



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER OLARAK
MANYETİK Fe_3O_4 NANOPARÇACIKLARI
İÇEREN HİBRİT NANOMALZEME
HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

ŞEYMA TUNA

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Programı

DANIŞMAN
Prof.Dr.Serap DEMİR

İKİNCİ DANIŞMAN
Dr.Öğr.Üyesi Aslı BEYLER ÇİĞİL

İSTANBUL, 2020



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER OLARAK
MANYETİK Fe₃O₄ NANOPARÇACIKLARI
İÇEREN HİBRİT NANOMALZEME
HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

ŞEYMA TUNA
(520617004)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Kimya Anabilim Dalı
Biyokimya Programı

DANIŞMAN
Prof.Dr.Serap DEMİR

İKİNCİ DANIŞMAN
Dr.Öğr.Üyesi Aslı BEYLER ÇİĞİL

İSTANBUL, 2020

TEŞEKKÜR

Bu yüksek lisans tez çalışması, Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programında gerçekleştirilmiştir.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, ortaya çıkan her türlü probleme getirmiş olduğu bakış açısı ve yaklaşımları ile bana yol gösteren, bir akademik çalışmanın nasıl yapılması gerektiğini öğreten ve her konuda bana kılavuzluk eden çok değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Serap DEMİR ve Sayın Dr. Öğr.Üyesi Aslı BEYLER ÇİĞİL'e. Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Biyokimya Programı Başkanı değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ayşe OGAN'a,

Yüksek Lisans tez çalışmamı FEN-C-YLP-080519-0165 numaralı proje kapsamında destekleyen Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Tüm hayatım boyunca her daim desteğini benden esirgemeyen, her zaman yanımda olacaklarını bildiğim canım aileme, sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ekim, 2020

Şeyma TUNA

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
SEMBOLLER.....	ix
KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xii
TABLO LİSTESİ	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1 KANSER VE KANSER İLAÇLARI	2
1.1.1 Doksorubusin (DOX)	3
1.1.1.1 İlaç Etki Mekanizması	3
1.1.1.2. Farmakokinetik	4
1.1.2 Paklitaksel (PTX) 'in Kimyasal Yapısı	5
1.1.2.1 İlaç Etki Mekanizması	5
1.1.2.2 İlaç Direnç Mekanizması	7
1.1.2.3 Farmakokinetik	8
1.1.2.4 Paklitaksel ve Bağışıklık Sistemi	9
1.2 KONTROLLÜ İLAÇ SALINIM SİSTEMLERİ	10
1.2.1 Kontrollü İlaç Salınım Mekanizmaları	11
1.2.1.1 Uyaranlara Duyarlı Salınım	11
1.3 POLİMER	12
1.3.1 Polimerlerin Yapısı	13
1.3.2 Biyopolimerler ve Özellikleri.....	14
1.3.3 Biyopolimerlerin Sınıflandırılması	16
1.3.3.1 Sentetik Biyopolimerler	16
1.3.3.2 Doğal Biyopolimerler	17
1.3.3.2.1 Polisakkaritler	18
1.4 KITOSAN	19
1.5 NANOTEKNOLOJİ VE NANOBIYOTEKNOLOJİ	24
1.6 NANOPARÇACIK	25
1.6.1 NANOTAŞIYICI SİSTEMLERİN TOKSİSİTESİ	26

1.6.2 MANYETİK NANOPARÇACIK	27
1.6.2.1 Manyetik Nanoparçacıkların Manyetik Özelliği	28
1.6.2.2 Manyetik Nanoparçacıklarının Yüzey Kaplamaları	29
1.6.2.3 Manyetik Demir Oksit Nanoparçacıklarının Kullanım Alanları	31
1.6.2.4 Manyetik Demir Oksit Nanoparçacıklarının Sentezi	35
1.6.2.4.1 Hava ve N ₂ Atmosferinde Süperparamanyetik Demir Oksit Nanoparçacıklarının Sentezi	36
1.6.2.5 Manyetik Nanoparçacıkların Klik Modifikasyonu	37
1.6.3 Nano İlaç Salınım Sistemleri	38
1.6.3.1 Metal Bazlı Nano İlaç Salınım Sistemleri	38
1.6.3.1.1 Demir Oksit Nanoparçacıklarının Antikanser Aktivitesindeki Rolü	40
1.6.3.1.2 Antimikrobiyal Aktivitede Demir Oksit Nanoparçacığının Rolü	41
1.6.3.1.3 Demir Oksit Nanoparçacıklarının Toksisitesi	41
1.6.3.1.4 Biyokonjugasyon	41
1.6.4 Nano İlaç Salınım Sistemi Avantajları	42
1.6.5 Nano İlaç Salınımının Zorlukları	43
1.7. İlgili Literatür Işığında Çalışmanın Önemi	44
2. MATERYAL VE YÖNTEM	45
2.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	45
2.2 Araştırma Araçları	47
2.3 Deneysel Yöntemler	48
2.3.1 Fe ₃ O ₄ Manyetik Nanoparçacıklarının (MNP) Hazırlanması	48
2.3.1.1 Fe ₃ O ₄ Nanoparçacıklarının Sentezi	48
2.3.1.2 Fe ₃ O ₄ Nanoparçacıklarının Modifikasyonu	49
2.3.1.3 Kitosanın Modifikasyonu	50
2.3.2 İlaç Taşıyıcı Sistemin Hazırlanması	51
2.3.3 Deneyde Kullanılan Cihazlar ve Karakterizasyon Metodları	52
2.3.3.1 Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (ATR-FTIR)	52
2.3.3.2 Termal Gravimetrik Analiz (TGA) Cihazı	52
2.3.3.3 Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM)	52
2.3.3.4 Nano-PSA/Zeta	53

2.3.3.5 NMR	53
2.3.4. İlaç Yükleme ve <i>in-vitro</i> İlaç Salımı Çalışmaları	53
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	55
3.1. İlaç Taşıyıcı Sistemin Karakterizasyonu	55
3.1.1. ATR-FTIR spektrumları	55
3.1.2. ¹ H-NMR spektrumu.....	57
3.1.3. Boyut analizi ve zeta potansiyeli	58
3.1.4. SEM analizi	62
3.1.5. Termal Analiz	63
3.2. İlaç Yükleme Sonuçları	64
3.3. İlaç Salınım Sonuçları	66
4.SONUÇLAR	73
KAYNAKLAR.....	75
ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

İlaç Taşıyıcı Sistemler Olarak Manyetik Fe₃O₄ Nanoparçacıkları İçeren Hibrit Nanomalzeme Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Kanser, dünyadaki en yaygın ve ölümcül sağlık sorunlarından biridir. Doksorubisin kemoterapide kullanılan sitotoksik bir ilaçtır. Kanser hücreleri gibi aktif şekilde büyüyen hücrelerin büyümelerinin yavaşlamasına veya durmasına neden olmaktadır ve bu hücrelerin ölme olasılıklarını artırmaktadır. Paklitaksel antitümör etkisini hücrede mikrotübüllerin toplanmasını arttırmak ve depolimerizasyonunu önleyerek stabil mikrotübül toplulukları oluşturarak göstermektedir.

Paklitaksel ve doksorubisin kombinasyonu kanser türleri tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Farklı anti-tümör mekanizmalı ilaçların kombinasyon kemoterapisi ilaç direncini azaltmak ve terapötik etkiyi iyileştirmek için faydalı bir yoldur. Bununla birlikte, serbest paksitaksel ve doksorubisin kombinasyonu normal dokularda kardiyotoksisite ve nörotoksisite gibi ciddi toksisiteye neden olmaktadır. Bu nedenle, iki ilacın son derece etkili ve düşük toksisiteye sahip formülasyonu ya da formülasyonlarının geliştirilmesi gerekmektedir.

Tez çalışmasında manyetik Fe₃O₄ nanoparçacıkları sentezlenmiş ve nanoparçacıkların manyetik yüzeyleri tiyol grupları ile modifiye edilmiştir. Daha sonra allil grupları ile modifiye edilmiş olan kitosan polimeri hazırlanmış ve klik reaksiyonu ile manyetik nanoparçacıklara bağlanmıştır. Hazırlanan bu hibrit malzemeye paklitaksel ve doksorubisin ilaçları ayrı ayrı ve birlikte bir yüklenmiş ve sonrasında hibrit malzemenin ilaç salınımları incelenmiştir.

Fe₃O₄'ün yüzey modifikasyonunun tüm basamakları için yapı karakterizasyonu ATR-FTIR ile yapılmıştır. Aynı zamanda manyetik nanoparçacıkların, tiyol modifiye edilmiş manyetik nanoparçacıkların ve polimer bağlı manyetik nanoparçacıkların boyut analizleri Zeta sizer ile karakterize edilmiştir. Allil modifiye polimerlerin yapı karakterizasyonları ATR-FTIR ve NMR ile belirlenmiştir. Hibrit nano malzemenin termal dayanımı ve yüzde modifikasyonu için TGA analizinden faydalanılmıştır.

Tez çalışmasında kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklarına 255,17 µg doksorubisin, 287,17 µg paklitaksel yüklendiği tayin edilmiştir. Her iki ilaç birlikte kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıkları ile muamele edildiğinde edildğinde 253,2 µg DOX ve 274,7 µg PTX yüklendiği bulunmuştur.

Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklarından doksorubisin 48 saatte pH 5'te %30,5 ve pH 7,4'te %23,3 salındığı bulunmuştur. Paklitaksel 48 saatte pH 5'te %72,66 ve pH 7,4'te %41,45 salınmıştır. Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklarına birlikte yüklenen doksorubisin ve paklitaksel ilaç salınımları pH 5 ve pH 7,4'te incelenmiş ve asidik pH'ta her iki ilacın yüksek oranda salındığı ve salınının 48 saatte tamamlandığı tayin edilmiştir.

Doksorubisin ve paklitaksel gibi antikanser ilaçlarının vücutta salınımı hafif asidik tümör mikroçevresi ve hücre içi tümör hücrelerinde asidik ortamlarda daha fazla olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda da her iki ilacın ayrı ayrı ve birlikte salınımları asidik ortamda daha yüksek olduğu saptanmıştır.

ABSTRACT

Preparation and characterization of hybrid nanomaterial containing magnetic Fe₃O₄ nanoparticles as drug delivery systems

Cancer is one of the most common and deadly health problems in the world. Doxorubicin is a cytotoxic drug used in chemotherapy. It causes actively growing cells, such as cancer cells, to slow or stop growing, and increases the likelihood that these cells will die. Paclitaxel demonstrates its antitumor effect by increasing the collection of microtubules in the cell and preventing their depolymerization by forming stable microtubule communities.

The combination of paclitaxel and doxorubicin is widely used in the treatment of cancer types. Combination chemotherapy of drugs with different anti-tumor mechanisms is a useful way to reduce drug resistance and improve therapeutic effect. However, the combination of free pacsitaxel and doxorubicin causes severe toxicity in normal tissues, such as cardiotoxicity and neurotoxicity. Therefore, it is necessary to develop a highly effective and low toxicity formulation or formulations of the two drugs.

In this thesis, magnetic Fe₃O₄ nanoparticles were synthesized and the magnetic surfaces of the nanoparticles were modified with thiol groups. The chitosan polymer, which was then modified with allyl groups, was prepared and bound to magnetic nanoparticles by the click reaction. The drugs paclitaxel and doxorubicin were loaded separately and together into this prepared hybrid material, and then drug releases from the hybrid material were studied.

Structure characterization for all steps of surface modification of Fe₃O₄ was done with ATR-FTIR. It has also been characterized by Zeta sizer size analyses of magnetic nanoparticles, thiol-modified magnetic nanoparticles, and polymer-bound magnetic nanoparticles. Structural characterizations of allyl modified polymers were determined by ATR-FTIR and NMR. TGA analysis was used for thermal strength and percentage modification of hybrid nano material.

In the thesis study, it was determined that chitosan-Fe₃O₄ nanoparticles were loaded with 255.17 µg doxorubicin and 287.17 µg paclitaxel. When both drugs were treated together with chitosan-Fe₃O₄ nanoparticles, 253.2 µg DOX and 274.7 µg PTX were found to be loaded.

From chitosan-Fe₃O₄ nanoparticles, doxorubicin was found to be released 30.5% at pH 5 and 23.3% at pH 7.4 at 48 hours. Paclitaxel was released at 48 hours by 72.66% at pH 5 and

41.45% at pH 7.4. Doxorubicin and paclitaxel drug releases loaded together into chitosan-Fe₃O₄ nanoparticles were examined at pH 5 and pH 7.4 and it was determined that both drugs were highly released at acidic pH and that the release was completed in 48 hours.

The release of anticancer drugs such as doxorubicin and paclitaxel in the body has been reported to be greater in slightly acidic tumor microenvironment and acidic environments in intracellular tumor cells. In our study, it was found that the release of both drugs separately and together was higher in an acidic medium.

October, 2020

Şeyma TUNA

SEMBOLLER

%	: Yüzde
°C	: Santigrad Derece
dak	: Dakika
g	: Gram
Da	: Dalton
MHz	: Megahertz
MPa	: Megapascal
m	: Metre
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
cm	: Santimetre
cm³	: Santimetreküp
mL	:Mililitre
nm	: Nanometre
nM	: Nanomolar
mW	: Miliwatt
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
κ	: Kappa

μg	: Mikrogram
μm	: Mikrometre
ζ	: Zeta potansiyeli



KISALTMALAR

ATR-FTIR	: Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
DLS	: Lazer Dinamik Işın Saçılım Tekniği
DOX	: Doksorubisin
GTP	: Guanosin Trifosfat
MNP	: Manyetik Nano Boyutlu Parçacıklar
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
NEMS	: Nanoelektromekanik Sistemler
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
PTX	: Paklitaksel
SEM	: Taramalı Elektron Mikrokobu
SLN	: Katı Lipid Nanoparçacıkları
STEM	: Taramalı Geçirimli Elektron Mikroskop
TGA	: Termogravimetrik Analiz

ŞEKİL LİSTESİ

SAYFA

Şekil 1.1.	Doksorubisinin kimyasal yapısı	4
Şekil 1.2.	Paklitaksel (PTX)'in yapısı	5
Şekil 1.3.	Kitinin yapısı	20
Şekil 1.4.	Kitosanın yapısı	20
Şekil 1.5.	Manyetik ve kristal halindeki spinel ferrit yapılarının çizimi	28
Şekil 1.6.	Manyetik Demir Oksit Nanoparçacıklarının Kullanım Alanları	31
Şekil 2.1.	N ₂ gazı ortamında geri soğutucu sistem	49
Şekil 2.2.	Fe ₃ O ₄ nanoboyutlu parçacıkların sentezlenmesi.....	49
Şekil 2.3.	Tiyol uç gruplu manyetik nanoparçacıklarının şematik gösterimi.....	50
Şekil 2.4.	Allil uç gruplarına sahip kitosanın hazırlanmasının şematik gösterimi.....	51
Şekil 2.5.	İlaç sisteminde kullanılmak üzere hazırlanan kitosan kaplı manyetik nanoparçacıklar	52
Şekil 3.1.	Fe ₃ O ₄ ve Fe ₃ O ₄ -SH nanoparçacıklarının ATR-FTIR spektrumları	56
Şekil 3.2.	Kitosan-allil, kitosan ve allil glisidil eterin ATR-FTIR spektrumları.....	57
Şekil 3.3.	Kitosan ve kitosan-allilin ¹ H-NMR spektrumları	58
Şekil 3.4.	Boyut dağılımları	59
Şekil 3.5.	STEM görüntüleri	63
Şekil 3.6.	Fe ₃ O ₄ , Fe ₃ O ₄ -SH ve kitosan kaplı manyetik nanoparçacıkların TGA termogramları.....	64
Şekil 3.7.	Doksorubisin standart grafiği.....	65
Şekil 3.8.	Paklitaksel standart grafiği.....	66
Şekil 3.9.	Doksorubisin pH 7,4'teki standart grafiği.....	67
Şekil 3.10.	Doksorubisin pH 5'teki standart grafiği.....	67
Şekil 3.11.	Doksorubisin yüklü Kitosan-Fe ₃ O ₄ nanoparçacıklardan pH 7,4 ve pH 5'te ilaç salınımı	68
Şekil 3.12.	Paklitaksel+Doksorubisin yüklü Kitosan-Fe ₃ O ₄ nanoparçacıklardan pH 7,4 ve pH 5'te Doksorubisin ilaç salınımı.....	69
Şekil 3.13.	Paklitaksel pH 7,4'teki standart grafiği.....	70
Şekil 3.14.	Paklitaksel pH 5'teki standart grafiği.....	70
Şekil 3.15.	Paklitaksel yüklü Kitosan-Fe ₃ O ₄ nanoparçacıklardan pH 7,4 ve pH 5'te ilaç salınımı.....	71

Şekil 3.16. Paklitaksel+Doksorubisin yüklü Kitosan-Fe ₃ O ₄ nanoparçacıklardan pH 7,4 ve pH 5'te Paklitaksel ilaç salınımı.....	72
--	----



TABLO LİSTESİ

SAYFA

Tablo 1.1. Manyetik Nanoparçacıkların Kullanım Alanları	33
Tablo 3.1. Hazırlanan nanoparçacıkların zeta potansiyel değerleri.....	62



1.GİRİŞ

İlaç taşıyıcı sistemler, normal hücreler üzerindeki yan etkileri azaltırken, daha fazla geçirgenlik ve tutma etkileri ile kanser hücrelerinde ilaç birikimini arttırmaktadır (Brigger ve ark. 2002). Bu nedenle ilaç taşıyıcı sistemler geleneksel antikanser ilaçlarının terapötik etkinliğini artırmak için iyi bir yaklaşımdır (Gu ve ark. 2007). Geleneksel kanser kemoterapisinde tek kemoterapötik ajan kullanılması, özellikle doz sınırlayıcı olmak üzere, toksisite ve düşük antikanser etkinliği, muhtemel kanser hücresi hayatta kalma yolunu aktive etmesi gibi dezavantajları ortaya çıkararak kemoterapinin başarısız olmasına neden olabilmektedir (Zhao ve ark. 2013, Chen ve ark. 2015). Bunu düşünerek, kombine stratejisi iki veya daha fazla terapötik ajanın birlikte verilmesi ve farklı terapilerin kombinasyonu (hormon terapi, immünoterapi, gen tedavisi ve radyoterapi gibi) bu tıkanıklığı gidermek için potansiyel bir yol olarak önerilmektedir.

Doksorubisin kemoterapide kullanılan sitotoksik (kanser hücrelerini öldürücü) bir ilaçtır. Kanser hücreleri gibi aktif şekilde büyüyen hücrelerin büyümelerinin yavaşlamasına veya durmasına neden olmaktadır ve bu hücrelerin ölme olasılıklarını artırmaktadır (Barry ve ark. 1990). Paklitaksel antitümör etkisini hücrede mikrotübüllerin toplanmasını arttırmak ve depolimerizasyonunu önleyerek stabil mikrotübül toplulukları oluşturarak göstermektedir (Huang ve ark. 2000). Paklitaksel ve doksorubisin farklı antikanser mekanizmaları olan antikanser ilaçları olup birlikte taşınması ve salınması ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (Baabur-Cohen ve ark. 2017, Wang ve ark.2018). Biyomalzemeler üzerinde yapılan bilimsel çalışmalarda son yıllarda büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Özellikle manyetik alana duyarlı polimerik nanopartiküller, gen mühendisliğinde büyük ilgi çekmektedir. Biyopolimerik malzemeler, doğal maddeler olup canlı organizmalarla ilgili çalışmalarda organizmaya uyum sağlamaktadırlar. Bu nedenle gen mühendisliğinde hücre büyümesi deneylerinde tutucu-iskelet olarak ve ilaç yükleme ve salım sistemlerinde kullanılmaktadırlar (Gaiher ve ark. 2009), (Lin ve ark. 2006), (Koizumi ve ark. 2001). Özellikle manyetik alana duyarlı manyetik nanopartiküller ilaç salım sistemlerinde sağlıklı ve etkin bir şekilde kullanılmaktadırlar (Ichihyanagi ve ark. 2007). İlaç salınım sistemlerinde kullanılan manyetik nanopartiküllerin manyetik kısmı Fe^{+2} ve Fe^{+3} tuzlarından oluşmakla birlikte polimerik matriks kısmı için değişik özellikte polimerler kullanılmaktadır. Örneğin albümin aljinat, poli(kaprolakton), poli(etilenoksit) ve kitosan en çok kullanılan polimerik yapılardır (Wang ve ark. 2018).

Nano boyutlarda üretilen taşıyıcılar, kan-beyin bariyerleri, solunum sistemindeki bronşiyoller, derideki bağlantılar gibi çeşitli bariyerleri geçebilirler ve ilaçların istenilen dokuya ulaştırılmasını sağlarlar. Nanotaşıyıcılar vücuttaki dar alanlarda daha iyi dağılırlar ve düşük çözünürlüklü ilaçların çözünürlüğünü arttırabilirler. Nano boyut ilaçların fonksiyonlarını arttırarak bu ilaçlara yeni özellikler kazandırılabilir, ilaçların toksisitesini azaltabilir ve daha verimli ilaç dağılımlarını sağlayabilir.

Manyetik (Fe_3O_4) nanomateryaller, süperparamanyetik özellikleri nedeniyle ilaç salınım sistemlerinde dikkat çekmektedir. Ayrıca, Fe_3O_4 , ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ajanları, hedefe yönelik ilaç salma ve doku mühendisliği gibi biyomedikal uygulamalar için onaylanmış tek metal oksit sınıfıdır (Han ve ark. 2018)

Tez çalışması kapsamında manyetik Fe_3O_4 nanoparçacıkları sentezlendi ve nanoparçacıkların manyetik yüzeyleri tiyol grupları ile modifiye edildi. Daha sonra allil grupları ile modifiye edilmiş olan kitosan polimeri hazırlandı ve klik reaksiyonu ile manyetik nanoparçacıklara bağlandı. Hazırlanan bu hibrit malzemeye paklitaksel ve doksorubisin ilaçları ayrı ayrı ve birlikte bir yüklendi ve sonrasında hibrit malzemeden ilaç salınımları incelendi.

Fe_3O_4 'ün yüzey modifikasyonunun tüm basamakları için yapı karakterizasyonu ATR-FTIR ile yapıldı. Aynı zamanda manyetik nanoparçacıkların, tiyol modifiye edilmiş manyetik nanoparçacıkların ve polimer bağlı manyetik nanoparçacıkların boyut analizleri Zeta sizer ile karakterize edildi. Allil modifiye polimerlerin yapı karakterizasyonları ATR-FTIR ve NMR ile belirlendi. Hibrit nano malzemenin termal dayanımı ve yüzde modifikasyonu için TGA analizinden faydalanıldı.

1.1 KANSER VE KANSER İLAÇLARI

Kanser, hücre fizyolojisinde birçok geçici mekansal değişiklik içeren ve sonunda malign (kötü huylu) tümörlere yol açan karmaşık bir hastalıktır. Anormal hücre büyümesi (neoplazi) hastalığın biyolojik uç noktasıdır. Bitişik dokuların ve uzak organların tümör hücresi istilası, kanser hastalarının çoğu için morbidite ve mortalitenin birincil temelidir (Gupta ve ark., 2017). Tümör dokuları sağlıklı dokularla karşılaştırıldığında (pH 7.4) farklı pH seviyeleri (pH 6.5) gösterir. Daha da önemlisi, tümörlü dokularda hücre içi endozomlar ve lizozomlar hücre dışı ortamdaki daha düşük bir pH'a (5.0-6.0) sahiptir (Ma, Fan ve Li, 2016).

Normal hücrelerin kötü huylu kanser hücrelerine dönüştürüldüğü biyolojik süreçler, son yıllarda biyomedikal bilimlerde büyük bir araştırma çabasına sebep olmaktadır (Gupta ve ark., 2017). Kanser tedavisinde en büyük amaç, olumsuz etkilerden kaçınarak kemoterapötiklerin tümör bölgesine hedefe yönelik olarak verilmesidir (Rouhollah ve ark., 2013).

Genel olarak, kanser tedavilerinin başında cerrahi müdahale ve radyasyon tedavisi gelmektedir. İlaçlar, cerrahi tedaviye uygun olmayan kanser vakaları durumunda kanser hücresi büyümesinin inhibe edilmesinde birincil araç haline gelmiştir (Qiu ve ark., 2017).

1.1.1 Doksorubisin (DOX)

$C_{27}H_{29}NO_{11}$ kimyasal formülüne sahip doksorubisin (DOX) suda az çözünürlüğe sahip olan bir antikanser ilacıdır (Thedrattanawong, Manaspon ve Nasongkla, 2018). Doksorubisin bir tetrasenin hidridinden türetilir. Yapısında bir deoksi hekzosid, bir tetrasen kinon, bir p-kinon, bir birincil alfa-hidroksi keton ve bir üçüncül alfa-hidroksi keton bulunan bir aminoglikozittir. *Streptomyces peucetius* var bakterisinden izole edilen doksorubisin, antineoplastik aktiviteye sahip bir antrasiklin antibiyotiktir. *Escherichia coli* metaboliti olarak rol oynar (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Doxorubicin>).

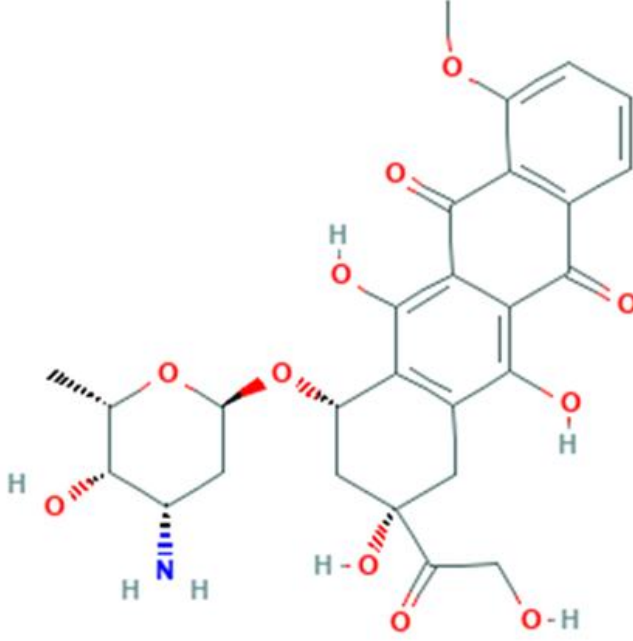
1.1.1.1 İlaç Etki Mekanizması

Antrasiklinlerin hücre tipine göre değişen hücre bölünmesinin özellikle S ve G2 fazlarında belirgin olan etkileri vardır.

DOX, DNA sarmalındaki baz çiftleri arasında araya girerek DNA replikasyonunu önler ve protein sentezini inhibe eder. Ek olarak, doksorubisin, DNA replikasyonu sırasında artmış ve stabilize klivaj edilebilir enzim-DNA bağlantılı kompleks ile sonuçlanan topoizomera II'yi inhibe eder ve çift zincirli kopmadan sonra nükleotit zincirinin ligasyonunu önler. Doksorubisin ayrıca hücre zarı lipidlerinin lipid peroksidasyonunda sekotoksisiteye neden olan oksijensiz radikaller oluşturur; oksijensiz radikallerin oluşumu ayrıca antrasiklin antibiyotiklerin, yani kardiyak ve kutanöz vasküler etkilerin toksisitesine de katkıda bulunur. (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Doxorubicin>).

DOX, düşük toksisite, iyi biyouyumluluk, hazırlanma kolaylığı ve çeşitli ilaç yükleme yöntemlerine sahip olması nedeniyle tercih edilen bir antikanser ilacıdır (Javed ve ark., 2015). Bununla birlikte, doza bağımlı kardiyotoksisite, miyelosupresyon, nefrotoksisite ve çoklu ilaç

direncinin gelişimi gibi yan etkileri nedeniyle DOX'un klinik uygulaması ciddi şekilde engellenmiştir (Ma, Fan ve Li, 2016).



Şekil 1.1: Doksorubisinin kimyasal yapısı

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Doxorubicin>)

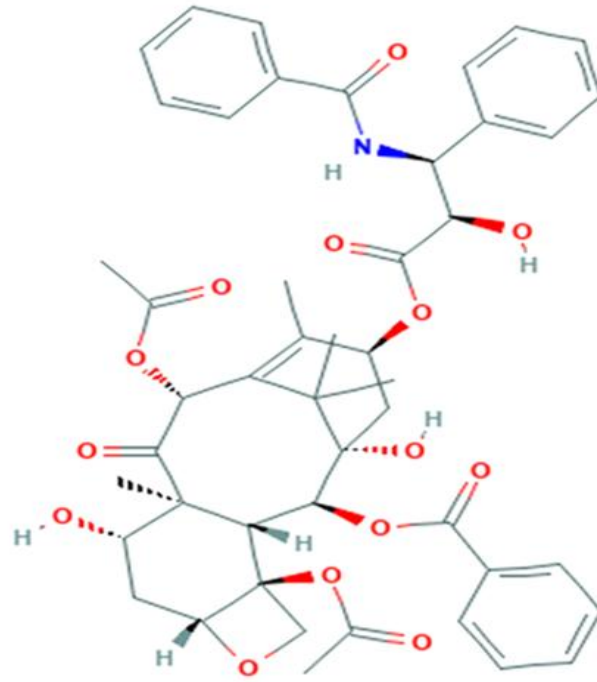
1.1.1.2. Farmakokinetik

Gastrointestinal sistemde absorbe olmayan ve aktivite kaybına uğraması nedeni ile doksorubisin intravenöz olarak uygulanır. Fakat bu uygulamada ilaç çevre dokulara dağılarak doku nekrozuna neden olabilmekte ve bu da ciddi sorunları beraberinde getirebilmektedir. Doksorubisin plazma proteinlerine bağlanarak dokulara dağılır, serebrospinal sıvıya geçmez. Karaciğerde hızlı bir şekilde metabolize edilmesine rağmen dokulara fazla bağlanması ve bu bölgelerden yavaş salınması nedeni ile vücutta kalış ve etki süresi uzundur. Enjeksiyondan sonra ilk 30 dakikada kan konsantrasyonu %50 oranında azalmasına rağmen yaklaşık 20 saat kan konsantrasyonu önemli seviyelerde seyreder (Kuznetsov ve ark., 2001).

Doksorubisin karaciğerde redüksiyon ve hidroliz işlemleri ile metabolize olurken ilacın büyük bir kısmı safradan, bir kısmı da böbreklerden atılır. Karaciğer rahatsızlığı yaşayan hastalarda doz ayarlaması yapılması gerekirken böbrek yetmezliği olan hastalarda doz ayarlamasına gerek yoktur (Kuznetsov ve ark., 2001).

1.1.2 Paklitaksel (PTX) 'in Kimyasal Yapısı

Taksan sınıfına ait olan paklitaksel, $C_{47}H_{51}NO_{14}$ kimyasal formülüne sahip bir diterpenoid psödoalkaloiddir ve 853.9 g / mol'e karşılık gelen bir moleküler ağırlığa sahiptir. PTX, C4 ve C5 pozisyonlarında dört üyeli oksetan yan halkası olan bir taksan halkası ve C13'te bir homoşiral ester yan zinciri olmak üzere iki molekülden oluşur. C13'teki yan zincir, mikrotübüllere bağlanan, tübülün demetlerini stabilize eden ve mikrotübüllerin guanosin trifosfattan (GTP) bağımsız bir şekilde ayrılmasını uyaran aktif kısım olduğu için çok önemli bir rol oynar. Sonuç olarak, hücre çoğalması, hücre döngüsünü metafaz ve anafaz sınırında durdurarak ve mikrotübül dinamiklerinin stabilizasyonu ile indüklenerek, tamamlanmamış bir metafaz kromozom plakası oluşumuyla engellenir (Kampan ve ark., 2015).



Şekil 1.2: Paklitaksel (PTX)'in yapısı

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/paclitaxel>)

1.1.2.1 İlaç Etki Mekanizması

PTX, mikrotübülleri hedef alan bir antikanser ilacıdır. Mikrotübüller, çapı 25-30 nm arasında değişen, tübülün heterodimerleri ile dinamik dengede tübülün polimerlerinden (alfa ve beta protein alt birimlerinden) oluşan silindirik içi boş yapılardır. Mikrotübüllerin temel işlevi,

hücre bölünmesi sırasında mitotik iplik oluşturmaktır. Ek olarak mikrotübüller, hücre yapısının, hareketliliğinin ve hücre içindeki sitoplazmik hareketin sürdürülmesi için gerekli olan alanlardır (Kampan ve ark., 2015). PTX, tübülün dimerleri ve mikrotübüller arasındaki normal dengeyi değiştirir ve bu nedenle, hücre bölünmesini bozar, yani, mikrotübülleri stabilize ederek, hücre döngüsünün G2 ve M fazlarına ve mikrotübülleri içeren hücresel aktivitelere müdahale eder(<https://www.sigmaaldrich.com/european-export.html>). Tübülün sentezi ve mikrotübüllerin eklenmesi G2 fazı ve mitoz fazı sırasında meydana gelir. PTX, mikrotübülün eklenmesini önleyen vinka alkaloidlerinden farklı olarak, özellikle β -tübülün heterodimerlerinden stabil mikrotübüllerin eklenmesini teşvik ederek hücre bölünmesini önler ve depolimerizasyonu inhibe eder; dolayısıyla, hücreler G2-M fazında tutulur ve hücre döngüsünün sonunda apoptoz geçirir, böylece hücre çoğalması önlenmiş olur (Kampan ve ark., 2015).

PTX ile stabilize edilmiş mikrotübüller, kalsiyum iyonlarına ve soğuğa maruz kaldıklarında depolimerleşmeye karşı dirençlidir ve bu durum polimerizasyonun başlatılması için gerekli olan doğal bir kofaktör olan GTP (guanosin trifosfat)'nin varlığını gerektirmez (<https://www.sigmaaldrich.com/european-export.html>). PTX, GTP yokluğunda mikrotübüllerde β -tübülün alt ünitesinin N-terminal 31 amino asitlerine spesifik olarak geri dönüşümlü bir şekilde bağlanır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, düşük konsantrasyonlarda paklitakselin, mikrotübüllerin depolimerizasyonunu inhibe ettiğini, yüksek dozda ise paklitakselin, mikrotübüllerin sayısını ve kütlesini arttırdığını, böylece mikrotübüllerin stabilitesini ve işlevselliğini bloke ettiğini göstermiştir. Apoptotik modülatör genlerin paklitaksel tarafından uyarılması, mikrotübül stabilizasyonundan bağımsız görünmektedir. PTX'in apoptotik etkisi, konsantrasyona ve süreye bağlıdır. Konsantrasyon miktarı en az 10 nM ve süre en az 12 saat olduğunda, S fazında mitotik iplik oluşmadan apoptoz indüklenebilir. PTX'in doz konsantrasyonuna bağlı olarak iki farklı apoptoz mekanizması önerilmiştir. Konsantrasyon ≥ 9 nM olduğunda, paklitaksel apoptotik kontrolden sorumlu olan Raf-1 kinaz aktivasyonunu indükler. Konsantrasyon ≤ 9 nM ise, Raf-1 kinaz bağlanmaz ancak apoptoz indüksiyonu, p53 ve p21'in etkisi altında devam etmektedir. p53, proliferasyonu ve apoptozu düzenleyen majör bir tümör baskılayıcıdır ve kanser vakalarının çoğunda bu gen mutasyona uğrar. Normal hücrelerde, DNA hasarı p53 seviyelerini artırır. Daha sonra, bu durum DNA hasar onarım mekanizmalarını veya apoptozu teşvik etmek ve genetik olarak transforme hücre klonlarının proliferasyonunu sınırlamak için p21'in aracılık ettiği bir G1 hücre döngüsünü durdurur. PTX ayrıca proapoptotik sinyalleme ile ilişkili olabilecek çoklu

sinyal iletim yollarını da aktive eder. Sitokinlerin ve pro-enflamatuar proteinlerin indüklenmesi, paklitakselin düşük doz konsantrasyonunda immüno modülatör etkisine ve ilacın daha yüksek doz konsantrasyonunda da hücre ölümüne yol açacaktır. Ek olarak, paklitakselin, oksidatif strese katkıda bulunan ve paklitakselin aktivitesinin etkisinde rol oynayan nikotinamid adenin dinükleotidfosfat (NADPH) oksidazın aktivitesini artırarak reaktif oksijenler (ROS) oluşumunu indüklediği ve hidroperoksit üretimini arttırdığı rapor edilmiştir. PTX'in, glikoz (2-deoksi D-glikoz, 2DG) ve hidroperoksit (L-butyonin-S, Rsulfoksin, BSO) metabolizması inhibitörleri ile kombinasyonunun, hidrojen peroksit ile indüklenen metabolik yoluyla meme kanseri hücresi öldürmesini seçici olarak arttırdığı bulunmuştur (Kampan ve ark., 2015).

1.1.2.2 İlaç Direnç Mekanizması

PTX çok adımlı ve çok sayıda gen içeren karmaşık bir ilaç direnç mekanizmasına sahiptir. Çoklu ilaç direnci (MDR), kanser hücresinden bağımsız olarak sitotoksik ilaçların üstesinden gelme kabiliyeti olarak tanımlanır. MDR kanser hücreleri herhangi bir kemoterapiye dirençli olarak geliştiğinde meydana gelir ve bu durum tümör mikro-ortamı ile ilişkilendirilir. PTX kaynaklı direnç mekanizması, temel olarak mRNA ve proteini (çoklu ribozomal genler ve translasyon faktörleri gibi), sentez, oksidatif stres (UGT1A6, MAOA ve CYBA), glikoliz metabolizması (ADH1A, HK1 ve ENO3), glutatyon metabolizması ve lökosit transendotelyal göç yollarını içerir. Hipoksi, p-53'e bağımlı (Apaf-1 ve Kaspaz-9 efektör yollarını içeren) veya p53'e bağımsız (hipoksik-indüklenebilir faktör 1 [HIF-1] ve Bcl-2 ailesi genlerini içeren) apoptoziyi indükleyebilir. HIF-1, hipoksik indüklenebilir genleri kontrol eden HIF1 ve HIF-1 β alt birimlerinden oluşan yaygın bir transkripsiyon faktörüdür ve HIF-1 proteininin konsantrasyonu, hipoksik ortamın varlığında katlanarak artmıştır. Hipoksik ortamın neden olduğu tümör hücrelerinin apoptotik potansiyelinin kaybı ve G0-G1'de hücre döngüsünü durduran HIF-1, paklitaksel dahil kemoterapötik maddelere karşı kemosensitiviteyi azaltır. Hipoksi ile aktive edilen diğer transkripsiyonel faktör, nükleer faktör kappa B'dir (NF- κ B) ve aynı zamanda proinflamatuar transkripsiyonel faktör olarak da bilinir. NF- κ B pathway yoluyla sitotoksik etkisine aracılık eden paklitaksel, hipofik tümör mikro-ortamının varlığında, serin fosforilasyonunu indükleyen ve ayrıca bir anti-apoptotik protein olan BCL-2'yi aktive eden NF- κ B transkripsiyon faktörünün varlığında direnç geliştirmeye açıktır. Hücre içi ilaç konsantrasyonu, paklitakselin etkin sitotoksik aktivitesi için önemlidir. İlaça kısa süreli maruz kalma, yüksek geçiş metabolizması, artmış karaciğer veya böbrek klirensi, tübülünler,

mikrotübüller veya diğer makromoleküllerin varlığı ya da tümör hücrelerinin yoğunluğu veya vaskülarite, intratümoral ilaç konsantrasyonunun azalmasına neden olabilir. PTX direncinin gelişmesinden sorumlu olan diğer mekanizma apoptoz inhibisyonu, mitojenle aktive olan protein kinaz, Raf-1 kinaz veya hücre içi sinyal yolu PIK3 (fosfatidilinositol-4,5-bis-fosfat 3-kinaz)'ün aktivasyonu ve Bcl-2 gibi apoptotik düzenleyici proteinlerdeki değişikliklerdir (Kampan ve ark., 2015).

1.1.2.3 Farmakokinetik

PTX, beyaz kristalimsi bir tozdur, oldukça lipofiliktir, suda çözünmez ve çözelti içinde formüle edilmesi çok zordur. 216 °C -217 °C erime noktasına sahiptir (Kampan ve ark., 2015). Kemoterapötik ajanların etki bölgesindeki yüksek orandaki toksisiteleri, kemoterapötiklerin, sağlıklı dokulara karşı toksisiteleri azaltılmış bir terapötik konsantrasyonda sunma zorluğunu getirmiştir. İyi bir kemoterapötik ajan olan PTX, düşük terapötik endekse sahiptir ve sudaki çözünürlüğünün düşük olması PTX'in klinik uygulamasını sınırlamaktadır (Gorain ve ark., 2018). PTX'in sudaki düşük çözünürlüğü, yüksek lipofilik yapısından (log P: 3.96) ve hacimli polisiklik yapısından (moleküler ağırlık:853 Da) kaynaklanmaktadır (Gupta ve ark., 2017). PTX'in sudaki çözünürlüğünün (~ 0.4 µg / mL) düşük olması, kanserli hücreler tarafından ilaca karşı direnç gelişimini tetiklemesine ve ilacın hızlı bir şekilde eliminasyona uğramasına sebep olması nedeni ile bu kemoterapötik ajanın hedef bölgede uygulanmasını büyük ölçüde sınırlandırmıştır (Gorain ve ark., 2018). Sistemik biyoyararlanımı, düşük sulu çözünürlüğe (% 0.3 ± 0.02 g / mL) bağlı olarak % 8'den azdır. (Gupta ve ark., 2017).

PTX metanolde (50 mg / ml) çözünür. Metanol içinde hidrolize ve transesterifikasyona uğrar. PTX ayrıca etanol ve asetonitrilde çözünür. % 50 Cremophor EL ve % 50 susuz etanol karışımı içinde çözünür (sigma-aldrich.com) bu da şiddetli aşırı duyarlılık, mielosupresyon, nötropeni, nörotoksisite ve benzeri gibi ters reaksiyonlara neden olabilir (Du ve ark., 2018). PTX zayıf alkali metanolik ve kuvvetli asidik metanolik çözeltilerde (1: 1 metanol: konsantre HCl) hızla tahrip olur. Sudaki çözünürlük, siklodekstrin varlığında artar (<https://www.sigmaaldrich.com/european-export.html>).

PTX'in doğrusal olmayan bir farmakokinetik düzene sahip olduğu gözlenmiştir. İlacın % 90'dan fazlası hızlı ve yaygın şekilde plazma proteinlerine bağlanırken, kırmızı kan hücrelerine bağlanma yaklaşık % 50'dir. PTX'in artan plazma konsantrasyonu ile, vücut dokularından ilaçların elimine edilmesinin azalmasına eşlik eden C_{max} (maksimum plazma

konsantrasyonu) ve AUC (plazma konsantrasyon altındaki alan) arasında orantısız şekilde büyük bir artış vardır (Kampan ve ark., 2015).

1.1.2.4 Paklitaksel ve Bağışıklık Sistemi

Kanser hücreleri aktif olarak antitümör bağışıklığını baskılayabilmektedir. Standart dozda, paklitaksel, genel olarak immüno baskılayıcıdır. Bunun nedeni, makrofajlar, efektör T hücreleri ve NK (doğal öldürücü hücre) hücreleri gibi tümör hücresi oluşumunu önlemede rol oynayan hücre tiplerinin çoğunu inhibe etmesidir. Bununla birlikte, paklitaksel, tipik olarak kemoterapi için kullanılandan daha düşük dozlarda, antitümör immünitesini teşvik eden önemli bir immünojenik role sahiptir (Kampan ve ark., 2015).

Kanser tedavileri için geleneksel kemoterapi birçok doğal fizyolojik engelle sınırlı etki gösterir. Hedeflenen bölgede hem ilacın katsayısı düşüktür hem de karaciğer ve kalp gibi yüksek kan perfüzyonlu organlarda da yan etkiler sık görülür (Thedrattanawong ve ark., 2018). Kemoterapötik antikanser ilaçları genel olarak damar içine tatbik edilmekte ve kötü hedeflenmiş tümör spesifikliği ile genel sistemik dağılıma yol açmaktadır. Antikanser ilacın bu nonspesifikliği, sağlıklı dokular tarafından beklenenden daha fazla ilaç alımına neden olur ve istenmeyen yan etkiler ile sonuçlanır (Javed ve ark., 2015). Ayrıca çoğu ilaç yüksek bir dozda verilirse yüksek oranda antikanser etkisi yaratır ancak güçlü ilaç etkisine rağmen kanser hücreleri daha sonra ilaca karşı dirençli hale gelebilir. Son zamanlarda, çoklu ilaç tedavisi, bu sorunun üstesinden gelmek için ideal bir yöntem olarak kabul edilmiştir, çünkü bu yöntem tek bir ilacın kullanımından farklı olarak terapötik etkiyi ve toleransı en üst düzeye çıkarabilir. Bununla birlikte, birçok anti-tümör ilacı suda çözünmez ve terapötik etkilerini ciddi şekilde etkileyen zayıf bir şekilde emilir (Qiu ve ark., 2017). Bu nedenle kemoterapötik ilaçlar, istenmeyen ciddi yan etkiler, düşük biyoyararlanım ve ilaç direncinin gelişmesi nedeniyle kanser tedavisinde mükemmel olmaktan uzaktır (Ma, Fan ve Li, 2016). Bunun için, ilaç kombinasyonları oluşturarak suda çözünmeyen ilaçların emilimini artırabilen bir taşıyıcı sistem geliştirmek gereklidir. Bu sadece hasta uyumluluğunu arttırmakla kalmaz aynı zamanda ilaç dozajını azaltır, ilacın etkinliğini artırır, ilacın yan etkilerini azaltır (Qiu ve ark., 2017). Zayıf suda çözünür ilacın çözünürlüğünü arttırmak, hedeflenen tümör bölgelerine yönelik, kontrollü salınım profillerini elde etmek, kan dolaşım süresini uzatmak ve biyoyararlanımı arttırmak için nano boyutlu ilaç salınım sistemleri (DDS) tercih edilmektedir (Ma, Fan ve Li, 2016). Nano taşıyıcılar ile PTX gibi çözünmeyen ilaçlar çözünebilir, adsorbe edilebilir, kapsüllenebilir, yüzeye veya nano taşıyıcıların içine eklenebilir (Du ve ark., 2018).

İdeal bir ilaç salınım sisteminde, terapötik ajanın kan konsantrasyonunu istenen bir seviyede tutması, terapötik ajanın katı tümörlerde geçirgenliği ve tümör hücrelerinde tutulması terapötik ajanın kan seviyesindeki keskin bir artışını önlerken, hızlı ilaç klirensine etki eder ve ilacı, hedef tümör hücrelerine taşır ve arttırır. Bunu sağlayabilmek için, farklı uyaranlara duyarlı özellikler ilaç salınım sistemlerine (DDS)'e dahil edilmelidir. Bu nedenle, pH, sıcaklık, redoks koşulları, manyetik alan, ultrason ve elektrik alanları vb. dahil iç veya dış uyaranlara duyarlı akıllı nanoyapılar geliştirilmiştir. Nano ilaç salınım sistemlerinin düşük pH ortamında kanser hücrelerinde kullanılmasının güçlü ve etkili bir strateji olduğu kanıtlanmıştır. Tümör hücrelerinin hipoksik durumu ve yüksek glikoliz oranına sahip olmaları nedeniyle tümörlerin hücre dışı pH'nın küçük olması, kanserin vücut içinde yayılmasına neden olur. Bu nedenle, pH'a duyarlı polimerlere dayalı akıllı nano ilaç salınım sistemleri geliştirilmiştir (Oroojalian ve ark., 2018).

1.2 KONTROLLÜ İLAÇ SALINIM SİSTEMLERİ

Kontrollü salınımın tarihi, ilaçların doğrudan ya da ağızdan uygulandığı eski zamanlara dayanmaktadır. Tarih ilerledikçe, ilaç verme yöntemleri de gelişmiştir. Mevcut sistem ve ilaç uygulama yöntemleri arasında gastrointestinal (GI), transdermal, topikal, nazal, mukoadhesif, parenteral ve implante edilebilir taşıyıcı sistemler bulunur (Kohrs ve ark., 2018). Bir ilaç salınım sistemi için ana hedef, ilacı nano taşıyıcılara başarıyla dahil etmektir. Bununla birlikte, ilacın doğasının, ilaç verme sürecinin kinetiğini etkilemesi yadsınamaz bir gerçektir. İlacın nano taşıyıcıya dahil etme işleminin temel amacı, ilacın etkili miktarlarını hastalıklı bölgelere taşımak için ilacın nano taşıyıcılara yeterli şekilde entegrasyonunu sağlamaktır. İlacın dahil edilmesine rağmen, ilacın biyolojik aktivitesinin dahil edilmeyele kaybedilmeyeceği de tespit edilmelidir. İlacın dahil edilmesinde kullanılan yöntemler, nanoparçacıkların hazırlanması sırasında ilacın eklenmesini içerir. Bir başka yöntem, yükleme sonrası yöntemdir, yani, nanoparçacıkların oluşumundan sonra, nanoparçacıkların, ilacın alımı için bir ilaç çözeltisine daldırılmasına izin verilir. İlacın yüklenme olasılığı, ilacın kalitesi, sentezlenen cihaz tasarımı ve cihaza sıkışan ilacın konsantrasyonu gibi çeşitli parametrelere bağlıdır (X. Wang ve ark., 2018).

1.2.1 Kontrollü İlaç Salınım Mekanizmaları

İlaç verme sistemleri ilacı fizyolojik koşullar altında koruyarak, ilacın salınımını kontrol ederek, sistemik dolaşımı arttırıp azaltarak ve etki alanına ulaşmaya yardımcı olarak ilacın hedef bölgedeki terapötik etkisini arttırmak için kullanılır. Bu işlevler, tek tek, kombinasyon halinde veya sıralı olarak çalışan karmaşık ve çeşitli mekanizmalar ile elde edilir. Polimerler, seramikler, cam, metaller ve metal alaşımları genellikle ilaç verme sistemlerinde araç olarak kullanılır. Dozaj formlarından ilaç salınımının kontrolü, ilacın sistemden veya suyun içine difüzyonunu, ilacın çözünmesini, parçalanmasını, sistem- matris şişmesini, bozunmasını veya erozyonunu içerir (Kohrs ve ark., 2018).

Çoğu polimerik ilaç verme sistemi, ilacın bir konsantrasyon gradyanı boyunca polimerik araçtan difüze olduğu ve salınımın Fick Difüzyon Kanununa uygun olduğu veya olmadığı difüzyon kontrollüdür. İkinci dereceden geçiş olarak da bilinen camsı geçiş, her polimere özgü bir sıcaklıkta meydana gelen karakteristik bir fazsız geçiştir. Camsı geçiş sıcaklığının (T_g) altında, polimerler sert ve boyutsal olarak karardır ve camsı bir durumda oldukları düşünülür, ancak camsı geçiş sıcaklığının (T_g) üzerinde polimer yumuşaklaşır ve kauçuksu bir görünüme sahip olur. Kauçuk durumundaki polimerler, çevredeki ortamın daha iyi infiltrasyonuna izin vererek ilacın çözünmesine ve daha sonra difüzyonuna izin verir. İlacın salınımı konsantrasyondan bağımsız olduğunda, salınım Fick Difüzyon Kanuna uyar ancak difüzyon zaman ve konsantrasyona bağlıysa, salınım Fick Difüzyon Kanuna uymaz. Difüzyon kontrollü sistemler monolitik ve rezervuar tabanlı olmak üzere iki türdür. Monolitik sistemlerde, ilaç polimerik araç içinde eşit olarak dağıtılır. Difüzyon oranı molekülün difüzyon katsayısına bağlıdır ve zamanın bir fonksiyonu olarak azalır, çünkü çekirdekteki ilacın konsantrasyonu zamanla azalır. Rezervuar sistemlerde, difüzyon katsayısı hız sınırlayıcı membran tarafından kontrol edilir, çünkü ilaç çekirdekten ayrılır ve daha sonra bir konsantrasyon gradyanı nedeniyle zardan salınır. Çekirdeğin doygunluğu düştüğünde, zardan difüzyon azalır (Kohrs ve ark., 2018).

1.2.1.1 Uyarılara Duyarlı Salınım

İlaç verme sisteminin salım şekli sadece uyarana değil, aynı zamanda ilacın salındığı malzemeye de bağlıdır. Duyarlı polimerler, spesifik fizyolojik uyarılara cevap veren yapısal bir değişikliğe uğrar. Açık döngü ve kapalı döngü sistemler olmak üzere iki tür duyarlı ilaç salınım sistemi vardır. Açık döngü sistemleri, ilacın verilmesinin önceden belirlenmiş bir

insülin pompası olduğu polimerik olmayan ilaç salınım sistemleridir. Kapalı döngü sistemler söz konusu olduğunda, ilaç salınımı, pH ve sıcaklık gibi fizyolojik koşullara göre belirlenir (Kohrs ve ark., 2018).

GI yolu, kan ve hücre içi ortam gibi çeşitli bölgelerin pH' ındaki karakteristik farklılıklar, çoğu kanser ve enfekte doku ile ilişkili asidik durumlar ile pH'ı duyarlı polimerler için çekici bir uyarıcı yapar. pH'a duyarlı polimerler, protonları kabul ederek iyonizasyon durumlarında bir değişikliğe uğrayan zayıf asidik veya bazik gruplara sahip polielektrolitlerdir. İyonizasyon durumundaki değişiklikler, polimerin ilaç salınımını modüle eden konformasyonel değişikliklere ve şişme davranışına yol açar (Kohrs ve ark., 2018).

Bazı polimerler, çözünürlüğü değiştiren belirli bir sıcaklıkta faz geçişi sergiler. Solvasyon durumundaki değişiklikler polimerin moleküller arası hidrojen bağına bağlanır. Bu geçiş, vücut sıcaklığında genişleyen veya daralan polimerlerden ilaç salınımı için kullanılabilir. Su molekülleri, 32-33 °C'lik düşük kritik çözelti sıcaklığının (LCST) altında, polimer ağına bağlanarak şişmeye neden olur, bu da ilaçların polimer içine yüklenmesini sağlar. LCST'nin üstünde, hidrofilik veya hidrofobik bir geçiş, polimer ağının çökmesine ve çözünmesine neden olur, böylece geçiş sırasında tüm su moleküllerini ve tutulan ilacı serbest bırakır (Kohrs ve ark., 2018).

1.3 POLİMER

“Polimer” terimi iki Yunanca kelimedenden türemiştir: πολυ (polu) kelimesi “çok” ve μέρος (meros) kelimesi “parça, kısım” anlamına gelir. Adından da anlaşılacağı gibi, polimerler daha küçük moleküllerin veya tekrar eden birimlerin kimyasal reaksiyonuyla oluşturulan büyük moleküllerdir. Bu tekrarlayan birimler “monomer” olarak adlandırılır. Mol kütlesinin boyutu, monomer ve polimer sentezleme yöntemine bağlı olarak çoğu kez farklılık gösterebilir. Her bir polimer zinciri, tekrar eden birimler ve zincir uzunluğuna göre farklı değişkenlere sahip birçok parçadan oluştuğu için, farklı uzunluk ve yapıya sahip uzun zincirler oluşturmak için tekrar eden birimlerin kombinasyonu, ortaya çıkan polimerlerin özelliklerini ve uygulamalarını belirlemede esastır (Pious ve Thomas, 2016; Brady ve ark., 2017).

Polimerler yirminci yüzyılın en yaygın kullanılan malzemeleridir. Geniş özellik yelpazesine sahip olmaları nedeniyle uygulamaların çoğunda farklı malzemelerin yerini almışlardır. Günümüzde, taşıma çantaları, paketleme malzemeleri, kalemler, içecek şişeleri, konteynerler, bezler, mobilyalar, yapıştırıcılar ve şırıngalar gibi günlük hayatımızda kullandığımız eşyaların çoğu polimerlerden yapılmıştır. Polimerler ayrıca mühendislik uygulamalarında da kullanılmaktadır. Polimerlerin özellikleri, uygun bir sentetik yol veya koşulların seçilmesiyle ve üretim sırasında katkı maddelerinin dahil edilmesiyle kolayca ayarlanabilir (Pious ve Thomas, 2016).

Polimerlerin çoğu, diğer malzeme sınıflarına kıyasla çok kolay işlenebilir. Bu sayede üreticinin daha az enerji tüketen ürünler üretmesini sağlar (Pious ve Thomas, 2016).

1.3.1 Polimerlerin Yapısı

Polimerlerin yapısal özelliklerinin ve yapısal özelliklerini etkileyen faktörlerinin anlaşılması pratik uygulamalar için önemlidir (Pious ve Thomas, 2016).

Polimerler, iki veya daha fazla aynı molekül arasında kovalent bağ ile aynı ampirik formüle sahip monomerden daha büyük bir molekülün oluştuğu bir işlem olan polimerizasyon sonucu oluşur. Buna asetaldehitten (CH_3CHO) oluşturulan halkalı molekül paraladehit örnek verilebilir. Dolayısıyla paraladehitte olduğu gibi, ilave bir polimer molekülü aynı ampirik formüle sahip birden çok monomerden oluşurken reaksiyona giren her bir monomer molekülü için bir kondenzasyon polimerizasyon reaksiyonu küçük bir molekülün, genellikle suyun, ayrılmasıyla ilerler. Bu nedenle kondenzasyon polimerinin deneysel formülü monomerin deneysel formülünden farklıdır ancak ilave edilen polimerin deneysel formülü ile aynıdır. 6 veya 10 monomer biriminden oluşan polimerler oligomerler olarak adlandırılır (Darvell, 2018).

Kondenzasyon reaksiyonuna iki asetik asit molekülünden suyun ayrılmasıyla oluşan asetik anhidrit molekülünün oluşumu örnek verilebilir. Buna benzer bir örnek asetik asit ve etanolden suyun ayrılması ile etil asetat oluşumudur. Buna başka bir örnek verilmesi gerekirse, poliester oluşumunda, bir diasit ve diol karışımı ya da bir asit-alkol (hidroksi asit) kullanılabilir, böylece zincirin her bir ucu bağımsız olarak büyüyebilir. Ancak polimerlerin oluşması için her bir birim reaksiyona girdikten sonra bir sonraki birime bağlanması için zincirin reaktif bir uca sahip olmaya devam etmesi gerekir (Darvell, 2018).

Bir polimerik zincirin, diğer polimerik malzemelerden veya düşük moleköl ağırlıklı bir çözücünden oluşan bir ortamda mekanik olarak nasıl bağlandığı ve nasıl içinde taşındığı, kısmen zincir sisteminin toplam topolojisi ile belirlenir (Brady ve ark., 2017).

Bir polimerin işlevselliği, yapısını belirlemede hayati bir rol oynar. Genel olarak 2 işleve sahip bir monomer doğrusal bir yapı verir. Ancak her zaman doğrusal bir polimer zinciri elde edilmeyebilir. Örneğin, etilen monomerinin işlevselliği 2'dir, ancak polimerizasyon reaksiyonu sırasında, dallanmış polimer zincirlerinin yanı sıra doğrusal polimer de oluşabilir. 2 ve 3 işlevselliğe sahip monomer birimlerinin kombinasyonu dallanmış bir polimer üretebilir. Bu bile çapraz bağlı bir yapının oluşmasına neden olabilir. İşlevselliği 4 olan monomer birimlerinin bileşimi ile çapraz bağlı bir polimer oluşur (Pious ve Thomas, 2016).

Polimerler, ana zincire bağlı olarak organik ve inorganik polimerler olarak sınıflandırılırlar. Bir organik polimer zinciri karbon-karbon bağı ile halkalı yapılar veya fonksiyonel grupların bileşimi ile oluşturulabilir. İnorganik polimerlerde ana zincir karbon dışındaki diğer atomlardan oluşur. Örneğin, silikon polimerlerinde ana zincir Si-O bağlarından oluşur (Pious ve Thomas, 2016).

1.3.2 Biyopolimerler ve Özellikleri

Biyopolimerler, canlı organizmalar tarafından üretilen doğada biyolojik olarak parçalanabilen ve sitotoksik olmayan polimerler olarak tanımlanır (Pattanashetti ve ark., 2017; Soni ve Ghosh 2018). Basit bir deyişle, biyopolimerler polimerik biyomoleküllerdir. Daha büyük yapılar oluşturmak için kovalent olarak bağlı monomerik üniteler içerirler (Pattanashetti ve ark., 2017).

Polimerik biyomalzemeler (biyopolimerler), herhangi bir zararlı lokal veya sistemik etkiye neden olmadan, fizyolojik ortamlarda uzun veya kısa süre boyunca kullanılabilecek malzemelerdir. Biyopolimerler, çok çeşitli mekanik özelliklere yol açan çeşitli polimerik kimyasal bileşikler içerebilir (Loureiro dos Santos, 2017).

Biyopolimerler, canlı organizmalardan üretildiği için genellikle sürdürülebilir ve yenilenebilir malzemelerdir. Biyopolimerler, biyolojik olarak parçalanabilirlik, biyouyumluluk ve antibakteriyel aktivite gibi önemli özellikler gösterir. Biyopolimerler insan vücudunda dokular oluşturmak için hücreleri bir arada tutarlar, hücrelere kimyasal sinyal iletimi sağlarlar, cildin nem ve elastikiyetine katkıda bulunurlar (Pattanashetti ve ark., 2017).

Biyopolimerler, aşınma için önemli bir özellik olan sert parçalanma, sitotoksisite ve biyouyumluluk gibi çeşitli doğal avantajları nedeniyle, ilaç salınım sistemleri alanında önemli bir araştırma konusu olmuştur. Çoğunlukla doğal kökenli olan biyopolimerler, mikrobiyal kontaminasyona, düşük viskoziteye ve kontrolsüz hidrasyona karşı duyarlıdır (Soni ve Ghosh 2018).

Biyopolimerlerin çoğu, fosil yakıtlardan elde edilen sentetik polimerlerden daha yüksek yoğunluklara sahiptir. En yaygın kullanılan biyobozunur polimer olan polilaktik asit (PLA) yaklaşık 1.250 g/cm^3 lük bir yoğunluğa sahiptir ve yoğunluğu poliolefinin yoğunluğundan ($0.880 - 0.970 \text{ g/cm}^3$) çok daha yüksektir. Yoğunluk, biyopolimerlerin implant ve protez gelişimi için uygun olmasının nedenlerinden biridir (Pino-Ramos ve ark., 2018).

Bir biyopolimerin çözünürlüğü morfolojisi (polaritesi, polimerin kristalizasyonu) ve bileşimi ile belirlenir. Genel olarak yüksek kristallik derecesine sahip olan biyopolimerler düşük kristallik derecesine sahip olan biyopolimerlerden daha az çözünürlüğe sahiptir. Ayrıca, biyopolimerin termal özelliği de çözünürlüğü önemli derecede etkileyebilir. Amorf PLA (biyomalzemelerin geliştirilmesinde en yaygın kullanılan polimerlerden biri), klorlu hidrokarbonlar, benzen, tetrahidrofuran ve dioksan gibi birçok organik çözücünde çözünür. Öte yandan, kristalli PLA ise ancak yüksek sıcaklıkta klorlu hidrokarbonlarda ve benzende çözünür. Biyopolimerlerin çözünürlük parametresi asetilasyonla ayarlanabilir. Polimerin çözünürlük parametreleri ile çözücü arasındaki fark ne kadar küçük olursa, çözünürlük de o kadar iyidir (Pino-Ramos ve ark., 2018).

“Mekanik özellikler” terimi, polimerik sistemlerde gerilim ve gerinim ilişkisini belirtmek için yaygın olarak kullanılır (Pino-Ramos ve ark., 2018).

Biyomalzemelerin mekanik özellikleri, gerekli uygulamalara uygun özel olarak hazırlanabilir. Bazı durumlarda, sınırlı esneklik sergileyen ve darbeye direnç gösteren bazı durumlarda ise esneklik gerektiren malzemeler gereklidir. PLA'nın mekanik özellikleri, optik saflığına ve molekül ağırlığına bağlıdır. Molekül ağırlığının yüksek olması durumunda polimerin gerilme mukavemeti ve elastik modülü artar ve kopmada uzama azalır. Yaygın olarak kullanılan PLA küçük bir malzemedir ve kırılmada (yaklaşık % 6 ile % 11'e kadar), Young'ın 900 - 1300 MPa'lık modülüne ve 61 - 73 MPa'lık gerilme mukavemetine sahiptir. Artan monomer zincir uzunluğu ile, malzeme daha esnek hale gelir (Pino-Ramos ve ark., 2018).

Polimerlerin en önemli termal özelliklerinden biri, camsı geçiş sıcaklığıdır (T_g). Camsı geçiş sıcaklığı, polimerin nispeten sert olduğu bölge ile oldukça esnek olduğu bölge arasındaki bir sıcaklık sınırıdır. T_g , moleküler düzenlemelere, retikülasyon hızına ve kristallik derecesine bağlıdır. Bir polimerin T_g değeri, doğrudan mekanik özelliklerle ilgilidir ve hem doğal hem de doğal olmayan polimerleri karakterize etmek için kullanılır (Pino-Ramos ve ark., 2018).

İlk sentetik polimerik malzemelerin doğada biyolojik olarak tamamen parçalanmaları yüzlerce yıl gerektirir. Küresel petrol miktarındaki azalmayla birleşen çevre sorunu, biyolojik olarak parçalanabilen materyaller üretmek için yeni “doğal” alternatifler aramaya yöneltti (Pino-Ramos ve ark., 2018).

Biyobozunur polimerlerin önemli kısmı poliester ailesine aittir. Ester bağının polaritesi toprakta bulunan elementlerin hidroliz reaksiyonu için nispeten zayıf bir bağ oluşturur, bu sayede biyolojik bozunmaları artar. Polikaprolakton (PCL), poliglikolik asit (PGA) ve polidioksanon (PDO), ilaç taşıyan implant üretiminde yaygın olarak kullanılan biyobozunur malzemelerdir (Pino-Ramos ve ark., 2018).

1.3.3 Biyopolimerlerin Sınıflandırılması

Genel olarak biyopolimerler, doğal ve sentetik biyopolimerler olarak sınıflandırılabilir (Soni ve Ghosh, 2018).

1.3.3.1 Sentetik Biyopolimerler

Sentetik biyopolimerler, doğal biyopolimerlere göre büyük gruplar halinde sentezlenebilmeleri, özelliklerinin değişmeden tekrar üretililebilmeleri gibi çeşitli avantajlara sahiptir (Loureiro dos Santos, 2017).

Sentetik biyopolimerlerin kullanımı doğal biyopolimerlere kıyasla daha kolaydır. Uygun olarak hazırlanan sentetik biyopolimerler ile başka modifikasyonlar yapılabilir ve yığın (kütle) özellikleri değişmeden daha iyi homojenliğe, saflığa ve tekrarlanabilir özelliğe sahip biyopolimerler ticari olarak sentezlenebilir (Efthimiadou ve ark., 2018). Mekanik çözünürlükleri ve morfolojik özellikleri (gözeneklilik, kristallik, vb.) işlem sırasında değiştirilebilir. Ayrıca, aynı polimer farklı boyutlardaki polimerik zincirlerin dağılımının değiştirilmesi sonucu farklı özelliklere sahip olabilir. Örneğin, ticari polietilen (düşük yoğunluklu polietilen, LDPE) tipik olarak paketleme poşetleri yapmak için kullanılır ve düşük bir mekanik mukavemete ve düşük bir erime noktasına (110 °C civarında) sahiptir; bununla

birlikte, ultra yüksek moleküler ağırlıklı polietilen (UHMWPE), neredeyse erimeyen ve madencilikte ve kalça eklemi protezlerinde kullanılan oldukça sert bir malzemedir. Bu iki tip polietilen (LDPE ve UHMWPE) arasındaki temel fark, UHMWPE'de LDPE'den yaklaşık 10 kat daha yüksek olan polimerik zincir boyutudur. Ek olarak, sentetik biyopolimerler genellikle bağışıklık sistemi tarafından reddedilmez, çünkü tanıma ve hücre adezyonu için alanları yoktur. Ayrıca, birçok sentetik biyopolimer hidrofobiktir (Loureiro dos Santos, 2017).

1.3.3.2 Doğal Biyopolimerler

Doğal biyopolimerler, canlı organizmalar tarafından üretilen ve biyomedikal materyallerde kullanılabilen biyolojik makromoleküller olarak tanımlanabilir. Genel olarak, uzun veya dallanmış zincirler oluşturmak için birbirine bağlı tekrar eden yapısal birimlerden oluşur. Basit yapı taşlarına “monomer” denir, daha karmaşık yapı birimleri ise “tekrar birimleri” olarak adlandırılır (Davidenko ve ark., 2018).

Doğal olarak üretilen birçok biyopolimer, biyolojik olarak çözünebilir, biyolojik olarak uyumludur ve toksik değildir. Ek olarak, bazıları doku iyileşmesinde, yenilenmesinde ve doku entegrasyonuna yardımcı olabilecek spesifik protein bağlanma bölgeleri ve diğer biyokimyasal sinyalleri taşır. Bu özellikler doğal biyopolimerleri tıp alanındaki farklı biyomedikal uygulamalar için uygun materyaller haline getirmektedir (Davidenko ve ark., 2018).

Doğal biyopolimerlerin temel avantajı, organların ve dokuların yapısını ve fonksiyonlarını geri kazanmalarında hücrelerin tanınmasına, adezyonuna, göçüne, çoğalmasına ve farklılaşmasına izin vermeleridir (Loureiro dos Santos, 2017). Birçok doğal biyopolimer biyolojik ortam tarafından tanınır ve metabolik bozunma ile vücuttan atılabilir. Ayrıca, doğal polimerler immünolojik sistemin uyarılmasını önleyebilir, bu yüzden biyomedikal uygulamalar için kullanılmaları sentetik polimerlere kıyasla daha az risk taşır. Buna karşın, doğal polimerler esnekliğe ve zayıf mekanik özelliklere sahiptir. Bu sorunların üstesinden gelmek, bu polimerlerin biyoyumluluklarından yararlanmak ve yapılarını güçlendirmek için çeşitli yöntemler ortaya çıkmıştır. Harmanlama, aşılama ve çapraz bağlama kullanılan yöntemlerden bazılarıdır (Pino-Ramos ve ark., 2018).

Doğal biyopolimerlerin ana uygulama alanları arasında (1) implante edilebilir cihazlar, (2) yara yönetim ürünleri, (3) kontrollü ilaç dağıtım sistemleri ve (4) doku mühendisliği yapı iskeleleri yer almaktadır (Davidenko ve ark., 2018). Polisakkaritler (karbonhidrat polimerleri),

proteinler ve nükleotitler (DNA, RNA), farmasötik kimyada, biyomedikal uygulamalarda ve ilaç salınım teknolojisinde yaygın olarak kullanılan doğal biyopolimerlerdir (Efthimiadou ve ark., 2018). Yakın zamanda ortopedi, oftalmoloji, diş hekimliği, yumuşak ve kardiyovasküler doku rejenerasyonları gibi farklı biyomedikal alanlarda doğal biyopolimerlerin yapısını, özelliklerini, sınıflandırılmasını ve potansiyel kullanımını tanımlayan incelemeler ortaya çıkmıştır (Davidenko ve ark., 2018).

Kullanılan monomerik birimlere ve oluşan biyopolimerin yapısına göre sınıflandırılmış üç ana doğal biyopolimer sınıfı vardır (Davidenko ve ark., 2018):

- (1) α -amino asitlerden oluşan makromoleküller olan proteinler (polipeptitler dahil);
- (2) Düz veya dallanmış zincirli polimerik karbonhidrat yapıları olan polisakkaritler;
- (3) 13 veya daha fazla nükleotid biriminden oluşan polinükleotitler (çekirdekler DNA ve RNA) (Davidenko ve ark., 2018).

Biyopolimerlerin doğal kaynakları (1) mikroorganizmaları, (2) bitkileri veya (3) hayvansal dokuları içerir. Örneğin, bakteriler, mayalar, küfler, mantarlar ve diğer birçok mikroorganizmalar, biyokimyasal özelliklere sahip çok çeşitli polimerik biyomoleküller üretmek için çok değerli bir kaynak olabilirler. Bu biyopolimerler polisakkaritleri (selüloz, dekstran, kitin, hyalüronik asit, vb.) ve proteinleri (ipek, keratin vb.) içerir. Ayrıca bitkiler hem polisakkaritler (selüloz, nişasta, aljinat, karragenan, vb.) hem de proteinler için (soya, zein, buğday gluteni, vb.) son derece değerli ve yenilenebilir bir kaynak olmuştur. Karada, denizde veya havada yaşayan hayvanlar, biyomedikal alanda güçlü potansiyele sahip doğal yapılar sağlayabilir. Bu yapılara örnek olarak glikozaminoglikanlar (kitin, heparin, hyalüronik asit, vb.), proteoglikanlar ve proteinler (kollajen, elastin, jelatin, heparin vb.) verilebilir ve ayrıca tüm canlılarda genetik bir materyal olan deoksiribonükleik asit bulunur (Davidenko ve ark., 2018).

1.3.3.2.1 Polisakkaritler

Polisakkaritler, glikozidik bağlarla bir araya gelen monosakkaritlerden oluşan polimerik karbonhidratlardır (Loureiro dos Santos, 2017). Polisakkaritler ayrıca “glikanlar” olarak da bilinir. Canlı sistemlerde enerji depolanmasında, bitkilerin ve hayvanların hücre dışı yapısal elemanları olarak görev alırlar (Davidenko ve ark., 2018).

Polisakkaritler, düz zincirli (selüloz, kitin ve hyalüronan) veya dallanmış zincirli (nişasta, dekstran) olabilirler (Davidenko ve ark., 2018). Polisakkaritlerin hidrolizleri, daha küçük polisakkaritler, oligosakkaritler, disakkaritler veya monosakkaritler ile sonuçlanır. Temel kural olarak, polisakkaritler en az 10 monosakkarit birimi içerir ve genel formülleri $C_x(H_2O)_y$ 'dir. Burada x, 200 ile 2500 arasında bir sayıdır (Loureiro dos Santos, 2017).

Diğer biyopolimer sınıflarında olduğu gibi polisakkaritler de mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlar dahil olmak üzere farklı doğal kaynaklardan elde edilebilir (Davidenko ve ark., 2018).

Canlı organizmalarda, polisakkaritler, enerji rezervleri olarak veya yapısal rollerine bağlı olarak sınıflandırılır. Yapısal fonksiyonlara sahip polisakkaritler, bitki hücresi duvarında ve eklem bacaklıların dış iskeletinde bulunan selüloz ve kitindir (Loureiro dos Santos, 2017).

Biyolojik kökenlerinden ötürü, polisakkaritler yüksek biyouyumluluk, düşük toksisite ve düşük immünojenisiteye sahiptir (Loureiro dos Santos, 2017). Düşük immünojenisiteye sahip olmaları bu doğal polimerleri biyomedikal uygulamalar için çekici kılmaktadır. Biyokapsülleme teknolojisi ve doku mühendisliği için benzersiz jelleşme kabiliyeti, yüksek su bağlama kapasitesi, biyobozunurluk ve ayrıca hücre dışı matrislere (ECM) benzerlik gibi özellikler sergilerler (Davidenko ve ark., 2018).

Biyomateryal alanında kullanılan polisakkaritlere örnek olarak selüloz (bitki ve bakteri), nişasta, dekstran, aljinat, karragenan, kitin / kitosan, pullulan, agar, pektin, hyalüronik asit (hyalüronan), kondroitin sülfat ve heparin verilebilir (Davidenko ve ark., 2018).

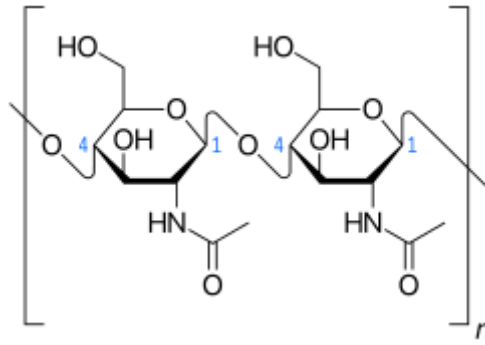
1.4 Kitosan

Kitin, 200 yıldan uzun bir süre önce, 1811'de, Fransa'nın Nancy Botanik Bahçesi'ndeki mantar çalışmaları sırasında Henri Braconnot tarafından keşfedildi. 1859'da C. Rouget, konsantre alkali ile reaksiyona sokarak kitini, organik asitlerde çözünebilen, kitosan olarak adlandırılan, modifiye bir forma dönüştürdüğünü göstermiştir. (Rouget, 1859). 1903'te F. Fischer, glukozamini sentezledi; 1929'da P. Karrer, kitinaz kullanarak enzimatik kitin yıkımını gerçekleştirdi ve 1939'da W. Haworth, glukozaminin mutlak konfigürasyonunu belirledi (Varlamov ve Mysyakina, 2018).

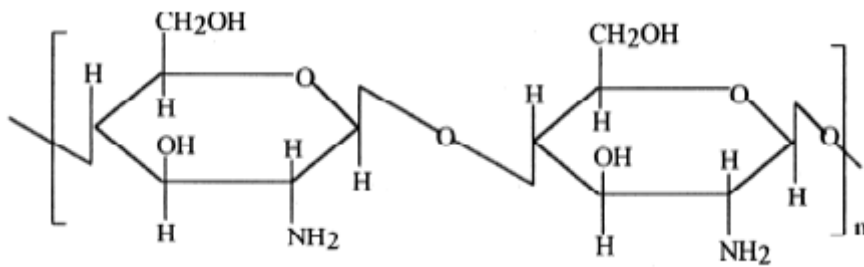
β - (1,4) bağlı N-asetil-D-glukozaminin bir homopolimeri olan kitin, doğada en bol bulunan ikinci biyopolimerdir. Genellikle kabukluların ve böceklerin dış iskeletlerinde ve ayrıca

mantarların hücre duvarlarında bulunur (Davidenko ve ark., 2018). Doğal kaynaklardan izole edilen kitin genellikle % 5–10 2-amino-2-deoksi- β -D-glukoz kısımları içerir (Varlamov ve Mysyakina, 2018). Sulu ortamda çözünürlüklerinin olmaması nedeniyle, çoğu kitin uygulamaları, kitinin deasetilasyonu ile etkili bir şekilde elde edilebilen deasetile formuna yani kitosan'a dayanmaktadır (Davidenko ve ark., 2018). Hafif alkali koşullar altında (enzimleri kullanarak veya düşük sıcaklıklarda) kitinin deasetilasyona uğrayarak kısmi depolimerizasyonu sonucu daha yüksek bir molekül ağırlığına sahip olan kitosan oluşur (Varlamov ve Mysyakina, 2018).

Kitosan, kitinin deasetilasyonu ile elde edilen doğrusal bir polisakkarittir ve rastgele tekrarlayan β -1,4-D-glukozamin ve N-asetil-D-glukozamin zincirlerinden oluşan katyonik bir kopolimerdir (Raspo ve ark., 2018; Figueroa-Pizano ve ark., 2018).



Şekil 1.3: Kitinin yapısı (<https://en.wikipedia.org/wiki/Chitin>)



Şekil 1.4: Kitosanın yapısı (<https://www.chitosan.no/information/chitosan-info/>)

Kitosanın üretim süreci iki aşamayı içerir: İlk aşama β -(1,4) bağları ile bir araya getirilen kitinden [N-asetil-D-glukozamin] (2-asetamido-2-deoksi- β -D-glukonopiranoz) seyreltik HCl kullanılarak kalsiyum karbonatın çıkarılmasını ve ikinci aşama ise oksijensiz ortamda birkaç

saat boyunca 110-115 °C'de % 40-50 sulu NaOH kullanılarak kitinin deasetilasyonunu içerir. Kitinin % 50'sinden fazla deasetilasyonu, kitosan üretir (Soni ve Ghosh, 2018). Kitosan, ağırlıklı olarak 2-amino-2-deoksi-β-(1,4)-D-glikopiranozdan oluşur ve yapısı glikozaminoglikanlara benzer (Pino-Ramos ve ark., 2018; Teimouri ve ark., 2017).

Kitosan molekül içi ve molekül dışı hidrojen bağlarına sahip yarı kristalli bir polimerdir (Naskar ve ark., 2018). Kitosan, fonksiyonel grup olarak çok sayıda amin (-NH₂) ve hidroksil grubu (-OH) içermesinden dolayı kimyasal olarak aktif bir polimerdir ve bu özelliğinden dolayı jelleştirici bir madde olarak kullanılabilir (Pellá ve ark., 2018; Kilicarslan ve ark., 2018; Gingasu ve ark., 2018). Reaktif amino ve hidroksil gruplarından dolayı, kitosanın kimyasal modifikasyonu mümkündür. Kitosan lipidler, proteinler, DNA vb. çok çeşitli doğal veya sentetik anyonik türlerle birlikte iyonik kompleksler oluşturabilen bir polikasyon (poli (akrilik asit) olarak tanımlanan bazı negatif yüklü sentetik polimerler) haline gelir (Naskar ve ark., 2018).

Kitosan bir polikatyondur ve kitosani diğer polisakkaritlerden ayırt eden, asidik pH'daki katyonik doğasıdır. Hafif asidik koşullarda, amino grupları protonlanır ve diğer moleküller ile etkileşimi kolaylaştırır. Yük yoğunluğu asetilasyon derecesine ve pH'a bağlıdır. Pozitif yüklü bir polisakkarit olan kitosan negatif yüklü birçok doğal biyopolimer ile elektrostatik etkileşime girerek polielektrolit kompleksler oluşturabilir (Malikova ve ark., 2018; Kosowska ve ark., 2018; Davidenko ve ark., 2018).

Moleküler ağırlık ve deasetilasyon derecesi, kitosan özelliklerini ve uygulamalarını belirleyen önemli parametrelerdir (Davidenko ve ark., 2018). Viskozimetre, kitosanın moleküler ağırlığını belirlemek için kullanılan en yaygın yöntemlerden biridir. Çözünürlük kitosanın farmasötik uygulamasında önemli bir rol oynar (Naskar ve ark., 2018).

Kitosan, suda çözünmeyen, fakat (-NH₂) grupları çözünebilir protonlanmış forma (-NH₃⁺) dönüştürüldüğünde, pKa'sının (~ 6.3) altında seyreltilmiş asidik çözelti içinde çözünebilen zayıf bir bazdır (Gingasu ve ark., 2018). Kitosan, pKa değeri 6.3 olan bir amin grubu kuaternizasyonu ile seyreltilmiş asidik çözeltilerde çözüldüğünde bir katyonik polielektrolit haline gelir. Kitosanın çözünürlüğü, düşük pH'de amin gruplarının protonasyonundan kaynaklanırken, daha yüksek pH'da (6.0'ın üstünde) kitosan aminleri deprotonlanmış halde kalır ve kitosan çözünmez hale gelir. Deasetilasyon derecesi, kitosanın pKa değerini belirler, bu nedenle çözünürlük ayrıca deasetilasyon derecesine ve yöntemine de bağlıdır (Soni ve

Ghosh, 2018). Kitosan, asetik asit, formik asit ve laktik asit gibi çeşitli organik asitlerde ve hidroklorik asit gibi inorganik asitte çözünebilir ve burada yapışkan bir çözelti oluşturur (Loureiro dos Santos, 2017; Naskar ve ark., 2018). Kitosanın çözünürlüğü kristallik, deasetilasyon derecesi, asetil grubu dağılımı ve moleküler ağırlık gibi çeşitli faktörler üzerinde etkili olmuştur. Kitosanın moleküler ağırlığı azalırsa asidik ortamdaki çözünürlüğü artar (Naskar ve ark., 2018).

Kitosan, suda çözünürlük, anyonik ve katyonik özellikler, zehirli boya ve antimikrobiyal etkinlikler, amfifilik davranış gibi özellikler sağlayan karboksil, açıl, alkil, tiyol, kuaternize amino vb. sayısız grup içerir. Tiyollenmiş kitosan yüksek seviyede yapışkan, enzim inhibe edici ve geçirgenlik arttırıcı özelliklere sahiptir. Bu nedenle çok sayıda biyomedikal uygulama için N-asetilsistein-kitosan ve N-asetil-kitosan gibi yeni bir tiyollenmiş kitosan polimeri sınıfı kullanılmaktadır. Kitosan türevleri oluşturmak için tiyol gruplarının (yani, tiyollenmiş kitosan), immobilizasyonu biyolojik sistemlerde yaygın olarak karşılaşılan sistein bakımından zengin glikoproteinlerin alt alanlarına sahip disülfid bağlarının oluşması nedeniyle sayısız biyolojik ve biyokimyasal özelliği teşvik edebilir ve geliştirebilir (Medeiros Borsagli ve ark., 2018).

Kitosan, selülozdan sonra biyomateryal olarak en yaygın kullanılan doğal polisakkarittir (Soni ve Ghosh, 2018). Doğal olarak türetilmiş tek katyonik polisakkarit olan kitosan, iyi bozunurluk, yüksek biyoyumluluk, düşük toksisite, hidrofilik, hemostatik, antiviral, antitümoral ve antibakteriyel aktivite gibi özelliklere sahip olması ve alerjik olmamasından dolayı gıda teknolojisi, biyomedikal ve farmasötik endüstrileri gibi çeşitli alanlarda büyük ilgi görmüştür (C.-S. Wang ve ark., 2018; Fat'hi ve Nasab, 2018; Davidenko ve ark., 2018). Kitosan ayrıca molekül ağırlığına ve deasetilasyon derecesine (DA) bağlı olarak çeşitli özelliklere sahip olabilir ve antimikrobiyal aktivite gösterebilir (Conzatti ve ark., 2018). pH 6.5 üzerindeki zayıf çözünürlüğünden dolayı kitosan asidik ortamda antibakteriyel aktiviteye sahiptir (Uppal ve ark., 2018).

Kitosan, genel olarak güvenli olarak kabul edilmiş (GRAS) malzeme olarak sınıflandırılan, çevre dostu bir "yeşil" polimer olarak kabul edilir (Sayed ve ark., 2018).

Kitosan, atık su arıtımı, yara pansumanları, doku mühendisliği, kanser aşısının gelişiimi, ilaç ve gen dağıtım araçları gibi biyomedikal, çevresel ve endüstriyel uygulamalarda, biyoyumluluk, biyobozunurluk, biyoadhezyon, polikasyon niteliği ve biyoaktivite gibi

biyolojik ve kimyasal özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır (Elshoky ve ark., 2018). Son on yılda kitosan, biyolojik uyumluluk (insan kullanımı için onaylanmıştır), mükemmel biyobozunurluk (lizozim ve lipaz gibi insan enzimleriyle degradasyonlar), düşük toksisite, yara iyileştirme, güçlü bakteri öldürücü etkinin yanı sıra bol miktarda kullanılabilirlik ve düşük üretim maliyeti gibi özellikleri nedeniyle biyomedikal alanında en çok kullanılan türetilmiş doğal kökenli biyopolimerlerden biri olmuştur. Son zamanlarda, özellikle epitelyal ve yumuşak dokuların onarımı ve yenilenmesinde doku mühendisliği yaklaşımlarında kitosan bazlı biyomalzemelere ilgi artmıştır. Kitosan bazlı matrisler, örneğin vücut yüzey astarlarını onarmak, bağ dokusunun yenilenmesini sağlamak ve sinir bağlantısını ve damar büyümesini desteklemek için araştırılmıştır. Kitosanın, hücresel fenotipin korunması, biyolojik olarak aktif faktörlerin bağlanması ve arttırılması dahil olmak üzere birçok doku rejenerasyon fonksiyonunun düzenlenmesinde yararlı olabileceği bildirilmiştir. Kitosan ayrıca gen ekspresyonunun kontrolünde ve dokuya özgü hücre dışı matrisin sentezinde ve biriktirilmesinde yardımcı olur (Davidenko ve ark., 2018). Ayrıca kitosan, yeterli biyolojik özellikler sunar, hemostazı sağlar ve normal doku rejenerasyonunu destekler, bakteriyostatik ve fungistatik aktivite gösterir. Bu nedenle, kitosan, ilaç salım sistemlerinde yara iyileştirici materyal ve doku rejenerasyonu için bir destek yapısı olarak çeşitli biyomedikal alanlarda uygulanmıştır (Kaczmarek ve Sionkowska, 2017).

Kitosan insan sağlığı için tehlike oluşturmamasından dolayı tıbbi uygulamalarda ilaç hazırlığı için biyokompozit olarak kullanılır (Malikova ve ark., 2018). Kitosan, ilaç kapsüllemesi için ilaç salınımında kullanılan, hem biyouyumluluk ve hidrofilikliği geliştirmeyi amaçlayan metalik nanoparçacıkların kaplanması için kullanılan polisakkaritlerin temsilcisidir (Efthimiadou ve ark., 2018). Kitosan, ilaç stabilitesini artırma, ilacın kalma süresini artırma ve ilaç bozunmasını azaltma kabiliyeti sayesinde nano dağıtım modülleri olarak ümit verici olmuştur (Uppal ve ark., 2018). Nanoparçacıklar, mikro küreler, boncuklar, tabletler, jeller, filmler ve zarlar içeren formlarda kitosan bazlı polielektrolit komplekslerinden üretilen biyomalzemeler, ilaç kapsülleme uygulamalarında en çok kullanılan uygulamalardır (Davidenko ve ark., 2018). Kitosan, oral mukozal ilaç salınımı için mukozaya yapışan ve epitel hücreler arasındaki sıkı bağları açarak ilaç penetrasyonunu arttıtabilen bir polimerdir (Pellá ve ark., 2018; Akca ve ark., 2018). Toksik olmayan kitosan, biyolojik olarak aktif maddelerin hedef bölgelere ulaşmasını kolaylaştırarak nispeten daha uzun bir süre boyunca kan akışında kalma kabiliyetinden dolayı ilaç salınımı için elverişli bir polimer olarak kabul edilmiştir (Uppal ve ark., 2018).

Kitosan, sayısız avantajına rağmen ham bir biyopolimer olarak kullanılması, yalnızca hafif alkali çevre koşulları ve fizyolojik bir pH'ta biyomedikal alanındaki potansiyel uygulamalarını kısıtlayabilen asidik bir sulu ortamda çözünmesi, zayıf mekanik mukavemet özellikleri içermesi gibi dezavantajlara sahiptir (Fat'hi ve Nasab, 2018; Medeiros Borsagli ve ark., 2018). Düşük transfeksiyon etkinliği ve düşük sulu çözünürlük gibi dezavantajlar, aşı kopolimerizasyonu gibi kimyasal modifikasyonla giderilebilir (Soni ve Ghosh, 2018).

Kitosan bazlı hidrojeller biyomedikal alanda en çok kullanılan biyomalzemelerdir ancak mekanik özellikleri pratik olarak uygulanamayacak kadar zayıftır ve hidrojel uygulamadan sonra kırılğan hale gelir (Figuerola-Pizano ve ark., 2018; Ding ve ark., 2018). Bu nedenle, daha iyi hidrojeller üretmek için birkaç sentetik polimerin, kitosan ile birleştirilmesi gerektiği önerilmiştir (Figuerola-Pizano ve ark., 2018).

1.5 NANOTEKNOLOJİ VE NANOBİYOTEKNOLOJİ

Nanoteknoloji, köklü ürünleri geliştirme ve geniş bir uygulama potansiyeli olan tamamen yeni özelliklere ve fonksiyonlara sahip yeni ürünler yaratma olasılığı nedeniyle ortaya çıkan bir teknoloji olarak kabul edilmekte olup kimya ve malzeme mühendisliği, biyoteknoloji ve endüstriyel işleme teknolojilerini birleştiren çok disiplinli bir bilimdir (Logothetidis, 2012; Villena de Francisco ve García-Estapa, 2018). Nanoteknoloji, 100 nm'den daha küçük ölçekteki yapıların, cihazların ve sistemlerin işlevselliğini kontrol eder. Yaşayan organizmaların ilgili süreçleri temel olarak nanometre ölçeğinde gerçekleşir; DNA, proteinler veya hücre zarı gibi temel biyolojik birimler bu boyuttadır. Nano ölçek genel olarak 0.1 µm veya 100 nm'nin altında bir boyut olarak kabul edilir (nanometre, metrenin milyarda biridir, 1 nanometre 10^{-9} m'dir.) (Logothetidis, 2012).

Nanobiyoteknoloji, teşhis amaçlı, hedefe özgü ilaç salınımından moleküler görüntülemeye kadar birçok uygulamaya sahiptir. Nanobiyoteknoloji aynı zamanda biyobelirteçler ve biyosensörlere gen terapisi uygulamaları sunmaktadır. Nanobiyoteknolojide, pek çok tıbbi disiplinde potansiyel uygulamalar sağlayan artan gelişmeler vardır. Nanobiyoteknoloji, tanısal ve hedefli ilaç salınımına parlak bir gelecek sunmuştur. Gelecekte bazı tedavi edilemez hastalıkların nanobiyoteknoloji yardımı ile tedavi edilebilir hale gelmesi muhtemeldir (Chavda, 2019).

Nanobiyoteknoloji için en büyük zorluk, bu tür dinamik molekülleri gelişmiş stabiliteye sahip nanotaşıyıcılara dahil etmektir. Uygulanabilirliği için bazı toksisite sorunları vardır. Sadece

toksosite değil, bazı çevresel faktörelere de nanobiyoteknolojinin uygulanabilirliğini olumsuz olarak etkilemektedir. İnsan sağlığı ve çevreye olan riskleri doğru bir şekilde değerlendirmek gerekir ve ayrıca biyomoleküller için nano ilaç salınımına bağlı olası risklerin değerlendirilmesi de gerekmektedir (Chavda, 2019).

1.6 NANOPARÇACIK

Nanomalzemeler, en az bir dış boyutta bir mikrometreden daha küçük morfolojik özelliklere veya nano ölçekli bir iç yapıya sahip materyallerdir. Nanomalzemeler Avrupa Birliği (AB) tarafından “100 nm ya da 100 nm den daha küçük ya da 100 nm den daha büyük boyuta sahip olabilen ve ayrı ayrı işlevsel parçalardan oluşan nano ölçekli özelliklere sahip yapılar” olarak tanımlanır. Nanomalzemelerin en temel özelliği, yüzey alanını artıran ve daha yüksek bir reaktivite sağlayan, küçük boyutudur (Villena de Francisco ve García-Esteba, 2018). Bu özellik onların elektronik, kozmetik ve ilaç gibi sayısız alanda kullanımlarını kolaylaştırır (Missaoui, Arnoldb ve Cummingsc, 2018).

Nanoparçacıklar son yıllarda, kimya endüstrisi, gıda teknolojisi, elektronik, cilt kremleri, spor malzemeleri, kozmetik ve biyotıp gibi alanlarda giderek daha fazla kullanılmaktadır. Nanoparçacıkların, kanser ve kardiyovasküler hastalık gibi farklı hastalıkların önlenmesi, teşhisi ve tedavisinde faydalı olduğu öne sürülmüştür (Missaoui, Arnoldb ve Cummingsc, 2018). Tıp ve fizyoloji uygulamaları için, bu nanomalzemeler, nanoparçacıklar ve cihazlar, moleküler seviyedeki hücreler ve dokularla yüksek derecede işlevsel özelliklere sahip hücreler ve dokularla etkileşime girecek şekilde tasarlanabilir, böylece teknoloji ile daha önce erişilemeyen biyolojik sistemler arasında bir dereceye kadar entegrasyon sağlanır. İlaç ve gen salınımında, DNA yapıları için uygun olan polimer nanoparçacıklar (nanosferler ve nanokapsüller), katı lipit nanoparçacıklar, nanokristaller, dendrimerler, polimer terapötikler, altın ve manyetik nanoparçacıklar ve lipozomlar kullanılmaktadır (Logothetidis, 2012).

Nanoparçacıkların boyutları biyolojik moleküllere ve yapılarına oldukça benzerdir, bu nedenle in vivo ve in vitro biyomedikal araştırmalarda yaygın olarak kullanılırlar. Yüksek termal, mekanik ve optik özelliklere sahip nanomalzemeler, çeşitli kanser türlerinde kullanılan biyosensörlerin geliştirilmesi için uygun malzemelerdir. Nano ilaç salınımı ilaç etkinliğini artırır ve ilaç toksisitesini azaltır (Chavda, 2019). Bu bağlamda nanoteknoloji, etkili terapötik potansiyel için anti-anjiyojenik ajanların tümör bölgesine ilaç salınımını güçlendirebilir (J. Esfahlan ve ark., 2017). Nano ilaç salınımı durumunda hedef boyuttaki ilaç

konsantrasyonu, geleneksel salınım sistemleri ile karşılaştırıldığında daha yüksektir (Chavda, 2019). Ayrıca, nanoparçacıklar sürekli ve daha yavaş bir şekilde ilaç salınımını teşvik eder ve ilaç salınımını geliştirerek ilaç verimliliğini de artırabilirler. Ancak bir ilacı tek başına bazik özelliğe sahip bir nanoparçacık içine almak, spesifik hücre hedeflemesi ile sonuçlanmaz. Bu nedenle, nanoparçacıklar aktif olarak, meme kanseri hücrelerinde ve diğer folat reseptörü pozitif kanser hücrelerinde aşırı eksprese edilmiş folat reseptörleri gibi spesifik membran proteinlerine bağlanabilen spesifik ligandlarla birleştirilerek hücrelere hedeflenebilir (Missaoui, Arnoldb ve Cummingsc, 2018). Nanoparçacıkların, tümör spesifik antikorlar veya ligandlar gibi tümör spesifik hücre yüzey markörlerinin konjüge edilmiş ilaca dahil edildiği hedeflenmiş salınımı, antikanser ilaçların potansiyelini artırır ve daha az yan etki oluşturur (Chavda, 2019).

Lipozomlar, demir oksit nanoparçacıkları ve polimerik nanoparçacıkları içeren ilaç salınımı için sayısız nanoparçacık test edilmektedir ve bazıları, kapsüllenmiş bileşiklerin hedef alana spesifik dağılımını geliştirmek amacıyla prelinik ve klinik deneylerde test edilmektedir. Teoride, ilaçların nanoparçacıklara kapsüllenmesi, ilaçların normal ve sağlıklı hücrelere kıyasla, kanser hücreleri gibi hastalıklı hücrelere daha fazla ve daha spesifik olarak alınmasını sağlar (Missaoui, Arnoldb ve Cummingsc, 2018). Kemoterapötik ajanların nano yapıları nanoparçacıklara kapsüllenmesi, lipofilik ilaçların suda zayıf çözünürlüğünün üstesinden gelmek için etkili bir yöntem sağlar (J. Esfahlan ve ark., 2017). İlaçların nanoparçacıklar içinde kapsüllenmesi, zayıf çözünen bileşiklerin çökmesini en aza indirerek (yani, toksik etkili çözücülere olan ihtiyacı azaltarak) ilaçların stabilitesini artırabilir (Missaoui, Arnoldb ve Cummingsc, 2018).

1.6.1 NANOTAŞIYICI SİSTEMLERİN TOKSİSİTESİ

Nanomalzemeler daha fazla güvenlik, kalite ve daha fazla raf ömrü gibi birçok fayda sağlayabilir; ancak, gıda ürünleri ve nanomalzemeler arasında doğrudan bir etkileşim olduğundan, sağlık ve çevre üzerinde de etkileri vardır. Nanoparçacıklar, hücresel hasara, protein denatürasyonuna, lipid peroksidasyonuna, DNA hasarına, oksidatif strese, reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna, mitokondriyal bozulmaya ve hemolize neden olabilir. Nanomalzemelerin uygun şekilde kullanılması için nanoteknolojinin kullanımının etkileri konusunda risk değerlendirmesi yapılması gerekmektedir (Villena de Francisco ve García-Estapa, 2018).

1.6.2 MANYETİK NANOPARÇACIK

Son yıllarda, manyetik nanoparçacıkların (MNP) bilimsel ve teknolojik alandaki önemi büyük ölçüde artmıştır. Bunun ana nedeni, tek bileşenli nanoparçacıklardan geniş bir uygulama yelpazesine açılan çok işlevli nanokompozitlere kadar birçok alanda manyetik nanoparçacıkların mevcudiyetidir (Mendoza-Garcia ve S. Sun, 2016). Küçük boyutlarına bağlı özellikleri, bu malzemeleri birçok alanda vazgeçilmez ve üstün kılmaktadır (Ali ve ark., 2016).

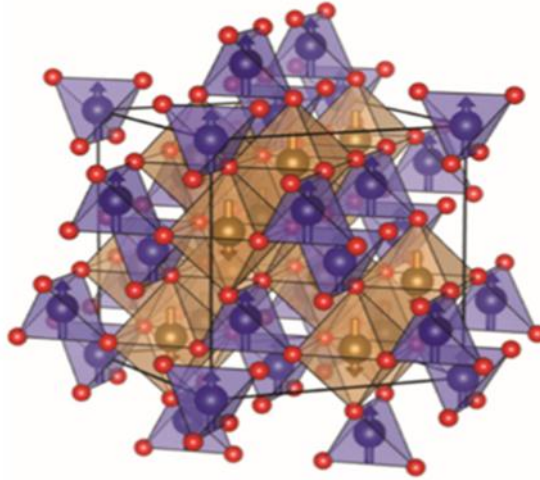
Yer kabuğunda geçiş metali olarak en çok demir bulunur. Demir ve oksijen kimyasal olarak birleşir ve demir oksit bileşiğini oluşturur. Doğada, demir (III) oksit pas şeklinde bulunur. Demir oksitler birçok biyolojik ve jeolojik süreçte önemli bir rol oynar ve genel olarak ucuz oldukları için yaygın olarak kullanılır. Demir oksitler ayrıca demir cevherlerinde ve kanda hemoglobinin yapısında bulunurlar ayrıca katalizör ve pigment (kaplamalar, boyalar ve renkli betonlar) olarak da kullanılırlar. Doğada en yaygın olarak bulunan üç demir oksit; magnetit (Fe_3O_4), maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) ve hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) tir. Bu oksitler, bilimsel ve teknoloji alanında da çok önemlidir (Ali ve ark., 2016).

Ortam koşulları altında, Fe_3O_4 nanoparçacıklar çok stabil değildir ve kolayca Fe_2O_3 'e oksitlenebilir veya asidik bir ortamda çözünebilir. Oksidasyona dayalı olarak Fe_3O_4 nanoparçacıklar Fe_2O_3 nanoparçacıkların sentezlenmesi için kullanılabilir (oksijen atmosferi altında veya tavlama işlemi ile). Asidik veya alkali ortamlardaki kimyasal stabilite nedeniyle, oksidasyon Fe_2O_3 nanoparçacıklarını etkilemez. Kimyasal olarak, demir oksit nanoparçacıkları çok aktiftir ve genel olarak dağılılabirlik ve manyetizma kaybıyla sonuçlanan havada (özellikle manyetit) kolayca oksitlenebilir. Bu nedenle, bazı etkili koruma stratejileri geliştirerek ve organik moleküller, polimerler, yüzey aktif cisimleri, biyomoleküller veya silika, metal, metal oksit veya metal olmayan temel maddeler, metal sülfür gibi inorganik tabaka ile uygun yüzey kaplaması (veya aşılama) sağlayarak manyetik demir oksit nanoparçacıkların kararlılığını korumak önemlidir. Oksitlenmeye karşı tam ve kalıcı koruma için, her bir nanoparçacık, nanoparçacıkların manyetik özelliği üzerinde çok az etkisi olan veya hiç olmayan ince bir kaplama ile kaplanır. Bu amaç için altın ve silika gibi farklı kaplama malzemeleri kullanılır ancak bu kaplamalardan dolayı manyetik özellikler zayıflar. Demir parçacıklarının manyetik özellikleri üzerinde çok az etkisi olan magnezyum kaplama da kullanılır (Ali ve ark., 2016).

1.6.2.1 Manyetik Nanoparçacıkların Manyetik Özelliği

Manyetizma maddenin kendine özgü bir özelliğidir. Bununla birlikte, bazı maddeler diğerlerinden daha manyetiktir. Maddelerin manyetik momentleri, yörüngeden, elektronun dönme hareketinden ve elektronların birbirleriyle etkileşimlerinden kaynaklanır. Dış manyetik alana verilen cevaba dayanarak manyetizma; diyamanyetizma, paramanyetizma ve ferromanyetizma olarak üç ana gruba ayrılabilir. Antiferromanyetizma ve ferrimanyetizma, ferromanyetizmanın alt sınıflarıdır. Bununla birlikte, ferromanyetik ve ferrimanyetik maddelerin nanoparçacıkları süperparamanyetik davranış sergiler (Sodipo ve Aziz, 2016).

Co, Ni ve Fe gibi metaller oda sıcaklığının üzerinde ferromanyetiktir ve dolu olmayan d orbitallerine sahiptir. Örneğin, demir atomunun çekirdek etrafında dolaşan 26 elektronu vardır. Elektron konfigürasyonunda argon atomunun iç çekirdeğini oluşturan ilk 18 elektronu dolu enerji seviyelerindedir. $n = 3$ yörüngesinde bir tane tam dolu ve dört tane yarı dolu d orbitali bulunmaktadır. Yarı dolu d orbitalleri, demir atomunun güçlü bir manyetik momente (2.22 Bohr magnetonu) sahip olmasına neden olur (Owens, Patel ve Miller, 2012).



Şekil 1.5: Manyetik ve kristal halindeki spinel ferrit yapılarının çizimi. Oksijen iyonları küçük kırmızı küreler olarak temsil edilirken, tetrahedral bölgelerdeki büyük mor olanlar iki değerli katyonları temsil eder. Üç değerlikli katyonlar, oktahedral polihedral içindeki büyük sarı renkli küreler şeklinde gösterilmiştir (Muscas ve ark., 2015).

Atomik sistemlere göre artan zaman ve mıknatıslanma ölçekleri nedeniyle, nanoparçacıkların manyetizması genellikle süpermanyetizma olarak adlandırılır. (Muscas ve ark., 2015). Ferromanyetik maddelerden oluşan manyetik nanoparçacıklar, benzersiz bir manyetizma, yani

süperparamanyetizma özelliği sergiler. Bunların içerisinde demir oksit nanoparçacıkları, manyetik özellikleri ve geniş uygulamaları nedeniyle büyük öneme sahiptir (Ali ve ark., 2016).

Süper paramanyetizma (SPION), tek alanlı (atomların manyetik alanlarının birlikte gruplandığı ve hizalandığı bölge) nanoparçacıklardan meydana gelir. Daha da önemlisi, SPION, manyetik anizotropi sergiler yani mıknatıslanmalarının hizalandığı yönü tercih eder. Dış manyetik alanın varlığında, parçacıkların toplam manyetik moment, büyük tek bir manyetik moment gibi alana paralel olarak hizalanır (Sodipo ve Aziz, 2016).

Süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıkları (SPION) 1-100 nm arasında değişen boyutlara sahip ferromanyetik nanomalzemelerdir. Nano boyutlarından dolayı, süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıklarının (SPION) süper paramanyetik özelliğe sahip olması, parçacıkların büyük manyetik duyarlılığa ve tek manyetik alana sahip olmasını sağlar. Süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıkları, boyutları 50 nm'den büyük olan süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıkları (SPION) ve boyutları 50 nm'den küçük olan ultra küçük süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıkları (USPION) olarak ikiye ayrılabilir. Süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıkları (SPION) genellikle magnetit (Fe_3O_4) ve maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) olarak iki şekilde bulunur (Sodipo ve Aziz, 2016).

1.6.2.2 Manyetik Nanoparçacıklarının Yüzey Kaplamaları

Manyetik demir oksit nanoparçacıkları, herhangi bir yüzey kaplama malzemesi yokluğunda geniş bir yüzey alanı-hacim oranına sahip hidrofobik yüzeylere sahiptir. Bu parçacıklar topaklanır ve parçacıklar arasındaki hidrofobik etkileşimlerden dolayı büyük kümeler oluşturur ve bu parçacık boyutunun artmasına neden olur. Bu kümeler daha sonra aralarında güçlü manyetik dipol-dipol çekimleri sergiler ve ferromanyetik davranış sergiler. İki büyük parçacık kümesi birbirine yaklaştığında, her biri komşu parçacığın manyetik alanına girer. Parçacıklar arasındaki çekici kuvvetlerin uyarılmasının yanı sıra, her bir parçacık komşu parçacığın manyetik alanında ve bu durum daha fazla mıknatıslanmaya neden olmaktadır. Karşılıklı mıknatıslanma sonucu kalan manyetik parçacıkların yapışması nedeniyle topaklaşma gerçekleşir. Demir oksit nanoparçacıklarını stabilize etmek için genellikle yüksek yoğunluklu bir kaplama istenir. Nano ölçekli parçacık stabilizatörünün topaklaşmasını önlemek için, hazırlık sırasında genellikle bir yüzey aktif madde veya bir polimer eklenir. Bu polimerlerin çoğu, yüzeye spesifik bir şekilde yapışır. Polimerik kaplamalı malzemeler

sentetik veya doğal olarak sınıflandırılabilir. Sentetik polimerik sistemlerin bazıları şunlardır: polietilen glikol, polivinil alkol, poli (laktik-ko-glikolik asit), polivinilpirolidon, poli (etilen-ko-vinil asetat), vb. Doğal polimer sistemleri; jelatin, kirletici kullanımı, dekstran, kitosan vb. Sulu bir ortamda dağılabilirliği arttırmak için genellikle sodyum oleat, dodesilamin ve sodyum karboksimetil selüloz gibi çeşitli yüzey aktif maddeler kullanılır. Ancak, nanoparçacıklar için kaplama malzemelerini seçerken dikkatli olunmalıdır. Bazı kaplama teknikleri, demir oksit çekirdeklerini korozyondan korumak için, bazıları ise özel uygulamalar için ek kimyasal ve fiziksel işlevlerle tasarlanmıştır. Manyetik nanoparçacık çekirdeklerinin özelliklerine göre, deneysel koşullar birbirinden boyut, çözünürlük ve yüzey kimyasından dolayı farklılık gösterir. Çıplak yüzeyli manyetik demir oksit nanoparçacıkları, van der Waals kuvvetleri ve yüksek enerji yüzeyleri arasındaki güçlü manyetik çekicilik nedeniyle topaklanma eğilimindedir. Sonuç olarak, retiküloendotelial sistem, aglomere edilmiş demir oksit nanoparçacıklarını ortadan kaldırır. Demir iyonlarının yüksek konsantrasyonu, demirin çözünmesinden kaynaklanan organizmalar için de toksiktir. Bu durum, hidrofilik, biyolojik çevre ile uyumlu olarak işlevsel hale getirilen demir oksit nanoparçacıklarının yüzeyinin kaplanmasıyla önlenir. Uygun yüzey kaplaması, belirli bir alanda parçacık lokalizasyonu ile hedeflenebilir toksik olmayan ve biyolojik olarak uyumlu bir iletim sağlar. Şimdiye kadar, bu malzemenin biyouyumluluğunu geliştirmek için birçok çalışma yapılmıştır ancak manyetik nanoparçacıkların kalitesindeki iyileşme, boyut dağılımı, parçacıkların şekli ve yüzeyi ile ilgili çok az sayıda bilimsel araştırma ve geliştirme yapılmıştır. Nanoparçacıkların yüzey kaplamasının ve geometrik düzenlemenin doğası, sadece kolloidin toplam boyutunu belirlemekle kalmaz, aynı zamanda nanoparçacıkların vücuttaki biyokinetiğinde ve biyo dağılımında önemli bir rol oynar. Nanoparçacıklar için kaplama veya türevlendirme işlemleri uygulamaya bağlıdır ve iltihaplanmaya karşı tepkiyi veya antikanser ajanları hedef alır. İlaçlar, proteinler, enzimler, antikorlar veya nükleotitler, manyetik nanoparçacıklara bağlanabilir ve manyetik alan kullanılarak belirli bir bölgede adsorbe edilebilir veya hipertermide kullanılmak üzere alternatif manyetik alanlarda ısıtılabilir. Örneğin, glikonik asit, laktobiyonik asit veya poliakrilik asit, organik çözücü ısıtma yöntemine veya poliol yöntemine kıyasla en etkili çökeltme yöntemiyle literatürde bildirilmiştir. Bu tür nanoparçacıkların dar boyut dağılımı vardır ve suda çözünürlüğü yüksektir. Lipozom kaplama gibi biyolojik kaplamalar nedeniyle nanoparçacıklar doku mühendisliği gibi sayısız biyomedikal uygulamalarda büyük potansiyele sahiptirler. Hidrojen bağı oluşumundan dolayı, bu nanoparçacıklar ayrıca çözeltide hidrodinamik boyut gösterir (Ali ve ark., 2016).

1.6.2.3 Manyetik Demir Oksit Nanoparçacıklarının Kullanım Alanları



Şekil 1.6: Manyetik demir oksit nanoparçacıklarının kullanım alanları

Nano ölçekli sistemler biyolojik, tıbbi ve endüstriyel uygulamalarından dolayı önemli ilgi görmüştür. Demir oksit nanoparçacıkları (IONP'ler), fiziksel özellikleri, manyetik duyarlılıkları, biyouyumlulukları, düşük toksisiteleri, stabiliteleri ve yüzey modifikasyonları için uygun olmaları nedeniyle özellikle biyomedikal ve farmasötik uygulamalar için özel ilgi konusudur (Nosrati ve ark., 2017). Yüksek oranda mıknatıslanma, belirli bir kritik boyutun altında iken süper paramanyetizmaya sahip olması, yüksek spesifik yüzey alanı, kimyasal stabilite, difüzyon hızı, yüksek yükleme kapasitesi ve basit ayırma yöntemleri nedeniyle, manyetik demir oksit nanoparçacıkları çok dikkat çekmiştir (Ali ve ark., 2016, Z.-L.Wang ve ark., 2016, Z. Chen ve ark., 2018).

Nanoparçacıkların yüzey modifikasyonu nanoparçacıkların nano biyomedikal uygulamalarda örneğin manyetik rezonans görüntüleme (MRI) için kontrast madde veya tümör terapisinde hedeflenen ilaç salınımı olarak kullanılmasını sağlar. Ayrıca, harici bir manyetik alanın uygulanmasıyla kolayca kontrol edilebilme kabiliyetleri, farmasötik ajanların kesin bir oranda salınımına, teşhis ve terapi ya da teranostikler için spesifik bir alana izin verir. Ferrit kolloidler, manyetit (Fe_3O_4) ve maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), demir oksit nanoparçacıklarının (IONP) birincil formlarıdır ve vasküler ve tümör görüntüleme, ilaç salınımı, gen tedavisi ve hipertermi için tedavi ve hücrelerin veya moleküllerin kontrast maddelerinin manyetik olarak ayrılması dahil olmak üzere çok çeşitli biyomedikal uygulamalar için kullanılmıştır. Manyetik nano taşıyıcıların geliştirilmesine yönelik çabalar, sitotoksik ilaçların sistemik dağılımını

azaltarak oluşabilecek yan etkileri azaltmak ve daha etkili, lokalize ilaç hedeflemesi yoluyla gerekli dozu azaltmak amacıyla hedefle devam etmektedir (Nosrati ve ark., 2017).

Süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıkları (SPION) biyomedikal uygulamalarda çeşitli özellikler sunar. Birincisi, hücre (10–100 nm), virüs (20–450 nm), protein (5–50 nm) ve gen (2 nm genişliğinde ve 10-100 nm uzunluğunda) gibi bazı biyomedikal sistemlere yerleşirken kontrol edilebilir olmasıdır. İkincisi, süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıklarının (SPION) süper paramanyetik özelliklerinden dolayı, belirli bir vücut alanına ve hedef biyolojik varlıklara harici manyetik alan gradyanı ile manipüle edilebilir olmasıdır. Bu özellik, süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıklarının (SPION) ilaç ve gen iletimi için uygulanmasını sağlar. Üçüncüsü, süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıklarının (SPION) tek alanlı özelliği nedeniyle, 45-47 °C'ye kadar lokalize sıcaklık üretmek için harici AC manyetik alanın varlığında Brownian veya Ne'el dalgalanmalarından oryantasyonel termal dalgalanmalara maruz kalabilen manyetik momentine sahip olmasıdır. Bu ısı, kanser hücrelerini öldürmek için hipertermi tedavisinde kullanılır. Son olarak, süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıklarının (SPION) süper paramanyetik davranışı ve bunun büyük manyetik duyarlılığı, mikroskobik alanın homojen olmamasına neden olur ve dış manyetik alanın varlığında protonların azalmasını aktive eder. SPION'ın başarılı biyomedikal uygulamaları temel olarak biyolojik ortamlardaki stabilitesine bağlıdır. SPION'larının en büyük dezavantajları, yığılma ve biyomoleküller için afinite eksikliğidir. Ayrıca SPION'larında aglomerasyonun nedenleri, yüksek yüzey alanı, Van der Waals çekim kuvvetleri ve parçacıklar arasındaki dipol-dipol etkileşimleri ile ilgili olabilir. SPION'larının biyouyumlu malzemelerle yüzey modifikasyonu, SPION'larının biyomedikal uygulamalarına ulaşmak için kullanılan stratejilerden biridir. SPION'larının yüzeyini değiştirmek için kitosan, glikoz, karboksil ve amin grubu, yüzey aktif madde, polimer ve inorganik malzemeler (silika veya altın) gibi bir dizi malzeme kullanılabilir. Bu malzemeler, elektrostatik çöküntü veya sterik stabilizasyon yoluyla süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıklarının topaklaşmasını önler (Sodipo ve Aziz, 2016).

Manyetik nanoparçacıkların olası uygulamalarıyla birlikte kullanıldıkları bazı alanlar Tablo 1'de özetlenmiştir (Ali ve ark., 2016).

Tablo 1.1. Manyetik nanoparçacıkların kullanım alanları (Ali ve ark., 2016).

ALANLAR	MANYETİK NANOPARÇACIKLARIN UYGULAMALARI
BİYOMEDİKAL	Manyetik hipertermi, MRI kontrast maddesi, manyetik ayırma, kontrollü ilaç salınımı, hücresel terapi, hücre etiketleme, doku onarımı, hücre ayrılması ve hücrelerin taşınması, hücre popülasyonlarının arındırılması, manyetofeksiyonu için manyetik nanoparçacıklar (özellikle lipozomlarla kaplanmış) kas-iskelet sistemi hastalıkları, şiddetli inflamasyon, sakatlık ve ağrı tedavisinde.
SAĞLIK HİZMETİ	Kemoterapide terapötik hedefler (kanser ve tümör); nano ölçekli biyosensörler ve görüntüleme; yüzeylerde nano kaplamalar; implant; aşılama için nano taşıyıcılar; antimikrobiyal aktiviteler; ilaç salınımı ve araştırmalarında SLN; kanser tedavisi için nabız lazerler ile nano fototermoliz, hepatit B virüsü, solunum sinsit virüsü, grip virüsü, HIV-1, maymun çiçeği virüsü, herpes simpleks virüsü tip 1 ve Tacaribe virüsüne karşı antiviral ajanlar; belirli bir hastalık için antijenlerin kan dolaşımına verilmesi; cildin yaşlanmasını önlemede.
TARIM VE GIDA	Nano bazlı ürünler (nanofertilizatörler, nanofungisitler, nanopestisitler), tasarlanan nanoparçacıklar ve karbon nanotüpler (CNT) verimi artırır; Pirit (FeS_2) nanoparçacıkları, tohum ekmeden önce çeşitli bitkiler için bir tohum muamelesi (gübre önleyici) olarak kullanılır. Bitki büyümesi üzerinde olumsuz bir etkisi yoktur. Nano sensörler, nano ürünler, kapsülleme, gıda ambalajları, nano kaplamalar, hassas tarım (uzaktan algılama cihazları), nano kompozitler, gen aktarımı ve nano gözenekli membranlar.

ÇEVRESEL İYİLEŞTİRME	Kirliliğin önlenmesi (tespit, izleme ve iyileştirme), atık su arıtma (geçirgen reaktif bariyerler, membran filtrasyonu, adsorpsiyon), iklim değişikliğinde (karbon yakalama), CO ₂ tutumu için yapay yaprak, mineral karbonasyon, biyomimetrik karbonasyon, N ₂ O ayrışmasında ve metan yanmasında kullanılan Paladyum (Pd) gibi katalizör kaplamalarda, üretim süreçlerinde verimlilik, atık azaltmada, algılama (kirletici sensörler, nano gözenekli membranlar, kimyasal ve biyonanosensörler, patlayıcı nanotel sensörü) ve enerjiyi geliştirmede.
ENERJİ	Fotovoltaik film kaplamaları, yakıt üretim ve tüketiminde verimlilik, yakıt hücreleri ve piller, enzimlerin nanoteknoloji mühendisliği, termoelektrik malzemeler ve prototip güneş panelleri, piller, aerogeller, bilgisayarlarda, otomobillerde, evlerde, santrallerde kullanılabilir elektrik gücü vb.
SAVUNMA VE HAVACILIK	Nanokompozitler, nano kaplamalar, sensörler ve elektronikler, yakıt katkı maddeleri ve enerji cihazları ve akıllı malzemeler
İNŞAAT	Nano kaplamalar, nanokompozitler, nano ölçekli sensörler, akıllı malzemeler ve betona katkı maddeleri. Demir oksit pigmentleri beton, tuğla, fayans ve diğer inşaat malzemelerinin boyanmasında kullanılır.
OTOMOTİV	Katalizörler ve yağlayıcılar, nano kaplamalar, yakıt hücreleri, kompozit dolgu maddeleri ve akıllı malzemelerdeki katkı maddeleri.
TEKSTİL	Sensörler, nanolifler, kaplamalar ve akıllı malzemeler
ELEKTRONİK	Basılı elektronikler, karbon nanotüpler, nano ölçekli bellek, nanoteller, NEMS, spintronikler ve kuantum noktaları

1.6.2.4 Manyetik Demir Oksit Nanoparçacıklarının Sentezi

Manyetik demir oksit nanoparçacıkları, ıslak kimyasal, kuru işlemler veya mikrobiyolojik teknikler gibi çeşitli yöntemlerle hazırlanır. Kısaca, demir oksit nanoparçacıkları aşağıdaki üç yöntemle sentezlenebilir (Ali ve ark., 2016):

1. Fiziksel yöntemler: Süper paramanyetik demir oksit nanoparçacık üretmenin fiziksel yöntemi, büyük bir parçacığın nanoparçacık boyutlarına parçalanmasını içeren bir yaklaşımdır. Fiziksel yöntem olarak toz ve bilyeli öğütme yöntemi ve Elektron Işını Litografi yöntemleri kullanılır. Her ne kadar fiziksel yöntem büyük ölçekli üretim için uygun olsa da, nanometre aralığındaki parçacıkların boyutları fiziksel yöntemle kolayca kontrol edilemez (Sodipo ve Aziz, 2016, Ali ve ark., 2016).

2. Biyolojik yöntemler: Biyolojik yöntem, nanoteknolojiyi nanoparçacıkların sentezi için mikrobiyal biyoteknoloji ile birleştiren yeşil bir kimya prosesidir. Mantar, bakteri, virüs gibi bazı mikroorganizmaların SPION sentezi için kullanılmaktadır. Mikroplar, çözünebilir toksik inorganik iyonların çözünmeyen toksik olmayan metal nanoklulara indirgenmesi veya çökeltmesi yoluyla SPION'u sentezlemek için kullanılabilir. Büyük ölçüde, biyolojik yollarla sentezlenen SPION manyetittir. Parçacıkların detoksifikasyon ve sentezi, intra veya hücre dışı üretim yoluyla yapılabilir. Bununla birlikte, hücre içi üretimde, nanoparçacıkları serbest bırakmak için ultrason tedavisi ya da uygun deterjanlarla reaksiyon gibi ilave bir işlem gereklidir. Bu yolla sentezlenen SPION, biyomoleküller ile kuvvetlice kaplanır. Bu nedenle, sentezlenen SPION'un dış manyetik alana karşı oldukça hassas olması için kalsine edilmesi (ısıl işlem) gerekir. Boyutları 10 ile 100 nm arasında değişen SPION, sıcaklık, basınç, pH ve inkübasyon süresi gibi parametrelerin kontrolü yoluyla üretilir. SPION'u sentezlemenin bir başka biyolojik yöntemi, demir kaynaklarını SPION'a indirmek için ayrılmış ekstraktlarının kullanılmasıdır. Ekstreler temel olarak hem indirgeyici hem de kaplama maddesi olarak işlev görür. Sonuç olarak, bu yolla üretilen SPION, kimyasal birlikte (ortak) çökeltme yöntemine kıyasla daha düşük doygunlukta mıknatıslanma taşır (Sodipo ve Aziz, 2016).

3. Kimyasal yöntemler: SPION üretmenin kimyasal yöntemi malzeme bileşenlerinin atomlarının veya moleküler varlıklarının çözelti veya gaz fazında yoğunlaşmasını içerir. Sentez ortamına dayanarak, kimyasal yöntemler ıslak kimyasal (sıvı faz) ve gaz faz yöntemi olarak sınıflandırılabilir. Sıvı faz tekniği, solvent ortamında kimyasal reaksiyonlarla

SPION'un üretilmesini gerektirir. Gaz fazı, gaz fazı ortamındaki SPION'un çekirdekleşmesine dayanır (Sodipo ve Aziz, 2016).

Bu yöntemler, nanoparçacıkların boyutunun, bileşiminin ve hatta şeklinin yönetilebildiği basit, izlenebilir ve verimli yöntemlerdir. Demir oksitler, bir baz ilavesiyle Fe^{2+} ve Fe^{3+} 'un birlikte çökeltmesiyle sentezlenebilir. Kimyasal yöntemlerle sentezlenen demir nanoparçacıkların boyutu, şekli ve bileşimi kullanılan tuzun türüne, Fe^{2+} / Fe^{3+} oranına, pH ve iyonik kuvvetine bağlıdır (Ali ve ark., 2016).

Kimyasal yöntem, SPION üretmek için en çok kullanılan yöntemdir (Sodipo ve Aziz, 2016).

1.6.2.4.1 Hava ve N_2 Atmosferinde Süperparamanyetik Demir Oksit Nanoparçacıklarının Sentezi

Manyetik nanoparçacıklar, hidrotermal sentez, termal ayrışma, mikroemülsiyon veya birlikte (ortak) çökeltme gibi farklı yollardan sentezlenebilir. Bunlar arasında birlikte (ortak) çökeltme yöntemi, düşük sıcaklık, kısa tepkime süresi ve yüksek tepkime verimi gibi elverişli tepkime koşulları nedeniyle en popüler yöntem olarak kabul edilir. Genellikle, sulu Fe^{2+} / Fe^{3+} tuz çözeltilerinin çökeltmesi inert atmosfer koşullarında gerçekleştirilir. Öte yandan, birlikte çökeltme, sulu faz biyoyumlu manyetik nanomalzemelerin sentezlenmesi için kolay, hızlı ve ucuz bir yöntemdir; bu, en çok tercih edilen yöntem olmasının nedenlerinden biridir. Parçacık büyüklüğü dağılımı ve stabilitesi birlikte (ortak) çökeltme yönteminde sınırlı olduğundan, son yıllarda farklı gruplar tarafından birçok parametre araştırılmıştır. Manyetik demir oksit nanoparçacıklarının kararlılığını korumak kritik önem taşıdığından, uygun yüzey kaplaması ve etkili koruma stratejileri kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Çökeltme ortamının iyonik kuvvetini değiştirerek, optimize edilmiş parçacık büyüklüğü dağılımı ve daha iyi stabilite elde edilebilir. Bununla birlikte, monodispers demir oksit nanoparçacıklarının sentezi, birlikte (ortak) çökeltme metodu ile hala sağlanamamıştır. Bu çoklu dağılma problemini çözmek için, bir demir prekürsörünün yüksek sıcaklık organik faz ayrışması veya poliol sentezi gibi alternatif sentez teknikleri araştırılmıştır. Bununla birlikte, bu hidrofobik nanoparçacıklar, biyomedikal kullanımlar için daha fazla yüzey modifikasyonu gerektirir. Ayrıca, bu yöntemler birlikte (ortak) çökeltme yönteminden daha pahalı ve zaman alıcı işlemlerdir. SPION'lar inert atmosfer yerine hava ortamında da elde edilebilir. Daha önce Fe^{2+} ve Fe^{3+} iyonlarının molar oranını değiştirerek ve bazın hava atmosferinde yoğunlaşmasıyla mıknatıslanma ve parçacık büyüklüğünü değiştirilebildiği yapılan çalışmalarda gözlenmiştir.

Kullanılan baz değiştirilerek daha küçük parçacık boyutunun ve gelişmiş manyetik özelliklerin elde edilebileceği de gözlenmiştir. Ayrıca, sıcaklık ve Fe^{2+} / Fe^{3+} oranının parçacık büyüklüğü ve manyetik özellikler üzerindeki etkileri de incelenmiştir. Önceki çalışmalarda, sadece bir veya iki parametre birlikte ele alınmıştır. Bununla birlikte, her bir faktörün birlikte (ortak) çökeltme üzerindeki etkisini tanımlamak, optimum koşulları belirlemek için yeterli değildir. Farklı koşullarda demir tuzu konsantrasyonları, pH ve iyon gücü oranının, SPION'ların boyutunu, boyut dağılımını, kristalliliğini ve geometrisini etkilediğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, alternatif bir sentez yolu olarak birlikte (ortak) çökeltme yöntemi, uygun miktarda tuz (örneğin, Na_2SO_4 tuzu) ve hava atmosferi ve oda sıcaklığında uygun demir tuzu oranı eklenerek optimize edilebilir. Bu optimize edilmiş koşullar, SPION'ların önemli bir özelliği olan sulu fazda yüksek doygunluk mıknatıslanma değeri olan küresel monodispers demir oksit nanoparçacıkları üzerinde etkili olmuştur (Alp ve Aydoğan, 2016).

1.6.2.5 Manyetik Nanoparçacıkların Klik Modifikasyonu

Katalitik reaksiyonlar, kimya endüstrisinin gelişmesini desteklemede kritik bir role sahiptir. Birçok katalizörün pahalı olması ve çevreyi kirletmesi nedeniyle, katalizörlerin tekrar kullanılması için iyi planlanmış süreçlerin geliştirilmesi ekonomik açıdan çok önemlidir. Bu sorunu ele almanın bir yolu, homojen katalizörlerin immobilizasyonu için katı desteklerin kullanılmasıdır. Destek seçimi, katalitik etkinliği etkilediği için kritiktir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, süperparamanyetik davranışı olan manyetik nanoparçacıklarının, katalizörlerin hareketsiz hale getirilmesi için uygun destekler olduğunu ve katalizörlerin, harici bir manyetik alan ile reaksiyon karışımlarından izole edilmesini kolaylaştırdığını göstermiştir. Manyetik nanoparçacıkların yüzeyinin işlevselleştirilmesi, manyetik olarak geri dönüştürülebilir heterojen katalizörlerin hazırlanmasında iyi bilinen bir yöntemdir. Homojen katalizörler, manyetik nanoparçacıkların yüzeyi üzerindeki uygun bağlayıcılar veya ligandlar yardımı ile hareketsizleştirilebilir. Katı desteklerin kovalent işlevselliği için etkili yöntemlerden biri, klik kimyası yaklaşımının uygulanmasıdır. Klik reaksiyonları, yeni fonksiyonel materyaller elde etmek için çeşitli grupları birleştirmek için uygulanır. Çeşitli klik prosesleri arasında, tiyol-en klik reaksiyonları, malzeme biliminde büyük dikkat çekmiştir. Tiyol-en klik reaksiyonları, bir kök mekanizması ile $S - H$ gruplarının $C = C$ ikili bağlarla reaksiyonunu içerir (Masteri- Farahani ve Shahsavari, 2017).

1.6.3 Nano İlaç Salınım Sistemleri

Genel olarak, nano boyutlu ilaç salınım sistemleri (DDS), ilacı taşıyıcıya bağlanmış veya yüklenmiş olarak taşıyabilecek boyutları en az 8 ile 100 nm arasında değişen makromoleküllerdir. Nano boyutlu ilaç salınım sistemlerinde (DDS) toksik olmayan, immünojenik olmayan ve biyouyumluluk gösteren malzemeler kullanılır (Etrych ve ark., 2018). Polimerik nanoparçacıklar, manyetik nanoparçacıklar, lipozomlar, karbon nanotüpleri, kuantum noktaları, dendrimerler, metalik nanoparçacıklar, vb. nano farmasötikler olarak adlandırılabilir çeşitli farmasötik nanoteknoloji bazlı sistemler geliştirilmiştir (Chavda, 2019).

Nano ilaç salınımı, terapötiklerin tümör hücrelerindeki salınımında başarılı bir strateji olarak ortaya çıkmıştır. Bu teknoloji, kanser hücrelerinin gelişigüzel şekilde bölünmesinin ve kontrolsüz bir şekilde büyümesinin önüne geçerek kötü huylu tümörlerin vücudun diğer bölgelerine yayılmasını önlemektedir (Rouhollah ve ark., 2013).

Hibrit ilaç salınım sistemleri, biyosensörler, uyarıcılara duyarlı ilaç salınımı, kataliz, biyolojik görüntüleme ve diğer birçok biyomedikal alan gibi farklı alanlarda ağırlıklı olarak geniş bir uygulama alanı bulmuşlardır (Mousavi ve ark., 2018). Manyetik alanda tümör bölgesine hedeflenebilen manyetik nanoparçacıklar, kanser terapisinde son yıllarda önem kazanmıştır. Bu nanoparçacık (NP) sınıfı, biyouyumlu kaplamalar ile kolayca değiştirilebilen ve terapötik maddelerle yüklenebilen reaktif bir yüzeye sahip metalik, bimetalik ve süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklarını içerir (Rouhollah ve ark., 2013).

1.6.3.1 Metal Bazlı Nano İlaç Salınım Sistemleri

Metalik yapılar geliştirmek için altın, gümüş, paladyum, platin, demir ve çinko oksit gibi çeşitli metaller kullanılmıştır. Metalik nano yapılar, çeşitli antijenlerin ve DNA'nın tespiti için biyosensör yapımında ve görüntülemede, teşhis ve terapötik platformlar için kontrast problemleri gibi biyomedikal uygulamalarda uzun süredir kullanılmaktadır (Rana ve Sharma, 2019). İnorganik nanoparçacıklar, özellikle manyetik demir oksitler, kullanım kolaylığı, biyouyumluluk, uygun yüzey kimyası gibi benzersiz özellikleri nedeniyle manyetik destekli ilaç salınımı, manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır (Abbasi Aval ve ark., 2016).

Boyut olarak benzersiz olmaları, manyetik nanoparçacıkların hücrelere nüfuz etmesini mümkün kılar (Mishra ve ark., 2019). Ek avantajları, hastaya aktif veya pasif hedefleme ile optimum dozu sağlama, kolay kullanım ve dış manyetik alanla görselleştirmedir (Chavda, 2019).

Manyetik nanoparçacıklar hedeflenen bölgeye yakın enjekte edildiğinde, nanoparçacıkları manyetik olarak istenen konuma yönlendirmek için yüksek güçlü bir manyetik alan açılır. Nanoparçacıklar difüzyon yoluyla salınır, ilacın ve nanoparçacığın doğrudan konjügasyonu, aminler, karboksilik asit, aldehit veya tiyol gibi organik bağlayıcıların etkisini gerektirecek şekilde zayıf olabilir. Bu bağlayıcılar, bağlanma üzerine salınımın gerçekleşmesine izin verecek şekilde kansere özgü belirteçlerin aktif olarak hedeflenmesine izin verir. Pasif salım için, nanoparçacık kümeleri hedeflenen dokulara bağlanmaya veya nüfuz etmeye başlar ve yüklerini difüzyon yoluyla serbest bırakır (Kohrs ve ark., 2018).

Bu uygulamaların çoğu nanoparçacıkların kimyasal olarak stabil olmalarını, boyut olarak tek biçimli olmalarını ve sıvı ortamda iyi dağılmalarını gerektirir (Abbasi Aval ve ark., 2016).

Manyetik nanoparçacıklar nanoparçacık aglomerasyonunu (süper paramanyetik özelliklerinin bir sonucu) önlemek için kaplanabilir, veya polimerik kaplamalarla modifiye edilebilir (Abbasi Aval ve ark., 2016). Polietilen glikol, dekstran veya kitosan gibi hidrofilik polimerler ile biyouyumlu yüzey kaplamaları, kolloidal stabiliteyi arttırmak ve manyetik nanoplatformların dolaşım kinetiğini artırmak için manyetik nano taşıyıcı sistemlerde kullanılmaktadır (Balan ve ark., 2015).

Biyomedikal alanlarda manyetik ve antiferromanyetik demir oksit nanoparçacıklarının kullanımı kırk yıl öncesine dayanmaktadır. Doğada demirin biyo jeokimyasal döngüde önemli bir yeri vardır (Sangaiya ve Jayaprakash, 2018).

Manyetit (Fe_3O_4), maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) ve hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) manyetik özelliklerinden dolayı biyomedikal uygulamalar için en sık kullanılan manyetik nanoparçacıklarıdır (Shah ve ark., 2018).

Farklı nanoparçacık türleri arasında hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) doğal ve çevre dostu olarak kabul edilir. $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (hematit) demir oksidin spesifik bir nanoparçacık olarak seçilmesinin nedeni düşük maliyetli olması ve toksik olmamasıdır (Sangaiya ve Jayaprakash, 2018).

Fe_3O_4 , tüm Fe^{2+} iyonlarının oktahedral alanlarda ve Fe^{3+} iyonlarının tetrahedral ve oktahedral alanlarda bulunduğu ters bir spinel yapısına sahiptir (Farazi ve ark., 2018). Fe_3O_4 nanoparçacıkları, kolay hazırlama yöntemi, yüksek manyetik özellikleri ve iyi biyouyumluluk gibi özellikleri nedeniyle hedefli ilaç salınımı için uygun bir aday olmuştur (Hosseinzadeh ve ark., 2018).

Bununla birlikte, Fe_3O_4 nanoparçacıkları, yüzey enerjilerini azaltmak için kümeler halinde toplanma eğilimindedir ve sonuç olarak suda zayıf bir dağılım gösterirler. Bunun yanı sıra Fe_3O_4 manyetik nanoparçacıklarındaki Fe^{2+} iyonlarının biyolojik sistemlerde oksitlenmesi de manyetizma kaybına neden olabilir. Bu durum, Fe_3O_4 nanoparçacıklarının ilaç taşıyıcıları olarak uygun olmadığı anlamına gelir. İlaç salınım uygulamaları için manyetik nanoparçacıklar, yüksek manyetik özellik gösterebilmeleri için biyouyumluluklarını ve stabilitelerini sağlayan maddeler ile işlenmelidir. İlaç moleküllerine bağlanma için çeşitli fonksiyonel gruplar oluşturulabilir ve biyouyumlu polimerlerin Fe_3O_4 nanoparçacıklarının yüzeyine aşılmasıyla stabilite artırılabilir (Hosseinzadeh ve ark., 2018).

1.6.3.1.1 Demir Oksit Nanoparçacıklarının Antikanser Aktivitesindeki Rolü

Demir oksidin manyetik özelliği, emici dokulardaki demir oksit nanoparçacıkları ile etiketlenmiş organların görüntülenmesini sağlayan T2 spin azalmasına neden olur. Merkezi sinir sistemindeki çeşitli tümörler, hücreler ve dokular SPION'lar ile etkili bir şekilde perfüze edilebilir. SPION'lar, inranostik ve terapötik uygulamalar için uygun platformlar da oluştururlar. IONP (manyetik demir oksit)'lerin manyetik özelliklerinden faydalanılarak çeşitli kanser tedavileri de dahil olmak üzere, hedeflenen ilaç salınımı için terapötikler geliştirilmeye çalışılmıştır. IONP'lerin yüzeyi, daha uzun dolaşım süresi ve dolayısıyla neovaskülatürün sızan doğasının neden olduğu gelişmiş geçirgenlik ve tutma etkisi nedeniyle tümör dokularında daha fazla nanoparçacığın birikmesini sağlamak için tasarlanabilir. Tümör hücresindeki SPION birikimi, dış manyetik alanda yönlendirilebilir. Bununla birlikte, SPION'ların yüzeylerine tümöre özgü hedef kısımların eklenmesi, tümör hücresindeki nanoparçacıkların birikimlerini daha da geliştirebilir ve hedef dışı etkileri azaltabilir. Bazı IONP'ler, manyetik alan değişikliğinden dolayı hipertermi oluşturabilir. Bu özellik, kanser hücrelerinin ısı ile doğrudan ortadan kaldırılmasına ek olarak, ikincil tümörleri ortadan kaldıran tümöre özgü bir bağışıklık tepkisine olanak sağlayabilmesi nedeniyle kanser tedavisine ek bir fayda sağlar (Shah ve ark., 2018).

1.6.3.1.2 Antimikrobiyal Aktivitede Demir Oksit Nanoparçacığın Rolü

Nanoparçacıkların antibakteriyel ajanlar üzerindeki rolü, insan konakçı hücrelerine zarar vermeyen bazı bakteri türlerini öldürmektir. Bu bakteri türleri arasında *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* demir oksit nanoparçacıklarına yanıt verir. Yapılan son çalışmalar demir oksit nanoparçacıklarının çeşitli mikroorganizmalara karşı ticari ilaçtan daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiğini kanıtlamıştır fakat etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Demir oksit doğrudan antibakteriyel etki göstermez, ancak nanopartikül formun antibakteriyel yönlerini sergiler. Ayrıca, içme suyu örneklerinden mikroorganizmaların saptanmasında düşük konsantrasyonda demir oksit nanoparçacıklarının daha etkili olduğu bulunmuştur. Hematitte konvansiyonel manyetit nanoparçacıklarına kıyasla daha fazla antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir (Sangaiya ve Jayaprakash, 2018).

1.6.3.1.3 Demir Oksit Nanoparçacıklarının Toksisitesi

Manyetik nanoparçacıklar için esas sorun, reaktif oksijen türlerinin (ROS) katalitik üretiminden kaynaklanan kimyasal toksisitedir. Manyetitin kristal yapısı iki Fe^{3+} ve bir Fe^{2+} 'ye sahip olduğundan, bu iki demir iyonunun hücre içinde çözünmesi Fenton ve Haber-Weiss yükseltgenme - indirgenme yollarının yanı sıra diğer organik radikal yoluyla katalitik ROS üretimini başlatabilir. Süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi hücre içi antioksidatif kompleksler radikal türlerin oluşumunu engeller. Bununla birlikte, hücre içindeki taneciklerin oksidasyonu, bir hücrenin antioksidan kapasitesine ulaşmada aşırı yüklenme olduğunda ortaya çıkar. Yeterli geri dönüşümsüz hasar meydana gelirse, hücre apoptozu başlayabilir ve sonuçta hücre ölümü gerçekleşebilir. Kovalent olarak bağlanmış veya yüzeye adsorbe edilmiş kaplamalar, kaplanmamış demir oksitler üzerinde koloidal stabiliteyi arttırmaya yarar ve nanoparçacıkların in vitro çökmesine bağlı mekanik toksisitenin azaltılmasına yardımcı olur. Ayrıca bu kaplamalar metal oksitlerin çözünme hızını azaltmaya yarayabilir (Shi ve ark., 2015).

1.6.3.1.4 Biyokonjugasyon

Nanoparçacık sistemlerinin işlevselliği, yüzey konjugasyonu ve kaplama ile elde edilebilir. Fe_3O_4 nanoparçacıkları için yüzey kaplama, hedefleme, görüntüleme ve terapötik ajanların kovalent bağlanması için uygun fonksiyonel gruplar sağlanmasında önemli bir rol oynar. Nanoparçacıklar ve terapötik ilaçlar; misel yapılar, polimerik kaplamalar veya silikon dioksit

tabakaları ve fonksiyonel gruplar gibi seramikler içinde kapsüllenebilir. Biyolojik konjugasyon, birincil veya ikincil amini bir amid bağı oluşturan bir karboksilat grubunun alfa karbonuna kovalent olarak bağlamak için 1-etil-3- (3-dimetilaminopropil) karbodimid hidroklorür (EDC) veya disikloheksilkarbodiimid (DCC) gibi sıfır uzunluklu çapraz bağlayıcıların kullanılmasıyla kolayca gerçekleştirilebilir. Dolayısıyla, kaplanmış Fe_3O_4 nanoparçacık yüzeylerinin, uygun çapraz bağlama için amin veya karboksilat gruplarıyla doldurulması uygundur. Bu, bir dizi biyolojik ve biyolojik olmayan türün, N-hidroksisüksinimid (NHS) birleştirme ajanlarının dikkatli bir şekilde seçilmesiyle kuantum dot, floresan boya, antikor ve biyotin yüzey fonksiyonelleştirmesinin oluşturulması için nanoparçacık yüzeylerine kolayca konjuge edilmesine olanak tanır (Shi ve ark., 2015).

1.6.4 Nano İlaç Salınım Sistemi Avantajları

Nanoparçacık ilaç salınım sistemlerinin işlevini ve performansını belirleyen özellikler (Çalış ve ark. 2019):

1. Aktif bileşenin varlığı ve konsantrasyonu (küçük veya büyük moleküler ağırlık) (Chavda, 2019);
2. İlacın, katkı maddesinin veya taşıyıcının yüzey özellikleri;
3. İlacın, katkı maddesinin veya taşıyıcının kimyasal bileşimi;
4. Varsayılan hedef bölgeler (subselüler veya hücresel);
5. Fiziksel formülasyon (katı veya sıvı);
6. Uygulama yolu

Nano ilaç salınım sistemlerinin avantajları ise şu şekilde sıralanabilir:

1. Nano ilaç salınımı, ilaç polimerik matrikse gömülü olduğu için ilacı bozunmaya karşı korur.
2. Bir nano boyutlu parçacık ile, ilacın biyoyararlanımı, çözünürlüğü ve çözünme hızını nano ilaç salınımı ile artırılır.
3. İlaç geçirgenliği mukoadhezyon ile geliştirilmiştir.

4. İlaç stabilitesini arttırdığı için doz ihtiyacı azaltılır.
5. Çoğu çözünmeyen ilaç, farklı nano bazlı ilaç salınım teknikleriyle hedef bölgeye verilebilir.
6. İlacın biyolojik yarı ömrü artar.
7. Ağızdan etkili bir şekilde kullanılmayan ajanların oral biyoyararlanımı arttırılır.
8. İlaç molekülünün reaktif doğası azaltılır.
9. İlaç direnci azalır.
10. Aktif ilaç hedeflemesi ve bölgelere özgü salınım nedeniyle ilaç toksisitesi de azalacaktır.
11. Gastrointestinal sistemdeki ilaç stabilitesi iyileştirilir.
12. İlacın klirensi azalır.
13. Kontrollü salınım, nano ilaç salınımı yoluyla sağlanabilir.

1.6.5 Nano İlaç Salınımının Zorlukları

Her ne kadar ilaç salınımında nanoteknoloji başarılı olsada, piyasadaki bazı nano ilaç ürünlerinde aynı başarıya ulaşılamamıştır. Geliştirilmekte olan yeni nanomalzemeler aşılması gereken zorluklarla karşı karşıyadır. Nanomateryallerin ilaç salınımı için araştırma ve geliştirme (Ar-Ge) ile ilgili bir diğer zorluk da büyük ölçekli üretilmesidir. Üretim yöntemi, süreci ve kullanılan malzemelerin yüksek maliyeti nedeniyle bir dizi nano ilaç salınım teknolojisi ölçeklendirilemeyebilir. Nanomalzemelerin büyüklüğünü ve kompozisyonunu büyük ölçekte tutmak da bir zorluktur. Nano ilaç salınım teknolojisindeki ilerlemeler, düzenleyici kontrol için yeni zorluklar da getirmektedir (Rana ve Sharma, 2019).

Nano ilaç salınım sistemlerinde karşılaşılan diğer zorluklar ise şunlardır (Chavda, 2019):

1. Kapsüllenmiş ilacın sızması ve füzyonu kapsüllenmiş nano taşıyıcıların çoğunda gözlenir.
2. Yarı ömrü, nanoparçacıkların üretilmesinde kullanılan polimerik malzemenin kimyasal ve fiziksel dengesizliği nedeniyle kısa ömürlüdür.
3. Düşük yükleme kapasitesi ilacın lipid içindeki çözünürlüğü ve lipid matrisinin yapısı ve polimorfik hali nedeni ile sınırlıdır.

4. Bazı durumlarda kullanılan nanoparçacık ilacın salınımını sınırlandırır.
5. Üretim, araştırma ve geliştirme maliyetleri yüksektir.
6. Birçok nano ilaç salınım sisteminde sitotoksikite gözlenir.

1.7 İlgili Literatür Işığında Çalışmanın Önemi

Antrasiklinler ve taksanlar bazı katı tümörlerin tedavisinde kullanılan en etkili ilaçlardır. Antrasiklinler, DNA ve topoizomera II ile kompleksler oluşturarak antikanser etki göstermektedir. Taksanlar mikrotübül komplekslerini stabilize eder ve mikrotübül polimerizasyonunu aktive eder. Bunlar arasında paklitaksel ve doksorubisin en sık kullanılan ilaçlar arasındadır (Y. Wang ve ark., 2014). Doksorubisin (DOX) ve paklitaksel (PTX), çeşitli katı tümörlere karşı mükemmel anti-tümör etkinliği nedeniyle klinik uygulamalarda en çok reçete edilen geleneksel kemoterapötik ajanlardır (Ma, Fan ve Li, 2016). İlaç etki mekanizması, iki farklı ilacın kombinasyonunu mümkün kılar. Paklitaksel ve doksorubisin ilaç kombinasyonu, birçok katı tümörün birinci basamak tedavisinde olumlu ve aktif etki göstermektedir (Y. Wang ve ark., 2014).

DOX, DNA'lara bağlanma ve nükleik asit sentezini inhibe etme gibi özelliklere sahip bir antrasiklin antibiyotiktir. Bununla birlikte, DOX'un klinik uygulaması, doza bağlı kardiyotoksikite, miyelosupresyon, nefro toksikite ve çoklu ilaç direncinin gelişimi gibi yan etkiler nedeniyle sınırlamalar gösterir (Ma, Fan ve Li, 2016).

Paklitaksel (PTX), yumurtalık kanseri tedavisi için ilk anti-neoplastik ilaç olarak önem kazanmıştır (Bhatt ve ark., 2017). Paklitaksel (PTX), meme kanseri, akciğer kanseri, kolon kanseri ve yumurtalık kanseri dahil olmak üzere çeşitli kanserlerin tedavisinde hiperstabilizasyon ile çok etkilidir (X. Wang ve ark., 2018).

PTX, hücre bölünmesi sırasında mikrotübüllerin depolimerizasyonuna müdahale ederek ve apoptozu indükleyerek çeşitli tümörlere karşı belirgin bir anti-tümör aktivitesine sahiptir (Y. Chen ve ark., 2018). PTX'in anti-tümör mekanizması, mikrotübüllerin salınmasını önlemektir, böylece hücre mitozunu önleyerek tümör hücrelerinin ölümüne yol açmaktadır (Du ve ark., 2018).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu tez çalışması için kullanılan kimyasal maddeler aşağıda listelenmiştir.

Demir (II) sülfat heptahidrat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

Satın alınan firma adı: Sigma Aldrich

Molekül ağırlığı: 278.01 g/mol

Saflık derecesi: $\geq$ % 99.0

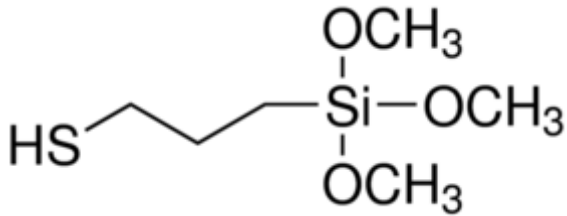
Demir (III) klorür (FeCl_3)

Satın alınan firma adı: Sigma Aldrich

Molekül ağırlığı: 162.20 g/mol

Saflık derecesi: $\geq$ % 99.99

3-Merkaptopropiltrimetoksisilan ($\text{HS}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OCH}_3)_3$)

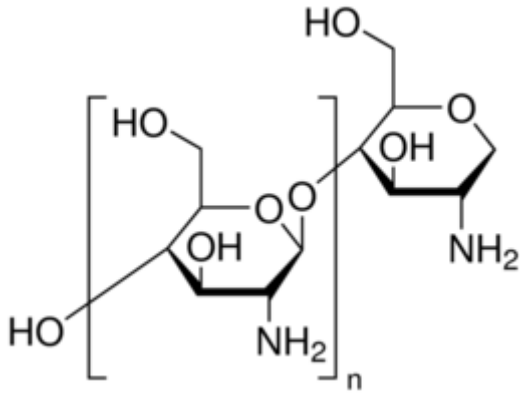


Satın alınan firma adı: Sigma Aldrich

Molekül ağırlığı: 196.34 g/mol

Saflık derecesi: % 95

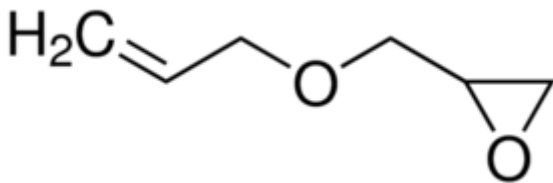
Kitosan ($\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_4$)_n



Satın alınan firma adı: Acros Organics

Molekül ağırlığı: 600,000-800,000 g/mol

Allil glisidil eter (C₆H₁₀O₂)



Satın alınan firma adı: Sigma Aldrich

Molekül ağırlığı: 114.14 g/mol

Safılık derecesi: $\geq$ % 99

Amonyak (NH₃)

Satın alınan firma adı: Sigma Aldrich

Molekül ağırlığı: 17.03 g/mol

Safılık derecesi: $\geq$ % 99.95

Etil alkol (C₂H₅OH)

Satın alınan firma adı: Sigma Aldrich

Molekül ağırlığı: 46.07 g/mol

Saflık derecesi: % 95.0

Aseton (CH_3COCH_3)

Satın alınan firma adı: Sigma Aldrich

Molekül ağırlığı: 58.08 g/mol

Saflık derecesi: $\geq$ % 99.5

Asetik asit ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$)

Satın alınan firma adı: Merck

Molekül ağırlığı: 60.05 g/mol

Saflık derecesi: $\geq$ 99.8 %

2.2 Araştırma Araçları

Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spektroskopisi (Perkin–Elmer firmasına ait Spectrum 100 ATR-FTIR spektrofotometre cihazı)

Termal Gravimetrik Analiz (TGA) Cihazı (Perkin Elmer Pyris 1 model)

Taramalı Elektron Mikrokobu (SEM) (Phillips XL 30 ESEM-FEG/EDAX model)

Nano-PSA/Zeta (Brookhaven 90Plus Nano Partikül Boyut / Zeta Potansiyel Analiz Cihazı)

Mercury-VX 400 BB model çok çekirdekli NMR spektrometresi

Santrifüj: Sigma, 3K 30 Yüksek devirli, soğutmalı (A.B.D.)

Hassas Terazî: Sartorius Analytic, A200S $\pm 0,0001$ (Almanya)

Vorteks Karıştırıcı: Fisons, Whirlimixer (İngiltere)

Destile Su Cihazı: Millipore, Rios-DI UV (A.B.D.)

Etüv: Genlab, midi/2/AL (0-100) (İngiltere)

Vakumlu Etüv (Mettler marka)

Ultrasonik Banyo

Fotoreaktör (Luzchem marka (Seri no: 249))

2.3 Deneysel Yöntemler

2.3.1 Fe₃O₄ Manyetik Nanoparçacıklarının (MNP) Hazırlanması

2.3.1.1 Fe₃O₄ Nanoparçacıklarının Sentezi

Literatürde Fe₃O₄ nanoparçacığının çok farklı yöntemlerle sentezi görülmektedir (Rajput ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2020). Bu yöntemler arasında en çok kullanılanlardan bir tanesi birlikte çöktürme yöntemidir. Bu amaçla, 2,78 gram FeSO₄.7H₂O ve 3,2 gram FeCl₃ tartıldı. Tartılan maddeler 250 ml'lik balona aktarıldı ve karışımın üzerine 100 ml deiyonize su eklenerek iki maddenin çözünmesi sağlandı. Elde edilen karışım oda sıcaklığında N₂ gazı ortamında geri soğutucu sisteminde 15 dakika boyunca bekletildi. Ortam sıcaklığının oda sıcaklığından 90 °C' ye kadar yükselmesinden sonra geri soğutucu sistemi içindeki karışıma 10 ml NH₃ eklenerek 2 saat boyunca ortamdaki N₂ gazı geçirilmesi işlemine devam edildi. Süre sonunda karışım oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı ve sentezlenen Fe₃O₄ nanoparçacıkları siyah bant süzgeç kağıdından geçirildi. 2 kez deiyonize su ve 2 kez etanolle yıkama işleminden sonra Fe₃O₄ nanoparçacıkları vakum etüvünde 60 °C' de 24 saat boyunca kurumaya bırakıldı. Fe₃O₄ nanoparçacıklarının reaksiyon aşamaları Şekil 2.1 ve Şekil 2.2' de verilmiştir.



Şekil 2.1. N₂ gazı ortamında geri soğutucu sistem

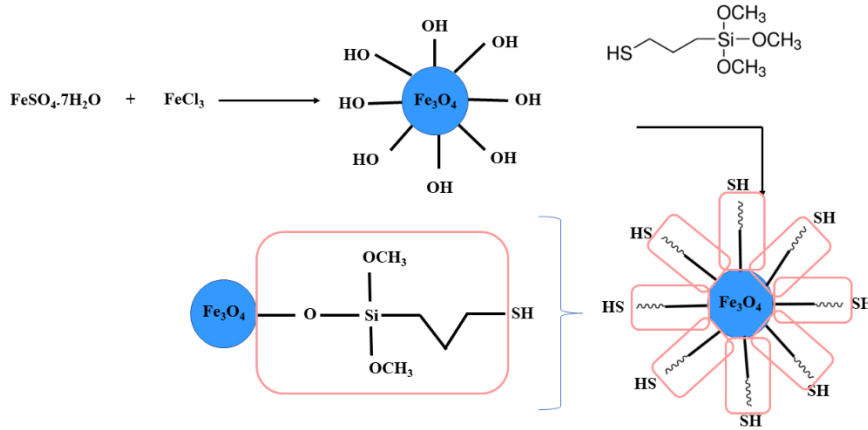


Şekil 2.2. Fe₃O₄ nanoboyutlu parçacıkların sentezlenmesi.

2.3.1.2 Fe₃O₄ Nanoparçacıklarının Modifikasyonu

Vakum etüvünde kurumaya bırakılan Fe₃O₄ nanoparçacıklarından 2 gram tartıldı. Üzerine 30 ml etanol ve 20 ml deiyonize su ilave edildi. Nanoparçacıkların homojen bir şekilde dağılmasını sağlamak için karışım 15 dakika boyunca ultrasonik banyoda tutuldu. Süre

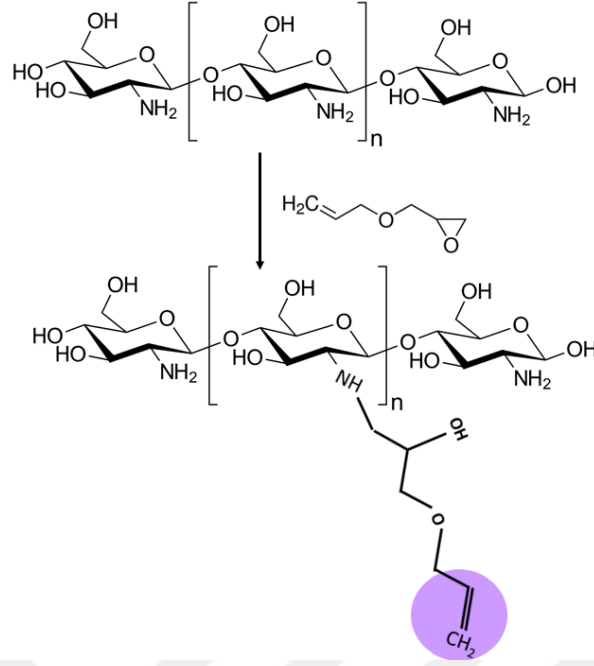
sonunda karışıma 9 damla NH_3 ve 3 ml 3-merkaptopropiltrimetoksisilan ilave edilerek 2 saat boyunca karışımın homojen olarak dağılması için ultrasonik banyoda tutuldu. Süre bitiminde homojen olarak dağılan nanoparçacıklar siyah bant süzgeç kağıdından geçirildi. 2 kez etanolde yıkandı ve santrifüj edilerek $60\text{ }^\circ\text{C}$ ' de 24 saat boyunca kurutulmaya bırakıldı. Santrifüj tüpünde kalan katı kısım ise vorteks cihazı ile toplandı. Modifikasyon işlemi Şekil 2.3 'de verilmiştir.



Şekil 2.3. Tiyoil uç gruplu manyetik nanoparçacıkların şematik gösterimi

2.3.1.3 Kitosanın Modifikasyonu

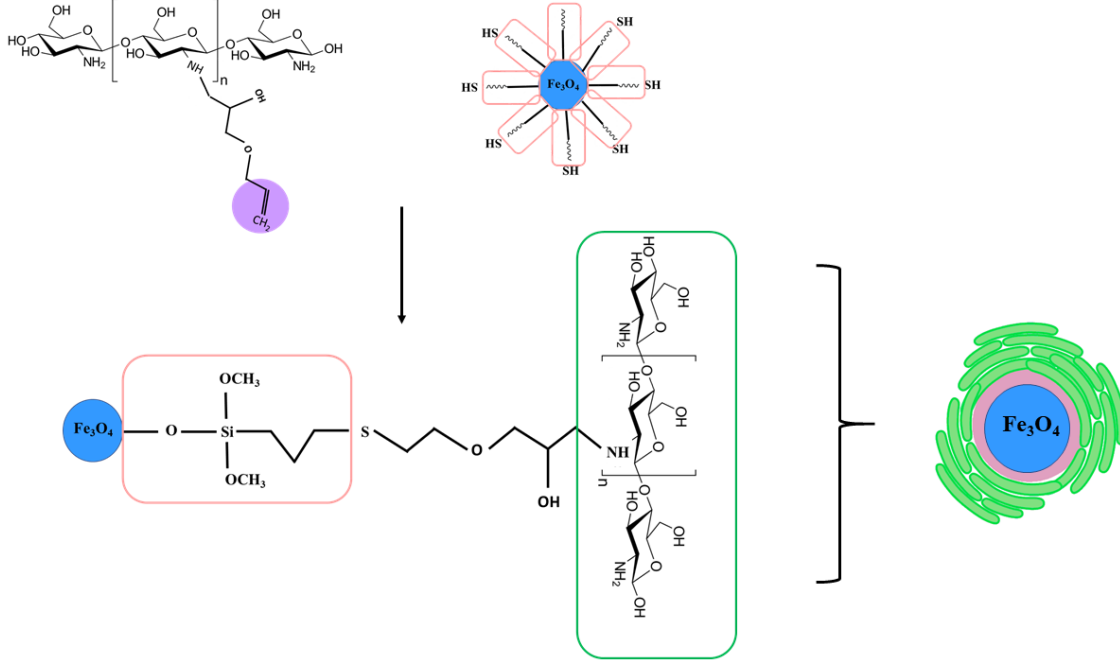
Kitosana allil uç gruplarının modifikasyonu literatürdeki benzer çalışmalardan uyarlanarak yapılmıştır (İlly ve ark., 2013). 5 gram kitosan tartıldı ve 50 ml %1'lik asetik asit-su çözeltisinde çözünmesi sağlandı. pH 8'e ayarlandı. Ve elde edilen karışımın üzerine 6.962 gram allil glisidil eter eklenerek üç gece boyunca çalkalamalı su banyosunda $30\text{ }^\circ\text{C}$ 'de bekletildi. Ardından hazırlanan karışım 150 ml asetonda çöktürüldü ve polimerin lif şeklinde çöktüğü gözlemlendi. Çöktürme işleminden sonra allil grubu modifiye edilen kitosan birkaç kez aseton ve etanol ile yıkandı 24 saat boyunca vakumlu etüvde $40\text{ }^\circ\text{C}$ ' de kurutulmaya bırakıldı. Modifikasyon Şekil 2.4 'te verilmiştir.



Şekil 2.4. Allil uç gruplarına sahip kitosanın hazırlanmasının şematik gösterimi

2.3.2 İlaç Taşıyıcı Sistemin Hazırlanması

Vakum etüvünden çıkarılan tiyol uç gruplu Fe_3O_4 ($\text{SH-Fe}_3\text{O}_4$) nanoparçacıklarından 0,6 gram allil uç grubu bağlı olan kitosan (Geçer ve ark., 2010) polimeri ile reaksiyona sokulmak üzere tartıldı. Üzerlerine 50 ml deiyonize su ilave edildi ve 2 saat 40 dakika boyunca ultrasonik banyoda tiyol uç gruplu nanoparçacıkların homojen olarak dağıtılması işlemi gerçekleştirildi. Vakum etüvünde 24 saat boyunca 60°C 'de bekletilmiş kitosan-allil den 1,8 gram tartıldı ve 60°C sıcakta, %1'lik asetik asit-su çözeltisinde çözünmesi sağlandı. Ultrasonik banyoda ayrı ayrı homojen olarak dağıtılmış olan $\text{SH-Fe}_3\text{O}_4$ nanoparçacıklarını içeren karışıma eklendi ve üzerine 6 damla foto başlatıcı ilave edilerek fotoreaktörde 30 dakika bekletildi. İşlem sonunda kitosan- Fe_3O_4 örnekleri siyah bant süzgeç kağıdından geçirildi. Katı kısım 2 kez deiyonize su ile yıkandı ve petri kabına aktarıldı. Petri kabına aktarılan örneğin üzeri alüminyum folyo ile kapatıldı ve vakumlu etüvde 60°C 'de kurutulmaya bırakıldı. Kurutma işleminden sonra kitosan- Fe_3O_4 nanoparçacıkları 2 kez deiyonize su ile yıkanarak kurutulmaya bırakıldı. Kurutma işleminden sonra kitosan- Fe_3O_4 nanoparçacıkları 0,56 gram olarak tartıldı ve ilaç salınımı için kullanıldı. İlaç sistemi için hazırlanan manyetik nanoparçacıkların gösterimi Şekil 2.5 'te verilmiştir.



Şekil 2.5. İlaç sisteminde kullanılmak üzere hazırlanan kitosan kaplı manyetik nanoparçacıklar

2.3.3 Deneyde Kullanılan Cihazlar ve Karakterizasyon Metodları

2.3.3.1 Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (ATR-FTIR)

Tiyol uç gruplu Fe₃O₄ nanoparçacıkları, sentezlenen Fe₃O₄ nanoparçacıkları, kitosan doğal polimeri ve allil uç gruplu kitosan doğal polimerinin fonksiyonel grup analizleri Perkin-Elmer firmasına ait Spectrum 100 ATR-FTIR spektrofotometre cihazı ile gerçekleştirildi. Spektrumlar 380-4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında kaydedildi.

2.3.3.2 Termal Gravimetrik Analiz (TGA) Cihazı

Hazırlanan tiyol modifiye edilen manyetik nanoparçacıkların termo-oksidatif kararlılıklarını ölçmek amacıyla, Perkin Elmer Pyris 1 model TGA cihazı kullanıldı. Ölçümler hava ve azot atmosferlerinde 10 °C/dak ısıtma hızıyla, 30°C-750°C sıcaklıkları arasında yapıldı.

2.3.3.3 Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM)

Sentezlenen tiyol modifiye edilen manyetik nanoparçacıkların ve hazırlanan ilaç taşıma sisteminin altın kaplanarak Phillips XL 30 ESEM-FEG/EDAX model cihazı ile morfolojik incelemeleri Boğaziçi Üniversitesinde hizmet alımı şeklinde yapıldı.

2.3.3.4 Nano-PSA/Zeta

Elde edilen tiyol modifiye edilen manyetik nanoparçacıklar ve hazırlanan ilaç taşıma sisteminin boyut analizleri Brookhaven 90 Plus Nano Partikül Boyut / Zeta Potansiyel Analiz Cihazı ile yapılmıştır. Ölçümler 35 mW gücündeki çok güçlü lazer ile, 2 nm-3 mikron aralığında süspansiyon haldeki partiküller için Lazer Dinamik Işın Saçılım Tekniği (DLS) ile ölçülmüştür.

Hazırlanan nanoparçacıkların %2,5'lik (w/v) sulu dispersiyonlarının ζ potansiyelleri pH 2,0-9,5 aralığında ortamın pH'sı HCl ya da NaOH ile ayarlanarak oda sıcaklığında ölçülmüştür.

2.3.3.5 NMR

Kitosan-allil polimeri için ^1H NMR spektrumu 400 MHz işletim frekanslı sıvı Mercury-VX 400 BB model çok çekirdekli NMR spektrometresi ile kaydedilmiştir.

2.3.4. İlaç Yükleme ve *in-vitro* İlaç Salımı Çalışmaları

0,05 g kitosan- Fe_3O_4 nanoparçacıkları tartıldı ve üzerine 2 mL distile suda çözülmüş 300 μg DOX ilaç çözeltisi eklendi. 24 saat 37 °C'ye ayarlı su banyosunda 200 rpm hızda karıştırılarak karanlıkta bekletildi. DOX yüklü kitosan- Fe_3O_4 nanoparçacıkları mıknatısla çekilerek ayrıldı ve kuruması sağlandı. Karakterizasyon ve ilaç salınım işlemlerinde kullanılmak üzere buzdolabında saklandı. Geriye kalan ilaç çözeltisinden 1mL alınarak 480 nm dalga boyunda spektrofotometrede suya karşı okundu. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan DOX ilaç çözeltilerinden elde edilen absorbans ölçümleri kullanılarak çizilen standart grafiğe göre yüklenen ilaç miktarı toplam çözelti hacmindeki geriye kalan ilaç miktarı bulunup ilk baştaki ilaç miktarından çıkarılarak hesaplandı.

0,05 g kitosan- Fe_3O_4 nanoparçacıkları tartıldı ve üzerine 2 mL asetonitrilde çözülmüş 300 μg PTX ilaç çözeltisi eklendi ve yukarıda anlatıldığı şekilde deneme yapıldı. Geriye kalan ilaç çözeltisinden 1mL alınarak 227 nm dalga boyunda spektrofotometrede okuma yapıldı. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan PTX ilaç çözeltilerinden elde edilen absorbans ölçümleri kullanılarak çizilen standart grafiğe göre yüklenen ilaç miktarı hesaplandı.

Aynı miktarda DOX ve PTX ilaç yükleme yapılarak yukarıdaki işlemler yapıldı. Yüklenen ilaç % aşağıdaki şekilde hesaplandı. Kitosan- Fe_3O_4 nanoparçacıklarına yüklenen ilaç miktarları μg ilaç/g kuru nanoparçacık şeklinde hesaplandı.

$$\text{Yüklenen ilaç \%} = (\text{Yüklenen ilaç miktarı} \div \text{Başlangıçtaki ilaç miktarı}) \times 100$$

İlaç salınım çalışları 10 mM pH 7,4 ve pH 5 fosfat tampon sistemlerinde gerçekleştirildi. Önce ilaç yüklü Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıkları tartıldı ve tartımlar kaydedildi. Tüplere konulan ilaç yüklü Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıkları üzerine 10 mM pH 7,4 fosfat tamponundan 3 mL konuldu ve 37°C'ye ayarlı su banyosunda 200 rpm hızda karışmaya bırakıldı. 48 saat boyunca belirli zaman aralıklarında ortamdan 800µL alındı ve ortama 800 µL taze 10 mM pH 7,4 fosfat tamponu eklendi. Ölçümler DOX için 480 nm ve PTX için 227 nm'de 10 mM pH 7,4 fosfat tamponuna karşı okundu. 10 mM pH 7,4 fosfat tamponunda farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ilaç konsantrasyonları kullanılarak her iki ilaç için çizilen standart grafiklerden salınan ilaç miktarları hesaplandı. İlaç salınım çalışmaları 10 mM pH 5 fosfat tamponu kullanılarak tekrarlandı. Salınan ilaç miktarları 10 mM pH 5 fosfat tamponu kullanılarak hazırlanan ilaç çözeltilerinden elde edilen standart grafiğinden hesaplandı.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

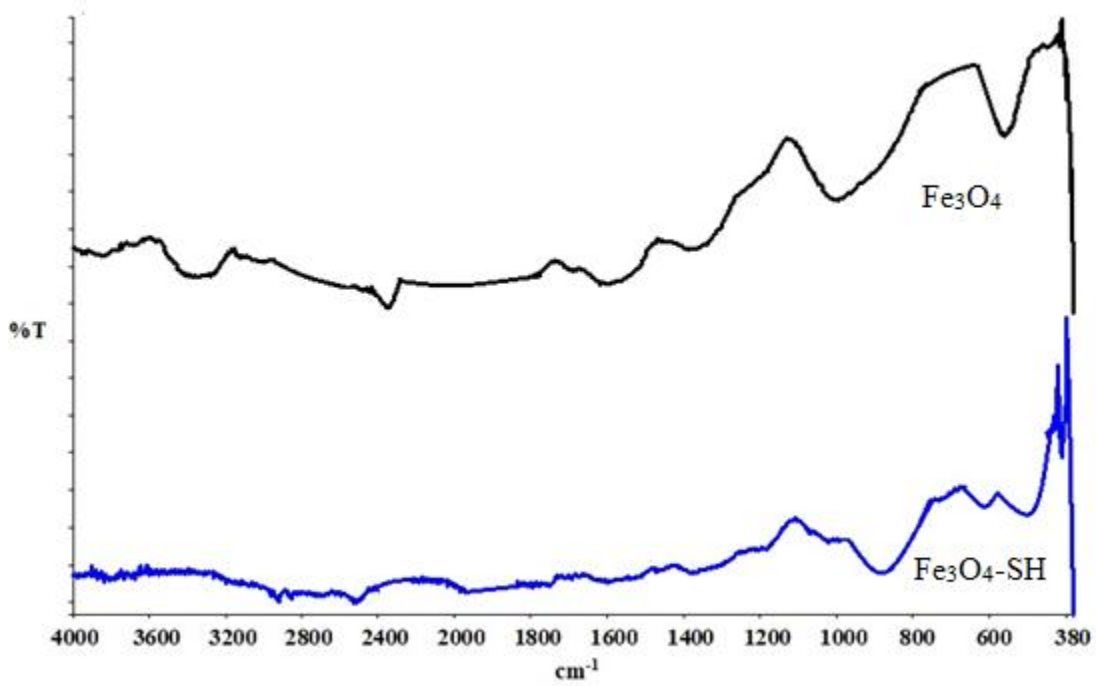
3.1. İlaç Taşıyıcı Sistemin Karakterizasyonu

Bu tez kapsamında ilk basamakta Fe_3O_4 nanoparçacıkları sentezlenmiştir. Daha sonra elde edilen manyetik nanoparçacıklara tiyol uç grupları modifiye edilmiştir. Bir diğer basamakta doğal polimer olan kitosan allil uç grupları ile modifiye edilmiştir. Allil uç grupları ile modifiye edilen kitosan tiyol-en klik reaksiyonları üzerinden tiyol uç gruplu manyetik nanoparçacıkların yüzeyine kaplanmıştır. Hazırlanan bu sistem paklitaksel ve doksorubusin ilaç taşıyıcı sistemi için kullanılmıştır.

3.1.1. ATR-FTIR spektrumları

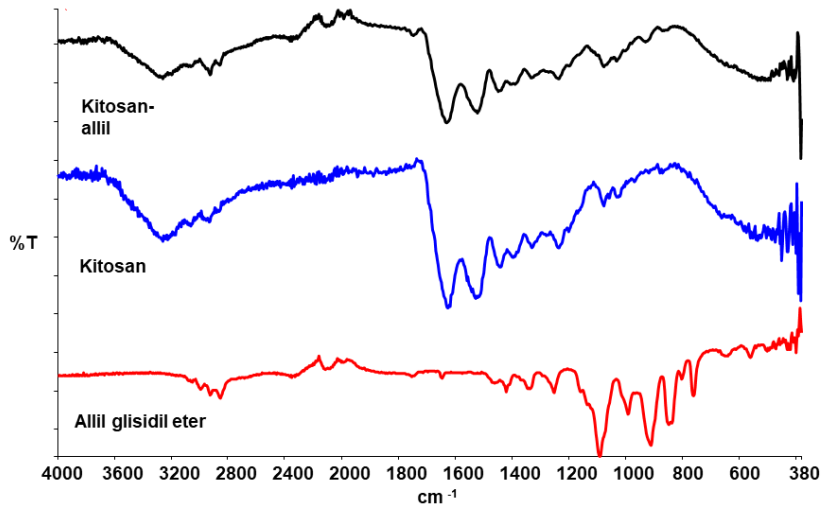
Fe_3O_4 nanoparçacıklarının, tiyol modifikasyonundan sonra manyetik nanoparçacıkların, kitosanın ve allil modifikasyonundan sonra kitosanın ATR-FTIR spektrumları Şekil 3.1 ve Şekil 3.2 'de verilmiştir.

Fe_3O_4 ve $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SH}$ nanoparçacıklarının spektrumlarında 586 cm^{-1} 'de geniş bir pik görülmektedir. Bu pik, manyetik nanoparçacıklardaki karakteristik Fe-O gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır ([Gong ve ark., 2012](#) ; Roto, Yusran ve Kuncaka, 2016). Şekil 3.1' de görüldüğü üzere 3400 cm^{-1} 'deki pik Fe_3O_4 nanoparçacıklarında bulunan -OH gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır (Zhang ve ark., 2013). $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SH}$ ' in spektrumuna bakıldığında Fe_3O_4 nanoparçacıklarından farklı olarak görülen 686 cm^{-1} 'deki görülen pik C-S gerilme titreşimine aittir ([Quang ve ark., 2013](#)). Ayrıca $2570\text{-}2590\text{ cm}^{-1}$ deki pik S-H 'nin gerilme titreşimine atfedilebilir fakat S-H gerilme titreşimi genellikle çok net tespit edilemez (Zhang ve ark., 2013). Bununla birlikte $2850\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$ deki pik 3-merkaptopropiltrimetoksisilandaki metilen grubuna ait C-H gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. Ayrıca silanol grubunun Si-O bükülme titreşim piki 964 cm^{-1} 'de görülmektedir ([Quang ve ark., 2013](#)). Literatüre bakıldığında Fe_3O_4 nanoparçacıklarının ilk olarak SiO_2 ile kaplanmasının ardından 3-merkaptopropiltrimetoksisilan ile reaksiyonu sonucu alınmış FTIR spektrumlarında benzer pikler görülmüştür (Roto, Yusran ve Kuncaka, 2016). Sonuçlara bakıldığında ve literatür ile kıyaslandığında Fe_3O_4 nanoparçacıklarının tiyol uç grupları ile yüzey modifikasyonunun başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği görülmektedir.



Şekil 3.1. Fe_3O_4 ve $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SH}$ nanoparçacıklarının ATR-FTIR spektrumları

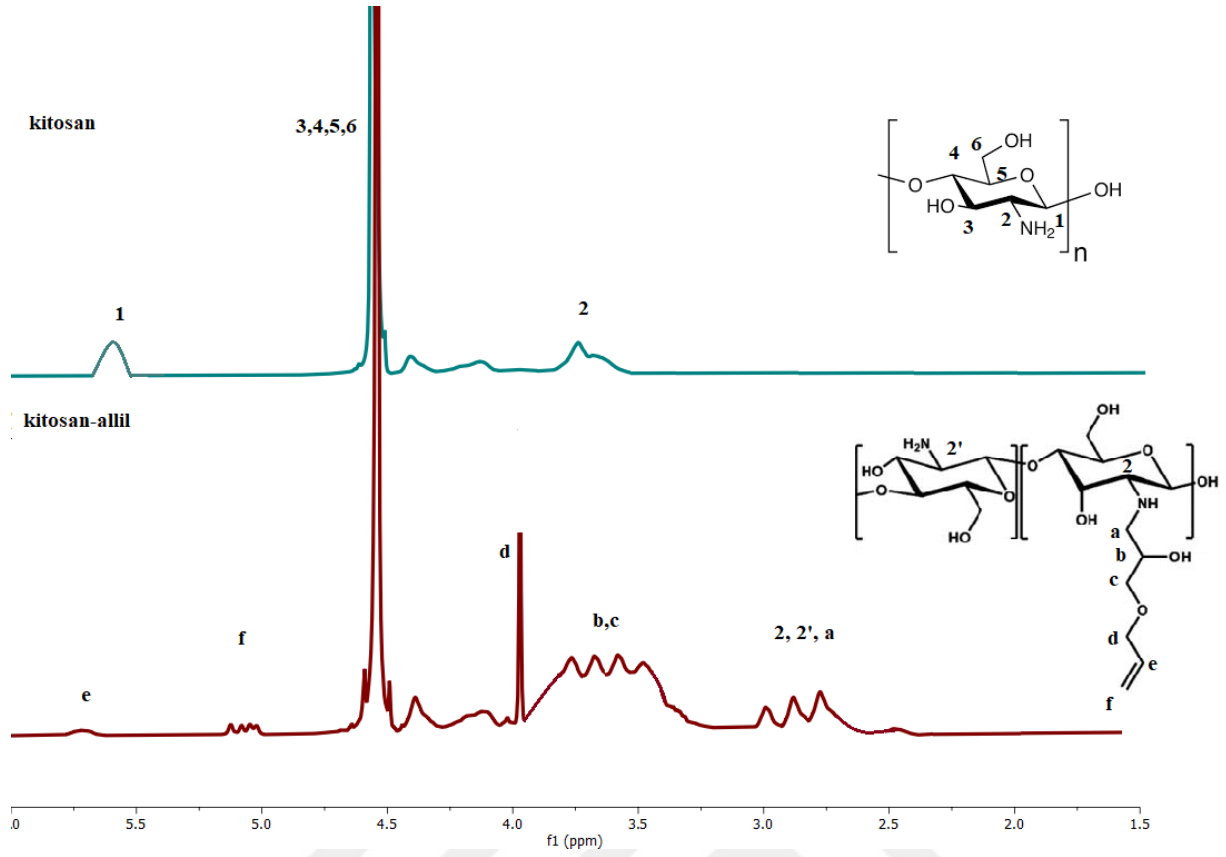
Şekil 3.2’de allil glisidil eter, kitosan ve allil uç grupları modifiye edilen kitosanın ATR-FTIR spektrumları verilmiştir. Allil grupları kitosan iskeleti üzerine epoksi-amin reaksiyonu yoluyla modifiye edilmiştir. Kitosanın spektrumuna bakıldığında $3200\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ ’deki güçlü ve geniş bant O-H ve N-H bağlarının gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. 2910 cm^{-1} ’de CH bağının gerilmesine karşılık gelen pik görülmektedir. Bunların dışında 1028 cm^{-1} ’de polisakkarit iskeletinin C-O-C bağlarının gerilme titreşimi, 1153 ve 895 cm^{-1} ’de $\beta\text{-}1,4$ -glikosidik bağa ait karakteristik pikler görülmektedir. Tüm bu piklerin haricinde 1595 cm^{-1} ’deki görülen pik birincil aminin N-H titreşimine karşılık gelir (Pearson ve ark., 1960; Illy ve ark., 2013). Allil glisidil eter ile reaksiyonu sonrası alınan kitosanın spektrumunda ise 1590 cm^{-1} ’deki birincil amine ait pik, modifiye edilmemiş kitosanınkinden daha az şiddettedir. Diğer piklerde örtüşmenin yanı sıra kısıtlı bir fonksiyonelleştirme oranı nedeniyle, allil bantlarının karakterizasyonu zor olmaktadır (Illy ve ark., 2013).



Şekil 3.2. Kitosan-allil, kitosan ve allil glisidil eterin ATR-FTIR spektrumları

3.1.2. ¹H-NMR spektrumu

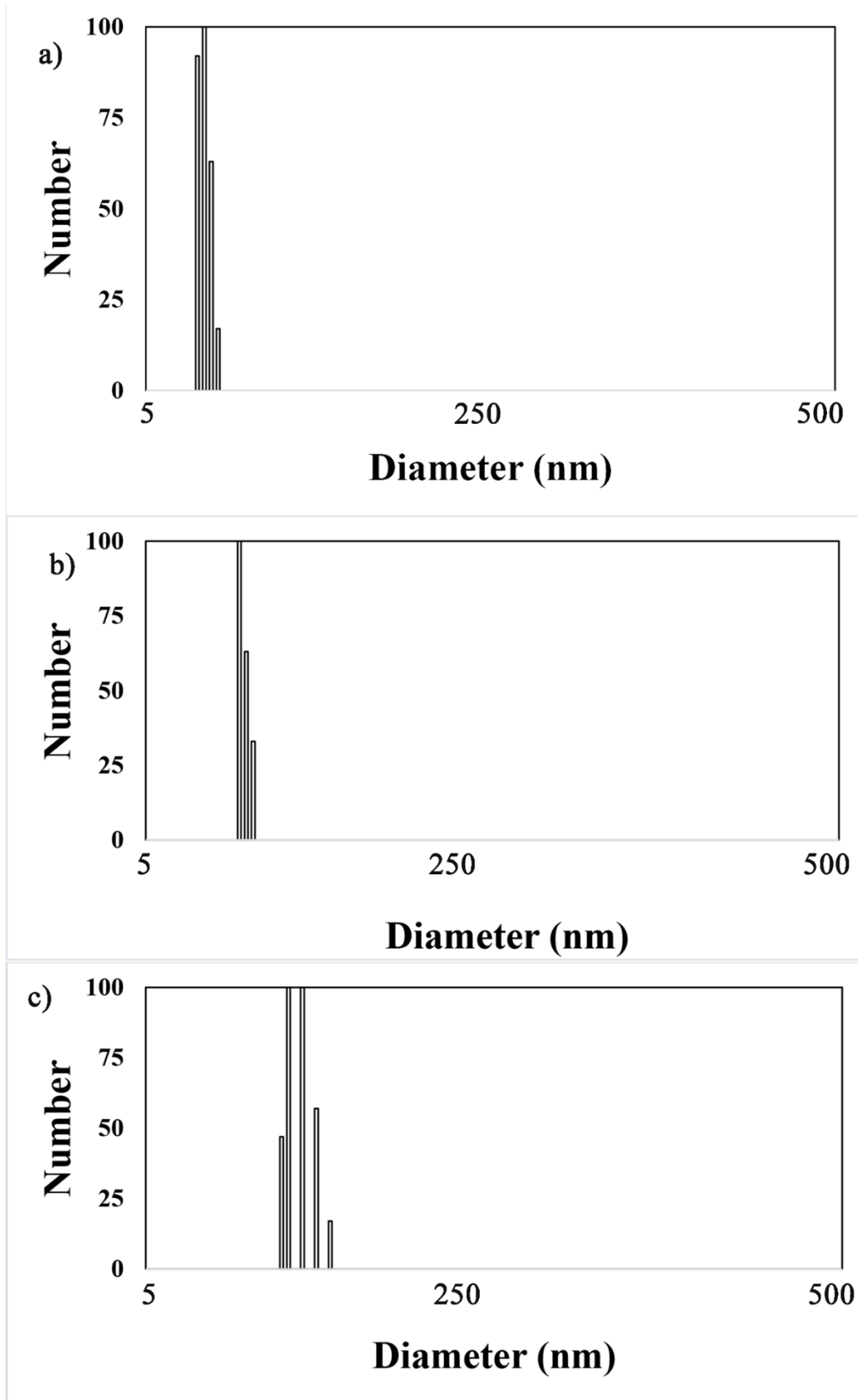
Kitosan ile allil glisidil eterin reaksiyonu sonrasında istenen kitosan-allil bileşiğinin sentezinin kontrol edilebilmesi için ¹H-NMR spektrumu alınarak, oluşan sinyaller incelenmiştir. Kitosan ve kitosal-allil'in ¹H-NMR spektrumu Şekil 3.3'de gösterilmektedir. Kitosan için proton sinyalleri aşağıdaki gibi görülmüştür: anomerik karbona bağlı olan hidrojen sinyali (H₁) 5.3 < δ < 5.5 ppm civarında ve glikozamin birimlerindeki üçüncü, dördüncü, beşinci ve altıncı karbona bağlı hidrojenler (H₃,H₄,H₅,H₆) 4 < δ < 4.9 ppm civarında ayrıca glikozamin birimindeki ikinci karbona bağlı hidrojenin sinyali 3.7 ppm' de görülmektedir. Daha önce kitosan için alınmış ¹H-NMR spektrumlarıyla kıyaslandığında literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür (Geçer ve ark., 2010; Britto ve Assis, 2007). Allil uç grubu modifiye edilen kitosanda kitosanda olmayan allil glisidil eterden kaynaklanan yeni sinyaller görülmektedir; 5.84–6.20 ppm (CH₂=CHCH₂O), 5.23–5.34 ppm (CH₂=CHCH₂O) ve 4.01–4.16 (CH₂=CHCH₂O). Sonuçlar literatür ile uyumlu bulunmuştur (İlly ve ark., 2013).



Şekil 3.3. Kitosan ve kitosan-allilin ¹H-NMR spektrumları

3.1.3. Boyut analizi ve zeta potansiyeli

Sentezlenen Fe₃O₄ nanoparçacıkların, tiyol uç grupları ile modifiye edilen manyetik nanoparçacıkların ve kitosan kaplı manyetik nanoparçacıkların boyut dağılımları Şekil 3.4' te gösterilmektedir.



Şekil 3.4. Boyut dağılımları a) Fe_3O_4 nanoparçacıkları, b) $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SH}$ nanoparçacıkları ve c) kitosan kaplı manyetik nanoparçacıklar

Fe_3O_4 nanoparçacıkları için yaklaşık ortalama çap 46 nm olarak ölçülmüştür. Literatürde çok çeşitli boyutlarda çeşitli yöntemlerle sentezlenmiş Fe_3O_4 nanoparçacıklarına rastlanılmaktadır. Andre Angermann ve arkadaşları birlikte çöktürme reaksiyonu ile demir oksalat dihidrat parçacıklarını sentezlemiş ve kararlı bir reaksiyon ürünü elde etmek için termal olarak ayırtmışlardır. 500-700 ° C 'de elde ettikleri manyetitin, 35 ila 55 nm arasında bir nanoparçacık büyüklüğüne sahip olduğunu bildirmişlerdir (Angermann ve Töpfer, 2008). Literatürde incelenen bir diğer çalışmada, birlikte çöktürme yöntemiyle elde edilen küresel manyetik nanoparçacıkların boyutları 30–100 nm olarak ölçülmüştür (Wu ve ark., 2011; ElBayoumi ve ark., 2010; Ali ve ark., 2016). Bir diğer çalışmada birlikte çöktürme prosedürüyle hazırlanan manyetik nanoparçacıkların %80'inin 30-55 nm boyutundaki nano parçacıklardan oluştuğunu bildirmişlerdir. Hazırlanan manyetik nanoparçacıkların literatür ile uyumlu olduğu yapılan karşılaştırmalardan anlaşılmaktadır.

Bununla birlikte, 3-merkaptopropiltrimetoksisilan ile muamelesinden sonra, Fe_3O_4 nanoparçacıklarının boyutu, fark edilir şekilde artmıştır (Şekil 3.4b). $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SH}$ nanoparçacıkları için ortalama çap 82 nm olarak ölçülmüştür. Bu artış, organosilan eklenmesinin, çekirdeğin boyutunda bir artışa yol açtığını göstermektedir (Alothman, 2012). Literatürdeki çalışmada araştırmacılar 100 nm'den küçük boyutlarda sentezledikleri manyetik nanoparçacıkların boyutunun 3-merkaptopropiltrimetoksisilan ile kaplanmasından sonra yaklaşık 600 nm'ye çıktığını bildirmişlerdir (Ulu ve ark., 2018). 2014 yılında yapılan bir diğer çalışmada TEM analizi ile yaklaşık 8 nm ölçülen manyetik nanoparçacıkların boyutunun, 16-merkaptotetrahidroheksadekanoik asit ile kaplanmasının ardından 10 nm'ye yükseldiği (DLS analizi ile yapılan ölçümde hidrodinamik boyutun 247 nm ölçüldüğü) bildirilmiştir (Rudolf ve ark., 2014; Wilczewska ve ark., 2019). Manyetik nanoparçacığa kıyasla $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SH}$ nanoparçacığındaki boyut artışı literatürdeki diğer çalışmalarda da görüldüğü için beklenen bir durumdur.

Kitosan kaplı manyetik nanoparçacıklarda ise boyutun daha da arttığı Şekil 3.4c'de görülmektedir. Yaklaşık hidrodinamik boyutu 142 nm olarak ölçülmüştür. Literatürde biyouyumluluk çalışmaları için sentezlenen manyetik nanoparçacıkların boyutu dinamik ışık saçılımı ile ölçüldüğünde en büyük dağılım yüzdesi 18 nm iken kitosan kaplı demir oksit nanoparçacıkları için bu değer 35 nm olarak bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2012). Genel olarak, sulu süspansiyonda DLS ile elde edilen hidrodinamik boyut, solvasyon tabakasının kalınlığı ve nanopartikül agregasyonu nedeniyle büyüktür. Bununla birlikte, bir ilaç taşıyıcısı olarak parçacıkların istenen boyut dağılımı 10 nm ila 200 nm arasında değişmektedir (Ding ve ark.,

2015), bu nedenle kitosan kaplı manyetik nanoparçacıkların boyutları, ilaç taşıyıcılığı için uygun ölçektedir. Daha önce hidrofobik ilaç salınımı için hazırlanan kitosan çapraz bağlı karboksimetil-siklodekstrin polimeri modifiye edilen Fe_3O_4 manyetik nanoparçacıkların DLS analizinde ortalama boyutları 67–78 nm olarak verilmiştir (Ding ve ark., 2015). Tüm bu veriler ışığında hazırlanan manyetik nanoparçacıkların boyutunun literatürle uyumlu olduğu ve ilaç salınımı için uygun olduğu görülmüştür.

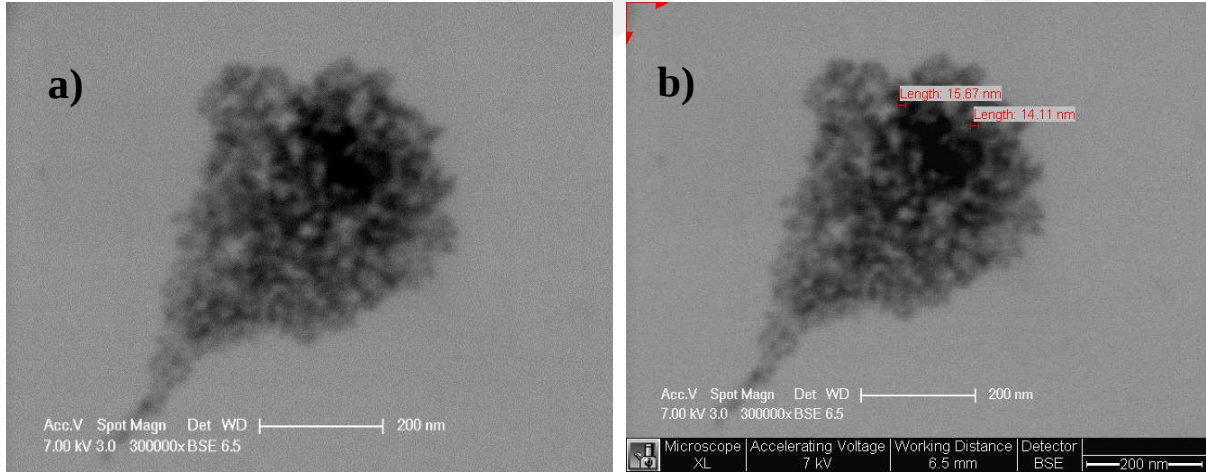
Nanoparçacıkların yüzeyinde kitosan veya 3-merkaptopropiltrimetoksisilan konjugasyonu ve yükü nedeniyle, sıkı bağlanma, nanoparçacıklar arasında yoğun itme kuvvetine yol açar ve nano taşıyıcı süspansiyonun stabilitesini sürdürür. Bu nedenle, zeta-potansiyeli ölçümü, elde edilen nanoparçacıkların yüküne yönelik kanıt sağlamak için önemli bir parametre olarak kabul edilir. Elde edilen nanoparçacıkların yüzey yükleri ve yüzey kimyaları, farklı modifikasyon aşamalarında Fe_3O_4 yüzeyinde bağlanan çeşitli fonksiyonel gruplara bağlı olarak değiştirilir. Tablo 3.1'de verildiği gibi, Fe_3O_4 nanoparçacıklarının -17,6 mV'luk (pH 7.0'de) negatif zeta potansiyeli (ζ) değeri, bazik sentez koşulları sırasında yüzeydeki hidroksil gruplarının varlığına bağlanabilir. 3-merkaptopropiltrimetoksisilan ile modifikasyondan sonra, ζ değeri, yüzeydeki tiyol gruplarının varlığından dolayı -23,4 mV'ye düşer. Kitosan ile kaplandıktan sonra, nanoparçacıkların ζ değeri, aşırı miktarda karboksimetil gruplarının varlığından dolayı -27,8 mV'ye düşer; karboksilik asit grupları negatif yüklerden sorumludur. Yüzey elektrokinetiğindeki bu önemli fark, zeta potansiyelinin kabuk özelliklerine bağlı olduğunu gösterir. Bu sonuçlar, 3-merkaptopropiltrimetoksisilan ve kitosan kaplı manyetik nanoparçacıkların daha az topaklanma eğilimi gösterdiğini ve çıplak manyetik nanoparçacıklardan çok daha kararlı olduğunu gösterir. (Rudolf ve ark., 2014).

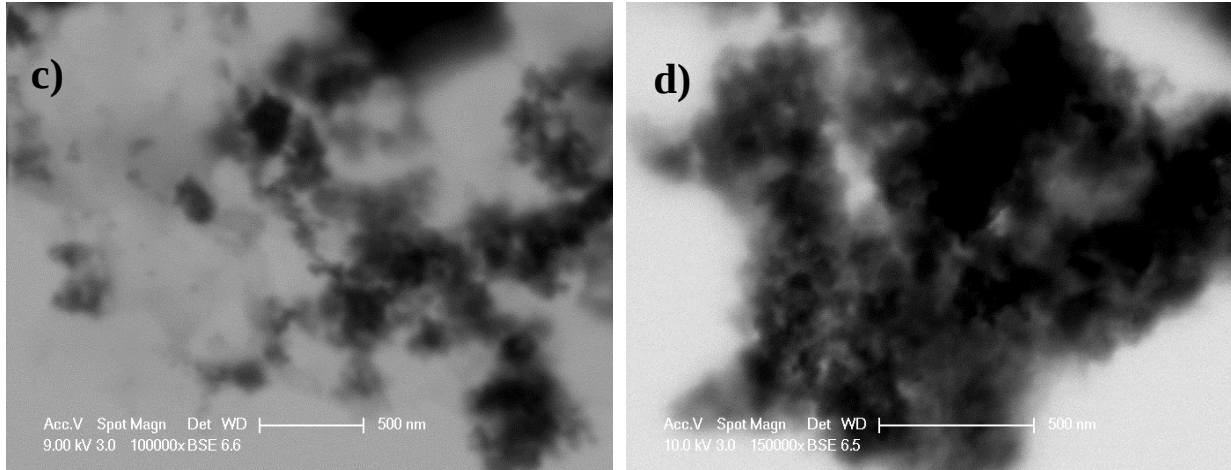
Tablo 3.1. Hazırlanan nanoparçacıkların zeta potansiyel değerleri

	Zeta Potansiyeli mV	NP boyutu
Fe ₃ O ₄ nanoparçacıkları	-17,6	46 nm
Fe ₃ O ₄ -SH nanoparçacıkları	-23,4	82 nm
Kitosan kaplı manyetik nanoparçacıklar	-27,8	142 nm

3.1.4. SEM analizi

Sentezlenen Fe₃O₄ nanoparçacıkların ve kitosan kaplı manyetik nanoparçacıkların yüzey morfolojisi Şekil 3.5’ te gösterilmektedir.





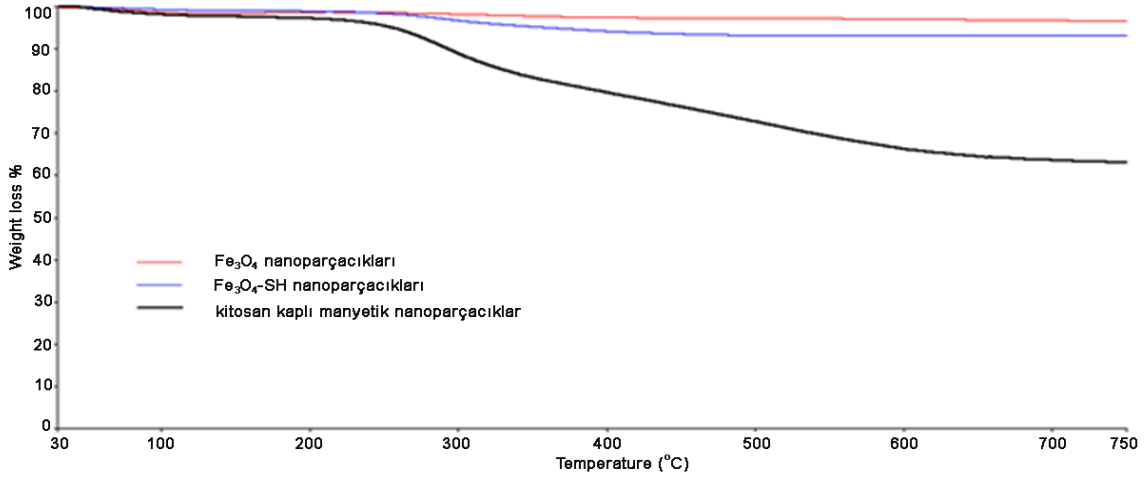
Şekil 3.5. STEM görüntüleri a) Fe_3O_4 nanoparçacıkları 300000X, b) Fe_3O_4 nanoparçacıkları 300000X, c) kitosan kaplı manyetik nanoparçacıklar 100000X ve d) kitosan kaplı manyetik nanoparçacıklar 100000X

Çıplak Fe_3O_4 parçacıkları küresel bir yüzeye sahiptir. Ayrıca görüntüler, parçacıklar arasındaki manyetik dipol momentine bağlı olarak hafif bir toplanma eğiliminde olduğunu göstermiştir. STEM görüntülerinden alınan boyut ölçümlerinin yaklaşık olarak $\sim 15\text{nm}$ civarında olduğu Şekil 3.5'te gösterilmiştir. Kitosan ile kaplandıktan sonra, elde edilen malzemenin şekli de küreseldir. STEM görüntüleri nanoparçacıkların şeklinin modifikasyon süreci nedeniyle önemli ölçüde değişmediğini göstermiştir.

3.1.5. Termal Analiz

Tüm numunelerin termal stabilitesi TGA ile incelenmiş ve termogramlar Şekil 3.6'da verilmiştir. Fe_3O_4 için ayrışma $150\text{ }^\circ\text{C}$ 'de, adsorbe edilmiş su moleküllerinin kaybına karşılık gelir (Nagappan ve ark., 2017). Bunun dışında $150\text{-}700\text{ }^\circ\text{C}$ 'de TGA eğrisinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Bu Fe_3O_4 manyetik nanoparçacıklarının yaklaşık %96.6 kalan kütle ile mükemmel termal stabiliteye sahip olduğunu göstermiştir. Tiyol uç grupları ile modifiye edilen manyetik nanoparçacıkların TGA eğrisine bakıldığında, yüzeyde fiziksel olarak adsorbe edilen su moleküllerinin ayrılmasından ve silanol gruplarının uzaklaşmasına bağlı olarak $100\text{ }^\circ\text{C}$ 'ye kadar ve $150\text{ }^\circ\text{C}$ 'nin üzerinde bir ağırlık kaybı gözlemlenmiştir (Wang ve ark., 2011). $750\text{ }^\circ\text{C}$ 'de kalan kütleye bakıldığında %93.1 olarak ölçülmüştür. Fe_3O_4 manyetik nanoparçacıkları ile kıyaslandığında aradaki farkın yüzeyin 3-merkaptopropiltrimetoksisilan ile modifikasyonundan kaynaklandığı görülmektedir. Kitosan kaplı manyetik

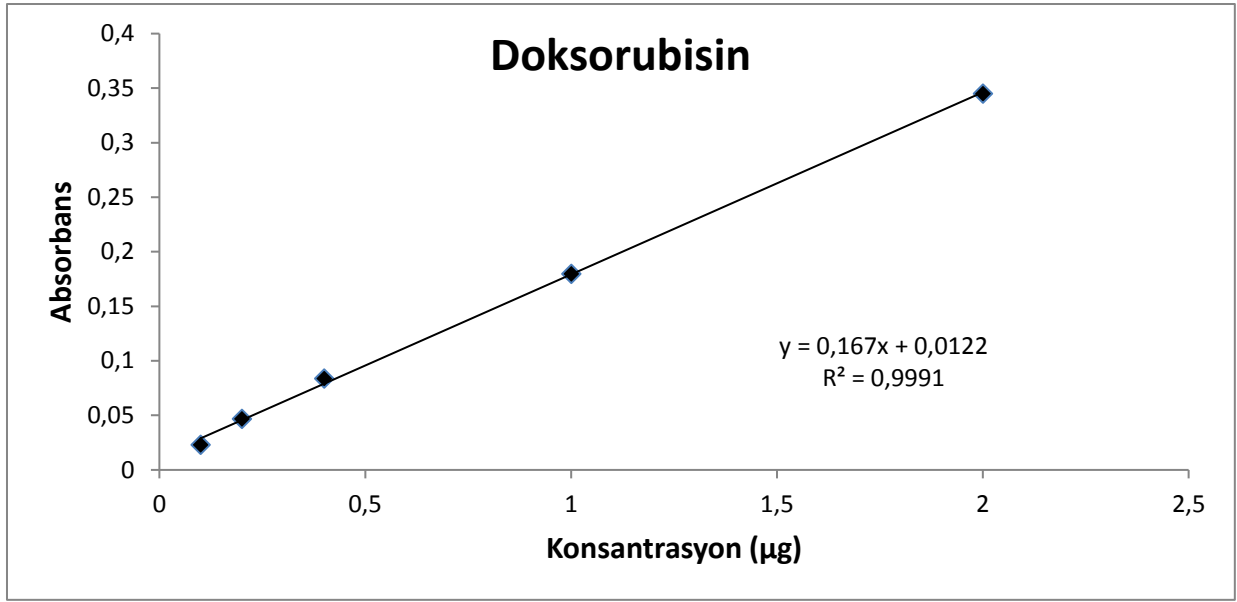
nanoparçacıklara bakıldığında 180 °C'nin altındaki ilk ağırlık kaybı, nanoparçacıkların üzerinde absorblanan sudan kaynaklanmaktadır. 200-315 °C arasında meydana gelen ağırlık kaybı polimerin amino ve hidroksil gruplarının oksidasyonu ile ilgilidir. Daha sonra literatürde karşılaşıldığı üzere 315-500 °C arasında daha önce OH gruplarının oksidasyonu ile oluşan asit gruplarının deasetilasyonu, önceden oksitlenmiş aminlerin kaybına bağlı azotlu oksitlerin salınması ve glikozidik bağların parçalanması ile ilgilidir (Pérez ve ark., 2020; Freire ve ark., 2016; Pylypchuk ve ark., 2016). Son olarak, polimer zincirinin ayrışması nedeniyle 500 ile 700 °C arasında bir ağırlık kaybı görülür. Öte yandan, kitosan kaplı manyetik nanoparçacıkların 750 °C'de ağırlık kaybı %37 idi, bu da kitosan tabakasının %33.6'lık (37-3.4) kaplamasına eşdeğerdir.



Şekil 3.6. Fe₃O₄, Fe₃O₄-SH ve kitosan kaplı manyetik nanoparçacıkların TGA termogramları

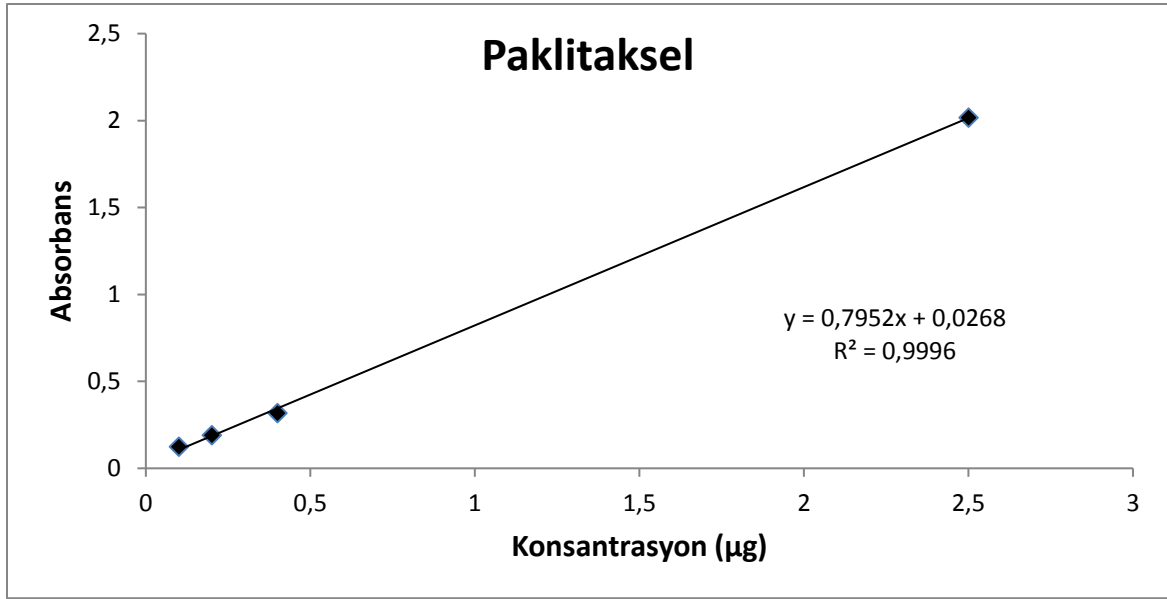
3.2. İlaç Yükleme Sonuçları

Şekil 3.7'de verilen DOX standart grafiği kullanılarak yüklenen µg ilaç miktarı ile yüklenen ilaç % şeklinde hesaplandı. 0,05 g Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıkları 2 mL distile suda 300 µg DOX bulunan ilaç çözeltisinde 24 saat 37 °C'ye ayarlı su banyosunda 200 rpm hızda karıştırılarak karanlıkta bekletildi. Bekleme sonunda ortamda bulunan manyetik nanoparçacıklar mıknatıs yardımı ile çekildiğinde geriye kalan ilaç çözeltisinin absorbansı 480 nm suya karşı okundu ve aşağıdaki denklem kullanılarak kalan ilaç miktarı µg olarak hesaplandı. Başlangıçtaki ilaç miktarından çıkarılarak yüklenen ilaç miktarı 255,17 µg olarak hesaplandı. Buna göre %85 oranında ilacın Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklarına yüklendiği bulundu.



Şekil 3.7. Doksorubisin standart grafiği

Şekil 3.8’de verilen PTX standart grafiği kullanılarak yüklenen ilaç miktarı hesaplandı. 0,05 g Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıkları 2 mL asetonitrilde 300 µg PTX bulunan ilaç çözeltisinde 24 saat 37 °C’ye ayarlı su banyosunda 200 rpm hızda karıştırılarak bekletildi. Bekleme sonunda ortamda bulunan manyetik nanoparçacıklar mıknatıs yardımı ile çekildiğinde geriye kalan ilaç çözeltisinin absorbansı 227 nm’de asetonitrile karşı okundu ve aşağıdaki denklem kullanılarak kalan ilaç miktarı µg olarak hesaplandı. Başlangıçtaki ilaç miktarından çıkarılarak yüklenen ilaç miktarı 287,7 µg olarak hesaplandı. Buna göre %95,6 oranında ilacın Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklarına yüklendiği bulundu.

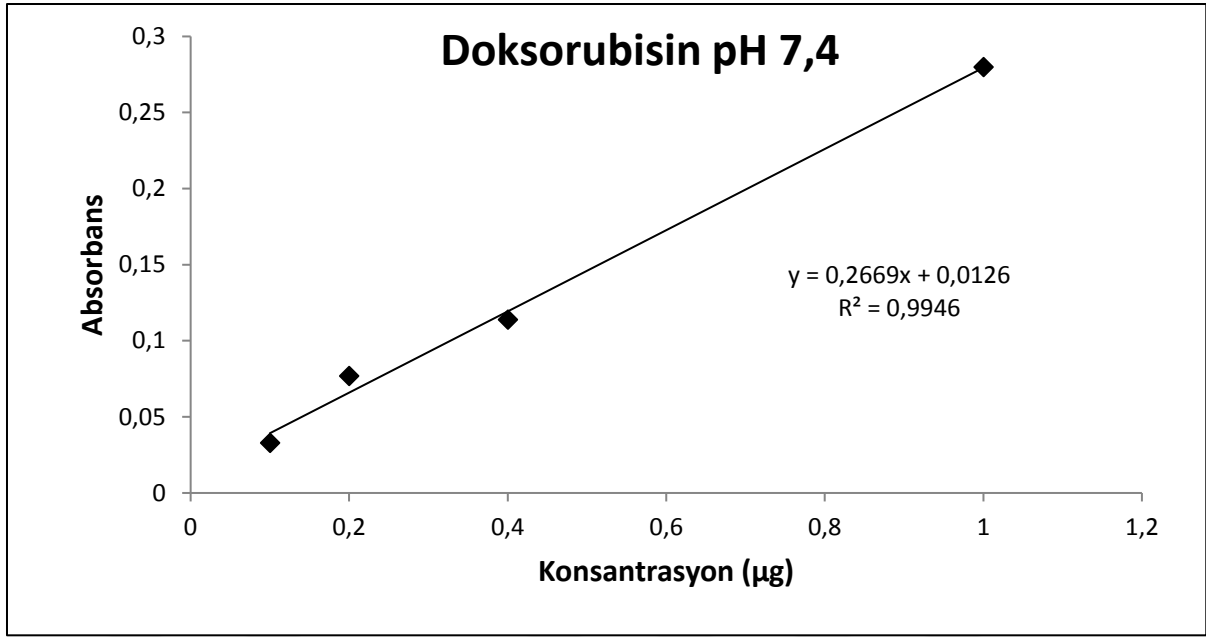


Şekil 3.8.Paklitaksel standart grafiği

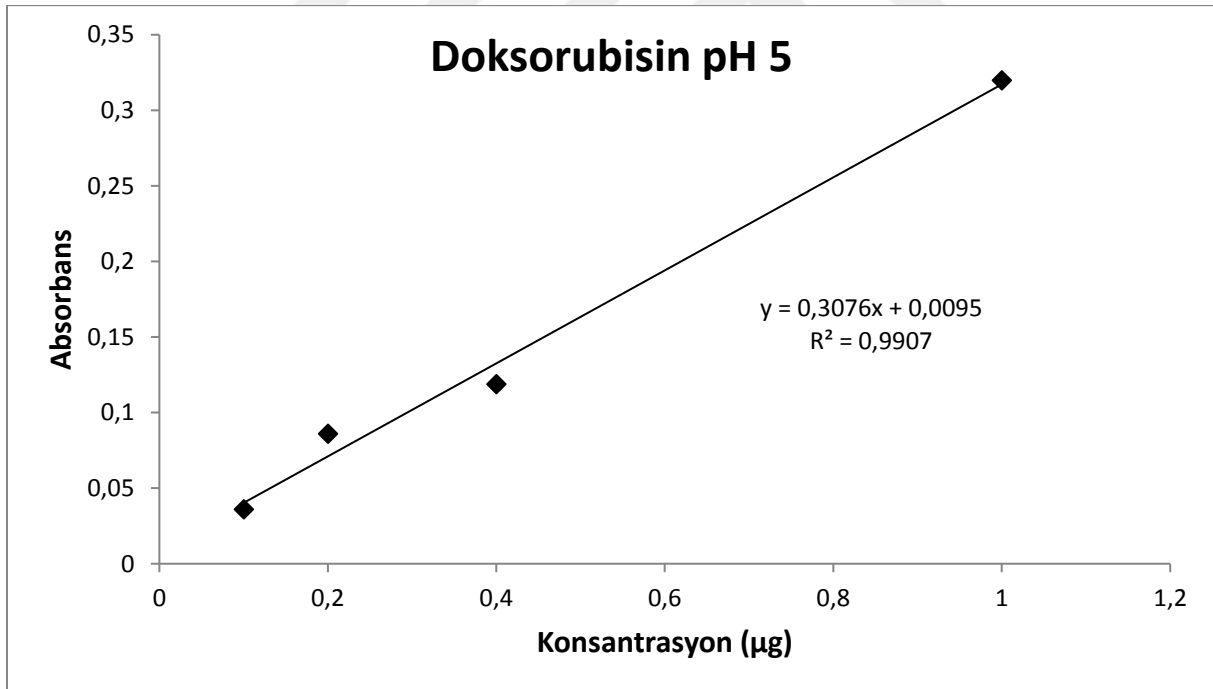
Her iki ilaç birlikte Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıkları ile inkübe edildiğinde 253,2 µg DOX ve 274,7 µg PTX yüklendiği bulundu.

3.3. İlaç Salınım Sonuçları

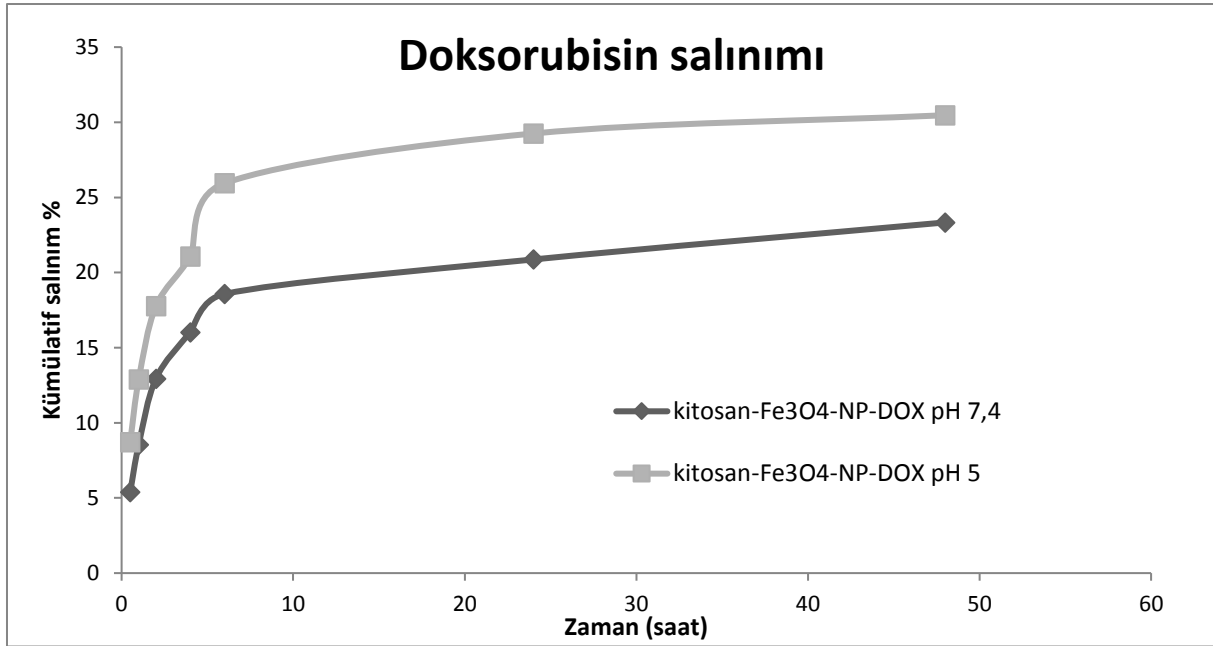
Doksorubisin yüklü Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklarından ilaç salınımı iki farklı pH değerinde incelendi. İlk 30 dakikada pH 5'te %8,7 ve pH 7,4'te %5,38 oranında doksorubisin salınmıştır. Yaklaşık 6 saatte pH 5 ve pH 7,4'te sırası ile %26 ve %19 oranında salınım gerçekleşmiştir. 48 saat sonunda pH 5'te %30,5 ve pH 7,4'te %23,3 oranında doksorubisin salınmıştır. Tez çalışmamızda *in vitro* ortamda asidik tümör mikroçevresi pH 5 fosfat tamponu kullanılarak simüle edilmiş ve asidik ortamda doksorubisin salınımı fizyolojik pH'a göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Literatürde doksorubisin ile yapılan ilaç salınım çalışmalarında asidik pH'ta fizyolojik pH'a göre salınımın daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Abdel-Hakeem ve ark.,2020; Chen ve ark., 2020; Farazi ve ark.,2018).



Şekil 3.9. Dokсорubisin pH 7,4'teki standart grafiği



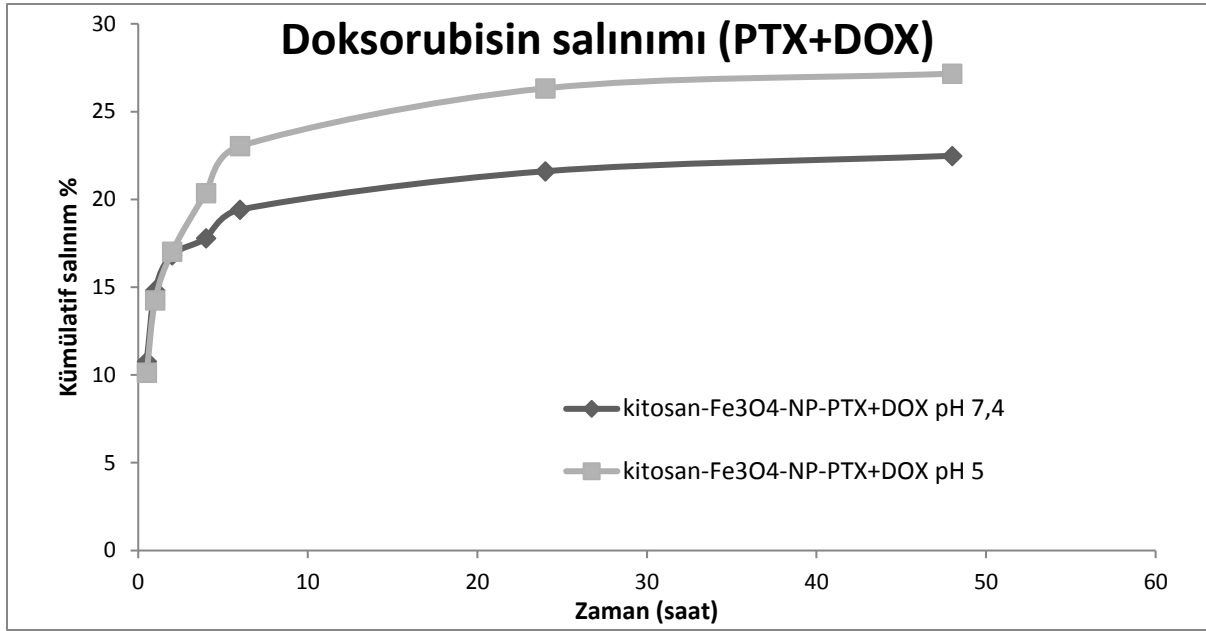
Şekil 3.10. Dokсорubisin pH 5'teki standart grafiği



Şekil 3.11. Doksorubisin yüklü Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklardan pH 7,4 ve pH 5'te ilaç salınımı

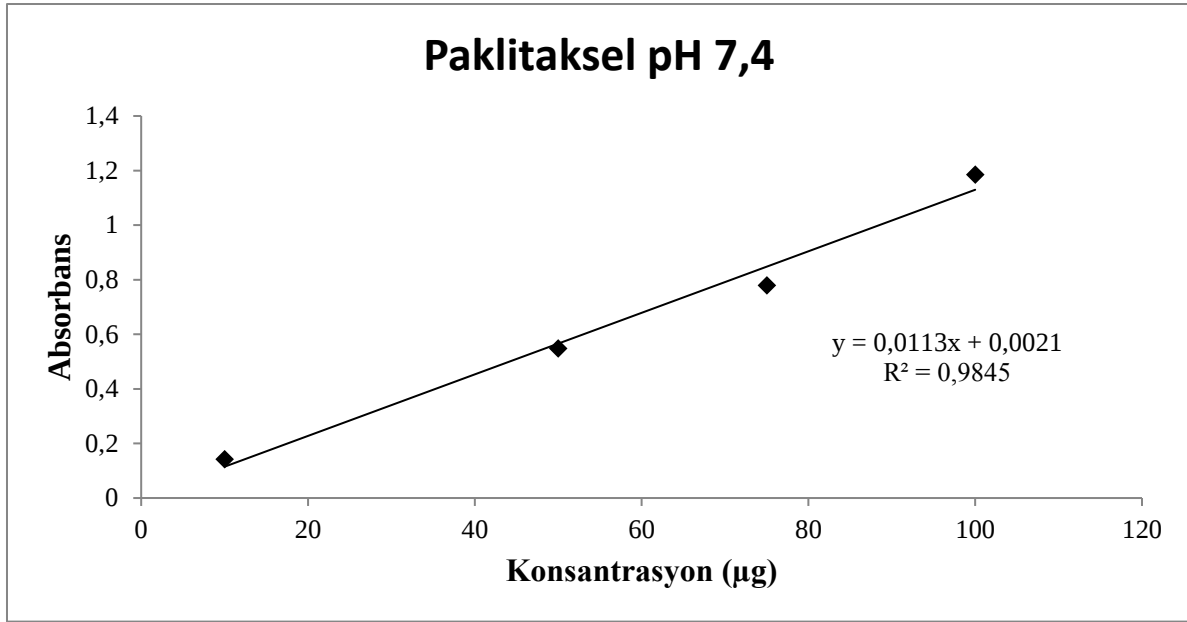
Paklitaksel ve doksorubisin klinikte veya diğer tedavi yöntemleri ile kombinasyon halinde çeşitli neoplazmlarda (tümörlerde) kullanılan güçlü antikanser ilaçlardır. Bununla birlikte, her iki ilaç da PTX için nörotoksisite ve DOX için doza bağımlı kardiyotoksisite ve zayıf farmakokinetik gibi yan etkilerden muzdariptir. Bu iki ilaç farklı fiziko-kimyasal özelliklere, farmakokinetiğe ve farklı etki mekanizmalarına, toksisiteye ve ilaç direncine sahiptir. Literatürde yapılan çalışmalarda iki sinerjik ilacın aynı polimerik omurgaya bağlanması büyük olasılıkla anti-kanser aktivitesinin artmasına ve toksisitenin azalmasına neden olacağı bildirilmiştir (Baabur-Cohen ve ark., 2017).

Tez çalışmamızda doksorubisin ve paklitaksel ilaçlarının birlikte yüklü olduğu Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklarından ilaç salınımı pH 5 ve pH 7,4'te iki farklı pH değerinde incelenmiştir. 48 saat sonunda doksorubisin salınımı pH 5'te %27,16 iken pH 7,4'te 22,48 şeklinde tayin edilmiştir. Baabur-Cohen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada pH 7,4'te her iki ilacın da salınımın yavaş ve % olarak çok az olduğu tayin edilmiştir. pH 5'te ise doksorubisin yaklaşık 3 saatte, paklitaksel ise 5 saatte salınımını tamamladığı bulunmuştur (Baabur-Cohen ve ark., 2017). Doksorubisin ve paklitaksel gibi antikanser ilaçlarının vücutta salınımı hafif asidik tümör mikroçevresi ve hücre içi tümör hücrelerinde düşük pH'larda daha fazla olduğu bildirilmiştir (Abdel-Hakeem ve ark.,2020; Chen ve ark., 2020; Farazi ve ark.,2018; Baabur-Cohen ve ark., 2017).

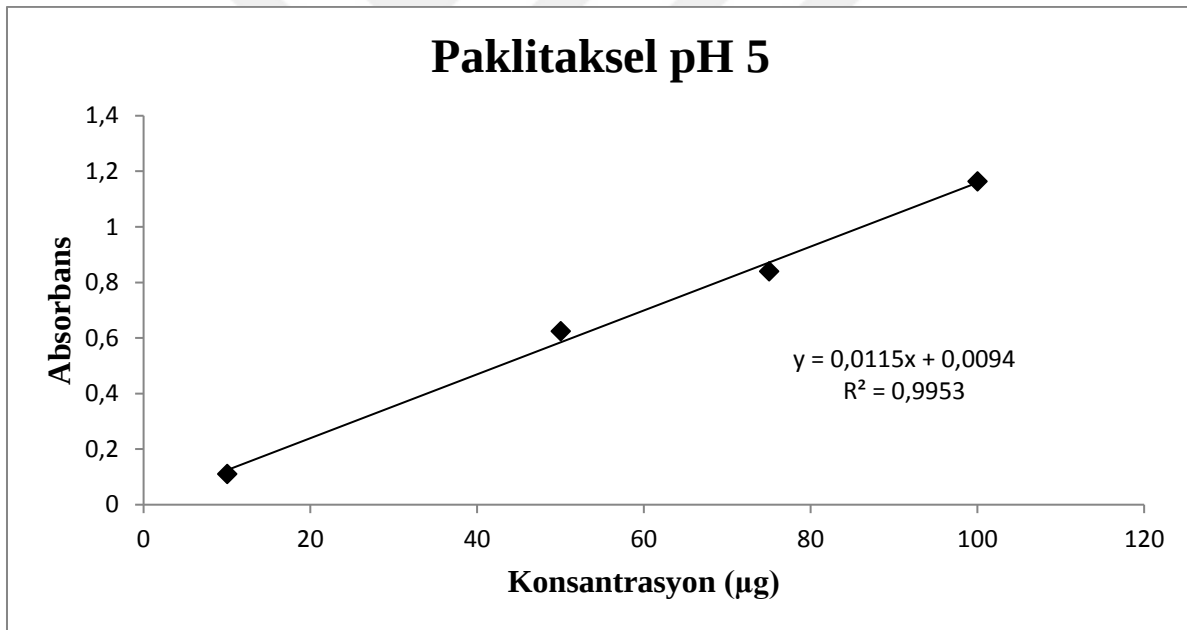


Şekil 3.12. Paklitaksel+Doksorubisin yüklü Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklardan pH 7,4 ve pH 5'te Doksorubisin ilaç salınımı

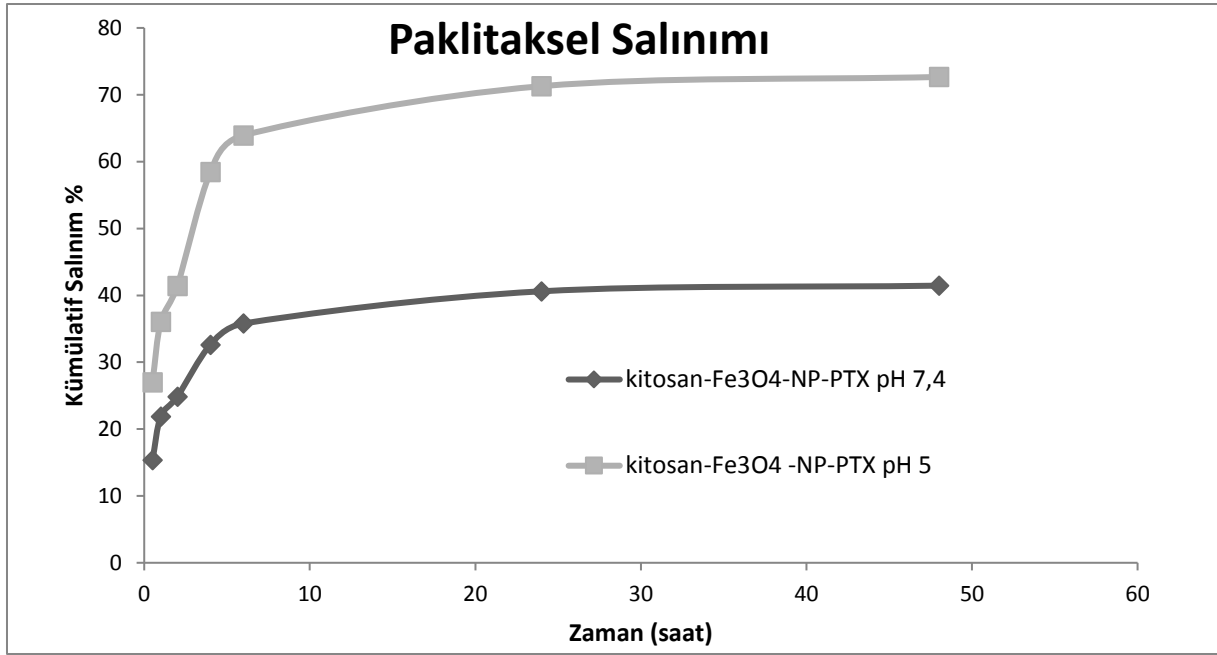
Paklitaksel yüklü Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklarından ilaç salınımı iki farklı pH değerinde incelendi. İlk 30 dakikada pH 5'te %27 ve pH 7,4'te %15,37 oranında paklitaksel salınmıştır. 48 saat sonunda pH 5'te %72,66 ve pH 7,4'te %41,45 oranında paklitaksel salınmıştır. İnsan vücudundaki normal pH seviyesinin ~ 7,4 olduğu iyi bilinmektedir, kanserli bir tümörün yakınında pH yaklaşık 5-5,5'dir. Tez çalışmamızda in vivo ortamda asidik tümör mikroçevresi pH 5 fosfat tamponu kullanılarak simüle edilmiş ve asidik ortamda paklitaksel salınımı fizyolojik pH'a göre %31,21 oranında daha fazla olduğu bulunmuştur. Literatürde paklitaksel ile yapılan ilaç salınım çalışmalarında asidik pH'ta fizyolojik pH'a göre salınımın daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Hashemzadeh ve Raissi, 2020).



Şekil 3.13. Paklitaksel pH 7,4'teki standart grafiği

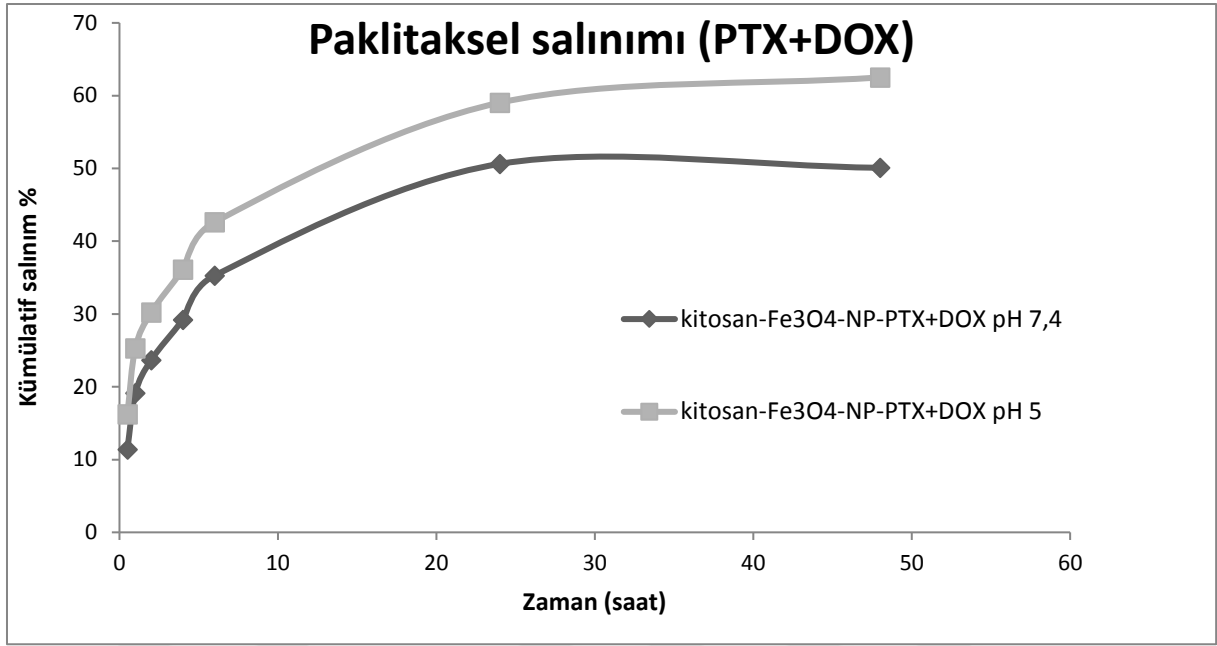


Şekil 3.14. Paklitaksel pH 5'teki standart grafiği



Şekil 3.15. Paklitaksel yüklü Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklardan pH 7,4 ve pH 5'te ilaç salınımı

Tez çalışmamızda doksorubisin ve paklitaksel ilaçlarının birlikte yüklü olduğu Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklarından ilaç salınımı pH 5 ve pH 7,4'te iki farklı pH değerinde incelenmiştir. 48 saat sonunda paklitaksel salınımı pH 5'te %62,15 iken pH 7,4'te %50 şeklinde tayin edilmiştir. Yapılan bir çalışmada pH 7,4'te her iki ilacın da salınımın yavaş ve düşük yüzde oranında olduğu tayin edilmiş, pH 5'te ise doksorubisin yaklaşık 3 saatte, paklitaksel ise 5 saatte salınımını tamamladığı bulunmuştur (Baabur-Cohen ve ark., 2017). Doksorubisin ve paklitaksel gibi antikanser ilaçlarının vücutta salınımı hafif asidik tümör mikroçevresi ve hücre içi tümör hücrelerinde düşük pH'larda daha fazla olduğu bildirilmiştir (Abdel-Hakeem ve ark.,2020; Chen ve ark., 2020; Farazi ve ark.,2018; Baabur-Cohen ve ark., 2017).



Şekil 3.16. Paklitaksel+Doksorubisin yüklü Kitosan-Fe₃O₄ nanoparçacıklardan pH 7,4 ve pH 5'te Paklitaksel ilaç salınımı

4.SONUÇLAR

Tez çalışması kapsamında manyetik Fe_3O_4 nanoparçacıkları sentezlendi ve nanoparçacıkların manyetik yüzeyleri tiyol grupları ile modifiye edilmiştir. Daha sonra allil grupları ile modifiye edilmiş olan kitosan polimeri hazırlandı ve klik reaksiyonu ile manyetik nanoparçacıklara bağlanmıştır. Hazırlanan bu hibrit malzemeye paklitaksel ve doksorubisin ilaçları ayrı ayrı ve birlikte bir yüklendi ve sonrasında hibrit malzemedan ilaç salınımları incelenmiştir.

Fe_3O_4 'ün yüzey modifikasyonunun tüm basamakları için yapı karakterizasyonu ATR-FTIR ile yapılmıştır. Aynı zamanda manyetik nanoparçacıkların, tiyol modifiye edilmiş manyetik nanoparçacıkların ve polimer bağlı manyetik nanoparçacıkların boyut analizleri Zeta sizer ile karakterize edilemiştir. Allil modifiye polimerlerin yapı karakterizasyonları ATR-FTIR ve NMR ile belirlenmiştir. Hibrit nano malzemenin termal dayanımı ve yüzde modifikasyonu için TGA analizinden faydalanılmıştır.

Tez çalışmasında kitosan- Fe_3O_4 nanoparçacıklarına 255,17 μg doksorubisin, 287,17 μg paklitaksel yüklendiği tayin edilmiştir. Her iki ilaç birlikte kitosan- Fe_3O_4 nanoparçacıkları ile inkübe edildiğinde 253,2 μg DOX ve 274,7 μg PTX yüklendiği bulunmuştur.

Kitosan- Fe_3O_4 nanoparçacıklarından doksorubisin 48 saatte pH 5'te %30,5 ve pH 7,4'te %23,3 oranında salındığı bulunmuştur. Paklitaksel saatte pH 5'te %72,66 ve pH 7,4'te %41,45 oranında salınmıştır. Kitosan- Fe_3O_4 nanoparçacıklarına birlikte yüklenen doksorubisin ve paklitaksel ilaç salınımları pH 5 ve pH 7,4'te incelenmiş ve asidik pH'ta her iki ilacın yüksek oranda salındığı ve salınının 48 saatte tamamlandığı tayin edilmiştir.

Doksorubisin ve paklitaksel gibi antikanser ilaçlarının vücutta salınımı hafif asidik tümör mikroçevresi ve hücre içi tümör hücrelerinde düşük pH'larda daha fazla olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda da her iki ilacın ayrı ayrı ve birlikte salınım sonuçlarına bakıldığında asidik ortamda ilaç salınınının daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Paklitaksel ve doksorubisin kombinasyonu kanser türleri tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Farklı anti-tümör mekanizmalı ilaçların kombinasyon kemoterapisi ilaç direncini azaltmak ve terapötik etkiyi iyileştirmek için faydalı bir yoldur. Bununla birlikte, serbest paksitaksel ve doksorubisin kombinasyonu normal dokularda kardiyotoksisite ve nörotoksisite gibi ciddi toksisiteye neden olmaktadır. Bu nedenle, iki ilacın son derece etkili ve düşük toksisiteye sahip formülasyonu ya da formülasyonlarının geliştirilmesi gerekmektedir.



KAYNAKLAR

Abbasi Aval, N., Pirayesh Islamian, J., Hatamian, M., Arabfirouzjaei, M., Javadpour, J., & Rashidi, M.-R. (2016). Doxorubicin loaded large-pore mesoporous hydroxyapatite coated superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles for cancer treatment. *International Journal of Pharmaceutics*, 509(1-2), 159–167.

Abdel-Hakeem, M.A., Abdel-Haseb, O.M., Abdel-Ghany, S.E., Cevik, E., Sabit, H. (2020). Doxorubicin loaded on chitosan-protamine nanoparticles triggers apoptosis via downregulating Bcl-2 in breast cancer cells, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 55:101423.

Akca, G., Özdemir, A., Öner, Z. G., & Şenel, S. (2018). Comparison of different types and sources of chitosan for the treatment of infections in the oral cavity. *Research on Chemical Intermediates*, 44(8), 4811–4825.

Ali, A., Zafar, H., Zia, M., ul Haq, I., Phull, A. R., Ali, J. S., & Hussain, A. (2016). Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles. *Nanotechnology, Science and Applications*, Volume 9, 49–67.

Allothman, Z. A. (2012). A review: fundamental aspects of silicate mesoporous materials. *Materials (Basel)*; 5:2874–2902.

Alp, E., & Aydogan, N. (2016). A comparative study: Synthesis of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in air and N₂ atmosphere. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 510, 205–212.

Angermann, A., Topfer, J. (2008). Synthesis of magnetite nanoparticles by thermal decomposition of ferrous oxalate dihydrate. *J Mater Sci.*, 43(15):5123–30.

Balan, V., Dodi, G., Tudorachi, N., Ponta, O., Simon, V., Butnaru, M., & Verestiuc, L. (2015). Doxorubicin-loaded magnetic nanocapsules based on N-palmitoyl chitosan and magnetite: Synthesis and characterization. *Chemical Engineering Journal*, 279, 188–197.

Bhatt, P., Lalani, R., Vhora, I., Patil, S., Amrutiya, J., Misra, A., & Mashru, R. (2018). Liposomes encapsulating native and cyclodextrin enclosed paclitaxel: Enhanced

loading efficiency and its pharmacokinetic evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 536(1), 95–107.

Brady, J., Dürig, T., Lee, P. I., & Li, J.-X. (2017). *Polymer Properties and Characterization. Developing Solid Oral Dosage Forms*, 181–223.

Britto, D., Assis, B. G. O. (2007) *Carbohydr. Polym.*, 69, 305.

Chavda, V. P. (2019). *Nanotherapeutics and Nanobiotechnology. Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems*, 1–13.

Chavda, V. P. (2019). *Nanobased Nano Drug Delivery. Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems*, 69–92.

Chen, B., Xing, J. Li, M., Liu, Y., Ji, M. (2020). DOX@Ferumoxytol-Medical Chitosan as magnetic hydrogel therapeutic system for effective magnetic hyperthermia and chemotherapy in vitro, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 190:110896

Chen, Y., Peng, F., Song, X., Wu, J., Yao, W., & Gao, X. (2018). Conjugation of paclitaxel to C-6 hexanediamine-modified hyaluronic acid for targeted drug delivery to enhance antitumor efficacy. *Carbohydrate Polymers*, 181, 150–158.

Chen, Z., Wu, C., Zhang, Z., Wu, W., Wang, X., & Zhiqiang, Y. (2018). Synthesis, functionalization, and nanomedical applications of functional magnetic nanoparticles. *Chinese Chemical Letters*.

Conzatti, G., Chamary, S., De Geyter, N., Cavalie, S., Morent, R., & Tournette, A. (2018). Surface functionalization of plasticized chitosan films through PNIPAM grafting via UV and plasma graft polymerization. *European Polymer Journal*, 105, 434–441.

Çalış, S., Öztürk Atar, K., Arslan, F. B., Eroğlu, H., & Çapan, Y. (2019). *Nanopharmaceuticals as Drug-Delivery Systems. Nanocarriers for Drug Delivery*, 133–154.

Darvell, B. W. (2018). *Polymers. Materials Science for Dentistry*, 70–91.

Davidenko, N., Cameron, R., & Best, S. (2018). *Natural Biopolymers for Biomedical Applications. Reference Module in Biomedical Sciences*.

Ding, F., Li, H., Du, Y., & Shi, X. (2018). Recent advances in chitosan-based self-healing materials. *Research on Chemical Intermediates*, 44(8), 4827–4840.

Ding, Y., Shen, S. Z., Sun, H., Sun, K., Liu, F., Qi, Y., & Yan, J. (2015). Design and construction of polymerized-chitosan coated Fe₃O₄ magnetic nanoparticles and its application for hydrophobic drug delivery. *Materials Science and Engineering: C*, 48, 487–498.

Du, X., Khan, A. R., Fu, M., Ji, J., Yu, A., & Zhai, G. (2018). Current development in the formulations of non-injection administration of paclitaxel. *International Journal of Pharmaceutics*, 542(1-2), 242–252.

Quang, D. V., Lee, J. E., Kim, J. -K., Kim, Y. N., Shao, G. N., Kim, H. T. (2013). A gentle method to graft thiol-functional groups onto silica gel for adsorption of silver ions and immobilization of silver nanoparticles, *Powder Technol.* 235 (February) 221–227.

Efthimiadou, E. K., Theodosiou, M., Toniolo, G., & Abu-Thabit, N. Y. (2018). Stimuli-responsive biopolymer nanocarriers for drug delivery applications. *Stimuli Responsive Polymeric Nanocarriers for Drug Delivery Applications*, Volume 1, 405–432.

ElBayoumi, T. A., Torchilin, V. P., Weissig, V. (2010). *Liposomes: Methods and Protocols*, Volume 1: Pharmaceutical Nanocarriers.

Elshoky, H. A., Salaheldin, T. A., Ali, M. A., & Gaber, M. H. (2018). Ascorbic acid prevents cellular uptake and improves biocompatibility of chitosan nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 115, 358–366.

Etrych, T., Daumová, L., Pokorná, E., Tušková, D., Lidický, O., Kolářová, V., Pankrác, J., Šefc, L., Chytil, P., Klener, P. (2018). Effective doxorubicin-based nano-therapeutics for simultaneous malignant lymphoma treatment and lymphoma growth imaging. *Journal of Controlled Release*.

Farazi, R., Vaezi, M.R., Molaei, M.J., Saeidifar, M., Behnam-Ghader, A.A., (2018). Effect Of Ph And Temperature On Doxorubicin Hydrochloride Release From Magnetite / Graphene Oxide Nanocomposites. *Materials Today: Proceedings*, 5, 15726–15732

Fat'hi, M. R., & Nasab, S. J. H. (2018). Synthesis of calcon-imprinted magnetic chitosan nanoparticles as a novel adsorbent and its application in selective removal of calcon dye from aqueous solutions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 1151–1160.

Figueroa-Pizano, M. D., Vélaz, I., Peñas, F. J., Zavala-Rivera, P., Rosas-Durazo, A. J., Maldonado-Arce, A. D., & Martínez-Barbosa, M. E. (2018). Effect of freeze-thawing conditions for preparation of chitosan-poly (vinyl alcohol) hydrogels and drug release studies. *Carbohydrate Polymers*, 195, 476–485.

Pearson, F. G., Marchessault, R. H., Liang, C. Y. (1960). *J. Polym. Sci.*, 43, 101–116.

Freire, T. M., Dutra, L. M. U., Queiroz, D. C., Ricardo, N. M. P. S., Barreto, K., Denardin, J. C., ... Fechine, P. B. A. (2016). Fast ultrasound assisted synthesis of chitosan-based magnetite nanocomposites as a modified electrode sensor. *Carbohydrate Polymers*, 151, 760–769.

Geçer, A., Yıldız, N., Çalimli, A., & Turan, B. (2010). Trimethyl chitosan nanoparticles enhances dissolution of the poorly water soluble drug Candesartan-Cilexetil. *Macromolecular Research*, 18(10), 986–991

Gingas, D., Mindru, I., Patron, L., Ianculescu, A., Vasile, E., Marinescu, G., ... Chifiriuc, M. C. (2018). Synthesis and Characterization of Chitosan-Coated Cobalt Ferrite Nanoparticles and Their Antimicrobial Activity. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 28(5), 1932–1941.

Gómez Pérez, A., González-Martínez, E., Díaz Águila, C. R., González-Martínez, D. A., González Ruiz, G., García Artalejo, A., & Yee-Madeira, H. (2020). Chitosan-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles for DNA and rhEGF separation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 124500.

Gong, J. -L., Wang, X. -Y., Zeng, G. -M., Chen, L., Deng, J. -H., Zhang, X. -R., Niu, Q. -Y. (2012) Copper(II) removal by pectin–iron oxide magnetic nanocomposite adsorbent, *Chem. Eng. J.* 185-186 (March) 100–107.

Gorain, B., Choudhury, H., Pandey, M., & Kesharwani, P. (2018). Paclitaxel loaded vitamin E-TPGS nanoparticles for cancer therapy. *Materials Science and Engineering: C*, 91, 868–880.

Gupta, U., Sharma, S., Khan, I., Gothwal, A., Sharma, A. K., Singh, Y., Chourasia, M.K., Kumar, V. (2017). Enhanced apoptotic and anticancer potential of paclitaxel loaded biodegradable nanoparticles based on chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 810–819.

Hosseinzadeh, S., Hosseinzadeh, H., Pashaei, S., & Khodaparast, Z. (2018). Synthesis of stimuli-responsive chitosan nanocomposites via RAFT copolymerization for doxorubicin delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*.

Illy, N., Robitzer, M., Auvergne, R., Caillol, S., David, G., & Boutevin, B. (2013). Synthesis of water-soluble allyl-functionalized oligochitosan and its modification by thiol-ene addition in water. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 52 (1), 39–48.

Kuznetsov, D.D, Alsikafi, N.F., O'Connor, R.C., Steinberg, G.D. (2001). Intravesical valrubicin in the treatment of carcinoma in situ of the bladder. *Expert Opin Pharmacother*. 2:1009-13.

Pylypchuk, I. V., Kolodynska, D., Koziol, M., Gorbyk, P. P. (2016). Gd-DTPA adsorption on Chitosan/Magnetite nanocomposites, *Nanoscale Res. Lett.* 11,168.

Jahanban-Esfahlan, R., Seidi, K., Banimohamad-Shotorbani, B., Jahanban-Esfahlan, A., & Yousefi, B. (2017). Combination of nanotechnology with vascular targeting agents for effective cancer therapy. *Journal of Cellular Physiology*, 233(4), 2982–2992.

Javed, K. R., Ahmad, M., Ali, S., Butt, M. Z., Nafees, M., Butt, A. R., ... Shahid, A. (2015). Comparison of Doxorubicin Anticancer Drug Loading on Different Metal Oxide Nanoparticles. *Medicine*, 94(11), e617.

Kaczmarek, B., & Sionkowska, A. (2017). Chitosan/collagen blends with inorganic and organic additive-A review. *Advances in Polymer Technology*.

Kampan, N. C., Madondo, M. T., McNally, O. M., Quinn, M., & Plebanski, M. (2015). Paclitaxel and Its Evolving Role in the Management of Ovarian Cancer. *BioMed Research International*, 2015, 1–21.

Kilicarslan, M., Ilhan, M., Inal, O., & Orhan, K. (2018). Preparation and evaluation of clindamycin phosphate loaded chitosan/alginate polyelectrolyte complex film as

mucoadhesive drug delivery system for periodontal therapy. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 123, 441–451.

Kohrs, N. J., Liyanage, T., Venkatesan, N., Najarzadeh, A., & Puleo, D. A. (2018). Drug Delivery Systems and Controlled Release. Reference Module in Biomedical Sciences. doi:10.1016/b978-0-12-801238-3.11037-2

Kosowska, K., Domalik-Pyzik, P., Nocuń, M., & Chłopek, J. (2018). Chitosan and graphene oxide/reduced graphene oxide hybrid nanocomposites – Evaluation of physicochemical properties. *Materials Chemistry and Physics*, 216, 28–36.

Logothetidis, S. (Ed.). (2012). *Nanomedicine and Nanobiotechnology*. NanoScience and Technology.

Loureiro dos Santos, L. A. (2017). *Natural Polymeric Biomaterials: Processing and Properties* ☆. Reference Module in Materials Science and Materials Engineering.

Ma, Y., Fan, X., & Li, L. (2016). pH-sensitive polymeric micelles formed by doxorubicin conjugated prodrugs for co-delivery of doxorubicin and paclitaxel. *Carbohydrate Polymers*, 137, 19–29.

Malikova, T. V., Golovanova, O. A., & Chikanova, E. S. (2018). Physicochemical Properties of Calcium Phosphate–Chitosan Composites and Scaffolds. *Inorganic Materials*, 54(9), 957–964.

Masteri-Farahani, M., & Shahsavarifar, S. (2017). Click functionalization of magnetite nanoparticles: A new magnetically recoverable catalyst for the selective epoxidation of olefins. *Applied Organometallic Chemistry*, 32(2), e4064.

Medeiros Borsagli, F. G. L., Carvalho, I. C., & Mansur, H. S. (2018). Amino acid-grafted and N-acylated chitosan thiomers: Construction of 3D bio-scaffolds for potential cartilage repair applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 270–282.

Mendoza-Garcia, A., & Sun, S. (2016). Recent Advances in the High-Temperature Chemical Synthesis of Magnetic Nanoparticles. *Advanced Functional Materials*, 26(22), 3809–3817.

Mishra, R. K., Tiwari, S. K., Mohapatra, S., & Thomas, S. (2019). Efficient Nanocarriers for Drug-Delivery Systems. *Nanocarriers for Drug Delivery*, 1–41.

Missaoui, W. N., Arnold, R. D., & Cummings, B. S. (2018). Toxicological status of nanoparticles: What we know and what we don't know. *Chemico-Biological Interactions*.

Mousavi, S.-D., Maghsoodi, F., Panahandeh, F., Yazdian-Robati, R., Reisi-Vanani, A., & Tafaghodi, M. (2018). Doxorubicin delivery via magnetic nanomicelles comprising from reduction-responsive poly(ethylene glycol)- b -poly(ϵ -caprolactone) (PEG-SS-PCL) and loaded with superparamagnetic iron oxide (SPIO) nanoparticles: Preparation, characterization and simulation. *Materials Science and Engineering: C*, 92, 631–643.

Muscas, G., Yaacoub, N., Concas, G., Sayed, F., Sayed Hassan, R., Greneche, J. M., ... Peddis, D. (2015). Evolution of the magnetic structure with chemical composition in spinel iron oxide nanoparticles. *Nanoscale*, 7(32), 13576–13585.

Nagappan, S., Ha, H. M., Park, S. S., et al. (2017). One-pot synthesis of multifunctional magnetite–polysilsesquioxane hybrid nanoparticles for the selective Fe³⁺ and some heavy metal ions adsorption. *RSC Adv.* ;7:19106–19116.

Naskar, S., Sharma, S., & Koutsu, K. (2018). Chitosan-based nanoparticles: An overview of biomedical applications and its preparation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*.

Nosrati, H., Salehiabar, M., Davaran, S., Ramazani, A., Manjili, H. K., & Danafar, H. (2017). New advances strategies for surface functionalization of iron oxide magnetic nano particles (IONPs). *Research on Chemical Intermediates*, 43(12), 7423–7442.

Qiu, Y., Wu, C., Jiang, J., Hao, Y., Zhao, Y., Xu, J., Yu, T., Ji, P. (2017). Lipid-coated hollow mesoporous silica nanospheres for co-delivery of doxorubicin and paclitaxel: Preparation, sustained release, cellular uptake and pharmacokinetics. *Materials Science and Engineering: C*, 71, 835–843.

Oroojalian, F., Babaei, M., Taghdisi, S. M., Abnous, K., Ramezani, M., & Alibolandi, M. (2018). Encapsulation of Thermo-responsive Gel in pH-sensitive Polymersomes as Dual-Responsive Smart carriers for Controlled Release of Doxorubicin. *Journal of Controlled Release*.

- Owens, F. J., Patel, R., and Miller, Michael (2012). Ferromagnetism In Carbon And Boron Nitride Nanostructures. In *Magnetic Nanoparticles: Properties, Synthesis and Applications*, 157-178.
- Pattanashetti, N. A., Heggannavar, G. B., & Kariduraganavar, M. Y. (2017). Smart Biopolymers and their Biomedical Applications. *Procedia Manufacturing*, 12, 263–279.
- Pellá, M. C. G., Lima-Tenório, M. K., Tenório-Neto, E. T., Guilherme, M. R., Muniz, E. C., & Rubira, A. F. (2018). Chitosan-based hydrogels: From preparation to biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, 196, 233–245.
- Pino-Ramos, V. H., Meléndez-Ortiz, H. I., Ramos-Ballesteros, A., & Bucio, E. (2018). Radiation Grafting of Biopolymers and Synthetic Polymers. *Biopolymer Grafting: Applications*, 205–250.
- Pious, C. V., & Thomas, S. (2016). Polymeric Materials—Structure, Properties, and Applications. *Printing on Polymers*, 21–39.
- Rajput, S., Pittman, C. U., & Mohan, D. (2016). Magnetic Magnetite (Fe_3O_4) Nanoparticle Synthesis and Applications for Lead (Pb^{2+}) and Chromium (Cr^{6+}) Removal from Water. *Journal of Colloid and Interface Science*, 334-346.
- Rana, V., & Sharma, R. (2019). Recent Advances in Development of Nano Drug Delivery. *Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems*, 93–131.
- Raspo, M. A., Gomez, C. G., & Andreatta, A. E. (2018). Optimization of antioxidant, mechanical and chemical physical properties of chitosan-sorbitol-gallic acid films by response surface methodology. *Polymer Testing*, 70, 180–187.
- Roto, R., Yusran, Y., Kuncaka, A. (2016). Magnetic adsorbent of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ core-shell nanoparticles modified with thiol group for chloroauric ion adsorption. *Applied Surface Science*, 377, 30-36
- Rouhollah, K., Pelin, M., Serap, Y., Gozde, U., & Ufuk, G. (2013). Doxorubicin Loading, Release, and Stability of Polyamidoamine Dendrimer-Coated Magnetic Nanoparticles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102(6), 1825–1835.

Rudolf, B., Salmain, M., Wilczewska, A. Z., Kubicka, A., Misztalewska, I., & Fischer-Durand, N. (2014). Fabrication of multifunctional magnetic nanoparticles bearing metallocarbonyl probes and antibodies. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 457, 142–151.

Sangaiya, P., & Jayaprakash, R. (2018). A Review on Iron Oxide Nanoparticles and Their Biomedical Applications. *Journal of Superconductivity and Novel Magnetism*.

Sayed, S., Millard, T., & Jardine, A. (2018). Expedient synthesis and properties of 6-deoxy-6-amino chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 196, 187–198.

Shah, A., & Dobrovolskaia, M. A. (2018). Immunological effects of iron oxide nanoparticles and iron-based complex drug formulations: Therapeutic benefits, toxicity, mechanistic insights, and translational considerations. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 14(3), 977–990.

Shi, D., Sadat, M. E., Dunn, A. W. and Mast, D. B. (2015). Photo-fluorescent And Magnetic Properties Of Iron Oxide Nanoparticles For Biomedical Applications. *Nanoscale*, 7, 8209–8232.

Sodipo, B. K., & Aziz, A. A. (2016). Recent advances in synthesis and surface modification of superparamagnetic iron oxide nanoparticles with silica. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 416, 275–291.

Soni, S. R., & Ghosh, A. (2018). Grafting Onto Biopolymers. *Biopolymer Grafting: Applications*, 335–389.

Zhang, S., Zhang, Y., Liu, J., Xu, Q., Xiao, H., Wang, X., Xu, H., Zhou, J. (2013). Thiol modified Fe₃O₄@SiO₂ as a robust, high effective, and recycling magnetic sorbent for mercury removal, *Chem. Eng. J.* 226 (June) 30–38.

Teimouri, A., Roohafza, S., Azadi, M., & Chermahini, A. N. (2017). Fabrication and characterization of chitosan/gelatin/nanodiopside composite scaffolds for tissue engineering application. *Polymer Bulletin*, 75(4), 1487–1504.

- Thedrattanawong, C., Manaspon, C., & Nasongkla, N. (2018). Controlling the burst release of doxorubicin from polymeric depots via adjusting hydrophobic/hydrophilic properties. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 46, 446–451.
- Ulu, A., Noma, S. A. A., Koytepe, S., & Ates, B. (2018). Magnetic Fe₃O₄@MCM-41 core–shell nanoparticles functionalized with thiol silane for efficient l-asparaginase immobilization. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 1–11.
- Uppal, S., Kaur, K., Kumar, R., Kaur, N. D., Shukla, G., & Mehta, S. K. (2018). Chitosan nanoparticles as a biocompatible and efficient nanowagon for benzyl isothiocyanate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 115, 18–28.
- Varlamov, V. P., & Mysyakina, I. S. (2018). Chitosan in Biology, Microbiology, Medicine, and Agriculture. *Microbiology*, 87(5), 712–715.
- Villena de Francisco, E., & García-Esteva, R. M. (2018). Nanotechnology in the agrofood industry. *Journal of Food Engineering*, 238, 1–11.
- Wang, C.-S., Virgilio, N., Wood-Adams, P. M., & Heuzey, M.-C. (2018). A gelation mechanism for gelatin/polysaccharide aqueous mixtures. *Food Hydrocolloids*, 79, 462–472.
- Wang, N., Gao, N., Jiang, S., et al. (2011). Effect of different structure MCM41 fillers with PP-g-MA on mechanical and crystallization performances of polypropylene. *Compos B Eng.*;42:1571–1577.
- Wang, X., Guo, Y., Qiu, L., Wang, X., Li, T., Han, L., Ouyang, H., Xu, W., Chu, K. (2018). Preparation and evaluation of carboxymethyl chitosan-rhein polymeric micelles with synergistic antitumor effect for oral delivery of paclitaxel. *Carbohydrate Polymers*.
- Wang, Y., Ma, S., Xie, Z., & Zhang, H. (2014). A synergistic combination therapy with paclitaxel and doxorubicin loaded micellar nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 116, 41–48.
- Wang, Z.-L., Ma, H., Wang, F., Li, M., Zhang, L.-G., & Xu, X.-H. (2016). Controllable Synthesis and Magnetic Properties of Monodisperse Fe₃O₄ Nanoparticles. *Chinese Physics Letters*, 33(10), 107501.

Wilczewska, A. Z., Kosińska, A., Misztalewska-Turkowicz, I., Kubicka, A., Niemirowicz-Laskowska, K., Markiewicz, K. H., ... Rudolf, B. (2019). Magnetic nanoparticles bearing metalcarbonyl moiety as antibacterial and antifungal agents. *Applied Surface Science*, 487, 601–609

Wu, S., Sun, A., Zhai, F., et al. (2011). Fe₃O₄ magnetic nanoparticles synthesis from tailings by ultrasonic chemical co-precipitation. *Mat Lett.* ;65(12):1882–1884.

Zhang, K., Yang, W., Liu, Y., Zhang, K., Chen, Y., & Yin, X. (2020). Laccase Immobilized on Chitosan-Coated Fe₃O₄ Nanoparticles as Reusable Biocatalyst for Degradation of Chlorophenol. *Journal of Molecular Structure*, 128769 (basimda)

Zhang, X., Shi, Jia, Zhao, Guo, Chen, ... Cheng. (2012). Biocompatibility of chitosan-coated iron oxide nanoparticles with osteoblast cells. *International Journal of Nanomedicine*, 5593.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/paclitaxel>

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Doxorubicin>

<https://www.sigmaaldrich.com/european-export.html>

<https://en.wikipedia.org/wiki/Chitin>

<https://www.chitosan.no/information/chitosan-info/>

ÖZGEÇMİŞ

Ad, Soyad : Şeyma TUNA

Doğum tarihi : 06.08.1989

E-posta : seymat.89@gmail.com

EĞİTİM

Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi – Biyokimya Programı (2017-2020)
Lisans	Marmara Üniversitesi– Kimya Bölümü (2008-2012)
Lise	Kandilli Kız Anadolu Lisesi

BİLDİRİ

Serap Demir, Aslı Beyler-Çiğil, Şeyma Tuna, “İlaç Taşıyıcı Sistemler Olarak Manyetik Fe₃O₄ nanoparçacıkları İçeren Hibrit Nano Malzemelerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu”
30.Ulusal Kimya Kongresi, 5-8 Kasın 2018, Kıbrıs.