T.C

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MANYETİK NANOKOMPOZİTLERİN SENTEZLENMESİ, KARAKTERİZE EDİLMESİ, ANTİ-KANSER İLAÇ YÜKLENMESİ VE KEMOTERAPİ AJANI OLARAK SİTOTOKSİSİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tuba TARHAN

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

Mart- 2017

T.C

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

Tuba TARHAN tarafından yapılan "Manyetik Nanokompozitlerin Sentezlenmesi, Karakterize Edilmesi, Anti-Kanser İlaç Yüklenmesi ve Kemoterapi Ajanı Olarak Sitotoksisitelerinin Araştırılması" konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

Ünvanı	Adı Soyadı
Başkan: Prof. Dr.	Bilsen TURAL
Üye : Prof. Dr.	Mustafa CULHA
Üye : Prof. Dr.	Giray TOPAL
Üye : Prof. Dr.	Birol OTLUDİL
Üye : Doç. Dr.	Mustafa EMRULLAHOĞLU

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 31/03/2017

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../201..

Doç.Dr. Sevtap SÜMER EKER

ENSTİTÜ MÜDÜR V.

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Bu Doktora tez çalışması Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Estitüsü Kimya Anabilim Dalı Programında gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, karşılaştığımız sorunlar karşısında her zaman yol gösteren, bu süreçte desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilimsel çalışmalarımı gerçekleştirebilmem için her türlü olanağı sağlayan, değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Bilsen TURAL'a, çalışmalarım süresince, bilgi, deneyim ve değerlendirmelerini benimle paylaşan değerli hocam, Sayın Prof. Dr. Sevet TURAL'a, bu tez kapsamında hücre kültürü ve sitotoksisite deneylerinin yürütülebilmesi için her türlü olanağı sağlayan Yeditepe Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü öğretim üyesi değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa ÇULHA ve ekibine, özellikle çalışma boyunca emeğini ve özverisini esirgemeyen değerli arkadaşım Mine ALTUNBEK'e içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez yazım aşamasında teknik bilgilerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Sayın Erdal ERTAŞ, Sayın Yrd. Doç. Dr. Veysi KIZMAZ ve Sayın Yrd. Doç. Dr. M. Şakir Ece'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca istatistik analizlerimde bana yardımcı olan, bilgisini ve sabrını esirgemeyip değerli zamanını bana ayıran sevgili arkadaşım Sayın Okt. Nigah BAYSAL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ve tabi ki, bu zorlu ve yorucu çalışma sürecinde göstermiş oldukları özveri ve hassasiyetlerinden ötürü, her zaman destekleri ve varlıkları ile beni mutlu eden en değerli varlığım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmalarımı desteklemesinden dolayı (Proje no: ZGEF. 16.008) Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

		Sayfa
TEŞEKKÜR.....		**I**
İÇİNDEKİLER.....		**II**
ÖZET.....		**VI**
ABSTRACT.....		**VIII**
TABLO LİSTESİ.....		**X**
ŞEKİL LİSTESİ.....		**XII**
EK LİSTESİ.....		**XXIII**
KISATLMA VE SİMGELER.....		**XXX**
1.	**Giriş**.....	**1**
1.1.	Nanoteknoloji ve Nanopartiküller.....	1
1.2.	Nanopartiküllerin Kullanım Alanları.....	3
1.3.	Nanopartiküllerin Avantaj ve Dezavantajları.....	4
1.4.	Manyetik Partiküller.....	5
1.4.1.	Ferroakışkanlar.....	5
1.4.2.	Manyetik Nanopartiküller.....	6
1.4.3.	Demir Oksit Nanoparçacıklarına Genel Bakış.....	7
1.4.4.	Demir Oksit Nanoparçacıkların Özellikleri.....	8
1.4.4.1.	Paramanyetizma.....	9
1.4.4.2.	Süperparamanyetizma.....	10
1.4.4.3.	Diyamanyetizma.....	12
1.4.4.4.	Ferromanyetizma.....	13
1.5.	Biyouyumluluk ve MNPs'ın Biyomedikal Uygulamaları.....	14
1.6	Kararlılık.....	15
1.7.	MNPs ve Toksisite.....	17
1.8.	Manyetik Nanoparçacıkların Atılımı.....	18
1.9.	MNPs'ın Polimer ile Kaplanmasının Önemi ve Gerekliliği.....	19

1.10. MNPs'ın Sentezi…… 23

1.10.1. Birlikte Çöktürme Metodu…… 23

1.10.2. Termal Ayrışma Metodu……... 25

1.10.3. Hidrotermal Metod…… 26

1.10.4. Mikroemülsiyon Metodu…….. 27

1.11. Karboksilik Asit Fonksiyonlaştırılmış Ligandların Varlığında Demir Oksit Nanoparçacıkların Sentezi…… 29

1.12. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI) Kontrast Ajanları……. 30

1.13. Manyetik Ayırma……..... 31

1.14. Manyetik Hipertermi……. 31

1.15. Kanser Biyolojisi ve Tedavisi…….. 32

1.16. Kanser Tedavisinde Kullanılan Yöntemler……... 38

1.16.1. Cerrahi Müdahale……..... 39

1.16.2. Radyoterapi……... 39

1.16.3. Kemoterapi…… 40

1.16.4. Modern Tedavi Yöntemleri…….. 41

1.17. İlaç Dağılımı ve Nanoteknoloji…… 43

1.18. Manyetik Hedefleme…… 44

1.19. Kontrollü İlaç Salımı Nedir?..... 48

1.20. İlaçların Salım Mekanizmaları……..... 50

1.20.1. Difüzyon Kontrollü Sistemler…….. 50

1.20.2. Su-Geçiş Kontrollü Sistemler……... 51

1.20.3. Kimyasal Kontrollü Sistemler……... 51

1.20.4. Diğer Sistemler……. 52

1.21. Kontrollü Salım Sistemlerinin Sakıncaları ……... 53

1.22. Kontrollü Salım Sistemlerinin Sağladığı Yararlar…… 54

1.23. Kontrollü Salım Sistemlerinin Diğer Kullanım Alanları……..... 54

1.24. Gelecekte Kontrollü Salım Sistemleri……... 55

1.25. Nanobiyoteknolojinin İlaç Salınımına Etkisi…… 55

1.26. Topotekan……..... 56

1.27. Topotekan Kullanımı ile Görülen Yan Etkiler……..... 58

2. KAYNAK ÖZETLERİ……... **61**

3. MATERYAL ve METOT……..... **93**

3.1. Materyal…… 93

3.2. Numunelerin Karakterizasyonunda Kullanılan Teknikler…… 94

3.3. Metot……..... 94

3.3.1. Fe_3O_4 (magnetit) Nanoparçacıkaların Sentezi……. 95

3.3.2. Dekstran Kaplı Manyetik Nanoparçacık (MD_1) Sentezi……... 96

3.3.3. O-Karboksimetil Dekstran Kaplı Manyetik Nanoparçacık (MD_2) Sentezi…… 97

3.3.4. NαNα-Bis (Karboksimetil)-L-Lisin Hidrat (NTA) ile Dallanmış Karboksimetil Dekstran (MD_3) Sentezi…… 98

3.3.5. Kitosan Kaplı Manyetik Nanoparçacık sentezi (MC_1)……. 99

3.3.6. O-Karboksimetil Kitosan Kaplı Manyetik Nanoparçacık Sentezi (MC_2)……..... 100

3.3.7. NαNα-Bis (Karboksimetil)-L-Lisin Hidrat (NTA) ile Dallanmış Karboksimetil Kitosan (MC_3) Sentezi…….. 101

3.4. Tampon Çözeltiler ve Stok Çözeltilerin Hazırlanması……..... 103

3.4.1. Topotekan Stok Çözeltilerinin Hazırlanması…… 103

3.4.2. Kalibrasyon Grafikleri için Standart Çözeltilerin Hazırlanması……... 103

3.4.3. Fosfat Tamponunun Hazırlanması…… 105

3.4.4. Trietil Amin Asetat Tamponunun Hazırlanması……... 106

3.4.5. MES Tamponunun Hazırlanması…….. 106

3.4.6. Nano-kompozitlere Topotekan (TPT) Yükleme Çalışmaları…… 106

3.4.6.1. Ortamın pH Değerinin ve İlaç-Yüzey Etkileşim Süresinin İlaç Yükleme Verimliliğine Etkisi……... 106

3.4.6.2. Kompozit Miktarının İlaç Yükleme Verimliliğine Etkisi……..... 107

3.4.6.3. TPT Konsantrasyonun Yükleme Verimi Üzerine Etkisi……... 107

3.4.7. İlaç Salınım Çalışmaları…….. 107

3.4.8. Sitotoksisite Çalışmaları…….. 108

3.4.8.1. Hücre kültürü ve Sitotoksisite Belirlenmesi……. 108

4. BULGULAR ve TARTIŞMA……. **111**

4.1. Karakterizasyonlar……. 111

4.1.1. FTIR Karakterizasyonları…….. 111

4.1.2. TEM Karakterizasyonları…….. 117

4.1.3. DLS Karakterizayonları ve Zeta Potansiyel Değerleri…….. 125

4.1.4. SEM Karakterizasyonları…….. 130

4.1.5. EDX Sonuçları…….. 136

4.1.6. VSM Karakterizasyonları…….. 142

4.1.7. XPS Karakterizasyonları……... 148

4.1.8. Nanokompozitlere Topotekan Yükleme Çalışmalarının Sonuçları……... 167

4.1.8.1. Optimum pH Değerinin Belirlenmesi……... 167

4.1.8.2. Nanokompozit Doz Belirleme Çalışmaları…… 174

4.1.8.3. TPT Konsantrasyonunun İlaç Yükleme Verimi Üzerine Etkisini Belirlemede Yapılan Çalışmanın Sonuçları……... 177

4.1.8.4. İlaç Salınım Çalışmalarının Sonuçları……... 180

4.1.9. Sitotoksisite Sonuçları…… 194

5. SONUÇ ve ÖNERİLER…….. **229**

6. KAYNAKLAR……. **235**

EKLER…… ……. ….. …… 261

ÖZGEÇMİŞ…….. 290

ÖZET

MANYETİK NANOKOMPOZİTLERİN SENTEZLENMESİ, KARAKTERİZE EDİLMESİ, ANTİ-KANSER İLAÇ YÜKLENMESİ VE KEMOTERAPİ AJANI OLARAK SİTOTOKSİSİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

TUBA TARHAN

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

2017

Günümüzde kanser kemoterapisinin en önemli sorunlarından biri, kullanılan anti-kanser ilaçlarının kanserli hücreyi ayırt edici özelliğe sahip olmamaları ve yan etki olarak sağlıklı hücrelerin üzerinde de toksik etki göstermeleridir. Bu problemlere çözüm bulmak amacı ile kontrollü ilaç salım sistemleri üzerine yapılan çalışmalar artmıştır. Nanoboyuttaki kontrollü ilaç taşıma sistemleri tümör hedeflenmesine olanak sağlamıştır. Nanotaşıyıcılar arasından, biyouyumlu polimer kaplı süperparamanyetik nanoparçacıklar dışardan uygulanan manyetik alan ile istenilen bölgeye hedeflenebilme özelliklerine sahiptirler. Bu sayede ilaç hedeflenen bölgeye güvenli bir şekilde taşınabilmektedir.

Bu çalışmanın amacı; sözü edilen terapötik ajanları taşımaya elverişli, biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere uygun boyutta, şekilde, manyetik ve kimyasal özelliklere sahip, manyetik hedeflendirme yapılabilen, ilaç yükleme verimi yüksek, karboksil grupları ile dallanmış polimerik materyallerin sentezlenmesi, karakterize edilmesi, ilaç yükleme ve salınım çalışmalarında kullanılması amaçlanmıştır. Ayrıca Topotekan yüklü dallanmış manyetik malzemeler, insan prostat kanser hücresi (Du145) ve insan sağlıklı prostat hücresi (PNT1A) hattına uygulanarak sitotoksisite özelliklerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Biyouyumlu ve biyobozunur polimer olarak kitosan ve dekstran kullanılmıştır. Ayrıca bu polimerlerin farklı türevleri sentezlenip, FTIR, TEM, SEM, EDX, DLS, XPS ve VSM ile karakterizasyonları yapılmıştır. Topotekan anti-kanser ilacının, hazırlanıp karakterize edilmiş altı farklı nanokompozite yükleme koşulları ve ilaç yükleme verimi çalışılmıştır. Buna göre pH 5 bu çalışma için optimum değer olup, ilaç yükleme verimi % 32.2 ile % 54.6 arası çalışılan nanokompozite göre değişiklik göstermiştir. İlaç yüklü nanokompozitler ile salınım çalışmaları yapılmıştır. Her bir nanokompozit için dört farklı pH değerinde salınım çalışılmıştır. En iyi salınımın kanserli bölge pH'ında elde edildiği görülmüştür. Ayrıca ilaç yüklü nanokompozitlerin Du145 ve PNT1A hücre hatları üzerinde sitotoksisite etkileri araştırılmış olup, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Özellikle topotekan yüklü manyetik

kitosan (TMC_1) nanokompoziti ile yapılan sitotoksisite çalışmasında kanserli hücre canlılığını % 14'e kadar düşürmüş olduğu görülmüştür.

Elde edilen sonuçlar, biyouyumlu ve biyobozunur manyetik nanokompozitlerin istenilen boyutta ve süperparamanyetik özellikte oldukları ve sağlıklı hücreler üzerinde özellikle düşük konsantrasyonlarda toksik etkilerinin olmadığı, kanser hücreleri üzerinde ise özellikle ilaç yüklü nanokompozitlerin ciddi anlamda toksik etki gösterdiği ve kanserli hücre ölümlerine yol açtığı görülmüştür. Ayrıca sonuçlar istatistiksel verilerle kanıtlanmıştır. Bu özellikleri ile sentezlenmiş olan polimer kaplı süperparamanyetik nanokompozitlerin ilaç hedefleme çalışmalarında kullanılabilecekleri gösterilmiş olup, ileride yapılacak olan bu tür çalışmalara katkı sağlayacağı umulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Anti-Kanser İlaç Hedeflemesi, Polimer Kaplı Süperparamanyetik Nanokompozit, Topotekan, Sitotoksisite, DU145 ve PNT1A

ABSTRACT

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND ANTI-CANCER DRUG LOADING ON MAGNETIC NANOCOMPOSITES AND INVESTIGATION OF CYTOTOXICIDES AS CHEMOTHERAPY AGENTS

PhD THESIS

TUBA TARHAN

DEPARTMENT OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF DICLE

2017

One of the most important problems of today cancer chemotherapy is that the anti-cancer drugs used do not have the distinguishing feature of cancer cells and they have toxic effects on healthy cells as a side effect. Studies on controlled drug release systems have increased with the aim of finding solutions to these problems. Controlled drug delivery systems at the nanoscale enable tumor targeting. Among the nanocarriers, biopolymer coated superparamagnetic nanoparticles have the ability to target at the desired region with an externally applied magnetic field. In this way, the drug can be safely delivery to the targeted area.

The purpose of this study is, suitable for carrying the mentioned therapeutic agents, to have suitable magnetic, chemical and physical properties for use in biomedical applications, magnetic targeting, drug loading efficiency, synthesis and characterization of branched polymeric materials with carboxyl groups, drug loading and release studies. It was also aimed to investigate cytotoxicity properties on human prostate cancer cell (Du145) and human healthy prostate cell (PNT1A) line by applying topotecan-loaded branched magnetic materials.

Biocompatible and biodegradable polymers are used as Chitosan and Dextran. In addition, different derivatives of these polymers were synthesized and characterized by FTIR, TEM, SEM, EDX, DLS, XPS and VSM. Six different nanocomposites were prepared and characterized and with these nanocomposites drug loading conditions and drug loading efficiency was studied for the topotecan anti-cancer drug. Accordingly, pH 5 was the optimum value for this study, and the drug loading yield varied from 32.2% to 54.6% depending on the nanocomposite run. Release studies were performed with drug loaded nanocomposites for each nanocomposite. Release was performed at four different pH values. It has been shown that the best release is obtained at the cancerous site pH. In addition, cytotoxicity effects of drug loaded nanocomposites on Du145 and PNT1A cell lines were investigated and the results were found to be statistically significant. In particular, cytotoxicity studies with topotecan loaded magnetic chitosan (TMC_1) nanocomposite have shown cell viability to be reduced by up to 14 %.

Showed the results obtained that biocompatible and biodegradable magnetic nanocomposites were of the desired size and superparamagnetism, and that they did not have toxic effects especially at low concentrations on healthy cells, especially drug-loaded nanocomposites, had serious toxic effects on cancer cells and they were caused cancer-causing cell death. The results are also proven statistically. It has been shown that synthesized polymer

coated superparamagnetic nanocomposites with these properties can be used in drug targeting studies and it is hoped that this type of work will contribute to future studies.

Key Words: Anti-Cancer Drug Targeting, Polymer Coated Superparamagnetic Nanocomposite, Topotecan, Cytotoxicity, DU145 ve PNT1A.

TABLO LİSTESİ

Tablo No		Sayfa
Tablo 4.1.	MD_1 ile her bir etkileşim süresi sonunda ortamda kalan Lakton ve Karboksilat formların konsantrasyonu ile Tutunan ilaç konsantrasyonu ve Tutunan mg/g ilaç miktarını gösteren tablo	192
Tablo 4.2.	MD_1 nanokompoziti için her pH değerinde Tutunan ilaç konsantrasyonu ile % ilaç yükleme verimini gösteren tablo	193
Tablo 4.3.	MD_2 ile her bir etkileşim süresi sonunda ortamda kalan Lakton ve Karboksilat formların konsantrasyonu ile Tutunan ilaç konsantrasyonu ve Tutunan mg/g ilaç miktarını gösteren tablo	194
Tablo 4.4.	MD_2 nanokompoziti için her pH değerinde Tutunan ilaç konsantrasyonu ile % ilaç yükleme verimini gösteren tablo	195
Tablo 4.5.	MD_3 ile her bir etkileşim süresi sonunda ortamda kalan Lakton ve Karboksilat formların konsantrasyonu ile Tutunan ilaç konsantrasyonu ve Tutunan mg/g ilaç miktarını gösteren tablo	196
Tablo 4.6.	MD_3 nanokompoziti için her pH değerinde Tutunan ilaç konsantrasyonu ile % ilaç yükleme verimini gösteren tablo	197
Tablo 4.7.	MC_1 ile her bir etkileşim süresi sonunda ortamda kalan Lakton ve Karboksilat formların konsantrasyonu ile Tutunan ilaç konsantrasyonu ve Tutunan mg/g ilaç miktarını gösteren tablo	198
Tablo 4.8.	MC_1 nanokompoziti için her pH değerinde Tutunan ilaç konsantrasyonu ile % ilaç yükleme verimini gösteren tablo	199
Tablo 4.9.	MC_2 ile her bir etkileşim süresi sonunda ortamda kalan Lakton ve Karboksilat formların konsantrasyonu ile Tutunan ilaç konsantrasyonu ve Tutunan mg/g ilaç miktarını gösteren tablo	200
Tablo 4.10.	MC_3 nanokompoziti için her pH değerinde Tutunan ilaç konsantrasyonu ile % ilaç yükleme verimini gösteren tablo	201
Tablo 4.11.	MC_3 ile her bir etkileşim süresi sonunda ortamda kalan Lakton ve Karboksilat formların konsantrasyonu ile Tutunan ilaç konsantrasyonu ve Tutunan mg/g ilaç miktarını gösteren tablo	202
Tablo 4.12.	MC_3 nanokompoziti için her pH değerinde Tutunan ilaç konsantrasyonu ile % ilaç yükleme verimini gösteren tablo	203
Tablo 4.13.	MD_1,MD_2 ve MD_3 nanokompozitleri için pH'a bağlı % salınan ilacı gösteren tablo	218
Tablo 4.14.	MC_1, MC_2 ve MC_3 nanokompozitleri için pH'a bağlı % salınan ilacı gösteren tablo	227

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.1.	Manyetik ilaç taşıma ve salınımının şematik gösterimi	2
Şekil 1.2.	Nanopartiküllerin doğası ve sahip olabileceği özellikler	3
Şekil 1.3.	Farklı tür materyallerin bireysel atomik manyetik momentlerinin hizalanması	9
Şekil 1.4.	Paramanyetik maddelere dış manyetik alan uygulandığında manyetizasyondaki değişimi (a), sıcaklığa bağlı alınganlık (b) ve ters alınganlığın (c) değişimini gösteren grafikler	10
Şekil 1.5.	Boyuta bağlı davranış. Boyut ile manyetik nanoparçacıkların koersivite (Ms) değişimi	10
Şekil 1.6.	Manyetik nanoparçacıkların ferromanyetizmadan süperparamanyetizmaya geçişlerindeki enerji diyagramı	11
Şekil 1.7.	Ferromanyetizma, paramanyetizma ve süperparamanyetizmada manyetizasyonun manyetik alana bağlı değişimi Ms: koersivite, Mr: kalıcı manyetizasyon	12
Şekil 1.8.	Diyamanyetik maddelere dış manyetik alan uygulandığında manyetizasyondaki değişim	13
Şekil 1.9.	Ferromanyetik bir madde için (a) histeris eğrisi, (b) mıknatıslanma eğrisi	14
Şekil 1.10.	MNPs'ın yüzeyini kaplayan hidroksil iyonları ve daha sonra bu iyonları dengeleyen (tetrametil amonyum) $N(CH_3)^{4+}$ katyonu ile çözelti ortamında stabile bir şekilde yüklenirler. Bu katyonik atmosfer, partiküller arasındaki itmeye yardımcı olarak Ostwald olgunlaşmasını ve topaklanmayı önler	17
Şekil 1.11.	Şekilde MNPs'ın polimer ile kaplanması ve gizlenmesi görülmektedir	20
Şekil 1.12.	Kitosan'ın gösterimi	21
Şekil 1.13.	Dekstran'ın gösterimi	22
Şekil 1.14.	Oleik asit kaplı MNPs birlikte çöktürme metodu ile hazırlanması	24
Şekil 1.15.	MNPs'ın termal bozunma metodu ile hazırlanmasının şematik gösterimi	25

Şekil 1.16.	Katı-sıvı-çözelti faz transferi ile sentez stratejisi	26
Şekil 1.17.	Mikroemülsiyonlar içindeki nanoparçacık sentezinin şematik gösterimi (a) iki mikroemülsiyonu karıştırarak (b) indirgeyici bir ajan eklenerek ve (c) mikroemülsiyonlardan gaz kabarcığı geçirilerek	28
Şekil 1.18.	Kanser hücrelerinin rastgele ve kontrolsüz büyümesinin ve yayılmasının gösterimi	33
Şekil 1.19.	Manyetik rehber eşliğinde ilaç hedefleme yönteminin şematik gösterimi. Nanoparçacıkların tümör kan damarı duvarlarından gözeneklerden damar dışına sızması (yani artan bir geçirgenlik ve tutma (EPR) etkisi)	36
Şekil 1.20.	Küresel (a) ve elipsoid (b) parçacıkların biyolojik substrat ile etkileşiminin şematik gösterimi	37
Şekil 1.21.	Kanser olgularında hastalığın teşhisi ve tedavisinde izlenen yol	39
Şekil 1.22.	A) Pasif hedefleme ve B) Manyetik hedeflemenin karşılaştırılması	46
Şekil 1.23.	vücudunda manyetik hedeflemenin gösterimi	48
Şekil 1.24.	Kandaki ilacın plazma yoğunluğu – zaman grafiği	49
Şekil 1.25.	Kontrollü salım yapan polimerik sistemlerden etkin madde salım mekanizmaları: 1- Membran sistemi, 2-Matris sistemi, 3- Vücutta aşınan istem, 4-Zincire takılı sistem, 5-Şişme kontrollü sistem, 6-Ozmotik kontrollü sistem	53
Şekil 1.26.	Topotekan'nın hidrolizlenmesi gösterilmiştir	57
Şekil 1.27.	Topotekan'nın etki mekanizması	57
Şekil 1.28.	Topotekan'ın (TPT) Polimer kaplı süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklarına (PCSPIONs) yüklenerek kanserli hücreleri etkisiz hale getirme mekanizmasının gösterimi	58
Şekil 2.1.	Antikanser ilaç olan CPT(Kemptotesin), HCPT(10-hidroksi kemptotesin) ve HCPT-1'in (10-hidroksi kemptotesin-10,20-diisobütildikarbonat) kimyasal yapıları	62
Şekil 2.2.	Şekilde görüldüğü gibi açil karbonu üzerinden gerçekleşen nükleofilik bir atak sonucu CPT'nin lakton halkasının açıldığı varsayılmaktadır. Muhtemelen 20-OH grubunda proton transferi basamaklarından biri veya güçlü bir molekül içi hidrojen bağı aracılığı ile kararlı bir geçiş halinin oluşmasını içermektedir	63
Şekil 2.3.	Dekstran- ilaç konjugatlarında peptitli linkerler ve sitotoksik ilaç molekülünün bağlanması	67

Şekil 2.4.a.	CPT için pH değerine bağlı olarak dönüşüm formu görülmektedir	68
Şekil 2.4.b.	İki aşamalı nano-çöktürme metodunun aşamaları şematize edilmiştir	70
Şekil 2.5.	Hidrofobik olarak modifiye edilmiş glikol kitosan konjugatı (HGC)	72
Şekil 2.6.	T-0128, T-2513, CPT-11, topotecan ve SN-38'in kimyasal yapıları. DS, Glikoz başına karboksimetilat gruplarının sübstitüsyon derecesi; Mw, ağırlıklı ortalama molekül ağırlığı; Mn, numara başına ortalama molekül ağırlığı	73
Şekil 2.7.	Karboksimetil Dekstranın manyetik nanoparçacıklar (CMD-MNPs) ile kaplanması anti- Bovin Serum Albümin (anti-BSA) antikoru ile sarılması ve BSA nümune çözeltisini ortamına salınımı; (a) MNPs ve Dekstranın çöktürme metodu ile dekstran ile kaplanmasının oluşumu; (b) CMD-MNPs oluşumu; (c) anti-BSA antikorun amin gruplarının CMD'nın karboksil grupları ile bağlanmasının oluşumu; (d) NaOH varlığında BSA ve anti-BSA arasındaki birleşme; ve BSA ve anti-BSA antikorun ayrışması	75
Şekil 2.8.	Fe_3O_4 nanoparçacıkları modifiye edilmiş polisakkaritlere CTP yüklenmesinin şematik gösterimi	76
Şekil 2.9.	CPT ve TPT'ın suda çözünen sodyum tuzlarının hidrolizi	77
Şekil 2.10.	Dekstrandan karboksimetil dekstran sentezi	78
Şekil 2.11.	PEG kaplı dendrimerlar için yaklaşımlar. (a) yüzey PEG kaplı ile dendrimerlar, (b) PEG çekirdekli dendrimerlar, (c) dallanma birimi olarak PEG içeren dendrimerlar, (d) ilaç ile konjuge edilmiş PEG kaplı dendrimerlar, ve (e) çeşitli uygulamalar için çok sayıda ligandlara konjuge edilmiş PEG kaplı dendrimerlar	79
Şekil 2.12.	Demir oksit nanoparçacıkların Aminopropil trimetoksisilan ile modifikasyonunu adım adım gösteren dendrimer kaplama prosesi	80
Şekil 2.13.	Kanser terapi ilaçlarnın dağılımı için kullanılan dendrimer yapıları. (1) Poliamidoamin (PAMAM), (2) melamin temelli dendrimer, (3) 2,2 bis(hidroksimetil) propiyonik asit temeli dendrimer, (4) polipropilenimin (PPI), (5) çekirdekte PEG olan gliserol ve suksinik asit temelli dendrimer ve (6) 5- aminolaevulinik asid temelli dendrimer	81
Şekil 2.14.	Polimeik nano-ilaçların temsilinin şematik gösterimi: (a)polimer-ilaç konjugatları; (b) polimer-protein konjugatları; (c)polimer-DNA komplekleri; (d)polimerik miseller; (e)dendrimerlar	85

Şekil 2.15.	Dekstran kaplı manyetik nanoparçacıklarının (MNPs) hazırlanmasını gösteren reaksiyon taslak haritası	86
Şekil 2.16.	Aminlenmiş ve PEG kaplı (SPIONs) içine yüzeyi modifiye edilmiş nişasta kaplı süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıkları (SPIONs)	87
Şekil 3.1.	Fe_3O_4 manyetik nanoparçacıkların birlikte çöktürme metodu ile sentez basamakları	95
Şekil 3.2.	Manyetik Nanoparçacık sentezinin gösterimi	96
Şekil 3.3.	MD_1 sentezinin gösterimi	97
Şekil 3.4.	MD_2 için sentez basamaklarının gösterimi	98
Şekil 3.5.	MD_3 için sentez basamaklarının gösterimi	99
Şekil 3.6.	MC_1 sentezinin gösterimi	100
Şekil 3.7.	MC_2 için sentez basamaklarının gösterimi	101
Şekil 3.8.	MC_3 için sentez basamaklarının gösterimi	103
Şekil 3.9.	0.0025-0.0000945 Konsantrasyon aralığında karboksilat form kalibrasyon grafiği	104
Şekil 3.10.	0.05-0.003125 Konsantrasyon aralığında karboksilat form kalibrasyon grafiği	104
Şekil 3.11.	0.1-0.0000445 Konsantrasyon aralığında lakton form için kalibrasyon grafiği	105
Şekil 3.12.	0.0125-0.0025 Konsantrasyon aralığında lakton form için kalibrasyon grafiği	105
Şekil 4.1.	Fe_3O_4 FTIR spektrumu	111
Şekil 4.2.	MD_1'in FTIR spektrumu	112
Şekil 4.3.	MD_2'nin FTIR spektrumu	113
Şekil 4.4.	MD_3'ün FTIR spektrumu	114
Şekil 4.5.	MC_1'in FTIR spektrumu	115
Şekil 4.6.	MC_2'nin FTIR spektrumu	116
Şekil 4.7.	MC_3'ün FTIR spektrumu	118

Şekil 4.8. Fe_3O_4'ün TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm 118

Şekil 4.9. Fe_3O_4'ün TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm 118

Şekil 4.10. MD_1'in TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm 119

Şekil 4.11. MD_1'in TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm 119

Şekil 4.12. MD_2'nin TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm 120

Şekil 4.13. MD_2'nin TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm 120

Şekil 4.14. MD_3'ün TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm 121

Şekil 4.15. MD_3'ün TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm 121

Şekil 4.16. MC_1'in TEM görüntüleri. Ölçü: 500 nm 122

Şekil 4.17. MC_1'in TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm 122

Şekil 4.18. MC_1'in TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm 123

Şekil 4.19. MC_2'nin TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm 123

Şekil 4.20. MC_2'nin TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm 124

Şekil 4.21. MC_3'ün TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm 124

Şekil 4.22. MC_3'ün TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm 125

Şekil 4.23. Fe_3O_4'ün hidrodinamik boyut dağılımı grafiği 126

Şekil 4.24. MD_1 nanokompozitinin hidrodinamik boyut dağılımı grafiği 126

Şekil 4.25. MD_2 nanokompozitinin hidrodinamik boyut dağılımı grafiği 127

Şekil 4.26. MD_3 nanokompozitinin hidrodinamik boyut dağılımı grafiği i 128

Şekil 4.27. MC_1 nanokompozitinin hidrodinamik boyut dağılımı grafiği 128

Şekil 4.28. MC_2 nanokompozitinin hidrodinamik boyut dağılımı grafiği 129

Şekil 4.29. MC_3 nanokompozitinin hidrodinamik boyut dağılımı grafiği 129

Şekil 4.30. MD_1 için SEM görüntüsü 130

Şekil 4.31. TMD_1 için SEM görüntüsü 131

Şekil 4.32. MD_2 için SEM görüntüsü 131

Şekil 4.33. TMD_2 için SEM görüntüsü 132

Şekil 4.34. MD_3 için SEM görüntüsü 132

Şekil 4.35. TMD_3 için SEM görüntüsü 133

Şekil 4.36. MC_1 için SEM görüntüsü 133

Şekil 4.37. TMC_1 için SEM görüntüsü 134

Şekil 4.38. MC_2 için SEM görüntüsü 134

Şekil 4.39. TMC_2 için SEM görüntüsü 135

Şekil 4.40. MC_3 için SEM görüntüsü 135

Şekil 4.41. TMC_3 için SEM görüntüsü 136

Şekil 4.42. MD_1'in EDX spektrumu 137

Şekil 4.43. TMD_1'in EDX spektrumu 137

Şekil 4.44. MD_2 için EDX spektrumu 138

Şekil 4.45. TMD_2 için EDX spektrumu 138

Şekil 4.46. MD_3 için EDX spektrumu 139

Şekil 4.47. TMD_3 için EDX spektrumu 139

Şekil 4.48. MC_1 için EDX spektrumu 140

Şekil 4.49. TMC_1 için EDX spektrumu 140

Şekil 4.50. MC_2 için EDX spektrumu 141

Şekil 4.51. TMC_2 için EDX spektrumu 141

Şekil 4.52. MC_3 için EDX spektrumu 142

Şekil 4.53. TMC_3 için EDX spektrumu 142

Şekil 4.54. TMD_1'in manyetik alana karşı mıknatıslanma eğrisi 143

Şekil 4.55. TMD_2 için manyetik alana karşı mıknatıslanma eğrisi 144

Şekil 4.56. TMD_3 için manyetik alana karşı mıknatıslanma eğrisi 145

Şekil 4.57. TMC_1 için manyetik alana karşı mıknatıslanma eğrisi 146

Şekil 4.58. TMC_2 için manyetik alana karşı mıknatıslanma eğrisi 147

Şekil 4.59. TMC_3 için manyetik alana karşı mıknatıslanma eğrisi 148

Şekil 4.60. MD_1 nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu 149

Şekil 4.61. MD_1 nanokompozitine ait yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumu 150

Şekil 4.62. MD_1 nanokompozitine ait yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu 150

Şekil 4.63. MD_1 nanokompozitine ait yüksek çözünürlükteki Fe 2p spektrumu 151

Şekil 4.64. MD_2 nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu 152

Şekil 4.65. MD_2 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumu 153

Şekil 4.66. MD_2 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu 153

Şekil 4.67. MD_3 nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu 154

Şekil 4.68. MD_3 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumu 155

Şekil 4.69. MD_3 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu 156

Şekil 4.70. MD_3 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki N 1s spektrumu 156

Şekil 4.71. MC_1 nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu 157

Şekil 4.72. MC_1 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumu 158

Şekil 4.73. MC_1 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu 159

Şekil 4.74. MC_1 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki N 1s spektrumu 159

Şekil 4.75. MC_1 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki Fe 2p spektrumu 160

Şekil 4.76. MC_2 nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu 161

Şekil 4.77. MC_2 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumları 162

Şekil 4.78. MC_2 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu 162

Şekil 4.79. MC_2 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki N 1s spektrumu 163

Şekil 4.80. MC_3 nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu 164

Şekil 4.81. MC_3 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumu 165

Şekil 4.82. MC_3 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu 165

Şekil 4.83. MC_3 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki N 1s spektrumu 166

Şekil 4.84. MD_1 nanokompoziti için doza karşı tutunan ilaç konsantrasyonu 174

Şekil 4.85. MD_2 nanokompoziti için doza karşı tutunan ilaç konsantrasyonu 175

Şekil 4.86. MD_3 nanokompoziti için doza karşı tutunan ilaç konsantrasyonu 175

Şekil 4.87. MC_1 nanokompoziti için doza karşı tutunan ilaç konsantrasyonu 176

Şekil 4.88. MC_2 nanokompoziti için doza karşı tutunan ilaç konsantrasyonu 176

Şekil 4.89. MC_3 nanokompoziti için doza karşı tutunan ilaç konsantrasyonu 177

Şekil 4.90. MD_1 nanokompoziti için farklı ilaç konsantrasyonlarında süreye bağlı çalışma 177

Şekil 4.91. MD_2 nanokompoziti için farklı ilaç konsantrasyonlarında süreye bağlı çalışma 178

Şekil 4.92. MD_3 nanokompoziti için farklı ilaç konsantrasyonlarında süreye bağlı çalışma 178

Şekil 4.93. MC_1 nanokompoziti için farklı ilaç konsantrasyonlarında süreye bağlı çalışma 179

Şekil 4.94. MC_2 nanokompoziti için farklı ilaç konsantrasyonlarında süreye bağlı çalışma 179

Şekil 4.95. MC_3 nanokompoziti için farklı ilaç konsantrasyonlarında süreye bağlı çalışma 180

Şekil 4.96. MD_1 nanokompoziti için pH 5.8'de zamana karşı ilaç salımı 181

Şekil 4.97. MD_1 nanokompoziti için pH 6'da zamana karşı ilaç salımı 181

Şekil 4.98. MD_1 nanokompoziti için pH 6.5'te zamana karşı ilaç salımı 182

Şekil 4.99. MD_1 nanokompoziti için pH 7.4'te zamana karşı ilaç salımı 182

Şekil 4.100. MD_2 nanokompoziti için pH 5.8'de zamana karşı ilaç salımı 183

Şekil 4.101. MD_2 nanokompoziti için pH 6'de zamana karşı ilaç salımı 183

Şekil 4.102. MD_2 nanokompoziti için pH 6.5'te zamana karşı ilaç salımı 184

Şekil 4.103. MD_2 nanokompoziti için pH 7.4'te zamana karşı ilaç salımı 184

Şekil 4.104. MD_3 nanokompoziti için pH 5.8'de zamana karşı ilaç salımı 185

Şekil 4.105. MD_3 nanokompoziti için pH 6'da zamana karşı ilaç salımı 185

Şekil 4.106. MD_3 nanokompoziti için pH 6.5'te zamana karşı ilaç salımı 186

Şekil 4.107. MD_3 nanokompoziti için pH 7.4'te zamana karşı ilaç salımı 186

Şekil 4.108. MC_1 nanokompoziti için pH 5.8'de zamana karşı ilaç salımı 187

Şekil 4.109. MC_1 nanokompoziti için pH 6'da zamana karşı ilaç salımı 188

Şekil 4.110. MC_1 nanokompoziti için pH 6.5'te zamana karşı ilaç salımı 188

Şekil 4.111. MC_1 nanokompoziti için pH 7.4'te zamana karşı ilaç salımı 189

Şekil 4.112. MC_2 nanokompoziti için pH 5.8'de zamana karşı ilaç salımı 189

Şekil 4.113. MC_2 nanokompoziti için pH 6'da zamana karşı ilaç salımı 190

Şekil 4.114. MC_2 nanokompoziti için pH 6.5'te zamana karşı ilaç salımı 190

Şekil 4.115. MC_2 nanokompoziti için pH 7.4'te zamana karşı ilaç salımı 191

Şekil 4.116. MC_3 nanokompoziti için pH 5.8'de zamana karşı ilaç salımı 191

Şekil 4.117. MC_3 nanokompoziti için pH 6'da zamana karşı ilaç salımı 192

Şekil 4.118. MC_3 nanokompoziti için pH 6.5'te zamana karşı ilaç salımı 192

Şekil 4.119. MC_3 nanokompoziti için pH 7.4'te zamana karşı ilaç salımı 193

Şekil 4.120. DU145 hücrelerinin Topotekan uygulanmadan önceki optik mikroskop görüntüsü 194

Şekil 4.121. DU145 hücrelerinin Topotekan uygulandıktan sonraki optik mikroskop görüntüsü 195

Şekil 4.122. PNT1A hücrelerinin Topotekan uygulanmadan önceki optik mikroskop görüntüsü 195

Şekil 4.123. PNT1A hücrelerinin Topotekan uygulandıktan sonraki optik mikroskop görüntüsü 196

Şekil 4.124. Du145 hücre hattında MD_1, TMD_1 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 197

Şekil 4.125. PNT1A hücre hattında MD_1, TMD_1 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 198

Şekil 4.126. Du145 hücre hattında MD_1, TMD_1 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 199

Şekil 4.127. PNT1A hücre hattında MD_1, TMD_1 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 200

Şekil 4.128. Du145 hücre hattında MD_2, TMD_2 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 202

Şekil 4.129. PNT1A hücre hattında MD_2, TMD_2 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 203

Şekil 4.130. Du145 hücre hattında MD_2, TMD_2 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 204

Şekil 4.131. PNT1A hücre hattında MD_2, TMD_2 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 205

Şekil 4.132. Du145 hücre hattında MD_3, TMD_3 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 206

Şekil 4.133. PNT1A hücre hattında MD_3, TMD_3 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 207

Şekil 4.134. Du145 hücre hattında MD_3, TMD_3 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 208

Şekil 4.135. PNT1A hücre hattında MD_3, TMD_3 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları

göstermiştir 209

Şekil 4.136. Du145 hücre hattında MC_1, TMC_1 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 210

Şekil 4.137. PNT1A hücre hattında MC_1, TMC_1 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 211

Şekil 4.138. Du145 hücre hattında MC_1, TMC_1 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 212

Şekil 4.139. PNT1A hücre hattında MC_1, TMC_1 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 213

Şekil 4.140. Du145 hücre hattında MC_2, TMC_2 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 215

Şekil 4.141. PNT1A hücre hattında MC_2, TMC_2 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 216

Şekil 4.142. Du145 hücre hattında MC_2, TMC_2 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 217

Şekil 4.143. PNT1A hücre hattında MC_2, TMC_2 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 218

Şekil 4.144. Du145 hücre hattında MC_3, TMC_3 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş

ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 219

Şekil 4.145. PNT1A hücre hattında MC_3, TMC_3 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 220

Şekil 4.146. Du145 hücre hattında MC_3, TMC_3 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 221

Şekil 4.147. PNT1A hücre hattında MC_3, TMC_3 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 222

Şekil 4.148. Du145 hücre hattında Fe_3O_4'ün 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 223

Şekil 4.149. PNT1A hücre hattında Fe_3O_4'ün 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 224

Şekil 4.150. Du145 hücre hattında Fe_3O_4'ün 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 225

Şekil 4.151. PNT1A hücre hattında Fe_3O_4'ün 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (* $p < 0.01$) farkları göstermiştir 226

EK LİSTESİ

Ek No 1		Sayfa
Ek 1.1.	Serbest TPT için pH 5'te 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	260
Ek 1.2.	Serbest TPT için pH 5'te 10 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	260
Ek 1.3.	Serbest TPT için pH 5'te 15 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	260
Ek 1.4.	Serbest TPT için pH 5'te 30 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	260
Ek 1.5.	Serbest TPT için pH 5'te 1 saat sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	261
Ek 1.6.	Serbest TPT için pH 5'te 2 saat sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	261
Ek 1.7.	MD_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	261
Ek 1.8.	MD_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	261
Ek 1.9.	MD_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	262
Ek 1.10.	MD_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	262
Ek 1.11.	MD_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	262
Ek 1.12.	MD_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	262
Ek 1.13.	MD_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	263
Ek 1.14.	MD_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	263
Ek 1.15.	MD_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	263
Ek 1.16.	MD_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	263
Ek 1.17.	MD_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları	264

Ek 1.18. MD_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 264

Ek 1.19. MD_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 264

Ek 1.20. MD_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 264

Ek 1.21. MD_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 265

Ek 1.22. MD_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 265

Ek 1.23. MD_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 265

Ek 1.24. MD_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 265

Ek 1.25. MD_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 266

Ek 1.26. MD_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 266

Ek 1.27. MD_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 266

Ek 1.28. MD_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 266

Ek 1.29. MD_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 267

Ek 1.30. MD_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 267

Ek 1.31. MD_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 267

Ek 1.32. MD_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 267

Ek 1.33. MD_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 268

Ek 1.34. MD_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 268

Ek 1.35. MD_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 268

Ek 1.36. MD_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 268

Ek 1.37. MD_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 269

Ek 1.38. MD_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 269

Ek 1.39. MD_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 269

Ek 1.40. MD_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 269

Ek 1.41. MD_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 270

Ek 1.42. MD_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 270

Ek 1.43. MD_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 270

Ek 1.44. MD_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 270

Ek 1.45. MD_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 271

Ek 1. 46. MD_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 271

Ek 1.47. MD_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 271

Ek 1.48. MD_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 271

Ek 1.49. MD_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 272

Ek 1.50. MD_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 272

Ek 1.51. MD_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 272

Ek 1.52. MD_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 272

Ek 1.53. MD_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 273

Ek 1.54. MD_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 273

Ek 1.55. MC_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 273

Ek 1.56. MC_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 273

Ek 1.57. MC_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 274

Ek 1.58. MC_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 274

Ek 1.59. MC_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 274

Ek 1.60. MC_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 274

Ek 1.61. MC_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 275

Ek 1.62. MC_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 275

Ek 1.63. MC_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 275

Ek 1. 64. MC_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 275

Ek 1.65. MC_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 276

Ek 1.66. MC_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 276

Ek 1.67. MC_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 276

Ek 1.68. MC_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 276

Ek 1.69. MC_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 277

Ek 1.70. MC_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 277

Ek 1.71. MC_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 277

Ek 1.72. MC_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 277

Ek 1.73. MC_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 278

Ek 1.74. MC_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 278

Ek 1.75. MC_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 278

Ek 1.76. MC_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 278

Ek 1.77. MC_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 279

Ek 1.78. MC_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 279

Ek 1.79. MC_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 279

Ek 1.80. MC_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 279

Ek 1.81. MC_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 280

Ek 1.82. MC_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 280

Ek 1.83. MC_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 280

Ek 1.84. MC_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 280

Ek 1.85. MC_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 281

Ek 1.86. MC_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 281

Ek 1.87. MC_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 281

Ek 1.88. MC_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 281

Ek 1.89. MC_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 282

Ek 1.90. MC_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 282

Ek 1.91. MC_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 282

Ek 1.92. MC_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 282

Ek 1.93. MC_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 283

Ek 1.94. MC_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 283

Ek 1.95. MC_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 283

Ek 1.96. MC_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 283

Ek 1.97. MC_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 284

Ek 1.98. MC_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 284

Ek 1.99. MC_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 284

Ek 1.100. MC_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 284

Ek 1.101. MC_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 285

Ek 1.102. MC_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları 285

Ek No 2 **Sayfa**

Ek 2.1.	MD_1 nanokompoziti için orijinal FTIR spektrumu	286
Ek 2.2.	MD_2 nanokompoziti için orijinal FTIR spektrumu	286
Ek 2.3.	MD_3 nanokompoziti için orijinal FTIR spektrumu	287
Ek 2.4.	MC_1 nanokompoziti için orijinal FTIR spektrumu	287
Ek 2.5.	MC_2 nanokompoziti için orijinal FTIR spektrumu	288
Ek 2.6.	MC_3 nanokompoziti için orijinal FTIR spektrumu	288

KISALTMA VE SİMGELER

AFM	: Atomik kuvvet mikroskobu
AMF	: Alternatif bir manyetik alanda
anti-BSA	: anti- Bovin Serum Albümin
CHO-K1	: Çin hamster yumurtalık hücreleri
CMD	: Karboksimetil dekstran
CMD-MNPs	: Karboksimetil dekstranın manyetik nanoparçacıklar
CPT	: Kemptotesin
CPT-11	: İrinotekan
CS	: Kitosan
CTX	: klorotoksin
DAP	: Di-alil ftalat
DcMNPs	: Denrimer kaplı manyetik nanoparçacıklar
DLS	: Dinamik ışık saçılımı
DMEM	: Dulbecco'nun modifiye eagle besiyeri
DMSA	: Dimerkaptosuksinik asit
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DU145	: Kanserli prostat hücresi
DXR	: Doksorubisin
EA	: Etil akrilat
EDC	: N-(3-dimetil aminopropil)-N-etil karbodiimid hidroklorür
EDX	: Enerji ayırmalı X-ışını spektroskopisi
ESCA	: Kimyasal analiz için elektron spektroskopisi
FDA	: Gıda ve ilaç İdaresi
Fe_3O_4	: Magnetit
FT-IR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi

H	: Dış manyetik alan
HCPT	: 10-hidroksi kemptotesin
HCPT-1	: 10-hidroksi kemptotesin-10,20-diisobütildikarbonat
HGC	: Hidrofobik glikol kitosan
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
İ.V	: İntravenöz
IC_{50}	Yarı-maksimum inhibisyon konsantrasyonu
kT	: Termal enerji
M	: Manyetizasyon
MAA	: Metakrilik asit
MC_1	: Kitosan kaplı manyetik nanoparçacık
MC_2	: O-Karboksimetil kitosan kaplı manyetik nanoparçacık
MC_3	: NαNα-Bis (Karboksimetil)-L-Lisin Hidrat (NTA) ile dallanmış karboksimetil kitosan
MD_1	: Dekstran kaplı manyetik nanoparçacık
MD_2	: O-Karboksimetil dekstran kaplı manyetik nanoparçacık
MD_3	: NαNα-Bis (Karboksimetil)-L-Lisin Hidrat (NTA) ile dallanmış karboksimetil dekstran
MDR	: Multi drug resistance
MDT	: Manyetik ilaç hedefleme
MEM	: Mikroelektro mekanik
$MgFe_2O_4$	: Magnezyum ferrit
MMS	: Manyetik mikro küreler
MNPs	: Demir oksit nanoparçacıklar
m-PEG	: Monometoksipoli(etilen glikol)
MPS	: Mononükler fagosit sistemden
Mr	: Kalıcı manyetizasyon
MRI	: Manyetik rezonans görüntüleme

Ms	: Koersivite
MTT	: Tertrazolyum boyası 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromid
NHS	: N-Hidroksi süksinimid
NIR	: Yakın kızıl ötesi
nm	: Nanometre
NOCMCS	: N-Suksinil-O-Karboksimetil kitosan
NTA	: NαNα-Bis (karboksimetil) -L-lisin hidrat
OCMCS	: O-Karboksimetil kitosan
ODTÜ	: Orta Doğu Teknik Üniversitesi
PACA	: Poli(siyanoakrilat)
PBS	: Fosfat tampon çözeltisi
PCL	: Polikaprolakton
PCLLA-PEG-PCLLA	: Poli(kaprolakton-ko-laktit)-b-PEG-b-poli(kaprolakton-ko-laktit)
PCSPIONs	: Polimer kaplı süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar
PEG	: Polietilen glikol
PEG-CTX	: CTX ile konjuge edilmiş PEG
PEG-PAsp	: Poli(etilen glikol)-poli(aspartik asit) blok kopolimeri
PEI	: Polietilen imin
PEO	: Polietilen oksit
PEO-COOH-PEO	: Triblok kopolimeri
PLA	: Poli(laktik asit)
PLA	: Poli(laktikasit)
PLGA	: Poli(laktik-ko-glikolik asit)
PLLA-mPEG	: Poli-L-Laktik asit metoksi polietilenglikol
PLLA-mPEG-TPT	: TPT yüklü PLLA-mPEG
PNIPAM	: Poli(N-isopropilakril amid)

PNT1A	: İnsan sağlıklı prostat hücresi
PPI	: Poly(propilen imin)
PTX	: Paklitaksel
PVA	: Polivinil alkol
PVA	: Polivinil alkol
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
SPION	: Süperparamanyetik demir oksit nanoparçacık
SRB	: Sülforoamin B
TEM	: Geçirimli elektron mikroskobu
TIF	: Tümör doku içi sıvısı
TMAOH	: Tetrametil amonyum hidroksit
TMC_1	: Topotekan yüklü kitosan kaplı manyetik nanoparçacık
TMC_2	: Topotekan yüklü O-Karboksimetil kitosan kaplı manyetik nanoparçacık
TMC_3	: Topotekan yüklü NαNα-Bis (Karboksimetil)-L-Lisin Hidrat (NTA) ile dallanmış karboksimetil kitosan
TMD_1	: Topotekan yüklü dekstran kaplı manyetik nanoparçacık
TMD_2	: Topotekan yüklü O-Karboksimetil dekstran kaplı manyetik nanoparçacık
TMD_3	: Topotekan yüklü NαNα-Bis (Karboksimetil)-L-Lisin Hidrat (NTA) ile Dallanmış Karboksimetil Dekstran
TPT	: Topotekan
VSM	: Titreşimli örnek magnetometri
XPS	: X-ışını fotoelektron spektroskopisi
XRD	: X- Işını Difraksiyonu
α-Fe_2O_3	: Hematit
γ-Fe_2O_3	: Maghemit

1. Giriş

1.1. Nanoteknoloji ve Nanopartiküller

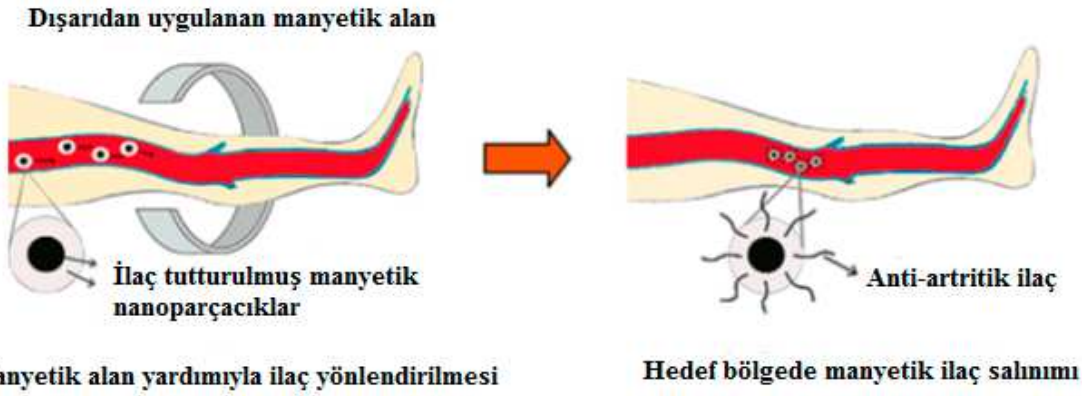
Günümüzde modern yaşamın bir etkisi olarak, nanoteknolojiye karşı hatırı sayılır bir ilgi gelişmiştir. Nanopartikül araştırmalarında, çeşitli teknolojik alanlarda farklı boyut, şekil, yüzey kimyasına sahip olan organik ve inorganik nanoparçacıklardan istifade edilmektedir (Ladj ve ark. 2013). Özellikle, görüntülemeden (Swierczewaska ve ark. 2011) biyokimyasal algılamaya (Peng ve ark. 2009, Yeom ve ark. 2011), hedeflemeden (Hyon ve ark. 2009, Nam ve ark. 2011) ilaç dağılımına (Kim ve ark. 2013, Tan ve ark. 2013) değişen özellikte nanoparçacıkların biyomedikal bilimde potansiyel olarak geliştirilmesi önemli bir faktördür (Verderio 2014).

Nanoteknolojinin bir dalı olan nanotıp, oldukça spesifik bir şekilde moleküler düzeyde hasarlı bir dokuyu tamir etmek veya bir hastalığı tedavi etmeyi hedeflemektedir. Son yıllarda, kanser tedavi etkenlerinin verimliliğini arttırmak için, polimer-DNA kompleksleri (polipleksler), polimer-ilaç konjugatları ve hidrofobik ilaçları taşıyan polimer misellerin kullanımını içeren alanlara olan ilgi artmaktadır. Küçük boyutları ve mükemmel biyo-uyumlulukları sayesinde nano boyuttaki terapötik polimer ajanları, hedef bölgeye ulaşabilmek için uzun süre kan dolaşımında kalabilirler. Buna ek olarak terapötik polimer ajanların kimyasal modifikasyonu ile reseptörlere spesifik bağlanan ligandlar, kanser hücrelerine ilgisi arttırılabilir. Böylece terapinin etkinliğini belirgin bir şekilde arttırabilirler. Bu tür çalışmalar, polimerik nanotıbbın gelecekte kanserin karakteristik özelliklerine göre nano-ilaç hedefleme olanaklarını ve mantıklı yaklaşımların geliştirilmesine olanak sağlayacağını özetler (Cao ve ark. 2011).

Nano yapıların optik, elektronik, manyetik ve termal özelliklerinin değişmesi ayrıca yüzey alanların hacimlerine göre oldukça büyük olması, nanopartiküllerle ilgili teorik ve deneysel çalışmaların günümüzde de potansiyel olarak yeni malzemelerin sentezi şeklinde devam etmektedir.

ABD Ulusal Nanoteknoloji Girişimi tarafından tanımlanan nanoskala 1 ile 1000 nm arasıdır. Bu parçacıklara antropojenik kaynaklardan gelenler, deniz süprüntüleri, volkanik küller ve duman da dahildir. Biyolojik terimlerde örneğin DNA ikili zinciri

(yaklaşık olarak 2.5 nm çapında), proteinler (hemoglobin yaklaşık olarak 5 nm çapında), hücre duvarları, hücre zarları ve bölmeleri gibi hücre bileşimleri yönünden nanoskala oldukça önemlidir (Sperling ve ark. 2008). SI ölçü birimine göre metrenin milyarda biri (10-9) veya yaklaşık olarak bir kağıt yaprağı kalınlığının yüz binde biridir (Verderio 2014). Şekil 1.1'de manyetik nanopartiküllerin ilaç taşıma ve salınımında kullanımı şematize edilmiştir.



Şekil 1.1. Manyetik ilaç taşıma ve salınımının şematik gösterimi (Tuncelli 2012)

Terim olarak nanopartikül 1-100 nm arasındaki bir boyuta sahip olan partikülü tanımlamak için kullanır. Bir materyali oluşturan her bir molekül ve atomun özellikleri, tanımlanan boyut aralığında, nanopartikülerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin değişmesi ile belirlenir. Nanopartiküller farklı kimyasal yapıya sahip malzemelerden üretilebilirler. Bu malzemeler genel olarak metaller, metal oksitler, silikatlar, organik ve karbon materyaller ile biyo-moleküllerdir. Morfolojik olarak ise nanopartiküller genel olarak küre, silindir, tüp şeklinde olabilirler. Nanopartiküller, çok özel uygulamalar için yüzey modifikasyonlarının kolaylıkla gerçekleştirilebilmesi ve uygun şekilde dizayn edilmesi gerekmektedir. Nanopartiküller kimyasal yapılarındaki bu büyük çeşitlilik, şekil ve morfolojileri, bulundukları ortama uygunlukları ve ortamda dağılma şekilleri nedeniyle bilim dünyasında önemli uygulama alanlarında aktif olarak kullanılmaktadır. Şekil 1.2'de nanopartiküllerin özellikleri şematize edilmiştir. Farklı materyaller kullanılarak sentezlenen, özellikleri birbirinden farklı çeşitli nanopartiküller kimyasal bileşiklerin sentezini, analizini ve karakterizasyonunu nano boyutta

gerçekleştirdiği için nano-kimyanın vazgeçilmez ilgi odağı olmuştur (Nagarajan ve ark. 2008, Pekdemir 2011).



Şekil 1.2. Nanopartiküllerin doğası ve sahip olabileceği özellikler (Pekdemir 2011)

1.2. Nanopartiküllerin Kullanım Alanları

Nanopartiküller aşağıda belirtilen birçok alanda uygulama şansı bulmuştur;

Nanomalzeme: Günümüzde özellikle bitkisel yağların biyo-yakıtlara ve endüstriyel çözeltilere dönüştürülmesinde ihtiyaç duyulacak olan nano-katalizörlerin geliştirilmesi buna en önemli örnektir. Kişinin sağlık durumu ve fiziki durumuna göre kendini havalandıran veya ısıtan akıllı kumaşlar da örnek olarak verilebilir.

Mikro-Akışkan Bilimi: Akışkanların nano boyuttaki özelliklerine bağlı olarak hastalıkların teşhisi, ilaç etkileşimlerinin belirlenmesi, vücuda alınan gıda maddeleri ve sıvıların izlenmesi gibi işlemler yapılabilir (Chen ve ark. 2003).

Akıllı Taşıyıcı Sistemler: Nano boyutta kodlanmış paketlerin vücudun ilgili bölgesine ulaştırılmasına imkan sağlayabilir (Liu ve ark. 2008).

Biyo-Mikroelekro Mekanik, Biyo-Nanoelektro Mekanik ve Biyoçipler: Son yıllarda mikroelektro mekanik (MEM) sistemlerde önemli aşamalar olmuştur. Örneğin; mikro düzeyde pompalar ve motorlar buna örnek verile bilir. Ayrıca posta pulundan daha küçük biyoçiplerin nano düzeye indirilmesine yönelik çalışmalar bulunmaktadır.

Nükleik Asit Biyo-Mühendisliği: Nanomembran benzeri yapıların DNA molekülleri kullanılarak geliştirilmesi düşünülmektedir.

Biyo-Seçici Yüzeyler: Çeşitli kimyasal ve biyolojik etkileşimlerin meydana geldiği yüzeyler üzerinde çeşitli organizmaların veya moleküllerin tutunabilmesi veya bağlanabilmesini sağlayan biyoselektif yüzeylerdeki gelişmeler; biyomoleküllerin ayrıştırılması ve saflaştırılması ile ilgili gelişmelere bağlıdır. Buna yönelik çok sayıda araştırma literatürde mevcuttur.

Nano-Biyoproses: Mikropların hızlı bir şekilde tanımlanabilmesini sağlayacak kitler örnek olarak verilebilir.

Biyoanalitik Nanosensörler: Tarım ve gıda sistemlerinde çok düşük miktarda olan ve tayini kolay olmayan kimyasal kontaminasyon, patojen ve virüsler bulunmaktadır. Bunların tayini için nanosensörler yapılmaktadır (Park ve ark. 2007, Pekdemir 2011).

1.3. Nanopartiküllerin Avantaj ve Dezavantajları

Nanopartikül yapımı Merkle' nin benzetimine göre, ellerimizde boks eldivenleriyle lego yapmaya benzemektedir. Zamanla nanopartikül üretimin yaygınlaşması bize bu eldivenleri çıkarma olanağı sağlayacaktır ve böylece istediğimiz şekli yapma kolaylığı sunacaktır. Nanopartiküllerin bu şekilde kolayca, ucuz bir biçimde ve hemen her şekilde düzenlenebilmesi bu parçacıkların avantajlarındandır. Bu sayede yeni nesil ürünlerin doğaya daha az zarar vererek üretilebilmesi ve bunların aynı zamanda daha dayanıklı, daha hafif ve daha hassas özelliklerle donatılmış olması ile mümkün olacaktır (Link ve ark. 1999). Nanopartiküllerin kararsız olması topaklanma olasılıklarını artırmaktadır. Kendiliğinden manyetik olan nanopartiküller birbirlerini çekerek topaklanmaya sebep olurlar. Bu durum nanopartiküllerin yüzey alanını azaltmaktadır. Uygulanabilir yüzey alanının azalması da yapılan çalışmalarda

duyarlılığı azaltmaktadır. Bu da nanopartiküllerin dezavantajları arasındadır (Pekdemir 2011). Ayrıca bu partiküllerin toksik oluşları dezavantajları arasında yer almaktadır. Ancak biyouyumlu ve biyobozunur polimerler ile kaplanarak bu etki kısmen bertaraf edile bilmektedir.

1.4. Manyetik Partiküller

1970 yılının ortalarından itibaren mikrometre ve nanometre boyutundaki manyetik parçacıkların, biyolojik uygulamalar ve medikal uygulamalarda geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. Biyolojik uygulamalarda kullanılan manyetik parçacıkların genellikle oda sıcaklığında süperparamanyetik (dış manyetik alan kaldırıldığında manyetik özelliğin kaybolması) davranış sergilemeleri, yüksek manyetik doygunlukta olmaları, biyouyumlu olmaları, yüzey etkileşimli fonksiyonlara sahip olmaları ve uygun büyüklükte olmaları beklenir. 100 nm'den büyük manyetik parçacıkların, manyetik çekim için uygun olmaları ve manyetik alan içerisinde kolaylıkla tutulabilmelerine rağmen dokulardan geçebilmeleri için 100 nm'den küçük olmaları tercih edilir (Tuncelli 2012).

1.4.1. Ferroakışkanlar

Bir taşıyıcı sıvı içinde dağıtılmış süperparamanyetik partiküller ferroakışkanlar (ferrofluid) olarak adlandırılmaktadır. Kararlı ferroakışkan süperparamanyetik partiküller, bir taşıyıcı sıvı ve bir yüzey aktif madde içermektedir. Ferroakışkanlar doğal olarak bulunmazlar ve ilk olarak 1960 yılında tanımlanmışlardır. Ferroakışkanların kararlı dispersiyonu, manyetik çekim kuvvetleri, yerçekimi kuvveti ve London dispersiyonu ya da Van der Walls kuvvetleri olmak üzere üç temel çekim kuvveti dengelenerek sağlanmaktadır. İki manyetik dipol arasındaki manyetik çekim enerjisi (UA mag), m1 ve m2 dipol momentlerininin ve partiküller arası uzaklığın bir fonksiyonudur (Rosenweig 1985). Partiküller arası uzaklık azalırken etkileşim enerjisi artar ve bir yüzey aktif maddeyle korunmadığından topaklanma oluşur. Ayrıca bir manyetik alanda partiküllerin manyetik dipolleri birbirini çeker. Derişik bir manyetik sıvı dispersiyonuna, bir manyetik alan uygulandığında partiküller sıvı ile birlikte uygulanan alan yönünde hareket ederler. Kolloidal kararlılığı korumak ve partiküller arası etkileşim enerjisini yenmek için partiküllerin yeterince küçük ve

süperparamanyetik olması gerekmektedir. En önemlisi partiküller süperparamanyetik olduğunda sistemde partiküller arası manyetik etkileşim azalmaktadır. Çünkü termal enerji, partiküllerin manyetik momentlerinin serbest dönmesine sebep olmaktadır. Brown hareketi partiküllerin dağılmasını sağlarken yerçekim kuvveti partikülleri aşağıya çeker. Rosensweig tipik bir ferroakışkanda nanopartiküllerin kararlılığı üzerine yerçekimi etkisinin çok az olduğunu tayin etmiştir. Partiküllerin büyük yüzey alanlarının hacimlerine oranının artması, nanopartiküllerin yüzey enerjisini ($\geq$100dyn/cm) artırmaktadır. Yüzey enerjisini düşüren çekim kuvvetleri topaklanmayı kolaylaştırmaktadır. Bir partikül diğerinden uzaklaşırken çekme kuvveti azalır. Partiküllerin birbirine yakınlığı belli bir uzaklığın altına düştüğünde partiküller birbirini geri iter. Van der Walls çekim kuvvetleri topaklanma üzerine önemli bir faktördür ve kararlı kolloidal dispersiyonlar hazırlamak için bu çekim kuvvetlerinin engellenmesi gerekir. Elektrostatik ve sterik itme kuvvetleri partikül topaklanmasını önlemek ve çekim kuvvetlerini dengelemek için kullanılan iki mekanizmadır. Partikül yüzeyinin elektrostatik stabilizasyonu bir yük taşımasıyla oluşmaktadır. Elektrostatik stabilizasyon pH'a duyarlı bir metottur ve özellikle biyomedikal uygulamalarda kullanımı sınırlıdır. Sterik itme metodu genellikle uzun zincirli yüzey aktif maddeleri kullanarak oluşturulmaktadır (Kim ve ark. 2001, Pekdemir 2011).

1.4.2. Manyetik Nanopartiküller

Bir sıvı içerisinde süperparamanyetik dispersiyonlar oluşturan manyetik nanopartiküller 1'den 100 nm boyutlarına kadar değişen boyutlarda metal ve metal oksitlerden oluşmaktadır. Bu metal ve metal oksitler Ni, Co, Fe, Fe_3O_4 ve Fe_2O_3'den oluşmaktadır. Manyetik partiküllerde diyamanyetik bir tabaka nanopartikülün manyetik çekirdeğinin manyetik özelliğini azaltabilir (Ban ve ark. 2005). Manyetik partiküllerin süperparamanyetik özelliğe sahip olması, partiküllerin manyetik momentlerinin serbest hareket etmesine neden olur ve bu sayede partiküller arasındaki manyetik etkileşim azalmaktadır. Manyetik partikülleri aynı şekil ve boyutta sentezlemenin çoğu uygulamalarda avantajları vardır. Çünkü farklı şekil ve boyuta sahip nanopartiküller kullanıldığında farklı manyetik özellikler gözlenmiştir (Gupta ve Gupta 2005). Ancak aynı fiziksel özelliklere sahip nanopartikülleri üretmenin zorlukları vardır ve yüksek sıcaklıkta demir tuzlarının borhidrür ile indirgenmesini veya $Fe(CO)_5$' in ayrışmasını

içeren birçok metot vardır (Chen ve Nicles 1999). Manyetik partiküllerin kimyasal olarak sentezi basittir ve nanopartiküllerin şekil, boyut ve bileşiminin kontrolü, kullanılan Fe^{2+} ve Fe^{3+} tuzlarının oranı pH ve iyonik güçle sağlanır (Pekdemir 2011). Boyutu 100 nanometrenin (nm) altında olan nanopartiküller, hacimsel yapılı malzemelerden çok daha farklı ve üstün olarak kabul edilen özellikler sergilemektedir.

Nanoyapılı partiküllerin gösterdikleri üstün özellikler sayesinde elektrik-elektronik, biyomedikal, otomotiv ve kimya sektörleri başta olmak üzere birçok endüstriyel alanda kullanıma sahiptirler. Nanopartiküllerin fizikokimyasal ve morfolojik özellikleri, kullanılan başlangıç maddesinin karakteristik özelliklerinden etkilenmesinden dolayı farklı üretim yöntemlerinin geliştirildiği görülmektedir (Gürmen 2008).

1.4.3. Demir Oksit Nanoparçacıklarına Genel Bakış

Metal nanoparçacıklar hazırlanma, karakterizasyon ve uygulama bakımından uzun bir geçmişe sahiptir. Nanoparçacıkların birçok özelliği, onların büyük yüzey alanlarının hacimlerine oranından ve fotonları ile elektronları konumsal olarak hapsedebilme özelliğinden dolayı parçacıklar etrafında oluşan elektriksel alandan kaynaklanmaktadır. Geniş hacimli atomik düzenlemelerde örneğin yüksek reaktivite, farklı elastiklik, manyetik özellik ve çekme, iletkenliğin artması ya da yansıtma ve ışığı kırma eğiliminde artış gibi sapmalar meydana gelebilir (Verderio 2014).

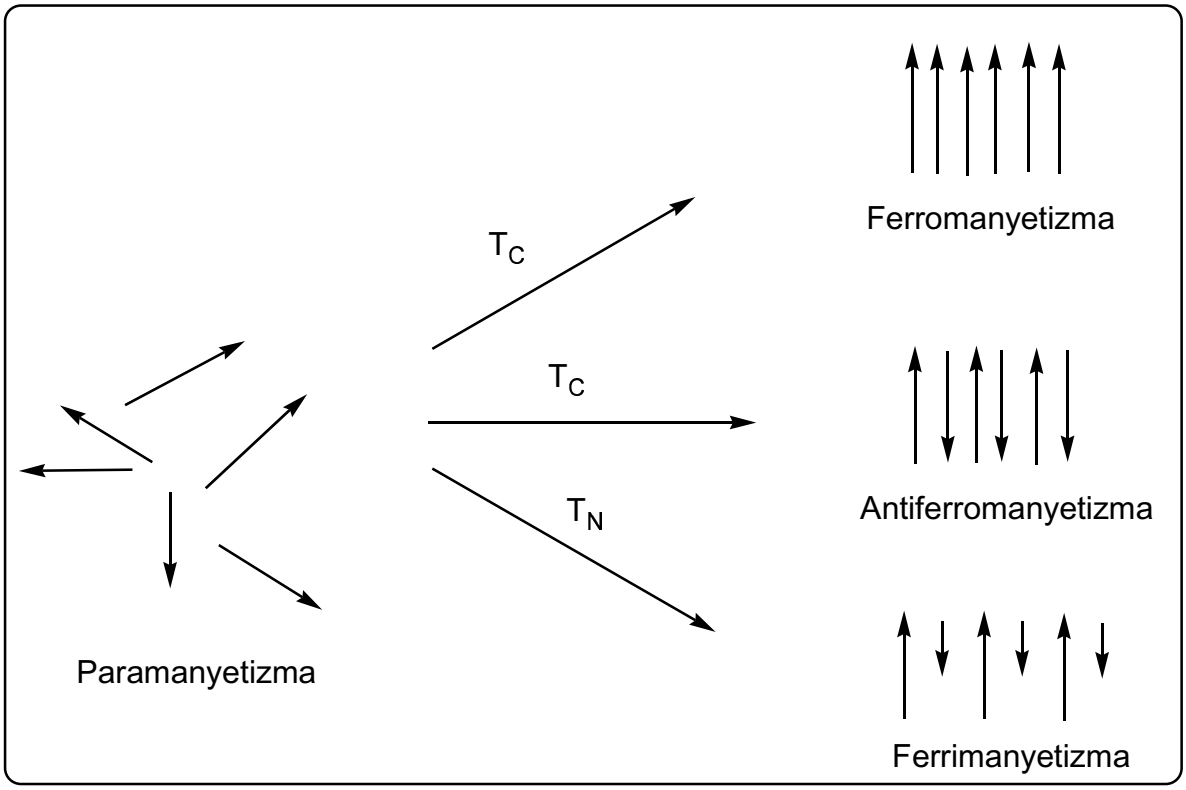
Demir yaşayan canlılarda en çok bulunan metalik elementlerden biridir ve oksijenin hemoglobin ile taşınması ve hücresel solunumdaki redoks enzimleri gibi çeşitli biyolojik süreçler için gereklidir. Demir oksit nanoparçacıklar (MNPs) manyetik duyarlılığı ile vücuda enjekte edildiği zaman insan vücudunda doğal metabolik faaliyetlere dahil edilebilen birkaç nanomalzemeden biridir. Bu sebeplerden diğer nanoparçacıklar ile karşılaştırıldığı zaman demir oksit nanoparçacıklar, daha düşük toksisiteye sahiptir ve biyolojik olarak daha geniş bir konsantrasyon aralığında tolare edilebilmektedir. En yaygın nanomalzemeler maghemit (γ-Fe_2O_3) ve magnetit (Fe_3O_4) gibi saf demir oksitlerdir. MNPs manyetik olarak hassa elementler ile kaplanır (örneğin $MnFe_2O_4$ ve $CoFe_2O_4$) ayrıca metal alaşımları olan nanoparçacıklar da (örneğin FeCo ve FePt) mevcuttur. Bu ferritler ve metal alaşımlar manyetizma özellikleri bakımından saf demir oksitlerden daha güçlü olmasına rağmen potansiyel toksik özelliği gösterdiği

ve hızlı oksitlendiği için biyomedikal uygulamalarda çok daha az kullanılmaktadır. İntravenöz olarak enjekte edilen MNPs'ın metabolizması ve farmakokinetik özellikleri incelenmiştir (Bourinnet ve ark. 2006). Süper biyouyumlu özelliklerine ek olarak MNPs manyetik rezonans görüntüleme (MRI), ilaç dağılımı, hücre takibi ve hipertermi gibi biyomedikal uygulamalar için çok önemli beceriler sunar (Hao ve ark. 2010). Şuan da bazı demir oksit nanoparçacıklar MR kontrast ajanı olarak klinik denemelerde kullanılmakta veya klinik denemeler aşamasındadır (Jang ve ark. 2009, Verderio 2014).

Piyasada bulunan MNPs çoğu spesifik organik veya inorganik tabakalar ile kaplanmaktadır. Bu kaplamanın uygunluğu nanoparçacığın çekirdek türüne ve bu parçacıklar için önerilen uygulama alanına bağlıdır. Farklı olarak kaplanan demir oksit nanoparçacıklar vücut içerisinde farklı kadere ve hücreler üzerine farklı etkilere sahiptir. Bu durum parçacıkların boyutuna, iç kristalliğine ve kaplama tabakalarının kimyasal bileşimine bağlıdır. Bu yüzden nanoparçacıkların hem çekirdeği hem de kabuğunun kimyasal tasarımı gelecekte öngörülen klinik çalışmaları için son derece önemlidir (Figueroa ve ark. 2010, Verderio 2014).

1.4.4. Demir Oksit Nanoparçacıkların Özellikleri

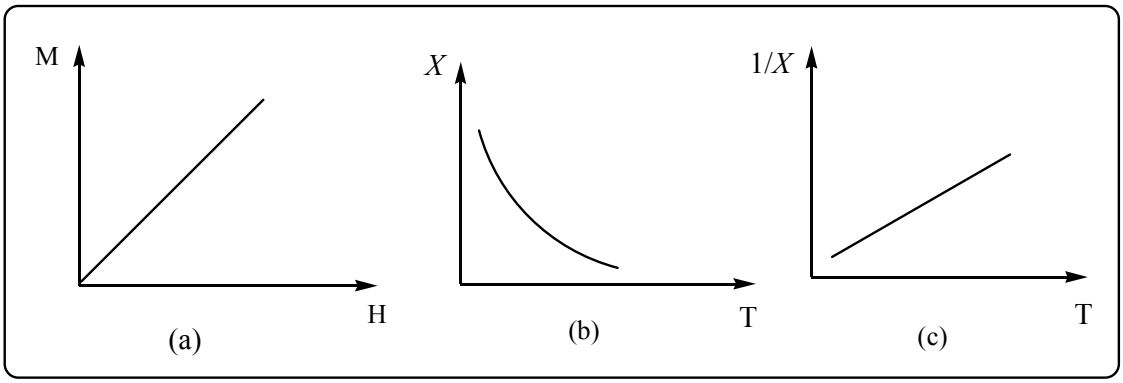
Manyetik materyaller bazı spin elektronlarının oluşturmuş olduğu manyetik dipoller ile karakterize edilir (Verderio 2014). Demir manyetik özellik gösteren altı elementten biridir (Gubin 2009). 3d orbitalinde eşlenmemiş dört elektronu olduğundan güçlü bir manyetik momente sahiptir (Teja ve Koh 2009). Demir atomlarından kristaller oluştuğunda, dışarıdan manyetik bir alan etkisi altında (Şekil 1.3'te görüldüğü gibi) paramanyetizma, ferromanyetizma, ferrimanyetizma ve anti-ferromanyetizma gibi farklı manyetik durumlar gösterebilirler (Thao 2012).



Şekil 1.3. Farklı tür materyallerin bireysel atomik manyetik momentlerinin hizalanması (Teja ve Koh 2009, Thao 2012)

1.4.4.1. Paramanyetizma

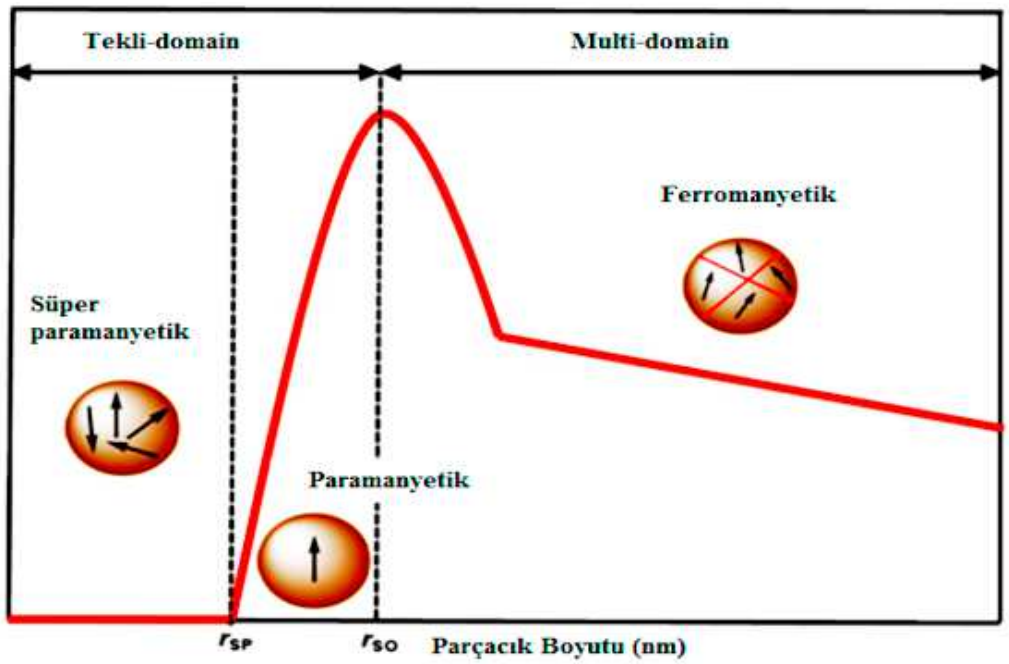
Bazı atomlar, dış elektron katmanlarının tam olarak dolu olmayışı nedeniyle, çiftlenmemiş elektronlara ve bunun doğal bir sonucu olarak da sıfırdan farklı net bir momente sahiptirler. Bu tür maddelerin bir manyetik alana getirilmesi halinde madde atomlarına, manyetik momentleri alan doğrultusunu almaya zorlayacak biçimde bir kuvvet etki eder. Termik hareketler bu tür yöneltici kuvvetlere karşı koyar. Yine de manyetik alan etkisiyle manyetik momentleri kısmi yönelmeler gösteren bu tür maddelere paramanyetik maddeler denir. Paramanyetik maddelerde net manyetik moment sıfırdır. Dış manyetik alana maruz bırakıldıklarında ve manyetik alan kaldırıldığında kalıcı manyetizasyon göstermezler (Köçkar 2009). Şekil 1.4'te paramanyetik maddelere dış manyetik alan uygulandığında manyetizasyonundaki değişim ile sıcaklığa bağlı alınganlıklarındaki değişim görülmektedir.



Şekil 1.4. Paramanyetik maddelere dış manyetik alan uygulandığında manyetizasyondaki değişimi (a), sıcaklığa bağlı alınganlık (b) ve ters alınganlığın (c) değişimini gösteren grafikler (Özel 2009)

1.4.4.2. Süperparamanyetizma

Parçacık boyutu, tek bir domain haline gelene kadar küçüldüğünde ve sıcaklık bloklama sıcaklığının üstüne getirildiğinde parçacık süperparamanyetik hale gelir. Bu durumda kalıcı manyetizasyon (Mr) ve koersivite (Ms) değerleri sıfırdır. Şekil 1.5'te parçacık çapına bağlı koersivite değerleri görülmektedir.



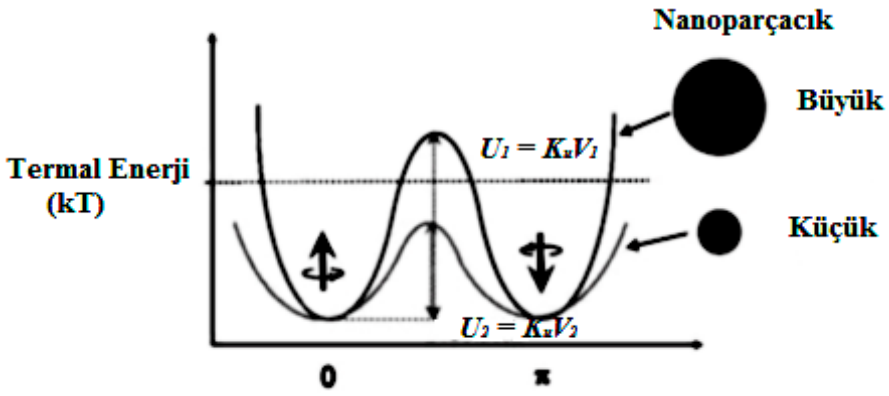
Şekil 1.5. Boyuta bağlı davranış. Boyut ile manyetik nanoparçacıkların koersivite (Ms) değişimi (Verderio 2014)

Manyetik nanaoparçacıklar farklı kompozisyonlarda oluşturulabilirler. Eğer parçacık yeterince küçükse ve sıcaklık yeterince yüksekse termal enerji (kT) anizotropi enerjisinin üstesinden gelir ve momentleri rasgele yönlendirir (Köçkar 2009).

Küçük ferromanyetik parçacıklardan süperparamanyetikliğe geçişte iki önemli durum söz konusudur (Lu ve ark. 2007, Özel 2009);

• Ferromanyetik parçacıkların boyut değerleri belli bir limitin altına düştüğünde domain duvarları ortadan kalkar ve parçacık tek bir domain olarak kalır.

• İkinci durum ise yeterince küçük parçacıklarda termal enerji, atomik manyetik momentleri rastgele yönlendirir ve parçacık süperparamanyetik hale gelir. Şekil 1.6'da manyetik parçacıkların ferromanyetizmadan süperparamanyetizmaya geçişleri durumundaki enerji diyagramı görülmektedir.



Şekil 1.6. Manyetik nanoparçacıkların ferromanyetizmadan süperparamanyetizmaya geçişlerindeki enerji diyagramı (Köçkar 2009)

Ferromanyetizmadan süperparamanyetizmaya geçiş sıcaklığı Blocking sıcaklığıdır. Bu sıcaklık parçacık hacmine bağlıdır. Örneğin, γ-Fe_2O_3 nanoparçacıkları 55 nm de 300 ^{0}K de ferrimanyetik özellik gösterir ve koersivite değeri 52 Oe dir. Fakat 12 nm boyutundaki parçacıklar süperparamanyetik özellik gösterir (Özel 2009).

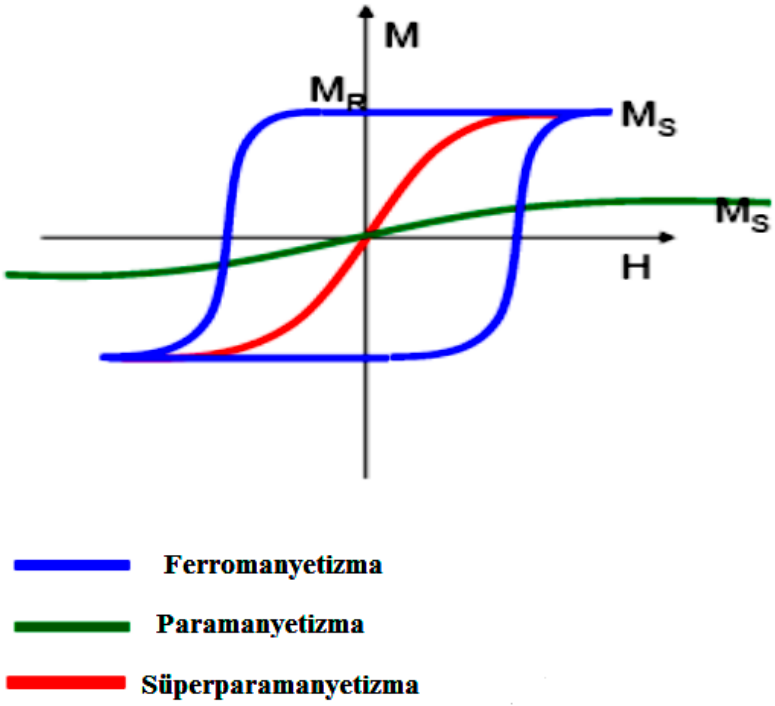
Bu kadar küçük parçacıklar için kaçınılmaz bir problem akla gelmektedir. Çıplak metalik nanoparçacıklar kimyasal olarak aktiftirler, havayla kolayca okside olurlar ve bir araya gelerek enerjilerini azaltmak eğilimindedirler. Çıplak metalik nanoparçacıklar

sentez öncesi veya sonrasında kimyasal olarak stabilize edilerek, bu problemi aşmak için stratejiler geliştirilmiştir. Bu stratejiler:

-Parçacıkların yüzey aktif madde ya da polimerle kaplanması

-İnorganik olarak, silika ya da karbonla kaplanmasıdır (Köçkar 2009).

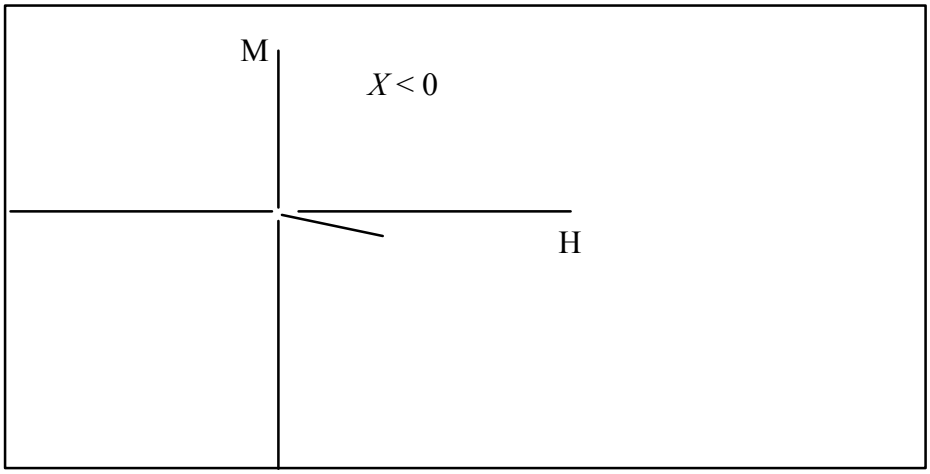
Şekil 1.7'de Ferromanyetizma, paramanyetizma ve süperparamanyetizmada manyetizasyon değerlerinin manyetik alana bağlı değişimi görülmektedir.



Şekil 1.7. Ferromanyetizma, paramanyetizma ve süperparamanyetizmada manyetizasyonun manyetik alana bağlı değişimi Ms: koersivite, Mr: kalıcı manyetizasyon (Köçkar 2009)

1.4.4.3. Diyamanyetizma

Diyamanyetizma Şekil 1.8'de görüldüğü gibi, bir "negatif alınganlık" ile karakterize edilir ve bu büyüklük sıcaklıktan bağımsızdır. Diyamanyetik bir maddeye dış manyetik alan (H) uygulandığında, alana ters yönde küçük bir manyetizasyon (M) elde edilir. Bu diyamanyetik maddelerin bir mıknatıs tarafından zayıfça itilmesine neden olur (Özel 2009).



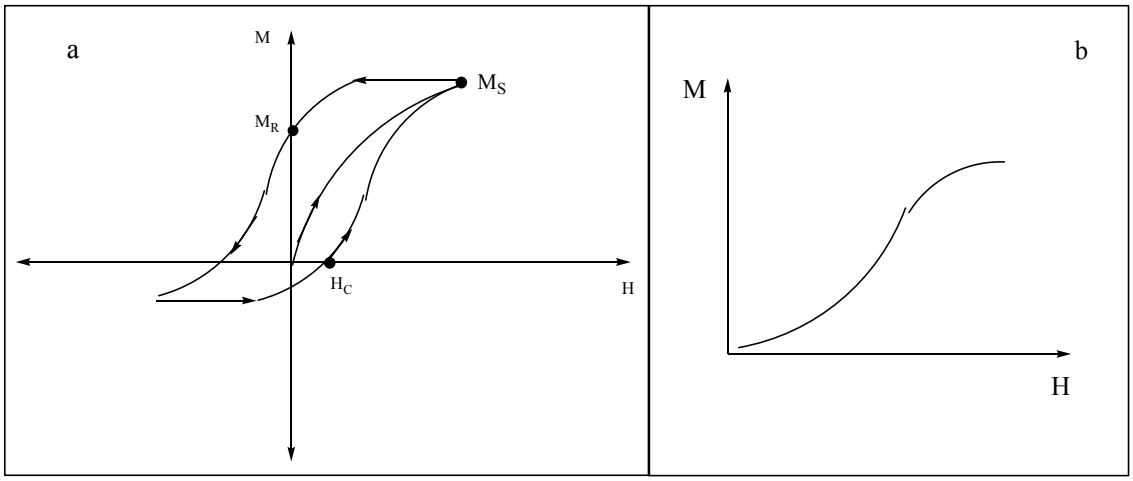
Şekil 1.8. Diyamanyetik maddelere dış manyetik alan uygulandığında manyetizasyondaki değişim

Diyamanyetik maddelerde sürekli manyetik momentlere sahip atomlar yoktur. Uygulanan manyetik alan elektronların orbital hareketlerinde değişiklik yaratır ve manyetik alana antiparalel küçük bir manyetizasyon elde edilir. Her maddede diyamanyetik etki olmakla birlikte diyamanyetizma paramanyetizmaya kıyasla küçük değerde olduğu için, bu etkiyi doğrudan manyetik olmayan maddelerde gözlemleyebiliriz. Diyamanyetik maddelere örnek olarak quartz, SiO_2 minerali verilebilir (Bayrak 2002, Özel 2009, Bleaney ve Bleaney 2013).

1.4.4.4. Ferromanyetizma

Ferromanyetik maddelerde atomlar sürekli manyetik momente sahiptirler. Ferromanyetik maddelerdeki dipollerin asıl kaynağı elektron spinleridir. Paramanyetizmadan farklı olarak bu spinler arasında etkileşmeler söz konusudur ve bu etkileşim sırasında spinler birbirlerine paralel olarak dizilirler. Bu yüzden de ferromanyetik maddeler enerjilerini minimize edecek şekilde domainlere ayrılırlar. Kararlı bir yapıda boyutları 10^{-5} cm düzeyinde domainler vardır. Her bir domain farklı mıknatıslanma yönüne sahiptir bu yüzden de net manyetizasyon değeri sıfırdır. Domainler birbirlerinden domain duvarlarıyla ayrılırlar. Dışarıdan manyetik alan uygulandığında domainler manyetik alan yönünde sıralanırlar. Paramanyetik maddelerden farklı olarak manyetik alan kaldırıldığında momentler aynı yönde yönlenmeye devam ederler. Yani ferromanyetik maddelerde manyetizasyon kalıcıdır. Ferromanyetik maddelerde mıknatıslanma değeri çok büyüktür. Mıknatıslanma şiddeti sadece uygulanan manyetik alana değil, numunenin önceki durumuna ve içinde

bulunduğu koşullara da bağlı olarak değişir. Ferromanyetik maddeler çok yüksek sıcaklıklarda ısıtılmaları durumunda paralel dizilmiş manyetik momentler bozulur ve Curie sıcaklığında madde paramanyetik özellik gösterecek şekilde yapı değiştirir. Mıknatıslanma için gerekli manyetik alan uygulandığında domain çeperleri domainlerin büyümesine katkıda bulunacak şekilde hareket ederler. Bu durumda domainlerin mıknatıslanma yönü aşağı yukarı manyetik alan yönünde olacaktır. Eğer alan şiddeti arttırılırsa mıknatıslanmanın yönü, alan ile tamamen aynı yönde olacak şekilde düzenlenir. Bütün dipoller sıralandıktan sonra M mıknatıslanma değeri sabit bir değere ulaşarak doyuma gider. H manyetik alnının şiddetini azalttığımız zaman M mıknatıslanma şiddeti de azalacaktır. Ancak bu durumda eğri farklı bir yol izleyecektir. H değeri sıfır değerine düşürüldüğü zaman, mıknatıslanma şiddeti M' nin sıfırlanmadığı görülür. Şekil 1.9' da görüldüğü gibi manyetik alanın yönü ve şiddeti değiştirilerek kapalı bir döngü elde edilmiş olur (Bayrak 2002, Özel 2009, Bleaney ve Bleaney 2013).



Şekil 1.9. Ferromanyetik bir madde için (a) histeris eğrisi, (b) mıknatıslanma eğrisi

1.5. Biyouyumluluk ve MNPs'ın Biyomedikal Uygulamaları

Demir oksidin tıpta kullanımı yeni değildir. Magnetit, her ne kadar lodeston (mıknatıs taşı) olarak bilinse de M.Ö. 460 yılının başlarında Hipokrat tarafından kanamalar ve kanama kontrolünde, artrit ve gut tedavisinde kullanıldığı kaydedilmiştir. M.S 10. Yüzyılda Avicenna (İbn-i Sina), pas yutma zehirlenmelerinde panzehir olarak demir oksit tozu kullanmıştır (Ramanujan 2004). Demir oksit nanoparçacıklar hem in

vivo (vücut içi) hem de in vitro (vücut dışı) uygulamaları vardır (Thomas 2010). Nano boyuttaki demir oksitlerin sahip oldukları spesifik ve biyouyumlu özellikleri nedeniyle biyomedikal uygulamalarında artan bir araştırmaya sahiptir. Bu tür uygulamalarda başarılı olabilmek için, demir oksit nanoparçacıklarının vücut içinde stabilizasyonu sağlanmalıdır. Bu amaçla MNPs'ın yüzeyleri modifiye edilmesi veya fonksiyonlaştırılması ile akıllı parçacıklar üretilmelidir (Thomas 2010).

Biyouyumluluk, demir oksit nanoparçacıkların biyomedikal uygulamalarda direk olarak kullanılabilmeleri için önemli bir gereksinimdir. Birçok çalışma demir oksit MNPs'ın kaplanmadan önce ve kaplandıktan sonraki toksisitelerini inceleme üzerine kurulmuştur (Gupta ve Gupta 2005). Çıplak demir oksitte toksisite doza bağımlı olduğu gösterilmiştir, ancak önemli ölçüde biyolojik olarak uyumlu bir polimer ile kaplandıktan sonra azaltılabilmiştir (Thao 2012).

Süper biyouyumlu özelliklerine ek olarak MNPs manyetik rezonans görüntüleme (MRI), ilaç dağılımı, hücre takibi ve hipertermi gibi biyomedikal alanda çok önemli uygulamalar sunar (Hao ve ark. 2010). Şuan da bazı demir oksit nanoparçacıklar MR kontrast ajanı olarak klinik denemelerde kullanılmakta veya klinik denemeler aşamasındadır (Jang ve ark. 2009, Verderio 2014).

Son yıllarda, kanser tedavi etkenlerinin verimliliğini arttırmak için, polimer-DNA kompleksleri (polipleksler), polimer-ilaç konjugatları ve hidrofobik ilaçları taşıyan polimer misellerin kullanımını içeren alanlarda da çalışmalar artmaktadır. Küçük boyutları ve mükemmel biyo-uyumlulukları sayesinde nano boyuttaki terapötik polimer ajanları, hedef bölgeye ulaşabilmek için uzun süre kan dolaşımında kalabilmektedirler(Cao ve ark. 2011).

1.6. Kararlılık

MNPs'ın yüzey alanının hacme oranı yüksek olduğundan kimyasal aktiviteleri yüksektir. Bu yüzden çıplak (kaplanmamış) MNPs yüzey enerjilerini minimize etmek için genellikle bir arada bulunma eğilimindedir. Ayrıca magnetit demir oksit (Fe_3O_4) asidik ortamda kolaylıkla çözünmekte ya da havada oksitlenip maghemite (γ-Fe_2O_3) dönüşmektedir bu da manyetik özelliğinin kaybı ile sonuçlanmaktadır (Wu ve ark. 2008). Teorik olarak çıplak MNPs dispersiyonunu üç kuvvet etkilemektedir bunlar Van der Waals kuvvetleri, elektrostatik itme kuvvetleri ve manyetik dipolar kuvvettir. Çıplak

MNPs'ın kararlılığı elektrostatik itme kuvvetleri tarafından kontrol edilebilmektedir. Bunun yanı sıra demir oksit yüzeyi Lewis asidi gibi davranmakta ve su ile kolaylıkla koordine olabilmektedir. Parçacık yüzeyi üzerindeki hidroksil fonksiyonel grubu ayrışarak yüzeyden ayrılır. Bu hidroksil grupları, amfoterik olduğundan, MNPs'ın yüzey yükü çözeltinin pH değerine bağlıdır. MNPs'ın izoelektrik noktası pH 6.8 olduğu görülmüştür.

Bu yüzden çıplak MNPs enzim immobilizasyonunda direk olarak kullanılmak için oldukça zayıf bir kararlılığa sahiptir (Huang ve ark. 2003). Onun yerine uygun bir kaplama materyali ile bu parçacıkların korunması daha iyi bir seçimdir, böylelikle ileride bu parçacıkların kararlılığı için bazı sterik itici kuvvetler sağlanabilir. Aslında kaplama MNPs'ın kararlılığını arttırmakla kalmayıp onların farklı ortamlarda dağılmalarına yardımcı olur. Ayrıca ileri immobilizasyon ve fonksiyonlaştırma işlemleri için bazı reaktif fonksiyonel gruplar sağlamış olur (Thao 2012).

Bir ferroakışkan içindeki nanoparçacıklar Brown hareketi yapar, birbirleri ile çarpışan bu parçacıklar topaklanma oluşturur ve bu şekilde kolloidal süspansiyon içindeki stabilitelerini kaybederek çözeltiden çökerek ayrılırlar. Topaklanmaya eti eden iki kuvvet, Van der Waals ve manyetik dipol etkileşimleridir (Majewski ve Thierry 2007). Topaklanmayı azaltmanın veya tamamen durdurmanın iki temel yolu vardır:

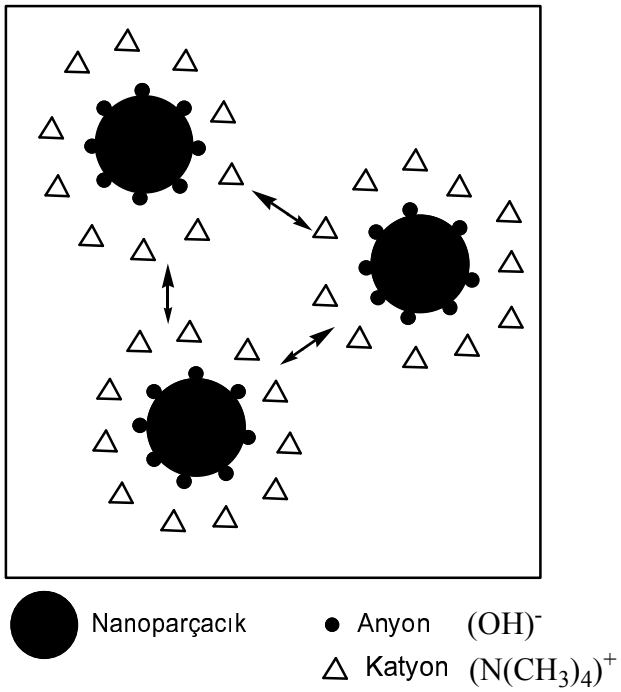
-Elektrostatik Stabilizasyon: Parçacıklar etrafında bir elektriksel çift tabaka yaratma

-Sterik Stabilizasyon: Partikül yüzeyine polimerlerin aşılanması

Üstelik Fe (III) çözünürlüğü (hidrasyon enerjisine karşı örgü enerjisi) son derece düşük olduğu ve ayrıca Fe (II)'de yüksek olmadığı bilinmektedir. Bu şu anlama gelir; orta pH (6-7) değerinde bu iyonların çözünmesi zordur (Dronskowski 2001, Thomas 2010)

Birlikte çöktürme metodu ile oluşturulan demir oksitlerde topaklanmayı önlemek için sık sık ortama tetrametil amonyum hidroksit (TMAOH) eklenir. Nanoparçacıkların yüzeyini kaplayan hidroksit iyonları ve ortamda kalan $N(CH_3)_4^+$ katyonları bu parçacıklar için yük dengesini sağladığı düşünülmektedir (Şekil 1.10'da görüldüğü gibi). Bu katyonik atmosfer diğer partikül ortamları arasında itmeyi sağlar (Berger ve ark. 1999). Bu problem bir pH değişimi yarattığından dolayı biyolojik uygulamalar için istenmeyen bir durumdur. pH 7'de iyonik atmosfer düşer ve bu durum

parçacıkların kuagüle olmasına neden olur, bu da onları nanoparçacık olmaktan çıkarır. Demir oksitlerin şuanda nötr pH'da stabiliteleri için kaplanması karmaşık bir durum olarak görülmesi ile birlikte bu alan, çok çalışılması ve araştırılması gereken önemli bir alandır (Gupta ve Gupta 2005).



Şekil 1.10. MNPs'ın yüzeyini kaplayan hidroksil iyonları ve daha sonra bu iyonları dengeleyen (tetrametil amonyum) $N(CH_3)_4^+$ katyonu ile çözelti ortamında stabile bir şekilde yüklenirler. Bu katyonik atmosfer, partiküller arasındaki itmeye yardımcı olarak Ostwald olgunlaşmasını ve topaklanmayı önler (Thomas 2010)

1.7. MNPs ve Toksisite

MNPs ilaç taşıma sistemlerinde taşıyıcı olarak kullanıldıkları için toksik özellikleri detaylı bir şekilde araştırılmalıdır. Bu parçacıklarla ilgili yapılan birkaç *in vivo* ve *in vitro* çalışmada insan vücudu için toksik etkileri araştırılmıştır. Ferrik demir iyonları hücre içine transferrin reseptörüne bağlanarak taşınmaktadır. Hücre sitoplazması içinde, sitoplazmik demir iyonları havuzunun büyük bir çoğunluğu ferritin olarak adlandırılan özel bir protein içinde depolanır. Demirin bu fizyolojik ilgisinden dolayı ilk etapta non-sitotoksik olarak kabul edilmiştir. Doğal olarak MNPs'ın bozunması ferrik iyonu salınımı ile sonuçlanır ve normal demir metabolizmasına katılabilir. Ancak yine de çok küçük boyutta olan MNPs, hücre içerisinde yüksek bir konsantrasyona eriştikleri zaman ve genellikle vücuttan etkili bir şekilde temizlenmesi

çok zor olduğundan ek olarak bir tehlike arz edebilirler (Chan ve ark. 2002, Rivera ve ark. 2010). Dahası serbest demir iyonları serbest radikallerin oluşumu ile ilişkilendirilerek önceden zayıflamış olan patolojik süreçlerle özellikle nöral dokular üzerinde zararlı olabilmektedirler.

MNPs'ın toksisitesi, belirli bir konsantrasyonun üzerindeki uygulamalarda önemli bir şekilde arttığından, bütün araştırmalarda dikkat edilmesi gereken önemli bir husus olmuştur. MNPs'ın yüksek yüklenmeleri (>100µg/ml) sitotoksisiteye neden olmasına rağmen ilaç salımı uygulamalarında ihtiyaç duyulan konsantrasyonlar için uygun bir şekilde kaplama yapılarak çoğunlukla toksisite seviyesi düşürülebilir (Karlsson ve ark. 2008, Mahmoudi ve ark. 2009). Nanoparçacıkların kaplanması toksisiteyi düşürmeye teşvik eder. Bunun nedeni sadece biyo-uyumlu kaplamanın varlığından değil aynı zamanda ortamdaki proteinler, iyonlar ve diğer bileşenlerle adsorpsiyon yapacak yüzeydeki grupların sayısal olarak düşmesinden kaynaklıdır (Karlsson ve ark. 2008, Karlsson ve ark. 2009, Mahmoudi ve ark. 2010). Yüzeyi tam kaplanmamış MNPs'da hücrede opsonizasyon ve hızlı bir endositoza teşvik görülmektedir. Oysa yüzeylerinin tam kaplanması opsonizasyondan kurtulma ve uzun plazma yarı ömrü ile sonuçlanmaktadır (Jung ve Jacobs 1995). Negatif yüklü kaplanmamış MNPs, belli bir eşik değerinin üzerinde sitotoksisite etkisi göstermiştir.

1.8. Manyetik Nanoparçacıkların Atılımı

Yapılan çalışmalar, demir oksit nanoparçacıkların karaciğer ve dalakta toplanmaya meyilli olduğunu göstermiştir. Uzun bir süreden sonra hemoglobinler de buna dahil olur. AMI-25 olarak adlandırılan SPION kullanılarak yapılan bir çalışmada, farelerde akut ya da subakut bir toksisite olmadığını ve köpeklerde de önerilen dozun 150 kat daha fazlasının toksik olmadığı gösterilmiştir (Thomas 2010). Demir oksit nanopartiküllerinde toksisite önemli bir konudur ve henüz bu konuda standardizasyon bir protokol yoktur. Bu, toksisitenin aşırı derecede değişken olduğu anlamına gelir. Bu da nanoparçacıkların boyutundaki büyük değişmeler, çözünme hızı, doz, uygulanan metot ve kürelerin oluştuğu bileşenler gibi etkenlere bağlıdır. İn vivo ve in vitro denemelerde her bir metodoloji ve oluşan ürün yaygın bir şekilde denenmeden bu parçacıkların daha fazla uyumlu olduğunu tahmin etmek çok zordur (Weissleder ve ark. 1989, Soenen ve Cuyper 2010).

Demir konsantrasyonlarını, deri, menstruasyon, mukus, idrar ve bağırsak kayıpları gibi doğal hücre kayıpları ile bitirmek yerine vücutta demir atılımı için fizyolojik olmayan mekanizmalar vardır (Green ve ark. 1968, Thomas 2010, Tran ve Webster 2010).

1.9. MNPs'ın Polimer ile Kaplanmasının Önemi ve Gerekliliği

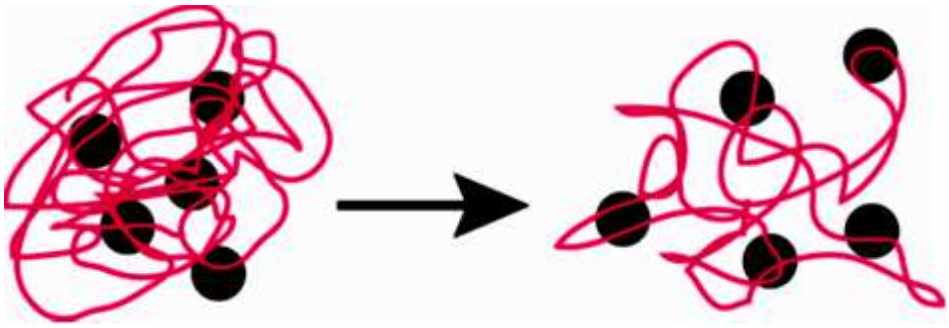
Biyomedikal uygulamalarda parçacıkların stabilize olması için kaplama işlemi yapılır. Bu işlem ayrıca vücut içindeki sirkülasyon ömrünü arttırmak için de kullanışlı olabilir. Bu şekilde parçacıkların opsonizasyon için direnci artmış olup glikoproteinlere ve plazma proteinlerine bağlanır. Opsonize parçacıklar daha sonra karaciğerdeki Kupffer hücreleri tarafından kolaylıkla tespit edilip vücuttan uzaklaştırılır. Proteinler hidrofobik parçacıklara daha hızlı ve daha kolay bağlanır (Davis 1997, Thomas 2010).

Kaplamaların çoğu karboksilatlar, siloksanlar, sülfatlar, fosfonatlar ve fosfatlar gibi organik moleküller kullanılarak yapılmıştır (Harris ve ark. 2003, Burgos-Asperilla ve ark. 2007). Su ya da fosfat tamponu çözeltisi (PBS) gibi biyolojik olarak uyumlu bir ortam içinde kararlı bir kolloidal süspansiyonu teşvik etmek için hidrofil bir kaplama kullanılması amaca daha uygundur. Karboksilik asitlerin, nanoparçacıkların yüzeyinde demirle asit reaksiyonları vermesi nedeni ile yüzey üzerinde kemisorbe olduklarına inanılır. Oleik asit, folik asit ve laurik asit dahil olmak üzere çeşitli karboksilik asit kaplamaları üretilmiştir (Jain Tapan ve ark. 2005, Sonvico ve ark. 2005, Pradhan ve ark. 2007, Thomas 2010).

MNPs'da toksisiteyi düşürmek için farklı kaplamalar kullanılmıştır. Häfeli ve arkadaşları MNPs'ı polietilen oksit (PEO) triblok kopolimeri (PEO-COOH-PEO) ile kaplamışlardır ve PEO blok kuyruk uzunluğun toksisite ile ters ilişkili olduğunu bulmuşlardır (Hafeli ve ark. 2009). 2 kDa üzerindeki PEO kuyruk uzunluklarının MNPs'ı kaplaması *in vivo* uygulamaları için uygun olduğu önerilmiştir. Mahmoudi ve arkadaşları kaplanmamış MNPs'ın polivinil alkol (PVA) ile kaplı MNPs'a göre yüksek oranda toksisiteye sebep olduğunu göstermişlerdir (Mahmoudi ve ark. 2009). Auffan ve arkadaşları, Dimerkaptosuksinik asit (DMSA) ile maghemit parçacıklarının kaplanması, insan dermal fibroblastları ile bu parçacıklar arasındaki doğrudan teması önleyerek toksisiteyi hemen hemen bertaraf ettiğini göstermişlerdir (Auffan ve ark. 2006). Bununla birlikte yapılmış farklı bir çalışmada DMSA kaplı maghemit parçacıklar

kullanılarak incelenebilir bir hücre sistemi modeli geliştirilmiş ve orta konsantrasyonlardaki MNPs'da dahi hücreler arası dağılımda hücresel fonksiyonların olumsuz etkilendiği gösterilmiştir (Pisanic ve ark. 2007). Maghemit parçacıkları Polietilen imin (PEI)-g-polietilen glikol (PEG) ile kaplanmıştır ve onların toksisiteleri dallanmış PEI kaplı parçacıklar ile karşılaştırılmıştır (Schweiger ve ark. 2011). PEG'in kullanılması koruyucu tabaka etkisi göstermiş ve daha düşük toksisite sonuçları elde edilmiştir. Lee ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada, maghemit parçacıkları etilen glikol ile çift tabaka kaplayarak stabil etmişler ve bu parçacıkların toksik olmadığını göstermişlerdir (Lee ve ark. 2011). Başka bir çalışmada, PEG kaplı magnetit parçacıklarının da toksisiteyi düşürdüğü gösterilmiştir (Zhou ve ark. 2011).

Şekil 1.13'te uzun polimer zincirlerinin (polietilen glikol gibi) nanopaçacıkları nasıl kapladığı görülmektedir. Bu polimerler sürekli konformasyon değiştirerek nanoparçacıkları gizlemektedir böylece vücudun onları tanıması zorlaşır.

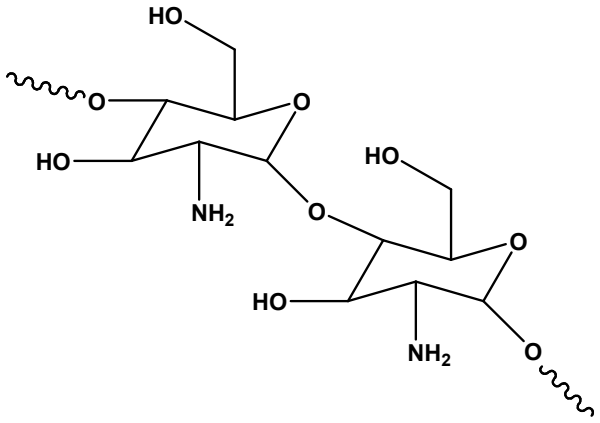


Şekil 1.11. MNPs'ın polimer ile kaplanması ve gizlenmesi (Thomas 2010)

MNPs için son derece yaygın hidrofilik polimer kaplamalar arasında özellikle dekstran, polietilen glikol (PEG) ve polietilen oksit (PEO) bulunmaktadır. Bu kaplamalar sürekli konformasyon değişikliği ile onlara "gizlilik" özelliği kazandırarak vücut için onları belirlemeyi ve açığa çıkarmayı zorlaştırır (Thomas 2010).

MNPs, kitosan içine gömülerek manyetik kitosan parçacıkları elde edilmiştir. Bunlar tamamen kitosan ile kaplandığından nispeten düşük toksisite göstermiştir (Zhou ve ark. 2011). Kitosan (Şekil 1.11'de görüldüğü gibi) biyo-yenilenebilir, biyo-bozunur,

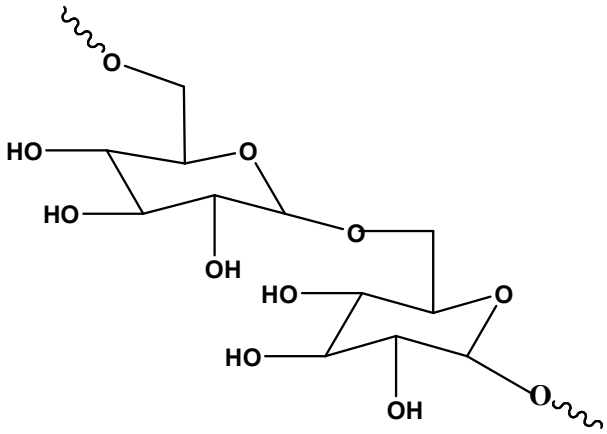
biyo-uyumlu, biyo-kaplama, antibakteriyel ve immünolojik gibi eşsiz karakteristik özellikleri sayesinde çok yaygın kullanılan polimerlerin başında gelir (Zhu ve ark. 2012).



Şekil 1.12. Kitosan'ın gösterimi

Manyetik nanoparçacıkları çevreleyen ikincil yüzey aktif maddeler *in vivo* çalışmalarında sitotoksisite için test edilmiştir. Sitrik asit ve aljinik asit yüzey aktif maddeleri, nişasta, dekanoik asit ve PEG den önemli ölçüde daha az toksik bulunmuştur. Bu çalışma, toksisiteyi en aza indirmek için yüzey kaplamanın önemini göstermiştir (Kuznetsov ve ark. 1999).

Dekstran (Şekil 1.12'de görüldüğü gibi) basit monosakaritlerden glikoz ihtiva eden, anti-kanser ilaçların konjugasyonunda yaygın bir şekilde kullanılan makro moleküllerden biridir. Poliglikoz içeren bu biyopolimer; plazma genişletici özelliklere sahip olması, arzu edilen fizikokimyasal özellikler taşıması, düşük maliyete sahip olması ayrıca cazip klinik öyküleri ile ilaç taşıma sistemlerinde çalışılmak istenen polimerlerin başında yer almaktadır. Singh ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, kaplanmamış magnetit, kaplanmamış maghemit, dekstran kaplı magnetit ve dekstran kaplı maghemit parçacıkları sitotoksisite bakımından karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır ve 100 mg/mL altında örneklerin sitotoksisite göstermediği görülmüştür (Singh ve ark. 2012). Daha kapsamlı bir çalışmada, Ding ve arkadaşları dekstran ile hibritleştirilmiş magnetit nanoparçacıklarının hücreye özel sitotoksisitesi olduğunu göstermişlerdir (Ding ve ark. 2010).



Şekil 1.13. Dekstran'ın gösterimi

Son zamanlarda dekstran türevlerinden özellikle karboksimetil dekstran, sitotoksik-ilaç konjugasyonları oluşturduğu için ilaç dağılım sistemlerinde en çok tercih edilen dekstran türevleridir. Karboksimetil dekstran sahip olduğu karboksil grupları sayesinde polimer-ilaç etkileşimi ile etkin bir konjugasyon sağlamaktadır. Bu konjügatlar, genel olarak uzun süreli bir etkiye sahip olup birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarında toksisiteyi azaltmıştır. Bu bulgudan yola çıkarak yüzeydeki aktif karboksil gruplarının arttırılması ile daha iyi bir polimer-ilaç konjugasyonu sağlamaktadır (Xie ve ark. 1999, Lee ve ark. 2004, Zhang ve ark. 2007, Zhu ve ark. 2009, Mert ve ark. 2012, Goodarzi ve ark. 2013).

MNPs için yaygın bir diğer kaplama şekli lipozomlardır. Lipozomlar, tekli veya çoklu fosfolipid tabakalarından oluşabilen lipid kesecikleridir. Fosfolipid kabuğunun biyo-uyumlu olması ve biyomedikal uygulamalar için istenilen pH aralığında kararlı olmayı desteklemesi oldukça önemlidir. Ayrıca lipozom yüzeyler, fonksiyonlaştırıla bilmeleri, hedef molekülleri bağlamaya izin vermeleri ve PEG gibi polimerler kullanılarak gizlilik modunda çalışılmasına olanak vermeleri gibi önemli özelliklere sahiptir (Hodenius ve ark. 2002, Gabizon ve ark. 2004). Alternatif olarak lipozom kabuklarına uygun fosfolipidler eklenerek katyonik yapılabilmektedirler. Bu şekilde kanser hücrelerinin anyonik membranları ile elektrostatik etkileşime girdiğinden dolayı kanser hücrelerinde daha hızlı ilerlemekte bu da adsorpsiyonu arttırmaktadır (Shinkai ve ark. 1996). Bu alanda, manyetik hipertermi fenomeni kullanarak, uzun vadede kanser

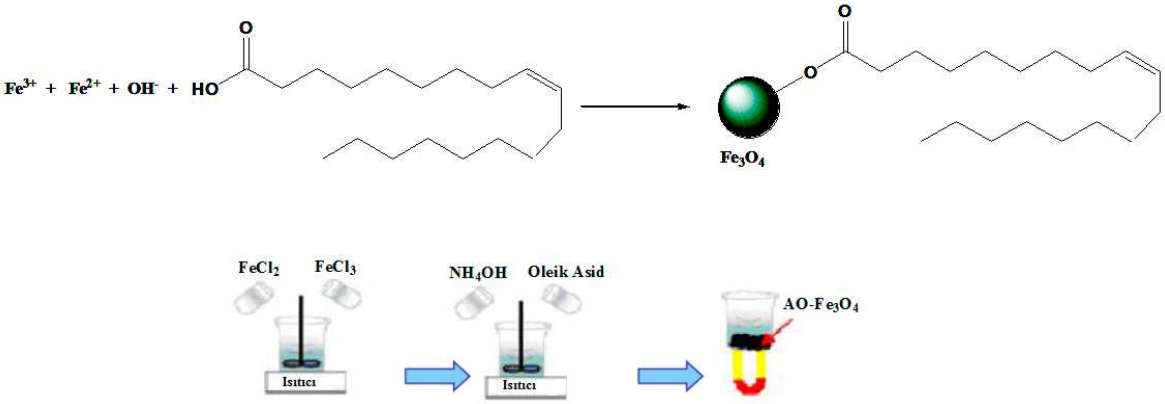
tedavisinde, amaca ulaşmak için bu yolda daha çok kapı açmış ve literatürlerde umut verici sonuçlar göstermiştir (Kong ve Dewhirst 1999, Shinkai ve ark. 1999, Thomas 2010).

1.10. MNPs'ın Sentezi

Manyetik nanoparçacık (MNPs) sentezini geliştirmek için birçok yöntem bulunmaktadır ancak en yaygın kullanılan yöntemler; birlikte çöktürme, termal ayrışma, hidrotermal yöntem ve mikroemülsiyon yöntemidir. Bu metodların her birinin avantajları ve dezavantajları vardır. Bununla birlikte, birlikte çöktürme metodu genellikle en basit, en hızlı ve en kolay metod olarak kabul edilir. Termal ayrışma metodu ise parçacık morfolojisi ve boyutunu kontrol etmede kullanılan en iyi metottur (Lu ve ark. 2007, Thao 2012). Bu yüzden büyük çapta sentez uygulamalarında bu iki metod çoğunlukla tercih edilir.

1.10.1. Birlikte Çöktürme Metodu

Birlikte çöktürme metodunda; normal basınç altında, 20 ^{0}C ile 90 ^{0}C arası sıcaklıkta inert bir atmosfer altında Fe^{2+}/ Fe^{3+} tuzlarının bulunduğu sulu çözeltiye bir baz ilave edilmesinden sonra (genellikle NH_4OH) MNPs oluşur. (Şekil 1.14'te gösterilmiştir.) Elde edilmiş olan MNPs su içerisinde disperse (dağıtılmalıdır) edilmelidir. Sistemden nitrojen veya argon gazı geçirilmesi, magnetit parçacıkların (Fe_3O_4) istenmeyen oksitlenmesi ile maghemit parçacıklara (γ-Fe_2O_3) dönüşümünü engellemek için gereklidir (Gupta ve Gupta 2005, Lu ve ark. 2007, Thao 2012). Ayrıca sentezden sonra veya sentez aşamasında oleik asit gibi stabilizörün (dengeleyicinin) eklenmesi parçacıkların kolloidal stabilitesini arttırmaktadır. Manyetit nanoparçacıkların manyetik doygunluğu deneysel olarak 30-50 emu/g olarak belirlenir (Yusdy ve ark. 2009).



Şekil 1.14. Oleik asit kaplı MNPs birlikte çöktürme metodu ile hazırlanması

Daha önce belirtildiği gibi bu metod ile kolay, yeniden üretilebilir, basit, hızlı ve uygun koşullar altında yüksek verimle parçacık üretimi yapılabilmektedir. Bununla birlikte parçacıkların boyut dağılımı nispeten dardır. Genel olarak parçacıkların şekilleri, boyutları ve bileşimleri; tuzların türleri (klorürler, sülfatlar veya nitratlar), Fe^{2+}/Fe^{3+} oranı ve bunlara ek olarak karıştırma hızı, iyonik şiddet, pH, sıcaklık gibi reaksiyon koşulları ve ortama ilave edilen organik katkı maddesi tarafından kontrol edilebilir (Lu ve ark. 2007, Wu ve ark. 2008, Thao 2012).

Keza bu çalışmaları yapan bazı guruplar, birlikte çöktürme metodunda çeşitli koşulları değiştirerek monodispersiteye karşı parçacık boyutunun kontrol altına alınmasının mümkün olabileceğini göstermişlerdir. Bu metotlar şu şekildedir; (Thomas 2010).

-Demir Reaktantlarının Konsantrasyonunu Değiştirerek: Konsantrasyonların artmasıyla parçacık boyutu büyür (Tan ve ark. 2008).

-pH: Daha güçlü bir indirgenme maddesi ile daha küçük kristallerin oluşmasına yol açar (Tartaj ve ark. 2003).

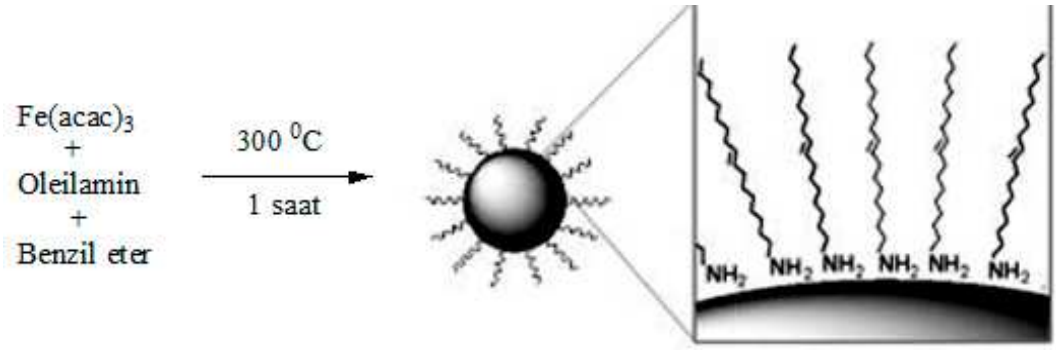
-Yüzey Aktif Maddeler Kullanarak: Farklı yüzey aktif madde türleri ve konsantrasyonları ile Van der Waals ve manyetik çekim kuvvetleri gibi parçacıklar arasındaki çekim kuvvetlerini yenerek nanoparçacık sentezi geliştirile bilir (Giri ve ark. 2005, Chin ve ark. 2007 Min ve ark. 2008).

-İyonik Şiddet: Ortamın iyonik şiddeti arttıkça parçacık boyutu düşer (Jolivet ve ark. 2000, Thomas 2010).

1.10.2. Termal Ayrışma Metodu

Bu metod ile MNPs sentezi, stabilizörlerin varlığında organik çözücüler içerisinde yüksek sıcaklıkta organometalik prekürsörlerin termal ayrışması temeline dayanır. Organometalik prekürsörlerin içeriği, metal asetil asetonatlar, metal bakır ferronatlar ya da karbonillerdir. Kullanılan organik çözücüler yüksek bir kaynama noktasına sahip olmalıdır çünkü reaksiyon çok yüksek sıcaklıklarda (100-320 ^{0}C) meydana gelir. Genellikle stabilizörler oleik asit, yağ asidileri, oleilamin ve heksadesilamin'dir (Park ve ark. 2004, Lu ve ark. 2007, Xu ve ark. 2009, Thao 2012). İstenmeyen oksidasyonları önlemek için ayrıca inert bir atmosferde çalışmak gerekir.

Boyutlarının kontrol edilebildiği mono disperse manyetik nano kristallerin, özellikle bu metod kullanılarak sentezlenebileceği görülmüştür (Park ve ark. 2004, Lu ve ark. 2007, Xu ve ark. 2009). Bununla birlikte bu karmaşık metotta çok yüksek sıcaklıklar, organik çözücüler ve uzun reaksiyon sürelerine (saatlerden günlere kadar) ihtiyaç duyulmaktadır. Şekil 1.15'te MNPs'ın termal bozunma yöntemini kullanarak sentetik bir yol ile nasıl sentezlendiği gösterilmiştir. Parçacık boyutunu kontrol eden faktörler arasında başlangıç tepkenlerin oranı (prekürsör, yüzey aktif maddeler ve çözücüler) (Lu ve ark. 2007), reaksiyon koşulları (sıcaklık, reaksiyon zamanı, yaşlanma dönemi) (Nelson ve Griffin 1916, Reetz 1997), sınırlayıcı ajanların konsantrasyonu ve türü (Nelson ve Griffin 1916, Reetz 1997) ve farklı kaynama noktasına sahip çözücüler yer almaktadır (Park ve ark. 2004). Ayrıca monodisperse nano kristallerin sentezi için çekirdekleşme ve büyümenin tam olarak ayrılmasının önemli olduğu kanıtlanmıştır.

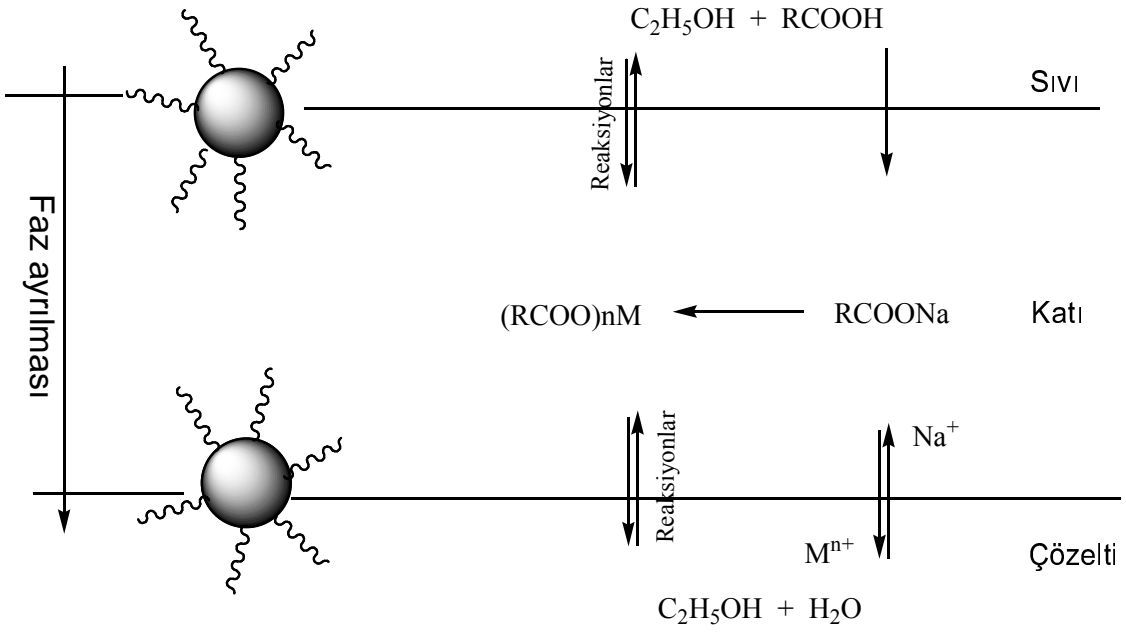


Şekil 1.15. MNPs'ın termal bozunma metodu ile hazırlanmasının şematik gösterimi

1.10.3. Hidrotermal Metod

Hidrotemal metod, Şekil 1.16'da görüldüğü gibi katı (örneğin metal linolatlar), sıvı (örneğin etanol-linolik asit) ve çözelti (su veya etanol) üç faz içeren interfaz sisteminden oluşup, faz transfer ve ayırma mekanizmalarına dayanır. Bu metotta reaksiyon hidrotermal koşullar altında gerçekleştirilmelidir (ağzı kapalı teflon kaplı paslanmaz çelik otoklavda yüksek sıcaklık ve yüksek basınçta). Reaksiyon karışımı, normalde prekürsör metal tuzları, yüksek kaynama noktasına sahip indirgeme ajanı, etanol, elektrostatik stabilizatör ve yüzey aktif madde içerir.

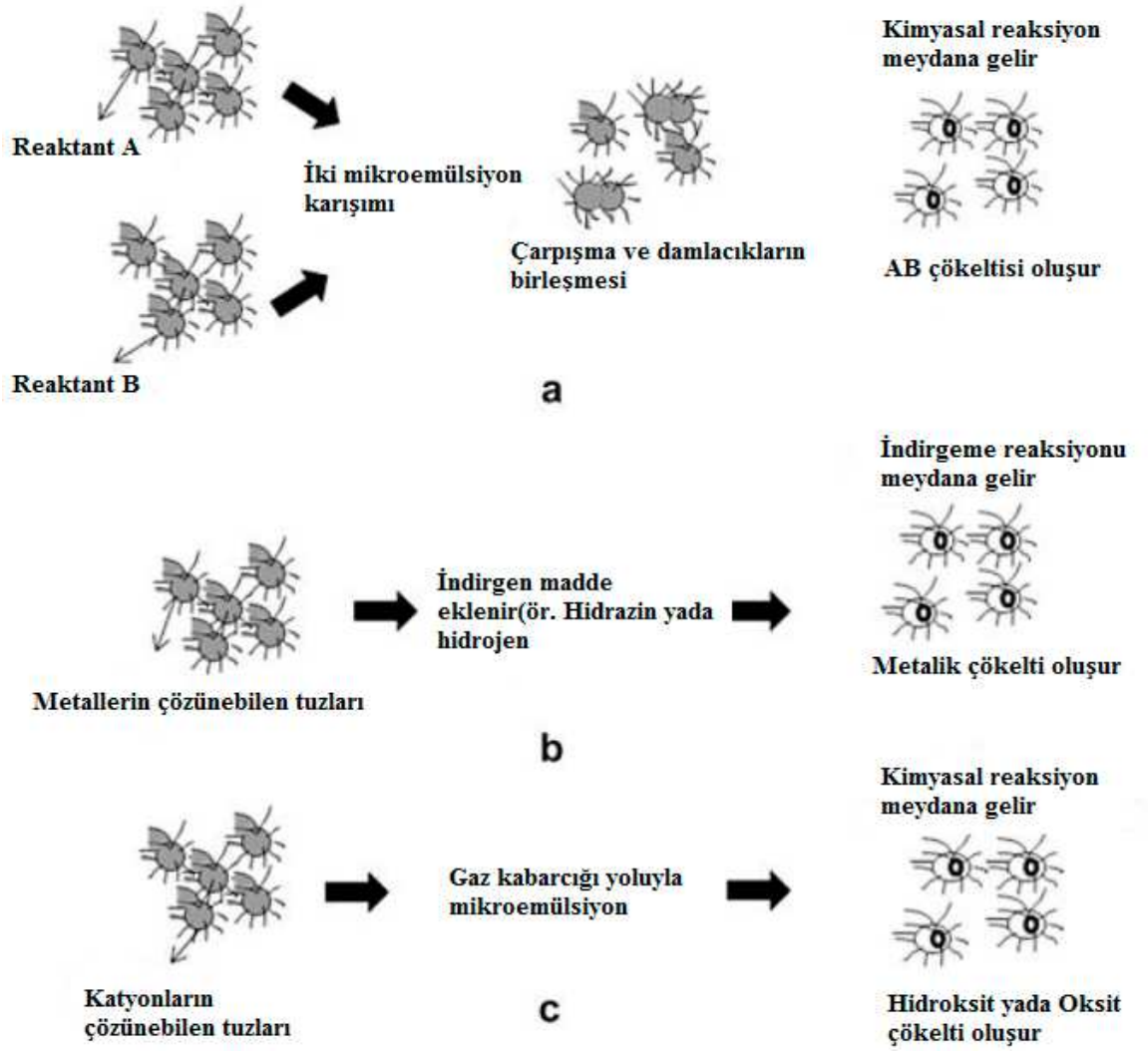
Bu metodun mekanizması çok açık olmamakla beraber, şekil ve boyut kontrolü ile yüksek kalitede nanokristal sentezi için çok güçlü bir metottur (Lu ve ark. 2007). Buna karşın bu metod ile özel teflon kaplı paslanmaz çelik otoklav, yüksek sıcaklık ve basınç ve uzun süren reaksiyon zamanı gibi gereksinimlerinden dolayı büyük ölçekte uygulama yapmak oldukça zordur (Thao 2012).



Şekil 1.16. Katı-sıvı-çözelti faz transferi ile sentez stratejisi (Lu ve ark. 2007)

1.10.4. Mikroemülsiyon Metodu

Diğer metodlardan farklı olarak, bu metod, nanoparçacık oluşumunda nanoreaktör olarak mikroemülsiyonlar kullanılır. Bu mikroemülsiyonlar su içindeki yağ emülsiyonlarıdır. Burada organik çözücü devamlı bir faz ve sulu çözelti ile mikro damlacıkları arzu edilen şekilde yönlendirir (Gupta ve Gupta 2005). Yüzey aktif madde organik faz içinde bu mikro damlacıkları stabile etmek ve çapını kontrol etmek için kullanılır. Farklı reaktifler içeren ortama mikro damlacıklar karıştırılarak ya da metal tuz çözeltilerini içeren ortama indirgeyici ajan olarak mikro damlacıklar eklenerek veya mikroemülsiyonlardan gaz kabarcıkları geçirilerek sürekli bir çarpışma ve birleşmeyle nanoreaktörler oluşturulur (Şekil 1.17'de şematize edilmiştir) (Gupta ve Gupta 2005, Lu ve ark. 2007, Soenen ve Cuyper 2010, Thao 2012). Bu sırada reaksiyon meydana gelir ve oluşan nanopartiküller miseller içinde kalır. Son olarak etanol veya aseton mikroemülsiyon sistemine eklenerek sistem sonlandırılır ve çökelti yüzey aktif maddeden ayrılır. MNPs filitrasyon ve santrifüjle toplanır ve su içerisinde dağıtılır.



Şekil 1.17. Mikroemülsiyonlar içindeki nanoparçacık sentezinin şematik gösterimi (a)iki mikroemülsiyonu karıştırarak (b)indirgeyici bir ajan eklenerek ve (c)mikroemülsiyonlardan gaz kabarcığı geçirilerek (Soenen ve Cuyper 2010, Thao 2012)

Bu yöntemin bir avantajı, MNPs'ın boyut ve şekli, suyun yüzey aktif maddeye mol oranı ile kolaylıkla kontrol edilebilir olmasıdır (Lu ve ark. 2007, Lee ve ark. 2008). Dahası bu yöntem, MNPs'ın sentezi ve kaplanması sırasında tek bir kap kullanılmasından dolayı çok sık tercih edilen bir yöntemdir (Lee ve ark. 2008). Bununla birlikte, bu oldukça karmaşık bir işlemdir ve parçacıkların verimi birlikte çöktürme ve termal ayrıştırma yöntemi ile karşılaştırıldığında oldukça düşüktür. Ayrıca partikül boyutu ve şekli geniş bir aralığa yayılır (Lu ve ark. 2007, Thao 2012).

1.11. Karboksilik Asit Fonksiyonlaştırılmış Ligandların Varlığında Demir Oksit Nanoparçacıkların Sentezi

Demir oksit nanoparçacıkların stabilazasyonu biyomedikal uygulamaları için hayati öneme sahiptir. Bu nanoparçacıklar fizyolojik pH'ta kararlı olmadığı için hücre hedeflemelerinde topak oluşturmaları nedeniyle kullanışsız hale gelmektedirler. Bu stabilizasyonu elde etmek için moleküllerdeki grupların çoğu demir oksit nanoparçacıkların yüzeyi ile etkileşim halindedir. Bunlara örnek olarak siloksanlar (Yan ve ark. 2004, Bumb ve ark. 2008), fosfonatlar (Portet ve ark. 2001, Lalatonne ve ark. 2008), fosfatlar (Sahoo ve ark. 2001) ve uzun hidrofilik polimer zincirler, örneğin polietilen glikol (PEG) (Zalipsky ve ark. 1997, Wan ve ark. 2006), polietilen oksit (PEO) (Chen ve ark. 2007), proteinler (Li ve ark. 2008, Samanta ve ark. 2008), albüminler (Peng ve ark. 2004) ve dekstran (Jordan ve ark. 1999) ile demirle etkileşen oksijen sağlayıcı yüzeyler verilebilir (Ivanova ve ark. 2002, Thomas 2010).

Kullanılan diğer işlevsel gruplar karboksilik asitlerdir (Yu ve Chow 2004, Chen ve ark. 2008). En belirgin olanları oleik (Jain Tapan ve ark. 2005), laurik (Decuyper ve Joniau 1991), miristik (Avdeev ve ark. 2007) ve folik asittir (Sonvicove ark. 2005). Oleik asit, miristik asit ve laurik asit uzun yağ asidi zincirlerine sahip olduğundan suda çözünmezler. Sudaki çözünürlüğü sağlamak için bu gruplar daha elverişli gruplar ile yer değiştirilebilir ya da organik çözücüden suya geçişi sağlayabilmek için çok adımlı bir aşamadan geçirilerek fonksiyonlaştırma yapılabilir. Folik asit sadece stabilize ajanı olarak değil aynı zamanda manyetik hipertermide anti-kanser uygulamaları için de bazı hedefleme işlemlerinde kullanılmıştır. Folat reseptörlerinden dolayı, kanserde görüldüğü gibi yeni ve hızlı hücre büyüme alanları ifade edilmiştir (Mohapatra ve ark. 2007,Thomas 2010).

Literatürler karboksilik asitlerin demir oksit nanoparçacıkları stabile etmede, topaklanmayı önlemede ve biyo uyumluluğu desteklemede kullanıldığını gösteren sağlıklı delillere sahiptir. Ancak yukarıda tarif edildiği gibi bunlar, uzun zincirli karbon molekülleri $C \geq 12$ ya da folik asit gibi benzer büyüklükteki moleküllerdir. Bir tane karboksilik asit içeren küçük moleküller için daha az sayıda araştırma yapılmıştır. Bu moleküller, hidrojen bağı yapabilme ve polarite özelliklerinden dolayı hidrofilik özellik göstermeye meyillidirler. Bu özellik hem nanoparçacık sentezinde hem de biyo-uyumlu ferroakışkanların oluşumunda oldukça faydalıdır (Thomas 2010).

Demir oksit nanoparçacıklar ile bir karboksil grubunun reaktivitesi kanıtlanmış olduğundan daha detaylı araştırmalar için kısa zincirli karboksilik asit fonksiyonlandırılmış ligandlar seçilmiştir. –COOH grupları yanı sıra, antikor parçacıklarına kimyasal bağlanabilmesi için daha fonksiyonlandırılmış organik gruplara gereksinim vardır (Thomas 2010). Ayrıca bu tür çalışmalarda sentezlenen parçacıklar, Staphylococcus aureus gibi zararlı bakterileri öldürebilecek ve septisemi (kan zehirlenmesi) gibi hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek kadar manyetik hipertermi özelliği göstermiştir. Termoterapi, gelişi güzel bir şekilde bakterileri öldürür bu da, hipertermi tedavilerinde herhangi bir direnç elde edilmediği anlamına gelir (Thomas 2010).

1.12. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI) Kontrast Ajanları

Son 35 yıl içerisinde Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI) gibi tekniklerin gelişmesi ile diyagnostik tıbbi görüntüleme üzerine muazzam gelişmeler konu olmuştur. Tanısal görüntüleme uygulamaları invazif olmayan metotlar arasında en yararlı olanlardan bir tanesidir. Yumuşak dokular yüksek çözünürlükle radyasyona maruz kalmadan bu metotla karakterize edilmektedir. MRI, hem klinik öncesi hem de klinik ortamlarında birçok avantaja sahiptir. Bunlar; yüksek hız, net görüntü, erişim kolaylığı sağlayan yüksek çözünürlük ve düşük maliyettir. MRI, pozitron emisyon tomografisi gibi diğer tekniklere göre daha iyi bir tekniktir (Wang ve ark. 2006, Abushrida 2012).

Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI), nükleer manyetik rezonans prensiplerini kullanarak geliştirilmiştir. Vücudun ayrıntılı bir resmini oluşturmak için farklı elementler ya da izotopların manyetik özellikleri kullanır. Bu en yaygın şekilde sudaki bir proton kullanılarak yapılır. Bir protona manyetik bir alan uygulandığında, alan ile paralel hale gelir. Protonlara çapraz radyo frekans sinyalleri uygulandığında ise paralel yapıları bozulur ve daha sonra fazla enerjiyi geri vererek kararlı haldeki paralel yapısına döner. Üç çeşit relaksiyon, görüntü oluşturma üzerinde etkilidir: (De ve ark. 2008, Sun ve ark. 2008).

- Boyuna relaksiyon zamanı, T_1
- Enine relaksiyon zamanı, T_2
- Spin enerjisi, ϱ

MRI'da T_1 ve T_2 olarak adlandırılan iki tür kontrast ajanı kullanılır. T_1 ajanları, genellikle gadolinyum ile kaplanıp gizlenmiş olan parçacıklar olup daha çok kan ve kılcal damarları görüntülemede elverişli olarak kullanılır. Dekstran ya da PEG gibi polimerlerle kaplanarak gizlenmiş olan nanoparçacıklar T_2 ajanlarını oluşturur. Bu ajanlar, karaciğer ve dalak gibi mononükler fagosit sistemden (MPS) oluşan organlara kendiliğinden dağılarak kanser ya da organ travması gibi teşhis gerektiren vücut görüntülemelerinde kullanılır (Babes ve ark. 1999, Mornet ve ark. 2004). Kontrast ajanları, etkileşerek ve protonların relaksiyon zamanını değiştirerek görüntülemeyi geliştirmede kullanılır (Hodenius ve ark. 2002).

Demir oksit nanoparçacıkları büyük relaksivite değerlerine sahip olduklarından dolayı seyreltik konsantrasyonlarda dağıtılmalıdır (Tiefenauer ve ark. 1993, Thomas 2010).

1.13. Manyetik Ayırma

Manyetik ayırma, ayrıca yüksek konsantrasyonlarda da çalışılabilsin diye, istenilen materyali çözelti karışımından ayırmak için kullanılır. Kandaki sıtmanın tespiti (Paul ve ark. 1981) ve nadir bulunan tümör hücrelerinin tespti de dahil olmak üzere literatürde örnekleri rapor edilmiştir (Liberti ve ark. 2001). İstenilen materyale ilgi oluşturmak, manyetik parçacıkların yüzeylerinin işlevselleştirilmesi ile elde edilir. Manyetik parçacıklara bağlı olan materyal ile daha çok sayıda çalışma yapılabilir ve bu materyale dışarıdan manyetik bir alan uygulanarak çözelti karışımından filitre edilebilir.

- Hidrodinamik sürtünme kuvveti
- Ortamların hızı ve vizkozitesi
- İstenilen materyalin ortamdaki hızı
- Çoğunlukla manyetik parçacık boyutunun belirlediği, parçacığın manyetoforetik hareketliliği olarak bilinen ve parçacıkların manyetik alandaki tutumunu etkileyen farklı parametreler vardır (Pankhurst ve ark. 2003, Thomas 2010).

1.14. Manyetik Hipertermi

Nano boyuttaki manyetik özelik gösteren demir oksitler kullanılıp, hipertermi denilen bir olay ile istenmeyen hücreler veya bakterilerin yok edildiği gösterilmiştir

(Jordan ve ark. 1999, Johannsen ve ark. 2005). Hipertermi, kemoterapi gibi yıkıcı tedavilere olan gereksinimi azaltma veya bu tedavilerin yerine geçebilme gibi heyecan uyandıran bir tedavi şeklidir (Ito ve ark. 2007, Gazeau ve ark. 2008).

Demir oksit nanoparçacıkların parçacık boyutu düşürüldüğünde, kritik bir boyuta ulaşır ve süperparamanyetik olur. Bu boyutta histeresis kayıpları önemsiz olup, artan relaksiyon kayıpları baskın olur. Relaksiyondan gelen bu kayıplar büyük olup ferro veya ferimanyetik parçacıklardan gelen histerik kayıplardan daha büyük bir güç sağlar (Bahadur ve Giri 2003). Bu özelliği sayesinde manyetik hipertermi, kanser koşullarında kanser hücrelerini denatüre etmek için kullanılabilecektir (Thomas 2010).

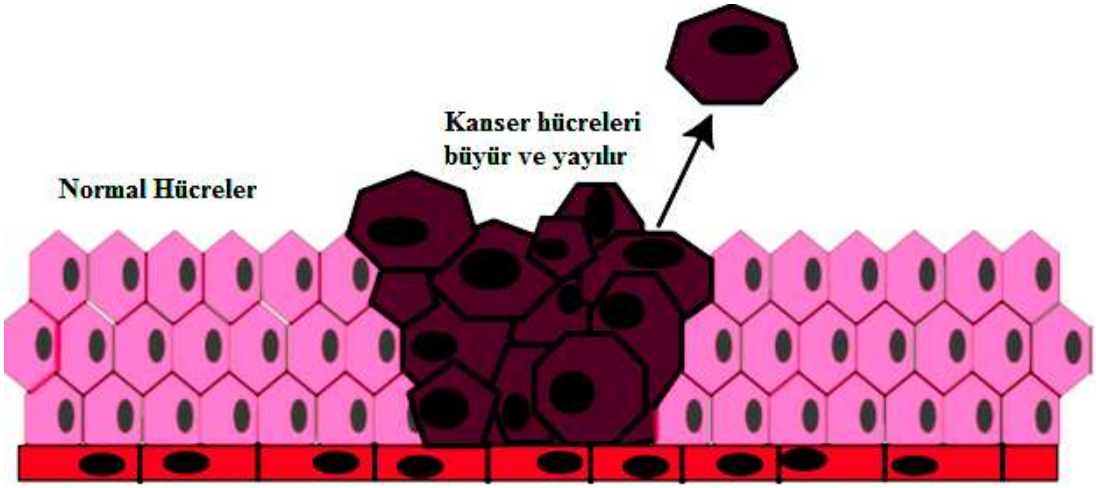
Manyetik hiperterminin kanser tedavisinin amacına ulaşmasında kullanılması umulmaktadır. Manyetik nanoparçacıklar birkaç saat içinde maksimum 42-45 ^{0}C sıcaklığa vardığı zaman kemoterapi ve ışın tedavisi ile birlikte kullanılabilirler. Böylece diğer tedavi yöntemlerini geliştirebilir. Bununla birlikte birkaç dakika içinde 50 ^{0}C ve üzerindeki sıcaklığa ulaştığı zaman kanser hücrelerini tamamen öldürmesi mümkündür, buna termoblasyon adı verilir (Yanase ve ark. 1997). Ancak bu şu anlama gelir ki; nanoparçacıklar gelişi güzel bir şekilde uygulandığında sağlıklı hücreleri de öldürebilir. Materyalin tümörlü dokuya direk enjeksiyon yapılması ya da hedef bölgelere verilmesi, bu parçacıkların spesifik kanser hücrelerine yapışmasını sağlar. Bu özellikleri nanoparçacıkları oldukça önemli bir konu haline getirir (Thomas 2010).

1.15. Kanser Biyolojisi ve Tedavisi

Günümüzün en önemli sağlık sorunlarından biri olan kanser, vücut hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde üremesi ve çoğu zaman komşu dokuları işgal etmesi sonucu oluşur. Biyoloji Penguin Referans Sözlüğü kanseri; "büyüme ve bölünmeyi düzenleyen kontrol mekanizmalarının normalin dışına çıkarak, bölünebilen kardeş hücrelerle koloniler oluşturup, komşu dokulara yayılarak onların aktivitelerini engellemesidir" şeklinde tanımlamıştır (Thain ve Hickman 2004). Kanser %90'nın üzerinde, virüsler, UV ışınlarına aşırı maruz kalma, sigara içme ve beslenmeyi de içeren dış faktörlerin neden olduğu DNA mutasyonundan kaynaklanır. DNA mutasyonunun bir diğer nedeni ise kalıtsaldır. Bu durum daha çok meme ve kolon kanserlerinde görülür (Anonim 2010, Thomas 2010). Kanser, dünyada bilinen ölüm nedenlerinin ilk sıralarında yer

almaktadır. Günümüzde, insanların beşte biri kanser yüzünden hayatını kaybetmektedir (Alberts ve ark. 2008).

Ülkemizde 1970'li yıllarda sebebi bilinen ölümler arasında 4. sırada yer alan kanser, son yıllarda kardiyovasküler hastalıklarından sonra 2. sıraya yükselmiştir (Aydemir 2011). Dünyada her yıl 12 milyon kişiye kanser tanısı konuyor ve 7.6 milyon kişi kanserden yaşamını yitiriyor. Önlem alınmazsa dünya genelinde 2030'da 26 milyon yeni kanser vakasına ve 17 milyon ölüme ulaşılacağı tahmin ediliyor (Aydemir 2011). Şekil 1.18'de kanser hücrelerinin nasıl rastgele ve kontrolsüz büyüdüğü ve yayıldığı gösterilmiştir.



Şekil 1.18. Kanser hücrelerinin rastgele ve kontrolsüz büyümesinin ve yayılmasının gösterimi

Kanser hücreleri kaynaklandıkları normal hücrelere göre daha kısa zamanda ölmelerine rağmen, yeni hücre oluşumu o kadar hızlıdır ki, sonuçta oluşan hücreler devamlı olarak birikir. Bu dengesizlik (aşırı hücre birikimi), hem kanser hücrelerindeki genetik anormalliklerden hem de organizmanın bu hücreleri tanımada ve yok etmedeki başarısızlığından dolayıdır (Aydemir 2011).

Foto-onkogenler ya da tümör baskılayıcı genlerin üretilmesi gibi iki temel yol ile hücre döngüsü etkilenip kanser gelişir. Proteinler için foto-onkogen kodlar, hücrelerin büyümesi ve bölünmesinden sorumludur. Bununla birlikte eğer bir yerde foto-onkogen

genler artmışsa ya bir nokta mutasyonu vardır ya da DNA faaliyeti vardır. Hücre döngüsünün bir şekilde aşırı uyarılması kansere sebep olmakta ve daha sonra onkogen olarak adlandırılmaktadır. Öte yandan tümör baskılayıcı genler üzerinde hücre bölünmesini sınırlayan genlerde mutasyon gerçekleşebilir, bu noktada hücre büyümesi ve bölünmesinde kontrol eksikliği yaşanır. Çoğu durumda kanser çoklu mutasyon ile uyarılır ve genellikle hem onkogenler ile ilişkilendirilir hem de tümör baskılayıcı genlerin aktif olmayışı veya eksikliği ile ilişkilendirilir. Ayrıca bu durum genlerde mutasyon oluşumunun artmasını ve kansere yakalanma riskinin niçin yaşla alakalı olduğunu açıklar (Campbell ve Jane 2002, Thomas 2010).

Hücre döngüsünde birbirini takip eden olaylar ve kontrol eden etkileşimler çok sayıdadır ve komplekstir. Tümör baskılayıcı fonksiyonun ve programlı hücre ölümlerinin anlaşılması yönünde ilerlemeler olmasına rağmen çözümlenmemiş çok sayıda soru vardır. Kemoterapi için hücre döngüsü kontrol noktaları büyük potansiyele sahip hedeflerdir. Çünkü kemoterapi ve radyoterapi sonrası kanser hücrelerinin yaşaması, onarım yollarındaki hasarlara bağlıdır. Hücre döngüsü kontrol noktalarında ve DNA onarım yollarındaki moleküler bileşenlerin daha iyi anlaşılması için in vivo ve in vitro çalışmalar klinik çalışmalarla desteklenmelidir (Cabadak 2008, Aydemir 2011).

Kanser hücreleri, çok hücreli organizmalarda oluşturulmuş ve yerleşmiş olan tüm hücresel davranışların en temel kurallarını yıkarlar ve bu kuralları yıkabilmek için her türlü imkândan faydalanırlar. Kanser hücrelerinin iki kalıtsal özelliği bulunmaktadır: (1) Kanser hücreleri hücre büyüme ve bölünmesindeki normal baskılanmaya karşı koyar ve ürerler. (2) Kanser hücreleri diğer hücreler için ayrılmış olan bölgeleri işgal eder ve bu bölgelerde kolonileşirler (Alberts ve ark. 2008, Aydemir 2011).

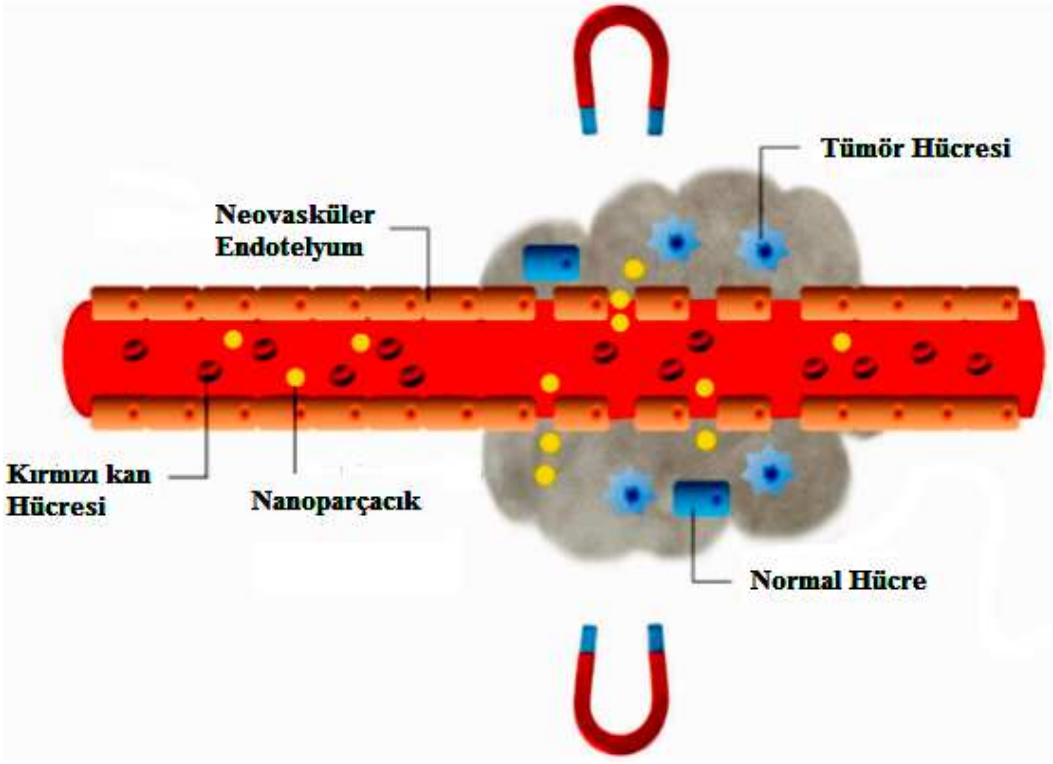
Hücre biyolojisi alanında birçok temel araştırma kanserle mücadeleye fayda sağlamıştır. Proteinlerin fonksiyonlarındaki anormallikler; kontrolsüz büyümeye, bölünmede artışa, hücre ölümlerinde azalmaya veya kanser hücrelerinin sebep olduğu başka anormal özelliklerden dolayı, bu olumsuzlukların önüne geçebilmek için birçok yeni protein keşfedilmiştir. Bunların arasında, DNA tamirinde, hücresel sinyallerde, hücre döngüsünde ve hücre büyümesinde, apoptosiste ve doku oluşumunda görev alan proteinler de bulunmaktadır (Alberts ve ark. 2008, Aydemir 2011).

Kanserin teşhisi yalnızca ne tip bir tümör oluşturduğuyla değil aynı zamanda yayılma şekli ve tedaviye gösterdiği hassasiyetle de belirlenir. Tümör hücreleri sadece çevrelerindeki dokulara yayılmazlar aynı zamanda lenf sistemi ve kan dolaşımı yoluyla vücudun diğer bölgelerine de yayılarak "metaztas" yapabilmektedirler. Böyle bir durumda normal hücre kontrol mekanizması zarar görür ya da tamamen bozulur. Kanser hücrelerinin mikroskobik olarak yayılmalarından dolayı, cerrahi olarak tümörün vücuttan uzaklaştırılması, her zaman başarılı sonuç vermemektedir. Malign tümörler genelde şekil olarak tam tanımlanmamış sınırlara sahiptirler. Mikroskobik yayılma, dokuda hastalıktan etkilenmemiş görünen bölgenin de çevrelenmesi ile sonlanır. Her ne kadar patolojik incelenmesi sonucu malign tümörün varlığı tespit edilip, vücuttan uzaklaştırılsa da, kalan tek bir hücre bile yeniden kanser oluşturabilmekte ve muhtemelen yeniden yayılabilmektedir. Genellikle, kanser ne kadar erken teşhis edilirse, metaztas oluşturma riski o kadar azalır ve hastalığın ilerleyişi hastanın lehine gelişir (Gabriel 2004, Aydemir 2011).

Çoğu kanser türleri lokalizasyonuna ve evrelerine bağlı olarak cerrahi müdahale, radyoterapi ve/veya kemoterapi gibi uygulamalarla tedavi edilebilmektedir. Kemoterapide vücuda verilen ilaç ilk olarak dolaşım sistemine alınır ve tedavi için hedeflenen dokuya kan damarları ile taşınır. Hedef dokulara ise bu dokulara nüfuz etmiş kılcal damarlar yoluyla ulaşır. İlacın vücuda alımından hedef dokuya taşınması sürecinde, damar yolu üzerinde bulunan tüm dokularca alınıp hücresel mekanizmalarca işlenmesi mümkündür. İlacın mevcut hücresel mekanizmalarca işlenmesi, ilacın hedef dokuda göstereceği etkinliğin azalması anlamına geleceğinden, bunun çözümü olarak başlangıç ilaç dozunun arttırılması yoluna gidilir. Böylece hedef dokuya ulaşmayan ilaç miktarı hesaplanarak hastaya yüksek dozlarda ilaç verilir. Bu durumun istenmeyen bir sonucu olarak, ilaç sadece hedef dokuda değil, hedef dışı dokularda da birikmeye ve doza bağlı olarak metabolizmada birçok mekanizmayı etkilemeye başlar. Ortaya çıkan genel ve yaygın toksisiteye ise "sistemik toksisite" denir ve kontrol edilemez ise ölümle sonuçlanabilir.

Yukarıda bahsedildiği gibi klasik ilaçlar, vücudun tamamına biyo-dispersiyon ile dağılımını da kapsayan sistemik ilaç uygulamalarından kaynaklı birçok problem ile karşı karşıyadır. İlaç hedefleme ile bu problemlerden bazılarının üstesinden gelinebilir (Torchilin, 2000b, Abushrida 2012).

Bundan dolayı ilacın vücut içerisinde hedef hücreye taşınması ve kontrollü salınımını sağlayan yeni alternatif yöntemler geliştirmeye ihtiyaç duyulmuştur. İlacı hedef bölgeye gönderme yollarından biri manyetik hedeflemedir. Manyetik hedefleme, dışarıdan verilen manyetik alan ile ilacın vücut içerisinde spesifik bir bölgede yoğunlaşmasını sağlayan bir hedefleme tekniğidir (Vasir ve Labhasetwar 2005). Şekil 1.19'da görüldüğü gibi damar içinde basit bir manyetik hedefleme şematize edilmiştir.



Şekil 1.19. Manyetik rehber eşliğinde ilaç hedefleme yönteminin şematik gösterimi. Nanoparçacıkların tümör kan damarı duvarlarından gözeneklerden damar dışına sızması (yani artan bir geçirgenlik ve tutma (EPR) etkisi) (Joan Estelrich ve ark. 2015)

Ayrıca dışarıdan bir manyetik alanın etkisi altında manyetik materyallerin üzerine ilacın tutturulması yolu ile hedefleme (Berry ve Curtis 2003) ya da proteinler, hormonlar, antikorlar, lektinler, yükleri değiştirilmiş moleküller ve folat gibi düşük molekül ağırlıklı ligandlara ilaçların bağlanarak hedef bölgeye yönlendirilmesi geliştirilmiştir (Sudimack ve Lee 2000, Abushrida 2012).

Manyetik ilaç taşımada kullanılan demir oksitler genellikle magnetit, hematit, maghemit ve magnezyum ferrit yapılarıdır. Magnetit; formülü Fe_3O_4 olarak bilinen

demir (II, III) oksit bileşiğidir. Siyah-kahverengindeki magnetit, ferrimanyetik bir kompozittir. Hematit; (α-Fe_2O_3), doğada volkanik faaliyetler sonucu oluşmuş, genellikle durgun sularda ve kaplıca sularında bulunan demir oksit mineralidir. Yumuşak manyetik bir malzeme olan hematit; kırmızımsı-kahverenginde, rombohedral kristal yapıda, anti-ferromanyetik özelliğe sahiptir. Maghemit; (γ- Fe_2O_3), magnetitin oksidasyonu ile oluşan ve yapısı magnetite benzeyen, ferrimanyetik özelliğe sahip bir demir oksit bileşiğidir. Magnezyum ferrit; ($MgFe_2O_4$) ise manyetik özelliğe sahip, n-tipi yarı iletken bir kompozittir (Schwertmann 1991, Tuncelli 2012). İlaç taşıyan taneciklerin şekli ve seçiciliği, çeşitli biyolojik ve biyofiziksel işlemler için önemlidir. Tanecik şeklinin ve seçiciliğinin hedef dokuya etkisi üzerine bazı çalışmalar yapılmıştır (Nicole ve ark. 2012). Nano boyuttaki ilaç taşıyıcıların geniş yüzey alanına sahip olmaları önemli bir parametredir. Küresel şekle sahip parçacıklarda hacim ve yüzey arasında uygun bir oran vardır, bu durumda yüzey gerilimi en aza iner ve uygun koşullar altında küresel şekil otomatik olarak oluşur. Buna rağmen farklı şekillerdeki taneciklerin hedeflenen dokuda istenilen biyo yayılmayı daha iyi sergilemesi beklenmektedir (Geng ve ark. 2007). Örneğin, elipsoid parçacıklar aynı hacimdeki küresel parçacıklardan daha etkin bir şekilde biyolojik yüzeye yapışır. Küresel olmayan parçacıklar benzer yapışma gücündeki küresel parçacıklara göre daha fazla ilaç taşıyabilir, ayrıca tanı ve görüntüleme etkileri daha çok gelişmiştir. Şekil 1.20'de küresel ve elipsoid parçacıkların biyolojik bir substrat ile etkileşimi görülmektedir (Tuncelli 2012).



(a) (b)

Şekil 1.20. Küresel (a) ve elipsoid (b) parçacıkların biyolojik substrat ile etkileşiminin şematik gösterimi (Tuncelli 2012)

1.16. Kanser Tedavisinde Kullanılan Yöntemler

Her hastalıkta olduğu gibi kanser tedavisinde de en önemli önlem ve tedavi bağışıklık sisteminin kuvvetlendirilmesidir. Bunun yanında hastalığın erken tanısı da kanserin tedavisinde başarı oranını arttırmaktadır. Kanser tedavisinde farklı yöntemler vardır. Bazıları yalnız başına bazıları ise kombine olarak beraber uygulanırlar (Aydemir 2011).

Kanserde erken tanıda en iyi doktor kişinin kendisidir. Ancak kanserin yol açtığı şikâyetler, birçok hastalığın şikâyetleri ile benzerdir. Her organın kanseri değişik belirti verir. Örneğin idrar yolları ile ilgili kanserlerde ağrı, kanlı idrar yapma gibi şikâyetler görülebilir. Ancak basit bir idrar yolu enfeksiyonu da aynı şikâyetlere yol açabilir. Önemli olan nokta özellikle uzun süren şikâyetleri önemseyip doktora başvurmaktır (Bozkurt 2004, Aydemir 2011).

Aşağıda sıralandığı gibi kanser tedavisinde uygulanan dört temel yöntem vardır.

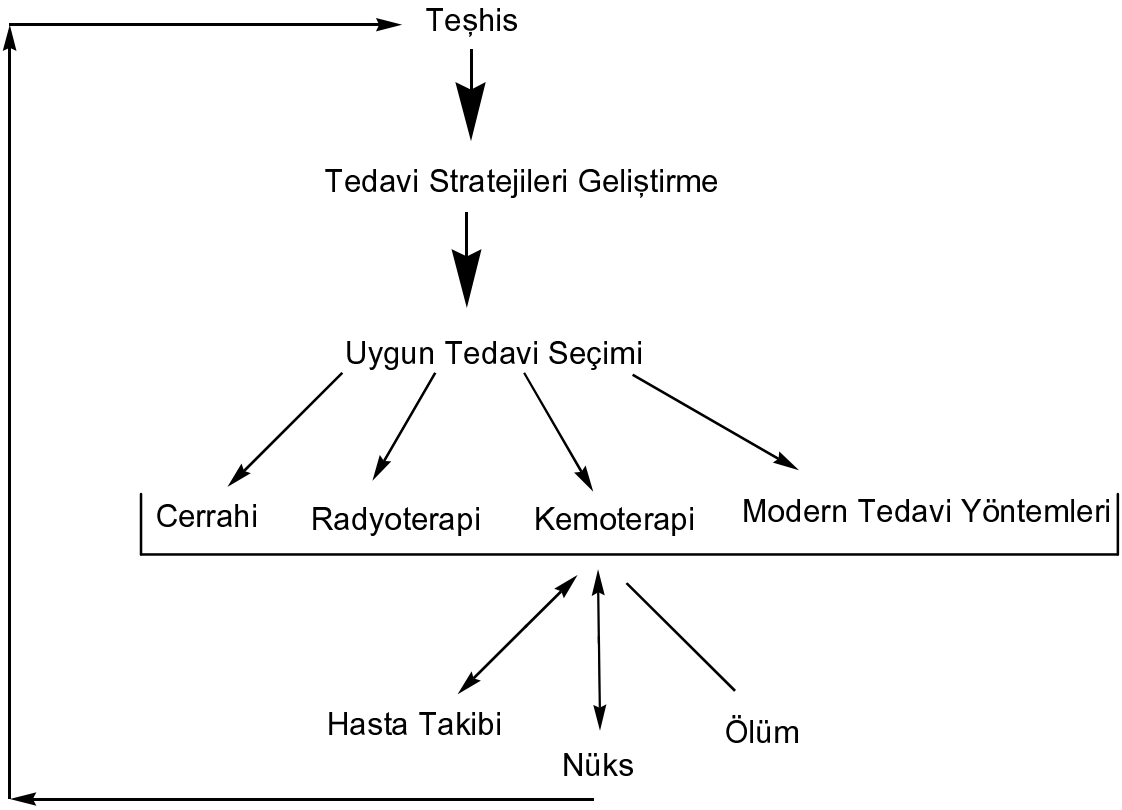
1. Cerrahi Müdahale

2. Radyoterapi

3. Kemoterapi

4. Modern Tedavi Yöntemleridir

Tedavi yöntemlerinden hangisinin tedavi için en uygun olduğu, tümörün tipine ve gelişim safhasına bağlıdır. En önemli tedavi seçeneği olan kemoterapi tek başına uygulanabildiği gibi diğer tedavi seçenekleriyle birlikte de uygulanabilmektedir. Şekil 1.21'de Kanser olgularında hastalığın teşhisi ve tedavisinde izlenmesi gereken yol aşağıda şematize edildiği gibidir (Aydemir 2011).



Şekil 1.21. Kanser olgularında hastalığın teşhisi ve tedavisinde izlenen yol (Gabriel 2004, Aydemir 2011)

1.16.1. Cerrahi Müdahale

Kanserli dokuyu ve çevresindeki invazyon riski taşıyan bir miktar sağlıklı dokuyu alıp çıkartmaktır. Bazı durumlarda kanserli dokuyu cerrahi müdahale ile çıkartmak imkânsız olabilir. Bu durumda radyoterapi (ışın tedavisi) veya kemoterapi uygulanır (Aydemir 2011).

1.16.2. Radyoterapi

Uygun dozda iyonlaştırıcı radyasyon kullanılarak kanser hücrelerinin öldürülmesi ve küçültülmesini amaçlar. Kobalt-60'ın yaydığı gamma ışınları ya da lineer hızlandırıcılardan elde edilen X-ışınları en sık kullanılan iyonlaştırıcı radyasyonlardır. Işın tedavisinin amacı, hastalıklı dokuya en yüksek dozu verirken hastalıklı dokuyu çevreleyen sağlam dokuya en az radyasyon vermektir. Işın tedavisinin başarısı, ışınım kaynağına ve tümör tipinin ışınıma karşı duyarlılığına bağlıdır (Aydemir 2011). Vücudun içine yerleştirilen veya bir içecek gibi yutulan radyoaktif bir materyal ile içsel bir radyoterapi yapılır (Thomas 2010).

1.16.3. Kemoterapi

Kemoterapi, "ilaçla tedavisi" anlamına gelmekle birlikte, daha çok kanser hücrelerini etkileyen kanser ilaçları kullanılarak yapılan tedavi için kullanılan terimdir. Bunun için kullanılan ilaçlara "antikanser" ilaçlar da denmektedir (Aydemir 2011). Kısacası; kullanılan toksik ilaçlar ile kötü huylu hücrelerin öldürülmesidir (Thomas 2010).

Kemoterapi tek başına kullanılabileceği gibi radyoterapi ile birlikte, ameliyattan önce ya da sonra uygulanabilmektedir. Kemoterapide birçok değişik ilaç kullanılmaktadır. Tedavide tek bir ilaç kullanılabileceği gibi bir kaç ilaç birlikte de kullanılabilir.

Kemoterapinin kullanım amaçları şunlardır:

- Hastalığı tedavi etmek
- Hastalığın yayılmasını önlemek
- Ameliyat sonrası nüks olasılığını azaltmak
- Ameliyat veya radyoterapi öncesi hastalığı küçültmek
- Radyoterapiye duyarlılığı arttırmak
- Hastalığa bağlı rahatsızlıkları/şikâyetleri azaltmak

Kemoterapi sistemik bir tedavi şeklidir, başka bir deyişle, kan dolaşımı aracılığı ile vücudun tüm bölgelerine yayılır, vücuttaki tüm doku ve organları etkiler. Bu açıdan kemoterapi, ameliyat ve radyoterapi gibi yerel tedaviyi amaçlayan tedavi yöntemlerinden farklıdır (Bozkurt 2004, Anonim 2010, Aydemir 2011).

Kanser hücrelerinin normal hücrelere göre hızlı büyümesi ve çoğalması nedeniyle antikanser ilaçları hızlı bölünen hücreleri tahrip etmeleri için geliştirilmiştir. Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi ilaçlarının ortak özelliği kanser hücresi ve normal hücreler arasında ayırım yapmaksızın hızla büyüyüp çoğalan hücrelere zarar vermeleridir. Vücudumuzdaki diğer hızlı bölünme yeteneğindeki hücreler de bu nedenle kemoterapiden etkilenmektedir. Bu durum çoğunlukla geçici olan yan etkilere neden olabilir. Bu yan etkiler en fazla saç kökü, mide-barsak sistemi ve kemik iliği hücreleri

gibi hızlı bölünen normal vücut hücrelerinde görülmektedir. Tedavinin sonlandırılmasıyla birlikte bu yan etkiler ortadan kalkar (Aydemir 2011).

Uzun zamandır, vücudun belirli bölgelerine ilacı bırakabilen ya da uzun süreli ilaç salım hızını kontrol edebilen salım sistemlerinin düşü kurulmasına karşın, ancak son yıllarda bu tür sistemlerin geliştirilebilmesi mümkün olmuştur. Kısa zaman içerisinde bu yeni ilaç salım sistemleri kardiyoloji, oftalmoloji, endokrinoloji, onkoloji ve immünoloji dahil olmak üzere tıbbın hemen her dalında etkili olmuştur (Aydemir 2011).

1.16.4. Modern Tedavi Yöntemleri

Kanser tedavisinde kullanılan, radyoterapi, kemoterapi ve cerrahi müdahale yöntemlerine yardımcı olarak, son dönemde kanser oluşumunu durduran ya da yavaşlatan modern tedavi yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden özellikle gen tedavisi, immünoterapi, antikor tedavisi ve kanser aşıları kanser terapisi için umut verici tedavi yöntemlerindendir (Aydemir 2011).

İmmünoterapi, bağışıklık tedavisi anlamına gelmektedir. Kanser hücrelerini öldürmek veya büyüyen kanseri inhibe etmek için biyolojik materyaller kullanılır. Bunlar arsında aşılar, gen terapileri, kanser büyüme inhibitörleri ve monoklonal antikorlar yer alır (Thomas 2010).

Bağışıklık sistemi, hücre ve organlardan oluşan ve vücudu enfeksiyon ve hastalıklara karşı koruyan bir sistemdir. Bağışıklık sistemi normal ve kanserli hücreler arasındaki farkı ayırt edebilir. immünoterapide, bağışıklık sistemini kanserle savaşma yönünde çalışmaya özendiren ilaçlar kullanılmaktadır. immünoterapi ağızdan, damardan ya da deri altından iğne yoluyla uygulanmaktadır ve çoğunlukla ‘grip’ benzeri yan etkilere sebep olmaktadır. Kişilerde üşüme, terleme, yorgunluk, baş ağrısı, kas ağrısı, mide bulantısı, kusma ya da ishal görülebilir (Aydemir 2011).

Bazı kanser türlerinin (prostat ve bazı göğüs kanserleri) gelişebilmesi için vücut tarafından salgılanan hormonlara ihtiyaçları vardır. Hormon tedavisinde ilaçlar yardımıyla vücudun bu hormonları üretmesi engellenebilir ya da hormonları üreten bez/organ ameliyatla alınabilir. Tedavi kanserin türüne bağlı olarak değişir. Hormon

tedavisinin yan etkileri, iştah artışı, ödem ve kilo almayı kapsayabilir. Bazı durumlarda kişinin ruh durumu ve cinsel isteği de etkilenebilir (Aydemir 2011).

Antikor tedavisinde ise belirli tümör hücrelerine karşı çok özel antikorlar geliştirilip, daha sonra bunlarla kanser hücrelerini öldürmek amaçlanmaktadır. Kanser aşıları, kansere karşı bağışıklık oluşturmayı amaçlayan aşılardır ve henüz deney aşamasında olan ilginç tedavi yöntemlerindendir. Bu yöntemde önce tümör dokusundan antijenik özelliğe sahip moleküller alınır. Bu antijenler hayvana verilip bağışıklık sistemi aktif hale geçirilir ve B hücreleri çok miktarda antikor salgılar. Bu antikorlar özel yöntemlerle toplanarak, hastanın kan dolaşımına verilir. Bu antikorlar tümör dokusuna ulaştıklarında kanser hücrelerine yapışırlar. Antikor bağlanan kanser hücreleri hastanın bağışıklık sistemi tarafından daha kolay algılanır. Kanser hücresi üzerindeki antikora bağlanan bazı moleküllerde bir dizi reaksiyon sonunda kanserli hücreyi parçalarlar (Bozkurt 2004, Aydemir 2011).

Klasik kemoterapi ilaçları vücutta hedefe yönelik hareket etmemektedir. Kullanılan ilaçlar kanserli hücrelere etki ettiği gibi sağlıklı hücrelere de zarar vermektedir. Ayrıca kanserli hücrelere tedavi için gereken dozda ilaç ulaşmamaktadır. Kemoterapi, hastanın bağışıklık sistemini zayıflatmakta ve hastanın diğer hastalıklara karşı duyarlı hale gelmesine sebep olmaktadır. Karşılaşılan bir diğer sorun, antikanser bileşenlere karşı gelişen MDR (Multi Drug Resistance) durumudur. Tüm bu önemli yan etkiler, kemoterapi ilaçlarının dokuya özgü etki etmemesinden kaynaklanır. Kanser tedavisinde kemoterapi ilaçlarının mümkün olduğunca tümörleri hedef alması ve sağlıklı dokular üzerinde etkisinin sınırlandırılması, tedavinin başarılı olmasında esastır. Bu husus ayrıca hastanın yaşam süresi ve kalitesinin artması bakımından önemlilik arz eder. Bu bilgiler ışığında Nanoteknoloji temelli Nano-onkolojideki gelişmeler, hedefe odaklı ilaç dağıtımı konusunda önemli yenilikler getirmiştir (Kumar ve ark. 2009). Bu sayede ilaçların kanser hücrelerindeki hücre içi konsantrasyonları arttırılabilirken, sağlıklı hücrelere olan toksik etkileri en aza indirilebilmektedir.

Bu yöntemler dışında;

Nakiller: Özellikle kemik iliği nakli

Fotodinamik terapi: Bir ışık kaynağı ile aktive edilen ilaçlarla kanser hücreleri öldürülebilir.

Radyofrekansı ile uzaklaştırma: Radyo dalgaları yardımıyla kanser hücrelerini ısıtarak öldürmek (Thomas 2010) gibi yöntemlerde mevcuttur.

1.17. İlaç Dağılımı ve Nanoteknoloji

İlaç dağılımı ya da manyetik ilaç hedefleme (MDT), uygun ilacın nanoparçacıklara bağlanmasıyla oluşturulan manyetik nanoparçacıkların kullanılması ile elde edilir. Fonksiyonlandırılmış ferroakışkanlar içselleştirildikten sonra dışarıdan bir manyetik alan uygulanarak nanoparçacıkları istenilen yapılardan (örneğin organlardan) direk olarak ayırmak kolaydır. Manyetik nanoparçacıkları aynı anda uygun bir yerde toplayarak, ilacı veya nanoparçacık-ilaç yapısının tamamını hücrelere almak mümkündür. Spesifik hedefler için ilaç dağılımı geliştirilerek daha düşük konsantrasyonlarda ilaç kullanılabilmektedir, böylece olumsuz yan etkilerden kaçınılmış olur (Neuberger ve ark. 2005, Thomas 2010).

İlaç dağılımında manyetik parçacıkların yükü, yüzey kimyası ve parçacık boyutunun, onların vücut içindeki biyoyararlanımı ve kan dolaşımı üzerinde güçlü etkileri vardır (Chouly ve ark. 1996b). Manyetik hedeflemede insanlarda ilk klinik çalışmalar Lubbe ve arkadaşları (1996) tarafından rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda kullanılan IONPs anyonik fosfat ve nişasta ile kaplandıktan sonra epirubisin'in pozitif yüklenmiş amino şekerlerine bağlanması ile mümkün olmuştur. Kimyasal olarak bağlı ilacın intravenöz infüzyonu ve tabi ki geleneksel kemoterapi tedavilerini içeren başarılı ön hayvan denemeleri, insan denemelerinin önünü açmıştır (Lubbe ve ark. 1996). Daha önce tedavisi başarısızlıkla sonuçlanan tümöre, infüzyon boyunca ve 45 dakika sonrasına kadar manyetik bir alan mümkün olduğunca yakın tutularak tedavi yapılmıştır (Bonadonna ve ark. 1993, Abushrida 2012).

Hastanın vücut ağırlığı, kan hacmi, kalp debisi, dolaşım sisteminin periferal direnci ve organ fonksiyonları gibi fizyolojik parametreler dışarıdan uygulanan manyetik alanı etkilemektedir. Buna ek olarak, hedef bölgeye yakın bir yere manyetik bir alan yerleştirmek de bir problem teşkil etmektedir (Lubbe ve ark. 2001). İlaç dağılımında nanoparçacıkların boyutları, ilacın adsorpsiyonu, hasarlı dokuya ulaşan maksimum doz ve minimum yan etki gibi etkenler de önemli rol oynamaktadır. Bunun bir sonucu olarak organın ilaca yanıtı değişir (Abushrida 2012).

Dışarıdan uygulanan manyetik kuvvetin gücü, kanın akış hızından daha büyük olmalıdır. Bu değer, arterler için 10 cms^{-1} ve kılcal damarlar için 0.05 cms^{-1} den büyük olmalıdır, böylece parçacıklar hedef bölgede tutulabilir (Tartaj ve ark. 2003, Thomas 2010).

İlaç taşıyıcıların;

- Fiziksel kararlılık göstermesi
- Hücre zarlarından geçebilecek boyutta olması
- İlaç taşıma kapasitelerinin yüksek olması
- Enzimatik ve fotokimyasal bozunmaya karşı dirençli olması
- Biyo-uyumlu ve biyo-ayrışabilir olması beklenir (Tuncelli 2012).

1.18. Manyetik Hedefleme

Toksik, dayanıksız, pahalı ve tedavi amacıyla belirli bir bölgeye yönlendirilmesi amaçlanan ilaçların istenilen bölgede yoğunlaşmasını sağlamak ve salımını kontrol etmek amacıyla manyetik partiküller ve manyetik alan kullanılarak yapılan hedefleme yöntemidir. Mikrovasküler engelleri endotelin durumuna bağımlı olmadan geçebilmesi, enjekte edilen dozun en az %60'nı hedef dokuya taşıması, serbest ilacın dolaşımdaki konsantrasyonun 100 kat azalması, normal doku hücrelerinin hasarının azalması, dokuda kontrollü bir şekilde ilaç bulunmasının sağlanması gibi üstünlükleri bölgesel rahatsızlıkların tedavisinde daha etkin olduğunu göstermiştir. Ancak bu üstünlüklerin yanı sıra manyetik hedefleme, pahalı olması, özel mikropartikül ve mıknatıs gerektiren tekniğin bazı üniversiteler ve bazı merkezlerle sınırlı olması, yani izleme yöntemlerinin gerekliliği ve uzun dönem magnetit depozisyonuna neden olması gibi sakıncaları da beraberinde taşımaktadır (Kaş ve Eldem 2002).

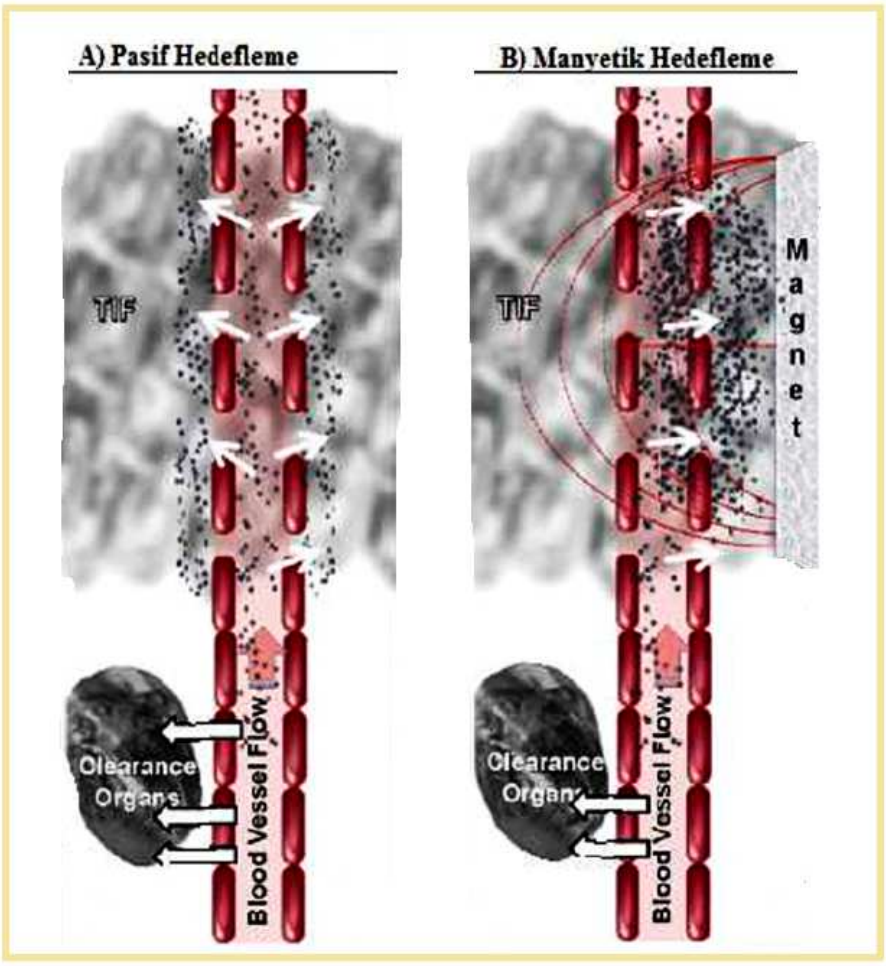
Manyetik ilaç hedefleme düşük yan etkiler ile bölgesel kanser tedavisine izin vererek, biyomedikalde birkaç olanağa sahiptir. Son zamanlarda manyetik ilaç taşıyıcıları genellikle manyetik çekirdek içeren biyouyumlu bir polimer ile kaplı veya manyetik nanopartiküller içeren poröz biyouyumlu polimerler olarak dizayn edilmektedir. Bu taşıyıcılar, birkaç yüzeysel fonksiyonel grupları ile sitotoksik ilaçları taşıyabilirler (Zebli ve ark. 2005, Varan 2013).

Polimerik nanopartiküller, kontrollü ilaç salımı ve hastalığa spesifik lokalizasyon sağlaması amacıyla, karakteristikleri ve yüzey kimyası değiştirilerek üretilebilirler (Singh ve Lillard 2009). Polimerik nanopartiküllerin hazırlanmasında doğal ve sentetik polimerler kullanılmaktadır. Doğal polimerler, proteinler (albumin, jelatin vb.) ve polisakkaritler (aljinat, kitosan, dekstran vb.) olmak üzere iki gruptan oluşmaktadır. Sentetik polimerler ise önceden sentezlenen (polianhidrit, polikaprolakton-PCL, poli(laktik asit)-PLA, poli(laktik-ko-glikolik asit)-PLGA vb.) veya hazırlama sırasında sentezlenen polimerlerden (poli(siyanoakrilat)-PACA vb.) oluşmaktadır (Ak 2010). Doğal polimerler biyolojik olarak parçalanabilir olması, metabolize edilebilmeleri, stabiliteleri ve büyüklük dağılımlarının kontrol edilebilir olmaları ve suda çözünen ilaçlar için yüksek yükleme kapasitesi vermeleri nedeniyle tercih edilirler (Çokkuş 2010, Şenol 2012).

Manyetik nanopartiküllerin eşsiz fizikokimyasal özelliklerinden ve biyolojik sistemlerdeki moleküler ve hücresel seviyelerdeki fonksiyon yeteneklerinden dolayı, gelecek nesiller için hedefli ilaç taşınım sistemleri olarak görülmektedir. Bu tarz ilaç taşıma sistemlerinin dizaynında taşıyıcıların vücutta spesifik bölgelerde seçici olarak yüklerini salabilme yeteneğine sahip olması ve daha da ötesi sağlıklı dokulara zarar vermeden hastalığı tedavi etmesine ihtiyaç duyulur. Bu durumda da manyetik hedefleme ile yüksek toksisiteye sahip ilaçların sağlıklı dokuları etkilemesiyle oluşacak yan etkileri azaltılırken, istenilen hedef dokuya yüksek dozda ilaç yüklemesi yapılabilir (Varan 2013, Verma ve ark. 2013).

İlaç taşıyıcı olarak nanopartiküllerin kullanılma nedeni; yükleme kapasitesinin fazla olması, immün sistem tarafından tanınmaması, hedefe daha etkili bir biçimde ulaşmak amacıyla yüzeylerinin çeşitli moleküller ile modifiye edilebilmesi, polimer kaplı süperparamanyetik materyallerin manyetik rezonans görüntülemeye olanak sağlayarak partiküllerin hastalık teşhisinde kullanılabilmesi, bir ligand ile konjugasyon aracılığıyla oldukça spesifik doku hedeflendirilmesinin mümkün olması şeklinde sıralanabilir. Kullanılan materyale ve üretim metoduna bağlı olarak şekil ve büyüklükleri değişen partiküllere farklı özellikler kazandırılmaktadır (Şenol 2012).

Şekil 1.22'de pasif hedefleme ve manyetik hedeflemenin şematik gösterim ile karşılaştırılması verilmiştir (Klostergaard ve Seeney 2012).

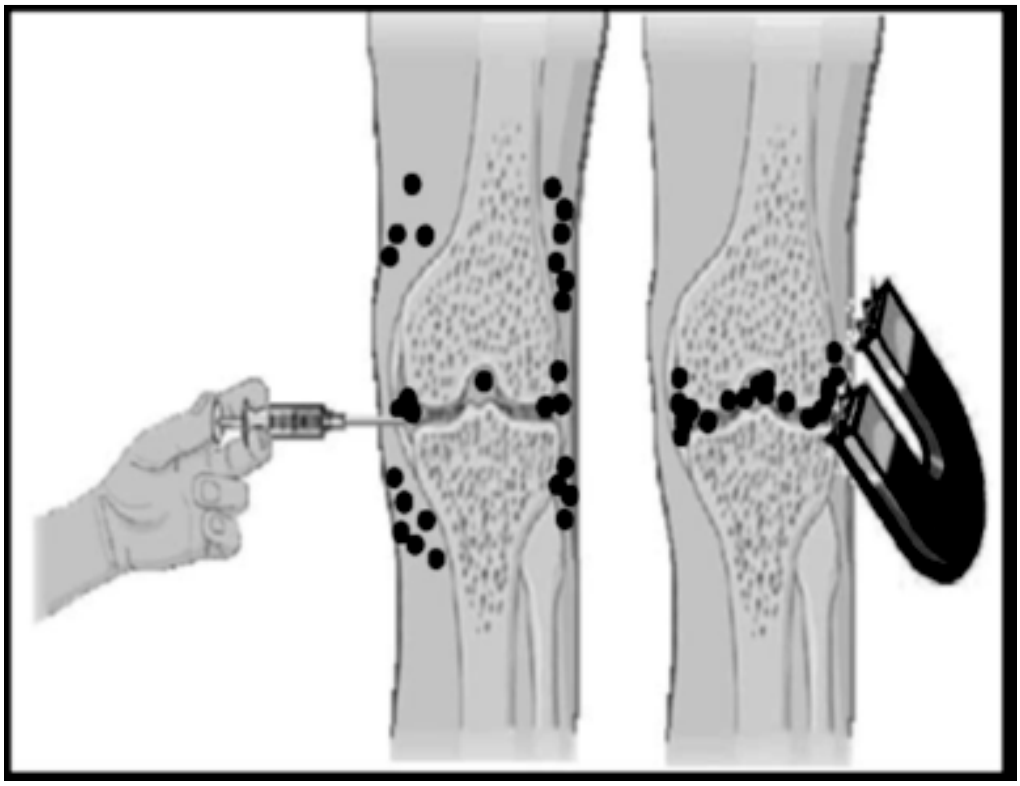


Şekil 1.22. A) Pasif hedefleme ve B) Manyetik hedeflemenin karşılaştırılması

Şekilde kan akışı şemanın altından üstüne doğru olmaktadır. Küçük lipozomlar pasif olarak porlardan geçebilir, tipik olarak 400-800 nm çapındakiler, tümör doku içi sıvısında (TIF) birikirler. Bu sıvıdaki stromal hücreler veya tümör tarafından ilaç içerikleri serbest ya da bağlı olabilir. Manyetik nanopartiküller ile manyetik hedefleme de ise pasif hedeflemedeki zorluklar aşılabilir. Şekilde magnet kan damarının sağ tarafında bulunmaktadır. Bu magnet ile sağlanan manyetik alan ile parçacıklar hareket ettirilerek kan damarından ayrılarak TIF bölgesine ulaşır (Klostergaard ve Seeney 2012, Varan 2013).

Literatürde yer alan birçok çalışmada ilaç taşıyıcı partiküller olarak nanopartiküller kullanılmaktadır. Nanopartiküller, büyüklükleri 10-1000 nm arasında değişen, çözünmüş, hapsedilmiş veya adsorbe olan etkin maddeyi kontrollü olarak salan katı kolloidal partiküllerdir. Nanopartiküllerde istenen özellikler; ilacı kontrollü olarak salması, etki etmeleri istenen bölgede toplanması, stabilite sorunu olmaması, taşıyıcının fizyolojik ortamda parçalanma ürünlerinin toksik olmaması ve sterilize edilebilmesi gibi özellikler sıralanabilir (Çokkuş, 2010, Şenol 2012).

İlacı hedef hücreye göndermenin bir yolu fiziksel hedeflemedir. Fiziksel hedefleme dıştan gelen uyarılar ile ilacın vücut içerisinde spesifik bir bölgeye hedeflenmesini sağlayan yeni bir hedefleme tekniğidir (Vasir ve Labhasetwar 2005). Bu teknik manyetik alan ve ultra ses uygulanarak gerçekleştirilir. Şekil 1.23'te insan vücuduna enjekte edilen ilaç yüklü manyetik nanoparçacıklarının dışarıdan uygulanan bir mıknatıs ile nasıl hedeflendirildiği basit şekilde şematize edilmiştir. Manyetik hedeflendirme yaklaşımı, manyetik ilaç taşıyıcısına bağlı veya taşıyıcıya enkapsüle edilmiş bir terapötik ajanın enjeksiyonu ve dışarıdan lokalize manyetik alan uygulamasıyla tümör dokusuna yönelmesini kapsar. Bir diğer ifadeyle manyetik hedeflendirme; toksik, dayanıksız, pahalı ve tedavi amacıyla belirli bir bölgeye yönlendirilmesi amaçlanan ilaçların, istenilen bölgede yoğunlaşmasını sağlamak ve salınımı kontrol etmek amacıyla manyetik partiküller ve manyetik alan kullanarak yapılan hedefleme yöntemidir (Widder ve Senyei 1984). Manyetik cevap veren ilaç taşıyıcıları genellikle magnetit, demir, nikel, kobalt vb. gibi materyaller içerir. İlaç taşıyıcıları ise manyetik lipozomlar, mikroküreler, nanoküreler ve kolloidal demir oksit solüsyonları olabilmektedir (Şenol 2012).



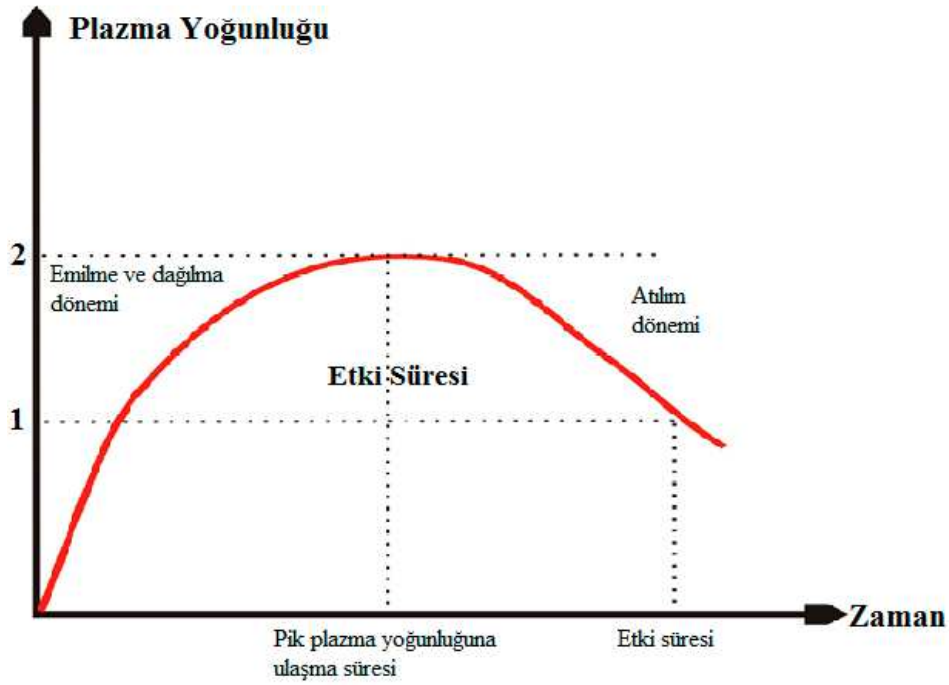
Şekil 1.23. İnsan vücudunda manyetik hedeflemenin gösterimi (Şenol 2012)

Demir oksit nanoparçacıklarının hücreye özgü yapılabilmiş olması uzun zamandan beri amaçlanan ve büyük heyecan uyandıran bir alandır. Böylece bu parçacıklar hedeflendirilerek kanser hücrelerini denatüre etmede kullanılabilecektir. 2004 yılında İngiltere'de 284.560 kişiye kanser teşhisi konmuştur ve bu son altı yıl içinde giderek artış göstermiştir (Anonim 2008). Üç kişiden birinin kansere yakalanması, dört erkekten birinin ve beş kadından birinin bu hastalıktan ölmesi endişe verici rakamlardır. Kanser araştırmaları öncelikli bir ulusal alan değil, uluslararası bir düzeydedir (Knowles ve Selby 2005, Thomas 2010).

1.19. Kontrollü İlaç Salımı Nedir?

İlaç alımında sıklıkla kullanılan klasik yöntemler, tablet ya da kapsüllerin ağızdan alımı ya da intravenöz enjeksiyonu şeklindedir. Bu yöntemler sık ve tekrarlanan dozlarda ilaç alımını gerektirmektedir. Kandaki ilaç düzeyinin zamanla değişimini gösteren şekil 1.24'teki grafik incelendiğinde ilaç alımını takiben kandaki ilaç derişiminin başlangıçta bir süre arttığı, daha sonra çok kısa bir süre için sabit kalarak

hızla azaldığı dikkati çekiyor. Derişimin düşme süresi, ilacın metabolize edilme, parçalanma ya da etki alanından uzaklaşma gibi yollarla sisteme yararsız hale gelme hızına bağlıdır. İlacın kan plazmasındaki derişimi, etkin düzeyin altına düşebilir ya da toksik bölgeye çıkabilir. Etkin düzeyin altındaki ve toksik düzeydeki bölgeler boşa harcanmış ilaç miktarlarını ifade eder. Ayrıca, ilaç derişiminin etkin düzeyin altına düşmesi ya da toksik düzeyin üzerine çıkması hastada istenmeyen yan etkilere neden olabilir. İlaç, bir polimere ya da bir lipide (yağa) bağlandığında ya da kapsül şekline getirildiğinde, ilaç güvenliği ve ilacın istenilen etkinliği sağlayabilme yeteneği büyük oranda arttırılabilir ve bu şekilde yeni tedaviler mümkün olur. Yeni tedavi yöntemlerinin kapsamında kontrollü ilaç salınımından bahsedilir. Bu şekilde yukarıda bahsedilen olumsuzlukların önüne geçilmiş olur (Aydemir 2011).



Şekil 1.24. Kandaki ilacın plazma yoğunluğu – zaman grafiği

Son yıllarda, etkin maddeyi vücudun belirli bölgesine bırakan veya uzun zamanlı ilaç salım hızını kontrol eden salım sistemleri geliştirilmiş olup bu sistemlerin özellikle tıp, eczacılık, gen mühendisliği gibi bilim dallarında kullanılmasında büyük bir artış görülmüştür (Asmaz 2010).

İlaç alanındaki çalışmaların asıl amacı; ilacı daha az dozda ve sıklıkta almak, hastanın yan ve zararlı etkilerden korunmasını sağlayarak yaşam kalitesini arttırmaktır. Bu beklentilere kontrollü salım sistemleri en iyi yanıtı vermektedirler. Kontrollü salım sistemleri enzimler, biyolojik ajanlar, antijenler gibi aktif ajanları istenilen hız ve zamanlarda belirlenen bölgelere salabilen sistemlerdir (Asmaz 2010).

Kontrollü salım yapan sistemlerde; sabit etkin madde düzeyi ve buna bağlı olarak ilacın etkisinin sürekli olması için, önceden belirlenen hızda ve zamanda etkin madde salımı gerçekleştirilmelidir. İlacın etkisinin kalmasını sağlamak için, kontrollü salım yapan sistemlerin hastalıklı dokuya yerleştirilebilir olması gerekebilir ve ayrıca uygun taşıyıcılar ile etkin maddenin istenilen bölgelere ulaştırılması istenir (Asmaz 2010). Araştırmacılar, yeni bir ilacı geliştirmek ve patentini almak için on yıldan fazla bir zamana gerek duymaktadırlar. Bu sebeple; ilaç firmaları araştırmalarını yeni bir ilaç geliştirmek yerine var olan ilaçların etkinlikleri ve kullanım ömürleri gibi özelliklerini uzatmaya çalışırlar. Bu amaç için araştırmacılar, kontrollü salım formülasyonları geliştirmektedirler (Qui ve Park 2001, Zhang ve ark. 2005, Asmaz 2010).

1.20. İlaçların Salım Mekanizmaları

İlaçların polimer ya da lipit sistemlerinden salımı için dört genel mekanizma bulunmaktadır.

1.20.1. Difüzyon Kontrollü Sistemler

Difüzyon; yüksek derişimli ya da yüksek kimyasal potansiyelli bölgeden, düşük derişimli ya da düşük kimyasal potansiyelli bölgeye atom veya partikül göçüne denir. 1855 yılında bulunan Fick yasasına göre bir katının çözeltiye geçme (difüzyon) hızı aşağıdaki eşitlikte açıklanmıştır.

$$J = \frac{-Ddc}{dx}$$

Burada; (Asmaz 2010).

J = akı (birim zamanda, birim yüzeyden dikey olarak geçen çözünmüş etkin madde miktarı) ($g.cm^{-2}.s^{-1}$), D = etkin maddenin membrandan difüzyon katsayısı ($cm^2.s^{-1}$), dC/dx = belli mesafeler arasındaki konsantrasyon değişimi, x = geçiş mesafesi, C = etkin maddenin derişimidir.

Bu yasada, sistemin sadece moleküler hareketi içerdiği, sıcaklığın sabit ve difüzyonun tek yönde olduğu, katı madde etrafındaki doymuş bir sıvı çemberinde difüzyon yeteneğinin çözünme hızını yönettiği varsayımları kabul edilmektedir (Kaetsu 1996). Bu yasa 1. Fick yasası olarak tanımlanır.

Zar kontrollü olarak adlandırılan ilaç salım cihazları ilacın ince bir polimerik zar ile çevrelendiği bir çekirdek görüntüsündedir. İlaç salımı zardan difüzyon yardımı ile gerçekleşir. Bu sistemlerin çok sayıda ticari ürünü piyasada bulunmaktadır (Asmaz 2010).

1.20.2. Su-Geçiş Kontrollü Sistemler

Cihazın içerisine suyun girmesi ile ilaç salım hızının kontrol edildiği sistemlere su geçiş kontrollü sistemler denir. Bu cihazlar, ozmotik ya da şişebilen sistemler olabilirler. Ozmotik cihazlarda; ilaç lazerle açılmış bir delikten dışarıya atılır ve sistemi çevreleyen yarı-geçirgen membran suyun içeri girişine izin verir, ilacın dışarı çıkmasını engeller. Su, ilacın yarattığı ozmoz sebebiyle sisteme taşınır ve sistem içerisindeki hacim artışı görülür. Bu artışın oluşturduğu basınç ile ilaç dışarı pompalanır. Şişebilen cihazlarda ise ilaç, kuru haldeyken camsı görünüme sahip, suyu seven bir polimer içerisinde dağıtılır. İlaç moleküllerinin camsı kalıptan difüzyonu yavaş olduğu için salım gerçekleşmez fakat bu sistem sulu ortama yerleştirildiğinde, su matrisi şişirir ve böylelikle ilaç kolaylıkla polimerden dışarı atılır (Asmaz 2010).

1.20.3. Kimyasal Kontrollü Sistemler

Kimyasal-kontrollü ilaç salım sistemlerinde; ilaç, polimer zincirine kovalent yolla bağlanmıştır. Deri altına ya da damar içine enjeksiyonla yerleştirilen cihaz vücudun belirli bölgesine hedeflenerek kullanılır. İlaç salımı, kimyasal ya da enzimatik yollarla kovalent bağların kopması sonucu gerçekleşir. İlaçların suda çözünebilen polimerlere kimyasal olarak bağlanması ile dokuya hedefleme ve bağışıklık eksikliğinin azaltılması gibi ilaca yeni özellikler sağlanmış olur.

Vücut içerisinde bozunarak zararsız, küçük moleküllere dönüşebilen polimerlerin taşıyıcı olarak kullanıldığı sistemlere biyobozunan sistemler adı verilir. Biyobozunur sistemlerle monolitik sistemler arasındaki en büyük fark ilacı çevreleyen zarın ya da ilacın dağıldığı kalıbın biyobozunur olmasıdır. Bu tür sistemlerde polimer

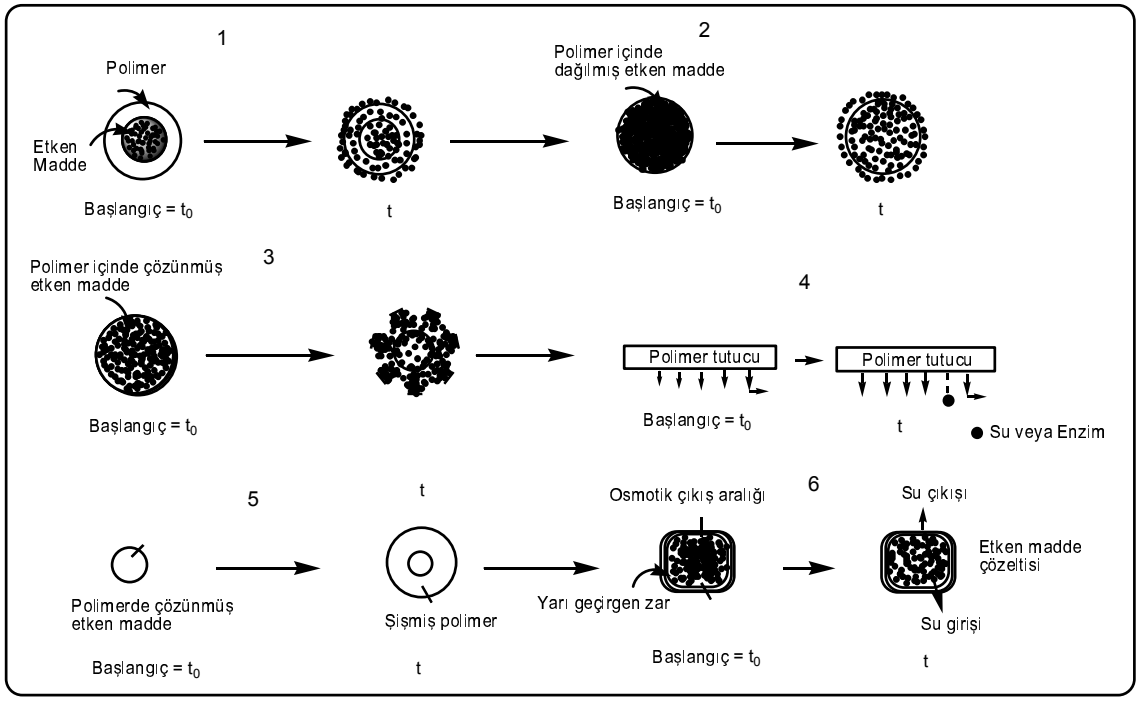
bozundukça salım gerçekleşir, ya da salım bittikten sonra polimer bozunarak vücuttan uzaklaşır. Biyobozunur sistemlerin en önemli üstünlüğü, uygulama sonrası vücuttan zar kontrollü olarak adlandırılan ilaç salım cihazları ilacın ince bir polimerik zar ile çevrelendiği bir çekirdek görüntüsündedir. İlaç salımı zardan difüzyon yardımı ile gerçekleşir. Bu sistemlerin çok sayıda ticari ürünü piyasada bulunmaktadır (Asmaz 2010).

1.20.4. Diğer Sistemler

Manyetik Kontrollü Sistemler: Manyetik kontrollü sistemlerde, ilaç ve manyetik taneler matriks içinde düzgün olarak dağıtılmışlardır ve sistem sulu bir ortamla temas ettiği zaman ilaç, difüzyon kontrollü matriks sistemlere benzer biçimde serbest kalır. Siteme manyetik bir alan uygulanınca, ilacın serbest hale geçme hızı artar. Bu sistemin en önemli üstünlüğü, ilacın serbest kalma hızının dışarıdan kontrol edilebilmesi ve hızının istenen şekilde ayarlanabilmesidir.

Ultrasonik Sistemler: Manyetik sistemler için kullanılan polimerler bu sistemlerin hazırlanması için de kullanılırlar ve ilaç salımının başlaması ultra ses dalgaları ile yapılır.

Ortama Duyarlı Sistemler: Sıcaklık, sistemin bulunduğu ortam türü, pH ve bu ortamlardaki etken maddeler gibi koşul değiştirilerek ilaç taşıyan polimer yapının şişme-büzülme davranışları değiştirilerek ilaç salınımı kontrol edilebilen sistemlere ortama duyarlı sistemler adı verilmektedir. Şekil 1.25'te kontrollü salım yapan polimerik sistemlerden etkin madde salım mekanizmaları gösterilmiştir (Asmaz 2010).



Şekil 1.25. Kontrollü salım yapan polimerik sistemlerden etkin madde salım mekanizmaları: 1-Membran sistemi, 2-Matris sistemi, 3-Vücutta aşınan istem, 4-Zincire takılı sistem, 5- işme kontrollü sistem, 6-Ozmotik kontrollü sistem

1.21. Kontrollü Salım Sistemlerinin Sakıncaları

Son yıllarda kontrollü salım sistemleri birçok hastalığın tedavisinde başarılı olarak kullanılmaktadır. Fakat bu sistemlerin yararları olduğu gibi bazı sakıncaları da bulunmaktadır. Bunlar;

1. Kontrollü salım sistemlerinden çoğunun ana maddeleri polimerlerdir ve ilaç salımı için gereken hız ve sürelerde bir veya birden fazla polimer ile ayarlanırlar. Ancak bazı durumlarda polimerlerin sorun çıkarma olasılıkları da vardır.

2. Sistemin güvenirliliği garanti edilemez çünkü üretim esnasında veya üretim sonrasında çatlaklar oluşabilir. Bu çatlaklar yüzünden ilaç vücuda verildikten sonra salım istenildiği zaman durdurulamaz.

3. Her ilacın kontrollü salım sistemi hazırlanamamaktadır ve bir ilaca özel tek bir hazırlama yöntemi bulunmamaktadır. Kullanılan etkin maddenin yapısına ve özelliklerine göre hazırlama yöntemi belirlenir.

4. Yarılanma ömrü de ilaç salım sistemleri için önemli bir faktördür. Bu sistemler; yarılanma zamanı çok kısa olan ilaçlar için uygun değildirler, yarılanma ömrü çok uzun

olan ilaçların ise kontrollü salım şeklinin hazırlanmasına gerek yoktur. Yarılanma ömrü 4 saat civarında olan ilaçlar bu sistem için en uygun ilaçlardır (Asmaz 2010).

1.22. Kontrollü Salım Sistemlerinin Sağladığı Yararlar

1. Tedavi edici oranda ilaç düzeyinin sürekli korunması,

2. Salımın belirli hücre tipi ya da dokuya hedeflenebilmesi nedeniyle zararlı etkilerin azaltılması,

3. Gerek duyulan ilaç miktarının azaltılabilmesi,

4. Önerilen ilaç rejimine hastanın uyumunu geliştirecek şekilde dozaj miktarının azaltılabilmesi,

5. Kısa yarılanma ömrüne sahip ilaçlar (örneğin proteinler ve peptid ilaçlar) için ilaç yönetiminin kolaylaştırılması, şeklinde sıralanabilir.

Ancak, yine de bu tür sistemler geliştirilirken aşağıdaki noktalar göz önünde bulundurulmalıdır;

-ilacı taşıyan (salan) malzemelerin ya da bozunma ürünlerinin toksisitesi ya da hızlı ilaç salımı gibi diğer güvenlik hususları,

-sistemin kendisinden ya da vücuda yerleşiminden kaynaklanan rahatsızlık,

-ilaç taşıyıcı malzemeler ya da üretim süreci nedeniyle sistem maliyetinin artışı, göz önünde bulundurulması gereken önemli noktalardır (Aydemir 2011, Anonim 2013).

1.23. Kontrollü Salım Sistemlerinin Diğer Kullanım Alanları

Son yıllarda kontrollü salım sistemlerinde başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Nükleer tıp alanında; radyoaktif işaretlenmiş ilaç taşıyıcı sistemlerde teşhis, tedavi ve araştırma amacıyla, kozmetikte deri yolu ile yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Veteriner hekimlerin tedavilerinde kullandığı kontrollü salım sistemler insanlarda kullanılanlarla benzerlik göstermektedirler ama hayvanların ağırlıkları ve fizyolojik özellikleri farklı olduğu için salım sistemlerinde de farklılıklar vardır (Gürsoy 2004). Kontrollü salım sistemleri, çevre bilimciler tarafından da kirliliği giderme ve geri kazanım proseslerinde kullanılmaktadırlar (Asmaz 2010).

1.24. Gelecekte Kontrollü Salım Sistemleri

Günümüzde malzeme bilimcileri, mühendisler, biyologlar ve eczacılar ilaç salımı ile ilgili çalışmalar yapmaktadırlar. Önümüzdeki yıllarda bu konuya karşı ilginin daha çok artacağı ve ilaçların daha etkili şekilde kullanılabileceği farmasötik formların (kontrollü salan tablet ve kapsüller başta olmak üzere) geliştirileceği düşünülmektedir.

Son zamanlarda ilaçlar hakkında araştırma yapan araştırmacılar; hücre ve moleküler biyoloji alanlarındaki yeni gelişmelerin, protein ve peptit yapıların ve genlerin tedavi edici kullanımlarının önemli derecede arttıracağını ve hatta bu moleküllerin biyolojik aktivitelerini bozmadan yapılacak küçük değişimlerle, doğrudan vücutta tedavisine gereksinim duyulan yere gönderilebileceklerini düşünmektedirler.

Belirli bölgelere ilaç salımı gerçekleştirebilecek hedefleme moleküllerinin türleri ise immünoloji ve insan genomundaki ilerlemeler ile anlatılacaktır. Bileşim kimyasındaki ilerlemeler yeni biyomateryallerin geliştirilmesinde kullanılacaktır.

Mikro elektronik ve nano teknolojideki ilerlemeler, kan dolaşımına karışıp kimyasal ve fiziksel görevleri gerçekleştirecek çok küçük robotların yapılmasını sağlayacaktır (Asmaz 2010).

1.25. Nanobiyoteknolojinin İlaç Salınımına Etkisi

Günümüzde kullanılan ilaçların bir kısmı hedef hücrelerine ulaşma esnasında suyu sevmeyen alanlardan ve enzim yıkımından korunmadıkları için etkilerini istenilen şekilde gösterememektedirler. İlaçların istenilen sürede etki gösterememeleri ve hedef doku haricinde de etkilerini tüm vücutta göstermeleri istenmeyen durumlardır. Başka bir problem ise; verilen ilaçların vücuttaki bariyerleri aşıp hedef alana ulaşamamalarıdır. Nanoteknoloji, bu sorunların giderilmesinde bir takım çözümler sunmaktadır.

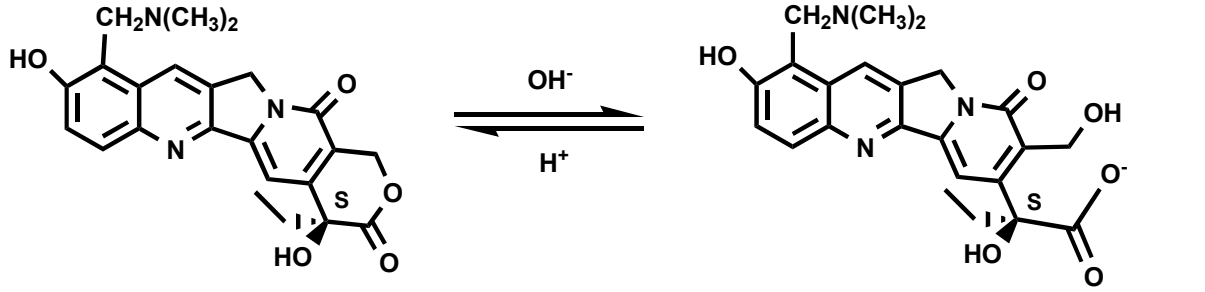
Nano boyutlarda üretilen taşıyıcılar, kan-beyin bariyerleri, solunum sistemindeki bronşiyoller, derideki bağlantılar gibi çeşitli bariyerleri geçebilirler ve ilaçların istenilen dokuya ulaştırılmasını sağlarlar. Nanotaşıyıcılar vücuttaki dar alanlarda daha iyi dağılırlar ve düşük çözünürlüklü ilaçların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

modifiye edilebilir. Ayrıca bunların yüzey özellikleri bağışıklık sistemi tarafından tanınmaları için de modifiye edilebilirler.

Tüm bu işlemlerle ilacın sadece hasta olan kısma etki etmesi, tek uygulamada ilacın kanda uzun süre etkin bir şekilde kalması, ilacın belirli bir hızda ve gerekli miktarda salınması sağlanabilir. Fakat ilaçların salınımında kullanılan bu nanotaşıyıcılar problemlere yol açabilir. Çünkü nanotaşıyıcıları elde etmek ve depo etmek zordur. Nanotaşıyıcılar, düşük potansiyelli ilaçlar için uygun değildirler ve bazı durumlarda istenmeyen bölgelere ulaşarak zarara neden olabilirler. Örneğin, hücrenin nükleer zarfını geçerek genetik hasara ve mutasyonlara yol açabilirler (Asmaz 2010).

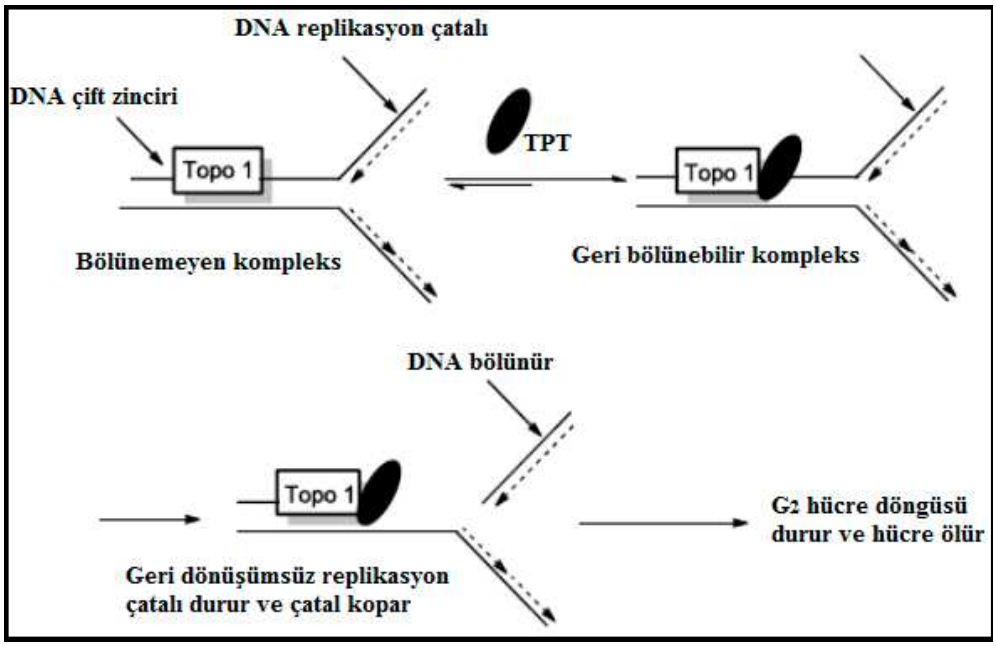
1.26. Topotekan

Topotekan en yaygın kullanılan anti-kanser ilaçlardan Kemptotesin analoğu olup Topoizomeraz I inhibitörü olarak görev yapmaktadır (Pommier 1977, Pommier ve ark. 2010). Bu enzim hücre bölünmesi esnasında DNA replikasyonundan sorumlu enzimdir (Staker ve ark 2002, Bertrand ve ark. 2011). Topotekan başta yumurtalık kanseri ve küçük hücreli akciğer kanseri olmak üzere meme kanseri ve prostat kanseri tedavisinde de etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Yapısında α-hidroksi δ-lakton halkası bulunup suda iyi çözünür. Asidik koşullar altında aktif lakton form baskındır. Nötral ve alkali pH'da hidroliz ile inaktif karboksilat form oluşmaktadır. Fizyolojik pH'da (7.4) lakton halkası geri dönüşümlü olarak açılır, denge karboksilat formu lehinedir. Karboksilat formunun hücreler tarafından penetrasyonu düşüktür ve fizyolojik pH'da %98 oranında insan serum albuminine (HSA) bağlanmaktadır. Lakton halkasının açılması ile aktivite kaybolmakta ve yüksek toksik etki görülmektedir (Şekil 1.26'da Topotekan'nın hidrolizlenmesi görülmektedir) (Mert ve ark. 2012). Bundan dolayı çalışılması zor olan ilaçlardandır.



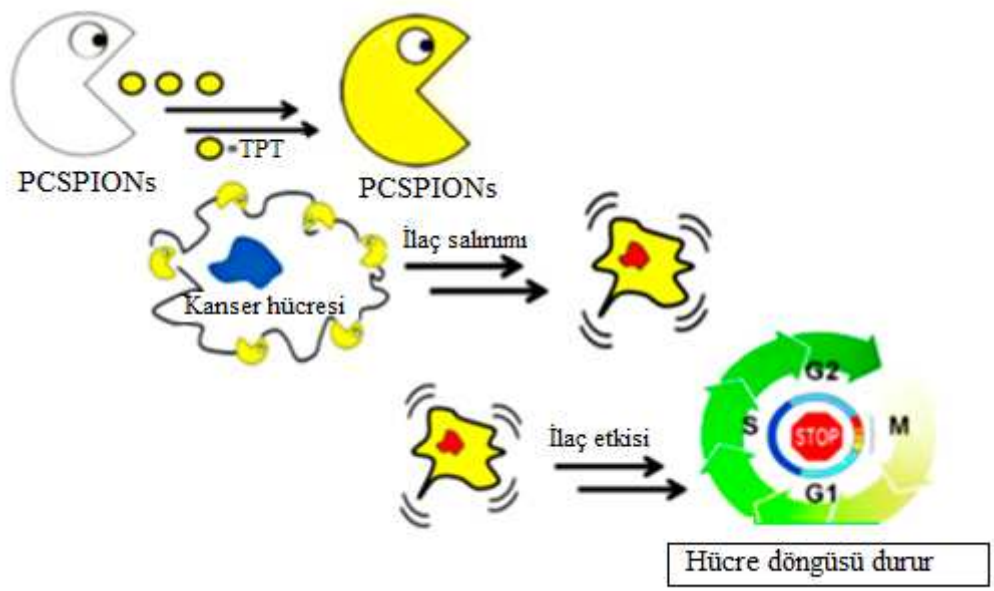
Şekil 1.26. Topotekan'nın hidrolizlenmesi gösterilmiştir

Şekil 1.27'de Topotekan'nın Topoizomeraz I enziminin (Topo I) katalitik prosesi olarak etki mekanizması görülmektedir. Şekilde de görüldüğü gibi topotekan DNA replikasyonu sırasında, bu replikasyondan sorumlu Topo I enzimini inaktif hale getirerek prosesin ilerlemesini durdurmuş ve bu şekil kanserli hücrelerin bölünerek çoğalmasının önüne geçmiştir.



Şekil 1.27. Topotekan'nın etki mekanizması (Mert ve ark. 2012)

Şekilde 1.28'de görüldüğü gibi anti-kanser ilaç olan Topotekan'ın polimer kaplı süperparamanyetik nanokompozitlere yüklenerek, vücut içerisinde kanserli hücreleri nasıl etkisiz hale getirdiği şematize edilmiştir.



Şekil 1.28. Topotekan'ın (TPT) Polimer kaplı süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklarına (PCSPIONs) yüklenerek kanserli hücreleri etkisiz hale getirme mekanizmasının gösterimi

1.27. Topotekan Kullanımı ile Görülen Yan Etkiler

Topotekan tedavisi alan hastalarda aşağıda yer alan yan etkiler sık görülmektedir (hastaların %30'undan fazlasında ortaya çıkar):

- Kan sayımında düşme, lökosit, eritrosit ve trombositlerde geçici azalma. Bunun sonucunda enfeksiyon, kansızlık ve kanama riski artar.
- Bulantı ve kusma
- Saç ve kıllarda dökülme
- İshal

Topotekan tedavisi alan hastalarda (%10-29'unda) aşağıda yer alan yan etkiler daha az görülmektedir:

- Kabızlık
- Yorgunluk
- Ateş
- Karın ağrısı
- Kemik ağrısı
- Halsizlik

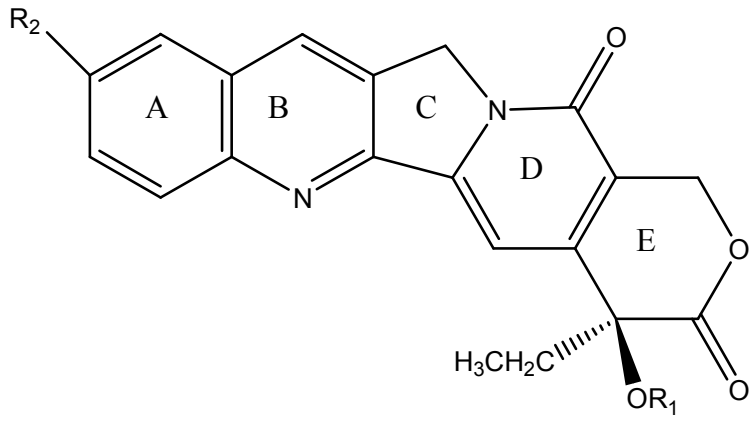
- Ağızda yara
- İştahsızlık
- Döküntü
- Nefes darlığı
- Öksürük
- Baş ağrısı

olarak sıralanabilir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Zhang ve arkadaşları (2004), son zamanlarda amfifilik blok kopolimerden oluşan miseller içeren polimerik nanoparçacıkların ilaç taşımada çok avantajlı olduğunu rapor ettiler. Bu parçacıkların hem teoride hem de uygulamada oldukça ilgi uyandırdığını ifade ettiler. Genellikle amfifilik blok kopolimerler, sulu ortamda hidrofilik dış tabaka ve hidrofobik iç tabakalardan oluşan nano küresel yapılar oluşturmak için bir araya gelebileceklerini kaydettiler. Bu sayede hidrofobik çekirdekleri, lipofilik ilaçları yüklemede ve sonraki aşamada bu ilaçların kontrollü bir şekilde salınımında kullanılabileceğini rapor ettiler. Ayrıca hidrofilik miseller sayesinde bu nanoparçacıkların ortama stabilize olduklarını ve ek olarak ortamda bir stabilizöre (dengeleyiciye) ihtiyaç olmadığını ifade ettiler. Bu nanoparçacıkların dalak ve akciğer filitrasyonunda hayatta kalabilmeleri için parçacık boyutlarının normalde 10-200 nm aralığında olması gerektiğini tespit ettiler. Zhang ve arkadaşları poli(etilen glikol) (PEG) varlığında kaprolakton ve laktit'in halka açılım kopolimerizasyonu yoluyla triblok kopolimerlerden poli(kaprolakton-ko-laktit)-b-PEG-b-poli(kaprolakton-ko-laktit)(PCLLA-PEG-PCLLA) polimerini sentezlediler. Bu triblok kopolimer nanoparçacıkları (PCLLA-PEG-PCLLA) anti-kanser ilaç olan, 10-hidroksi kemptotesin (HCPT) türevi, 10-hidroksi kemptotesin-10,20-diisobütildikarbonat'ı (HCPT-1) nano çöktürme metodunu kullanarak hapsetme yöntemi ile hazırladılar. Dinamik ışık saçılımı (DLS), geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile karakterize ettiler. Hazırlanmış olan bu materyalin ilaç yükleme kapasitesini, in vitro salınımını, farelerin vücuduna intravenöz (İ.V) yolla verildikten sonra dağılımı ve taşınmasını incelediler. Hazırlanan PCLLA-PEG-PCLLA nanoparçacıklarının pürüzsüz bir yüzeye ve küresel bir şekle sahip olduğunu, parçacık boyutlarının 70-180 nm arasında kontrol edilebildiğini gösterdiler. Ayrıca %3.3 ile %7.0 aralığında ilaç yükleme kapasitesine sahip olduğunu, bunun da kopolimer bileşimine ve hazırlanma koşullarına bağlı olduğunu rapor ettiler. İn vitro ortamda ilaç dağılım davranışının kopolimerin bileşiminden ve parçacık boyutundan etkilendiğini ve bu nanoparçacıkların ilaç dağılımında dayanıklılık gösterdiğini gözlemlediler. Farelerde ilacın vücut içine dağılımı ile ilgili çalışma sonuçlarına göre, kandaki ilaç konsantrasyonunun uzun bir

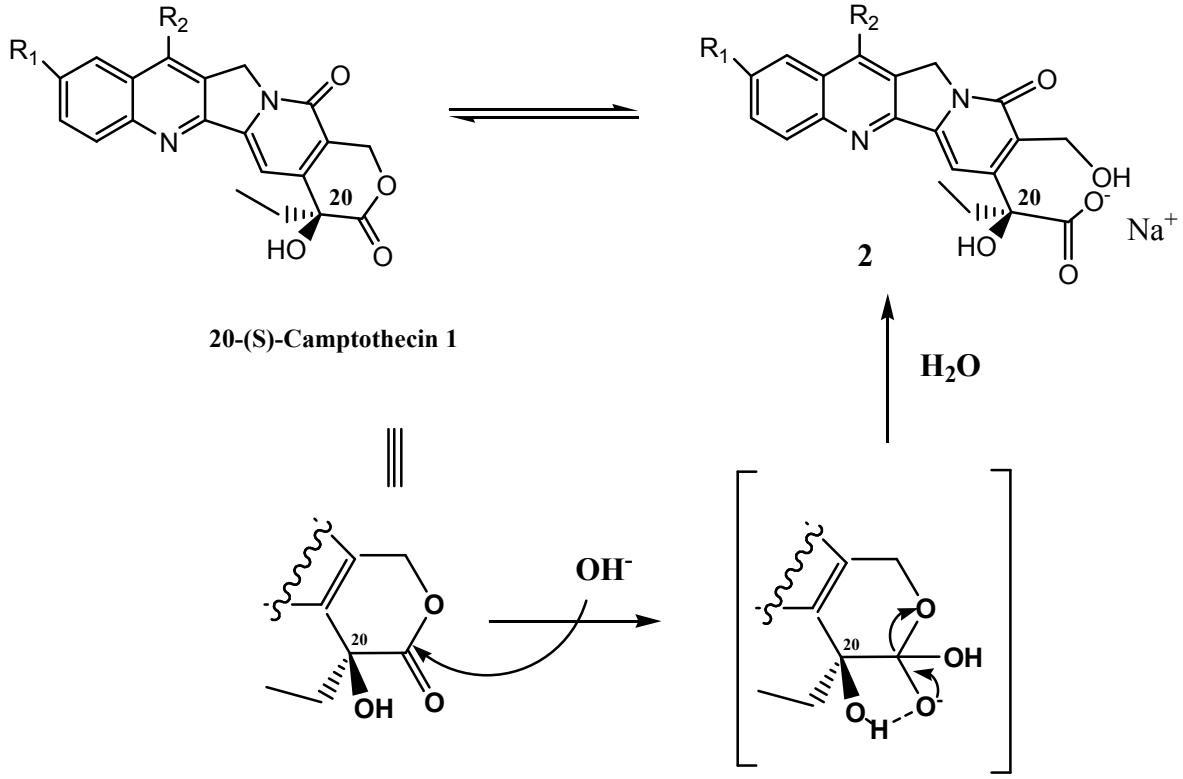
süre korunabilmesi ve dokulara dağılabilmesinin belli bir ölçüde parçacık boyutuna bağlı olduğunu gösterdiler. Bu sonuçlar ile PCLLA-PEG-PCLLA nanoparçacıkların az çözünen antikanser ilaçlar ve onların türevleri için umut verici bir dağılım sistemine sahip olduğunu kaydettiler. Şekil 2.1'de anti-kanser ilaç olan CPT(Kemptotesin), HCPT(10-hidroksi kemptotesin) ve HCPT-1'in (10-hidroksi kemptotesin-10,20-diisobütildikarbonat) kimyasal yapıları görülmektedir (Zhang ve ark. 2004).



CPT: $R_1 = H$; $R_2 = H$
HCPT: $R_1 = H$; $R_2 = OH$
HCPT-1: $R_1 = COOCH_2CH(CH_3)_2$; $R_2 = OCOOCH_2CH(CH_3)_2$

Şekil 2.1. Antikanser ilaç olan CPT(Kemptotesin), HCPT(10-hidroksi kemptotesin) ve HCPT-1'in (10 hidroksi kemptotesin-10,20-diisobütildikarbonat) kimyasal yapıları (Zhang ve ark. 2004)

Zhao ve arkadaşları (2000), yapmış oldukları bu çalışma ile Kemptotesin (CPT) türevlerinden 20-O-asetil kemptotesin'i fizyolojik pH'ta (pH =7.4) UV ve NMR spektrofotometre sonuçlarından faydalanarak lakton formda stabil kalmasını sağladıklarını kanıtladılar. Esasen bileşiğin yapısında bulunan 20-OH grubu sayesinde lakton formda oldukça kararlı bir yapı gösterdiğini tespit ettiler. Ayrıca CPT'in 20-O-asetil CTP türevinin pH $\geq$ 8.5 değerlerinde lakton halkasının kararlılığını sürdürürken 20-O-eter türevinin bu koşullarda kararlı kalmadığını HPLC analizleri ile teyit ettiler (Zhao v ark. 2000). Lakton ve karboksilat form arasındaki dönüşüm mekanizması Şekil 2.2'de görülmektedir.



Şekil 2.2. Şekilde görüldüğü gibi açil karbonu üzerinden gerçekleşen nükleofilik bir atak sonucu CPT'nin lakton halkasının açıldığı varsayılmaktadır. Muhtemelen 20-OH grubunda proton transferi basamaklarından biri veya güçlü bir molekül içi hidrojen bağı aracılığı ile kararlı bir geçiş halinin oluşmasını içermektedir

Goodarzi ve arkadaşları (2013), hazırlamış oldukları derlemede, temel olarak etkili bir kanser tedavisinde, karşı karşıya kalınan sorunlar üzerinde yoğunlaştılar. Bunlardan en önemlisi ilaçların toksik etkileri, tümör bölgesinde lokalizasyon eksikliği ve bu ilaçların tüm vücuda dağılmasıdır. Bunun yanı sıra kısa bir yarı ömre sahip olması istenmeyen farmakokinetik özellikleri ile etkili bir kanser kemoterapisini inhibe etme diğer dezavantajları arasında yer alır. Düşük molekül ağırlıklı ilaçların polisakkaritler ile konjugasyonu bu tür problemleri çözmede bir yol olarak kullanılmaktadır. Bu derleme ile polisakkaritlere konjuge edilen ilaçlar üzerine odaklanılıp, sitotoksik ilaçları başarılı bir şekilde taşıyan çeşitli konjugasyon çalışmalarına yeni bir bakış açısı kazandırdılar. Bazı toksinler de dahil olmak üzere çeşitli anti-kanser ajanlarında konjugasyon teknikleri yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen, bu derlemede düşük molekül ağırlıklı sitotoksik ilaçların kovalent konjugasyon yoluyla taşınmasını dikkate aldılar (Goodarzi ve ark. 2013). Bu derlemeden çıkarılan sonuçlar aşağıda sıralanmıştır;

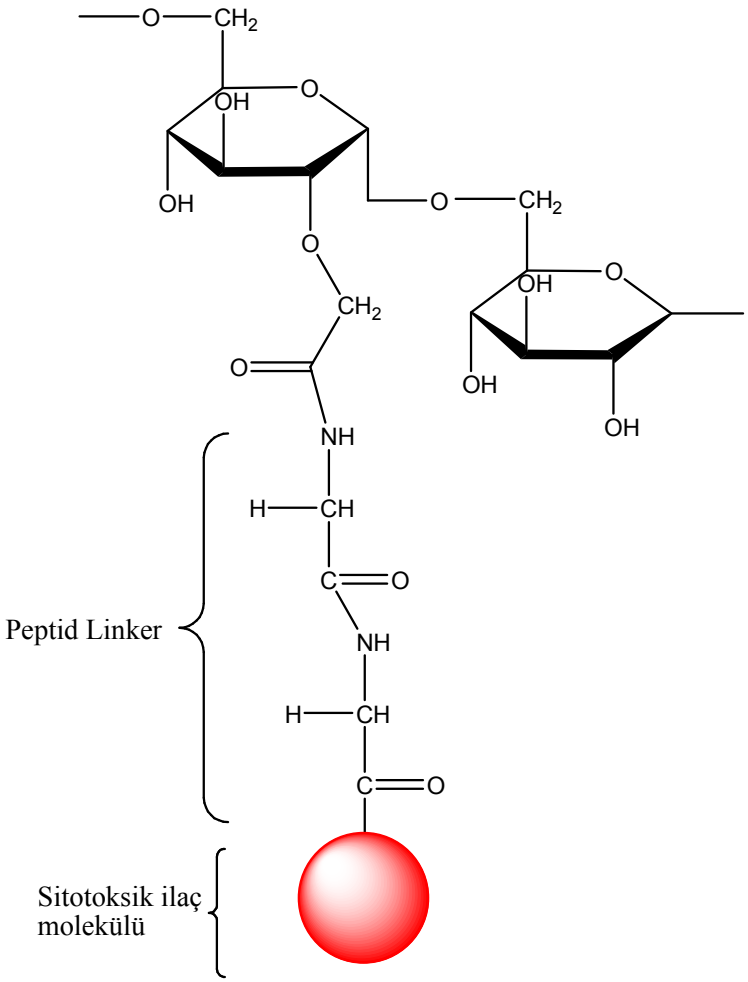
- Poliskkaritler, proteinler, antikorlar ve poliamino asitler de dahil olmak üzere doğal ve sentetik polimerler gelişmiş geçirgenlikleri ve tutunma yetenekleri nedeniyle tümörlü dokularda birikmeye meyilli olduklarını ifade ettiler (Fang ve ark. 2011).
- Konjuge olmuş düşük molekül ağırlıklı sitotoksik ilaçlar ile makromoleküllü vektörlerin uyum içerisinde oldukların rapor ettiler. Bu özelliğinde dolayı normal dokular üzerindeki yan etkileri düşürerek, sitotoksik ilaçların tümör hücreleri üzerindeki etkinliğini geliştirmenin umut verici bir yaklaşım olduğunu ifade ettiler (Kratz ve Beyer 1998).
- Polisakkaritleri temel alan sistemlerin maliyet etkinliği, doğada bol bulunması, olağanüstü fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri ve özel modifikasyon gereksinimleri için kolay bir şekilde kimyasal reaksiyon vermesi gibi nitelikleri ile gittikçe artan öneme sahiptir olduklarını vurguladılar. Birkaç reaktif grup içeren (bunlara amino, hidroksil ve karboksil grupları dahil) polisakkaritlerin çoğu bu reaktif gruplar ile ilaçlara ya direk olarak yada bağlayıcılar ile etkin bir şekilde bağlanabileceğini ifade ettiler (Liu ve ark. 2008, Sonia ve Sharma 2011).
- Başarılı bir ilaç konjugasyonu farklı faktörlerle belirlenebileceğini rapor ettiler. Bu faktörlerin ön ilaçların dizaynında göz önünde bulundurulması gerektiğini ifade ettiler. Bu faktörlerin arasında; seçili makro moleküllerin taşınması, istenilen hedef bölgeye ulaşma, konjugasyon türü (direk mi yoksa dolaylı mı), bağlayıcı kimyası ve molekül ağırlığı gibi anahtar parametrelerin yer aldığını tespit ettiler (Khandare ve Minko 2006, Pasut ve Veronese 2007, Homma ve ark. 2010, Bildstein ve ark. 2011). Literatürdeki CRLX101 (genellikle IT-101 olarak bilinir) tarihsel gelişimi, akılcı-ilaç dizaynına mükemmel bir örnek teşkil ettiğini ifade ettiler. Bu eşsiz tasarım; biyo-uyumlu, arzu edilen parçacık boyutu, zeta potansiyeli ve ilaç konjugatların diğer özellikleri üzerine odaklanarak gerçekleştirildiğini tespit ettiler (Davis 2009, Svenson ve ark. 2011, Young ve ark. 2011).
- Birçok polisakkarit konjugat formda ilaç taşıyıcı olarak değerlendirilmekte olduğunu kaydettiler. Sentetik polimerlerin başarılı olmasının aksine, toksisite ve etkin profilleri nedeniyle polisakkaritlerden sadece birkaç tanesinin klinik denemelere girebildiğini açıkladılar (Vasey ve ark. 1999, Schoemaker ve ark. 2002, Seymour ve ark. 2002, Boddy ve ark. 2005, Nemunaitis ve ark. 2005, Homsi ve ark. 2007). Hiyaluronik asit, dekstran ve siklodekstrin türevleri bu başarılı örnekler

arasında yer aldığını rapor ettiler (Veltkamp ve ark. 2008, Davis 2009, Bassi ve ark. 2011). Konjugatların çoğunda sonraki süreçte karşılaşılabilecek en büyük sorunun, doğal polimerlerin toksisite ve immünojenik özellikleri ile ilişkili olduğunu tespit ettiler (Ihova 1996, Duncan 2006). Ayrıca konjugasyon sırasında güvenilir ve biyo-uyumlu taşıyıcı olma özelliklerinin değişebileceğini, bu durumda konjugatların istenilen serbest taşıyıcı olma özelliklerini kaybedeceklerini açıkladılar. Oksitlenmiş dekstranın Faz I klinik çalışmalarında birkaç derece toksisite göstermesini bu duruma örnek olarak gösterdiler (Danhauser-Riedl ve ark. 1993).

- İlaç dağılım sistemlerinin bir parçası olarak kullanılan polimerlerin, vücut içerisinde kendiliğinden biyo-bozunur özellik göstermesi onların kilit özelliklerinden bir tanesi olduğunu ifade ettiler (Kean ve Thanou 2010). İdeal bir taşıyıcı istenilen süre zarfında bozunur özellikte olması gerektiğini tespit ettiler. İlaç taşıma sistemlerinde kabul edilebilir bir tasarıma sahip olabilmesi için bozunma zamanının öngörülebilir olması gerektiğini açıkladılar (Ratajska ve Boryniec 1998). Eğer hidrofilik polimerler düşük molekül ağırlığına sahipse renal sistemlerde temizlenebileceğini tespit ettiler. Ancak büyük molekül ağırlıklı olanların biyo-bozunurluklarının arttırılması gerektiğini ifade ettiler. Düşük molekül ağırlıklı fraksiyonlar enzimatik veya kimyasal bozunma yoluyla renal sistemlerde kolaylıkla bozunabileceğini rapor ettiler (Kean ve Thanou 2010). Doğada mevcut olduğu bilinen en iyi polisakkarit örneklerinden selüloz liflerinin, insan vücudunda biyo-bozunur özelliklerinin olmayışından ötürü ilaç taşıma sistemlerine uygulamada başarışız olduğunu rapor ettiler (Ratajska ve Boryniec 1998). Diğer taraftan çoğunlukla lizozomlar tarafından parçalanan kitosanın bozunma derecesi polimerin molekül ağırlığına ve deasetillenme derecesine bağlı olduğunu tespit ettiler. Bu değerlerin artması bozunma hızını ve yer değiştirme derecesini arttırdığını ifade ettiler. Bazı özel modifikasyonlar, örneğin kovalent çapraz bağlayıcılar ve tiyolleme ile bozunma profilerinin değiştiğini açıkladılar (Ratajska ve Boryniec 1998, Kean ve Thanou 2010).
- İlaç- konjugat tasarımında bir diğer özelliğin polimerin molekül ağırlığından kaynaklandığını rapor ettiler. Molekül ağırlığı her polimer için geniş bir aralıkta bulunmasına rağmen bazı fizyolojik ve farmakolojik faktörler bu seçimleri sınırlayabildiğini açıkladılar. Polimerlerin molekül ağırlığının temel niteliği, bu

polimerlerin sistemik uygulamalarda nihai olarak renal eliminasyonu sağlamalarından ileri geldiğini ifade ettiler. Aslında farklı polisakkarit taşıyıcılarının farmakokinetik davranışları yaygın bir şekilde onların molekül ağırlıkları ve yükleri tarafından belirlenmekte olduğunu ifade ettiler. Daha az temizlenmesi ve plazmada daha uzun süre kalmaları büyük molekül ağırlıklı polisakkaritler için genel bir kural olduğunu tespit ettiler. Özet olarak; polimerlerin çoğu anti-kanser ön ilaç ajanlarına başarılı bir şekilde uygulanmasına rağmen son zamanlarda yapılan klinik çalışmalar, molekül ağırlıklarının 25 ile 50k Da arasında olması gerektiğini gösterdiler (Haag ve Kratz 2006).

- Makro moleküllerin ön ilaç tasarımlarında bağlayıcılar veya dallanmış yapılarla kullanılmalarının temel iki nedeni olduğunu açıkladılar. İlk olarak anti-kanser ilaçlar yada polimerler konjugasyon reaksiyonları için yada özel bağlanmalar elde etmek için uygun fonksiyonel gruplara sahip değilse (örneğin amidler, esterler gibi) bu makromoleküllerin kullanılabileceğini rapor ettiler. Şekil 2.3'te Dekstran polimerine bağlayıcı molekül aracılığı ile sitotoksit ilaç molekülünün bağlanma şekli görülmektedir. Bu durumlarda bağlayıcılar basit ve kısa kimyasal yapılara sahip olduklarını ifade ettiler (Hou ve ark. 2011, Luo ve ark. 2012). Diğer durumlarda bağlayıcılar, uyarılara yanıt veren mekanizmaları sayesinde kontrollü ilaç salınımı ile aktif ve fonksiyonel bir role sahip olduklarını tespit ettiler (Chau ve ark. 2004, Sugahara ve ark. 2008, Homma ve ark. 2010). Bu yüzden çeşitli bağlayıcılar farklı stratejileri ile anti-kanser ilaçların dağılımı için optimum tutunma etkinliğinde, (Haag ve Kratz 2006) spesifik tümör hedeflemede (Noguchi ve ark. 1998, Zheng ve ark. 2011) ve yüksek hücresel alımlarda kullanıldıklarını açıkladılar (Rosato ve ark. 2006).



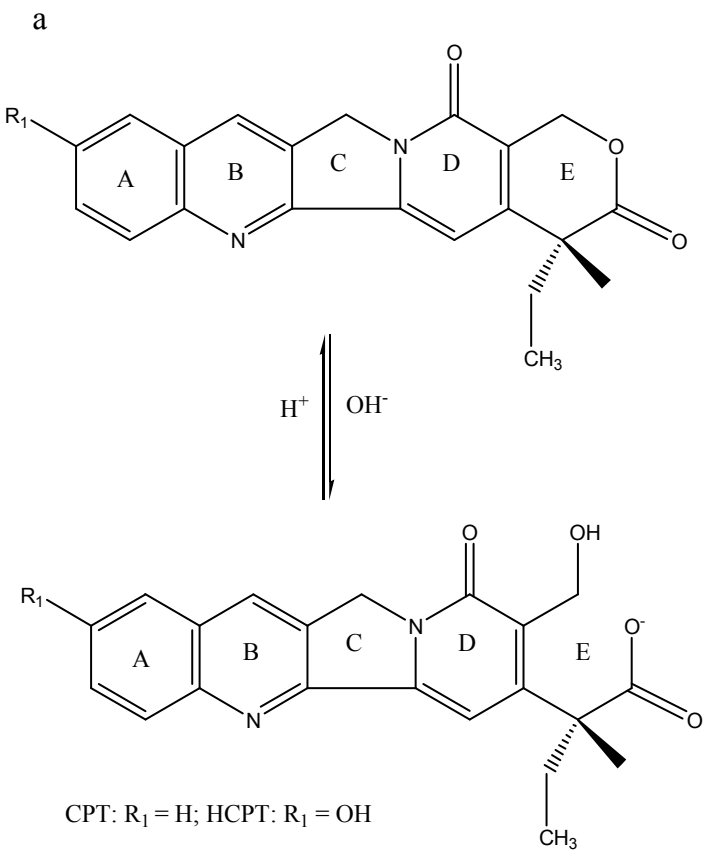
Şekil 2.3. Dekstran- ilaç konjugatlarında peptitli linkerler ve sitotoksik ilaç molekülünün bağlanması (Goodarzi ve ark. 2013)

Zhang ve arkadaşları (2007), yapmış oldukları başka bir çalışmada iç-kimya stratejisini kullandılar. Yeni iki adımda nano-çöktürme metodu ile sentezlemiş oldukları poli(karbolakton-ko-laktid)-b-PEG-poli(karbolakton-ko-laktid) (PCLLA-PEG-PCLLA) nanoparçacıklarına 10-Hidroksikemptotesin'i (HCPT) yüklediler. Tatmin edici ilaç yükleme içeriği ile (> %13) yüksek bir kapsülleme verimliliği (> %85) elde ettiler. İn vitro sitotoksisite testi ile HCPT yüklü nanoparçacıkların sitotoksisitesinin, serbest ilaca göre daha gelişmiş olduğunu gösterdiler. HCPT yüklü nanoparçacıkların sarkoma-180 (S-180) taşıyan farelere intravenöz enjeksiyonundan sonra in vivo anti-tümor aktivitesini ve biyo-dağılımını aşamalı olarak takip ettiler. Ticari olarak mevcut olan HCPT'e göre dikkate değer farklı bir biyo-dağılım ve in vivo anti-tümor etkinliği gösterdiğini ifade ettiler (Zhang ve ark. 2007). Şekil 2.4a'da CPT için pH değerine bağlı olarak dönüşüm formu görülmektedir. CPT pH'a bağlı olarak lakton formdan

karboksilat forma dönüşebildiğini ifade ettiler (Jaxel ve ark. 1989, Carbonero ve Supko 2002).

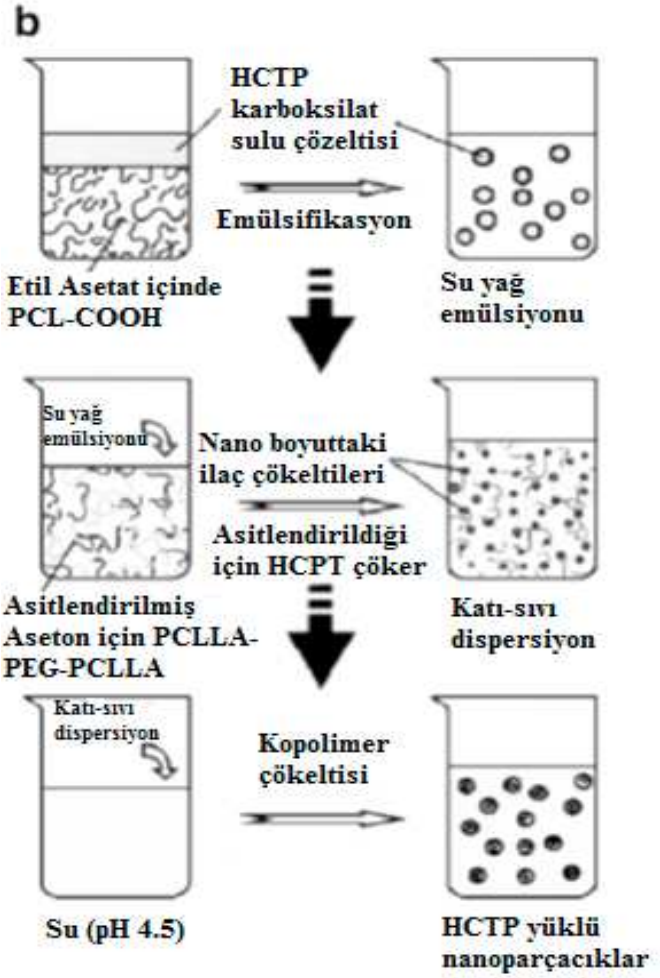
Nötür pH ve yukarısındaki değerlerde CPT'nin E halkası açılıp suda çözünen karboksilat forma dönüştüğü ve karboksilat form asitlendirme yoluyla pH 5'ten düşük değerlerde suda çözünmeyen lakton forma dönüşebildiğini teyit ettiler. Ayrıca nanoparçacıkların ilaç yükleme kapasitesi, polimer matriksin ilaç yükleme afinitesi ile büyük oranda ilişkili olduğu kaydettiler. PCL-COOH varlığında polimer matriks ile yüklü ilaç arasındaki etkileşimin arttığını bu yüzden daha düşük bir salınım hızı sağladığını ifade ettiler (Allen ve ark. 1999, Lee ve ark. 2004).

Bundan dolayı, bu çalışmada, karboksil grubu içeren PCL-COOH oligomeri ve yeni iki aşamalı nano-çöktürme metodu ile hazırlamış oldukları HCPT yüklü nanoparçacıklar ile daha öncen de bahsedildiği gibi ilaç yüklemede avantaj sağladıklarını gördüler.



Şekil 2.4a. CPT için pH değerine bağlı olarak dönüşüm formu görülmektedir

Hazırlanmış olan iki aşamalı nano-çöktürme metodunun aşamaları Şekil 2.4b'de gösterilmiştir. Burada; HCPT karboksilat formunun sulu çözeltisi su-yağ emülsiyonunda dengeleyici olarak PCL-COOH içeren etil asetat ile ilk olarak emülsüfiye ettiler. PCLLA-PEG-PCLLA triblok kopolimerini içeren eşit hacimdeki asitlendirilmiş aseton çözeltisi su-yağ emülsiyonuna ilave edilmesi ile nano-çöktürmenin ilk aşamasını gerçekleştirdiler. İç kimya kavramına dayalı olarak, bu adımda açık olan HCPT'nin lakton halkasını hızlı bir şekilde kapatmak için, asitlendirme yoluyla, sulu çözeltiye damlalar halinde asit ilave ettiler. Lakton formun oluşması ve HCPT'ni çökmesi ile reaksiyonu sonlandırdılar. HCPT nano-çöktürme ile oluştuktan sonra, katı fazı oluşturan HCPT ve PCLLA-PEG-PCLLA kopolimerini içeren aseton, etil asetat ve az miktardaki su ile katı-sıvı dispersiyon sistemine dönüştürdüler. Sıvı içinde disperse olarak elde edilen katı, sırasıyla fazla miktarda su ve PCLLA-PEG-PCLLA kopolimeri ile karıştırılarak çöktürme metodu ile nanoparçacıkları oluşturdular. Bu da nano-çöktürmenin ikinci adımını oluşturdu.



Şekil 2.4b. İki aşamalı nano-çöktürme metodunun aşamaları şematize edilmiştir

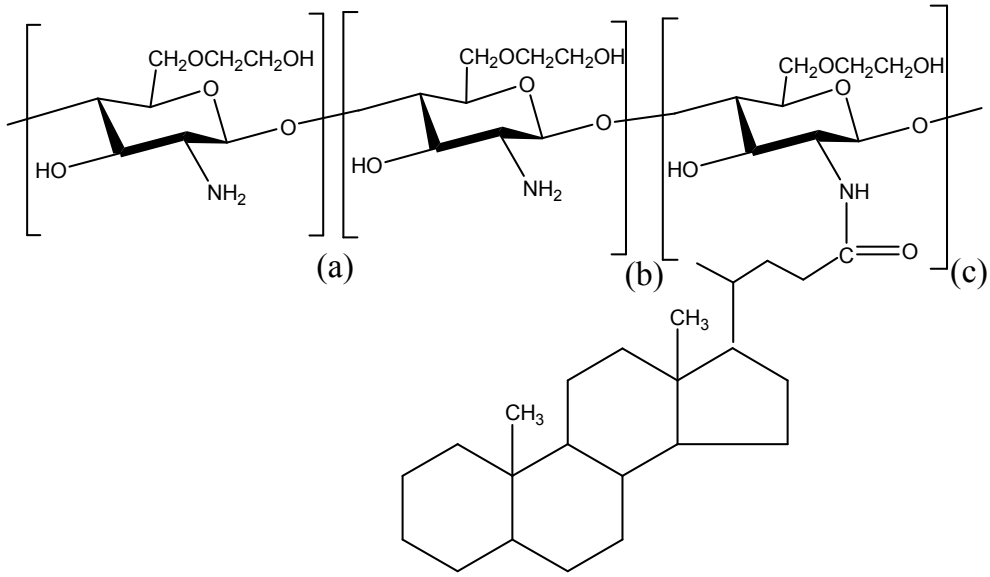
İn vitro ortamda sitotoksisite çalışmalarını BGC823 hücrelerine karşı yapmış olup sonuçlarını HPLC ile test ettiler. Eşit konsantrasyonda yapılan çalışmanın sonuçlarına göre serbest ilaçla karşılaştırıldığında HCPT yüklü nanoparçacıkların gelişmiş bir sitotoksisite gösterdiğini gördüler. Ayrıca Torchilin'nin grubu tarafından CPT yüklü misellerle yapılan çalışma ile benzer sonuçlar gösterdiğini kaydettiler (Mu ve ark. 2005).

İlaç yüklenmemiş nanoparçacıkların düşük konsantrasyonda toksik olmadığı ancak biraz daha yüksek konsantrasyonda sitotoksisite etkisi gösterdiğini gördüler. HCPT'nin anti-tümor etki gösterebilmesi için tümör hücrelerinin içine girmesi gerektiğini ve sadece lakton formu etkili bir potansiyele sahip olduğu ifade ettiler (Jaxel ve ark. 1989, Carbonero ve Supko 2002). Ancak serbest HCPT pH 7.4'te genel olarak

aktif olmayan karboksilat formda bulunduğu ve bu form anyonik yapıya sahip olduğundan dolayı hücre içine girmesinin oldukça zor olduğu kaydettiler. Bu nedenle HCPT yüklü nanoparçacıkların farklı bir durum gösterdiğini ileri sürdüler. İlaç yüklü nanoparçacıkların mesoskopik boyutları sayesinde (Savić ve ark. 2003) endositoz ile hücre içine alınabildiğini böylece ilaç alımının arttığını gördüler. Ayrıca kapsüllenmiş HCPT güçlü bir lakton form oluşturduğunu ve eğer oluşan HCPT lakton form hücre içinde uygun bir yerde salınırsa gelişmiş bir sitotoksik etki göstermesini beklediklerini ifade ettiler. Yukarıda bahsedilen faktörler HCPT yüklü nanoparçacıkların önemli ölçüde sitotoksisite göstermesi konusunda katkıda bulunabileceğini ön gördüler (Zhang ve ark. 2007).

Min ve arkadaşları (2008), ağaçtan elde edilen doğal bir alkoloid olan kemptotesin (CPT) anti-kanser ilacı ile çalıştılar. Bu ilaç ve türevleri bilindiği üzere topoizomeraz I ezimini inhibe etmekle görevlidir. Bu ilaçla ilgili yapılan klinik çalışmalara göre kolon kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri, yumurtalık kanseri, meme kanseri, pankreatik ve mide kanserinin ilk evresi ve metastik evrede etkili bir şekilde kullanıldığı gösterdiler (Giovanella ve Cheng 1991, Wall ve Wani 1995, Garcia-Carbonero ve Supko 2002, Oberlies ve Kroll 2004, Thomas ve ark. 2004, Sriram ve ark. 2005). Ancak kemptotesinin aktif olan lakton formunun suda çözünmemesi bu ilacın kanser terapisinde etkili ve başarılı bir şekilde kullanılmasının önüne geçmiştir (Potmesil 1994).

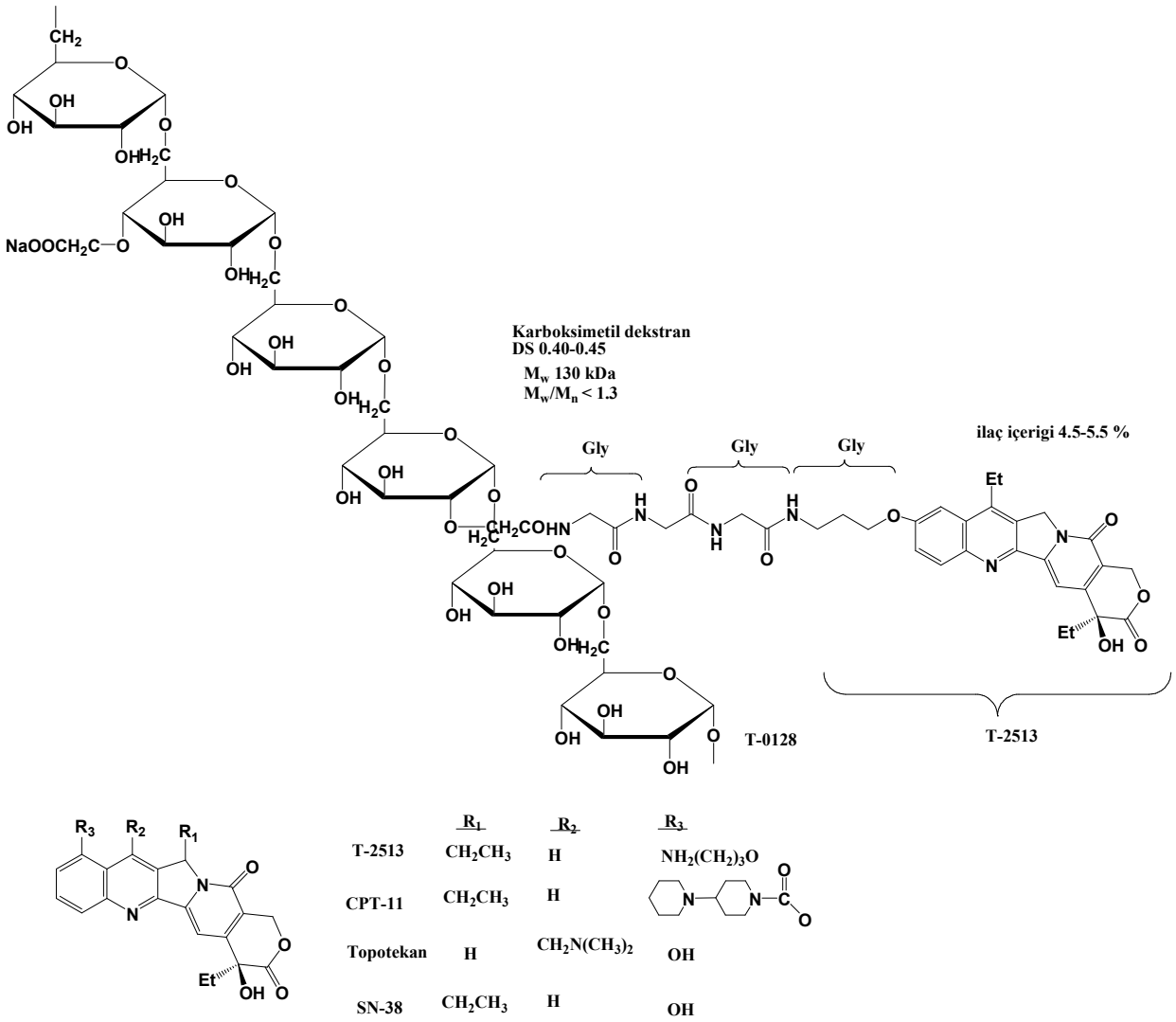
Dolaysıyla Min ve arkadaşları (2008), yapmış oldukları bu çalışma ile yukarıda bahsedilen bu tür problemlerin önüne geçmeyi başardılar. 5β-kolanik asit kısmını hidrofilik glikol kitosan omurgasına kimyasal konjugasyon yolu ile bağlayarak Hidrofobik glikol kitosan (HGC) nanoparçacıklarını hazırlayıp suda çözünmeyen CPT'ni taşımada kullandılar. Şekil 5'te HGC nanoparçacıklarının hazırlanışı görülmektedir.



Şekil 2.5. Hidrofobik olarak modifiye edilmiş glikol kitosan konjugatı (HGC)

Suda çözünmeyen anti-kanser ilacı, CPT'ni, diyaliz metodu ile kolaylıkla HGC içine kapsüllediler. Böylece %80'nin üzerinde ilaç yükleme verimliliği sağladılar. Kapsüllenmiş CPT-HGC nanoparçacıkların sulu ortamda kendiliğinden aglomere olması ile (280-330 nm çapında) CPT'nin bir hafta boyunca güçlü bir salınım göstermesini sağladılar. Ayrıca HGC nanoparçacıkların hidrofobik çekirdeklerine kapsüllemiş oldukları CPT'in hidroliz olduğu fizyolojik koşullarda, aktif olan lakton formunu etkili bir şekilde koruyabildiler. MDA-MB231 insan göğüs kanseri ksenografla deri yoluyla çıplak farelere implant ederek yüksek bir tümör hedefleme yeteneği kazandırdılar. CPT-HGC nanoparçacıkları bu hücrelere karşı etkili bir anti-tümör etki gösterdi. 30 mg/kg serbest CPT ile karşılaştırıldığında 10 mg/kg ve 30 mg/kg dozlarındaki CPT-HGC nanoparçacıkları intravenöz enjeksiyondan sonra tümörün büyümesini etkili bir şekilde inhibe ettiğini ifade ettiler. Önemli bir anti-tümör etkiye sahip CPT-HGC nanoparçacıkları yakın kızıl ötesi (NIR) flouresans görüntüleme sistemleri tarafından doğrulandığı üzere hem uzun süre kan dolaşımında kaldığını hem de tümör hücreleri üzerinde yüksek bir birikme etkisi sağladığını teyit ettiler. Bu sayede HGC nanoparçacıkları yardımı ile CPT yüksek konsantrasyonlarda tümörlü dokulara uygulanıp güçlü bir terapötik etki yarattı. Elde edilmiş olan sonuçlara göre HGC nanoparçacıklarına kapsüle edilmiş CPT'in kanser terapisinde kararlı ve etkili bir şekilde uygulanabilirliğini desteklediklerini ileri sürdüler (Min ve ark. 2008).

Okuno ve arkadaşları (2000), yapmış oldukları bu çalışmada, toksisitelerine rağmen klinikte yaygın olarak kullanılan kemptotesin (CPT) türevlerinden irinotekan (CPT-11) ve topotekan'ın anti-tümör ajanlar arasında en umut verici sınıflandırmayı oluşturduğunu ifade ettiler. T-0128 olarak belirtilen yeni makro molekül ön ilacın farmakolojik profilini geliştirmek için sentezler yaptılar. 130.000 molekül ağırlığına sahip bu ön ilaç yeni bir CPT analogu olan (T-2513)-karboksimetil (CM) dekstrana triglisin aracılığı ile konjuge ettiler. Şekil 2.6'da ilaçların kimyasal yapıları ve CM ile konjugasyon durumları görülmektedir.

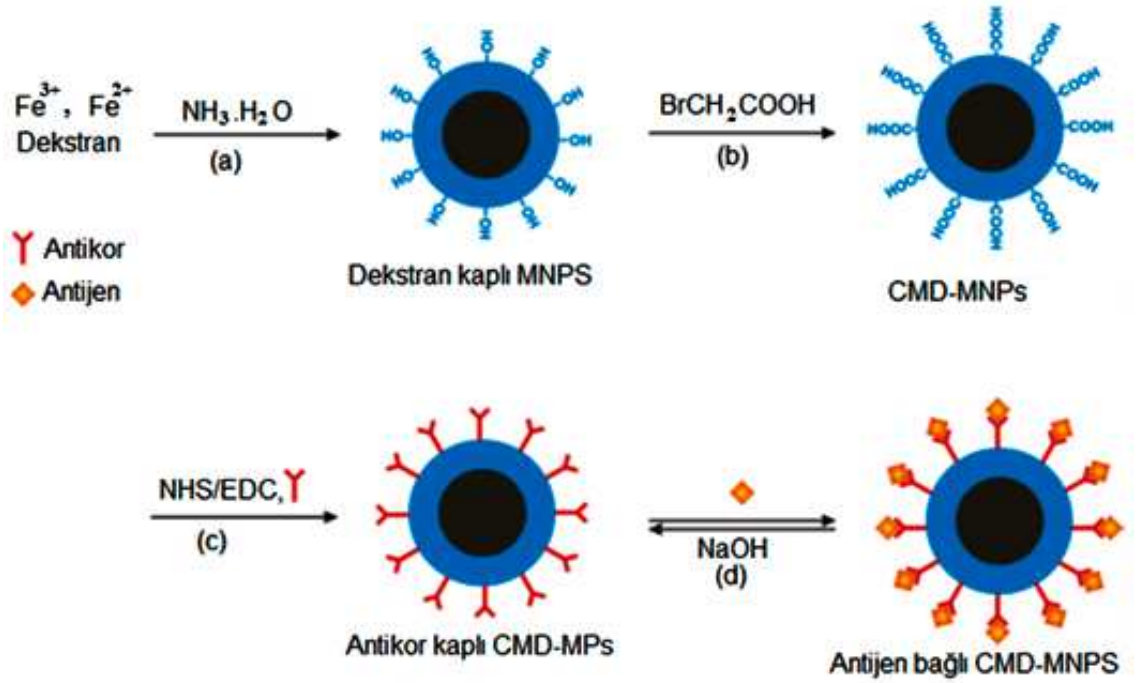


Şekil 2.6. T-0128, T-2513, CPT-11, topotekan ve SN-38'in kimyasal yapıları. DS, Glikoz başına karboksimetilat gruplarının sübstitüsyon derecesi; Mw, ağırlıklı ortalama molekül ağırlığı; Mn, numara başına ortalama molekül ağırlığı

Bu çalışmada ana ilacın etkinliğini arttırmak için CPT-polimer konjugasyon dizaynını tasarladılar. İn vivo anti-tümör çalışmada T-0128, Walker-256 karsinoma hücrelerine karşı T-2513'e göre 10 katı kadar aktif olması bu görüşü destekledi. Ek olarak T-0128, T-2513, CPT-11 ve topotekan'ın etkinlik çalışmaları, çıplak farelerde insan tümör ksenograft panellerini kullanılarak karşılaştırdılar. Bu şekilde T-0128'in CPT türevleri üzerindeki avantajlarını gösterdiler. T-0128, T-2513 ve CPT-11'in maksimum tolare edilebilir dozlarını (MTD) karşılaştırdılar. 6 mg/kg T-0128'nin tek bir intravenöz enjeksiyonu dahi (CM dekstrana bağlı T-2513 miktarı göz önünde tutulmuştur), MX-1 insan meme kanserinin tam olarak gerilemesini sağladığını ifade ettiler. T-0128 haftalık 10 mg/kg, üç hafta boyunca (MTD'nin onda biri) LX-1 akciğer karsiyoma tedavisinde kullandılar. T-0128 MTD değerinin altında St-4 mide ve HT-29 kolorektal tümör ksenograftların tedavisinde veya gerilemesinde son derece dirençli olan CPT türevleri olduğunu belirttiler. Böylece T-0128 ile elde edilen terapötik dozların geniş bir aralığa yayıldığını gösterdiler. Okuno ve arkadaşları Walker-256 tümör taşıyan fareler üzerindeki farmakokinetik çalışmaları, T-0128'in plazma ve dokulardaki ilaç konsantrasyonu etkinlik sonuçlarını test etmek için yaptılar. Sonuçlara göre; T-0128 intravenöz yolla uygulandıktan sonra konjugat, uzun bir süre yüksek konsantrasyonda dolaşımda bulunmaya devam etti ve tümör üzerinde birikme ile sonuçlandı. T-2513 tümör içinde sürekli bir salınım oluşturdu. Aksine vücut içerisinde hızlı bir şekilde yok oldu. T-2513'ün tümor içerisinde salınıma maruz kalma süresi ve miktarında önemli bir şekilde artış olması, T-0128'in gelişmiş etkinliğini daha iyi açıkladı. Sonuç olarak Okuno ve arkadaşları bu çalışma ile T-0128, T-2513'ün gücünü geliştirdiğini yukarıda bahsedilen temel kavramlarla kanıtladılar (Okuno ve ark. 2000).

J. Li ve arkadaşları (2011), yapmış oldukları çalışmada çöktürme metodu ile manyetik nanoparçacık sentezi yaptılar ve bu parçacıkları doğal dekstran ve doğal dekstrandan elde edilen karboksimetil dekstran ile kapladılar. Hazırlamış oldukları bu iki yüzeyi yenilenebilir biyoayırma çalışmalarında kullandılar. Ayrıca bu iki yüzey arasındaki aktiviteyi inceleyip karboksimetil dekstranın daha iyi disperse olduğunu ve kolloidal ortamlarda daha kararlı olduğunu tespit ettiler. Bununla birlikte karboksimetil dekstranın antikor molekülleri ile daha kolay ve aktif bir şekilde kovalent bağ

oluşturduğunu gözlemlediler. Reaksiyon ve uygulama aşamaları Şekil 2.7'de gösterilmiştir (Li ve ark. 2011).

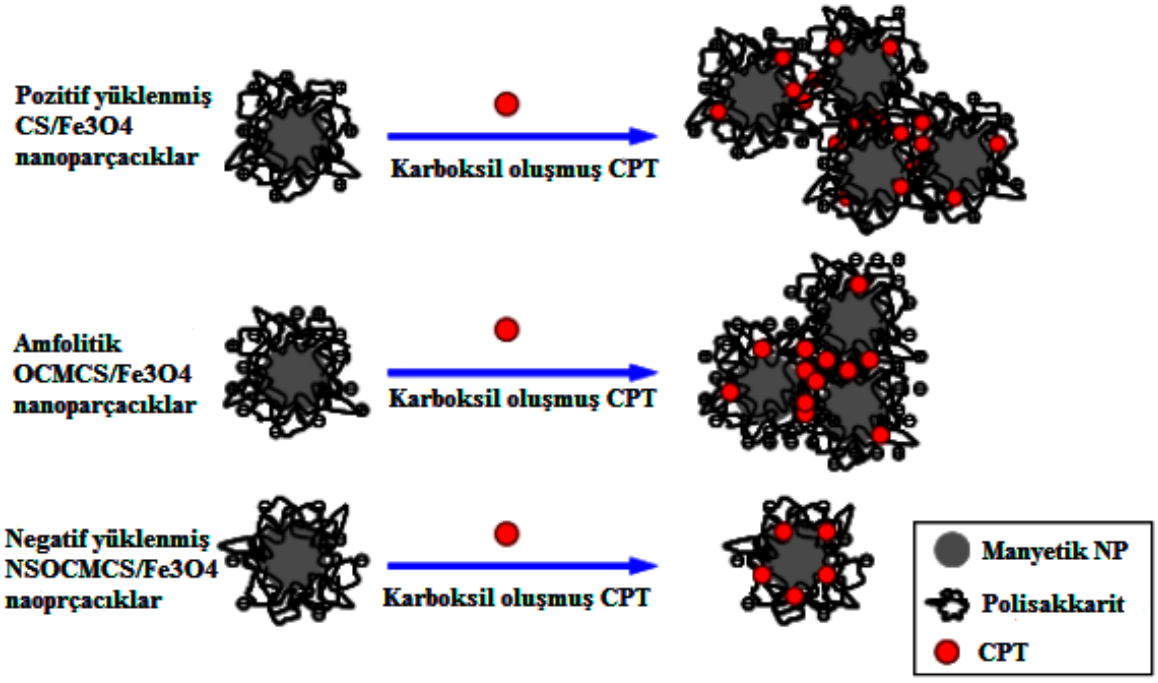


Şekil 2.7. Karboksimetil Dekstranın manyetik nanoparçacıklar (CMD-MNPs) ile kaplanması anti- Bovin Serum Albümin (anti-BSA) antikoru ile sarılması ve BSA nümune çözeltisini ortamına salınımı; (a) MNPs ve Dekstranın çöktürme metodu ile dekstran ile kaplanmasının oluşumu; (b) CMD-MNPs oluşumu; (c) anti-BSA antikorun amin gruplarının CMD'nın karboksil grupları ile bağlanmasının oluşumu; (d) NaOH varlığında BSA ve anti-BSA arasındaki birleşme; ve BSA ve anti-BSA antikorun ayrışması (Li ve ark. 2011)

Han ve arkadaşları (2010), oktreotid-karboksimetil-dekstran sentezleyip manyetik nanoparçacıklara immobilize ettiler. Hazırlamış oldukları bu yüzeyi Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM), Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ve X- Işını Difraksiyonu (XRD) ile karakterize ettiler. Pankreatik kanser hücreleri Bx-PC3 ve kolon kanser hücreleri HCT-116 ile etkileştirip Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM) ve Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI) özelliklerini araştırdılar (Han ve ark. 2010).

Zhu ve arkadaşları (2008), Fe_3O_4 nanoparçacıklarını Kitosan (CS), O-Karboksimetil Kitosan (OCMCS) ve N-Suksinil-O-Karboksimetil Kitosan (NOCMCS) polisakkaritleri ile kapladılar. Anti-kanser ilaç olarak bilinen Kemptotesini (CPT)

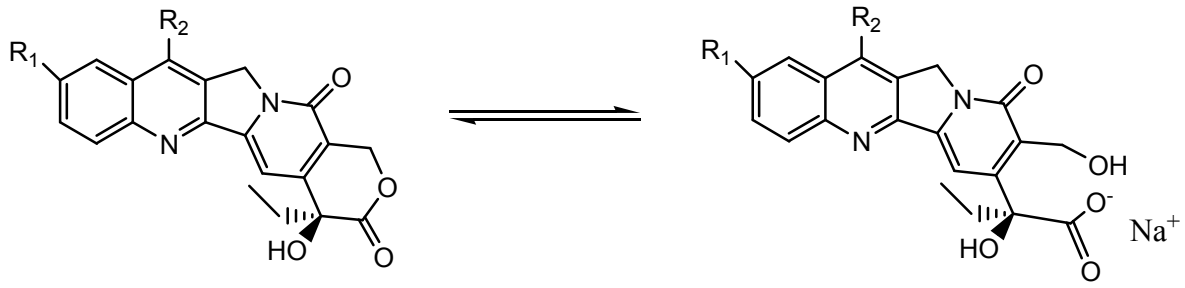
hazırlanan farklı yüzeylere yüklediler ve 24 saat inkübe ettiler. 7721 kanser hücrelerinde *in vitro* ortamda ilacın salınım özelliklerini araştırdılar. Şekil 2.8'de polimer kaplı Fe_3O_4 nanoparçacıkların ilaç ile etkileşimi şematize edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile ilacın yüklenmiş olduğu yüzeyin parçacık boyutu, dağılım büyüklüğü, ilacı yükleme ve ilacı salma gibi özellikleri, kullanılan polisakkaritin karakteristik özellikleri ile yakından ilişkili olduğunu gösterdiler (Zhu ve ark. 2008).



Şekil 2.8. Fe_3O_4 nanoparçacıkları modifiye edilmiş polisakkaritlere CTP yüklenmesinin şematik gösterimi (Zhu ve ark. 2008)

Mert ve arkadaşları (2012), çalışılması en zor anti-kanser ilaçlarından olan Kamptotesin (CPT) ve türevi olan Topotekan'ı (TPT) hedef bölgeye taşımak için biyobozunur polimerik jel dizayn ettiler. Bu ilaçlarla çalışmanın zorluğu, vücut içinde fizyolojik pH'ta (7.4) aktif olan lakton formdan inaktif olan karboksilat forma dönüşmesidir. Şekil 2.9'da CPT ve TPT'nın lakton ve karboksilat formların dönüşümü görülmektedir. Mert ve arkadaşları bu sorunun önüne geçebilmek için ısıya duyarlı biyo-bozunur Poli-L-Laktik Asit Metoksi polietilenglikol (PLLA-mPEG) polimerini sentezleyip, CPT ve TPT'ı bu jel üzerine lakton formda tutturabildiler. Sentezlenen bu

platformla üç haftadan uzun süren devamlı bir ilaç salınımı sağladılar. TPT yüklü PLLA-mPEG (PLLA-mPEG-TPT) platformu LLC-1 ve 4T1 kanser hücreleri hattına uygulayıp sonuçlarını değerlendirdiler. Ayrıca PPLA-mPEG-TPT platformunu *in vivo* ortamda farelerin göğüs tümörü üzerine denediler ve oldukça iyi sonuç elde ettiler (Chan ve ark. 2002, Rivera ve ark. 2010, Mert ve ark. 2012, Winer ve ark. 2012).



CPT $R_1 = H$ $R_2 = H$
TPT $R_1 = OH$ $R_2 = CH_2N(CH_3)_2$

Şekil 2.9. CPT ve TPT'ın suda çözünen sodyum tuzlarının hidrolizi

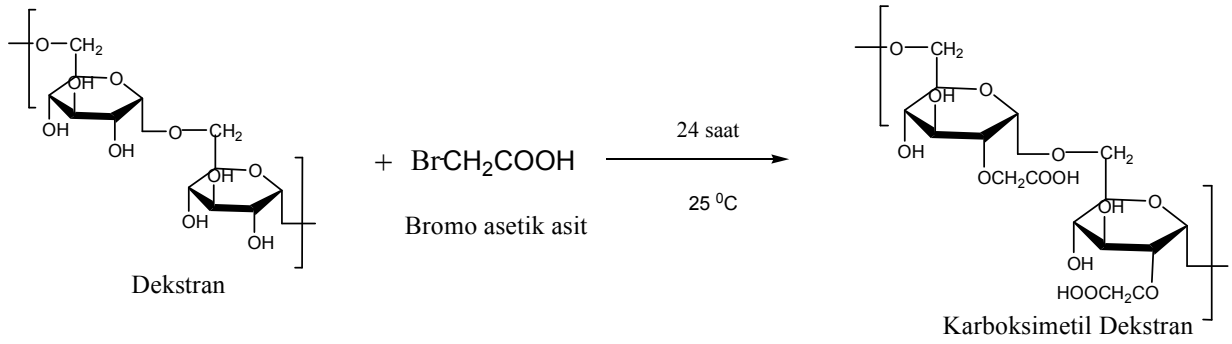
Baker ve arkadaşları (2006) ile Hergt ve arkadaşları (2004), hipertermiyi kanser tedavisi için yeni bir yöntem olarak tanımladılar. Bu yöntem, alternatif bir manyetik alanda (AMF) manyetik bir parçacığın histerezis kaybı yoluyla ısı oluşturması prensibine dayandığını ifade ettiler (Hergt ve ark. 2004, Baker ve ark. 2006).

Jordan ve arkadaşlarının (1993), yapmış olduğu çalışmada, hipertermi tedavisi için IONPs'ın uygulanmasını öngördüler. Bu çalışma ile süperparamanyetik parçacıkların manyetik alandan salınan enerjiyi absorbe ederek ısı enerjisine dönüştürme yeteneklerinin olduğunu kanıtladılar. Böylece hipertermiyi, in vivo ortamda tümör hücrelerinin sıcaklığını arttırma yolu ile bu hücrelerde hasar bırakmak için kullandılar (Jordan ve ark. 1999, Moroz ve ark. 2002, Abushrida 2012).

Renard ve arkadaşları (2010), manyetik olarak indüklenmiş lokal hipertermi ile kanser lezyonlarının tedavisi için IONPs'ını silika mikroparçacıkları içine gömerek hazırladılar. Tümör içerisine hapsedilmiş manyetik parçacıklar ile enjekte edilebilen formülasyonlar halinde jeller oluşturdular. IONPs'ın yüksek ısıtma kapasitelerine elverişli olması, bu parçacıkların büyük oranda şırınga ile uygulanma olasılığını arttırdı.

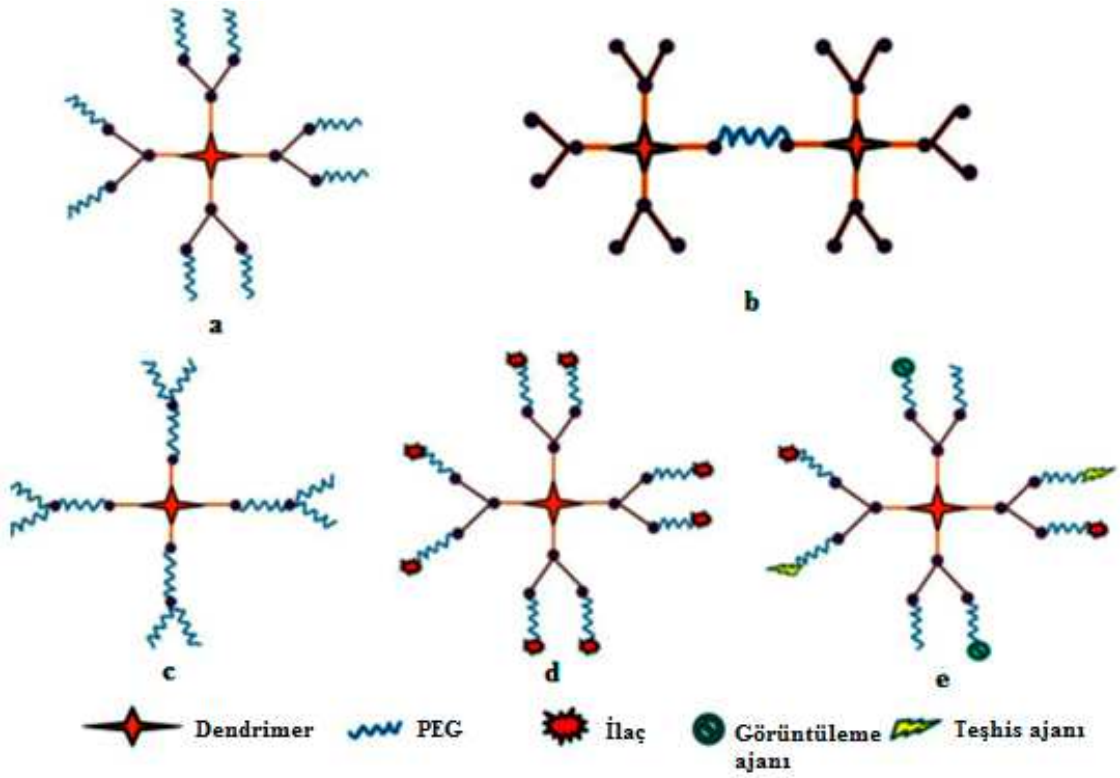
Hidrojelleri (poloksamer, kitosan ve organojel) nanoparçacıklar ile birleştirip, farelerdeki insan kanser türlerine enjekte ettiler. Dimetil sülfoksit (DMSO) içinde %40 w/v oranında manyetik nanoparçacık ve %8 oranında organojel poli(etilen-vinil alkol) ile tümör hücreleri üzerine manyetik olarak indüklenmiş lokal hipertermi oluşturdular. Burada hidrojel tek başına indüklenmiş hipertermi için yeterli bir manyetik yanıt gösteremediğini gördüler (Renard ve ark. 2010, Abushrida 2012).

Luccioni ve arkadaşları (2011), manyetik karboksimetil dekstran sentezlediler. Şekil 2.10'da sentez basamakları gösterilmiştir. Yüzeyin sitotoksisite özelliğini araştırıp, Caco-2 (insan epitel kolorektal adenokarsinom) ve MCF-7 (insan göğüs kanseri) hücreleri üzerine denediler. Ayrıca hazırladıkları yüzeyin manyetik akışkan hipertermisi ve sıcak-su hipertermisi özelliğini, iki kanser hücresi modeline uygulayarak hücre canlılığı üzerindeki etkilerini araştırdılar. Yapılan çalışmalar sonucunda manyetik akışkan hipertermisi, sıcak-su hipertermisine nazaran hücre canlılığı üzerinde daha çok etkili olduğu gördüler (Luccioni ve ark. 2011).



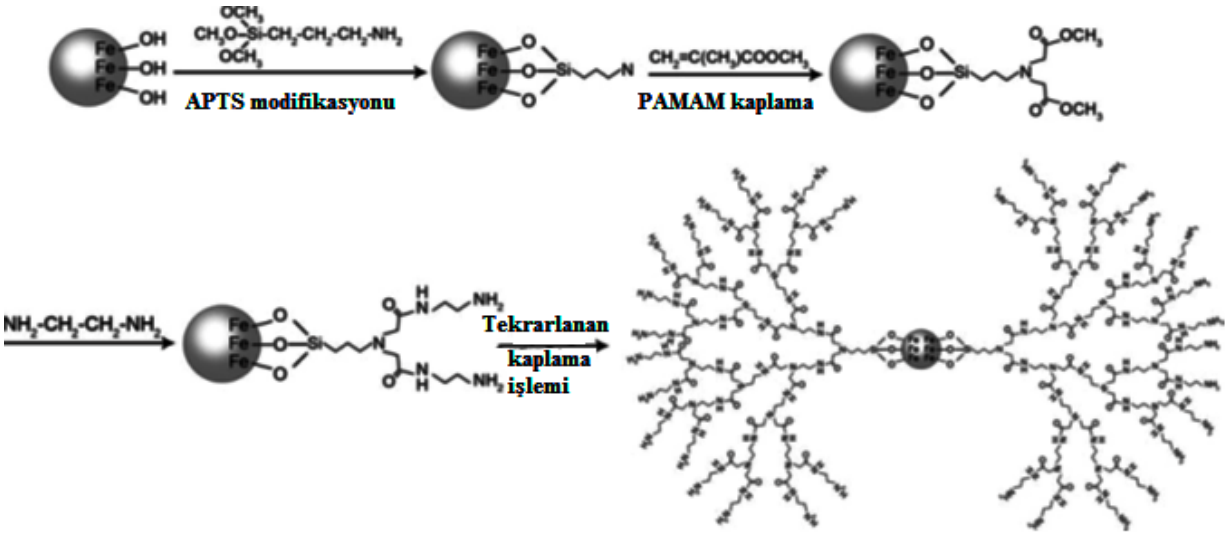
Şekil 2.10. Dekstrandan karboksimetil dekstran sentezi

Kesharwani ve arkadaşları (2011), farklı polimerik maddeler kullanıp ligand bağlı dendrimer yüzeyler geliştirip karakterize ettiler. Geliştirmiş oldukları bu yüzeylerin kanser-hedefleme potansiyeli özelliklerini karşılaştırdılar. Sentezlemiş olduğu Poly(propilen imin) (PPI) bağlı Folat, Dekstran ve Galaktoz dendrimer yüzeylere Paklitaksel (PTX) anti-kanser ilacını yükleyip HeLa ve SİHa hücreleri üzerine in vitro olarak uyguladılar. Şekil 2.11'de durum basit bir şekilde şematize edilmiştir (Kesharwani ve ark. 2011).



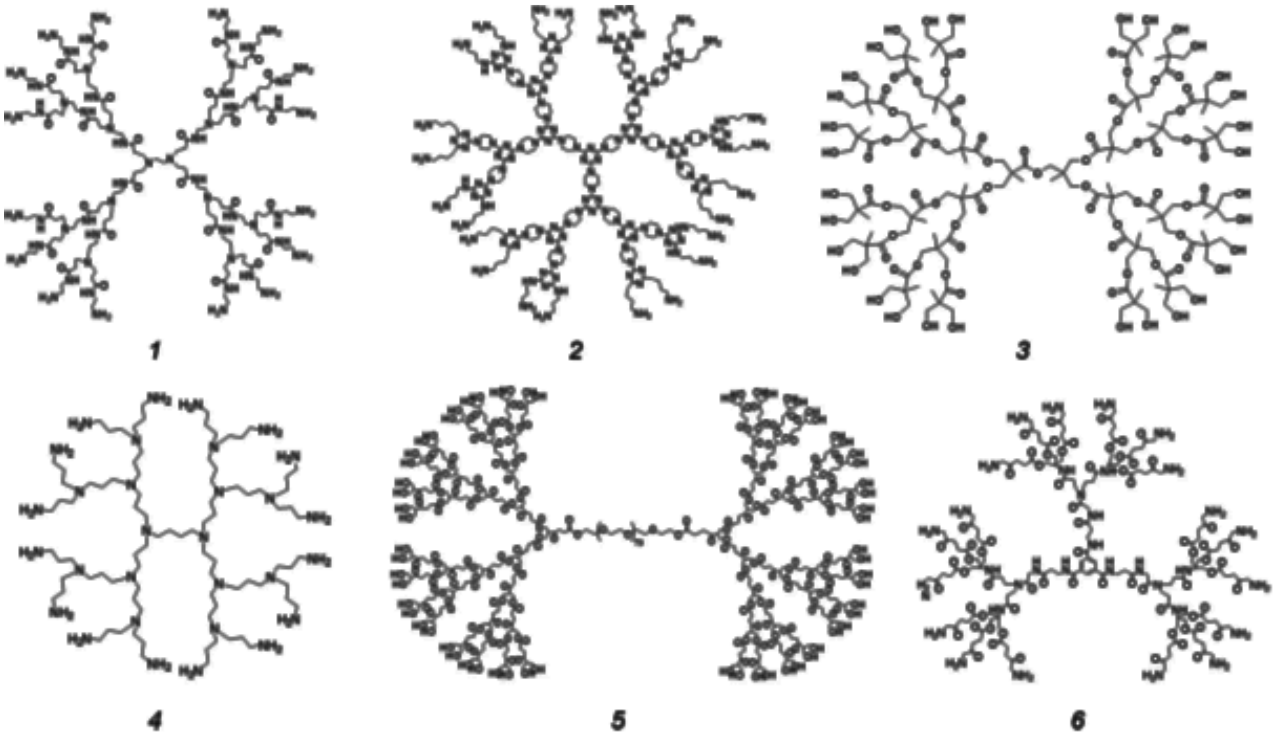
Şekil 2.11. PEG kaplı dendrimerlar için yaklaşımlar. (a) yüzey PEG kaplı ile dendrimerlar, (b) PEG çekirdekli dendrimerlar, (c) dallanma birimi olarak PEG içeren dendrimerlar, (d) ilaç ile konjuge edilmiş PEG kaplı dendrimerlar, ve (e) çeşitli uygulamalar için çok sayıda ligandlara konjuge edilmiş PEG kaplı dendrimerlar

Khodadust ve arkadaşları (2013), farklı anti-kanser ajanlarını yüklemek ve hedeflenmiş kanser tedavisinde kullanmak için, geliştirilmiş manyetik özelliklere sahip non-toksik özellik gösteren ve farklı adımlarda (G_0-G_7) sentezlenen poliamidoamin (PAMAM) dendrimerlar (DcMNPs) sentezlediler. Bu dendrimerları manyetik nanoparçacıkları kaplamada kullandılar. Şekil 2.12'de demir oksit nanoparçacıkların dendrimer ile kaplama aşamaları adım adım gösterilmiştir. Bu yüzeyleri Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM), X- Işını Difraksiyonu (XRD), X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi (XPS), Dinamik Işık Dağılımı (DLS) ve Titreşimli Örnek Magnetometri (VSM) ile karakterize ettiler. Bu çalışmada nanoparçacıklar ile etkileştirilen hücreleri, Tersine çevrilmiş Işık Saçılım Mikroskobu ile analiz ettiler. Ayrıca sitotoksisite özellikleri test ettiler. Sonuçlara göre; denrimer kaplı manyetik nanoparçacıklar (DcMNPs) ve onların fonksiyonel grupları kusursuz bir simetriye, dağılım büyüklüğüne, geliştirilmiş manyetik özelliğe ve non-toksik bir yapıya sahiptir (Khodadust ve ark. 2013).



Şekil 2.12. Demir oksit nanoparçacıkların Aminopropil trimetoksisilan ile modifikasyonunu adım adım gösteren dendrimer kaplama prosesi

Wolinsky ve Grinstaff (2008), yapmış oldukları bu derleme ile son dört yılda kanser tedavileri için dendrimer yapılarının geliştirilmesi üzerine odaklandılar. Yapısal farklılıklarının vurgulanması ve vermiş oldukları biyolojik yanıtlar bu yapıları gözde kılmaktadır. Daha geniş anlamda, yeni dendrimer yapıların kapsamlı araştırılması ve kansere özgü uygulamaları ile ilgili mevcut teknolojilerin güncellemelerini kaydettiler. Ayrıca kullanılan materyale bağlı olarak yüzeyin sahip olduğu yük ile toksisite özelliğinin genel anlamda bir biri ile ilişkili olduğu tespit ettiler. Negatif yüklü ve nötr özellikteki dendrimerlar genellikle biyo-uyumlu özellik gösterirken, pozitif yüke sahip olanların farklı derecelerde toksik olduklarını ifade ettiler. Şekil 2.13'te kanser terapisinde kullanılan bazı dendrimer örnekleri gösterilmiştir (Wolinsky ve Grinstaff 2008).



Şekil 2.13. Kanser terapi ilaçlarının dağılımı için kullanılan dendrimer yapıları. (1) Poliamidoamin (PAMAM), (2) melamin temelli dendrimer, (3) 2,2 bis(hidroksimetil) propiyonik asit temeli dendrimer, (4) polipropilenimin (PPI), (5) çekirdekte PEG olan gliserol ve suksinik asit temelli dendrimer ve (6) 5 aminolaevulinik asid temelli dendrimer

Saboktakin ve arkadaşları (2010), ilaç taşıyıcıları olarak MRI tarafından tespit edilebilen amino dekstran kaplı IONPs sentezlediler. Bu ajanların MRI habercileri tarafından tanınabilmesi, yüksek yoğunluklu makromoleküler bir omurgaya dayanmaktadır. Bu radyo farmotikler ilk olarak özellikle anti-kanser ilaç taşıyıcıları için tasarlandı. Bu nanoparçacıkların amacı MRI tekniği ile ilaç potansiyelini arttırmaktır (Saboktakin ve ark. 2010, Abushrida 2012).

Gaihre ve arkadaşları (2009), jelatin içeren doksorubisin (DXR) ile kaplanmış IONPs'ı manyetik ilaç hedeflemede taşıyıcı bir sistem olarak değerlendirdiler. Gaihre ve arkadaşları bu parçacıkların rollerini anlamak için doksorubisin kaplı demir oksit parçacıklarını, adsorpsiyon ve desolvasyon/ çapraz bağlayıcı metotlarını kullanarak hazırladılar. İlaç yükleme işlemini değişik pH koşullarında gerçekleştirdiler. Parçacıklar pH 7.4 ile karşılaştırıldığı zaman pH 4'te aşamalı bir ilaç salınımına yol açtığı ve pH'a duyarlı bir ilaç salınımı gösterdiğini kaydettiler. Yüklemeden sonra kaplı parçacıkların yüzey değişimindeki artış, pozitif yüklü doksorubisinin negatif yüklü demir oksit

parçacıkları ile adsorpsiyona uğradığını ve yüklemenin meydana geldiğini gösterdiler. Kapsülasyon verimliliğindeki artış veya azalma kaplı parçacıkların yüzey yüküne bağlı olduğunu kaydettiler. Ayrıca ilaç yükleme işleminin ilaç-parçacık etkileşimi ile ilgili olduğunu teyit ettiler(Gaihre ve ark. 2009, Abushrida 2012).

Sun ve arkadaşları (2008), gelişmiş bir klorotoksin (CTX) yüklü IONPs'ı ilaç taşımada kullandıklarını bildirdiler. Ayrıca bu parçacıklar potansiyel olarak gelişmiş bir MRI kontrast ajanı gibi kullanılabildiğini ifade ettiler. PEG fonksiyonel grupları aracılığı ile CTX'i nanoparçacıkların yüzeyine tutturdular. Bu konjugasyon ile tanısal ve terapötik ajanlar için geliştirilmiş bir alt yapı oluşturdular. Böylece gelecekte hem görüntüleme hem de hedeflemede yeni bir platform geliştirdiler. İlaç dağılımını in vitro ortamda 9L hücrelerine ve in vivo ortamda fare tümör hücrelerine, kontrol nanoparçacıkları ile karşılaştırma yaparak çalıştılar. Hücre alım deneylerinde CTX ile konjuge edilmiş PEG kaplı IONPs'ının kontrol nanoparçacıklarına göre glioma hücreleri tarafından önemli ölçüde daha yüksek alındığını gösterdiler. MRI kontrast ajanları 9L hücre kültüründe PEG-CTX ile kaplı IONPs'ını (100 μg Fe/mL için 1 saat 37 ^{0}C) TEM ile görselleştirdiler. Böylece PEG-CTX nanoparçacıkların 9L hücre sitoplazmasında içselleştirilmiş olduğunu gösterdiler (Sun ve ark. 2008, Abushrida 2012).

Jain ve arkadaşları (2008b), stabilizör (dengeleyici) olarak F-127 pluronik asit varlığında oleik asit ile kaplı IONPs'ını in vivo ortamda hem ilaç dağılımı hem de manyetik rezonans görüntüleme (MRI) için kullandılar. İlaçları, doksorubisin ve paklitaksel tek tek veya birlikte nanoparçacıklarla etkileştirdiler. Bu ilaçların bileşimi, nanoparçacıkların fiziksel boyutunu, zeta potansiyelini ve mıknatıslanma özelliğini etkilediğini ifade ettiler. İlaç nanopartiküllerinin, hem tek başına hem de kombinasyon halinde, ilaç dağılımının gerçek zamanlı izlenmesi ile yüksek bir etkinlik gösterdiğini gördüler (Jain ve ark. 2008b, Abushrida 2012).

Weissleder ve arkadaşlarının (1989) hazırlanmış oldukları iki ayrı SPIONs'ı özellikle karaciğer MR görüntüleme çalışmalarında klinik uygulamaları için onay aldı. Dekstran ile kaplı Ferumoxides buna örnek verilebilir (Weissleder ve ark. 1989, Abushrida 2012).

Ma ve arkadaşları (2008) alginat kaplı IONPs'ı MRI'da kullanarak karaciğer tümörü hakkında bilgi sahibi oldular. Nanoparçacıkları intravenöz olarak enjeksiyon edildikten sonra hızlı bir şekilde serumdan temizlenerek %90'ın üzerinde temel olarak karaciğer ve dalakta toplandığını gördüler. Bu parçacıkların MRI kontrast maddesi olarak karaciğer tümörünü ileri düzeyde belirleme kabiliyetine sahip olduğunu kaydettiler. Laser-indüklenmiş piroliz ile hazırlanan IONPs dekstran ile kaplandığında hidrodinamik çapının 50 nm olduğunu belirttiler. Bu parçacıkların ^{1}H NMR relaksiyon (gevşeme) zamanları ve manyetik özellikleri onların MRI kontrast ajanları olarak kullanılmaya uygun olduğunu gösterdi. Relaksiyon özelliklerini etkileyen iki önemli faktörün, özellikle çapraz relaksiyon oranı R_2 için parçacık ve kristal boyutu olduğunu ifade ettiler. (Morales ve ark. 2003, Ma ve ark. 2008, Abushrida 2012).

Tanaka ve arkadaşları (2008) ligand değişim metodu ile SPIONs'ını biotin, hemin ve 5-fosforilatlanmış DNA'ya modifiye ettiler. DLS ölçüm sonuçlarına göre parçacık boyutlarının 51.2 ± 22.4 nm olduğunu kaydettiler. Bu parçacıkların hem kontrast maddesi hem de hücre döngüsünü görüntüleme gibi uygulamalarda potansiyel olarak kullanılmasını beklediklerini ifade ettiler (Tanaka ve ark. 2008, Abushrida 2012).

Lee ve arkadaşları Di-alil ftalat (DAP) ile çapraz bağlanmış etil akrilat (EA) ve metakrilik asidin (MAA) polimerize edilmesi ile oluşturulan ve manyetik olmayan mikrojel ile IONPs'ını kapladılar. Manyetik parçacıkları primer endoteliyal öncü kök hücreleri ile etiketleyerek, nakil işleminden sonra in vivo ortamda kök hücrelerinin takibi için kullandılar. Bu parçacıkların manyetik rezonans ile izlenebildiğini kaydettiler. Nanoparçacıkların hidrodinamik çaplarını 87-766 nm olarak ölçtüler. Mikrojel demir oksit partiküllerini, manyetik parçacıklar ile indüklenmiş relaksiyon (gevşeme) çalışmalarında ve MRI ile hücresel takipte yararlı bir araç olarak kullanılabileceğini ifade ettiler (Lee ve ark. 2010, Abushrida 2012).

Lobel ve arkadaşları (2000), doku tamirinde IONPs'ını kullanılarak hem yapışmış iki doku yüzeyini birbirinden ayırmayı hem de dokuları birbirine kenetlemeyi başardılar. Burada protein ya da sentetik polimer kaplı nanoparçacıkların, birbirine bağlı gelişmiş iki doku yüzeyi arasında bir köprü görevi gördüğünü ifade ettiler. 55.5 ^{0}C sıcaklık, dokuların bir araya gelmesini teşvik etmek için en uygun değer olduğunu tespit ettiler (Lobel ve ark. 2000, Abushrida 2012).

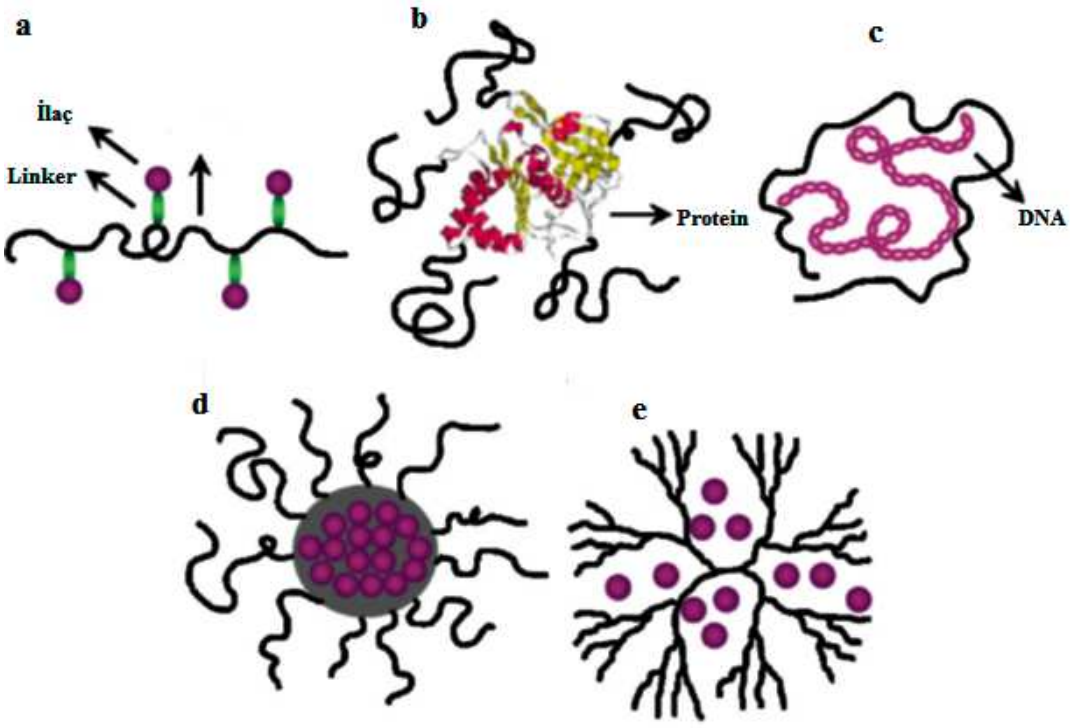
Trombin kullanımı, yerel hemostaz ve yara tedavisinde altmış yıldan fazladır kullanılmaktadır. Ziv-polat ve arkadaşları (2010), IONPs'ını trombine bağlayarak sıçan derisindeki yaraların tedavisinde, bağlanmamış trombine göre etkin bir tedavi sağladığını gösterdiler. IONPs bağlı trombin ile ilgili yapılan araştırmalar, normal cerrahi müdahalelerle karşılaştırıldığı zaman daha az yan etkiye sahip olduğu ve serbest trombin ile karşılaştırıldığında yara iyileşmesini daha çok arttırdığını ortaya koydular (Ziv-Polat ve ark. 2010, Abushrida 2012).

Park ve arkadaşlarının (2008) yapmış olduğu derlemeye göre, araştırmacılar geçtiğimiz son on yıl içinde kanser tedavi yöntemlerini geliştirmek için, polimer kimyası ve nanoteknolojinin kombinasyonu ile ilaç dağılımını da içeren çalışmalar yapmışlardır (Duncan 2003, Brannon-Peppas ve Blanchette 2004, Park ve ark. 2004, Kim ve ark. 2005, Kim ve ark. 2006). Park ve arkadaşları yapmış oldukları bu derleme ile aşağıdaki sonuçlara vardılar;

- Bu sistemlerde kullanılan polimerlerin çoğu biyo-uyumlu ve/veya biyo-bozunur olduğundan Gıda ve ilaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmış olduğunu kaydettiler. İlacın genellikle ya polimer nanoparçacıklar içerisine dağıtıldığını ya da polimerik bir omurgaya konjuge edildiğini ifade ettiler. İlk durumda kapsüllenmiş ilaç dereceli olarak polimerik matriksten difüzyon ile salındığını kaydettiler. İkinci durumda polimerik matriksin yüzeyi ya aşınmaya uğradığını veya hacimsel bozunma ile ilaç salınımında temel bir role sahip olduğunu ifade ettiler. Ayrıca çeşitli tekniklerin salınım hızını ayarlamada kullanılabildiğini gösterdiler. Örneğin ilacın, polimer omurgasına ya doğrudan veya kollar aracılığı ile bağlanabileceğini ve bu şekilde normal fizyolojik ortamda kararlı konjugatlar halinde tutunabileceklerini rapor ettiler. Fakat kanserin oluşturduğu (örneğin pH ve sıcaklık değişiminde) özel koşullar altında hidrolitik bozunmaya maruz kaldıklarını ifade ettiler.
- Araştırmacılar sistemik uygulama için, genellikle suda çözünen polimerler kullanarak amaca uygun konjugatlar hazırladılar. Hazırlanan konjugatların bu şekilde kan dolaşımı ile taşınabildiğini ve böylece uzun süreli terapötik etki oluşturabildiğini açıkladılar.

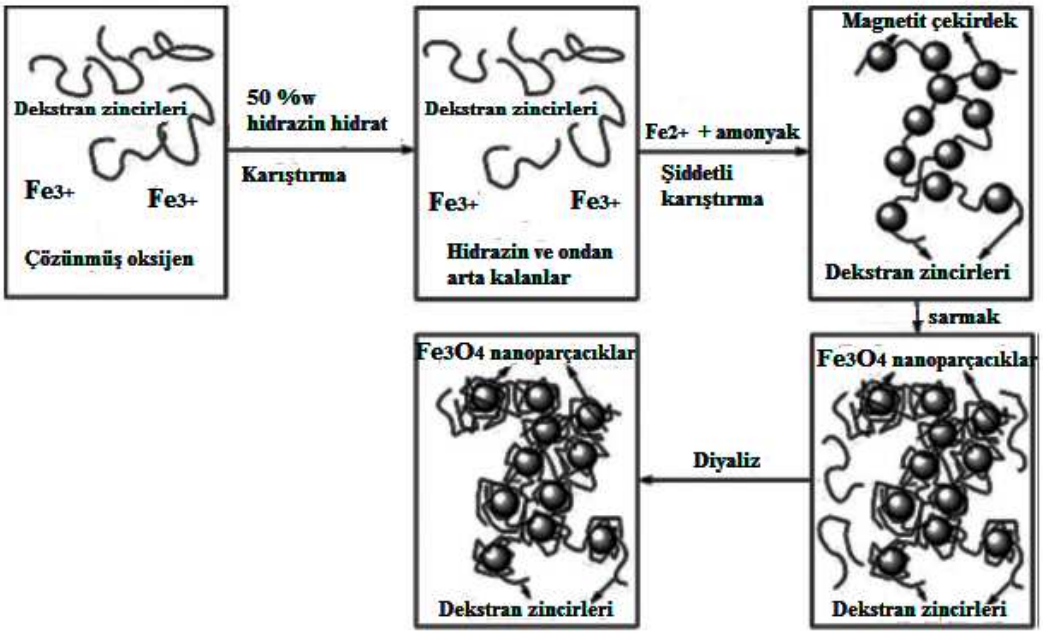
- Çok sayıda doğal polimer ve türevlerini, PEG, N-(2-hidroksipropil) metakrilamid ko-polimerleri, poli(vinil pirolidon), poli(etilenamin), hiyaluronik asit, kitosan, dekstran ve poli(aspartik asit) dahil olmak üzere terapötik polimerler olarak potansiyel kullanımlarını araştırdılar (Khandare ve Minko 2006). Basit konjugatları temel alan lineer veya dallanmış polimerlere ek olarak, çok değerlikli polimerler, aşı polimerler, dendrimerlar, lineer polimerler, blok kopolimerler ve yıldız şekilli polimerlerin kullanılması ile son zamanlarda karmaşık polimerik konjugatların üretilmesini sağladılar (Duncan 2003). Ayrıca konjuge edilmiş polimerleri, zayıf çözünen ilaçların dağılımı için polimerik miseller oluşturmada kullandılar. Bunun yanı sıra hedef bölgede etkili bir transfeksiyonu geliştirmek için nano boyuttaki DNA komplekslerini oluşturmada kullandılar (Ogris ve Wagner 2002, Torchilin 2002, Gaucher ve ark. 2005, Lee ve ark. 2005, Park ve ark. 2008).

  Şekil 2.14'te kanserde ölüm oranını düşüren buluşlar göz önünde bulundurulmuş olup, polimer temelli nano-ilaçların şematik gösterimi sunulmuştur.



Şekil 2.14. Polimeik nano-ilaçların temsilinin şematik gösterimi: (a) polimer-ilaç konjugatları; (b) polimer-protein konjugatları; (c) polimer-DNA komplekleri; (d) polimerik miseller; (e) dendrimerlar

Hong ve arkadaşları (2008), Dekstran kaplı Fe_3O_4 manyetik nanoparçacıklarını (MNPs) biyo uyumlu ferroakışkanları temel alarak tek aşamalı bir metot kullanıp elde ettiler. Şekil 2.15'te görüldüğü gibi reaksiyon aşamalı bir şekilde şematize edilmiştir.

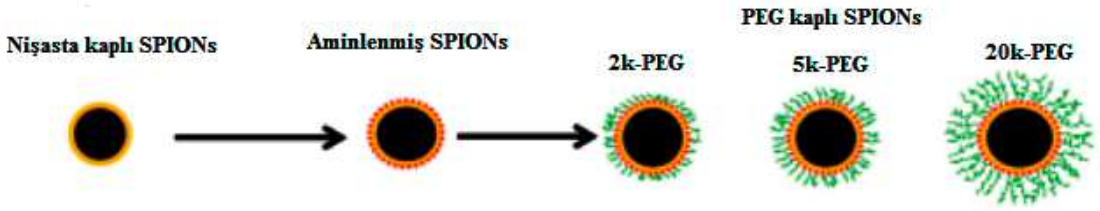


Şekil 2.15. Dekstran kaplı manyetik nanoparçacıklarının (MNPs) hazırlanmasını gösteren reaksiyon taslak haritası

Bu çalışmada, bilinen birlikte çöktürme metodunun aksine hidrazin hidratı, bir indirgeyici madde ve çöktürücü olarak eklediler. Hidrazin hidratın etkileri, dekstranın MNPs'a ağırlıkça oranı ve dekstranın molekül ağırlığının MNPs'ın suda dağılabilirliği üzerine etkilerini araştırdılar. Ayrıca modifiye MNPs'ın parçacık boyutu ve dekstranın MNPs üzerine kaplama etkinliğini ölçtüler. Buna ek olarak biyo-uyumlu ferroakışkanları intravenöz (damar içine) olarak tavşanlara enjekte ettiler. Farklı zamanlarda kan ve organlardaki demir bileşimini atomik absorpsiyon spektrometresi ile ölçtüler ve ferroakışkanların organlardaki biyo-dağılım ve biyo-taşınmasını incelediler. Daha sonra, karaciğer, kemik iliği ve lenflerin manyetik rezonans (MR) görüntülerini, ferroakışkanın intravenöz enjeksiyonundan öncesi ve sonrasını MRI denemeleri ile elde ettiler. Görüntüler analiz edildiğinde yoğunlaştırılmış ferroakışkanlardan sonra bu organlardaki MR sinyal yoğunlukları dikkate değer bir şekilde azaldığını ortaya çıkardılar. Ancak organlarda tümör olması durumunda, enjeksiyondan sonra sinyal

yoğunluğunun değişmediğini gördüler. Buradan tümör kolaylıkla tespit edildi. Böylece biyomedikal araştırmalar ve klinik teşhisler için fonksiyonel moleküler görüntülemede, MNPs'ın potansiyel olarak uygulanabileceğini gösterdiler (Hong ve ark. 2008).

Hanot ve arkadaşları (2016), süper paramanyetik demir-oksit nanoparçacıklarının (SPIONs) çok sayıda biyomedikal uygulamaları ile büyük umutlar vaat ettiğini ifade ettiler. SPIONs'la ilgili çok sayıda çalışmanın incelenmiş olmasına rağmen, bu nanoparçacıkların güvenlik profili ve üreme organları üzerindeki toksik etkilerin belirsizliğini korumakta olduğunu kaydettiler. Hanot ve arkadaşları Çin Hamster yumurtalık (CHO-K1 hücreleri) hücrelerinden elde edilen bir hücre hattına nişasta kaplı, aminlendirilmiş ve PEG kaplı SPIONs'ını uygulayarak sitotoksisitelerini değerlendirdiler. Şekil 2.16'da nişasta kaplı SPIONs'dan aminlendirilmiş ve PEG kaplı SPIONs'ın elde edilişi şematize edilmiştir.



Şekil 2.16. Aminlenmiş ve PEG kaplı (SPIONs) içine yüzeyi modifiye edilmiş nişasta kaplı süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıkları (SPIONs)

Parçacık çapının (50 nm ve 100 nm) ve Polietilen glikol (PEG) zincir uzunluğunun (2k, 5k ve 20k Da) SPIONs üzerine sitotoksisite etkisini, tertrazolyum boyası 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromid (MTT) ve sülforoamin B (SRB) testini kullanarak araştırdılar. SPIONs'nın CHO-K1 hücreleri tarafından alınması ve kinetiği, ayrıca reaktif oksijen türlerinin (ROS) hücre içerisinde üretilme durumlarını araştırdılar. SPIONs'nın hücre toksisite profili onların hücre içine alınma kinetiği ile güçlü bir korelasyon gösterdiğini ifade ettiler. Ayrıca parçacıkların yüzey özelliklerine de güçlü bir şekilde bağlı olduğunu gördüler. PEG kaplı SPIONs, aminlendirilmiş SPIONs ile kıyaslandığında hem hücre içine alımın hem de sitotoksisitenin daha düşük olduğunu rapor ettiler. İlginçtir ki PEG modifiye edilmiş 2k Da SPIONs'ın çalışılan diğer parçacıklara göre hem hücre içine alımın hem de

sitotoksisitesinin en düşük olduğunu gözlemlediler. Ayrıca yapılan bu çalışmada MTT ve SRB sonuçlarının benzer sitotoksik eğilim gösterdiğini ifade ettiler. İlk olarak, 50 nm ve 100 nm 2k Da-PEG kaplı SPIONs diğer kaplama materyallerinin test sonuçları ile karşılaştırıldığında, bu parçacıkların CHO-K1 hücreleri ile daha iyi tolere edildiğini gördüler. Diğer taraftan aminlendirilmiş 100 nm SPIONs, 50 nm SPOINs'a göre belirlenen IC_{50} değerlerinden çok daha toksik olduğunu açığa çıkardılar. Ayrıca şuna da dikkat çekmek gerekirse, aminlendirilmiş 50 nm SPIONs'ın amin içerikleri yüksek olmasına rağmen beklenenden daha düşük bir zeta potansiyel değerine sahip olduğunu ifade ettiler. Bu durum ile gözlemlenen düşük toksisite arasında bir bağlantı, eğer varsa, yeteri kadar açık olmadığını kaydettiler. Hem MTT hem de SRB testlerinin IC_{50} değerleri karşılaştırıldığı zaman 100 nm SPIONs'ın 50 nm SPIONs'a göre çok daha yüksek toksisite gösterdiğine değindiler. Bu sonuçlarla, nanoparçacıkların biyomedikal uygulamalarda kullanılabilmesi için kaplama işleminin önem arz ettiğini vurguladılar. SPIONs'ın yüzey modifikasyonu nanoparçacıklar ile hücreler arasındaki etkileşimleri değiştirebileceğini ifade ettiler (Levy ve ark. 2010, Mahon ve ark. 2012, Zhu ve ark. 2012, Fleischer ve Payne 2014). Kaplanmamış SPIONs ile –COOH ve $–NH_2$ ile kaplanmış SPIONs'ı kullanarak, bu nanopartiküllerin yüzey özellikleri ile kalp, beyin, böbrekler ve bunlardan elde edilmiş çeşitli hücre tipleri arasında farklı tepkilerle indüklenebilir olduğunu gösterdiler (Mahmoudi ve ark. 2011). Daha önce bahsedildiği gibi, SPIONs'ın yüzeyine kovalent bağlanma ile bağlı olan poli(etilen glikol) (PEG), genellikle biyouyumluluğu geliştirmek ve bağışıklığı azaltmak için kullanıldığını rapor ettiler (Cortajarena ve ark. 2014). PEG molekülleri sterik itme yoluyla parçacıklar arasındaki stabiliteyi sağlayıp plazma proteinlerine bağlanarak adsorpsiyonu düşürdüğünü gördüler (Laurent ve ark. 2008). Genel olarak in vivo ortamda, PEG kaplı SPIONs plazma dolaşımında daha uzun süreli yarı ömre sahip olduğunu kaydettiler (Pisciotti ve ark. 2014, Cole ve ark. 2011). Bununla birlikte PEG kaplı parçacıkların sitotoksisitesi ile ilgili çelişkili sonuçların mevcut olduğunu ileri sürdüler. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, 2k Da-PEG kaplı SPIONs'ın çıplak dekstran kaplı SPIONs'a göre daha yüksek oranda toksik etki gösterdiğini (Pisciotti ve ark. 2014) ayrıca dekstran kaplı SPIONs'a göre hücre içine daha çok alındığını rapor ettiler. Bir diğer çalışmada; 2k Da-PEG kaplı SPIONs, sitrik asit kaplı SPIONs ve 10k Da-PEG kaplı SPIONs ile karşılaştırıldığı zaman, 2k Da-PEG kaplı SPIONs'ın 24 saat inkübe

edilmesi ile sığır vasküler düz kas hücre canlılığını geliştirdiğini gördüler (Park ve ark. 2014). Bu çalışmada parçacıkların toksisitesi ile hücre içerisine alınma miktarları arasında iyi bir korelasyon olduğunu ortaya çıkardılar (Pisciotti ve ark. 2014, Park ve ark. 2014). Ayrıca hücre içine alınma prosesinin, parçacıkların çekirdekleri ve kaplamanın fizikokimyasal özelliklerine büyük oranda bağlı olduğunu rapor ettiler (Gu ve ark. 2011, Gupta ve Gupta 2005).

Dutz ve arkadaşları (2007), yapmış oldukları bu çalışmada dekstran polimerinin sahip olduğu fonksiyonel hidroksil gruplarını sübstitüte ederek karboksimetil dekstranı (CMD) sentezlediler. Birlikte çöktürme metodunu kullanarak parçacık boyutları yaklaşık 90 nm ile 120 nm arasında CMD kaplı IONPs elde ettiler. Bir haftadan daha uzun süren bir zaman aralığında bu parçacıkların aglomerasyona karşı stabiletelerini araştırdılar. Bir günün sonunda parçacık boyutunun arttığını bunun da güçlü bir aglomerasyondan kaynaklandığını gözlemlediler (Dutz ve ark. 2007, Abushrida 2012).

Hu ve arkadaşları (2008), tek bir adımda sulu ortamda IONPs'nı silanlama ile monometoksipoli(etilen glikol) (m-PEG) ile kapladılar. Nanoparçacıkların parçacık boyutunu X-ray saçılımı ve TEM kullanılarak belirlediler. Buna göre parçacık çapının yaklaşık 20 nm olduğunu tespit ettiler (Hu ve ark. 2008, Abushrida 2012).

Kumagai ve arkadaşları (2009), sentezlemiş oldukları blok kopolimer ile IONPs'ını şelatlaşma yoluyla kaplayan bir metod rapor ettiler. Poli(etilen glikol)-poli(aspartik asit) blok kopolimerinde ki (PEG-PAsp) karboksilik asit grupları ile IONPs'ın yüzeyindeki Fe arasında şelatlaşma yoluyla kaplama gerçekleştirdiler. PEG-PAsp kaplı nanoparçacıkların TEM görüntüleri parçacık boyutlarının 100 nm aralığında olduğunu gösterdi. DLS ile hidrodinamik çaplarının 100 nm ile 120 nm aralığında tek modlu dispersiyon olduğunu rapor ettiler (Kumagai ve ark. 2009, Abushrida 2012).

Zhao ve arkadaşları (2009), Poli(laktikasit) (PLA) polimerinin serbest karboksilat gruplarını kullanarak PLA kaplı manyetik nanoparçacık sentezini sağlayan bir prosedür uyguladılar. Manyetik mikro küreler (MMS) ile PLGA veya PLA daha sonra emülsiyon çözücüsü evapore edilerek matriks materyalini oluşturdular. Hazırlamış oldukları bu parçacıkların fiziksel özelliklerini oleat kaplı veya

oleat/sülfonat kaplı manyetik nanoparçacıklar ile karşılaştırdılar (Zhao ve ark. 2009, Abushrida 2012).

Xu ve Teja (2008), IONPs'ın yüzeyini Polivinil alkol (PVA) ile hidrotermal sentez yöntemini kullanarak modifiye ettiler. Sentezlenmiş olan polimer kaplı parçacıklar PVA'nın farklı konsantrasyonlarında 7 nm ile 27 nm arasında farklı parçacık boyutları gösterdiğini rapor ettiler. Ortalama parçacık boyutunun sıcaklık ve etkileşim süresinin artmasıyla arttığını gösterdiler. Bu iki etkinin birlikte bazı morfolojik değişikliklere sebep olduğunu ileri sürdüler (Xu ve Teja 2008, Abushrida 2012).

Mahmoudi ve arkadaşları (2010), PVA sulu çözeltisinde çeşitli sıcaklık ve farklı konsantrasyonlarda demir oksit tuzlarını birlikte çöktürme metodunu kullanarak IONPs'ı PVA ile kapladılar. Sonuçlar PVA polimer zincirinde bulunan OH grupları ile nanoparçacıklar arasında bir bağlanmanın meydana geldiğini gösterdi. Ayrıca aynı metod kullanılarak 6-10 nm çekirdekli süper paramanyetik demir oksit nanoparçacıkları (SPION) PVA ile kaplanarak 30 nm hidrodinamik boyutuna ulaştığını kaydettiler. IONPs'ını ilk olarak su içerisinde klasik birlikte çöktürme metodu ile elde ettiler. Termokimyasal uygulama ve santrifüjlemeden sonra elde edilen nanoparçacıkların iyi bir dispersiyon gösterdiğini rapor ettiler. Daha sonra molekül ağırlığı 12.000 olan PVA kullanarak parçacıkları kapladılar (Schöpf ve ark. 2005, Mahmoudi ve ark. 2010, Abushrida 2012).

Zhang ve arkadaşları (2010 b), yeni bir fotokimyasal metot yardımıyla oda sıcaklığında sulu çözeltide serbest emülgatörler varlığında kitosan kaplı IONPs hazırladılar. Sonuçları taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve TEM kullanarak gösterdiler. Buna göre kitosan kaplı nanoparçacıkların düzgün bir şekle sahip olduğunu, ortalama çaplarının 41 nm olduğunu kaydettiler. Bununla birlikte ortalama boyutlarını foton korelasyon spektroskopisi ile 64 nm olarak ölçtüler (Zhang ve ark. 2010b, Abushrida 2012).

Zhu ve arkadaşları (2008), yapmış olduğu çalışmada IONPs'ını klasik bir metod olan birlikte çöktürme metodu ile sentezlediler. Sonuçlara göre parçacık boytunu ortalama 14.1 nm olarak gösterdiler. Bu parçacıkların daha sonra iki polimerin, kitosan

ve O-karboksimetil kitosan (OCMCS), bulunduğu ortamda iyi bir şekilde disperse olduğunu kaydettiler. Kitosan/Fe_3O_4 nanoparçacıkları ile OCMCS/Fe_3O_4 nanoparçacıkların çaplarını sırasıyla DLS ile 42 nm ve 38 nm olarak ölçtüler. Fe_3O_4 nanoparçacıklar net pozitif yüke sahip olduğundan karbonil fonksiyonel gruplarını içeren OCMCS ile manyetik Fe_3O_4 nanoparçacıklarını stabil ettiler (Zhu ve ark. 2008, Abushrida 2012).

Lien ve Wu (2008), yapmış oldukları bu çalışmada IONPs'ını termosensitif polimerler ile kapladılar ve 6 nm boyutta monodisperse silika kaplı IONPs'ı üzerine aşıladılar. Nanoparçacıkları ters mikroemülsiyon ve serbest radikal polimerizasyonu kullanılarak sentezlediler. 20 ile 30 nm aralığında yüzeyi silika kaplı bir tabaka içeren nanoparçacıklar hazırladıklarını ifade ettiler. Bir diğer sentezde, farklı oranlarda Poli(N-isopropilakril amid) (PNIPAM) ile silika kaplı IONPs'a aşılı PNIPAM hazırladılar. Üç örneğin parçacık boyutları saf silika kaplı IONPs ile karşılaştırıldığında 3-5 nm dolaylarında arttığını TEM ile teyit ettiler. SiO_2/Fe_3O_4 üzerine aşılı PNIPAM'ı FTIR spektrumları ile doğruladılar (Lien ve Wu 2008, Abushrida 2012).

Hu ve arkadaşları (2006), su/yağ emülsiyonunda çözücü evaporasyon/ekstraksiyon tekniğini kullanarak magnetit/poli(L-laktik asit) bileşimini hazırladılar. Bileşimin parçacık boyutunun yaklaşık olarak 200 nm olduğunu ifade ettiler. Buna rağmen çekirdeğin parçacık boyutu 6.2 ± 0.7 nm çapında olduğunu ileri sürüdüler. Bu bileşime daha sonra anti-kanser ilaç yüklediler (Hu ve ark. 2006, Abushrida 2012).

Arias ve arkadaşları (2009), ilaç dağılımında etil seliloz'u kullanarak, emülsiyon çözücüsünün evapore edilmesi ile kaplı IONPs'ı sentezlediler. Bu parçacıklara daha sonra artrit tedavisinde kullanılan diklofenak sodyum yükleyerek bir ilaç taşıyıcı olarak kullandılar. Parçacık boyutlarını TEM kullanarak ölçtüler. Sonuçlara göre parçacık boyutlarının ortalama 430 ± 40 nm çapında ve küresel şekle sahip olduğunu buldular. Bu parçacıkların iyi bir ilaç yükleme kapasitesine ve yavaş bir ilaç salınım profiline sahip olduğunu gördüler (Arias ve ark. 2009, Abushrida 2012).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

$FeCl_2.4H_2O$ (puriss. p.a., ≥99.0% RT, Sigma-Aldrich) ve $FeCl_3.6H_2O$ (ACS reagent, 97%, Sigma-Aldrich) Fe_3O_4 sentezi için kullanılmıştır. NH_3 (anhydrous, ≥99.98%, Aldrich) Fe_3O_4 sentezi sırasında bazik ortamda çöktürme işleminde kullanılmıştır. Dekstran 70 (United States Pharmacopeia (USP)) dekstran kaplı demir oksit nanoparçacıkların sentezi için temin edilmiştir. Bromo asetik asit (reagent grade, 97%, Aldrich) dekstran'dan O-Karboksimetil dekstran sentezi için alınmıştır. N-(3-dimetil aminopropil)-N-etil karbodiimid hidroklorür (EDC) (≥98%, Aldrich), N-Hidroksi süksinimid (NHS) (98%, Aldrich) ve NαNα-Bis (karboksimetil) -L-lisin hidrat (NTA) (≥97.0% (TLC) (Aldrich)) ile O-Karboksimetil dekstran ve O-Karboksimetil Kitosan'dan çıkarak dallı dekstran ve dallı kitosan sentezi için kullanılmıştır. Kitosan (low molecular weight (Aldrich)), Kitosan kaplı manytik nanoparçacık sentezi ve O-Karboksimetil kitosan sentezinde kullanılmıştır. Asetik asit (Glacial) (Merck 100%) HPLC de kullanılan yürütücü fazın pH'ını ayarlama çalışmaları için temin edilmiştir. Sodyum hidroksit (NaOH) ve Hidroklorik asit (HCl) pH ayarlamada kullanılmıştır. Çalışma boyunca ve sentez aşamasında kullanılan tampon çözeltiler ve çözücüler şunlardır; MES hidrat (≥99.5% (titration) (Sigma)) sentez aşamasında reaktantları çözmek için alınmıştır. Asetonitril (Chromasolv Sigma-Aldrich) HPLC yürütücü fazı için temin edilmiştir. Fosfat tuzu tamponu (Sigma 100 Tablet) ilacın yükleme ve salınım çalışmalarında kullanılmıştır. Trietil amin (99% Sigma-Aldrich) Trietil amin asetat tamponunu hazırlamada kullanılmıştır. İsopropanol ve Etanol sentez ve yıkama işlemlerinde kullanılmıştır. Topotekan (Sigma) anti-kanser ilaç. Hücre deneylerinde sitotosisite çalışmaları için insan prostat kanseri Du145 ve PNT1A hücre hatları kullanılmıştır. Hücrelerin olgunlaştırılması için, 10% fetal bovine serum (Sigma), % 1 pen-strep (Gibco) içeren RPMI (Sigma) ve DMEM-F12 (Sigma) besiyerleri sırasıyla kullanılmıştır. Sitotoksisite çalışmalarında hücreler için 96 kuyucuklu mikroplakalar kullanılmıştır.

3.2. Numunelerin Karakterizasyonunda Kullanılan Teknikler

Sentezlenmiş olan nanokompozitlerin elementel analizi, boyut ve yüzey morfolojisi, yapısal analiz ve manyetik karakterizasyonu için EDX, XPS, SEM, TEM, FTIR, DLS ve VSM analiz tekniklerinden yararlanılmıştır.

FTIR analizleri, Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi bünyesinde bulunan Thermo Scientific Nicolet 95 IS10 FT-IR spectrometer cihazı ile yapılmıştır.

VSM analizleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ) Merkezi Laboratuvarında bulanan Cryogenic Limited PPMS cihazı ile yapılmıştır.

TEM analizleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ) Merkezi Laboratuvarında bulanan JEOL marka JEM 2100F model Geçirimli Elektron Mikroskobu ile yapılmıştır.

SEM ve EDX analizleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ) Merkezi Laboratuvarında bulanan QUANTA 400F Field Emission SEM Yüksek çözünürlüklü taramalı elektron mikroskobu ile yapılmıştır.

XPS analizleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ) Merkezi Laboratuvarında bulanan PHI 5000 Versa Probe cihazı ile yapılmıştır.

Bu tez çalışmasında, ilaç yükleme ve salınım çalışmalarını analiz etmek için Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi bünyesinde bulunan Agilent Technologies 1260 Infinity HPLC cihazı kullanılmıştır. Bütün analizlerde boyutları 4.6 x 50 mm, tanecik boyutu 2.7 µm olan Poroshell 120 EC-C18 kolonu kullanılmıştır. Kolon basıncı maksimum 151.4 Bar'a dayanıklı, injeksiyon hacmi 1µl olan kolon ile, akış hızı 1 mL/min ve yürütücü fazlar Asetonitril/Trietil amin asetat 12/88 oranlarında çalışılmıştır. Okumalar floresans detektörle (adsorpsiyon 382 nm emisyon 516 nm'de) yapılmıştır. HPLC sonuçları Ekler kısmında verilmiştir.

3.3. Metot

Bu çalışmada, demir oksit nanoparçacıkları (Fe_3O_4) birlikte çöktürme metodu ile sentezlenmiştir. Bu parçacıklar farklı fonksiyonel gruplarla fonksiyonlandırılmış farklı polimerlerle kaplanmıştır. Sentezlenen manyetik nanoparçacıkların yapısal analizi için FTIR ve XPS kullanılmıştır. Elde edilen manyetit nanoparçacıkların manyetik analizi, VSM ve boyut analizi ile yüzey morfolojisi için TEM, SEM, DLS ve Zeta potansiyel

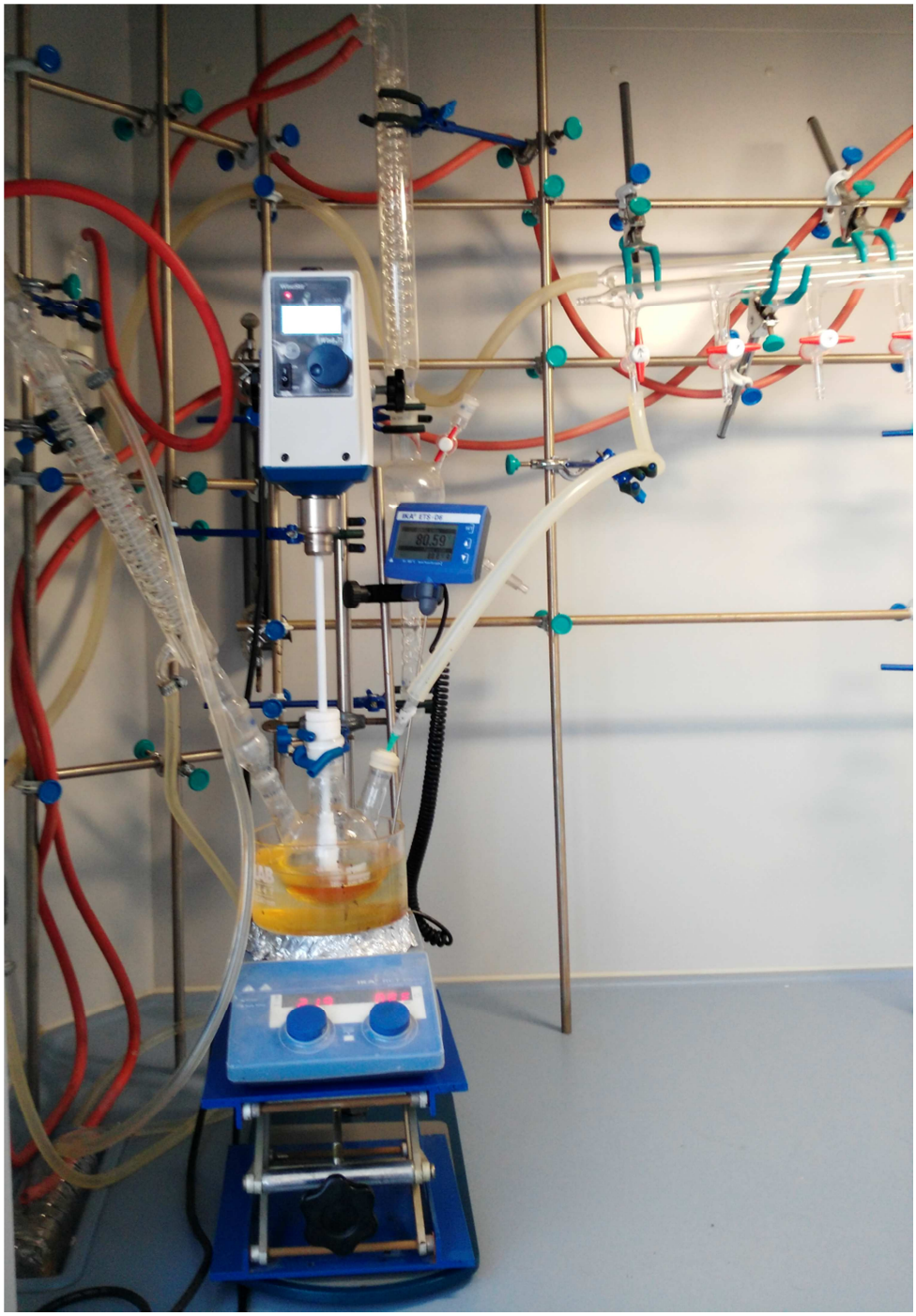
değerleri kullanılmıştır (Bütün karakterizasyon grafikleri ve yorumları Bulgular ve Tartışma bölümünde verilmiştir).

3.3.1. Fe_3O_4 (magnetit) Nanoparçacıkaların Sentezi

Oksidasyonu önlemek için $N_{2(g)}$ atmosferinde 250 mL üç boyunlu bir balona 40 mL deiyonize su konulup 20-25 dakika boyunca mekanik bir karıştırıcı altında karıştırılmıştır. 1:2 mol oranında (0.86 g / 2.36 g) $FeCl_2.4H_2O$/ $FeCl_3.6H_2O$ demir tuzları tartılıp 40 mL deiyonize suda karıştırılarak çözülmüştür. Geri soğutucu altında yağ banyosunda sıcaklık 80 ^{0}C oluncaya kadar ısıtılmıştır. Bu sıcaklıkta % 28'lik 5 mL NH_3 çözeltisi damlalar halinde ilave edilerek, siyah renkli Fe_3O_4 çökeltisi (yaklaşık 1 gram) elde edilmiştir. Reaksiyon denklemi Şekil 3.1'de gösterildiği gibidir. Reaksiyonun şematik gösterimi Şekil 3.2'de verilmiştir. Elde edilen süspansiyon 30 dakika karıştırılmış ve sistem kapatılmıştır. Karışım bir mıknatıs (Nd–Fe–B) üzerinde çöktürülerek deiyonize su ile 3-4 defa yıkanmıştır. Diğer sentez basamaklarında kullanılmak üzere sulu vaziyette kapaklı falkon tüplerinde buzdolabında muhafaza edilmiştir (Laurent ve ark. 2008, Faraji ve ark. 2010, Mahdavi ve ark. 2013, Tural ve ark. 2016).

$$Fe^{+2} + 2Fe^{+3} + 8OH^- \longrightarrow Fe(OH)_2 + 2Fe(OH)_3 \longrightarrow Fe_3O_4 + 4H_2O$$

Şekil 3.1. Fe_3O_4 manyetik nanoparçacıkların birlikte çöktürme metodu ile sentez basamakları

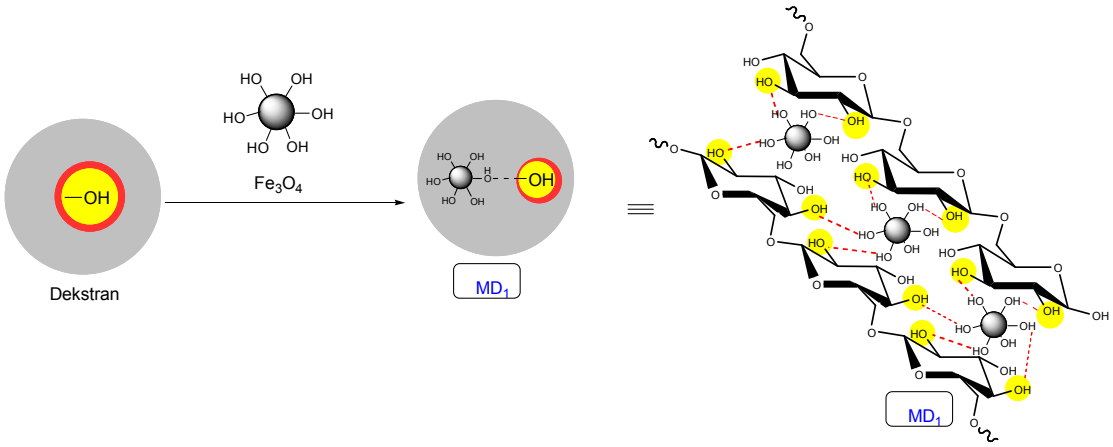


Şekil 3.2. Manyetik Nanoparçacık sentezinin gösterimi

3.3.2. Dekstran Kaplı Manyetik Nanoparçacık (MD_1) Sentezi

$N_{2(g)}$ atmosferinde 250 mL üç boyunlu bir balona 30 mL deiyonize su konulup 1:2 mol oranında (0.86 g / 2.36 g) $FeCl_2.4H_2O$/ $FeCl_3.6H_2O$ demir tuzları mekanik bir karıştırıcı yardımıyla tamamen çözülmüştür. Bu karışıma 20 mL deiyonize suda

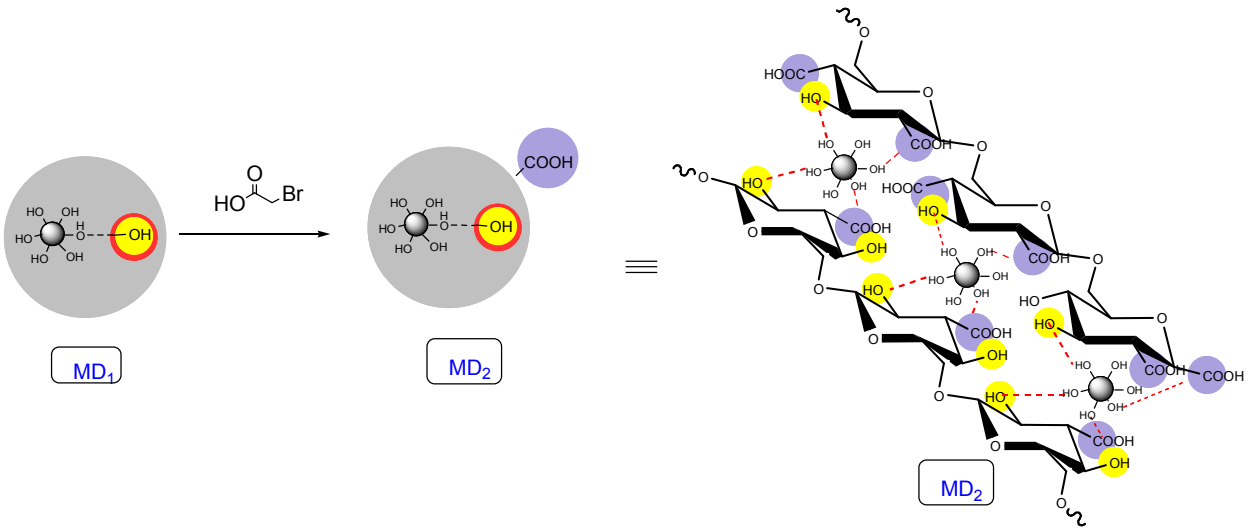
çözülmüş 200 mg dekstran ilave edilip sıcaklık 80 ^{0}C oluncaya kadar geri soğutucu altında yağ banyosunda karıştırılmıştır. Daha sonra ortama % 28'lik 1.2 mL NH_3 çözeltisi damlalar halinde ilave edilerek MD_1'in çökmesi sağlanmıştır. Reaksiyonun şematik gösterimi Şekil 3.3'te verilmiştir. Sistem 1 saat boyunca mekanik karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra kapatılmıştır. Bir mıknatıs yardımı ile süspanse karışım çöktürülüp deiyonize su ile 3-4 defa yıkanmıştır. Kullanılmak üzere kapaklı falkon tüplerinde deiyonize su içinde buzdolabında muhafaza edilmiştir. Yaklaşık olarak sentez sonrası 0.16 g MD_1 elde edilmiştir (Hong ve ark. 2008, Li ve ark. 2011).



Şekil 3.3. MD_1 sentezinin gösterimi

3.3.3. O-Karboksimetil Dekstran Kaplı Manyetik Nanoparçacık (MD_2) Sentezi

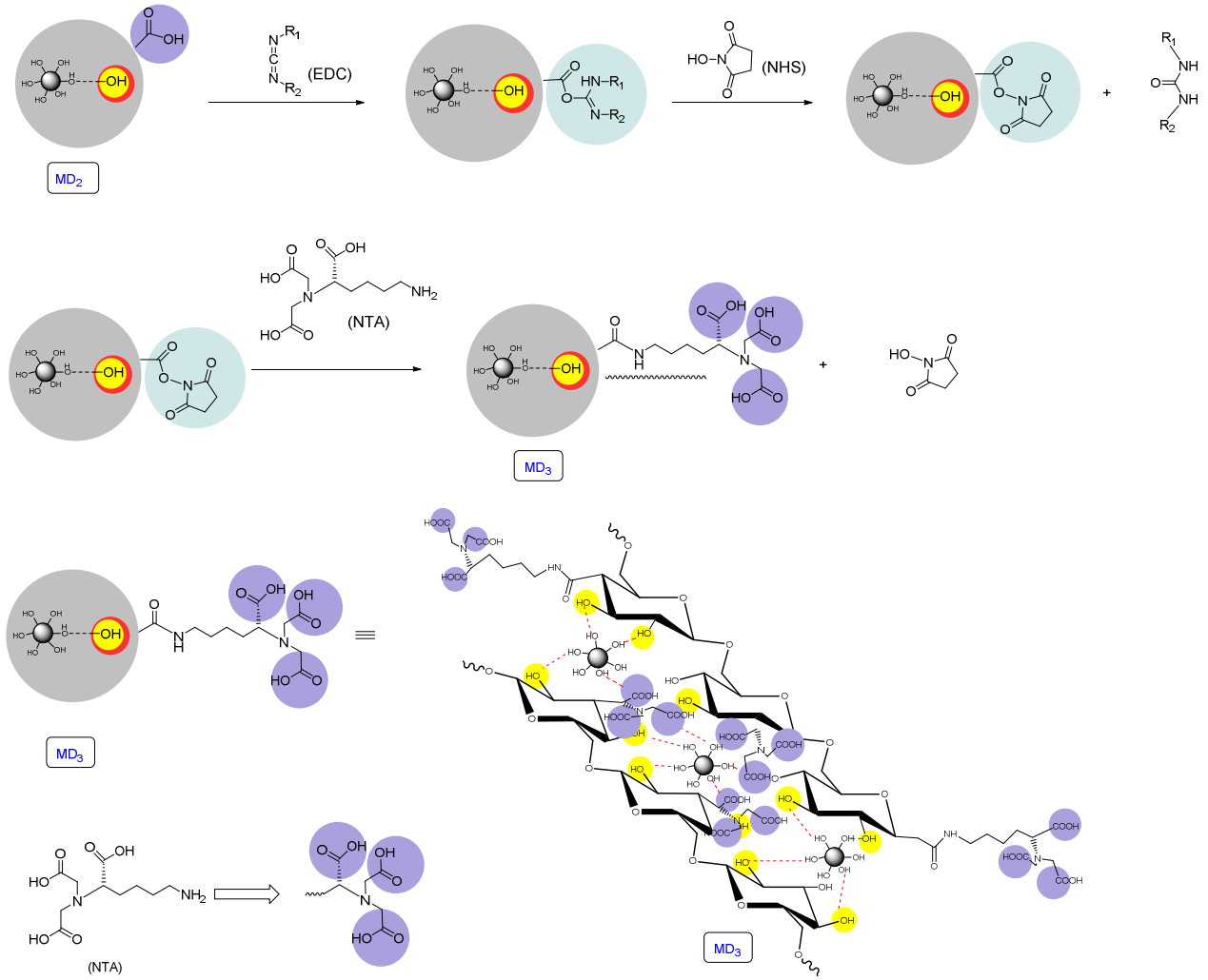
Bir önceki adımda sentezlenmiş olan MD_1 sonikatör yardımı ile deiyonize suda iyice dağıtılmış ve mekanik karıştırıcı yardımı ile birkaç dakika karıştırılmıştır. Bu süspansiyonun üzerine 10 mL 2 molar NaOH çözeltisinde 0.1 molar çözülmüş Bromo asetik asit ilave edilerek 24 saat boyunca mekanik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. 24 saat sonunda sistem kapatılarak mıknatıs yardımı ile süspansiyon karışım çöktürülmüştür. Deiyonize su ile yıkama yapılıp süzüntü atılmış ve sentezlenmiş olan MD_2 ıslak bir şekilde kullanılmak üzere buzdolabında muhafaza edilmiştir. Reaksiyon sonucunda yaklaşık olarak 0.39 g MD_2 elde edilmiştir. Reaksiyonun şematik gösterimi Şekil 3.4'te verilmiştir (Han ve ark. 2010, Li ve ark. 2011).



Şekil 3.4. MD_2 için sentez basamaklarının gösterimi

3.3.4. NαNα-Bis (Karboksimetil)-L-Lisin Hidrat (NTA) ile Dallanmış Karboksimetil Dekstran (MD_3) Sentezi

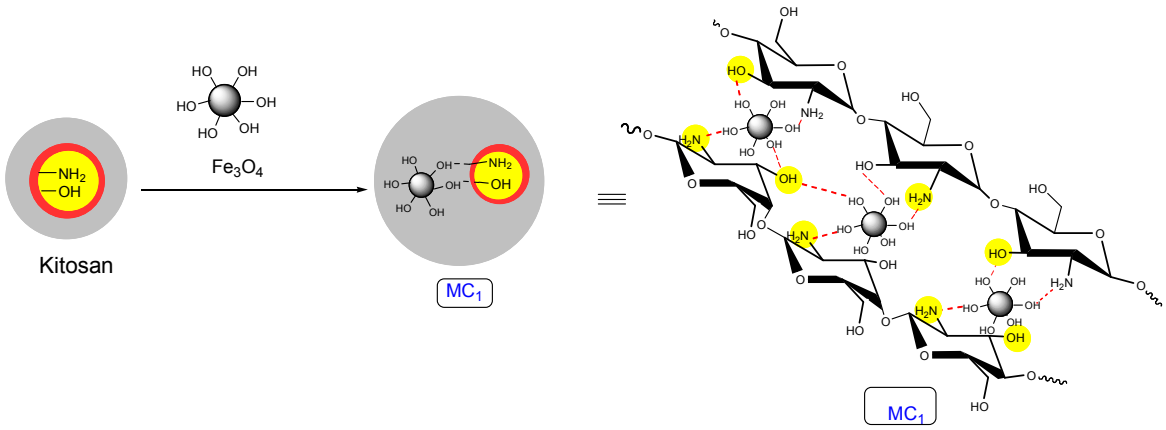
Bir önceki adımda sentezlenmiş olan MD_2 sonikatör yardımı ile deiyonize suda iyice disperse edilmiştir. Bu karışımın üzerine 240 mg N-(3-dimetil aminopropil)-N-etil karbodiimid hidroklorür (EDC) ve 1060 mg N-Hidroksi süksinimid (NHS) tartılıp 2.5 mL MES Hidrat tamponunda (daha önce pH değeri 4.5 ayarlanmış olan) çözülerek ilave edilmiştir. Karışım ağzı kapalı bir şekilde 200 rpm hızında laboratuvar sıcaklığında 1 saat boyunca inkübe edilmiştir. 1 saat sonunda pH değeri 6'a ayarlanmış olan MES Hidrat tamponu ile 3-4 defa yıkanarak reaksiyona girmemiş olan EDC ve NHS uzaklaştırılmıştır. Daha sonra pH 6 MES Hidrat tamponunda 0.3 gram NaCl ve 3 gram NαNα-Bis (Karboksimetil)-L-Lisin Hidrat (NTA) çözülerek karışıma ilave edilmiştir. Karışım 2 saniye vorteksle karıştırılmış ve 2 saat laboratuvar sıcaklığında beklemeye bırakılmıştır. 2 saat sonunda pH 6 MES tamponu ile birkaç kez yıkanıp mıknatıs yardımı ile süzüntü atılmıştır. Son olarak birkaç kez deiyonize su ile yıkanarak süzüntü atılmış ve sentezlenmiş olan MD_3 deiyonize su içinde buzdolabında kapalı bir şekilde kullanılmak üzere tutulmuştur. Reaksiyonda yaklaşık olarak 0.46 g MD_3 sentezlenmiştir. Reaksiyon basamakları Şekil 3.5'te görüldüğü gibidir (Park ve ark. 2005, Pisanic ve ark. 2007, Lee ve ark. 2011, Schweiger ve ark. 2011, Zhou ve ark. 2011).



Şekil 3.5. MD_3 için sentez basamaklarının gösterimi

3.3.5. Kitosan Kaplı Manyetik Nanoparçacık sentezi (MC_1)

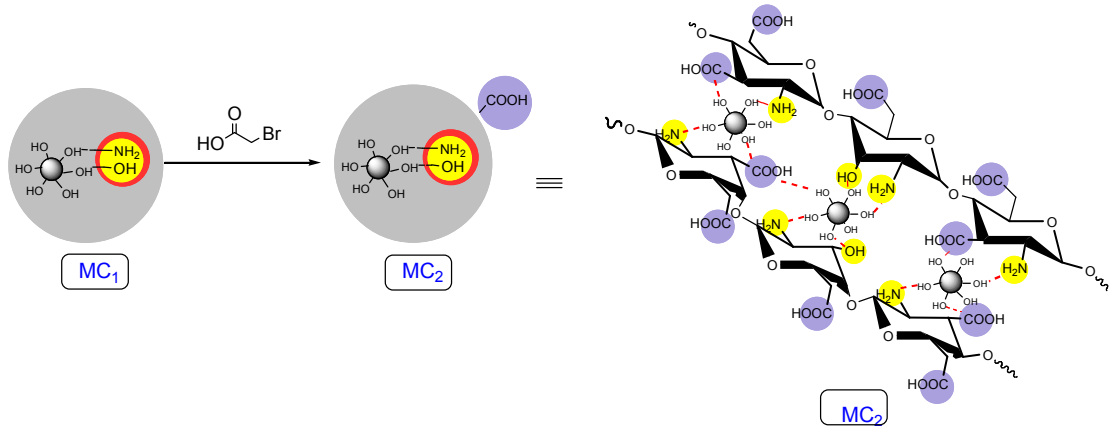
2 gram Kitosan ağırlıkça % 1.5 olan asetik asit çözeltisinde çözülmüştür. Hazırlanan kitosan çözeltisi daha önce sentezlenip buzdolabında tutulan Fe_3O_4 nanoparçacıkları üzerine ilave edilerek mekanik karıştırıcı yardımı ile 24 saat boyunca laboratuvar sıcaklığında karışmaya bırakılmıştır. 24 saat sonunda mıknatıs yardımı ile çöktürülüp süzüntü atılmış ve 3-4 defa deiyonize su ile yıkanmıştır. Sentezlenmiş olan MC_1 deiyonize su içinde buzdolabında muhafaza edilmiştir. Bu reaksiyonda yaklaşık olarak 0.11 g MC_1 elde edilmiştir. Şekil 3.6'da reaksiyonun şematik gösterimi verilmiştir (Mai ve ark. 2012, Mohammadi-Samani ve ark. 2013).



Şekil 3.6. MC_1 sentezinin gösterimi

3.3.6. O-Karboksimetil Kitosan Kaplı Manyetik Nanoparçacık Sentezi (MC_2)

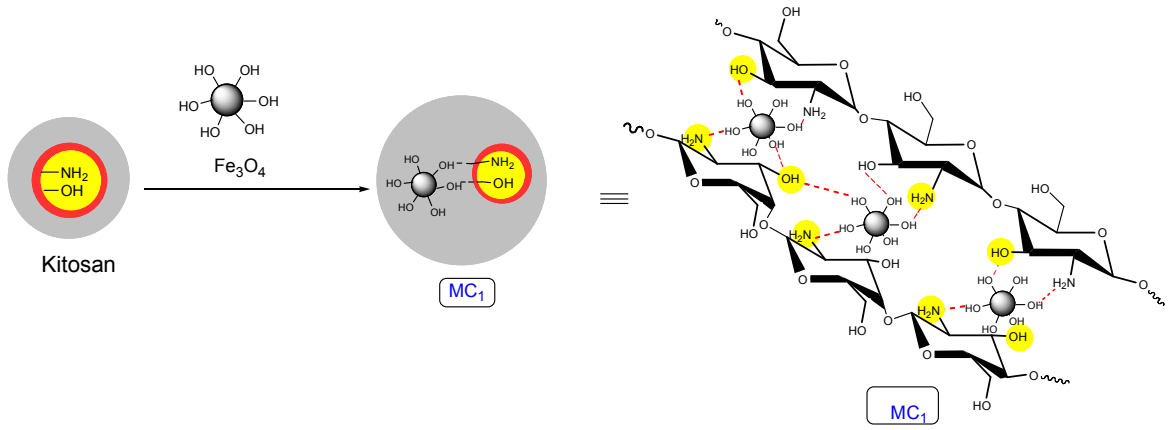
Bir önceki adımda sentezlenmiş olan MC_1 sonikatör ile deiyonize suda iyice disperse edilmiştir. Daha sonra 6 gram NaOH 400 mL isopropil alkol ve 400 mL deiyonize suda tamamen çözülüp karışımına ilave edilmiştir. Geri soğutucu altında yağ banyosunda 50 ^{0}C'de 1 saat boyunca mekanik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. 1 saat sonunda 8 gram monobromo asetik asit 12 mL isopropil alkolde çözülüp reaksiyon ortamına ilave edilmiştir. Sistem 4 saat daha 50 ^{0}C'de karıştırılmaya devam edilmiştir. 4 saat sonunda sistem kapatılıp karışım % 70'lik etil alkol çözeltisi ile 3-4 defa yıkanmıştır. Süzüntü mıknatıs yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Birkaç defa da deiyonize su ile yıkandıktan sonra deiyonize su içinde buzdolabında kapalı tutulmuştur. Bu reaksiyonda yaklaşık olarak 0.22 g MC_2 elde edilmiştir. Reaksiyon basamakları Şekil 3.7'de gösterilmiştir (Chen ve Park 2003, Chen ve ark. 2004, Mourya ve ark. 2010, Safee ve ark. 2010, Mai ve ark. 2012, Sohofi ve ark. 2014).

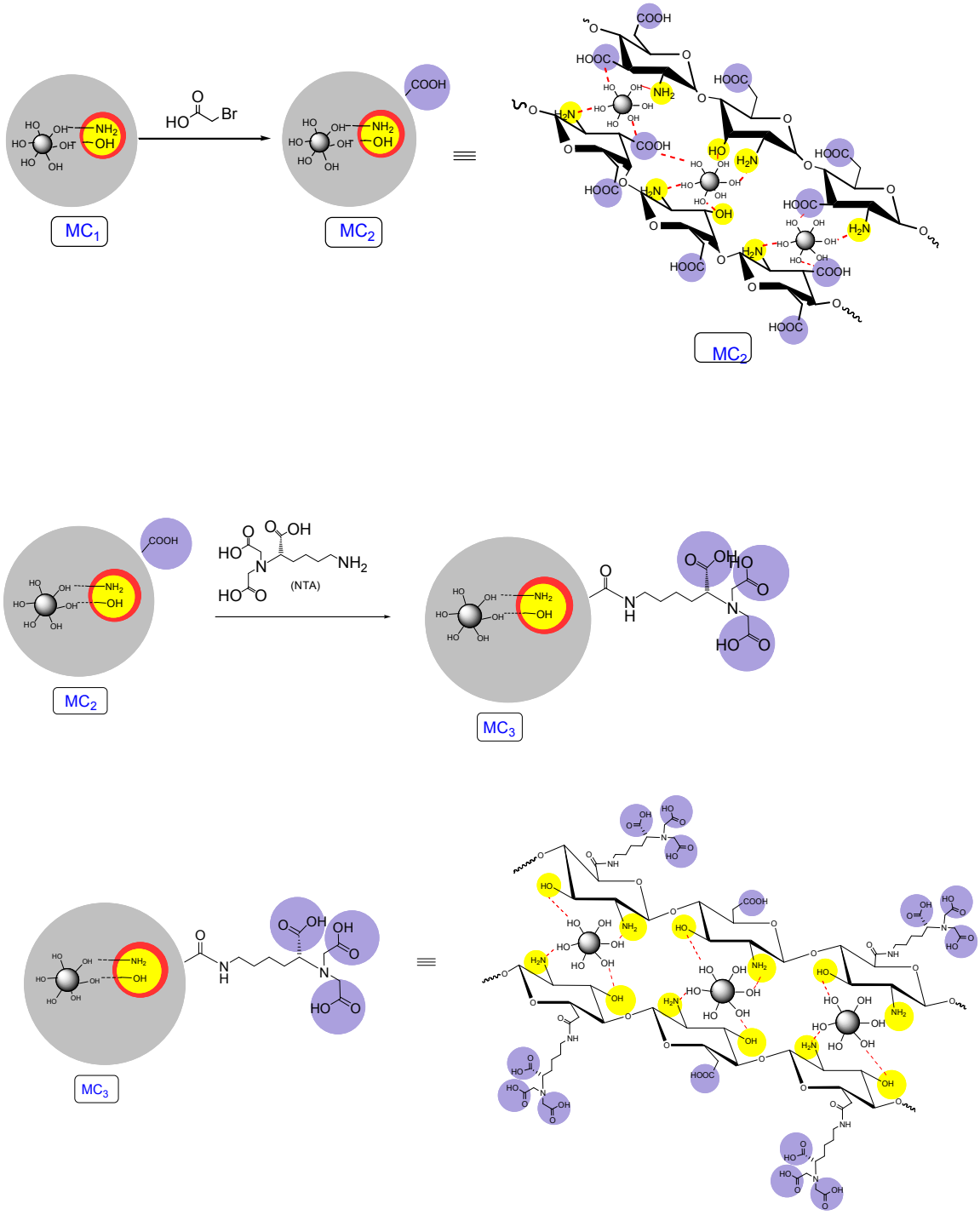


Şekil 3.7. MC_2 için sentez basamaklarının gösterimi

3.3.7. NαNα-Bis (Karboksimetil)-L-Lisin Hidrat (NTA) ile Dallanmış Karboksimetil Kitosan (MC_3) Sentezi

NαNα-Bis (Karboksimetil)-L-Lisin Hidrat (NTA) ile dallanmış Karboksimetil Kitosan (MC_3) sentezi için daha önce MD_3 sentezinde uygulanan prosedürün aynısı uygulanmıştır. Dolaysıyla reaksiyon basamakları özet olarak şekil 3.8'de gösterilmiştir (Park ve ark. 2005, Pisanic ve ark. 2007, Lee ve ark. 2011, Schweiger ve ark. 2011, Zhou ve ark. 2011). Bu reaksiyonda yaklaşık olarak 0.29 g MC_3 elde edilmiştir.





Şekil 3.8. MC_3 için sentez basamaklarının gösterimi

3.4. Tampon Çözeltiler ve Stok Çözeltilerin Hazırlanması

3.4.1. Topotekan Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

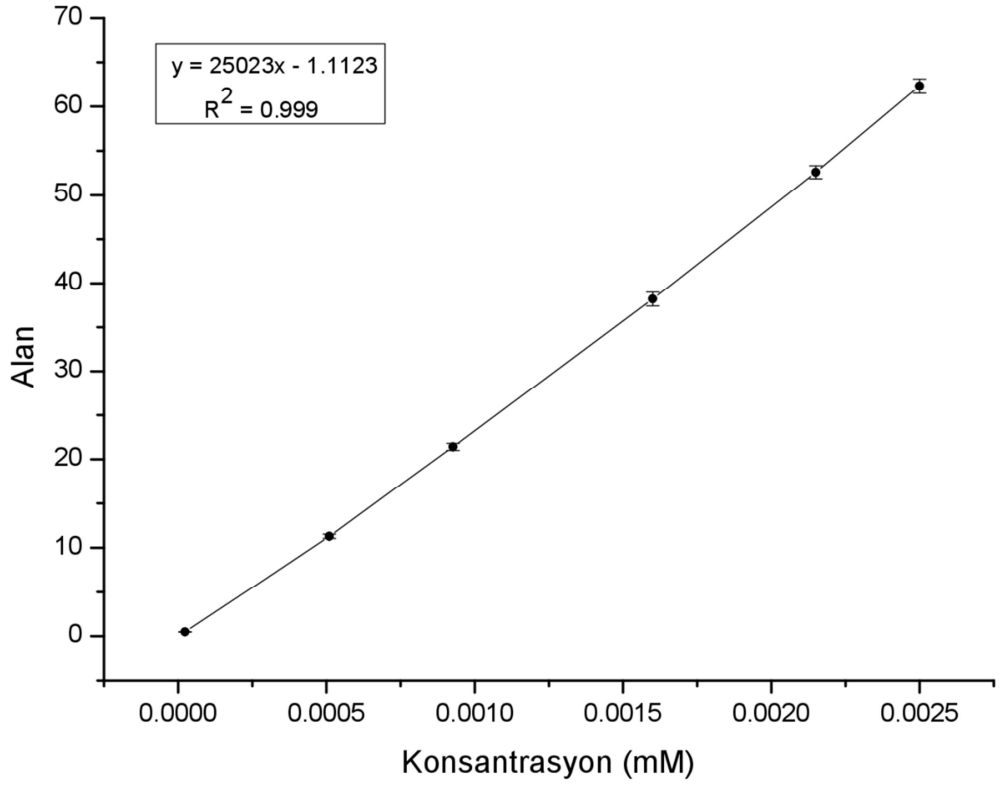
Çalışmalarda kullanılmak üzere 1 mM ve 2 mM olmak üzere Topotekan'dan iki ayrı stok çözelti Dimetil Sülfoksit (DMSO) içinde hazırlanmıştır.

2 mM 25 mL stok Topotekan için (Molekül Ağırlığı = 457.9 g/mol) yaklaşık olarak 22.9 mg tartılıp 25 mL'lik bir balonjojede DMSO içinde çözülerek hazırlanmıştır.

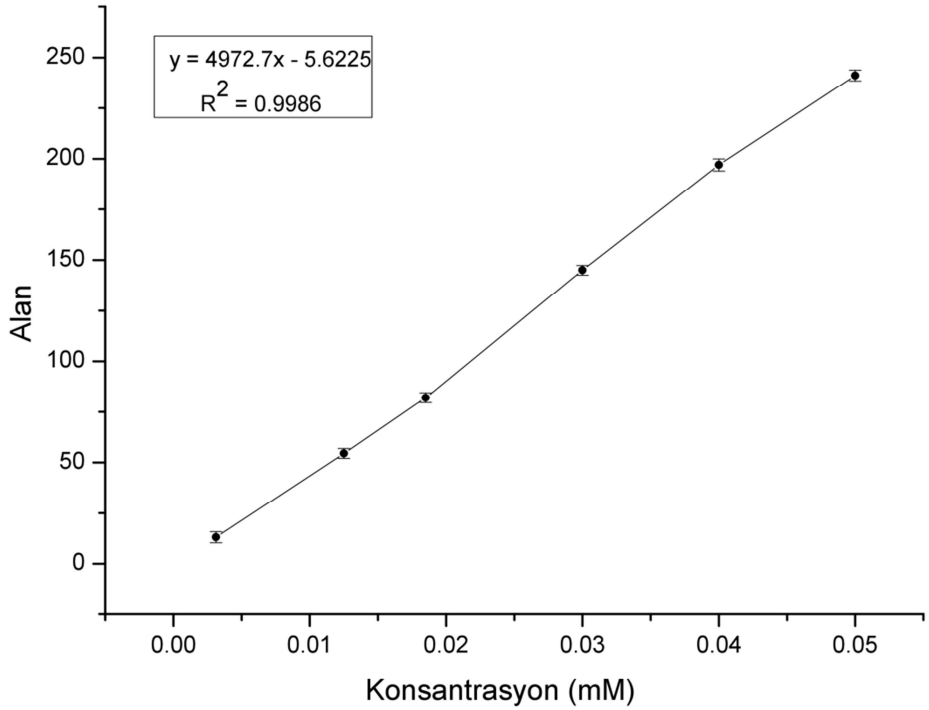
1 mM 25mL'lik stok çözelti için yaklaşık olarak 11.45 mg topotekan tartılıp 25 mL'lik bir balonjojede DMSO içinde çözülerek hazırlanmıştır.

3.4.2. Kalibrasyon Grafikleri için Standart Çözeltilerin Hazırlanması

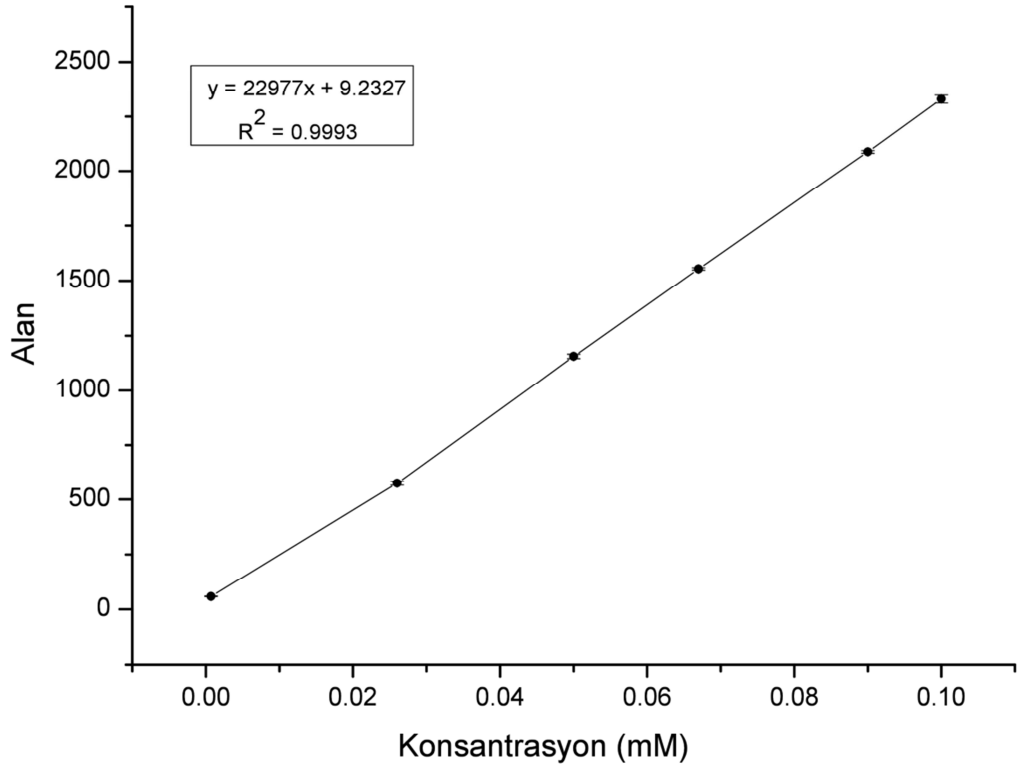
Topotekan ortamın pH değerine bağlı olarak iki ayrı formda bulunan bir ilaçtır. Tezin giriş kısmında da bahsedildiği gibi (Şekil 1.26'da verilmiştir) formlardan biri, aktif olan yani tedavi edici form olan lakton formudur ve asidik ortamda yani pH değerini 5 ve 5'ten küçük olduğu değerlerde mevcut olan formudur. Diğer form ise toksik özellik gösteren karboksilat formudur ve nötral ve alkali pH değerlerinde mevcut olan bir formudur. Yukarıda sentezini yapmış olduğumuz altı farklı nanokompozitin ilacı aktif formda tutabilme kapasiteleri değerlendirilmiştir. Topotekan'ın her iki formunu da kantitatif olarak ölçmek için iki ayrı kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Lakton form için hazırlanan kalibrasyon grafiği için stoktan alınan belli miktardaki Topotekan çözeltisi pH 3 fosfat tamponu ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Karboksilat form için hazırlanan kalibrasyon grafiği ise, stoktan alınan belli konsantrasyondaki Topotekan çözeltisi pH 10 fosfat tamponu ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Her bir form için farklı konsantrasyon aralığında iki kalibrasyon grafiği çizilmiştir.



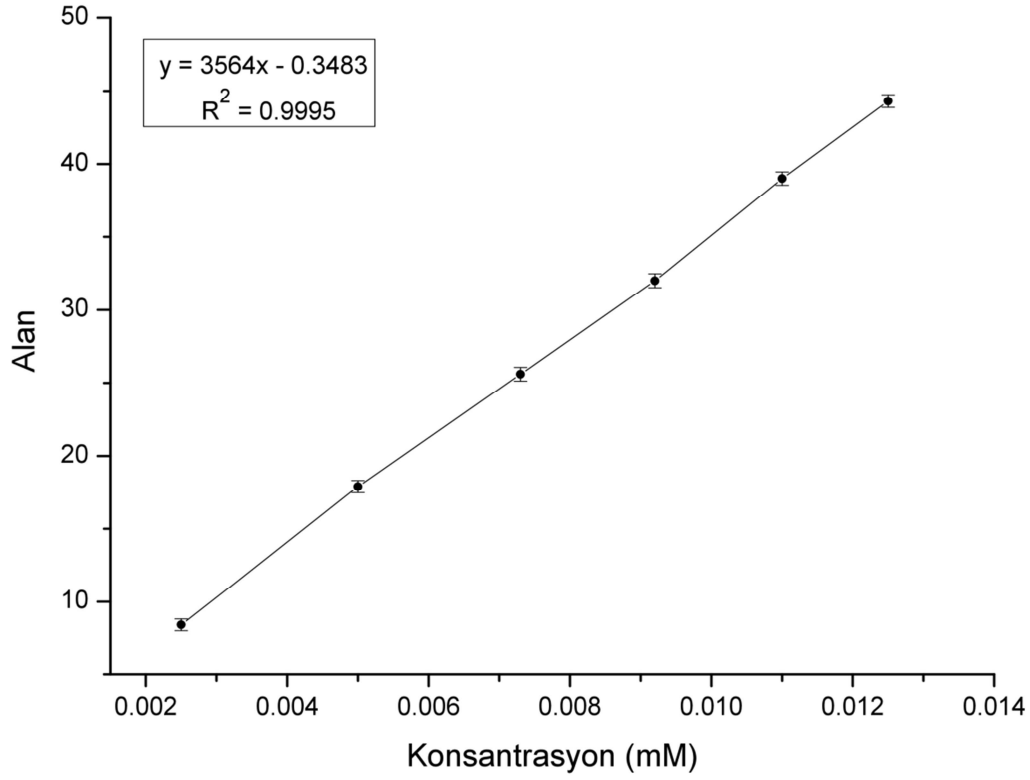
Şekil 3.9. 0.0025-0.0000945 konsantrasyon aralığında karboksilat form kalibrasyon grafiği



Şekil 3.10. 0.05-0.003125 konsantrasyon aralığında karboksilat form kalibrasyon grafiği



Şekil 3.11. 0.1-0.0000445 konsantrasyon aralığında lakton form için kalibrasyon grafiği



Şekil 3.12. 0.0125-0.0025 konsantrasyon aralığında lakton form için kalibrasyon grafiği

3.4.3. Fosfat Tamponunun Hazırlanması

Tablet halinde satın alınan fosfat tuzunda, bir tablet 1933 mg gelmektedir. Bir tablet fosfat tuzu 200 mL deiyonize suda çözülerek hazırlanmıştır. Daha sonra ihtiyaç duyulan pH değerleri HCl ve NaOH ile ayarlanmıştır. Kalibrasyon grafiği çalışmalarında pH 3 ve pH 10 değerlerine ayarlanmıştır. İlaç yükleme ve salınım çalışmaları için pH 5, pH 5.5, pH 5.8, pH 6, pH 6.5 ve pH 7.4 değerleri ile çalışılmıştır. Hazırlanan bütün tampon çözeltiler emme filitrasyonunda süzülüp buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.4.4. Trietil Amin Asetat Tamponunun Hazırlanması

10 mL Trietil Amin 800 mL deiyonize suda çözülüp glacial asetik asit ile pH değeri 5.5'e ayarlanmıştır. Emme filitrasyonunda süzülüp HPLC'de yürütücü faz olarak kullanılmak üzere buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.4.5. MES Tamponunun Hazırlanması

0.96 gram MES hidrat 50 mL deiyonize suda çözülmüştür. pH değeri pH metreden 3.47 olarak okunmuştur. Sentez basamaklarında kullanılmak üzere NaOH ve HCl ile pH değerleri 4.5 ve 6 olan iki ayrı pH'ta tampon çözeltisi hazırlanmıştır.

3.4.6. Nanokompozitlere Topotekan (TPT) Yükleme Çalışmaları

Sentezlenmiş olan altı farklı nano-kompozite TPT yükleme çalışmaları yapılmış ve ilacı yükleme verimliliği hesaplanmıştır. Yapılan çalışmalarda ortamın pH değeri, ilaç ile yüzeyin etkileşim süresi, ilacın konsantrasyonu ve kompozit miktarının yükleme verimliliği üzerine etkileri araştırılmıştır.

3.4.6.1. Ortamın pH Değerinin ve İlaç-Yüzey Etkileşim Süresinin İlaç Yükleme Verimliliğine Etkisi

İlacın yükleme çalışmasında optimum pH değerlerini belirlemede üç farklı pH (5, 5.5 ve 6) değerinde süreye bağlı çalışılmıştır. 25 mg nanokompozit, 2 mL fosfat tamponunda çözünmüş 0.118 mM TPT ile 25 °C'de 200 rpm hızında inkübatörde etkileştirilmiştir. Her bir süre sonunda karışım mıknatıs yardımıyla çöktürülüp, süzüntü bir vial içine alınarak sıvı azotta dondurulup, HPLC analizi için buzdolabında muhafaza edilmiştir. Böylece ilacın aktif formunun (lakton formu) hangi pH değerinde stabil

olduğu tespit edilmiştir. Belirlenen bu pH değerlerinde her bir kompozit için ilaç yükleme çalışmaları denenmiştir. Ayrıca her bir nanokompozit için üç farklı pH değerinde süreye bağlı ilaç yükleme çalışmaları yapılmış olup, etkileşim süresi arttıkça aktif formda tutunan ilaç konsantrasyonunun azaldığı görülmüştür. Sonuçlar Bulgular ve Tartışma Bölümünde tablolar halinde sunulmuştur. Aşağıdaki formül *(1)* yardımı ile yüklenen % ilaç verimi her nanokompozit için ve her bir pH değerinde belirlenmiş olup, sonuçlar Bulgular ve Tartışma Bölümünde tablolar halinde sunulmuştur.

$$\text{İ}laç\ yükleme\ verimi(\%) = \frac{\text{Başlangıç ilaç konsantrasyonu (mM)} - Süpernatantaki\ ilaç\ konsantrasyonu\ (mM)}{Başlangıç\ ilaç\ konsantrasyonu\ (mM)}\ x\ 100 \qquad (1)$$

3.4.6.2. Kompozit Miktarının İlaç Yükleme Verimliliğine Etkisi

Bu çalışmada optimum nanokompozit miktarı belirlenirken, 25 mg, 20 mg, 15 mg, 10 mg, 5mg ve 1 mg gibi farklı kompozit miktarları denenmiştir. Bütün nanokompozitler ile ıslak çalışılmıştır. Bu kompozit miktarları ile, 2 mL pH 5 fosfat tamponunda çözünmüş 0.118 mM TPT, 25 °C'de, 200 rpm'de etkileştirilmiştir. Etkileşim sonrası karışım bir mıknatıs üzerinde çöktürülüp süzüntü bir vial içine alınarak sıvı azotta dondurulup HPLC analizi için buzdolabında saklanmıştır. Optimum nanokompozit miktarı belirlemeye yönelik yapılan çalışmaların sonuçları Bulgular ve Tartışma Bölümünde verilmiştir.

3.4.6.3. TPT Konsantrasyonun Yükleme Verimi Üzerine Etkisi

İlaç konsantrasyonunun yükleme verimi üzerine etkisini incelemek için üç farklı konsantrasyonda TPT, altı farklı nanokompozitin 15 mg ile pH 5, 2 mL fosfat tamponu içinde, 25 °C, 200 rpm'de süreye bağlı olarak etkileştirilmiştir. Her sürenin sonunda karışım mıknatıs yardımıyla çöktürülüp süzüntü viale alınmış ve sıvı azotta dondurulup HPLC analizi için buzdolabına bırakılmıştır. Sonuçlar Bulgular ve Tartışma Bölümünde verilmiştir.

3.4.7. İlaç Salınım Çalışmaları

Nanokompozitlere yüklenmiş ilacın salınım çalışmaları, altı farklı nanokompozitle farklı pH değerlerinde süreye bağlı çalışılmıştır. Salınım yapıldığı pH değerleri belirlenirken literatürlerde çalışılan pH değerleri dikkate alınmıştır (Dahier ve ark. 2010). Ayrıca sentezlemiş olduğumuz nanokompozitler manyetik özellik gösterdiğinden manyetik hedefleme ile hedef bölgeye kolayca taşınabildiğinden, hedef bölge ve bölgelerin pH değerleri dikkate alınmıştır. Literatürlerde kanser hücrelerinin metabolitleri göz önüne alındığında bu dokuların pH değeri 5-6 civarı olduğu (Dahier ve ark. 2010), kimi literatürlerde yaklaşık olarak 5.8 civarında olduğu belirtilmiştir. Dolayısıyla salınım çalışmaları 5.8, 6, 6.5 ve 7.4 pH değerlerinde yapılmıştır. Bütün çalışmalar fosfat tamponlu ortamda yapılmıştır. Salınım çalışmasında farklı sürelerde analiz için belli miktarlarda örnekler alınmış ve her alınan örnek hacminde yeni çözücü ortama verilmiştir. Salınım süresi sonunda % salınım değerleri her bir nanokompozit için dört farklı pH değerinde, aşağıda verilen formül *(2)*'ye göre hesaplanıp sonuçlar Bulgular ve Tartışma Bölümünde verilmiştir.

$$Salınan\ ilaç\ (\%) = \frac{Ortamdaki\ ilaç\ (mM)}{Tutunan\ ilaç\ (mM)}\ x\ 100 \qquad (2)$$

3.4.8. Sitotoksisite Çalışmaları

Bu çalışmalar Yeditepe Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik Bölüm'ünde bulunan Nanobiyoteknoloji ve Moleküler Mühendislik Laboratuvarında Prof. Dr. Mustafa Çulha'nın çalışma ekibi tarafından yürütülmüştür.

3.4.8.1. Hücre kültürü ve Sitotoksisite Belirlenmesi

İnsan sağlıklı prostat (PNT1A) ve kanserli prostat (DU145) hücre hatları kullanılarak hazırlanan nanokompozitlerin sitotosisitesi ve ilaç yüklenmiş hallerinin iletimindeki etkinliği araştırılmıştır. PNT1A ve DU145 hücreleri 10 % fetal sığır serumu ve 1 % penisilin ve streptomisin içeren Dulbecco'nun modifiye eagle besiyerinde (DMEM) 5 % CO_2 içeren nemli atmosferdeki inkübatörde yetiştirilmiştir.

Hücreler flasklarda 80-90 % yoğunluğa ulaştıklarında pasajlanarak hücrelerin canlılıkları sürdürülmüştür.

Canlılık çalışmaları için 7500 hücre/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu mikroplakalara eklenmiş ve 24 saat boyunca yüzeye oturması için inkübatörde bekletilmiştir. Sonra, Topotekan, ilaç yüklenmemiş ve ilaç yüklü nanokompozitler kuyucuklara eklenmiştir. Topotekan 1.25 µM, 2.5 µM, 5 µM, 10 µM ve 20 µM konsantrasyonlarında dört tekrarlı olarak eklenmiştir. İlaç yüklü nanokompozitler de Topotekan ile aynı konsantrasyonlarda yüklenirken, ilaç yüklü olmayan nanokompozitler de buna bağlı olarak o nanokompozitler ile aynı konsantrasyonda yüklenmiştir. Yani MD_1 (0.032-0.512 mg/mL), MD_2 (0.095-1.520 mg/mL), MD_3 (0.022-0.360 mg/mL), MC_1 (0.042-0.668 mg/mL), MC_2 (0.011-0.180 mg/mL) ve MC_3 (0.008-0.132 mg/mL) konsantrasyon aralığında uygulanmıştır. 24 ve 48 saat uygulama sonrası hücre canlılığı mitokondriyal enzim aktivitesi üzerinden WST-1 kiti kullanılarak belirlenmiştir.

Her zaman diliminin bitiminden sonra kuyucuklar PBS ile, ekstrelerin ölçümde renk girişimi vermemesi amacıyla iki kere yıkanmıştır. WST-1 stok solüsyonu 1:20 oranında seyreltilerek test kuyucuklarına eklenmiştir. Optik yoğunluk mikroplaka okuyucuda (KCjunior ELISA Microplate Reader) 450 nm'de belirlenmiştir. Sonuçlar uygulama yapılmayan kontrol hücrelerine göre normalize edilmiş ve yüzde canlılık olarak değerlendirilmiştir.

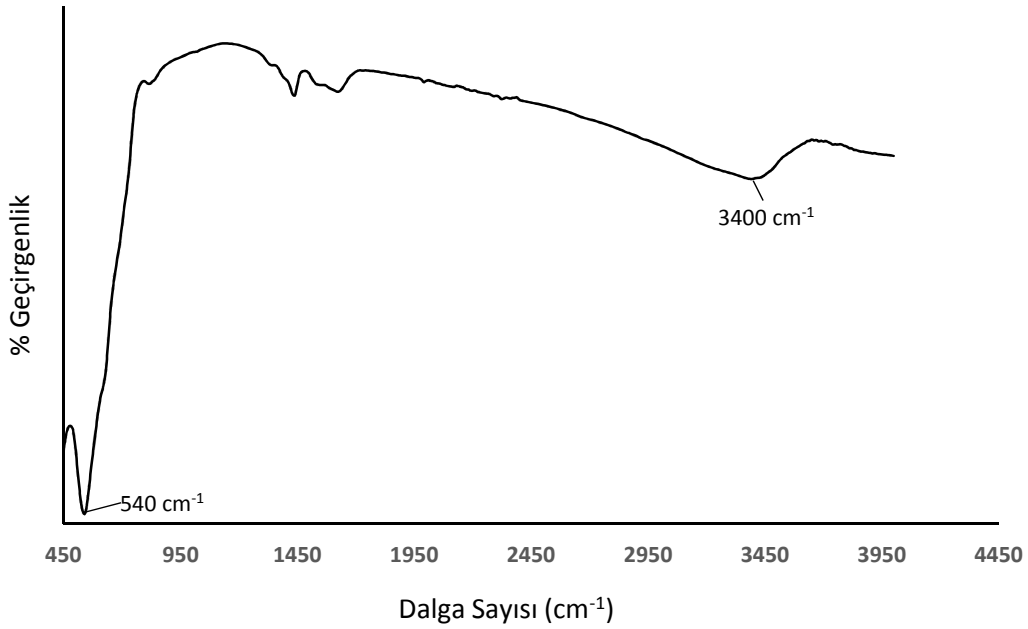
Sonuçlar Bulgular ve Tartışma bölümünde verilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1.Karakterizasyonlar

4.1.1. FTIR Karakterizasyonları

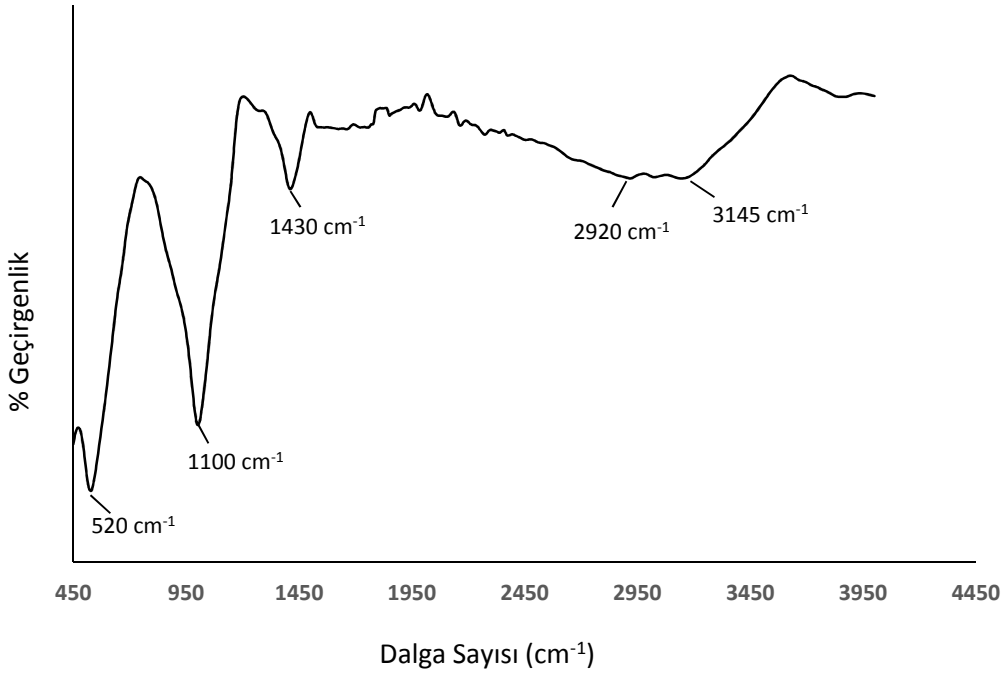
Şekil 4.1.'de verilen Fe_3O_4 nanoparçacıklarının FTIR spektrumunda 3400 cm^{-1} civarı görülen O-H esneme titreşimine, 1610 cm^{-1} civarında ki ise nanoparçacıkları absorbe eden H-O-H titreşimine ait olduğu görülmüştür. 1390 cm^{-1}'de O-H eğilme titreşimi, 540 cm^{-1}'de ise karakteristik Fe-O piki gösterilmiştir (Kim ve ark. 2001, Liu ve ark. 2009). FTIR spektrumunda Fe_3O_4'ün başarılı bir şekilde sentezlendiği görülmüştür.



Şekil 4.1. Fe_3O_4 FTIR spektrumu

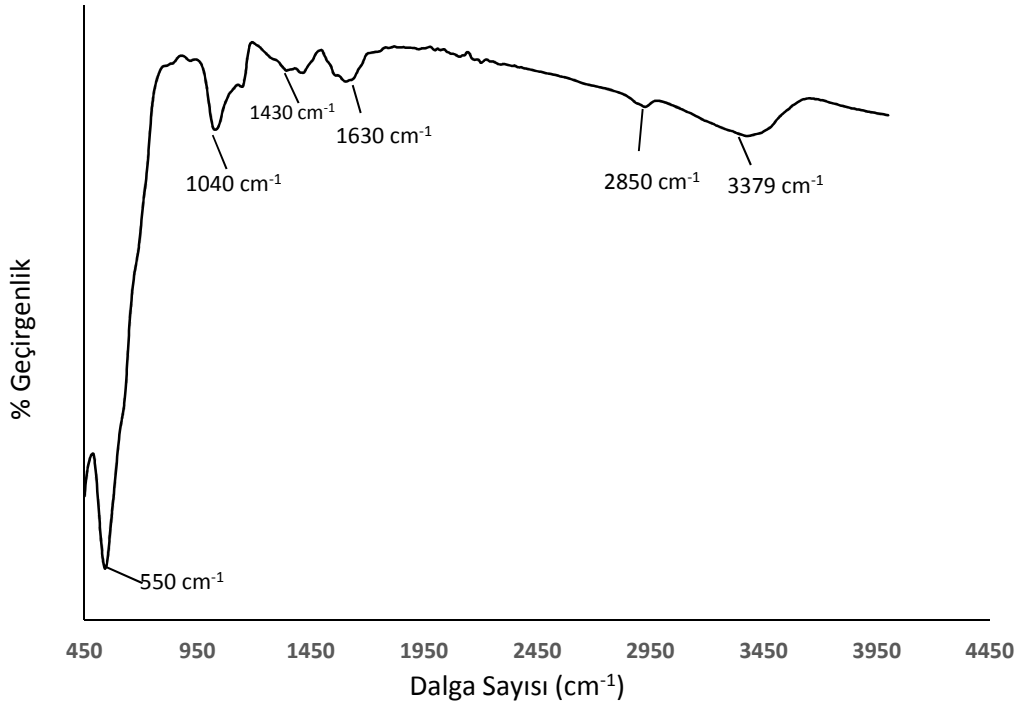
Şekil 4.2'de MD_1 için FTIR pikleri verilmiştir. MD_1'in FTIR görüntüsünden anlaşıldığı üzere manyetik nanoparçacıklarla kaplanan polimerlerin pik şiddetinde düşme meydana gelmiştir. 3145 cm^{-1}'de görülen geniş pik -O-H grubunu göstermiştir. 2920 cm^{-1}'deki pik -C-H gerilme hareketine karşılık geldiği görülmüştür. 1430 cm^{-1} –C-H eğilme titreşimine ve 1100 cm^{-1} ise alkolik hidroksil (-C-O) gerilime titreşimine

karşılık geldiği görülmüştür. 520 cm^{-1}'de Fe-O bandı görülmektedir (Koneracká ve ark. 2010, Dumitraşcu ve ark. 2011, Khalkhali ve ark. 2015).



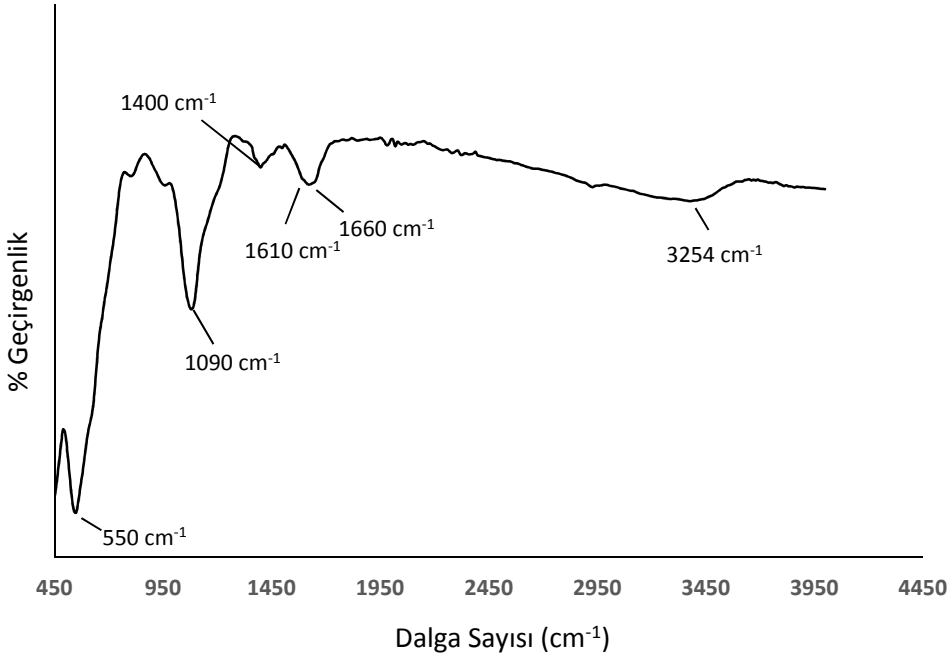
Şekil 4.2. MD_1'in FTIR spektrumu

Şekil 4.3'te MD_2 için FTIR spektrumu verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi karakteristik –O-H gerilim piki MD_2'de 3379 cm^{-1}'de ve –C-H gerilmesi 2850 cm^{-1}'de görülmüştür. MD_2'de bulunup MD_1'de bulunmayan Karboksilik asit piki (-C=O) 1630 cm^{-1}'de verilmiştir. Bu da MD_2'nin başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğunun bir kanıtıdır. MD_2'de görünen 1430 cm^{-1} civarı pik deforme olmuş $–CH_2$ pik gerilmesi olduğu tespit edilmiştir. –C-O alkolik hidroksil gerilimi MD_2'de 1040 cm^{-1} değerinde görülmüştür. Karakteristik Fe-O piki ise 550 cm^{-1}'de verilmiştir (Ayala ve ark. 1874, Creixell ve ark. 2010).



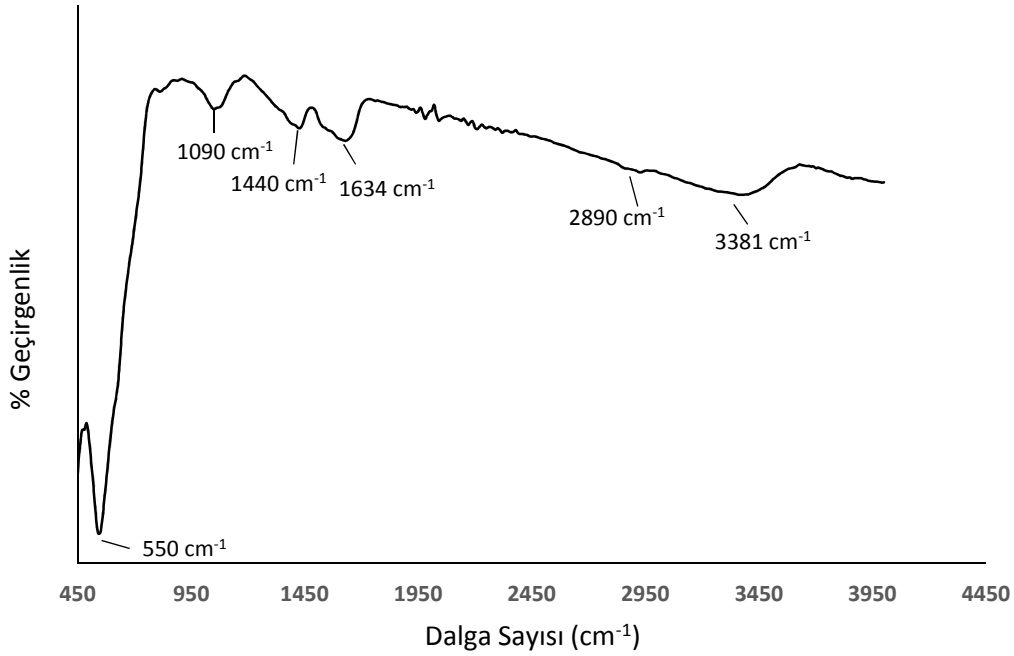
Şekil 4.3. MD_2'nin FTIR spektrumu

Şekil 4.4'te MD_3'ün FTIR spektrumu verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi 3254 cm^{-1}'de MD_3 için karakteristik –O-H gerilme piki gösterilmiştir. MD_3 yapısında bulunup, MD_2'de bulunmayan 1660 cm^{-1}'de görünen pik 1. Amid bandını (-C=O grubu) ve 1610 cm^{-1}'deki pik 2. Amid bandını göstermiştir. Böylece MD_3'ün başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğu kanıtlanmıştır. 1400 cm^{-1}'deki pik simetrik karboksilik asit gerilme titreşimini göstermiştir. 1090 cm^{-1}'deki pik –C-O alkolik hidroksil gerilimini temsil etmiştir. 550cm^{-1} civarındaki pik karakteristik Fe-O pikini göstermiştir (Souaya ve ark. 2000, Andersson ve ark. 2007, Kaya ve Volkan 2012, Auirre ve ark. 2014).



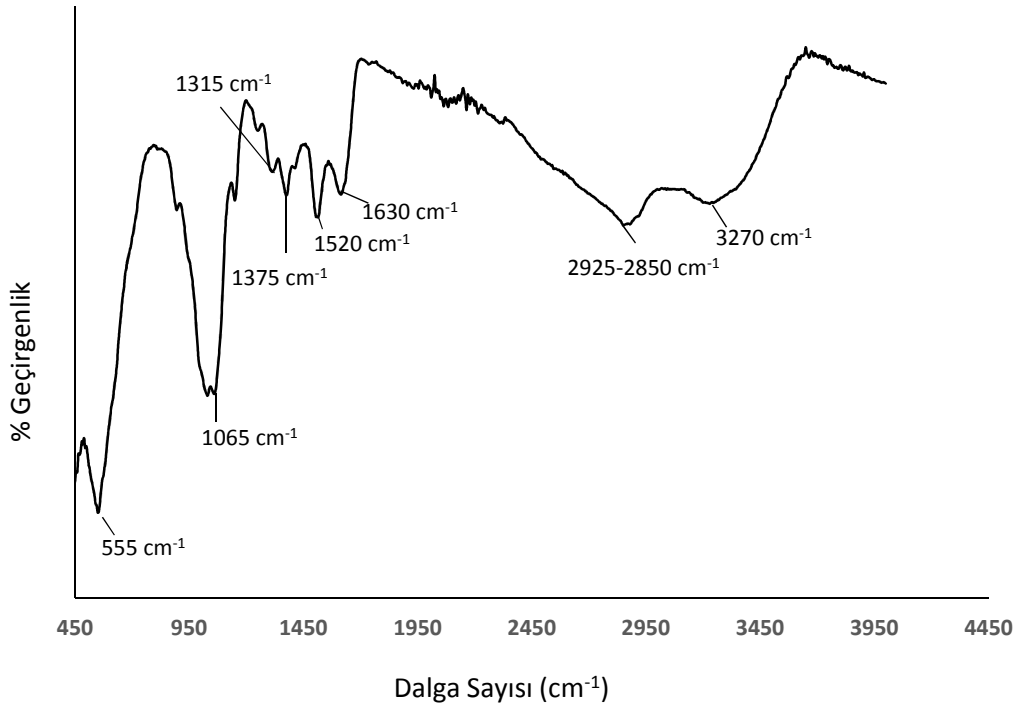
Şekil 4.4. MD_3'ün FTIR spektrumu

Şekil 4.5'te MC_1'in FTIR spektrumu verilmiştir. 3381 cm^{-1}'de geniş ve güçlü bant –OH ve $–NH_2$ gruplarının varlığını göstermiştir. 2890 cm^{-1}'de görülen pik C–H gerilme titreşim hareketine karşılık geldiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda 1090 cm^{-1}'de -C-O titreşim pikini göstermiştir. 1634 cm^{-1}'deki pik karakteristik amin deformasyon piki olduğu görülmüştür. 1440 cm^{-1}'de gözlenen pik C-N gerilme hareketine karşılık geldiği tespit edilmiştir. Ayrıca verilen FTIR spektrumunda, 550 cm^{-1}'de Fe-O bağına ait gerilme titreşimi verilmiştir (Jiang ve ark. 2005, Kamari ve ark. 2009, Zhang ve ark. 2009, Kalkan 2010).



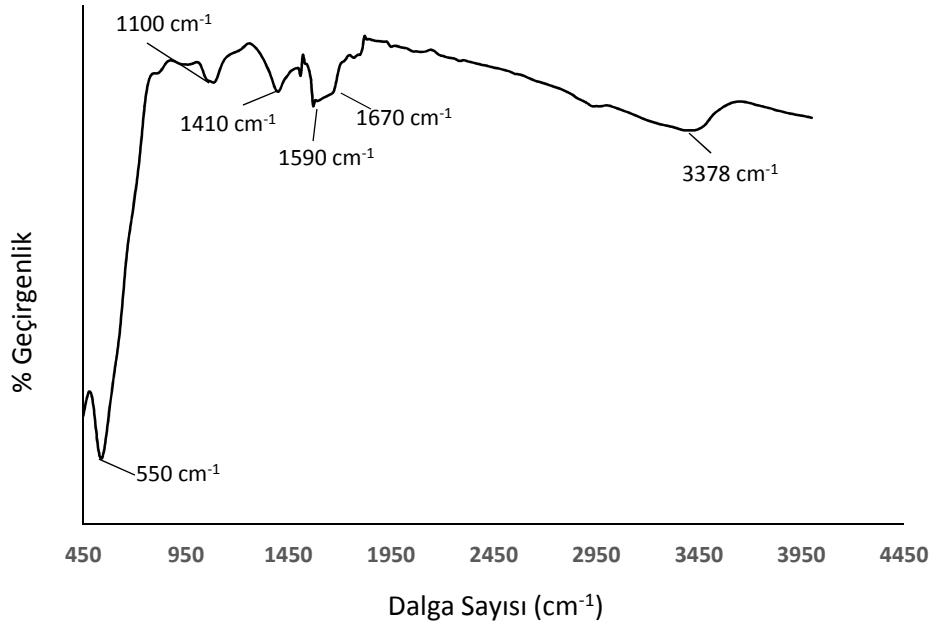
Şekil 4.5. MC_1'in FTIR spektrumu

Şekil 4.6'da MC_2 için FTIR spektrumu verilmiştir. 3270 cm^{-1}'de –O-H gerilmesi, 2925 ile 2850 cm^{-1} arası -C-H piki gerilmesi, MC_2'de bulunup MC_1'de bulunmayan 1630 cm^{-1}'de $–COO^-$ gerilme titreşimi, 1520 cm^{-1}'de karakteristik $–NH_3^+$ grubu absorpsiyonu ve 1375cm^{-1} ile 1315 cm^{-1} arası $–COO^-$ grubu için absorpsiyon piki, MC_2'nin başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğunu göstermiştir. Ayrıca 1065 cm^{-1} –C-O band gerilimesini temsil etmiştir ve 555 cm^{-1} karakteristik Fe-O piki şekildeki gibi gösterilmiştir. Bu FTIR spektrumu ile MC_2'nin başarılı bir şekilde sentezlendiğini kanıtlanmıştır (Li ve ark. 2008, Zhua ve ark. 2008, Fan ve ark. 2011, Chen ve ark. 2012, Aziz ve ark. 2016).



Şekil 4.6. MC_2'nin FTIR spektrumu

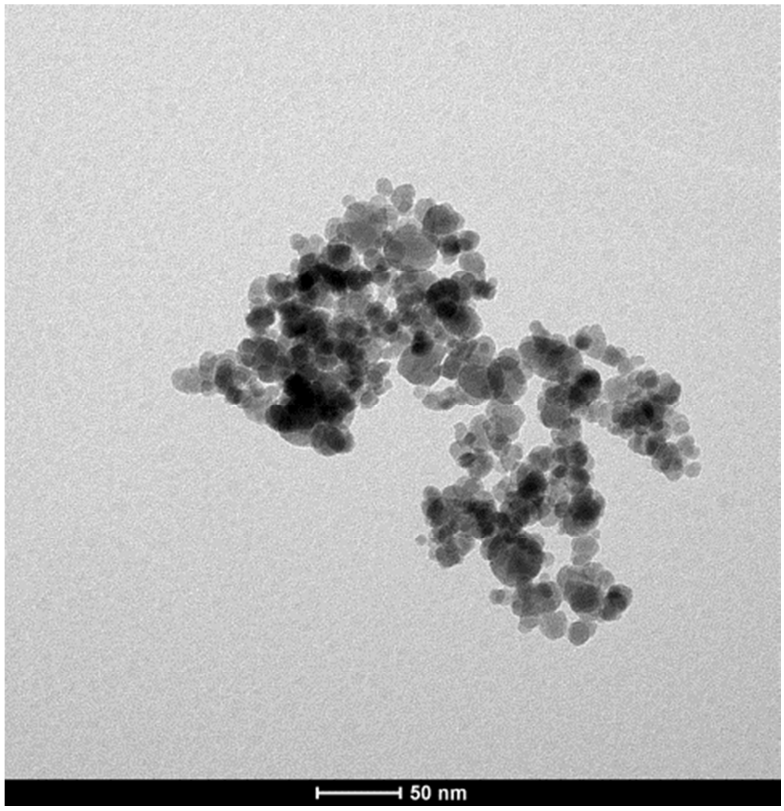
Şekil 4.7'de görüldüğü gibi 3378 cm^{-1}'de MC_3 için karakteristik –O-H gerilme piki gösterilmiştir. MC_3 yapısında bulunup MC_2'de bulunmayan, 1670 cm^{-1}'de görünen pik 1. Amid bandı (-C=O grubu) ve 1590 cm^{-1}'deki pik 2. Amid bandı olup MC_3'ün başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğunu göstermiştir. 1100 cm^{-1}'deki pik –C-O alkolik hidroksil gerilimini ve 1410 cm^{-1}'deki pik simetrik karboksilik asit gerilme titreşimini göstermiştir. Ayrıca 550cm^{-1}'deki pik karakteristik Fe-O piki olduğu görülmüştür (Souaya ve ark. 2000, Andersson ve ark. 2007, Kaya ve Volkan 2012, Auirre ve ark. 2014).



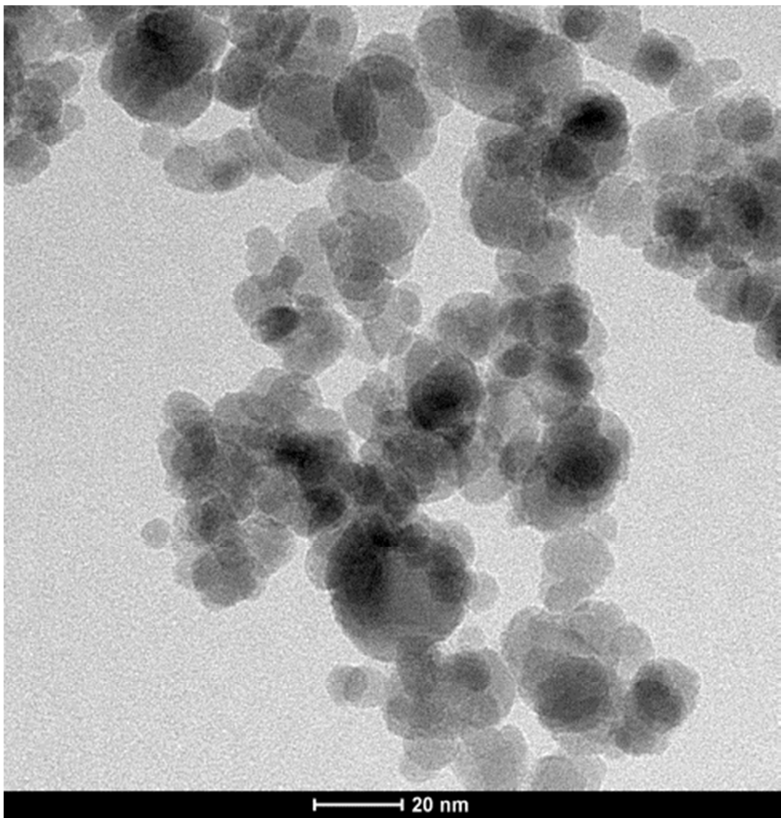
Şekil 4.7. MC_3'ün FTIR spektrumu

4.1.2. TEM Karakterizasyonları

Fe_3O_4'ün morfolojisi ve boyutları hakkında bilgi sahibi olmak için TEM görüntüleri alınmıştır. Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'daki TEM görüntülerinden de görüldüğü gibi parçacıklar yer yer topaklanmaya uğramıştır. Topaklanmaya uğramış parçacıklar koyu renkli kısımlarda görülmüştür. Fe_3O_4 nanoparçacıklarda yüzey/hacim oranı büyük olmasından dolayı, yüzey enerjilerini düşürmek için topaklanmaya yatkınlık göstermiştir. TEM görüntülerinden parçacık boyutlarının 10±3.6 nm arası değiştiği görülmüştür. Ayrıca parçacıkların küresel yapı gösterdiği tespit edilmiştir. Genellikle yapılan çalışmalarda, Fe_3O_4'te görülen bu topaklanmanın önüne geçebilmek için parçacıklar çeşitli polimerlerle kaplanarak sterik itme kuvvetinden yararlanılmıştır (Andhariya ve ark. 2011, Tansık 2012).

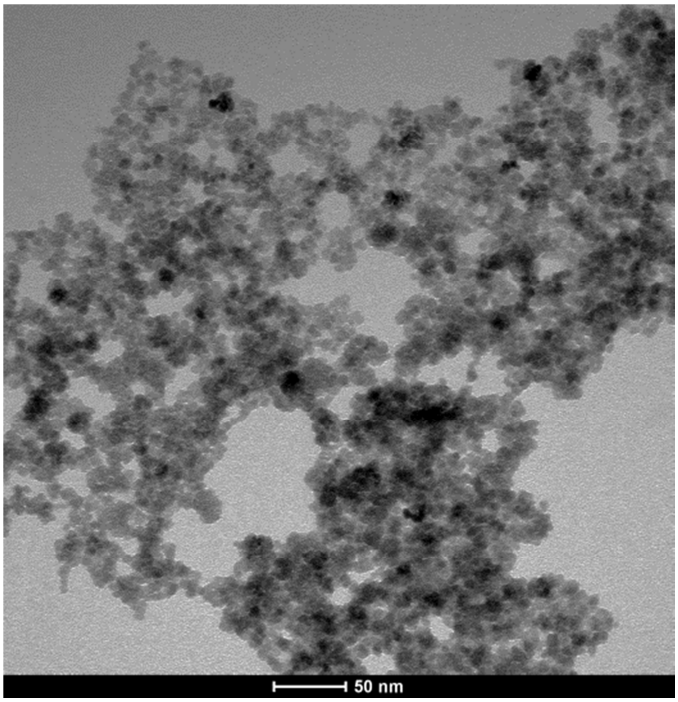


Şekil 4.8. Fe_3O_4'ün TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm

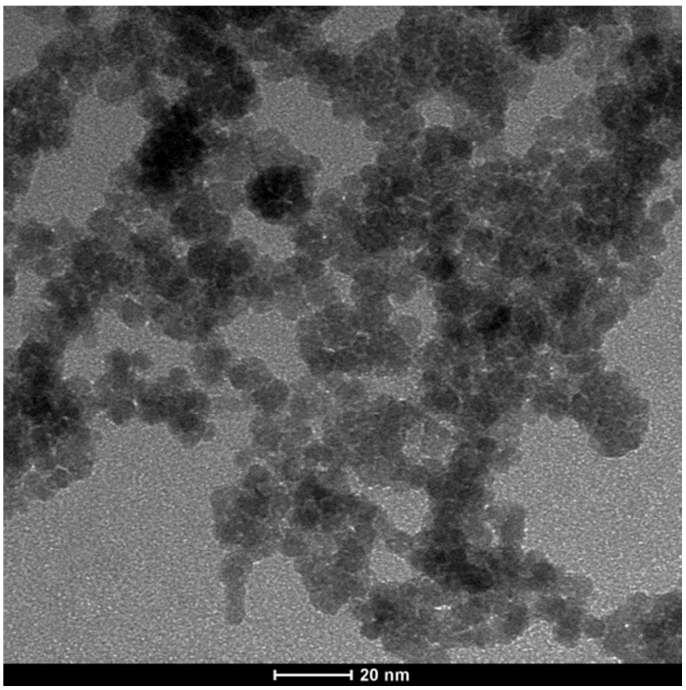


Şekil 4.9. Fe_3O_4'ün TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm

Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de görüldüğü gibi MD_1'in 50 nm ve 20 nm ölçekteki TEM görüntülerinden de anlaşıldığı üzere koyu renkle belirtilen yerlerde topaklanmalar görülmüştür. Ayrıca parçacık boyutları yaklaşık olarak 6±0.96 nm civarında küresel yapıda olduğu TEM görüntülerinden anlaşılmıştır.

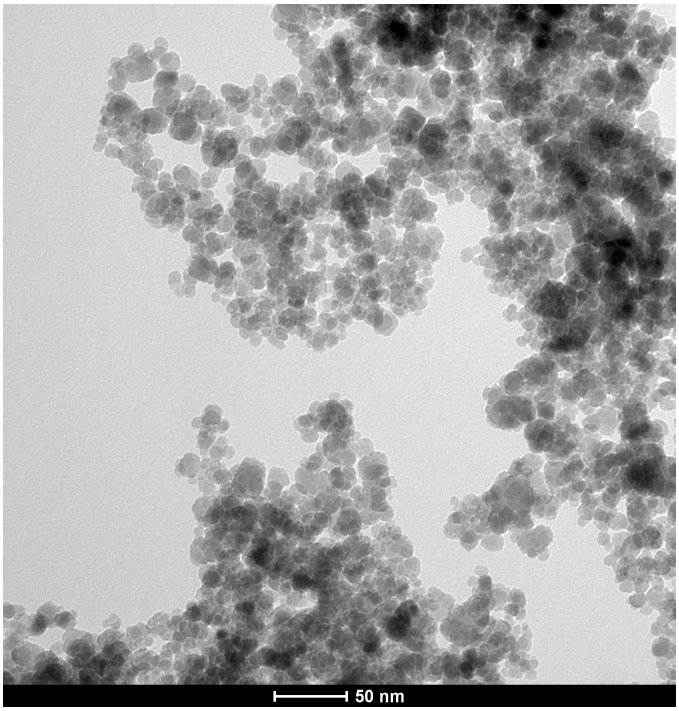


Şekil 4.10. MD_1'in TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm

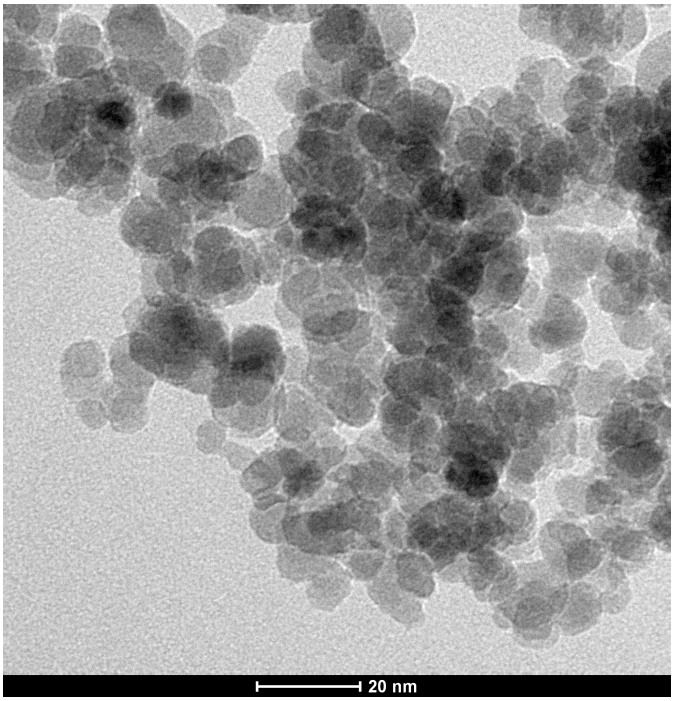


Şekil 4.11. MD_1'in TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm

Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te MD_2'nin 50 nm ve 20 nm ölçekteki TEM görüntüleri verilmiştir. Görüntülerden de anlaşıldığı üzere parçacık boyutları yaklaşık olarak 9±1.8 nm civarında ve küresel yapıda olduğu görülmüştür.

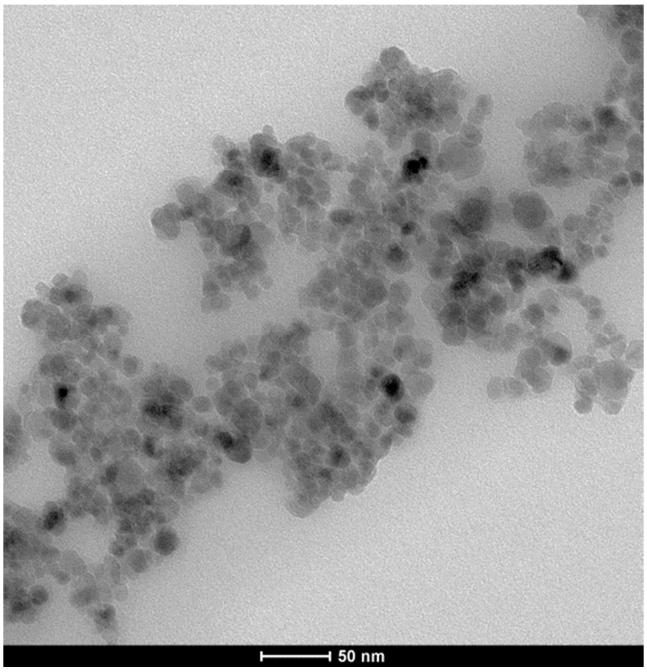


Şekil 4.12. MD_2'nin TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm

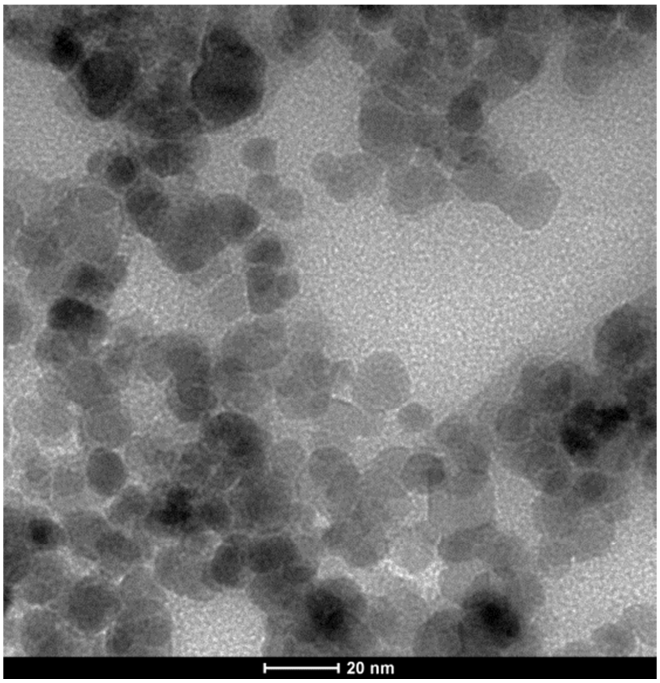


Şekil 4.13. MD_2'nin TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm

Şekil 4.14 ve Şekil 4.15'te MD_3'ün 50 nm ve 20 nm ölçekteki TEM görüntüleri verilmiştir. Bir önceki kompozitlerin TEM görüntülerine göre topaklanmanın büyük oranda düşmüş olduğu gözlenmiştir. Görüntülerden de anlaşıldığı üzere parçacık boyutları yaklaşık olarak 8±2.1 nm civarında olduğu ve küresel yapı gösterdiği görülmüştür.

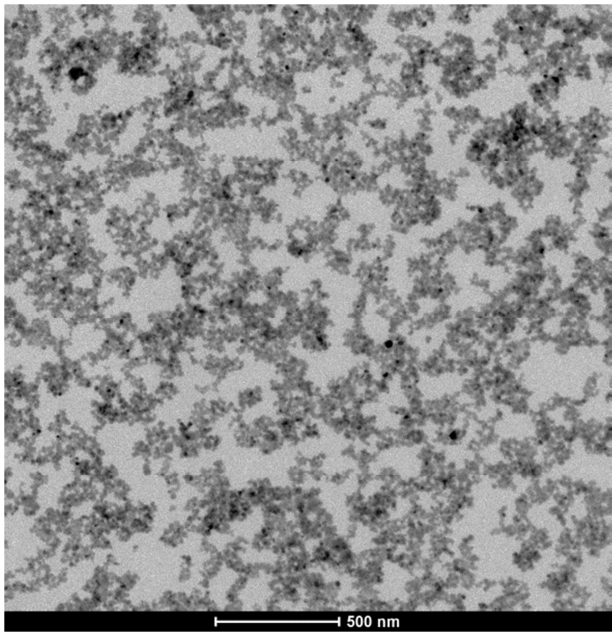


Şekil 4.14. MD_3'ün TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm

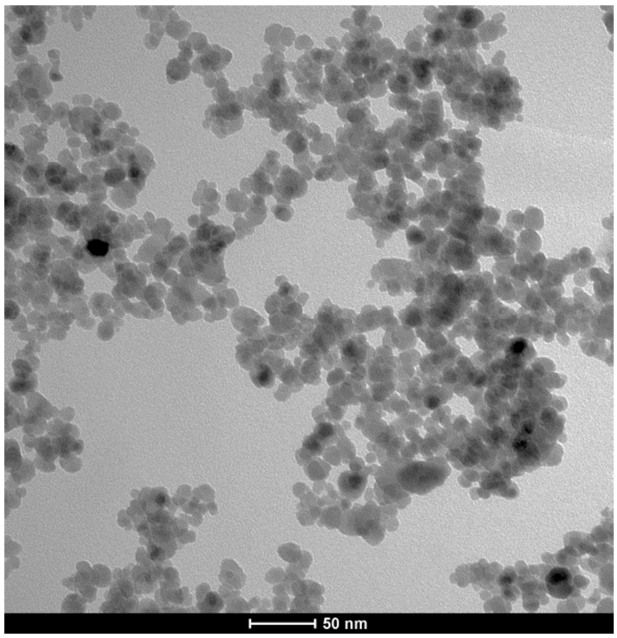


Şekil 4.15. MD_3'ün TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm

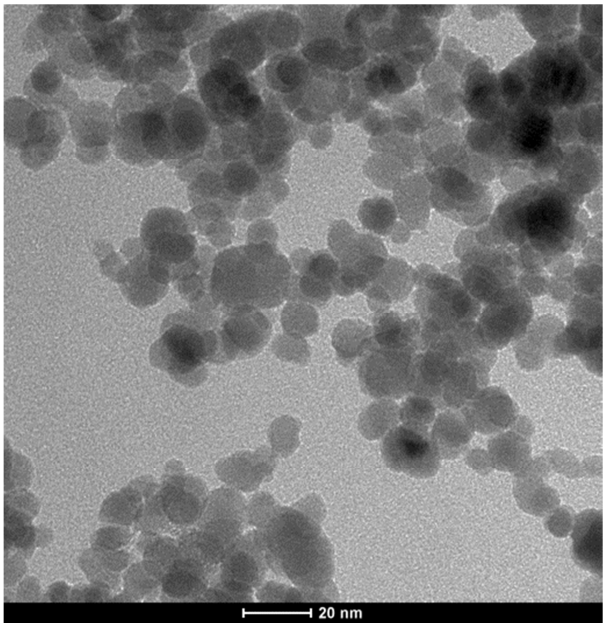
Şekil 4.16, Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de MC_1'in 500 nm, 50 nm ve 20 nm ölçekteki TEM görüntüleri verilmiştir. Görüntülerden de anlaşıldığı üzere parçacık boyutları yaklaşık olarak 8±2.1 nm civarında olduğu görülmüştür. Ayrıca görüntülerden parçacıkların küresel yapı gösterdiği tespit edilmiş ve kitosan ile kaplandıktan sonra topaklanmanın büyük oranda düştüğü görülmüştür.



Şekil 4.16. MC_1'in TEM görüntüleri. Ölçü: 500 nm

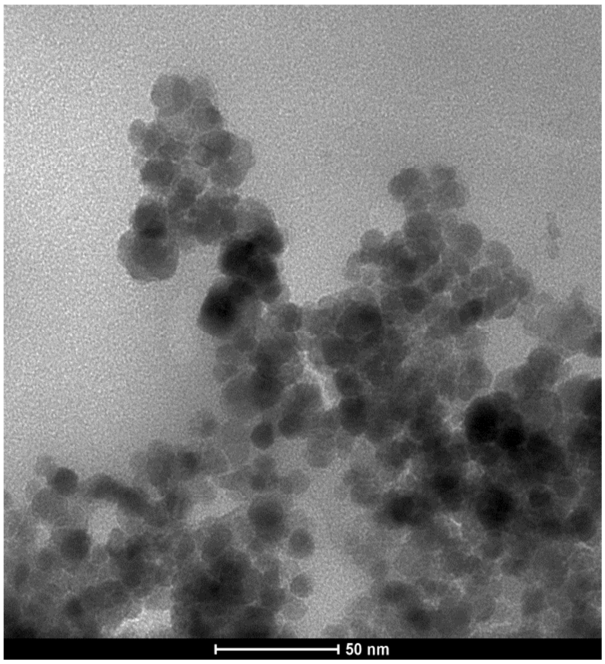


Şekil 4.17. MC_1'in TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm

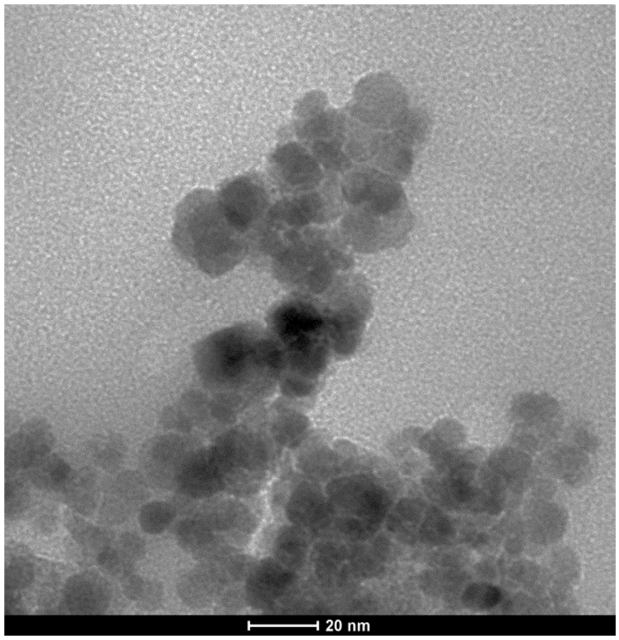


Şekil 4.18. MC_1'in TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm

Şekil 4.19 ve Şekil 20'de MC_2'nin 50 nm ve 20 nm ölçekteki TEM görüntüleri verilmiştir. MC_2'nin 50 nm ve 20 nm ölçekteki TEM görüntülerinden de anlaşıldığı üzere parçacık boyutları yaklaşık olarak 10±2.1 nm civarında küresel yapı gösterdiği tespit edilmiştir.

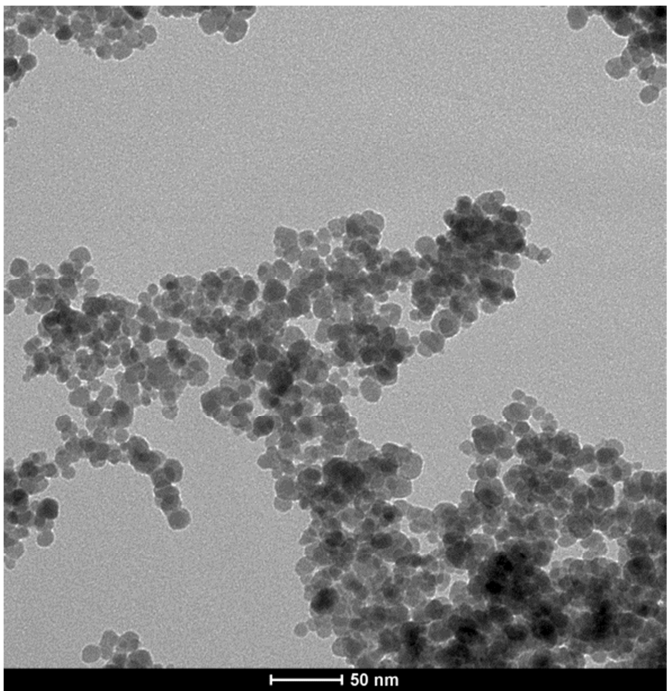


Şekil 4.19. MC_2'nin TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm

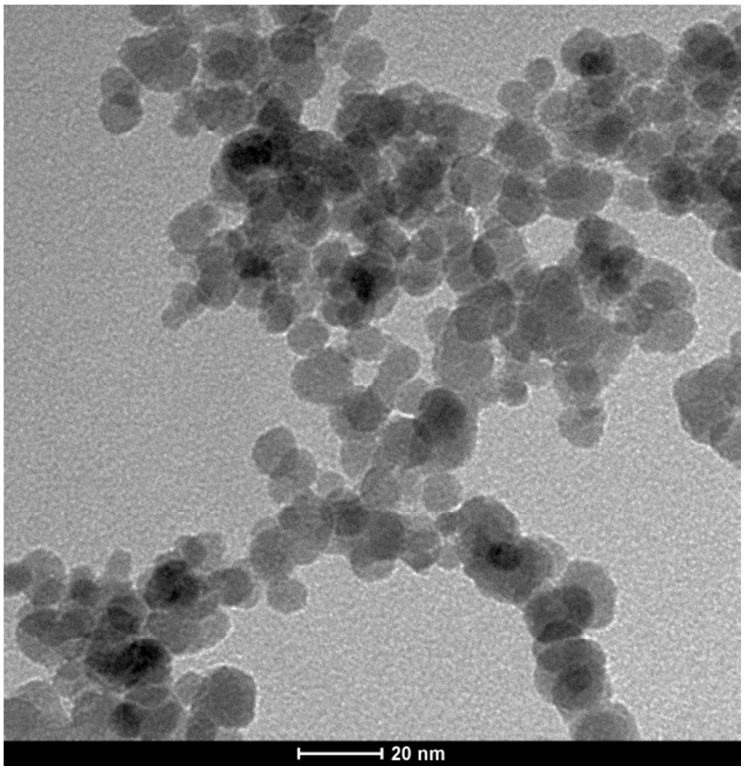


Şekil 4.20. MC_2'nin TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm

Şekil 4.21 ve Şekil 22'de MC_3 için 50 nm ve 20 nm ölçekteki TEM görüntüleri verilmiştir. Görüntülerden de anlaşıldığı üzere parçacık boyutları yaklaşık olarak 9±2.3 nm civarında küresel yapı gösterdiği tespit edilmiştir.



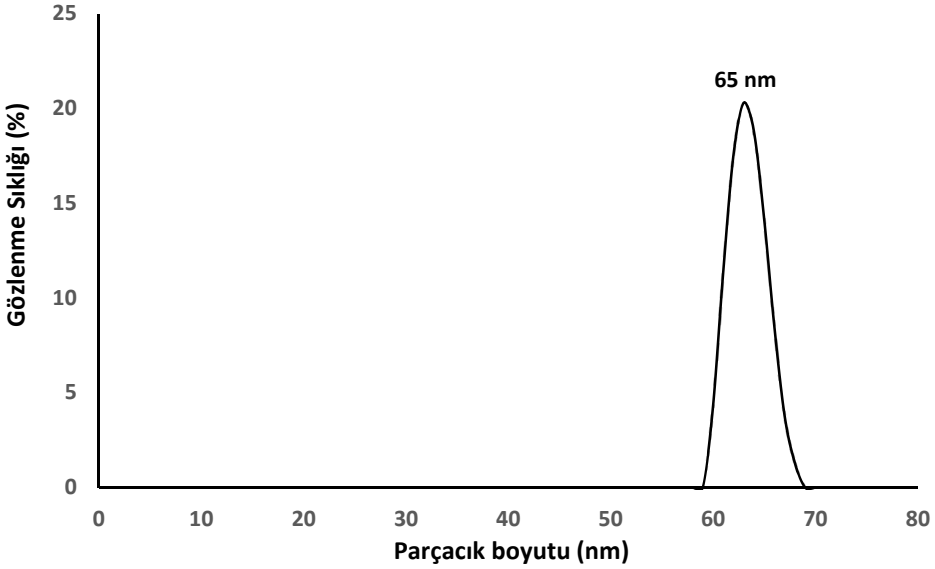
Şekil 4.21. MC_3'ün TEM görüntüleri. Ölçü: 50 nm



Şekil 4.22. MC_3'ün TEM görüntüleri. Ölçü: 20 nm

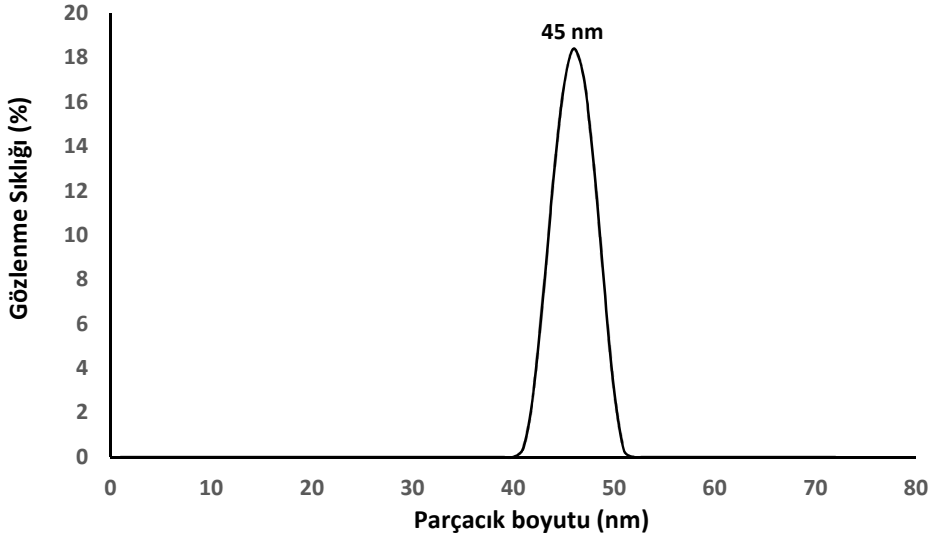
4.1.3. DLS Karakterizayonları ve Zeta Potansiyel Değerleri

Şekil 4.23.'te Fe_3O_4 için dH_2O içerisindeki boyut dağılımını (hidrodinamik boyut) gösteren DLS grafiği verilmiştir. Grafiğe göre Fe_3O_4 için boyutun yaklaşık olarak 65 nm civarında olduğu görülmüştür. Ancak topaklanmanın olması DLS sonuçlarında parçacık boyutlarının yüksek çıkmasına neden olmuştur. Dolayısıyla nanoparçacıkların tane boyutunu belirmede TEM ölçümleri kullanılmıştır. Fe_3O_4 için deiyonize suda Zeta potasiyel değeri 7.19 ± 0.2 mV olarak ölçülmüştür (Abushrida 2011).



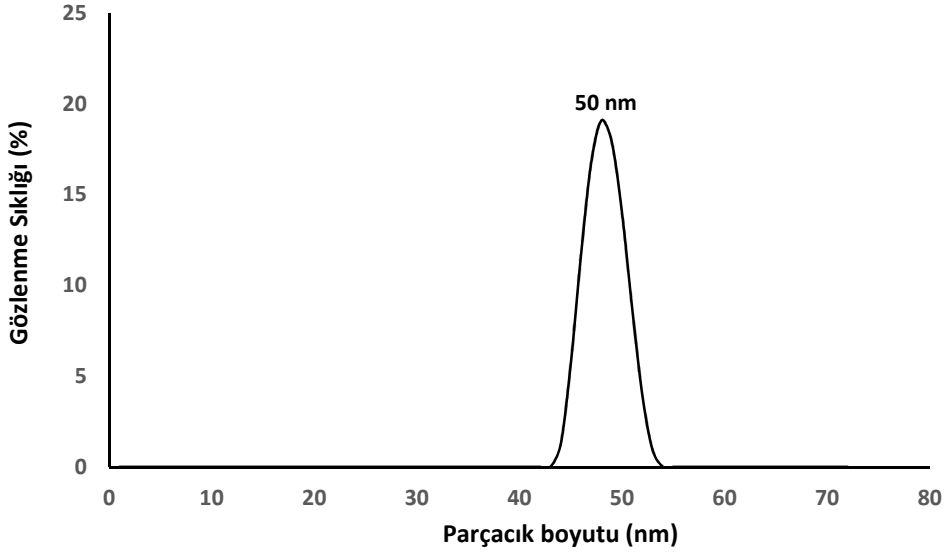
Şekil 4.23. Fe_3O_4'ün hidrodinamik boyut dağılımı grafiği

MD_1 nanokompozitin DLS ile boyut analiz sonuçları Şekil 4.24'te verilmiştir. Şekil 4.24'teki DLS grafiğinden MD_1 nanokompozitin topaklanma boyutu yaklaşık olarak 45 nm olarak ölçülmüştür. Yukarıda bahsedildiği gibi parçacık boyutlarını belirlemede TEM karakterizasyon sonuçları dikkate alınmıştır. MD_1'in deiyonize sudaki Zeta potansiyel değeri -2.67 ± 0.35 mV olarak ölçülmüştür (Abushrida 2011 Sakulkhu ve ark. 2014).



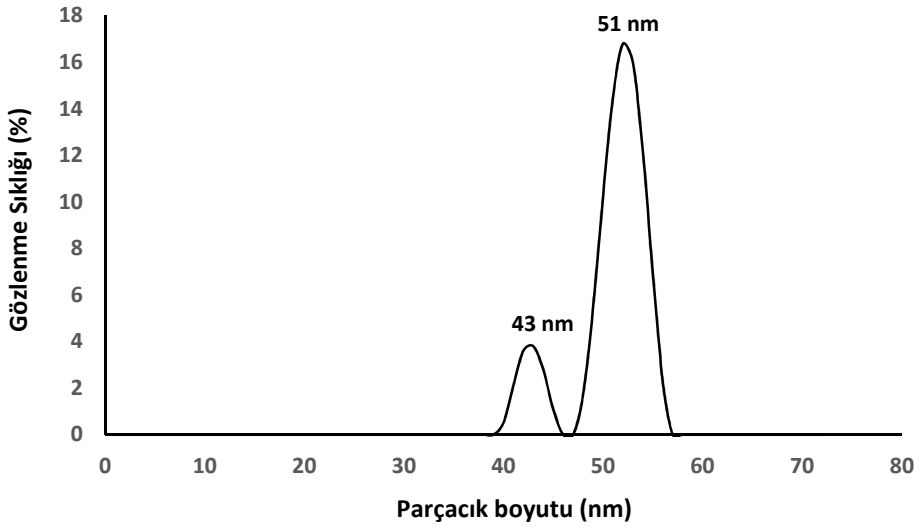
Şekil 4.24. MD_1 nanokompozitinin hidrodinamik boyut dağılımı grafiği

Şekil 4.25'teki DLS sonuçlarına göre MD_2 nanokompozitinin topaklanma boyutu 50 nm civarı olduğu görülmüştür. MD_2'nin deiyonize sudaki Zeta potansiyel değeri -25 ± 0.15 mV olarak ölçülmüştür (Ayala ve ark. 1874, Abushrida 2011). Zeta potansiyel değerinden de anlaşıldığı üzere MD_2 yapısında bulunan $–COO^-$ gruplarının varlığından ötürü negatif değer artmıştır.



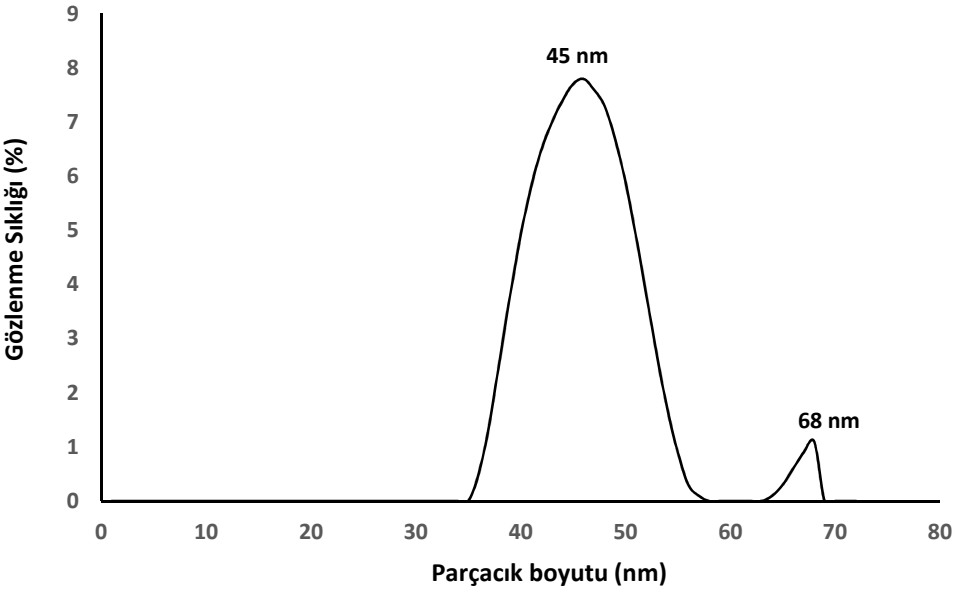
Şekil 4.25. MD_2 nanokompozitinin hidrodinamik boyut dağılımı grafiği

Şekil 4.26'da verildiği gibi MD_3 nanokompozitin topaklanma boyutları DLS ile ölçüldüğünde 43 nm ve 51 nm olmak üzere iki farklı boyutta dağıldığı görülmüştür. Fakat yukarıda değinildiği gibi TEM sonuçları dikkate alınmıştır. MD_3'ün deiyonize sudaki Zeta potansiyel değeri 13.6 ± 0.58 mV olarak ölçülmüştür.



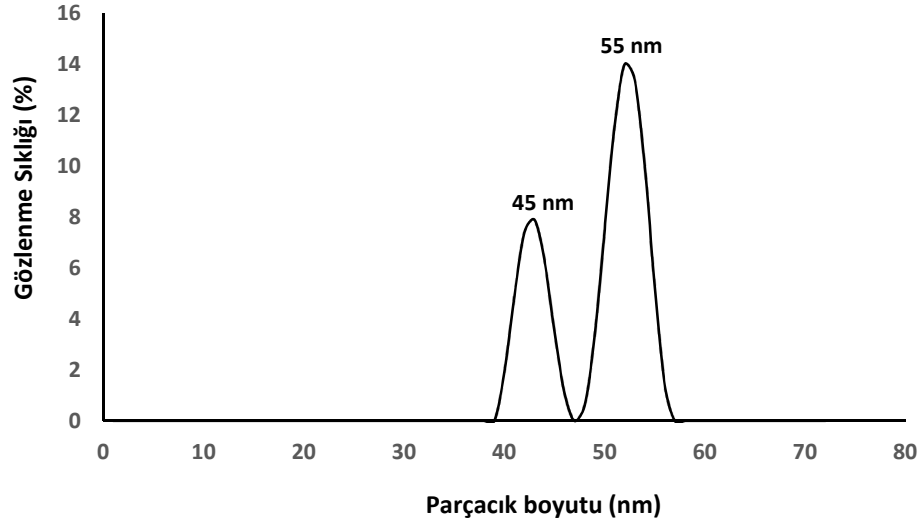
Şekil 4.26. MD_3 nanokompozitinin hidrodinamik boyut dağılımı grafiği

Şekil 4.27'de verilen DLS sonuçlarına göre MC_1 nanokompozitinin topaklanma boyutu 45 nm ve 68 nm civarı olmak üzere iki farklı parçacık boyutunda dağılım gösterdiği bulunmuştur. MC_1 kompozitinin deiyonize sudaki Zeta potansiyel değeri 40.7 ± 0.5 mV olarak ölçülmüştür (Shi ve ark. 2012).



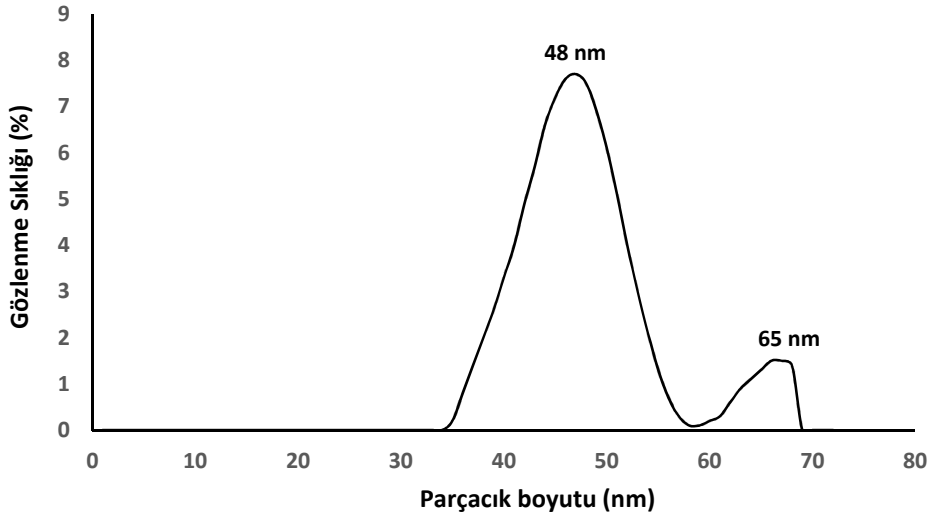
Şekil 4.27. MC_1 nanokompozitinin hidrodinamik boyut dağılımı grafiği

Şekil 4.28'de görüldüğü gibi MC_2 nanokompozitinin topaklanma boyutları DLS ölçümlerine göre 45 nm ve 55 nm civarı olduğu görülmüştür. MC_2'nin deiyonize sudaki Zeta potansiyel değeri -33 ± 0.8 mV olarak ölçülmüştür (Zhu ve ark. 2009).



Şekil 4.28. MC_2 nanokompozitinin hidrodinamik boyut dağılımı grafiği

Şekil 4.29'da görüldüğü gibi MC_3 nanokompozitinin topaklanma boyutları, DLS ölçüm sonuçlarına göre 48 nm ve 65 nm civarında olduğu görülmüştür. MC_3'ün deiyonize sudaki Zeta potansiyel değeri 32 ± 0.6 olarak ölçülmüştür.

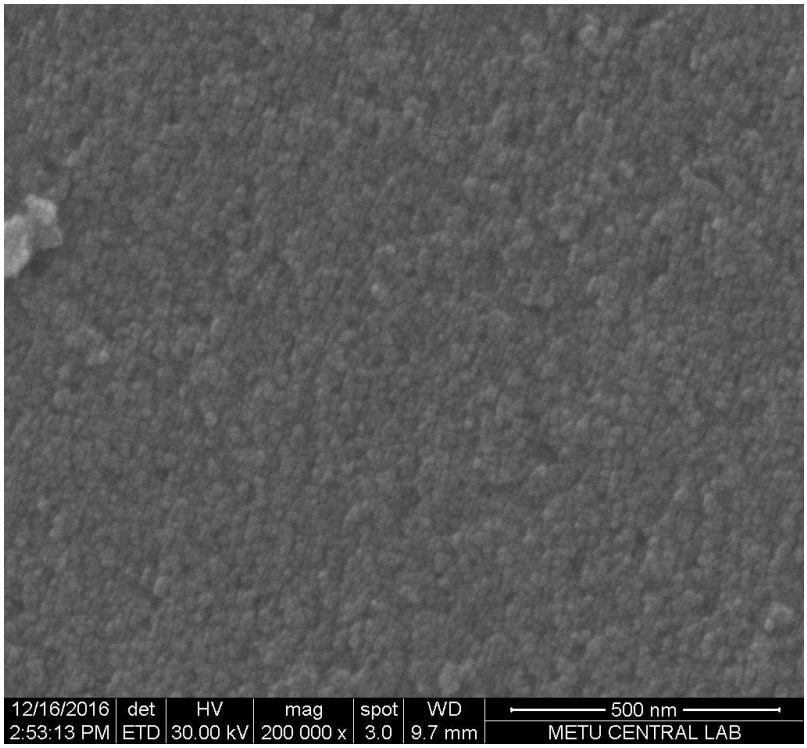


Şekil 4.29. MC_3 nanokompozitinin hidrodinamik boyut dağılımı grafiği

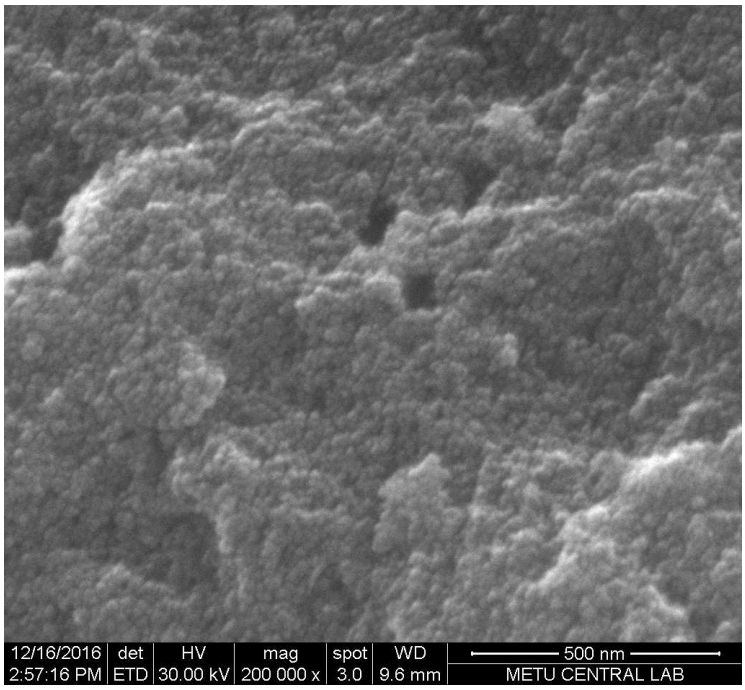
4.1.4. SEM Karakterizasyonları

Sentezlenmiş olan polimer kaplı manyetik nanokompozitlerin yüzey morfolojisi ve boyut analizleri SEM görüntüleri alınarak incelenmiştir. Aşağıdaki SEM görüntülerinde görüldüğü gibi hem parçacık boyutlarının çok küçük olması hem de aglomerasyondan dolayı bu görüntülerinden yüzey morfolojisi hakkında net bir bilgi alınamamış olup küresel nanopartiküllerden oluştuğu gözlenmiştir (Varan 2013). Dolayısıyla parçacıkların yüzey morfolojisine ve boyut dağılımına ait daha detaylı bilgiler yüksek çözünürlüğü sayesinde TEM analizi ile belirlenmiştir.

Şekil 4.30 ve Şekil 4.31'de sırasıyla MD_1 ve Topotekan yüklü TMD_1 için SEM görüntüleri verilmiştir. Bu görüntülerden Topotekan yüklendikten sonra yüzeyde meydana gelen topokrafik değişimler gözlene bilmiştir.

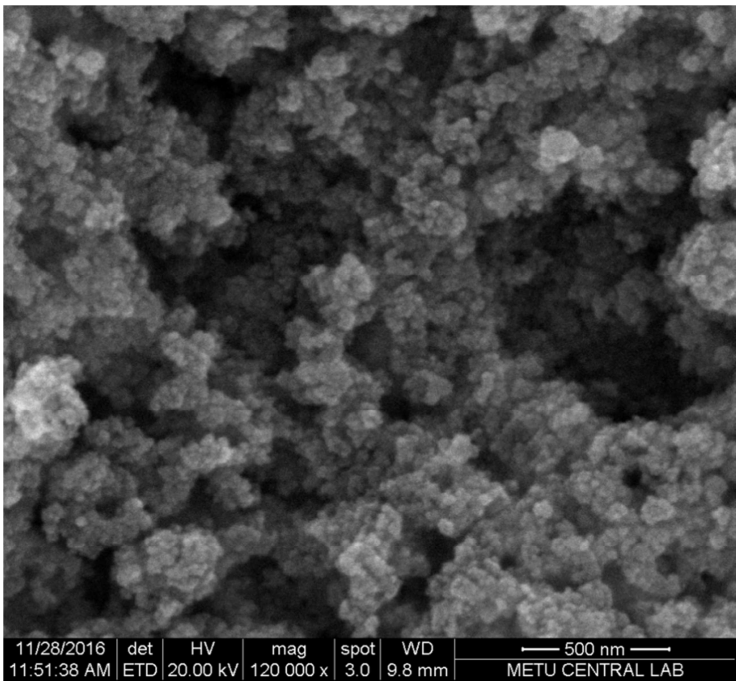


Şekil 4.30. MD_1 için SEM görüntüsü

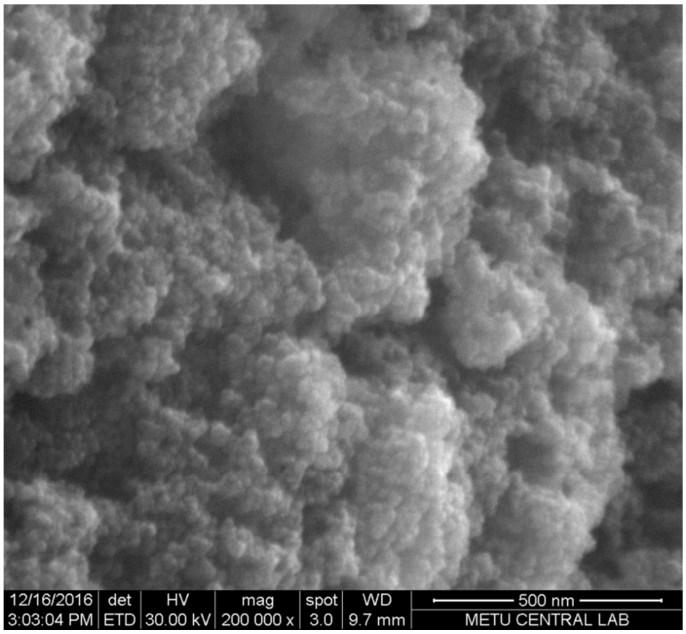


Şekil 4.31. TMD_1 için SEM görüntüsü

Şekil 4.32 ve Şekil 4.33'te MD_2 ve Topotekan yüklü TMD_2 için SEM görüntüleri verilmiştir. Bu görüntülerde Topotekan yüklendikten sonra yüzeyde meydana gelen değişimler gözlene bilmiştir.

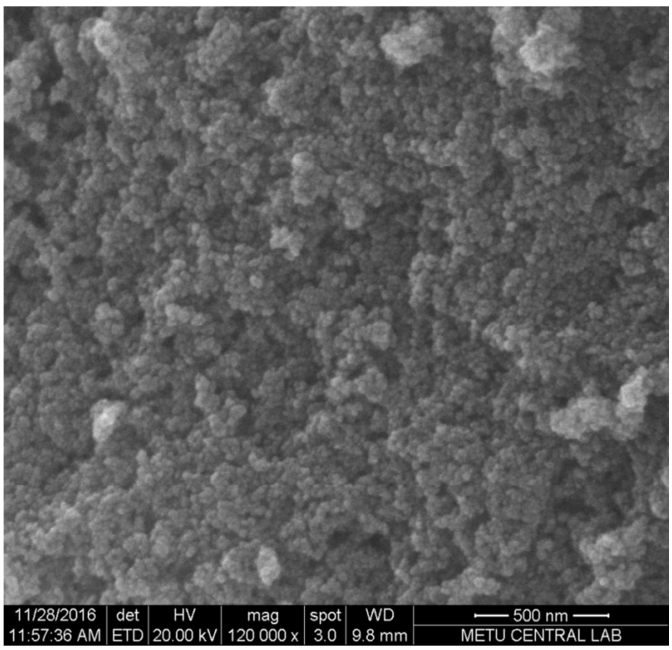


Şekil 4.32. MD_2 için SEM görüntüsü

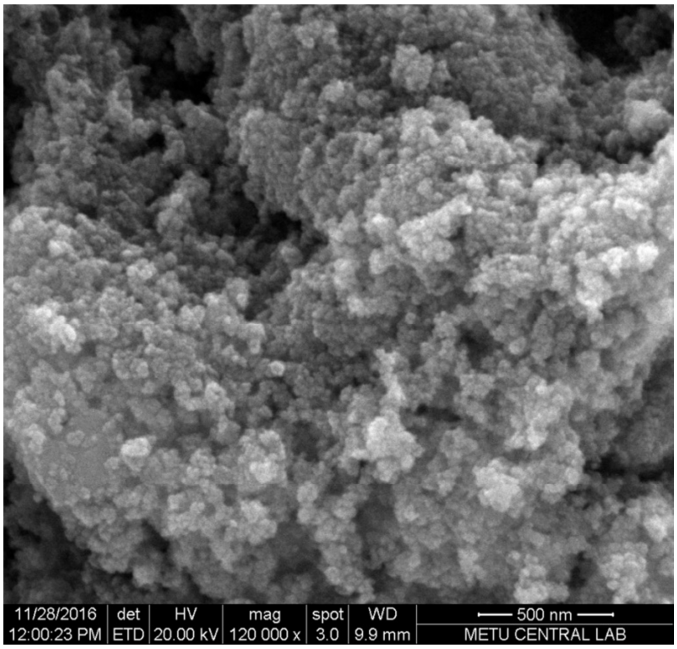


Şekil 4.33. TMD_2 için SEM görüntüsü

Şekil 4.34 ve Şekil 4.35'te sırasıyla MD_3 ve Topotekan yüklü TMD_3 için SEM görüntüleri verilmiştir. Bu görüntülerde Topotekan yüklendikten sonra yüzeyde meydana gelen değişimler gözlene bilmiştir.

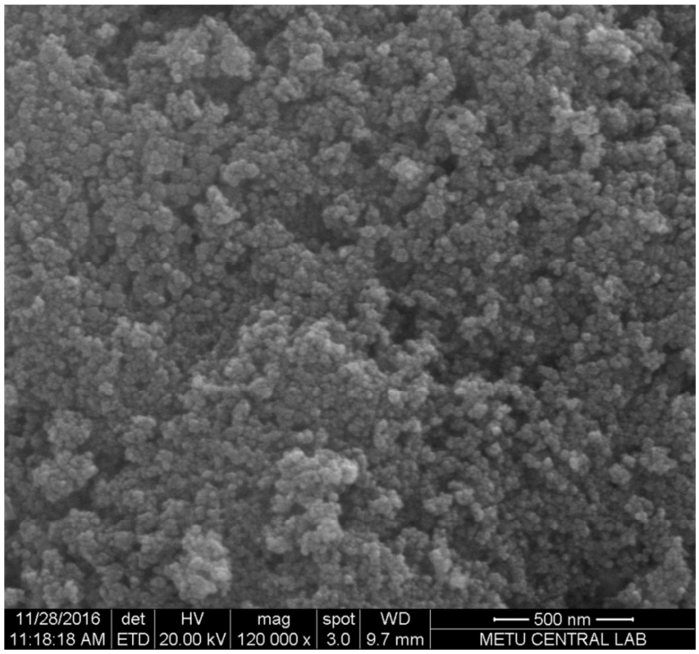


Şekil 4.34. MD_3 için SEM görüntüsü

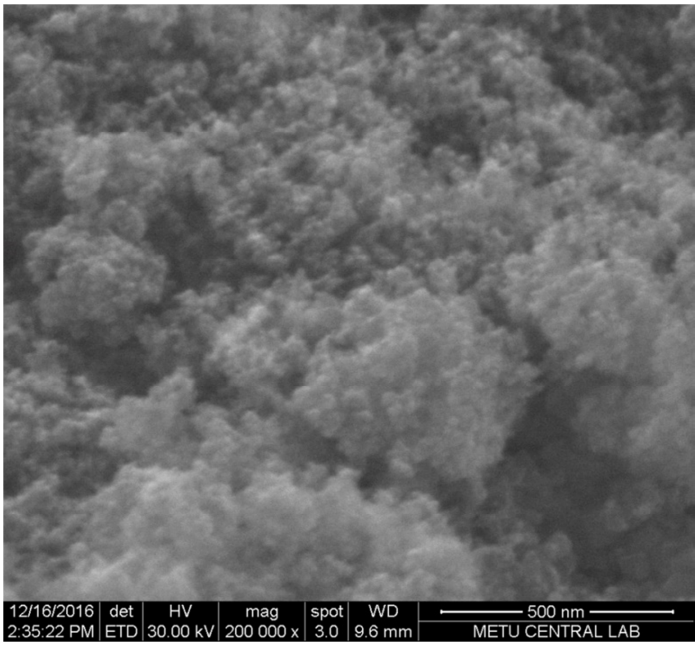


Şekil 4.35. TMD_3 için SEM görüntüsü

Aşağıda Şekil 4.36 ve Şekil 4.37'de sırasıyla MC_1 ve Topotekan yüklü TMC_1 için SEM görüntüleri verilmiştir. Bu görüntülerden Topotekan yüklendikten sonra yüzeyde meydana gelen değişimler gözlene bilmiştir.

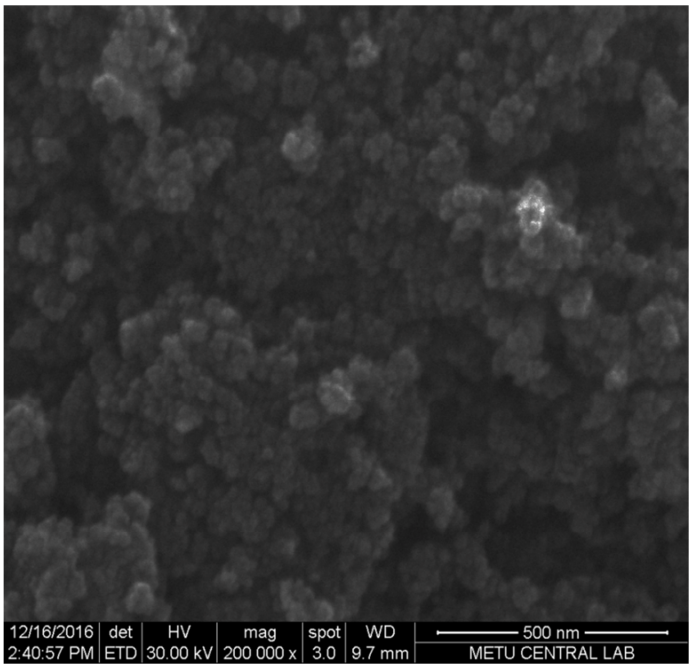


Şekil 4.36. MC_1 için SEM görüntüsü

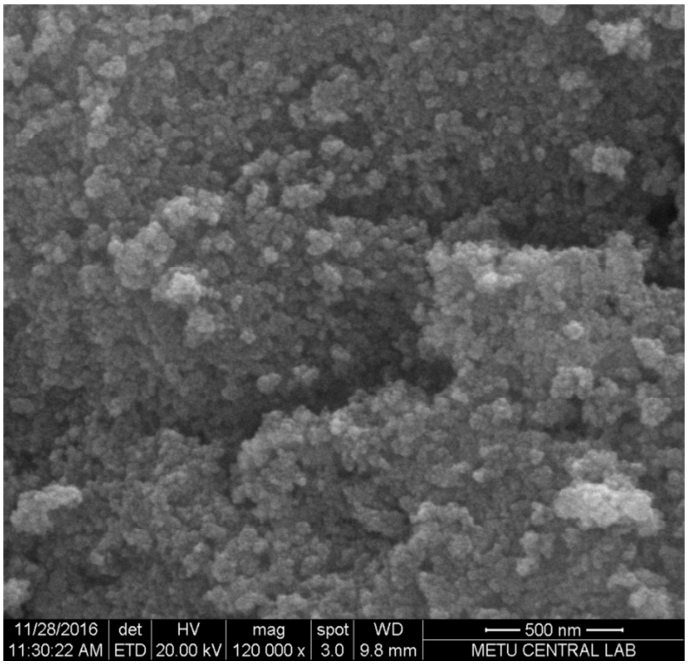


Şekil 4.37. TMC_1 için SEM görüntüsü

Aşağıda sırasıyla Şekil 4.38 ve Şekil 4.39'da MC_2 ve Topotekan yüklü TMC_2 için SEM görüntüleri verilmiştir. Bu görüntülerden Topotekan yüklendikten sonra yüzeyde meydana gelen değişimler gözlene bilmiştir.

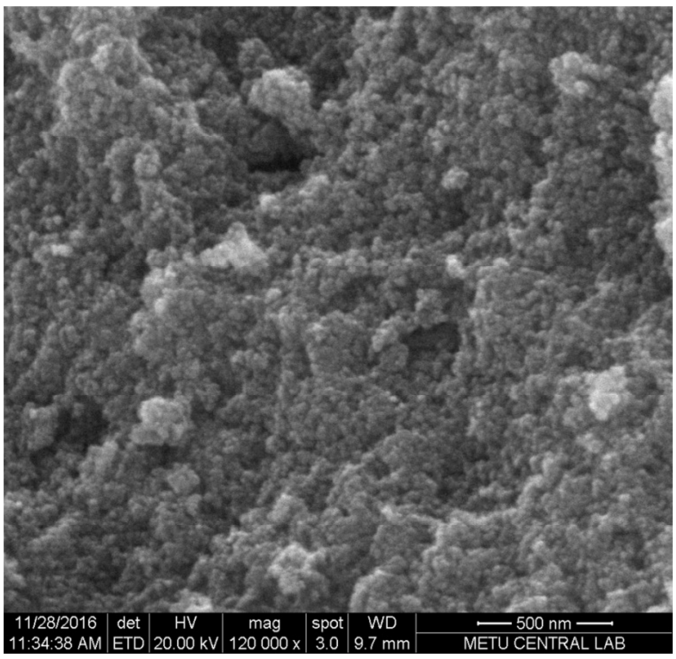


Şekil 4.38. MC_2 için SEM görüntüsü

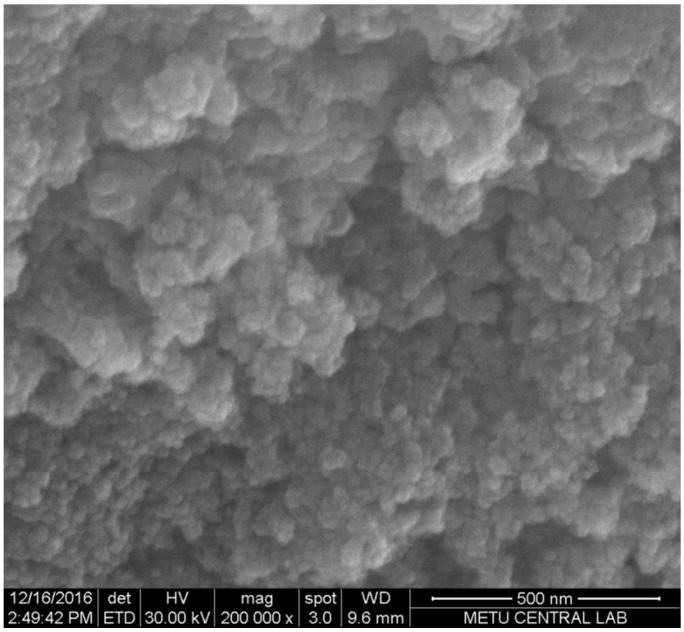


Şekil 4.39. TMC_2 için SEM görüntüsü

Şekil 4.40 ve Şekil 4.41'de sırasıyla MC_3 ve Topotekan yüklü TMC_3 için SEM görüntüleri verilmiştir. Bu görüntülerden Topotekan yüklendikten sonra yüzeyde meydana gelen değişimler gözlene bilmiştir.



Şekil 4.40. MC_3 için SEM görüntüsü

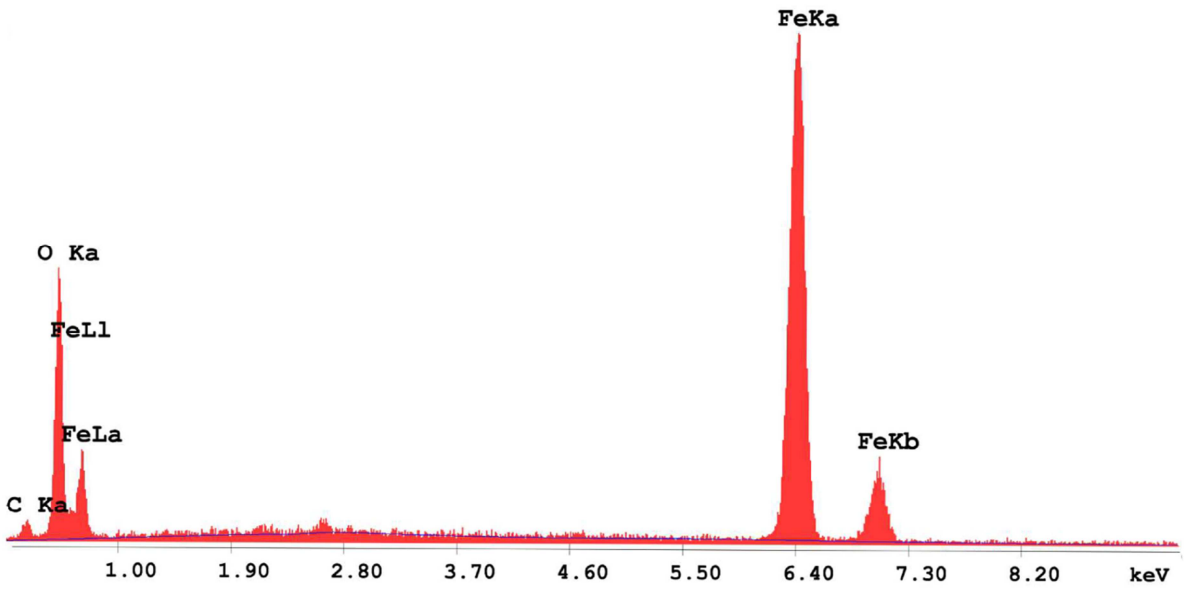


Şekil 4.41. TMC_3 için SEM görüntüsü

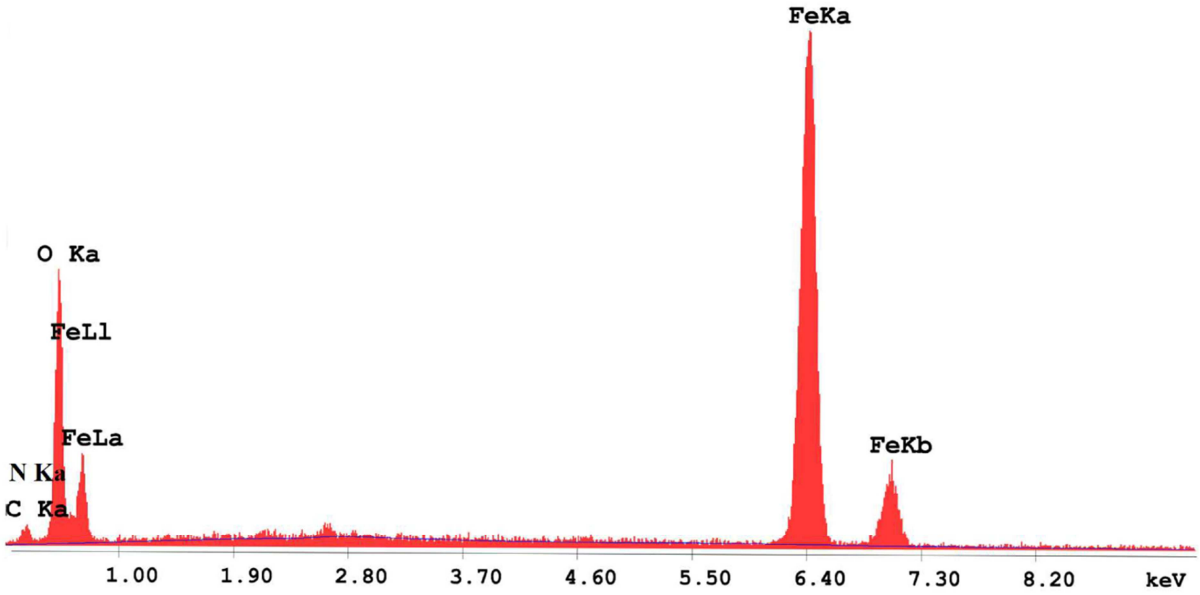
4.1.5. EDX Sonuçları

SEM-EDX ölçüm sonuçlarından görülebileceği gibi örneklerin yapısal olarak atomik içeriğine bakıldığı zaman başarılı bir şekilde sentezlendiği görülmüştür. Ayrıca örnekler içerisinde kayda değer herhangi bir safsızlık miktarına da rastlanmamıştır. Bu da sentez için kullanılan tekniğin, manyetik hedeflendirme amacıyla kullanılacak yapıların sentezi konusunda oldukça başarılı olduğunu göstermiştir.

Şekil 4.42 ve Şekil 4.43'te sırasıyla MD_1 ve TMD_1 için EDX sonuçları verilmiştir. Şekil 4.42'de ki MD_1 kompozitinin EDX spektrumununda, Fe_3O_4 nanoparçacıklarında olmayan C pikinin görülmesi dekstranın yüzeye kaplandığını göstermiştir. Ayrıca şekil 4.43'te verilen EDX spektrumunda N atomuna ait pikin görülmesi Topotekan'ın MD_1 kompozitine başarılı bir şekilde yüklendiğini göstermiştir.

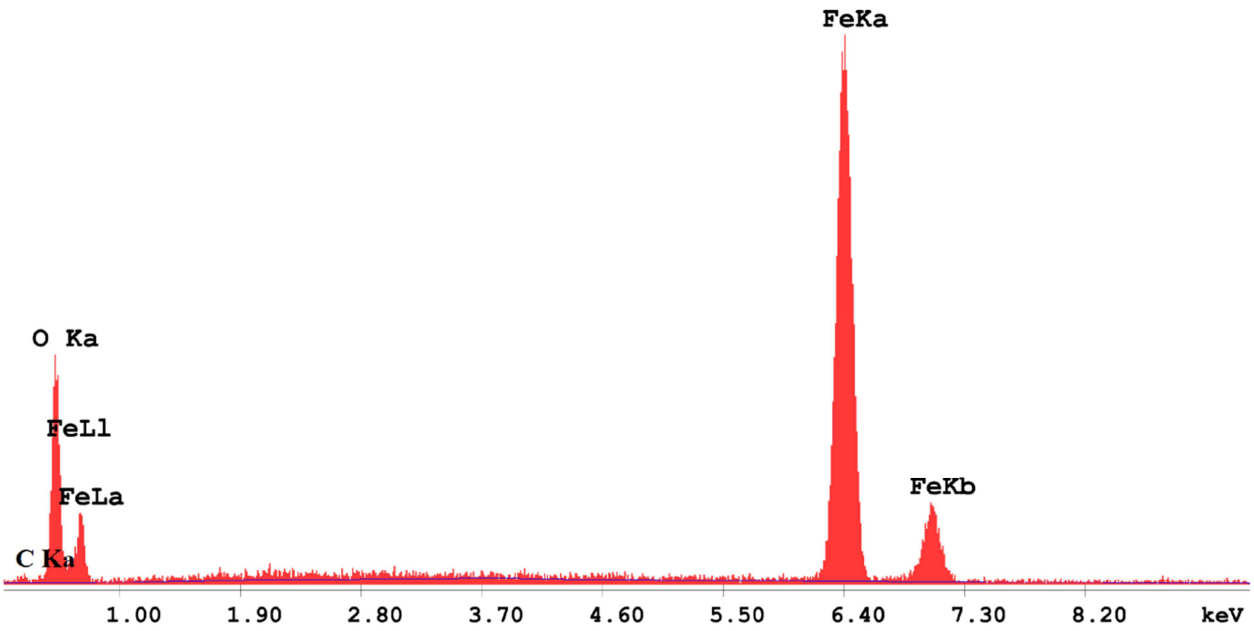


Şekil 4.42. MD_1'in EDX spektrumu

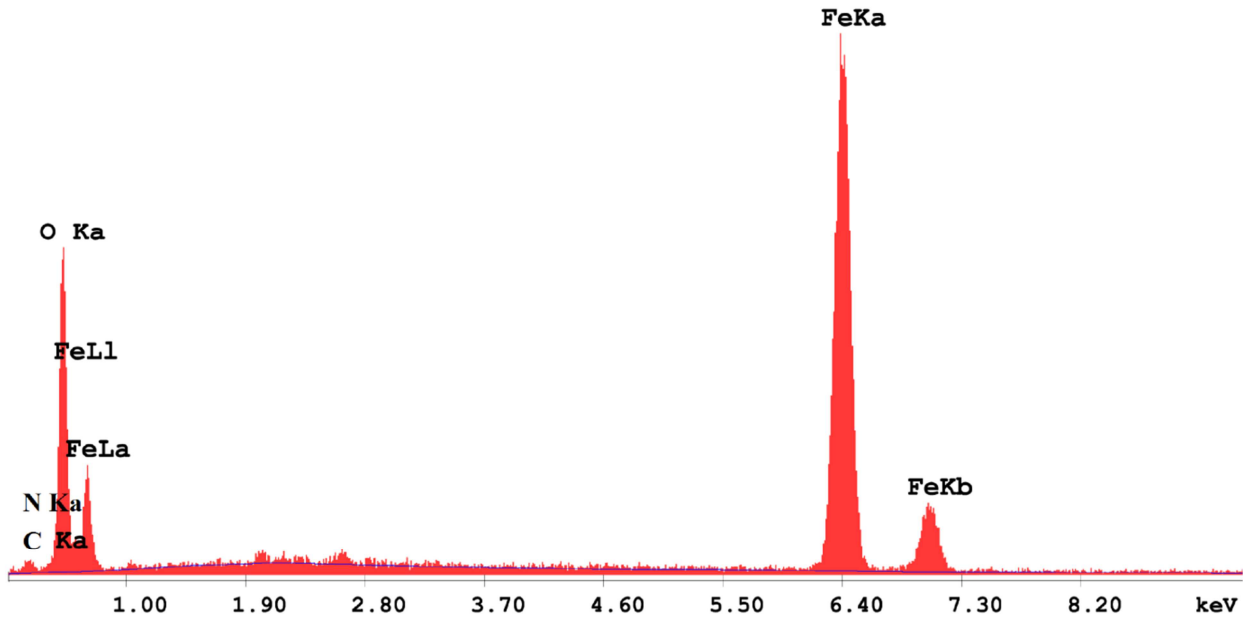


Şekil 4.43. TMD_1'in EDX spektrumu

Şekil 4.44'te verilen EDX spektrumundan görmeyi umduğumuz atomların varlığını, MD_2 nanokompozitinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermiş ve Şekil 4.45'te verilen spektrumda azot atomunun varlığı Topotekan'ın başarılı bir şekilde bu kompozite yüklendiğini göstermiştir.

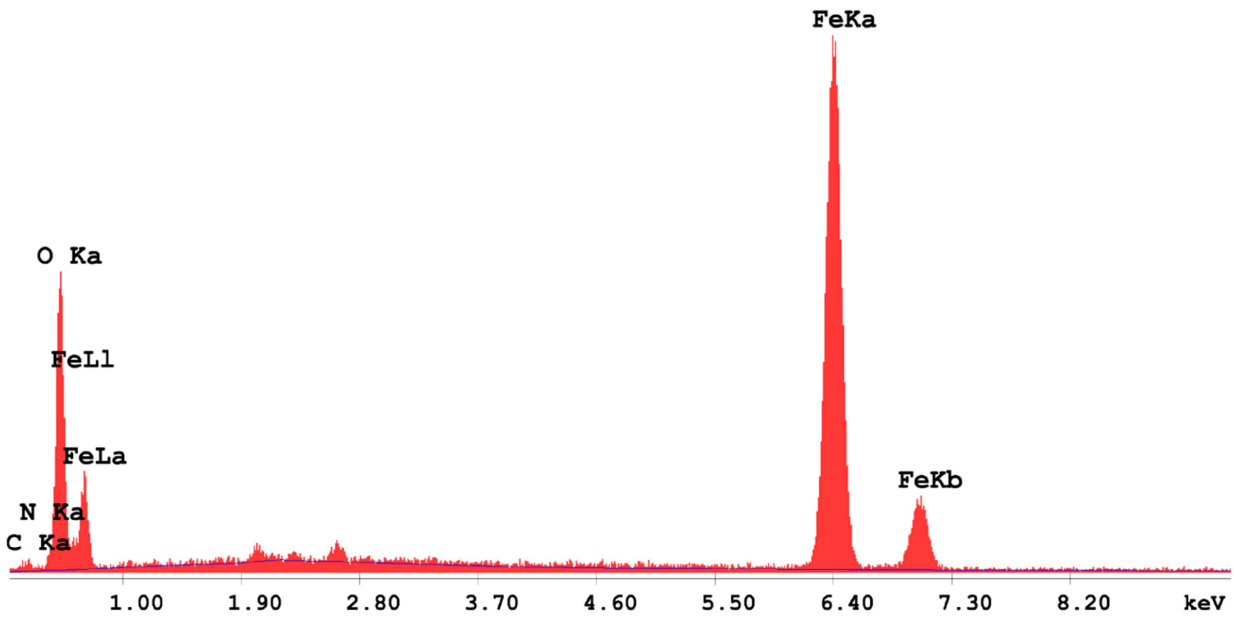


Şekil 4.44. MD_2 için EDX spektrumu

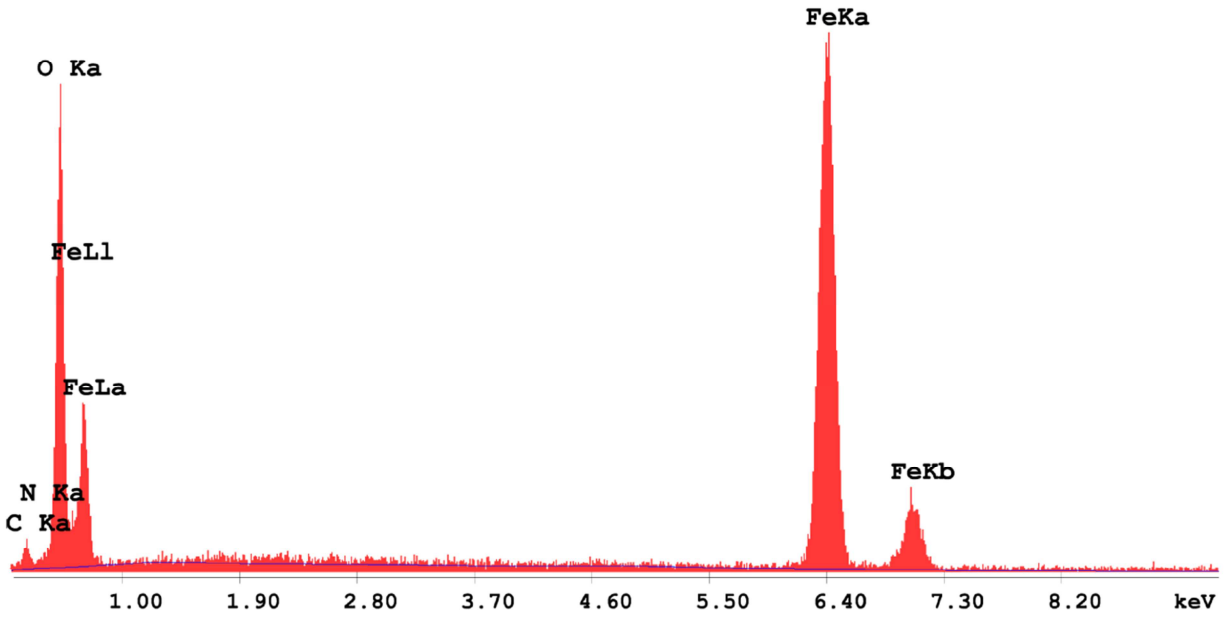


Şekil 4.45. TMD_2 için EDX spektrumu

Şekil 4.46'da verilen EDX spektrumundan MD_3 nanokompozitinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini gösteren atomların varlığı ve Şekil 4.47'de C ve N piklerinin intensitelerinin artması Topotekan'ın başarılı bir şekilde bu kompozite yüklendiğini gösermiştir.

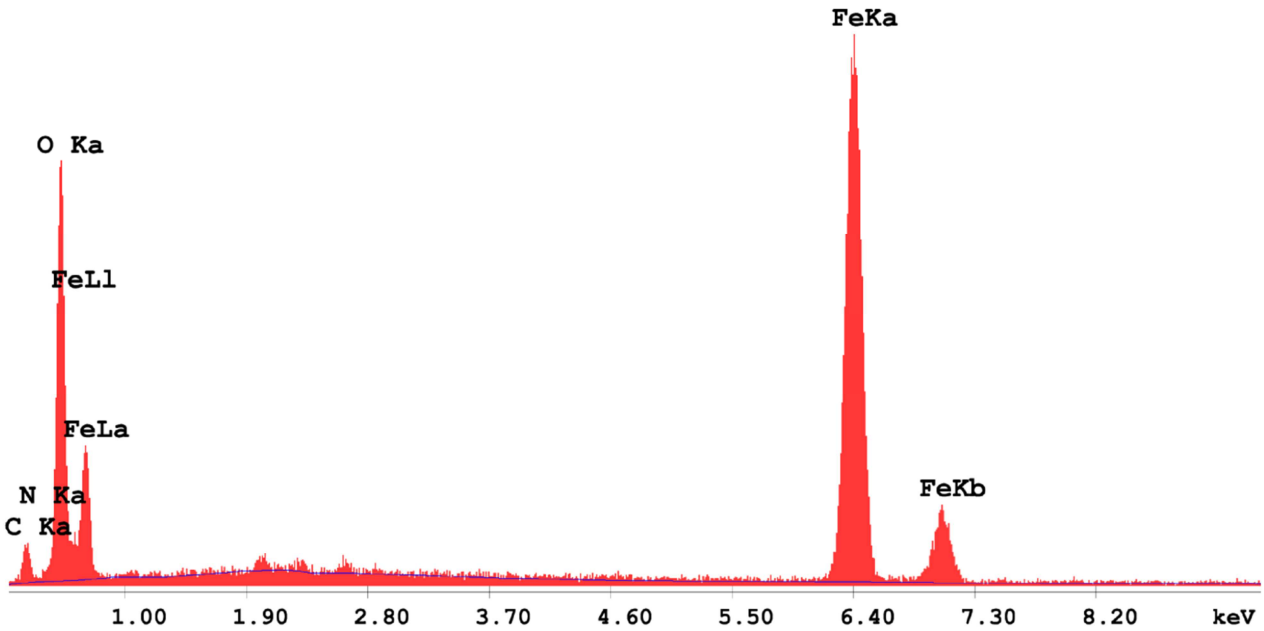


Şekil 4.46. MD_3 için EDX spektrumu

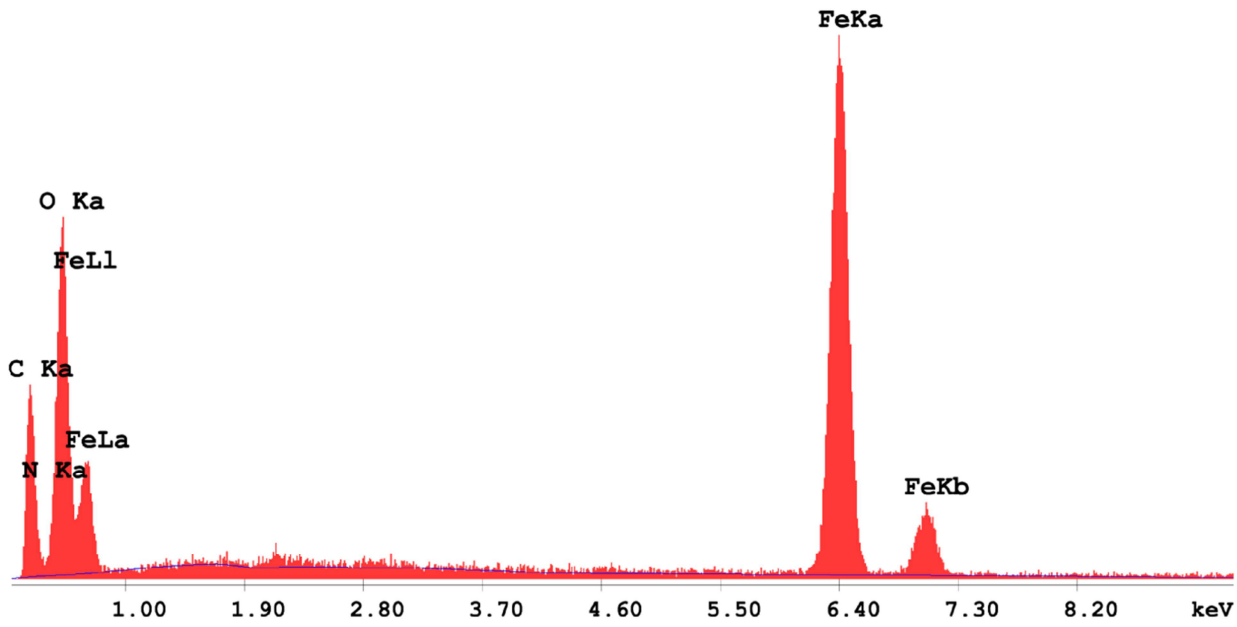


Şekil 4.47. TMD_3 için EDX spektrumu

Şekil 4.48'de verilen EDX spektrumundan MC_1 nanokompozitinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ve Şekil 4.49'da verilen spektrumda C ve N piklerinin intesitelerinin artması Topotekan'ın başarılı bir şekilde bu kompozite yüklendiğini göstermiştir.

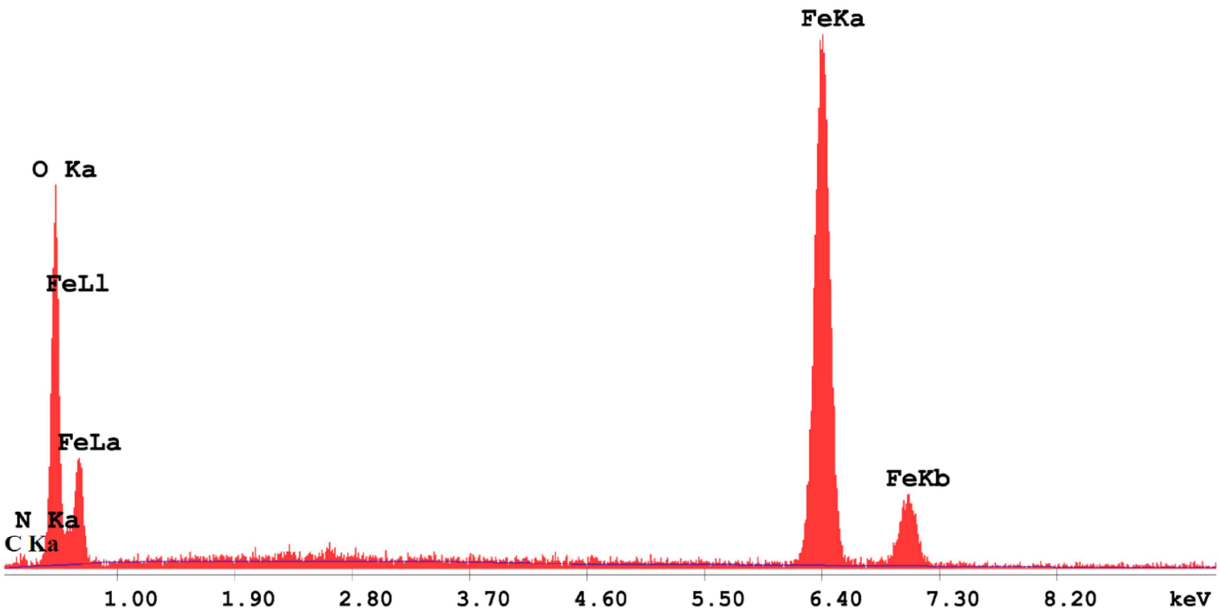


Şekil 4.48. MC_1 için EDX spektrumu

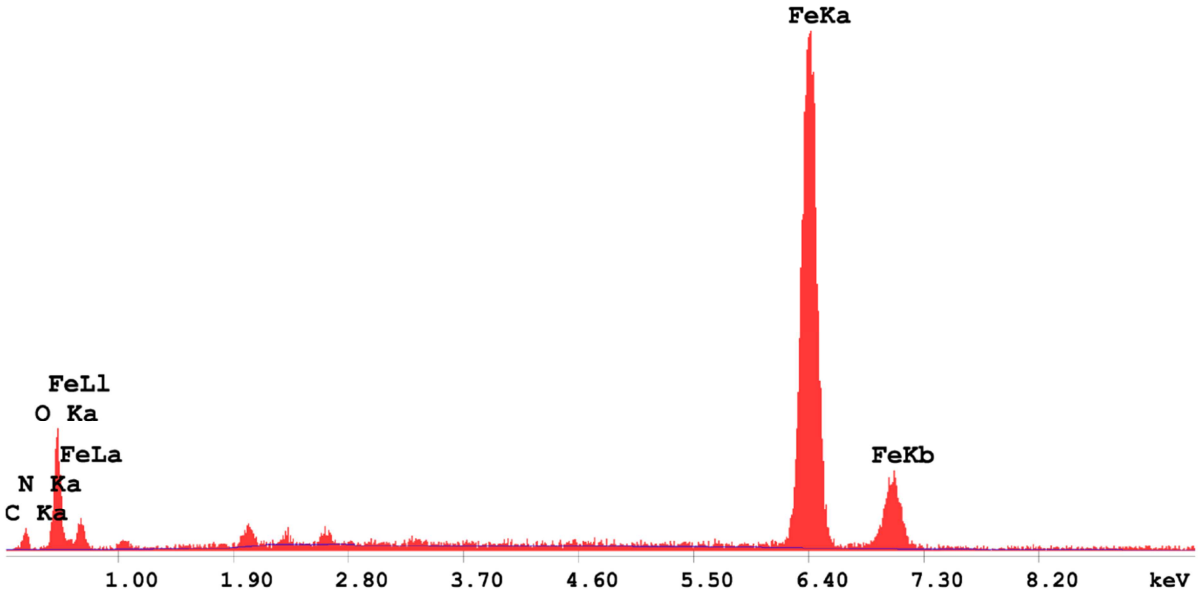


Şekil 4.49. TMC_1 için EDX spektrumu

Şekil 4.50'de verilen EDX spektrumundan MC_2 kompozitinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ve Şekil 4.51'deki spektrumdan C ve N pik intensitelerindeki artış Topotekan'ın başarılı bir şekilde bu kompozite yüklendiğini göstermiştir.

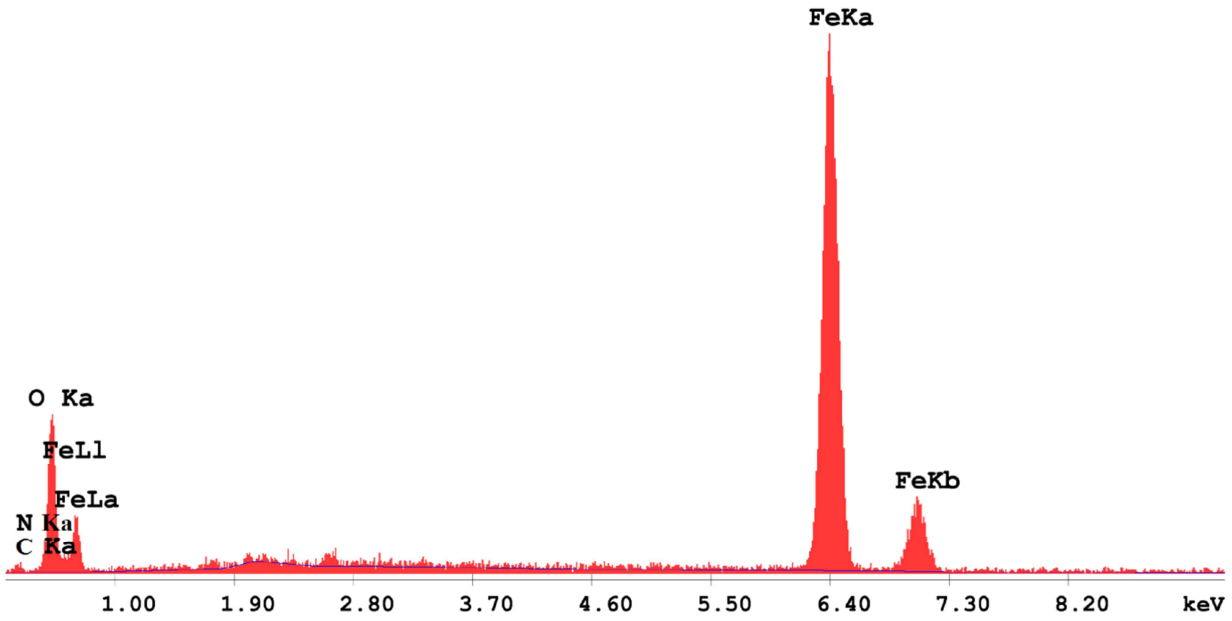


Şekil 4.50. MC_2 için EDX spektrumu

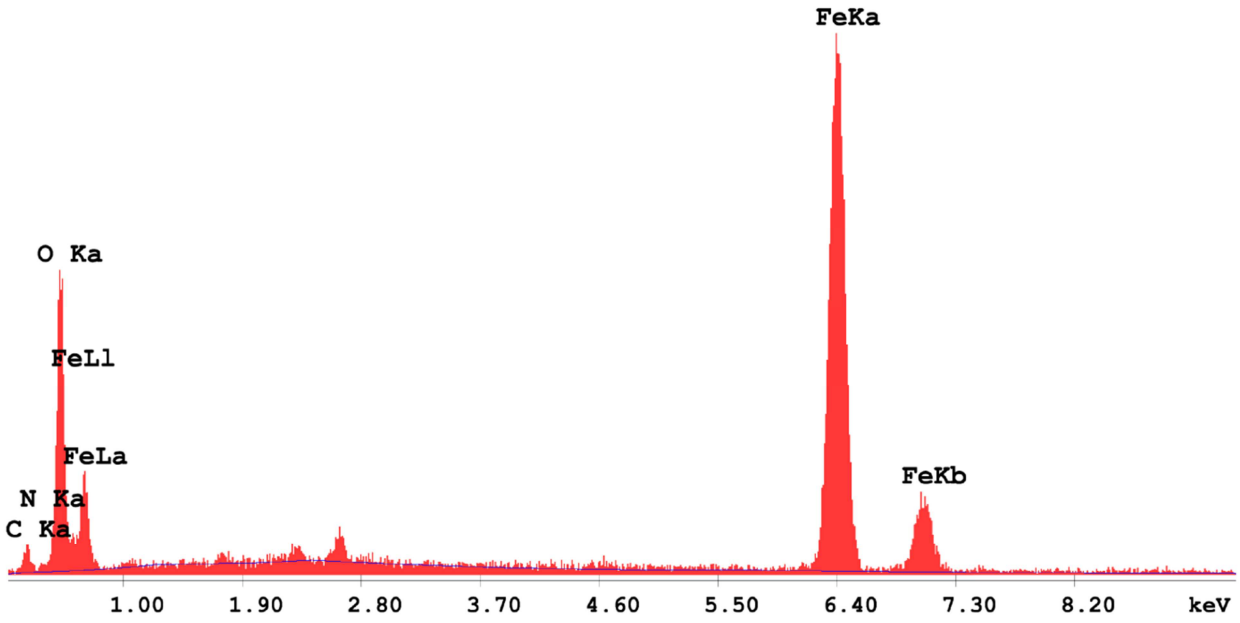


Şekil 4.51. TMC_2 için EDX spektrumu

Şekil 4.52'te verilen EDX sonucundan MC_3 nanokompozitinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini ve Şekil 4.53'te spektrumdan C ve N pik intensitelerindeki artış Topotekan'ın başarılı bir şekilde bu kompozite yüklendiğini göstermiştir.



Şekil 4.52. MC_3 için EDX spektrumu



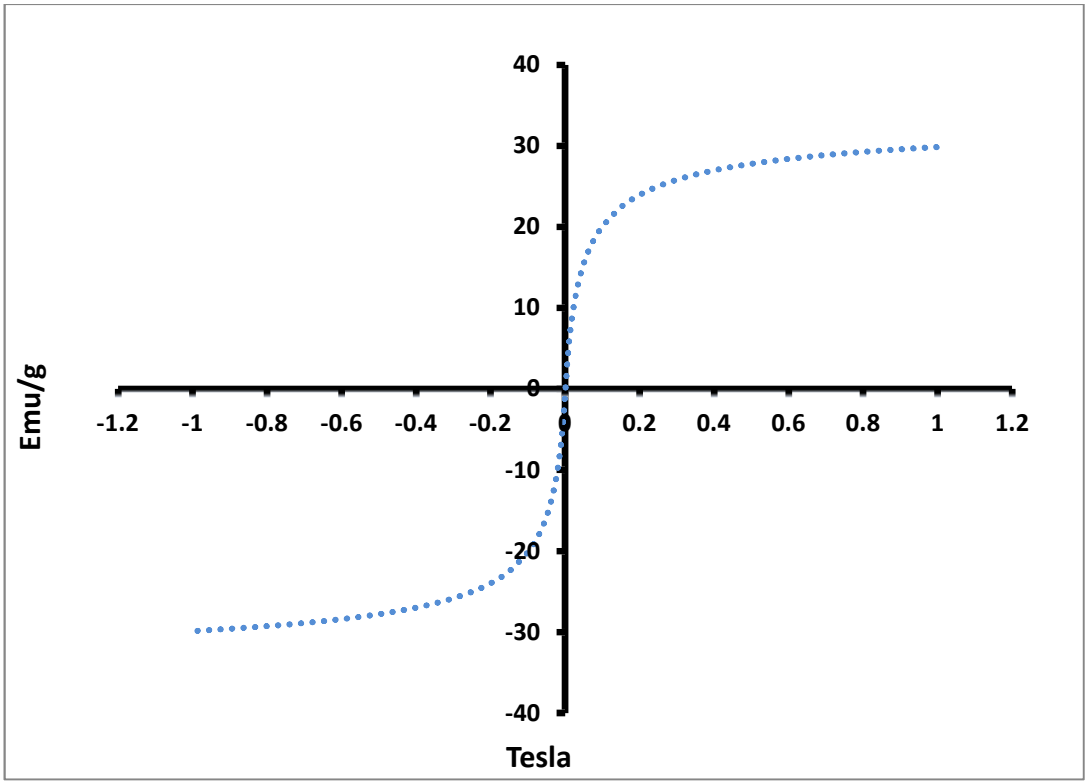
Şekil 4.53. TMC_3 için EDX spektrumu

4.1.6. VSM Karakterizasyonları

Sentezlenen nanokompozitlerin manyetizasyon değeri, manyetik alanın manyetizasyona karşı değişimi ile ölçülmüştür. İlaç yüklü TMD_1'in manyetizasyon değeri 30.5 emu/g olarak Şekil 4.54'te verilen grafikten bulunmuştur. Nanokompozitlerin parçacık boyutları süperparamanyetik değer için kritik ölçü olan 25 nm'den küçüktür. Bu çalışmada sentezlenen Fe_3O_4 nanoparçacıkların manyetik doyma

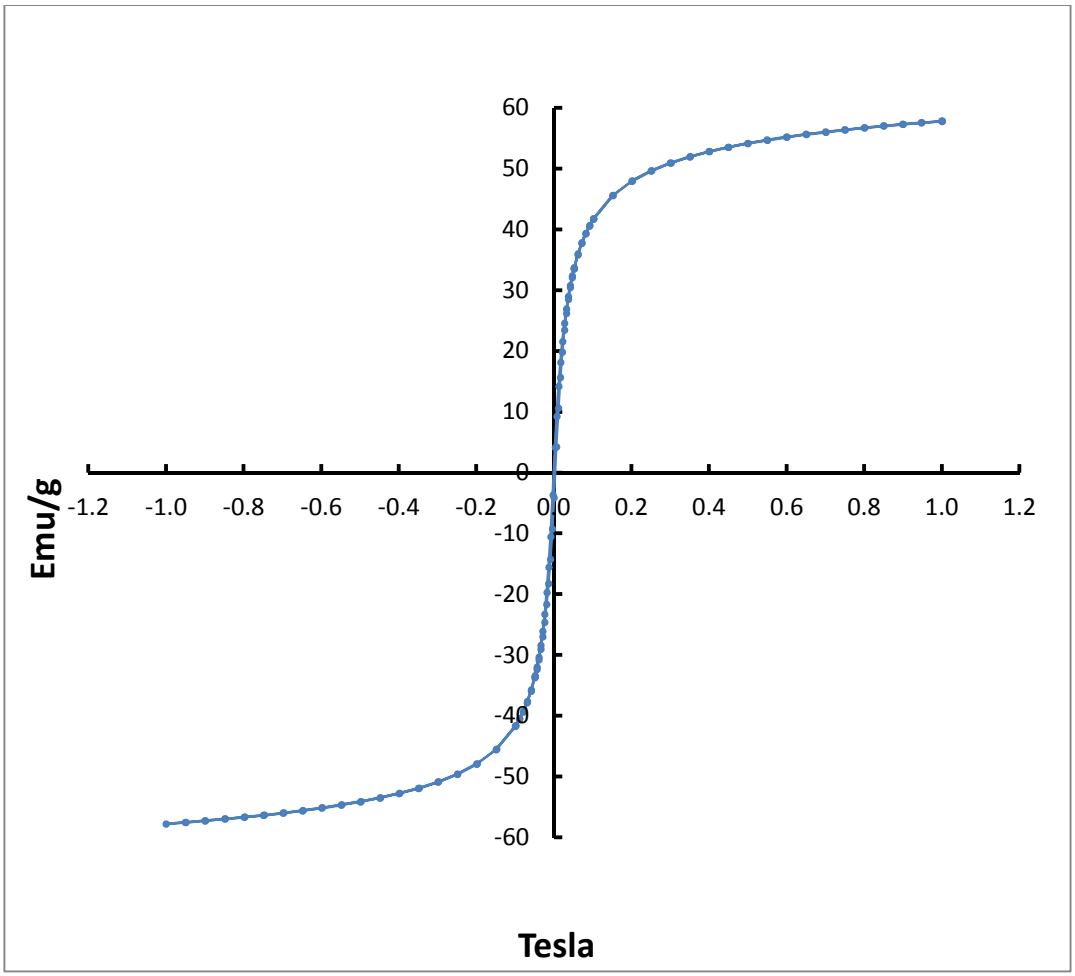
değeri 66 emu/g olup (Keskin 2012, Mohapatra ve ark. 2007) TMD_1'in manyetizasyon değerinden büyük olduğu görülmüştür. Bu fark muhtemelen boyut farkından ve kaplanan polimer tabakasından kaynaklanmıştır. Ayrıca 30.5 Emu/g değeri dekstran kaplı manyetik nanoparçacıklar için literatür ile uyum içinde olduğu görülmüştür (Godo ve ark. 2016). TMD_1'in manyetizasyon değeri diğer kompozitlere göre daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeni parçacık boyutlarının diğer kompozitlere göre daha küçük olmasından kaynaklanmıştır ve TEM karakterizasyonu ile kanıtlanmıştır (Medine 2008).

Ayrıca bu düşüş parçacıkların süperparamanyetik etki göstermesi, çevresinin diyamanyetik polimer ile kaplı olması ve bu nedenle de parçacıkların kütle değerlerinin doğru ölçülememesinden kaynaklanmıştır. Bununla birlikte parçacık boyutu küçüldükçe yüzey alanı arttığından yüzeylerdeki spin bozulmaları nedeniyle manyetik doyma değerleri düştüğü görülmüştür (Lee ve ark. 2005 Anonim 2009). Sonuç olarak parçacıkların bağıl manyetizasyon değerleri parçacık boyutuna ve kaplanma yüzdesine bağlı olarak azalmıştır (Özel 2009).



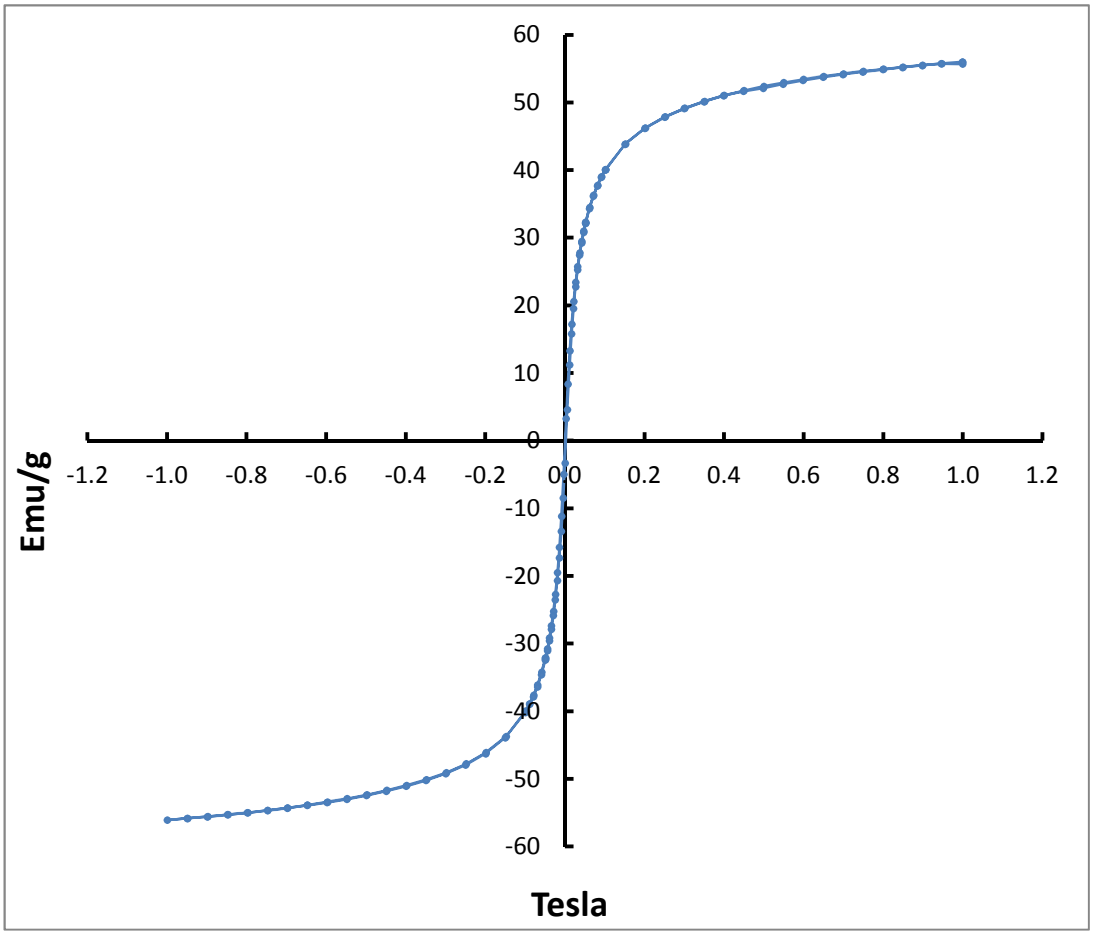
Şekil 4.54. TMD_1'in manyetik alana karşı mıknatıslanma eğrisi

Şekil 4.55'te görüldüğü gibi ilaç yüklü TMD_2 nanokompozitin manyetizasyon değeri 57.8 Emu/g olarak ölçülmüştür.



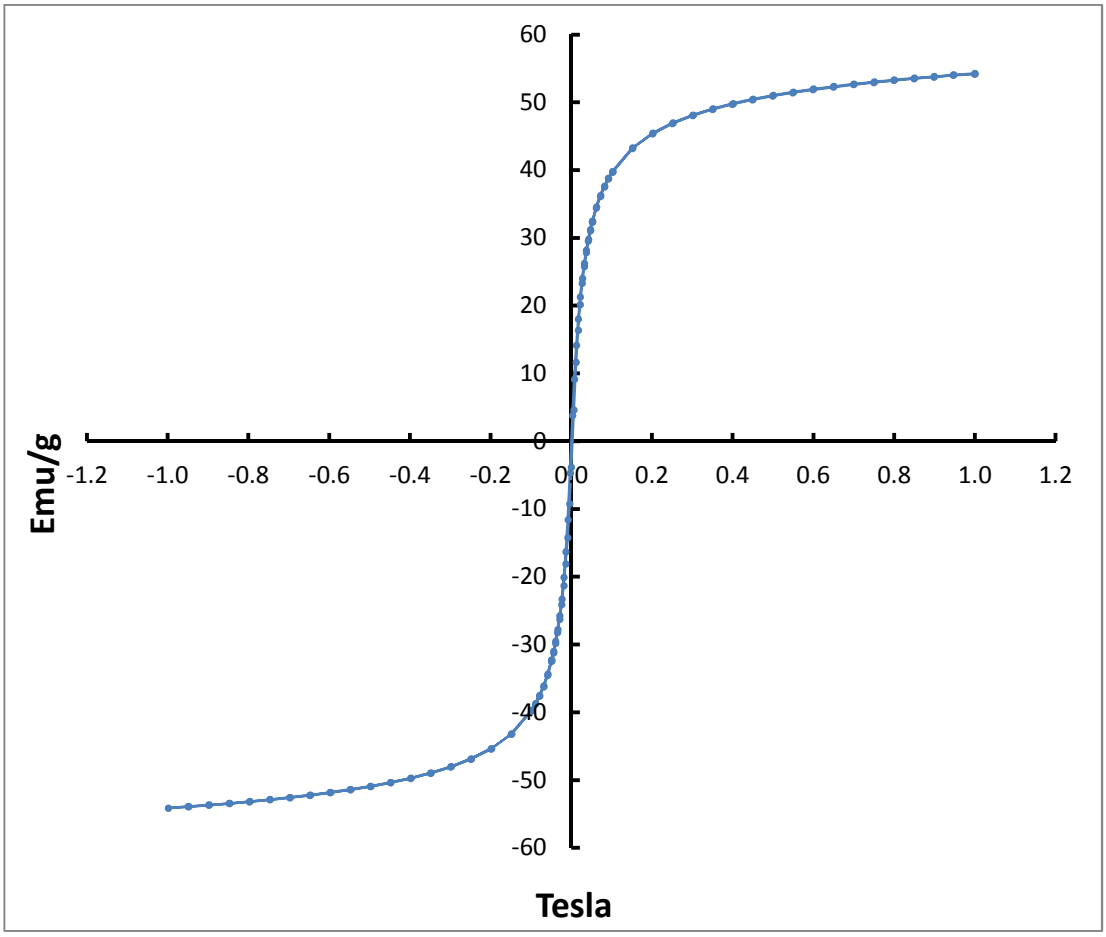
Şekil 4.55. TMD_2 için manyetik alana karşı mıknatıslanma eğrisi

Şekil 4.56'da görüldüğü gibi ilaç yüklü TMD_3 nanokompozitinin manyetizasyon değeri 55.7 Emu/g olarak ölçülmüştür.



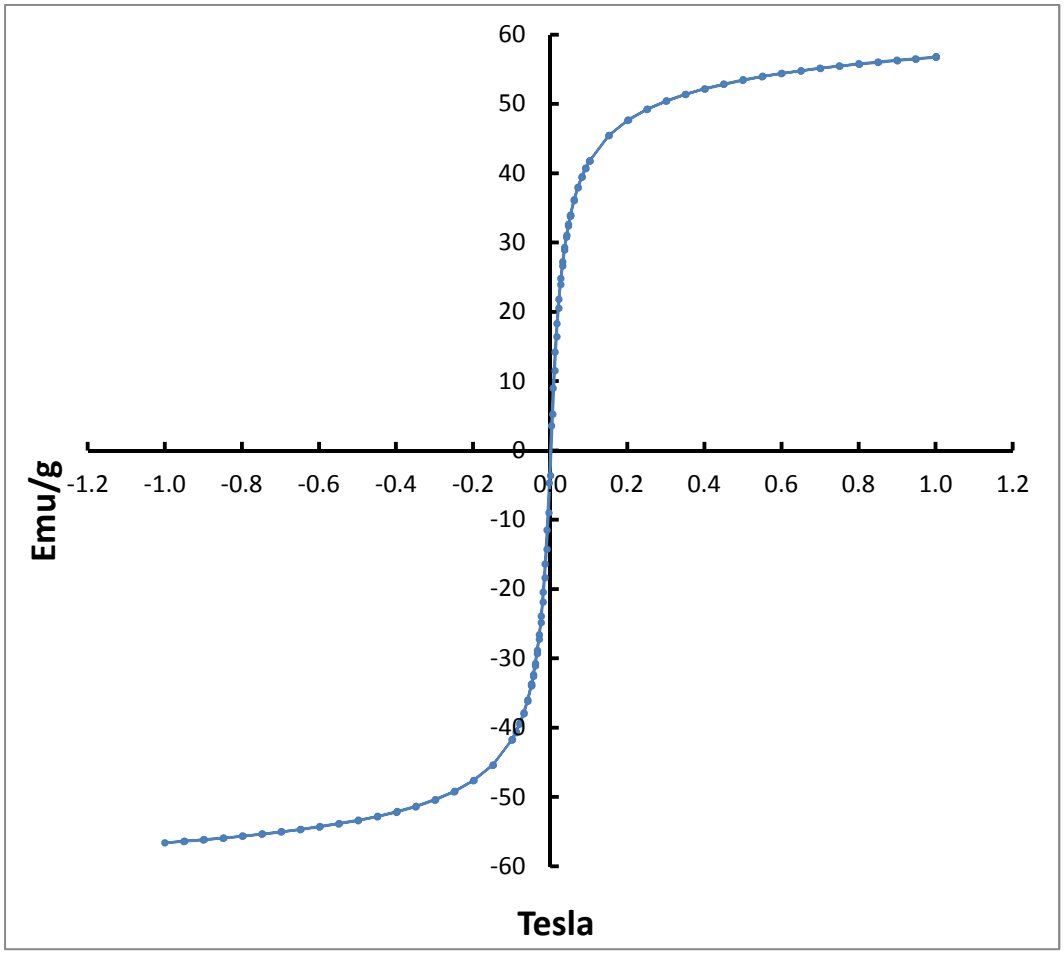
Şekil 4.56. TMD_3 için manyetik alana karşı mıknatıslanma eğrisi

Şekil 4.57'de görüldüğü gibi ilaç yüklü TMC_1 nanokompozitinin manyetizasyon değeri 54.3 Emu/g olarak ölçülmüştür.



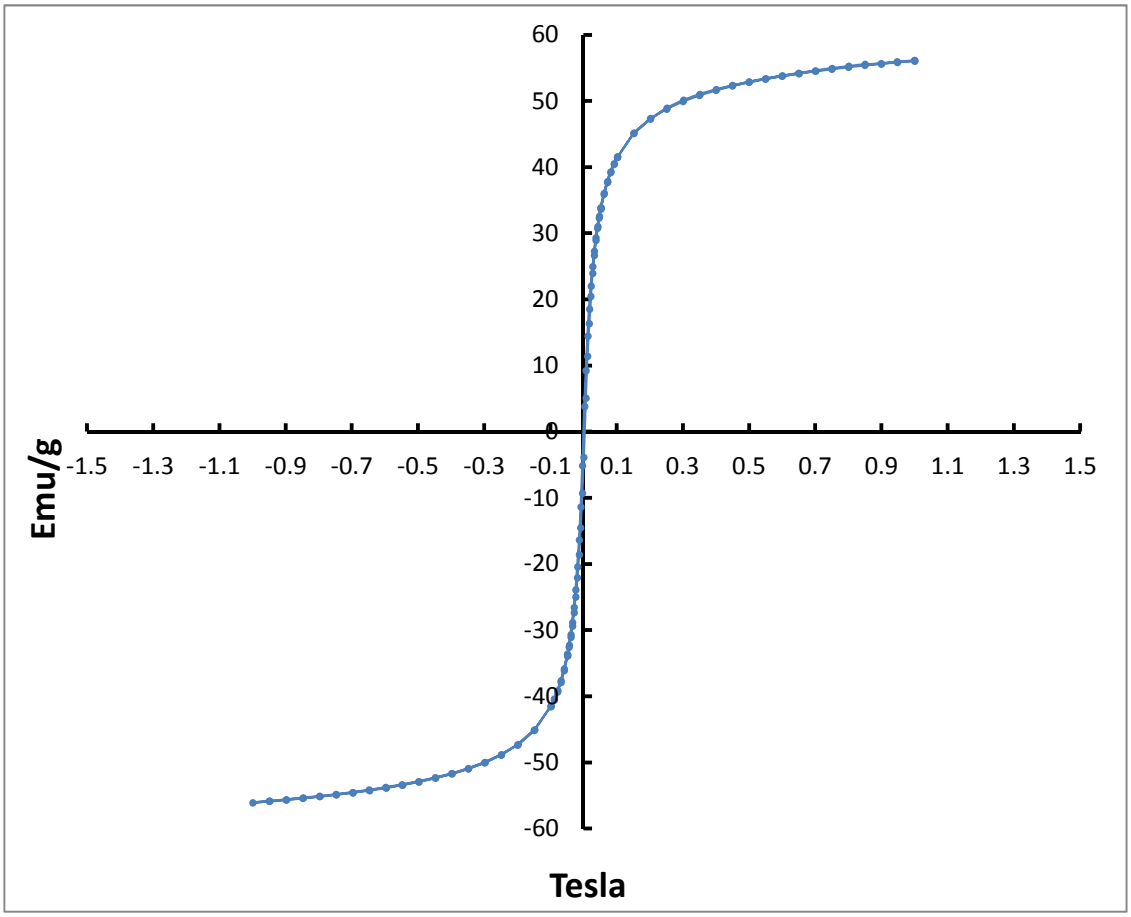
Şekil 4.57. TMC_1 için manyetik alana karşı mıknatıslanma eğrisi

Şekil 4.58'de görüldüğü gibi ilaç yüklü TMC_2 nanokompozitinin manyetizasyon değeri 56.8 Emu/g olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.58. TMC_2 için manyetik alana karşı mıknatıslanma eğrisi

Şekil 4.59'da görüldüğü gibi ilaç yüklü TMC_3 nanokompozitinin manyetizasyon değeri 56.0 Emu/g olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.59. TMC_3 için manyetik alana karşı mıknatıslanma eğrisi

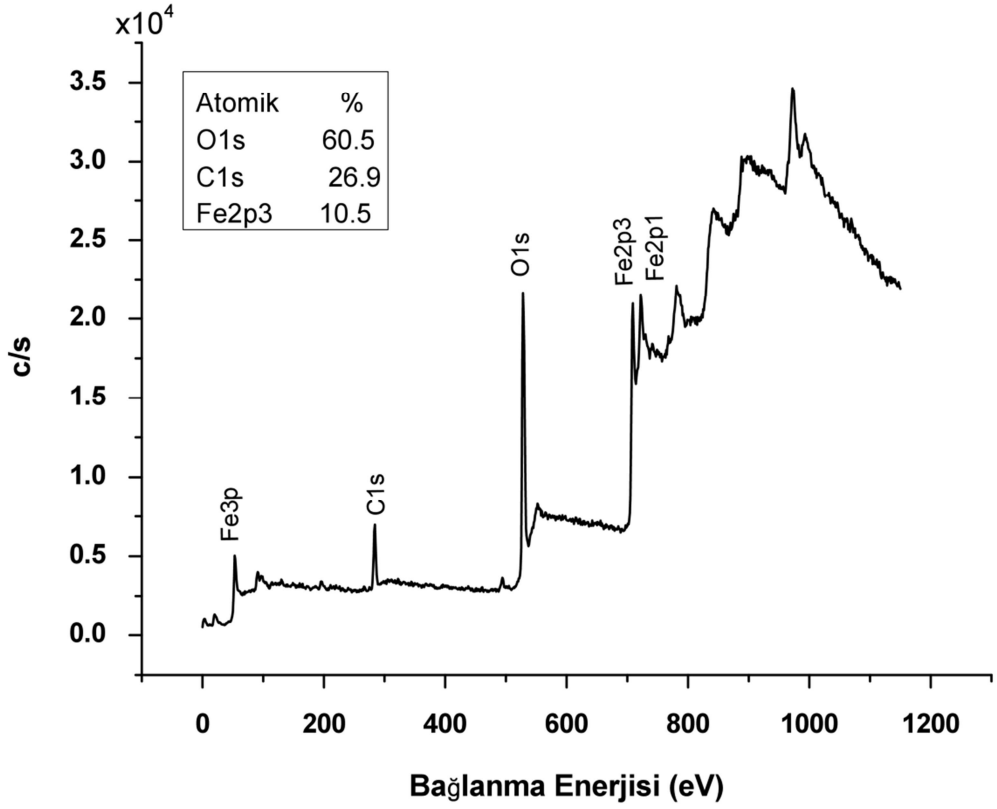
Sentezlenmiş olan bütün nanokompozitlerimiz süperparamanyetik özellik göstermiş olup, VSM ölçüm sonuçlarını gösteren mıknatıslanma eğrilerinden de anlaşıldığı üzere ilaç taşıma çalışmaları için ideal özelliklere sahip olduğu kanıtlanmıştır.

4.1.7. XPS Karakterizasyonları

Fe_3O_4 nanoparçacıkları dekstran ile kaplanıp MD_1 nanokompoziti hazırlanmıştır. MD_1'den çıkarak Şekil 3.14 ve Şekil 3.15'te (materyal metot bölümünde) verilmiş olan bir dizi reaksiyon yapılarak MD_2 ve MD_3 sentezlenmiştir. XPS ile elde edilen genel ve yüksek çözünürlükte spektrumlar karakterize edilip bu spektrumlarda gözlenen kimyasal bağlar yapının aydınlatmasında kullanılmıştır. MD_1 kompozitinin başarılı bir

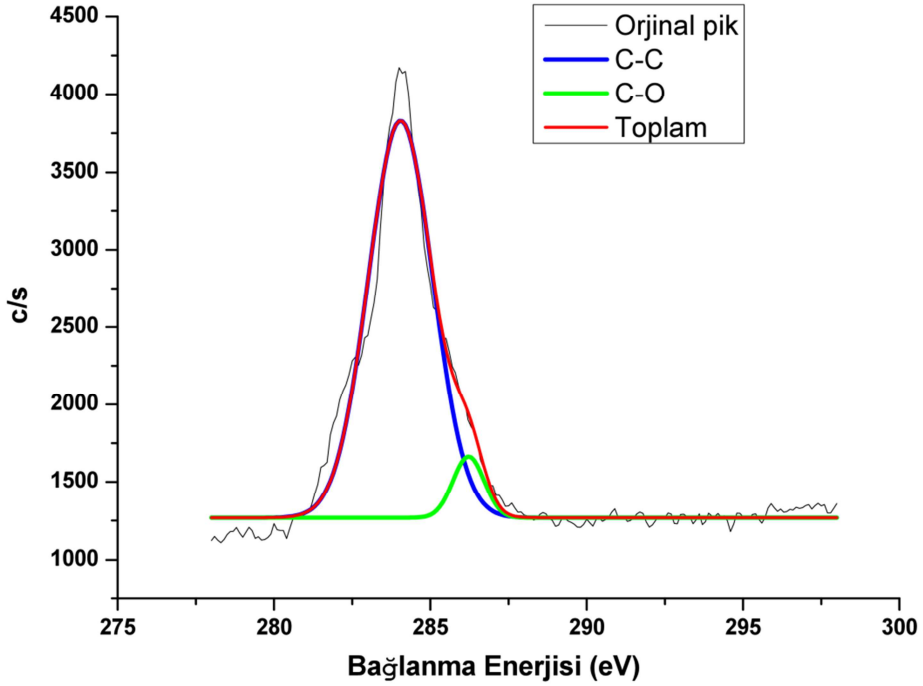
şekilde sentezlendiğini gösteren genel ve yüksek çözünürlükte XPS spektrumları Şekil 4.60, Şekil 4.61, Şekil 4.62 ve Şekil 4.63'te gösterilmiştir.

Şekil 4.60'ta MD_1 nanokompozitinin genel spektrumunda görüldüğü gibi C (1s), O (1s) ve Fe ($2p^3$) atomları sırasıyla %26.9, %60.5 ve %10.5 ağırlıkta bulunmuştur.



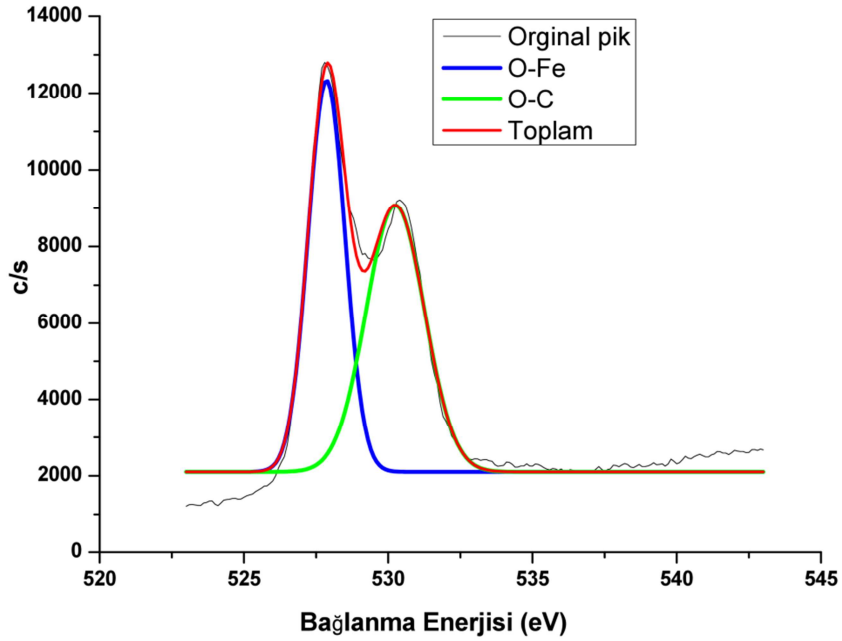
Şekil 4.60. MD_1 nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu

Şekil 4.161'de görüldüğü gibi C (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~284.4 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-C bağlarını, ~286.4 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-O bağlarını göstermiştir (Massia ve Stark 2001, Wang ve ark. 2014, Zhang ve ark. 2016).



Şekil 4.61. MD_1 nanokompozitine ait yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumu

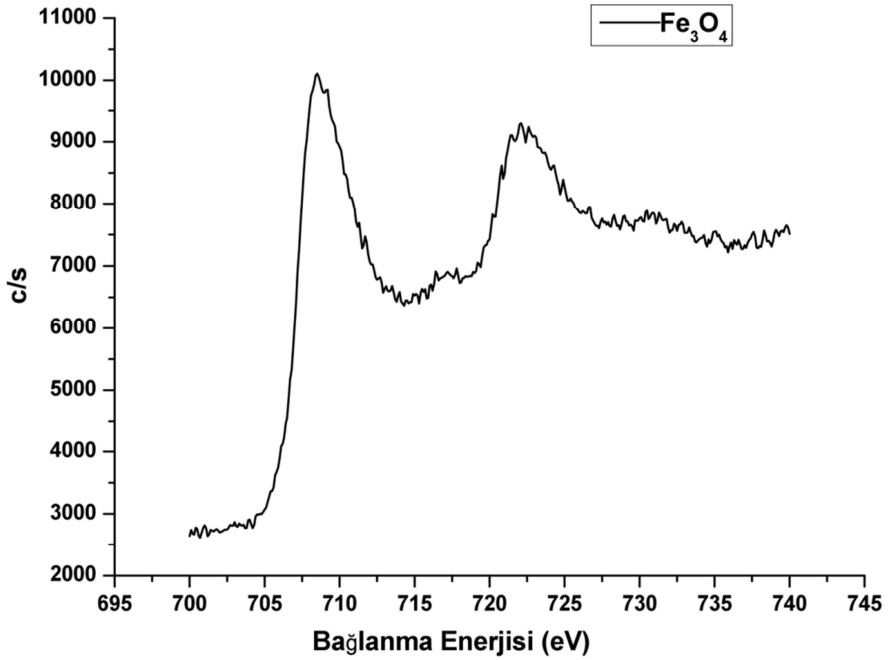
Şekil 4.62'de gösterilen O (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~528.0 eV bağlanma enerjisinde görülen pik O-Fe bağlarını, ~530.5 eV bağlanma enerjisinde görülen pik O-C bağlarını temsil etmiştir (Chellouli ve ark. 2016, Zheng ve ark. 2016).



Şekil 4.62. MD_1 nanokompozitine ait yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu

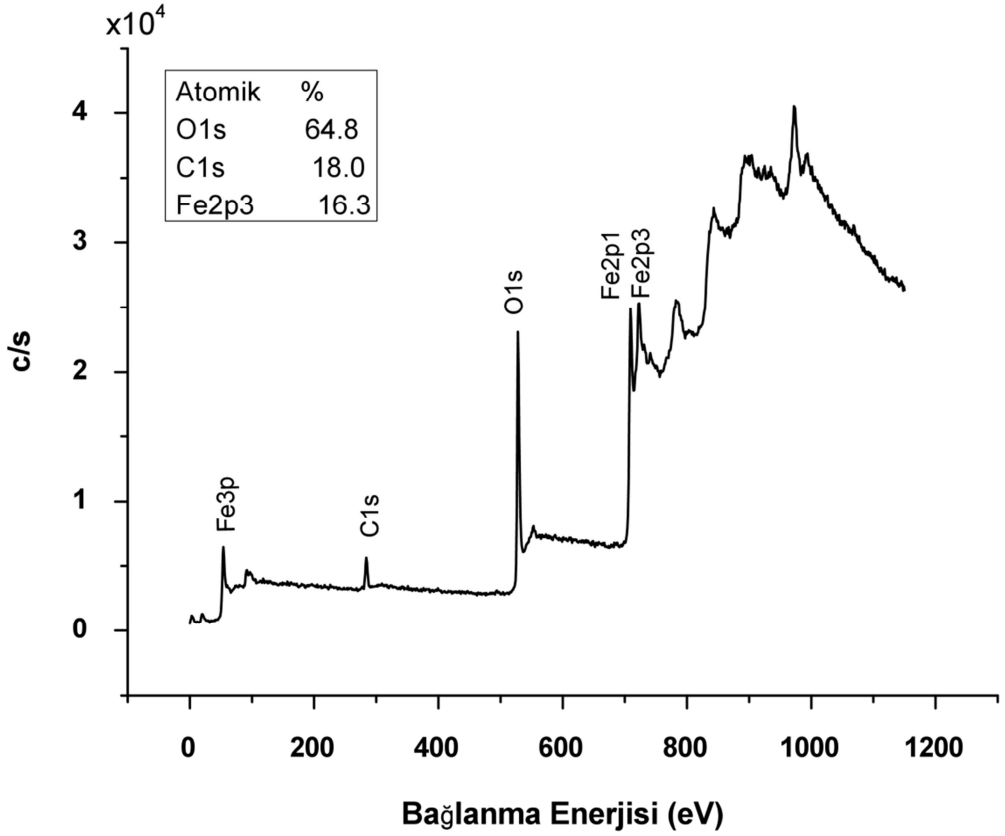
Şekil 4.63'teki gibi Fe'in oksidasyon durumunu belirleyen $2p_{3/2}$ ve $2p_{1/2}$ ait karakteristik pikler sırasıyla yüksek çözünürlük spektrumunda ~709.2 eV ve ~722.8 eV değerinde olduğu görülmüştür. Tipik Fe_3O_4 yapısı için iki pik mevcuttur, bunlardan biri Fe^{2+} iyonunu (FeO) ve diğeri Fe^{3+} iyonunun (Fe_2O_3) varlığını temsil etmiştir. Sonuçlar literatür ile uyum içinde olduğu görülmüştür (Anderson ve ark. 1996, Nath ve ark. 2009, Wu ve ark. 2010, Unsoy ve ark. 2012, Zhang ve ark. 2012, Xing ve ark. 2015, Godo ve ark. 2016).

Sonuç olarak MD_1 nanokompozitinin XPS analiz sonucu, başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermiştir. MD_1 için bulunan sonuçlar FTIR analizi ve EDX sonuçları ile desteklenmiştir.



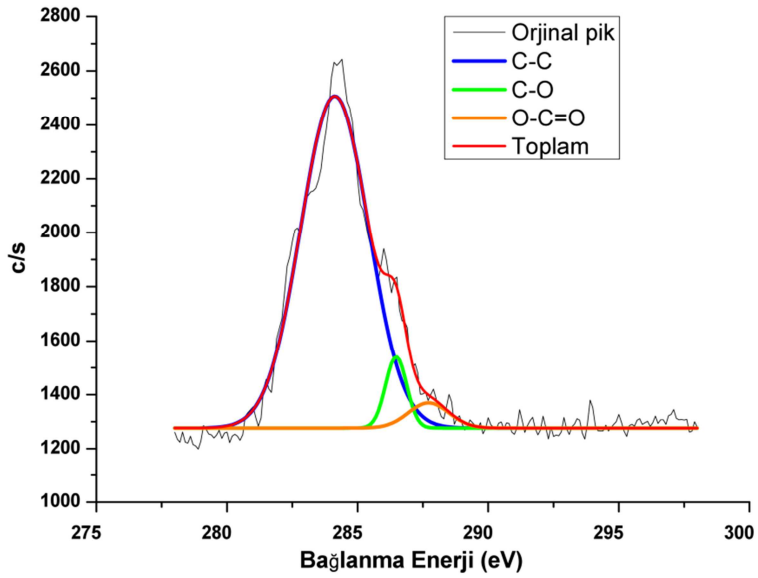
Şekil 4.63. MD_1 nanokompozitine ait yüksek çözünürlükteki Fe 2p spektrumu

MD_2 nanokompozitinin genel ve yüksek çözünürlükteki XPS spektrumları Şekil 4.64, Şekil 4.65, Şekil 4.66 ve Şekil 4.67'de verilmiştir. Şekil 4.64'teki MD_2 nanokompozitinin genel spektrumunda görüldüğü gibi C (1s), O (1s) ve Fe ($2p^3$) atomları sırasıyla %18.0, %64.8 ve %16.3 ağırlıkta bulunmuştur.



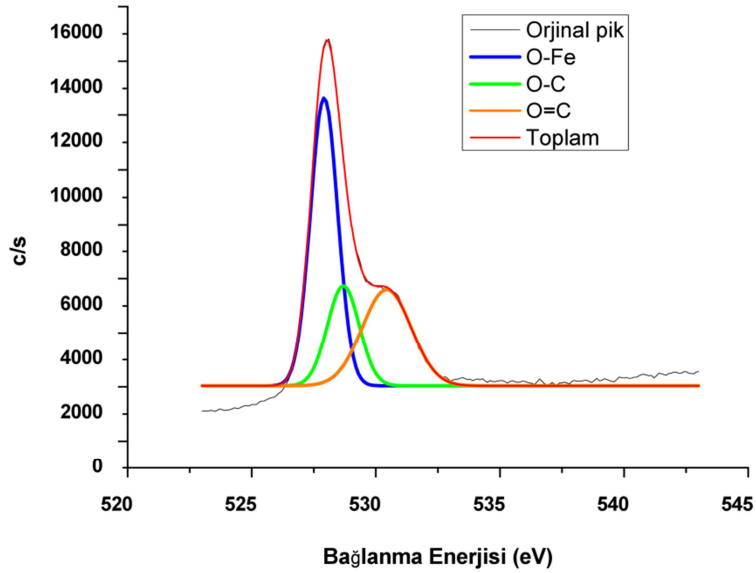
Şekil 4.64. MD_2 nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu

Şekil 4.65'te görüldüğü gibi C (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~284.4 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-C bağlarını, ~286.4 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-O bağlarını ve 288.5 eV bağlanma enerjisinde görülen pik ise O-C=O bağlarına aittir (Wang ve ark. 2014, Zhang ve ark. 2016). MD_1'e ait C (1s) yüksek çözünürlük spektrumu ile karşılaştırıldığında, spektrumda değişimler gözlenmiş olup 288.5 eV bağlanma enerjisindeki O-C=O bağlarının varlığı nanokompozitin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermiştir.



Şekil 4.65. MD_2 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumu

Şekil 4.66'da görüldüğü gibi O (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~528.0 eV bağlanma enerjisinde O-Fe bağlarını, ~530.5 eV bağlanma enerjisinde O-C bağlarını ve ~531.5 eV bağlanma enerjisinde O=C bağları verilmiştir (Chellouli ve ark. 2016, Zheng ve ark. 2016). MD_1'e ait O 1s yüksek çözünürlük spektrumu ile karşılaştırıldığında spektrumun farklılaştığı gözlenmiş olup, 531.5 eV bağlanma enerjisindeki O=C bağları nanokompozitin başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğunu göstermiştir.

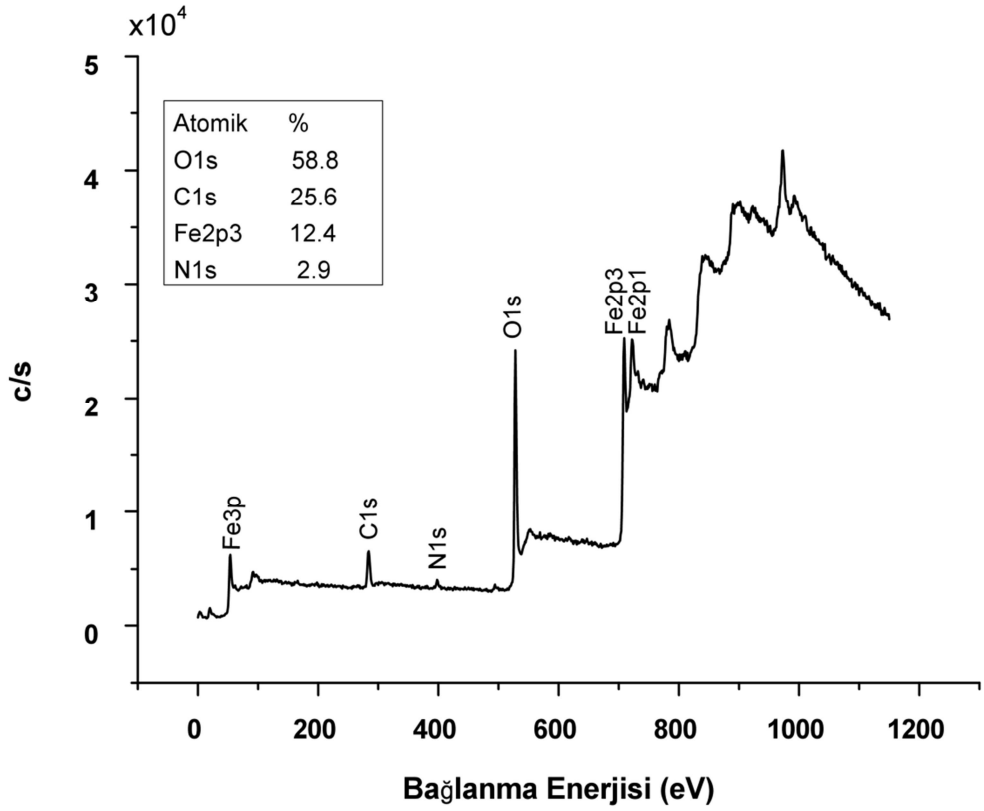


Şekil 4.66. MD_2 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu

Fe (2p) ait yüksek çözünürlük spektrumunda pikler ve pik yerleri MD_1'de şekil 4.63'te verilen spektrum ile özdeş olduğu için burada verilme gereği duyulmamıştır.

MD_3 nanokompozitinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini gösteren genel ve yüksek çözünürlükteki XPS spektrumları Şekil 4.67, Şekil 4.68, Şekil 4.69 ve Şekil 4.70'te verilmiştir.

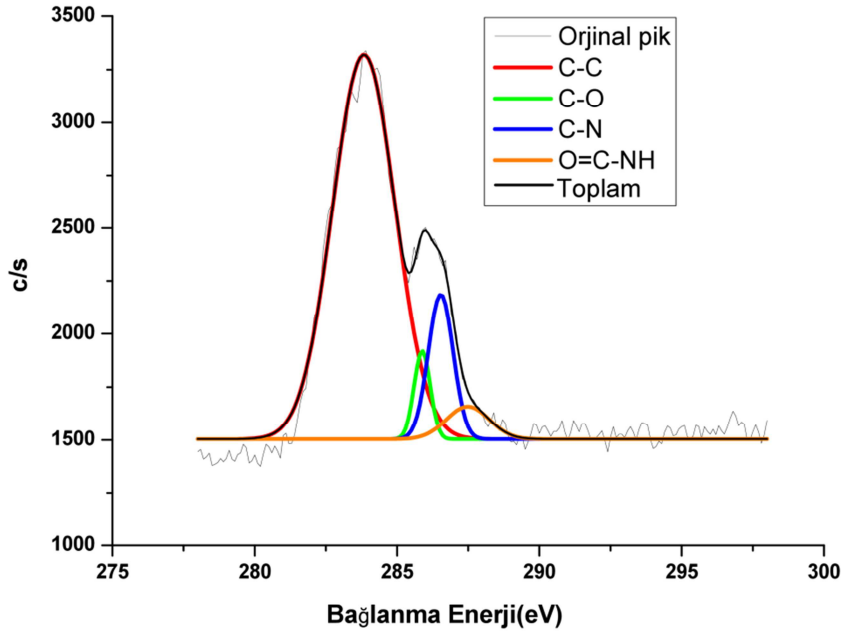
Şekil 4.67'te verilen genel spektrumda görüldüğü gibi MD_3 nanokompozitinde C (1s), O (1s), Fe ($2p^3$) ve N(1s) atomları sırasıyla % 25.6, % 58.8, % 12.4 ve % 2.9 ağırlta bulunmuştur.



Şekil 4.67. MD_3 nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu

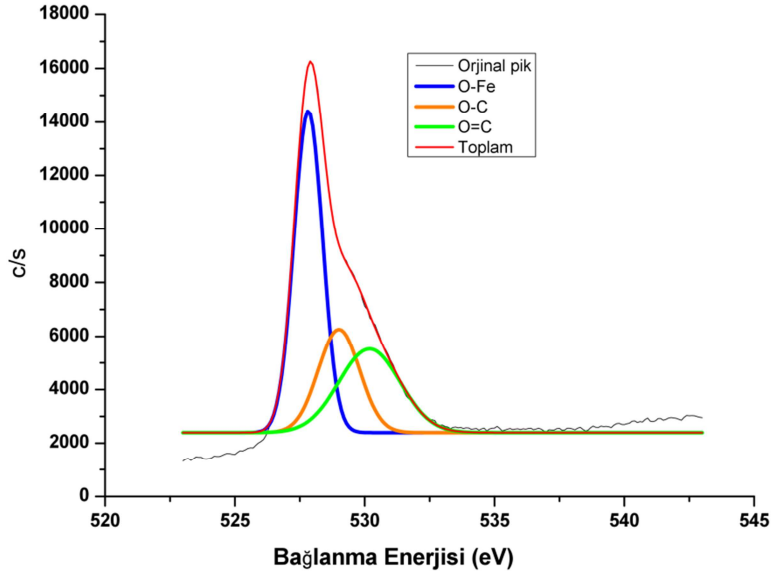
Şekil 4.68'de görüldüğü gibi C (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~284.4 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-C bağlarını, ~286.4 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-O bağlarını, ~287.1 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-N bağlarını ve ~288.7 eV bağlanma enerjisinde görülen pik NH-C=O bağlarını temsil

etmiştir (Wang ve ark. 2014, Zhang ve ark. 2016). MD_3'e ait C 1s yüksek çözünürlük spektrumu MD_2'ye ait C 1s yüksek çözünürlük spektrumu ile karşılaştırıldığında, spektrumda değişmeler meydana geldiği gözlenmiş olup, 287.1 eV bağlanma enerjisindeki C-N piki ile 288.7 eV bağlanma enerjisindeki NH-C=O pikinin varlığı MD_3 nanokompozitinin MD_2 nanokompozitinden başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğunu göstermiştir.



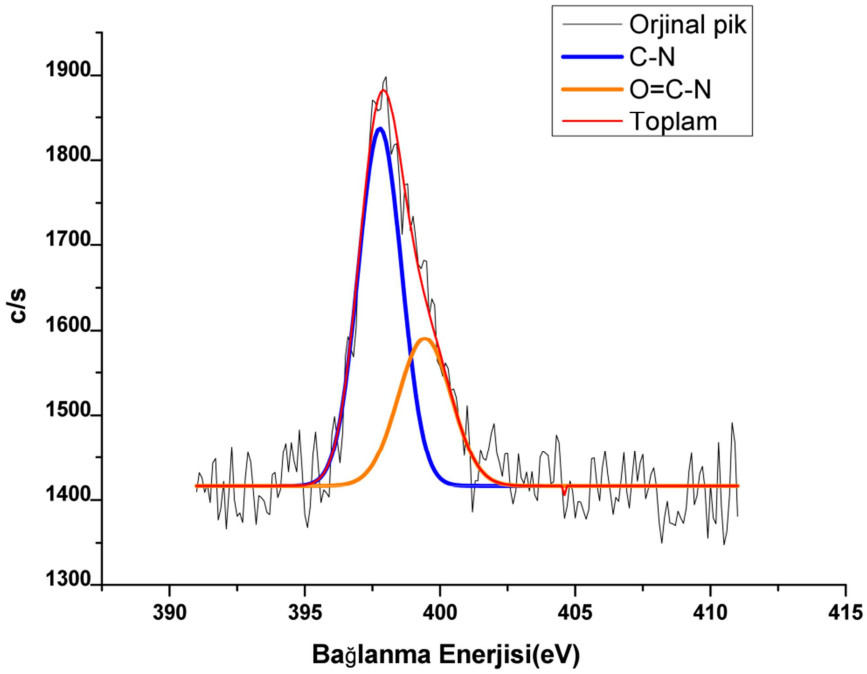
Şekil 4.68. MD_3 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumu

Şekil 4.69'da görüldüğü gibi O (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~528.0 eV bağlanma enerjisinde görülen O-Fe bağları, ~530.5 eV bağlanma enerjisinde görülen O-C bağları ve ~531.5 eV bağlanma enerjisinde görülen O=C bağları gösterilmiştir (Chellouli ve ark. 2016, Zheng ve ark. 2016). MD_2'ye ait O 1s yüksek çözünürlük spektrumu ile karşılaştırıldığında, spektrumda değişimler olduğu gözlene bilmiştir.



Şekil 4.69. MD_3 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu

Şekil 4.70'te görüldüğü gibi N (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~398.1 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-N bağlarını ve ~402 eV bağlanma enerjisinde görülen pik O=C-N bağlarını temsil etmiştir (Zhang ve ark. 2016). Ayrıca MD_2'ye ait genel tarama spektrumunda gözlenmeyip MD_3'e ait genel tarama spektrumunda görülen N 1s piki, MD_3'ün MD_2'den başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğunu kanıtlamıştır.



Şekil 4.70. MD_3 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki N 1s spektrumu

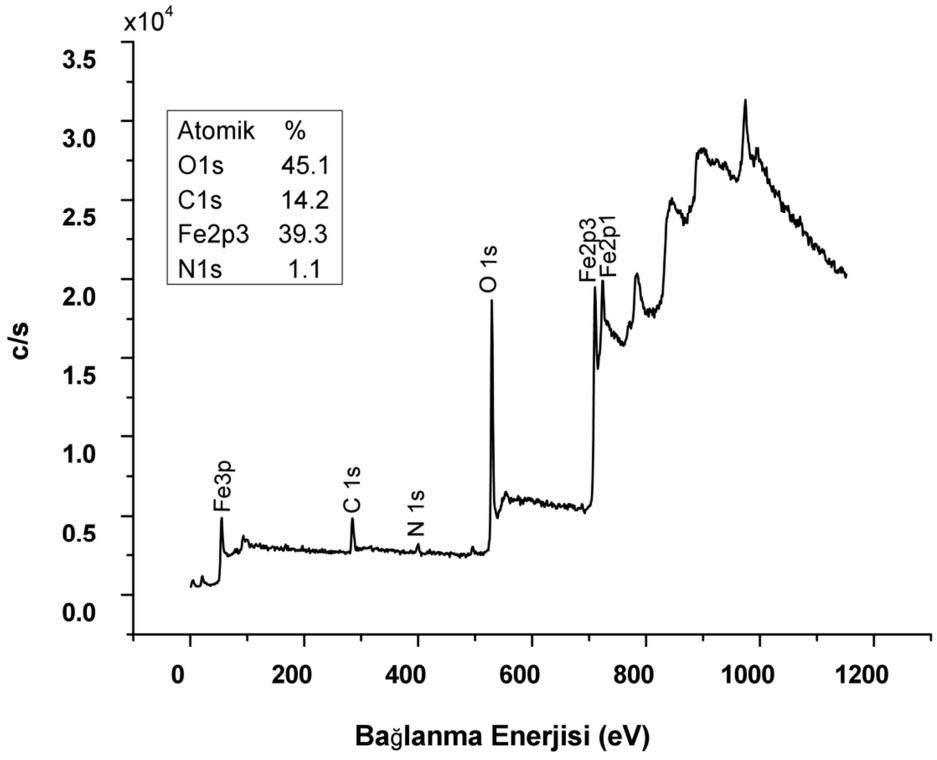
Fe (2p) ait yüksek çözünürlük spektrumunda pikler ve pik yerleri MD_1'de şekil 4.63'te verilen spektrum ile özdeş olduğu için burada tekrar verilme gereği duyulmamıştır.

XPS analiz sonuçları MD_3 nanokompozitinin başarılı bir şekilde oluştuğunu doğrulamıştır. Ayrıca XPS sonuçlarının FTIR spektrumu ve EDX sonuçları ile uyum içinde olduğu görülmüştür.

Fe_3O_4 nanoparçacıkları Kitosan ile kaplanıp MC_1 nanokompoziti hazırlanmıştır. MC_1'den çıkarak Şekil 3.18'de (materyal metot bölümünde) verilmiş olan bir dizi reaksiyondan sonra MC_2 ve MC_3 sentezlenmiştir.

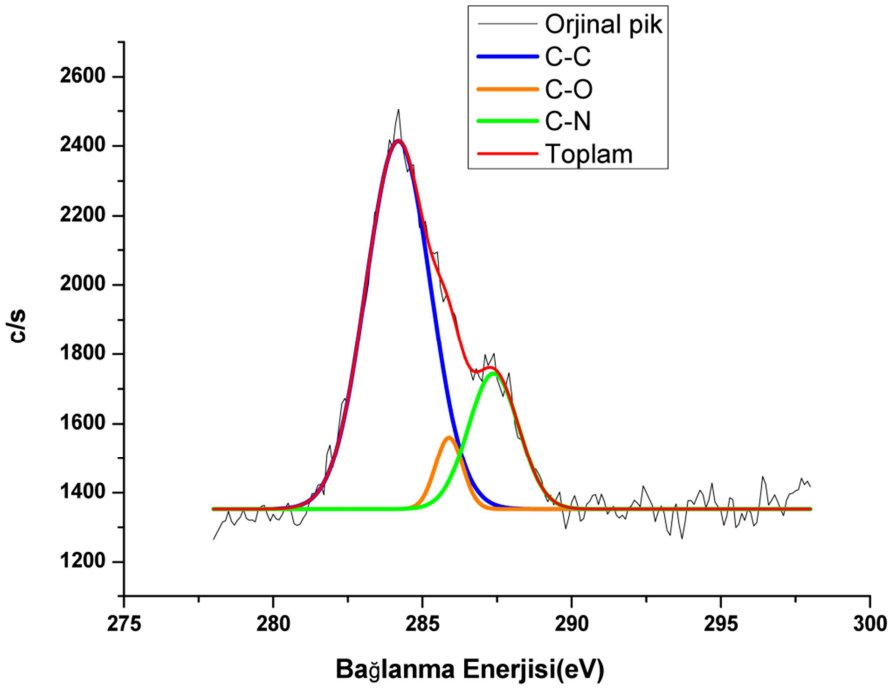
MC_1 nanokompozitinin genel ve yüksek çözünürlükteki XPS spektrumları Şekil 4.71, Şekil 4.72, Şekil 4.73, Şekil 4.74 ve Şekil 4.75'te verilmiştir.

Genel spektrumda görüldüğü gibi MC_1 nanokompozitinde C (1s), O (1s), Fe ($2p^3$) ve N(1s) atomları sırasıyla % 14.2, % 45.1, % 39.3, % 1.1 ağırlıkta olduğu Şekil 4.71'de gösterilmiştir.



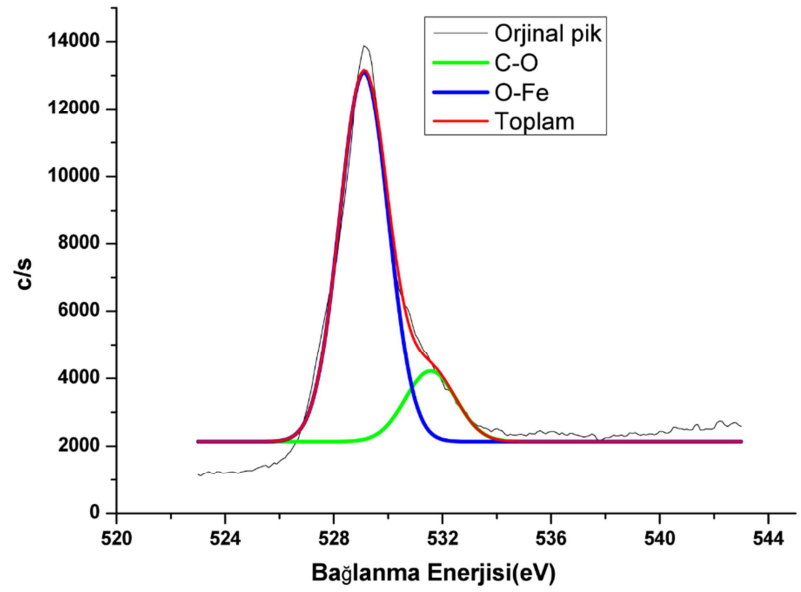
Şekil 4.71. MC_1 nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu

Şekil 4.72'de C (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~284.4 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-C bağlarını, ~286.4 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-O bağlarını ve ~287.1 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-N bağlarını temsil etmiştir (Wang ve ark. 2014, Zhang ve ark. 2016).



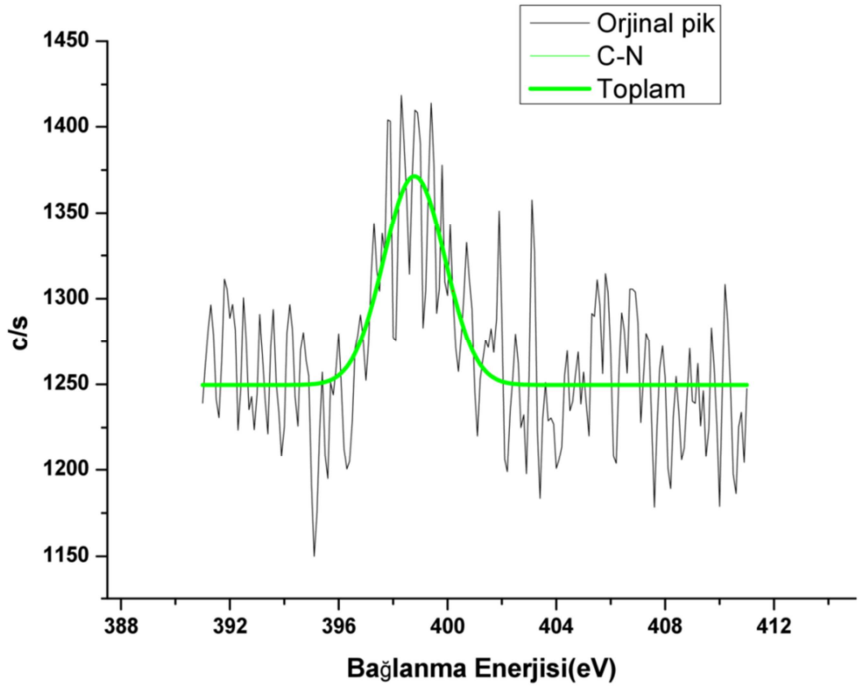
Şekil 4.72. MC_1 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumu

Şekil 4.73'te O (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~528.0 eV bağlanma enerjisinde görülen pik O-Fe bağlarını ve ~530.5 eV bağlanma enerjisinde görülen pik O-C bağlarını göstermiştir (Chellouli ve ark. 2016, Zheng ve ark. 2016).



Şekil 4.73. MC_1 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu

Şekil 4.74'te görüldüğü gibi N (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~398.1 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-N bağını göstermiştir (Zhang ve ark. 2016).

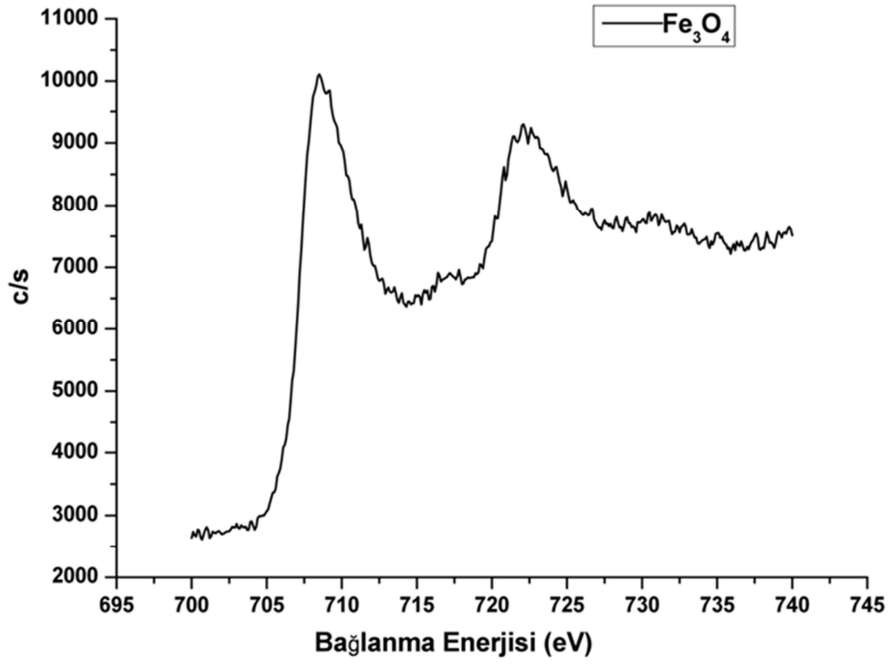


Şekil 4.74. MC_1 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki N 1s spektrum

Şekil 4.75'te Fe'in oksidasyon durumunu belirleyen $2p_{3/2}$ ve $2p_{1/2}$ ait karakteristik pikler yüksek çözünürlük spektrumunda ~709.2 eV ve ~722.8 eV'de olarak görülmüştür. Sonuçlar literatürle uyum içindedir (Anderson ve ark. 1996, Nath

ve ark. 2009, Wu ve ark. 2010, Unsoy ve ark. 2012, Zhang ve ark. 2012, Xing ve ark. 2015, Godo ve ark. 2016).

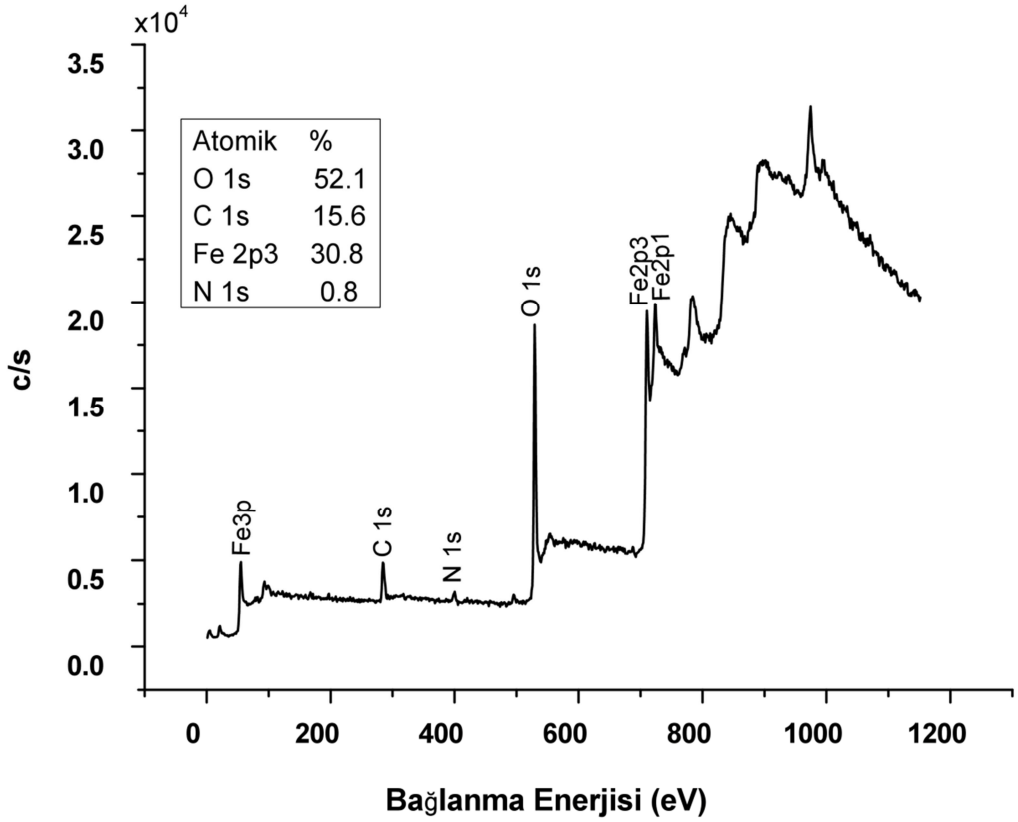
XPS analiz sonuçları ile MC_1 kompozitinin oluştuğu doğrulanmıştır. Ayrıca FTIR spektrumu ve EDX sonuçları ile uyum içinde olduğu görülmüştür.



Şekil 4.75. MC_1 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki Fe 2p spektrumu

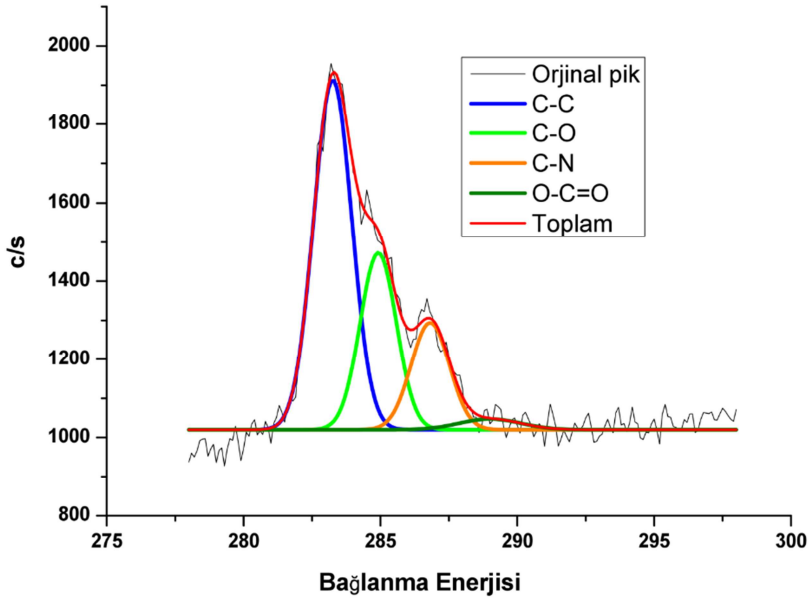
MC_2 kompozitinin başarılı bir şekilde sentezlendiğini gösteren genel ve yüksek çözünürlükteki XPS spektrumları Şekil 4.76, Şekil 4.77, Şekil 4.78 veŞekil 4.79'da verilmiştir.

Şekil 4.76'da verilen genel tarama spektrumunda görüldüğü gibi MC_2 nanokompozitinde C (1s), O (1s), Fe ($2p^3$) ve N(1s) atomları sırasıyla % 15.6, % 52.1, % 30.8 ve % 0.8 ağırlıkta bulunmuştur.



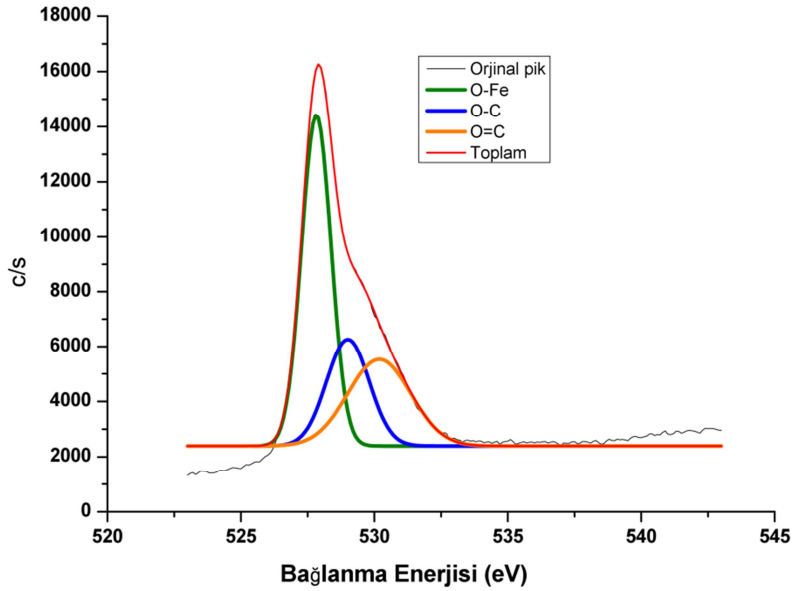
Şekil 4.76. MC_2 nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu

Şekil 4.77'de görüldüğü gibi C (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~284.4 eV bağlanma enerjisindeki pik C-C bağlarını, ~286.4 eV bağlanma enerjisindeki pik C-O bağlarını, ~287.1 eV bağlanma enerjisindeki pik C-N bağlarını ve ~288.5 eV bağlanma enerjisindeki pik O-C=O bağlarını göstermiştir (Wang ve ark. 2014, Zhang ve ark. 2016). MC_2'ye ait C 1s yüksek çözünürlük spektrumu MC_1'e ait C 1s yüksek çözünürlük spektrumu ile karşılaştırıldığında, spektrumda değişimler olduğu gözlenmiş olup, 288.5 eV bağlanma enerjisindeki O-C=O pikinin varlığı MC_1'den MC_2 sentezinin başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğu görülmüştür.



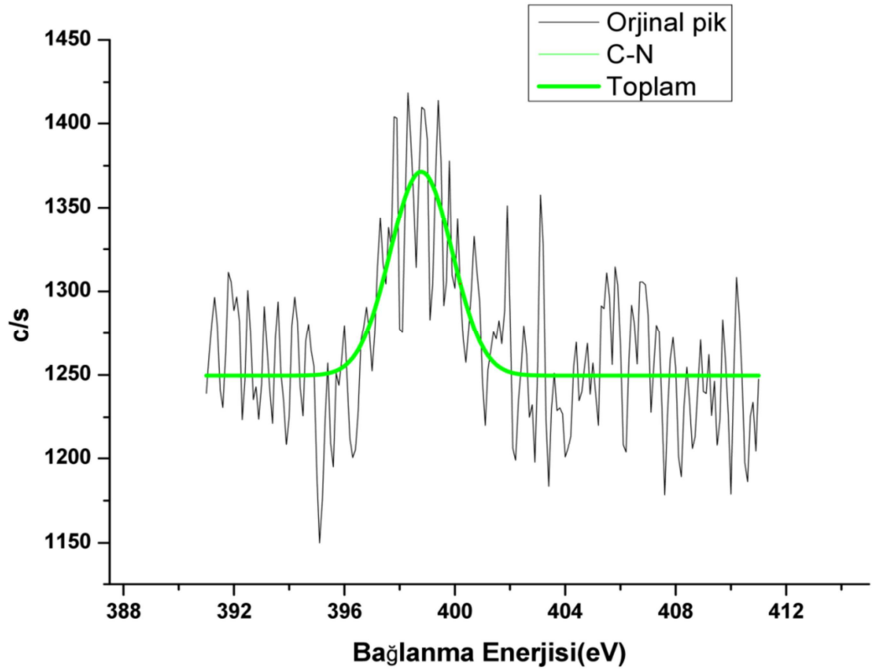
Şekil 4.77. MC_2 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumları

Şekil 4.78'de görüldüğü gibi O (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~528.0 eV bağlanma enerjisinde görülen pik O-Fe bağlarını, ~530.5 eV bağlanma enerjisinde görülen pik O-C bağlarını ve ~531.5 eV bağlanma enerjisinde görülen pik O=C bağlarını temsil etmiştir. Bu spektrum MC_1'e ait O 1s spektrumu ile karşılaştırıldığında değişimler gözlenmiş olup, 531.5 eV bağlanma enerjisinde görülen O=C pikinin varlığı, MC_1'den MC_2 sentezinin başarılı bir şekilde gerçekleşmiş olduğunu göstermiştir (Chellouli ve ark. 2016, Zheng ve ark. 2016).



Şekil 4.78. MC_2 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu

Şekil 4.79'da N (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~398.1 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-N bağlarını varlığını göstermiştir (Zhang ve ark. 2016).



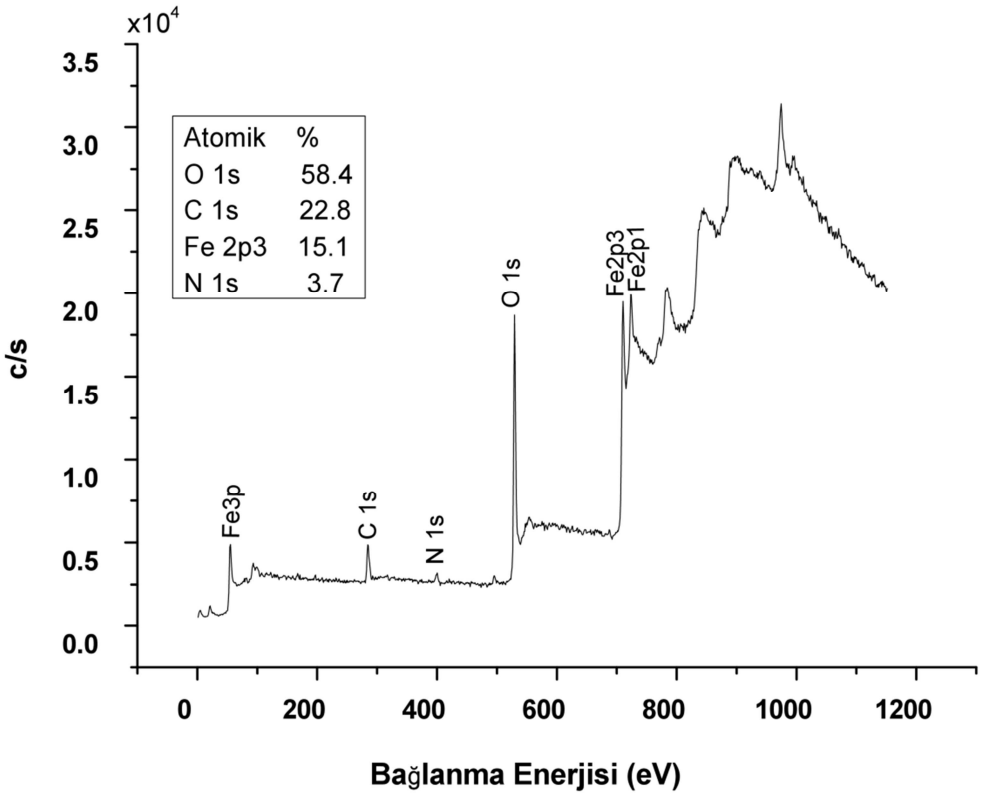
Şekil 4.79. MC_2 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki N 1s spektrumu

Fe'in oksidasyon durumunu gösteren $2p_{3/2}$ ve $2p_{1/2}$ ait karakteristik pikleri belirleyen yüksek çözünürlük spektrum, Şekil 4.75'te MC_1 kompozitinin karakterizasyonunda verilen XPS spektrumu ile aynı niteliği taşıdığından burada ayrıca gösterilmeye gerek duyulmamıştır.

XPS analiz sonuçları MC_2 nanokompozitinin oluştuğunu göstermiş olup FTIR spektrumu ve EDX sonuçları ile uyum içinde olduğu kanıtlanmıştır.

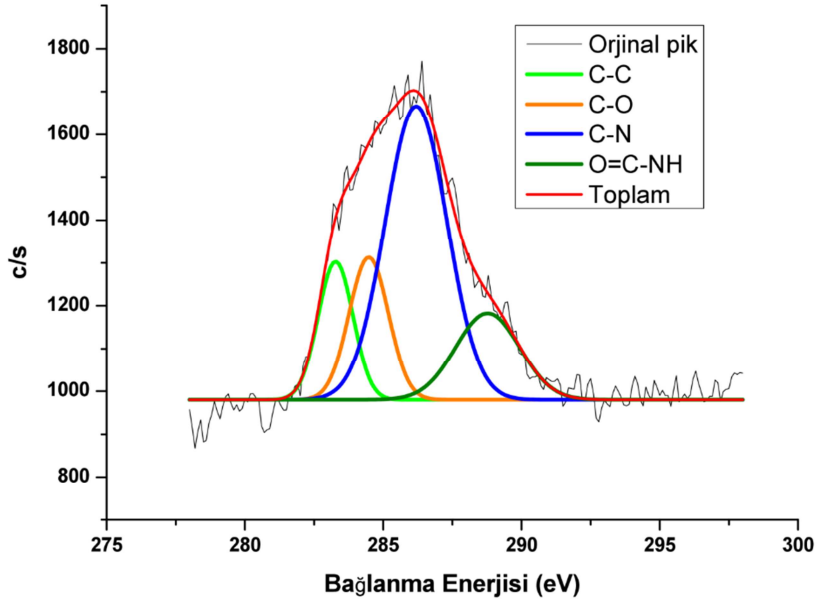
MC_3 nanokompozitinin genel ve yüksek çözünürlükteki XPS spektrumları Şekil 4.80, Şekil 4.81, Şekil 4.82 ve Şekil 4.83'te verilmiştir.

Şekil 4.80'de verilen genel tarama spektrumda görüldüğü gibi MC_3 kompozitinde C (1s), O (1s), Fe ($2p^3$) ve N(1s) atomları sırasıyla % 22.8, % 58.4, % 15.1 ve % 3.7 ağırlıkta bulunmuştur.



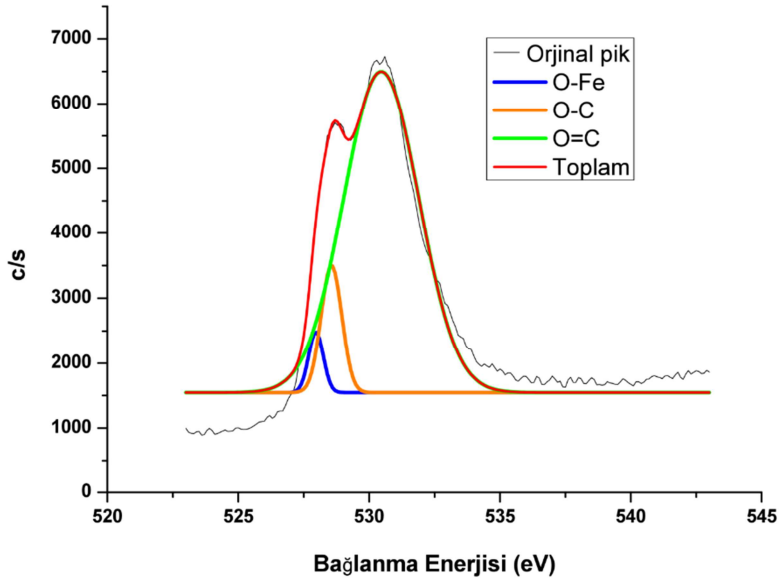
Şekil 4.80. MC_3 nanokompoziti için XPS genel tarama spektrumu

Şekil 4.81'de C (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~284.4 eV bağlanma enerjisindeki pik C-C bağlarını, ~286.4 eV bağlanma enerjisindeki pik C-O bağlarını, ~287.1 eV bağlanma enerjisindeki pik C-N bağlarını, ~288.7 eV bağlanma enerjisindeki pik NH-C=O bağlarını göstermiştir (Wang ve ark. 2014, Zhang ve ark. 2016). MC_2'ye ait C 1s yüksek çözünürlük spektrumunda bulunmayıp MC_3'e ait C 1s yüksek çözünürlük spektrumunda bulunan 288.7 eV bağlanma enerjisindeki NH-C=O pikinin varlığı, MC_2 nanokompozitinden MC_3 nanokompozitinin başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğunu göstermiştir.



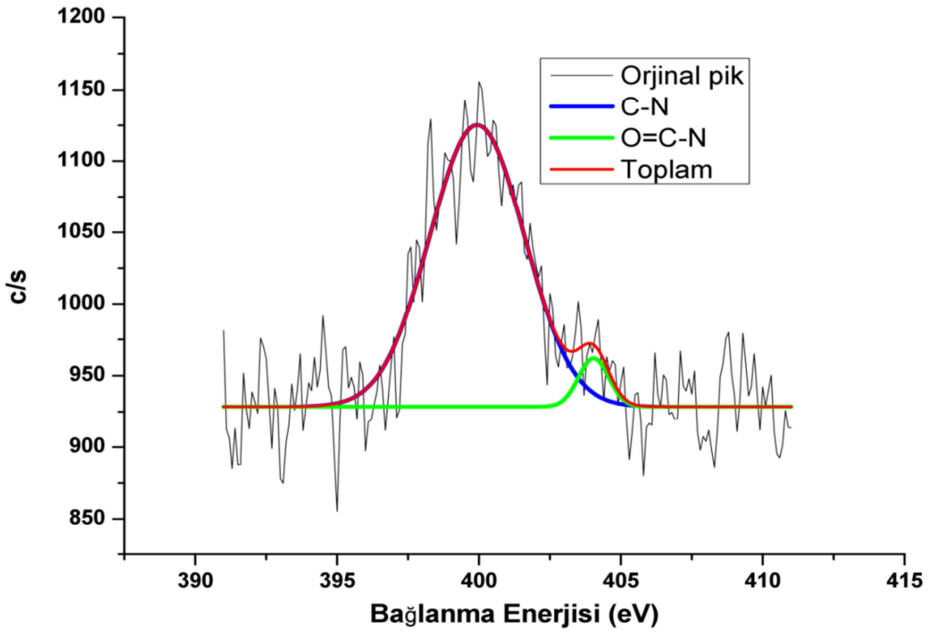
Şekil 4.81. MC_3 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki C 1s spektrumu

Şekil 4.82'de O (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~528.0 eV bağlanma enerjisindeki pik O-Fe bağlarını, ~530.5 eV bağlanma enerjisindeki pik O-C bağlarını ve ~531.5 eV bağlanma enerjisindeki pik O=C bağlarını temsil etmiştir (Chellouli ve ark. 2016, Zheng ve ark. 2016). Ayrıca bu spektrumun, MC_2'ye ait O 1s yüksek çözünürlük spektrumundan farklılık göstermesi MC_3 nanokompozitinin MC_2 nanokompozitinden başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğunun kanıtıdır.



Şekil 4.82. MC_3 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki O 1s spektrumu

Şekil 4.83'te N (1s)'e ait yüksek çözünürlük spektrumunda ~398.1 eV bağlanma enerjisinde görülen pik C-N bağlarını ve ~402 eV bağlanma enerjisinde görülen pik O=C-N bağlarını temsil etmiştir (Zhang ve ark. 2016). Ayrıca bu spektrumda bulunup MC_2'ye ait N 1s yüksek çözünürlük spektrumunda bulunmayan ~402 eV bağlanma enerjisindeki O=C-N bağının varlığı, MC_3 nanokompozitinin MC_2 nanokompozitinden başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğunu göstermiştir.



Şekil 4.83. MC_3 nanokompoziti için yüksek çözünürlükteki N 1s spektrumu

Fe'in oksidasyon durumunu gösteren $2p_{3/2}$ ve $2p_{1/2}$ ait karakteristik pikleri belirleyen yüksek çözünürlük spektrum, Şekil 4.75'te MC_1 kompozitinin karakterizasyonunda verilen XPS spektrumu ile aynı niteliği taşıdığından burada ayrıca gösterilmeye gerek duyulmamıştır.

XPS analiz sonuçları MC_3 kompozitinin oluştuğunu doğrulamıştır. Ayrıca sonuçlar FTIR spektrumu ve EDX sonuçları ile uyum içinde olduğu görülmüştür.

4.1.8. Nanokompozitlere Topotekan Yükleme Çalışmaları

4.1.8.1. Optimum pH Değerinin Belirlenmesi

Aşağıda Tablo 4.1, Tablo 4.3, Tablo 4.5, Tablo 4.7, Tablo 4.9 ve Tablo 4.11'de, her bir nanokompozitten 25 mg alınıp 25 °C, 200 rpm'de 2 mL fosfat tamponu içinde çözünmüş 0.118 mM TPT ile üç farklı pH değerinde (pH 5, 5.5 ve 6) etkileştirilmesi ile süreye bağlı ortamda kalan Lakton ve Karboksilat formlarının sonuçları verilmiştir. Her pH değerinde ve her bir süre için üç tekrar çalışılmış olup, tutunan ortalama ilaç konsantrasyonu ve standart sapma değerleri verilen tablodalarda belirtilmiştir. Aşağıda Tablo 4.2, Tablo 4.4, Tablo 4.6, Tablo 4.8, Tablo 4.10 ve Tablo 4.12'de ise her bir nanokompozit için üç farklı pH değerinde (pH 5, 5.5 ve 6) ortalama tutunan ilaç konsantrasyonu ile % ilaç yükleme verimi sonuçları verilmiştir. Tutunan % ilaç yükleme verimi materyal ve metot bölümünde verilen formül (1)'e göre hesaplanmıştır. Buna göre, pH arttıkça tutunan konsantrasyon artmıştır ancak pH artışı ile birlikte ortamda kalan karboksilat formda da artış görülmüştür. Yani tutunan ilaç konsantrasyonu sadece lakton form olmayıp, bir miktar karboksilat form da tutunmuştur. Karboksilat formun sağlıklı hücreler üzerine de toksik etkisinin olması istenmeyen bir durumdur. Dolayısıyla bu çalışma için optimum pH değeri 5 olarak belirlenmiştir. Ayrıca etkileşim süresinin artmış olması da ortamdaki karboksilat konsantrasyonunu arttırdığı için etkileşim süresi için ilk 30 saniye dikkate alınmıştır. Topotekan'ın fiziksel etkileşimler sonucu nanokompozitlere yüklendiği düşünüldüğü için kısa süreli etkileşimler bu çalışma için uygun görülmüştür.

Tablo 4.1. MD_1'e topotekan tutunma çalışma sonuçları. a: Ortalama, b: Standart sapma (n=3)

pH	Süre (dk)	Lakton(mM)	Karboksilat(mM)	Tutunan(mM)[a]	Std.[b]	Tutunan(mg/g)
5	0.5	0.0559	0	0.0621	± 0.0012	2.27
	1	0.0543	0.0004	0.0633	± 0.0014	2.32
	2	0.0536	0.0009	0.0635	± 0.0014	2.33
	3	0.0522	0.0019	0.0639	± 0.0011	2.34
	4	0.0508	0.0028	0.0644	± 0.0013	2.36
	5	0.0485	0.0043	0.0652	± 0.0012	2.39
5.5	0.5	0.0495	0	0.0685	± 0.0016	2.51
	1	0.0470	0.0029	0.0681	± 0.0014	2.49
	2	0.0450	0.0041	0.0689	± 0.0014	2.52
	3	0.0432	0.0051	0.0697	± 0.0014	2.55
	4	0.0413	0.0063	0.0704	± 0.0017	2.58
	5	0.0331	0.0102	0.0747	± 0.0015	2.74
6	0.5	0.0401	0	0.0779	± 0.0015	2.85
	1	0.0388	0.0155	0.0637	± 0.0017	2.33
	2	0.0393	0.0174	0.0613	± 0.0020	2.24
	3	0.0397	0.0189	0.0594	± 0.0018	2.18
	4	0.0388	0.0204	0.0588	± 0.0017	2.15
	5	0.0384	0.0214	0.0582	± 0.0014	2.13

Tablo 4.2. MD_1 nanokompozitine tutunan ilaç konsantrasyonu ve % ilaç yükleme verimi

Nanokompozit	pH	Tutunan Ortalama İlaç (mM)	% İlaç Yükleme Verimi
MD_1	5	0.0637	54.6
MD_1	5.5	0.0701	59.4
MD_1	6	0.0632	53.6

Tablo 4.3. MD_2'ye topotekan tutunma çalışma sonuçları. a: Ortalama, b: Standart sapma (n=3)

pH	Süre (dk)	Lakton(mM)	Karboksilat(mM)	Tutunan(mM)[a]	Std.[b]	Tutunan (mg/g)
5	0.5	0.0739	0	0.0441	± 0.0014	1.61
	1	0.0723	0.0051	0.0406	± 0.0015	1.49
	2	0.0718	0.0048	0.0414	± 0.0013	1.52
	3	0.0709	0.0048	0.0423	± 0.0014	1.55
	4	0.0695	0.0049	0.0436	± 0.0016	1.60
	5	0.0687	0.0052	0.0442	± 0.0014	1.62
5.5	0.5	0.0748	0	0.0432	± 0.0016	1.58
	1	0.0740	0.0068	0.0373	± 0.0016	1.37
	2	0.0716	0.0069	0.0395	± 0.0015	1.45
	3	0.0637	0.0072	0.0472	± 0.0013	1.73
	4	0.0623	0.0073	0.0484	± 0.0012	1.77
	5	0.0603	0.0074	0.0503	± 0.0014	1.84
6	0.5	0.0590	0.0130	0.0460	± 0.0013	1.69
	1	0.0550	0.0150	0.0480	± 0.0011	1.76
	2	0.0550	0.0170	0.0460	± 0.0016	1.69
	3	0.0550	0.0180	0.0450	± 0.0014	1.65
	4	0.0560	0.0250	0.0370	± 0.0012	1.36
	5	0.0540	0.0275	0.0365	± 0.0015	1.34

Tablo 4.4. MD_2 nanokompozitine Tutunan ilaç konsantrasyonu ve % ilaç yükleme verimi

Nanokompozit	pH	Tutunan Ortalama İlaç (mM)	% İlaç Yükleme Verimi
MD_2	5	0.0427	36.2
MD_2	5.5	0.0443	37.6
MD_2	6	0.0370	31.3

Tablo 4.5. MD_3'e topotekan tutunma çalışma sonuçları. a: Ortalama, b: Standart sapma (n=3)

pH	Süre (dk)	Lakton(mM)	Karboksilat(mM)	Tutunan(mM)[a]	Std.[b]	Tutunan (mg/g)
5	0.5	0.0788	0	0.0392	± 0.0016	1.44
	1	0.0768	0.0047	0.0365	± 0.0012	1.34
	2	0.0751	0.0049	0.0379	± 0.0014	1.39
	3	0.0738	0.0052	0.0390	± 0.0011	1.43
	4	0.0723	0.0059	0.0398	± 0.0012	1.46
	5	0.0704	0.0062	0.0414	± 0.0015	1.52
5.5	0.5	0.0659	0	0.0521	± 0.0015	1.91
	1	0.0636	0.0065	0.0479	± 0.0014	1.75
	2	0.0617	0.0067	0.0496	± 0.0016	1.82
	3	0.0594	0.0071	0.0515	± 0.0014	1.89
	4	0.0585	0.0074	0.0521	± 0.0016	1.91
	5	0.0570	0.0077	0.0534	± 0.0016	1.96
6	0.5	0.0498	0	0.0682	± 0.0015	2.50
	1	0.0467	0.0089	0.0624	± 0.0015	2.29
	2	0.0423	0.0094	0.0663	± 0.0014	2.43
	3	0.0389	0.0097	0.0694	± 0.0016	2.54
	4	0.0373	0.0117	0.0690	± 0.0015	2.53
	5	0.0362	0.0165	0.0653	± 0.0017	2.39

Tablo 4.6. MD_3 nanokompozitine Tutunan ilaç konsantrasyonu ve % ilaç yükleme verimi

Nanokompozit	pH	Tutunan Ortalama İlaç (mM)	% İlaç Yükleme Verimi
MD_3	5	0.0380	32.2
MD_3	5.5	0.0511	43.3
MD_3	6	0.0668	56.6

Tablo 4.7. MC_1'e topotekan tutunma çalışma sonuçları. a: Ortalama, b: Standart sapma (n=3)

pH	Süre (dk)	Lakton(mM)	Karboksilat(mM)	Tutunan(mM)[a]	Std.[b]	Tutunan (mg/g)
5	0.5	0.0740	0	0.0440	± 0.0012	1.61
	1	0.0720	0.0020	0.0440	± 0.0013	1.61
	2	0.0710	0.0027	0.0443	± 0.0013	1.62
	3	0.0680	0.0047	0.0453	± 0.0015	1.66
	4	0.0610	0.0056	0.0514	± 0.0014	1.88
	5	0.0580	0.0070	0.0530	± 0.0012	1.94
5.5	0.5	0.0700	0	0.0480	± 0.0016	1.76
	1	0.0670	0.0049	0.0461	± 0.0014	1.69
	2	0.0650	0.0056	0.0474	± 0.0017	1.74
	3	0.0620	0.0071	0.0489	± 0.0015	1.79
	4	0.0560	0.0081	0.0539	± 0.0016	1.97
	5	0.0540	0.0087	0.0553	± 0.0014	2.03
6	0.5	0.0350	0	0.0830	± 0.0014	3.04
	1	0.0346	0.0106	0.0728	± 0.0013	2.67
	2	0.0292	0.0134	0.0754	± 0.0016	2.76
	3	0.0284	0.0182	0.0714	± 0.0015	2.62
	4	0.0274	0.0246	0.0660	± 0.0017	2.42
	5	0.0260	0.0269	0.0651	± 0.0016	2.38

Tablo 4.8. MC_1 nanokompozitine Tutunan ilaç konsantrasyonu ve % ilaç yükleme verimi

Nanokompozit	pH	Tutunan Ortalama İlaç (mM)	% İlaç Yükleme Verimi
MC_1	5	0.0470	39.8
MC_1	5.5	0.0500	42.3
MC_1	6	0.0723	62.3

Tablo 4.9. MC_2'ye topotekan tutunma çalışma sonuçları. a: Ortalama, b: Standart sapma (n=3)

pH	Süre (dk)	Lakton(mM)	Karboksilat(mM)	Tutunan(mM)[a]	Std.[b]	Tutunan (mg/g)
5	0.5	0.0695	0	0.0485	± 0.0014	1.78
	1	0.0689	0.0006	0.0485	± 0.0013	1.78
	2	0.0673	0.0027	0.0480	± 0.0015	1.76
	3	0.0636	0.0028	0.0516	± 0.0016	1.89
	4	0.0595	0.0028	0.0557	± 0.0016	2.04
	5	0.0573	0.0029	0.0578	± 0.0012	2.12
5.5	0.5	0.0588	0	0.0592	± 0.0015	2.17
	1	0.0579	0.0041	0.0560	±0.0012	2.05
	2	0.0533	0.0044	0.0603	± 0.0016	2.21
	3	0.0506	0.0050	0.0624	± 0.0013	2.29
	4	0.0491	0.0050	0.0639	± 0.0013	2.34
	5	0.0461	0.0056	0.0663	± 0.0016	2.43
6	0.5	0.0478	0	0.0702	± 0.0013	2.57
	1	0.0470	0.0085	0.0625	± 0.0015	2.29
	2	0.0465	0.0096	0.0620	± 0.0011	2.27
	3	0.0465	0.0115	0.0600	± 0.0012	2.20
	4	0.0455	0.0138	0.0587	± 0.0013	2.15
	5	0.0446	0.0164	0.0570	± 0.0016	2.09

Tablo 4.10. MC_2 nanokompozitine Tutunan ilaç konsantrasyonu ve % ilaç yükleme verimi

Nanokompozit	pH	Tutunan Ortalama İlaç (mM)	% İlaç Yükleme Verimi
MC_2	5	0.0517	43.8
MC_2	5.5	0.0614	52.0
MC_2	6	0.0617	52.3

Tablo 4.11. MC_3'e topotekan tutunma çalışma sonuçları. a: Ortalama, b: Standart sapma (n=3)

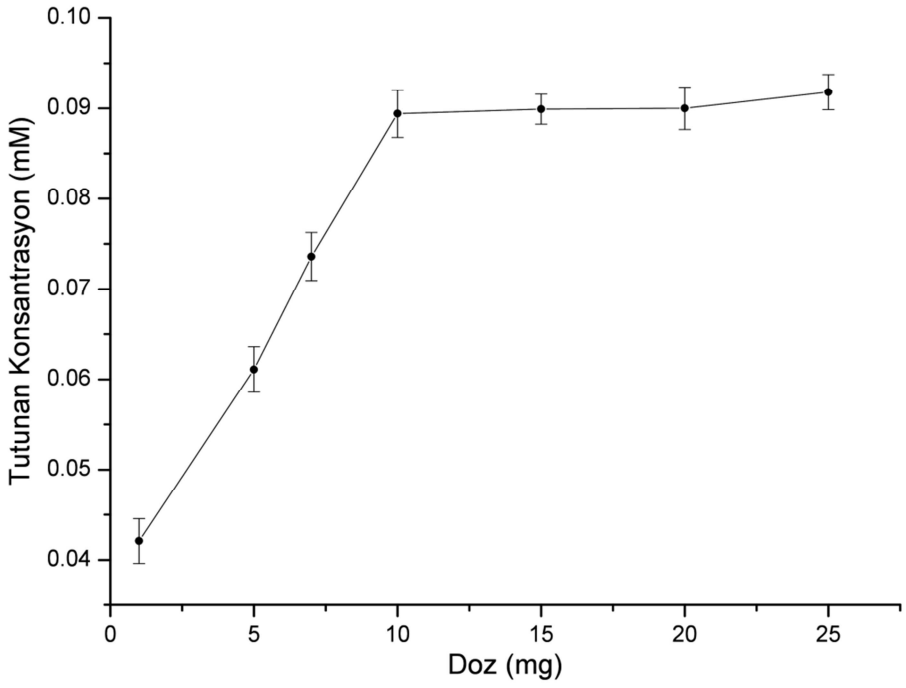
pH	Süre (dk)	Lakton(mM)	Karboksilat(mM)	Tutunan(mM)[a]	Std.[b]	Tutunan (mg/g)
5	0.5	0.0670	0.0004	0.0507	± 0.0014	1.86
	1	0.0651	0.0006	0.0523	± 0.0014	1.92
	2	0.0513	0.0006	0.0661	± 0.0012	2.42
	3	0.0479	0.0009	0.0692	± 0.0015	2.53
	4	0.0460	0.0012	0.0708	± 0.0013	2.59
	5	0.0427	0.0017	0.0736	± 0.0013	2.70
5.5	0.5	0.0450	0	0.0730	± 0.0014	2.67
	1	0.0375	0.0013	0.0792	± 0.0015	2.90
	2	0.0355	0.0014	0.0811	± 0.0013	2.97
	3	0.0338	0.0016	0.0826	± 0.0012	3.03
	4	0.0321	0.0020	0.0839	± 0.0013	3.07
	5	0.0328	0.0020	0.0832	± 0.0016	3.05
6	0.5	0.0349	0	0.0831	± 0.0014	3.04
	1	0.0318	0.0079	0.0783	± 0.0015	2.87
	2	0.0301	0.0093	0.0786	± 0.0015	2.88
	3	0.0276	0.0123	0.0781	± 0.0014	2.86
	4	0.0249	0.0146	0.0785	± 0.0014	2.88
	5	0.0227	0.0158	0.0795	± 0.0013	2.91

Tablo 4.12. MC_3 nanokompozitine Tutunan ilaç konsantrasyonu ve % ilaç yükleme verimi

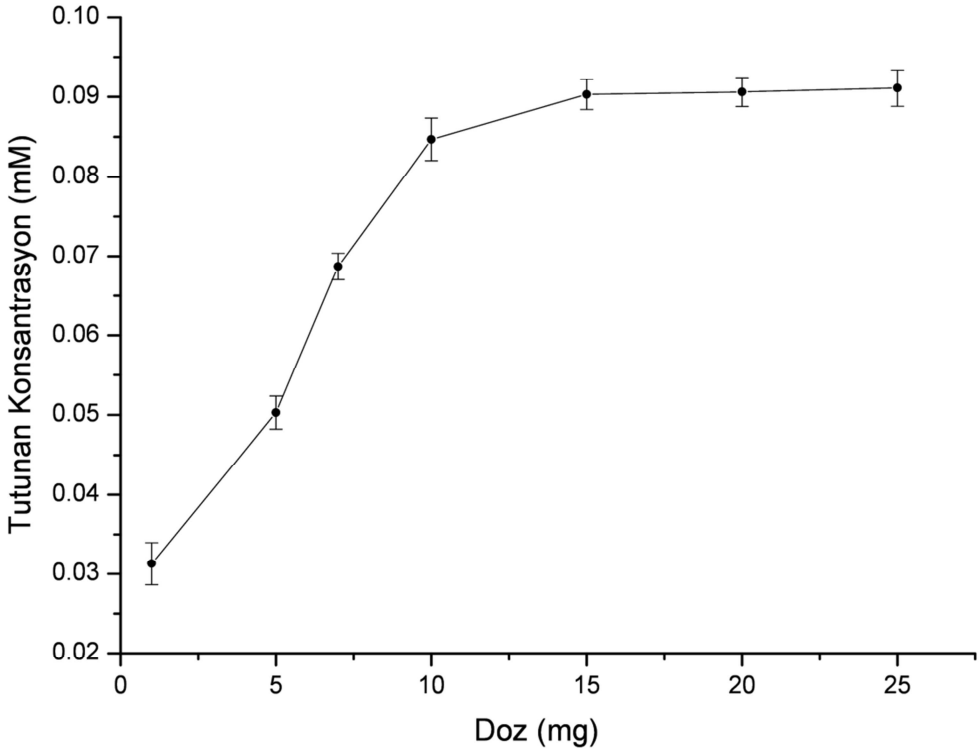
Nanokompozit	pH	Tutunan Ortalama İlaç (mM)	% İlaç Yükleme Verimi
MC_3	5	0.0638	54.1
MC_3	5.5	0.081	68.2
MC_3	6	0.0794	67.2

4.1.8.2. Nanokompozit Doz Belirleme Çalışmaları

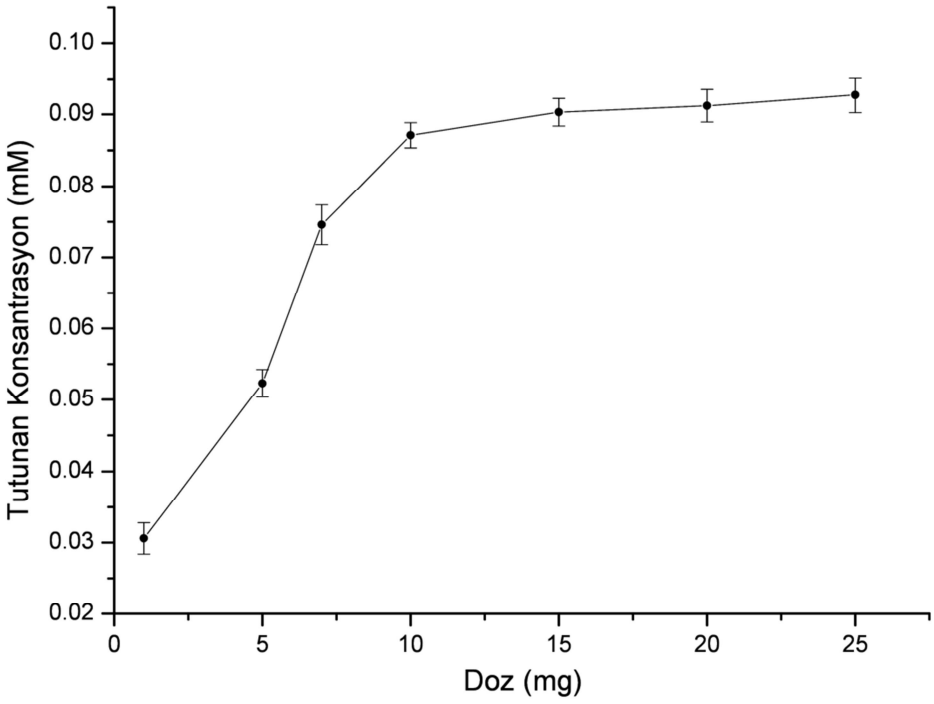
Optimum doz belirleme çalışmalarında her nanokompozitten farklı miktarlarda alınıp 2 mL pH 5 fosfat tamponunda çözünmüş 0.118 mM TPT ile 25 °C, 200 rpm'de etkileştirilmiştir. Her deney üç tekrarlı çalışılmıştır. Şekil 4.85, Şekil 4.86, Şekil 4.87, Şekil 4.88, Şekil 4.89 ve Şekil 4.90'da verilen grafiklerde görüldüğü gibi doz arttıkça tutunan ilaç konsantrasyonu artmıştır. Ancak 25 mg'lık örneklerde yoğun olan süspanse haldeki parçacıkların ve tutunmuş ilacın, hücre içine dağılması sitotoksisite deneylerinde sorun teşkil ettiği görülmüştür. Dolayısıyla optimum miktar belirleme çalışmalarda sitotoksisite deneyleri de göz önünde tutularak 5 mg'lık örneklerin bu çalışma için en uygun miktar olduğu tespit edilmiştir.



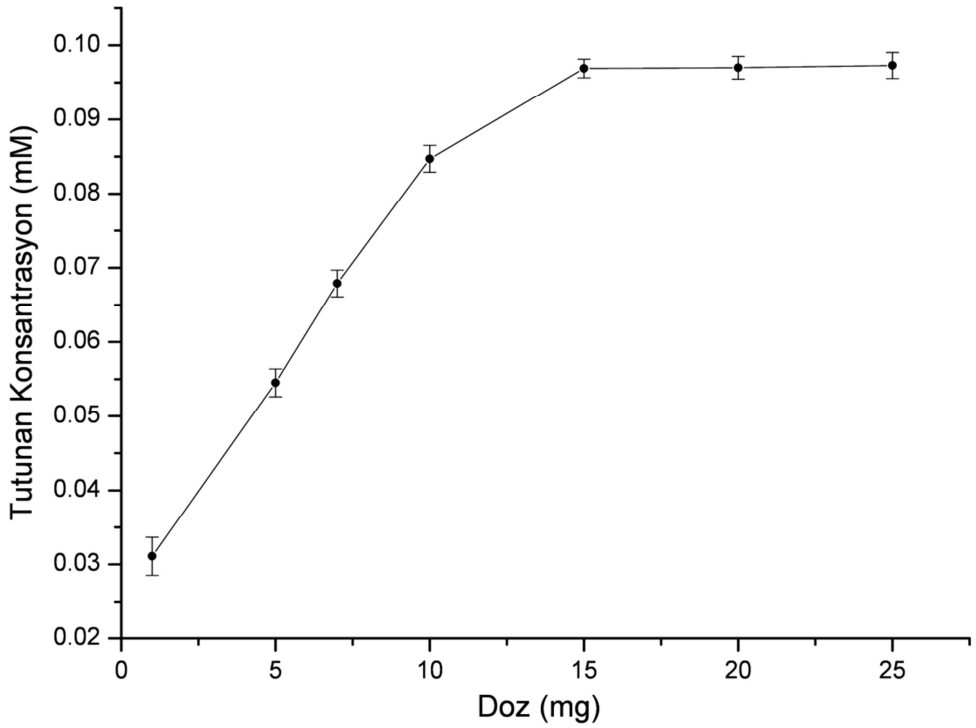
Şekil 4.84. MD_1 nanokompoziti için doza karşı tutunan ilaç konsantrasyonu



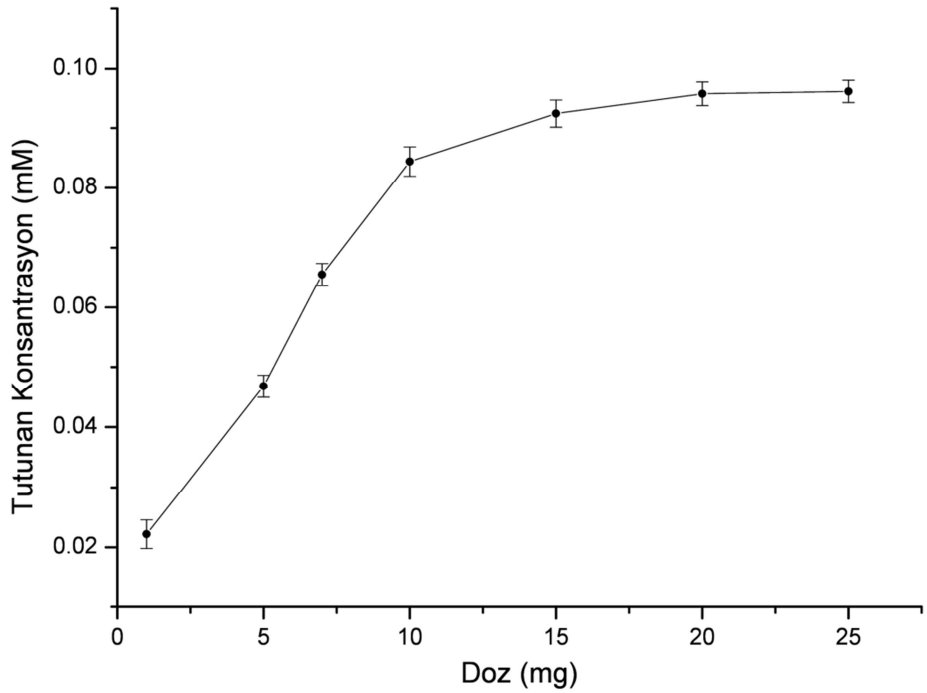
Şekil 4.85. MD_2 nanokompoziti için doza karşı tutunan ilaç konsantrasyonu



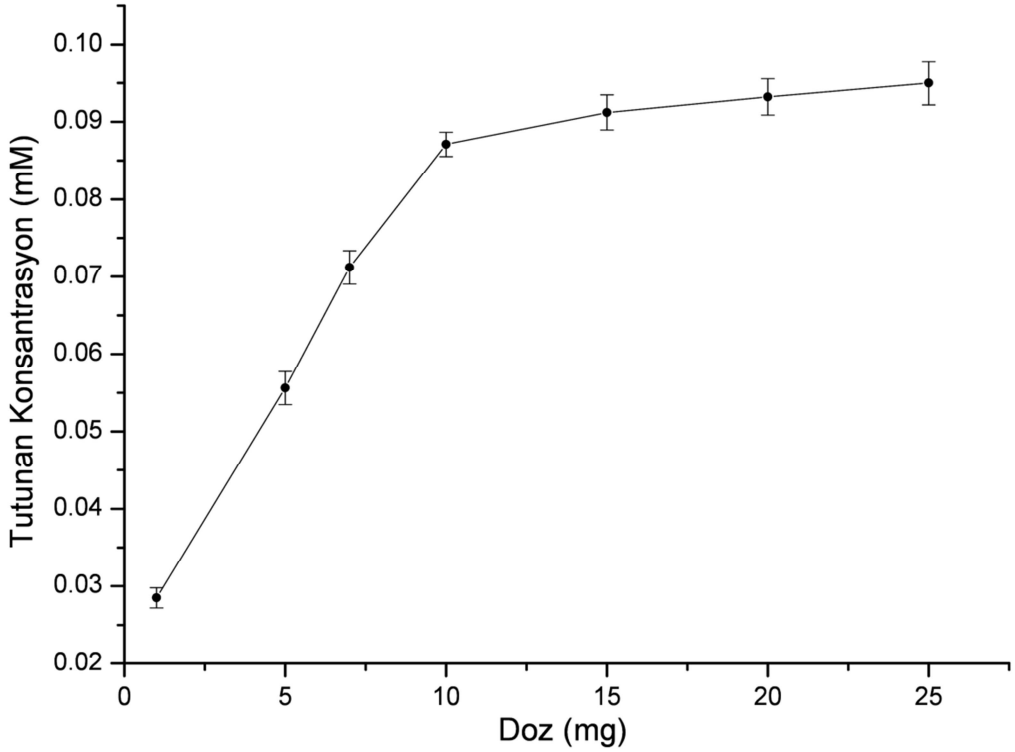
Şekil 4.86. MD_3 nanokompoziti için doza karşı tutunan ilaç konsantrasyonu



Şekil 4.87. MC_1 nanokompoziti için doza karşı tutunan ilaç konsantrasyonu



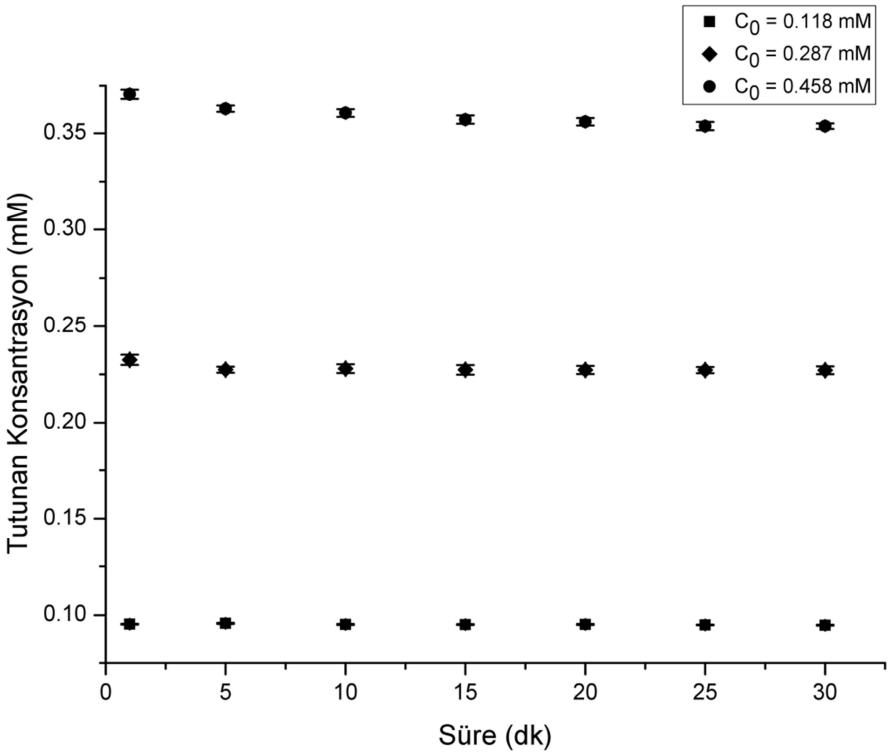
Şekil 4.88. MC_2 nanokompoziti için doza karşı tutunan ilaç konsantrasyonu



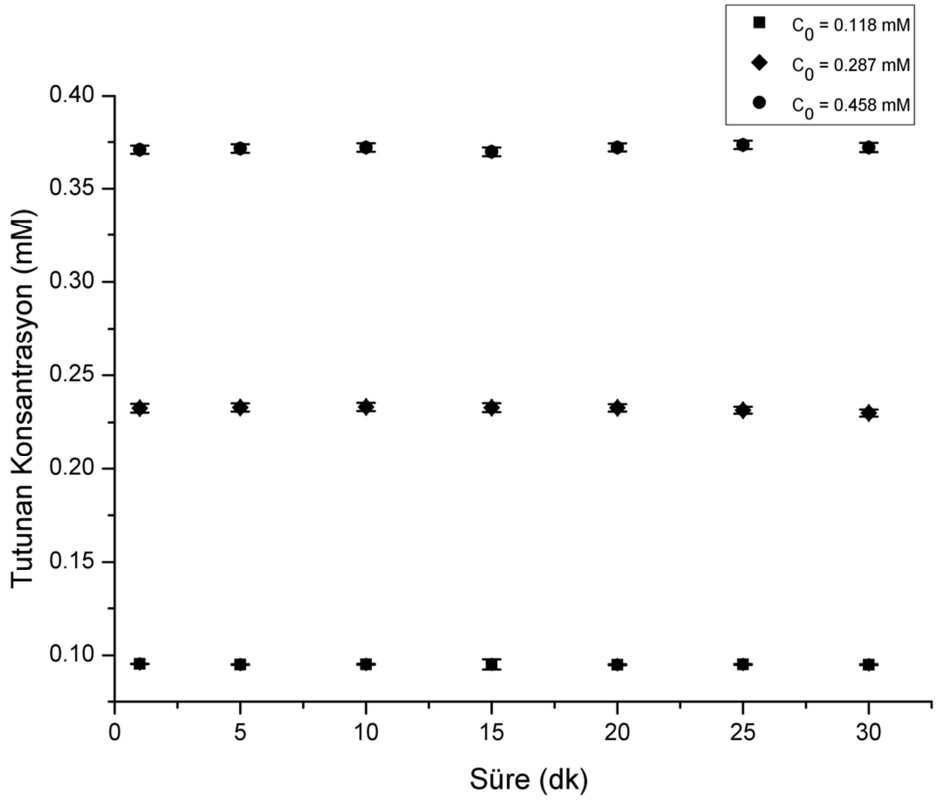
Şekil 4.89. MC_3 nanokompoziti için doza karşı tutunan ilaç konsantrasyonu

4.1.8.3. TPT Konsantrasyonunun İlaç Yükleme Verimi Üzerine Etkisini Belirlemede Yapılan Çalışmanın Sonuçları

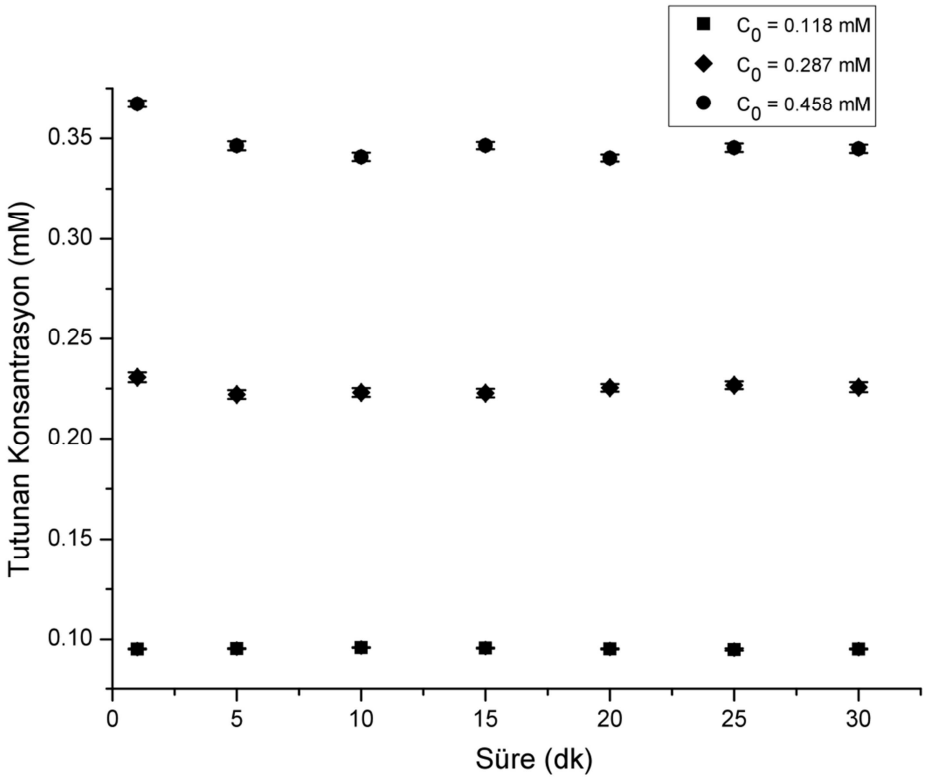
Şekil 4.90, Şekil 4.91, Şekil 4.92, Şekil 4.93, Şekil 4.94 ve Şekil 4.95'te verilen grafiklerde görüldüğü gibi TPT konsantrasyonu arttırıldıkça tutunan ilaç konsantrasyonunun da arttığı görülmüştür. Üç konsantrasyon için her süre üç tekrarlı çalışılmıştır.



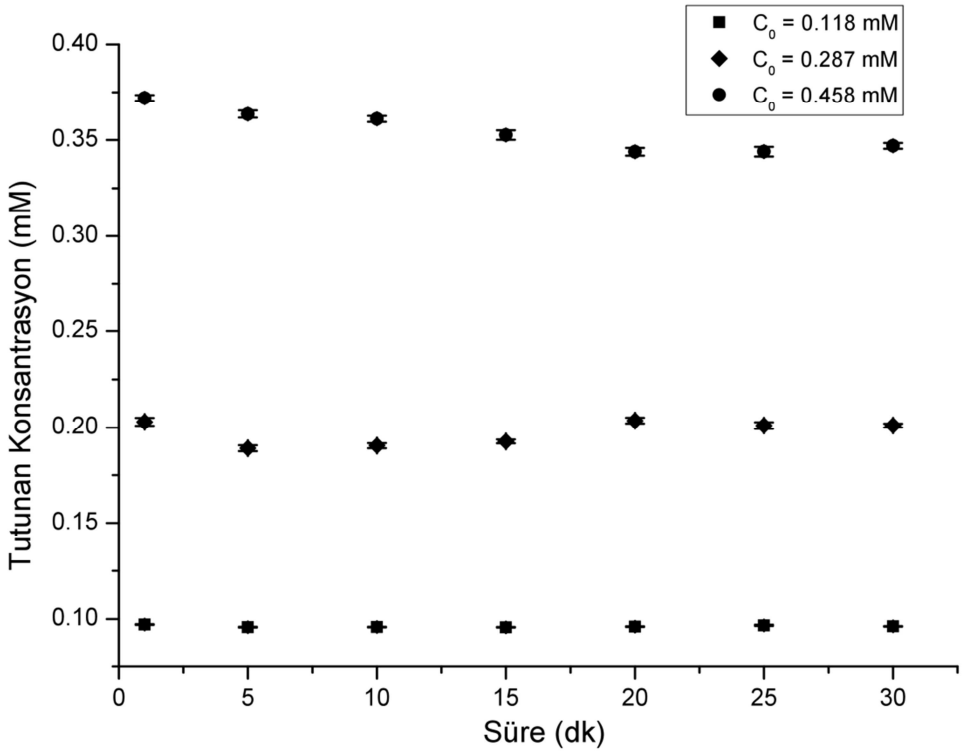
Şekil 4.90. MD_1 nanokompoziti için farklı ilaç konsantrasyonlarında süreye bağlı çalışma



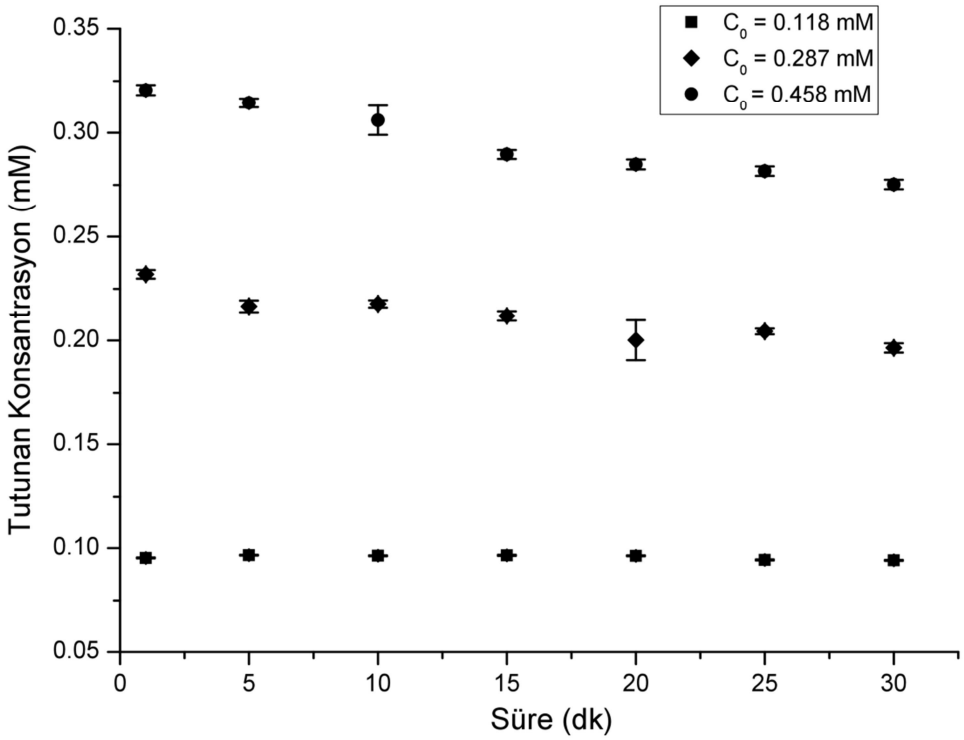
Şekil 4.91. MD_2 nanokompoziti için farklı ilaç konsantrasyonlarında süreye bağlı çalışma



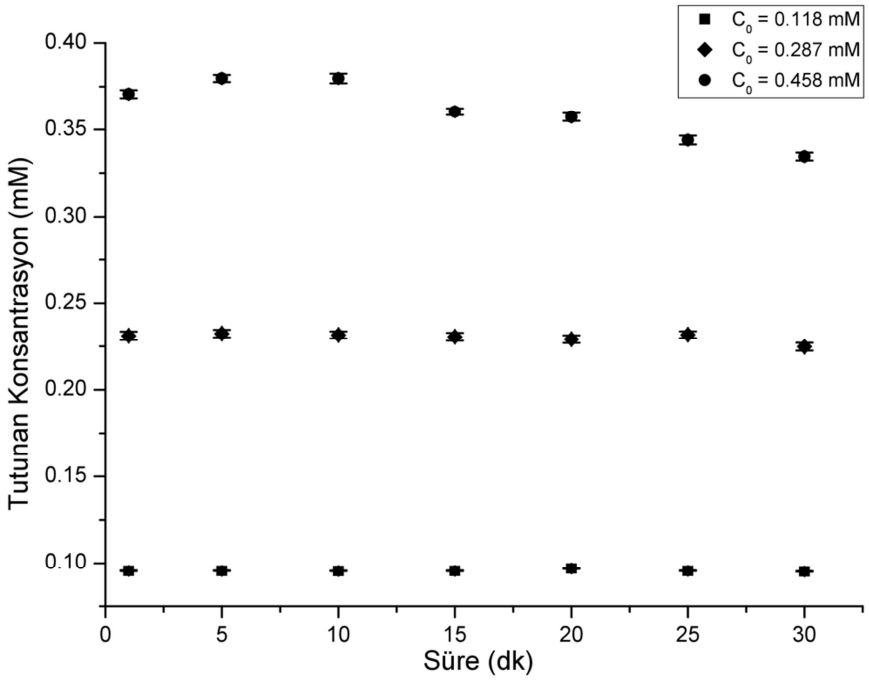
Şekil 4.92. MD_3 nanokompoziti için farklı ilaç konsantrasyonlarında süreye bağlı çalışma



Şekil 4.93. MC_1 nanokompoziti için farklı ilaç konsantrasyonlarında süreye bağlı çalışma



Şekil 4.94. MC_2 nanokompoziti için farklı ilaç konsantrasyonlarında süreye bağlı çalışma



Şekil 4.95. MC_3 nanokompoziti için farklı ilaç konsantrasyonlarında süreye bağlı çalışma

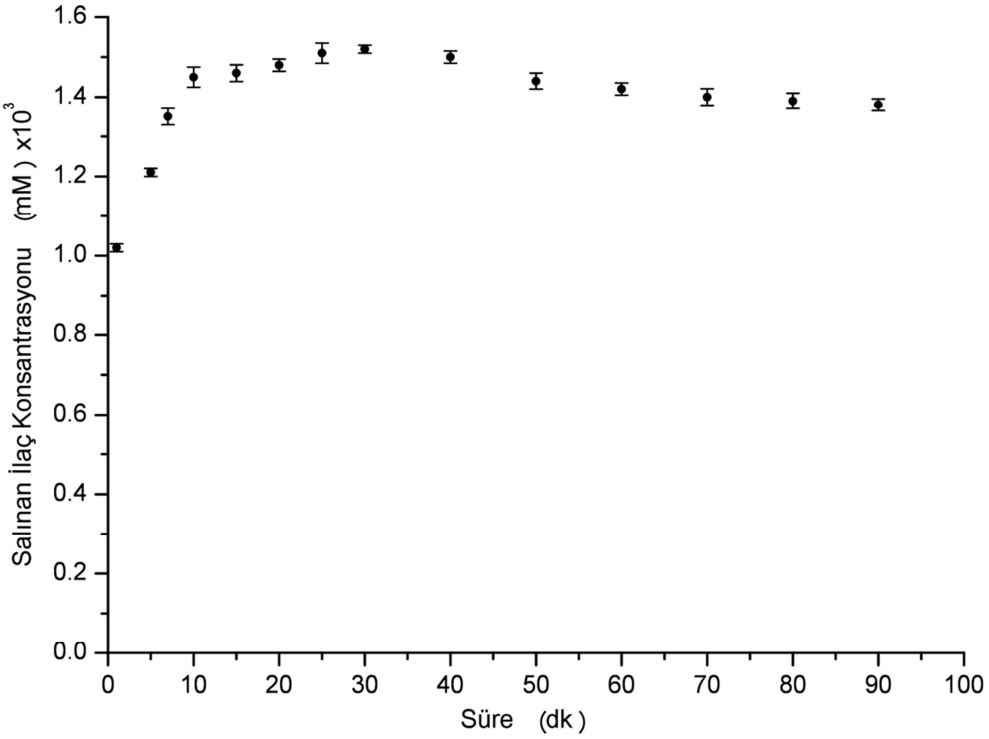
Literatürde TPT ile ilgili sitotoksisite çalışmalarında, genellikle μM veya nM düzeyde ilaç konsantrasyonu ile çalışıldığı tespit edilmiştir (Aljuffali ve ark. 2011,

Hörmann ve ark. 2012). Dolayısıyla bu çalışma için 0.118 mM konsantrasyon değerinin uygun olduğu görülmüştür.

4.1.8.4. İlaç Salınım Çalışmalarının Sonuçları

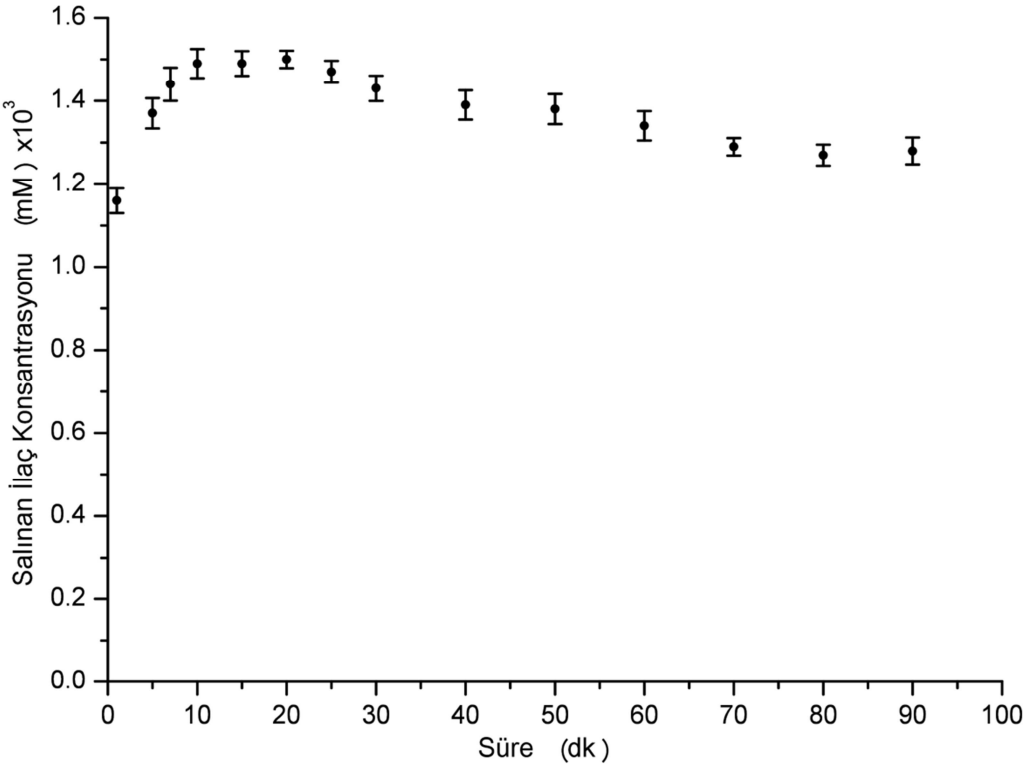
25 mg'lık altı farklı nanokompozit ile fosfat tamponu içinde, vücut sıcaklığında farklı pH değerlerinde ilaç salınım çalışmaları yapılmış, her süre için üç tekrar çalışılmış olup sonuçlar Şekil 4.96'dan Şekil 4.119'a kadar olan gafiklerde verilmiştir.

MD_1 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 5.8'de 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.108 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00138 mM ilaç salınmıştır. Her pH değerinde 90 dakika sonunda salınan ilaç yüzdeliği materyal ve metot bölümünde verilen (2) nolu formüle göre hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 4.13'de verilmiştir.



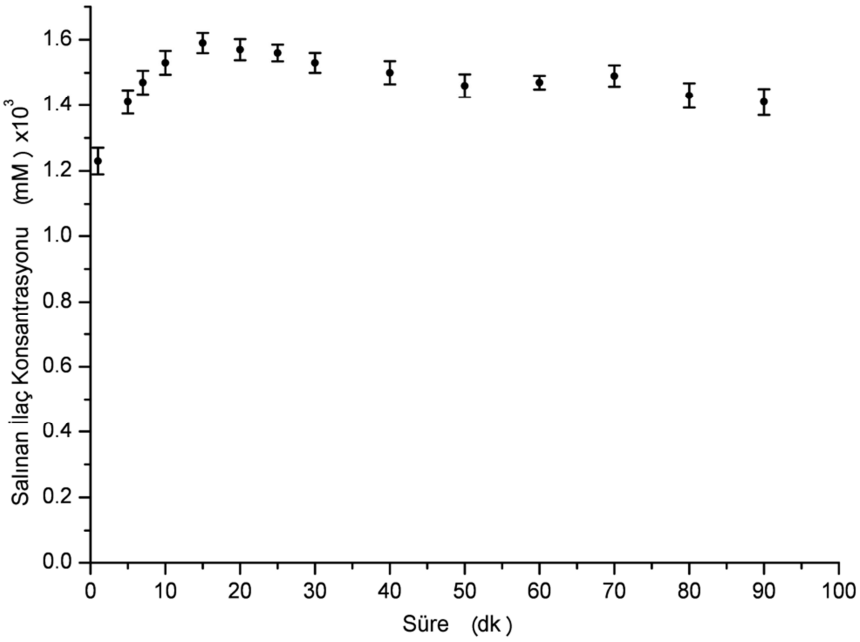
Şekil 4.96. MD_1 nanokompoziti için pH 5.8'de zamana karşı ilaç salımı

MD_1 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 6'da 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.104 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00128 mM ilaç salımı olmuştur.



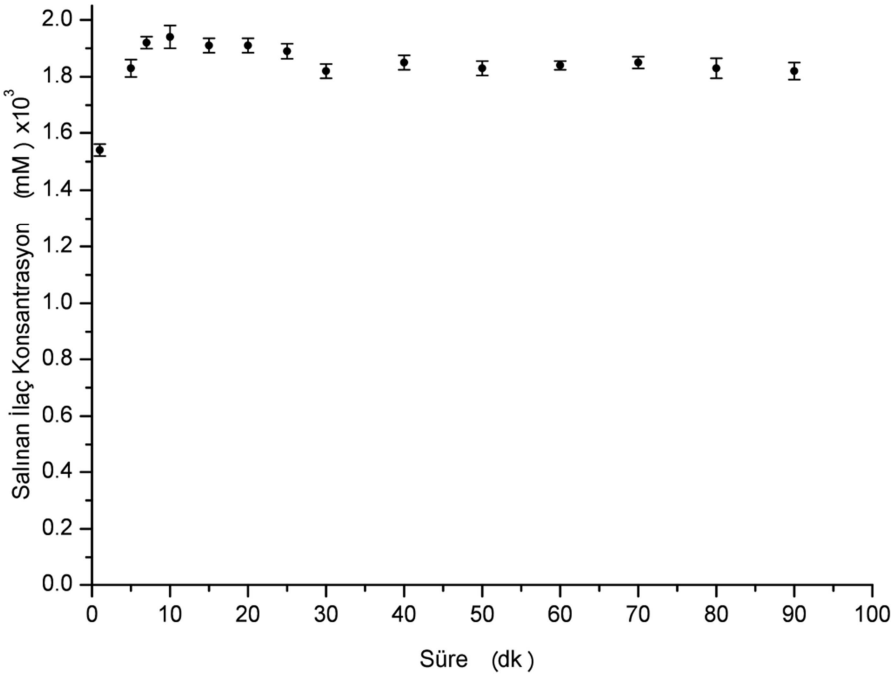
Şekil 4.97. MD_1 nanokompoziti için pH 6'da zamana karşı ilaç salımı

MD_1 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 6.5'ta 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.1044 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00141 mM ilaç salımı olmuştur.



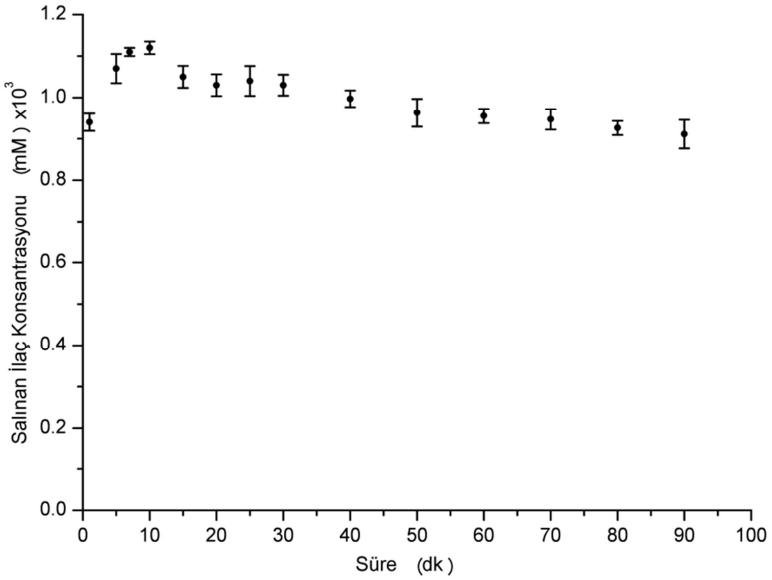
Şekil 4.98. MD_1 nanokompoziti için pH 6.5'da zamana karşı ilaç salımı

MD_1 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 7.4'te 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.105 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00182 mM ilaç salımı olmuştur.



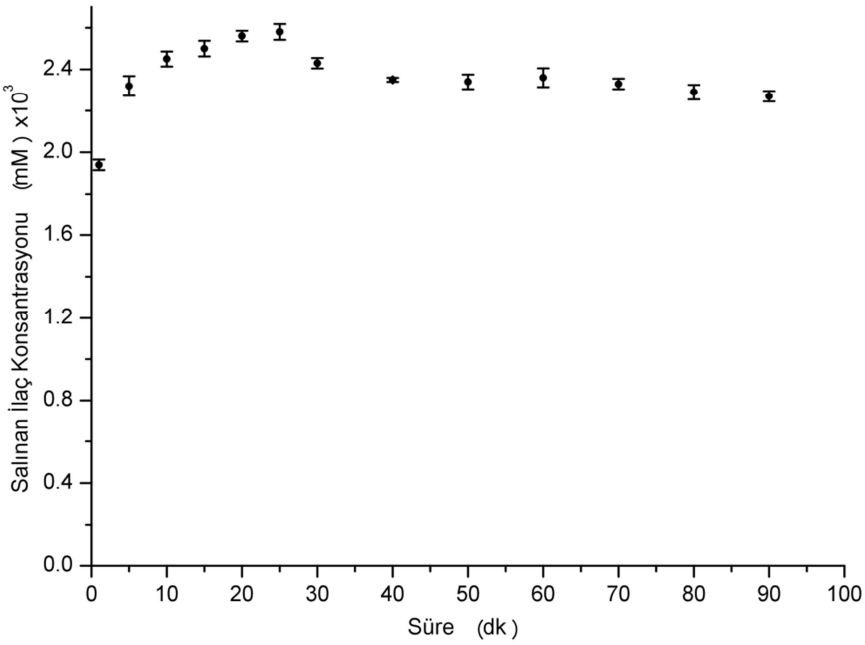
Şekil 4.99. MD_1 nanokompoziti için pH 7.4'te zamana karşı ilaç salımı

MD_2 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 5.8'de 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.107 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00091 mM ilaç salımı olmuştur.



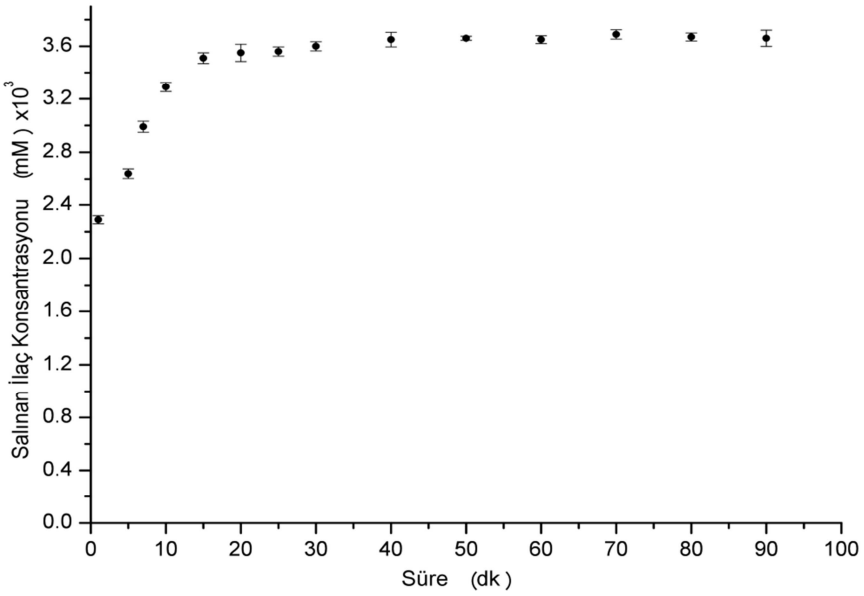
Şekil 4.100. MD_2 nanokompoziti için pH 5.8'de zamana karşı ilaç salımı

MD_2 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 6'da 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.107 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00227 mM ilaç salımı olmuştur.



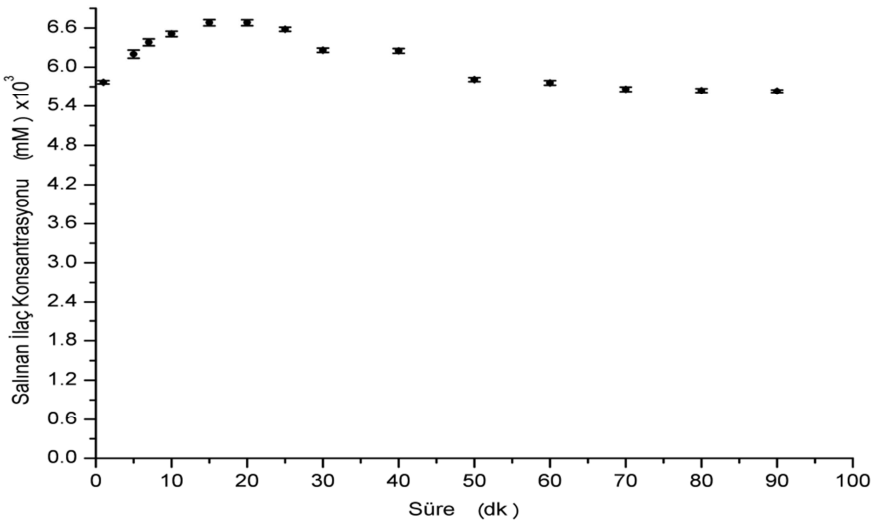
Şekil 4.101. MD_2 nanokompoziti için pH 6'da zamana karşı ilaç salımı

MD_2 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 6.5'te 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.107 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00366 mM ilaç salımı olmuştur.



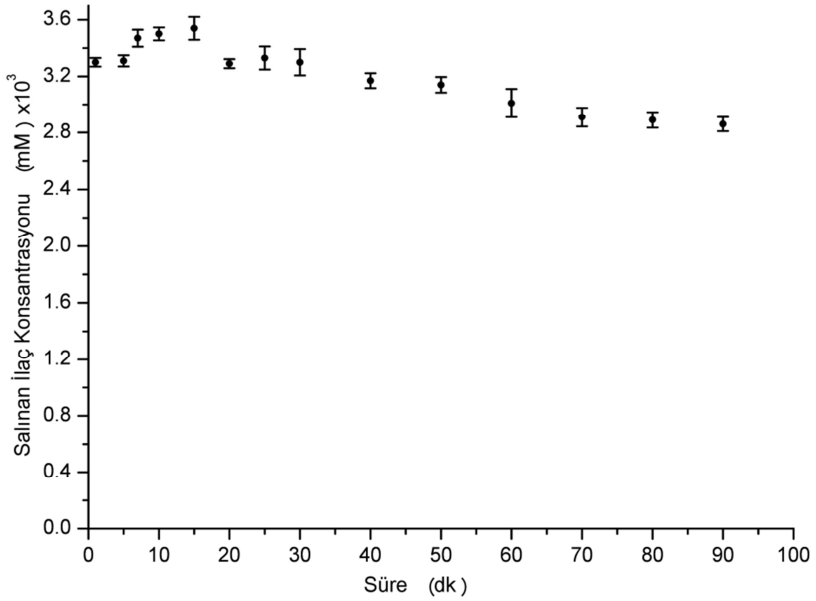
Şekil 4.102. MD_2 nanokompoziti için pH 6.5'da zamana karşı ilaç salımı

MD_2 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 7.4'te 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.103 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00563 mM ilaç salımı olmuştur.



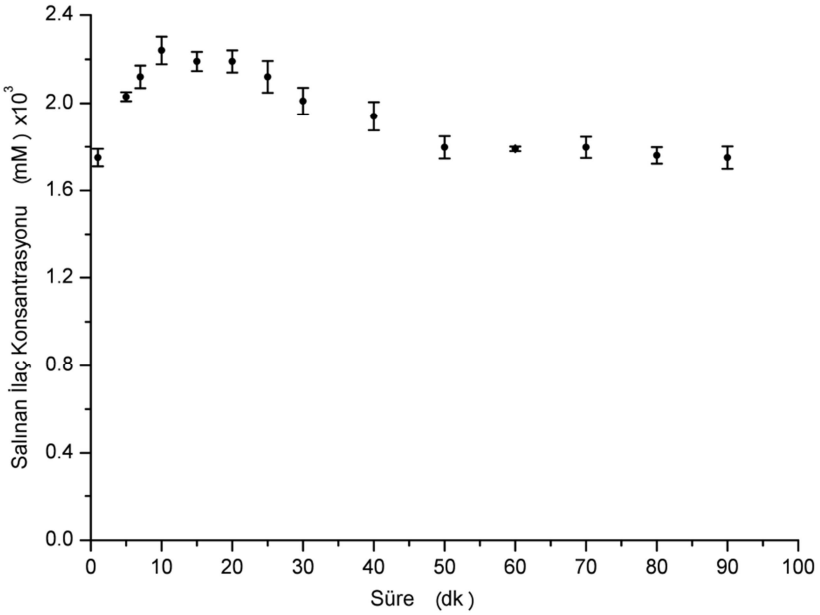
Şekil 4.103. MD_2 nanokompoziti için pH 7.4'te zamana karşı ilaç salımı

MD_3 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 5.8'de 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.107 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00179 mM ilaç salımı olmuştur.



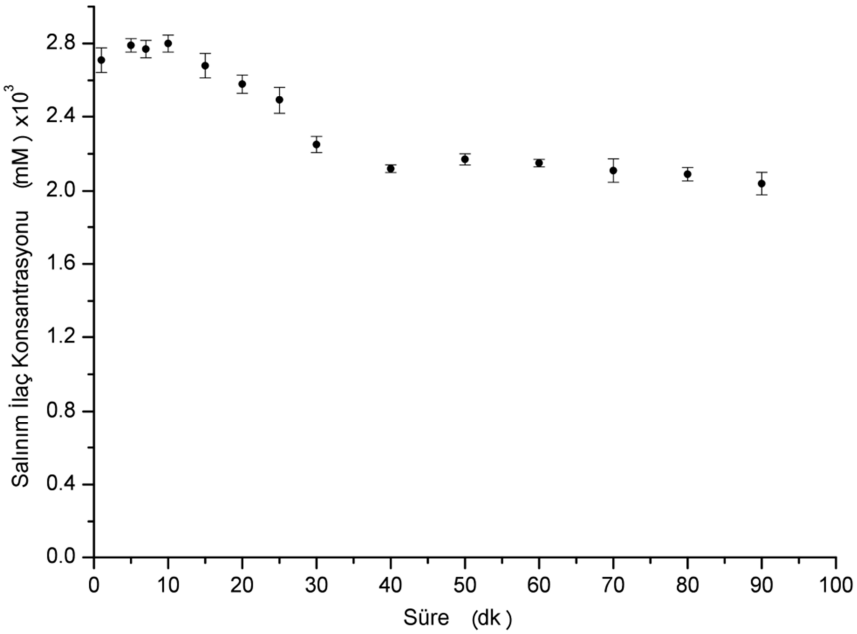
Şekil 4.104. MD_3 nanokompoziti için pH 5.8'de zamana karşı ilaç salımı

MD_3 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 6'da 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.104 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00175 mM ilaç salımı olmuştur.



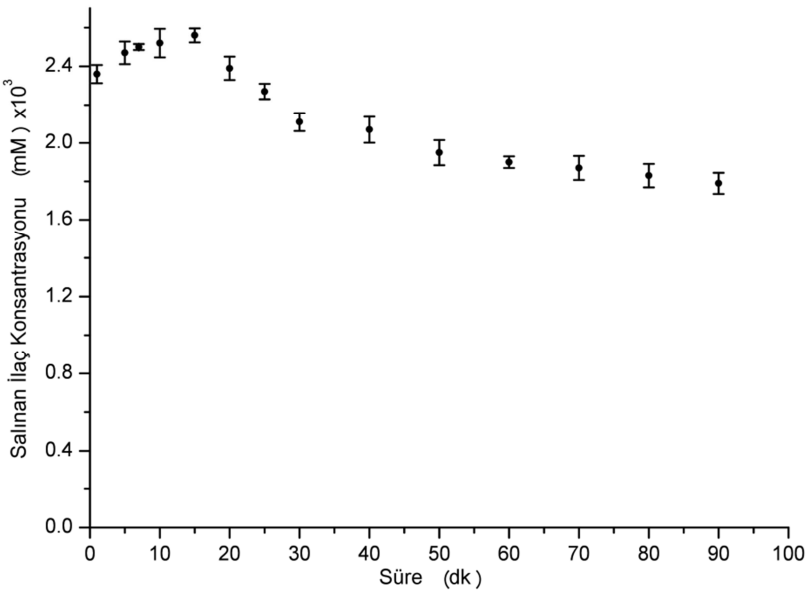
Şekil 4.105. MD_3 nanokompoziti için pH 6'da zamana karşı ilaç salımı

MD_3 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 6.5'te 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.105 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00204 mM ilaç salımı olmuştur.



Şekil 4.106. MD_3 nanokompoziti için pH 6.5'te zamana karşı ilaç salımı

MD_3 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 7.4'te 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.108 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00286 mM ilaç salımı olmuştur.

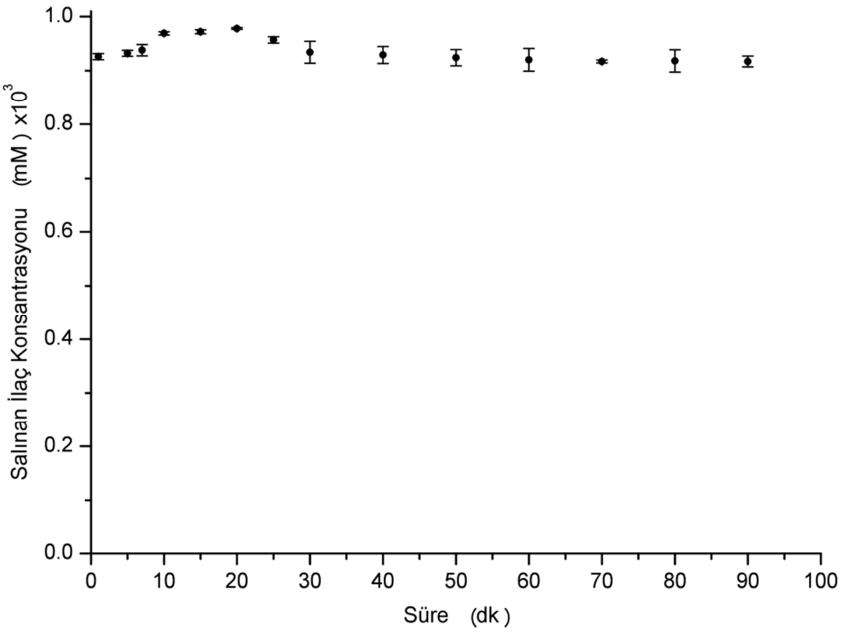


Şekil 4.107. MD_3 nanokompoziti için pH 7.4'te zamana karşı ilaç salımı

Tablo 4.13. MD_1, MD_2 ve MD_3 nanokompozitleri için 90 dakika sonunda pH'a bağlı % ilaç salımı

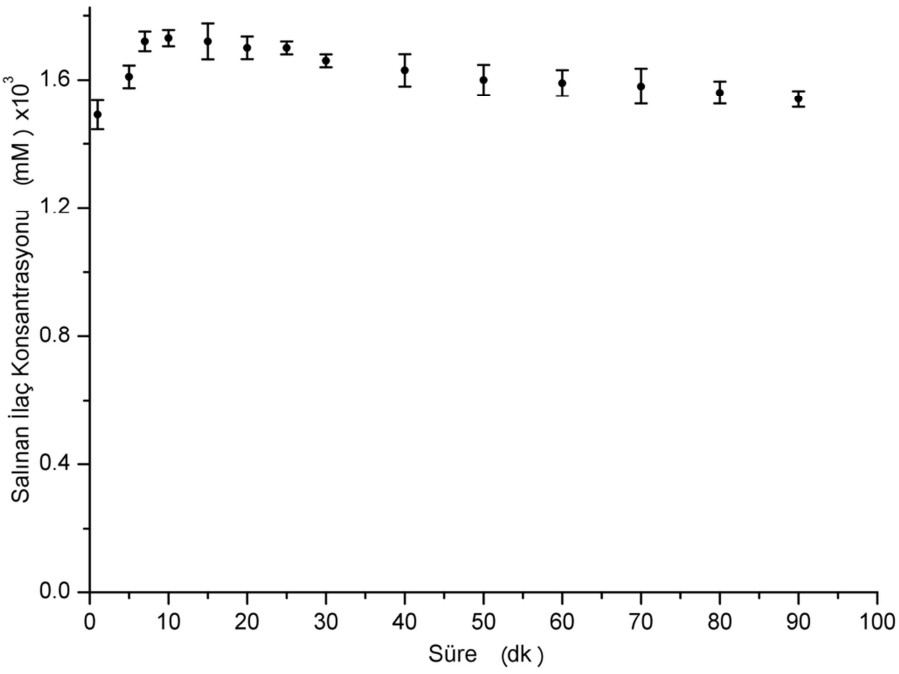
Nanokompozit	pH	Salınan İlaç (%)
MD_1	5.8	1.28
	6	1.23
	6.5	1.35
	7.4	1.74
MD_2	5.8	0.85
	6	2.12
	6.5	3.42
	7.4	5.47
MD_3	5.8	1.67
	6	1.68
	6.5	1.94
	7.4	2.65

MC_1 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 5.8'de 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0,108 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00092 mM ilaç salımı olmuştur.



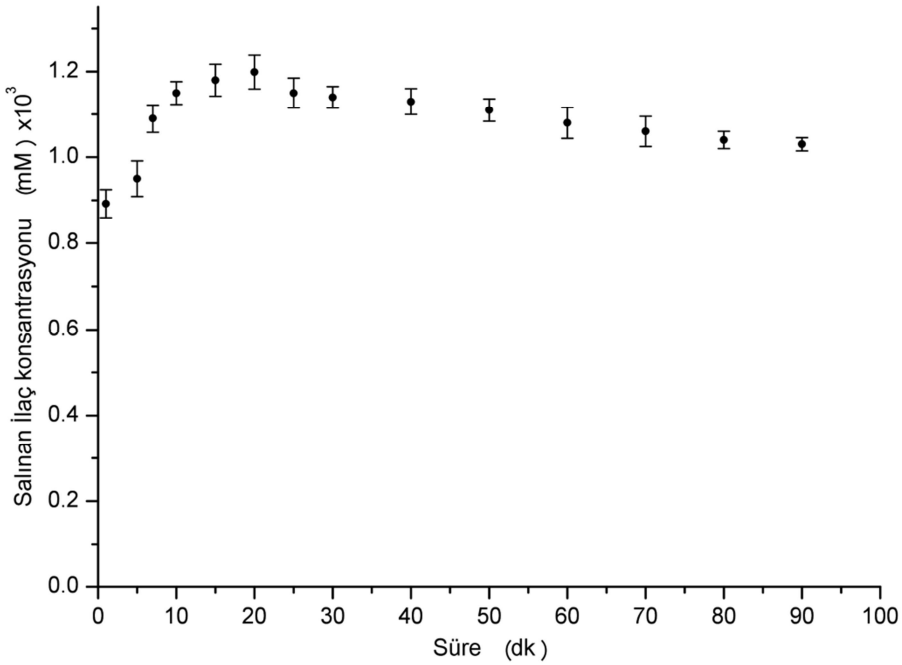
Şekil 4.108. MC_1 nanokompoziti için pH 5.8'de zamana karşı ilaç salımı

MC_1 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 6'da 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.103 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00103 mM ilaç salımı olmuştur.



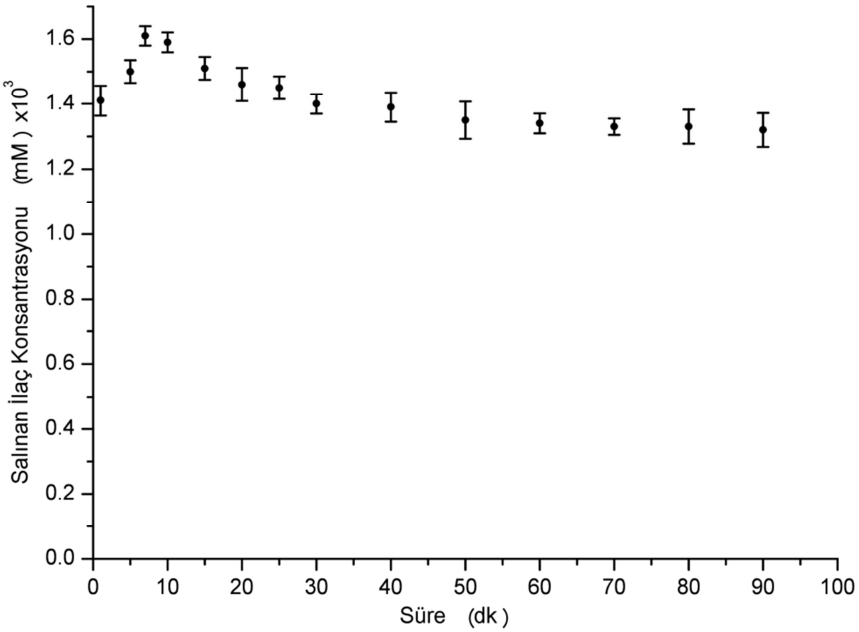
Şekil 4.109. MC_1 nanokompoziti için pH 6'da zamana karşı ilaç salımı

MC_1 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 6.5'te 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.108 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00154 mM ilaç salımı olmuştur.



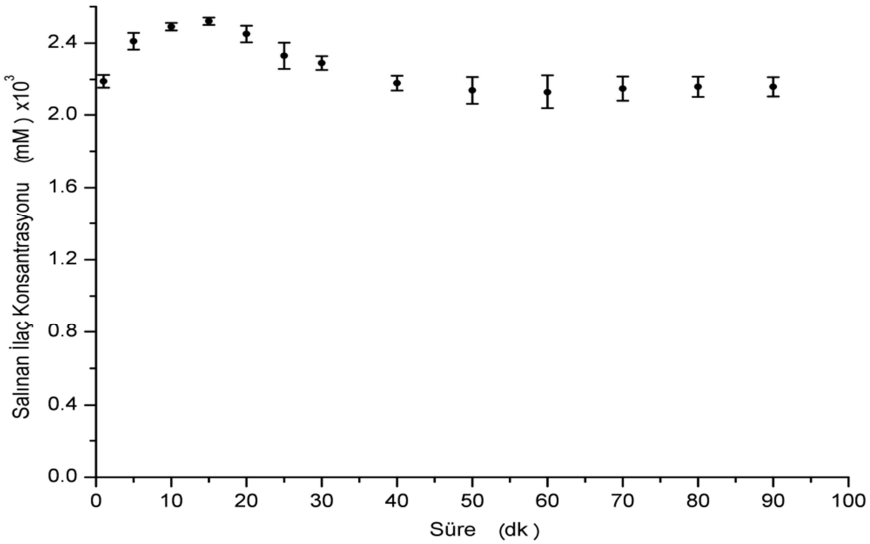
Şekil 4.110. MC_1 nanokompoziti için pH 6.5'te zamana karşı ilaç salımı

MC_1 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 7.4'te 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.104 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00132 mM ilaç salımı olmuştur.



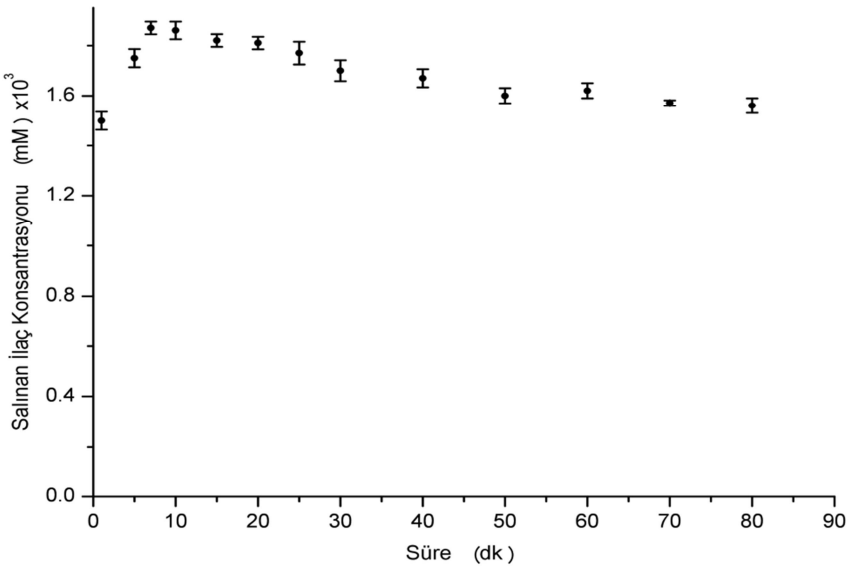
Şekil 4.111. MC_1 nanokompoziti için pH 7.4'te zamana karşı ilaç salımı

MC_2 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 5.8'de 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.108 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00165 mM ilaç salımı olmuştur.



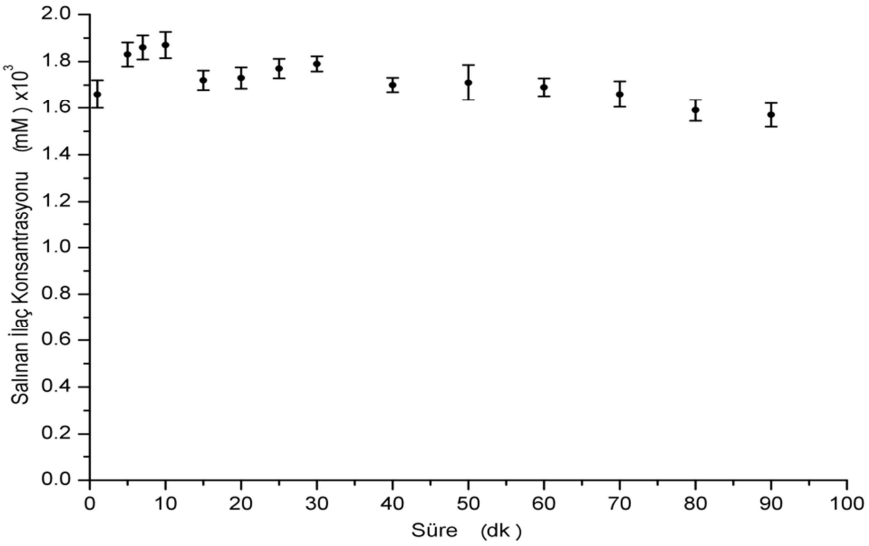
Şekil 4.112. MC_2 nanokompoziti için pH 5.8'de zamana karşı ilaç salımı

MC_2 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 6'da 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.103 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00156 mM ilaç salımı olmuştur.



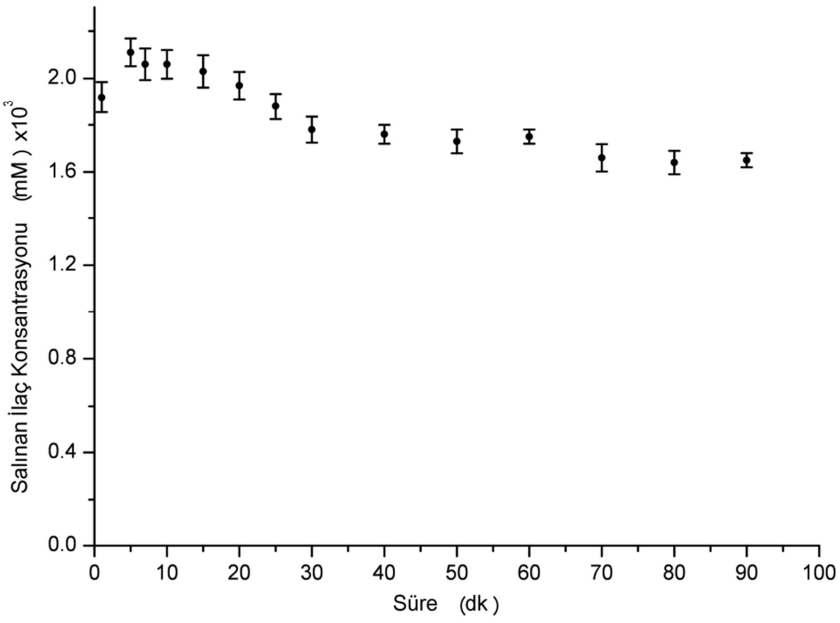
Şekil 4.113. MC_2 nanokompoziti için pH 6'da zamana karşı ilaç salımı

MC_2 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 6.5'te 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.1055 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00157 mM ilaç salımı olmuştur.



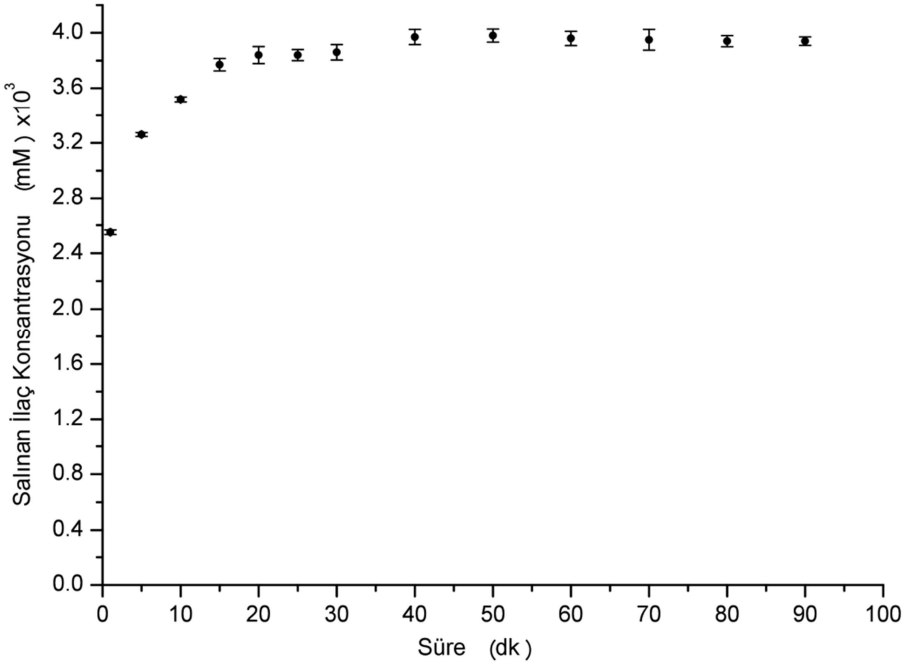
Şekil 4.114. MC_2 nanokompoziti için pH 6.5'te zamana karşı ilaç salımı

MC_2 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 7.4'te 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.106 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00216 mM ilaç salımı olmuştur.



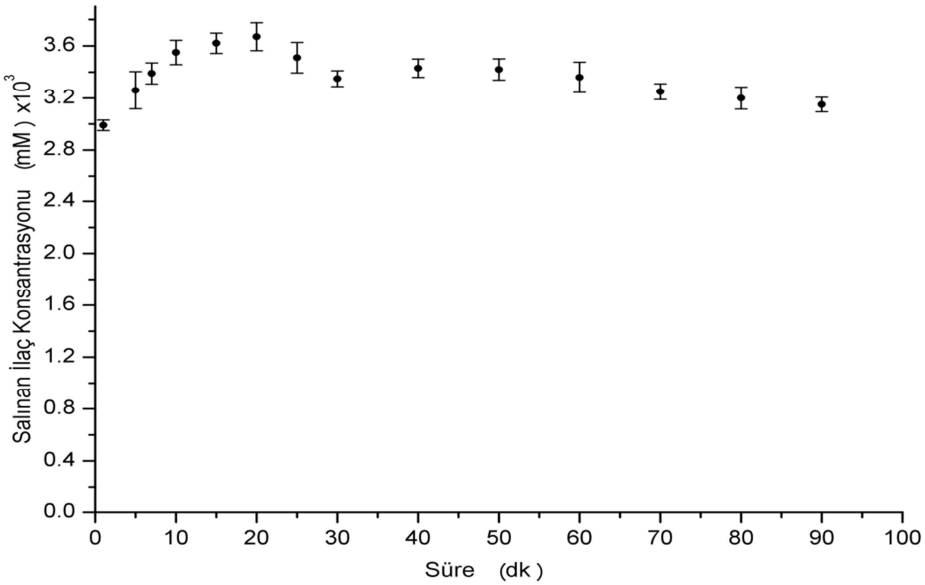
Şekil 4.115. MC_2 nanokompoziti için pH 7.4'te zamana karşı ilaç salımı

MC_3 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 5.8'de 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.1055 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00283 mM ilaç salımı olmuştur.



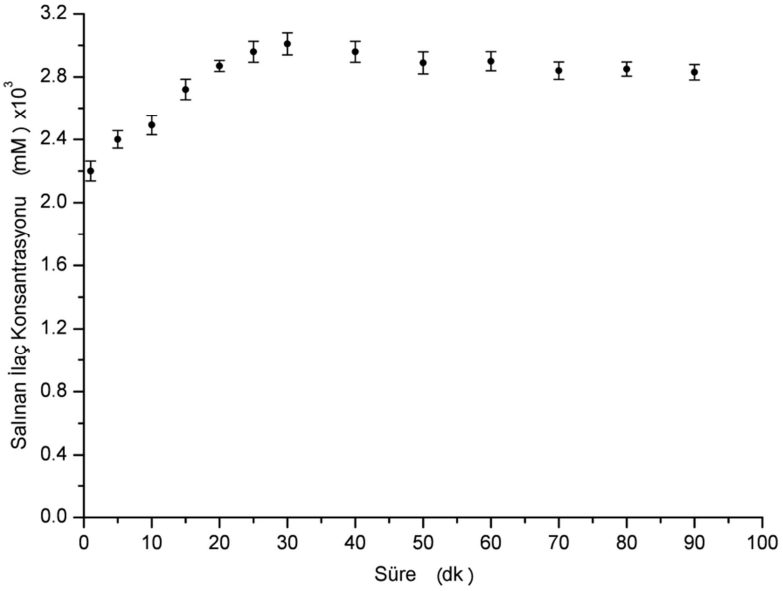
Şekil 4.116. MC_3 nanokompoziti için pH 5.8'de zamana karşı ilaç salımı

MC_3 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 6'da 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.105 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00315 mM ilaç salımı olmuştur.



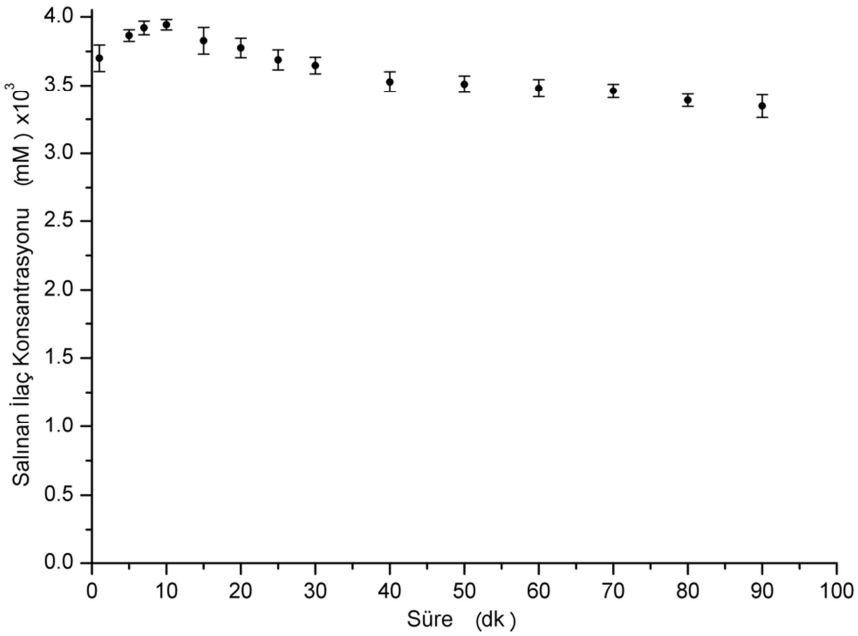
Şekil 4.117. MC_3 nanokompoziti için pH 6'da zamana karşı ilaç salımı

MC_3 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 6.5'te 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.103 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00335 mM ilaç salımı olmuştur.



Şekil 4.118. MC_3 nanokompoziti için pH 6.5'te zamana karşı ilaç salımı

MC_3 ile pH 5'te ilaç yükleme çalışması yapılmış olup pH 7.4'te 36.5 °C'de salım çalışılmıştır. pH 5'te tutunan ilaç konsantrasyonu 0.108 mM olup, 90 dakika sonunda 0.00394 mM ilaç salımı olmuştur.



Şekil 4.119. MC_3 nanokompoziti için pH 7.4'te zamana karşı ilaç salımı

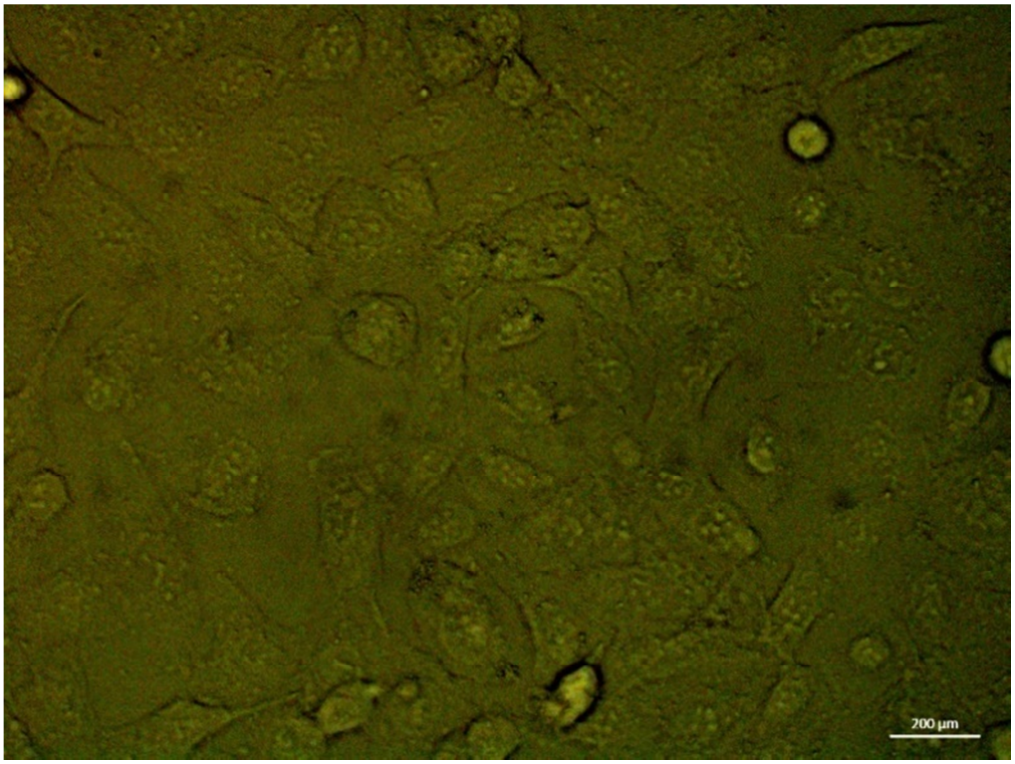
Tablo 4.14. MC_1, MC_2 ve MC_3 nanokompozitleri için 90 dakika sonunda pH'a bağlı % ilaç salımı

Nanokompozit	pH	Salınan İlaç (%)
MC_1	5.8	0.85
	6	1.00
	6.5	1.42
	7.4	1.27
MC_2	5.8	1.53
	6	1.51
	6.5	1.49
	7.4	2.04
MC_3	5.8	2.68
	6	3.00
	6.5	3.25
	7.4	3.65

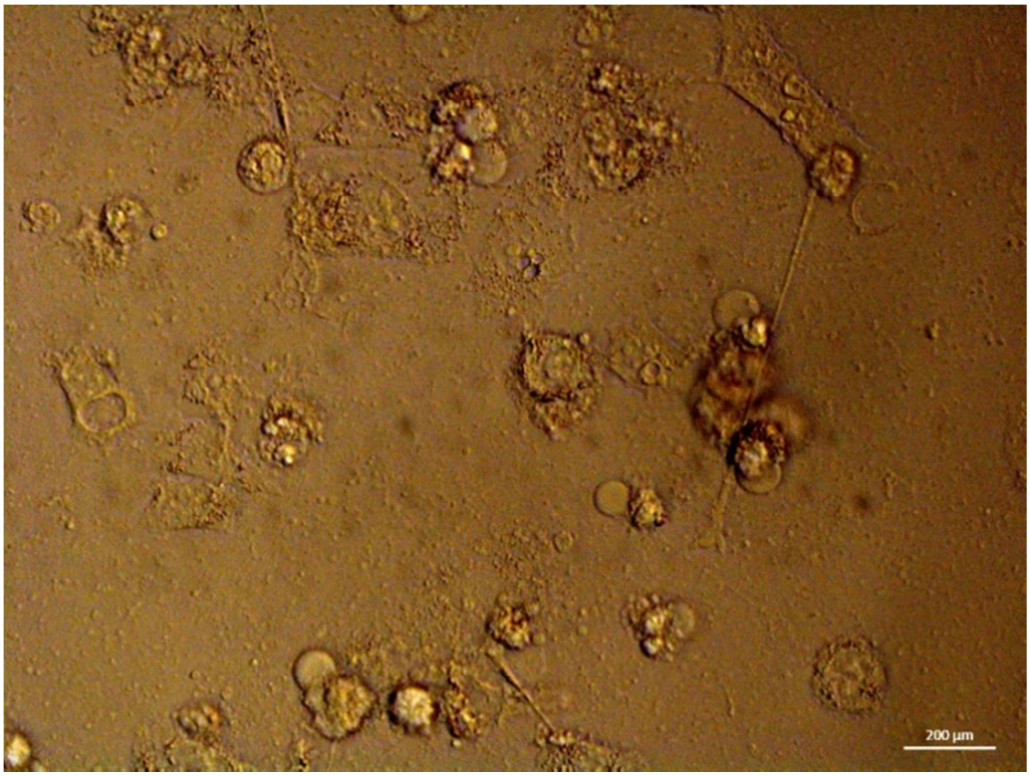
4.1.9. Sitotoksisite Sonuçları

Topotekan, Fe_3O_4, MD_1, MD_2, MD_3, MC_1, MC_2 ve MC_3 nanokompozitleri ve bu kompozitlere ilaç yüklenmiş halleri olan TMD_1, TMD_2, TMD_3, TMC_1, TMC_2 ve TMC_3 nanokompozitlerin sitotoksisitesi Du145 ve PNT1A hücre hatları üzerine değerlendirilmiştir.

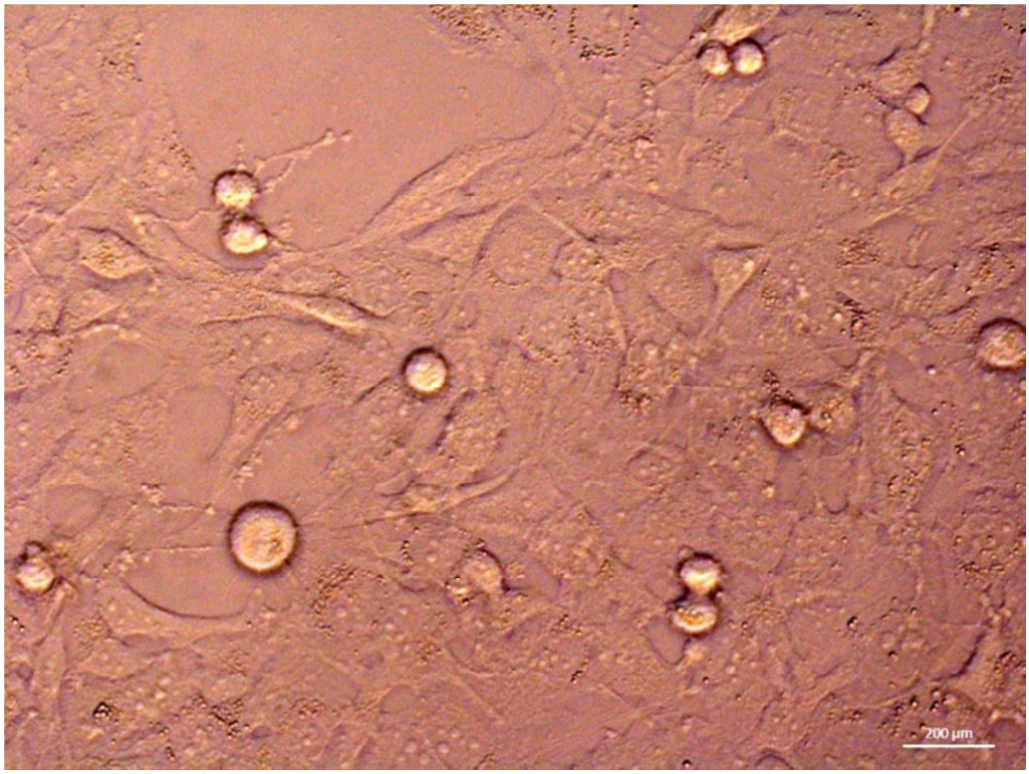
Aşağıdaki Şekil.4.120, Şekil.4.121, Şekil.4.122 ve Şekil.4.123'te Du145 ve PNT1A hücre hatlarına Topotekan uygulanmadan önceki ve uygulandıktan sonraki optik mikroskop görüntüleri verilmiştir. Şekillerden de görüldüğü üzere ilaç uygulandıktan sonra hücre morfolojilerinde değişme ve ölüme bağlı olarak tutundukları yüzeyden kalktıkları gözlemlenmiştir.



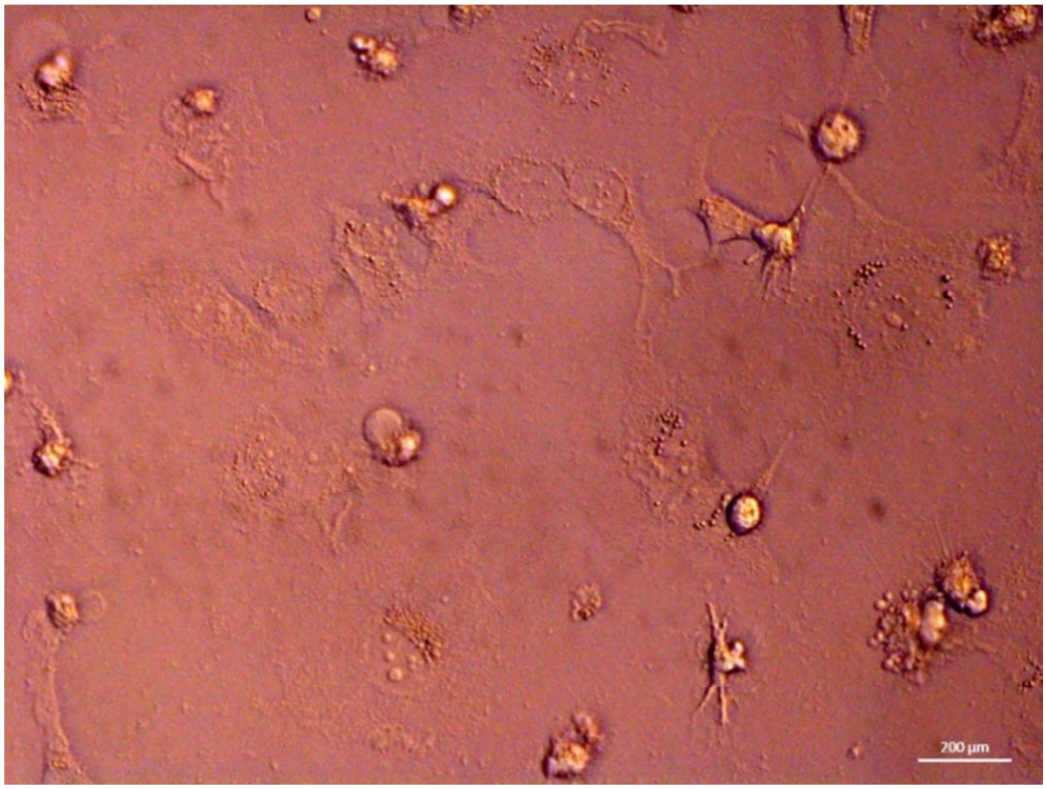
Şekil 4.120. DU145 hücrelerinin Topotekan uygulanmadan önceki optik mikroskop görüntüsü



Şekil 4.121. DU145 hücrelerinin Topotekan uygulandıktan sonraki optik mikroskop görüntüsü



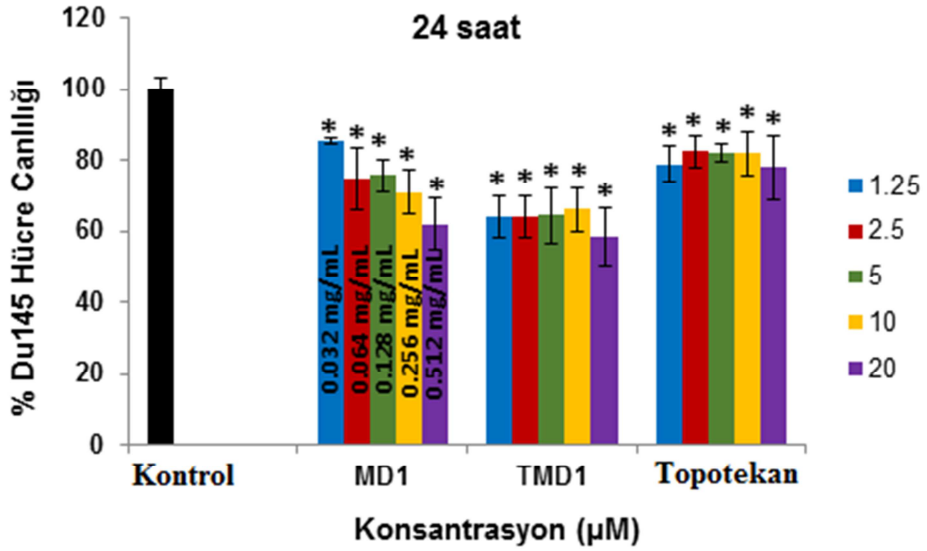
Şekil 4.122. PNT1A hücrelerinin Topotekan uygulanmadan önceki optik mikroskop görüntüsü



Şekil 4.123. PNT1A hücrelerinin Topotekan uygulandıktan sonraki optik mikroskop görüntüsü

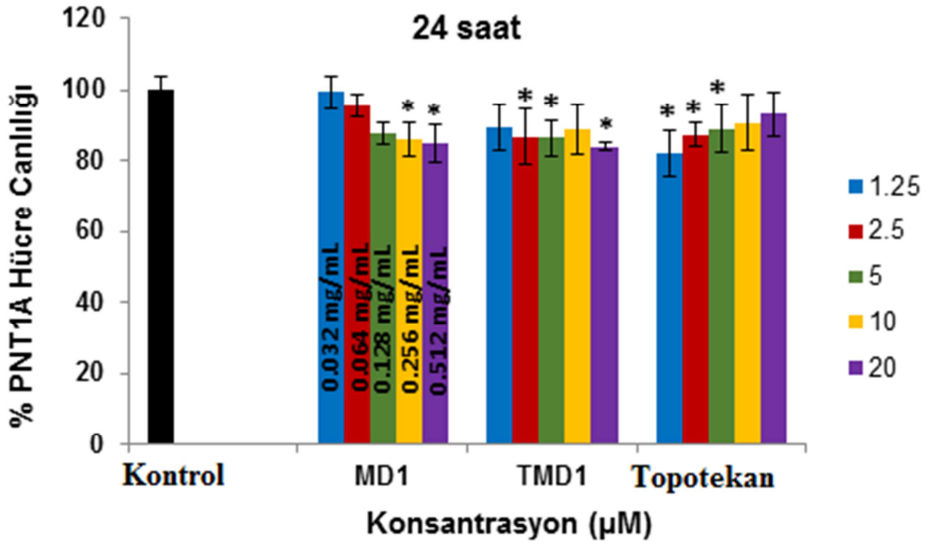
Hücrelere topotekan, ilaç yüklenmemiş ve ilaç yüklü nanokompozitler ile uygulama yapıldıktan 24 ve 48 saat sonraki canlılıkları kontrol hücrelerine oranlandırmasıyla değerlendirilmiştir. Hücre kültürü çalışmalarından elde edilen sonuçların istatistik analizleri yapılmıştır. Her bir parametre için dört tekrar çalışılmıştır. Her bir parametre seviyesi için elde edilen % canlılık değerlerinin istatistiksel olarak kontrol hücrelerinden ve yüzeyin kendisinden farklı olup olmadığını anlamak ve % canlılık değerlerindeki düşüşte anlamlı bir farkın bulunup bulunmadığını belirlemek için tek yönlü ANOVA analizi ve ardından Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi ile analiz yapılmıştır. Analiz sonuçları değerlendirilirken % canlılık değerleri arasında 0.99 güven düzeyinde anlamlı bir farkın olup olmadığı P değerlerine bakılarak tespit edilmiştir. P değeri 0.01'den küçük olanlar anlamlı kabul edilmiştir.

MD_1, TMD_1 ve Topotekan'ın Du145 hücreleri üzerinde 24 saat uygulama sonrası etkisi Şekil 4.124'te verilmiştir. Topotekan'ın her yüzeye farklı oranda bağlanmasından dolayı kullanılan yüzeylerin konsantrasyonu Topotekan'ın uygulandığı konsantrasyona göre değişiklik göstermiştir. Buna bağlı olarak MD_1 kompoziti 0.032-0.512 mg/mL konsantrasyon aralığında uygulanmıştır. Şekilde görüldüğü gibi MD_1 konsantrasyonu arttıkça kontrole göre hücre canlılığı düşmüştür. Yani 0.512 mg/mL konsantrasyonda canlılık % 62'ye inmiştir. Bu yüzeye Topotekan bağlandığında (TMD_1), Topotekan konsantrasyonuna bağlı (1.25-20 μM) uygulama canlılıkta önemli bir değişime neden olmazken, MD_1 yüzeyine göre 1.25 μM ve 5 μM konsantrasyonlarında canlılıkta anlamlı ($p < 0.01$) düşüşler göstermiştir. Topotekan'ın kendisinin uygulamasında da konsantrasyona bağlı önemli bir değişim gözlenmemiştir. TMD_1 ve Topotekan'ın kendisinin uygulaması karşılaştırıldığında ise TMD_1'in her konsantrasyon değeri canlılığı düşürmede Topotekan'a göre anlamlı ($p < 0.01$) bulunmuştur. TMD_1'in 20 μM konsantrasyon değeri Topotekan'a göre canlılığı % 20 daha çok düşürdüğü görülmüştür.



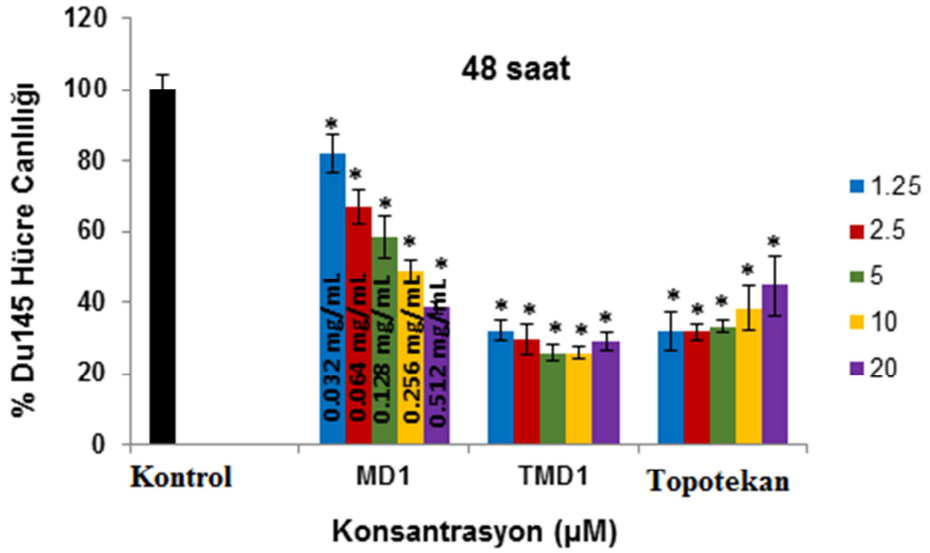
Şekil 4.124. Du145 hücre hattında MD_1, TMD_1 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

MD_1, TMD_1 ve Topotekan'ın PNT1A hücreleri üzerine 24 saatteki etkisi Şekil 4.125'te verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi MD_1 konsantrasyonu 0.032 mg/mL, 0.064 mg/mL ve 0.128 mg/mL'de kontrole göre hücre canlılığı önemli derecede etkilenmemiştir. MD_1 konsantrasyonunu 0.256 mg/mL ve 0.512 mg/mL'ye kadar arttırıldığında kontrole göre canlılıkta anlamlı düşüşler görülmüştür. Bu yüzeye Topotekan bağlandığında (TMD_1), Topotekan konsantrasyonuna bağlı (1.25-20 µM) uygulama canlılıkta önemli bir değişime neden olmazken, kontrole göre 2.5 µM, 5 µM ve 20 µM'da anlamlı düşüşler görülmüştür. Ayrıca TMD_1'de MD_1 nanokompozitine göre de canlılıkta anlamlı düşüşler göstermemiştir. Topotekan'ın kendisinin uygulamasında da konsantrasyona bağlı önemli bir değişiklik gözlemlenmemiştir ve canlılık kontrole göre ortalama % 90 olarak bulunmuştur. TMD_1 ve Topotekan'ın kendisinin uygulaması karşılaştırıldığında ise canlılıkta anlamlı bir düşüş gözlenmemiştir.



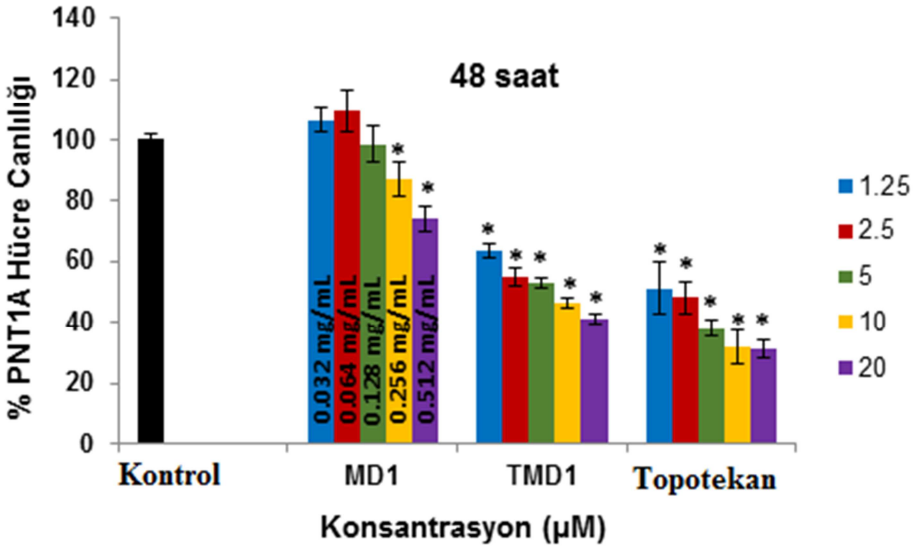
Şekil 4.125. PNT1A hücre hattında MD_1, TMD_1 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Şekil 4.126'da görüldüğü gibi MD_1 TMD_1 ve Topotekan'ın 48 saat sonra Du145 hücreleri üzerine olan etkisi verilmiştir. MD_1'in her konsantrasyon değeri kontrole göre anlamlı düşüşler göstermiştir. Aynı zamanda ilaç yüklü kompozitin de (TMD_1) her konsantrasyon değeri kontrole göre hücre canlılığında anlamlı düşüşler göstermiş. Bununla birlikte 20 µM konsantrasyonu hariç TMD_1'in diğer konsantrasyonları MD_1'e göre canlılıkta anlamlı ($p < 0.01$) düşüşler göstermiştir. 1.25 µM'da canlılık değerini % 82'den % 32'ye düşürmüştür. Topotekan'nın kendisi 48 saat boyunca bu hücre hattına uygulandığında her konsantrasyon değeri kontrole göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. Düşük konsantrasyonda (1.25 µM) canlılık % 50 civarında düşmüştür. Yüksek konsantrasyonlarda ise % canlılığın artmış olduğu gözlenmiştir. TMD_1 ve Topotekan'ın kendi uygulaması karşılaştırıldığında 10 µM ve 20 µM'da canlılıktaki düşüşün anlamlı olduğu görülmüştür. Topotekan'ın Du145 hücre hattı üzerine 48 saatteki etkileri incelendiğinde, 10 µM ve 20 µM'da hücre canlılığında ve dolayısıyla ilacın hücre dışına atılmasında artış olduğu gözlenmiştir. Bunu hücre içi ilaç konsantrasyonunun azalması ve hücrenin ilaca karşı direnç kazanması ile açıklamak mümkündür. Benzer durum aşağıdaki diğer kompozitlerde de görülmüştür.



Şekil 4.126. Du145 hücre hattında MD_1, TMD_1 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Şekil 4.127'de MD_1, TMD_1 ve Topotekan'nın 48 saatte PNT1A hücre hattı üzerine etkisi verilmiştir. MD_1 kompozitinin düşük konsantrasyonlarda kontrole göre (0.032 mg/mL ve 0.064 mg/mL'de) hücre canlılığını arttırdığı görülmüştür. 0.256 mg/mL ve 0.512 mg/mL'de kontrole göre canlılıkta anlamlı ($p < 0.01$) bir düşüşe neden olmuştur. TMD_1 uygulamasında şekilde görüldüğü gibi her konsantrasyon değeri kontrole göre anlamlı düşüşler göstermiştir. MD_1 ve TMD_1 uygulaması kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında TMD_1'in her konsantrasyon değeri MD_1'e göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. Topotekan'ın kendisi uygulandığında konsantrasyon artışı ile canlılığın düştüğü ve her konsantrasyon değerinin kontrole göre anlamlı düşüşler gösterdiği görülmüştür. TMD_1 ve Topotekan uygulaması istatistiksel olarak değerlendirildiğinde Topotekanda 2.5 µM konsantrasyonu hariç diğer konsantrasyon değerleri TMD_1'e göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir.

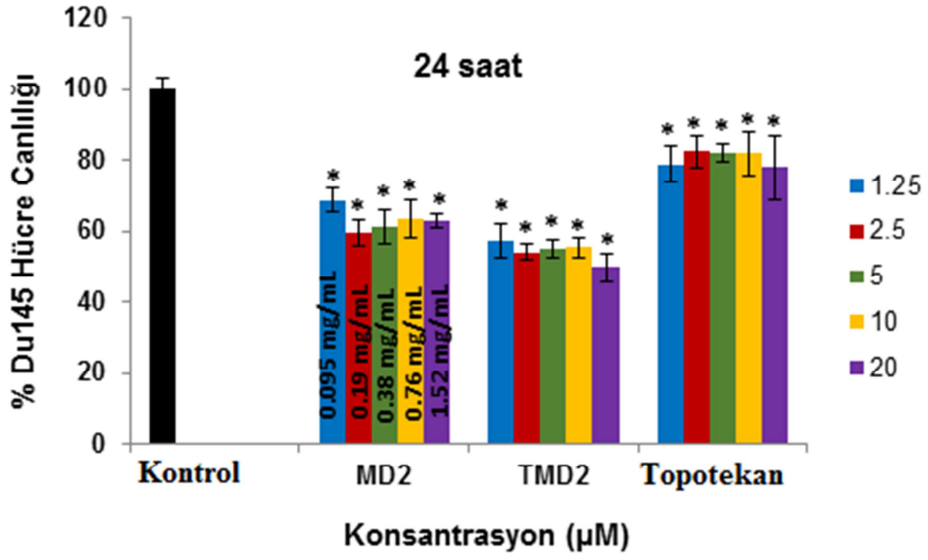


Şekil 4.127. PNT1A hücre hattında MD_1, TMD_1 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Şekil 4.126 ve Şekil 4.127 kendi aralarında karşılaştırıldığında, 48 saatte TMD_1 için 1.25 µM'da % canlılık sağlıklı hücrelerde % 63 iken kanser hücrelerde % 32'ye düşmüş olup, kanserli hücrelerde % 31 canlılıkta daha fazla bir düşüş gözlenmiştir. TMD_1 için hastalıklı ve sağlıklı hücreler karşılaştırıldığı zaman diğer konsantrasyon değerlerinde de anlamlı farklar görülmüştür. Ayrıca TMD_1'in hastalıklı hücreler üzerinde aynı konsantrasyon değerine sahip Topotekan'a göre % canlılık oranını düşürmede daha çok etkili olduğu görülmüştür. Sağlıklı hücrelerde ise aynı konsantrasyona sahip topotekan'ın daha etkili olduğu görülmüştür. Bununla birlikte MD_1 kompozitinin farklı konsantrasyonlardaki % canlılık değerleri göz önüne alındığında özellikle düşük konsantrasyonlarda (0.032 mg/mL, 0.064 mg/mL ve 0.128 mg/mL) sağlıklı hücrelerin canlılık oranlarının hemen hiç değişmediği görülmüştür. Hastalıklı hücrelerde ise canlılığı % 38'e kadar düşürmüştür. Şekil 4.125 ve şekil 4.126'daki grafiklerden de görüldüğü gibi Topotekan'ın 24 saatte yeterli salınımı gösteremeyip, 48 saat sonunda etkisini gösterdiği görülmüştür (Chakraborty ve ark. 2013). Sonuç olarak MD_1'in bu kanser türü için ilaç taşımada tercih edile bilir bir kompozit olduğu ön görülmüştür. Ayrıca sentezini yapmış olduğumuz kompozitlerin manyetik özellik göstermesi ve hedef bölgeye kısa sürede yönlendirilebilme özelliğinin

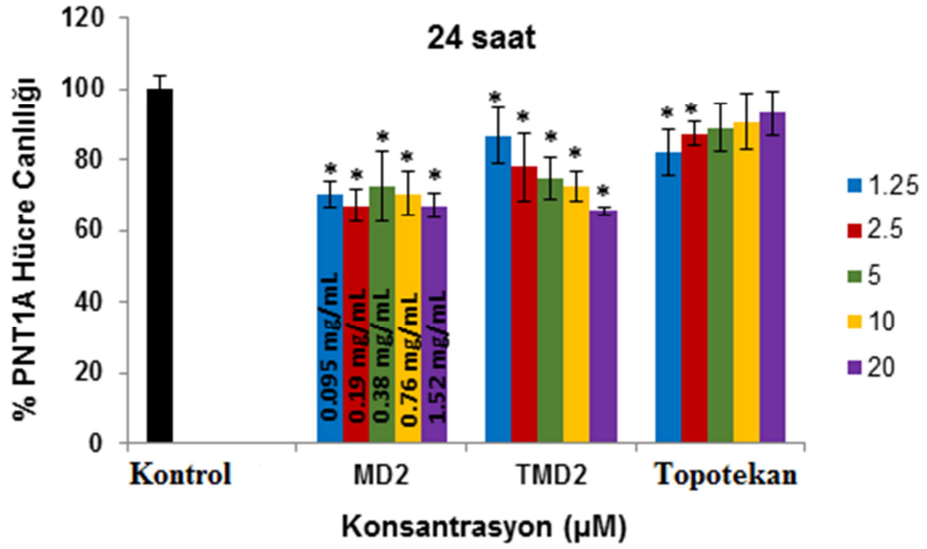
olması, bu kompozitler ile ileri yapılacak olan in vivo çalışmalarda daha iyi sonuçların elde edilebileceği öngörülmüştür.

MD_2, TMD_2 ve Topotekan'ın Du145 hücreleri üzerine 24 saatteki etkisi Şekil 4.128'de verilmiştir. Topotekan'ın her yüzeye farklı oranda bağlanmasından dolayı kullanılan yüzeylerin konsantrasyonu Topotekan'ın uygulandığı konsantrasyona göre değişiklik göstermiştir. Buna bağlı olarak MD_2 kompoziti 0.095-1.520 mg/mL konsantrasyon aralığında uygulanmıştır. Şekilde görüldüğü gibi MD_2 kompoziti her konsantrasyonda kontrole göre hücre canlılığında anlamlı düşüşler göstermiştir. Bu yüzeye Topotekan bağlandığında (TMD_2) her konsantrasyonda kontrole göre canlılıkta anlamlı düşüşler gözlenmiş olup, bu değer % 50 civarında olduğu görülmüştür. TMD_2, MD_2 yüzeyi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde TMD_2'nin 1.25 µM ve 20 µM konsantrasyon değeri MD_2'ye göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. Topotekan'ın kendisinin uygulamasında da konsantrasyona bağlı anlamlı bir değişim gözlenmemiş olup kontrole göre her konsantrasyonda canlılıkta anlamlı düşüşe neden olmuştur. TMD_2 ve Topotekan'ın kendisinin uygulaması istatistiksel olarak karşılaştırıldığında ise TMD_2'de her konsantrasyon değerinde Topotekan'a göre canlılıkta anlamlı düşüşler gözlenmiştir.



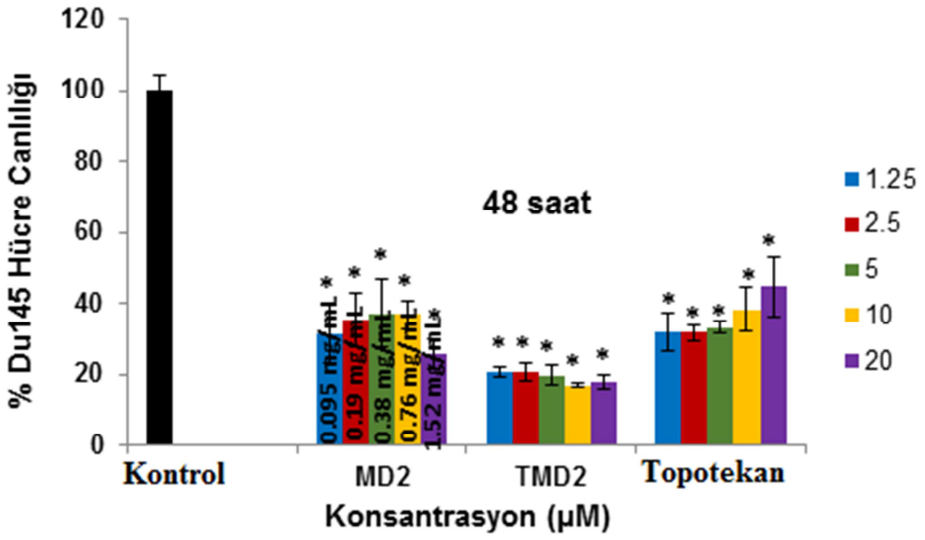
Şekil 4.128. Du145 hücre hattında MD_2, TMD_2 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

MD_2, TMD_2 ve Topotekan'ın PNT1A hücreleri üzerine 24 saatteki etkisi Şekil 4.129'da verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi MD_2 kompoziti kendi konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiş olup, kontrole göre her konsantrasyonda hücre canlılığını anlamlı bir şekilde düşürmüş olup % 70 civarına indirmiştir. Yüzeye Topotekan yüklenmiş olan TMD_2'de her konsantrasyon değerinde kontrole göre canlılıkta anlamlı düşüşler gözlenmiştir. MD_2 ve TMD_2 kendi arasında istatistiksel olarak değerlendirildiğinde sadece 1.25 µM konsantrasyonunda anlamlı bir fark olduğu görülmüştür. Bu farkın nedeni yüzeyin kendisinin de toksik etki göstermesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Çünkü sentez sırasında MD_2 kompozitinin içermiş olduğu Fe_3O_4 miktarının diğer kompozitlerden yüksek olduğu görülmüştür. Topotekan'ın kendisinin uygulamasında da konsantrasyonlar arasında canlılıkta anlamlı bir düşüş gözlenmemiştir. Ancak kontrole göre 1.25 µM ve 2.5 µM'da anlamlı düşüşler görülmüştür. TMD_2 ve Topotekan'ın kendisinin uygulaması karşılaştırıldığında ise TMD_2'de 5 µM, 10 µM ve 20 µM'da Topotekan'a göre canlılıkta anlamlı düşüşler gözlenmiştir.



Şekil 4.129. PNT1A hücre hattında MD_2, TMD_2 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*$p < 0.01$) farkları göstermiştir

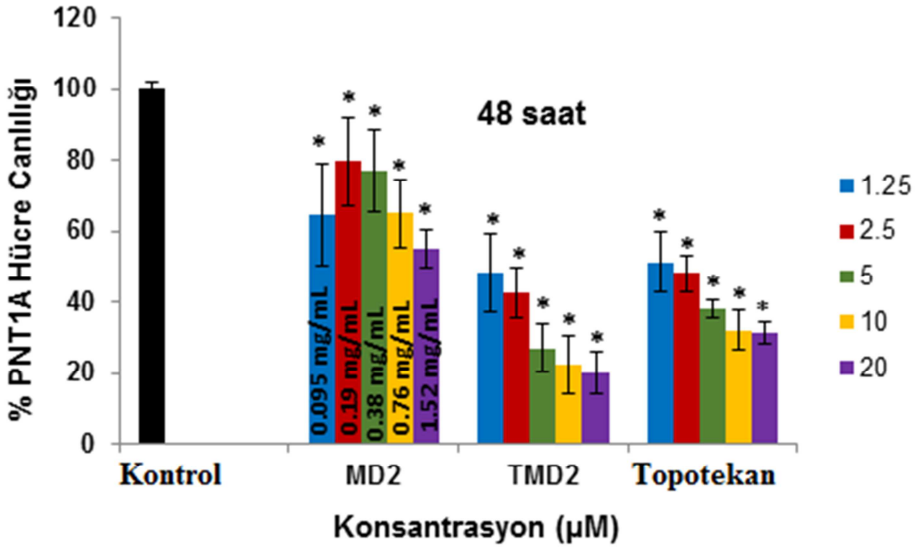
Şekil 4.130'da görüldüğü gibi MD_2 kompozitinin 48 saat sonra Du145 hücreleri üzerine olan etkisi verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi MD_2'nin her konsantrasyon değeri kontrole göre anlamlı düşüşler göstermiştir. Özellikle 1.52 mg/mL canlılık oranı % 26'ya inmiş olması kompozitin kendisinin de toksik etkisi olduğunu göstermiştir. İlaç yüklü kompozitin (TMD_2) hücre canlılığı üzerine etkisi, kendi arasında 10 µM konsantrasyonu dışında anlamlı bir değişiklik göstermezken, kontrole göre her konsantrasyon değerinde anlamlı düşüşler göstermiştir. Topotekan'nın kendisi 48 saat boyunca bu hücre hattına uygulandığında kendi konsantrasyonları arasında 1.25 µM ve 2.5 µM'da anlamlı düşüşler görülmüştür. Kontrole göre ise her konsantrasyon değerinde canlılıkta anlamlı düşüşler gözlenmiştir. TMD_2 ve Topotekan kendi arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, TMD_2 Topotekan'a göre her konsantrasyon değerinde canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir.



Şekil 4.130. Du145 hücre hattında MD_2, TMD_2 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Şekil 4.131'de MD_2, TMD_2 ve Topotekan'nın 48 saatte PNT1A hücre hattı üzerine etkisi verilmiştir. MD_2 kompoziti kontrole göre her konsantrasyon değerinde anlamlı düşüşler göstermiştir. MD_2'nin kendi konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak değerlendirildiğinde 1.52 mg/mL'de 0.19 mg/mL ve 0.38 mg/mL'ye göre

anlamlı düşüşler görülmüştür. 1.52 mg/mL'de canlılıkta % 55 civarında bir düşüş gözlenmiştir. TMD_2'de kontrole göre her konsantrasyonda canlılıkta anlamlı düşüş gözlenmiştir. TMD_2'de MD_2'ye göre her konsantrasyonda canlılıkta anlamlı düşüş görülmüştür. Topotekan'ın kendisi uygulandığında kontrole göre her konsantrasyonda canlılıkta anlamlı düşüş görülmüştür. TMD_2 ve Topotekan kendi arasında istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, TMD_2'de 5 µM ve 20 µM konsantrasyonlarında Topotekan'a göre canlılıkta anlamlı düşüşler görülmüştür.

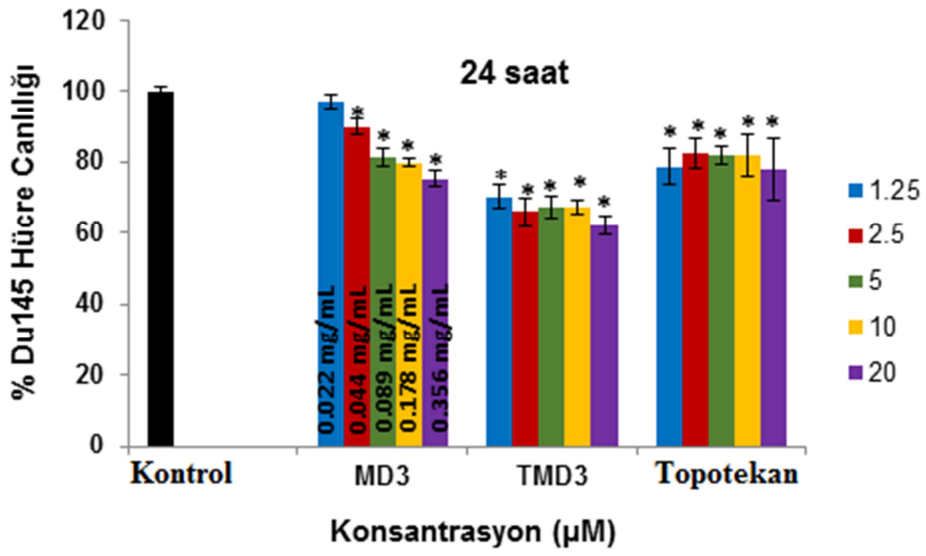


Şekil 4.131. PNT1A hücre hattında MD_2, TMD_2 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Şekil 4.130 ve Şekil 4.131'de görüldüğü gibi 48 saatte TMD_2 için 1.25 µM ve 2.5 µM konsantrasyon değerlerinde sağlıklı hücreler ile kanserli hücreler karşılaştırıldığında, sağlıklı hücrelere nazaran kanserli hücrelerde canlılıkta anlamlı bir düşüş görülmüştür. TMD_2 için hastalıklı ve sağlıklı hücreler karşılaştırıldığı zaman diğer konsantrasyon değerlerinde de farklar görülmüştür. Ayrıca TMD_2'nin hastalıklı hücreler üzerinde aynı konsantrasyon değerine sahip Topotekan'a göre özellikle yüksek konsantrasyonlarda % canlılık oranını düşürmede daha çok etkili olduğu görülmüştür. Bununla birlikte MD_2 kompozitinin farklı konsantrasyonlardaki % canlılık değerleri göz

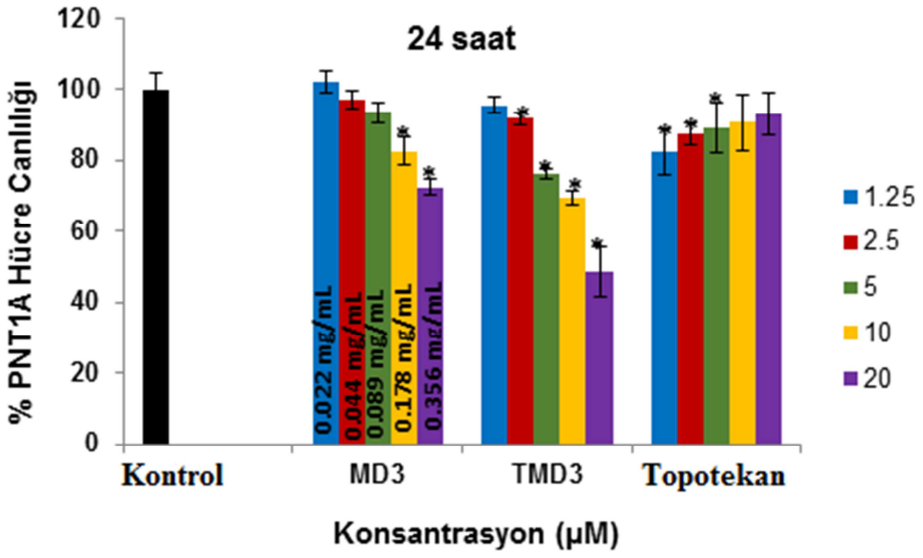
önüne alındığında, sağlıklı hücrelere göre hastalıklı hücreler üzerinde çok daha etkili olduğu ve % canlılık değerlerini daha çok düşürdüğü görülmüştür.

MD_3, TMD_3 ve Topotekan'ın Du145 hücreleri üzerine 24 saatteki etkisi Şekil 4.132'de verilmiştir. MD_3 kompoziti bu hücre hattına 0.022-0.356 mg/mL konsantrasyon aralığında uygulanmıştır. Şekilde görüldüğü gibi 0.044 mg/mL - 0.356 mg/mL konsantrasyon aralığında kontrole göre hücre canlılığında anlamlı düşüşler göstermiştir. Bu yüzeye Topotekan bağlandığında (TMD_3), kendi konsantrasyonları arasında 20 µM'da diğer konsantrasyon değerlerine göre anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Ayrıca kontrole göre her konsantrasyon değerinde anlamlı düşüşler görülmüştür. MD_3 nanokompoziti ve TMD_3 kendi arasında değerlendirildiğinde, TMD_3'ün her konsantrasyon değeri MD_3'e göre canlılıkta anlamlı düşüş göstermiştir. Topotekan'ın kendisinin uygulamasında konsantrasyonları arasında anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. TMD_3 ve Topotekan'ın kendisinin uygulaması karşılaştırıldığında ise TMD_3'ün her konsantrasyon değeri Topotekan'a göre canlılığı düşürmede anlamlı bir fark göstermiştir.



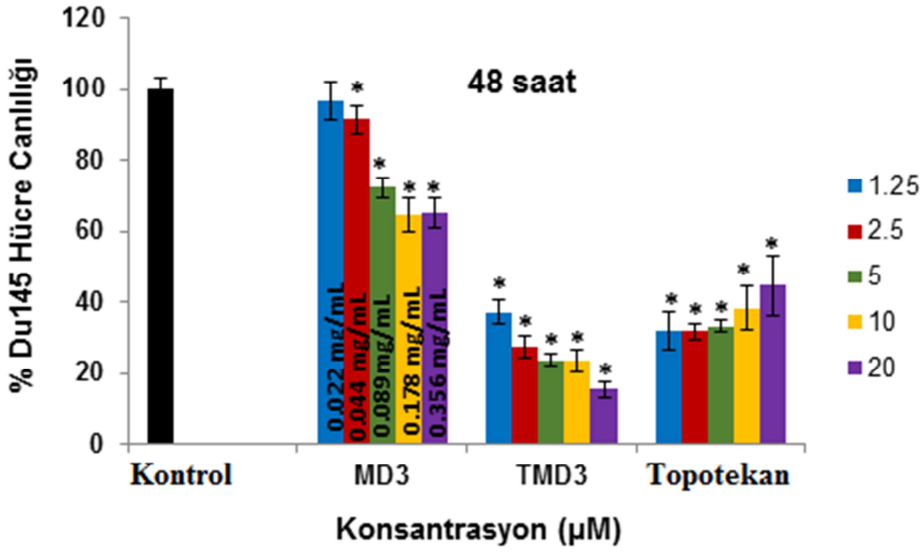
Şekil 4.132. Du145 hücre hattında MD_3, TMD_3 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*$p < 0.01$) farkları göstermiştir

MD_3, TMD_3 ve Topotekan'ın PNT1A hücreleri üzerine 24 saatteki etkisi Şekil 4.133'te verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi 0.178 mg/mL ve 0.356 mg/mL konsantrasyonlarında kontrole göre canlılıkta anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. MD_3'ün kendi konsantrasyonları arasında da 0.178 mg/mL ve 0.356 mg/mL'de diğer konsantrasyon değerlerine göre anlamlı düşüş gözlenmiştir. Bu yüzeye Topotekan yüklenmiş hali olan TMD_3'te kontrole göre 2.5 µM-20 µM aralığında canlılıkta anlamlı düşüşler görülmüştür. TMD_3'ün kendi konsantrasyonları arasında 5 µM-20 µM arasındaki düşüşler anlamlı görülmüştür. MD_3 kompoziti ve TMD_3 kendi arasında karşılaştırıldığında, TMD_3'ün 5 µM-20 µM konsantrasyon aralığında canlılıktaki düşüşleri MD_3'e göre istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür. Topotekan'ın kendisinin uygulamasında da konsantrasyonları arasında canlılıkta anlamlı bir düşüş gözlenmemiş olup, kontrole göre 1.25 µM-5 µM değerleri arasında canlılıktaki düşüş anlamlı görülmüştür. TMD_3 ve Topotekan uygulaması karşılaştırıldığında ise TMD_3'te 2.5 µM konsantrasyonu hariç diğer konsantrasyon değerlerinde Topotekan'a göre canlılıkta anlamlı düşüşler gözlenmiştir.



Şekil 4.133. PNT1A hücre hattında MD_3, TMD_3 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

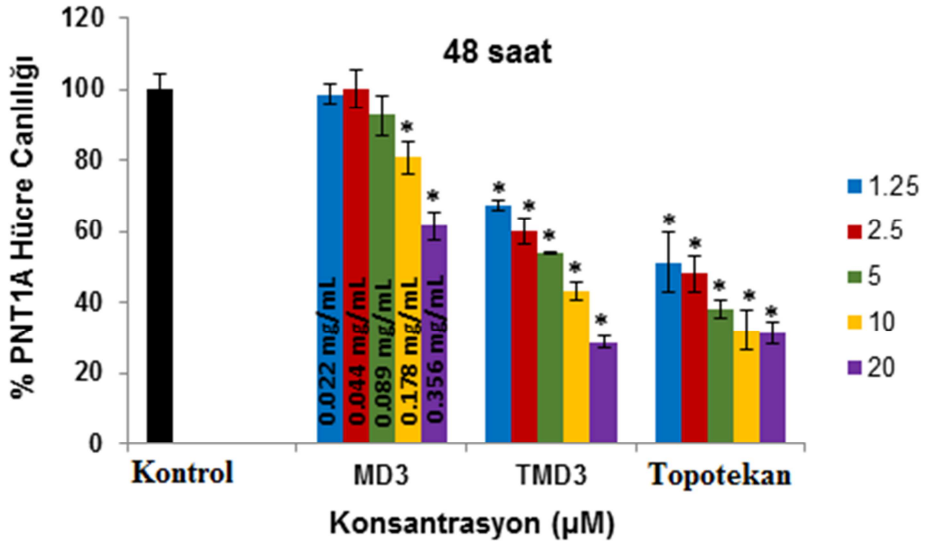
Şekil 4.134'te görüldüğü gibi MD_3 kompozitinin 48 saat sonra Du145 hücreleri üzerine olan etkisi verilmiştir. 0.044 mg/mL- 0.356 mg/mL konsantrasyon aralığında canlılıktaki düşüşler kontrole göre anlamlı olduğu gözlenmiştir. TMD_3'ün hücre canlılığı üzerine etkisi kontrole göre her konsantrasyon değerinde anlamlı düşüler göstermiştir. TMD_3'ün kendi konsantrasyonları arasında yapılan karşılaştırmada 20 µM'da canlılıktaki düşüş diğer konsantrasyonlarına göre anlamlı bir fark göstermiştir. MD_3 ve TMD_3 kendi arasında karşılaştırıldığında, TMD_3'ün her konsantrasyon değerinde canlılıktaki düşüş MD_3'e göre anlamlı bulunmuştur. Topotekan'nın kendisi 48 saat boyunca bu hücre hattına uygulandığında, 1.25 µM ve 2.5 µM'da 20 µM'a göre canlılıkta anlamlı bir düşüş gözlenmiş olup, kontrole göre her konsantrasyon değerinde canlılıktaki düşüş anlamlı görülmüştür. TMD_3 ve Topotekan kendi arasında karşılaştırıldığında, TMD_3'te 5 µM-20 µM arasında canlılıktaki düşüş Topotekan'a göre anlamlı bulunmuştur.



Şekil 4.134. Du145 hücre hattında MD_3, TMD_3 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Şekil 4.135'te MD_3, TMD_3 ve Topotekan'nın 48 saatte PNT1A hücre hattı üzerine etkisi verilmiştir. MD_3 kompozitinde 0.178 mg/mL ve 0.356 mg/mL

konsantrasyonlarında kontrole göre hücre canlılığındaki düşüşler anlamlı görülmüştür. Aynı zamanda kendi konsantrasyonları arasındaki karşılaştırmada da 0.178 mg/mL ve 0.356 mg/mL konsantrasyonları diğer konsantrasyon değerlerine göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. TMD_3'ün bu hücre hattı üzerine etkisi incelendiğinde, TMD_3'ün bütün konsantrasyonları kendi arasında canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. Aynı zamanda TMD_3'ün her konsantrasyonunda kontrole göre de anlamlı düşüşler gözlenmiştir. MD_3 ve TMD_3 istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, TMD_3 her konsantrasyonda MD_3'e göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. Topotekan'ın kendisi uygulandığında her konsantrasyonda kontrole göre canlılıkta düşüş gözlenmiştir. 20 µM konsantrasyonu hariç diğer konsantrasyon değerlerinde TMD_3'e göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. Bu da Topotekan'ın TMD_3'e göre sağlıklı hücrelerde daha çok canlılık düşüşüne neden olduğunu göstermiştir.

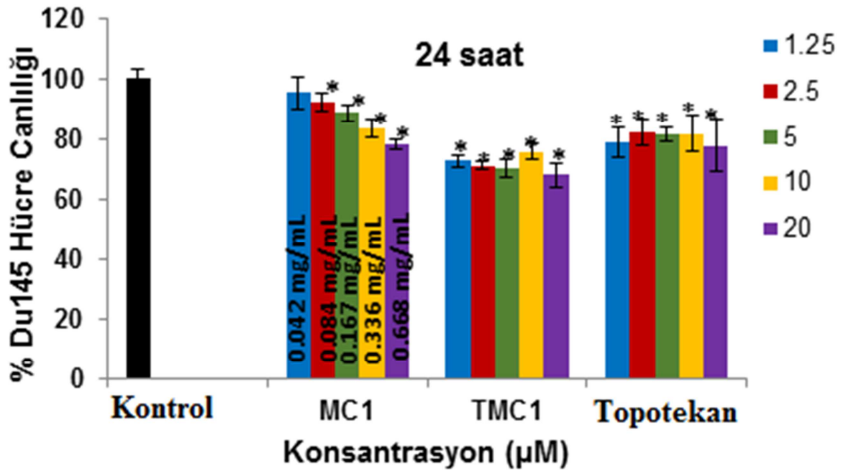


Şekil 4.135. PNT1A hücre hattında MD_3, TMD_3 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*$p < 0.01$) farkları göstermiştir

Şekil 4.134 ve Şekil 4.135 kendi aralarında karşılaştırıldığında, 48 saatte TMD_3 için 2.5 µM'da % canlılık sağlıklı hücrelerde % 60 iken kanser hücrelerde % 27'ye düşmüş olup, kanserli hücrelerde canlılıkta % 33 daha fazla bir düşme gözlenmiştir. TMD_3 için hastalıklı ve sağlıklı hücreler karşılaştırıldığı zaman diğer konsantrasyon

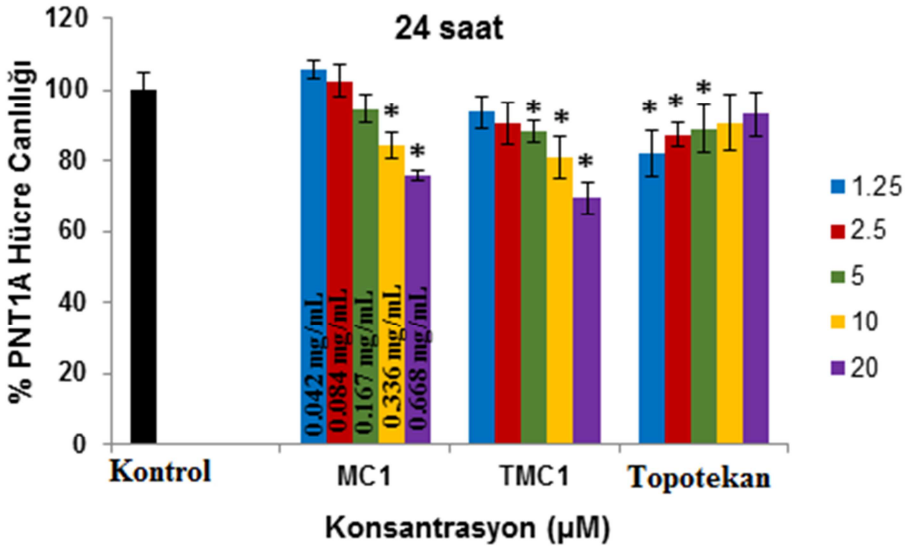
değerlerinde de anlamlı farklar görülmüştür. Ayrıca TMD_3'ün hastalıklı hücreler üzerinde aynı konsantrasyon değerine sahip Topotekan'a göre % canlılık oranını düşürmede daha çok etkili olduğu görülmüştür. Bununla birlikte MD_3 kompozitinin farklı konsantrasyonlardaki % canlılık değerleri göz önüne alındığında özellikle düşük konsantrasyonlarda (0.022 mg/mL, 0.044 mg/mL ve 0.089 mg/mL) sağlıklı hücrelerde canlılıkta anlamlı bir düşüş görülmemiştir. Hastalıklı hücrelerde ise 0.044 mg/mL konsantrasyonundan itibaren canlılıkta anlamlı düşüşler gözlenmiştir. Sonuç olarak MD_3'ün bu kanser türü için ilaç taşımada tercih edile bilir bir kompozit olduğu ön görülmüştür.

MC_1, TMC_1 ve Topotekan'ın Du145 hücreleri üzerindeki etkisi Şekil 4.136'da verilmiştir. Topotekan'ın her kompozite farklı oranda bağlanmasından dolayı kullanılan kompozitlerin konsantrasyonu Topotekan'ın uygulandığı konsantrasyona göre değişiklik göstermiştir. Buna bağlı olarak MC_1 kompoziti 0.042-0.668 mg/mL konsantrasyon aralığında uygulanmıştır. Şekilde görüldüğü gibi 0.084-0.668 mg/mL konsantrasyon aralığında hücre canlılığı kontrole göre anlamlı bir düşüş göstermiştir. Bu yüzeye Topotekan bağlandığında (TMC_1), kontrole göre her konsantrasyonda canlılıktaki düşüş anlamlı görülürken, TMC_1'in kendi konsantrasyonları arasında sadece 20 μM ile 10 μM arasındaki düşüş anlamlı bulunmuştur. TMC_1 ile MC_1 arasında canlılıktaki düşüşte TMC_1'de 1.25 μM-5 μM konsantrasyon aralığında anlamlı bulunmuştur. Topotekan konsantrasyonuna bağlı (1.25-20 μM) uygulama canlılıkta bir değişime neden olmazken, MC_1 yüzeyine göre canlılıkta 10 % civarında daha fazla bir düşüş görülmüştür. Topotekan'ın kendisinin uygulamasında da konsantrasyona bağlı anlamlı bir düşüş gözlenmemiştir. Ancak kontrole göre her konsantrasyon değerinde anlamlı düşüşler görülmüştür. TMC_1 ve Topotekan'ın kendisinin uygulaması karşılaştırıldığında ise TMC_1'in 2.5 μM ve 5 μM konsantrasyonlarında Topotekan'a göre canlılıkta anlamlı düşüşler görülmüştür.



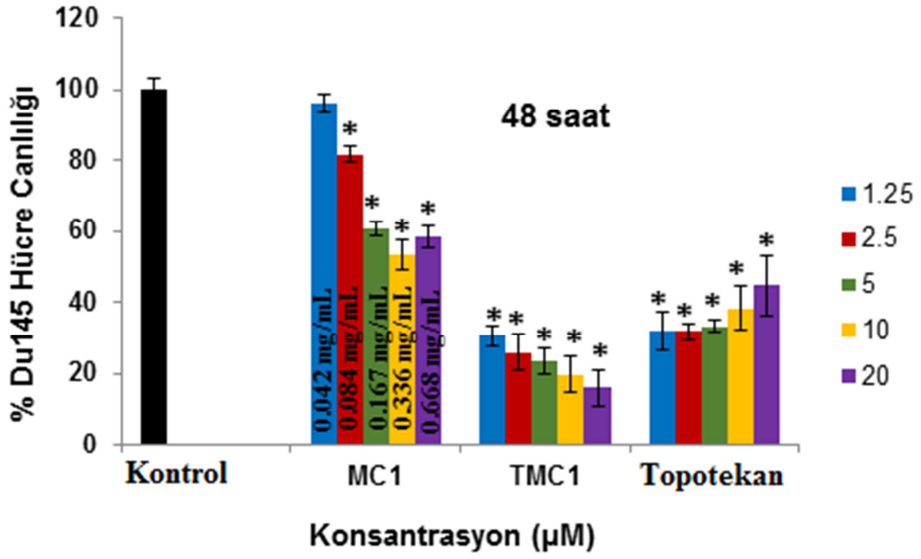
Şekil 4.136. Du145 hücre hattında MC_1, TMC_1 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

MC_1, TMC_1 ve Topotekan'ın PNT1A hücreleri üzerinde 24 saatteki etkisi Şekil 4.137'de verilmiştir. Topotekan'ın her yüzeye farklı oranda bağlanmasından dolayı kullanılan yüzeylerin konsantrasyonu Topotekan'ın uygulandığı konsantrasyona göre değişiklik göstermiştir. Şekilde görüldüğü gibi MC_1'in 0.336 mg/mL ve 0.668 mg/mL konsantrasyon değerlerinde kontrole göre hücre canlılığında anlamlı düşüş görülmüştür. MC_1'in konsantrasyon değerleri kendi arasında karşılaştırıldığında da aynı konsantrasyon değerinde canlılıktaki düşüşler anlamlı bulunmuştur. TMC_1'de kontrole göre 5 µM-20 µM aralığında canlılıktaki düşüşler anlamlı bulunmuştur. TMC_1'in kendi konsantrasyonları arasında 20 µM'daki düşüş diğer konsantrasyonlara göre anlamlı bulunmuştur. Ayrıca MC_1 kompoziti ile TMC_1 arasındaki karşılaştırmada, TMC_1'de 1.25 µM ile 2.5 µM'da canlılıktaki düşüş MC_1'e göre anlamlı görülmüştür. Topotekan uygulamasında kontrole göre 1.25 µM-5 µM aralığında canlılıktaki düşüşler anlamlı bulunmuştur. Topotekan'ın kendi konsantrasyonları arasında anlamlı bir düşüş görülmemiştir. TMC_1 ve Topotekan'ın kendisinin uygulaması karşılaştırıldığında ise TMC_1'de 20 µM'da Topotekan'a göre canlılıkta anlamlı bir düşüş görülmüştür.



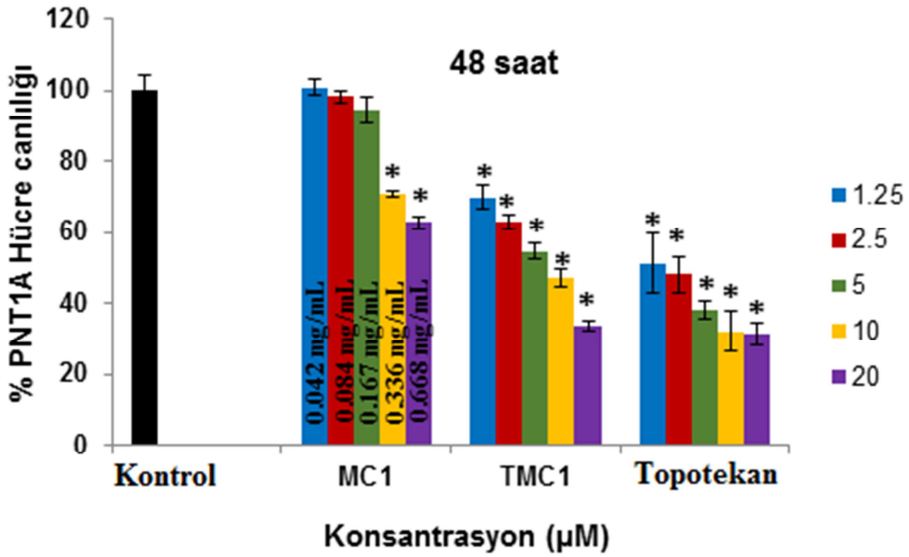
Şekil 4.137. PNT1A hücre hattında MC_1, TMC_1 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Şekil 4.138'de görüldüğü gibi MC_1 kompozitinin 48 saat sonrası Du145 hücreleri üzerine olan etkisi verilmiştir. MC_1'de 0.084 mg/mL-0.668 mg/mL konsantrasyon aralığında kontrole göre canlılıkta anlamlı düşüş gözlenmiştir. MC_1'in kendi konsantrasyonları arasında 0.167 mg/mL-0.668 mg/mL aralığında canlılıktaki düşüş 0.042 mg/mL ve 0.084 mg/mL'ye göre anlamlı bulunmuştur. TMC_1'in her konsantrasyon değeri kontrole göre hücre canlılığında anlamlı düşüşler göstermiştir. TMC_1'de her konsantrasyon değerinde canlılıktaki düşüş MC_1'e göre anlamlı bir fark göstermiştir. Topotekan'nın kendisi 48 saat boyunca bu hücre hattına uygulandığında her konsantrasyon değerinde kontrole göre canlılıkta anlamlı düşüşler görülmüştür. Topotekan'ın kendi konsantrasyonları arasındaki karşılaştırmada ise 1.25 µM ile 2.5 µM'da 20µM'a göre canlılıkta anlamlı düşüşler görülmüştür. TMC_1 ve Topotekan kendi arasında karşılaştırıldığında 5 µM-20 µM konsantrasyon aralığında TMC_1'de Topotekan'a göre canlılıkta anlamlı düşüşler görülmüştür.



Şekil 4.138. Du145 hücre hattında MC_1, TMC_1 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Şekil 4.139'da MC_1, TMC_1 ve Topotekan'nın 48 saatte PNT1A hücre hattı üzerine etkisi verilmiştir. MC_1 kompoziti 0.336 mg/mL ve 0.668 mg/mL konsantrasyonlarda kontrole göre hücre canlılığında anlamlı düşüşler göstermiştir. Aynı zamanda kendi konsantrasyonları arasındaki karşılaştırmada da bu konsantrasyon değerlerinde anlamlı düşüşler gözlenmiştir. TMC_1'in her konsantrasyon değerinde kontrole göre canlılıkta anlamlı bir düşüş bulunmuştur. TMC_1'in kendi konsantrasyonları arasındaki değerlendirmede 10 µM ile 20 µM'da canlılıktaki düşüş diğer konsantrasyonlara göre anlamlı bulunmuştur. TMC_1'deki her konsantrasyon değeri MC_1'e göre canlılıkta düşüşler göstermiştir. Topotekan'ın her konsantrasyon değeri kontrole göre canlılıkta anlamlı düşüşler gösterirken, kendi konsantrasyonları arasında 5 µM-20 µM'da canlılıktaki düşüş 1.25 µM ile 2.5 µM'a göre anlamlı bulunmuştur. TMC_1 ile Topotekan'ın karşılaştırmasında, Topotekan'ın 1.25 µM-10 µM arasında TMC_1'e göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir.

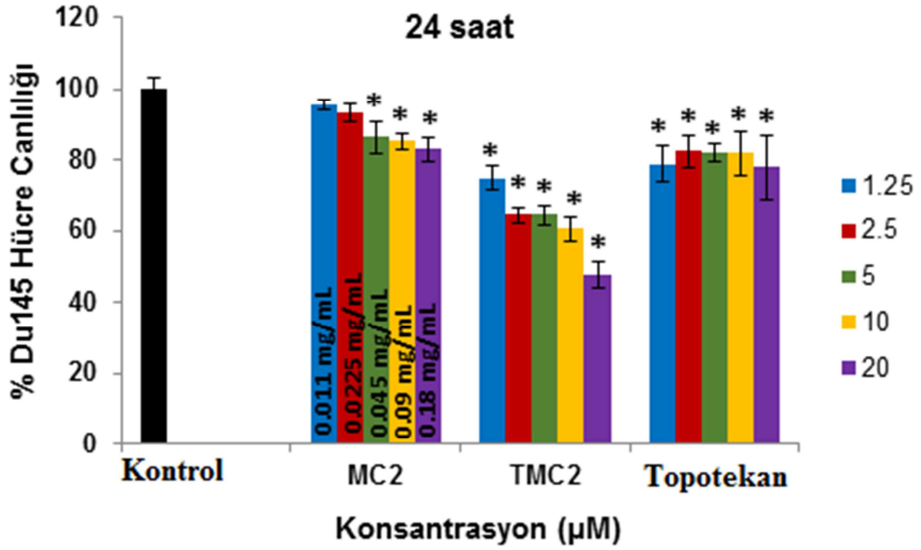


Şekil 4.139. PNT1A hücre hattında MC_1, TMC_1 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Şekil 4.138 ve Şekil 4.139 kendi aralarında karşılaştırıldığında, 48 saatte TMC_1 için 1.25 µM'da hücrelerde canlılık oranlarını sağlıklı hücrelerde %70 iken kanser hücrelerinde %30.5'a düşmüş olup %39.5'luk bir fark gözlenmiştir. Bu kompozit için diğer konsantrasyon değerleri de paralellik göstermiştir. Ayrıca TMC_1'in kanserli hücre hattı üzerinde aynı konsantrasyon değerine sahip Topotekan'a göre % canlılık oranını düşürmede daha çok etkili olduğu görülmüştür. Bununla birlikte MC_1 kompozitinin farklı konsantrasyonlardaki % canlılık değerleri göz önüne alındığında özellikle düşük konsantrasyonlarda (0.042 mg/mL-0.167 mg/mL) sağlıklı hücrelerin canlılık oranlarının hemen hiç değişmediği görülmüştür. Sonuç olarak MC_1'in bu kanser türü için ilaç taşımada tercih edile bilir bir kompozit olduğu ön görülmüştür.

MC_2, TMC_2 ve Topotekan'ın Du145 hücreleri üzerine 24 saatteki etkisi Şekil 4.140'ta verilmiştir. MC_2 kompoziti iki hücre hattına 0.011-0.180 mg/mL konsantrasyon aralığında uygulanmıştır. Şekilde görüldüğü gibi 0.045 mg/mL-0.180 mg/mL konsantrasyon aralığında hücre canlılığı kontrole göre anlamlı bir düşüş göstermiştir. TMC_2 uygulamasında her konsantrasyon değeri için kontrole göre canlılıkta anlamlı farklar gözlenmiştir. Ayrıca kendi konsantrasyon değerleri arasında 20 µM'da diğer konsantrasyonlara göre canlılıkta anlamlı düşüşler görülmüştür. TMC_2'de MC_2 kompozitine göre her konsantrasyon değerinde canlılıkta anlamlı

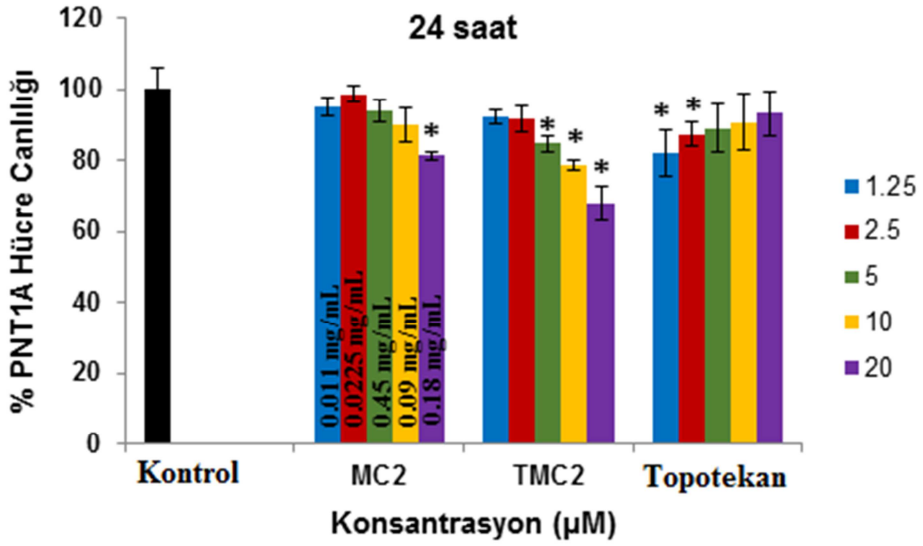
düşüşler gözlenmiştir. Topotekan'ın kendisinin uygulamasında her konsantrasyonda kontrole göre anlamlı bir değişim gözlenmiştir. Ancak kendi konsantrasyon değerleri arasında canlılıkta anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. TMC_2 ve Topotekan'ın kendi uygulaması karşılaştırıldığında ise 1.25 µM konsantrasyonu hariç diğer konsantrasyonlarda TMC_2'de Topotekan'a göre canlılıkta anlamlı bir düşüş görülmüştür. Özellikle 20 µM'da canlılıkta % 30 civarında daha fazla bir düşüş gözlenmiştir.



Şekil 4.140. Du145 hücre hattında MC_2, TMC_2 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*$p< 0.01$) farkları göstermiştir

MC_2, TMC_2 ve Topotekan'ın PNT1A hücreleri üzerine 24 saatteki etkisi Şekil 4.141'de verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi MC_2'de 0.180 mg/mL konsantrasyonunda kontrole göre canlılıkta anlamlı bir düşüş bulunmuştur. MC_2'nin kendi konsantrasyonları arasındaki değerlendirmede 0.180 mg/mL'de canlılıktaki düşüş diğer konsantrasyon değerlerine göre anlamlı bulunmuştur. TMC_2 uygulamasında kontrole göre canlılıktaki anlamlı düşüş 5 µM-20 µM arasındaki konsantrasyon değerlerinde gözlenmiştir. TMC_2'de kendi konsantrasyonları arasındaki karşılaştırmada 20 µM'daki düşüş diğer konsantrasyon değerlerine göre anlamlı bulunmuştur. TMC_2 ve MC_2 kompoziti arasındaki istatistiksel değerlendirmede, sadece 20 µM'da TMC_2'nin MC_2'ye göre canlılıkta anlamlı bir düşüş gösterdiği gözlenmiştir. Topotekan'ın kendisinin

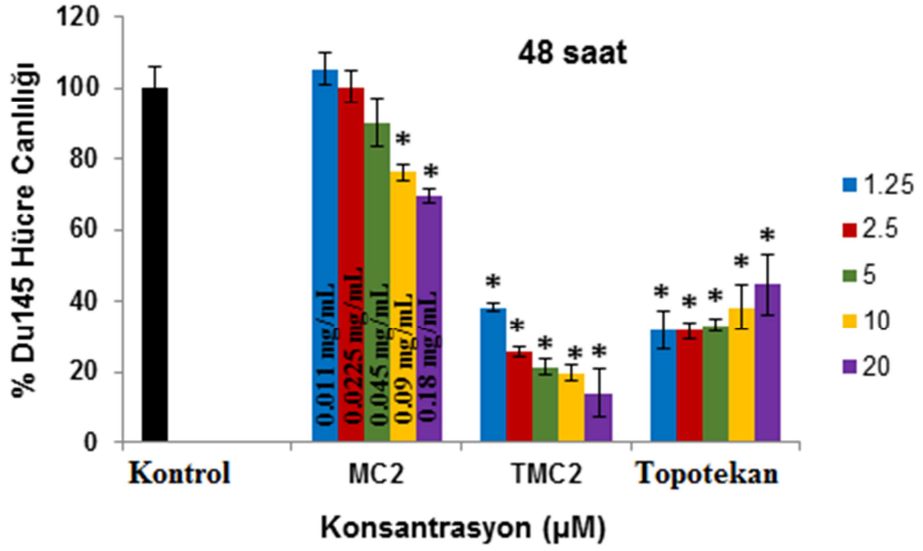
uygulamasında 1.25 µM ile 2.5 µM'da kontrole göre canlılıkta anlamlı düşüş gözlenmiştir. Ancak kendi konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. TMC_2 ve Topotekan'ın kendi uygulaması karşılaştırıldığında ise 20 µM'da TMC_2'de Topotekan'a göre canlılıktaki düşüşte anlamlı bir fark görülmüştür.



Şekil 4.141. PNT1A hücre hattında MC_2, TMC_2 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

MC_2, TMC_2 ve Topotekan'ın Du145 hücreleri üzerine 48 saatteki etkisi Şekil 4.142'de verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi MC_2'de 0.09 mg/mL ve 0.18 mg/mL konsantrasyonlarında kontrole göre hücre canlılığında anlamlı bir düşüş bulunmuştur. Ayrıca kendi konsantrasyonları arasında da 0.09 mg/mL ve 0.18 mg/mL'deki düşüşler diğer konsantrasyonlara göre anlamlı bulunmuştur. TMC_2'nin her konsantrasyon değerinde kontrole göre canlılıkta anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. TMC_2'nin kendi konsantrasyon değerleri arasında ise 20 µM'daki düşüşün 1.25 µM-5 µM aralığındaki düşüşe göre anlamlı olduğu görülmüştür. TMC_2 ile MC_2 kompoziti arasındaki değerlendirmede TMC_2'nin her konsantrasyon değeri MC_2'ye göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. Topotekan'ın kendi uygulamasında kontrole göre her konsantrasyon değerinde canlılıkta anlamlı düşüşler gözlenmiştir. Ayrıca kendi konsantrasyonları arasında 1.25 µM ile 2.5 µM'da 20 µM'a göre canlılıkta anlamlı

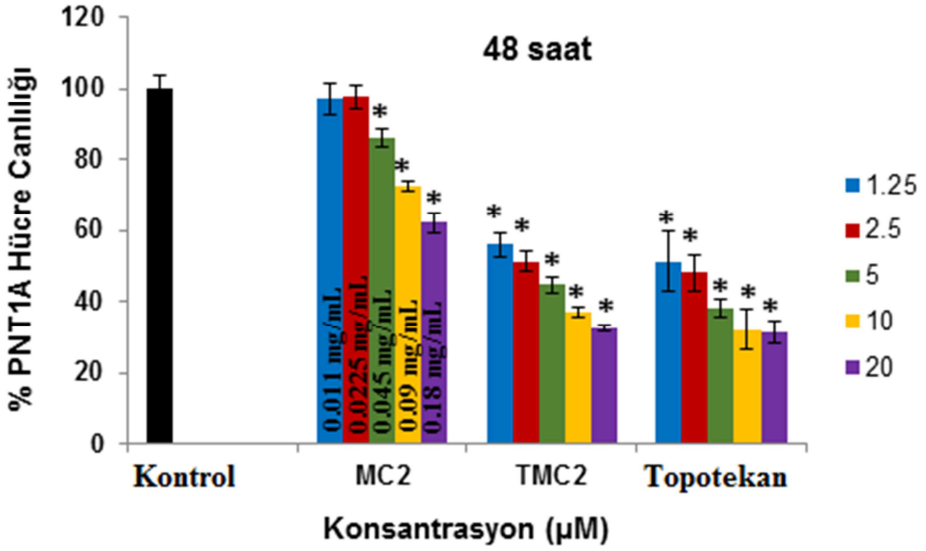
düşüşler görülmüştür. TMC_2 ve Topotekan'ın kendi uygulaması karşılaştırıldığında ise TMC_2'de 5 µM-20 µM arasında canlılıktaki düşüşler Topotekan'a göre anlamlı bir fark göstermiştir.



Şekil 4.142. Du145 hücre hattında MC_2, TMC_2 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

MC_2, TMC_2 ve Topotekan'ın PNT1A hücreleri üzerine 48 saatteki etkisi Şekil 4.143'te verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi 0.045 mg/mL-0.180 mg/mL konsantrasyon aralığında hücre canlılığı kontrole göre anlamlı bir düşüş göstermiştir. Ayrıca MC_2 için 0.09 mg/mL ile 0.18 mg/mL konsantrasyonlarında canlılıktaki düşüş, düşük konsantrasyon değerlerine göre anlamlı bir fark göstermiştir. TMC_2'de her konsantrasyon değeri kontrole göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. Ayrıca TMC_2'nin kendi konsantrasyon değerleri arasında 10 µM -20 µM'da canlılıktaki düşüş 1.25 µM-5 µM konsantrasyon aralığına göre anlamlı düşüşler gözlenmiştir. TMC_2 ile MC_2 kompoziti karşılaştırıldığında, TMC_2'de her konsantrasyon değeri MC_2'ye göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. Topotekan'ın kendi uygulamasında her konsantrasyon değeri için kontrole göre canlılıkta anlamlı farklar gözlenmiştir. Topotekan'ın kendi konsantrasyonları arasında 10 µM ile 20 µM'da, 1.25 µM ile 2.5 µM'a göre canlılıkta anlamlı düşüşler görülmüştür. TMC_2 ve Topotekan'ın kendi

uygulaması karşılaştırıldığında ise Topotekan'da 5 µM'da TMC_2'ye göre canlılıkta anlamlı bir düşüş gözlenmiştir.

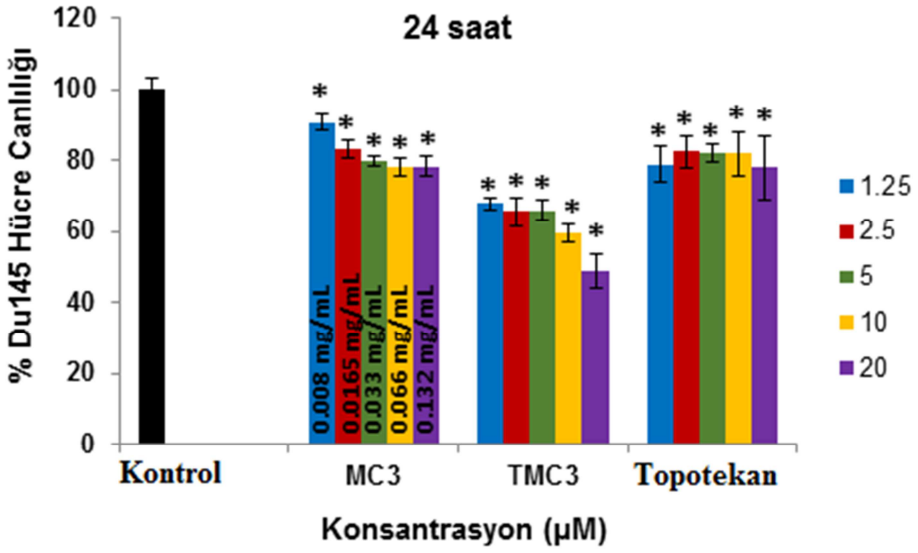


Şekil 4.143. PNT1A hücre hattında MC_2, TMC_2 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Şekil 4.142 ve Şekil 4.143 kendi aralarında karşılaştırıldığında, 48 saatte TMC_2 için 2.5 µM'da hücrelerde canlılık oranları sağlıklı hücrelerde % 51 iken kanser hücrelerinde % 26'ya düşmüş olup % 25'lik bir fark gözlenmiştir. Ayrıca TMC_2'nin kanserli hücre hattı üzerinde aynı konsantrasyon değerine sahip Topotekan'a göre düşük konsantrasyonlarda % canlılık oranını düşürmede daha etkili olduğu görülmüştür. Bununla birlikte MC_2 kompozitinin farklı konsantrasyonlardaki % canlılık değerleri göz önüne alındığında özellikle düşük konsantrasyonlarda (0.011 mg/mL-0.045 mg/mL) iki hücre hattı için de canlılıkta önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda her iki hücre hattı için de canlılık düşmüştür. Sonuç olarak MC_2'in bu kanser türü için ilaç taşımada tercih edile bilir bir kompozit olduğu ön görülmüştür.

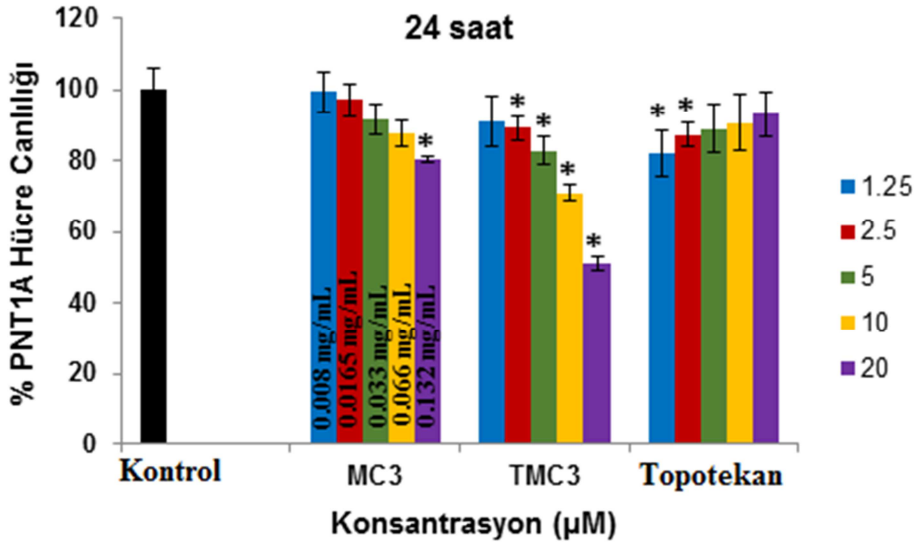
MC_3, TMC_3 ve Topotekan'ın 24 saatte Du145 hücreleri üzerindeki etkisi Şekil 4.144'te verilmiştir. Topotekan'ın her kompozite farklı oranda bağlanmasından dolayı kullanılan nanokompozitlerin konsantrasyonu Topotekan'ın uygulandığı konsantrasyona göre değişiklik göstermiştir. Buna bağlı olarak MC_3 kompoziti 0.008-

0.132 mg/mL konsantrasyon aralığında uygulanmıştır. Şekilde görüldüğü gibi MC_3 kompoziti kontrole göre her konsantrasyon değerinde hücre canlılığında anlamlı düşüşler göstermiştir. Ayrıca MC_3'ün kendi konsantrasyonları arasında 0.0165 mg/mL-0.132 mg/mL'deki düşüşler 0.008 mg/mL'ye göre anlamlı bulunmuştur. TMC_3'deki her konsantrasyon değeri kontrole göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. Ayrıca TMC_3'ün kendi konsantrasyonları arasında 20 µM'da canlılıktaki düşüş diğer konsantrasyon değerleri arasında anlamlı bir fark göstermiştir. TMC_3 ve MC_3 kompoziti arasındaki karşılaştırmada, TMC_3'ün her konsantrasyon değerinde MC_3'e göre canlılıkta anlamlı düşüşler gözlenmiştir. Topotekan'ın kendi uygulamasında her konsantrasyon değerinde kontrol hücrelerine göre canlılıkta anlamlı düşüşler gözlenmiştir. Topotekan'ın kendi konsantrasyonları arasında anlamlı bir düşüş gözlenmemiştir. TMC_3 ve Topotekan'ın kendisinin uygulaması karşılaştırıldığında ise TMC_3'ün her konsantrasyon değerinde Topotekan'a göre canlılıkta anlamlı düşüşler bulunmuştur.



Şekil 4.144. Du145 hücre hattında MC_3, TMC_3 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

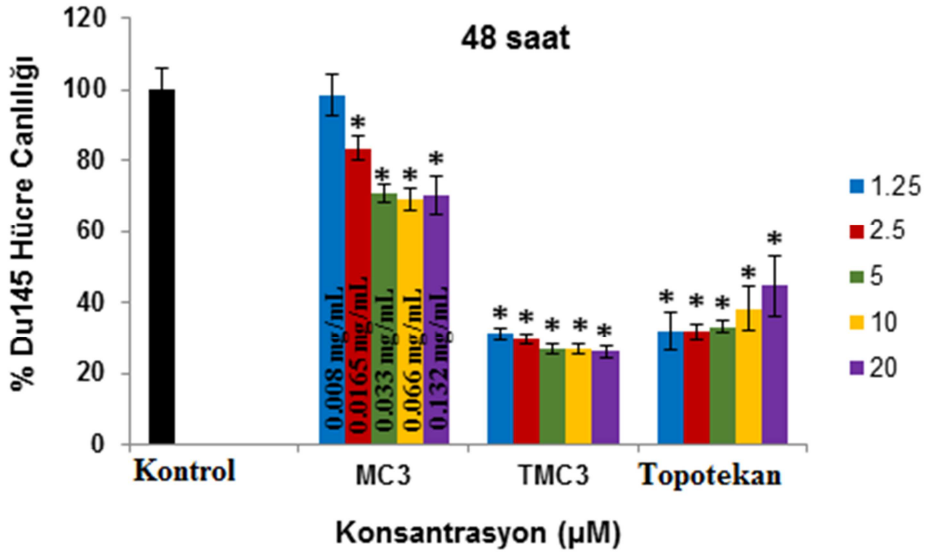
MC_3, TMC_3 ve Topotekan'ın PNT1A hücreleri üzerine 24 saatteki etkisi Şekil 4.145'te verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi MC_3'te 0.132 mg/mL konsantrasyon değerinde kontrole göre hücre canlılığında anlamlı düşüş görülmüştür. TMC_3'te 2.5 µM-20 µM konsantrasyon aralığında hücre canlılığındaki düşüşler kontrole göre anlamlı bulunmuştur. TMC_3'ün kendi konsantrasyonları arasındaki istatistiksel değerlendirmede, 10 µM'daki canlılık düşüşü 1.25 µM-5 µM aralığındaki düşüşe göre ve 20 µM'daki canlılık düşüşü 1.25 µM-10 µM'daki düşüşe göre anlamlı bulunmuştur. TMC_3'te MC_3 kompozitine göre 10 µM ve 20 µM'da canlılıktaki düşüş anlamlı görülmüştür. Topotekan'ın kendisinin uygulamasında 1.25 µM ile 2.5 µM konsantrasyonlarında canlılıktaki düşüşler kontrole göre anlamlı bulunmuştur. Topotekan'ın kendi konsantrasyonları arasında canlılıkta anlamlı bir düşüş gözlenmemiştir. TMC_3 ve Topotekan'ın kendi uygulaması karşılaştırıldığında ise TMC_3'te 10 µM ve 20 µM'daki düşüşler Topotekan'a göre anlamlı bulunmuştur.



Şekil 4.145. PNT1A hücre hattında MC_3, TMC_3 ve Topotekan'ın 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

MC_3, TMC_3 ve Topotekan'ın Du145 hücreleri üzerine 48 saatteki etkisi Şekil 4.146'da verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi MC_3 kompozitinin 0.0165 mg/mL-0.132 mg/mL konsantrasyon aralığında hücre canlılığındaki düşüş kontrol hücrelerine göre anlamlı bulunmuştur. MC_3'ün kendi konsantrasyon değerleri arasında 0.033 mg/mL-

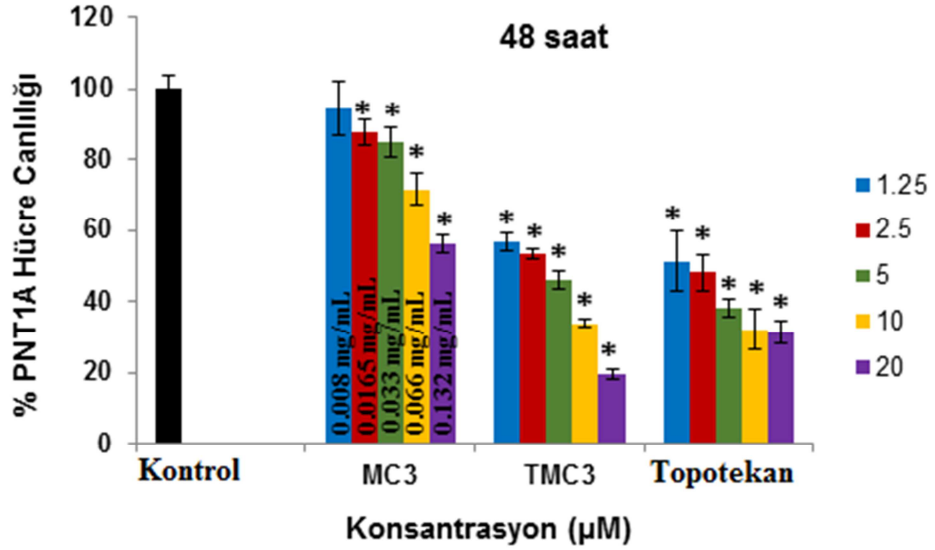
0.132 mg/mL aralığında canlılıktaki düşüşler, 0.008 mg/mL ve 0.0165 mg/mL'deki düşüşlere göre anlamlı bulunmuştur. TMC_3'te her konsantrasyon değerinde canlılıktaki düşüş kontrol hücrelerine göre anlamlı bulunmuştur. TMC_3 ve MC_3 kompoziti kendi aralarında değerlendirildiğinde, TMC_3'ün her konsantrasyon değerinde hücre canlılığındaki düşüşün MC_3'e göre anlamlı olduğu bulunmuştur. Topotekan'ın kendi uygulamasında her konsantrasyon değerinde kontrole göre canlılıkta anlamlı düşüşler gözlenmiştir. Topotekan'ın kendi konsantrasyonları arasında 1.25 µM-5 µM konsantrasyon aralığında canlılıktaki düşüşler 20 µM konsantrasyonuna göre anlamlı bulunmuştur. TMC_3 ve Topotekan'ın kendi uygulaması karşılaştırıldığında ise 10 µM ve 20 µM konsantrasyon değerlerinde TMC_3'te canlılıktaki düşüş Topotekan'a göre anlamlı bulunmuştur.



Şekil 4.146. Du145 hücre hattında MC_3, TMC_3 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

MC_3, TMC_3 ve Topotekan'ın PNT1A hücreleri üzerine 48 saatteki etkisi Şekil 4.147'de verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi MC_3 kompozitinde 0.0165 mg/mL-0.132 mg/mL konsantrasyon aralığında canlılıktaki düşüş kontrol hücrelerine göre anlamlı bulunmuştur. MC_3'ün kendi konsantrasyonları arasındaki değerlendirmede, 0.066 mg/mL'de canlılıktaki düşüş 0.008 mg/mL-0.033 mg/mL aralığındaki düşüşe göre

anlamlı ve 0.132 mg/mL'de canlılıktaki düşüş, 0.008 mg/mL-0.066 mg/mL aralığındaki düşüşe göre anlamlı bulunmuştur. TMC_3'te her konsantrasyon değerinde canlılıktaki düşüş kontrol hücrelerine göre anlamlı bulunmuştur. TMC_3'ün kendi konsantrasyonları arasında 5 µM-20 µM konsantrasyon aralığında canlılıktaki düşüş, 1.25 µM ile 2.5 µM'daki düşüşe göre anlamlı bulunmuştur. TMC_3 ile MC_3 kompoziti arasındaki değerlendirmede, TMC_3'ün her konsantrasyon değerinde canlılıktaki düşüş MC_3'e göre anlamlı bulunmuştur. Topotekan'ın kendisinin uygulamasında her konsantrasyon değerinde kontrole göre anlamlı düşüşler gözlenmiştir. TMC_3 ve Topotekan'ın kendi uygulaması karşılaştırıldığında ise TMC_3'te 20 µM'da canlılık Topotekan'a göre anlamlı bir düşüş göstermiştir.

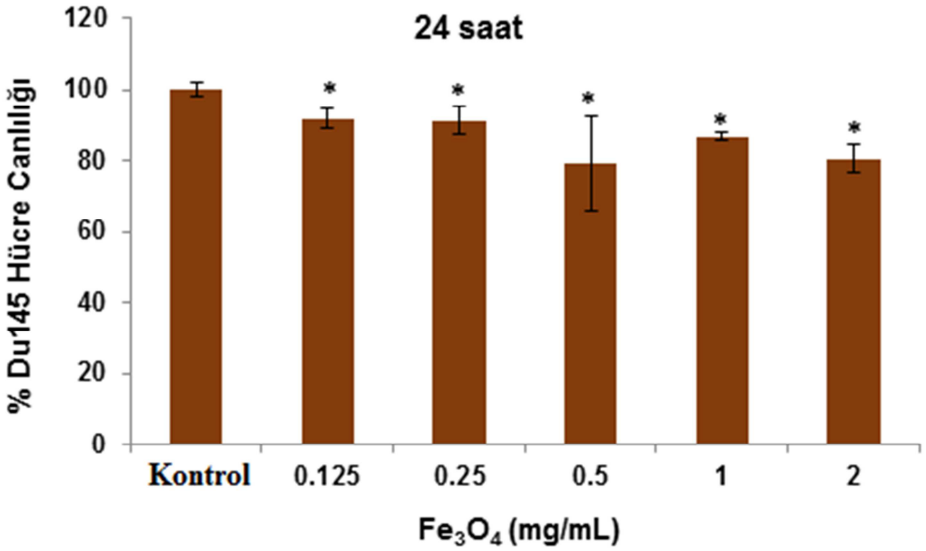


Şekil 4.147. PNT1A hücre hattında MC_3, TMC_3 ve Topotekan'ın 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*$p < 0.01$) farkları göstermiştir

Şekil 4.146 ve Şekil 4.147 kendi aralarında karşılaştırıldığında, 48 saatte TMC_3 için 1.25 µM'da hücrelerdeki canlılık oranları, sağlıklı hücrelerde % 57 iken kanser hücrelerinde %31'e düşmüş olup % 26'lık bir fark gözlenmiştir. TMC_3'ün bu iki hücre hattına uygulanan diğer konsantrasyon değerlerinde de canlılıkta düşüşler görülmüştür. Ayrıca TMC_3'ün Du145 hücre hattı üzerinde aynı konsantrasyon değerine sahip Topotekan'a göre % canlılık oranını düşürmede daha çok etkili olduğu görülmüştür.

Bununla birlikte MC_3 kompozitinin farklı konsantrasyonlardaki % canlılık değerleri göz önüne alındığında özellikle düşük konsantrasyonlarda (0.008 mg/mL-0.033 mg/mL) sağlıklı hücrelerde canlılıkta önemli bir düşüş görülmemiştir. Kanserli hücre hattında ise MC_3 kompozitinin konsantrasyonu 0.0165 mg/mL olmasıyla birlikte canlılıkta anlamlı düşüşler görülmüştür. Sonuç olarak MC_3'ün bu kanser türü için ilaç taşımada tercih edile bilir bir kompozit olduğu ön görülmüştür.

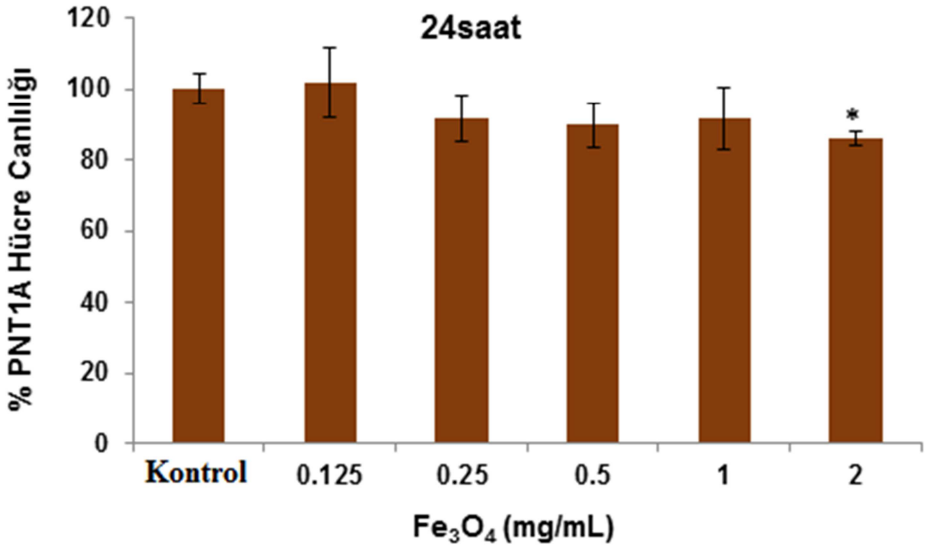
Fe_3O_4'ün Du145 hücreleri üzerine 24 saatteki etkisi Şekil 4.148'de verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi Fe_3O_4 için her konsantrasyon değerinde canlılık kontrole göre anlamlı bir düşüş göstermiştir. Fe_3O_4'ün kendi konsantrasyonları arasında canlılıkta anlamlı bir düşüş görülmemiştir. Topotekan ile Fe_3O_4 arasındaki değerlendirmede, Topotekan'daki 1.25 µM ile 2.5 µM konsantrasyonunda canlılıktaki düşüşler Fe_3O_4'teki 0.125 mg/mL ile 0.25 mg/mL konsantrasyonundaki düşüşe göre anlamlı bulunmuştur.



Şekil 4.148. Du145 hücre hattında Fe_3O_4'ün 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

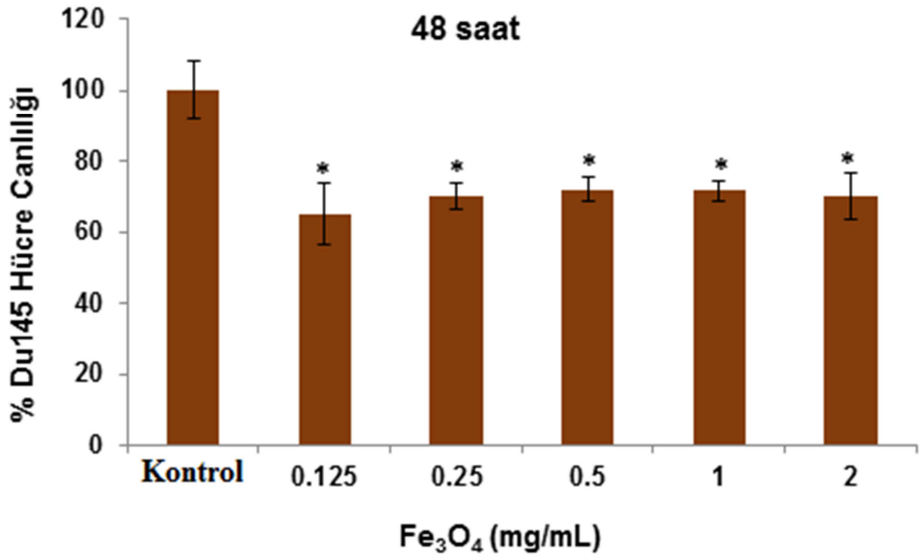
Fe_3O_4'ün PNT1A hücreleri üzerine 24 saatteki etkisi Şekil 4.149'da verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi Fe_3O_4 için 2 mg/mL konsantrasyonunda hücre canlılığındaki düşüş kontrol hücrelerine göre anlamlı bulunmuştur. Fe_3O_4'ün kendi konsantrasyonları

arasında hücre canlılığındaki düşüşler anlamlı bulunmamıştır. Topotekan ile Fe_3O_4'ler arasındaki değerlendirmede, Topotekan'daki 1.25 µM konsantrasyonunda canlılıktaki düşüş Fe_3O_4 için 0.125 mg/mL'deki düşüşe göre anlamlı bulunmuştur.



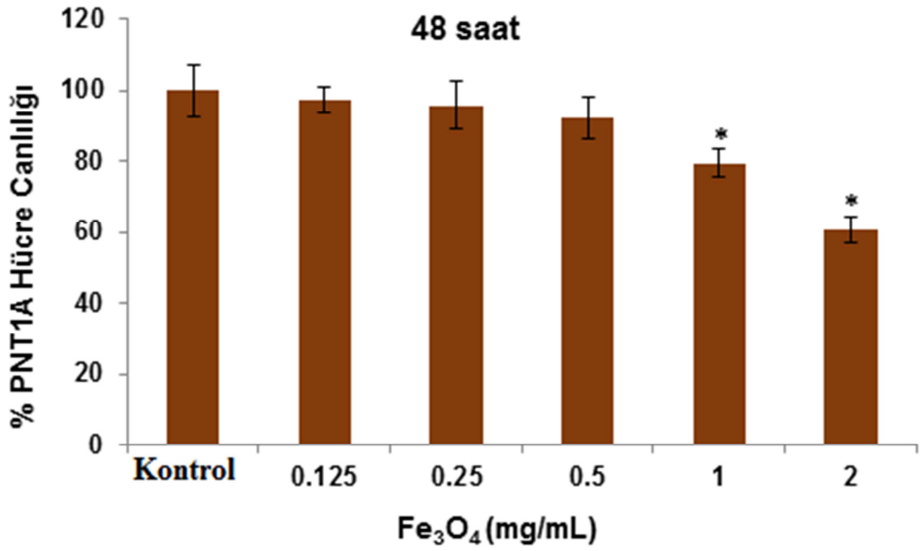
Şekil 4.149. PNT1A hücre hattında Fe_3O_4'ün 24 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Fe_3O_4'ün Du145 hücreleri üzerine 48 saatteki etkisi Şekil 4.150'de verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi Fe_3O_4 için her konsantrasyon değerinde canlılıktaki düşüş, kontrol hücrelerine göre anlamlı bulunmuştur. Fe_3O_4'ün kendi konsantrasyonları arasında hücre canlılığındaki düşüşler anlamlı bulunmamıştır. Fe_3O_4 ile Topotekan uygulaması arasında canlılıktaki düşüşte, Topotekan her konsantrasyon değerinde Fe_3O_4'e göre anlamlı farklar göstermiştir.



Şekil 4.150. Du145 hücre hattında Fe_3O_4'ün 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Fe_3O_4'ün PNT1A hücreleri üzerine 48 saatteki etkisi Şekil 4.151'de verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi Fe_3O_4 1 mg/mL ve 2 mg/mL konsantrasyon değerlerinde kontrol hücrelerine göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. Kendi konsantrasyon değerleri arasında 1 mg/mL ve 2 mg/mL'de canlılıktaki düşüş, 0.125 mg/mL-0.5 mg/mL konsantrasyon aralığındaki düşüşe göre anlamlı farklar göstermiştir. Fe_3O_4 ile Topotekan uygulaması arasında, Topotekan'daki her konsantrasyon değeri Fe_3O_4'e göre canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir.



Şekil 4.151. PNT1A hücre hattında Fe_3O_4'ün 48 saatte konsantrasyona bağlı % canlılık değerleri verilmiştir. Deneyler beş ayrı konsantrasyonda dört tekrarlı yapılmıştır. * ile belirtilenler kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı (*p< 0.01) farkları göstermiştir

Şekil 4.150 ve Şekil 4.151'de Fe_3O_4'ün 48 saat sonunda sağlıklı ve kanserli hücre hatları üzerindeki etkileri verilmiştir. Şekillerde görüldüğü gibi Fe_3O_4'ün konsantrasyon değerini 1 mg/mL'ye kadar arttırmak sağlıklı hücrelerde canlılıkta önemli bir değişim göstermezken, hastalıklı hücrelerde 0.125 mg/mL'den itibaren canlılıkta anlamlı düşüşler göstermiştir. Sonuç olarak, Fe_3O_4 belli bir konsantrasyon değerine kadar sağlıklı hücreler üzerine toksik etkisi bulunmayıp, manyetik ilaç taşımada güvenli bir şekilde kullanıla bileceği görüşüne varılmıştır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kanser çok yaygın olarak görülen ve ölüm oranları yüksek olan bir hastalıktır. Bu hastalıkta genelde uygulanan tedavi yöntemleri radyoterapi, kemoterapi ve ameliyat ile sınırlıdır. Bu yöntemlerden en yaygın olarak kullanılanı ise kemoterapidir. Günümüzde kanser kemoterapisinin en önemli sorunlarından biri, kullanılan anti-kanser ilaçlarının kanserli hücreyi ayırt edici özelliğe sahip olmamaları ve yan etki olarak sağlıklı hücreler üzerine de toksik etki göstermeleridir. Ayrıca tedavi edici doz konsantrasyonunu sağlamak için vücuda yüksek dozda ilaç verilmesi bununla birlikte ciddi yan etkilerin ve sistemik toksisitenin ortaya çıkmasıdır.

21.yüzyılda her alanda olduğu gibi ilaç endüstrisinde de hızlı gelişmeler yaşanmaya devam etmektedir. Son zamanlarda nanotıp, geleneksel tedavi yöntemlerinin seçici olmaması, zayıf farmakokinetik özelliklere sahip olması ve istenmeyen yan etkilere yol açması gibi sınırlamaların üstesinden gelebilmek için alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Nanotıpta yaşanan gelişmeler ile birlikte, kanser kemoterapisinden kaynaklı problemlere çözüm bulmak amacı ile son yıllarda hedeflendirilmiş ilaç taşıma sistemleri ve kontrollü ilaç salım sistemleri üzerine yapılan çalışmalar artmıştır. Nanoboyuttaki kontrollü ilaç taşıma sistemleri tümör hedeflenmesine olanak sağlamıştır. Bu parçacıklar gerekli modifikasyonlarla ilaç yüklenmeye uygun hale getirilebilmiştir. Nanotaşıyıcılar arasında, biyouyumlu polimer kaplı süperparamanyetik nanoparçacıklar dışardan uygulanan manyetik alan ile istenilen bölgeye hedeflenebilme özelliklerine sahiptirler. Bu sayede ilaç hedeflenen bölgeye güvenli bir şekilde taşınabilmekte ve orada etkin bir tedavi sağlayabilmektedir. Bu yöntem ile geleneksel kemoterapinin aksine sadece tümörlü hücrelere müdahale edilebilir ve ilaçların sağlıklı hücrelere etkisi azaltılabilir. Ayrıca, etken maddenin dozunun azaltılabilmesine ve etken maddenin sadece hedef bölgeye dağılımıyla sınırlandırılmasına olanak sağlayabilmektedir. Böylece oluşabilecek herhangi bir yan etki veya yan etkiler büyük oranda minimuma indirilebilecektir.

Yapılan bu çalışmada biyouyumlu, biyobozunur, toksik özelliği olmayan ve süperparamanyetik özellikte olan manyetik kitosan (MC_1), manyetik dekstran (MD_1) ve bunların farklı türevleri sentezlenmiş, altı farklı nanokompozitten oluşan ilaç taşıma

sistemleri geliştirilmiştir. Bu tezin verileri ışığında elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi sıralanmıştır:

1. İlaç taşıma sistemleri olarak geliştirilen süperparamanyetik nanokompozitlerin başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğu farklı karakterizasyon teknikleri olan FTIR, XPS ve EDX ile kanıtlanmış olup sonuçların literatürler ile uyum içinde olduğu görülmüştür. FTIR spektrumlarında sentez sonrası görmeyi umduğumuz pikler spektrum üzerinde gözlenebilmiştir. Ayrıca genel taramalı XPS spektrumları ile EDX sonuçlarından sentez sonrası görmeyi umduğumuz atomların pikleri ile atomik %'likleri tespit edilmiştir. Yine yüksek çözünürlükteki XPS spektrumlarından her bir atom için olası bağlanmaları gösteren bağ enerjilerinin yer aldığı spektrumlar ile nanokompozitlerin başarılı bir şekilde sentezlendiği kanıtlanmıştır (Orijinal FTIR spektrumları Ek'ler bölümünde verilmiştir).
2. Manyetik özellik gösteren nanokompozitlerin manyetik doyum değerleri VSM ile ölçülmüş olup, ilaç taşıma sistemleri için oldukça elverişli değerlere sahip olduğu görülmüştür. İlaç yüklü TMD_1 nanokompozitinin parçacık boyutları sentezlenen diğer nanokompozitlere göre daha küçük olmasından dolayı manyetizasyon değeri 30.5 emu/g olarak ölçülmüş. Diğer ilaç yüklü nanokompozitlerde ise manyetizasyon değerleri 54.3-57.8 emu/g arası değiştiği görülmüştür.
3. Nanokompozitlerin ilaç taşıma sistemleri için elverişli olduğunu gösteren parçacık boyutları ve yüzey morfolojileri, yüksek çözünürlükteki TEM ve SEM karakterizasyonları ile aydınlatılmıştır. Ayrıca aglomerat boyutları da DLS sonuçları ile aydınlatılmıştır. Buna göre yüksek çözünürlükteki TEM sonuçlarından nanokompozitlerin parçacık boyutları ortalama 10-12 nm civarı olduğu görülmüştür. Ayrıca MD_1 nanokompozitinde TEM görüntülerinden de anlaşıldığı üzere parçacık boyutları 6-7 nm civarı olduğu görülmüş ve parçacık boyutları 25 nm'nin altında olması nanokompozitlerin süperparamanyetik özellikte olduğunu göstermiştir. İlaç taşıma sistemlerinde kullanılacak manyetik nanoparçacıklarda parçacık boyutu 100 nm'nin altında olması gerekmektedir. Bu çalışmada sentezlenmiş olan nanokompozitlerin ilaç taşıma sistemleri için gerekli niteliği sağladığı görülmüştür. Yine TEM ve SEM görüntülerinden parçacıkların küresel bir morfolojiye sahip olduğu ve SEM görüntülerinden, ilaç yüklenmeden önce ve ilaç yüklendikten sonra

morfolojideki değişimler gözlemlene bilmiştir. Böylece ilacın nanokompozitlere başarılı bir şekilde yüklenmiş olduğu görülmüştür.

4. Sentezlenmiş olan altı farklı nanokompozite Topotekan anti-kanser ilacı yüklenmiştir. Yükleme işlemi hem adsorpsiyon yöntemi ile hem de moleküler arası hidrojen bağıları yardımıyla gerçekleştiği düşünülmüştür. Salım sonrası ortamda kalan ilaç formunu gösteren HPLC analiz sonuçları ile salım grafikleri göz önüne alınarak bu kanıya varılmıştır. Ek'ler bölümünde verilen HPLC grafiklerinden de anlaşıldığı üzere ortamda kalan ilaç büyük çoğunlukta lakton formda olduğu görülmüştür. Bu durum, lakton formun moleküller arası hidrojen bağı ile nanokompozit yüzeyine kararlı bir şekilde tutturulmuş olabileceğini göstermiştir. Ayrıca Bulgular ve Tartışma Bölümünde verilen salım grafiklerinden, salımın belli bir konsantrasyon değerinden başlamış olması ilacın büyük oranda adsorpsiyon ile tutunmuş olduğunu göstermiştir. İlaç yükleme verimi altı farklı nanokompozit için üç farklı pH (pH 5, 5.5 ve 6) değerinde değerlendirilmiştir. Her nanokompozit için farklı pH değerinde farklı sonuçlar elde edilmiştir. Genel anlamda pH artışı ile birlikte ilaç yükleme verimi artmıştır. Bu durum, pH artışı ile beraber ortamda karboksilat formun artmış olduğu ve iyonik etkileşimle kompozit yüzeyine daha çok tutunduğunu göstermiştir. Ayrıca pH artışı ile beraber ortamdaki karboksilat formun artmış olduğu HPLC analiz sonuçları ile kanıtlanmıştır. Bununla birlikte literatürler de pH 5'in üzerindeki değerlerde karboksilat formun oluşumunda artış olduğunu göstermiştir (Allen ve ark. 1999, Lee ve ark. 2004). Dolayısıyla ilaç yükleme çalışmaları pH 5'te yapılmıştır. Tablo 4.2'den de görülebileceği gibi MD_1 nanokompoziti için bu pH değerinde ilaç yükleme verimi % 54.6, Tablo 4.4'te verildiği gibi MD_2 nanokompoziti için % 36.2, Tablo 4.6'da verildiği gibi MD_3 nanokompoziti için % 32.2, Tablo 4.8'de verildiği gibi MC_1 nanokompoziti için bu değer % 39.8, Tablo 4.10'da verildiği gibi MC_2 için % 43.8 ve Tablo 4.12'de verildiği gibi MC_3 nanokompoziti için ilaç yükleme verimi % 54.1 olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar da gösteriyor ki hemen her nanokompozit için literatür ile karşılaştırıldığında iyi bir ilaç yükleme verimi elde edilmiştir (Sarısözen 2012, Varan 2013, Erdem 2014, Parsian 2014, Cihnioğlu 2015).
5. Bu çalışmada, optimum doz belirlemede farklı miktarda nanokompozitler ile çalışılmıştır. Nanokompozit miktarı arttıkça tutunan ilaç konsantrasyonunun da

arttığı görülmüştür. Ancak sitotoksisite çalışmaları da dikkate alındığında kompozitin ve kompozite yüklenmiş ilacın hücre içine daha kolay dağılabilmesi için daha düşük miktarlar tercih edilmiş ve 5 mg'lık nanokompozit miktarı bu çalışma için optimum miktar olarak belirlenmiştir.

6. Optimum konsantrasyon değerini tespit etmek için farklı konsantrasyon değerlerinde Topotekan ile çalışılmıştır. Literatürde Topotekan ile yapılan sitotoksisite çalışmalarında ilaç konsantrasyonu nM veya μM düzeyinde olduğundan 0.118 mM konsantrasyon değeri bu çalışma için optimum konsantrasyon olarak uygun görülmüştür (Aljuffali ve ark. 2011, Hörmann ve ark. 2012).
7. Topotekan yüklü nanokompozitler ile fosfat tamponu ortamında salım çalışmaları yapılmıştır. Salım çalışmaları dört farklı pH (pH 5.8, 6, 6.5 ve 7.4) değerinde çalışılmış ve bu değerler tespit edilirken fizyolojik pH değeri ile kanserli bölge pH'ı dikkate alınmıştır (Dahier ve ark. 2010). Salım grafikleri değerlendirildiği zaman salınan ilaç konsantrasyonlarının orjinden başlamadığı görülmüştür. Bunun temel nedeni yüksek konsantrasyonlarda ilaç yükleme çalışmalarının yapılmış olması ve bu konsantrasyon değerlerinde yüzeyde adsorplanmış fazla ilacın ilk bir iki dakika içinde ortama verilmiş olmasıdır. Her nanokompozit için 90 dakika boyunca salınım çalışılmış olup, genellikle ilk 40 dakika sonrası salımın dengeye geldiği görülmüştür. Ayrıca sitotoksisite çalışmaları da göz önüne alındığında 48 saat boyunca salınım devam ettiği görülmüştür. Dolayısıyla hazırlanmış olan altı farklı nanokompozitin de uzun süre dengeli bir salınım göstermiş olduğu gözlenmiştir. 90 dakika boyunca salınan ilaç yüzdesi birbirine yakın olup daha iyi sonuçların kanserli bölge pH'larında (pH 5.8 ve 6) olduğu görülmüştür. Tablo 4.13'te verildiği gibi MD_1, MD_2 ve MD_3 nanokompozitleri için 90 dakika sonunda pH 5.8'de salınan ilaç yüzdesi sırasıyla % 1.28, % 0.85 ve % 1.67 olarak bulunmuştur. Tablo 4.14'te verildiği gibi pH 5.8'de MC_1, MC_2 ve MC_3 için 90 dakika sonunda salınan ilaç yüzdesi ise sırasıyla % 0.85, % 1.53 ve % 2.68 olarak hesaplanmıştır.
8. İlaç taşıma sistemleri için hazırlanmış olan altı farklı nanokompozit için sitotoksisite sonuçları değerlendirildiğinde; her nanokompozitten alınan sonuçların oldukça iyi olduğu istatistiksel değerlerle de ifade edilmiştir. Kompozitler arasında bir kıyasa gidildiği zaman Dekstranlı nanokompozitler (MD_1, MD_2 ve MD_3) kendi aralarında, Kitosanlı nanokompozitler (MC_1, MC_2 ve MC_3) ise kendi aralarında

değerlendirilmiştir. Sağlıklı prostat hücreleri (PNT1A) üzerine sitotoksik etkisi en düşük olan dekstranlı nanokompozit MD_1'dir. Hücre canlılık değerlerine bakıldığı zaman özellikle düşük konsantrasyonlarda % 107, % 110 ve % 99 değerlerinde olduğu görülmüştür. Aynı hücre hattı üzerine MD_2 için düşük konsantrasyon değerlerinde hücre canlılığı % 65, % 80 ve % 77 olduğu görülmüştür. MD_3 için düşük konsantrasyonlarda sağlıklı hücre üzerindeki sitotoksik etkisinde canlılık değerleri % 99, % 100 ve % 93'tür. Dolayısıyla biyouyumluluğu en yüksek olan MD_1 en düşük olan ise MD_2 nanokompozitidir. Bunun temel nedeni, MD_2 nanokompozitin içermiş olduğu Fe_3O_4 miktarının daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. İlaç yüklü hallerinin (TMD_1, TMD_2 ve TMD_3) hastalıklı prostat hücreleri (Du145) üzerine sitotoksik etkisi değerlendirildiğinde, özellikle yüksek konsantrasyonlarda TMD_1'in hücre canlılığını % 26'ya, TMD_2'nin yüksek konsantrasyonlarda hücre canlılığını % 17'ye ve TMD_3'ün ise yüksek konsantrasyonlarda hücre canlılığını % 15'e kadar düşürdüğü görülmüştür. Dolayısıyla sağlıklı hücreler üzerine biyouyumluluğu yüksek aynı zamanda kanserli hücreler üzerinde sitotoksik etkisi en yüksek olan MD_3 nanokompozitinin, bu üç kompozit arasında ilaç taşıma sistemleri için daha elverişli olduğu tespit edilmiştir. Kitosanlı nanokompozitler de ise, sağlıklı prostat hücreleri (PNT1A) üzerine sitotoksik etkilerine bakıldığı zaman; MC_1 için düşük konsantrasyonlarda canlılık değeri % 101, % 98 ve % 94 olduğu, MC_2 için düşük konsantrasyonlarda % 97, % 98 ve % 86 olduğu, MC_3'te ise bu değerler % 94, % 88 ve % 85 olduğu görülmüştür. Dolayısıyla her üç nanokompozit te biyouyumluluk göstermiş olup, biyouyumluluğu en yüksek olan MC_1 nanokompoziti olduğu görülmüştür. Bu kompozitlerin ilaç yüklü hallerinin (TMC_1, TMC_2 ve TMC_3) hastalıklı prostat hücreleri (Du145) üzerine sitotoksik etkileri incelendiği zaman, özellikle yüksek konsantrasyonlarda TMC_1'in hücre canlılığını % 16'ya, TMC_2'nin %14'e ve TMC_3'ün % 26'ya kadar düşürdüğü görülmüştür. Dolayısıyla sağlıklı hücreler üzerine biyouyumlulukları yüksek aynı zamanda kanserli hücreler üzerinde sitotoksik etkileri oldukça yüksek olan MC_1 ve MC_2 nanokompozitlerin, MC_3 nanokompozitine göre ilaç taşıma sistemleri için daha elverişli oldukları tespit edilmiştir.

9. Elde edilen sonuçlar; biyouyumlu ve biyobozunur manyetik nanokompozitlerin ilaç taşıma sistemleri için istenilen boyutta ve süperparamanyetik özellikte oldukları gösterilmiştir. Düşük konsantrasyondaki nanokompozitlerin sağlıklı hücreler üzerinde herhangi bir toksik etkilerinin olmadığı, kanser hücreleri üzerinde özellikle ilaç yüklü nanokompozitlerin ciddi anlamda toksik etki gösterdiği ve kanserli hücre ölümlerine yol açtığı görülmüştür. Ayrıca sonuçlar istatistiksel verilerle kanıtlanmış $p < 0.01$ olan sonuçlar anlamlı bulunmuştur. Sonuç olarak hazırlanan Topotekan yüklü manyetik nanokompozitlerin gelecekte kemoterapi ajanı olarak, ilaç taşıma sistemlerinde kullanılma potansiyeli olduğu ön görülmüş, ileride yapılacak olan bu tür çalışmalara katkı sağlayacağı umulmuştur.

6. KAYNAKLAR

Abushrida, A. 2012. Formulation of novel polymer coated iron oxide nanoparticles. Doktora Tezi, University of Nottingham. 295.

Aguirre, M., Salazar-Sandoval, E.J., Johansson, M., Ahniyaz, A., Paulis, M., Leiza, J.R. 2014. Hybrid acrylic/CeO 2 nanocomposites using hydrophilic, spherical and high aspect ratio CeO 2 nanoparticles. ***Journal of Materials Chemistry A***, 2(47), 20280-20287.

Ak, G. 2010. Folat - PEG-Doxorubicin türevinin sentezlenerek teknesyumla işaretlenmesi ve kanser görüntüleme ajanı olarak kullanım olanaklarının araştırılması. Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir. 98.

Aljuffali, I.A., Mock, J.N., Costyn, L.J., Nguyen, H., Nagy, T., Cummings, B.S., Arnold, R.D. 2011. Enhanced antitumor activity of low-dose continuous administration schedules of topotecan in prostate cancer. ***Cancer Biology & Ther*apy**, 12(5), 407-420.

Allen, C., Maysinger, D., Eisenberg, A. 1999. Nano-engineering block copolymer aggregates for drug delivery. ***Colloids and Surfaces B: Biointerfaces***, 16(1), 3-27.

Anderson, J., Kuhn, M., Diebold, U. 1996. Epitaxially grown Fe3O4 thin films: an XPS study. ***Surface Science Spectra***, 4(3), 266-272.

Andersson, P.O., Lundquist, M., Tegler, L., Börjegren, S., Baltzer, L., Österlund, L. 2007. A Novel ATR-FTIR Approach for Characterisation and Identification of Ex Situ Immobilised Species. ***ChemPhysChe*m**, 8(5), 712-722.

Andhariya, N., Chudasama, B., Mehta, R., Upadhyay, R. 2011. Biodegradable thermoresponsive polymeric magnetic nanoparticles: a new drug delivery platform for doxorubicin. ***Journal of Nanoparticle Research***, 13(4), 1677-1688.

Arias, J.L., López-Viota, M., López-Viota, J., Delgado, Á.V. 2009. Development of iron/ethylcellulose (core/shell) nanoparticles loaded with diclofenac sodium for arthritis treatment. ***International Journal of Phar*maceutics**, 382(1), 270-276.

Asmaz, A. 2010. Polimer Kaplı Manyetik Nanopartiküller Üzerinde İlaç Salınımının İncelenmesi. Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 96.

Auffan, M., Decome, L., Rose, J., Orsiere, T., De Meo, M., Briois, V., Chaneac, C., Olivi, L., Berge-Lefranc, J.-L., Botta, A. 2006. In vitro interactions between DMSA-coated maghemite nanoparticles and human fibroblasts: a physicochemical and cyto-genotoxical study. ***Environmental Science & Technology***, 40(14), 4367-4373.

Avdeev, M.V., Bica, D., Vékás, L., Marinica, O., Balasoiu, M., Aksenov, V.L., Rosta, L., Garamus, V.M., Schreyer, A. 2007. On the possibility of using short chain length mono-carboxylic acids for stabilization of magnetic fluids. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials***, 311(1), 6-9.

Ayala, V., Herrera, A.P., Latorre-Esteves, M., Torres-Lugo, M., Rinaldi, C. 2013. Effect of surface charge on the colloidal stability and in vitro uptake of carboxymethyl dextran-coated iron oxide nanoparticles. ***Journal of Nanoparticle Research***, 15(8), 1874.

Aydemir, A.T. 2011. PMMA kaplanmış süperparamanyetik nanoparçacıkların kemoterapi ilaçları ile yüklenmesi ve insan karaciğer hücreleri (Hep3B) üzerinde etkilerinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir. 70.

Aziz, T., Masum, S.M., Qadir, M.R., Gafur, A., Huq, D. 2016. Physicochemical Characterization of Iron Oxide Nanoparticle Coated with Chitosan for Biomedical Application. ***International Research Journal of Pure & Applied Chemistry,*** 11(1), 1-9.

Babes, L., Denizot, B.t., Tanguy, G., Le Jeune, J.J., Jallet, P. 1999. Synthesis of iron oxide nanoparticles used as MRI contrast agents: a parametric study. ***Journal of Colloid and Interface Science***, 212(2), 474-482.

Bahadur, D., Giri, J. 2003. Biomaterials and magnetism. ***Sadhana***, 28(3-4), 639-656.

Bahar, 2010. Taramalı Elektron Mikroskobu.Erişim: [http://www2.aku.edu.tr/]. Erişim Tarihi: 05.09.2012

Baker, I., Zeng, Q., Li, W., Sullivan, C.R. 2006. Heat deposition in iron oxide and iron nanoparticles for localized hyperthermia. ***Journal of Applied Physics***, 99(8), 08H106.

Ban, Z., Barnakov, Y.A., Li, F., Golub, V.O., O'Connor, C.J. 2005. The synthesis of core–shell iron@ gold nanoparticles and their characterization. ***Journal of Materials Chemistry***, 15(43), 4660-4662.

Bassi, P., Volpe, A., D'Agostino, D., Palermo, G., Renier, D., Franchini, S., Rosato, A., Racioppi, M. 2011. Paclitaxel-hyaluronic acid for intravesical therapy of bacillus Calmette-Guerin refractory carcinoma in situ of the bladder: results of a phase I study. ***The Journal of Urology***, 185(2), 445-449.

Bayrak, M. 2002. Temel Elektrik ve Manyetizma. Türkiye, İstanbul: Atlas Yayınları.

Berger, P., Adelman, N.B., Beckman, K.J., Campbell, D.J., Ellis, A.B., Lisensky, G.C. 1999. Preparation and properties of an aqueous ferrofluid. ***J. Chem. Edu*****c**, 76(7), 943.

Berry, C.C., Curtis, A.S. 2003. Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. ***Journal of physics D: Applied physics***, 36(13), R198.

Bertrand, R., Solary, E., O'Connor, P., Kohn, K.W., Pommier, Y. 1994. Induction of a common pathway of apoptosis by staurosporine. ***Experimental Cell Research***, 211(2), 314-321.

Bildstein, L., Dubernet, C., Couvreur, P. 2011. Prodrug-based intracellular delivery of anticancer agents. ***Advanced Drug Delivery Reviews***, 63(1), 3-23.

Kumar, B., Yadav, P., Goel, H. 2009. Recent developments in cancer therapy by the use of nanotechnology. ***Digest J Nanomater Biostr. ,*** 4 (1) , 1 – 12.

Bleaney, B.I., Bleaney, B.I., Bleaney, B. 2013. Electricity and Magnetism, Volume 2. Oxford University Press.

Boddy, A.V., Plummer, E.R., Todd, R., Sludden, J., Griffin, M., Robson, L., Cassidy, J., Bissett, D., Bernareggi, A., Verrill, M.W. 2005. A phase I and pharmacokinetic study of paclitaxel poliglumex (XYOTAX), investigating both 3-weekly and 2-weekly schedules. ***Clinical Cancer Research***, 11(21), 7834-7840.

Bonadonna, G., Gianni, L., Santoro, A., Bonfante, V., Bidoli, P., Casali, P., Demicheli, R., Valagussa, P. 1993. Drugs ten years later: epirubicin. ***Annals of Oncology***, 4(5), 359-369.

Bourrinet, P., Bengele, H.H., Bonnemain, B., Dencausse, A., Idee, J.-M., Jacobs, P.M., Lewis, J.M. 2006. Preclinical safety and pharmacokinetic profile of ferumoxtran-10, an ultrasmall superparamagnetic iron oxide magnetic resonance contrast agent. ***Investigative Radiology***, 41(3), 313-324.

Boyle, J. 2008. Molecular biology of the cell, 5th edition by B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter. ***Biochemistry and Molecular Biology Education***, 36(4), 317-318.

Bozkurt, H. 2004. Bazı Cisplatin Analoglarının Sitotoksisitesinin ve Antitümör Aktivitesinin Belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir.

Brannon-Peppas, L., Blanchette, J.O. 2012. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. ***Advanced Drug Delivery Reviews***, 64, 206-212.

Bumb, A., Brechbiel, M., Choyke, P., Fugger, L., Eggeman, A., Prabhakaran, D., Hutchinson, J., Dobson, P. 2008. Synthesis and characterization of ultra-small superparamagnetic iron oxide nanoparticles thinly coated with silica. ***Nanotechnology***, 19(33), 335601.

Burgos-Asperilla, L., Darder, M., Aranda, P., Vázquez, L., Vázquez, M., Ruiz-Hitzky, E. 2007. Novel magnetic organic–inorganic nanostructured materials. ***Journal of Materials Chemistry***, 17(40), 4233-4238.

Cabadak, H. 2008. Hücre siklusu ve kanser. ***ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi,*** 9(3), 51 – 61.

Campbell, N. A. R., Jane B., 2002. Biology. 6th Edition ed.; Pearson Education Inc: San Francisco, 1175, California.

Cao, Q., Han, X., Li, L. 2011. Enhancement of the efficiency of magnetic targeting for drug delivery: Development and evaluation of magnet system. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials***, 323(15), 1919-1924.

Chakraborty, S., Sandoval-Bernal, B., Kumi-Diaka, J. 2013. Therapeutic Efficacy of Genistein-Topotecan Combination Compared to Vitamin D3-Topotecan Combination in LNCaP Prostate Cancer Cells. ***CellBio***, 2013.

Chan, W.C., Maxwell, D.J., Gao, X., Bailey, R.E., Han, M., Nie, S. 2002. Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging**.** ***Current Opinion in Biotechnology***, 13(1), 40-46.

Chau, Y., Tan, F.E., Langer, R. 2004. Synthesis and characterization of dextran− peptide− methotrexate conjugates for tumor targeting via mediation by matrix metalloproteinase II and matrix metalloproteinase IX. ***Bioconjugate Chemistry***, 15(4), 931-941.

Chellouli, M., Chebabe, D., Dermaj, A., Erramli, H., Bettach, N., Hajjaji, N., Casaletto, M., Cirrincione, C., Privitera, A., Srhiri, A. 2016. Corrosion inhibition of iron in acidic solution by a green formulation derived from Nigella sativa L. ***Electrochimica Acta*****,** 204, 50-59.

Chen, L., Tian, Z., Du, Y. 2004. Synthesis and pH sensitivity of carboxymethyl chitosan-based polyampholyte hydrogels for protein carrier matrices. ***Biomaterial*****s**, 25(17), 3725-3732.

Chen, M., Nikles, D.E. 1999. Chain-of-cubes iron nanoparticles prepared by borohydride reduction of acicular akaganeite particles. ***Journal of Applied Physics***, 85(8), 5504-5506.

Chen, M., Yamamuro, S., Farrell, D., Majetich, S.A. 2003. Gold-coated iron nanoparticles for biomedical applications. ***Journal of Applied Physics***, 93(10), 7551-7553.

Chen, S., Li, Y., Guo, C., Wang, J., Ma, J., Liang, X., Yang, L.-R., Liu, H.-Z. 2007. Temperature-responsive magnetite/PEO− PPO− PEO block copolymer nanoparticles for controlled drug targeting delivery. ***Langmuir***, 23(25), 12669-12676.

Chen, X.-G., Park, H.-J. 2003. Chemical characteristics of O-carboxymethyl chitosans related to the preparation conditions. ***Carbohydrate Polymers***, 53(4), 355-359.

Chen, X., Lv, H., Ye, M., Wang, S., Ni, E., Zeng, F., Cao, C., Luo, F., Yan, J. 2012. Novel superparamagnetic iron oxide nanoparticles for tumor embolization application: preparation, characterization and double targeting. ***International Journal of Pharmaceutics***, 426(1), 248-255.

Chen, Z., Zhang, Y., Zhang, S., Xia, J., Liu, J., Xu, K., Gu, N. 2008. Preparation and characterization of water-soluble monodisperse magnetic iron oxide nanoparticles via surface double-exchange with DMSA. ***Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects***, 316(1), 210-216.

Chouly, C., Pouliquen, D., Lucet, I., Jeune, J., Jallet, P. 1996. Development of superparamagnetic nanoparticles for MRI: effect of particle size, charge and surface nature on biodistribution. ***Journal of Microencapsulation***, 13(3), 245-255.

Cihnioğlu, A.Ö. 2015. Glukoz Kaplı Manyetik Nanopartiküllerin Sentezlenerek İlaç Yüklenmesi ve İn Vivo Çalışmaları. Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir. 66.

Cole, A.J., David, A.E., Wang, J., Galbán, C.J., Hill, H.L., Yang, V.C. 2011. Polyethylene glycol modified, cross-linked starch-coated iron oxide nanoparticles for enhanced magnetic tumor targeting. ***Biomaterials***, 32(8), 2183-2193.

Cook, J.D., Skikne, B.S., Lynch, S.R., Reusser, M.E. 1986. Estimates of iron sufficiency in the US population. ***Blood***, 68(3), 726-731.

Cortajarena, A.L., Ortega, D., Ocampo, S.M., Gonzalez-García, A., Couleaud, P., Miranda, R., Belda-Iniesta, C., Ayuso-Sacido, A. 2014. Engineering iron oxide nanoparticles for clinical settings. ***Nanobiomedicine***, 1, 2.

Creixell, M., Herrera, A.P., Latorre-Esteves, M., Ayala, V., Torres-Lugo, M., Rinaldi, C. 2010. The effect of grafting method on the colloidal stability and in vitro cytotoxicity of carboxymethyl dextran coated magnetic nanoparticles. ***Journal of Materials Chemistry***, 20(39), 8539-8547.

Çapan, Y., Biyoyararlanım, I. 2004. Farmasötik Teknoloji Temel Konular ve Dozaj Şekilleri. Çapan, Y. Çözünürlük ve çözünme hızına etki eden faktörler. 1st ed. İstanbul: Kontrollü Salım Sistemleri Derneği, 85-96.

Çelik, Ö. 2010. Kanser Tedavisinde Kullanılabilecek Magnetik Nanoparçacıkların Üretilmesi. Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara. 114.

Çokkuş, N. 2010. Albümin Nanopartiküllerinin İlaç Taşıma ve Görüntüleme Sistemlerindeki Kullanım Çalışmaları. Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir.

Danhauser-Riedl, S., Hausmann, E., Schick, H.-D., Bender, R., Dietzfelbinger, H., Rastetter, J., Hanauske, A.-R. 1993. Phase I clinical and pharmacokinetic trial of dextran conjugated doxorubicin (AD-70, DOX-OXD). ***Investigational New Drugs***, 11(2), 187-195.

Daum, N., Tscheka, C., Neumeyer, A., Schneider, M. 2012. Novel approaches for drug delivery systems in nanomedicine: effects of particle design and shape. ***Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology***, 4(1), 52-65.

Davis, M.E. 2009. Design and development of IT-101, a cyclodextrin-containing polymer conjugate of camptothecin. ***Advanced Drug Delivery Reviews***, 61(13), 1189-1192.

Davis, S. 1997. Biomedical applications of nanotechnology—implications for drug targeting and gene therapy. ***Trends in biotechnology***, 15(6), 217-224.

De Cuyper, M., Joniau, M. 1991. Mechanistic aspects of the adsorption of phospholipids onto lauric acid stabilized magnetite nanocolloids. ***Langmuir***, 7(4), 647-652.

De, M., Ghosh, P.S., Rotello, V.M. 2008. Applications of nanoparticles in biology. ***Advanced Materials,*** 20(22), 4225-4241.

Ding, J., Tao, K., Li, J., Song, S., Sun, K. 2010. Cell-specific cytotoxicity of dextran-stabilized magnetite nanoparticles. ***Colloids and Surfaces B: Biointerfaces***, 79(1), 184-190.

DNA Learning Center, 2010. Inside Cancer. Erişim: [http://www.insidecancer.org/.]. Erişim Tarihi: son erişim 06.06. 2010

Dronskowski, R. 2001. The little maghemite story: A classic functional material. ***Advanced Functional Materials,*** 11(1), 27-29.

Dumitraşcu, M., Meltzer, V., Sima, E., Virgolici, M., Albu, M., Ficai, A., Moise, V., Minea, R., Vancea, C., Scărişoreanu, A. 2011. Characterization of electron beam irradiated collagen-polyvinylpyrrolidone (PVP) and collagen-dextran (DEX) blends. ***Digest J. Nanomaterials and Biostructures****, 6(*4), 1793-1803.

Duncan, R. 2003. The dawning era of polymer therapeutics. ***Nature Reviews Drug Discovery***, 2(5), 347-360.

Duncan, R. 2006. Polymer conjugates as anticancer nanomedicines. ***Nature Reviews Cancer***, 6(9), 688-701.

Dutz, S., Andrä, W., Hergt, R., Müller, R., Oestreich, C., Schmidt, C., Töpfer, J., Zeisberger, M., Bellemann, M.E. 2007. Influence of dextran coating on the magnetic behaviour of iron oxide nanoparticles. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials***, 311(1), 51-54.

Erdem, M. 2014. Synthesis and Characterization of Polyethylene Glycol Coated Magnetic Nanoparticles and Their Use for Anti-Cancer Drug Delivery. Yüksek lisans tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara. 95.

Estelrich, J., Escribano, E., Queralt, J., Busquets, M.A. 2015. Iron oxide nanoparticles for magnetically-guided and magnetically-responsive drug delivery. ***International Journal of Molecular Sciences***, 16(4), 8070-8101.

Fan, C., Gao, W., Chen, Z., Fan, H., Li, M., Deng, F., Chen, Z. 2011. Tumor selectivity of stealth multi-functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles. ***International Journal of Pharmaceutics***, 404(1), 180-190.

Fang, J., Nakamura, H., Maeda, H. 2011. The EPR effect: unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 63(3), 136-151.

Faraji, M., Yamini, Y., Rezaee, M. 2010. Magnetic nanoparticles: synthesis, stabilization, functionalization, characterization, and applications. ***Journal of the Iranian Chemical Society***, 7(1), 1-37.

Figuerola, A., Di Corato, R., Manna, L., Pellegrino, T. 2010. From iron oxide nanoparticles towards advanced iron-based inorganic materials designed for biomedical applications. ***Pharmacological Research***, 62(2), 126-143.

Fleischer, C.C., Payne, C.K. 2014. Secondary structure of corona proteins determines the cell surface receptors used by nanoparticles. ***The Journal of Physical Chemistry B***, 118(49), 14017-14026.

FunáChin, S. 2007. Magnetite ferrofluids stabilized by sulfonato-calixarenes. ***Chemical Communications***(19), 1948-1950.

Gabizon, A., Shmeeda, H., Horowitz, A.T., Zalipsky, S. 2004. Tumor cell targeting of liposome-entrapped drugs with phospholipid-anchored folic acid–PEG conjugates. ***Advanced Drug Delivery Reviews***, 56(8), 1177-1192.

Gabriel, J. 2007. The biology of cancer. London and Philadelphia, 219, England. ***John Wiley & Sons***.

Gaihre, B., Khil, M.S., Lee, D.R., Kim, H.Y. 2009. Gelatin-coated magnetic iron oxide nanoparticles as carrier system: drug loading and in vitro drug release study. ***International Journal of Pharmaceutics***, 365(1), 180-189.

Garcia-Carbonero, R., Supko, J.G. 2002. Current perspectives on the clinical experience, pharmacology, and continued development of the camptothecins. ***Clinical Cancer Research***, 8(3), 641-661.

Gaucher, G., Dufresne, M.-H., Sant, V.P., Kang, N., Maysinger, D., Leroux, J.-C. 2005. Block copolymer micelles: preparation, characterization and application in drug delivery. ***Journal of Controlled Release***, 109(1), 169-188.

Gazeau, F., Lévy, M., Wilhelm, C. 2008. Optimizing magnetic nanoparticle design for nanothermotherapy. ***Nanomedicine*****,** 3(6), 831-844.

Geng, Y., Dalhaimer, P., Cai, S., Tsai, R., Tewari, M., Minko, T., Discher, D.E. 2007. Shape effects of filaments versus spherical particles in flow and drug delivery. ***Nature Nanotechnology***, 2(4), 249-255.

Gil, P.R., Hühn, D., Loretta, L., Sasse, D., Parak, W.J. 2010. Nanopharmacy: Inorganic nanoscale devices as vectors and active compounds. ***Pharmacological Research***, 62(2), 115-125.

Giovanella, B.C., Hinz, H.R., Kozielski, A.J., Stehlin, J.S., Silber, R., Potmesil, M. 1991. Complete growth inhibition of human cancer xenografts in nude mice by treatment with 20-(S)-camptothecin. ***Cancer Research,*** 51(11), 3052-3055.

Giri, J., Thakurta, S.G., Bellare, J., Nigam, A.K., Bahadur, D. 2005. Preparation and characterization of phospholipid stabilized uniform sized magnetite nanoparticles. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 293(1), 62-68.

Godo, O., Gaskell, K., Pathak, G.K., Kyrtsos, C.R., Ehrman, S.H., Shah, S.B. 2016. Characterization of fluorescent iron nanoparticles—candidates for multimodal tracking of neuronal transport. ***Aims Bıoengıneerıng***, 3(3), 362-378.

Goodarzi, N., Varshochian, R., Kamalinia, G., Atyabi, F., Dinarvand, R. 2013. A review of polysaccharide cytotoxic drug conjugates for cancer therapy. ***Carbohydrate Polymers***, 92(2), 1280-1293.

Green, R., Charlton, R., Seftel, H., Bothwell, T., Mayet, F., Adams, B., Finch, C., Layrisse, M. 1968. Body iron excretion in man: a collaborative study. ***The American journal of Medicine***, 45(3), 336-353.

Gu, J., Xu, H., Han, Y., Dai, W., Hao, W., Wang, C., Gu, N., Xu, H., Cao, J. 2011. The internalization pathway, metabolic fate and biological effect of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in the macrophage-like RAW264. 7 cell. ***Science China Life Sciences***, 54(9), 793-805.

Gubin, S.P. 2009. Magnetic nanoparticles. ***John Wiley & Sons.***

Gupta, A.K., Gupta, M. 2005a. Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of surface modified magnetic nanoparticles. ***Biomaterials,*** 26(13), 1565-1573.

Gupta, A.K., Gupta, M. 2005b. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. ***Biomaterials,*** 26(18), 3995-4021.

Gürmen, S., Ebin, B. 2008. Nanopartiküller ve üretim yöntemleri-1. ***Metalurji Dergisi,*** 150, 31-38.

Gürsoy, A. Z. 2004. Farmasötik Teknoloji, Temel Konular ve Dozaj Şekilleri. ***Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayınları,*** İstanbul, 498.

Haag, R., Kratz, F. 2006. Polymer therapeutics: concepts and applications. ***Angewandte Chemie International Edition,*** 45(8), 1198-1215.

Häfeli, U.O., Riffle, J.S., Harris-Shekhawat, L., Carmichael-Baranauskas, A., Mark, F., Dailey, J.P., Bardenstein, D. 2009. Cell uptake and in vitro toxicity of magnetic nanoparticles suitable for drug delivery. ***Molecular Pharmaceutics***, 6(5), 1417-1428.

Han, G.C., Ouyang, Y., Long, X.Y., Zhou, Y., Li, M., Liu, Y.N., Kraatz, H.B. 2010. (Carboxymethyl–Dextran)-Modified Magnetic Nanoparticles Conjugated to Octreotide for MRI Applications. ***European Journal of Inorganic Chemistry,*** 2010(34), 5455-5461.

Hanot, C.C., Choi, Y.S., Anani, T.B., Soundarrajan, D., David, A.E. 2015. Effects of iron-oxide nanoparticle surface chemistry on uptake kinetics and cytotoxicity in CHO-K1 cells. ***International Journal of Molecular Sciences,*** 17(1), 54.

Hao, R., Xing, R., Xu, Z., Hou, Y., Gao, S., Sun, S. 2010. Synthesis, functionalization, and biomedical applications of multifunctional magnetic nanoparticles. ***Advanced Materials,*** 22(25), 2729-2742.

Harris, L., Goff, J., Carmichael, A., Riffle, J., Harburn, J., St. Pierre, T., Saunders, M. 2003. Magnetite nanoparticle dispersions stabilized with triblock copolymers. ***Chemistry of Materials,*** 15(6), 1367-1377.

Hergt, R., Hiergeist, R., Hilger, I., Kaiser, W.A., Lapatnikov, Y., Margel, S., Richter, U. 2004. Maghemite nanoparticles with very high AC-losses for application in RF-magnetic hyperthermia. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 270(3), 345-357.

Hodenius, M., De Cuyper, M., Desender, L., Müller-Schulte, D., Steigel, A., Lueken, H. 2002. Biotinylated Stealth® magnetoliposomes. ***Chemistry and Physics of Lipids,*** 120(1), 75-85.

Homma, A., Sato, H., Tamura, T., Okamachi, A., Emura, T., Ishizawa, T., Kato, T., Matsuura, T., Sato, S., Higuchi, Y. 2010. Synthesis and optimization of hyaluronic acid–methotrexate conjugates to maximize benefit in the treatment of osteoarthritis. ***Bioorganic & Medicinal Chemistry,*** 18(3), 1062-1075.

Homsi, J., Simon, G.R., Garrett, C.R., Springett, G., De Conti, R., Chiappori, A.A., Munster, P.N., Burton, M.K., Stromatt, S., Allievi, C. 2007. Phase I trial of poly-L-glutamate camptothecin (CT-2106) administered weekly in patients with advanced solid malignancies. ***Clinical Cancer Research,*** 13(19), 5855-5861.

Hong, R., Feng, B., Chen, L., Liu, G., Li, H., Zheng, Y., Wei, D. 2008. Synthesis, characterization and MRI application of dextran-coated Fe 3 O 4 magnetic nanoparticles. ***Biochemical Engineering Journal,*** 42(3), 290-300.

Hou, L., Fan, Y., Yao, J., Zhou, J., Li, C., Fang, Z., Zhang, Q. 2011. Low molecular weight heparin-all-trans-retinoid acid conjugate as a drug carrier for combination cancer chemotherapy of paclitaxel and all-trans-retinoid acid. ***Carbohydrate Polymers,*** 86(3), 1157-1166.

Hörmann, V., Kumi-Diaka, J., Durity, M., Rathinavelu, A. 2012. Anticancer activities of genistein-topotecan combination in prostate cancer cells. ***Journal of Cellular and Molecular Medicine***, 16(11), 2631-2636.

Hu, F., Neoh, K., Kang, E. 2006. Synthesis and in vitro anti-cancer evaluation of tamoxifen-loaded magnetite/PLLA composite nanoparticles. ***Biomaterials,*** 27(33), 5725-5733.

Hu, L., Hach, D., Chaumont, D., Brachais, C.-H., Couvercelle, J.-P. 2008. One step grafting of monomethoxy poly (ethylene glycol) during synthesis of maghemite nanoparticles in aqueous medium. ***Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects,*** 330(1), 1-7.

Huang, S.H., Liao, M.H., Chen, D.H. 2003. Direct binding and characterization of lipase onto magnetic nanoparticles. ***Biotechnology Progress,*** 19(3), 1095-1100.

Ito, A., Fujioka, M., Yoshida, T., Wakamatsu, K., Ito, S., Yamashita, T., Jimbow, K., Honda, H. 2007. 4-S-Cysteaminylphenol-loaded magnetite cationic liposomes for combination therapy of hyperthermia with chemotherapy against malignant melanoma. ***Cancer Science,*** 98(3), 424-430.

Ivanova, E.P., Papiernik, M., Oliveira, A., Sbarski, I., Smekal, T., Grodzinski, P., Nicolau, D.V. 2002. Feasibility of using carboxylic-rich polymeric surfaces for the covalent binding of oligonucleotides for microPCR applications. ***Smart Materials and Structures,*** 11(5), 783.

Jain, T.K., Morales, M.A., Sahoo, S.K., Leslie-Pelecky, D.L., Labhasetwar, V. 2005. Iron oxide nanoparticles for sustained delivery of anticancer agents. ***Molecular Pharmaceutics,*** 2(3), 194-205.

Jain, T.K., Richey, J., Strand, M., Leslie-Pelecky, D.L., Flask, C.A., Labhasetwar, V. 2008. Magnetic nanoparticles with dual functional properties: drug delivery and magnetic resonance imaging. ***Biomaterials,*** 29(29), 4012-4021.

Jang, J.t., Nah, H., Lee, J.H., Moon, S.H., Kim, M.G., Cheon, J. 2009. Critical Enhancements of MRI Contrast and Hyperthermic Effects by Dopant-Controlled Magnetic Nanoparticles. ***Angewandte Chemie,*** 121(7), 1260-1264.

Jaxel, C., Kohn, K.W., Wani, M.C., Wall, M.E., Pommier, Y. 1989. Structure-activity study of the actions of camptothecin derivatives on mammalian topoisomerase I: evidence for a specific receptor site and a relation to antitumor activity. ***Cancer Research,*** 49(6), 1465-1469.

Jiang, D.-S., Long, S.-Y., Huang, J., Xiao, H.-Y., Zhou, J.-Y. 2005. Immobilization of Pycnoporus sanguineus laccase on magnetic chitosan microspheres. ***Biochemical Engineering Journal,*** 25(1), 15-23.

Johannsen, M., Gneveckow, U., Eckelt, L., Feussner, A., Waldöfner, N., Scholz, R., Deger, S., Wust, P., Loening, S., Jordan, A. 2005. Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticles: presentation of a new interstitial technique. **International Journal of Hyperthermia,** 21(7), 637-647.

Jolivet, J., Tronc, E., Chanéac, C. 2000. Synthesis of iron oxide-and metal-based nanomaterials. ***The European Physical Journal Applied Physics,*** 10(3), 167-172.

Jordan, A., Scholz, R., Wust, P., Fähling, H., Felix, R. 1999a. Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 201(1), 413-419.

Jordan, A., Scholz, R., Wust, P., Schirra, H., Schiestel, T., Schmidt, H., Felix, R. 1999b. Endocytosis of dextran and silan-coated magnetite nanoparticles and the effect of intracellular hyperthermia on human mammary carcinoma cells in vitro. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 194(1), 185-196.

Jung, C.W., Jacobs, P. 1995. Physical and chemical properties of superparamagnetic iron oxide MR contrast agents: ferumoxides, ferumoxtran, ferumoxsil. ***Magnetic Resonance Imaging,*** 13(5), 661-674.

Kaetsu, I. 1996. Biomedical materials, devices and drug delivery systems by radiation techniques. ***Radiation Physics and Chemistry,*** 47(3), 419-424.

Kalkan, N.A. 2010. Kitosan Kaplı Manyetik Nanoparçacıkların Lakkaz İmmobilizasyonunda ve Reaktif Boyarmadde Adsorpsiyonunda Kullanılması. Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 204.

Kamari, A., Ngah, W.W., Chong, M., Cheah, M. 2009. Sorption of acid dyes onto GLA and H 2 SO 4 cross-linked chitosan beads. ***Desalination,*** 249(3), 1180-1189.

Karağaç, Ö. 2007. CoCu alaşım fimlerin elektrodepozisyonu, yapısal ve manyetik özellikleri üzerine depozisyon parametrelerin etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı, Balıkesir. 122.

Karlsson, H.L., Cronholm, P., Gustafsson, J., Moller, L. 2008. Copper oxide nanoparticles are highly toxic: a comparison between metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes. ***Chemical Research in Toxicology,*** 21(9), 1726-1732.

Karlsson, H.L., Gustafsson, J., Cronholm, P., Möller, L. 2009. Size-dependent toxicity of metal oxide particles—a comparison between nano-and micrometer size. ***Toxicology Letters,*** 188(2), 112-118.

Kaş, H. 2002. İlaç taşıyıcı partiküler sistemler. Kontrollü Salım Sistemleri. Ed's, Gürsoy A, 82-88.

Kaya, M., Volkan, M.r. 2012. New approach for the surface enhanced resonance Raman scattering (SERRS) detection of dopamine at picomolar (pM) levels in the presence of ascorbic acid. ***Analytical Chemistry,*** 84(18), 7729-7735.

Kean, T., Thanou, M. 2010. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. ***Advanced Drug Delivery Reviews,*** 62(1), 3-11.

Kesharwani, P., Tekade, R.K., Gajbhiye, V., Jain, K., Jain, N.K. 2011. Cancer targeting potential of some ligand-anchored poly (propylene imine) dendrimers: a comparison. Nanomedicine: ***Nanotechnology, Biology and Medicine***, 7(3), 295-304.

Khalkhali, M., Sadighian, S., Rostamizadeh, K., Khoeini, F., Naghibi, M., Bayat, N., Habibizadeh, M., Hamidi, M. 2015. Synthesis and characterization of dextran coated magnetite nanoparticles for diagnostics and therapy. ***BioImpacts: BI,*** 5(3), 141.

Khandare, J., Minko, T. 2006. Polymer–drug conjugates: progress in polymeric prodrugs. ***Progress in Polymer Science,*** 31(4), 359-397.

Khodadust, R., Unsoy, G., Yalcın, S., Gunduz, G., Gunduz, U. 2013. PAMAM dendrimer-coated iron oxide nanoparticles: synthesis and characterization of different generations. ***Journal of Nanoparticle Research,*** 15(3), 1488.

Kim, C.S., Tonga, G.Y., Solfiell, D., Rotello, V.M. 2013. Inorganic nanosystems for therapeutic delivery: status and prospects. ***Advanced Drug Delivery Reviews,*** 65(1), 93-99.

Kim, D., Zhang, Y., Kehr, J., Klason, T., Bjelke, B., Muhammed, M. 2001a. Characterization and MRI study of surfactant-coated superparamagnetic nanoparticles administered into the rat brain. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials***, 225(1), 256-261.

Kim, D., Zhang, Y., Voit, W., Rao, K., Muhammed, M. 2001b. Synthesis and characterization of surfactant-coated superparamagnetic monodispersed iron oxide nanoparticles. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 225(1), 30-36.

Kim, J.-H., Kim, Y.-S., Kim, S., Park, J.H., Kim, K., Choi, K., Chung, H., Jeong, S.Y., Park, R.-W., Kim, I.-S. 2006. Hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles as carriers for paclitaxel. ***Journal of Controlled Release,*** 111(1), 228-234.

Kim, K., Kwon, S., Park, J.H., Chung, H., Jeong, S.Y., Kwon, I.C., Kim, I.-S. 2005. Physicochemical characterizations of self-assembled nanoparticles of glycol chitosan− deoxycholic acid conjugates. ***Biomacromolecules,*** 6(2), 1154-1158.

Klostergaard, J., Seeney, C.E. 2012. Magnetic nanovectors for drug delivery. ***Maturitas,*** 73(1), 33-44.

Knowles, M., Selby, P. 2005. Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer. OUP Oxford.

Koneracká, M., Antošová, A., Závišová, V., Lancz, G., Gažová, Z., Šipošová, K., Juríková, A., Csach, K., Kováč, J., Tomašovičová, N. 2010. Characterization of Fe3O4 magnetic nanoparticles modified with dextran and investigation of their interaction with protein amyloid aggregates. ***Acta Physica Polonica-Series A General Physics,*** 118(5), 983.

Kong, G., Dewhirst, M. 1999. Hyperthermia and liposomes. ***International journal of hyperthermia,*** 15(5), 345-370.

Köçkar, H., 2009. SüperparaManyetik Nanoparçacık Sentezi ve Karakterizasyonu. Erişim:[http://docplayer.biz.tr/3588941 Superparamanyetik nanoparcacik sentezi ve karakterizasyonu prof dr hakan koçkar balikesir universitesi.html].Erişim tarihi:12.12.2016

Kratz, F., Beyer, U. 1998. Serum proteins as drug carriers of anticancer agents: a review. ***Drug Delivery,*** 5(4), 281-299.

Kumagai, M., Kano, M.R., Morishita, Y., Ota, M., Imai, Y., Nishiyama, N., Sekino, M., Ueno, S., Miyazono, K., Kataoka, K. 2009. Enhanced magnetic resonance imaging of experimental pancreatic tumor in vivo by block copolymer-coated magnetite nanoparticles with TGF-β inhibitor. ***Journal of Controlled Release,*** 140(3), 306-311.

Kuznetsov, O.A., Brusentsov, N.A., Kuznetsov, A.A., Yurchenko, N.Y., Osipov, N.E., Bayburtskiy, F.S. 1999. Correlation of the coagulation rates and toxicity of biocompatible ferromagnetic microparticles. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 194(1), 83-89.

Ladj, R., Bitar, A., Eissa, M., Mugnier, Y., Le Dantec, R., Fessi, H., Elaissari, A. 2013. Individual inorganic nanoparticles: preparation, functionalization and in vitro biomedical diagnostic applications. ***Journal of Materials Chemistry B,*** 1(10), 1381-1396.

Lalatonne, Y., Paris, C., Serfaty, J.M., Weinmann, P., Lecouvey, M., Motte, L. 2008. Bis-phosphonates–ultra small superparamagnetic iron oxide nanoparticles: a platform towards diagnosis and therapy. ***Chemical Communications,*** (22), 2553-2555.

Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L., Muller, R.N. 2008. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization,

physicochemical characterizations, and biological applications. ***Chemical Reviews,*** 108(6), 2064-2110.

Le Renard, P.-E., Jordan, O., Faes, A., Petri-Fink, A., Hofmann, H., Rüfenacht, D., Bosman, F., Buchegger, F., Doelker, E. 2010. The in vivo performance of magnetic particle-loaded injectable, in situ gelling, carriers for the delivery of local hyperthermia. ***Biomaterials,*** 31(4), 691-705.

Lee, D.K., Kim, Y.H., Zhang, X.-L., Kang, Y.S. 2006. Preparation of monodisperse Co and Fe nanoparticle using precursor of M 2+-Oleate 2 (M= Co, Fe). ***Current Applied Physics,*** 6(4), 786-790.

Lee, E.S., Na, K., Bae, Y.H. 2005. Super pH-sensitive multifunctional polymeric micelle. ***Nano letters,*** 5(2), 325-329.

Lee, E.S., Shuter, B., Chan, J., Chong, M.S., Ding, J., Teoh, S.-H., Beuf, O., Briguet, A., Tam, K.C., Choolani, M. 2010. The use of microgel iron oxide nanoparticles in studies of magnetic resonance relaxation and endothelial progenitor cell labelling. ***Biomaterials,*** 31(12), 3296-3306.

Lee, J., Cho, E.C., Cho, K. 2004. Incorporation and release behavior of hydrophobic drug in functionalized poly (D, L-lactide)-block–poly (ethylene oxide) micelles. ***Journal of Controlled Release,*** 94(2), 323-335.

Lee, J., Lee, Y., Youn, J.K., Na, H.B., Yu, T., Kim, H., Lee, S.M., Koo, Y.M., Kwak, J.H., Park, H.G. 2008. Simple synthesis of functionalized superparamagnetic magnetite/silica core/shell nanoparticles and their application as magnetically separable high-performance biocatalysts. **Small,** 4(1), 143-152.

Lee, K.-J., An, J.-H., Shin, J.-S., Kim, D.-H., Yoo, H.-S., Cho, C.-K. 2011. Biostability of γ-Fe 2 O 3 nano particles evaluated using an in vitro cytotoxicity assays on various tumor cell lines. ***Current Applied Physics,*** 11(3), 467-471.

Lévy, M., Lagarde, F., Maraloiu, V.-A., Blanchin, M.-G., Gendron, F., Wilhelm, C., Gazeau, F. 2010. Degradability of superparamagnetic nanoparticles in a model of intracellular environment: follow-up of magnetic, structural and chemical properties. ***Nanotechnology,*** 21(39), 395103.

Li, G.-y., Huang, K.-l., Jiang, Y.-r., Ding, P., Yang, D.-l. 2008. Preparation and characterization of carboxyl functionalization of chitosan derivative magnetic nanoparticles. ***Biochemical Engineering Journal,*** 40(3), 408-414.

Li, J., Zhou, Y., Li, M., Xia, N., Huang, Q., Do, H., Liu, Y.-N., Zhou, F. 2011. Carboxymethylated dextran-coated magnetic iron oxide nanoparticles for regenerable bioseparation. ***Journal of Nanoscience and Nanotechnology,*** 11(11), 10187-10192.

Liberti, P.A., Rao, C.G., Terstappen, L.W. 2001. Optimization of ferrofluids and protocols for the enrichment of breast tumor cells in blood. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 225(1), 301-307.

Lien, Y.-H., Wu, T.-M. 2008. Preparation and characterization of thermosensitive polymers grafted onto silica-coated iron oxide nanoparticles. ***Journal of Colloid and Interface Science,*** 326(2), 517-521.

Link, S., El-Sayed, M.A. 1999. Spectral properties and relaxation dynamics of surface plasmon electronic oscillations in gold and silver nanodots and nanorods, ***ACS Publications.***

Liu, H.L., Wu, J.H., Min, J.H., Kim, Y.K. 2008a. Synthesis of monosized magnetic-optical AuFe alloy nanoparticles. ***Journal of Applied Physics,*** 103(7), 07D529.

Liu, Y., Jiang, W., Li, S., Li, F. 2009. Electrostatic self-assembly of Fe 3 O 4 nanoparticles on carbon nanotubes. ***Applied Surface Science,*** 255(18), 7999-8002.

Liu, Z., Jiao, Y., Wang, Y., Zhou, C., Zhang, Z. 2008b. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. ***Advanced Drug Delivery Reviews,*** 60(15), 1650-1662.

Liu, S.M. 1998. Anti-cancer Agents: A treatment of Cisplatin and their analogues. Erişim: [Index of /local/projects/s_liu/Html]. Erişim Tarihi: 12.07.2010

Lobel, B., Eyal, O., Kariv, N., Katzir, A. 2000. Temperature controlled CO2 laser welding of soft tissues: urinary bladder welding in different animal models (rats, rabbits, and cats). ***Lasers in Surgery and Medicine,*** 26(1), 4-12.

Lowitz, B.B., Casciato, D.A. 2013. ***Medical Oncology & Principles of Cancer Biology.***

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

Luo, Q., Wang, P., Miao, Y., He, H., Tang, X. 2012. A novel 5-fluorouracil prodrug using hydroxyethyl starch as a macromolecular carrier for sustained release. ***Carbohydrate Polymers,*** 87(4), 2642-2647.

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

Lübbe, A.S., Bergemann, C., Huhnt, W., Fricke, T., Riess, H., Brock, J.W., Huhn, D. 1996. Preclinical experiences with magnetic drug targeting: tolerance and efficacy. ***Cancer Research,*** 56(20), 4694-4701.

Ma, H.L., Xu, Y.F., Qi, X.R., Maitani, Y., Nagai, T. 2008. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles stabilized by alginate: pharmacokinetics, tissue distribution, and applications in detecting liver cancers. ***International Journal of Pharmaceutics,*** 354(1), 217-226.

Mahdavi, M., Ahmad, M.B., Haron, M.J., Namvar, F., Nadi, B., Rahman, M.Z.A., Amin, J. 2013. Synthesis, surface modification and characterisation of biocompatible magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications. ***Molecules,*** 18(7), 7533-7548.

Mahmoudi, M., Laurent, S., Shokrgozar, M.A., Hosseinkhani, M. 2011. Toxicity evaluations of superparamagnetic iron oxide nanoparticles: cell "vision" versus physicochemical properties of nanoparticles. ***ACS nano,*** 5(9), 7263-7276.

Mahmoudi, M., Simchi, A., Imani, M., Shokrgozar, M.A., Milani, A.S., Häfeli, U.O., Stroeve, P. 2010a. A new approach for the in vitro identification of the cytotoxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. ***Colloids and Surfaces B: Biointerfaces,*** 75(1), 300-309.

Mahmoudi, M., Simchi, A., Imani, M., Stroeve, P., Sohrabi, A. 2010b. Templated growth of superparamagnetic iron oxide nanoparticles by temperature programming in the presence of poly (vinyl alcohol). ***Thin Solid Films,*** 518(15), 4281-4289.

Mahmoudi, M., Simchi, A., Milani, A., Stroeve, P. 2009. Cell toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. ***Journal of Colloid and Interface Science,*** 336(2), 510-518.

Mahon, E., Hristov, D.R., Dawson, K.A. 2012. Stabilising fluorescent silica nanoparticles against dissolution effects for biological studies. ***Chemical Communications,*** 48(64), 7970-7972.

Mai, T.T.T., Ha, P.T., Pham, H.N., Le, T.T.H., Pham, H.L., Phan, T.B.H., Nguyen, X.P. 2012. Chitosan and O-carboxymethyl chitosan modified Fe3O4 for hyperthermic treatment. Advances in Natural Sciences: ***Nanoscience and Nanotechnology,*** 3(1), 015006.

Majewski, P., Thierry, B. 2007. Functionalized magnetite nanoparticles—synthesis, properties, and bio-applications. ***Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences,*** 32(3-4), 203-215.

Massia, S.P., Stark, J. 2001. Immobilized RGD peptides on surface-grafted dextran promote biospecific cell attachment. ***Journal of Biomedical Materials Research Part A,*** 56(3), 390-399.

Medine, İ. 2008. 125/131I işaretli urasil'in glukuronid sentezi ve manyetik özellik kazandırılarak yeni bir manyetik ilaç taşıyıcı oluşturulması. Doktora Tezi, EÜ Nükleer Bilimler Enstitüsü. 256.

Mert, O., Esendağlı, G., Doğan, A.L., Demir, A.S. 2012. Injectable biodegradable polymeric system for preserving the active form and delayed-release of camptothecin anticancer drugs. ***RSC Advances,*** 2(1), 176-185.

Min, K.H., Park, K., Kim, Y.-S., Bae, S.M., Lee, S., Jo, H.G., Park, R.-W., Kim, I.-S., Jeong, S.Y., Kim, K. 2008a. Hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles-encapsulated camptothecin enhance the drug stability and tumor targeting in cancer therapy. ***Journal of Controlled Release,*** 127(3), 208-218.

Min, Y., Akbulut, M., Kristiansen, K., Golan, Y., Israelachvili, J. 2008b. The role of interparticle and external forces in nanoparticle assembly. ***Nature Materials,*** 7(7), 527-538.

Mohammadi-Samani, S., Miri, R., Salmanpour, M., Khalighian, N., Sotoudeh, S., Erfani, N. 2013. Preparation and assessment of chitosan-coated superparamagnetic Fe3O4 nanoparticles for controlled delivery of methotrexate. ***Research in Pharmaceutical Sciences,*** 8(1), 25.

Mohapatra, S., Mallick, S., Maiti, T., Ghosh, S., Pramanik, P. 2007. Synthesis of highly stable folic acid conjugated magnetite nanoparticles for targeting cancer cells. ***Nanotechnology,*** 18(38), 385102.

Mojica Pisciotti, M., Lima, E., Vasquez Mansilla, M., Tognoli, V., Troiani, H., Pasa, A., Creczynski-Pasa, T., Silva, A., Gurman, P., Colombo, L. 2014. In vitro and in vivo experiments with iron oxide nanoparticles functionalized with Dextran or polyethylene glycol for medical applications: magnetic targeting. ***Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials,*** 102(4), 860-868.

Morales, M., Bomati-Miguel, O., De Alejo, R.P., Ruiz-Cabello, J., Veintemillas-Verdaguer, S., O'Grady, K. 2003. Contrast agents for MRI based on iron oxide nanoparticles prepared by laser pyrolysis. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials***, 266(1), 102-109.

Mornet, S., Vasseur, S., Grasset, F., Duguet, E. 2004. Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy. ***Journal of Materials Chemistry***, 14(14), 2161-2175.

Moroz, P., Jones, S., Gray, B. 2002. Magnetically mediated hyperthermia: current status and future directions. ***International Journal of Hyperthermia,*** 18(4), 267-284.

Mourya, V., Inamdar, N.N., Tiwari, A. 2010. Carboxymethyl chitosan and its applications. ***Adv Mat Lett,*** 1(1), 11-33.

Mu, L., Elbayoumi, T., Torchilin, V. 2005. Mixed micelles made of poly (ethylene glycol)–phosphatidylethanolamine conjugate and d-α-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate as pharmaceutical nanocarriers for camptothecin. ***International Journal of Pharmaceutics,*** 306(1), 142-149.

Na, H.B., Song, I.C., Hyeon, T. 2009. Inorganic nanoparticles for MRI contrast agents. ***Advanced Materials,*** 21(21), 2133-2148.

Nam, J., Won, N., Bang, J., Jin, H., Park, J., Jung, S., Jung, S., Park, Y., Kim, S. 2013. Surface engineering of inorganic nanoparticles for imaging and therapy. ***Advanced Drug Delivery Reviews,*** 65(5), 622-648.

Nath, S., Kaittanis, C., Ramachandran, V., Dalal, N.S., Perez, J.M. 2009. Synthesis, magnetic characterization, and sensing applications of novel dextran-coated iron oxide nanorods. ***Chemistry of Materials,*** 21(8), 1761-1767.

Nelson, J., Griffin, E.G. 1916. Adsorptıon of Invertase. ***Journal of the American Chemical Society,*** 38(5), 1109-1115.

Nemunaitis, J., Cunningham, C., Senzer, N., Gray, M., Oldham, F., Pippen, J., Mennel, R., Eisenfeld, A. 2005. Phase I study of CT-2103, a polymer-conjugated paclitaxel, and carboplatin in patients with advanced solid tumors. ***Cancer Investigation,*** 23(8), 671-676.

Neuberger, T., Schöpf, B., Hofmann, H., Hofmann, M., Von Rechenberg, B. 2005. Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: possibilities and limitations of a new drug delivery system. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 293(1), 483-496.

Noguchi, Y., Wu, J., Duncan, R., Strohalm, J., Ulbrich, K., Akaike, T., Maeda, H. 1998. Early phase tumor accumulation of macromolecules: a great difference in clearance rate between tumor and normal tissues. ***Cancer Science,*** 89(3), 307-314.

Oberlies, N.H., Kroll, D.J. 2004. Camptothecin and Taxol: Historic Achievements in Natural Products Research⊥. ***Journal of Natural Products***, 67(2), 129-135.

Ogris, M., Wagner, E. 2002. Targeting tumors with non-viral gene delivery systems. ***Drug Discovery Today***, 7(8), 479-485.

Pankhurst, Q.A., Connolly, J., Jones, S.K., Dobson, J. 2003. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. ***Journal of physics D: Applied physics,*** 36(13), R167.

Park, H.-Y., Schadt, M.J., Wang, L., Lim, I.-I.S., Njoki, P.N., Kim, S.H., Jang, M.-Y., Luo, J., Zhong, C.-J. 2007. Fabrication of magnetic core@ shell Fe oxide@ Au nanoparticles for interfacial bioactivity and bio-separation. ***Langmuir,*** 23(17), 9050-9056.

Park, J.-H., Im, K.-H., Lee, S.-H., Kim, D.-H., Lee, D.-Y., Lee, Y.-K., Kim, K.-M., Kim, K.-N. 2005. Preparation and characterization of magnetic chitosan particles for hyperthermia application. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 293(1), 328-333.

Park, J., An, K., Hwang, Y., Park, J.-G., Noh, H.-J., Kim, J.-Y., Park, J.-H., Hwang, N.-M., Hyeon, T. 2004a. Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals. ***Nature Materials,*** 3(12), 891-895.

Park, J.H., Kwon, S., Nam, J.O., Park, R.W., Chung, H., Seo, S.B., Kim, I.S., Kwon, I.C., Jeong, S.Y. 2004b. Self-assembled nanoparticles based on glycol chitosan bearing 5beta-cholanic acid for RGD peptide delivery. ***J Control Release,*** 95(3), 579-88.

Park, J.H., Lee, S., Kim, J.-H., Park, K., Kim, K., Kwon, I.C. 2008. Polymeric nanomedicine for cancer therapy. ***Progress in Polymer Science,*** 33(1), 113-137.

Park, Y.C., Smith, J.B., Pham, T., Whitaker, R.D., Sucato, C.A., Hamilton, J.A., Bartolak-Suki, E., Wong, J.Y. 2014. Effect of PEG molecular weight on stability, T 2 contrast, cytotoxicity, and cellular uptake of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs). ***Colloids and surfaces B: Biointerfaces,*** 119, 106-114.

Parsian, M. 2014. Synthesis and Characterization of Polymeric Magnetic Nanoparticles Loaded by Gemcitabine. Middle East Technical University of The Graduate School of Natural and Applıed Sciences, Ankara. 128.

Pasut, G., Veronese, F. 2007. Polymer–drug conjugation, recent achievements and general strategies. ***Progress in Polymer Science,*** 32(8), 933-961.

Patel, S.R., Yap, M.G., Wang, D.I. 2009. Immobilization of l-lactate dehydrogenase on magnetic nanoclusters for chiral synthesis of pharmaceutical compounds. ***Biochemical Engineering Journal,*** 48(1), 13-21.

Paul, F., Melville, D., Roath, S., Warhurst, D. 1981. A bench top magnetic separator for malarial parasite concentration. ***IEEE Transactions on Magnetics***, 17(6), 2822-2824.

Pekdemir, M.E. 2011. Manyetik nanopartiküller kullanılarak yüzeyde güçlendirilmiş raman spektrometrisi ile immunoassay sisteminin geliştirilmesi. Yüksek lisans tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat. 82.

Peng, G., Tisch, U., Adams, O., Hakim, M., Shehada, N., Broza, Y.Y., Billan, S., Abdah-Bortnyak, R., Kuten, A., Haick, H. 2009. Diagnosing lung cancer in exhaled breath using gold nanoparticles. ***Nat Nano,*** 4(10), 669-673.

Peng, Z., Hidajat, K., Uddin, M. 2004. Adsorption of bovine serum albumin on nanosized magnetic particles. ***Journal of Colloid and Interface Science,*** 271(2), 277-283.

Pisanic, T.R., Blackwell, J.D., Shubayev, V.I., Fiñones, R.R., Jin, S. 2007. Nanotoxicity of iron oxide nanoparticle internalization in growing neurons. ***Biomaterials,*** 28(16), 2572-2581.

Pommier, Y. 2006. Topoisomerase I inhibitors: camptothecins and beyond. ***Nature Reviews Cancer,*** 6(10), 789-802.

Pommier, Y., Leo, E., Zhang, H., Marchand, C. 2010. DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. ***Chemistry & biology***, 17(5), 421-433.

Portet, D., Denizot, B., Rump, E., Hindre, F., Le Jeune, J.J., Jallet, P. 2001. Comparative biodistribution of thin-coated iron oxide nanoparticles TCION: Effect of different bisphosphonate coatings. ***Drug Development Research,*** 54(4), 173-181.

Potmesil, M. 1994. Camptothecins: from bench research to hospital wards. ***Cancer Research,*** 54(6), 1431-1439.

Pradhan, P., Giri, J., Banerjee, R., Bellare, J., Bahadur, D. 2007. Cellular interactions of lauric acid and dextran-coated magnetite nanoparticles. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 311(1), 282-287.

Qiu, Y., Park, K. 2001. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. ***Advanced Drug Delivery Reviews,*** 53(3), 321-339.

Ramanujan, R. V. 2004. In Clinical Applications of Magnetic Nanomaterials. Proceedings of the First International Bioengineering Conference, Singapore, 2004, S, 174.

Ratajska, M., Boryniec, S. 1998. Physical and chemical aspects of biodegradation of natural polymers. ***Reactive and Functional Polymers,*** 38(1), 35-49.

Reetz, M.T. 1997. Entrapment of biocatalysts in hydrophobic sol-gel materials for use in organic chemistry. ***Advanced Materials,*** 9(12), 943-954.

Říhová, B. 1996. Biocompatibility of biomaterials: hemocompatibility, immunocompatiblity and biocompatibility of solid polymeric materials and soluble targetable polymeric carriers. ***Advanced Drug Delivery Reviews,*** 21(2), 157-176.

Rodríguez-Luccioni, H.L., Latorre-Esteves, M., Méndez-Vega, J., Soto, O., Rodríguez, A.R., Rinaldi, C., Torres-Lugo, M. 2011. Enhanced reduction in cell viability by hyperthermia induced by magnetic nanoparticles. ***International Journal of Nanomedicine***, 6, 373.

Rosato, A., Banzato, A., De Luca, G., Renier, D., Bettella, F., Pagano, C., Esposito, G., Zanovello, P., Bassi, P. 2006. HYTAD1-p20: a new paclitaxel-hyaluronic acid hydrosoluble bioconjugate for treatment of superficial bladder cancer. Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations. ***Elsevier.*** 207-215.

Rosensweig, R. 1997. Ferrohydrodynamics Cambridge University Press, Cambridge, 1985. Ferrofluids, ***Magnetically Controllable Fluids and Their Applications.***

Saboktakin, M.R., Tabatabaie, R.M., Maharramov, A., Ramazanov, M.A. 2010. A synthetic macromolecule as MRI detectable drug carriers: aminodextran-coated iron oxide nanoparticles. ***Carbohydrate Polymers,*** 80(3), 695-698.

Safee, N.H.A., Abdullah, M.P., Othman, M.R. 2010. Carboxymethyl chitosan-Fe 3 O 4 nanoparticles: synthesis and characterization. ***Malaysian Journal of Analytical Sciences,*** 14(2), 63-68.

Sahoo, Y., Pizem, H., Fried, T., Golodnitsky, D., Burstein, L., Sukenik, C.N., Markovich, G. 2001. Alkyl phosphonate/phosphate coating on magnetite nanoparticles: a comparison with fatty acids. ***Langmuir,*** 17(25), 7907-7911.

Sakulkhu, U., Mahmoudi, M., Maurizi, L., Salaklang, J., Hofmann, H. 2014. Protein corona composition of superparamagnetic iron oxide nanoparticles with various physico-chemical properties and coatings. ***Scientific Reports,*** 4, 5020.

Samanta, B., Yan, H., Fischer, N.O., Shi, J., Jerry, D.J., Rotello, V.M. 2008. Protein-passivated Fe 3 O 4 nanoparticles: low toxicity and rapid heating for thermal therapy. ***Journal of Materials Chemistry,*** 18(11), 1204-1208.

Sarısözen, C. 2012. Kanser Tedavisinde Kullanılacak Aktif Hedeflendirilmiş Farmasötik Nano Taşıyıcılar. Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji Programı, Ankara. 208.

Savić, R., Luo, L., Eisenberg, A., Maysinger, D. 2003. Micellar nanocontainers distribute to defined cytoplasmic organelles. ***Science,*** 300(5619), 615-618.

Schoemaker, N., Van Kesteren, C., Rosing, H., Jansen, S., Swart, M., Lieverst, J., Fraier, D., Breda, M., Pellizzoni, C., Spinelli, R. 2002. A phase I and pharmacokinetic study of MAG-CPT, a water-soluble polymer conjugate of camptothecin. ***British Journal of Cancer***, 87(6), 608-614.

Schöpf, B., Neuberger, T., Schulze, K., Petri, A., Chastellain, M., Hofmann, M., Hofmann, H., von Rechenberg, B. 2005. Methodology description for detection of cellular uptake of PVA coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION) in

synovial cells of sheep. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 293(1), 411-418.

Schweiger, C., Pietzonka, C., Heverhagen, J., Kissel, T. 2011. Novel magnetic iron oxide nanoparticles coated with poly (ethylene imine)-g-poly (ethylene glycol) for potential biomedical application: synthesis, stability, cytotoxicity and MR imaging. ***International Journal of Pharmaceutics,*** 408(1), 130-137.

Schwertmann, U. 1991. Solubility and dissolution of iron oxides. in: Iron nutrition and interactions in plants, ***Springer,*** 3-27.

Seymour, L.W., Ferry, D.R., Anderson, D., Hesslewood, S., Julyan, P.J., Poyner, R., Doran, J., Young, A.M., Burtles, S., Kerr, D.J. 2002. Hepatic drug targeting: phase I evaluation of polymer-bound doxorubicin. ***Journal of Clinical Oncology,*** 20(6), 1668-1676.

Shi, S.-F., Jia, J.-F., Guo, X.-K., Zhao, Y.-P., Chen, D.-S., Guo, Y.-Y., Cheng, T., Zhang, X.-L. 2012. Biocompatibility of chitosan-coated iron oxide nanoparticles with osteoblast cells. ***International Journal of Nanomedicine,*** 7, 5593-5602.

Shinkai, M., Yanase, M., Honda, H., Wakabayashi, T., Yoshida, J., Kobayashi, T. 1996. Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposomes: in vitro study. ***Cancer Science***, 87(11), 1179-1183.

Shinkai, M., Yanase, M., Suzuki, M., Honda, H., Wakabayashi, T., Yoshida, J., Kobayashi, T. 1999. Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposomes. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 194(1), 176-184.

Singh, N., Jenkins, G.J., Nelson, B.C., Marquis, B.J., Maffeis, T.G., Brown, A.P., Williams, P.M., Wright, C.J., Doak, S.H. 2012. The role of iron redox state in the genotoxicity of ultrafine superparamagnetic iron oxide nanoparticles. ***Biomaterials,*** 33(1), 163-170.

Singh, R., Lillard, J.W. 2009. Nanoparticle-based targeted drug delivery. ***Experimental and Molecular Pathology,*** 86(3), 215-223.

Soenen, S.J., De Cuyper, M. 2010. Assessing iron oxide nanoparticle toxicity in vitro: current status and future prospects. ***Nanomedicine,*** 5(8), 1261-1275.

Sohofi, N., Tavanai, H., Morshed, M., Abdolmaleki, A. 2014. Electrospinning of 100% carboxymethyl chitosan nanofibers. ***Journal of Engineered Fibers and Fabrics,*** 1, 87-92.

Sonia, T., Sharma, C.P. 2011. Chitosan and its derivatives for drug delivery perspective. in: Chitosan for biomaterials I, Springer, pp. 23-53.

Sonvico, F., Mornet, S., Vasseur, S., Dubernet, C., Jaillard, D., Degrouard, J., Hoebeke, J., Duguet, E., Colombo, P., Couvreur, P. 2005. Folate-conjugated iron oxide nanoparticles for solid tumor targeting as potential specific magnetic hyperthermia mediators: synthesis, physicochemical characterization, and in vitro experiments. ***Bioconjugate Chemistry***, 16(5), 1181-1188.

Souaya, E., Hanna, W., Ismail, E., Milad, N. 2000. Studies on some acid divalent-metal nitrilotriacetate complexes. ***Molecules,*** 5(10), 1121-1129.

Sperling, R.A., Gil, P.R., Zhang, F., Zanella, M., Parak, W.J. 2008. Biological applications of gold nanoparticles. ***Chemical Society Reviews,*** 37(9), 1896-1908.

Sriram, D., Yogeeswari, P., Thirumurugan, R., Ratan Bal, T. 2005. Camptothecin and its analogues: a review on their chemotherapeutic potential. ***Natural Product Research***, 19(4), 393-412.

Staker, B.L., Hjerrild, K., Feese, M.D., Behnke, C.A., Burgin, A.B., Stewart, L. 2002. The mechanism of topoisomerase I poisoning by a camptothecin analog. ***Proceedings of The National Academy of Sciences,*** 99(24), 15387-15392.

Sudimack, J., Lee, R.J. 2000. Targeted drug delivery via the folate receptor. ***Advanced Drug Delivery Reviews,*** 41(2), 147-162.

Sugahara, S.-i., Kajiki, M., Kuriyama, H., Kobayashi, T.-r. 2008. Carrier effects on antitumor activity and neurotoxicity of AZ10992, a paclitaxel–carboxymethyl dextran conjugate, in a mouse model. ***Biological and Pharmaceutical Bulletin***, 31(2), 223-230.

Sun, C., Lee, J.S., Zhang, M. 2008. Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. ***Advanced Drug Delivery Reviews,*** 60(11), 1252-1265.

Svenson, S., Wolfgang, M., Hwang, J., Ryan, J., Eliasof, S. 2011. Preclinical to clinical development of the novel camptothecin nanopharmaceutical CRLX101. ***Journal of Controlled Release,*** 153(1), 49-55.

Swierczewska, M., Lee, S., Chen, X. 2011. Inorganic nanoparticles for multimodal molecular imaging. ***Mol Imaging,*** 10(1), 3-16.

Şeniz, Ş. 2012. Osteomiyelit Tedavisinde Kullanılmak Üzere Manyetik Nanopartiküllere Adsorpsiyon Tekniği ile Antibiyotik Yüklenmesi ve Formülasyonun İlaç Salım Potansiyelinin İncelenmesi. Proje, Özel Ege Lisesi, İzmir. 24.

Tan, S., Li, X., Guo, Y., Zhang, Z. 2013. Lipid-enveloped hybrid nanoparticles for drug delivery. ***Nanoscale,*** 5(3), 860-872.

Tan, Y., Zhuang, Z., Peng, Q., Li, Y. 2008. Room-temperature soft magnetic iron oxide nanocrystals: synthesis, characterization, and size-dependent magnetic properties. ***Chemistry of Materials,*** 20(15), 5029-5034.

Tanaka, K., Kitamura, N., Morita, M., Inubushi, T., Chujo, Y. 2008. Assembly system of direct modified superparamagnetic iron oxide nanoparticles for target-specific MRI contrast agents. ***Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters***, 18(20), 5463-5465.

Tansık, G. 2012. Synthesis of Poly (DL-Lactic-co-Glycolic Acid) Coated Magnetic Nanoparticles for Anti-Cancer Drug Delivery. Middle East Technical University of The Graduate School of Natural and Applıed Sciences, Ankara. 100.

Tartaj, P., Veintemillas-Verdaguer, S., Serna, C.J. 2003. The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. ***Journal of Physics D: Applied Physics,*** 36(13), R182.

Teja, A.S., Koh, P.-Y. 2009. Synthesis, properties, and applications of magnetic iron oxide nanoparticles. ***Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials,*** 55(1), 22-45.

Thain, M., Hickman, M. 2004. Penguin dictionary of biology. Penguin books.

Thao, N.N.P. 2012. Development of Active and Recyclable Magnetic Nanobiocatalysts for Green and Sustainable Chemical and Fuel Production.

Thomas, C.J., Rahier, N.J., Hecht, S.M. 2004. Camptothecin: current perspectives. ***Bioorganic & Medicinal Chemistry,*** 12(7), 1585-1604.

Thomas, L.A. 2010. Nanoparticle synthesis for magnetic hyperthermia, University College London.

Tiefenauer, L.X., Kuehne, G., Andres, R.Y. 1993. Antibody-magnetite nanoparticles: in vitro characterization of a potential tumor-specific contrast agent for magnetic resonance imaging. ***Bioconjugate Chemistry,*** 4, 347-347.

Torchilin, V.P. 2000. Drug targeting. ***European Journal of Pharmaceutical Sciences,*** 11, 81-91.

Torchilin, V.P. 2002. PEG-based micelles as carriers of contrast agents for different imaging modalities. ***Advanced Drug Delivery Reviews,*** 54(2), 235-252.

Tran, N., Webster, T.J. 2010. Magnetic nanoparticles: biomedical applications and challenges. ***Journal of Materials Chemistry,*** 20(40), 8760-8767.

Tuncelli, G. 2012. Demir Oksit Nanoparçacıkları Üzerine Desteklenmiş Tabakalı Çift Hidroksitlere Anti-Kanser Ilaç Tutuklanması ve Tanecik Şekline Bağlı Salınım Davranışları. Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Ankara. 82.

Tural, S., Tarhan, T., Tural, B. 2016. Removal of hazardous azo dye Metanil Yellow from aqueous solution by cross-linked magnetic biosorbent; equilibrium and kinetic studies. ***Desalination and Water Treatment***, 57(28), 13347-13356.

Unsoy, G., Yalcin, S., Khodadust, R., Gunduz, G., Gunduz, U. 2012. Synthesis optimization and characterization of chitosan-coated iron oxide nanoparticles produced for biomedical applications. ***Journal of Nanoparticle Research,*** 14(11), 964.

Varan, M. 2013. Manyetik Kitosan Nanopartiküllerin Hazırlanması, İlaç Yüklenmesi ve Kemoterapi Ajanı Olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması. Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir, 90.

Vasey, P.A., Kaye, S.B., Morrison, R., Twelves, C., Wilson, P., Duncan, R., Thomson, A.H., Murray, L.S., Hilditch, T.E., Murray, T. 1999. Phase I clinical and pharmacokinetic study of PK1 [N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide copolymer doxorubicin]: first member of a new class of chemotherapeutic agents—drug-polymer conjugates. ***Clinical Cancer Research***, 5(1), 83-94.

Vasir, J.K., Labhasetwar, V. 2005. Targeted drug delivery in cancer therapy. ***Technology in Cancer Research & Treatment,*** 4(4), 363-374.

Veltkamp, S.A., Witteveen, E.O., Capriati, A., Crea, A., Animati, F., Voogel-Fuchs, M., van den Heuvel, I.J., Beijnen, J.H., Voest, E.E., Schellens, J.H. 2008. Clinical and pharmacologic study of the novel prodrug delimotecan (MEN 4901/T-0128) in patients with solid tumors. ***Clinical Cancer Research,*** 14(22), 7535-7544.

Verderio, P. 2014. Synthesis and Biofunctionalization of Novel Composite Nanocarriers for Targeted Detection and Treatment of Malignant Cells. PhD thesis, University of Milano-Bicocca of School of Doctorate in Chemical Sciences, Milano-Bicocca. 208.

Verma, N.K., Crosbie-Staunton, K., Satti, A., Gallagher, S., Ryan, K.B., Doody, T., McAtamney, C., MacLoughlin, R., Galvin, P., Burke, C.S. 2013. Magnetic core-shell nanoparticles for drug delivery by nebulization. ***Journal of Nanobiotechnology,*** 11(1), 1.

Wall, M.E. 1998. Camptothecin and taxol: discovery to clinic. ***Medicinal Research Reviews,*** 18(5), 299-314.

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

Wang, C., Luo, H., Zhang, Z., Wu, Y., Zhang, J., Chen, S. 2014. Removal of As (III) and As (V) from aqueous solutions using nanoscale zero valent iron-reduced graphite oxide modified composites. ***Journal of Hazardous Materials,*** 268, 124-131.

Wang, F., Lee, I., Holmström, N., Yoshitake, T., Kim, D., Muhammed, M., Frisen, J., Olson, L., Spenger, C., Kehr, J. 2006. Magnetic resonance tracking of nanoparticle labelled neural stem cells in a rat's spinal cord. ***Nanotechnology,*** 17(8), 1911.

Weissleder, R., Stark, D.D., Engelstad, B.L., Bacon, B.R., Compton, C.C., White, D.L., Jacobs, P., Lewis, J. 1989. Superparamagnetic iron oxide: pharmacokinetics and toxicity. ***American Journal of Roentgenology,*** 152(1), 167-173.

Widder, K.J., Senyei, A.E. 1984. Magnetic albumin microspheres in drug delivery. Microsheres and Drug Therapy, Eda.: SS Davis, L. Illum, JG McVie, E. Tomlinson, Elsevier, Amsterdam, 393-411.

Winer, J.L., Liu, C.Y., Apuzzo, M.L. 2012. The use of nanoparticles as contrast media in neuroimaging: a statement on toxicity. ***World Neurosurgery,*** 78(6), 709-711.

Wolinsky, J.B., Grinstaff, M.W. 2008. Therapeutic and diagnostic applications of dendrimers for cancer treatment. ***Advanced Drug Delivery Reviews,*** 60(9), 1037-1055.

Wu, W., He, Q., Jiang, C. 2008. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and surface functionalization strategies. ***Nanoscale Research Letters***, 3(11), 397.

Wu, Y., Zhang, T., Zheng, Z., Ding, X., Peng, Y. 2010. A facile approach to Fe 3 O 4@ Au nanoparticles with magnetic recyclable catalytic properties. ***Materials Research Bulletin***, 45(4), 513-517.

Xie, D.L., Hu, Y., Shen, Q.D., Yang, C.Z. 1999. Study of polyfunctional carboxyl telechelic microspheres. ***Journal of Applied Polymer Science,*** 72(5), 667-676.

Xing, Y., Jin, Y.-Y., Si, J.-C., Peng, M.-L., Wang, X.-F., Chen, C., Cui, Y.-L. 2015. Controllable synthesis and characterization of Fe 3 O 4/Au composite nanoparticles. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 380, 150-156.

Xu, C., Teja, A.S. 2008. Continuous hydrothermal synthesis of iron oxide and PVA-protected iron oxide nanoparticles. ***The Journal of Supercritical Fluids***, 44(1), 85-91.

Xu, Z., Shen, C., Hou, Y., Gao, H., Sun, S. 2009. Oleylamine as both reducing agent and stabilizer in a facile synthesis of magnetite nanoparticles. ***Chemistry of Materials,*** 21(9), 1778-1780.

Yan, F., Xu, H., Anker, J., Kopelman, R., Ross, B., Rehemtulla, A., Reddy, R. 2004. Synthesis and characterization of silica-embedded iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging. ***Journal of Nanoscience and Nanotechnology***, 4(1-1), 72-76.

Yanase, M., Shinkai, M., Honda, H., Wakabayashi, T., Yoshida, J., Kobayashi, T. 1997. Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposomes: ex vivo study. *Japanese journal of cancer research*, 88(7), 630-632.

Yeom, S.-H., Kang, B.-H., Kim, K.-J., Kang, S.-W. 2010. Nanostructures in biosensor--a review. ***Frontiers in Bioscience (Landmark Edition),*** 16, 997-1023.

Yılmaz, B., Aydın, D., Ünal, Y. 2008. Kontrollü İlaç Salımı. Erişim: [muhendislik.istanbul.edu.tr/metalurji/wp-content/.../bm08.pptx]. Erişim Tarihi: 12.02.2017

Young, C., Schluep, T., Hwang, J., Eliasof, S. 2011. CRLX101 (formerly IT-101) A Novel Nanopharmaceutical of Camptothecin in Clinical Development. ***Current Bioactive Compounds,*** 7(1), 8-14.

Yu, S., Chow, G.M. 2004. Carboxyl group (–CO 2 H) functionalized ferrimagnetic iron oxide nanoparticles for potential bio-applications. ***Journal of Materials Chemistry,*** 14(18), 2781-2786.

Zalipsky, S., Mullah, N., Harding, J.A., Gittelman, J., Guo, L., DeFrees, S.A. 1997. Poly (ethylene glycol)-grafted liposomes with oligopeptide or oligosaccharide ligands appended to the termini of the polymer chains. ***Bioconjugate Chemistry***, 8(2), 111-118.

Zebli, B., Susha, A.S., Sukhorukov, G.B., Rogach, A.L., Parak, W.J. 2005. Magnetic targeting and cellular uptake of polymer microcapsules simultaneously functionalized with magnetic and luminescent nanocrystals. ***Langmuir,*** 21(10), 4262-4265.

Zhang, H., Sun, Y., Wang, J., Zhang, J., Zhang, H., Zhou, H., Song, D. 2012. Preparation and application of novel nanocomposites of magnetic-Au nanorod in SPR biosensor. ***Biosensors and Bioelectronics,*** 34(1), 137-143.

Zhang, J., Xu, Z., Chen, H., Zong, Y. 2009. Removal of 2, 4-dichlorophenol by chitosan-immobilized laccase from Coriolus versicolor. ***Biochemical Engineering Journal***, 45(1), 54-59.

Zhang, K., Zheng, H., Liang, S., Gao, C. 2016. Aligned PLLA nanofibrous scaffolds coated with graphene oxide for promoting neural cell growth. ***Acta Biomaterialia,*** 37, 131-142.

Zhang, L.-y., Zhu, X.-j., Sun, H.-w., Chi, G.-r., Xu, J.-x., Sun, Y.-l. 2010. Control synthesis of magnetic Fe 3 O 4–chitosan nanoparticles under UV irradiation in aqueous system. ***Current Applied Physics,*** 10(3), 828-833.

Zhang, L., Guo, R., Yang, M., Jiang, X., Liu, B. 2007. Thermo and pH dual-responsive nanoparticles for anti-cancer drug delivery. ***Advanced Materials,*** 19(19), 2988-2992.

Zhang, L., Hu, Y., Jiang, X., Yang, C., Lu, W., Yang, Y.H. 2004. Camptothecin derivative-loaded poly (caprolactone-co-lactide)-b-PEG-b-poly (caprolactone-co-lactide) nanoparticles and their biodistribution in mice. ***Journal of Controlled Release***, 96(1), 135-148.

Zhao, H., Lee, C., Sai, P., Choe, Y.H., Boro, M., Pendri, A., Guan, S., Greenwald, R.B. 2000. 20-O-acylcamptothecin derivatives: evidence for lactone stabilization. ***The Journal of Organic Chemistry,*** 65(15), 4601-4606.

Zhao, H., Saatchi, K., Häfeli, U.O. 2009. Preparation of biodegradable magnetic microspheres with poly (lactic acid)-coated magnetite. ***Journal of Magnetism and Magnetic Materials,*** 321(10), 1356-1363.

Zheng, H., Rao, Y., Yin, Y., Xiong, X., Xu, P., Lu, B. 2011. Preparation, characterization, and in vitro drug release behavior of 6-mercaptopurine-carboxymethyl chitosan. ***Carbohydrate Polymers***, 83(4), 1952-1958.

Zheng, X., Huang, T., Pan, Y., Wang, W., Fang, G., Ding, K., Wu, M. 2016. 3, 3′-sulfonyldipropionitrile: A novel electrolyte additive that can augment the high-voltage performance of LiNi 1/3 Co 1/3 Mn 1/3 O 2/graphite batteries. ***Journal of Power Sources,*** 319, 116-123.

Zhou, H., Tao, K., Ding, J., Zhang, Z., Sun, K., Shi, W. 2011. A general approach for providing nanoparticles water-dispersibility by grinding with poly (ethylene glycol). ***Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects***, 389(1), 18-26.

Zhu, A., Yuan, L., Jin, W., Dai, S., Wang, Q., Xue, Z., Qin, A. 2009. Polysaccharide surface modified Fe 3 O 4 nanoparticles for camptothecin loading and release. ***Acta Biomaterialia,*** 5(5), 1489-1498.

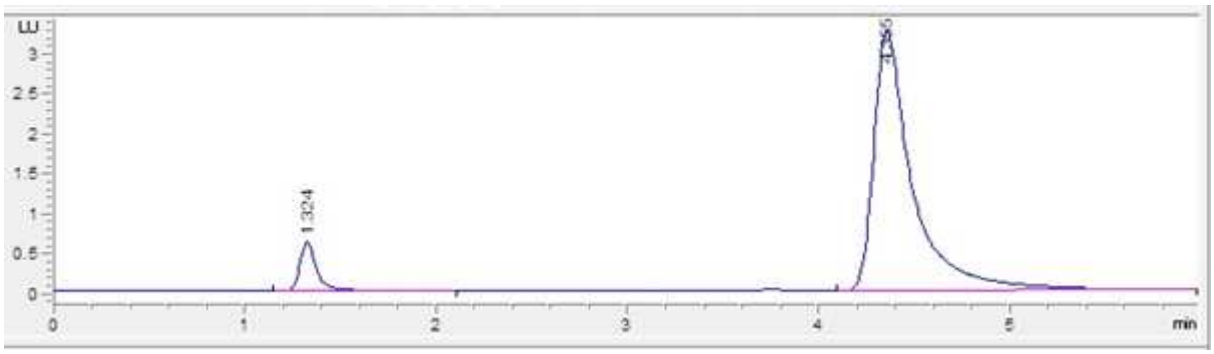
Zhu, A., Yuan, L., Liao, T. 2008. Suspension of Fe 3 O 4 nanoparticles stabilized by chitosan and o-carboxymethylchitosan. ***International Journal of Pharmaceutics***, 350(1), 361-368.

Zhu, X.-M., Wang, Y., Leung, K., Lee, S.-F., Zhao, F., Wang, D.-W., Lai, J., Wan, C., Cheng, C., Ahuja, A.T. 2012a. Enhanced cellular uptake of aminosilane-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles in mammalian cell lines. ***Int J Nanomedicine***, 7, 953-964.

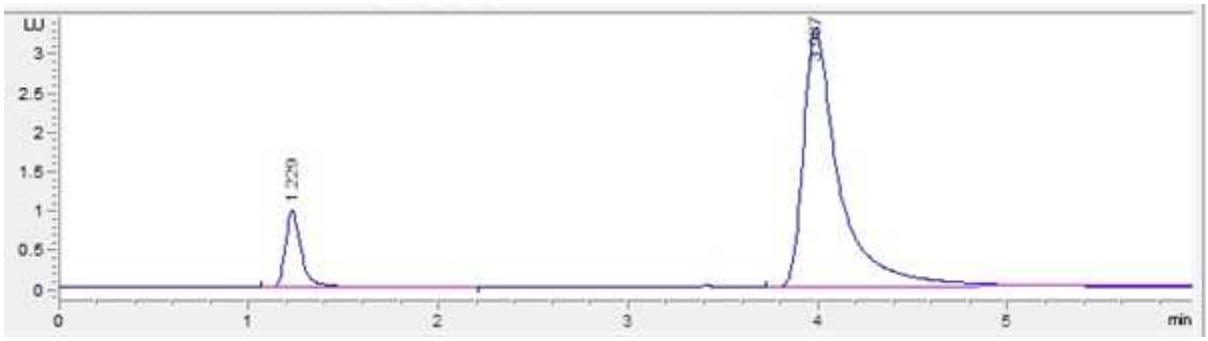
Zhu, X., Su, M., Tang, S., Wang, L., Liang, X., Meng, F., Hong, Y., Xu, Z. 2012b. Synthesis of thiolated chitosan and preparation nanoparticles with sodium alginate for ocular drug delivery. ***Mol Vis.,*** 18,1973-82.

Ziv-Polat, O., Topaz, M., Brosh, T., Margel, S. 2010. Enhancement of incisional wound healing by thrombin conjugated iron oxide nanoparticles. ***Biomaterials***, 31(4), 741-747.

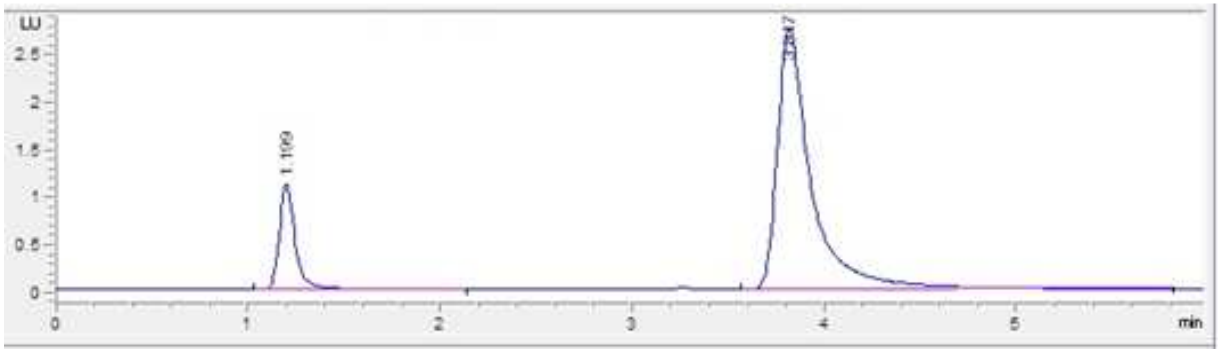
EK 1



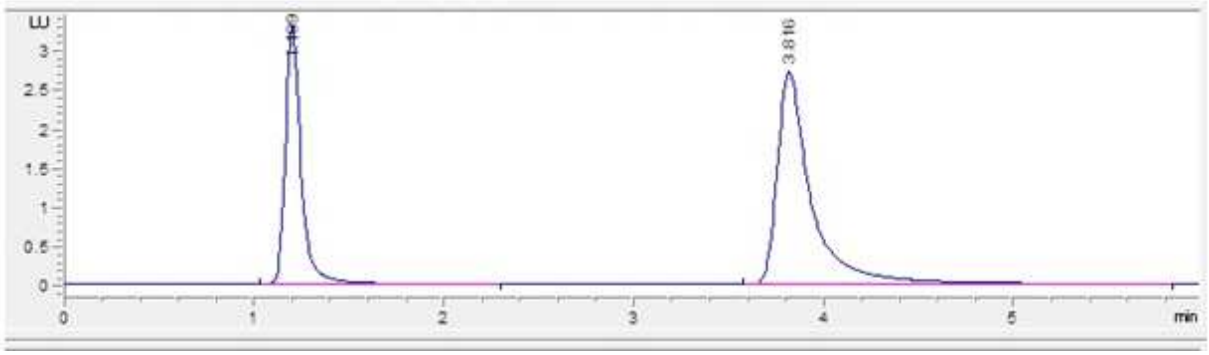
Ek 1.1. Serbest TPT için pH 5'te 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



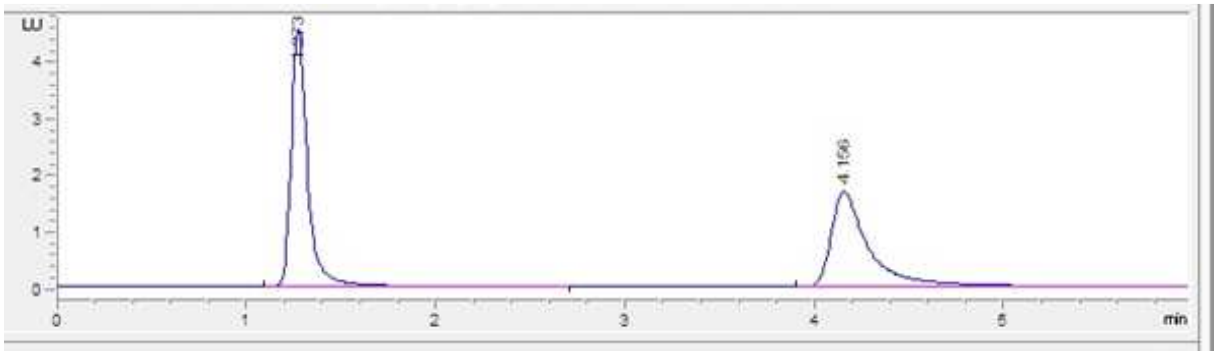
Ek 1.2. Serbest TPT için pH 5'te 10 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



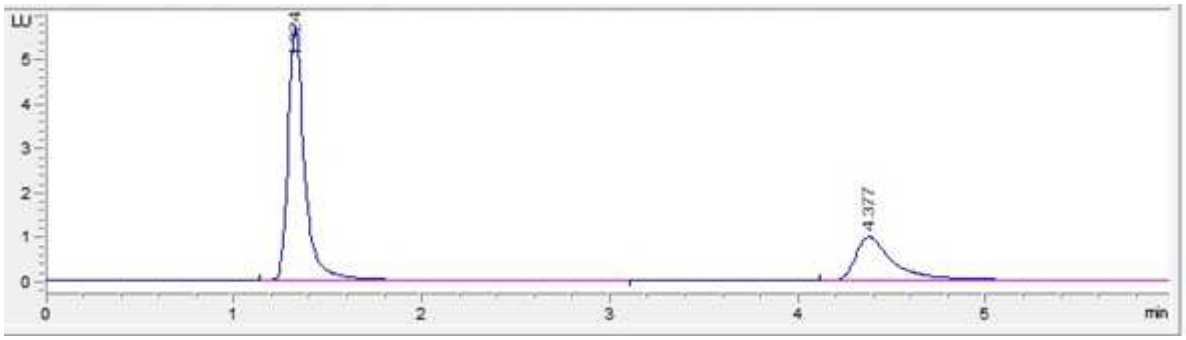
Ek 1.3. Serbest TPT için pH 5'te 15 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



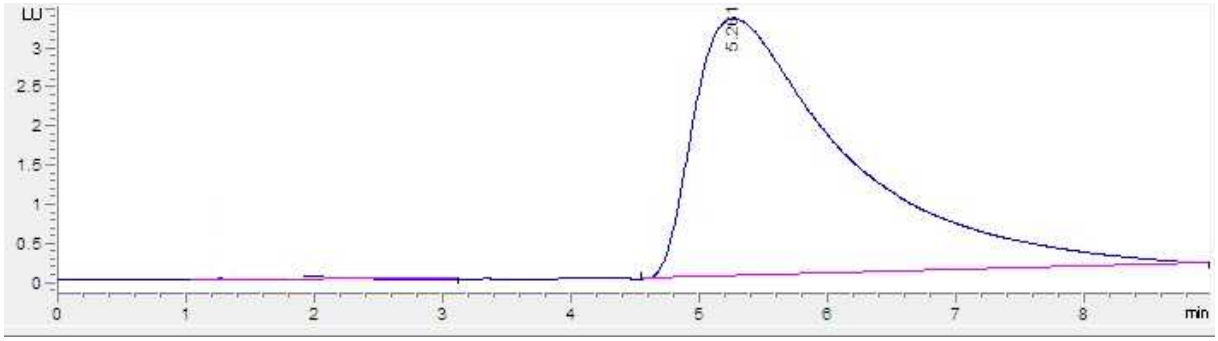
Ek 1.4. Serbest TPT için pH 5'te 30 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



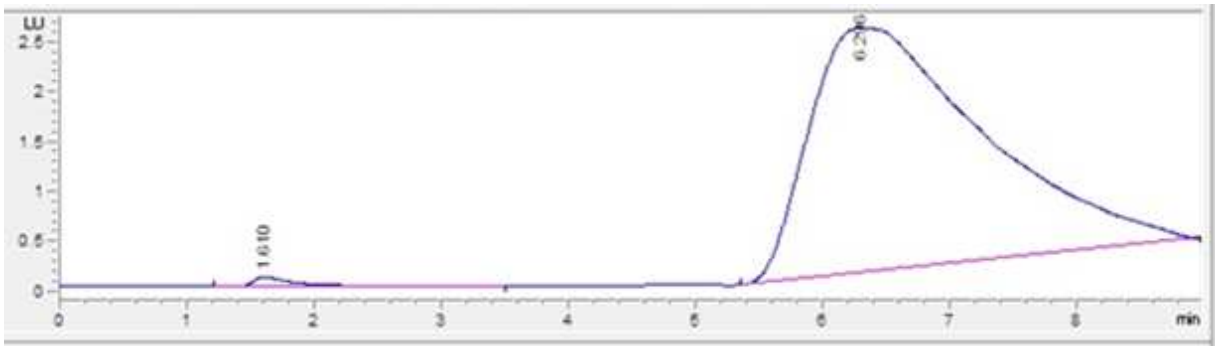
Ek 1.5. Serbest TPT için pH 5'te 1 saat sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



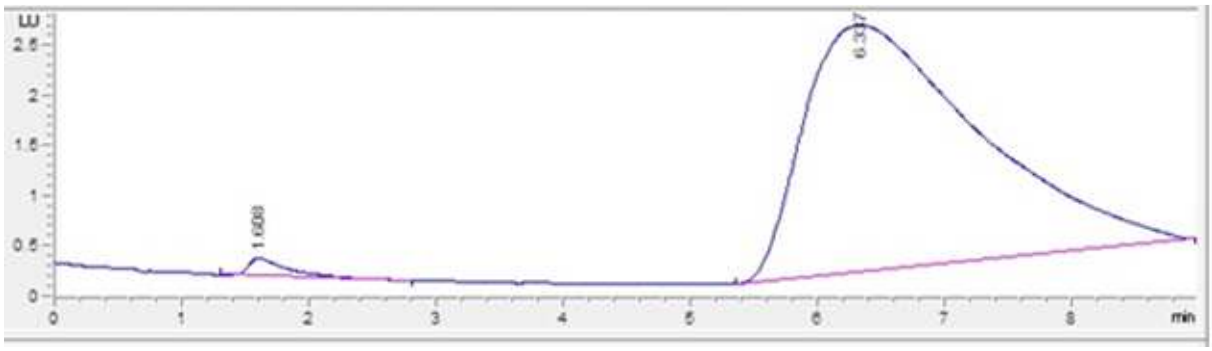
Ek 1.6. Serbest TPT için pH 5'te 2 saat sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



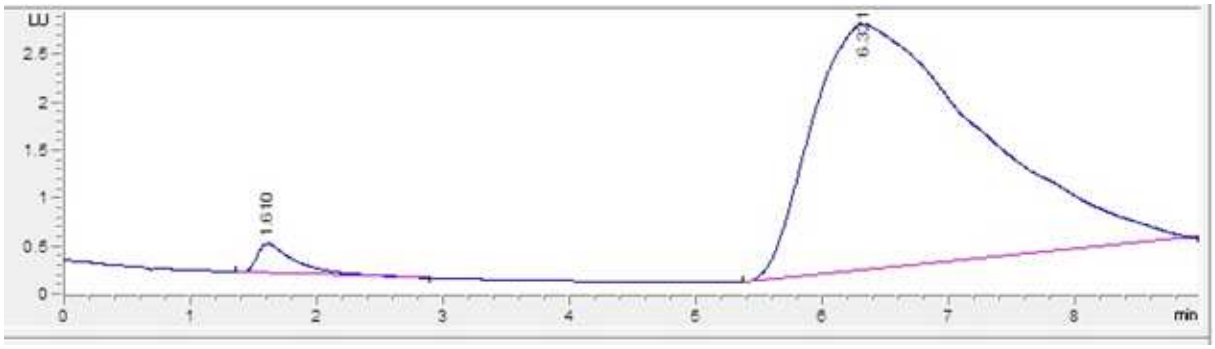
Ek 1.7. MD_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



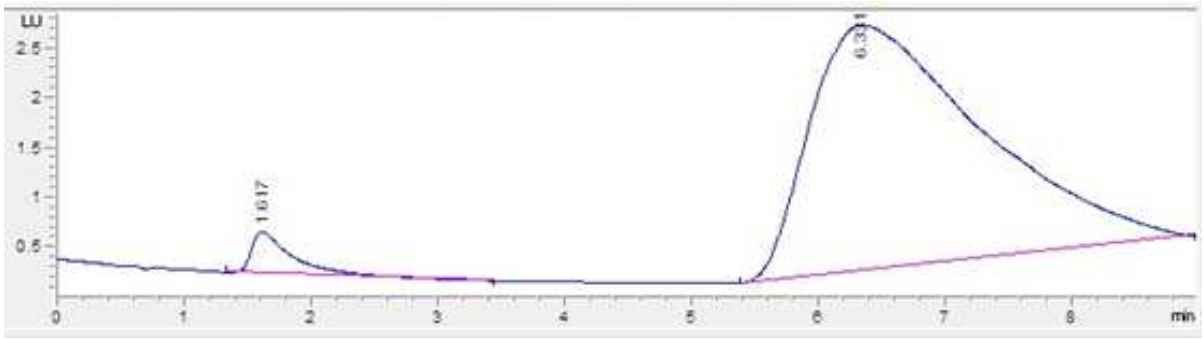
Ek 1.8. MD_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



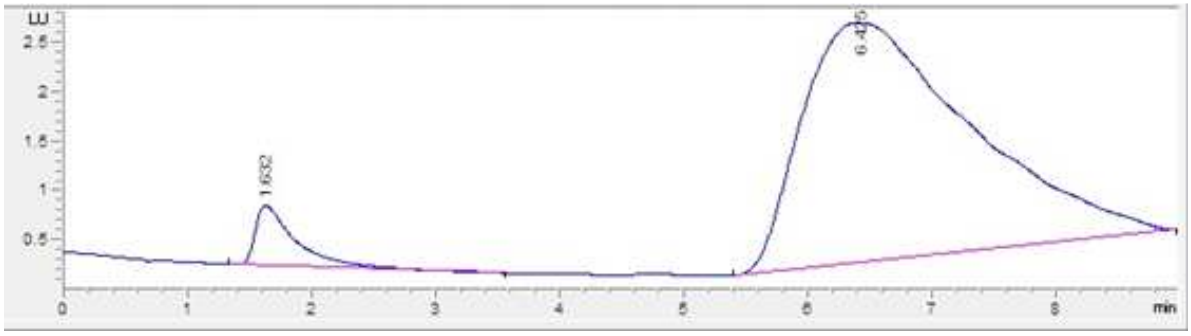
Ek 1.9. MD_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



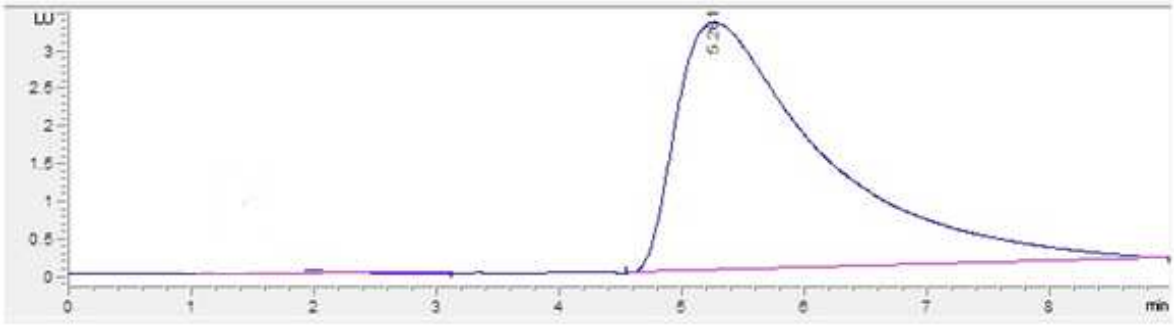
Ek 1.10. MD_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



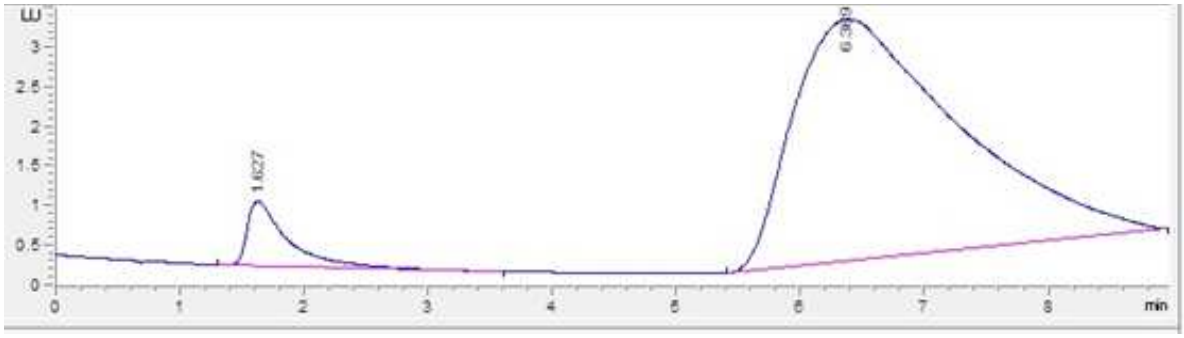
Ek 1.11. MD_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



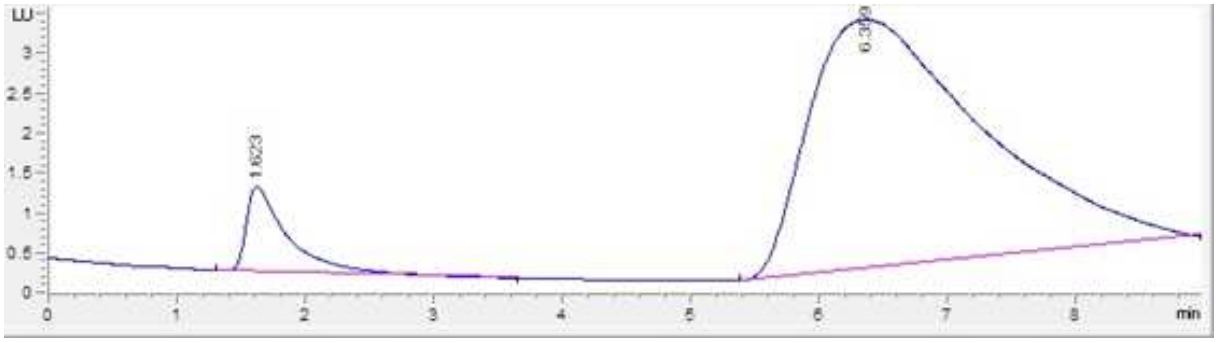
Ek 1.12. MD_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



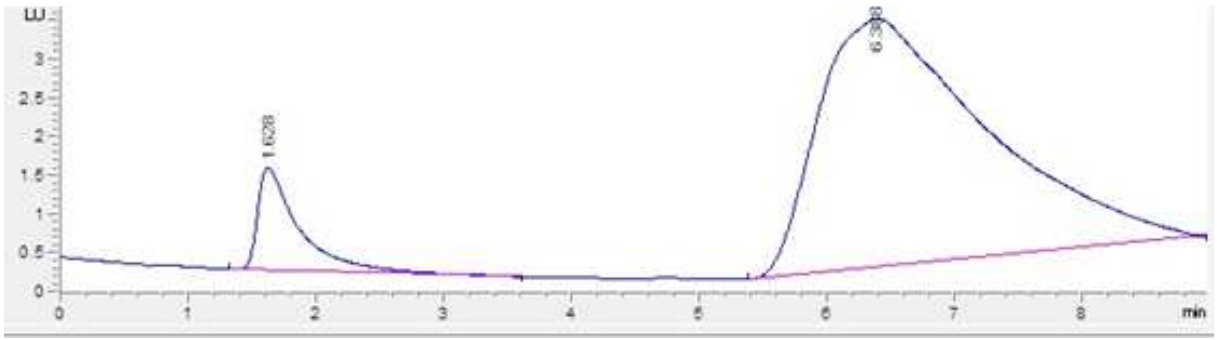
Ek 1.13. MD_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



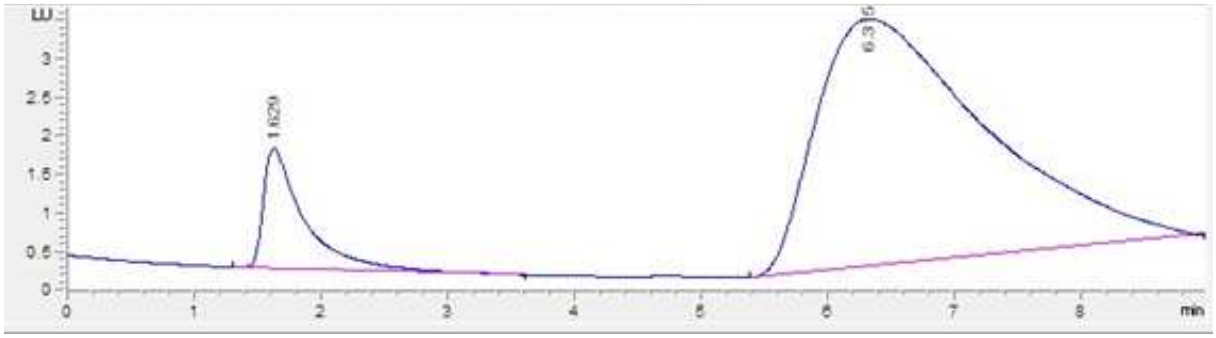
Ek 1.14. MD_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



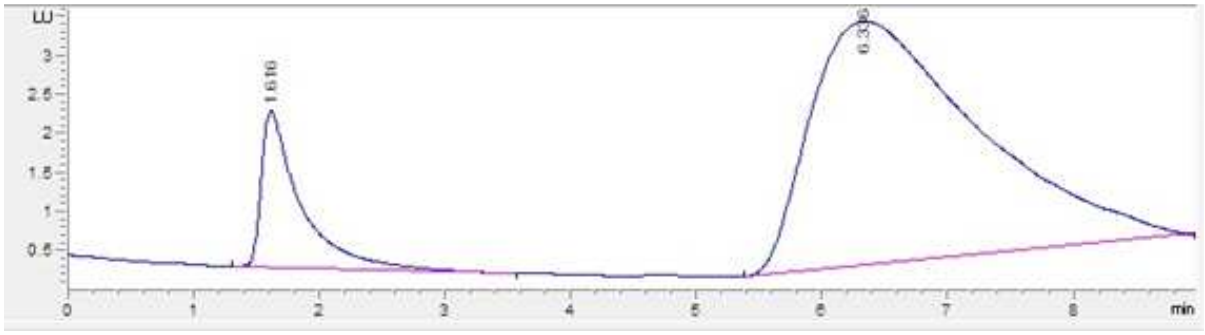
Ek 1.15. MD_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



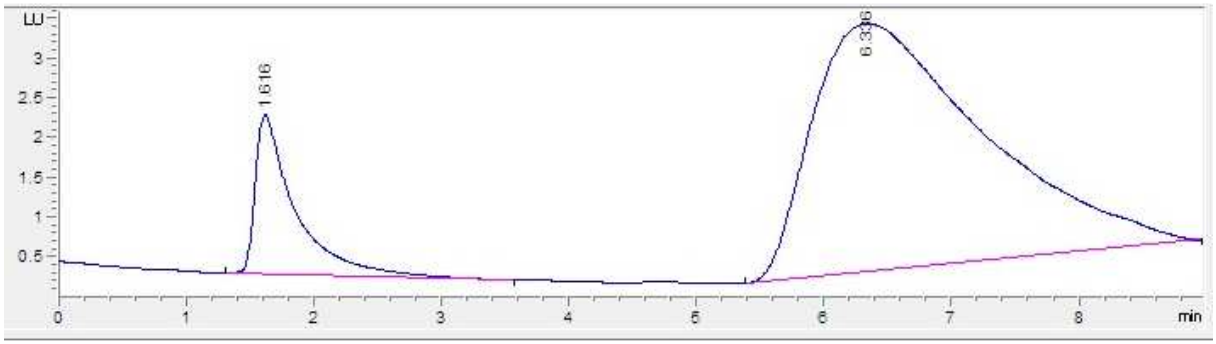
Ek 1.16. MD_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



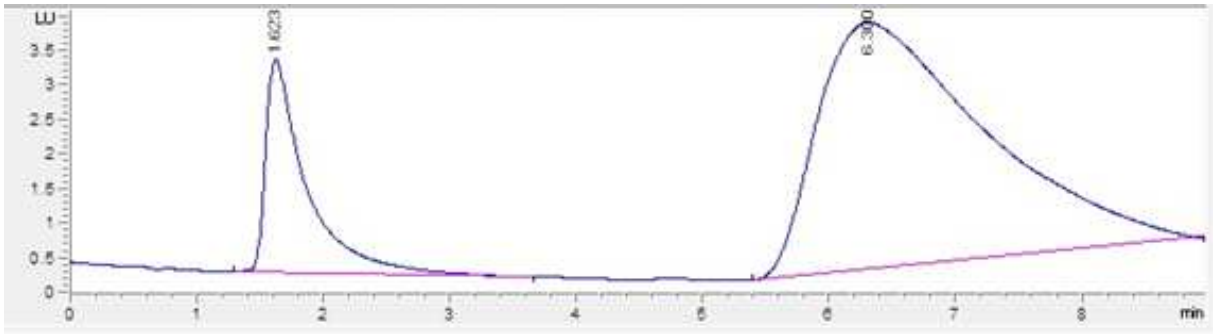
Ek 1.17. MD_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



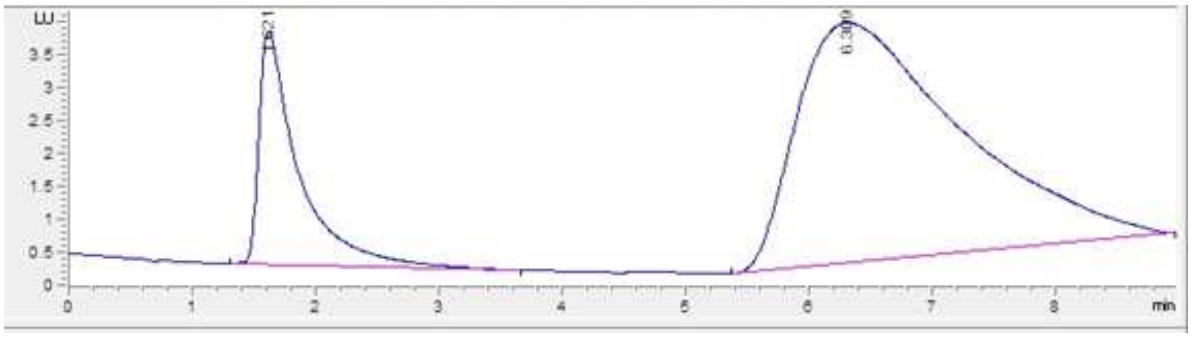
Ek 1.18. MD_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



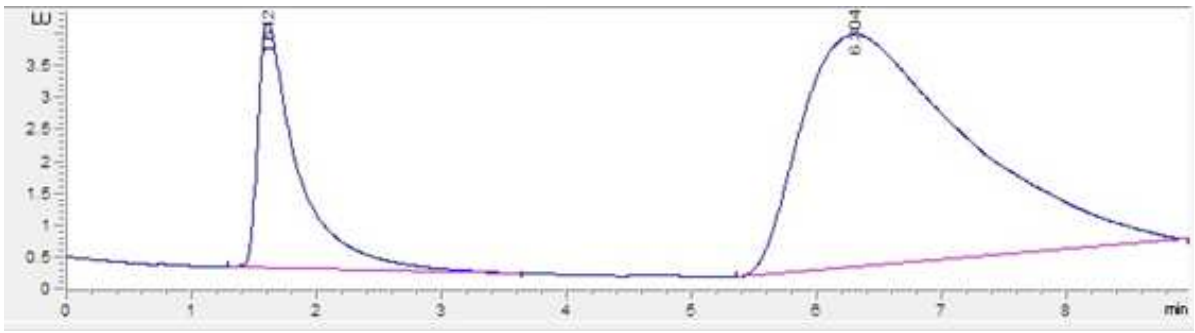
Ek 1.19. MD_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



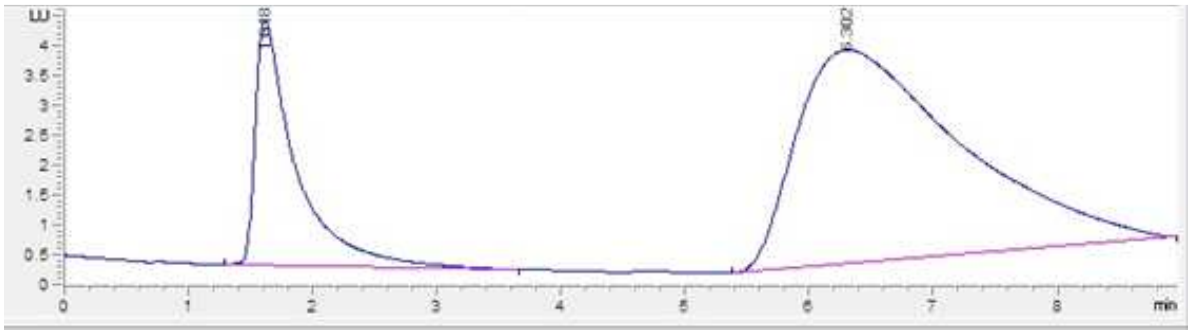
Ek 1.20. MD_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



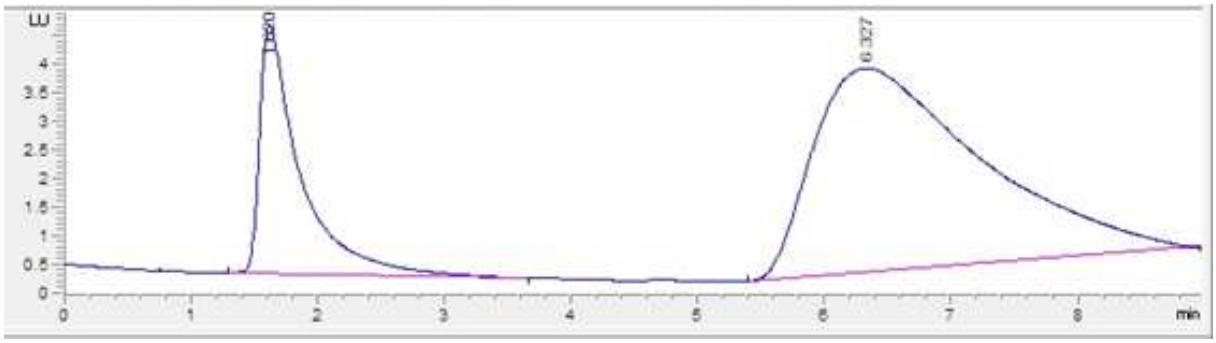
Ek 1.21. MD_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



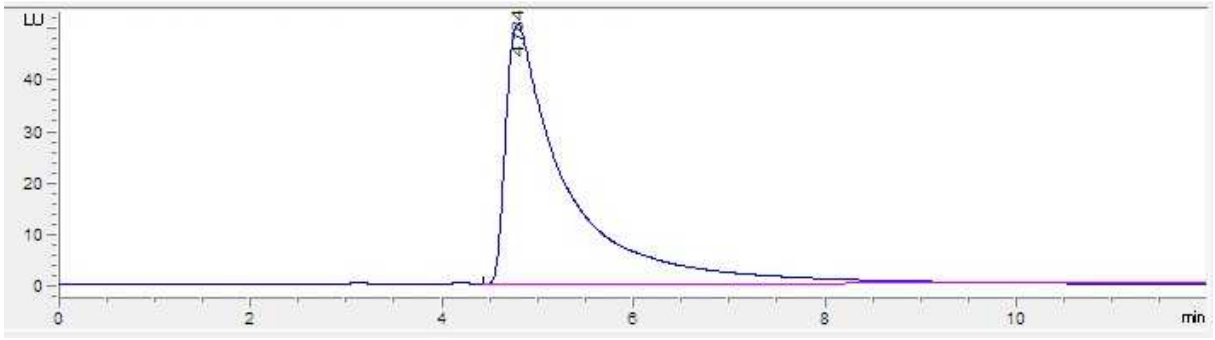
Ek 1.22. MD_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



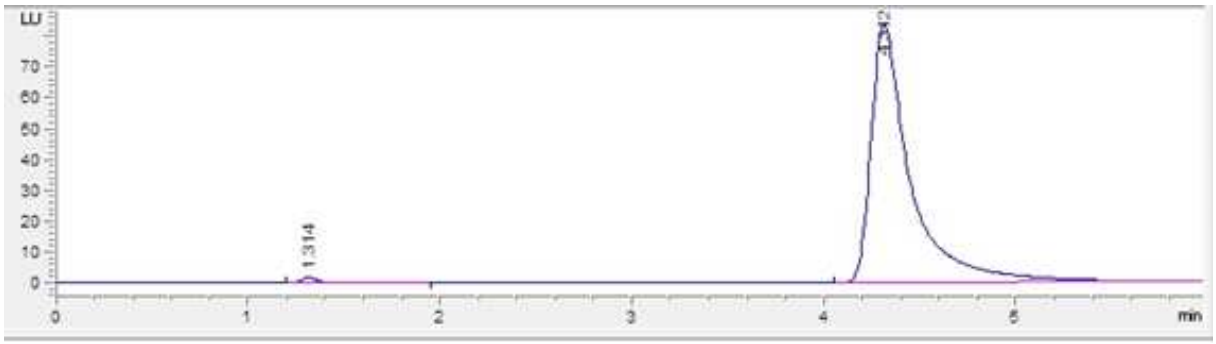
Ek 1.23. MD_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



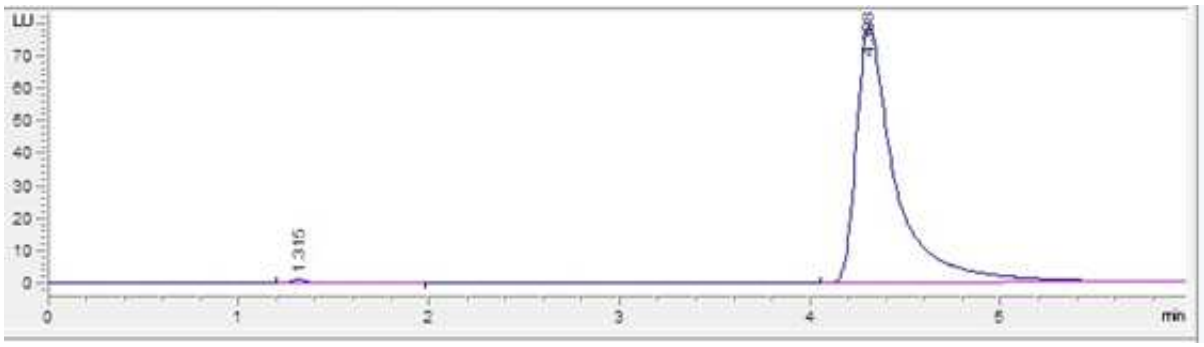
Ek 1.24. MD_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



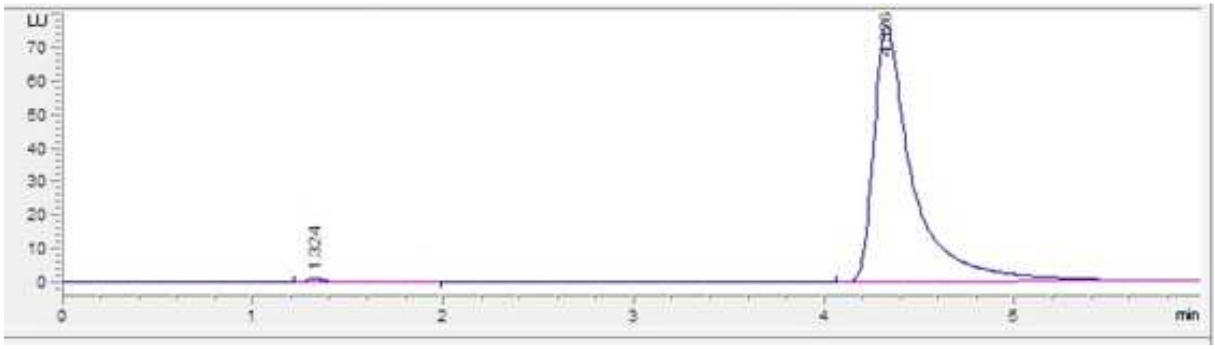
Ek 1.25. MD_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



Ek 1.26. MD_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



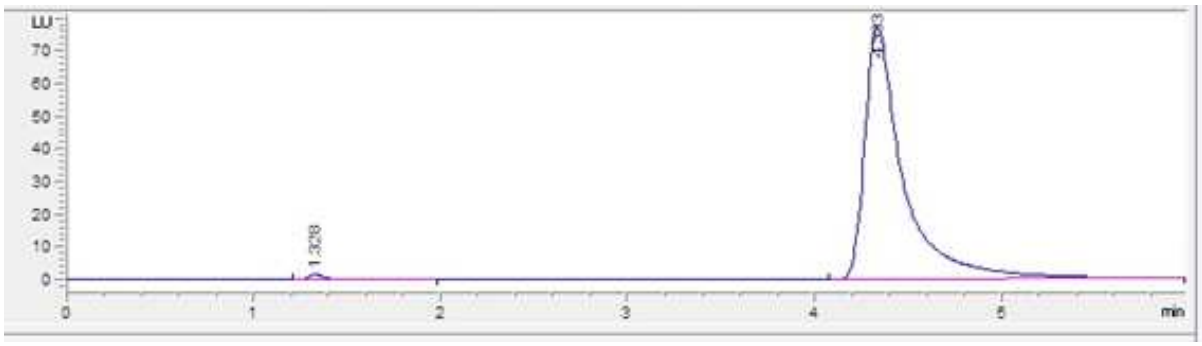
Ek 1.27. MD_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



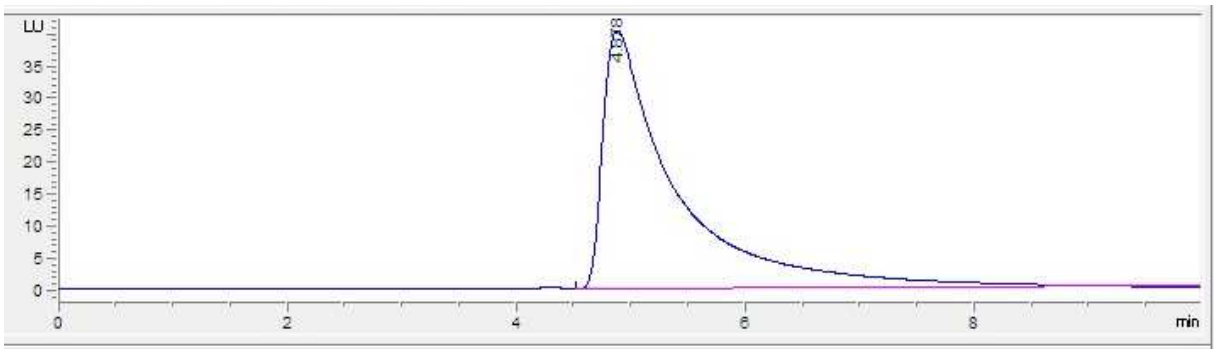
Ek 1.28. MD_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



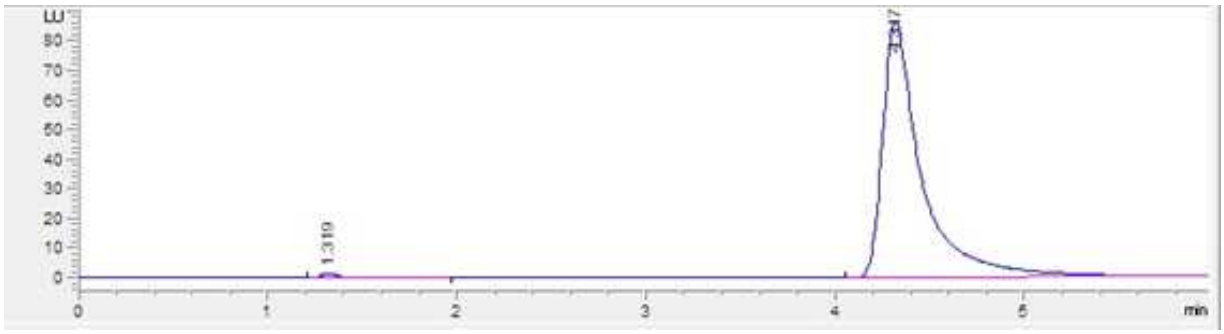
Ek 1.29. MD_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



Ek 1.30. MD_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



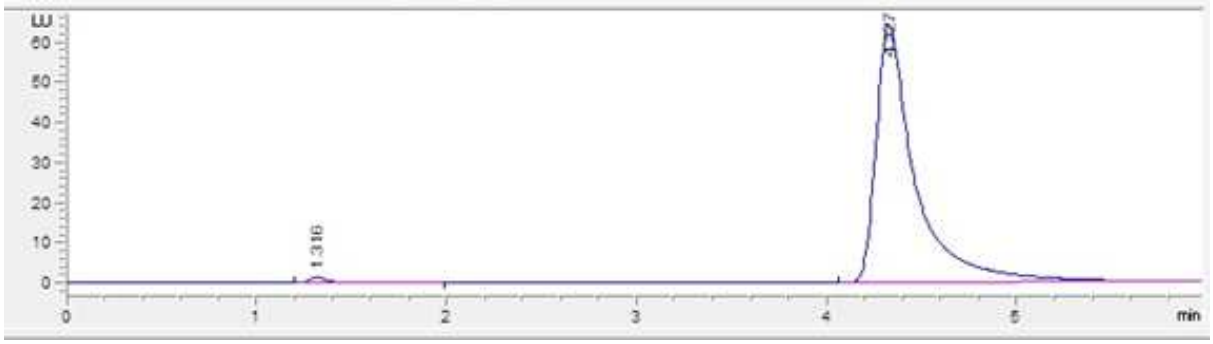
Ek 1.31. MD_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



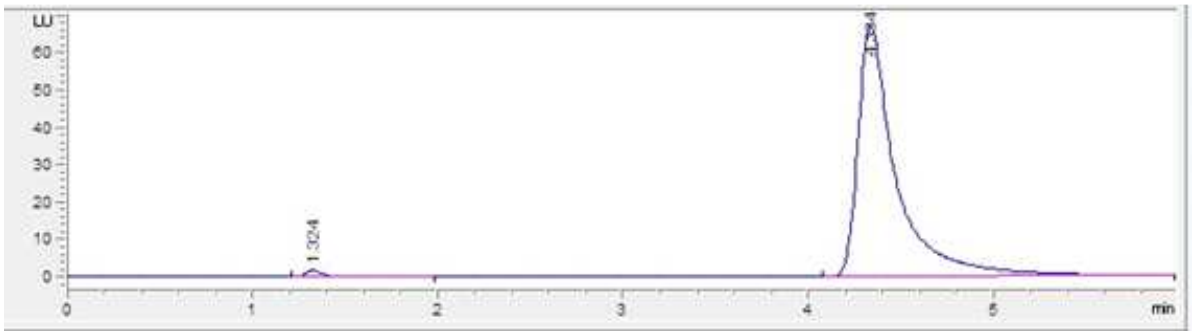
Ek 1.32. MD_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



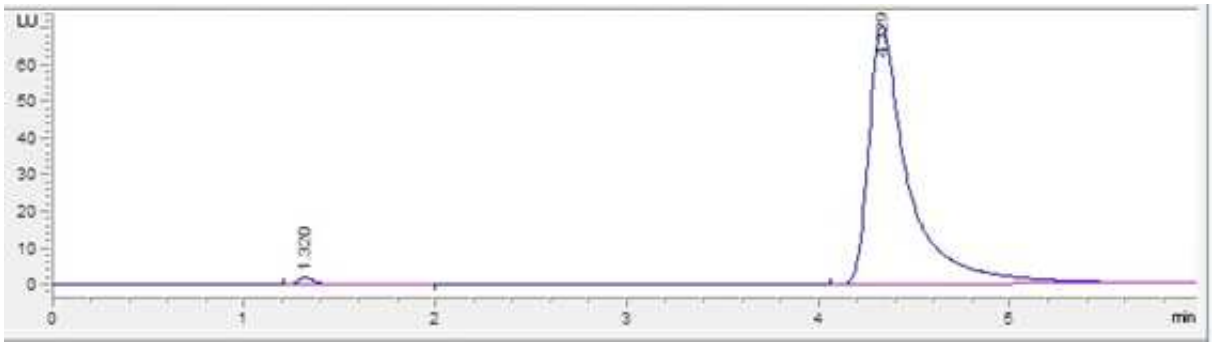
Ek 1.33. MD_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



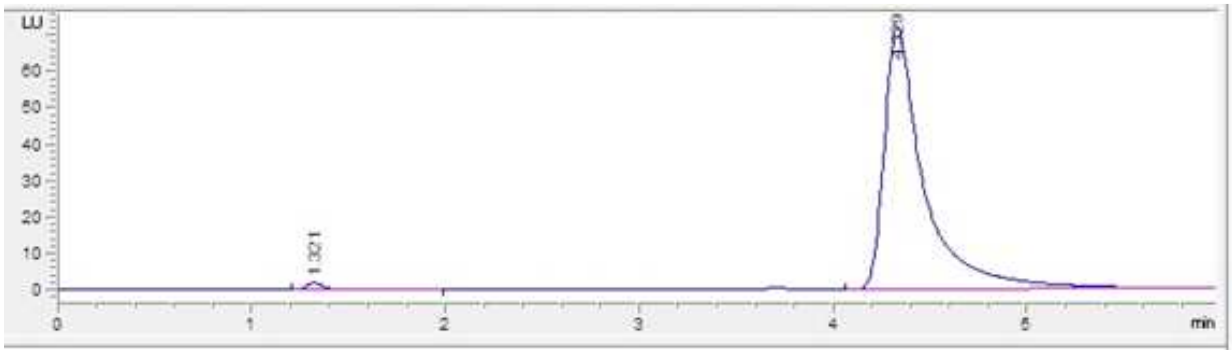
Ek 1.34. MD_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



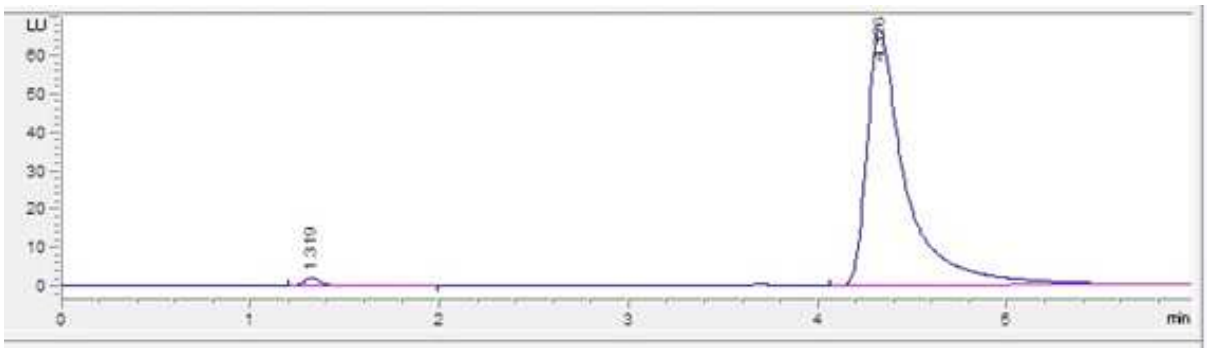
Ek 1.35. MD_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



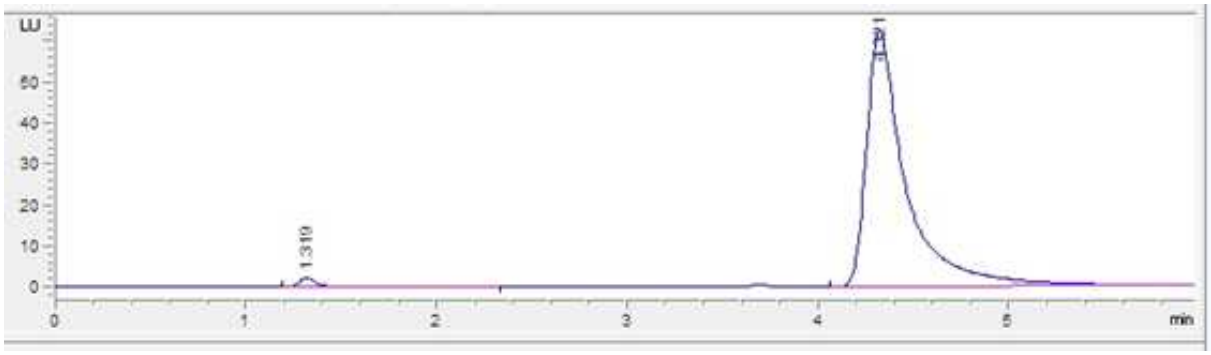
Ek 1.36. MD_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



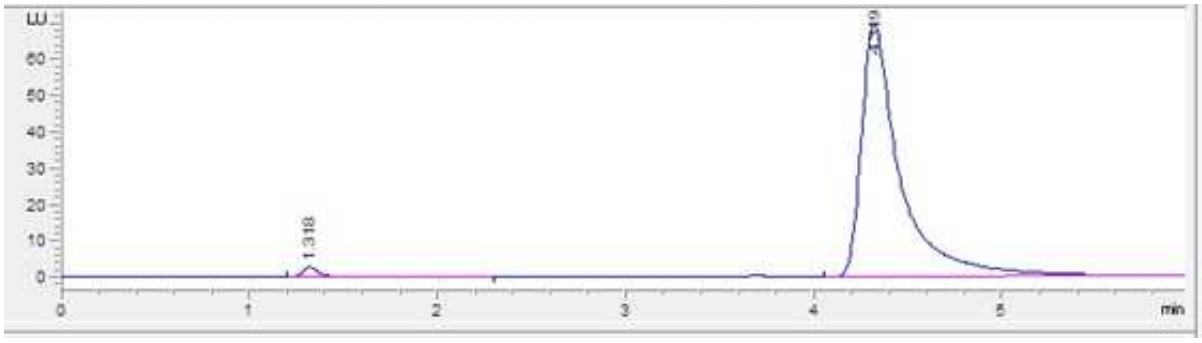
Ek 1.37. MD_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



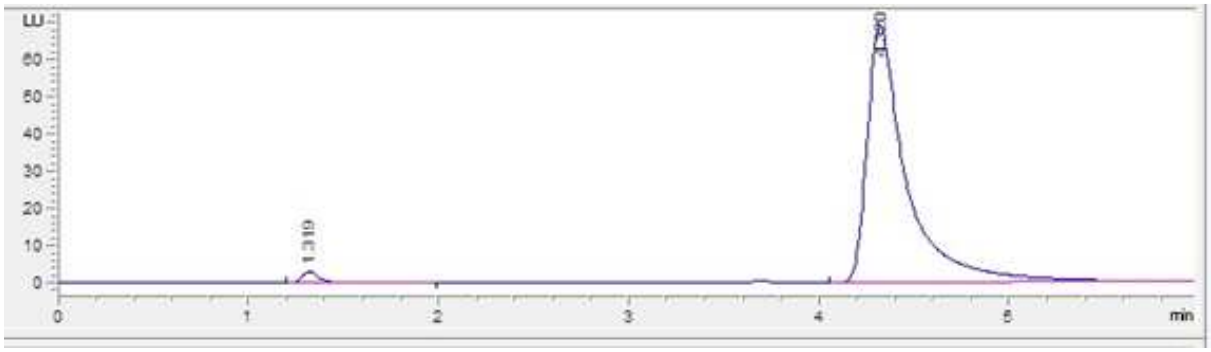
Ek 1.38. MD_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



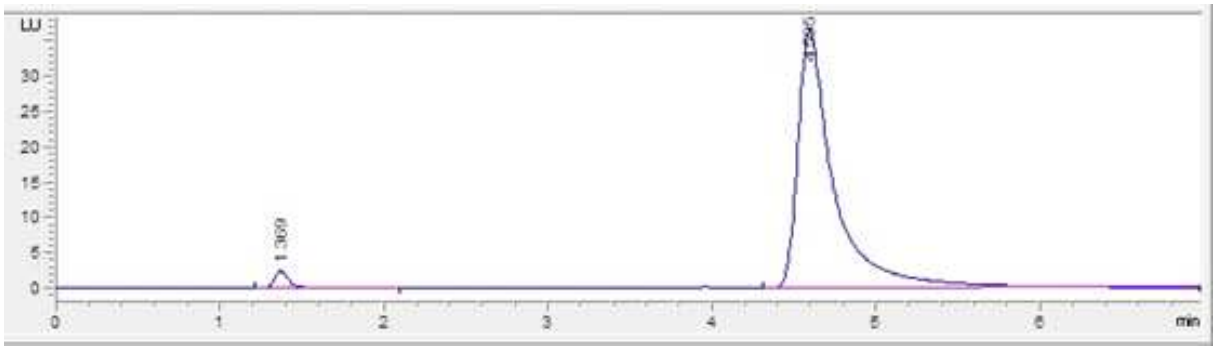
Ek 1.39. MD_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



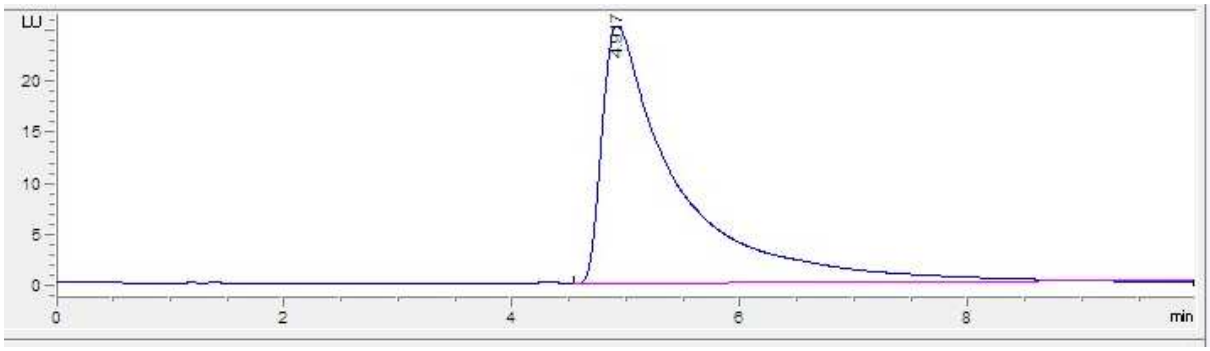
Ek 1.40. MD_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



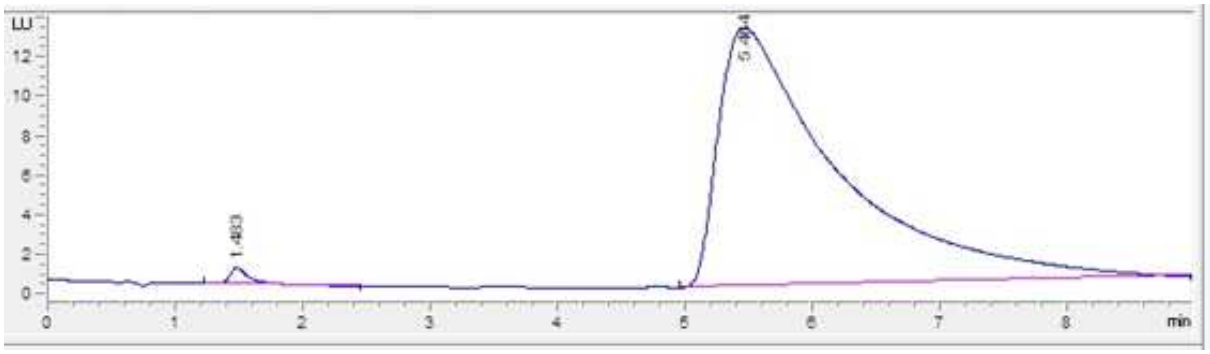
Ek 1.41. MD_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



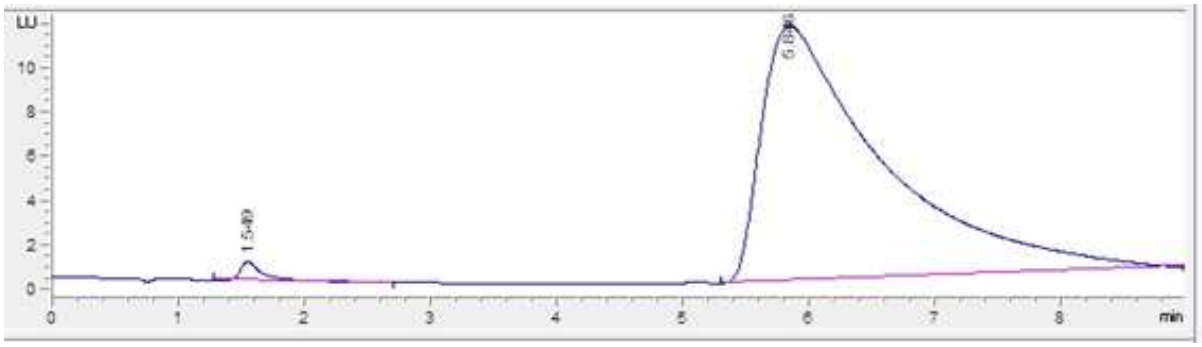
Ek 1.42. MD_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



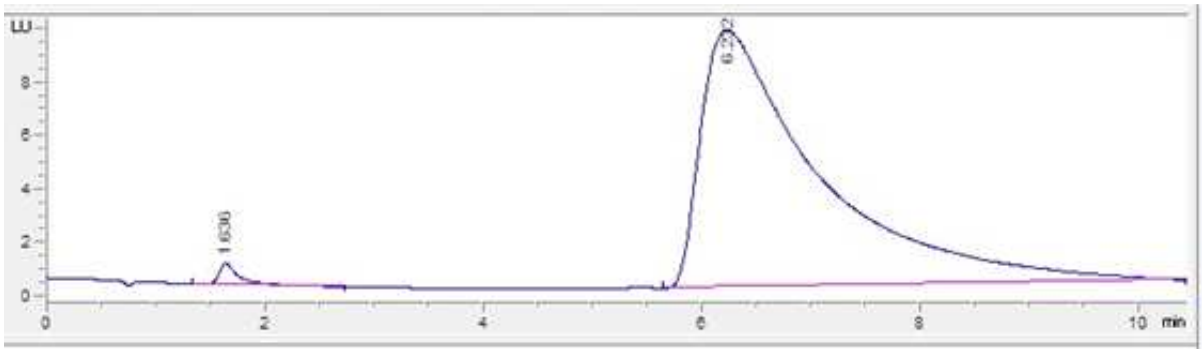
Ek 1.43. MD_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



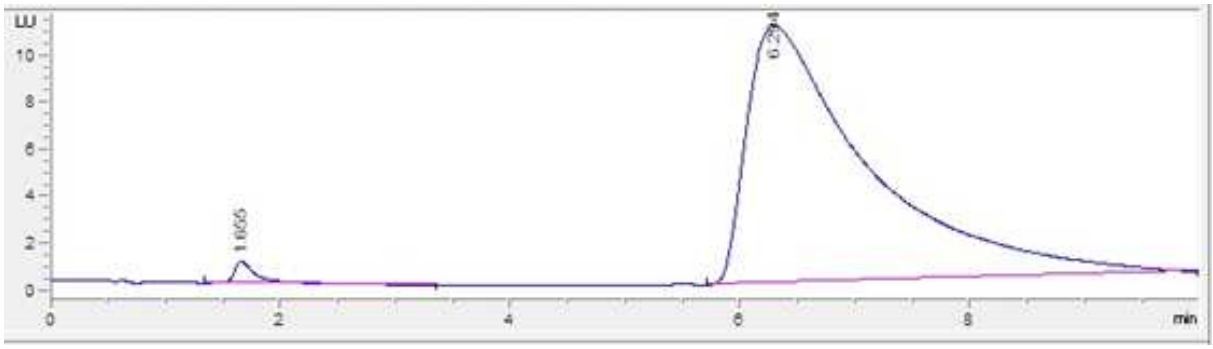
Ek 1.44. MD_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



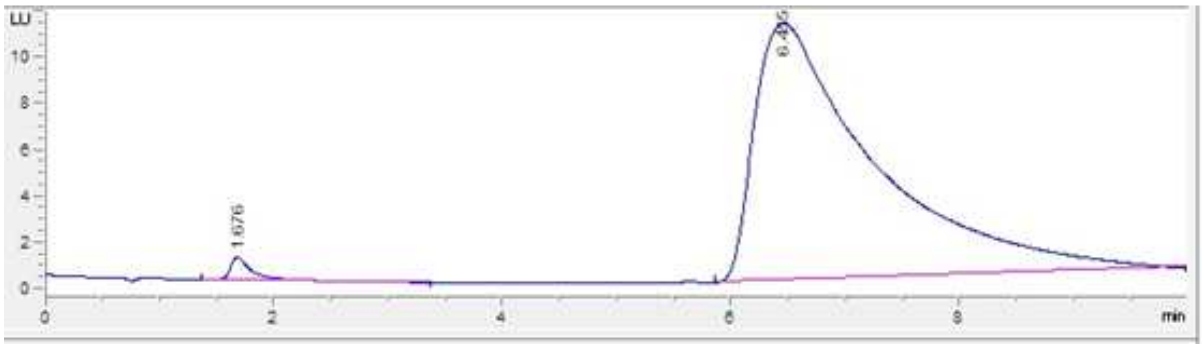
Ek 1.45. MD_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



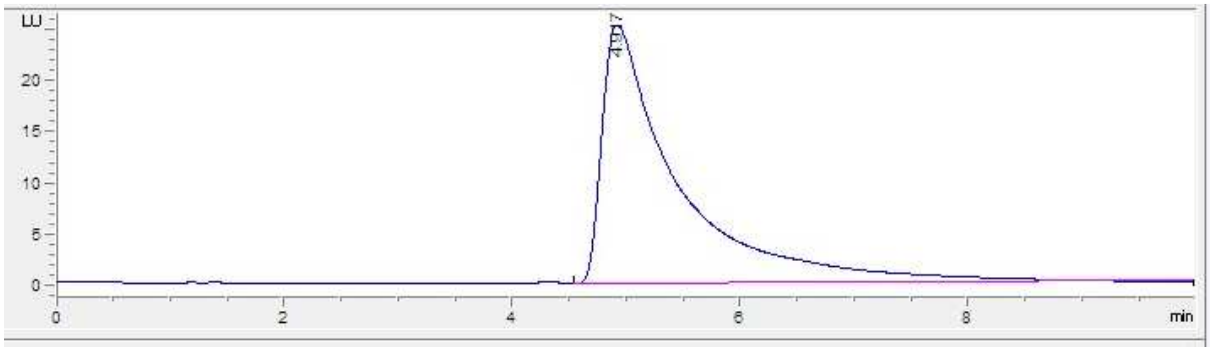
Ek 1.46. MD_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



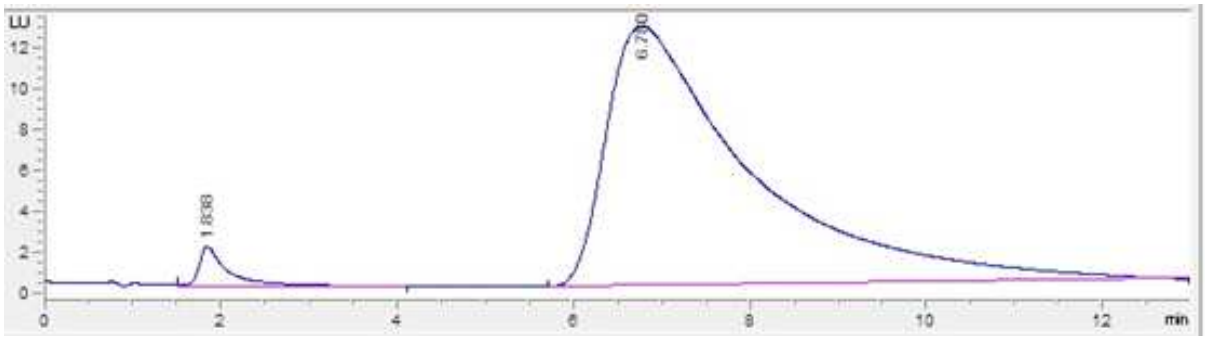
Ek 1.47. MD_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



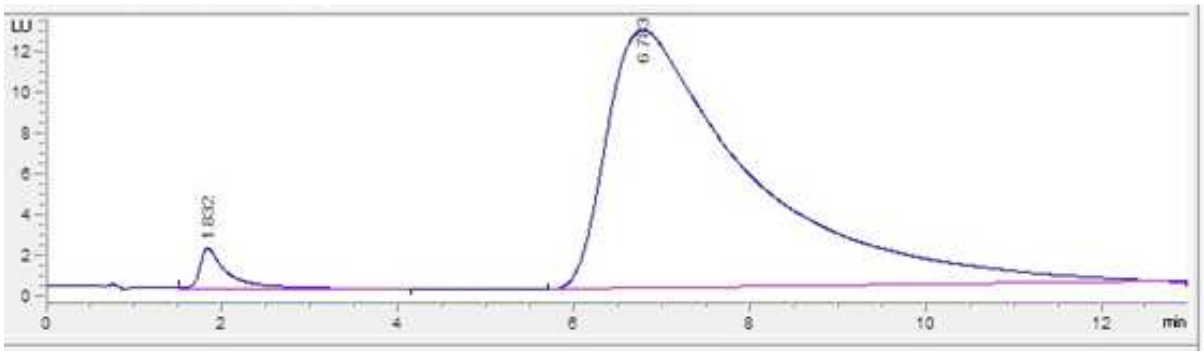
Ek 1.48. MD_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



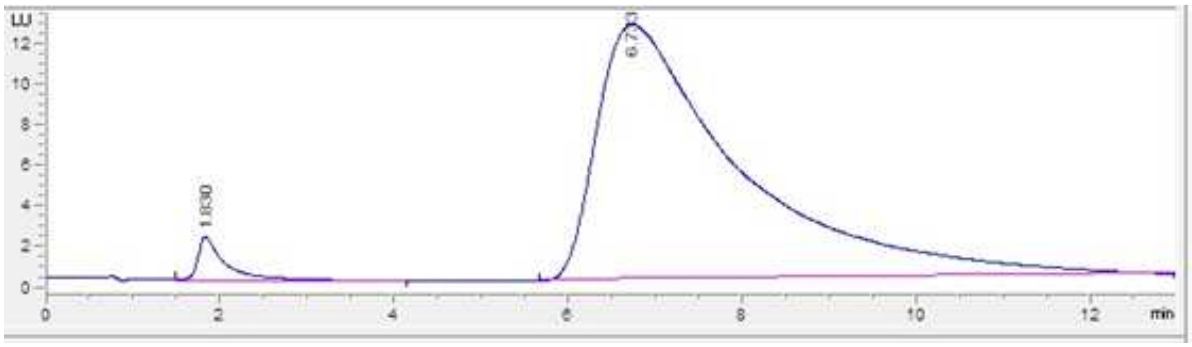
Ek 1.49. MD_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



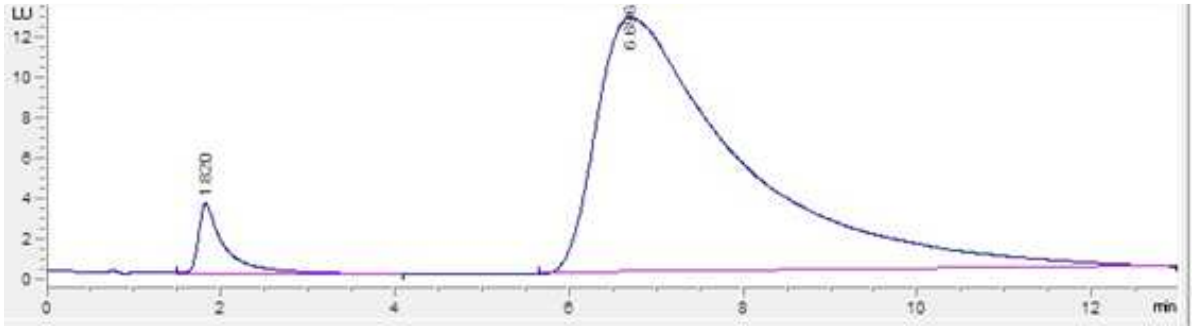
Ek 1.50. MD_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



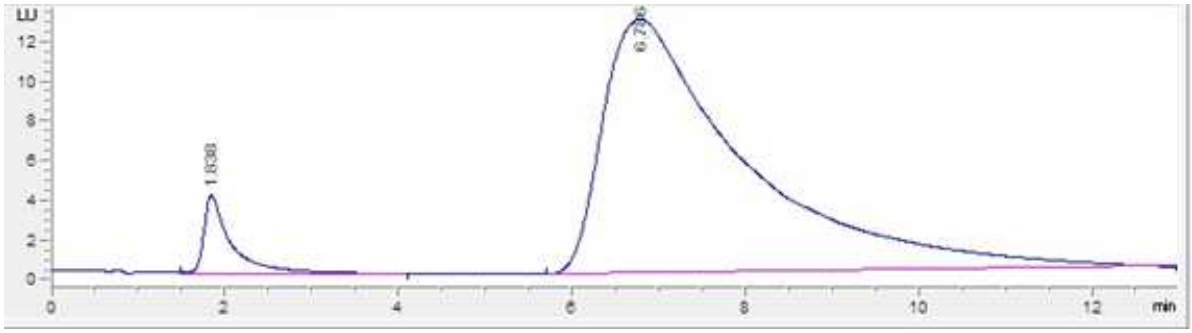
Ek 1.51. MD_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



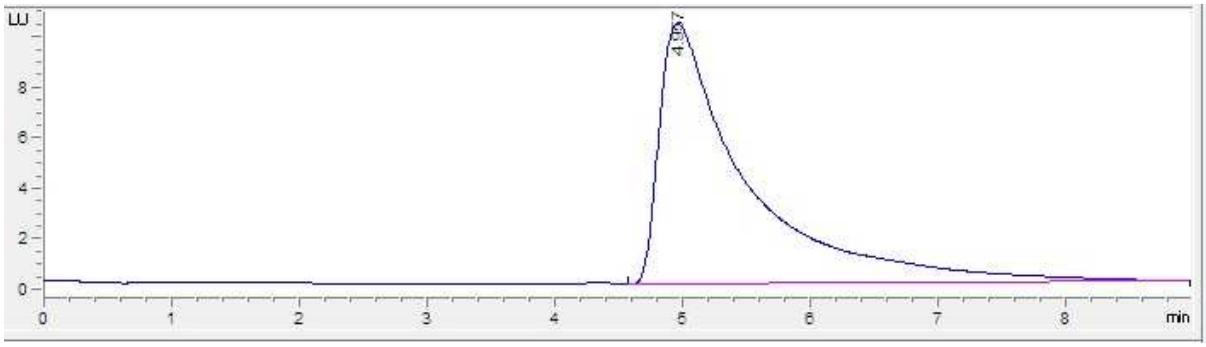
Ek 1.52. MD_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



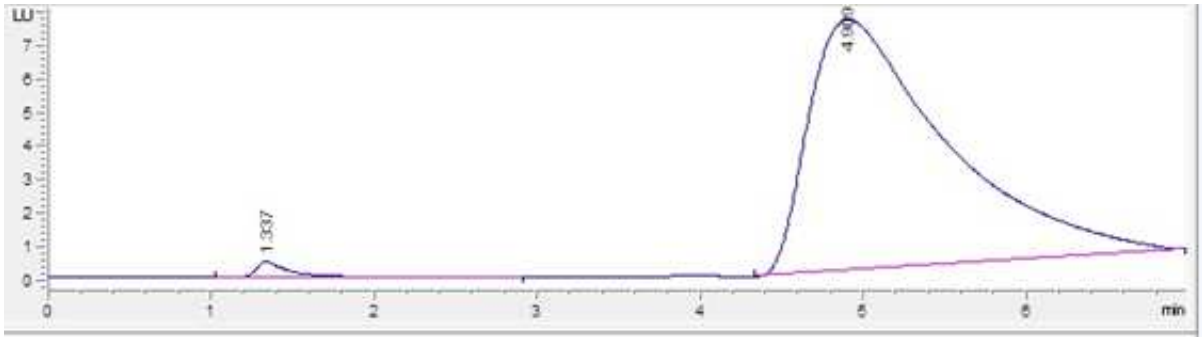
Ek 1.53. MD_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



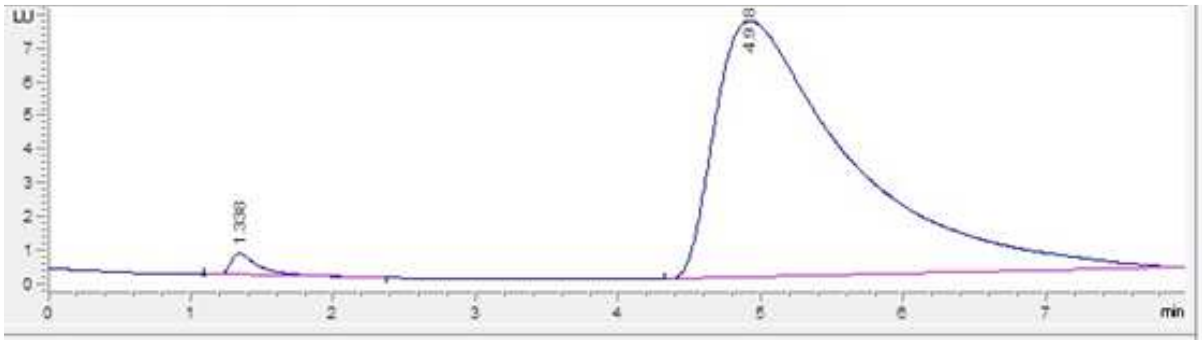
Ek 1.54. MD_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



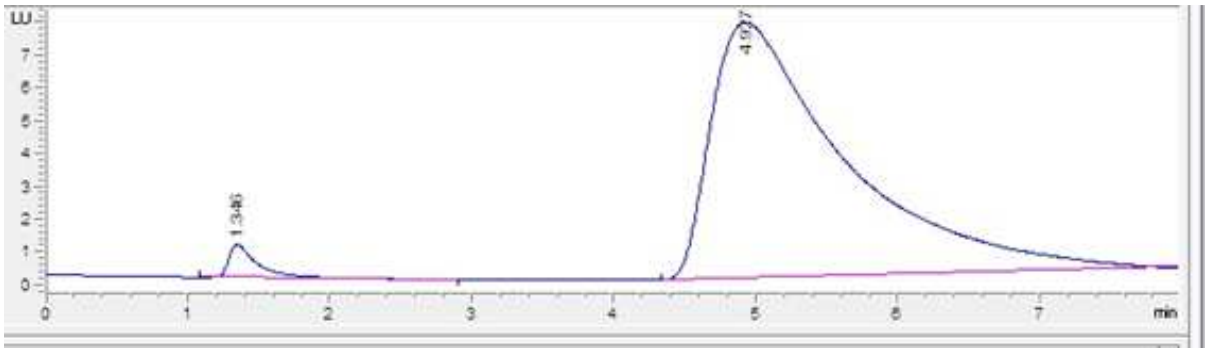
Ek 1.55. MC_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



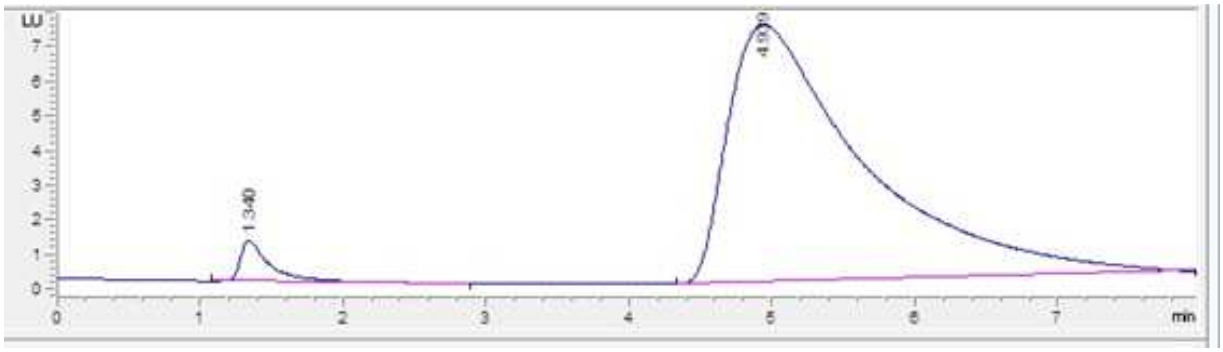
Ek 1.56. MC_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



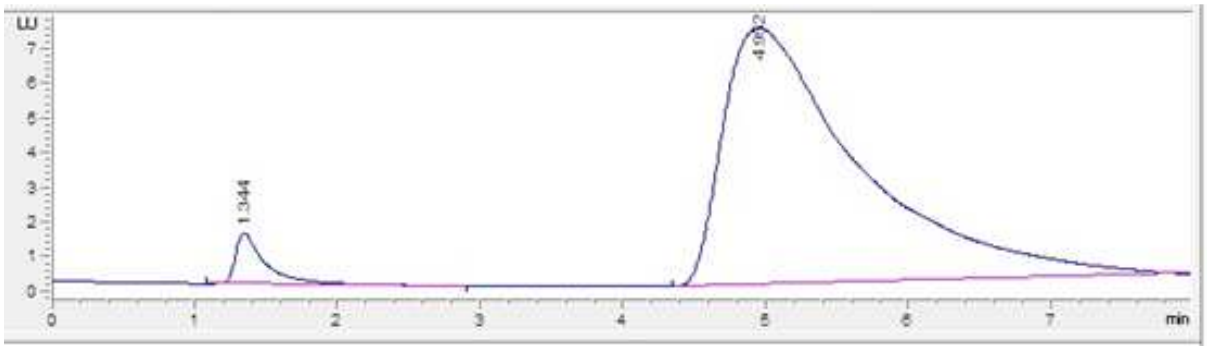
Ek 1.57. MC_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



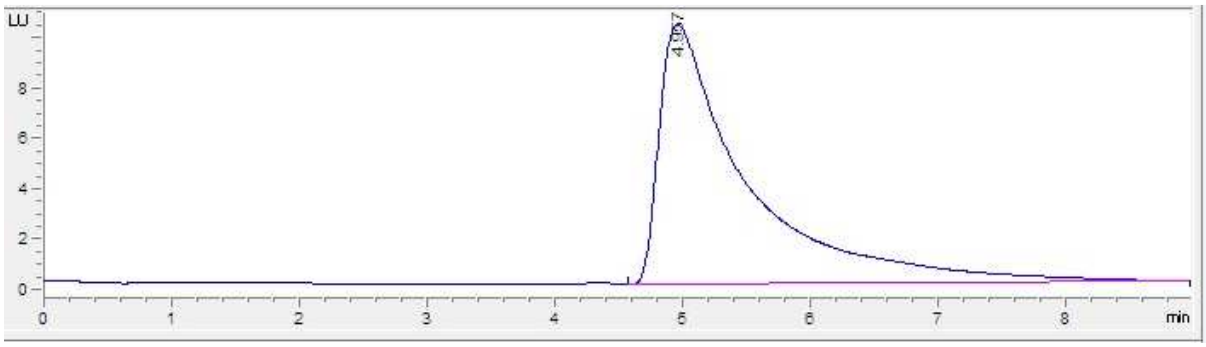
Ek 1.58. MC_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



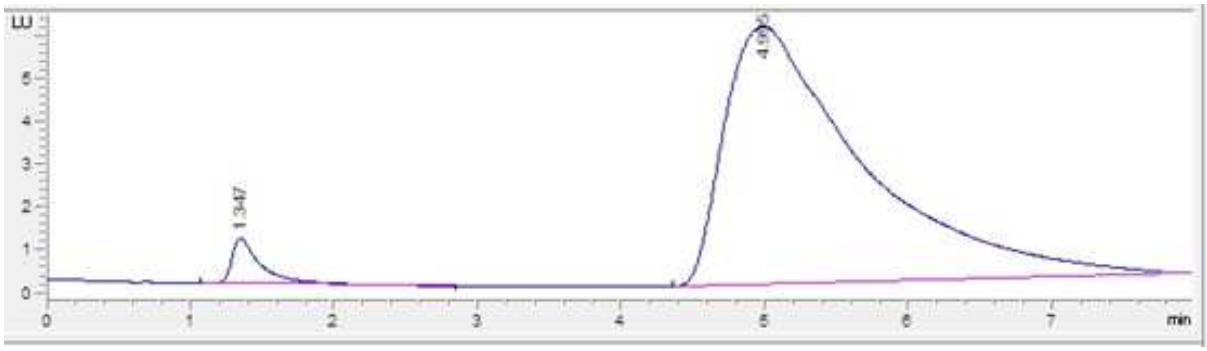
Ek 1.59. MC_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



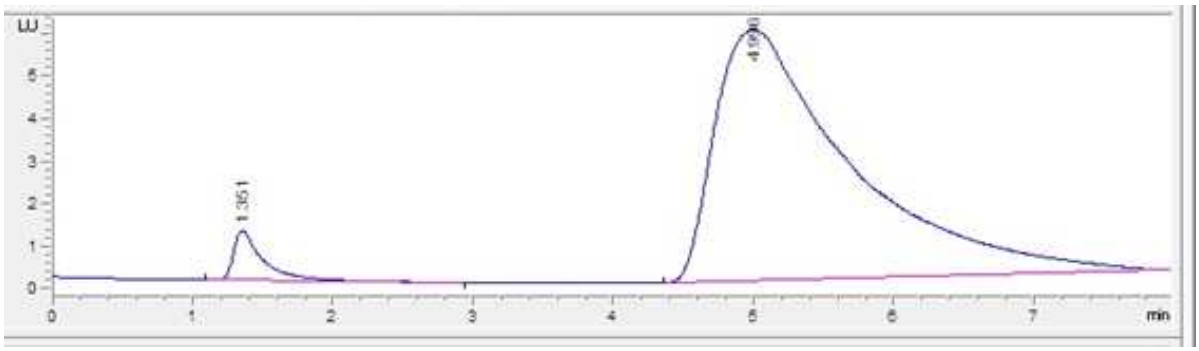
Ek 1.60. MC_1 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



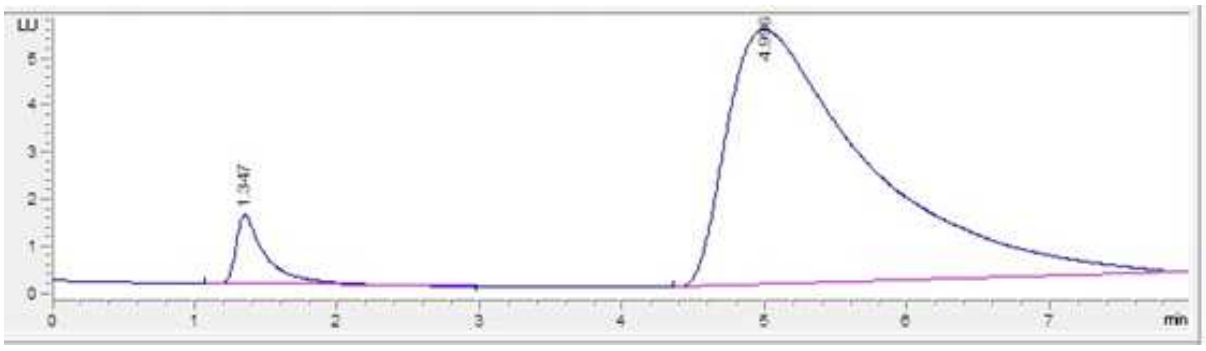
Ek 1.61. MC_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



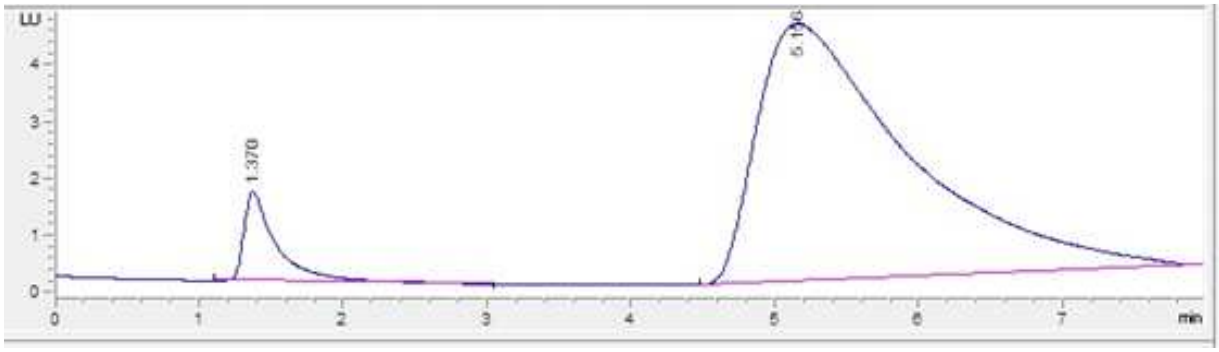
Ek 1.62. MC_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



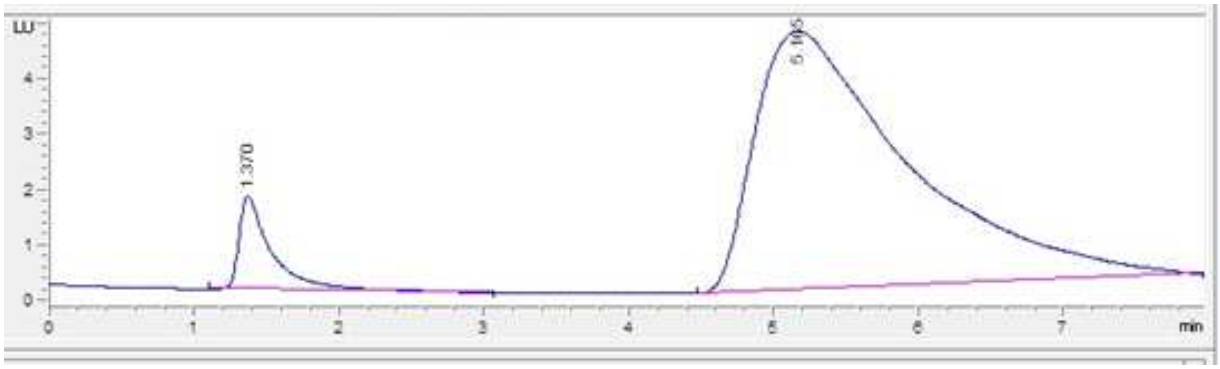
Ek 1.63. MC_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



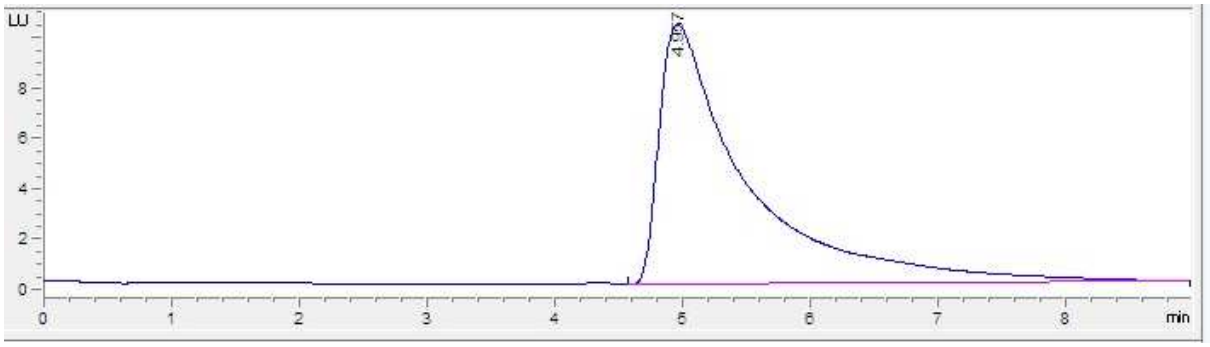
Ek 1.64. MC_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



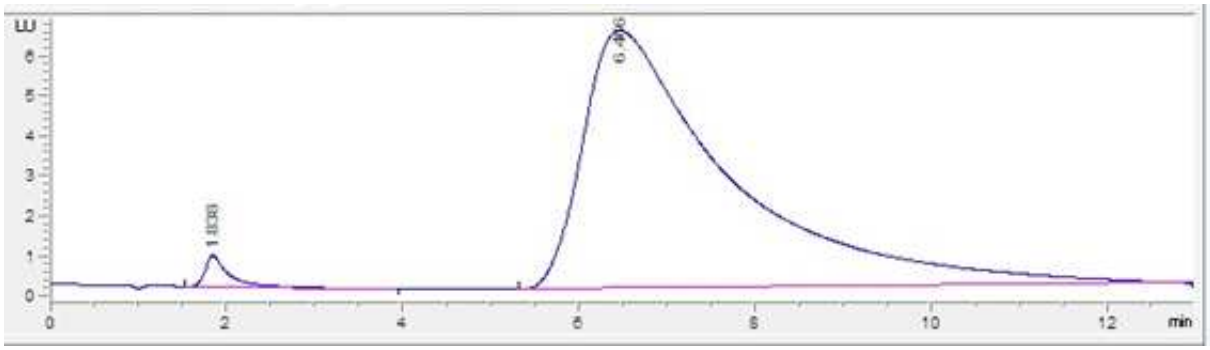
Ek 1.65. MC_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



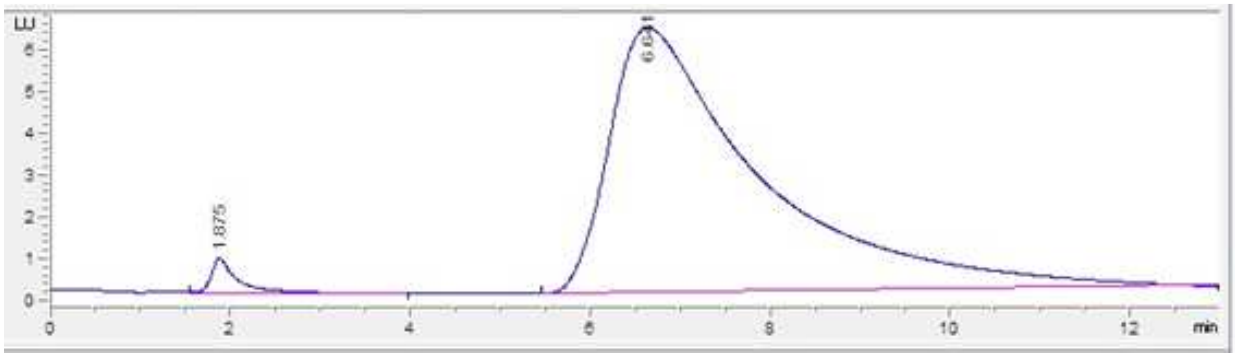
Ek 1.66. MC_1 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



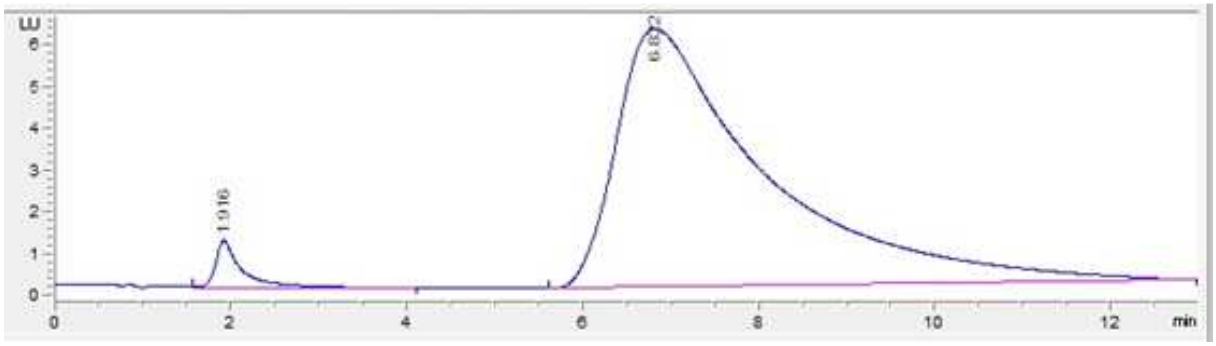
Ek 1.67. MC_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



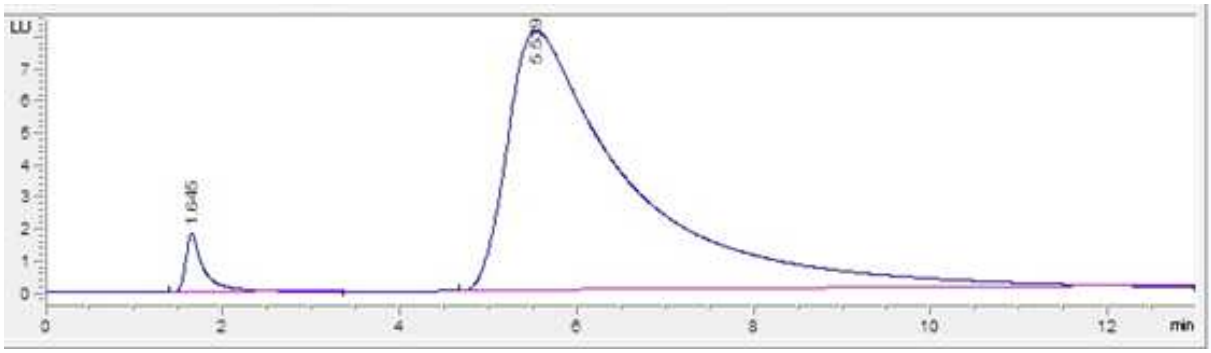
Ek 1.68. MC_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



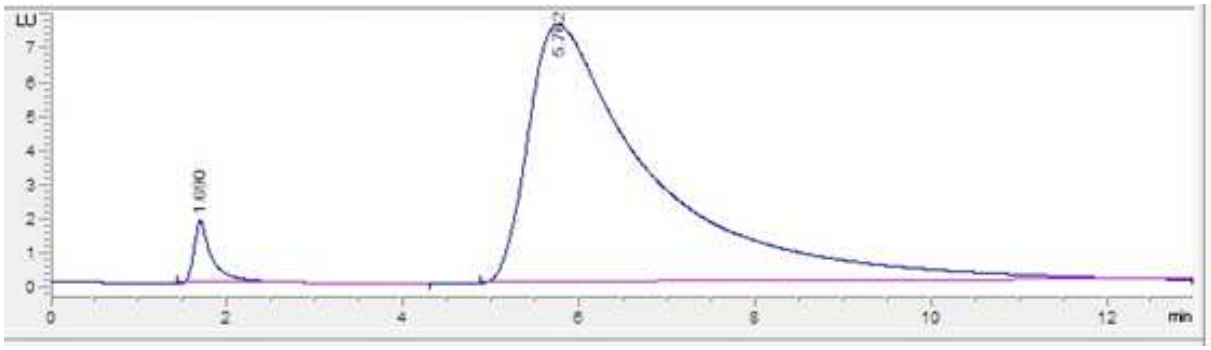
Ek 1.69. MC_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



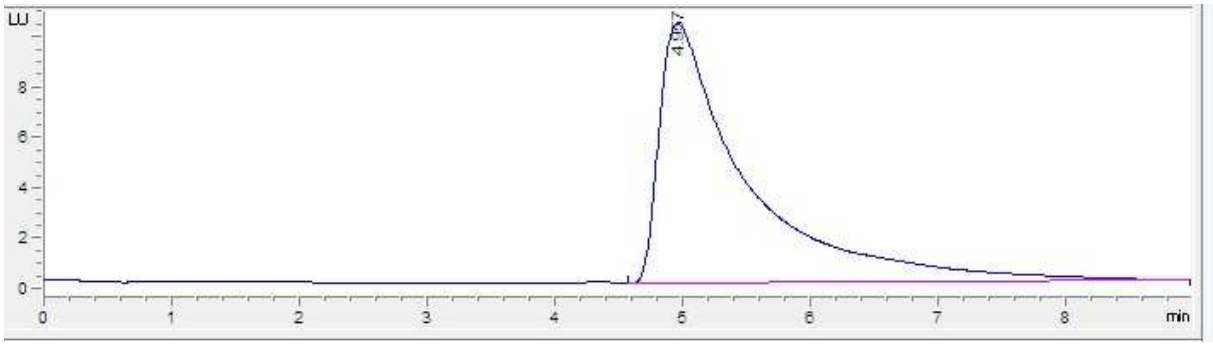
Ek 1.70. MC_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



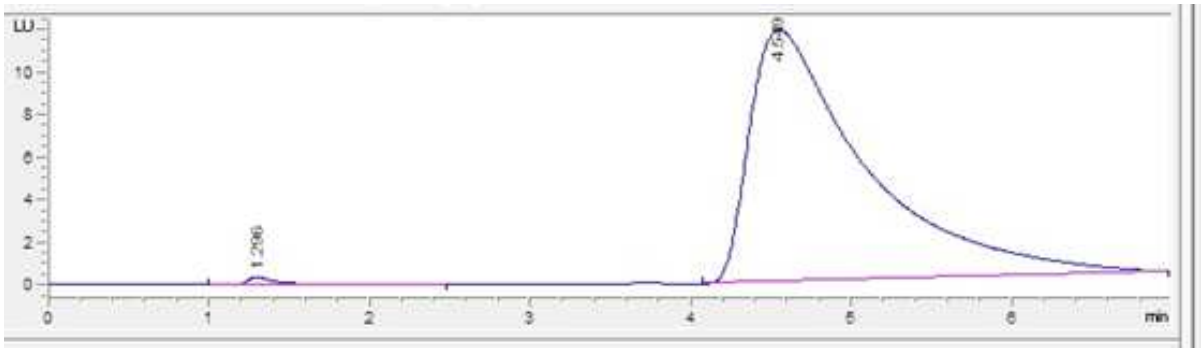
Ek 1.71. MC_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



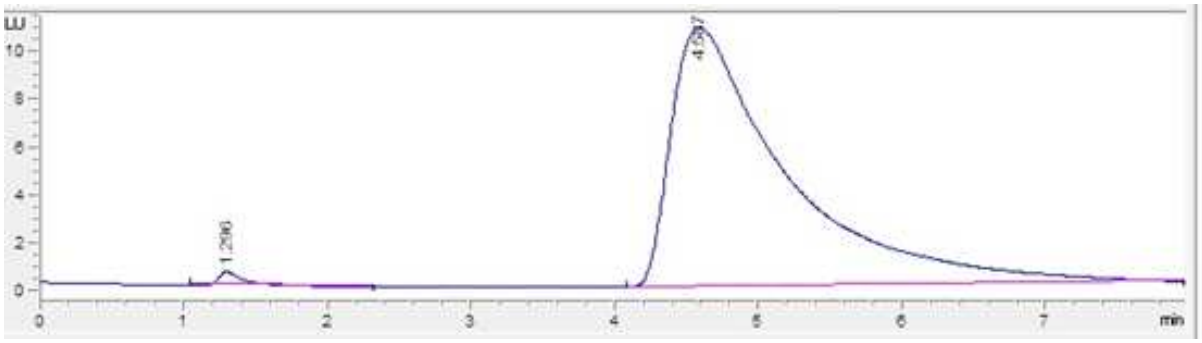
Ek 1.72. MC_1 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



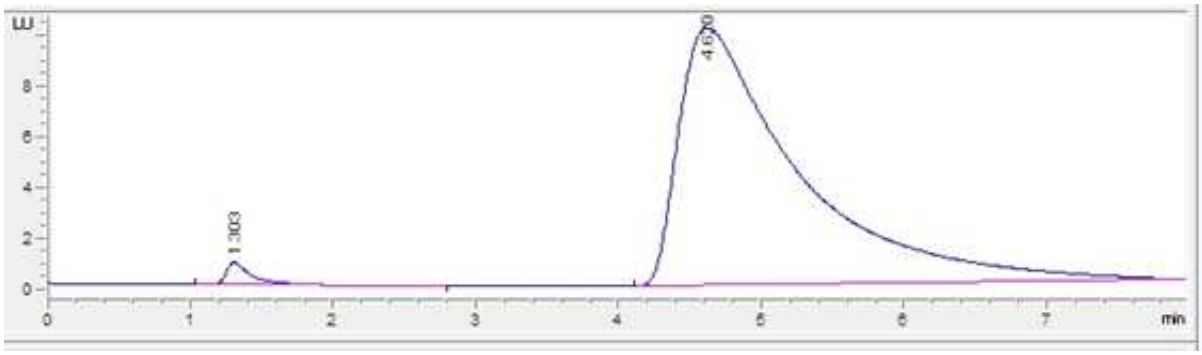
Ek 1.73. MC_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



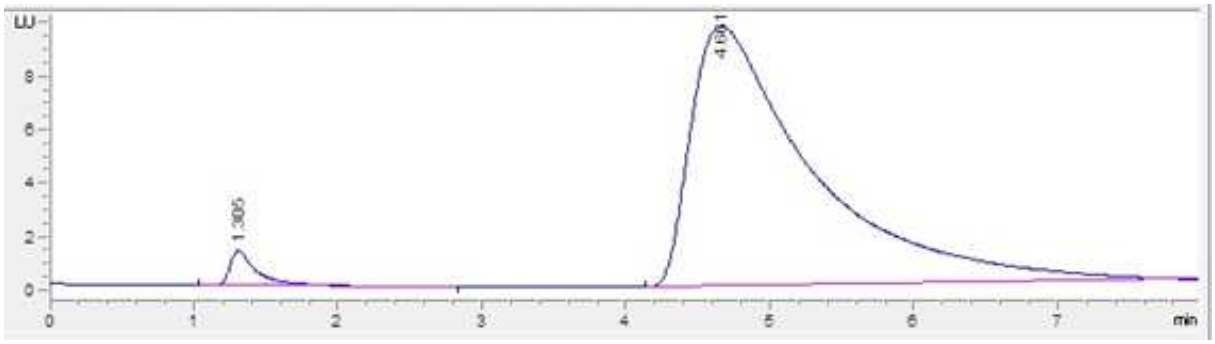
Ek 1.74. MC_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



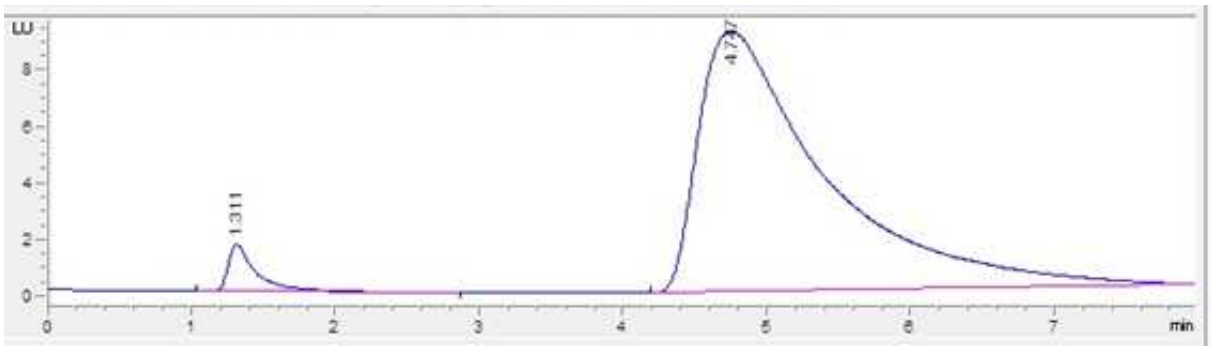
Ek 1.75. MC_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



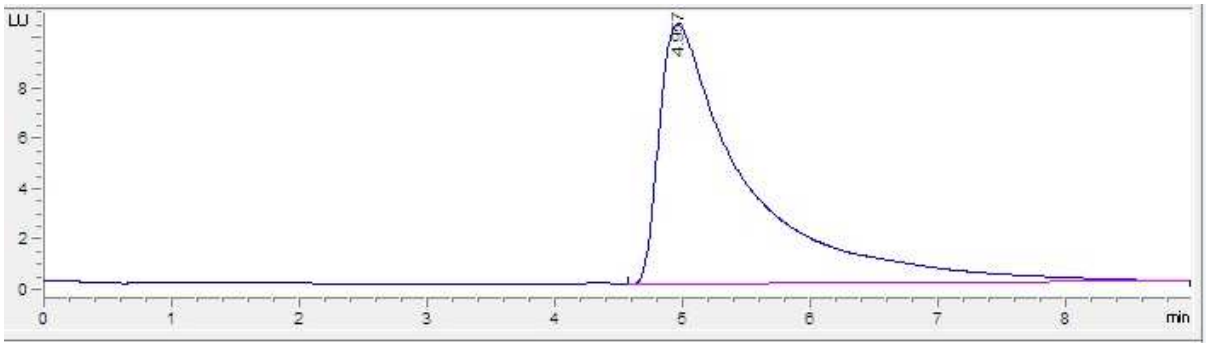
Ek 1.76. MC_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



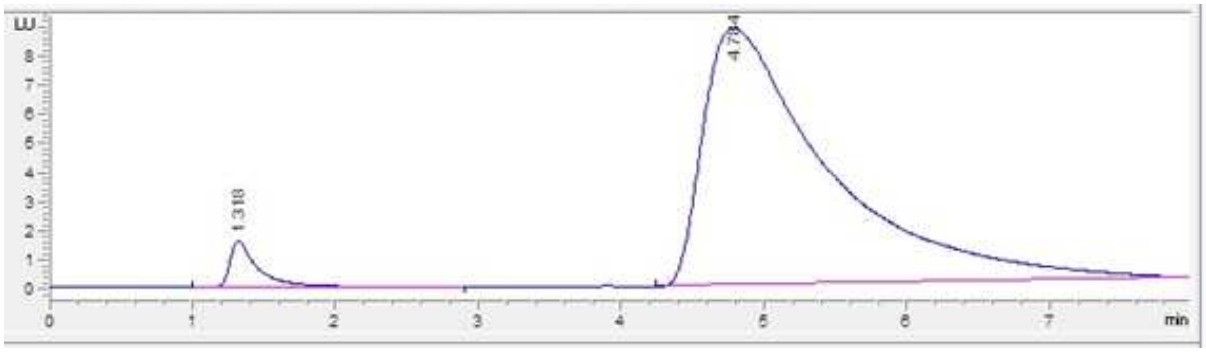
Ek 1.77. MC_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



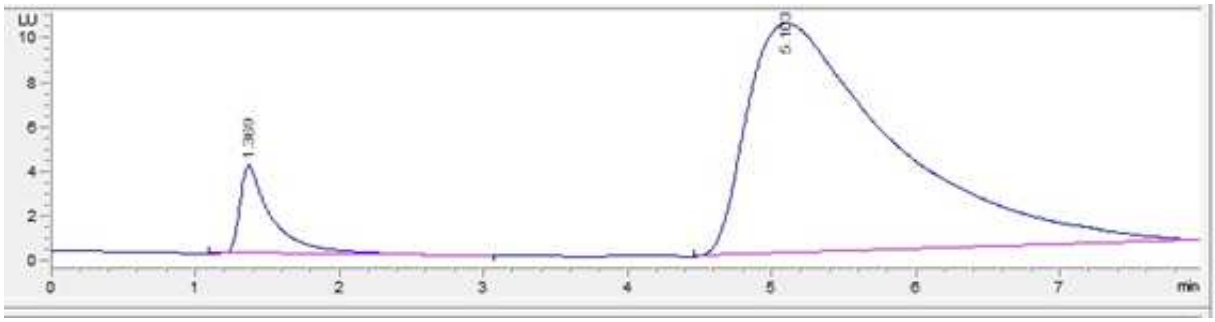
Ek 1.78. MC_2 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



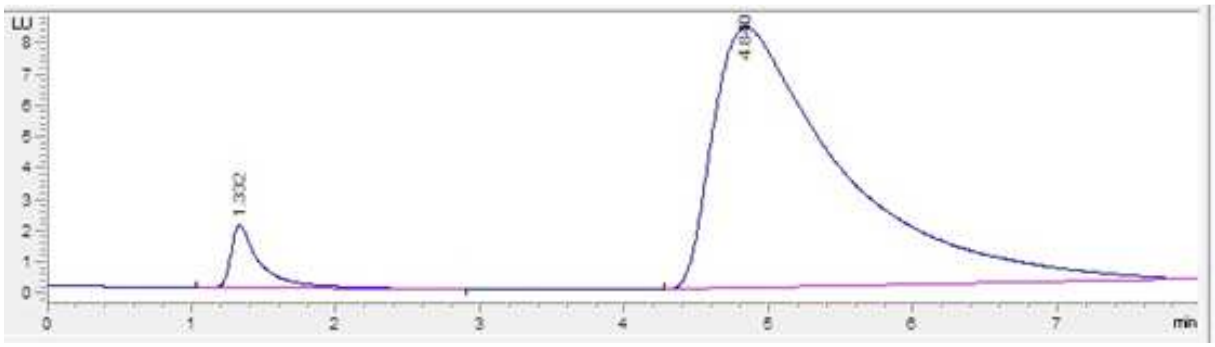
Ek 1.79. MC_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



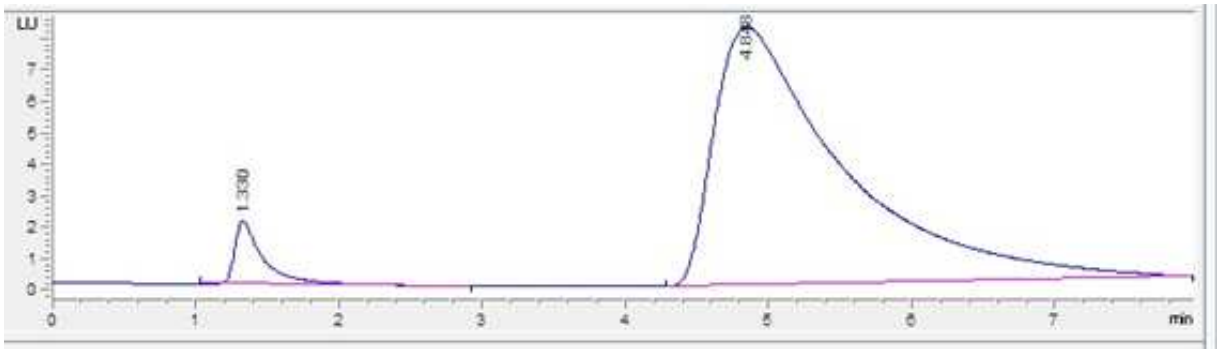
Ek 1.80. MC_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



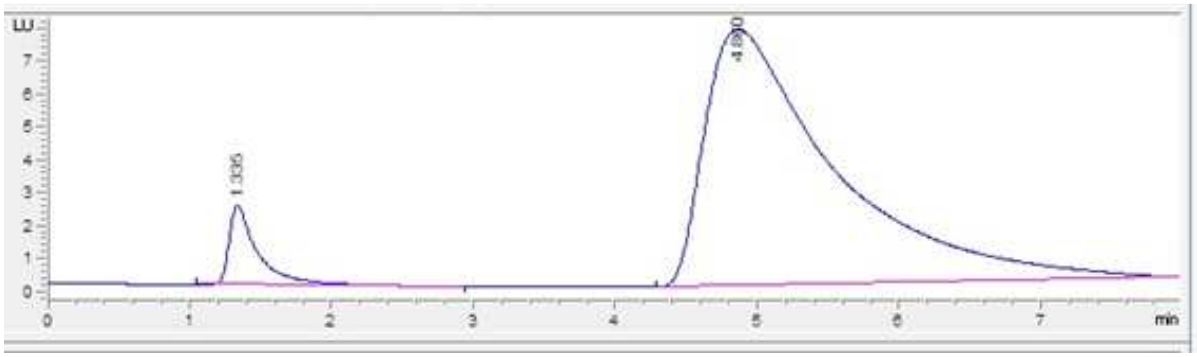
Ek 1.81. MC_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



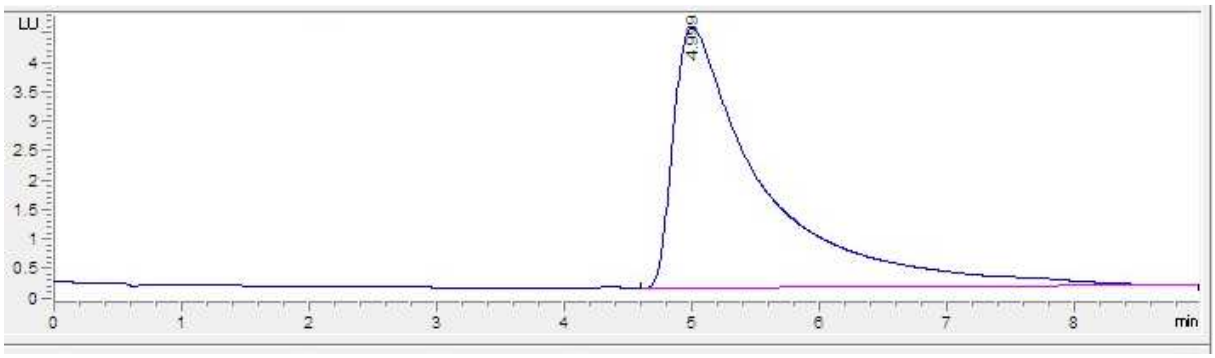
Ek 1.82. MC_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



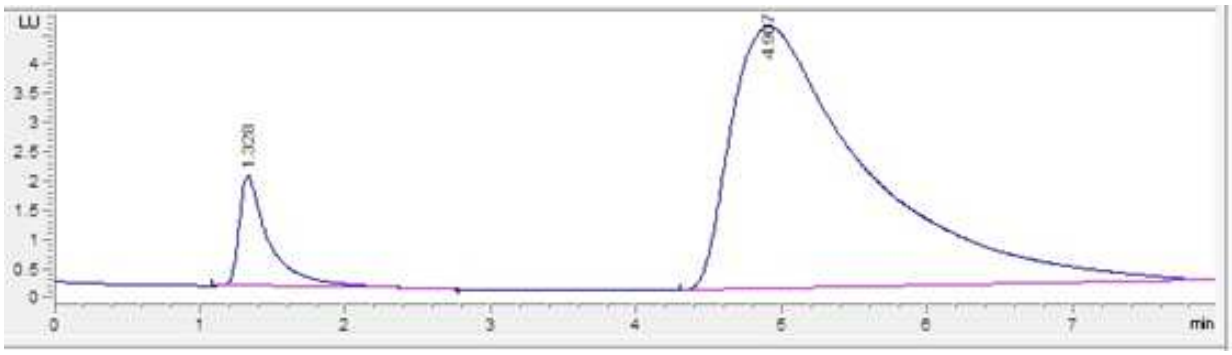
Ek 1.83. MC_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



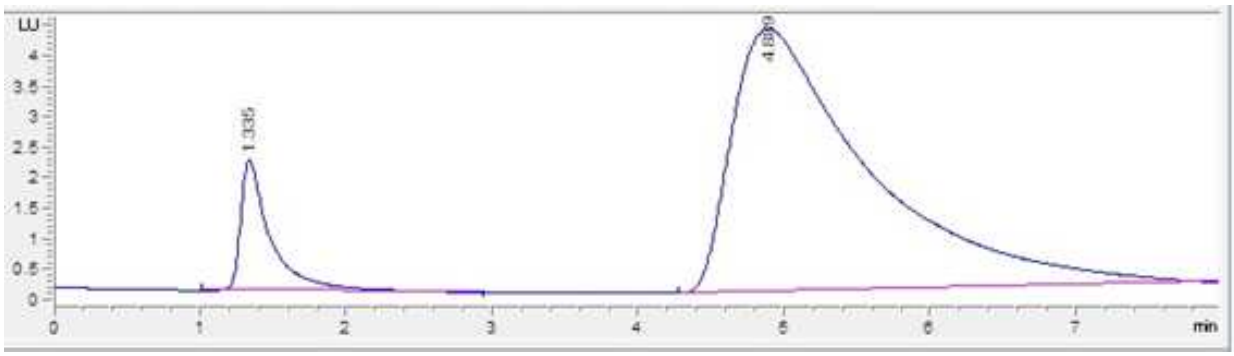
Ek 1.84. MC_2 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



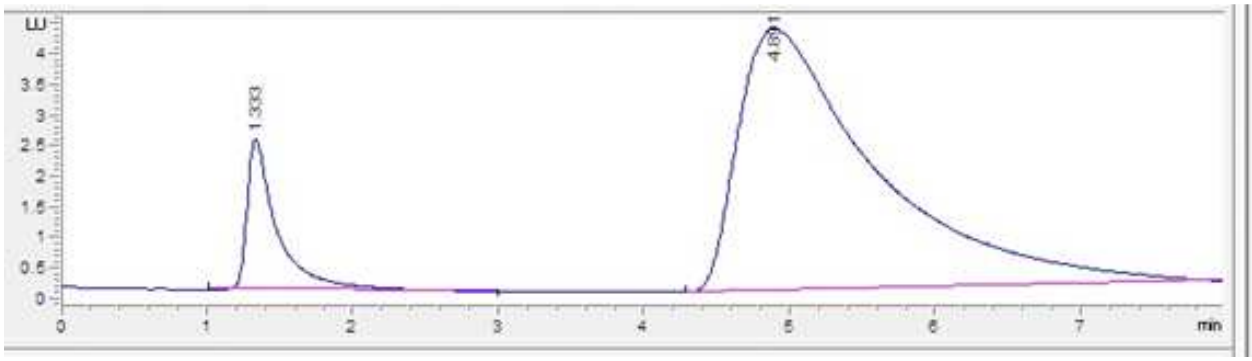
Ek 1.85. MC_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



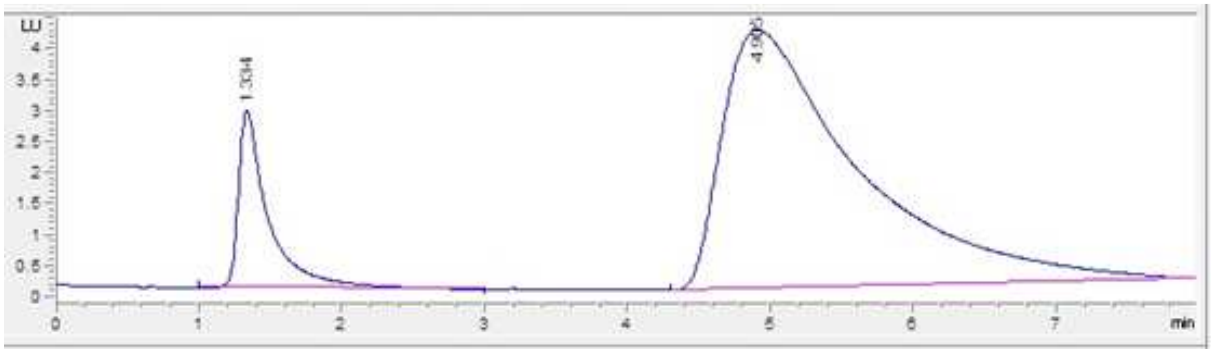
Ek 1.86. MC_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



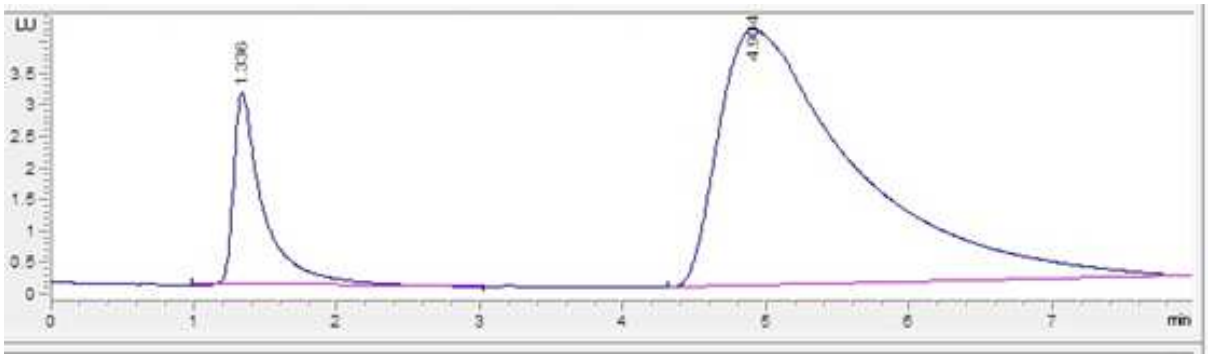
Ek 1.87. MC_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



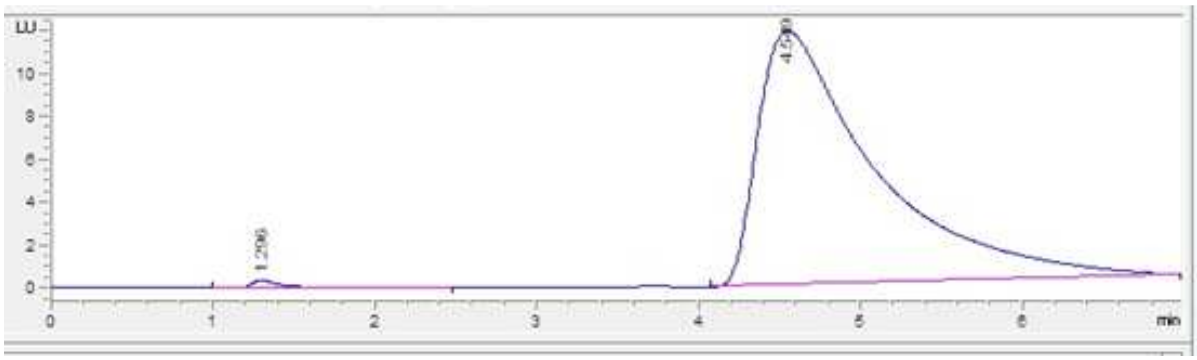
Ek 1.88. MC_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



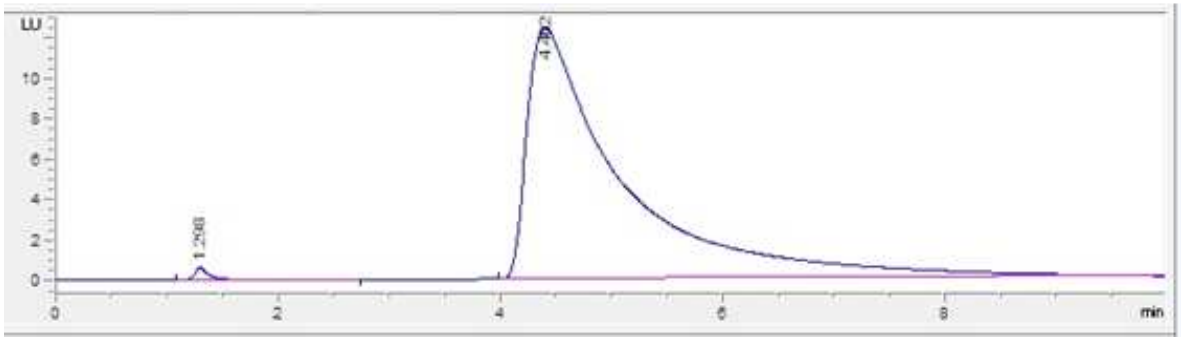
Ek 1.89. MC_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



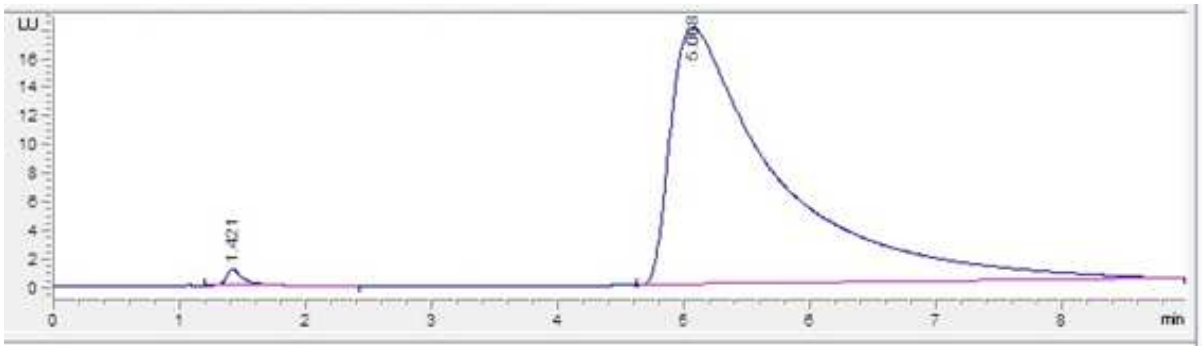
Ek 1.90. MC_2 ile pH 6'da etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



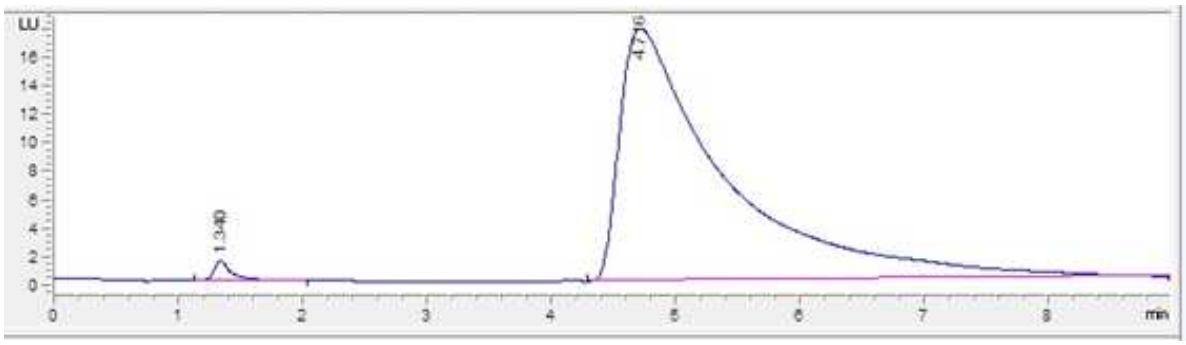
Ek 1.91. MC_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



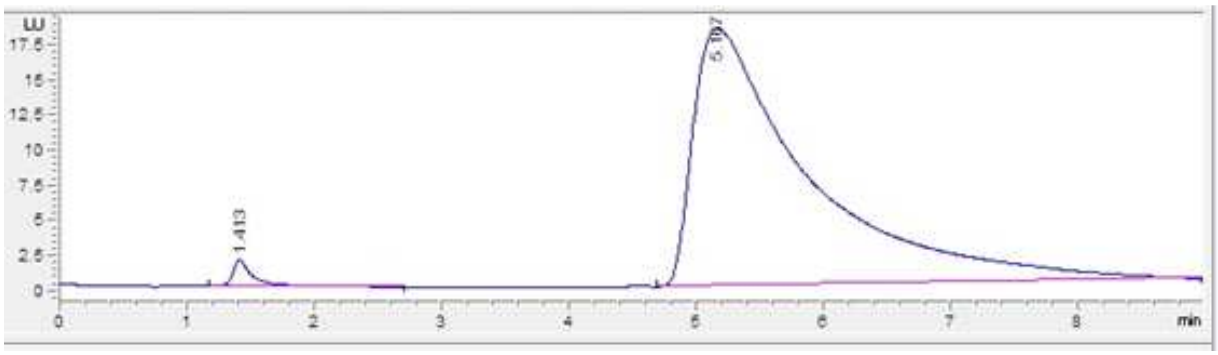
Ek 1.92. MC_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



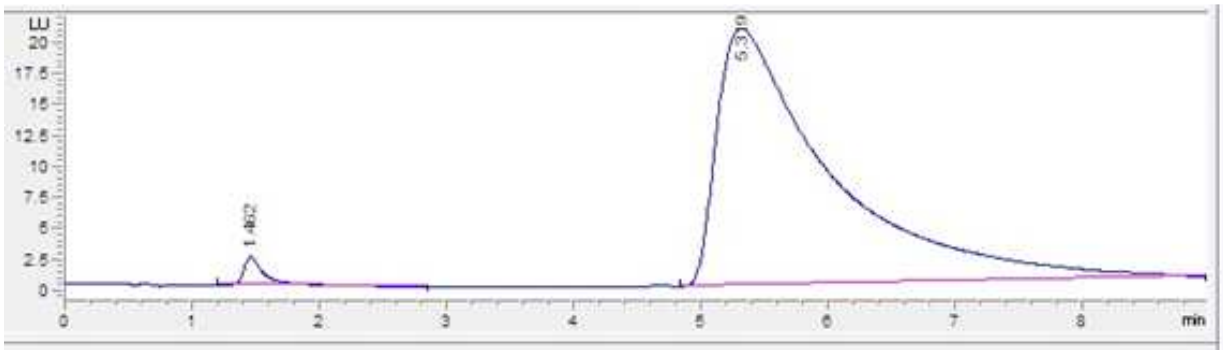
Ek 1.93. MC_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



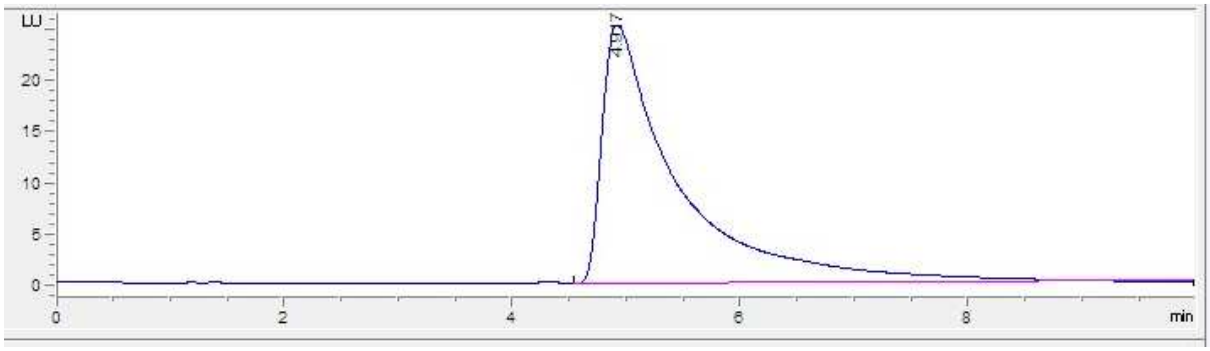
Ek 1.94. MC_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



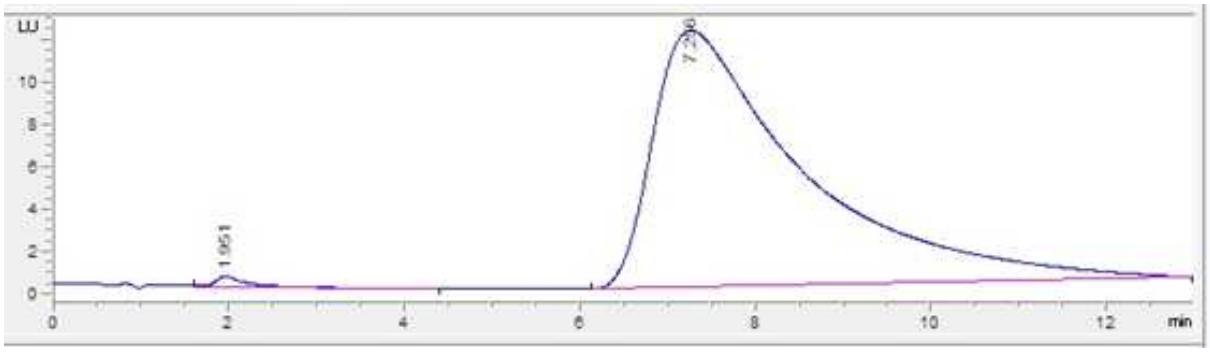
Ek 1.95. MC_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



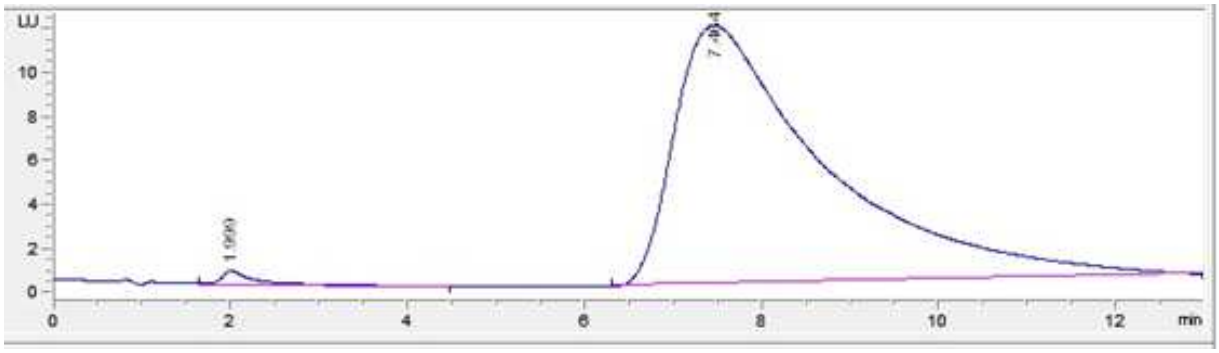
Ek 1.96. MC_3 ile pH 5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



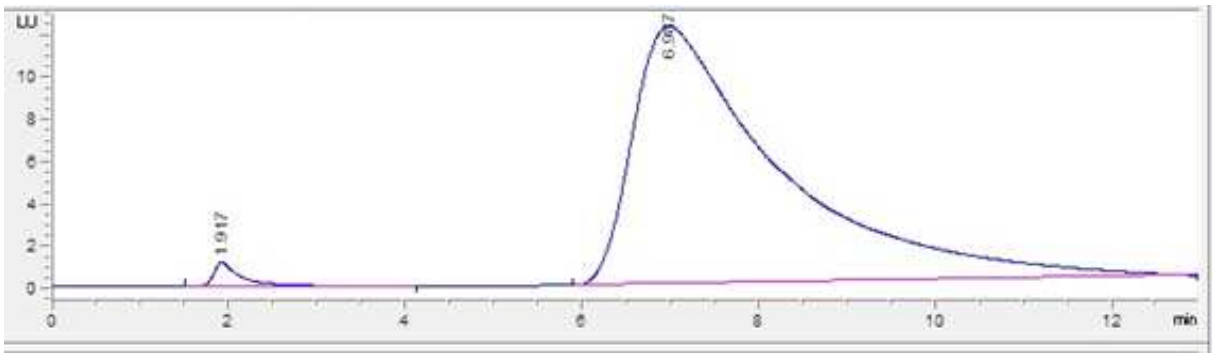
Ek 1.97. MC_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 0.5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



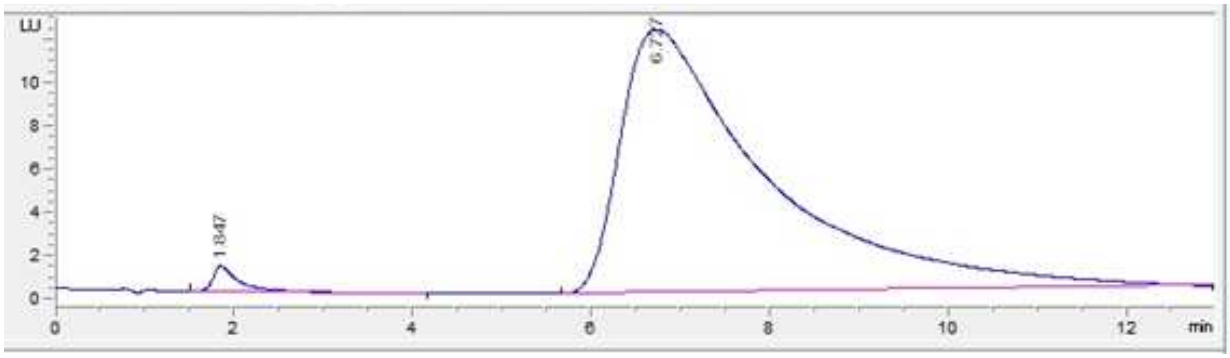
Ek 1.98. MC_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 1 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



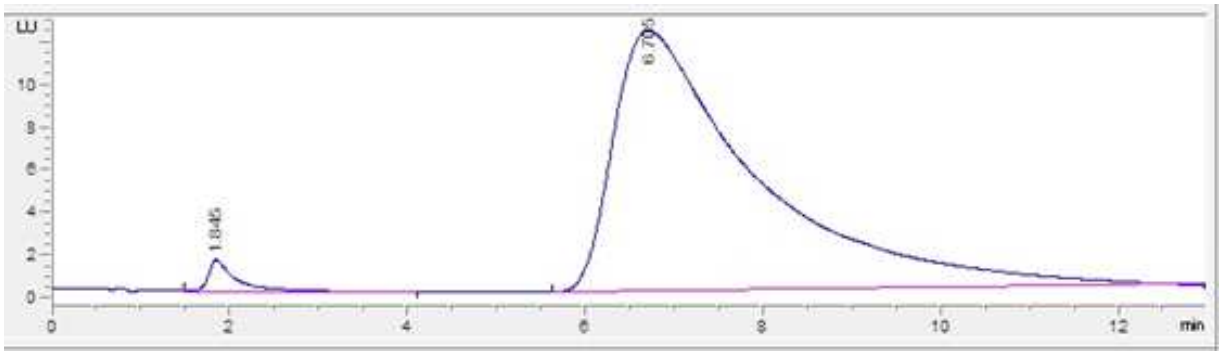
Ek 1.99. MC_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 2 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları



Ek 1.100. MC_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 3 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları

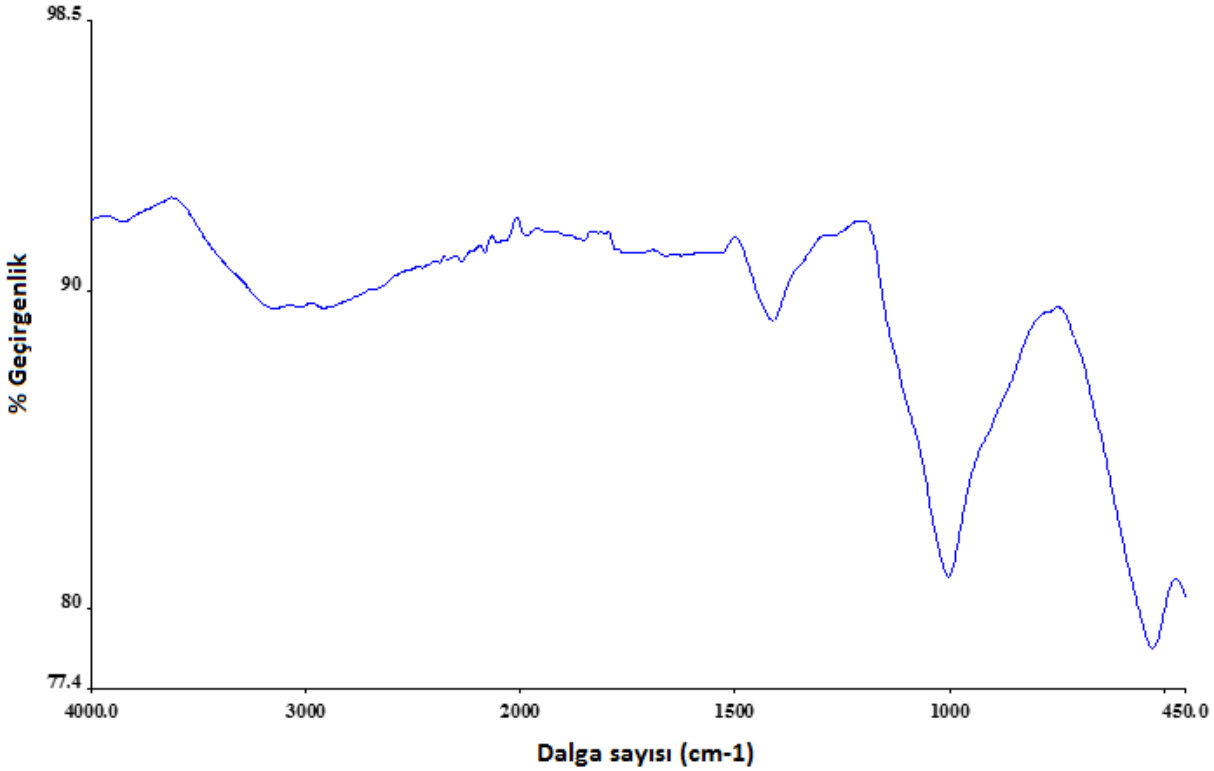


Ek 1.101. MC_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 4 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları

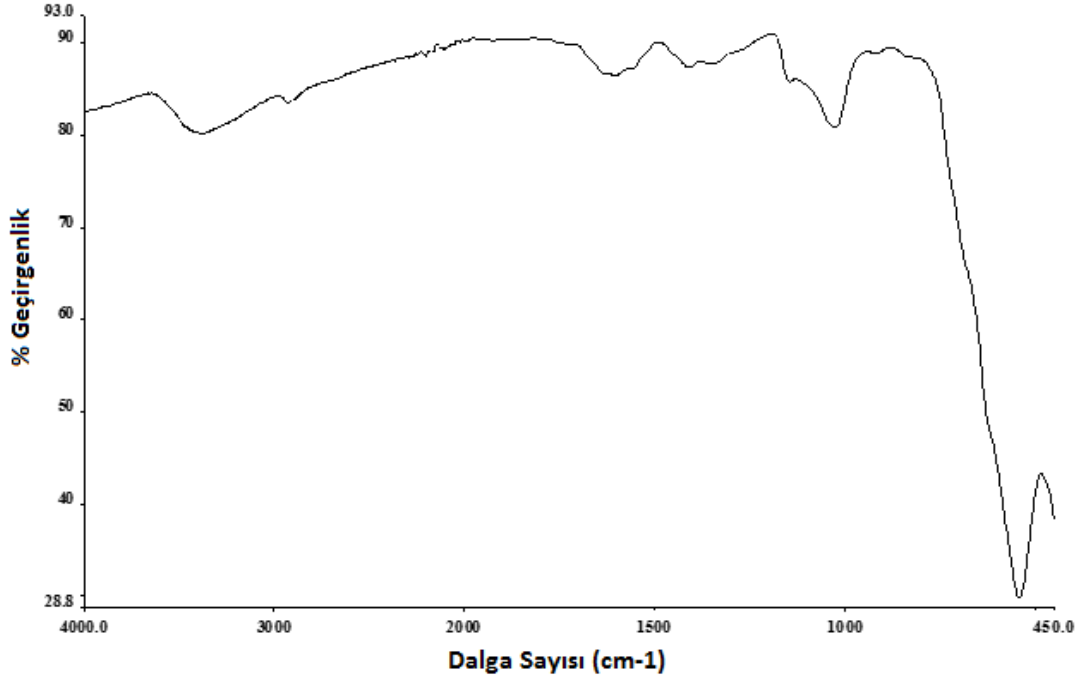


Ek 1.102. MC_3 ile pH 5.5'te etkileştirilen TPT için 5 dakika sonunda ortamda kalan Karboksilat ve Lakton formları

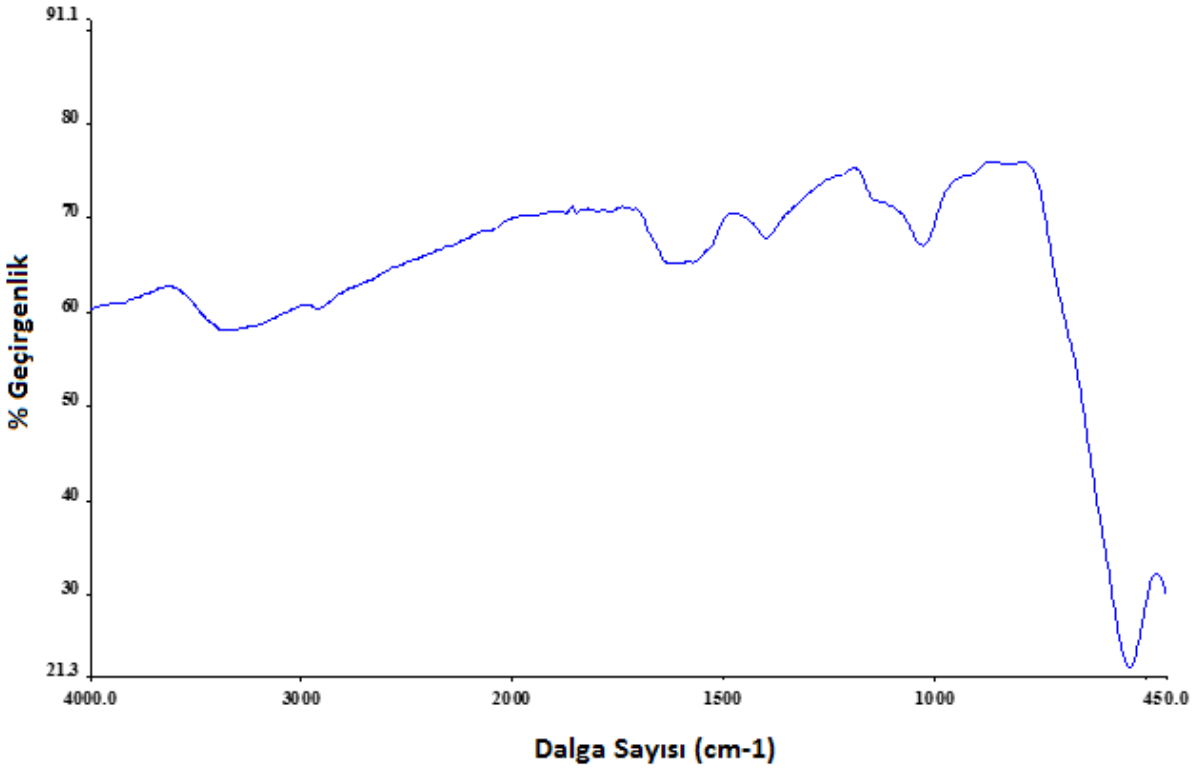
EK 2



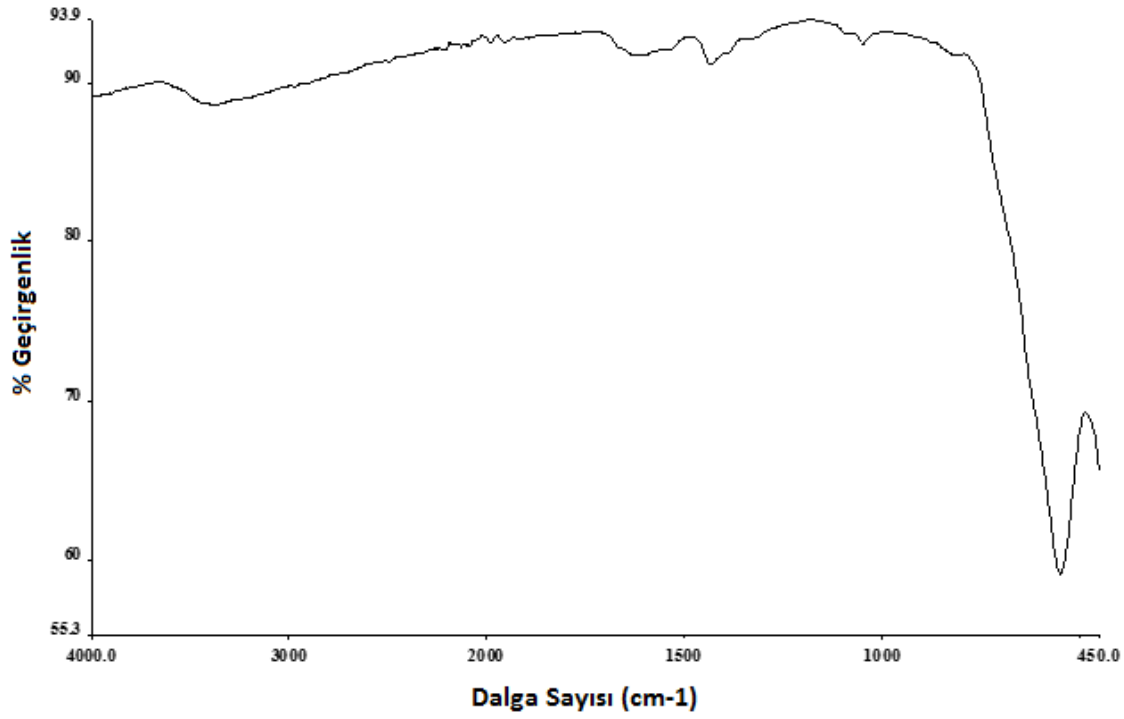
Ek 2.1. MD_1 nanokompoziti için orijinal FTIR spektrumu



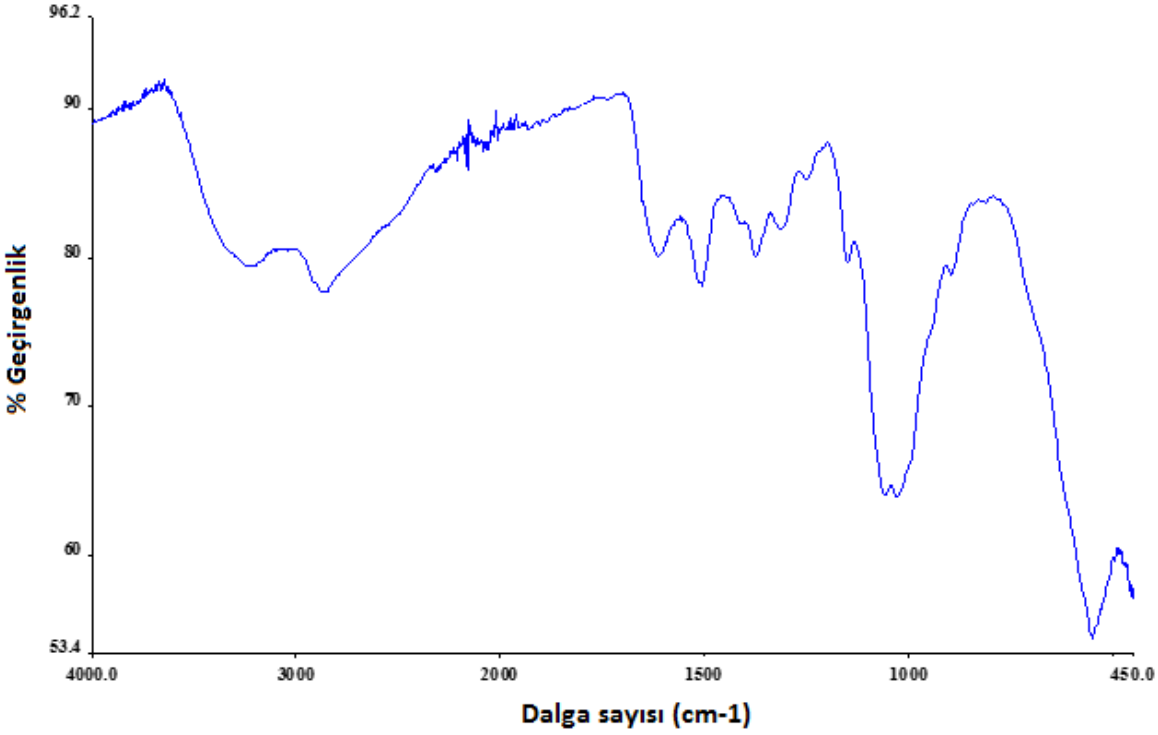
Ek 2.2. MD_2 nanokompoziti için orijinal FTIR spektrumu



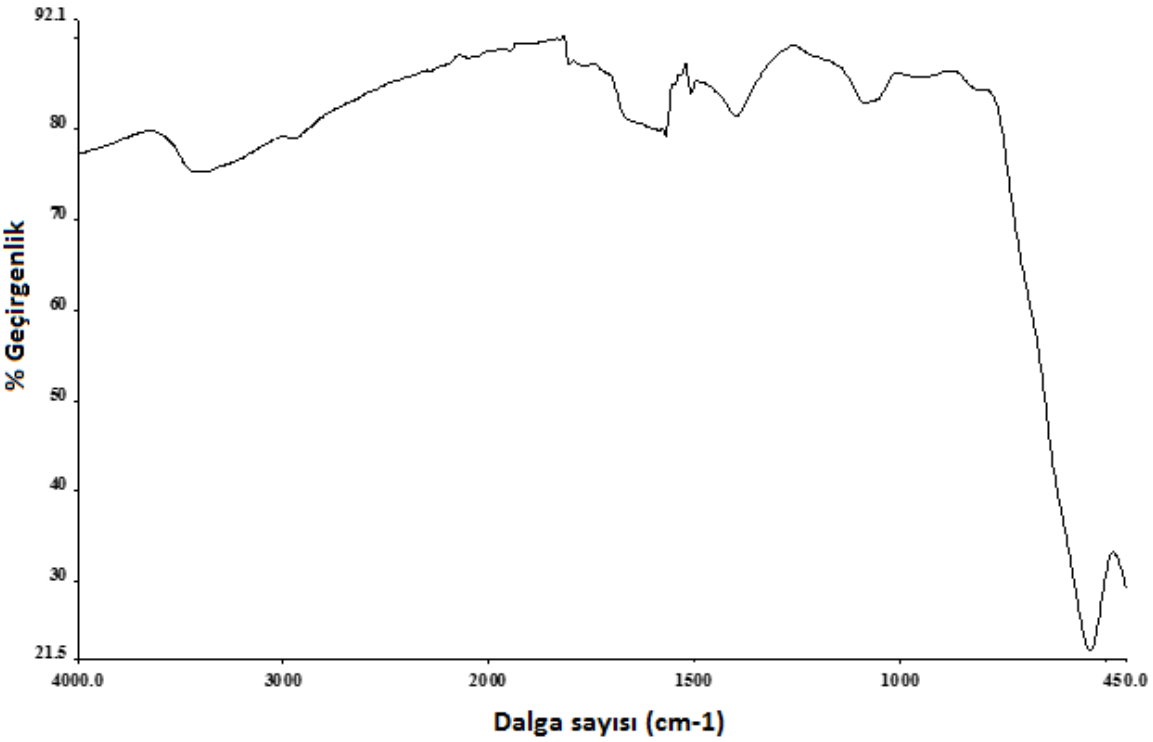
Ek 2.3. MD_3 nanokompoziti için orijinal FTIR spektrumu



Ek 2.4. MC_1 nanokompoziti için orijinal FTIR spektrumu



Ek 2.5. MC_2 nanokompoziti için orijinal FTIR spektrumu



Ek 2.6. MC_3 nanokompoziti için orijinal FTIR spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Tuba TARHAN 1981 yılında Diyarbakır'da doğdu. 1988- 1992 yılları arasında Dikentepe Köyü İlkokulu'nda; 1993- 1995 yılları arasında Ali Emiri Ortaokulu'nda; 1996-1998 yılları arasında Ziya Gökalp Lisesi'nde eğitim gördü. 1999 yılında girdiği Dicle Üniversitesi Kimya Bölümü'nden, 2002 yılında Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği bölümüne dikey geçiş yatı ve 2005 yılında bu bölümden mezun oldu. 2010-2012 yılları arasında Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anan Bilim Dalı'nda yüksek lisans yaptı. 2012- 2017 yılları arasında Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anan Bilim Dalı'nda doktora eğitimini tamamladı. 2011 yılında Mardin Artuklu Üniversitesi'nde Öğretim görevlisi olarak başladı ve halen bu üniversitede görevini sürdürmektedir.

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI İNTİHAL RAPORU FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	Tuba TARHAN
ÖĞRENCİ NO	12803501
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2016-2017
YARIYIL	☐ Güz ☒ Bahar
ANABİLİM DALI	KİMYA
PROGRAM	DOKTORA
TEZ KONUSU	Manyetik hedeflendirme yöntemi ile anti-kanser ilaçların taşınması yönelik manyetik ilaç taşıma sistemlerinin geliştirilmesi
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ	
RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	297
BENZERLİK ORANI	% 9
RAPORLAMA TARİHİ	12/04/ 2017

Yukarıda konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 297 sayfalık kısmına ilişkin, 12/04/2017 tarihinde şahsım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 9'dur.

Uygulanan filtrelemeler:

- ☒ Onay sayfaları hariç,
- ☒ Kaynakça hariç
- ☐ Alıntılar hariç/dâhil
- ☐ Diğer

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve bu Uygulama Esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

(İmza)
Tuba TARHAN
(Öğrencinin Adı Soyadı)

(İmza)	(İmza)
12/04/ 2017	12/04/ 2017
Prof. Dr. Bilsen TURAL	Prof. Dr. Ömer YAVUZ
Tez Danışmanı	**Anabilim Dalı Başkanı**