



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YENİ SİLİKA TABANLI AKILLI İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMİN GELİŞTİRİLMESİ VE İLAÇ SALIM ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Safaa Hashım Mohammed ALBAYATI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Temmuz-2018
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YENİ SİLİKA TABANLI AKILLI İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMİN GELİŞTİRİLMESİ VE İLAÇ SALIM ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Safaa Hashım Mohammed ALBAYATI

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr. Pervin DEVECİ

2018, 72 Sayfa

Jüri
Doç.Dr. Pervin DEVECİ
Doç.Dr. Bilge TANER
Doç.Dr. Mustafa TOPKAFA

Son yıllarda, özellikle kanser hastalığının teşhis ve tedavisinde kullanılmak üzere, yeni akıllı nano sistemlerin tasarlanması ve geliştirilmesi oldukça ilgi görmektedir. Özgün ilaç taşıyıcı yaklaşımlar, akıllı nano taşıyıcıların kanser hücrelerine hedeflendirilmesi yönündedir. Etkin tümör-hedefli bu sistemlerde, anti-tümör ilacı, sadece hedeflenen bölgede aktifleşebildiği için ilacın normal hücrelere verdiği zarar en az düzeydedir. Bu akıllı nanosistemlerin tasarlanmasında, nanotaşıyıcının amaca ugyun olarak fonksiyonlandırılması oldukça önemlidir.

Bu tez çalışmasında; nanotaşıyıcı olarak mezofor silika nanopartikül (MSN) kullanılmıştır. MSN yüzeyi; öncelikle artan glutatyon (GSH) varlığında kırılan disülfür bağı (-S-S-) ve karboksillik asit grubu ile fonksiyonlandırılmıştır. Daha sonra bu nanotaşıyıcıya, anti-kanser ilacı doksorubisin hidroklorür (Dox) yüklenerek, silika gözeneklerini kapatarak fizyolojik ortamda ilaç salınımını engellemek amacıyla, asidik ortamda kararsız olan ZnO kuantum nokta (ZnO QDs) kovalent bağla bağlanmıştır. Kanser hücrelerinin, sağlıklı olan hücrelere göre daha asidik mikro çevreye sahip olmasından ve GSH miktarının, kanser hücrelerinin hücre içi matrisinde, hücre dışı ortamlarda bulunan miktardan çok daha yüksek seviyelerde mevcut olmasından faydalanarak, ilaç salımının sadece asidik ortam ve yüksek GSH ortamında gerçekleşmesini sağlamak üzere bu akıllı nanosistem tasarlanmıştır. Yapılan in vitro ilaç salım çalışmaları neticesinde, ilaç salımının, pH: 7.4' de minimum düzeyde olduğu halde, pH:3'te ZnO QDs 'un Zn^{2+} halinde çözünmesiyle, MSN gözenekleri açılması sonucu maksimum düzeye çıktığı görülmüştür. Ayrıca, GSH konsantrasyonu arttıkça ilaç salımının da arttığı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çinko Oksit Kuantum Nokta, Doksorubisin, İlaç Salım, Kanser, Nanotaşıyıcı, Silika Nanopartikül

ABSTRACT

MS THESIS

SYNTHESIS OF NEW SILICA BASED SMART DRUG DELIVERY SYSTEM AND INVESTIGATION OF ITS DRUG DELIVERY PROPERTIES

Safaa Hashım Mohammed ALBAYATI

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Pervin DEVECİ

2018, 72 Pages

Jury
Advisor : Assoc. Prof. Dr. Pervin DEVECİ
Assoc. Prof. Dr. Bilge TANER
Assoc. Prof. Dr. Mustafa TOPKAFA

In recent years, the design and development of new intelligent nanosystems, particularly for use in the diagnosis and treatment of cancer, has received considerable attention. Specific drug delivery approaches are directed at targeting intelligent nanocarriers to cancer cells. In these effective tumor-targeted systems, the damage to the normal cells by the drug is minimal, since the anti-tumor agent only activates in the targeted region. In designing these intelligent nanosystems, it is crucial that the nanostructure is appropriately functionalized.

In this thesis, mesoporous silica nanoparticle (MSN) was used as the nanocarrier. MSN surface is functionalized by (-S-S-) group that breaks in the presence of increased glutation (GSH) and carboxylic acid group. After this, nanocarrier was loaded with anti-cancer drug doxorubicin hidroklorür (Dox), ZnO quantum dots (ZnO QDs) were covalently attached. ZnO QDs are unstable in the acidic medium and used to block the drug release in the physiological environment by closing the silica pores. Taking advantage of the fact that, cancer cells have a more acidic microenvironment than healthy cells and that the amount of GSH is present at a much higher level in the intracellular matrix of cancer cells than in the extracellular medium, this smart nano system designed. As a result of the in vitro drug release studies, the release of the drug was maximized after dissolution of ZnO QDs into Zn^{2+} at pH 3, even though drug release was minimal at pH 7.4. Furthermore, as GSH concentration increased, drug release was also observed to increase.

Keywords: Cancer, Doxorubicin, Drug Release, Nanocarrier, Silica Nanoparticle, Zinc Oxide Quantum Dot.

Tüm Sevdiklerime;

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim boyunca ve bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde değerli bilgilerini benimle paylaşan, kıymetli zamanını ayırıp, sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden daha fazlasını sunan, en ufak bir sorunda bile yanına hiç çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden hiç esirgemeyen, gelecekteki mesleki hayatımda .a bana verdiği değerli bilgilerden faydalanabileceğimi düşündüğüm, değerli hocam Doç Dr. Pervin DEVECİ'ye teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, aldığım her kararda arkamda duran, hoşgörü ve sabırla bugünlere gelmemi sağlayan çok kıymetli aileme saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yardımlarından dolayı arkadaşım Zahide UÇAK'a da teşekkürlerimi sunarım.

Safaa Hashım Mohammed ALBAYATI
KONYA-2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iii**

ABSTRACT ..... **iv**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **ix**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xi**

1. GİRİŞ **1**

1.1. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri 2
1.2. İlaç Salımı İçin Uyarıcılar 3
1.3. Nanopartiküller 3
1.4. Nano İlaç Taşıyıcı Sistemler 5
1.5. Akıllı Nanotaşıyıcılar 7
1.5.1. Lipozomlar 9
1.5.2. Miseller 10
1.5.3. Dentrimerler 10
1.5.4. Altın nanopartiküller (GNPs) 11
1.5.5. Kuantum noktalar (QDs) 12
1.5.6. Silika nanopartiküller (MSNs) 13
1.5.7. Neden silika nanopartikül? 16

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **18**

3. MATERYAL VE YÖNTEM **26**

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler 26
3.2. Kullanılan Cihazlar 27
3.3. Akıllı İlaç Taşıyıcı Sistemin Sentezi 27
3.3.1. MSN sentezi 28
3.3.2. MSN-SH sentezi 28
3.3.3. MSN-S-S- COOH sentezi 28
3.3.4. ZnO QDs sentezi 29
3.3.5. ZnO-NH_2 QDS sentezi 29
3.3.6. Nanopartiküle Dox yükleme ve gözeneklerin ZnO QDs ile kapatılması (MSN-S-S-COO-ZnO) 29
3.3.7. MSN-S-SCOOH nanopartikülüne Dox yükleme 30
3.4. MSN-S-S-COO-ZnO Nanopartikülünün İlaç Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi 30
3.5. İn Vitro İlaç Salım Çalışmaları 30
3.5.1. pH:7.4 PBS ortamında ilaç salım çalışmaları 32

3.5.2. pH:5 PBS ortamında ilaç salım çalışmaları 32
3.5.3. pH:3 PBS ortamında ilaç salım çalışmaları 32
3.5.4. 0.1 mM GSH ortamında ilaç salım çalışmaları..... 33
3.5.5. 1 mM GSH ortamında ilaç salım çalışmaları..... 33
3.5.6. 10 mM GSH ortamında ilaç salım çalışmaları..... 33
3.5.7. pH: 3/10 mM GSH ortamında ilaç salım çalışmaları 34

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA..... 35

4.1. Karakterizasyon Sonuçları 37
4.2. İn Vitro Dox Salım Çalışmalarına Ait Bulgular 42

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 47

5.1. Sonuçlar..... 47
5.2. Öneriler 48

ÖZGEÇMİŞ 49

KAYNAKLAR 50

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Plazmadaki ilac konsantrasyonun zamanla değişimi, a) Ağızdan kullanım (normal doz)b) Ağızdan kullanım (aşırı doz), c) Enjeksiyon, d) Kontrollu ilac salımı ideal doz 2

Şekil 1.2 .Nano ölçeğin açıklanması 4

Şekil 1.3. Nano ölçekli nesnelerin elde edilme yöntemleri 5

Şekil 1.4. İlacın nanotaşıyıcıya yüklenmesi ve hücre içinde serbest bırakılması 6

Şekil 1.5. Kanser tedavisi için tasarlanan bir akıllı nano ilaç dağıtım sisteminin işleyişinin şematik gösterimi 7

Şekil 1.6. Günümüzde yaygın olarak kullanılan nanotaşıyıcılar 9

Şekil 1.7. Farklı boyut ve şekillerde GNPs' ler (Dreaden ve ark., 2012). 11

Şekil 1.8. Kuantum noktaların boyutlarının değişimiyle renklerinin değişimine örnek. 12

Şekil 1.9. MCM-41 eldesinin şematik gösterimi 13

Şekil 1.10. MSN ya ait TEM görüntüsü 16

Şekil 2.1. DOX@MSN-NH-N=C-PADs sentezi 18

Şekil 2.2. Dox-yüklü MSN-DOX@PDA−PEG−FA yapısı 19

Şekil 2.3. MSN@FITCD yapısına DOX yüklenmesi ve bu yapıdan DOX salımı 20

Şekil 2.4. MSN@PAA@ZnO yapısına MTX yüklenmesi ve bu yapıdan MTX salımı 20

Şekil 2.5. ZnO QDs içeren nanotaşıyıcı sentezi 21

Şekil 2.6. GSH duyarlı nanotaşıyıcının şematik gösterimi 22

Şekil 2.7. Çeşitli pH ve GSH konsantrasyonlarında Dox salım grafiği 22

Şekil 2.8. MSN/Cys/ZnO içeren nanotaşıyıcının sentezi 23

Şekil 2.9. Polimerik misellerin sulu ortamda kendiliğinden tabakalanması ve pH a bağlı ilaç salımı 24

Şekil 2.10. Boronik asit modifiye MSN sentezi ve pH a bağlı ilaç salımı 24

Şekil 2.11. MSN yüzeyinin asetal grubu ile fonksiyonlandırılması ve ilaç salımı 25

Şekil 3.1. Nanotaşıyıcının sentezi.. 28

Şekil 3.2. İlaç salımının incelendiği dializ ortamı 32

Şekil 4.1. Sentezlenen nanopartiküllere ait tem sonuçları; 37

Şekil 4.2. Sentezlenen nanopartiküllere ait zeta potansiyel verileri 38

Şekil 4.3. MSN ye ait FT-IR spektrumu 39

Şekil 4.4. MSN-SH (Siyah) ve CTAB uzaklaştırılmış MSN-SH'a (kırmızı) ait FT-IR spektrumu 40

Şekil 4.5. MSN-COOH'a ait FT-IR spektrumu 41

Şekil 4.6. ZnO-NH_2 QDs'a ait FT-IR spektrumu.. 41

Şekil 4.7. MSN-S-S-COO-ZnO'a ait FT-IR spektrumu. 42

Şekil 4.8. Dox'a ait UV-Vis spektrumu, kalibrasyon doğrusu ve denklemi 43

Şekil 4.9. MSN-S-S-COOH 'a ait pH: 7.4 ortamında ilaç salım sonuçları.. 44

Şekil 4.10. MSN-S-S-COO-ZnO'a ait pH:3, pH:5 ve pH:7.4 ortamında ilaç salım sonuçları … 45

Şekil 4.11. MSN-S-S-COO-ZnO'a ait 0.1 mM GSH, 1 mM GSH ve 10 mM GSH ortamında ilaç salım sonuçları 45

Şekil 4.12. MSN-S-S-COO-ZnO'a ait pH:3/10 mM GSH ve pH: 7.4/10 mM GSH ortamında ilaç salım sonuçları 46

Şekil 4.13. Akıllı nanotaşıyıcıdan ilaç salımının asidik ortam ve GSH ortamında şematik olarak gösterimi 46

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	Santigrat Derece
cm^{-1}	Dalga Sayısı
ml	Mililitre
nm	Nanometre
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
%	Yüzde
g	Gram
KOH	Potasyum Hidroksit
NaOH	Sodyum hidroksit
Da	Dalton

Kısaltmalar

Ada	Adamantan
β-CD	β-siklodekstrin
CMC	Kritik Misel Konsantrasyonunu
CTAB	Setil-trimetilamonyumbromür
Cys	Sistin
DMF	N,N-Dimetilformamid
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
Dox	Doksorubisin Hidroklorür
EDC	(1-(3-(dimetilaminopropil)-3-etilkarbodiimit hidroklorür)
EtOH	Etanol
FA	Folik Asit
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FITC	Floresein İzotiyosiyanat
FT-IR	İnfrared Spektroskopisi
GSH	L-Glutatyon
GNPs	Altın Nanopartiküller
HA	Hiyalüronik Asit
H_3PO_4	orto-Fosforik asit
HCl	Hidroklorik Asit
LED	Işık Yayan Diyot
MeOH	Metanol
MPTMS	3-Mercaptopropiltrimetoksisilan
MRI	Mağnetik Rezonans Görüntüleme
MSN	Mezofor Silika Nanopartikül
MSNs	Mezofor Silika Nanopartiküller
MSN-SH	-S-H Grubu İle Fonksiyonlandırılan Mezofor Silika Nanopartikül
MSN-COOH	-COOH Grubu İle Fonksiyonlandırılan Mezofor Silika Nanopartikül
MTX	Metotreksat
MWCO	Moleküler Ağırlık Giderimi
NHS	N-hidroksisüksinimit

QDs	Kuantum Noktalar
PAA	Poliakrilik asit
PB	Fosfat Tamponu
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
PDA	Polidopamin
RES	Retiküloendotelyal Sistem
RNA	Ribo Nükleik Asit
UV-Vis	Ultraviyole Visible Spektroskopisi
$ZnO\text{-}NH_2$	Amin Grubu İle Fonksiyonlandırılan Çinko Oksit Kuantum Nokta
ZnO QDs	Çinko Oksit Kuantum Nokta
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
TEOS	Tetraetilortosilikat
TGA	Termo Gravimetrik Analiz
YK	Yükleme Kapasitesi
$Zn(Ac)_2$	Çinko Asetat
XPS	X-Ray Potoelektron Spektroskopisi

1. GİRİŞ

Kanser; vücudun bir organ veya dokusunda beliren, bazı anormal hücrelerin kontrolsüz ve düzensiz bir şekilde çoğalması sonucu ortaya çıkan, günümüzde ölüm oranı çok yüksek olan hastalıklardan biridir. Tek bir organı etkileyebildiği gibi uzaktaki organlara da yayılarak pek çok alanda etkisini gösterebilir. Dünya Sağlık Örgütüne bağlı Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumunun 2030 yılı için öngörüsü, kanserin ölüm nedenleri arasında birinci sırada olacağı yönündedir. Bu nedenle birçok kanser tedavi yöntemleri araştırılmış, hala da araştırılmaya devam edilmektedir.

Kanser tedavisinde başlıca amaç; sağlıklı dokulara herhangi bir zarar vermeden hastalıklı dokuları seçmek ve yok etmektir. Günümüzde kanser tedavisinde; kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntemler en yaygın olarak başvurulan yöntemler olmakla birlikte, kök hücre tedavisi, çeşitli hormonal tedaviler ve çeşitli biyolojik yöntemlerde kullanılmaktadır.

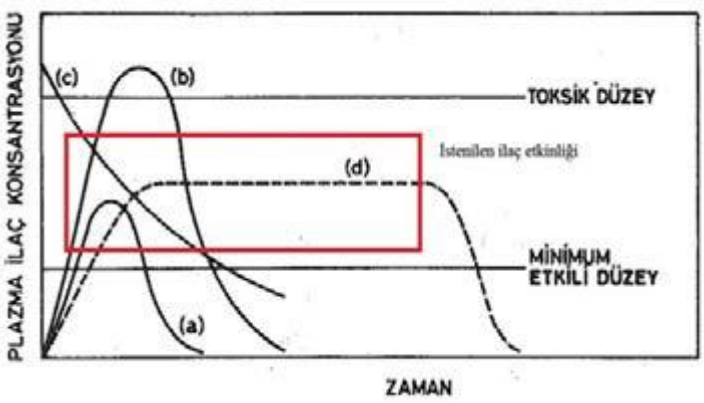
Kemoterapi, kanser tedavisinde çok sık kullanılan bir tedavi yöntemidir. Tümörün ilaçla tedavi edilmesi anlamına gelen kemoterapi; kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını önleyerek onları hasara uğratır. Kemoterapi tedavisindeki en büyük kısıtlamalardan biri; kemoterapi ilaçlarının kanser hücrelerine etki ederken diğer sağlıklı hücrelere de zarar vermesidir. Bu duruma bağlı olarak hastalarda, halsizlik, bulantı ve kusma, cilt ve tırnak sorunları, bağırsak sorunları, enfeksiyon, kan ve pıhtılaşma sorunları v.s., gibi pek çok yan etki görülmektedir. Ayrıca kemoterapik ilacların etki alanının sınırlı olması ve ilaç direncine neden olması gibi birçok önemli dezavantajları vardır.

Son yıllarda nanoteknoloji; tıp bilimine, özellikle de ilaç salım sistemleri alanına birçok yeni bakış açısı kazandırmıştır. Nano boyutta yeni akıllı sistemlerin tasarımı ve geliştirilmesi, sağladıkları avantajlardan dolayı oldukça ilgi görmektedir. Günümüzde grafen, karbon nanotüp, MSN, altın nanopartikül, gümüş nanopartikül gibi çok çeşitli akıllı ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Akıllı ilaç taşıma sistemlerinin önemi; ilacı sadece vücuttaki spesifik bölgelere salabilmesi ve sağlıklı dokulara herhangi bir zarar vermeden hastalığı tedavi etmesidir. Bu sistemler arasında, eşsiz fiziko kimyasal özellikleri, ilaç taşıma kapasitesinin yüksek olması, biyouyumlu olması, kolay fonksiyonlandırılabilir olması gibi mükemmel özellikleriyle MSNs, akıllı nano taşıyıcıların önemli bir sınıfını oluşturmaktadır.

Bu tez çalışmasında; akıllı nanotaşıyıcı sistemler arasında oldukça önemli bir yere sahip olan MSN; nanotaşıyıcı olarak seçilmiştir. MSN; ilaç salımını sadece tümör mikro çevresinde gerçekleştirecek şekilde fonksiyonlandırılarak, karakterize edilmiş, ve ilaç salım özelliği çeşitli pH ortamları ile çeşitli GSH konsantrasyonlarında incelenmiştir.

1.1. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

Kontrollü ilaç salım sistemlerinde; ilaçlar dışarıdan kontrollü bir biçimde, belli bir zaman ve dozda hedef dokuya veya organa uygulanmaktadır. Benzer ilaç tedavilerine kıyasla daha etkili olan bir tedavi yöntemidir. Zamanla, ilacın bozunması veya eliminasyonu, etkinliğini zayıflatacaktır. Fakat ideal ilaç konsantrasyonunun, belli zaman periyotlarında sabit kalması, ilacın etkinliğini arttırarak, tedavi suresini kısaltacaktır. Bunun yanı sıra, sürekli ilaç kullanımının ve enjeksiyon da olduğu gibi ani ilaç yüklemesinin, hastada yaratacağı bir takım yan etkiler vardır. Kontrollü ilaç salımı, bu yan etkilerin azaltılması, yarılanma süresi kısa olan ilaçların bozunmasının önlemesi ve lokal uygulamalarda istenmeyen yan etkilerin önüne geçilmesi gibi avantajlara da sahiptir.



Şekil 1.1. Plazmadaki ilac konsantrasyonun zamanla değişimi, a) Ağızdan kullanım (normal doz)b) Ağızdan kullanım (aşırı doz), c) Enjeksiyon, d) Kontrollu ilac salımı ideal doz

Kontrollü salım sistemlerinde, ilacın etkili olabilmesi için önce etkin maddeyi taşıyan ve dozaj şekli adı verilen sistemlerden çıkmaları, daha sonra güvenli ve etkin olarak kana karışmaları, dokulara dağılmaları ve canlı dışına atılmaları gerekmektedir (Şekil 1.1).

Kontrollü salım tıp, eczacılık, kimya, çevre, tarım ve veterinerlik alanlarında oldukça yaygın kullanılmaktadır. Tarımda ve çevrenin korunmasıyla ilgili uygulamalarda kullanılan bir çok ilaç kontrollü salım yapan sistemlerde, doğaya herhangi bir zarar vermeden, az miktarda kullanılarak etkili sonuçlar alınabilmektedir. Kimyasal işlemlerde, fermantasyon ortamına eklenen enzimler gibi pahalı ve atık sorunu yaratan malzemeler, kontrollü olarak salınması yoluyla, üretimde süreklilik sağlanabilmektedir.

Kontrollü salım sistemlerini hazırlamakta kullanılan biyomalzemeler, doğal veya sentetik olarak elde edilen polimerik moleküller, çeşitli inorganik naopartiküller, dentrimerler, miseller vb gibi çeşitli moleküllerden oluşmaktadır ve sayıları gün geçtikçe artmaktadır.

1.2. İlaç Salımı İçin Uyarıcılar

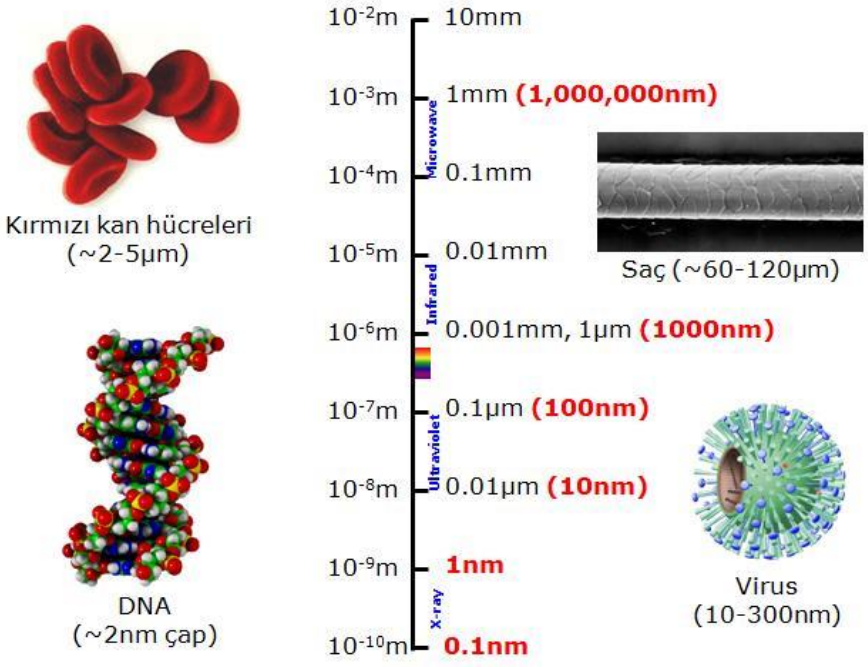
Nanotaşıyıcıya yüklenen ilacın serbest bırakılmasını sağlayan, dış kaynaklı (ekzojen) ve iç kaynaklı (endojen) olmak üzere iki tür uyarıcı vardır. Manyetik alan, ultrason dalgaları ve elektrik alan gibi dışarıdan uygulanarak, nanotaşıyıcıdaki ilaçların serbest bırakmasını sağlayan uyarıcılar dış kaynaklı uyarıcı olarak bilinir. pH değişimi, enzim transformasyonu, sıcaklık ve redoks reaksiyonları gibi vücudun içinde var olan ve ilaç salımını arttırabilen uyarıcılarda endojen uyarıcılara örnek olarak verilebilir.

1.3. Nanopartiküller

Nano, herhangi bir ifadenin milyarda biri anlamına gelen, 10'un eksi 9 katını ifade eden bir önektir. Nanometre, bunun uzunluğa uyarlanmış halini ifade eder. Örnek olarak vermek gerekirse bir nanometre; bir metrenin milyarda biri, bir milimetrenin milyon da biri veya bir mikrometrenin binde biri olan oldukça küçük bir uzunluktur. Bu ölçeği nanometre ölçeği ya da nano ölçek olarak da adlandırılmak mümkündür. Nanoteknoloji, bileşenleri nano boyutta olan malzemelerin tasarım, oluşum ve kullanımları ile alakalıdır ve bu bileşenlerin boyutları 100 nm'ye kadar olmaktadır. Atomik, moleküler veya makromoleküler seviyede araştırmalar yaklaşık olarak 1-100 nm aralığı ile ilgilenmektedir. Boyutlarının küçük olması sebebiyle oluşan ve kullanılan yapılar, cihazlar ve sistemler farklı özelliklere ve işlevlere sahiptirler. Bu nedenle nanoteknoloji, yeni özelliklere ve işleve sahip olan büyük yapılar oluşturmak için atom

moleküler seviyede çalışabilme yeteneğidir. Ayrıca nanoteknolojiyi, atomik ölçekteki maddenin hassas-oluşumu ve hassas-düzenlemesi olarak da tanımlamak mümkündür, bu sebeble hassas moleküler mühendislik olarakda adlandırılmaktadır.

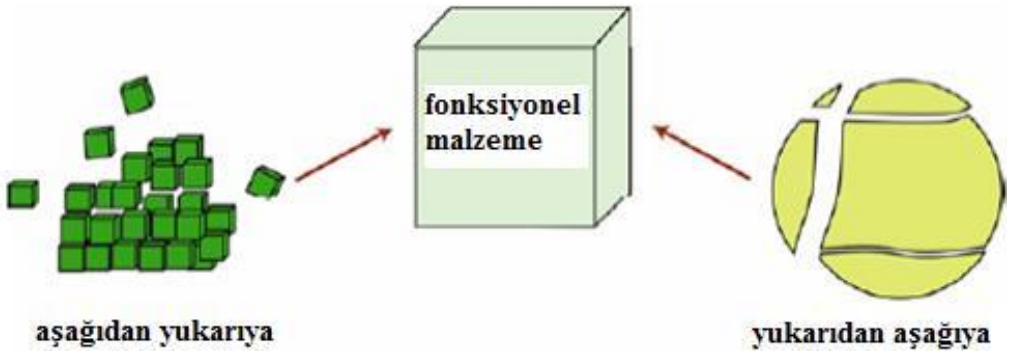
Nanoteknoloji terimi 1974 yılında Nori Taniguchi tarafından Tokyo Uluslararası Üretim Mühendisliği Konferansı'nda tanıtılmıştır. Taniguchi, bu terimi çok ince filmlerin yani; nano ölçekte malzemelerin işlenmesini açıklamak için kullanmıştır. Yapılan bu çalışma, ultrasonik işlemeyle kuartz kristaller, silikon ve alümina seramikler gibi sert ve kırılgan işleme mekanizmalarına odaklanmıştır. 1959'da Amerikan Fizik Derneği'nin yıllık toplantısında bir konferansta Nobel ödülüne sahip olan Amerikan fizikçi Richard Feynman, nanoteknoloji kelimesini kullanmadan, çözünürlük ve kararlılık için taramalı elektron mikroskobunun geliştirilebileceğini, böylece atomların görülebileceğini söylemiştir. Feynman atomların düzenlenerek, malzemelerin atomik ya da moleküler sentezinin mümkün olabileceği konusunda ilerleme sağlamıştır. Feynman'ın fikrini temel alarak K. E. Drexler, büyük moleküller oluşturmak için nano ölçekli moleküler yapıların kullanılması varsayımı ile 1986'da 'moleküler nanoteknoloji' fikrini geliştirmiştir. Drexler, nano robotlar olarak adlandırılmış olan fazla miktarda (milyarlarca) robot benzeri makinelerle moleküler üretim teknolojisinin temelini oluşturabilecek atom atom ve molekül molekül oluşumun kullanılması gerektiğini açıklamıştır.



Şekil 1.2 .Nano ölçeğin açıklanması

Şekil 1.2’ de nano ve mikro boyuttaki birkaç örnek ile nano ölçeğin açıklaması görülmektedir. Bir nanometre yaklaşık olarak dört silikon atomu (0.13 nm yarıçap ile) veya iki hidrojen atomu (0.21 nm yarıçap ile) genişliğindedir. Karşılaştırma amaçlı olarak, bir tek mod fiberin çekirdeğinin çapı 10.000 nm’dir ve 10 nm’lik bir nanotel, bir fiber çekirdeğinden 1000 kat daha küçüktür.

Nano ölçekli nesnelerin elde edilmesi için iki yaklaşım bulunmaktadır. Bunlar; aşağıdan yukarıya yaklaşım ve yukarıdan aşağıya yaklaşım olarak adlandırılmaktadır. Birincisinde, nesne içerisinde bulunan atom ve moleküller bir araya toplanır ve bu sürekli olarak değişim sınırlanana kadar nesnenin büyüklüğünün artmasını sağlamaktadır. Bu durumda, nesnenin içerdiği atomların sayısı ile değil boyutu ile ilgilenilmektedir. İkinci durumda ise; makroskopik boyutlardan nanometrik boyutlara kadar yavaş yavaş azalan bir örneğin özelliklerindeki gelişimlerle ilgilenilmektedir. (Şekil 1.3)



Şekil 1.3. Nano ölçekli nesnelerin elde edilme yöntemleri

Nanoteknoloji yaygın olarak endüstriyel alanda, tıp ve sağlık alanında, bilimsel araştırmalarda enerji, malzeme ve imalatta, otomotiv ve havacılık endüstrisinde, elektronik ve bilgisayar teknolojilerinde, tarım, gıda sanayi, çevre, savunma, kimya alanlarında kullanılmaktadır.

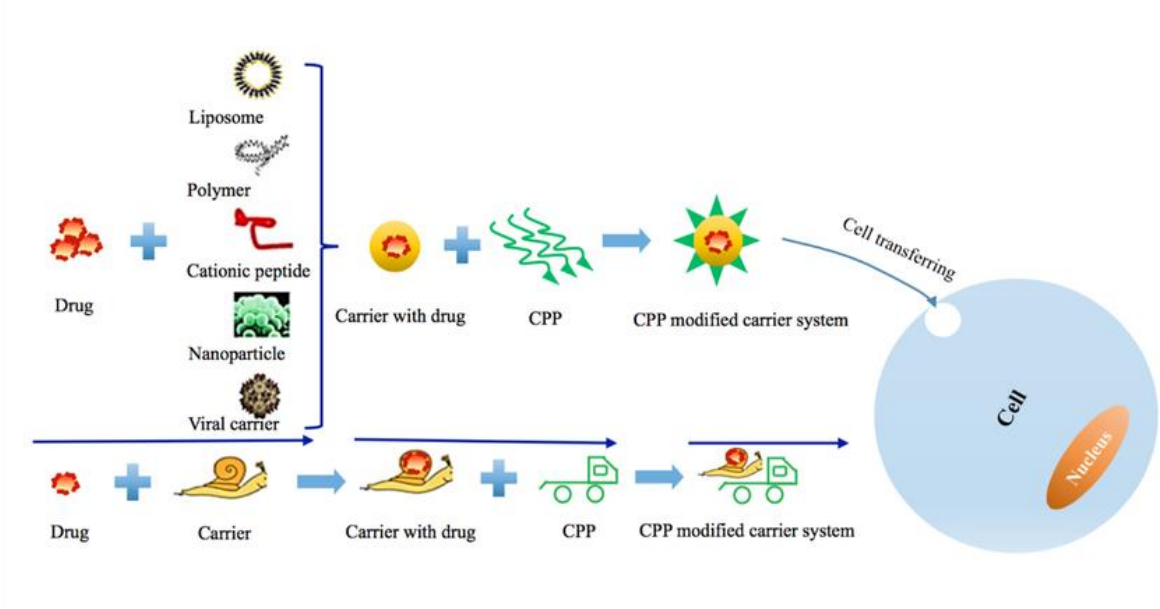
1.4. Nano İlaç Taşıyıcı Sistemler

İlaç taşıma sistemleri; kimyasal bir uyarıya cevap olarak ilacın serbest bırakıldığı sistemlerdir. Biyomedikal alanlarda, ilacın etki göstereceği bölgeye taşınması, oldukça önemlidir. Dolayısıyla ilaç taşıyıcı sistemler her zaman araştırmacıların ilgi odağı olmuştur. Nanobilim ve biyonanomühendislik alanındaki

gelişmeler, hastalıkları önleme, teşhis, tedavi ve tedavinin düzenlenmesinde rol alacak olan yeni ilaç taşıyıcı sistemlerin keşfedilmesinde ve tasarlanmasında çok önemli rol oynamaktadır.

Günümüzde kullanılan ilaçların birçoğu, hedef hücrelere ulaşma aşamasında hidrofob alanlarda etkilerini istenilen şekilde gösterememektedirler. İlaçların, etkilerini belirlenen süre içerisinde gösterememesi ve hedef doku dışında tüm vücutta etkisini göstermesi, istenmeyen bir durumdur. Bir diğer sorun ise; etken maddenin vücuttaki bariyerleri aşarak hedef alana ulaşamamasıdır. Etken madde kullanımında ortaya çıkan bu sorunların ve diğer bir çok sorunun çözümü için nanoteknoloji pek çok yöntem ortaya koymaktadır.

Nanopartikül kullanılarak hedeflendirilmiş ilaç taşıyıcı sistemler (Şekil 1.4) ilaçların daha etkili ve daha kolay olarak hedefe iletilmesini sağlamaktadır. Nano taşıyıcıların geliştirilmesi sayesinde kan-beyin bariyeri, solunum sistemindeki bronşiyoller ve derideki sıkı bağlantılar gibi çeşitli anatomik ve biyolojik yapıları aşarak ilaçların hedef dokuya ulaşmasını sağlamaktadır. Vücuttaki dar alanlarda daha iyi dağılım sergileyen nano taşıyıcılar düşük çözünürlüğe sahip ilaçların çözünmesini kolaylaştırmaktadır. Yeni özellikler kazanan nano taşıyıcı sistemler ilaç toksisitesini azaltarak daha verimli ilaç dağılımını sağlamaktadırlar.



Şekil 1.4. İlacın nanotaşıyıcıya yüklenmesi ve hücre içinde serbest bırakılması

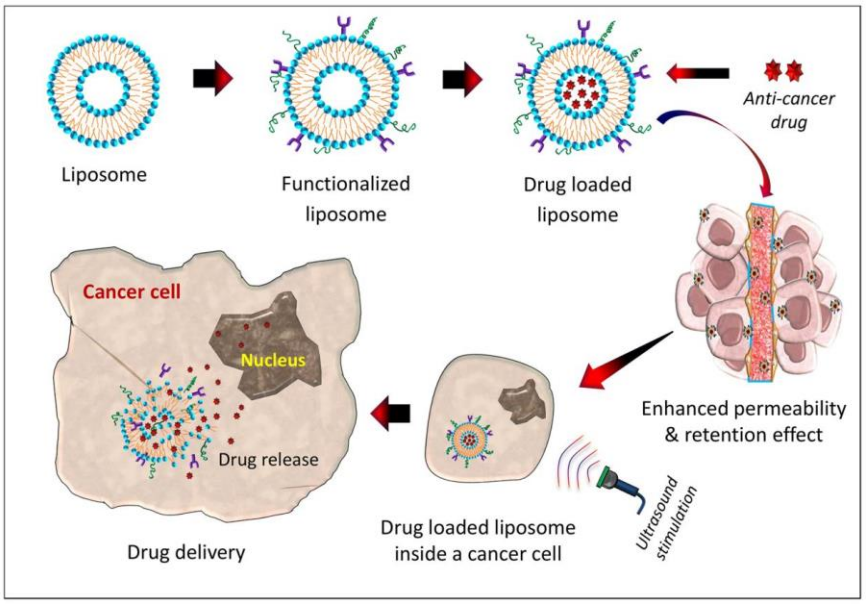
1.5. Akıllı Nanotaşıyıcılar

Genel olarak en az 1 nm ile 100 nm arasında bir boyuta sahip olan parçacıklar, nanopartiküller olarak bilinir. Günümüzde nanopartiküller spesifik yüzey alanına göre de tanımlanmaktadır. Genellikle spesifik yüzey alanı 60 m^2cm^{3-}‘ ye eşit yada daha büyük olan parçacıklar nanopartikül olarak tanımlanmaktadır (G. Kreyling ve ark., 2010). Nanopartiküller diğer maddeler için taşıma modülleri olarak kullanıldığında, nanotaşıyıcı (nanocarriers) olarak adlandırılır (Şekil 1.5).

Geleneksel nano-taşıyıcılar, ilaçları taşıyarak sadece hedeflenen alanda doğru konsantrasyonda salma özelliğine sahip değildirler. Bu nedenle bu nanotaşıyıcılar “akıllı” olarak tanımlanamazlar. Bu nanotaşıyıcıların akıllı hale getirilmesi için fonksiyonlandırılmaları gerekir.

Akıllı nano-taşıyıcılar aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır (Liu ve ark., 2016).

- Biyouyumu olmalı
- Fizyolojik ortamda parçalanmamalı
- İlacı sadece hedeflenen bölgede biriktirmeli
- İlacı dış veya iç uyarım altında sadece hedeflenen alanda doğru konsantrasyonda salmalı



Şekil 1.5. Kanser tedavisi için tasarlanan bir akıllı nano ilaç dağıtım sisteminin işleyişinin şematik gösterimi

Nanotaşıyıcıların türlerine ve uygulamalarına bağlı olarak, geleneksel nano-taşıyıcıları akıllı nanotaşıyıcıya dönüştürmek için bazı aşamalar vardır.

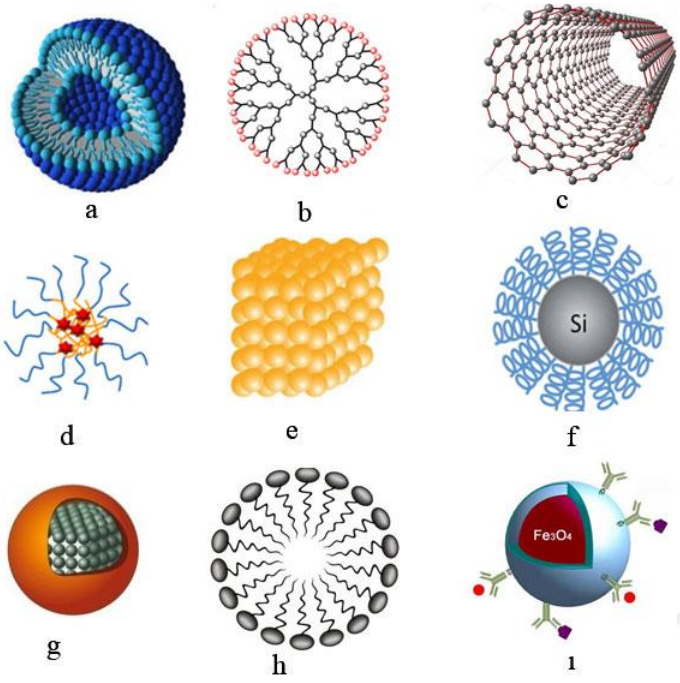
Birincisi, nano-taşıyıcılar, hedeflenen bölgeye giden yolda retiküloendotelyal sistemin (RES) temizlenmeside dahil olmak üzere birçok biyolojik engelle karşılaşmaktadır. RES, nanotaşıyıcıyı kısa sürede dolaşımdan alarak, karaciğer, dalak ve kemik iliğinde toplar. Nanotaşıyıcının, polietilen gilikol (PEG) ile fonksiyonlandırması bu temizleme işleminden kaçınmak için eşsiz bir çözümdür. PEG ile fonksiyonlandırma nanotaşıyıcının RES'den kaçmasına yardımcı olur. PEG ile fonksiyonlandırma ilk kez Davies ve Abuchowsky tarafından yapılmıştır (Zhang ve ark., 2016). Fakat, PEG ile fonksiyonlandırma, hücreler tarafından ilaç alımını önemli ölçüde azaltır (Moghimi ve Szebeni, 2003). Bu durum "Pegilasyon İkilemi" olarak bilinir. (Knop ve ark., 2010; Verhoef ve Anchordoquy, 2013).

İkinci olarak, nanopartiküller, kanser hücrelerini sağlıklı olanlardan ayırt edebilmesi için fonksiyonel hale getirilir. Kanser hücreleri ve sağlıklı hücreler arasındaki fizikokimyasal farklılıklar, iki hücre tipini ayırmak için kullanılmaktadır. Örneğin; kanser hücrelerinin yüzeyinde bazı proteinler aşırı miktarda bulunur. Aşırı miktarda olan bu proteinler, akıllı nanotaşıyıcıların temel hedefleridir. Nanotaşıyıcılar, bu proteinleri hedefleyen ligandlar ile modifiye edilir. Bu ligandlar, hücreleri reseptör proteinler ile belirler.

Üçüncü olarak, ilacı hedef bölgeye taşımak, sürecin sona ermesi için yeterli değildir. Hedeflenen bölgeye ulaşıldığında, uyarıcı altında akıllı nanotaşıyıcının ilacı salması bir sonraki büyük zorluktur. Nanotaşıyıcıların, çevresel uyarıcılara cevap vererek ilacı serbest bırakabilmesi için nanopartikül yüzeyi çeşitli kimyasal gruplar ile fonksiyonlandırılmalıdır.

Günümüzde oldukça çok çalışılan ve umut vadeden nanotaşıyıcılar aşağıda verilmiştir. (Şekil 1.6). (Kang ve ark., 2015; Srinivasan ve ark., 2015; Qi ve ark., 2017).

- Lipozomlar
- Miseller
- Dendrimerler
- Altın nanopartiküller
- Kuantum noktaları
- MSNs



Şekil 1.6. Günümüzde yaygın olarak kullanılan nanotaşıyıcılar a) Lipozom b) Dendrimer c) Karbon nanotüp d) Polimer e) Altın nanopartikül f) MSN g) Kuantum Nokta h)Misel ı) Magnetik naopartikül

1.5.1. Lipozomlar

Şekil 1.6'te gösterilen lipozomlar (Azzi ve ark., 2018) doğal olarak oluşan fosfolipid bazlı amfipatik nanotaşıyıcılardır. Hücre zarının ana bileşeni olan fosfolipidler, yağ asidi bazlı hidrofobik kısım ve fosfat bazlı hidrofilik kısımdan oluşur. Fosfolipitler suya eklendiklerinde, hidrofilik bölgeleri suya doğru yönelirken, hidrofobik bölgeleri sudan uzaklaşarak vezikül şeklini alırlar. Fosfolipit ve su molekülleri arasındaki hidrofobik etkileşimler ile fosfolipit molekülleri arasındaki Van der Waals etkileşimleri, çift tabakalı lipozom yapısının oluşmasını sağlar. İki tabakanın oluşturduğu çekirdek su veya suda çözünen ilaçları tutabilir (Azzi ve ark., 2018).

Geleneksel lipozomlar; kararsızlık, yetersiz ilaç yüklemesi, hızlı ilaç salımı ve kanda daha kısa dolaşım süresi gibi birçok dezavantaja sahiptir; bu nedenle akıllı nanotaşıyıcı olarak nitelendirilemezler. Geleneksel lipozomların işlevsel hale getirilmesi, onları akıllı hale getirir (Bozzuto ve Molinari, 2015). Diğer nanotaşıyıcılar gibi, lipozomlar da RES tarafından sunulan zorluğun üstesinden gelmek zorundadır. Pegilasyon, lipozomların RES'den kaçmasına yardımcı olur. Bu nedenle, PEG ile fonksiyonlandırılan lipozomlar daha uzun kan dolaşım süresine sahiptir (Allen ve Cullis, 2013). Akıllı nanotaşıyıcılar, sağlıklı hücreler ve kanserli olanlar arasındaki farkı anlayabildiği için, monoklonal antikorlar, antikor fragmanları, proteinler, peptidler,

vitaminler, karbohidratlar ve glikoproteinler genellikle kanser bölgesini aktif olarak hedeflemek için lipozom üzerine aşılanırlar (Sawant ve Torchilin, 2012; Noble ve ark., 2014). Akıllı lipozomlar, pH değişimi, enzim transformasyonu, redoks reaksiyonu, ışık, ultrason ve mikrodalgalar dahil olmak üzere çeşitli dış ve iç uyarımlara cevap vermektedirler (Lee ve Thompson, 2017).

1.5.2. Miseller

Hem hidrofilik hem de hidrofobik kısımlara sahip olan amfifilik moleküller, bir çözücüye maruz kaldıklarında kendiliğinden birleşmektedirler. Çözücü hidrofilik ise ve konsantrasyonu kritik misel konsantrasyonunu (CMC) aşarsa, ko-polimerin polar kısımları çözücüye doğru çekilir, hidrofobik parçalar ise solventten uzaklaşır. Bu şekilde, hidrofobik kısımlar bir çekirdek oluşturur, hidrofilik kısımlar ise bir korona (bir misel yapısındaki amfifilik kopolimerlerin hidrofob uçlarını tanımlayan terim) oluşturur (Shin ve ark., 2016; Cagel ve ark., 2017). Diğer taraftan, hidrofobik bir çözücüye maruz kalan amfifilik moleküller, ters misel olarak bilinen yapıyı üretir. Yani, hidrofilik kısımlar çekirdeği ve hidrofobik kısımları koronayı oluşturur (Chen ve ark., 2017). Miseller, CMC'yi geçerek olgunlaşmamış ilaç salımı yapabilirler. Ayrıca, kan ile etkileşim, misel ve kan arasındaki dengeyi bozabilir. Bahsedilen problemlerin üstesinden gelmek için, çapraz bağlı miseller kullanılmaktadır. Bu yapılarda, iki polimer zinciri disülfid oluşumuyla bağlanır (Cajot ve ark., 2013). Kanser hücrelerini aktif olarak hedeflemek için misel yüzeyi, FA, peptidler, karbohidratlar, antikorlar ve aptamerler gibi çeşitli gruplar ile fonksiyonlandırılabilir (Ordikhani ve ark., 2016).

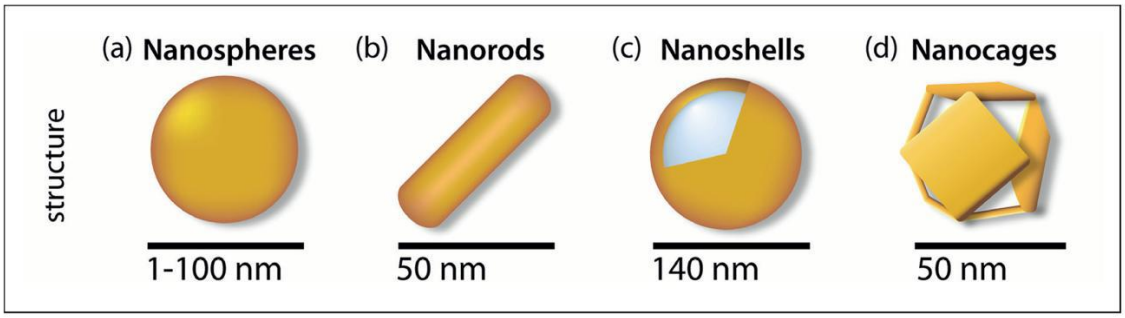
1.5.3. Dendrimerler

Dendrimerler tekrar eden, dallanmış, küre şeklindeki geniş moleküllerdir. Bir dendrimer; üç kısımdan oluşur. Bunlar; çekirdek, dallanma birimleri ve yüzey aktif gruplardır (Palmerston Mendes ve ark., 2017). Dendrimer yüzeyindeki aktif gruplar dendrimerin fizikokimyasal özelliklerini belirler. Dendrimer, yüzey gruplarına bağlı olarak, hidrofobik veya hidrofilik olabilir. Dendrimerler, nano ölçeği, monodisper yapısı (He ve ark., 2008) suda çözünürlüğü, biyouyumluluğu ve yüksek ölçüde dallanmış yapısı nedeniyle günümüzde ilaç taşıyıcı olarak oldukça ilgi çekmektedir. Geleneksel dendrimerler, bağışıklık sistemi tarafından hızlı bir şekilde temizlenirler ve kanser

hücreleri tarafından düşük hücresel alıma sahiptir. Fakat dentrimerler, çeşitli gruplarla modifiye edilerek, lineer bir polimer ile kopolimerleştirilerek ya da diğer nanotaşıyıcılar ile hibritleştirilerek, bu proplemlerin üstesinden gelinmiştir (Bugno ve ark., 2015). Kanser bölgesini aktif olarak hedeflemek için, dendritik yapıların yüzeyi peptidler, proteinler, karbonhidratlar, aptamerler, antikorlar, vb. ile modifiye edilebilir. Dendrimer yüzeyi, ışık, ısı, pH değişimi gibi çeşitli uyaranlara cevap veren sistemler ilede modifiye edilebilir (Rajasekhar Reddy ve ark., 2012; Wang ve ark., 2016).

1.5.4. Altın nanopartiküller (GNPs)

Metalik nanotaşıyıcılar; ayarlanabilir boyutları, geniş yüzeyden alanları, kolay sentezlenmeleri, optik özellikleri, ve kolay fonksiyonlandırılabilmeleri gibi eşsiz özelliklerinden dolayı ilgi odağı olmuştur (Zhang ve ark., 2018). Çalışmalar, nanotaşıyıcıların hücre içi tutulumunun kolloidal nanotaşıyıcıların büyüklüğüne ve şekline bağlı olduğunu göstermektedir (Jurney ve ark., 2017). GNPs (Kong ve ark., 2017) Şekil 1.7'de gösterildiği gibi özel şekil ve boyutlarda sentezlenebilmektedir.



Şekil 1.7. Farklı boyut ve şekillerde GNPs' ler (Dreaden ve ark., 2012).

Akıllı nanotaşıyıcılar, kararlı, biyouyumlu, hedeflemede etkili, ve dış/iç uyaranlara yanıt vermelidir. Fakat GNPs kanda kararsızdır ve RES tarafından daha yüksek tutulumla karşı karşıyadır. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için altın nanotaşıyıcılar PEG ile fonksiyonlandırılır. Bu şekilde GNPs hem çözünür hem de kararlı hale getirilirler (Qian ve ark., 2011). Ayrıca hedefleme içinde nanopartikül yüzeyi değişik ligandlarla fonksiyonlandırılabilir (Sivaraj ve ark., 2018).

1.5.5. Kuantum noktalar (QDs)

QDs; yari iletken nano boyutlu kristal yapılardır. QDs için, birkaç atomdan binlerce atoma kadar atom barındırabilen devasa yapay bir atom denilebilir. Yapay atom denmesinin nedeni; boyutlarının değiştirilmesiyle birlikte bant boşluğunun değiştirilebiliyor olmasıdır. Kuantum noktalarda boyut kontrol edilebilir bir parametredir. Bu özelliği 'kuantum sınırlaması' (quantum confinement) etkisi ile birleşince QDs sıra dışı optik ve elektriksel özelliklerde olurlar. Çünkü QDs boyutlarının değişmesiyle birlikte yaptıkları ışımanın rengi de değişmektedir. En küçük noktalar mavi olurken en büyük noktalar kırmızı ışıma yapmaktadır (Şekil 1.8). Kuantum noktalara görülebilir bütün frekanslarda ışıma yaptırabilmek ve hatta kızılötesi ışıma yaptırabilmek kontrol edilebilir bir işlem türüdür. Bu sayede QDs; tıbbi görüntüleme işlemleri, LED'ler, güneş panelleri, elektronik ve bilgisayar uygulamaları için büyük gelişmeler vaat etmektedirler. Kuantum noktaları periyodik cetvelin II-VI, III-V grubu bileşiklerinden elde edilmektedir. Neredeyse bütün yarı iletken metal bileşiklerinden kuantum nokta elde edilebilir. Optik ve elektriksel özelliklerinden kaynaklı en çok üretilen QDs; CdSe, InAs, CdS GaN, InGeAS, CdTe, PbS, PbSe, ZnS yapılarıdır.



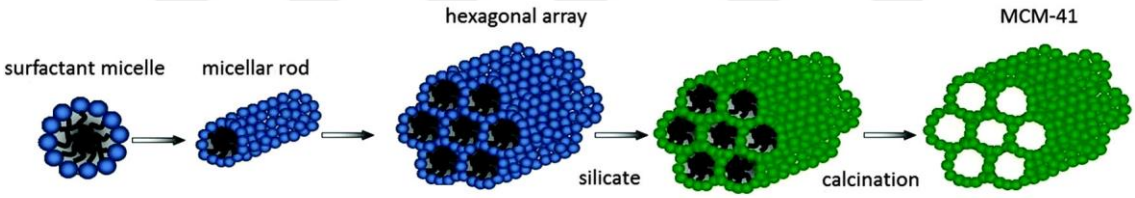
Şekil 1.8. Kuantum noktaların boyutlarının değişimiyle renklerinin değişimine örnek (Maviden kırmızıya doğru giderken boyut 2 nm'den 5 nm'ye artmaktadır.)

Günümüzde QDs akıllı nanotaşıyıcı olarak ta büyük ilgi çekmektedir. Bu ilginin nedeni öncelikle çapı 2-10 nm arasında olan oldukça küçük çekirdek boyutlarıdır. Bu özellik, QDs ları diğer ilaç dağıtım sistemlerinde bir izleyici olarak yararlı hale getirir. İkinci olarak, çok yönlü yüzey kimyası, QDs yüzey modifikasyonu için farklı yaklaşımlara izin verir. Üçüncü olarak, fotofiziksel özellikleri, ilaç taşıyıcı ve ilaç

salınımının gerçek zamanlı izlenmesi için QDs'a ekstra özellikler sağlar (Qi ve Gao, 2008).

1.5.6. Silika nanopartiküller (MSNs)

1900'lü yılların başında mezofor silika malzemeler oldukça ilgi çekmeye başlamıştır (Watermann ve Brieger, 2017). Bu materyaller arasında, MCM-41, MCM-48 ve SBA-15 en yaygın olanlarıdır. Bu malzemeler; 2-10 nm arasında değişen gözenek boyutuna sahip, 2D-hekzagonal ve 3D-kübik yapıya sahiptirler. (Yang ve ark., 2012). MSN'in kontrol edilebilir partikül boyutu, gözenekliliği, yüzey morfolojisi ve kararlılığının yüksek olması, ilaç nanotaşıyıcılar arasında oldukça dikkat çekmesine neden olmuştur (Huh, 2013; Ying, 2006). Herhangi bir sitotoksisiteye neden olmadan, hayvan ve bitki hücreleri tarafından hücre içine alımı fonksiyonel silika nanopartiküllerin bir diğer ayırt edici özelliğidir. Düzenli mezo yapılı MSN; çeşitli inorganik öncüler ile, misel oluşturabilen yüzey aktif katyonik maddelerin birleştirimesi yöntemiyle elde edilebilir (Şekil 1.9) (Yang ve ark., 2012).



Şekil 1.9. MCM-41 eldesinin şematik gösterimi

2001 yılında ilaç salım sistemi için ilk kullanılan MSN türü; MCM-41'dir. (Vallet-Regi, 2000). MCM-41 türevleri; gözenek içindeki kanallarla ilaç yükleme miktarını arttıran yüzeysel özelliklerinden dolayı, ilaç molekülleri için mükemmel taşıyıcılardır. Ayrıca, ilaç difüzyon kineği; silanol grubunun fonksiyonelleştirilmesi ile kontrol edilebilir (Tasciotti ve ark., 2008; Van Speybroeck ve ark., 2009). Silanların zengin kimyası nedeniyle nanomalzeme ve nano-biyomedikal alanında, birçok fonksiyonel, MSNs yaygın olarak çalışılmaktadır (Wu ve ark., 2013).

Diaz ve Balkus (J. Felipe Diaz, 1996), proteinler gibi moleküllerin mezofor malzemelere immobilize edilebileceğini göstermiştir. Benzer şekilde Vallet-Regi ve çalışma grubu. İbuprofen (IBU)' nin MSN yüzeyine yüklenmesini ve kontrollü bir şekilde yavaş yavaş çözelti içinde salımını incelemişlerdir (J. Felipe Diaz, 1996).

MSNs'in iç gözenekleri; MRI kontrast ajanları, floresan özellik gösteren organik moleküller ve çeşitli ilaç moleküllerinin yüklenmesini ve ilacın DNA ve RNA ya ulaşmasını kolaylaştırmaktadır. Benzer şekilde MSNs'nin dış yüzeyi çeşitli hedefleme ajanları ile fonksiyonlandırılarak ilaç hedeflemesindede kullanılmaktadır (Chou ve ark., 2011; Manzano ve Vallet-Regí, 2010; Mi-Hee Kim, 2010).

1.5.6.1. Parçacık boyutu

MSN; sulu çözeltide, katyonik, anyonik ve nötral yüzey aktif maddeler kullanılarak sentezlenebilir. Silikatlar (orto silisilik asit esteri) yüzey aktif maddenin etkisiyle polimerleşirler (Tasciotti ve ark., 2008).

MSN'nin boyutunu ve morfolojisini kontrol eden değişkenler şunlardır;

- Hidroliz hızı
- Misel şaplonu ve silika polimeri arasındaki etkileşim derecesi
- Silika kaynağının kondenzasyonu

pH'ı kontrol ederek, farklı şablonlar ve yardımcı solventler kullanarak yukarıdaki değişkenler kontrol edilebilir (Dongyuan Zhao, 1999; Qisheng Huo, 1996). Ozin ve çalışma grubu, pH 'ın yüzey morfolojisine etkisini incelemişlerdir. Hafif asidik koşullarda 1-10 μm boyutunda küresel MSN elde edilmiştir (Hong Yang, 1998). MSN'nin canlı hayvan, bitki ve bakteri hücreleri ile hücre dışı (Cheng-Yu Lai, 2002) ve hücre içi seviyede (Torney ve ark., 2007) etkileşimi Lin ve çalışma grubu tarafından gösterilmiştir. Lin ve çalışma grubu kanser ve kanser olmayan hücreler de küresel ve silindirik MSNs ile çalışmış ve küresel MSNs'in silidirik olanlara göre, kanser ve kanser olmayan hücrelere girme yeteneklerinin daha az olduğu sonucuna varmışlardır (Trewyn ve ark., 2008). Stucky ve grubu yağ-su ortamında, yüksek konsantrasyonda şablon ve hidrofobik maddeler kullanarak boyutları, yüzlerce mikrondan milimetreye kadar değişen silika küreler sentezlemişlerdir (Qisheng Huo, 1997).

Karıştırma hızı, partikül boyutunu kontrol etmede oldukça önemlidir. Karıştırma hızı yavaş olursa uzun fiberler elde edilirken, hızlı karıştırmada ince toz şeklinde nanopartiküller elde edilmektedir (S. Schacht, 2018)

1.5.6.2. Gözenek büyüklüğü

MSNs'in gözenek büyüklüğünü kontrol etmek için kullanılan parametreler şunlardır;

• Silika kaynağı ve yüzey aktif madde miktarı (J. C. Vartuli, 1994).

• Yüzey aktif maddenin paketleme kapasitesi (Qisheng Huo, 1996).

Çözelti içindeki yüzey aktif maddenin agregasyonu, pH ve çözeltinin konsantrasyonuna bağlıdır. MSNs, hem asidik hem de bazik pH'larda, farklı gözenek yapılarında sentezlenebilir. Örneğin, tabakalı mezo yapılar yüksek pH'larda (>12) sentezlenebilirken, hekzagonal yapılar ise bazik pH'ta (10-12) sentezlenebilir. Sentez ve sentez sonrasındaki hidrotermal muamele gözenek genişliğini ayarlamak için kullanılabilir. Hidrofobik zincir uzunluğu farklı yüzey aktif madde seçimi veya şişirme maddesi olarak mesitilen kullanımı, istenen gözenek büyüklüğünün elde edilmesinde önemli bir rol oynar (J. S. Beck, 1992). Gözenek genişletilmesi sentez sırasında farklı katkı maddeleri kullanılarakda yapılabilir, fakat bu amaçla kullanılan maddeler çözelti içindeki hidrofobik hidrofilik dengeyi değiştireceği için ek ayarlamalar yapılmalıdır. Mesitilen, MSNs'in boyutunu hiç değiştirmeden gözenek boyutunu 3-5 nm genişletmek için kullanılabilir. Bu şekilde elde edilen geniş gözenekli MSNs, biyomedikal alanda farklı amaçlarla kullanılmaktadır (Igor I. Slowing, 2007). Gözenek yapısını belirlemek için, X ışını kırınımı ve geçirimli elektron mikroskobu (TEM) kullanılırken, gözenek genişliğini ölçmek için azot sorpsiyon metodu kullanılmaktadır. Yaygın silika türleri olan; 2D hekzagonal p6m (MCM-41), 3D kübik Ia3d (MCM-48) ve tabakalı p2 (MCM-50) yapıları 2 ile 5 nm arasında gözenek büyüklüğüne sahiptirler (J. C. Vartuli, 1994).

1.5.6.3. Yüzey alanı

MSNs'in yüzey alanı; farmakolojik ürünlerin yüzeye adsorblanma miktarını belirleyen en önemli faktördür. Yüzey alanı arttırılarak veya azaltılarak, matriste bulunan ilacın miktarı kontrol edilebilir. Bu, durum, yüzey alanının doğrudan adsorbe olan ilaç miktarı ile orantılı olduğunu gösterir. Vallet Regi ve ark., yüzey alanı 1157 m^2g^{-1} olan MCM-41 ve yüzey alanı 719 m^2g^{-1} olan SBA-15 sentezlenmiştir. Bu nanopartiküllere aynı koşullarda Alendronat yüklendiğinde, MCM-41'de 139 mg g^{-1} ilaç, SBA-15'de 83 mg g^{-1} ilaç yüklendiğini belirtmişlerdir (Vallet-Regi ve ark., 2007). Lin ve çalışma grubu tarafından MSNs'in biyouyumluluğu hakkında yapılan bir

çalışmada ise, silanol grupları yönünden zengin olan ve geniş yüzey alanına sahip MSNs'in yüksek toksiteye sahip oldukları belirtilmiştir (Slowing ve ark., 2009).

1.5.6.4. Gözenek hacmi

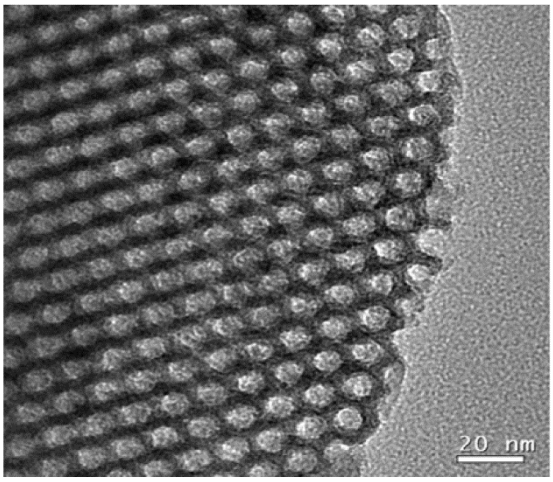
MSNs'in gözenek boyutu 15 nm'den küçük ve yüzey alanı 1000 m^2g^{-1}.civarında olduğu zaman, gözenek hacminin de 2 cm^3g^{-1} civarında olduğu bilinmektedir. Gözenek hacmi dikkate alınarak adsorbe edilen ilaç miktarı belirlenebilir. Düzenlenmiş mezofor malzemede ilacın ardışık bir şekilde yüklenmesi, ilaç-molekül içi etkileşimlerin artması nedeniyle, gözeneklerin geniş dolumuna neden olabilir, bu durum gözenek hacminin ve yüklü ilacın miktarının birbiriyle doğru orantılı olduğunu gösterir (Vallet-Regi, 2006).

1.5.7. Neden silika nanopartikül?

Günümüzde MSN oldukça önemli biyo medikal uygulamalara sahiptir. Bunun başlıca nedenleri şunlardır;

- Düzenli mezofor yapısı;

MSN sıralı ve birbiriyle bağlantılı olmayan bir gözenek yapısına sahiptir. Bu yapı, ilaç yükleme ve salım kinetiğinin oldukça iyi bir şekilde kontrol edilmesini sağlar (Chen ve ark., 2009) (Şekil l.10).



Şekil 1.10. MSN ya ait TEM görüntüsü

- Büyük gözenek hacmi ve yüzey alanı;

MSNs'in gözenek hacmi 1 cm^3/g ve yüzey alanı 700 m^2/g'ın üzerinde olduğu için yüksek ilaç yükleme kapasitesine sahiptir.

- Ayarlanabilir parçacık boyutu;

MSNs'in partikül büyüklüğünün 50 ile 300 nm arasında ve kontrol edilebilir olması canlı hücreler tarafından endositozu kolaylaştırmaktadır.

- İşlevsel çift yüzey;

MSNs, silindirik gözenek yüzeyi ve dış parçacık yüzeyi olmak üzere iki işlevsel yüzeye sahiptir. Bu silanol ihtiva eden yüzeyler, ilaç yükleme ve salımı üzerinde daha iyi kontrol sağlamak için seçici olarak fonksiyonel hale getirilebilir. Ayrıca, dış yüzey hedefleme ligandları ile konjuge edilebilir (Li ve ark., 2013).

- Biyouyumluluk;

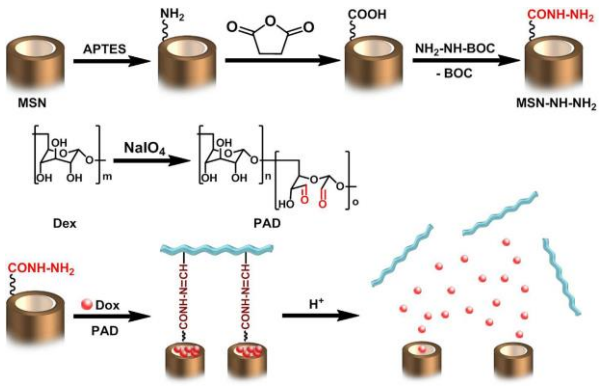
Silika FDA tarafından güvenli olarak tanımlanmıştır. Son zamanlarda bazı silika nanopartiküllerde, bazı moleküler hedefleme çalışmalrında kullanılmak üzere FDA onayı almıştır (Benezra ve ark., 2011). Yapılan çalışmalarda, MSNs'in vücut sıvısına benzetilmiş ortamda yüklerini bıraktıktan sonra üç aşamalı bir bozulma davranışı sergiledikleri bildirilmiştir (He ve ark., 2010). Ayrıca, fareler üzerinde yapılan deneylerde MSN tekrarlanan dozlarda damar yoluyla uygulanarak toksite değerlendirilmesi yapılmıştır. Klinik çalışmalar, patolojik incelemeler ve biyokimyasal sonuçlar MSNs'in düşük toksiteye sahip olduklarını göstermektedir (Liu ve ark., 2011; Fu ve ark., 2013). Bu çalışmalara ek olarak MSN'in dışkı ve idrar yoluyla tamamen dışarı atıldığıda bildirilmiştir (Fu ve ark., 2013). Bu eşsiz özellikleri, MSNs'i kontrollü ilaç/gen dağıtım sistemleri için mükemmel bir aday haline getirmektedir

MCM-41 tipi MSNs'in ilk defa Vallet-Regi ve ark.(2001) tarafından ilaç dağıtım sistemi olarak kullanılmaya başlanılmasından beri MSNs'in biyomedikal ugulamaları günümüzde artarak devam etmektedir (Vallet-Regi ve ark., 2001).

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

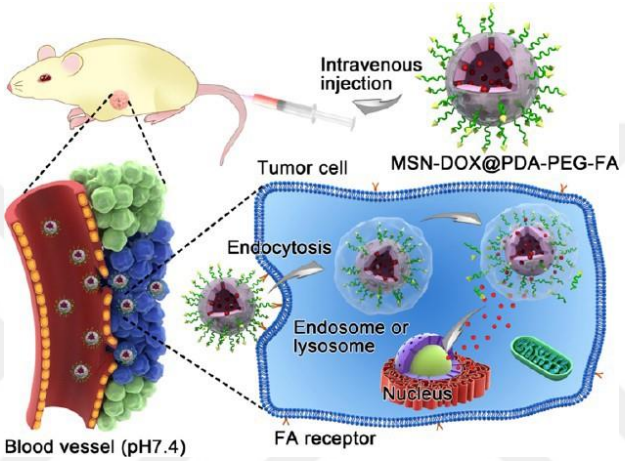
Son yıllarda, özellikle kanser hastalığının teşhis ve tedavisinde kullanılmak üzere, nano boyutta yeni akıllı sistemlerin tasarımı ve geliştirilmesi oldukça ilgi görmektedir (Chen ve ark., 2015b; Liu ve ark., 2016; Xu ve ark., 2016; Tian ve ark., 2017; Zeng ve ark., 2017; Zhao ve ark., 2017). Günümüze kadar pek çok akıllı nano ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiş, bu konudaki çalışmalar da hızla devam etmektedir (Chertok ve ark., 2008; Dash ve ark., 2011; Ma ve ark., 2016; Detappe ve ark., 2017; Tsai ve Hsu, 2017). Bu sistemler arasında, fiziko kimyasal özellikleri, ilaç taşıma kapasitesinin yüksek olması, biyouyumlu olması, kolay fonksiyonlandırılabilir olması gibi eşsiz özellikleriyle silika nanopartiküller, akıllı nano taşıyıcıların önemli bir sınıfını oluşturmaktadır (Chen ve ark., 2015a; Yang ve ark., 2015; Liu ve ark., 2016; Cheng ve ark., 2017).

Zhang ve ark., kontrollü ilaç salımı için, dekstran içeren MSN tabanlı bir nanotaşıyıcı sentezlemişlerdir (Şekil 2.1). Bu çalışmada, dekstran, öncelikle $NaIO_4$ ile yükseltgenerek üç farklı polialdehit dekstran türevi elde edilmiştir. Sonra MSN yüzeyi hidrazin ile modifiye edilerek MSN-NH-NH_2 yapısı elde edilmiştir. Model ilaç olarak kullanılan Dox yüzeye yüklendikten sonra, polialdehit dekstran türevleri silika yüzeyine bağlanarak üç farklı nanotaşıyıcı elde edilmiştir. (DOX@MSN-NH-N=C-PADs). Elde edilen nanotaşıyıcılarla çeşitli pH'lar da ilaç salım çalışmaları yapılmıştır. Çalışmalarda, pH 7.4'te dialdehit türevlerinin silika gözeneklerini kapattığı, dolayısıyla fizyolojik pH' ta herhangi bir salımın gözlenmediği, fakat yapıdaki hidrazon bağlarının asidik ortamda (pH~5.5), kırılması sonucunda, dialdehit türevlerinin yapıdan ayrıldığı ve ilaç salımının gerçekleştiği görülmüştür (Zhang ve ark., 2017a).



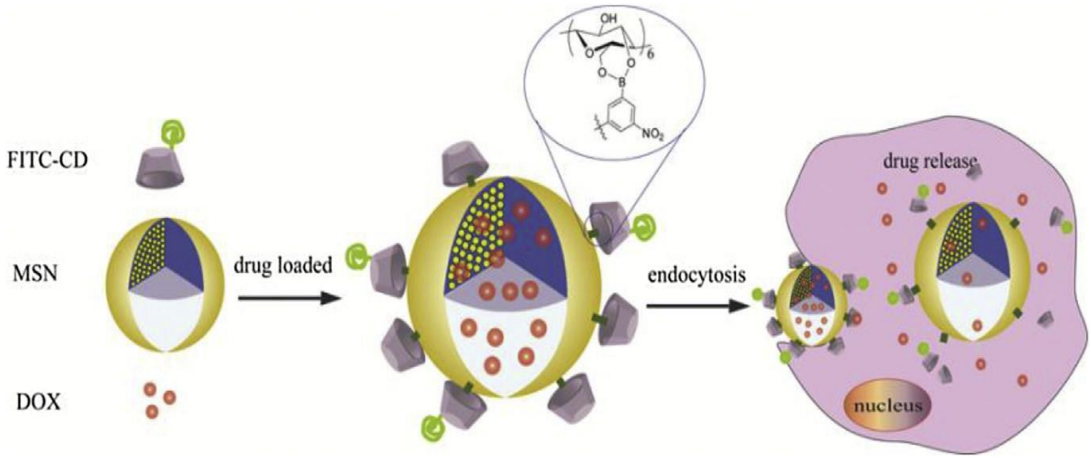
Şekil 2.1. DOX@MSN-NH-N=C-PADs sentezi

Cheng ve ark., yaptıkları çalışmada (Şekil 2.2); polidopamin (PDA) modifiye MSN yüzeyini, PEG-FA hedefleyici ile fonksiyonlandırarak kanser tedavisi için yeni bir ilaç taşıyıcı sistem geliştirmişlerdir. Elde edilen yapılar, TEM, XPS, TGA, FT-IR gibi tekniklerle karakterize edilmiştir. PDA, pH duyarlı bir polimerdir ve MSN gözeneklerini kapatarak, fizyolojik pH ta Dox salımını engellemek için kullanılmıştır. Elde edilen veriler, sentezlenen MSNs-DOX@PDA-PEG-FA nano taşıyıcısın pH'a oldukça duyarlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca FA ten dolayı elde edilen yapının HeLa hücrelerine karşı daha seçimli olduğu gözlenmiştir (Cheng ve ark., 2017).



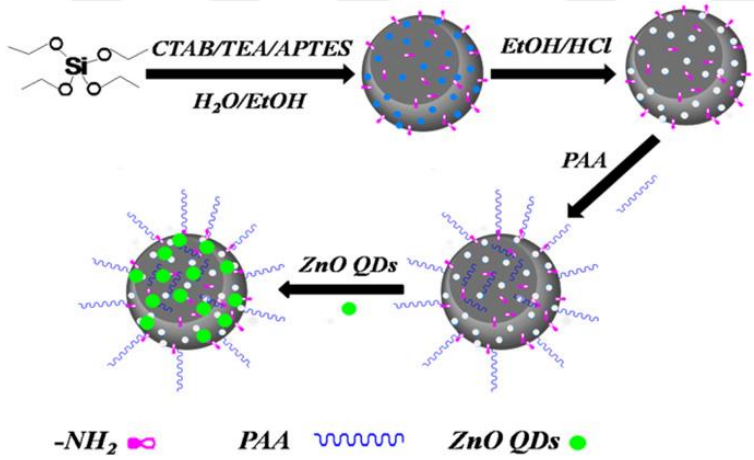
Şekil 2.2. Dox-yüklü MSN-DOX@PDA−PEG−FA yapısı

Chen ve ark., kontrollü ilaç salımını sağlamak amacıyla, asidik ortamda aktive olabilen Dox yüklü MSN sentezlemişlerdir (Şekil 2.3). Bu sistemde floresein izotiyosiyanat bağlı siklodekstrin (FITC-CD) bileşiği, biyouyumlu olması ve molekül boyutunun silika gözeneklerine uyumlu olması nedenleriyle silika gözeneklerini kapatmak amacıyla seçilmiştir. Çalışmada, MSN, öncelikle 3-karboksi-5-nitrofenilboronik asit ile modifiye edilmiş, bu nanopartikül ile FITC-CD reaksiyonu gerçekleştirilerek yapıda asit duyarlı fenil boronik ester bağı elde edilmiştir (MSN@FITCD) (Chen ve ark., 2015b).



Şekil 2.3. MSN@FITCD yapısına Dox yüklenmesi ve bu yapıdan Dox salımı

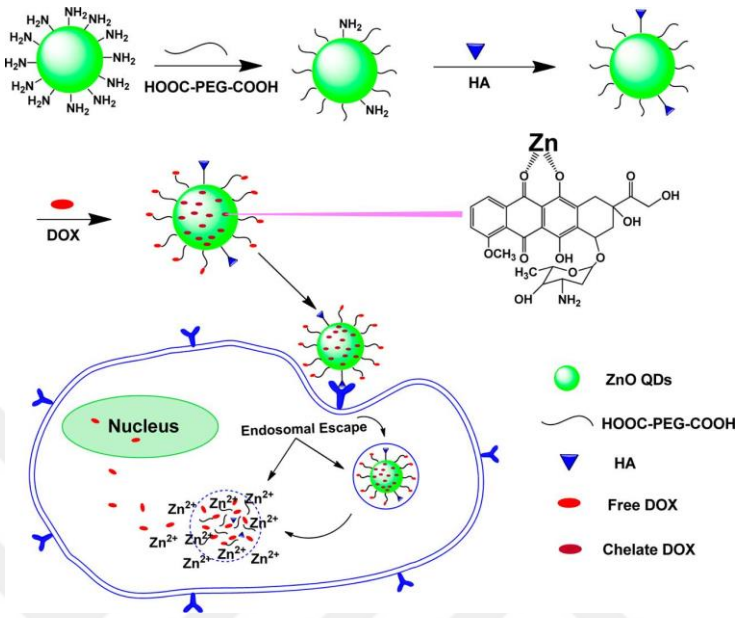
Zhang ve ark. yaptıkları çalışmada (Şekil 2.4.) öncelikle silika yüzeyini amin grubu ile fonksiyonlandırarak, bu yüzeyi Poliakrilik asit (PAA) ile kaplamışlardır. İlaç yükleme kapasitesini arttırmak için, silika gözenekleri ZnO QDs ile kapatılmıştır. Model ilaç olarak Metotreksat (MTX) ile çalışılmış ve yükleme kapasitesinin %28 olduğu belirtilmiştir. Sitotoksite çalışmaları elde edilen nanotaşıyıcının oldukça biyouyumlu olduğunu göstermiştir (Zhang ve ark., 2017b).



Şekil 2.4. MSN@PAA@ZnO yapısına MTX yüklenmesi ve bu yapıdan MTX salımı

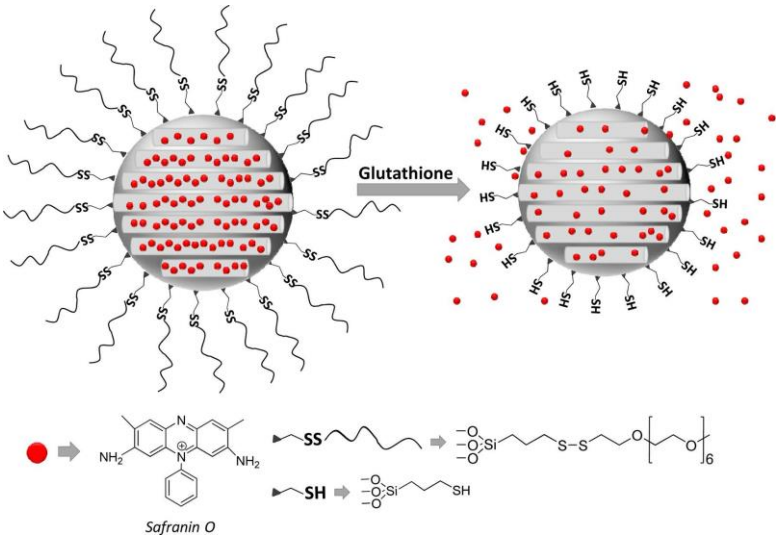
Cai ve çalışma grubu, ilaçların hücre içine kontrollü salımı için asidik ortamda bozunabilen ~3 nm boyutlu ZnO QDs tabanlı bir nanotaşıyıcı sentezlemişlerdir (Şekil 2.5). Bu nanotaşıyıcıyı fizyolojik ortamda kararlı halde tutmak için dikarboksil grubu içeren PEG ile ve hedefleme ajanı olarak HA ile modifiye ederek, Dox moleküllerini nanotaşıyıcıya kovalent etkileşimle yüklemişlerdir. Yaptıkları deney sonucunda pH duyarlı ZnO QDs moleküllerinin kanser hücreleri tarafından hücre içine alındıktan

sonra asidik endozom/lizozom nediniyle Zn $^{2+}$ oluşturacak şekilde çözündüğünü, ve bu çözünmenin kontrollü bir şekilde Dox salımına neden olduğunu belirtmişlerdir. (Cai ve ark., 2016).



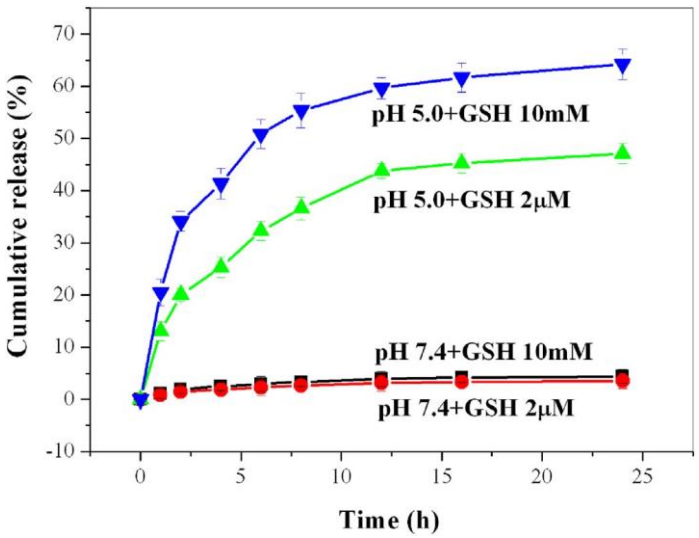
Şekil 2.5. ZnO QDs içeren nanotaşıyıcı sentezi

Günümüzde, GSH'ın yüksek konsantrasyonuna bağlı, hücre içi indirgeyici ortam nedeniyle redoks duyarlı ilaç salım sistemleri, bilim adamlarının oldukça ilgisini çekmektedir. Bu bağlam da; Gimenez ve ark; GSH duyarlı, Dox ve Safranin O moleküllerini kontrollü bir şekilde salabilen, PEG modifiye bir MSN nanotaşıyıcı sistem sentezlemişlerdir (Şekil 2.6). Çalışmalarında, bu PEG modifiye nanosistemden sadece düşük yüksek GSH konsantrasyonlarında Dox ve Safranin O salımının gerçekleştiğini belirtmişlerdir. (Gimenez ve ark., 2015).



Şekil 2.6. GSH duyarlı nanotaşıyıcının şematik gösterimi

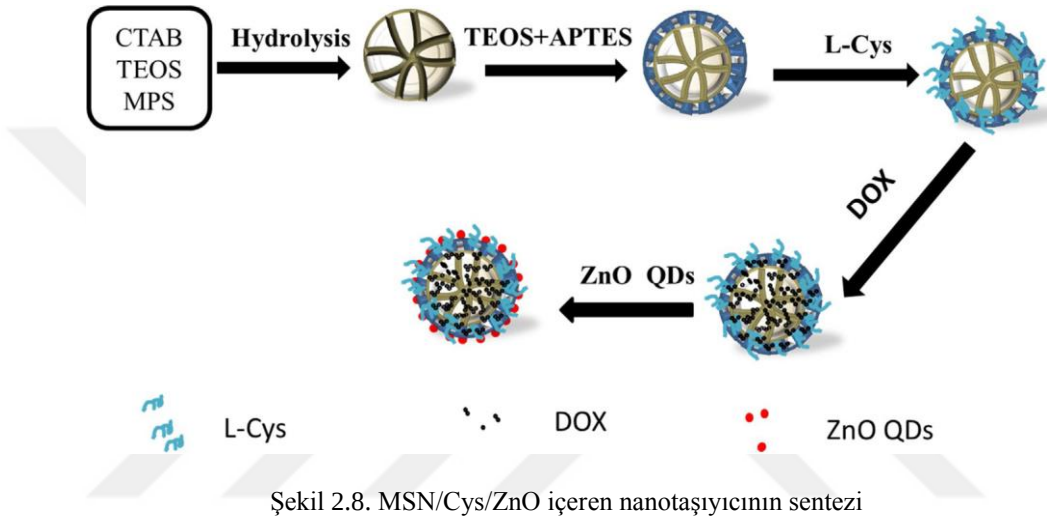
Lin ve çalışma grubu, fizyolojik ortamda ilaç salımı yapmayan hedeflendirilmiş ve pH/redoks duyarlı bir nanotaşıyıcı sentezlemişlerdir. Bu yapıda Dox, MSN yüzeyine tümör mikro çevresinde kırılabilen hidrazon bağlarıyla bağlanmıştır. Nanotaşıyıcının kararlılığını ve hücresel alımını arttırmak için nanotaşıyıcı HA ile fonksiyonlandırılmıştır. Dox salımı çeşitli pH and GSH konsantrasyonlarında çalışılmıştır. Şekil 2.7'den de görüleceği gibi 25 saat sonunda, Dox salımı pH: 7.4 ve 10 mM GSH ortamında yaklaşık sıfır iken pH:5 ve 10 Mm GSH ortamında yaklaşık % 60'a ulaşmıştır (Lin ve ark., 2017).



Şekil 2.7. Çeşitli pH ve GSH konsantrasyonlarında Dox salım grafiği

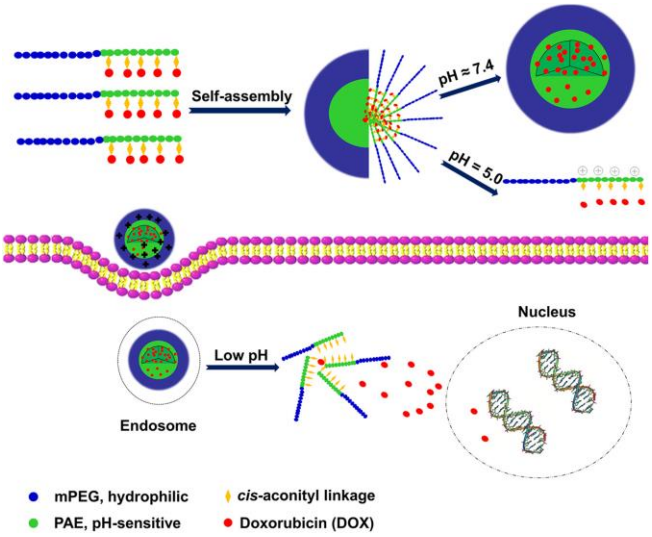
Zhang ve çalışma grubu, MSN tabanlı, sistin (Cys) ve ZnO ODs içeren, pH/redoks duyarlı bir ilaç salım sistemi geliştirmişlerdir. Cys molekülünü, MSN

gözeneklerini kapatarak ilaç salımını fizyolojik pH ta engellemek için kullanmışlardır (Şekil 2.8) ZnO ODs moleküllerini hem MSN gözeneklerini daha fazla kapatarak salımı fizyolojik pH ta daha da azaltmak, hem de floresans prop olarak kullanmışlardır. Yapılan in vitro hücresel sitotoksisite ölçümleri ve hemoliz analizi, sentezlenen nanotaşıyıcının yüksek oranda biyo uyumlu olduğunu göstermiştir. Ayrıca nanotaşıyıcının geniş yüzey alanı (201 $m^2 g^{-1}$) ve geniş gözenek boyutu (0.426 $cm^3 g^{-1}$) nedenleriyle ilaç taşıyıcı olarak kullanımının olukça uygun olduğunu belirtmişlerdir (Zhang ve ark., 2018).



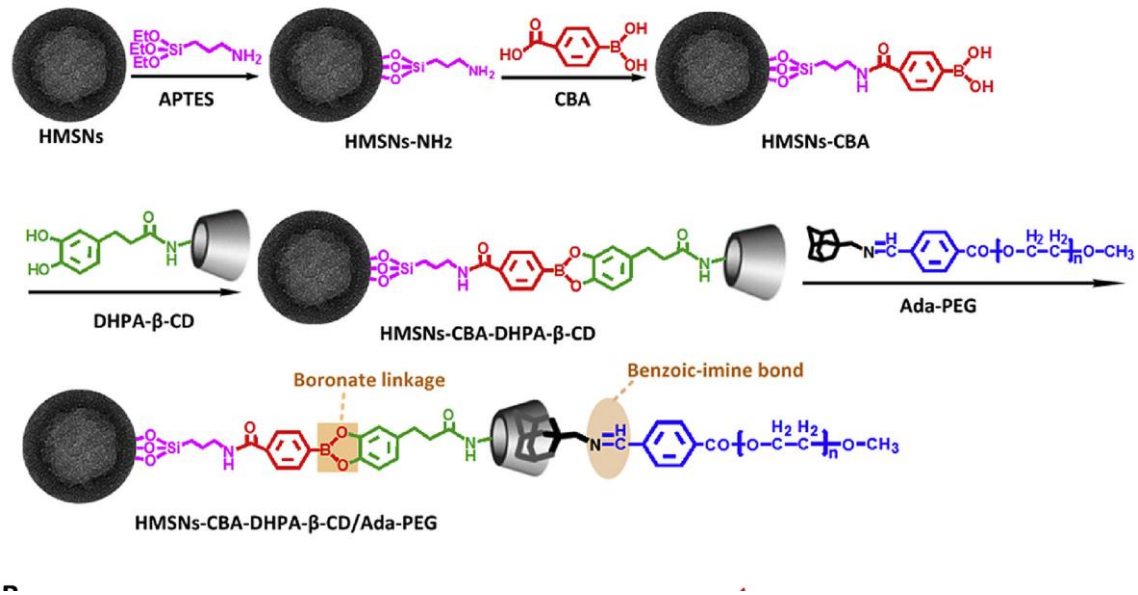
Şekil 2.8. MSN/Cys/ZnO içeren nanotaşıyıcının sentezi

Huang ve çalışma grubu; anti-kanser ilacı Dox molekülünü, pH duyarlı bir amfifilik diblok kopolimer olan; poli (etilen glikol) metil eter-b-poli (β-amino ester) molekülüne bağlayarak, yeni pH duyarlı bir nanotaşıyıcı sentezlemişlerdir (Şekil 2.9). Elde edilen nanoyapıya, Dox moleküllerinin etkin bir şekilde konjuge olduğu fakat asidik ortamda misel yapısının bozulması nedeniyle hızlı bir şekilde salındığını ve serbest ilacın tümor hücrelerinde lokalize olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, Dox yüklü nanotaşıyıcının, serbest Dox molekülüne göre B16F10 hücrelerinde daha fazla terapatik etki gösterdiğini belirtmişlerdir (Huang ve ark., 2018).



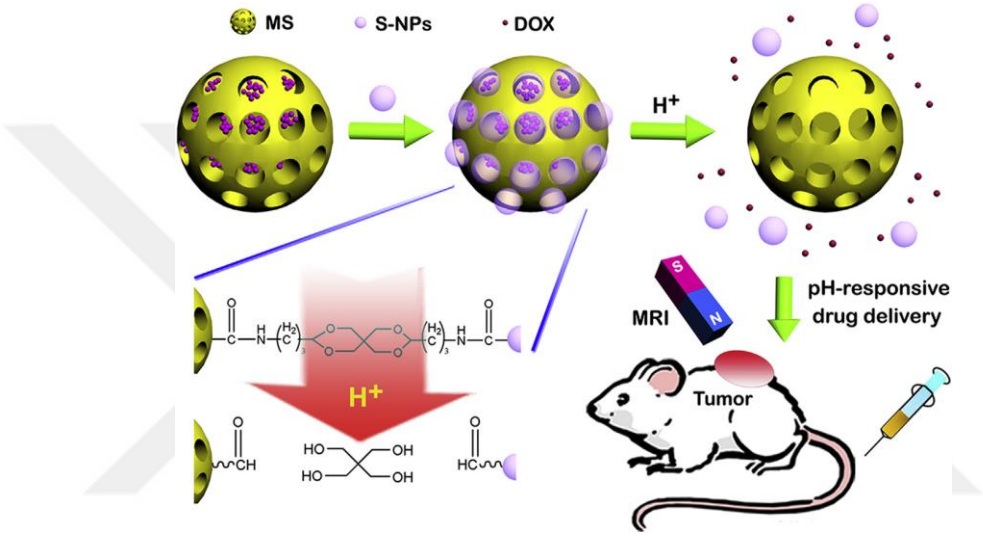
Şekil 2.9. Polimerik misellerin sulu ortamda kendiliğinden tabakalanması ve pH a bağlı ilaç salımı

Liu ve ark., MSN yüzeyini, ilk olarak boronik asit ile fonksiyonlandırarak, β siklodekstrin (β-CD) moleküllerini pH duyarlı boronik asit-katehol bağı ile yüzeye bağlamışlardır. β-CD, uygun boyutu ve biyouyumluluğu nedeniyle MSN gözeneklerini kapatmak için kullanılmıştır (Şekil 2.10). Daha sonra adamantan (Ada) molekülü PEG ile pH duyarlı benzoik-imin bağı oluşturularak fonksiyonlandırılmıştır. Elde edilen Ada-PEG yapısı ilk basamakta elde edilen β-CD ile fonksiyonlandırılmış MSN yüzeyine bağlanmıştır. Deneysel çalışmalar sentezlenen nanotaşıyıcının oldukça biyouyumlu olduğunu doğrulamıştır (Liu ve ark., 2016).



Şekil 2.10. Boronik asit modifiye MSN sentezi ve pH a bağlı ilaç salımı

Chen ve çalışma grubu, MSN yüzeyini öncelikle asetal grubu ile fonksiyonlandırarak, bu yüzeye lantanit katkılı nanopartikül bağlamışlardır. Model ilaç olarak Dox çalışılmış ve ilaç salımının, asetal bağının hidrolizi ile sadece asidik ortamda gerçekleştiği görülmüştür. Fareler üzerinde yapılan damardan uygulama sonucunda, elde edilen nano yapının bazı organlarda biriktiği ve kısa bir süre sonunda toksik olmayan türlere dönüştüğü rapor edilmiştir (Şekil 2.11). Deneysel çalışmalar elde edilen nano sistemin hem canlı hem de deneysel ortamda kanser tedavisi için oldukça etkili olduğunu göstermiştir (Chen ve ark., 2015b).



Şekil 2.11. MSN yüzeyinin asetal grubu ile fonksiyonlandırılması ve ilaç salımı

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Kimyasal Maddeler	**Firma**
Tetraetilortosilikat (TEOS)	Across
Setil-trimetil-amonyum bromür (CTAB)	Across
3-aminopropiltrimetoksisilan (APTMS)	Across
Çinko asetat	Alfa Aesar
3-(2-Piridildithio)propanoik asit (Py-SS-COOH)	Santa Cruz
Doksorubisin hidroklorür (Dox)	Fisher
(3-Merkaptopropil)trimetoksisilan (MPTMS)	Sigma
N-(3-Dimetilaminopropil)-N′-etilkarbodiimidhidroklorür (EDC)	Sigma
N-Hidroksisüksinimid (NHS)	Sigma
L-Glutatyon (GSH)	Sigma
Sodyum hidroksit (NaOH)	Sigma
Diyaliz torbası (MWCO 12,000 Da)	Sigma
Potasyum hidroksit (KOH)	Merck
Hekzan	Merck
N,N-dimetilformamid (DMF)	Merck
Metanol (MeOH)	Merck
Etanol (EtOH)	Merck
Hidroklorik asit (%37) (HCl)	Merck
orto-Fosforik asit% 85 (H_3PO_4)	Merck

3.2. Kullanılan Cihazlar

Cihazlar	**Marka**
UV-Spektrofotometre	Shimadzu UV-1700
FT-IR Spektrofotometre	Perkin Elmer 100 FT-IR
TEM	JEOL JEM-2100 (UHR)
Zetasizer	Zetasizer Nano ZS

3.3. Akıllı İlaç Taşıyıcı Sistemin Sentezi

Tez kapsamında gerçekleştirilen sentezler Şekil 3.1'de verilmiştir.

- İlk aşamada;

  MSN sentezlenmiştir.

- İkinci adımda;

Bu nanopartikülün, MPTMS ile reaksiyonu sonucu MSN, –SH grubu ile fonksiyonlandırılmıştır (MSN-SH).

- Üçüncü basamakta;

Elde edilen nanopartikülün (MSN-SH), Py-SS-COOH ile reaksiyonu sonucu asit grubu içeren silika nanopartikül türevi (MSN-S-S-COOH) elde edilmiştir.

- Dördüncü basamakta;

  ZnO QDs sentezlenmiştir.

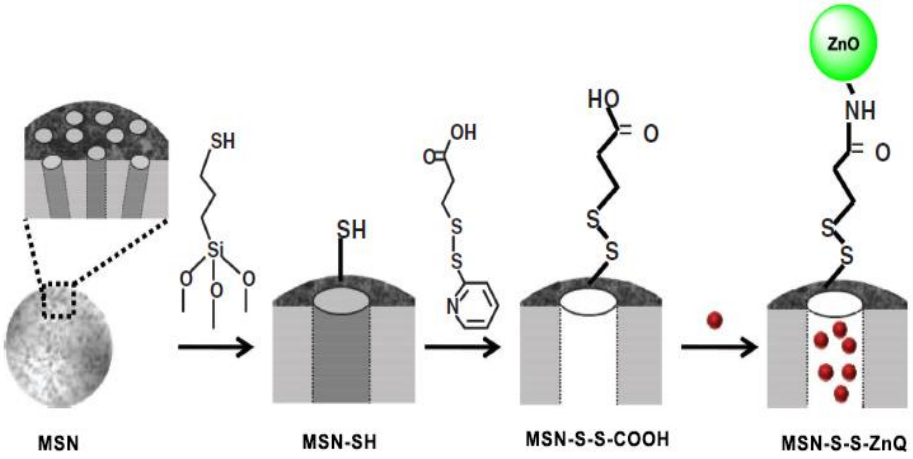
- Beşinci basamakta;

  Amin gubu içeren ZnO QDs (ZnO-NH_2-QDs) sentezlenmiştir.

- Altıncı basamakta;

Nano taşıyıcıya ilaç yüklenmesi ve silika gözeneklerinin ZnO QDs ile kapatılması gerçekleştirilmiştir.

Nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal özellikleri; FT-IR, UV-Vis, TEM ve Zeta sizer cihazları yardımıyla belirlenmiştir. Sentezlenen nanotaşıyıcı sistemden in vitro ilaç salım çalışmaları, üç farklı tampon çözelti ortamında (pH:3, pH: 5 ve pH: 7.4) yapılmıştır.



Şekil 3.1. Nanotaşıyıcının sentezi

3.3.1. MSN sentezi

Bu maddenin sentezi literatür de verilen yönteme göre yapılmıştır (Zhang ve ark., 2013). CTAB (1g) ve NaOH (0.28g) saf suda çözülerek (480 ml) 80 °C'ye ısıtılır. Bu çözeltiye TEOS (5.30 ml) kuvvetli bir şekilde karıştırılarak damla damla eklenir. Karışım 80 °C'de 2 saat karıştırılır, santrifüjlenir (8000 r/dk, 10 dk.) elde edilen ürün, birkaç kez MeOH ile yıkanır ve vakumda kurutulur.

3.3.2. MSN-SH sentezi

Bu maddenin sentezi literatür de verilen yönteme göre yapılmıştır (Zhang ve ark., 2013). MSN (1.35 g) MeOH'de (108 ml) süspansiyon haline getirilir. Bu çözeltiye MPTMS (3 ml) eklenerek, oda sıcaklığında 24 saat karıştırılır. Çözelti santrifüjlenir (8000 r/dk, 10 dk.). Elde edilen ürün, altı kere MeOH ile yıkanır ve vakumda kurutulur.

CTAB maddesini MSN yapısından uzaklaştırmak için; bu basamakta elde edilen MSN-SH, MeOH (50 ml) ve der. HCl (3 ml) karışımında 24 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Bu işlem 2 kere tekrarlanır. Çözelti santrifüjlenir (8000 r/dk, 10 dk.). Elde edilen ürün, fazla miktarda su ve MeOH ile yıkanır. Vakum da kurutulur.

3.3.3. MSN-S-S- COOH sentezi

Bu maddenin sentezi literatür de verilen yönteme göre yapılmıştır (Jiao ve ark., 2016). 250 mg MSN-SH 15 ml EtOH'de süspansiyon haline getirilir. Bu çözeltıye 50

mg Py-SS-COOH ilave edilerek, oda sıcaklığında 36 saat karıştırılır. Çözelti santrifüjlenir (8000 r/dk, 10 dk.). Elde edilen ürün, üç kere EtOH ile yıkanır. Vakum da kurutulur.

3.3.4. ZnO QDs sentezi

Bu maddenin sentezi literatür de verilen yönteme göre yapılmıştır (Patra ve ark., 2009). 0.55 g çinko asetat 25 ml MeOH de çözülerek 0.1M çinko asetat çözeltisi hazırlanır. 2.8 g of KOH 50 ml MeOH de çözülerek 1M KOH çözeltisi hazırlanır. Oda koşullarında çinko asetat çözeltisi üzerine KOH çözeltisi damla damla ilave edilerek çözeltinin pH'sı 10' a sabitlenir. Çözelti oda koşullarında 1 saat karıştırılır. Bu çözeltiye 0.25 ml TEOS eklenir. Daha sonra 0.5 ml distile su ilave edilir. Çözelti santrifüjlenir (8000 r/dk, 10 dk.). Elde edilen ürün, birkaç kez MeOH ve distile su ile yıkanarak oda sıcaklığında vakum da kurutulur.

3.3.5. ZnO-NH_2 QDS sentezi

Bu maddenin sentezi literatür de verilen yöntemine göre yapılmıştır (Qiu ve ark., 2017). 0.5 g ZnO QDs 20 ml DMF de süspanisyon haline getirilir. Bu çözeltiye 0.1 ml APTMS eklenir ve 20 dakika karıştırılır. Çözelti santrifüjlenir (8000 r/dk, 10 dk.). Elde edilen ürün, DMF ile yıkanarak oda sıcaklığında vakum da kurutulur.

3.3.6. Nanopartiküle Dox yükleme ve gözeneklerin ZnO QDs ile kapatılması (MSN-S-S-COO-ZnO)

Bu aşama literatür de olmayıp aşağıda verilen şekilde yapılmıştır. MSNS-S-COOH (20 mg) ve Dox (4 mg), 5 ml PBS (pH: 7.4) tampon çözeltisine eklenerek 37 °C' de 12 saat karıştırılır. Bu çözeltiye, yapıdaki karboksil gruplarını aktifleştirmek için 20 mg EDC ve 20 mg NHS' nin 2 ml sudaki çözeltileri eklenir. Aynı koşullarda 30 dakika karıştırılır. Daha sonra, 20 mg ZnO-NH_2 QDs, 10 ml PBS (pH: 7.4) de süspansiyon haline getirilerek bu çözeltiye eklenir. Çözelti 37 °C 'de 8 saat daha karıştırılır. Çözelti santrifüjlenir (8000 r/dk, 10 dk.). Elde edilen ürün, PBS (pH: 7.4) ile yıkanarak, bütün yıkama çözeltisi toplanarak, nanotaşıyıcının, Dox yükleme kapasitesi bulunur. Ürün oda sıcaklığında vakum da kurutulur.

3.3.7. MSN-S-SCOOH nanopartikülüne Dox yükleme

Bu aşama literatürde olmayıp aşağıda verilen şekilde yapılmıştır. MSNS-S-COOH (20 mg) ve Dox (4 mg), 5 ml PBS (pH: 7.4) tampon çözeltisine eklenerek 37 °C ‘de 24 saat karıştırılır. Çözelti santrifüjlenir (8000 r/dk, 10 dk.). Elde edilen ürün, PBS (pH: 7.4) ile yıkanarak, oda sıcaklığında vakum da kurutulur.

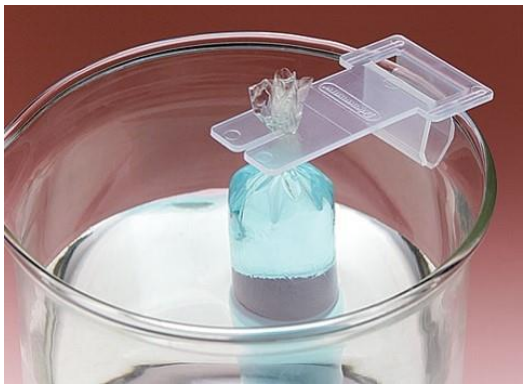
3.4. MSN-S-S-COO-ZnO Nanopartikülünün İlaç Yükleme Kapasitesinin Belirlenmesi

Hazırlanan nanopartikülün ilaç yükleme kapasitesi (%YK) direkt olarak nanopartikül içinde bulunan etkin madde miktarından veya dolaylı olarak serbest halde bulunan ve nanopartikül içerisine girmeyen etkin madde miktarının tayini ile hesaplanabilir. Bu tez çalışmasında 2. yöntem kullanılmıştır. Nanopartiküle Dox yükleme ve gözeneklerin ZnO QDs ile kapatılması (MSN-S-S-COO-ZnO) aşamasında (Bölüm 3.3.6) yıkama basamağında, bütün yıkama çözeltileri toplanmıştır. Bu yıkama çözeltisindeki Dox miktarı (Nanopartiküle tutunmayıp, serbest halde kalan) UV-Vis yöntemi ile tayin edilmiştir. Nanopartikülün %YK değerleri aşağıdaki formül kullanılarak bulunmuştur.

$$\%YK = \frac{\text{Toplam etkin madde miktarı} - \text{Yüklenmemiş etkin madde miktarı}}{\text{Nanopartikül ağırlığı (mg)}} \times 100$$

3.5. İn Vitro İlaç Salım Çalışmaları

Dox yüklü nanopartikülden (MSN-S-S-COO-ZnO) 1 mg alınmış, 1 ml çözücü ortamında sonike edilerek dializ torbasına (MWCO= 12000 Da) aktarılmıştır. Dializ torbası 15 ml çözücü içeren behere (Şekil 3.2) daldırılarak, mağnetik balık yardımıyla 37 °C'de karıştırılmıştır. Birer saat aralıklarla, beherdeki çözücüden 3 ml alınarak, toplam çözelti hacmini sabit tutmak amacıyla behere eşit miktarda taze çözücü ilave edilmiştir. UV spektrofotometrik yöntem kullanılarak, toplanan numunelerin 498 nm dalga boyundaki absorbansları ölçülüp, çözeltideki Dox miktarı belirlenerek, zamana karşı Dox salım grafikleri oluşturulmuştur.



Şekil 3.2. İlaç salımının incelendiği dializ ortamı

Çalışılan çözücü ortamları

- pH:7.4
- pH:5
- pH:3
- 0.1 mM GSH
- 1 mM GSH
- 10 mM GSH
- pH:7.4 ve 10 Mm GSH
- pH:3 ve 10 Mm GSH

Bu deneyler için kullanılan tampon çözeltiler 0.1 M H_3PO_4'ün 0.1 M NaOH ile titrasyonu ile hazırlanmıştır.

0.1 mM, 1 mM ve 10 mM GSH çözeltileri, gerekli GSH miktarlarının tartılarak, pH:7.4 PB çözeltisinde çözünmesiyle hazırlanmıştır.

pH:7.4 ve 10 Mm GSH ortamı, gerekli GSH miktarının tartılarak, pH:7.4 PB çözeltisinde çözünmesiyle hazırlanmıştır.

pH:3 ve 10 Mm GSH ortamı, gerekli GSH miktarının tartılarak, pH:3 PB çözeltisinde çözünmesiyle hazırlanmıştır.

Ayrıca ZnO QDs nanopartikülünün silika gözeneklerini kapatarak fizyolojik pH ta ilaç salımını engellediğini ispatlamak amacıyla MSN-S-S-COOH nanopartiküle Dox yüklenerek bu nanopartikülden ilaç salımı pH:7.4 ortamında dializ işlemi yapılarak incelenmiştir.

3.5.1. pH:7.4 PBS ortamında ilaç salım çalışmaları

1 mg MSN-S-S-COO-ZnO, 1 ml pH:7.4 PB ortamında sonike edilerek dializ torbasına (MWCO= 12000 Da) aktarılmıştır. Dializ torbası 15 ml pH:7.4 PBS içeren behere daldırılarak, mağnetik balık yardımıyla 37 °C' de karıştırılmıştır. Birer saat aralıklarla, beherdeki çözücüden 3 ml alınarak, toplam çözelti hacmini sabit tutmak amacıyla behere eşit miktarda taze çözücü ilave edilmiştir. UV spektrofotometrik yöntem kullanılarak, toplanan numunelerin 498 nm dalga boyundaki absorbansları ölçülüp, çözeltideki Dox miktarı belirlenerek, zamana karşı Dox salım grafikleri oluşturulmuştur.

3.5.2. pH:5 PBS ortamında ilaç salım çalışmaları

1 mg MSN-S-S-COO-ZnO, 1 ml pH:5 PBS ortamında sonike edilerek dializ torbasına (MWCO= 12000 Da) aktarılmıştır. Dializ torbası 15 ml pH:5 PBS içeren behere daldırılarak, mağnetik balık yardımıyla 37 °C' de karıştırılmıştır. Birer saat aralıklarla, beherdeki çözücüden 3 ml alınarak, toplam çözelti hacmini sabit tutmak amacıyla behere eşit miktarda taze çözücü ilave edilmiştir. UV spektrofotometrik yöntem kullanılarak, toplanan numunelerin 498 nm dalga boyundaki absorbansları ölçülüp, çözeltideki Dox miktarı belirlenerek, zamana karşı Dox salım grafikleri oluşturulmuştur.

3.5.3. pH:3 PBS ortamında ilaç salım çalışmaları

1 mg MSN-S-S-COO-ZnO, 1 ml pH:3 PBS ortamında sonike edilerek dializ torbasına (MWCO= 12000 Da) aktarılmıştır. Dializ torbası 15 ml pH:3 PBS içeren behere daldırılarak, mağnetik balık yardımıyla 37 °C' de karıştırılmıştır. Birer saat aralıklarla, beherdeki çözücüden 3 ml alınarak, toplam çözelti hacmini sabit tutmak amacıyla behere eşit miktarda taze çözücü ilave edilmiştir. UV spektrofotometrik yöntem kullanılarak, toplanan numunelerin 498 nm dalga boyundaki absorbansları ölçülüp, çözeltideki Dox miktarı belirlenerek, zamana karşı Dox salım grafikleri oluşturulmuştur.

3.5.4. 0.1 mM GSH ortamında ilaç salım çalışmaları

1 mg MSN-S-S-COO-ZnO, 1 ml 0.1 Mm GSH ortamında sonike edilerek dializ torbasına (MWCO= 12000 Da) aktarılmıştır. Dializ torbası 15 ml 0.1 Mm GSH içeren behere daldırılarak, mağnetik balık yardımıyla 37 °C'de karıştırılmıştır. Birer saat aralıklarla, beherdeki çözücüden 3 ml alınarak, toplam çözelti hacmini sabit tutmak amacıyla behere eşit miktarda taze çözücü ilave edilmiştir. UV spektrofotometrik yöntem kullanılarak, toplanan numunelerin 498 nm dalga boyundaki absorbansları ölçülüp, çözeltideki Dox miktarı belirlenerek, zamana karşı Dox salım grafikleri oluşturulmuştur.

3.5.5. 1 mM GSH ortamında ilaç salım çalışmaları

1 mg MSN-S-S-COO-ZnO, 1 ml 1 Mm GSH ortamında sonike edilerek dializ torbasına (MWCO= 12000 Da) aktarılmıştır. Dializ torbası 15 ml 1 Mm GSH içeren behere daldırılarak, mağnetik balık yardımıyla 37 °C' de karıştırılmıştır. Birer saat aralıklarla, beherdeki çözücüden 3 ml alınarak, toplam çözelti hacmini sabit tutmak amacıyla behere eşit miktarda taze çözücü ilave edilmiştir. UV spektrofotometrik yöntem kullanılarak, toplanan numunelerin 498 nm dalga boyundaki absorbansları ölçülüp, çözeltideki Dox miktarı belirlenerek, zamana karşı Dox salım grafikleri oluşturulmuştur

3.5.6. 10 mM GSH ortamında ilaç salım çalışmaları

1 mg MSN-S-S-COO-ZnO, 1 ml 10 Mm GSH ortamında sonike edilerek dializ torbasına (MWCO= 12000 Da) aktarılmıştır. Dializ torbası 15 ml 10 Mm GSH içeren behere daldırılarak, mağnetik balık yardımıyla 37 °C' de karıştırılmıştır. Birer saat aralıklarla, beherdeki çözücüden 3 ml alınarak, toplam çözelti hacmini sabit tutmak amacıyla behere eşit miktarda taze çözücü ilave edilmiştir. UV spektrofotometrik yöntem kullanılarak, toplanan numunelerin 498 nm dalga boyundaki absorbansları ölçülüp, çözeltideki Dox miktarı belirlenerek, zamana karşı Dox salım grafikleri oluşturulmuştur

3.5.7. pH: 3/10 mM GSH ortamında ilaç salım çalışmaları

1 mg MSN-S-S-COO-ZnO, 1 ml pH:3/10 Mm GSH ortamında sonike edilerek dializ torbasına (MWCO= 12000 Da) aktarılmıştır. Dializ torbası pH:3/10 Mm GSH içeren behere daldırılarak, mağnetik balık yardımıyla 37 °C' de karıştırılmıştır. Birer saat aralıklarla, beherdeki çözücüden 3 ml alınarak, toplam çözelti hacmini sabit tutmak amacıyla behere eşit miktarda taze çözücü ilave edilmiştir. UV spektrofotometrik yöntem kullanılarak, toplanan numunelerin 498 nm dalga boyundaki absorbansları ölçülüp, çözeltideki Dox miktarı belirlenerek, zamana karşı Dox salım grafikleri oluşturulmuştur

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Günümüzde kanser, tüm hastalıklar arasında en önemli ölüm nedenlerinden biridir. Kemoterapi ise; kanser tedavisi için oldukça etkili bir yöntemdir. Bu yöntemde kullanılan birçok antitümör ilacın, normal hücreler tarafından spesifik olmayan alımına bağlı olarak belirgin yan etkileri vardır (Malachowski ve ark., 2014). Bu sorunları çözebilmek için, etkili terapatik stratejilerin tasarlanması ve geliştirilmesine ihtiyaç duyulduğu açıktır. Nanoteknoji alanında yapılan çalışmalar, nanotaşıyıcılar içinde kapsüllenmiş ilacın, "serbest" ilaçların neden olduğu problemleri ortadan kaldırdığını ve terapatik etkinliğinin daha fazla olduğunu göstermiştir (Agrawal ve ark., 2018; Khan ve ark., 2018; Srimathi ve ark., 2018; Wang ve ark., 2018).

Nanotaşıyıcılar arasında MSN, yüksek stabilitesi, biyouyumluluğu, geniş yüzey alanı ve ayarlanabilir gözenek büyüklüğü özellikleriyle büyük ilgi görmüştür (Correia ve ark., 2015). Işık (Lu ve ark., 2008), sıcaklık (Chung ve ark., 2008), pH (Cao ve ark., 2016) ve biyomoleküller (Chung ve ark., 2008) gibi, iç ve dış uyaranlar ile birlikte, MSN gözeneklerinin açılıp kapanmasını kontrol ederek, ilaç salım etkinliğini arttırmak için, çeşitli nanoparçacıklar (Zhang ve ark., 2015; Qiu ve ark., 2016), polimerler (Zhu ve ark., 2011), DNA (Climent ve ark., 2010) ve proteinler (Wu ve ark., 2013) gibi çeşitli kapıcılar (gatekeeper) ile MSN yüzeyi fonksiyonlandırılmıştır.

Bir uyarana duyarlı, ideal bir ilaç taşıma sisteminin, iki özelliğe sahip olması gereklidir. Birincisi, nanotaşıyıcıdan ilaç salımı takip edilebilmeli, ikincisi hedeflenen bölgeye gelmeden herhangi bir ilaç salım yapmayarak, hedeflenen bölgede uyaranların etkisiyle ilaç salımını gerçekleştirebilmelidir.

Günümüzde hem temel hem de klinik uygulamalara yönelik, birçok optik görüntüleme teknolojisi geliştirilmiştir. Organik boyalar, hücre içindeki ilaç iletimi görüntülemek için kullanılan geleneksel optik problardır (Zhao ve ark., 2014). İlaç salımını izleyebilmek için en ideal probların floresans özelliğe sahip olan ilaç molekülleri olmasına rağmen (Fang ve ark., 2012) ilaç moleküllerinin pek çoğu floresans özelliğe sahip olmayıp ışık absorbe etmezler. Bu nedenle, ilaç salımını izleyebilmek için, floresan boyalar genellikle kovalent bağ yoluyla ilaç moleküllerine konjuge edilir. Fakat bu durum, ilaçta yapısal değişimlerine yol açarak, ilacın terapatik etkinliğini etkilemektedir (Weinstain ve ark., 2010). Bir başka yol ise, nanotaşıyıcının hücre ile etkileşimini ve ilacın serbest bırakılma sürecinin anlaşılmasına yardımcı olmak üzere, nanotaşıyıcının QDs ile fonksiyonlandırılmasıdır. (Zheng ve ark., 2015). QDs

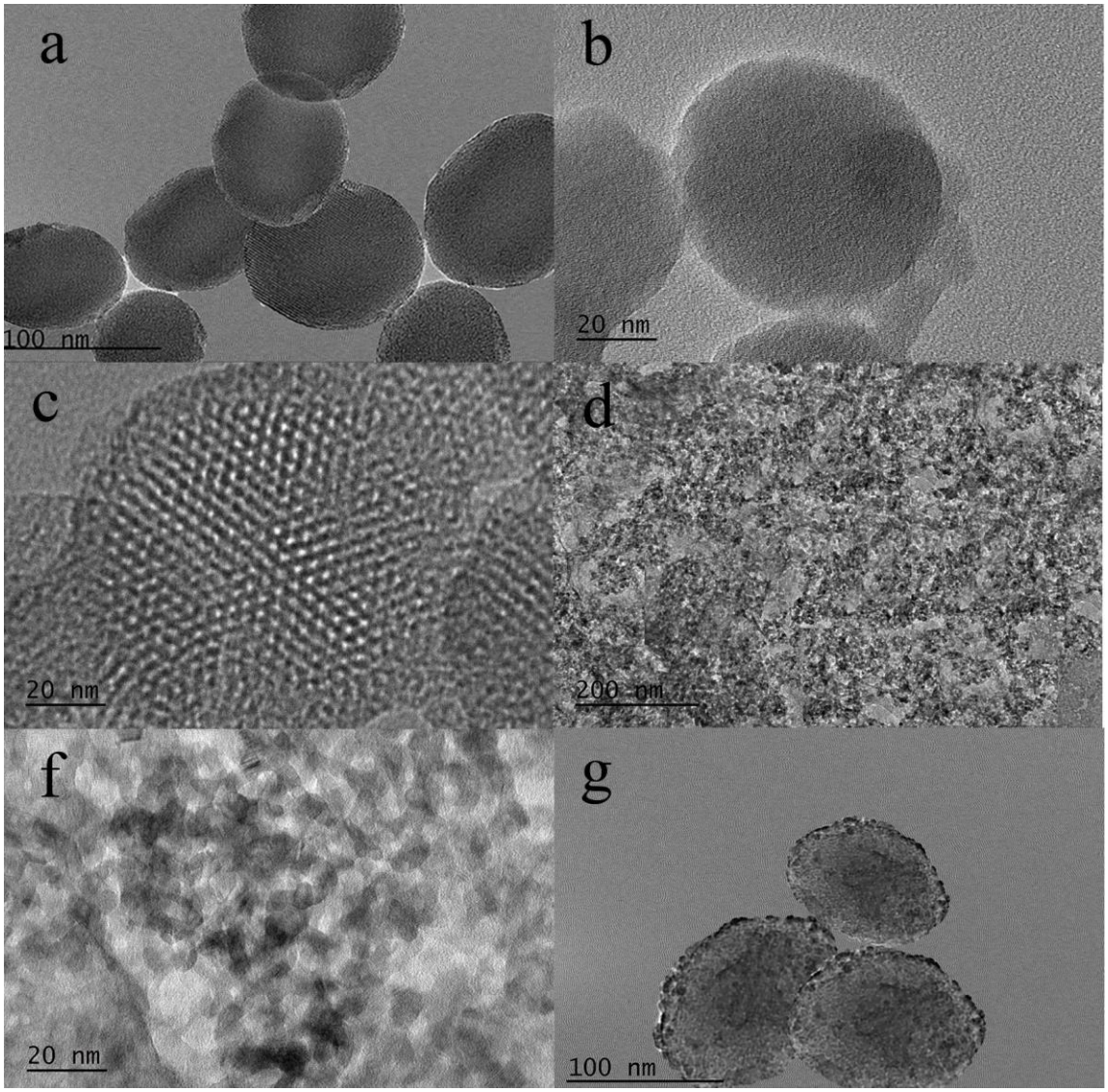
arasında, lüminesans özellikte olan, ZnO QDs; pH 7.4'de kararlı olmasına karşın, pH < 5.5'te hızla çözünür. Bu özellikleriyle pH duyarlı bir madde olarak kullanılabilirler (Muhammad ve ark., 2011). Ayrıca ZnO QDs'ın kanser hücrelerinde normal hücrelerden daha fazla sitotoksisite gösterdiği kanıtlanmıştır (Hanley ve ark., 2008). Bu özellikleriyle, ZnO QDs'ın MSN gözeneklerini kapatmak için kullanımı, sinerjik etkiyle tümörün yok edilmesinide arttıracaktır.

Kanser hücreleri ekstra enerji elde etmek için, yüksek oranlarda glikoliz kullanırlar ve bu durum, normal dokularla karşılaştırıldığında nispeten asidik bir mikro-çevreye neden olur (Li ve ark., 2015). Disülfid bağı, kan sirkülasyonu içerisinde kararlı olduğu, halde GSH ya da diğer tiyol bileşiklerinin belirli konsantrasyonlarında oldukça kararsızdır. GSH'un, kanser hücrelerinin hücre içi matriksinde, hücre dışı ortamlarda bulunandan iki ila üç derece daha yüksek düzeylerde mevcut olduğu bilinmektedir (Zhao ve ark., 2013). Tümör hücrelerinin bu özellikleri, tez konusu olan pH ve GSH'a duyarlı akıllı nanotaşıyıcı tasarlanmasına neden olmuştur.

Tez kapsamında gerçekleştirilen sentezler Şema 3.1'de verilmiştir. İlk aşamada, MSN sentezlenmiştir. İkinci adımda bu nanopartikülün, MPTMS ile reaksiyonu sonucu MSN, –SH grubu ile fonksiyonlandırılmıştır (MSN-SH). Üçüncü basamakta, elde edilen nanopartikülün (MSN-SH), Py-SS-COOH ile reaksiyonu sonucu asit grubu içeren silika nanopartikül türevi (MSN-S-S-COOH) elde edilmiştir. Dördüncü basamakta ZnO QDs sentezlenmiştir. Beşinci basamakta, amin gubu içeren ZnO QDs (ZnO-NH_2-QDs) sentezlenmiştir. Altıncı basamakta, nano taşıyıcıya ilaç yüklenmesi ve silika gözeneklerinin ZnO QDs ile kapatılması gerçekleştirilmiştir. Nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal özellikleri; FT-IR, UV-Vis, TEM ve Zeta sizer cihazları yardımıyla belirlenmiştir. Sentezlenen nanotaşıyıcı sistemden in vitro ilaç salım çalışmaları, üç farklı tampon çözelti ortamında (pH:3, pH: 5 ve pH: 7.4) ve çeşitli GSH konsantrasyonlarında yapılmıştır.

4.1. Karakterizasyon Sonuçları

Bu çalışmada, MSN'yi -SH grupları ile fonksiyonlandırmak için MPTMS kullanılmış, karboksilik asit ile fonksiyonlandırmak için ise Py-SS-COOH kullanılmıştır. Sentezlenen naopartiküllere ait TEM sonuçları Şekil 4.1'de verilmiştir.

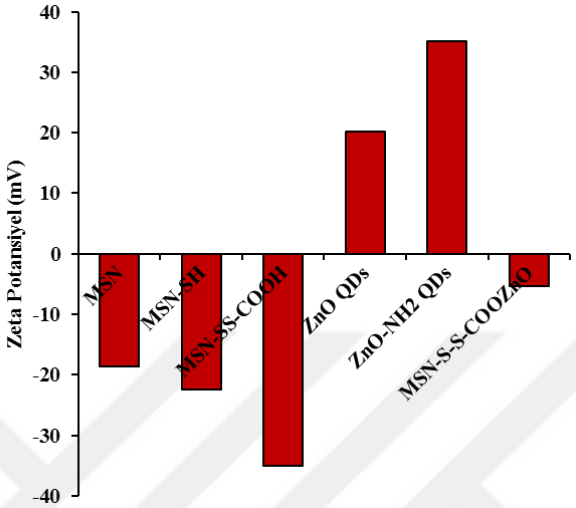


Şekil 4.1. Sentezlenen nanopartiküllere ait tem sonuçları; MSN-S-S-COOH (a,b,c); ZnO –NH_2QDs (d,f); MSN-S-S-COO-ZnO ODs (g)

Elde edilen TEM görüntülerinden (Şekil 4.1 a,b,c) MSN-S-S-COOH nanopartikülünün yaklaşık 100 nm çapında ve küresel olduğu görünmektedir. ZnO-NH_2 QDs nanopartikülünün (Şekil 4.1 d,f) ise yaklaşık 5nm çapında ve küresel olduğu görünmektedir. MSN-S-S-COOH nanopartikül yüzeyinde karboksilik asit grupları olduğu için ZnO-NH_2QDs, MSN-S-S-COOH nanopartikül yüzeyine kolaylıkla

bağlanmıştır. Nanopartikül yüzeyinde ZnO QDs olduğunu TEM görüntüleri de desteklemektedir (Şekil 4.1g).

MSN-S-S-COOH yüzeyine ZnO QDs'un modifiye olduğu zeta potansiyel ölçümleri ile de doğrulanmıştır (Şekil 4.2).

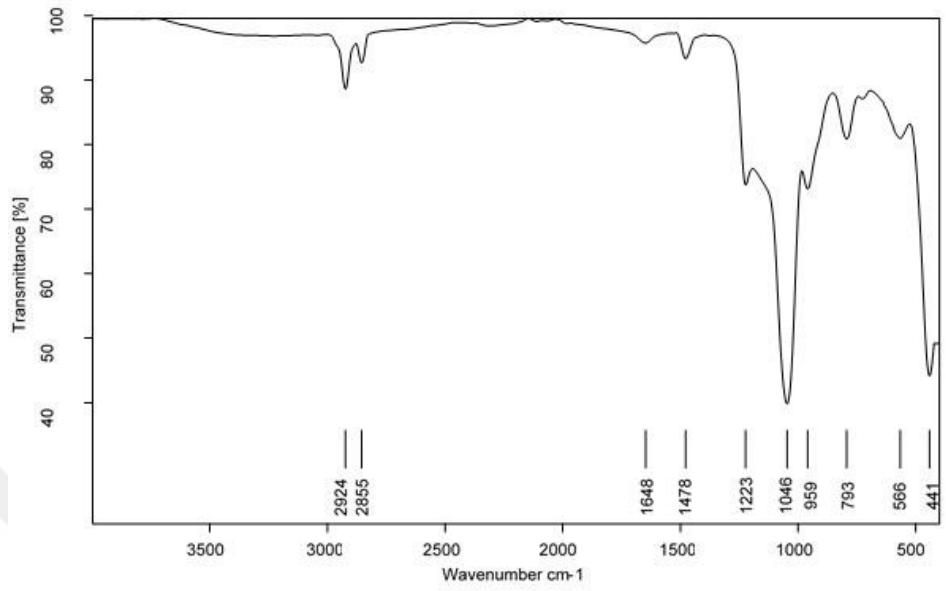


Şekil 4.2. Sentezlenen nanopartiküllere ait zeta potansiyel verileri

MSN, yüzeyine ait zeta potansiyel değeri -18.6 mV iken yüzeyin –SH grupları ile fonksiyonlandırılmasıyla bu değer -22.5 mV olmuş ve karboksilik asit gruplarının etkisiyle -35 mV değerine ulaşmıştır. Beklendiği gibi ZnO QDs pozitif zeta potansiyel (+20.2 mV) değerine sahiptir. ZnO QDs yüzeyi APTMS ile modifiye edildikten sonra bu değer +35.1 mV' a yükselmiştir. Bu sonuç -NH_2 gruplarının ZnO QDs yüzeyine modifiye olduğunu doğrulamaktadır. MSN-S-S-COO-ZnO nanopartikülüne ait zeta potansiyel değeri ise -5,4 mV' dur. Bu sonuçta ZnO QDs'un MSN-S-S-COOH yüzeyine modifiye olduğunu göstermektedir.

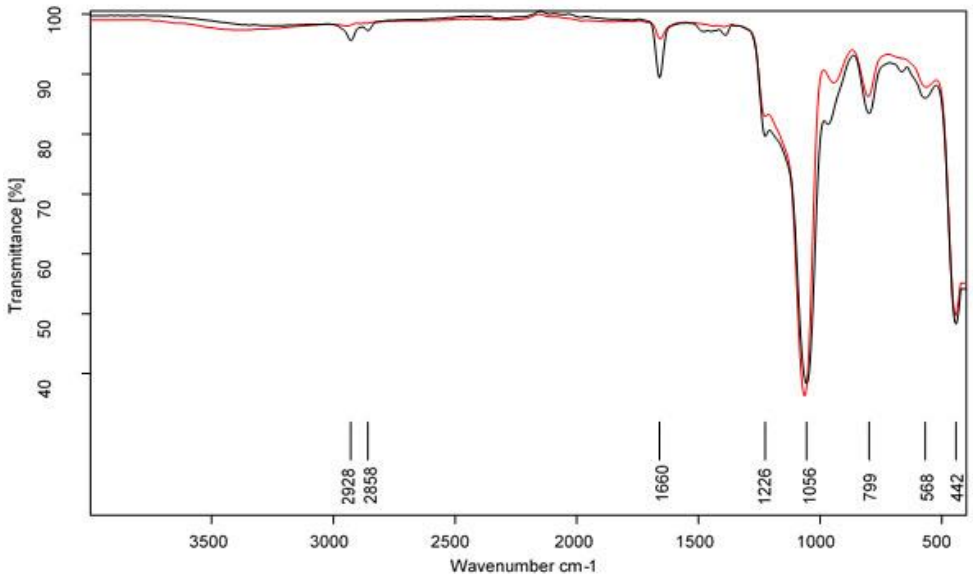
Hedeflenen nanopartikülün sentezlendiği FT-IR spektrumları ile de doğrulanmıştır. Şekil 4.3'de MSN'ye ait FT-IR spektrumu görülmektedir. Bu spektrum incelendiğinde; Si-O-Si bağına ait asimetrik gerilme bandı 1046 cm^{-1}, Si-OH bağına ait asimetrik eğilme ve gerilme bandı 959 cm^{-1} ve Si-O bağına ait simetrik gerilme bandı 793 cm^{-1}' de gözlenmiştir (Feifel ve Lisdat, 2011). Yapıdaki su molekülüne ait 3300 cm^{-1} civarında geniş bir absorbsiyon bandı gözlenirken, 1648 cm^{-1}'deki absorbsiyon bandının da H_2O molekülüne ait makaslama titreşimi olduğu görülmektedir. 2924 cm^{-1},

2825 cm^{-1} ve 1478 cm^{-1} deki bandlar, CTAB molekülündeki C-H gruplarına ait olan titreşimlerdir.



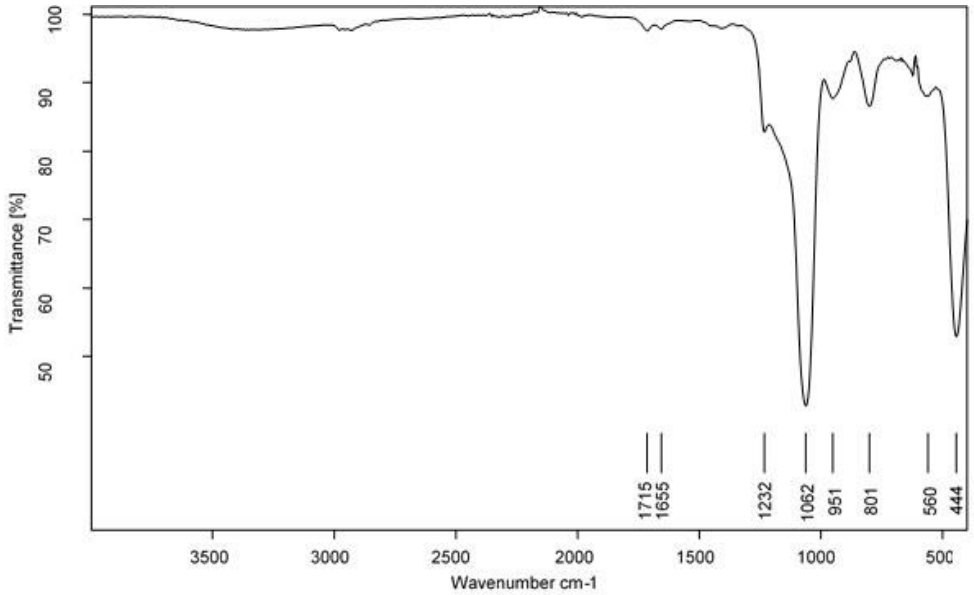
Şekil 4.3. MSN ye ait FT-IR spektrumu

MSN-SH bileşiğinin FT-IR spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.4); Si-O bağına ait asimetrik gerilme bandı 1056 cm^{-1}, Si-OH bağına ait asimetrik gerilme bandı 960 cm^{-1} ve Si-O bağına ait simetrik gerilme bandı 799 cm^{-1}'de gözlenmiştir. Yapıdaki su molekülüne ait 3300 cm^{-1} civarında geniş bir absorbsiyon bandı gözlenirken, 1660 cm^{-1}' deki absorbsiyon bandının da H_2O molekülüne ait makaslama titreşimi olduğu görülmektedir. 2928 cm^{-1}, 2858 cm^{-1} ve 1476 cm^{-1} deki bandlar, CTAB molekülündeki C-H gruplarına ait titreşimlerdir. MSN-SH nanopartikülünün yapısındaki CTAB yüzey aktif maddesini uzaklaştırmak için, MSN-SH, MeOH (50 ml) ve der. HCl (3 ml) karışımında 24 saat geri soğutucu altında kaynatılmış, çözelti santrifüjlenerek (8000 r/dk, 10 dk.) elde edilen ürün, fazla miktarda su ve MeOH ile yıkanarak, vakumda kurutulmuştur. CTAB uzaklaştırıldıktan sonra MSN-SH nanoaprtikülünün FT-IR spektrumu alınmıştır (Şekil 4.4). Bu spektrum incelendiğinde gözlenen absorbsiyon bandlarının hemen hemen MSN-SH ile aynı olduğu, fakat CTAB moleküllerinin yapıdan uzaklaştırılmasıyla 2928 cm^{-1}, 2858 cm^{-1} ve 1476 cm^{-1} deki piklerde küçülme olduğu gözlenmiştir. Bu da CTAB'nin yapıdan çoğunlukla uzaklaştırıldığının bir göstergesidir.



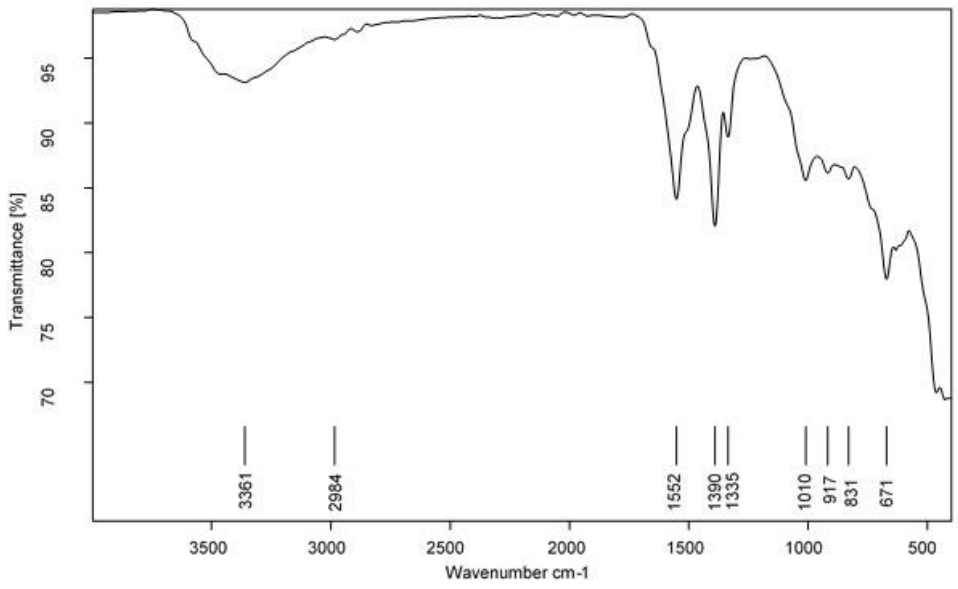
Şekil 4.4. MSN-SH (Siyah) ve CTAB uzaklaştırılmış MSN-SH'a (kırmızı) ait FT-IR spektrumu

MSN-S-S-COOH nanopartikülün FT-IR spektrumu incelendiğinde; (Şekil 4.5) Si-O bağına ait asimetrik gerilme bandı 1062 cm^{-1}, Si-OH bağına ait asimetrik gerilme bandı 951 cm^{-1} ve Si-O bağına ait simetrik gerilme bandı 801 cm^{-1}'de gözlenmiştir. Yapıdaki H_2O molekülüne ait 3300 cm^{-1} civarında geniş bir absorbsiyon bandı gözlenirken, 1655 cm^{-1}'deki absorbsiyon bandının da H_2O molekülüne ait makaslama titreşimi olduğu görülmektedir. MSN-S-S-COOH nanopartikülün FT-IR spektrumu, MSN-SH nanopartikülün FT-IR spektrumu ile karşılaştırıldığında 1715 cm^{-1} de -COOH grubuna ait yeni bir pik görülmesi MSN-SS-COOH nanopartikülünün oluştuğunu doğrulamaktadır. MSN-SH yapısında 2928 cm^{-1} (CH_3) ve 2858 cm^{-1} (CH_2) deki absorpsiyon bandlarının MSN-S-S-COOH yapısında yok denecek kadar küçük olmasıda, CTAB'nin yapıdan uzaklaştırıldığının kanıtıdır.



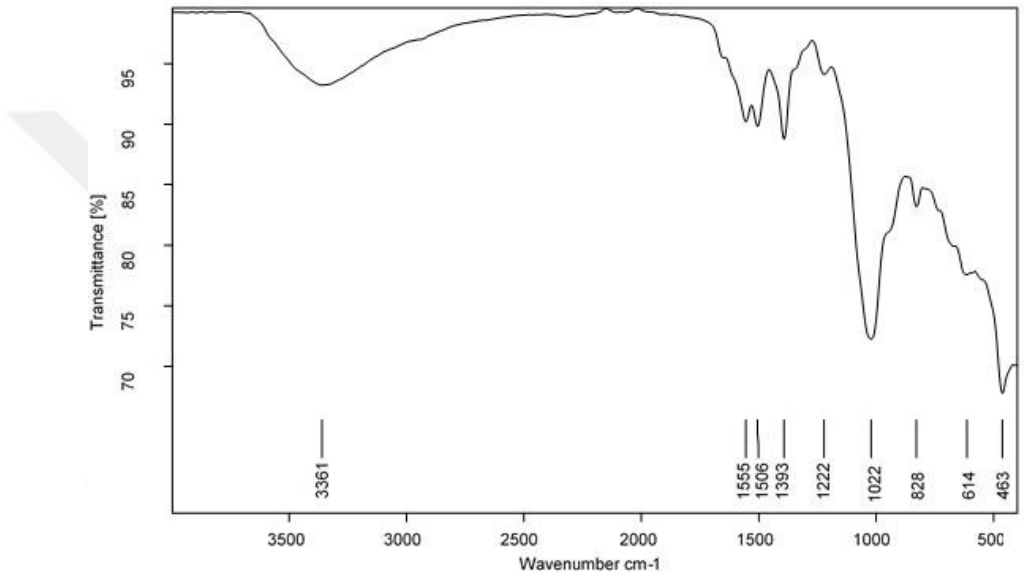
Şekil 4.5. MSN-COOH'a ait FT-IR spektrumu

ZnO-NH_2 QDs bileşiğinin FT-IR spektrumu incelendiğinde; (Şekil 4.6) 3361 cm^{-1} de görülen geniş absorbsiyon bandının ve 2984 cm^{-1} deki bandın sırasıyla, N-H ve C-H gerilmesine ait olduğu, 1552 cm^{-1} ve 1390 cm^{-1} deki piklerin sırasıyla N-H ve C-H eğilme piki olduğu, ve 465 cm^{-1} deki pikin Zn-O gerilmesine ait olduğu söylenebilir (Li ve ark., 2015). Bu sonuçlar da ZnO-NH_2 QDs nanopartikülünün oluştuğunu doğrulamaktadır.



Şekil 4.6. ZnO-NH_2 QDs'a ait FT-IR spektrumu

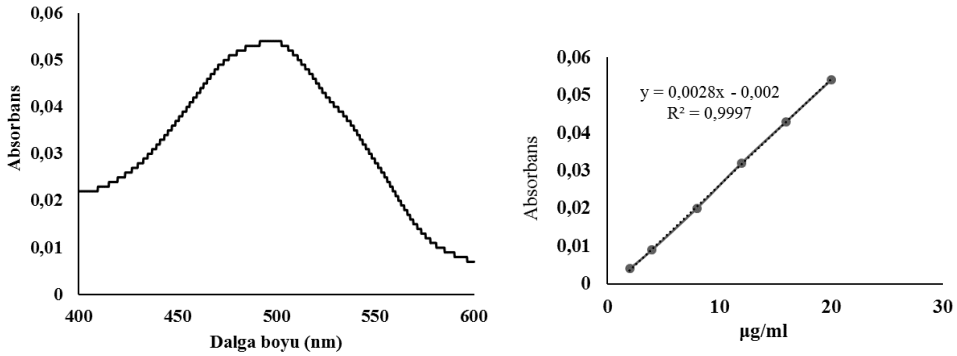
MSN-S-S-COO-ZnO bileşiğinin FT-IR spektrumu incelendiğinde; (Şekil 4.7) Si-O bağına ait asimetrik gerilme bandı 1022 cm^{-1}, Si-OH bağına ait asimetrik gerilme bandı 951 cm^{-1} ve Si-O bağına ait simetrik gerilme bandı 828 cm^{-1}'de gözlenmiştir. MSN-S-S-COO-ZnO nanopartikülün FT-IR spektrumunda MSN-S-S-COOH'ın FT-IR spektrumunda 1715 cm^{-1} de görülen ve –COOH grubuna ait olan pikin görülmemesi MSN-S-S-COOH yapısındaki karboksilik asit grupları ile ZnO-NH_2 QDs nanopartikül yapısındaki amin grupları arasındaki reaksiyonun gerçekleştiğinin bir başka göstergesidir.



Şekil 4.7. MSN-S-S-COO-ZnO'a ait FT-IR spektrumu

4.2. İn Vitro Dox Salım Çalışmalarına Ait Bulgular

Dox'nin PSB (pH 7.4) içinde stok çözeltisi (1 mg/mL) hazırlanmış ve bu çözeltiden 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 µl alınarak her biri 5 ml'ye tamamlanarak 2, 4, 8, 12, 16 ve 20 µg/ml konsantrasyon aralıklarında standart çözeltiler hazırlanmış ve absorbansları ölçülmüştür. Ölçülen absorbans değerleri, ilgili konsantrasyon değerlerine karşı grafiğe geçirilmiş, kalibrasyon doğrusu ve lineer regresyon ile doğru denklemi elde edilmiştir. Dox'un UV-Vis spektrumu, kalibrasyon doğru ve denklemi Şekil 4.8'de verilmiştir. Spektrumdan da görüleceği üzere Dox' ait λ_{max} 498 nm olarak belirlenmiş, dializ sonunda elde edilen numunelerin absorbans ölçümleri bu dalga boyunda yapılmıştır.

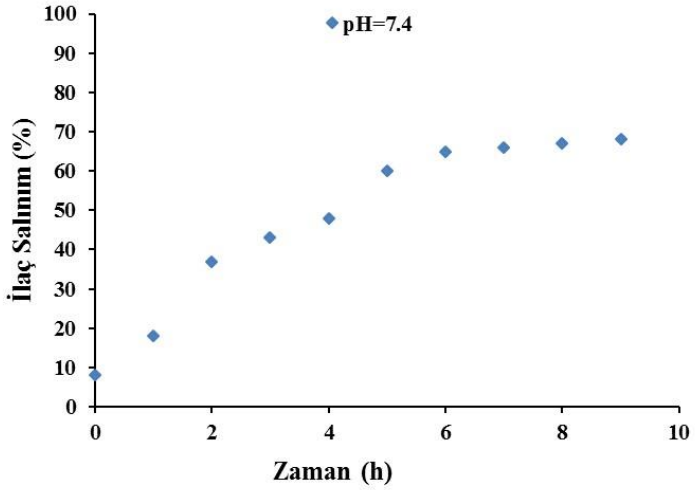


Şekil 4.8. Dox'a ait UV-Vis spektrumu, kalibrasyon doğrusu ve denklemi

Sentezlenen akıllı nanotaşıyıcının Dox yükleme kapasitesi (YK:%17), MSN 'nin uygun gözenek hacmi ve ZnO QDs'un MSN gözeneklerini iyi kapatmasından dolayı yüksektir. Dox molekülünün hidrofilik olması ve Dox molekülleri ile hidrofilik gözenek yüzeyleri arasındaki elektrostatik etkileşim ilaç yüklenmesi için oldukça uygundur.

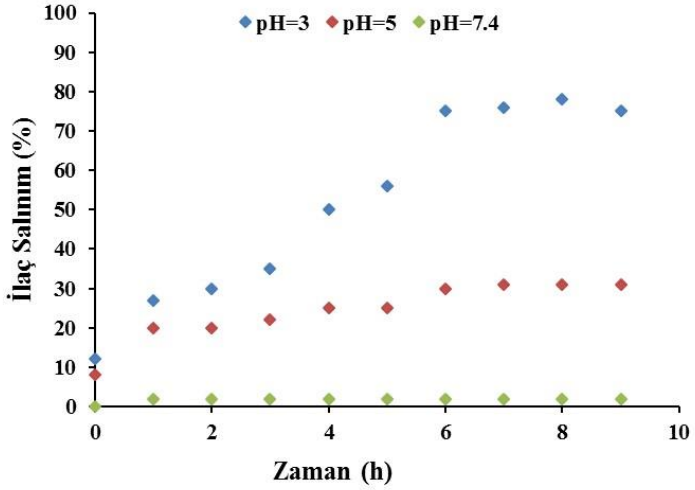
Akıllı nanotaşıyıcıdan ilaç salımı, ZnO QDs moleküllerinin asidik ortamda bozunması yada S-S bağının kırılması sonucu, ZnO QDs moleküllerinin yüzeyden ayrılması ile gerçekleşmektedir.

Bu çalışmada sentezlenen nanotaşıyıcıda (MSN-S-S-COO-ZnO), Dox; MSN gözeneklerine yüklenmiş ve bu gözenekler ZnO QDs ile kapatılmıştır. Fizyolojik ortamda, ZnO QDs moleküllerinin MSN gözeneklerini kapatarak ilaç salımını ne derecede engellediğini anlayabilmek için öncelikle, MSN-S-S-COOH nanopartikülüne Dox yüklenmiş ve pH:7.4 ortamında dializ deneyi yapılmıştır. Bu deneyle ilgili grafik Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.9. MSN-S-S-COOH'a ait pH: 7.4 ortamında ilaç salım sonuçları

ZnO QDs etkisini görebilmek için ise, MSN-S-S-COO-ZnO nanopartikülüne Dox yüklenmiş ve çeşitli pH ortamlarında Dox salımı incelenmiştir. Bu deneye ait veriler Şekil 4.10'de görülmektedir.

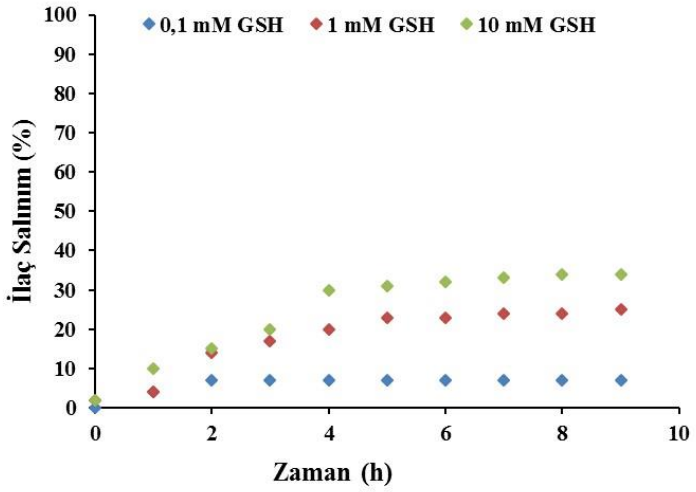


Şekil 4.10. MSN-S-S-COO-ZnO'a ait pH:3, pH:5 ve pH:7.4 ortamında ilaç salım sonuçları

Şekil 4.9'den görüldüğü üzere MSN-S-S-COOH nanotaşıyıcısından ilaç salımı pH:7.4'de, 4 saat sonunda yaklaşık %50 ye kadar çıkmaktadır. Fakat MSN gözeneklerinin ZnO QDs ile kapatıldığı MSN-S-S-COO-ZnO nanotaşıyıcısının ilaç salım grafiği incelendiğinde (Şekil 4.10) üç farklı salım türü gözlenmektedir. pH 7.4' te 10 saate kadar yaklaşık %2 civarında bir ilaç salımı olduğu görülmektedir. Bu oldukça az olan ilaç salımı, ZnO QDs moleküllerinin gözenekleri kapatarak, ilaç moleküllerini hapsettiğini göstermektedir. Grafikten de açık bir şekilde görüldüğü üzere, Dox salımı

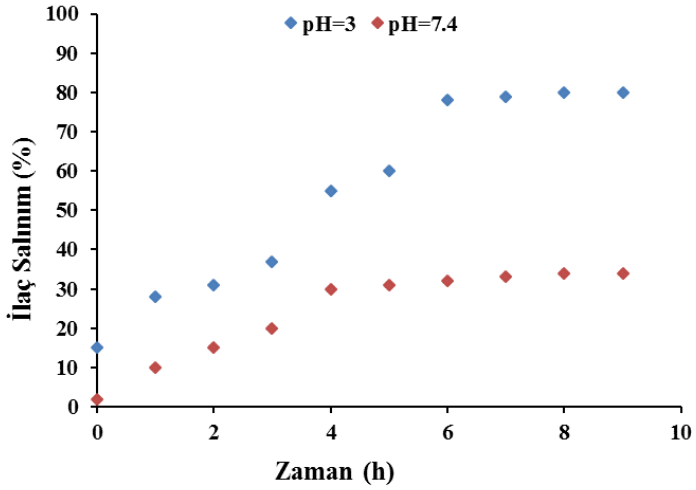
pH değeri azaldıkça önemli oranda artmaktadır. Örneğin zayıf asidik ortamda (pH: 5.0) Dox' un yaklaşık %30'u 6 saat içinde salınmıştır. pH: 3 ortamında ise Dox'un %75'i 6 saat içinde salınmıştır. Bunun nedeni asidik ortamda ZnO QDs'un Zn^{2+} iyonu oluşturacak şekilde çözünmesi, nanotaşıyıcı gözeneklerin açılması ve Dox'un dışarı salınmasıdır.

İlaç salımı çeşitli GSH ortamlarında da incelenmiştir. pH: 7.4'te GSH konsantrasyonunun ilaç salımına etkisi Şekil 4.11'de görülmektedir. Grafikten açık bir şekilde görülebileceği gibi, GSH konsantrasyonu 0.1 mM'dan 10 mM'a arttıkça ilaç salımı artmaktadır. pH: 7.4'te, 10 saat sonunda ortamda GSH yokken ilaç salımı %2 (Şekil 4.10) iken, 10 Mm GSH varlığında 6 saat sonunda ilaç salımı %32 ye yükselmiştir.



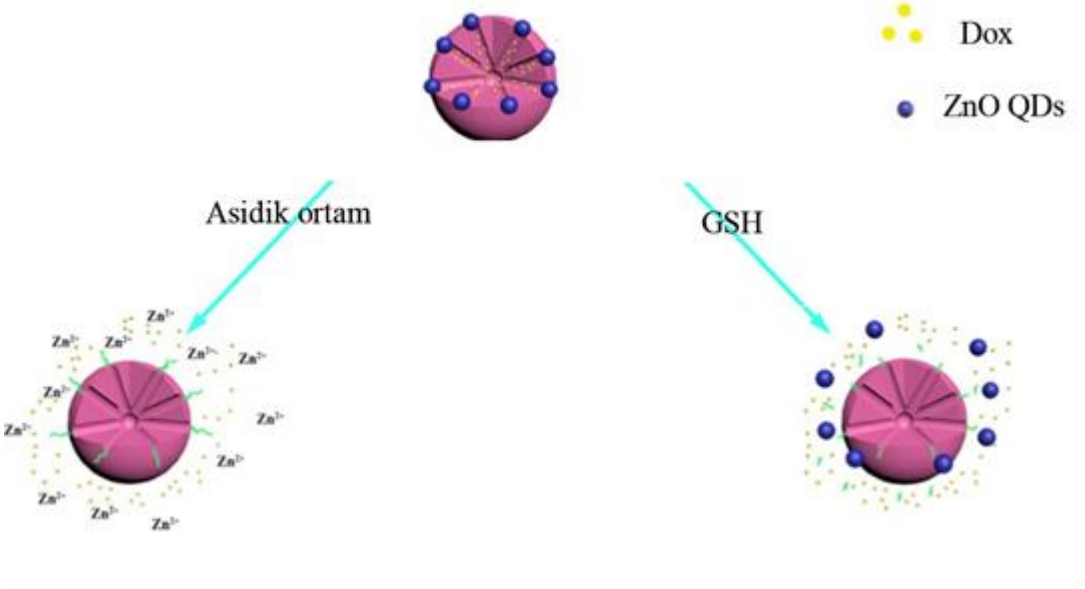
Şekil 4.11. MSN-S-S-COO-ZnO'a ait 0.1 mM GSH, 1 mM GSH ve 10 mM GSH ortamında ilaç salım sonuçları

Şekil 4.12'de pH:3/10 mM GSH ve pH:7.4/10 mM GSH ortamlaındaki ilaç salım sonuçları kıyaslanmıştır. pH: 7.4'te 8 saat sonunda ilaç salımı % 34 iken, pH: 3'te 8 saat sonunda ilaç salımı %78'e yükselmiştir



Şekil 4.12. MSN-S-S-COO-ZnO'a ait pH:3/10 mM GSH ve pH: 7.4/10 mM GSH ortamında ilaç salım sonuçları

Çeşitli GSH ortamlarındaki ve çeşitli pH ortamlarındaki sonuçlar kıyaslandığında, GSH ortamındaki ilaç salımının asidik ortama nazaran daha yavaş olduğu görülmektedir. Bunun nedeni yüzeydeki ZnO QDs nanopartiküllerininin silika gözeneklerini kapatarak GSH 'ın yapıya girerek S-S bağıyla etkileşmesini engellemesi olabilir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Akıllı nanotaşıyıcıdan ilaç salımının asidik ortam ve GSH ortamında şematik olarak gösterimi

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

- Bu tez çalışmasında, karboksilik asit grubu içeren MSN ve floresans özellik gösteren ZnO QDs kullanılarak yeni pH ve GSH duyarlı bir nanotaşıyıcı sistem tasarlanmıştır.
- MSN yüzeyi öncelikle yapıda S-S bağını oluşturabilmek için MPTMS ile daha sonrada yapıda, karboksilik asit grubu oluşturabilmek için Py-SS-COOH ile fonksiyonlandırılmıştır.
- ZnO QDs'u kovalent bağla MSN-S-S-COOH yüzeyine bağlayarak MSN gözeneklerini kapatabilmek için, ZnO QDs amin ($ZnO\text{-}NH_2$ QDs) haline getirilmiştir.
- Sentezlenen nanotaşıyıcıya anti-kanser ilacı Dox yüklenmiş ve nanotaşıyıcının Dox yükleme kapasitesi %17 olarak UV Spektrofotometrik yöntem ile belirlenmiştir.
- Nanotaşıyıcıya ait; pH:3, pH: 5 ve pH: 7.4 ortamlarında Dox salım grafikleri oluşturulmuştur. pH: 7.4'te hemen hemen hiç Dox salınımı gerçekleşmezken asidik ortamda ZnO QDs'un Zn^{2+} halinde çözünmesiyle, MSN gözenekleri açılması sonucu pH:3'te maksimum ilaç salınımın olduğu görülmüştür.
- Nanotaşıyıcıya ait; 0.1 mM, 1 mM ve 10 mM GSH konsantrasyonlarında Dox salım grafikleri oluşturulmuştur. GSH konsantrasyonu arttıkça nanopartikül yapısındaki amino bağı ve disüllfür bağı kırılması nedeniyle ZnO QDs'un MSN yüzeyinden ayrılması neticesinde gözeneklerin açılarak ilaç salımının olduğu görülmüştür
- Çeşitli GSH ortamlarındaki ve çeşitli pH ortamlarındaki sonuçlar kıyaslandığında, GSH ortamındaki ilaç salımının asidik ortama nazaran daha yavaş olduğu görülmüştür. Bunun nedeni yüzeydeki ZnO QDs nanopartiküllerininin silika gözeneklerini kapatarak GSH'ın yapıya girip S-S bağıyla etkileşmesini engellemesi olabilir.

5.2. Öneriler

Tez kapsamında sentezlenen nanotaşıyıcının fizyolojik pH ta ilaç salımı yapmayarak sadece asidik ortamda ilaç salımı yapması, kemoterapi ilaçlarının normal hücrelere yan etkisini azaltmak adına oldukça önemlidir. Tez kapsamında deneysel çalışmalar in vitro ortamda yapılmıştır. Hücrelere etkisini görebilmek için in vivo çalışmalar yapılması gerekir. İn vivo çalışmaların yapılmasına imkan verecek şekilde yapıda floresans madde olan ZnO ODs kullanılmıştır. Florerans özelliği nedeniyle nanotaşıyıcının kanser hücrelerine geçişi kolaylıkla gözlenebilir.

Bu nanotaşıyıcı ile ilgili in vitro çalışmalar oldukça iyi sonuçlar vermiştir. Dolayısıyla in vivo çalışmalar ile nanaotaşıyıcının kanser hücrelerine etkisi incelenmelidir. Bundan sonra gerçekleştirilmesi planlanan çalışmalarda, yükleme kapasitesinin arttırılması ve bu sistemlerin in vivo etkinliğinin incelenmesi planlanmaktadır

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı : Safaa Hashım Mohammed ALBAYATI
Uyruğu :
Doğum Yeri ve Tarihi : Irak 28-5-1991
Telefon :
Faks :
e-mail : safa1991mohammed@yahoo.com

EĞİTİM

Derece	**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise :	Sadir, Kerkük	
Üniversite :	Tikrit Üniversitesi, Selahaddin, Tikrit	2014
Yüksek Lisans :	Selçuk Üniversitesi	
Doktora :		

UZMANLIK ALANI

Analitik Kimya

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR

Deveci, P., Taner, B. ve **Albayatı, S. H. M**., 2017, Mesoporous silica and chitosan based pH-sensitive smart nanoparticles for tumor targeted drug delivery, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 89 (1-2), 15-27.

ULUSLARARASI BİLDİRİLER

Safaa Hashim Mohammed Albayati, Pervin Deveci, Bilge Taner, XI International Conference "Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials" (ICEPOM-11), 2018, Ukrayna

Mohamad Khalil Attar, **Safaa Hashim Mohammed Albayati**, Pervin Deveci, Bilge Taner, "Synthesis and applications of new magnetic silica based smart drug delivery system" XI International Conference "Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials" (ICEPOM-11), 2018, Ukrayna

KAYNAKLAR

Agrawal, M., Saraf, S., Saraf, S., Antimisiaris, S. G., Chougule, M. B., Shoyele, S. A. ve Alexander, A., 2018, Nose-to-brain drug delivery: An update on clinical challenges and progress towards approval of anti-Alzheimer drugs, J Control Release, 281, 139-177.

Allen, T. M. ve Cullis, P. R., 2013, Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications, Adv Drug Deliv Rev, 65 (1), 36-48.

Azzi, J., Jraij, A., Auezova, L., Fourmentin, S. ve Greige-Gerges, H., 2018, Novel findings for quercetin encapsulation and preservation with cyclodextrins, liposomes, and drug-in-cyclodextrin-in-liposomes, Food Hydrocolloids, 81, 328-340.

Benezra, M., Penate-Medina, O., Zanzonico, P. B., Schaer, D., Ow, H., Burns, A., DeStanchina, E., Longo, V., Herz, E., Iyer, S., Wolchok, J., Larson, S. M., Wiesner, U. ve Bradbury, M. S., 2011, Multimodal silica nanoparticles are effective cancer-targeted probes in a model of human melanoma, J Clin Invest, 121 (7), 2768-2780.

Bozzuto, G. ve Molinari, A., 2015, Liposomes as nanomedical devices, Int J Nanomedicine, 10, 975-999.

Bugno, J., Hsu, H. J. ve Hong, S., 2015, Tweaking dendrimers and dendritic nanoparticles for controlled nano-bio interactions: potential nanocarriers for improved cancer targeting, J Drug Target, 23 (7-8), 642-650.

Cagel, M., Tesan, F. C., Bernabeu, E., Salgueiro, M. J., Zubillaga, M. B., Moretton, M. A. ve Chiappetta, D. A., 2017, Polymeric mixed micelles as nanomedicines: Achievements and perspectives, Eur J Pharm Biopharm, 113, 211-228.

Cajot, S., Schol, D., Danhier, F., Preat, V., Gillet De Pauw, M. C. ve Jerome, C., 2013, In vitro investigations of smart drug delivery systems based on redox-sensitive cross-linked micelles, Macromol Biosci, 13 (12), 1661-1670.

Cai, X., Luo, Y., Zhang, W., Du, D. ve Lin, Y., 2016, pH-Sensitive ZnO Quantum Dots-Doxorubicin Nanoparticles for Lung Cancer Targeted Drug Delivery, *ACS Appl Mater Interfaces*, 8 (34), 22442-22450.

Cao, N., Li, M., Zhao, Y., Qiu, L., Zou, X., Zhang, Y. ve Sun, L., 2016, Fabrication of SnO2/porous silica/polyethyleneimine nanoparticles for pH-responsive drug delivery, Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 59, 319-323.

Chen, C. C., Do, J. S. ve Gu, Y., 2009, Immobilization of HRP in Mesoporous Silica and Its Application for the Construction of Polyaniline Modified Hydrogen Peroxide Biosensor, Sensors (Basel), 9 (6), 4635-4648.

Chen, X., Yao, X., Wang, C., Chen, L. ve Chen, X., 2015a, Mesoporous silica nanoparticles capped with fluorescence-conjugated cyclodextrin for pH-activated controlled drug delivery and imaging, Microporous and Mesoporous Materials, 217, 46-53.

Chen, Y., Ai, K., Liu, J., Sun, G., Yin, Q. ve Lu, L., 2015b, Multifunctional envelope-type mesoporous silica nanoparticles for pH-responsive drug delivery and magnetic resonance imaging, Biomaterials, 60, 111-120.

Chen, Y., Liu, Y., Yao, Y., Zhang, S. ve Gu, Z., 2017, Reverse micelle-based water-soluble nanoparticles for simultaneous bioimaging and drug delivery, Org Biomol Chem, 15 (15), 3232-3238.

Cheng-Yu Lai, B. G., 2002, A Mesoporous Silica Nanosphere-Based Carrier System with Chemically Removable CdS Nanoparticle Caps for Stimuli-Responsive Controlled Release of Neurotransmitters and Drug Molecules

Cheng, W., Nie, J., Xu, L., Liang, C., Peng, Y., Liu, G., Wang, T., Mei, L., Huang, L. ve Zeng, X., 2017, pH-Sensitive Delivery Vehicle Based on Folic Acid-Conjugated Polydopamine-Modified Mesoporous Silica Nanoparticles for Targeted Cancer Therapy, ACS Appl Mater Interfaces, 9 (22), 18462-18473.

Chertok, B., Moffat, B. A., David, A. E., Yu, F., Bergemann, C., Ross, B. D. ve Yang, V. C., 2008, Iron oxide nanoparticles as a drug delivery vehicle for MRI monitored magnetic targeting of brain tumors, Biomaterials, 29 (4), 487-496.

Chou, L. Y., Ming, K. ve Chan, W. C., 2011, Strategies for the intracellular delivery of nanoparticles, Chem Soc Rev, 40 (1), 233-245.

Chung, P.-W., Kumar, R., Pruski, M. ve Lin, V. S. Y., 2008, Temperature Responsive Solution Partition of Organic-Inorganic Hybrid Poly(N-isopropylacrylamide)-Coated Mesoporous Silica Nanospheres, Advanced Functional Materials, 18 (9), 1390-1398.

Climent, E., Martinez-Manez, R., Sancenon, F., Marcos, M. D., Soto, J., Maquieira, A. ve Amoros, P., 2010, Controlled delivery using oligonucleotide-capped mesoporous silica nanoparticles, Angew Chem Int Ed Engl, 49 (40), 7281-7283.

Correia, A., Shahbazi, M. A., Makila, E., Almeida, S., Salonen, J., Hirvonen, J. ve Santos, H. A., 2015, Cyclodextrin-Modified Porous Silicon Nanoparticles for Efficient Sustained Drug Delivery and Proliferation Inhibition of Breast Cancer Cells, ACS Appl Mater Interfaces, 7 (41), 23197-23204.

Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R. M. ve Chiellini, E., 2011, Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications, Progress in Polymer Science, 36 (8), 981-1014.

Detappe, A., Thomas, E., Tibbitt, M. W., Kunjachan, S., Zavidij, O., Parnandi, N., Reznichenko, E., Lux, F., Tillement, O. ve Berbeco, R., 2017, Ultrasmall Silica-Based Bismuth Gadolinium Nanoparticles for Dual Magnetic Resonance-

Computed Tomography Image Guided Radiation Therapy, Nano Lett, 17 (3), 1733-1740.

Dreaden, E. C., Austin, L. A., MacKey, M. A. ve El-Sayed, M. A., 2012, Size matters: Gold nanoparticles in targeted cancer drug delivery, Therapeutic Delivery, 3 (4), 457-478.

Fang, W., Yang, J., Gong, J. ve Zheng, N., 2012, Photo- and pH-Triggered Release of Anticancer Drugs from Mesoporous Silica-Coated Pd@Ag Nanoparticles, Advanced Functional Materials, 22 (4), 842-848.

Feifel, S. C. ve Lisdat, F., 2011, Silica nanoparticles for the layer-by-layer assembly of fully electro-active cytochrome c multilayers, J Nanobiotechnology, 9, 59.

Fu, C., Liu, T., Li, L., Liu, H., Chen, D. ve Tang, F., 2013, The absorption, distribution, excretion and toxicity of mesoporous silica nanoparticles in mice following different exposure routes, Biomaterials, 34 (10), 2565-2575.

Gimenez, C., de la Torre, C., Gorbe, M., Aznar, E., Sancenon, F., Murguia, J. R., Martinez-Manez, R., Marcos, M. D. ve Amoros, P., 2015, Gated mesoporous silica nanoparticles for the controlled delivery of drugs in cancer cells, Langmuir, 31 (12), 3753-3762.

G. Kreyling, W., Semmler-Behnke, M. ve Chaudhry, Q., 2010, A complementary definition of nanomaterial, Nano Today (165-168.

Hanley, C., Layne, J., Punnoose, A., Reddy, K., Coombs, I., Coombs, A., Feris, K. ve Wingett, D., 2008, Preferential killing of cancer cells and activated human T cells using ZnO nanoparticles, Nanotechnology, 19 (29), 295103.

He, Q., Shi, J., Zhu, M., Chen, Y. ve Chen, F., 2010, The three-stage in vitro degradation behavior of mesoporous silica in simulated body fluid, Microporous and Mesoporous Materials, 131 (1-3), 314-320.

He, Y., Fu, P., Shen, X. ve Gao, H., 2008, Cyclodextrin-based aggregates and characterization by microscopy, Micron, 39 (5), 495-516.

He, H., Lu, Y., Qi, J., Zhu, Q., Chen, Z. ve Wu, W., 2018, Adapting liposomes for oral drug delivery, Acta Pharmaceutica Sinica B.

Huang, X., Liao, W., Xie, Z., Chen, D. ve Zhang, C. Y., 2018, A pH-responsive prodrug delivery system self-assembled from acid-labile doxorubicin-conjugated amphiphilic pH-sensitive block copolymers, Materials Science and Engineering: C, 90, 27-37.

Huh, S., 2013, Organic Functionalization and Morphology Control of Mesoporous Silicas via a Co-Condensation Synthesis Method.

Huo, Q., Margolese, D. I. ve Stucky, G. D., 1996, Surfactant control of phases in the synthesis of mesoporous silica-based materials, Chemistry of materials, 8 (5), 1147-1160.

Huo, Q., Feng, J., Schüth, F. ve Stucky, G. D., 1997, Preparation of hard mesoporous silica spheres, Chemistry of materials, 9 (1), 14-17.

J. C. Vartuli, K. D. S., 1994, Effect of Surfactant/Silica Molar Ratios on the Formation of Mesoporous Molecular Sieves: Inorganic of Surfactant Liquid-Crystal Phases and Mechanistic Implications

J. Felipe Diaz, K. J., Received 20 May 1996; accepted 14 July 1996, Enzyme immobilization in MCM-4 1 molecular sieve.

J. S. Beck, f. J. C. V., 1992, A New Family of Mesoporous Molecular Sieves Prepared with Liquid Crystal Templates

Jiao, J., Li, X., Zhang, S., Liu, J., Di, D., Zhang, Y., Zhao, Q. ve Wang, S., 2016, Redox and pH dual-responsive PEG and chitosan-conjugated hollow mesoporous silica for controlled drug release, Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 67, 26-33.

Jurney, P., Agarwal, R., Singh, V., Choi, D., Roy, K., Sreenivasan, S. V. ve Shi, L., 2017, Unique size and shape-dependent uptake behaviors of non-spherical nanoparticles by endothelial cells due to a shearing flow, J Control Release, 245, 170-176.

Kang, L., Gao, Z., Huang, W., Jin, M. ve Wang, Q., 2015, Nanocarrier-mediated co-delivery of chemotherapeutic drugs and gene agents for cancer treatment, Acta Pharm Sin B, 5 (3), 169-175.

Khan, J., Alexander, A., Ajazuddin, Saraf, S. ve Saraf, S., 2018, Exploring the role of polymeric conjugates toward anti-cancer drug delivery: Current trends and future projections, Int J Pharm.

Knop, K., Hoogenboom, R., Fischer, D. ve Schubert, U. S., 2010, Poly(ethylene glycol) in drug delivery: pros and cons as well as potential alternatives, Angew Chem Int Ed Engl, 49 (36), 6288-6308.

Kong, F. Y., Zhang, J. W., Li, R. F., Wang, Z. X., Wang, W. J. ve Wang, W., 2017, Unique Roles of Gold Nanoparticles in Drug Delivery, Targeting and Imaging Applications, Molecules, 22 (9).

Lee, Y. ve Thompson, D. H., 2017, Stimuli-responsive liposomes for drug delivery, Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 9 (5).

Li, X., Chen, Y., Wang, M., Ma, Y., Xia, W. ve Gu, H., 2013, A mesoporous silica nanoparticle--PEI--fusogenic peptide system for siRNA delivery in cancer therapy, Biomaterials, 34 (4), 1391-1401.

Li, Z., Li, H., Liu, L., You, X., Zhang, C. ve Wang, Y., 2015, A pH-sensitive nanocarrier for co-delivery of doxorubicin and camptothecin to enhance chemotherapeutic efficacy and overcome multidrug resistance in vitro, RSC Advances, 5 (94), 77097-77105.

Li, Q. L., Xu, S. H., Zhou, H., Wang, X., Dong, B., Gao, H., Tang, J. ve Yang, Y. W., 2015, pH and Glutathione Dual-Responsive Dynamic Cross-Linked Supramolecular Network on Mesoporous Silica Nanoparticles for Controlled Anticancer Drug Release, ACS Appl Mater Interfaces, 7 (51), 28656-28664.

Lin, J. T., Du, J. K., Yang, Y. Q., Li, L., Zhang, D. W., Liang, C. L., Wang, J., Mei, J. ve Wang, G. H., 2017, pH and redox dual stimulate-responsive nanocarriers based on hyaluronic acid coated mesoporous silica for targeted drug delivery, Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 81, 478-484.

Liu, T., Li, L., Teng, X., Huang, X., Liu, H., Chen, D., Ren, J., He, J. ve Tang, F., 2011, Single and repeated dose toxicity of mesoporous hollow silica nanoparticles in intravenously exposed mice, Biomaterials, 32 (6), 1657-1668.

Liu, J., Luo, Z., Zhang, J., Luo, T., Zhou, J., Zhao, X. ve Cai, K., 2016, Hollow mesoporous silica nanoparticles facilitated drug delivery via cascade pH stimuli in tumor microenvironment for tumor therapy, Biomaterials, 83, 51-65.

Liu, D., Yang, F., Xiong, F. ve Gu, N., 2016, The Smart Drug Delivery System and Its Clinical Potential, Theranostics, 6 (9), 1306-1323.

Lu, J., Choi, E., Tamanoi, F. ve Zink, J. I., 2008, Light-activated nanoimpeller-controlled drug release in cancer cells, Small, 4 (4), 421-426.

Ma, N., Jiang, Y. W., Zhang, X., Wu, H., Myers, J. N., Liu, P., Jin, H., Gu, N., He, N., Wu, F. G. ve Chen, Z., 2016, Enhanced Radiosensitization of Gold Nanospikes via Hyperthermia in Combined Cancer Radiation and Photothermal Therapy, ACS Appl Mater Interfaces.

Malachowski, K., Breger, J., Kwag, H. R., Wang, M. O., Fisher, J. P., Selaru, F. M. ve Gracias, D. H., 2014, Stimuli-responsive theragrippers for chemomechanical controlled release, Angew Chem Int Ed Engl, 53 (31), 8045-8049.

Manzano, M. ve Vallet-Regí, M., 2010, New developments in ordered mesoporous materials for drug delivery, Journal of Materials Chemistry, 20 (27), 5593.

Moghimi, S. M. ve Szebeni, J., 2003, Stealth liposomes and long circulating nanoparticles: critical issues in pharmacokinetics, opsonization and protein-binding properties, Progress in Lipid Research, 42 (6), 463-478.

Mi-Hee Kim, v. H.-K. N., 2010, Facile Synthesis of Monodispersed Mesoporous Silica Nanoparticles with Ultralarge Pores and Their Application in Gene Delivery.

Muhammad, F., Guo, M., Qi, W., Sun, F., Wang, A., Guo, Y. ve Zhu, G., 2011, pH-Triggered controlled drug release from mesoporous silica nanoparticles via intracelluar dissolution of ZnO nanolids, J Am Chem Soc, 133 (23), 8778-8781.

Noble, G. T., Stefanick, J. F., Ashley, J. D., Kiziltepe, T. ve Bilgicer, B., 2014, Ligand-targeted liposome design: challenges and fundamental considerations, Trends Biotechnol, 32 (1), 32-45.

Ordikhani, F., Erdem Arslan, M., Marcelo, R., Sahin, I., Grigsby, P., Schwarz, J. K. ve Azab, A. K., 2016, Drug Delivery Approaches for the Treatment of Cervical Cancer, Pharmaceutics, 8 (3).

Ozin, G., 1998, Synthesis of mesoporous silica spheres under quiescent aqueous acidic conditions, Journal of Materials Chemistry, 8 (3), 743-750.

Palmerston Mendes, L., Pan, J. ve Torchilin, V. P., 2017, Dendrimers as Nanocarriers for Nucleic Acid and Drug Delivery in Cancer Therapy, Molecules, 22 (9).

Patra, M. K., Manoth, M., Singh, V. K., Siddaramana Gowd, G., Choudhry, V. S., Vadera, S. R. ve Kumar, N., 2009, Synthesis of stable dispersion of ZnO quantum dots in aqueous medium showing visible emission from bluish green to yellow, Journal of Luminescence, 129 (3), 320-324.

Qi, L. ve Gao, X., 2008, Emerging application of quantum dots for drug delivery and therapy, Expert Opinion on Drug Delivery, 5 (3), 263-267.

Qi, S. S., Sun, J. H., Yu, H. H. ve Yu, S. Q., 2017, Co-delivery nanoparticles of anti-cancer drugs for improving chemotherapy efficacy, Drug Deliv, 24 (1), 1909-1926.

Qian, W., Murakami, M., Ichikawa, Y. ve Che, Y., 2011, Highly Efficient and Controllable PEGylation of Gold Nanoparticles Prepared by Femtosecond Laser Ablation in Water, The Journal of Physical Chemistry C, 115 (47), 23293-23298.

Qiu, L., Zhao, Y., Cao, N., Cao, L., Sun, L. ve Zou, X., 2016, Silver nanoparticle-gated fluorescence porous silica nanospheres for glutathione-responsive drug delivery, Sensors and Actuators B: Chemical, 234, 21-26.

Qiu, L., Zhao, Y., Li, B., Wang, Z., Cao, L. ve Sun, L., 2017, Triple-stimuli (protease/redox/pH) sensitive porous silica nanocarriers for drug delivery, Sensors and Actuators B: Chemical, 240, 1066-1074.

Radu, D. R., Lai, C.-Y., Jeftinija, K., Rowe, E. W., Jeftinija, S. ve Lin, V. S. Y., 2004, A Polyamidoamine Dendrimer-Capped Mesoporous Silica Nanosphere-Based Gene Transfection Reagent, Journal of the American Chemical Society, 126 (41), 13216-13217.

Rajasekhar Reddy, R., Raghupathi, K. R., Torres, D. A. ve Thayumanavan, S., 2012, Stimuli Sensitive Amphiphilic Dendrimers, New J Chem, 36 (2), 340-349.

Sawant, R. R. ve Torchilin, V. P., 2012, Challenges in development of targeted liposomal therapeutics, AAPS J, 14 (2), 303-315.

Schacht, S., Huo, Q., Voigt-Martin, I., Stucky, G. ve Schüth, F., 1996, Oil-water interface templating of mesoporous macroscale structures, Science, 273 (5276), 768-771.

Shin, D. H., Tam, Y. T. ve Kwon, G. S., 2016, Polymeric micelle nanocarriers in cancer research, Frontiers of Chemical Science and Engineering, 10 (3), 348-359.

Sivaraj, M., Mukherjee, A., Mariappan, R., Mariadoss, A. V. ve Jeyaraj, M., 2018, Polyorganophosphazene stabilized gold nanoparticles for intracellular drug delivery in breast carcinoma cells, Process Biochemistry.

Slowing, II, Wu, C. W., Vivero-Escoto, J. L. ve Lin, V. S., 2009, Mesoporous silica nanoparticles for reducing hemolytic activity towards mammalian red blood cells, Small, 5 (1), 57-62.

Slowing, I., Trewyn, B. G. ve Lin, V. S.-Y., 2006, Effect of surface functionalization of MCM-41-type mesoporous silica nanoparticles on the endocytosis by human cancer cells, Journal of the American Chemical Society, 128 (46), 14792-14793.

Slowing, I. I., Trewyn, B. G. ve Lin, V. S.-Y., 2007, Mesoporous silica nanoparticles for intracellular delivery of membrane-impermeable proteins, Journal of the American Chemical Society, 129 (28), 8845-8849.

Slowing, I. I., Vivero-Escoto, J. L., Trewyn, B. G. ve Lin, V. S. Y., 2010, Mesoporous silica nanoparticles: structural design and applications, Journal of Materials Chemistry, 20 (37), 7924.

Srinivasan, M., Rajabi, M. ve Mousa, S. A., 2015, Multifunctional Nanomaterials and Their Applications in Drug Delivery and Cancer Therapy, Nanomaterials (Basel), 5 (4), 1690-1703.

Srimathi, U., Nagarajan, V. ve Chandiramouli, R., 2018, Interaction of Imuran, Pentasa and Hyoscyamine drugs and solvent effects on graphdiyne nanotube as a drug delivery system - A DFT study, Journal of Molecular Liquids, 265, 199-207.

Tasciotti, E., Liu, X., Bhavane, R., Plant, K., Leonard, A. D., Price, B. K., Cheng, M. M., Decuzzi, P., Tour, J. M., Robertson, F. ve Ferrari, M., 2008, Mesoporous silicon particles as a multistage delivery system for imaging and therapeutic applications, Nat Nanotechnol, 3 (3), 151-157.

Tian, Z., Xu, Y. ve Zhu, Y., 2017, Aldehyde-functionalized dendritic mesoporous silica nanoparticles as potential nanocarriers for pH-responsive protein drug delivery, Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 71, 452-459.

Torney, F., Trewyn, B. G., Lin, V. S. ve Wang, K., 2007, Mesoporous silica nanoparticles deliver DNA and chemicals into plants, Nat Nanotechnol, 2 (5), 295-300.

Trewyn, B. G., Nieweg, J. A., Zhao, Y. ve Lin, V. S. Y., 2008, Biocompatible mesoporous silica nanoparticles with different morphologies for animal cell membrane penetration, Chemical Engineering Journal, 137 (1), 23-29.

Tsai, H. F. ve Hsu, P. N., 2017, Cancer immunotherapy by targeting immune checkpoints: mechanism of T cell dysfunction in cancer immunity and new therapeutic targets, J Biomed Sci, 24 (1), 35.

Vallet-Regi, M., 2006, Revisiting ceramics for medical applications, Dalton Trans (44), 5211-5220.

Vallet-Regi, M., Balas, F. ve Arcos, D., 2007, Mesoporous materials for drug delivery, Angew Chem Int Ed Engl, 46 (40), 7548-7558.

Vallet-Regi, M., Rámila, A., del Real, R. P. ve Pérez-Pariente, J., 2001, A New Property of MCM-41: Drug Delivery System, Chemistry of Materials, 13 (2), 308-311.

Van Speybroeck, M., Barillaro, V., Thi, T. D., Mellaerts, R., Martens, J., Van Humbeeck, J., Vermant, J., Annaert, P., Van den Mooter, G. ve Augustijns, P., 2009, Ordered mesoporous silica material SBA-15: a broad-spectrum formulation platform for poorly soluble drugs, J Pharm Sci, 98 (8), 2648-2658.

Verhoef, J. J. F. ve Anchordoquy, T. J., 2013, Questioning the use of PEGylation for drug delivery, Drug Delivery and Translational Research, 3 (6), 499-503.

Xu, X., Lü, S., Gao, C., Feng, C., Wu, C., Bai, X., Gao, N., Wang, Z. ve Liu, M., 2016, Self-fluorescent and stimuli-responsive mesoporous silica nanoparticles using a double-role curcumin gatekeeper for drug delivery, Chemical Engineering Journal, 300, 185-192.

Wang, H., Huang, Q., Chang, H., Xiao, J. ve Cheng, Y., 2016, Stimuli-responsive dendrimers in drug delivery, Biomater Sci, 4 (3), 375-390.

Wang, L., Yao, J., Zhang, X., Zhang, Y., Xu, C., Lee, R. J., Yu, G., Yu, B. ve Teng, L., 2018, Delivery of paclitaxel using nanoparticles composed of poly(ethylene oxide)-b-poly(butylene oxide) (PEO-PBO), Colloids Surf B Biointerfaces, 161, 464-470.

Watermann, A. ve Brieger, J., 2017, Mesoporous Silica Nanoparticles as Drug Delivery Vehicles in Cancer, Nanomaterials (Basel), 7 (7).

Weinstain, R., Segal, E., Satchi-Fainaro, R. ve Shabat, D., 2010, Real-time monitoring of drug release, Chem Commun (Camb), 46 (4), 553-555.

Wu, S. H., Mou, C. Y. ve Lin, H. P., 2013, Synthesis of mesoporous silica nanoparticles, Chem Soc Rev, 42 (9), 3862-3875.

Wu, S., Huang, X. ve Du, X., 2013, Glucose- and pH-responsive controlled release of cargo from protein-gated carbohydrate-functionalized mesoporous silica nanocontainers, Angew Chem Int Ed Engl, 52 (21), 5580-5584.

Yang, K., Luo, H., Zeng, M., Jiang, Y., Li, J. ve Fu, X., 2015, Intracellular pH-Triggered, Targeted Drug Delivery to Cancer Cells by Multifunctional Envelope-Type Mesoporous Silica Nanocontainers, ACS Applied Materials & Interfaces, 7 (31), 17399-17407.

Yang, P., Gai, S. ve Lin, J., 2012, Functionalized mesoporous silica materials for controlled drug delivery, Chem Soc Rev, 41 (9), 3679-3698.

Ying, J. Y., 2006, Design and synthesis of nanostructured catalysts, Chemical Engineering Science, 61 (5), 1540-1548.

Zeng, X., Liu, G., Tao, W., Ma, Y., Zhang, X., He, F., Pan, J., Mei, L. ve Pan, G., 2017, A Drug-Self-Gated Mesoporous Antitumor Nanoplatform Based on pH-Sensitive Dynamic Covalent Bond, Advanced Functional Materials, 27 (11), 1605985.

Zhang, J., Yuan, Z. F., Wang, Y., Chen, W. H., Luo, G. F., Cheng, S. X., Zhuo, R. X. ve Zhang, X. Z., 2013, Multifunctional envelope-type mesoporous silica nanoparticles for tumor-triggered targeting drug delivery, J Am Chem Soc, 135 (13), 5068-5073.

Zhang, Z., Liu, C., Bai, J., Wu, C., Xiao, Y., Li, Y., Zheng, J., Yang, R. ve Tan, W., 2015, Silver nanoparticle gated, mesoporous silica coated gold nanorods (AuNR@MS@AgNPs): low premature release and multifunctional cancer theranostic platform, ACS Appl Mater Interfaces, 7 (11), 6211-6219.

Zhang, P., Sun, F., Liu, S. ve Jiang, S., 2016, Anti-PEG antibodies in the clinic: Current issues and beyond PEGylation, J Control Release, 244 (Pt B), 184-193.

Zhang, M., Liu, J., Kuang, Y., Li, Q., Zheng, D. W., Song, Q., Chen, H., Chen, X., Xu, Y., Li, C. ve Jiang, B., 2017a, Ingenious pH-sensitive dextran/mesoporous silica nanoparticles based drug delivery systems for controlled intracellular drug release, Int J Biol Macromol, 98, 691-700.

Zhang, X., Wang, Y., Zhao, Y. ve Sun, L., 2017b, pH-responsive drug release and real-time fluorescence detection of porous silica nanoparticles, Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 77, 19-26.

Zhang, Z., Wang, H., Chen, Z., Wang, X., Choo, J. ve Chen, L., 2018, Plasmonic colorimetric sensors based on etching and growth of noble metal nanoparticles: Strategies and applications, Biosens Bioelectron, 114, 52-65.

Zhang, X., Zhao, Y., Cao, L. ve Sun, L., 2018, Fabrication of degradable lemon-like porous silica nanospheres for pH/redox-responsive drug release, Sensors and Actuators B: Chemical, 257, 105-115.

Zhao, D., Sun, J., Li, Q. ve Stucky, G. D., 2000, Morphological Control of Highly Ordered Mesoporous Silica SBA-15, Chemistry of materials, 12 (2), 275-279.

Zhao, J., He, Z., Li, B., Cheng, T. ve Liu, G., 2017, AND logic-like pH- and light-dual controlled drug delivery by surface modified mesoporous silica nanoparticles, Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 73, 1-7.

Zhao, J., Liu, J., Xu, S., Zhou, J., Han, S., Deng, L., Zhang, J., Liu, J., Meng, A. ve Dong, A., 2013, Graft copolymer nanoparticles with pH and reduction dual-induced disassemblable property for enhanced intracellular curcumin release, ACS Appl Mater Interfaces, 5 (24), 13216-13226.

Zhao, Q., Geng, H., Wang, Y., Gao, Y., Huang, J., Wang, Y., Zhang, J. ve Wang, S., 2014, Hyaluronic acid oligosaccharide modified redox-responsive mesoporous silica nanoparticles for targeted drug delivery, ACS Appl Mater Interfaces, 6 (22), 20290-20299.

Zheng, F. F., Zhang, P. H., Xi, Y., Chen, J. J., Li, L. L. ve Zhu, J. J., 2015, Aptamer/Graphene Quantum Dots Nanocomposite Capped Fluorescent Mesoporous Silica Nanoparticles for Intracellular Drug Delivery and Real-Time Monitoring of Drug Release, Anal Chem, 87 (23), 11739-11745.

Zhu, Y., Meng, W., Gao, H. ve Hanagata, N., 2011, Hollow Mesoporous Silica/Poly(l-lysine) Particles for Codelivery of Drug and Gene with Enzyme-Triggered Release Property, The Journal of Physical Chemistry C, 115 (28), 13630-13636.