T.C.

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

κ-Karagenan Kopolimerlerin Sentezlenmesi ve Taşıyıcı Sistemlerinin Geliştirilmesi

Gülcan GEYİK

EKİM 2020

Kimya Anabilim Dalında Gülcan GEYİK tarafından hazırlanan κ-KARAGENAN KOPOLİMERLERİN SENTEZLENMESİ VE TAŞIYICI SİSTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ adlı Doktora Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

.

Prof. Dr. Sevil ÇETİNKAYA
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Doktora Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN
Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan	: Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU
Üye (Danışman)	: Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN
Üye	: Doç. Dr. Zülfikar TEMOÇİN
Üye	: Doç. Dr. Ebru KONDOLOT SOLAK
Üye	: Doç. Dr. Emine BULUT

09/10/2020

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Doktora derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Recep ÇALIN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Κ-KARAGENAN KOPOLİMERLERİN SENTEZLENMESİ VE TAŞIYICI SİSTEMLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

GEYİK, GÜLCAN
Kırıkkale Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı, Doktora Tezi
Danışman: Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN
Ekim 2020, 191 sayfa

Tez çalışmasında, κ-karagenan (KRG) polimerine N,N-dimetilaminoetil metakrilat/ akrilik asit (DMAEMA/AA) monomerleri birlikte aşılanarak sıcaklık ve pH duyarlı KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimeri sentezlendi. İkinci aşı kopolimer olarak da κ-karagenan polimerine 2-hidroksipropil metakrilamid (HPMA) monomeri aşılanarak KRG-g-PHPMA kopolimeri sentezlendi. Kopolimerlerin sentezi 4,4'-Azobis(4-siyanovalerik asit) (ACVA) başlatıcısı kullanılarak mikrodalga fırında gerçekleştirildi. KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimeri aşı yüzdesi ve aşılama verimi üzerine mikrodalga ışınlama süresi, DMAEMA/AA oranı, mikrodalga gücü, KRG ve başlatıcı konsantrasyonunun etkileri incelendi. Sentezlenen KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin optimizasyon çalışmaları sonucu en yüksek aşı yüzdesi (%150) ve aşılama verimi (%85) bulundu. Kopolimerlerin yapıları FTIR, ^{13}C-NMR, DSC, TGA, GPC, SEM ve XRD analizleri ile aydınlatıldı. Kopolimerlerin sitotoksisite analizi MTT yöntemi ile yapıldı ve biyouyumlu oldukları görüldü. Karagenanın termal kararlılığı aşılama işlemi sonrasında hafif azaldı.

KRG-g-P(DMAEMA/AA) ve KRG-g-PHPMA kaplı manyetik nanoküreler hazırlamak için KRG-g-P(DMAEMA/AA) ve KRG-g-PHPMA kopolimerleri ve Fe^{+3} /Fe^{+2} iyonlarının varlığında mikrodalga destekli birlikte çöktürme tekniği uygulandı.

Sentezlenen KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin yapısı, boyutu, yüzey morfolojisi, manyetik özelliği ve kararlılığı, FTIR, XRD, TEM, SEM, Zeta-sizer, VSM, ICP-OES ve TGA/DSC kullanılarak aydınlatıldı. Nanokürelere model kanser ilaçları (5-Fluorouracil ve Doxorubicin) yüklendi. Nanokürelerin ilaç salım profilleri UV spektroskopisi ile belirlendi. Nanokürelerden ilaç salımına kopolimerin aşı yüzdesi, pH, sıcaklık, manyetik alan, ilaç miktarının etkileri araştırıldı. Nanokürelerin 4 gün boyunca stabilite çalışmaları yapıldı. Nanokürelerin fosfat tamponunda (pH:7,4) daha stabil olduğu bulundu. Sitotoksisite testi L929 fibroblast normal hücre ve A549 kanser hücresi kullanılarak MTT anlizi ile gerçekleştirildi ve nanokürelerin biyouyumlu oldukları tespit edildi.

Sentezlenen KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin manyetik alana, sıcaklığa ve pH'ya duyarlı olduğu ve yüksek salım performansına sahip olduğu gösterildi. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin manyetik alanda ilaç salımı 4 saatte %100'e ulaştı. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin 5-FU salımı pH 7,4 ve pH 5,5 ortamlarında 37 ^oC'de %62 ve %73 iken, 5-FU salımı 48 ^oC' de %41 ve %49'a azaldı.

KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerin manyetik alana ve pH'ya duyarlı ve kontrollü salım performansına sahip olduğu gösterildi. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanoküreleri düşük pH'da yüksek salım gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Karagenan, N,N-dimetilaminoetil metakrilat, Akrilik asit, 2-hidroksipropil metakrilamid, Manyetik nanoküre

ABSTRACT

SYNTHESIS OF Κ -KARRAGEENAN COPOLYMERS AND DEVELOPING OF ITS CARRIER SYSTEMS

GEYİK, GÜLCAN

Kırıkkale University

Graduate School of Natural Scıence and Applied Science

Department of Chemistry, Ph. D. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN

October 2020, 191 pages

In the thesis study, temperature and pH sensitive KRG-g-P(DMAEMA/AA) copolymer was synthesized by grafting of N,N-dimethylaminoethyl methacrylate / acrylic acid (DMAEMA/AA) monomers onto κ-carrageenan (KRG) polymer. As the second graft copolymer, the KRG-g-PHPMA copolymer was synthesized by grafting of 2-hydroxypropyl methacrylamide (HPMA) monomer onto the κ-carrageenan polymer. The synthesis of copolymers was carried out in a microwave oven using a 4,4'-Azobis (4-cyanovaleric acid) (ACVA) initiator. The effects of the microwave irradiation duration, DMAEMA/AA ratio, the microwave power and the concentrations of KRG and ACVA on graft yield and grafting efficiency were all investigated. At the end of optimization studies KRG-g-P(DMAEMA/AA) copolymers best values of them were found to be 150% and 85%, respectively. The structures of the copolymers were characterized by FTIR, ^{13}C-NMR, DSC, TGA, GPC, SEM and XRD analysis. Cytotoxicity analyses of the copolymers was done by MTT method and they was found to be biocompatible. The thermal stability of the carrageenan was slightly decreased after the grafting process.

The microwave-assisted co-precipitation technique in the presence of KRG-g-P(DMAEMA/AA) and KRG-g-PHPMA copolymers and Fe^{3+}/Fe^{2+} ions was applied

to prepare KRG-g-P(DMAEMA/AA) and KRG-g-PHPMA coated magnetic nanospheres. Structure, size, surface morphology, magnetic properties and stability of synthesized KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 and KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanospheres was illuminated using FTIR, XRD, TEM, SEM, Zeta-sizer, VSM, ICP-OES and TGA/DSC. Model cancer drugs (5-Fluorouracil and Doxorubicin) were loaded onto the nanospheres. Drug release profiles of the nanospheres were determined by UV spectroscopy. The effects of the copolymer's graft yield, pH, temperature, magnetic field, and amount of drug on the drug release from the nanospheres were investigated. Stability studies of the nanospheres were performed for 4 days. The nanospheres were found to be more stable in phosphate buffered saline (pH: 7.4). Cytotoxicity test was performed by MTT analysis using L929 fibroblast normal cell and A549 cancer cell and the nanospheres was found biocompatible.

It was determined that the synthesized KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanospheres are sensitive to magnetic field, temperature and pH, and has a high release performance. The drug release in magnetic field of KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanospheres reached 100% in 4 hours. The release of 5-FU from the KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanospheres for pH 7.4 and pH 5.5 mediums was 62% and 73% at 37 ^oC, while the release of 5-FU was 41% and 49% at 48 °C, respectively.

It was shown that the synthesized KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanosphere is sensitive to magnetic field and pH, and has a controlled release performance. The KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanospheres showed high release in low pH medium.

Keywords: Carrageenan, N,N-dimethylaminoethyl methacrylate, Acrylic acid, 2-hydroxypropyl methacrylamide, Magnetic nanosphere

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bana yol gösteren, bilgi ve tecrübesini ile bana her konuda rehberlik eden, çalışma prensibini her zaman örnek alacağım çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nuran IŞIKLAN'a sonsuz teşekkür ederim. Tezimin her aşamasında yaptıkları katkı ve önerileri için TİK komitesi üyeleri; Sayın Prof. Dr. Mustafa Yiğitoğlu'na ve Sayın Doç. Dr. Zülfikar Temoçin'e çok teşekkür ediyorum.

Tez çalışmamda maddi destek sağlayan Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (Proje No: 2018/055) teşekkürlerimi sunuyorum. Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Merkezi Araştırma Laboratuvarı çalışanlarına, ODTÜ ve Bilkent Merkezi Laboratuvar çalışanlarına teşekkür etmek isterim.

Çalışmalarım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Kurbani Geyik'e, canım babam Ahmet Küçükbalcı'ya ve canım annem Melek Küçükbalcı'ya tüm kalbimle teşekkürlerimi sunuyorum. Son olarak, çalışma dönemim boyunca bana motivasyon kaynağı olan biricik kızım Zeynep Gökçe Geyik'e teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET ..... **i**

ABSTRACT ..... **iii**

TEŞEKKÜR ..... **v**

İÇİNDEKİLER DİZİNİ ..... **vi**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **xi**

ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xvi**

KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xvii**

1.GİRİŞ **1**

1.1.Nanoteknoloji ve Tarihi 3

1.2.Nanoteknolojinin Kullanım Alanları 3

1.3. Manyetik Nanoparçacıklar 4

1.4.Demir Oksit (Fe_3O_4) Nanopartiküller 4

1.5.Demir Oksit (Fe_3O_4) Sentez Yöntemleri 5

1.5.1.Ortak Çöktürme 5

1.5.2.Hidrojen ile İndirgeme 6

1.5.3.Mikroemilsüyon 6

1.5.4.Termal Parçalanma 6

1.6.Kanser ve Nanopartüküller 7

1.7.Manyetik Rezonans Görüntüleme 8

1.8.Hipertermi 8

1.9.İlaç Salımı 10

1.10.Duyarlı Polimerler 10

1.11.Sıcaklığa Duyarlı Polimerler 11

1.12.pH Duyarlı Polimerler 13
1.13.Uyarıya Duyarlı Diğer Polimerler 14
1.14.Polimerik Maddelerin Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı 14
1.15.Kontrollü Salım Sistemlerinin Kinetiği 15
1.16.Karagenan 17
1.17.N,N-Dimetilaminoetil Metakrilat 21
1.18.Akrilik Asit 23
1.19.N-(2-Hidroksipropil) Metakrilamid 24
1.20.5-Fluorouracil (5-FU) 25
1.21.Doksorobucin (DOX) 26
2.MATERYAL VE YÖNTEM 27
2.1.Kimyasalar 27
2.2.Cihazlar 27
2.3.Yöntem 29
2.3.1.KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerinin Sentezi 29
2.3.2. KRG-g-PHPMA Kopolimerinin Sentezi 31
2.3.3.KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerlerinin LCST Ölçümleri 32
2.3.4.KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerinin Şişme Oranı Ölçümü 33
2.3.5.Kopolimerlerden Manyetik Nanoküre Sentezi 33
2.3.6.Tutuklanma Verimi (TV) 34
2.3.7.Manyetik Nanokürelerden *İn Vitro* İlaç Salımı 34
2.3.8.Manyetik Nanokürelerin LCST Ölçümü 35
2.3.9.Manyetik Nanokürelerin Zeta Potansiyeli, Partikül Boyutu ve Polidispersite Ölçümü 35
2.3.10.Manyetik Nanokürelerin Stabilite Çalışmaları 35
2.3.11.*İn vitro* Hücre Kültürü Çalışmaları 36
2.3.12.Demir İçeriği Tayini 37

2.3.13.İstatistiksel Analiz 38

3.ARAŞTIRMA ve BULGULAR 39

3.1.Kopolimerlerin Karakterizasyonu 39

3.1.1.Kopolimerlerin Aşı Yüzdeleri Sonuçları 39

3.1.2.Kopolimerlerin FTIR Spektrumları 41

3.1.3.Kopolimerlerin ^{13}C-NMR Sonuçları 44

3.1.4.Kopolimerlerin Termal Analiz Sonuçları 46

3.1.5.Kopolimerlerin SEM Analiz Sonuçları 52

3.1.6.KRG ve Kopolimerlerin GPC-SEC Analiz Sonuçları 56

3.1.7.KRG ve Kopolimerlerin XRD Sonuçları 58

3.1.8.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerinin Biyouyumluluk Sonuçları 60

3.1.9.KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerinin Optimizasyonu 61

3.1.10.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerlerinin LCST Sonuçları 67

3.1.11.KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerlerinin Şişme Özellikleri 70

3.2.Manyetik Nanokürelerin Karakterizasyonu 76

3.2.1.Manyetik Nanokürelerin FTIR Analizi 76

3.2.2.Manyetik Nanokürelerin Termal Analizi 81

3.2.3.Manyetik Nanokürelerin UV Spektrum Analizi 84

3.2.4.Manyetik Nanokürelerin LCST Sonuçları 86

3.3.Manyetik Nanokürelerin VSM Sonuçları 95

3.3.1.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 Nanokürelerinin VSM Sonuçları 95

3.3.2.KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 Nanokürelerinin VSM Sonuçları 96

3.4.Manyetik Nanokürelerin Tutuklanma Verimi ve İlaç Yükleme Yüzdesi 97

3.4.1.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 Nanokürelerinin Tutuklanma Verimi ve İlaç Yükleme Yüzdesi 97

3.4.2.KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 Nanokürelerinin Tutuklanma Verimi ve İlaç Yükleme Yüzdesi 99
3.5.Manyetik Nanokürelerin Yüzey Morfolojisi 101
3.5.1.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 Nanokürelerinin Zeta Potansiyeli ve Boyut Sonuçları 101
3.5.2.KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 Nanokürelerinin Zeta Potansiyeli ve Boyut Sonuçları 106
3.6.Manyetik Nanokürelerin TEM Sonuçları 111
3.7.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 Manyetik Nanokürelerinin *İn-Vitro* Salım Çalışmaları 113
3.7.1.Aşı Yüzdesinin İlaç Salımına Etkisi 113
3.7.2.pH'nın İlaç Salımına Etkisi 115
3.7.3.Salıma 5-FU Miktarının Etkisi 118
3.7.4.DOX'un Salıma Etkisi 120
3.7.5.Manyetik Alanın Salıma Etkisi 122
3.7.6.Sıcaklığın İlaç Salımına Etkisi 125
3.8.KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 Manyetik Nanokürelerinin *İn-Vitro* Salım Çalışmaları 128
3.8.1.Aşı Yüzdesinin DOX Salımına Etkisi 128
3.8.2.pH'nın İlaç Salımına Etkisi 130
3.8.3.İlaç Miktarının DOX Salımına Etkisi 133
3.8.4.Salıma 5-FU Miktarının Etkisi 136
3.8.5.Magnetit (Fe_3O_4) Miktarının İlaç Salımına Etkisi 138
3.8.6.Manyetik Alanın Salıma Etkisi 139
3.9.Manyetik Nanokürelerin Stabilite Çalışmaları 142
3.10. Manyetik Nanokürelerin Fe_3O_4 Miktarı Tayini 145
3.11.Hücre Kültür Çalışmaları 145
3.11.1.Biyouyumululuk 145

3.11.2.Manyetik Nanokürelerin Antikanser Aktivitesi 147
3.12.Kinetik Hesaplamalar 148
4.SONUÇLAR 155
KAYNAKLAR 158
ÖZGEÇMİŞ..... 189

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL Sayfa

1.1.Karagenan polimerinin farklı formlarının polimerik yapısı a) kappa (κ), b) iota (ι), c) lamda (λ) 19
1.2.Karagenan polimerinin farklı polimerik yapıları 20
1.3.Sıcaklıkla tersinebilen a-çift-sarmal ve b-iyonik katkı etkisi ile çift-sarmal kümelerinin oluşum modelinin şematik yapısı 21
1.4.N,N-dimetilaminoetil metakrilatın kimyasal yapısı 23
1.5.Akrilik asitin kimyasal yapısı 24
1.6.N-(2-hidroksipropil) metakrilamidin kimyasal yapısı 24
1.7.5-FU'nun kimyasal yapısı 25
1.8.DOX'un kimyasal yapısı 26
2.1.KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın yapısı 30
2.2.KRG-g-PHPMA'nın yapısı 32
3.1.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın FTIR spektrumu 42
3.2.KRG ve KRG-g-PHPMA'nın FTIR spektrumu 43
3.3.KRG'nin ^{13}C-NMR spektrumu 44
3.4. KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın ^{13}C-NMR spektrumu 45
3.5.KRG-g-PHPMA'nın ^{13}C-NMR spektrumu 46
3.6.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin DSC diyagramı 47
3.7.KRG'nin TGA termogramı 48
3.8.KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın (aşı yüzdesi %88) TGA termogramı 49
3.9.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin karşılaştırmalı TGA termogramları 50
3.10.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin karşılaştırmalı DTGA termogramları 51
3.11.KRG ve KRG-g-PHPMA'nın DSC diyagramı 52
3.12.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın SEM görüntüleri 54
3.13.KRG ve KRG-g-PHPMA'nın SEM görüntüleri 55

3.14.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın SEC alıkonma zaman değişimleri 56
3.15.KRG ve KRG-g-PHPMA'nın SEC alıkonma zaman değişimleri..... 58
3.16.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın X-ışını kırınımı 59
3.17.KRG ve KRG-g-PHPMA'nın X-ışını kırınımı 60
3.18.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın hücre canlılığı 61
3.19.Aşı yüzdesi ve aşılama verimine mikrodalga ışınlama süresinin etkisi 62
3.20.Aşı yüzdesi ve aşılama verimine DMAEMA/AA molar konsantrasyon oranının etkisi 63
3.21.Aşı yüzdesi ve aşılama verimine KRG yüzdesinin etkisi 64
3.22.Aşı yüzdesi ve aşılama verimine mikrodalga gücünün etkisi 65
3.23.Aşı yüzdesi ve aşılama verimine başlatıcı konsantrasyonunun etkisi..... 66
3.24.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın deiyonize suda LCST değerleri 68
3.25.KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın farklı pH'larda LCST değerleri 69
3.26.KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın LCST davranışı..... 69
3.27.KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın pH 1,2'de %şişme oranı-süre değişimi..... 70
3.28.KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın pH 7,4'te %şişme oranı-süre değişimi..... 71
3.29.Aşı yüzdeleri farklı KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerin %şişme oranı – süre değişimi a) %95, b) %113, c) %135, %143..... 72
3.30. %95 ve %143 aşı yüzdeli KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerin %denge şişme derecesi - süre değişimi 74
3.31.KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın pH ortamlarında değişimi 74
3.32.KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın 37 ^{o}C ve 43 ^{o}C'de %şişme oranı-süre değişimi. 75
3.33.Fe_3O_4, Fe_3O_4@5-FU ve 5-FU'nun FTIR Spekturumu..... 77
3.34.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4, 5-FU ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4@5-FU'nun FTIR spektrumu..... 78
3.35.KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4, DOX ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX'un FTIR spektrumu..... 80
3.36.KRG@Fe_3O_4@DOX, KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX ve KRG-g-P(DMAEMA /AA)@Fe_3O_4@5-FU'un DSC termogramı 81
3.37.5-FU'nun DSC termogramı..... 82
3.38.Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4@DOX, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX'un TGA termogramı 82

3.39.Fe_3O_4'ün TGA termogramı 83
3.40.5-FU ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4)@5-FU'nün UV spektrumu..... 84
3.41.DOX ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@DOX'un UV spektrumu..... 85
3.42.DOX ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX'un UV spektrumu..... 85
3.43.5-FU ve KRG-g-PHPMA@5-FU'nun UV spektrumu 86
3.44.Fe_3O_4 ve farklı aşı yüzdeli KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin deiyonize suda geçirgenlikleri..... 87
3.45.Farklı pH'larda KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin LCST değişimleri 88
3.46.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$'ün 37 ve 47 °C'de geçirgenlik-sıcaklık değişimi 88
3.47.a) Fe_3O_4 ve Fe_3O_4@5-FU, b) 5-FU'nun X-ışını kırınımı..... 90
3.48.Fe_3O_4'ün seçili bölge kırınım (SAED) görüntüsü..... 91
3.49.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@ Fe_3O_4 @5-FU'nun X-ışını kırınımı..... 92
3.50.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4'ün seçili bölge kırınım (SAED) görüntüsü 92
3.51.Farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX'un X ışını kırınımı 94
3.52.KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4'ün seçili bölge kırınım (SAED) görüntüsü 94
3.53.Fe_3O_4 ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4'ün manyetik histeresis döngüsü..... 95
3.54.Farklı aşı yüzdelerindeki KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4'ün manyetik histeresis döngüsü..... 96
3.55.Fe_3O_4 miktarı farklı KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 manyetik nanokürelerinin histeresis döngüsü..... 97
3.56.Fe_3O_4'ün TEM görüntüleri..... 111
3.57.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4'ün TEM görüntüleri..... 112
3.58.KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4'ün TEM görüntüleri 112
3.59.5-FU, Fe_3O_4@5-FU ve farklı aşı yüzdelerindeki KRG-g-P(DMAEMA /AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salım yüzdeleri a) pH:1,2, b) pH:5,5, c) pH:7,4. 114
3.60.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salımına pH'nın etkisi..... 115

3.61.Farklı pH'larda salım yüzdeleri a) %95 b) %113 c) %136 d) %143 116
3.62.Farklı miktarda ilaç içeren KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salım yüzdeleri a) pH 1,2 b) pH 5,5 ve c) pH 7,4. 119
3.63.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@$DOX_{(7)}$ manyetik nanokürelerden DOX'un salımı. 120
3.64.DOX ve 5-FU yüklü nanokürelerin farklı pH'larda ilaç salımı a) pH 7,4, b) pH 5,5 ve c) pH 7,4. 121
3.65.Manyetik nanopartiküllerin gevşeme mekanizmaları 123
3.66. Manyetik alanda Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salımı (pH:5,5) 124
3.67.Manyetik alanda Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salımı (pH:7,4) 124
3.68.Manyetik alanda KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@$5\text{-}FU_{(3)}$ nanokürelerinin salımı (pH:5,5) 125
3.69.Manyetik alanda KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@$5\text{-}FU_{(3)}$ nanokürelerinin salımı (pH:7,4) 125
3.70.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salımına sıcaklığın etkisi 127
3.71.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin 37 ve 48 °C'de salımı (pH 5,5). 127
3.72.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin 37 ve 48°C'de salımı (pH 7,4). 128
3.73.DOX, Fe_3O_4@DOX, KRG@DOX ve farklı aşı yüzdelerindeki KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salım yüzdeleri a) pH:1,2, b) pH:5,5, c) pH:7,4. 129
3.74.Farklı pH'larda nanokürelerinin salım yüzdeleri a) Fe_3O_4@DOX, b) KRG@Fe_3O_4@DOX, c) KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(1)}$, d) KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(2)}$, e) KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$ 132
3.75.Farklı miktarda ilaç içeren (2,5 mg DOX, 5 mg DOX, 7,5 mg DOX , 10 mg DOX) KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salım yüzdeleri a) pH 1,2, b) pH 5,5 ve c) pH 7,4. 135
3.76. Farklı miktarda ilaç içeren (2,5 mg 5-FU, 5 mg 5-FU, 7,5 mg 5-FU , 10 mg 5-FU) KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salım yüzdeleri a) pH 1,2, b) pH 5,5 ve c) pH 7,4. 137
3.77.Magnetit miktarının ilaç salımına etkisi (pH 5,5). 138

3.78.Magnetit miktarının ilaç salımına etkisi (pH 7,4). 139
3.79.Manyetik alanda Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salımı (pH:5,5) 140
3.80.Manyetik alanda Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salımı (pH:7,4) 140
3.81.Manyetik alanda KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salımı (pH:5,5)..... 141
3.82.Manyetik alanda KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salımı (pH:7,4)..... 141
3.83.KRG@Fe_3O_4 ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin %hücre canlılığı-konsantrasyon değişimi. 146
3.84.KRG@Fe_3O_4 ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin %hücre canlılığı-konsantrasyon değişimi 146
3.85.KRG@Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin %hücre canlılığı-konsantrasyon değişimi. 147
3.86.KRG@Fe_3O_4@5-DOX ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerin % hücre canlılığı-konsantrasyon değişimi. 148

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE Sayfa

1.1.Farklı geometrik şekiller için n değerleri ve ilaç salım mekanizmaları 17
3.1.KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerin aşı yüzdeleri değişimi 40
3.2.KRG-g-PHPMA kopolimerinin aşı yüzdeleri değişimi 40
3.3.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın mol kütlesi değişimi 57
3.4.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın mol kütlesi değişimi 58
3.5.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin tutuklanma verimi ve ilaç yükleme yüzdeleri 98
3.6.KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin tutuklanma verimi ve ilaç yükleme yüzdeleri 100
3.7.Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4, farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı zeta potansiyeli. 103
3.8.Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4, farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı parçacık boyutu ve polidispersite indeksi. 104
3.9. Fe_3O_4 ve farklı aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı zeta potansiyeli. 107
3.10.%81 aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı zeta potansiyeli. 108
3.11.Fe_3O_4 ve farklı aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı parçacık boyutu ve polidispersite indeksi. 109
3.12.%81 aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin parçacık boyutu ve polidispersite indeksi. 110
3.13.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin stabilite çalışması..... 143
3.14.KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin stabilite çalışması 144
3.15.KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salım kinetiği 150
3.16.KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salım kinetiği 153

KISALTMALAR DİZİNİ

5-FU	5-Fluorouracil
AA	Akrilik Asit
ANOVA	Varyans Analizi
DMAEMA	N,N-dimetilaminoetil metakrilat
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
DOX	Doksorubucin
HCI	Hidroklorik Asit
HPMA	N-(2-hidroksipropil) metakrilamit
FTIR	Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi
ICP-OES	İndüktif olarak Birleştirilmiş Plasma Optik Emisyon Spektrometresi
KRG	κ-karagenan
KOH	Potasyum Hidroksit
kV	Kilo Volt
LCST	Alt Kritik Çözelti Sıcaklığı
PAA	Poli(akrilik asid)
PBS	Fosfat Tamponu
PDMAEMA	Poli(N,N-dimetilaminoetil metakrilat)
PHPMA	Poli(N-(2-hidroksipropil) metakrilamid)
RPM	Dakikadaki Devir Sayısı
SAED	Seçili Alan Elektron Kırınımı
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopi
SS	Standart Sapma
TEM	Geçirgenlik Elektron Mikroskopisi
TGA	Termogravimetrik Analiz
TV	Tutuklanma Verimi

UCST	Üst Kritik Çözelti Sıcaklığı
UV	Ultraviyole
V	Volt
VSM	Titreşimli Numune Magnetometresi
XRD	X-Işını Kırınımı

1. GİRİŞ

Son yıllarda, uyarıya duyarlı polimer kaplı manyetik nanopartiküller manyetik termoterapi, kontrollü ve hedeflenmiş ilaç salımı, biyoalgılama, manyetik rezonans görüntüleme (MRI), hücre ve proteinlerin ayrılması (Cheng vd., 2013; Medeiros vd., 2011) gibi biyomedikal alanlarda kullanımı artmıştır (Ramírez-Cando, 2015). Manyetik nanopartiküllere uyarıya duyarlı polimerler ve spesifik ajanların ilavesi ile tanısal uygulamaları genişletilmektedir. Özellikle demir oksite (Fe_3O_4) dayalı manyetik nano yapılı malzemeler veya kompozitler benzersiz özellikler sunar. Fe_3O_4 sentezi ile manyetik nanomateryaller son yıllarda kontrollü ilaç salımında umut vadedicidir (Estelrich vd., 2015). Fe_3O_4 ile polimer/kopolimerlerin özelliklerini birleştirilerek yapılan çalışmalar son yıllarda yoğun ilgi görmektedir. Fe_3O_4'ün hücre canlılığı, manyetik özelliği, ilaç yükleme ve salım performansları üzerinde yapılan çalışmalar kanser hastaları için umut vericidir (Hervault vd., 2016).

Uyaranlara duyarlı polimerler, çeşitli biyomedikal uygulamalarla yapılarını, işlevlerini ve kararlılıklarını değiştirebilir. Bu polimerler akıllı yanıt verme özelliği nedeniyle gelişmiş işlevsellik tasarımı için kullanılırlar (Zhang vd., 2019). Akıllı polimerler ile manyetik, elektronik ve optik özellikleri değiştirmek için fonksiyonel demir oksit nanopartiküllerden hibrit yapılar elde edilebilir (Mukherji vd., 2020). Son zamanlarda, uyarıya duyarlı polimerler, özellikle de sıcaklığa ve pH'ya duyarlı ikili sistemler, avantajları nedeniyle biyomedikal ve biyoteknolojik uygulamalarda artan ilgi görmektedir (Xiao vd., 2015).

Uyaranlara duyarlı polimerler arasında, sıcaklığa ve pH'ya duyarlı polimerler insan vücuduyla ilgili olduğu için en çok araştırılan faktörlerdir (Yalaz, 2006). Sıcaklık duyarlılık, Alt Kritik Çözelti Sıcaklığı (LCST) ve Üst Kritik Çözelti Sıcaklığı olarak kategorize edilebilir (Mukherji vd., 2020). Kısaca sıcaklığa duyarlı polimerler kritik çözelti sıcaklığının altında veya üstünde hacimsel olarak ani değişiklik göstermektedir. pH'ya duyarlı polimerler yapılarında iyonlaşabilen fonksiyonel gruplar sayesinde pH'daki değişmeye cevap verebilen polimerlerdir. Bu grupların varlığıyla, ortamın

pH'sındaki değişme sonucu polimerin iyonizasyonu ve özellikleri değişir (Lin ve Metters, 2006).

Çalışmada kullanılan karagenan kırmızı su yosunlarından ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen anyonik bir polimerdir. Doğal bir polisakkarit olan karagenan biyouyumlu ve biyobozunur özelliğe sahip olmasından dolayı ilaç uygulamalarında sıkça kullanılmaktadır. Karagenan polimerinin mikrobiyal bozunma, kontrolsüz şişme (Giri vd., 2016; Li vd., 2014) gibi zayıf yönlerini azaltmak ve kullanım alanını genişletmek için aşılama işlemi yapılmaktadır. Karagenan polimerine daha önceden, N-vinilpirolidon (Mishra vd., 2010a), N-vinilformamid (Mishra vd, 2010b), vinilsülfonik asit (Yadav vd., 2012), akrilamid (Kulkarni vd., 2012) ve akrilik asit/2-amido-2-metilpropansülfonik asit (Pourjavadi vd., 2007) monomerleri aşılanmıştır.

Çalışmanın ilk kısmında karagenen polimerinin zayıf özelliklerini bertaraf etmek için mikrodalga fırında, sıcaklık ve pH duyarlı DMAEMA ve pH duyarlı AA monomerleri birlikte aşılanarak multi fonksiyonel KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimeri sentezlenmiştir. Aynı şekilde pH duyarlı HPMA monomerinin karagenana aşılanması ile fonksiyonel KRG-g-PHPMA kopolimeri sentezlenmiştir. Optimum aşılama koşullarını belirlemek ve kopolimerlerin yapılarını aydınlatmak hedeflenmiştir.

Tez çalışmasının ikinci kısmında sentezlenen KRG-g-P(DMAEMA/AA) ve KRG-g-PHPMA kopolimerlerini Fe_3O_4'e kaplayarak manyetik özellik kazandırmak hedeflenmiştir. Çalışmamızın ikinci kısmında, kopolimer kaplı Fe_3O_4 (KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4), Ana L. Daniel-da-Silva ve arkadaşlarının (Daniel-da-Silva, 2008) yöntemi modifiye edilerek mikrodalga fırında hibrit nanoküre yapıları elde edildi. Literatürde demir oksitin birçok polimer ve kopolimer ile core-shell yapıları mevcuttur (Li vd., 2014; Zhou vd., 2011). Kopolimer kaplı demir oksit sentezlemek için ortak çöktürme yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde bazik ortamda uygun miktarlarda Fe^{+2} ve Fe^{+3} iyonları karıştırıcı yardımıyla çöktürülerek elde edilir. Ortak çöktürme yönteminde elde edilen Fe_3O_4 boyutları, iyonların oranı, karıştırma hızı, ortam sıcaklığı vb. gibi ortam koşullarından etkilenir (Massart ve Cabuil, 1987). Çalışmamızın ikinci kısmında sentezlenen kopolimerlerden iki farklı kompozisyonda nanoküreler elde edildi. İlk materyal KRG-g-

P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanoküreleridir. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanoküreleri manyetik alana, sıcaklığa ve pH'ya duyarlıdır. İkinci materyal KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanoküreleri manyetik alana ve pH'ya duyarlıdır. Elde edilen nanokürelerin i*n vitro* ilaç salımı; aşı yüzdesi, pH, ilaç miktarı, ilaç türü, sıcaklık ve manyetik alan değiştirilerek çalışılmış ve optimum salım koşulları belirlenmiştir.

1.1. Nanoteknoloji ve Tarihi

Nanoteknoloji, nano-boyutlu malzemelerin üretimi, yeni ve fonksiyonlu grupların geliştirilmesi, yeni sistemlerin oluşturulması gibi birçok işlemi kapsamaktadır (Toumey, 2008). İlk olarak Feynman, 1959 yılında farklı türden malzemelerin ve cihazların nano boyutlarda üretilmesiyle ilgili araştırmalar yapmıştır (Toumey, 2008). Daha sonraki yıllarda gelişmeler devam etmiştir. Japon araştırmacı Norio Taniguchi 1974 yılına kadar bu konuda çalışma yapmıştır (Taniguchi, 1974). Nano boyuttaki yapıların görüntüleri 1981'de taramalı tünelleme mikroskobunun icadıyla gerçekleşmiştir. Gerd Binnig ve Heinrich Röhrer tarafından 1986 yılında atomik kuvvet mikroskobunun icat edilip geliştirilmesiyle fullerenler keşfedilmiştir. 1990 yıllarında, malzeme ve elektronik mühendisliğinde uygulama alanı bulunan karbon atomlarının tüpe benzer yapılarının keşfi gerçekleşmiştir. Karbon nanotüplerin keşfi nanoteknolojinin önünü açmıştır (Gündoğdu, 2016).

1.2. Nanoteknolojinin Kullanım Alanları

Nanoteknoloji fizik, kimya, biyoloji, mühendislik, tıp ve sağlık, inşaat, havacılık ve uzay, savunma sanayi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Roco, 2003). Nanotüpler birçok alanda uygulama alanına sahiptir. Enerjinin öneminin arttığı günümüzde enerjinin depolanması ve üretim aşamasında çeşitli kullanım alanına sahiptir (Kang vd., 2012; Piquini vd., 2005). Hidrojen üretimi ve hidrojenin depolanması karbon tüplere dayalı sistemleri geliştirmiştir. Hidrojen üretimi için nano-katalizörlerin kullanımı artmıştır (Patel vd., 2010). Nanopartiküller, nanosensörlerin sağladığı olanaklar ile sağlık alanında teşhis amaçlı kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde;

ambalaj ve paketleme sistemlerinde nanoteknolojik malzemeler geniş kullanım alanı bulmaktadır (Cushen vd., 2012; Neethirajan ve Jayas, 2011). Tarım alanında da kullanımı her geçen yıl artmaktadır. Nanokapsülleme ile bitkilerde gübrenin kontrollü ve yavaş salımı ve herbisit dağıtımı kontrollü yapılabilmektedir (Manjunatha vd., 2016). Bitkinin sağlık ve verim takibi nanosensörler tarafından sağlanmaktadır (Manjunatha vd., 2016). Atık suların arıtılmasında nanomembranlar, nanolifler, zeolitler, manyetik nanopartiküller kullanılmaktadır (Raval ve Gohil, 2010). Nano filtrasyon ve ters ozmoz yöntemleri büyük veya küçük moleküllerin, biyolojik atıkların, kirliliklerin uzaklaştırılmasında kullanılabilmektedir (Gehrke vd., 2015).

1.3. Manyetik Nanoparçacıklar

Manyetik alan kuvveti oluşturularak aktif hale gelen nanoparçacıkların en önemli sınıflarından biri manyetik nanoparçacıklardır. Manyetik nanoparçacıklar genellikle geçiş metali demir, nikel ve mangan gibi manyetik elementlerden oluşur. Günümüzde manyetik nanoparçacıklar biyoteknoloji alanında örneğin; kanserli hipetermi, hedefli ve kontrollü ilaç salımı, NMR görüntüleme, *in vivo* ve *in vitro* uygulamalarda geniş yer tutmaktadır (Akbarzadeh vd., 2012; Nene vd., 2016; Singamaneni vd., 2011). Manyetik hedefli ilaç dağıtım sistemi günümüzde çokça uygulanmakta ve etkili bir sistem olarak kabul görmektedir. Oral veya enjeksiyon yoluyla hastaya verilen manyetik materyal taşıyan ilaç, dış manyetik alanla kanser alanlarına yönlendirilebilecektir (Yang vd., 2014). Manyetik alan tarafından yönlendirilme, ilaç taşıyıcılarını etkili bir şekilde tümör dokularına sürükleyerek ilaç verme verimliliğini artırması beklenmektedir (Yang vd., 2008a).

1.4. Demir Oksit (Fe_3O_4) Nanopartiküller

İngiliz bilim adamı William Gilbert manyetizma üzerine ilk bilimsel çalışmayı yapmıştır. Bu konu ile ilgili ilk bilimsel kitap (De Magnete) 1600'lü yıllarda yazılmıştır (Lindsay, 1940). Manyetik malzemeleri çeşitli sınıflar altında incelemek mümkündür. Demir oksitler insanlığın kullandığı ilk doğal manyetittir (Lindsay, 1940). Demir oksitin demir ve oksijen bileşenine göre farklı manyetik özellikte

olanları mevcuttur. Bu demir oksitlerin en önemlileri; Fe_xO (vustit), Fe_3O_4 (manyetit), γ -Fe_2O_3 (maghemit), α- Fe_2O_3 (hematit)'tir (Ercan, 2019). Manyetit (Fe_3O_4) ve maghemit (γ-Fe_2O_3) en çok kullanılan demir oksitlerdir (Ercan, 2019). Fe_3O_4 ve γ-Fe_2O_3 bileşiklerinin fiziksel özellikleri aynıdır. Ancak manyetitin mıknatıslık özelliği maghemite göre daha yüksektir. Sadece Fe^{+3} iyonlarının biraraya gelmesi ile maghemit (γ-Fe_2O_3) bileşiği oluşmaktadır (Brabers, 1995). Maghemit sadece Fe^{+3} iyonlarından oluşur ve bu iyonların %50'si tetdahedral, %50'si oktehedraldir. Fe^{+3} ve Fe^{+2} iyonlarının (2:1 molar oranında) biraraya gelmesi ile manyetit bileşiği ($FeO.Fe_2O_3$) oluşmaktadır (Ercan, 2019). Manyetit bileşiğinde Fe^{+3} iyonlarının yarısı tetrahedral konumda diğer yarısı oktahedral konumdadır ve manyetitteki Fe^{+2} iyonlarının hepsi oktahedral geometride konumlanmıştır (Brabers, 1995; Cornell, 1996).

1.5. Demir Oksit (Fe_3O_4) Sentez Yöntemleri

1.5.1. Ortak Çöktürme

Bu yöntemin süresi diğer yöntemlere göre kısa ve ürün miktarı diğer yöntemlere göre fazladır. Etkili, basit ve ekonomik olarak daha avantajlıdır. Reaksiyon açık havada ve inert ortamda gerçekleşebilir (Lu vd., 2007). Bu yöntemde Fe_3O_4 nanoparçacıkları bazik ortamda Fe^{+2} ve Fe^{+3} iyonlarının çöktürülmesi ile oluşturulur. Ortak çöktürme yönteminde ortam pH'sı 8-14 arasında tutulmalıdır. Oksidasyon olmayan ortamda $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}]$ oranı 1/2 olarak ayarlanmaktadır. Oksijenli ortamda Fe^{+2}'nin Fe^{+3}'e yükseltgenmesi ile bu oran değişeceğinden 2/3 oranı tercih edilir (Khalafalla ve Reimers, 1980).

Ortak çöktürme yöntemi ile oluşturulan parçacık boyutları, Fe^{+2}/Fe^{+3}oranı, karıştırma hızı, pH, sıcaklık, bazın cinsi, Fe iyon konsantrasyonu, ortam sıcaklığı ve iyonik şiddet gibi parametrelerden etkilenir (Massart ve Cabuil, 1987).

1.5.2. Hidrojen ile İndirgeme

Bu yöntem ile sentez çok yüksek basınçta, 200 ^{o}C civarında reaktörde veya sulu bir otoklavda gerçekleşir (Ercan, 2019). Yüksek basınçlı hidrotermal yöntemler, suyun yüksek basınç ve sıcaklıkta metal tuzlarını hidrolize eder veya kurutur. Bu koşullarda ortaya çıkan metal oksitlerin, metal hidroksitlerin ve oksitlerin çok düşük çözünürlüğü sebebiyle süper doygunluğa sebep olur. Sonuçta çok küçük kristaller oluşur (Evanoff ve Chumanov, 2004; Munteanu vd., 1997). Hidrotermal sentez yönteminde, ortam organik çözücü içermediğinden ve sentez sonrasında bir işlem olmadığından çevreye zarar vermez (Lu vd., 2007). Yine bu metot ile oluşturulan parçacık miktarı oldukça az olduğundan parçacık kristallerinin büyümesi olasılığı ile süperparamanyetik özelliğinin azalmasına neden olmaktadır (Chen vd., 2008).

1.5.3. Mikroemilsüyon

Bu yöntem birbiri içerisinde çözünmeyen iki sıvının termodinamik olarak kararlı izotropik bir dispersiyondur. Sürfaktan moleküllerinin meydana getirdiği ara yüzey ile birbirinden ayrılmaktadır (Langevin, 1992). Bu yöntemle oluşturulan miseller nano reaktör görevi yaparlar. Oluşan miseller sıvı fazların kararlılığını da sağlamaktadır. Su ve sürfaktanın molar oranlarına göre oluşturulan misellerin boyutu değişim gösterir. Oluşturulan parçacıkların boyutu miselin iç hacmine göre değişim göstermektedir (Paul ve Moulik, 2001). Bu yöntemde parçacık boyutu ve şekli geniş bir aralık göstermektedir ve diğer yöntemlere göre daha az ürün elde edilmektedir. Ürün miktarını artırmak için çok miktarda çözücüye gereksinim duyulur (Lu vd., 2007).

1.5.4. Termal Parçalanma

Bu yöntemde organometalik bileşiklerin organik çözücü ortamında parçalanmasıyla manyetik nanoparçacıklar sentezlenir (Bronstein vd., 2007). Bu yöntemde ortam susuzdur ve yüksek kaliteli parçacık boyutunun ve şeklinin kontol edilebildiği yarı

iletken nanokristaller sentezlenebilir (Murray vd., 1993). Reaksiyon başlangıcındaki organometalik, sürfaktan ve çözücü oranı parçacığın boyutunu ve morfolojik yapısınnı kontrol edilmesini sağlamaktadır (Lu vd., 2007).

1.6. Kanser ve Nanopartiküller

Kanser; canlı vücudundaki organ veya dokuda kontrol edilemeyen hücre çoğalması ile oluşan hastalıktır. Birçok çeşit kanser tipi olmasına rağmen hepsinin başlangıç noktası aynıdır. Anormal hücrelerin kontrol dışı çoğalması ile başlar. Kanser çağımızda birçok can kaybına sebep olan tıbbi araştırmaların karşılaştığı en büyük sorunlardan biridir. Kanserin teşhis ve tedavi yöntemleri sınırlıdır. Kanser teşhis ve tedavisi için kullanılan radyoterapi ve kemoterapi gibi uygulamaların canlı vücuduna zararlı yan etkileri mevcuttur (Sawyers, 2004).

Moleküler seviyede hücre ile etkileşimlere sahip manyetik nanoparçacıklar, fiziksel özelliklerine bağlı olarak geniş kullanım alanına sahiptirler. Kontrollü ilaç salımı, kanser hücrelerinin görüntüsünün alınması gibi biyomedikal alanlarda kullanılacak manyetik nanoparçacıklar, nano-yapıdaki materyallerin önemli bir kısmını oluşturur. Manyetik nanoparçacıkların seçiminde kullanılacağı alan önemlidir. Kontrollü ilaç salımında kullanılacak manyetik nanoparçacıklar dış manyetik alan uygulaması ile kontrol edilebilmektedir. Antikanser maddesi bulunduran manyetik nanokürenin maddeyi belirli hızda ve belirli bölgede salıverilmesini sağlamaktadır (Latorre vd., 2014). Manyetik nanopartiküller kanser hastalığının tedavisinde ilacın kontrollü salımını sağlayarak ve hipertermi gibi hastayı tedavi etmek amacıyla da kullanılabilmektedir. İlaç yüklü manyetik nanoparçacıklar dış bir manyetik alan oluşturularak, ilacın tümörlü alana taşınmasını amaçlamaktadır (Bañobre-López vd., 2013). Hipertermi yöntemi ile manyetik nanopartiküller kanserli hücreye hedeflenerek, dış manyetik alanında tümörlü alanı ısıtarak yapılmaktadır. Isıtmaya bağlı olarak etken maddeyi salan manyetik nanopartikülleri, hipertermi yöntemiyle etken maddeyi salmak için kullanmak mümkündür (Johannsen vd., 2005).

1.7. Manyetik Rezonans Görüntüleme

Güçlü manyetik alan içinde radyo dalgaları kullanarak vücudunuzun içindeki organ ve dokulara ait ayrıntılı görüntüler oluşturmak için uygulanan yönteme manyetik rezonans görüntüleme denilmektedir (Nagaoka vd., 2003). Manyetik rezonans görüntüleme yöntemi ile bazı atomik yapılar diğerlerinden ayırt edilebilir (Nagaoka vd., 2003; Orhan, 2008). Bu şekilde hasta ve sağlıklı dokular arasındaki farklar tespit edilebilmektedir. Manyetik nanopartiküllerin dolaşım süresinin nasıl uzatılacağı ve organ, doku ve hücresel seviyelerdeki biyolojik bariyerlerin üstesinden nasıl geleceği önemlidir. Manyetik nanopartiküllerin gelişmesiyle bu sisteme yeni hedefleme mekanizmalarının eklenmesi hastalıkların erken teşhisini sağlamaktadır (Yakıcı, 2013). Hedefleme mekanizması ile tümörlü ve tümörsüz dokular arasında görüntü oluşturulur. Tümörlü dokuları, zarar görmüş ve sızıntı yapan damarlardan dolayı yüksek geçirgenlik ve alıkonma etkisi ile tümörsüz dokulara göre daha çok manyetik nanopaçacık tutabilmektedir. Ayrıca polimer kaplı manyetik nanopartiküller makrofajlarca zengin karaciğer, dalak, lenf nodülleri ve kemik iliği gibi Retiküloendotelial Sistem (RES) organları tarafından benimsenebilirler (Acharya ve Sahoo, 2011).

1.8. Hipertermi

Hipertermi; hususi cihazlarla hastanın tüm vücudunu ya da bölgesel olarak tümörlü bölgenin ısısının artırılması ile tedaviyi amaçlamaktadır. Kelime anlamı olarak ise ısının oluşmasıdır (Huang ve Hainfeld, 2013). İstenilen bölgede tedavinin bir parçası olarak ya da enfeksiyon kaynaklı ortaya çıkan anormal yüksek vücut sıcaklığıdır (Huang ve Hainfeld, 2013). İnsan vücudunun sıcaklığı belirli bir derecenin üzerine çıktığında tehlike arzetmektedir. Ancak klinik olarak kanser tedavisinde kullanılan hipeterminin amacı; radyo frekans dalgaları ile tümörlü bölgeyi ısıtma prensibine dayalıdır. Kanser tedavisinde kullanılan hipertermi kavramı yeni değildir (Giustini vd., 2010). Uzun yıllar süren çalışmalar sonunda geliştirilmiştir. İlk olarak 19. yy'da ısının kanser tedavisindeki yararlı etkileri gözlenmiştir. Canlı bakteriler kanser hastalarına verilerek enfeksiyon oluşturulmuş ve vücut sıcaklığı artırılmıştır. Bu yöntemle

kanserli hücrelerde gerileme gözlenmiştir. İlerleyen yıllarda hücre içi sıcaklığın artışıyla beraber kanserli hücrelerde apoptozun uyarılmasıyla elde edilen iyi sonuçlar yanında çevredeki sağlıklı dokularda bazı zararlı yan etkiler gözlenmiştir. Sıcaklık artışını kontrol altında tutan yeni mekanizmalar geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu problem manyetik sıvı hipertermi ile çözülmüştür. Bölgesel uygulamalarda ısı mediatörü olarak manyetik nanopartiküller kullanlmıştır. Manyetik sıvı hipertermi, aktif (manyetik nanopartikül yüzeyinde, kanser hücrelerinde bulunan yüzey reseptörlerine spesifik ligandların kullanılmasıyla) ya da pasif (manyetik nanopartiküllerin arttırılmış geçirgenlik ve tutma etkisi) olarak kanserli dokuda biriken manyetik nanopartiküllerin kolloidal süspansiyonunun enjeksiyonuna dayanır. Kanserli dokuda gezinen manyetik nanopartiküller dışardan uygulanan manyetik alanın etkisi ile elektromanyetik enerjiyi ısıya dönüştürerek bölgesel sıcaklığı artırmaktadır. Bu yöntemle ısı 41- 44 °C aralığında değişmektedir. Bu sayede sağlıklı dokunun ısınması engellenerek zarar görmemesi sağlanmaktadır (Hervault ve Thanh, 2014).

Kanser tedavisinde en çok kullanılan yöntemler cerrahi, radyo terapi ve kemoterapidir. Bu yöntemler kanser tedavisinde başarılıdır ancak sağlıklı organlar ve hücrelerde hasar oluşturması muhtemeldir. Diğer tedavi yöntemlerine göre nispeten toksik olmayan yöntem manyetik nanopartiküllerin kullanımıdır. Manyetik hipetermi geleneksel yöntemin yan etkilerini ortadan kaldırmaktadır. Bu yöntemin avantajları şöyle sıralanabilir (Yakıcı, 2013):

- Biyolojik bariyerlerden (hücre duvarı) küçük boyutta oldukları için geçişi daha kolaydır.
- Kapsüllenen manyetik nanopartiküller üzerinde bulunan özel ajanlar sayesinde hedeflenen dokuya ulaşabilirler.
- Manyetik rezonans görüntülemede teşhis ajanı olarak kullanılabilirler.
- Sağlıklı dokuya zarar vermeden ısı difüzyonu ile tümörlü hücreleri öldürür.

1.9. İlaç Salımı

Önceden belirlenen hızla içerisindeki etken maddeyi belirli hızda salımını sağlayan sistemler kontrollü ilaç salım sistemleri olarak bilinmektedir (Tüylek, 2017). Kontrollü ilaç salımının amacı, ilacı belirli dozda belirli süre vücutta tutabilme prensibine dayanmaktadır (Danckwerts ve Fassihi, 1991). Etken madde salımı konvensiyonel dozaj şekilllerine göre uzun bir süreçte devam etmektedir (Tüylek, 2017). Kanser hastalığında kullanılan birçok ilaç kanserli hücrelere özel olmadığı için sağlıklı hücrelere de zarar verebilmektedir. Bu sorunu aşmak için, manyetik nanopartiküller terapötik maddeleri istenilen hedef bölgeye iletmede kullanılabilir. Manyetik nanoparçacıklar dışardan uygulanan bir dış manyetik alan ile spesifik bölgede tutulabilir (Indira ve Lakshmi, 2010). Kontrollü ilaç salımının avantajları manyetik nanopartiküllerin üstün özellikleri ile birleşince yan etkileri azaltılmış olur, doz aşımı engellenmiş ve tadavi için gerekli konsantrasyon aralığında ilaç seviyesi sağlanmış olmaktadır (Ruuge ve Rusetski, 1993). Terapötik ya da etken maddeler manyetik nanopartiküllerin yüzeyine bağlanır ya da manyetik nanopartiküller polimerlerle karıştırılarak kapsülleme ile manyetik ilaç salım sistemleri oluşturulur. Bu sistem ile terapotik etkinlik sağlayacak sitotoksik ilaç kanserli dokuya ulaşana kadar korunur. Polimerik yapılarla konjugasyonu sağlanmış manyetik ilaç taşıyıcıları, kapsüllenen anti-kanser ilacını, taşıyıcı partiküllerin parçalanmasıyla veya ortam şartlarına (sıcaklık veya pH) bağlı olarak serbest bırakabilirler (Zhang vd., 2008). Etken madenin salımının uzun süre boyunca gerçekleşmesi ilacın etkisini ens üst düzeye çıkarmak için kontrollü salım sistemi etkilidir. Böylece ilacın etkinliği arttığı gibi hastada daha az ilaç kullanarak yan etkilerinden korunmuş olur. İlerlemiş kanserlerde ardışık olarak birden fazla hedefi etkilemek için kullanılan bazı terapötik stratejiler de çalışılmıştır (Tüylek, 2019a).

1.10. Duyarlı polimerler

Sıcaklık, iyon gücü, pH gibi çevresel uyarılara yapısal farklılıklarla cevap verebilen makromoleküler yapılara uyarıya duyarlı polimerler diğer bir deyişle akıllı polimerler denilmektedir (Park vd., 1999). Uyaranlara duyarlı polimerler fiziksel veya kimyasal

uyarılara karşı küçük değişikliklerle tepki gösterir (Park vd., 1999). Bu değişkenler sıcaklık (Gutowska vd., 1994; Pines ve Prins, 1973; Yoshida vd., 1995), pH (Allcock ve Ambrosio, 1996; Siegel ve Firestone, 1988), iyonik etki (Schalkhammer vd., 1995; Siegel ve Firestone, 1988), ışık veya UV (Suzuki ve Tanaka, 1990) ve elektrik alanı (Kwon vd., 1991) gibi sıralanabilir. Akıllı polimerlerin kullanım alanları çok geniştir. Akıllı polimerlerin ilaç salımında ve hidrofobik-hidrofilik yüzeylerde kullanılabildiği birçok çalışma mevcuttur. Sıcaklığa, ışığa, elektrik alana, kimyasallara ve iyonik güce cevap verebilen polimerler geliştirilmektedir. Herhangi bir uyarana cevap, uyarılan maddenin özelliğine göre değişmektedir ve farklı değişim şekilleri (şekil, yüzey karakteristik özelliği, çözünürlük, akışkanlık) ortaya çıkabilir (Park vd., 1999). Duyarlı polimerler cevap verdikleri uyarı türlerine göre sınıflandırılırlar (Sözmen, 2008).

1.11. Sıcaklığa Duyarlı Polimerler

Sıcaklığa duyarlı polimerler uyarıya duyarlı polimerlerin en önemli sınıflarındandır (Gutowska vd., 1994). Bu polimerler sıcaklığa maruz bırakıldığında yapılarında tersinir bir değişim gözlenmektedir (Ngadaonye vd., 2012). Bu tersinir değişim farklı şekillerde ortaya çıkabilir. Değişim yavaş yavaş olabildiği gibi, ani bir değişim şeklinde de görülebilmektedir. Kritik çözelti sıcaklığı, polimer çözeltisinin bir fazdan iki faza geçtiği sıcaklık olarak tanımlanır (Hu vd., 2008). Dış uyaranın sıcaklık olmasıyla bu geçişin gerçekleştiği sıcaklık ise termodinamik olarak hacimsel faz geçişi olarak tanımlanır (Tian vd., 2011). Hacimsel faz geçişi kritik sıcaklığın altında gerçekleşiyorsa bu sıcaklığa, alt kritik çözelti sıcaklığı 'LCST', hacimsel faz geçişi kritik sıcaklığın üstünde gerçekleşiyorsa bu sıcaklığa, üst kritik çözelti sıcaklığı 'UCST' olarak adlandırılmaktadır (Shimada vd., 2013). Sonuç olarak, sıcaklığa duyarlı polimerler kritik çözelti sıcaklığının altında veya üstünde hacimsel olarak ani değişiklik göstermektedir (Gandhi vd, 2015).

Sıcaklığın artması ile hidrofilikten hidrofobiğe geçiş gösteren polimerler LCST sıcaklığına sahip polimerler iken, sıcaklığın artması ile hidrofobiklikten hidrofikliğe geçiş gösteren polimerler UCST sıcaklığına sahiptir. Poli(N-izopropilakril amid),

poli(N,N-dietilakrilamid), poli(vinil-eter), poli(N-vinilalkilamid), poli(N-vinilkaprolaktam), polifosfazen türevleri LCST özelliği gösteren bazı polimerlerdir (Yang vd., 2008b).

Çapraz bağlı sıcaklığa duyarlı hidrojeller oda sıcaklığında suda çözünmeksizin su absorplarlar, ısıtıldıklarında LCST değerinin üzerinde aldıkları suyu bırakırlar. Bir jelin en önemli özelliği çözücü absorplama kapasitesi olduğundan, bir dış uyarı uygulamak suretiyle jelin absorpladığı çözücü miktarını kontrol etme olanağı, bu maddelerin teknolojik açıdan kullanımının genişlemesine yol açmıştır (Allı, 2008).

Hidrofilik ve hidrofobik yan grupların polimer üzerinde denge içinde olması sıcaklık duyarlı polimerlerin ortak özelliğidir (Allı, 2008). Hidrofobik gruplar arası etkileşimler sıcaklığın neden olduğu faz ayrımını sağlar. Polimerdeki hidrofilik gruplar ile su molekülleri arasında kuvvetli hidrojen bağı oluşumu düşük sıcaklıklarda iyi çözünmesini sağlar. Hidrofobik yan gruplar içeren polimerler düşük sıcaklıklarda şişme, yüksek sıcaklıklarda büzülme davranışı gösteririler. Polimerdeki hidrofobik grupların etrafı su molekülleri ile sarılarak kafes etkisi oluşturur. Bu oluşuma hidrofobik hidratasyon denir (Altay, 2010). Sıcaklığın artması kafes etkisindeki hidrofobik grupların etrafındaki su moleküllerinin azalmasına sebep olur. Bu olay hidrofobik etkileşimleri güçlendirir.

LCST sıcaklığının üstünde; şişmiş polimerin yapısındaki polar olmayan merkezler ile su molekülleri hidrojen bağları oluşturamayıp yeni bir düzen oluşturmak zorunda kalırlar. Hidrofobik etki olarak da adlandırılan oluşum karışma ile birlikte entropinin azalmasıyla sonuçlanır. Sıcaklığın yükselmesiyle, polimerin polar grupları ile su molekülleri arasında ekzotermik hidrojen bağları oluşumundan daha baskın olan entropi, büzülme için itici güç oluşturur (Altay, 2010). Oluşan hidrojen bağı artan sıcaklıkla hidrofobik yan gruplar arasındaki hidrofobik etkileşimleri artırdığı için zayıflar. LCST'nin üzerindeki sıcaklıklarda, hidrofobik gruplar arasındaki etkileşmeler baskın gelir ve polimer zincirlerinde entropinin neden olduğu çökme (collapse) ve faz ayrılması gözlenir (Inoue vd., 1998). Polimer zincirlerinin hareketlerinde azalma, polimerin hidrofobik grupları etrafında yüksek bir düzen içinde yapılanmış su moleküllerinin yerlerinden ayrılması sonucu entropi artar. Serbest enerji

teriminin (ΔG), pozitif olması sonucu PDMAEMA polimerlerinde olduğu gibi LCST üzerindeki sıcaklıklarda polimer-su etkileşimlerinin yerini, polimer-polimer ve su-su etkileşimleri alması sonucu faz ayrışması gerçekleşir (Jain vd., 2015). Eğer sıcaklık duyarlı polimerin hidrofilik içerikleri artırılır veya azaltılırsa, polimer çözeltisinin LCST değeri, sırasıyla artar veya azalır (Crespy ve Rossi, 2007; Jain vd., 2015). Polimer yapısına hidrofobik monomerlerin katılmasıyla LCST'nin daha düşük sıcaklıklara kaydığı, hidrofilik monomerlerin yapıya girmesiylede LCST'nin daha yüksek sıcaklığa kaydığı görülmüştür (Çetik, 2010).

1.12. pH Duyarlı Polimerler

Ortamın asidik ya da bazik olmasına bağlı olarak yapısında fiziksel değişim gösteren polimerler uyarıya duyarlı polimerlerin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. pH duyarlı polimerler ile ilgili çalışmalar ilk olarak 1950 yıllarda yapılmıştır (Park ve Bae, 1999). Eisenberg ve ark. pH duyarlı polimerlerde faz geçişine 1950 yıllında (Kuhn vd., 1950), Michaeli ve Katchalsky karboksilik aside dayalı pH'a duyarlı hidrojeller üzerindeki araştırmasını 1950'lerin ortalarında (Katchalsky ve Michaeli, 1955) yapmıştır. Bu günlerde, pH duyarlı çok sayıda lineer polimerlerin polimerik sistemlerde kullanım alanı artmıştır. Kullanım alanları şu şekilde sıralanabilir; aşı kopolimerler (Kontturi vd., 1996), hidrojeller (Philippova vd., 1996), farmasötik alanlar (Schacht vd., 1996), bölgeye özgü hedefleme (Brøndsted ve Kopeček, 1992) ve tümöre özgü dağıtım (Kitano, 1990), kendi kendini düzenleyen insülin iletim sistemleri (Horbett vd., 1984) ve sensörler (Liebert ve Walt, 1995). Geleneksel pH duyarlı polimerler çoğunlukla iyonize olabilen zayıf asit grupları (karboksilik asit) veya zayıf bir baz (amino grubu) içermektedir (Scranton vd., 1995). Akrilik asit ve metakrilik asit içeren jellerin ortam pH'sı ile şişme değerlerinde değişimler gözlenmiştir. Bu polimerler yapılarında bulunan iyonlaşabilen fonksiyonel gruplar sayesinde uyarıya cevap verebilen polimerlerdir. Bu grupların varlığıyla, ortamın pH'sındaki değişme sonucu polimerin iyonizasyonu ve özellikleri değişir. Gastrointestinal salım sistemlerinde pH duyarlı polimerlerin uygulamaları kullanılmaktadır (Lin ve Metters, 2006). pH duyarlı polimerler yapılarında karboksilik asit gibi iyonlaşabilen fonksiyonel gruplar bulundururlar. Bu iyonlaşabilen

gruplar sayesinde polimerin şişme değerlerinde değişiklikler oluşur (Lin ve Metters, 2006).

1.13. Uyarıya Duyarlı Diğer Polimerler

Uyarıya duyarlı olan diğer polimer farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır (Park ve Bae, 1999; Sözmen, 2008). Biyokimyasal maddelere, elektrik alana, manyetik alana ve ışığa duyarlı polimerler şeklinde sınıflandırılabilirler (Tüylek, 2019b).

1.14. Polimerik Maddelerin Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı

Kontrollü ilaç salım sistemleri, ilaç dozunu minimuma indirmek, dozlama periyodunu uzatmak, hastanın yan etkilerden etkilenmemesini sağlamak amacıyla son yıllarda sıkça kullanılmaktadır (Singh ve Kim, 2000). Etkili tedavi için ilaç salımını kontrol etmek gelişen bir tedavi yöntemidir. Kontrollü salım ile ilacın etkin maddesi, kanda terapötik bölge aralığında kalmasını sağlaması şeklindedir (Lin ve Metters, 2006; Qiu ve Park, 2001).

Kontrollü salım formülasyonları tasarlanırken üzerinde durulması gereken faktörler önemlidir. Optimum dozaj formu (dozaj formu ve vücut arasındaki karşılıklı etkileşimler), ilacın özellikleri (molekül ağırlığı, kararlılık, çözünürlük), uygulama yolu (oral, pulmoner, transdermal, parenteral, implant), taşıyıcı araç (polimer, hücre, doku), biyouyumluk (dozaj formu ve vücut arasındaki karşılıklı etkileşimler), hedeflendirme (organ, doku, hücre, hücre bileşeni) ve salım mekanizması (salım süresi) gibi faktörlere bağlıdır (Tandya vd., 2007). Öncelikle etkin maddenin vücuda giriş yolu değerlendirilir. Etkin maddeler; oral, nazal, bukal, oküler, rektal ve vajinal yollar dışında enjeksiyon ve transdermal yollar kullanılarak vücuda giriş sağlar (Abidian vd., 2006). Vücuda giriş için kullanılan yöntemlerin kendine ait avantaj ve dezavantajları vardır. Seçim yapılırken etkin maddenin cinsi, dozu ve etki süresi göz önünde bulundurulmalıdır (Gürsoy, 2002).

Hastalık tedavisinde en etkili yöntem olan ilaçlar üzerindeki çalışmaların amacı tedavi edici yeni bir molekül geliştirmektir (Freiberg ve Zhu, 2004). Yeni bir ilaç geliştirmek uzun yıllar almaktadır. Zamanın yanı sıra ekonomik olarak pahalı olması ve beklenilen sonucu vermemesi de alternatif arayışları başlatmıştır. Bu arayıştaki amaç hastanın tedavisi yanı sıra yaşam kalitesini arttırmaktır (Uhrich vd., 1999). İlaç dozunu azaltma, dozlama aralığını uzatma, yan ve zararlı etkilerden arındırma hatta ilacı hedef bölgeye gönderme çalışmaları bu amaca yöneliktir ve bu beklentilere en iyi yanıt veren kontollü salım sistemleridir (Gürsoy, 2002).

1.15. Kontrollü Salım Sistemlerinin Kinetiği

Fick düfizyon eşitliği kontrollü salım sistemlerinin salım kinetiğini inceleyebildiğimiz matematiksel bir yöntemdir (Dash vd., 2010).

Sıfırıncı derece kinetik: Sıfırıncı derece hız ifadesinin matematiksel hesaplanma yöntemi aşağıdaki eşitlik yardımı ile yapılmaktadır:

$$-\frac{dC}{dt} = k_o \qquad (1.1)$$

Eşitlik 1.1'in $0 \rightarrow t$ arasında integrali alındığında aşağıdaki eşitlik elde edilmektedir.

$$C_t = C_o - k_o\, t \qquad (1.2)$$

Eşitlik 1.2'de; C_t, salımda t anındaki çözünmeden kalan etken madde miktarı; C_o, başlangıçtaki etken madde miktarı; k_o ise sıfırıncı derece çözünme hız sabitini göstermektedir. Sıfırıncı dereceden kinetik hesaplamasında C'ye karşı t değerleri grafiğe geçirilerek eğimi hesaplanır. Elde edilen doğrunun eğimi k_o'ı vermektedir. Bu kinetiğe göre her bir zaman aralığında çözücü ortamına difüzlenen etken madde miktarı aynıdır (Dash vd., 2010).

Birinci derece kinetik: Birinci derece hız ifadesinin matematiksel hesaplanma yöntemi aşağıdaki eşitlik yardımı ile yapılmaktadır:

$$- \frac{dC}{dt} = kC \qquad (1.3)$$

Eşitlik 1.3'ün, 0 → t arasında integrali alındığında aşağıdaki eşitlik elde edilmektedir.

$$\ln C_t = \ln C_o - k\,t \qquad (1.4)$$

Eşitlik 1.4'te; C_t, t anında salınmadan kalan etken madde miktarı; C_o, başlangıçtaki etken madde miktarı; k ise birinci derece çözünme hız sabitidir. Bu kinetik hesaplama için grafiğe ln C değerleri t'ye karşı çizilir. Elde edilen doğrunun eğimi k_1'dir. Sıfırıncı derece kinetiğe göre zamana bağlı olarak salım ortamına geçen etken madde miktarı üssel şekilde azalmaktadır.

Peppas eşitliği: Bu eşitliğe göre ilaç salım ortamına girmeden önce etken madde polimer içinde çözünmüş ya da polimer içerisine dağılmış şekildedir. Etken madde çözelti olmayan ortamda dışarı difüzlenemez. Polimer çözücü ortamında şişerek ilacın polimer matriksinden difüzyonuna izin verir (Peppas, 1986).

Peppas eşitliği aşağıda ifade edilmiştir (Peppas ve Sahlin, 1989).

$$M_t / M_\infty = k\,t^n \qquad (1.5)$$

Eşitlik 1.5'in logaritmasını aldığımızda, Eşitlik 1.6 elde edilir,

$$\log (M_t / M_\infty) = \log k + n \log t \qquad (1.6)$$

Eşitlik 1.6'da; M_t, t zamanında toplam salım miktarını; M_∞, dengeye ulaştığı zamandaki toplam salım miktarını; k, sistemin geometrik karakteristikleri ile ilgili hız sabiti; n ise ilaç salım mekanizmasını belirten difüzyonal sabittir. Peppas eşitliği; film, silindir, küre ve disk gibi geometrik şekillere sahip sistemlerden ilaç salımını tanımlar.

Peppas eşitliği etken madde salımının %60'lık ($M_t/M_\infty \leq 60$) ilk kesri için geçerlidir (Ritger ve Peppas, 1987).

Peppas eşitliğinden elde edilen n değerinin aralığı salım mekanizmasında kullanılan taşıyıcının geometrik şekline bağlıdır. Farklı geometrik şekiller için n değerleri ve ilaç salım mekanizmaları Çizelge1.1'de gösterilmektedir (Ritger ve Peppas, 1987).

Çizelge 1.1. Farklı geometrik şekiller için n değerleri ve ilaç salım mekanizmaları

Film	Silindir	Küre	İlaç taşınma Mekanizması
0,5	0,45	0,43	Fick difüzyonu (Durum I)
0,5<n<1	0,45<n<0,89	0,43<n<0,85	Fick difüzyon yasasına uymayan (Anormal geçiş)
1	0,89	0,85	Durum II

Ayrıca nanokürelerden ilaç salımı için difüzyon katsayısı aşağıda belirtilen eşitlik ile hesaplanır (Dash vd., 2010). Eşitlikte belirtilen θ, M_t/M_∞ - $\sqrt{t}$ grafiğinin eğimi; r, nanokürelerin yarıçapları; M_∞ ise nanokürelerden sonsuz zamanda salınabilecek maksimum etken madde miktarıdır (Agnihotri vd., 2006; Arifin vd., 2006).

$$D = \left(\frac{r\theta}{6M_\infty}\right)^2 \pi \qquad (1.7)$$

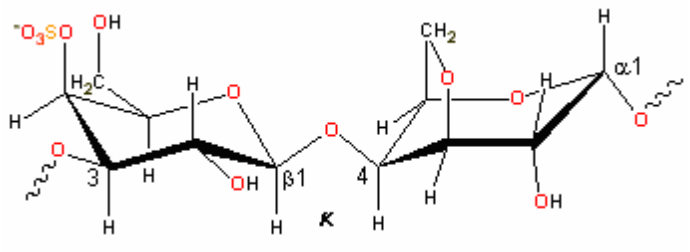
1.16. Karagenan

Karagenan, kırmızı su yosunu türlerinden bazı ekstraksiyon yöntemleriyle Rhodophyceae sınıfı deniz yosunundan elde edilir (Geyik ve Işıklan, 2020; Necas ve Bartosikova, 2013). Bu özel yosun türü Kuzey Amerika, Avrupa ve İngiltere

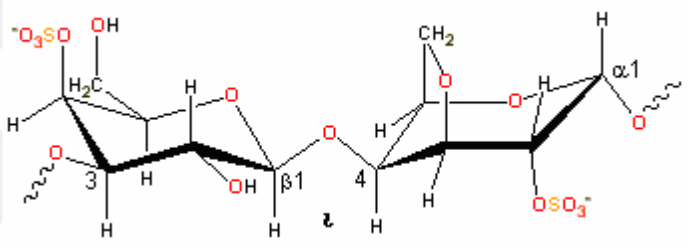
yakınlarındaki Atlantik okyanusunda bulunur (Necas ve Bartosikova, 2013). Karagenan polimeri Deniz Kadayıfı ve İrlanda Yosunu (Irish Moss) olarak da adlandırılır. En yaygın Chondrus Crispus ve Gigartina Mamillosa adlı kırmızı alglerden elde edilen lineer polisakkarittir (Kara, 2006). Anyonik polisakkarit grubunda bulunan karagenan gıda endüstirisinde bir çok özelliği sayesinde (jelleşme, stabilize edici ve film oluşturucu) geniş kullanım alanına sahiptir (Park vd., 2001).

Karagenan β-1,3 bağlı D-galaktoz (X) kısmı ve α-1,4 bağlı 3,6-anhidro D-galaktoz (Y) kısmından oluşan (XY)n türünden bir lineer sülfatlı polisakkarittir (Kavzak, 2005). Karagenan türüne göre %22-35 oranında sülfat grubu içermektedir. Karagenan ester sülfat gruplarının sayısı ve konumuna göre isimlendirilmektedir. Genel olarak üç ana formu bulunmaktadır; kappa (k), iota (l) ve lamda (λ) (Kavzak, 2005; Piculell, 1995). Üç ana türün dönüşümü ile farklı formları da oluşmaktadır (Necas ve Bartoikova, 2013). Farklı türdeki karagenanların polimerik yapısı Şekil 1.1'de gösterilmiştir.

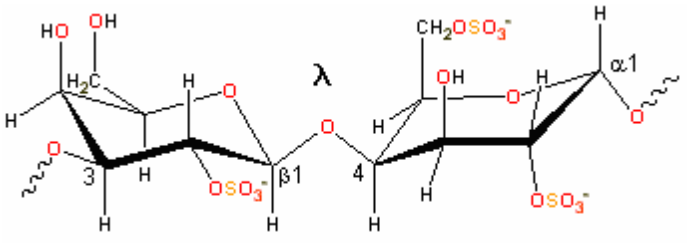
(X) **(Y)**



(a)



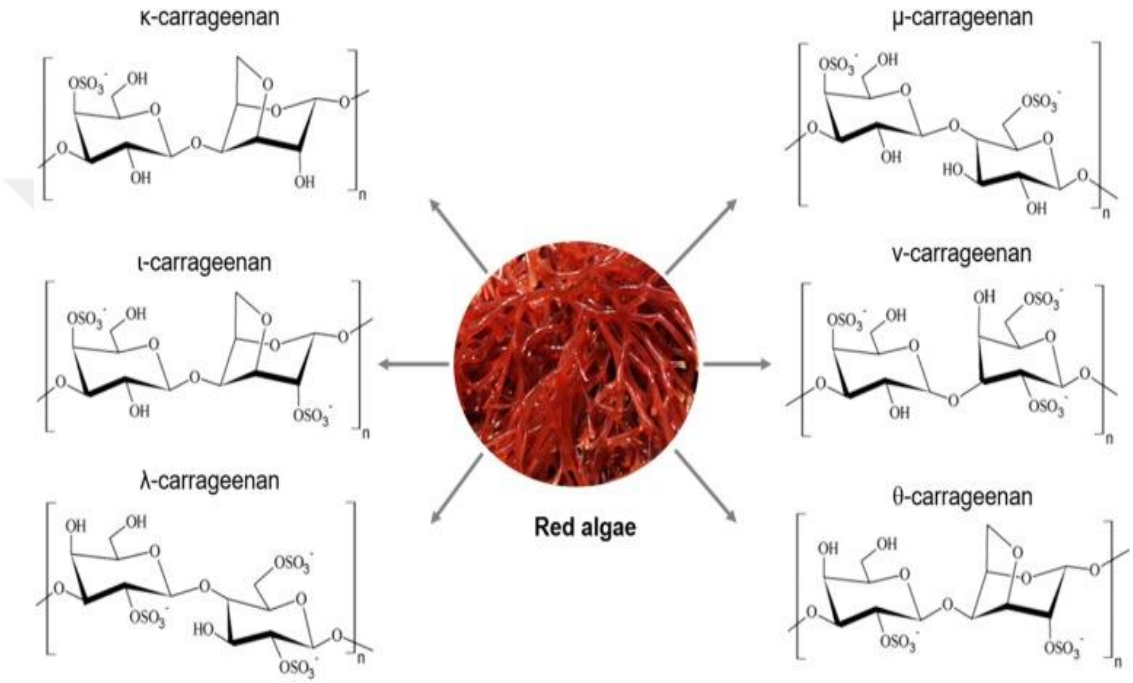
(b)



(c)

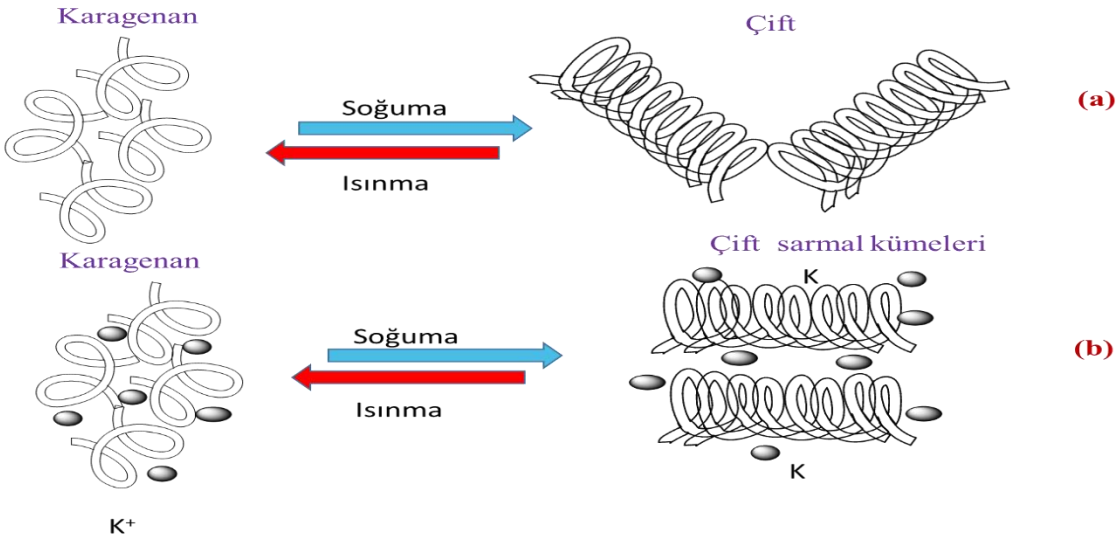
Şekil 1.1. Karagenan polimerinin farklı formlarının polimerik yapısı a) kappa (κ), b) iota (ι), c) lamda (λ)

Kappa, ioto ve lamda karagenan sırası ile bir, iki ve üç tane sülfat grubu bulundurmaktadır. κ-karagenan kırılgan yapılı jel oluştururken ioto-karagenan yumuşak yapılı jel şeklindedir. λ-karagenanın ve μ-karagenanın daha düzensiz şekillerinden dolayı jelleşme özelliğine sahip değildir (Kavzak, 2005; Morris ve Robinson, 1980). Karagenanın optik rotasyon, iletkenlik ve spektroskopi gibi özellikleri çözelti içinde incelenmiştir (Kim vd., 2004).



Şekil 1.2. Karagenan polimerinin farklı polimerik yapıları (Necas ve Bartosikova, 2013)

Şekil 1.3'te sunulduğu gibi çözücü ortamında ısı verildiğinde yani sıcak ortamda düzensiz polimer zincirlerinden oluşurken, soğuk ortamlarda yani sıcaklık düşürüldüğünde anhidro-galaktozun neden olduğu bükülmeler nedeniyle tek ve çift sarmal (helix) yapısına dönüşür (Morris ve Robinson, 1980; Rees vd., 1982).



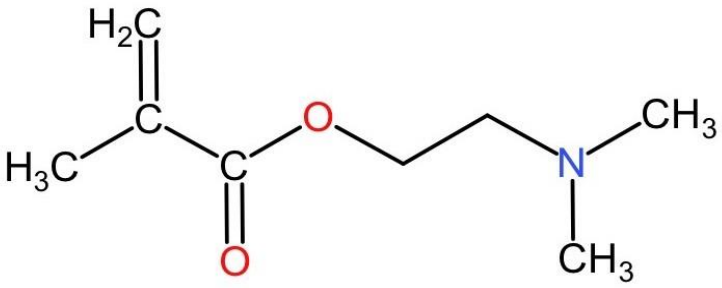
Şekil 1.3. Sıcaklıkla tersinebilen a-çift-sarmal ve b-iyonik katkı etkisi ile çift-sarmal kümelerinin oluşum modelinin şematik yapısı (Mergen, 2012)

Karagenan gıda alanında da geniş kullanım alanı bulmaktadır. Karagenanın besin değeri yoktur. Gıda hazırlamada; jelleşme, kalınlaşma ve emülsifiye edici özellikleri (Van de Velde vd., 2002a), farmasötik uygulamalarda (Takamatsu veTaso, 1993; Van de Velde vd., 2002b) ve birçok süt ürününde kullanılır; krem peynir, süzme peynir, tatlılar, muhallebi, dondurma, milk shake, pasta dolgusu ve çikolata ürünleri. Bir gıda katkı maddesi olarak kullanılmaya ek olarak, İrlanda yosunu hava spreyi jellerinde, diş macunu, yangın söndürme köpüğü, şampuan, kozmetik kremleri ve ayakkabı cilası vb. alanlarda da kullanılmaktadır (Necas ve Bartosikova, 2013). Karagenanların toksisitesi çok düşüktür ve teratojenik olmadığı gösterilmiştir (Necas ve Bartosikova, 2013).

1.17. N,N-Dimetilaminoetil Metakrilat

N,N-dimetilaminoetil metakrilat monomeri, berrak renksiz bir sıvıdır. Sudan daha az yoğundur ve suda çözünmez. Kapalı formülü $C_8H_{15}NO_2$'dir. Molekül ağırlığı 157,21 g/mol'dür. Isıtıldığında veya kirlendiğinde ekzotermik olarak polimerize olabilir. Plastik yapımında ve tekstilde kullanılır. Poli(N,N-dimetilaminoetil metakrilat)

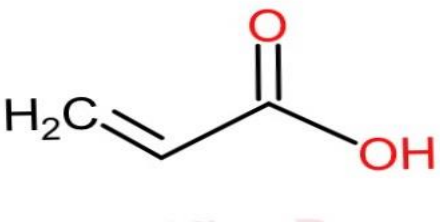
(PDMAEMA) polimerinin pH ve sıcaklığa duyarlı olduğu, yaklaşık 38-60 ^{o}C'de LCST değeri gösterdiği gözlenmiştir (Thomas vd., 2015). N,N-dimetilaminoetil metakrilat monomerinin yapısı Şekil 1.4'te sunulmuştur. Polimerdeki amin ve N-dimetilamino grupları arasındaki hidrojen bağlarının alt kritik çözelti sıcaklığına (LCST) hidrofobik katkı sağlayabileceği bilinmektedir (Titaux vd., 2009). Yapıda tersiyer amin gruplarının varlığı, polimerin aynı zamanda pH'ya duyarlılık da göstermesine sebep olup, geniş uygulama alanı yaratmaktadır. Asidik koşullarda amin gruplarının protonasyonu ortam pH'sından etkilenir. Protonasyon ile polimerdeki yük yoğunluğu ve ozmotik basınç artar ve polimerin böylelikle hidratasyon derecesi ve şişme oranı artar (Thomas vd., 2015). Bu özelliklerinden dolayı nano-cihazlarda, kontrollü salım sistemlerinde kullanılırlar (Islam, 2013). PDMAEMA ayrıca DNA taşımında en etkili toksik olmayan polimerlerden biridir ve antimikrobiyal etki de gösterir (Andreeva vd., 2012; Zielinska vd, 2016). PDMAEMA polimerinin pH duyarlı olması bir çok elektrolit malzemenin üretilmesini sağlamıştır (Brassinne vd, 2015). Sultani ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada PDMAEMA'ın disosiasyon sabitini (pKa) 8,44 olarak tespit etmişlerdir (Sutani vd, 2002). PDMAEMA'ın tersiyer amin grupları zayıf bazik özellik gösterir ve düşük pH'larda pozitif yüklenerek hidrojelin şişmesine sebep olur. Zayıf bir katyonik polielektrolit olan PDMAEMA, kontrollü ilaç salım sistemleri ile gen terapisi çalışmalarında kullanılmaktadır (Yuk vd, 1997). Çalışmalarda molekül ağırlığına, pH derecesine ve tuz konsantrasyonuna bağlı olarak 38-60 ^{o}C arasında sıvı ortamda alt kritik çözelti derecesine yönelik olarak çeşitli değerler elde edilmiştir. DNA'nın hücreye girişi zor olduğundan bir taşıyıcı sistem gerekmektedir. Bu sebeple DNA'nın hücre içerisine aktarılabilmesi amacıyla bazı viral taşıyıcılar geliştirilmiştir (Van D Wetering vd., 1998). Viral sistemler in-vitro ve in-vivo çalışmalarda etkili gen transferi sağlamalarına rağmen, bağışıklık sisteminin viral sistemlere tepki göstermesi nedeniyle kullanılabilirlikleri sınırlıdır. Wetering ve arkadaşları viral sistemlere alternatif olarak, PDMAEMA içeren, viral olmayan bir DNA taşıyıcı sistem geliştirmişlerdir (Van D Wetering vd., 1998).



Şekil 1.4. N,N-dimetilaminoetil metakrilatın kimyasal yapısı

1.18. Akrilik Asit

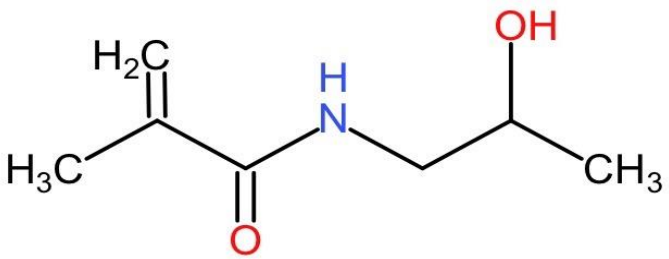
Akrilik asit oda sıcaklığında renksiz ve kokulu sıvı bir monomerdir (Murli ve Song, 2010). Su ve birçok organik çözücü ile karışabilir. Akrilik asit ısıya, ışığa veya metallerle maruz bırakıldığında çok kolay polimerleşir. Bu yüzden kuvvetli ekzotermik polimerleşmeden korunmak için ticari akrilik asit içerisine polimerleşme inhibitörü eklenir (Van de Wetering vd., 1998; Zhang vd., 2010). Akrilik asitin kimyasal yapısı Şekil 1.5'te sunulmuştur. Kolayca polimerleşmesi ve hidrofilik özelliklerinden dolayı pek çok uygulama alanına sahiptir (Yalaz, 2006). Akrilik asitin kullanım alanlarına; tekstil materyallerinin modifiye edilmesinde, plastiklerde, kâğıt imalatında, dış cephe boyalarında, zemin cilalarında, zemin ve duvar kaplamalarında, otomobil, araç-gereç ve mobilya verniklemede, eczacılıkta kontrollü ilaç salım sistemlerindeki gibi örnekler verilebilir (Yalaz, 2006; Zhang vd., 2010). Biyouyumlulukları tespit edilmiş olan AA ilaç salım sistemlerinde kullanılmaktadır (Küçükbalcı, 2011). İyonlaşmış halde bulunan PAA ataktik yapı gösterir. Makromoleküllerde bulunan çok miktardaki karboksilik grupları sebebiyle çok kuvvetli hidrofilik özellik gösterir ve kuvvetli hidrojen bağ etkileşimini proton alan polimerler ile oluşturulabilir (Asıl, 2006).



Şekil 1.5. Akrilik asitin kimyasal yapısı

1.19. N-(2-Hidroksipropil) Metakrilamid

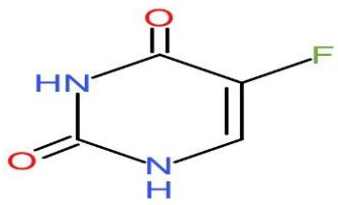
Poli(N-(2-hidroksipropil) metakrilamid) (PHPMA) özellikle nano-tıp uygulamalarında çok kullanılan poli(etilen glikol)'e alternatif gösterilen hidrolitik olarak kararlı, ikincil hidroksil grubu ile fonksiyonlaştırma yapılabilen hidrofilik bir polimerdir (Tucker vd., 2015; Tucker ve Sumerlin, 2014). Diğer N-substitue metakrilamidlere benzer şekilde hidrolitik olarak kararlı olması *in vivo* uygulamalarda önemli bir katkı sunmaktadır. PHPMA bazlı kopolimerler immunojenik ve toksik değildirler (Wang vd., 2000). PHPMA polimeri en çok kullanılan suda–çözünür ilaç taşıyıcıları arasındadır (Ulbrich vd., 2016). PHPMA bazlı kopolimerlerin doxorubicin ve paklitaksel gibi ilaçlarla konjugatlarının ayrıca onaylanmış faz I/faz II klinik uygulamaları bulunmaktadır (Ulbrich vd., 2016). N-(2-hidroksipropil) metakrilamidin kimyasal yapısı Şekil 1.6'da sunulmuştur.



Şekil 1.6. N-(2-hidroksipropil) metakrilamidin kimyasal yapısı

1.20. 5-Fluorouracil (5-FU)

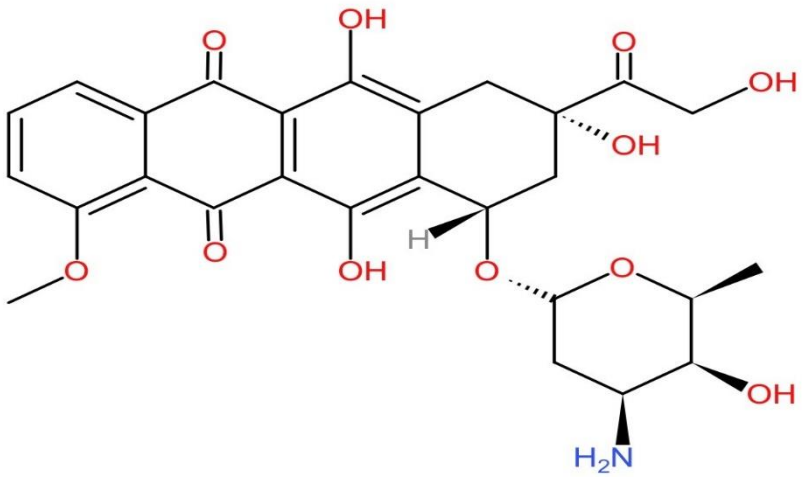
Kapalı formülü $C_4H_3FN_2O_2$ olan 5-Fluorouracil kristalin yapıda ve beyaz renkli bir ilaçtır. IUPAC ismi 5-floro-1H,3H-pirimidin-2,4-dion olan 5-Fluorouracil'in pKa değeri 7,98, molekül kütlesi 130,08 g/mol'dür (Guerra vd., 1961). Tümörlü hücrelerin sağlıklı hücrelere göre 5-Fluorouracili daha fazla kullandığının belirlenmesi üzerine sentezlenerek ilaç olarak üretilmiştir (Babu vd., 2006). Farklı kanser türlerinde (mide, meme, baş ve boyun ve pankreas) olumlu sonuçlar veren, solid tümörlerin tedavisinde kullanılan, yarılanma ömrü kısa bir ilaçtır (Chaturvedi vd., 2011). İlk sentezinden ve geliştirilmesinden bu yana Heidelberger ve meslektaşları tarafından önemli bir sitotoksik kemoterapi sınıfı olarak florlanmış pirimidinler 1950'lerden beri kullanılmaktadır. 5-FU, kolorektal kanser tedavisi için sistemik kombinasyon kemoterapisinin bel kemiği olmuştur (Lee vd., 2016). Sentetik floropirimidin antagonisti olan sitostatik 5-Fluorouracil, antineoplastiktir (Kaplan vd., 2010). 5-Fluorouracilin yan etkileri kemik iliği, cilt, müköz membranlar, gastrointestinal sistem ve santral sinir sistemi üzerinedir. Uygulanan miktara ve uygulanma yöntemine göre yan etkiler değişiklik göstermektedir (Becker vd., 1999). 5-FU'nun kimyasal yapısı Şekil 1.7'de sunulmuştur.



Şekil 1.7. 5-FU'nun kimyasal yapısı

1.21. Doxorubicin (DOX)

DOX, streptomyches peucetius'un fermantasyonu ile elde edilen bir ilaçtır (Zhang vd, 2017). Doxorubicin (DOX), kanser tedavisinde kullanılan anti-tümör etkiye sahiptir (Huang vd., 2017; Zhang vd., 2017). Gelişen nanoteknoloji ile kanser tedavisinde kullanılan yüksek etkinliğe sahip bir ilaçtır (Patil vd., 2012). Meme kanseri, yumurtalık kanseri, akciğer kanseri, nöroblastoma kanseri, lösemi vb. gibi kanser tedavisinde en çok kullanılan ilaçlardan biridir. Geniş spektrumlu bir ajandır, ancak yan etkileri de mevcuttur. DOX'un neden olduğu toksisitede serbest radikallerin rolü olduğu bildirilmiştir (Ayla vd., 2009). Kardiyotoksisite en önemli yan etkisi olup ilk kez doxorubicin tedavisi alan çocuklarda kalp yetmezliği gelişmiştir (Demir vd., 2004). DOX'un molekül formülü $C_{27}H_{29}NO_{11}$ şeklindedir ve kimyasal yapısı Şekil 1.8'de verilmiştir.



Şekil 1.8. DOX'un kimyasal yapısı

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Kimyasalar

κ-karagenan (KRG, %98), akrilik asit (AA, %98), N,N-dimetilaminoetil metakrilat (DMAEMA, %98), N-(2-hidroksipropil) metakrilamid (HPMA, %98), 4,4'-azobis(4-siyanovalerik asit) (ACVA, %98), tetrahidrofuran (THF, % 99,9), $FeCl_3.6H_2O$ (%99), $FeCl_2.4H_2O$ (%99), etanol (≥ %99,8), metanol (≥ %99,8), 5-Fluorouracil (5-FU) Sigma-Aldrich firmasından temin edildi. Doxorubicin (DOX) Santa Cruz Biotechnology Inc. şirketinden temin edildi. N,N-dimetilaminoetil metakrilat (DMAEMA) 65 °C'de ve akrilik asit (AA) 60 °C'de destillendikten sonra, diğer kimyasalların hepsi alındığı halleriyle kullanılmıştır.

2.2. Cihazlar

Spektroskopi analizileri: UV absorpsiyon spektrumları, UV spektrometresi (UV/Vis spectrometer, lambda 35, PerkinElmer, ABD) ile ölçüldü. FTIR spektrumları, IR spektrometresi (IR spectrometery vortex 70V, Bruker, ABD) ile 400-4000 cm^{-1} frekansları arasında kaydedildi. X-ışını kırınımı (XRD), 40 kV jeneratör gerilimi ve 40 mA akımında CuKα radyasyon ile donatılmış Rigaku D/MAX2200/PC difraktometre kullanılarak alındı. Numuneler numune tutucu üzerine tutturulmuştur ve 2 ^{o}/dakika hızında 2-100^o, 2θ aralığında taranmıştır. ^{13}C-NMR analizi Bruker Superconducting FT.NMR Spectrometer Avance TM 300 MHz WB model cihaz ile yapılmıştır.

Yüzey morfolojisi ve parçacık boyutu analizleri: Nano taşıyıcının yüzey morfolojisi ve tabaka boyutu: geçirgenlik elektron mikroskopisi (TEM), (Electron Microscope, JEM-3010, Jeol, Japonya), kopolimerlerin yüzey analizi taramalı elektron mikroskobu (SEM) (JSM 5600, JEOL, Japonya) ve nano malzemelerin stabilite çalışmaları, yüzey yükü, Size Zetasizer (Nano ZS 90, Malvern Instruments Ltd., Malvern, İngiltere) ile zeta hücresi kullanılarak ölçülmüştür.

Manyetik analizler: Titreşimli Numune Magnetometresi (VSM), Lake Shore Cryotronics, Inc.) ile Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı Ar-Ge Eğitim ve Ölçme Merkezinde yapıldı.

Termal analizler: Kopolimerlerin ve nano malzamelerin termal davranışı termogravimetrik analiz, (TGA) (Q500, TA Instruments Inc., Milford, MA, ABD) ile 10 °C/dk ısıtma hızında incelenmiştir. Ayrıca, diferansiyel tarama kalorimetri (DSC) ölçümleri, DSC Q2000 (TA Instruments Inc., Milford, MA, ABD) kullanılarak kaydedilmiştir. DSC analizi için numuneler önce 60 °C'ye kadar ısıtıldı sonra oda sıcaklığına kadar soğutularak, 10 °C/dk ısıtma oranında 400 ℃'ye ısıtılmıştır.

Manyetik alan deneyleri: 50 mT, 100 kHz manyetik alan oluşturarak SR 830 DSP Lock-ın Amplifer model cihazda Kırıkkale Üniversitesi SEM Laboratuvarında yapılmıştır.

Demir yüzdesi tayini: SPEKTROBLUE ICP-OES model cihazı kullanılarak Fe_3O_4 miktarı tayini Kırıkkale Üniversitesi Çevre Analiz Laboratuvarında yapılmıştır.

Yukarıda listelenen cihazlara ek olarak aşağıda belirtilen cihazlar kullanılmıştır.
Analitik terazi (OHAUS corporation, Pioneer, PA214C, ABD)
Etüv (Vacucell ve Ecocell, MMM group, Çek Cumhuriyeti)
Manyetik karıştırıcı (Schott instuments, Gmbh, Almanya)
pH metre (Hanna Instruments, HI221)
Sonikator (ISO LAB, Gmbh, Almanya)
Çalkalamalı Su banyosu (LAB Companion, BS-21, LAB RepCo, ABD)
Isıtmalı su banyosu (SONOREX digita 10P, BANDELIN, Almanya)
Santrifüj (NÜVE NF 1215, Türkiye)
Mikrodalga Fırın (Milestone, Stars)

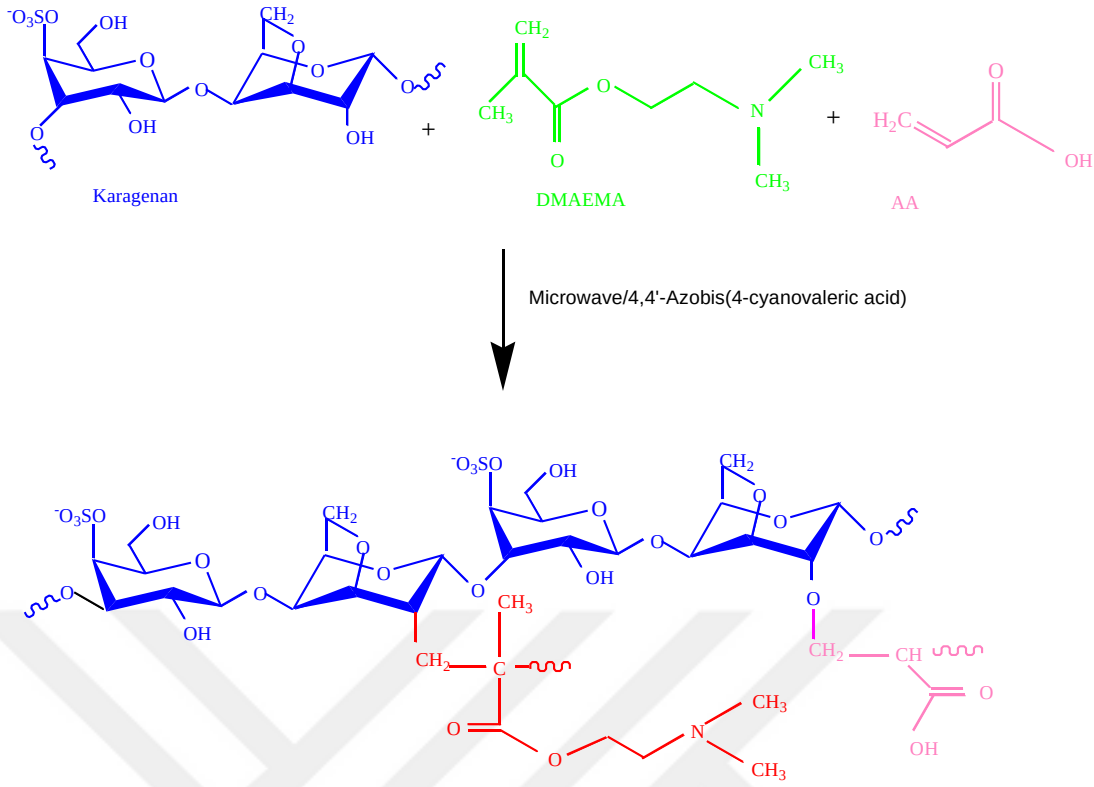
2.3.Yöntem

2.3.1. KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerinin Sentezi

Aşılama işlemi azot gazı atmosferinde, üç boyunlu balonda, geri soğutucu altında ve mikrodalga fırında gerçekleştirildi. Karagenan çözeltisi saf su içerisinde, 70 ^{o}C sıcaklığında 3 saat karıştırılarak elde edildi. Çözeltiye destillenmiş N,N-dimetilaminoetil metakrilat ve derişik NaOH ile pH'sı 6'ya ayarlanan destillenmiş akrilik asit monomeri ilave edildi. Mikrodalga fırında 500 watta, 70 ^{o}C'de 30 dakika süreyle azot gazı geçirilerek ve daha sonra karışıma başlatıcısı 4,4'-Azobis(4-siyanovalerik asit) ilave edilerek tepkime başlatıldı. Tepkime süresince ortamdan azot gazı geçirilmeye devam edildi. Aşılama tepkimesi çeşitli sürelerde (15 dakika-4 saat), farklı akrilik asit derişimlerinde (0,58 M - 0,072 M) ve farklı polimer yüzdelerinde (%0,25 - %0,75) çalışılarak optimize edildi. Oluşan ürünler metanolde (500 mL) çöktürüldü ve süzülerek elde edilen ürün, homopolimerin uzaklaştırılması amacıyla Soxalet içerisinde tetrahedrafuranda (120 mL) yıkandı. Homopolimeri uzaklaştırılan aşı kopolimer 40 ^{o}C'de vakum etüvünde sabit tartıma gelene kadar kurutuldu. Aşı yüzdesi ve aşılama verimi aşağıdaki eşitlikler yardımıyla kütle artışından hesaplanmıştır.

$$Aşı\ Yüzdesi\ (\%) = \frac{(kopolimer\ kütlesi - polimer\ kütlesi)}{polimer\ kütlesi} \times 100 \qquad (2.1)$$

$$Aşılama\ Verimi = \frac{(kopolimer\ kütlesi - polimer\ kütlesi)}{(kopolimer\ kütlesi - polimer\ kütlesi) + homopolimer\ kütlesi} \times 100 \qquad (2.2)$$



Şekil 2.1. KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın yapısı

Kopolimerlerdeki akrilik asit miktarı titrasyon yöntemi ile hesaplandı.

$$Akrilik\ Asit\ (\%) = \frac{(V_1 - V_0) \times 10^{-3} \times C \times M}{W - (V_1 - V_0) \times 10^{-3} \times C \times M} \times 100 \qquad (2.3)$$

Akrilik asit (%) = Aşılanan akrilik asit yüzdesi

V_0 = Saf polimer (Karagenan) için kullanılan NaOH miktarı (mL)

V_1 =Aşılanan kopolimer (KRG-g-P(DMAEMA/AA) için kullanımlan NaOH miktarı (mL))

C = NaOH'in molar konsantrasyonu (mol/L)

M = Aşılanan asitin (Akrilik asit) molekül ağırlığı (72,063 g/mol)

W = Numunenin ağırlığı (g)

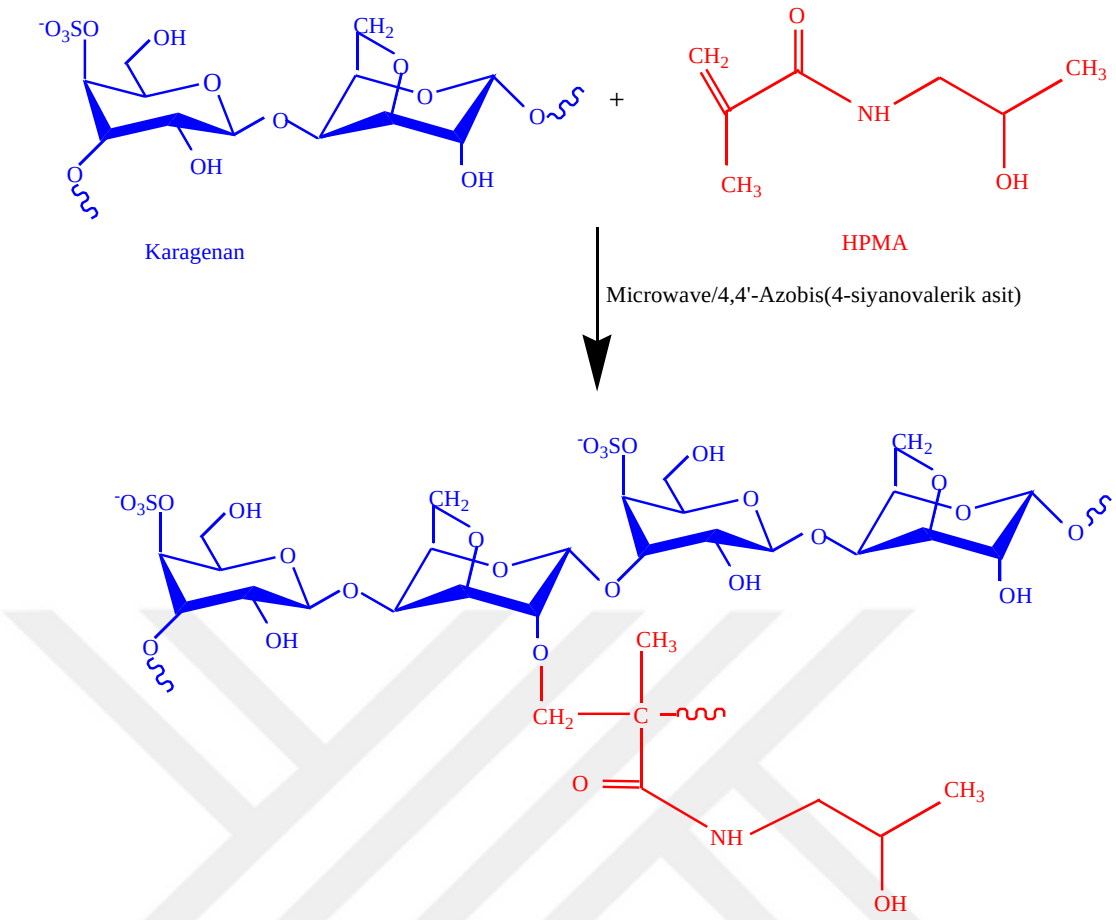
2.3.2. KRG-g-PHPMA Kopolimerinin Sentezi

Aşılama işlemi azot gazı atmosferinde, üç boyunlu balonda, geri soğutucu altında ve mikrodalga fırında gerçekleştirildi. Karagenan çözeltisi saf su içerisinde, 70 ^{o}C sıcaklığında 3 saat karıştırılarak elde edildi. Karagenan 1-1,75 g aralığında değişik miktarlarda kullanıldı. Çözeltiye HPMA monomeri ilave edildi. Mikrodalga fırında 500 watta, 70 ^{o}C'de 30 dakika süreyle azot gazı geçirilerek ve daha sonra karışıma başlatıcısı 4,4'-Azobis(4-siyanovalerik asit) ilave edilerek tepkime başlatıldı. Tepkimeye 3 saat mikrodalga ışınlama süresinde, 500 watta ortamdan azot gazı geçirilerek devam edildi. Oluşan ürünler etanolde (500 mL) çöktürüldü ve süzülerek elde edilen ürün, homopolimerin uzaklaştırılması amacıyla Soxalet içerisinde tetrahidrofuranda (120 mL) yıkandı. Homopolimeri uzaklaştırılan aşı kopolimer 40 ^{o}C'de vakum etüvünde sabit tartıma gelene kadar kurutuldu. Aşı yüzdesi element analizinden hesaplanmıştır.

KRG-g-PHPMA kopolimerinin aşı yüzdesi %N yöntemi ile hesaplandı.

$$Aşı\ Yüzdesi = \frac{\%N}{14} \times M \qquad (2.4)$$

M: 2-Hidroksipropil metakrilamit'in molekül ağırlığı (144,168 g/mol)



Şekil 2.2. KRG-g-PHPMA'nın yapısı

2.3.3. KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerlerinin LCST Ölçümleri

KRG polimerinin ve farklı aşı yüzdesinde KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin 0,01 gramı 10 mL deiyonize suda çözünerek LCST ölçümü için hazırlanmıştır. 30-60 ºC aralığında sıcaklık 2 ºC artırılarak UV spektrometresinde 500 nm dalga boyunda geçirgenliği ölçülmüştür. PDMAEMA polimerinin pH duyarlığını desteklemek için LCST ölçümü farklı pH'larda (pH:1,2, pH:5,5, pH:7,4, pH:8, pH:10) yapılmıştır. Deneyler üç tekrarlı yapılmış ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

2.3.4. KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerinin Şişme Oranı Ölçümü

Farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinden 0,05 gram alınarak 25 mL'lik tampon çözeltilerinde (pH:1,2, pH:5,5, pH:7,4, pH:8, pH:10), 37 ºC'de ve 100 rpm hızda çalkalamalı su banyosunda 6 saate kadar saat başı ve 24 saatin sonunda kütle artışı ölçülerek şişme oranları hesaplanmıştır. Deneyler üç tekrarlı yapılmış ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

$$Şişme\ Oranı = \frac{(Şişmiş\ kopolimerin\ kütlesi - Kuru\ kopolimerin\ kütlesi)}{Kuru\ kopolimerin\ kütlesi} \times 100 \qquad (2.5)$$

2.3.5. Kopolimerlerden Manyetik Nanoküre Sentezi

KRG-g-(PDMAEMA/AA) kopolimerlerinden 0,2 gram ve KRG-g-PHPMA kopolimerinden 0,25 gram alınarak 50 mL deoksijene suda 70 ºC'de manyetik karıştırıcı yardımıyla çözüldü. Kopolimer çözeltisi mikrodalgada 500 watta, 70 ºC, asitlendirilmiş 0,2 M $FeCl_3.6H_2O$ tuzundan 5 mL, $FeSO_4.7H_2O$ tuzundan 128 mg (nFe^{+2} / nFe^{+3} = 0.625 /1) ilave edilerek ortak çöktürme yöntemi ile azot gazı atmosferinde yarım saat karıştırıldı. Çözeltiye bağlayıcı olarak 1 M KOH çözeltisinden 8-10 mL ilave edilerek ve çözeltinin pH değeri; 10'a ayarlanarak, azot gazı atmosferinde, 70 °C'de, 500 watta, 1 saat mikrodalgada karıştırıldı. Daha sonra bu çözelti manyetik ayırıcı yardımıyla manyetik özelliğe sahip olan partiküllerle olmayan partiküller birbirinden ayrıldıktan sonra manyetik nanoküreler 50 mL %40 etanol, %60 deoksijene su karışımı ile üç defa yıkandı. İlaç yüklü nanoküreler hazırlanırken kopolimer karışımına değişen miktarlarda ilaç ilave edilerek hazırlandı. Oluşan nanoküreler sabit tartıma gelene kadar kurutuldu.

2.3.6. Tutuklanma Verimi (TV)

Nanoküreler içerisine teorik olarak yüklenmesi gereken ilaç miktarının gerçekte ne kadar yüklendiğinin belirlenebilmesi için tutuklanma verimi hesabı yapılmıştır. Tutuklanma verimi hesaplanması için ilaç yüklü nanokürelerden 5 mg alınarak üzerine 25 mL pH 7,4 $H_2PO_4^-$/ HPO_4^{-2} tamponu eklenmiş 25 °C'de 100 rpm hızda çalkalamalı su banyosunda 4 saat boyunca bekletilmiştir. Elde edilen ekstrakt süzülerek 5-FU ve DOX içeriği UV spektrofotometresi ile 5-FU'nun maximum absorpsiyon gösterdiği dalgaboyu olan 266 nm'de ve DOX'un absorpsiyon gösterdiği dalgaboyu olan 499 nm'de tayin edilmiştir. Tutuklanma verimi çalışmaları her bir formülasyondaki ilaç yüklü nanoküreler için üçer defa tekrarlanarak hesaplanmıştır.

Nanokürenin ilaç yükleme kapasitesi ve ilacın tutuklanma verimi aşağıdaki eşitlikler ile hesaplandı.

$$\text{İ}laç\ y\ddot{u}kleme\ kapasitesi\ (\%) = \frac{Nanok\ddot{u}redeki\ deneysel\ ila\c{c}\ miktarı}{Nanok\ddot{u}re\ miktarı} \times 100 \qquad (2.6)$$

$$Tutuklanma\ verimi(\%) = \frac{Nanok\ddot{u}redeki\ deneysel\ ila\c{c}\ miktarı}{Nanok\ddot{u}redeki\ teorik\ ila\c{c}\ miktarı} \times 100 \qquad (2.7)$$

2.3.7. Manyetik Nanokürelerden *İn Vitro* İlaç Salımı

İlaç yüklü manyetik nanokürelerden 5 mg alınarak, 25 mL farklı pH'lardaki PBS tamponunda (pH 7,4) asetat tamponunda (pH 5,5) ve asidik ortamda (pH 1,2), 37 ^oC'da *in vitro* salımı incelendi. Zeta potansiyeli ve partikül boyutuna göre en uygun manyetik nanoküreler seçilerek ilaç salımı incelendi. KRG-g-(PDMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanoküreleri için; aşı yüzdesi, pH, sıcaklık, manyetik alan, ilaç miktarı ve ilaç türü değiştirilerek salımı incelendi. KRG-g-

PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanoküreleri için; aşı yüzdesi, pH, Fe_3O_4 oranı, manyetik alan, ilaç miktarı ve ilaç türü değiştirilerek salımı incelendi. Tüm salım deneyleri çalkalamalı su banyosunda 100 rpm hızda gerçekleştirildi. Belirli zaman aralıklarında 200 µL örnekler alınarak ve toplam hacmi korumak için aynı miktarda tampon salım ortamına ilave edildi. Her bir deney 3 kez tekrarlanarak standart sapmaları hesaplandı.

2.3.8. Manyetik Nanokürelerin LCST Ölçümü

Manyetik nanokürelerden 1 mg alınarak 5 mL deiyonize su ve farklı pH'larda 30-60 °C aralığında sıcaklık 2 °C artırılarak %geçirgenliği 500 nm dalgaboyunda ölçüldü. Ölçümler çalkalamalı su banyosunda 100 rpm hızda termal dengeye getirilerek yapıldı. Her bir deney 3 kez tekrarlandı ve standart sapmaları hesaplandı.

2.3.9. Manyetik Nanokürelerin Zeta Potansiyeli, Partikül Boyutu ve Polidispersite Ölçümü

Manyetik nanokürelerin zeta potansiyeli, partikül boyutu ve polidispersite ölçümleri için 1 mg nanoküre 2 mL PBS tamponunda (pH 7,4), asetat tamponunda (pH 5,5) ve asidik ortamda (pH 1,2) hazırlanarak 25 °C'de ölçüldü.

2.3.10. Manyetik Nanokürelerin Stabilite Çalışmaları

Manyetik nanokürelerin stabilite ölçümleri için 1 mg nanoküre 2 mL PBS tamponunda (pH 7,4), asetat tamponunda (pH 5,5) 4 gün süre ile 4 °C ve 25 °C'de, KRG-g-(PDMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanoküreleri bu ölçümlere ek olarak LCST değerinin üstünde 48 °C'de zeta potansiyelleri, partikül boyutları ve polidispersiteleri ölçülerek yapıldı.

2.3.11. *İn vitro* Hücre Kültürü Çalışmaları

2.3.11.1. Biyouyumluluk Testi

KRG polimerinin, KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin, KRG@Fe_3O_4, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 manyetik nanokürelerinin biyouyumluluklarını değerlendirmek için, *in vitro* 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) deneyi yapılmıştır. Biyouyumlulukları normal fibroblast hücresi L929 kullanılarak araştırılmıştır. Biyouyumluluk testi MTT yöntemi ISO 10993-5 standartlarına uygun yapılmıştır. Metabolik reaksiyonlarda görevli mitokondrial enzimler 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromürü, suda çözünmeyen formazan boyaya indirgenmektedir. 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromürün indirgenmesi primer olarak hücre içerisindeki glikolitik aktivite ile ilgili olmakla birlikte Nikotinamide Adenin Dinükleotid (NADH) ve Nikotinamide Adenin Dinükleotid fosfat (NADPH) varlığına bağlıdır.

Numuneler, 24 saat boyunca, altı farklı konsantrasyonda (200 μg mL^{-1}, 100 μg mL^{-1}, 50 μg mL^{-1}, 25 μg mL^{-1}, 12,5 μg mL^{-1} ve 6,5 μg mL^{-1}) test edilmiştir. MTT yönteminde: her bir kuyucuğa $1x10^4$ hücre olacak şekilde sayılarak 48'lik kuyucuğa ekim yapıldı. Sonra, 24 saat süresince 37 °C'de ve %5 CO_2'de inkübasyon işlemi yapıldı. Sonrasında, ortam atıldı ve hücrelere, numuneler ile işlem uygulanarak aynı koşullar altında 24 saat inkübasyon işlemi yapıldı. Çalışma 3 tekrarlı yapılmıştır. Son olarak, muamele edilen hücrelerin optik yoğunluğu ELISA mikroplaka okuyucu (BioTek, ABD) tarafından 570 nm'de ölçüldü. Hücre canlılığı, aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Mirahmadi vd., 2013; Türk vd., 2010).

$$Hücre\ Canlılığı\ (\%) = \frac{Örneklerin\ ortalama\ optik\ yoğunluğu}{Kontrolün\ ortalama\ optik\ yoğunluğu} \times 100 \qquad (2.8)$$

2.3.11.2. Antikanser Aktivitesi

Manyetik nanokürelerin antikanser aktivitesini araştırmak için ilaç yüklü nanoküreler A549 kanser hücreleri kullanılarak 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromür testi ile araştırılmıştır. 96 tane kuyucuğu olan levhalara kuyucukların her birinde $1x10^4$ hücre olacak şekilde A549 kanser hücrelerinin ekimi yapılmıştır. 24 saat boyunca hücreler inkübe edilmiştir. Daha önceden yüklenen ilacın serbest ilaç ile eşit olacak şekilde hazırlanan 100 ng mL^{-1}'lik DOX, 5-FU, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX örneklerinden belirlenen konsantrasyonlarda (0,5 μg mL^{-1}, 10 μg mL^{-1}, 50 μg mL^{-1}, 100 μg mL^{-1} ve 1000 μg mL^{-1}) hücrelerin üzerine uygulanıp, 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Bu süreden sonra kuyucuklardaki vasatlar atılarak her kuyucuğa 100 μL besiyeri ve 10 μL 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromür çözeltisi eklenmiştir. 3,5 saat inkübe edildikten sonra kuyucuklara 150 μL DMSO eklenerek 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Canlı hücre tespiti için absorbans değerleri ELİSA plaka okuyucuda 570 nm'de okutulmuştur. Hücre canlılığı kontrol grubu baz alınarak hesaplanmıştır.

2.3.12. Demir İçeriği Tayini

ICP-OES cihazı kullanılarak elde edilen manyetik nanokürelerin Fe_3O_4 miktarı tayin edildi. Numuneler ve 0-1-2-3-5-10-20 ppm'lik kalibrasyon için standart çözeltileri Plasma Power 1435 W, Pump Speed 30 rpm, Coolant Flow 0,80, Nebulizer Flow 0,70 cihaz şartlarında okutularak kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. (R^2:0.9999). Numuneye uygulanan işlemler şu şekildedir; 0,01 g örneğe 10 mL HNO_3 eklendi ve CEM MARS6 Mikrodalga cihazında Carbon Metodu kullanılarak; power: 290-1800, ramp time: 20:00, hold time: 15:00 ve sıcaklık:200 °C cihaz koşullarında yıkama işlemi yapılmıştır. Yıkama işlemi sonrası toplam hacim 50 mL olacak şekilde seyreltilerek yukarıda belirlenen ICP-OES cihaz koşulları altında okuma işlemi yapılmıştır. Ölçüm değerlerinin yüksek olması sebebiyle numune 1/10 oranında seyreltilerek ölçümleri yapılmıştır.

2.3.13. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizi SPSS 16,0 yazılımı, ANOVA testi (IBM, NY, ABD) ile yapıldı. (P) < 0,05 anlamlılık düzeyi istatistiksel olarak farklı kabul edildi. Sonuçlar ortalama ± standart sapma (SS) olarak hesaplandı. Çalışmalarımızda üç bağımsız ölçüm yapılarak hesaplandı.

3. ARAŞTIRMA ve BULGULAR

3.1. Kopolimerlerin Karakterizasyonu

KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimeri mikrodalga fırında serbest radikalik katılma polimerizasyonu ile sentezlendi. Kütle artışı ile aşı yüzdesi ve aşılama verimi hesaplandı. Sentezlenen kopolimer mikrodalga ışınlama süresi, DMAEMA/AA oranı, karagenan miktarı, mikrodalga gücü, başlatıcı (ACVA) konsantrasyonu değiştirilerek optimize edildi. KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimeri FTIR, ^{13}C-NMR, DSC, TGA, DTGA SEC, SEM ve XRD yöntemleri ile karakterize edildi. MTT yöntemi ile KRG polimerinin ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin biyouyumluluğu belirlendi.

KRG-g-PHPMA kopolimeri aynı yöntemle mikrodalga fırında sentezlendi. KRG-g-PHPMA kopolimeri FTIR, ^{13}C-NMR, DSC, SEC, SEM ve XRD yöntemleri ile karakterize edildi.

3.1.1. Kopolimerlerin Aşı Yüzdeleri Sonuçları

KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin aşı yüzdesi ve aşılama verimi Çizelge 3.1'de sunuldu. Kopolimerin toplam aşı yüzdesi kütle artışı yöntemi ile Eşitlik 2.1 kullanılarak hesaplandı. Yapıdaki akrilik asit yüzdesini hesaplamak için titrasyon yöntemi kullanılarak Eşitlik 2.3 ile hesaplandı. KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin aşı yüzdesi ortamdaki artan karagenan miktarı ile azalmaktadır. Bunun nedeni karagenan miktarının artması ile ortam viskositesi artmakta ve oluşan DMAEMA ve AA radikalleri karagenan ana zincirine bağlanmakta zorlanmaktadır. PDMAEMA ve PAA polimerleri kopolimer yapısına farklı yüzdelerede bağlanmıştır. Akrilik asitin aşı yüzdesi DMAEMA'dan biraz fazladır.

Çizelge 3.1. KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerin aşı yüzdeleri değişimi

Aşı kopolimer	KRG (g/mL)	DMAEMA (M)	AA (M)	Aşı Yüzdesi DMAEMA (%)	Aşı Yüzdesi AA (%)	Toplam Aşı Yüzdesi (%)
KRG-g-P(DMAEMA/AA)$_1$	0,750	0,118	0,145	43	52	95
KRG-g-P(DMAEMA/AA)$_2$	0,625	0,118	0,145	50	63	113
KRG-g-P(DMAEMA/AA)$_3$	0,500	0,118	0,145	63	72	135
KRG-g-P(DMAEMA/AA)$_4$	0,375	0,118	0,145	66	77	143

KRG-g-PHPMA kopolimerinin aşı yüzdesi kütle artışından hesaplanamadı. Kopolimerinin aşı yüzdeleri %N yöntemi (Eşitlik 3.4) ile Element Analizinden hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 3.2'de sunuldu. %8 ve %18 aşı yüzdeli kopolimerin aşı yüzdelerindeki artışın sebebi; karagenan miktarının artması ile karagenen anazinciri üzerindeki aktif bölgelerin artmasına bağlanmaktadır. %18 ve %81 aşı yüzdeli kopolimerlerin aşı yüzdelerindeki artışın sebebi; ortamdaki monomer miktarının artışı ile makroradikale bağlanan monomer miktarının artmasına bağlanmaktadır.

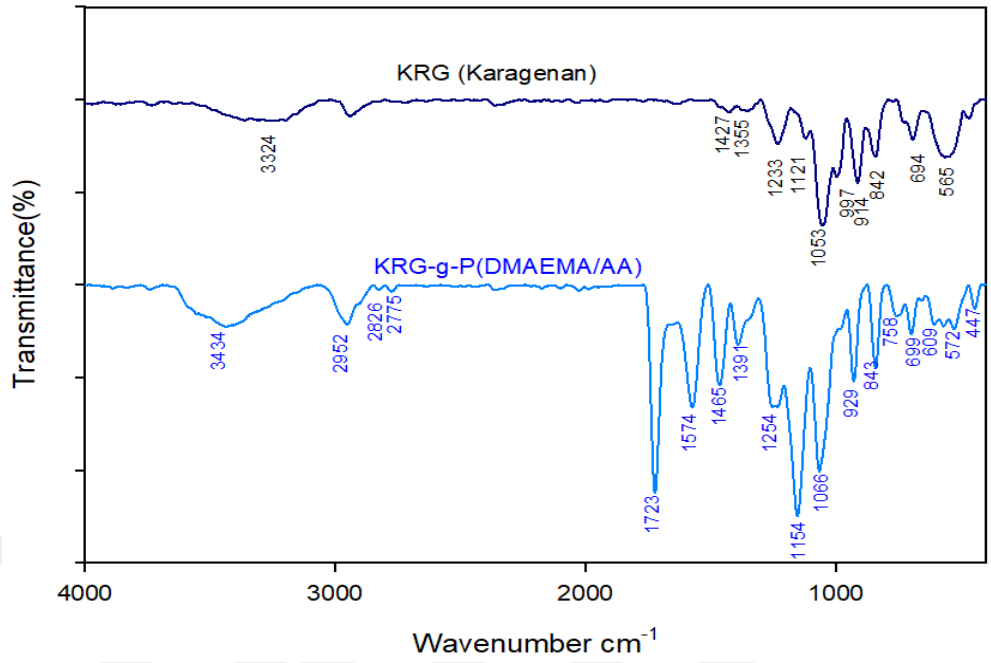
Çizelge 3.2 KRG-g-PHPMA kopolimerinin aşı yüzdeleri değişimi

Aşı kopolimer	KRG (g/mL)	HPMA (g)	N (%)	Aşı Yüzdesi (%)
KRG-g-PHPMA$_1$	1	1	0,78	8
KRG-g-PHPMA$_2$	1,75	1	1,75	18
KRG-g-PHPMA$_3$	1,75	1,5	7,89	81

3.1.2. Kopolimerlerin FTIR Spektrumları

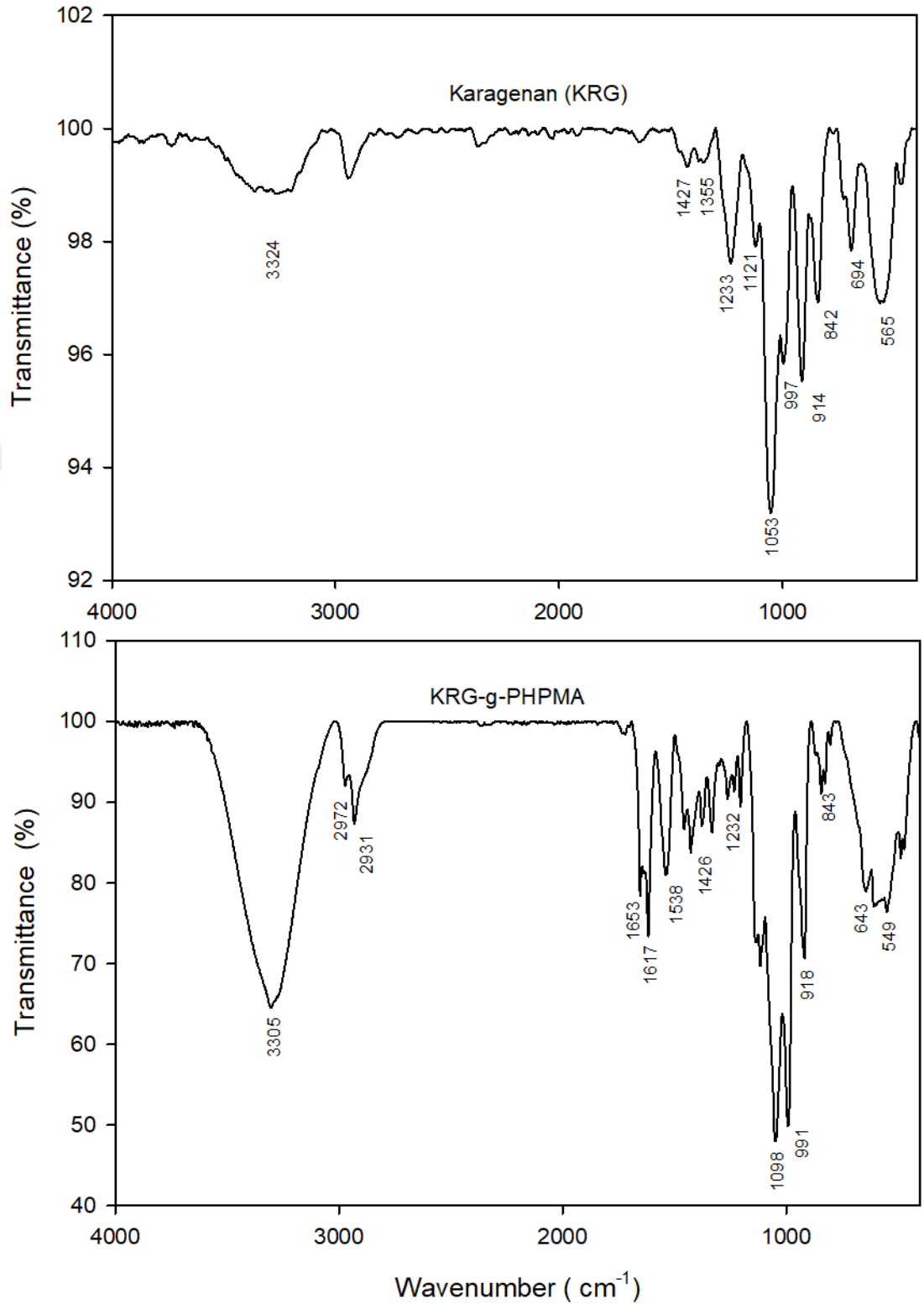
Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de karagenan polimerinin, KRG-g-P(DMAEMA/AA) ve KRG-g-PHPMA kopolimerlerinin FTIR spektrumları sunulmaktadır. Karagenanın spektrumunda 3000-3500 cm^{-1} arasında görülen bant O-H gerilme titreşimini gösterir. Karagenanın karakteristik bantları; 1233 cm^{-1}'deki bant galaktozun C-4 pozisyonundaki O=S=O ve 842 cm^{-1}'deki bant O-SO_3 gerilme titreşim bandını temsil etmektedir (Liew vd., 2017; Pourjavadi vd., 2007). 1121 cm^{-1}'deki bant köprü durumundaki C-O bağının gerilme titreşimini göstermektedir. 1053 cm^{-1}'deki bant, C-O gerilme titreşimini göstermektedir. 914 cm^{-1}'deki bant 3,6-anhidro-D-galaktoz halkasındaki C-O-C titreşiminin karakteristik bandıdır. 1427 cm^{-1} ve 1355 cm^{-1}'deki bantlar sırasıyla C-O-H düzlem içi bükülme titreşiminden ve C-H bükülme titreşiminden kaynaklanmaktadır (Liew vd., 2017).

Şekil 3.1'de KRG-g-P(DMAEMA/AA) spektrumunda karagenanın yukarıda belirtilen pikleri görülmektedir. Bu bantlara ek olarak, PAA ve PDMAEMA'nın yapısında bulunan gruplara atfedilen 1723, 1574 ve 1154 cm^{-1}'de üç yeni kuvvetli bant ortaya çıkmıştır. Bu bantlar aşılamanın gerçekleştiğini göstermektedir. Bu bantlar; PDMAEMA ve PAA'nın yapısında bulunan karbonil gerilmesine, PAA'nın COONa'nın karbonil gerilmesine ve PDMAEMA'nın C-N ile gerilmesine atfedilebilir (Karthika, 2015; Pourjavadi, 2004). 2952 cm^{-1}' deki bant $-CH_2$ grubundaki C-H gerilme titreşimlerini, 2826 cm^{-1} ve 2775 cm^{-1} deki bantlar azota bağlı metil gruplarındaki C-H gerilme titreşimlerini göstermektedir (Yi vd., 2009; Zielinska vd., 2016). 1465 cm^{-1}'deki bant $-CH_2$ bükülme titreşimini temsil etmektedir (Yi vd., 2009; Zielinska vd., 2016).



Şekil 3.1. KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın FTIR spektrumu

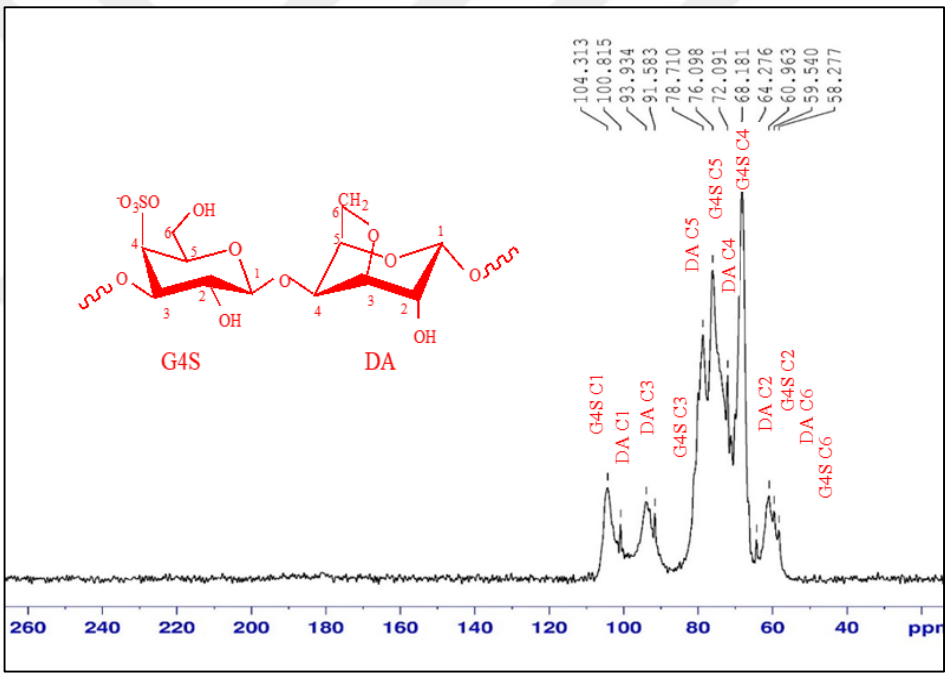
Şekil 3.2'de KRG ve KRG-g-PHPMA kopolimerinin FTIR spektrumu görülmektedir. KRG'nin bantlarına ek olarak PHPMA yapısında bulunan gruplara atfedilen 1653, 1617 ve 1538 cm^{-1}'de görülen güçlü bantlar ortaya çıkmıştır. 3000-3500 cm^{-1}'de görülen geniş bant O-H gerilmesine atfedilmektedir (Yildirim vd., 2016). 2972 ve 2931 cm^{-1}'de görülen bant alifatik C-H gerilmesine, 1653 ve 1617 cm^{-1}'de görülen bant -C=O gerilmesine, 1617cm^{-1}'de görülen bant NH-C=O grubındaki amid I bandına aittir (Liu, 2014; Yildirim vd., 2016). 1538 cm^{-1}'de görülen bant amid II bandına aittir.



Şekil 3.2. KRG ve KRG-g-PHPMA'nın FTIR spektrumu

3.1.3. Kopolimerlerin ^{13}C-NMR Sonuçları

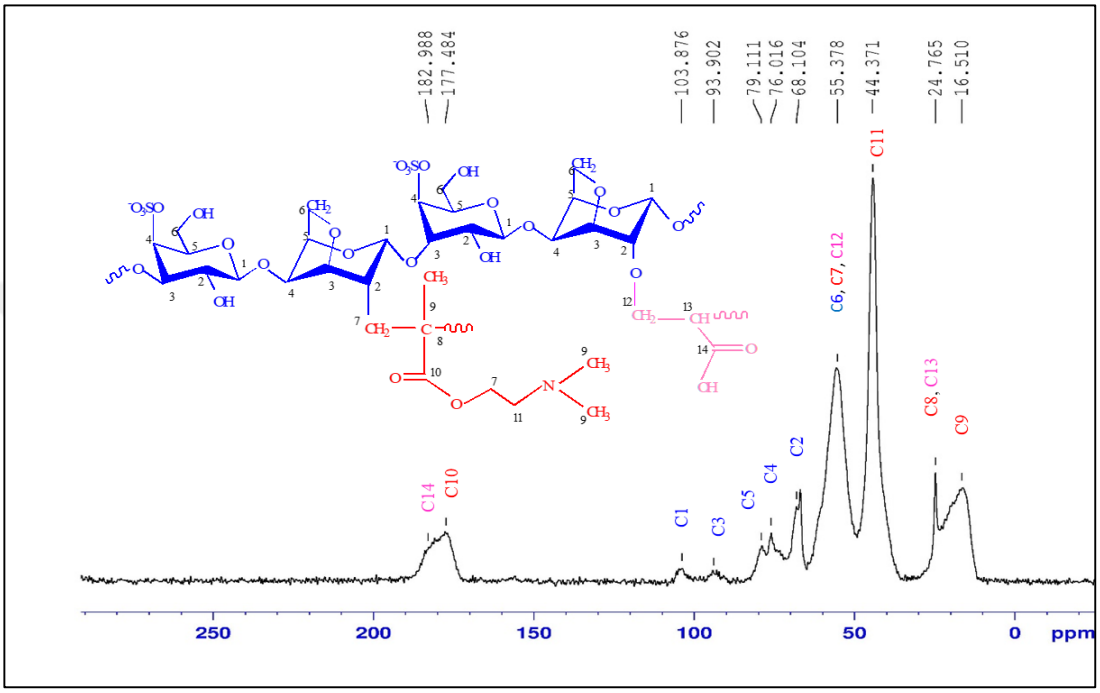
Karagenan polimerinin ^{13}C-NMR spektrumu Şekil 3.3'te sunulmuştur. Karagenan polimeri β-1,3 bağlı D-galaktoz (G4S) halkası ve α-1,4 bağlı 3,6-anhidro D-galaktoz (DA) halkalarından oluşmaktadır ve her halkada çevresi farklı altı karbon atomu bulunmaktadır. Karagenanın G4S halkasındaki C1 piki 104 ppm, C2 piki 60 ppm, C3 piki 91 ppm, C4 piki 68 ppm, C5 piki 76 ppm ve C6 piki 58 ppm'de görülmektedir (Van de Velde vd., 2002a). Karagenanın DA halkasındaki C1 piki 100 ppm, C2 piki 64 ppm, C3 piki 93 ppm, C4 piki 72 ppm, C5 piki 78 ppm ve C6 piki 59 ppm'de görülmektedir (Van de Velde vd., 2002a).



Şekil 3.3. KRG'nin ^{13}C-NMR spektrumu

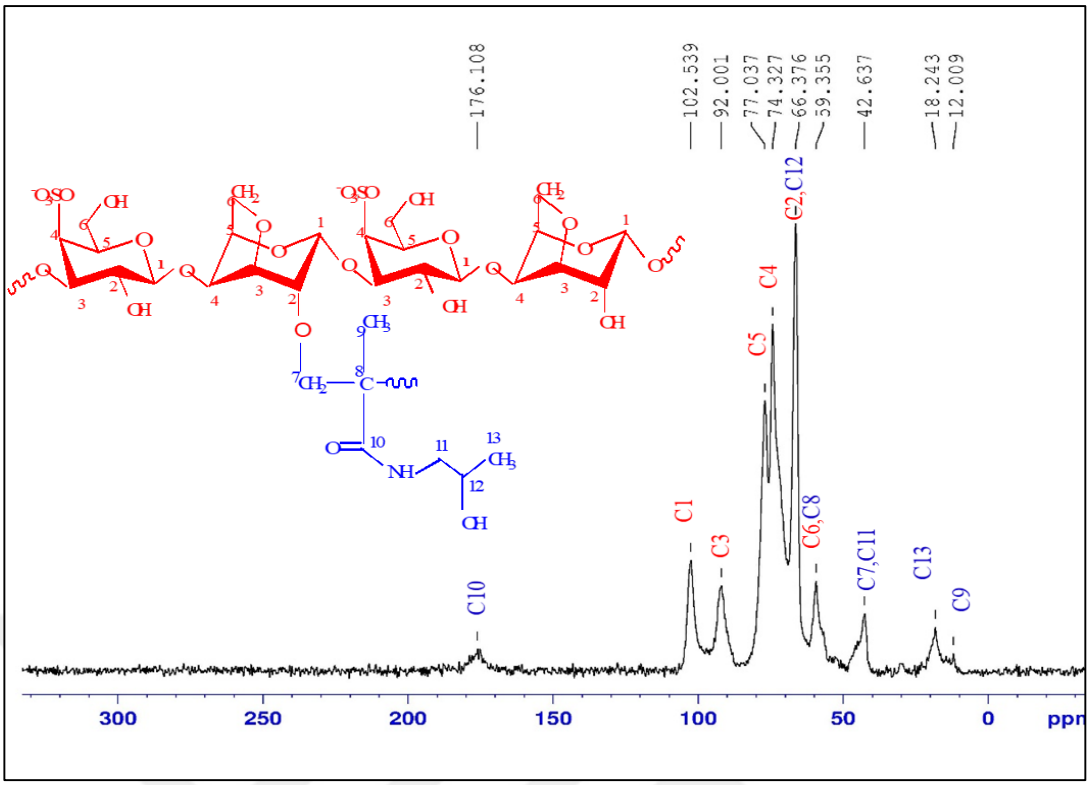
Şekil 3.4'te KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin ^{13}C-NMR spektrumu sunulmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinde karagenana ait piklerin yanı sıra DMAEMA/AA gruplarına ait pikler aşılamayı doğrulamaktadır. PDMAEMA' nın metil ve metilen karbonlarına atfedilen pikler yaklaşık 16 ppm ve 24 ppm'de

görülmektedir (Qiu vd, 2015). P(DMAEMA/AA) ana zincirin metilen karbonu yaklaşık 44 ppm'de ortaya çıkmıştır. Ayrıca, 177 ve 182 ppm'de üst üste gelen pikler, aşılama reaksiyonunu da doğrulayan PDMAEMA ve PAA'da bulunan C=O karbonlarına atfedilmiştir (Qiu vd., 2015; Silva-Jara vd., 2015).



Şekil 3.4. KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın ^{13}C-NMR spektrumu

KRG-g-PHPMA kopolimerinin ^{13}C-NMR spektrumu Şekil 3.5'te sunulmuştur. Karagenanın karbonlarına ait pikler 59, 66, 74, 77, 92, 102 ppm'de görülmektedir. PHPMA'ya ait; 12 ve 18 ppm'deki pikler metil ($-CH_3$) gruplarına, 42 ppm'deki pik metilen ($-CH_2$) grubuna 176 ppm'deki pik karbonil (-C=O) grubuna atfedilmektedir (Yildirim vd., 2016).

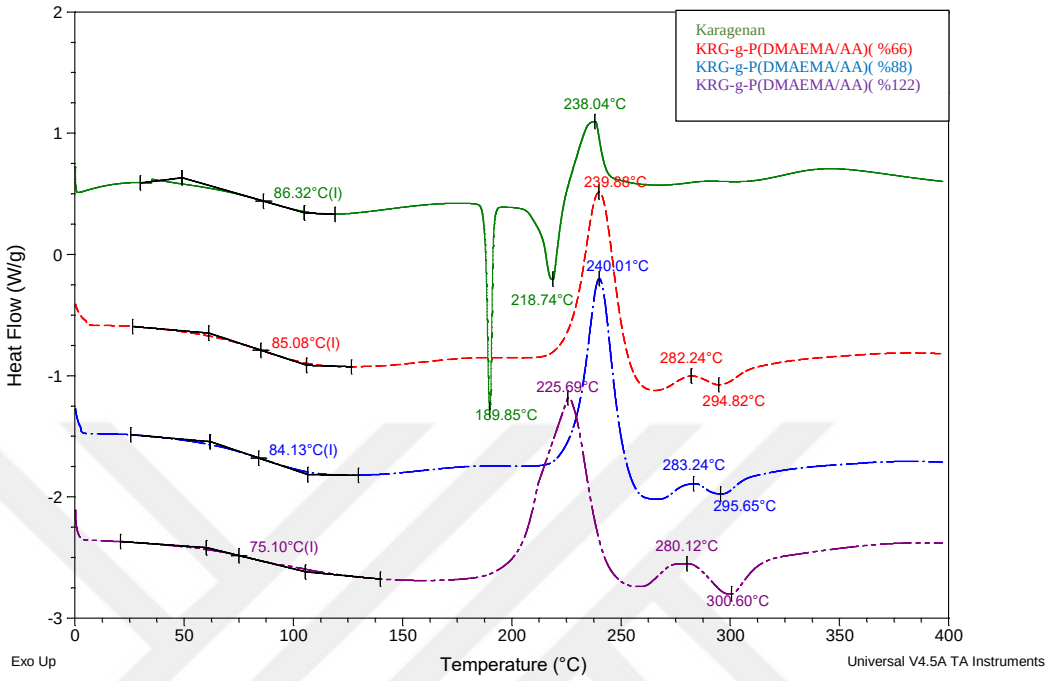


Şekil 3.5. KRG-g-PHPMA'nın ^{13}C-NMR spektrumu

3.1.4. Kopolimerlerin Termal Analiz Sonuçları

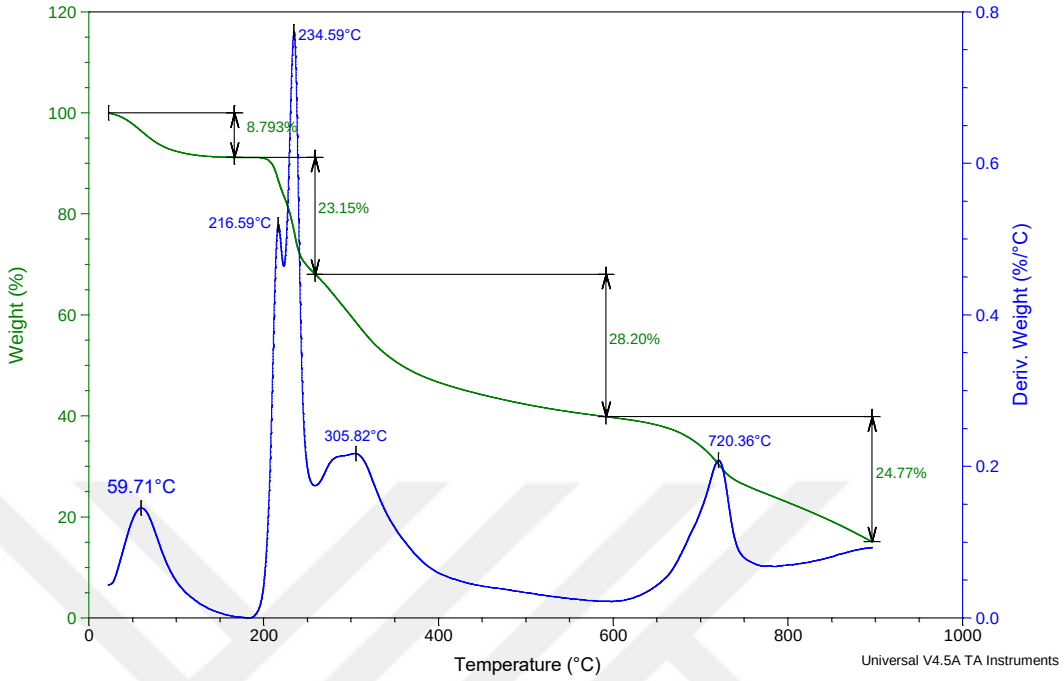
KRG polimerinin ve farklı aşı yüzdeli KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin termal analizi DSC, TGA ve DTGA ile belirlenmiştir. DSC sonuçları Şekil 3.6'da sunulmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA)(%66), KRG-g-P(DMAEMA/AA)(%88) ve KRG -g-P(DMAEMA/AA)(%122) aşı kopolimerlerinin sırasıyla aşı yüzdeleri %66, %88 ve %122 bulunmuştur. KRG polimeri 189,85 °C ve 218,74 °C'de iki endotermik ayrışma piki arkasından ise 238,04'te ekzotermik bozunma piki göstermektedir (Elnashar ve Yassin, 2009). DMAEMA/AA'nın aşılanması ile endotermik pikler kaybolurken ekzotermik pikler daha düşük sıcaklıklara kaymıştır. Kopolimerleşme ile 280 °C civarında ekzotermik bozunma, 290 °C civarında endotermik ayrışma pikleri oluşmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerin camsı geçiş sıcaklığı (T_g) değerleri değişken aşı yüzdesine bağlı olarak 75 °C ile 85 °C aralığında değişmektedir. Karagenanın camsı geçiş sıcaklığı (T_g:86,5) kopolimerlerin camsı geçiş sıcaklığından

yüksektir. Bu sonuçta kopolimerleşme ile dallanmış zincirler arasında serbest hacim oluşumundan kaynaklanmaktadır (Hui vd., 2005).



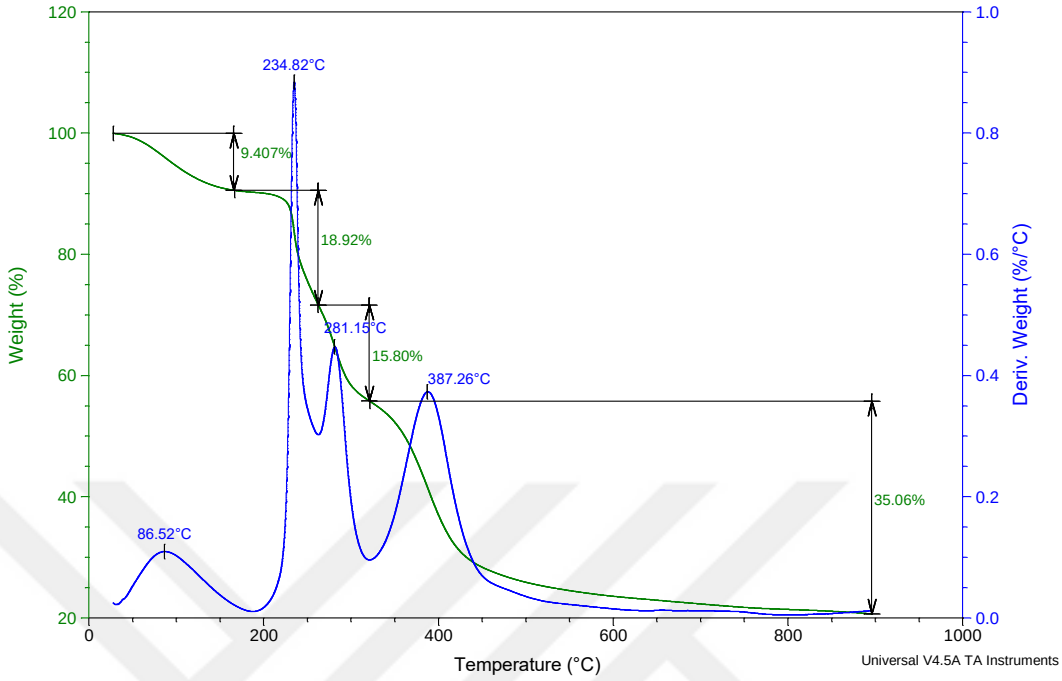
Şekil 3.6. KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin DSC diyagramı

KRG polimerinin ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerin TGA termogramları Şekil 3.7, 3.8, 3.9'da sunulmuştur. KRG polimeri dört basamaklı bozunma davranışı göstermiştir. Karagenanın termogramında 59,71 ºC'de gözlenen %8,79 kütle kaybına neden olan bozunma yapıdaki suyun uzaklaşmasına atfedilmektedir. Karagenanın bozunmaya başladığı ikinci sıcaklık birbirini takip eden 216,59 ºC ve 234,59 ºC'de üçüncü bozunma sıcaklığı 305,82 °C'de görülmektedir. Bu sıcaklıklarda karagenanın %23,15 (ikinci bozunma) ve %28,20 (üçüncü bozunma) kütle kaybı 4GS ve DA birimlerinin degredasyonuna atfedilmiştir. 600-900 ºC aralığındaki 720,36 ºC'de görülen bozunma (%24,77 kütle kaybı) yapıdan SO_3 ve SO_2'nin uzaklaşması şeklinde yorumlanmıştır. Karagenanın %50'sinin bozunduğu sıcaklık 360,97 ºC'dir.

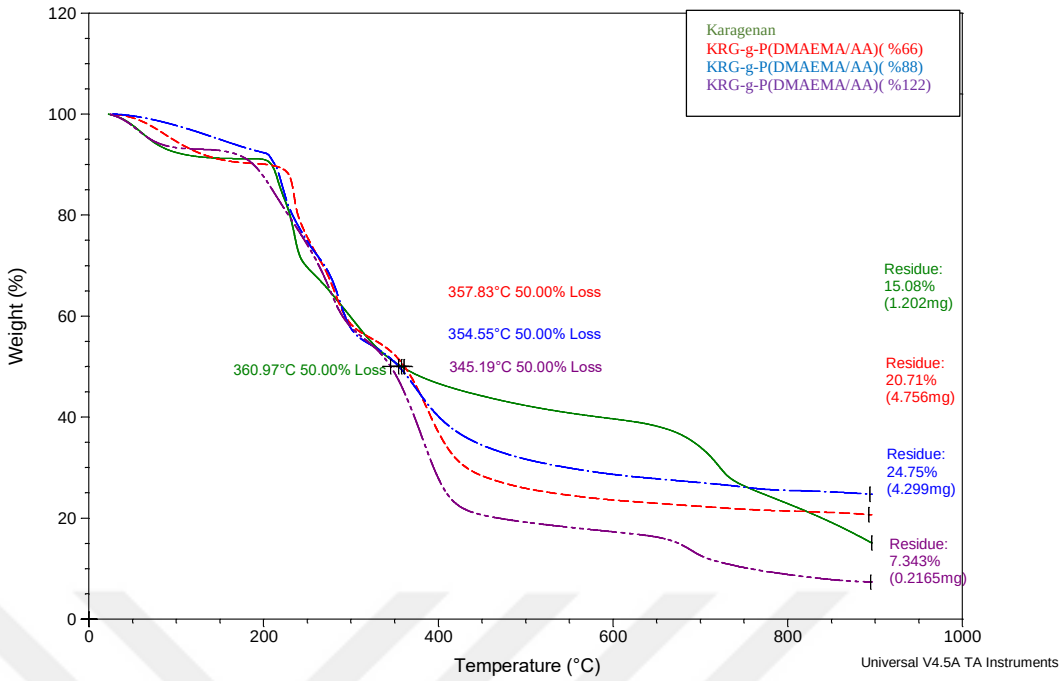


Şekil 3.7. KRG'nin TGA termogramı

Şekil 3.8'de KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nin (aşı yüzdesi %88) termogramında 3 basamaklı bozunma görülmektedir. Birincisi bozunma 30-200 ^{o}C aralığında 86,52 ^{o}C'de görülen %9,40 kütle kaybının gerçekleştiği sıcaklık kopolimerin yapısındaki suya atfedilmektedir. Kopolimer için ikinci bozunma 200-300 ^{o}C sıcaklık aralığında 234,82 ve 281,15 ^{o}C'de ortaya çıkan %34,72 kütle kaybının görüldüğü bozunma karagenan zincirlerinin bozunmasına atfedilmektedir. 325-500 ^{o}C'de görülen %35,06 kütle kaybına neden olan üçüncü bozunma ise yapıdan DMAEMA/AA'ya ait grupların uzaklaşmasına atfedilmektedir.

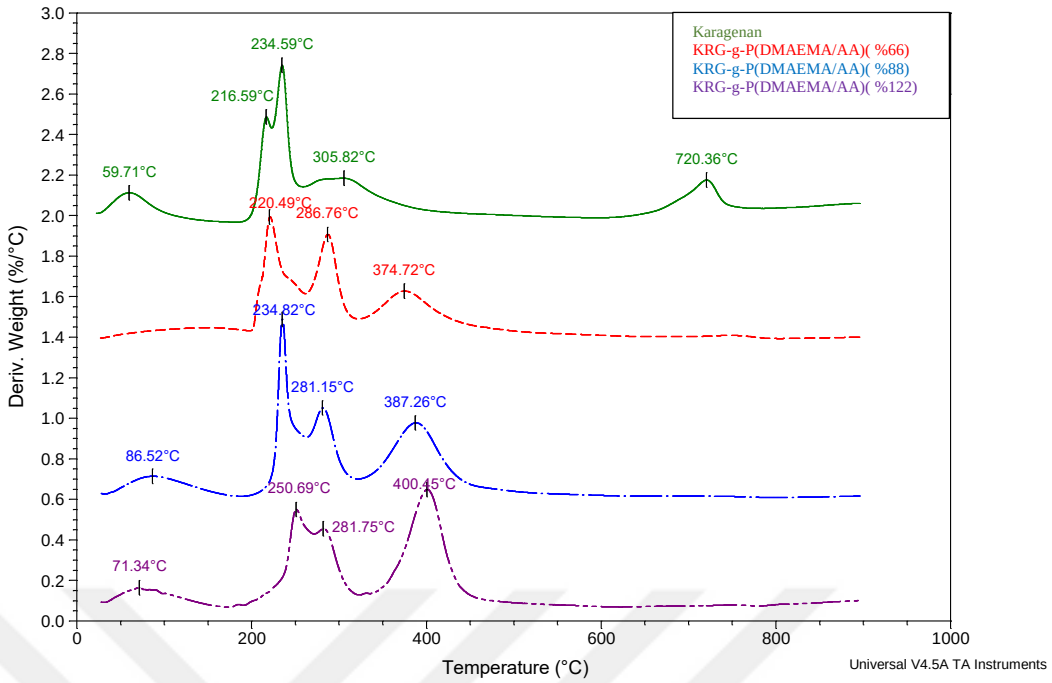


Şekil 3.8. KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın (aşı yüzdesi %88) TGA termogramı



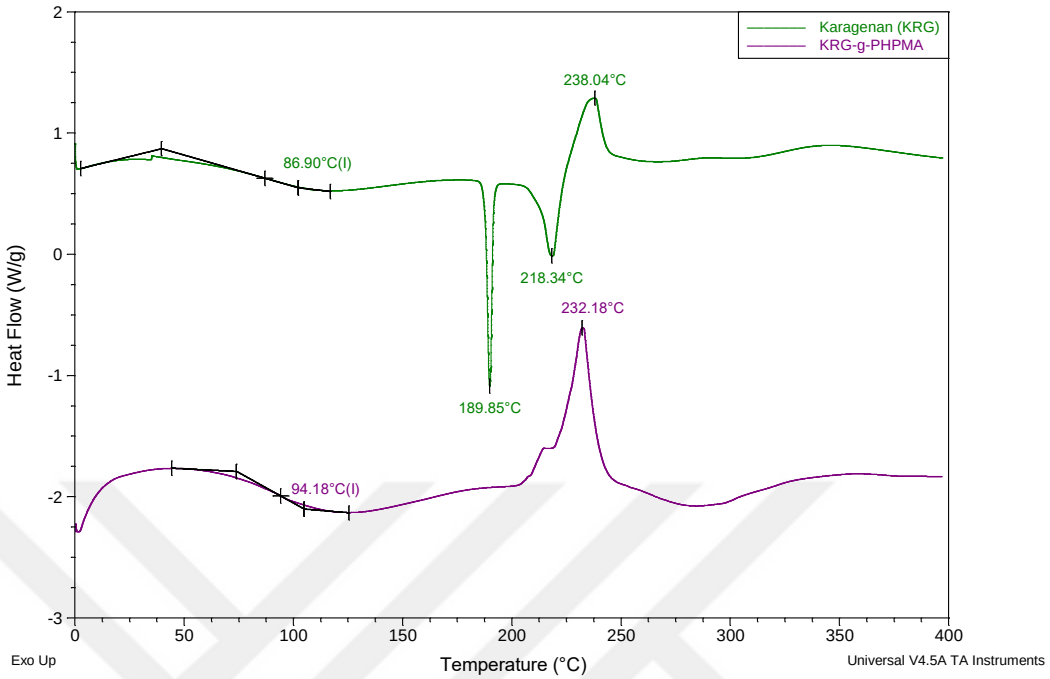
Şekil 3.9. KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin karşılaştırmalı TGA termogramları

Şekil 3.9 ve Şekil 3.10'da Karagenan, KRG-g-P(DMAEMA/AA)(%66), KRG-g-P(DMAEMA/AA)(%88) ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)(%122) aşı yüzdeli kopolimerlerinin karşılaştırmalı TGA ve DTGA termogramları verilmiştir. Karagenana DMAEMA/AA aşılanması ile yapısının değiştiği görülmektedir. Üçüncü bozunma daha yüksek sıcaklıklara kayarken karagenanda gözlenen dördüncü bozunma kaybolmuştur. Aşı kopolimerdeki PDMAEMA/PAA birimlerinin artmasıyla %50 kütle kaybının olduğu sıcaklıklarının azaldığı görülmektedir. Aşı kopolimer oluşumuyla moleküller arası hidrojen bağı etkileşiminin azalmasından dolayı termal dayanımın azaldığı söylenebilir. Karagenan, %66, %88 ve %122, aşı yüzdeli KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin %50 kütle kaybının olduğu sıcaklıklar sırası ile 360,57, 357,83, 354,55 ve 345,19 °C'dir.



Şekil 3.10. KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin karşılaştırmalı DTGA termogramları

KRG polimerinin ve KRG-g-PHPMA kopolimerlerinin termal analizi DSC ile belirlenmiştir. DSC sonuçları Şekil 3.11'de sunulmuştur. PHPMA'nın aşılanması ile T_g (94,16) değeri artmıştır. Bunun sebebi kopolimerleşme ile serbest hacim azalmasına atfedilebilir.



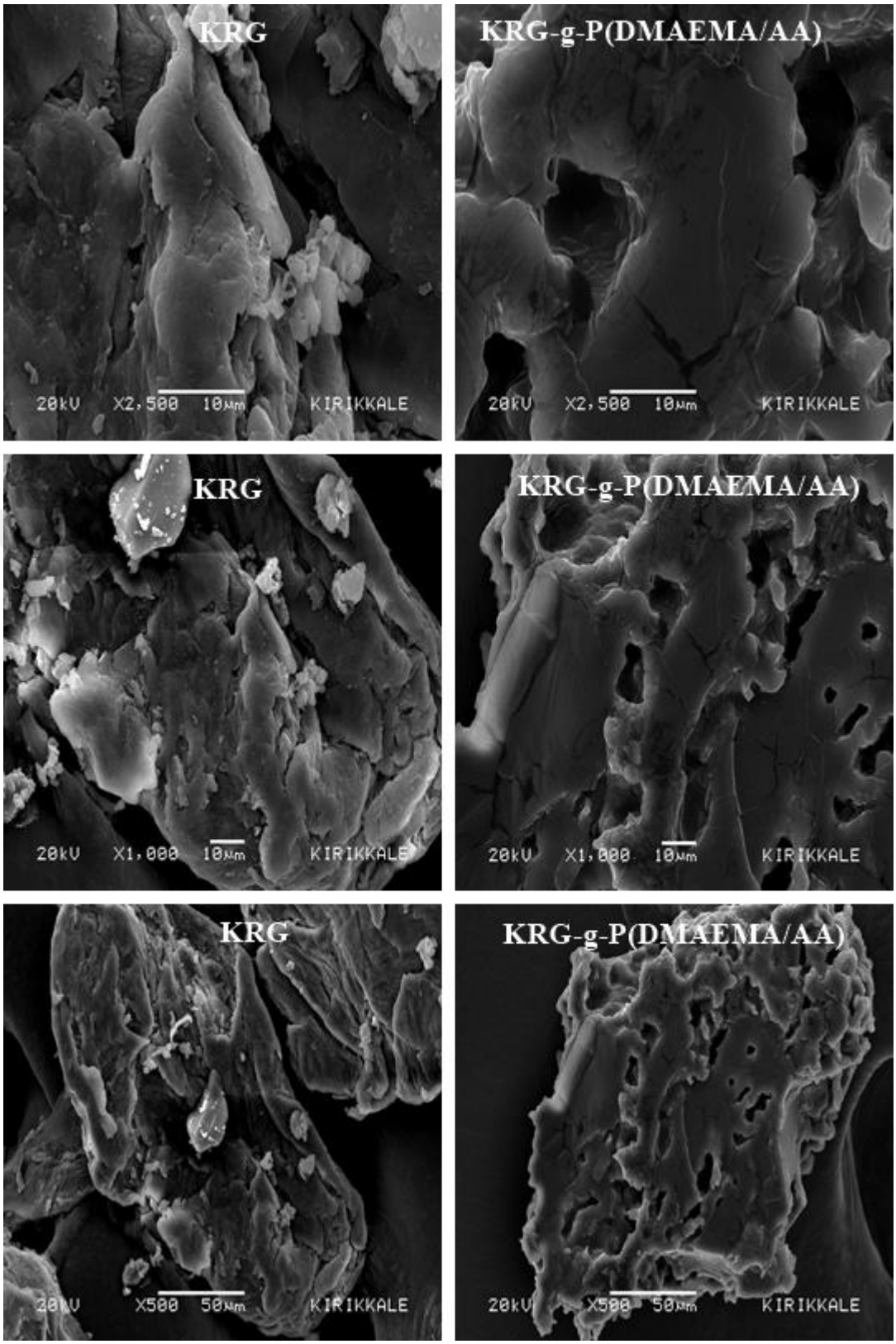
Şekil 3.11. KRG ve KRG-g-PHPMA'nın DSC diyagramı

3.1.5. Kopolimerlerin SEM Analiz Sonuçları

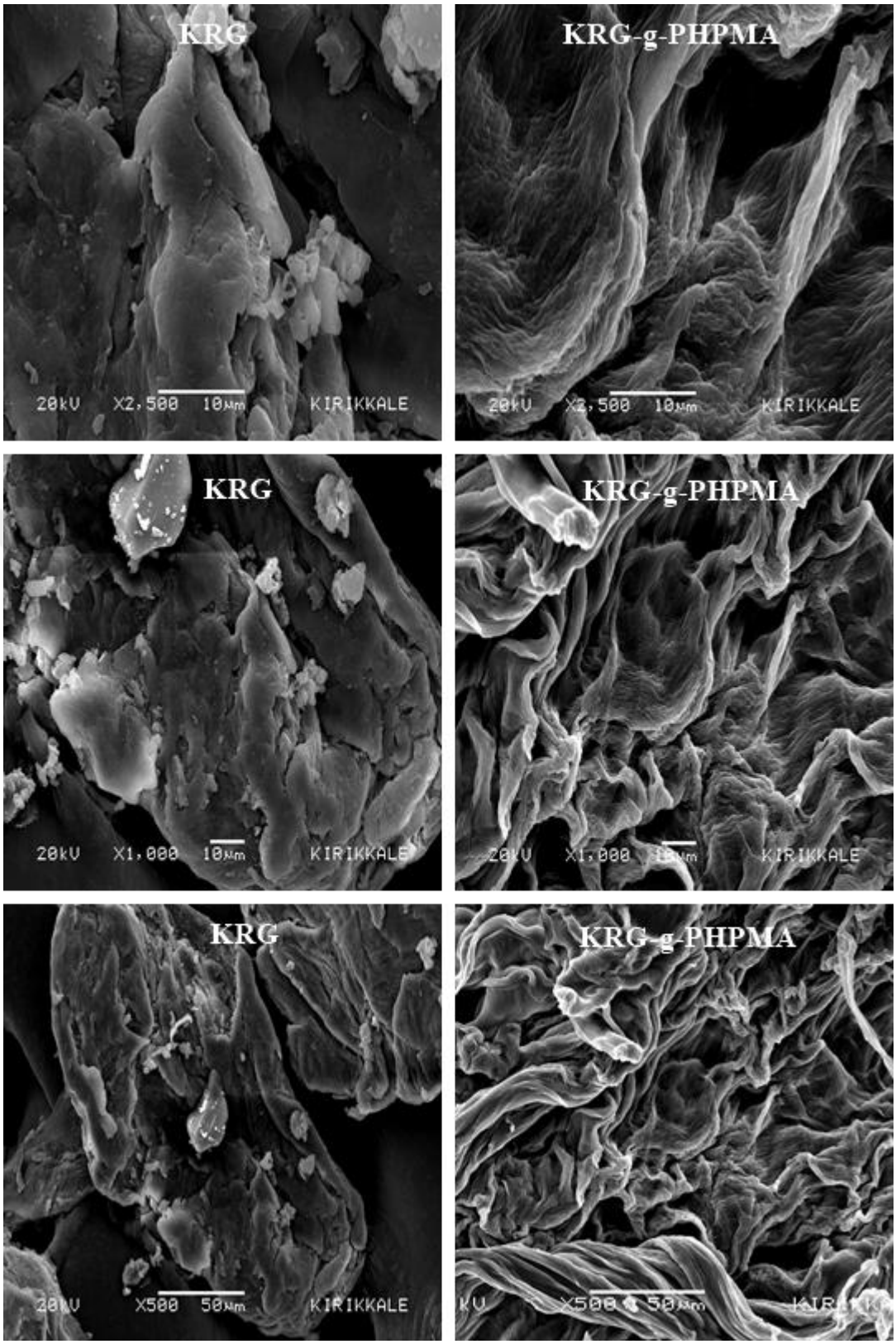
Şekil 3.12'de KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın 2500, 1000 ve 500 büyütmeli ölçekleri kullanılarak çekilen SEM fotoğrafları görülmektedir. KRG'nin yüzey morfolojisinde PDMAEMA VE PAA'nın aşılamayla birlikte değişim görülmüştür. Aşılama ile yüzeyin daha pürüzsüz ve tabakalı olduğu görülmektedir. Aşılamanın etkisini daha iyi anlayabilmek için büyültme yapıldığında KRG'nin aşı kopolimere göre farklı olduğu belirgin şekilde görülmektedir. Yapıdaki bu farklılık KRG PDMAEMA ve PAA'nın polaritelerinin farklı olmasına atfedilebilir (Giri vd., 2016).

Şekil 3.13'te KRG ve KRG-g-PHPMA'nın 2500, 1000 ve 500 büyütmeli SEM görüntüleri mevcuttur. Görüntüler KRG ve KRG-g-PHPMA kopolimerinin morfolojik görünümünde büyük farklılıklar olduğunu ortaya koymaktadır. KRG düzgün

yüzeylere sahip hacimli görüntü oluştururken KRG-g-PHPMA kopolimeri süngerimsi ve gözenekli yüzeylere sahiptir (Kumar vd., 2017).



Şekil 3.12. KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın SEM görüntüleri

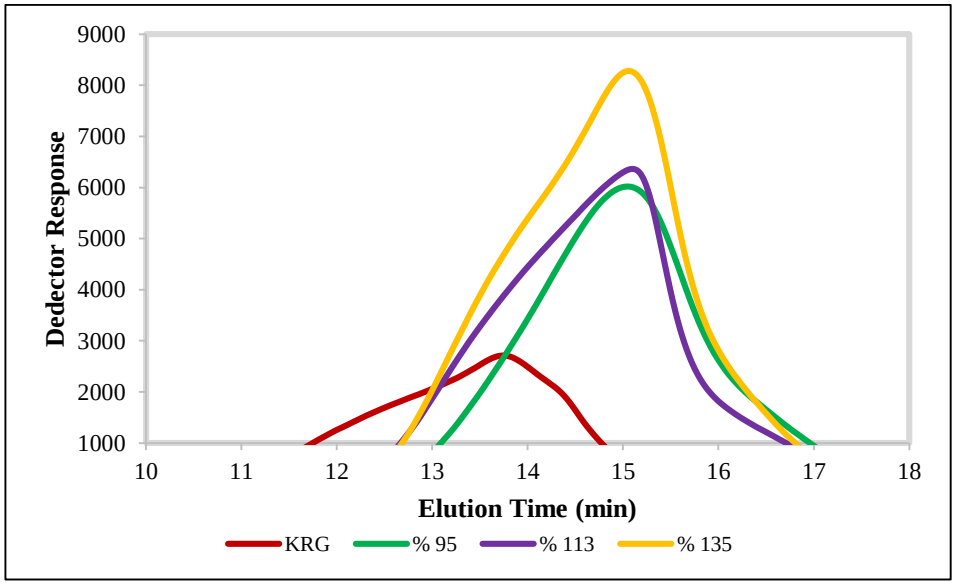


Şekil 3.13. KRG ve KRG-g-PHPMA'nın SEM görüntüleri

3.1.6. KRG ve Kopolimerlerin GPC-SEC Analiz Sonuçları

Suda çözünmüş %1 lik karagenan polimeri, %95, %113 ve %135 aşı yüzdeli KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerleri ve %8, %18 ve %81 aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA kopolimerlerinin SEC analizleri yapılmıştır. Sonuçlar Şekil 3.14 ve Şekil 3.15'te sunulmuştur. SEC analizleri için kolonlar bir gün önceden şartlanmış, hareketli faz olarak 0,5 mL/min alıkonulma zamanında 0,1 M $NaNO_3$ ve kolon olarak PL aquagel - OH mixed (8µm) (MW: 100-10^7) kullanılmıştır. Kalibrasyon için farklı mol kütlelerindeki polisakkarit standartlar kullanılmıştır.

KRG polimeri ve %95, %113 ve %135 aşı yüzdeli KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerin SEC grafiği incelendiğinde aşı kopolimerlerin alıkonma zamanlarının daha fazla olduğu Şekil 3.14'te görülmektedir. Alıkonma zamanlarından farklı türden mol kütlelerine geçilmiştir. Çizelge 3.3'te farklı türden mol kütleleri sunulmuştur. KRG polimerine P(DMAEMA/AA) gruplarının aşılanması ve aşı yüzdesinin artması ile mol kütlesi düşmüştür. Mol kütlesindeki düşme mikrodalga etkisiyle kopolimerleşme sırasında meydana gelen halka açılmaları ve zincir kırılmalarına atfedilebilir (Işıklan ve Tokmak, 2018).

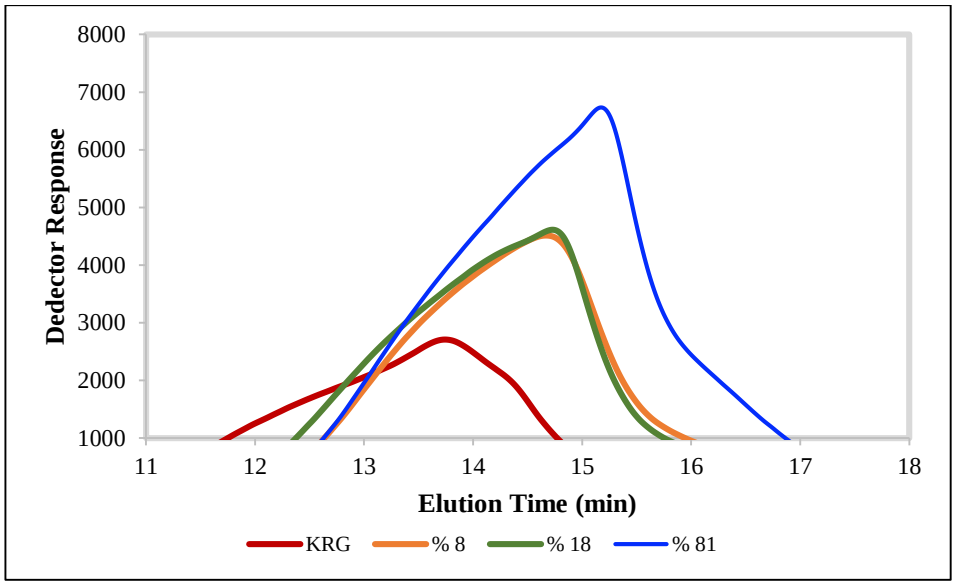


Şekil 3.14. KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın SEC alıkonma zaman değişimleri

Çizelge 3.3 KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın mol kütlesi değişimi

KOD	Aşı Yüzdesi (%)	Mn	Mw	Mp	D
KRG		438060	1295100	520430	2,95
KRG-g-P(DMAEMA/AA)$_{(1)}$	95	59398	224940	123540	3,78
KRG-g-P(DMAEMA/AA)$_{(2)}$	113	82699	320650	115150	3,87
KRG-g-P(DMAEMA/AA)$_{(3)}$	135	79474	297250	121380	3,74

Benzer sonuçlar karagenan polimerine PHPMA gruplarının aşılanması ile de görülmüştür. KRG polimeri ve %8, %18 ve %81 aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA kopolimerlerin SEC grafiği incelendiğinde aşı kopolimerlerin alıkonma sürelerinin daha fazla olduğu Şekil 3.14'te görülmektedir. Çizelge 3.4'te farklı türden mol kütleleri sunulmuştur. KRG polimerine PHPMA gruplarının aşılanması ve aşı yüzdesinin artması ile mol kütlesi diğer kopolimere benzer şekilde düşmüştür. Mol kütlesindeki düşme benzer şekilde mikrodalga etkisiyle kopolimerleşme sırasında meydana gelen halka açılmaları ve zincir kırılmalarına atfedilebilir (Kaity vd., 2013).



Şekil 3.15. KRG ve KRG-g-PHPMA'nın SEC alıkonma zaman değişimleri

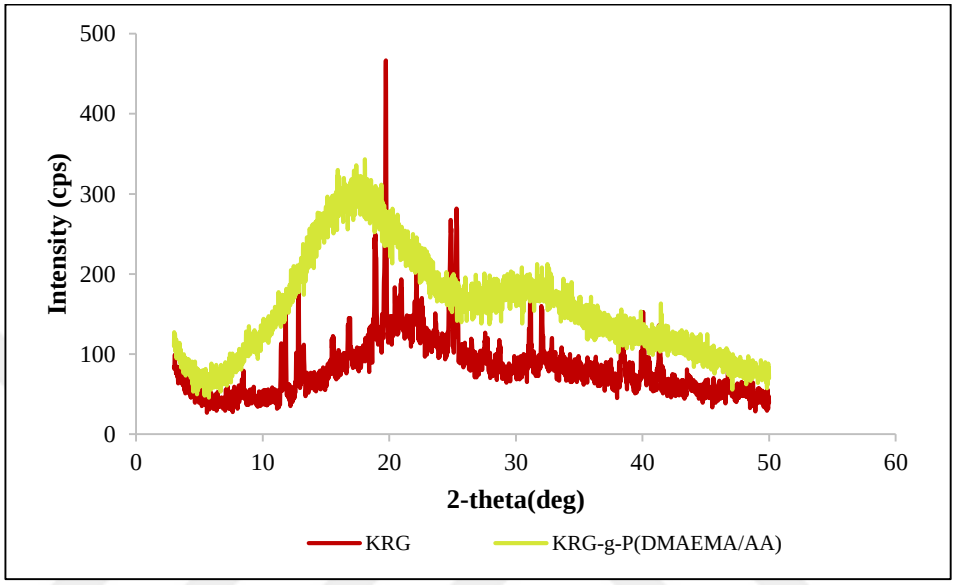
Çizelge 3.4 KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın mol kütlesi değişimi

KOD	Aşı Yüzdesi (%)	Mn	Mw	Mp	D
KRG	-	438060	1295100	520430	2,95
KRG-g-PHPMA$_1$	8	116920	411160	192320	3,51
KRG-g-PHPMA$_2$	18	124650	495250	178430	3,97
KRG-g-PHPMA$_3$	81	75589	307120	105930	4,06

3.1.7. KRG ve Kopolimerlerin XRD Sonuçları

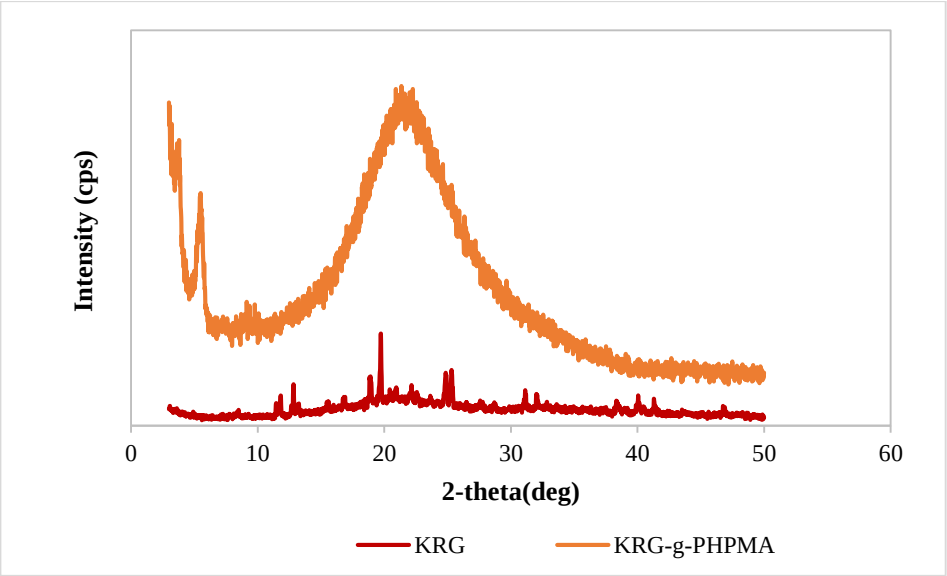
KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin X-ışını kırınımı analiz sonuçları Şekil 3.16'da sunulmuştur. KRG polimeri yüksek kristalin yapıya sahip bir polimerdir. KRG 2θ=11,44 °, 12,54 ° 19,44 °, 19,72 °, 24,88 °, 25,34 °, 30,50 ° ve 32,54 °'de keskin pikler vermiştir (Sharma vd., 2013). DMAEMA/AA gruplarının KRG'ye aşılanması

ile 2θ= 5-25 º ve 2θ=25-35 º aralığında daha yayvan pikler oluşmuştur (Ganesan ve Ratke, 2014). Aşı kopolimerin oluşmasıyla KRG kristalitesini kaybetmiş ve daha amorf yapıdaki zincir yapıları oluşmuştur. Bu değişim KRG'nin kristalin bölgelerine DMAEMA ve AA gruplarının girmesiyle düzensizliğin artmasına atfedilebilir.



Şekil 3.16. KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın X-ışını kırınımı

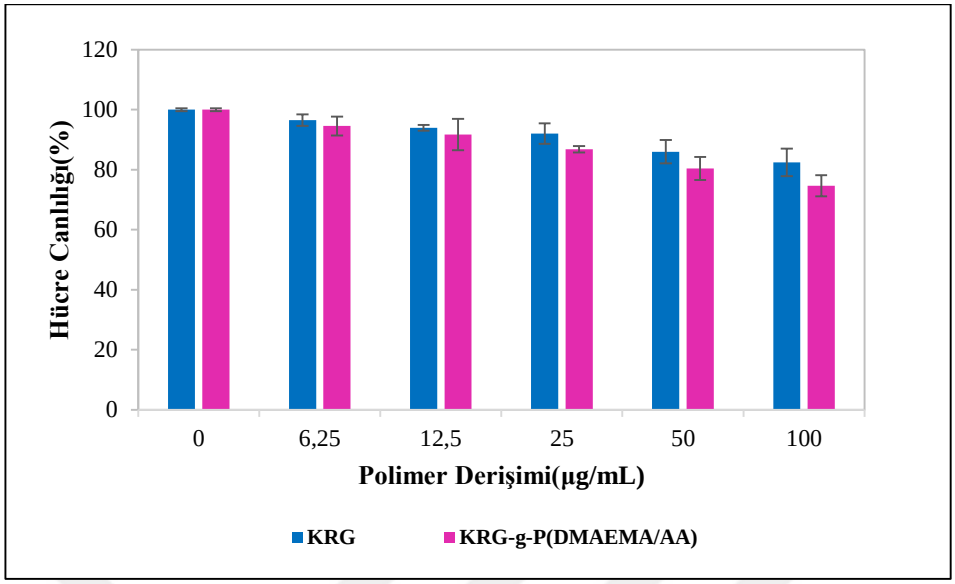
KRG ve KRG-g-PHPMA kopolimerinin X-ışını kırınımı analizi sonuçları Şekil 3.17'de sunulmuştur. Aşılama ile karagenanın keskin kristalin pikleri kaybolmuş ve 2θ= 10-50 º aralığında yayvan pik oluşmuştur. HPMA monomeri ve PHPMA polimeri kristalin bir polimerdir (Bobde vd., 2020; Mohanraj vd., 2014). Karagenana PHPMA gruplarının aşılanması ile daha amorf bir yapı oluşmuş ve karagenan ve PHPMA kristalitesini kaybetmiştir.



Şekil 3.17. KRG ve KRG-g-PHPMA'nın X-ışını kırınımı

3.1.8. KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerinin Biyouyumluluk Sonuçları

KRG polimeri ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin toksisitesi, MTT yöntemi ile L929 hücreleri kullanılarak belirlendi. Polimerin ve kopolimerin konsantrasyona karşı hücre canlılığı Şekil 3.18'de sunulmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin 6,25 µg/mL ve 100 µg/mL'deki hücre canlılığı değerleri sırasıyla %95 ve %75 olarak elde edildi. Karagenan ve aşılanmış KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın konsantrasyonu arttığında hücre canlılığının hafifçe azaldığı gözlendi. Hem KRG hem de KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın tüm konsantrasyonları için hücre canlılığı (≥ %75)'ten yüksektir. Bu sonuç KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın önemli bir toksisiteye sahip olmadığını gösterdi. KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimeri, 100 µg/mL konsantrasyonda bile kabul edilebilir biyouyumluluk gösterdi. Bu sonuçlar karagenan ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin biyouyumlu olduğunu ve aşılanmış kopolimerin biyomedikal uygulamalar için kullanılabileceğini ortaya koymuştur.



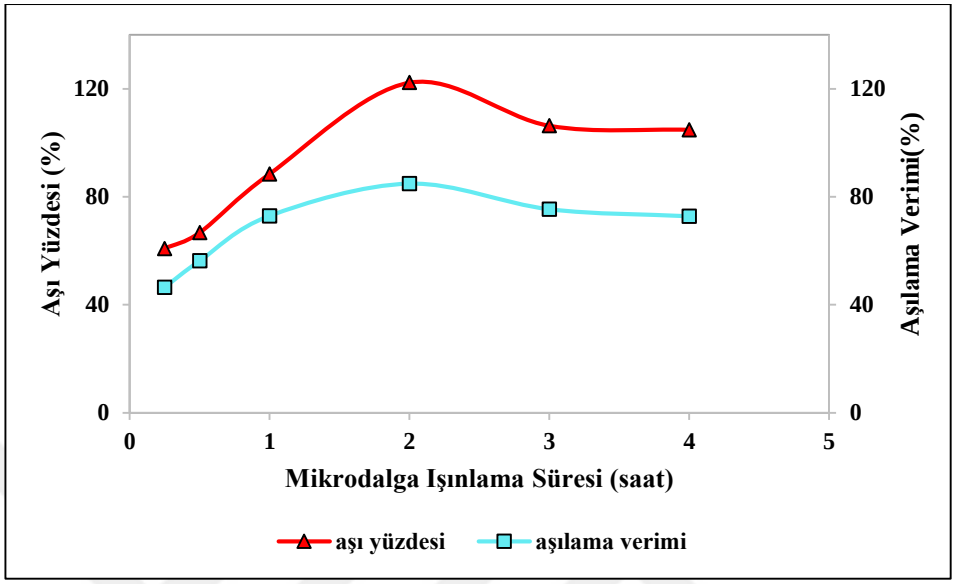
Şekil 3.18.KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın hücre canlılığı

3.1.9. KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerinin Optimizasyonu

3.1.9.1. Mikrodalga Işınlama Süresinin Aşı Yüzdesi ve Aşılama Verimine Etkisi

Mikrodalga ışınlama süresinin aşılama reaksiyonu üzerindeki etkisi 0,25 ile 4 saat aralığında çalışıldı ve elde edilen sonuçlar Şekil 3.19'da sunuldu. Aşı yüzdesi ve aşılama veriminin ilk olarak 2 saate kadar arttığı, bu değerden sonra aşılama parametrelerinin bir miktar azaldığı gözlendi. Aşı yüzdesi ve aşılama verimliliğindeki artış, ışınlama süresi ile aktif karagenan zincirlerine bağlı DMAEMA ve AA sayısındaki artışa bağlanabilir (Akın ve Işıklan, 2016). 2 saatlik süreden sonra, aşı parametreleri, ışınlama süresindeki artışla hafif azalır. Bu sonuç, ACVA, DMAEMA ve AA gibi reaksiyon ortamındaki türlerin konsantrasyonundaki azalmadan ve P(DMAEMA/AA) oluşumundaki artıştan kaynaklanmaktadır (Cui vd, 2009; Ganesan ve Ratke, 2014; Mishra vd., 2010a). En yüksek aşı yüzdesi ve aşılama verimi, 2 saatlik mikrodalga ışınlama süresinde sırasıyla %122 ve %84 olarak belirlenmiştir. Mishra ve arkadaşları (2010), peroksimonosülfat/maleik asit başlatma sistemi kullanarak κ-

karagenan üzerine poli(N-vinil-2-pirolidon) aşılamışlar ve optimum reaksiyon süresinin 120 dakika olduğunu rapor etmişlerdir (Mishra vd., 2010a).



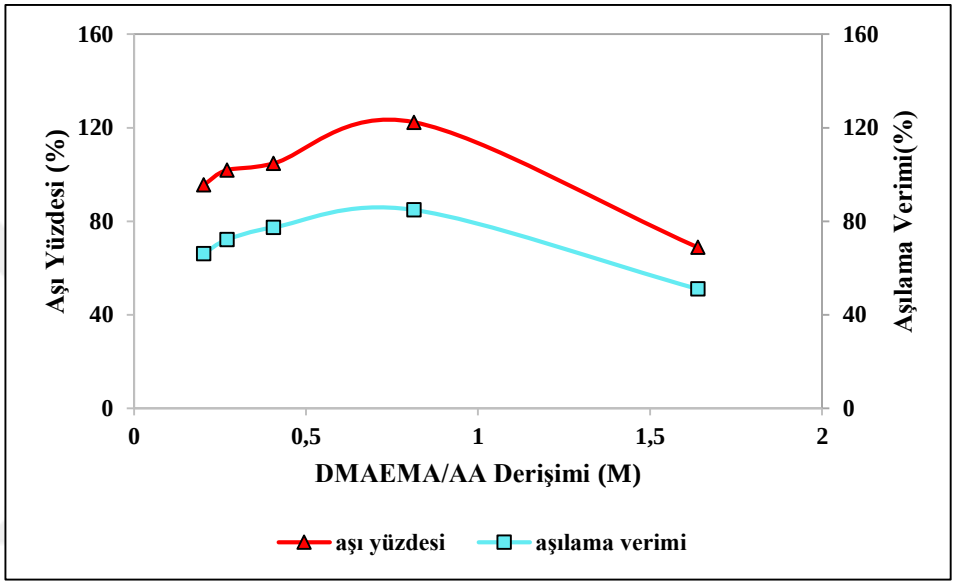
Çalışma koşulları, [DMAEMA]: 0,118 M, [AA]: 0,145 M, [ACVA]: $2x10^{-3}$ M, [KRG]: %0,25, Mikrodalga gücü: 500 Watt

Şekil 3.19. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine mikrodalga ışınlama süresinin etkisi

3.1.9.2. DMAEMA/AA Oranının Aşı Yüzdesi ve Aşılama Verimine Etkisi

DMAEMA/AA molar konsantrasyon oranının aşı parametreleri üzerine etkisini incelemek için DMAEMA/AA'nın molar konsantrasyon oranı 0,2 ile 1,6 aralığında değiştirilerek araştırıldı. Sonuçlar Şekil 3.20'de sunulmuştur. Şekil 3.20'de görüldüğü gibi aşılama parametreleri 0,8 DMAEMA/AA konsantrasyon oranına kadar yavaşça yükselmiş ve ardından azalmıştır. Aşılama parametreleri önemli ölçüde DMAEMA/AA konsantrasyon oranına bağlıdır. En iyi aşı yüzdesine (%122), 0,8'lik DMAEMA/AA konsantrasyon oranında ulaşılmıştır. Aşı yüzdesindeki artış, karagenanın ana zincirlerine bağlanan hem DMAEMA hem de AA monomerik serbest radikal miktarındaki artışa bağlanabilir (Işıklan ve Tokmak, 2018; Karthika ve Vishalakshi, 2014; Yadav vd., 2012). Öte yandan, 0,8'den sonraki aşılamadaki azalma,

polimerizasyon çözeltisinin artan viskozitesine ve yüksek konsantrasyon oranında homopolimerlerin oluşumu nedeniyle karagenan zincirlerine monomer difüzyonunun zorluğuna atfedilebilir. Akrilonitril ve etil akrilatın selülozik lifler üzerine aşı kopolimerizasyonu (Singha ve Rana, 2012) ve akrilamid ve dimetil dialil amonyum klorürün nişasta üzerine aşılanmasında benzer azalma eğilimler gösterdiği bildirilmiştir (Lv vd., 2013).



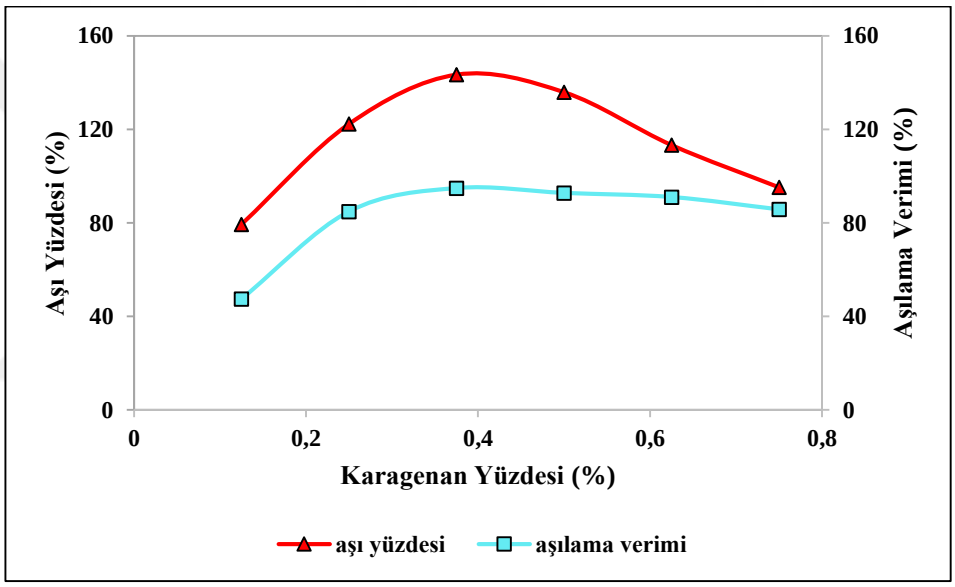
Çalışma koşulları, [DMAEMA]: 0,118 M, [ACVA]: $2x10^{-3}$ M, [KRG]: %0,25, Mikrodalga gücü: 500 Watt, Mikrodalga ışınlama süresi: 2 saat

Şekil 3.20. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine DMAEMA/AA molar konsantrasyon oranının etkisi

3.1.9.3. Karagenan Yüzdesinin Aşı Yüzdesi ve Aşılama Verimine Etkisi

Aşılama parametrelerinin üzerine karagenan miktarının etkisini incelemek için, karagenanın yüzdesi 0,25 g/dL - 0,75 g/dL aralığında incelenmiştir ve sonuçlar Şekil 3.21'de sunulmuştur. Şekil 3.21'de görüldüğü gibi, aşı yüzdesi ve aşılama veriminin karagenan yüzdesinin değişimiyle önemli ölçüde değiştiği görülmektedir. Karagenan yüzdesi 0,375 g/dL'ye yükseldiğinde, aşı yüzdesi %143'e çıkmış ve bu değerden sonra

sürekli olarak azalmıştır. Artan aşılama parametreleri, karagenan üzerindeki aktif bölgelerin artışına bağlanabilir. Karagenan yüzdesi 0,375 g/dL'den 0,750 g/dL'ye yükseldiğinde, serbest radikallerin hareketleri polimerizasyon çözeltisinin artan viskozitesi nedeniyle yavaşlar, bu nedenle aşılama parametreleri düşer (Işıklan ve Kazan, 2018; Işıklan ve Tokmak, 2018; Karthika ve Vishalakshi, 2014). Karthika ve arkadaşları (2014) tarafından 2-(dimetilamino) etil metakrilat) gellan zamkı ile aşılanmasında benzer sonuçlar bildirilmiştir. Çalışmada aynı eğilimi tanımlamış ve optimum jellan zamkı yüzdesini %1 olarak bulmuştur (Karthika ve Vishalakshi, 2014).



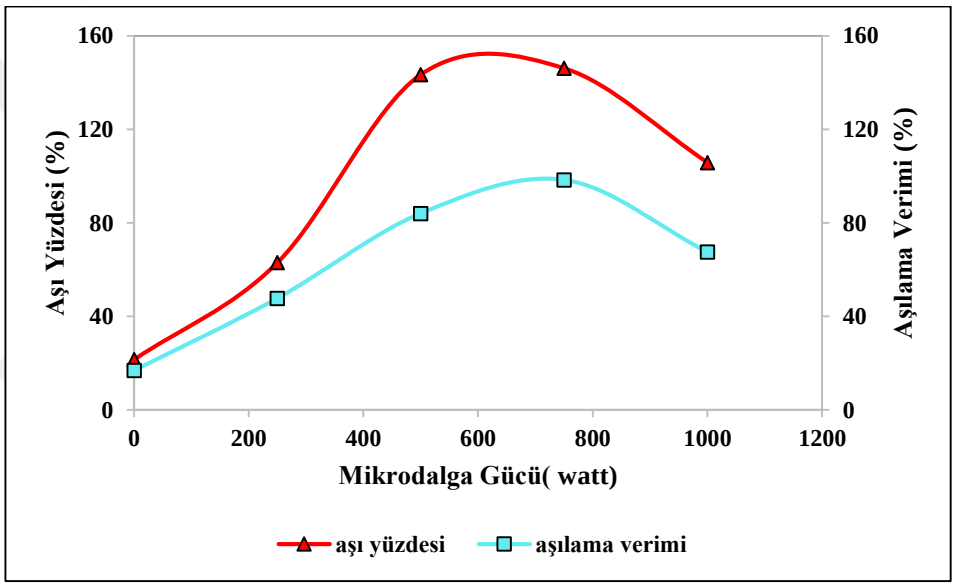
Çalışma koşulları, [DMAEMA]: 0,118 M, [ACVA]: $2x10^{-3}$ M, [AA]: 0,145 M, [KRG]: %0,375 Mikrodalga gücü: 500 Watt, Mikrodalga ışınlama süresi: 2 saat

Şekil 3.21. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine KRG yüzdesinin etkisi

3.1.9.4. Mikrodalga Gücünün Aşı Yüzdesi ve Aşılama Verimine Etkisi

Mikrodalga gücünün aşılama parametreleri üzerindeki etkisi, Şekil 3.22'de gösterilmektedir. Mikrodalga gücü 0-1000 watt aralığında çalışılmıştır. Mikrodalga gücü 750 watta kadar aşılama parametrelerini artırmıştır. Bu artışın nedeni,

karagenan, akrilik asit ve dimetilaminoetil metakrilatın mikrodalga gücündeki artış ile radikal oluşumundaki artışa bağlanabilir. Bununla birlikte, 750 watttan sonra aşılama parametrelerindeki azalma, homopolimer oluşumundaki artış ve aşı kopolimerinin bozunması ile açıklanabilir (Singh ve Rana, 2006). KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın maksimum aşı yüzdesi %146'dır. Benzer sonuçlar, Singh ve arkadaşları (2006) tarafından $K_2S_2O_8$/askorbik asit redoks başlatıcı kullanılarak metilmetakrilatın kitosan üzerine aşı kopolimerizasyonunda rapor edilmiştir. Mikrodalga gücünün etkisinde benzer bir eğilim göstermiş ve optimum mikrodalga gücünün 1720 GHz (%80) olduğunu bildirmişlerdir (Singh ve Rana, 2006).



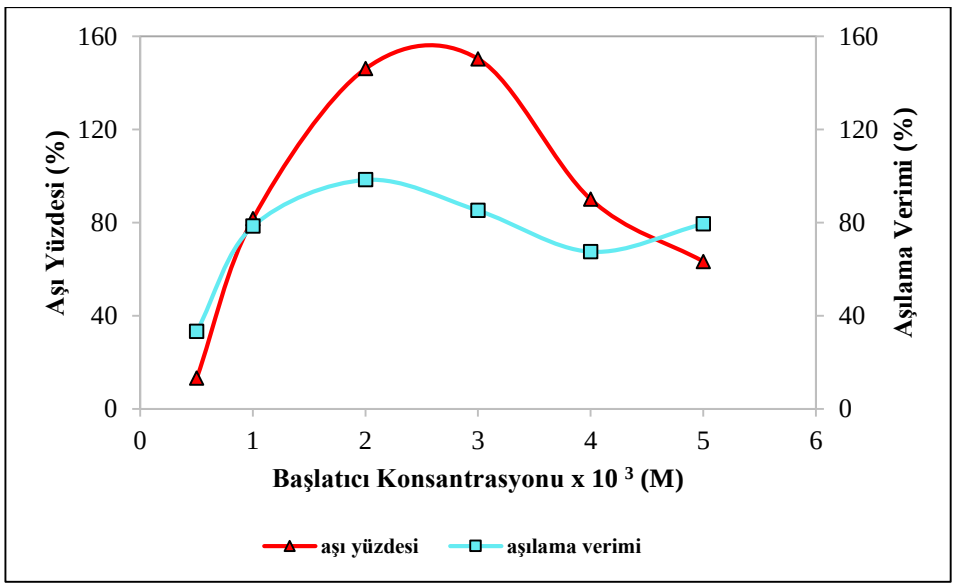
Çalışma koşulları, [DMAEMA]: 0,118 M, [ACVA]: $2x10^{-3}$ M, [AA]: 0,145 M, [KRG]: %0,375, Mikrodalga ışınlama süresi: 2 saat

Şekil 3.22. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine mikrodalga gücünün etkisi

3.1.9.5. ACVA Derişiminin Aşı Yüzdesi ve Aşılama Verimine Etkisi

Başlatıcı konsantrasyonunun aşılama parametreleri üzerine etkisini araştırmak için ACVA konsantrasyonu $0,5x10^{-3}$ ile $5x10^{-3}$ M aralığında incelenmiştir. Şekil 3.23 başlatıcı konsantrasyonunun aşılama parametreleri üzerindeki etkisini ortaya

koymaktadır. Şekilde 3.23'te görüldüğü gibi, aşılama parametreleri $3x10^{-3}$ M ACVA konsantrasyonuna kadar artmış ve sonra azalmıştır. ACVA konsantrasyonu polimerizasyon ortamında yükseldiğinde, ACVA radikallerinde artış, karagenan zinciri ve monomerde daha fazla aktif merkezlerin oluşmasına neden olur. Sonuç olarak, bu radikaller, aşı yüzdesini artıran KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimeri oluşturmak için birleşir. Bununla birlikte, ACVA konsantrasyonu $3x10^{-3}$ M'nin üstüne çıkarıldığında, tüm radikallerin konsantrasyonu reaksiyon ortamında artar (Capek vd., 1992). Bu nedenle, sonlanlanma ve homopolimerizasyon oranları artar, aşılama parametreleri azalır. Başlatıcı konsantrasyonu çok yüksek olduğunda, çoğalan aşı kopolimer veya homopolimer radikalleri, viskoz reaksiyon çözeltisinde 4-siyanopentanoik asit radikalleri ile reaksiyona girebilir. Bu nedenle ACVA konsantrasyonundaki artış, hem büyüyen aşı polimer zincirlerinin hem de homopolimer radikallerinin mevcut radikalleri sonlandırılmasından dolayı aşı yüzdesinin azalmasına neden olur (Gürdağ ve Sarmad, 2013). Bu nedenle aşılama parametreleri azalırken homopolimerizasyon oranları artar (Giri vd., 2016; Karthika ve Vishalakshi, 2014).



Çalışma koşulları, [DMAEMA]: 0,118 M, [AA]: 0,145 M, [KRG]: %0,375, Mikrodalga ışınlama gücü: 750 watt, Mikrodalga ışınlama süresi: 2 saat

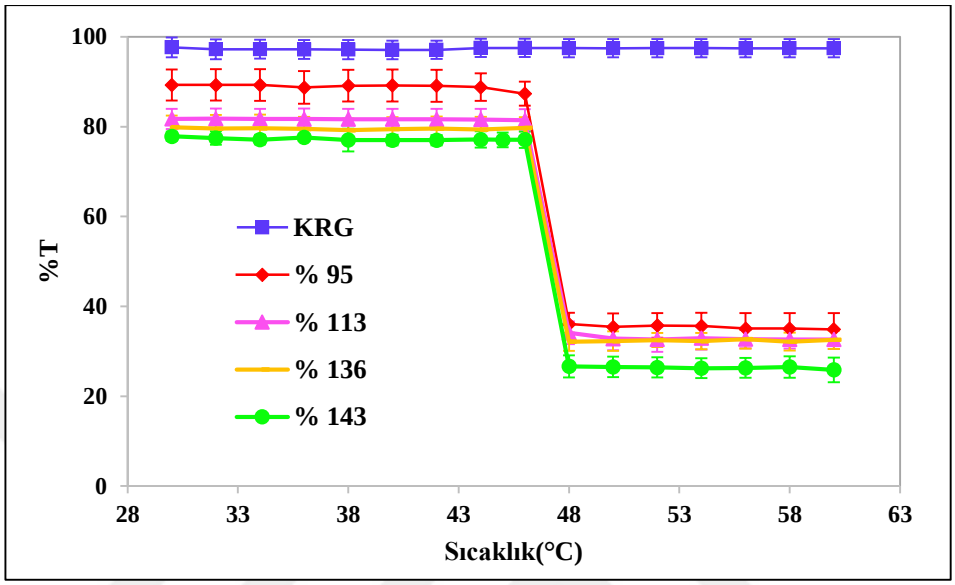
Şekil 3.23. Aşı yüzdesi ve aşılama verimine başlatıcı konsantrasyonunun etkisi

Optimizasyon çalışması sonucunda en yüksek aşı yüzdesi (%150) ve aşılama verimi (%85) bulundu. Optimum koşullar; mikrodalga ışınlama süresi 2 saat, DMAEMA/ AA konsantrasyon oranı 0,8, karagenan yüzdesi 0,375 g/dL, mikrodalga gücü 750 watt ve ACVA konsantrasyonu $3x10^{-3}$ M olan reaksiyon koşullaında elde edildi. Ayrıca aşılama reaksiyonu aynı deney koşullarında mikrodalga gücü olmadan yapıldı ve aşı yüzdesi %35 ve aşılama verimi %25 olarak bulundu. Mikrodalga gücü aşı parametrelerini önemli oranda artırmıştır.

3.1.10. KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerlerinin LCST Sonuçları

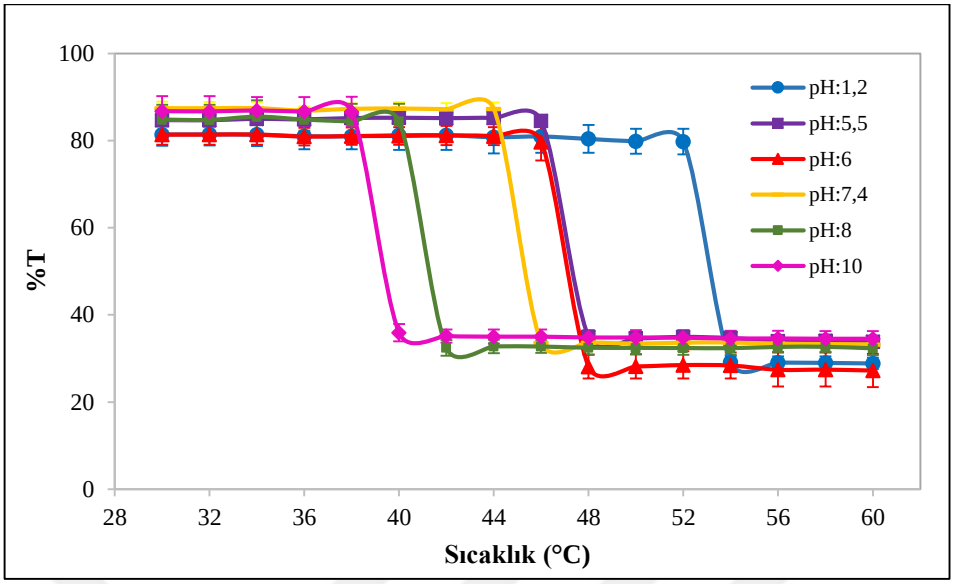
1968 yılında "bulutlanma noktası" (cloud point: CP) yöntemi, olarak isimlendirilen LCST ölçüm yöntemi Heskins ve Guillet tarafından zincirsel polimerler için geliştirilmiştir (Heskins ve Guillet, 1968). Bu yöntemde 500 nm veya 600 nm dalga boylarında standart bir UV-VIS spektrofotometresi ile çalışılmaktadır. Dalgaboylarından yararlanarak çöken partiküllerin minimum boyutları belirlenmektedir (Heskins ve Guillet, 1968). Karagenan ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin sıcaklığa bağlı faz geçişi, geçirgenliklerinin 500 nm'de 30 °C ile 60 °C arasında ölçülmesiyle tespit edildi. LCST değerine sahip polimerler, düşük sıcaklıklarda sulu çözeltide çözünerek polimer zincirleri rastgele yapıdadırlar. Bununla birlikte sıcaklık artması ile LCST değerinin üstünde polimer zincirlerinin hidrofobik etkileşimi artar ve polimer çöker. Şekil 3.24 KRG ve farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimer çözeltilerinin sıcaklığa karşı geçirgenliğini göstermektedir Karagenanın geçirgenliğinin sıcaklıkla değişmediği ve bu nedenle herhangi bir sıcaklığa bağlı faz geçişi göstermediği görülmektedir. Bununla birlikte, farklı aşılama verimindeki KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin geçirgenliğinde 46 ile 48 ^{o}C arasındaki keskin düşüş, KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin sıcaklığa bağlı faz geçişine sahip olduğunu göstermektedir. Bu düşüş, N,N-dimetilaminoetil grupları arasındaki hidrofobik etkileşimlere bağlanabilir (Hui vd., 2005). Kopolimerlerin aşı yüzdesindeki değişiklik, muhtemelen Çizelge 3.1'de gösterildiği gibi yakın DMAEMA aşılama oranı nedeniyle, LCST değerinde bir

değişikliğe yol açmamıştır (Mishra vd., 2010a; Zhang ve Maric, 2011). Farklı aşı yüzdeleri olan tüm KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerleri için LCST değerinin 47 °C olduğu bulundu.

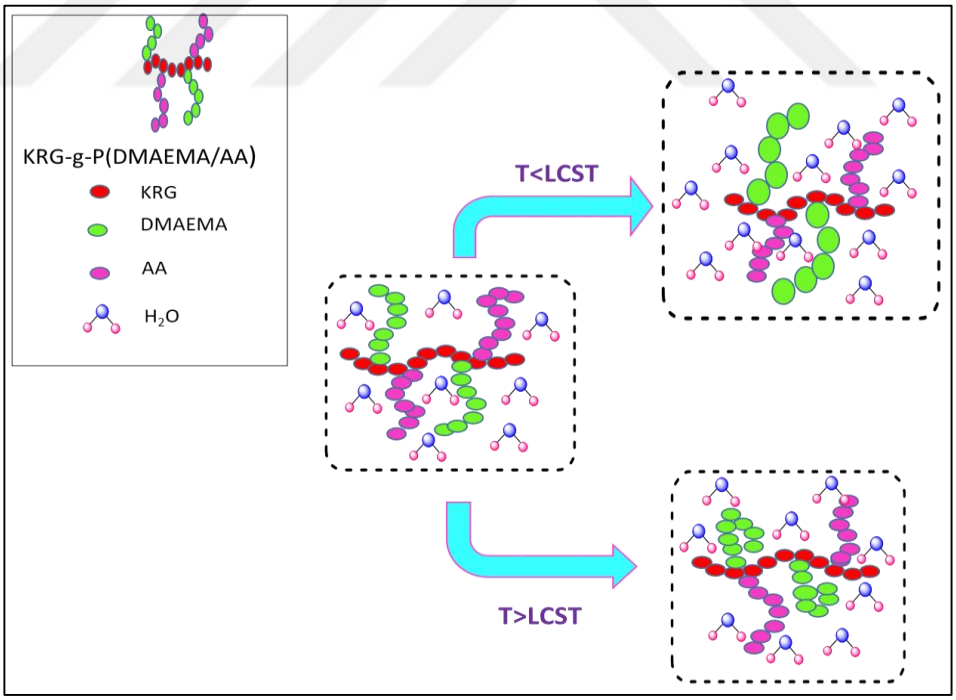


Şekil 3.24. KRG ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nin deiyonize suda LCST değerleri

Ayrıca, KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin (%143 aşı yüzdesi) faz geçiş sıcaklığı, farklı pH (1,2, 5,5, 6, 7,4, 8 ve 10) ortamlarında ölçüldü. Sonuçlar Şekil 3.25'te sunulmuştur. Şekil 3.25'te görüldüğü gibi, KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin geçirgenliği, tüm pH değerlerinde farklı sıcaklıklarda keskin bir şekilde azaldı. Ortamın pH değerindeki artış, LCST değerini düşük sıcaklıklara kaydırdı (Kim vd., 2001). Bu azalmanın sebebi tersiyer amin gruplarının deprotonasyonuna bağlanmaktadır (Geyik ve Işıklan, 2020). Ortam pH'sının 10'dan 1,2'ye düşmesi, polimerlerin daha hidrofilik hale gelmesine neden olur (PDMAEMA için pH <pKa (8.4)) (Weaver vd., 2016). PDMAEMA'nın tersiyer amin gruplarının protonasyonu asidik koşullarda kuaterner amin katyonları üretir, bu da aşı kopolimerinin sulu çözeltide çözünürlüğünü ve faz geçişinin gerçekleştiği sıcaklığı arttırır (Shieh vd., 2017). Tüm bu bulgular, karagenanın P(DMAEMA/AA) ile yapısına sıcaklık ve pH duyarlılığı kazandırdığını ve işlevselliğinin arttığını ortaya koymaktadır. Şekil 3.26'da KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın LCST davranışı şematik olarak sunulmuştur.



Şekil 3.25. KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın farklı pH'larda LCST değerleri

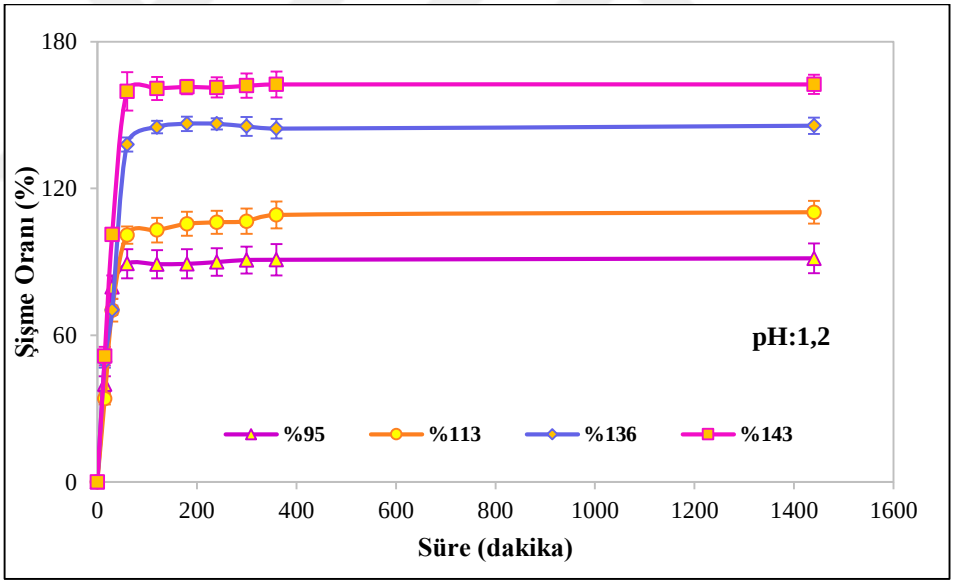


Şekil 3.26. KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın LCST davranışı

3.1.11. KRG-g-P(DMAEMA/AA) Kopolimerlerinin Şişme Özellikleri

3.1.11.1. Aşı Yüzdesinin Şişme Oranına Etkisi

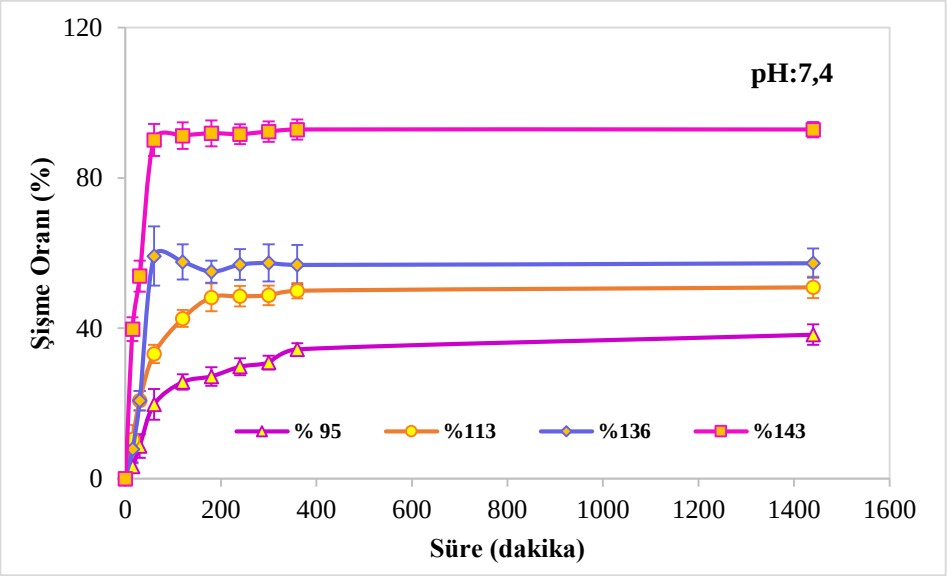
Aşı yüzdesinin şişme oranına etkisini incelemek için farklı aşı yüzdesindeki kopolimerlerin şişme davranışı incelendi. Aşı yüzdesi %95, %113, %135 ve %143 olan kopolimerlerin pH 1,2 ve 7,4 tamponlarında şişme sonuçları Şekil 3.27 ve Şekil 3.28'de sunulmuştur. Şekil 3.27 ve 3.28'de gösterildiği gibi, KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin pH 1,2 ve 7,4 ortamlarında, aşı yüzdesi %95'ten %143'e yükselirken şişme oranları artmıştır. Aşı yüzdesi %95, %113, %135 ve %143 olan kopolimerlerin şişme oranları 24 saat sonunda sırası ile pH 1,2'de %91,45, %110,30, %145,65 ve %162,57, pH 7,4'te sırası ile %38,31, %50,91, %57,34 ve %92,88 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.27. KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın pH 1,2'de %şişme oranı-süre değişimi
Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

Kopolimerde aşı yüzdeleri arttıkça, hem PDMAEMA hem de PAA miktarı, Çizelge 3.l'de gösterildiği gibi orantılı olarak artmaktadır. Öte yandan, tüm KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerindeki PAA içeriği, PDMAEMA içeriğinden biraz

daha fazladır. Bu nedenle, KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin hidrofilik karakteri aşı yüzdesinin artması ile artmış ve şişme oranını da artırmıştır.

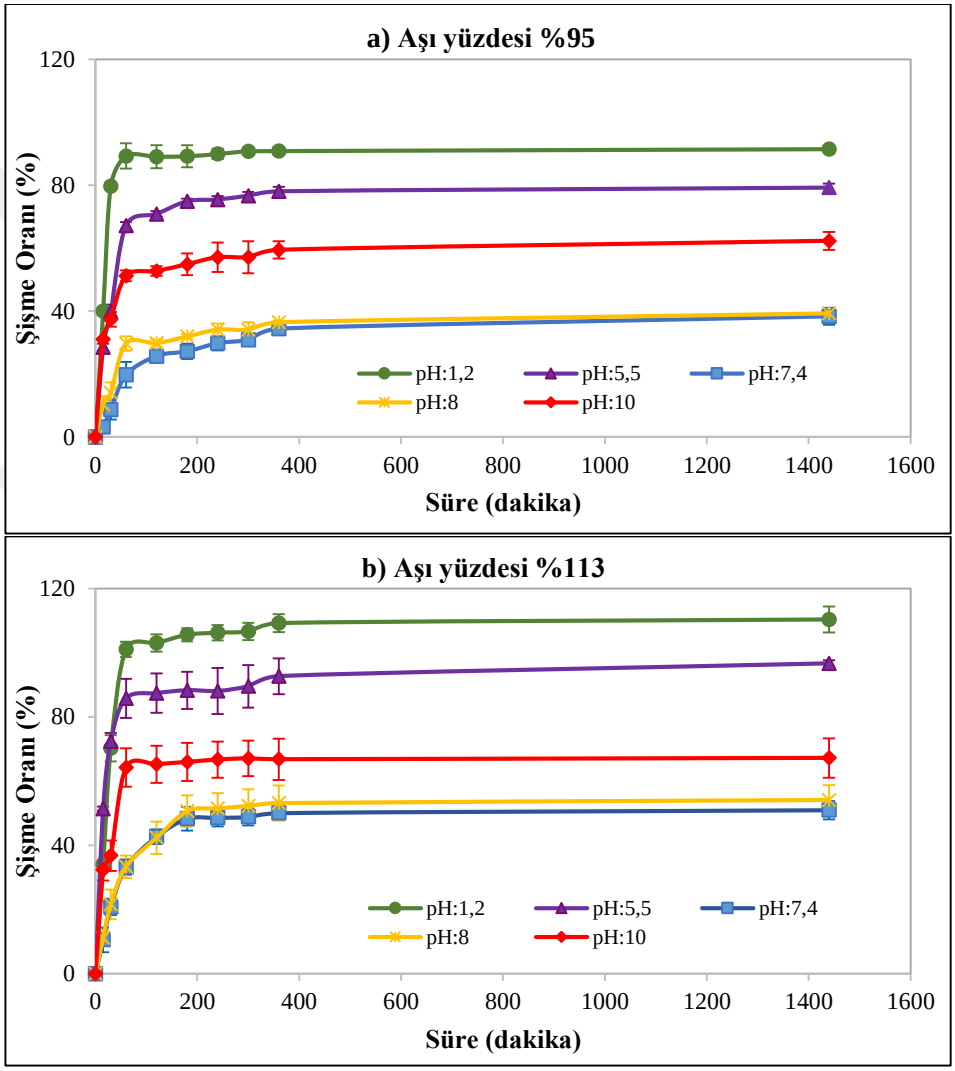


Şekil 3.28. KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın pH 7,4'te %şişme oranı-süre değişimi. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

3.1.11.2. pH'ın Şişme Oranına Etkisi

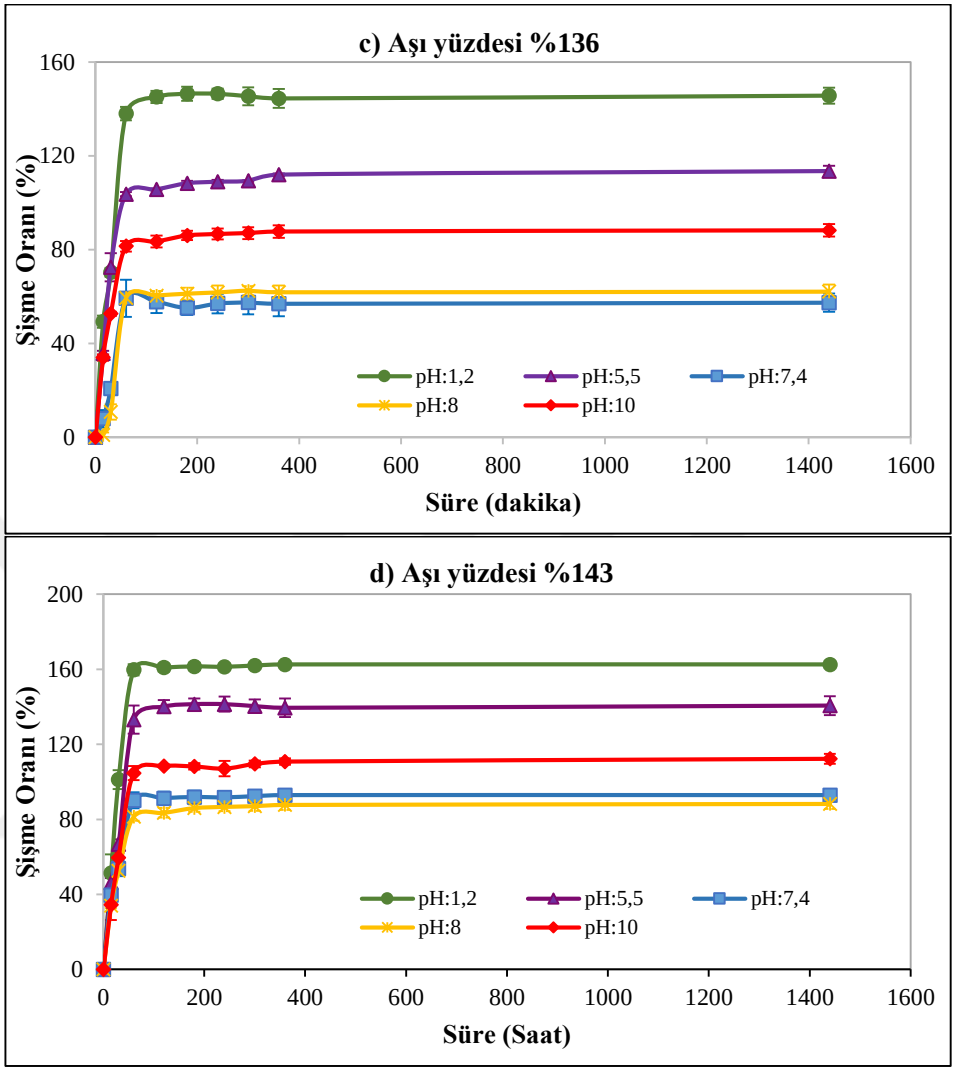
Kopolimerlerin pH duyarlılığını araştırmak için, KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerin şişme çalışmaları, 37 °C'de 1,2 ile 10 arasında değişen pH değerlerine sahip tamponlarda çalışıldı. Şekil 3.29 değişen pH değerleri ile farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-P(DMAEM/AA) kopolimerlerinin şişme davranışını göstemektedir. KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinde PDMAEMA dallarının tersiyer amin yan grupları ve PAA dallarının karboksil grupları pH-bağımlı şişme davranışında etkili gruplardır. Şekil 3.29'da, ortamın pH'sı 1,2'den 7,4'e çıkarıldığı zaman, kopolimerin şişme oranının önemli ölçüde azaldığı ve daha sonra pH 7,4'ten 10'a çıkarıldığında şişme oranının arttığı görülmektedir. KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimeri, katyonik (kuaterner amin grupları arasında) ve anyonik (karboksilat grupları arasında) elektrostatik itmeler nedeniyle asidik ve alkalin ortamlarda daha yüksek şişme oranına sahiptir. Bu elektrostatik itmeler, kopolimerin ozmotik basıncını ve yük yoğunluğunu

arttırır ve dolayısıyla hidrasyon ve şişme oranı artar (Thomas vd., 2015). Bununla birlikte, aşı kopolimerler, pH 7,4'te daha düşük şişme oranı göstermektedir. Bu pH'da, amonyum katyonlarının pozitif yükleri ile karboksilat anyonlarının negatif yükleri arasındaki çekme ve itme davranışları neredeyse dengelenir ve en düşük şişme oranına yol açar. Aşı kopolimerler Çizelge 3.1'de görüldüğü gibi hemen hemen aynı miktarda PDMAEMA ve PAA içerir. Bu durumda, kopolimerdeki katyonik ve anyonik guruplar arasında en az iyonik itme gerçekleşir (Chen vd., 2009; Liu vd., 2015).

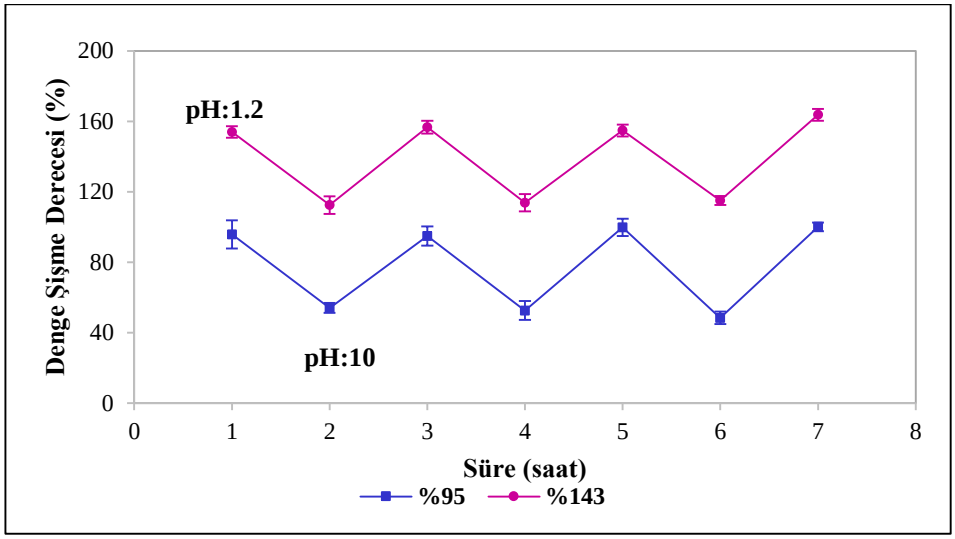


Şekil 3.29. Aşı yüzdeleri farklı KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerin %şişme oranı – süre değişimi a) %95, b) %113, c) %136, %143

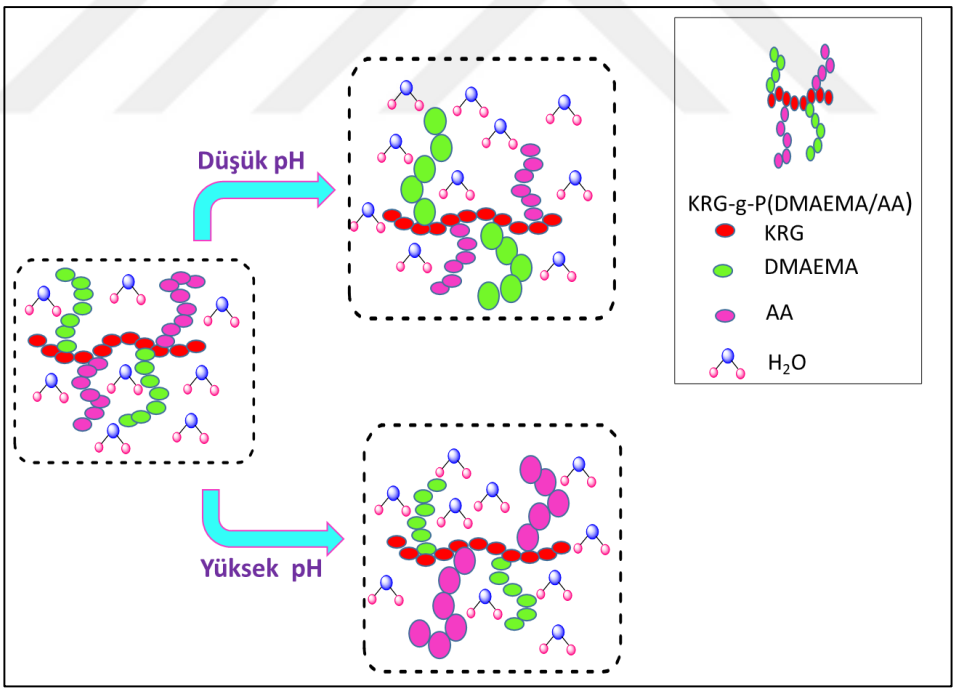
Şekil 3.29. (devam)



Şekil 3.30'da KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerinin şişme büzülme sonuçları sunulmuştur. Aşı yüzdeleri %95 ve %143 olan kopolimerlerin pH'sını 1,2'den 10'a değiştirerek zamanın bir fonksiyonu olarak değişebilirliği gösterilmektedir. Kopolimerler yaklaşık bir saat içinde denge şişme değerlerine ulaşmaktadır. Şekil 3.30'da açıkça görüldüğü gibi, pH 1,2'de, KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerleri, protonlanmış amin grupları arasında itici elektrostatik kuvveti nedeniyle şişmiş, pH 10'da ise tersiyer amidin deprotanasyonu ile tersine çevrilerek büzülmüştür (Burillo vd., 2007). Şekil 3.31'de KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın pH ortamlarında değişimi şematik olarak sunulmuştur.



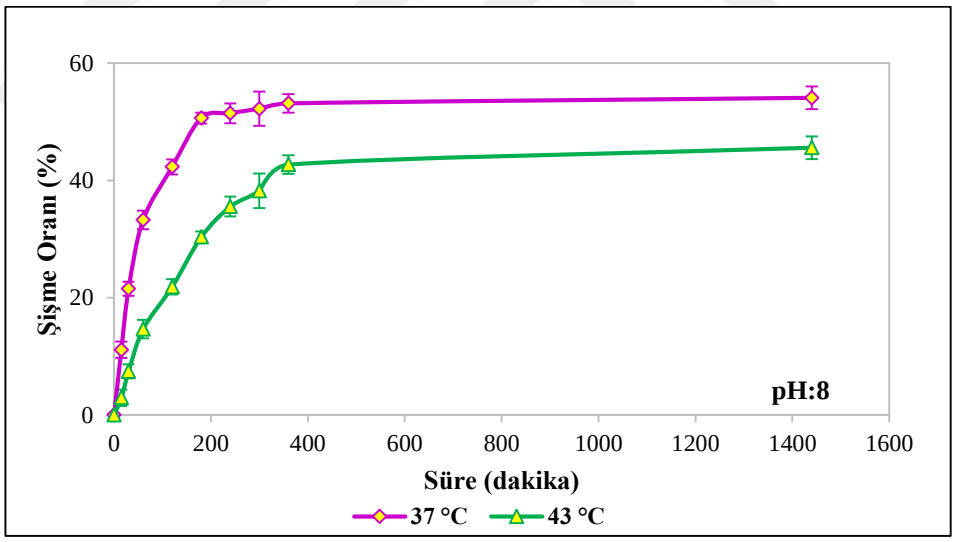
Şekil 3.30. %95 ve %143 aşı yüzdeli KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerin %denge şişme derecesi - süre değişimi



Şekil 3.31. KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın pH ortamlarında değişimi

3.1.11.3. Sıcaklığın Şişme Oranına Etkisi

PDMAEMA ve PAA aşılanmış karagenan, sıcaklığa duyarlı PDMAEMA zincirleri içermektedir. Kopolimerin sıcaklık hassasiyetini araştırmak için, LCST'nin altında ve üstünde olan iki sıcaklıkta şişme oranları çalışılmıştır. Sonuçlar Şekil 3.32'de sunulmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin sıcaklığa bağlı şişme çalışmaları, pH 8 tamponunda 37 °C ve 43 °C'de gerçekleştirildi. Şekilde 3.31'de görüldüğü gibi, sıcaklık 43 ºC'ye yükseltildiğinde KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerin şişme oranı yaklaşık %10 düşmüştür. pH 8'deki KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin LCST değeri daha önce belirtildiği gibi 41 ºC olarak bulunmuştur. Sıcaklık, 37 °C'den 43 °C'ye yükseltildiğinde, kopolimerlerin yan zincirlerindeki N,N-dimetilaminoetil grupları arasındaki hidrofobik etkileşimler kuvvetlenir. Bu nedenle, kopolimer daha kompakt bir yapı oluşturur ve daha düşük şişme oranı gösterir (Yanfeng ve Min, 2001).



Şekil 3.32. KRG-g-P(DMAEMA/AA)'nın 37 ºC ve 43 ºC'de %şişme oranı-süre değişimi. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

3.2. Manyetik Nanokürelerin Karakterizasyonu

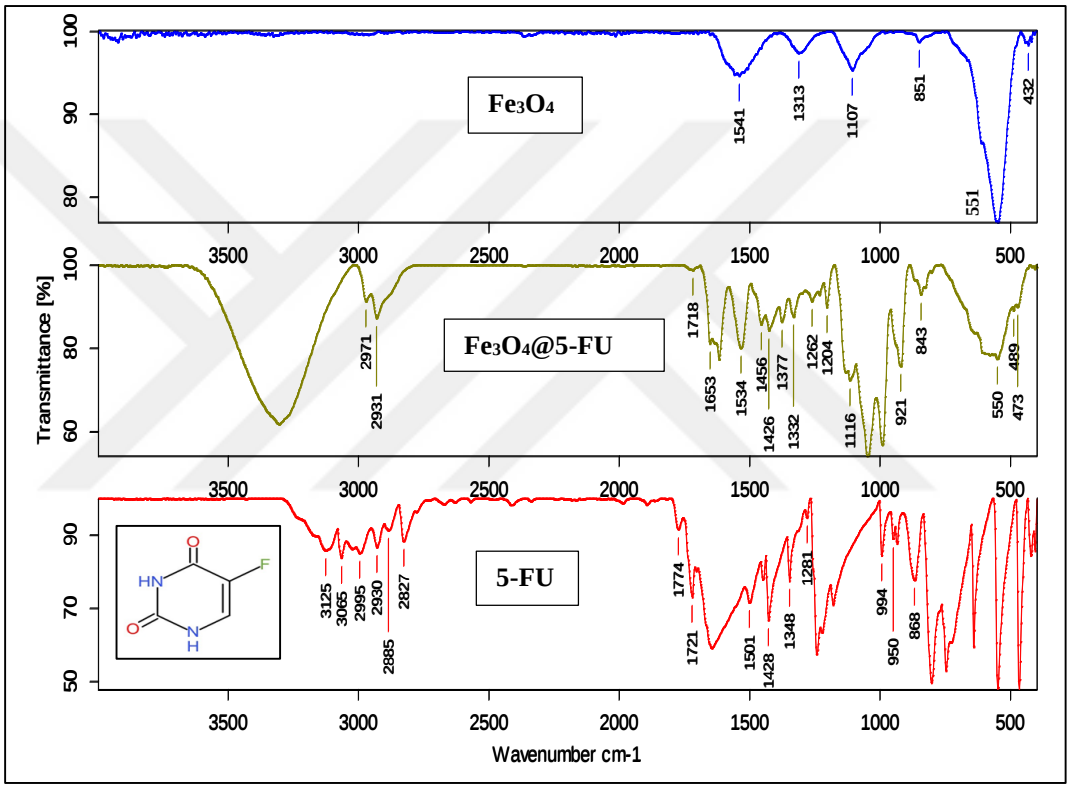
Fe_3O_4 nanoparçacıkları ortak çöktürme yöntemi ile oksijensiz ortamda mikrodalga fırında sentezlendi. Fe_3O_4 nanoparçacıkları daha önceden sentezlenen KRG-g-P(DMAEMA/AA) ve KRG-g-PHPMA kopolimerleri ile mikrodalga fırında kaplanarak KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 manyetik nanoküreler oluşturuldu. Mikrodalga destekli biyomalzemelerin sentezi, kolay ve hızlı hibrit manyetik nanoyapılar oluşturmak için uygun bir yöntemdir. Mikrodalga destekli materyal sentezi enerji tüketimini azaltmak, daha kısa reaksiyon süresi ve daha yüksek ürün verimi gibi avantajlara sahiptir. Mikrodalga ışınlaması reaksiyon ortamının düzgün ve hızlı bir şekilde ısıtılmasını sağlar ve bu nedenle düzgün nanoyapılar elde edilir. Potasyum hidroksit bazının varlığı demir merkezlerinin indirgenmesi ile demiroksit (Fe_3O_4) nanokürelerini oluşur. Ayrıca KRG-g-P(DMAEMA/AA) ve KRG-g-PHPMA kopolimerinin yapısında bulunan SO_4^- ile Fe_3O_4 nanoyapısında bulunan Fe^{+3} ve Fe^{+2} iyonları ile bağlanarak demir oksit üzerine kaplandığı düşünülmektedir. Benzer çalışmalar literatürde rapor edilmiştir (Jones vd., 2000; Zaheri vd., 2018).

Sentezlenen nanoküreler FTIR, DSC, TGA, UV, XRD, VSM, ICP-OES, Zeta-Sizer, ve TEM yöntemleri ile karakterize edildi. Ayrıca nanoparçacıkların stabilite, biyouyumluluk, kanser aktivitesi ve kinetik çalışmaları da yapılmıştır. Manyetik nanokürelerin ilaç salımı farklı parametrelerde çalışılarak optimize edilmiştir.

3.2.1. Manyetik Nanokürelerin FTIR Analizi

Şekil 3.33'te Fe_3O_4, Fe_3O_4@5-FU ve 5-FU'nun FTIR spekturumu sunulmuştur. Fe_3O_4'ün karakteristik pikleri, 432 cm^{-1} ve 551 cm^{-1}'de görülmektedir. Bu pikler Fe-O bağının karakteristik gerilme titreşimini göstermektedir (Daniel-Da-Silva vd., 2008; Yao vd., 2018). İlaç yüklü Fe_3O_4@5-FU manyetik nanokürelerinin spektrumunda, Fe-O'nun karakteristik gerilme titreşimlerinin yanısıra 5-FU ilacına ait pikler de spekturumda görülmektedir. Bu piklerin görülmesi ilacın manyetik nanokürelerin yapısına girdiğini göstermektedir. İlaca ait pikler şu şekilde sıralanabilir; 3000-3500 cm^{-1} aralığında gözlenen geniş bandın ilacın aromatik (CH) grubuna ve (NH) grubuna

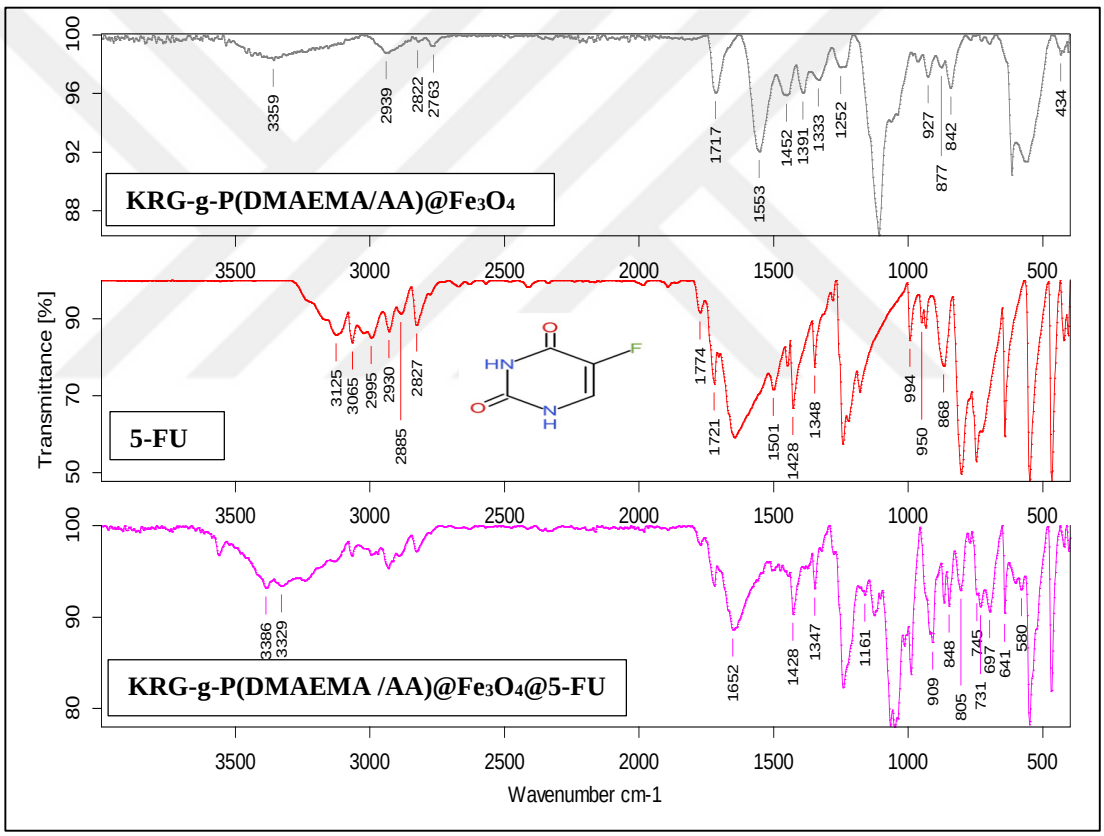
ait gerilmelere, 1534 cm^{-1}'deki bandın (NH) eğilmesine, 1262 cm^{-1}'de görülen bandın (CF) gerilmesine, 1426 cm^{-1}'de görülen bandın düzlem içi konumunda (CH) (-CF=CH-) gerilmesine ve 921 cm^{-1}'de görülen pikin ise düzlem dışı (CH) (-CF=CH-) gerilmesine ait olduğu belirlenmiştir (Huang vd., 2010; Spanakis vd., 2014). Ayrıca 1718 cm^{-1}'de ve 1653 cm^{-1}'deki piklerin çevreleri farklı olan (C=O) gerilmelerine ait olduğu belirlenmiştir. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir (Babu vd., 2006; Huang vd., 2010; Spanakis vd., 2014)



Şekil 3.33. Fe_3O_4, Fe_3O_4@5-FU ve 5-FU'nun FTIR spekturumu

Şekil 3.34'te KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4, 5-FU ve KRG-g-P(DMAEMA /AA)@Fe_3O_4@5-FU'nun karşılaştırmalı FTIR spektrumu sunulmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 manyetik nanokürelerinin FTIR spekturumunda Fe_3O_4'ün 472 cm^{-1} ve 550 cm^{-1} karakteristik pikleri görülmektedir. Yapıdaki karagenana ait bantlar; 3000- 3500 cm^{-1} arasında görülen bant O-H gerilmesine, 2939 cm^{-1} de görülen bant C-H gerilmesine, 1333-1452 cm^{-1} görülen bantlar sülfat gruplarına aittir.

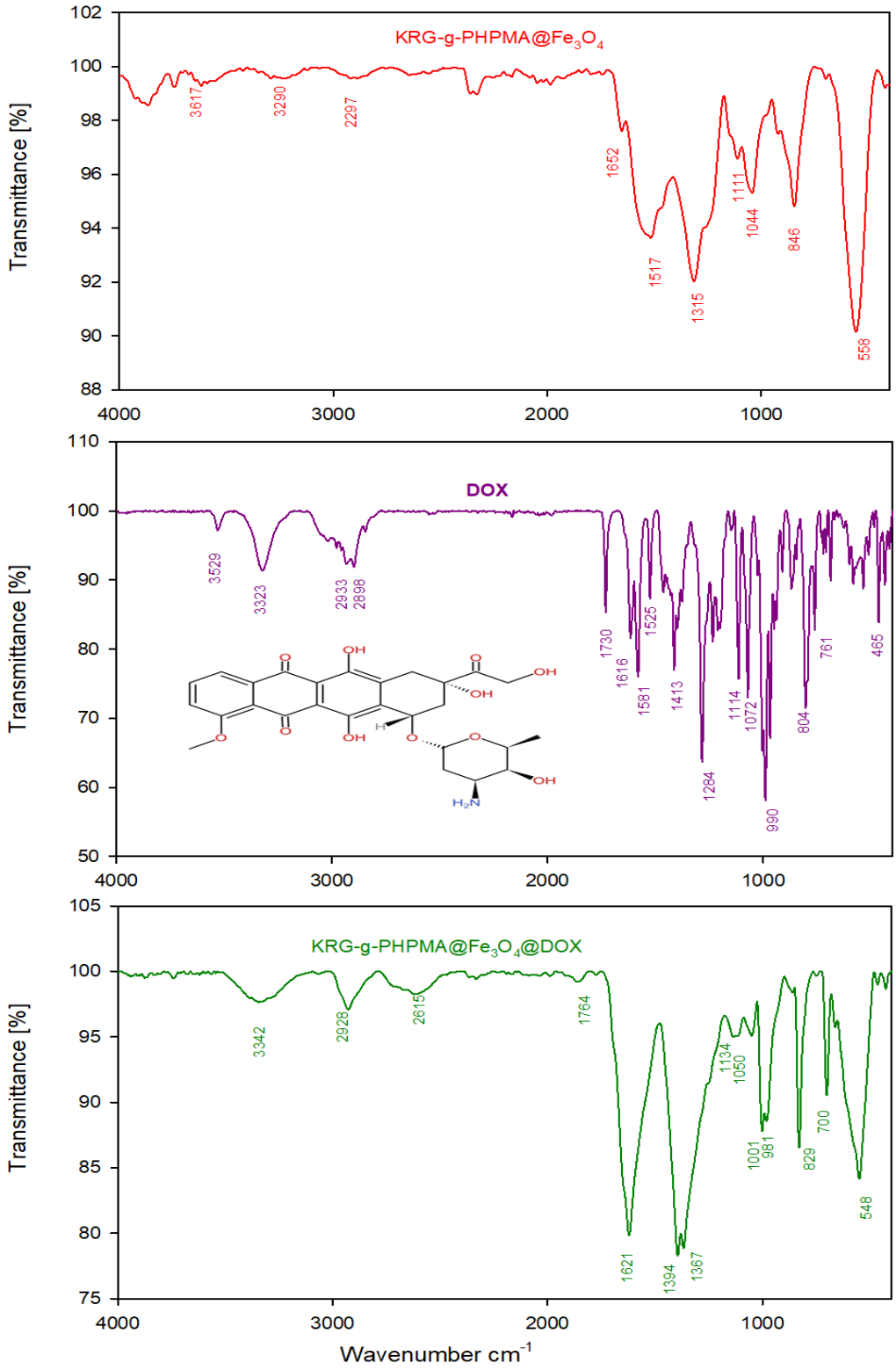
Karagenanın diğer önemli bantları; 1236 cm^{-1} deki bant O=S=O bağının asimetrik gerilmesini, 927 cm^{-1} bant C-O-C (3, 6-anhidrogalaktoz) bağını, 842 cm^{-1} bant C4-O-S (galaktoz gerilme) bağını göstermektedir (Long vd., 2015). PDMAEMA'nın yapıya girmesi ile oluşan pikler; 1717 cm^{-1} deki bandı -C=O gerilme titreşimini, 2939, 2763 ve 1452 cm^{-1} deki bantları $-CH_2$ ve $-N(CH_3)_2$'deki C-H gerilme titreşimlerine aittir (Chen vd., 2007; Ma vd., 2016; Zhao vd., 2011). KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O4@5-FU manyetik nanokürelerinde ilaca ait aromatik halka pikleri görülmektedir. 2826 ile 3123 cm^{-1} aralığında görülen pikler ilacın aromatik pikleridir. Benzer sonuçlara literatürde rastlanmıştır (Babu vd., 2006; Spanakis vd., 2014).



Şekil 3.34. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4, 5-FU ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4@5-FU'nun FTIR spektrumu

Şekil 3.35'te KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4, DOX ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX'un FTIR spekturumu sunulmuştur. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 manyetik nanokürelerinde

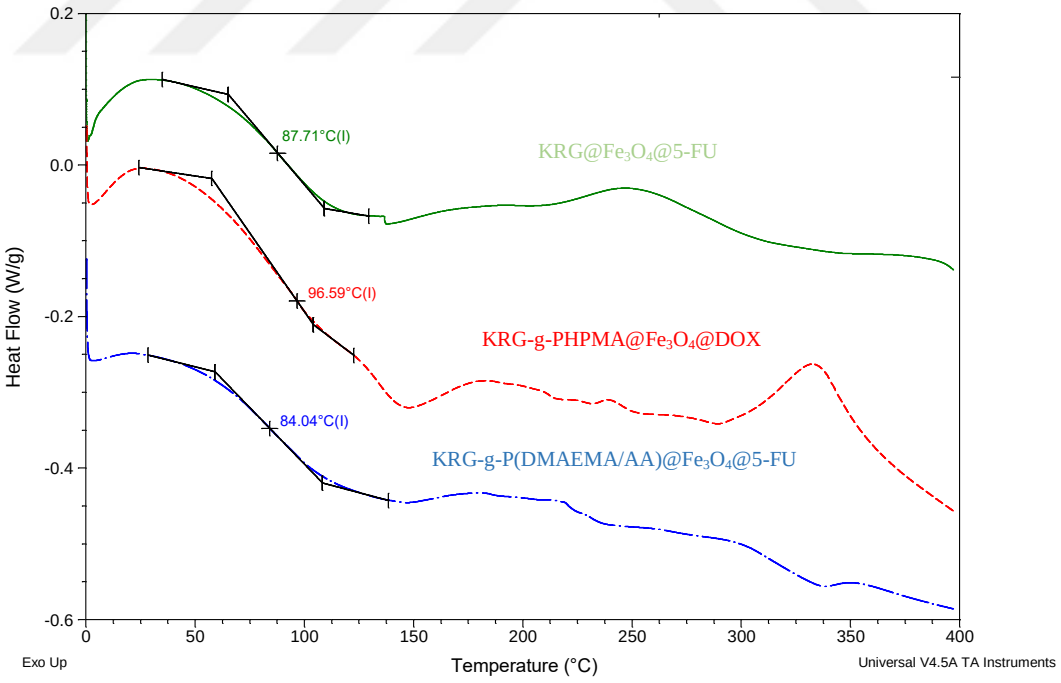
FTIR spektrumlarında Fe_3O_4'ün 558 cm^{-1} karakteristik pikleri görülmektedir. Kopolimerin pikleri; 3000- 3500 cm^{-1} arasında görülen bandın O-H gerilmesine, 2997 cm^{-1} de görülen bandın C-H gerilmesine, 1315 cm^{-1} görülen bant sülfat grubuna aittir. Karagenanın önemli bantları; 981 cm^{-1}'deki bant C-O-C (3, 6-anhidrogalaktoz) bağını, 846 cm^{-1} bant C4-O-S (galaktoz gerilme) bağını göstermektedir. DOX'un FTIR spektrumunda, 3529 cm^{-1}'deki bant N-H gerilmesine ve 3323 cm^{-1}'deki bant O-H bağlarının gerilmesinden kaynaklanırken, 2950 ve 2890 cm^{-1} arasındaki bantlar metilen grubunun ($-CH_2$) simetrik ve asimetrik gerilmesinden kaynaklanmaktadır (Chouhan ve Bajpai, 2009; Somanathan vd., 2016). Bununla birlikte, 1730 cm^{-1}'deki bant C=O gerilmesi, 1616 ve 1581 cm^{-1}'deki bantlar primer aminin N-H eğilme titreşimine, 1413 cm^{-1}'deki O-H eğilme titreşimine, 1284 cm^{-1}'deki C-N gerilme titreşimine, 1114 ve 1072 cm^{-1}'deki bantlar C-O gerilme titreşimlerine ve 675-900 cm^{-1}'degörülen bantlar düzlem dışı O-H eğilmesine atfedilmektedir (Depan vd., 2011). KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX spektrumu incelendiğinde, 2928 cm^{-1} görülen geniş bandın ilacın aromatik halkasından kaynaklandığı ve 1764 cm^{-1}'de bandın da C=O gerilmesi ait olduğu düşünülmektedir. Bu pikler DOX'un yapıya yüklendiğini doğrulamaktadır.



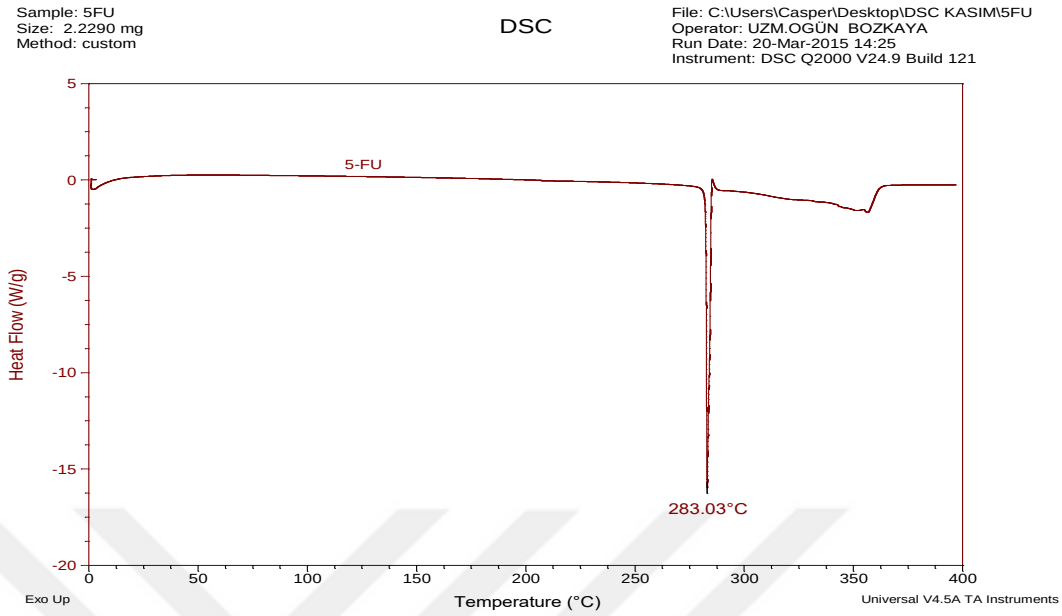
Şekil 3.35. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4, DOX ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX'un FTIR spektrumu

3.2.2. Manyetik Nanokürelerin Termal Analizi

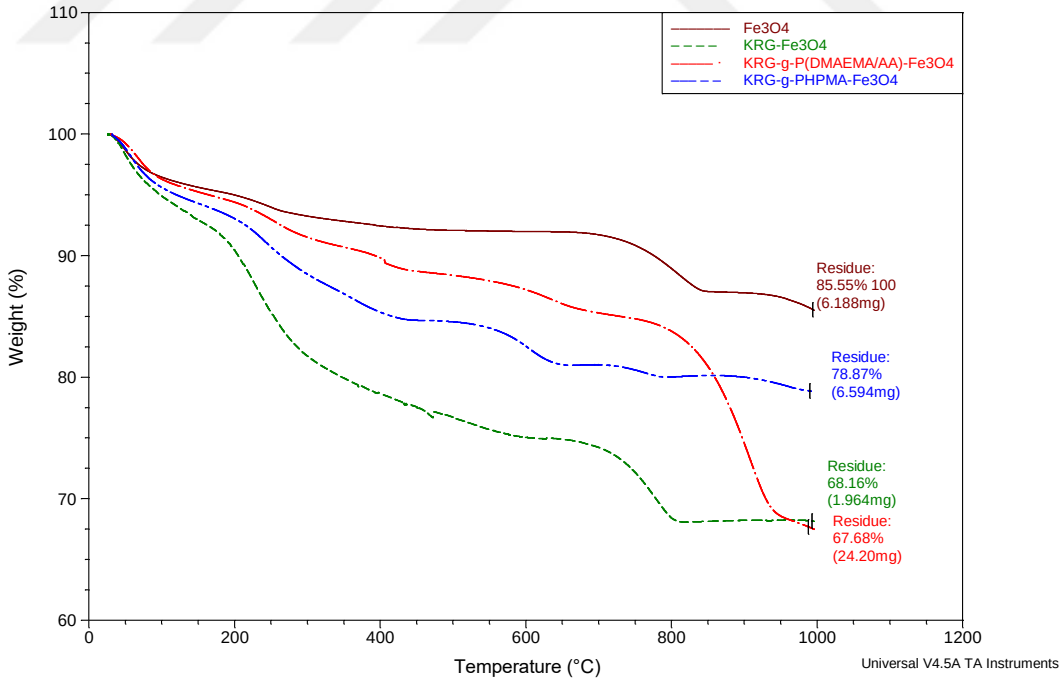
Şekil 3.36'da KRG@Fe_3O_4@DOX, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX manyetik nanokürelerinin, Şekil 3.37'de 5-FU'nun DSC termogramı sunulmuştur. Manyetik nanokürelerin T_g değerleri sırasıyla 87,76, 84,04 ve 96,59 °C'de görülmektedir. Şekil 3.6'da ve Şekil 3.11'de KRG, KRG-g-P(DMAEMA/AA) ve KRG-g-PHPMA kopolimerlerinin T_g değerleri sırası ile yaklaşık 86, 75 ve 94 °C olarak bulunmuştur. Yapıya giren Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4@DOX, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin T_g değerini azda olsa yükseltmiş ve nanoküreleri daha dayanıklı hale getirmiştir. Nanokürelerde ilacın erime piki görülmemektedir. Bunun sebebi ilaç miktarının düşük olmasına bağlanabilir. Jing-Kun Yan ve arkadaşlarıda 5-FU ilacı yüklü nanoküreler sentezlemiş ve DSC'de ilacın erime pikini kaydedememiştir (Yan vd., 2018).



Şekil 3.36. KRG@Fe_3O_4@DOX, KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX ve KRG-g-P(DMAEMA /AA)@Fe_3O_4@5-FU'un DSC termogramı

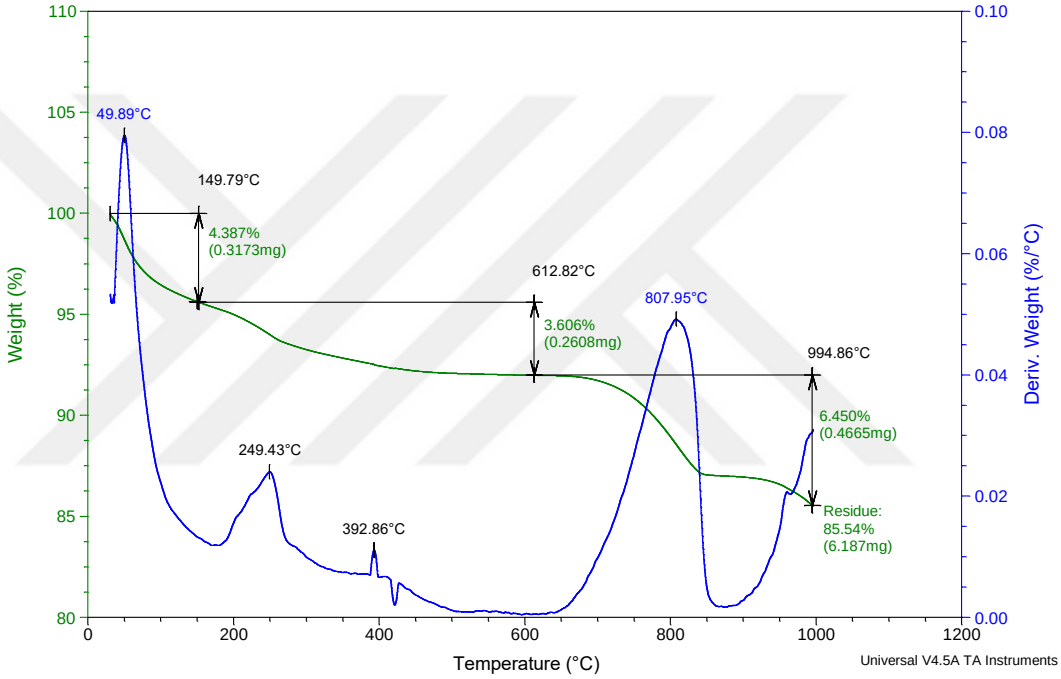


Şekil 3.37. 5-FU'nun DSC termogramı



Şekil 3.38. Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4@DOX, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX'un TGA termogramı

Nanokürelerin termal davranışları, termal gravimetri analizi (TGA) kullanılarak incelendi. Şekil 3.38'de Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4@DOX, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin TGA termogramları verilmiştir. 1000 ºC'de sırası ile kalan kütleler %85,55, %68,16, %67,68 ve %78,87 şeklinde sıralanmaktadır.



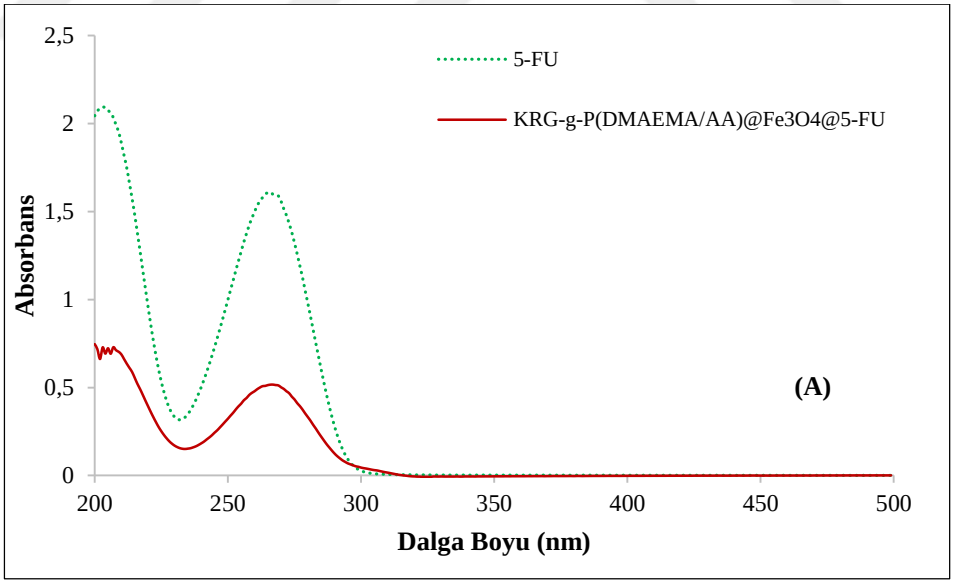
Şekil 3.39. Fe_3O_4'ün TGA termogramı

Şekil 3.39'da, üç aşamalı ağırlık kaybına sahip olan Fe_3O_4 nanokürelerin TGA eğrisi gösterilmektedir. İlk ağırlık kaybı, 30 ºC-190 ºC sıcaklık aralığında olup maksimum bozunma hız sıcaklığı 49,89 ºC'de gözlenmiştir. Bu ağırlık kaybının (%4,38) demir oksit yüzeyine adsorbe edilen su veya çözücü moleküllerinin buharlaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Sneha ve Sundaram vd., 2015; Sundar vd., 2014; Yin vd., 2016). İkinci ağırlık kaybı, maksimum bozunma hızı 249 °C ile 190 – 600 °C sıcaklık aralığında tespit edilmiştir. Nispeten kararlı oksijen içeren grupların ayrışmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Yin vd., 2016). Sıcaklığın 800 °C'den yüksek olduğu son

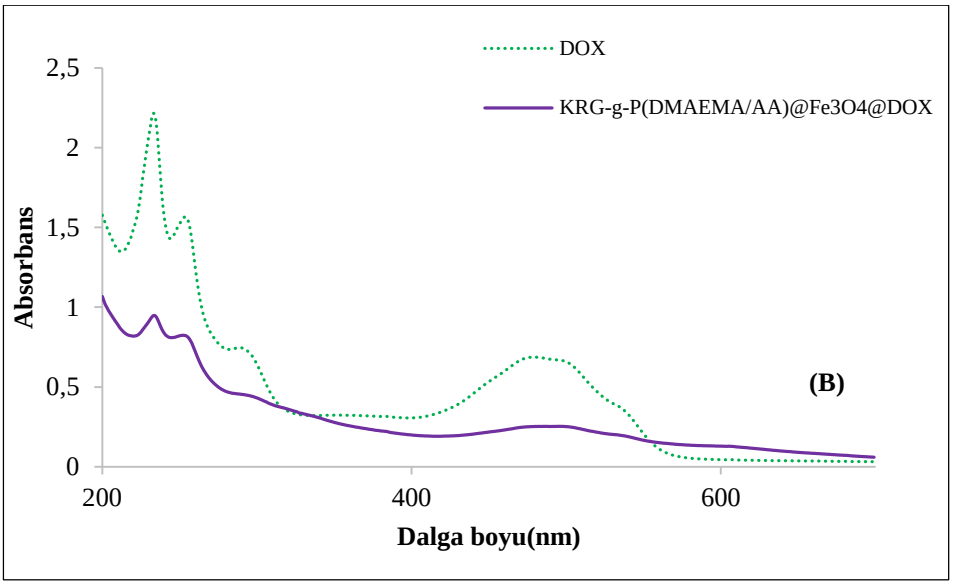
ağırlık kaybının, Fe_3O_4'ten oksijenin kısmen uzaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Vuong vd., 2015).

3.2.3. Manyetik Nanokürelerin UV Spektrum Analizi

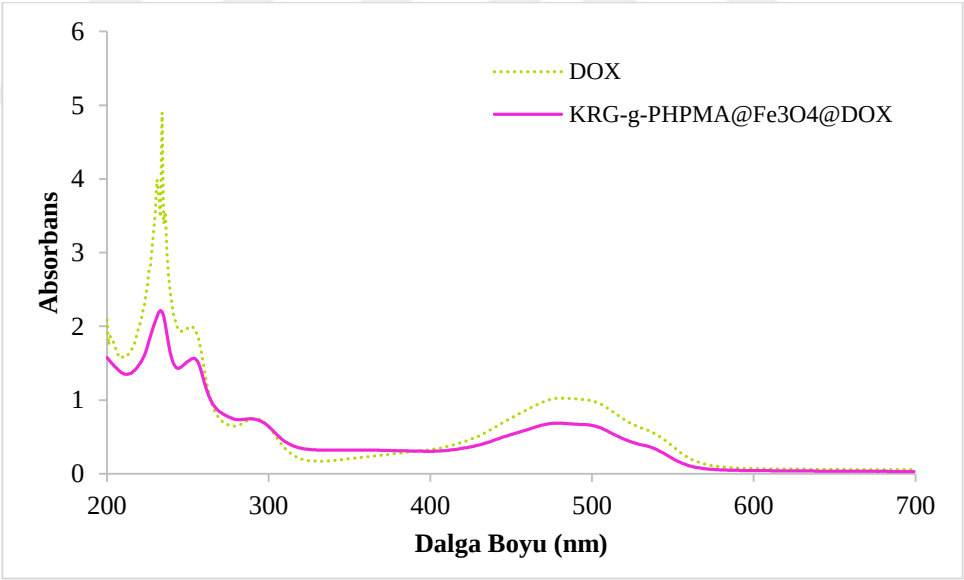
Sentezlenen manyetik nanokürelere model kanser ilacı olarak 5-FU ve DOX ilaçları yüklendi. İlaçların yapıya girdiği UV spektrometresi ile kanıtlandı. İlaç ve ilaç yüklü manyetik nanoküreler 200-500 nm dalgaboyu aralığında tarandı. Manyetik nanokürelerde ilacın pik noktalarının varlığı ilacın yapıya girdiğini göstermektedir. 5-FU'nun UV absorpsiyon spektrumunda 266 nm'deki karakteristik (Yan vd., 2020) pik 5-FU'nun yapıya girdiğini Şekil 3.40 ve 3.43'te göstermektedir. Manyetik nanokürelerin spektrumunda DOX'un karakteristik altı piki; 233 nm, 253 nm, 291 nm, 474 nm, 499 nm ve 533 nm'de bulunmaktadır (Ma vd., 2016; Yang vd., 2008). Bu piklerde şiddet azalması dışında yerlerinde bir kayma olmamıştır. DOX'un nanokürelere yüklendiğini Şekil 3.41 ve 3.42'de gösterilmektedir.



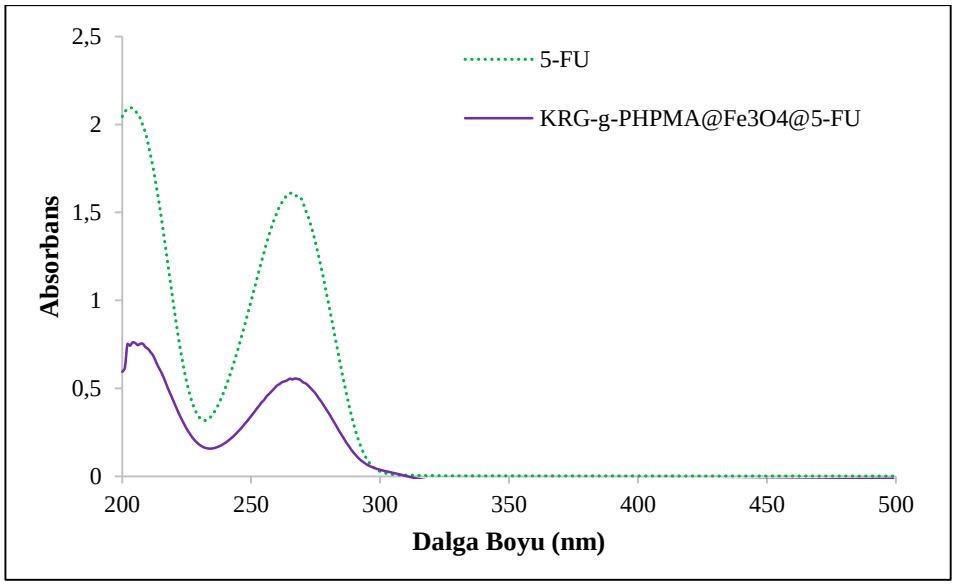
Şekil 3.40. 5-FU ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4)@5-FU'nün UV spektrumu



Şekil 3.41. DOX ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@DOX'un UV spektrumu



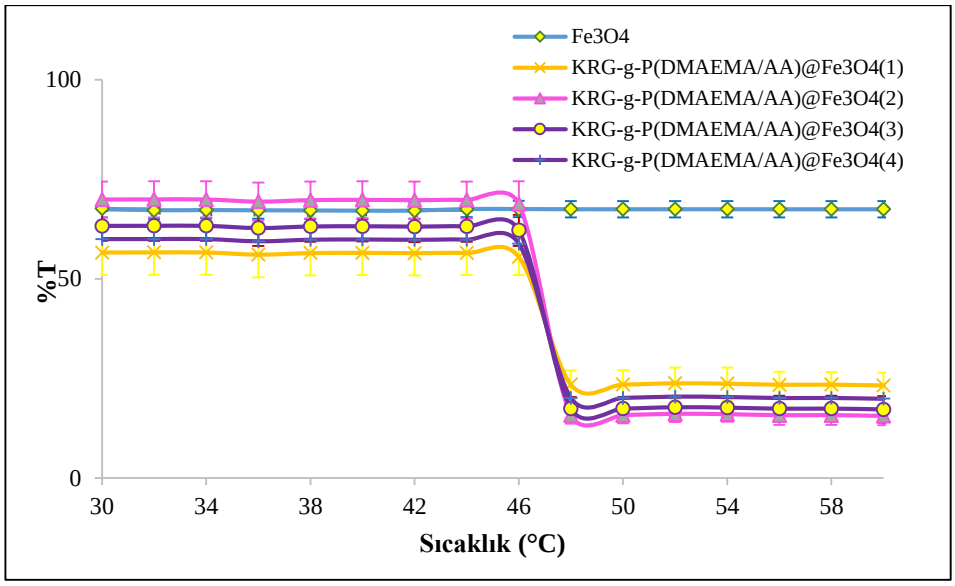
Şekil 3.42. DOX ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX'un UV spektrumu



Şekil 3.43. 5-FU ve KRG-g-PHPMA@5-FU'nun UV spektrumu

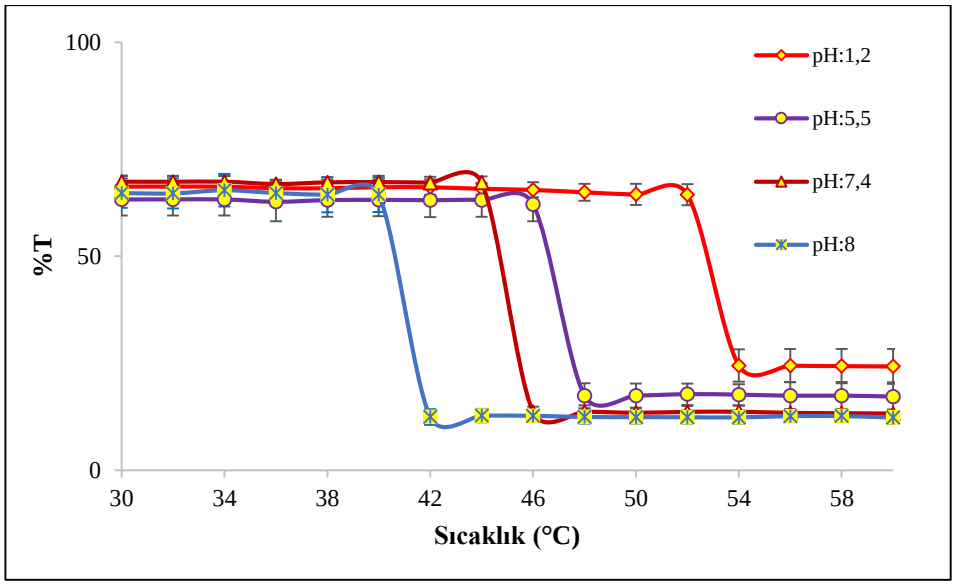
3.2.4. Manyetik Nanokürelerin LCST Sonuçları

Farklı aşı yüzdesindeki kopolimerlerden hazırlanan KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 manyetik nanokürelerin ve Fe_3O_4'ün LCST ölçümleri deiyonize suda geçirgenlikleri ölçülerek yapılmıştır. Sonuçlar Şekil 3.44'te sunulmuştur. Fe_3O_4'ün sıcaklık ile geçirgenliğinde değişim gözlenmemiştir. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ manyetik nanokürelerin 46-48 °C aralığında keskin bir düşüş gösterdiği görülmektedir. Çalışmamızın 3.1.10 bölümünde kopolimerlerin saf sudaki geçirgenlikleri aynı şekilde 46-48 °C aralığında keskin bir düşüş göstermektedir (bkz. syf. 68). Bu düşme KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin yapısında bulunan N,N-dimetilaminoetil grupları arasındaki hidrofobik etkileşimlere bağlanmaktadır (Al Dine vd., 2017; Du vd., 2009; Hui vd., 2005). Aşı yüzdesi farklı nanokürelerin LCST değeri 47 °C olarak bulunmuştur.



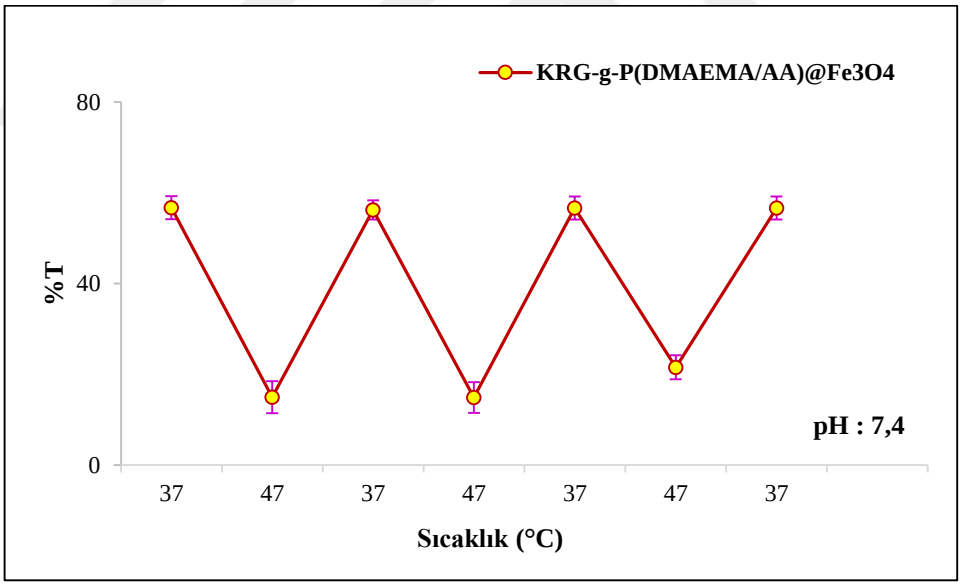
Şekil 3.44. Fe_3O_4 ve farklı aşı yüzdeli KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin deiyonize suda geçirgenlikleri

%136 aşı yüzdesindeki kopolimerden hazırlanan KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ manyetik nanokürelerin farklı pH'larda geçirgenlik sonuçları Şekil 3.45'te sunulmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin geçirgenliği, tüm pH değerlerinde farklı sıcaklıklarda keskin bir şekilde azalmıştır. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 manyetik nanokürelerinin LCST değeri; pH:1,2'de 53 °C, pH:5,5'te 47 °C pH:7,4'te 45 °C ve pH:8'de 43 °C'de bulunmuştur. Kopolimerin 3.1.10 bölümde yapılan çalışma sonuçları ile tutarlı bulunmuştur. Asidik ortamda PDMAEMA'nın yapısında bulunan tersiyer amin gruplarının protonlanması ile kuarterner amin katyonları oluşur ve bu da kopolimer kaplı KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin çözelti ortamında hidrofilikliği ve faz ayrımının olduğu sıcaklığı artırır. Ortamın pH değerindeki artış, LCST değerini düşük sıcaklıklara kaydırmıştır (Kim vd., 2001).



Şekil 3.45. Farklı pH'larda KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin LCST değişimleri

.



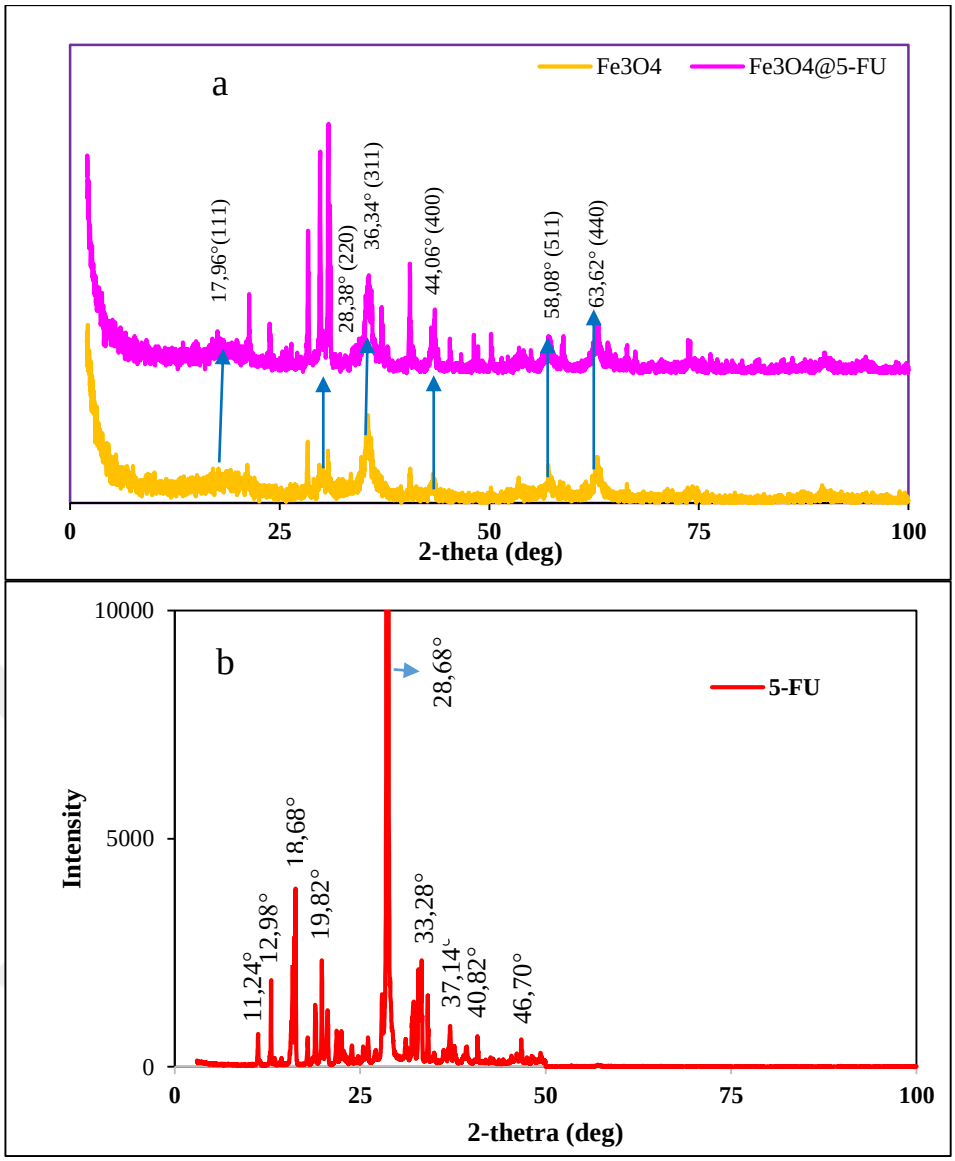
Şekil 3.46. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$'ün 37 °C ve 47 °C'de geçirgenlik-sıcaklık değişimi

Şekil 3.46'da KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin pH 7,4'te 37 ve 47 °C'de geçirgenliği gösterilmektedir. Şekil 3.46'da açıkça görüldüğü gibi 37 °C'de KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin geçirgenliği daha yüksek 47 °C'de ise geçirgenliği daha düşüktür. Bunun sebebi daha önce Bölüm 3.1.10'da belirttildiği gibi N,N-dimetilaminoetil grupları arasındaki hidrofobik etkileşimlere bağlanabilmektedir.

3.2.5. Manyetik Nanokürelerin XRD Sonuçları

3.2.5.1. Fe_3O_4 Nanoküresinin XRD Sonuçları

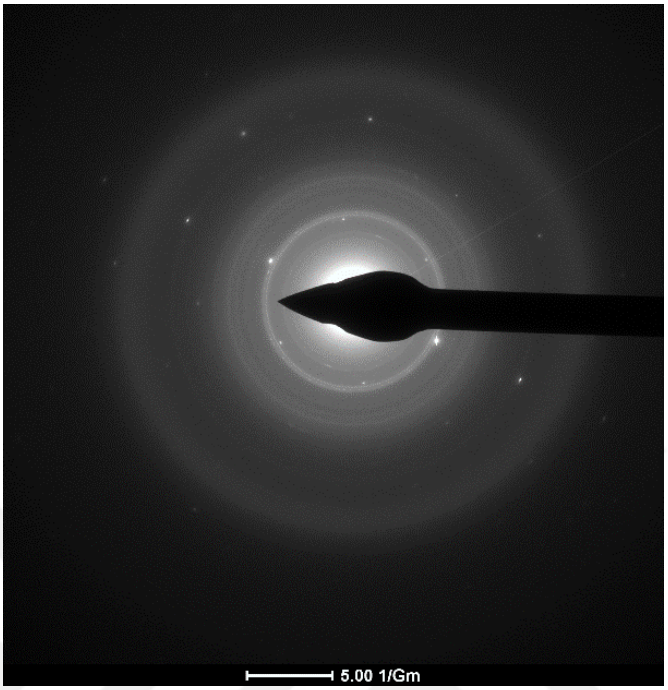
Fe_3O_4 nanokürelerinin kristal yapısını incelemek için X-ışını kırınım analizi yöntemi kullanılmıştır. Fe_3O_4, Fe_3O_4@5-FU ve 5-FU'nun X-ışını kırınımı sonuçları 3.47'de sunulmuştur. Bir kristalin atomik ve moleküler yapısını incelemek için kullanılan ve kristalleşmiş atomların bir X-ışını demetindeki ışınların kristale özel çeşitli yönlerde kırınımı olayına dayanan bir yöntemdir (Chhetri vd., 2019). Kristalin yapıdaki her atom ve molekülün farklı kırınım değerleri vardır. Fe_3O_4 kristalinin kırımın değerleri literatürde mevcuttur ve kübik kristal yapısına sahiptir (Chhetri vd., 2019; Lin vd., 2007). Şekil 3.47'de görülebileceği gibi Fe_3O_4'ün X-ışını kırınım düzlemleri (111) (220), (311), (400), (511) ve (440) şeklindedir ve Fe_3O_4'ün kübik kristal yapısının düzlemlerine karşılık gelen 2θ açı değerleri sırasıyla 17,96 ^{o}, 28,38^o, 36,34^o, 44,06^o, 58,08^o ve 63,62^o olarak saptanmıştır (Lin vd., 2007). Bu sonuç, manyetik nanokürelerin standart X-ışını kırınımı verileri ile karşılaştırıldığında yüzey merkezli kübik kristal yapıyla manyetik nanokürelerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini doğrulamaktadır (Saha vd., 2019; Yan vd., 2018). 5-FU yüklü Fe_3O_4 nanokürelerin kristal yapısını incelendiğinde ilaca ait karakteristik 2θ değerleri 28,68° 29,82°, 30,82° 37,14° 40,54° ve 46,72°'de' görülmektedir. XRD sonuçları yapıya ilacın girdiğini kanıtlamaktadır (Cuadra vd., 2019; Pooresmaeil vd., 2019).



Şekil 3.47. a) Fe_3O_4 ve Fe_3O_4@5-FU, b) 5-FU 'nun X-ışını kırınımı

Manyetik nanokürelerin kırınım düzlemlerini belirlemek için seçili alan elektron kırınım (SAED) deseni kullanılmıştır. Bu yöntem numunenin kristal yapısının difraksiyon koşuluna karşılık gelen her bir noktasını göstermektedir. Şekil 3.48'de Fe_3O_4 nanokürelerinin SAED desenini sunulmaktadır. Numunenin SAED deseninde Fe_3O_4 kristalin yapısına ait altı kırınım halkası net olarak görülmektedir. Bu halkalar, nanokürelerin yüksek oranda kristallikleri nedeniyle kırınım noktalarının bir araya gelmesinden kaynaklanmaktadır (Dey vd., 2019). X-ışını kırınımı ile SAED deseni

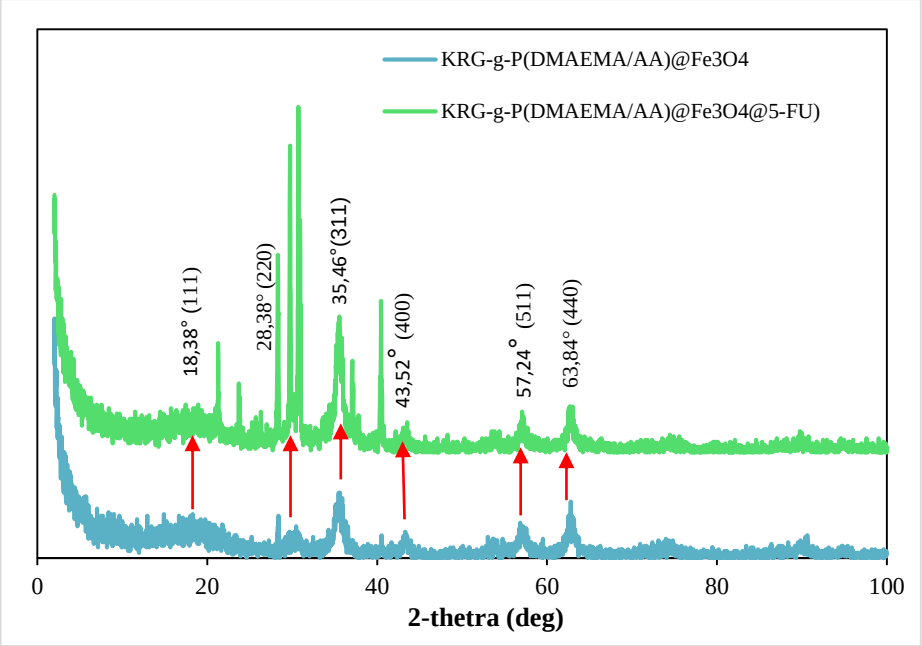
tutarlıdır. Bu da nano boyutlu olan Fe_3O_4 parçacıkların yüksek kristalliklerini göstermektedir (Lin vd., 2007).



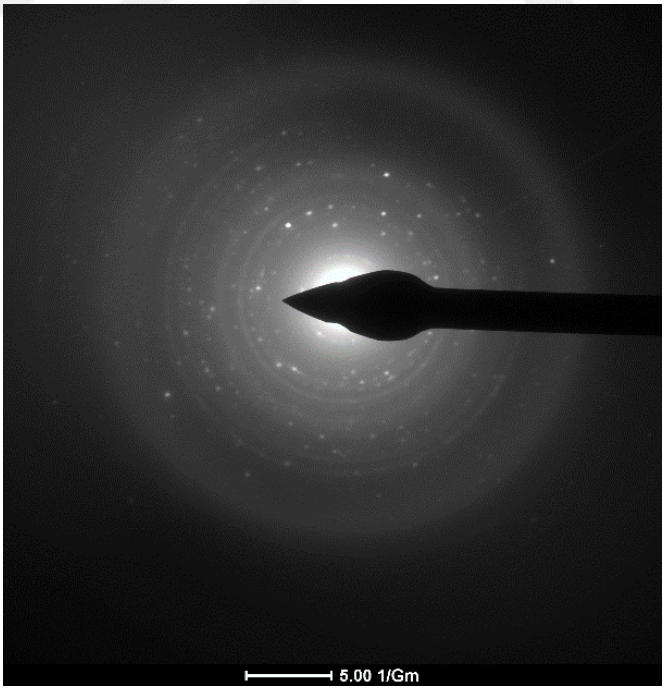
Şekil 3.48. Fe_3O_4'ün seçili bölge kırınım (SAED) görüntüsü

3.2.5.2. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 Nanokürelerinin XRD Sonuçları

KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerlerden elde edilen KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 manyetik nanokürelerinin yapısındaki Fe_3O_4'ün varlığı XRD kırınımı ile doğrulanmaktadır. Şekil 3.49'da görüldüğü gibi Fe_3O_4'ün yapısında bulunan 2θ açı değerleri 28,38º(220), 35,46º(311), 43,52º(400), 57,24º(511) ve 63,84º(440) ile ispatlanmaktadır (Rahimdad vd., 2019). 5-FU yüklü KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU manyetik nanokürelerinde ilaca ait karakteristik 2θ açı değeri 28,68° 29,82°, 30,82° 37,14° 40,54° ve 46,72°'de görülmektedir. Bu sonuçlar ilacın yapıya girdiğini göstermektedir (Cuadra vd., 2019; Pooresmaeil vd., 2019).



Şekil 3.49. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@ Fe_3O_4 @5-FU'nun X-ışını kırınımı

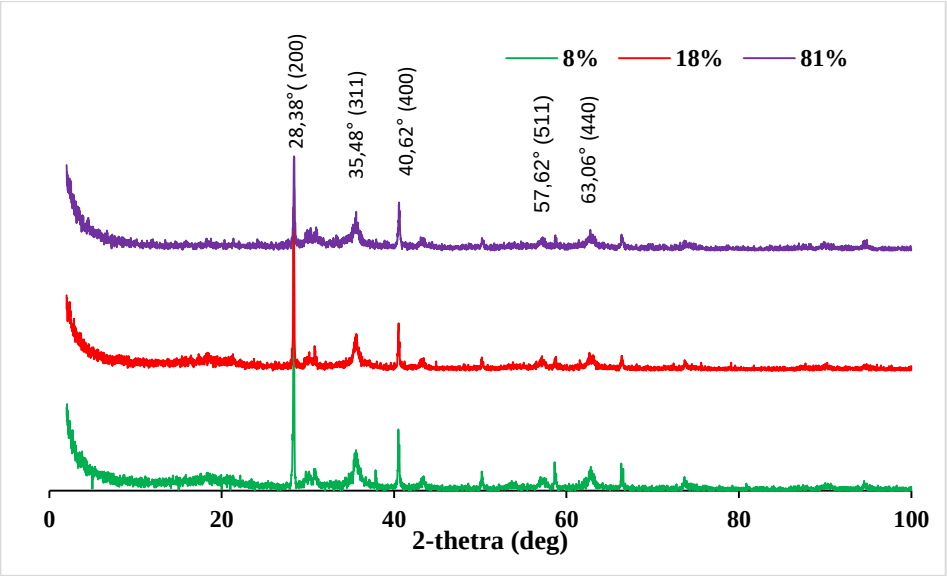


Şekil 3.50. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4'ün seçili bölge kırınım (SAED) görüntüsü

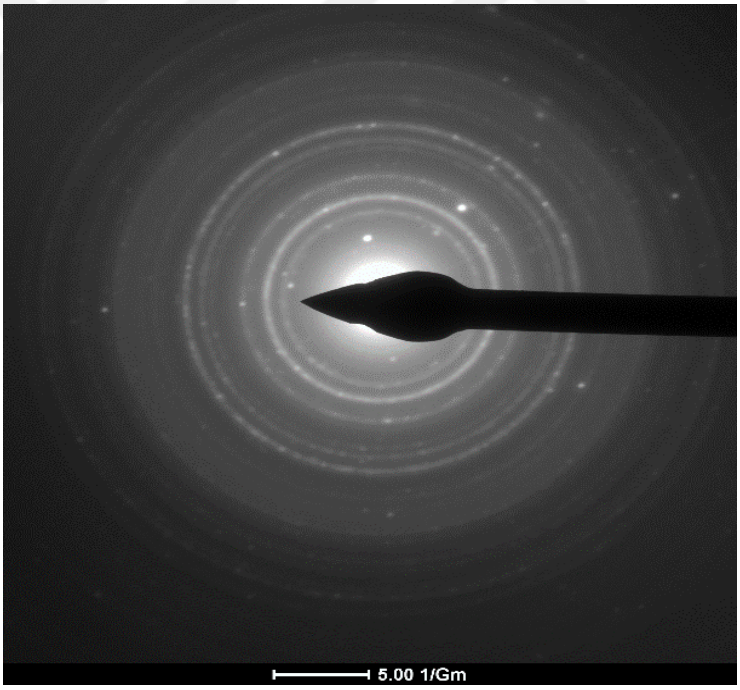
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin SAED görüntüsü Şekil 3.50'de sunulmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 manyetik nanokürelerinin SAED görüntüsünde, altı kat desenli net kırınım halkalara sahip olduğu görülmektedir. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 yapısında görülen halkalar, Fe_3O_4'ün kırınım düzlemlerinden kaynaklanmaktadır. Görüntüde halkalar oldukça belirgindir ve X-ışını kırınımı ile tutarlıdır.

3.2.5.3. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 Nanokürelerinin XRD Sonuçları

Farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin X-ışını kırınımı Şekil 3.51'de sunulmuştur. Farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-PHPMA kopolimerlerden elde edilen KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX manyetik nanokürelerinin yapısına Fe_3O_4'ün girdiği XRD çalışmaları ile doğrulanmıştır. Fe_3O_4'ün X-ışını kırınım düzlemleri (220), (311), (400), (511), (440) ve Fe_3O_4'ün kübik kristal yapısının düzlemlerine karşılık gelen 2θ açı değerleri sırasıyla 28,38º, 35,48º, 40,62º, 57,62º ve 63,06º olarak saptanmıştır. Bu sonuç, manyetik nanokürelerin standart X-ışını kırınımı verileri ile karşılaştırıldığında yüzey merkezli kübik kristal yapıyla manyetik nanokürelerin başarılı bir şekilde sentezlendiğini doğrulamaktadır (Saha vd., 2019). DOX ilacının 2θ açı değerleri sırasıyla 28,36º, 40,54º, 50,19º ve 58,32º'de görülmektedir (Behera, 2019; Manocha ve Margaritis, 2010) .



Şekil 3.51. Farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX'un X-ışını kırınımı



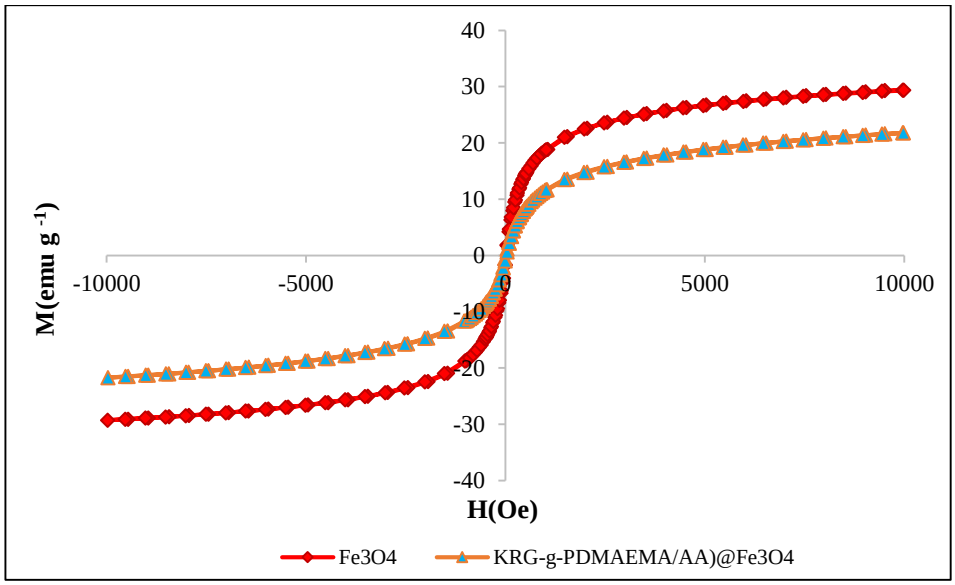
Şekil 3.52. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4'ün seçili bölge kırınım (SAED) görüntüsü

KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 manyetik nanokürelerinin SAED görüntüsü Şekil 3.52'de sunulmuştur. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 yapısında görülen halkalar, Fe_3O_4'ün kırınım noktalarından kaynaklanmaktadır.

3.3. Manyetik Nanokürelerin VSM Sonuçları

3.3.1. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 Nanokürelerinin VSM Sonuçları

Fe_3O_4, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin manyetik özellikleri titreşim örneklemli manyetometre (VSM) ile araştırılmıştır ve histeresis döngüleri Şekil 3.53'te verilmiştir. Fe_3O_4 için manyetik doygunluğu 29,31 emu g^{-1} ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 için manyetik doygunluğu 21,80 emu g^{-1} bulunmuştur. Elde edilen sonuç, hazırlanan nanokürelerin manyetik özelliğinin olduğunu ve histeresis döngüsü nanokürelerin süperparamanyetik olduğunu göstermektedir (Klabunde, 2001). Fe_3O_4 nanokürelerinin yüzeyinin manyetik özelliği olmayan kopolimer ile kaplanması manyetik doygunluğu düşürmüştür (Dung vd., 2009; Zhang vd., 2009). Demir oksit nanokürelerinin yüzeyinin manyetik özelliği olmayan polimerle kaplanması duvar oluşturmuş ve manyetik alan hareketini kısıtlamıştır. Bu manyetik olmayan polimer duvar manyetik doygunluğu düşürmüştür (Dutta ve Sahu, 2012; Goorbandi vd., 2020).

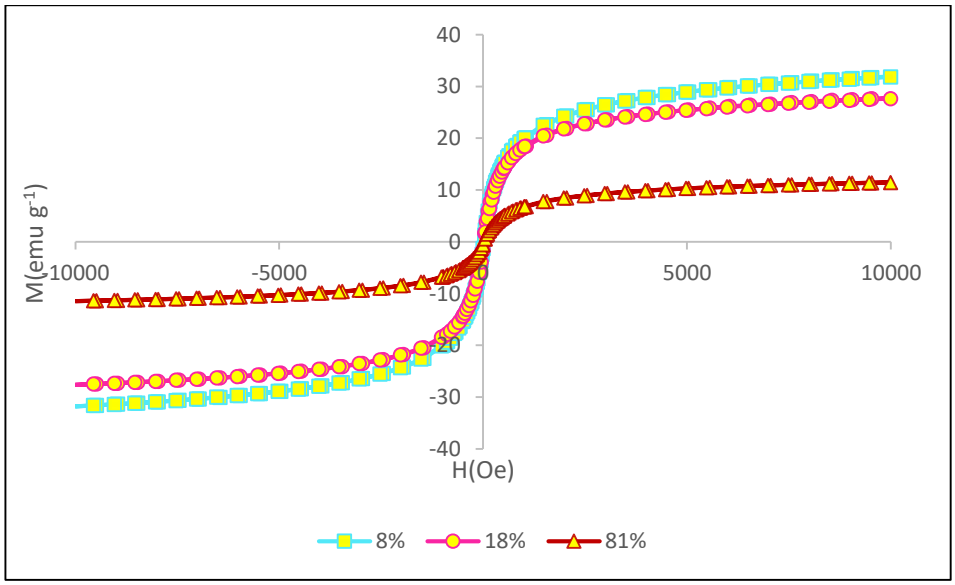


Şekil 3.53. Fe_3O_4 ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4'ün manyetik histeresis döngüsü

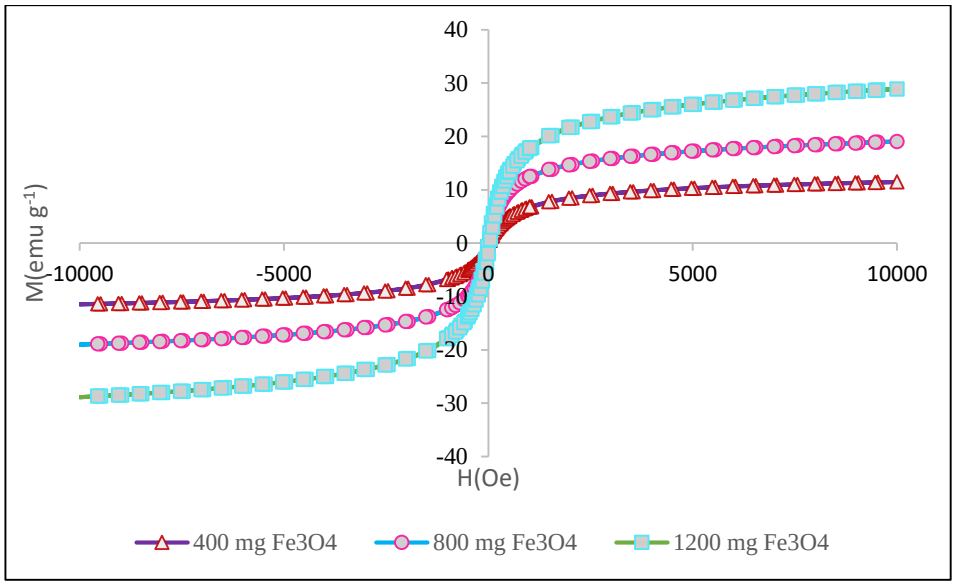
3.3.2. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 Nanokürelerinin VSM Sonuçları

Farklı aşı yüzdelerindeki KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin VSM histeresis döngüleri Şekil 3.54'te verilmiştir. Aşı yüzdeleri farklı nanokürelerin manyetik doygunlukları KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(1)}$ için 31,92 emu g^{-1}, KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(2)}$ için 27,77 emu g^{-1}, KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ için 11,47 emu g^{-1} bulunmuştur. Elde edilen sonuç, hazırlanan nanokürelerin manyetik özelliğinin olduğunu göstermektedir. Aşı yüzdesi arttıkça manyetik doyum azalmaktadır.

%81 aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA kopolimerden hazırlanan KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanoküreleri oluşturulurken farklı miktarlarda Fe^{+2}/Fe^{+3} iyonları ilave edilerek Fe_3O_4 miktarı farklı manyetik nanokürelerin histeresis döngüleri incelenmiş ve elde edilen sonuçlar Şekil 3.55'te sunulmuştur. 400 mg, 800 mg ve 1200 mg Fe^{+2}/Fe^{+3} içeren nanokürelerin histeresis döngüleri incelendiğinde Fe_3O_4 miktarı arttıkça nankürelin manyetik doygunlukları artmaktadır. 400 mg, 800 mg ve 1200 mg Fe_3O_4 içeren nanokürelerin manyetik doygunluğu sırasıyla 11,47 emu g^{-1}, 19,05 emu g^{-1} ve 28,90 emu g^{-1} olarak bulunmuştur. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir (Blyakhman vd., 2017).



Şekil 3.54. Farklı aşı yüzdelerindeki KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4'ün manyetik histeresis döngüsü



Şekil 3.55. Fe_3O_4 miktarı farklı KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 manyetik nanokürelerinin histeresis döngüsü

3.4. Manyetik Nanokürelerin Tutuklanma Verimi ve İlaç Yükleme Yüzdesi

3.4.1. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 Nanokürelerinin Tutuklanma Verimi ve İlaç Yükleme Yüzdesi

KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 manyetik nanokürelerinin ilaç yükleme yüzdeleri ve tutuklanma verimi (%) değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen tutuklanma verimi nanokürelerin etrafına kaplanan kopolimerin aşı yüzdesi, ilaç miktarı ve ilacın değişmesi ile değişmiştir. Sonuçlar Çizelge 3.5'te sunulmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(1)}$, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(2)}$ KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ ve KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4@5-$FU_{(4)}$ manyetik nanokürelerine kaplanan kopolimerin aşı yüzdesi arttıkça tutuklanma verimi (%) sırasıyla 43,84±2,95, 53,36±2,47, 62,23±2,05 ve 71,09±1,50 olarak bulunmuştur. Aşı yüzdesinin artmasıyla KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-

FU nanokürelerinin yapısında bulunan -COOH, -C=O ve -OH fonksiyonel grupları artmıştır. Artan fonksiyonel gruplar ile 5-FU'nun yapısında bulunan -C=O ve -NH- grupları arasındaki hidrojen bağı etkileşimleri artmaktadır. Artan bağ etkileşimi tutuklanma verimi (%) ve ilaç yükleme yüzdesini (%) arttırır. Benzer çalışmalar literatürde rapor edilmiştir (Işıklan ve Polat, 2020).

İlaç miktarının artması tutuklanma verimi (%) ve ilaç yükleme yüzdesi (%) değerlerini arttırmıştır. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$, KRG-g-P(DMAEMA/AA) @$Fe_3O_{4(5)}$ KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(6)}$ nanoküreleri farklı miktarda 5-FU bulundurmaktadır. Ortamda bulunan ilaç miktarının artması -C=O ve -NH- fonksiyonel grupların hidrojen bağ etkileşimini artırır ve aşı yüzdesinin artmasındaki gibi benzer eğilim göstererek tutuklanma verimi (%) ve ilaç yükleme yüzdesi (%) artar. Benzer çalışmalar literatürde rapor edilmiştir (Işıklan ve Tokmak, 2019).

Çizelge 3.5. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin tutuklanma verimi ve ilaç yükleme yüzdeleri. Sonuçlar n=3'ün ortalama ± SS olarak verildi

KOD	Aşı yüzdesi (%)	İlaç	İlaç Miktarı (mg)	Tutuklanma verimi (%)	İlaç yükleme yüzdesi (%)
Fe_3O_4	-	5-FU	5	43,51±3,45	1,06±0,08
KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4)@5-$FU_{(1)}$	95	5-FU	5	43,84±2,95	1,06±0,07
KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4)@5-$FU_{(2)}$	113	5-FU	5	53,36±2,47	1,30±0,06
KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4)@5-$FU_{(3)}$	136	5-FU	5	62,23±2,05	1,51±0,05
KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4)@5-$FU_{(4)}$	143	5-FU	5	71,09±1,50	1,73±0,03
KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4)@5-$FU_{(5)}$	136	5-FU	10	71,79±1,05	3,41±0,05
KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4)@5-$FU_{(6)}$	136	5-FU	15	78,68±0,86	5,14±0,06
KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4)@$DOX_{(7)}$	136	DOX	5	67,46±1,93	1,64±0,04

3.4.2.KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 Nanoküreleri̇nin Tutuklanma Verimi ve İlaç Yükleme Yüzdesi

KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanoküreleri için tutuklanma verimi ve ilaç yükleme yüzdeleri farklı formülasyonlardaki nanoküreler için hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 3.6'da sunulmuştur. Farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(1)}$, KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(2)}$ ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$ nanokürelerde aşı yüzdesinin artması ile tutuklanma verimi %33,45±2,40, %47,89±6,36 ve %61,52±3,67 ve ilaç yükleme yüzdesi %0,65±0,04, %0,93±0,12, ve %1,20±0,07 sırasıyla artmıştır. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin yapısında bulunan -C=O, -OH ve –NH- gruplarının aşılama ile artması DOX'un -C=O, -OH ve $–NH_2$ grupları ile hidrojen bağı etkileşimini artırmıştır. Hidrojen bağı etkileşiminin artması DOX'un tutuklanma verimini ve ilaç yükleme yüzdesini artırır.

Benzer eğilim ilaç miktarının artması ile de görülmektedir. D0X ve 5-FU ilaçları farklı miktarlarda nanokürelere yüklenmiştir. İlaç miktarının artması ortamda bulunan ilacın fonksiyonel gruplarını artırır ve sonuç olarak hidrojen bağ etkileşimi artar. Artan bağ etkileşimi ilaçların tutuklanma verimini (%) ve ilaç yükleme yüzdesini (%) artırır.

Aşı yüzdesi ve ilaç miktarı aynı, $Fe^{+2/}Fe^{+3}$ iyon miktarı arttırılarak oluşturulan KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$, KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(11)}$ ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(12)}$ nanokürelerin tutuklanma verimi %47,65±4,81, %77,57±5,00 ve %88,80±2,40 ve ilaç yükleme yüzdesi %1,20±0,07, %1,52±0,09 ve %1,74±0,04 olarak bulunmuştur. Bu artışın sebebi ortamda artan $Fe^{+2/}Fe^{+3}$ iyonları ile kopolimer ve ilacın fonksiyonel grupları arasındaki etkileşimin artmasına bağlanabilir.

Çizelge 3.6. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin tutuklanma verimi ve ilaç yükleme yüzdeleri. Sonuçlar n=3'ün ortalama ± SS olarak verildi

KOD	Aşı yüzdesi (%)	İlaç	İlaç Miktarı (mg)	Fe_3O_4 Miktarı (mg)	Tutuklanma Verimi (%)	İlaç Yükleme Yüzdesi (%)
Fe_3O_4	-	DOX	5	400	27,50±5,00	0,54±0,09
KRG	-	DOX	5	400	28,63±2,40	0,56±0,04
KRG-g-PHPMA @Fe_3O_4@$DOX_{(1)}$	8	DOX	5	400	33,45±2,40	0,65±0,04
KRG-g-PHPMA @Fe_3O_4@$DOX_{(2)}$	18	DOX	5	400	47,89±6,36	0,93±0,12
KRG-g-PHPMA @Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$	81	DOX	5	400	61,52±3,67	1,20±0,07
KRG-g-PHPMA @Fe_3O_4@$DOX_{(4)}$	81	DOX	2,5	400	47,65±4,81	0,46±0,04
KRG-g-PHPMA @Fe_3O_4@$DOX_{(5)}$	81	DOX	7,5	400	70,32±2,48	2,03±0,07
KRG-g-PHPMA @Fe_3O_4@$DOX_{(6)}$	81	DOX	10	400	81,35±2,55	3,12±0,09
KRG-g-PHPMA @Fe_3O_4@$5\text{-}FU_{(7)}$	81	5-FU	2,5	400	42,10±3,74	0,41±0,03
KRG-g-PHPMA @Fe_3O_4@$5\text{-}FU_{(8)}$	81	5-FU	5	400	56,62±1,87	1,10±0,03
KRG-g-PHPMA @Fe_3O_4@$5\text{-}FU_{(9)}$	81	5-FU	7,5	400	63,68±1,72	1,84±0,05
KRG-g-PHPMA @Fe_3O_4@$5\text{-}FU_{(10)}$	81	5-FU	10	400	76,68±1,25	2,94±0,04
KRG-g-PHPMA @Fe_3O_4@$DOX_{(11)}$	81	DOX	5	800	77,57±5,00	1,52±0,09
KRG-g-PHPMA @Fe_3O_4@$DOX_{(12)}$	81	DOX	5	1200	88,80±2,40	1,74±0,04

3.5. Manyetik Nanokürelerin Yüzey Morfolojisi

3.5.1. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 Nanokürelerinin Zeta Potansiyeli ve Boyut Sonuçları

Zeta potansiyeli kolloidal kararlığını karakterize etmek için önemli bir faktördür. Ayrıca partiküllerin yüzey yüklerinin ölçülmesini sağlar. Genel olarak, yüksek pozitif ve negatif zeta potansiyeli olan nanoparçacıklar dağılma stabilitesi göstermektedir (Shete vd., 2013). Yüksek zeta potansiyeli olan nanoparçacıklar, parçacıklar arası yüksek elektrostatik itme kuvvetinden dolayı depolanma süresinde koagüle olmazlar. Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4, farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanoküreleri için PBS fosfat tamponunda (pH 7,4), asetat tampon ortamında (pH 5,5) ve asidik ortamda (pH 1,2), 25°C'de zeta potansiyeli ölçümleri yapılmıştır.

Çizelge 3.7'de hazırlanan Fe_3O_4 ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin yüzey yükü sunulmuştur. Elektrokinetik özellikleri ve zeta potansiyeli manyetik nanoparçacıkların uygulanması açısından önemli bir parametredir. Nanoparçacıkların zeta potansiyeli +10 mV'dan düşük ve -10 mV'dan yüksek ise stabil olmadıkları söylenebilir (Shete vd., 2013). Nanoparçacıkların zeta potansiyeli mutlak değer olarak 25-30 mV'dan yüksek ise, elektrostatik olarak parçacıkların kararlı olduğu söylenebilir. Bu durumda kolloidal kararlılık, sterik ve elektrostatik iticilikten kaynaklanmaktadır (Shete vd., 2013). Fe_3O_4 nanoküreleri kopolimer ile kaplanınca zeta potansiyeli düşmüştür. Fe_3O_4 nanokürelerine kaplanan kopolimerin aşı yüzdesinin artması ile genel olarak zeta potansiyeli de artmaktadır. Aşı yüzdesinin artması ile daha kolloidal kararlı nanoküreler oluşmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ manyetik nanokürelerinin zeta potansiyeli yüksek olduğu için ilaç salımında optimize etmek için seçilmiştir.

Manyetik nanokürelerin zeta potansiyelleri pH 1,2, 5,5 ve 7,4 tamponlarında öçülmüştür. Fe_3O_4 ve farklı aşı yüzdelerinden elde edilen KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerin tamamında pH 7,4 ve 5,5'te daha stabil olduğu bulunmuştur. Zeta potansiyelinin bazik ortamdaki artışı nanokürelerin yüzey

yükünde negatif yönde arttışa sebep olmuştur. Bazik ortamda artan OH^- iyon konsantrasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir (Shete vd., 2013). Fe_3O_4 nanokürelerinin zeta potansiyelleri incelendiğinde; Fe_3O_4'ün zeta potansiyelleri pH 1,2, 5,5 ve 7,4'te sırasıyla, +16,43±0,51, -9,67±0,46 ve -28,5±1,15 mV olarak bulunmuştur. İlaç yüklenmiş Fe_3O_4'ün zeta potansiyelleri pH 1,2, 5,5 ve 7,4'te sırasıyla, +15,26±0,66, -12,36±0,3 ve -30,20±0,87 mV olarak bulunmuştur.Ortam pH'sının asidik olması durumu tam tersine çevirmiştir. Ortamda H^+ iyon konsantrasyonunun artması nedeniyle pozitif bir yüzey yüküne sahip olduğu bildirilmiştir. Benzer sonuç KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinde görülmektedir. Çizelge 3.7'de KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 manyetik nanokürelerinin tamamında pH 5,5 ve pH 7,4 ortamlarında zeta potansiyellerinin yüksek çıktığı görülmektedir. İlaç yüklü ve boş nanokürelerin yüzey yükü sonuçları incelendiğinde DOX ve 5-FU yüklü nanokürelerin yüzey yükünde negatif yönlü artış görülmektedir. Zeta potansiyelindeki artış ilacın yüklendiğini göstermektedir. Yüklenen ilacın miktarı arttıkça yüzey yüküde negatif yönde artmaktadır.

Çizelge 3.7. Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4, farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı zeta potansiyeli. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

İlaçsız Taşıyıcılar	pH	Zeta Potansiyeli (mV)	İlaçlı Taşıyıcılar	İlaçlı Zeta Potansiyeli (mV)
	1,2	16,43±0,51		15,26±0,66
Fe_3O_4	5,5	-9,67±0,46	Fe_3O_4@5-FU	-12,36±0,30
	7,4	-28,5±1,15		-30,2±0,87
	1,2	2,38±1,01		1,26±0,14
KRG@Fe_3O_4	5,5	-10,57±0,62	KRG@Fe_3O_4	-12,53±0,62
	7,4	-16,66±0,59	@5-FU	-17,78±0,48
KRG-g-	1,2	11,56±0,90	KRG-g-	9,16±0,65
P(DMAEMA/AA)	5,5	-16,9±0,60	P(DMAEMA/AA)	-21,13±1,40
@$Fe_3O_{4(1)}$	7,4	-21,96±0,51	@Fe_3O_4@5-$FU_{(1)}$	-26,8±0,72
KRG-g-	1,2	7,1±0,52	KRG-g-	5,57±0,12
P(DMAEMA/AA)	5,5	-18,8±0,14	P(DMAEMA/AA)	-23,06±0,29
@$Fe_3O_{4(2)}$	7,4	-23,26±0,14	@Fe_3O_4@5-$FU_{(2)}$	-26,73±0,49
KRG-g-	1,2	14,03±1,56	KRG-g-	8,03±0,72
P(DMAEMA/AA)	5,5	-20,53±1,34	P(DMAEMA/AA)	-23,4±1,24
@$Fe_3O_{4(3)}$	7,4	-25,56±0,20	@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$	-28,30±0,72
KRG-g-	1,2	7,7±0,51	KRG-g-	5,37±1,15
P(DMAEMA/AA)	5,5	-22,93±0,63	P(DMAEMA/AA)	-25,26±1,00
@$Fe_3O_{4(4)}$	7,4	-24,06±0,64	@Fe_3O_4@5-$FU_{(4)}$	-27,63±0,41
KRG-g-	1,2	14,03±1,56	KRG-g-	9,76±0,55
P(DMAEMA/AA)	5,5	-20,53±1,34	P(DMAEMA/AA)	-26,06±1,70
@$Fe_3O_{4(5)}$	7,4	-25,56±0,20	@Fe_3O_4@5-$FU_{(5)}$	-28,96±0,77
KRG-g-	1,2	14,03±1,56	KRG-g-	11,29±0,91
P(DMAEMA/AA)	5,5	-20,53±1,34	P(DMAEMA/AA)	-22,64±1,75
@$Fe_3O_{4(6)}$	7,4	-25,56±0,20	@Fe_3O_4@5-$FU_{(6)}$	-29,99±1,14
KRG-g-	1,2	14,03±1,56	KRG-g-	11,49±0,90
P(DMAEMA/AA)	5,5	-20,53±1,34	P(DMAEMA/AA)	-22,76±1,20
@$Fe_3O_{4(7)}$	7,4	-25,56±0,20	@Fe_3O_4@$DOX_{(7)}$	-29,86±2,63

Çizelge 3.8'de Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4, farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı parçacık boyutu (hidrodinamik çap) ve polidispersite indeksi (PDI) sunulmuştur. Fe_3O_4 nanokürelerin parçacık boyutu kopolimer kaplı nanokürelere göre daha küçüktür. Fe_3O_4 yüzeyine kaplanan kopolimer parçacık boyutunu büyütmüştür. Ayrıca Fe_3O_4'ün parçacık boyutu değişen aşılama yüzdesi ile değişmektedir. Nanokürelere kaplanan kopolimerin aşı yüzdesi arttıkça nanokürelerin çapı biraz küçülmüştür. Bu sonuç, kopolimerin yapısında bulunan hidrofobik ve hidrofilik dengenin değişmesinden kaynaklandığını göstermektedir. İlaç yüklü nanokürelerin parçacık boyutu incelendiğinde, ilaç miktarının artması ile nanokürede tutunan ilaç miktarı artmıştır. Artan ilaç miktarı parçacık boyutu artırmıştır. Nanokürelerin pH 1,2, 5,5 ve 7,4 tamponlarında boş ve ilaçlı parçacık boyutu (hidrodinamik çap) ve polidispersite indeksi ölçülmüştür. Ortam bazikliği arttıkça parçacık boyutu nanokürelerin tamamında artmaktadır.

Dinamik ışık saçılımı methodu (DLS) ve Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) teknikleri ile ölçülen ortalama çaptaki farklılıklar; DLS tekniğinde polimerik kabuğa ve bunun sulu çözeltideki kısmi şişmesine atfedilebilir (Li vd., 2016; Sundaresan vd., 2014).

KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaç yüklü PDI değerleri Çizelge 3.4'te sunulmuştur. Nanokürelerin stabilitesi ve dağılımı hakkında bilgi veren diğer parametre polidispersite indeksi (PDI) değeridir. Polidispersite indeksi (PDI), DLS ölçümünde önemli bir parametredir. Nanopartiküllerin boyut dağılımındaki değişimi gösterir ve 0,5'in altında olması istenmektedir. Bu değer nanopartiküllerin dağılımı hakkında bilgi vermektedir. PDI değeri 0,1-0,25 aralığında ise nanoyapılar dar dağılıma sahiptir ve istenilende dar dağılıma sahip olmasıdır (Özkahraman, 2014). Elde edilen PDI değeri 0,5 ve üzerinde ise geniş dağılıma sahip diyebiliriz (Mohammadpour Dounighi, 2012; Nidhin, 2008). KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaç yüklü PDI değerleri 0,3 ile 0,6 aralığında dağılım göstermektedir.

Çizelge 3.8. Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4, farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı parçacık boyutu ve polidispersite indeksi. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

İlaçsız Taşıyıcılar	pH	Boş çap(nm)	PDI	İlaçlı Taşıyıcılar	İlaçlı Çap (nm)	PDI
Fe_3O_4	1,2	362,66±6,15	0,409±0,05	Fe_3O_4	383,00±6,16	0,429±0,05
	5,5	421,60±4,80	0,389±0,20	@5-FU	432,06±4,78	0,399±0,01
	7,4	434,33±2,55	0,363±0,00		449,77±299	0,425±0,06
KRG@Fe_3O_4	1,2	772,40±11,72	0,505±0,05	KRG@Fe_3O_4	803,26±6,03	0,505±0,03
	5,5	834,86±6,06	0,513±0,03	@5-FU	863,26±3,35	0,479±0,05
	7,4	960,00±8,69	0,503±0,02		990,73±5,30	0,488±0,03
KRG-g-	1,2	672,40±4,42	0,569±0,09	KRG-g-	685,66±3,00	0,473±0,08
P(DMAEMA/AA)	5,5	774,26±9,31	0,404±0,18	P(DMAEMA/AA)	804,46±3,00	0,497±0,05
@$Fe_3O_{4(1)}$	7,4	860,26±657	0,601±0,07	@Fe_3O_4@5-$FU_{(1)}$	883,93±8,11	0,561±0,01
KRG-g-	1,2	598,60±5,31	0,476±0,07	KRG-g-	615,33±4,37	0,475±0,05
P(DMAEMA/AA)	5,5	618,60±2,76	0,483±0,05	P(DMAEMA/AA)	641,40±4,61	0,477±0,05
@$Fe_3O_{4(2)}$	7,4	628,40±4,35	0,462±0,17	@Fe_3O_4@5-$FU_{(2)}$	652,06±4,26	0,305±0,02
KRG-g-	1,2	492,13±3,50	0,438±0,11	KRG-g-	507,13±3,65	0,520±0,03
P(DMAEMA/AA)	5,5	559,40±3,66	0,408±0,60	P(DMAEMA/AA)	571,60±5,21	0,491±0,06
@$Fe_3O_{4(3)}$	7,4	577,73±2,51	0,510±0,22	@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$	588,33±3,65	0,525±0,03
KRG-g-	1,2	487,73±5,50	0,538±0,09	KRG-g-	525,13±6,03	0,407±0,05
P(DMAEMA/AA)	5,5	549,40±3,14	0,508±0,10	P(DMAEMA/AA)	590,26±2,45	0,348±0,05
@$Fe_3O_{4(4)}$	7,4	567,73±5,51	0,520±0,12	@Fe_3O_4@5-$FU_{(4)}$	611,66±3,56	0,475±0,07
KRG-g-	1,2	492,13±3,50	0,538±0,09	KRG-g-	532,46±5,02	0,390±0,07
P(DMAEMA/AA)	5,5	559,40±3,66	0,508±0,10	P(DMAEMA/AA)	600,26±1,19	0,385±0,05
@$Fe_3O_{4(5)}$	7,4	577,73±2,51	0,520±0,12	@Fe_3O_4@5-$FU_{(5)}$	622,33±1,56	0,415±0,03
KRG-g-	1,2	492,13±3,50	0,538±0,09	KRG-g-	571,60±5,21	0,520±0,03
P(DMAEMA/AA)	5,5	559,40±3,66	0,508±0,10	P(DMAEMA/AA)	588,33±3,65	0,491±0,06
@$Fe_3O_{4(6)}$	7,4	577,73±2,51	0,520±0,12	@Fe_3O_4@5-$FU_{(6)}$	615,33±4,09	0,525±0,03
KRG-g-	1,2	492,13±3,50	0,538±0,09	KRG-g-	511,60±5,22	0,5120±0,0
P(DMAEMA/AA)	5,5	559,40±3,66	0,508±0,10	P(DMAEMA/AA)	538,74±3,15	0,491±0,04
@$Fe_3O_{4(7)}$	7,4	577,73±2,51	0,520±0,12	@Fe_3O_4@$DOX_{(7)}$	598,33±4,08	0,525±0,03

3.5.2. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 Nanoküre lerinin Zeta Potansiyeli ve Boyut Sonuçları

Çizelge 3.9'da Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4 ve farklı aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı zeta potansiyeli sunulmuştur. Fe_3O_4'e KRG polimerinin kaplanması ile zeta potansiyeli düşmüştür. Ancak KRG-g-PHPMA kopolimerinin Fe_3O_4 kaplanması ve kaplanan kopolimerin aşı yüzdesinin artması ila zeta potansiyeli artmaktadır. Bu artış pH 7,4'te Fe_3O_4, KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(1)}$, KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(2)}$ ve KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinde -28,5±1,15 -28,06±0,40, -29,03±0,44 ve -31,26±0,11 şeklinde sıralanmaktadır. Aşı yüzdesinin artması yapıda bulunan negatif yüklü grupların artmasına sebep olmuştur. Aşı yüzdesinin artması ile daha stabil nanoküreler elde edilmiştir. Optimize etmek için zeta potansiyeli en yüksek olan KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanoküreleri seçilmiştir.

Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4 ve farklı aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanoküreleri için PBS tamponunda (pH 7,4), asetat tamponunda (pH 5,5) ve asidik ortamda (pH 1,2) 25 °C'de zeta potansiyeli ölçümleri yapılmıştır. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin yüzey yükü asidik ortamda pozitif yüklenirken, bazik ortamda negatif yüklenmiştir. Daha önce belirttildiği gibi 25 mV üstündeki yüzey yükleri yapının kararlı olduğunu göstermektedir. pH 7,4'te nanoküreler daha kararlıdır.

Çizelge 3.10'da %81 aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinden hazırlanan farklı miktarlarda DOX ve 5-FU ilacı yüklü nanokürelerin PBS tamponunda (pH 7,4), asetat tampon ortamında (pH 5,5) ve asidik ortamda (pH:1,2), 25 °C'de zeta potansiyeli ölçümleri sunulmuştur. Nanokürelerin yüzey yükleri incelendiğinde ilaç miktarı arttıkça yüzey yüküde negatif yönde artış göstermektedir.

Çizelge 3.9. Fe_3O_4 ve farklı aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı zeta potansiyeli. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

İlaçsız Taşıyıcılar	pH	Zeta Potansiyeli (mV)	İlaçlı Taşıyıcılar	İlaçlı Zeta Potansiyeli (mV)
Fe_3O_4	1,2	16,43±0,51	Fe_3O_4@DOX	18,31±0,94
	5,5	-9,67±0,46		-15,30±0,26
	7,4	-28,5±1,15		-32,26±0,58
KRG@Fe_3O_4	1,2	2,38±1,01	KRG@Fe_3O_4@DOX	3,31±0,21
	5,5	-10,57±0,62		-12,21±0,88
	7,4	-16,66±0,59		-18,15±0,78
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(1)}$	1,2	8,69±0,85	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(1)}$	6,43±0,22
	5,5	-15,46±0,23		-11,60±0,26
	7,4	-28,06±0,40		-24,83±0,68
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(2)}$	1,2	8,21±0,24	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(2)}$	6,36±0,16
	5,5	-18,96±0,69		-12,2±0,42
	7,4	-29,03±0,44		-24,9±0,37
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$	1,2	8,47±0,85	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$	4,41±3,31
	5,5	-25,36±0,15		-18,96±0,85
	7,4	-31,26±0,11		-24,46±0,28

Çizelge 3.11'de Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4, farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı parçacık boyutu ve polidispersite indeksi sunulmuştur. Nanokürelere kaplanan kopolimerin aşı yüzdesi arttıkça nanokürelerin parçacık boyutu azalmıştır. İlaç yüklenmesi ile nanokürelerin parçacık boyutunda artış gözlenmiştir.

Çizelge 3.10. %81 aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı zeta potansiyeli. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

İlaçsız Taşıyıcılar	pH	Zeta Potansiyeli (mV)	İlaçlı Taşıyıcılar	İlaçlı Zeta Potansiyeli (mV)
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(4)}$	1,2	8,47±0,85	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(4)}$	3,11±0,44
	5,5	-25,36±0,15		-16,73±1,52
	7,4	-31,26±0,11		-21,12±0,19
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(5)}$	1,2	8,47±0,85	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(5)}$	6,62±0,21
	5,5	-25,36±0,15		-19,43±0,15
	7,4	-31,26±0,11		-27,06±0,60
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(6)}$	1,2	8,47±0,85	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(6)}$	7,78±0,51
	5,5	-25,36±0,15		-21,06±1,40
	7,4	-31,26±0,11		-29,96±0,87
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(7)}$	1,2	8,47±0,85	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@5-$FU_{(7)}$	7,23±1,41
	5,5	-25,36±0,15		-19,12±1,23
	7,4	-31,26±0,11		-26,13±1,53
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(8)}$	1,2	8,47±0,85	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@5-$FU_{(8)}$	9,49±0,60
	5,5	-25,36±0,15		-21,76±1,10
	7,4	-31,26±0,11		-28,86±2,63
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(9)}$	1,2	8,47±0,85	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@5-$FU_{(9)}$	9,72±0,70
	5,5	-25,36±0,15		-20,1±1,12
	7,4	-31,26±0,11		-29,22±0,89
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(10)}$	1,2	8,47±0,85	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(10)}$	10,11±1,22
	5,5	-25,36±0,15		-21,16±0,49
	7,4	-31,26±0,20		-30,2±1,11
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(11)}$	1,2	6,12±0,55	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(11)}$	7,12±0,60
	5,5	-22,18±0,76		-20,1±1,41
	7,4	-27,46±0,71		-25,31±0,70
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(12)}$	1,2	5,77±0,66	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(12)}$	6,21±1,32
	5,5	-22,03±0,45		-19,17±0,87
	7,4	-25,17±0,35		-23,32±0,78

Çizelge 3.11. Fe_3O_4 ve farklı aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin boş ve ilaçlı parçacık boyutu ve polidispersite indeksi. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

Taşıyıcılar	pH	Boş çap (nm)	PDI		İlaçlı Çap (nm)	
Fe_3O_4	1,2	362,66±6,15	0,409±0,05	Fe_3O_4@DOX	323,00±5,24	0,329±0,04
	5,5	421,60±4,80	0,389±0,20		402,06±3,78	0,419±0,02
	7,4	434,33±2,55	0,363±0,00		429,17±3,89	0,545±0,07
KRG@Fe_3O_4	1,2	772,40±11,72	0,505±0,05	KRG@Fe_3O_4	811,26±6,79	0,515±0,02
	5,5	834,86±6,06	0,513±0,03	@DOX	858,26±3,85	0,412±0,04
	7,4	960,00±8,69	0,503±0,02		979,73±4,30	0,403±0,05
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(1)}$	1,2	339,30±8,31	0,451±0,02	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 @$DOX_{(1)}$	376,46±4,44	0,491±0,05
	5,5	360,43±4,25	0,543±0,04		438,66±6,64	0,340±0,06
	7,4	379,30±0,87	0,518±0,02		477,43±4,81	0,457±0,08
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(2)}$	1,2	242,43±5,20	0,418±0,04	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 @$DOX_{(2)}$	351,56±6,10	0,412±0,03
	5,5	296,80±6,57	0,413±0,02		394,90±5,20	0,349±0,02
	7,4	312,63±4,55	0,422±0,11		406,2±3,51	0,522±0,05
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$	1,2	215,73±7,60	0,498±0,06	KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 @$DOX_{(3)}$	342,83±3,00	0,473±0,08
	5,5	274,10±3,45	0,409±0,06		373,03±4,60	0,453±0,06
	7,4	292,86±5,27	0,414±0,01		378,96±0,83	0,494±0,04

Çizelge 3.12'de %81 aşı yüzdesinden elde edilen farklı miktarlarda DOX ve 5-FU yüklü KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin parçacık boyutu ve polidispersite indeksleri sunulmuştur. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerine yüklenen DOX miktarı arttıkça pH 7,4'te (2,5, 5, 7,5 ve 10 mg) parçacık boyutu (378,96±0,83, 407,43±4,81, 420,13±4,45, 421,66±3,56) artmaktadır. Benzer sonuç farklı miktarlarda 5-FU yüklü nanokürelerde de görülmektedir. Yüklenen ilaç miktarının artması parçacık boyutunun artmasına sebep olmuştur.

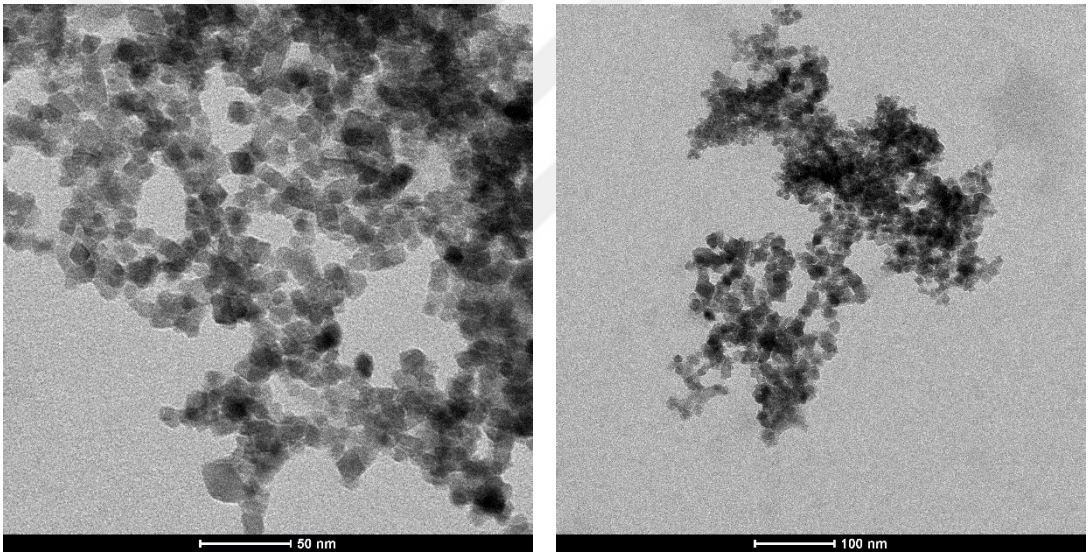
Fe_3O_4, KRG@Fe_3O_4, farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 ve farklı miktarlarda DOX ve 5-FU ilaçları yüklü nanokürelerin pH 1,2, 5,5 ve 7,4 tamponlarında parçacık boyutunun ortamın bazikliği ile arttığı Çizelge 3.11 ve 3.12'de görülmektedir.

Çizelge 3.12. %81 aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin parçacık boyutu ve polidispersite indeksi. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

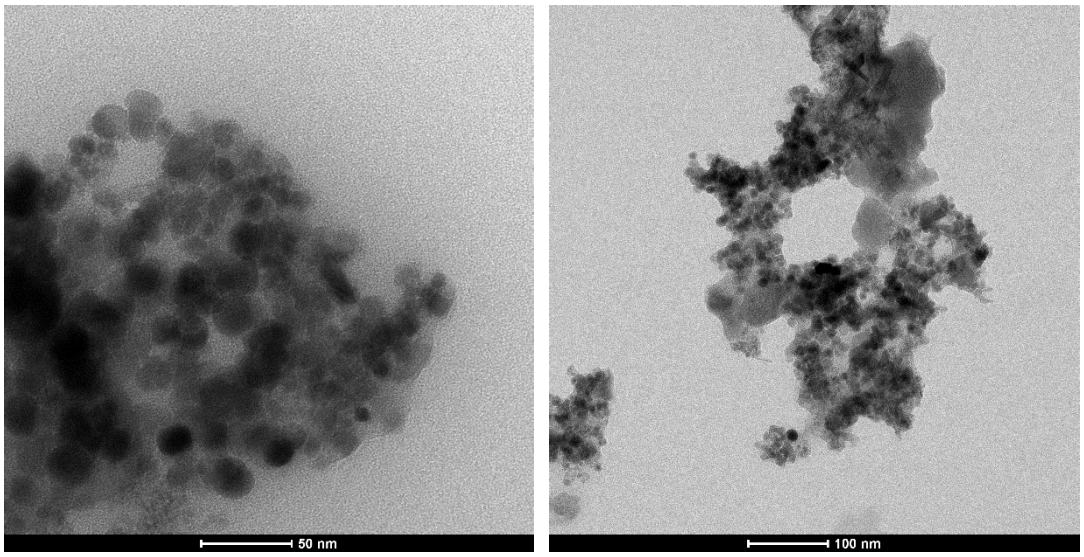
Kod	pH	Boş çap (nm)	PDI	Kod	İlaçlı Çap (nm)	PDI
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(4)}$	1,2	215,73±7,60	0,498±0,06	KRG-g-PHPMA@ Fe_3O_4@$DOX_{(4)}$	346,46±4,44	0,491±0,05
	5,5	274,10±3,45	0,409±0,06		398,66±6,64	0,390±0,06
	7,4	292,86±5,27	0,414±0,01		407,43±4,81	0,457±0,08
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(5)}$	1,2	215,73±7,60	0,498±0,06	KRG-g-PHPMA@ Fe_3O_4@$DOX_{(5)}$	365,17±12,25	0,325±0,05
	5,5	274,10±3,45	0,409±0,06		410,03±7,05	0,372±0,10
	7,4	292,86±5,27	0,414±0,01		420,13±4,45	0,483±0,07
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(6)}$	1,2	215,73±7,60	0,498±0,06	KRG-g-PHPMA@ Fe_3O_4@$DOX_{(6)}$	374,13±6,03	0,307±0,05
	5,5	274,10±3,45	0,409±0,06		415,26±2,45	0,398±0,05
	7,4	292,86±5,27	0,414±0,01		421,66±3,56	0,575±0,07
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(7)}$	1,2	215,73±7,60	0,498±0,06	KRG-g-PHPMA@ Fe_3O_4@5-$FU_{(7)}$	316,46±4,14	0,391±0,05
	5,5	274,10±3,45	0,409±0,06		412,66±5,64	0,440±0,06
	7,4	292,86±5,27	0,414±0,01		427,43±3,81	0,557±0,08
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(8)}$	1,2	215,73±7,60	0,498±0,06	KRG-g-PHPMA@ Fe_3O_4@5-$FU_{(8)}$	332,46±4,02	0,420±0,07
	5,5	274,10±3,45	0,409±0,06		420,26±1219	0,455±0,05
	7,4	292,86±5,27	0,414±0,01		423,33±1,46	0,415±0,03
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(9)}$	1,2	215,73±7,60	0,498±0,06	KRG-g-PHPMA@ Fe_3O_4@5-$FU_{(9)}$	331,60±5,21	0,520±0,03
	5,5	274,10±3,45	0,409±0,06		438,53±3,65	0,491±0,06
	7,4	292,86±5,27	0,414±0,01		435,19±4,09	0,525±0,03
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(10)}$	1,2	215,73±7,60	0,498±0,06	KRG-g-PHPMA@ Fe_3O_4@$DOX_{(10)}$	339,60±5,21	0,620±0,03
	5,5	274,10±3,45	0,409±0,06		458,43±3,65	0,471±0,06
	7,4	292,86±5,27	0,414±0,01		455,12±4,09	0,625±0,05
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(11)}$	1,2	202,41±8,50	0,398±0,12	KRG-g-PHPMA@ Fe_3O_4@$DOX_{(11)}$	212,12±6,50	0,438±0,06
	5,5	224,18±3,87	0,386±0,08		259,11±5,12	0,545±0,04
	7,4	252,17±4,98	0,314±0,04		298,33±8,71	0,415±0,08
KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(12)}$	1,2	200,03±6,10	0,412±0,07	KRG-g-PHPMA@ Fe_3O_4@$DOX_{(12)}$	210,60±6,12	0,527±0,06
	5,5	214,10±5,41	0,379±0,08		249,73±4,78	0,441±0,07
	7,4	247,78±4,12	0,424±0,06		285,14±5,09	0,425±0,05

3.6. Manyetik Nanokürelerin TEM Sonuçları

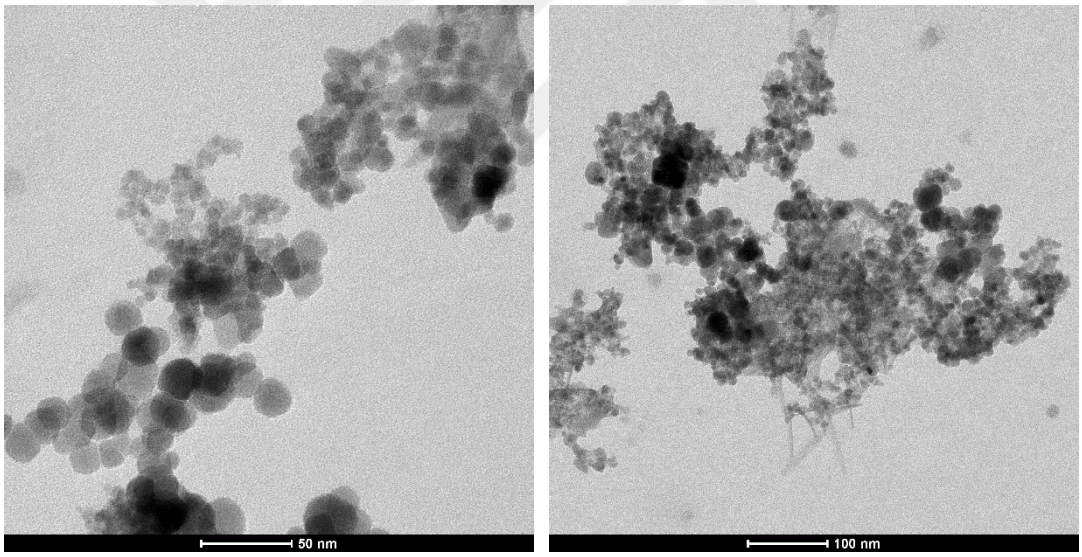
Sentezlenen Fe_3O_4, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ ve KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$'ün yüzey morfolojisi geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ile incelenmiştir. Fe_3O_4, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ ve KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin TEM sonuçları sırası ile Şekil 3.56, 3.57 ve 3.58'de sunulmuştur. Fe_3O_4 nanokürelerinin küresel haldeki dağılımı Şekil 3.56'da görülmektedir. Fe_3O_4'ün ortalama çapı yaklaşık 5-15 nm'dir (Wan vd., 2007; Wang vd., 2013). Kopolimer kaplı Fe_3O_4 nanokürelerin çapları biraz artmıştır. Demir oksit noktaları etrafına toplanan kopolimerler 50 nm ve 100 nm büyütmeli TEM görüntülerinde açıkça görülmektedir.



Şekil 3.56. Fe_3O_4'ün TEM görüntüleri



Şekil 3.57. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4'ün TEM görüntüleri



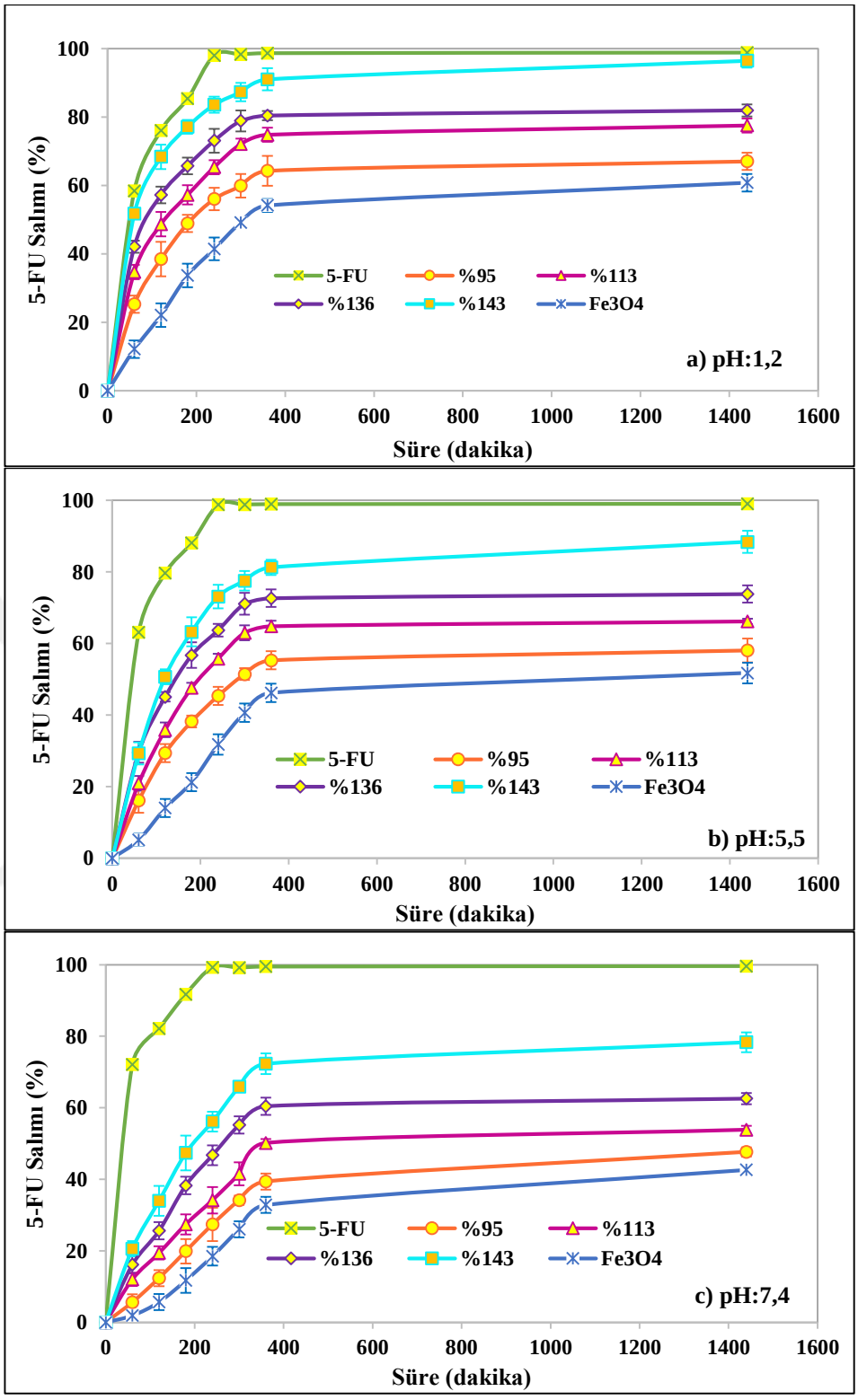
Şekil 3.58. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4'ün TEM görüntüleri

3.7. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 Manyetik Nanokürelerinin *İn-Vitro* Salım Çalışmaları

3.7.1. Aşı Yüzdesinin İlaç Salımına Etkisi

5-FU, Fe_3O_4@5-FU ve farklı aşı yüzdeli KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin *in-vitro* salım çalışmaları PBS (pH 7,4) tampon ortamında, asetat tampon ortamında (pH 5,5) ve asidik ortamda (pH 1,2), 37 ^oC'de yapılmıştır. Sonuçlar Şekil 3.59'da sunulmuştur. 5-FU, Fe_3O_4, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(1)}$, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(2)}$, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(4)}$ manyetik nanokürelerin 24 saat sonunda pH 1,2 asidik ortamda salımı sırasıyla %100, %60,80, %67,03, %77,52, %81,95 ve %96,45, pH 5,5 asetat tamponunda salımı sırasıyla %100, %51,77, %58,06, %66,17, %73,82 ve %88,40, pH 7,4 fosfat tamponunda salımı sırasıyla %100, %42,64, %47,64, %53,84, %62,55 ve %78,32 olarak bulunmuştur.

KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerine DMAEMA ve AA gruplarının yüzdeleri Çizelge 3.1'de (bkz. syf. 40) sunulmuştur. Çizelgede görüldüğü gibi akrilik asitin aşılanma yüzdesi daha fazladır. Bu sonuç da yapıda hifrofil gruplarının artması ile şişmenin artmasına ve ilacın daha kolay salınmasına sebep olmuştur. Aşılamada baskın gelen akrilik asit aşı yüzdesinin artması ile ilaç salımı da buna bağlı olarak artmaktadır. Akrilik asitte bulunan -COOH grubunun su ile etkileşimi şişmeyi artırmakta ve ilacın difüzlenmesi kolaylaşmaktadır. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir (Hu vd., 2015; Işıklan ve Küçükbalcı, 2016). Serbest haldeki ilacın salımı ise şekilden görüldüğü gibi kontrolsüzdür. Sentezlenen manyetik nanokürelere yüklenen ilaç daha yavaş ve kontrollü şekilde ilacı salmaktadır.

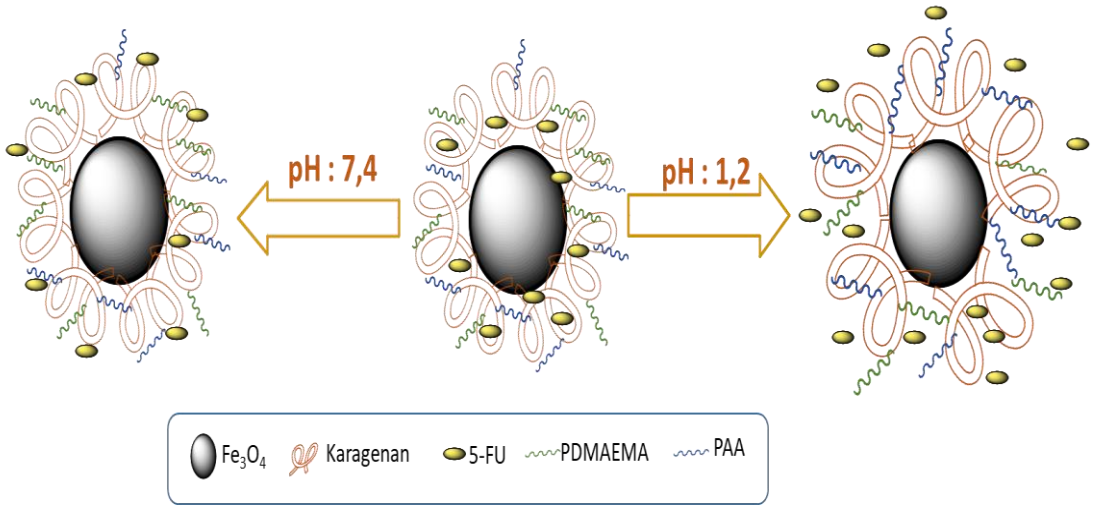


Şekil 3.59. 5-FU, Fe_3O_4@5-FU ve farklı aşı yüzdelerindeki KRG-g-P(DMAEMA /AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salım yüzdeleri a) pH:1,2, b) pH:5,5, c) pH:7,4. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

3.7.2. pH'nın İlaç Salımına Etkisi

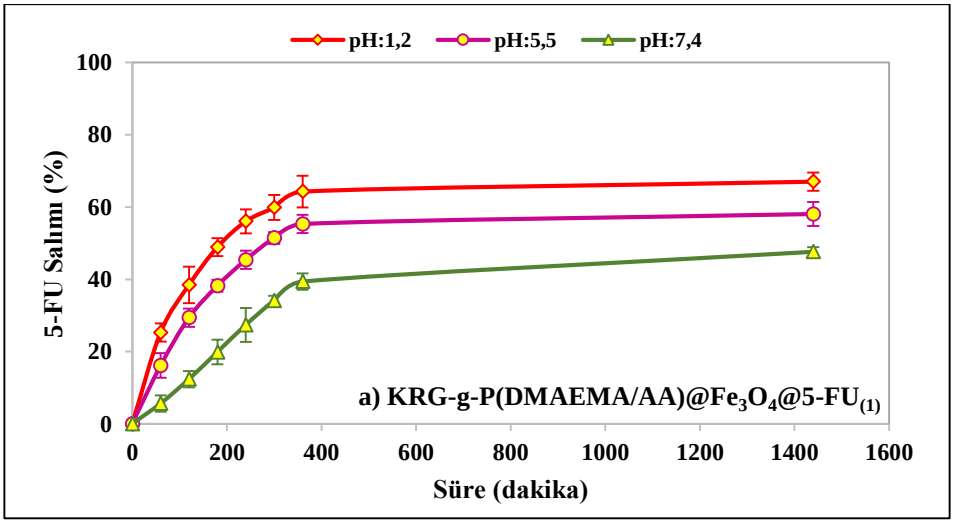
Farklı aşı yüzdesine sahip KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salım çalışmaları 24 saat süreyle pH 1,2 HCl, pH 5,5 asetik asit/asetat ve pH 7,4 PBS tamponunda gerçekleştirilmiştir ve elde edilen sonuçlar Şekil 3.61'de sunulmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerin bütün formülasyonlarında 5-FU'nun pH 1,2 ve pH 5,5 tamponlarında hızlı salım yaptığı, pH 7,4 fosfat tamponunda daha yavaş salım yaptığı görülmüştür.

KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(1)}$ (%95) manyetik nanokürelerinin pH 1,2, pH 5,5 ve pH 7,4'te 24 saat sonunda salımı sırasıyla %67,03, %58,06 ve %47,64 bulunmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(2)}$ (%113) manyetik nanokürelerinin pH 1,2, pH,5,5 ve pH 7,4'te 24 saat sonunda salımı sırasıyla %77,52, %66,17 ve %53,84 bulunmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ (%136) manyetik nanokürelerinin pH 1,2, pH,5,5 ve pH 7,4'te 24 saat sonunda salımı sırasıyla %81,95, %73,82 ve %62,55 bulunmuştur. KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4@5-$FU_{(4)}$ (%143) manyetik nanokürelerinin pH 1,2, pH,5,5 ve pH 7,4'te 24 saat sonunda salımı sırasıyla %96,45, %88,40 ve %78,32 bulunmuştur.



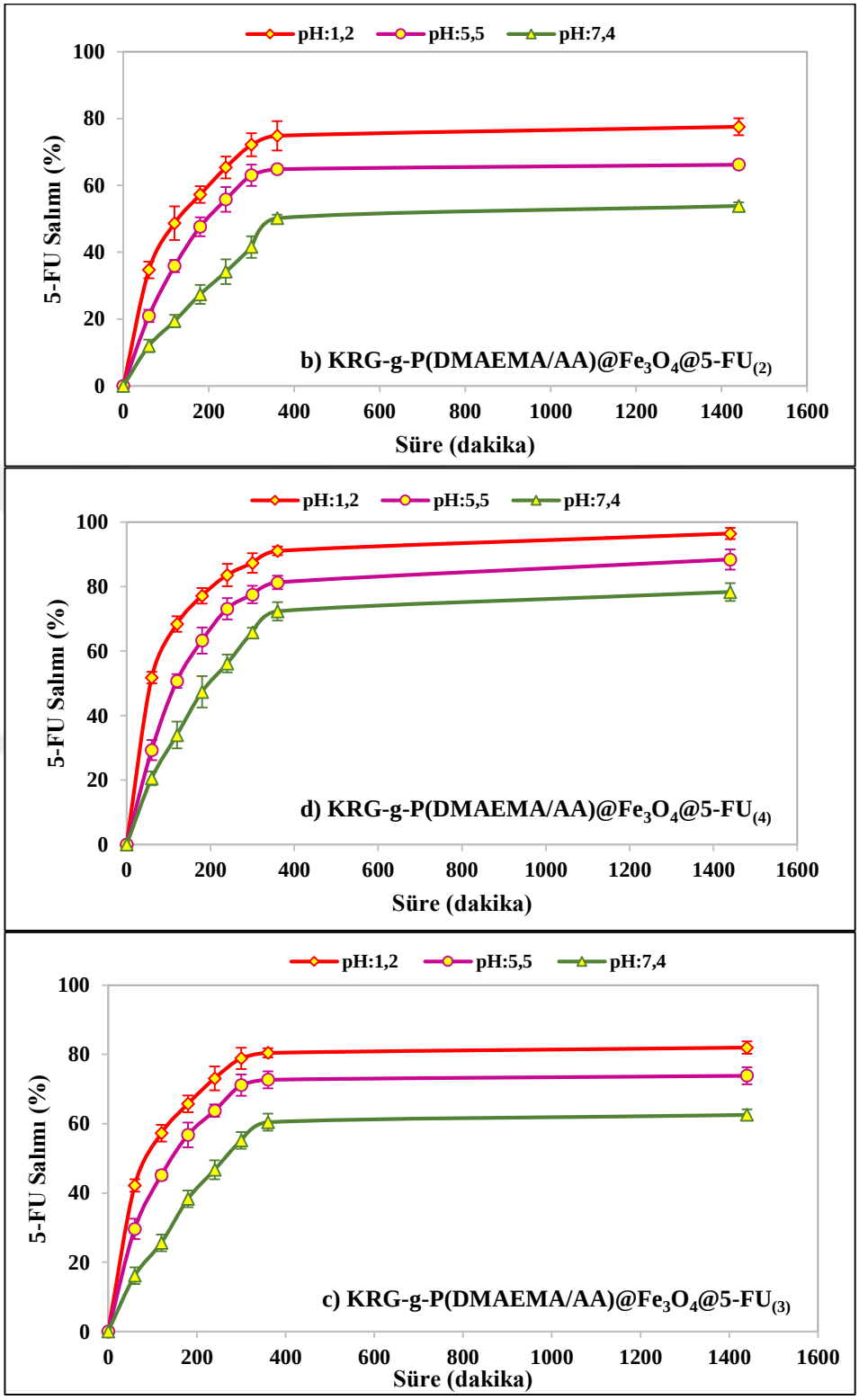
Şekil 3.60. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salımına pH'nın etkisi

Nanokürelerin pH 1,2'de daha fazla salması, yapıda bulunan PDMAEMA zincirlerine bağlanabilir. PDMAEMA, pH duyarlı bir polimerdir ve düşük pH'larda daha yüksek şişme davranışı gösterir (Salama vd., 2016). Nanokürelerin yüzeyindeki kopolimer katmanın şişmesinin artması ile ilacın difüzyonu artmıştır. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin yüzeyinde bulunan PDMAEMA dallarının tersiyer amin yan grupları ve PAA dallarının karboksil grupları pH-bağımlı şişme davranışında etkili gruplardır. İlaç salım ortamının pH'sı 1,2'den 7,4'e çıkarıldığı zaman, nanokürelerin yüzeyindeki kopolimerin şişme oranının önemli ölçüde azaldığı Bölüm 3.1.11'de (bkz. syf. 70-71) görülmektedir. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin yüzeyindeki kopolimer katmanında bulunan, katyonik (kuaterner amin grupları arasında) ve anyonik (karboksilat grupları arasında) elektrostatik itmeler nedeniyle asidik ve alkalin ortamlarda daha yüksek şişme oranına sahiptir. Bu elektrostatik itmeler, nanokürelerinin kopolimer kaplı katmanının ozmotik basıncını ve yük yoğunluğunu arttırır ve dolayısıyla hidrasyon ve şişme oranı artar. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir (Anirudhan ve Christa, 2018; Patra vd., 2018).



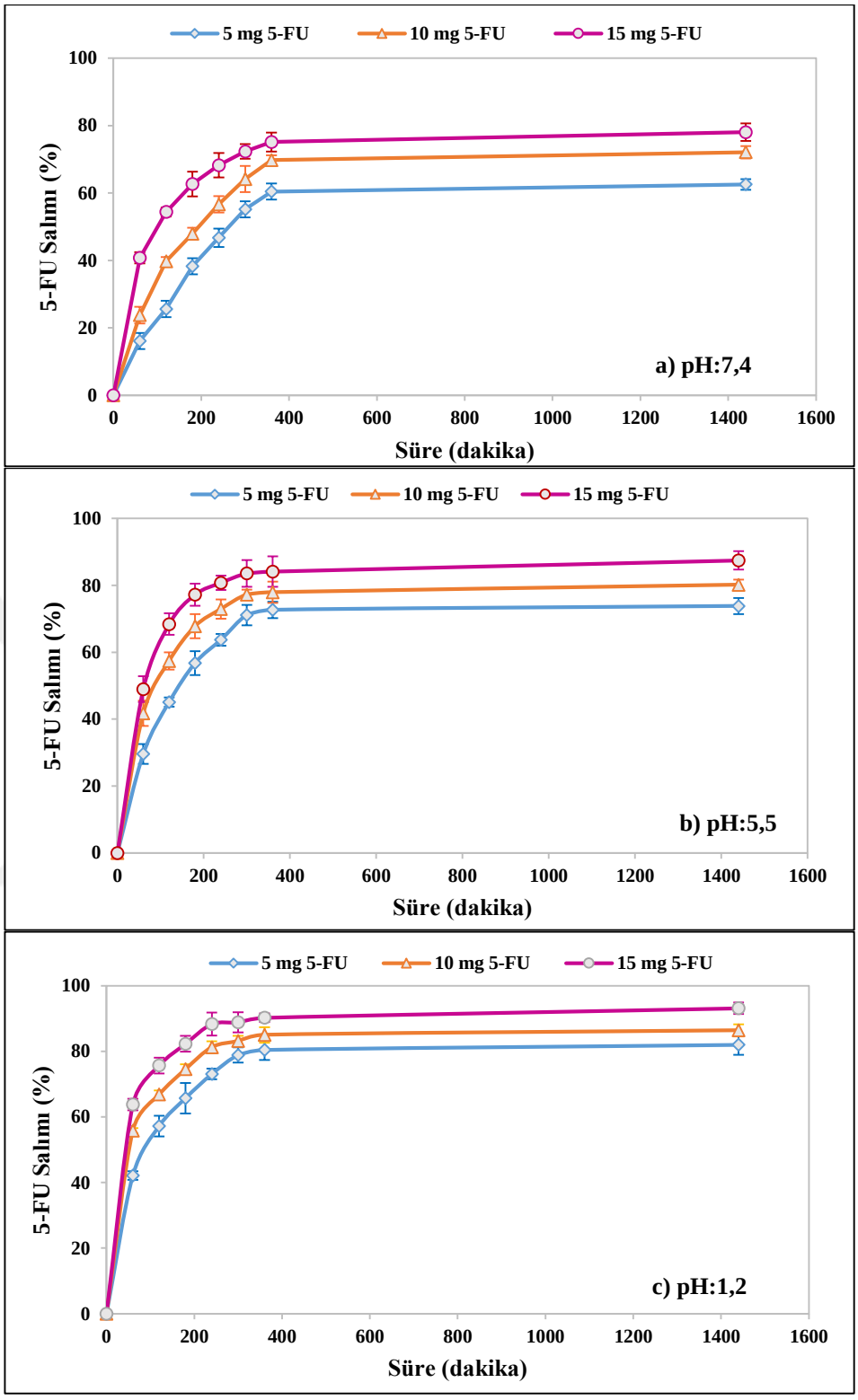
Şekil 3.61. Farklı pH'larda salım yüzdeleri a) %95, b) % 113, c) %136 ve d) % 143. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

Şekil 3.61. (devam)



3.7.3. Salıma 5-FU Miktarının Etkisi

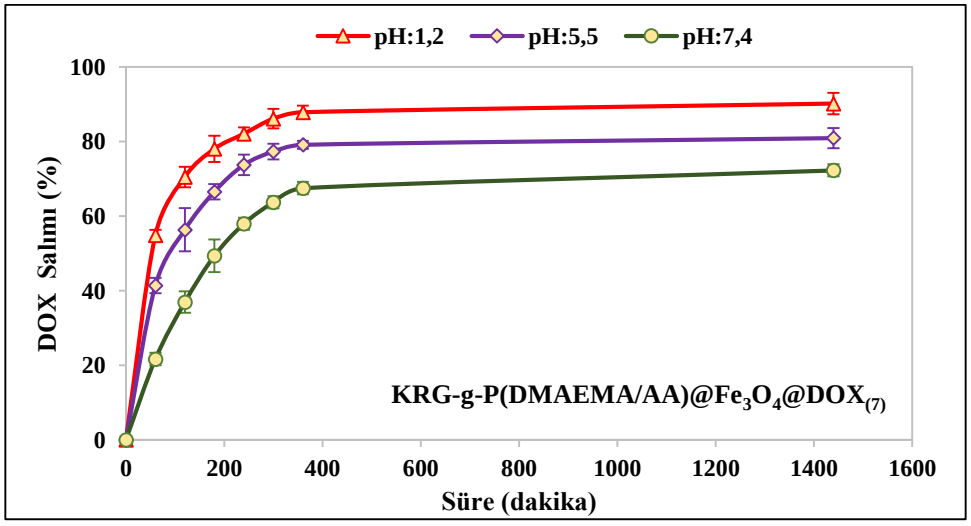
Zeta potansiyeli, partikül boyutu, polidispersite indeksi ve aşı yüzdelerine göre salımı en ideal olan KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ (aşı yüzdesi %136) manyetik nanoküreler olarak belirlenmiştir. Belirlenen KRG-g-P(DMAEMA/AA) @Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ nanokürelerine, 10 mg (KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(5)}$) ve 15 mg (KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(6)}$) 5-FU yüklenerek ilaç miktarının salım üzerine etkisi incelenmiştir. Sonuçlar Şekil 3.62'de sunulmuştur. İlaç miktarı arttıkça (5, 10 ve 15 mg) 5-FU salımının pH 7,4 PBS tamponunda sırasıyla %62,55, %72,09, %78,05, pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda sırasıyla %73,82, %80,18, %87,45, pH 1,2 HCl tamponunda sırasıyla %81,95, %86,37, %93,11 olarak ölçülmüştür. Bütün pH'larda 15 mg ilaç yüklü nanokürelerde salım en yüksek bulunmuştur. İlaç miktarının artması ile salım hızının artmasının nedeni çözelti içerisinde bulunan ilaç moleküllerinin bağlanmayı engellediği ve bu sebeple daha gevşek yapılı polimer zincirlerinden ilaç difüzyonunun arttığı düşünülmektedir. Benzer sonuçlara literatürde rastlanmıştır (Rao, 2013; Sonker, Bajpai, 2018). Denkbaş ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada kitosan kürelerine 2,5 mg/mL' den 10 mg/mL'e kadar farklı miktarlarda 5-FU yüklenmiş ve ilaç miktarındaki artma ile %salımın arttığı bildirilmiştir (Denkbaş vd., 1999).



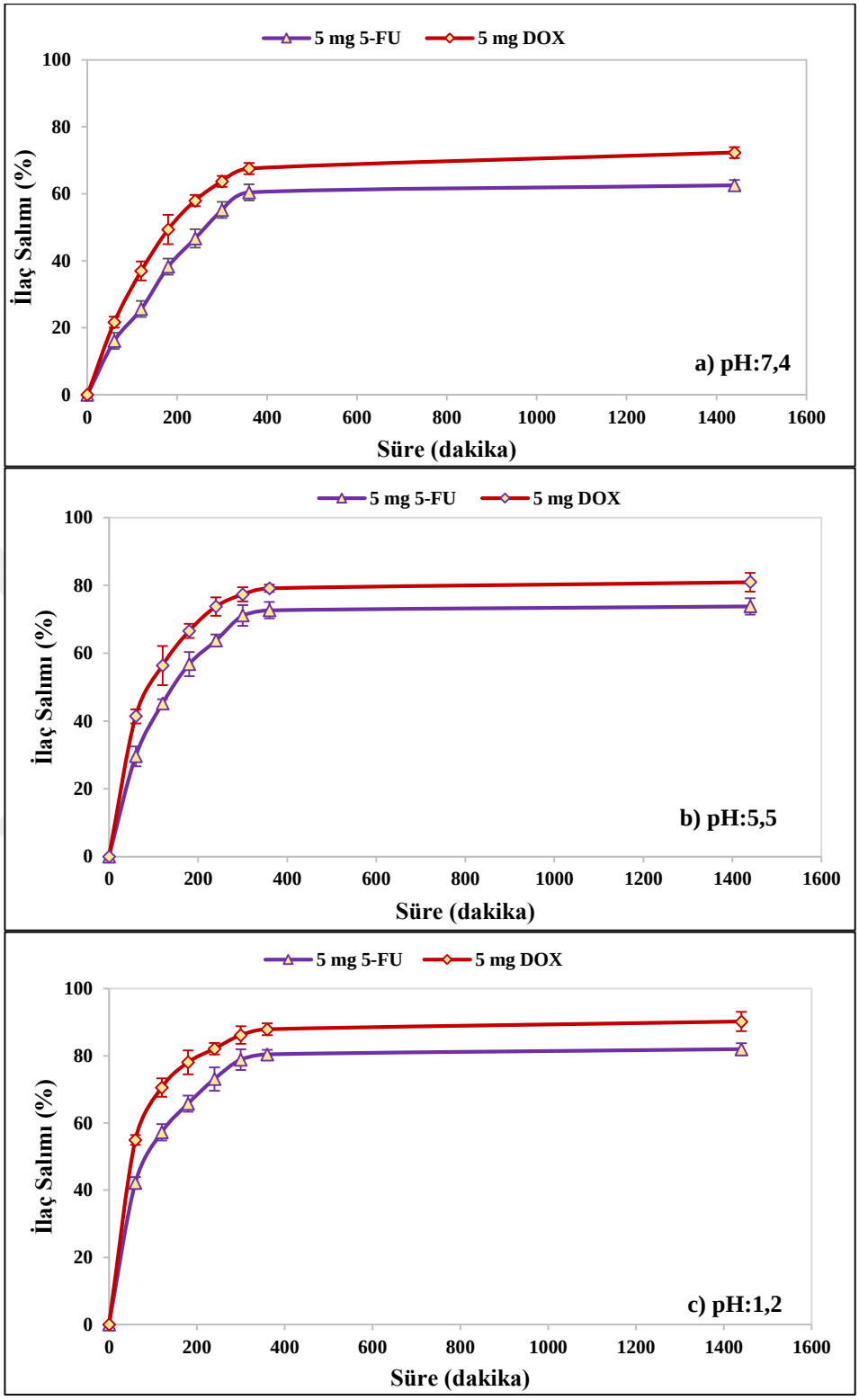
Şekil 3.62. Farklı miktarda ilaç içeren KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salım yüzdeleri a) pH 1,2, b) pH 5,5 ve c) pH 7,4. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

3.7.4. DOX'un Salıma Etkisi

Optimize etmek için seçtiğimiz KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ (aşı yüzdesi %136) nanokürelere ilaç değişimi yapılarak DOX ilacı yüklenmiştir. DOX'un salıma etkisini incelemek üzere KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ manyetik nanokürelere 5 mg DOX yüklenerek KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@$DOX_{(7)}$ nanokürelerı elde edilmiştir. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@$DOX_{(7)}$ nanokürelerinin pH 7,4 PBS tamponunda, pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda ve pH 1,2 HCl ortamlarında 37 °C'de 24 saat ilaç salımı çalışılmıştır. Sonuçlar Şekil 3.63'te sunulmuştur. DOX salımı pH 7,4 PBS tamponunda %72,30, pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda %80,93 ve pH 1,2 HCl'de %90,19 olarak ölçülmüştür. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@$DOX_{(7)}$ nanokürelerinin bütün formülasyonlarda DOX'nun pH 1,2 ve pH 5,5 tamponlarında hızlı salım yaptığı pH 7,4 fosfat tamponunda daha yavaş salım yaptığı görülmüştür. 5-FU salımına pH etkisine benzer şekilde elde edilen sonuç PDMAEMA zincirlerinin pH duyarlılığına atfedilebilir. PDMAEMA, düşük pH'larda daha yüksek şişme davranışı gösterir. Şişmenin artması ile nanokürelerin içine ve etrafına tutunan ilacın salımı arttmıştır. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir (Anirudhan ve Christa, 2018; Patra vd., 2018).



Şekil 3.63. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@$DOX_{(7)}$ manyetik nanokürelerden DOX'un salımı. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi



Şekil 3.64. DOX ve 5-FU yüklü nanokürelerin farklı pH'larda ilaç salımı a) pH 7,4, b) pH 5,5 ve c) pH 7,4. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

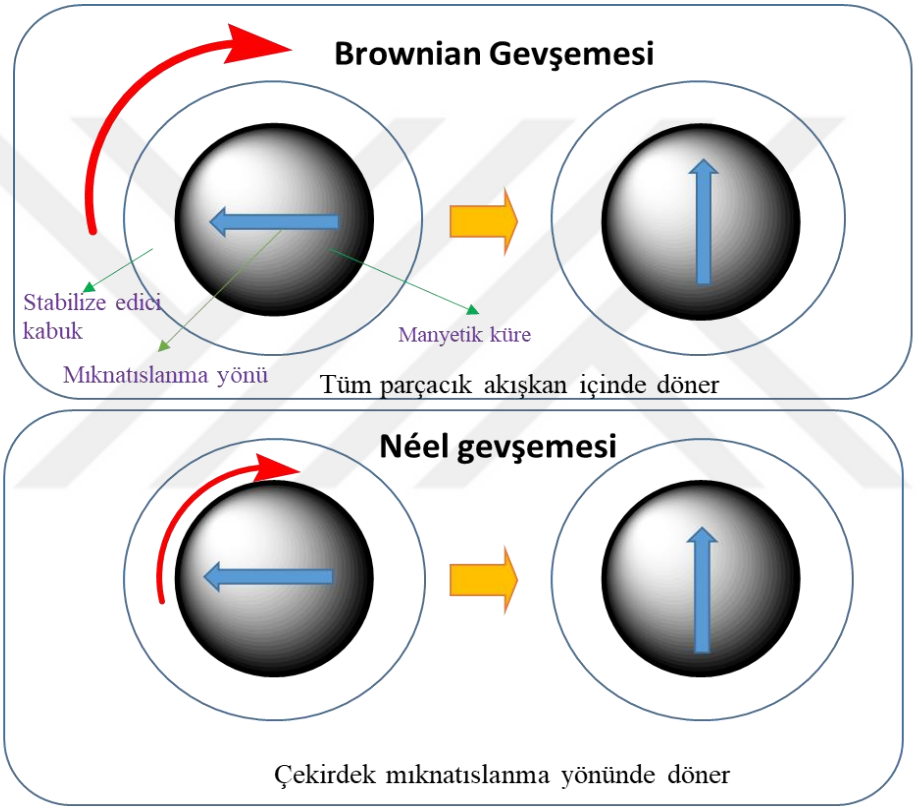
Aynı şartlardaki aynı miktarlarda 5 mg 5-FU (KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$) ile 5 mg DOX (KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@$DOX_{(7)}$) yüklü nanokürelerin farklı pH ortamlarında salımları kıyaslandığında DOX yüklü nanokürelerin salım yüzdesinin daha fazla olduğu bulunmuştur. Sonuçlar Şekil 3.64'te sunulmuştur. İlaç salımı pH 7,4 PBS tamponunda, pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda, pH 1,2 HCl ortamlarında DOX yüklü nanoküreler için ilaç salımı sırasıyla %72,30, %82,93 ve %90,19, 5-FU yüklü nanoküreler için sırasıyla %62,55, %73,82 ve %81,95 olarak ölçülmüştür. 5-FU ve DOX yüklü nanoküreler arasında yaklaşık %10'luk salım farkı görülmektedir. Salımların farklı olması ilaçlardaki yapısal farklılıklar ve stabilitelerinin farklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

3.7.5. Manyetik Alanın Salıma Etkisi

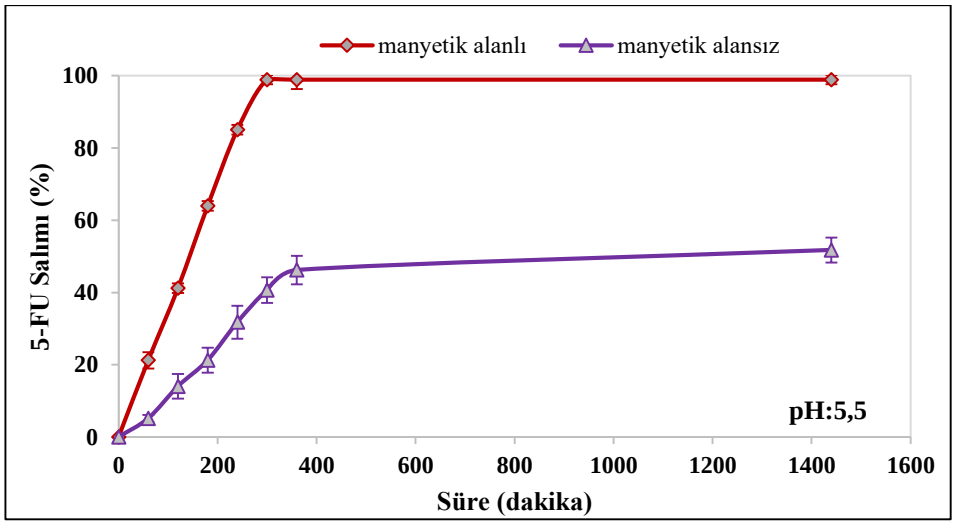
Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ nanokürelerinin 100 kHz ve 50 mT manyetik alan uygulanarak pH 7,4 PBS tamponunda ve pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda salımları incelenmiştir. Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salım sonuçları Şekil 3.66 ve 3.67'de sunulmuştur. Manyetik alan uygulanan Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salımı pH 7,4'te 6 saatte, pH 5,5'te 5 saatte %100'e ulaşmıştır. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@ Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ nanokürelerinin salım sonuçları Şekil 3.68 ve 3.69'da sunulmuştur. Manyetik alan uygulanan KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ nanokürelerinin salımı pH 7,4'te 5 saatte, pH 5,5'te 4 saatte %100'e ulaşmıştır. Manyetik alan uygulanmayan salımlardan yaklaşık 3 kat daha hızlı ilaç salımı gerçekleşmiştir (Huang vd., 2009; Mahdavinia vd., 2015; Santos vd., 2018; Satarkar ve Hilt, 2008).

Manyetik alan varlığında salımın artması Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ nanokürelerinin belirli bir bölgeye yönlenmesine atfedilebilir (Mahdavinia, 2015). Manyetik alanda nanopartiküller için iki gevşeme mekanizması vardır. Bunlar Brownian ve Néel gevşeme hareketleridir (Abenojar, 2016). Sıvılarda, manyetik nanopartiküller Brownian gevşeme mekanizmasına göre gevşeyebilir. Nanoküreler kendini çevreleyen sıvı içerisinde mikrosaniye aralığında döner. İkinci mekanizma Néel gevşemesidir, yani mıknatıslanma ile manyetik

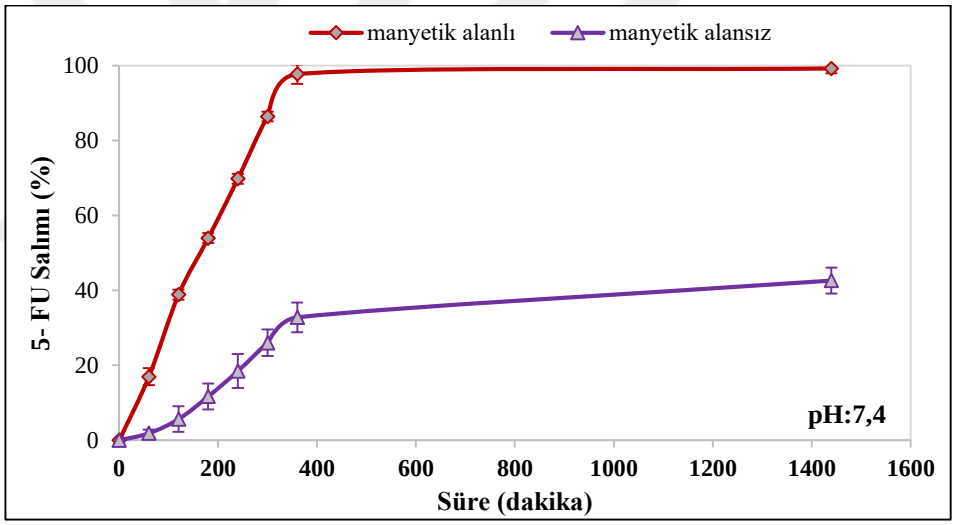
çekirdeğin kendi içinde yaptığı dönme hareketidir (Kumar ve Mohammed, 2011). Manyetik nanopartiküllerin gevşeme mekanizmaları Şekil 3.65'te sunulmuştur. Bu rotasyonlar nanopartiküllerin hareketine ve kopolimer zincirlerinin gevşemesine neden olarak 5-FU'nun salımını artırabilir. Manyetik alanda kopolimer zincirlerinin mekanik deformasyonu da ilaç salımını artırabilir. Alternatif manyetik alan (AMF), Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ nanopartiküllerine uygulandığında ısı artışına neden olmaktadır (Satarkar ve Hilt, 2008).



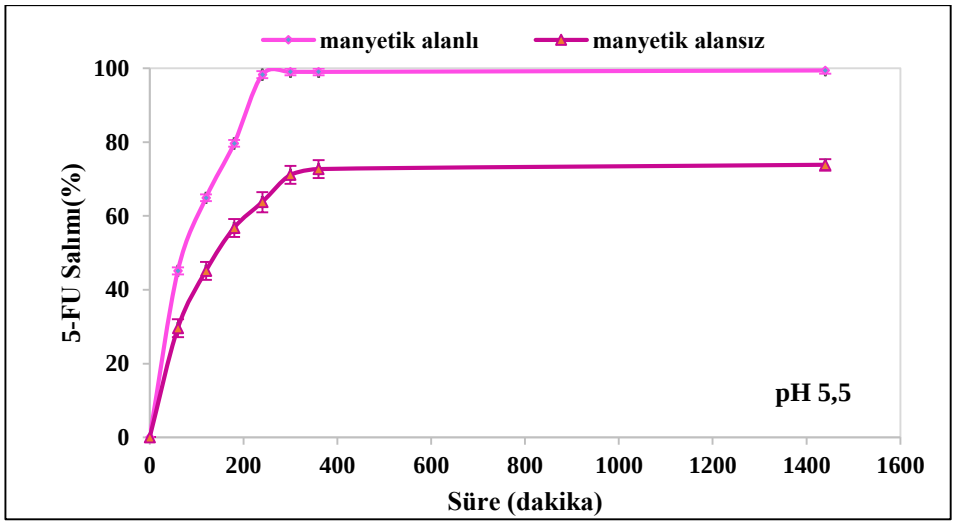
Şekil 3.65. Manyetik nanopartiküllerin gevşeme mekanizmaları (Abenojar, 2016)



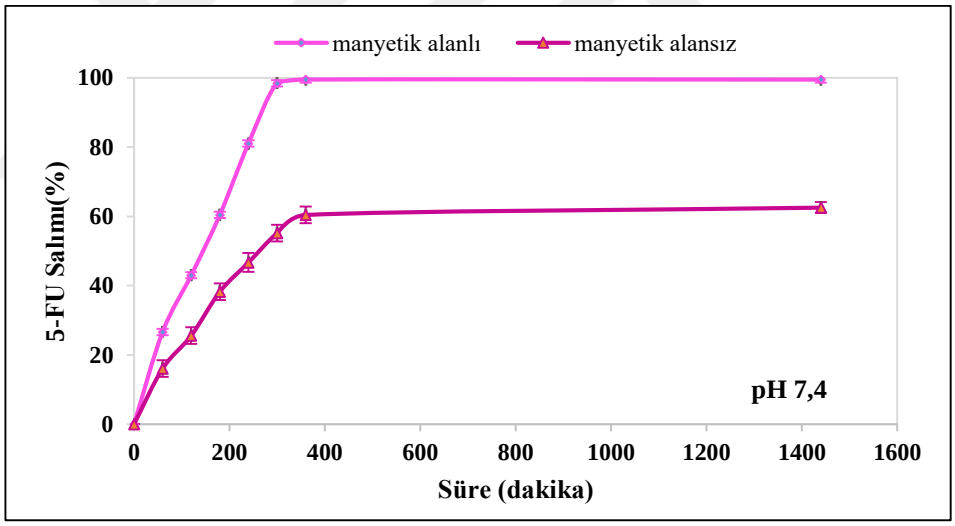
Şekil 3.66. Manyetik alanda Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salımı (pH:5,5)



Şekil 3.67. Manyetik alanda Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salımı (pH:7,4)



Şekil 3.68. Manyetik alanda KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ nano kürelerinin salımı (pH:5,5)



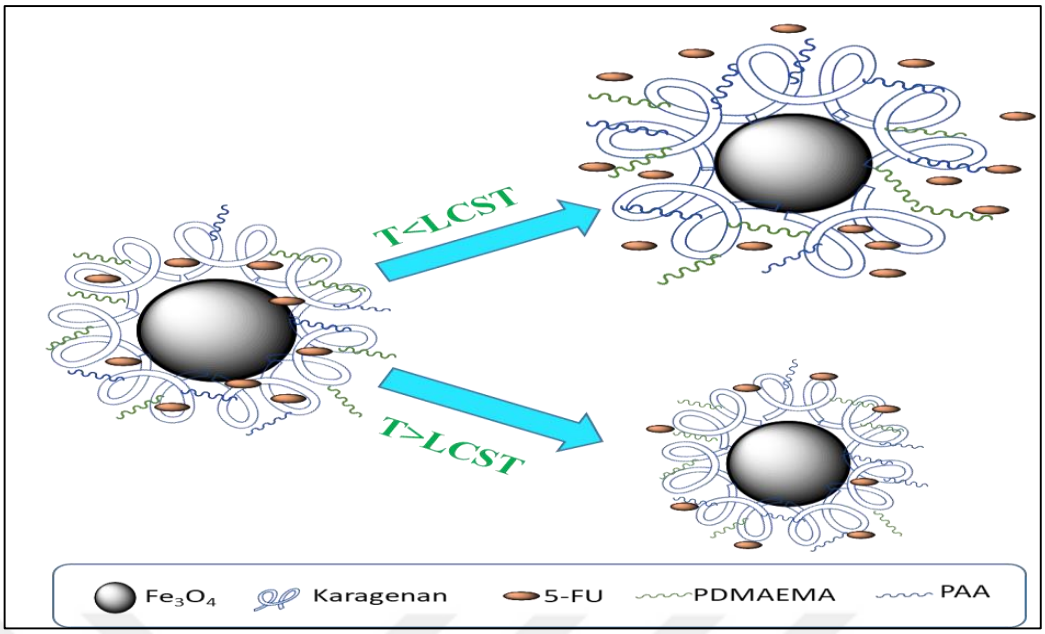
Şekil 3.69. Manyetik alanda KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ nano kürelerinin salımı (pH:7,4)

3.7.6. Sıcaklığın İlaç Salımına Etkisi

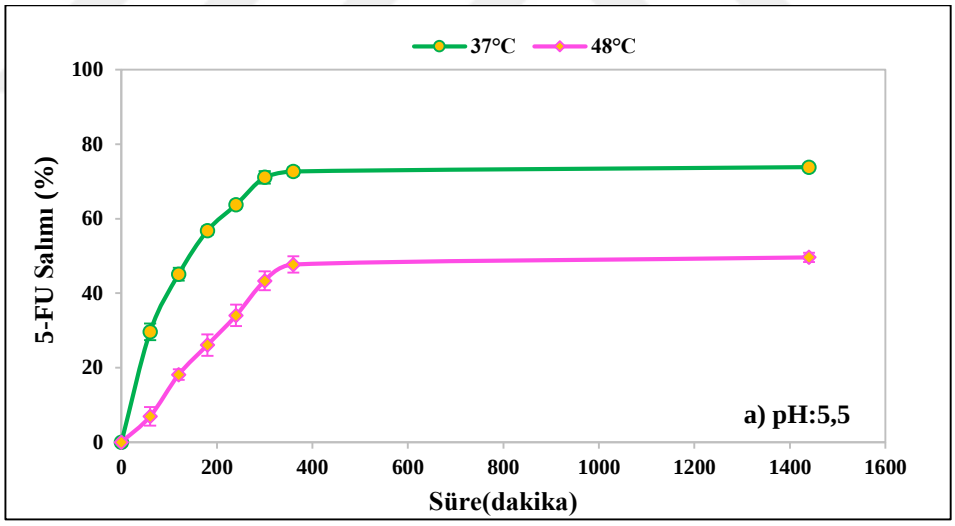
Sıcaklığa duyarlı grup bulunduran KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerden elde edilen KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ manyetik nanokürelerinin 37 °C

ve 48 °C'de 24 saat salım profilleri incelenmiştir. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ nanokürelerinin farklı pH ortamlarında gösterdiği LCST değeri baz alınarak nanokürelerin farklı sıcaklıklarda salımı çalışılmıştır. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin pH 5,5 tamponunda 43 °C'de, pH 7,4 tamponunda 45 °C'de LCST değeri gösterdiği Bölüm 3.2.4'te (bkz. syf. 86) gösterilmektedir. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ nanoküreleri için LCST değerinin altındaki (37 °C) ve üstündeki (48 °C) sıcaklıklarda salımları çalışılmıştır. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salımına sıcaklığın etkisinin şematik gösterimi Şekil 3.70'te ve farklı sıcaklıklardaki salım sonuçları Şekil 3.71 ve 3.72'de sunulmuştur.

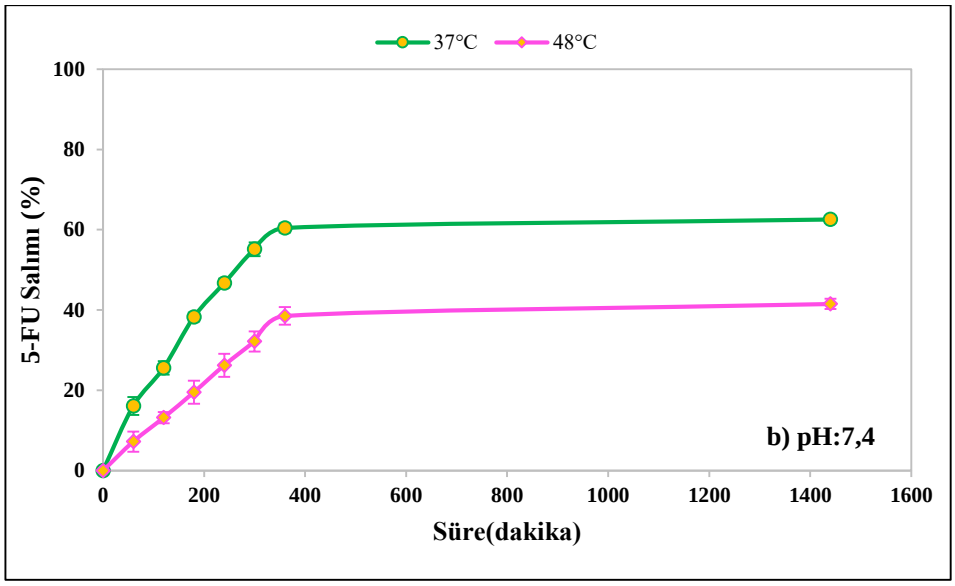
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ nanokürelerinin 24 saatte 37 °C ve 48 °C'de pH 5,5 salımı sırasıyla %73,82 ve %49,62, pH 7,4'te sırasıyla %62,55 ve %41,52 bulunmuştur. Her iki pH'da 5-FU salımlarına bakıldığında tüm parametrelerde PDMAEMA polimerinin LCST değerinin üzerinde bir sıcaklık olan 48 ºC'de düşük 5-FU salımı göstermektedir. Yüksek sıcaklıklarda düşük salım gerçekleşmesi KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$ nanokürelerinin LCST değerinin üstünde kopolimerin şişmesinin PDMAEMA gruplarından dolayı azalmasına ve büzülme davranışı göstermesine atfedilmektedir. Düşük sıcaklıklarda PDMAEMA grupları ile su molekülleri arasındaki etkileşim artacak, bundan dolayı şişme dereceleri artacak ve 5-FU salımı daha fazla gerçekleşecektir. Literatürde sıcaklık artması ile ilaç salımının azaldığı çalışmalar mevcuttur. Li ve arkadaşları sıcaklık duyarlı grup bulunduran Fe_3O_4@SiO_2@SC-N nanokürelerinden DOX'un salımını 20 °C ve 37 °C'de çalışılmışlar ve 12 saatte salımın %60'dan %39,8'e azaldığını bildirmişlerdir (Li vd., 2016).



Şekil 3.70. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salımına sıcaklığın etkisi



Şekil 3.71. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin 37 °C ve 48 °C'de salımı (pH 5,5). Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi



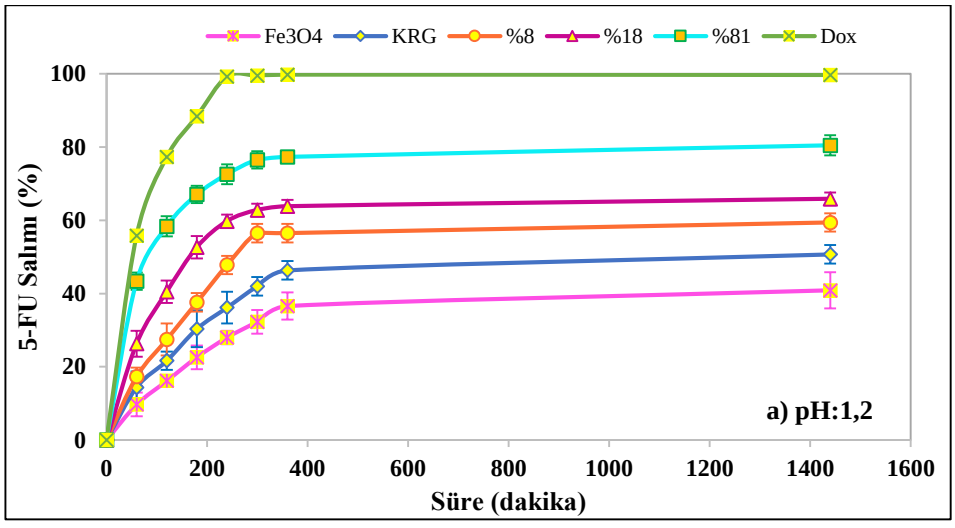
Şekil 3.72. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin 37 °C ve 48 °C'de salımı (pH 7,4). Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

3.8. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 Manyetik Nanokürelerinin *İn-Vitro* Salım Çalışmaları

3.8.1. Aşı Yüzdesinin DOX Salımına Etkisi

DOX, Fe_3O_4@DOX, KRG@Fe_3O_4@DOX ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(1)}$ (%8 aşı yüzdeli), KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(2)}$ (%18 aşı yüzdeli), KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$ (%81 aşı yüzdeli) nanokürelerin, pH 1,2 HCl ortamında, pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda, pH 7,4 PBS tamponunda 37 °C'de 24 saat ilaç salımı ölçülmüştür. Salım çalışmaları sonuçları Şekil 3.73'te sunulmuştur. Serbest haldeki DOX bütün pH ortamlarında 4 saatte %100 salıma ulaşmıştır. Fe_3O_4@DOX nanokürelerı 24 saatin sonunda pH 1,2, 5,5 ve 7,4 tamponlarında sırası ile %40,84, %34,86 ve %25,70 salım göstermiştir. KRG@Fe_3O_4@DOX nanokürelerı 24 saatin sonunda pH 1,2, 5,5 ve 7,4 tamponlarında sırası ile %40,84, %34,86 ve %25,70 salım yapmıştır. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(1)}$ (%8 aşı yüzdeli) nanokürelerinde pH

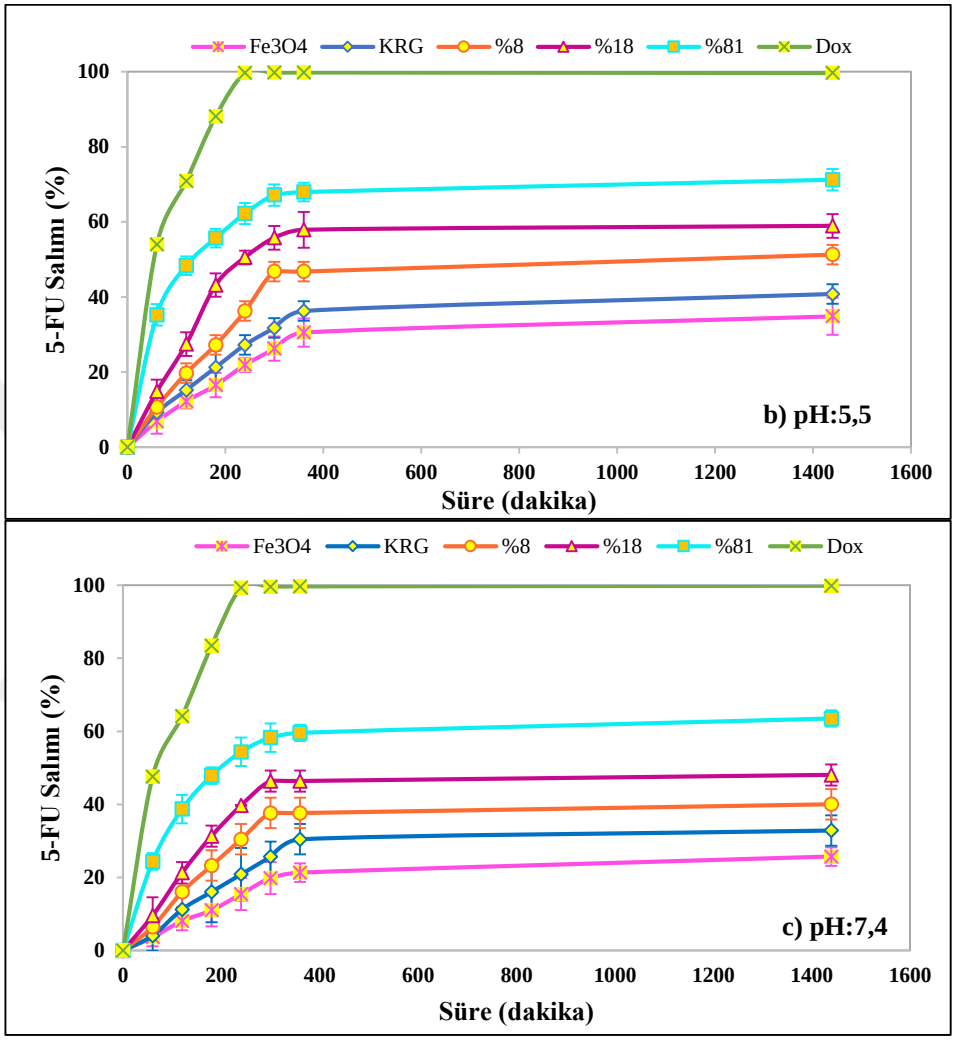
1,2'de salım %59,40 iken, pH 5,5'te salım %65,84, pH 7,4'te salım %80,47 bulunmuştur. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(2)}$ (%18 aşı yüzdeli) nanokürelerin pH 1,2'de salımı %65,84 iken, pH 5,5'te salımı %58,93, pH 7,4'te salımı %48,07 bulunmuştur. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$ (%81 aşı yüzdeli) nanokürelerin pH 1,2'de salımı %80,47 iken, pH 5,5'te salımı %71,22, pH 7,4'te salımı %63,49 bulunmuştur. Sadece karagenan içeren nanokürelerin salımı ve kopolimer içeren nanokürelerin salımı kıyaslandığında aşılama ve aşı yüzdesinin artması ile ilaç salımında büyük oranda artış gözlenmiştir. PHPMA'nın aşılanmasıyla polimer yapısına hidrofilik karbonil ve hidroksil yan grupları girmektedir. Hidrofilikliğin artması kopolimer kaplı manyetik nanokürelerin salımının KRG'den daha yüksek olmasına atfedilebilir. PHPMA'ye ait (C=O), (N-H) ve (-OH) gruplarının su ile arasındaki hidrofilik etkileşimlerinden dolayı kopolimerin, KRG'ye göre şişme derecelerinin yüksek olmasının salımı arttırdığı düşünülmüştür. Suyu seven grupların artması hidrojen bağı etkileşimini artırmış ve kopolimerin şişme derecesini artırarak ilacın dış ortama difüzlenmesini kolaylaştırmıştır (Hu vd., 2015). Sonuç olarak hidrofilikliğin artması KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX salımının KRG@Fe_3O_4@DOX'dan daha yüksek olmasına neden olmuştur.



Şekil 3.73. DOX, Fe_3O_4@DOX, KRG@DOX ve farklı aşı yüzdelerindeki KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salım yüzdeleri a) pH:1,2, b)

pH:5,5 ve c) pH:7,4. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

Şekil 3.73. (devam)

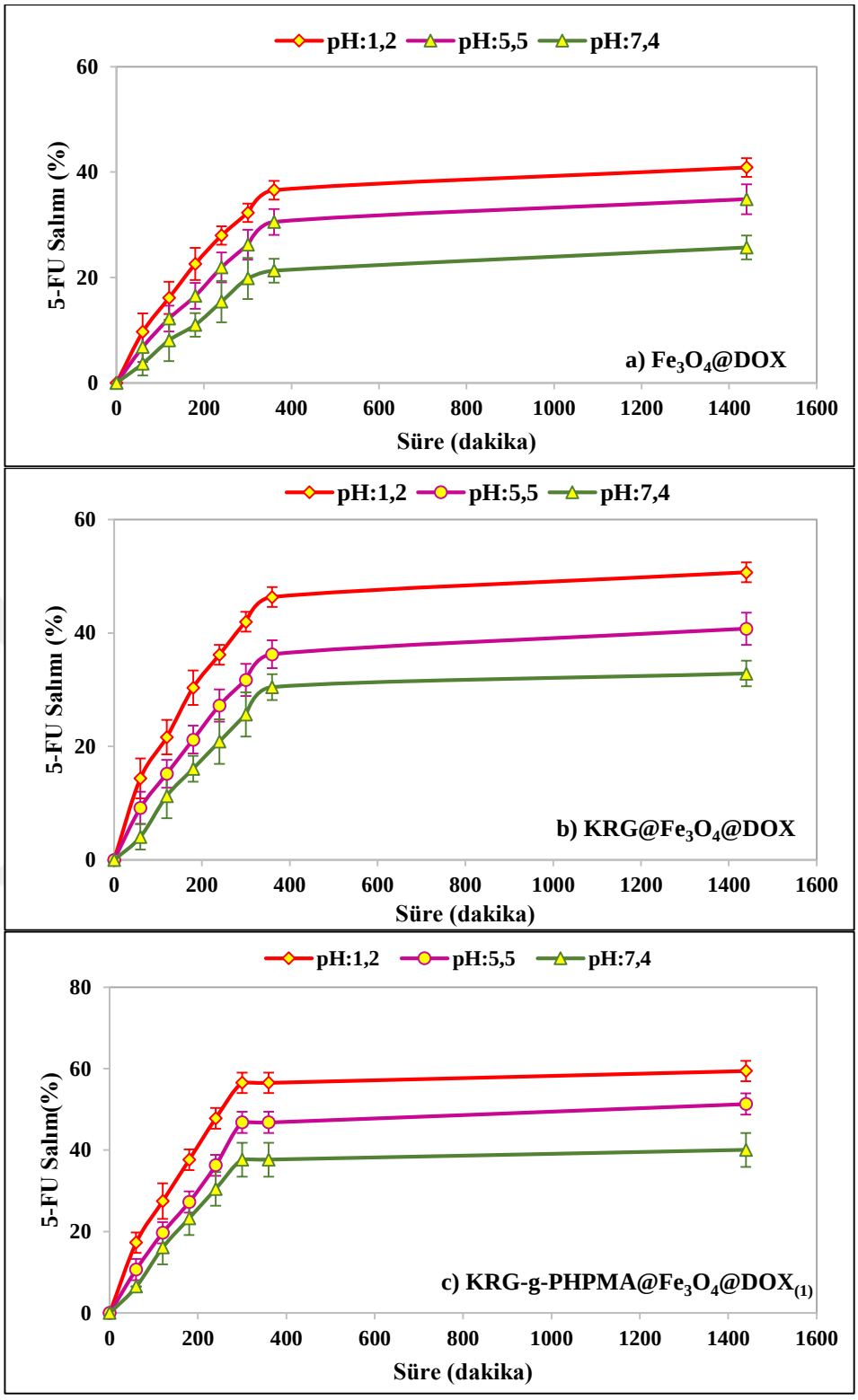


3.8.2. pH'nın İlaç Salımına Etkisi

Fe_3O_4@DOX, KRG@Fe_3O_4@DOX ve farklı aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin, pH 1,2 HCl ortamlarında, pH 5,5 asetik asit/asetat ve pH 7,4 PBS tamponunda 37 °C'de 24 saat ilaç salımı ölçülmüştür. KRG-

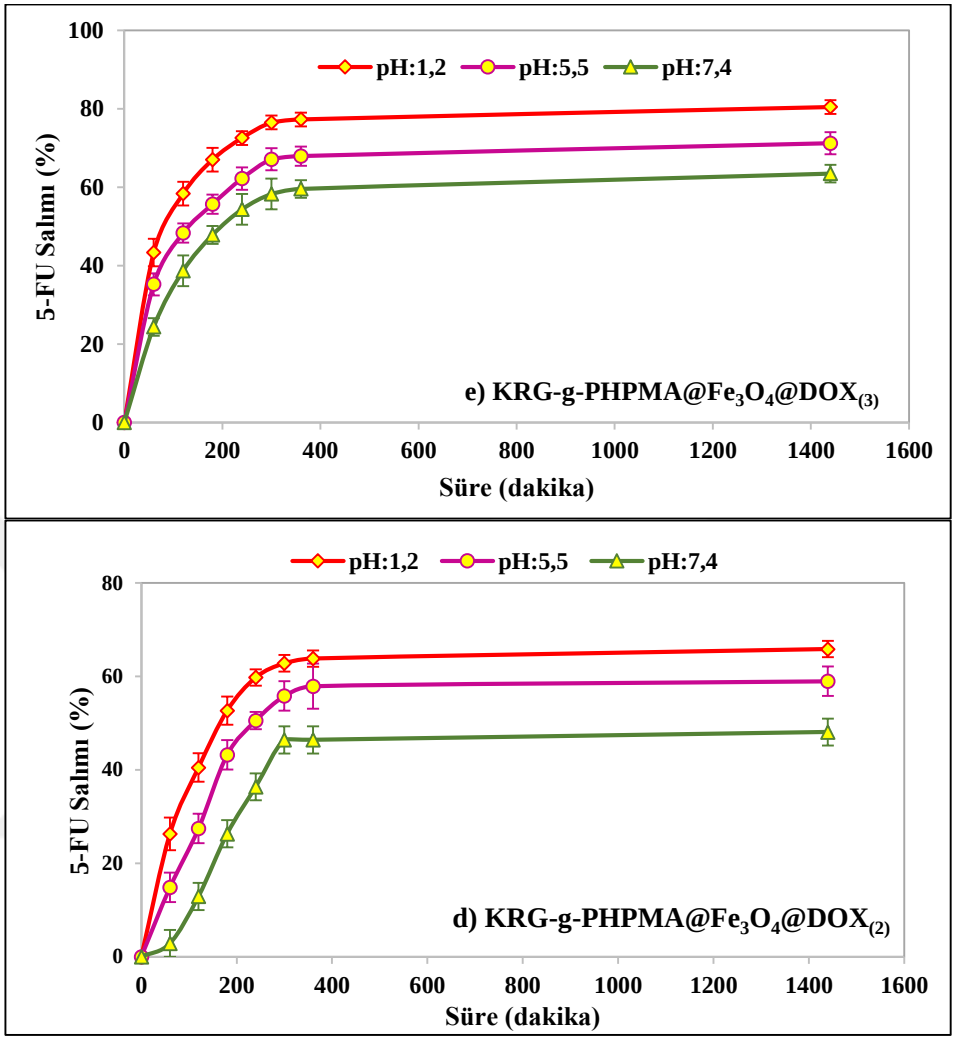
g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin bütün formülasyonlarda DOX'nun pH 1,2 HCl ve pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda hızlı salım yaptığı, pH 7,4 fosfat tamponunda daha yavaş salım yaptığı görülmüştür. Sonuçlar Şekil 3.74'te sunulmuşur. Serbest DOX'un farklı pH'larda karşılaştırma amaçlı salımı da incelenmiştir. Serbest haldeki DOX tüm pH değerlerinde 4 saatte %100 salıma ulaşmıştır. Bunun sebebi kopolimer içine hapsolmayan ve bağ oluşturmayan ilaç molekülleri kısa sürede ortamda salım yapmıştır. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir (Semkina vd., 2015).

Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin farklı pH'larda (1,2 ,5,5 7,4) %salımı sırası ile 40,87, 34,86 ve 25,70 olarak bulunmuştur. Bu sonuç DOX'un çözünürlüğünün düşük pH'larda daha hızlı olmasına bağlanabilir (Liu vd., 2019; Zhang vd., 2016). Bunun yanı sıra DOX'un yapısında bulunan fenil ve amin grupları asidik ortamda salımı artırmıştır (Li vd., 2016). Ayrıca yapıda bulunan PHPMA polimerinin –NH- gruplarının asidik ortamda protonlanarak şişmesi de hızlı ilaç salımına katkı sağlamıştır. Şişen kopolimer tabakası ilacın salımını artırmıştır. KRG@Fe_3O_4@DOX ve farklı aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerde benzer sonuç göstermektedir. Düşük pH'larda daha yüksek salım elde edilmiştir. KRG@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin farklı pH'larda (1,2, 5,5 ve 7,4) salımı %50,69, %40,76 ve %32,85 olarak bulunmuştur. %8 aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(1)}$ nanokürelerinin farklı pH'larda (1,2, 5,5 ve 7,4) salımı %59,40, %51,29 ve %40,04 olarak hesaplanmıştır. %18 aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(2)}$ nanokürelerinin farklı pH'larda (1,2, 5,5 ve7,4) salımı %65,84, %58,93 ve %48,07 bulunmuştur. %81 aşı yüzdeli KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$ nanokürelerinin farklı pH'larda (1,2, 5,5 ve 7,4) salımı %80,47, %71,22 ve %63,49 bulunmuştur.



Şekil 3.74. Farklı pH'larda nanoküre lerinin salım yüzdeleri a) Fe_3O_4@DOX, b) KRG@Fe_3O_4@DOX, c) KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(1)}$, d) KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(2)}$ ve e) KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(/3)}$. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

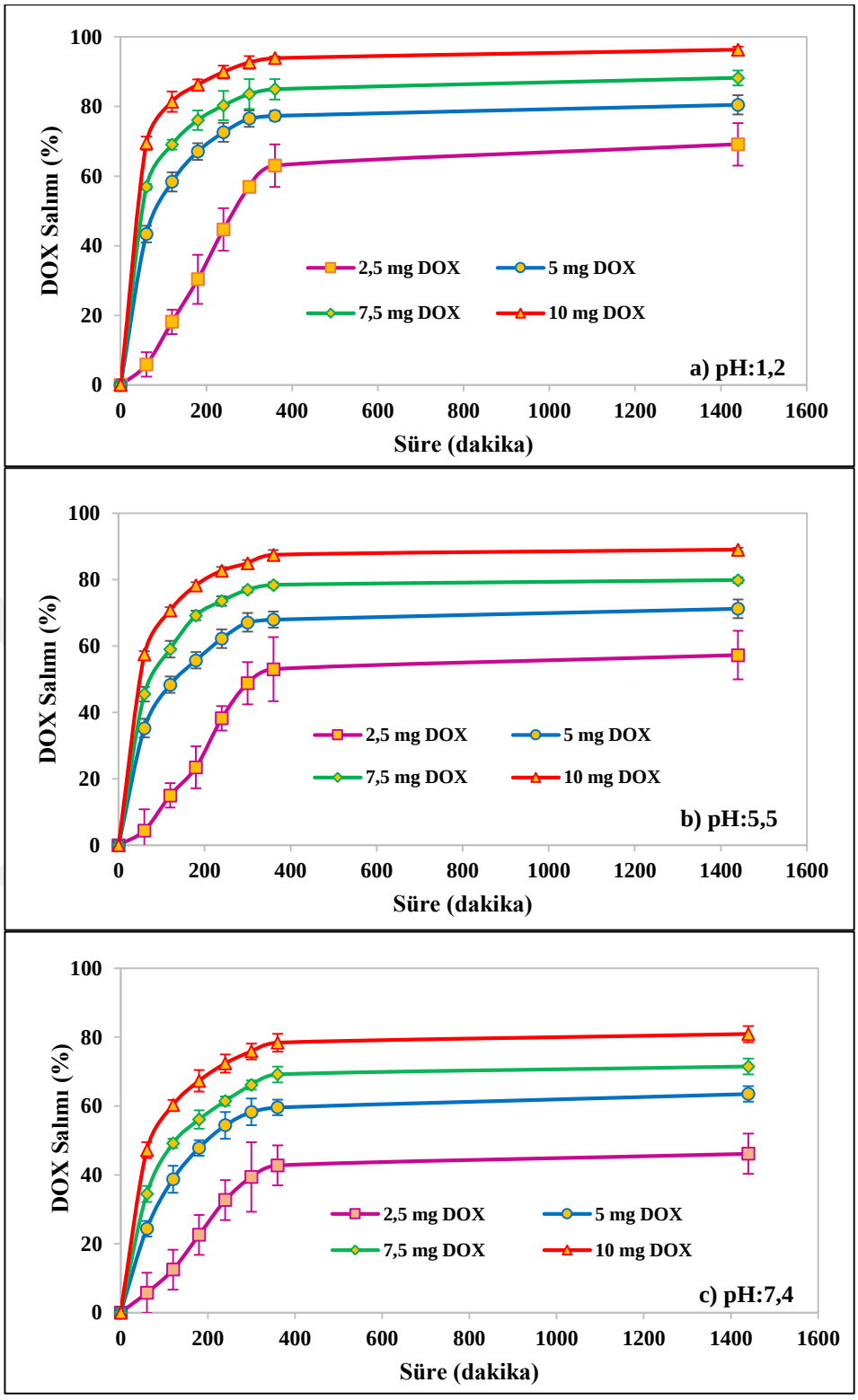
Şekil 3.74. (devam)



3.8.3. İlaç Miktarının DOX Salımına Etkisi

Zeta potansiyeli, partikül boyutu ve ilaç salım profili değerlendirilerek optimize etmek için %81 aşı yüzdesinden hazırlanan KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$ nanoküreleri seçilmiştir. KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerine farklı miktarlarda 2,5 mg (KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 @$DOX_{(4)}$), 7,5 mg (KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(5)}$) ve 10 mg (KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(6)}$) DOX yüklenerek salım üzerine etkisi incelenmiştir. Sonuçlar Şekil 3.75'te sunulmuştur. İlaç miktarı arttıkça (2,5, 5, 7,5 ve

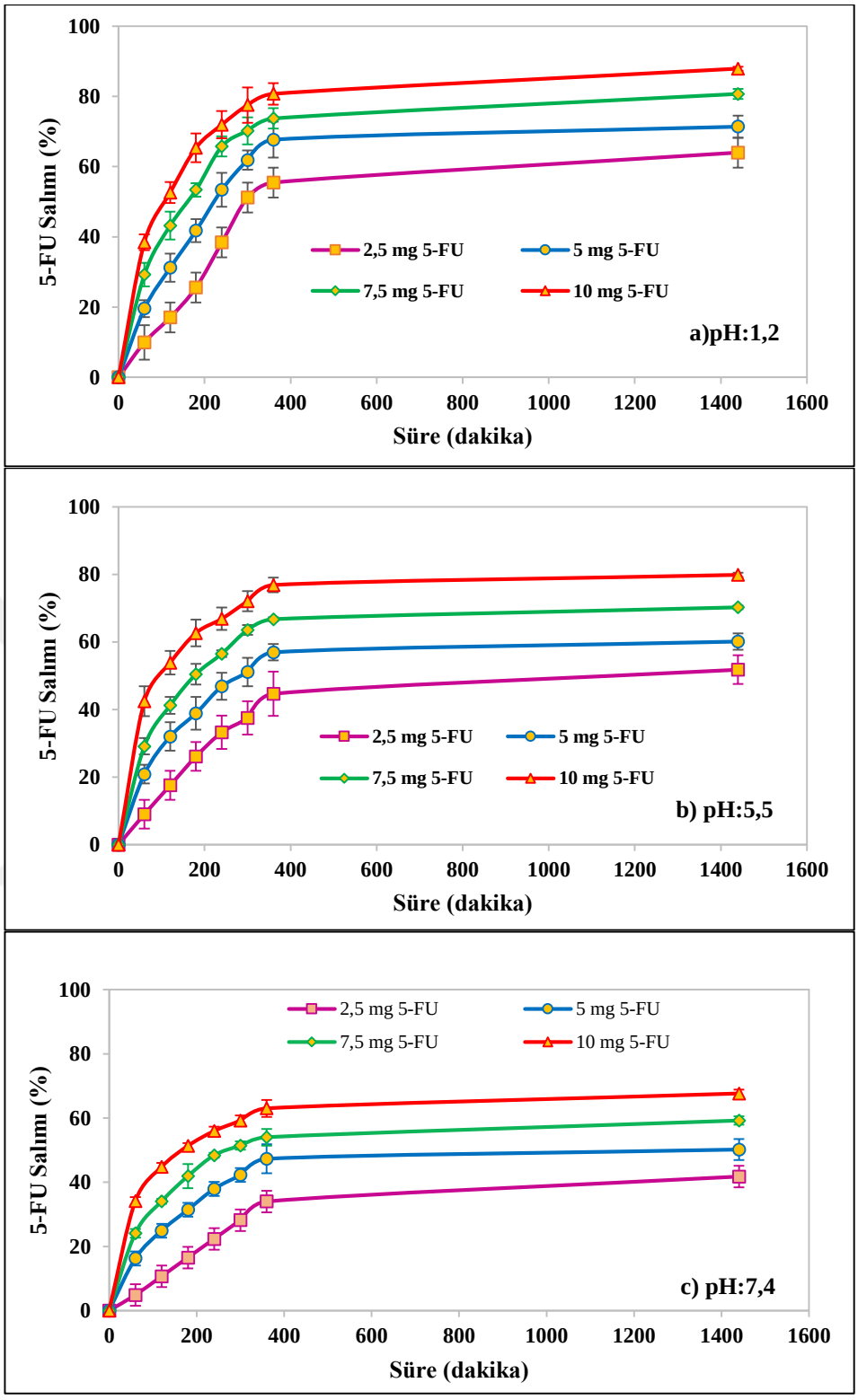
10 mg) KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(4)}$, KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$, KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(5)}$ ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(6)}$ nanokürelerinden sırasıyla ilaç salımı pH 7,4 tamponunda %46,12 , %63,49, %71,47 ve %80,87, pH 5,5 asetik asit/asetat tamponunda %57,23, %71,22, %79,84 ve %89,04, pH 1,2 HCl ortamında %69,13, %80,47, %88,21 ve %96,29 olarak hesaplanmıştır. Bütün pH'larda 10 mg ilaç yüklü KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 @$DOX_{(6)}$ nanokürelerde salım yüzdesi yüksek bulunmuştur. (Abasian vd., 2019). DOX moleküllerinin 2,5 mg'dan 10 mg'a artması bağlanmayı engelleyerek daha gevşek yapıların oluşmasına neden olmuştur. Bu sonuç da ilaç salımını artırmıştır. Abasian ve arkadaşları chitosan/PLA/NaX/ferrite/DOX nanoliflerine 5 mg, 50 mg ve 100 mg DOX yüklemişler ve ilaç miktarı ile %salımın arttığını bildirmişlerdir (Abasian vd., 2019).



Şekil 3.75. Farklı miktarda ilaç içeren (2,5 mg DOX, 5 mg DOX, 7,5 mg DOX , 10 mg DOX) KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salım yüzdeleri a) pH 1,2, b) pH 5,5 ve c) pH 7,4. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

3.8.4. Salıma 5-FU Miktarının Etkisi

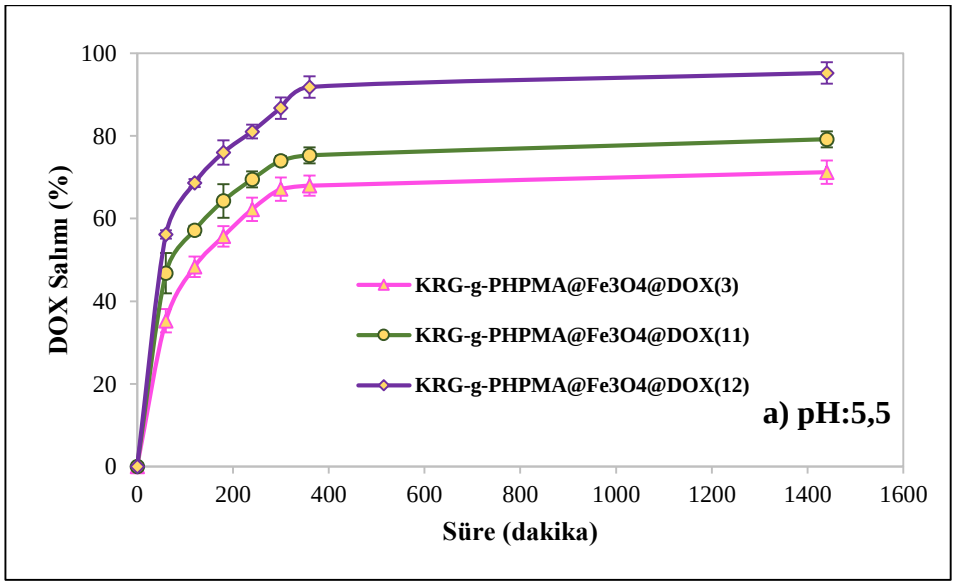
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$ nanokürelerine ilaç değişikliği yapılarak DOX ilacı yerine 5-FU ilacı yüklenerek KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salım profilleri incelenmiştir. 2,5 mg (KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@5-$FU_{(7)}$), 5 mg (KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@5-$FU_{(8)}$), 7,5 mg (KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@5-$FU_{(9)}$) ve 10 mg (KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@5-$FU_{(10)}$) 5-FU ilacı nanokürelere yüklenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.76'da sunulmuştur. Sonuçlardan görüldüğü gibi nanokürelere yüklenen ilaç miktarı arttıkça ilaç salımında artış görülmektedir. Sırasıyla, 24 saat sonunda pH 7,4 tamponunda 2,5, 5, 7,5 ve 10 mg 5-FU yüklü nanokürelerdeki salım %41,74, %50,18, %59,21 ve %67,61, pH 5,5 tamponunda %51,80, %61,12, %70,24 ve %79,84, pH 1,2 tamponunda %63,99, %71,38, %80,70 ve %87,88 olarak bulunmuştur. Bütün pH ortamlarında 10 mg ilaç yüklü nanokürelerde ilaç salımı en yüksek bulunmuştur. Bunun sebebi, ilaç moleküllerinin bağlanmayı engellemesine ve daha gevşek yapıda kopolimer tabakası oluşumuna atfedilmektedir (Sonker vd., 2018).



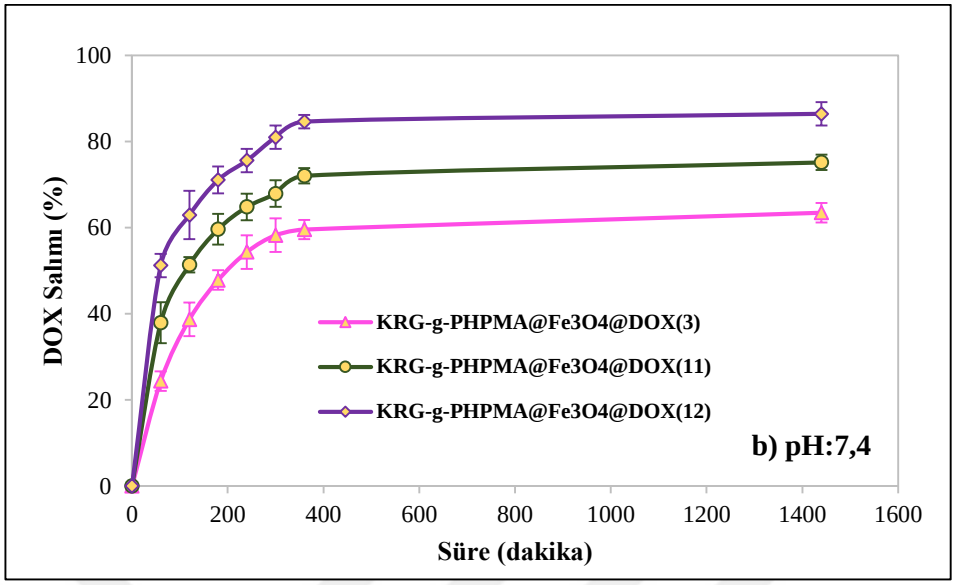
Şekil 3.76. Farklı miktarda ilaç içeren (2,5 mg 5-FU, 5 mg 5-FU, 7,5 mg 5-FU , 10 mg 5-FU) KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salım yüzdeleri a) pH 1,2, b) pH 5,5 ve c) pH 7,4. Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

3.8.5. Magnetit (Fe_3O_4) Miktarının İlaç Salımına Etkisi

KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$ nanoküreleri içerisinde bulunan magnetit (Fe_3O_4) miktarı 400 mg'dır. İlaç salımı üzerine magnetit miktarının etkisini incelemek amacıyla magnetit miktarı artırılarak KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(11)}$ (800 mg) ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(12)}$ (1200 mg) çalışılmıştır. Farklı miktarda magnetit içeren nanokürelere aynı miktarda (5 mg) DOX ilacı yüklenmiştir. Magnetit miktarı farklı manyetik nanokürelerin ilaç salım grafikleri Şekil 3.77 ve 3.78'de sunulmuştur. Şekil 3.77 ve 3.78'da görüldüğü gibi nanoküreler içerisindeki magnetit miktarı arttıkça ilaç salımında artış gözlenmiştir. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$, KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(11)}$ ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(12)}$ manyetik nanokürelerinin 24 saat sonunda salım yüzdesi pH 5,5'te %71,22, %79,19 ve %95,24 ve pH 7,4'te %63,49, %75,18 ve %86,44 olarak bulunmuştur. Magnetit miktarı arttıkça ilacın tutuklanma verimi artmıştır. Yapıda ilacın daha fazla bulunması bağlanmayı engellemiş ve dafa gevşek yapılı nanoküreler oluşmuştur. Gevşek yapılı kopolimerden ilacın difüzlenmesi kolaylaşmıştır (Abasian vd., 2019; Sonker vd., 2018) .



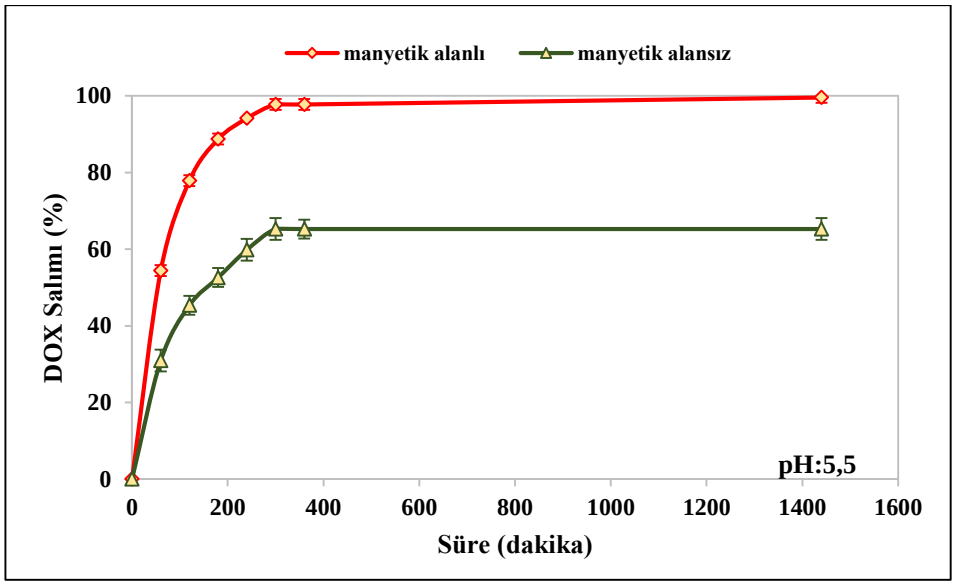
Şekil 3.77. Magnetit miktarının ilaç salımına etkisi (pH 5,5). Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi



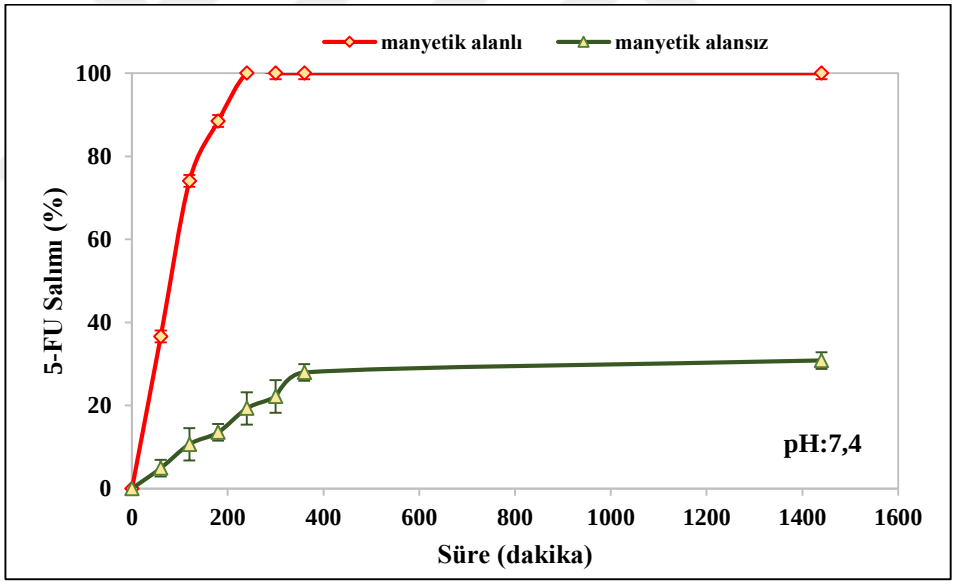
Şekil 3.78. Magnetit miktarının ilaç salımına etkisi (pH 7,4). Veriler, ortalama ± SS, n = 3 ve P<0,05 olarak ifade edildi

3.8.6. Manyetik Alanın Salıma Etkisi

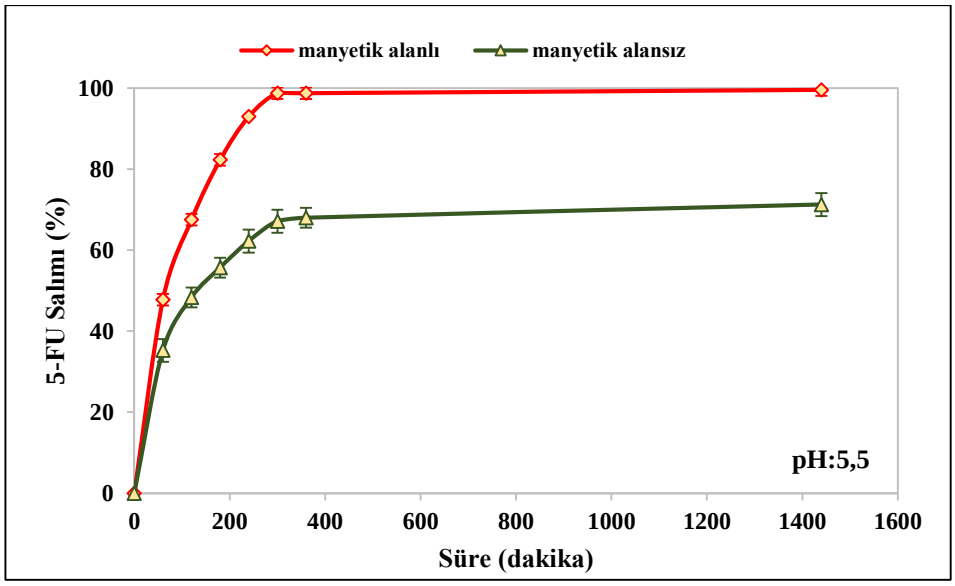
Fe_3O_4@DOX ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$ nanoküreleri 100 kHz ve 50 mT manyetik alan uygulanarak pH 5,5 ve pH 7,4'te 24 saat süre ile 37 ºC'de ilaç salımı çalışılmıştır. Sonuçlar Şekil 3.79, Şekil 3.80, Şekil 3.81 ve Şekil 3.82'de sunulmuştur Manyetik alan uygulanan Fe_3O_4@DOX nanokürerinin salımı pH 7,4'te 5 saatte, pH 5,5'te 4 saatte %100'e, KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(3)}$ nanokürelerinin salımı pH 7,4'te 5 saatte, pH 5,5'te 4 saatte %100'e ulaşmıştır. Manyetik alanda salımın artmasının sebebi, Brownian ve Néel gevşeme (bkz. syf. 123) hareketleridir (Abenojar vd., 2016).



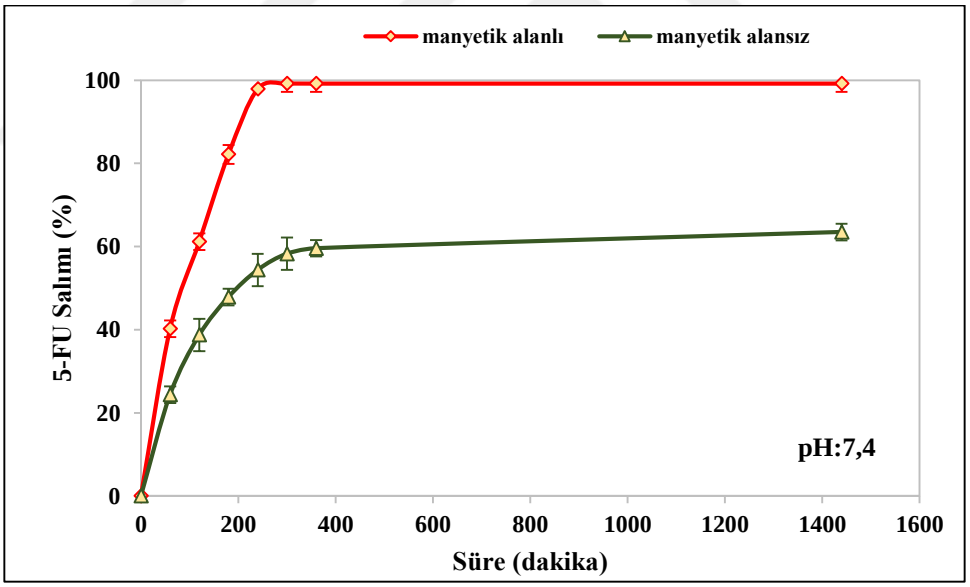
Şekil 3.79. Manyetik alanda Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salımı (pH:5,5)



Şekil 3.80. Manyetik alanda Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salımı (pH:7,4)



Şekil 3.81. Manyetik alanda KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salımı (pH:5,5)



Şekil 3.82. Manyetik alanda KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salımı (pH:7,4)

3.9. Manyetik Nanokürelerin Stabilite Çalışmaları

İlaç yüklenmemiş KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ ve KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerin fiziksel stabilitelerinin belirlenebilmesi amacı ile 4 gün süre boyunca stabilite çalışmaları yapılmıştır. Takip edilen süre boyunca KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ örnekleri +4°C, +25°C ve +48°C'de ve KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ örnekleri +4°C, +25°C'de pH 5,5 ve 7,4 tamponlarında tutularak; 0., 1., 2., 3., ve 4. günlerde zeta potansiyeli, partikül boyutu ve polidispersite indeksi ölçümleri tekrarlanmıştır. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin sonuçları Çizelge 3.13'te, KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin sonuçları Çizelge 3.14'te sunulmuştur.

Çizelge 3.13'te KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin sonuçları incelendiğinde pH 5,5'te +4 °C'de -19,44 ile -21,60 mV, +25 °C'de -19,30 ile -21,36 mV +48 °C'de -3,98 ile -8,05 mV aralığında değişim göstermektedir. +4°C ve +25 °C'de nanokürelerin fazla değişim göstermemesi bu sıcaklıklarda nanokürelerin stabil olduğunu göstermektedir. Ancak sıcaklık LCST değerinin üstüne çıktığında azalan ve değişken zeta potansiyeli stabilitenin yüksek sıcaklıkta sağlanamadığını göstermektedir. Aynı çizelgede bulunan partikül boyutu incelendiğinde birbirini takip eden süre boyunca partikül boyutunun arttığı görülmektedir. Partikül boyutunun artması yapıda bulunan kopolimerlerin şişmesinden kaynaklanmaktadır. LCST değerinin üstünde yapılan stabilite çalışmasında ölçülen partikül boyutlarının daha düşük olması LCST sıcaklığının üstünde yapının büzülme eğiliminde olmasına bağlanabilir. Bu sonuçlar salım verilerini desteklemektedir.

Çizelge 3.14'te KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin sonuçları incelendiğinde pH 5,5 ve 7,4'te sıcaklığın değişmesi nanokürelerin zeta potansiyellerinde fazla değişime sebep olmamıştır. Zeta potansiyeli birbirini takip eden dört gün boyunca pH 5,5'te -24,70 ve -25,53 mV ve pH 7,4'te -31,03 ile -32,33 mV aralığında değişim göstermektedir. Ancak her iki pH değerinde sıcaklığı +4 °C'den +25 °C'ye artması ile partikül boyutunda artma görülmektedir. Birbirini takip eden günlerde de partikül boyutunda hafif artma görülmektedir. Bunun sebebinin polimerin zamanla ve sıcaklıkla şişmesinden kaynaklanmaktadır.

Çizelge 3.13. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin stabilite çalışması

pH	Sıcaklık (°C)	Zaman (gün)	Zeta Potansiyeli (mV)	Partikül Boyutu (nm)	Polidispersite İndeksi
5,5	4	0	-21,20 ±1,08	546,67±2,32	0,405±0,05
		1	-19,63± 0,25	551,75±3,41	0,379±0,06
		2	-21,60±0,26	583,31±3,14	0,398±0,04
		3	-19,44± 0,40	597,77±2,96	0,479±0,06
		4	-20,40± 2,26	612,21±4,23	0,529±0,08
	25	0	-20,53± 1,34	549,40±3,14	0,508±0,10
		1	-19,30± 0,79	568,25±4,12	0,455±0,03
		2	-21,36± 0,30	572,78±3,22	0,519±0,04
		3	-19,30± 0,19	597,98±2,78	0,508±0,02
		4	-20,06 ±2,70	603,87±3,54	0,608±0,10
	48	0	-8,05± 0,92	487,77±4,85	0,419±0,06
		1	-7,45± 0,60	490,95±3,21	0,479±0,04
		2	-5,64 ±0,55	496,13±3,78	0,500±0,03
		3	-4,43 ±0,27	513,21±4,23	0,488±0,07
		4	-3,98 ±0,54	521,34±1,87	0,477±0,07
7,4	4	0	-26,53 ±0,47	551,56±3,22	0,520±0,03
		1	-26,06 ±1,05	561,33±2,12	0,498±0,02
		2	-26,30 ±1,15	589,98±4,51	0,540±0,11
		3	-23,03 ±2,34	601,36±2,14	0,520±0,05
		4	-24,29 ±1,92	617,78±3,47	0,470±0,04
	25	0	-25,56 ±0,20	567,73±5,51	0,430±0,12
		1	-25,56 ±1,15	579,78±4,21	0,510±0,06
		2	-24,10± 1,21	593,70±5,30	0,433±0,03
		3	-24,43 ±0,15	614,78±4,77	0,425±0,07
		4	-25,03 ±0,80	628,98±1,94	0,478±0,12
	48	0	-20,73 ±1,01	502,13±1,39	0,390±0,10
		1	-20,36 ±0,86	518,45±3,87	0,470±0,05
		2	-18,36 ±0,20	525,79±3,98	0,320±0,03
		3	-18,66 ±0,83	547,87±2,87	0,420±0,08
		4	-17,30 ±1,24	568,45±3,22	0,612±0,02

Çizelge 3.14. KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerinin stabilite çalışması

pH	Sıcaklık (°C)	Zaman (gün)	Zeta Potansiyeli (mV)	Partikül Boyutu (nm)	Polidispersite İndeksi
5,5	4	0	-24,70±0,78	260,80±2,74	0,422±0,07
		1	-25,03±0,37	265,76±4,13	0,493±0,05
		2	-24,80±0,42	275,14±4,05	0,551±0,034
		3	-25,26±0,47	278,03±2,25	0,477±0,04
		4	-24,83±0,77	283,36±4,14	0,560±0,04
	25	0	-25,36±0,20	274,10±3,45	0,409±0,06
		1	-24,70±0,55	287,76±2,58	0,477±0,04
		2	-24,75±1,22	297,43±3,50	0,451±0,03
		3	-25,53±0,30	303,10±7,60	0,371±0,03
		4	-25,16±0,83	304,43±3,80	0,423±0,02
7,4	4	0	-31,26±1,00	276,20±3,38	0,524±0,02
		1	-31,86±0,47	288,86±3,22	0,474±0,04
		2	-31,20±0,43	307,53±1,97	0,549±0,06
		3	-32,03±0,61	312,10±3,70	0,536±0,02
		4	-31,03±0,15	313,53±2,49	0,537±0,02
	25	0	-31,79±0,11	292,86±5,27	0,414±0,01
		1	-32,33±0,47	305,53±3,06	0,510±0,02
		2	-31,53±0,90	317,53±1,97	0,449±0,04
		3	-31,66±0,96	318,76±6,85	0,519±0,01
		4	-32,33±0,47	318,86±3,06	0,530±0,03

3.10. Manyetik Nanokürelerin Fe_3O_4 Miktarı Tayini

KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerindeki demir miktarı tayini ICP-OES ile ölçülmüştür. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ ve KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanokürelerindeki Fe_3O_4 miktarı sırası ile %60,85 ve %55,19 olarak bulunmuştur.

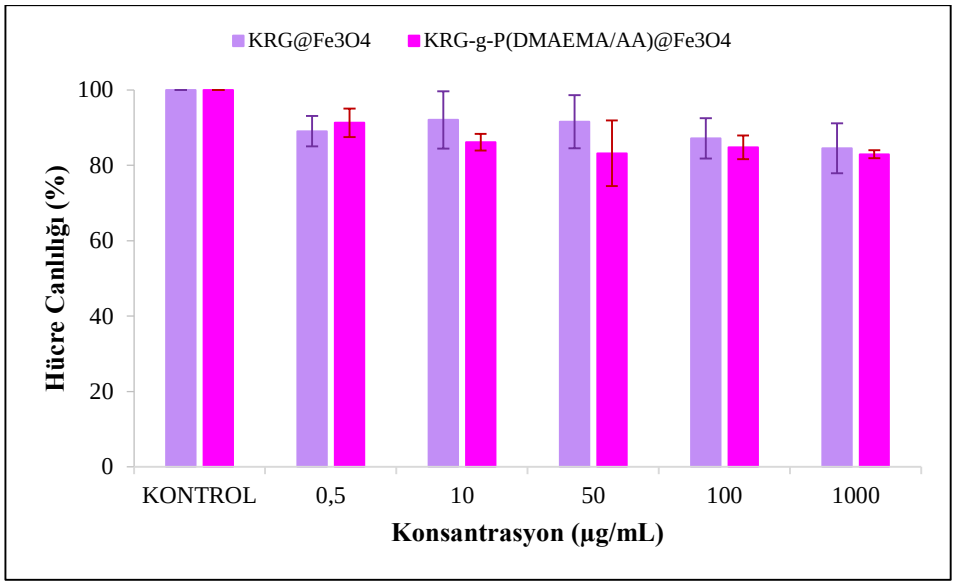
3.11. Hücre Kültür Çalışmaları

3.11.1.Biyouyumululuk

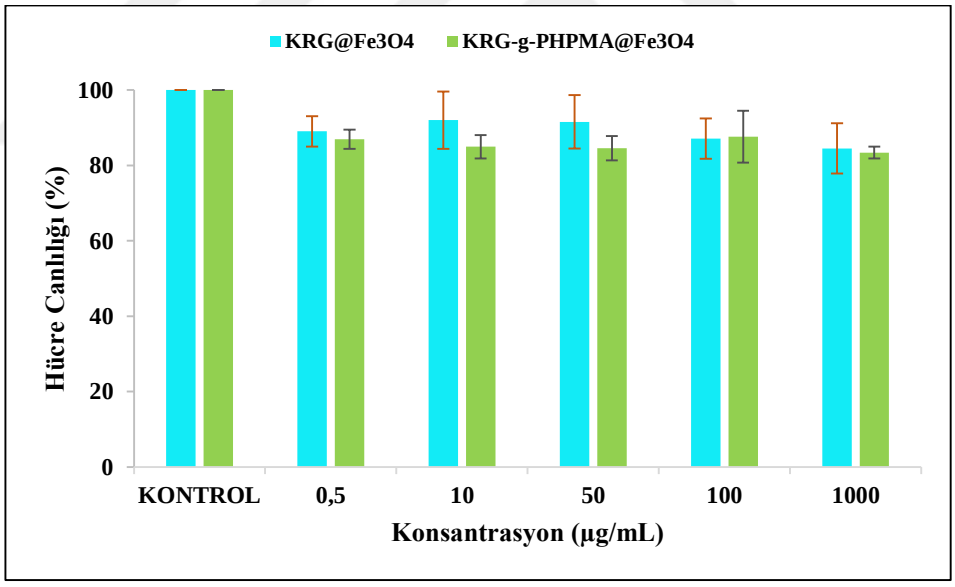
KRG@Fe_3O_4, %58 aşı yüzdeli KRG-g-P(DMAEMA/AA@Fe_3O_4, %81 aşı yüzdesindeki KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerine ait *in-vitro* sitotoksisite çalışmasından elde edilen sonuçlar Şekil 3.83 ve 3.84'te verilmiştir. L929 fibroblast hücreleri 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Daha önceden hazırlanan 1 mg/mL'lik polimer örneklerinden belirlenen konsantrasyonlarda (0 – 0,5 µg/mL - 10 µg/mL - 50 µg/mL - 100 µg/mL - 1000 µg/mL) hücrelerin üzerine uygulanıp, 24 saat inkübe edilmiştir. Örnekler 3 tekrarlı olarak çalışılmıştır. %canlılık kontrol gurupları baz alınarak hesaplanmıştır.

Şekil 3.83 ve Şekil 3.84'te KRG@Fe_3O_4, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4, KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerin uygulandığı L929 fibroblast hücrelerine ait %canlılık grafiği incelendiğinde kontrol grubunda (0 µg/mL) toksisitenin olmadığı gözlenmiştir. Düşük konsantrasyonda (0,5 µg/mL) en yüksek hücre canlılığı KRG'nin uygulandığı hücrelerde görülmüştür ve %91 oranındadır. Aynı konsantrasyonda KRG-g-P(DMAEMA/AA@Fe_3O_4) uygulandığı hücrelerin canlılığı %87, KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 uygulandığı hücrelerin canlılığı %86 olarak hesaplanmıştır. En yüksek konsantrasyonda (1000 µg/mL) uygulandığı L929 fibroblast hücrelerindeki canlılık yaklaşık %84, %84 ve %83 olup sırasıyla KRG@Fe_3O_4, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerine aittir. Nanokürelerin hücre canlılığı çalışılan konsantrasyonlarda (≥%75)'ten büyüktür.

.



Şekil 3.83. KRG@Fe_3O_4 ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin %hücre canlılığı-konsantrasyon değişimi. Sonuçlar n=3'ün ortalama ± SS olarak verildi

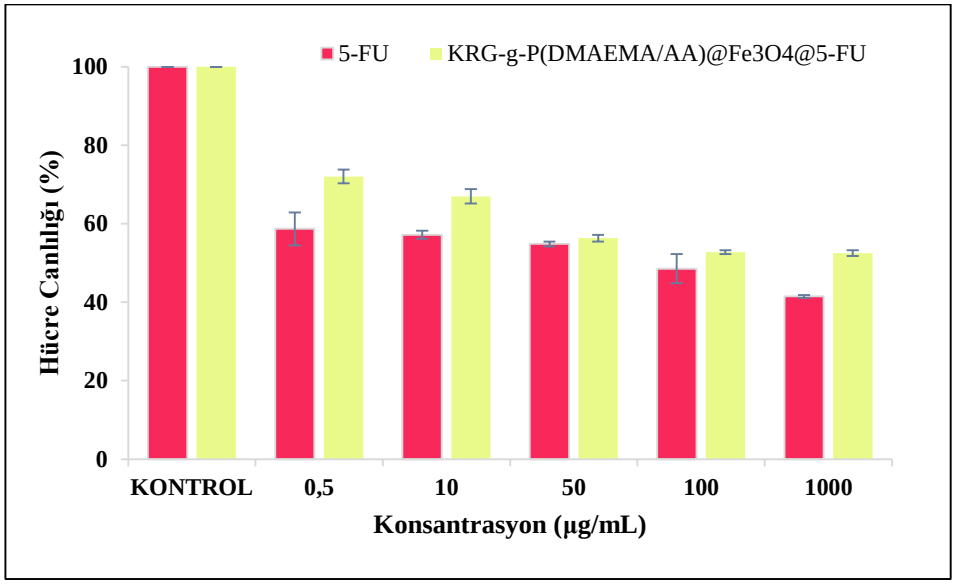


Şekil 3.84. KRG@Fe_3O_4 ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nanokürelerinin % hücre canlılığı-konsantrasyon değişimi. Sonuçlar n=3'ün ortalama ± SS olarak verildi

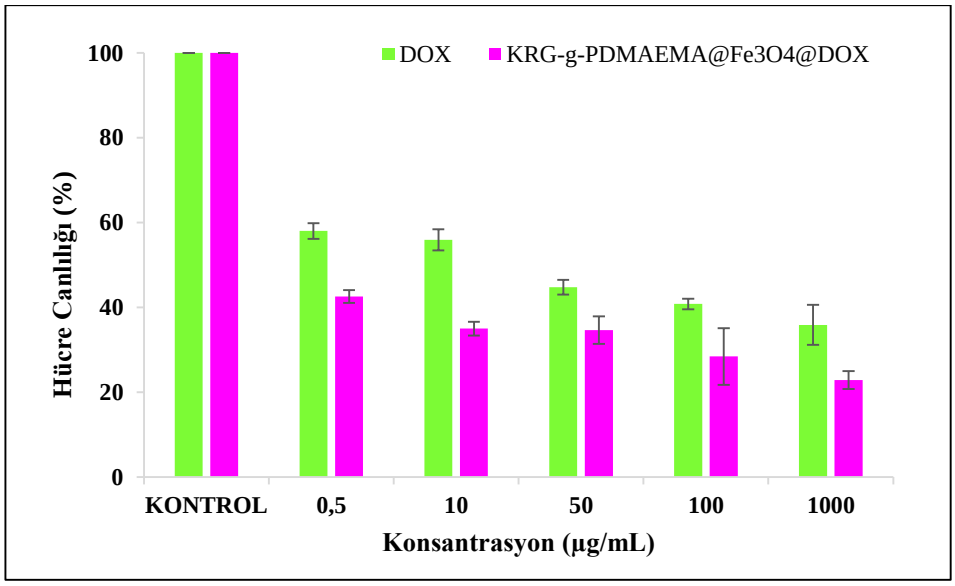
Sonuç olarak elde edilen KRG@Fe_3O_4, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@$Fe_3O_{4(3)}$ ve KRG-g-PHPMA@$Fe_3O_{4(3)}$ nanoküreleri biyouyumlu bulunmuştur (Zhu vd., 2020).

3.11.2.Manyetik Nanokürelerin Antikanser Aktivitesi

İlaç yüklü KRG-g-P(DMAEMA/AA@Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 @DOX manyetik nanokürelerin ve serbest ilaçların A549 kanser hücresi üzerinde sitotoksisitesini incelemek için MTT analizi kullanılmıştır. A549 hücresi, 24 saat boyunca 0,5, 10, 50, 100 ve 1000 µg/mL konsantrasyon aralığında örnekler ile inkübe edildikten sonra hücre canlılıkları okunmuştur. Sonuçlar Şekil 3.85 ve 3.86'da sunulmuştur. Kullanılan ilaç miktarı çok az olmasına rağmen ilaçların ikisi de hücre büyümesini aşırı derecede inhibe etmiştir. Şekil 3.84'te görüldüğü gibi aynı miktar serbest DOX ve nanokürelere tutuklanan DOX'un hücre canlılığı incelendiğinde; nanokürelerin yapısındaki DOX'un hücre canlılığı daha düşüktür (Song vd., 2019; Zhao vd., 2020).



Şekil 3.85. KRG@Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin %hücre canlılığı-konsantrasyon değişimi. Sonuçlar n=3'ün ortalama ± SS olarak verildi



Şekil 3.86. KRG@Fe_3O_4@5-DOX ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerin %hücre canlılığı-konsantrasyon değişimi. Sonuçlar n=3'ün ortalama ± SS olarak verildi

3.12.Kinetik Hesaplamalar

Hazırlanan nanokürelerin ilaç salım mekanizması Peppas eşitliği kullanılarak aydınlatılmıştır (Peppas, 1989; Dash, 2010). Çizelge 3.15'de KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU ve Çizelge 3.16'da KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin, salım mekanizmasını belirleyen n, korelasyon katsayısının karekökü olan r, difüzyon sabiti D (Eşitlik 1.7) ve hız sabiti k değerleri sunulmuştur.

Nanokürelerin içerisinde ve yüzeyinde tutunan ilaç dağılmış ya da çözünmüş olarak bulunmaktadır. Etken maddenin difüzlenmesi için çözücü ortamına ihtiyaç vardır. Çözücü core-shell yapısına girince polimerle kaplı yüzey şişer ve şişen tabakaya hapsolmuş ilacın çözücü ortamına geçmesine izin verir. Çözücü molekülleri nanokürelerin polimer tabakasına girerken ters yönde de ilaç çözücü ortamına difüzlenir ve böylece ilaç salımı gerçekleşir. İlaç salım sistemleri genellikle Fick

yasasına göre incelenir. Salım sistemi; ya difüzyon kontrollü yani Fick tipi ya da şişme ve difüzyon kontrollü yani Fick olmayan yöntemlerle salım yapmaktadır (Dash vd., 2010; Gürsoy, 1989).

n değeri geçiş mekanizmasını aydınlatmaktadır. Hesaplanan n değeri n=0,43'e eşit olduğunda Fick yasasına uygun difüzyonla ilaç salımı, n=0,85 olduğunda Durum II (şişme kontrollü) ilaç salımı yapmaktadır. n değeri 0,43< n <0,85 aralığındaysa anormal ilaç salımı (Fick yasasına uymayan) yapmaktadır (Dash, 2010). İlaç salımı difüzyonla oluyorsa Fick difüzyonu gerçekleşir. Polimer zincirinin gevşeme ve difüzyon hızları birbirine yakın ise Fick olmayan ya da anormal geçişte olmaktadır. Salım aynı zamanda gerçekleşen iki difüzyona bağlıdır. Birincisi çözücünün nanokürelere difizyonu, ikincisi ise ilacın dış ortama difüzyonudur (Dash vd., 2010; Işıklan vd., 2008).

KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin D, k, n ve r değerleri Çizelge 3.15'te sunulmuştur. pH (1,2, 5,5 ve 7,4) ortamlarında n değerleri incelendiğinde asidik ortamda KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin Fick tipi salım yaptığı, bazik ortamda Fick difüzyonuna uymadığı görülmektedir (Işıklan, 2012). LCST sıcaklığının üstünde ve polimer içermeyen demir oksit nanokürelerinin salım mekanizması ise Durum II şeklindedir. Nanokürelerin ayrıca difüzyon katsayısı (D) değerleri hesaplanmıştır. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin difüzyon katsayıları $0,73\times10^{-19}$ ile $39,64\times10^{-19}$ m^2/s aralığında değiştiği görülmüştür. Tüm pH değerlerinde aşı yüzdesinin ve ilaç miktarının artması ile doğru orantılı olarak difüzyon sabitinin de artığı görülmüştür (Langer ve Peppas, 1981).

LCST davranışı göstern KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin farklı sıcaklıklardaki salım sonuçları için D değeri hesaplanmıştır. pH 7,4'te 37 ve 48 °C'de sırası ile D değerleri $4,35x10^{-19}$ m^2/s ve $4,10x10^{-19}$ m^2/s ve pH 5,5'te 37 ve 48 °C'de sırası ile D değerleri $4,10x10^{-19}$ m^2/s ve $4,06x10^{-19}$ m^2/s olarak hesaplanmıştır. D değeri LCST değerinin üstündeki sıcaklıkta (48 °C) azalmış ve altındaki sıcaklıkta (37 °C) artmıştır.

Çizelge 3.15. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanokürelerinin salım kinetiği

Kod	D(x10^{19}) (m^2/s)	kx10^5 (s^{-n})	n	r	pH	T (°C)	Manyetik alan	Difüzyon mekanizması
Fe_3O_4@5-FU	0,98	0,002	1,654	0,999	7,4	37		Durum II
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(1)}$	3,12	0,475	1,144	1				Durum II
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(2)}$	3,93	23,94	0,757	0,997				Fick Yasasına uymayan
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(3)}$	4,35	26,30	0,780	0,993				Fick Yasasına uymayan
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(4)}$	12,03	49,93	0,735	0,998				Fick Yasasına uymayan
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(5)}$	24,67	150,34	0,621	0,989				Fick Yasasına uymayan
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(6)}$	39,64	1902,5	0,375	0,995				Fick tipi
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(7)}$	5,29	61,60	0,717	0,996				Fick Yasasına uymayan
Fe_3O_4@5-FU	0,73	0,13	1,295	0,995	5,5			Durum II
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(1)}$	2,58	35,96	0,749	0,992				Fick Yasasına uymayan
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(2)}$	3,80	61,15	0,714	0,996				Fick Yasasına uymayan
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(3)}$	4,10	301,36	0,561	0,995				Fick Yasasına uymayan
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(4)}$	8,23	217,59	0,663	0,988				Fick Yasasına uymayan
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(5)}$	14,68	1467,9	0,410	0,991				Fick tipi
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(6)}$	36,24	2436,2	0,370	0,965				Fick tipi
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU$_{(7)}$	2,74	1343,0	0,419	0,998				Fick tipi

Çizelge 3.15. (devam)

Fe_3O_4@5-FU	0,90	7,66	0,899	0,997	1,2	37	50 mT 100 mHZ	Durum II
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(1)}$	1,87	219,60	0,580	0,998				Fick Yasasına uymayan
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(2)}$	3,50	848,00	0,454	0,998				Fick Yasasına uymayan
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$	2,06	1656,1	0,396	0,996				Fick tipi
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(4)}$	2,89	3051,9	0,347	0,992				Fick tipi
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(5)}$	6,50	6142,7	0,269	0,999				Fick tipi
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(6)}$	19,24	0,243	0,233	0,998				Fick tipi
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(7)}$	2,47	4993,7	0,294	0,981				Fick tipi
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$	4,10	3,72	0,923	0,998	7,4	48		Fick Yasasına uymayan
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$	2,06	0,59	1,150	0,987	5,5			Durum II
Fe_3O_4@5-FU	0,73	4,22	1,018	0,991	7,4	37	50 mT 100 mHZ	Durum II
Fe_3O_4@5-FU	0,90	5,64	1,004	0,999	5,5			Durum II
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$	4,10	39,7	0,791	0,992	7,4			Fick Yasasına uymayan
KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-$FU_{(3)}$	2,06	493,50	0,550	0,995	5,5			Fick Yasasına uymayan

KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinden DOX salım mekanizmasını aydınlatmak için Peppas modeli kullanılarak D, k, n ve r değerleri hesaplanmıştır (Dash, 2010). KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin kinetik sonuçları Çizelge 3.16'da sunulmuştur. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin pH 7,4 ve 5,5'te birkaç formülasyon hariç Fick yasasına uymayan davranış sergilediği görülmektedir. pH 7,4 ve 5,5'te nanokürelerden ilaç salımının difüzyon ve şişme kontrollü olarak gerçekleştiği söylenebilir. pH 1,2'de bir kaç formülayon dışında Fick difüzyona uyduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(11)}$ ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(12)}$ formülasyonun pH değşimine rağmen Fick difüzyon mekanizmasına uyduğu görülmektedir.

KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin ilaç salımından difüzyon katsayısı (D) değerleri hesaplanmıştır. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin difüzyon katsayıları $0{,}40\times10^{-19}$ m^2/s ile $63{,}40\times10^{-19}$ m^2/s aralığında değiştiği görülmüştür. Tüm pH ortamlarında aşı yüzdesinin artması ile ilaç salımı artmış ve D değeri de buna bağlı olarak artmıştır. Ayrıca artan ilaç miktarı ile doğru orantılı olarak difüzyon sabiti de artmıştır. Bunun yanısıra farklı miktarda Fe_3O_4 içeren KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(11)}$ ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@$DOX_{(12)}$ nanokürelerinin de salımının artması ile D değeri uyumlu olarak artmıştır. Aşı yüzdesi arttıkça ve ilaç miktarı arttıkça salımın artmasına bağlı olarak D değerlerinin arttığı benzer çalışmalar literatürde rapor edilmiştir (Langer ve Peppas, 1981).

Çizelge 3.16. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanokürelerinin salım kinetiği

Kod	D(x10^{19}) (m^2/s)	kx10^3 (s^n)	n	r	pH	Fe_3O_4 Miktarı (mg)	Difüzyon mekanizması
Fe_3O_4@DOX	0,59	7,60	0,899	0,977	1,2	400	Durum II
KRG@Fe_3O_4@DOX	4,05	210	0,580	0,998			Fick Yasasına uymayan
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(1)}$	3,26	847	0,454	0,998			Fick Yasasına uymayan
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(2)}$	5,83	164	0,396	0,996			Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(3)}$	5,90	305	0,347	0,992			Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(4)}$	1,99	0,40	1,457	0,996			Durum II
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(5)}$	19,10	735	0,250	0,994			Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(6)}$	20,02	1522	0,186	0,985			Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(7)}$	0,91	3,92	0,951	0,983			Durum II
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(8)}$	7,42	54,36	0,717	0,997			Fick Yasasına uymayan
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(9)}$	20,3	262,1	0,575	0,997			Fick Yasasına uymayan
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(10)}$	19,57	881,32	0,461	0,996			Fick tipi
Fe_3O_4@DOX	0,41	7,41	0,832	0,998	5,5		Fick Yasasına uymayan
KRG@Fe_3O_4@DOX	4,53	8,12	0,781	0,998			Fick Yasasına uymayan
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(1)}$	2,83	8,43	0,872	0,999			Durum II
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(2)}$	7,35	8,46	0,912	0,993			Durum II
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(3)}$	6,99	124,94	0,409	0,996			Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(4)}$	1,17	0,16	1,528	0,992			Durum II
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(5)}$	13,60	249,91	0,355	0,993			Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(6)}$	32,95	656,11	0,266	0,993			Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(7)}$	0,99	3,76	0,950	0,999			Durum II
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(8)}$	7,59	186,87	0,576	0,997			Fick Yasasına uymayan
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(9)}$	22,72	556,03	0,484	0,998			Fick Yasasına uymayan
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(10)}$	63,40	2750,46	0,334	0,996			Fick tipi

Çizelge 3.16. (devam)

Fe_3O_4@DOX	0,46	0,90	1,017	0,994			Durum II
KRG@Fe_3O_4@DOX	5,91	0,27	1,180	0,982			Durum II
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(1)}$	3,36	0,71	1,118	0,991			Durum II
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(2)}$	7,78	0,006	1,872	0,987			Durum II
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(3)}$	11,27	205,14	0,397	0,992	7,4		Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(4)}$	1,22	0,17	1,262	0,995			Durum II
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(5)}$	14,20	114,01	0,418	0,982			Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(6)}$	33,90	75,71	0,310	0,993			Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(7)}$	0,60	0,58	1,102	0,999			Durum II
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(8)}$	43,35	112,45	0,607	0,999			Fick Yasasına uymayan
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(9)}$	12,59	389,64	0,503	1			Fick Yasasına uymayan
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(10)}$	35,16	1836,33	0,358	0,996			Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(11)}$	6,31	1249,40	0,409	0,996	5,5	800	Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(11)}$	11,54	209,29	0,383	0,992	7,4		Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(12)}$	14,70	4483,34	0,286	0,999	5,5	1200	Fick tipi
KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX$_{(12)}$	15,17	1564,66	0,390	0,993	7,4		Fick tipi

4. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

- ✓ Doğal bir polimer olan κ-karagenen'a N,N-dimetilaminoetil metakrilat ve akrilik asit monomeri ve karagenan'a N-(2-hidroksipropil) metakrilamid monomeri 4,4'-azobis(4-siyanovalerik asit) başlatıcı ile mikrodalgada başarı ile aşılanmışlardır ve elde edilen iki aşı kopolimerin yapısı FTIR, NMR, DSC/TGA, XRD ve SEC ile aydınlatıldı.

- ✓ KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin optimum aşılama koşulları: mikrodalga ışınlama süresi 2 saat, DMAEMA/AA konsantrasyon oranı 0,8, karagenan yüzdesi 0,375 g/dL, mikrodalga gücü 750 watt ve ACVA konsantrasyonu $3x10^{-3}$ M olan reaksiyon koşullarında elde edildi.

- ✓ KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin optimizasyon çalışması sonucunda en yüksek aşı yüzdesi (%150) ve aşılama verimi (%85) bulundu.

- ✓ KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin termal dayanımın κ-karagenena göre hafif azaldığı TGA sonuçlarından görüldü.

- ✓ KRG'ye göre KRG-g-P(DMAEMA/AA) kopolimerinin yüzey morfolojisi daha pürüzsüz ve tabakalı olduğu ve KRG-g-PHPMA'nın süngerimsi ve gözenekli yüzeylere sahip olduğu belirlendi.

- ✓ KRG polimerine PDMAEMA, PAA ve PHPMA gruplarının aşılanması ve aşı yüzdesinin artması ile mol kütlesi düştü.

- ✓ KRG'ye PDMAEMA gruplarının aşılanması ile sıcaklığa duyarlılık özelliği kazandırılmıştır. Geçirgenlik ölçümlerinden aşı kopolimerlerin saf suda LCST değerleri 47 ^{o}C olduğu, 1,2, 5,5, 6, 7,4, 8, 10 gibi farklı pH ortamlarındaki

LCST değerlerinin sırasıyla 53 °C, 47 °C, 47 °C, 45 °C, 41° C ve 39 °C olduğu bulundu ve KRG'nin LCST değerinin olmadığı tespit edildi.

- ✓ KRG, KRG-g-P(DMAEMA/AA) ve KRG-g-PHPMA'nın biyouyumlu oldukları gösterildi

- ✓ Fe_3O_4 manyetik parçacıkları mikrodalgada sentezlendi ve kimyasal yapısı XRD, FTIR, CTEM, Zetasizer, TGA/DSC ve VSM ile aydınlatıldı.

- ✓ Fe_3O_4 nanyapısına sentezlenen iki kopolimer kaplanarak, manyetik özellik taşıyan iki nanoküre elde edildi. Nanoküreler UV, FTIR, XRD, CTEM, ICP-OES, Zetasizer, VSM ve TGA/DSC ile karakterize edildi.

- ✓ Fe_3O_4 parçacıkların boyutlarının 5-15 nm aralığında olduğu TEM sonuçlarında görüldü.

- ✓ Kopolimerlerle kaplanan nanomalzemelerin süperparamanyetik özellik taşıdığı, termal dayanıklılığının arttığı, pH'ya duyarlı ve bazik ortamda daha kararlı olduğu tespit edildi.

- ✓ Fe_3O_4, KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4 nano-malzemelerin biyoumluluğu, L929 fibroblast normal hücre kullanılarak test edilmiş ve hemen hemen hepsi yüksek hücre canlılığı (> %75) göstererek biouyumlu bulundu.

- ✓ Model antikanser ilacı olarak 5-FU ve DOX nanokürelere yüklenmiştir. Aşılama ile yüksek tutuklanma verimi ve yüksek ilaç yükleme yüzdesi elde edilmiştir.

- ✓ KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@ DOX nanokürelerinin elde edilen *in vitro* sitotoksisite sonuçları 5-FU ve DOX'un çok az miktarının bile hücre büyümesini aşırı derecede inhibe ettiğini gösterdi.

- ✓ *İn vitro* ilaç salım sonuçları; pH 7,4 ortamına göre, kanser pH'sında (pH 5,5) daha fazla 5-FU ve DOX salım yüzdeleri gösterdi.

- ✓ Farklı aşı yüzdesindeki KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin saf suda LCST değerleri 47 ^oC olduğu, 1,2, 5,5, ve 7,4, gibi farklı pH ortamlarındaki LCST değerlerinin sırasıyla 53 °C, 47 °C ve 45 °C olduğu görüldü.

- ✓ KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4 nanokürelerinin ilaç salımının sıcaklıktan etkilendiği, LCST değerinin altında yüksek salım sonuçları, LCST değerinin üzerindeki sıcaklıklarda düşük salım sonuçları verdiği görüldü.

- ✓ KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanoküreleri için aşı yüzdesinin artması, ilaç miktarının artması ve manyetik alanın oluşturulması ile ilaç salımı arttırmıştır. KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU nanoküreleri için en düşük salım pH 7,4'te %95 aşı yüzdesinde 5 mg ilaç miktarında % 47,64 olarak bulunmuştur. En yüksek salım pH 1,2'de %143 aşı yüzdesinde 5 mg ilaç yüklenen nanokürelerde %96,45 olarak hesaplandı.

- ✓ KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanoküreleri için aşı yüzdesinin artması, ilaç miktarının artması, demiroksit miktarının artması ve manyetik alanın oluşturulması ilaç salımını arttırmıştır. KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@DOX nanoküreleri için en düşük salım pH 7,4'te %18 aşı veriminde 2,5 mg DOX yüklü nanokürelerde %41,74 olarak bulundu.

- ✓ KRG-g-P(DMAEMA/AA)@Fe_3O_4@5-FU ve KRG-g-PHPMA@Fe_3O_4@ DOX nanokürelerinin salım davranışlarının genelde Fick Yasası'na uymadığı görüldü.

KAYNAKLAR

A. Allı, Yeni Bazı Graft Kopolimerlerin Sentezi ve Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Karaelmas Üniversitesi, Zonguldak, 2008.

A. Altay, Hidrofilik Grup İçeren Poli(N-İzopropilakrilamid) Hidrojellerin Sentezi ve Bunların Faz-Geçiş (LCST) Sıcaklıklarının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Konya, 2010.

Abasian, P., Radmansouri, M., Jouybari, M. H., Ghasemi, M. V., Mohammadi, A., Irani, M., Jazi, F. S., Incorporation of magnetic NaX zeolite/DOX into the PLA/chitosan nanofibers for sustained release of doxorubicin against carcinoma cells death in vitro. Int. J. Biol. Macromol. 121, 398-406, 2019.

Abenojar, E. C., Wickramasinghe, S., Bas-Concepcion, J., Samia, A. C. S., Structural effects on the magnetic hyperthermia properties of iron oxide nanoparticles. Prog. Nat. Scı-Mater. 26 (5): 440-448, 2016.

Abidian, M. R., Kim, D. H., Martin, D. C., Conducting-polymer nanotubes for controlled drug release. Adv. Mater. 18 (4): 405-409, 2006.

Acharya, S., Sahoo, S. K., PLGA nanoparticles containing various anticancer agents and tumour delivery by EPR effect. Adv. Drug Deliver. Rev. 63 (3): 170-183, 2011.

Agnihotri, S. A., Jawalkar, S. S., Aminabhavi, T. M., Controlled release of cephalexin through gellan gum beads: Effect of formulation parameters on entrapment efficiency, size, and drug release. Eur. J. Pharm. Biopharm. 63 (3): 249-261, 2006.

Akbarzadeh, A., Samiei, M., Davaran, S., Magnetic nanoparticles: preparation, physical properties, and applications in biomedicine. Nanoscale Res. Lett. 7, 1-13, 2012.

Akin, A., Isiklan, N., Microwave assisted synthesis and characterization of sodium alginate-graft-poly(N,N '-dimethylacrylamide). Int. J. Biol. Macromol. 82, 530-540, 2016.

Al Dine, E. J., Ferjaoui, Z., Ghanbaja, J., Roques-Carmes, T., Meftah, A., Hamieh, T., Gaffet, E., Thermo-responsive magnetic Fe_3O_4@P(MEO2MAX-OEGMA100-X) NPs and their applications as drug delivery systems. Int. J. Phar. 532 (2): 738-747, 2017.

Allcock, H. R., Ambrosio, A. M., Synthesis and characterization of pH-sensitive poly (organophosphazene) hydrogels. Biomaterials. 17 (23): 2295-2302, 1996.

Andreeva, L. N., Bushin, S. V., Bezrukova, M. A., Nekrasova, T. N., Imanbaev, R. T., Pautov, V. D., Panarin, E. F., Conformation properties of poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate) macromolecules in various solvents. Russ. J. App. Chem. 85 (3): 417-425, 2012.

Anirudhan, T., Christa, J., pH and magnetic field sensitive folic acid conjugated protein–polyelectrolyte complex for the controlled and targeted delivery of 5-fluorouracil. J. Ind. Eng. Chem. 57, 199-207, 2018.

Arifin, D. Y., Lee, L. Y., Wang, C. H., Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems. Adv. Drug Deliver. Rev. 58 (12-13): 1274-1325, 2006.

Ayla, Ş., Oktar, H., Tanrıverdi, G., Cengiz, M., Özkılıç, A. Ç., Can, G., Batur, Ş., Doksorubicin nedenli sıçan hepatotoksisitesine nikotinaidin (koruyucu) etkisi.. Anadolu University Journal of Sciences & Technology. 10 (1): 229-238, 2009.

B. Kavzak. Carrageenan Jellerin UV Spektrometre ile incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Edirne, 2005.

Babu, V. R., Sairam, M., Hosamani, K. M., Aminabhavi, T. M., Development of 5-fluorouracil loaded poly(acrylamide-co-methylmethacrylate) novel core-shell microspheres: In vitro release studies. Int. J. Phar. 325 (1-2): 55-62, 2006.

Bañobre-López, M., Teijeiro, A., Rivas, J., Magnetic nanoparticle-based hyperthermia for cancer treatment. Reports of Practical Oncology & Radiotherapy. 18 (6): 397-400, 2013.

Becker, K., Erckenbrecht, J. F., Häussinger, D., Fueling, T., Cardiotoxicity of the antiprolif erative compound fluorouracil. Drugs. 57 (4): 475-484, 1999.

Behere, D.K., Formülation and evaluation of chitosan-polypyrrole nanocomposites for controlled release ofanticancer drug doxorubicin. Int. J App. Pharm. 11 (2): 247-253, 2019.

Blyakhman, F. A., Safronov, A. P., Zubarev, A. Y., Shklyar, T. F., Makeyev, O. G., Makarova, E. B., Kurlyandskaya, G. V., Polyacrylamide ferrogels with embedded maghemite nanoparticles for biomedical engineering. Results Phys. 7, 3624-3633, 2017.

Bobde, Y., Biswas, S., Ghosh, B., PEGylated N-(2 hydroxypropyl) methacrylamide-doxorubicin conjugate as pH-responsive polymeric nanoparticles for cancer therapy. React Funct Polym. 151, 104561, 2020.

Brabers, V. A. M., Handbook of Magnetic Materials. 8, 1995.

Brassinne, J., Poggi, E., Fustin, C. A., Gohy, J. F., Synthesis and Self-Assembly of Terpyridine End-Capped Poly (N-Isopropylacrylamide)-block-Poly (2-(Dimethylamino) ethyl Methacrylate) Diblock Copolymers. Macromol. Rapid Comm. 36 (7): 610-615, 2015.

Brøndsted, H., Kopeček, J. Hydrogels for site-specific drug delivery to the colon: in vitro and in vivo degradation. Pharma. Res. 9 (12): 1540-1545, 1992.

Bronstein, L. M., Huang, X., Retrum, J., Schmucker, A., Pink, M., Stein, B. D., Dragnea, B., Influence of iron oleate complex structure on iron oxide nanoparticle formation. Chem. Mater. 19 (15): 3624-3632, 2007.

Burillo, G., Bucio, E., Arenas, E., Lopez, G. P., Temperature and pH-sensitive swelling behavior of binary DMAEMA/4VP grafts on poly(propylene) films. Macromol. Mater. Eng. 292 (2): 214-219, 2007.

Capek, I., Riza, M., Akashi, M., Effects of the initiator type on the dispersion copolymerization of poly (ethylene glycol) macromonomer and styrene. Polym. J. 24 (9): 959-970, 1992.

Chaturvedi, K., Kulkarni, A. R., Aminabhavi, T. M., Blend microspheres of poly (3-hydroxybutyrate) and cellulose acetate phthalate for colon delivery of 5-fluorouracil. Industrial & Engineering Chemistry Research. 50 (18): 10414-10423, 2011.

Chen, F., Gao, Q., Hong, G., Ni, J., Synthesis and characterization of magnetite dodecahedron nanostructure by hydrothermal method. J. Magn. Magn. Mater. 320 (11): 1775-1780, 2008.

Chen, J., Liu, M. Z., Chen, S. L.,Synthesis and characterization of thermo- and pH-sensitive kappa-carrageenan-g-poly(methacrylic acid)/poly(N,N-diethylacrylamide) semi-IPN hydrogel. Mater. Chem. Phys. 115 (1): 339-346, 2009.

Chen, J., Wu, Z., Yang, L., Zhang, Q., Sun, J., Shi, Y., Kaetsu, I., Grafting copolymerization of N,N-dimethyacrylaminoethylmethacrylate (DMAEMA) onto preirradiated polypropylene films. Radiat. Phys. Chem. 76 (8-9): 1367-1370, 2007.

Cheng, R., Meng, F., Deng, C., Klok, H.-A., Zhong, Z., Dual and multi-stimuli responsive polymeric nanoparticles for programmed site-specific drug delivery. Biomaterials. 34 (14): 3647-3657, 2013.

Chhetri, S., Adak, N. C., Samanta, P., Murmu, N. C., Srivastava, S. K., Kuila, T. Synergistic effect of Fe3O4 anchored N-doped rGO hybrid on mechanical, thermal and electromagnetic shielding properties of epoxy composites. Compos. Part B-Eng. 166, 371-381, 2019.

Chouhan, R., Bajpai, A., Real time in vitro studies of doxorubicin release from PHEMA nanoparticles. J. Nanobiotechnol. 7 (1): 5, 2009.

Cornell, R. M., Schertmann, U.,The iron oxides : structure, properties, reactions, occurrence, and uses / R.M. Cornell, U. Schwertmann. 1996.

Crespy, D., Rossi, R. M., Temperature-responsive polymers with LCST in the physiological range and their applications in textiles. Polym. Int. 56 (12): 1461-1468, 2007.

Cuadra, I. A., Zahran, F., Martín, D., Cabañas, A., Pando, C., Preparation of 5-fluorouracil microparticles and 5-fluorouracil/poly (l-lactide) composites by asupercritical CO_2 antisolvent process. The Journal of Supercritical Fluids. 143, 64-71, 2019.

Cui, Q. Z., Chen, J. L., Gu, Z. Y., CATL 59-Synthesis and characterization of nickel nanoshell particles and their application as catalysts for hydrogen generation. Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 238. 2009.

Cushen, M., Kerry, J., Morris, M., Cruz-Romero, M., Cummins, E., Nanotechnologies in the food industry–Recent developments, risks and regulation. Trends in Food Science & Technology, 24 (1): 30-46, 2012.

Ç.M. Erkol, Farklı Çapraz Bağlayıcılarla Hazırlanmış Poliakrilamit Ve Poli(2-Hidroksietil Metakrilat) Hidrojellerinin Sentezi ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, 2010.

Danckwerts, M., Fassihi, A., Implantable controlled release drug delivery systems: a review. Drug Dev. Ind. Pharm. 17 (11): 1465-1502, 1991.

Daniel-Da-Silva, A. L., Loio, R., Lopes-Da-Silva, J. A., Trindade, T., Goodfellow, B. J., Gil, A. M., Effects of magnetite nanoparticles on the thermorheological properties of carrageenan hydrogels. J. Colloid Interf Sci. 324 (1-2): 205-211, 2008.

Dash, S., Murthy, P. N., Nath, L., Chowdhury, P., Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. Acta Pol. Pharm. 67 (3): 217-223, 2010.

Demir, F., Narin, F., Akgün, H., Üzüm, K., Saraymen, R., Baykan, A., Köklü, E., Doksorubisin ile oluşturulmuş deneysel kardiyotoksisite üzerine melatoninin etkisi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 47, 260-268, 2004.

Denkbas EB. M., S., E. Piskin., 5-Fluorouracil loaded chitosan microspheres for chemoembolization. J. Microencapsul. 16 (6): 741-749, 1999.

Depan, D., Shah, J., Misra, R., Controlled release of drug from folate-decorated and graphene mediated drug delivery system: synthesis, loading efficiency, and drug release response. Mat. Sci. Eng. C. 31 (7): 1305-1312, 2011.

Dey, C., Das, A., Goswami, M. M., Dopamine Loaded SiO_2 Coated Fe_3O_4 Magnetic Nanoparticles: A New Anticancer Agent in pH-Dependent Drug Delivery. Chemistry Select. 4 (41): 12190-12196, 2019.

Du, B., Mei, A., Tao, P., Zhao, B., Cao, Z., Nie, J., Fan, Z., Poly [N-isopropylacrylamide-co-3-(trimethoxysilyl)-propylmethacrylate] coated aqueous dispersed thermosensitive Fe_3O_4 nanoparticles. The Journal of Physical Chemistry C. 113 (23): 10090-10096, 2009.

Dung, D. T. K., Hai, T. H., Long, B. D., Truc, P. N. Preparation and characterization of magnetic nanoparticles with chitosan coating. Paper Presented at the Journal of Physics: Conference Series. 2009.

Dutta, R. K., Sahu, S.Development of diclofenac sodium loaded magnetic nanocarriers of pectin interacted with chitosan for targeted and sustained drug delivery. Colloid. Surface. B. 97, 19-26, 2012.

Elnashar, M. M., Yassin, M. A., Lactose hydrolysis by β-galactosidase covalently immobilized to thermally stable biopolymers. Appl. Biochem. Biotech. 159 (2): 426-437, 2009.

Estelrich, J., Escribano, E., Queralt, J., Busquets, M. A., Iron oxide nanoparticles for magnetically-guided and magnetically-responsive drug delivery. Int. J. Mol. Sci. 16 (4): 8070-8101, 2015.

Evanoff, D. D., Chumanov, G., Size-controlled synthesis of nanoparticles. 1."Silver-only" aqueous suspensions via hydrogen reduction. The Journal of Physical Chemistry B, 108 (37): 13948-13956, 2004.

F. Kara, Üreazın Aljinat/Kitosan Polielektrolit ve Poli(akrilamit-co-akrilik asit)/k-karragenan interpolimer Komplekslerine immobilizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2006.

Freiberg, S., Zhu, X., Polymer microspheres for controlled drug release. International J. Pharm. 282 (1-2): 1-18, 2004.

G. Küçükbalcı, Sıcaklık ve pH Duyarlı Aljinat Bazlı Mikrokürelerin Tasarımı ve İndometasin Salımında Kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale, 2011.

Gandhi, A., Paul, A., Sen, S. O., Sen, K. K. Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical applications. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 10 (2): 99-107, 2015.

Ganesan, K., Ratke, L., Facile preparation of monolithic kappa-carrageenan aerogels. Soft Matter, 10 (18): 3218-3224, 2014.

Gehrke, I., Geiser, A., Somborn-Schulz, A. Innovations in nanotechnology for water treatment. Nanotechnology, Science and Applications, 8, 1. 2015.

Geyik, G., Işıklan, N. Synthesis, characterization and swelling performance of a temperature/pH-sensitive κ-carrageenan graft copolymer. Int. J. Biol. Macromol. 152, 359-370, 2020.

Giri, T. K., Pradhan, M., Tripathi, D. K., Synthesis of graft copolymer of kappa-carrageenan using microwave energy and studies of swelling capacity, flocculation properties, and preliminary acute toxicity. Turk. J. Chem. 40 (2): 283-295, 2016.

Giustini, A. J., Petryk, A. A., Cassim, S. M., Tate, J. A., Baker, I., Hoopes, P. J., Magnetic nanoparticle hyperthermia in cancer treatment. Nano Life. 1:(01n02), 17-32, 2010.

Goorbandi, R. G., Mohammadi, M. R., Malekzadeh, K., Synthesizing efficacious genistein in conjugation with superparamagnetic Fe_3O_4 decorated with bio-compatible carboxymethylated chitosan against acute leukemia lymphoma. Biomater. Res. 24 (1): 1-13, 2020.

Guerra, G., Cerrai, P., Tricoli, M., Maltinti, S., Release of 5-fluorouracil by biodegradable poly (ester-ether-ester) s. Part I: release by fused thin sheets. J. Mater. Sci.: Mater. Med. 12 (4): 313-317, 2001.

Gutowska, A., Bae, Y. H., Jacobs, H., Feijen, J., Kim, S. W., Thermosensitive interpenetrating polymer networks: synthesis, characterization, and macromolecular release. Macromolecules. 27 (15): 4167-4175, 1994.

Gürdağ, G., Sarmad, S., Cellulose graft copolymers: synthesis, properties, and applications. Polysaccharide Based Graft Copolymers. 15-57, 2013.

Gürsoy, A., Kontrollu ilaç serbestleştiren sistemler. Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, İstanbul, 1989.

Gürsoy, A. Z., Kontrollü Salım Sistemleri, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği. İstanbul, 2002.

Hervault, A., Dunn, A. E., Lim, M., Boyer, C., Mott, D., Maenosono, S., Thanh, N. T., Doxorubicin loaded dual pH-and thermo-responsive magnetic nanocarrier for combined magnetic hyperthermia and targeted controlled drug delivery applications. Nanoscale. 8 (24): 12152-12161, 2016.

Hervault, A., Thanh, N. T. K., Magnetic nanoparticle-based therapeutic agents for thermo-chemotherapy treatment of cancer. Nanoscale. 6 (20): 11553-11573, 2014.

Heskins, M., Guillet, J. E., Solution properties of poly (N-isopropylacrylamide). Journal of Macromolecular Science-Chemistry. 2 (8): 1441-1455, 1968.

Horbett, T. A., Ratner, B. D., Kost, J., Singh, M., A bioresponsive membrane for insulin delivery. Recent Advances in Drug Delivery Systems. 209-220, 1984.

Hu, S.-H., Liu, T.-Y., Huang, H.-Y., Liu, D.-M.,Chen, S.-Y., Magnetic-sensitive silica nanospheres for controlled drug release. Langmuir. 24 (1): 239-244, 2008.

Hu, X., Wei, W., Qi, X., Yu, H., Feng, L., Li, J., Dong, W., Preparation and characterization of a novel pH-sensitive Salecan-g-poly (acrylic acid) hydrogel for controlled release of doxorubicin. J. Mater. Chem. B. 3 (13): 2685-2697, 2015.

Huang, H. S., Hainfeld, J. F., Intravenous magnetic nanoparticle cancer hyperthermia. Int. J. Nanomedicine. 8, 2521, 2013.

Huang, L. L., Sui, W. P., Wang, Y. X., Jiao, Q., Preparation of chitosan/chondroitin sulfate complex microcapsules and application in controlled release of 5-fluorouracil. Carbohydr. Polym. 80 (1): 168-173, 2010.

Huang, W.-C., Hu, S.-H., Liu, K.-H., Chen, S.-Y., Liu, D.-M., A flexible drug delivery chip for the magnetically-controlled release of anti-epileptic drugs. J. Controlled Release. 139 (3): 221-228, 2009.

Huang, Y. S., Lu, Y. J., Chen, J. P., Magnetic graphene oxide as a carrier for targeted delivery of chemotherapy drugs in cancer therapy. J. Magn. Magn. Mater. 427, 34-40, 2017.

Hui, H., Fan, X. D., Cao, Z. L., Thermo- and pH-sensitive dendrimer derivatives with a shell of poly (N,N-dimethylaminoethyl methacrylate) and study of their controlled drug release behavior. Polymer, 46 (22): 9514-9522, 2005.

Indira, T., Lakshmi, P., Magnetic nanoparticles–a review. Int. J. Res. Pharm. Nano Sci. 3 (3): 1035-1042, 2010.

Inoue, T., Chen, G., Nakamae, K., Hoffman, A. S., Temperature sensitivity of a hydrogel network containing different LCST oligomers grafted to the hydrogel backbone. Polymer Gels and Networks, 5 (6): 561-575, 1998.

Islam, M. R., Bach, L. G., Vo, T. S., Tran, T. N., Lim, K. T., Nondestructive chemical functionalization of MWNTs by poly(2-dimethylaminoethyl methacrylate) and their conjugation with CdSe quantum dots: Synthesis, properties, and cytotoxicity studies. Appl. Surf. Sci. 286, 31-39, 2013.

Işıklan, N., Inal, M., Yiğitoğlu, M., Synthesis and characterization of poly (N-vinyl-2-pyrrolidone) grafted sodium alginate hydrogel beads for the controlled release of indomethacin. J. Appl. Polym. Sci. 110 (1): 481-493, 2008.

Işıklan, N., Kazan, H. Thermoresponsive and biocompatible poly (vinyl alcohol)-graft-poly (N, N-diethylacrylamide) copolymer: Microwave-assisted synthesis,

characterization, and swelling behavior. J. Appl. Polym. Sci. 135 (12): 45969, 2018.

Işıklan, N., Küçükbalcı, G., Microwave-induced synthesis of alginate–graft-poly (N-isopropylacrylamide) and drug release properties of dual pH-and temperature-responsive beads. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 82 (2): 316-331, 2012.

Işıklan, N., Küçükbalcı, G., Synthesis and characterization of pH-and temperature-sensitive materials based on alginate and poly (N-isopropylacrylamide/acrylic acid) for drug delivery. Polym. Bull. 73 (5): 1321-1342, 2016.

Işıklan, N., Polat, S., Synthesis and characterization of thermo/pH-sensitive pectin-graft-poly (dimethylaminoethyl methacrylate) coated magnetic nanoparticles. Int. J. Biol. Macromol. 164, 4499-4515, 2020.

Işıklan, N., Tokmak, Ş., Microwave based synthesis and spectral characterization of thermo-sensitive poly (N, N-diethylacrylamide) grafted pectin copolymer. Int. J. Biol. Macromol. 113, 669-680, 2018.

Işıklan, N., Tokmak, Ş., Development of thermo/pH-responsive chitosan coated pectin-graft-poly (N, N-diethyl acrylamide) microcarriers. Carbohydr. Polym. 218, 112-125, 2009.

İ.Ç. Ercan, Demir oksit nanoparçacıklarının ağır metal adsorpsiyonunda kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir, 2019.

Jain, K., Vedarajan, R., Watanabe, M., Ishikiriyama, M., Matsumi, N., Tunable LCST behavior of poly (N-isopropylacrylamide/ionic liquid) copolymers. Polym. Chem. 6 (38): 6819-6825, 2015.

Johannsen, M., Gneveckow, U., Eckelt, L., Feussner, A., Waldöfner, N., Scholz, R., Jordan, A., Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic

nanoparticles: presentation of a new interstitial technique. Int. J. Hyperther. 21 (7): 637-647, 2005.

Jones, F., Cölfen, H., Antonietti, M., Iron oxyhydroxide colloids stabilized with polysaccharides. Colloid. Polym. Sci. 278, 491-501, 2000.

Kaity, S., Isaac, J., Kumar, P. M., Bose, A., Wong, T. W., Ghosh, A., Microwave assisted synthesis of acrylamide grafted locust bean gum and its application in drug delivery. Carbohyd. Polym. 98 (1): 1083-1094, 2013.

Kang, T. J., Fang, S., Kozlov, M. E., Haines, C. S., Li, N., Kim, Y. H., Baughman, R. H., Electrical power from nanotube and graphene electrochemical thermal energy harvesters. Adv. Funct. Mater. 22 (3): 477-489, 2012.

Kaplan, M. A., Timuçin, Ç., Işıkdoğan, A., 5-Fluorouracil-associated bradycardia: case report. Turkish Journal of Oncology. 25 (3): 115-118, 2010.

Karthika, J., Vishalakshi, B., Microwave-assisted synthesis and characterization of poly (2-(dimethylamino) ethyl methacrylate) grafted gellan gum. Int. J. Polym Anal. Ch. 19 (8): 709-720, 2014.

Karthika, J. S., Vishalakshi, B., Novel stimuli responsive gellan gum-graft-poly(DMAEMA) hydrogel as adsorbent for anionic dye. Int. J. Biol. Macromol. 81, 648-655, 2015.

Katchalsky, A., Michaeli, I., Polyelectrolyte gels in salt solutions. Journal of Polym. Sci. 15 (79): 69-86, 1955.

Khalafalla, S., Reimers, G., Preparation of dilution-stable aqueous magnetic fluids. IEEE Transactions on Magnetics. 16 (2): 178-183, 1980.

Kim, E. J., Cho, S. H., Yuk, S. H., Polymeric microspheres composed of pH/temperature-sensitive polymer complex. Biomaterials. 22 (18): 2495-2499, 2001.

Kim, S. J., Park, S. J., Kim, S. I., Properties of smart hydrogels composed of polyacrylic acid/poly(vinyl sulfonic acid) responsive to external stimuli. Smart Mater. Struct. 13 (2): 317-322, 2004.

Kitano, H., Wolf, H., Ise, N., PH-responsive release of fluorophore from homocysteine-carrying polymerized liposomes. Macromolecules. 23 (7): 1958-1961, 1990.

Klabunde, K. J., Introduction to nanotechnology. Nanoscale Materials in Chemistry, 1-13, 2001.

Kontturi, K., Mafe, S., Manzanares, J., Svarfvar, B., Viinikka, P., Modeling of the salt and pH effects on the permeability of grafted porous membranes. Macromolecules. 29 (17): 5740-5746, 1996.

Kuhn, W., Hargitay, B., Katchalsky, A., Eisenberg, H., Reversible dilation and contraction by changing the state of ionization of high-polymer acid networks. Nature, 165 (4196): 514-516, 1950.

Kulkarni, R. V., Boppana, R., Mohan, G. K., Mutalik, S., Kalyane, N. V., pH-responsive interpenetrating network hydrogel beads of poly (acrylamide)-g-carrageenan and sodium alginate for intestinal targeted drug delivery: Synthesis, in vitro and in vivo evaluation. J. Colloid Interface Sci. 367 (1): 509-517, 2012.

Kumar, A., Sharma, S., Srivastava, A., Kumar, R., Synthesis of xanthan gum graft copolymer and its application for controlled release of highly water soluble Levofloxacin drug in aqueous medium. Carbohyd. Polym. 171, 211-219, 2017.

Kumar, C. S., Mohammad, F., Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery. Adv. Drug Deliv. Rev. 63 (9): 789-808, 2011.

Kwon, I. C., Bae, Y. H., Kim, S. W., Electrically erodible polymer gel for controlled release of drugs. Nature, 354 (6351): 291-293, 1991.

Langer, R., Peppas, N. A., Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems. Biomaterials, 2 (4): 201-214, 1981.

Langevin, D., Micelles and microemulsions. Annu. Rev. Phys. Chem. 43 (1): 341-369, 1992.

Latorre, A., Couleaud, P., Aires, A., Cortajarena, A. L., Somoza, Á., Multifunctionalization of magnetic nanoparticles for controlled drug release: A general approach. Eur. J. Med. Chem. 82, 355-362, 2014.

Lee, J. J., Beumer, J. H., Chu, E., Therapeutic drug monitoring of 5-fluorouracil. Cancer Chemother. Pharmacol. 78 (3): 447-464, 2016.

Li, L., Ni, R., Shao, Y., Mao, S., Carrageenan and its applications in drug delivery. Carbohyd. Polym. 103, 1-11, 2014.

Li, Z., Yuan, D., Jin, G., Tan, B. H., He, C., Facile layer-by-layer self-assembly toward enantiomeric poly (lactide) stereocomplex coated magnetite nanocarrier for highly tunable drug deliveries. ACS Appl. Mater. Inter. 8 (3): 1842-1853, 2006.

Liebert, T. F., Walt, D. R. Synthesis of pH-sensitive modified cellulose ether halfesters and their use in pH detecting systems based on fiber optics. J. Control. Release. 35 (2-3): 155-163, 1995.

Liew, J. W. Y., Loh, K. S., Ahmad, A., Lim, K. L., Daud, W. R. W., Synthesis and characterization of modified kappa-carrageenan for enhanced proton conductivity as polymer electrolyte membrane. Plos One, 12 (9): 2017.

Lin, B.-L., Shen, X.-D., Cui, S., Application of nanosized Fe_3O_4 in anticancer drug carriers with target-orientation and sustained-release properties. Biomed. Mater. 2 (2): 132, 2007.

Lin, C.-C., Metters, A. T., Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling. Adv. Drug Deliv. Rev. 58 (12-13): 1379-1408, 2006.

Lindsay, R. B., William Gilbert and Magnetism in 1600. Am. J. Phys. 8 (5): 271-282, 1940.

Liu, P., Wu, Q., Li, Y., Li, P., Yuan, J., Meng, X., Xiao, Y., DOX-Conjugated Keratin Nanoparticles for pH-Sensitive Drug Delivery. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 181, 1012-1018. 2019.

Liu, Y., Wang, C.-F., Chen, S., Facile access to poly (DMAEMA-co-AA) hydrogels via infrared laser-ignited frontal polymerization and their polymerization in the horizontal direction. RCS Adv. 5 (39): 30514-30521, 2015.

Liu, Z., Lu, G., Li, Y., Li, Y., Huang, X., Click synthesis of graphene/poly (N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide) nanocomposite via “grafting-onto” strategy at ambient temperature. RCS Adv. 4 (105): 60920-60928, 2014.

Long, J., Yu, X. Q., Xu, E. B., Wu, Z. Z., Xu, X. M., Jin, Z. Y., Jiao, A. Q., In situ synthesis of new magnetite chitosan/carrageenan nanocomposites by electrostatic interactions for protein delivery applications. Carbohyd. Polym. 131, 98-107, 2015.

Lu, A. H., Salabas, E. E. L., Schüth, F., Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application. Angewandte Chemie International Edition, 46 (8): 1222-1244, 2007.

Lv, X., Song, W., Ti, Y., Qu, L., Zhao, Z., Zheng, H., Gamma radiation-induced grafting of acrylamide and dimethyl diallyl ammonium chloride onto starch. Carbohyd. Polym. 92 (1): 388-393, 2013.

M. Gündoğdu, Demir Oksit Nanopartiküller ile Metel İyonların Sulardan Uzaklaştırılması, Önderiştirilmesi ve Tayini. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2016.

Ma, H. L., Zhang, Y. W., Zhang, L., Wang, L. C., Sun, C., Liu, P. G., Zhai, M. L., Radiation-induced graft copolymerization of dimethylaminoethyl methacrylate onto graphene oxide for Cr(VI) removal. Radiat. Physics Chem. 124, 159-163, 2016.

Ma, Y., Fan, X., Li, L., pH-sensitive polymeric micelles formed by doxorubicin conjugated prodrugs for co-delivery of doxorubicin and paclitaxel. Carbohyd. Polym. 137, 19-29, 2006.

Mahdavinia, G. R., Etemadi, H., Soleymani, F., Magnetic/pH-responsive beads based on caboxymethyl chitosan and κ-carrageenan and controlled drug release. Carbohyd. Polym. 128, 112-121, 2015.

Manjunatha, S., Biradar, D., Aladakatti, Y. R., Nanotechnology and its applications in agriculture: A review. J. farm Sci, 29 (1): 1-13, 2016.

Manocha, B., Margaritis, A., Controlled release of doxorubicin from doxorubicin/-polyglutamic acid ionic complex. J. Nanomater. 2010.

Massart, R., Cabuil, V. Effect of some parameters on the formation of colloidal magnetite in alkaline-medium-yield and particle-size control. J. chim. Phys. Phys.-Chim. Biol. 84 (7-8): 967-973, 1987.

Medeiros, S., Santos, A., Fessi, H., Elaissari, A., Stimuli-responsive magnetic particles for biomedical applications. Int. J. Pharm. 403 (1-2): 139-161, 2011.

Mirahmadi, F., Tafazzoli-Shadpour, M., Shokrgozar, M. A., Bonakdar, S., Enhanced mechanical properties of thermosensitive chitosan hydrogel by silk fibers for cartilage tissue engineering. Mater. Sci. Eng. C. 33 (8): 4786-4794, 2013.

Mishra, M. M., Sand, A., Mishra, D. K., Yadav, M., Behari, K.,Free radical graft copolymerization of N-vinyl-2-pyrrolidone onto k-carrageenan in aqueous media and applications. Carbohyd. Polym. 82 (2): 424-431, 2010a.

Mishra, M. M., Yadav, M., Sand, A., Tripathy, J., Behari, K., Water soluble graft copolymer (kappa-carrageenan-g-N-vinyl formamide): Preparation, characterization and application. Carbohyd. Polym. 80 (1): 235-241, 2010b.

Mohammadpour Dounighi, N., Eskandari, R., Avadi, M. R., Zolfagharian, H., Mir Mohammad Sadeghi, A., Rezayat, M., Preparation and in vitro characterization of chitosan nanoparticles containing Mesobuthus eupeus scorpion venom as an antigen delivery system. J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis. 18 (1): 44-52, 2012.

Mohanraj, S., Murugan, D., Rengarajan, A., Rajiv, S., Anticancer activity of starch/poly [N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide]: Biomaterial film to treat skin cancer. Int. J. Biol. Macromol. 70, 116-123, 2014.

Morris E.R., R. D. A., Robinson C., Cation-specific aggregation of carrageenan helices: Domain model of polymer gel structure. J. Mol. Biol. 138 (2): 349-362, 1980.

Mukherji, D., Marques, C. M., Kremer, K., Smart responsive polymers: Fundamentals and design principles. Annu. Rev. Condens. Matter Phys. 11, 271-299, 2020.

Munteanu, G., Ilieva, L., Andreeva, D., Kinetic parameters obtained from TPR data for α-Fe_2O_3 and Auα-Fe_2O_3 systems. Thermochim. Acta. 291 (1-2): 171-177, 1997.

Murli, C., Song, Y., Pressure-induced polymerization of acrylic acid: a Raman spectroscopic study. The Journal of Physical Chemistry B, 114 (30): 9744-9750, 2010.

Murray, C., Norris, D. J., Bawendi, M. G.,Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E= sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites. J. Am. Chem. Soc. 115 (19): 8706-8715, 1993.

N.N. Sözmen, Biyomedikal Uygulamalarda Akıllı Polimer Kullanılması ve Karakterizasyon Yönteminin Kuartz Kristal Mikro Dengeleyici Sistemler ile Geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Başkent Üniversitesi, Ankara, 2008.

Nagaoka, T., Watanabe, S., Sakurai, K., Kunieda, E., Watanabe, S., Taki, M., Yamanaka, Y., Development of realistic high-resolution whole-body voxel models of Japanese adult males and females of average height and weight, and application of models to radio-frequency electromagnetic-field dosimetry. Phys. Med. Biol. 49 (1): 1, 2003.

Necas, J., Bartosikova, L.,Carrageenan: a review. Vet. Med. 58 (4): 187-205, 2013.

Neethirajan, S., Jayas, D. S., Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. Food and Bioprocess Technology, 4 (1): 39-47, 2011.

Nene, A. G., Takahashi, M., Wakita, K., Umeno, M., Size controlled synthesis of Fe3O4 nanoparticles by ascorbic acid mediated reduction of Fe(acac)(3) without using capping agent. J. Nano Res-Sw. 40, 8-19. 2016.

Ngadaonye, J. I., Geever, L. M., Cloonan, M. O., Higginbotham, C. L., Photopolymerised thermo-responsive poly(N,N-diethylacrylamide)-based copolymer hydrogels for potential drug delivery applications. J. Polym. Res.19 (3): 9822, 2012.

Nidhin, M., Indumathy, R., Sreeram, K., Nair, B. U., Synthesis of iron oxide nanoparticles of narrow size distribution on polysaccharide templates. Bull. Mater. Sci. 31 (1): 93-96, 2008.

Orhan, O., Magnetik Rezonans Görüntüleme Mrg Nin Klinik Uygulamaları Ve Endikasyonları. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 5 (2): 31-40, 2008.

Ö. B. Mergen, UV tekniği kullanılarak agarose biojellerin faz geçişlerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Edirne, 2012.

Özkahraman, B., Işıl, A., Gök, M. K., Güçlü, G., Poli (N-Vinilkaprolaktam) Mikrojellerinin Sentez Şartlarının Optimizasyonu. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 14 (1): 13-21, 2014.

Park, S. Y., Bae, Y. H., Novel pH-sensitive polymers containing sulfonamide groups. Macromol. Rapid Commun. 20 (5): 269-273, 1999.

Park, S. Y., Lee, B. I., Jung, S. T., Park, H. J., Biopolymer composite films based on kappa-carrageenan and chitosan. Mater. Res. Bull. 36 (3-4): 511-519, 2011.

Patel, N., Fernandes, R., Guella, G., Miotello, A., Nanoparticle-assembled Co-B thin film for the hydrolysis of ammonia borane: A highly active catalyst for hydrogen production. Appl. Catal. B. 95 (1-2): 137-143, 2010.

Patil, R., Portilla-Arias, J., Ding, H., Konda, B., Rekechenetskiy, A., Inoue, S., Ljubimova, J. Y., Cellular Delivery of Doxorubicin via pH-Controlled Hydrazone Linkage Using Multifunctional Nano Vehicle Based on Poly(beta-L-Malic Acid). Int. J. Biol. Macromol. 13 (9): 11681-11693, 2012.

Patra, P., Seesala, V. S., Das, D., Panda, A. B., Dhara, S., Pal, S., Biopolymeric nanogel derived from functionalized glycogen towards targeted delivery of 5-fluorouracil. Polymer. 140, 122-130, 2018.

Paul, B. K., Moulik, S. P., Uses and applications of microemulsions. Curr. Sci. 990-1001, 2001.

Peppas, N. A., Difüzyon kontrollü sistemler, Kontrollü ilaç serbestleştiren sistemler. 1986.

Peppas, N. A., Sahlin, J.J., A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. Int. J. Pharm. 57, 169-172, 1989.

Philippova, O., Hourdet, D., Audebert, R., Khokhlov, A., Interaction of hydrophobically modified poly (acrylic acid) hydrogels with ionic surfactants. Macromolecules, 29 (8): 2822-2830, 1996.

Piculell, L., Food Polysaccharides and Their Applications (A. M. Stephen Ed.), 1995.

Pines, E., Prins, W., Structure-property relations of thermoreversible macromolecular hydrogels. Macromolecules, 6 (6): 888-895, 1973.

Piquini, P., Baierle, R., Schmidt, T., Fazzio, A., Formation energy of native defects in BN nanotubes: an ab initio study. Nanotechnology, 16 (6): 827, 2005.

Pooresmaeil, M., Nia, S. B., Namazi, H., Green encapsulation of LDH (Zn/Al)-5-Fu with carboxymethyl cellulose biopolymer; new nanovehicle for oral colorectal cancer treatment. Int. J. Biol. Macromol. 139, 994-1001, 2019.

Pourjavadi, A., Barzegar, S., Zeidabadi, F., Synthesis and properties of biodegradable hydrogels of kappa-carrageenan grafted acrylic acid-co-2-acrylamido-2-methylpropanesulfonic acid as candidates for drug delivery systems. React. Funct. Polym. 67 (7): 644-654, 2007.

Pourjavadi, A., Harzandi, A. M., Hosseinzadeh, H., Modified carrageenan 3. Synthesis of a novel polysaccharide-based superabsorbent hydrogel via graft copolymerization of acrylic acid onto kappa-carrageenan in air. Eur. Polym. J. 40 (7): 1363-1370, 2004.

Qiu, L., Hong, C. Y., Pan, C. Y., Doxorubicin-loaded aromatic imine-contained amphiphilic branched star polymer micelles: synthesis, self-assembly, and drug delivery. International Journal of Nanomedicine, 10, 3623-3640, 2005.

Qiu, Y., Park, K., Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. Adv. Drug Deliv. Rev. 53 (3): 321-339, 2001.

Rahimdad, N., Khalaj, A., Azarian, G., Nematollahi, D., Electrochemical Device for the Synthesis of Fe_3O_4 Magnetic Nanoparticles. J. Electrochem.166 (2): 1-6, 2019.

Ramírez-Cando, L., Magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles: Are they really safe? La Granja, 21 (1): 77-83, 2015.

Rao, K. M., Mallikarjuna, B., Rao, K. K., Siraj, S., Rao, K. C., Subha, M., Novel thermo/pH sensitive nanogels composed from poly (N-vinylcaprolactam) for controlled release of an anticancer drug. Colloids Surf. B. 102, 891-897, 2013.

Raval, H. D., Gohil, J. M., Nanotechnology in water treatment: an emerging trend. International Journal of Nuclear Desalination. 4 (2): 184-188, 2010.

Rees D.A., W. F. B., Frangou S.A., Morris E.R., Fragmentation and Modification of r-Carrageenan and Characterisation of the Polysaccharide Order-Disorder Transition in Solution. Eur. J. Biochem. 122, 71-79, 1982.

Ritger, P. L., Peppas, N.A. A simple equation for discripyion of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. J. Control. Release. 5, 37-42. 1987.

Roco, M. C., Nanotechnology: convergence with modern biology and medicine. Curr. Opin. Biotechnol. 14 (3): 337-346, 2013.

Ruuge, E., Rusetski, A., Magnetic fluids as drug carriers: targeted transport of drugs by a magnetic field. J. Magn. Magn. Mater. 122 (1-3): 335-339, 1993.

Saha, P., Rakshit, R., Mandal, K., Enhanced magnetic properties of Zn doped Fe_3O_4 nano hollow spheres for better bio-medical applications. J. Magn. Magn. Mater., 475, 130-136, 2019.

Salama, A., El-Sakhawy, M., Kamel, S., Carboxymethyl cellulose based hybrid material for sustained release of protein drugs. Int. J. Biol. Macromol. 93, 1647-1652, 2016.

Santos, E. C. d. S., Watanabe, A., Vargas, M. D., Tanaka, M. N., Garcia, F., Ronconi, C. M., AMF-responsive doxorubicin loaded β-cyclodextrin-decorated superparamagnetic nanoparticles. New J. Chem. 42 (1): 671-680, 2018.

Satarkar, N. S., Hilt, J. Z., Magnetic hydrogel nanocomposites for remote controlled pulsatile drug release. J. Control. Release. 130 (3): 246-251, 2018.

Sawyers, C., Targeted cancer therapy. Nature. 432 (7015): 294-297, 2004.

Schacht, E., Gevaert, A., Molly, K., Verstraete, W., Adriaensens, P., Carleer, R., Gelan, J., Polymers for colon specific drug delivery. J Control. Release. 39 (2-3): 327-338, 1996.

Schalkhammer, T., Lobmaier, C., Pittner, F., Leitner, A., Brunner, H., Aussenegg, F., The use of metal-island-coated pH-sensitive swelling polymers for biosensor applications. Sens. Actuators B. Chem. 24 (1-3): 166-172, 1995.

Scranton, A. B., Rangarajan, B., Klier, J., Biomedical applications of polyelectrolytes. Biopolymers. 1-54, 1995.

Semkina, A., Abakumov, M., Grinenko, N., Abakumov, A., Skorikov, A., Mironova, E., Kabanov, A., Core–shell–corona doxorubicin-loaded superparamagnetic Fe_3O_4 nanoparticles for cancer theranostics. Colloids Surf. B. 136, 1073-1080, 2015.

Sharma, A., Bhat, S., Vishnoi, T., Nayak, V., Kumar, A., Three-dimensional supermacroporous carrageenan-gelatin cryogel matrix for tissue engineering applications. BioMed Research International. 2013.

Shete, P., Patil, R., Ningthoujam, R., Ghosh, S., Pawar, S., Magnetic core–shell structures for magnetic fluid hyperthermia therapy application. New J. Chem. 37 (11): 3784-3792, 2013.

Shieh, Y.-T., Lin, Y.-T., Cheng, C.-C., CO_2-switchable behavior of chitosan-g-poly [(2-dimethylamino) ethyl methacrylate] as an emulsifier. Carbohyd. Polym. 170, 281-288, 2017.

Shimada, N., Nakayama, M., Kano, A., Maruyama, A., Design of UCST polymers for chilling capture of proteins. Biomacromolecules, 14 (5): 1452-1457, 2013.

Siegel, R. A., Firestone, B. A., pH-dependent equilibrium swelling properties of hydrophobic polyelectrolyte copolymer gels. Macromolecules, 21 (11): 3254-3259, 1988.

Silva-Jara, J. M., Manriquez-Gonzalez, R., Lopez-Dellamary, F. A., Puig, J. E., Nuno-Donlucas, S. M., Semi-Continuous Heterophase Polymerization to Synthesize Nanocomposites of Poly(acrylic acid)-Functionalized Carbon Nanotubes. J. Macromol. Sci. A. 52 (9): 732-744, 2015.

Singamaneni, S., Bliznyuk, V. N., Binek, C., Tsymbal, E. Y., Magnetic nanoparticles: recent advances in synthesis, self-assembly and applications. J. Mater. Chem. 21 (42): 16819-16845, 2011

Singh, B. N., Kim, K. H., Floating drug delivery systems: an approach to oral controlled drug delivery via gastric retention. J. Control. Release. 63 (3): 235-259, 2020.

Singh, V., Tripathi, D. N., Tiwari, A., Sanghi, R., Microwave synthesized chitosan-graft-poly (methylmethacrylate): An efficient Zn^{2+} ion binder. Carbohyd. Polym. 65 (1): 35-41, 2006.

Singha, A., Rana, R. K., Functionalization of cellulosic fibers by graft copolymerization of acrylonitrile and ethyl acrylate from their binary mixtures. Carbohyd. Polym. 87 (1): 500-511, 2012.

Sneha, M., Sundaram, N. M., Preparation and characterization of an iron oxide-hydroxyapatite nanocomposite for potential bone cancer therapy. Int. J. Nanomedicine. 10:(Suppl 1), 99, 2015.

Somanathan, T., Krishna, V. M., Saravanan, V., Kumar, R., Kumar, R., MgO nanoparticles for effective uptake and release of doxorubicin drug: pH sensitive controlled drug release. J. Nanosci. Nanotechnol. 16 (9): 9421-9431, 2016.

Song, H., Wang, C., Zhang, H., Yao, L., Zhang, J., Gao, R., Tang, Y., A high-loading drug delivery system based on magnetic nanomaterials modified by hyperbranched phenylboronic acid for tumor-targeting treatment with pH response. Colloids Surf. B. 182, 110375, 2019.

Sonker, N., Bajpai, J., Bajpai, A., Magnetically responsive release of 5-FU from superparamagnetic egg albumin coated iron oxide core-shell nanoparticles. J Drug Deliv Sci Technol. 47, 240-253, 2018.

Spanakis, M., Bouropoulos, N., Theodoropoulos, D., Sygellou, L., Ewart, S., Moschovi, A. M., Fatouros, D. G., Controlled release of 5-fluorouracil from microporous zeolites. Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine. 10 (1): 197-205, 2014.

Sundar, S., Mariappan, R., Piraman, S., Synthesis and characterization of amine modified magnetite nanoparticles as carriers of curcumin-anticancer drug. Powder Technol. 266, 321-328, 2014.

Sundaresan, V., Menon, J. U., Rahimi, M., Nguyen, K. T., Wadajkar, A. S., Dual-responsive polymer-coated iron oxide nanoparticles for drug delivery and imaging applications. Int. J. Pharm. 466 (1-2): 1-7, 2014.

Sutani, K., Kaetsu, I., Uchida, K., Matsubara, Y., Stimulus responsive drug release from polymer gel. Controlled release of ionic drug from polyampholyte gel. Radiat. Phys. Chem. 64 (4): 331-336, 2002.

Suzuki, A., Tanaka, T., Phase transition in polymer gels induced by visible light. Nature, 346 (6282): 345-347, 1990.

Takamatsu, S., Tosa, T., Production of L-alanine and D-aspartic acid. Bioprocess Technology. 16, 25, 1993.

Tandya, A., Mammucari, R., Dehghani, F., Foster, N. R., Dense gas processing of polymeric controlled release formulations. Int. J. Pharm. 328 (1): 1-11, 2007.

Taniguchi, N., On the Basic Concept of Nanotechnology. Proceedings of the International Conference on Production Engineering, Tokyo, 18-23, 1974.

Thomas, M., Gajda, M., Amiri Naini, C., Franzka, S., Ulbricht, M., Hartmann, N., Poly (N, N-dimethylaminoethyl methacrylate) brushes: pH-dependent switching kinetics of a surface-grafted thermoresponsive polyelectrolyte. Langmuir, 31 (49): 13426-13432, 2015.

Tian, H. Y., Yan, J. J., Wang, D., Gu, C., You, Y. Z., Chen, X. S., Synthesis of Thermo-Responsive Polymers With Both Tunable UCST and LCST. Macromol. Rapid Commun. 32 (8): 660-664, 2011.

Titaux, G. A., Contreras-Garcia, A., Bucio, E., Surface modification by gamma-ray-induced grafting of PDMAEMA/PEGMEMA onto PE films. Radiat. Phys. Chem. 78 (7-8): 485-488, 2009.

Toumey, C. P., Reading Feynman into nanotechnology: A text for a new science. Techné: Research in Philosophy and Technology. 12 (3): 133-168, 2008.

Tucker, B. S., Getchell, S. G., Hill, M. R., Sumerlin, B. S., Facile synthesis of drug-conjugated PHPMA core-crosslinked star polymers. Polym. Chem. 6 (23): 4258-4263, 2015.

Tucker, B. S., Sumerlin, B. S., Poly(N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide)-based nanotherapeutics. Polym. Chem. 5 (5): 1566-1572, 2014.

Türk, M., Rzayev, Z. M., Khalilova, S. A., Bioengineering functional copolymers. XIV. Synthesis and interaction of poly (N-isopropylacrylamide-co-3, 4-dihydro-2H-pyran-alt-maleic anhydride) s with SCLC cancer cells. Bioorg. Med. Chem. 18 (22): 7975-7984, 2010.

Tüylek, Z., İlaç Taşıyıcı Sistemler ve Nanoteknolojik Etkileşim. (Drug Delivery Systems and Nanotechnological Interaction). Bozok Tıp Dergisi. 7 (3): 89-98, 2017.

Tüylek, Z., İlaç Taşıyıcı Nanosistemler. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. 28 (3): 184-192. 2019a.

Tüylek, Z. Sağlık Alanında Kullanılan Akıllı Polimerler. İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi. 7 (1): 81-95, 2019b.

Uhrich, K. E., Cannizzaro, S. M., Langer, R. S., Shakesheff, K. M., Polymeric systems for controlled drug release. Chem. Rev. 99 (11): 3181-3198, 1999.

Ulbrich, K., Hola, K., Subr, V., Bakandritsos, A., Tucek, J., Zboril, R., Targeted Drug Delivery with Polymers and Magnetic Nanoparticles: Covalent and Noncovalent Approaches, Release Control, and Clinical Studies. Chem. Rev. 116 (9): 5338-5431, 2016.

Van D Wetering, P., Cherng, J.Y., Talsma, H., Crommelin, D.J.A., Hennink, W.E., 2-(dimethylamino)ethyl methacrylate Based (co)polymers as Gene Transfer Agents. J. Control. Release. 53, 145-153, 1998.

Van de Velde, F., Knutsen, S. H., Usov, A. I., Rollema, H. S., Cerezo, A. S., H-1 and C-13 high resolution NMR spectroscopy of carrageenans: application in research and industry. Trends Food Sci. Tech. 13 (3): 73-92, 2002.

Van de Velde, F., Lourenço, N. D., Pinheiro, H. M., Bakker, M., Carrageenan: A food-grade and biocompatible support for immobilisation techniques. Adv. Synth. Catal. 344 (8): 815-835, 2002.

Vuong, T. K. O., Le, T. L., Pham, D. V., Pham, H. N., Le Ngo, T. H., Do, H. M., Nguyen, X. P., Synthesis of high-magnetization and monodisperse Fe_3O_4 nanoparticles via thermal decomposition. Mater. Chem. Phys. 163, 537-544, 2015.

Wan, J., Cai, W., Meng, X., Liu, E., Monodisperse water-soluble magnetite nanoparticles prepared by polyol process for high-performance magnetic resonance imaging. Chem. Comm. 47, 5004-5006, 2007.

Wang, D., Kopeckova, P., Minko, T., Nanayakkara, V., Kopecek, J., Synthesis of starlike N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymers: Potential drug carriers. Biomacromolecules. 1 (3): 313-319, 2000.

Wang, G., Chen, G., Wei, Z., Dong, X., Qi, M., Multifunctional Fe_3O_4/graphene oxide nanocomposites for magnetic resonance imaging and drug delivery. Mater. Chem. Phys. 141 (2-3): 997-1004, 2013.

Weaver, L. G., Stockmann, R., Postma, A., Thang, S. H., Multi-responsive (diethylene glycol) methyl ether methacrylate (DEGMA)-based copolymer systems. Rsc Adv. 6 (93): 90923-90933, 2016.

Wempen, I., Duschinsky, R., Kaplan, L., Fox, J. J., Thiation of Nucleosides. IV. The Synthesis of 5-Fluoro-2'-deoxycytidine and Related Compounds1, 2. J. Am. Chem. Soc. 83 (23): 4755-4766, 1961.

Xiao, C., Ding, J., Ma, L., Yang, C., Zhuang, X., Chen, X., Synthesis of thermal and oxidation dual responsive polymers for reactive oxygen species (ROS)-triggered drug release. Polym. Chem. 6 (5): 738-747, 2015.

Y. Yalaz., pH Duyarlı Lateksilerin Sentezi Ve Florometrik Karakterizasyonu . Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2006.

Yadav, M., Sand, A., Mishra, M. M., Tripathy, J., Pandey, V. S., Behari, K., Synthesis, characterization and applications of graft copolymer (kappa-carrageenan-g-vinylsulfonic acid). Int. J. Biol. Macromol. 50 (3): 826-832, 2012.

Yakıcı, Z. D., Süperiletkenlik ve Manyetik Rezonan Cihazı. İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi, 1 (2): 1-6, 2013.

Yan, J. K., Qiu, W. Y., Wang, Y. Y., Wu, L. X., Cheung, P. C. K., Formation and characterization of polyelectrolyte complex synthesized by chitosan and carboxylic curdlan for 5-fluorouracil delivery. Int. J. Biol. Macromol. 107, 397-405, 2018.

Yan, Z., Li, X., Fan, Q., Bai, H., Wu, S., Zhang, Z.-F., Pan, L., A water-stable and biofriendly Zn-MOF with pyrazine decorated pores as 5-Fu delivery system to induce human ovarian cancer cells apoptosis and abrogate their growth. J. Mol. Struct. 1204, 127477, 2020.

Yanfeng, C., Min, Y., Swelling kinetics and stimuli-responsiveness of poly (DMAEMA) hydrogels prepared by UV-irradiation. Radiat. Phys. Chem. 61 (1): 65-68, 2001.

Yang, J. H., Ramaraj, B., Yoon, K. R., Preparation and characterization of superparamagnetic graphene oxide nanohybrids anchored with Fe_3O_4 nanoparticles. J. Alloys Compd. 583, 128-133, 2014.

Yang, X., Zhang, X., Liu, Z., Ma, Y., Huang, Y., Chen, Y., High-efficiency loading and controlled release of doxorubicin hydrochloride on graphene oxide. J. Phys. Chem. C. 112 (45): 17554-17558, 2008a.

Yang, X. Q., Chen, Y. H., Yuan, R. X., Chen, G. H., Blanco, E., Gao, J. M., Shuai, X. T. Folate-encoded and Fe_3O_4-loaded polymeric micelles for dual targeting of cancer cells. Polymer. 49 (16): 3477-3485, 2008b.

Yao, X. C., Kou, X. C., Qiu, J., Generation mechanism of negative dielectric properties of nano-Fe_3O_4/PANI composites. Mater. Chem. Phys. 208, 177-182, 2018.

Yi, J., Xu, Q. X., Zhang, X. F., Zhang, H. L., Temperature-induced chiral nematic phase changes of suspensions of poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate)-grafted cellulose nanocrystals. Cellulose. 16 (6): 989-997, 2009.

Yildirim, E., Çimen, D., Zengin, A., Çaykara, T., Synthesis of poly(N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide) brushes by interface-mediated RAFT polymerization. Rsc Adv. 6 (51): 45259-45264, 2016.

Yin, T., Huang, P., Gao, G., Shapter, J. G., Shen, Y., Sun, R., Zhou, S., Superparamagnetic Fe_3O_4-PEG2K-FA@Ce6 nanoprobes for in vivo dual-mode imaging and targeted photodynamic therapy. Sci. Rep. 6, 36187, 2016.

Yoshida, R., Uchida, K., Kaneko, Y., Sakai, K., Kikuchi, A., Sakurai, Y., Okano, T., Comb-type grafted hydrogels with rapid deswelling response to temperature changes. Nature. 374 (6519): 240-242, 1995.

Yuk, S. H., Cho, S.H., Lee, S.H., pH/Temperature-Responsive Polymer Composed on Poly((N,N-dimethylamino)ethyl methacrylate-coethylacrylamide). Macromolecules. 30, 6856-6859, 1997.

Zaheri H.M., Javanshir, S., Hemmati, B., Dolatkhah, Z., Fardpour, M., Magnetic core–shell Carrageenan moss/Fe_3O_4: a polysaccharide-based metallic

nanoparticles for synthesis of pyrimidinone derivatives via Biginelli reaction. Chem. Cent. J. 12 (108): 1-11, 2018.

Zhang, A., Jung, K., Li, A., Liu, J., Boyer, C., Recent advances in stimuli-responsive polymer systems for remotely controlled drug release. Prog. Polym. Sci. 99, 101164, 2019.

Zhang, B. M., Yang, X. Y., Wang, Y., Zhai, G. X., Heparin modified graphene oxide for pH-sensitive sustained release of doxorubicin hydrochloride. Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications. 75, 198-206, 2017.

Zhang, C., Maric, M., Synthesis of stimuli-responsive, water-soluble poly [2-(dimethylamino) ethyl methacrylate/styrene] statistical copolymers by nitroxide mediated polymerization. Polymers. 3 (3): 1398-1422, 2011.

Zhang, J., Wang, Q., Wang, A., In situ generation of sodium alginate/hydroxyapatite nanocomposite beads as drug-controlled release matrices. Acta Biomater. 6 (2): 445-454, 2010.

Zhang, J., Yu, D., Chen, W., Xie, Y., Wan, W., Liang, H., Min, C., Preparation of poly (styrene–glucidylmethacrylate)/Fe_3O_4 composite microspheres with high magnetite contents. J. Magn. Magn. Mater. 321 (6): 572-577, 2009.

Zhang, L., Gu, F., Chan, J., Wang, A., Langer, R., Farokhzad, O., Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments. Clin. Pharmacol. Ther. 83 (5): 761-769, 2008.

Zhang, Y., Xiao, C., Ding, J., Li, M., Chen, X., Tang, Z., Chen, X., A comparative study of linear, Y-shaped and linear-dendritic methoxy poly (ethylene glycol)-block-polyamidoamine-block-poly (l-glutamic acid) block copolymers for doxorubicin delivery in vitro and in vivo. Acta Biomater. 40, 243-253, 2016.

Zhao, J., Zhang, Z., Wang, X., Fabrication of pH-responsive PAA-NaMnF3@DOX hybrid nanostructures for magnetic resonance imaging and drug delivery. J. Alloys Compd. 820, 153142, 2020.

Zhao, L., Sun, J., Zhao, Y. H., Xu, L., Zhai, M. L., Removal of hazardous metal ions from wastewater by radiation synthesized silica-graft-dimethylaminoethyl methacrylate adsorbent. Chem. Eng. Trans. 170 (1): 162-169, 2011.

Zhou, W., Hu, X., Bai, X., Zhou, S., Sun, C., Yan, J., Chen, P., Synthesis and electromagnetic, microwave absorbing properties of core–shell Fe_3O_4–poly (3, 4-ethylenedioxythiophene) microspheres. ACS Appl. Mater. Inter. 3 (10): 3839-3845, 2011.

Zhu, M., Li, X., Ge, L., Zi, Y., Qi, M., Li, Y., Mu, C., Green synthesis of κ-carrageenan@ Ag submicron-particles with high aqueous stability, robust antibacterial activity and low cytotoxicity. Mater. Sci. Eng. C. 106, 110185, 2020.

Zielinska, D., Stawski, D., Komisarczyk, A., Producing a poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate) nonwoven by using the blowing out method. Text. Res. J. 86 (17): 1837-1846, 2016.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gülcan Geyik

Doğum Tarihi : 1986

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu

Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitsi (2009)

Yüksek Lisans : Kırıkkale Üniversitesi (2011)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl/Yıllar

: Hitit Üniversitesi (2014-Halen)

Yayınları (SCI) :

- Işıklan, N., Geyik, G., Microwave induced synthesis of alginate graft poly N isopropylacrylamide and drug release properties of dual pH and temperature responsive beads, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 82 (2): 316-331, 2012.

- Işıklan, N., Geyik, G., Synthesis and characterization of pH and temperature sensitive materials based on alginate and poly N isopropylacrylamide acrylic acid for drug delivery. Polym. Bull. 73(5): 1321-1342, 2016.

- Geyik, G., Işıklan, N., Synthesis, characterization and swelling performance of a temperature/pH-sensitive κ-carrageenan graft copolymer. Int. J. Biol. Macromol. 152, 359-370, 2020.

- Geyik, G., Işıklan, N., pH/temperature-responsive poly(dimethylaminoethyl methacrylate) grafted κ-carrageenan copolymer: Synthesis and physicochemical properties. J. Appl. Polym. Sci. 137 (48): 49596, 2020.

Ulusararası bilimsel toplantılarda sunulan bildiriler :

- Işıklan, N., Geyik, G., Synthesis and Characterization of Stimuli-Responsive Materials Based on Alginate, Poly(N-Isopropylacrylamide-co-Acrylic Acid) for Drug Delivery Applications, 1st International Society for Biomedical Polymers and Polymeric Biomaterials Annual Conference Exposition, 2014.
- Geyik, G., Işıklan, N., Mikrodalgada κ-Karagenan-aşı- poli(2-Dimetilaminoetil metakrilat) Kopolimerinin Sentezi ve Yapısının Aydınlatılması, 1st International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 2018.
- Geyik, G., Işıklan, N., Mikrodalgada κ-Karagenan-aşı-P(DMAEMA/AA) Kopolimerinin Sentezi ve Karakterizasyonu, 1st International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 2018.
- Geyik, G., Işıklan, N., Microwave assisted synthesis of 2-dimethylaminoethyl methacrylate grafted κ-carrageenan optimization of grafting parameters and swelling characteristics, 3rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2020), 2020.
- Geyik, G., Işıklan, N., Temperature/pH responsive of κ-carrageenan-graft-poly(2-dimethylaminoethyl methacrylate/acrylic acid) copolymers synthesis and swelling behavior, 3rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem 2020), 2020.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan bildiriler :

- Işıklan, N., Geyik, G., Mikrodalga Destekli Sıcaklığa Duyarlı NaAlg-g-PNIPAAM Kopolimerlerinin Sentezi ve Yapılarının Aydınlatılması, 4. Ulusal Polimer Bilim ve Teknolojisi Kongresi ve Sergisi, 2012.
- Işıklan, N., Geyik, G., pH ve Sıcaklık Duyarlı NaAlg-g-PNIPAAM Kürelerinin Hazırlanması Yapılarının Aydınlatılması ve Kontrollü İlaç Salımında Kullanımı, 4. Ulusal Polimer Bilim ve Teknolojisi Kongresi ve Sergisi, 2012.

Araştırma Alanları:

Biyopolimerler, Akıllı Kopolimerler ve Uygulama Alanları, Kontrollü İlaç Salımı, Termokimya