



**T.C.**

**HİTİT ÜNİVERSİTESİ**

**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**İLERİ MALZEMELER VE NANOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HARİCİ MANYETİK ALAN KONTROLLÜ NANOYAPILI İLAÇ  
HEDEFLENDİRME TAŞIYICISI TASARIMI VE UYGULAMALARI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tuba ŞEKER**

**Çorum 2023**



**HARİCİ MANYETİK ALAN KONTROLLÜ NANOYAPILI İLAÇ  
HEDEFLENDİRME TAŞIYICISI TASARIMI VE UYGULAMALARI**

**Tuba ŞEKER**

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

**İleri Malzemeler ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi**

**TEZ DANIŞMANI**

**Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem DÖNMEZ GÜNGÜNEŞ**

**İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İlknur TOSUN SATIR**

**Çorum 2023**

Tuba ŞEKER tarafından hazırlanan “Harici Manyetik Alan Kontrollü Nanoyapılı İlaç Hedeflendirme Taşıyıcısı Tasarımı ve Uygulamaları” adlı tez çalışması 18/04/2023 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliğı ile Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü İleri Malzemeler ve Nanoteknoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Osman ÇUBUK

.....

Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem DÖNMEZ GÜNGÜNEŞ

.....

Dr. Öğr. Üyesi İlknur TOSUN SATIR

.....

Dr. Öğr. Üyesi Nuray EMİN

.....

Dr. Öğr. Üyesi Sabiha ŐENSÖZ

.....

Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun .../.../..... tarih ve ..... sayılı kararı ile Tuba ŞEKER'in İleri Malzemeler ve Nanoteknoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

Unvanı Adı Soyadı

Lisansüstü Eğitim EnstitüsüMüdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını beyan ederim.

Tuba ŞEKER



# HARİCİ MANYETİK ALAN KONTROLLÜ NANOYAPILI İLAÇ HEDEFLENDİRME TAŞIYICISI TASARIMI VE UYGULAMALARI

Tuba ŞEKER

ORCID: 0000-0002-5907-7251

HİTİT ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans Tezi

Ocak 2023

## ÖZET

Sistemik ilaç kullanımının getirdiği bazı temel sorunlar bulunmaktadır. Bunlardan başlıcaları, ilacın vücutta biyodağılımının etkin şekilde sağlanamaması, ilacın hastalıklı bölgeye yönelik afinite eksikliği, yeterli lokal konsantrasyona ulaşılabilmesi için yüksek sistemik dozun gerekliliği, yüksek ilaç dozlarına bağlı gelişen yan etki ve toksisite olarak sayılabilir. İlaç etki bölgesine ulaşana kadar, pek çok sağlıklı organ, doku, hücre ve bariyeri aşmak zorunda kalarak etkinliğini yitirebilmektedir. İlaç hedeflendirme, yani hedef bölgede baskın ilaç birikimi bu sorunların çoğunu çözebilir. Bu tez çalışmasında, belirli bir hedef bölgeye ilgili ilacın etkin dozda harici bir manyetik alan kullanılarak yönlendirilmesini sağlamaya yönelik bir nano taşıyıcı tasarlanması, karakterizasyonu ve ilaç hedeflendirme uygulamalarının gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır. Model ilaç olarak kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan Doksorubisin Hidroklorür (DOX) seçilmiştir. DOX taşıyıcı olarak üç farklı manyetik malzeme MCapIII, PEG@MCapIII ve MCapIV sentezlenmiştir. MCapIV'ün pH'a duyarlı bir salım profili sergilediği görülürken, MCapIII ve PEG@MCapIII için pH farkı ilaç salım davranışı üzerinde belirgin bir etki yaratmamıştır. PEG@MCapIII'ün MCapIII ve MCapIV'e kıyasla daha kontrollü bir salım gerçekleştirdiği ve ani salım etkisinin polietilenglikol kaplama ile azaldığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Kavramlar:** Kanser, ilaç hedeflendirme, nanobiyomalzeme, fitosentez, manyetik nanopartikül

**Bilim Kodu:** 92305, 20112

**DESIGN AND APPLICATIONS OF EXTERNAL MAGNETIC FIELD CONTROLLED  
NANOSTRUCTURED DRUG TARGETING CARRIER**

Tuba ŞEKER

ORCID: 0000-0002-5907-7251

HITIT UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL

Master of Science Thesis

January 2023

**ABSTRACT**

There are some basic problems brought about by systemic drug use. The main ones are the inability to ensure effective biodistribution of the drug in the body, the lack of affinity of the drug for the diseased area, the necessity of high systemic dose to reach sufficient local concentration, side effects and toxicity due to high drug doses. Until the drug reaches the site of action, it may lose its effectiveness by having to overcome many healthy organs, tissues, cells and barriers. Drug targeting, that is, predominant drug accumulation at the target site, can solve most of these problems. In this thesis, it is aimed to design, characterize and perform drug targeting applications of a nanocarrier to ensure that the relevant drug is directed to a specific target region using an external magnetic field at an effective dose. Doxorubicin Hydrochloride (DOX), which is widely used in cancer treatment, was chosen as a model drug. Three different magnetic materials MCapIII, PEG@MCapIII and MCapIV were synthesized as DOX carriers. While MCapIV appeared to exhibit a pH-sensitive release profile, the pH difference for MCapIII and PEG@MCapIII had no significant effect on drug release behavior. It has been determined that PEG@MCapIII has a more controlled release compared to MCapIII and MCapIV and its burst release effect is reduced with polyethyleneglycol coating.

**Key Terms:** Cancer, drug targeting, nanobiomaterial, phytosynthesis, magnetic nanoparticle

**Science Code:** 92305, 20112

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması boyunca, bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, her konuda sonsuz yardımcı olan danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi iğdem DÖNMEZ GÜNGÜNEŞ'e ve eş danıőmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi İlknur TOSUN SATIR'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Tezin biyouyumluluk ve sitotoksisite çalışmalarında sunduğu değerli katkılardan dolayı sayın Dr. Öğr. Üyesi Nuray EMİN'e teşekkür ederim. Ayrıca hiçbir konuda yardımlarını esirgemeyen ve tez kapsamındaki tüm Mössbauer ölçümlerini gerçekleőtiren hocam Sayın Prof. Dr. Hakan GÜNGÜNEŞ'e teşekkürü borç bilirim. Tüm bu süreç boyunca bana destek olan sevgili eşim Prof. Dr. B. őenol şeker'e, değerli ocuklarım Selim şeker ve Eda şeker'e ve değerli annem Halime Kayalarlı'ya her zaman yanımda oldukları ve göstermiő oldukları fedakarlıklardan dolayı sonsuz őükranlarımı sunarım.

Tuba şEKER



Bu tez çalışması, SAGBF19004.21.001 kodlu “Harici Manyetik Alan Kontrollü Nanoyapılı İlaç Hedeflendirme Taşıyıcısı Tasarımı ve Uygulamaları” başlıklı proje kapsamında Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.



## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	v
TEŞEKKÜR .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
TABLolar DİZİNİ .....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xiv
RESİMLER DİZİNİ.....	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xviii
GİRİŞ .....	1

### 1. BÖLÜM

#### KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

1.1. Kanser .....	10
1.2. Nanoteknoloji .....	10
1.3. İlaç Taşıyıcı Sistemler .....	11
1.4. Nano Büyüklükte İlaç Partiküllerinin Kullanılmasının Avantajları .....	13
1.5. Nanotaşıyıcı Sistemlerin Sınıflandırılması .....	14
1.5.1. Katı lipit nanopartiküller .....	14
1.5.2. Miseller .....	15
1.5.3. Lipozomlar .....	15
1.5.4. Dendrimerler .....	15
1.5.5. Nanojeller .....	16
1.5.6. Nanoemülsiyonlar .....	16
1.5.7. Karbon nanotüpler .....	16
1.5.8. Moleküler baskılama .....	17

1.6. Nanotaşıyıcı Sistemlerde Yüzey Modifikasyonları .....	17
1.7. Nanopartiküler İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Hedeflendirme .....	18
1.7.1. Pasif hedeflendirme .....	19
1.7.2. Aktif hedeflendirme .....	20
1.7.3. Kanser tedavisinde nano ilaç taşıyıcı sistemler .....	21
1.7.4. Uyarı-yanıt sistemine dayalı ilaç taşıyıcı sistemler .....	22
1.7.5. pH-duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler .....	22
1.7.6. Redoks- duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler .....	23
1.7.7. Enzim- duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler .....	23
1.7.8. Sıcaklık- duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler .....	24
1.7.9. Manyetik- duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler .....	24
1.7.10. Ultrason- duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler .....	25
1.7.11. Işığa- duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler .....	25
1.7.12. Polimer bazlı ilaç taşıyıcılar .....	26
1.7.12.1. Polietilen Glikol(PEG) .....	26
1.8. Kapari .....	28
1.9. Manyetit (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ) .....	29
1.10. Manyetik Nanoparçacıklarla Hedefli İlaç Taşıyıcı Sistemler .....	30
1.11. Doksorubisin (DOX) .....	32
1.12. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) .....	34
1.12.1. HPLC performansını etkileyen faktörler .....	35
1.13. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) .....	36
1.14. Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) .....	36
1.15. Tanecik Boyutu ve Zeta Potansiyel Analizi .....	37
1.16. Mössbauer Spektroskopisi .....	38
1.16.1. Mössbauer etkisi .....	39

1.16.2. Mössbauer izotopları .....	40
1.17. Dinamik Işık Saçılımı Yöntemi (DLS) .....	43
1.18. MTT Analizi .....	44
1.19. Sonokimyasal Yöntem .....	45
1.20. İlaç Adsorpsiyonu .....	46
1.20.1. Adsorpsiyon .....	46
1.20.2. Fiziksel adsorpsiyon .....	46
1.20.3. Kimyasal adsorpsiyon .....	46
1.20.4. Adsorpsiyon sürecini etkileyen faktörler .....	47
1.20.5. Adsorpsiyon kinetiği .....	47
1.20.5.1. Yalancı-birinci dereceden kinetik model .....	47
1.20.5.2. Yalancı-ikinci dereceden kinetik modeli .....	48
1.20.5.3. Tanecikler arası difüzyon kinetik modeli .....	48
1.20.6. Adsorpsiyon İzotermi .....	49
1.20.6.1. Langmuir izoterm modeli .....	49
1.20.6.2. Freundlich izoterm modeli .....	50

## **2.BÖLÜM**

### **MATERYAL VE YÖNTEM**

2.1. Madde, Malzeme, Ekipman ve Cihazlar .....	52
2.1.1. Deneylerde kullanılan madde ve malzemeler .....	52
2.1.2. Deneylerde kullanılan ekipman ve cihazlar .....	52
2.2. Kullanılan Analiz Yöntemleri ve Teknikler .....	53
2.2.1. Dinamik ışık saçılımı (DLS) ve zeta potansiyel analizi .....	54
2.2.2. SEM analizi .....	54
2.2.3. FTIR analizi .....	54

2.2.4. Sitotoksisite ve biyouyumluluk analizleri .....	55
2.2.4.1. MTT [3-(4,5-dimetildiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür] testi .....	55
2.2.4.2. Biyoluminesansa Dayalı LDH Analizi .....	56
2.2.4.3. Hoechst 33258/Propidium Iodide (HO/PI) Floresan Çift Boyama Yöntemi ile Hücre Morfolojisinin Belirlenmesi .....	57
2.2.5. Mössbauer spektrometresi analizi .....	58
2.3. Manyetik Kapari Nanobiyokompozitinin(MCap) Sentezi .....	58
2.3.1. Kaparinin senteze hazırlanması .....	58
2.3.2. FeCl <sub>2</sub> ile birlikte çöktürme yöntemi kullanılarak manyetik kapari nanobiyokompoziti I (MCap I)'in hazırlanması .....	59
2.3.3. FeCl <sub>2</sub> ile sonokimyasal birlikte çöktürme yöntemi kullanılarak manyetik kapari nanobiyokompoziti II (MCap II)'in hazırlanması .....	59
2.3.4. FeSO <sub>4</sub> ile sonokimyasal birlikte çöktürme yöntemiyle manyetik kapari nanobiyokompoziti III (MCapIII)'ün hazırlanması .....	60
2.3.5. FeSO <sub>4</sub> ile birlikte çöktürme yöntemi kullanılarak manyetik kapari nanobiyokompoziti IV (MCapIV)'ün hazırlanması .....	61
2.4. MCapIII'ün PEG ile Modifikasyonu .....	62
2.5. İlaç Yükleme Deneyi .....	63
2.6. İlaç Salım Deneyi .....	64
2.7.HPLC Şartları .....	65
2.8. Biyobozunurluk Analizi .....	67
2.9. İstatistiksel Analiz .....	67

### **3. BÖLÜM**

#### **BULGULAR**

3.1. Malzeme Karakterizasyonu .....	68
3.1.1. ZETA potansiyel ( $\zeta$ ) ve DLS analizi .....	68
3.1.2. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) .....	69

3.1.3. Fouirer transform infrared spektroskopisi (FT-IR) .....	69
3.1.4. Biyouyumluluk ve sitotoksisite analizleri .....	72
3.1.4.1. MTT [3-(4,5-dimetildiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür] Testi Bulguları	72
3.1.4.2. Biyoluminesansa Dayalı LDH Analizi Bulguları .....	74
3.1.4.3. İkili Boyama Hoechst 33258/Propidium Iodide (HO/PI) Floresan Çift Boyama Yöntemi ile Hücre Morfolojisi Analizi Bulguları .....	75
3.1.5. Mössbauer spektroskopisi sonuçları .....	77
3.2. Ön Denemeler .....	79
3.2.1. İlaç yükleme ve salım ön denemeleri .....	79
3.2.2. İlaç yükleme .....	80
3.3. İlaç Salım Deneyleri .....	81
3.4. İlaç Konsantrasyonu .....	84
3.4.1. İzoterm hesaplamalar .....	86
3.4.2. Kinetik hesaplamalar .....	92
3.5. Biyobozunurluk Analizi Bulguları .....	96

#### 4. BÖLÜM

#### TARTIŞMA VE SONUÇ

<b>TARTIŞMA .....</b>	<b>98</b>
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>102</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>103</b>

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.1.</b> Zeta potansiyel değerinin NP süspansiyon özelliğine etkisi .....	<b>38</b>
<b>Tablo 1.2.</b> Fiziksel ve kimyasal adsorpsiyonun karşılaştırılması .....	<b>47</b>
<b>Tablo 1.3.</b> $R_L$ değerleri ve izoterm tipleri .....	<b>50</b>
<b>Tablo 2.1.</b> Çalışmada kullanılan analiz yöntemleri ve elde edilen veriler .....	<b>54</b>
<b>Tablo 2.2.</b> HPLC analiz parametreleri .....	<b>66</b>
<b>Tablo3.1.</b> Karakterizasyon çalışması sonuçları .....	<b>68</b>
<b>Tablo 3.2.</b> Farklı yöntemle sentezlenen manyetik nanoparçacıkların Mössbauer spektrumlarının oda sıcaklığında uyumlandırılmasıyla elde edilen aşırı ince yapı parametreleri .....	<b>79</b>
<b>Tablo 3.3.</b> İlaç yükleme potansiyelleri .....	<b>81</b>
<b>Tablo 3.4.</b> İlaç adsorpsiyonu için izoterm sabitleri .....	<b>91</b>
<b>Tablo 3.5.</b> İlaç adsorpsiyonu için kinetik parametreler .....	<b>96</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Hedeflendirilmiş ilaç salım sistemleri şematik gösterimi .....	13
Şekil 1.2. EPR etkisi şematik gösterimi .....	20
Şekil 1.3. Polietilen glikol molekül formülü .....	27
Şekil 1.4. Doksorubisin molekül formülü .....	32
Şekil 1.5. Bir HPLC sistemindeki ana bileşenler .....	35
Şekil 1.6. Çözelti içindeki nanoparçacık yüzeyindeki elektriksel çift tabakanın şematik Gösterimi .....	37
Şekil 1.7. Zeta potansiyelin süspansiyon özellikleri üzerine etkisinin şematik gösterimi .....	38
Şekil 1.8. a) Bir gama ışını emisyonunda veya absorpsiyonunda serbest çekirdeklerin b) Çekirdekler kristal kafes gibi katı bir matris içindeyken bir gama ışınının geri tepmesiz emisyonu veya absorpsiyonu geri tepmesi .....	40
Şekil 1.9. Yayıcı ve soğurucu çekirdekler .....	40
Şekil 1.10.1) çıplak bir çekirdek, (2) elektrik monopol etkileşimi (izomer kayması), (3) elektrik dört kutuplu etkileşim (dört kutuplu bölme) ve (4) manyetik dipol etkileşimi için nükleer enerji seviyesi diyagramını gösteren <sup>57</sup> Fe çekirdekleri için aşırı ince etkileşimlerin gösterimi .....	41
Şekil 1.11. Kaynak ve soğurucu atomların enerji seviyeleri ve oluşan spektrumlar .....	42
Şekil 1.12. Hidrodinamik çap .....	43
Şekil 1.13. MTT analizinin şematik gösterimi .....	44
Şekil 1.14. Adsorpsiyonun şematik gösterimi (a)tek tabakalı adsorpsiyon modeli ve (b) çok tabakalı adsorpsiyon modeli .....	49
Şekil 2.1. Biyoluminesansa dayalı LDH testi mekanizması .....	56
Şekil 2.2. Manyetik kaparinin hazırlık ve sentez şeması .....	59
Şekil 2.3. Manyetik Kapari Nanobiyokompozitinin (MCApIII) Sentez Şeması .....	60
Şekil2.4. MCApIV'ün Sentez Şeması .....	62



<b>Şekil 2.5.</b> A) PEG kaplı manyetik nanobiyokompozit (PEG@MCapIV) malzemenin sentezi B) PEG ile kaplama öncesi ve C) PEG ile kaplama sonrası neodmiyum mıknatıs ile manyetik özelliğın gösterimi .....	<b>63</b>
<b>Şekil 2.6.</b> İlaç yükleme deneyi akış şeması .....	<b>64</b>
<b>Şekil 2.7.</b> İlaç yükleme ve salım deneyi akış şeması .....	<b>65</b>
<b>Şekil 2.8.</b> DOX kalibrasyon grafiğı .....	<b>66</b>
<b>Şekil 2.9.</b> 5-FU kalibrasyon grafiğı .....	<b>67</b>
<b>Şekil 3.1.</b> SEM analizi sonuçları A) MCapIV B) MCapIII C) PEG@ MCapIII (Ölçek:2 µm) .....	<b>69</b>
<b>Şekil 3.2.</b> a)Saf kapari, MCapIII ve MCapIV b) MCapIII, PEG@MCapIII ve saf PEG c)PEG@MCapIII, PEG@MCapIII + DOX/pH 7.4 ve PEG@MCapIII + DOX/pH 5.2 FT-IR spektrumları .....	<b>70</b>
<b>Şekil 3.3.</b> MCapIII MTT testi hücre canlılığı verileri .....	<b>73</b>
<b>Şekil 3.4.</b> PEG@MCapIII MTT testi hücre canlılığı verileri .....	<b>73</b>
<b>Şekil 3.5.</b> MCapIV MTT testi hücre canlılığı verileri .....	<b>73</b>
<b>Şekil 3.6.</b> MCapIII LDH grafiğı .....	<b>74</b>
<b>Şekil 3.7.</b> PEG@MCapIII LDH grafiğı .....	<b>75</b>
<b>Şekil.3.8.</b> MCapIV LDH grafiğı .....	<b>75</b>
<b>Şekil 3.9.</b> 7 günlük maruziyet sonunda A, B ve C kontrol grubu; D, E ve F 5µg/mL, G,H ve I ise 100 5µg/mL PEG@MCapIII ile muamele edilmiş mezenkimal kök hücrelere ait ikili boyama floresan mikroskop görüntüleri (Ölçek: 200 µm) (Mavi ok: Erken apoptotik hücre, Kırmızı ok: Geç apoptotik hücre, Pembe ok: Nekrotik Hücre) .....	<b>77</b>
<b>Şekil 3.10.</b> Farklı yöntemle sentezlenen a) MCapIII, b) PEG@MCapIII ve c) MCapIV'e ait Mössbauer Spektrumları .....	<b>78</b>
<b>Şekil 3.11.</b> PEG@MCapIII 5 FU İlaç Salımı Ön Deneme Sonuçları .....	<b>80</b>
<b>Şekil 3.12.</b> MCapIII DOX ilaç salım deneyi .....	<b>82</b>
<b>Şekil 3.13.</b> PEG@MCapIII DOX İlaç Salım Deneyi .....	<b>83</b>
<b>Şekil 3.14.</b> MCapIV DOX ilaç salım deneyi .....	<b>83</b>
<b>Şekil 3.15.</b> MCapIII ilaç konsantrasyonu deneyi .....	<b>84</b>
<b>Şekil 3.16.</b> PEG@MCapIII ilaç konsantrasyonu deneyi .....	<b>85</b>

<b>Şekil 3.17.</b> MCapIV ilaç konsantrasyonu deneyi .....	<b>85</b>
<b>Şekil 3.18.</b> MCapIII Freundlich izoterm modeli .....	<b>86</b>
<b>Şekil 3.19.</b> MCapIII Langmuir izoterm modeli .....	<b>87</b>
<b>Şekil 3.20.</b> MCapIII D-R izoterm modeli .....	<b>87</b>
<b>Şekil 3.21.</b> MCapIV Freundlich izoterm modeli .....	<b>88</b>
<b>Şekil 3.22.</b> MCapIV Langmuir İzoterm modeli .....	<b>88</b>
<b>Şekil 3.23.</b> MCapIV D-R izoterm modeli .....	<b>89</b>
<b>Şekil 3.24.</b> PEG@MCapIII Freundlich İzoterm Modeli .....	<b>89</b>
<b>Şekil 3.25.</b> PEG@MCapIII Langmuir İzoterm Modeli .....	<b>90</b>
<b>Şekil 3.26.</b> PEG@MCapIII D-R İzoterm Modeli .....	<b>90</b>
<b>Şekil 3.27.</b> MCapIII ile yalancı-birinci-dereceden kinetik modeli .....	<b>92</b>
<b>Şekil 3.28.</b> MCapIV ile yalancı-birinci-dereceden kinetik modeli .....	<b>93</b>
<b>Şekil 3.29.</b> PEG@MCapIII ile yalancı-birinci-dereceden kinetik modeli .....	<b>93</b>
<b>Şekil 3.30.</b> MCapIII ile yalancı-ikinci-dereceden kinetik modeli .....	<b>94</b>
<b>Şekil 3.31.</b> MCapIV ile yalancı-ikinci-dereceden kinetik modeli .....	<b>94</b>
<b>Şekil 3.32.</b> PEG@MCapIII ile yalancı-ikinci-dereceden kinetik modeli .....	<b>95</b>
<b>Şekil 3.33.</b> MCapIII, PEG@MCapIII ve MCapIV'e ait iki farklı pH ortamı ve 37 °C'deki zamana bağlı % kütle değişimi grafiği .....	<b>97</b>

## RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
<b>Resim 1.1.</b> Capparis Spinosa bitkisi A) tohumu B) çiçeği .....	<b>29</b>
<b>Resim 2.1.</b> Nanoyapılı ilaç hedeflendirme taşıyıcısının kurutma ve yıkama aşamaları .....	<b>61</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

$[A]_{\text{örnek}}$	Örnek test numunesinin absorbanası
$[A]_{\text{kontrol}}$	Kontrol numunesinin absorbanası
$^{\circ}\text{C}$	Santrigrat Derece
C	Adsorpsiyon işleminin tabaka kalınlığını gösteren sabit
$C_d$	Dengede adsorplanmadan kalan madde miktarını ( $\text{mg L}^{-1}$ )
$C_0$	Maksimum adsorbat derişimidir ( $\text{mg L}^{-1}$ )
$\text{CO}_2$	Karbon dioksit
Co	Kobalt
cm	Santimetre
$d(H)$	Hidrodinamik çapı
$E_D$	Doppler Enerjisi
$E_R$	Geri Tepkime Enerjisi
Fe	Demir
$\text{Fe}^{2+}$	+2 yüklü demir iyonu
$\text{Fe}^{3+}$	+3 yüklü demir iyonu
$\text{Fe}_3\text{O}_4$	Manyetit
$\text{Fe}_2\text{O}_3$	Hematit
$\text{FeCl}_2$	Demir(II) klorür
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Demir(II) klorür tetra hidrat
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Demir(III) klorür hekza hidrat
$\text{FeSO}_4$	Demir (II) sülfat
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Demir(II) sülfat hepta hidrat
g	Gram
HCl	Hidroklorik asit

Hz	Hertz
k	Boltzmann sabitini
K	Kelvin
$k_1$	Yalancı birinci dereceden hız sabiti ( $\text{dk}^{-1}$ )
$k_2$	Yalancı ikinci dereceden hız sabiti ( $\text{dk}^{-1}$ )
kHz	Kilo Hertz
$K_F$	DeneySEL olarak hesaplanan adsorpsiyon kapasitesi ( $\text{L mg}^{-1}$ )
$K_L$	Langmuir sabiti ( $\text{L mol}^{-1}$ )
$k_p$	Partiküller arası difüzyon hız sabiti ( $\text{mg g}^{-1} \text{dk}^{-1/2}$ )
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mili litre
mm	Mili metre
m	manyetik kuantum sayısı
mV	Milivolt
n	Adsorpsiyon şiddeti
nm	Nanometre
NaCl	Sodyum klorür
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
$\text{NH}_4\text{OH}$	Amonyum hidroksit
NaOH	Sodyum hidroksit
$\text{NH}_3$	Amonyak
$q_d$	Dengedeki adsorpsiyon kapasitesi ( $\text{mg g}^{-1}$ ),
$q_t$	t anında adsorplanmış sorbat miktarı ( $\text{mg g}^{-1}$ )

$q_2$	Maksimum adsorpsiyon kapasitesini ( $\text{mg g}^{-1}$ ),
$q_m$	Teorik doygunluk kapasitesi ( $\text{mg g}^{-1}$ )
$q_{\text{max}}$	Maksimum tek tabakalı adsorpsiyon kapasitesini ( $\text{mg g}^{-1}$ ),
$r_1$	Uzunlamasına gevşeme
$r_2$	Enine gevşeme
$R_L$	Langmuir izoterminin temel özellikleri
Rh	Rodyum
rpm	Dakikadaki devir sayısı
t	Zaman (dk.)
T	Mutlak sıcaklığı
V	Kullanılan çözelti hacmi (L)
B	Adsorbatın bir molü için biyosorpsiyonun ortalama serbest enerjisi ile ilgili sabit ( $\text{mol}^2 \text{J}^{-2}$ )
$\epsilon$	Molar absorpsiyon katsayısı
$\mu\text{l}$	Mikro litre
$\mu\text{m}$	Mikro metre
$\eta$	Viskoziteyi
$\pi$	Pi sayısı
W	Yarı maksimumdaki tam genişlik

### Kısaltmalar

AC	Asetat tamponu
ANSYS	Sonlu elemanlar bilgisayar programı
APTS	3-Aminopropil trietoksisilan
BT	Bilgisayarlı Tomografi
Curc	Kurkumin

D	Difüzyon katsayısı
DEG	Dietilen Glikol
Dk.	Dakika
DLS	Dinamik Işık Saçılımı
DMF	Dimetilformamid
DMEM	Dulbecco'nun modifiye edilmiş Eagle ortamı
DOX	Doksorubisin Hidroklorür
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EG	Etilen glikol
EPR	Artmış Geçirgenlik ve Alıkonma
FA	Folik asit
FTIR	Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @SiO <sub>2</sub>	Silisyum dioksit ile yüzeyi modifiye edilmiş manyetit nanopartiküller
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @PEG@FA	PEG ile stabilize edilmiş ve folik asit ile modifiye edilmiş manyetit nanopartiküller
GSH	Glutatyon
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC	İyon Değişim Kromatografisi
ID	İç Çap
IS	İzomer kayması
LDH	Laktat Dehidrogenaz
MCapI	FeCl <sub>2</sub> ile birlikte çöktürme yöntemi kullanılarak elde edilen manyetik kapari nanobiyokompoziti
MCapII	FeCl <sub>2</sub> ile sonokimyasal birlikte çöktürme yöntemi kullanılarak elde edilen manyetik kapari nanobiyokompoziti
MCapIII	FeSO <sub>4</sub> ile sonokimyasal birlikte çöktürme yöntemiyle elde edilen manyetit kapari nanobiyokompoziti

MCApIV	FeSO <sub>4</sub> ile birlikte çöktürme yöntemi kullanılarak elde edilen manyetik kapari nanobiyokompoziti
MNP	Manyetik Nanopartikül
MRI	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MSC	Mezenkimal Kök Hücre
MTT	3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolyum bromür
NIR	Yakın kızılötesi
NP	Nanopartikül
NP HPLC	Normal Faz Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
PBS	Fosfat tuzu tamponu
PDI	Polidispersite indeksi
PEG	Polietilen Glikol
PEG@MCApIII	Polietilen glikol kaplı MCApIII
PI	Propidyum iyodür
PGA-g-PEG	poli(gliserol monoakrilat)-g-poli(PEG metil eter akrilat)
QUR	Quercetin
QMNM	Quercetin yüklü manyetik nano miseller
QS	Kuadrupol yarılma
RT	Alıkonma zamanı
RES	Retiküloendotelyal Sistem
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SPION	Süper Paramanyetik Demir Oksit Nanopartiküller
SPION PEG D	DOX ile konjuge edilmiş PEG kaplı SPION
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
UV	Ultraviyole
5-FU	5-Fluorouracil
$\alpha$ -MEM	Eagle'ın minimum esansiyel ortamı



## GİRİŞ

Çağımızın hastalığı olan kanser, genel anlamda vücudumuzun çeşitli bölgelerindeki tümör hücrelerin kontrolsüz çoğalması ile oluşan bir rahatsızlıktır. Vücudun hangi organında veya sisteminde ortaya çıkarsa ona göre adlandırılan ve 100'den fazla çeşidi olan bir hastalık grubudur. Bu hastalığın kesin bir tedavisi olmasa da yapılan klasik tedaviler insan vücudunda önemli ölçüde yan etkiler bırakmakta ve yaşam standardını olumsuz yönde etkilemektedir. Her geçen gün vaka sayıları artmakta, bu yüzden hastalığın erken tanı ve tedavi süreci önem kazanmaktadır.

Son zamanlarda kanser vakalarının artması, geleneksel kanser tanı ve tedavilerinin ortaya koyduğu yan etkilerin azaltılması ya da ortadan kaldırılması ve etkili bir tedavi için yeni teknolojiler bulmaya yönelik önemli çalışmalar yapılmaktadır. Araştırmacılar tarafından kanser tedavileri geliştirmek için sürekli en az yan etki, anti-metastaz, yüksek özgüllük, yeni düşük maliyetli ve etkili çözümler bulmak için çaba sarf edilmektedir. Tümörlerin tedavisinde nanotıp, kesin ve verimli ilaç hedeflemesi ile klinik uygulamada çok önemli hale gelmektedir (Cui ve ark.,2022). Bu amaçla antikanser ilaçlarının biyolojik tampondaki çözünürlüklerini, stabilitelelerini ve hedeflendirilebilirliklerini artıran nano boyutlu kemoterapötik sistemler geliştirilmektedir (Wang ve ark., 2016).

İlaç tasarımındaki ana hedef, gelişmiş biyolojik aktiviteye sahip yenilikçi terapötik ajanları sentezlemek ve geliştirmek olmuştur. Kontrollü salım sistemlerinde, ilaç etki yerine taşınırken, hedef bölge üzerindeki etkinliği artar ve istenmeyen yan etkileri en aza indirilir. Manyetik nanopartiküllerin sahip olduğu emsalsiz manyetik özellikler, biyolojik etkileşimlerin hücresele ve moleküler düzeyde çalışma yetenekleri vardır. Bu tez çalışmasında, manyetik nanopartiküllere yüklenmiş etkin maddenin istenilen bölgeye seçici olarak yönlendirilmesi ve ilaç konsantrasyonunun bu bölgede diğer bölgelere göre artırılması için gerekli etken maddeyi taşıyan ve hedef bölgede çeşitli yöntemlerle ilacı kontrollü biçimde bırakabilecek özel bir sistemin tasarımı amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak kapari tohumları (Capparis spinosa) manyetik nanoparçacıklarla bir araya getirilerek kompozit bir ilaç taşıyıcı biyomalzeme üretilmiştir.

Bu tez çalışmasında nano biyokompozit ilaç taşıyıcı malzemenin sentezlenmesinde katkı malzemesi olarak öğütülmüş Capparis spinosa tohumları kullanılmıştır. Literatürde kapari tohumlarının nanoparçacık sentezinde kullanıldığı çalışmalara rastlanmıştır (Benankashani ve ark., 2016, Ebrahimi ve ark.,2017, Samari ve ark., 2019, Zarei ve ark.,2021) ancak, ilaç hedeflendirme sistemi olarak tasarlanan bir nano biyomalzeme olarak kullanımına rastlanmamıştır. Model ilaç olarak seçilen DOX ile manyetik hedeflendirme çalışmaları mevcuttur (Unsoy ve ark., 2014) ancak belirlenen sentez yöntemi ile üretilen ve Capparis spinosa ve polietilen glikol (PEG) içerikli bir malzeme ile çalışma ilk kez yapılmıştır.

Belirlenen iki farklı sentez yöntemi kullanılarak elde edilen manyetik nano biyokompozit karakterizasyonu için TEM, SEM, XRD, Zeta Potansiyeli ve Mössbauer Spektroskopisi yöntemleri kullanılmıştır. Elde edilen nano biyokompozitin ilaç yükleme ve salınım potansiyeli HPLC tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Nano biyokompozitin biyoyumluluk-sitotoksosite özelliklerinin analizi için MTT testi yapılmıştır. Ön deneme sonuçları ve literatür verileri ışığında nano biyokompozit malzeme PEG ile kaplanarak ilaç tutma kapasitesi ve dolaşım yarı ömrünün uzatılması hedeflenmiştir.

Bu çalışmada, hedefe yönelik ilaç salınımı yapabilen biyoyumlu bir nano biyokompozit malzeme hazırlanarak ilaç taşıyıcı olarak kullanımı amaçlanmıştır. Manyetik özellikte olacak olan ilaç taşıyıcısının, NdFeB mıknatıslar ile oluşturulacak bir harici manyetik alan ile hedef bölgeye yönlendirilebilir olması planlanmıştır. Tasarlanan taşıyıcı sistem ile, klasik ilaç uygulamalarının sınırlı etkinlik, zayıf biyolojik dağılım, toksisite ve duyarlılık eksikliği gibi sınırlamalarının aşılması hedeflenmiştir.

## 1. BÖLÜM

### KURAMSAL TEMELLER

Nanoteknolojinin hızlı gelişimi ile ilaç salınımının nanoyapılar ile bağlantılı olarak yapılabilmesi için araştırmalar devam etmektedir. Eşsiz ve üstün özellikleri nedeniyle, çeşitli nanoyapılar, az çözünen ilaçların çözünürlüğünü önemli ölçüde artırabilir, normal dokulara karşı sitotoksiteyi azaltabilir ve terapötik etkinliği geliştirebilir (Lu ve ark., 2016).

Bu sistemler kullanılarak birçok başarı elde edilmesine karşın bazı dezavantajları nedeniyle tedavideki istenilen yerini alabilmesi için daha çok çalışma yapılması gerekmektedir. İlaç taşıyıcı sistemlerin bağışıklık sistemi tarafından temizlenerek vücuttan atılmaları, toksik etkileri ve hedeflenen yere yeterli dozda ilacın salınmaması gibi dezavantajları nedeniyle, akıllı ilaç taşıma sistemlerine ihtiyaç duyulmuştur (Keçeloğlu, 2020).

Verimli bir terapötik salım tasarımı; ilaç taşıyan uygun yapının seçimine, başarılı hedeflemeye ve terapötik moleküllerin bölgeye özgü birikimini sağlayan yük salımına bağlıdır. İn vitro ortamda tasarlanan hedefli ilaç taşıyıcı sistemin in vivo ortamda ilacı seçici olarak hedeflenen bölgeye vermesi kesin değildir. İlaç taşıyıcı sistem damar içine verildikten sonra çeşitli biyolojik engellerle karşılaşır. Bu engelleri, hedef dışı izlenimleri ve in vivo toksiteyi azaltarak, yükün terapötik etkinliğini arttırmak için tasarım yapılırken bu veriler göz önünde bulundurulmalıdır (Voronin ve ark., 2021).

Günümüzde, giderek artan sayıda nanofarmasötikler, yaşamı tehdit eden hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Zayıf sulu çözünürlük sergileyen bileşiklerin biyoyararlanımı olarak, ağızdan uygulanan dozaj formları alanında, sadece salım hızı değil aynı zamanda geçici bir aşırı doygunluk, geçirgenliği engelleyerek kan dolaşımına belirli miktarda ilaç verilmesi izin verir (Jung ve ark., 2018).

Hedeflenen ilaç dağıtım sistemleri, karmaşık yapılardır ve büyük avantajlarından dolayı sayısız araştırmacı tarafından yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Hedefli ilaç dağıtım sistemleri ilaçları veya biyolojik aktif maddeleri istenilen doku/reseptöre ulaştırmak, tümör bölgesinde hızlı ve kesin olarak hareket etmek ve böylece sistemik toksisite güçlü bir şekilde sınırlamak avantajları arasındadır. Nanopartiküller aktif veya pasif tümör hedefleme araçları olarak kullanılabilir (Movileanu ve ark., 2022).

Nanotaşıyıcı tabanlı platformlar, genellikle yüksek yüzey alanı/hacim oranı ile karakterize edilen mikron altı boyutuna (tipik olarak <500 nm) sahip koloidal nanopartiküllerden oluşan kemoterapötik aktif ilaçların taşınmasına ayrılmış sistemlerdir. Bu nanoyapılı prototipler, aktif (anti kanser dahil) ilaçların hastalıklı dokulara etkili bir şekilde verilmesini sağlamıştır (Lombardo ve ark., 2019).

İlaç hedefleme, ilacın organizmadaki dağılımının, yalnızca hedef dokuyla etkileşime girecek şekilde hareket ettiği bir yöntemdir. Teorik olarak, seçici veya hedefe yönelik ilaç dağıtım sistemleri klasik yöntemlere göre verilen ilaç molekülünün maksimum oranda yalnızca tedavi edilecek hücrelerle reaksiyona girmesine izin vererek normal sağlıklı hücrelere olumsuz etkisinin olmasının önüne geçebilir. İlaç hedeflemede birinci hedef ilacın normale karşı tümöre seçici geçişi, ikinci dereceden hedefleme, hücre füzyonu, endositoz veya pinositoz yoluyla ilaçların hücre içi taşınmasını nitelendirir (Lübbe ve ark., 2001).

Hedeflendirmede ilaç salım mekanizmaları birçok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterir. İlaç taşıyıcı maddenin gözenek boyutu, bağlanabilirlik, ilaç/taşıyıcı etkileşimi ve ilaç/polimer deformasyon hızı gibi değişkenlerden etkilenebilirler. Bu nedenle, serbest bırakma mekanizması ihtiyaç duyulan tedavi ve bölgeye göre belirlenmelidir. Tümörlü dokuların pH'ı normal dokulardan daha düşüktür. Fizyolojik ortamdaki pH (~7.4) ve tümör hücresi pH (~5.0–7.0) olduğundan ilaç salınımını sağlamak için önce stabil pH da ilaç dağıtım sistemleri hazırlanmalıdır. Daha sonra salım yapılacak ortama göre pH ayarlanmalıdır. İn vitro ilaç salım çalışmaları asidik pH'ta daha yüksek ilaç salınımı göstermektedir (Aydın, 2020).

Yüzey Nanopartiküllerin işlevselleştirilmesi için ilaç yüklemesinden önce ek yüzey iyileştirmesi yapılarak ilaç yükleme sürecini ve salım özelliğini tamamen değiştirebilir (Wang ve ark., 2016).

Son zamanlarda tıbbi uygulamalar alanında, özellikle klinik tanıda ve çeşitli tedavi yöntemlerinde manyetik nanoparçacıkların kullanımı özellikle ilgi çekici olmuştur. Biyomedikal uygulamalarda kullanılan nanopartiküllerin Biyouyumluluk, biyobozunurluk, manyetik özellikler ve kolay işlevselleştirme gibi kullanışlı özelliklerinin olması gerekmektedir. Manyetik nanopartiküller, hücreler, virüsler, bakteriler, proteinler, nükleik asitler, enzimler gibi biyolojik parçaların tespiti için, biyolojik olarak ayrılmaların teşhisi için ve hedeflenen ilaç dahil terapötik nedenler için manyetik rezonans görüntüsü (MRI) kullanılabilir. Kemoterapinin en önemli sınırlamaları çoklu ilaç kullanımı ve buna bağlı olarak tümör dokularında ve hücrelerinde ilacın tercihli birikme olmaksızın vücutta dağılım nedeniyle doku toksisitesine sebep olmasıdır (Movileanu ve ark., 2022).

Antitümör tedavisinde tercih edilen yöntemlerden biri hedeflenen bölgeye yönelik uyarılara duyarlı ilaç dağıtım sistemleridir. Bu yöntemlerden tedavi amacıyla kullanılmakta olanlardan biri de manyetik nano malzeme kullanılarak yapılan akıllı ilaç hedeflendirmedir. Bu teknoloji, ilacı konsantre eden ferro-sıvıları olan taşıyıcı manyetik özelliği aracılığı kullanılarak ilgi alanına (tümör bölgesi) taşınır. Daha sonra, ilaç ferro-sıvıdan desorbe olur (Lübbe ve ark., 2001).

Fink ve arkadaşları (2020) yaptıkları çalışmada, bir görüntüleme teknolojisi olan manyetik otomotiv ultrason tekniğiyle, manyetik nanoparçacıklar ile ilaç hedeflendirilmesi yapılmış olan

bir dokunun görüntüsünün elde edilmesini sağlamaya çalışmışlardır. Bu araştırmada, bir tavşanın kanser tedavisi için manyetik ilaç hedeflendirme işlemi sırasında, demir oksit nanoparçacıkların toplanmasını canlı olarak ölçme imkanını yakalamışlardır. Bu yöntemin, manyetik ilaç hedeflendirme işlemleri için gelecek vadeden bir yöntem olduğu sonucuna, yaptıkları ölçümler sonucu ulaşmışlardır.

Polimer bazlı ilacın verme sistemleri, böbreklerin temizleme işini azaltarak ilacın yarı ömrünü artırabilir. Ayrıca ilacı enzimatik bozulmadan korur. Yüksek kapasite yüzey modifikasyonu işlevselleştirme sağlayarak, hidrofobik ilaçların bile suda çözünürlüğünün artırılmasını kolaylaştırmaktadır. Polimerik nanoparçacıkların polietilen glikasyonu (PEG) stabilizeyi ve dolayısıyla yarı ömrü, yanı sıra immünojenik olmayan ve antijenik olmayan özellikler artırmak için sıklıkla uygulanır (Narmani ve ark., 2018).

Yapılan çalışmalar, manyetik demir oksit nanoparçacıklarının in vivo uygulamalarının spesifik olmayan alımları doğuştan gelen bağışıklık sistemi tarafından engellendiğini göstermiştir. Nanoparçacıkların yüzey PEGilasyonu, uzun bir kan dolaşımı yarı ömrü için retiküler-endotel sisteminden kaçmak için uygun bir yaklaşım olabilir. Ni ve arkadaşları yaptıkları çalışmada iki boyutta monodispers nanoparçacık sentezlemişlerdir (Ni ve ark., 2012). Nispeten uzun dolaşım yarı ömrüne sahip ideal bir malzeme için PEG uzunluğunun azaltılmış protein adsorpsiyonu ve makrofaj hücreleri tarafından spesifik olmayan alım üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda yüksek moleküler ağırlıklı PEGilasyona sahip küçük nanopartiküllerin boyut etkisi ve protein adsorpsiyonunu azaltmadaki yüksek etkinliği nedeniyle daha uygulanabilir olabileceğini göstermişlerdir.

Bir başka çalışmada kararlı sulu demir oksit nanopartikül dispersiyonları,  $Fe^{2+}$  ve  $Fe^{3+}$  ile birlikte çöktürülerek hazırlanmıştır. Aşı kopolimerleri, poli(gliserol monoakrilat)-g-poli(PEG metil eter akrilat) (PGA-g-PEG) varlığında bir baz ile sulu çözelti formunda hazırlanmıştır. PGA-g-PEG, PEG metil eter akrilatın atom transfer radikal kopolimerizasyonu ile sentezlenen poli(solktal akrilat)-g-poli(PEG metil eter akrilat)'ın asidik hidrolizi ile hazırlanmıştır. X ışını kırınımı kullanılarak yapılan yapısal karakterizasyon sonucu, nanoparçacıklarda yalnızca manyetit fazının varlığı tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre nanopartiküllerin oda sıcaklığında süperparamanyetik oldukları gösterilmiştir (Wan ve ark., 2006).

İlaç dağıtım sistemlerine, terapötiklerin hedeflenen hastalıklı hücrelere teslimatı için iyileştirilmesine (biyolojik olarak aktif protein/peptid molekülleri, nükleik asitler, aşular vb.) ihtiyaç vardır. Bu yüzden PEG ile stabilize edilmiş ve folik asit (FA) ( $Fe_3O_4@PEG@FA$ ) ile modifiye edilmiş manyetit nanopartiküller ( $Fe_3O_4$ ) geliştirilerek, folik asit reseptörleri hedeflemişlerdir.  $Fe_3O_4@PEG@FA$  nanoparçacıkları, tek kapta birlikte çöktürme yoluyla sentezlenmiştir. Anti-tümöral aktiviteye sahip bir polifenol olan kurkumin (Curc), nanopartiküllere yüklenmiş ve FA hedefli ( $Fe_3O_4@PEG@FA@Curc$ ) ve hedefsiz ( $Fe_3O_4@PEG@Curc$ ) sistemler elde edilmiştir. Bu  $Fe_3O_4@PEG@FA@Curc$  ve  $Fe_3O_4@PEG@Curc$

nanoparçacıklarının iki tümör oluşumunda hücre içine alındığı belirlenmiştir. FA-fonksiyonelleştirilmiş manyetik sistemlerin hücre içine daha fazla alındığı ve hem kanser tedavisinde hem de çeşitli terapötik ajanların verilmesi için kullanılabilir olduğu sonucuna varılmıştır (Movileanu ve ark., 2022).

Song ve arkadaşları 2015'te yaptıkları çalışmada manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanomisellerinin, yüzey aktif madde olarak amfililik PEG'lenmiş fosfolipid ve dengeleyici olarak soya fasulyesi yağı ile basit mekanik karıştırma ve sonrasında ultrasonikasyon altında sentezlendiğini rapor etmişlerdir. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) verileri, numunenin iç çekirdek boyutunun 9 nm ve dış nanomisel kabuk kalınlığının 1,5 nm olduğunu ve homojen dağılımlı küresel Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarından oluştuğunu göstermiştir (Song ve ark. 2015). Deneyler sonucunda, PEGilasyonun, nanomisellerin makrofajlar tarafından alınmasını etkili bir şekilde önleyebildiği gösterilmiştir. Nanomisellerin artmış geçirgenlik ve alıkonma (EPR) etkisi ile tümörü hassas bir şekilde saptamak için iyi bir MRI yeteneği sağladığını tespit etmişlerdir. PEGlenmiş monodispers manyetik nanomiseller, MR görüntüleme ile tümörün pasif hedefleme teşhisi için potansiyel bir kontrast maddesi olarak kullanılabilceğini söylemişlerdir.

PEG kaplı demir oksit nanoparçacıklar, sahip oldukları özelliklerden dolayı MRI, manyetik hipertermi ve ilaç dağıtımı gibi olası uygulamalarda kullanılmak üzere tercih edilmektedirler. 2022'de gerçekleştirilen bir çalışmada nanoparçacıkların özellikleri, yapısı, boyutu, yüzey modifikasyonu ve kullanılan PEG miktarının etkileri incelenmiştir. PEG miktarının artmasıyla demir oksit nanoparçacıklarının parçacık boyutunun neredeyse sabit kaldığı gözlemlenmiştir (7-8 nm). Kullanılan PEG miktarının artmasıyla nanopartiküllerin kaplama yüzdesinin orantılı bir şekilde arttığı ve süperparamanyetik özellik gösterdikleri belirlenmiştir. Kaplanmamış demir oksit nanopartiküller süperparamanyetik davranışı korurken, PEG kaplı demir oksit nanoparçacıklarının kontrolünü ve iletimini iyileştirebileceği sonucuna ulaşılmıştır (Karaagac ve ark., 2022).

Damar tıkanıklığının tedavisi için manyetik nano malzeme kullanımında iç faktörlerin parametrik etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmada; iç faktörlerden plak morfolojisinin, dış manyetik alan etkisinde yönlendirilmiş nano manyetik parçacıklara etkisi detaylı olarak incelenmiştir. Bunun için sonlu elemanlar programı ANSYS plak darlık derecesi ve sırt uzunluğu parametrelerini içeren sayısal simülasyon için kullanılmıştır. Bu simülasyonla farklı darlık derecesi ve sırt uzunluğuna sahip plaklar, optimum iletim hızı ve birikim miktarının tespiti için sayısal ortamda oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda, daha küçük darlık derecesi ve daha uzun sırta sahip nano parçacıkların, daha az plak deformasyonu ve daha etkili ilaç hedeflendirilmesine olanak sağlaması sayesinde, daha iyi iyileştirme etkisine sahip olduğunu tespit etmişlerdir (Zhang ve ark., 2020).

Huang ve arkadaşlarının 2014'te tasarladıkları ilaç taşıyıcı nanoparçacık hem hidrofobik hem de hidrofilik bir kanser ilacı taşıyabilmektedir. PEG kaplı nanoparçacık hidrofilik DOX

molekölü ile yüklenmiştir. Polilaktid-ko-glikolik asit çekirdeğinde hidrofobik paklitaksel bulunmaktadır. Aktif hedefleme ile naopartikülün spesifik olarak kanser hücreleri tarafından alınmasına Sgc8 aptamer neden olur. Yaptıkları çalışmada çoklu ilaç kombinasyonunun hücre canlılığını azaltmada her iki ilaçtan da daha etkili olduğunu ve ikinci bir ilacın eklenmesinin normal hücrelerin canlılığı üzerinde önemsiz bir etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Çalışmanın sonucunda ilacı nanopartiküller ile hedeflendirmenin tümör hücrelerinin alınımı artırmak için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Diğer bir çalışmada; kullanılan manyetik nano partiküllerin hedeflenen bölgedeki birikiminin tespit edilmesi için harici bir manyetik alan oluşturulmuştur. Modelleme ve analizler ANSYS ortamında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada ayrıca; uyku, dinlenme, hafif aktivite ve hızlı nefes almanın insan fiziksel aktivite koşulları üzerine etkileri de dikkate alınmıştır. Sayısal sonuçlara göre iki farklı manyetik alan pozisyonunda nano partikül birikim verimliliğinin çeşitli fiziksel aktiviteler için farklı olduğunu ortaya koymuşlardır. Yaptıkları modellemenin akciğerin belirli bir bölgesine ilaç salımı sağlayacağına ve toksisiteyi en aza indireceği sonucuna ulaşmışlardır (Ghosh ve ark., 2020).

Bir başka çalışmada kemoterapötik hedeflendirmeyi daha iyi yapabilmek için manyetik kuvveti güçlendirmenin gerekli olduğunu açıklamışlardır. Bunun için yapılması gerekenin taşıyıcı parçacıkların şeklini değiştirmek olduğu çalışmada vurgulanmıştır. Bu amaçla kullanılan nanotellerle, aynı hacme sahip kürelerden çok daha güçlü manyetik dipollerin uygulanmasının daha mümkün olduğu matematiksel olarak kanıtlanmıştır. Yaptıkları hesaplamalarda, ilaç taşıyıcısı olarak 15 nm yarıçaplı ve uzunluğu 150 nm'den büyük olan bir nanotel kullanıldığında hedefleme derinliğinin 8,5 cm'yi aşabileceğini göstermişlerdir. Bu derinliğin, aynı hacme sahip küresel parçacıklar için daha önceki çalışmalara göre 1,7 kat daha fazla olduğu da çalışma kapsamında belirlenmiştir (Heidarshenas ve ark., 2019).

$Fe_3O_4$  ile yapılan bir diğer çalışmada suda yüksek oranda dağılıbilir ve boyutu kontrol edilebilir süper paramanyetik  $Fe_3O_4$  nano kümeleri sentezlemişler. Solvotermal yöntem kullanılarak dietilen glikol (DEG) ve etilen glikol (EG) içeren kompleks çözücü içerisinde, yüzey değiştirici olarak sodyum sitrat kullanılarak sentezleme işlemi gerçekleştirilmiştir.  $Fe_3O_4$  nanoküpleri aşılınmış küçük molekülüdür ve  $Fe_3O_4$  boyutundadır. DEG/EG'nin hacim oranı değiştirilerek nanokümler istenilen şekilde denetlenebilir. Manyetit nanokümlerinin yüzeyinde bulunan sodyum sitrat; dağılıbilirliği artıran bağlayıcı fonksiyonel bir ligand olarak kullanılmıştır. Aynı zamanda reaksiyondaki kümelerin boyutunu da ayarlayabildiği gözlemlenmiştir. Güçlü manyetik yanıt verme özelliğine sahip  $Fe_3O_4$  nano kümeler renkli ekran ve hipertermi uygulamalarında kullanılabilir. Dış manyetik alanların indüksiyonu altında görünür ışıktaki kırınım rengi formüle edilebilir sonucuna ulaşılmıştır (Wang ve ark., 2015).

Rahmati ve arkadaşları (2022) çalışmalarında, quercetin (QR) yüklü manyetik nano misellerin, ilaç yan etkilerini azaltırken ilaç biyoyararlanımını iyileştirme potansiyelini

araştırmayı amaçlamışlardır. Geliştirilen QUR yüklü manyetik nano misellerin (QNMN'ler) biyo-güvenliği, glutasyon, malondialdehit ve plazmanın ferrik indirgeme yeteneği dahil olmak üzere izole fare karaciğer mitokondrisi kullanılarak mitokondriyal toksisite yoluyla çalışma kapsamında gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonucunda QNMN'lerin ve QUR'un seçici mitokondriyal toksisiteye sahip olmadığını ortaya koymuşlardır. Bu veriler doğrultusunda QNMN'lerin biyo güvenli olduğu ve hedefli ilaç dağıtım sistemi olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur.

DOX hedefleme üzerine gerçekleştirilen bir çalışmada lignin bazlı ilaç taşıyıcı NP sentezi için hızlı ve basit bir yöntem önerilmiştir. İçi boş lignin NP yüzeyinde, manyetik NP'lar ve folik asit katmanı kendiliğinden bir araya gelme yöntemiyle birleştirilerek ilaç hedeflendirme için bir platform olarak kullanılmıştır. Çalışma sonucunda edilen veriler, içi boş lignin NP'ların Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ile düzgün bir şekilde kaplandığını ve folik asitin de yapıya katıldığını göstermiştir. Elde edilen folik asit ile fonksiyonlandırılmış manyetik lignin NP'ların manyetik alana ve folik asit reseptörlerine duyarlı olduğu ve hedeflendirme işlemi sonucunda NP'ların HeLa hücrelerine alınımının arttığı tespit edilmiştir (Zhou ve ark., 2019).

Gerçekleştirilen diğer bir çalışma kapsamında göz dokusuna 50 nm boyutundaki manyetik nanoparçacıkların, göz civarında oluşturulan 20T/m büyüklüğündeki bir manyetik alanla iletiminin mümkün olduğunu sayısal simülasyonlarla tespit etmişlerdir. Daha sonra, optimize edilmiş çok çekirdekli nano parçacıklar, bu uygulama için seçilmiş ve su içinde toplanmayı engelleyecek sodyum klorür solüsyonu ve yapay gözyaşı ile kaplanmıştır. Bu kaplama işleminden tuz ortamına en dayanıklı olan nişastanın en verimli ve stabil kaplama maddesi olduğu tespit edilmiştir. Evcil bir domuzun göz akından ve korneasından geçebilme yeteneğini tespit etmek amacıyla, göz dokusu ile ayrılmış iki ayrı hücre oda (depo ve hedef) üç boyutlu olarak geliştirilmiştir. Sürekli bir manyetik alan oluşturularak süper iletken manyetik nanoparçacıklar, depo hücre odadan hedef kabul edilen hücre odaya yönlendirilmiştir. Hedef hücre odada manyetik parça spektrometresiyle yapılan ölçümlerle, manyetik nano parça miktarı belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, nişasta dışında hiçbir kaplama malzemesinin hedef hücre odaya ulaşmadığı, nişastanın ise 5ng/mm<sup>2</sup>lik değere 24 saat içerisinde ulaştığı gözlenmiştir (Zahn ve ark., 2020).

Bu çalışmada manyetik doğal zeolitin nano/mikro partiküller tarafından rodamin B, sülfonlu alüminyum ftalosiyanın ve hiperisinin adsorpsiyonu ve hiperisin salınımı araştırılmıştır. Alternatif bir manyetik alan kullanılarak, enjekte edilen manyetik doğal zeolitin partikülleri ile hayvan dokusunda 10 °C'lik yerel sıcaklık artışı gösterilmiş. Doğal zeolit esaslı partiküllerin insülin ve lizozimin amiloid agregasyonu üzerinde doz ve mizaç yönünden antiamiloidojenik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre manyetik doğal zeolitin kontrollü ilaç taşıyıcı uygulamalarında kullanılabileceğini beyan etmişlerdir (Hovhannisyan ve ark., 2021).



Alishiri ve arkadaşları (2021) yaptıkları çalışmada, nano/ mikro taşıyıcılar tarafından hedeflenen ilaç dağıtımını geliştirmek için miknatis ve ultrason gibi harici alanların kullanılmasının potansiyel bir yöntem olabileceğini, yaptıkları çalışmada manyetik nanopartiküllerin, kaplı nano lipozomların ve mikro kabarcıkların ateroskleroz plağına ilaç iletimi, ligand - reseptör bağlama yoluyla plağa yapışması açısından manyetik ve ultrasonik alanlar altında incelendiğini ifade etmişlerdir. Halbach düzenlemesi, plağa yapışan nano lipozomların ve mikro kabarcıkların yüzey yoğunluğunu sırasıyla %121 ve %94 oranında artırmış, 60W gücünde odaklanmış bir dönüştürücü, daha iyi ilaç verme performansına yol açmış ve plağa yapışan nano lipozomların ve mikro kabarcıkların yüzey yoğunluğunda sırasıyla %67 ve %58 'lik bir artışa neden olmuştur. Manyetik alan uygulamasında ilaç verme potansiyelinin ultrason alan uygulamasından daha fazla olduğu saptamışlar. Manyetik ve ultrason alanlarının eşzamanlı kullanımı ile nano lipozomların ve mikro kabarcıkların dağıtımını sırasıyla %148 ve %121 oranlarında arttırılabilmektedir. Elde edilen verilere göre miknatisin (boyutu, konumu ve düzenlenmesi) ve ultrason dönüştürücüsünün hedeflenen ilaç dağıtımında etkili olabileceğini söylemişlerdir.

Statik manyetik alana maruz kalan trombolitik ajanlar taşıyan manyetik nanoparçacıkların ilaç salımını nasıl etkilediğini araştırılmış.  $Fe_3O_4@SiO_2$  nanopartikülleri ile çalışmışlardır. Manyetik alan yoğunluğunun artması ile trombolinin hızlandığı sonucuna ulaşmışlar. Manyetik alanın yoğunluğunun 0,1 'den 0,3T'ye çıkarılması, sırasıyla pıhtı çözünme hızının %55' ten %89 'a çıkmasına neden olmuş, ayrıca mikro BT taraması görüntüleri, bir trombolitik ajan taşıyan manyetik nanopartiküllerin, manyetik alan yoğunlukları arttıkça pıhtının yapısına benzer şekilde ağın daha derinlerine nüfuz ettiğini ve bu da pıhtının daha fazla çözünmesine yol açabileceğini ortaya koymuştur (Moghanizadeh ve ark., 2021).

Yapılan güncel bir çalışmada, doğrudan kan dolaşımına verilen ilaç yüklü manyetik nanopartikülleri harici bir manyetik alan programı ile hareketlerini takip etmişlerdir. Çalışma, parçacık kütlesi ve konsantrasyon parametresinin artmasıyla hem kanın hem de nano parçacıkların hızının arttığını gösterirken, fraksiyonel parametre, manyetik alan etkisi ve termal radyasyonun artmasıyla tam tersi davranış gözlendiğini göstermiştir. Peclet sayısı ve metabolik ısı kaynağının artması ile duvardaki ısı ve kütle transfer hızları artmıştır. İlaç yüklü manyetik nanopartiküllerin hedeflenen bölgede salım yaptığı sonucu elde edilmiştir (Maiti ve ark., 2021).

Rezaeian ve arkadaşları (2022) yaptıkları çalışmada, manyetik kontrollü ilaç hedeflemenin karınzarı içi kemoterapisindeki etkinliğini araştırmak için matematiksel bir model geliştirildiğini, bu modelin, kanser hücrelerine ilaç bağlanması ve içselleştirilmesi mekanizması göz önünde bulundurularak, manyetik nanopartiküller (MNP) kullanılarak ilaç sunumunun etkinliği değerlendirdiğini açıklamışlardır. Ayrıca modelin, ilacın etkinliğini geleneksel karınzarı içi kemoterapisi ile karşılaştırdığını da ifade etmişlerdir. Çalışmada,

MNP'ler kullanılarak ilaç salımının geleneksel tedaviye oranla 2,5 kat daha fazla tümör hücre ölümü gerçekleştiği belirtilmiştir.

### **1.1. Kanser**

Kanser günümüzde en çok karşılaşılan ve her geçen gün artan bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır. Kanseri hücreleri normal hücrelerin genlerindeki mutasyonlar sonucu meydana gelen anormal hücrelerdir. İnsan vücudunun birçok hücre tipinden ve organından kaynaklanan ve anormal doku özellikleri gösteren ve uzak organlara metastaz yapabilen hücrelerin nispeten sınırsız çoğalması ile karakterize olan 100'den fazla farklı hastalığı kapsar. Mutasyon edinme sürecinin düzgün olması gerekmez ve kanser hücresinin öncülleri aniden çok sayıda mutasyon alabilir (Stratton ve ark., 2009).

Bu genetik dengesizlik aynı zamanda kemoterapi ve radyoterapiye dirençli olmalarını sağlar. Teşhis konulduğunda tümör bölgesel kaldığında klasik tedavilerle (cerrahi veya radyoterapi gibi) hastaların yaklaşık üçte biri iyileştirilmektedir. Bu tedavilerde erken teşhis başarı oranını artırmaktadır. Bölgesel ileri evre hastalığı olan hastalarda kemoterapi, daha sonra cerrahi rezeksiyonun yapılması ve radyoterapi ile kombine yaklaşımla daha iyi klinik sonuçlara yol açmıştır. Bugün, erken evre kanser tanısı alan hastaların yaklaşık %50'si iyileştirilebilir. Buna karşılık, tümör ileri evrede teşhis edildiğinde kemoterapi tek başına tüm kanser hastalarının %10'undan daha azını iyileştirebilir (Chu ve ark., 2018).

Geleneksel terapötik yöntemlerin etkinliğini artıran veya tümör hücrelerini doğrudan tedavi eden farklı stratejiler araştırılmaktadır. Yüksek yüzey alanı/hacim oranı ile karakterize edilen nanopartiküllerin farklı morfolojileri, farklı boyutları, çeşitli kimyasal özellikleri ve ayarlanabilir yapısı nedeniyle terapötiklerin tümör bölgesine iletimini sağlayarak kanser tedavisini kolaylaştırmaktadır.

### **1.2. Nanoteknoloji**

Nanoteknoloji, yeni ürün geliştirmeye ve mevcut ürünlerin iyileştirilmesine, geniş araştırma ve uygulama alanlarındaki çalışmalarında 1 ile 100 nanometre arasında değişen ölçülerde büyüklüğe sahip(nanoboyutta) maddeler kullanan çok geniş bir disiplinler arası bilim alanıdır. Nanometre (nm), 1 metrenin milyarda birine eşit büyüklüğü tanımlamak için kullanılan ölçü birimidir( $1\text{nm} = 1,0 \times 10^{-9}$  metre). Bir veya daha fazla boyutunun ölçüsü 1 ile 100 nanometre arasında olan tek bir mikroskopik maddeye nanoparçacık adı verilir.

Nanoparçacıklar, çok çeşitli kimyasal, fiziksel ve biyolojik özelliklere sahiptirler. Aynı maddeler makro/mikro ve nano boyutta farklı özellikler gösterebilirler. Maddelerin

boyutunun küçülmesi ile yüzey alanı / hacim oranı artacak bu da parçacıkların yüzeylerinde iç kısımlarından daha fazla atom bulunmasına sebep olacaktır. Bu nedenle nanoparçacıkların diğer malzemelerle etkileşimi daha fazla olacağından farklı özellikler göstermelerine yol açacaktır (Ersöz ve ark., 2018).

Nanoparçacıkların yüzeyindeki atomlarının iç kısmına oranla daha çok olması nedeniyle kuantum özellikleri olarak adlandırılan özelliklere sahiptir. Bu sayede nano ölçekteki malzemeler benzersiz fiziksel, kimyasal, mekanik ve optik özelliklere sahip olurlar. Büyük ölçekli maddeler yer çekiminden etkilenirken, nano ölçekli maddeler yer çekiminden etkilenmeyip, Van der Waals gibi güçlerden etkilenirler. Böylece çok daha düşük erime noktaları, daha yüksek bir reaktivite seviyesi, çok daha düşük dalga boyları üretme gibi özellikler kazanırlar. Partikülün mukavemeti, rengi ve boyutu ağırlıklı olarak sentez sırasında kullanılan malzemeye bağlı olarak değişmektedir (Pathak, 2019).

Nano ölçeğin özelliklerinin "ayarlanabilirliği" kuantum etkilerinin hayran bırakan ve güçlü bir sonucudur. Yani, bir bilim adamı, parçacığın boyutunu değiştirerek, ilgilenilen bir maddenin özelliğini tam anlamıyla ince ayar yapabilir. Bu eşsiz özelliklerden ilaç sektöründe de yararlanılmaktadır. Nanoteknoloji ile yeni ilaçlar geliştirilmekte veya var olan ilaçların etkinliği artırılmaktadır (Pathak, 2019).

Nano tıp nanoteknolojinin tıpta uygulanmasıdır. Nano tıpta hastalıkların önlenmesi, teşhisi ve tedavisi için kesin çözümler üretmek için biyolojik olayların doğal ölçeğinden yararlanır. Nano tıp formülasyonları, terapötik etkiyi elde etmek ve toksisiteyi azaltmak için gereken dozu azaltmak, terapötikleri kan dolaşımındaki süresini uzatabilmek ve vücuttaki belirli bir bölgeye vermek üzere tasarlanabilir.

### **1.3. İlaç Taşıyıcı Sistemler**

İlaç Taşıyıcı Sistemler; yapılacak tedavinin güvenli ve başarılı olması, vücutta terapötiklerin verimli taşınmasını kapsayan yaklaşımlar, formülasyonlar, teknolojiler ve sistemlerdir. Bu da ilaç moleküllerinin terapötik etkilerini arttırmak ve ilgili yan etkileri azaltmak için uzun süre yüksek kontrol edilebilirlikleri sayesinde hastalık bölgesinde seçici olarak birikmesi ile sağlanır (Liu ve ark., 2016).

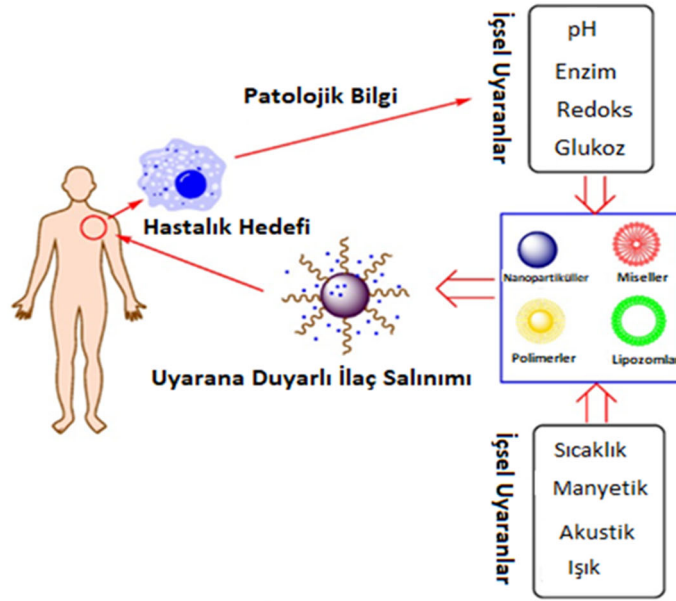
Boyutları ayarlanarak istenilen özelliklere sahip olan nanopartiküller teşhis ve tedavi amacıyla spesifik ve hızlı bir şekilde hedef hücrelere gelişmiş ilaç dağıtım alanında kullanılmaktadır. Böylece ilaç salınımı kontrol edilebilir, lokalize edilebilir ve etki alanına kolayca taşınabilir.

Geleneksel şekildeki oral yolla alınan serbest ilaçlar genellikle istenilen sürede, uygun dozda hedef bölgeye ulaşmada güçlükler içermektedir. Spesifik organ ve dokuları hedef alan ilaç taşıyıcı sistemler daha iyi vücut dağılımı ile sürekli ilaç dağıtımını sağlamaktadırlar. Bu sayede

biyoyararlanım artmakta terapötik indeksi iyileştirmede büyük ilerlemeler kaydedilmektedir. İlaç hedefleme sistemleri ile çözünürlük sorunlarını engelleyebilir, ilacı dış ortamdan koruyabilir, salım profilini kontrol ederek doz miktarını azaltılabilir. Ayrıca hedeflenmeyen dokular ilaca maruz kalmaz ve tedavilerin etkinliği artarken yan etki ve toksisiteyi azaltmış olur. İlaç hedeflemede farmasötik kullanım, ilacın fizikokimyasal özellikleri, uygun bir formülasyon tasarlama ve biyoyoumluluk en önemli koşullardandır. Mikrokapsülasyon, yeni terapötiklerin geliştirilmesinde önemli olmuştur. Biyoyoumlu polimerler içinde hapsolmuş hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçlar içeren mikroküreler üretmek için mikrokapsülasyon kullanılmıştır. Bu taşıyıcıları kullanmanın amacı, belirli bir süre boyunca kontrollü bir salım elde etmek ve böylece terapötik ilaç seviyelerinin emilimini korumaktır. Mikro partiküller, boyutları 1 ile 250 µm (ideal olarak <125 µm ve istisnai olarak 1000 µm) arasında değişen, polimerlerden veya lipitlerden (lipozomlar) yapılabilen mikrokapsüller ve mikrokürelerden bahsetmek için kullanılan genel bir terimdir (Martinho ve ark., 2011).

Hedefli ilaç taşıma sistemlerinde, hastaların tedavisinde süreci değiştirmek için ilacın etki yerine belirli bir konsantrasyonda ulaşması ve bu terapötik doz aralığının yeterince uzun bir süre boyunca sabit kalması istenir. Hedefli ilaç dağıtım sistemlerinin kimyasal yapılarına göre terapötiklerin etkisi, bozunmaları, diğer hücrelerle etkileşimleri ve dokulara nüfuz etmeleri gibi çeşitli özellikleri belirler. Terapötiklerde daha verimli bir sonuç elde edebilmek için tasarımda bu özellikler dikkate alınmaktadır. Bu sebeple ilaç taşıyıcılarının polimerik sistemleri büyük ilgi görmektedir. Zaman ve salım kontrollü polimerik sistemler hedefleme için uygun bir parçacıklardır. Nano- ve mikro-parçacıklar, dendrimerler, nano/mikroküreler, kapsozomlar ve miseller başta olmak üzere çeşitli polimer türleri potansiyel ilaç verme sistemlerinde kullanılmak üzere denenmiştir. Bu şekilde hazırlanan taşıma sistemlerinde ilaçlar polimer matrislerde kapsüllenebilir veya konjüge edilebilir (Vilar ve ark., 2012).

Öncelikle ilaç moleküllerini taşımak için nanoteknoloji aracılığıyla akıllı ilaç taşıyıcı sistemleri sentezlenirken hedef bölgenin özellikleri dikkate alınmalıdır. Akıllı nanoplatforunun hassas tasarımı, sistemik uygulamada yüklerin belirli dokularda salınmasını sağlar. İlaç yüklü nanoplatform, ilacın kan dolaşımı sırasında serbestçe dışarı çıkmamasını, ancak aktif veya pasif hedefleme stratejisiyle yalnızca nanotaşıyıcıların biriktiği hedeflerde salınmasını sağlar. Şekil 1.1'de görüldüğü gibi hastalığın patolojik özellikleriyle ilgili pH varyasyonları, hormon seviyesi, enzim konsantrasyonu, küçük biyo-moleküller, glikoz veya redoks gradyanı gibi içsel tetikleyiciler, sıcaklık, manyetik alan, ultrason, ışık, elektrik darbesi/yüksek enerji radyasyonu gibi ekzojen tetikleyiciler de hastalıklı bölgelerde ilaç salınımını başlatmak veya arttırmak için kullanılabilir (Liu ve ark., 2016).



**Şekil 1.1.** Hedeflendirilmiş ilaç salım sistemleri için şematik gösterim (Vilar ve ark., 2012)

İlaç taşıyıcı sistemler, geleneksel terapötiklere göre, dozaj sıklığını etkili bir şekilde ayarlayarak hedeflenen organlarda veya dokularda ilaç konsantrasyonunu daha uzun süre korumaktadır. Bu sayede hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemleri, ilaç konsantrasyonundaki dalgalanmayı ve ilaç toksisitelerini azaltarak, terapötik etkinliği artırmak için büyüleyici özellikler sunarlar (Liu ve ark., 2016).

#### 1.4. Nano Büyüklükte İlaç Partiküllerinin Kullanılmasının Avantajları

Mevcut kemoterapi tedavilerinde kanser ilaçlarının spesifik olarak kanser hücrelerini hedefleyememesi çoğu tedaviyi engellemektedir. Yüksek derecede toksik kanser terapötikleri sadece tümör dokularına değil sağlıklı hücrelere de etki etmektedir. Ancak bu etkiler immünolojik sistemde ciddi hasara neden olduğundan, tedavinin durdurulması ile sonuçlanmakta ve buna sıklıkla toksik yan etkiler sebep olmaktadır. Mevcut bir ilacı daha iyi hedeflemek için daha etkili bir yol tasarlamak, tamamen yeni bir ilaç geliştirmekten genellikle daha hızlı ve daha ucuzdur. Terapötiklerin nanoparçacığa dahil edilmesi ve ardından yüzeyin işlevselleştirilmesi ile sağlıklı dokulara terapötiklerin etkilerinin en aza indirilerek antikanser ilaçların en iyi şekilde uygulanmasını sağlamak için tercih edilen bir yöntem olmuştur. Nanoteknoloji temelli sistemlerin tasarımı yapılırken uygun parçacık boyutu, düşük toksisite, yeterli biyoyararlanım ve hedef doku uyumluluğu sağlanmasına dikkat edilmelidir.

İlaç nanoparçacıklarının avantajları, artan yüzey alanı yoluyla çözünme hızının artması kadar basit veya yeni uyarılar yoluyla hedeflenen dağıtım kadar karmaşık olabilir (Şah, 2006).

Nanoboyutta ilaç hedeflendirme ile;

\* Eşsiz boyutları ve yüksek yükleme kapasiteleri nedeniyle hastalık bölgelerine yüksek konsantrasyonlarda ilaç verilebilir.

\* İlacın tüm yüzey alanını artıran küçük parçacık boyutunda veriliyor olması kanda daha hızlı çözünmesine yardımcı olur.

\* Konsantrasyon hedef dokuda daha uzun süre devam edebilir.

\* EPR artırılmış geçiş ve alıkonma etkisi gösterir, yani, tümörde olduğu gibi zayıf lenfatik drenaja bağlı olarak küçük boyut ve birikme nedeniyle bariyerlerden artmış bir sızma gösterebilir.

\* Herhangi bir özel ligand yardımı olmaksızın hastalık etki bölgesine pasif hedefleme sergileyebilir.

\* Yan etkiler azalır.

\* Tedavi daha düşük dozda ilaç formülasyonlarıyla gerçekleştirilebilir (Ansari ve ark., 2012).

Nanomalzemeler kabaca 1 ila 100 nanometre (nm) boyutlarındadır, ancak sınır aralığında boyut 1000 nm'ye kadar genişletilebilir. Uygun boyutta tasarlanan nanotaşıyıcılar terapötiklerin reaktivitesinin, gücünün, elektriksel özelliklerinin ve in vivo davranışının değiştirilebilmesi nedeniyle hedefli tedavide kullanılan en başarılı yöntem olarak görülmektedirler. Nanotaşıyıcı tabanlı platformlar kemoterapötiklerin seçici hedeflenmesini sağlayarak ilacın etkinliği artıran ve toksisiteyi en aza indiren sistemlerdir.

## **1.5. Nanotaşıyıcı Sistemlerin Sınıflandırılması**

Veziküler sistemler, hem hidrofilik (iç hidrofilik bölme) hem de lipofilik (dış lipid tabakasında) biyoaktif bileşikler için kapsüllemek için kullanışlıdır. Veziküler nanotaşıyıcılar, ana bileşiklerine göre sınıflandırılır.

### **1.5.1. Katı lipid nanopartiküller**

Katı lipid nanopartiküller, sulu yüzey aktif madde ile kaplanmış katı bir çekirdek olarak yüksek erime noktalı lipitten oluşan kolloidal taşıyıcı sistemdir. Katı lipid nanopartiküller diğer kolloidal taşıyıcılara kıyasla sıvı lipid, katı lipid ile değiştirilir. İlaç dağıtımı için matriks materyali olarak katı lipidin kullanımı, oral ilaç dağıtımı için lipid pelletlerinden iyi

bilinmektedir. Geniş anlamda lipit terimi trigliseritleri, kısmi gliseritleri, yağ asitlerini içerir. Sıvı lipit yerine katı lipid kullanımı, kapsüllenmiş bileşiklerin salım kinetiği üzerindeki kontrolü ve kimyasal olarak hassas lipofilik bileşenlerin stabilitesini arttırdığı için avantajlıdır (Yadav ve ark., 2013).

### **1.5.2. Miseller**

Amfifilik polimerlerin kendiliğinden birleşmesi ile meydana gelen nano boyutlu (5–200 nm) parçacıklara polimerik miseller denir. Bu nanopartiküller iç kısımdaki hidrofobik kısım (çekirdek) ve dış kısımdaki hidrofilik kısım (kabuk) bölgelerine sahip makromoleküller içerir. Misellerin çekirdeği, ilaçların dahil edilmesi için uygun olduğundan etkili bir biyoyararlanımın sağlanması ve hidrofobik ilaçların çözünürlüğünün artırılmasını sağlamaktadır (Lombardo ve ark., 2019). Hidrofobik çekirdek zayıf sulu çözünürlüğe sahip maddelerin çözünürlüğünü önemli ölçüde artırır. Hidrofilik kabuk kanda dolaşım süresini uzatır ve koloidal stabiliteyi artırır. Polimerik miseller, hedef ligandlarla işlevselleştirilerek tümörde birikmeyi artırır (Wang ve ark., 2018).

### **1.5.3. Lipozomlar**

Lipozom küresel şekle sahip bir moleküldür ve en az bir lipid çift tabakadan oluşan veziküler bir yapıya sahiptir. Lipozomlar, bir (tek lamelli) veya birkaç (çok lamelli) eşmerkezli fosfolipit zarla çevrili sulu bir çekirdeğe sahip fosfolipid çift katmanlı sistemlerdir. Lipozomlar, insan hücrelerinin plazma zarına benzer fosfolipid çift tabakasından oluşur. Lipozomlar bileşime, boyuta, yüzey yüküne ve hazırlama yöntemine göre farklılık gösterir. Bir lipozomun hidrofilik bir baş grubu ve hidrofobik bir hidrokarbon kuyruğu vardır. Lipozomların uygulanmasındaki ana özellik, hem suda çözünür (sulu çekirdek bölgesinde) hem de yağda çözünür (lamellerde) biyoaktif bileşikleri barındırabilmeleridir. Bu özelliği sayesinde dağılımı kolaylaştırır. Lipozomların bu biyolojik olarak parçalanabilir ve biyolojik olarak uyumlu bileşimleri, onları terapötik ajanların mükemmel taşıyıcıları yapar (Subramanian, 2021).

### **1.5.4. Dendrimerler**

Dendrimerler, üç boyutlu geometriye ve kolayca değiştirilebilir yüzeylere sahip ağaç benzeri kollardan veya dallardan oluşan nano boyutlu polimerik yapılardır. İşlevselleştirme, ilaçlar ve DNA/RNA ile konjugasyon için uygun yapılardır. Dendrimerlerin üç bileşeni vardır: bir başlatıcı çekirdek, dallar ve uç fonksiyonel gruplar. Başlatıcı çekirdek molekülün merkezindedir ve dallar buradan dışarı doğru uzanır. Ayrıca, dendritik dallar, istenen biyolojik

ve ilaç dağıtım uygulaması için hem yüklü hem de hidrofilik veya lipofilik bir işlev elde edecek şekilde modifiye edilebilir (Bharali ve ark., 2009).

Dendrimerlerin molekül içi boşluğunda hidrofobik ilaçlar tutulabilir veya yüzeylerinde fonksiyonel gruplarına konjuge edilebilir. Böylece dendrimer ilaçların çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırır. Dendrimerin dış kısmındaki fonksiyonel gruplar belirli hastalıkları hedefleyebilen ve iletimi iyileştirebilen partiküllerin bağlanması ile modifiye edilebilir (Palmerston ve ark., 2017).

### **1.5.5. Nanojeller**

Nanojel terimi, fiziksel veya kimyasal olarak çapraz bağlı polimer ağlardan oluşan küçük hidrojel parçacıklarını tanımlar. Sulu ortamda dağılmış, şişmiş nanojel ağları yumuşaktır ve önemli miktarda suyu içine alabilir. Biyolojik ajanlar ve ilaçlar, yüksek dispersiyon stabilitesine sahip hidrofilik partiküller oluşturan ajan ve polimer matris arasındaki etkileşimleri içeren spontan bir süreçle nanojellere yüklenebilir. Nanojeller, biyolojik molekülleri in vivo bozunmaya karşı fiziksel olarak koruyabilir ve küçük ilaçlardan biyomakromoleküllere kadar birçok aktif molekül türü için prelinik olarak araştırılmıştır. Nanojeller sistemik ilaç salımı, çok işlevli nanotaşıyıcıların tasarımı ve hedeflenmiş ilaç salım uygulamaları için ilgi çekici hale gelmişlerdir (Vinogradov, 2010).

### **1.5.6. Nanoemülsiyonlar**

Tipik bir nanoemülsiyon, yağ, su ve bir emülgatör içeren, yaklaşık 100 nm mertebesinde boyuta sahip damlacıklardır. Nano emülsiyon formülasyonu, birbiriyle karışmayan iki sıvı ve bir emülgatör kullanımını gerektirir. Birbirine karışmayan sıvılardan birinin yağlı, diğerinin sulu yapıda olması gerekir. Bir emülgatörün eklenmesi, emülsiyonun yağ ve su fazları arasındaki ara yüzey gerilimini yani birim alan başına yüzey enerjisini azalttığı için küçük boyutlu damlacıkların oluşturulması için kritik öneme sahiptir (Aswathanarayan ve ark., 2019).

### **1.5.7. Karbon nanotüpler**

Sp<sup>2</sup> hibridize karbon atomlarından üretilen grafen levhalardan oluşan karbon nanotüpler, büyüleyici fizikokimyasal özellikleri nedeniyle ilgi çekici olmaktadır. Karbon nanotüpler, tipik olarak nanometre çaplı boru şekilli yapılardır ve uzunlukları mikron mertebesinde olabilmektedir. 0,4 nm kadar küçük olabilen ve çevresinde yalnızca 10 atom içeren çok küçük çapları nedeniyle sıra dışıdır. Tek duvarlı ve çok duvarlı nanotüpler veya grafitik polihedral



nanoparçacıklar gibi karbon nanoyapılar farklı sentez yöntemleriyle elde edilebilirler. Nanotüp üretmek için en yaygın kullanılan teknik elektrik ark deşarjı yöntemidir, fulleren nanoparçacıklar da aynı yöntemle üretilir. Karbon nanoyapıların çok küçük boyutu ve birçok benzersiz fiziksel özellikleri onların nanotüpte kullanımını avantajlı hale getirir (Dresselhaus ve ark., 2004).

#### **1.5.8. Moleküler baskılama**

Moleküler baskılama işlemi ilaç-monomer-çözücü arasındaki üç boyutlu etkileşimlere dayalı bir sistemdir. Moleküler baskılama sisteminde ilaç molekülleri fonksiyonel grup içeren monomere bağlanırlar. Küçük moleküller kalıp olarak kullanılarak çapraz bağlı ilaç moleküllerinin uzaklaştırılması sağlanır (Öncel, 2013).

#### **1.6. Nanotaşıyıcı Sistemlerde Yüzey Modifikasyonları**

Nano taşıyıcı, bir ilaç veya hedef ajanı taşımak için kullanılan, genellikle polimerik malzemeler içeren nanoparçacıklardır. Nano taşıyıcılar birden fazla ajan veya ilaç taşıyabildiklerinde nanovektör olarak adlandırılırlar. Nanopartiküllerin yüzeyi, hedefin tanınmasında, ilacın verimli bir şekilde aktarılmasında ve sağlıklı dokuya zarar verme riskini en aza indirebilmede kilit öneme sahiptir. Bu sebeplerden dolayı nanopartiküllerin yüzeylerinin bir dizi farklı uyarana yanıt veren kısımlarla modifikasyonu ve işlevselleştirilmesi faydalıdır. Hedeflenen tümör dokusuna terapötiklerin verimli bir şekilde iletilmesi için tasarımda kullanılan nanoparçacıkların vücuttan atılmadan yeterli bir süre kan dolaşımında kalma özelliği olmalıdır. Karaciğer ve dalak gibi retiküloendotelial sistem tarafından yakalanmamaları için nanoparçacıkların yüzeyi modifiye edilmelidir. Kan dolaşımına verilen nanopartiküllerin ne kadar süre dolaşımında kalacağı boyutları ve yüzey özellikleri ayarlanarak kontrol edilebilir. Makrofajlar tarafından yakalanmasına engel olmak için nanopartiküllerin yüzeyinin hidrofilik olması gereklidir. Bu, iki şekilde yapılabilir: Nanopartiküllerin yüzeyinin PEG gibi bir hidrofilik polimer ile kaplanması, plazma proteinlerini iterek onların makrofajlarca imha edilmekten korur; alternatif olarak nanoparçacıklar, hidrofilik ve hidrofobik alanlara sahip blok kopolimerlerden oluşturulabilir (Cho ve ark., 2008).

Nanopartikülleri kaplamak için kullanılan alternatif polimerler; biyouyumlu polimerler (dekstran, nişasta, jelatin, kitosan, poliakrilik asit vb.), PEG, polioksazolinler (POX'lar), poligliseroller, poliglisidoller, aminoasitler, polibetainler ve polisakkaritler, vb. olarak sayılabilir.

### 1.7. Nanopartiküler İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Hedeflendirme

Geleneksel kemoterapötikler, vücutta spesifik olmayan bir şekilde dağıldıklarından hem kanserli hem de normal hücreleri etkilerler. Bunun yanısıra, tümör içinde ulaşılabilecek doz azalır ve ayrıca toksisite nedeniyle tedavi yetersiz kalır. Moleküler hedefli tedavi, geleneksel kemoterapötiklerin özgüllüğünü sağlamak için ideal bir yaklaşımdır (Cho ve ark., 2008).

İlaç hedeflendirmede bir nano taşıyıcının boyutu, kan dolaşımında ne kadar kalacağını ve vücuttan ne kadar hızlı temizlendiğini belirlediğinden, nanoboyutta tasarlanan ilaç taşıyıcıların boyut dağılımı önemli bir parametredir.

Terapötiklerin vücut dokusu boyunca iletilmesi için ilaç taşıyıcı sistemlerin biyomedikal alanda kullanılan farklı türde nanomateryalleri içermesi gereklidir (Siafaka ve ark., 2016).

Nanoparçacıkların çoğu proteine benzer boyuttadır. İlaç yüklü nanoparçacıkların vücuttaki dağılımı ve farklı dokular tarafından alınımı nanoparçacığın boyutuna bağlıdır, örneğin sadece çapı 200 nm'den küçük nanoparçacıklar kan damarlarından geçebilir ve 1 nm'den küçük nanopartiküller, kan-beyin bariyerini geçebilmektedir. Nanopartiküller ilaçları tümöral dokulara iletmek için, nanoparçacıkların kan dolaşımında sabit ve uzun süre kalması ve tümörde etkin birikim sergilemesi için floresan sinyalizasyonu, şekil tanıma, biyoyumluluk, bağlayıcılar, koruyucu katmanlar veya antijen tespiti gibi işlemlere sahip olabilir (Chen ve ark., 2017).

Hedeflemede terapötik ilaçların tümör hücrelerine ulaşması (membranlardan penetrasyon ve endositoz ile aktif bir bileşiğin hedeflenen bölgeye iletilmesi), biyolojik koruyucu mekanizmalarından (RES ve opsonizasyon temizliği gibi) kaçma yeteneği ve çevresel değişiklikleri tanımak önemlidir (Siafaka ve ark., 2016).

Geleneksel ilaç salım sistemlerinin spesifik olmayan biyolojik dağılım ve hedefleme, suda çözünürlük eksikliği, zayıf oral biyoyararlanım ve düşük terapötik indeksler gibi çeşitli sınırlamalarının üstesinden gelmek için hedeflenmiş kanser nano terapötikleri geliştirilmektedir. Bunun için özel optimum boyut ve yüzey özelliklerine sahip nanopartiküller tasarlanmaktadır. Hem moleküler olarak hedeflenen hem de geleneksel kemoterapötik ajanların etkinliğini düşüren bir başka engel olan ilaç direnci de nanopartiküller kullanılarak aşılabılır veya en azından azaltılabilir. (Cho ve ark., 2008).

Antikanser ilaçlarının etkili bir tedavi yapabilmesi için uygulandıktan sonra vücuttaki bariyerleri geçerek kan dolaşımında en az hacim veya aktivite kaybı ile istenen tümör dokularına ulaşabilmeleri gerekir. Sentezlenen ilaç yüklü nanopartikülün kontrollü bir salım mekanizması ile normal hücreleri etkilemeden tümör hücrelerini seçici olarak tanıyıp, yok etme yeteneğine sahip olmalıdır. Bu temel stratejiler aynı zamanda ilaçların hücre içi

konsantrasyonunu artırarak ve aynı anda doz sınırlayıcı toksisiteleri azaltmaktadır (Cho ve ark., 2008).

Hedefe yönelik tedavi, bir ilaç ile reseptörü arasında moleküler düzeyde spesifik etkileşim anlamına gelir. Etkili hedefli ilaç dağıtım sistemleri dört temel adımda gerçekleşir: tutma, kaçınma, hedef alma ve salma (Bae ve ark., 2011).

İlaç yüklü nanoparçacıkları hastalıklı bölgelere taşımak için pasif hedefleme ve aktif hedefleme yöntemleri kullanılarak hedefleme yapılabilir. Böylece hedeflenen bölgede ilaç konsantrasyonunu daha uzun süre korunur, dozaj sıklığı etkili bir şekilde azaltılabilir. Bu sayede ilaç konsantrasyonu dalgalanması ve ilaç yan etkileri azaltılabilir, böylece etkili bir tedavi gerçekleştirilebilir (Liu ve ark., 2016).

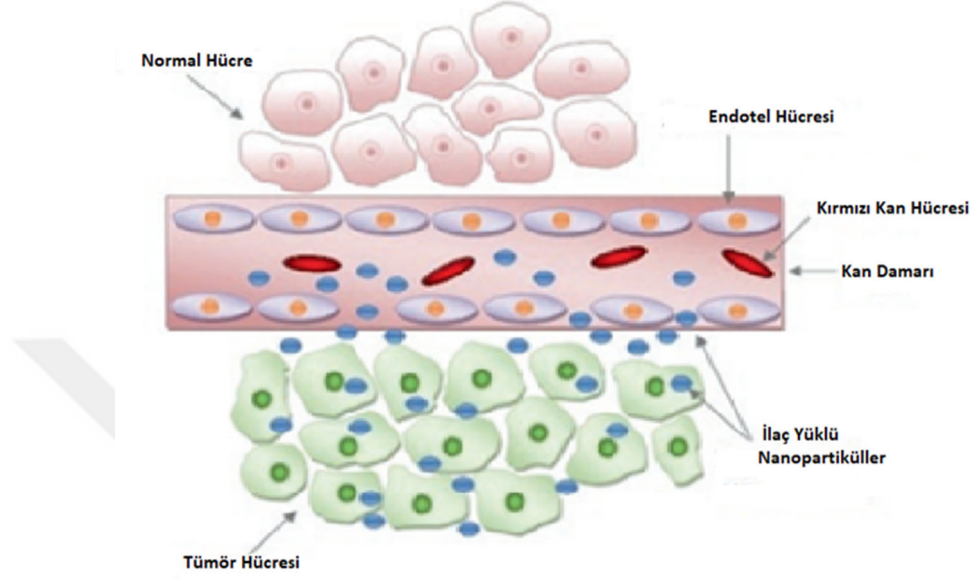
### **1.7.1. Pasif hedeflendirme**

Akıllı ilaç taşıyıcı sistemlerde kanser tedavisi için pasif ilaç hedefleme kullanılan yöntemlerden biridir. Pasif hedeflendirme ile NP birikimini artıran, farmakokinetiği iyileştiren ve EPR etkisi aracılığıyla tümör dokusunda biyo-dağılımı kolaylaştıran bir yöntemdir (Pourradi ve ark., 2022).

Pasif hedefleme, sağlıklı dokularda normalde bulunmayan tümör dokularına özgü ayırt edici özellikler nedeniyle tümör mikro ortamı içinde nano vektörlerin birikmesine dayalı bir hedeflemedir.

Nano taşıyıcılar, kan dolaşımında daha uzun süre dolaşabilme kabiliyetinden EPR etkisiyle pasif hedefleme yoluyla tümör bölgelerinde birikebilir. Tümör damarlarının benzersiz patofizyolojik özellikleri, nanoparçacıklar da dahil olmak üzere makromoleküllerin tümör dokularında seçici olarak birikmesini sağlar. Normal hücrelere göre kanser hücreleri daha hızlı büyüdüğünden daha fazla oksijen ve besine ihtiyacı vardır. Tümör hücreleri daha fazla olan besin gereksinimlerini karşılamak için yeni damarların oluşmasını (neovaskülarizasyon) veya tümör kütesinin yakınındaki damarların yeniden yönlendirilmesini sağlar. Bu yüzden oluşan büyüme faktörleri ve matriks metalloproteinazlar gibi anjiyojenik düzenleyicilerin ortaya çıkan dengesizliği tümör damarlarını oldukça dağınık hale getirir. Endotelial hücreler arasında genişlemiş boşluk bağlantılarını ve tehlikeli lenfatik drenajı gösteren çok sayıda gözenekle genişler. Normal hücrelerden farklı olarak tümör hücrelerini çevreleyen eşsiz mikro ortam pasif hedeflemeye yardımcı olur. Hızlı büyüyen, kanser hücreleri, yüksek bir metabolik hız gösterir ancak oksijen ve besin kaynağı genellikle bunu sürdürmeleri için yeterli değildir. İhtiyaç duyduğu fazla enerjiyi glikoz kullanarak gidermeye çalışır. Bundan ötürü ortam asidik olur. Fizyolojik ortam pH'ı 7,4'te stabil olacak şekilde tasarlanan pH'a duyarlı lipozomlar, pH'ın

fiyolojik değerlerden düşük olduğu hedef dokularda bozunarak (tümör hücrelerinin asidik ortamı gibi) aktif ilacı serbest bırakır (Cho ve ark., 2008).



Şekil 1.2. EPR etkisi şematik gösterim (Pathak 2019)

EPR, nanoparçacıkların nanometre boyut aralığına ve kanser dokuların iki temel özelliğine, yani sızdıran vaskülatür ve bozulmuş lenfatik drenaja dayanmaktadır (Bazak ve ark., 2014). Nanopartiküller sadece pasif olarak hedeflendiğinde tek bir tümör içindeki farklı tümör evreleri ile hastalara özgü ve farklı tümörler arasında membran reseptörlerinin heterojen ekspresyonunu da kapsamaktadır (Chen ve ark., 2017).

### 1.7.2. Aktif hedeflendirme

Yalnızca pasif hedefleme mekanizmalarına dayanan bir ikili eşlenik (polimer-ilacı eşleniği) içeren ilacı verme sistemleri özgüllüğe ilişkin sınırlamalarla karşı karşıyadır. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için polimer-ilacı eşlenik hedefleyiciye bir ligand veya antikör dahil edilmelidir (Cho ve ark., 2008).

Nanopartikülün tasarlanırken sahip olduğu boyut, şekil ve yüzey yükü gibi özellikler ile tümör mikrovaskülatürü nanopartiküllerin iletimini belirler. Aktif hedeflemede istenen hedefe ulaşmada daha yüksek bir özgüllük ve etkinlik sergileyen biyotanıma molekülleri, tümör hücreleri tarafından ifade edilen spesifik işaretleri hedeflemek için nano vektörlerin yüzeyine bağlanmıştır (Bazak ve ark., 2014).

İlaç salınıminin önemli bir şekilde artması için NP'larda hedef hücreye yüksek bağlanma çekim gücüne sahip ligandların bulunması gerekir. Aktif hedeflemenin en temel biçimi, bir NP'nin, kanser hücrelerinde aşırı ifade edilen bir moleküle bağlanan bir ligand ile işlevselleştirilmesini içerir. Aktif hedefleme, NP yüzeyine bağlı ligandlar kullanılarak (spesifik ligand-reseptör etkileşimi) alım seçiciliğinden yararlanır. Bu sayede hedef hücrelerle reaksiyona girebilen ligandlar ayrıca NP'leri enzimatik yıkımdan da korurlar. Hedef hücreyle ligandlar arasında yüksek bağlanma afinitesi varsa ilaç salımı güçlü bir şekilde artıracaktır (Yu ve ark., 2016).

Bir ilaç/ilaç taşıyıcısının kan dolaşımı ve İntravenöz olarak uygulanan ilacın damar dışına çıkışı ve çevre dokuya yayılmasının(ekstravazasyonun) ardından tümör mikro ortamında veya kanser hücrelerinin yüzeyinde aşırı eksprese edilen "biyobelirteçleri" özel olarak tanıyan antikolar, peptitler ve aptamerler gibi hedefleme ligandları sayesinde intratümöral retansiyon ve dağılımın bir sonucu olarak hedef bölgeye ulaşırlar. Nanopartiküllerin kan dolaşımında daha uzun süre kalması (yüzey PEG modifiyesi) tümör bölgesine iletiminin çoğalmasına bu da spesifik ligand-reseptör tipi etkileşiminin artmasına yol açar (Bae ve ark., 2011).

Aktif olarak hedeflenen dağıtım sistemleri için birtakım zorluklar vardır. Aktif olarak hedeflenen nanopartiküllerin "bağlanma bölgesi bariyeri" olayında sızdıran tümör damar sisteminden dışarı sızan tümör çevresindeki güçlü reseptör-ligand etkileşimlerinden kaynaklanan ilacın istem dışı sızması nanopartiküllerin tümörün içine girmesini daha da engelleyebilir (Chen ve ark., 2017).

### **1.7.3. Kanser tedavisinde nano ilaç taşıyıcı sistemler**

Günümüzde kullanılan kemoterapötikler, uygulandığı andan sonra vücutta yüksek dağılım hacmine sahip düşük moleküler ağırlıklı ajanlardır. Bu düşük moleküler ağırlıkları vücuttan kolayca atılmalarını sağlar. Retiküloendotelyal sistem nedeniyle dolaşımdan ayrılma, serum proteinleri tarafından absorpsiyona uğrama, makrofajlar tarafından alınma gibi pek çok faktör nedeniyle serbest olarak dolaşıma verilen ilaç molekülleri çoğu kez hastalıklı bölgeye etkin biçimde ulaşamaz (Parambath, 2018). Bazen de etkili tedavi için gereken terapötik seviyeler sıklıkla aşılır ve yüksek bir toksisiteye maruz kalınır. İntravenöz olarak verilen ilaçlar vücutta eşit olarak dağılıma eğilimindedir. Bu sebepten dolayı kanserli olmayan dokularda önemli hasara neden olurlar. Bu, kemik iliği baskılanması, saç dökülmesi (alopeci) ve bağırsak epitel hücrelerinin dökülmesi gibi ciddi, istenmeyen yan etkilere neden olur (Bharali ve ark., 2009).

Küçük moleküllü antikanser ilaçların doğrudan verilmesine kıyasla, uyarıcıya duyarlı ilaç taşıyıcı sistemlerin temel özelliği, ilacı uyarıcıya duyarlı bir şekilde salabilmeleri, yüksek ilaç yükleme kapasiteleri ve biyouyumluluklarıdır. Sadece tümör dokusu içinde uyarıcılar

etkinleştirilir. Böylece daha yüksek bir ilaç salım etkinliği sağlanmış olur (Thomas ve ark., 2020).

#### **1.7.4. Uyarı-yanıt sistemine dayalı ilaç taşıyıcı sistemler**

Uyarıcıya duyarlı nanopartiküllü ilaç dağıtım sistemleri, özgüllükleri, seçicilikleri ve etkinlikleri nedeniyle yoğun ilgi görmüştür. Dış ortamdaki küçük değişiklikler polimer veziküllerin ilacı salınması tetikleyebilir (Cui ve ark., 2022).

Bu sistemler, esas olarak kan dolaşımını artıran, derin tümör dokusunun içine girmeyi artıran, yükün sitoplazmaya kontrol edilebilir şekilde salınmasını sağlayan ve çoklu ilaç direncinin üstesinden gelen nanopartikül bazlı ilaç dağıtım sistemleridir.

Uyaranlara duyarlı nanopartikül sistemlerinde terapötiklerin hızlı ve kontrol edilebilir salımı için nanopartiküller ayarlanabilir özelliklere sahiptirler. Uyarana duyarlı nanoyapılar, işlevlerini harici bir uyarana yanıt olarak yerine getirir. (Thomas ve ark., 2020).

Ligandla modifiye edilmiş aktif hedefli dağıtım sistemleri yalnızca pasif olarak hedeflenen nanopartiküller ile benzer zorlukları değil aynı zamanda tek bir tümör içindeki farklı tümör evrelerinin yanı sıra bireysel hastalar ve farklı tümörler arasında membran reseptörlerinin heterojen ekspresyonunu da içerir. Sızdıran tümör damarlanması nedeniyle intravenöz olarak uygulanan ilacın damar dışına çıkışı ve çevre dokuya yayılmasından sonra tümör çevresindeki güçlü reseptör-ligand etkileşimleri, ekstrasvaze nanopartiküllerin tümörün içine sızmasını daha da engelleyebilir. Uyaranlara duyarlı nanoyapının ve bunun bir ilaç dağıtım sistemindeki uygulamasının temel amacı, gelişmiş güvenlik ve etkinliğe sahip nanoyapılar oluşturmaktır. Bu tür uyaranlar, nanopartiküllerin boyutunda, zeta potansiyelinde, hidrofobikliğinde veya taşıyıcıda bir değişikliğe neden olabilir. (Chen ve ark., 2017).

#### **1.7.5. pH-duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler**

İlaç taşıyıcı sistemlerde ilacın nanopartiküllerden pH'a yanıt olarak salınması etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır. pH'a duyarlı ilaç salım sistemleri; tümörün hafif asidik olan dış ortamı, lizozomlar, endozomalar ve pH değeri 5,5 olan asidik hücre içi bölmelerinde salım yaparlar. Bir tümörün mikro ortamı, tümör hücrelerinin bölünmesi sırasında oluşan birikmiş laktik asit nedeniyle asidiktir. Bu özel olaya Warburg etkisi denir. Bu asidik ortamda pH duyarlılığına sahip nanoparçacıklar, sonuç olarak malzemenin kimyasını değiştiren ve ilaç salınımını indükleyen bir uyarana duyarlı eylemi tetikler. pH'a duyarlı nanopartiküller üretmek için hem organik hem de inorganik malzemeler kullanılır. pH'a duyarlı sistemler, polimer bazlı nanopartiküller ile hazırlanır, çünkü hacim veya konformasyon ve çözünürlükteki değişiklikler

gibi pH'nin neden olduğu değişiklikler kolayca elde edilebilir. pH bazlı bağlayıcılara sahip polimer sistemleri, polimerin pK değeri değiştiğinde yükün ters çevrilmesine dayalı olarak özelliklerinde bir değişiklik meydana getirecektir. Yükün ters çevrilmesi ile polimerlerden katyonik özellik gösterenler hidrofobikten hidrofilliğe değişirken, anyonik özellik gösterenler hidrofilikten hidrofobikliğe değişir. Benzer şekilde, anyonik polimerler daha düşük bir pH'a maruz kaldıklarında hidrofilikten hidrofobik hale dönüşürler. pH kaynaklı bir salım mekanizması elde etmenin başka bir stratejisi, düşük pH'ta hidrolize olan ve dolayısıyla kararsız hale gelen bağlayıcıların kullanılmasıdır (Thomas ve ark., 2020).

#### **1.7.6. Redoks-duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler**

Kanser hücreleri, normal hücrelere göre ortalama 100-1.000 kat daha yüksek bir redoks potansiyeline sahiptir. Redoks duyarlı kanser tedavilerinde, indirgeyici ajan Glutasyon (GSH), kontrollü ilaç salımına neden olan nano-taşıyıcıların disülfid bağlarını kırar. Redoks duyarlı nanoyapıların hedeflenen bölgede etkin olabilmesi için tasarımda peptidler de dahil edilebilmektedir. Redoksa duyarlı nanopartiküller, GSH enziminin varlığında kolayca kopabilen ve ilacın salınmasına neden olan disülfid bağına bağlı bir kabuğa sahiptir. Redoks duyarlı ilaç taşıyıcı sistemlerde; disülfid bağları ve diselenyum bağları olmak üzere iki farklı redoks tepkili bağ kullanılır. Nanopartikülün içselleştirilmesi ile disülfid bağları GSH'nun varlığında koparak sülfhidril grupları oluştururlar. Bu sayede polimer sisteminin bağlarının kopmasıyla ilaç salımı yapılır. Aynı şekilde disülfid bağlarından daha düşük bağ enerjisine sahip olan diselenyum bağlarında verimli bir şekilde ayrılabilir (Thomas ve ark., 2020).

#### **1.7.7. Enzim-duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler**

Enzime duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler, biyokatalitik reaksiyonlara karşı hassas olan nano-taşıyıcıların modifikasyonunu içerir. Aşırı eksprese edilen enzimler, ilacın kanser hücrelerinde salınmasına yardımcı olabilir. Hücrelerde meydana gelen mutasyonlar sonucu tümör hücrelerinin oluşumu değişen enzim ekspresyonuna yol açabilir. Bu da daha yüksek seviyelerde matriks metaloproteinazlar, katepsin, hiyaluronidaz, tripsin, trombin, proteinaz K, vb. miktarlarına neden olabilir. Yukarı doğru düzenlenen enzimler, nano taşıyıcılardan gelen yüklerin azaltılması, polimer omurgalarının kırılması, nano taşıyıcıların fiziksel olarak parçalanması ve tümör mikroçevresinde ilaç ile taşıyıcı arasındaki bağların bölünmesi gibi yollarla kontrollü salım için kullanılabilir. Enzimlerin biyotanıma ve katalitik işlevi sayesinde bozulan nanotaşıyıcı, etkili antikanser ilaç salımı gösterir. Kullanılabilen enzimler arasında; hidrolaz (proteaz, tripsin, elastaz, lipaz, glikosidaz) ve oksidoredüktaz (glikoz oksidaz, peroksidaz, azoredüktaz, glutasyon redüktaz) sayılabilir. Hidrolaz enzimleri, su moleküllerinin eklenmesiyle kimyasal bağları parçalayabilir; oksidoredüktaz enzimleri,

oksidasyon/redüksiyon reaksiyonlarını katalize ederek nanoparçacıkların yok olmasına neden olabilir (Thomas ve ark., 2020).

#### **1.7.8. Sıcaklık-duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler**

Diğer uyaranlarla karşılaştırıldığında ilaç salınımını kontrol etmek için sıcaklık en uygun ve etkili yöntemlerden biridir. Normal dokulara göre inflamasyon gibi patofizyolojik durumlar ve tümörler, normalden daha yüksek sıcaklıklara sahip dokulardır. Kanser dokuları ile normal dokular arasındaki sıcaklık farkı dikkate alınarak nanoparçacıklar tetiklenebilir ve tümörlerde ilaç salınımını artırmak mümkün olabilir. Bir diğer sıcaklığa duyarlı strateji, tümör bölgesinin harici tetikleyiciler tarafından (manyetik alan vb.) ilaç salınımını artırmak için tümör vaskülatürü mikro çevresi ısıtılabilir. Genel olarak, ısıya duyarlı nano taşıyıcıların, yüklerini hızla serbest bıraktıkları sıcaklık 40-45°C'nin üzerine çıkar. Böylece tümör dokularına ilaç salınımı gerçekleştirilmiş olur (Liu ve ark., 2016).

#### **1.7.9. Manyetik-duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler**

Harici bir manyetik alan uygulayarak ilaç taşıyıcı sistemlerin hareketi üzerinde kontrol sağlanır ve antikanser ilacın tümör bölgesinde birikmesine yardımcı olarak dolaşım süresini uzatılır. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıkları gibi manyetik nanoparçacıklar da kontrast maddesi olarak işlev görerek manyetik rezonans görüntüleme de önemli bir rol oynar. Son zamanlarda, manyetik alanlara yanıt veren ilaç taşıyıcı sistemler başarıyla geliştirilmiştir (Ding ve ark., 2016).

Manyetik alan, in vivo dağıtım sistemlerinin uzaktan hedeflenmesi için kullanılabilir. Dünya üzerindeki tüm canlı organizmalar doğal olarak jeomanyetik alana sürekli maruz kalmaktadırlar. Manyetik alan iyonlaştırıcı değildir. Bu nedenle, genellikle zararsız olduğu kabul edilir. Manyetik alan dokularda iyi bir geçirgenliğe sahiptir. Hedefleme istenen bölgenin aynı şekilde olmayan statik manyetik alan uygulanarak elde edilebilir. Manyetik hedeflemenin ilkesi, manyetik alan çizgilerinin yoğunluğunda (yani uzamsal manyetik alan gradyanı) yerel homojensizliğin oluşmasıdır. Manyetik olarak duyarlı taşıyıcı, çizgilerin en yoğun olduğu alana hareket edecektir. Normalde, tüm biyolojik ve organik materyaller, düşük manyetik duyarlılık ve negatif mıknatıslanma tepkisi ile diyamanyetiktir. Bu nedenle, pozitif bir manyetizasyon tepkisine ve yüksek manyetik duyarlılığa sahip manyetik parçacıklarla modifiye edilmiş taşıyıcılar, aynı şekilde olmayan manyetik alan tarafından seçici bir şekilde lokalize edilebilir (Voronin ve ark., 2021).



### **1.7.10. Ultrason-duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler**

Ultrason da manyetik alan gibi klinik tanısal görüntüleme yöntemi olarak geliştirilmiştir. Ultrason iyonlaştırıcı değildir ve vücut dokusunda iyi bir penetrasyona sahiptir. Son kanıtlar, yüksek frekanslı ses dalgalarının bazı özel ilaç taşıma sistemlerinin yapı iskelelerine (lipozomlar ve miseller gibi) zarar verebileceğini kanıtlamıştır. Ayrıca, sonokimyanın gelişmesiyle birlikte araştırmacılar, ultrasonun kimyasal reaksiyonları tetikleyebileceğini, hatta bazı kimyasal bağları parçalayabildiğini de bulmuşlardır (Ding ve ark., 2016).

Teşhis amacıyla kullanılan ultrason, dokular ve organlar hakkında bilgi toplamayı amaçlamaktadır. Bu nedenle, düşük frekanslı ses dalgalarına maruz kalmayı gerektirir. Diğer yandan, tedavi amacıyla kullanılan terapötik ultrason, daha yüksek frekanslı ses dalgalarının yoğunlukları hedeflenen dokuları başka bir şekilde etkileyebilmektedir (Voronin ve ark., 2021).

### **1.7.11. Işığa-duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler**

Işığa duyarlı ilaç dağıtım sistemlerinin en büyük avantajı, zamansal ve mekânsal kontrol edilebilirlikleridir. Işık, tüm canlı organizmalar için en önemli dış uyarandır. Belirli bir pozisyonda belirli bir ışık saçılımı uygulanarak ilaç salma davranışı tam olarak kontrol edilebilir. Uygulanacak ışıkların dalga boylarının değiştirilmesi farklı özellikler göstermesine sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalarda ultraviyole (UV) ışığa, görünür ışığa ve yakın kızılötesi (NIR) ışığa yanıt veren ilaç dağıtım sistemleri geliştirilmiştir. Işığa duyarlı ilaç taşıma sistemleri; ışıkla indüklenen izomerizasyon, bağ bölünmesi ve taşıyıcı malzemelerin ayrıştırılması şeklinde çalışma prensibinde tasarlanmaktadır. Ultraviyole (UV) ışığın dalga boyu 10-400 nm aralığında olup, görünür ışıktan daha kısa fakat X-ışınlarından daha uzundur. Bununla birlikte, insan dokularının UV ışığını güçlü bir şekilde emmesi nedeniyle, UV ışığının penetrasyon kabiliyeti nispeten düşüktür ve genellikle penetrasyon derinliği 10 mm'den büyük değildir. Ayrıca UV ışığı, hücreleri istikrarsızlaştırarak foto toksisitesi kanıtlanmış nispeten yüksek enerjiye sahiptir. NIR ışık, dalga boyu 780–2526 nm arasında olan ışığı ifade eder. İki foton uyarımının geliştirilmesi, kontrollü dağıtım süreçlerinde NIR ışık saçılımı uygulamalarına yeni bir uygulama alanı oluşturdu. UV ışığına kıyasla NIR ışığı, yan etkilerin olmaması ve yüksek penetrasyon kabiliyeti (santimetre ölçeğinde) gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca, NIR ışığı soy metal nanopartiküller tarafından termal enerjiye dönüştürülebilir, klinik uygulama alanını daha da genişletmektedir. Son zamanlarda, yukarı dönüşümlü nanomalzemelerin (genellikle lantanit bazlı maddeler) geliştirilmesiyle, foton enerjisi NIR bölgesinden UV-vis dalga boylarına yükseltilebilir. Bu, NIR'nin ışığa duyarlı kimyasal reaksiyonlara katılmasını sağlamaktadır (Ding ve ark., 2016).

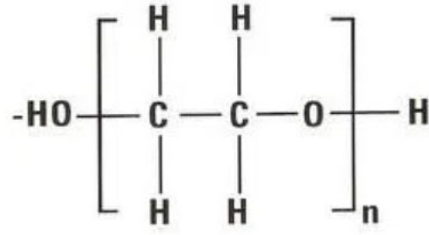
Işığa duyarlı dağıtım sistemlerinin avantajı, ışıkla indüklenen uyarıların yüksek hassasiyetli uzaysal ve zamansal kontrolü olasılığıdır. Genellikle ışık kaynağı olarak kullanılan modern lazerler ve lazer diyotlar, ışık darbelerinin uzunluğu ve tekrarlama frekansı ile ışık noktasının boyutunu ve çıkış gücünü kontrol etmeye olanak tanır (Voronin ve ark., 2021).

### **1.7.12. Polimer bazlı ilaç taşıyıcılar**

Polimer bazlı ilaç taşıyıcılarda terapötikler, bir bağlayıcı (parçalanabilir bağ) ile doğrusal bir polimerin yan zincirine bağlanabilir. Suda çözünür, toksik değildir, biyolojik olarak parçalanabilir. Hazırlama yöntemine bağlı olarak, ilaç ya fiziksel olarak polimer matriste tutulur ya da polimer matrise kovalent olarak bağlanır. Ortaya çıkan bileşikler, kapsül (polimerik nanoparçacıklar), amfilik çekirdek/kabuk (polimerik miseller) veya aşırı dallanmış makromoleküler (dendrimerler) yapıya sahip olabilir. İlaç konjugatları olarak kullanılan polimerler, doğal ve sentetik polimerler olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Polimerik nanopartiküller (polimer-ilaç konjugatları); albümin, kitosan ve heparin gibi polimerler doğal olarak bulunur ve ilaçların yanı sıra oligonükleotitlerin, DNA'nın ve proteinin taşınması için tercih edilen bir malzeme olmuştur. N- (2-hidroksipropil)-metakrilamid kopolimer (HPMA), polistiren-maleik anhidrit kopolimer, PEG ve poli- l -glutamik asit (PGA) sentetik polimerler arasındadır (Cho ve ark., 2008).

#### **1.7.12.1. Polietilen Glikol (PEG)**

Nanopartiküllerin bağışıklık sistemleri tarafından tespit edilmeden biyolojik sistem içinde uzun bir dolaşım süresine sahip olması, hedeflenen bölgeye ulaşması ve burada ilaç dozunu belirli seviyede tutabilmesi için çeşitli modifikasyonlara sahip olması gerekir. Bu nedenle, pasif kaplama, nötr yüzey mimarisi sağlamak için PEG kullanarak, NP'lerin yüklü yüzeylerini korumak, dolaşım sürelerini ve tümör dokularında birikimlerini artırmak için yaygın olarak kullanılan bir stratejidir (Pathak, 2019).



**Şekil 1.3.** Polietilen glikol molekül formülü ( $C_{2n}H_{4n+2}O_{n+1}$ )

PEG, renksiz, zehirsiz, kokusuz, tatsız, suda çözünen bir polimerdir ve moleküler ağırlığına göre polietilen oksit ve polioksietilen olarak adlandırılır. Gıdalarda ve ilaçlarda kullanıldığında E numarası E 1521'dir. Etilen glikol zehirli değildir, zira yutulduğunda oksalik aside metabolize olmaz.

PEG zincirinin, gelişmiş bir sistemik dağıtım için belirli bir moleküle kovalent bağlanması Pegilasyon olarak adlandırılır. Moleküller PEG ile kaplanarak kamuflej olanağı sağlanırken, RES sistemlerinden ve diğer kan fagositlerinden korunarak vücutta daha uzun dolaşım şansı elde ederler (Pathak, 2019).

Kaplama, nanopartiküllerin kararlılığını ve biyouyumluluğunu geliştirir, manyetik çekirdeğin aglomerasyonunu ve oksidasyonu önler. Spesifik olarak, PEG'in birçok uygulama için önem taşıyan suda çözünürlük, yüksek biyouyumluluk, uzun kanda dolaşım süresi ve aynı zamanda işlevsellik gibi ayırt edici avantajları vardır.

Pasif olarak hedeflenen PEG'lenmiş nanopartiküllerin çoğunluğu doğrudan toplar damara girilerek enjeksiyon yapıldıktan sonra verimli bir şekilde tümör dokusuna geçiş yapabilir. Ayrıca yoğun tümör stroması, anormal anjiyogenez ve yüksek tümör interstisyel sıvı basıncı gibi tümör mikro çevresindeki çeşitli biyolojik engeller nedeniyle yalnızca birkaç nanoparçacık tüm tümör boyunca yayılma yeteneğine sahiptir. Çoğu nanoparçacık, ilaçları aktif olarak tümör hücrelerine iletemez. Nanopartiküllerin kan dolaşımındaki stabilitesi ile tümör dokusuna ekstrasvazyondan sonra uygun tümör hücre alımı geçişinde bir denge oluşması gereklidir. Nanopartiküllerin PEG ile kaplanması bağışıklık sistemi tarafından yabancı madde olarak tanınma olasılığını azaltarak pasif hedefleme ile tümör bölgesine ulaşmasını sağlar. PEG tabakası; kan dolaşımında çekirdeğin hidrofobikliğini ve pozitif yükünü sağlayarak nanopartiküllerin stabilitesini korur ve kan dolaşım süresini uzatır. Tümörlü dokulara gelen hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler ortama sızar. Daha sonra tümör mikro çevresindeki uyarılar tarafından PEG ile partikül çekirdeği arasındaki bağ kopar. Böylece PEG tabakası

nanopartikülden ayrılır. Artan antitümör etkisi ile geliştirilmiş bir yüzey-hücre etkileşimi gerçekleşir (Chen ve ark., 2017).

Terapötik verimliliği etkileyen değişkenlerden biri de kan dolaşım süresidir. Hedefli ilaç taşıyıcı sistemlerin en önemli görevleri; hedeflenen dokulardaki ilaç konsantrasyonunu artırmak ve ilaç yükünün farmakokinetiğini ve biyolojik dağılımını modüle ederek sistemik yan etkileri azaltmaktır. İlaç taşıyıcı sistem ne kadar uzun süre kan dolaşımında kalırsa tümör bölgelerindeki ilaç konsantrasyonunu artırmak için o kadar fazla zamanı olur. Bu sayede mononükleer fagosit sistemi tarafından sekestrasyon olmadan taşıyıcının tümöre ilaç verme olasılığını artırır. Kan dolaşımındaki süreyi uzatmak için nanoparçacık modifiye edilmelidir. Bunun için en iyi seçenek PEG kaplamadır. Ayrıca Adagen, Doxil, Macugen ve Pegasys gibi bazı PEGillenmiş nano ilaçlar klinik kullanım için onaylanmıştır (Wang ve ark., 2017).

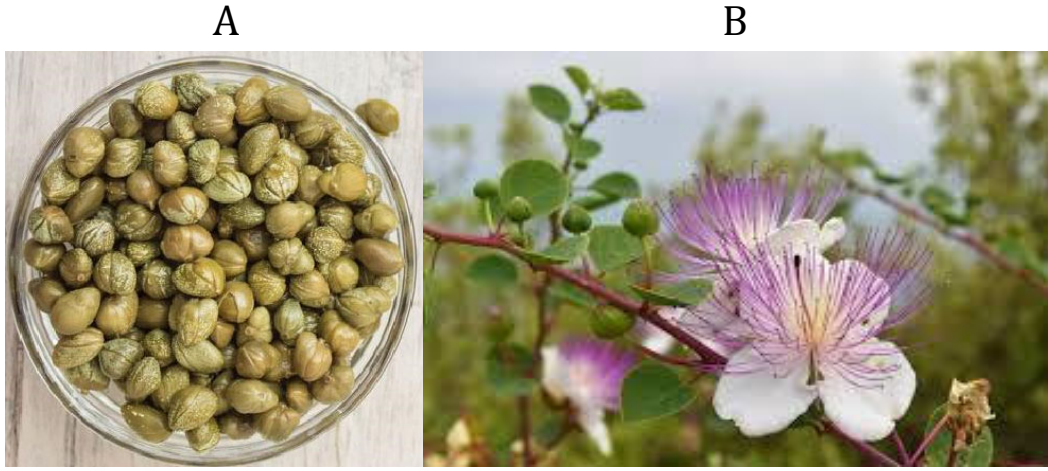
### **1.8. Kapari**

Kapari, capperidaceae familyasından küçük çok yıllık bir çalıdır. Yuvarlak, etli yaprakları olan ve büyük beyazımsı pembemsi çiçekler taşıyan uzun ömürlü bir bitkidir. Farklı isimlerle de adlandırılmaktadır. En yaygın olarak Gebre otu veya Kapari olarak bilinen dikenli bir bitki türüdür.

İlaç, kozmetik, gıda ve hayvan beslenmesi gibi alanlarda kullanımı yaygındır. Dünyanın çeşitli bölgelerinde Kapari tedavi amaçlı bitki tıbbında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca birkaç yazar bu bitkinin idrar söktürücü, kan durdurucu ve tonik gibi de kullanıldığını bildirmiştir (Saifi ve ark., 2011).

Kaparinin fitokimyasal analizinde flavonoidler, glukozinolatlar, fenolik asitler, tokoferoller, karotenoidler, polifenoller ve alkaloidler gibi biyoaktif bileşikler bakımından zengin olduğu bulunmuştur. Bu doğrultuda, kapari ekstraktlarının sağlığı geliştirici birçok özelliği, özellikle anti kanser ve antioksidan aktiviteleri bilimsel olarak gösterilmiştir (Koufan ve ark., 2022).

Dünya genelinde en çok kullanılan tıbbi bitkilerden biri Capparis spinosa (Capparidaceae)dir. İçerisinde barındırdığı antioksidan, antikanserojenik, antihipertansif, antidiyabetik ve antibakteriyel etken maddeler sayesinde gösterdiği biyolojik ve farmakolojik etkilerinden dolayı çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu da kaparinin umut verici bir tıbbi bitki olarak kabul edilmesine yol açmıştır (Benzidane ve ark., 2020).



**Resim 1.1.** Capparis spinosa bitkisi A) tohumu B) çiçeği  
(<https://www.gardenia.net/plant/capparis-spinosa>)

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötiklerin birçok yan etkisinden dolayı insanlar bitki tıbbına yönelmişlerdir. Doğada yetişen bitki ve bitki özlerinden kanser tedavisinde yararlanılmış, birçok fitokimyasalın güçlü bir antikarsinojenik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Kapari kaynaklı biyoaktif moleküllerin kanser tedavisinde güvenli ve etkili olduğu kanıtlanmıştır.

### 1.9. Manyetit ( $Fe_3O_4$ )

Manyetit, doğal olarak oluşan, kolayca elde edilebilen ve sentezlenebilen demir oksitlerden biridir. Genel olarak  $FeO.Fe_2O_3$  kimyasal formülüne sahip  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkları, yüksek mıknatıslama doygunluğuna sahip, toplu halde ferrimanyetik özelliklere sahiptir. Bununla birlikte,  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının manyetik özellikleri parçacık boyutlarına göre yönetilir. Ferrimanyetik  $Fe_3O_4$  nanopartiküllerinin boyutu yeterince küçük olduğunda, uygulanan manyetik alana büyük yanıt veren süper paramanyetik özelliklere sahiptirler.

Genel olarak, çapı 20 nm eşiğinin altında olan  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkları süper paramanyetik özellikler gösterir. Ayrıca süper paramanyetik nanoparçacıkların dış manyetik alana karşı daha güçlü ve daha hızlı manyetik tepki verir. Düşük toksisite, yüksek yüzey alanı / hacim oranı ve basit ayırma metodolojisi gibi diğer içsel özelliklerle birlikte süperparamanyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkları, kirliliğin önlenmesi ve atık su arıtımı için çevresel iyileştirme alanında oldukça dikkat çekmektedir (Koo ve ark., 2019).

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'ler kanser tedavisi için mükemmel nanopartiküllerdir. Ancak, bireysel Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NP'lerin antitümör etkisi yoktur. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ile hazırlanan kompozit NP'ler kanser tedavisi için büyük potansiyel göstermiştir (Cui ve ark., 2022).

Manyetit, hücre etiketleme, hedefleme, hücresel terapi, doku onarımı; ilaç dağıtımı, MRI, hipertermi ve magnetofeksiyon gibi çeşitli uygulamalar için önemli bir nanomalzemedir. İn vitro çalışmalarda manyetik nanopartiküllerin boyutlarının 10 ila 200 nm arasında olması istenir. Bunun nedeni, insan dalağında 200 nm'den büyük manyetik nanopartiküllerin yakalanması, 10 nm'den küçük manyetik nanopartiküllerin ise, renal klerans ile vücuttan atılmasıdır. Bu yüzden tasarlama yaparken sentez koşulları, çözeltinin konsantrasyonu ve pH'ı gibi manyetik nanopartiküllerin fizikokimyasal özelliklerini ve kullanılan ısıl işlem yöntemi gibi koşullar göz önünde bulundurulmalıdır. Biyomedikal çalışmalarda kullanılacak manyetik nanopartikülleri hazırlamak için literatürde açıklanan yöntemler; birlikte çökeltme, mikro emülsiyonlar, yüksek organik öncü maddelerden termal ayrışma, destekli sonokimyasal, elektrokimyasal yöntemler ve sol-jel işlemidir. Biyomedikal çalışmalarda kullanılacak manyetik nanomalzemenin suda dağılması gereklidir. Buna uygun sentez yöntemleri kullanılarak hazırlanan manyetik nanomalzemenin aynı zamanda biyoyuymululuk ve toksisite gibi özelliklerinin belirlenen sınırlarda olması gerekir. Kristal fazı belirleyen biyoyumlu malzeme ile kaplanmış demir oksit manyetik nanopartiküllerde ortalama çap ve manyetik özellik önemlidir (Mamani ve ark., 2014).

### **1.10. Manyetik Nanoparçacıklarla Hedefli İlaç Taşıyıcı Sistemler**

Manyetik nanoparçacıklar (MNP'ler) küçük parçacık boyutu, geniş spesifik yüzey alanı, manyetik tepki, kristallik, esneklik ve süperparamanyetizma ile çok işlevli nano malzemelerdir. MNP'ler sabit bir manyetik alan altında istenen şekilde konumlandırılabilir ve ısı, alternatif manyetik alandaki elektromanyetik dalga tarafından emilir. Çoğu biyolojik varlık, suyunkine benzer (~10<sup>-6</sup>) ihmal edilebilir bir manyetik duyarlılığa sahip olduğundan, manyetik alanlar biyolojik numunelere çok az girişim yapar. Biyomedikal uygulamalarda, MNP'ler genellikle süper paramanyetik durumdadır. MNP'lerin muazzam niteliklerinden dolayı kanser tanısında, ilaç salımında ve biyomedikal uygulamalarda tercih edilmektedir. Kanser tanısı için tümör görüntüleme teknolojisi, hastalığın erken teşhisini mümkün kılmıştır. Yaygın görüntüleme yöntemleri arasında MRI, manyeto akustik tomografi (MAT), bilgisayarlı tomografi (CT) ve NIR görüntüleme bulunmaktadır. Bunlar arasında MRI, kanserin erken teşhisinde güçlü bir etkiye sahiptir. Normal ve anormal dokuların MR görüntülerini ayırt etmek zordur; bu nedenle, kontrastı artırmak ve daha yüksek çözünürlük ve hassasiyet elde etmek için özel eksojen kontrast maddelerine ihtiyaç vardır. Süper paramanyetik demir oksit nanopartiküller (SPION'lar) retiküloendotelial hedeflemenin ve tümörleri hedefleyen problemlerin MR görüntülemesi için kontrast maddeler olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. SPION'lar

manyetizma, iyi geliştirilmiş yüzey kaplaması ve işlevsellik özelliklerinden dolayı kontrast ajanı olarak kullanılmışlardır. SPION'lar harici bir manyetik alan uygulandığında yüksek bir manyetizasyon sergiler; dış manyetik alan kaldırıldığında mıknatıslanma sıfır olur. İlaç yüklü manyetik nano taşıyıcılara harici bir manyetik alan uygulanarak in vivo olarak istenen spesifik konuma hedeflenebilir. Kanser tedavisinde MNP'ler genellikle kemoterapi, manyetik hipertermi (MHT, tümörlerin ısı ile tedavisi), fotodinamik terapi (PDT) ve foto termal terapi yöntemlerinde kullanılır. Daha etkili bir tedavi gerçekleştirmek için kombinasyon terapisi yöntemi kullanılmaktadır (Wu ve ark., 2017).

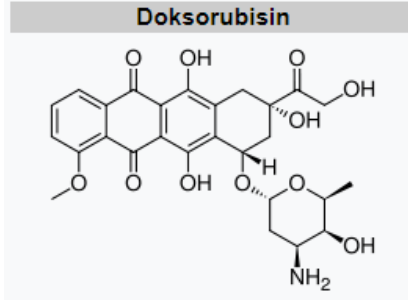
Biyouyumlulukları ve süper paramanyetik özellikleri nedeniyle, yeni nesil ilaç taşıyıcıları olarak MNP'ler büyük ilgi görmektedir. MNP'lerin potansiyel faydaları dikkate değer olsa da bu MNP'lerle ilişkili herhangi bir potansiyel toksisite belirgin bir şekilde tanımlanmalıdır. Farklı yüzey kaplamaları tarafından üretilen MNP'lerin ilaç yükleme kapasitesi ve biyomedikal özellikleri toksisitede en hassas parametrelerdir. MNP'lerin yüzey işlevselleştirilmesi ve toksisitesinin azaltılması için kaplama malzemesi olarak birçok organik ve inorganik malzeme kullanılmaktadır. pH veya sıcaklığa duyarlı malzemeler, ilaç yüklemesini ve hedeflenen salımı yönetmek için yaygın olarak kullanılır. Ayrıca MNP'ler harici manyetik alan kullanılarak kontrol edilebilir ve istenilen patolojik bölgeye yönlendirilebilir. Hedefe yönelik ilaç salımının gerçekleştirilmesi, ilacın dozajını azaltmış ve etkinliğini arttırmış, bu da normal dokularda yan etkilerin azalmasıyla sonuçlanmıştır (Mou ve ark., 2015).

MNP üretimi için çeşitli manyetik malzemeler kullanılabilir. Sentezlemedeki en önemli kriterler; biyolojik ortamlarda kararlı olması, toksik olmaması ve istenen manyetik özellikleri göstermesidir. Bunu sağlamak için en basit yöntemlerden biri demir oksit NP'leri (manyetit  $Fe_3O_4$  veya hematit  $Fe_2O_3$ ) kullanmaktır. Doğunluk manyetizasyonları lantanit manyetik malzemeler kadar yüksek olmasa da toksisiteyi düşüktür ve yüksek oranda biyouyumludurlar. Bu türden küçük boyutlu NP'ler, SPION'lar olarak adlandırılır. MNP'lerin manyetik özelliklerinin parçacık boyutuna bağlı olması çok önemli bir özelliktir. MNP'lerin agregasyonuna yol açan, az sayıda manyetik alana sahip daha büyük parçacıklar kalıcı ferromanyetik niteliklere sahiptirler. Tek bir manyetik alana sahip daha küçük parçacıkların süper paramanyetik nitelikleri biyomedikal uygulamalar için daha uygundur. Bu partiküllerin uygun boyutunun 20–30 nm arası olduğu belirlenmiştir. Daha fazla manyetik özelliklere sahip büyük parçacıklar MNP'lerin aglomerasiyonuna yol açan kalıcı mıknatıslanma sebebiyle biyomedikal uygulamalarda tercih edilmezler. Kontrollü ilaç taşıyıcı olarak kullanılan MNP'ler hedeflenen bölgede ilacın birikmesi ve yüzeylerindeki ligandların tümör dokularını hedeflemesi için tasarlanmışlardır. Aktif moleküller nano taşıyıcı kabuğa veya bir yüzey koruyucuya bağlanmalıdır. In vivo ortamdaki manyetik nanoparçacıkların genellikle çözünmüş oksijen, retikuloendotelial sistem ve biyoaktif bileşiklerin olumsuz etkilerinden korunmak için modifiye edilmeleri gerekmektedir. Bu sebeplerden nanopartiküller kompakt ve kimyasal olarak kararlı kabuklarla kaplanır. Nanotıp alanında kullanılacak MNP'lerin

hidrofilik polimerler tarafından uygun şekilde kaplanmış olması gereklidir. Bu sayede MNP'ler belirli bir yük yoğunluğuna sahip olur, fizyolojik ortamda topaklanma gerçekleşmez ve dış etkenlerden koruyucu bir kalkan eklenmiş olur. Modifikasyon işlemi için bir silika kabuk veya altın film kullanılabileceği gibi bir polimer kabuk da kullanılabilir. Biyomoleküllerin spesifik olmayan adsorpsiyonunu önlemek için kabuk malzemesinin daha fazla işlevselleştirilmesi gerekmektedir. İlaçlar, adjuvanlar, hedefleyici ligandlar, floresan moleküller, biyoyumluluk arttırıcı ajanlar gibi fonksiyonel moleküllerin immobilizasyonu için kullanılabilecek kaplamalara (örn. amin, karboksil) farklı fonksiyonel gruplar eklenebilir. Adsorpsiyondan korunan çekirdek-kabuk MNP'leri genellikle toksik değildir ve uygulama yollarından bağımsız olarak in vivo olarak iyi tolere edilir. Polietilenimin kaplı IONP'lerin, hem makrofajlarda hem de kanser hücrelerinde PEG ile olanlardan önemli ölçüde daha yüksek alım sergilediği ve apoptoz gibi çoklu mekanizmalar yoluyla ciddi sitotoksisiteye neden olduğu bildirilmiştir. Bu sorunun giderilmesi için Polietileniminin aynı zamanda pozitif yük taşıyan biyoyumlu bir poli-L-lizin kaplaması yeterlidir (Hepel, 2020).

### 1.11. Doksorubisin (DOX)

Doksorubisin; molekül formülü şekil 1.4.'de gösterildiği gibi olan, kanser kemoterapisinde kullanılan bir ilaçtır. Aynı zamanda, bir antrasiklin türevi antibiyotiktir.



**Şekil 1.4.** Doksorubisin molekül formülü

1960'lardan beri kemoterapötik bir ajan olarak yaygın bir kullanıma sahiptir. DOX, yumuşak doku ve kemik sarkomlarını, meme, yumurtalık, mesane ve tiroid kanserlerini tedavi etmek için kullanılabilir. Ayrıca akut lenfoblastik lösemi, akut miyeloblastik lösemi, Hodgkin lenfoma ve küçük hücreli akciğer kanseri tedavisinde de kullanılmaktadır. DOX'in birincil etki mekanizması, ilacın DNA baz çiftleri içinde araya girerek DNA zincirlerinin kırılmasına ve hem DNA hem de RNA sentezinin inhibisyonuna neden olma yeteneğini içerir. DOX, topoizomeraz II enzimini inhibe ederek DNA hasarına ve apoptozun indüklenmesine neden olur. DOX, demir ile birleştiğinde ayrıca DNA'da serbest radikal aracılı oksidatif hasara neden olarak DNA



sentezini daha da sınırlar. Dekstrazoksan gibi demir şelatörleri, DOX'in demir ile bağlanmasını sınırlayarak serbest radikal oluşumunu önleyebilir. DOX uygulanmadan önce buzdolabında ve ışıktan uzak bir yerde saklanmalıdır. DOX, dokulara hızlı dağılım gösterir ve 48 saate kadar eliminasyon yarı ömrüne sahiptir. DOX enzimatik indirgemeye maruz kalır, bu nedenle korunması gerekir. DOX, safra atılımı yoluyla eliminasyona uğrar.

DOX uygulamasından sonra, yorgunluk, saç dökülmesi, mide bulantısı, kusma ve ağız yaraları gibi yan etkiler yaygındır. Kemik iliği baskılanması ve sekonder malignite teşhisi riskinde artış meydana gelebilir. İntravenöz uygulama sırasında DOX ekstrevasyonu, zamanla kötüleşen ciddi doku ülserasyonu ve nekroz ile sonuçlanabilir. DOX ayrıca ilacın uzun süreli kullanımını sınırlayan önemli kardiyak toksisite ile ilişkilidir. DOX'in neden olduğu kardiyak toksisitenin etki mekanizması, ilacın antitümör mekanizmasından farklıdır. Artan oksidatif stres, kalbe özgü genlerin aşağı regülasyonu ve DOX tarafından kardiyak miyosit apoptozunun indüklenmesini içerir. DOX'in akut kardiyak toksisitesi, ilacın uygulanmasından sonraki günler içinde ortaya çıkar ve ilacı alan hastaların yaklaşık %11'inde görülür. Konjestif kalp yetmezliği de oluşabilir. DOX kaynaklı konjestif kalp yetmezliği risk faktörleri arasında daha yüksek kümülatif ilaç dozu, aşırı yaş, diğer kardiyotoksik ilaçlarla kombinasyon kemoterapisi, önceden var olan sol ventrikül disfonksiyonu, hipertansiyon ve mediastinal bölgeye önceki radyasyon yer alır (Johnson-Arbor ve ark., 2017).

Gerçekten de hedeflenmeyen dokuların ilaca maruz kalması genellikle DOX'un terapötik dozajlarını sınırlayarak ve DOX tedavisi sırasında ve sonrasında hastaların yaşam kalitesini azaltarak kanser tedavisini karmaşıktırır. Bununla birlikte DOX, beyin, böbrek ve karaciğer gibi diğer organları da etkiler. Kapsamlı klinik kullanımına rağmen, DOX'un etki mekanizmaları yoğun bir tartışma konusudur. Artan veriler bu ilacın iki ucu keskin bir bıçak olabileceği görüşünü desteklemektedir (Carvalho ve ark., 2009).

DOX'in akut yan etkileri arasında mide bulantısı, kusma ve kalp düzensizliği sayılabilir. Ayrıca nötropeni (akyuvarlarda azalma) ve kellik de görülebilmektedir. Doxil, peglenmiş (PEG kaplı) lipozom içine kapsüllenmiş bir DOX biçimidir. PEG kaplama Doxil'in deride konsantre olmasını sağlar.

Çoğu DOX kemoterapi prosedürü düşük hücre alım, yetersiz hücre içi ilaç salınımı ve ilaç sızdıran taşıyıcıları içerir ve sonuçlar çoğu zaman çok olumlu değildir. Yeni ilaç taşıyıcı sistemler ile, pasif ve aktif nanopartiküller içinde enkapsüle edilmiş DOX kullanılarak kardiyotoksisiteyi ve kemoterapi etkinliğini azaltmak mümkün olmuştur. DOX tedavileri, tümör gelişimini, tümör ağırlığını ve kümülatif tümör hacmini diğer tedavilere kıyasla önemli ölçüde azaltmıştır. Birçok çalışma, akıllı DOX'un ilaç dağıtım sistemleri, tümörü azaltmada serbest DOX'tan daha etkili olduğunu ortaya koymuştur (Pourradi ve ark., 2022).

Von Hoff ve arkadaşları (1979), yaptıkları çalışmada DOX kaynaklı konjestif kalp yetmezliği gelişiminden sorumlu potansiyel risk faktörlerini, 4018 hasta kaydının retrospektif analizi yoluyla incelemişlerdir. İlaça bağlı konjestif kalp yetmezliğinin genel insidansı %2,2 (88 vaka) olarak hesaplanmıştır. DOX kaynaklı konjestif kalp yetmezliği meydana gelme olasılığının, uygulanan toplam DOX dozu ile ilişkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Uygulanan ilacın kümülatif miktarı arttıkça risk miktarının arttığı gözlemlenmiştir. Haftalık bir DOX doz çizelgesi, genellikle her 3 haftalık programa göre önemli ölçüde daha düşük konjestif kalp yetmezliği insidansı ile ilişkilendirilmiştir. İlerleyen hasta yaşıyla birlikte ilaca bağlı konjestif kalp yetmezliğinde de bir artış olduğu ancak cinsiyet, ırk ve tümör tipinin risk faktörü olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

DOX ile yapılan bir başka çalışmada, MRI ve kemoterapi için manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> çekirdeği ve DOX (SPION PEG D) ile konjuge edilmiş PEG kabuğundan oluşan fonksiyonel SPION'lar geliştirilmiştir (Liang ve ark., 2016). SPION'ların boyutu, geçirimli elektron mikroskobu kullanılarak ~ 10 nm olarak ölçülmüştür. Titreşimli numune manyetometresi ile oluşturulan histerezis eğrisi, SPION PEG D'nin önemsiz bir histerezis ile süper paramanyetik olduğunu göstermiştir. DOX'un kan dolaşımındaki yarı ömrü, SPION'un yüzeyindeki DOX'un PEG ile konjuge edilmesiyle uzatılmıştır. Prusya mavisini boyama çalışmasında, bir manyetik alan altında SPION-PEG-D ile tedavi edilen tümörlerin, tek başına SPION-PEG-D ile tedavi edilen tümörlerden çok daha yüksek intratümöral demir yoğunluğuna sahip olduğunu göstermiştir. İn vivo MRG çalışmasında, ağırlıklı sinyal artışı, manyetik alan altındaki grup için daha güçlü bulunmuştur. Bu, grubun tümör dokularında daha iyi bir SPION-PEG-D birikimine sahip olduğu gösterilmiştir. SPION-PEG-D için antikanser etkinlik çalışmasında sonuçlar, manyetik alana sahip grup için kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha küçük bir tümör boyutu gösterilmiştir. İn vivo deneyler ayrıca, yerel bir manyetik alanla birleştirilen bu ilaç verme sisteminin kardiyotoksikite ve hepatotoksitenin yan etkilerini azaltabileceğini göstermiştir. Sonuçlar, geliştirilen SPION-PEG-D nanoparçacıklarının, MRG izlemeli miknatis güçlendirici tümör kemoterapisi için büyük bir potansiyele sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır.

### **1.12. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)**

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), aktif bileşikleri ayırmak, tanımlamak ve ölçmek için kullanılan spesifik bir kolon kromatografisi şeklidir. HPLC esas olarak, kolon dolgu maddesini (sabit faz) tutan bir sütun, mobil fazları kolon boyunca hareket ettiren bir pompa ve moleküllerin tutulma sürelerini gösteren bir dedektör yardımıyla çalışır. HPLC, az miktarda sıvı numunenin, bir pompa (3 ila 5 µm çapında) tarafından verilen yüksek basınçla kolondan geçirilen ve sabit fazla dolu bir sütundan geçen ve mobil faz olarak adlandırılan hareketli bir sıvı akışına enjekte edilmesiyle gerçekleştirilir.

Bir karışımın bileşenlerine ayrılması, sütundaki her bir bileşenin farklı derecelerde tutulmasına bağlıdır. Bir bileşenin kolonda ne ölçüde tutulacağı, sabit faz ile mobil faz (kullanılan çözücü veya çözücüler) arasındaki çeşitli kimyasal ve/veya fiziksel etkileşimlere bağlı olarak değişir. Bileşikler farklı hareketliliklere sahip olduklarından, kolondan farklı zamanlarda çıkarlar; yani, farklı alıkonma sürelerine sahiptirler. Alıkonma zamanı genelde RT ile gösterilir ve analitin kolondan çıkma süresi olarak tanımlanır. Sabit faz kolondan geçerken öncelikle analitlerin farklı polaritesi nedeniyle, iki faz arasında farklı hızda etkileşimler olur. Mobil faz ile en fazla etkileşime sahip analitler kolondan daha hızlı çıkarlar. Bu ayrılmış bileşenler, kolon çıkışında, dedektör aracılığıyla algılanır. Alıkonma süresi, enjeksiyon ve algılama arasındaki süredir (Ali, 2022).

Bir HPLC sistemindeki ana bileşenler arasında solvent deposu, yüksek basınçlı pompa, kolon, enjektör sistemi ve dedektör vardır (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Bir HPLC sistemindeki ana bileşenler (Mandpe ve ark.,2022)

### 1.12.1. HPLC performansını etkileyen faktörler

**İç çap:** Bir HPLC sütununun iç çapı (ID), kolona yüklenebilecek numune miktarını belirleyen ve ayrıca hassasiyeti de etkileyen kritik bir faktördür.

**Parçacık boyutu:** HPLC, küçük küresel silika parçacıklarının dışına bağlı sabit faz ile gerçekleştirilir. Daha iyi ayrımlar için, daha fazla yüzey alanı ve daha küçük parçacıklar gerekir. Ancak optimum doğrusal hız için gereken basınç, parçacık çapının karesinin tersi ile artar.

**Gözenek büyüklüğü:** Gözenek birçok sabit fazın daha fazla yüzey alanı sağlaması için gerekli bir faktördür. Küçük gözenekler daha büyük yüzey alanı sağlarken, daha büyük gözenek

boyutu özellikle daha büyük analitler için daha iyi kinetiğe sahiptir. Gözenek boyutu, analit moleküllerinin parçacığın içine nüfuz etme ve iç yüzeyi ile etkileşime girme yeteneğini sınırlar çünkü, dış parçacık yüzeyinin iç yüzeyine oranı yaklaşık 1:1000 'dir ve bu özellikle önemlidir. Yüzey moleküler etkileşimi esas olarak iç partikül yüzeyinde gerçekleşir.

**Pompa basıncı:** Pompa performansı tutarlı ve tekrarlanabilir bir akış hızı elde etme yeteneği ile ölçülür. Pompaların basınç kapasitesi değişkendir. Yeni geliştirilen HPLC sistemleri çok daha yüksek basınçlarda çalışacak şekilde ayarlanmıştır ve bu nedenle kolonlarda çok daha küçük partikül boyutları (<2 mikrometre) kullanılabilir.

**Sıcaklık:** HPLC'nin düzgün çalışması için sıcaklığın etkisi önemlidir. Çoğunlukla HPLC sütunları oda sıcaklığında veya 25- 35 °C civarında iyi çalışırlar.

### 1.13. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), numune yüzeyine odaklanmış, yüksek voltaj ile hızlandırılmış bir elektron demeti ile taranması sonucu elektron ve numune atomları arasındaki etkileşimlerin neticesinde numune yüzeyindeki topografi ve kompozisyon hakkında bilgiler içeren farklı sinyaller üretir. Bu sinyaller uygun algılayıcılarda toplanarak sinyaller dijital veri şeklinde bilgisayara aktarılarak görüntü elde edilir.

Organik ve inorganik malzemelerin nanometre- mikrometre ( $\mu\text{m}$ ) ölçeğinde analizinde etkili bir yöntemdir. SEM, çok çeşitli malzemelerden çok hassas görüntüler üretmede 300.000 ve hatta 1000000 'e ulaşabilen yüksek bir büyütmede çalışır. SEM, örneklerin malzeme bileşimi hakkında temel bilgiler sunma potansiyeline sahiptir. Cihaz, herhangi bir numuneyi tutabilen değişken basınç sisteminden oluşur. Cihaz, çapı 200 mm'ye ve yüksekliği 80 mm'ye kadar olan numunelerin analiz edilmesini sağlar. SEM 'de analiz edilebilecek malzemeler metaller ve polimerler dahil olmak üzere organik ve katı inorganik malzemelerdir. SEM nitel ve nicel analiz için çok önemli bir tekniktir. SEM aracılığıyla numunenin yüzey topografyası ve kompozisyonu hakkında bilgi edinilebilir (Mohammed ve ark., 2018).

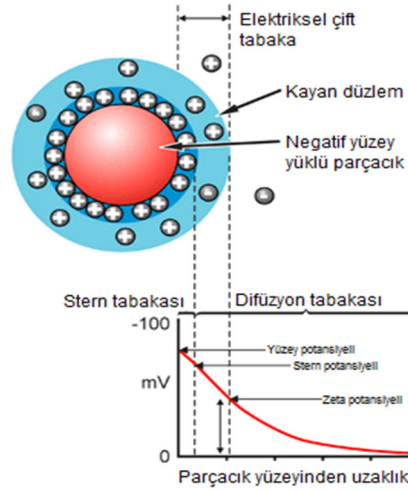
### 1.14. Fourier Transform Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi (FTIR), bir tür titreşim spektroskopisidir. Bu yöntemin temeli, cihaz tarafından gönderilen kızılötesi ışığın numune tarafından soğurulmasına dayanır. Numune içindeki molekül içi bağlar kızılötesi ışınları titreşim ve dönme hareketleri ile soğurulur. Kızılötesi ışık ancak dipol momente sahip polar moleküller tarafından soğurulur. Bu soğurulma sonucu elde edilen spektrumlar gözlemlenerek nicel ve nitel analizler gerçekleştirilmektedir. Her maddenin kendine özel bir spektrumu olduğundan

organik ve inorganik bileşiklerin moleküler yapısına ait bilgileri sunabilmektedir. FTIR spektroskopisi ile, moleküler bağ karakterizasyonu yapılarak yapı tayini, kalitatif ve kantitatif analiz, katı, sıvı, gaz veya çözelti halindeki organik bileşiklerin yapısındaki fonksiyonel gruplar, iki bileşiğin aynı olup olmadığı, bağlanma yerleri gibi birçok önemli veri elde edilebilir.

### 1.15. Tanecik Boyutu ve Zeta Potansiyel Analizi

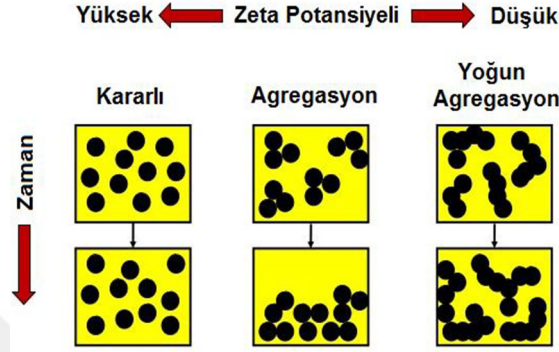
Zeta potansiyeli, süspansiyon halindeki bir partikülün gösterdiği fiziksel bir özelliktir. Pek çok nanoparçacık ya da koloidal partikül süspansiyon içinde yüzey yüküne sahiptir. Zeta potansiyeli (elektrokinetik potansiyel) nanoparçacık yüzeyindeki etkin elektrik yükünün bir ölçüsüdür ve koloidal nanoparçacıkların yük kararlılığını ifade eder. Net yüzey yüküne sahip olan bir nanoparçacık, yüzeyde zıt yüklü iyonlarla çevrelenir. Parçacık yüzeyine yakın konumdaki zıt yüklü iyonlar (Stern tabakası) parçacığa sıkı bir şekilde bağlanırlar. Zayıf bağlanan iyonlar ise ikinci bir tabaka (difüzyon tabakası) oluşturur. Bu karşıt yüklü iyonlar nanoparçacık ile birlikte hareket eder ve yüzey yükü ile beraber karşıt yüklü iyon topluluğuna elektriksel çift tabaka adı verilir (Şekil 1.6). Parçacıkların dağıldığı sıvı ortam ile parçacık arasında bir potansiyel farkı oluşur. Bu potansiyel farkı elektriksel çift tabakanın kalınlığı ile değişir. Bu potansiyelle zeta potansiyel adı verilir. Simgesi  $\zeta$ , birimi volt'tur.



**Şekil 1.6.** Çözelti içindeki nanoparçacık yüzeyindeki elektriksel çift tabakanın şematik gösterimi (<http://nanocomposix.com/pages/characterization-techniques>)

Zeta potansiyeli, bir partikülün içinde dağıldığı sıvı kütlesi ile nanoparçacık yüzeyindeki karşıt yüklü iyonları içeren sıvı tabakası arasındaki potansiyel farkının bir ölçüsüdür. Pozitif bir zeta potansiyele sahip olan partiküller negatif yüklü yüzeylere, negatif zeta potansiyelli olanlar ise pozitif yüzeylere bağlanır. Tablo 1.1'de gösterildiği gibi zeta potansiyelinin büyüklüğü partikül

kararlılığı hakkında bilgi verir ve partikül yüzeyindeki yük karakteristiğini belirlemek için kullanılır. Yüksek zeta potansiyel değerleri elektrostatik itme kuvvetinin fazla olması anlamına gelir, bu da süspansiyon kararlılığını artırır ve düşük viskoziteli, iyi dağılmış bir süspansiyon oluşturur (Şekil 1.7).



**Şekil 1.7.** Zeta potansiyelin süspansiyon özellikleri üzerine etkisinin şematik gösterimi (<https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/139288-An-Overview-of-the-Zeta-Potential-Part-3-Uses-and-Applications/>)

(+/-) 30 mV üzerinde zeta potansiyeline sahip nanoparçacıklar süspansiyon içinde kararlıdır çünkü yüzey yükleri partiküllerin agregasyonunu engeller.

**Tablo 1.1.** Zeta potansiyel değerinin NP süspansiyon özelliğine etkisi

	NP Süspansiyon Özelliği
<b>0-5 mV</b>	Yığınlar oluşturma ya da öbikleşme eğiliminde partiküller
<b>5-20 mV</b>	Minimal partikül kararlılığı
<b>20-40 mV</b>	Orta derecede partikül kararlılığı
<b>40+ mV</b>	Yüksek partikül kararlılığı

### 1.16. Mössbauer Spektroskopisi

Mössbauer spektroskopisi, birçok bilim alanında bilgi sağlamak için kullanılacak çok yönlü spektroskopik bir tekniktir. Bir malzemenin kimyasal, yapısal, manyetik ve zamana bağlı özellikleri hakkında çok kesin bilgiler verebilir. (<https://www.rsc.org/membership-and-community/connect-with-others/through-interests/interest-groups/mossbauer/>)

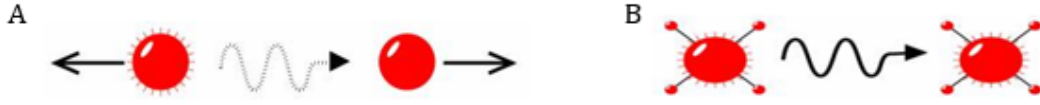
Mössbauer spektroskopisi, elektromanyetik spektrumun bir parçası olan gama ışınlarının emilmesi ve yeniden yayılmasıyla nükleer yapıyı incelemek için kullanılan çok yönlü bir tekniktir. Mössbauer spektroskopisi, fotonu geri tepmesiz bir şekilde absorbe etme olasılığı olan katıların veya kristallerin kullanılmasını gerektirir, birçok izotop Mössbauer özellikleri sergiler, ancak en yaygın olarak incelenen izotop <sup>57</sup> Fe'dir. ([https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical and Theoretical Chemistry Textbook Maps/Supplemental Modules \(Physical and Theoretical Chemistry\)/Spectroscopy/Mossbauer Spectroscopy](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Mossbauer_Spectroscopy))

### 1.16.1. Mössbauer etkisi

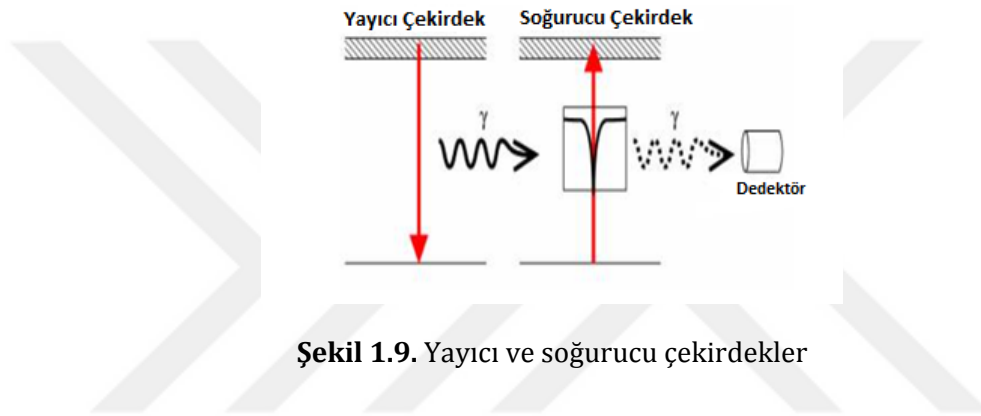
Atomlardaki çekirdekler, genellikle bir gama ışınının emisyonu veya absorpsiyonu ile ilişkili çeşitli enerji seviyesi geçişlerine maruz kalır. Bu enerji seviyeleri hem elektronik hem de manyetik çevre ortamından etkilenerek değiştirilebilir veya bölünebilir. Enerji seviyelerindeki bu değişiklikler, atomun bir sistem içindeki yerel ortamı hakkında bilgi sağlayabilir ve rezonans-floresans kullanılarak gözlemlenmelidir. Bununla birlikte, bu bilgiyi elde etmenin önünde iki büyük engel vardır: çekirdek ve çevresi arasındaki 'aşırı ince' etkileşimler son derece küçüktür ve gama ışını yayılırken veya emilirken çekirdeğin geri tepmesi rezonansı önler.

Serbest bir çekirdekte, bir gama ışını emisyonu veya absorpsiyonu sırasında, momentumun korunumu nedeniyle geri teper, tıpkı bir silahın mermi ateşlerken geri tepme enerjisiyle geri tepmesi gibi. Geri tepme enerjisi ( $E_R$ ) sistemin kütlesine ters orantılıdır. Yayılan gama ışını, nükleer geçişten daha az  $E_R$  enerjisine sahiptir. Ancak rezonansla soğurulması için, soğurucu çekirdeğin geri tepmesi nedeniyle geçiş enerjisinden  $E_R$  daha büyük olmalıdır. Rezonans elde etmek için geri tepme enerjisi kaybının bir şekilde üstesinden gelinmesi gerekir (Şekil 1.8. A).

Mössbauer'in keşfettiği şey, atomlar katı bir matris içindeyken çekirdeğin etkin kütlesinin çok daha büyük olduğudur. Geri tepme kütlesi artık etkin bir şekilde tüm sistemin kütlesidir ve  $E_R$  ve  $E_D$ 'yi çok küçük yapar. Gama ışını enerjisi yeterince küçükse, çekirdeğin geri tepmesi bir fonon olarak iletilemeyecek kadar düşüktür. Bu nedenle tüm sistem geri teperek geri tepme enerjisini neredeyse sıfır yapar. Geri tepmesiz olaylarda yayan ve soğuran çekirdekler katı bir matris içindeyse yayılan ve soğurulan gama ışını aynı enerjidedir. Bu da aynı frekansta salınması yani rezonansı ifade eder (Şekil 1.8. B).



Şekil 1.8. a) Bir gama ışını emisyonunda veya absorpsiyonunda serbest çekirdeklerin b) Çekirdekler kristal kafes gibi katı bir matris içindeyken bir gama ışınının geri tepmesiz emisyonu veya absorpsiyonu geri tepmesi (<https://www.rsc.org/membership-and-community/connect-with-others/through-interests/interest-groups/mossbauer>)



Yayıcı ve soğurucu çekirdekler aynı kübik ortamlarda ise, geçiş enerjileri aynıdır ve bu Şekil 1.9' da gösterildiği gibi tek bir soğurma çizgisi üretir (<https://www.rsc.org/membership-and-community/connect-with-others/through-interests/interest-groups/mossbauer>).

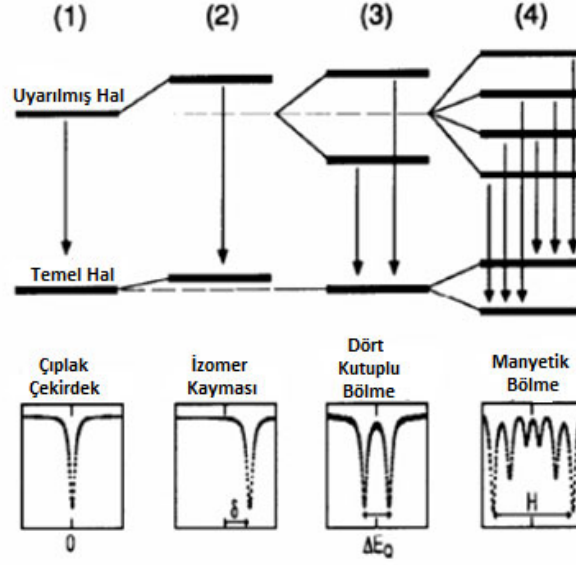
### 1.16.2. Mössbauer izotopları

Mössbauer spektroskopisi kullanılarak incelenen en yaygın izotoplar  $^{57}\text{Fe}$ 'dir, ancak diğer birçok izotop da bir Mössbauer spektrumu göstermiştir. İşlevsellik için iki kriter sunulmaktadır:

Uyarılmış durum çok düşük enerjilidir ve temel ile uyarılmış durum arasında küçük bir enerji değişikliğine neden olur. Bunun nedeni, daha yüksek enerjideki gama ışınlarının geri tepmeden soğurulmaması, yani rezonansın yalnızca düşük enerjili gama ışınları için oluşmasıdır.

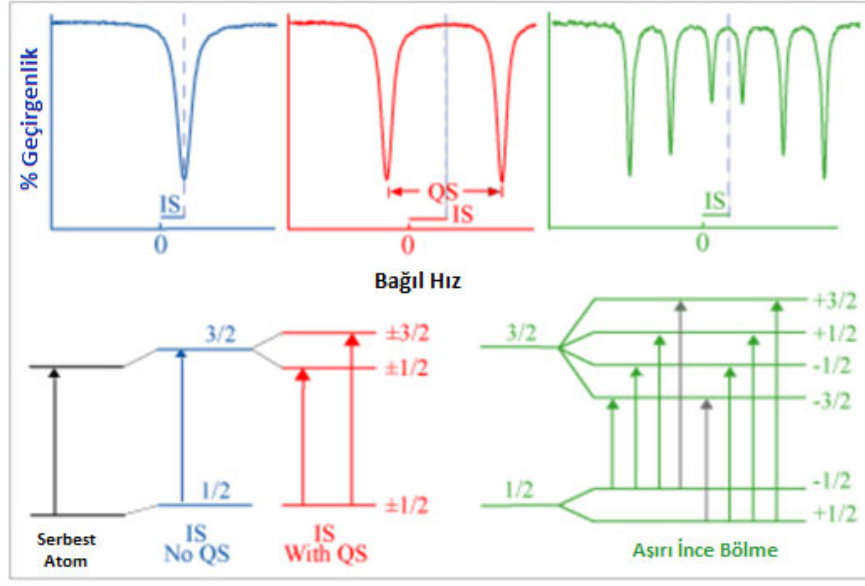
Mössbauer spektroskopisinin çözünürlüğü, uyarılmış durumun ömrüne bağlıdır. Uyarılmış durum ne kadar uzun sürerse, görüntü o kadar iyi olur.





**Şekil 1.10.** (1) Çıplak bir çekirdek, (2) elektrik monopol etkileşimi (izomer kayması), (3) elektrik dört kutuplu etkileşim (dört kutuplu bölme) ve (4) manyetik dipol etkileşimi için nükleer enerji seviyesi diyagramını gösteren  $^{57}\text{Fe}$  çekirdekleri için aşırı ince etkileşimlerin gösterimi (McCammon, 1995)

Şekil 1.10'da görüldüğü üzere mössbauer spektrumları üç parametre kullanılarak tanımlanır: kaynak ve soğurucu arasındaki elektron yoğunluğu farkından kaynaklanan izomer kayması, dört kutuplu ayrılma, yakındaki elektronların neden olduğu bir elektrik alan gradyanının neden olduğu nükleer enerji seviyelerinde bir kayma ve aşırı ince bölünme (yalnızca manyetik malzemeler için), tarafından indüklenen nükleer enerji seviyelerinde bir kaymadır. Grafikselsel olarak, dört kutuplu ayrılma, bir ikilinin iki bileşen zirvesi arasındaki ayrımdır ve izomer kayması, ikilinin orta noktası ile hız ölçeğinde sıfır arasındaki farktır. Mössbauer parametreleri sıcaklığa duyarlıdır ve bu özellik bazen tepe çözünürlüğünü iyileştirmek ve ilginç manyetik olaylara neden olmak için daha düşük sıcaklıklar kullanılarak yapılmaktadır.



**Şekil 1.11.** Kaynak ve soğurucu atomların enerji seviyeleri ve oluşan spektrumlar  
Kaynak:[https://serc.carleton.edu/research\\_education/geochemsheets/techniques/mossbauer.html](https://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/mossbauer.html)

Kaynak ve soğurucu atomlar farklı yerel ortamlarda olduğunda, nükleer enerji seviyeleri farklıdır (Şekil 1.11). En basit haliyle, bu, iletim spektrumunda minimumun sıfır hızdan uzağa kayması olarak görünür; bu kaymaya genellikle izomer kayması (IS) denir. 1/2 ve 3/2 etiketleri, nükleer dönüşü veya içsel açısal momenti, kuantum sayılarını, I temsil eder. Nükleer dört kutuplu momentin elektrik alan gradyanı ile etkileşimi, nükleer enerji seviyelerinin bölünmesine yol açar. <sup>57</sup>Fe için, bu, iletim spektrumundaki bireysel tepe noktalarının, QS'nin dört kutuplu bölünmesine sahip çiftlere bölünmesine neden olur. Çekirdekte bir manyetik alan mevcut olduğunda, Zeeman bölünmesi gerçekleşir ve altılı bir desen verir; en basit durumda çizgilerin alanları 3:2:1:1:2:3 oranında değişir. Gösterilen spektrum için, doyum etkileri nedeniyle dış çizgiler azaltılmış yoğunluğa sahiptir. Sağ altta gri olarak gösterilen iki ek olası geçiş ( $m_I = -1/2 - +3/2$  ve  $m_I = +1/2 - -3/2$ ) seçim kuralı nedeniyle oluşmuyor,  $\Delta m_I \leq 1$ . Yarıkların net bir şekilde görülebilmesi için geçiş oklarının uzunluklarının büyük ölçüde kısaltılmıştır.

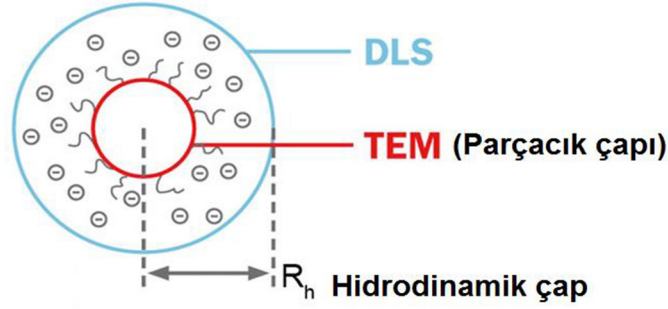
Fe atomunun etrafındaki elektronlar, manyetitte olduğu gibi bir manyetik alan yaratırsa, o zaman Fe çekirdeğindeki enerji seviyeleri bölünerek altı olası nükleer geçişe izin verir ve bir altılı spektrum ortaya çıkar. Altılıdaki zirvelerin konumları, nükleer enerji seviyelerinin aşırı ince bölünmesini (Bhf) tanımlar.

Farklı yerel ortamlardaki ve farklı oksidasyon durumlarına sahip olan demir atomları, farklı enerjileri emer. Bu nedenle tipik bir Mössbauer spektrumu, her biri numunedeki belirli bir ortamdaki (bir Fe nükleer bölgesi) bir demir çekirdeğe karşılık gelen tepe kümelerinden

(genellikle çiftler ve altılılar) oluşur. Nükleer ortam, elektron sayısı ( $Fe^0$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ), koordine edici anyonların sayısı, bölgenin simetrisi ve manyetik sıralamanın varlığı/yokluğuna bağlı olarak Fe çekirdeğinin çevresinde farklı tepe noktaları belirir. Bu nedenle, belirli bir mineralin spektrumu, ikili ve altılıların üst üste binmesinden oluşabilir.

### 1.17. Dinamik Işık Saçılımı Yöntemi (DLS)

Dinamik ışık saçılımı ya da foton korelasyon spektroskopisi, bir sıvı içinde dağılmış parçacıkların boyutunu ölçmek için kullanılır. Mikro ve nano boyutlu parçacıkların ve makromoleküllerin boyut analizleri için kullanılan bir tekniktir. DLS tekniği parçacık boyutunu Brownian hareketleri ölçerek dolaylı olarak tayin eder. Parçacıkların kendilerini çevreleyen çözücü molekülleri ile çarpışmaları sonucu gerçekleşen rasgele hareketlere Brownian hareket denir. Brownian hareketin hızı ile parçacık boyutu arasında ters bir ilişki vardır, boyut ne kadar büyükse hareket o kadar yavaştır. Brownian hareketin hızı çevrimsel difüzyon katsayısı (D) adı verilen bir kavramla ifade edilir. DLS tekniğinde ölçülen çap, parçacığın difüzyon şekli ile ilgilidir. Aslında ölçülen çap, parçacıkla birlikte difüzyon kabul edilen, parçacıkla aynı çevrimsel difüzyon katsayısına sahip bir kürenin çapıdır. Hidrodinamik çap Stokes çapı olarak adlandırılır (Şekil 1.12). Hidrodinamik çap her zaman parçacık boyutundan büyüktür çünkü parçacık etrafında oluşan elektriksel çift tabaka ile ölçülen çaptır.



**Şekil 1.12.** Hidrodinamik çap (<http://www.fritsch-international.com/particle-sizing/fritsch-knowledge/hydrodynamic-diameter/>)

DLS sisteminde, sıvı içinde süspansiyon edilen nanoparçacıklar bir lazerin optik yolu üzerine yerleştirilir ve lazer ışığının süspansiyon içindeki parçacıklarla etkileşmesi sağlanır. Brownian hareketi sergilemekte olan nanoparçacıklara çarpan lazer ışınları saçılır. Saçılan ışığın şiddetindeki değişim, parçacığın hareketine, buna bağlı olarak da parçacığın büyüklüğüne, ortamın viskozitesine ve sıcaklığa bağlıdır.

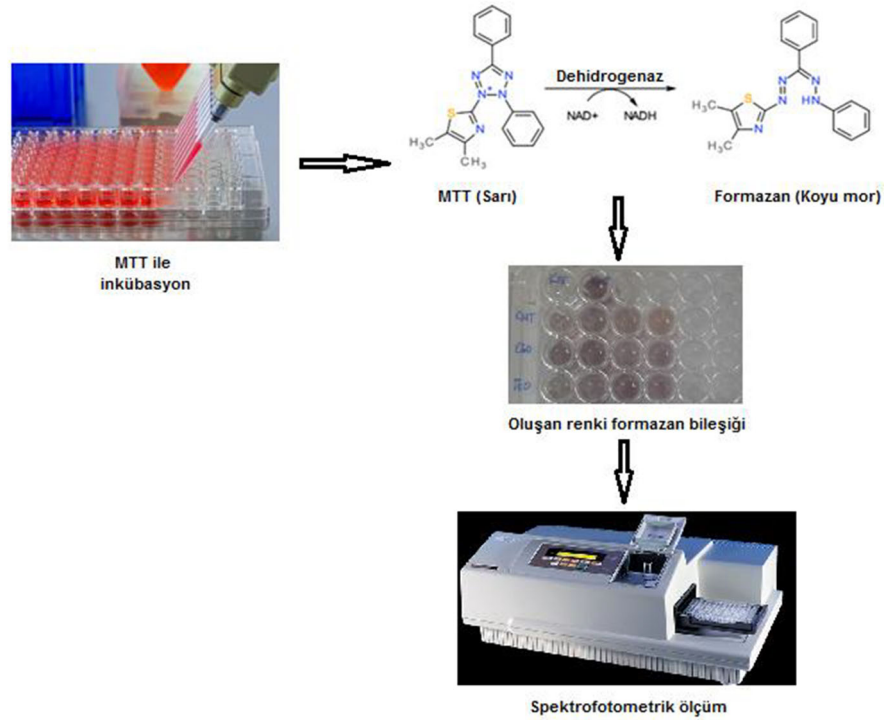
Saçılan ışınlar bir dedektör yardımıyla tutularak difüzyon hızı belirlenir ve Stokes-Einstein eşitliği yardımıyla ortalama hidrodinamik parçacık boyutu hesaplanır.

$$\text{Stokes- Einstein eşitliği: } d(H) = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (1.1)$$

[Burada; d(H): Hidrodinamik çapı, k: Boltzmann sabitini, T: Mutlak sıcaklığı,  $\eta$ : Viskoziteyi ve D: Çevrimsel difüzyon katsayısını ifade eder.]

### 1.18. MTT Analizi

MTT [3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid] analizi, canlı hücrelerin suda çözünür özellikteki tetrazolyum tuzunu suda çözünmeyen formazan kristallerine dönüştürme potansiyellerini belirleyen kolorimetrik bir canlılık testidir. Tetrazolyum tuzları NADH ve NADPH gibi oksitlenmiş substratlardan ya da uygun enzimlerden elektron alırlar. MTT mitokondriyal elektron transfer sistemindeki ubikinon ve sitokrom b & c bölgelerinde indirgenir ve bu indirgenme metabolik olarak aktif canlı hücrelerin mitokondrilerinde bulunan süksinat dehidrogenaz enzimi tarafından katalizlenir. Bu reaksiyon sarı renkteki tetrazolyum tuzlarının mavi-mor renkteki formazan kristallerine dönüşümüne sebep olur. Canlı olmayan hücreler bu dönüşümü gerçekleştiremez. Oluşan kristaller suda çözünmez ancak organik bir çözücüde çözünebilir ve konsantrasyon spektrofotometrik olarak belirlenir (Şekil 1.13).



Şekil 1.13. MTT Analizinin şematik gösterimi

### 1.19. Sonokimyasal Yöntem

Sonokimyasal yöntem; nanopartiküllerin sentezlenmesinde kullanılan yöntemlerden biridir. Sonokimyasal yöntemde gerçekleşen olaylar; mikro boşlukların oluşumu, gelişimi ve patlaması olarak özetlenebilir.

Canlılar ses dalgalarını iletişim kurabilmek için kullanırlar. Ses hareket kabiliyeti yüksek bir ortamda boyuna dalga olarak hareket eder. Sıvı içinde bu ses dalganın hareket yönüne paralel olarak yer değiştirecek şekilde ortamı uyarır. İnsanın duyma frekans aralığı 20 Hz-20 kHz arasındır. İnfrasonik (sesaltı) dalgalar 20 Hertz (Hz)'den daha düşük frekanslar, ultrasonik dalgalar ise 20 kHz frekansın üzerindeki frekanslar olarak bilinmektedir (Ersöz ve ark., 2018).

20 kHz ses radyasyonunun kimyasal bağları nasıl koparabileceğinin açıklanması için bir dizi teori geliştirilmiştir. Sonokimyadaki temel olay, sıvı içinde oluşan bir kabarcığın oluşması, büyümesi ve çökmesidir. Bu olaylar moleküller arası hücrel kuvvetleri azaltarak baloncunun oluşmasını sağlayan, görülmeyen parçacıkların veya gaz baloncuklarının varlığına dayanmaktadır. Bu teoriler, çözelti ultrafiltrasyona uğradığında, ultrasonik gücün uygulanmasından önce, sono kimyasının olmadığını gösteren deneysel kanıtlarla desteklenmektedir. Daha sonra kabarcığın içine çözünen buharın difüzyonu ile ortaya çıkan kabarcığın hacminin büyümesidir. En son olarak kabarcık boyutu maksimum değerine ulaştığında gerçekleşen kabarcığın çökmesidir. Bir balonun çöküşüyle kimyasal bağların neden koptuğunu açıklayan sıcak nokta mekanizmasına göre, bu içten patlamalı çöküş yerel sıcaklığı 5000 K'ye ve basınçları birkaç yüz atmosfer küreye yükseltir. Bu aşırı koşullar kimyasal bağların kopmasına neden olur. Çöken kabarcığın tahmini boyutu on ila birkaç yüz mikron arasında değişir. Bir gaz fazı reaksiyonunun çöktüğü baloncunun içindeki bölgeye ek olarak, ikinci önemli bir bölge büyük önem taşımaktadır. Bu, çökmekte olan kabarcığı çevreleyen ara yüzey bölgesidir (Gedanken, 2003).

Bu nedenle, gaz fazı reaksiyonlarının baskın olduğu uçucu öncülerin bulunduğu durumlarda, amorf nanoparçacıklar elde edilir. Öte yandan, öncü uçucu olmayan bir bileşikte ise, reaksiyon çökmekte olan kabarcığı çevreleyen 200 nm'lik bir halkada meydana gelir. Bu durumda sonokimyasal reaksiyon sıvı fazda gerçekleşir. Ürünler bazen nano amorf parçacıklar ve diğer durumlarda nano kristaldir. Bu, reaksiyonun gerçekleştiği halka bölgesindeki sıcaklığa bağlıdır. Bu halkadaki sıcaklık, çöken kabarcığın içinden daha düşüktür, ancak yığın sıcaklığından daha yüksektir. Kısacası inorganik ürünlerin oluştuğu sonokimyasal reaksiyonların hemen hepsinde nano boyutlu malzemeler elde edilmiştir. Boyutları, şekilleri, yapıları ve katı fazlarında (amorf veya kristal) çeşitlilik gösterirler, ancak her zaman nanometre boyutundadır (Gedanken, 2004).

Sonokimyasal yöntem, sol jel tekniğinden daha hızlıdır. Sonokimyasal ürünlerin, geleneksel yöntemlerle sentezlenenlerden daha kalın duvarlara sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca,

ürünlerin sol jel ürünlerine göre hidrotermal olarak daha kararlı olduğu gösterilmiştir (Gedanken, 2003).

## **1.20. İlaç Adsorpsiyonu**

### **1.20.1. Adsorpsiyon**

Adsorpsiyon, katı fazın yüzeyinde çözülmüş halde bulunan diğer fazdaki sıvı ya da gaz iyon, atom ve/veya moleküllerin derişiminin artması olarak tanımlanır. Adsorpsiyon çalışmalarında adsorbat, yüzeye transfer olup konsantrasyonu artmış madde, adsorban ise moleküllerin yüzeyine transfer olan maddeye denir (Özdemir, 2008; Aslan, 2020).

Adsorpsiyon oluşumunda adsorban yüzeyi ile adsorplanan madde arasındaki çekim kuvvetlerine bağlı olarak adsorpsiyon, fiziksel ve kimyasal adsorpsiyon olarak ikiye ayrılır (Tosun, İ., 2009).

### **1.20.2. Fiziksel adsorpsiyon**

Fiziksel adsorpsiyon, adsorbentin yüzeye sadece zayıf van der Waals kuvvetleri, hidrojen bağı ve dipol-dipol etkileşimler yoluyla geri dönüşümlü olarak gerçekleşen adsorpsiyon türüdür. Fiziksel adsorpsiyonda adsorplanan maddenin desorpsiyonu mümkündür (Kılıç, 2014; Balcı, 2018).

Sıcaklık arttıkça fiziksel adsorpsiyon azalır yani aralarında ters orantı vardır. Fiziksel adsorpsiyon bir ya da çok tabakalı olabilmektedir (Tosun, İ., 2009).

### **1.20.3. Kimyasal adsorpsiyon**

Fiziksel adsorpsiyonun aksine, adsorban ve adsorbat arasında kimyasal bağlanma söz konusudur. Moleküller arasında karşılıklı elektron alışverişi veya paylaşımının olduğu adsorpsiyon türüdür. Kimyasal adsorpsiyon süreci için adsorpsiyon ısısı yaklaşık  $-200 \text{ kJ mol}^{-1}$  civarındadır ve tek tabakalı olarak gerçekleşir. Yüksek aktivasyon enerjisine sahiptir (Kılıç, 2014; Eynur, 2016; Balcı, 2018).

Sıcaklık arttıkça kimyasal adsorpsiyonun hızı artar. Kimyasal adsorpsiyon yalnızca bir tabakalı olarak gerçekleşir (Tosun, İ., 2009).

**Tablo 1.2.** Fiziksel ve kimyasal adsorpsiyonun karşılaştırılması

<b>Fiziksel Adsorpsiyon</b>	<b>Kimyasal Adsorpsiyon</b>
Birden fazla tabakalı olabilir.	Tek tabakalı olarak gerçekleşir.
Kimyasal bağ yoktur.	Kimyasal bağ vardır.
Tersinir, desorpsiyon olabilir.	Tersinir değildir.

#### 1.20.4. Adsorpsiyon sürecini etkileyen faktörler

Adsorpsiyon sürecini etkileyen faktörler şunlardır:

- Sorbatın özellikleri
- Çözelti pH' ı
- Sıcaklık
- Etkileşen maddeler
- Adsorbentin özellikleri
- Temas süresi

#### 1.20.5. Adsorpsiyon kinetiği

Adsorpsiyonda dengenin kurulması için ihtiyaç duyulan zamanı tespit eden teorik temele adsorpsiyon kinetiği denir. Bir adsorpsiyonda oluşan kütle transferi ve kimyasal reaksiyon gibi mekanizmaları belirlemek için çeşitli kinetik modeller geliştirilmiştir (Tosun, İ., 2009).

##### 1.20.5.1. Yalancı-Birinci Dereceden Kinetik Model

Lagergren ve arkadaşları (1898) tarafından önerilen kinetik modelde, adsorpsiyonun hızının adsorban yüzeyindeki boşluk sayısı ile doğrusal olarak orantılı olduğunu öne sürmektedir. Bu kinetik model aşağıdaki denklem ile ifade edilmektedir.

$$\ln(q_d - q_t) = \ln q_d - k_1 t \quad (1.2)$$

$q_d$  : Dengedeki adsorpsiyon kapasitesi ( $\text{mg g}^{-1}$ ),

$t$  : Zaman (dk.),

$q_t$  :  $t$  anında adsorplanmış sorbat miktarı ( $\text{mg g}^{-1}$ )

$k_1$  : Yalancı birinci derece hız sabiti ( $dk^{-1}$  )

$\ln (q_d - q_t)$  değerlerinin  $t$ 'ye karşı çizilen grafiğinde negatif eğimli bir doğruyu verecektir. Bu doğrunun eğiminden hız sabiti  $k_1$ , ordinatı kestiği noktadan da  $\ln q_d$  değerleri hesaplanabilir (Eynur, 2016).

#### 1.20.5.2. Yalancı-İkinci Dereceden Kinetik Modeli

Ho ve McKay (1999)'in yalancı-ikinci-dereceden kinetik modeli aşağıdaki eşitlikteki gibi ifade edilir.

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_2^2} + \frac{1}{q_2} t \quad (1.3)$$

$t$  : Zaman (dk.),

$q_t$  :  $t$  anında adsorplanmış sorbat miktarı ( $mg g^{-1}$  )

$q_2$  : Maksimum adsorpsiyon kapasitesini ( $mg g^{-1}$ ),

$k_2$  : Yalancı ikinci derece hız sabiti ( $dk^{-1}$  )

Eşitlik 1.3'ten yola çıkılarak  $t$ 'ye karşılık  $t/q_t$  çizilen grafikte eğim  $1/q_2$ , ordinat eksenini kesim noktası ise  $1/k_2 q_2^2$ 'dir (Ho ve McKay 1999). $\approx \Omega$

#### 1.20.5.3. Tanecikler Arası Difüzyon Kinetik Modeli

Adsorpsiyon, çözülmüş moleküllerin sulu fazdan adsorbent katı parçacıklarının yüzeyine taşınmasını ve daha sonra çözünen moleküllerin yavaş bir şekilde gözeneklerin içine difüzyonunu içeren çok aşamalı bir işlemdir. Gözenek içine ilerleme yavaş olacağı için hız belirleme aşamasının bu şekilde olacağı belirtilir (Tang ve ark., 2012).

$$q_t = k_p t^{1/2} + C \quad (1.4)$$

$q_t$  :  $t$  anındaki adsorpsiyon kapasitesi ( $mg g^{-1}$ ),

$k_p$  : Parçacık içi dağılım hız sabiti ( $mg g^{-1} dk^{-1/2}$ )

$C$  : Adsorpsiyon işleminin tabaka kalınlığını gösteren sabit



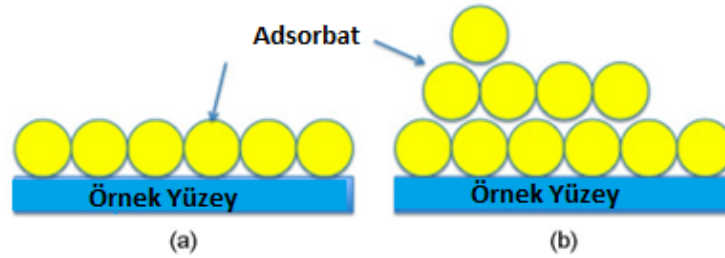
Deneysel olarak hesaplanan  $q_t$  değerinin  $t^{1/2}$  ye karşı grafiğe geçirilmesiyle elde edilen grafiğin doğrusal olması, partiküller arası difüzyonun varlığını gösterir. Doğrunun orjinden geçiyor olması ise difüzyonun hız belirleyici basamak olduğunu gösterir (Tosun, İ., 2009).

### 1.20.6. Adsorpsiyonu izotermi

Adsorbat ve adsorbanın sıcaklık sabit tutulduğunda adsorpsiyon gaz fazından yalnızca basınca, çözelti fazından ise yalnızca derişime bağlıdır. Sabit sıcaklıkta yüzeye bağlanan adsorbat miktarının, o maddenin gaz fazı veya çözeltideki derişimi ile bağıntısını gösteren denkleme adsorpsiyon izotermi denir.

#### 1.20.6.1. Langmuir İzoterm Modeli

Langmuir izotermi modeli, homojen yüzeylerde tek tabakalı adsorpsiyonun gerçekleştiğini ve adsorbe edilen moleküller arasında etkileşim olmadığını varsayar. Öncelikle gaz-katı faz adsorpsiyonunu tanımlamak için tasarlanmış olan Langmuir adsorpsiyonu ayrıca çeşitli biyosorbentlerin biyosorpsiyon kapasitesini ölçmek ve karşılaştırmak için kullanılır. Langmuir izotermi, adsorpsiyon ve desorpsiyon (dinamik denge) oranlarını dengeleyerek yüzey kapsamını açıklar (Şekil 1.14).



**Şekil 1.14.** Adsorpsiyonun şematik gösterimi (a) tek tabakalı adsorpsiyon modeli ve (b) çok tabakalı adsorpsiyon modeli (Hwang ve Barron, 2011)

Langmuir izoterm modeli aşağıda (1.5) eşitliği şeklinde ifade edilmektedir.

$$1/q_d = 1/q_{\max} + (1/q_{\max} K_L) \cdot 1/C_d \quad (1.5)$$

$q_d$  : Dengede adsorplanan madde miktarını ( $\text{mg g}^{-1}$ ),

$q_{\max}$  : Maksimum tek tabakalı adsorpsiyon kapasitesini ( $\text{mg g}^{-1}$ ),

$K_L$  : Langmuir izoterm sabitini ( $\text{L mg}^{-1}$ ),

$C_d$  : Denge de adsorplanmadan kalan madde miktarını ( $\text{mg L}^{-1}$ )

Langmuir izoterminin temel özellikleri,  $R_L$  olarak bilinen ve boyutsuz bir sabit olan ayrılma faktörü ile ifade edilebilir (Ayawei, 2017).

**Tablo1.3.**  $R_L$  değerleri ve izoterm tipleri

<b><math>R_L</math> değerleri</b>	<b>İzoterm tipi</b>
$R_L > 1$	İstemli olmayan
$R_L = 1$	Doğrusal
$0 < R_L < 1$	İstemli
$R_L = 0$	Tersinmez

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (1.6)$$

$K_L$  = Langmuir sabiti ( $\text{L mg}^{-1}$ )

$C_0$  = Maksimum adsorbat derişimidir ( $\text{mg L}^{-1}$ )

#### 1.20.6.2. Freundlich İzoterm Modeli

Freundlich denklemi, doyunluk noktasında katı ve sulu fazlar arasındaki çözünen maddenin dağılımını tanımlamak için kullanılır. Freundlich denklemi, heterojenite faktörü  $1/n$  ile karakterize edilen ve heterojen sistemleri tanımlamak için kullanılan ampirik bir denklemdir. Langmuir modelinden farklı olarak Freundlich izoterm modeli, tek tabaka adsorpsiyon kapasitesi hakkında herhangi bir bilgi vermez.

$$\ln q_d = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_d \quad (1.7)$$

$C_d$  : Denge de çözültide adsorplanmadan kalan madde konsantrasyonu ( $\text{mg L}^{-1}$ )

$q_d$  : Denge de birim biyosorban üzerine adsorplanan madde miktarı ( $\text{mg g}^{-1}$ )

$K_F$  : Deneysel olarak hesaplanan adsorpsiyon kapasitesi ( $\text{L mg}^{-1}$ )

$n$  : Adsorpsiyon şiddeti

$1/n$  değeri ( $0 < 1/n < 1$ ) arasındaysa, izotermin elverişli olduğunu gösterir,  $1/n = 0$  ise izotermin tersinmez olduğunu ve  $1/n > 1$  ise elverişsiz olduğunu gösterir (Esmail, 2018)



## 2. BÖLÜM

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 2.1. Madde, Malzeme, Ekipman ve Cihazlar

##### 2.1.1. Deneyleerde kullanılan madde ve malzemeler

FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O ve FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (Sigma-Aldrich), DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium),  $\alpha$ -MEM (Eagles's minimum essential medium), penisilin streptomisin, LDH reaktifi, Hoechst33342 (Bisbenzimid H 33342 Fluorochrome Trihydrochloride) ve Propidium Iodide (Sigma, ABD)'den, MTT [3-(4,5-dimetildiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür] (Serva, Almanya)'dan alınmıştır. Lactate-Glo TM LDH Kiti Promega 'dan (Promega Corporation, Sweden) temin edilmiştir.

##### 2.1.2. Deneyleerde kullanılan ekipman ve cihazlar

**Saf su cihazı:** Deneyleerde kullanılan saf suyun elde edilmesinde Labconco Water Pro PS model saf su cihazı kullanılmıştır.

**Sonikatör:** Çalışmada malzemenin sonokimyasal sentezi ve ilaç yükleme deneylelerinde Wise Clean WUC-A03H marka sonikatör kullanılmıştır.

**Çoklu manyetik karıştırıcı:** Çalışmalarda Velp Multistirrer Scientifica markalı çoklu manyetik karıştırıcı kullanılmıştır.

**Neodmiyum Mıknatıs:** Çalışmalarda manyetik dekantasyon için neodmiyum mıknatıslar kullanılmıştır.

**Analitik terazi:** Kullanılan maddelerin tartımları Mettler Toledo marka analitik terazide yapılmıştır.

**Deiyonize su cihazı:** Çalışmalar boyunca kullanılan suyun elde edilmesinde Human Corporation Zeener Power 1 model saf su cihazı kullanılmıştır.

**Etüv:** Çalışmada sentezlenen malzemelerin kurutulmasında Memmert UN110 model etüv kullanılmıştır.

**pH metre:** Çalışmalarda hazırlanan çözeltilerin pH ayarlamalarını Mettler Toledo marka pH metre ile gerçekleştirilmiştir.

**Mekanik Homojenizatör:** Çalışmalarda homojenizasyon işlemleri IKA marka (Ultra Turrax, IKA, Model T25, Germany) mekanik homojenizatör ile gerçekleştirilmiştir.

**Öğütücü:** Çalışmalarda kullanılan kapari tohumlarının istenilen boyutlara getirilebilmesi için Ika® A11 basic model öğütücü kullanılmıştır.

**Eleme:** Malzeme boyutu standardizasyonu için 300 µm ve 150 µm gözenek boyutlu RETSCH marka elekler kullanılmıştır.

**Rotatör:** Çalışmada karıştırma işlemleri için Biosan marka Bio RS -24 mini rotatör kullanılmıştır.

**Floresan Ataçmanlı İvert Mikroskop:** Çalışmada gerçekleştirilen biyoyumluluk ve sitotoksisite çalışmaları kapsamında hücre morfolojisinin belirlenmesine yönelik analiz tekniğinin uygulanmasında floresan ataçmanlı Leica DM IL LED marka mikroskop kullanılmıştır (Kastamonu Üniversitesi Kök Hücre Laboratuvarı).

**Karbondioksitli İnkübatör:** Çalışmada gerçekleştirilen biyoyumluluk ve sitotoksisite çalışmaları kapsamında hücrelerin inkübasyonu ve çoğaltılmasında 37 °C, %5 CO<sub>2</sub>, %95 nem ortamını sağlayan bir karbondioksitli inkübatör (Nuair, Plymouth, Minnesota, ABD) kullanılmıştır (Kastamonu Üniversitesi Kök Hücre Laboratuvarı).

**Mikroplaka Okuyucu:** Çalışmada gerçekleştirilen biyoyumluluk ve sitotoksisite çalışmaları kapsamında gerçekleştirilen spektrofotometrik ve luminesans ölçümler BioTek marka mikroplaka okuyucu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Bio Tek, Synergy HTX, ABD) (Kastamonu Üniversitesi Kök Hücre Laboratuvarı).

**Laminer Akışlı Steril Kabin:** Hücre izolasyonu, ekimi ve maruziyet çalışmaları laminar akışlı biyogüvenlik kabininde (Nuair, Class II, Plymouth, Minnesota, ABD) gerçekleştirilmiştir (Kastamonu Üniversitesi Kök Hücre Laboratuvarı).

## 2.2. Kullanılan Analiz Yöntemleri ve Teknikler

Aşağıdaki çizelgede bu çalışmada kullanılan analiz yöntemleri ve teknikler ile elde edilen veriler listelenmiştir (Tablo 2.1).

**Tablo 2.1.** Çalışmada kullanılan analiz yöntemleri ve elde edilen veriler

<b>Kullanılan analiz yöntemi</b>	<b>Elde edilen veriler</b>
FTIR	Kimyasal yapı
SEM, DLS	Boyut, şekil ve morfoloji
ZETA Potansiyel	Yüzey kimyası, yük, yüzey alanı, gözenek boyutu
Mössbauer Spektroskopisi	Manyetik özellik, kristal yapı, yük
HPLC	İlaçların kantitatif tayini
MTT	Hücre Canlılığı
LDH	Sitotoksosite
Hoechst33258/PI Floresan Çift Boyama	Hücre Morfolojisi

### **2.2.1. Dinamik ışık saçılımı (DLS) ve zeta potansiyel analizi**

Nanoparçacık boyut analizi için foton korelasyon spektroskopisi olarak da bilinen dinamik ışık saçılımı yöntemine dayalı olarak ölçüm yapan Malvern NanoZetasizer-ZS (Worcestershire, İngiltere) cihazı kullanılmıştır. Zeta potansiyeli ölçümleri de aynı cihaz ile gerçekleştirilmiştir. Ölçüm için NP'ler saf su ortamında 100 µg/mL konsantrasyonda süspansiyon edilmiştir. Elde edilen süspansiyonlar aglomerasyonu engellemek ve homojeniteyi sağlamak üzere 5 dk. boyunca ultrasonik banyoda (Fisher Scientific, FB15060) bekletilmiştir. Ölçümler tek kullanımlık küvetler içerisinde 25 °C'lik oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Her NP için toplamda 13 ardışık ölçüm yapılmıştır.

### **2.2.2. SEM analizi**

Nanoparçacıkların şekil, boyut ve morfolojileri Quanta 450 FEG (FEI, Hillsboro, OR, USA) model Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. NP'ler uygun dispersiyon ortamında süspansiyon edilerek problu sonikatör yardımıyla 3 dk. boyunca sonike edilmiş ve SEM görüntüleri çekilmiştir.

### **2.2.3. FTIR analizi**

Üretilen ilaç taşıyıcı biyokompozit malzemelerin yapısal tayini için Thermo Scientific marka, Nicolet 6700 model Fourier Transform Infrared Spektroskopi cihazı kullanılmıştır.

#### 2.2.4. Sitotoksosite ve biyouyumluluk analizleri

Çalışmada gerçekleştirilen sitotoksosite ve biyouyumluluk analizleri için Mezenkimal Kök Hücreler (MSC) kullanıldı. Mezenkimal kök hücreler Kastamonu Üniversitesi Doku Mühendisliği, Biyomalzeme ve Kök Hücre Laboratuvarı envanterinde bulunan Wistar albino sıçanlarından izole edilerek sıvı azotta dondurularak saklanmış 8. pasaj kemik iliği Mezenkimal Kök Hücrelerinden temin edilerek kullanıldı. Kök hücreler %10 FBS ve %1 Streptomisin Penisilin içeren  $\alpha$ -MEM içerisinde T-75 hücre kültür kaplarına konularak 37°C, %5 CO<sub>2</sub>, %95 hava ve %90 nem içeren inkübatörde kültüre edildi. Hücreler istenilen sayıya ulaşana kadar 4 kez pasajlama işlemi gerçekleştirildi. Tripan mavisi ile Thoma lamı kullanılarak hücre sayımı yapıldıktan sonra, 96-kuyucuklu petri içerisine 1000 hücre/kuyucuk olacak şekilde hücre ekimi gerçekleştirildi.

##### 2.2.4.1. MTT [3-(4,5-dimetildiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür] Testi

Sıçan mezenkimal kök hücrelerinin (MSC) metabolik aktiviteleri farklı konsantrasyonlardaki (5, 10, 50 ve 100µg/mL) MCapIII, PEG@MCapIII ve MCapIV ile 1, 3 ve 7 gün süreyle etkileştirildikten sonra kolorimetrik MTT testi (Serva) kullanılarak incelendi. Özetle, hücreler belirlenen konsantrasyonlardaki MCapIII, PEG@MCapIII ve MCapIV'e maruz bırakılmış ve maruziyet süreleri sonunda NP'ların uzaklaştırılması amacıyla besi ortamı aspire edilerek hücreler tahrip edilmeden üç kez serumsuz besi ortamı ile yıkandı. Ardından her kuyucuğa 25 µL taze hazırlanmış MTT çözeltisi (5 mg/mL) ve %1 penisilin/streptomisin içeren 225 µL DMEM (serumsuz) eklendi ve hücreler 37°C'de, %95 nem içeren %5 CO<sub>2</sub> atmosferinde 4 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında ortam dikkatli bir şekilde aspire edildi ve her kuyucuk içine 250 µl MTT çözücüsü (susuz izopropanol içinde 0.1 N HCl) eklenerek oluşan mavi formazan kristallerinin çözünmesi sağlandı. Ardından kalan NP'ları uzaklaştırmak amacı ile 96 kuyucuklu hücre kültürü kapları 25°C'de 5 dk. boyunca 250 × g'de santrifüjlendi ve süpernatantlar yeni 96 kuyucuklu hücre kültürü kaplarına aktarıldı. Oluşan formazan miktarı mikropilaya okuyucu (BioTek, Synergy HTX, ABD) kullanılarak 570 nm'de ölçüldü. Ölçülen absorbans [A] miktarı ile belirlenen formazan ürününün artan konsantrasyonu kültür içindeki canlı hücre sayısı ile doğru orantılıdır. Bağlı hücre canlılığı (%) aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

$$[A]_{\text{örnek}} / [A]_{\text{kontrol}} \times 100 \quad (2.1)$$

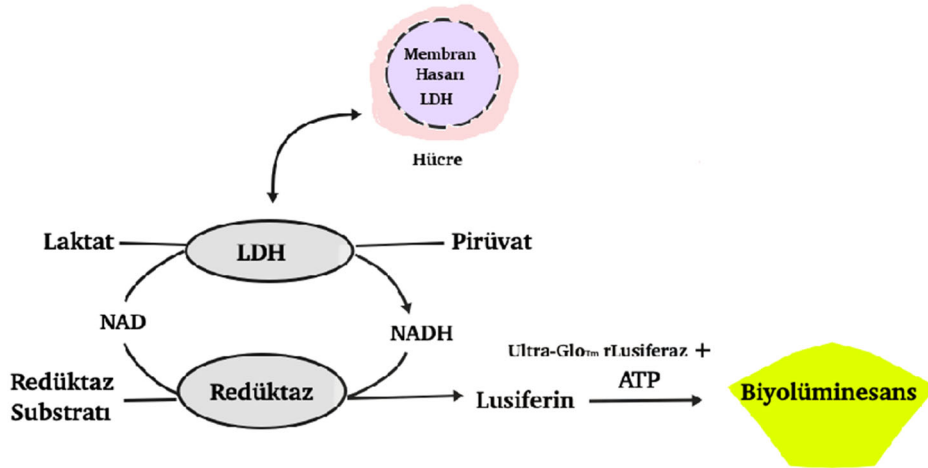
Burada [A]<sub>örnek</sub> test numunesinin absorbansı ve [A]<sub>kontrol</sub> ise kontrol numunesinin absorbansıdır.

Elde edilen absorbans değerleri herhangi bir maruziyet uygulanmamış kontrol gruplarına karşı grafiğe geçirilerek istatistiksel olarak değerlendirildi. Tüm deney grupları için aynı işlemler uygulandı.

#### 2.2.4.2. Biyoluminesansa Dayalı LDH Analizi

Laktat dehidrojenaz (LDH), birçok hücre tipinde bulunan çözünür, kararlı bir sitozolik enzimdir. LDH, Plazma zarının bozulmasıyla hızla hücre kültürü ortamına salınır, bu nedenle sitotoksitenin belirlenmesi için yaygın olarak kullanılan bir belirteçdir. Bu tez çalışmasında elde edilen ilaç taşıyıcı malzemenin sitotoksite analizi için yüksek hassasiyeti nedeniyle bioluminesansa dayalı LDH testi gerçekleştirilmiştir.

Lactate Glo™ Bioluminesansa dayalı LDH testi Şekil 2.1'de gösterildiği gibi iki adımlı bir tekniktir. İlk adımda LDH, laktatın piruvata dönüşümüyle NAD<sup>+</sup> (nikotinamid adenin diükleotit)'in NADH ve H<sup>+</sup>'e indirgenmesini katalizler. İkinci adımda ise, Redüktaz, NADH ve pro-lusiferin redüktaz substratını kullanarak lüsiferini oluşturur. Lusiferin ise Ultra-Glo™ rLuciferase aracılığıyla ATP varlığında reaksiyona girerek bioluminesans oluşumunu sağlar. Oluşan bioluminesans sinyalinin şiddeti, LDH miktarı ile doğru orantılıdır.



Şekil 2.1. Bioluminesansa dayalı LDH testi mekanizması

Lactate Glo™ Bioluminesansa dayalı LDH test protokolü:

Membran hasarına uğramış cansız hücrelerden salınan LDH miktarını ölçmek için sıçan mezenkimal kök hücreleri 96 kuyucuklu plakalara (5000 hücre/kuyucuk) ekildi. Ardından



çalışmada sentezlenen farklı konsantrasyonlardaki (5, 10, 50, ve 100 µg/mL) manyetik ilaç taşıyıcı malzemelerle (MCApIII, PEG@MCApIII ve MCApIV) 1, 3 ve 7 gün boyunca etkileştirildi. Maruziyet uygulanmayan hücreler kontrol olarak kullanıldı. Maruziyet süresinin sonunda hücreler plakadan kaldırılmadan 50 µl hücre besiyeri alınarak başka bir kuyucuğa aktarıldı. Ardından eşit hacimde (50 µl) LDH reaktif hücrelerin bulunduğu kuyucuğa eklenerek 37 °C'de 60 dk. inkübe edildi. Süre sonunda lüminesans değerleri okundu. Her bileşik için en az iki tekrarlı deney gerçekleştirildi.

#### 2.2.4.3. Hoechst 33258/Propidium Iodide (HO/PI) Floresan Çift Boyama Yöntemi ile Hücre Morfolojisinin Belirlenmesi

Floresan ikili boyama yöntemi, canlı ve ölü hücreleri tespit etmek için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Hoechst 33342 mavi floresan bir boyadır ve kromatin DNA'sını boyar. Propidyum iyodür ise yalnızca ölü hücrelerin membranlarından geçebilir, canlı hücrelerin bütünlüğünü koruyan hücre membranından içeri giremez. Böylece eş zamanlı kullanıldıklarında oluşan boyanma deseni sayesinde normal, apoptotik ve nekrotik hücre popülasyonu floresan mikroskop aracılığıyla görüntülenebilir ve sayılabilir.

Bu yöntem kullanılarak hücrelerin maruziyet nedenli ölüm biçimlerini de nükleusun morfolojisini inceleyerek tespit etmek mümkündür. Apoptotik hücre çekirdekleri, canlı hücrelere göre daha küçüktür. Nekrotik hücrelerde ise çekirdek normalden biraz daha büyüktür ve daha az boyanmıştır (Akman 2017). Propidyum iyodür, piroptoza bağlı olarak membran bütünlüğü bozulmuş olan geç apoptotik/ sekonder nekrotik veya primer nekrotik hücreleri boyar. Nekrotik hücrelerde kromatin yoğunlaşması, nükleer fragmentasyon veya apoptotik cisimciklere parçalanma görülmez. Apoptotik hücrelerde ise parçalanma belirgindir.

İkili boyama testi için, Kastamonu Üniversitesi Doku Mühendisliği ve Biyomalzeme Laboratuvarı stoklarında bulunan sıçan kemik iliği mezenkimal kök hücreleri (MSC) kültüre edildi. Mezenkimal kök hücreler, %10 FBS, 100U/mL penisilin ve 100 µg/mL streptomisinle zenginleştirilmiş L-DMEM besiyeri ortamında 37°C, %95 nem oranı ve %5 CO<sub>2</sub>'li koşullarındaki inkübatörde çoğaltıldı. 3 günde bir besiyeri değişimi yapılarak %90 doluluk oranına ulaşıldığında hücreler tripsin-EDTA çözeltisi ile pasajlanarak 96 kuyucuklu plakalara 5000 hücre/kuyucuk olacak şekilde ekildi. Hücre ekiminden 24 saat sonra 5 ve 100 µg/mL konsantrasyonda PEG@MCApIII ile hücreler etkileştirildi. Kontrol grubu hücrelerine maruziyet uygulanmadı. Gün aşırı vasat ve doz yenilendi. 7 günlük maruziyet süresi sonunda boyama prosedürü uygulandı.

Hoechst 33342/PI Boyama Prosedürü: Bu amaçla hücre besiyeri uzaklaştırılarak PBS (tuzlu fosfat tamponu) ile yıkandı. Ardından, serumsuz 100 µl vasat ile yeniden süspanse edilen hücrelere 30'ar µl Hoechst 33342/PI Boya çözeltisi (1:1, V/V) eklendi. Boyanan hücreler oda

sıcaklığında laminar kabin içinde 15 dk. karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda boya çözeltisi uzaklaştırıldı ve hücreler 3 kez PBS ile yıkandı. Yeni besi yeri eklenerek hücre morfolojisi Leica DMIL LED floresan ataçmanlı mikroskopta (Leica DMIL, Leica Microsystems, Heidelberg, Germany) boyaya uygun filtreler kullanılarak görüntülendi.

### **2.2.5. Mössbauer spektrometresi analizi**

Hazırlanan ilaç taşıyıcı manyetik nanomalzemelerin içerdiği manyetik fazlar sabit hızlanma modunda çalışan bir Wissel Mössbauer ölçüm sistemi ile belirlenmiştir. Mössbauer spektrumu oda sıcaklığında sabit hızlanma modunda çalışan bir spektrometre ile Rh (rodyum) matriks içindeki 25 mCi aktiviteye sahip  $^{57}\text{Co}$  (kobalt) kaynağı kullanılarak elde edilmiştir. Hız kalibrasyonu WissEl GmbH'den alınan Wissel MVC 450 model bir lazer kalibrasyon cihazı kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca oda sıcaklığında  $\alpha$ -demir folyonun  $^{57}\text{Fe}$  Mössbauer spektrumu alınarak ölçülen hız değerleri valide edilmiştir. Ölçüm için  $\sim 40$  mg NP numunesi  $1\text{ cm}^2$  kesit alanlı naylon örnek tutucuya yerleştirilmiştir. Herhangi bir dış manyetik alan uygulanmamıştır. Spektrum, Win Normos için Igor yazılım paketi (ver. 6.36) kullanılarak en küçük kareler yöntemi ile Lorentzian fonksiyonlarına uydurularak aşırı ince yapı (hyperfine) parametreleri; izomer kayma (IS), kuadrupol yarıma (QS) ve yarı maksimumdaki tam genişlik (W) değerleri  $\text{mms}^{-1}$  cinsinden elde edilmiştir. İzomer kayma değerleri oda sıcaklığındaki  $\alpha$ -demirine göre verilmiştir.

### **2.3. Manyetit-Kapari Nanobiyokompozitinin (MCap) Sentezi**

İlaç hedeflendirme çalışmalarına yönelik kapari tohumu ile konjuge edilmiş manyetit 2 farklı reaktif ( $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ve  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ve 2 farklı yöntem (birlikte çöktürme ve sonokimyasal birlikte çöktürme) kullanılarak hazırlanmıştır.

#### **2.3.1. Kaparinin senteze hazırlanması**

Kapari tohumu birkaç kez saf su ile yıkanmış ve  $50\text{ }^\circ\text{C}$  de 1 gece etüvde kurutulmuştur. Kurutulmuş kapari tohumu laboratuvar tipi öğütücü ile öğütülmüş ve önce 300, ardından 150  $\mu\text{m}$ 'lik Retsch marka elek kullanılarak elenmiştir. Elde edilen kapari tozu, 4 farklı şekilde (2 farklı yöntem, 2 farklı reaktif)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ile nanobiyokompozit haline getirilmiş ve deneylerde kullanılacak manyetik nano-taşıyıcı elde edilmiştir (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2.** Manyetik kaparinin hazırlık ve sentez şeması

### 2.3.2. FeCl<sub>2</sub> ile birlikte çöktürme yöntemi kullanılarak manyetik kapari nanobiyokompoziti I (MCap I)'in hazırlanması

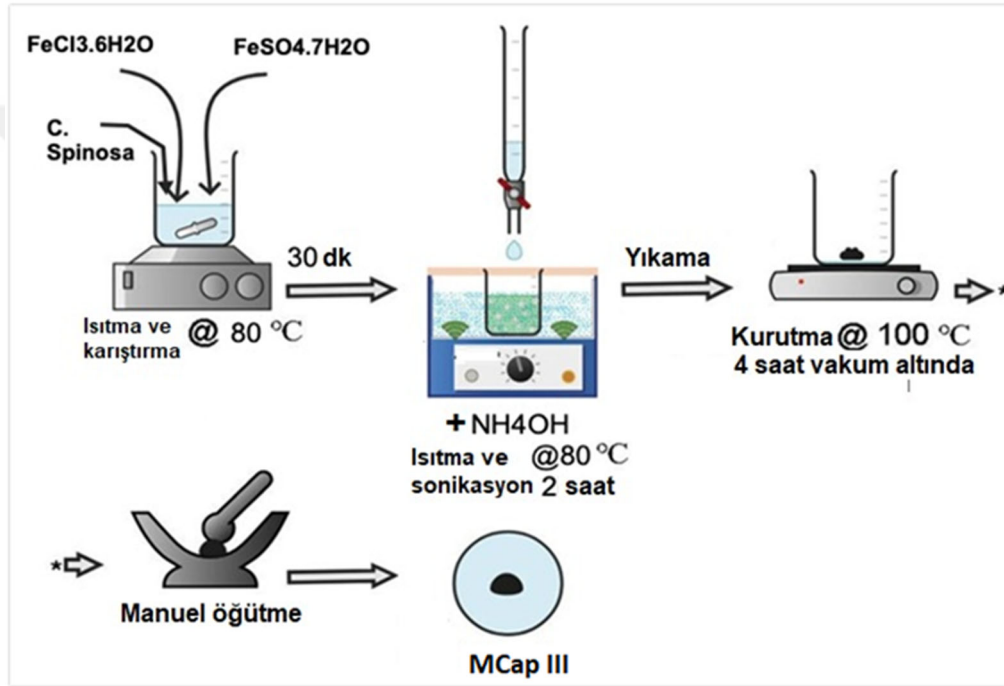
11,8 g FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O ve 4,3 g FeCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O tartılıp 200 mL saf suda 85 °C de yüksek devirde karıştırılarak çözülmüştür. Hazırlanan çözeltiye 5 g öğütülmüş kapari tohumu eklenmiş ve 30 dk. süre ile karıştırılmıştır. Daha sonra çözeltiye 20 mL %26'lık NH<sub>3</sub> çözeltisi 85 °C de yavaş yavaş eklenmiş ve 2 saat süresince manyetik karıştırma eşliğinde ısıtılmıştır (bu işlem sırasında çözeltinin rengi turuncudan siyaha dönmüştür). Oluşan manyetik malzeme ultra saf su ile birkaç kez yıkandıktan sonra NaCl çözeltisi ile 2 kez yıkanmış ve vakum altında kurutma işlemi yapılmıştır (Şekil 2.4).

### 2.3.3. FeCl<sub>2</sub> ile sonokimyasal birlikte çöktürme yöntemi kullanılarak manyetik kapari nanobiyokompoziti II (MCap II)'in hazırlanması

11,8 g FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O ve 4,3 g FeCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O tartılıp 200 mL saf suda 85 °C da yüksek devirde karıştırılarak çözülmüştür. Hazırlanan çözeltiye 5 g öğütülmüş ve 300µm gözenek boyutlu elekten (Retsch) elenen kapari tohumu eklenmiş ve 30 dk. süre ile karıştırılmıştır. Daha sonra çözeltiye 20 mL %26'lık NH<sub>3</sub> çözeltisi 85 °C de yavaş yavaş eklenmiş ve 2 saat süresince sonikatörde karıştırılmıştır (bu işlem sırasında çözeltinin rengi turuncudan siyaha dönüşmüştür). Oluşan manyetik malzeme ultra saf su ile birkaç kez yıkandıktan sonra NaCl çözeltisi ile 2 kez yıkanmış ve vakum altında kurutma işlemi yapılmıştır (Şekil 2.3).

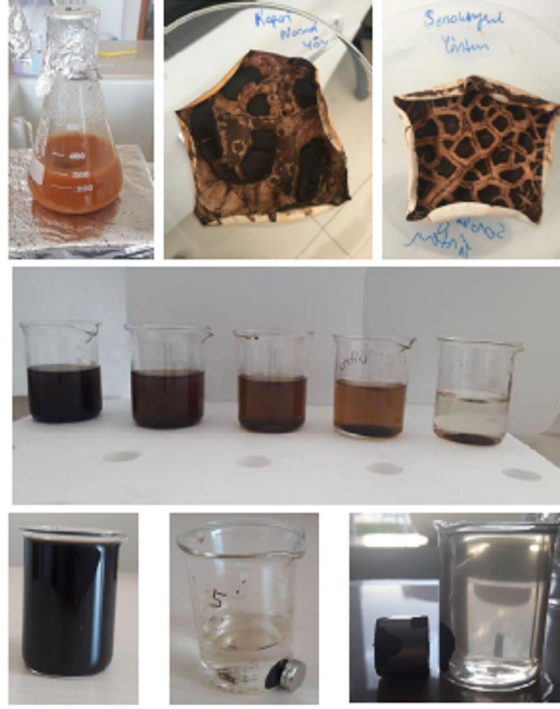
### 2.3.4. FeSO<sub>4</sub> ile sonokimyasal birlikte çöktürme yöntemiyle manyetit kapari nanobiyokompoziti III (MCapIII)'ün hazırlanması

10,8 g FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O ve 5,6 g FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O tartılıp 300 mL saf suda 80 °C de yüksek devirde karıştırılarak çözülmüştür. Hazırlanan çözeltiye 5 g öğütülmüş kapari tohumu eklenmiş ve 30 dk. süre ile karıştırılmıştır. Daha sonra çözeltiye 200 mL %26'lık NH<sub>4</sub>OH çözeltisi 85 °C da yavaş yavaş eklenmiş ve 2 saat süresince sonikatörde karıştırılmıştır (bu işlem sırasında çözeltinin rengi turuncudan siyaha dönüşmüştür) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Manyetik Kapari Nanobiyokompozitinin (MCapIII) Sentez Şeması

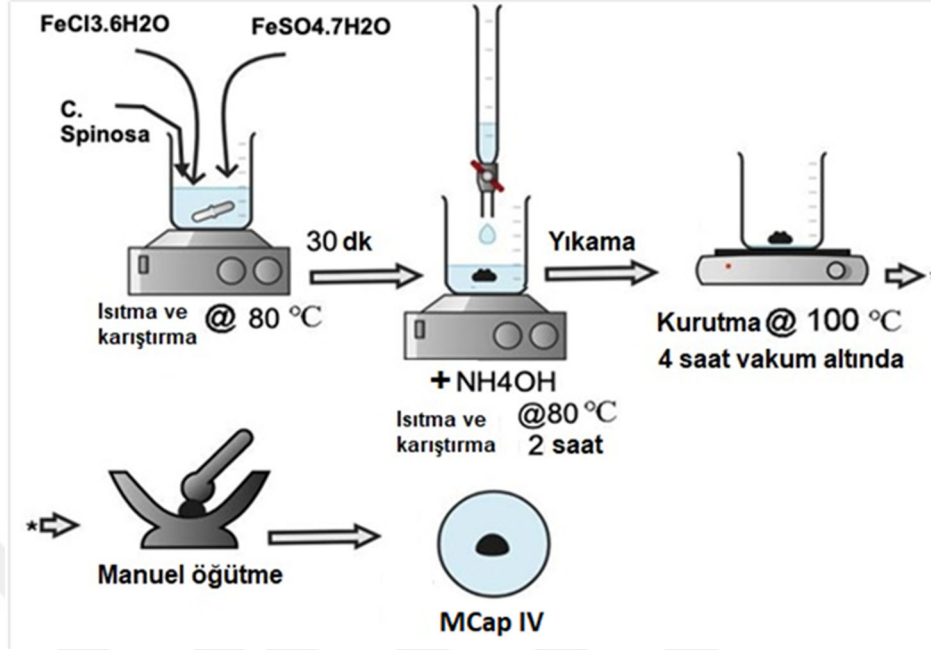
Oluşan manyetik malzeme önce saf su ile nötral pH'a ulaşılan kadar yıkanmış, ardından ultra saf su ile birkaç kez yıkandıktan sonra vakum altında kurutma işlemi yapılmıştır (Resim 2.1). Deneydeki tüm yıkama işlemleri neodmiyum mıknatıslar kullanılarak manyetik dekantasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir.



**Resim 2.1.** Nanoyapılı ilaç hedeflendirme taşıyıcısının kurutma ve yıkama aşamaları

### **2.3.5. $FeSO_4$ ile birlikte çöktürme yöntemi kullanılarak manyetik kapari nanobiyokompoziti IV (MCapIV)'ün hazırlanması**

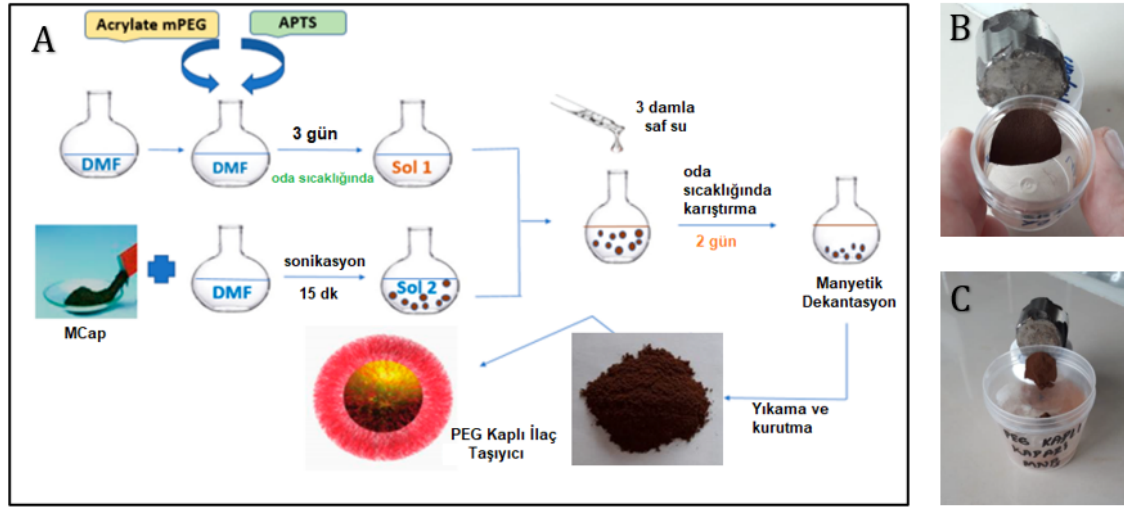
10,8 g  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  ve 5,6 g  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  tartılıp 300 mL saf suda 80 °C da yüksek devirde karıştırılarak çözülmüştür. Hazırlanan çözeltiliye 5 g öğütülmüş kapari tohumu eklenmiş ve 30 dk. süre ile karıştırılmıştır. Daha sonra çözeltiliye 200 mL %26'lık  $NH_4OH$  çözeltisi 85 °C da yavaş yavaş eklenmiş ve 2 saat süresince manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır (bu işlem sırasında çözeltinin rengi turuncudan siyaha dönüşmüştür). Oluşan manyetik malzeme önce saf su ile nötral pH'a ulaşılan kadar yıkanmış, ardından ultra saf su ile birkaç kez yıkandıktan sonra vakum altında kurutma işlemi yapılmıştır. Deneydeki tüm yıkama işlemleri neodmiyum mıknatıslar kullanılarak manyetik dekantasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. MCapIV'ün Sentez Şeması

#### 2.4. MCapIII'ün PEG ile Modifikasyonu

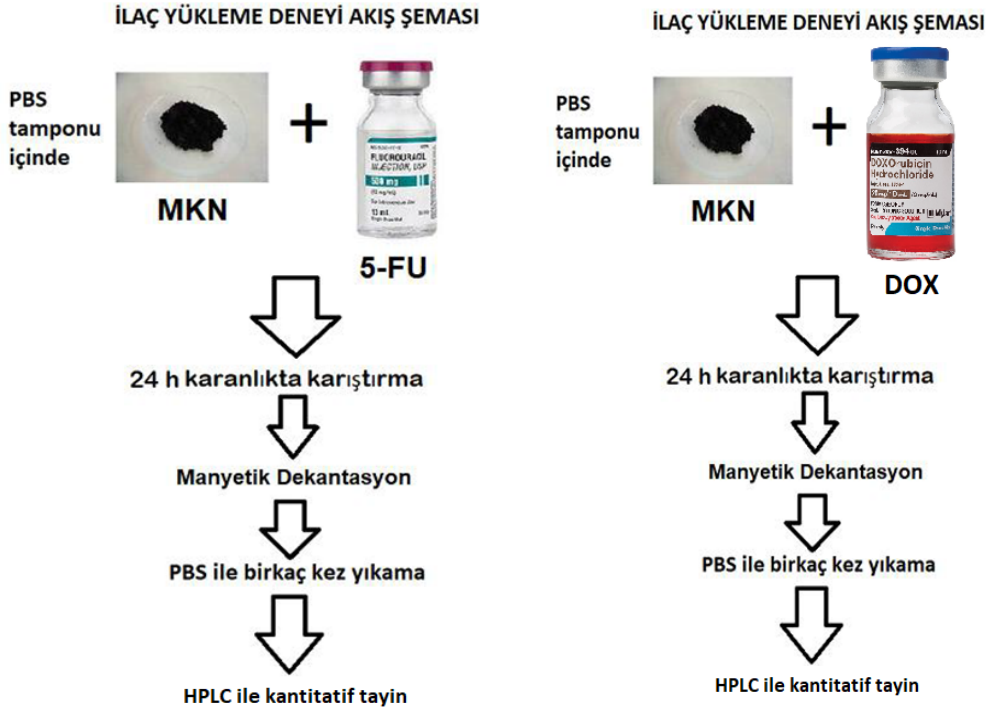
Nanoparçacıkların ilaç tutma kapasitesinin ve biyouyumluluğunun artırılması amacı ile Mannu vd. 'nin kullandığı yöntem modifiye edilerek (Mannu et al. 2021) 1450 g moleküler ağırlığa sahip polietilenglikol (PEG 1450) ile MCapIII kaplamıştır. Prosedüre göre, 2 adımda kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.5). İlk adımda PEG (2,2g, 2 mmol) ve (3-Aminopropil)trioksisilan (APTS) (0.45 mL, 2 mmol) dimetilformamid (DMF) içinde disperse edilmiştir. Hazırlanan çözelti 3 gün boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. İkinci adımda MCapIII (0.5 g) 25 ml DMF içinde disperse edilerek 15 dakika sonikatörde bekletilmiştir. Ardından 1. aşamada hazırlanan çözelti ile birleştirilerek üzerine 3 damla saf su eklenmiştir. Birleştirilen çözelti oda sıcaklığında 2 gün boyunca mekanik homojenizatör (Ultra Turrax, IKA, Model T25, Germany) ile karıştırılmıştır (Şekil 2.5). Daha sonra neodmiyum mıknatıs ile dekante edilerek saf su ile birkaç kez yıkanmış, vakumlu fırında kurularak PEG kaplı manyetik nanobiyokompozit (PEG@MCapIII) elde edilmiştir.



**Şekil 2.5.** A) PEG kaplı manyetik nanobiyo-kompozit (PEG@MCApIV) malzemenin sentezi (Mannu ve ark., 2021) B) PEG ile kaplama öncesi ve C) PEG ile kaplama sonrası neodmiyum mıknatısı ile manyetik özelliğinin gösterimi

## 2.5. İlaç Yükleme Deneyi

MCApIII, MCApIV ve PEG@MCApIII ile kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan 5-Fluorourasil (5FU) ve DOX isimli iki ilaç ile hedeflendirme çalışmaları yapılmıştır. Dört ayrı deney tüpüne 20 mL fosfat tuzu tamponu (PBS, pH=7,4) ve 30 mg manyetik nanobiyo-kompozit malzeme ve 200µl (4mg/20 mL DOX; 500 mg/L 5FU) ilaç çözeltileri eklendi. Çözeltiler rotatörde oda sıcaklığında ve ışısız ortamda 24 saat karıştırılmıştır. 24 saat sonunda çözeltiler neodmiyum mıknatısı ile dekante edilmiştir (Şekil 2.6). Elde edilen ilaç numuneleri HPLC cihazında kantitatif olarak tayin edilmiştir.

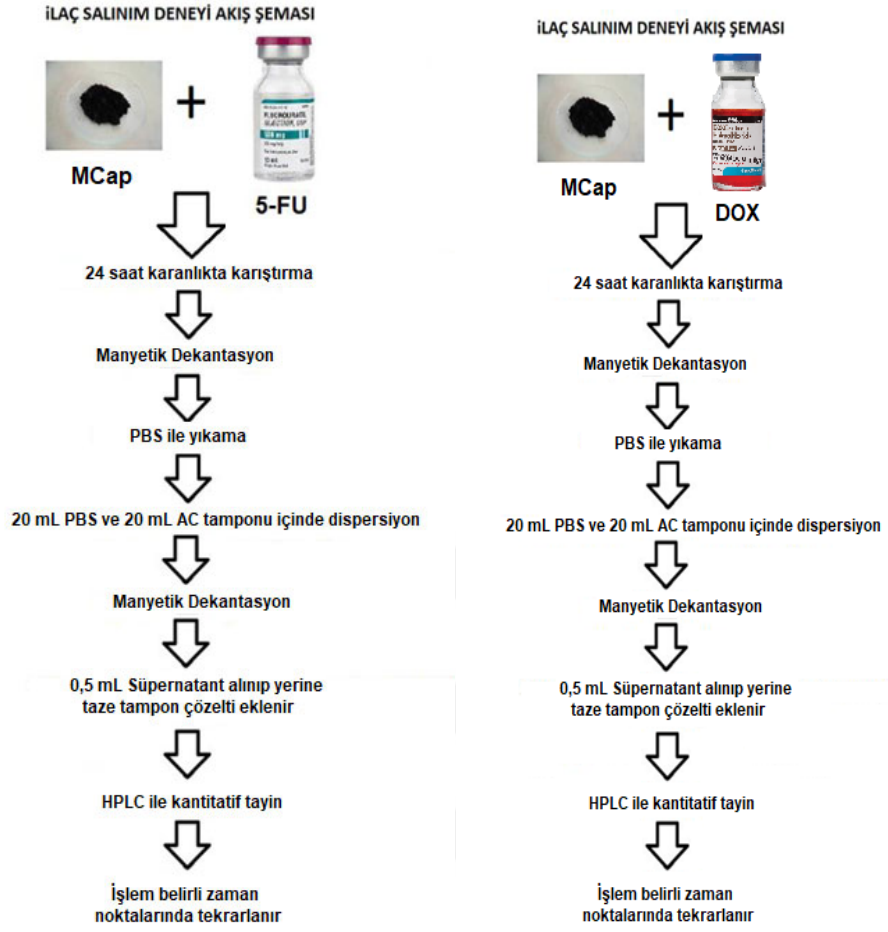


**Şekil 2.6.** İlaç yükleme deneyi akış şeması

## 2.6. İlaç Salım Deneyi

İlaç salım deneyi iki farklı pH değerinde gerçekleştirilmiştir. Fizyolojik pH için PBS tamponu (pH 7,4) ve asidik ortam için ise asetat tamponu (pH 5) seçilmiştir. İlk olarak ilaç yüklü manyetik nanobiyo-kompozit malzeme 10 mL PBS ile yıkama yapılmış ve manyetik dekantasyonla yıkama suları ayrılmıştır. Bu işlem iki kere tekrar edildikten sonra ilaç yüklü nanobiyo-kompozit malzemeler iki kısma ayrılmıştır. 1. kısma 20 mL PBS tamponu, 2. kısma ise 20 mL asetat tamponu eklenmiştir. Bu işlemden sonra her saat başı 0.5'er mL numune alınıp yerine 0.5 mL taze tampon eklenmiştir (Şekil 2.7). Elde edilen numunelerin spektrofotometrik ölçümleri HPLC cihazında gerçekleştirilmiştir.





**Şekil 2.7.** İlaç yükleme ve salım deneyi akış şeması

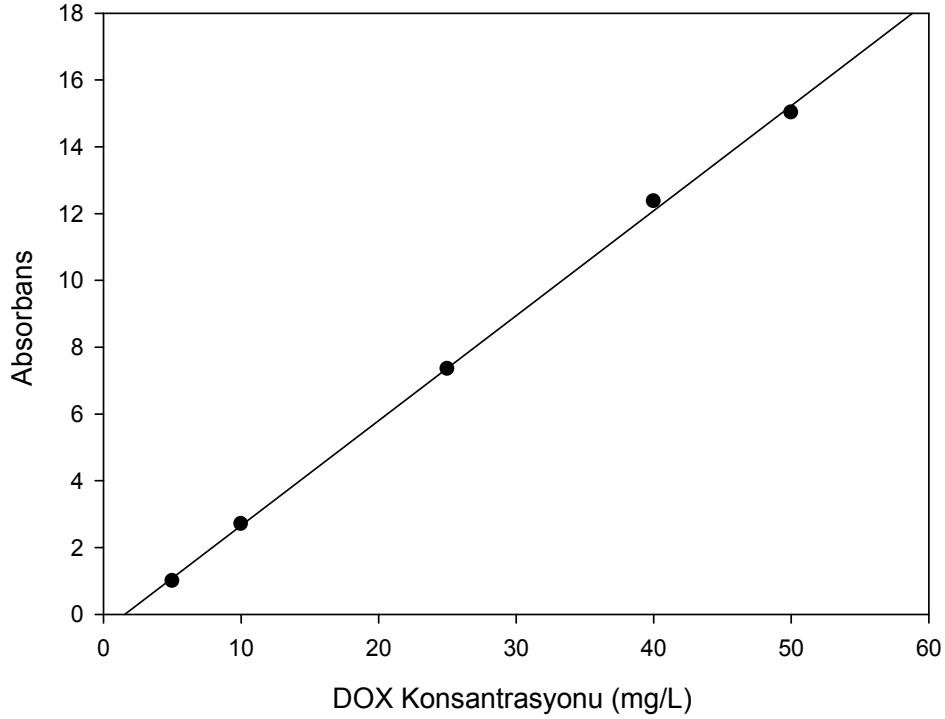
## 2.7. HPLC Şartları

Çalışmada ilaç yükleme ve salım deneylerinde kantitatif tayinler için HPLC cihazı kullanılmıştır. Tablo 2.2 de DOX ve 5-FU için HPLC şartları verilmiştir.

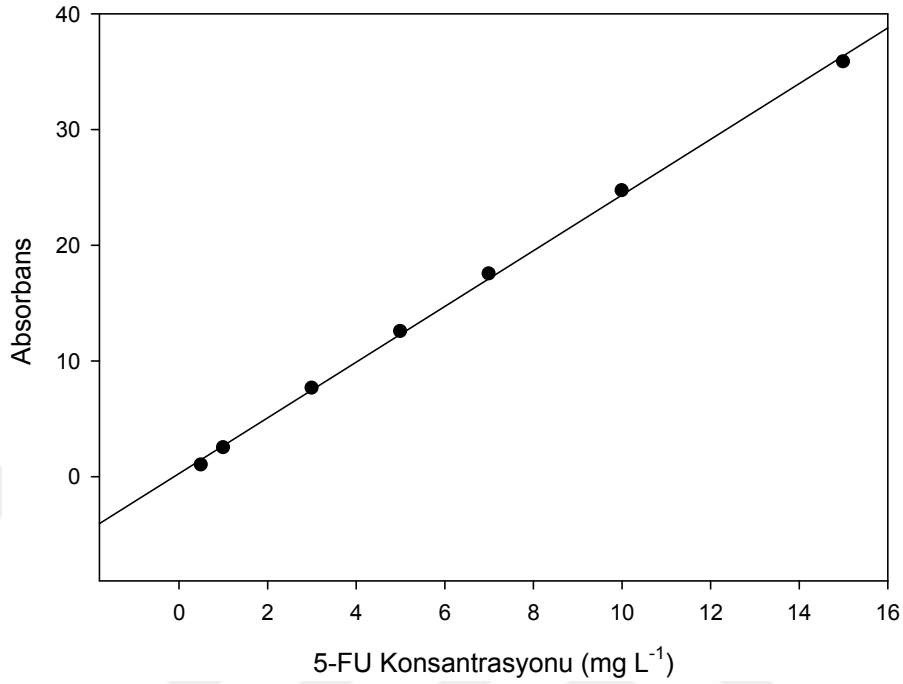
**Tablo 2.2.** HPLC analiz parametreleri

HPLC Koşulları	DOX	5-FU
Akış Hızı	1 mL dk. <sup>-1</sup>	0,8 ml dk. <sup>-1</sup>
Kolon Sıcaklığı	30 °C	25 °C
Hareketli Faz Kombinasyonu	%40 Asetonitril-Su	% 10 Metilen-Su
Kolon Tipi	X-Terra C18 ters faz kolunu	X-Terra C18 ters faz kolunu
Enjeksiyon Hacmi	20 µL	20 µL
Hareketli Faz pH'ı	9,5	pH ayarı yok
Dalga boyu	235 nm	260 nm

Çalışmada kullanılan DOX ve 5-FU ilaçlarına ait kalibrasyon grafikleri Şekil 2.8 ve Şekil 2.9.'da verilmiştir.



**Şekil 2.8.** DOX kalibrasyon grafiği



**Şekil 2.9.** 5-FU kalibrasyon grafiği

## 2.8. Biyobozunurluk Analizi

Sentezlenen ilaç taşıyıcı malzemelerin farklı pH ortamlarında zaman içindeki kütle değişimini incelemek üzere her üç malzeme (MCapIII, PEG@MCapIII ve mcapIV) 0,0150 gr olarak tartılmış ve 10'ar mL pH 7,4 PBS ve pH 5,2 AC tamponunda süspansiyon edilmiştir. Süspansiyon edilen numuneler, 37 °C'de etüvde bekletilerek farklı zaman aralıklarında manyetik dekantasyonla süpernatant ayrılmış ve numuneler kurumaya bırakılmıştır. Tamamen kuruyan numuneler tartılarak kütledeki zaman içindeki değişim belirlenmiştir. Tüm deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Kütlelerin zaman içindeki değişimi % olarak hesaplanarak grafiğe geçirilmiştir.

## 2.9. İstatistiksel Analiz

Deneylerden elde edilen tüm veriler birbirinden bağımsız üç deney sonucunda elde edilmiştir ve ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. P = 0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## 3. BÖLÜM

### BULGULAR

#### 3.1. Malzeme Karakterizasyonu

##### 3.1.1. ZETA potansiyel ( $\zeta$ ) ve DLS analizi

İlaç taşıyıcı MCap NP'ların ortalama tanecik boyut dağılımı ve zeta potansiyeli ( $\zeta$ ) Zeta Sizer Nano (Nano ZSP; Malvern Panalytical Ltd, Malvern, UK) cihazı kullanılarak foton korelasyon spektroskopisi (DLS) yöntemi ile saf su ortamında ölçüldü. Bu amaçla NP'lar, 100 ug / mL süspansiyonlar halinde hazırlandı ve sonike edildi. Ölçümler, 25 °C'lik ortam sıcaklığında tek kullanımlık küvetlerde yapıldı. Toplam 13 ardışık ölçüm yapılarak, yoğunluğa göre boyut dağılımını oluşturmak için negatif olmayan bir en küçük kareler algoritması kullanıldı. Yoğunluk verileri daha sonra, ilgili popülasyonda temsil edilen örneğin yüzdesini gösteren, her büyüklükteki popülasyonun nispi miktarlarını karşılaştırmak için bir kütle veya hacim dağılımına dönüştürüldü.

Sentezlenen 3 farklı MCap NP'lara ait Zeta Potansiyel analizi ölçüm sonuçları Tablo 3.1'de verilmiştir. Zeta potansiyel değerleri incelendiğinde her üç malzemenin de nispeten düşük (<30MV) bir zeta potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca Zeta potansiyel ölçümü ile yüzey yükünün negatif olduğu belirlenmiştir.

DLS yöntemi ile boyut analizi sonuçlarına göre, MCapIV'ün diğer malzemelere kıyasla daha büyük bir parçacık boyut dağılımına sahip olduğu görülmektedir.

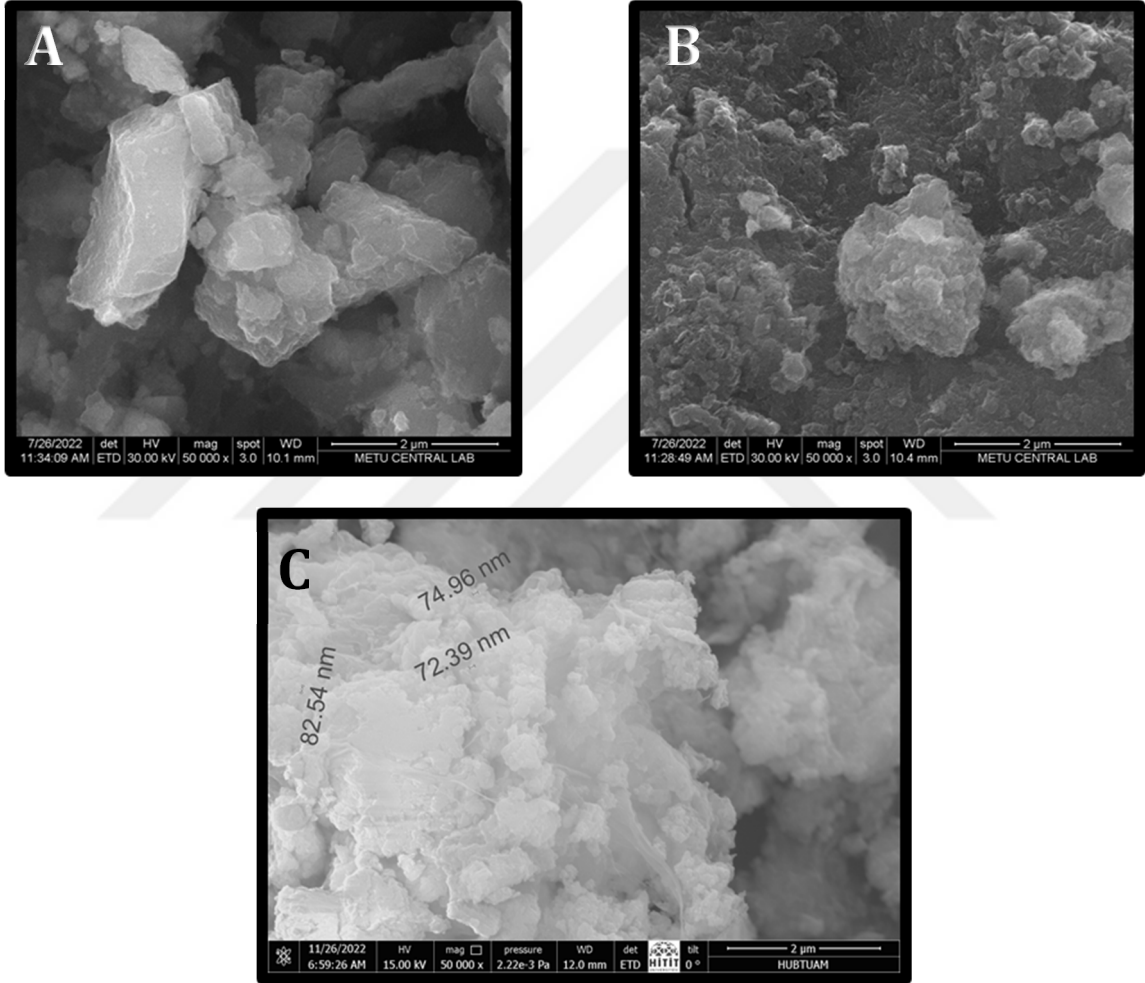
PDI sonuçları, MCapIV'in geniş bir boyut dağılımına sahip olduğunu göstermektedir ve PEG@ MCapIII ise daha dar bir boyut dağılımına sahiptir. Özellikle MCapIII için elde edilen PDI sonuçları oldukça dar bir boyut dağılımını göstermektedir.

**Tablo 3.1.** Karakterizasyon çalışması sonuçları

	<b>MCapIV</b>	<b>MCapIII</b>	<b>PEG@ MCapIII</b>
<b>DLS (nm)</b>	1771	412,4	848,5
<b>Zeta potansiyel (<math>\zeta</math>) (mV)</b>	-15,9	-12,4	-9,31
<b>Polidispersity index (PDI)</b>	0,952	0,374	0,555

### 3.1.2. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)

Hazırlanan nanoparçacıkların SEM mikrografları 50000X büyütmede çekilmiştir (Şekil 3.1. A, B & C). Hazırlanan ilaç taşıyıcı nanokompozit malzemelerden MCapIV, MCapIII ve PEG@ MCapIII ile kıyasla daha büyük bir parçacık boyutuna sahip olduğu görülmektedir. MCapIII ve PEG@ MCapIII ise daha fazla sayıda nano boyutlu partiküller içeren bir yüzey morfolojisine sahiptir. Her üç malzeme de yüksek bir yüzey alanı ve yoğun gözenek dağılımı sergilemektedir.

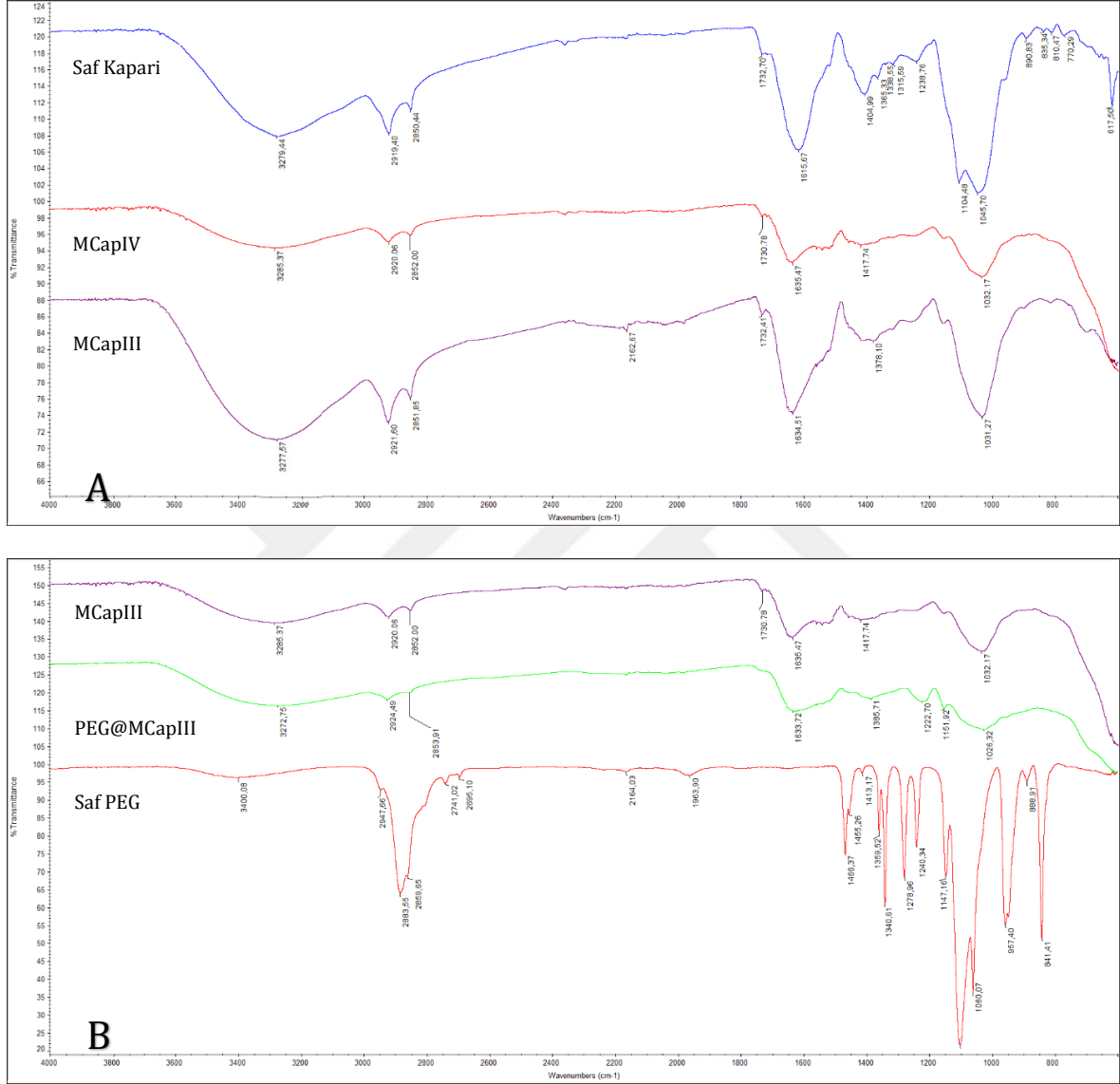


Şekil 3.1. SEM analizi sonuçları A) MCapIV B) MCapIII C) PEG@ MCapIII (Ölçek:2 µm)

### 3.1.3. Fourier transform infrared spektroskopisi (FT-IR)

Üretilen ilaç taşıyıcı biyokompozit malzemelerin yapısal tayini için Thermo Scientific marka, Nicolet 6700 model Fourier Transform Infrared Spektroskopi cihazı kullanılmıştır. Şekil 3.2.de

saf kapari, saf PEG, MCapIII, PEG@MCapIII, MCapIV ve DOX yüklü formlarına ait FT-IR spektrumları verilmiştir.



**Şekil 3.2.** a) Saf kapari, MCapIII ve MCapIV b) MCapIII, PEG@MCapIII ve saf PEG c) PEG@MCapIII, PEG@MCapIII + DOX/pH 7.4 ve PEG@MCapIII + DOX/pH 5.2 FT-IR spektrumları



de O-H gerilme pikleri görülmektedir. 1222  $\text{cm}^{-1}$ 'deki Ar-O piki DOX'un yüklenmesi ile 1207  $\text{cm}^{-1}$  de ve 1151  $\text{cm}^{-1}$  C-O piki 1150  $\text{cm}^{-1}$  de her iki pH için de şiddetini arttırmış ve belirginleşmiştir.

Elde edilen FTIR bulgularına göre, sentezleme yönteminin malzemenin kimyasal özellikleri üzerinde etkili olduğu söylenebilir (Şekil 3.2 A). Sonokimyasal sentez yöntemi ile elde edilen MCap. III'ün PEG ile kaplı olduğu (Şekil 3.2 B) ve DOX'un taşıyıcı yüzeyine tutunduğu görülmektedir (Şekil 3.2 C).

### 3.1.4. Biyouyumluluk ve sitotoksosite analizleri

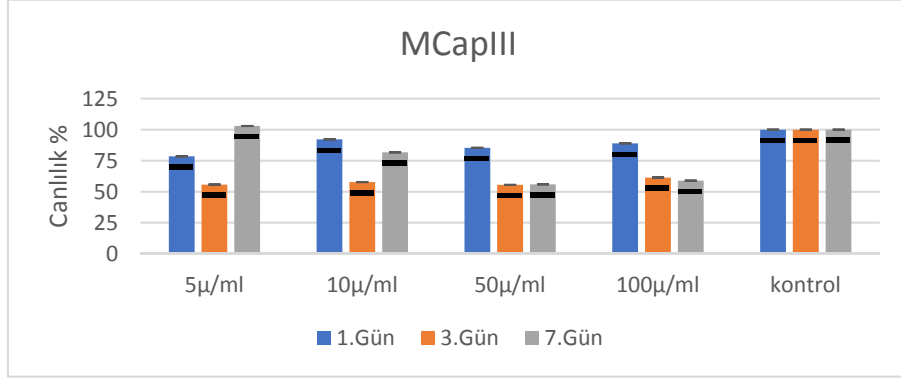
Elde edilen 3 farklı potansiyel ilaç taşıyıcı manyetik malzemenin biyouyumluluk ve sitotoksosite profillerinin belirlenebilmesi için 3 farklı yöntem kullanıldı İlk olarak hücre canlılığının belirlenebilmesi için yaygın olarak kullanılan kolorimetrik MTT testi uygulandı. Ardından hücre membranı bütünlüğü ve sitotoksosite belirteci olarak biyoluminesansa dayalı hassasiyeti yüksek bir yöntem olan LDH testi gerçekleştirildi. Son olarak hücre morfolojisi, sitotoksosite etkisiyle ölen hücrelerin ölüm modu ve canlılık hakkında bilgi veren Hoechst 33258/Propidium Iodide floresan çift boyama yöntemi kullanıldı. Her üç teknikte Kastamonu Üniversitesi Doku Mühendisliği, Biyomalzeme ve Kök Hücre Laboratuvarı envanterinde bulunan Wistar albino sıçanlarından izole edilen mezenkimal kök hücreler kullanıldı. MTT ve LDH analizlerinde her örnek için en az iki tekrarlı bağımsız deney gerçekleştirildi.

Deneylerden elde edilen bulgular analiz edildiğinde, her üç testin birbiri ile pararel sonuçlar verdiği görüldü.

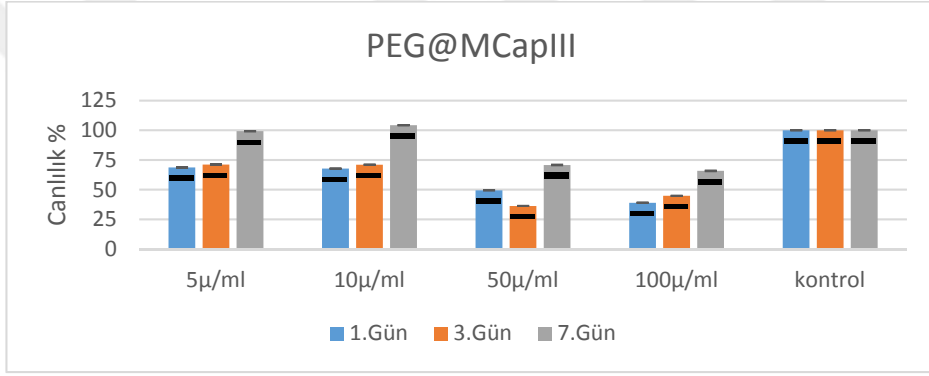
#### 3.1.4.1. MTT [3-(4,5-dimetildiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür] Testi Bulguları

MCapIII, PEG@MCapIII ve MCapIV'e ait MTT analizi bulgularından elde edilen veriler kullanılarak % canlılık oranları hesaplandı ve konsantrasyona karşı grafiğe geçirildi. Elde edilen grafikler sırasıyla Şekil 3.3, Şekil 3.4 ve Şekil 3.5'te verilmiştir.

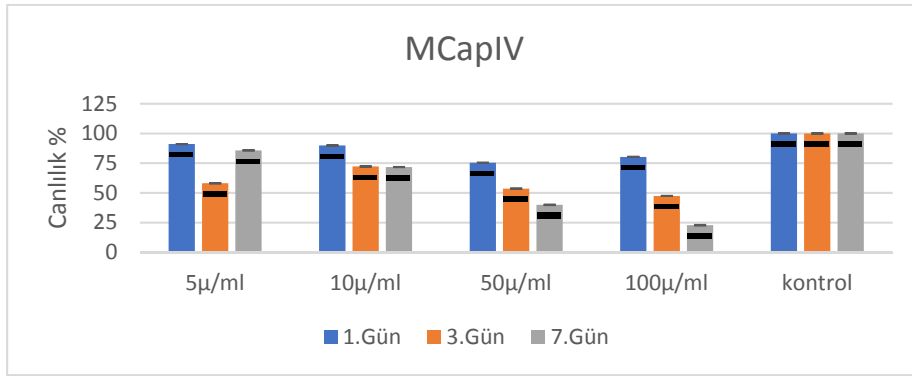




**Şekil 3.3.** MCApIII MTT testi hücre canlılığı verileri



**Şekil 3.4.** PEG@MCApIII MTT testi hücre canlılığı verileri



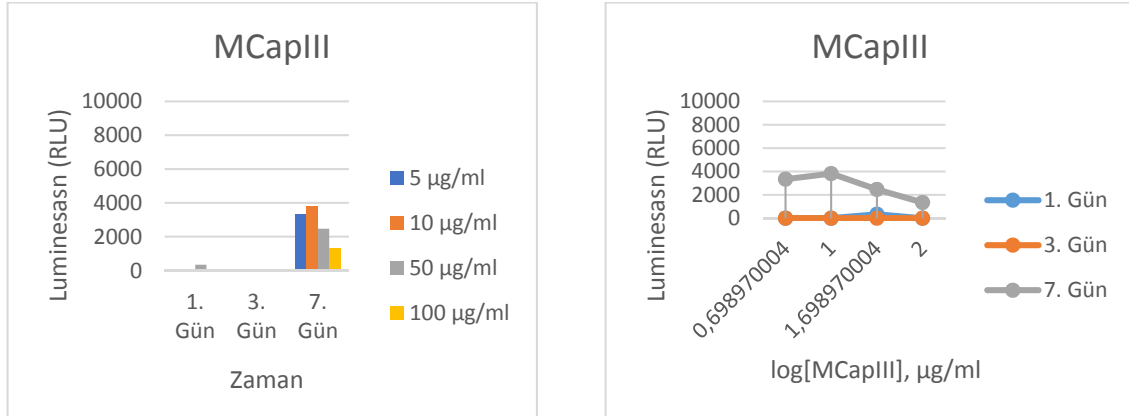
**Şekil 3.5.** MCApIV MTT testi hücre canlılığı verileri

MTT analizi bulgularına göre, her üç ilaç taşıyıcı malzeme için en düşük konsantrasyon ve en yüksek maruziyet süresinde elde edilen hücre canlılığı verilerine bakıldığında (5 µg/mL, 7 gün) MCApIII'ün kontrol hücrelerine kıyasla %100'e yakın hücre canlılığı değerlerine sahip olduğu

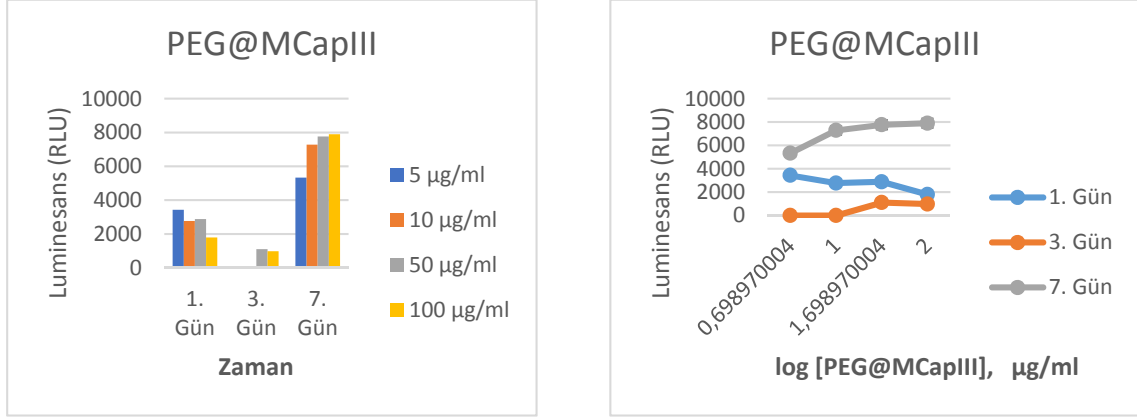
görülmektedir (Şekil 3.3). PEG@MCapIII ve MCapIV için de bu zaman noktası ve konsantrasyonda %75'in üzerinde canlılık değerlerine ulaşıldığı görülmektedir. MCapIII'ün en yüksek maruziyet dozu olan 100. µg/mL konsantrasyonda ve en uzun maruziyet süresi olan 7. günde %60'lık canlılık oranıyla en düşük sitotoksikite oluşturan malzeme olduğu tespit edilmiştir. MCapIV için süreye bağımlı bir canlılık düşüşü gözlenmektedir. MCapIV için her iki zaman noktası ve konsantrasyonda ve özellikle 100 µg/mL konsantrasyonda %25'in altındaki hücre canlılığı oranıyla her üç malzemeden daha yüksek bir toksik etki oluşturduğu görülmektedir (Şekil 3.5). PEG@MCapIII ise, zaman içinde azalan bir sitotoksik etki göstermekte, 5 ve 10 µg/mL konsantrasyonda 7 günlük maruziyet sonunda %100'e yakın canlılık değerleri oluşturmaktadır (Şekil 3.4). Kullanılan en yüksek miktar olan 100 µg/mL doz ve en uzun maruziyet süresi olan 7. gündeki veriler kıyaslandığında, MCapIII ve PEG@MCapIII içinse hücresel canlılık miktarları %50'nin üzerindedir. PEG@MCapIII verilerinde bakıldığında tüm dozlarda hücre canlılığında zamanla artış olduğu gözlemlenmektedir.

#### 3.1.4.2. Biyoluminesansa Dayalı LDH Analizi Bulguları

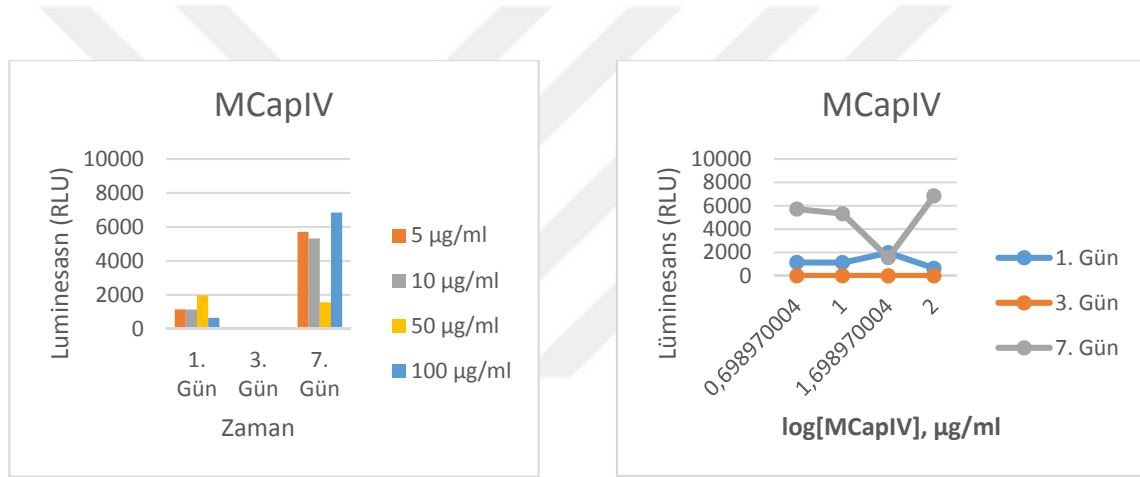
Okunan lüminesans değerlerinin zamana ve log[konsantrasyon] değerlerine karşı grafiğe geçirilmesi ile elde edilen MCapIII, PEG@MCapIII ve MCapIV'e ait LDH analizi bulgularına ait grafikler sırasıyla Şekil 3.6, Şekil 3.7 ve Şekil 3.8'de verilmiştir.



Şekil 3.6. MCapIII LDH grafiği



**Şekil 3.7.** PEG@MCApIII LDH grafiği



**Şekil.3.8.** MCApIV LDH grafiği

LDH analizi verileri ile elde edilen grafikler incelendiğinde, en yüksek LDH salımı her üç malzeme için de maruziyetin 7. gününde gerçekleşmiştir. Maruziyetin 3. gününde ise, LDH salımının MCAp III ve MCApIV için gerçekleşmediği, PEG@MCApIII için ise minimal düzeyde olduğu görülmektedir. Maruziyetin ilk gününde en yüksek LDH salımına sebep olan malzeme PEG@MCApIII olmuştur (Şekil 3.7). MCApIII'ün, tüm zaman noktası ve konsantrasyonlarda en düşük LDH salımına sebep olan malzeme olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.6).

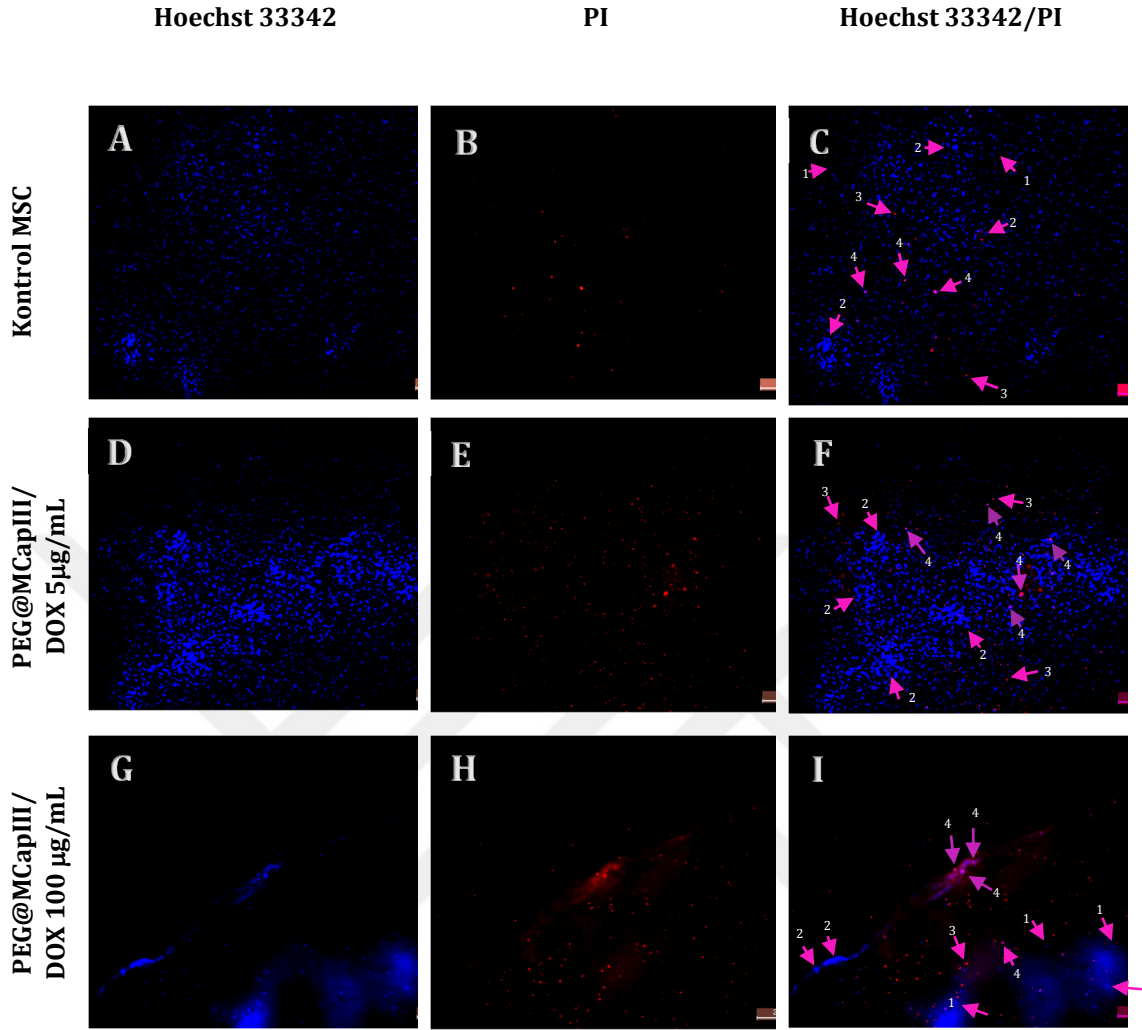
#### 3.1.4.3. İkili Boyama Hoechst 33258/Propidium Iodide (HO/PI) Floresan Çift Boyama Yöntemi ile Hücre Morfolojisi Analizi Bulguları

PEG@MCApIII ilaç taşıyıcı nanokompozitin MSC hücreleri üzerine morfolojik etkisi ikili boyama yöntemi ile belirlendi (Şekil 3.9). Hücre kültürü ortamında apoptozise giden

hücrelerin membran bütünlükleri korunurken (erken apoptozda) daha ileri dönemlerde geç apoptoz/sekonder nekrozun gelişmesi ile hücrelerin membran bütünlükleri bozulmaktadır. PI bu nedenle yalnız membran bütünlüğü bozulmuş geç apoptoz/sekonder nekroz aşamasındaki hücreleri boyamaktadır. Hoechst ise hücre membranından geçebilmekte ve nükleusa sahip tüm hücreleri boyamaktadır. Kullanılan teknikte, normal canlı hücre nükleusları mavi (Hoechst 33342), apoptotik nükleusa sahip canlı hücreler açık-parlak mavi (Hoechst 33342), normal nükleusa sahip ölü hücreler parlak kırmızıya (PI) ve apoptotik nükleusa sahip ölü hücreler açık kırmızı-pembe renge (HO/PI) boyanır (Cao vd. 2017).

Hoechst 33342 ile boyanan hücreler Şekil 3.9 A, D ve G'de; PI ile boyanan hücreler Şekil 3.9 B, E ve H'de; iki görselin üst üste bindirilmesiyle elde edilen HO/PI ikili boyama görüntüsü ise, Şekil 3.9 C, F ve I'da verilmiştir.

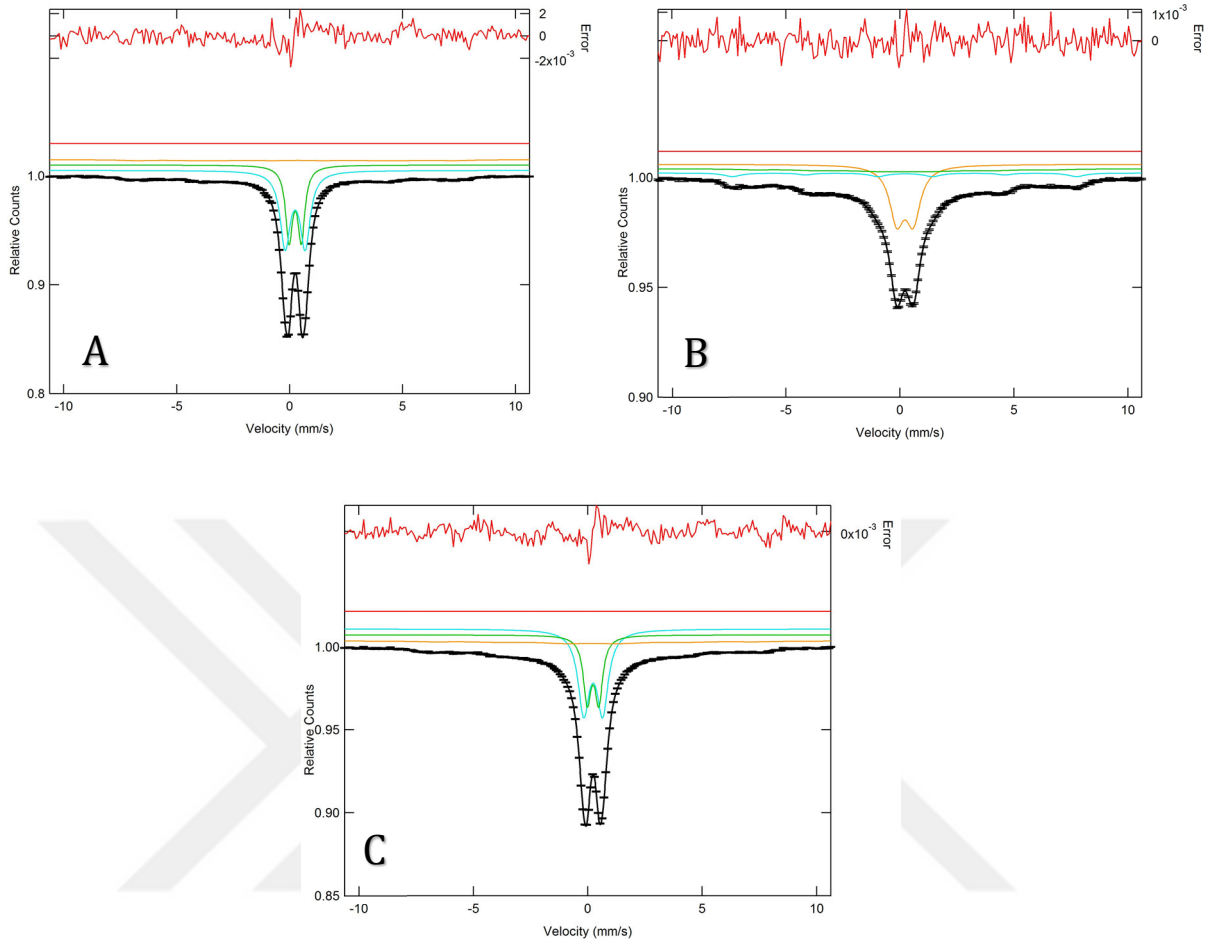
Maruziyetin 7. günündeki hücre morfolojisini gösteren Şekil 3.9 incelendiğinde, kontrol hücrelerinin büyük oranda açık mavi renkte boyanan normal hücre nükleuslarından oluştuğu, az sayıda membran bütünlüğü bozulmuş-nekrotik hücre içerdiği görülmektedir (Şekil 3.9 C). 5µg/mL PEG@MCapIII ile etkileştirilen hücrelerde, canlı hücre sayısının nekrotik-ölü hücrelerden daha fazla olduğu görülebilir. Kontrol grubu hücreleri ile karşılaştırıldığında nekrotik hücre sayısında bir miktar artış mevcuttur (Şekil 3.9 F) ancak, normal/canlı hücrelerin yine belirgin şekilde daha fazla sayıda olduğu belirlenmiştir. 100 µg/mL PEG@MCapIII ile etkileştirilen hücrelerde ise canlı hücre sayısında belirgin bir düşüş ve nekrotik hücre sayısında ve membran geçirgenliğinde artış tespit edilmiştir. Canlı/ölü hücre oranının birbirine daha yakın olduğu ve apoptotik hücrelerin bulunduğu Şekil 3.9 I'da görülebilir.



**Şekil 3.9.** 7 günlük maruziyet sonunda A, B ve C Kontrol grubu D, E ve F 5µg/mL, G,H ve I ise 100 5µg/mL PEG@MCApIII ile muamele edilmiş mezenkimal kök hücrelere ait ikili boyama floresan mikroskop görüntüleri (Ölçek: 200 µm) (Oklar; 1: Normal nükleuslu canlı hücre, 2: Apoptotik nükleuslu canlı hücre, 3: Normal nükleuslu ölü hücre, 4: Apoptotik nükleuslu ölü hücre-HO/PI çift boyanmış)

### 3.1.5. Mössbauer spektroskopisi sonuçları

Mössbauer spektrumuna ait sonuçlar aşağıda (Şekil 3.10. & Tablo3.2.) verilmiştir.



**Şekil 3.10.** Farklı yöntemle sentezlenen a) MCapIII, b) PEG@MCapIII ve c) MCapIV'e ait Mössbauer Spektrumları

Örneklerin oda sıcaklığında elde edilen Mössbauer spektrumları Şekil 3.10' de verilmiştir. Fit sonucu elde edilen izomer kayma, iç manyetik alan, kuadropol kayma, çizgi genişliği ve oluşan fazların kısmi alanı gibi Mössbauer parametreleri Tablo 3.2' de verilmiştir. Şekil 3.10' de görüldüğü gibi MCapIII ve MCapIV'e ait Mössbauer spektrumları 2 doublet ve 1 sextet den oluşmaktadır. PEG@MCapIII'e ait Mössbauer spektrumu ise bir doublet ve iki sekstetten oluşmuştur.

İki farklı yöntemle sentezlenen MCapIII ve MCapIV'e ait aşırı ince yapı parametreleri incelendiğinde, her iki malzemede de iki doublet ve bir sekstet yapı olduğu görülmektedir. PEG@MCapIII'e ait spektrum ise iki sekstet ve bir doubletten oluşmaktadır.

MCapIII için, demir atomlarının yalnızca oktahedral B bölgesine yerleştiği görülürken PEG@MCapIII için hem tetrahedral A hem de oktahedral B bölgelerinde demir atomlarının yerleşik olduğu gözlemlenmektedir. Küresel simetrik olmayan bir yük dağılımı asimetrik bir

elektrik alana sebep olur, bu da nükleer enerji seviyelerinde kaymaya sebep olur. Nükleer enerji seviyeleri ile elektrik alan gradiyenti arasındaki etkileşim kuadropol kaymanın nedenidir. Spektrumda doublet olarak tanımlanan ikili bir pik olarak görülür. Bu iki pik arasındaki mesafeden Q.S. değeri belirlenir. Q.S. değeri kristal yapının simetrisi ve yerel bozulma hakkında bilgi verir (Tablo 3.2). MCapIII ve PEG@MCapIII için ferromanyetik fazın Q.S. değeri ihmal edilebilir seviyededir. MCapIV'te ferromanyetik faz oluşumu gözlenmemiştir.

**Tablo 3.2.** Farklı yöntemle sentezlenen manyetik nanoparçacıkların Mössbauer spektrumlarının oda sıcaklığında uyumlandırılmasıyla elde edilen aşırı ince yapı parametreleri (B<sub>hf</sub>: aşırı ince manyetik alan, I.S.: izomer kayma,  $\Gamma$  çizgi genişliği, Q.S.: kuadropol yarılma, R<sub>A</sub> :rölatif alan)

Nanobiyo kompozit	Site	I.S. (mm s <sup>-1</sup> )	Q.S. (mm s <sup>-1</sup> )	B <sub>hf</sub> (T)	$\Gamma$ (mm s <sup>-1</sup> )	R <sub>A</sub> (%)
MCapIII	Sx-B: Fe <sup>+3</sup>	0,424	-0,098	43,448	1,604	22,523
	Db1: Fe <sup>+3</sup>	0,351	0,887	-	0,535	52,758
	Db2: Fe <sup>+3</sup>	0,347	0,542	-	0,371	24,719
PEG@MCapI II	Sx-B: Fe <sup>+3</sup>	0,328	-0,035	46,787	0,853	8,831
	Sx-A: Fe <sup>+3</sup>	0,309	-0,05	40,487	1,258	46,272
	Db: Fe <sup>+3</sup>	0,329	0,72	-	0,759	44,897
MCapIV	Sx-B: Fe <sup>+3</sup>	0,363	0,073	43,316	1,477	37,785
	Db1: Fe <sup>+3</sup>	0,343	0,827	-	0,592	45,236
	Db2: Fe <sup>+3</sup>	0,337	0,506	-	0,406	16,979

## 3.2 Ön Denemeler

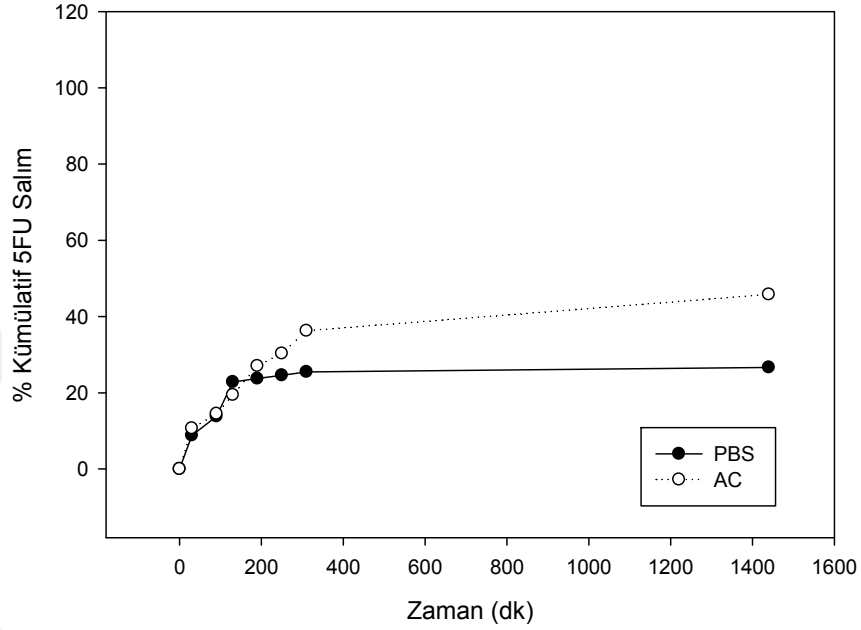
### 3.2.1. İlaç yükleme ve salım ön denemeleri

Ön denemeler kapsamında öncelikle çalışmada model ilaç olarak kullanılması planlanan DOX ve 5 FU için HPLC cihazı kullanılarak kalibrasyon grafikleri çizilmiştir.

Ardından iki farklı yöntemle ve iki farklı bileşenle kapari içeren 4 farklı manyetik ilaç taşıyıcı malzeme sentezlenmiştir. Sentezlenen malzemeler MCap I, MCap II, MCapIII ve MCapIV olarak adlandırılmıştır. Elde edilen malzemelere yaygın olarak kullanılan iki farklı kemoterapötik ilaçla (DOX ve 5FU) yükleme yapılarak ilaç yüklenme potansiyelleri ortaya çıkarılmıştır.

Yapılan ön denemeler sonucunda DOX ve 5FU'nun taşıyıcıya yüklenme kapasiteleri belirlenmiş ve 5FU'nun ilaç taşıyıcı üzerinde çok düşük miktarlarda tutulduğunun ve salım oranlarının da

düşük olduğunun belirlenmesi (Şekil 3.11) üzerine deneylere DOX ile devam etme kararı alınmıştır.



Şekil 3.11. PEG@MCApIII 5 FU ilaç salımı ön deneme sonuçları

Gerçekleştirilen ilaç yükleme ön denemelerinde, MCAp I ve MCAp II olarak adlandırılan iki malzemenin DOX ve 5 FU yükleme miktarlarının çok düşük olması nedeniyle deneylere MCApIII ve MCApIV ile devam edilmesine karar verilmiştir.

Tez kapsamında gerçekleştirilecek deneyler, hedeflenecek ilaç olarak DOX ve ilaç hedeflendirme taşıyıcısı olarak MCApIII, MCApIV ve MCApIII'ün PEG ile kaplanması ile elde edilecek PEG@MCApIII üzerine planlanmıştır.

### 3.2.2. İlaç yükleme

Ön deneme sonuçlarına göre belirlenen malzemelere DOX yüklenmiş ve iki farklı pH ortamında seçilen ilaç taşıyıcı maddelerin ne kadar ilaç tutabildikleri hesaplanarak Tablo 3.3'te verilmiştir. İlaç yükleme miktarlarının hesaplanabilmesi için, 24 saat boyunca ilaçla etkileştirilen malzemeler neodmium mıknatıslarla dekante edilerek saf su ile 4-5 kez yıkanmış ve yıkama suyuna geçen DOX miktarı HPLC cihazı ile kantitatif olarak tayin edilmiştir.



Başlangıç DOX miktarından yıkama suyuna geçen miktar çıkarılarak malzeme yüzeyine tutunan DOX miktarı hesaplanmıştır.

Tablo 3.3 incelendiğinde, her iki pH değerinde MCapIII'ün daha yüksek bir DOX tutma kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu bulgudan hareketle MCapIII'ün biyouyumluluğunun ve sistemik dolaşımında kalma süresinin artırılması amacıyla MCapIII'ün PEG ile kaplanması planlanmıştır. Kaplama çalışması sonrası elde edilen malzeme PEG@MCapIII olarak adlandırılmıştır. PEG@MCapIII ile de DOX yükleme çalışması yapılarak ilaç tutma kapasitesi belirlenmiştir (Tablo3.3). Elde edilen bulgular, MCapIII yüzeyinin PEG ile kaplanması ile ilaç tutma kapasitesinin belirgin biçimde arttığını göstermiştir (pH 7,4 ortamında %78'den 92'ye ve pH 5,2 ortamında %81'den 91'e). PEG kaplamanın bu etkisinin hem yüzey alanı artışı hem de fonksiyonel gruplarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

MCapIV'ün ilaç yükleme kapasitesi MCapIII ve PEG@MCapIII'e kıyasla, belirgin biçimde daha düşüktür. Bu durum, malzemenin sentez yönteminden kaynaklanan boyut ve yüzey farkı ile açıklanabilir.

**Tablo 3.3.** İlaç yükleme potansiyelleri

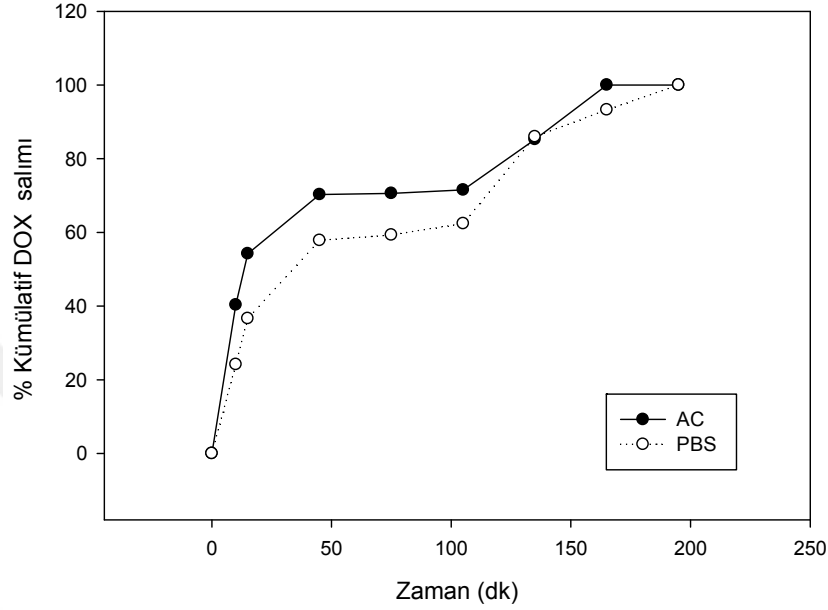
<b>%İlaç Yükleme</b>	<b>pH 7,4 (PBS)</b>	<b>pH 5,2 (AC)</b>
MCapIV	72	76
MCapIII	78	81
PEG@MCapIII	92	91

### 3.3. İlaç Salım Deneyleri

MCapIII, PEG@MCapIII ve MCapIV'e ait in vitro ilaç salım profilleri, pH 7,2 (PBS) ve pH 5,2 (AC) tampon çözelti ortamında incelenmiştir. Bu amaçla belirli zaman aralıklarında DOX yüklü ilaç taşıyıcılardan salınan ilaç miktarı HPLC cihazı ile kantitatif olarak analiz edilmiş, her zaman noktası için % kümülatif salım miktarları hesaplanmış ve zamana karşı grafiğe geçirilerek sentezlenen ilaç taşıyıcı malzemelerin PBS ve AC tamponundaki ilaç salım profilleri belirlenmiştir. MCapIII, PEG@MCapIII ve MCapIV'e ait in vitro ilaç salım grafikleri sırasıyla Şekil 3.12, 3.13, ve 3.14'te verilmiştir.

MCapIII'ün DOX salım profili incelendiğinde, iki pH değerinde benzer salım profillerinin olduğu görülmektedir ancak pH 5'te bir miktar daha hızlı salım olduğu söylenebilir. İlk 50 dk.

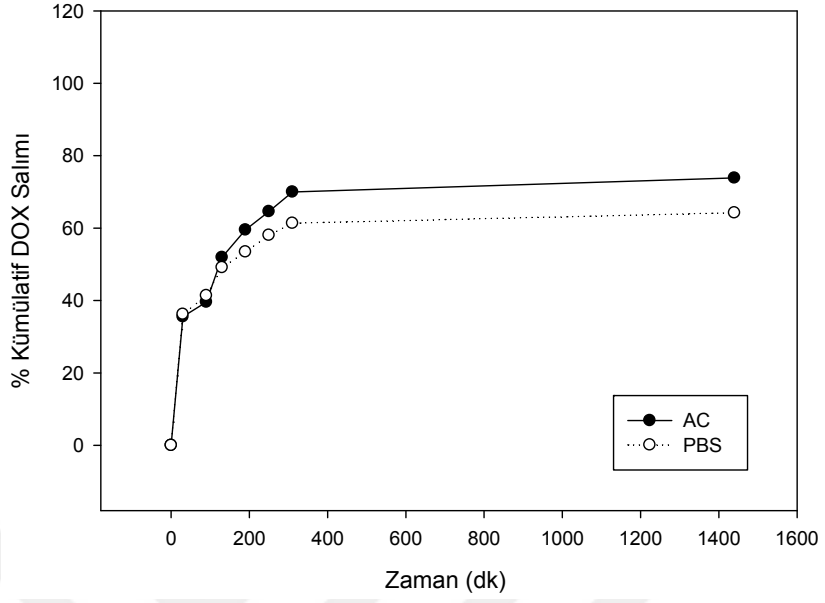
içinde her iki pH değerinde malzeme üzerine yüklü DOX'un yaklaşık %60'ı salınmıştır. 150-200 dk. aralığında ise DOX'un tamamına yakını salınmıştır (Şekil 3.12).



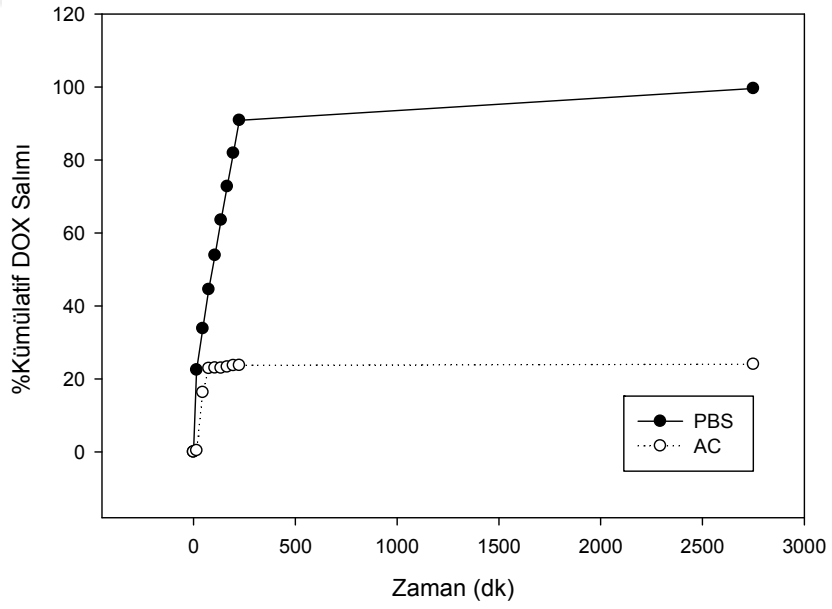
Şekil 3.12. MCapIII DOX ilaç salım deneyi

Aynı malzemenin PEG ile kaplanmış formu olan PEG@MCapIII'e ait DOX salım grafiği incelendiğinde, ortam pH'ının büyük bir fark yaratmadığı, her iki pH değerinde paralel bir salım profili sergilediği görülmekle beraber, AC tamponu ortamında nispeten daha yüksek bir miktarda salımın gerçekleştiği belirlenmiştir. Salım başlangıcından itibaren ilk 300 dk.'da malzemenin %70'e yakın oranda DOX saldığı, ilerleyen zaman noktalarında da bu oranın sabit kaldığı görülmektedir (Şekil 3.13).

MCapIV için elde edilen salım grafiğinde pH farkının salım profilini belirgin şekilde değiştirdiği görülmektedir ve malzeme pH'a duyarlı bir salım davranışı sergilemektedir. Malzeme pH 5,2 ortamında ilk 75 dk.'da taşıdığı DOX'un yaklaşık %24'ünü salmakta ve sonraki zaman noktalarında salım yapmamaktadır. pH 7,4 ortamında ise ilk 225 dk.'da DOX salımı yaklaşık %91'e ulaşmıştır, takip eden saatlerde ise daha düşük hızla ilacın tamamını salmaktadır (Şekil 3.14).



Şekil 3.13. PEG@MCApIII DOX ilaç salım deneyi

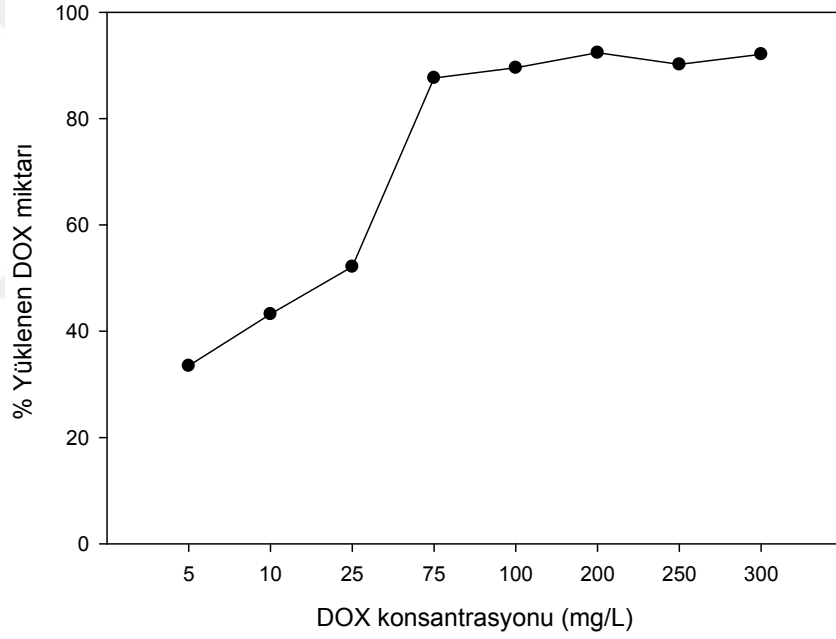


Şekil 3.14. MCApIV DOX ilaç salım deneyi

### 3.4. İlaç Konsantrasyonu

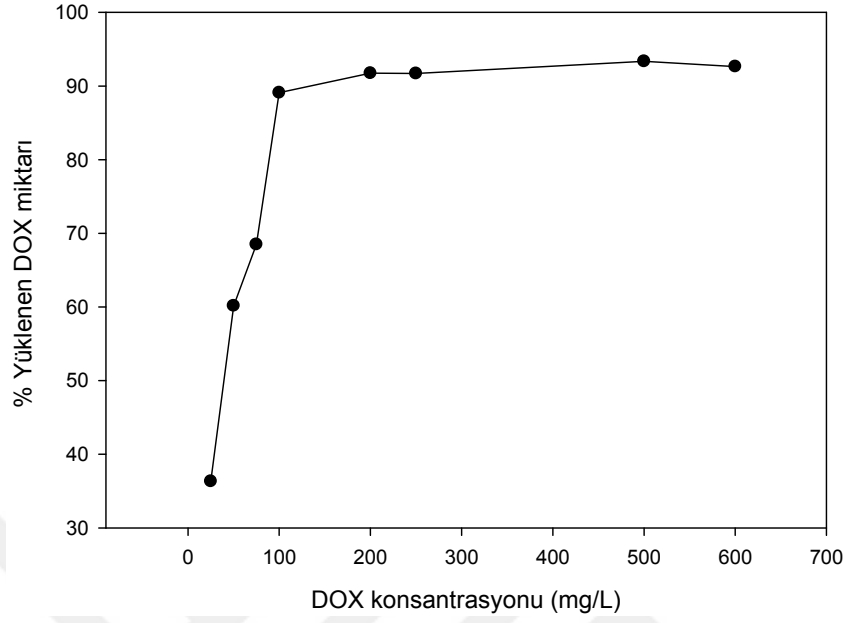
MCapIII, PEG@MCapIII ve MCapIV için maksimum DOX yükleme kapasitesinin araştırılması ve ilacın taşıyıcı yüzeyine tutunma biçiminin izoterm hesaplamaları ile modellenenebilmesi amacıyla farklı konsantrasyonlarda hazırlanan DOX çözeltileri ile ilaç taşıyıcı malzeme etkileştirilmiş ve her konsantrasyon için yüklenen % DOX miktarları hesaplanmıştır. Hesaplanan sonuçlar DOX konsantrasyonuna karşı grafiğe geçirilerek Şekil 3.15, 3.16 ve 3.17'da verilmiştir.

MCapIII için elde edilen verilere göre, 200 mg/L DOX konsantrasyonunda maksimum yükleme miktarı olan yaklaşık %92'ye ulaşmıştır (Şekil 3.15).

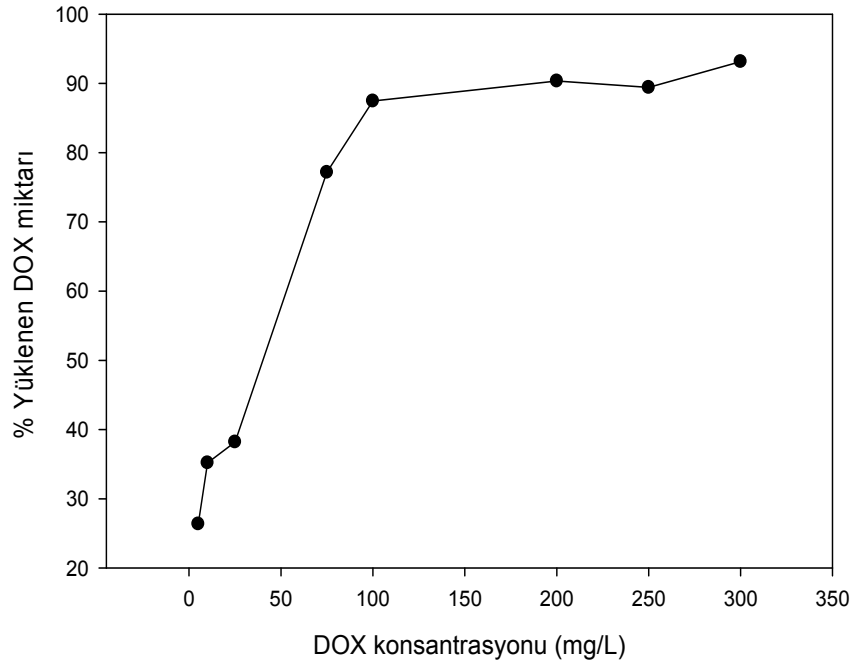


Şekil 3.15. MCapIII ilaç konsantrasyonu deneyi

PEG@MCapIII için DOX yükleme verilerine göre, 300 mg/L konsantrasyonda maksimum ilaç yükleme oranı olan %95'e ulaşmıştır (Şekil 3.16). MCapIV ise, benzer şekilde 300 mg/L ilaç konsantrasyonunda %93'lük maksimum yükleme oranına sahiptir (Şekil 3.17).



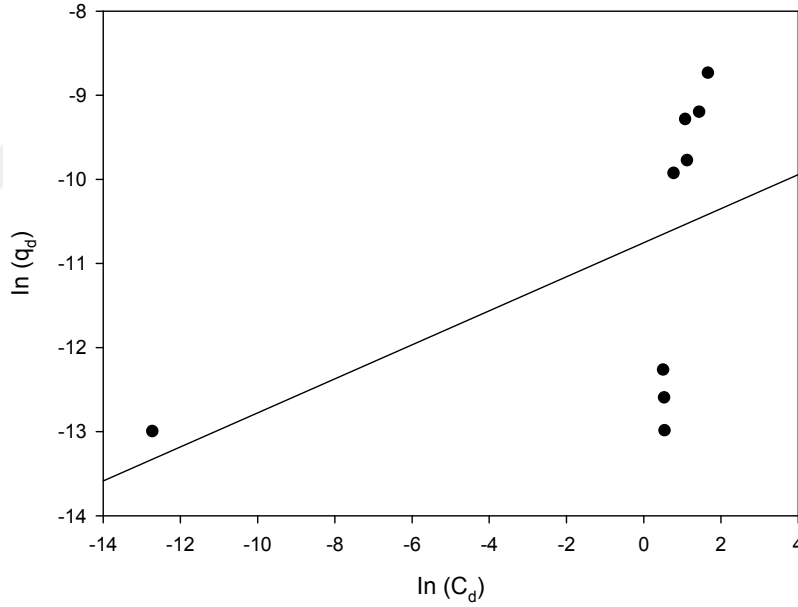
Şekil 3.16. PEG@MCapIII ilaç konsantrasyonu deneyi



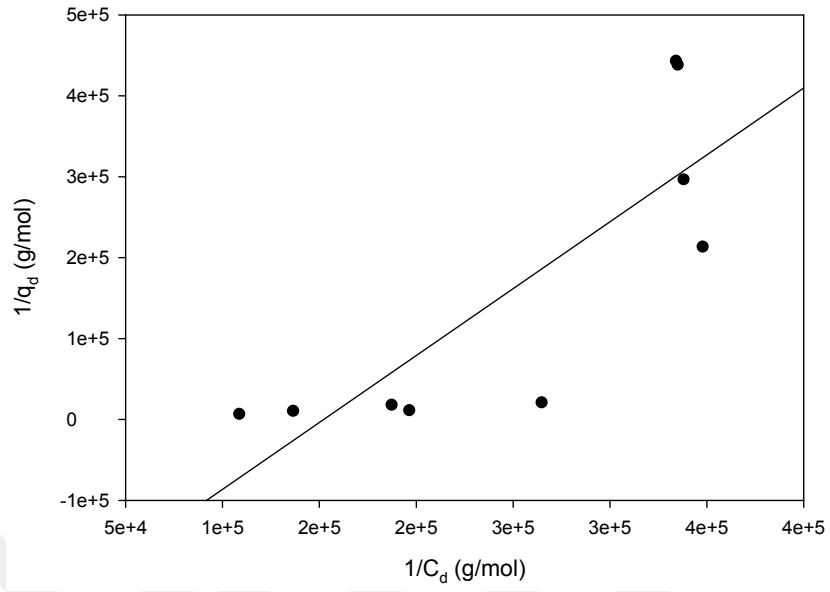
Şekil 3.17. MCapIV ilaç konsantrasyonu deneyi

### 3.4.1. İzoterm hesaplamalar

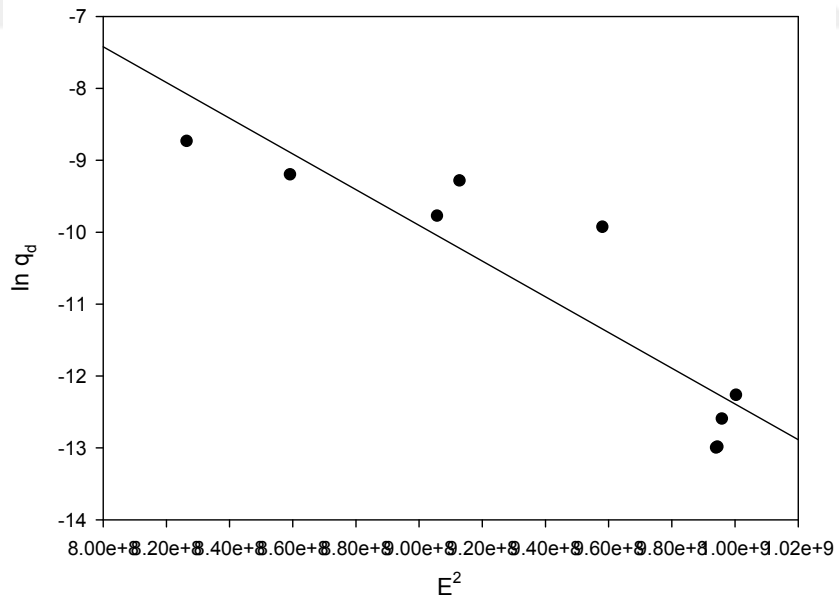
Biyosorpsiyon izotermi, sorbat ve biyosorbent arasındaki etkileşimi tanımladığı için önemlidir. Biyosorpsiyon izotermi, biyosorbent üzerine biyosorbe edilen sorbat miktarı ile denge anında sıvıdaki sorbat konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi bulmaya yardımcı olur. Çok çeşitli denge izoterm modelleri vardır, bunlardan bazıları Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson, Dubinin-Radushkevich (D-R), Temkin, Sips ve Flory-Huggins izotermidir (Kumar, 2019). Bu çalışmada MCapIII, MCapIV ve PEG@MCapIII üzerine DOX'un biyosorpsiyonu için ilaç konsantrasyonu deneysel çalışmasından elde edilen veriler Langmuir, Freundlich ve Dubinin-Radushkevich izoterm modellerine uygulanmıştır. MCapIII için Langmuir, Freundlich ve Dubinin-Radushkevich izoterm modelleri sırasıyla Şekil 3.18, 3.19 ve 3.20'de, MCapIV için sırasıyla Şekil 3.21, 3.22 ve 3.23'te ; PEG@MCapIII için ise sırasıyla Şekil 3.24, 3.25 ve 3.26'da verilmiştir.



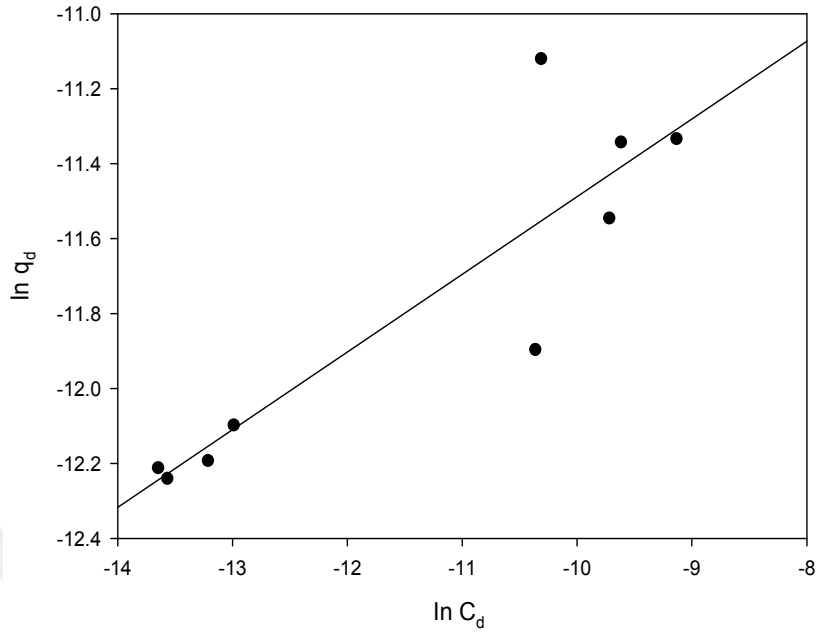
Şekil 3.18. MCapIII Freundlich izoterm modeli



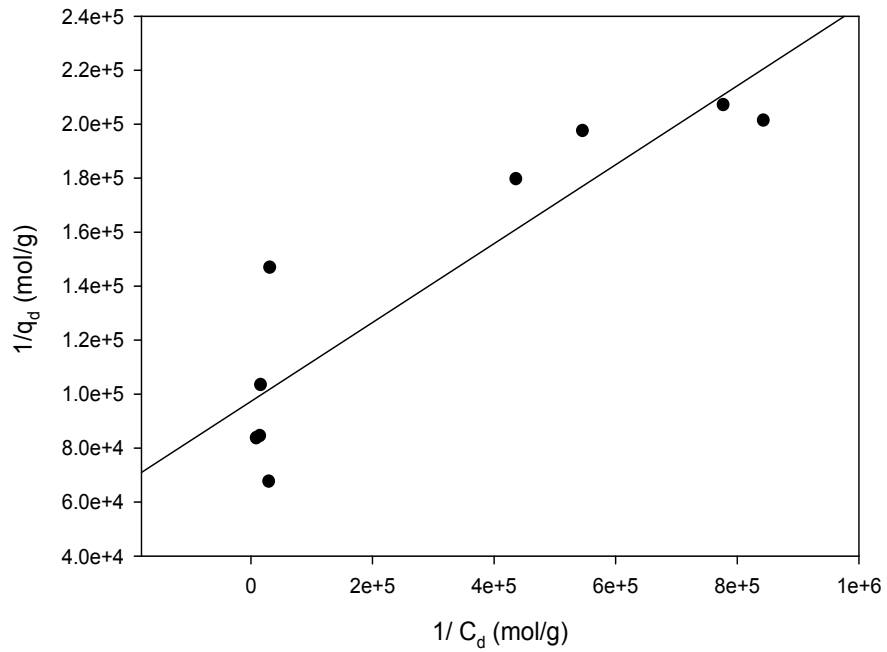
Şekil 3.19. MCapIII Langmuir izoterm modeli



Şekil 3.20. MCapIII D-R izoterm modeli

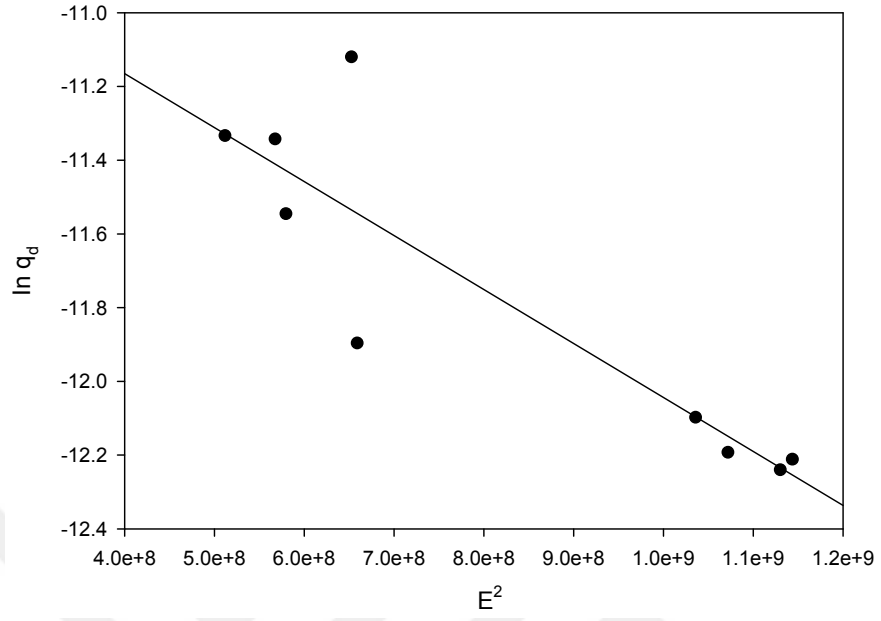


Şekil 3.21. MCapIV Freundlich izoterm modeli

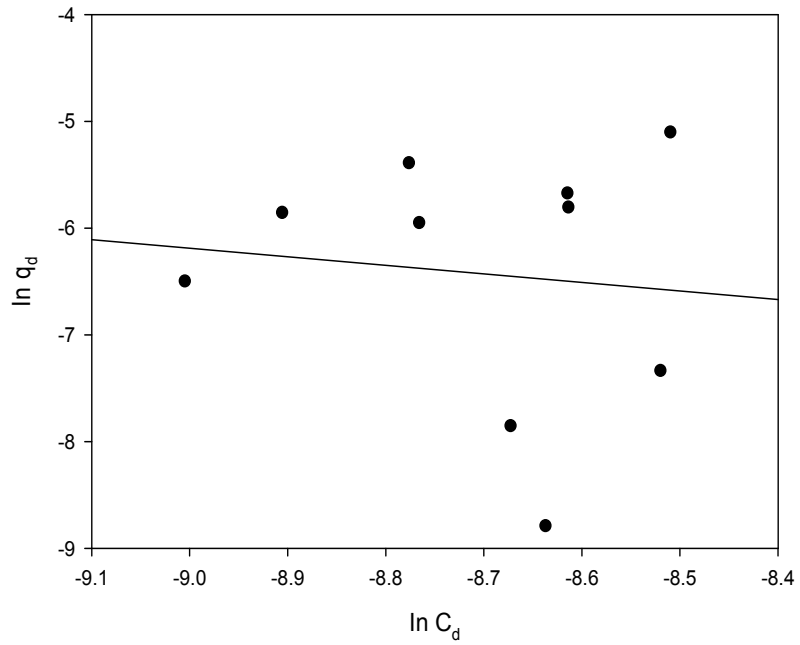


Şekil 3.22. MCapIV Langmuir izoterm modeli

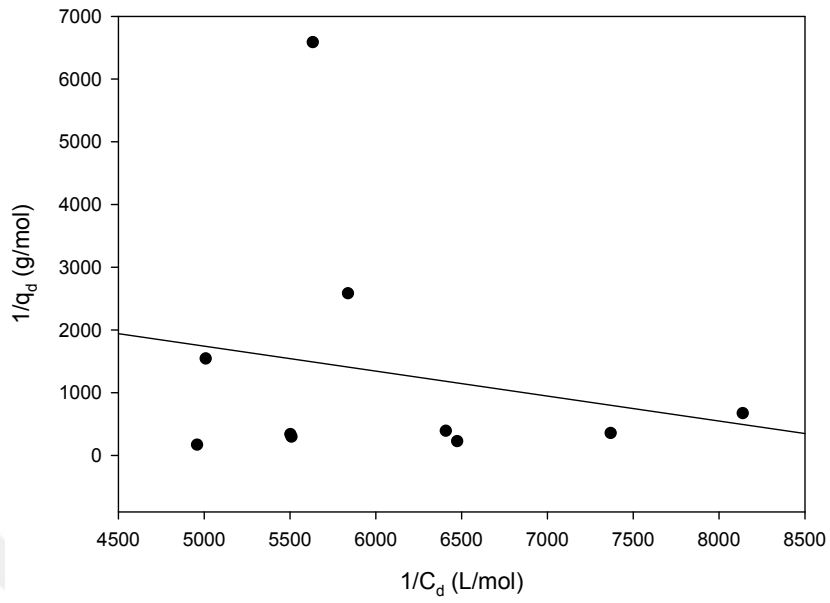




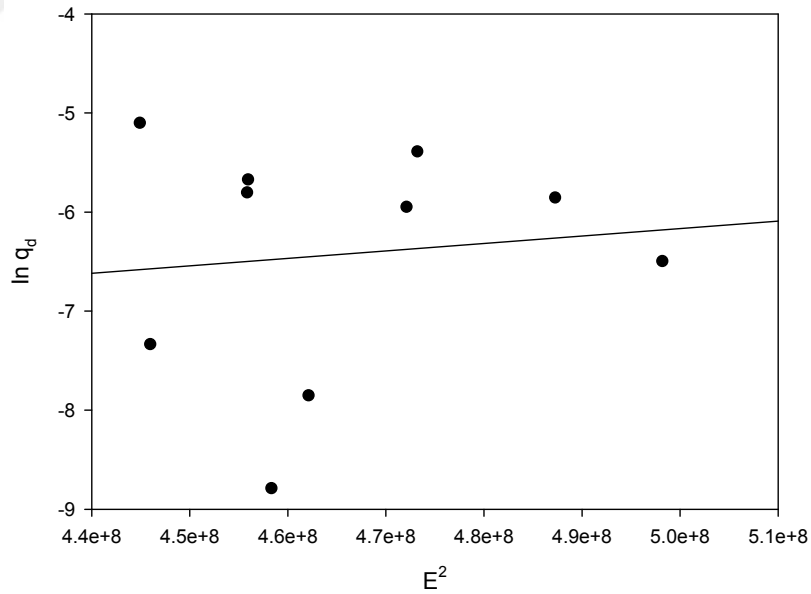
Şekil 3.23. MCapIV D-R izoterm modeli



Şekil 3.24. PEG@MCapIII Freundlich izoterm modeli



Şekil 3.25. PEG@MCapIII Langmuir izoterm modeli



Şekil 3.26. PEG@MCapIII D-R izoterm modeli

**Tablo 3.4.** İlaç adsorpsiyonu için izoterm sabitleri

<b>MCapIII</b>					
<b>Langmuir izotermi</b>		<b>Freundlich izotermi</b>		<b>D-R izotermi</b>	
$q_{\max}$ (mol g <sup>-1</sup> )	3,972x10 <sup>-6</sup>	$n$	4,950	$q_{\max}$ (mol g <sup>-1</sup> )	2,56 x10 <sup>5</sup>
$q_{\max}$ (mg g <sup>-1</sup> )	2,303			$\beta$ (mol <sup>2</sup> kJ <sup>-2</sup> )	2,484x10 <sup>-8</sup>
$K_L$ (L mol <sup>-1</sup> )	1,525x 10 <sup>5</sup>	$K_F$ (L g <sup>-1</sup> )	2,144 x10 <sup>-5</sup>	$E$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	4,48 x10 <sup>5</sup>
$r^2$	0,680	$r^2$	0,265	$r^2$	0,817
<b>MCapIV</b>					
<b>Langmuir izotermi</b>		<b>Freundlich izotermi</b>		<b>D-R izotermi</b>	
$q_{\max}$ (mol g <sup>-1</sup> )	1,027x10 <sup>-5</sup>	$n$	4,830	$q_{\max}$ (mol g <sup>-1</sup> )	2,54 x10 <sup>-5</sup>
$q_{\max}$ (mg g <sup>-1</sup> )	5,956			$\beta$ (mol <sup>2</sup> kJ <sup>-2</sup> )	1,463x10 <sup>-9</sup>
$K_L$ (L mol <sup>-1</sup> )	6,666x 10 <sup>5</sup>	$K_F$ (L g <sup>-1</sup> )	8,149 x10 <sup>-5</sup>	$E$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	7,09 x10 <sup>5</sup>
$r^2$	0,815	$r^2$	0,795	$r^2$	0,796
<b>PEG@MCapIII</b>					
<b>Langmuir izotermi</b>		<b>Freundlich izotermi</b>		<b>D-R izotermi</b>	
$q_{\max}$ (mol g <sup>-1</sup> )	2,678x10 <sup>-4</sup>	$n$	1,246	$q_{\max}$ (mol g <sup>-1</sup> )	4,874 x10 <sup>-5</sup>
$q_{\max}$ (mg g <sup>-1</sup> )	15,5			$\beta$ (mol <sup>2</sup> kJ <sup>-2</sup> )	7,523x10 <sup>-9</sup>
$K_L$ (L mol <sup>-1</sup> )	9,381x 10 <sup>3</sup>	$K_F$ (L g <sup>-1</sup> )	2,61 x10 <sup>-1</sup>	$E$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	8,15 x10 <sup>3</sup>
$r^2$	0,876	$r^2$	0,755	$r^2$	0,011

DOX'un biyosorban üzerine biyosorpsiyonuna ait deneysel veriler Tablo 3.4'te verilmiştir. MCapIII için Langmuir, Freundlich ve Dubinin–Radushkevich izotermelerinin korelasyon kat sayıları sırasıyla 0,680, 0,265 ve 0,817 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen korelasyon katsayılarına bakıldığında, deneysel verilerin D-R izoterm modeli ile uyumlu olduğu

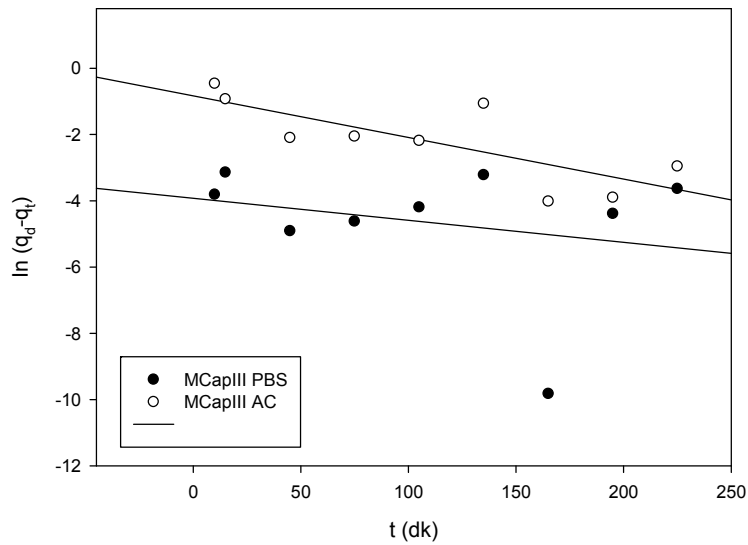
görülmektedir. DOX ile MCapIII'ün kimyasal olarak bağlandığı düşünülmektedir. Ayrıca E değeri 16 kJ/mol den yüksek olması kimyasal adsorpsiyonun varlığını desteklemektedir.

MCapIV'ün deneysel verileri izoterm modelleri ile değerlendirildiğinde ise en yüksek  $r^2$  değeri Langmuir 0,815 olarak bulunmuştur. Langmuir izoterm modelinde biyosorpsiyon enerjisi  $K_L$  değeri  $6,666 \times 10^5$  olarak hesaplanmıştır. Biyosorpsiyon verilerinin Langmuir izoterm modeline uyması ile biyosorpsiyon işleminin biyosorbanın yüzeyine tek tabakalı olarak gerçekleştiği söylenebilir.

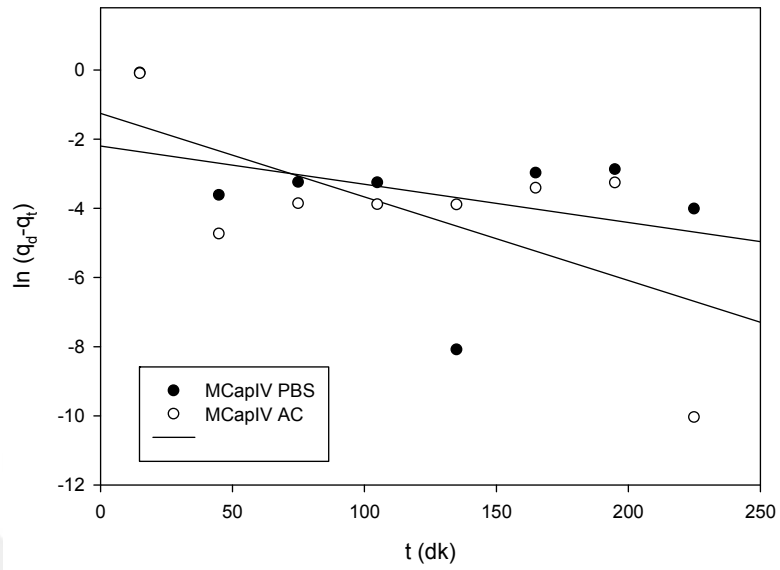
PEG@MCapIII üzerine DOX biyosorpsiyonunun Langmuir izoterm modeli uygulandığında elde edilen korelasyon katsayısı 0,876 olarak en yüksek değere sahiptir. Freundlich izoterm modeline için ise  $r^2$  değeri 0,755 olarak bulunmuştur. Tüm bu sonuçlara göre PEG@MCapIII'ün üzerine DOX biyosorpsiyonu fiziksel ve tek tabakalı olarak gerçekleşmiştir.

### 3.4.2. Kinetik hesaplamalar

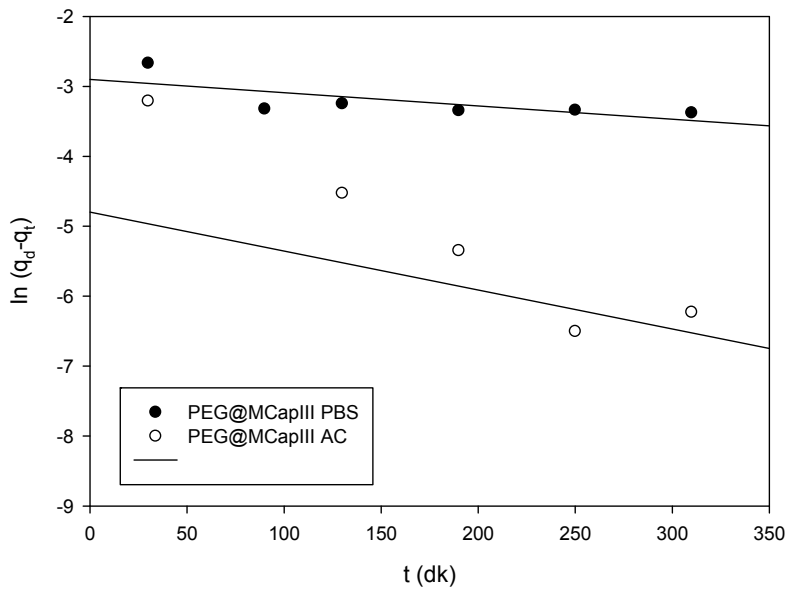
DOX ilacının hazırlanan biyomalzemeler üzerine adsorpsiyon mekanizmalarını belirlemek amacıyla, süre deneysel çalışmalarından elde edilen adsorpsiyon verilerine yalancı-birinci-dereceden ve yalancı-ikinci-dereceden kinetik modelleri uygulanmıştır. Deneysel veriler ile modelin öngördüğü değerler arasındaki uygunluk, korelasyon katsayıları ( $r^2$  değerleri 1'e yakın veya 1'e eşit) ile ifade edilir. Yüksek bir  $r^2$  değeri, modelin DOX adsorpsiyonunun kinetiğini başarıyla tanımladığını gösterir. Uygulanan kinetik modellerin grafikleri aşağıda verilmiştir.



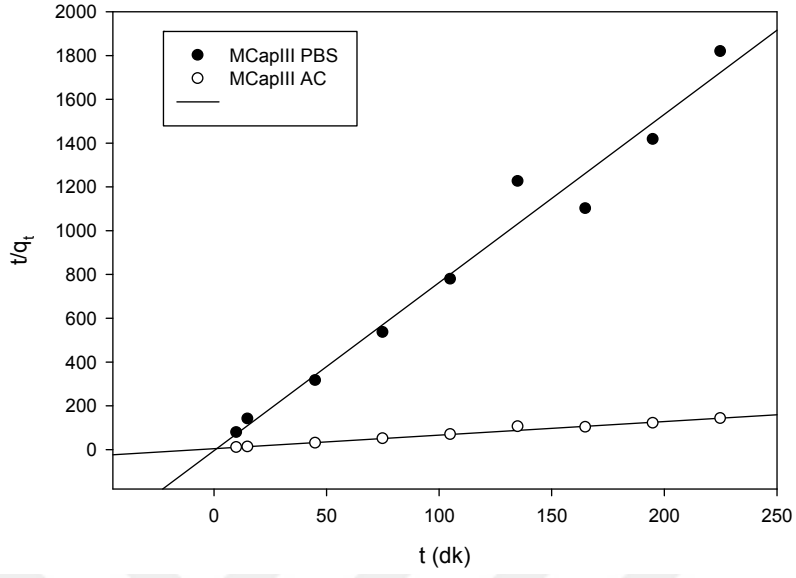
Şekil 3.27. MCapIII ile yalancı-birinci-dereceden kinetik modeli



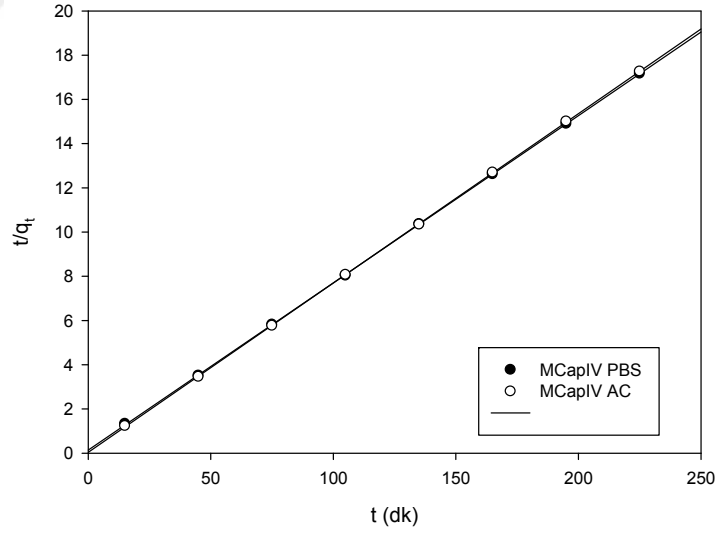
Şekil 3.28. MCapIV ile yalancı-birinci-dereceden kinetik modeli



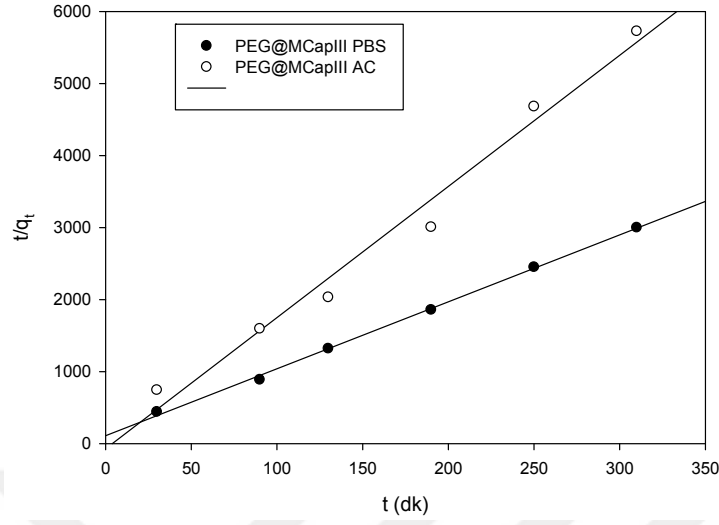
Şekil 3.29. PEG@MCapIII ile yalancı-birinci-dereceden kinetik modeli



Şekil 3.30. MCapIII ile yalancı-ikinci-dereceden kinetik modeli



Şekil 3.31. MCapIV ile yalancı-ikinci-dereceden kinetik modeli



**Şekil 3.32.** PEG@MCApIII ile yalancı-ikinci-dereceden kinetik modeli

Hazırlanan biyomalzemeler üzerine DOX'un biyosorpsiyonuna ait Lagergren yalancı birinci dereceden hız ifadesinden elde edilen  $\ln(1 - \frac{q}{q_t})$  değerlerinin t' ye karşı grafikleri Şekil 3.27, Şekil 3.28 ve Şekil 3.29'da yalancı ikinci dereceden hız ifadesinden elde edilen t/q<sub>t</sub> değerlerinin t' ye karşı grafikleri Şekil 3.30, Şekil 3.31 ve Şekil 3.32'de verilmiştir. Tablo 3.5' deki veriler bu grafiklerin eğim ve kesimlerinden bulunan kinetik parametrelerdir.

Tablo 3.5 incelendiğinde yalancı birinci dereceden kinetik model çalışmasından elde edilen korelasyon katsayılarının her üç biyomalzeme (MCApIII, MCApIV ve PEG@MCApIII) için de yüksek olmadığı görülmektedir. Ayrıca teorik olarak hesaplanan q değerleri de deneysel verilerle uyum sağlamamaktadır. Bu sonuçlara göre, DOX ile her üç biyomalzemenin de biyosorpsiyon mekanizması yalancı-birinci-dereceden kinetik modele uyumlu olmadığı görülmüştür.

Tablo 3.5 de görüldüğü üzere yalancı ikinci dereceden kinetik model çalışmasından elde edilen korelasyon katsayıları 0,980-0,999 aralığında yer almaktadır. Deneysel ve teorik olarak bulunan q değerlerini karşılaştırdığımızda da sonuçların birbirlerine yakın olduğu görülmektedir. Bu nedenle, MCApIII, MCApIV ve PEG@MCApIII üzerine DOX biyosorpsiyonunun yalancı-ikinci-dereceden kinetik modeline uyduğu söylenebilir.

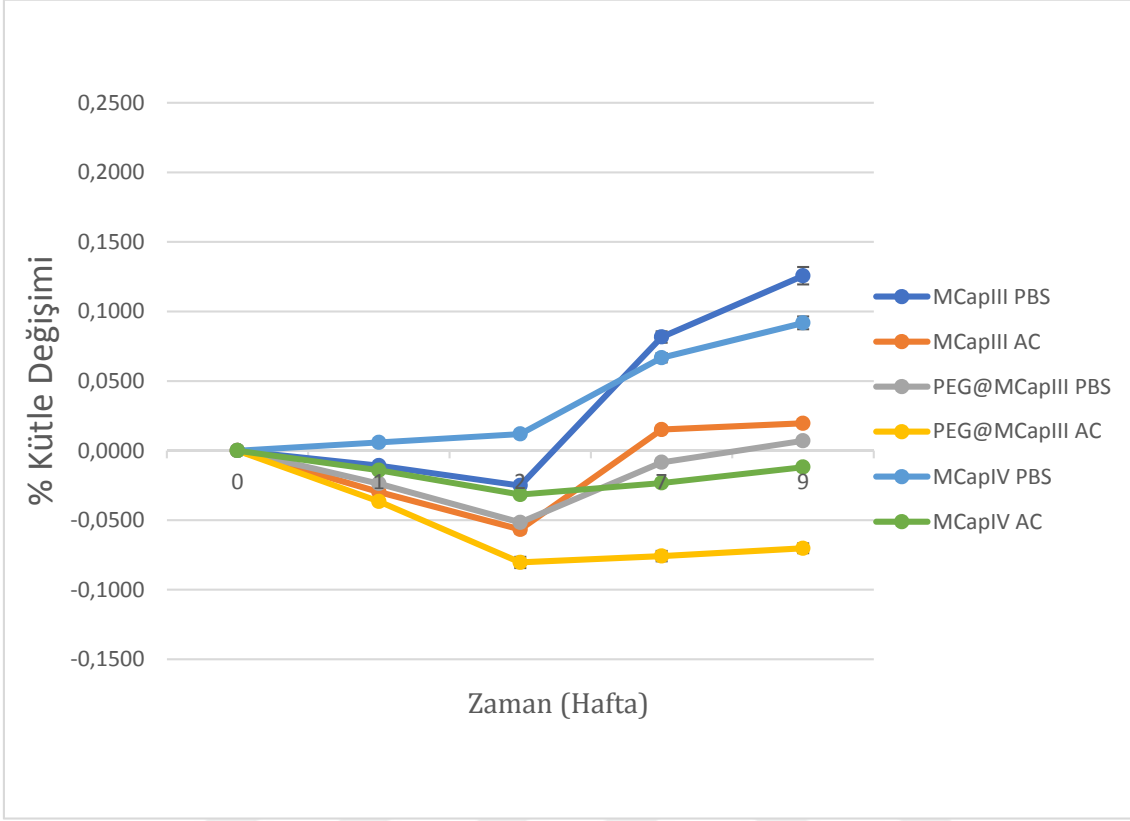
**Tablo 3.5.** İlaç adsorpsiyonu için kinetik parametreler

	Yalancı-birinci-dereceden		Yalancı-ikinci-dereceden
<b>MCapIII PBS</b>			
$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	0,019	$q_e$ (mg/g)	1,130
$k_1$ (dk <sup>-1</sup> )	$6,654 \times 10^{-3}$	$k_2$ (g/mg. dk)	$1,66 \times 10^{-2}$
$r^2$	0,064	$r^2$	0,972
<b>MCapIII AC</b>			
$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	0,433	$q_e$ (mg/g)	1,612
$k_1$ (dk <sup>-1</sup> )	$1,250 \times 10^{-2}$	$k_2$ (g/mg. dk)	$1,91 \times 10^{-2}$
$r^2$	0,601	$r^2$	0,982
<b>MCapIV PBS</b>			
$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	0,110	$q_e$ (mg/g)	1,22
$k_1$ (dk <sup>-1</sup> )	$1,110 \times 10^{-2}$	$k_2$ (g/mg. dk)	$1,95 \times 10^{-2}$
$r^2$	0,136	$r^2$	0,999
<b>MCapIV AC</b>			
$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	0,284	$q_e$ (mg/g)	1,23
$k_1$ (dk <sup>-1</sup> )	$2,400 \times 10^{-2}$	$k_2$ (g/mg. dk)	$2,43 \times 10^{-2}$
$r^2$	0,415	$r^2$	0,998
<b>PEG@MCapIII PBS</b>			
$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	0,054	$q_e$ (mg/g)	1,161
$k_1$ (dk <sup>-1</sup> )	$1,890 \times 10^{-3}$	$k_2$ (g/mg. dk)	$2,39 \times 10^{-2}$
$r^2$	0,521	$r^2$	0,998
<b>PEG@MCapIII AC</b>			
$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	0,082	$q_e$ (mg/g)	1,161
$k_1$ (dk <sup>-1</sup> )	$5,564 \times 10^{-3}$	$k_2$ (g/mg. dk)	$2,13 \times 10^{-2}$
$r^2$	0,100	$r^2$	0,980

### 3.5. Biyobozunurluk Analizi Bulguları

Sentezlenen ilaç taşıyıcı malzemelerin farklı pH ortamlarında zaman içindeki kütle değişimini incelemek üzere pH 7,4 PBS ve pH 5,2 AC tamponunda gerçekleştirilen deneysel çalışmanın bulguları Şekil 3.33'te verilmiştir. Kütlenin zaman içindeki değişimi kümülatif % olarak hesaplanarak grafiğe geçirilmiştir.





**Şekil 3.33.** MCapIII, PEG@MCapIII ve MCapIV'e ait iki farklı pH ortamı ve 37 °C'deki zamana bağlı % kütle değişimi grafiği

Biyobozunurluk analizi bulguları Şekil 3.33'te verilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde, kullanılan tüm malzemelerde ilk 2 haftalık zaman aralığında PBS tamponu içindeki MCapIV dışındaki tüm malzemelerde kütlede azalma gerçekleşmiştir. Bu azalmanın AC tamponu içindeki malzemeler için daha fazla olduğu görülmektedir. Kullanılan malzemeler arasında en fazla kütle kaybı, AC tamponu içinde süspansiyon edilen PEG@MCapIII için tespit edilmiştir. PBS tamponu içindeki MCapIV için kütlede azalma olmamıştır, hatta minimal bir artış gerçekleşmiştir.

2-9. Haftalar arasında ise tüm malzemelerde kütlede artış görülmektedir. Bu artış pH 7,4 ortamındaki MCapIII için en yüksek, pH 5,2 ortamındaki PEG@MCapIII ve MCapIV için en düşük seviyede gerçekleşmiştir.

## 4. BÖLÜM

### TARTIŞMA

İlaç taşıyıcı nanoparçacıkların zeta potansiyel analizi ölçüm sonuçları tablo 1.1’de verilmiştir. Zeta potansiyel değerleri incelendiğinde her üç malzemenin de nispeten düşük (<30MV) bir zeta potansiyele sahip olması, malzemenin öbek/agregat oluşturma potansiyeli bulunduğunu göstermektedir. Ayrıca zeta potansiyel ölçümü ile yüzey yükünün negatif olduğu belirlenmiştir.

DLS yöntemi ile boyut analizi sonuçlarına göre, MCapIV’ün sentezlenen diğer malzemelere kıyasla daha büyük bir parçacık boyut dağılımına sahip olduğu görülmektedir. Bu sonuç SEM analizi sonuçları ile de uyumludur. En küçük parçacık boyutuna sahip olan malzeme 412 nm ile MCapIII olarak belirlenmiştir. Malzemenin PEG ile kaplanması sonucu elde edilen PEG@ MCapIII’ün daha büyük boyut aralığına sahip olması da deneysel akış ile uyumludur.

PDI sonuçları, MCapIV’in geniş bir boyut dağılımına sahip olduğunu göstermektedir. ve PEG@ MCapIII ise daha dar bir boyut dağılımına sahiptir. Özellikle MCapIII için elde edilen PDI sonuçları oldukça dar bir boyut dağılımını göstermektedir.

Elde edilen SEM sonuçlarına göre, sentezlenen ilaç taşıyıcı nanokompozit malzemelerden MCapIV, MCapIII ve PEG@ MCapIII ile kıyasla daha büyük bir parçacık boyutuna sahip olduğu görülmektedir. MCapIII ve PEG@ MCapIII ise daha fazla sayıda nano boyutlu partiküller içeren bir yüzey morfolojisine sahiptir. Her üç malzeme de yüksek bir yüzey alanı ve yoğun gözenek dağılımı sergilemektedir. FTIR çalışması bulguları, sentezleme yönteminin malzemenin kimyasal özellikleri üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (Şekil 3.2 A). Sonokimyasal sentez yöntemi ile elde edilen MCap. III’ün PEG ile kaplı olduğu (Şekil 3.2 B) ve DOX’un taşıyıcı yüzeyine tutunduğu da FTIR analizi sonuçlarından anlaşılmaktadır (Şekil 3.2 C).

Biyouyumluluk ve sitotoksisite deneyleri malzemenin ilaç hedeflendirici olarak güvenli biçimde kullanılabilirliğini ortaya çıkarmak üzere gerçekleştirilmiştir. MTT analizi bulgularına göre, her üç ilaç taşıyıcı malzeme için en düşük konsantrasyon ve en yüksek maruziyet süresinde elde edilen hücre canlılığı verilerine bakıldığında (5 µg/mL, 7 gün) MCapIII’ün kontrol hücrelerine kıyasla %100’e yakın hücre canlılığı değerlerine sahip olduğu görülmektedir (Şekil 3.3). Aynı malzeme için en yüksek maruziyet dozu olan 100. µg/mL konsantrasyonda da 7. günde %60’lık canlılık oranıyla en düşük sitotoksisite oluşturan malzeme olduğu tespit edilmiştir. MCapIV’e bakıldığında her iki zaman noktası ve konsantrasyon için ve özellikle 100 µg/mL konsantrasyonda %25’in altındaki hücre canlılığı oranıyla her üç malzemedenden daha yüksek bir toksik etki oluşturduğu görülmektedir (Şekil 3.5). PEG@MCapIII ise, her iki zaman noktası ve konsantrasyon değeri için MCapIII’e kıyasla daha düşük hücre canlılığı verilerine sahiptir ancak 5 ve 10 µg/mL konsantrasyonda 7 günlük maruziyet sonunda %100’e yakın canlılık değerleri oluşturmaktadır (Şekil 3.4), bu da bu

malzemenin 50 µg/mL ve üzerindeki dozlarının sitotoksik yanıt oluşturduğunu göstermektedir. PEG@MCapIII için zamanla artan hücre canlılığı değerleri, PEG ile kaplama sırasında muhtemel olarak malzeme üzerinde kalmış olan atık maddelerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Maruziyetin ilerleyen günlerinde değiştirilen hücre vasatı ile birlikte kalıntı kimyasalların da ortamdan uzaklaşması, canlılığın zamanla artmasını sağlamış olabilir. LDH analizi verileri de bu durumu doğrulamaktadır.

LDH analizi verileri ile elde edilen grafikler incelediğinde, en yüksek LDH salımının her üç malzeme için de maruziyetin 7. gününde gerçekleştiği görülmüştür. M CapIII'ün verilerine bakıldığında, tüm zaman noktası ve konsantrasyonlarda en düşük LDH salımına sebep olan malzeme olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.6). PEG@MCapIII için ise tam tersi bir durum geçerlidir(Şekil 3.7). Bu bulgu PEG'in bilinen biyouyumlu bir polimer olması nedeniyle beklenmeyen bir sonuçtur ancak, bu sitotoksik etkinin MCapIII'ün PEG ile kaplanması aşamasında kullanılan dimetil formamid ve 3-aminopropil trietoksisilan gibi kimyasal maddelerden gelebilecek kalıntılardan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. 50 µg/mL ve üzerindeki dozlarda görülen sitotoksik etkinin azaltılabilmesi için kaplama prosedürü sonrasında malzemenin daha yoğun bir yıkama işlemine tabi tutulmasının faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Her üç madde için 3. Gün LDH salım miktarları kontrolle aynı veya çok düşük miktardadır.

Hoechst 33258/Propidium Iodide (HO/PI) floresan çift boyama yöntemi ile elde edilen görüntülerde, normal nükleuslu kontrol hücreleri maviye, kondanse nükleuslu erken apoptotik hücreler parlak maviye, membran bütünlüğü bozulmuş geç apoptotik/ sekonder nekrotik hücreler kırmızı ve parlak kırmızı-pembe renge boyanmıştır (Şekil 3.9). Membran bütünlüğü bozulmuş hücrelerde, üst üste bindirilmiş ikili boyama görüntülerinde pembe-mor renge boyanmış hücreler hem PI hem de HO ile çift boyanmış, membran bütünlüğü bozulmuş hücreleri işaret etmektedir (Şekil 3.9). Açık-parlak maviye boyanan hücreler kondanse veya parçalanmış kromatini işaret eder. Kırmızıya boyanan hücreler, normal nükleuslu ölü hücrelerdir. Daha parlak kırmızı-pembeye boyanmış hücreler ise yoğunlaşmış veya parçalanmış apoptotik nükleusa sahip olan membran bütünlüğü bozulmuş geç apoptotik veya nekrotik hücrelerdir.

HO/PI ikili boyama yöntemi ile elde edilen veriler değerlendirildiğinde, 5 µg/mL PEG@MCapIII konsantrasyonunda kontrol hücrelerine kıyasla dramatik bir sitotoksikite artışı gözlenmemiştir. Kullanılan en yüksek toksisite dozu olan 100 µg/mL PEG@MCapIII konsantrasyonunda ise canlı hücre sayısındaki düşüş, membran bütünlüğünün korunamamış olması, nekrotik ve geç apoptotik hücrelerin varlığı sitotoksik etkinin bu konsantrasyonda belirgin hale geldiğini göstermektedir. Bu bulgular LDH testi bulguları ile de uyumludur.

Gerçekleştirilen Mössbauer spektroskopisi analizi sonucunda, iki farklı yöntemle sentezlenen MCapIII ve MCapIV'e ait aşırı ince yapı parametreleri incelendiğinde, her iki malzemede de iki doublet ve bir sekstet yapı oluştuğu görülmektedir. PEG@MCapIII'e ait spektrum ise iki sekstet ve bir doubletten oluşmaktadır. İzomer kayma değerleri, demir atomlarının +3 yüklü olduklarını göstermektedir.

MCapIII için, demir atomlarının yalnızca oktahedral B bölgesine yerleştiği görülürken PEG@MCapIII için hem tetrahedral A hem de oktahedral B bölgelerinde demir atomlarının yerleşik olduğu tespit edilmiştir. MCapIII'ün PEG ile kaplanması sonrasında izomer kayma değerlerinin azalması oktahedral B bölgesinde s elektron yoğunluğunun arttığına göstergesidir. Ayrıca malzemenin iç manyetik alan değerlerinin de artmış olduğu gözlemlenmiştir. Küresel simetrik olmayan bir yük dağılımı asimetric bir elektrik alana sebep olur, bu da nükleer enerji seviyelerinde kaymaya sebep olur. Nükleer enerji seviyeleri ile elektrik alan gradyenti arasındaki etkileşim kuadrupol kaymanın nedenidir. Spektrumda doublet olarak tanımlanan ikili bir pik olarak görülür. Bu iki pik arasındaki mesafeden Q.S. değeri belirlenir. Q.S. değeri kristal yapının simetrisi ve yerel bozulma hakkında bilgi verir (Tablo 3.2). MCapIII ve PEG@MCapIII için ferromanyetik fazın Q.S. değeri ihmal edilebilir seviyededir. Bu da PEG ile kaplamanın çekirdeğin simetrisi üzerinde etkisi olmadığını göstermektedir. MCapIV'te ferromanyetik faz oluşumu gözlenmemiştir. Bu bulgu, farklı yöntemle sentezlenen MCapIII ve PEG@MCapIII için paramanyetik veya süperparamanyetik özelliğin daha fazla olduğu hakkında bilgi vermektedir.

DOX taşıyıcı manyetik MCapIII, PEG@MCapIII ve MCapIV'ün ilaç salım profillerine bakıldığında, MCapIV'ün pH'a duyarlı bir salım profili sergilediği görülmüştür. pH 5'te ilaç salım oranı %23'le sınırlı kalırken, pH7,2'de %100'e yakın değerlerde ilaç salım davranışı göstermektedir. MCapIII ve PEG@MCapIII için pH farkı ilaç salım davranışı üzerinde belirgin bir etki yaratmamıştır, ancak her iki malzeme de pH 5 koşullarında bir miktar daha fazla ilaç salmaktadır. MCapIV için pH'ın bu etkisinin nedeni, yüzey yükünün diğer malzemelere kıyasla daha negatif olması ile açıklanabilir. Asidik pH'ta DOX yüzeyinde hidroksil ve amin grupları ile MCapIV yüzeyi arasında daha kuvvetli bir hidrofilik-hidrofobik etkileşim olabileceği, bu nedenle bu pH değerinde ilacın ortama salınmak yerine yüzeye tutunduğu düşünülmektedir. PEG@MCapIII için ilaç salım profili incelendiğinde, ilk 30 dakikada %40 DOX salımı gerçekleştirdiği görülmüştür. Bu durum, ani salım veya patlama etkisi (burst effect) olarak yorumlanabilir. Daha sonraki zaman noktalarında daha kontrollü bir salım gerçekleşmiş ve ilaç pH 5 ortamında yaklaşık %74'e, pH 7,4'te ise %64'e varan salım miktarları gözlenmiştir. MCapIII için, ani patlama etkisi diğer malzemelere kıyasla çok daha belirgin bir şekilde ortaya çıkmıştır. İlk 10 dk. içinde taşıdığı DOX'un %40'ını salmış, sonrasında ise yine nispeten hızlı bir salım sergileyerek 165 dk. içinde %100 salım değerine ulaşmıştır. Bu ani salım etkisi, malzemenin PEG ile kaplanmasıyla azalmış ve daha kontrollü bir salım yapılabilmesi mümkün olmuştur.

İlaç konsantrasyonu deneyinden elde edilen deneysel veriler Langmuir, Freundlich ve Dubinin-Radushkevich izoterm verileri değerlendirilmiştir. Deneysel veriler Langmuir izoterm verileriyle uyumludur. Bu sonuç DOX'un biyokompozit malzeme yüzeyine tek tabakalı olarak adsorbe olduğunu göstermektedir.

Şekil 3.3'te verilmiş olan biyobozunurluk analizi bulgularına göre, kullanılan tüm malzemelerde ilk 2 haftalık zaman aralığında PBS tamponu içindeki MCapIV dışındaki tüm malzemelerde kütlede azalma gerçekleşmiştir. Bu azalmanın AC tamponu içindeki malzemeler için daha fazla olduğu görülmektedir. Kullanılan malzemeler arasında en fazla kütle kaybı, AC tamponu içinde süspanse edilen PEG@MCapIII için tespit edilmiştir (%0,08). PBS tamponu içindeki MCapIV için kütlede azalma olmamıştır, hatta minimal bir artış (%0,01) gerçekleşmiştir.

2-9. Haftalar arasında ise tüm malzemelerde kütle artışı görülmektedir. Bu artış pH 7,4 ortamındaki MCapIII için en yüksek (%0,13), pH 5,2 ortamındaki PEG@MCapIII ve MCapIV için en düşük seviyede (%0,07 ve %0,01) gerçekleşmiştir. pH 5,2'de tüm malzemelerdeki kütle artışı daha düşük oranda gerçekleşmiştir.

İlk haftalarda gerçekleşen kütle düşüşünün malzeme yüzeyinden bir miktar biyobozunur kaparinin ve PEG'in ayrılmış olması ile, daha sonra gerçekleşen kütle artışının ise 37°C deki etüvde kurutma şartlarında malzeme yüzeyindeki atomların havanın oksijeni ile reaksiyona girerek oksitlenmesi ile olabileceği düşünülmektedir. Elde edilen bulgular malzeme yüzeyinin PEG ile kaplanmasının özellikle pH 5,2'de malzemeyi oksitlenmekten koruduğunu göstermiştir. pH 7,2'de en düşük kütle artışı ve oksitlenme düzeyi yine PEG@MCapIII için tespit edilmiştir (%0,007). Bu bulgu da PEG ile kaplamanın malzemeyi oksitlenmeye karşı koruyucu etkisini ortaya koymaktadır.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, hedefe yönelik ilaç salınımı yapabilen biyoyumlu bir nano biyokompozit malzeme hazırlanarak ilaç taşıyıcı olarak kullanımı üzerine araştırma yapılmıştır. Araştırma bulguları, sentezlenen manyetik özellikli ilaç taşıyıcı malzemelerden MCapIII, PEG@McapIII ve MCapIV'ün ilaç taşıma ve salım potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Elde edilen malzemelerden biyoyumluluğu ve ilaç tutma kapasitesi en yüksek olan MCapIII, PEG ile kaplanmıştır. PEG ile kaplama ilacın daha kontrollü salımına olanak sağlamış, aynı zamanda mazemeyi oksidasyona karşı koruduğu da belirlenmiştir. Ayrıca PEG'in ilacın dolaşımında kalma süresine de katkıda bulunacağı ve daha etkin bir hedeflendirmeye olanak sağlayacağı düşünülmektedir. Bu malzemelerin güvenli biyoyumlu dozları tespit edilmiş ve sitotoksikite oluşturabilecek faktörler belirlenmiştir. Bulgular PEG@McapIII'ün ideal bir harici manyetik alan kontrollü ilaç salım sistemi olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Kolay ve ucuz ve çevre dostu bir yöntemle sentezlenmiş olması, manyetik alan etkisi ile yönlendirilebilir olması, sitotoksik olmaması ve ilaç yükleme-bırakma, kontrollü salım fonksiyonu taşıması sayesinde elde edilen biyomalzemenin sağlık alanında kullanıma uygun olabileceği ortaya konmuştur.

Sentezlenen malzemelerin uygulamaya yönelik potansiyeli, genişletilmiş analizler ve in vitro deneyler de yapılarak arttırılabilir. Uygun farklı ilaçların hedeflendirilmesi için de kullanılarak daha geniş bir kullanım alanı yaratılabilir. Ayrıca biyosensör uygulamaları gibi farklı biyomedikal ve sağlık alanları için de biyomalzeme olarak kullanılabilirliği araştırılabilir. Çalışmanın devamı niteliğinde gerçekleştirilecek bu araştırma adımları sayesinde çok fonksiyonlu bir nanobiyomalzeme elde etme potansiyelinin yüksek olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKÇA

- Akman, F. E. Meme kanseri hücreleri üzerine sarımsak (*Allium sativum*) ve mantar (*Laetiporus sulphureus*) ekstraktlarının etkileri. (2017)
- Ali, A. H. (2022). High-Performance Liquid Chromatography ( HPLC ): A review. <https://doi.org/10.29328/journal.aac.1001026>
- Alishiri, M., Ebrahimi, S., Shamloo, A., Boroumand, A., & Mofrad, M. R. (2021). Drug delivery and adhesion of magnetic nanoparticles coated nanoliposomes and microbubbles to atherosclerotic plaques under magnetic and ultrasound fields. *Engineering Applications of Computational Fluid Mechanics*, 15(1), 1703-1725.
- Ansari, S. H., Islam, F., & Sameem, M. (2012). Influence of nanotechnology on herbal drugs: A Review. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 3(3), 142
- Aslan, A., 2020. Badem Kabuğu Ve Kayısı Çekirdeği Kabuğu Kullanılarak Sabit Yataklı Kolonda Adsorpsiyon İle Sulu Çözeltilerden Boyar Madde Giderimi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Aswathanarayan, J. B., & Vittal, R. R. (2019). Nanoemulsions and their potential applications in food industry. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3, 95.
- Ayawei, N., Ebelegi, A. N., & Wankasi, D. (2017). Modelling and interpretation of adsorption isotherms. *Journal of chemistry*, 2017.
- Aydin, N. E. (2020). Effect of temperature on drug release: production of 5-FU-encapsulated hydroxyapatite-gelatin polymer composites via spray drying and analysis of in vitro kinetics. *International Journal of Polymer Science*, 2020.
- Bae, YH ve Park, K. (2011). Tümörlere hedefli ilaç dağıtımı: mitler, gerçeklik ve olasılık. *Kontrollü salınım günlüğü*, 153 (3), 198.
- Balçı, A., 2018. Astrazon Kırmızısı Ve Astrazon Mavisinin Ticari Aktif Karbon Üzerine Adsorpsiyonu Ve Adsorpsiyon Prosesinin Optimizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kilis.
- Bazak, R., Hourı, M., El Achy, S., Hussein, W., & Refaat, T. (2014). Passive targeting of nanoparticles to cancer: A comprehensive review of the literature. *Molecular and clinical oncology*, 2(6), 904-908.
- Benakashani, F., Allafchian, A. R., & Jalali, S. A. H. (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Capparis spinosa* L. leaf extract and their antibacterial activity. *Karbala International Journal of Modern Science*, 2(4), 251-258.
- Benzidane, N., Aichour, R., Guettaf, S., Laadel, N., Khennouf, S., Baghiani, A., & Arrar, L. (2020). Chemical investigation, the antibacterial and antifungal activity of different parts of *Capparis spinosa* extracts. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(5), 118-125.
- Bharali, D. J., Khalil, M., Gurbuz, M., Simone, T. M., & Mousa, S. A. (2009). Nanoparticles and cancer therapy: a concise review with emphasis on dendrimers. *International journal of nanomedicine*, 4, 1.
- Cao, H., Li, C., Qi, W., Meng, X., Tian, R., Qi, Y., ... & Li, J. (2017). Synthesis, cytotoxicity and antitumour mechanism investigations of polyoxometalate doped silica nanospheres on breast cancer MCF-7 cells. *PLoS One*, 12(7), e0181018.
- Carvalho, C., Santos, R. X., Cardoso, S., Correia, S., Oliveira, P. J., Santos, M. S., & Moreira, P. I. (2009). Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect. *Current medicinal chemistry*, 16(25), 3267-3285.
- Chen, B., Dai, W., He, B., Zhang, H., Wang, X., Wang, Y., & Zhang, Q. (2017). Current multistage drug delivery systems based on the tumor microenvironment. *Theranostics*, 7(3), 538.

- Cho, K., Wang, X. U., Nie, S., Chen, Z., & Shin, D. M. (2008). Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. *Clinical cancer research*, 14(5), 1310-1316.
- Chu, E. ve Sartorelli, AC (2018). Kanser kemoterapisi. *Lange's Basic and Clinical Pharmacology*, 948-976.
- Cui, G., Wang, H., Long, S., Zhang, T., Guo, X., Chen, S.,... & Zhao, D. (2022). Thermo-and Light-Responsive Polymer-Coated Magnetic Nanoparticles as Potential Drug Carriers. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 10, 931830.
- Ding, C., Tong, L., Feng, J., & Fu, J. (2016). Recent advances in stimuli-responsive release function drug delivery systems for tumor treatment. *Molecules*, 21(12), 1715.
- Dresselhaus, M. S., Dresselhaus, G., & Jorio, A. (2004). Unusual properties and structure of carbon nanotubes. *Annual Review of Materials Research*, 34(1), 247-278.
- Ebrahimi, K., Shiravand, S., & Mahmoudvand, H. (2017). Biosynthesis of copper nanoparticles using aqueous extract of Capparis spinosa fruit and investigation of its antibacterial activity. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(4), 866-871.
- Ersöz, M., Işıtan, A., & Balaban, M. (2018). *Nanoteknoloji 1. BilalOfest Basım-Yayın &Matbaacılık*.
- Esmail, S., L., 2018. Optimization of toluidine blue biosorption conditions from aqueous solutions by [polyporus squamosus] fungi as absorbent with response surface method-ology. Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Eynur, S.A., 2016. Xad-7 Reçinesi Üzerindeki Kongo Kırmızısının Adsorpsiyon İzotermelerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Fink, M., Rupitsch, S. J., Ermert, H., & Lyer, S. (2020). In Vivo Study on Magnetomotive Ultrasound Imaging in the Framework of Nanoparticle based Magnetic Drug Targeting. *Current Directions in Biomedical Engineering*, 6(3), 543-546.
- Gedanken, A. (2003). Sonochemistry and its application to nanochemistry. *Current science*, 1720-1722.
- Gedanken, A. (2004). Ultrasonic sonochemistry invited contributions-part of an occasional series reviewing "hot topics" in sonochemistry: using sonochemistry for the fabrication of nanomaterials. *Ultrason. Sonochem*, 11, 47-55.
- Ghosh, A., Islam, M. S., & Saha, S. C. (2020). Targeted drug delivery of magnetic nano-particle in the specific lung region. *Computation*, 8(1), 10.
- Heidarshenas, B., Wei, H., Moghimi, Z. A., Hussain, G., Baniasadi, F., & Naghieh, G. (2019). *Nanowires in magnetic drug targeting*. (January), 2-9.
- Hepel, M. (2020). Magnetic nanoparticles for nanomedicine. *Magnetochemistry*, 6(1), 3.
- Ho, Y. S., & McKay, G. (1999). Pseudo-second order model for sorption processes. *Process biochemistry*, 34(5), 451-465.
- Hovhannisyan, V., Siposova, K., Musatov, A., & Chen, S. J. (2021). Development of multifunctional nanocomposites for controlled drug delivery and hyperthermia. *Scientific reports*, 11(1), 1-10.
- Huang, F., You, M., Chen, T., Zhu, G., Liang, H., & Tan, W. (2014). Self-assembled hybrid nanoparticles for targeted co-delivery of two drugs into cancer cells. *Chemical Communications*, 50(23), 3103-3105.
- Hwang, N., & Barron, A. R. (2011). BET surface area analysis of nanoparticles. *The Connexions project*, 1-11.
- Johnson-Arbor, K., & Dubey, R. (2017). Doxorubicin.
- Jung, F., Nothnagel, L., Gao, F., Thurn, M., Vogel, V., & Wacker, M. G. (2018). A comparison of two biorelevant in vitro drug release methods for nanotherapeutics based on advanced physiologically-



based pharmacokinetic modelling. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 127, 462-470.

Karaagac, O., & Köçkar, H. (2022). Improvement of the saturation magnetization of peg coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 551, 169140.

Keçeloğlu, G. (2020). Manyetik nanoparçacıkların pankreas kanser hücre hattına özgü DNA nanoparçacıkları ile modifikasyonu yoluyla hücreye hedeflendirilmesi (Master's thesis, İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

Kılıç, E., 2014. Preparation Of Chitosan-Zeolite Composites For Adsorption Of Textile Dyes And Analyses Of Adsorption Kinetics. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Koo, K. N., Ismail, A. F., Othman, M. H. D., Bidin, N., & Rahman, M. A. (2019). Preparation and characterization of superparamagnetic magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles: A short review. *Malaysian J. Fundam. Appl. Sci*, 15(1), 23-31.

Koufan, M., Belkoura, I., & Mazri, M. A. (2022). In Vitro Propagation of Caper (*Capparis spinosa* L.): A Review. *Horticulturae*, 8(8), 737.

Kumar, V. (2019). Adsorption kinetics and isotherms for the removal of rhodamine B dye and Pb<sup>2+</sup> ions from aqueous solutions by a hybrid ion-exchanger. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(3), 316-329.

Lagergren, S. K. (1898). About the theory of so-called adsorption of soluble substances. *Sven. Vetenskapsakad. Handlingar*, 24, 1-39.

Liang, P. C., Chen, Y. C., Chiang, C. F., Mo, L. R., Wei, S. Y., Hsieh, W. Y., & Lin, W. L. (2016). Doxorubicin-modified magnetic nanoparticles as a drug delivery system for magnetic resonance imaging-monitoring magnet-enhancing tumor chemotherapy. *International journal of nanomedicine*, 2021-2037.

Liu, D., Yang, F., Xiong, F., & Gu, N. (2016). The smart drug delivery system and its clinical potential. *Theranostics*, 6(9), 1306.

Lombardo, D., Kiselev, M. A., & Caccamo, M. T. (2019). Smart nanoparticles for drug delivery application: development of versatile nanocarrier platforms in biotechnology and nanomedicine. *Journal of nanomaterials*, 2019.

Lu, H., Wang, J., Wang, T., Zhong, J., Bao, Y. ve Hao, H. (2016). İlaç dağıtım uygulamaları için nanoyapılarda son gelişmeler. *Nanomalzemeler Dergisi* , 2016 .

Lübbe, A. S., Alexiou, C., & Bergemann, C. (2001). Clinical applications of magnetic drug targeting. *Journal of Surgical Research*, 95(2), 200-206.

Maiti, S., Shaw, S., & Shit, G. C. (2021). Fractional order model of thermo-solutal and magnetic nanoparticles transport for drug delivery applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 203, 111754.

Mamani, J. B., Gamarra, L. F., & Brito, G. E. D. S. (2014). Synthesis and characterization of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles with perspectives in biomedical applications. *Materials Research*, 17, 542-549.

Mandpe, S. R., Parate, V. R., & Naik, J. B. (2022). Experimental design approach, screening and optimization of system variables, analytical method development of flurbiprofen in nanoparticles and stability-indicating methods for high-pressure liquid chromatography. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 1-21.

Mannu, R., Karthikeyan, V., Velu, N., Arumugam, C., Roy, V. A., Gopalan, A. I., ... & Kannan, V. (2021). Polyethylene glycol coated magnetic nanoparticles: Hybrid nanofluid formulation, properties and drug

delivery prospects. *Nanomaterials*, 11(2), 440.

Martinho, N., Damge, C. ve Reis, CP (2011). İlaç dağıtım sistemlerindeki son gelişmeler. *Biyomalzemeler ve nanobiyoteknoloji Dergisi*, 2 (05), 510.

McCammon, C. (1995). Mössbauer spectroscopy of minerals. *Mineral physics and crystallography: A handbook of physical constants*, 2, 332.

Moghanizadeh, A., Ashrafizadeh, F., Varshosaz, J., & Ferreira, A. (2021). Study the effect of static magnetic field intensity on drug delivery by magnetic nanoparticles. *Scientific Reports*, 11.

Mohammed, A., & Abdullah, A. (2018, November). Scanning electron microscopy (SEM): A review. In *Proceedings of the 2018 International Conference on Hydraulics and Pneumatics—HERVEX, Băile Govora, Romania* (pp. 7-9).

Mou, X., Ali, Z., Li, S., & He, N. (2015). Applications of magnetic nanoparticles in targeted drug delivery system. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 15(1), 54-62.

Movileanu, C., Anghelache, M., Turtoi, M., Voicu, G., Neacsu, I. A., Ficai, D.,... & Calin, M. (2022). Folic acid-decorated PEGylated magnetite nanoparticles as efficient drug carriers to tumor cells overexpressing folic acid receptor. *International Journal of Pharmaceutics*, 625, 122064.

Narmani, A., Kamali, M., Amini, B., Salimi, A., & Panahi, Y. (2018). Targeting delivery of oxaliplatin with smart PEG-modified PAMAM G4 to colorectal cell line: In vitro studies. *Process Biochemistry*, 69, 178-187.

Ni, F., Jiang, L., Yang, R., Chen, Z., Qi, X., & Wang, J. (2012). Effects of PEG length and iron oxide nanoparticles size on reduced protein adsorption and non-specific uptake by macrophage cells. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 12(3), 2094-2100.

Öncel, P. (2013). İlaç Salımı İçin Moleküler Baskılanmış Kriyojel Membranlar.

Özdemir, F.A., 2008. Atıksulardan Boya Giderimi İçin Yeni Bir Yöntem. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Palmerston Mendes, L., Pan, J., & Torchilin, V. P. (2017). Dendrimers as nanocarriers for nucleic acid and drug delivery in cancer therapy. *Molecules*, 22(9), 1401.

Parambath, A. (Ed.). (2018). *Engineering of biomaterials for drug delivery systems: beyond polyethylene glycol*. Woodhead Publishing.

Pathak, Y. V. (Ed.). (2019). *Surface modification of nanoparticles for targeted drug delivery*. Cham, Switzerland: Springer International Publishing.

Pourradi, N. M. A., Babaei, H., Hamishehkar, H., Baradaran, B., Shokouhi-Gogani, B., Shanehbandi, D.,... & Azarmi, Y. (2022). Targeted delivery of doxorubicin by Thermo/pH-responsive magnetic nanoparticles in a rat model of breast cancer. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 446, 116036.

Rahmati, M. A., Rashidzadeh, H., Hosseini, M. J., Sadighian, S., & Kermanian, M. (2022). Self-assembled magnetic polymeric micelles for delivery of quercetin: Toxicity evaluation on isolated rat liver mitochondria. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 33(3), 279-298.

Rezaeian, M., Soltani, M., Naseri Karimvand, A., & Raahemifar, K. (2022). Mathematical modeling of targeted drug delivery using magnetic nanoparticles during intraperitoneal chemotherapy. *Pharmaceutics*, 14(2), 324.

Saifi, N., Ibjibjen, J., & Echchgadda, D. (2011). Genetic diversity of caper plant (*Capparis* ssp.) from North Morocco. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 9(3-4), 299-304.

Samari, F., Baluchi, L., Salehipoor, H., & Yousefinejad, S. (2019). Controllable phyto-synthesis of cupric oxide nanoparticles by aqueous extract of *Capparis spinosa* (caper) leaves and application in iron

sensing. *Microchemical Journal*, 150, 104158.

Siafaka, P. I., Üstündağ Okur, N., Karavas, E., & Bikiaris, D. N. (2016). Surface modified multifunctional and stimuli responsive nanoparticles for drug targeting: current status and uses. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1440.

Song, L., Zang, F., Song, M., Chen, G., & Zhang, Y. (2015). Effective PEGylation of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanomicelles for in vivo MR imaging. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 15(6), 4111-4118.

Stratton, M. R., Campbell, P. J., & Futreal, P. A. (2009). The cancer genome. *Nature*, 458(7239), 719-724.

Subramanian, P. (2021). Lipid-based nanocarrier system for the effective delivery of nutraceuticals. *Molecules*, 26(18), 5510.

Şah, P. (2006). İlaç dağıtımı için nanoteknolojilerin kullanımı. *MRS bülteni*, 31 (11), 894-899.

Tang, H., Zhou, W., Zhang, L., 2012. Adsorption isotherms and kinetics studies of malachite green on chitin hydrogels. *Journal of Hazardous Materials*, 209, 218-225.

Thomas, R. G., Surendran, S. P., & Jeong, Y. Y. (2020). Tumor microenvironment-stimuli responsive nanoparticles for anticancer therapy. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7, 610533.

Tosun, İ. (2009). *Alünit-Potasyum Klorür Karışımı Termal Bozunma Ürününün Sulu Çözeltilerden Boya ve Fosfat Gideriminde Kullanılabilirliği* (Doktora Tezi), Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Unsoy, G., Khodadust, R., Yalcın, S., Mutlu, P., & Gunduz, U., 2014. Synthesis Of Doxorubicin Loaded Magnetic Chitosan Nanoparticles For Ph Responsive Targeted Drug Delivery *European Journal Of Pharmaceutical Sciences Synthesis Of Doxorubicin Loaded Magnetic Chitosan Nanoparticles For Ph Responsive Targeted Drug Delivery. European Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 62(June), 243-250.

Vilar, G., Tulla-Puche, J. ve Albericio, F. (2012). Polimerler ve ilaç taşıyıcı sistemler. *Güncel ilaç dağıtımı*, 9 (4), 367-394.

Vinogradov, S. V. (2010). Nanogels in the race for drug delivery. *Nanomedicine*, 5(2), 165-168.

Von Hoff, D. D., Layard, M. W., Basa, P., DAVIS Jr, H. L., Von Hoff, A. L., Rozenzweig, M., & Muggia, F. M. (1979). Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Annals of internal medicine*, 91(5), 710-717.)

Voronin, D. V., Abalymov, A. A., Svenskaya, Y. I., & Lomova, M. V. (2021). Key Points in remote-controlled drug delivery: From the carrier design to clinical trials. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9149.

Wan, S., Huang, J., Yan, H., & Liu, K. (2006). Size-controlled preparation of magnetite nanoparticles in the presence of graft copolymers. *Journal of Materials Chemistry*, 16(3), 298-303.

Wang, J., Li, S., Han, Y., Guan, J., Chung, S., Wang, C., & Li, D. (2018). Poly (ethylene glycol)-polylactide micelles for cancer therapy. *Frontiers in pharmacology*, 9, 202.

Wang, W., Tang, B., Ju, B., & Zhang, S. (2015). Size-controlled synthesis of water-dispersible superparamagnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoclusters and their magnetic responsiveness. *RSC advances*, 5(92), 75292-75299.

Wang, Y. F., Liu, L., Xue, X., & Liang, X. J. (2017). Nanoparticle-based drug delivery systems: What can they really do in vivo?. *F1000Research*, 6(681), 681.

Wang, Y., Sun, Y., Wang, J., Yang, Y., Li, Y., Yuan, Y., & Liu, C. (2016). Charge-reversal APTES-modified mesoporous silica nanoparticles with high drug loading and release controllability. *ACS applied materials & interfaces*, 8(27), 17166-17175.

Wu, M., & Huang, S. (2017). Magnetic nanoparticles in cancer diagnosis, drug delivery and treatment. *Molecular and clinical oncology*, 7(5), 738-746.

Yadav, N., Khatak, S., & Sara, U. S. (2013). Solid lipid nanoparticles-a review. *Int. J. Appl. Pharm*, 5(2), 8-18.

Yu, X., Trase, I., Ren, M., Duval, K., Guo, X., & Chen, Z. (2016). Design of nanoparticle-based carriers for targeted drug delivery. *Journal of nanomaterials*, 2016.

Zahn, D., Klein, K., Radon, P., Berkov, D., Erokhin, S., Nagel, E.,... & Dutz, S. (2020). Investigation of magnetically driven passage of magnetic nanoparticles through eye tissues for magnetic drug targeting. *Nanotechnology*, 31(49), 495101.

Zarei, M., Seyedi, N., Maghsoudi, S., Nejad, M. S., & Sheibani, H. (2021). Green synthesis of Ag nanoparticles on the modified graphene oxide using Capparis spinosa fruit extract for catalytic reduction of organic dyes. *Inorganic Chemistry Communications*, 123, 108327.

Zhang, X., Luo, M., Wang, E., Zheng, L., & Shu, C. (2020). Numerical simulation of magnetic nano drug targeting to atherosclerosis: Effect of plaque morphology (stenosis degree and shoulder length). *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 195, 105556.

Zhou, Y., Han, Y., Li, G., Yang, S., Xiong, F., & Chu, F. (2019). Preparation of targeted lignin-based hollow nanoparticles for the delivery of doxorubicin. *Nanomaterials*, 9(2), 188.

Erişim tarihi:01.12.2022

<https://www.rsc.org/membership-and-community/connect-with-others/through-interests/interest-groups/mossbauer/>

Erişim tarihi:01.12.2022

[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\\_Textbook\\_Maps/Supplemental\\_Modules\\_\(Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\)/Spectroscopy/Mossbauer\\_Spectroscopy](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Mossbauer_Spectroscopy)

Erişim tarihi:01.12.2022

<https://www.rsc.org/membership-and-community/connect-with-others/through-interests/interest-groups/mossbauer/>

Erişim tarihi: 01.12.2022

<https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/139288-An-Overview-of-the-Zeta-Potential-Part-3-Uses-and-Applications/>

Erişim tarihi: 01.12.2022

<http://nanocomposix.com/pages/characterization-techniques>

Erişim tarihi: 01.12.2022

<http://www.fritsch-international.com/particle-sizing/fritsch-knowledge/hydrodynamic-diameter/>

Erişim tarihi: 01.12.2022

<https://www.gardenia.net/plant/capparis-spinosa>

Erişim tarihi: 01.12.2022

**Kaynak:**[https://serc.carleton.edu/research\\_education/geochemsheets/techniques/mossbauer.html](https://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/mossbauer.html)

