'lerle etkileşim sonuçları.....	54
Şekil 3.52. İlaç yüklü AMT'lerin A549 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi ...	55
Şekil 3.53. A549 hücrelerinin ilaç/GLA-AMT'lerle etkileşim sonuçları .....	55
Şekil 3.54. A549 hücrelerinin ilaç/GA-AMT'lerle etkileşim sonuçları.....	56
Şekil 3.55. A549 hücrelerinin ilaç/TA-AMT'lerle etkileşim sonuçları.....	56
Şekil 3.56. A549 hücrelerinin ilaç/QU-AMT'lerle etkileşim sonuçları.....	57
Şekil 3.57. HT29 Hücreleri ( $t_0$ anında) .....	58
Şekil 3.58. HT29 hücreleri kontrol grupları üremeleri .....	58
Şekil 3.59. Kullanılan çapraz bağlayıcıların saf halde HT29 üzerindeki sitotoksik etkisi.....	59
Şekil 3.60. HT29 hücrelerinin gallik asit ile etkileşim sonuçları.....	59
Şekil 3.61. HT29 hücrelerinin tannik asit ile etkileşim sonuçları .....	60
Şekil 3.62. HT29 hücrelerinin kuersetin ile etkileşim sonuçları .....	60
Şekil 3.63. HT29 hücrelerinin ilaç ile etkileşim sonuçları.....	61
Şekil 3.64. Sentezlenen AMT'lerin HT29 üzerindeki sitotoksik etkileri.....	61
Şekil 3.65. HT29 hücrelerinin GLA-AMT etkileşim sonuçları .....	62
Şekil 3.66. HT29 hücrelerinin GA-AMT etkileşim sonuçları.....	62

Şekil 3.67. HT29 Hücrelerinin TA-AMT etkileşim sonuçları.....	63
Şekil 3.68. HT29 Hücrelerinin QU-AMT etkileşim sonuçları.....	63
Şekil 3.69. İlaç yüklü AMT'lerin HT29 üzerindeki sitotoksik etkisi.....	64
Şekil 3.70. HT29 hücrelerinin İLAÇ/GLA-AMT etkileşim sonuçları.....	65
Şekil 3.71. HT29 hücrelerinin İLAÇ/GA-AMT etkileşim sonuçları .....	65
Şekil 3.72. HT29 hücrelerinin İLAÇ/TA-AMT etkileşim sonuçları .....	66
Şekil 3.73. HT29 hücrelerinin İLAÇ/QU-AMT etkileşim sonuçları .....	66
Şekil 3.74. Gallik asitle sentezlenen ANT'lerin koloidal fotoğrafı .....	67
Şekil 3.75. Gallik asit 0.0048 g/ml ile sentezlenen ANT boy dağılımı.....	67
Şekil 3.76. Gallik asitle sentezlenen ANT mikroskop görüntüsü .....	68
Şekil 3.77. Tannik asitle sentezlenen ANT'lerin koloidal fotoğrafı.....	68
Şekil 3.78. Tannik asit 0.0048 g/ml ile Sentezlenen ANT boy dağılımı .....	69
Şekil 3.79. Tannik asitle sentezlenen ANT mikroskop görüntüsü .....	69
Şekil 3.80. Kuersetinle sentezlenen ANT'lerin koloidal fotoğrafı.....	70
Şekil 3.81. Kuersetin 0.03 mg/ml ile sentezlenen ANT boy dağılımı.....	70
Şekil 3.82. Kuersetinle sentezlenen ANT mikroskop görüntüsü .....	71
Şekil 3.83. Gallik asit FTIR spektrumu .....	71
Şekil 3.84. Gallik asitle sentezlenen ANT FTIR spektrumu .....	72
Şekil 3.85. Tannik asit FTIR spektrumu .....	72
Şekil 3.86. Tannik asitle sentezlenen ANT FTIR spektrumu .....	72
Şekil 3.87. Kuersetinin FTIR spektrumu .....	73
Şekil 3.88. Kuersetinle sentezlenen ANT FTIR spektrumu .....	73
Şekil 3.89. Gallik asitle sentezlenen ANT SEM görüntüsü .....	74
Şekil 3.90. Tannik asitle sentezlenen ANT SEM görüntüsü .....	75
Şekil 3.91. Kuersetinle sentezlenen ANT SEM görüntüsü .....	75
Şekil 3.92. Sentezlenen ANT hidrolitik degradasyon davranışları .....	76
Şekil 3.93. Sentezlenen GA-ANT'lardan ilaç salım davranışları .....	77
Şekil 3.94. Sentezlenen TA-ANT'lardan ilaç salım davranışları .....	77
Şekil 3.95. Sentezlenen QU-ANT'lardan ilaç salım davranışları .....	78
Şekil 3.96. A549 hücreleri (t <sub>0</sub> anında).....	78
Şekil 3.97. A549 hücreleri Kontrol Grupları Üremeleri .....	79
Şekil 3.98. Sentezlenen ANT'lerin A549 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi.	79
Şekil 3.99. A549 hücrelerinin GA-ANT'lerle etkileşim sonuçları .....	80
Şekil 3.100. A549 hücrelerinin TA-ANT'lerle etkileşim sonuçları .....	81

Şekil 3.101. A549 hücrelerinin QU-ANT'lerle etkileşim sonuçları .....	81
Şekil 3.102. İlaç yüklü ANT'lerin ve iLACIN A549 hücre hattı Üzerindeki sitotoksik Etkisi .....	82
Şekil 3.103. A549 hücrelerinin İLAÇ/GA-ANT'lerle etkileşim sonuçları .....	82
Şekil 3.104. A549 hücrelerinin İLAÇ/TA-ANT'lerle etkileşim sonuçları.....	83
Şekil 3.105. A549 hücrelerinin İLAÇ/QU-ANT'lerle etkileşim sonuçları .....	83
Şekil 3.106. A549 hücrelerinin ilaç ile etkileşim sonuçları .....	84
Şekil 3.107. HT29 hücreleri (t <sub>0</sub> anında) .....	85
Şekil 3.108. HT29 hücreleri kontrol grupları üremeleri .....	85
Şekil 3.109. Sentezlenen ANT'lerin HT29 üzerindeki sitotoksik Etkileri.....	86
Şekil 3.110. HT29 hücrelerinin GA-ANT etkileşim sonuçları .....	86
Şekil 3.111. HT29 hücrelerinin TA-ANT etkileşim sonuçları .....	87
Şekil 3.112. HT29 hücrelerinin QU-ANT etkileşim sonuçları .....	87
Şekil 3.113. İlaç yüklü ANT'lerin ve ilacın HT29 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi .....	88
Şekil 3.114. HT29 hücrelerinin İLAÇ/GA-ANT'lerle etkileşim sonuçları .....	88
Şekil 3.115. HT29 hücrelerinin İLAÇ/TA-ANT'lerle etkileşim sonuçları .....	89
Şekil 3.116. HT29 hücrelerinin İLAÇ/QU-ANT'lerle etkileşim sonuçları .....	89
Şekil 3.117. HT29 hücrelerinin ilaç ile etkileşim sonuçları.....	90

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AMT	Albümün Mikro Taşıyıcı
ANT	Albümün Nano Taşıyıcı
FTIR	Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
OVA	Ovalbümün
BSA	Dana Serum Albümini
HSA	İnsan Serum Albumini
kDa	Kilodalton
GA	Gallik Asit
TA	Tannik Asit
GLA	Glutaraldehit
Q	Kuersetin
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi
COX-II	Siklooksijenaz-II
SBF	Simulated Budy Fluid
NaCl	Sodyum Klorür
KCl	Potasyum Klorür
CaCl <sub>2</sub>	Kalsiyum Klorür
NaHCO <sub>3</sub>	Sodyum Bikarbonat
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	Magnezyum Sülfat
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O	Sodyum Hidrojen Fosfat
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Potasyum Fosfat
TNBS	Trinitrobenzensülfonik Asit
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
HCl	Hidroklorik Asit

HT29	İnsan Kolon Kanseri Hücre Hattı
A549	İnsan Akciğer Kanseri Hücre Hattı
DMEM	Minimal Essential Medium
PBS	Fosfat Buffer Solution
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-yl)-2,5-Difeniltetrazolyum Bromit



## 1. GİRİŞ

Nanoteknolojinin en büyük etkileri tıp ve biyoloji alanında yaşanmıştır. Nanoteknolojik yöntemlere dayanarak üretilen nanopartiküller tıp alanında geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Nanopartiküller çeşitli biyolojik ya da sentetik polimerlerden sentezlenerek ilaç salınım sistemleri oluşturulmaktadır. Bu polimerlerden birisi de albümandir. Albümin kan plazmamızın %55 ini oluşturmaktadır. Albümin bazlı nanopartiküller toksik değildir, immunojenik değildir, biyoyumlu ve biyobozundur. Aynı zamanda spesifik hücreler üzerindeki hedefleme özelliği ile çeşitli tedaviler için taşıyıcı özellik göstermektedir.

Albümin nanopartiküller çeşitli ilaçları yüksek bağlama kapasitesine sahiptir ve herhangi bir yan etki bırakmadan vücutta yok edilir. Bu özellikler albümini tıp alanındaki çalışmalarda eşsiz bir polimer haline getirmektedir.

Kanser dünya çapında en çok ölüme sebep olan hastalıklardan biridir. Bu sebeple araştırmacılar kanseri baskılayan ya da bağışıklık sistemini güçlendiren ve kansere moleküler hedef alabilen ürünler üzerinde durmaktadır. Bu amaçlar doğrultusunda albümin yine avantajlı madde olarak karşımıza çıkmaktadır. Çünkü albüminin katı tümör dokularında birikmektedir böylece hiçbir ekstra sisteme gerek duymadan tümör hedefli çalışmalarda kolaylık sağlamaktadır.

Albümin bazlı partiküller oluşturulurken genelde glutaraldehit, karbodiimid gibi çeşitli sentetik çapraz bağlayıcılar kullanılmaktadır. Özellikle glutaraldehit oldukça yaygın kullanılmaktadır. Ancak sentetik yapıların zamanla istenmeyen sağlık sorunlarına yol açtığı çeşitli araştırmalarla gündeme getirilmiştir. Glutaraldehit letal doza sahip bir çapraz bağlayıcı olduğundan zaten bağışıklık sistemi zayıf olan kanser hastalarında kullanılması oldukça sakıncalı durumlar ortaya çıkarabilir.

Yapılacak bu tez çalışmasında doğal çapraz bağlayıcılar olarak gallik asit, tannik asit ve kuersetin kullanılacaktır. Bu doğal çapraz bağlayıcılar aynı zamanda antioksidan olduğu için kanser üzerinde kendi etkilerini de göstererek belki ilaca bile gerek duymadan kanseri yok etmesi hedeflenmektedir.

## 1.1.Amaç ve Kapsam

Nanoteknolojinin en büyük etkileri tıp ve biyoloji alanlarındadır. Nanoteknolojik yöntemlere dayanarak üretilen nano ve mikrot taşıyıcılar tıp alanında geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Taşıyıcılar çeşitli biyolojik ya da sentetik polimerlerden sentezlenerek ilaç salınım sistemleri oluşturulmaktadır. Biyopolimerlerden birisi de albümindir. Albümin kan plazmasının %55'ini oluşturmaktadır.

Albümin bazlı taşıyıcılar toksik değildir, immunojenik değildir, biyoyumludur ve biyobozunurdur. Aynı zamanda spesifik hücreler üzerindeki hedefleme özelliği ile çeşitli tedaviler için taşıyıcı özellik göstermektedir. Albümin taşıyıcıların çeşitli ilaçları yüksek bağlama kapasitesi ve herhangi bir yan etkisiz vücutta tolere edilebilir oluşu sayesinde tüm dikkatleri üzerine çekmiştir. Albüminin katı tümör dokularında birikmesi sebebiyle tümör hedefli çalışmalarda albümin bazlı ilaç dağılım sistemleri geliştirilmektedir.

Araştırmada albümin mikrot taşıyıcısı (AMT) ve albümin nanotaşıyıcı (ANT) sentezinde çapraz bağlama işlemi sentetik çapraz bağlayıcı olmadan doğal malzemeler olan gallik asit, tannik asit ve kuersetin ile gerçekleştirilmiştir.

Her doğal malzemenin belli derişimlerinde AMT ve ANT sentezi yapılacaktır. Doğal çapraz bağlayıcıların kullanılması ile elde edilecek albümin taşıyıcılar FTIR, SEM ile yapısal olarak karakterize edilecektir.

Nano ve ya mikro yapıların sentezinde genellikle kullanılan glutaraldehitin, yapılan bazı çalışmalarda zamanla istenmeyen sağlık sorunlarına yol açtığı gündeme getirilmiştir. Glutaraldehit yoğun olarak CO<sub>2</sub>'ye metabolize olur ancak idrarla atılımı düşüktür. Sağlık çalışanları tarafından duyuşsal tahriş edici etkiler, cilt ve solunum organlarında hassasiyet ve diğler semptomlar bildirilmiştir. İnsanlarda kronik bronşit ve nazal semptomların prevalansı, glutaraldehit maruziyetinin konsantrasyonları ile önemli ölçüde ilişkilidir. Cilt tahrişinin kapsamı, temas süresine ve yerine bağlıdır ve semptomların şiddeti doza bağlı olduğu bildirilmiştir(Takigawa ve Endo 2006).

Yapılacak bu tez çalışmasında doğal çapraz bağlayıcı olarak kullanılan fenolik bileşikler aynı zamanda antioksidan, antikanser özelliğe sahiptir. Moleküllerin bu özelliğinden de yararlanılarak kanser hücreleri üzerinde ilaç dahi olmadan sitotoksik etki bırakması planlanmaktadır.

## 1.2. Kaynak Özetleri

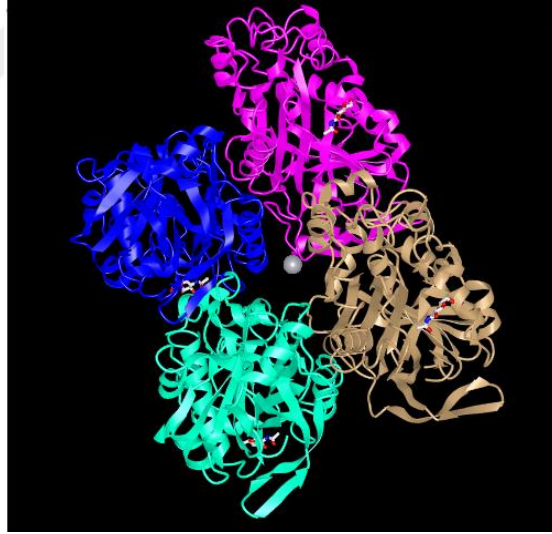
### 1.2.1. Albümin

#### 1.2.1.1. Albümin çeşitleri

##### Ovalbümin (OVA)

Ovalbümin yumurta beyazından ekstrakte edilir. Gıda matrisi tasarımında sıkça kullanılan oldukça fonksiyonel gıda proteindir. Kimyasal olarak 385 amino asit kalıntısından oluşan fosfoglikoprotein monomeridir. 47000 Da moleküler ağırlığına sahiptir. İzoelektrik noktası 4.8'dir.

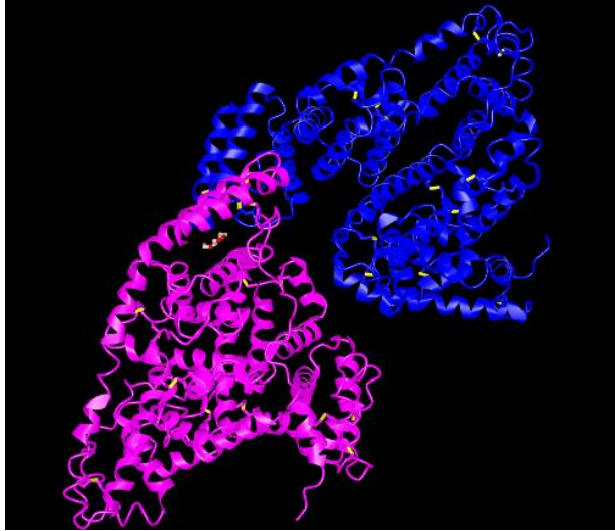
Diğer moleküllere oranla bulunabilirliği yüksek ve düşük maliyetli olması sayesinde ilaç taşıyıcı olarak tercih edilmektedir. Ayrıca OVA jel ağı oluşturma, emülsiyon ve köpük stabilizasyonu gibi özellikleri de bulunmaktadır. Sıcaklık ve pH duyarlılığı sayesinde ilaç salınımı için yüksek potansiyel oluşturmaktadır (Elzoghby vd. 2012).



Şekil 1.1. Ovalbümin.

##### Dana serum albümin (BSA)

Dana serum albümini 69 kDa ağırlığındadır. İzoelektrik noktası 25 derecede su içerisinde 4.7 dir. Medikal önemi, bulunabilirliği, düşük maliyeti, saflaştırma kolaylığı, ligand bağlama özelliği ve farmasötik olarak kabul edilmiş bir molekül olması BSA'nın yaygın kullanımını sağlamıştır (Elzoghby vd. 2012).



Şekil 1.2. Dana serum albümini

### *İnsan Serum Albümin (HSA)*

BSA in-vivo immünolojik cevaplara neden olabileceği için onun yerine HSA tercih edilebilir. HSA 66,5 kDa'dur ve oldukça çözünür olan 585 amino asit kalıntısından oluşur. 35 sistein kalıntısı içerir. Düşük oranda triptofan içerir. İkincil yapısında %65 alfa-helix ve 6 dönüş ile 17 disülfid köprüsü içerir. Üçüncül yapısında alfa-helikal elipsoid yapısında üç homojen domain disülfid köprüleriyle çapraz bağlanmıştır. Bu üç domainin her biri 'A' ve 'B' olarak adlandırılan iki alt domain bulundurur (Karimi vd. 2016).

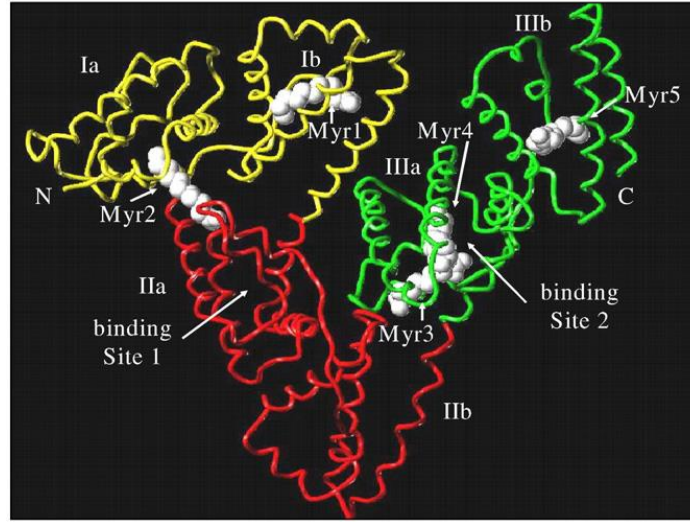
Sıcaklığa (60 derecede 10 saate kadar), pH'a (4-9 aralığında stabil) ve organik çözücülere karşı dayanıklıdır (Elzoghby vd. 2012).

Albümin plazmada en çok bulunan protein yapısıdır. Plazmanın yaklaşık %55 ini oluşturur. Karaciğerlerimiz günlük olarak 10-15 gram albümin üretir. İnsan serum albümininin (HSA) yarılanma ömrü yaklaşık 19 gündür.

HSA'nın fonksiyonları ve bağlanma özellikleri çok yönlüdür:

a) uzun zincirli yağ asitleri için çözücü ajan görevi görür ve bu nedenle lipitlerin metabolizması için gereklidir (Kratz F. 2008).

b) HEM'in bozulma ürünü olan bilirubini bağlar, hormonların ve steroidlerin dağılımını sağlar (Kratz F. 2008; Tan ve Ho 2018).



Şekil 1.3. İnsan serum albümini

c) penisilinler, sülfonamidler, indol bileşikleri ve benzodiazepinler gibi çok sayıda terapötik ilacı bağlar,

d) Bakır (II) ve nikel (II) 'yi spesifik ve kalsiyum (II) ve çinko (II)' yi nispeten spesifik olmayan bir şekilde bağlar ve kandaki bu metal iyonları için taşıyıcı görevi görür,

e) kanın onkotik basıncından (Başta albümin olmak üzere proteinlerin sıvıyı damar içinde tutmasına yol açan basınçtır. Albümin miktar olarak azalır ise onkotik basınç azalır; kan sıvısı yani plazma damar içinden damar dışına sızar ve dokular arasında, karın boşluğu ve akciğer zarları arasında birikir.) sorumlu ana proteindir,

f) HSA parçalandığı zaman, amino asitler periferik dokulara besin sağlar.

HSA, kan plazmasında bulunan en küçük proteinlerden birisidir (Kratz F. 2008).

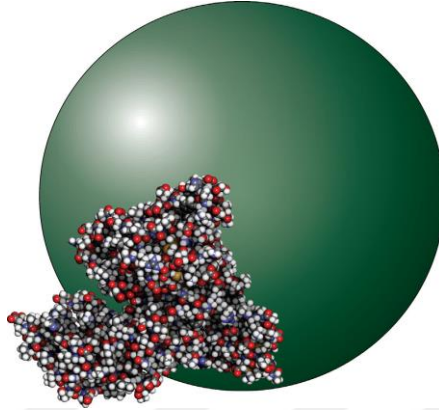
Albümin, düşük immünojenitesi, non-toksikliği, bulunabilirliği, tümör dokularında hücre içi alımı desteklediği rapor edilmesi, iyi biyoyumluluk göstermesi ve biyobozunur olması onu ilaç ve gen iletimi için ideal bir taşıyıcı yapar (Karimi vd. 2016).

Çizelge 1.1. Albümin çeşitlerinin özet kıyaslama tablosu

Özellik	Ovalbümin	Dana serum albümin	İnsan serum albümin	Tavşan serum albümin
Molekül ağırlığı	47 kDa	69 kDa	66,5 kDa	64.3 kDa
Amino asit sayısı	385 aa	607 aa	585 aa	-
İzoelektrik noktası (suda @ 25°C)	4.7	4.8	4-9	8.6
Bulunduğu yerler	Yumurta beyazı	Dana serumu	İnsan serumu	Tavşan serumu

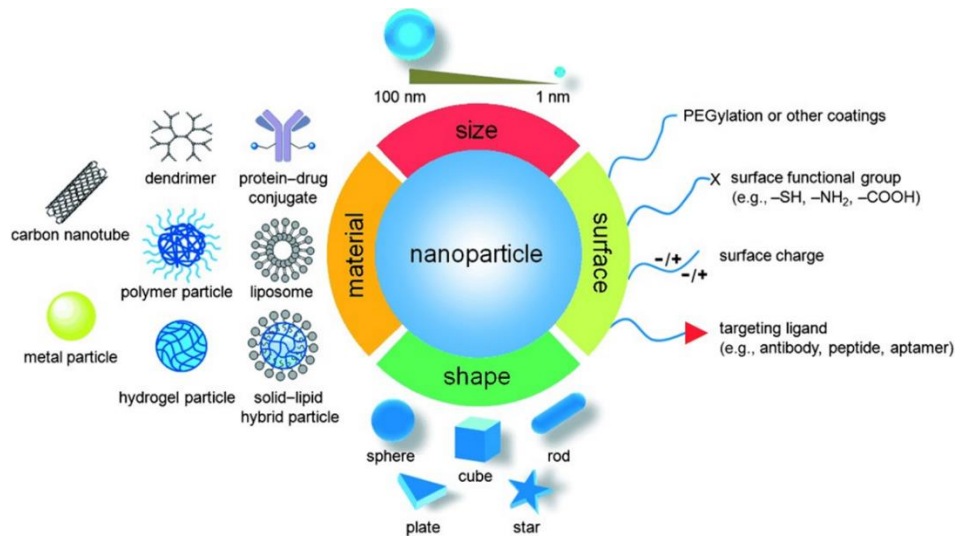
## 1.2.2. Mikropartikül & Nanopartikül

Nanopartiküller 1 ila 100 nanometre arasındaki boyutlar için tanımlanır ve mikropartiküller 100 nanometre ile 1000 mikrometre aralığındaki boyutlar için tanımlanır.



Şekil 1.4. Sığır serum albümin (~7 nm) ile 10 nm partikülün kıyaslanması.

- Mikro ya da nanopartiküller küre, küp, silindir, yıldız ve ya düzlem gibi çeşitli formlarda olabilir.
- Partiküller sentezlenirken metal partiküller, çeşitli organik ya da sentetik polimerler kullanılabilir.
- Aynı zamanda partiküllerin yüzeyinin elektrik yükü çeşitli yöntemlerle değiştirilebilir. Yüzeylerine fonksiyonel gruplar, hedef liganlar takılabilir. Partikülün kullanılacağı yer ve kullanım amacı doğrultusunda istenen şekilde modifiye edilerek daha efektif kullanılması sağlanabilir.



Şekil 1.5. Nanopartiküller sentezlenirken kullanılan bazı materyaller, yüzeylerini fonksiyonel yapmak için yapılan uygulamalar ve nanopartikül şekilleri verilmiştir.

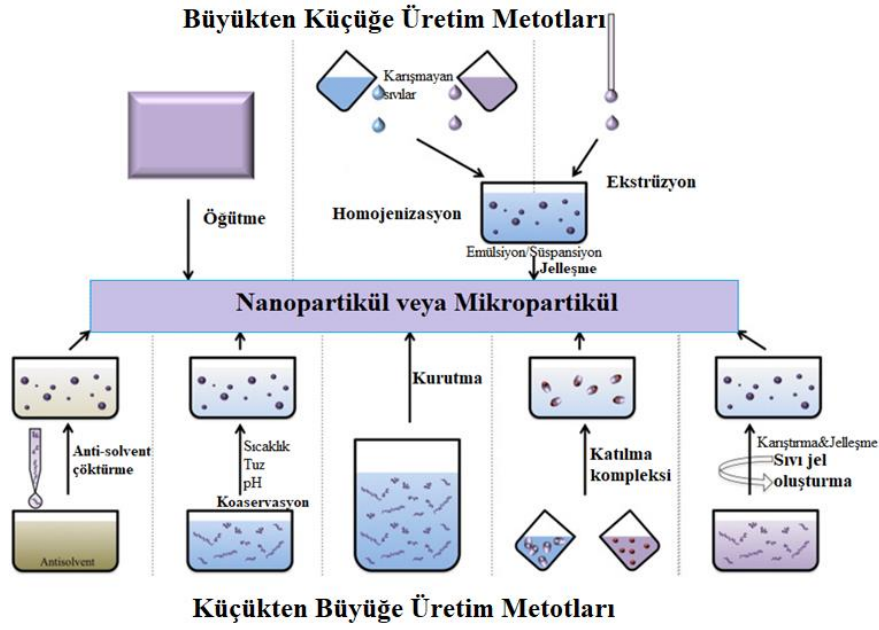
Vücutun dolaşım sisteminde ilaç taşıyıcı sistemleri etkileyen iki ana fizikokimyasal etmen vardır. Bunlar partikül boyutu ve yüzey karakteristik özellikleri. Partikül boyutu vücut sirkülasyonunda filtre edilmeyecek kadar küçük olmalı. Yüzey karakteristiği direkt olarak partikül boyutunu etkileyen bir olgudur. Partikülün yüzey karakteristik özellikleri spesifik plazma membran reseptörleri ile intraksiyonlarını belirler. Yeni biyoteknolojik yaklaşımlarla bu partiküller modifiye edilebilir. Böylece partiküllerin sistemik dolaşıma elimine edilmemesi sağlanır.

Mikro ve nano boyuttaki partiküller terapötik ajanların salınması ve yüklenmesi için mükemmel bir taşıyıcıdır. Küçük boyuttaki partiküller vücutta buldukları yerlerde sitimülasyona neden olur. Son zamanlarda mikro ve nano partiküller içerisine biyobozunur moleküllerin koyulması dikkat çekici bir konu olmuştur. Çünkü biyobozunur moleküllerin toksisitesi oldukça düşüktür ve birçok molekül çeşidi bu partiküllere yüklenebilir (DNA, proteinler, ilaçlar vb.). Kanser aşuları için MP ve NP formülasyonları hızla geliştirilebilir ve prelinik çalışmalardan klinik denemelere kolayca dönüştürülebilir. Aynı zamanda bu partiküller mükemmel terapötik potansiyel gösterir.

Nanopartikül endositoz ile hücre membranından hücre içine alınır. Ayrıca nanopartiküller antikolar gibi proteinlere bağlandıktan sonra bile hücrelere girebilmektedir. Nanopartiküller antikolarla konjuge edilerek hedefli kanser tedavisinde kullanılabilir. Çeşitli nanopartiküller, kanser teşhisi ve tıbbi tedavisi için hedeflenmiş biyolojik belirteçler ve ilaç salınım maddeleri olarak da kullanılmaktadır (Daraee vd. 2014).

### **1.2.2.1. Mikropartikül ve Nanopartikül Üretim Yolları**

Genel olarak sentezleme yolları iki kategoride incelenmektedir. Bunlar: büyükten küçüğe üretim metodları ve küçükten büyüğe üretim metodlarıdır. Bahsedilen büyüklük ve küçüklük malzemenin boyutudur yani küçük malzemelerden büyük partiküller elde edilmesi ya da büyük malzemelerin küçültülmesidir. Sentezleme yolu seçilirken metodun teknik ve ticari olarak uygulanabilir olması gerekmektedir. Bu nedenle maliyeti düşük olmalıdır. Biyolojik malzemelerle çalışılıyorsa işlem boyunca toksik olmayan çözücüler kullanılmalıdır. Aynı zamanda seçilen yöntemin büyük ölçeklere uyarlanması kolay olmalıdır.



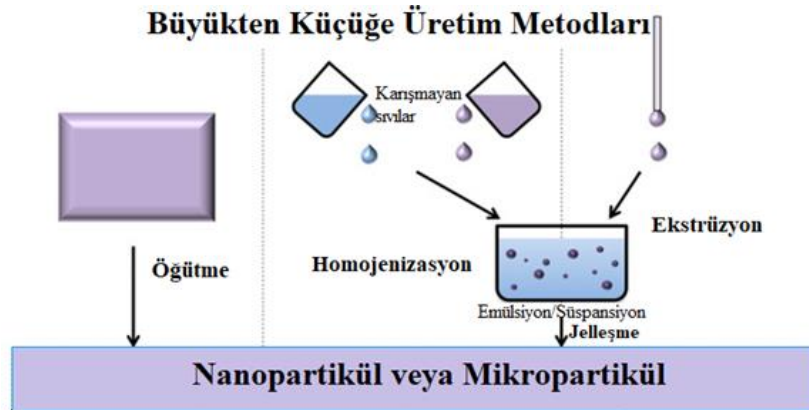
Şekil 1.6. Nano ve mikro partiküllerin sentezlenme yolları

### Büyükten Küçüğe Üretim Metotları

Büyük partiküllerin nano ya da mikro boyuta indirildiği metotlardır. Parçacıkları parçalamak için üç çeşit yıkıcı kuvvet etkilidir: kayma, çarpma ve sıkıştırma. Üç yöntem içermektedir.

- Öğütme
- Homojenizasyon
- Ekstrüzyon

Bu yöntemler yüksek ekipman maliyeti, bakım ve işletme maliyetleri gerektirmektedir. Materyal üzerine uygulanan büyük basınç ve stres malzemenin bozulmasına neden olabilmektedir. Ayrıca standardizasyon sorunundan dolayı tek tip yapısal özelliklere sahip partiküllerin sentezlenmesi zordur.



Şekil 1.7. Nano ve mikro partiküllerin büyük boyuttan küçük boyutlara indirgenerek sentezlenme metotları.

## Öğütme

Öğütme genellikle değerli ve hassas biyoaktif bileşenler için uygun değildir, çünkü büyük miktarda malzeme gereklidir. Malzemeler üzerindeki basınç ve mekanik baskı bozulmaya neden olabilir.

## Homojenizasyon

Mekanik bir cihaz kullanarak birbiri içinde karışmayan iki sıvının bir araya getirilmesiyle bir emülsiyon oluşturulmasını içerir. Emülsiyon oluşumundan sonra, iç faz sıcaklık muamelesi veya jelleştirici ajanların eklenmesi ile jelleştirilir. Bu tema üzerinde çeşitli varyasyonlar mevcuttur:

-Suda Su Emülsiyonları (W/W): Bu sistemde su fazları emülsiyonu oluşturmak için birlikte karıştırılır ve daha sonra iç su fazı çapraz bağlanır. Hidrojeller bu yöntemle sentezlenir. Hidrojeller sentezlenirken proteince zengin bir solüsyonla ve polisakkaritçe zengin iki biyopolimer çözeltisinin oluşturduğu faz farkından yararlanır. W/W emülsiyonu birlikte karışırken içerideki su fazı asidifikasyon ya da transglutaminaz çalışmalarıyla çapraz bağlanır.

-Yağda Su emülsiyonları (W/O): emülsiyonlar karışan yağ fazının içerisine suda çözünebilen bir biyopolimerin sulu fazını damlatılarak oluşturulmaktadır. Daha sonra sulu fazdaki biyopolimerlerin çapraz bağlayıcı vasıtasıyla stabil kalması sağlanır. Çeşitli amaçlar doğrultusunda sıcaklık, iyon, asit, baz ve ya çapraz bağlayıcı ekleme gibi değişikliklerle çalışmalar modifiye edilebilir. Yağlı fazdan uzaklaşmak için santrifüj, filtrasyon ve organik solventlerle yıkama yapılabilir. Seçilen organik solventte biyopolimer çözünmemelidir ve organik solventin en son buharlaştırılarak ortamdaki uzaklaşması sağlanmalıdır.

-Yağda su içinde su emülsiyonları (W/W/O), yeni bir yapı ile biyopolimer partikülleri oluşturulmaktadır. Örneğin aljinatın içerisine peynir altı suyu proteinleri enkapsüle edilmesinde W/W/O emülsiyonları oluşturulmaktadır.

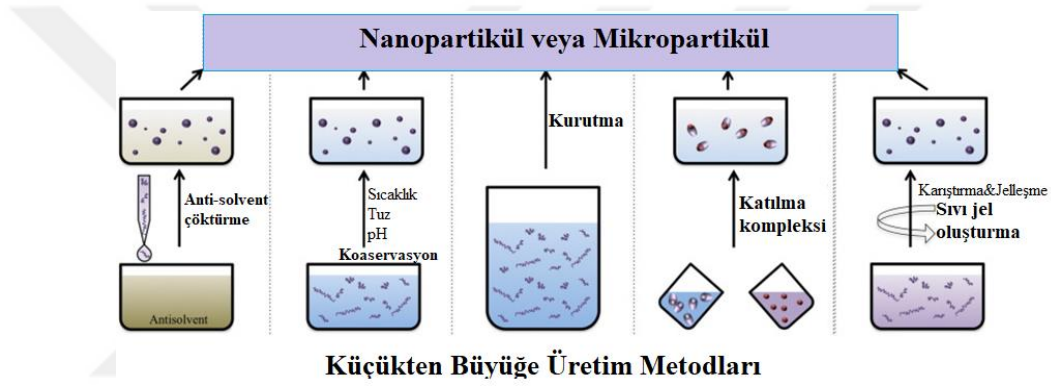
-Su içinde yağda su emülsiyonları (W/O/W), bu durumda, suda çözünür kapsüllenmiş bir bileşik bir W/O/W emülsiyonunun iç su fazı içinde tutulur. İç su fazı veya yağ fazı bir biyopolimer tarafından jelleştirilir.

## Ekstrüzyon

Yaygın olarak kullanılır. Burada jelleştirici ortama bir biyopolimer çözeltisi enjekte edilerek parçacık oluşturulur. Hızlı uygulanabilir ve endüstriyel ölçek için uygundur. Elde edilen parçacıkların boyutu, iğnenin çapına, çözeltinin akış hızına ve viskozitesine, jelleşme ortamının özelliklerine bağlıdır.

## Küçükten Büyüğe Üretim Metodları

İyonik kuvvet, pH, sıcaklık veya konsantrasyon gibi çevresel koşullardaki değişiklikler nedeniyle parçacıkların kendiliğinden birleşmesi veya moleküllerin kendiliğinden birleşmesi olarak tanımlanmaktadır. Enerji ihtiyacı büyükten küçüğe üretim metodlarına göre daha düşüktür. Sıvı jel oluşturma



Şekil 1.8. Küçük moleküllerden büyük moleküllere geçiş yoluyla Nanopartikül ve Mikropartikül sentezleme yolları.

Parçacıkların boyutu, morfolojisi ve fiziksel durumu kontrol edilerek üretilebilir. Ayrıca kontaminasyon riski, daha azalır. Beş yöntem bulunmaktadır,

- Anti-sovent çöktürme
- Koaservasyon
- Kurutma
- Katılma kompleksi

## Anti-solvent Çöktürme

Bu yöntem, biyopolimerin çözündüğü çözücünün çözünürlüğünün düşürülmesiyle oluşturulan bir sistemdir. Özel donanım ve karmaşık çalışma koşulları gerektirmediği için cazip bir teknolojidir, maliyetler oldukça düşüktür ve teknik oldukça kolay bir şekilde ölçeklendirilebilir. Farmasötik amaçlar doğrultusunda nanopartiküller üretmek için endüstride yaygın olarak kullanılmaktadır.

### **Koaservasyon**

Sürekli olarak karıştırılan polimer çözeltisine damla damla etanol ya da aseton damlatılması prosesidir. Damlatma işlemi çözeltide bulanıklık görülünceye kadar devam eder. Organik solvent polimerin sudaki çözünürlüğünü azaldığı için polimer fazı ayrılır. Polimer fazını stabil hale getirmek için çeşitli çapraz bağlayıcılar kullanılarak stabil hale getirilir.

### **Kurutma**

Kurutma işlemi hacmi ve kütleyi azaltır ve bu nedenle depolama ve nakliye maliyetlerini azaltır, taşıma kapasitesini artırır. Parçacık çapları 1 ile 10 µm arasında değişmektedir. Parçacık özellikleri akış hızı, çözünen konsantrasyon, sıcaklık, basınçlı hava besleme oranı ve atomizasyon metod,u manipülasyonu ile kontrol edilebilir. Kurutma işlemi basit, ekonomik, hızlı ve ölçeklendirmesi kolay olan tek adımda gerçekleşen bir prosestir.

### **Katılma Kompleksi**

İçerisinde boşluk içeren bir moleküle, biyoaktif bir molekülün enkapsülasyon işlemidir. Burada etkili kuvvetler hidrojen bağı, Van Der Waals kuvvetleri ve hidrofobik etkileşimlerdir. Uçucu organik moleküllerin kapsüllenmesi, kokuların veya aromaların maskelenmesi veya aromaların korunması için kullanılmaktadır.

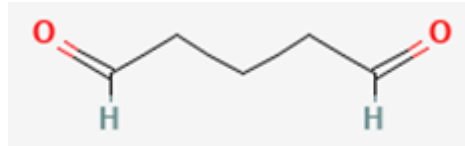
### **Sıvı Jel Oluşturma**

Jelasyon işlemi, tüm sistem boyunca düzgün bir şekilde gerçekleşmelidir ki partiküller arası boyut dağılımı dar olsun. Üretilen parçacıklar genellikle kolayca deforme olabilir ve özelliklerinin karakterizasyonunu zorlaştıran düzensiz bir şekle sahiptir. Partikül özellikleri, kullanılan bileşenlerin tipi, konsantrasyonunu, jelleşmesi ve kayma koşullarını kontrol ederek manipüle edilebilir (Joye ve McClements, 2014).

### 1.2.3. Çapraz Bağlama Ajanları

#### 1.2.3.1. Glutaraldehit

Çapraz bağlayıcı ajan olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Çapraz bağlamada çok çeşitli reaksiyon yolları içermektedir. Çapraz bağlanma reaksiyonu materyalde bulunan lizin amino asidinin  $\epsilon$  amino kalıntısı ile glutaraldehidin aldehit ucu arasında gerçekleşmektedir.



Şekil 1.9. Glutaraldehit'in 2 boyutlu yapısı.

Bu reaksiyon sonucu Schiff bazı ara ürünü oluşmaktadır. Ek olarak ara ürün oluşumunu takiben doymamış gruplar ile amin grupları Michael katılması reaksiyonunu verir ve bunun sonucunda çapraz bağ oluşur. Böylece amin gruplarıyla aldehit gruplarının çapraz bağlanması mümkündür (Damink vd. 1995).

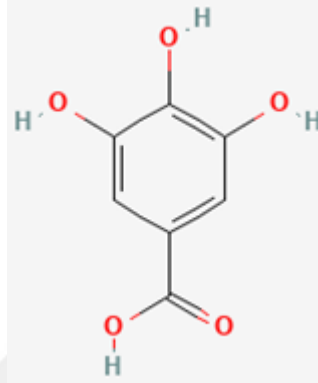
Bahsedildiği gibi glutaraldehit en sık kullanılan çapraz bağlayıcı olmasına karşın sağlık üzerinde yan etkilere sahiptir. Örneğin astım semptomlarını artırır, rinit'e neden olur, deride iritasyonlara neden olur. Biyoprostetik kalp damarı ksenograftlarında stabilizatör olarak yine glutaraldehit kullanılmasına rağmen bu uygulama kalsifikasyona neden olmaktadır. Bunlar sonucunda glutaraldehit, sitotoksiktir.

Sığır perikardiyumu için yapılan bir çalışmada glutaraldehide karşı makrofajlardan sitotoksinlerin salındığı gösterilmiştir. Bu da glutaraldehidin vücutta inflamasyonel yanıt oluşturduğunun kanıtıdır (Pinheiro 2015).

#### 1.2.3.2. Gallik asit

Galik asit (3,4,5 trihidroksibenzoin asit) kristalin bir katıdır, hafif sarıdır. Molekül ağırlığı 170.11954 g/mol ve moleküler formülü  $C_7H_6O_5$ 'tir. Erime noktası,  $210^\circ\text{C}$ 'dir ve  $235\text{-}240^\circ\text{C}$ 'de bozulurken  $\text{CO}_2$  ve  $\text{CO}$  oluşturur. Yoğunluğu 1.69 kg/L ( $20^\circ\text{C}$ ), pKa'sı 4.40 dır. Su, alkol, eter ve gliserolde çözünür ve benzen, kloroform ve eter petrolünde pratik olarak çözünmez. Gallik asit, çoğu bitkide bulunan ikincil

metabolitlerdendir. Başlıca fenoliklerdedir ve hidrolizlenebilen tanenlerdendir. Bir molekül şeker ve farklı sayılardaki fenol asit moleküllerinden oluşan benzoikasittir. Gallik asit ilk tanımlandığında antioksidan kapasitesi üzerinde çok durulsa da daha sonraları antikanser, anti-HIV, antiülserogenik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antifungal özellikleri de açıklanmıştır (Fernandes ve Salgado 2015).



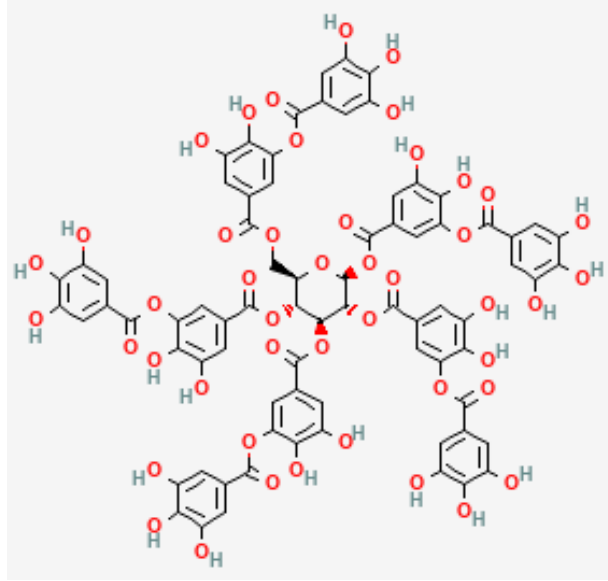
**Şekil 1.10. Gallik asitin 2 boyutlu yapısı.**

Fenolik asitlerin sağlığımız üzerinde olumlu etkilere sahip olmasına rağmen vücudumuzda biyoyararlanımını sınırlıdır. Çünkü stabilizasyonu ve adsorplanma yeteneği düşüktür. GA ve türevleri nano ölçekli dağılım sistemlerinde GA'in biyoyararlanımını ve terapötik etkilerini iyileştirmek için uygulanmıştır. GA, antioksidan, antiinflamatuvar, anti-diyabetik, anti-apoptotik (apoptoz inhibitörü), hepatoprotektif (karaciğer koruyucu), renoprotektif(böbrek koruyucu), nöroprotektif(sinir hücresi koruyucu), anti-obezite ve anti-aging içerir (Ashrafizadeh vd 2021).

### **1.2.3.3. Tannik Asit**

Tannik asit (TA), baklagiller, sorgum, fasulye, muz, hurma, ahududu, şarap ve geniş bir çay çeşidi de dahil olmak üzere çeşitli otsu ve odunsu bitkilerde bulunan doğal olarak oluşan bitki kökenli bir polifenoldür. Sarımsı bir renge sahiptir. Molekül ağırlığı 1701.20 g/mol ve molekül formülü  $C_{76}H_{52}O_{46}$ 'dır.

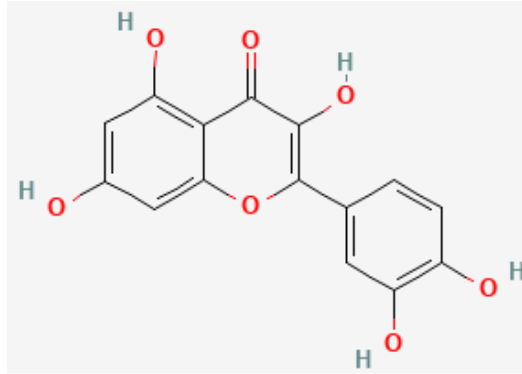
Klinik olarak TA, güçlü antioksidan/serbest radikal süpürücü, antiinflamatuvar, antiviral/bakteriyel ve anti-kanserojen özelliklere sahiptir (Braidı vd. 2017). Kan basıncını düşürme ve pıhtılaşmayı sağlayan fizyolojik etkilere sahiptir. Tannik asit protein yapılarına hidrojen bağı sayesinde bağlanır (Shavandi vd. 2018).



Şekil 1.11. Tannik asitin 2 boyutlu yapısı.

#### 1.2.3.4. Kuersetin

Kuersetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavanon), flavonoidlerin flavonol alt grubuna aittir. Sebze ve meyvelerde, özellikle soğan, elma, çilek, dereotu, rezene yaprağı, kekik, pul biber, karalahana, marul ve brokolide bol miktarda bulunur. Tanım olarak, kersetin bir aglikondur. Sarı renkli, acı bir tada sahiptir ve suda az çözünür ancak alkol ve lipidlerde iyi çözünür.



Şekil 1.12. Kuersetinin 2 boyutlu yapısı.

Diyetlerde, kuersetin genellikle bir veya daha fazla hidroksil grubunun farklı tipteki glikozil gruplarıyla değiştirildiği glikozitler formundadır. Besin takviyelerinin bir bileşeni olarak kersetin, çoğunlukla aglikon formundadır ve kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, obezite ve artrit gibi birçok hastalık için besin takviyesi olarak kullanılır. Kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıkların önlenmesi, antikanser, antidiyabetik, antihipertansif, antihiperlipidemik, antibakteriyel, antiviral, antialerji,

antioksidan, antiinflamatuvar ve anti-hiperürisemik aktivitelerin önlenmesi gibi çok sayıda farmakolojik aktivitenin kersetinin sağlık yararlarını kanıtladığı bildirilmiştir (Nutmakul, 2021). Covid-19 pandemisi döneminde yapılan çalışmalarda kuesetin covid-19 virüsüne karşı güçlü bir aktivite göstermiştir ( Malaterre vd. 2022).

#### **1.2.4. Polifenoller ve Proteinlerin Etkileşimi**

Fenolikler, hidroksil (-OH) grupları içeren bir veya daha fazla aromatik halka içeren kimyasal bileşiklerdir. Meyveler, sebzeler, baklagiller ve tahıllar tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir. Fenolik asitler benzoik asit türevleri ve sinamik asit türevleri olarak iki ana başlıkta incelenir.

Antosiyaninler, flavonlar ve flavonoller, flavanonlar, flavanonoller ve flavanlar dahil olmak üzere 5000'den fazla doğal olarak oluşan flavonoid, izoflavonoid ve neoflavonoid vardır. Bu flavonoidler, moleküler yapı ve ayrıca glikosilasyon, hidroksilasyon, metoksilasyon ve/veya prenilasyon derecesi ve modeli bakımından büyük farklılıklar gösterir. Fenolikler, fenol yapısal birimi gibi reaksiyonlar için bir dizi aktif fonksiyonel gruba ve ayrıca hidroksil, karbonil ve karboksilik asit gruplarına sahiptir.

Çeşitli moleküler yapıları nedeniyle fenolik türler, antioksidan, antiinflamatuvar, anti-obezite, anti-diyabetik, antikanser, antimikrobiyal, antialerjik, hepatoprotektif aktiviteler gibi çeşitli biyolojik ve farmakolojik aktivitelere sahiptir (Guan vd. 2021). Başlangıçta, protein-polifenol kompleksleri zayıf birleşmelerle bir arada tutulur. Mekanizma, protein moleküllerinin köprüler olarak işlev gören polifenolik bileşikler tarafından bir arada tutulduğu kovalent olmayan bir etkileşimdir.

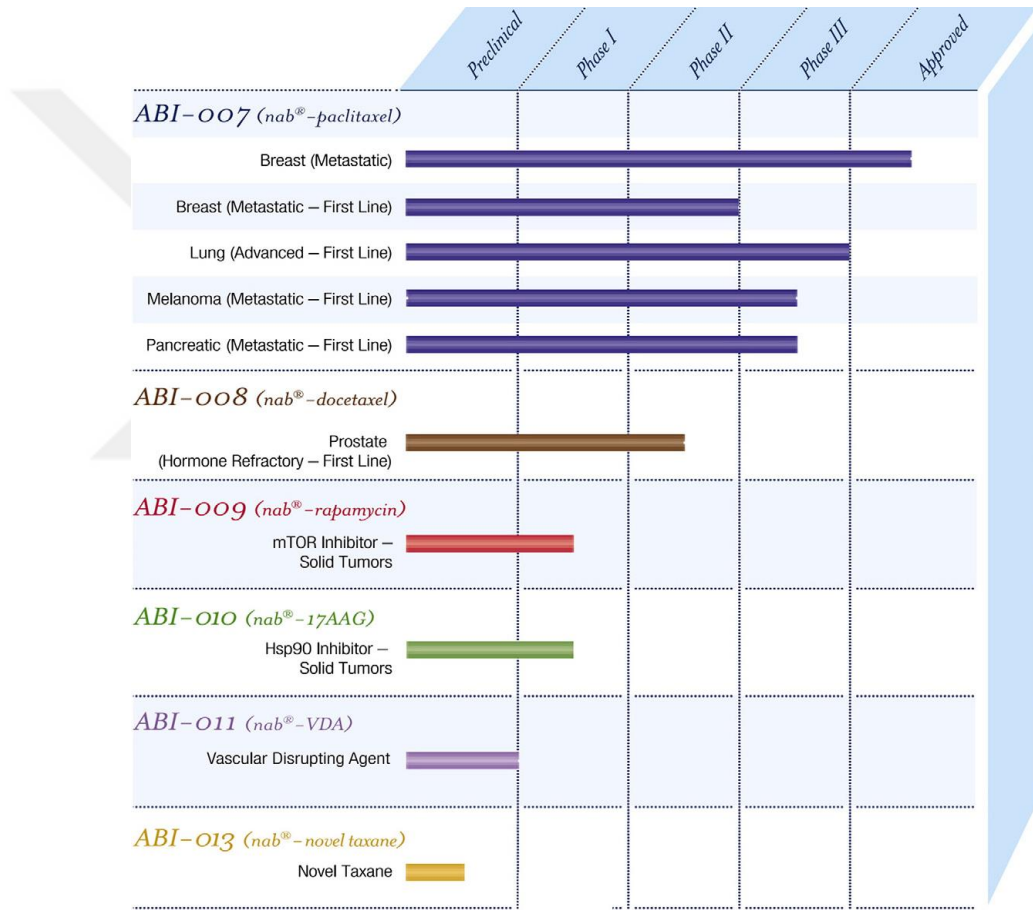
#### **1.2.5. Albümin Nano ve Mikro Partiküllerin Biyomedikal Uygulamaları**

Albümin, düşük immünojenitesi, non-toksisikliği, bulunabilirliği, tümör dokularında hücre içi alımı desteklediği rapor edilmesi, iyi biyoyumluluk göstermesi ve biyobozunur olması onu biyomedikal uygulamalar için ideal duruma getirir. Yüzeyindeki amino ve karboksil grupları gibi fonksiyonel gruplar sayesinde hedeflenen ligand ile kovalent bağ kurar.

Kan serumu ile interaksiyona girmediğinden ilaç taşıyıcı sistemler üzerinde ve gen

terapi araçlarının geliştirilmesi için uygundur. Ayrıca antikanser ilaçların tümör öldürücü aktivitelerini arttırmak için etkili bir taşıyıcıdır.

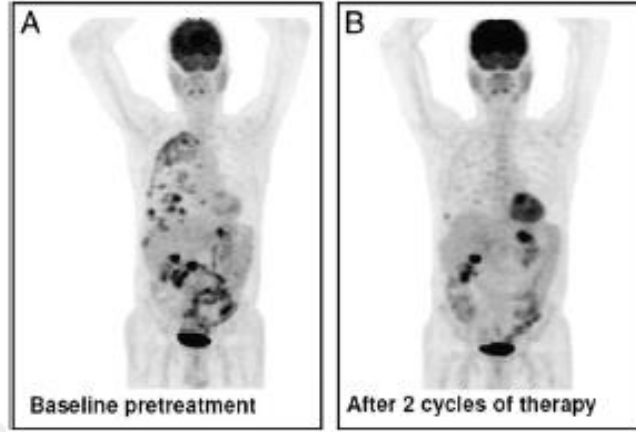
Bir Amerikan şirketinin geliştirdiği ve adına nab teknolojisi dediği yöntemle sentezlenen albümin nanopartiküllerin farklı ilaçlarla yapılan klinik denemelerin aşamaları Şekil 1.13’de gösterilmektedir. Nab teknolojisine göre lipofilik ilaç ve albümin yüksek basınçla bir jet içinden geçirilerek 130 nm boyutunda partiküller oluşturulmaktadır. Bu yöntemle sentezlenen paklitaksel bulunduran partiküller FDA tarafından 2005 yılında ilk kez onaylanmıştır ve 41 ülkede metastasik meme kanseri tedavisinde kullanılmaktadır (Abraxane®) (Elsadek ve Kratz, 2012).



**Şekil 1.13. Mevcut nab teknolojisi tabanlı ilaçlar için farklı geliştirme aşamalarını gösteren ürün hattı.**

Örnek olarak, metastatik pankreas kanserinin seyri ağırdır, gemsitabin veya 5-fluourasil, bugüne kadar %10-20 yanıt oranı ile onaylanan tek ilaçtır ve hayatta kalma süresini 2 ay uzatmaktadır. Bir faz I/II çalışmasında, 125 mg/m<sup>2</sup> paklitaksel eşdeğerlerinde Abraxane® ve gemsitabin kombinasyonu, metastasik pankreas kanseri olan 44 hasta üzerinde yapılan kontrollerde hastaların hayatta kalma süreleri 12.2 aya yükselmiştir.

Bir hasta için gösterilen PET taramada (Şekil 1.14) oldukça anlamlı tepkiler rapor edilmiştir. Bu kombinasyonun etkinliğini daha fazla değerlendirmek için ilerlemiş pankreas kanseri olan hastalarda bir faz III denemesi devam etmektedir (Elsadek ve Kratz, 2012).



Şekil 1.14. Abraxane® 125 mg/m<sup>2</sup> paklitaksel eşdeğeri ve 1000 mg/m<sup>2</sup> gempitabin kombinasyonunun metastatik kanserli bir hastada PET taramaları. (akciğer ve gastrointestinal metastazlarda önemli bir azalma gözlemlendiği rapor edilmiştir.)

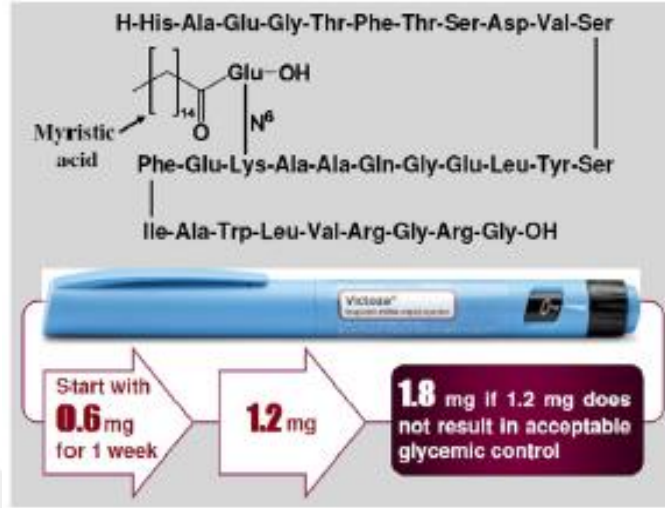
Indication	Phase I	Phase II	Phase III	Market Approval
Diabetes				Levemir®
Diabetes				Victoza®
Diabetes	CJC-1134-PC			
Oncology				Abraxane®
Oncology		INNO-206		
Oncology	MM-111			
Oncology		AFL-HSA		
Oncology	ZHER2:342			
Rheumatology		ATN-103		
Oncology				Nanocoll®
Rheumatology				
Oncology				Albures®
Rheumatology				
Vascular disease				Vasovist®

Şekil 1.15. Piyasa onayına ulaşmış veya klinik gelişimin farklı aşamalarında olan albumin bazı ilaçlara genel bakış.

Ticari adı Levemir® olan albumin bağlayıcı insülin 2004 yılında avrupada onaylanmıştır. Tip 1 diyabet (insülin üretimi olmaması) ve tip 2 diyabet (insülin direnci) tedavisinde kullanılmaktadır. Diğer rakiplerine oranla enjeksiyon öncesinde ve sonrasında çözünür kalan, kristaller ve çökeltiler de oluşturmayan tek uzun etkili insülinidir (Elsadek ve Kratz, 2012).

Victoza®'nın diyabet 2 tedavisindeki faydaları, artan ve uzun süreli insülin salgılanmasına izin veren beta hücrelerini hedeflemesi ve aynı zamanda kan şekeri

seviyelerini düzenlemesi, ağırlığı düşürmesi ve başta gastrointestinal rahatsızlıklar olmak üzere sadece hafif ve geçici yan etkilere sahip olmasıdır (Şekil 1.16) (Elsadek ve Kratz, 2012).



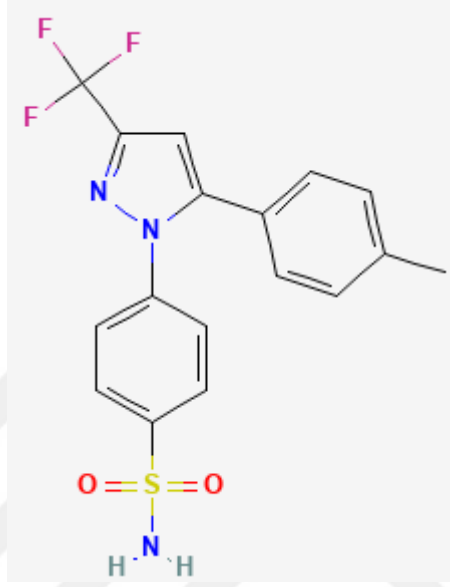
Şekil 1.16. Victoza®: biraz modifiye edilmiş bir glukagon benzeri peptid dizisinde (albümin bağlayıcı) glutamik asidin N-terminal pozisyonunda eklenen lizinin ε-amino pozisyonundaki miristik asit. (Tip 2 diyabet tedavisi için deri altı enjeksiyon için kullanıma hazır şırınga olarak mevcuttur.)

Albümin bazlı nanopartiküller tıp alanında intravenöz, akciğer, intranazal, oküler, otik ilaç dağıtım sistemlerinde çalışmaları devam etmektedir.

İntravenöz sistemlerde yukarıda da bahsedilen Paclitaxel (Abraxane®) metastatik meme kanseri, akciğer kanseri ve pankreas kanseri üzerinde ticari olarak kullanılmaktadır. Klinik çalışmaları devam etmekte olan bazı partiküllerde ise çeşitli tümör hastalıkları, hipertansiyon, mutasyonlu ileri kanser, nefrotik hastalıklar, romatizmal eklem rahatsızlıkları gibi hastalıklar üzerinde çalışılmaktadır. Akciğer sistemi için pulmener fibroz, akciğer kanseri, akciğer hasarları, astım, bronkospazm gibi hastalıklar üzerinde çalışmalar bulunmaktadır. İntranazal sistemler için alzheimer hastalığında çalışılmaktadır. Oküler sistem çalışmaları ise alerjik rahatsızlıklar, retinitler, optik sinir sıkışması, glokom gibi hastalıklar üzerindedir (Tan ve Ho 2018).

### 1.2.6. Antikanser İlaç; Selekoksib

Selekoksib ( $C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$ ), non-steroidal anti-inflamatuvar ilaçlar grubundadır. Etki mekanizması siklooksijenaz-II (COX-II) enzimini inhibe etmektedir. Gastrointestinal sistem üzerindeki yan etkileri düşüktür. Selekoksibin su da çözünürlüğü 4.3 mg/l'dir ( $25^{\circ}C$ 'de). Oldukça düşük bir çözünürlüğe sahiptir.



Şekil 1.17. Selekoksibin 2 boyutlu yapısı.

Ancak COX-II, böbrek ve beyin gibi bazı organlarda yapısal olarak mevcut olduğundan ve diğer dokularda indüklenemediğinden, spesifik COX-II inhibitörleri bile yan etkilerden yoksun değildir. Bu nedenle selekoksib, artmış kardiyovasküler ve renal yan etkilerle ilişkili olabilmektedir (Thakkar vd. 2005).

COX-II enzimi, ağrının ve inflamasyonun rahatlatılmasında hedef moleküldür. Prostaglandin E2 (PGE2) gibi prostanooidlerin üretilmesinde sorumludur ve PGE2 ilk kanserojenik etkileri modüle eder. Ek olarak COX-II kanser hücrelerindeki apoptotik rezistans, proliferasyon, transformasyon, inflamasyon, anjiyogenez, saldırı ve metastas gibi durumları yönetmektedir. Bu sebeplerle COX-II'nin ve alt akış yollarının inhibe edilmesi kanser tedavisinde yararlı olabilir (Mishan vd. 2020).

## 2. MALZEME VE YÖNTEM

### 2.1. Kullanılan Kimyasallar

Çalışmasında albümin mikro ve nano taşıyıcılar hazırlamak için biyopolimer olarak BSA (Sigma Aldrich Co.); çapraz bağlayıcı ajanlar glutaraldehit (J.T.Baker), gallik asit (Sigma Aldrich Co.), tannik asit (Sigma Aldrich Co.) ve kuersetin (Sigma-Aldrich Co.); en dış çözelti olarak zeytinyağı (Komili, Riviera) , yıkama ajanı olarak dietileter (Merck) kullanılmıştır. Anti kanser ilaç olarak Selekoksib (Celecoxib, Sigma-Aldrich Co.) kullanılmıştır. Nanopartikül stabilizasyonu için tween-85 (Sigma-Aldrich Co.) kullanılmıştır.

SBF tamponu hazırlamak için NaCl (Merck), KCl (Riedel-de-Haën), CaCl<sub>2</sub> (Merck), NaHCO<sub>3</sub> (Merck), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (Merck), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O (Merck), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Riedel-de-Haën) kullanılmıştır.

ε-amino tayini için TNBS (Sigma-Aldrich Co.), SDS (Merck), HCl (Merck) kullanılmıştır. Hücre çalışmaları için insan kolon kanseri (HT29) ve insan akciğer kanseri (A549) hücre hatları; medium için DMEM (Applichem); hücreleri flasklardan kaldırmak için tripsin (Applichem); flasklardan kalkan hücreleri yıkamak için PBS; sitotoksisite testinde tetrazolyum tuzu olarak 3-4,5-dimetil-2-tiazolil (MTT (Applichem)) kullanılmıştır.

### 2.2. Kullanılan Cihazlar

UV-VIS spektrofotometre (Thermo Scientific Genesys 10S), manyetik karıştırıcı (IKA-WERKE RT10), hassas terazi (RADWAG AS 220/C/2), pH metre (CyberScan pH500), santrifüj (MPW-65R), ultrasonikatör (çalışkan ultrasonic cleaner), vorteks (VELP SCIENTIFICA), manyetik karıştırıcı (Ika labortechnik), optik mikroskop (Motic AE31E), çalkalamalı su banyosu (MEMMERT WB/OB 7 45, taramalı elektron mikroskobu (SEM), fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (FTIR (Thermo Nicolet IS10)), Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope, SEM, QUANTA 400F Field Emission SEM)

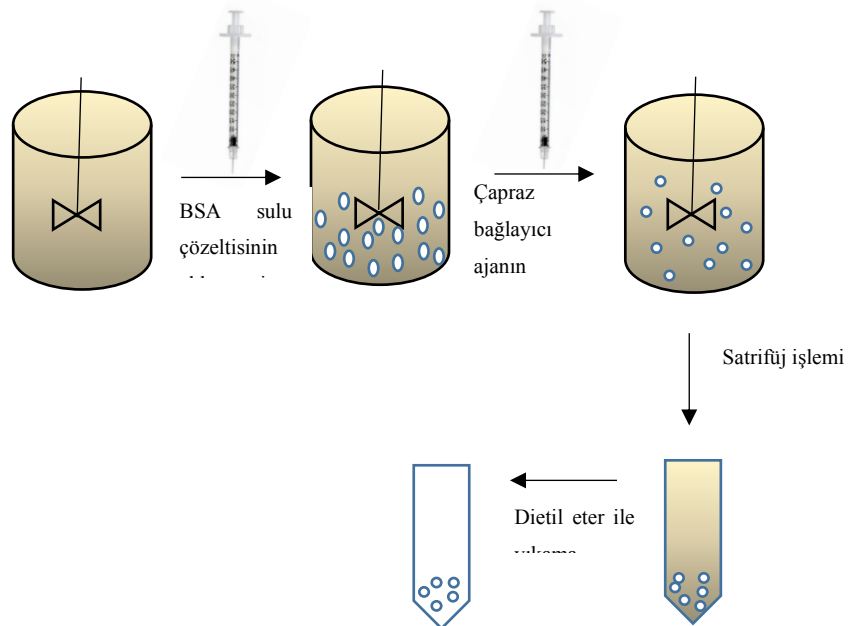
### 2.3. Albümin Mikro Taşıyıcı (AMT) sentezi

Albümin mikro taşıyıcılar (AMT) koaservasyon yöntemi (REF) ile sentezlenmiştir. Bu doğrultuda 50 mg BSA, 500µl distile suda, 500 rpm karıştırma hızında manyetik karıştırıcı aracılığıyla çözdürülmüştür. Çapraz bağlayıcı olarak seçilen gallik asit tannik asit ve Kuersetin için hepsinden 5er farklı konsantrasyonda çözelti hazırlanmıştır. Çözeltiler 500 µl hacminde hazırlanmıştır.

Çizelge 2.1. Doğal çapraz bağlayıcıların derişim değerleri.

Doğal çapraz bağlayıcı	Derişim 1	Derişim 2	Derişim 3	Derişim 4	Derişim 5
Gallik asit	0.0119 g/ml	0.0096 g/ml	0.0072 g/ml	<b>0.0048 g/ml</b>	0.0024 g/ml
Tannik asit	0.0119 g/ml	0.0096 g/ml	0.0072 g/ml	<b>0.0048 g/ml</b>	0.0024g/ml
Kuersetin	0.06 mg/ml	0.05 mg/ml	0.04 mg/ml	<b>0.03 mg/ml</b>	0.02 mg/ml

50 ml zeytinyağının içerisine BSA çözeltisi damla damla damlatılmıştır ve 5 dakika 1000 rpm de karıştırılmıştır. 5 dakika sonunda gallik asit çözeltisi yine damla damla damlatılmıştır ve 30 dakika homojenize olması için karıştırılmaya bırakılmıştır. Çözelti deney tüpüne boşaltılmıştır ve 4500 rpm de santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı uzaklaştırılmıştır ve tüpe dietil eter eklenerek 3 kez yıkamaya tabi tutulmuştur. Daha sonra AMT'lar +4 derecede saklanmıştır. Aynı işlemler çapraz bağlayıcı ajan olan tannik asit ve Kuersetin için de tekrarlanmıştır.



Şekil 2.1. Albümin mikro taşıyıcı sentezi akış şeması.

#### 2.4. Albümin Nano Taşıyıcıların (ANT) Sentezi

Albümin nanopartiküller, desolvasyon yönteminde bazı değişiklikler yapılarak hazırlanmıştır. Bu amaçla 2 mg BSA (%20 w/v), 10ml NaCl (10 mM) sulu çözeltisi içerisinde manyetik karıştırıcı (500 rpm) kullanılarak albümin çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan albümin çözeltisinin pH'sı NaOH (0,1M) kullanılarak 9'a ayarlanmıştır. Daha sonra desolvasyon ajanı olarak aseton, çözeltiliye damla damla (1 ml/1 dk) ilave edilerek çözelti ilk bulanıklaşma görüldüğünde aseton eklenmesi sonlandırılmıştır. Oluşturulmuş nanopartiküllerin stabilizasyonu için çapraz bağlayıcı bir ajan olan gluteraldehid (%25'lik) 10 µl eklenmiştir. Çözelti 500 rpm'de 3 saat boyunca karıştırılmaya bırakılmıştır. 3 saatin sonunda safsızlıkları uzaklaştırılmak için, 14.000 rpm'de 30 dk santrifüjlenip, süpernatantarı mikropipet yardımıyla alınacak ve asetonla tamamlanıp sonikatörde asıl hacmine dağıtılmıştır. Bu yıkama işlemi, toplam 5 kere tekrarlanmıştır. Oluşan nanopartiküller kurutularak +4 derecede saklanmıştır.

Doğal çapraz bağlayıcı derişimi sudaki maksimum çözünürlük derişimleri dikkate alınarak beş farklı değerde olacak şekilde değiştirilmiştir.

Yukarıda bahsedilen yöntem tez önerisinde açıklanan yöntemdir. Ancak bu yöntemle yapılan sentez başarısız olduğu için AMT sentezleme yönteminde modifiyeler yapılarak ANT sentezlenmiştir.

Albümin nano taşıyıcıların hazırlanmasında koaservasyon (REF) yöntemi kullanılmıştır. Mikro taşıyıcılar için kullanılan yöntem sadece karıştırma hızını 250 rpm yaparak sentezlenmiştir. Nano taşıyıcılar için hız 2400 rpm'e çıkarılarak sentez işlemi gerçekleştirilmiştir. AMT'ler için belirlenen optimum miktarlar kullanılarak gallik asit, tannik asit ve quersetin ile Albümin nano taşıyıcılar sentezlenmiştir. 50 ml zeytinyağının içerisine 500 µl BSA çözeltisi damlatılmıştır ve 5 dakika 2400 rpm de karıştırılmıştır. 5 dakika sonunda 500 µl gallik asit çözeltisi damlatılmıştır ve 30 dakika mekanik karıştırıcıda karışmaya bırakılmıştır. Yağlı karışım deney tüpüne boşaltılmıştır ve 4500 rpm de 1 saat santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı uzaklaştırılmıştır ve tüpe dietil eter eklenerek 3 kez yıkama yapılmıştır. Daha sonra ANT'ler +4 derecede saklanmıştır. Aynı işlemler çapraz bağlayıcı ajan olan tannik asit ve Kuersetin için de tekrarlanmıştır.

## **2.5. Albümin Taşıyıcıların Karakterizasyonu**

### **2.5.1. FTIR ile karakterizasyon**

Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi sayesinde her maddeye özgü bir absorpsiyon piki oluşturulmuştur. Maddeye gönderilen infrared spektrumunda madde kendine kimliğini belli eden noktada titreşerek pik verir böylece maddenin karakterizasyonu sağlanır. Maddenin pik verdiği noktalar moleküller arası bağlardan kaynaklanmaktadır. (Büyüksirt T, Kuleaşan H., Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Gıda Analizlerinde Kullanımı, Mayıs 2014)

### **2.5.2. $\epsilon$ -Amino Grup Tayini**

Bikarbonat tamponu (pH: 8.5) 1.6 mg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır ve hazırlanan albümin mikro taşıyıcı ile muamele edilmiştir. % 0.01'lik TNBS hazırlanmıştır. Partikül çözeltisinden 500 $\mu$ l alınır ve üzerine 500  $\mu$ l TNBS çözeltisi eklenmiştir. Oluşturulan çözelti vortekslenmiştir. Ardından 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucu % 10'luk 500 $\mu$ l SDS eklenir ve tepkimeyi durdurmak için 250  $\mu$ l HCl eklenmiştir. Çözeltilerin 335 nm absorbans değerleri okunmuştur.

### **2.5.3. SEM ile karakterizasyon**

Yukarıda belirtilen yöntemle AMT'ler sentezlendikten sonra kesit alınarak SEM cihazında görüntüleme yapılmıştır.

### **2.5.4. Hidrolitik Degredasyon**

Glutaraldehit, gallik asit, tannik asit ve Kuersetin ile çapraz bağlanarak sentezlenen AMT'ler ve ANT'ler farklı tülbent keselere koyularak SBF tamponunda çalkalamalı banyoda 37°C karıştırmaya bırakılmıştır. Belli aralıklarla kütle ölçümü yapılarak kütle değişimine (kütle kaybı değerine) bakılmıştır.

## **2.6. Albümin Mikro ve Nano Taşıyıcıların Antikanser İlaç Çalışmaları**

### **2.6.1. Antikanser İlaç Kalibrasyonu**

Antikanser ilaç olarak Selecoxib seçilmiştir. Selekoksib (NSAİİ) Non-Selektif Anti-İnflamatuvar ilaç olarak tanımlanmıştır. Selekoksibin çözünürlüğü 0,0043 mg/ml'dir. Çözünürlüğü çok düşük olduğu için çözünme sınırında stok çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra stok çözeltilerden 0,5 µg/ml-1µg/ml -2µg/ml -3µg/ml -4µg/ml derişimlerine sahip çözeltiler seyreltilmiştir. UV spektrometrede 240 nm dalga boyunda veriler alınmış ve kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur.

### **2.6.2. Albümin Mikro Taşıyıcılara İlaç Yüklenmesi**

Belirlenen optimum koşullarda ilacın çözünme gücü çok zayıf olduğundan sulu çözeltilerde dağıtılması amacıyla 10 mg BSA bulunan sulu çözeltilere 0,004 mg (sudaki maksimum çözünürlük değeri) selekoksib eklenerek sonikatörde 15 dk muamele görmüştür. Karışmakta olan zeytinyağına bu çözelti damla damla eklendikten 5 dk sonra çapraz bağlayıcının bulunduğu çözelti damlatılmıştır. 30dk 1000 rpm de karıştırılmıştır. 4500 rpm de 5 dakika santrifüj uygulandıktan sonra süpernatant kısmı atılarak dipte kalan kısım dietileter ile 3 kez yıkanmıştır. +4°C de saklanmıştır.

Aynı işlemler diğer çapraz bağlayıcılar için de tekrar edilmiştir.

### **2.6.3. Albümin Nano Taşıyıcılara İlaç Yüklenmesi**

AMT'lerde olduğu gibi hazırlanan BSA'lı çözeltilere 0,0004 gr Selekoksib eklenerek 15 dakika sonikatöre koyulmuştur. Zeytinyağına BSA ve ilaç bulunan çözelti damlatıldıktan sonra 5 dk 2500 rpm'de karışmaya bırakılmıştır. Ardından çapraz bağlayıcı ajan damlatılmıştır. 30 dk 2500 rpm'de homojenize olduktan sonra 1 saat boyunca 4500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı uzaklaştırılarak dipte kalan kısma 3 kez dietileter ile 4500 rpm de 5'er dakika yıkama işlemi yapılmıştır.

+4°C de saklanmıştır.

Yukarıda açıklanan deney protokolü tüm çapraz bağlayıcılar için yapılmıştır.

#### **2.6.4. Antikanser İlaç Salımı**

İlaç salınım profilinin belirlenebilmesi için sentezlenen ilaç yüklü mikropartiküller oluşturulan tülbentten yapılan keseciklerin içerisine koyulmuştur. Tampon çözelti olarak SBF kullanılmıştır. Şişenin içerisine 50 ml SBF koyulmuştur ve keseciğin şişe içerisinde askıda kalması sağlanmıştır. Belirli zaman aralıklarında şişe içerisinden 1 ml örnek alarak 240 nm’de SBF’ye karşı okuma yapılmıştır. Şişelerden alınan örnek kadar ortama taze SBF eklenmiştir.

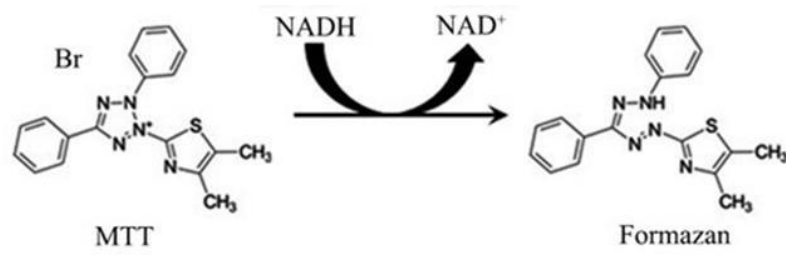
#### **2.7. Hücre Çalışmaları**

HT29 ve A549 hücre hatları DMEM mediumunda, %5 CO<sub>2</sub> inkübatöründe çoğaltılmıştır. Çoğaltmanın ardından 2 gün sonunda hücrelerin %80 konflüente ulaştığı inverted mikroskop aracılığıyla gözlemlenmiştir. Hücreler tek tabaka formuna (monolayer) ulaştığı gözlemlendiğinde besi ortamı flaskdan kolaylıkla uzaklaştırıldıktan sonra hücrelerin üzerine tripsin eklenmiştir ve 5 dakika süresince %5 CO<sub>2</sub> inkübatöründe bekletilmiştir. Flaskların üzerine DMEM eklenerek oluşan süspansiyon falkon tüplere alınmıştır ve 24°C, 1200 rpm de santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı atılarak falkonların üzerine PBS eklenerek yıkama işlemi yapılmıştır. Süpernatant kısmı uzaklaştırılarak üzerine DMEM eklenmiştir. Falkon içerisindeki hücre yoğunluğunu hesaplamak adına Thoma Lamında tripan mavisi indikatörü ile hücre sayımı yapılmıştır. 96 well platelerin her bir kuyucuğunda  $1 \times 10^4$  hücre konsantrasyonu olacak şekilde ekim yapılmıştır. 24, 48 ve 72 saatler olacak şekilde 3 set oluşturulmuştur. AMT’ler, ANT’ler, ilaçlı AMT’ler ve ilaçlı ANT’ler kuyucuklara 1 mg şeklinde, saf kimyasallar çözüdüğü miktar kadar kuyucuklara eklenerek 6 tekrarlı şekilde deneme yapılmıştır. Sitotoksisite deneyleri için MTT testi yapılmıştır.

Hazırlanan 3 set içinde inkübasyon süresini tamamlayan plakanın kuyucuklarında bulunan besi yeri dökülmüştür ve 100 µl taze besiyeri koyulmuştur. PBS’de

(phosphate buffered saline) hazırlanan 5 mg/ml konsantrasyondaki MTT her kuyucuğa 10 µl ekilmiştir. 37°C’de CO<sub>2</sub> inkübatöründe 4 saat inkübe edilmiştir. 4 saatin sonunda her kuyucuktaki MTT besiyeri dökülmüştür ve kuyucuklara 100 µl DMSO koyulmuştur. 150 rpm’de 5 dakika boyunca çalkalandıktan sonra 540 nm’de mikropilaya okuyucuda okutulmuştur.

MTT prosedürü, canlı hücrelerdeki mitokondrilerde bulunan dehidrogenazların aktivitesini ölçmektedir. MTT testi sonucunda mor renk oluşur ve oluşan bu renk spektrofotometrik olarak okunur. MTT canlılığı ölçtüğü için mor renk ne kadar azsa %sitotoksosite o kadar yüksektir.



Şekil 2.2. MTT formazana dönüşerek mor renk verir.

Sitotoksosite hesaplamalarında aşağıdaki denklem kullanılmıştır:

$$\% \text{sitotoksosite} = \frac{\text{İşlenmemiş hücrelerin ort. Abs} - \text{İşlenmiş hücrelerin ort. Abs}}{\text{İşlenmemiş hücrelerin ort. Abs}} * 100 \quad (2.1)$$

### **3. BULGULAR VE İRDELEME**

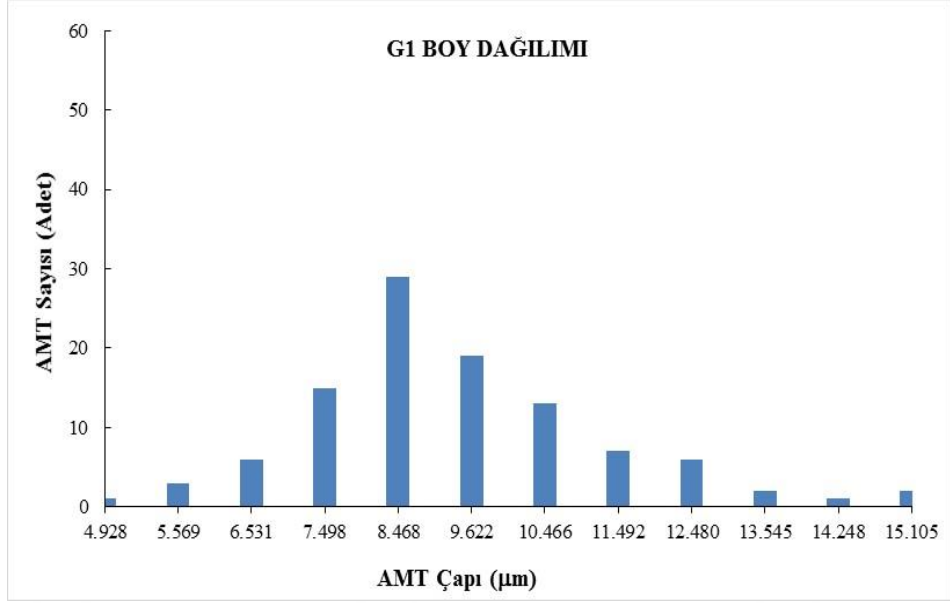
#### **3.1. Albümin Mikro Taşıyıcılar (AMT)**

Sunulan bu araştırmada albümin mikrotasıyıcı (AMT) sentezinde çapraz bağlama işlemi sentetik çapraz bağlayıcı olmadan doğal malzemeler olan gallik asit, tannik asit ve kuersetin ile gerçekleştirilmiştir. Bu alışma ile doğal stabilizör ve/veya çapraz bağlayıcı olarak kullanılan bu bileşiklerin canlı sistemlerdeki etkileşimlerinin değerlendirilmesi ve biyomalzemelerde kullanılması konusunda bilgi edinilmiştir.

AMT sentezinde genelde glutaraldehit, karbodiimid gibi çeşitli sentetik çapraz bağlayıcılar kullanılmaktadır. Özellikle glutaraldehit oldukça yaygın kullanılmaktadır. Ancak sentetik yapıların zamanla istenmeyen sağlık sorunlarına yol açtığı çeşitli araştırmalarla gündeme getirilmiştir. Yapılan bu çalışmada doğal çapraz bağlayıcılar olarak gallik asit, tannik asit ve kuersetin kullanılarak her doğal malzemenin belirlenen derişimlerinde AMT sentezi gerçekleştirilmiştir.

##### **3.1.1. Gallik Asitle Sentezlenen AMT Boy Dağılımı**

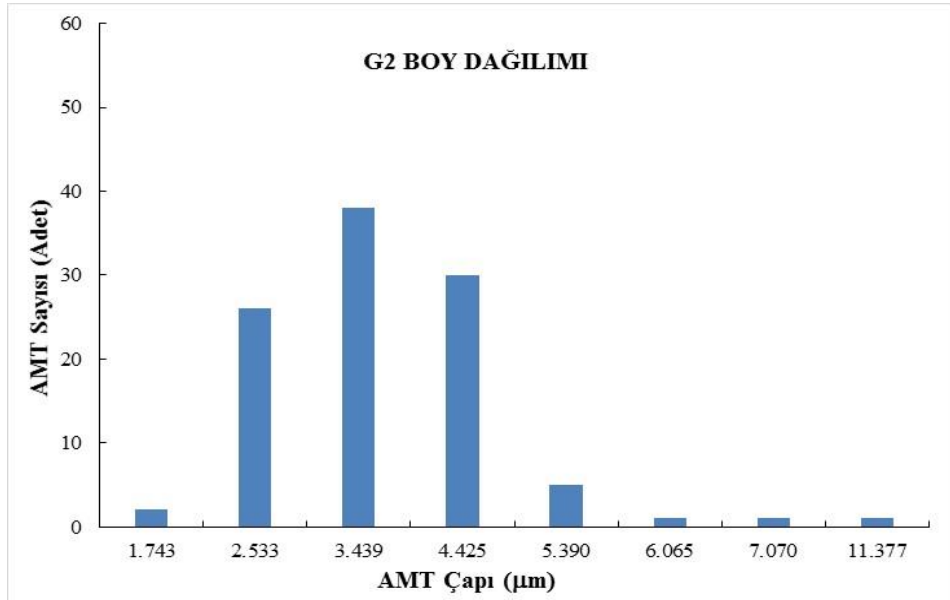
Gallik asitin çapraz bağlayıcı olduğu AMT'ler için yapılan boy dağılımı analizlerine göre yapılan değerlendirmeler aşağıda ayrıntılı olarak verilmektedir.



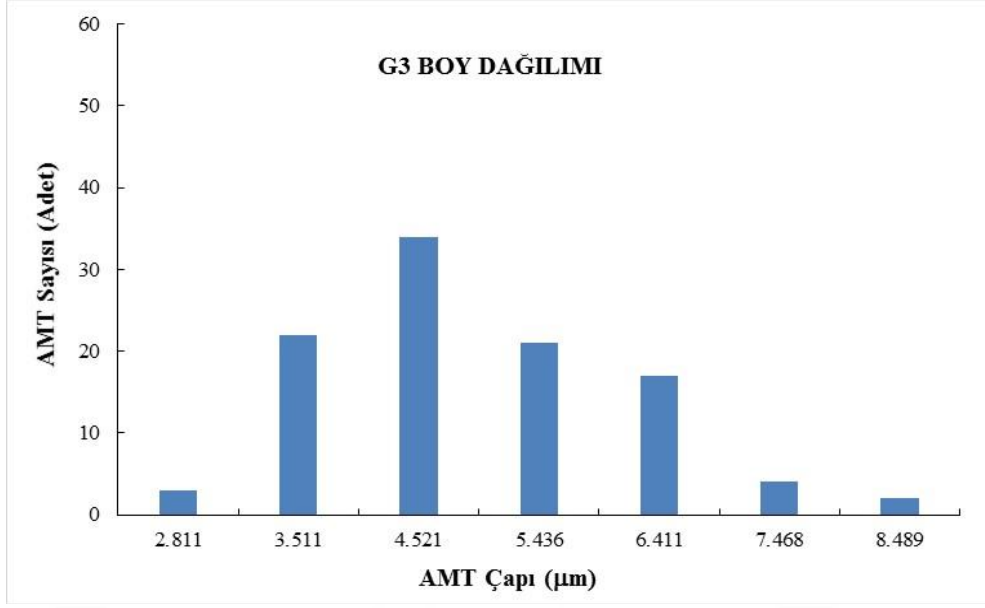
**Şekil 3.1. Gallik asit 0.0119 g/ml AMT boy dağılım grafiği.**

G1 olarak kodlanan derişim (0.0119 g/ml) için ağırlıklı olarak 7-10 µm aralığında değişim gösteren mikro taşıyıcılar elde edilmiştir. Şekil 3.1'den de görüldüğü gibi boy dağılımı 4-15 µm geniş aralığında değişim göstermektedir bu boy dağılımı çok geniş bir aralık olarak değerlendirilmiştir.

G2 olarak kodlanan derişim (0.0096 g/ml) için ağırlıklı olarak 2,5-4,5 µm aralığında değişim gösteren mikro taşıyıcılar elde edilmiştir. Şekil 3.2'den de görüldüğü gibi yine 1-11µm ralığında farklı bir çok dağılım vardır.



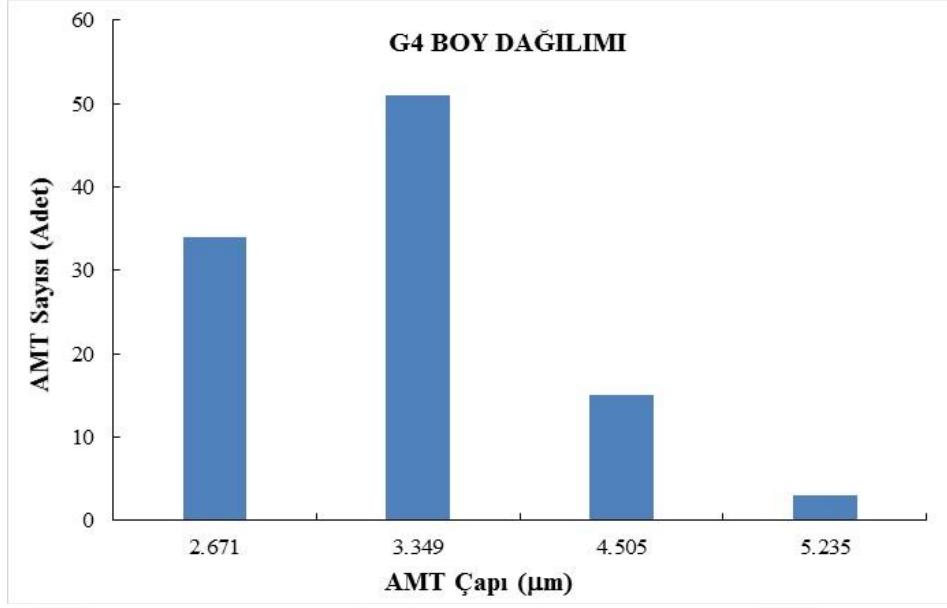
**Şekil 3.2. Gallik asit 0.0096 g/ml AMT boy dağılım grafiği.**



Şekil 3.3. Gallik asit 0.0072 g/ml AMT boy dağılım grafiği.

G3 olarak kodlanan derişim (0.0072 g/ml) için ağırlıklı olarak 3,5-6,5 µm aralığında değişim gösteren mikro taşıyıcılar elde edilmiştir. Şekil 3.3'den de görüldüğü gibi 2-8 µm boyutlarında dağılım göstermiştir. Bu üç derişim sonucunda derişim azaldıkça boy dağılımı değişimi de azalmaktadır.

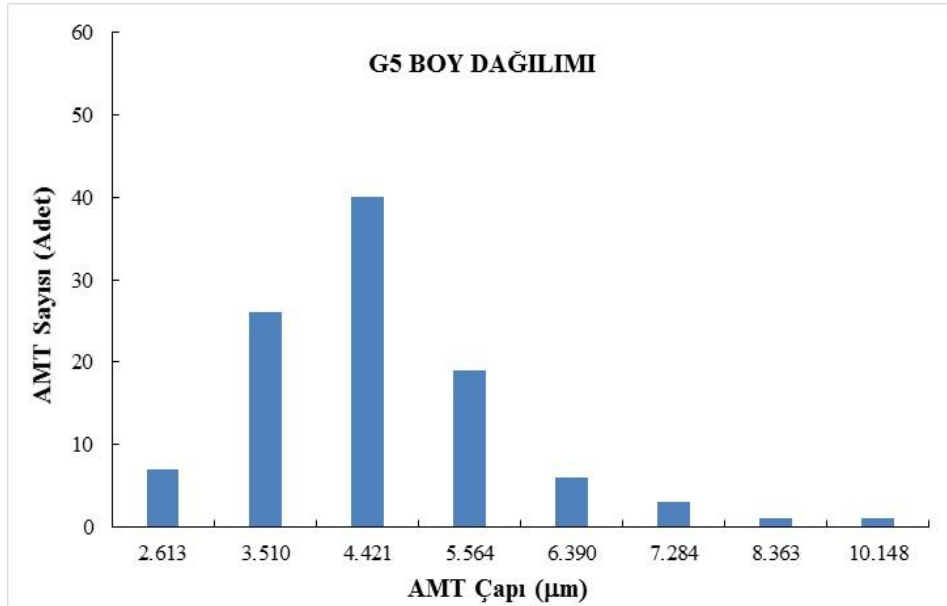
G4 olarak kodlanan derişim (0.0048 g/ml) için ağırlıklı olarak 2,6-4,5 µm µm aralığında değişim gösteren mikro taşıyıcılar elde edilmiştir. Şekil 3.4'den de görüldüğü gibi 2,5-5 µm boyutlarında dağılım göstermiştir. Bu derişimde ise boy dağılım aralığının da oldukça azaldığı gözlenmiştir. en fazla taşıyıcı 3 µm boyutunda oluşmuştur.



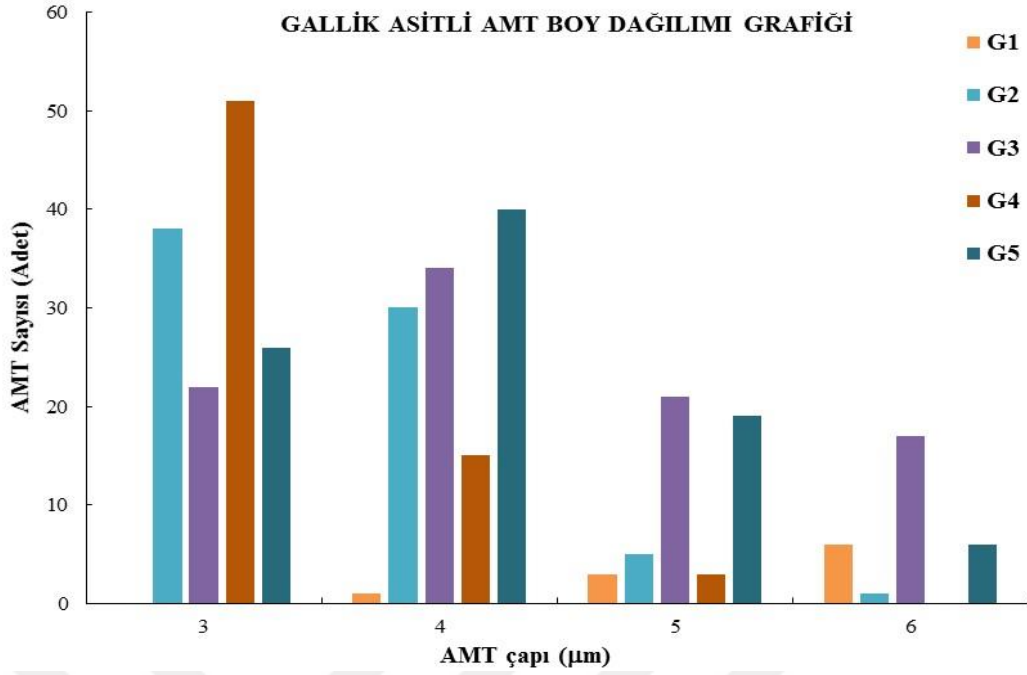
Şekil 3.4. Gallik asit 0.0048 g/ml AMT boy dağılım grafiği.

G5 olarak kodlanan derişim (0.0024 g/ml) için ağırlıklı olarak 3,5-5,5 µm aralığında değişim gösteren mikro taşıyıcılar elde edilmiştir. Şekil 3.5’den de görüldüğü gibi 2,5-10 µm boyutlarında dağılım göstermiştir. Bu derişimde ise boy dağılım aralığının tekra arttığı gözlenmiştir.

Aşağıdaki şekil 3.6’da tüm derişimlerin boy dağılımına etkisini gösteren toplu grafik sunulmaktadır. Sonuç olarak en dar boy dağılımının elde edildiği derişim G4 olarak belirlenmiş ve optimum değer olarak kabul edilmiştir.



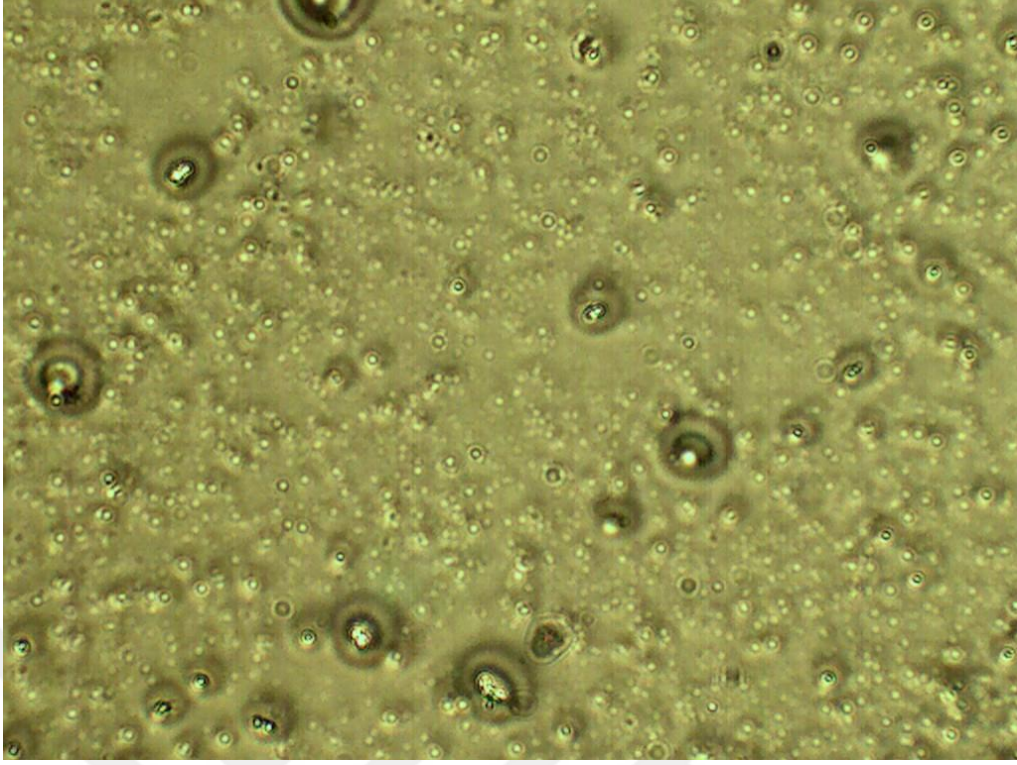
Şekil 3.5. Gallik asit 0.0024 g/ml AMT boy dağılım grafiği.



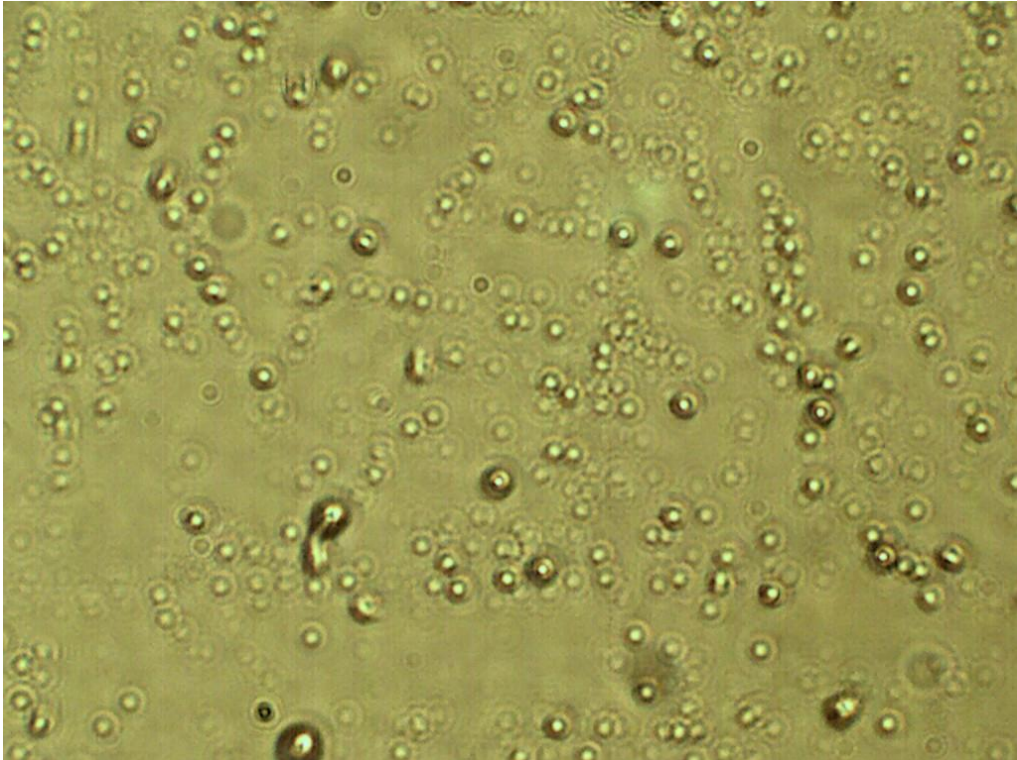
Şekil 3.6. Gallik asitle sentezlenen AMT tüm derişimlerin toplu boy dağılım grafiği.

G4 derişimine ait mikroskop görüntüleri Şekil 3.7’de görölmektedir. Mikroskop görüntülerinde göröldüğü üzere neredeyse tek forma sahip bir çok AMT görölmektedir. AMT’lerin içinin ışığı yansıttığı görölmektedir. Bazılarının ise çerperinin parlak olduğu görölmektedir. Bu taşıyıcıların çerperinin porlu olduğu anlamına gelmektedir.

Şekil 3.8’de verilen glutaraldehitte sentezlenen taşıyıcılarla karşılaştırıldığında form olarak benzer oldukları görölmektedir.



**Şekil 3.7. Gallik asitle sentezlenen AMT mikroskop görüntüsü (büyütme 40x).**

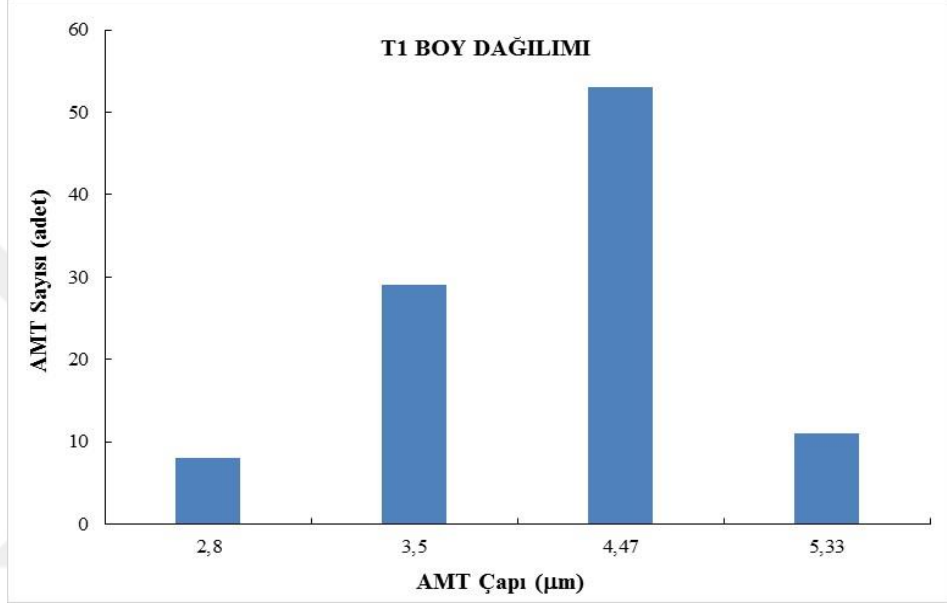


**Şekil 3.8. Glutaraldehidle sentezlenen AMT mikroskop görüntüsü (büyütme 40x).**

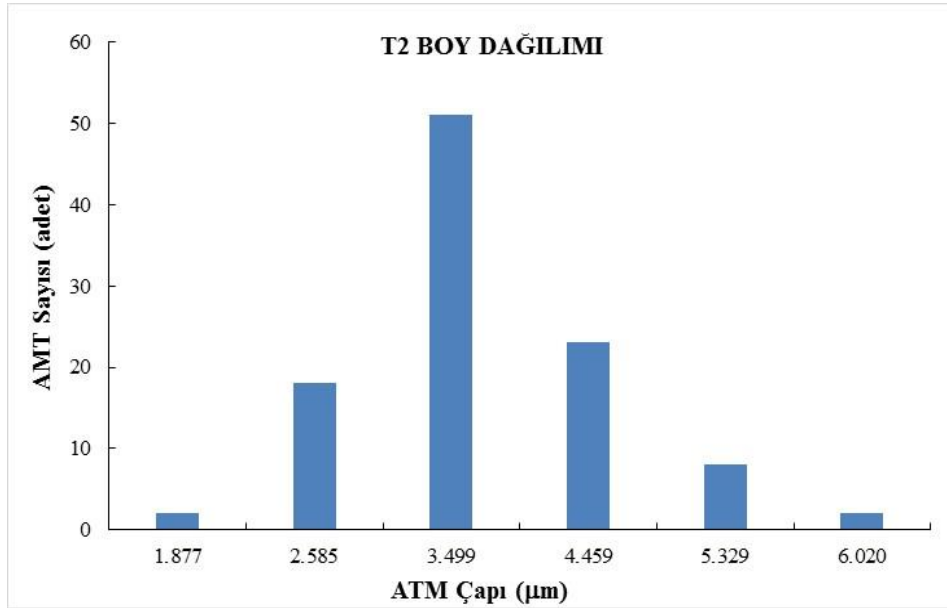
### 3.1.2. Tannik Asitle Sentezlenen AMT Boy Dağılımı

Tannik asitin çapraz bağlayıcı olduğu AMT'ler için yapılan boy dağılımı analizlerine göre yapılan değerlendirmeler aşağıda ayrıntılı olarak verilmektedir.

T1 olarak kodlanan derişim (0.0119 g/ml) için ağırlıklı olarak 3-5  $\mu\text{m}$  aralığında değişim gösteren mikro taşıyıcılar elde edilmiştir. Şekil 3.9'dan da görüldüğü gibi en çok 4  $\mu\text{m}$  de taşıyıcı tespit edilmiştir.



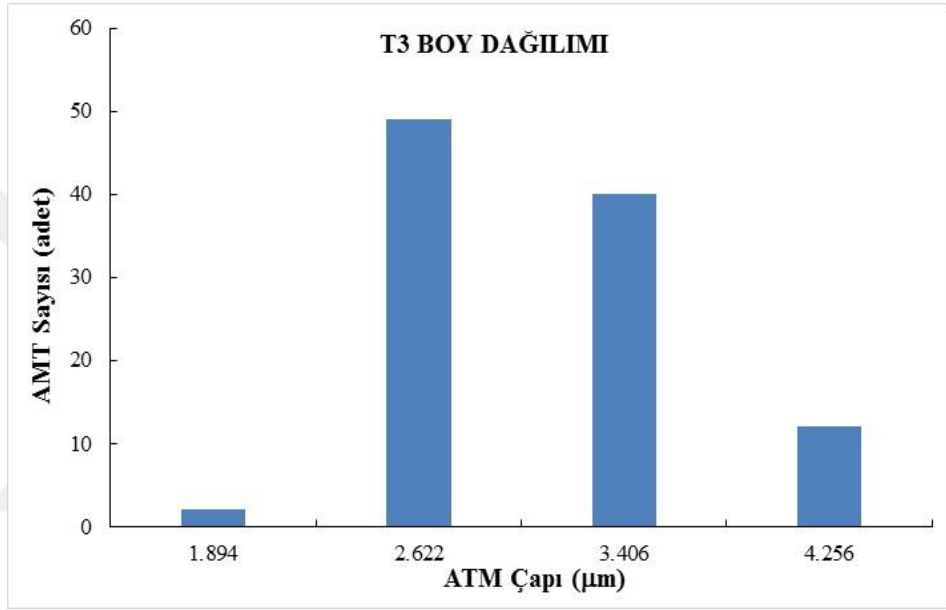
Şekil 3.9. Tannik asit 0.0119 g/ml AMT boy dağılım grafiği.



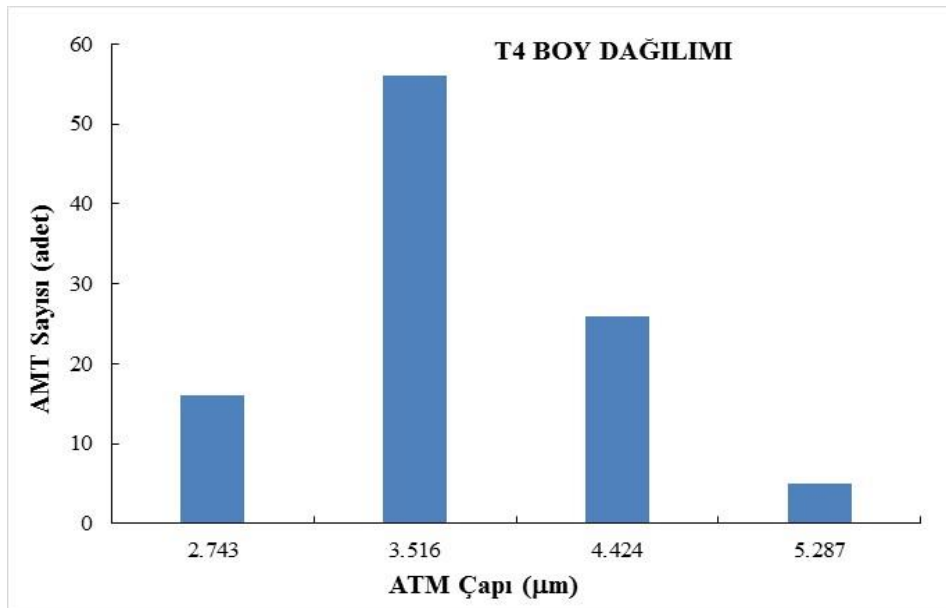
Şekil 3.10. Tannik asit 0.0096 g/ml AMT boy dağılım grafiği.

T2 olarak kodlanan derişim (0.0096 g/ml) için ağırlıklı olarak 1,8-6 µm aralığında değişim gösteren mikro taşıyıcılar elde edilmiştir. Şekil 3.10'dan da görüldüğü gibi bu derişimde boy dağılımı değişkenlik gösteren taşıyıcı elde edilmiştir.

T3 olarak kodlanan derişim (0.0072 g/ml) için ağırlıklı olarak 2-4 µm aralığında değişim gösteren mikro taşıyıcılar elde edilmiştir. Şekil 3.11'den de görüldüğü gibi en çok 2,5 ve 3,5 µm de taşıyıcı sentezlenmiştir. Bu derişimde taşıyıcı boyutunun küçüldüğü gözlenmiştir. Ancak tek bir boyutta değil 2 farklı boyutta çoğunluk oluşmuştur.



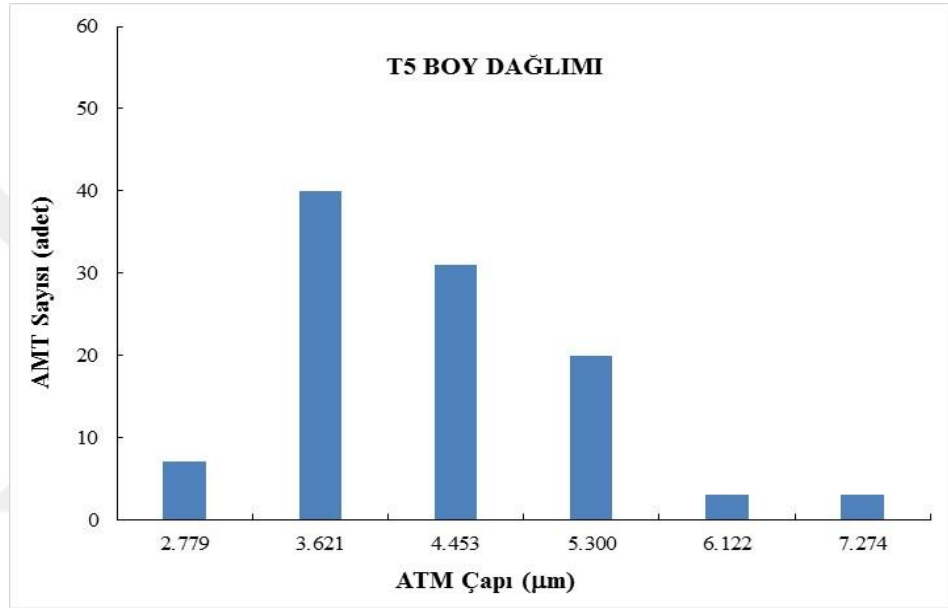
Şekil 3.11. Tannik asit 0.0072 g/ml AMT boy dağılım grafiği.



Şekil 3.12. Tannik asit 0.0048 g/ml AMT boy dağılım grafiği.

T4 olarak kodlanan derişim (0.0048 g/ml) için ağırlıklı olarak 2-4  $\mu\text{m}$  aralığında değişim gösteren mikro taşıyıcılar elde edilmiştir. Şekil 3.12'den de görüldüğü gibi En çok 3,5 ve 4,5  $\mu\text{m}$  de taşıyıcı sentezlenmiştir. Bu derişimde taşıyıcı boyutunun yine küçük olduğu gözlenmiştir. Ancak tek bir boyutta 3,5  $\mu\text{m}$  boyutta yoğunluk oluşmuştur.

T5 olarak kodlanan derişim (0.0024 g/ml) için ağırlıklı olarak 2,5-7  $\mu\text{m}$  aralığında değişim gösteren mikro taşıyıcılar elde edilmiştir. Şekil 3.13'den de görüldüğü gibi boy dağılımı artmıştır.

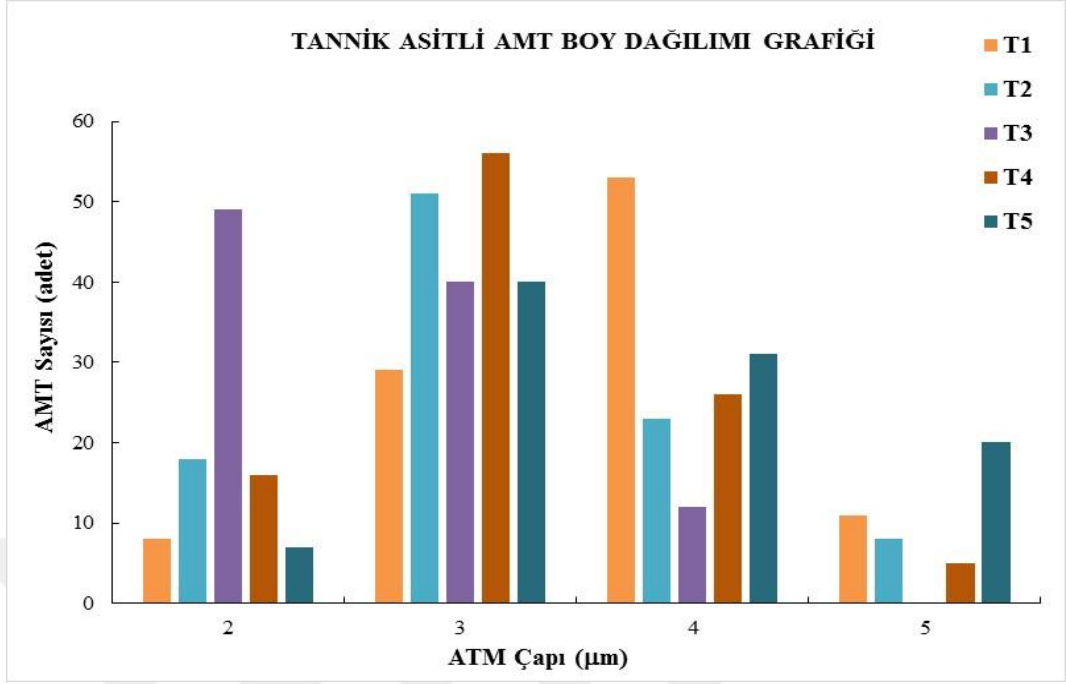


Şekil 3.13. Tannik asit 0.0024 g/ml AMT boy dağılım grafiği.

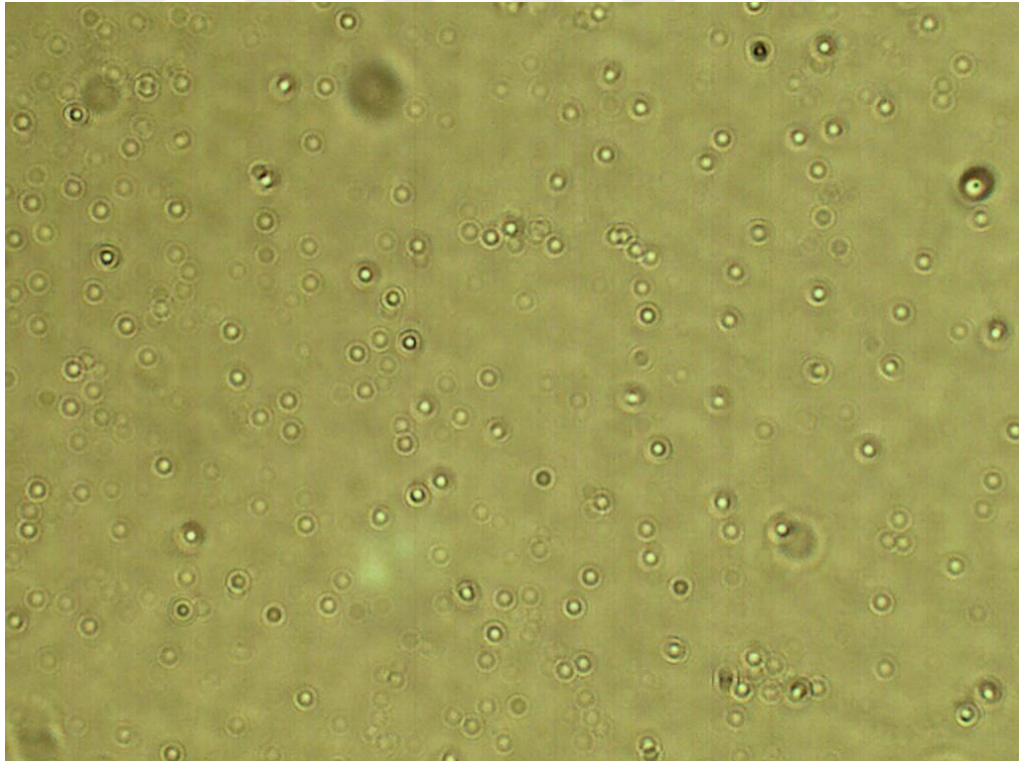
Tannik asit T1, T3 ve T4 derişimlerine bakıldığında boy dağılımının en az olduğu görülmektedir. Bu üç derişimden T4'de tek boyutta oluşan yoğunluk nedeniyle bu derişim optimum olarak belirlenmiştir.

Aşağıdaki şekil 3.14'de tüm derişimlerin boy dağılımına etkisini gösteren toplu grafik sunulmaktadır. Sonuç olarak en dar boy dağılımının ve tek boyutta yoğunlaşmanın elde edildiği derişim T4 olarak belirlenmiş ve optimum değer olarak kabul edilmiştir.

T4 derişimine ait mikroskop görüntüsü şekil 3.15'de görülmektedir. Mikroskop görüntülerinde görüldüğü üzere neredeyse tek forma sahip bir çok AMT görülmektedir. AMT'lerin içinin ışığı yansıttığı görülmektedir. Bazılarının ise çeperinin parlak olduğu görülmektedir. Bu taşıyıcıların çeperinin porlu olduğu anlamına gelmektedir.



Şekil 3.14. Tannik asitle sentezlenen AMT tüm derişimlerin toplu boy dağılım grafiği.

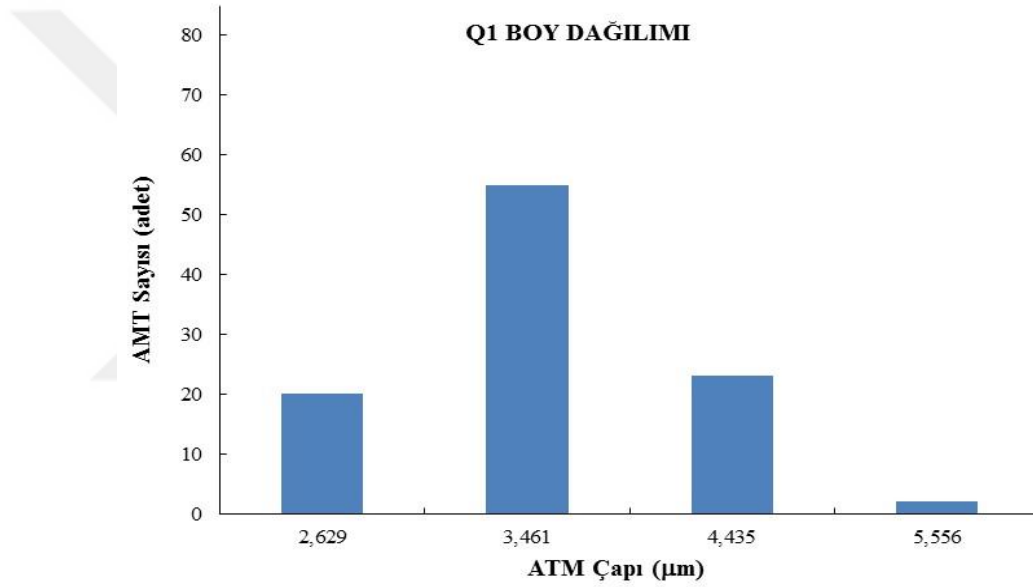


Şekil 3.15. Tannik asitle sentezlenen AMT mikroskop görüntüsü (büyütme 40x).

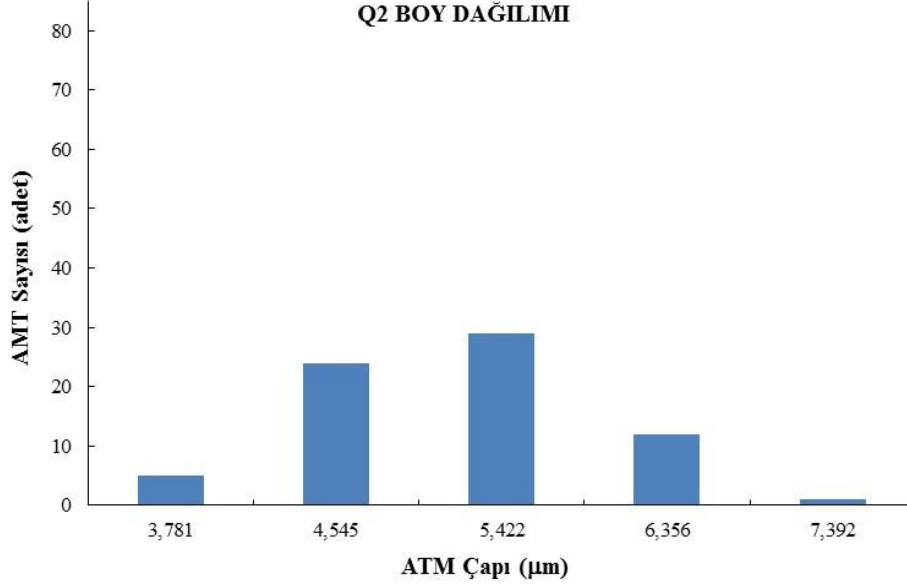
### 3.1.3. Kuersetinle Sentezlenen AMT Boy Dağılımı

Kuersetinin çapraz bağlayıcı olduğu AMT'ler için yapılan boy dağılımı analizlerine göre yapılan değerlendirmeler aşağıda ayrıntılı olarak verilmektedir.

Q1 olarak kodlanan derişim (0.02 mg/ml) için ağırlıklı olarak 2,5-5,5 µm aralığında değişim gösteren dört farklı boyutta mikro taşıyıcı elde edilmiştir. Şekil 3.16'dan da görüldüğü gibi en çok sayılan boyut 60 adete yakın 3,5 µm çapa sahip taşıyıcılar olmuştur.



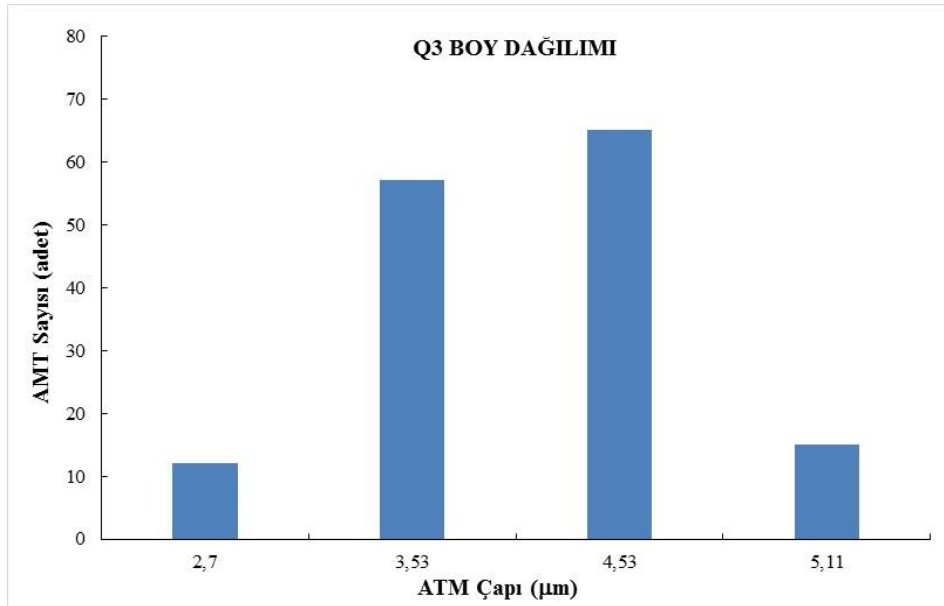
Şekil 3.16. Kuersetin 0.02 mg/ml AMT boy dağılım grafiği.



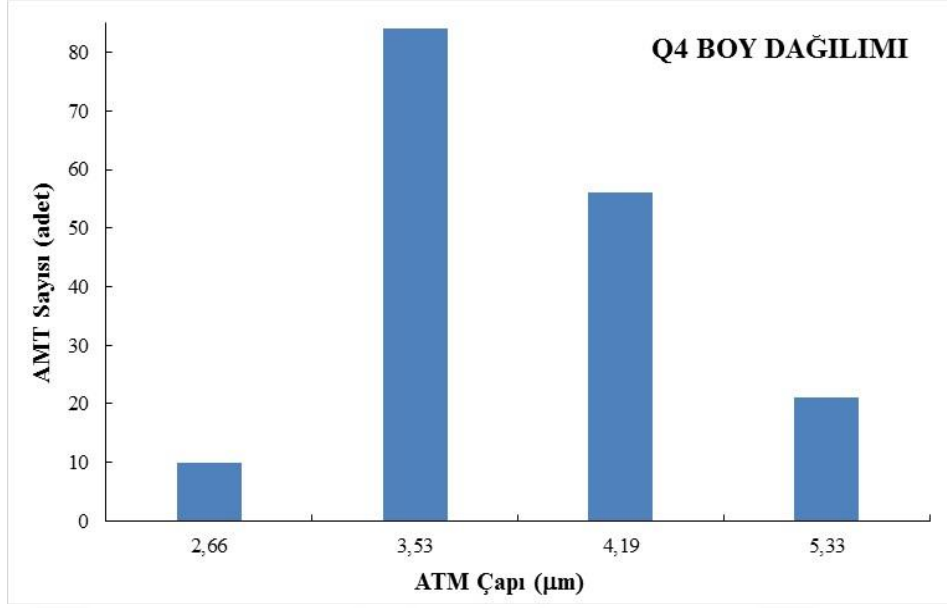
**Şekil 3.17. Kuersetin 0.03 mg/ml AMT boy dağılım grafiği.**

Q2 olarak kodlanan derişim (0.03 mg/ml) için ağırlıklı olarak 3,5-7,5 µm aralığında değişim gösteren beş farklı boyutta mikro taşıyıcı elde edilmiştir. Şekil 3.17'den de görüldüğü gibi belli bir boyutta en fazla 30 adet civarında sayım gerçekleştirilebilmiştir.

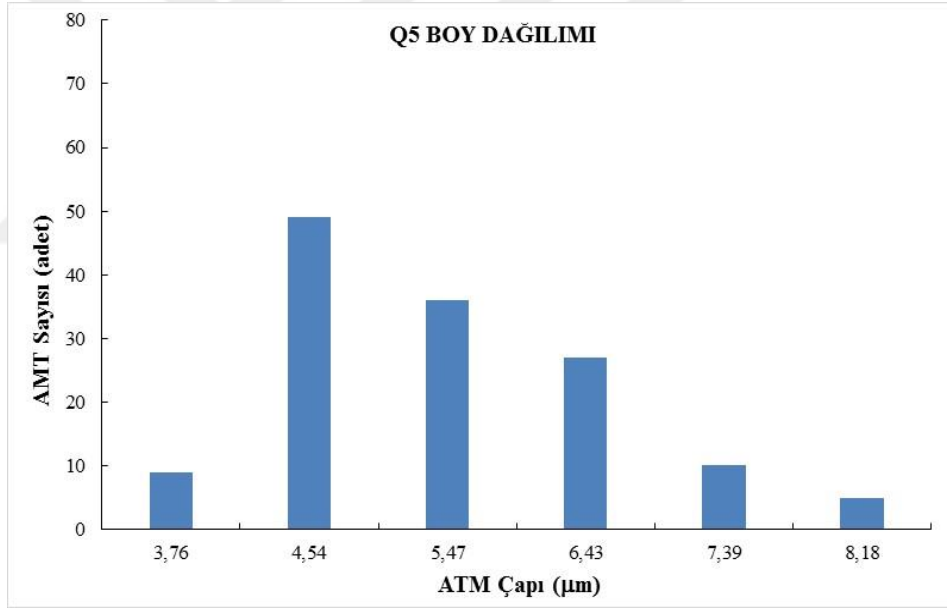
Q3 olarak kodlanan derişim (0.04 mg/ml) için ağırlıklı olarak 2,7-5,0 µm aralığında değişim gösteren dört farklı boyutta mikro taşıyıcı elde edilmiştir. Şekil 3.18'den de görüldüğü gibi 3,5 ve 4,5 µm çapa sahip taşıyıcılar çoğunluktadır.



**Şekil 3.18. Kuersetin 0.04 mg/ml AMT boy dağılım grafiği.**

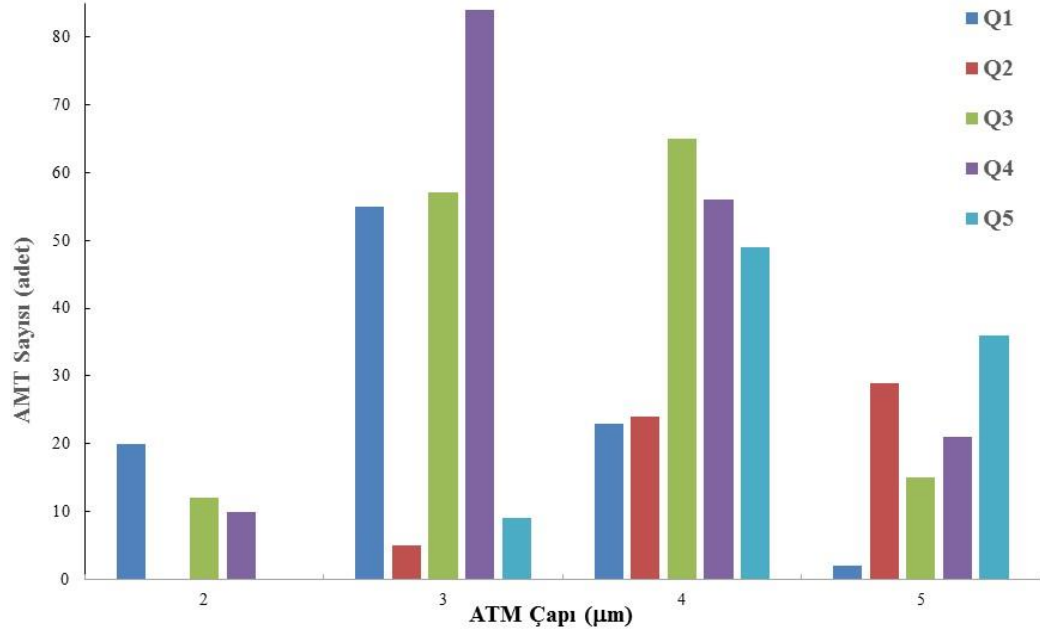


Şekil 3.19. Kuersetin 0.05 mg/ml AMT boy dağılım grafiği.



Şekil 3.20. Kuersetin 0.06 mg/ml AMT boy dağılım grafiği.

**QUARSETİNLİ AMT BOY DAĞILIMI GRAFİĞİ**



**Şekil 3.21. Kuersetinle sentezlenen AMT tüm derişimlerin toplu boy dağılım grafiği.**

Q4 olarak kodlanan derişim (0.04 mg/ml) için ağırlıklı olarak 2,6-5,0 µm aralığında değişim gösteren dört farklı boyutta mikro taşıyıcı elde edilmiştir. Şekil 3.19'dan da görüldüğü gibi 3,5 µm çapa sahip taşıyıcılar çoğunluktadır.

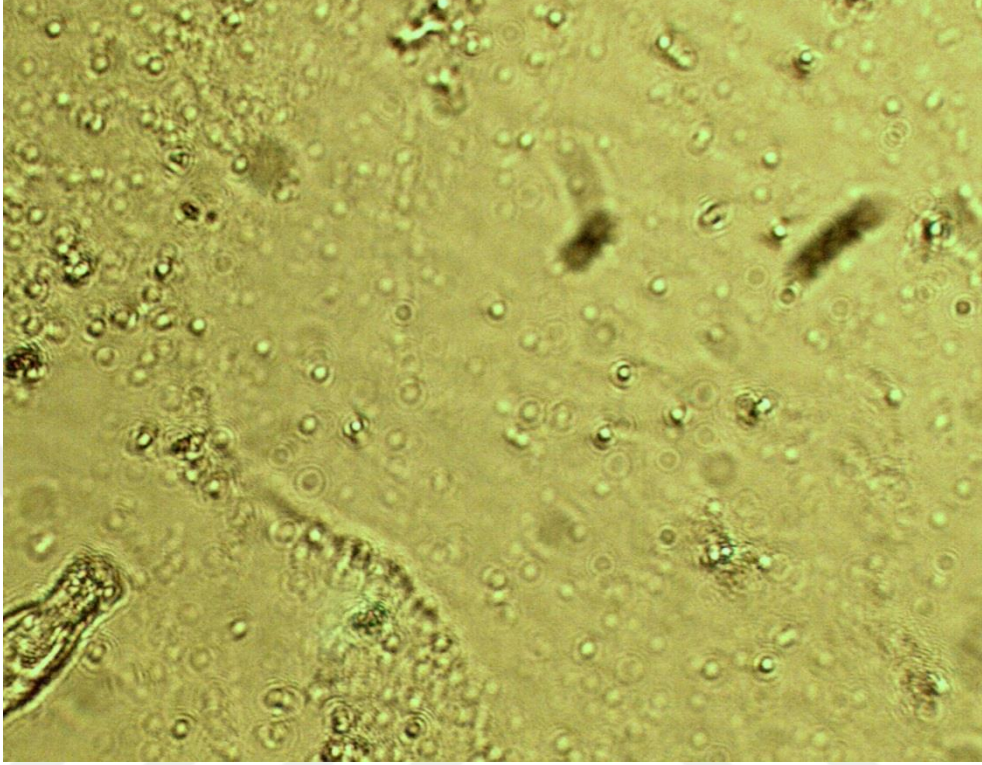
Q5 olarak kodlanan derişim (0.06 mg/ml) için ağırlıklı olarak 3,7-8 µm aralığında değişim gösteren altı farklı boyutta mikro taşıyıcı elde edilmiştir. Şekil 3.20'den de görüldüğü gibi en çok sayılan boyutlar 4,5-5,5 ve 6,5 µm çapa sahip taşıyıcılar olmuştur.

Aşağıdaki Şekil 3.21'de tüm derişimlerin boy dağılımına etkisini gösteren toplu grafik sunulmaktadır. Taşıyıcıların çaplarına göre gruplandırıldığında tek boyutta senteze oldukça yaklaşıldığını göstermektedir. Sonuç olarak en dar boy dağılımının ve tek boyutta yoğunlaşmanın elde edildiği derişim Q4 olarak belirlenmiş ve optimum değer olarak kabul edilmiştir.

Q4 konsantrasyonuna sahip mikroskop görüntüleri şekilx de görülmektedir.

Q4 derişimine ait mikroskop görüntüsü Şekil 3.22'de görülmektedir. Mikroskop görüntülerinde görüldüğü üzere neredeyse tek forma sahip bir çok AMT görülmektedir. AMT'lerin içinin ışığı yansıttığı görülmektedir. Bazılarının ise

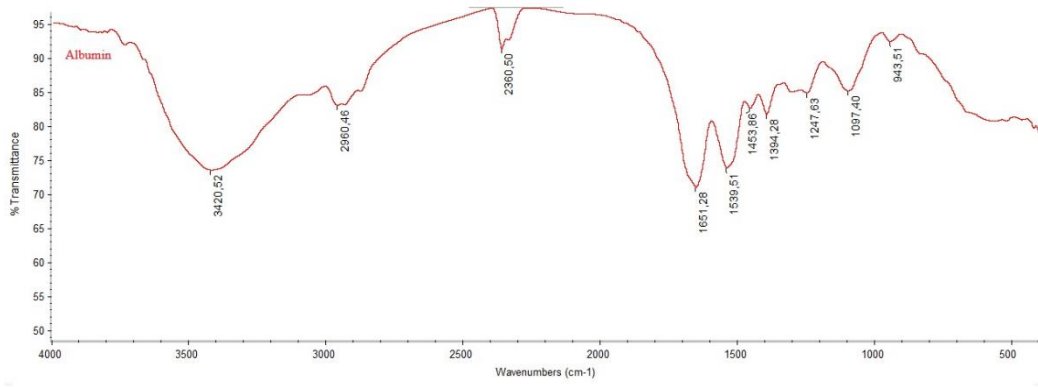
eperinin parlak olduğu grlmektedir. Bu taşıyıcıların çeperinin porlu olduğu anlamına gelmektedir.



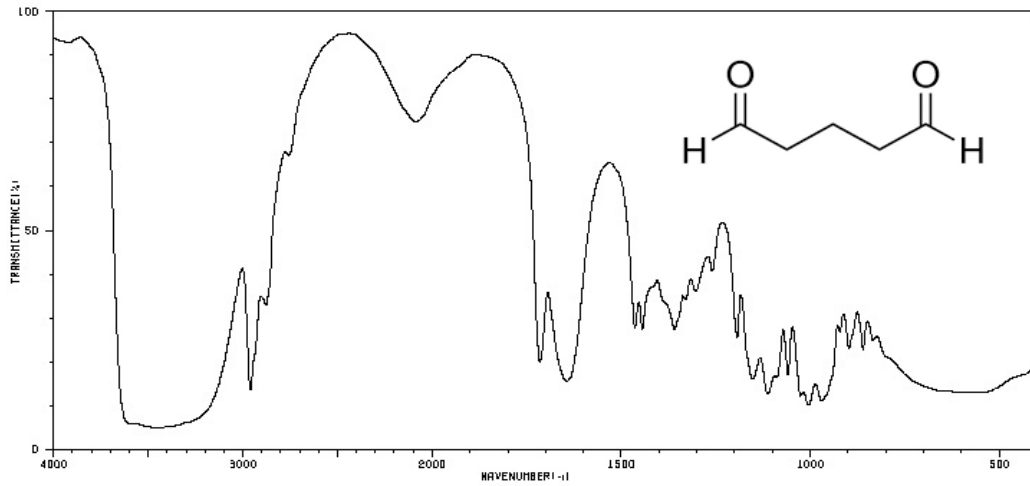
Şekil 3.22. Kuersetinle sentezlenen AMT mikroskop görüntüsü (büyütme 40x).

#### 3.1.4. AMT FTIR Sonuçları

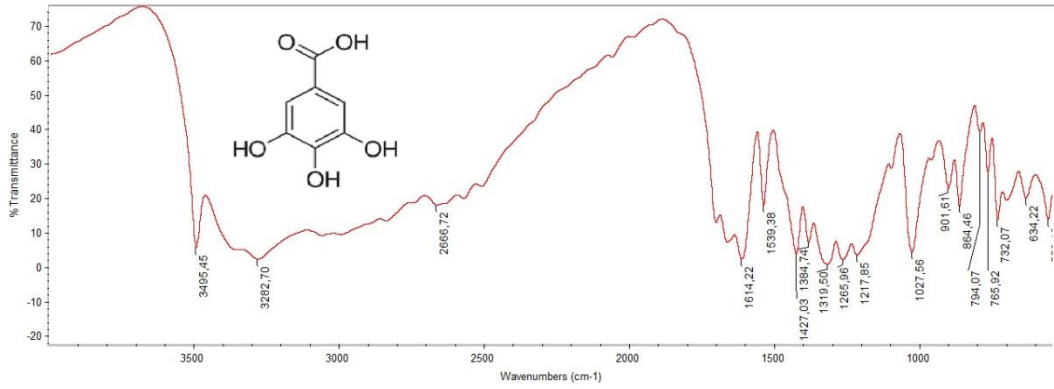
Çalışmanın bu aşamasında sentezlenen Albümin Mikro Taşıyıcıların (AMT) ve sentez için kullanılan albüminin ve çapraz bağlayıcıların FTIR spektrumları alınarak karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.23'de sentezlerde kullanılan albüminin spektrumu verilmektedir. Şekil 3.24'de glutaraldehidin, Şekil 3.25'de gallik asidin, Şekil 3.26'da tannik asidin ve Şekil 3.27'de kuersetinin FTIR spektrumları verilmektedir.



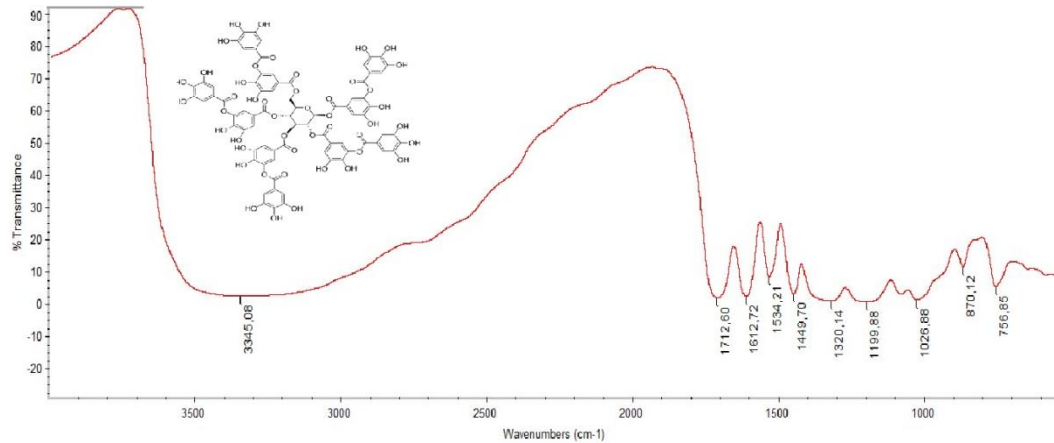
Şekil 3.23. Albümin FTIR spektrumu.



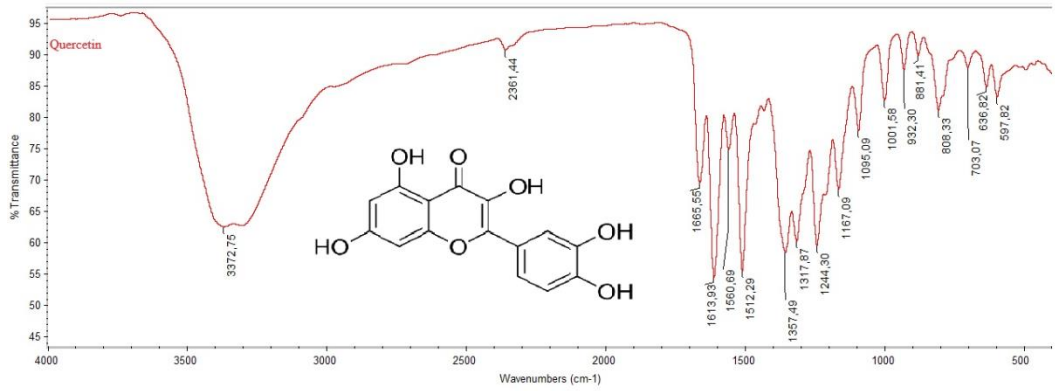
Şekil 3.24. Glutaraldehid FTIR spektrumu.



Şekil 3.25. Gallik Asit FTIR spektrumu.



Şekil 3.26. Tannik Asit FTIR spektrumu.

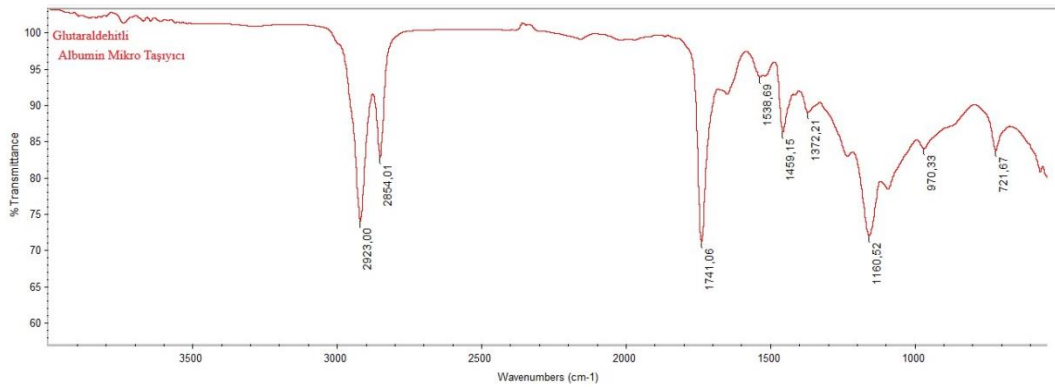


Şekil 3.27. Kuersetinin FTIR spektrumu.

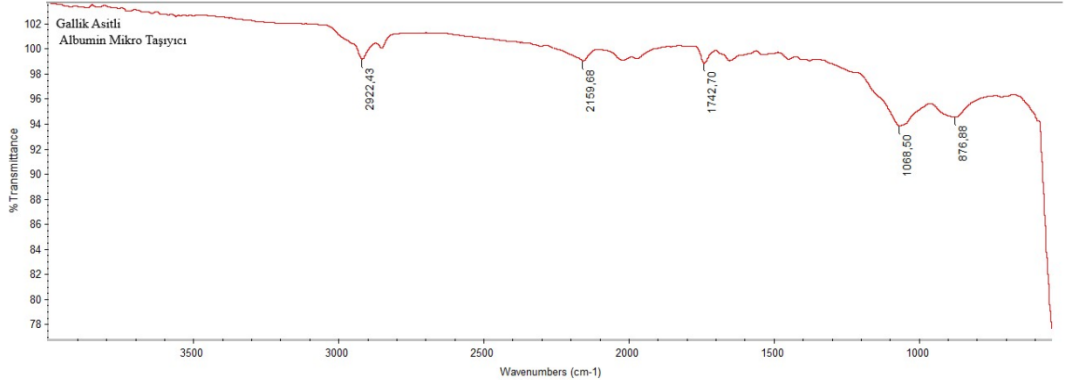
Albümin mikro taşıyıcı sentezinde kullanılan gerek albümin gerekse de çapraz bağlayıcıların yapılarında var olan ve çapraz bağlanma reaksiyonuna katılan fonksiyonel grupların varlığı ve de özellikle -OH gruplarının 3000-3500  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyunda oldukça geniş bir band oluşturduğu gözlemlenmiştir.

Şekil 3.28, 3.29, 3.30 ve 3.31’de sırasıyla; Glutaraldehid; Gallik asit; Tannik asit; Kuersetin ile sentezlenen Albümin Mikro Taşıyıcıların FTIR spektrumları verilmiştir. Bu spektrumlardan da görüleceği gibi bazı fonksiyonel gruplar sönümlenmiş, bazılarının şiddeti azalmıştır. Ancak en dikkat çeken durum Şekil 3.31’de -OH gerilme pikinin şiddetinin azaldığı ancak yok olmadığı sonucudur.

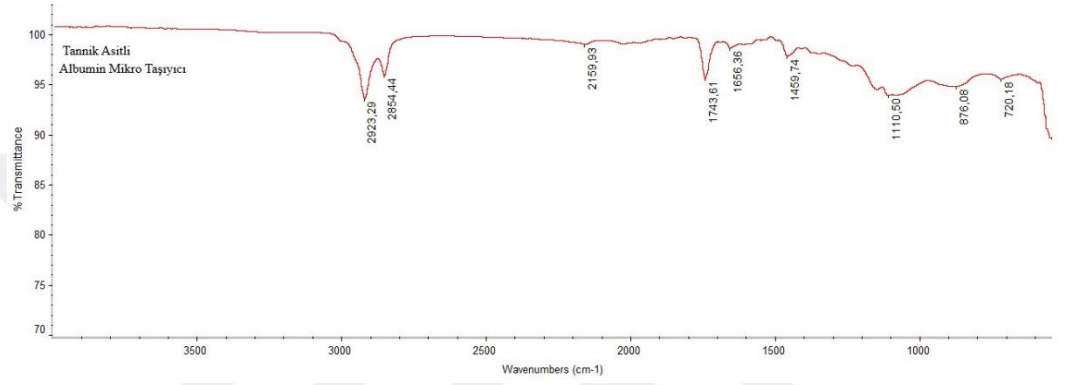
Bu durum Kuersetin molekülünün yapısındaki karbonil grubunun reaksiyon sırasında açılarak serbest -OH grubuna dönüşmesinden kaynaklanmakta olduğu düşünülmüştür.



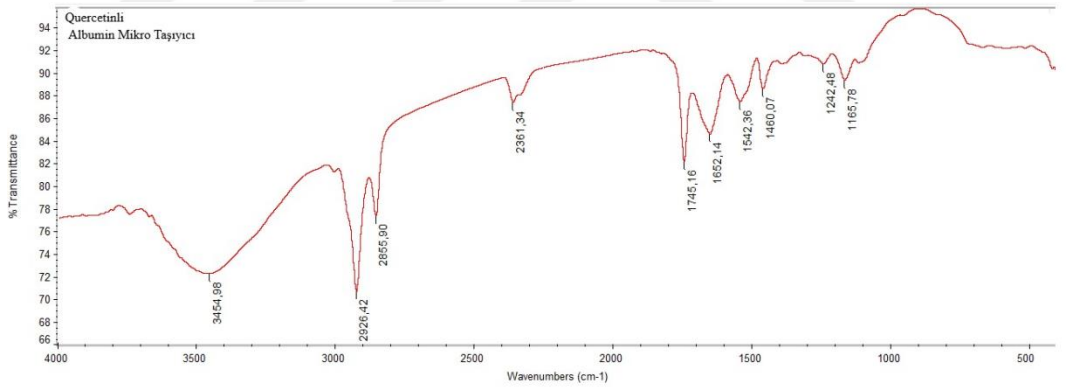
Şekil 3.28. Glutaraldehid ile sentezlenen AMT FTIR spektrumu.



Şekil 3.29. Gallik asitle sentezlenen AMT FTIR spektrumu.



Şekil 3.30. Tannik asitle sentezlenen AMT FTIR spektrumu.

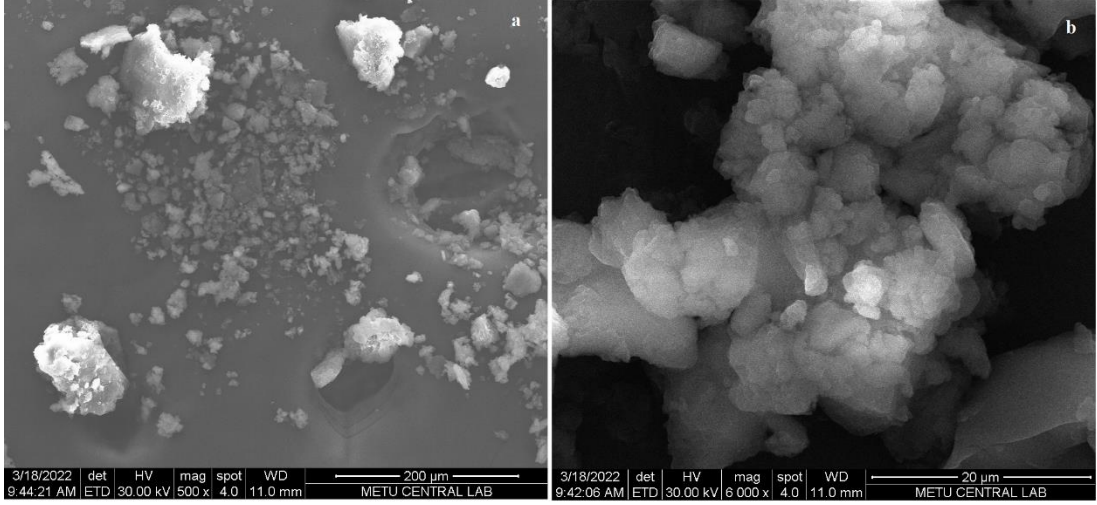


Şek il 3.31. Kuersetinle sentezlenen AMT FTIR spektrumu.

### 3.1.5. AMT SEM Sonuçları

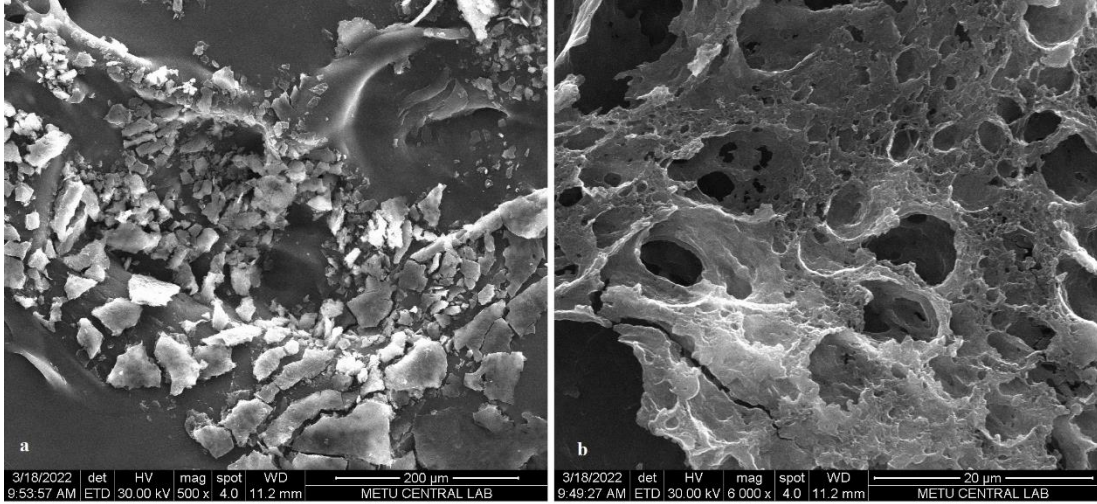
Çalışmanın bu aşamasında sentezlenen Albümin Mikro Taşıyıcıların (AMT) SEM (taramalı Elektron Mikroskobu) görüntüleri alınarak karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda Şekil 3.32'de Glutaraldehydin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı AMT'lerin Şekil 3.32a'da x500 ve Şekil 3.32b'de x6000 büyütmedeki görüntüleri verilmektedir. Şekil 3.32'den de görüleceği gibi opak

kristalin iç yapıda AMT'ler elde edilmiştir.



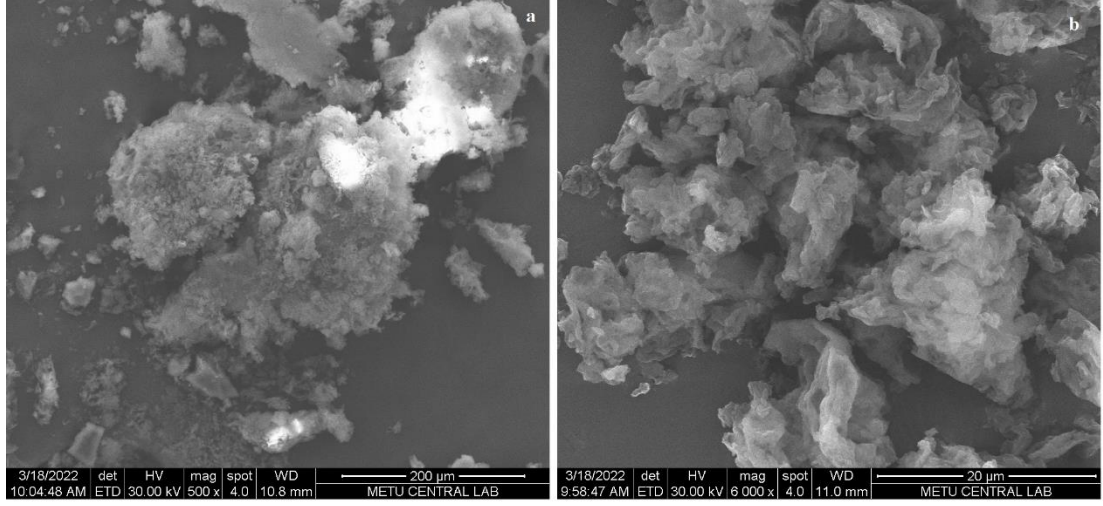
Şekil 3.32. Glutaraldehidle sentezlenen AMT SEM görüntüsü (a)x500; (b)x6000 büyütme.

Şekil 3.33'de Gallik asidin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı AMT'lerin Şekil 3.33a'da x500 ve Şekil 3.33b'de x6000 büyütmedeki görüntüleri verilmektedir. Şekil 3.33'den de görüleceği gibi opaklığın oldukça azaldığı kristalin yapıda ve aynı zamanda mikro-makro-mezo gözenekli yapıda AMT'ler elde edilmiştir.



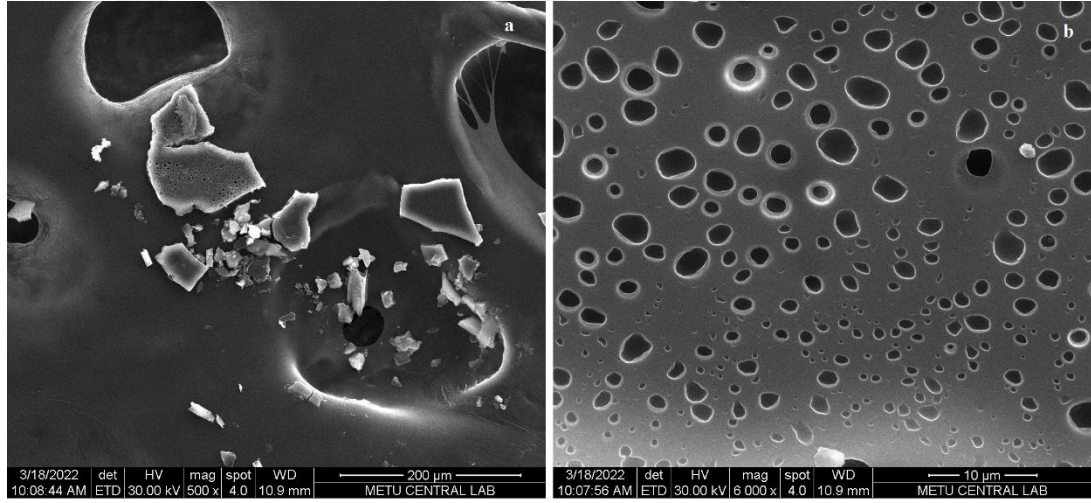
Şekil 3.33. Gallik asitle sentezlenen AMT SEM görüntüsü (a)x500; (b)x6000 büyütme.

Şekil 3.34'de tannik asidin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı AMT'lerin Şekil 3.34a'da x500 ve Şekil 3.34b'de x6000 büyütmedeki görüntüleri verilmektedir. Şekil 3.34'den de görüleceği gibi yarı opak ve yarı kristalin yapıda AMT'ler elde edilmiştir.



Şekil 3.34. Tannik asitle sentezlenen AMT SEM görüntüsü (a) x500; (b) x6000 büyütme.

Şekil 3.35'de kuersetinin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı AMT'lerin Şekil 3.35a'da x500 ve Şekil 3.35b'de x6000 büyütmedeki görüntüleri verilmektedir. Şekil 3.35'den de görüleceği gibi opaklığın ve kristalinitenin olmadığı yapıdaki AMT'ler elde edilmiştir. Şekil 3.35b'de x6000 büyütmedeki görüntüde aynı zamanda mikro-makro-mezo gözenekli yapıda AMT'ler elde edilmiştir.

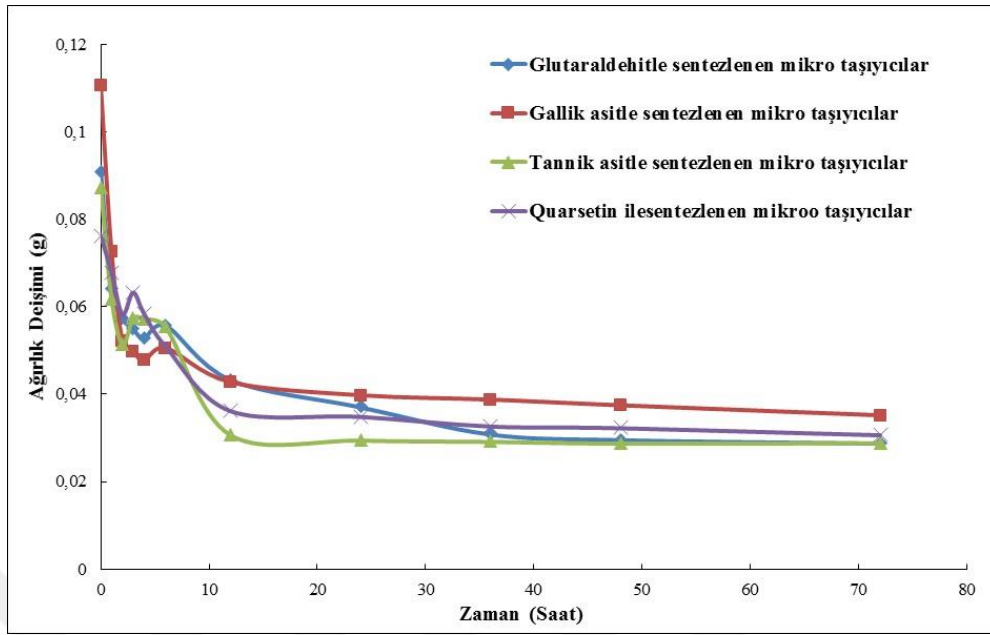


Şekil 3.35. Kuersetinle sentezlenen AMT SEM görüntüsü (a) x500; (b) x6000 büyütme.

### 3.1.6. AMT Hidrolitik degradasyon

Çalışmanın bu aşamasında da dört farklı çapraz bağlayıcı kullanılarak sentezlenen Albümin Mikro Taşıyıcıların (AMT) Hidrolitik degradasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. 7 gün boyunca takip edilen hidrolitik degradasyon sonuçları yukarıda verildiği gibidir. 72. Saatte denge durumunun oluştuğu görülmektedir.

Glutaraldehitin degradesyonu 48. Saatte bitmiştir.



Şekil 3.36. Sentezlenen AMT hidrolitik degradasyon davranışları.

Hidrolitik degradasyon çalışması için yine 4 farklı kese hazırlanmış ve içerilerine belirli miktarda albümin mikro taşıyıcılar koyularak pH: 7.4 fosfat tamponunda çeşitli zaman aralıklarında kütle değişimine bakılarak degradasyon grafikleri oluşturulmuştur.

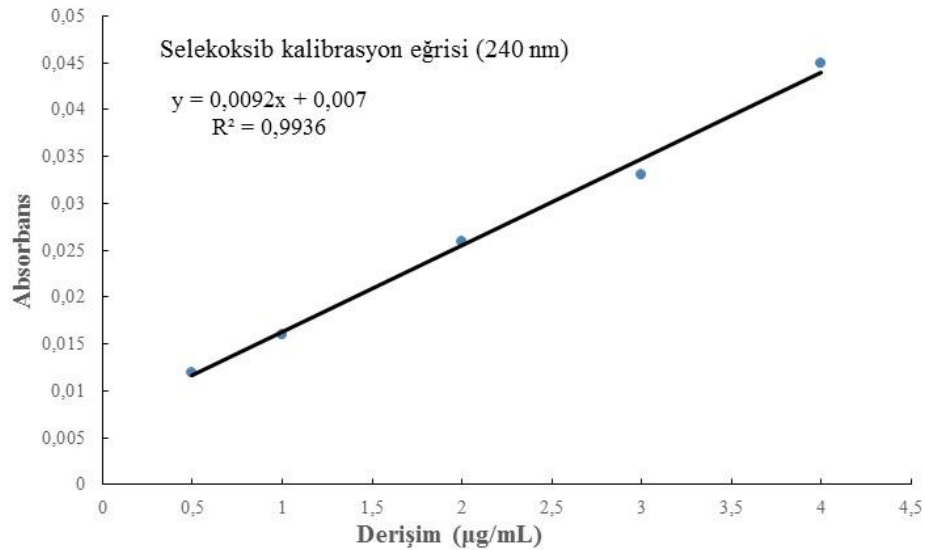
Elde edilen verilerden Şekil 3.36'da verilen kütle kaybı grafiği elde edilmiştir. Kütle kaybı grafiğinden de görüleceği gibi doğal çapraz bağlayıcı kullanılarak sentezlenen tüm AMT'lerin benzer degradasyon davranışı gösterdiği ve 10. Saatte tamamen sonlandığı görülmüştür. Sentetik çapraz bağlayıcı olan glutaraldehid ile sentezlenen AMT'lerde ise 45. Saatte (2700. dakikada) degradasyon sonuna ulaşılmıştır. Bu durum ilaç salım davranışları ile de uyumluluk göstermektedir. Bu davranış biçimi ilaç salım davranışının yığın (bulk) erozyon ile meydana gelmektedir. Difüzyon ile ilaç salımı bu grupta oluşmamıştır. Sentetik çapraz bağlayıcı olan glutaraldehid ile sentezlenen AMT'lerde ise degradasyon yığın yapıdan gerçekleşmekte fakat ilaç salımı hem yığın yapıdan erozyon hem de difüzyon ile oluşmaktadır.

Gupta ve arkadaşlarının yaptığı biyobozunur mikro partiküllerden ilaç salınımı sistemi hakkındaki çalışmasında emülsiyon yöntemiyle sentezleyip sıcaklıkla stabilize ettikleri albümin mikropartiküller 1 saat içinde erozyona uğramaya başlamış 24 saat sonunda tamamen degrades olmuştur (Gupta vd. 2012). Bizim çalışmamızda da AMT'ler aslında neredeyse 10. Saatte degradasyonu tamamlanmış 24. Saatte de

denge konumuna geldiği Şekil 3.36'da görülmektedir.

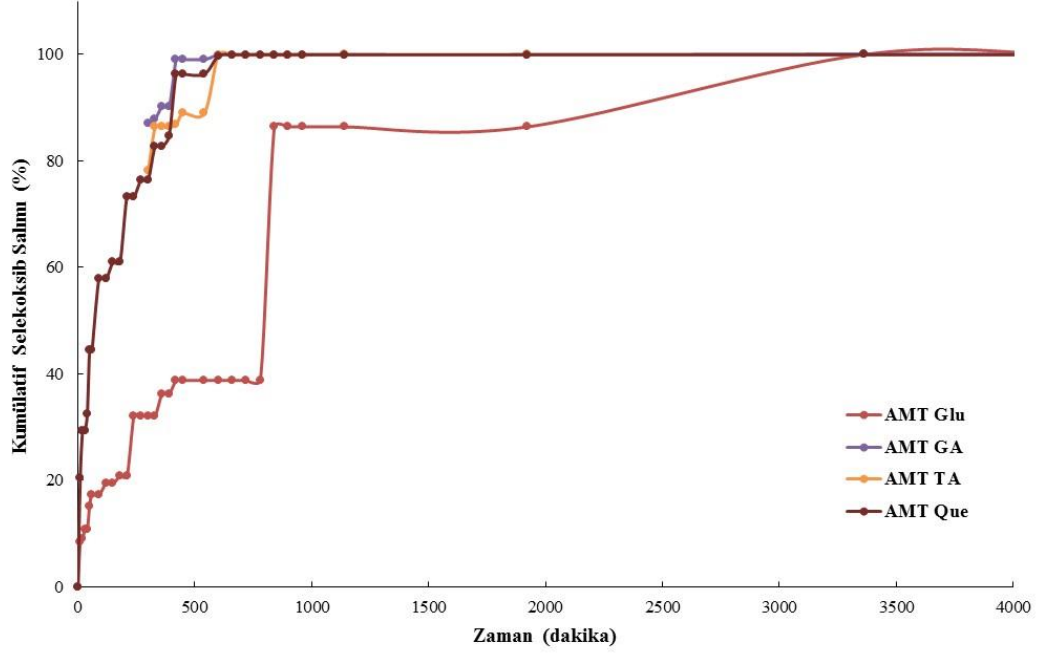
### 3.1.7. AMT İlaç Salımı

Çalışmanın bu aşamasında ise dört farklı çapraz bağlayıcı kullanılarak sentezlenen Albümin Mikro Taşıyıcılara (AMT) ilaç yüklenerek ilaç salım deneyleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla geçirgen özellikli kesecikler hazırlanmış ve selekoksib (celecoxib) ilacı ile sentezlenen AMT'ler bu keselere koyulmuştur. İçerisinde 50 ml pH:7.4 SBF (Simulated body Fluids) tamponu bulunan reaktörlere daldırılarak seri ölçümler alınmıştır. Ölçümler spektrofotometrede 240 nm'de ölçülmüştür. Kümülatif ilaç salım hesaplamaları için Şekil 3.37'da verilen kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Bu eğriden hesaplanan doğru denklemi ile de hesaplamalar gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.37. Selekoksibin kalibrasyon grafiği ve doğrusu.

Şekil 3.38'de de çalışma kapsamında Sentezlenen Albümin Mikro Taşıyıcılardan İlaç Salım Davranışları verilmektedir. Kümülatif ilaç salım sonuçları irdelendiğinde çalışma kapsamında doğal çapraz bağlayıcı kullanılarak sentezlenen tüm AMT'lerin benzer salım davranışı gösterdiği ve 10. Saatte (600. dakikada) %100 salıma ulaştığı gözlemlenmiştir. Sentetik çapraz bağlayıcı olan glutaraldehid ile sentezlenen AMT'lerde ise %100 salıma 56. Saatte (3360. dakikada) ulaşılmıştır. Gupta ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada oluşturdukları albümin mikropartiküllere diltiazem HCL yükleyerek salınımına bakmışlardır. Bu oluşturdukları % kümülatif ilaç salınımı grafiğine göre tüm ilaç 25 dakika sonunda %100 salınmıştır (Gupta vd. 2012).

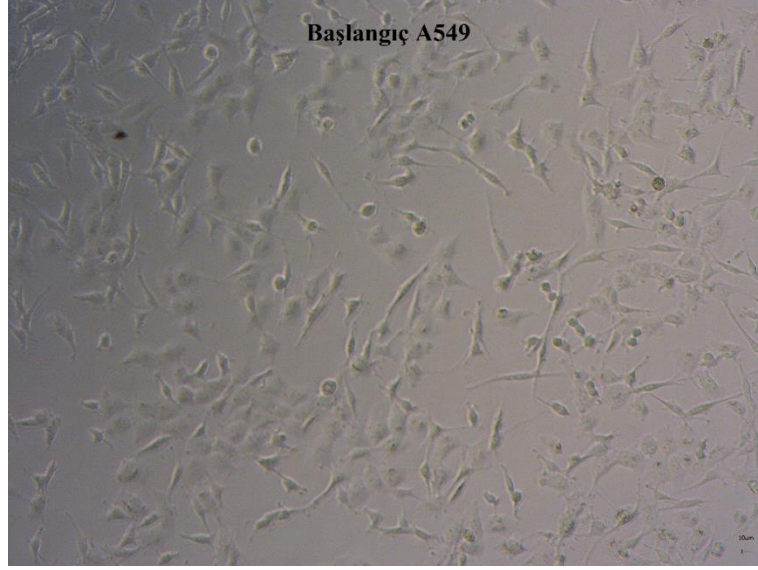


Şekil 3.38. Sentezlenen albümin mikro taşıyıcılardan ilaç salım davranışları.

### 3.1.8. AMT Hücre Deneyleri Sonuçları

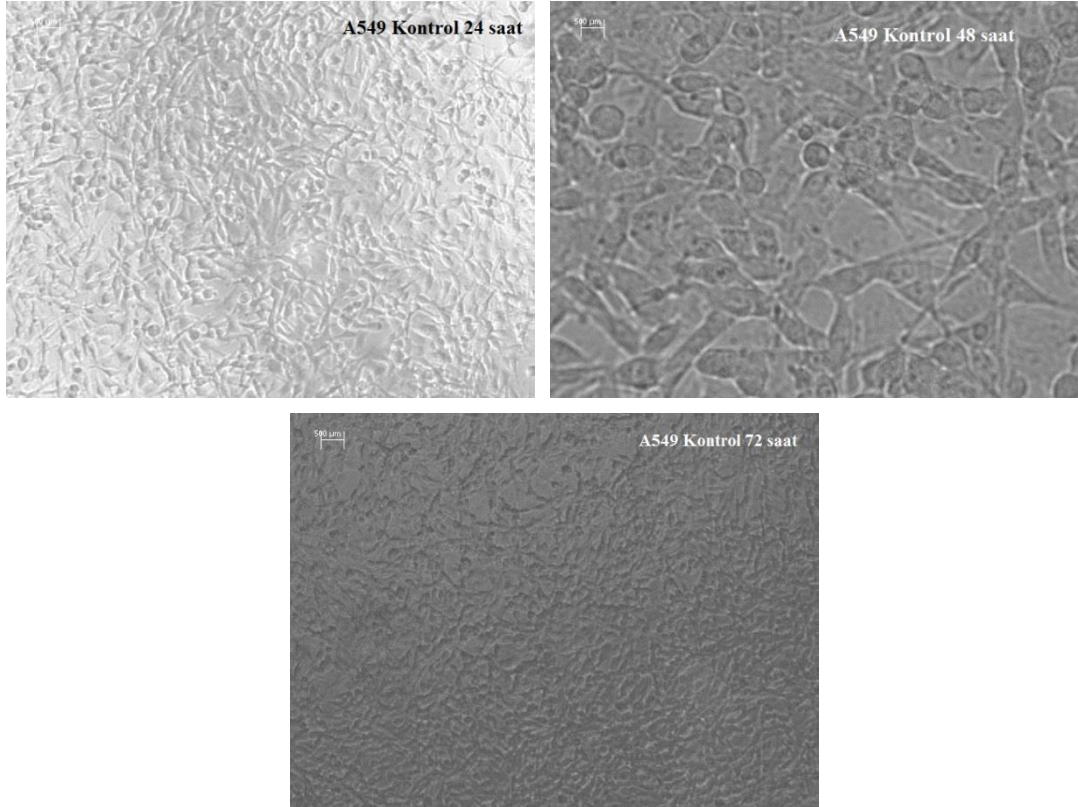
#### 3.1.8.1. İnsan Akciğer Kanseri (A549) Hücreleri Deneyleri

Çalışmanın bu aşamasında sentezlenen Albümin Mikro Taşıyıcıların (AMT) ilaçsız ve ilaçlı formları ile hücre deneyleri gerçekleştirilmiştir. İnsan Akciğer Kanseri (A549) Hücreleri ile gerçekleştirilen deneylerin sonuçları ve irdelenmesi aşağıda sunulmuştur. Şekil 3.40'da insan akciğer kanser (A549) hücre hattının  $t_0$  anındaki (başlangıçta) hücre yoğunluğu görülmektedir. Hücrelerin çoğalarak yüzeye tutunduğu görülmektedir. A549 hücre hattının monolayer (Ren vd. 2016) davrandığı göz önünde bulundurularak bakıldığında, 24-48-72 saat serilerinde hücrelerin çoğalma yoğunluğu Şekil 3.41'de görülmektedir. Şekil 3.42'de çalışmada kullanılan kimyasalların A549 hücreleri ile etkileşimleri ile ilgili toplu hücre ölüm sonuçları sunulmuştur. Şekil 3.42'ye göre en fazla sitotoksik etki gösteren gallik asit olmuştur. 72 saatin sonunda %90 civarında sitotoksik etki göstermiştir.

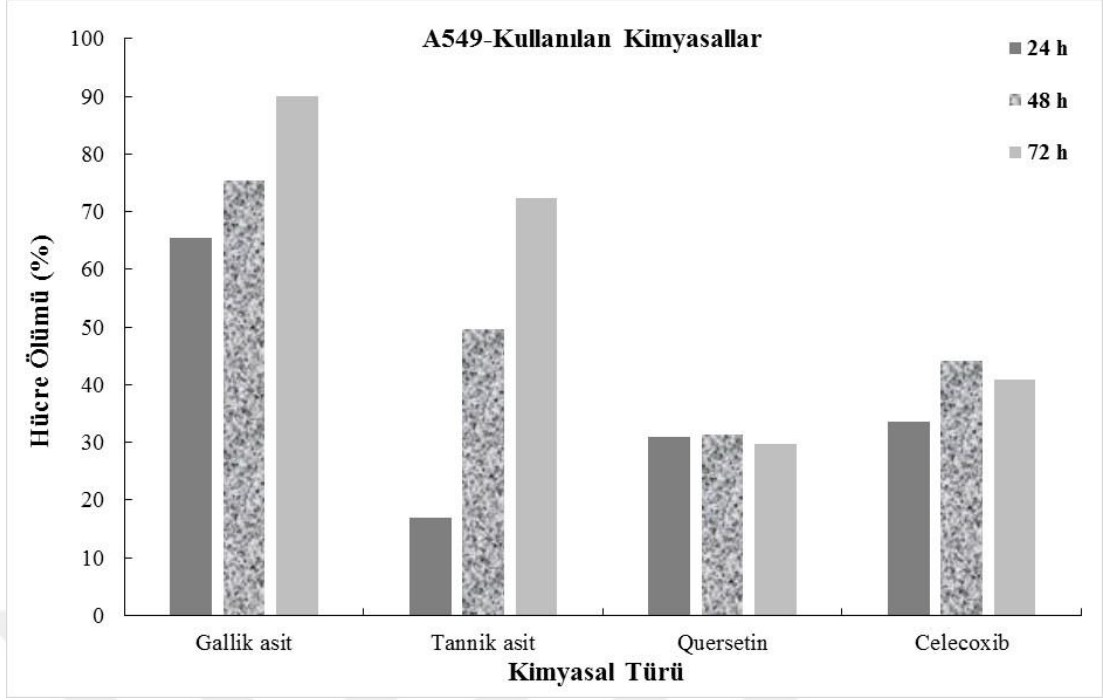


Şekil 3.40. A549 hücreleri (t<sub>0</sub> anında).

Gallik asitten sonra etkili olan kimyasal tannik asittir. Tannik asit 72 saat sonunda %75 civarında etki göstermiştir. Quarsetin %30 civarında kalmıştır. Öte yandan anti-kanser ilaç olan selekoksib %50'lindedir. İlacın ve quarsetinin çözünürlüğünün düşük olması sonuçları desteklemektedir. Gallik asitin tannik asite göre daha düşük molekül ağırlığına ve daha basit molekül yapısına sahip olması sitotoksosite açısından daha avantajlı olmasını sağlamıştır.

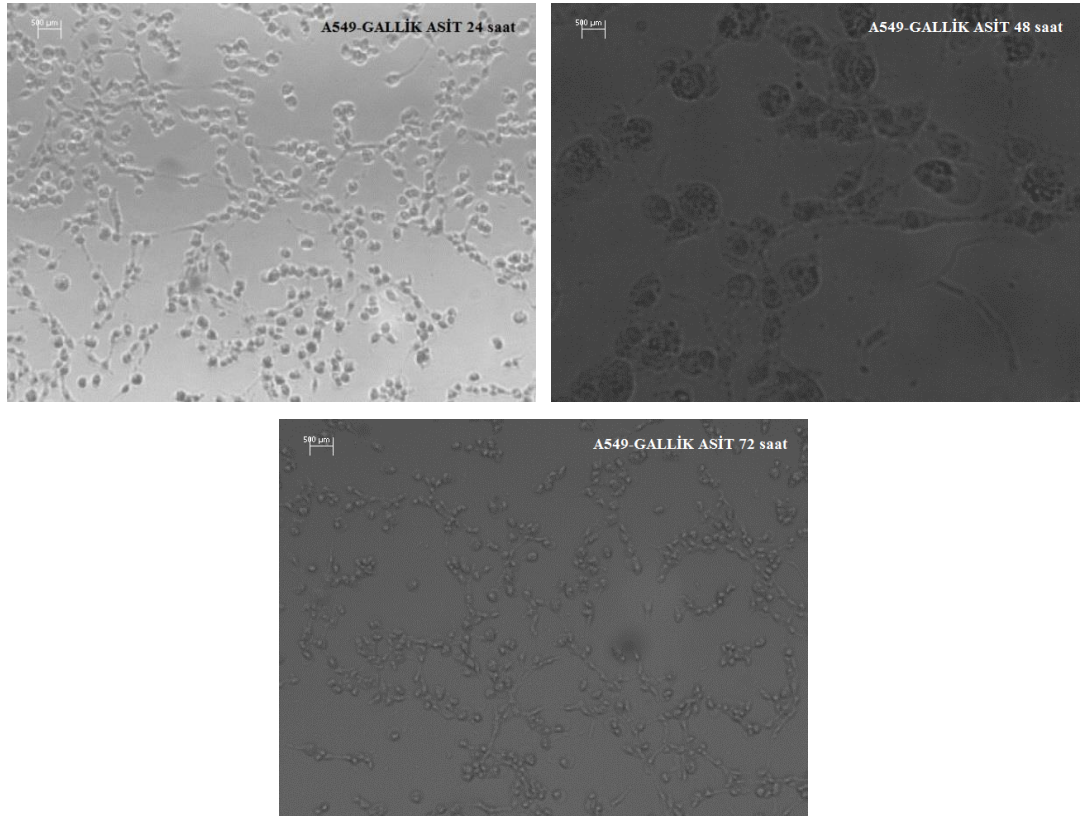


Şekil 3.41. A549 hücreleri kontrol grupları üremeleri (24-48-72 saatler).

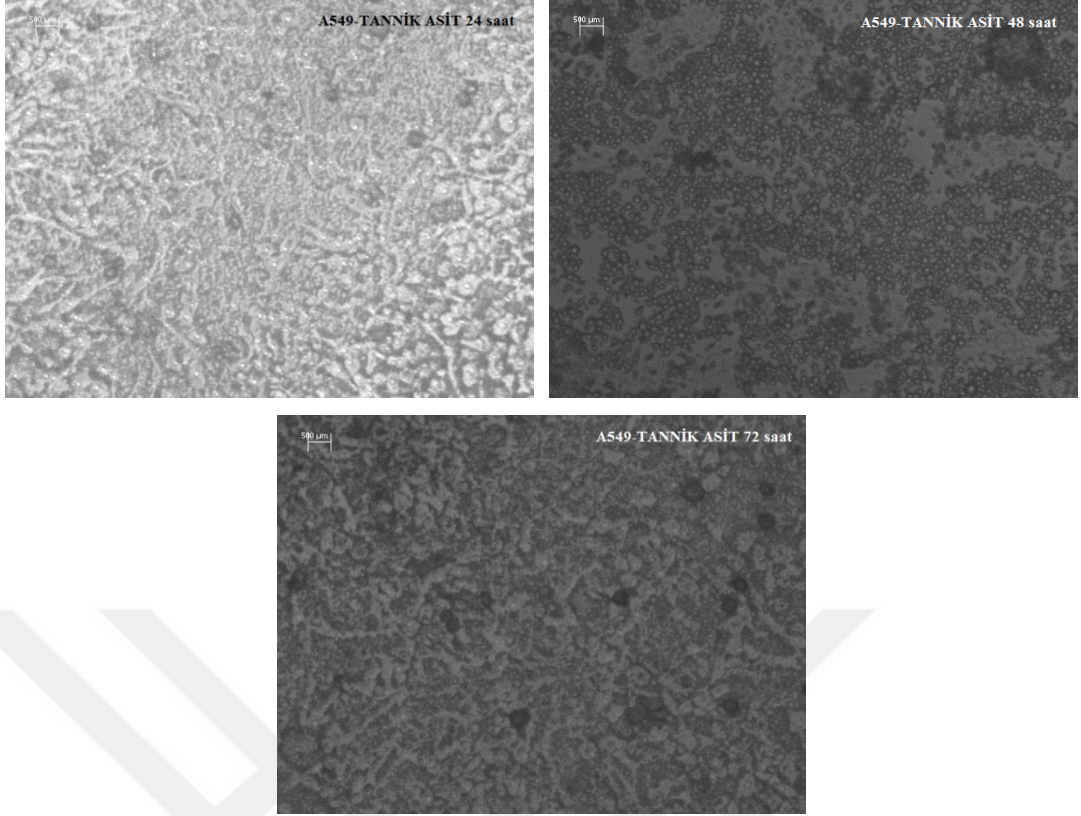


Şekil 3.42. Kullanılan kimyasalların A549 hücre hattında gösterdiği % ölüm miktarları.

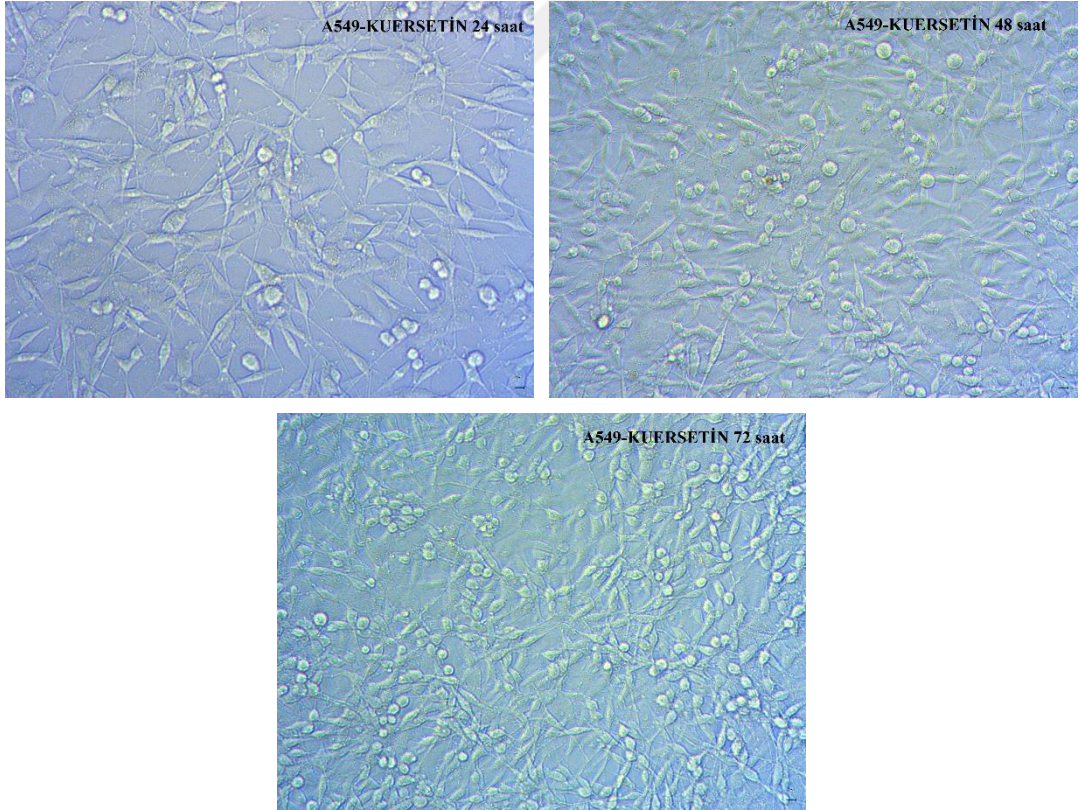
Şekil 3.43’de A549 hücreleri üzerinde saf gallik asitin antioksidanının 24-48-72 saatlerindeki yoğunluğu görülmektedir. Hücrelerin tutunmasının azaldığı yani canlı hücre miktarının azaldığı görülmektedir. Şekil 3.44 ise A549’un tannik asit ile etkileşim sonuçlarını göstermektedir. Hücre yoğunluğundaki azalma görülmektedir.



Şekil 3.43. A549 hücrelerinin gallik asit ile etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



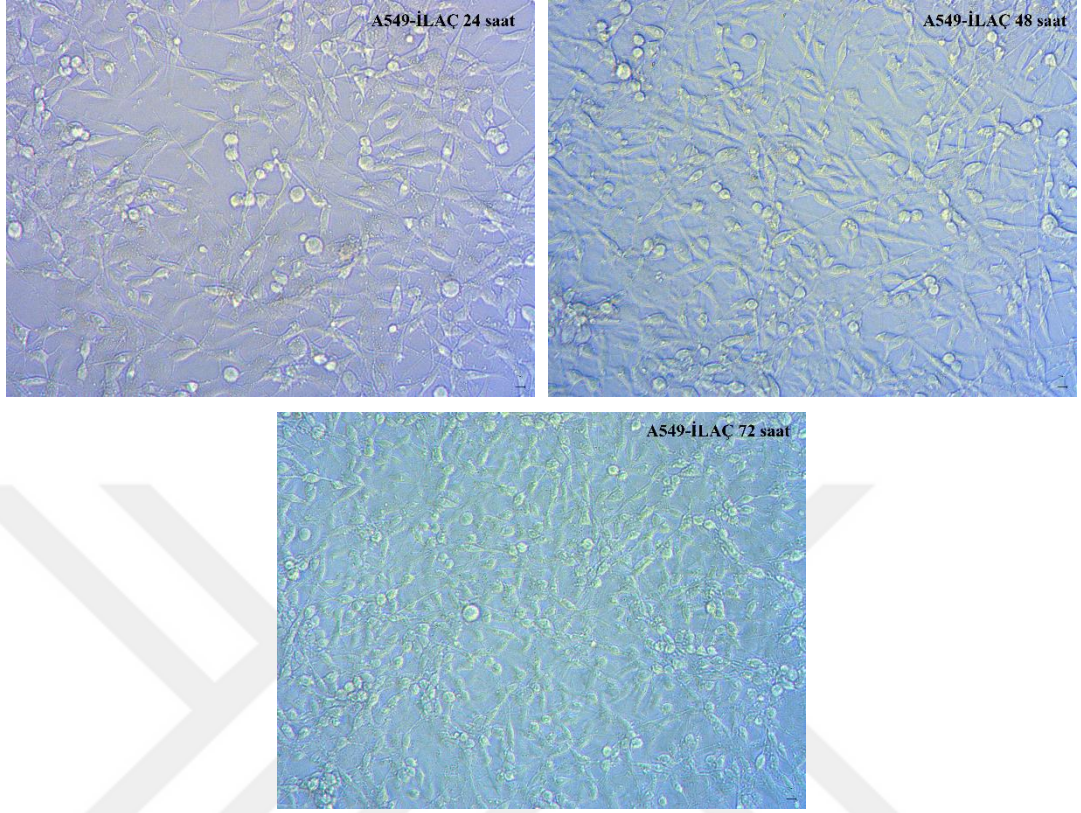
Şekil 3.44. A549 hücrelerinin tannik asit ile etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



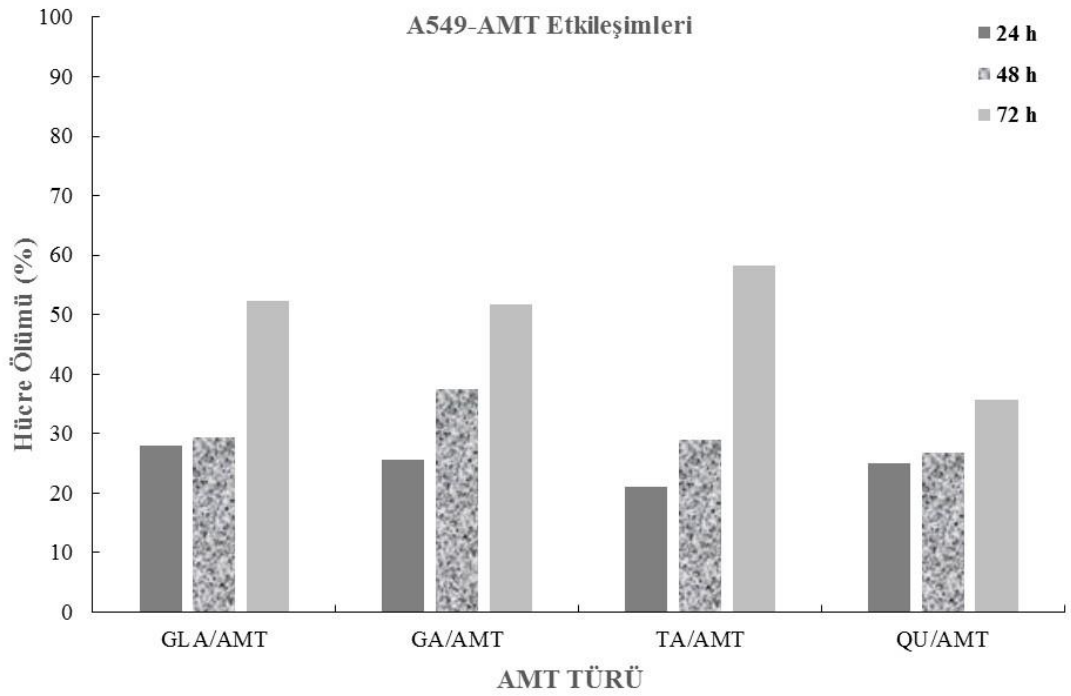
Şekil 3.45. A549 hücrelerinin kuersetin ile etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).

Şekil 3.45’de ise hücrelerin kuersetin ile etkileşimi verilmiştir. Hücreler arasında kol atmaların yayılmanın azaldığı farkedilmektedir. A549 hücre hattının selektif COX-2

inhibitörü olan Selekoksib ile 24-48-72 saat etkileşimleri görülmektedir. Hücre yoğunluğundaki azalma gözle görülür düzeydedir.



Şekil 3.46. A549 hücrelerinin ilaç ile etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



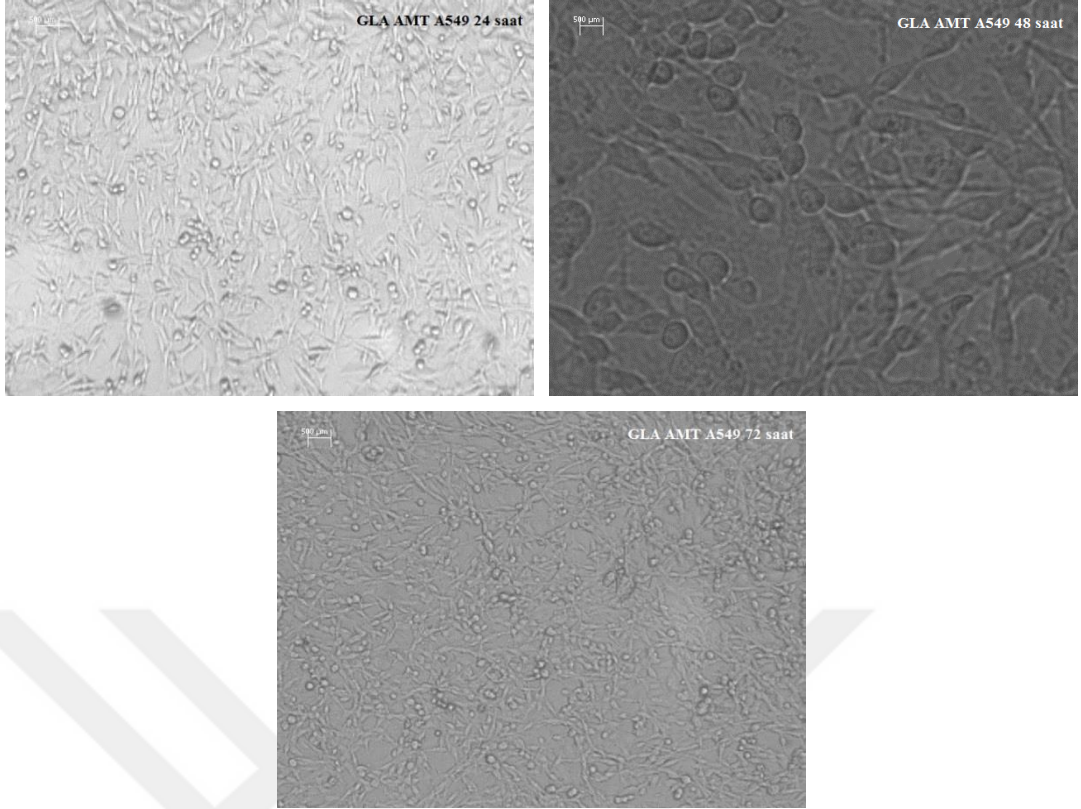
Şekil 3.47 Sentezlenen AMT'lerin A549 hücre hattında gösterdiği % ölüm miktarları.

Şekil 3.47'de Sentezlenen AMT'lerin A549 hücreler ile etkileşimleri toplu olarak sunulmuştur. Şekil 3.47'ye göre 72 saat sonunda tüm glutaraldehit ve gallik asitle sentezlenen tüm AMT'ler 72 saat sonunda yaklaşık %50 sitotoksosite göstermiştir. Gallik asit tek başına %90 sitotoksosite gösterirken taşıyıcının içerisinde yani yapı içerisinde olduğu için serbest haldeki kadar etkili olmamıştır. Tannik asitin çapraz bağlayıcı olduğu AMT'lerde sitotoksosite % 55 civarında olmuştur. Kuersetinin çapraz bağlayıcı olduğu AMT'lerde 72 saat sonunda sitotoksosite % 35 civarındadır. A549 hücre hattı için tannik asitin çapraz bağlayıcı olduğu AMT'ler en etkili sonucu vermiştir.

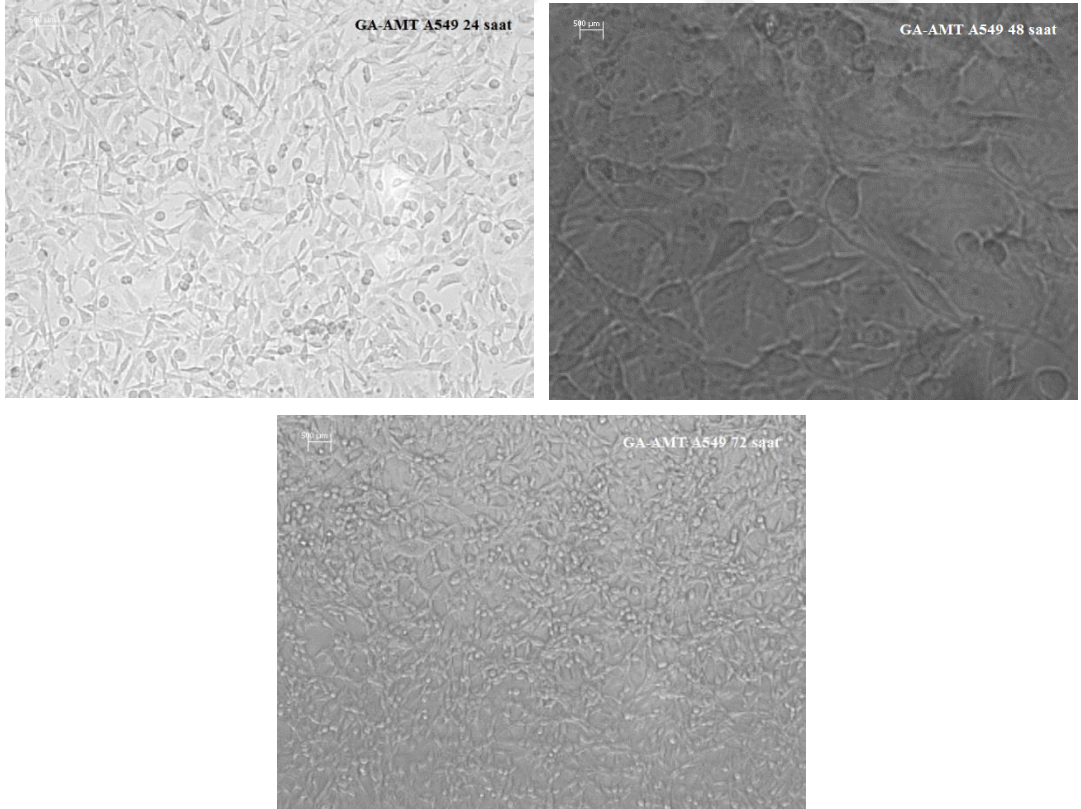
Şekil 3.48'de hücrelerin glutaraldehit çapraz bağlayıcısı kullanılarak sentezlenen AMT'lerin 24-48-72 saat etkileşimleri görülmektedir ve 72 saatlik verilerden hücrelerin üzerindeki sitotoksik etki bariz görülmektedir.

Şekil 3.49'da hücrelerin gallik asit ile sentezlenmiş AMT'lerle etkileşimi görülmektedir. Hücrelerde neredeyse yüzeye tutunma kalmadığı açıktır.

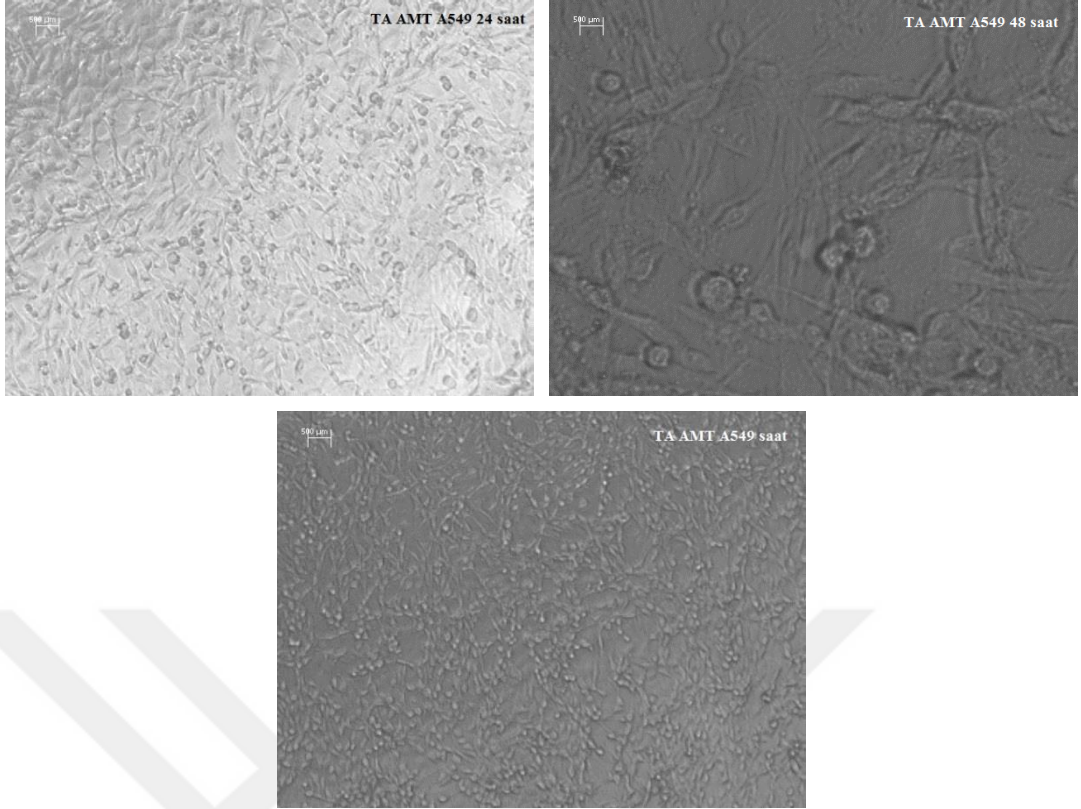
Şekil 3.50'de tannik asit çapraz bağlayıcısı kullanılarak sentezlenmiş AMT'lerin A549 hücre hattı üzerindeki etkileşimleri görülmektedir. Canlı hücre yoğunluğunun azaldığı farkedilmektedir. Kuersetin çapraz bağlayıcısı kullanılarak sentezlenen AMT'lerin hücre hattı üzerindeki etkileri Şekil 3.51'de görülmektedir. Hücrelerin yüzeye tutunabilirliği oldukça azalmıştır.



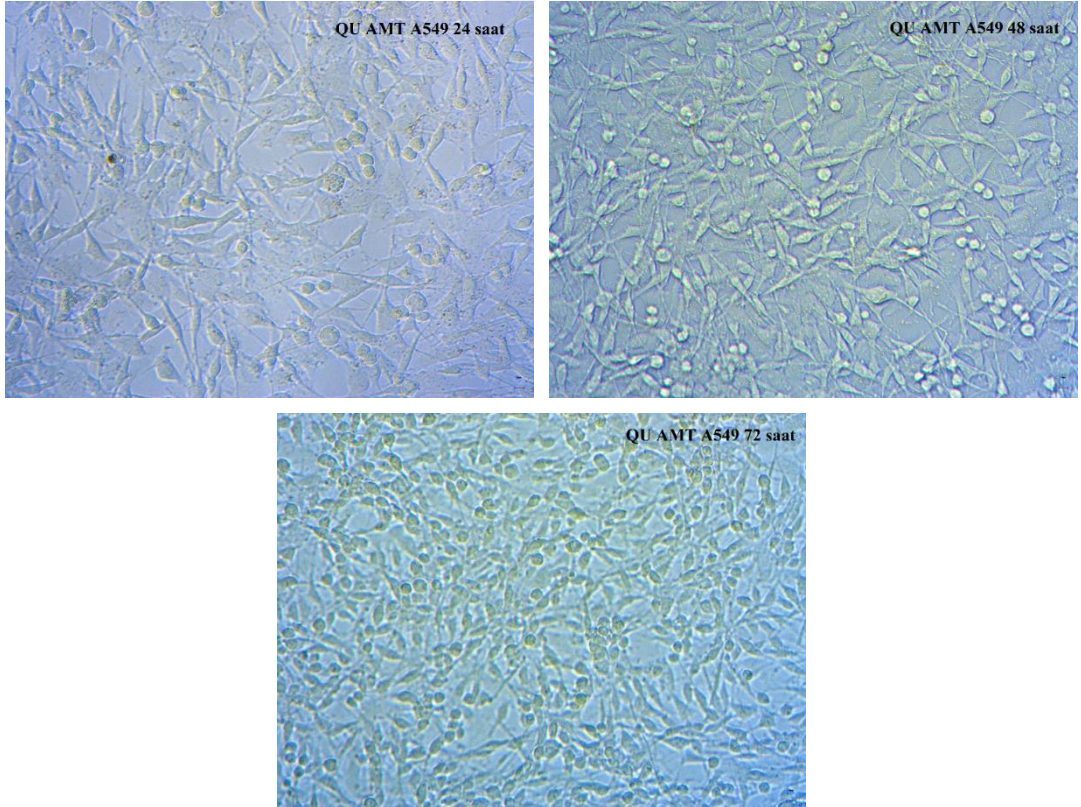
**Şekil 3.48. A549 hücrelerinin GLA-AMT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).**



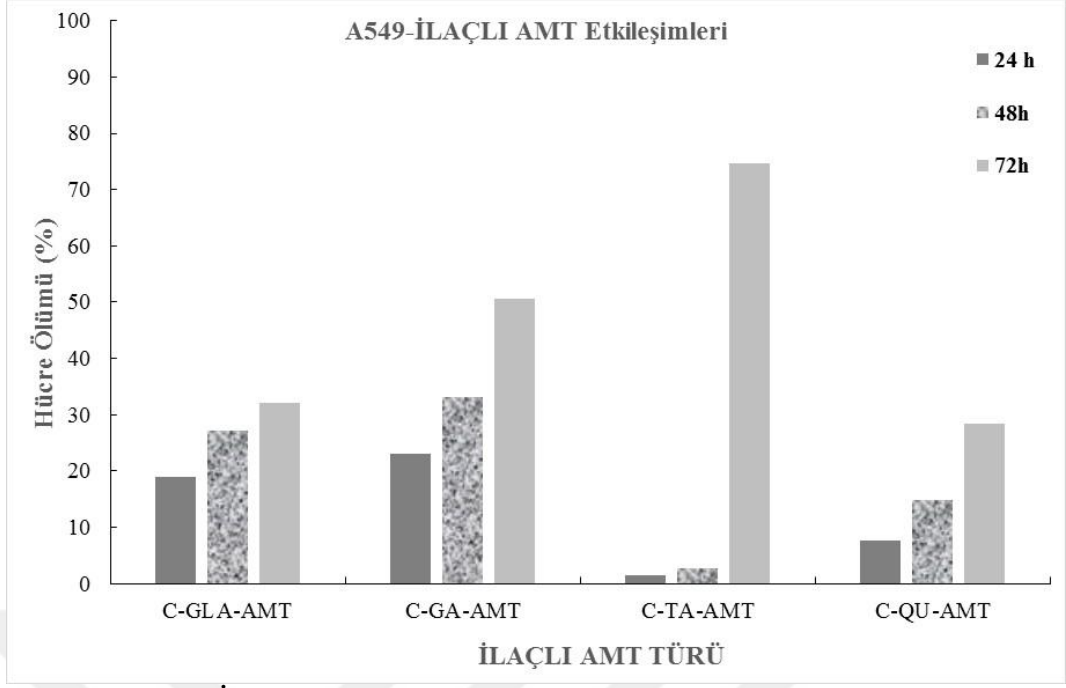
**Şekil 3.49. A549 hücrelerinin GA-AMT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).**



**Şekil 3.50. A549 hücrelerinin TA-AMT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).**

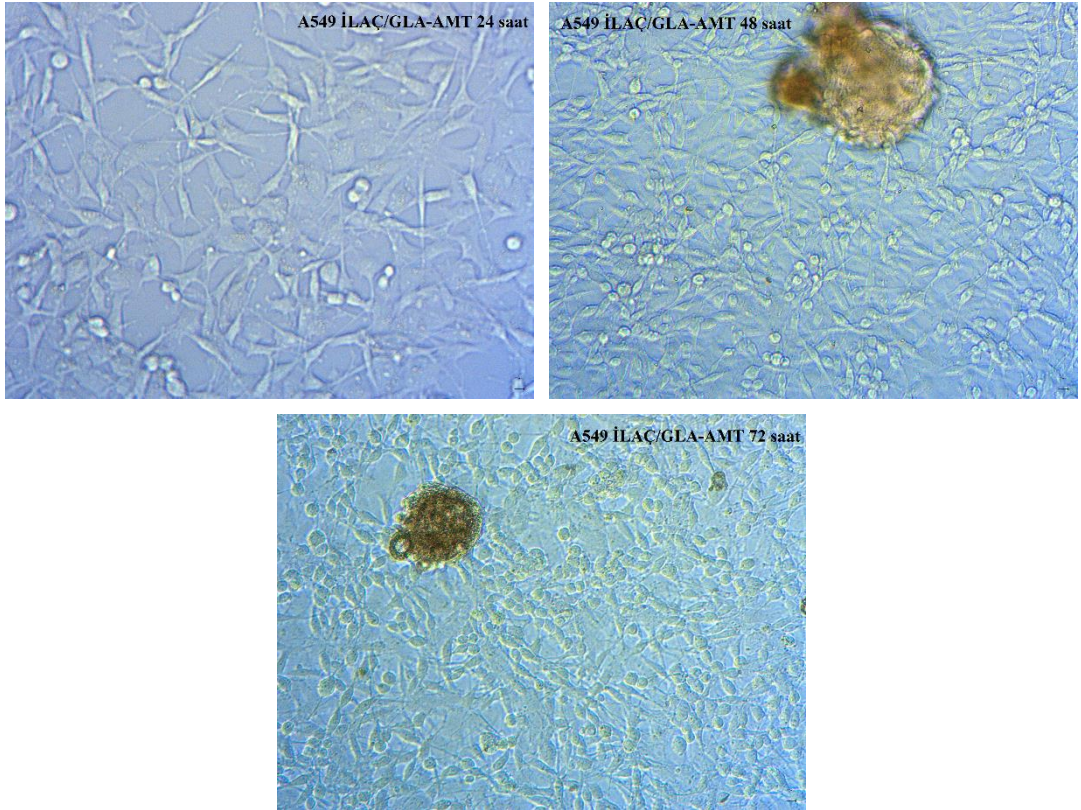


**Şekil 3.51. A549 hücrelerinin QU-AMT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).**

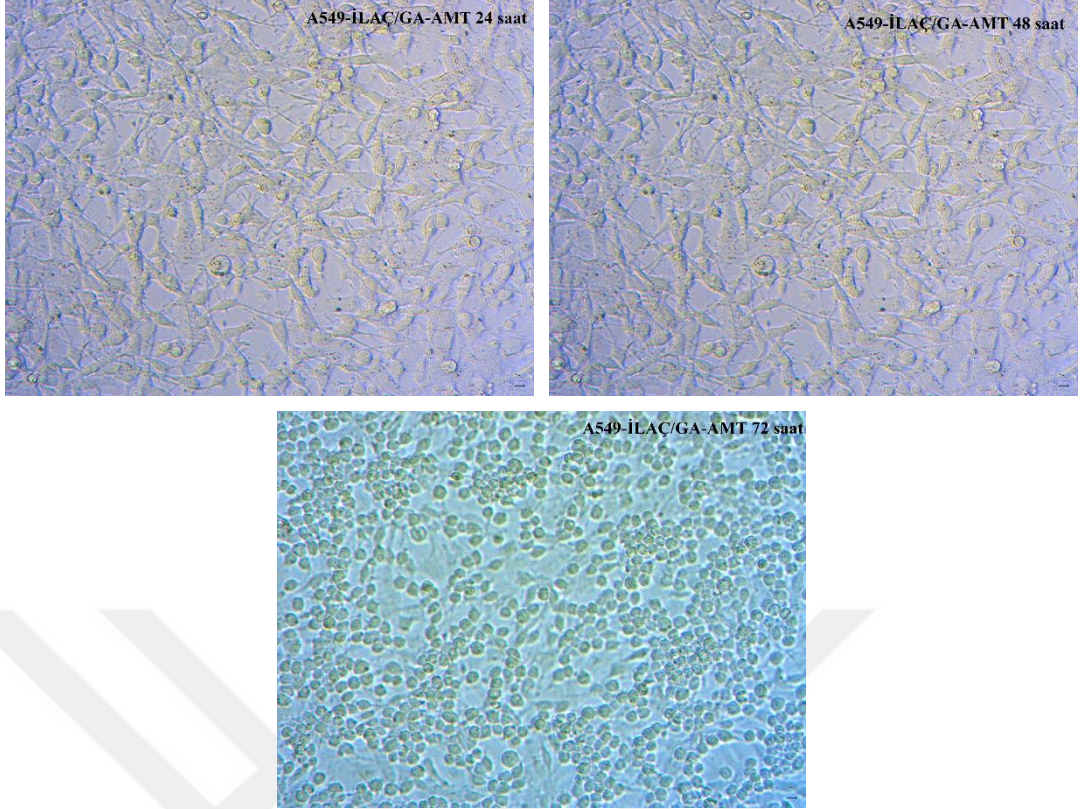


Şekil 3.52. İlaç yüklü AMT'lerin A549 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi.

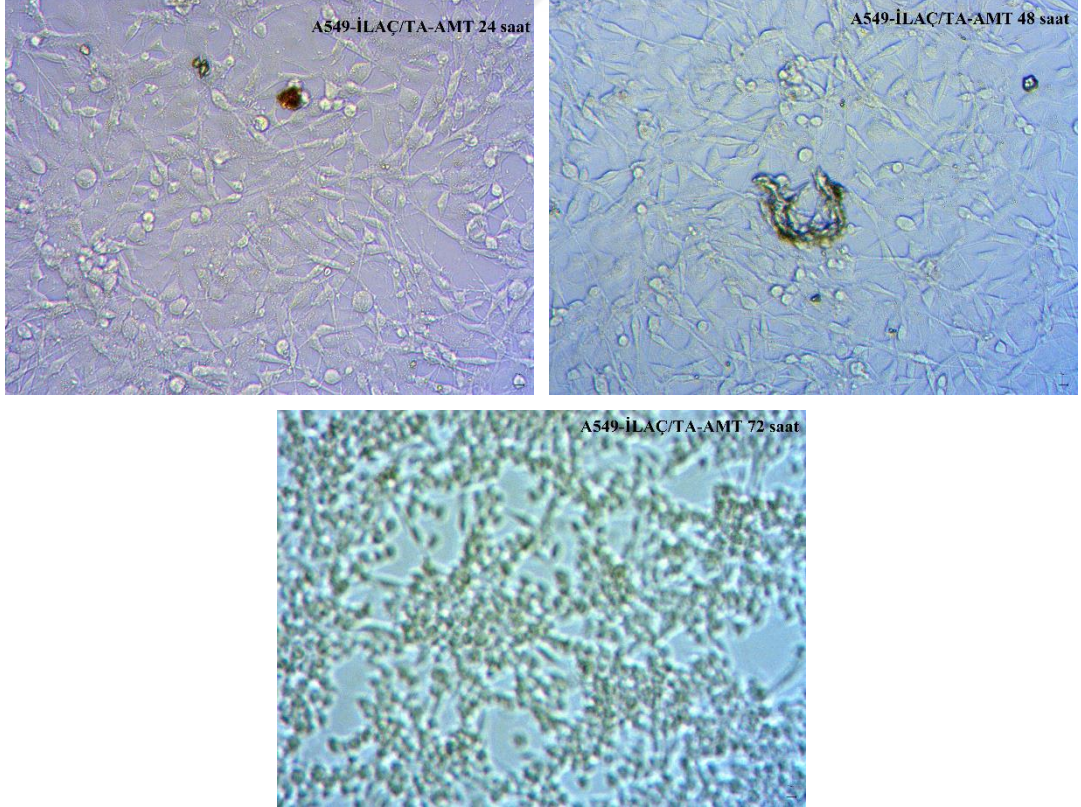
Şekil 3.52'de ilaç yüklü AMT'lerin A549 hücreleri ile etkileşimleri toplu olarak sunulmuştur. Şekil 3.52'ye göre glutaraldehitile sentezlenen AMT'ler %30 civarında sitotoksik etki göstermiştir. Kuersetinle sentezlenen ilaç yüklü AMT'ler de 72 saat sonunda %30 civarlarındadır. Gallik asitli AMT'ler nispeten daha iyi sonuç verirken en çok sitotoksik etki gösteren tannik asitli AMT'ler olmuştur.



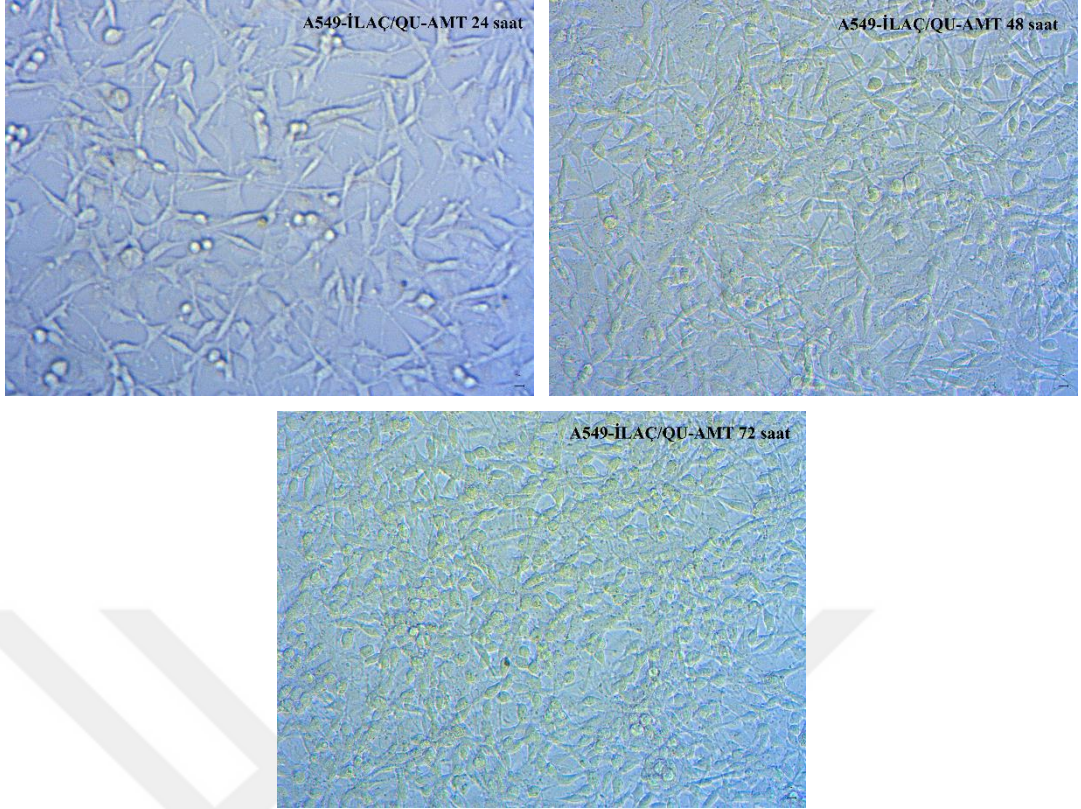
Şekil 3.53. A549 hücrelerinin İLAÇ/GLA-AMT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



Şekil 3.54. A549 hücrelerinin İLAÇ /GA-AMT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



Şekil 3.55. A549 hücrelerinin İLAÇ /TA-AMT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



Şekil 3.56. A549 hücrelerinin İLAC /QU-AMT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).

Glutaraldehitin çapraz bağlayıcı olduğu aynı zamanda içerisinde ilaç yüklü AMT'lerin etkileri Şekil 3.53'de verilmiştir. Hücrelerin canlılığı zaman içerisinde azalma göstermiştir.

İçerisine ilaç koyularak sentezlenen 3 farklı tip AMT'nin A549 hücre hattı üzerindeki etkileri şekil 3.54, şekil 3.55 ve şekil 3.56'de görülmektedir. Hücrelerin yüzeye tutunarak çoğaldığı göz önünde bulundurulduğunda hücrelerin yüzeye tutunması azaldığı farkedilmektedir.

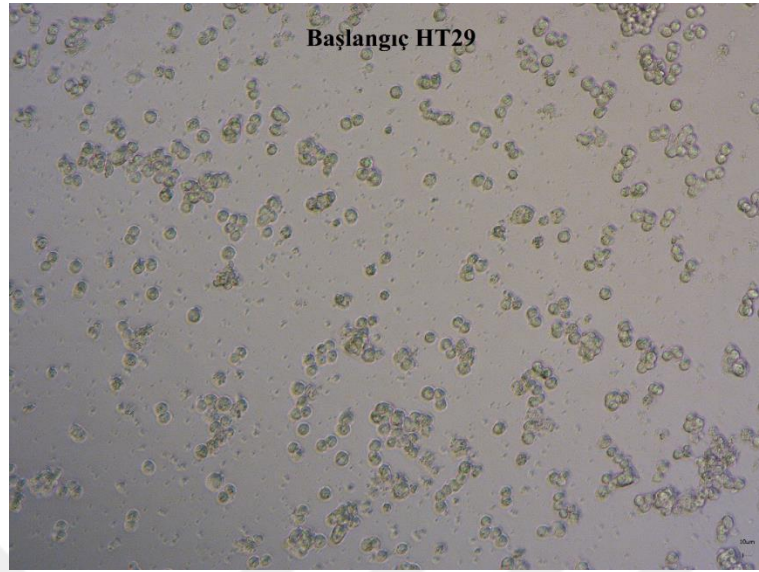
### 3.1.8.2. İnsan Kolon Kanseri (HT29) Hücreleri Deneyleri

Çalışmanın bu aşamasında sentezlenen Albümin Mikro Taşıyıcıların (AMT) ilaçsız ve ilaçlı formları ile hücre deneyleri gerçekleştirilmiştir. İnsan Kolon Kanseri (HT29) Hücreleri ile gerçekleştirilen deneylerin sonuçları ve irdelenmesi aşağıda sunulmuştur.

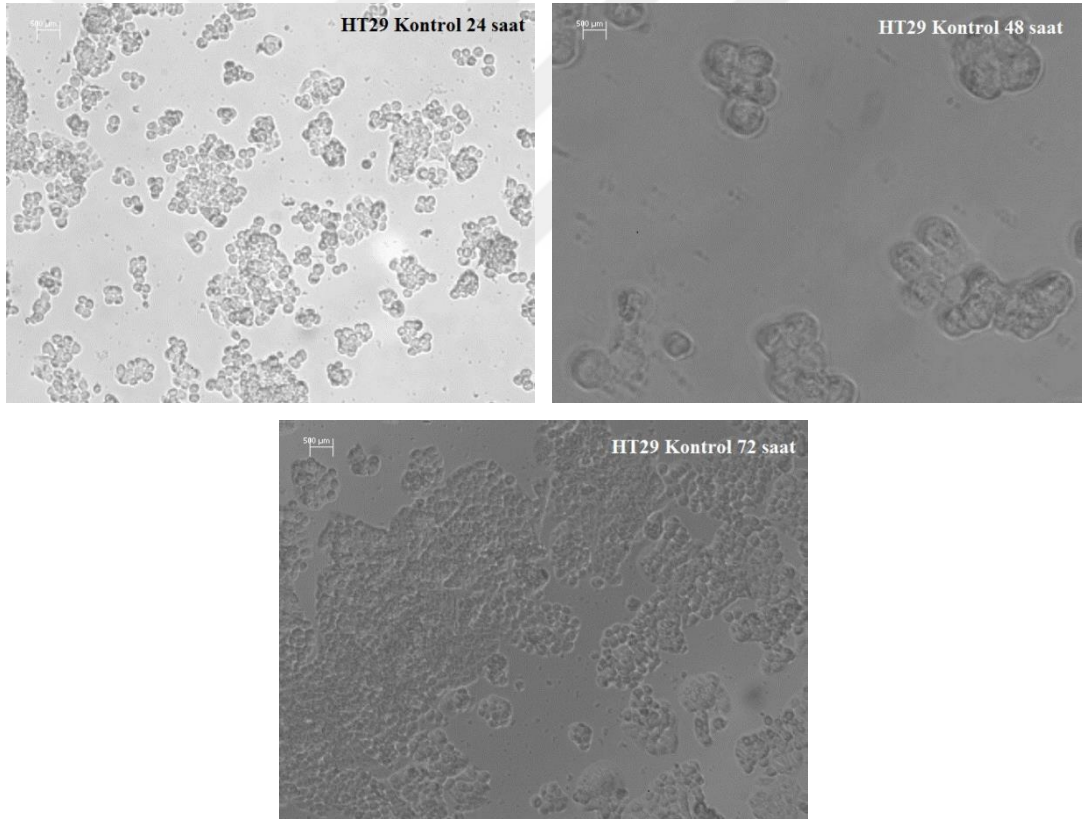
Şekil 3.57'de insan kolon kanseri (HT29) hücre hattının  $t_0$  anı görüntüleri verilmektedir.

Şekil 3.58'de ise kontrol grubu hücrelerin 24-48-72 saatlerdeki etkileşimleri

verilmektedir. 72. saat sonunda çoğalmanın yoğunlaştığı görülmektedir.



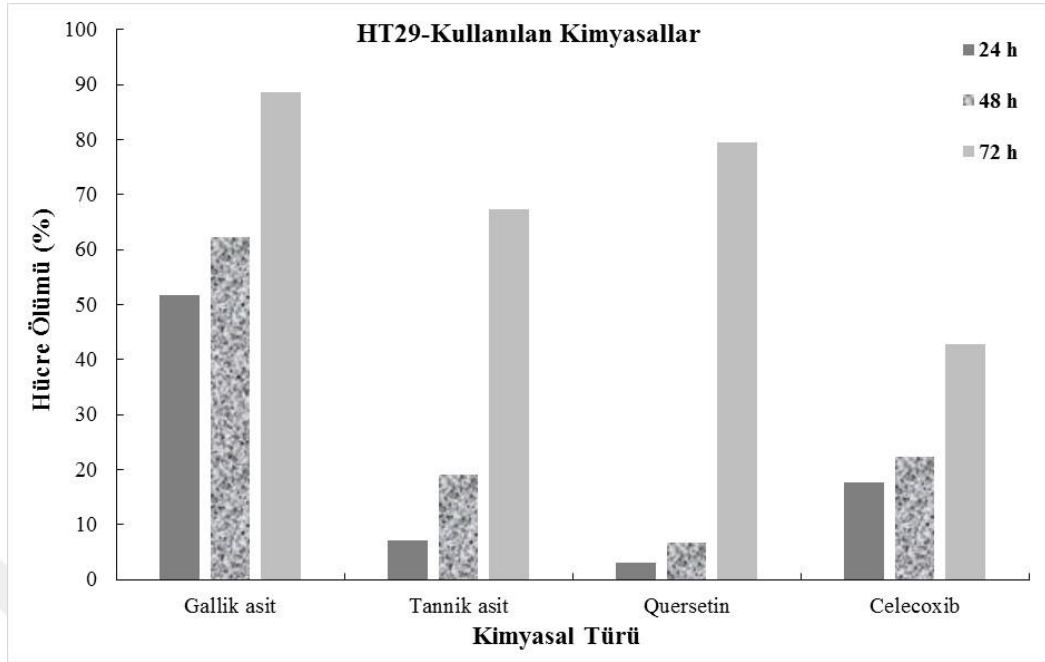
Şekil 3.57. HT29 hücreleri (t<sub>0</sub> anında).



Şekil 3.58. HT29 hücreleri kontrol grupları üremeleri (24-48-72 saatler).

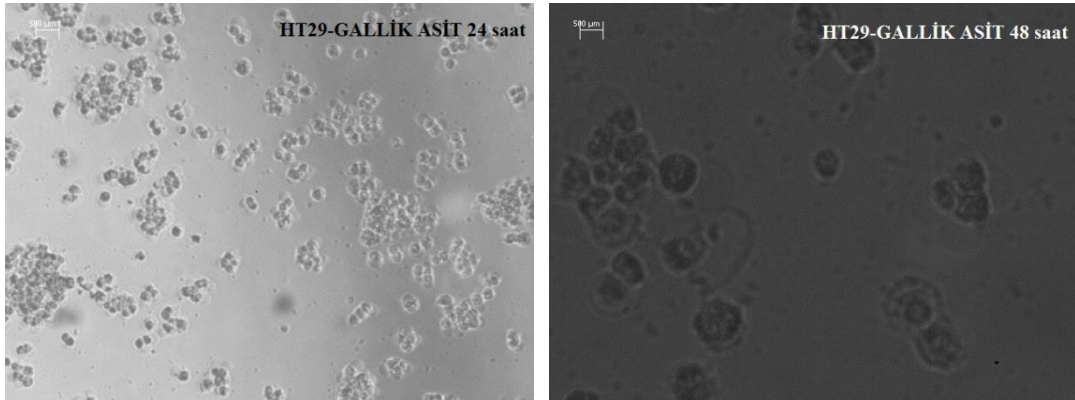
Şekil 3.59'da çalışmada kullanılan kimyasalların HT29 hücreleri ile etkileşimleri ile ilgili toplu hücre ölüm toplu sonuçları sunulmuştur. Şekil 3.59'a göre 72 saat sonunda gallik asit yaklaşık %90, tannik asit %70 civarında, kuersetin %80, selekoksib yaklaşık %40 civarında sitotoksik etki göstermiştir. Çapraz bağlayıcı olarak seçilen doğal anti-oksidan moleküllerimiz ilaçtan daha fazla etki göstermiştir.

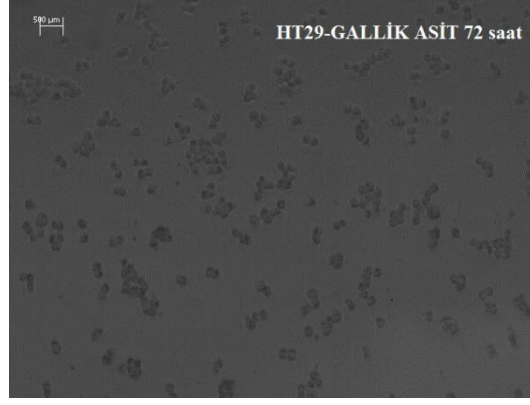
Şekil 3.60'da hücrelerin gallik asit ile etkileşimi verilmiştir.



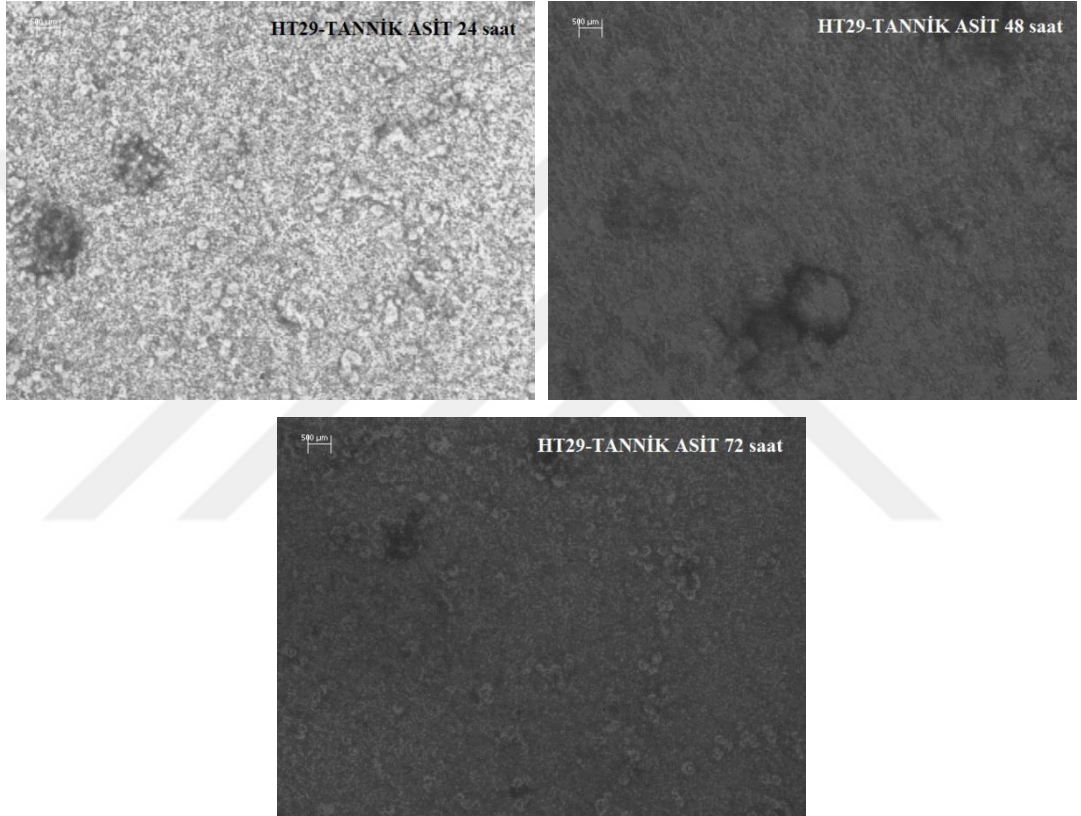
Şekil 3.59. Kullanılan çapraz bağlayıcıların HT29 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi.

Hücrelerin yüzeye tutunması azalmıştır. Şekil 3.61'de tannik asitle etkileşen hücrelerin canlılığı oldukça azalmıştır. Şekil 3.62 hücrelerin kuersetin ile etkileşimidir. Hücrelerin yoğunluğunun azaldığı görülmektedir. Şekil 3.63'de hücrelerin ilaç ile etkileşiminde opak ve parlak olanlar yüzeye tutunan hücrelerdir. Bu bağlamda hücrelerin yüzeye tutunmasının azaldığı görülmektedir.

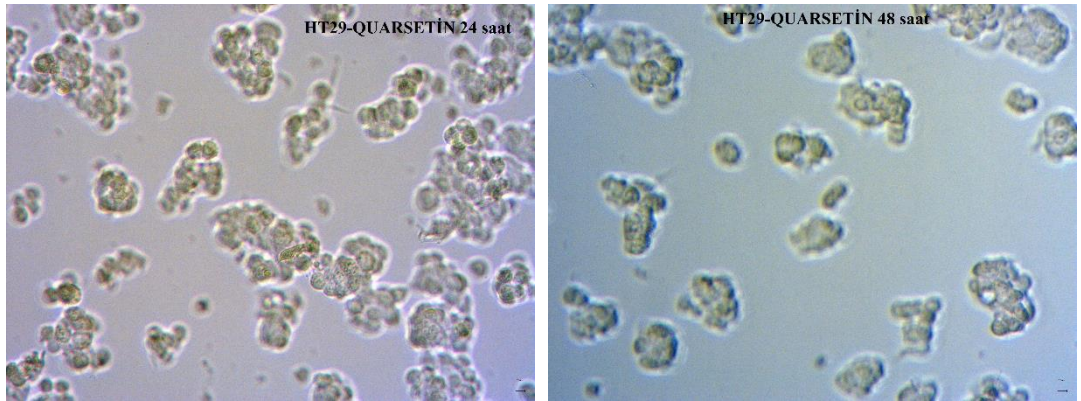


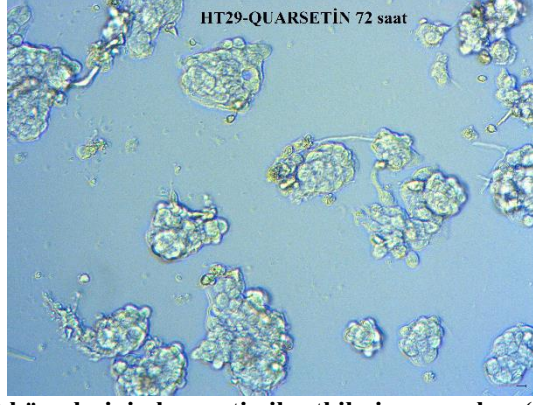


Şekil 3.60. HT29 hücrelerinin gallik asit ile etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).

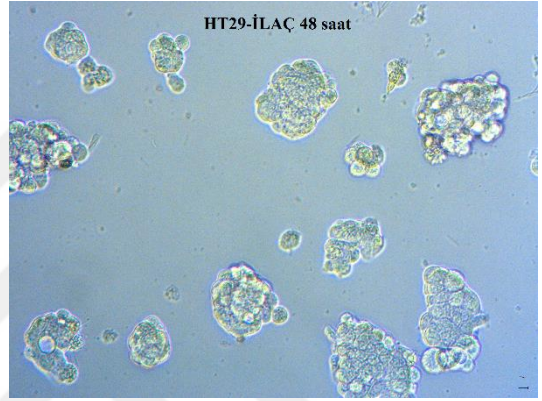
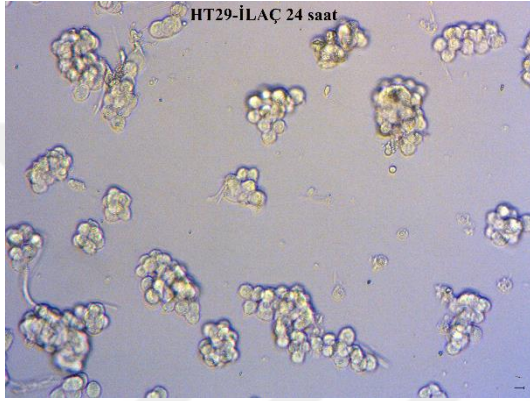


Şekil 3.61. HT29 hücrelerinin tannik asit ile etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).

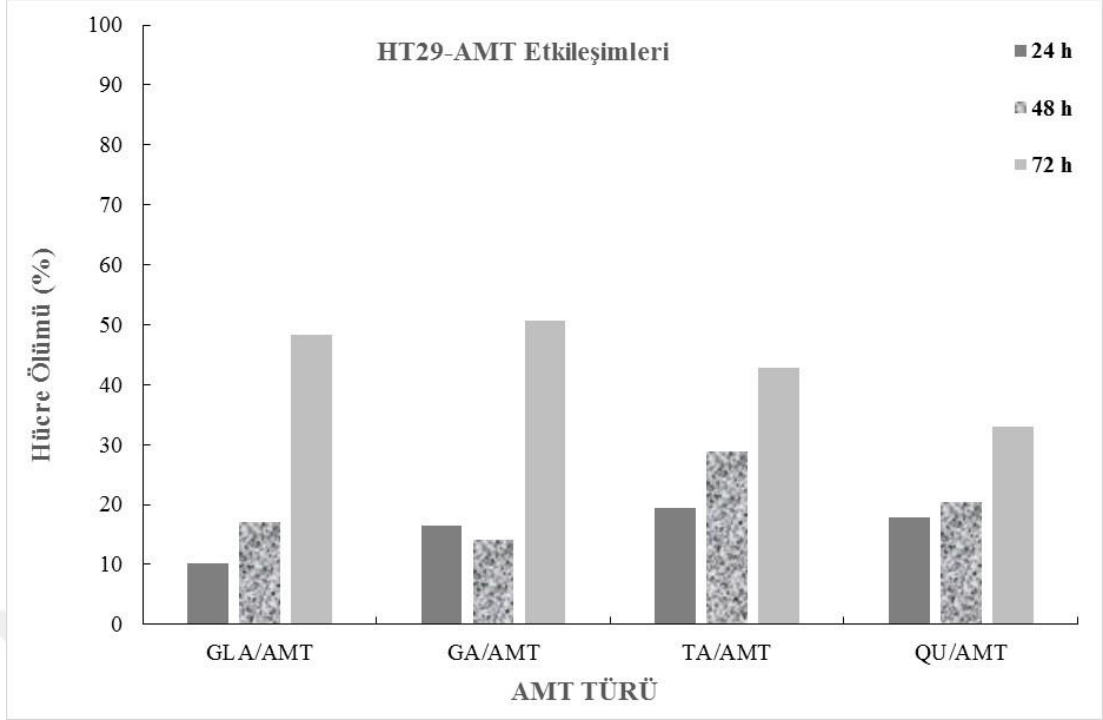




Şekil 3.62. HT29 hücrelerinin kuersetin ile etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).

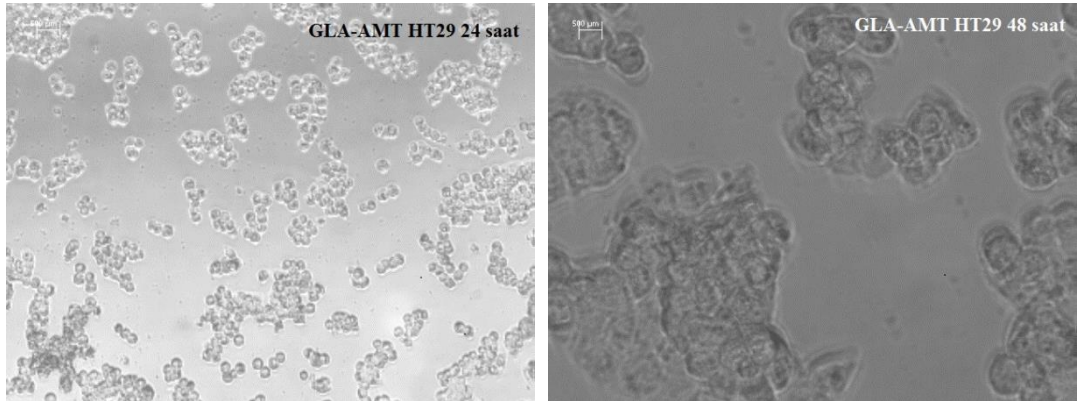


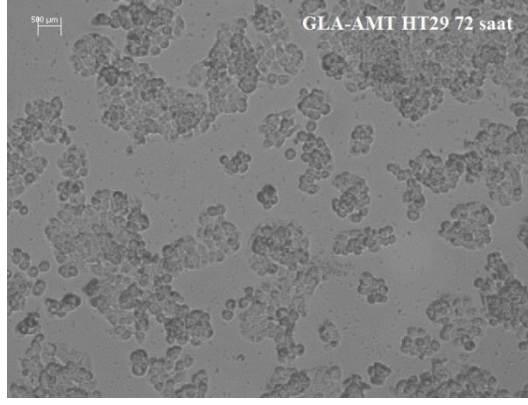
Şekil 3.63. HT29 hücrelerinin ilaç ile etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



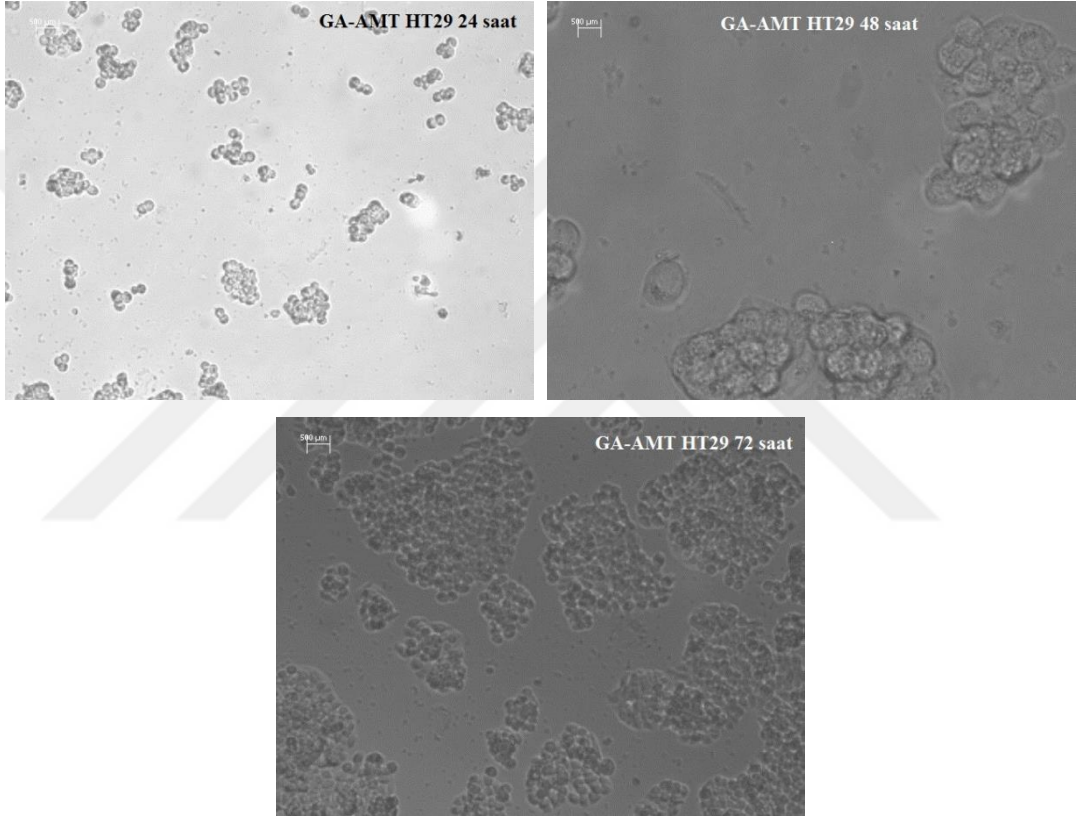
Şekil 3.64. Sentezlenen AMT'lerin HT29 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri.

Şekil 3.64'de ilaç yüklü AMT'lerin HT29 hücreleri ile etkileşimleri toplu olarak sunulmuştur. Şekil 3.64'e göre 72 saat sonunda glutaraldehitin ve gallik asitin çapraz bağlayıcı olduğu denemelerde yaklaşık %50, tannik asitin çapraz bağlayıcı olduğu AMT'ler %40 civarında, quersetinin çapraz bağlayıcı olduğu AMT'ler %35 civarında sitotoksik etki göstermiştir. En çok sitotoksik etki gösteren gallik asitle sentezlenen AMT'ler olmuştur.

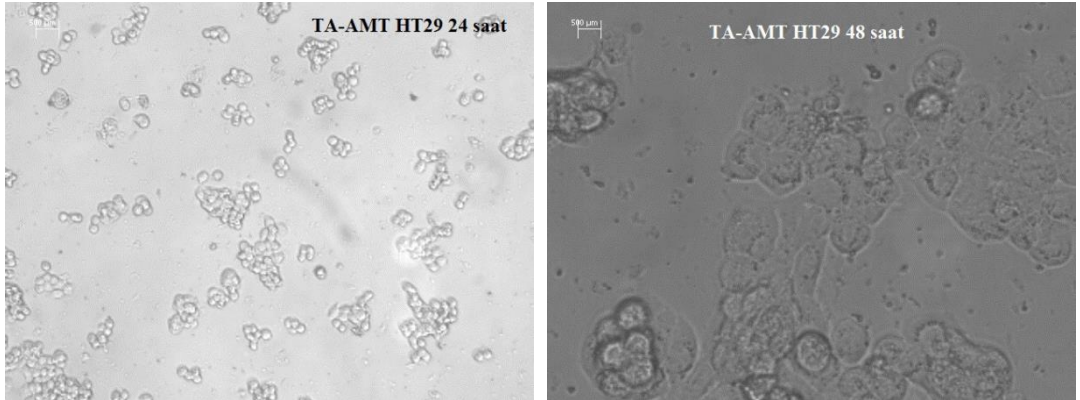


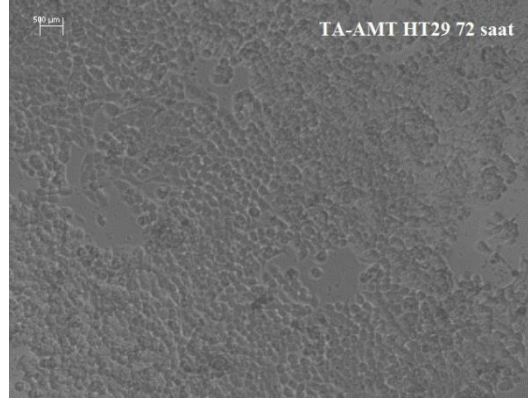


Şekil 3.65. HT29 hücrelerinin GLA-AMT etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).

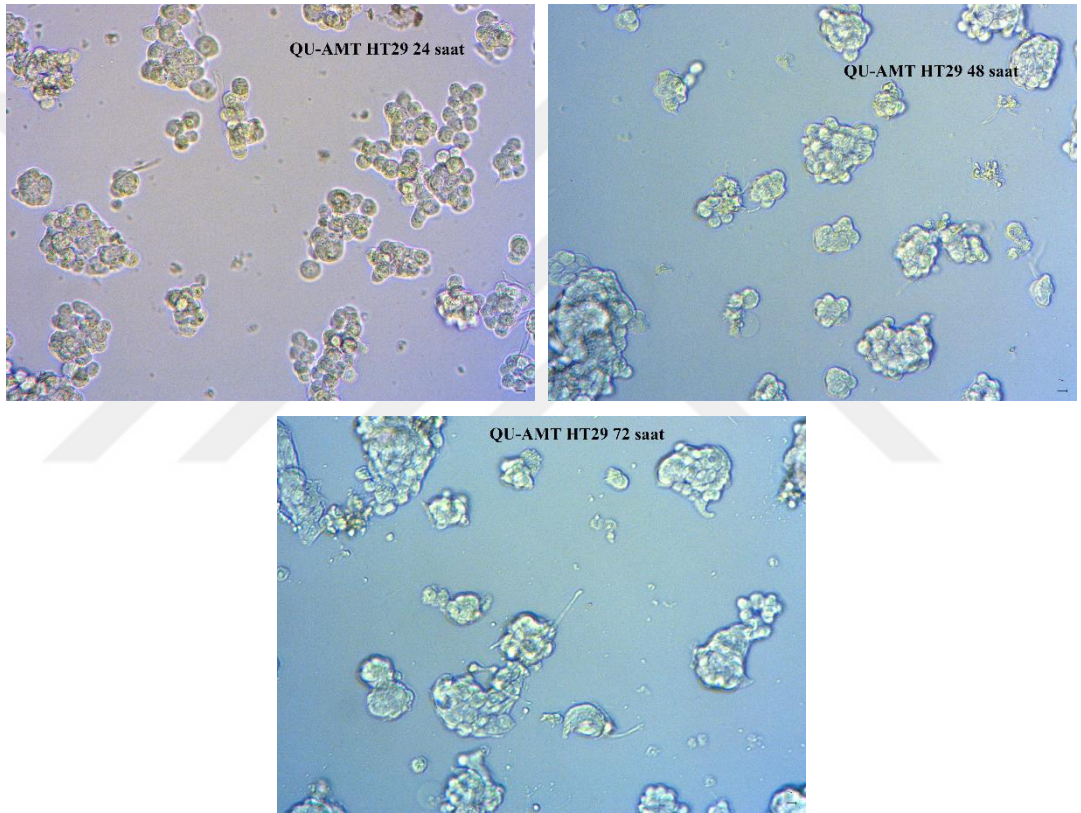


Şekil 3.66. HT29 hücrelerinin GA-AMT etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).





Şekil 3.67. HT29 hücrelerinin TA-AMT etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



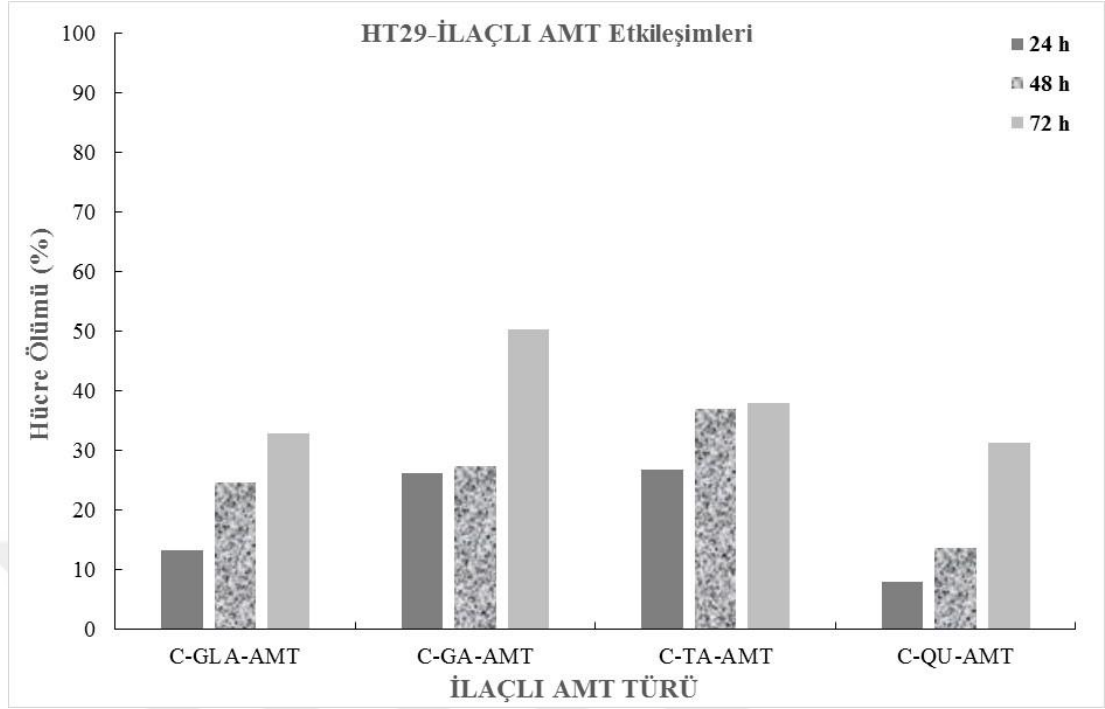
Şekil 3.68. HT29 hücrelerinin QU-AMT etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).

Şekil 3.65 glutaraldehit ile çapraz bağlanmış AMT'lerin etkileşimlerini göstermektedir. Hücrelerin monolayer özelliğini kaybettiği görülmektedir.

Şekil 3.66'da gallik asitle çapraz bağlanmış AMT'lerin hücreler üzerindeki etkileri görülmektedir. Hücrelerin canlılığı azalmıştır.

Şekil 3.67 tannik asitle çapraz bağlanmış AMT'lerin etkisini göstermektedir. Canlı hücre miktarı oldukça azalmıştır. Kuersetin kullanılarak çapraz bağlanan AMT'lerin görüntüleri Şekil 3.68'de verilmiştir. Hücrelerin nispeten canlılığının azaldığı

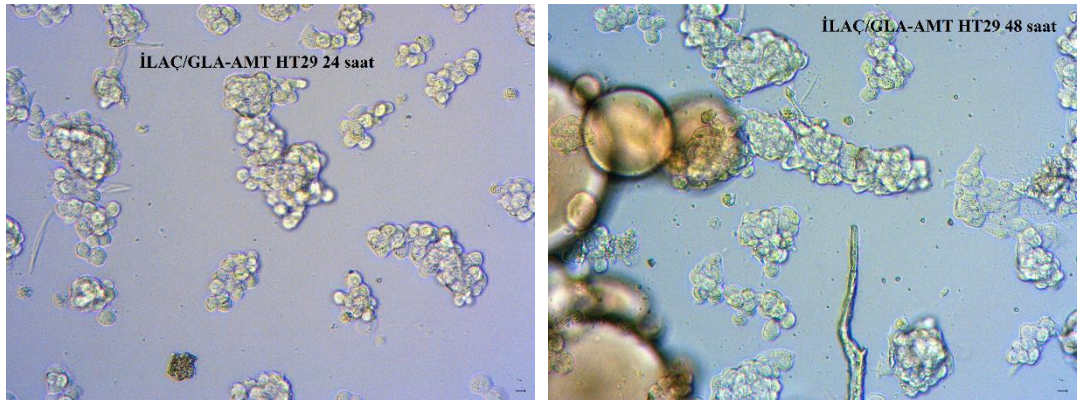
görülmektedir.

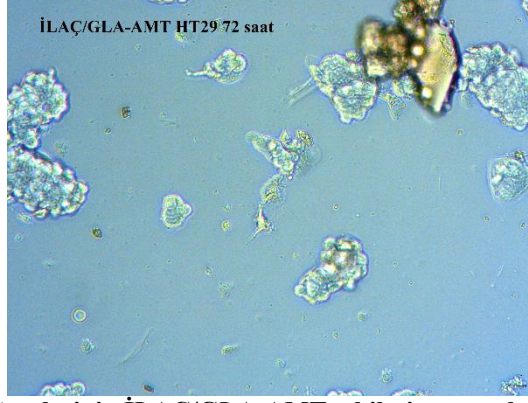


**Şekil 3.69. İlaç yüklü AMT'lerin HT29 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi.**

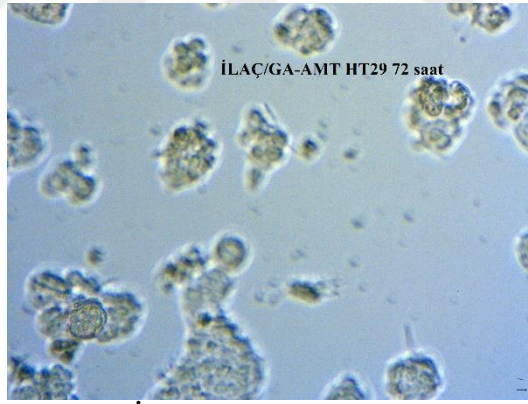
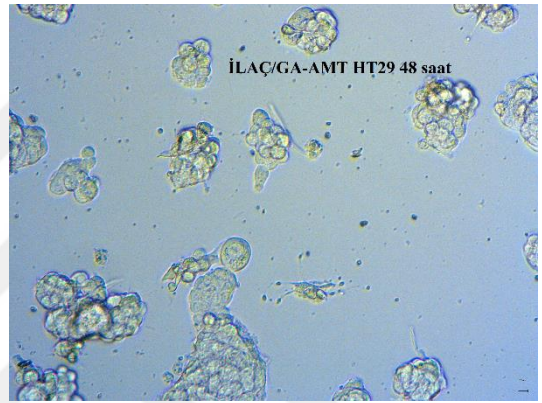
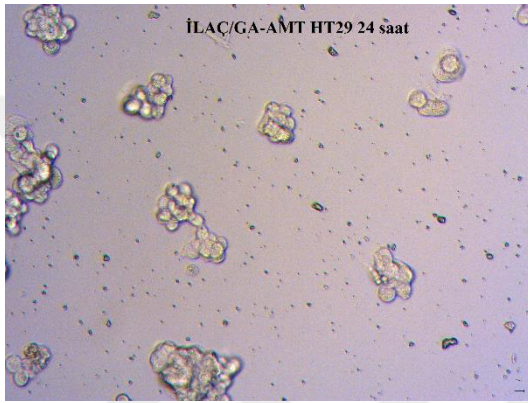
Şekil 3.69'a göre glutaraldehitin çapraz bağlayıcı olduğu ilaç yüklü AMT'ler % 35, gallik asitin çapraz bağlayıcı olduğu ilaç yüklü AMT'ler %50, tannik asitin çapraz bağlayıcı olduğu ilaç yüklü AMT'ler %40 civarında, quersetinin çapraz bağlayıcı olduğu ilaç yüklü AMT'ler %35 civarında sitotoksik etki göstermiştir. En etkili gallik asitle sentezlenen ilaç yüklü AMT'ler olmuştur.

HT29 hücre hattının ilaç etkileşim görüntüleri Şekil 3.70, Şekil 3.71, Şekil 3.72 ve Şekil 3.73'de sırasıyla verilmiştir. Bunlar sırasıyla glutaraldehit, gallik asit, tannik asit ve quersetin ile sentezlenen ilaç yüklü AMT'lerdir. Hepsinde de hücre canlılığının azaldığı net olarak görülmektedir.

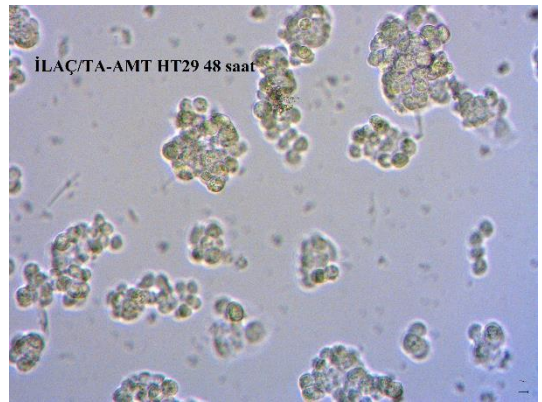
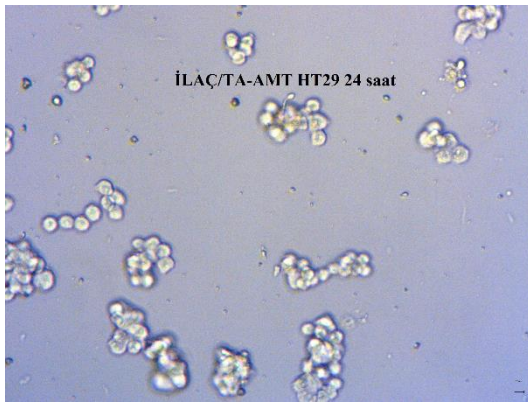


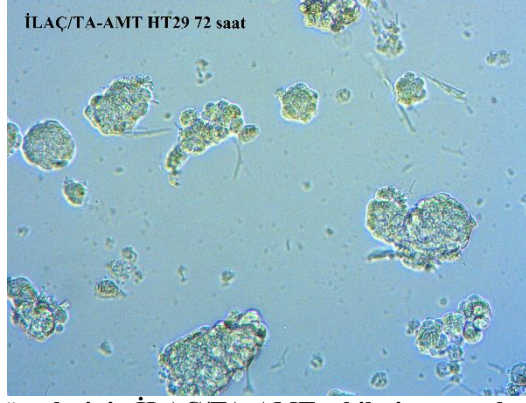


Şekil 3.70. HT29 hücrelerinin İLAÇ/GLA-AMT etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).

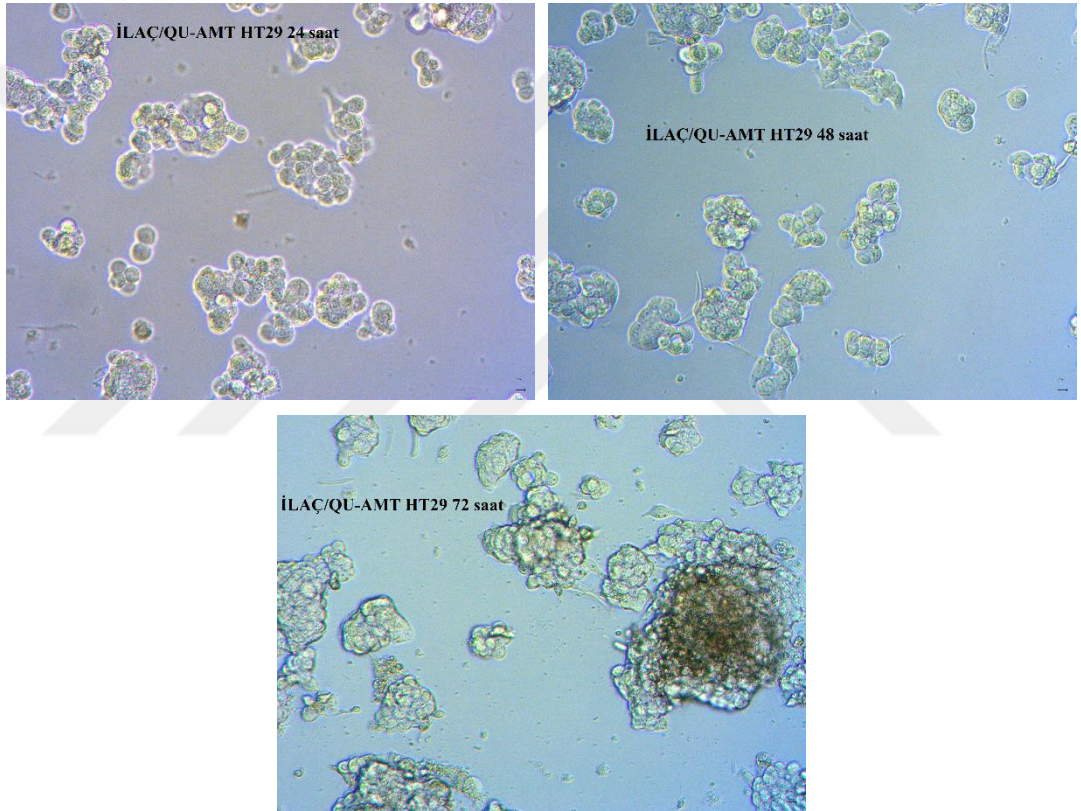


Şekil 3.71. HT29 hücrelerinin İLAÇ/GA-AMT etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).





Şekil 3.72. HT29 hücrelerinin İLAÇ/TA-AMT etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



Şekil 3.73. HT29 hücrelerinin İLAÇ/QU-AMT etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).

### 3.2. Albümin Nano Taşıyıcılar (ANT)

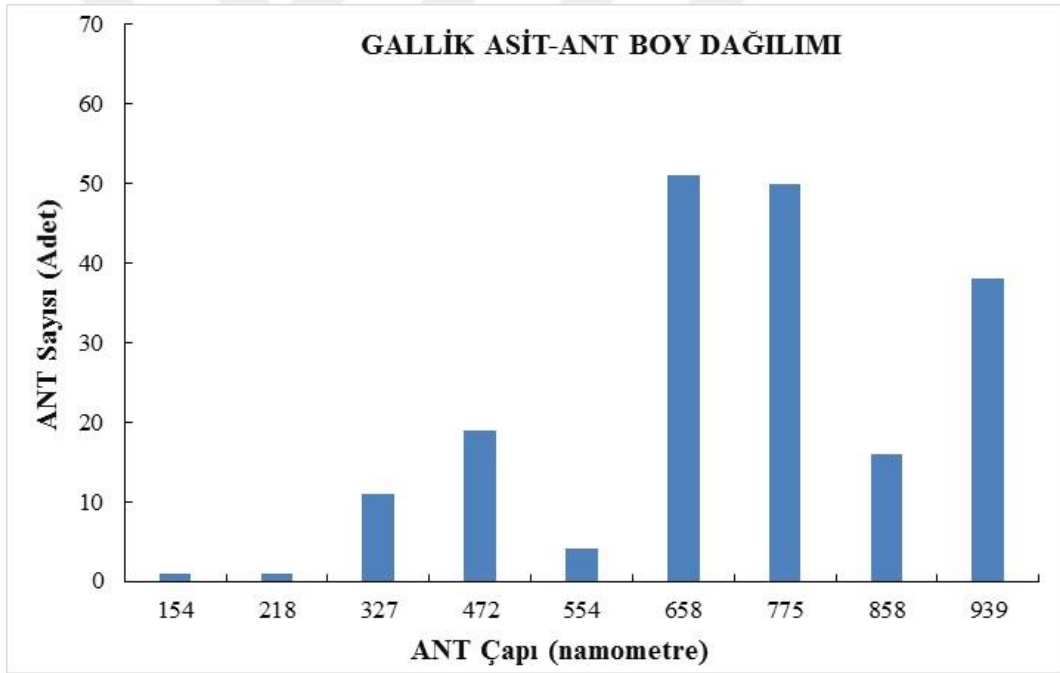
Araştırmanın bu aşamasında Albümin Nanotaşıyıcı (ANT) sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu sentez yöntemlerinde yine çapraz bağlama işlemi sentetik çapraz bağlayıcı olmadan doğal malzemeler olan gallik asit, tannik asit ve kuersetin ile gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.1. Gallik Asitle Sentezlenen ANT Boy Dağılımı

Şekil 3.74'de gallik asitin çapraz bağlayıcı olduğu ANT'lerin dietileterle yıkama sonucu tüpte toplanan formu verilmiştir.

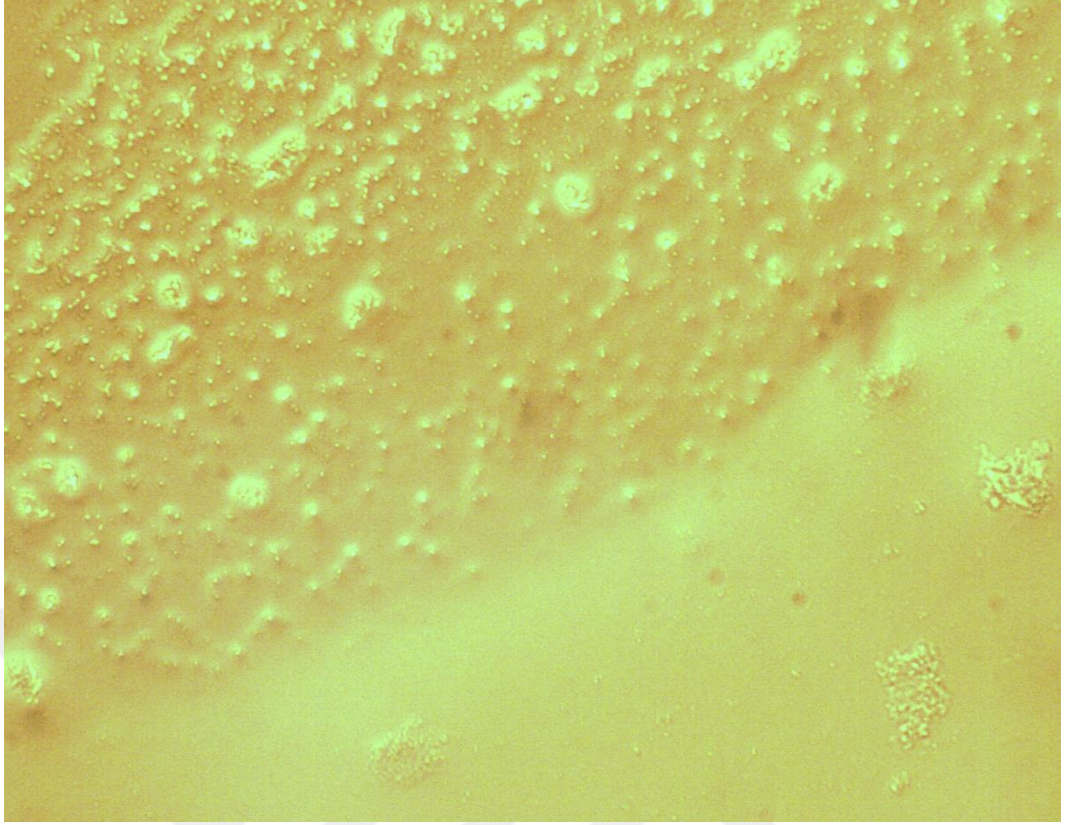


Şekil 3.74. Gallik asitle sentezlenen ANT'lerin koloidal fotoğrafı.



Şekil 3.75. Gallik asit 0.0048 g/ml ANT boy dağılımı.

AMT sentezinde kullanılan gallik asit miktarlarından yola çıkılarak sentezlenen ANT'lerin boy dağılımı Şekil 3.75'de verilmiştir. Taşıyıcılar 600-900 nanometre çapında dağılım göstermiştir. Sentezlenen ANT'lerin mikroskop görüntüleri Şekil 3.76'da görülmektedir.



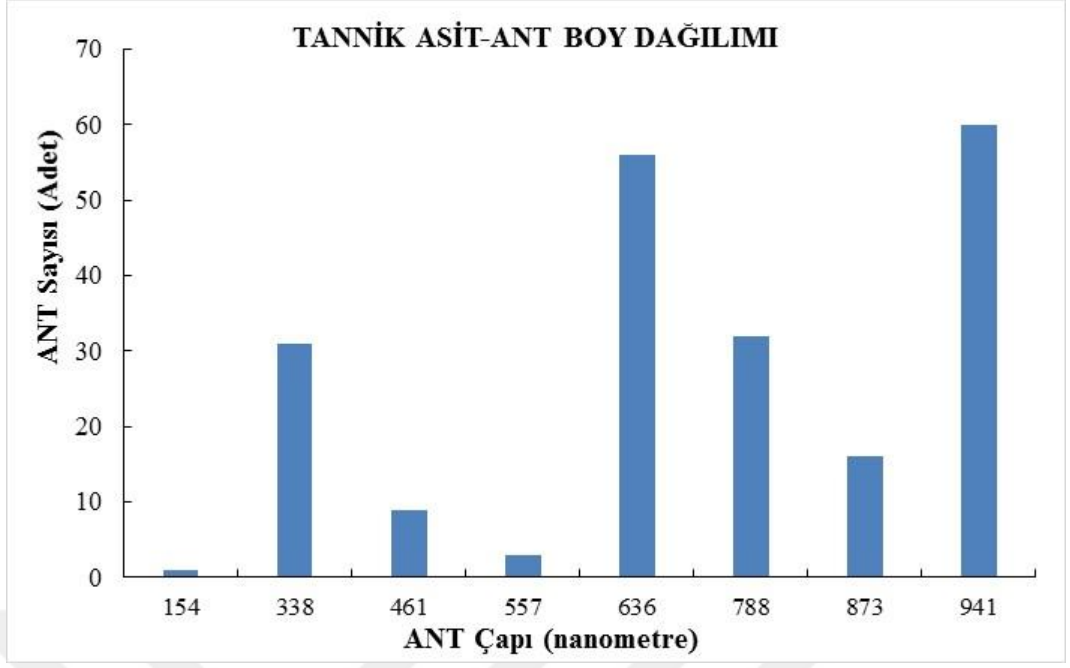
**Şekil 3.76. Gallik asitle sentezlenen ANT mikroskop görüntüsü (büyütme 40x).**

### **3.2.2. Tannik Asitle Sentezlenen ANT Boy Dağılımı**

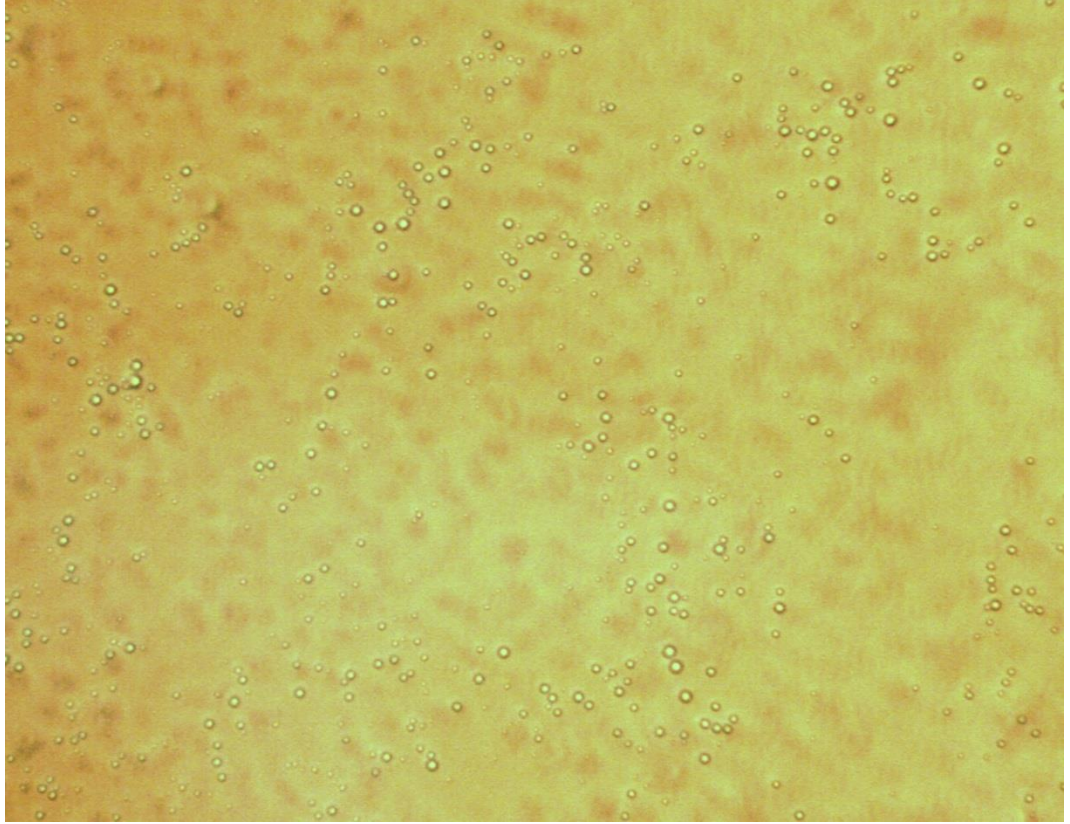
Tannik asitin çapraz bağlayıcı olduğu ANT'lerin sentezlenmesi sonrası tüpte toplanan görüntüsü Şekil 3.77'de verilmiştir. Sentezlenen ANT'lerin boy dağılımı 600-900 nanometre arasındadır. Mikroskop görüntüleri Şekil 3.78'de görülmektedir.



**Şekil 3.77. Tannik asitle sentezlenen ANT'lerin kolloidal fotoğrafı.**



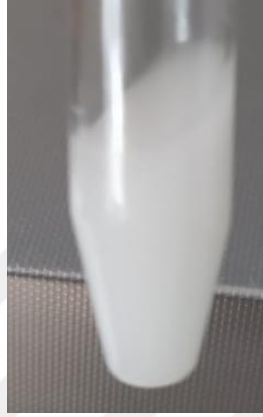
Şekil 3.78. Tannik asit 0.0048 g/ml ile sentezlenen ANT boy dağılımı.



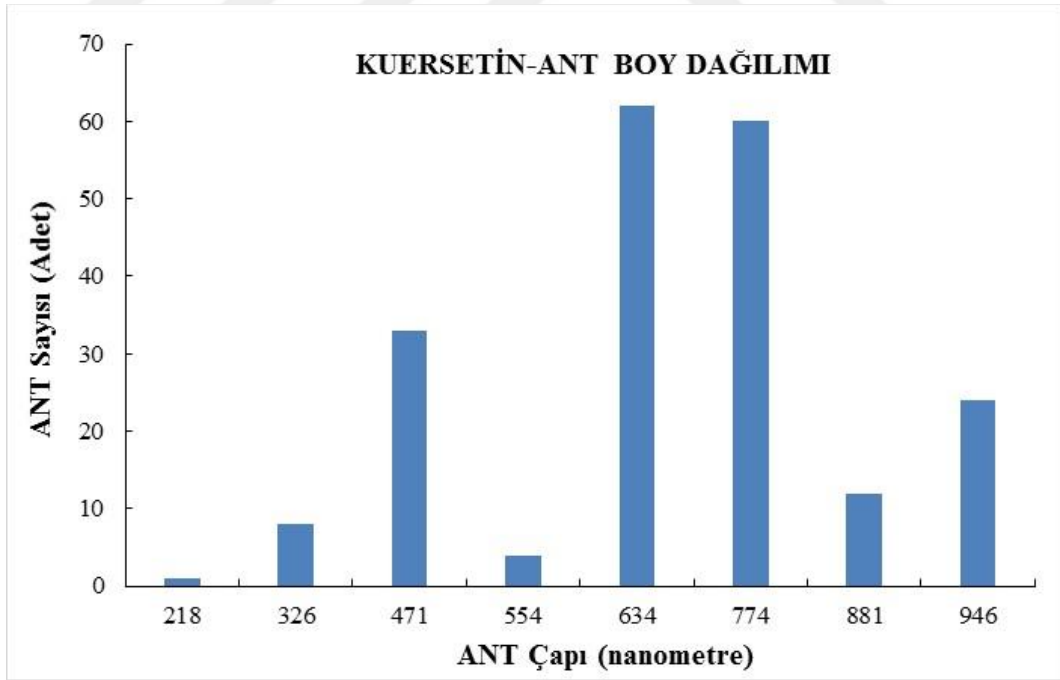
Şekil 3.79. Tannik asitle sentezlenen ANT mikroskop görüntüsü (büyütme 40x).

### 3.2.3. Kuersetinle Sentezlenen ANT Boy Dağılımı

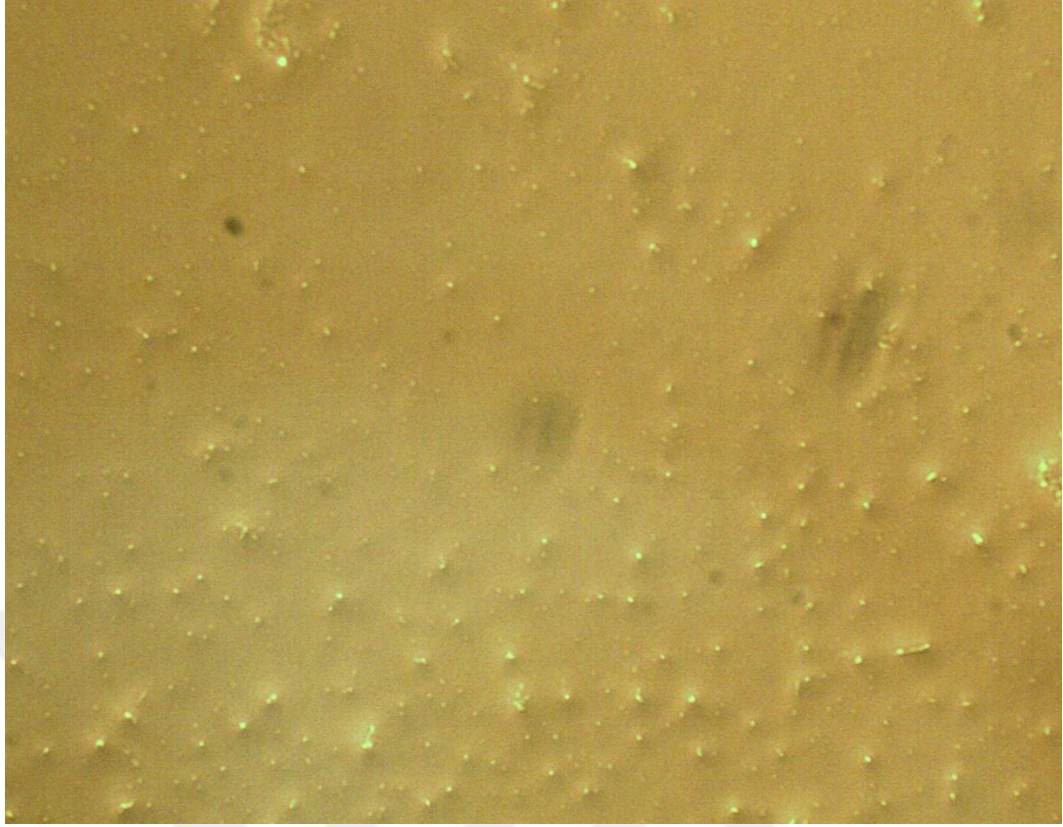
Kuersetinle sentezlenen ANT'lerin tüpte toplanan görüntüsü Şekil 3.80'de sunulmuştur. Kuersetin ile sentezlenen ANT'lerin Şekil 3.81'de sunulmaktadır. Grafikten de görüleceği gibi boy dağılımı daha çok 600-700 nanometre arasında değişmektedir. Mikroskop görüntüleri Şekil 3.82'de verilmiştir.



Şekil 3.80. Kuersetinle sentezlenen ANT'lerin kolloidal fotoğrafı.



Şekil 3.81. Kuersetin 0.03 mg/ml ile sentezlenen ANT boy dağılımı.

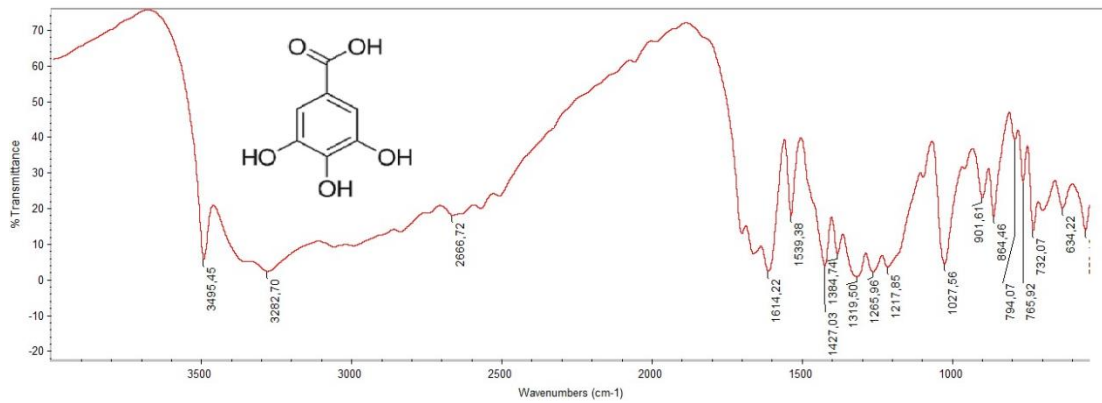


Şekil 3.82. Kuersetinle sentezlenen ANT mikroskop görüntüsü (büyütme 40x).

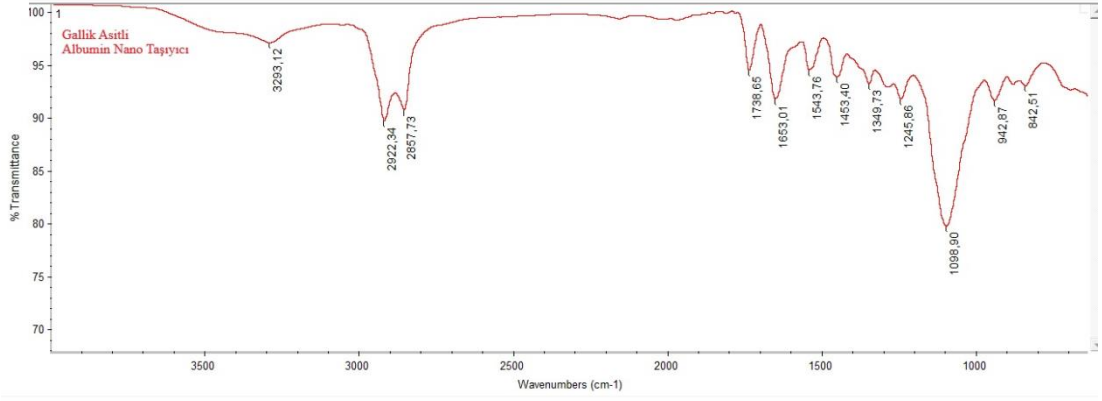
### 3.2.4. ANT FTIR Sonuçları

Çalışmanın bu aşamasında sentezlenen Albümin Nano Taşıyıcıların (ANT) ve sentez için kullanılan çapraz bağlayıcıların FTIR spektrumları alınarak karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.83’de sentezlerde kullanılan Gallik asidin, Şekil 3.84’de ise Gallik asit ile sentezlenen Albümin Nano Taşıyıcıların FTIR spektrumları verilmiştir.



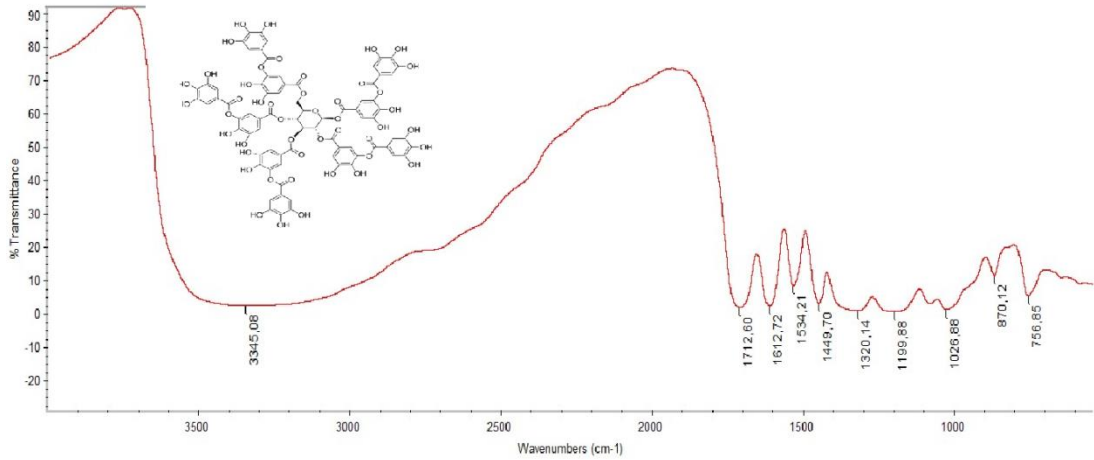
Şekil 3.83. Gallik asit FTIR spektrumu.



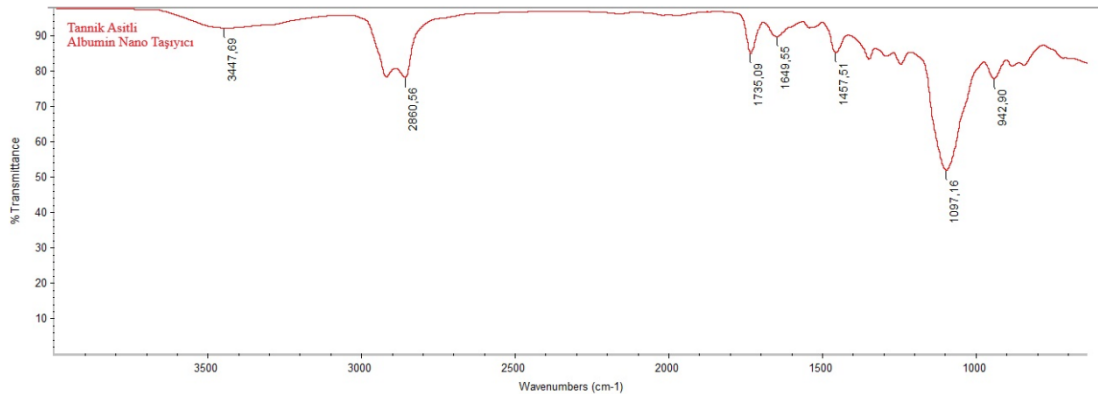
Şekil 3.84. Gallik asit ile sentezlenen ANT FTIR spektrumu.

Şekillerden de görüleceği gibi Gallik asidin yapısında var olan -OH hidroksil gruplarının 3000-3500  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyunda oldukça geniş bir band oluşturduğu gözlemlenmiştir. Çapraz bağlanma reaksiyonu gerçekleştikten sonra reaksiyon veren bu fonksiyonel grupların varlığındaki azalma ile -OH bandında küçülme görülmüştür.

Şekil 3.85’de sentezlerde kullanılan Tannik asidin, Şekil 3.86’da ise Tannik asit ile sentezlenen Albümin Nano Taşıyıcıların FTIR spektrumları verilmiştir.



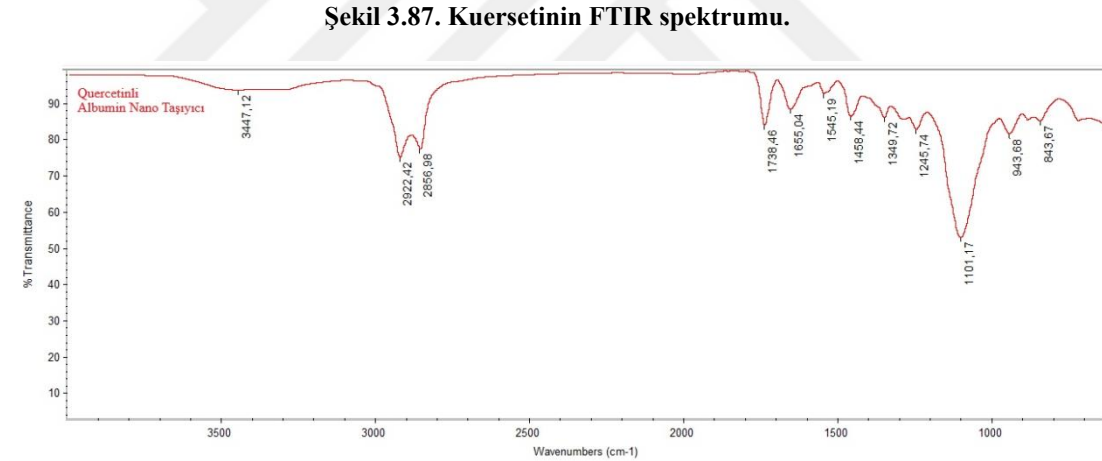
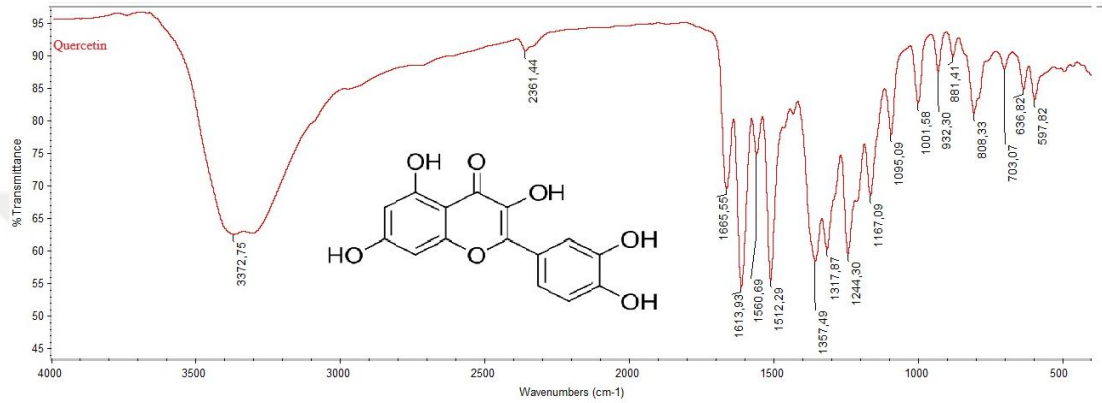
Şekil 3.85. Tannik asitin FTIR spektrumu.



Şekil 3.86. Tannik asitle sentezlenen ANT FTIR spektrumu.

Şekillerden de görüleceği gibi Tannik asidin yapısında var olan -OH hidroksil gruplarının 3000-3500  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyunda oldukça çok geniş bir bant oluşturduğu gözlemlenmiştir. Çapraz bağlanma reaksiyonu gerçekleşikten sonra reaksiyona giren bu fonksiyonel grupların varlığındaki azalma ile -OH bandında küçülme görülmüştür.

Şekil 3.87’de sentezlerde kullanılan kuersetinin, şekil 3.88’de ise kuersetin ile sentezlenen Albümin Nano Taşıyıcıların FTIR spektrumları yer almaktadır.



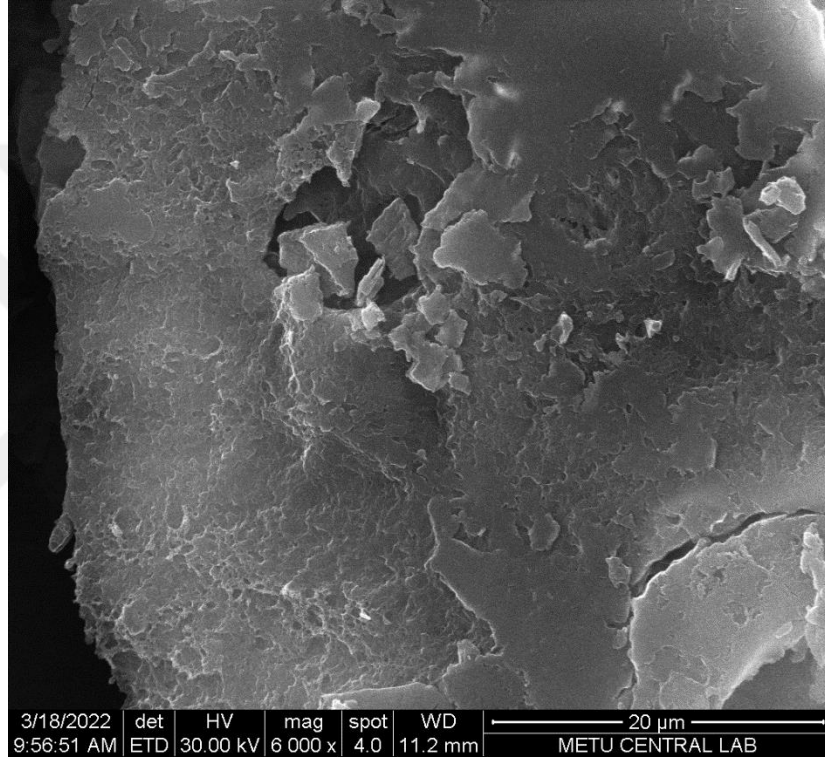
Bu spektrumlardan da görüleceği gibi bazı fonksiyonel gruplar sönümlenmiş, bazılarının şiddeti azalmıştır. Ancak en dikkat çeken durum -OH gerilme pikinin şiddetinin azaldığı neredeyse yok olma noktasına geldiği sonucudur.

Bu durum Kuersetin molekülünün yapısındaki karbonil grubunun reaksiyon sırasında açılarak serbest -OH grubuna dönüşmesinden kaynaklanmakta olduğu şeklinde düşünülmüştür.

### 3.2.5. ANT SEM Sonuçları

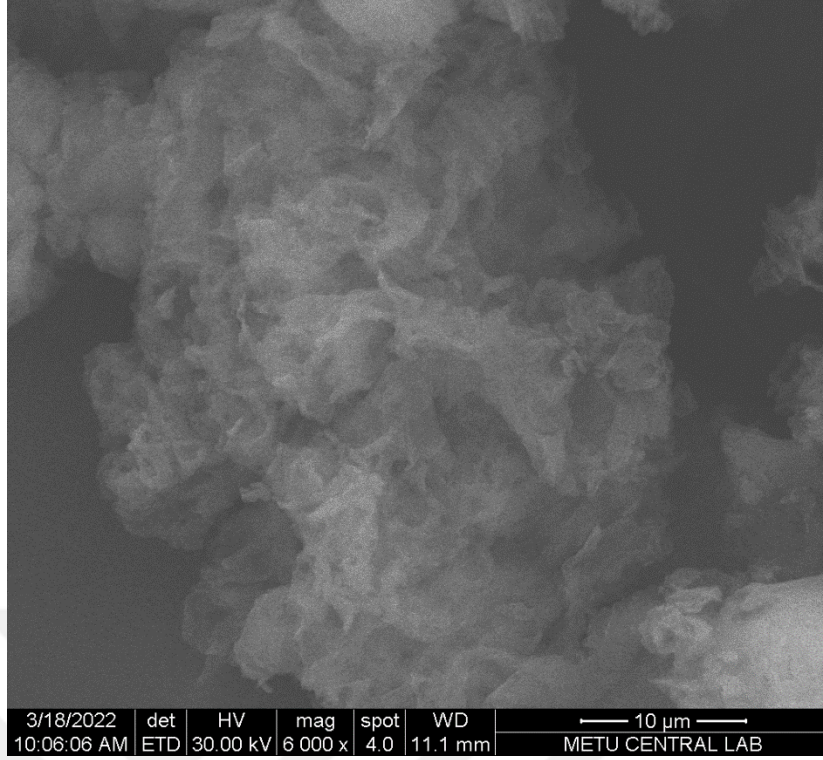
Çalışmanın bu aşamasında sentezlenen Albümin Nano Taşıyıcıların (ANT) SEM (taramalı Elektron Mikroskobu) görüntüleri alınarak karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.89’da gallik asidin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı ANT’lerin x6000 büyütmedeki görüntüsü verilmektedir. Şekil 3.89’dan da görüleceği gibi kristalin yapıda ANT’ler elde edilmiştir.

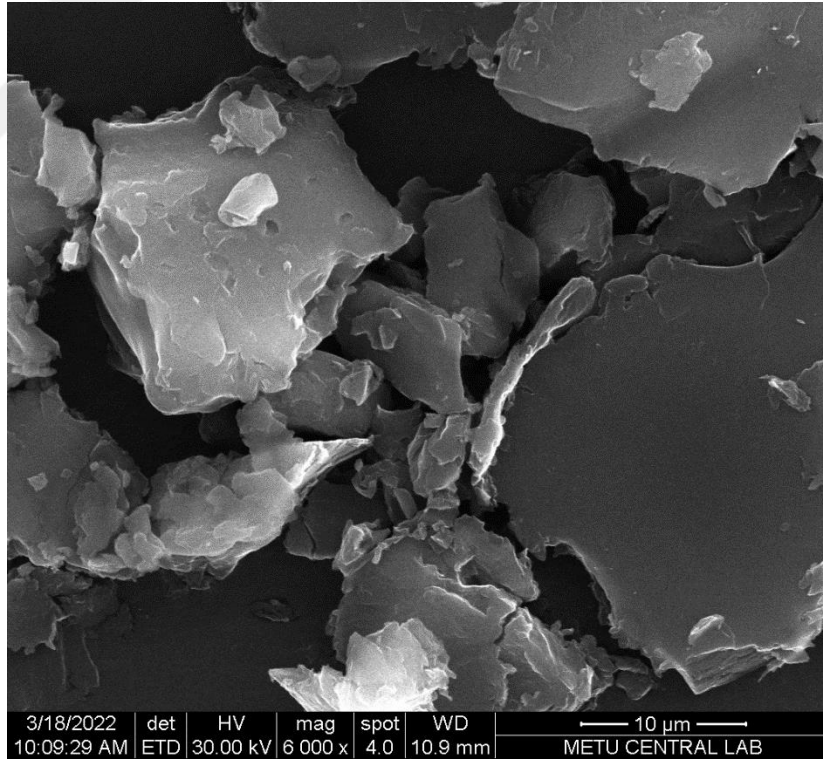


Şekil 3.89. Gallik asitle sentezlenen ANT SEM görüntüsü (x6000 büyütme).

Şekil 3.90’da tannik asidin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı ANT’lerin x6000 büyütmedeki görüntüsü verilmektedir. Şekil 3.90’dan da görüleceği gibi yarı opak ve yarı kristalin yapıda ANT’ler elde edilmiştir.



Şekil 3.90. Tannik asit ile sentezlenen ANT SEM görüntüsü (x6000 büyütme).

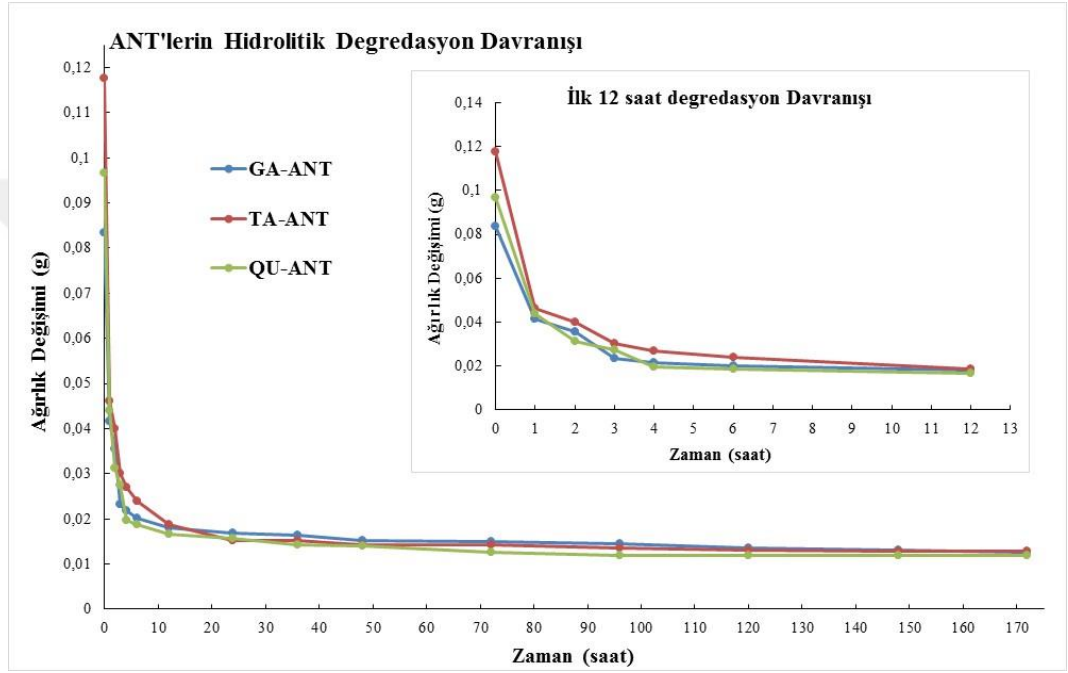


Şekil 3.91. Kuersetin ile sentezlenen ANT SEM görüntüsü (x6000 büyütme).

Şekil 3.91’de kuersetinin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı ANT’lerin x6000 büyütmedeki görüntüsü verilmektedir. Şekil 3.91’den de görüleceği gibi opaklığın azaldığı ve kristal yapıda ANT’ler elde edilmiştir.

### 3.2.6. ANT Hidrolitik degradasyon

Çalışmanın bu aşamasında da üç farklı çapraz bağlayıcı kullanılarak sentezlenen Albümin Nano Taşıyıcıların (ANT) Hidrolitik degradasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.92’de 7 gün boyunca takip edilen hidrolitik degradasyon sonuçları verilmiştir. 72. Saatte denge durumunun oluştuğu görülmektedir. Ayrıca degradasyon davranışının ilk 12 saatlik gösteriminde degradasyonun tüm ANT türlerinde benzer davranış göstermiştir.

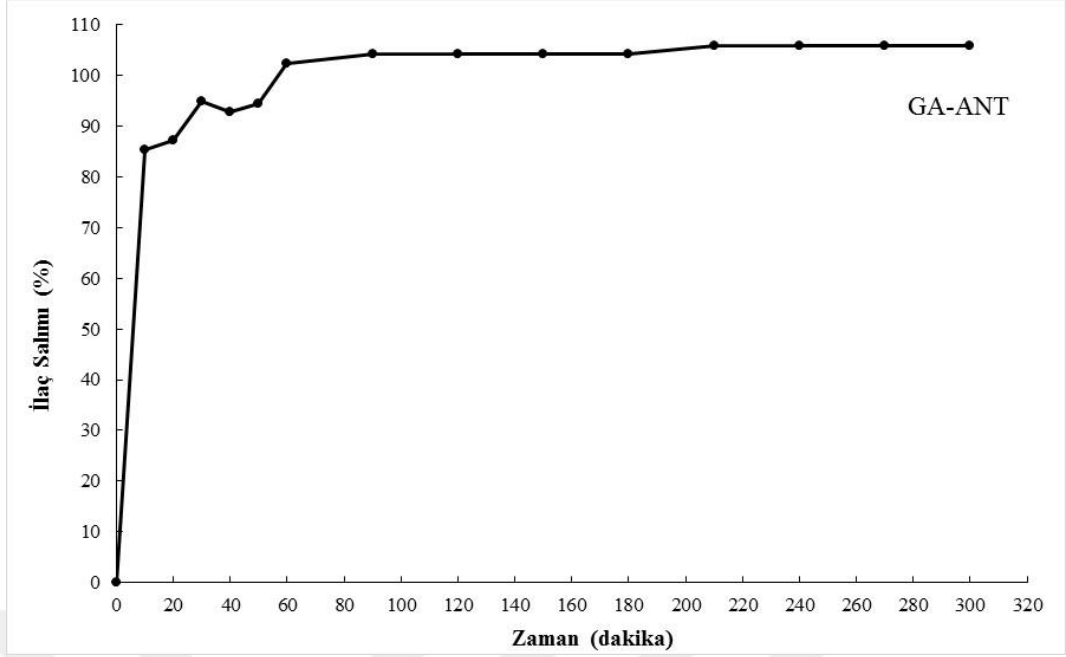


Şekil 3.92. Sentezlenen ANT hidrolitik degradasyon davranışları.

### 3.2.7. ANT İlaç Salımı

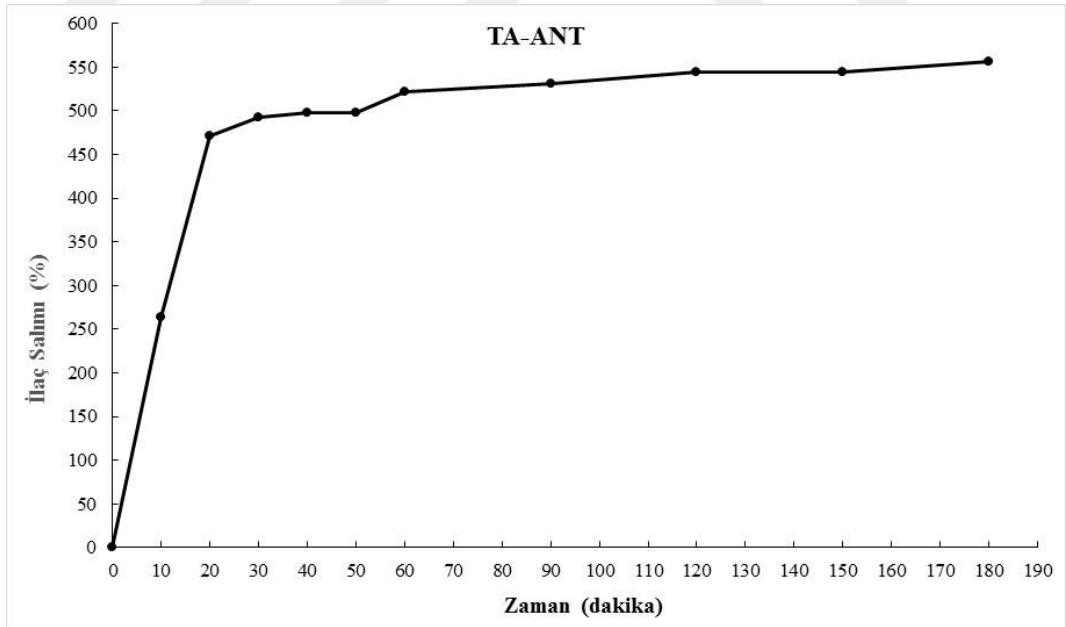
Çalışmanın bu aşamasında ise üç farklı çapraz bağlayıcı kullanılarak sentezlenen Albümin Nano Taşıyıcılara (ANT) ilaç yüklenerek ilaç salım deneyleri gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla geçirgen özellikli kesecikler hazırlanmış ve selekoksib (celecoxib) ilacı ile sentezlenen ANT'ler bu keselere koyulmuştur. İçerisinde 50 ml pH:7.4 SBF (Simulated body Fluids) tamponu bulunan reaktörlere daldırılarak seri ölçümler alınmıştır. Ölçümler spektrofotometrede 240 nm’de ölçülmüştür.

Şekil 3.93’de gallik asitle sentezlenen ANT’lerin % kümülatif ilaç salınımı verilmiştir. Buna göre 40.dk da ilaç salınımı %100’e ulaşmıştır. GA-ANT’lerin kısa süreli salımlar için kullanılabileceği düşünülmüştür.



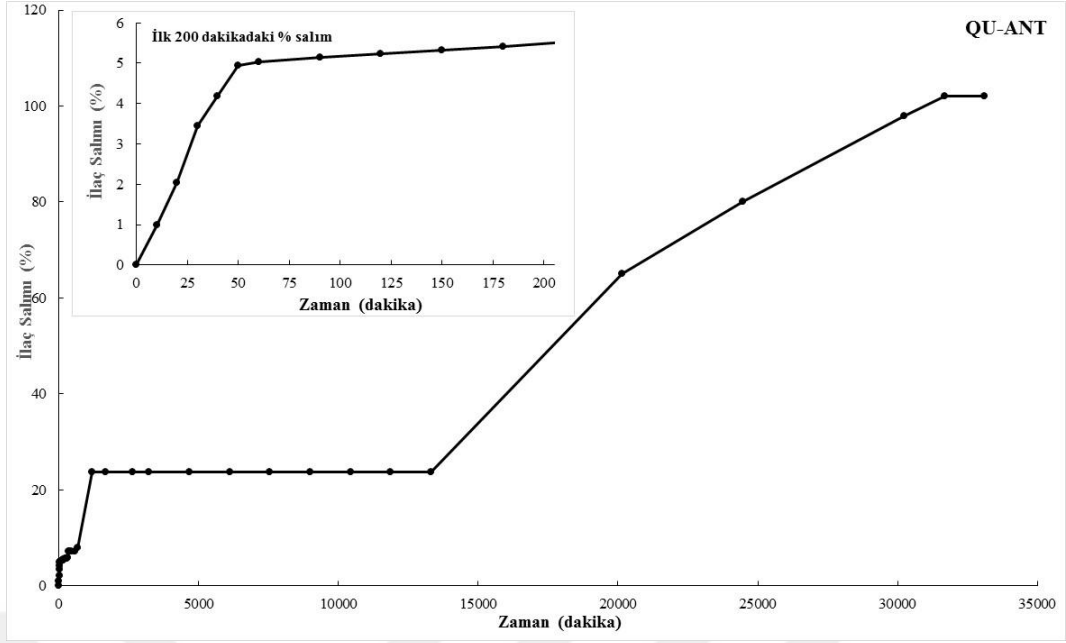
Şekil 3.93. Sentezlenen GA-ANT'lardan ilaç salım davranışları.

Şekil 3.94'de tannik asitle sentezlenen ANT'lerin ilaç salım davranışı sunulmuştur. Grafığe bakıldığında ilk 5. dakikada tüm ilacın salındığı görülmektedir. Bu durum kusma etkisi (burst effect) ile açıklanabilir. Bu durum Tannik asitin yapısı büyük olması nedeniyle ilacın taşıyıcının yüzeyine bağlandığı şeklinde yorumlanmıştır.



Şekil 3.94. Sentezlenen TA-ANT'lardan ilaç salım davranışları.

Şekil 3.95'de ise Kuersetinin çapraz bağlayıcı olduğu ANT'lerde aşamalı bir salınım görülmektedir. Yaklaşık 30000.dakikada %100 salınım gerçekleşmiştir. QU\_ANT yapılarında ilacın yapının içinde bağ yaptığı ve degradasyona bağlı bir ilaç salımı gerçekleştiği şeklinde yorumlanmıştır.

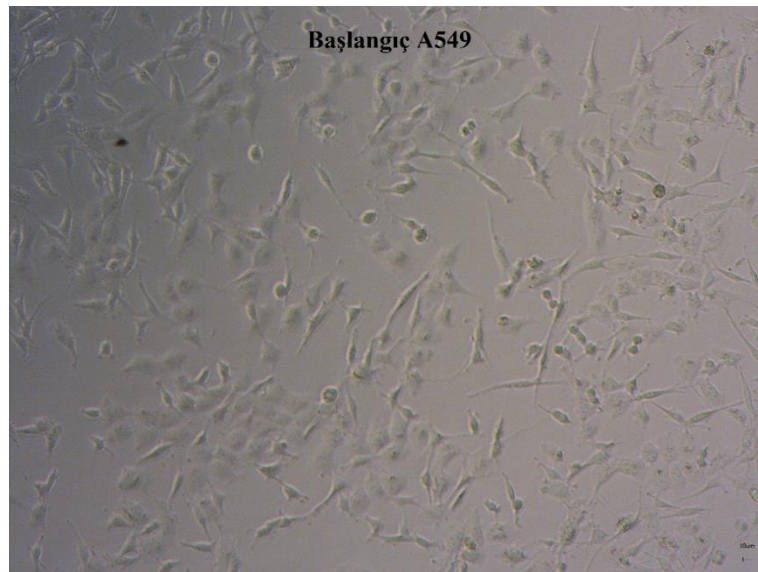


Şekil 3.95. Sentezlenen QU-ANT'lardan ilaç salım davranışları.

### 3.2.8. ANT Hücre Deneyleri Sonuçları

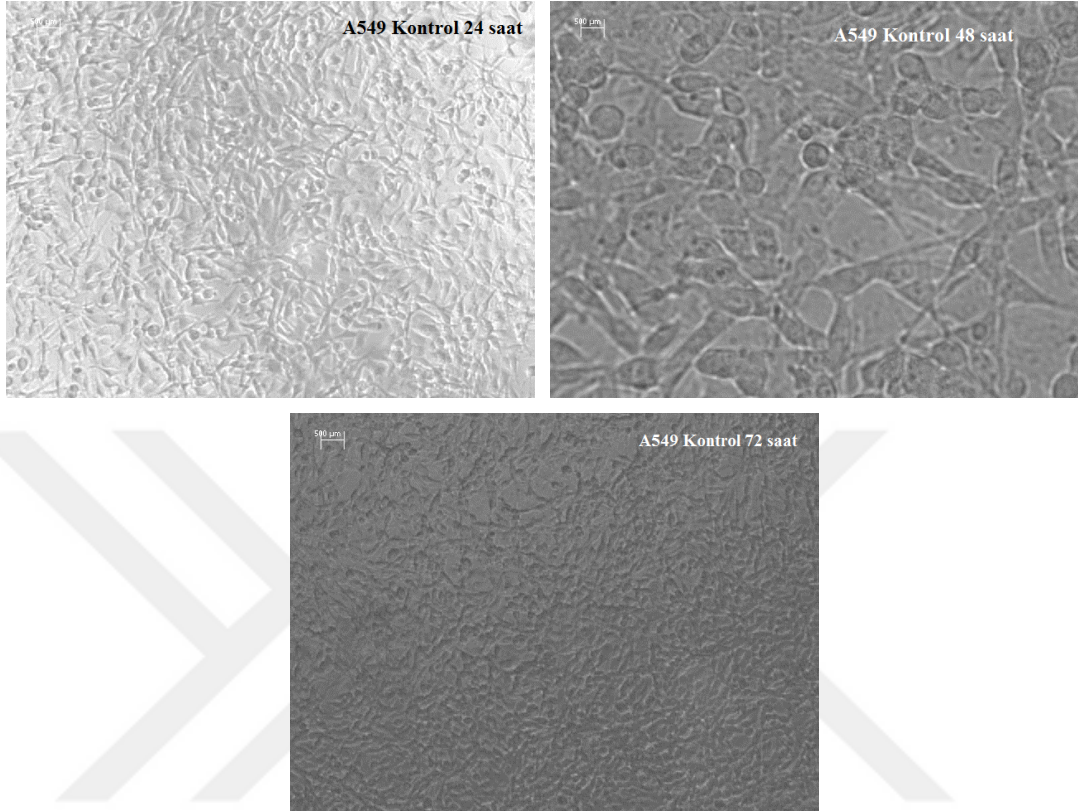
#### 3.2.8.1. İnsan Akciğer Kanseri (A549) Hücreleri Deneyleri

Çalışmanın bu aşamasında sentezlenen Albümin Nano Taşıyıcıların (ANT) ilaçsız ve ilaçlı formları ile hücre deneyleri gerçekleştirilmiştir. İnsan Akciğer Kanseri (A549) Hücreleri ile gerçekleştirilen deneylerin sonuçları ve irdelenmesi aşağıda sunulmuştur.

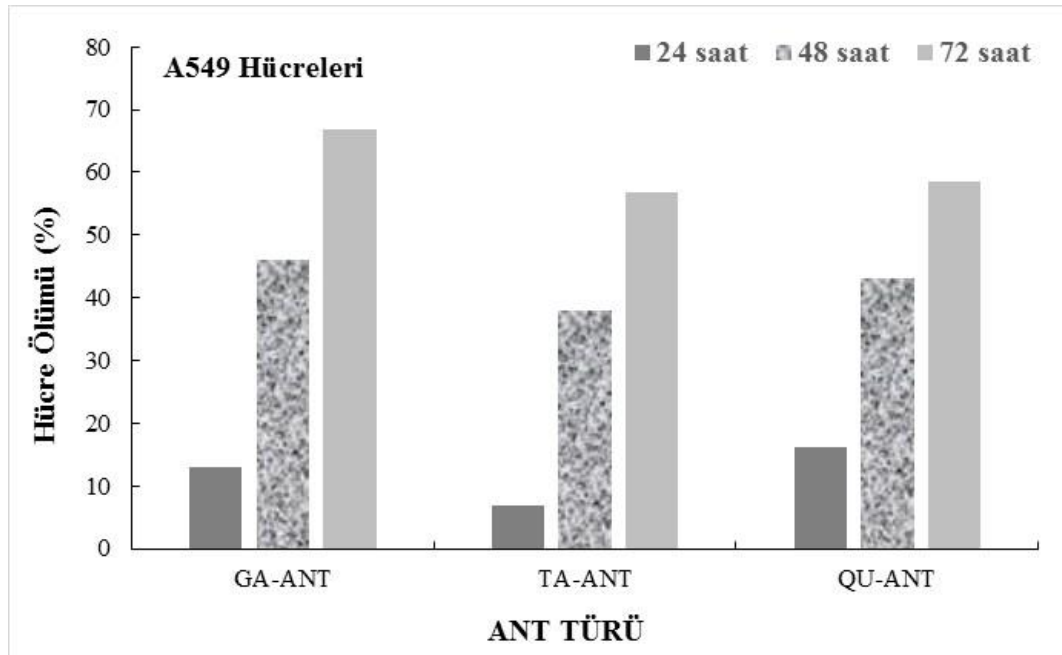


Şekil 3.96. A549 Hücreleri (t0 anında).

Şekil 3.96’de A549 hücre hattının  $t_0$  anı görüntüleri verilmiştir. A549 hücrelerinin 24-48-72 saat çoğalma sonuçlarına dair mikroskop görüntüleri ise Şekil 3.95’de yer almaktadır.

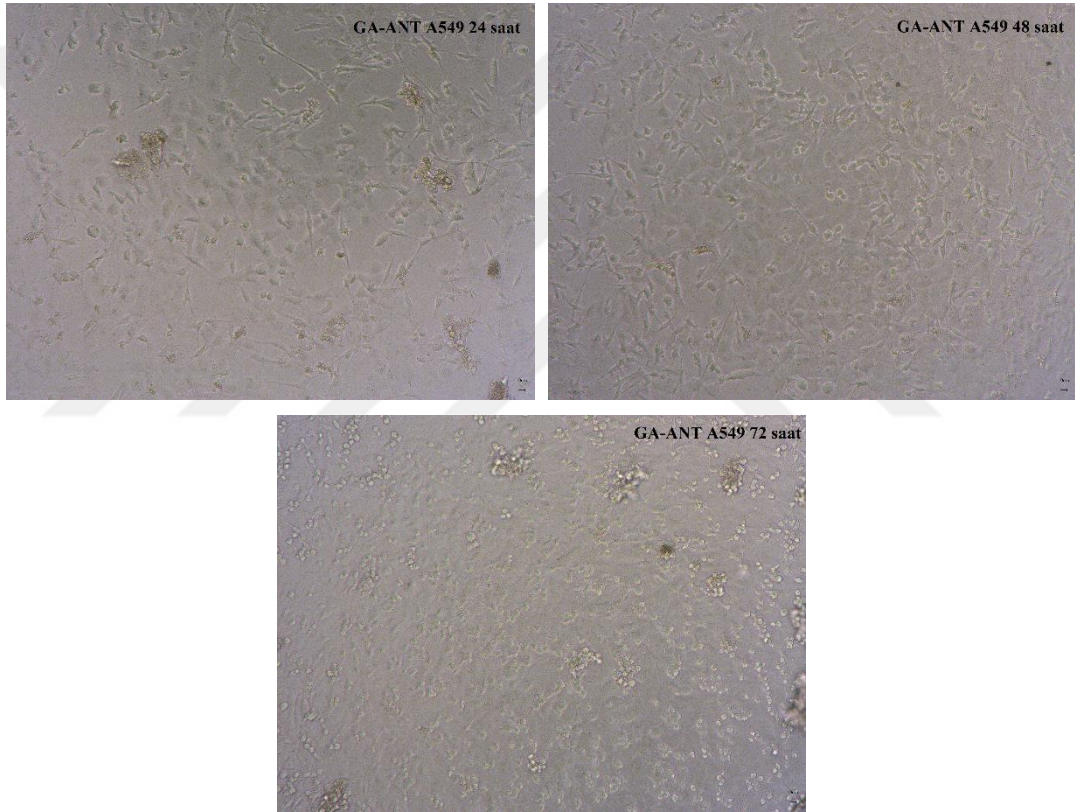


Şekil 3.97. A549 hücreleri kontrol grupları üremeleri (24-48-72 saatler).



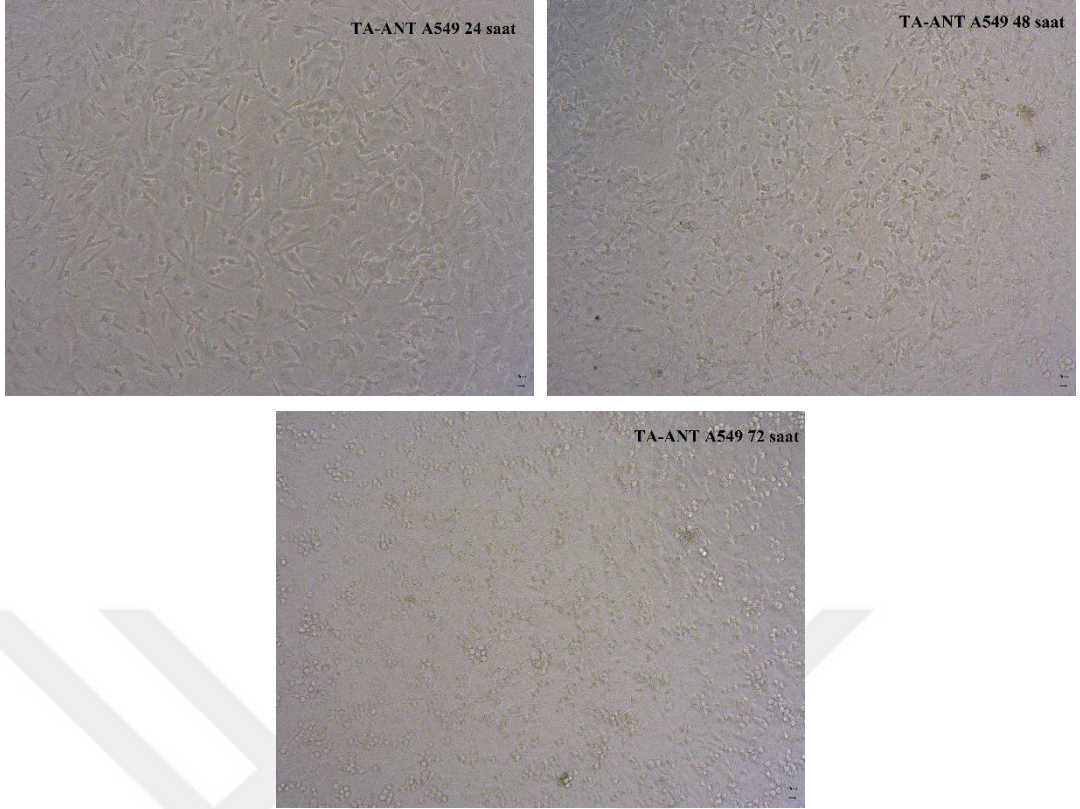
Şekil 3.98. Sentezlenen ANT’lerin A549 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi.

Şekil 3.98’da sentezlenen ANTlerin A549 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi verilmiştir. Her ANT çeşidi için 72 saat sonunda %60’ın üzerinde sitotoksik etki gözlenmiştir. Ancak en çok gallik asit ile sentezlenen ANT’lerin sitotoksik etkisi olmuştur %70’e yakın etki bulunmuştur. Gallik asitin çapraz bağlayıcı olduğu ANTlerin hücre üzerindeki mikroskop görüntüleri Şekil 3.99’de görülmektedir. Hücrelerin yüzeye tutunma oranlarında gözle görülür düzeyde azalma olmuştur. Beigi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada glutaraldehit ile sentezledikleri albümin nanopartiküllerinin içerisine gallik asit yüklemişlerdir. Yapılan in vivo çalışmalarda pc12 (nöroendokrin) hücre hattı üzerinde hücre canlılığına etkilerine bakılarak vücut hücreleri üzerinde toksik olmadığı söylenmiştir (Beigi vd. 2015).

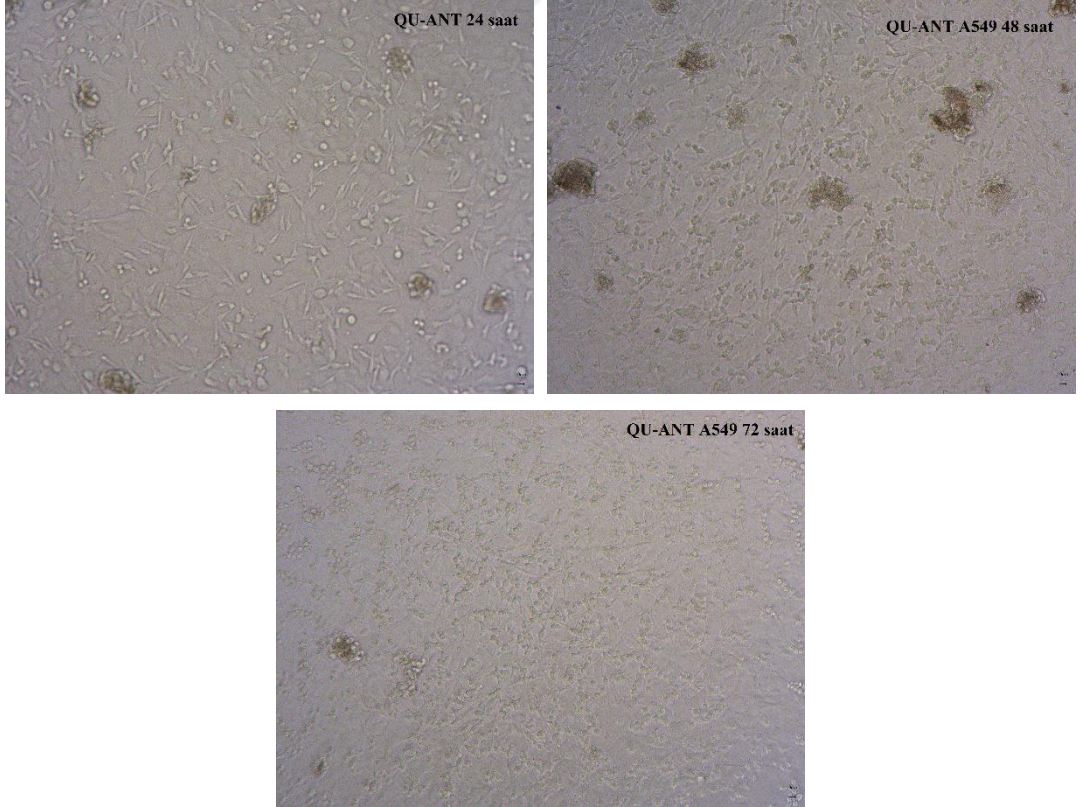


Şekil 3.99. A549 hücrelerinin GA-ANT’lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).

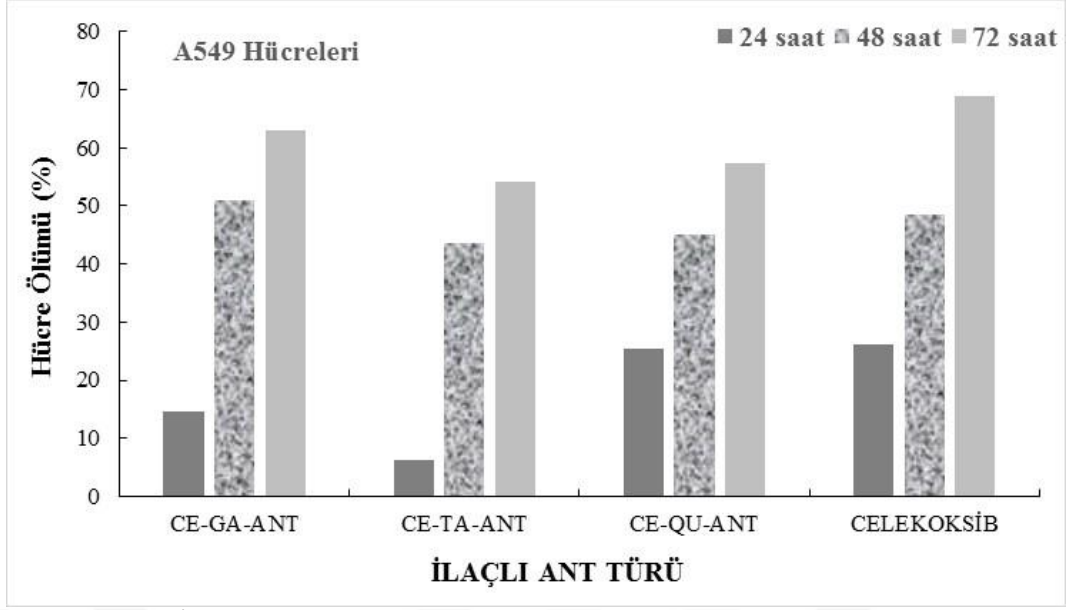
Şekil 3.100 tannik asitin çapraz bağlama ajanı olduğu ANT’lerin hücre üzerindeki mikroskop görüntülerini göstermektedir. Hücrelerin yüzeye tutunmasında gerçekleşen azalma miktarı görülmektedir. Chowdhury ve arkadaşları meme kanseri üzerinde tannik asit ve paklitaksel ile sentezlenmiş nanopartiküllerin etkisine bakmıştır. Yapılan MTT testleri sonucunda bu nanopartikül kanser hücrelerinin göç etme ve saldırma özelliği üzerinde inhibe edici özelliğe sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Kuersetinle sentezlenen ANT’lerin mikroskop görüntüleri Şekil 3.99’da verilmiştir. Hücrelerin üzerindeki sitotoksik etki gözle görülür olmuştur.



**Şekil 3.100. A549 hücrelerinin TA-ANT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).**

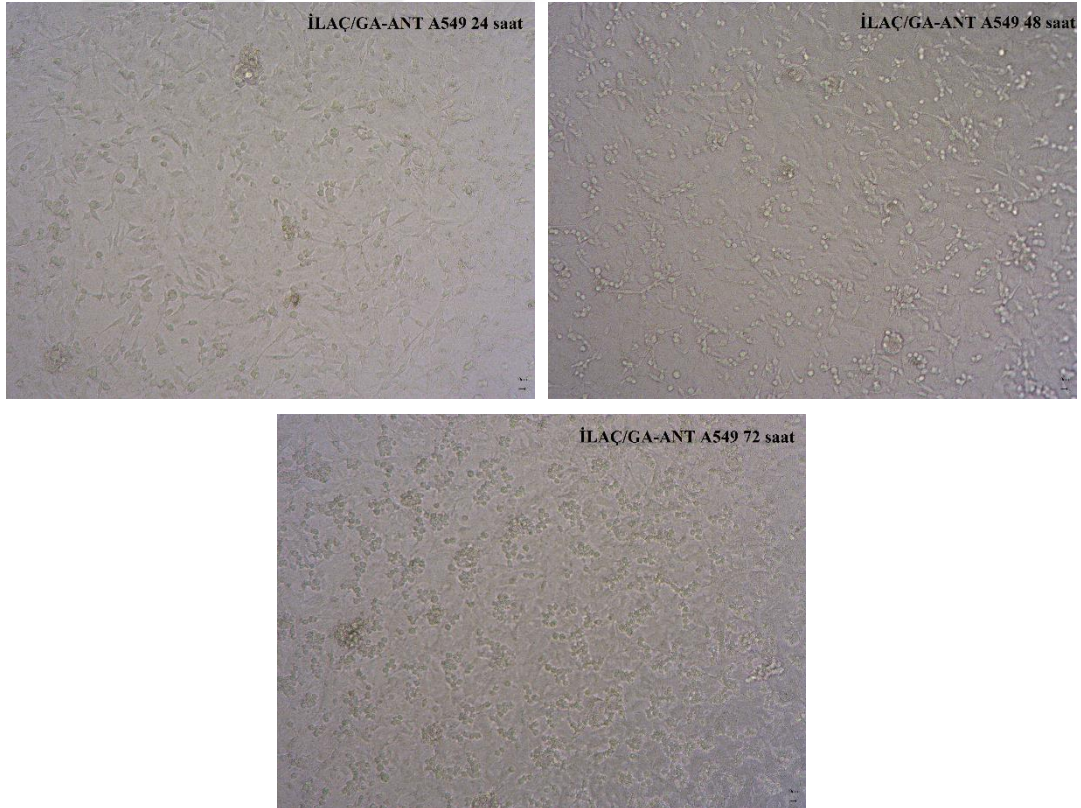


**Şekil 3.101. A549 hücrelerinin QU-ANT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).**

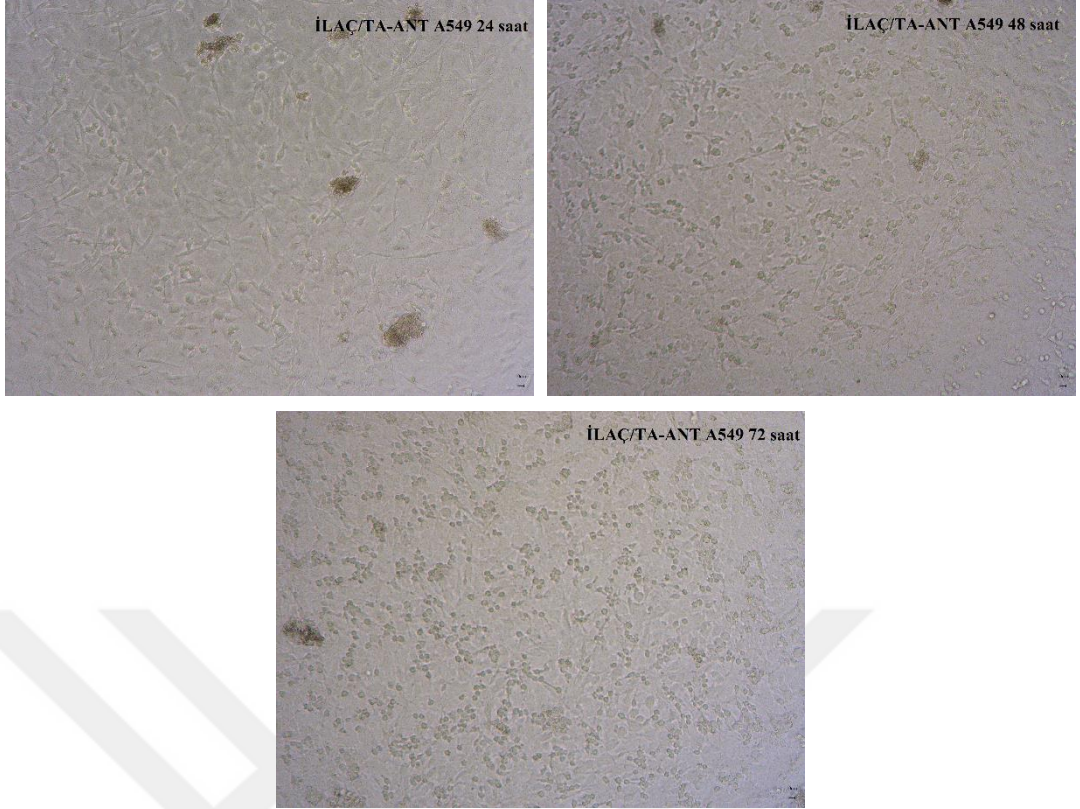


Şekil 3.102. İlaç yüklü ANT'lerin ve ilacın A549 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi.

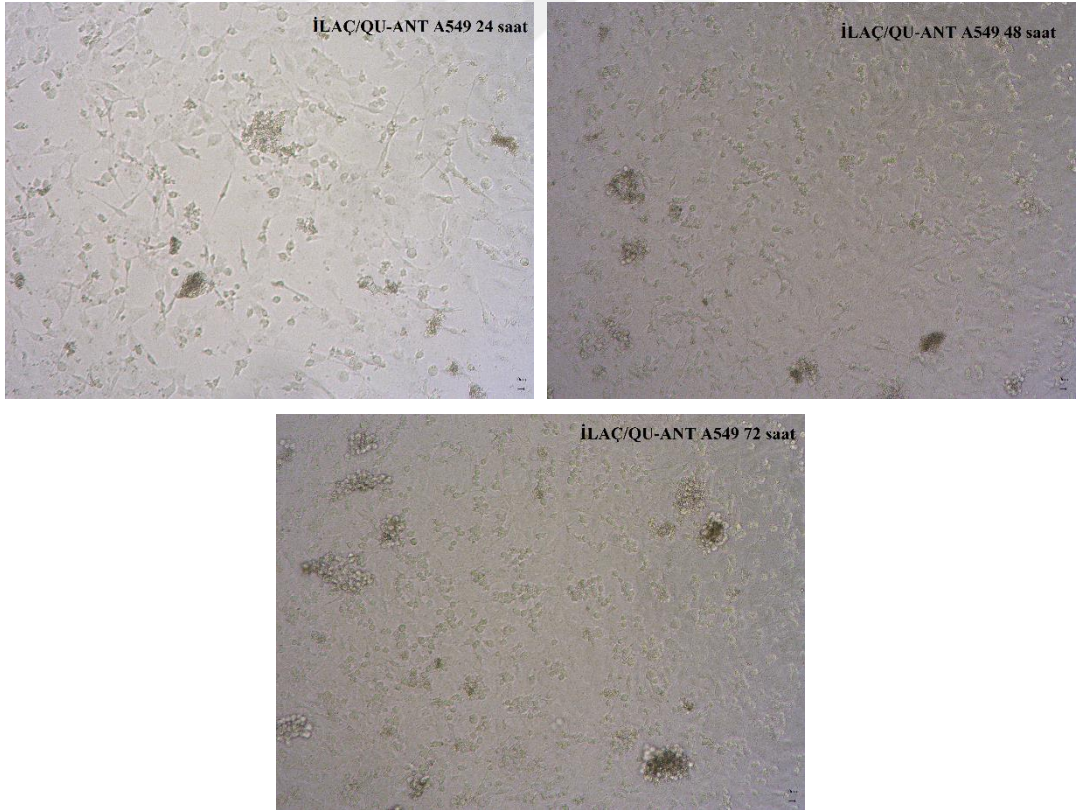
Şekil 3.102'de verilen grafik ilaç yüklenerek sentezlenen ANT'lerin 24-48-72 saatlik etkilerini göstermektedir. Her bir taşıyıcının %60 sitotoksitenin üzerinde olduğu görülmektedir. Saf selekoksib %70 sitotoksik etki gösterirken ona en yakın gallik asitle sentezlenen ilaç yüklü ANT'ler olmuştur.



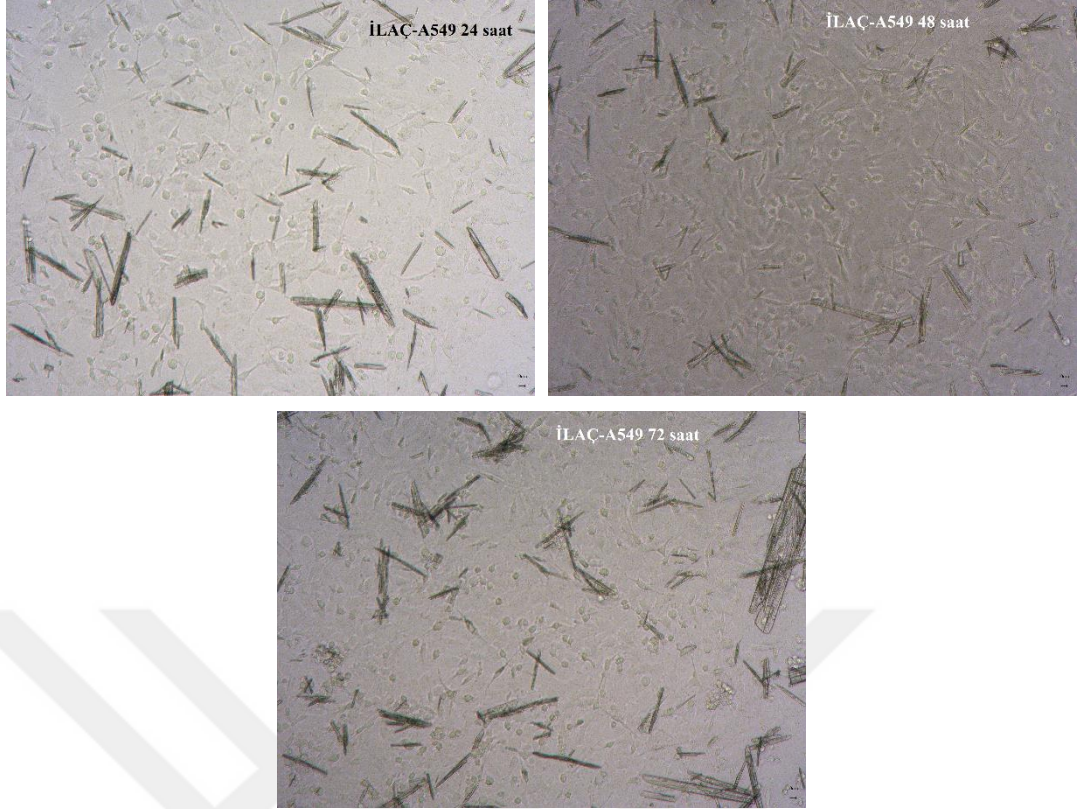
Şekil 3.103. A549 hücrelerinin İLAÇ/GA-ANT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



Şekil 3.104. A549 hücrelerinin İLAÇ/TA-ANT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



Şekil 3.105. A549 hücrelerinin İLAÇ/QU-ANT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



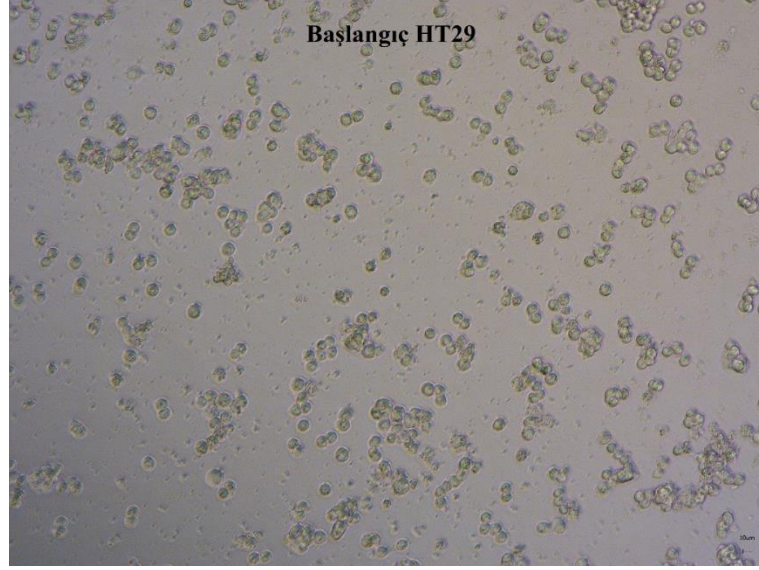
**Şekil 3.106. A549 hücrelerinin ilaç ile etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).**

Hücrelerin ilaçlı taşıyıcılarla etkileşim görüntüleri Şekil 3.103, Şekil 3.104, Şekil 3.105 ve Şekil 3.106'de Sırasıyla gallik asitle, tannik asitle, kuersetinle sentezlenen ilaç yüklü ANT'ler ve saf selekoksibin etkisinin mikroskop görüntüleri verilmektedir. Görüntüler irdelendiğinde hepsinde de hücrelerin yüzeye tutunup çoğalması oldukça azaldığı gözlemlenmiştir.

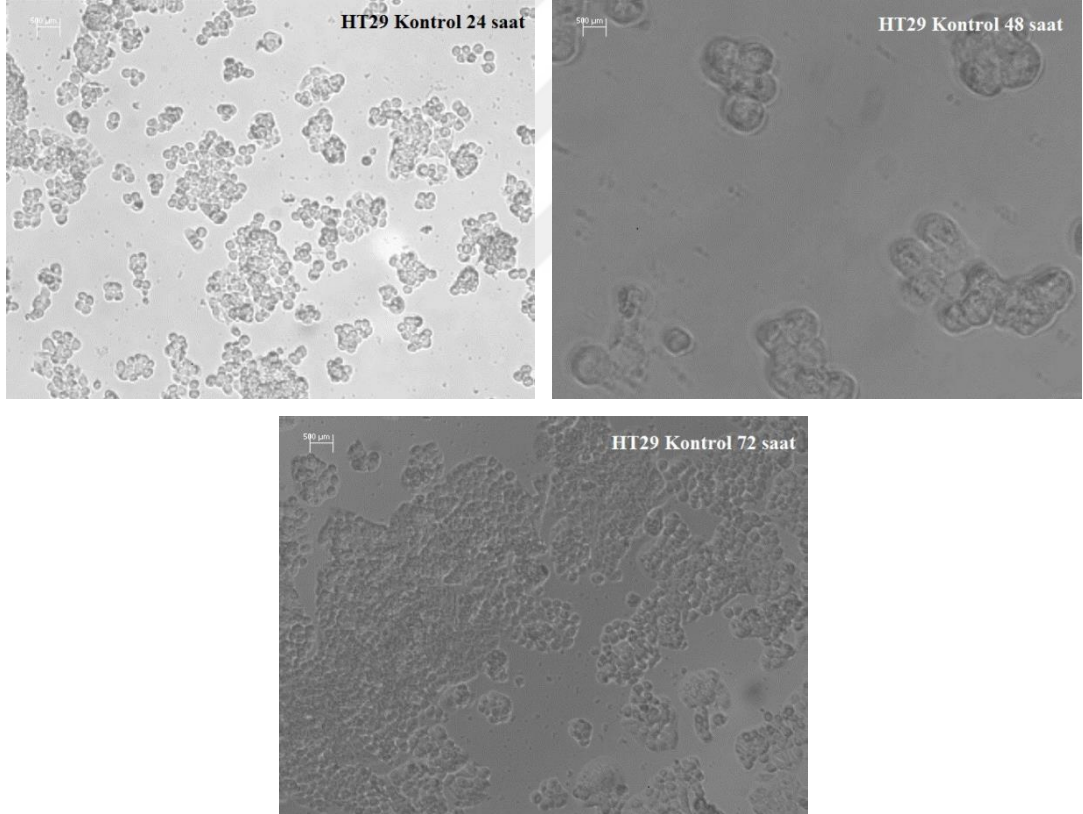
#### **4.2.8.2. İnsan Kolon Kanseri (HT29) Hücreleri Deneyleri**

Çalışmanın bu aşamasında sentezlenen Albümin Nano Taşıyıcıların (ANT) ilaçsız ve ilaçlı formları ile hücre deneyleri gerçekleştirilmiştir. İnsan Kolon Kanseri (HT29) Hücreleri ile gerçekleştirilen deneylerin sonuçları ve irdelenmesi aşağıda sunulmuştur.

Şekil 3.107'de HT29 hücre hattının  $t_0$  anındaki mikroskop görüntüsü verilmiştir. HT29 kontrol grubu hücrelerin 24-48-72 saat çoğalmalarının mikroskop görüntüleri ise Şekil 3.108'da sunulmaktadır.

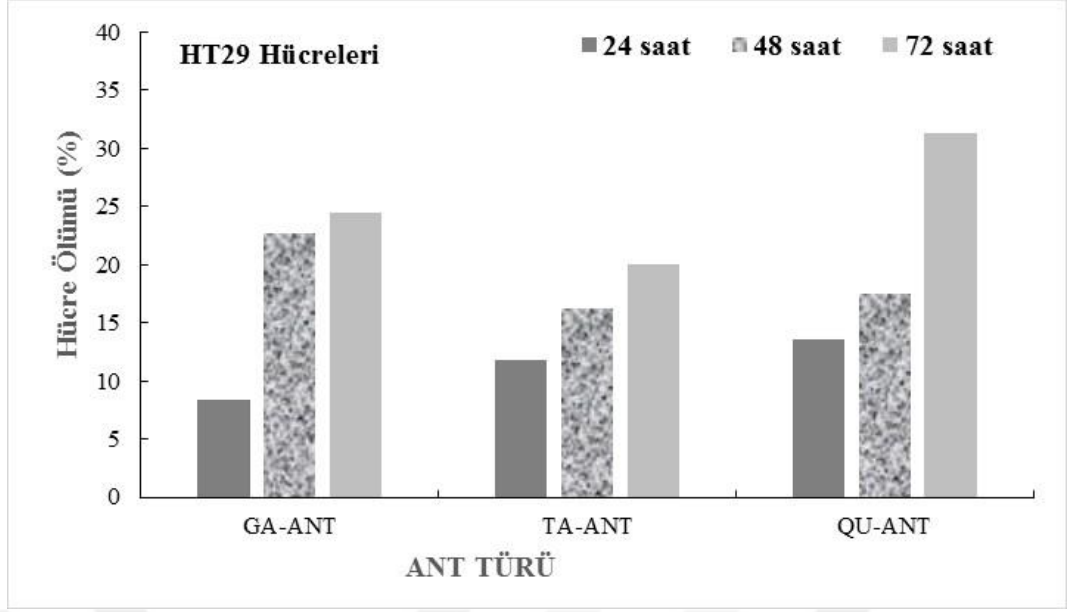


Şekil 3.107. HT29 Hücreleri ( $t_0$  anında).



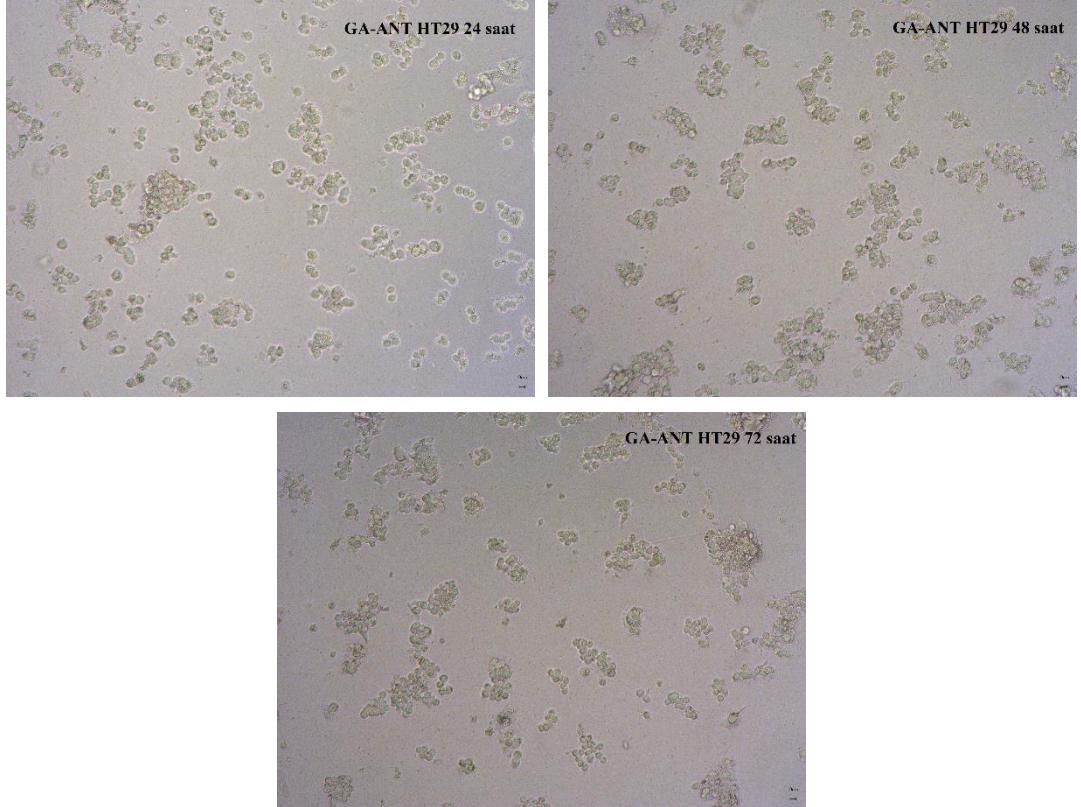
Şekil 3.108. HT29 hücreleri kontrol krupları üremeleri (24-48-72 saatler).

Şekil 3.109’de sentezlenen ANT’lerin HT29 hücre hattındaki etkileri görülmektedir. En çok sitotoksik etki gösteren kuersetin ile sentezlenen ANT’ler olmuştur. %30 civarlarında sitotoksik etki göstermiştir. Daha sonra gallik asit ile sentezlenen ANT’ler %25 sitotoksik etki göstermiştir. Tannik asit ile sentezlenen ANT’ler ise %20 sitotoksik etki göstermiştir.

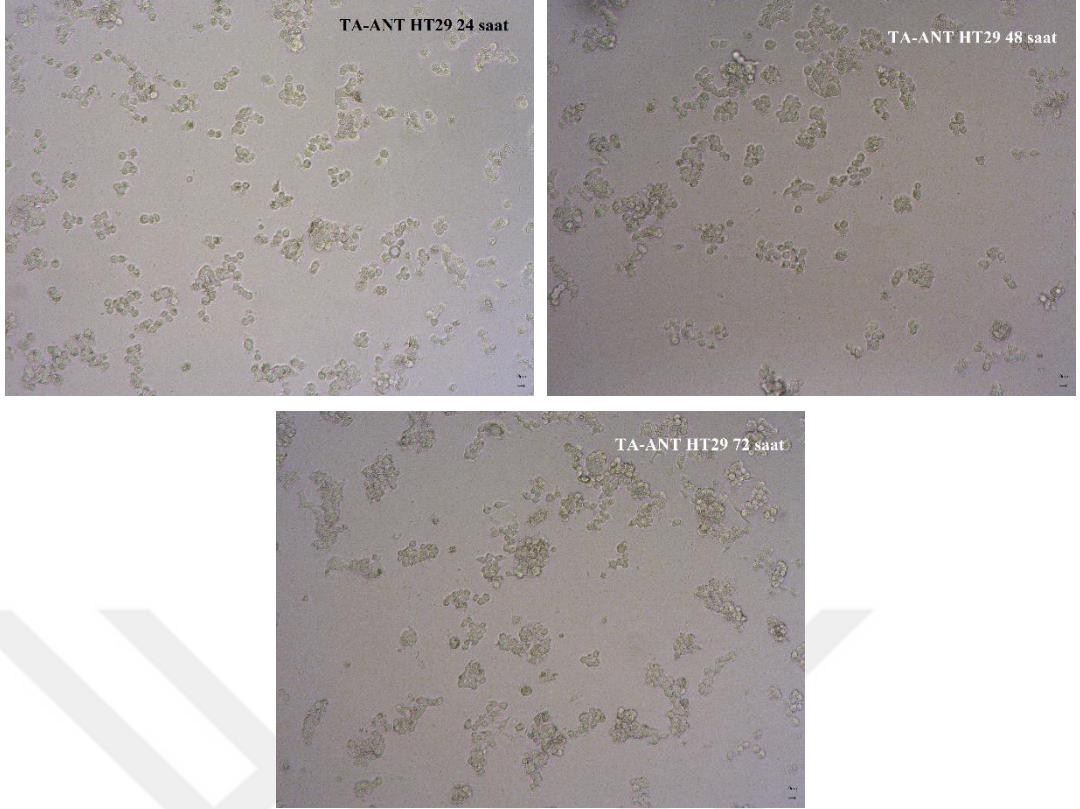


Şekil 3.109. Sentezlenen ANT'lerin HT29 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri.

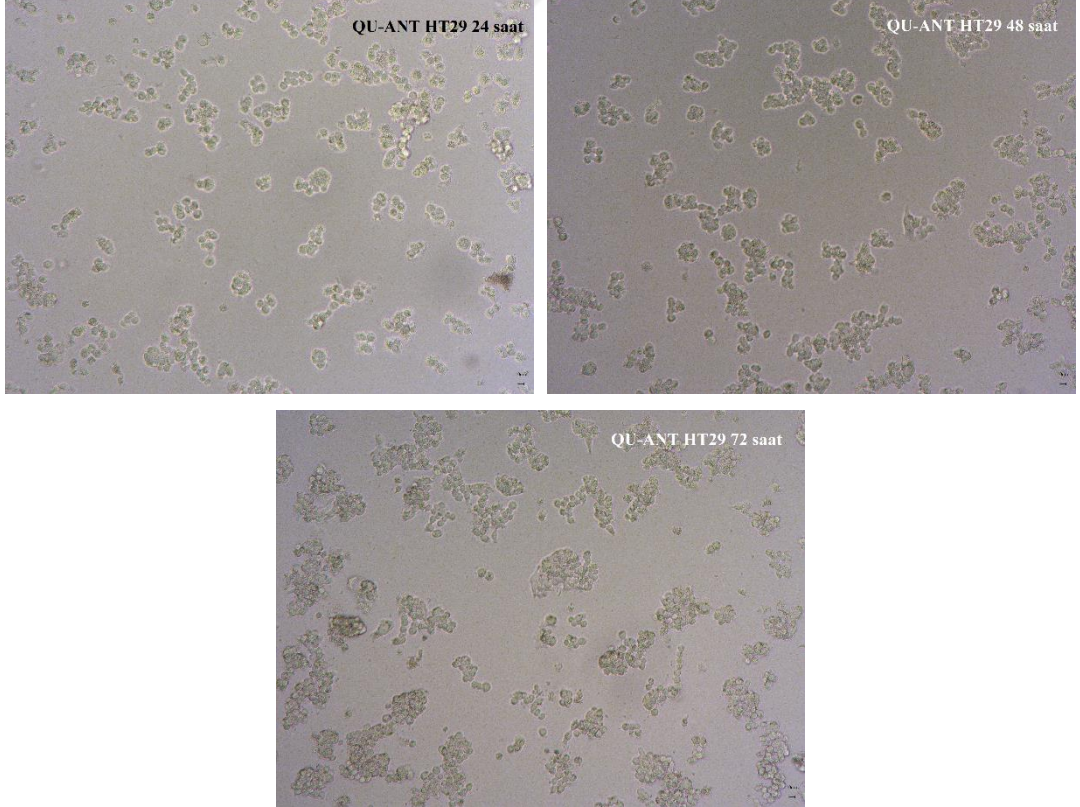
Sentezlenen tüm ANT'lerin HT29 hücreleri ile olan etkileşimlerinin mikroskop görüntüleri Şekil 3.110, şekil 3.111, şekil 3.112'da sırasıyla verilmiştir. Mikroskop görüntüleri incelendiğinde tüm ANT'ler için 72 saat sonunda hücrelerin tutunmasında önemli düzeyde azalma gözlemlenmiştir.



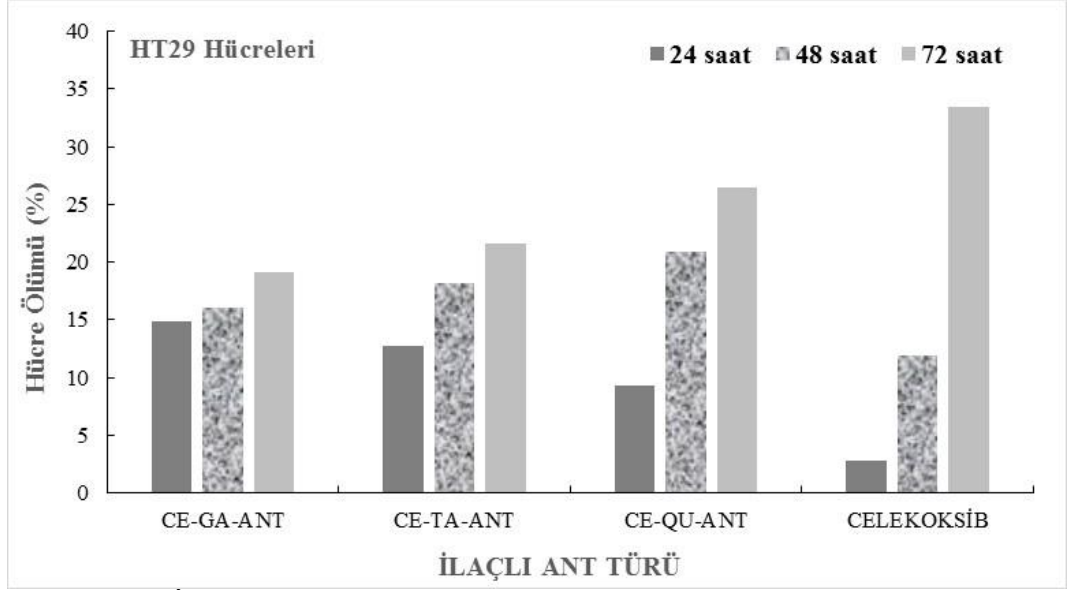
Şekil 3.110. HT29 hücrelerinin GA-ANT etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



Şekil 3.111. HT29 hücrelerinin TA-ANT etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).

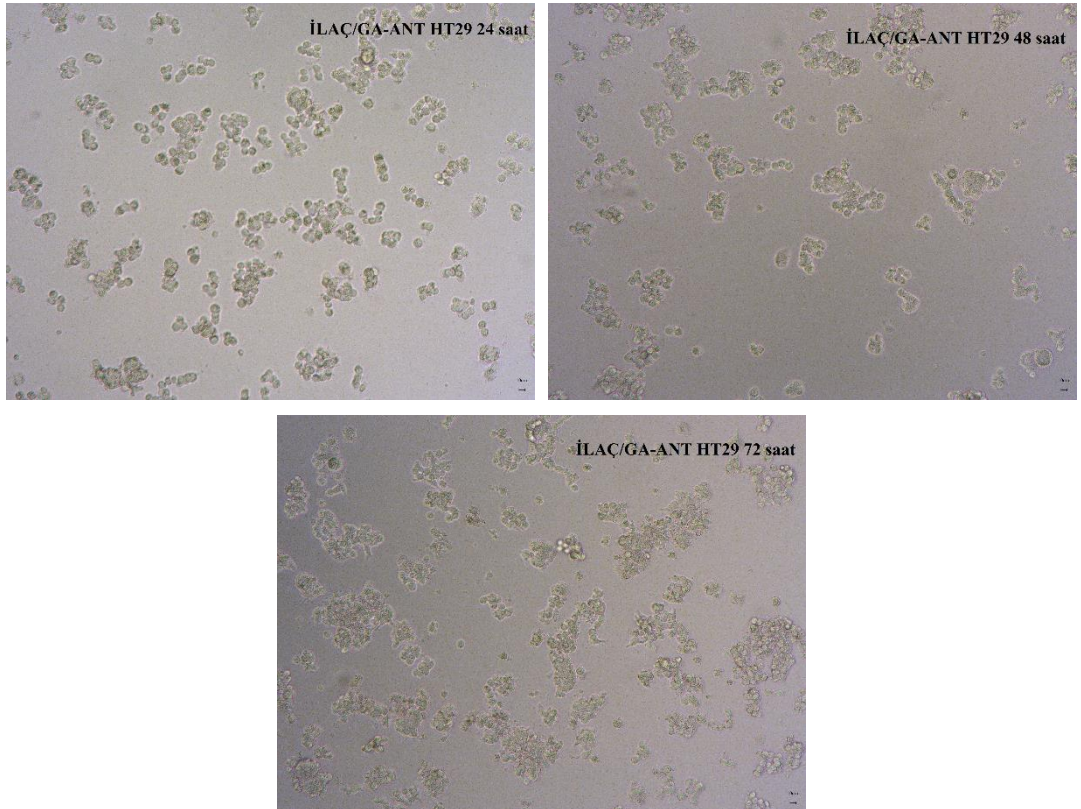


Şekil 3.112. HT29 hücrelerinin QU-ANT etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).

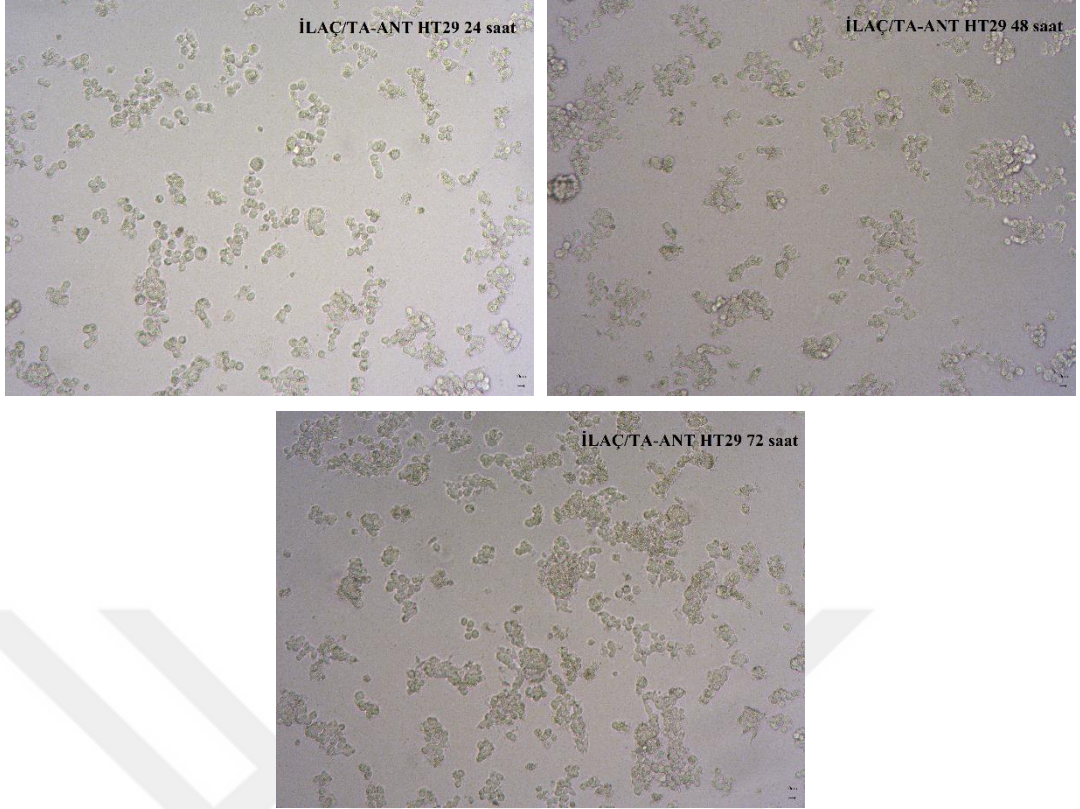


Şekil 3.113. İlaç yüklü ANT'lerin ve ilacın HT29 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi.

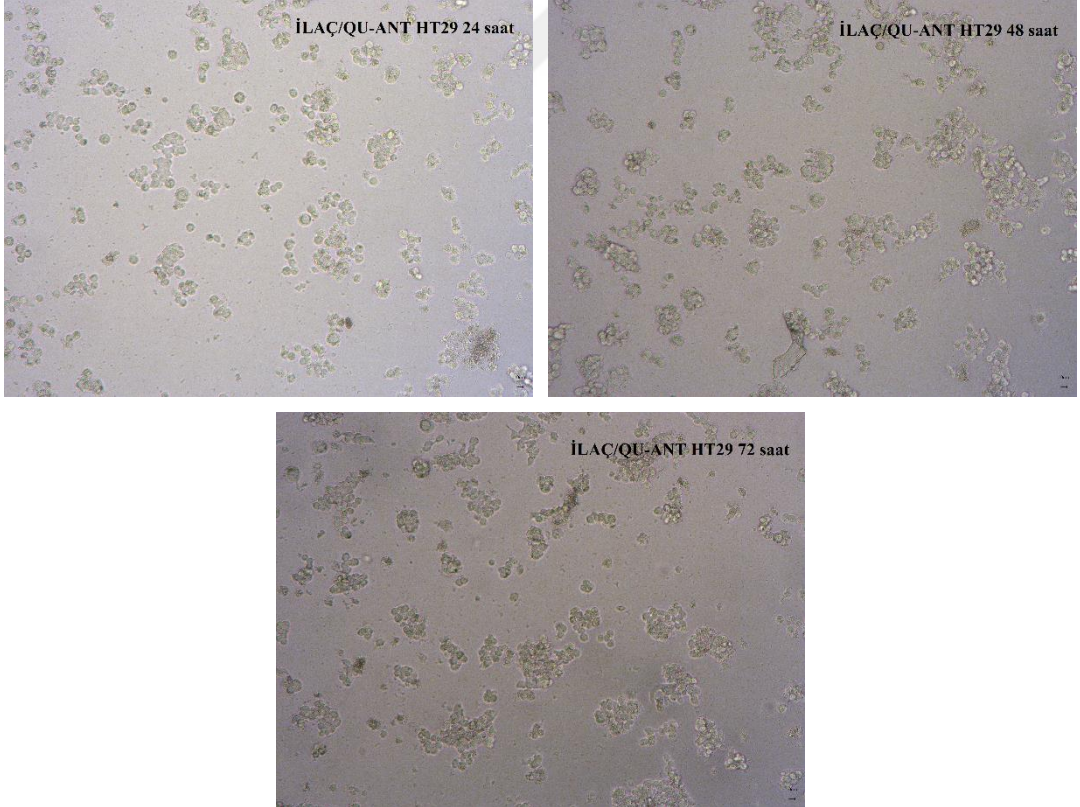
Şekil 3.113'de ise ilaç yüklü ANT'lerin HT29 hücreleri üzerindeki etkileri sunulmuştur. Selekoksisib en çok sitotoksik etki yaratmıştır. Sitotoksisite oranı %35 civarındadır. Daha sonra kuersetin ile sentezlenen ilaç yüklü ANT %30 civarında sitotoksik etki göstermiştir. Gallik asit ve tannik asitle sentezlenen ilaç yüklü ANT'lerin sitotoksisitesi %25'ler civarındadır. İlaç yüklü ANT'lerin neredeyse ilaç kadar etkili olması da önemli bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.



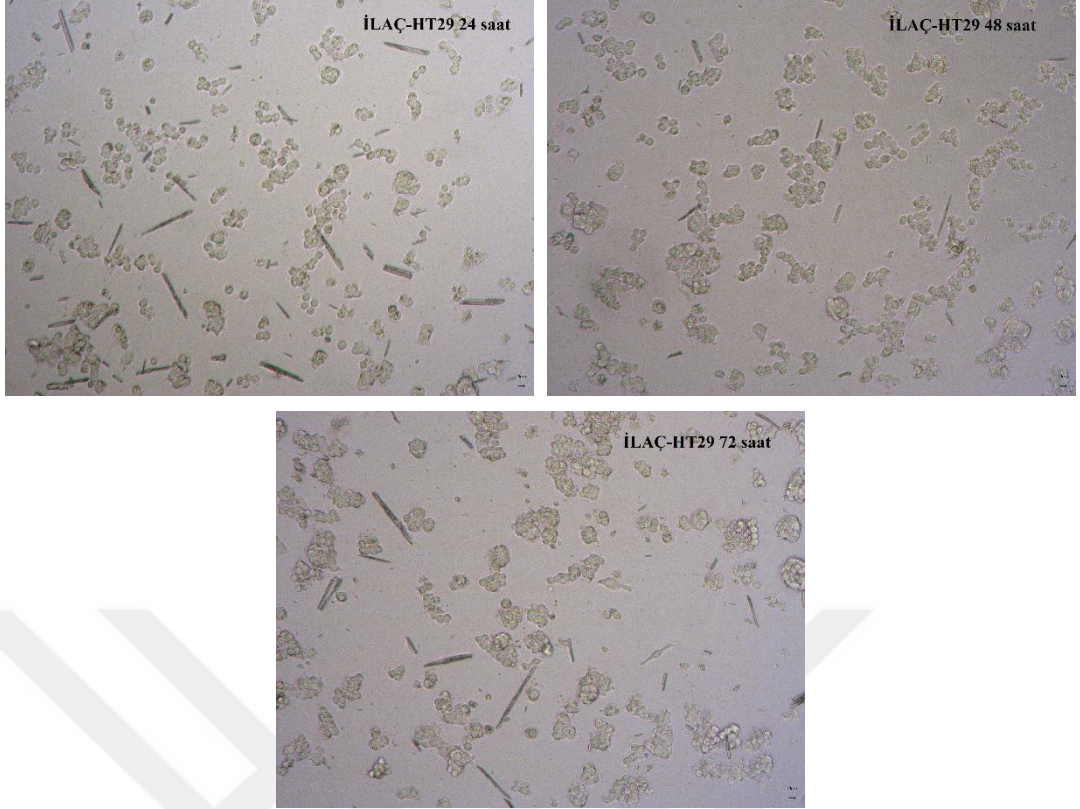
Şekil 3.114. HT29 hücrelerinin İLAÇ/GA-ANT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



Şekil 3.115. HT29 hücrelerinin İLAÇ/TA-ANT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



Şekil 3.116. HT29 hücrelerinin İLAÇ/QU-ANT'lerle etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).



**Şekil 3.117. HT29 hücrelerinin ilaç ile etkileşim sonuçları (24-48-72 saatler).**

İlaç yüklü ANT'lerin HT29 hücreleri ile etkileşimlerinin mikroskop görüntüleri Şekil 3.114, Şekil 3.115, Şekil 3.116, şekil 3.117 de verilmektedir. Sırasıyla gallik asitle, tannik asitle, kuersetinle sentezlenen ilaç yüklü ANT'ler daha sonrada ilaçla muamele gören hücrelerin mikroskop görüntüleri sunulmuştur.

#### 4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Çalışma kapsamında kullanılan tüm doğal çapraz bağlayıcılar ile AMT sentezinde başarılı olunmuştur. Sentezlenen tüm AMT'ler oldukça dar boy dağılımı göstermiştir.
- Çalışma kapsamında sentezlenen tüm AMT'lerin FTIR ve SEM karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir.
- Çalışma kapsamında sentezlenen tüm AMT'lerin Hidrolitik degradasyonları çalışılmış ve sentezi gerçekleşen taşıyıcıların yığın degradasyon ile tamamen degrede olduğu gözlenmiştir.
- Çalışma kapsamında sentezlenen tüm AMT'lere ilaç yüklemesi gerçekleştirilmiştir. İlaç salım davranışlarının benzer olduğu tespit edilmiştir.
- Çalışma kapsamında sentezlenen tüm AMT'ler, İnsan Akciğer Kanseri (A549) Hücreleri ile etkileştirilmiş ve yapılan MTT testi sonucunda tüm sentezlenen AMT'lerin sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur.
- Çalışma kapsamında sentezlenen tüm ilaç yüklü AMT'ler, insan akciğer kanseri (A549) hücreleri ile etkileştirilmiş ve yapılan MTT testi sonucunda tüm sentezlenen İLAÇ/AMT'lerin sitotoksik etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.
- Çalışma kapsamında sentezlenen tüm AMT'ler, insan kolon kanseri (HT29) Hücreleri ile etkileştirilmiş ve yapılan MTT testi sonucunda tüm sentezlenen AMT'lerin sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur.
- Çalışma kapsamında kullanılan tüm doğal çapraz bağlayıcılar ile ANT sentezinde başarılı olunmuştur. Sentezlenen tüm ANT'ler nano boyutlarda ve oldukça dar boy dağılımı göstermiştir.
- Çalışma kapsamında sentezlenen tüm ANT'lerin FTIR ve SEM karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir.
- Çalışma kapsamında sentezlenen tüm ANT'lerin hidrolitik degradasyonları çalışılmış ve sentezi gerçekleşen taşıyıcıların yığın degradasyon ile tamamen degrede olduğu gözlenmiştir.

- Çalışma kapsamında sentezlenen tüm ANT'lere İlaç yüklemesi gerçekleştirilmiştir. İlaç salım davranışlarının benzer olduğu tespit edilmiştir.
- Çalışma kapsamında sentezlenen tüm ANT'ler, İnsan Akciğer Kanseri (A549) Hücreleri ile etkileştirilmiş ve yapılan MTT testi sonucunda tüm sentezlenen ANT'lerin sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur.
- Çalışma kapsamında sentezlenen tüm İlaç yüklü ANT'ler, İnsan Akciğer Kanseri (A549) Hücreleri ile etkileştirilmiş ve yapılan MTT testi sonucunda tüm sentezlenen İLAÇ/ANT'lerin sitotoksik etki gösterdiği sonucuna varılmıştır.
- Çalışma kapsamında sentezlenen tüm ANT'ler, İnsan Kolon Kanseri (HT29) Hücreleri ile etkileştirilmiş ve yapılan MTT testi sonucunda tüm sentezlenen ANT'lerin sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur.

Tüm bu çalışma sonuçlarının genel olarak değerlendirilmesinde;

Sentezlenen hem AMT'lerde hem de ANT'lerde ilaç yüklü olmayan taşıyıcıların saf ilaç ve saf çapraz bağ ajanları kadar İnsan Akciğer Kanseri (A549) ve İnsan Kolon Kanseri (HT29) hücrelerinde etkili olduğu;

Sentezlenen ilaç yüklü QU-ANT taşıyıcıların ise uzun süreli kanser tedavi için etkili olduğu;

Bu durum çalışmaların ileri aşamalarında antioksidan özellikli doğal çapraz bağlayıcıların kullanılarak **hedflenebilir kanser tedavisi** için önemli yol gösterici olmuştur.

## KAYNAKLAR

- Alizahed, S.R. Ebrahimzadeh, M.A. (2022) Quercetin derivatives: Drug design, development, and biological activities, a review, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 229 (2022) 114068.
- Ashrafizadehab, M. Zarrabi, A. Mirzaei, S. Hashemi, F. Samarghandian, S. Zabolian, A. Hushmandi, K. Ang, H.L. Sethi, G. Kumar, A.P. Ahn, K.S. Nabavi, N. Khan, H. Makvandi, P. Varma, R.S. (2021) Gallic acid for cancer therapy: Molecular mechanisms and boosting efficacy by nanoscopical delivery, *Food and Chemical Toxicology*, Volume 157, 112576
- Beigi, H.M. Shojaosadati, S.A. Morshedi, D. Arpanaei, A. Marvian, A.M. (2015) Preparation and in vitro characterization of gallic acid-loaded human serum albumin nanoparticles, *J Nanopart Res*, 17:167
- Braidy, N. Jugder, B. Poljak, A. Jayasena, T. Nabavi, S. Sachdev, P. Grant R. (2017) Molecular Targets of Tannic Acid'in Alzheimer's Disease, *Current Alzheimer research*, 14(8):861-869
- Chowdhury, P. Nagesh, P.K.B. Hatami, E. Wagh, S. Dan, N. Tripathi, M.K. Khan, S. Hafeez, B.B. Meibohm, B. Chauhan, S.C. Jaggi, M. Yallapu M.M. (2019) Tannic acid-inspired paclitaxel nanoparticles for enhanced anticancer effects in breast cancer cells, *Journal of Colloid and Interface Science*, Volume 535, Pages 133-148
- Damink, L.H.H.O. Dijkstra, P.J. Luyn, M.J.A.V. Wachem, P.B.V. Nieuwenhuis, P. Feijen, J. (1995) Glutaraldehyde as a crosslinking agent for collagen-based biomaterials, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 6, 460-472
- Daraee, H. Eatemadi, A. Abbasi, E. Aval, S.F. Kouhi, M. Akbarzadeh, A. (2014) Application of gold nanoparticles in biomedical and drug delivery, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 410-422
- Elsadek, B. Kratz, F. (2012) Impact of albumin on drug delivery — New applications on the horizon, *Journal of Controlled Release*, 157 (2012) 4–28

- Elzoghby, A.O. Samy, W.M. Elgindy, N.A. (2012) Albumin-based nanoparticles as potential controlled release drug delivery systems, *Journal of Controlled Release*, 168–182
- Fernandes, F.H. Salgado, H.R. (2015) Gallic Acid: Review of the Methods of Determination and Quantification, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, Volume 46, 2016 - Issue 3
- Gomes, C.A. Cruz, T.G. Andrade, J.L. Milhazes, N. Borges, F. Marques, M.P.M. (2003) Anticancer activity of phenolic acids of natural or synthetic origin: a structure-activity study, *J. Med. Chem.* 46 (2003) 5395e5401.
- Guan, H. Zhang, W. Waterhouse, D.S. Jiang, Y. Li, F. Waterhouse, G.I.N. Li, D. (2021) Phenolic-protein interactions in foods and post ingestion: Switches empowering health outcomes, *Trends in Food Science & Technology*, 118 (2021) 71–86
- Gupta, M.K. Prakash, D. Mishra, B. (2012) Biodegradable microparticulate drug delivery system of diltiazem HCl, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* vol. 48, n. 4
- Joye, I.J. McClements, D.J (2014) Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 417–427
- Karimi, M. Bahrami, S. Ravari, S.B. Zangabad, P.S. Mirshekari, H. Bozorgomid, M. Shahreza, S. Sori, M. Hamblin, M.R. (2016) Albumin nanostructures as advanced drug delivery systems, *Department of Healthy & Human Services*, 13(11): 1609–1623
- Kratz, F. (2008) Albumin as a drug carrier: Design of prodrugs, drug conjugates and nanoparticles, *Journal of Controlled Release*, 171–183
- Lei, C.Y. Hou, Y.C. Pai, M.H. Lin, M.T. Yeh, S.L. (2018) Effects of quercetin combined with anticancer drugs on metastasis-associated factors of gastric cancer cells: in vitro and in vivo studies, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, Volume 51, Pages 105-113

- Malaterre, A. Boumendjel, A. Seteyen, A.L.S. Boina, C. Gasque, P. Guiraud, P. Sëlambarom, J. (2022) Focus on the high therapeutic potentials of quercetin and its derivatives, *Phytomedicine Plus*, 100220
- Mishan, M.A. Tabari, M.A.K. Zargari, M. Bagheri, A.(2020) MicroRNAs in the anticancer effects of celecoxib: A systematic review, *European Journal of Pharmacology*, 17332
- Nutmakul, T. (2021) A review on benefits of quercetin in hyperuricemia and gouty arthritis, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 1319-0164
- Pinheiro, A. Cooley, A. Liao, J. Prabhu, R. Elder, S. (2015) Comparison of Natural Crosslinking Agents for the Stabilization of Xenogenic Articular Cartilage, *JOURNAL OF ORTHOPAEDIC RESEARCH*, 10.1002/23121
- Ren, H. Birch, N.P. Suresh V. (2016) An Optimised Human Cell Culture Model for Alveolar Epithelial Transport, *PLOS ONE*, 11(10)
- Shavandi, A. Bekhit, A. Saeedi, P. Izadifar, Z. Bekhit, A. Khademhosseini, A. (2018) Polyphenol uses in biomaterials engineering, *Biomaterials*, Volume 16, Pages 91-106
- Takigawa, T. Endo, Y. (2006) Effects of glutaraldehyde exposure on human health, *Journal of Occup Health*, 48:75–87.
- Tan, Y.L. Ho, H.K. (2018) Navigating albumin-based nanoparticles through various drug delivery routes, *Drug Discovery Today*, Volume 23, Number 5
- Thakkar, H. Sharma, R.K. Mishra, A.K. Chuttani, K. Murthy, R.R. (2005) Albumin Microspheres as Carriers for the Antiarthritic Drug Celecoxib, *AAPS PharmSciTech*, 6 (1) Article 12

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Ad Soyad :S\*\*\*\*n (K\*\*\*\*l) D\*\*\*\*n  
Uyruk : T.C.  
Doğum Yeri ve Tarihi: M\*\*\*\*a 2\*/1\*/1\*\*4  
Medeni Hali :Evli  
Telefon : 0 5\*6 4\*6 7\*\*3  
E-posta : s\*\*\*\*\*8@g\*\*\*\*l.c\*m

### Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lise	Muğla Turgutreis Anadolu Lisesi	2012
Lisans	Ege Ünivesitesi	2017
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2022

### İş Tecrübesi

Yıl	Yer	Pozisyon/görev
2019	Muğla	Tıbbi Mümessil
2020-Halen	Muğla	Büro Personeli

### Yabancı Dil(ler)

Dil (İngilizce, vs)	Başlangıç	Orta	İleri
Yazma		X	
Konuşma		X	
Anlama			X
Okuma			X

### Hobiler

- Yüzmek
- Aşçılık ve yemek pişirme
- Radyo ve podcast dinlemek