



**BİYOPOLİMERLER İLE MODİFİYE EDİLMİŞ
MANYETİK GRAFEN OKSİT ÜRETİMİ VE
İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM OLARAK
KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi

Reza NOURI GAMCHI

Eskişehir 2025

**BİYOPOLİMERLER İLE MODİFİYE EDİLMİŞ MANYETİK GRAFEN OKSİT
ÜRETİMİ VE İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM OLARAK KULLANIMININ
ARAŞTIRILMASI**

Reza NOURI GAMCHI

Yüksek Lisans Tezi

**Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Kimyasal Teknolojiler Bilim Dalı
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Evren ARIÖZ
(İkinci Danışman: Doç. Dr. Tuğba ARAS)**

**Eskişehir
Eskişehir Teknik Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Haziran 2025**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Reza NOURI GAMCHI'nin BİYOPOLİMERLER İLE MODİFİYE EDİLMİŞ MANYETİK GRAFEN OKSİT ÜRETİMİ VE İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM OLARAK KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI başlıklı çalışması 30/06/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Eskişehir Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Kimya Mühendisliği Anabilim dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvan Adı Soyadı

İmza

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi Evren ARIÖZ

Üye

: Doç. Dr. Rukiye AYRANCI

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi Suzan BİRAN AY

Prof. Dr. Harun BÖCÜK

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

DANIşMAN ONAYI

Danişmanlığını yürüttüğüm Yüksek Lisans ęrencisi Reza NOURI GAMCHI, BİYOPOLİMERLER İLE MODİFİYE EDİLMİş MANYETİK GRAFEN OKSİT ÜRETİMİ VE İLAÇ TAşIYICI SİSTEM OLARAK KULLANIMININ ARAşTIRILMASI başlıklı tez çalışmasını tamamlamıştır. Hazırlamış olduğu tez tarafımda incelenmiş ve öğrencinin tez savunma sınavına alınması bilimsel ve etik açıdan uygun görülmüştür.

Tez Daniřmanı

Dr. Öğr. Üyesi Evren ARIÖZ

ÖZET

BİYOPOLİMERLER İLE MODİFİYE EDİLMİŞ MANYETİK GRAFEN OKSİT ÜRETİMİ VE İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM OLARAK KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI

Reza NOURI GAMCHI

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimyasal Teknolojiler Bilim Dalı

Eskişehir Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Haziran 2025

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Evren ARIÖZ

(İkinci Danışman: Doç. Dr. Tuğba ARAS)

Gelişen teknolojiyle birlikte, manyetik nanopartiküllerin biyomedikal alanlardaki uygulamaları önemli ölçüde artış göstermektedir. Araştırmanın temel amacı, kanser tedavisinde potansiyel olarak kullanılabilen bir ilaç taşıma sistemi geliştirmektir. Bu kapsamda, manyetik grafen oksit sentezlenmiş ve karakterizasyonları FTIR-ATR, SEM-EDX, XRD ve VSM analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar grafen oksit yapısının manyetik özellik kazandıracak şekilde başarıyla modifiye edildiğini kanıtlanmıştır.

Sentezlenen nanopartiküller ve yüzeyleri kitosan, sodyum aljinat ve hibrit olarak kitosan -sodyum aljinat biyopolimerleri ile kaplanarak ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabilirleri araştırılmıştır. Kanser tedavisinde kullanılan doksorubisin (DOX), sentezlenen nanopartiküllere fizyolojik pH (7,4) ortamında yüklenmiştir. En yüksek yükleme verimi %78,53 ile mGO-CH-SA yapısında elde edilmiştir. İlaç salınım deneyleri fizyolojik pH (7,4) ve tümör mikrosimülasyonunu temsil eden asidik pH (5,5) koşullarını taklit eden ortamda yürütülmüştür. En yüksek salım oranı %38 ile mGO-CH-SA örneğinde gözlenmiştir. Salım oranları, manyetik nanopartiküllerin pH-duyarlı bir salım mekanizması sergilediğini göstermektedir. Elde edilen sonuçlar biyopolimerler ile kaplanmış manyetik grafen oksitlerin kanser tedavisinde kullanılan ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Manyetik grafen oksit, Kitosan, Sodyum aljinat, Doksorubisin, İlaç taşıyıcı sistemleri

ABSTRACT

FABRICATION OF BIOPOLYMERS-MODIFIED MAGNETIC GRAPHENE OXIDE AND INVESTIGATION OF THEIR APPLICATION AS A DRUG DELIVERY SYSTEM

Reza NOURI GAMCHI

Department of Chemical Engineering

Programme in Chemical Technologies

Eskişehir Technical University, Institute of Graduate Programs, June 2025

Supervisor: Asst. Prof. Evren ARIÖZ

(Co-Supervisor: Assoc. Prof. Tuğba ARAS)

With technological advances, the biomedical applications of magnetic nanoparticles have grown significantly. The primary objective of the research is to develop a drug delivery system that could potentially be used in cancer treatment. Magnetic graphene oxide was synthesized and characterized using FTIR-ATR, SEM-EDX, XRD, and VSM analyses. The analysis results demonstrated that the graphene oxide structure was successfully modified to impart magnetic properties.

The synthesized nanoparticles and their surfaces were coated with chitosan, sodium alginate, and hybrid chitosan-sodium alginate biopolymers to investigate their potential use as drug delivery systems. Doxorubicin (DOX), used in cancer treatment, was loaded onto the synthesized nanoparticles at a physiological pH (7.4). The highest loading efficiency of 78.53% was achieved with the mGO-CH-SA structure. Drug release experiments were conducted at physiological pH conditions (7.4) and at the acidic microenvironment of tumor tissues (5.5) mimicking tumor microsimulation. The highest release rate, 38%, was observed in the mGO-CH-SA sample. Release rates indicate that magnetic nanoparticles exhibit a pH-sensitive release mechanism. Release experiments indicate that drug release is largely diffusion-controlled, with more controlled drug release in acidic environments. The results indicate that magnetic graphene oxides coated with biopolymers can be used as drug delivery systems for cancer treatment.

Keywords: Magnetic graphene oxide, Chitosan, Sodium alginate, Doxorubicin, Drug delivery systems.

TEŞEKKÜR

Tez sürecim boyunca kıymetli katkıları ve desteğiyle çalışmamın gelişimine önemli katkılarda bulunan Dr. Öğr. Üyesi Evren ARIÖZ'e teşekkür ederim. Sağladığı yapıcı geri bildirimler ve akademik rehberliği, araştırmamın daha sağlam bir temele oturmasına yardımcı olmuştur.

Aynı şekilde, bilgi birikimi, yönlendirmeleri ve yapıcı eleştirileriyle çalışmama büyük katkı sağlayan değerli eş danışmanım Doç. Dr. Tuğba ARAS'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Kendisinin akademik birikimi ve yol göstericiliği, bu çalışmanın hem şekillenmesinde hem de derinleşmesinde belirleyici olmuştur. Her aşamada gösterdiği sabır, özveri ve desteği benim için son derece kıymetlidir.

Her iki hocama da, bilimsel çalışmalara verdikleri değerli katkılar ve bana kazandırdıkları perspektif için minnettarım.

Ayrıca, bu çalışmanın yürütülmesinde sağladıkları laboratuvar olanakları ve altyapı desteği için Eskişehir Teknik Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümüne teşekkürlerimi sunarım. Araştırmam süresince sundukları teknik imkânlar, deneysel süreçlerin başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesine önemli katkı sağlamıştır.

Nihayet, bu süreçte her daim yanımda olan, sabırları, destekleri ve teşvikleriyle bana güç veren aileme gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla
Reza NOURI GAMCHI

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Eskişehir Teknik Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Reza NOURI GAMCHI

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	I
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	II
DANIŞMAN ONAYI	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
TEŞEKKÜR	VI
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	VII
İÇİNDEKİLER.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
GÖRSELLER DİZİNİ	XIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	XIV
1. KANSER VE KANSER İLAÇLARI	1
1.1. Meme Kanseri ve Tedavi Süreçleri	4
1.1.1. Tüm meme kanseri alt tipleri için ortak tedaviler	4
1.2. Kemoterapi	5
1.2.1. Doksorubisin (DOX).....	7
1.3. Kontrollü İlaç Salınım Sistemleri	8
1.4. Nanoteknoloji ve Biyonanoteknoloji.....	14
2. KARBON MATERYALLER	16
2.1. Grafen.....	17
2.2. Grafen Oksit	18
2.3. Manyetik Grafen Oksit	20
3. POLİMERİK BİYOMALZEMELER	23
3.1. Polimerlerin Yapısı	25
3.2. Biyopolimerler ve Özellikleri	26

3.2.1. Kitosan	26
3.2.2. Sodyum aljinat	27
3.3. Literatür Araştırması ve Çalışmanın Amacı	28
4. MALZEMELER VE YÖNTEMLER	31
4.1. Malzemeler.....	31
4.2. Grafen Oksit (GO) Sentezi	31
4.3. Manyetik Grafen Oksit (mGO) Sentezi	32
4.4. Manyetik Grafen Oksit-Kitosan (mGO-CH) Sentezi	33
4.5. Manyetik Grafen Oksit-Sodyum Aljinat (mGO-SA) Sentezi.....	33
4.6. Manyetik Grafen Oksit-Kitosan-Sodyum Aljinat (mGO-CH-SA) Sentezi.....	34
4.7. In Vitro İlaç Yükleme ve İlaç Salınımı.....	34
4.8. Karakterizasyon	36
4.9. İlaç Salınım Kinetiği Çalışması.....	37
5. SONUÇLAR.....	39
5.1. Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu.....	39
5.1.1. FT-IR analizi	39
5.1.2. SEM analizi	40
5.1.3. EDX analizi.....	43
5.1.4. XRD analizi	46
5.1.5. VSM analizi	47
5.2. mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA'a Dokсорubisin Yüklemesi.....	48
5.3. mGO/DOX, mGO-SA/DOX, mGO-CH/DOX ve mGO-CH- SA/DOX'tan Dokсорubisin Salınımı.....	50
5.4. mGO/DOX, mGO-SA/DOX, mGO-CS/DOX ve mGO-CH-SA/DOX Nanopartiküllerinden İlaç Salınımının Kinetik Çalışması.....	51
5.5. Elde Edilen Sonuçların Literatür ile Kıyaslanması	53
6. TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	57
KAYNAKÇA.....	59
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Antikanser ilaçlar için önceliklendirilmiş tedavi listesi (Sikora vd., 1999).	3
Tablo 5.1. Grafit, GO ve mGO'nun ana bileşenleri olarak, ağırlık ve atom yüzdeleri.....	44
Tablo 5.2. mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA'nın ana bileşenleri olarak, ağırlık yüzdeleri.....	46
Tablo 5.3. pH 7,4 ve 5,5'te, mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA nanokompozitlerinin in vitro ilaç salım kinetiği parametreleri.	53
Tablo 5.4. GO tabanlı sistemler için literatürdeki DOX yükleme ve salınım yüzdelerinin karşılaştırılması.	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Doksorubisinin kimyasal yapısı (Prados vd., 2012).....	8
Şekil 1.2. Doksorubisinin etki mekanizması (Rivankar, 2014).....	8
Şekil 1.3. Geleneksel ilaç taşıma sistemlerinin sınırlamaları (Adepu & Ramakrishna, 2021)	11
Şekil 1.4. (a) Konvansiyonel DDS'in; (b) Kontrollü DDS'in tipik farmokinetik eğrileri (Adepu & Ramakrishna, 2021).....	11
Şekil 1.5. Çözünme kontrollü dağıtım sistemleri (Adepu & Ramakrishna, 2021).....	12
Şekil 1.6. Difüzyon kontrollü iletim sistemlerinin şeması (Adepu & Ramakrishna, 2021).....	13
Şekil 2.1. Karbon allotropları ve ilgili malzemeler (CNT, karbon nanotüp) (Zhen & Zhu, 2018).....	16
Şekil 2.2. Oksitlenmiş bir Si alt tabakasının üstündeki bir grafen kristalinin atomik kuvvet mikroskobu görüntüsü (Katsnelson, 2007)	17
Şekil 2.3. Grafenin altıgen kafesi (Zhen & Zhu, 2018).....	18
Şekil 2.4. Manyetik grafen oksit nanopartikülleri için birincil sentez yöntemlerinin özeti (He vd., 2021).....	21
Şekil 2.5. Manyetik grafen oksit nanopartikül iskelelerinin çeşitli biyomedikal uygulamaları (He vd., 2021)	22
Şekil 3.1. Doğal polimerlerin kimyasal yapısı (a) Kitin, (b) Sodyum aljinat, (c) Selüloz, (d) Hyaluronik asit, (e) Jelatin ve (f) Kolajen (Kalirajan vd., 2021).....	24
Şekil 3.2. Sentetik polimerlerin kimyasal yapısı (a) Polivinil alkol (PVA), (b) Polilaktik asit (PLA) ve (c) Poli(laktik-ko-glikolik) asit (PLGA) (Kalirajan vd., 2021)	25
Şekil 3.3. Polimer tabanlı biyomalzemelerin çeşitli biyomedikal uygulama alanlarındaki kullanımları (Kalirajan vd., 2021).....	25
Şekil 4.1. DOX'in farklı derişimlerde kalibrasyon eğrisi.....	37
Şekil 5.1. Grafit, GO, mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA'nın FT-IR analizi	40
Şekil 5.2. a)500 X ve d)10.00k X grafitte ait, b) 500 X ve e)10.00k X GO'ye ait, c)1.00k X ve f)7,50k X mGO'ye ait farklı yaklaştırma oranlarındaki SEM görüntüleri.....	41

Şekil 5.3. a)10.00k X ve d)20.00k X mGO-SA’a ait, b) 10.00k X ve e) 20.00k X mGO-CH’a ait ve c) 10.00k X ve f) 20.00k X mGO-CH-SA’a ait farklı yaklaştırma oranlarındaki SEM görüntüleri	42
Şekil 5.4. a) Grafit, b) GO ve c) mGO’nun EDX analizi	44
Şekil 5.5. Grafit ve GO’nun XRD analizi	47
Şekil 5.6. mGO’nun VSM analizi	48
Şekil 5.7. mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA’ın pH 7,4 ve 5,5’te DOX salınımı	51
Şekil 5.8. mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA nanokompozitlerinden DOX salınımının kinetik modelleri; a) pH 7,4 ve b) pH 5,5.....	53



GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 4.1. GO sentezi	32
Görsel 4.2. mGO sentezi	33
Görsel 4.3. mGO-CH, mGO-SA ve mGO-CH-SA sentezi.....	34
Görsel 4.4. DOX yükleme ve DOX salınımı	36



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α	: Alpha
β	: Beta
μm	: Mikrometre
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat Derece
API	: Active Pharmaceutical Ingredient
ATR	: Attenuated Total Reflectance
BCNU	: Carmustine
CCNU	: Lomustine
DDS	: Drug Delivery System
DOX	: Doxorubicin
EDX	: Energy Dispersive X-Ray
FDA	: Food and Drug Administration
FT-IR	: Fourier-Transform Infrared Spectroscopy
g	: Gram
HPGA	: Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis
M	: Molar
MEC	: Minimum Effective Concentration
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
PBS	: Phosphate-Buffered Saline
pH	: Potansiyel Hidrojen Değeri
rpm	: Revolutions per minute
SEM	: Scanning Electron Microscopy
VSM	: Vibrating-Sample Magnetometry
XRD	: X-Ray Diffraction

1. KANSER VE KANSER İLAÇLARI

Kanser uluslararası ölçekte artış gösteren görülme sıklığı ve yüksek mortalite oranları nedeniyle, en önemli halk sağlığı sorunlarından biri olarak kabul edilmektedir(Vasir & Labhasetwar, 2005). Her yıl 10 milyondan fazla yeni vaka ile kanserle ilişkili ölümlerin artacağı öngörülmektedir ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2030 yılına kadar kanserle ilişkili ~13,1 milyon ölüm olacağı tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, tümörlerin yapısı ve davranışları hakkında edinilen bilgilerin artması ile birlikte, teşhis yöntemlerinde ve tedavi seçeneklerinde yaşanan gelişmeler sayesinde, son beş yıl içinde kanser nedeniyle yaşanan ölüm oranlarında anlamlı bir düşüş görülmüştür (Senapati vd., 2018). Terapötik ajanların katı tümörlere seçici olarak verilmesi, uzun vadeli hastalık remisyonu ve tedavisinin sağlanmasındaki en büyük engellerden biri olarak kabul edilmiştir. Son yıllarda geniş bir araştırma grubunun birincil hedefi, ilaç dağılımının tümörlerde yer alan terapötik ajanların konsantrasyonunun seçici olarak artırılmasına yöneliktir. Bu hedef doğrultusunda, daha yüksek ilaç konsantrasyonuna bağlı olarak, tümör dokusunda daha yüksek terapötik sonuçlar alınacağı varsayılmaktadır (Lu & Qiao, 2018). Çoğu katı tümör, cerrahi olarak çıkarıldıktan sonra, kalan kanser hücreleri radyoterapi, kemoterapi, immünoterapi vb. gibi çeşitli tedavi seçenekleriyle yönetilir. Bununla birlikte, kanserin metastaz yapması durumunda mevcut tedavi seçenekleri önemli ölçüde sınırlanmakta olup, kemoterapi bu bağlamda başlıca tedavi yaklaşımlarından biri olmaya devam etmektedir (Vasir & Labhasetwar, 2005). DNA sentezini ve hücre bölünmesini baskılayarak etki gösteren klasik kemoterapi uygulamaları, hızlı büyüme ve çoğalma eğilimindeki kanser hücrelerini hedef alır. Ancak bu ajanların hedef özgüllüğünün düşük olması, yalnızca tümör hücrelerinin değil, aynı zamanda sağlıklı hücrelerin de zarar görmesine neden olur. Bu durum, çoğu zaman anoreksi, bulantı gibi ciddi düzeyde tolere edilemeyen advers etkilerin gelişmesine yol açmaktadır. Bu nedenle, kemoterapiye bağlı olarak sağlıklı dokularda meydana gelen bu sistemik toksisiteler, kanser hastalarında gözlenen yüksek mortalite oranlarının başlıca nedenlerinden biri olarak değerlendirilmektedir (Senapati vd., 2018).

Kemoterapinin etkinliğini sınırlayan başlıca etkenlerden biri, antineoplastik ajanların tümör dokusuna yetersiz düzeyde ulaşabilmesidir. Bu durum, daha yüksek dozların uygulanmasını gerektirirken, söz konusu ajanların seçici olmayan etkisi sistemik toksisite riskini artırmaktadır. Bu çerçevede, hedefe yönelik ilaç dağıtım sistemleri; terapötik düzeyde ilaç konsantrasyonlarını doğrudan tümör bölgesine iletme yetenekleri

sayesinde, kanser tedavisinin etkinliğini artırma açısından önemli bir potansiyele sahiptir (Vasir & Labhasetwar, 2005).

Kanser ilaçları, öncelik seviyesine göre 3 kategoriye ayrılabilir. Bir ilacın öncelikli sınıflandırmasının belirlenmesi, 1., 2. ve 3. kategori tümörlere karşı gösterdiği tedavi başarısına ve tedaviye yanıt veren tümörlerin genel insidans oranlarına dayanmaktadır. Bazı yaygın tümörlere karşı faydalı sonuçlar sağlayan 13 etkili ilaç ve lösemi tedavisinde kullanılan 4 ilaç belirlenmiş ve 1. Öncelikli grup olarak Tablo 1.1’de verilmiştir.

İkinci ilaç grubu, öncelik 2 kategorisi kapsamında sınıflandırılmıştır. Bu grupta yer alan ilaçlar, gerçekten gerekli değildirler çünkü öncelik 1 listesindeki ilaçlara listesindeki ilaçlara ikame olarak kullanılabildikleri veya etkilerinin hafifletici olması gerekli olmaları açısından tartışılabilir durumdadır.

Öncelik 3 kategorisinde yer alan ilaçların büyük bir kısmı, görece yeni geliştirilmiş, yüksek maliyetli ve sınırlı terapötik etkiye sahip ajanlardır. Örneğin; metastatik meme kanseri olan hastaların yaklaşık yarısı docetaxel tedavisine yanıt vermekte olup, tedaviye bağlı advers etkiler klinik açıdan anlamlı düzeydedir. Ayrıca, medyan yanıt süresi genellikle beş ila altı ay ile sınırlı kalmaktadır (Sikora vd., 1999).

Tablo 1.1. Antikanser ilaçlar için önceliklendirilmiş tedavi listesi (Sikora vd., 1999).

	İlk 10 kanser	Kategori 1-2	Genel
Öncelik 1			
Bleomisin	+	+	+
Klorambusil	+	+	+
Sisplatin	+	+	+
Siklofosfamid	+	+	+
Doksorubisin	+	+	+
Etopozid	+	+	+
5-Flourourasil	+	+	+
Metotreksat	+	+	+
Prednizolon	+	+	+
Prokarbazin		+	+
Tamoksifen	+	+	+
Vinkristin	+	+	+
Vinblastin	+	+	+
Sitarabin		+	+
Daktinomisin		+	+
Daunorubisin		+	+
6-Merkaptopurin		+	+
İki antiemetikle birlikte- bir dopamin reseptörü ve bir 5-HT3 reseptör antagonisti ve deksametazon			
Öncelik 2			
Busulfan		+	+
Karboplatin		+	
Flutamid	+		
Folinik asit	+	+	
İnterferon alfa		+	
LHRH analoglar	+		
Melfalan			+
Megestrol asetat	+		+
Mitomisin C			+
Mitoksantron	+	+	
Paklitaksel	+		
Vinorelbin	+		
Öncelik 3			
Aminoglutetimid	+		+
Anastrozol	+		
Altretamin			
BCNU, CCNU			+
Dakarbazin			+
Dosetaksel	+		
Epirubisin	+	+	
Gemsitabin	+		
İfosfamid			
İrinotekan	+		
Raltitreksed	+		
Topotekan			

1.1. Meme Kanseri ve Tedavi Süreçleri

Meme kanseri, kadınlar arasında en yaygın görülen kötü huylu neoplazmlardan biri olup, moleküler düzeyde karmaşık ve heterojen bir biyolojik yapıya sahip olmasıyla karakterize edilen bir hastalıktır. Son 10-15 yılda, tedavi konseptleri bu heterojenliği hesaba katacak şekilde gelişmiş ve tedavi yan etkilerini azaltmak için daha biyolojik olarak yönlendirilmiş terapilere ve tedavi azaltımına vurgu yapılmıştır (Harbeck vd., 2019). Amerika Birleşik Devletleri'nde kadınların yaklaşık %12'sine meme kanseri tanısı konulmaktadır (Waks & Winer, 2019). Amerika Birleşik Devletleri'nde meme kanseri, kadınlar arasında kansere bağlı ölümler açısından ikinci en yaygın neden olarak bildirilmektedir. Her yıl yaklaşık 316.000 kadına meme kanseri tanısı konulmaktadır (Trayes & Cokenakes, 2021). Meme kanseri, 2018 yılı verilerine göre tüm kanser vakalarının %11,6'sını ve kadınlara özgü kanser vakalarının %24,2'sini oluşturarak, global düzeyde en yüksek insidansa sahip malignite olarak öne çıkmakta ve kadınlarda kansere bağlı ölümlerin %6,6'sı ile başlıca mortalite nedenlerinden birini temsil etmektedir (Barrios, 2022).

1.1.1. Tüm meme kanseri alt tipleri için ortak tedaviler

Tüm meme kanseri alt tiplerinin tedavisinde cerrahi müdahalenin yanı sıra radyoterapi ve kemoterapi rutin olarak kullanılmaktadır.

- Ameliyat:

En standart meme cerrahisi yaklaşımları, genellikle meme rekonstrüksiyonunun ardından gelen memenin total eksizyonu (mastektomi) veya meme koruyucu cerrahidir (lumpektomi). Lumpektomi, meme tümörünün çevresindeki normal dokuyla birlikte çıkarılmasını gerektirir. Önerilen kenar durumu, "tümör üzerinde mürekkep yok" olarak tanımlanır, yani doku kenarında kalan tümör hücresi yoktur (Burguin vd., 2021).

- Radyoterapi:

Genellikle, meme koruyucu cerrahiye takiben tüm meme radyoterapisi, olası subklinik hastalığın ortadan kaldırılmasını sağlamak amacıyla uygulanmaktadır. Radyasyonla ve radyasyonsuz meme koruyucu cerrahiye karşılaştıran 10 randomize kontrollü çalışmanın incelenmesi, cerrahiye ek olarak radyasyonun, adjuvan sistemik tedavinin

kullanımından bağımsız olarak beş yıllık lokal tekrarlama oranını önemli ölçüde ve 15 yıllık meme kanseri ölüm riskini azalttığını göstermiştir (Maughan vd., 2010).

1.2. Kemoterapi

Kemoterapi terimi ilk defa 1900'lerin başında, ünlü Alman kimyager Paul Ehrlich tarafından kullanılmış ve hastalıkları tedavi etmek için kimyasalların kullanımı olarak tanımlanmıştır. Ehrlich tarafından yapılan bu çalışmaların temelinde, bulaşıcı hastalıkların tedavisi amacıyla farmakolojik ajanlar geliştirmek olmuştur. Bu çalışmaların ışığında, kemoterapinin kanser tedavisinde kullanımına ilişkin ilk girişimler 20. yüzyılın başlarında, kemirgen modellerinde transplantaibl tümörler üzerinde kimyasal tarama yöntemlerinin geliştirilmesiyle ortaya çıkmıştır. Bu çalışmalar, hastalık üzerinde etkili olabilecek kimyasal bileşikler belirleyerek potansiyel ajanların kapsamını daraltmayı amaçlamıştır.

II. Dünya Savaşı sırasında yapılan bazı araştırma programlarında geliştirilen ilaçların, kanser tedavisinde etkili oluşu, Amerika'da kanser ilaçlarını geliştirmiş ve Kanser Kemoterapisi Ulusal Hizmet Merkezinin kurulmasına neden olmuştur. 1960'larda ve 1970'lerin başında kombinasyon kemoterapisinin akut çocukluk lösemisini ve ileri Hodgkin hastalığını tedavi etme yeteneği, ilaçların ileri kanserleri tedavi etme yeteneği hakkındaki yaygın karamsarlığı aşmış, adjuvan kemoterapinin incelenmesini kolaylaştırmış ve ulusal kanser programının gelişmesine yardımcı olmuştur.

Günümüzde ise kemoterapinin uygulanma şekli, geçmişe göre oldukça değişmiştir. Artık sadece yeni ilaçlar geliştirmekle kalınmamakta; aynı zamanda kanser hücrelerindeki moleküler düzeydeki bozukluklar (yani genetik ya da biyokimyasal anormallikler) belirlenerek, bu bozukluklara özgü tedaviler (hedefe yönelik tedaviler) geliştirilmeye çalışılmaktadır. Yani, klasik kemoterapiden, kişiselleştirilmiş ve hedefe yönelik bir yaklaşıma geçilmiştir (DeVita & Chu, 2008).

- Kemoterapinin gelişimine ilişkin tarihsel bir bakış açısı:

Kanserin kimyasallarla tedavisi birkaç yüz yıl öncesine dayanmaktadır ancak sistemik kemoterapinin ilk başarılı ve belgelenmiş kullanımı 1940'lara kadar gerçekleşmemiştir. Nitrojen hardalının savaş sırasında gözlemlenen toksik etkileri, ilk kez bir lenfoma hastasında deneysel olarak uygulanmış ve bu durum modern kemoterapinin başlangıcını oluşturmuştur. İlk olumlu sonuçlar kısa süreli olsa da, bu gelişme kötü huylu tümörlerin kimyasal tedavisine dair önemli bir dönüm noktası

olmuştur. 2000 yılına kadar, sitotoksik ilaçların sayısı artmış, özellikle 1990'larda yeni ilaçların onay süreci hız kazanmıştır.

Nitrojen mustard türevleri, DNA alkilasyonu yoluyla sitotoksik etkilerini gösteren ve bu mekanizma ile etki eden en geniş antikanser ilaç grubu içerisinde yer almaktadır. Hücresel metabolizmanın biyokimyasındaki artan bilgi, antimetabolitler (örneğin metotreksat, 6-merkaptopurin, 5-florourasil), antibiyotik kökenli ajanlar (aktinomisin D, doksorubisin) ve bitkisel kaynaklı vinka alkaloidleri gibi çeşitli ilaç gruplarının klinik kullanıma girmesini sağlamıştır. 1970'lerin sonlarında sisplatinin tanıtılması, özellikle testis kanserinde sağkalım oranlarını belirgin şekilde artırarak kemoterapide çığır açmıştır.

Son on yılda, tedavi seçeneklerine önemli katkılar sağlayan taksanlar, topoizomeraaz I inhibitörleri ve antimetabolitler (fludarabin, kladribin) gibi yeni ajanlar geliştirilmiştir. Bu ilaçlar özellikle meme kanseri ve bazı lenfoma türlerinde etkili olmuştur (Nygren, 2001).

- Kemoterapinin uygulaması:

Kemoterapi, bazı durumlarda tümörü yok etmek veya en azından tümör yükünü azaltmak ve böylece tümörle ilişkili semptomları azaltmak ve belki de yaşamı uzatmak amacıyla sitotoksik kimyasalların, yani hücre öldürücü özelliklere sahip kimyasalların uygulanması anlamına gelmektedir. Bu ilaçlar genellikle intravenöz yolla verilir; ancak bazı ajanlar için oral veya lokal uygulamalar da mümkündür. Lokalize tümörlerde, ilaçların doğrudan hedef bölgeye verilmesi daha yüksek dozların kullanılmasına olanak tanır ve terapötik etkinliği artırabilir. Günümüzde kemoterapi, temelde dört farklı klinik durumda uygulanmaktadır. İleri evrelerde ya da bazı lokalize kanser türlerinde, tümör kitlesini en aza indirmek ve tümörün özelliklerine bağlı olarak hastalık bulgularının hafifletilmesinden tam iyileşmeye kadar uzanan terapötik hedeflere ulaşmak amacıyla indüksiyon tedavisi olarak tercih edilmektedir. Adjuvan tedavi kapsamında ise kemoterapi, cerrahi müdahale ya da radyoterapi ile primer tümör kontrol altına alındıktan sonra, vücutta kalmış olabilecek ve ileride metastaz oluşturma potansiyeline sahip mikroskobik tümör hücrelerini yok etmek üzere tamamlayıcı bir tedavi seçeneği olarak uygulanmaktadır. Ameliyat öncesi de verilen neoadjuvan tedavide amaç, mikroskobik hastalık üzerindeki etkilerle ameliyat edilebilir bir tümörün daha iyi uzun vadeli tümör kontrolüne ulaşmasıdır. Kemoterapi ayrıca, genellikle tedaviye ek olarak, o bölgedeki tümör hücrelerinin yok edilmesi ve kontrol altına alınması şansını artırmak amacıyla,

kemoterapi ilaçlarının ulaşmakta zorlandığı bölgelere damlatma şeklinde de verilebilir (Nygren, 2001).

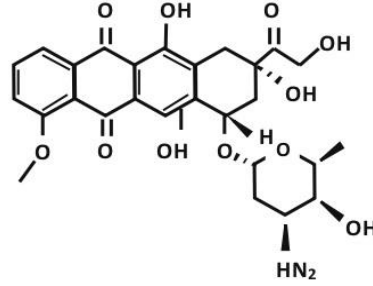
Kemoterapi tek başına veya radyoterapi ile kullanıldığında kanserleri tedavi etmede en etkili ve yaygın olarak kullanılan yöntem olarak kabul edilir. Genotoksisite, kemoterapötik ilaçların tümör hücrelerini hedefleme mekanizmalarından biridir ve esas olarak, yüksek düzeyde tümör hücresi ölümüne yol açan reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimiyle ilişkilidir. Neoplastik kanserlerin tedavisinde yenilikçi bir yaklaşımın geliştirilmesi ya da ilaçların hedefe yönelik tasarlanması, farklı tümör tiplerinin biyolojik ve moleküler özellikleriyle doğrudan ilişkilidir. Hormonal tedaviler ayrıca kanser maligniteleri için yaygın olarak kullanılır ve hipotalamus-hipofiz-gonadal eksen (HPGA) yönünde hareket eden hormonal büyüme faktörlerini, hormon reseptör blokajını ve adrenal steroid sentezini sınırlayarak tümör gelişimini kısıtladığı için sitostatik olarak kabul edilir (Debela vd., 2021).

1.2.1. Doksorubisin (DOX)

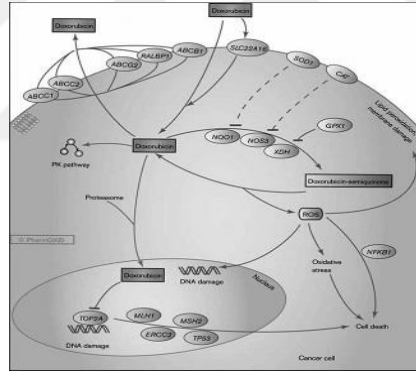
1950'lerde başlayan toprak kökenli mikroorganizmalardan antikanser bileşik arayışları sonucunda, *Streptomyces peucetius*'tan izole edilen daunorubisin adlı antibiyotik, lösemi ve lenfoma tedavisinde başarıyla kullanılmıştır. Ancak 1967 yılında kardiyotoksisite riski belirlenmiştir. Bu sorun, genetik modifikasyonlarla geliştirilen ve daha yüksek terapötik indeks gösteren doksorubisin (Adriamisin) ile kısmen aşılmış olsa da, kardiyotoksisite açısından önemli bir yan etki oluşturmaya devam etmektedir. Günümüzde doksorubisinin yaklaşık 2000'den fazla analogu tanımlanmıştır ve bu ajan pek çok kanser türünde (meme, mide, akciğer, yumurtalık, tiroid, yumuşak doku sarkomu, multipl miyelom, Hodgkin lenfoma vb.) yaygın olarak kullanılmaktadır (Rivankar, 2014).

Meme kanseri tedavisinde sıklıkla tercih edilen antrasiklinlerden biri olan doksorubisin (Şekil 1.1), geniş antineoplastik aktivitesine rağmen kardiyotoksisite nedeniyle doz sınırlamalarıyla karşı karşıyadır. Bu sorun, özellikle ileri evre hastalarda önem arz etmektedir. Klinik olarak onaylanan ilk lipozomal antikanser ilaç olan doksorubisin HCl, geleneksel formlara göre daha düşük toksisite ve daha iyi tolere edilebilirlik göstermiştir. Son yıllarda ise daha etkin ve güvenli lipozomal formülasyonların geliştirilmesine odaklanılmıştır.

Doksorubisinin etki mekanizması çok yönlüdür: DNA'ya interkale olarak makromoleküler biyosentezi inhibe eder, topoizomera II'yi stabilize ederek replikasyonu durdurur (Şekil 1.2) ve ayrıca serbest radikaller oluşturarak DNA ve hücre zarına zarar verir (Prados vd., 2012; Rivankar, 2014).



Şekil 1.1. Doksorubisinin kimyasal yapısı (Prados vd., 2012)



Şekil 1.2. Doksorubisinin etki mekanizması (Rivankar, 2014)

1.3. Kontrollü İlaç Salınım Sistemleri

İlaç, FDA'ya göre hastalığın teşhisi, hafifletilmesi, tedavisi veya önlenmesi için kullanılmak üzere tasarlanmış bir maddedir (resmi farmakopede tanınır). İlaç dağıtımı, etkin maddenin vücudun belirli bölgelerinde, diğer bölgelere kıyasla daha yüksek bir derişimde birikmesini sağlayacak şekilde hastaya uygulanması esasına dayanan bir yöntemdir. Bu tür sistemlerin temel hedefi, ilacın etki süresini uzatmak, sadece hastalıklı dokularda aktif hale gelmesini sağlamak ve çevre dokulara olan etkisini en aza indirerek hedefleme yapmaktır. Her bir dozaj formu, etkin madde olarak bilinen ilaç ya da aktif

farmasötik bileşen (API) ile birlikte, terapötik etkiyi destekleyen ve formülasyonun stabilitesini sağlayan yardımcı maddelerin (eksipiyenlerin) belirli oranlarda bir araya getirilmesiyle oluşturulmaktadır. Bahsi geçen bu kimyasal bileşenler hastalıkları tedavi etmek için kullanılmaktadır (Adepu & Ramakrishna, 2021).

Kontrollü ilaç salım teknolojilerinin gelişmeye başladığı ilk dönemlerde, birbirinden küçük farklılıklar gösteren yeni farmasötik formülasyonları tanımlamak amacıyla çeşitli terimler literatüre kazandırılmıştır. Kontrollü salınım formülasyonları, sürekli salınım, zamanlanmış salınım, uzatılmış salınım ve diğerleri olmak üzere farklı tanımlamalar oluşturmuştur. Bu terimler arasında, 'sürekli salınım' ifadesi literatürde en yaygın kullanılan tanımlamalardan biri olmuştur. Bununla birlikte, günümüzde söz konusu terimlerin çoğu birbirinin yerine geçebilecek şekilde de kullanılmaktadır.

Oral ve transdermal dozaj formlarında ilaç salınım mekanizmalarına ilişkin temel kavrayış, büyük ölçüde 1950–1980 yılları arasındaki birinci nesil (1G) formülasyon geliştirme süreci sırasında elde edilmiştir. Bu dönem, çok sayıda oral ve transdermal kontrollü salınım formülasyonunun gelişimini hızlandıran dört ilaç salınım mekanizması tanımlanmıştır. En sık başvuru alan ilaç salınım mekanizmaları, çözünmeye dayalı kontrollü sistemler ile difüzyon kontrollü sistemlerdir (Park, 2014; Yun vd., 2015).

Terapötik etkinliği yüksek olmasına rağmen çok düşük miktarlarda (mikrogram ya da düşük miligram düzeyinde) dozaj gerektiren farmasötik bileşiklerin formülasyonu ve doğru dozaj ayarlaması, ilaç geliştirme sürecinde önemli teknik engeller oluşturabilmektedir. Bu tür aktif maddeler genellikle istenmeyen tat, koku ya da ağız içinde rahatsızlık yaratabilecek özellikler taşıyarak tedaviye uyumu olumsuz yönde etkileyebilir. Bu nedenle, söz konusu bileşenler çoğunlukla işlevsel yardımcı maddelerle birlikte formüle edilerek hem olumsuz organoleptik özelliklerin maskelenmesi hem de ilacın vücut içindeki yararlanımının artırılması hedeflenmektedir.

Dozaj formları, hedef bölgeye, tedavi süresine ve ilacın fizikokimyasal özelliklerine göre farklı yollarla uygulanabilir. Farmasötik ürünlerin en yaygın kullanılan dozaj şekilleri arasında ağızdan alınan tablet, kapsül ve drajeler ile birlikte topikal yolla uygulanan merhemler, oral sıvı preparatlar (örneğin şuruplar) ve enjeksiyon yoluyla verilen parenteral formlar bulunmaktadır. Bir farmasötik ajanın hangi uygulama yolu ile verileceği kararı; tedavi edilmek istenen vücut bölgesi, ilacın biyolojik sistem içerisindeki etki süreci (farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri) ve aktif bileşiğin çözünürlük düzeyi ile biyolojik bariyerleri aşma kapasitesi gibi üç ana faktöre bağlı olarak şekillenir.

Örneğin, bazı ilaçlar oral yoldan uygulandıktan sonra mide asitleri tarafından parçalanmaya eğilimlidir ve bu da zayıf biyoyararlanımla sonuçlanır. Bu nedenle, söz konusu ilaçların sistemik etki gösterebilmeleri amacıyla parenteral yolla uygulanmaları gerekmektedir. İlaçların parenteral uygulanmasıyla %100 biyoyararlanım sağlanılabilmektedir.

İlaç salınım profili genellikle plazma ilaç konsantrasyonunun zamana göre bir grafiği olarak ifade edilir. Bir ilacın tedavi edici etki göstermeye başladığı en düşük plazma düzeyi “minimum etkili konsantrasyon” olarak tanımlanırken, toksik etkilerin ortaya çıktığı en düşük düzey ise “toksik eşik konsantrasyonu” olarak kabul edilmektedir. Farmasötik ajanların terapötik güvenliğini ve klinik etkinliğini sürdürebilmek adına, plazmadaki ilaç düzeyinin bu iki sınır değer arasında istikrarlı biçimde korunması büyük önem taşır. İlaç salınım kinetiği, birim zaman başına sabit miktarda ilacın eliminasyonu söz konusu olduğunda ve bu eliminasyon hızı ilacın konsantrasyonundan bağımsız olduğunda, sıfırıncı derece kinetiği olarak tanımlanmaktadır. Sıfırıncı derece ilaç salım sistemleri, ilacı sabit bir oranda serbest bırakarak ilaç konsantrasyonlarını uzun bir süre terapötik pencere içinde tutar ve anında salınımlı ve birinci derece sistemlerin karşılaştığı sorunların üstesinden gelme potansiyeline sahiptir. Salınım sistemleri sahip olduğu özellikler açısından:

- I. Minimum Etkili Konsantrasyon (MEC): Terapötik etkinin görülebilmesi için gereken en düşük ilaç düzeyidir. Bu seviyenin altındaki konsantrasyonlar etkisiz kabul edilir.
- II. Sıfırıncı Dereceden Salınım: İlaç sabit bir hızla, konsantrasyondan bağımsız şekilde salınır. Salınım hızı zamanla değişmez.
- III. Birinci Dereceden Salınım: Salınım hızı, kalan ilaç miktarına bağlıdır. Konsantrasyon arttıkça hız da artar; kinetik logaritmik bir seyir izler.
- IV. Kontrollü (Sürekli) Salınım: İlaç tek dozla uzun süre yavaş salınır. Plazma düzeyi dengelenir, doz sıklığı azalır.

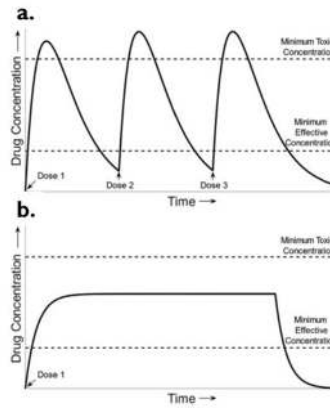
Geleneksel dozaj formları (tablet, kapsül, şurup vb.), vücuttan hızla atılır. Bu nedenle, etkinliğin azalmaması ve tedavi sürecinin kesintiye uğramaması için ilaç düzeyi terapötik aralıkta sabit tutulamaz. Plazma ilaç konsantrasyonunu minimum etkili konsantrasyonun üzerinde ve toksik konsantrasyonun altında tutmak için birden fazla yaklaşım aranmıştır. Kontrollü salımlı ilaç verme sistemlerinin, terapötik pencere içinde plazma ilaç seviyelerini sabit bir oranda tutması ve istenen terapötik etkiyi daha uzun bir

süre sunması gerekir. Geleneksel ilaç verme sistemlerinin dezavantajlarının şeması Şekil 1.3'te verilmiştir (Adepu & Ramakrishna, 2021).



Şekil 1.3. Geleneksel ilaç taşıma sistemlerinin sınırlamaları (Adepu & Ramakrishna, 2021)

Kontrollü ilaç salım sistemi, bir ilacın kanda ve dokuda uzun bir süre boyunca sabit bir seviyede tutulduğu ilaç verme sistemidir. Geleneksel ve kontrollü iki tip salım sistemi için bir ilacın plazma konsantrasyonunun zamana karşı farmakokinetik eğrileri Şekil 1.4'te gösterilmiştir. Kontrollü ilaç salım sisteminde ilaç belli bir dozda salınarak doz sıklığı azaltılabilir ve hasta uyumu iyileştirilir (Adepu & Ramakrishna, 2021).



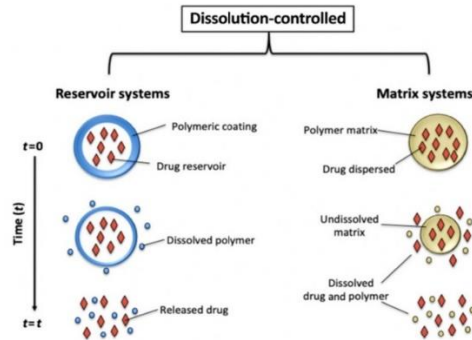
Şekil 1.4. (a) Konvansiyonel DDS'in; (b) Kontrollü DDS'in tipik farmokinetik eğrileri (Adepu & Ramakrishna, 2021)

Kontrollü salınım özelliklerine sahip ilaç taşıma sistemleri, dozaj formundan ilacın salınım mekanizmasına bağlı olarak; çözünme kontrollü, difüzyon kontrollü, su

penetrasyonuna bağılı kontrollü (ozmotik basınç kontrollü ve şişme kontrollü), kimyasal reaksiyon temelli kontrollü ve nanopartikül bazlı sistemler olmak üzere çeşitli kategorilere ayrılmaktadır.

- Çözünme kontrollü ilaç salınım sistemleri

Çözünme kontrollü ilaç salınım sistemleri, farmasötik etkin maddelerin biyolojik ortamda kontrollü bir şekilde çözünmesini sağlayarak terapötik etkinin sürekliliğini ve etkinliğini artırmayı amaçlayan yenilikçi ilaç taşıma stratejileridir. Bu sistemlerde ilacın salım hızı, ilacın çözünürlüğü, partikül boyutu, kristal yapısı ve taşıyıcı matrisin fizikokimyasal özellikleri gibi çeşitli parametrelere bağılı olarak düzenlenir. Genellikle polimerik bir matris içerisinde formüle edilen aktif bileşik, matrisin kontrollü çözünmesiyle yavaş ve dengeli bir şekilde salınır. Bu sayede tekrarlayan doz uygulamalarına olan ihtiyaç azalırken, ilaç düzeylerindeki dalgalanmalar en aza indirilir ve hasta uyumluluğu artırılır. Özellikle düşük biyoyararlanıma sahip ya da sık doz alımı gerektiren ilaçlarda tercih edilen bu sistemler, hedefe yönelik taşıma imkânı sunarak sistemik yan etkilerin azaltılmasına katkı sağlar. Geliştirilen bu sistemler, oral tabletlerden transdermal yamalara kadar çeşitli farmasötik formlarda uygulanabilmekte olup, özellikle kronik hastalıkların tedavisinde tedavi etkinliğinin artırılmasına yönelik önemli avantajlar sunmaktadır (Şekil 1.5).

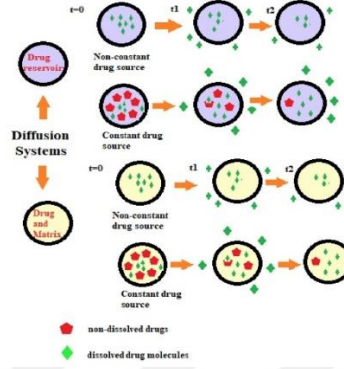


Şekil 1.5. Çözünme kontrollü dağıtım sistemleri (Adepu & Ramakrishna, 2021)

- Difüzyon kontrollü ilaç salınım sistemleri

Difüzyon kontrollü salınım sistemlerinde, aktif farmasötik bileşikler; ya inert, suda çözünmeyen polimerik membranlar içerisinde yer alan rezervuar sistemlerinde ya da polimerik matrisler içinde homojen biçimde dağıtıldığı monolitik sistemlerde tutulmakta

ve salınım, difüzyon mekanizması aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bu yapılar, kontrollü salım mekanizmalarına göre membranla çevrili rezervuar sistemleri ve homojen matris temelli sistemler iki ana kategoriye ayrılmaktadır (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. Difüzyon kontrollü iletim sistemlerinin şeması (Adepu & Ramakrishna, 2021)

- Su penetrasyonu kontrollü ilaç salınım sistemleri

Bu sistemler, ozmotik basınca dayalı kontrollü ilaç taşıma sistemleri ve şişme kontrollü ilaç taşıma sistemleri olmak üzere iki ana kategoriye ayrılmaktadır. Salınım hızının kontrolü, sistem içerisine suyun penetrasyonuna bağlı olarak gerçekleşmektedir. Özellikle ozmotik ilaç taşıma sistemlerinde, ozmotik basınçtan yararlanılarak ve ozmojen maddeler kullanılarak, terapötik ilaçların kontrollü ve sürdürülebilir şekilde salınımı sağlanmaktadır.

- Kimyasal kontrollü akıllı ilaç salınım sistemleri

Kimyasal kontrollü ilaç dağıtım sistemleri, biyolojik ortamla etkileşime girdiklerinde kimyasal yapılarında kontrollü değişiklikler oluşturarak aktif bileşiğin salımını sağlarlar. Genellikle, fizyolojik koşullarda doğal biyolojik süreçler sonucunda vücutta parçalanabilen (biyobozunur) polimerlerden üretilirler. Bu özellikleri sayesinde, sistem içerisindeki aktif maddenin tamamen salınmasının ardından herhangi bir cerrahi müdahale ya da fiziksel çıkarım gerektirmeden vücut tarafından doğal yollarla elimine edilebilirler. Bu durum hem hasta konforunu artırmakta hem de tedavi sürecinin etkinliğini desteklemektedir (Adepu & Ramakrishna, 2021).

1.4. Nanoteknoloji ve Biyonanoteknoloji

Nanoteknoloji, biyoteknoloji, tıp, ilaçlar, tarım, gıda, kozmetik, çevre koruma, elektronik, bilgi teknolojisi, inşaat, askeriye, enerji endüstrisi, uzay endüstrisi ve tüketici ürünleri gibi birçok alanın evrimini sağlamak için yeni ve güçlü bir araç olarak ortaya çıkmıştır (Nasrollahzadeh vd., 2019).

Nanoteknoloji, yaklaşık 1 ila 100 nanometre boyut aralığında yer alan atomik ve moleküler düzeydeki yapıların kontrolü veya yeniden yapılandırılması olarak tanımlanmaktadır. Nano ölçekli materyallerin fiziksel ve kimyasal özellikleri, makroskobik boyuttaki karşılıklarından önemli ölçüde farklılık gösterebilmektedir. Bir malzemenin boyutu makroskobik düzeyden nanometrik ölçülere indirildiğinde, başlangıçta özelliklerinde belirgin bir değişim gözlenmezken, belirli bir kritik noktadan sonra özgün fiziksel ve kimyasal davranışlar ortaya çıkmaktadır.

Nanomalzemelelerin bu kendine özgü özellikleri, ticari uygulamalarda yeni işlevler kazandırmakta ve topluma fayda sağlayabilecek yenilikçi çözümlerin geliştirilmesine olanak tanımaktadır. Nanoteknolojinin daha büyük sistemlere entegre edilmesi, akıllı malzemeler, nanoüretim, elektronik, ilaç dağıtımı, enerji ve su, biyoteknoloji, bilgi teknolojisi ve ulusal güvenlik dahil olmak üzere birçok mevcut çevresel, tıbbi ve endüstriyel soruna çığır açan çözümler sağlamıştır (Robinson & Hsu, 2017).

Biyoteknoloji; kimya ve biyoloji bilgilerinin mühendislik bilimleriyle bütünleştirilmesine dayanan çok disiplinli bir alandır. Başlangıçta daha çok tarım ve hayvancılıkla sınırlı alanlarda kullanılmıştır. Günümüzde ise biyomalzeme üretimi ve nanoteknolojik uygulamalarla kapsamı genişlemiştir. Bu gelişmeler, biyoteknolojiyi yalnızca geleneksel alanlarla sınırlı kalmaktan çıkarmıştır.

Biyonanoteknoloji, biyolojik sistemlerin yapısal özelliklerinden ilham alan yeni bir alt disiplindir. Bu alan, özellikle atomik düzeyde mühendislik uygulamaları geliştirmeyi amaçlamaktadır. Literatürde biyonanoteknoloji, biyomedikal ve biyolojik sistemlere yönelik nanoteknolojik çözümler sunan bir alan olarak tanımlanır. Kavram, nanoteknolojinin biyolojiye uygulanmasını ifade eden "nanobiyoteknoloji" ile büyük oranda örtüşmektedir. Ancak, terminolojik farklılıklar bulunmakla birlikte her iki kavram da benzer hedefler taşır. Bu gelişmeler, biyoteknolojinin gelecekteki potansiyelini artırmaktadır (Lee & Moon, 2020; Renugopalakrishnan & Lewis, 2006). Nanoteknoloji, yıkıcı yenilikler getiren bir megatrenddir. Çeşitli endüstriyel sektörlerde uygulanabilir olan genel amaçlı bir teknoloji haline gelmiştir (Robinson & Hsu, 2017).

- Nanoteknolojide ilaç salınımı

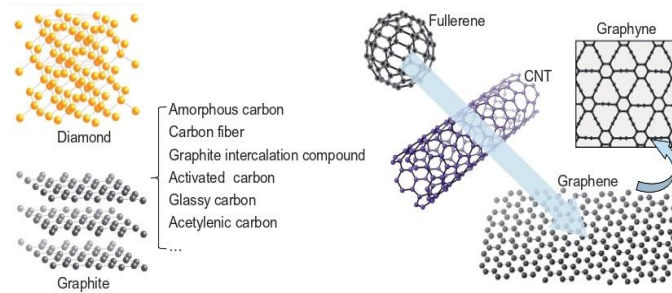
Son on yılda, nanoteknoloji ve nanofabrikasyon alanında ilaç dağıtım alanında hemen etkisi olan büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Teknikler, mikrofabrikasyon ve mikroışlemeden (örneğin ozmotik pompa) nanometre düzeyindeki ikincil yapılardan (örneğin mikroküreler) tamamen alt mikron bileşenlerden oluşan dağıtım sistemlerine kadar uzanan tasarımlara kaymıştır. Küçük moleküller, proteinler ve DNA için dağıtım sistemlerinin geliştirilmesi nanoteknolojiden muazzam bir şekilde etkilenmiş ve tamamen yeni ve daha önce öngörülmemiş alanların geliştirilmesine yol açmıştır (Emerich & Thanos, 2003).

Nanoteknoloji, kemoterapinin sınırlamalarını aşmak amacıyla umut verici çözümler sunmaktadır. 100 nm altındaki boyutları sayesinde nanopartiküller, yüzeydeki yüksek atom yoğunluğu ile daha aktif biyolojik davranışlar sergileyebilir. Kemoterapide sık karşılaşılan seçicilik eksikliği, toksisite, düşük biyoyararlanım ve çoklu ilaç direnci gibi sorunlara karşı nanopartikül bazlı sistemler, ilacı hedefli salarak çözüm sunmaktadır. Ayrıca bu yapılar tanı, görüntüleme ve tedavide kişiselleştirilebilir özellikleriyle çok yönlü avantajlar sağlar (Prados vd., 2012).

2. KARBON MATERYALLER

Karbon, insanlık tarafından bilinen ilk elementlerden biri olup, tüm kimyasal elementler arasında en dikkat çekici olanlardan biridir. Karbon bazlı malzemelerin çok çeşitli uygulamalarda kullanılabilmesi, karbon atomları arasındaki kimyasal bağlardan başlayarak nanoyapılar, kristalit hizalanmaları ve mikroyapılar gibi geniş bir yapı ve özellik çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır (Zhen & Zhu, 2018). Karbon bazlı sistemler, gelişmekte olan yenilenebilir enerji dönüşüm teknolojilerinde giderek artan bir öneme sahip olmaktadır. Bu sistemler; enerji depolama cihazlarında elektrot malzemesi, elektrokimyasal ve fotokimyasal katalizörler, heterojen kataliz uygulamaları ve biyoyakıt üretimi gibi çeşitli alanlarda etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca karbon temelli malzemeler, su arıtımı, gaz ayırma ve depolama (örneğin, CO₂ yakalama) süreçlerinde ve toprak iyileştirici katkı maddesi olarak da yaygın şekilde değerlendirilmektedir (Titirici vd., 2015).

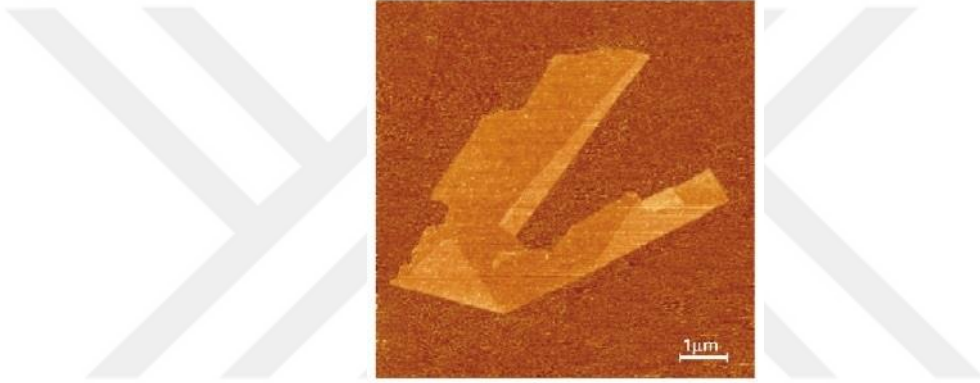
Grafit temelli karbon nanomalzemeleri, temel olarak sp^2 hibritleşmesine sahip karbon atomlarının altıgen bir kafes yapısı içerisinde düzenlenmesiyle oluşmaları nedeniyle, aynı yapısal gruba ait malzemeler olarak sınıflandırılmaktadır. Bu ortak yapı, hepsinin bazı ortak özelliklere sahip olduğu anlamına gelir, ancak farklı boyutları ve şekilleri nedeniyle önemli farklılıklar da vardır. Grafen, grafit, fullerene (örneğin, C₆₀), karbon nanotüp, grafin ve diğer benzer malzemeler (örneğin, karbon fiber, amorf karbon, kömür) dahil olmak üzere diğer allotropların temel yapısal elemanıdır (Şekil 2.1). Bu yapı, aynı zamanda düz polisiklik aromatik hidrokarbonlar ailesinin sınır durumu olarak değerlendirilebilecek, belirli bir boyutla sınırlanmamış aromatik bir molekül şeklinde de tanımlanabilir (Zhen & Zhu, 2018).



Şekil 2.1. Karbon allotropları ve ilgili malzemeler (CNT, karbon nanotüp) (Zhen & Zhu, 2018)

2.1. Grafen

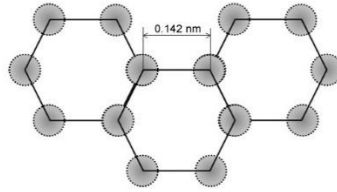
2004 yılında, İngiltere'deki Manchester Üniversitesi'nden Andre Geim ve Kostya Novoselov liderliğindeki bir grup fizikçi, grafen elde etmek ve bu alanda bir devrime öncülük etmek için çok farklı ve ilk bakışta naif bir yaklaşım kullanmıştır. Çalışmalar, üç boyutlu yapıya sahip grafit malzemesiyle başlamış ve "mikromekanik ayrıştırma" olarak adlandırılan bir yöntem kullanılarak, atomik düzeyde tek katmanlı bir yapı elde edilmiştir (Şekil 2.2). Grafit, katmanlı bir malzeme olup, zayıf van der Waals kuvvetleriyle birbirine bağlanmış çok sayıda iki boyutlu grafen kristalinden oluşan bir yapı olarak değerlendirilmektedir (Katsnelson, 2007).



Şekil 2.2. Oksitlenmiş bir Si alt tabakasının üstündeki bir grafen kristalinin atomik kuvvet mikroskobu görüntüsü (Katsnelson, 2007)

Grafen, iki boyutlu (2D) petek şeklinde dizilmiş tek katmanlı karbon atomlarından oluşan bir yapıdır ve üç boyutlu (3D) grafit, tek boyutlu (1D) karbon nanotüpler ile sıfır boyutlu (0D) fulleren gibi farklı karbon yapılarının temel yapı taşıdır. Mekanik yöntemlerle grafit tabakalarının ayrılması sonucunda grafenin tanımlanması ve ardından sıra dışı elektronik özelliklerinin keşfi hem akademik çevrelerde hem de endüstriyel uygulamalarda yoğun ilgiye neden olmuştur. Bu ilgi doğrultusunda, uygun grafen katmanlarının elde edilmesine yönelik olarak mekanik eksfoliasyon, sıvı faz eksfoliasyonu, grafen oksidin indirgenmesi, kimyasal buhar biriktirme (CVD), yüzey ayrıştırma ve moleküler ışın epitaksisi gibi çeşitli üretim yöntemleri geliştirilmiştir. Ancak bu gelişmelere rağmen, tüm bir alt tabaka boyunca grafen katmanlarının sayısını ve yapısal düzenini hassas şekilde kontrol etmek hâlâ önemli bir teknik zorluk oluşturmaktadır. Bu nedenle, grafenin istenen özelliklerini elde etmek amacıyla üretim sürecinin optimize edilmesine yönelik araştırmalar sürdürülmektedir (Xu vd., 2013).

Şekil 2.3'te gösterildiği üzere, grafende karbon-karbon bağlarının uzunluğu yaklaşık 0,142 nm olup, her karbon atomu üç komşu atom ile güçlü σ bağları aracılığıyla bağlanarak kararlı bir altıgen kafes yapısı oluşturur. Bu σ bağları, sp^2 hibritleşmesi sonucu oluşan s, p_x ve p_y orbitallerinin kombinasyonu ile meydana gelir. Her bir karbon atomunda kalan p_z orbitali ise komşu atomlarla π bağları oluşturarak kafes düzlemine dik olarak konumlanır. Grafenin yüksek elektriksel iletkenliği esas olarak bu π bağlarının oluşturduğu delokalize elektronlardan kaynaklanmaktadır. p_z orbitallerinin etkileşimi sonucunda π ve π^* bantları oluşur; bu bantlar, yarı dolu enerji seviyeleri sayesinde elektronların serbestçe hareket etmesine olanak tanıyarak, grafene özgü üstün elektronik özelliklerin temelini oluşturur. Bu yapı, grafenin hem termodinamik kararlılığını hem de elektriksel performansını belirleyen temel unsurlar arasında yer almaktadır. Grafit, grafen, karbon nanotüp ve fullerene gibi sonsuz büyüklükteki aromatik moleküllerin, son derece düzlemsel polisiklik aromatik hidrokarbonların bir birim yapısı olarak düşünülebilir (Zhen & Zhu, 2018).



Şekil 2.3. Grafenin altıgen kafesi (Zhen & Zhu, 2018)

2.2. Grafen Oksit

Grafen oksit, kovalent C-O bağları ekleyerek grafitten türetilen iki boyutlu bir malzemedir. Grafen oksidin geleneksel olarak grafit oksit olarak adlandırılan toplu formu, ilk olarak 1855'te Brodie tarafından sentezlendiğinden beri tekrar tekrar ilgi görmüştür. Grafen oksite olan ilgi, 2004'te grafenle ilgili araştırmaların artmasıyla artmıştır. Bu yapı, grafenin oksitlenmiş bir türüdür ve yapısında sp^2 hibritleşmesi yapan karbon atomlarından oluşan düz bir yüzey (bazal düzlem) bulunmaktadır. Bu düzlemin üzerine, oksijen içeren bazı kimyasal gruplar (örneğin hidroksil, epoksit gibi fonksiyonel gruplar) eklenmekte ve gruplar, yapının kimyasal ve fiziksel özelliklerini belirlemektedir. Bu oksijenli grupların yüzeyden uzaklaştırılmasıyla yapı yeniden indirgenirse, bu malzemenin özellikleri giderek grafene (yani saf ve iletken karbon yapısına) benzemeye

başlamaktadır. Bu süreç, grafen oksidin elektriksel özelliklerinde önemli bir değişime yol açarak, malzemenin yalıtkan bir yapıdan yarı metalik bir yapıya geçişini mümkün kılar.

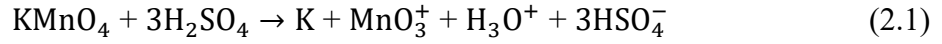
Yapısında bulunan oksijenli fonksiyonel gruplar nedeniyle, grafen oksit hidrofilik özellik gösterir ve bu özelliği sayesinde, hidrofobik özellikteki saf grafenin aksine, sulu ortamda kolaylıkla dağılabilir. Grafen oksit pullarının boyutu da ayarlanabilir ve birkaç nm'den mm'ye kadar değiştirilebilir. Hem kimyasal bileşiminin hem de pul boyutunun ayarlanabilirliği, grafen oksidi elektronik (sensörler ve şeffaf iletken filmler), kompozit malzemeler, temiz enerji cihazları, biyoloji ve tıp gibi birçok alanda çekici bir malzeme haline getirmektedir. Grafen oksit suda ve bazı organik çözücülerde çözündüğünde, kendiliğinden tek katmanlı grafen oksit tabakalarına dönüşür. Bu nedenle, grafen oksit aslında birçok grafen oksit tabakasının üst üste birikmiş hâli gibi düşünülebilir. Genellikle, bu tür grafen oksit özel kimyasal işlemlerle (oksidasyon ve saflaştırma) elde edilir ve bilimsel çalışmalarda, bu şekilde elde edilen malzeme için genellikle “geleneksel grafen oksit” terimi kullanılır (Dimiev & Tour, 2014; Perrozzi vd., 2015; Zhu vd., 2010).

Hummers ve Offeman, Staudenmaier'den yaklaşık 60 yıl sonra, grafiti potasyum permanganat (KMnO_4) ve konsantre sülfürik asit (H_2SO_4) karışımıyla reaksiyona sokarak alternatif bir oksidasyon yöntemi geliştirmişler ve yine benzer oksidasyon seviyelerine ulaşmışlardır. Brodie ve Staudenmaier yöntemleri, grafitin oksidasyonunda yaygın olarak kullanılan yaklaşımlar olup her ikisi de potasyum klorat (KClO_3) ve yüksek saflıkta ($\%>90$) dumanlı nitrik asit (HNO_3) içermektedir. Nitrik asit, güçlü bir oksitleyici ajan olarak bilinir ve özellikle karbon nanotüpler gibi aromatik karbon yapılarıyla yüksek reaktivite gösterir. Bu reaksiyonlar sonucunda karboksil, lakton ve keton gibi çeşitli oksijen içeren fonksiyonel gruplar oluşur. HNO_3 ile gerçekleştirilen oksidasyon süreçlerinde, Brodie'nin gözlemlerinde belirtildiği üzere, genellikle gaz halinde NO_2 ve/veya N_2O_4 salınımı gerçekleşir. Potasyum klorat ise patlayıcı bileşenlerde yaygın olarak kullanılan güçlü bir oksitleyici olup, reaksiyon sırasında eş zamanlı olarak reaktif oksijen türleri üreten bir kaynak görevi görür.

Diğer taraftan, Hummers yöntemi, grafitin oksidasyonunda potasyum permanganat (KMnO_4) ve sülfürik asit (H_2SO_4) kombinasyonuna dayalı alternatif bir yaklaşım sunmaktadır. Permanganat yaygın olarak kullanılan bir oksidan olmasına rağmen (örneğin dihidroksilasyonlar), aktif tür aslında diamanganez heptoksittir. Bu koyu kırmızı renkteki yağ, potasyum permanganatın sülfürik asit ile reaksiyonu sonucu oluşmaktadır. Oluşan bimetalik heptoksit bileşiği, monometalik tetraoksit benzerine kıyasla oldukça

yüksek bir reaktiviteye sahiptir ve 55 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ısıtıldığında ya da organik bileşiklerle temas ettiğinde patlayıcı özellik gösterebilmektedir. Grafen oksit sentezinde potasyum permanganat dışında farklı oksitleyici maddeler de kullanılmıştır. Bunlardan biri olan Jones reaktifi (H₂CrO₄/H₂SO₄), genellikle kısmen oksitlenmiş ve ara katman yapısına sahip grafitin, grafit ile gerçek grafen oksit arasında konumlanan genişletilmiş formlarının elde edilmesinde tercih edilmektedir.

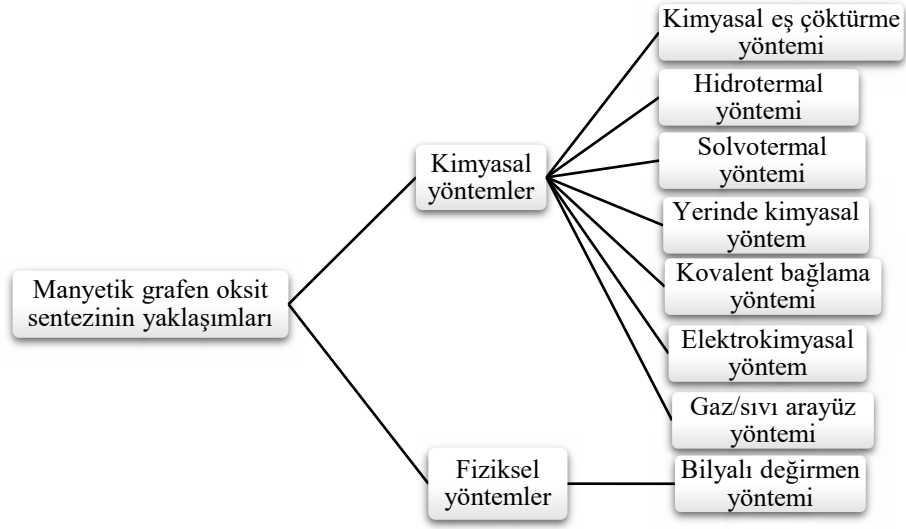
Güçlü asit varlığında KMnO₄'ten dimanganeheptoksit (Mn₂O₇) oluşumu aşağıda verilmiştir (Dreyer vd., 2010):



2.3. Manyetik Grafen Oksit

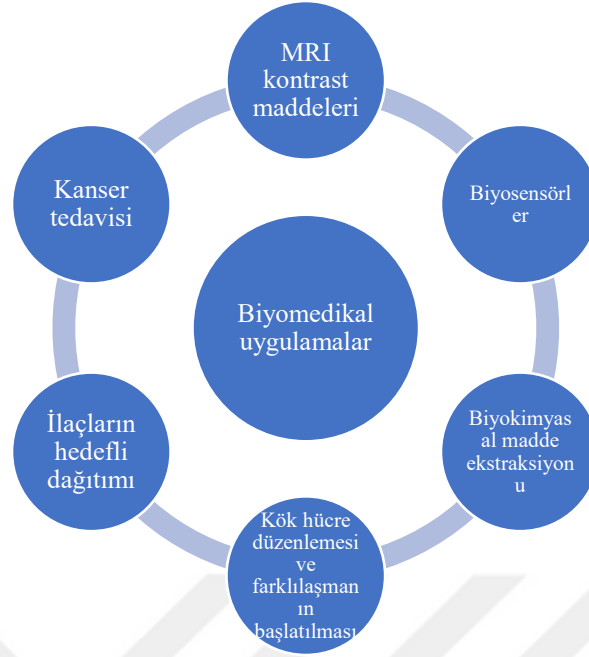
Son yıllarda manyetik (Fe₃O₄) nanopartiküller, yalnızca benzersiz boyutları ve morfolojilerinin kazandırdığı fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle değil, aynı zamanda biyouyumlulukları ve dikkat çekici manyetik özellikleri sayesinde ayırıcı manyetik malzemeler olarak küresel ölçekte araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Bununla birlikte, manyetik nanoparçacıkların boyutsal küçüklüğü ve yapısal stabilite eksikliği, sürekli akış ortamlarında verimli bir şekilde kullanılmalarını zorlaştırmaktadır. Özellikle manyetit, atmosfer ile temas ettiğinde oksidatif bozulmaya karşı son derece hassas davranmaktadır (Yao vd., 2012).

Manyetik grafen oksit parçacıkları, başlıca fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılarak sentezlenmektedir (Şekil 2.4'te şematik olarak sunulmuştur). Bu yöntemler arasında kimyasal sentez yaklaşımları daha yaygın şekilde tercih edilmektedir. Kimyasal sentez yöntemleri; kimyasal eş çöktürme, hidrotermal, solvotermal, yerinde kimyasal sentez, kovalent bağlama, elektrokimyasal yaklaşımlar ve gaz/sıvı arayüz teknikleri gibi çeşitli alt yöntemleri içermektedir. Fiziksel sentez yöntemleri ise esas olarak bilyalı öğütme (ball milling) tekniğini kapsamaktadır. Tüm bu yöntemler arasında, özellikle kimyasal eş çöktürme, solvotermal ve hidrotermal yöntemler, yaygın kullanımları ve riskli olmayan sentez koşulları altında kolaylıkla yürütülebilmeleri nedeniyle ön plana çıkmaktadır (He vd., 2021).



Şekil 2.4. Manyetik grafen oksit nanopartikülleri için birincil sentez yöntemlerinin özeti (He vd., 2021)

Manyetik grafen oksit nanokompozitleri, manyetik özellikleri, geniş yüzey alanı, yüksek bağlanma aktivitesi, güçlü kimyasal kararlılık, zengin fonksiyonel gruplar içermesi, kolay fonksiyonelleştirilebilirlik, biyouyumluluk ile birlikte fototermal, manyetotermal ve Fenton etkileri gibi üstün fiziksel ve kimyasal özellikleri sayesinde; biyo-görüntüleme, biyosensör geliştirme, kimyasal madde ayırma ve uzaklaştırma, kök hücre indüksiyonu, hedefe yönelik ilaç taşıma ve kanser tedavisi gibi çeşitli biyomedikal uygulamalar kapsamında araştırılmıştır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Manyetik grafen oksit nanopartikül iskelelerinin çeşitli biyomedikal uygulamaları (He vd., 2021)

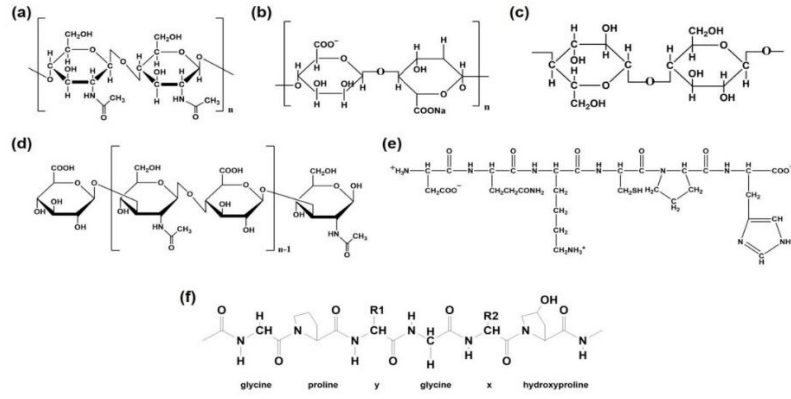
Günümüzde kanser tedavisinde kullanılan standart kemoterapötik ajanların büyük bir kısmı suda düşük çözünürlük göstermektedir; bu durum, bu ajanların doğrudan sistemik enjeksiyon yoluyla uygulanabilirliğini önemli ölçüde sınırlamaktadır. Bu tür farmasötik sınırlamalar dikkate alındığında, dışsal uyarıcılara duyarlılık gösteren ve hedeflenebilir özellikte tasarlanan nanotaşıyıcı sistemler, özellikle manyetik grafen oksit (mGO) bazlı nanomalzemeler, ilaçların seçici ve kontrollü salımını sağlamada umut vadeden alternatif yaklaşımlar olarak öne çıkmaktadır. Bu tür sistemler, terapötik etkinliği artırmanın yanı sıra sistemik toksisiteyi azaltma potansiyeline de sahiptir. Hem manyetik nanopartiküllerle konjuge edilmiş hidrofilik ilaçlar hem de grafenle konjuge edilmiş hidrofobik ilaçlar, böyle bir manyetik grafen oksit nanotaşıyıcısı tarafından oluşturulabilir. Manyetik özellik, manyetik grafen oksit ilaç nanotaşıyıcısının uygulanması için de hayati bir faktördür. İyi manyetik özelliklere sahip manyetik grafen oksit nanotaşıyıcı sistemlerinin kontrolü, harici bir manyetik alan aracılığıyla elde edilmeye yatkın olabilir. Mükemmel manyetik performansı nedeniyle, manyetik bir alanla işbirliği içinde, manyetik grafen oksit nanokompozitlerinin gelecekte canlı içi hedeflenebilir ilaç dağıtımında uygulanması umut vericidir (He vd., 2021).

3. POLİMERİK BİYOMALZEMELER

Biyopolimerler, kökenini canlı sistemlerden alan ve "biyo" ön ekiyle biyolojik kaynaklara dayandığı vurgulanan polimer türleridir. Biyopolimerler, nükleik asitler, sakkaritler ve amino asitler gibi monomerik birimlerden oluşan doğrusal veya dallanmış yapı moleküllerine sahip canlı organizmalar tarafından üretilir. Biyopolimerler; bitkisel materyaller, hayvansal kaynaklar, alg türleri ve tarımsal atıklar gibi çeşitli doğal kökenli hammaddelerden ekonomik yöntemlerle elde edilebilmektedir (Udayakumar vd., 2021).

Biyomalzemeler, doku onarımı ve rejenerasyonu gibi biyolojik süreçleri desteklemek amacıyla canlı sistemlerle etkileşime girebilme kapasitesine sahip, özel olarak tasarlanmış malzemelerdir. Bu tür malzemelerin geliştirilmesinde polimerlerin kullanımı, yarım yüzyılı aşkın bir süredir yaygın olarak uygulanmaktadır. Polimerlerin sunduğu geniş kimyasal çeşitlilik ve işlevsellik, araştırmacılara hedefe yönelik biyomedikal uygulamalar için özelleştirilmiş yapılar oluşturma imkânı sunmaktadır. Biyomalzeme üretiminde kullanılan polimerler, kaynaklarına göre doğal ve sentetik olmak üzere iki temel grupta sınıflandırılmaktadır.

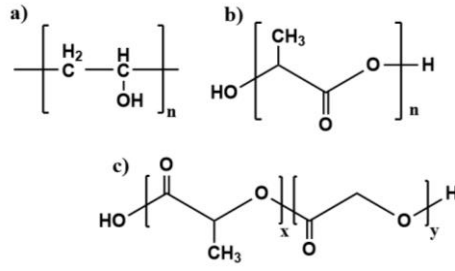
Doğal polimerler, yüksek biyoyumlulukları ve düşük immünojeniteleri nedeniyle uzun süredir biyomalzeme tasarımında tercih edilmektedir. Bununla birlikte, bu polimerlerin hızlı biyolojik bozunma özellikleri, biyomalzeme uygulamalarında bazı kısıtlamalara yol açmaktadır. Ayrıca, doğal polimerler genellikle düşük mekanik dayanım göstermekte ve bakteriyel ya da fungal mikroorganizmalarla kontaminasyona karşı yüksek duyarlılık sergilemektedir. Bu sınırlayıcı faktörler, doğal polimerlerin biyomedikal uygulamalarda kullanımını zorlaştıran başlıca etkenler arasında yer almaktadır. Doğal polimerlerin kimyasal yapıları Şekil 3.1’de gösterilmektedir ve bu yapılar biyomedikal uygulamalarda kullanılabilir.



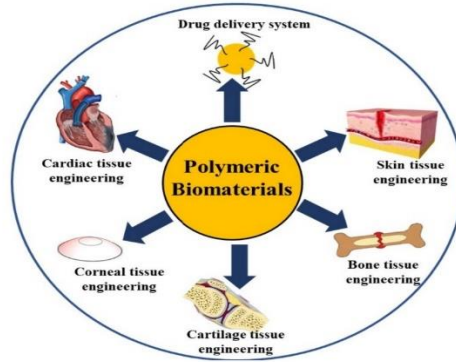
Şekil 3.1. Doğal polimerlerin kimyasal yapısı (a) Kitin, (b) Sodyum aljinat, (c) Selüloz, (d) Hyaluronik asit, (e) Jelatin ve (f) Kolajen (Kalirajan vd., 2021)

Sentetik polimerler ise, doğal polimerlere karşı alerjik reaksiyon geliştiren bireyler için etkili bir alternatif olarak değerlendirilmektedir. Bu polimerler, genellikle kronik bağışıklık tepkilerini tetiklememekte ve doğal polimerlere kıyasla daha düşük bağışıklık sistemi etkileşimi potansiyeline sahip olmaları nedeniyle biyomedikal uygulamalarda tercih edilmektedir. Bunun yanında bu yapılar doğal polimerlere kıyasla çok daha iyi mekaniksel özelliklere sahiptir. Biyolojik olarak parçalanabilir özelliği gösteren sentetik polimerler, doku mühendisliği başta olmak üzere çeşitli teknolojik ve biyomedikal uygulamalarda geniş bir kullanım alanına sahiptir.

Bu bağlamda, polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA), polivinil alkol (PVA), polilaktik asit (PLA) ve polikaprolakton (PCL) gibi polimerler; biyoyumluluk, kontrollü bozunabilirlik ve işlevsel yüzey özellikleri gibi avantajları sayesinde biyoteknolojik uygulamalarda yaygın olarak tercih edilmektedir. Biyomalzeme üretiminde yaygın olarak kullanılan bazı biyolojik olarak parçalanabilir sentetik polimerlerin kimyasal yapıları Şekil 3.2’de sunulmaktadır. Polimerik biyomalzemelerin çeşitli uygulama alanları ise Şekil 3.3’te özetlenmiştir. (Kalirajan vd., 2021).



Şekil 3.2. Sentetik polimerlerin kimyasal yapısı (a) Polivinil alkol (PVA), (b) Polilaktik asit (PLA) ve (c) Poli(laktik-ko-glikolik) asit (PLGA) (Kalirajan vd., 2021)



Şekil 3.3. Polimer tabanlı biyomalzemelerin çeşitli biyomedikal uygulama alanlarındaki kullanımları (Kalirajan vd., 2021)

3.1. Polimerlerin Yapısı

Bir polimer, çok sayıda küçük molekülden oluşan makro yapıda bir moleküldür. Bu makromoleküller; doğrusal, hafif düzeyde dallanmış ya da yüksek oranda çapraz bağlı yapılar şeklinde bulunabilir. Çapraz bağlanma yoğunlaştığında, yapı üç boyutlu bir ağ formuna dönüşmektedir. Bu tür makromoleküllerin temel yapı taşlarını oluşturan küçük moleküller "monomer" olarak adlandırılmaktadır. Bir polimer molekülünün büyüklüğü ya toplam kütlesi ya da içerdiği tekrar eden birimlerin sayısı ile tanımlanabilir. Bu tekrar eden birimlerin sayısı, "polimerizasyon derecesi" olarak adlandırılır. Bu doğrultuda, bir polimerin bağıl (relatif) mol kütlesi, tekrar eden birimin bağıl mol kütlesi ile polimerizasyon derecesinin çarpımıyla hesaplanmaktadır.

Kovalent bileşiklerin karakteristiği olduğu üzere, birincil değerlik kuvvetlerine ek olarak, polimer molekülleri çeşitli ikincil moleküller arası kuvvetlere de maruz kalır. Bu etkileşimler arasında, polar bağların zıt yüklü uçları arasında oluşan dipol-dipol

kuvvetleri ile polimer molekülündeki atomlar çevresindeki elektron bulutlarının geçici bozulmalarından kaynaklanan dispersiyon (London) kuvvetleri yer almaktadır.

Bu kuvvetler dışında, hidrojen bağı, oksijen veya azot gibi elektronegatif elementlere bağlı hidrojen atomlarının oluşturduğu yoğun dipollerden kaynaklanmakta olup, özellikle proteinler başta olmak üzere bazı polimerler açısından büyük öneme sahiptir. Bu bağlar, moleküllerin belirli bir yönelimde sabitlenmesine katkı sağlar. Oluşan bu kararlı yapılar, proteinlerin yaşamın biyokimyasal süreçlerindeki özgün işlevlerini yerine getirebilmeleri açısından gereklidir (Nicholson, 2017).

3.2. Biyopolimerler ve Özellikleri

3.2.1. Kitosan

Kitin ve onun deasetillenmiş türevi olan kitosan, N-asetil-2-amino-2-deoksi-D-glikoz (glukozamin, GlcN) ile 2-amino-2-deoksi-D-glikoz (N-asetil-glukozamin, GlcNAc) birimlerinden oluşan ve bu birimlerin $\beta(1\rightarrow4)$ glikozidik bağlarıyla birbirine bağlandığı doğrusal yapıdaki bir polisakkarit ailesi olarak tanımlanmaktadır. Kitosan, birincil amin gruplarının protonasyonu sayesinde sulu asidik ortamlarda çözünürken; kitin, daha yüksek oranda asetillenmiş kalıntılar içerdiğinden bu tür ortamlarda çözünmez.

Kitin, doğada bol miktarda bulunan bir biyopolimer olup, kabuklu deniz canlılarının dış iskeletlerinde, böceklerin kütiküllerinde, bazı alglerde ve mantar hücre duvarlarında yer alır. Buna karşın, kitosan doğada daha sınırlı bulunur ve bazı *Mucoraceae* familyasına ait mantarlarda rastlanır. Ticari kitosan, geleneksel olarak büyük ölçüde kabuklu deniz canlılarından elde edilen kitinin kimyasal deasetilasyonu yöntemiyle üretilmektedir. Ancak son yıllarda, vegan taleplerin artmasına bağlı olarak mantar kökenli kitosan da piyasada giderek daha fazla ilgi görmeye başlamıştır.

Kitin ve kitosana yönelik bilimsel ve endüstriyel ilgi, bu polimerlerin sahip olduğu çeşitli biyolojik ve teknolojik özelliklerden kaynaklanmaktadır. Ancak bu özellikler, özellikle moleküler ağırlık ve asetilasyon derecesi gibi fizikokimyasal parametrelerle doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle, kitin ve kitosan temelli uygulamalarda güvenilir sonuçlar elde edilebilmesi için söz konusu polimerlerin kapsamlı ve dikkatli bir şekilde karakterize edilmesi gerekmektedir.

Kitosan oligomerleri, asidik koşullardan bazik ortamlara kadar geniş bir pH aralığında çözünürlük gösterebilirken, daha yüksek moleküler ağırlığa sahip kitosan formları, yüksek deasetilasyon derecesine sahip olsalar dahi yalnızca asidik sulu çözeltilerde çözünür. Bu çözünürlük sınırlaması, nötr fizyolojik pH 7,4 koşullarında kitosanın kullanımını bazı biyomedikal uygulamalar açısından kısıtlayıcı bir faktör haline getirmiştir. Bu amaçla en sık kullanılan asit asetik asittir, ancak insan vücudunda doğal olarak bulunan HCl, laktik asit, sitrik asit ve pirüvik asit gibi diğer birçok asit de fosforik asit hariç olmak üzere kitosanı çözebilir (Aranaz vd., 2021; Kou vd., 2021).

3.2.2. Sodyum aljinat

Aljinat, özellikle yara örtülerinde doku iyileşmesini ve rejenerasyonunu desteklemek amacıyla yaygın şekilde kullanılan biyolojik kökenli bir polimerdir. Gıda endüstrisinde de kullanılması nedeniyle biyomedikal uygulamalarda güvenli kabul edilmektedir. Monovalent katyonlarla iyon değişimi yoluyla çapraz bağlayıcı ajanların serbest kalması sonucunda, aljinat vücut sıvılarında yavaşça çözünerek biyolojik olarak parçalanabilir özellik göstermektedir.

Aljinat, yapısında β -D-mannuronik asit (M) ve α -L-guluronik asit (G) olmak üzere iki farklı izomerik kalıntı içeren yaygın ve doğal bir polisakkarit olarak tanımlanmaktadır. Bu iki kalıntı, aljinatta üç farklı bloğa, poliM bloklarına, poliG bloklarına ve poliMG bloklarına katkıda bulunan 1→4 glikozidik bağlarla homojen veya heterojen olarak bağlanır. Aljinat, kahverengi algler olmak üzere doğal kaynaklarda yaygın olarak bulunan bir polisakkarittir ve bu organizmalarda kuru ağırlığın yaklaşık %30–60'ını oluşturur. Ayrıca bazı kırmızı alg türlerinde de rastlanabilen aljinat, *Azotobacter* ve *Pseudomonas* gibi çeşitli bakteriyel cinsler tarafından da sentezlenebilmektedir.

Aljinatların sahip olduğu farklı fiziksel özellikler, bu biyopolimerlerin geniş bir uygulama yelpazesinde kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Gıda, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde stabilizatör, emülgatör, koyulaştırıcı ve jel oluşturucu madde olarak kullanılırlar. Örneğin, sünger, hidrojel ve elektro-eğirilmiş mat formundaki aljinat yapıların, iskelet kası rejenerasyonunu desteklemek amacıyla yara iyileştirici malzeme olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Ayrıca, aljinatların yapışkanlık, hidrofiliklik, hoş koku, formülasyon kolaylığı, düşük maliyet ve uzun raf ömrü gibi avantajlı özellikleri sayesinde; bukkal, nazal, oküler ve gastrointestinal dozaj formlarının geliştirilmesinde

uygun taşıyıcı sistemler olduğu ortaya konulmuştur (Ahmad Raus vd., 2021; Cheng vd., 2020).

3.3. Literatür Araştırması ve Çalışmanın Amacı

Çakmak ve Eroğlu, antikanser ilaç taşıyıcısı olarak grafen oksit–kitosan–folik asit (GO-CH-FA) yapısını sentezlemiş ve bu sistemin ilaç yükleme kapasitesi ile pH'ya bağlı salım davranışını incelemiştir. GO'nun kitosan ile konjugasyonu, biyouyumluluğun ve çözünürlüğün artırılması amacıyla gerçekleştirilmiş; folik asit eklenerek kanser hücrelerine hedefleme sağlanmıştır. Antikanser ajanlar olan tamoksifen (TAM) ve doksorubisin (DOX) yüklü sistemde, 24 saat sonunda pH 5,8 ve 7,4 koşullarında sırasıyla TAM için %22 ve %20, DOX için ise %30 ve %25 oranında salım gözlemlenmiştir (Keklikcioglu Cakmak & Eroglu, 2023).

Xie ve çalışma arkadaşları, manyetik grafen oksiti (mGO) sentezleyerek, doğal polielektrolitler olan kitosan (CH) ve sodyum aljinat (SA) ile katman-katman tekniğiyle fonksiyonelleştirmiştir. Elde edilen mGO-CH/SA nanokompoziti, yüksek kapasitede doksorubisin (DOX) ile yüklenmiştir. Yapılan analizler, kitosan ve sodyum aljinat ile modifikasyonun mGO'nun fizyolojik koşullarda dispersiyonunu ve kararlılığını artırdığını, ayrıca protein olmayan adsorpsiyonu azalttığını göstermiştir. DOX yüklü mGO-CH/SA nanokompozitleri, gelişmiş dispersiyon kabiliyeti ve belirgin pH duyarlılığı sayesinde tümör mikroçevresinde kontrollü ilaç salımı açısından avantaj sunmuştur. Salım profili pH'a bağlı olarak değişmiş; 168 saat sonunda pH 7,4'te DOX salımı mGO ve mGO-CH/SA için sırasıyla %31,2 ve %39,4 iken, pH 5,0'te bu oranlar %56,4 ve %60,8'e ulaşmıştır (Xie vd., 2019).

Lei ve arkadaşları, fizyolojik koşullar altında yüksek stabilite, iyi sulu çözünürlük ve düşük spesifik olmayan protein adsorpsiyonu gösteren kitosan/sodyum aljinat (CH/SA) modifiye grafen oksit (GO) yapısını başarıyla sentezlemiştir. Ayrıca bu yapının ilaç yükleme kapasitesi ve kontrollü salım üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. DOX ile yüksek yükleme kapasitesine ulaşılmış ve GO-CH/SA-DOX sisteminin düşük pH ortamında hızlandırılmış salım gösterdiği, bu özelliğin tümör mikroçevresinde hedefli ilaç iletimine katkı sağladığı belirlenmiştir. Salım çalışmaları sonucunda, pH 7,4 koşulunda 120 saat sonunda GO-DOX ve GO-CH/SA-DOX sistemlerinden sırasıyla

%30,7 ve %31,6 oranında kümülatif DOX salımı gerçekleşirken, pH 5,0 koşulunda bu oranlar sırasıyla %54,6 ve %51,6 olarak bulunmuştur (Lei vd., 2016).

Veloso ve çalışma arkadaşları, çok çekirdekli morfolojiye sahip süperparamanyetik demir oksit (Fe_3O_4) ve mangan ferrit (MnFe_2O_4) nanopartikülleri sentezlemiştir. Bu nanopartiküller, sitrat ve sığır serum albümini (BSA) ile fonksiyonelleştirilmiş; bu işlem, partiküllerin hidrodinamik özelliklerinde ve stabilitelerinde değişimlere neden olmuştur. Fonksiyonelleştirilmiş nanopartiküller, öz montaj yöntemiyle kitosan ve aljinat esaslı nanojeller şeklinde başarıyla formüle edilmiştir. Elde edilen manyetik nanojellerin negatif yüzey yüküne sahip olduğu ve yaklaşık %70 oranında doksorubisin kapsülleme verimliliği gösterdiği belirlenmiştir. DOX salımı, difüzyon kontrollü bir mekanizma ile sürekli bir salım profili ortaya koymuştur. BSA ile fonksiyonelleştirme, fizyolojik pH'ta salımın sürekliliğini artırmış; ayrıca, asidik ortam ve fototermal etki, DOX salım miktarını anlamlı şekilde yükseltmiştir (Veloso vd., 2023).

Huang ve çalışma arkadaşları tarafından yapılan çalışmada yüksek ilaç yükleme kapasitesi, pH'a duyarlı kontrollü salım ve manyetik hedefleme gibi belirgin avantajlara sahip manyetik grafen oksit/kitosan–polietilen glikol (mGOC-PEG) bazlı bir kemoterapi ilaç taşıyıcı sistem geliştirmiştir. Hücre içi endosomlarda bulunan düşük pH koşullarında, doksorubisin (DOX), sitoplazmaya ulaşan nanotaşıyıcılardan etkili biçimde salınarak hücre çekirdeğine girebilmekte ve hücre ölümünü tetikleyebilmektedir. İlaç salım profili, kanser hücrelerinin fizyolojik pH'ına (7,4) ve endosomal pH'a (5,3) karşılık gelecek şekilde değerlendirilmiştir. Çalışmalar sonucunda, 120 saate kadar süren kontrollü bir salım süreci boyunca, DOX'un yaklaşık ~ %78'inin pH 5,4'te, ~ %17'sinin ise pH 7,4'te salındığı belirlenmiştir (Y. S. Huang vd., 2017).

Bu çalışmada, yukarıda belirtilen tüm hususlar bir arada ele alındığında, grafen oksidin benzersiz özellikleri, pH'a duyarlı ilaç salınımı ve yüksek ilaç yükleme kapasitesi kullanılarak doksorubisin taşıyıcı ilaç dağıtım sistemi geliştirilmesi hedeflenmiştir.

Bu kapsamda, manyetik grafen oksit kimyasal eş çöktürme yöntemi kullanılarak grafen oksitten sentezlenmiştir. Biyolojik kararlılığı artırmak, ilaç taşıma verimliliğini iyileştirmek ve manyetik grafen oksit nanoparçacıklarının yüzeyinin fonksiyonelleştirilmesi amacıyla, nanopartiküller kitosan ve sodyum aljinat ile kaplanarak biyonanopartiküller üretilmiştir. Doksorubisin ilacının kontrollü taşınım ve salınımı amacıyla biyonanopartiküllere ilaç yüklenmiştir. Elde edilen bu nanopartiküllerin özellikleri ayrıntılı şekilde karakterize edilmiş ve in vitro koşullarda

kanser karşıtı terapötik etkinliklerinde kullanılabilmesi için ilaç taşıyıcı sistemlerdeki potansiyeli değ erlendirilmiştir.



4. MALZEMELER VE YÖNTEMLER

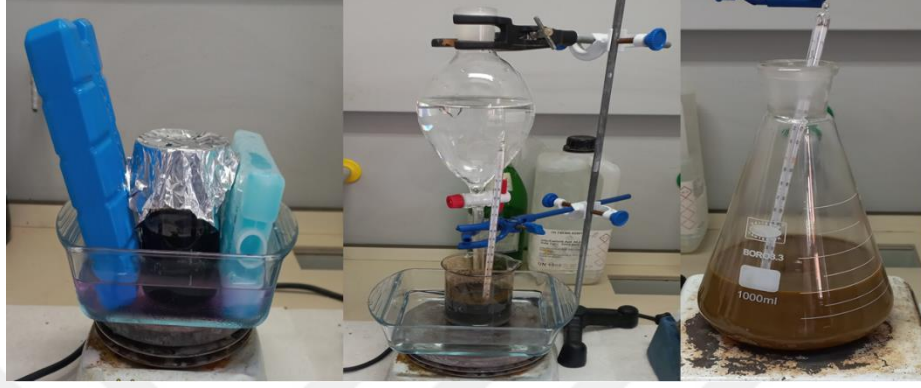
4.1. Malzemeler

Grafit ($\geq\%98$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2 , $\%30$) Sigma-Aldrich, Kitosan ($C_{12}H_{24}N_2O_9$, $\%88,3$) ZAG Kimya, Doksorubisin hidroklorür ((DOX), Adrimisin, $C_{27}H_{30}ClNO_{11}$), Demir (III) klorür heksahidrat ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$, $\%99$) AFG Bioscience tedarik edilmiştir. Demir (II) klorür tetrahidrat ($FeCl_2 \cdot 4H_2O$, $\% \geq 99$) ve sodyum nitrat ($NaNO_3$, $\% \geq 99$) CARLO ERBA, Hidrazin hidrat (N_2H_4 , $\%55$), sodyum aljinat ($C_6H_7O_6Na$, $\%99,4$), potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4 , $\%99,88$) ve di-potasyum hidrojen fosfat anhidro (K_2HPO_4 , $\%99,35$) KİMYALAB, Sodyum hidroksit ($NaOH$, $\geq\%99$) ve sülfürik asit (H_2SO_4 , $\%95-98$) TEKKİM, Asetik asit ($C_2H_4O_2$, $\geq\%99,8$), potasyum permanganat ($KMnO_4$, $\geq\%99$) ve hidroklorik asit (HCl , $\geq\%37$) ISOLAB chemical, Amonyak (NH_4OH , $\%20-25$) BALMUMCU KİMYA, Etanol (C_2H_5OH) Merck, Asetonitril (C_2H_3N , $\geq\%99,9$) Honeywell, firmalarından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıktadır.

4.2. Grafen Oksit (GO) Sentezi

Grafen oksit, Hummers metodunda küçük değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir (Dash vd., 2024; Hummers & Offeman, 1958). 5 g grafit ve 2,5 g sodyum nitrat, 115 mL sülfürik asit çözeltisinde 40 dakika boyunca buz banyosunda manyetik karıştırma ile karıştırılmıştır. 40 dakika sonra, 15 g $KMnO_4$ yavaşça eklenmiş ve 1 saat daha karıştırılmıştır. $KMnO_4$ eklendikten sonra çözeltinin renginin kahverengi yeşil arası bir renge dönüştüğü gözlenmiştir. Sıcaklık $35\text{ }^{\circ}C$ 'ye ulaştıktan sonra, çözeltiye 500 mL deiyonize su eklenmiş, sıcaklık yaklaşık $90\text{ }^{\circ}C$ 'ye yükseltilmiştir (sıcaklık $90\text{ }^{\circ}C$ üzerine geçmemesi için sıcaklık kontrolü sağlandı). Akabinde su banyosunda soğutulularak ~30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Son olarak, soğutulduktan sonra, 10 mL $\%30$ 'luk hidrojen peroksit sulu çözeltisi, $40\text{ }^{\circ}C$ 'de 5 dakika boyunca reaksiyon kabına damlatılarak eklenmiştir. H_2O_2 eklendikten sonra çözeltinin renginin açık kahveden sarımsı renge dönüştüğü gözlenmiştir. Reaksiyondan sonra, çözelti oda sıcaklığında 24 saat karıştırılmıştır. 24 saat sonunda, grafen oksit çözeltisi 1:1 oranında seyreltilerek, grafen oksit nanopartikülleri elde etmek için mini diyaframlı vakum pompası (LABOPORT, N816.3 KT.18) ile sonikasyondan sonra 1-2 μm 'lik bir filtre membranından (MN 640 DE) süzölmüştür. Son olarak, $\%10$ 'luk HCl sulu çözeltisi grafen oksidi yıkamak için

kullanılmış, ardından nötr pH değerine ulaşana kadar deiyonize su ile yıkanmıştır. Filtrelenmiş grafen oksit 70 °C'de (ECOCCELL, EC55, Almanya) kurutulmuştur. Görsel 4.1.'de grafen oksit sentezine ait bazı basamaklar yer almaktadır.



Görsel 4.1. GO sentezi

4.3. Manyetik Grafen Oksit (mGO) Sentezi

mGO sentezi için literatürde de beyan edildiği üzere (Y. S. Huang vd., 2017) ideal Fe_3O_4 nanopartikülleri oluşturmak için, $\text{Fe}^{3+}:\text{Fe}^{2+}$ mol oranı 2:1 olarak seçilmiştir. İlk olarak, 0,9 g grafen oksit, karboksilik asit gruplarını karboksilat anyonlarına dönüştürmek için 1 saat boyunca sonikasyonla (FAITHFUL, FSF-031S) 250 mL suda dağıtılmıştır. Daha sonra, 0,04 mol (10,812 g) $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ve 0,02 mol (3,89 g) $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 25 mL su içerisinde çözülmüş ve 45 dakika boyunca kuvvetli karıştırma ile bir azot akışı (40 mL/dak) altında oda sıcaklığında grafen oksit çözeltisine damla damla eklenmiştir. İyon değişimi tamamlandıktan sonra, manyetik Fe_3O_4 nanopartikülünün sentezi için çözelti içerisine damla damla %25'lik amonyak çözeltisi pH 10 olana dek eklenmiştir (10 d/dak damlatma hızıyla). Çözeltinin sıcaklığı 80 °C'ye çıkarılarak grafen oksidin indirgenmesi için sürekli karıştırılıp, 18 mL hidrazin hidrat eklenmiş ve siyah bir çözelti elde edilmiştir. 5 saat boyunca hızla karıştırıldıktan sonra çözelti oda sıcaklığına soğutulmuştur. Elde edilen mGO nanokompozitleri saf su ile iyice yıkandıktan sonra filtrelenerek, 70 °C'de 24 saat kurutulmuştur (Yao vd., 2012). Görsel 4.2.'de manyetik grafen oksit nanopartiküllerinin bir mıknatıs yardımı ile toplandığı gözlenmektedir.



Görsel 4.2. *mGO* sentezi

4.4. Manyetik Grafen Oksit-Kitosan (mGO-CH) Sentezi

Manyetik grafen oksit-kitosan nanokompozitinin sentezi için 1,5 g kitosan 100 mL %1'lik asetik asit çözeltisinde çözülmüştür. Bu işlem sırasında diğer yandan 0,25 g manyetik grafen oksit, sonikasyon altında ve oda sıcaklığında 100 mL deiyonize su içerisinde dağıtılmıştır. Daha sonra, hazırlanan iki çözelti yavaşça birbiri ile karıştırılıp, homojen bir çözelti elde etmek için 40 dakika boyunca sonikasyona tabi tutulmuştur. Sonikasyon sonrasında, manyetik grafen oksit-kitosan etanol çözeltisinde 1 M NaOH ile çökteltilmiştir. Son olarak, hazırlanan nanopartiküller pH nötr olana kadar birkaç kez C_2H_5OH , C_2H_3N ve deiyonize su ile yıkanmıştır. Manyetik grafen oksit-kitosan nanopartikülleri adsorpsiyon deneylerinde kullanılmadan önce, filtrelenip, 50 °C'de 24 saat kurutulmuştur (Lujanienė vd., 2022).

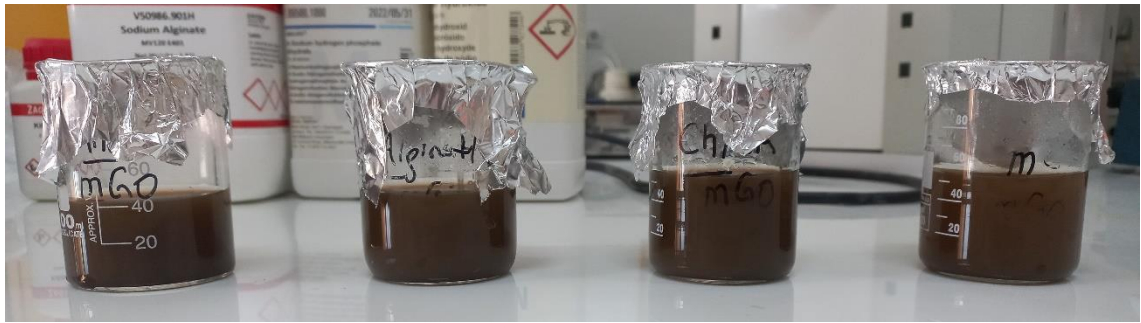
4.5. Manyetik Grafen Oksit-Sodyum Aljinat (mGO-SA) Sentezi

Manyetik grafen oksit-sodyum aljinat nanopartiküllerini üretmek amacıyla, 12 mg sodyum aljinat 40 mL diyonize suda çözülmüştür. Daha sonra, 10 mL manyetik grafen oksit çözeltisi (0,2 mg/mL) yavaş yavaş sodyum aljinat çözeltisi içine eklenerek, 30 dakika boyunca sonikasyonla (sıcaklık 35 °C'de sabit tutularak) kuvvetlice karıştırılarak dağıtılmıştır. Daha sonra, karışım 10.000 rpm'de santrifüj (SENTURION SCIENTIFIC LTD, 1020 series, İngiltere) edilmiş ve tepkimeye girmeyen sodyum aljinatı

uzaklaştırmak için iki kez saf su ile yıkama işlemi yapılmıştır. Yıkama işlemi sonucunda süpernatant alınarak mGO-SA nanopartikülleri elde edilmiştir (Lei vd., 2016).

4.6. Manyetik Grafen Oksit-Kitosan-Sodyum Aljinat (mGO-CH-SA) Sentezi

Kitosan-sodyum aljinat ile modifiye edilmiş manyetik grafen oksit sentezi iki basamakta gerçekleştirilmiştir. İlk basamakta, kitosan modifiye edilmiş manyetik grafen oksit sentezlenmiş ve akabinde sodyum aljinat ile modifikasyon yapılmıştır. Bunun için kitosan (0,2 mg/mL) (12 mg) asetik asit çözeltisinde (%0,6) çözülmüş ve pH 5,5-6,0'ya ayarlanarak 30 dakika boyunca sonikasyona tabi tutulmuştur. Bu süre sonunda manyetik grafen oksit kuvvetli manyetik karıştırma altında 12 mg (0,2 mg/mL) manyetik grafen oksit kitosan çözeltisi içerisine eklenmiştir. Diğer bir yandan, sodyum aljinat (12 mg) saf su içerisinde (40 mL) çözülerek elde edilen çözeltiye kademeli olarak eklenmiştir. Elde edilen çözelti sonikasyonla 40 dakika boyunca homojen bir dispersiyon gözlemlemek amacıyla karıştırılmıştır. Bu süre sonunda çözelti 10.000 rpm'de santrifüj edilmiş ve tepkimeye girmeyen kitosan ve sodyum aljinattan kurtulmak için iki kez saf suyla yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonucunda süpernatant alınarak mGO-CH-SA nanopartikülleri elde edilmiştir (Lei vd., 2016; Xie vd., 2019). Görsel 4.3'te nanopartiküllerin sonikasyona tabi tutulmuş durumdaki deney sırasında çekilmiş fotoğrafları bulunmaktadır.



Görsel 4.3. mGO-CH, mGO-SA ve mGO-CH-SA sentezi

4.7. In Vitro İlaç Yükleme ve İlaç Salınımı

Doksorubisin yüklemesi için 1 mg mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH/SA tartılarak test tüplerine alınmış, üzerine 5 mL PBS'de (pH 7,4 ve pH 5,5) hazırlanan 0,2

mg/mL DOX çözeltisi ilave edilmiştir. Hazırlanan DOX çözeltisinin ilk andaki absorpsiyon spektrumu alınmış ve 484 nm’de maksimum absorbans gösterdiği belirlenmiştir. Test tüplerinin kapakları kapatılarak, 37 °C’de 24 saat boyunca 150 rpm’de inkübatöre (mikrotest, MCI-55) bırakılmıştır. 24 saatin sonunda, belirlenen maksimum absorpsiyonun gözlemlendiği 484 nm’de üstteki sıvıdan 2’şer mL UV küvetlerine alınarak, mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA nanopartiküllerine yüklenen DOX miktarının belirlenmesi için absorpsiyon ölçümleri yapılmıştır.

İlacın yükleme verimliliği ve yüklenen içerik literatürde de beyan edildiği üzere şu şekilde hesaplanmıştır (Hussien vd., 2018):

$$\text{Yükleme verimliliği (\%)} = \frac{\text{yüklenen DOX ağırlığı}}{\text{kullanılan DOX ağırlığı}} \times 100 \quad (4.1)$$

$$\text{Yüklenen içerik (mg/mg)} = \frac{\text{yüklenen DOX ağırlığı}}{\text{kullanılan nanomalzeme ağırlığı}} \quad (4.2)$$

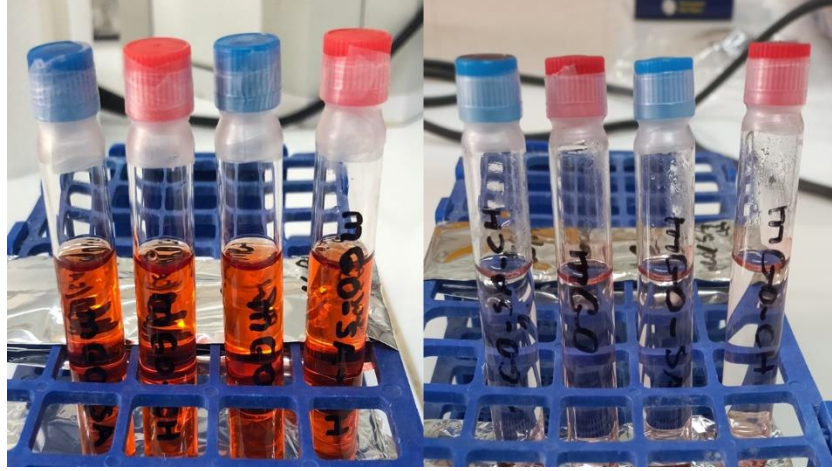
24 saat sonunda yüklenen DOX miktarı belirlendikten sonra, test tüplerindeki DOX çözeltisi alınarak ayrılmış ve mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA nanopartikülleri PBS çözeltisi ile hızlıca yıkanarak, ilaç salım deneyleri için kurutulmuştur.

DOX salım deneyleri için, kuruyan nanopartiküller, test tüplerine alınarak üzerine 5 mL PBS (pH 7,4 ve pH 5,5) eklenerek ilaç salınım deneylerine geçilmiştir. Bunun için, test tüpleri 37 °C’de 24 saat boyunca 150 rpm’de inkübatöre bırakılmıştır. 24 saatin sonunda, belirlenen maksimum absorpsiyonun gözlemlendiği 484 nm’de üstteki sıvıdan 2’şer mL UV küvetlerine alınarak, mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA nanopartiküllerinden salınan DOX miktarının belirlenmesi için absorpsiyon ölçümleri yapılmıştır. 24 saatlik periyotlarla, pH 7,4 için 192 saat ve pH 5,5 için 360 saat boyunca ölçüm alınmıştır. Deney süresince, alınan 2 mL çözelti yerine eşit miktarda taze tampon çözeltisi eklenmiştir.

Tüm bu işlemler sonrasında mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA nanopartiküllerinden salınan DOX miktarının belirlenmesi için kümülatif ilaç salım aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır (Karami vd., 2023).

$$\text{Toplam ilaç salınımı (\%)} = \frac{\Sigma \text{salınan DOX ağırlığı}}{\text{yüklenen DOX ağırlığı}} \times 100 \quad (4.3)$$

Görsel 4.4’te ilaç yükleme ve ilaç salınımı sırasında çalışılan test tüplerinin görüntüsü yer almaktadır.



Görsel 4.4. *DOX yükleme ve DOX salınımı*

4.8. Karakterizasyon

Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektrumları, ATR yöntemi uygulanarak 400 ile 4000 cm^{-1} dalga boyu (Thermo Fisher Scientific, ABD, model NICOLET iS10) aralığında alınmıştır. Üretilen nanopartiküllerin yüzey morfolojisinin ve yapısal bütünlüğünün belirlenmesi amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) analizi gerçekleştirilmiştir. SEM analizleri, JEOL JSM 5600 cihazı kullanılarak yapılmıştır. Analizler sırasında uygun hızda tarama ve uygun büyütme (500.00 X; 1.00k X; 7,50k X; 10.00k X ve 20.00k X) seviyeleri tercih edilerek, nanopartikül yüzey yapıları detaylı bir şekilde incelenmiştir.

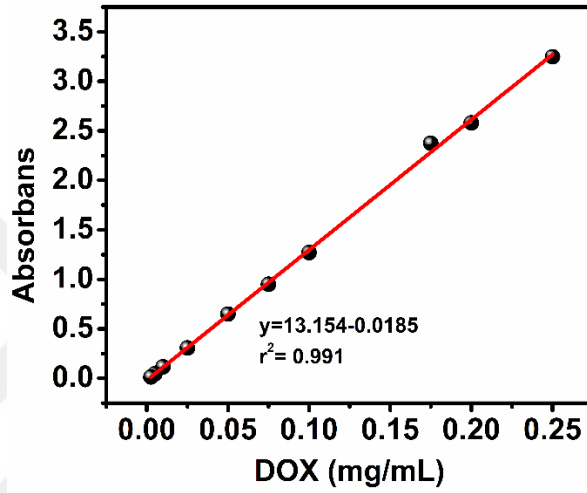
Ayrıca, nanopartiküllerin kimyasal bileşimini ve elementel dağılımını doğrulamak amacıyla SEM cihazına entegre Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi (EDX) analizi gerçekleştirilmiştir. Bunun yanında, yapısal özelliklerin belirlenmesi için X-Işını Kırınımı (XRD) analizi yapılmıştır. Ölçümler, Cu-K α ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) radyasyonu kullanılarak 35 kV tüp voltajında ve 1°/dak tarama hızıyla, 5°–70° 2 θ aralığında gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenen manyetik grafen oksitin manyetik özelliklerin değerlendirilmesi için Titreşimli Numune Manyetometresi (VSM) analizi gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, oda sıcaklığında uygulanmış ve mıknatıslanma-alan (M-H) eğrileri elde edilmiştir.

Optik özelliklerin incelenmesi amacıyla ise Ultraviyole-Görünür (UV-Vis) spektroskopisi analizi yapılmıştır. Ölçümler, Shimadzu UV-1800 model

spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. İlaç yükleme ve salınımı sırasında, 200–800 nm dalga boyu aralığında tarama yapılarak, maksimum absorpsiyon gözlenen dalga boyu belirlenmiştir. Ayrıca, kalibrasyon eğrisi Şekil 4.1’de göstermektedir.

Tüm bu karakterizasyon çalışmaları sonucunda, üretilen nanopartiküllerin morfolojik, yapısal, manyetik ve optik özellikleri sistematik şekilde ortaya konmuş ve sentez yönteminin başarısı doğrulanmıştır.



Şekil 4.1. DOX'in farklı derişimlerde kalibrasyon eğrisi

4.9. İlaç Salınım Kinetiği Çalışması

Elde edilen mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA nanopartiküllerinin ilaç taşıyıcı sistem olarak performansını değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen salınım deneyleri, 24 saatlik periyotlarla örnek alınarak ve UV-Vis spektroskopisi kullanılarak analiz edilmiştir. Zamanla değişen salım miktarına göre elde edilen veriler, çeşitli kinetik modeller ile uyum analizine tabi tutulmuştur. Bu kapsamda, literatürde yaygın olarak kullanılan dört farklı kinetik model dikkate alınmıştır (Aghazadeh Asl vd., 2023):

- Sıfırıncı derece kinetik modeli (Denklem (4.4)): İlacın salınım hızının zamandan bağımsız olduğunu varsayar ve genellikle yüzey kontrollü sistemler için uygundur.
- Birinci derece kinetik modeli (Denklem (4.5)): Salınım hızının, çözeltideki ilaç konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığını öngörür.

- Higuchi modeli (Denklem (4.6)): İlacın matris yapıdan difüzyon kontrollü olarak salındığı sistemlerde yaygın olarak kullanılır. Salınım miktarının zamanın kareköküyle orantılı olduğunu varsayar.
- Korsmeyer–Peppas modeli (Denklem (4.7)): Özellikle salınım mekanizmasının tam olarak belirlenemediği veya birden fazla mekanizmanın etkili olduğu durumlarda kullanılır. Bu modeldeki ‘n’ difüzyon üssü, salımın Fickyen ya da anormal difüzyon davranışı sergileyip sergilemediğini belirlemeye yardımcı olur.

Elde edilen deneysel veriler her bir modelin denklemi ile regresyon analizine tabi tutulmuş ve en uygun kinetik model, korelasyon katsayısı (R^2) değerleri dikkate alınarak belirlenmiştir. Bu analizler, sentezlenen nanoyapıların ilaç salım mekanizmasını açıklamada önemli bilgiler sunmuş ve sistemin kontrollü salım uygulamaları açısından uygunluğunu ortaya koymuştur.

$$Q = k_0 t \quad (4.4)$$

$$\ln Q = \ln Q_0 - k_1 t \quad (4.5)$$

$$Q = k_H t^{1/2} \quad (4.6)$$

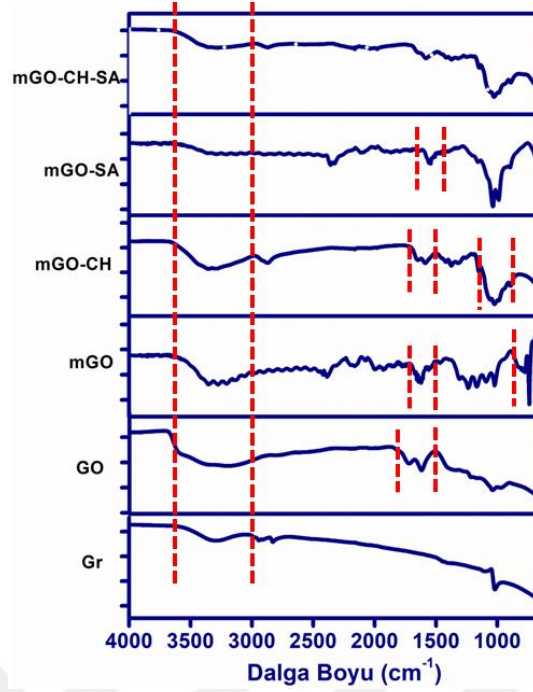
$$\ln Q = n \ln t + \ln k_p \quad (4.7)$$

5. SONUÇLAR

5.1. Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

5.1.1. FT-IR analizi

GO, mGO, mGO-CH, mGO-SA, mGO-CH-SA'nın yüzeyinde yer alan fonksiyonel grupların belirlenmesi amacıyla FT-IR spektroskopisi kullanılmıştır. Şekil 5.1'de görüldüğü gibi, grafit, saf karbon yapısıdır ve fonksiyonel grubu yok denecek kadar azdır. Dolayısıyla FT-IR sinyali zayıftır ve bu durum spektrumdan görülmektedir. GO'nun spektrumunda ise, 3245, 1618 ve 1050 cm^{-1} 'deki bantların sırasıyla hidroksi grupları, aromatik C=C ve epoksi C-O gerilme titreşimleriyle ilişkili olduğu belirlenmiştir. 1715 cm^{-1} 'deki bantlar ise karboksil C=O gerilme titreşimlerine karşılık geldiği söylenebilir (Aghazadeh Asl vd., 2023). mGO'nun spektrumuna bakıldığında en belirleyici pik, Fe-O'nun tipik karakteristik pikinin yaklaşık 576 cm^{-1} 'de görünmesi manyetik Fe₃O₄ partiküllerinin başarılı şekilde yüklendiğini göstermektedir (Seyyedi Zadeh vd., 2023). Ayrıca, GO, mGO ve mGO-CH-SA spektrumlarındaki O-H gerilme titreşimleri yaklaşık 3000–3340 cm^{-1} 'de geniş bir bantta gözlenmektedir (Lujanienė vd., 2022). mGO'in CH ile kaplanması ile elde edilen nanopartiküllerin de FT-IR spektrumları alınmıştır (Şekil 3.1). mGO numunesinin 1580 cm^{-1} 'deki (-N-H- bükülmesi) karakteristik pikin ve 1000-1120 cm^{-1} (C-N streçleme) pikin modifikasyonun başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir. Benzer şekilde, sodyum aljinatın biriktirilmesinden sonra, özellikle 1550 cm^{-1} 'deki emilim bantlarının, sodyum aljinatın mGO üzerinde biriktirildiğini göstermektedir (Lei vd., 2016; Xie vd., 2019). Sonuçlar, nanopartiküllerin başarılı bir şekilde elde edildiğini göstermektedir.



Şekil 5.1. Grafit, GO, mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA'nın FT-IR analizi

5.1.2. SEM analizi

Gr, GO, mGO, mGO-CH, mGO-SA, mGO-CH-SA nanopartiküllerinin morfolojik özellikleri SEM ile incelenmiştir. Elde edilen görüntüler Şekil 5.2 ve 5.3'te sunulmakta ve yapılar arasında belirgin morfolojik farklılıklar gözlemlenmektedir.

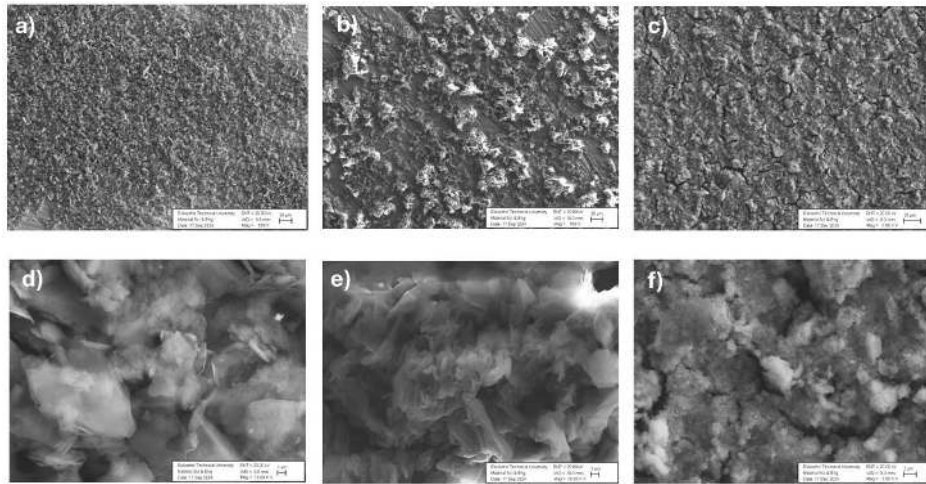
Şekil 5.2a ve 5.2d farklı büyütme oranlarında grafit örneğine ait olup, yoğun ve düzenli tabakalı bir yapıyı gözlenmektedir. Yüzeyde gözlenen sıkı istiflenmiş yapı, malzemenin yüksek kristallilik seviyesini ve yoğun yapısını ortaya koymaktadır. Bu özellikler, grafitin stabilitesini ve mekanik dayanıklılığını belirleyen önemli faktörler arasındadır (Novoselov vd., 2004).

Şekil 5.2b ve 5.2e farklı büyütme oranlarında GO'e ait olup, görüntü incelendiğinde, oksijenli fonksiyonel grupların etkisiyle grafit yapının delamine olduğu ve tabakalar arasında ayrılmaların meydana geldiği gözlemlenmektedir. Bu durum, yüzeyde belirgin düzensizliklerin, kırışıklıkların ve tabaka ayrılmalarının oluşmasına neden olmuştur. Bu morfolojik değişim, GO'nun artırılmış yüzey alanına sahip olduğunu ve modifikasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir. SEM görüntülerinde, GO'nun genellikle dalgalı ve kıvrımlı, yaprak benzeri formlar sergilediği görülmektedir. Bu durum, oksidasyon sürecinde oluşan hidroksil, epoksit ve karboksil

gibi fonksiyonel grupların, grafitin düzenli yapısını bozarak katmanlar arasında itici kuvvetler yaratmasından kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak, bu yapısal değişiklikler GO yüzey alanını genişletip, daha gözenekli, düzensiz bir morfoloji ortaya çıkarmaktadır (Dreyer vd., 2010).

Şekil 5.2c ve 5.2f ise farklı büyütme oranlarında mGO'e ait olup, görüntülerde GO yüzeyine manyetik Fe_3O_4 nanopartiküllerinin başarıyla yüklenmiş olduğu görülmektedir. Yüzeyde düzensiz dağılmış, koyu renkli, yuvarlak ve nano boyutlu partiküller dikkat çekmektedir. Bu durum, manyetik partiküllerin GO yüzeyiyle etkileşime girerek yapıyı daha karmaşık ve üç boyutlu bir hale getirdiğini göstermektedir. Ayrıca, bu yapı GO'ya kıyasla daha dağınık, kaba ve heterojen bir morfolojiye sahiptir. Bu morfolojik değişiklik, yüzey aktifliğinin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini ve mGO yapısında GO yüzeyine göre manyetik nanoparçacıkların (çoğunlukla Fe_3O_4) başarılı şekilde tutunduğunu kanıtlamaktadır.

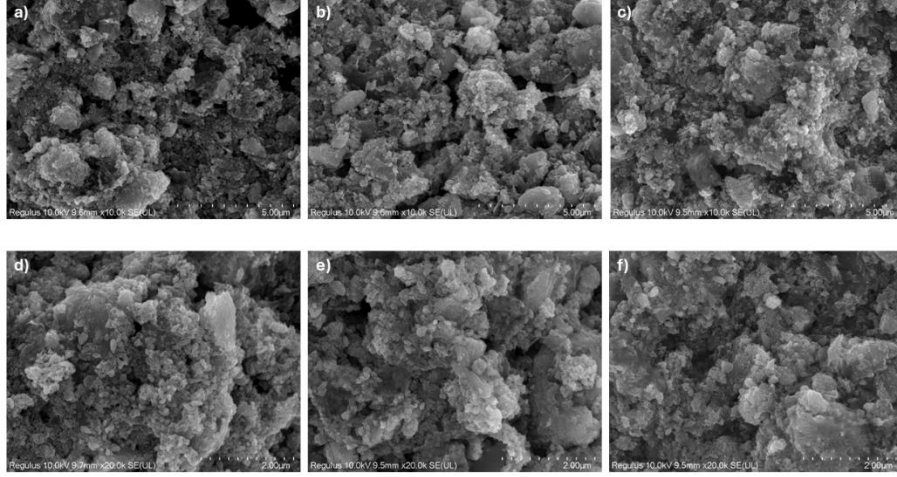
Literatürde, benzer morfolojik yapılar bildirilmiş olup, bu tür nanokompozitlerin fiziksel stabiliteyi artırdığı ve fonksiyonel özellikler açısından önemli avantajlar sunduğu ifade edilmektedir (Yao vd., 2012).



Şekil 5.2. a)500 X ve d)10.00k X grafitte ait, b) 500 X ve e)10.00k X GO'ye ait, c)1.00k X ve f)7,50k X mGO'ye ait farklı yaklaşıma oranlarındaki SEM görüntüleri

Bunun yanında, mGO'in SEM görüntüleri ile başarılı bir şekilde sentezlendiği ortaya konulduktan sonra, deneysel çalışmalarda da bahsedildiği üzere mGO-SA, mGO-CH ve her iki yapının da yer aldığı hibrit (mGO-CH-SA) yapı oluşturmak üzere kaplama işlemine tabi tutulmuştur. Bu yapıların mGO ile kaplamaları sonrasında SEM görüntüleri

alınarak, yapıların karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.3'te mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA'ya ait farklı büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri bulunmaktadır.



Şekil 5.3. a) 10.00k X ve d) 20.00k X mGO-SA'a ait, b) 10.00k X ve e) 20.00k X mGO-CH'a ait ve c) 10.00k X ve f) 20.00k X mGO-CH-SA'a ait farklı yaklaştırma oranlarındaki SEM görüntüleri

Şekil 5.3a ve 5.3d'de gösterilen sodyum aljinat ile modifiye edilmiş mGO nanokompozitlerinde pürüzlü, gevşek örgülü ve belirgin derecede gözenekli bir yüzey morfolojisi gözlemlenmiştir. Bu morfolojik özellikler, aljinatın hidrofilik karakteri ve üç boyutlu jel oluşturma kapasitesiyle uyumlu olup yüzeyde homojen dağılımlı polimer varlığını işaret etmektedir. Özellikle 20.00k X büyütmede (Şekil 5.3d) parçacık yüzeyine ilişkin daha ince detaylar ortaya çıkmış ve aljinat tabakalarının amorf nitelikte yüzeye tutunduğu doğrulanmıştır. Bu yapı, yüksek ilaç yükleme kapasitesi potansiyeline sahip olduğunu düşündürmektedir (C. H. Huang vd., 2020).

Kitosan ile modifiye edilen mGO nanokompozitlerinde (Şekil 5.3b ve 5.3e), daha kompakt, topaklanmış ve yoğun bir yapı gözlenmiştir. Kitosanın katyonik yapısına bağlı olarak meydana gelen elektrostatik etkileşimler, parçacıklar arasındaki aglomerasyonu artırmış ve yüzeyde daha kümelenmiş bir morfoloji oluşmasına yol açmıştır. Ayrıca, parçacıklar arasındaki topaklanmanın, kitosanın amino gruplarından kaynaklanan elektrostatik kuvvetlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Yüksek büyütmede (Şekil 5.3e), tabakalı yapıların üzerini kısmen örten amorf kitosan fazı belirginleşmekte ve bu fazın mGO yüzeyine tutunmasının, yüzeydeki düzensiz ve lekeli kontrast desenleriyle desteklendiği anlaşılmaktadır (Eltahir vd., 2022).

Her iki biyopolimerin birlikte kullanıldığı mGO-CH-SA yapısı (Şekil 5.3c ve 5.3f), hem gözenekli hem de yoğun bölgelerin bir arada bulunduğu hibrit bir yüzey morfolojisi sergilemiştir. Aljinat ile kitosan arasındaki polielektrolit kompleks oluşumu, yüzeyde karmaşık bir yapısal düzenlenmeye yol açmıştır. Bu durum, sodyum aljinatın gözenekliliği ile kitosanın kompakt yapısı arasında morfolojik bir denge sağlandığını göstermektedir. Yüksek büyütmedeki görüntü (Şekil 5.3f), hibrit yapının belirginliğini artırmış ve yüzey pürüzlülüğü ile parçacık boyutu dağılımındaki çeşitliliğin, fonksiyonel modifikasyonun başarılı olduğunu desteklediği görülmüştür (Veloso vd., 2023).

Sonuç olarak, SEM analizleri, sodyum aljinat, kitosan ve bu iki biyopolimerin kombinasyonu ile gerçekleştirilen yüzey modifikasyonlarının, mGO nanoparçacıklarının morfolojisinde belirgin değişimlere yol açtığını ortaya koymuştur. Yüzeyde gözlenen bu yapısal farklılıklar, polimerlerin nanoparçacıklara başarılı bir şekilde entegre edildiğini ve fonksiyonelleştirmenin etkin bir biçimde gerçekleştiğini doğrulamaktadır. Elde edilen bu morfolojik özelliklerin, özellikle kontrollü ilaç salımı, biyouyumluluk ve hedefe yönelik taşıma sistemleri gibi biyomedikal uygulamalarda önemli avantajlar sunabileceği değerlendirilmektedir.

5.1.3. EDX analizi

Şekil 5.4'te sunulan EDX spektrumları sırasıyla a) grafit, b) grafen oksit ve c) manyetik grafen oksit örneklerine aittir.

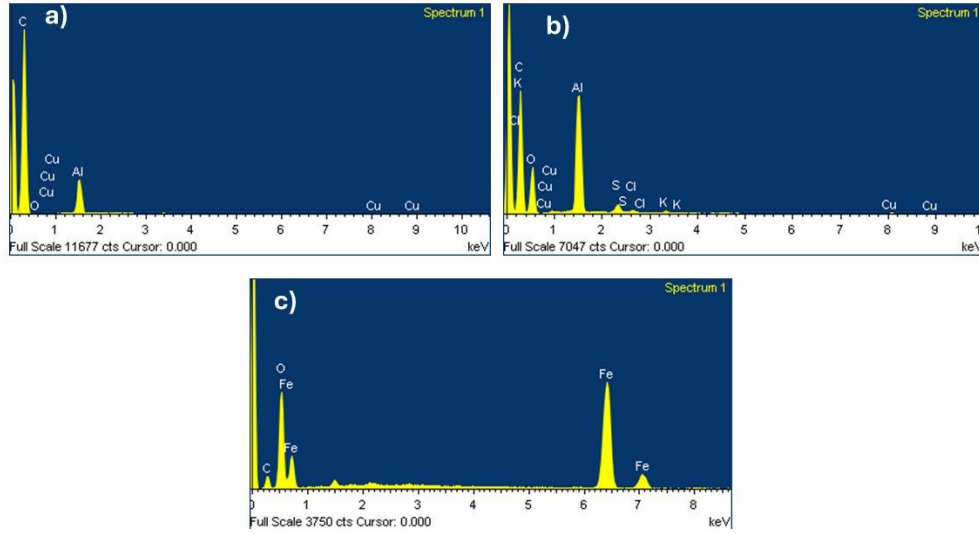
Grafit örneğine ait spektrumda (Şekil 5.4a), beklenildiği üzere yoğun bir karbon (C) sinyali gözlenmiş, ayrıca Cu ve Al elementlerine ait düşük yoğunluklu sinyaller tespit edilmiştir. Bu elementlerin, numunenin hazırlanması sırasında kullanılan tutucu (grid) veya örnek tablasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

GO örneğine ait spektrumda (Şekil 5.4b), karbon (C) ve oksijen (O) elementlerinin belirgin sinyalleri mevcuttur. Bu sonuç, grafit yapısına oksidatif işlemlerle oksijenli fonksiyonel grupların ($-OH$, $-COOH$, $-O-$ gibi) başarıyla eklendiğini göstermektedir. Bunun yanında, EDX sonuçları oksijen/karbon (O/C) oranındaki artış ile birlikte yapının oksitlenmiş olduğunu ve GO'ya dönüştüğünü açıkça ortaya koymaktadır (Tablo 5.1). Literatürde benzer şekilde, GO yapılarında temel olarak %20–40 aralığında oksijen içeriği bildirilmektedir (Jaleh vd., 2017). Ek olarak, spektrumda Al, Si, Cl ve K

elementlerine ait iz sinyaller gözlemlenmiştir. Bu elementler, kullanılan reaktiflerin eser miktardaki kalıntıları veya destek materyallerden kaynaklanabilir.

mGO örneğine ait spektrumda (Şekil 5.4c), karbon ve oksijenin yanı sıra demir (Fe) elementine ait belirgin sinyaller görülmektedir (Tablo 5.1). Demir sinyali, manyetik özellik kazandırmak amacıyla grafen oksit yüzeyine yüklenen manyetik nanoparçacıkların (örneğin Fe_3O_4 veya $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) varlığını teyit etmektedir. Bu sonuç, manyetik modifikasyonun başarıyla gerçekleştirildiğini göstermektedir. Literatürde mGO yapılarına ait benzer EDX analizleri rapor edilmiştir ve elde edilen sonuçların literatürle uyumlu olduğu gözlenmiştir (Danesh vd., 2016).

Yapılan EDX analizleri sonucunda, her bir sentez adımının yüzey kompozisyonuna etkisi net bir şekilde gözlemlenmiş ve sentezlenen yapılar başarılı şekilde karakterize edilmiştir.



Şekil 5.4. a) Grafit, b) GO ve c) mGO'nun EDX analizi

Tablo 5.1. Grafit, GO ve mGO'nun ana bileşenleri olarak, ağırlık ve atom yüzdeleri.

Gr			GO		mGO	
Elementler	Ağırlık%	Atomik%	Ağırlık%	Atomik%	Ağırlık%	Atomik%
Karbon (C)	96,43	97,29	55,74	62,66	14,84	23,81
Oksijen (O)	3,57	2,71	44,26	37,34	41,36	49,82
Demir (Fe)	0	0	0	0	76,40	26,37

EDX sonuçları (Tablo 5.2) temel alınarak mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA nanokompozitlerinin elementel bileşimlerini göstermektedir.

mGO-SA numunesinde karbon (%38,15) ve oksijen (%38,15) oranlarının birbirine yakın ve sodyumun (%0,39) tespit edilebilir düzeyde olması, sodyum aljinat kaplamasının mGO yüzeyine başarılı şekilde entegre olduğunu göstermektedir. Sodyum sinyalinin varlığı, aljinatın sodyum tuzu formuna özgü bir belirteç olup, polimerin yüzeyde tutulduğunu destekler. Demir içeriği (%23,40), çekirdek manyetik fazın (Fe_3O_4 ya da benzeri demir oksit) polimer kaplama ile kısmen “seyreltilmiş” görüldüğüne işaret etmektedir (Ahmadi vd., 2023).

mGO-CH nanokompozitinde karbon oranı %27,25’e düşerken demir oranı %33,90’a yükselmiştir. Bu durum, kitosanın yüzeyde aljinata kıyasla daha kompakt veya ince bir tabaka oluşturduğunu ve çekirdek manyetik fazdan (Fe) gelen sinyalin daha fazla görülebildiğini göstermektedir. Oksijen oranının %38,84 olması, hem grafen oksit yapısındaki oksijenli fonksiyonel gruplar hem de kitosanın hidroksil grupları ile uyumludur (Kazemi vd., 2021).

mGO-CH-SA hibrit numunesinde karbon oranının %42,40’a yükselmesi, iki biyopolimerin (kitosan ve aljinat) birlikte varlığı sayesinde yüzeyin daha yoğun ve organik fazla kaplı olduğunu göstermektedir. Demir oranının %16,24’e kadar düşmesi, kalın veya homojen bir polimer tabakasının Fe sinyalini zayıflattığını işaret etmektedir. Sodyumun %0,48 oranında tespit edilmesi, aljinat varlığını doğrulamakta ve hibrit yapının polielektrolit kompleks oluşumuyla stabilize olduğunu göstermektedir. Oksijen oranı %40,88 ile en yüksek seviyededir, bu da iki biyopolimerin oksijenli fonksiyonel gruplarının katkısını göstermektedir (Khushbu & Jindal, 2023).

σ (sigma) değerleri, tüm numunelerde 1,5’in altında kalmıştır; bu da EDX ölçümlerinin istatistiksel olarak güvenilir olduğunu ortaya koymaktadır. Karbon/oksijen ve karbon/demir oranlarındaki değişimler, yüzeydeki organik fazın türüne ve miktarına bağlı olarak morfolojinin farklılaştığını desteklemektedir.

Tablo 5.2. *mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA'nın ana bileşenleri olarak, ağırlık yüzdeleri.*

mGO-SA			mGO-CH		mGO-CH-SA	
Elementler	Ağırlık%	σ (%)	Ağırlık%	σ (%)	Ağırlık%	σ (%)
Karbon (C)	38,15	0,50	27,25	1,55	42,40	0,71
Oksijen (O)	38,15	0,39	38,84	0,99	40,88	0,62
Sodyum (Na)	0,31	0,09			0,48	0,12
Demir (Fe)	23,40	0,26	33,90	0,87	16,24	0,32

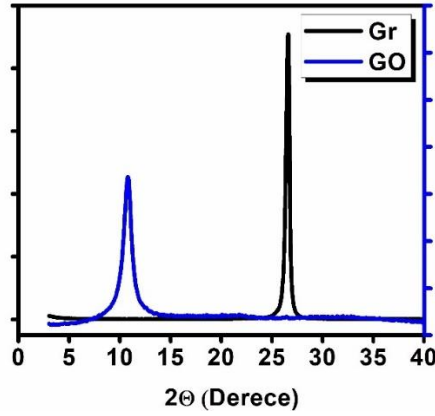
5.1.4. XRD analizi

Grafit ve GO'e ait kristal yapısal özelliklerini incelemek amacıyla XRD analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.5'te grafit (siyah eğri) ve GO (mavi eğri) örneklerine ait XRD desenleri karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

Grafit örneği, karakteristik olarak yaklaşık $26,5^\circ$ (2θ) civarında belirgin ve keskin bir pik göstermektedir. Bu pik, grafitin yüksek kristal yapısını temsil eden (002) düzlemlerine karşılık gelmektedir. Pik konumunun netliği ve şiddeti, grafitin düzenli tabakalı yapısını ve yüksek kristallik derecesini teyit etmektedir. Bu sonuçlar, literatürde tanımlanan grafit yapısıyla yüksek düzeyde uyum içindedir (Novoselov vd., 2004).

GO'da ise bu $26,5^\circ$ 'lik pik kaybolmuş, bunun yerine yaklaşık 11° (2θ) civarında yeni bir pik ortaya çıkmıştır. Bu değişim, grafenin oksitlenmesi sonucu oluşan oksijenli fonksiyonel grupların ($-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{O}-$) ve araya giren su moleküllerinin grafit katmanları arasındaki mesafeyi artırmasından kaynaklanmaktadır. Bu pik, grafen okside özgü olan (001) düzlemine karşılık gelir ve GO'nun daha düzensiz, amorf yapıya yakın bir yapıya sahip olduğunu gösterir. Bu durum literatürde GO'ya ait tipik bir özellik olarak tanımlanmıştır (Guliyeva vd., 2023).

Bu sonuçlar, grafit yapısının oksidasyon yoluyla başarılı şekilde grafen okside dönüştüğünü açıkça göstermektedir. GO'nun yapısında gözlenen kristal yapı değişimi, EDX analizinde gözlemlenen artan oksijen oranı ile de uyumludur. Böylece hem kimyasal hem de kristal yapısal dönüşümün gerçekleştiği doğrulanmıştır.



Şekil 5.5. Grafit ve GO'nun XRD analizi

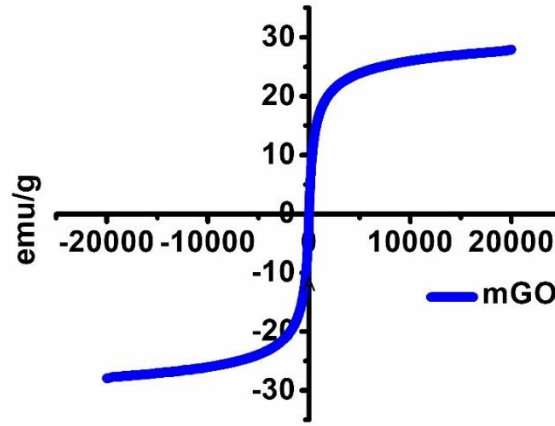
5.1.5. VSM analizi

mGO yapısının mıknatıslanma özelliklerini incelemek amacıyla Titreşimli Numune Manyetometresi (VSM) analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 5.6'da mGO örneğine ait mıknatıslanma (M) – uygulanan manyetik alan (H) grafiği verilmiştir.

Grafikte görüldüğü üzere, mGO yapısı tipik bir ferromanyetik davranış sergilemektedir. Histerezis eğrisi, numunenin mıknatıslanma ve demanyetizasyon süreçlerini açıkça ortaya koymakta olup, yüksek doygunluk mıknatıslanması (M_s), artık mıknatıslanma (M_r) ve koersivite (H_c) değerlerine sahip olduğunu göstermektedir. Eğrinin simetrik yapısı ve belirgin eğrilik, manyetik nanoparçacıkların (Fe_3O_4 veya $\gamma-Fe_2O_3$) başarılı bir şekilde grafen oksit yüzeyine yüklendiğini doğrulamaktadır.

Elde edilen maksimum mıknatıslanma değeri yaklaşık 30 emu/g civarında olup, bu değer manyetik özelliklerin güçlü olduğunu ve mGO'nun dış manyetik alanlara karşı iyi yanıt verdiğini göstermektedir. Bu da malzemenin özellikle manyetik ayırma, katalizör taşıyıcı sistemler, hedeflenmiş ilaç salımı ve çevresel arıtım uygulamaları gibi alanlarda kullanılabilirliğini artırmaktadır.

Bu sonuç, EDX analizinde gözlemlenen demir elementine ait sinyallerle de uyumludur. Böylece, GO yapısının manyetik özellik kazandıracak şekilde başarıyla modifiye edildiği VSM analizi ile de kanıtlanmıştır.



Şekil 5.6. mGO'nun VSM analizi

5.2. mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA'a Dokсорubisin Yükleme

Yüzey modifikasyonunun ilaç yükleme performansına etkisini değerlendirmek amacıyla, model antikanser ajan olan DOX ile yükleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. DOX yükleme deneyleri fizyolojik pH (7,4) ve tümör mikrosimülasyonunu temsil eden asidik pH (5,5) koşullarını taklit eden ortamda yürütülmüş ve yükleme verimleri UV-Vis spektrofotometrik yöntem ile hesaplanmıştır.

Bunun için, 1 mg mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH/SA tartılarak test tüplerine alınmış, üzerine 5 mL PBS'de (pH 7,4 ve pH 5,5) hazırlanan 0,2 mg/mL DOX çözeltisi ilave edilmiştir. Hazırlanan DOX çözeltisinin ilk andaki absorpsiyon spektrumu alınmış ve 484 nm'de maksimum absorpsiyon gösterdiği belirlenmiştir. Test tüplerinin kapakları kapatılarak, 37 °C'de 24 saat boyunca 150 rpm'de inkübatöre (mikrotest, MCI-55) bırakılmıştır. 24 saatin sonunda, belirlenen maksimum absorpsiyonun gözlemlendiği 484 nm'de üstteki sıvıdan 2'şer mL UV kuvvetlerine alınarak, mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA nanopartiküllerine yüklenen DOX miktarının belirlenmesi için absorpsiyon ölçümleri yapılmıştır.

Yapılan ölçümler sonucunda, DOX yükleme miktarları pH 7,4 için;

- mGO için %66,70
- mGO-SA için %66,46
- mGO-CH için %65,97
- mGO-CH-SA için %78,53

pH 5,5 için;

- mGO için %70,50
- mGO-SA için %70,67
- mGO-CH için %71,84
- mGO-CH-SA için %68,32

olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, pH 7,4 ortamında en yüksek yükleme verimi %78,53 ile mGO-CH-SA yapısında gözlemlenmiştir. Bu durum, çift yüzey modifikasyonunun sinerjistik etkisiyle yüzeyde daha fazla etkileşim bölgesi oluşturmaya ve DOX'un bu yüzeylerle güçlü etkileşim kurmasına bağlanabilir. Diğer yapılar arasında ise mGO (%66,70), mGO-SA (%66,46) ve mGO-CH (%65,97) benzer yükleme verimleri sergilemiştir. Bu durum, yüzey modifikasyonunun türüne bağlı olarak nötr ortamda çok belirgin bir fark yaratmadığını, ancak çift modifikasyonun yükleme kapasitesini anlamlı şekilde artırdığını ortaya koymaktadır.

Asidik pH 5,5 ortamına geçildiğinde ise yükleme verimlerinin genel olarak arttığı ve profilin farklılaştığı görülmektedir. mGO, mGO-SA ve mGO-CH yapılarının yükleme verimleri sırasıyla %70,50, %70,67 ve %71,84 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler, aynı yapıların nötr pH'taki verimlerinden daha yüksektir. Bu artış, asidik ortamda hem DOX moleküllerinin iyonizasyon durumundaki değişime hem de nanotaşıyıcıların yüzey kimyasındaki potansiyel etkileşim artışına bağlanabilir. İlginç bir şekilde, mGO-CH-SA yapısında pH 5,5 ortamında yükleme verimi %68,32 olarak ölçülmüş ve bu değer nötr pH'taki verimden (%78,53) daha düşük olmuştur. Bu sonuç, CH ve SA'nın birlikte bulunduğu yapının asidik koşullarda yüzey etkileşimlerinde olası rekabet veya yapısal değişim nedeniyle yükleme verimini sınırlayabileceğini düşündürmektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, yüzey modifikasyonlarının ilaç yükleme verimini artırabildiği ancak bu etkinin pH'a bağlı olarak değişkenlik gösterdiği ortaya konmuştur. Özellikle asidik ortamda mGO, mGO-SA ve mGO-CH yapılarında yükleme verimi artışı gözlemlenirken, mGO-CH-SA yapısı nötr pH'ta daha avantajlı bir profil sergilemiştir. Bu sonuçlar, nanotaşıyıcı tasarımlarında pH duyarlılığının göz önünde bulundurulması gerektiğini ve yüzey modifikasyonlarının bu bağlamda hem avantaj hem de sınırlayıcı etki yaratabileceğini göstermektedir.

5.3. mGO/DOX, mGO-SA/DOX, mGO-CH/DOX ve mGO-CH-SA/DOX'tan Doksorubisin Salınımı

Sentezlenen mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA'nın ilaç salınım davranışlarını değerlendirmek amacıyla, pH'ya bağlı olarak DOX salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir (Şekil 5.7).

Salınım deneyleri, fizyolojik pH (7,4) ve tümör mikrosimülasyonunu temsil eden asidik pH (5,5) koşullarında, uzun süreli inkübasyon ortamında yürütülmüştür (Aghazadeh Asl vd., 2023). Amaç, ilaç taşıyıcı sistemlerin hedefe yönelik kontrollü salınım potansiyelini ortaya koymaktır.

DOX ile yüklenen nanopartiküller, her iki pH koşulunda belirli zaman aralıklarında örneklendirilmiş; UV-Vis spektroskopisi ile serbest kalan ilaç miktarı hesaplanmıştır. 192 saat (8 gün) sonunda pH 7,4 ortamında gerçekleşen salım miktarları aşağıdaki gibidir:

- mGO: %21
- mGO-SA: %19
- mGO-CH: %19
- mGO-CH-SA: %15

Bu veriler, nötr ortamda sınırlı ilaç salımının gerçekleştiğini ve özellikle çift biyopolimer modifikasyonunun (CH-SA) salımı daha da kısıtladığını göstermektedir. Bu durum, salımın hedef dışı bölgelerde minimum düzeyde kalmasını sağlayarak, sistemin istenmeyen sistemik toksisiteyi azaltma potansiyelini desteklemektedir.

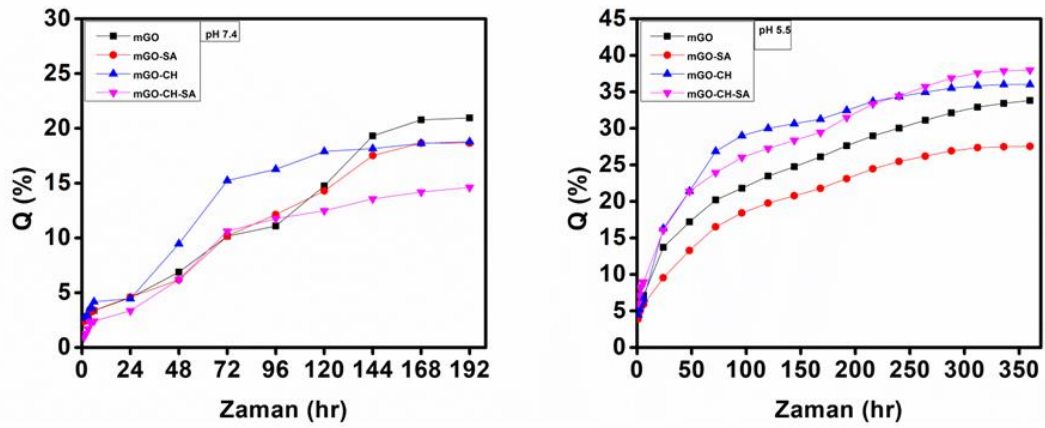
360 saatlik (15 gün) inkübasyon sonucunda pH 5,5 koşullarında ise salım profilleri anlamlı şekilde artmıştır:

- mGO: %34
- mGO-SA: %28
- mGO-CH: %36
- mGO-CH-SA: %38

Asidik ortamda gözlemlenen artmış salım oranları, bu sistemlerin pH-duyarlı bir salım mekanizması sergilediğini göstermektedir. Bu farklılık, özellikle tümör hücre çevresinde bulunan asidik mikroçevrede (Xie vd., 2019) ilacın daha etkin şekilde salınmasını mümkün kılmaktadır. Biyopolimer modifikasyonlarının (özellikle kitosan içeren yapılar) bu artışı daha da belirginleştirdiği dikkat çekmektedir. Kitosanın düşük

pH'ta çözünürlüğünün artması ve iyonizasyon davranışı, bu etkinin temel nedenlerinden biri olarak değerlendirilmektedir.

En yüksek salım oranı %38 ile mGO-CH-SA örneğinde gözlenmiş olup, bu yapı hem yüksek yükleme kapasitesi hem de hedefe duyarlı salım profili ile öne çıkmaktadır. Bu da bu sistemin, antikanser ajanların kontrollü ve hedefe yönelik salımı için oldukça umut verici bir ilaç taşıyıcı aday olduğunu ortaya koymaktadır (Xie vd., 2019).



Şekil 5.7. mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA'nın pH 7,4 ve 5,5'te DOX salınımı

5.4. mGO/DOX, mGO-SA/DOX, mGO-CS/DOX ve mGO-CH-SA/DOX Nanopartiküllerinden İlaç Salınımının Kinetik Çalışması

Bu çalışmada, mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA nanokompozitlerinin farklı pH ortamlarında ilaç taşıyıcı sistem olarak performansları değerlendirilmiş ve ilaç salınım verileri çeşitli kinetik modeller çerçevesinde incelenmiştir. İlaç salınım profilleri sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas modellerine uygulanmış ve her bir model için elde edilen korelasyon katsayıları (R^2) karşılaştırılmıştır (Şekil 5.8).

pH 7,4 ortamındaki kinetik uyum değerlendirmesi:

Fizyolojik pH koşullarında yapılan salınım deneyleri sonucunda, mGO ve mGO-SA nanokompozitleri yüksek R^2 değerleri ile sıfırıncı derece ve Higuchi modellerine oldukça iyi uyum göstermiştir. mGO-SA sisteminde ise Higuchi modeline ait R^2 değeri 0,9728, Korsmeyer-Peppas modeline ait R^2 değeri ise 0,9750 olarak bulunmuş, bu da ilaç salınımının büyük oranda difüzyon kontrollü olduğunu ve her iki kinetik model uyumu gösterdiği için anormal taşıma davranışları sergileyebileceğini göstermiştir.

mGO-CH ve mGO-CH-SA nanokompozitlerinde ise sıfırıncı ve birinci derece kinetik modellerine ait R^2 değerleri diğer sistemlere kıyasla daha düşüktür. Ancak Korsmeyer-Peppas modeli için elde edilen R^2 değerleri (sırasıyla 0,8712 ve 0,9249), bu sistemlerde de salınım mekanizmasının karma bir difüzyon kontrolüne dayalı olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu durum, özellikle mGO-CH-SA sisteminin yüzey modifikasyonunun salınım hızını yavaşlatıcı bir etki yarattığını göstermektedir.

pH 5,5 ortamındaki kinetik uyum değerlendirmesi:

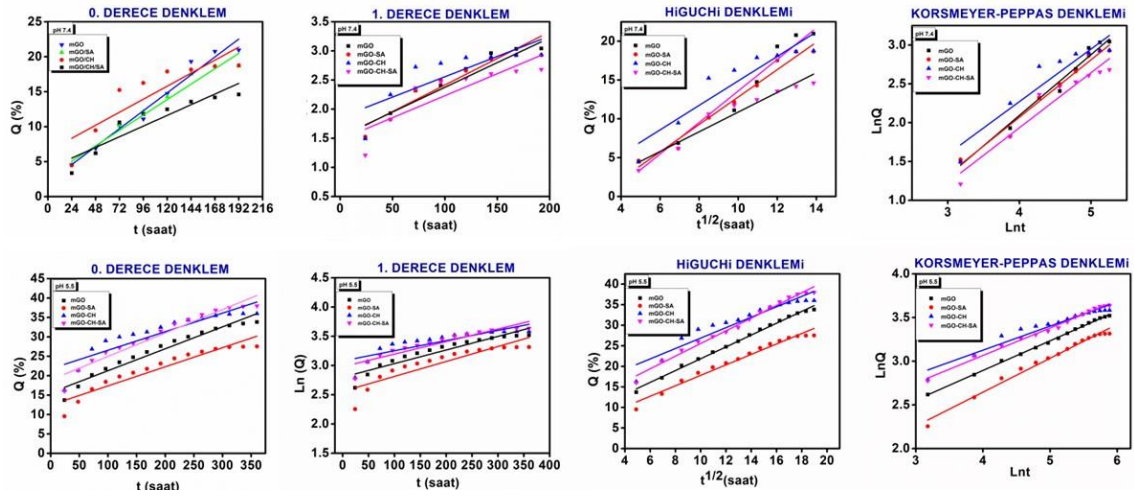
Asidik ortamda gerçekleştirilen salınım deneylerinde ise tüm sistemlerde daha yüksek R^2 değerleri elde edilmiştir. Bu sonuç, ilaç salınımının asidik ortamda daha kontrollü ve modele daha iyi uyum sağlayan bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir.

mGO nanokompoziti pH 5,5 ortamında Higuchi modeline en yüksek uyumu (%99,49, $R^2=0,9949$) gösterirken, Korsmeyer-Peppas modeli ile de mükemmel bir uyum sağladığı ($R^2=0,9986$) gözlemlenmiştir. Bu durum, asidik ortamda mGO'nun ilaç salınımını difüzyon kontrollü bir mekanizma ile oldukça başarılı bir şekilde gerçekleştirdiğini desteklemektedir.

mGO-CH-SA nanokompoziti ise asidik ortamda da Korsmeyer-Peppas modeline yüksek bir uyum göstermiştir ($R^2=0,9915$). Bu sonuç, mGO-CH-SA sisteminde ilacın kontrollü bir şekilde salındığını ve bu yapının, pH değişikliklerine karşı stabil bir taşıma sistemi sunduğunu göstermektedir.

Tüm sonuçlar bir arada değerlendirildiğinde, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas modelleri, her iki pH ortamında da en yüksek korelasyon katsayılarına ulaşarak nanopartiküllerin ilaç salınımında difüzyon kontrollü ve karma mekanizmalı bir yol izlediğini güçlü bir şekilde desteklemektedir. Özellikle asidik ortam (pH 5,5), kinetik model uyumlarında daha yüksek R^2 değerleri ile dikkat çekmiş ve sistemlerin asidik pH'ta daha kontrollü ve öngörülebilir bir salınım sağladığını göstermiştir. mGO-CH-SA nanokompozitleri, her iki ortamda da yavaş ve kontrollü salınım sağlayarak potansiyel bir uzun süreli ilaç salınım taşıyıcısı olduğunu göstermektedir.

Elde edilen tüm veriler, ilaç taşıyıcı sistem tasarımında ortam pH'ının ve nanokompozit yapısının ilaç salınım mekanizması üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur.



Şekil 5.8. *mGO*, *mGO-SA*, *mGO-CH* ve *mGO-CH-SA* nanokompozitlerinden *DOX* salınımının kinetik modelleri; a) pH 7,4 ve b) pH 5,5

Tablo 5.3. pH 7,4 ve 5,5'te, *mGO*, *mGO-SA*, *mGO-CH* ve *mGO-CH-SA* nanokompozitlerinin *in vitro* ilaç salım kinetiği parametreleri.

Koşullar	Nanokompozitler	Sıfırıncı derece R^2	Birinci derece R^2	Higuchi R^2	Korsmeyer-Peppas R^2
pH 7,4	mGO	0,9652	0,9232	0,9530	0,9772
	mGO-SA	0,9568	0,8847	0,9728	0,9750
	mGO-CH	0,7321	0,6041	0,8496	0,8712
	mGO-CH-SA	0,8358	0,7001	0,9232	0,9249
pH 5,5	mGO	0,9488	0,8763	0,9949	0,9986
	mGO-SA	0,8989	0,7918	0,9736	0,9855
	mGO-CH	0,7838	0,6852	0,8979	0,9388
	mGO-CH-SA	0,9364	0,8603	0,9859	0,9915

5.5. Elde Edilen Sonuçların Literatür ile Kıyaslanması

Son yıllarda hedefe yönelik ilaç taşıma sistemlerinin geliştirilmesinde nanoteknoloji tabanlı yaklaşımlar önemli bir ivme kazanmıştır. Bu bağlamda, grafen oksit (GO), geniş yüzey alanı, yüzeyinde çok sayıda fonksiyonel grup taşıması, yüksek mekanik dayanıklılığı ve biyouyumlu sayesinde, ilaç taşıyıcı sistemlerde sıklıkla tercih edilen bir nanomalzeme olarak öne çıkmaktadır.

Literatürde GO'in farklı biyopolimerlerle fonksiyonelleştirilerek ilaç yükleme kapasitesinin ve salım kinetiklerinin iyileştirildiği birçok çalışma bulunmaktadır. Tablo

5.4'te literatürde yapılan çalışmalar ile bu tez kapsamında yapılan çalışmaların sonuçları gösterilmiştir.

Tablo 5.4. GO tabanlı sistemler için literatürdeki DOX yükleme ve salınım yüzdelerinin karşılaştırılması.

Malzemeler	Fonksiyonel gruplar	pH	Tutuklama miktarı (% 24 saat)	Salınım miktarı (%)	Kaynakça
GO-CS-FA	Kitosan-Folik asit	7,4 5,8	45	25 (24 saat) 30 (24 saat)	(Keklikcioğlu Çakmak & Eroğlu, 2023)
mGO-CS/SA	Kitosan/Sodyum aljinat	7,4 5,0	137	39,4 (168 saat) 60,8 (168 saat)	(Xie vd., 2019)
GO-CS/SA	Kitosan/Sodyum aljinat	7,4 5,0	70	31,6 (120 saat) 51,6 (120 saat)	(Lei vd., 2016)
NHG-CH/SA	Kitosan/Sodyum aljinat	7,4 6,0	70	~7,5 (76 saat) ~8,5 (76 saat)	(Veloşo vd., 2023)
mGOC-PEG	Kitosan-PEG	7,4 5,3	34	~17 (120 saat) ~ 78 (120 saat)	(Y. S. Huang vd., 2017)
mGO mGO-SA mGO-CH mGO-CH-SA	- SA CH CH-SA	7,4 5,5	66,70 66,46 65,97 78,53 70,50 70,67 71,84 68,32	~21 (192 saat) ~19 (192 saat) ~19 (192 saat) ~15 (192 saat) 34 (360 saat) 28 (360 saat) 36 (360 saat) 38 (360 saat)	Bu çalışma

Çalışmalar incelendiğinde, Keklikcioğlu Çakmak ve Eroğlu (2023), kitosan-folik asit modifikasyonuna sahip GO-FA sisteminde, pH 7,4'te %45 oranında DOX yükleme ve 24 saat içinde %25 salım oranı elde edildiğini bildirmiştir. Xie ve ark. (2019) tarafından yapılan kitosan/sodyum aljinat ile kaplanan mGO-CSA sisteminde, pH 7,4'te %137 gibi yüksek bir yükleme miktarı raporlanmış, salım oranı ise 168 saat sonunda pH 7,4'te %39,4 olarak, pH 5,0'de ise %60,8 olarak ölçülmüştür.

Lei ve ark. (2016) tarafından gerçekleştirilen benzer bir çalışmada, pH değişiminin salım davranışları üzerindeki belirleyici etkisi vurgulanmış ve en yüksek salım değerine

pH 5,0'ta %51,6'lık bir oranla ulaşılmıştır. Veloso ve arkadaşlarının 2023 yılında gerçekleştirdiği bir çalışmada ise, NHG-CH/SA yapısına sahip sistemlerde, DOX yükleme kapasitesi %70 civarında sabit kalmakla birlikte, salım oranları pH 6,0'ta %8,5'e ulaştığı bildirilmiştir.

Bunun yanında, PEG ile modifiye edilen GO sistemlerinde ise daha düşük yükleme oranları (%34) gözlemlenmiş, ancak pH 5,3'te 120 saatlik süreçte ~%78'e kadar çıkan salım oranları rapor edilmiştir. Bu durum, PEG modifikasyonunun kontrollü ve geç salım üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir (Y. S. Huang vd., 2017).

Literatürde yer alan bu çalışmalar incelendiğinde GO'in biyopolimerlerle fonksiyonelleştirilmesinin hem yükleme hem de salım parametreleri üzerinde olumlu etkiler yarattığı ortaya koyulmuştur. Bununla birlikte, yükleme miktarları %34 ile %137 arasında değişmekte olup, salım oranları ortam pH'sı ve zamana bağlı olarak %7,5 ile %78 arasında değişmektedir. Sonuçlar, ilaç taşıyıcı sistemlerin performansının kullanılan fonksiyonel gruplar, pH koşulları ve salım süresi gibi parametrelerle doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir.

Bu tez çalışmasında ise literatürdeki mevcut sistemlerden farklı olarak, grafen oksit manyetik özellik kazandırılarak kimyasal eş çöktürme yöntemiyle sentezlenmiş ve ardından kitosan, sodyum aljinat ve her iki biyopolimerin birlikte kullanımıyla yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu sayede biyoyumlu ve fonksiyonel manyetik grafen oksit (mGO) tabanlı biyonanopartiküller elde edilmiştir. Geliştirilen bu sistemlere, yaygın olarak kullanılan kemoterapötik ajanlardan biri olan doksorubisin yüklenmiş ve farklı pH koşullarında salım davranışları detaylı şekilde incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlar literatürdeki örneklerle karşılaştırıldığında, bu çalışmada geliştirilen sistemlerin hem yükleme kapasitesi hem de uzun süreli salım performansı açısından rekabetçi olduğu görülmektedir. Özellikle mGO-CH-SA sisteminde %71,84'e kadar ulaşan yükleme oranı ve pH 5,5'te 360 saat boyunca %38'lik salım oranı, uzun vadeli salım açısından önemli bir potansiyel ortaya koymaktadır. Ayrıca bu çalışmada ilk kez mGO yapılarının yalnızca kısa süreli salım davranışları değil, aynı zamanda 192 saat ve 360 saate kadar uzayan uzun dönemli salım profilleri de değerlendirilmiştir.

Tüm bu bilgiler ışığında tez çalışmasının temel amacı, grafen oksit temelli, pH duyarlılığına sahip, biyoyumlu, fonksiyonel ve manyetik özellikli yeni nesil bir ilaç taşıyıcı sistemin geliştirilmesidir. Bu kapsamda geliştirilen sistemlerin, kemoterapötik ilaçların tümör mikroçevresine özgü kontrollü taşınımı ve salımı için uygun bir platform

sunduğu ortaya konmuştur. Yapılan karşılaştırmalı değerdendirmeler ışığında, bu çalışmanın, özellikle yüksek yükleme kapasitesi, uzun vadeli salım kabiliyeti ve biyopolimerlerle desteklenmiş yapısı sayesinde, literatüre önemli bir katkı sunduğu ve ilaç taşıma sistemlerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalara yol gösterici nitelik taşıdığı değerdendirilmektedir.



6. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında, Hummers yöntemi temel alınarak sentezlenen grafen oksit (GO) ve manyetik grafen oksit (mGO) yapıları, farklı biyopolimerlerle fonksiyonelleştirilerek çok işlevli nanokompozit sistemler elde edilmiştir. Kitosan (CH), sodyum aljinat (SA) ve her ikisinin birlikte kullanımıyla oluşturulan hibrit yapı (CH-SA), mGO yüzeyine başarıyla bağlanarak, biyoyumlu ve pH'ya duyarlı ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Geliştirilen bu sistemler, hem manyetik yönlendirme imkânı sağlaması hem de fonksiyonel gruplarla zenginleştirilmiş yüzey yapıları sayesinde ilaç yükleme ve salım açısından literatürdeki birçok çalışmayla karşılaştırılabilir nitelikte güçlü performanslar sergilemiştir.

mGO nanokompozitlerin karakterizasyonu FT-IR, SEM, EDX, XRD ve VSM gibi çok yönlü analiz yöntemleri ile gerçekleştirilmiş; bu analizler sonucunda elde edilen nanoparçacıkların morfolojik, yapısal, optik ve manyetik özellikleri ayrıntılı olarak ortaya konmuştur. Özellikle manyetik çekirdekli yapıların sentezlenmesi, ileride hedefli ilaç taşınımı ve manyetik hipertermi gibi uygulamalara kapı aralayabilecek potansiyelde olduğu için önemlidir.

Doksorubisin (DOX) ilacı, model kemoterapötik ajan olarak mGO, mGO-CH, mGO-SA ve mGO-CH-SA nanokompozitlerine yüklenmiş ve bu yapıların 7,4 ve 5,5 pH koşullarında ilaç yükleme ve salım verimlilikleri detaylı şekilde analiz edilmiştir. pH 5,5'teki asidik ortam, özellikle tümör mikroçevresini taklit etmesi açısından tercih edilmiştir. Yapılan çalışmalar, bu sistemlerin çevresel koşullara duyarlı olarak ilaç salımını kontrol edebildiğini göstermiştir.

İlaç yükleme verimlilikleri incelendiğinde, mGO-CH-SA nanokompozitinde %78,53 ile en yüksek yükleme değerine ulaşılmıştır. Bu durum, iki farklı biyopolimerin birlikte kullanılmasıyla elde edilen yüzeyin, ilacın tutunmasına yönelik güçlü etkileşimler sunduğunu ortaya koymaktadır. Salım çalışmalarında ise mGO-CH nanokompoziti, %71,84 ile pH 5,5'te en yüksek salım oranını göstermiştir. Bu sonuç, yapının hem ilacı etkin şekilde taşıyabildiğini hem de uygun koşullarda salılabildiğini göstermesi bakımından oldukça anlamlıdır.

Fizyolojik pH (7,4) ortamında gerçekleştirilen salım çalışmalarında, mGO nanokompozitleri 192 saat sonunda %21,12'lik birikimli salım ile en düşük salım oranını göstermiştir. Buna karşın, pH 5,5 koşullarında mGO-CH-SA sisteminde 360 saat sonunda %38'lik salım oranına ulaşılmıştır. Bu durum, geliştirilen sistemin yalnızca yüksek

yükleme kapasitesine değil, aynı zamanda uzun vadeli ve pH'ya duyarlı kontrollü salım özelliğine sahip olduğunu da ortaya koymaktadır. Literatürde genellikle kısa süreli (24–120 saat) salım çalışmaları tercih edilirken, bu tezde 192 ve 360 saat gibi uzun zaman aralıklarında gerçekleştirilen deneysel salım testleri, sistemlerin uzun vadeli uygulamalar için de uygun olduğunu kanıtlamaktadır.

Bu bağlamda, çalışmada geliştirilen mGO, mGO-SA, mGO-CH ve mGO-CH-SA nanokompozitlerinin yalnızca kemoterapötik ajanlar için değil, farklı ilaç sınıfları için de potansiyel taşıdığı değerlendirilmektedir. Örneğin, antibiyotikler, ağrı kesiciler, antiinflamatuvar ajanlar ve antihipertansif ilaçlar gibi sistemik etki gösteren, kontrollü ve hedefli salım gerektiren ilaçların taşınmasında da bu nanotaşıyıcı sistemlerin etkin birer aday olabileceği öngörülmektedir. Özellikle enfeksiyon bölgesine antibiyotiklerin hedefli salımı ya da kronik ağrılarda uzun süreli analjezik salımı gibi klinik ihtiyaçlara yönelik uygulamalarda, bu yapıların fayda sağlayabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, manyetik çekirdeklerin yönlendirilme potansiyeli, hedefli tedavilerde ilacın doğrudan etki alanına ulaştırılmasını sağlayarak sistemik yan etkileri azaltma yönünde umut vaat etmektedir.

Sonuç olarak, bu tez kapsamında geliştirilen mGO tabanlı nanokompozitler, hem literatürdeki benzer sistemlerle karşılaştırıldığında rekabetçi bir performans sergilemekte, hem de pH duyarlılığı ve yüzey modifikasyonları sayesinde çeşitli farmasötik ajanların kontrollü salımı için evrensel bir taşıyıcı platform niteliği taşımaktadır. Bu özellikleri sayesinde, kanser tedavisi dışında enfeksiyon hastalıkları, nörolojik rahatsızlıklar ya da kronik hastalıklarda uzun süreli ilaç tedavisi gerektiren durumlarda da kullanım potansiyeli bulunduğu değerlendirilmektedir.

Gelecek çalışmalarda, geliştirilen bu sistemlerin farklı ilaç türleri ile kombinlenerek hem in vitro hem de in vivo testlerinin yapılması, toksisite profillerinin analiz edilmesi ve hedefli salımın optimizasyonuna yönelik çalışmalarla desteklenmesi önerilmektedir. Ayrıca, çoklu ilaç taşıma ve salım uygulamalarına uygun hale getirilerek kombine tedavilerde kullanımı da araştırmaya değer bir alan olarak karşımıza çıkmaktadır.

KAYNAKÇA

- Adepu, S., and Ramakrishna, S. (2021). Controlled drug delivery systems: Current status and future directions. *Molecules*, 26(19), 5905.
- Aghazadeh Asl, E., Pooresmaeil, M., and Namazi, H. (2023). Chitosan coated MOF/GO nanohybrid as a co-anticancer drug delivery vehicle: Synthesis, characterization, and drug delivery application. *Materials Chemistry and Physics*, 293, 126933.
- Ahmad Raus, R., Wan Nawawi, W. M. F., and Nasaruddin, R. R. (2021). Alginate and alginate composites for biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(3), 280-306.
- Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Caballero, A. H., and Acosta, N. (2021). Chitosan: An overview of its properties and applications. *Polymers*, 13(19), 3256.
- Barrios, C. H. (2022). Global challenges in breast cancer detection and treatment. *The Breast*, 62, S3-S6.
- Burguin, A., Diorio, C., and Durocher, F. (2021). Breast cancer treatments: Updates and new challenges. *Journal of Personalized Medicine*, 11(8), 808.
- Cheng, D., Jiang, C., Xu, J., Liu, Z., and Mao, X. (2020). Characteristics and applications of alginate lyases: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 1304-1320.
- Danesh, N., Hosseini, M., Ghorbani, M., and Marjani, A. (2016). Fabrication, characterization and physical properties of a novel magnetite graphene oxide/Lauric acid nanoparticles modified by ethylenediaminetetraacetic acid and its applications as an adsorbent for the removal of Pb(II) ions. *Synthetic Metals*, 220, 508-523.
- Dash, B. S., Lu, Y. J., Huang, Y. S., and Chen, J. P. (2024). Chitosan-coated magnetic graphene oxide for targeted delivery of doxorubicin as a nanomedicine approach to treat glioblastoma. *International Journal of Biological Macromolecules*, 260, 129401.
- Debela, D. T., Muzazu, S. G. Y., Heraro, K. D., Ndalama, M. T., Mesele, B. W., Haile, D. C., Kitui, S. K., and Manyazewal, T. (2021). New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. *SAGE Open Medicine*, 9, 1-10.
- DeVita, V. T., and Chu, E. (2008). A history of cancer chemotherapy. *Cancer Research*, 68(21), 8643-8653.
- Dimiev, A. M., and Tour, J. M. (2014). Mechanism of graphene oxide formation. *ACS Nano*, 8(3), 3060-3068.
- Dreyer, D. R., Park, S., Bielawski, C. W., and Ruoff, R. S. (2010). The chemistry of graphene oxide. *Chemical Society Reviews*, 39(1), 228-240.

- Emerich, D. F., and Thanos, C. G. (2003). Nanotechnology and medicine. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 3(4), 655-663.
- Guliyeva, N. A., Abaszade, R. G., Khanmammadova, E. A., and Azizov, E. M. (2023). Synthesis and analysis of nanostructured graphene oxide. *Journal of Optoelectronic and Biomedical Materials*, 15(1), 23-30.
- Harbeck, N., Penault-Llorca, F., Cortes, J., Gnant, M., Houssami, N., Poortmans, P., Ruddy, K., Tsang, J., and Cardoso, F. (2019). Breast cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 5(1), 66.
- He, Y., Yi, C., Zhang, X., Zhao, W., and Yu, D. (2021). Magnetic graphene oxide: Synthesis approaches, physicochemical characteristics, and biomedical applications. *Trends in Analytical Chemistry*, 136, 116191.
- Hummers, W. S., and Offeman, R. E. (1958). Preparation of Graphitic Oxide. *J. Am. Chem. Soc.*, 80(6), 1339.
- Jaleh, B., Khalilipour, A., Habibi, S., Niyafar, M., and Nasrollahzadeh, M. (2017). Synthesis, characterization, magnetic and catalytic properties of graphene oxide/Fe₃O₄. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 28(6), 4974-4983.
- Kalirajan, C., Dukle, A., Nathanael, A. J., Oh, T. H., and Manivasagam, G. (2021). A critical review on polymeric biomaterials for biomedical applications. *Polymers*, 13(17), 3015.
- Katsnelson, M. I. (2007). Graphene: carbon in two dimensions. *Materials Today*, 10(1-2), 20-27.
- Kou, S. (Gabriel), Peters, L. M., and Mucalo, M. R. (2021). Chitosan: A review of sources and preparation methods. *International Journal of Biological Macromolecules*, 169, 85-94.
- Lee, Y.-C., and Moon, J.-Y. (2020). *Introduction to Bionanotechnology*. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd.
- Lei, H., Xie, M., Zhao, Y., Zhang, F., Xu, Y., and Xie, J. (2016). Chitosan/sodium alginate modified graphene oxide-based nanocomposite as a carrier for drug delivery. *Ceramics International*, 42(15), 17798-17805.
- Lu, Z. R., and Qiao, P. (2018). Drug Delivery in Cancer Therapy, Quo Vadis?. *Molecular Pharmaceutics*, 15(9), 3603-3616.
- Lujanienė, G., Novikau, R., Joel, E. F., Karalevičiūtė, K., Šemčuk, S., Mažeika, K., Talaikis, M., Pakštas, V., Tumėnas, S., Mažeika, J., and Jokšas, K. (2022). Preparation of Graphene Oxide-Maghemite-Chitosan Composites for the Adsorption of Europium Ions from Aqueous Solutions. *Molecules*, 27(22), 8035.
- Maughan, K. L., Lutterbie, M. A., and Ham, P. S. (2010). Treatment of Breast Cancer. *Am Fam Physician*, 81(11), 1339-1346.

<https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2010/0601/p1339.html> (Eriřim tarihi: 15.10.2024)

- Nasrollahzadeh, M., Sajadi, S. M., Sajjadi, M., and Issaabadi, Z. (2019). An Introduction to Nanotechnology. *Interface Science and Technology*, 28, 1-27.
- Nicholson, J. W. (2017). The Chemistry of Polymers. *RSC eTextbook Collection*, 5, 1-12. <https://books.rsc.org/books/monograph/662/The-Chemistry-of-Polymers#!divbookcontent> (Eriřim tarihi: 18.11.2024)
- Novoselov, K. S., Geim, A. K., Morozov, S. V, Dubonos, S. V, Zhang, Y., and Jiang, D. (2004). Room-temperature electric field effect and carrier-type inversion in graphene films. *Nature*, 410631. <https://arxiv.org/abs/cond-mat/0410631> (Eriřim tarihi: 21.04.2025)
- Nygren, P. (2001). What is cancer chemotherapy?. *Acta Oncologica*, 40(2-3), 166-174.
- Park, K. (2014). Controlled drug delivery systems: Past forward and future back. *Journal of Controlled Release*, 190, 3-8.
- Perrozzi, F., Prezioso, S., and Ottaviano, L. (2015). Graphene oxide: From fundamentals to applications. *Journal of Physics Condensed Matter*, 27(1), 1-21.
- Prados, J., Melguizo, C., Ortiz, R., Vélez, C., Alvarez, P. J., Arias, J. L., Ruíz, M. A., Gallardo, V., and Aranega, A. (2012). *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 12, 1058-1070.
- Renugopalakrishnan, V., and Lewis, R. V. (2006). *Bionanotechnology: Proteins to Nanodevices*. The Netherlands: Springer Science & Business Media.
- Rivankar, S. (2014). An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 10(4), 853-858.
- Robinson, P. R., and Hsu, C. S. (2017). Introduction to petroleum technology. Hsu, C.S., Robinson, P.R. (eds), *Springer Handbook of Petroleum Technology* In: (PartF1, 1-83). Springer Handbooks.
- Senapati, S., Mahanta, A. K., Kumar, S., and Maiti, P. (2018). Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 3, 7.
- Seyyedi Zadeh, E., Ghanbari, N., Salehi, Z., Derakhti, S., Amoabediny, G., Akbari, M., and Asadi Tokmedash, M. (2023). Smart pH-responsive magnetic graphene quantum dots nanocarriers for anticancer drug delivery of curcumin. *Materials Chemistry and Physics*, 297, 127336.
- Sikora, K., Advani, S., Koroltchouk, V., Magrath, I., Levy, L., Pinedo, H., Schwartzmann, G., Tattersall, M., and Yan, S. (1999). Essential drugs for cancer therapy: A World Health Organization consultation. *Annals of Oncology*, 10, 385-390.

- Titirici, M. M., White, R. J., Brun, N., Budarin, V. L., Su, D. S., Del Monte, F., Clark, J. H., and MacLachlan, M. J. (2015). Sustainable carbon materials. *Chemical Society Reviews*, 44(1), 250-290.
- Trayes, K. P., and Cokenakes, S. E. H. (2021). Breast Cancer Treatment. *American Family Physician*, 104(2), 171-178.
- Udayakumar, G. P., Muthusamy, S., Selvaganesh, B., Sivarajasekar, N., Rambabu, K., Banat, F., Sivamani, S., Sivakumar, N., Hosseini-Bandegharai, A., and Show, P. L. (2021). Biopolymers and composites: Properties, characterization and their applications in food, medical and pharmaceutical industries. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9, 105322.
- Vasir, J. K., and Labhasetwar, V. (2005). Targeted Drug Delivery in Cancer Therapy. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 4(4), 363-374.
- Waks, A. G., and Winer, E. P. (2019). Breast Cancer Treatment: A Review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 321(3), 288-300.
- Xie, M., Zhang, F., Peng, H., Zhang, Y., Li, Y., Xu, Y., and Xie, J. (2019). Layer-by-layer modification of magnetic graphene oxide by chitosan and sodium alginate with enhanced dispersibility for targeted drug delivery and photothermal therapy. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 176, 462-470.
- Xu, M., Liang, T., Shi, M., & Chen, H. (2013). Graphene-like two-dimensional materials. *Chemical Reviews*, 113(5), 3766-3798.
- Yao, Y., Miao, S., Liu, S., Ma, L. P., Sun, H., and Wang, S. (2012). Synthesis, characterization, and adsorption properties of magnetic Fe₃O₄@graphene nanocomposite. *Chemical Engineering Journal*, 184, 326-332.
- Yun, Y. H., Lee, B. K., and Park, K. (2015). Controlled Drug Delivery: Historical perspective for the next generation. *Journal of Controlled Release*, 219, 2-7.
- Zhen, Z., and Zhu, H. (2018). Structure and properties of graphene. *Graphene: Fabrication, Characterizations, Properties and Applications*, 1-12.
- Zhu, Y., Murali, S., Cai, W., Li, X., Suk, J. W., Potts, J. R., and Ruoff, R. S. (2010). Graphene and graphene oxide: Synthesis, properties, and applications. *Advanced Materials*, 22(35), 3906-3924.

ÖZGEÇMİŞ

ORCID NO: 0009-0001-7842-5020

Ad Soyad : Reza Nouri Gamchi

Eğitim:

- 2018, Shahid Beheshti Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Lisans Enstitüsü Anabilim Dalı
- 2016, Enghelab-e Eslami Teknik Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Ön Lisans, Kimya Mühendisliği Bölümü, Lisans Enstitüsü Anabilim Dalı

Yayınları ve/veya Bilimsel/Sanatsal Faaliyetleri:

- 2019, Konferans Organizasyonu, Gri suyun yeniden kullanımı için mikروفiltrasyon işlemi sırasında seramik alfa-alümina membranın performans potansiyeli”, 4. Ulusal Makine Mühendisliği ve Kimya Mühendisliği Kongresi, Kharazmi Üniversitesi, Tahran, İran.
Karimpour, I., Nouri, R., Alimohammadi, S., Ghasemzadeh, K.